

ผลของควิโนนและการบ่มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน



นางสาวภาววิ กุศลสินกุล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2560

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF QUINONES AND HEAT CURING ON PROPERTIES OF GELATIN FILM



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University



ภาควิ กุศลินิกูล : ผลของควิโนนและการบ่มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน (EFFECTS OF QUINONES AND HEAT CURING ON PROPERTIES OF GELATIN FILM) อ.ที่ปริภษาวิทยาพนธ์หลัก: ผศ. ดร.รณจันทร มหาวนิช, 176 หน้า.

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของควิโนนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน และศึกษาผลของการบ่มสารละลายฟิล์มและการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนน ในขั้นตอนแรกของการวิจัยเป็นการศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของควิโนนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน แปรชนิดของควิโนนเป็น 2 ชนิด คือ ไฮโดรควิโนน และพารา-เบนโซควิโนน และแปรความเข้มข้นของควิโนนเป็น 4 ระดับ (0.5, 1.0, 1.5 และ 3.0% โดยน้ำหนักของเจลาติน) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของควิโนนเพิ่มขึ้นในช่วง 0.5-1.5% ฟิล์มเจลาตินมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นของควิโนนเพิ่มเป็น 3.0% ฟิล์มเจลาตินกลับมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดลดลง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของควิโนนพบว่าพารา-เบนโซควิโนนมีความสามารถในการปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มเจลาตินสูงกว่าไฮโดรควิโนน นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมควิโนนมีผลสำคัญต่อสมบัติเชิงแสงของฟิล์มเจลาติน โดยฟิล์มที่เติมควิโนนมีค่า  $L^*$  ลดลงในขณะที่  $a^*$  และ  $b^*$  มีค่าเพิ่มขึ้น การเติมควิโนนส่งผลให้มุมสีมีค่าลดลงจนเข้าใกล้มุมสีของสีแดง นอกจากนี้ยังมีผลให้ความเข้มสีสูงขึ้นและความโปร่งใสลดลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมควิโนน นอกจากนี้การเติมควิโนนยังทำให้สภาพให้ซึมผ่านของไอน้ำและความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินมีค่าลดลง ในขณะที่มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นซึ่งแสดงให้เห็นว่าผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำมากขึ้น การติดตามพฤติกรรมการดูดความชื้นที่อุณหภูมิคงที่ 25°C ของฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% พบว่าตัวอย่างฟิล์มมีเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นชนิด type II และวอเตอร์แอกทิวิตีที่เปลี่ยนแปลงไปส่งผลต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) การวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ยืนยันการเกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนในตัวอย่างที่เติมควิโนน นอกจากนี้จากการติดตามโดยเทคนิคทางฟูเรียร์แทรนสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปียังยืนยันการเกิดพันธะโควาเลนต์ C-N ในขั้นตอนที่สองของการวิจัยเป็นการศึกษาผลของการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% แปรอุณหภูมิการบ่มเป็น 3 ระดับ (45, 55 และ 65°C) และระยะเวลาการบ่มเป็น 3 ระดับ (10, 20 และ 30 นาที) โดยทั่วไปพบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มทำให้ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นและมีการยืดตัวถึงจุดขาดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งเป็นฟิล์มที่เติมควิโนนชนิดเดียวกันแต่ไม่มีขั้นตอนการบ่มสารละลายฟิล์ม นอกจากนี้ยังพบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มทำให้ฟิล์มที่ได้มีความสว่างและความโปร่งใสลดลงและมีความเข้มสีเพิ่มขึ้น การบ่มสารละลายฟิล์มด้วยภาวะที่ไม่รุนแรงไม่มีผลสำคัญต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ในขณะที่การบ่มที่ภาวะรุนแรง (ได้แก่ อุณหภูมิสูง และ/หรือ ระยะเวลายาวนาน) ทำให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำและมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าฟิล์มที่ผลิตโดยมีขั้นตอนการบ่มสารละลายฟิล์มมีความสามารถในการละลายน้ำลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม การเกิดพันธะไดซัลไฟด์ยืนยันได้จากกราฟวิเคราะห์ด้วยเทคนิครามานสเปกโทรสโกปี โดยพบพีคในช่วงรามานชิฟท์ที่เกี่ยวข้องกับการยืดของพันธะ S-S ในขั้นตอนที่สามของการวิจัยเป็นการศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซ ควิโนนเข้มข้น 1.5% แปรอุณหภูมิการบ่มเป็น 3 ระดับ (45, 55 และ 65°C) และระยะเวลาการบ่มเป็น 3 ระดับ (60, 180 และ 300 นาที) พบการเปลี่ยนแปลงในทำนองเดียวกันกับการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน กล่าวคือตัวอย่างที่มีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนมีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นและมีการยืดตัวถึงจุดขาดลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าแผ่นฟิล์มที่บ่มด้วยความร้อนมีความสว่างและความโปร่งใสลดลง ในขณะที่มีความเข้มสีเพิ่มขึ้น รวมทั้งมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำและความสามารถในการละลายน้ำลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ผลิตโดยไม่มีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อน ในขณะที่มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นในแผ่นฟิล์มที่บ่มด้วยความร้อน ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าควิโนนรวมทั้งการบ่มสารละลายฟิล์มและการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนสามารถปรับปรุงความแข็งแรงเชิงกลของฟิล์มเจลาตินได้โดยเพิ่มการเชื่อมข้ามโปรตีนด้วยพันธะโควาเลนต์

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ปีการศึกษา 2560

# # 5872121223 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORDS: PROTEIN FILM / GELATIN FILM / QUINONE CROSS-LINKING / HEAT CURING

PARAWEE KUSARINKUL: EFFECTS OF QUINONES AND HEAT CURING ON PROPERTIES OF GELATIN FILM.

ADVISOR: ASST. PROF. THANACHAN MAHAWANICH, Ph.D., 176 pp.

The objectives of this study were to investigate the effect of quinones on properties of gelatin film and to investigate the effect of heat curing of film-forming solution and heat curing of dried film on the properties of quinone-added gelatin films. In the first part of the study, the effect of type (hydroquinone and *p*-benzoquinone) and concentration (0.5, 1.0, 1.5 and 3.0% by weight of gelatin) of quinones on gelatin film properties was examined. Tensile strength and elongation at break were found to increase as quinone concentration increased in the range of 0.5-1.5%, but at the quinone concentration of 3.0%, tensile strength and elongation at break became decreasing. *p*-Benzoquinone was shown to be more efficient in improving mechanical strength of gelatin film than hydroquinone. In addition, quinone incorporation posed a significant effect on optical properties of gelatin film. The quinone-treated films exhibited a decrease in  $L^*$ , with an increase in  $a^*$  and  $b^*$ . A decrease in hue angle was observed, with a value approaching the angle of red hue. Quinone addition also caused an increase in chroma and a decrease in transparency, as compared to the control. A decrease in water vapor permeability and water solubility was demonstrated upon adding quinone, while contact angle between water droplet and the film surface became increase, indicating an increase in hydrophobicity of the film surface. Regarding to moisture sorption behavior, the films added with 1.5% hydroquinone and 1.5% *p*-benzoquinone displayed type II isotherm. Water activity was found to significantly affected mechanical properties of the films ( $p \leq 0.05$ ). Protein cross-linking was evidenced by the SDS-PAGE protein pattern. C-N covalent bond formation was also confirmed by FT-IR technique. In the second part of the study, the effect of temperature (45, 55 and 65°C) and time (10, 20 and 30 minutes) of heat curing of film-forming solution on properties of the films containing 1.5% hydroquinone and 1.5% *p*-benzoquinone was investigated. Heat curing of the film-forming solution rendered a film with increasing tensile strength and decreasing elongation at break. Heat curing of the film-forming solution yield a film with lower lightness and transparency, but greater chroma. Heat curing under mild conditions had no significant effect on water vapor permeability while more severe conditions (i.e., at higher temperature and/or for a longer time) resulted in a decrease in water vapor permeability and contact angle. Heat curing of the film-forming solution produced a film with lower water solubility. Disulfide bond formation was attested by Raman spectroscopy technique in which the heat-cured samples displayed spectral peak in the S-S stretching region. In the third part of the study, the effect of temperature (45, 55 and 65°C) and time (60, 180 and 300 minutes) of heat curing of dried film on properties of quinone-added gelatin film was explored. Similar results to the heat curing of the film-forming solution were observed. Heat curing of dried film did improve tensile strength while lowered elongation at break. Heat cured of dried film also induced a decrease in lightness and transparency while the chroma became increasing. Water vapor permeability and water solubility of the heat-cured films were lower when compared to the control. On the other hand, the contact angle became increasing. This research suggested that quinone cross-linking as well as heat curing of either film-forming solution or dried film could improve mechanical strength of gelatin film by inducing protein covalent cross-link.

Department: Food Technology

Student's Signature .....

Field of Study: Food Technology

Advisor's Signature .....

Academic Year: 2017

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยความกรุณาและความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้สละเวลาอันมีค่าให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางการแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่างๆที่เกิดขึ้น ตลอดจนดูแลเอาใจใส่จนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์อันประกอบด้วยอาจารย์ ดร. ธีรนนท์ เจนจรัสสกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ขาลีดา บรมพิชัยชาติกุล รองศาสตราจารย์ ดร.อุบลรัตน์ สิริภัทรารวรรณ และ รองศาสตราจารย์ ดร. วรางคณา สมพงษ์ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำพร้อมข้อเสนอแนะต่างๆ อันเป็นประโยชน์เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือวัดมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม รวมทั้งรองศาสตราจารย์ ดร. วาณี ชนเห็นชอบ สำหรับคำแนะนำในการใช้เครื่องมือ

ขอขอบพระคุณคุณธีรภัทร์ ตั้งสมบูรณ์ สำหรับคำแนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะห์สมบัติของฟิล์ม รวมถึงคำแนะนำอื่นๆ อันเป็นประโยชน์ในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. วรางคณา สมพงษ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์โปรตีนมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์รูปแบบแถบโปรตีน

ขอขอบพระคุณคุณภัทรา สุดเลิศ สำหรับคำแนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะห์รูปแบบแถบโปรตีน

ขอขอบพระคุณครูบาอาจารย์ทุกท่าน และพี่ น้อง เพื่อนนิสิตภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำมาโดยตลอด รวมถึงเจ้าหน้าที่ในภาคเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านสำหรับการอำนวยความสะดวกและความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาการทำวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ คุณตา คุณยาย และญาติพี่น้องทุกๆ คน ที่คอยสนับสนุนและเป็นกำลังใจเสมอตลอดงานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....	29
2.1 फिल्मย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (bio-degradable film).....	29
2.2 การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโพรตีน.....	31
2.2.1 วิธีทางกายภาพ.....	31
2.2.2 วิธีทางเคมี.....	38
2.2.3 วิธีทางชีวเคมี.....	42
2.2.4 การผลิตเป็นฟิล์มคอมพอสิตร่วมกับพอลิเมอร์ชนิดอื่น.....	44
2.3 การเชื่อมข้ามโพรตีนโดยสารประกอบฟีนอลิกและควิโนน.....	45
2.4 เจลาติน.....	50
2.4.1 การผลิตเจลาติน.....	51
2.4.2 องค์ประกอบของเจลาติน.....	52
2.4.3 ฟิล์มเจลาติน.....	54
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย.....	55
3.1 วัสดุดิบและสารเคมี.....	55
3.1.1 วัสดุดิบ.....	55
3.1.2 สารเคมี.....	55

3.2 อุปกรณ์.....	57
3.3 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย.....	59
3.3.1 การศึกษาผลของควิโนนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน .....	59
3.3.2 การศึกษาผลของการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินที่ เติมควิโนน.....	73
3.3.3 การศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินที่เติม ควิโนน.....	76
3.3.4 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ .....	79
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	54
4.1 ผลของควิโนนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน.....	54
4.1.1 ความหนา .....	54
4.1.2 สมบัติเชิงกล .....	56
4.1.3 ความโปร่งใส.....	59
4.1.4 สี 61	
4.1.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ.....	63
4.1.6 ความสามารถในการละลายน้ำ.....	64
4.1.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม .....	66
4.1.8 เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้น.....	69
4.1.9 โครงสร้างระดับจุลภาค.....	72
4.1.10 รูปแบบของแถบโปรตีน.....	74
4.1.11 การเกิดพันธะคาร์บอน-ไนโตรเจน .....	75
4.2 ผลของการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนน ....	77
4.2.1 ความหนา.....	77
4.2.2 สมบัติเชิงกล .....	79



4.2.3 ความโปร่งใส.....	82
4.2.4 สี83	
4.2.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ.....	85
4.2.6 ความสามารถในการละลายน้ำ.....	86
4.2.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม .....	88
4.2.8 เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้น.....	92
4.2.9 โครงสร้างระดับจุลภาค.....	94
4.2.10 รูปแบบของแถบโปรตีน.....	97
4.2.11 การเกิดพันธะไดซัลไฟด์.....	99
4.3 ผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลลาตินที่เติมควิโนน.....	100
4.3.1 ความหนา .....	100
4.3.2 สมบัติเชิงกล .....	102
4.3.3 ความโปร่งใส.....	105
4.3.4 สี106	
4.3.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ.....	108
4.3.6 ความสามารถในการละลายน้ำ.....	109
4.3.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม .....	111
4.3.8 เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้น.....	114
4.3.9 โครงสร้างระดับจุลภาค.....	117
4.3.10 รูปแบบของแถบโปรตีน.....	120
4.3.11 การเกิดพันธะไดซัลไฟด์.....	122
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง .....	125
รายการเอกสารอ้างอิง .....	127

ภาคผนวก .....	137
ภาคผนวก ก ข้อมูลเฉพาะของผลิตภัณฑ์.....	138
ภาคผนวก ข กราฟเทียบมาตรฐาน.....	139
ภาคผนวก ค ข้อมูลผลการทดลอง.....	140
ภาคผนวก ง ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ .....	161
ภาคผนวก จ สเปกตรัมของฟูเรียร์แทรนส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี.....	166
รายการอ้างอิง.....	175
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ .....	176



## สารบัญภาพ

รูปที่ 2. 1 ผลของรังสีต่อโปรตีน (ก) รังสีเหนี่ยวนำให้โมเลกุลน้ำแตกตัว จากนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแตกตัวของน้ำทำปฏิกิริยากับโปรตีนทำให้เกิดได้ทั้ง (ข) ดีพอลิเมอไรเซชัน และ (ค) ไดมเมอร์ไรเซชันและ พอลิเมอไรเซชัน .....	33
รูปที่ 2. 2 ปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไฮดรอลิซิส.....	36
รูปที่ 2. 3 การเชื่อมข้ามโปรตีนที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับฟอร์มัลดีไฮด์ โดยฟอร์มัลดีไฮด์สามารถทำปฏิกิริยากับหน่วยย่อยไทโรซีนและไลซีน เกิดเป็นพันธะเชื่อมข้าม (ก) ระหว่างไลซีนและ ไทโรซีน หรือ (ข) ระหว่างไลซีนด้วยกันเอง .....	40
รูปที่ 2. 4 การเชื่อมข้ามโปรตีนที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับกลูทาราลดีไฮด์ โดยกลูทาราลดีไฮด์เกิด พอลิเมอไรเซชันภายใต้ภาวะที่เป็นเบส จากนั้นพอลิเมอร์ของกลูทาราลดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับหน่วยย่อย ไลซีนเกิดเป็นพันธะเชื่อมข้ามระหว่างไลซีนด้วยกันเอง .....	40
รูปที่ 2. 5 การเชื่อมข้ามโปรตีนที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับไกลออกซัล (ก) ไกลออกซัลทำปฏิกิริยากับหน่วยย่อยไลซีนเกิดเป็นพันธะเชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยไลซีนด้วยกันเอง (ข) ไกลออกซัลสามารถทำปฏิกิริยากับหมู่กำมะถันของอาร์จินีน แต่จะได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีโครงสร้างแบบวงซึ่งไม่มีบทบาทในการเชื่อมข้ามระหว่างโปรตีน .....	41
รูปที่ 2. 6 กลไกการเชื่อมข้ามโปรตีนของสารประกอบฟีนอลิกและควิโนน.....	47
รูปที่ 2. 7 ไฮโดรควิโนน.....	48
รูปที่ 2. 8 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรควิโนนได้เป็นพารา-เบนโซควิโนน .....	48
รูปที่ 2. 9 การผลิตเจลาตินจากคอลลาเจน .....	51
รูปที่ 3. 1 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มเจลาตินตัวอย่างควบคุม .....	62
รูปที่ 3. 2 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนน .....	63
รูปที่ 3. 3 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนนและบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน ..	75
รูปที่ 3. 4 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนนและบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อน .....	78

รูปที่ 4. 1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 0.5-3.0% ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	56
รูปที่ 4. 2 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 0.5-3.0% ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	57
รูปที่ 4. 3 ความโปร่งใส (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิ โนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) .....	60
รูปที่ 4. 4 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิ โนนเข้มข้น 0.5-3.0% ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	64
รูปที่ 4. 5 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิ โนนเข้มข้น 0.5-3.0% ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	65
รูปที่ 4. 6 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิ โนนเข้มข้น 0.5-3.0% ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	67
รูปที่ 4. 7 รูปร่างของหยดน้ำบนผิวของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 0.5-3.0% .....	68
รูปที่ 4. 8 เส้นพฤติกรรมดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 °C ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนน เข้มข้น 1.5% .....	70
รูปที่ 4. 9 เส้นพฤติกรรมดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 °C ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิ โนนเข้มข้น 1.5% .....	71
รูปที่ 4. 10 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบน โซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% ถ่ายที่กำลังขยาย 1,500 เท่า.....	73
รูปที่ 4. 11 รูปแบบแถบโปรตีนของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 0.5-3.0%.....	74

รูปที่ 4. 12 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% .....	76
รูปที่ 4. 13 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% ....	76
รูปที่ 4. 14 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	80
รูปที่ 4. 15 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	81
รูปที่ 4. 16 ความโปร่งใสของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	83
รูปที่ 4. 17 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	86
รูปที่ 4. 18 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	87
รูปที่ 4. 19 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	88
รูปที่ 4. 20 รูปร่างของหยดน้ำบนผิวฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ .....	90
รูปที่ 4. 21 เส้นพฤติกรรมดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที .....	92
รูปที่ 4. 22 เส้นพฤติกรรมดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที.....	93

รูปที่ 4. 23 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลา ต่างๆ.....	95
รูปที่ 4. 24 รูปแบบแถบโปรตีนของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที .....	98
รูปที่ 4. 25 Raman spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที .....	99
รูปที่ 4. 26 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิ โนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	103
รูปที่ 4. 27 การยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ย ที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	104
รูปที่ 4. 28 ความโปร่งใสของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มี อักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) .....	106
รูปที่ 4. 29 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิ โนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	109
รูปที่ 4. 30 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิ โนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	110
รูปที่ 4. 31 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิ โนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ).....	111

รูปที่ 4. 32 รูปร่างของหยดน้ำบนผิวฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ.....	112
รูปที่ 4. 33 เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที่ .....	115
รูปที่ 4. 34 เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิ โนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที่ .....	115
รูปที่ 4. 35 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ....	118
รูปที่ 4. 36 รูปแบบแถบโปรตีนของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที่ .....	121
รูปที่ 4. 37 Raman spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที่ .....	122
รูปที่ ข. 1 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified Lowry .....	139
รูปที่ ง. 1 ลักษณะปรากฏของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%.....	161
รูปที่ ง. 2 ลักษณะปรากฏของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ .....	162
รูปที่ ง. 3 ลักษณะปรากฏของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ .....	164
รูปที่ จ. 1 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาติน .....	166
รูปที่ จ. 2 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 0.5% .....	167
รูปที่ จ. 3 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.0% .....	168

รูปที่ จ. 4 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% .....	169
รูปที่ จ. 5 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 3.0% .....	170
รูปที่ จ. 6 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5% .....	171
รูปที่ จ. 7 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.0% .....	172
รูปที่ จ. 8 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% .....	173
รูปที่ จ. 9 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 3.0% .....	174





## สารบัญตาราง

ตารางที่ 2. 1 กรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบของเจลาติน (ที่มา: Gelatin Manufacturers Institute of America, 1993).....	53
ตารางที่ 3. 1 ปริมาณส่วนประกอบ (กรัม) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฟิล์มเจลาติน 100 กรัม.....	60
ตารางที่ 3. 2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเจลสำหรับการวิเคราะห์โดย SDS-PAGE*.....	71
ตารางที่ 4. 1 ความหนาของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%.....	55
ตารางที่ 4. 2 ค่าสีในระบบ CIELAB ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% .....	62
ตารางที่ 4. 3 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่วอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ.....	71
ตารางที่ 4.4 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่วอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ.....	72
ตารางที่ 4. 5 ความหนาของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ .....	78
ตารางที่ 4. 6 ค่าสีในระบบ CIELAB ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ	84
ตารางที่ 4. 7 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดที่วอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ ของฟิล์ม เจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที.....	93
ตารางที่ 4. 8 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดที่วอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ ของฟิล์ม เจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที.....	94
ตารางที่ 4. 9 ความหนาของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ .....	101

ตารางที่ 4. 10 ค่าสีในระบบ CIELAB ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ .107	
ตารางที่ 4. 11 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดที่วอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ ของฟิล์ม เจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที .....	116
ตารางที่ 4. 12 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดที่วอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ ของฟิล์ม เจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที.....	116
ตารางที่ ค. 1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%.....	140
ตารางที่ ค. 2 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%.....	141
ตารางที่ ค. 3 ความโปร่งใส (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%.....	142
ตารางที่ ค. 4 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%.....	143
ตารางที่ ค. 5 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% .....	144
ตารางที่ ค. 6 ข้อมูลสำหรับเส้นพฤติกรรมการณ์การดูดความชื้นที่ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% .....	146
ตารางที่ ค. 7 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ .....	147
ตารางที่ ค. 8 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ .....	148



# บทที่ 1

## บทนำ

ฟิล์มบรรจุภัณฑ์ที่นิยมใช้ในปัจจุบันส่วนใหญ่ผลิตจากพอลิเมอร์ฐานปิโตรเลียม (petroleum-based polymer) เนื่องจากพอลิเมอร์ดังกล่าวสามารถผลิตได้ในปริมาณที่มาก ด้วยเทคโนโลยีที่ทันสมัยในรูปแบบอุตสาหกรรม ซึ่งควบคุมและกำหนดสมบัติของผลิตภัณฑ์ได้แม่นยำกว่า นอกจากนี้ฟิล์มที่ผลิตโดยใช้พอลิเมอร์เหล่านี้ยังมีสมบัติที่ดีกว่าฟิล์มที่ผลิตโดยใช้พอลิเมอร์ชีวภาพจากธรรมชาติ (naturally occurring biopolymer) ในหลายด้าน ได้แก่ สมบัติเชิงกล ลักษณะปรากฏ และสมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของสารต่างๆ อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญที่เป็นผลจากการใช้บรรจุภัณฑ์จากพอลิเมอร์ฐานปิโตรเลียมหรือบรรจุภัณฑ์พลาสติกคือการกำจัดขยะ ซึ่งหากมีการใช้ที่มากเกินไปและมีการจัดการที่ไม่เหมาะสมอาจก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมเช่นที่โลกเผชิญอยู่ในปัจจุบัน ด้วยเหตุนี้อุตสาหกรรมต่างๆ รวมถึงอุตสาหกรรมอาหารจึงเริ่มหันมาให้ความสนใจในวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่ย่อยสลายได้ง่ายทดแทนการใช้บรรจุภัณฑ์พลาสติก (González, Strumia, & Alvarez Igarzabal, 2011)

เจลาตินเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพชนิดหนึ่งที่มีสมบัติในการเกิดเป็นฟิล์มที่ดี ฟิล์มเจลาตินเป็นฟิล์มที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมยา เนื่องจากมีความโปร่งใสและมีสมบัติเชิงกลที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับฟิล์มจากพอลิเมอร์ชีวภาพโดยทั่วไป (Gómez-Guillén *et al.*, 2002) อย่างไรก็ตามฟิล์มเจลาตินยังมีสมบัติที่ด้อยกว่าเมื่อเทียบกับฟิล์มพลาสติก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านสมบัติเชิงกล ดังนั้นเพื่อเพิ่มประโยชน์การใช้งานของฟิล์มเจลาตินจึงต้องมีการปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มเจลาติน

การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนสามารถทำได้โดยการส่งเสริมให้เกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโปรตีน ซึ่งสามารถทำได้โดยเทคนิคต่างๆ เช่น การใช้รังสี การใช้เอนไซม์ รวมถึงการใช้สารเคมีเชื่อมข้าม และการบ่มด้วยความร้อน (heat curing)

การเชื่อมข้ามโปรตีนโดยควิโนนเป็นปรากฏการณ์ที่พบในกระบวนการทางชีววิทยาในธรรมชาติ เช่น การแข็งตัวของเปลือกนอกของแมลง (insect cuticle sclerotization) ควิโนนสามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่แอมิโนหรือหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของกรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน เกิดเป็นพันธะโควาเลนต์ชนิดคาร์บอน-ไนโตรเจน (ในกรณีที่เกิดปฏิกิริยากับหมู่แอมิโน) หรือคาร์บอน-ซัลเฟอร์ (ในกรณีที่เกิดปฏิกิริยากับหมู่ซัลฟ์ไฮดริล) เชื่อมข้ามระหว่างโปรตีน (Strauss & Gibson, 2004) ในขณะที่การบ่มด้วยความร้อนทั้งการบ่มสารละลายฟิล์มและการบ่มแผ่นฟิล์มมีรายงานว่าสามารถช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนได้ โดยการให้ความร้อนแก่โปรตีนสามารถเร่งให้เกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไธออล-ไดซัลไฟด์ (thiol-disulfide exchange) ซึ่งทำให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์เชื่อมข้ามระหว่างโปรตีนได้ (Gennadios, Ghorpade, Weller, & Hanna, 1996; Jangchud & Chinnan, 1999; Jensen, 1959) งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของควิโนนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน รวมทั้งเพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มสารละลายฟิล์มและการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนน

## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### 2.1 พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (bio-degradable film)

เนื่องจากการใช้บรรจุภัณฑ์ที่ผลิตจากพอลิเมอร์ฐานปิโตรเลียมในปัจจุบันก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม ผู้ผลิตและผู้บริโภคจึงหันมาให้ความสนใจกับบรรจุภัณฑ์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ สำหรับพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพมีวัตถุประสงค์ในการนำมาใช้เช่นเดียวกับฟิล์มบรรจุภัณฑ์โดยทั่วไป กล่าวคือ ป้องกันหรือชะลอการผ่านเข้าออกของสารต่างๆ (เช่น แก๊ส ไอน้ำ ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ ไขมัน สารระเหย สารละลาย และสารอื่นๆ) รักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ถูกห่อหุ้มอยู่ภายใน และให้ความคงตัวแก่ผลิตภัณฑ์ (product integrity) (Ghanbarzadeh & Oromiehi, 2008) พลาสติกย่อยสลายได้สามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมในภาวะที่มีอุณหภูมิ ความชื้น แสง และออกซิเจนที่เหมาะสม ทำให้ฟิล์มสามารถถูกย่อยสลายโดยกระบวนการทางชีวภาพได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ มีเทน สารประกอบอินทรีย์ และของเหลือชีวมวล (biomass residue) จึงช่วยลดมลภาวะซึ่งเป็นปัญหาสำคัญที่ทั่วโลกตระหนักอยู่ในปัจจุบัน (Ahmadi, Kalbasi-Ashtari, Oromiehi, Yarmand, & Jahandideh, 2012) พลาสติกย่อยสลายได้สามารถผลิตจากพอลิเมอร์ชีวภาพประเภทต่างๆ ทั้งพอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีน และลิพิด

สำหรับพอลิแซ็กคาไรด์ ที่ผ่านมามีนักวิจัยพัฒนาพลาสติกย่อยสลายได้จากพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดต่างๆ เช่น เซลลูโลสและเซลลูโลสดัดแปร เพกทิน แอลจีเนต คาราจีแนน สตาร์ชและสตาร์ชดัดแปร ฟลาวร์ ไคโทซาน และกัมอาราบิก (Dias, Müller, Larotonda, & Laurindo, 2010; Harper, Barbut, Lim, & Marcone, 2013; Kanatt, Rao, Chawla, & Sharma, 2012; Mariniello et al., 2003; Pelissari, Andrade-Mahecha, do Amaral Sobral, & Menegalli, 2013) โดยทั่วไปฟิล์ม

พอลิแซ็กคาไรด์มีความแข็งแรงปานกลาง มีข้อจำกัดในด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยน้ำตาลซึ่งมีสมบัติชอบน้ำ นอกจากนี้ฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์ยังมีความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูง

โปรตีนเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพอีกประเภทหนึ่งที่นิยมนำมาผลิตเป็นฟิล์มย่อยสลายได้ เนื่องจากมีสมบัติเด่นในการป้องกันการซึมผ่านของสารต่างๆ เช่น ไขมัน ออกซิเจน ไอของสารอินทรีย์ และแก๊สอื่นๆ แต่มีข้อจำกัดสำคัญในด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำเช่นเดียวกับฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์ ทั้งนี้เนื่องจากสมบัติชอบน้ำตามธรรมชาติของโปรตีน ในด้านสมบัติเชิงกลฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไปมีความแข็งแรงปานกลาง แต่เนื่องจากโปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโมเลกุลใหญ่ ประกอบด้วยกรดแอมิโนหลากหลายชนิดซึ่งมีหมู่ข้าง (side group) ที่มีสมบัติแตกต่างกันไป จึงทำให้โปรตีนสามารถเกิดอันตรกิริยาระหว่างกันได้ด้วยพันธะและอันตรกิริยาทางเคมีต่างๆ ได้แก่ พันธะโควาเลนต์ พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไอออนิก อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และแรงแวนเดอร์วาลส์ นอกจากนี้ยังเอื้อต่อการดัดแปรสมบัติของฟิล์มโดยวิธีต่างๆ เช่น การส่งเสริมให้เกิดพันธะเชื่อมข้ามโปรตีนเพื่อปรับปรุงความแข็งแรงเชิงกล โปรตีนหลายชนิดมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตฟิล์มย่อยสลายได้ ได้แก่ โปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนข้าวโพด (ซิน) โปรตีนถั่วลิสง โปรตีนข้าวสาลี (ไกลอะดินและกลูเตนิน) โปรตีนไข่ขาว เจลาติน คอลลาเจน โปรตีนในนมทั้งเวย์โปรตีนและเคซีน รวมทั้งไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนจากสัตว์ต่างๆ (Ghanbarzadeh & Oromiehi, 2008; Hernández-Muñoz, Villalobos, & Chiralt, 2004a; Kunte, Gennadios, Cuppett, Hanna, & Weller, 1997; Lim, Mine, & Tung, 1998; Pelissari et al., 2013; Rayner, Ciolfi, Maves, Stedman, & Mittal, 2000; Soazo, Perez, Rubiolo, & Verdini, 2013)

ลิปิดมักไม่ใช้ผลิตเป็นฟิล์มโดยตรง แต่นิยมนำมาใช้ผลิตเป็นสารเคลือบที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ(biodegradable coating) ลิปิดเป็นกลุ่มของสารที่มีสภาพขั้วต่ำ (low polarity) จึงมีสมบัติ

ไม่ชอบน้ำ มีสมบัติเด่นในด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ นอกจากนี้อาจมีการใช้เพื่อวัตถุประสงค์อื่น เช่น เพื่อป้องกันการเสียดสีกันระหว่างขนส่ง ในแง่การผลิตเป็นฟิล์มมีการนำลิพิดมาใช้ร่วมกับพอลิแซ็กคาไรด์หรือโปรตีนในการผลิตเป็นฟิล์มคอมพอสิต (composite film) เพื่อช่วยในการปรับปรุงสมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ (Fernández, de Apodaca, Cebrián, Villarán, & Maté, 2007; Han, Seo, Park, Kim, & Lee, 2006; Monedero, Fabra, Talens, & Chiralt, 2009; Pérez-Mateos, Montero, & Gómez-Guillén, 2009)

## 2.2 การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน

ในแง่สมบัติเชิงกล ฟิล์มโปรตีนจัดว่ามีความแข็งแรงปานกลางแต่ก็ยังคงดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ผลิตจากพอลิเมอร์ฐานปิโตรเลียม การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนสามารถทำได้โดยส่งเสริมให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธะโควาเลนต์เนื่องจากเป็นพันธะที่มีความแข็งแรงสูง การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนสามารถทำได้โดยใช้เทคนิคต่างๆ ได้แก่ วิธีทางกายภาพ วิธีทางเคมี วิธีทางชีวเคมี และการผลิตเป็นฟิล์มคอมพอสิตร่วมกับพอลิเมอร์ชนิดอื่นที่มีสมบัติเชิงกลที่ดีกว่า

### 2.2.1 วิธีทางกายภาพ

#### 2.2.1.1 การฉายรังสี

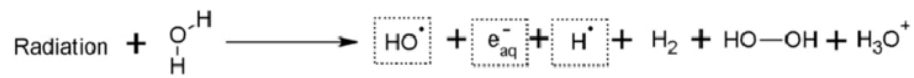
Fujimori (1965) รายงานว่ารังสีบางชนิด เช่น รังสีแกมมา และรังสีอัลตราไวโอเล็ต สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดพันธะเชื่อมข้ามโปรตีนได้ โดยกรดแอมิโนบางชนิด ได้แก่ ไทโรซีน และเฟนิลแอลานีน มีหมู่ข้างเป็นวงแหวนอะโรมาติกที่สามารถดูดกลืนรังสีได้ ทำให้เกิดเป็นพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้ามระหว่างสายโปรตีน



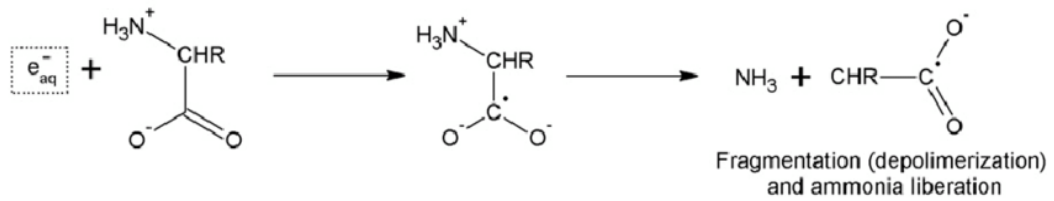
Kuan et al. (2013) เสนอว่ารังสีสามารถทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยเกิดได้ทั้งดีพอลิเมอไรเซชัน (แฟรกเมนเทชัน) และพอลิเมอไรเซชัน (การเชื่อมข้าม) เมื่อนำ สารละลายโปรตีนมาฉายรังสี โมเลกุลน้ำจะเกิดการแตกตัวโดยรังสี (water radiolysis) ได้เป็น ผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้แก่ ไฮเดรทเท็ดอิเล็กตรอน (hydrated electron) อะตอมไฮโดรเจน และ ไฮดรอกซิลแรดิคัล (รูปที่ 2.1 ก) ซึ่งผลิตภัณฑ์จากการแตกตัวของโมเลกุลน้ำนี้มีความว่องไวในการทำ ปฏิกิริยากับโปรตีน โดยโปรตีนสามารถถูกกรีดวซ์ได้โดยไฮเดรทเท็ดอิเล็กตรอน ส่งผลให้โปรตีนเกิดดี พอลิเมอไรเซชันและเกิดการปลดปล่อยแอมโมเนีย (รูปที่ 2.1 ข) ในขณะเดียวกันโปรตีนสามารถถูกออกซิไดส์ได้โดยอะตอมไฮโดรเจนและไฮดรอกซิลแรดิคัล ส่งผลให้โปรตีนเกิดดีเมอไรเซชันหรือ พอลิเมอไรเซชัน (รูปที่ 2.1 ค)

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้รังสีเพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีน Jo et al. (2005) ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มคอมพอสิตเพกทิน/เจลาติน/พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ โดยแปรปริมาณรังสีดูดกลืน (absorbed dose) เป็น 3 ระดับ ได้แก่ 10, 20, 30 กิโลเกรย์ เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ฉายรังสี พบว่าฟิล์มที่ฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลเกรย์ มีความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength) สูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) อย่างไรก็ตามที่ปริมาณรังสีดูดกลืนสูงกว่า 10 กิโลเกรย์ ความต้านทานแรงดึงขาดกลับมีค่าลดลง ในทางกลับกันฟิล์มที่ฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลเกรย์ มีการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break) ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และที่ปริมาณรังสีดูดกลืนสูงกว่า 10 กิโลเกรย์ การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น

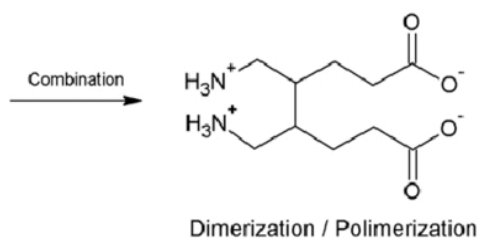
ก. Water Radiolysis



ข. Reduction by Hydrated Electron



ค. Oxidation by Hydroxyl Radical and Hydrogen Atoms



รูปที่ 2. 1 ผลของรังสีต่อโปรตีน (ก) รังสีเหนี่ยวนำให้โมเลกุลน้ำแตกตัว จากนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแตกตัวของน้ำทำปฏิกิริยากับโปรตีนทำให้เกิดได้ทั้ง (ข) ดีพอลิเมอร์ไรซัน และ (ค) ไดเมอร์ไรเซชันและพอลิเมอร์ไรเซชัน

ที่มา: Kuan et al. (2013)

Perkasa et al. (2013) ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มเจลาตินจากปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) แปรปริมาณรังสีดูดกลืนเป็น 5 ระดับ ได้แก่ 10, 20, 30, 40 และ 50 กิโลเกรย์ เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ฉายรังสี พบว่าฟิล์มที่ฉายรังสีทุกตัวอย่างมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) อย่างไรก็ตามฟิล์มที่ฉายรังสีมีความต้านทานแรงดึงขาดไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) สำหรับการยึดตัวถึงจุดขาดพบว่าการยึดตัวถึงจุดขาดของทั้งฟิล์มที่ฉายรังสีและไม่ฉายรังสีมีค่าไม่ต่างกัน จากการติดตามการเชื่อมข้ามของโปรตีนด้วยเทคนิค ฟูเรียร์แทรนสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier-transformed infrared spectroscopy, FT-IR) พบว่าหมู่คาร์บอกซิล ( $-COOH$ ) และหมู่เอมีน ( $-NH_2$ ) ของเจลาตินมีบทบาทในการเกิดเป็นพันธะเพปไทด์ ผู้วิจัยเสนอว่าแรดิคัลที่เกิดขึ้นจากการแตกตัวของโมเลกุลน้ำโดยรังสีจะไปทำให้หมู่คาร์บอกซิลเกิดการแตกตัว ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลที่แตกตัวนี้จะเชื่อมต่อกับหมู่เอมีนเกิดเป็นพันธะเพปไทด์

Rahman et al. (2001) ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อสมบัติของฟิล์มคอมพอสิตเจลาติน/พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ แปรปริมาณรังสีดูดกลืนเป็น 5 ระดับ ได้แก่ 50, 100, 150, 250 และ 500 กิโลแรด พบว่าฟิล์มที่ฉายรังสีปริมาณ 50 กิโลแรดมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ฉายรังสี อย่างไรก็ตามเมื่อปริมาณรังสีสูงกว่า 50 กิโลแรด ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มกลับมีแนวโน้มลดลง สำหรับการยึดตัวถึงจุดขาด พบว่ามีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มขึ้น

Sabato, Nakamurakare, and Sobral (2005) ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนจากกล้ามเนื้อปลานิล (*Oreochromis niloticus*) แปรปริมาณรังสีดูดกลืนเป็น 5 ระดับ ได้แก่ 25, 50, 100, 150 และ 200 กิโลเกรย์ พบว่าความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าสูงขึ้นเมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มขึ้นจนถึง 100 กิโลเกรย์ และเมื่อเพิ่มปริมาณรังสีดูดกลืนเป็น 150 และ 200 กิโลเกรย์ ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดไม่ต่างจากฟิล์มที่ฉายรังสี 100 กิโลเกรย์

นอกจากนี้ยังพบว่า การยืดตัวถึงจุดขาดมีการเปลี่ยนแปลงในแนวโน้มเดียวกันกับความต้านทานแรงดึงขาด โดยผู้วิจัยอธิบายว่า แรดิคัลที่เกิดขึ้นจากการแตกตัวโดยรังสี โดยเฉพาะอย่างยิ่งไฮดรอกซิล แรดิคัลมีบทบาทส่งเสริมการเชื่อมต่อกันของกรดแอมิโนไทโรซีนเกิดเป็นไบโทโรซีนและทำให้เกิดการเชื่อมข้ามโปรตีนได้

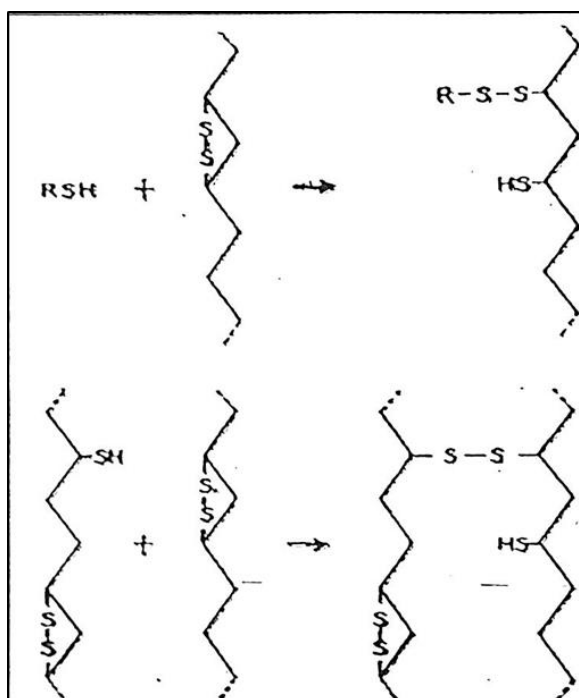
### 2.2.1.2 การบ่มด้วยความร้อน

การบ่มด้วยความร้อนเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนได้ การบ่มด้วยความร้อนสามารถทำได้ 2 วิธี ได้แก่ การบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน (heat curing of film-forming solution) และ การบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อน (heat curing of dried film) (Gennadios et al., 1996; Jangchud & Chinnan, 1999) Jensen (1959) เสนอว่าการให้ความร้อนแก่โปรตีนสามารถส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไธออล-ไดซัลไฟด์ (thiol-disulfide exchange) ซึ่งสามารถเพิ่มการเชื่อมข้ามของโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (รูปที่ 2.2) ปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไธออล-ไดซัลไฟด์ประกอบด้วยปฏิกิริยาย่อย 4 ปฏิกิริยา ดังสมการเคมีที่ (1)-(4) (Fernandes & Ramos, 2003)



ซึ่งสามารถเขียนเป็นปฏิกิริยาโดยรวมได้ดังสมการเคมีที่ (5)





รูปที่ 2. 2 ปฏิกริยาการแลกเปลี่ยนไฮออล-ไดซัลไฟด์

ที่มา: Jensen (1959)

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนโดยการบ่มด้วยความร้อน Gennadios et al. (1996) ศึกษาการบ่มแผ่นฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate) ด้วยความร้อน โดยบ่มที่อุณหภูมิ 80 และ 90°C เป็นระยะเวลา 2-24 ชั่วโมง พบว่าเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มแผ่นฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง โดยผู้วิจัยเสนอว่าความร้อนสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนเป็นผลให้โครงสร้างตาข่ายของโปรตีนมีความแข็งแรงมากขึ้น

Hernández-Munoz et al. (2004b) ศึกษาผลการบ่มแผ่นฟิล์มกลูเตนินและไกลอะดินด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 55, 70, 85, 95 และ 115°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง นอกจากนี้ อัญญา อินสวาสดี, เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย และ ธนจันทร์ มหาวนิช (2557) รายงาน

ผลในการทำงานเดียวกันสำหรับการบ่มแผ่นฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมกรดแกลลิก โดยอัญชนา อินสวาสดี (2557) รายงานว่าการบ่มด้วยความร้อนทำให้โปรตีนเกิดการเชื่อมข้ามกันมากขึ้นตั้ง ยืนยันจากรูปแบบของแถบโปรตีนที่ศึกษาด้วยโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตพอลิแอสคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (SDS-PAGE)

Roy et al. (2006) ศึกษาการบ่มสารละลายฟิล์มกลูเตนด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55, 75 และ 95°C เป็นระยะเวลา 10 นาที ที่พีเอชเท่ากับ 10 พบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 75 และ 95°C ทำให้รูปแบบของโครมาโทแกรมที่ได้จากเจลเพอร์มิเอชันโครมาโทกราฟี (gel permeation chromatography) เปลี่ยนแปลงไปจากตัวอย่างที่ไม่บ่มด้วยความร้อน โดยโปรตีนทุกส่วน (fraction) ยกเว้นโอเมกา-ไกลอะดิน มีปริมาณลดลง ซึ่งผู้วิจัยเสนอว่าในตัวอย่างที่บ่มด้วยความร้อนอาจเกิดพอลิเมอร์เซชันของโปรตีนโดยเกิดเป็นพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างหน่วยย่อยซิสเทอีนซึ่งเป็นกรดแอมิโนที่มีหมู่ซัลไฟไฮดริลอิสระ สำหรับการที่โอเมกา-ไกลอะดินไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากโปรตีนส่วนนี้เป็นส่วนที่ไม่มีซิสเทอีนเป็นองค์ประกอบ

Weng & Wu (2015) ศึกษาผลของความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินจากปลาทิลapia (*Tilapia zillii*) โดยบ่มแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ 80, 100 และ 120°C เป็นระยะเวลา 0.5, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง พบว่าแผ่นฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิ 80°C มีความต้านทานแรงดึงขาดไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่ไม่บ่มด้วยความร้อน แต่การบ่มที่อุณหภูมิ 100 และ 120°C ทำให้ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลาตินมีค่าสูงขึ้น โดยความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มเพิ่มมากขึ้น สำหรับการยืดตัวถึงจุดขาด พบว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 80 และ 100°C ไม่มีผลต่อการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลาติน แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มเป็น 120°C การยืดตัวถึงจุดขาดกลับมีค่าลดลง

นลินทิพย์ คงแก้ว (2554) ศึกษาการบ่มสารละลายฟิล์มในตัวอย่างฟิล์มอิมัลชันของ โพรตีนถั่วเหลืองและน้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนต (hydrogenated palm kernel oil) โดยแปร อุณหภูมิการบ่มเป็น 70, 80 และ 85°C และแปรระยะเวลาการบ่มเป็น 30, 45 และ 60 นาที พบว่า การบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70°C เป็นระยะเวลา 60 นาที ส่งผลให้ฟิล์มมีความต้านทานแรงดึง ขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มมีผลต่อสมบัติด้านอื่น ได้แก่ สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability) และความสามารถในการละลาย น้ำ (water solubility) ของฟิล์มด้วย

### 2.2.2 วิธีทางเคมี

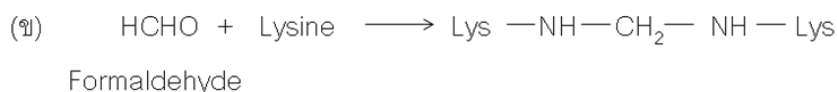
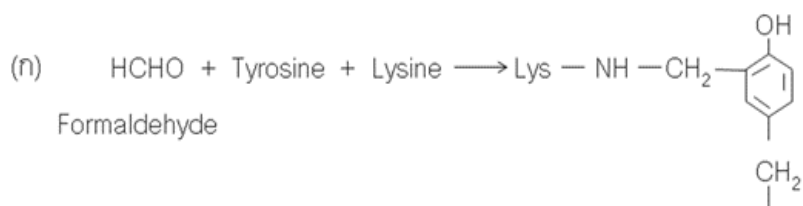
การใช้สารเคมีเชื่อมข้ามเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถปรับปรุงความแข็งแรงของฟิล์ม โพรตีนได้ แต่เดิมตัวเชื่อมข้าม (cross-linking agent) ที่นิยมใช้ ได้แก่ แอลดีไฮด์น้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น ฟอรัมาลดีไฮด์ กลูทาราลดีไฮด์ และไกลออกซัล เนื่องจากแอลดีไฮด์สามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่เอมิ โนปฐมภูมิเกิดเป็นพันธะเชื่อมข้ามภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุลโพรตีน (Feeney, Blankenhorn, & Dixon, 1975)

เพื่อศึกษาการเชื่อมข้ามโพรตีนของฟอรัมาลดีไฮด์ กลูทาราลดีไฮด์ และไกลออกซัล Marquié et al. (1997) ติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไลซีนที่เกิดปฏิกิริยาได้ (reactive lysine) ในฟิล์มโพรตีนเมล็ดฝ้าย โดยแปรอัตราส่วนโมลาร์ (molar ratio) ของแอลดีไฮด์ ต่อไลซีนที่เกิดปฏิกิริยาได้ตั้งแต่ 0-44 พบว่าเมื่อระดับการเชื่อมข้ามเพิ่มสูงขึ้น ไลซีนที่เกิดปฏิกิริยาได้ มีปริมาณลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าชนิดของแอลดีไฮด์มีผลสำคัญต่อค่าแรงสูงสุดที่ใช้เจาะฟิล์ม (maximum puncture force) โดยพบว่าฟอรัมาลดีไฮด์มีประสิทธิภาพสูงในการเพิ่มแรงสูงสุดที่ใช้ เจาะฟิล์ม แม้ว่าฟอรัมาลดีไฮด์จะเกิดปฏิกิริยากับไลซีนเพียง 50% จากปริมาณไลซีนทั้งหมด ในขณะที่ กลูทาราลดีไฮด์ซึ่งเกิดปฏิกิริยากับ ไลซีนเกือบ 100% จากปริมาณไลซีนทั้งหมด แต่ให้ฟิล์มที่มี ค่าแรงสูงสุดที่ใช้เจาะต่ำกว่า ผลที่ได้นี้ถูกศึกษาในรายละเอียดต่อมาโดย Marquié (2001) ซึ่งรายงาน

ว่าในการเชื่อมข้ามในฟิล์มโพรตีนเมล็ดฝ้ายอันเนื่องมาจากฟอร์มัลดีไฮด์พบว่ามีความหนื่อยย่อยกรดแอมิโนที่เกี่ยวข้อง 2 ชนิด ได้แก่ ไลซีนและไทโรซีน ความแข็งแรงที่สูงของฟิล์มที่เติมฟอร์มัลดีไฮด์เป็นผลมาจากทั้งพันธะเชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยไลซีนและไทโรซีน (รูปที่ 2.3 ก) และพันธะเชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยไลซีนด้วยกันเอง (รูปที่ 2.3 ข) ส่วนกลูทาราลดีไฮด์เกิดปฏิกิริยาได้กับไลซีนเท่านั้นจึงทำให้เกิดเพียงพันธะเชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยไลซีนด้วยกันเอง (รูปที่ 2.4) ในขณะที่ไกลออกซัลแม้ว่าจะเกิดปฏิกิริยาได้กับทั้งไลซีนและอาร์จินีน แต่ปัจจัยที่ส่งผลต่อความแข็งแรงของฟิล์มคือการเกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยไลซีนด้วยกันเอง (รูปที่ 2.5 ก) ในส่วนของอาร์จินีนแม้ว่าจะเกิดปฏิกิริยาได้กับไกลออกซัล แต่ไม่มีบทบาทในการเกิดเป็นพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโพรตีน เนื่องจากหมู่กวินิดีนีเยมของอาร์จินีนเมื่อเกิดปฏิกิริยากับไกลออกซัลจะได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีโครงสร้างแบบวง (cyclized product) (รูปที่ 2.5 ข)

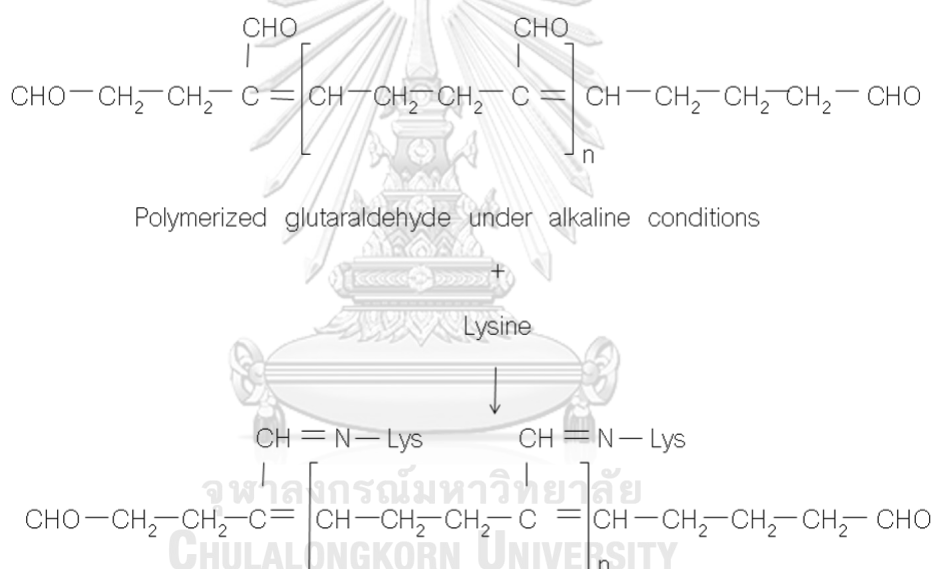
นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่นที่ศึกษาการใช้ตัวเชื่อมข้ามแอลดีไฮด์เพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโพรตีน เช่น de Carvalho and Grosso (2004) ศึกษาการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มเจลาตินโดยฟอร์มัลดีไฮด์ (เข้มข้น 3.3, 6.3 และ 8.8 มิลลิโมล/สารละลายฟิล์ม 100 มิลลิลิตร) และไกลออกซัล (เข้มข้น 6.3, 8.8, 11.3, 17.5 และ 26.5 มิลลิโมล/สารละลายฟิล์ม 100 มิลลิลิตร) พบว่าฟอร์มัลดีไฮด์มีประสิทธิภาพในการปรับปรุงความแข็งแรงเชิงกลของฟิล์มเจลาตินมากกว่าไกลออกซัล โดยฟิล์มที่เติมฟอร์มัลดีไฮด์  $\geq 6.3$  มิลลิโมล/สารละลายฟิล์ม 100 มิลลิลิตร และฟิล์มที่เติมไกลออกซัล  $\geq 8.8$  มิลลิโมล/สารละลายฟิล์ม 100 มิลลิลิตร มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมแอลดีไฮด์อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) อย่างไรก็ตามตัวอย่างฟิล์มเหล่านี้มีการยึดตัวถึงจุดขาดไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมแอลดีไฮด์ ( $p > 0.05$ )





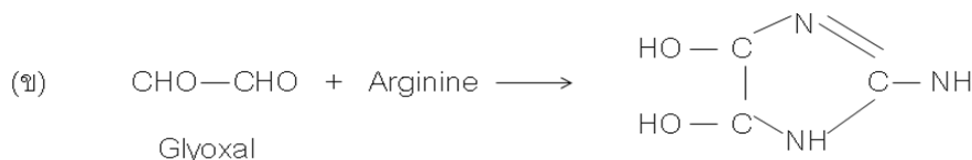
รูปที่ 2. 3 การเชื่อมข้ามโปรตีนที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับฟอร์มัลดีไฮด์ โดยฟอร์มัลดีไฮด์สามารถทำปฏิกิริยากับหน่วยย่อยไทโรซีนและไลซีน เกิดเป็นพันธะเชื่อมข้าม (ก) ระหว่างไลซีนและไทโรซีน หรือ (ข) ระหว่างไลซีนด้วยตัวเอง

ที่มา: ดัดแปลงจาก Marquié (2001)



รูปที่ 2. 4 การเชื่อมข้ามโปรตีนที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับกลูทาราลดีไฮด์ โดยกลูทาราลดีไฮด์เกิดพอลิเมอร์โซ่ขึ้นภายใต้ภาวะที่เป็นเบส จากนั้นพอลิเมอร์ของกลูทาราลดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับหน่วยย่อยไลซีนเกิดเป็นพันธะเชื่อมข้ามระหว่างไลซีนด้วยตัวเอง

ที่มา: ดัดแปลงจาก Marquié (2001) และ Migneault et al. (2004)



รูปที่ 2. 5 การเชื่อมข้ามโปรตีนที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับไกลออกซัล (ก) ไกลออกซัลทำปฏิกิริยากับหน่วยย่อยไลซีนเกิดเป็นพันธะเชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยไลซีนด้วยตัวเอง (ข) ไกลออกซัลสามารถทำปฏิกิริยากับหมู่กัวนิดิเนียมของอาร์จินีน แต่จะได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีโครงสร้างแบบวงซึ่งไม่มีบทบาทในการเชื่อมข้ามระหว่างโปรตีน  
ที่มา: ดัดแปลงจาก Marquié (2001)

Hernández-Muñoz et al. (2004a) ศึกษาผลของการใช้แอลดีไฮด์ต่อสมบัติของฟิล์มกลูเตนิน แอลดีไฮด์ที่ศึกษา ได้แก่ ฟอรัมาลดีไฮด์ กลูทาราลดีไฮด์ และไกลออกซัล แปรความเข้มข้นของแอลดีไฮด์เป็น 3 ระดับ ได้แก่ 2, 4 และ 8% โดยน้ำหนักของโปรตีน พบว่าฟิล์มที่เติมแอลดีไฮด์มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าเมื่อเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมแอลดีไฮด์ โดยฟิล์มที่เติมฟอรัมาลดีไฮด์มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด รองลงมาได้แก่ ฟิล์มที่เติมกลูทาราลดีไฮด์และ ไกลออกซัล นอกจากนี้ยังพบว่า การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มที่เติมแอลดีไฮด์มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมแอลดีไฮด์

แม้ว่าแอลดีไฮด์จะเป็นตัวเชื่อมข้ามโปรตีนที่มีประสิทธิภาพสูงและสามารถใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนได้ แต่ยังคงมีความกังวลเกี่ยวกับความเป็นพิษและผลเสียต่อสุขภาพของแอลดีไฮด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการนำแอลดีไฮด์มาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มที่สัมผัสโดยมนุษย์หรือสัมผัสกับอาหาร O'Brien, Siraki, and Shangari (2005) รายงานว่าแอลดีไฮด์อาจมีผลต่อมนุษย์ในหลายด้าน ได้แก่ ความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง โรคตับ โรคเบาหวาน โรคที่เกิดจาก

ความเสื่อมของระบบประสาท (neurodegenerative disease) โรคที่สัมพันธ์กับความชรา (aging-associated disease) ภาวะความดันโลหิตสูง ภาวะภูมิไวเกิน (hypersensitivity) ภาวะภูมิแพ้ของระบบทางเดินหายใจ ความเป็นพิษต่อตัวอ่อน (embryotoxicity) และการก่อให้เกิดความผิดปกติของทารกในครรภ์ (teratogenicity)

### 2.2.3 วิธีทางชีวเคมี

วิธีทางชีวเคมีที่สามารถนำมาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน คือ วิธีทางเอนไซม์ โดยการใช้เอนไซม์เร่งการเกิดปฏิกิริยาเชื่อมข้ามระหว่างโปรตีน เอนไซม์ที่มีการนำมาใช้ปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน ได้แก่ เพอร์ออกซิเดส (EC1.11.1.7) และ แทรนส์กลูตามิเนส (EC2.3.2.13)

เพอร์ออกซิเดส เป็นเอนไซม์ในกลุ่มออกซิโดรีดักเทส ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของหน่วยย่อยไทโรซีนของสายเพปไทด์ของโปรตีน ทำให้เกิดการรวมตัวกันของวงแอมโรมาติกได้ผลิตภัณฑ์เป็นไดเมอร์ ไตรเมอร์ หรือเตตระเมอร์ ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของไทโรซีนในลำดับของกรดแอมิโน (amino acid sequence) และความยาวของสายเพปไทด์ของโปรตีน (Michon, Chenu, Kellershon, Desmadril, & Guéguen, 1997)

Stuchell & Krochta (1994) ศึกษาการใช้เพอร์ออกซิเดสจากฮอร์สแรดิชเพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยใช้เพอร์ออกซิเดสในอัตราส่วน 1:1000 โดยน้ำหนักของโปรตีน พบว่าการเติมเพอร์ออกซิเดสทำให้ฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง อย่างไรก็ตามผู้วิจัยให้ข้อสังเกตว่าเพอร์ออกซิเดสนอกจากจะช่วยให้เกิดการเชื่อมข้ามแล้วยังอาจทำให้เกิดดีเกรเดชันของโปรตีนด้วย

ส่วนทรานส์กลูตามิเนสเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่มแทรนส์เฟอเรส ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย้ายหมู่เอซิลของแกมมาคาร์บอกซีเอไมด์ในหน่วยย่อยกลูตามีนซึ่งเป็นตัวให้หมู่เอซิล

(acyl donor) ไปยังหมู่แอมิโนปฏุมภูมิหรือเอพซิลอน-แอมิโนของหน่วยย่อยไลซีนซึ่งเป็นตัวรับหมู่เอซิล (acyl acceptor) เป็นผลให้เกิดเป็นพันธะโคเวเลนต์เชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยทั้งสองของสายเพปไทด์ (Ha & Luchi, 2003)

Tang and Jiang (2007) ศึกษาผลของแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ต่อสมบัติของฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนชนิดต่างๆ ได้แก่ โปรตีนถั่วเหลืองสกัด โซเดียมเคซีนเนต เวย์โปรตีนเข้มข้น เจลาติน กลูเตน และโปรตีนถั่วลิสงสกัด โดยใช้แทรนส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/กรัมโปรตีน พบว่าฟิล์มที่เติม แทรนส์กลูตามิเนสมีค่าความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มจากโปรตีนชนิดเดียวกันที่ไม่เติมเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

Weng & Zheng (2015) ศึกษาผลของแทรนส์กลูตามิเนสต่อสมบัติของฟิล์ม เจลาตินจากปลาทิลapia ที่เติมและไม่เติมโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยแปรความเข้มข้นของ แทรนส์กลูตามิเนสเป็น 0, 1, 2 และ 3% โดยน้ำหนักของเจลาติน สำหรับฟิล์มเจลาตินที่ไม่เติมโปรตีนถั่วเหลืองสกัด พบว่าฟิล์มที่เติมแทรนส์กลูตามิเนสเข้มข้น 1% มีความต้านทานแรงดึงขาดเป็น 1.3 เท่าของฟิล์มที่ไม่เติมแทรนส์กลูตามิเนส แต่เมื่อความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสเพิ่มสูงขึ้น ความต้านทานแรงดึงขาดกลับมีค่าลดลง โดยฟิล์มที่เติมแทรนส์กลูตามิเนสเข้มข้น 2 และ 3% มีความต้านทานแรงดึงขาดไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่ไม่เติมแทรนส์กลูตามิเนส ( $p > 0.05$ ) ส่วนการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มที่เติมแทรนส์กลูตามิเนสมีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมแทรนส์กลูตามิเนส ในด้าน ฟิล์มเจลาตินที่เติมโปรตีนถั่วเหลืองสกัดพบว่าการเปลี่ยนแปลงของความต้านทานแรงดึงขาดในทำนองเดียวกัน แต่การยืดตัวถึงจุดขาดมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสเพิ่มสูงขึ้น ผู้วิจัยอธิบายว่าแทรนส์กลูตามิเนสเร่งการเชื่อมข้ามของโปรตีน ซึ่งทำให้น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนเพิ่มขึ้นและฟิล์มมีความแข็งแรงมากขึ้น

Yi et al. (2006) ศึกษาผลของแทรนส์กลูตามิเนสต่อสมบัติของฟิล์มที่ผลิตจากเจลาตินปลาทางการค้า โดยเติมแทรนส์กลูตามิเนสเข้มข้น 10 หน่วย/กรัมโปรตีน พบว่าเมื่อเวลาใน

การทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 50 นาที ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง โดยตัวอย่างฟิล์มที่ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 50 นาทีที่มีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น 41.6% และการยืดตัวถึงจุดขาดลดลง 88.8% เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 0 นาที

Wang et al. (2015) ศึกษาผลของทรานส์กลูทามิเนสต่อสมบัติของฟิล์มคอมพอสิตเจลาติน/แคลเซียมคาร์บอเนต แปรความเข้มข้นของทรานส์กลูทามิเนสเป็น 0, 2, 4, 6 และ 8 หน่วย/กรัม พบว่าฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของทรานส์ กลูทามิเนสเพิ่มขึ้น โดยฟิล์มที่เติมทรานส์กลูทามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/กรัม มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงที่สุด

#### 2.2.4 การผลิตเป็นฟิล์มคอมพอสิตร่วมกับพอลิเมอร์ชนิดอื่น

การผลิตเป็นฟิล์มคอมพอสิตเป็นการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโดยอาศัยสมบัติที่เป็นที่ ต้องการของพอลิเมอร์แต่ละชนิด เนื่องจากพอลิเมอร์แต่ละชนิดให้ฟิล์มที่มีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกันไป ฟิล์มคอมพอสิตอาจเป็นฟิล์มที่มีส่วนผสมของโปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ หรือไขมัน ตัวอย่างเช่น การใช้ไขมันร่วมกับโปรตีนหรือพอลิแซ็กคาไรด์เพื่อปรับปรุงสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ ในขณะที่โปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ช่วยให้ความแข็งแรงและปรับปรุงโครงสร้างของฟิล์มให้มีความแน่นมากขึ้น

Cao, Fu, & He (2007) ศึกษาสมบัติของฟิล์มคอมพอสิตโปรตีนถั่วเหลืองสกัด/เจลาติน โดยแปรอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเป็น 6 อัตราส่วน ได้แก่ 10:0, 8:2, 6:4, 4:6, 2:8 และ 0:10 พบว่าความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น ตัวอย่างเช่นฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเป็น 8:2 และ 2:8 มีความต้านทานแรงดึงขาดเท่ากับ 22.55 และ 44.60 เมกะพาสกาล

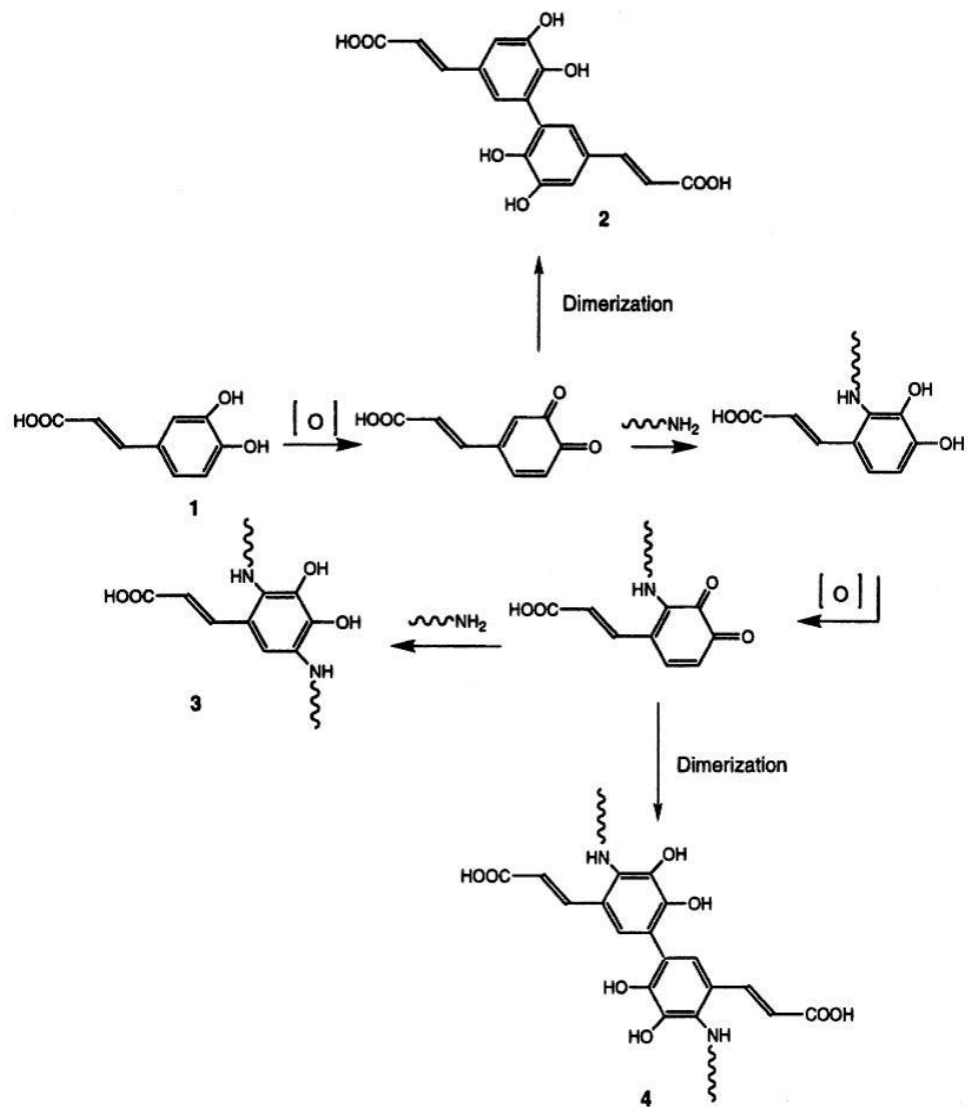
ตามลำดับ ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มทั้งสองตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 2.64 และ 3.32% ตามลำดับ

Lee, Shim, & Lee (2004) ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างเจลแลนและเจลาตินต่อสมบัติของฟิล์มคอมพอสิต แปรอัตราส่วนเจลแลนต่อเจลาตินเป็น 5 อัตราส่วน ได้แก่ 100:0, 80:20, 60:40, 60:40 และ 20:80 พบว่าความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มคอมพอสิตมีค่าลดลง ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น

### 2.3 การเชื่อมข้ามโปรตีนโดยสารประกอบฟีนอลิกและควิโนน

สารประกอบฟีนอลิกมีโครงสร้างทางเคมีที่ประกอบด้วยวงแอมโรมาติกอย่างน้อย 1 วง และมีหมู่ไฮดรอกซีเป็นหมู่แทนที่ตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไป นอกจากนี้ยังรวมถึงอนุพันธ์ของสารดังกล่าวที่มีการแทนที่ด้วยหมู่เคมีต่างๆ ในตำแหน่งออร์โธ เมตา หรือพารา (O'Connell & Fox, 2001) สารประกอบฟีนอลิกทั้งที่พบตามธรรมชาติและสังเคราะห์ขึ้นมาล้วนมีความสามารถในการเกิดอันตรกิริยากับโปรตีนและอาจทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีน อันตรกิริยาที่อาจเกิดขึ้นได้ระหว่างโปรตีนกับสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ฟันระไฮโดรเจน อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และพันธะโควาเลนต์ (Hoque, Benjakul, & Prodpran, 2011; Strauss & Gibson, 2004) โดยรูปแบบของการเกิดอันตรกิริยามี 2 รูปแบบ คือ สารประกอบฟีนอลิกสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโปรตีนโดยอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นชนิดผันกลับได้ และอีกรูปแบบหนึ่งคือเมื่อสารประกอบฟีนอลิกถูกออกซิไดส์ไปเป็นควิโนนแล้วสามารถจับกับโปรตีนได้โดยอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นชนิดที่ผันกลับไม่ได้ โดยควิโนนจะทำปฏิกิริยากับหมู่แอมิโนและซัลฟิไฮดริลของกรดแอมิโนที่เป็นหน่วยย่อยของโปรตีนทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนด้วยพันธะคาร์บอน-ไนโตรเจนและพันธะคาร์บอน-ซัลเฟอร์ (Strauss & Gibson, 2004)

Strauss & Gibson (2004) อธิบายกลไกของปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามโปรตีนด้วยสารประกอบฟีนอลิกและควิโนน (รูปที่ 2.6) ดังนี้ หากเริ่มต้นด้วยสารประกอบฟีนอลิก (1) ในขั้นตอนแรกสารประกอบฟีนอลิกจะถูกออกซิไดส์ไปเป็นควิโนน ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้อาจเป็นปฏิกิริยาแบบอาศัยเอนไซม์หรือไม่อาศัยเอนไซม์ก็ได้ ควิโนนที่เกิดขึ้นสามารถเกิดปฏิกิริยาใดเมอไรเซชันเกิดเป็นไโดเมอร์ (2) ได้เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้น ซึ่งเป็นการรวมตัวกันของควิโนนแต่ไม่เกิดปฏิกิริยากับโปรตีนจึงไม่เกิดการเชื่อมข้ามโปรตีน ในอีกทางหนึ่งควิโนนสามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่แอมิโนหรือหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของกรดแอมิโนที่เป็นหน่วยย่อยของพอลิเพปไทด์ (ในรูปที่ 2.6 แสดงเป็นหมู่แอมิโน) เกิดเป็นพันธะโควาเลนต์ชนิดคาร์บอน-ไนโตรเจนหรือคาร์บอน-ซัลเฟอร์เชื่อมต่อกับวงของสารประกอบฟีนอลิก และได้เป็นไฮโดรควิโนนกลับคืนมา ซึ่งไฮโดรควิโนนที่เกิดขึ้นนี้สามารถถูกออกซิไดส์ได้อีกและเกิดปฏิกิริยากับหมู่แอมิโนหรือหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของพอลิเพปไทด์อีกสายหนึ่ง ทำให้เกิดการเชื่อมข้ามพอลิเพปไทด์สองสายเข้าด้วยกัน (3) หรือการเชื่อมข้ามอาจเกิดในอีกทางหนึ่งคือควิโนนที่จับอยู่กับพอลิเพปไทด์หนึ่งสายแล้วเกิดไโดเมอไรเซชันทำให้เกิดการเชื่อมข้ามพอลิเพปไทด์สองสายเข้าด้วยกัน (4)



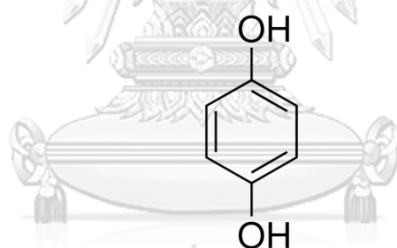
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 2. 6 กลไกการเชื่อมข้ามโปรตีนของสารประกอบฟีนอลิกและควิโนน  
ที่มา: Strauss & Gibson (2004)



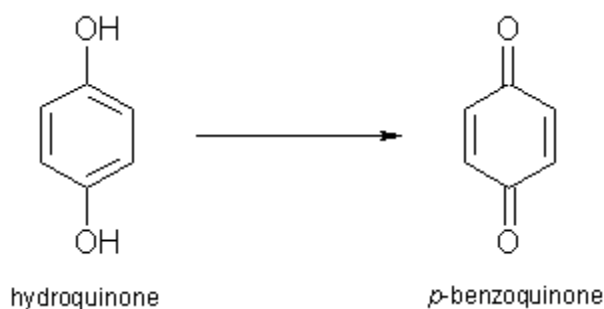
ควิโนนเป็นสารอินทรีย์ที่พบได้ตามธรรมชาติโดยมีบทบาทในกระบวนการทางชีววิทยาต่างๆ เช่น การสังเคราะห์แสง การหายใจ รวมทั้งทำหน้าที่เป็นวิตามิน (วิตามินเค) ซึ่งมีบทบาทในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด การเชื่อมข้ามโปรตีนโดยควิโนนเป็นปรากฏการณ์ที่พบในกระบวนการทางชีววิทยาในธรรมชาติ เช่น การแข็งตัวของเปลือกนอกของแมลง และการผลิตสารยึดติดของหอยแมลงภู่มุ่ (mussel adhesive) สำหรับควิโนนที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ ไฮโดรควิโนน และ พารา-เบนโซควิโนน

ไฮโดรควิโนน หรือ เบนซีน-1,4-ไดออล หรือ ควินอล เป็นสารประกอบแอมโรมาติกซึ่งอยู่ในกลุ่ม ฟีนอล เป็นอนุพันธ์ของเบนซีนที่มีสูตรเคมี  $C_6H_4(OH)_2$  มีหมู่ไฮดรอกซีสองหมู่เชื่อมต่อกับวงแหวนเบนซีนในตำแหน่งพารา (รูปที่ 2.7) สำหรับพารา-เบนโซควิโนน หรือ 1,4-เบนโซควิโนน มีสูตรเคมี  $C_6H_4O_2$  เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรควิโนน (รูปที่ 2.8)



รูปที่ 2. 7 ไฮโดรควิโนน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 2. 8 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรควิโนนได้เป็นพารา-เบนโซควิโนน

ที่มา: Erowid (2005)

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนโดยการเติมควิโนนโดยตรง ยังมีค่อนข้างจำกัด งานวิจัยส่วนใหญ่เป็นการเติมในรูปของสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกออกซิไดส์ได้เป็นควิโนน ทั้งนี้มีงานวิจัยของ Yamauchi et al. (2009) ที่ศึกษาการใช้ควิโนนเพื่อเชื่อมข้ามโปรตีนในระบบ ไฮโดรเจลของเจลาตินซึ่งเป็นระบบของโปรตีนที่เกิดเป็นโครงร่างตาข่ายใกล้เคียงกับระบบของฟิล์ม พบว่าการเติมควิโนนทำให้เจลาตินสามารถเกิดเป็นโครงสร้างของไฮโดรเจลได้อย่างรวดเร็ว จากการวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนโดย SDS-PAGE พบว่าแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 100 กิโลดาลตัน ซึ่งได้แก่ แอลฟา-เจลาติน ที่เป็นองค์ประกอบหลักในเจลาตินตั้งต้น มีความเข้มข้นลดลง ในขณะที่แถบของโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่ามีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นซึ่งแสดงถึงการเชื่อมข้ามของแอลฟา-เจลาตินไปเป็นโปรตีนส่วนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น

ในส่วนองงานวิจัยที่ศึกษาการเชื่อมข้ามโปรตีนโดยควิโนนที่เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก Rawel et al. (2002) ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนถั่วเหลืองกับสารประกอบฟีนอลิก และรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกสามารถเกิดออกซิเดชันได้เป็นควิโนนซึ่งมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนเพิ่มขึ้น

Nuthong, Benjakul, and Prodpran (2009) ศึกษาผลของออกซิเดชันของกรดแคฟเฟอิกต่อสมบัติของฟิล์มพลาสติกโปรตีนจากสุกร การเร่งให้เกิดออกซิเดชันของกรดแคฟเฟอิกทำโดยฟันทออกซิเจนลงในสารละลายฟิล์มที่เติมกรดแคฟเฟอิกเข้มข้น 3% โดยน้ำหนักของโปรตีน เป็นเวลา 30 นาที พบว่าฟิล์มที่ผลิตโดยฟันทออกซิเจนลงในสารละลายฟิล์มมีค่าความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ผลิตโดยไม่มีการฟันทออกซิเจน ผู้วิจัยสรุปว่าการฟันทออกซิเจนส่งผลให้กรดแคฟเฟอิกบางส่วนถูกออกซิไดส์เป็นควิโนน ทำให้มีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยากับพอลิเพปไทด์ได้ดีขึ้น ส่งผลให้เกิดการเชื่อมข้ามระหว่างโปรตีนมากขึ้น

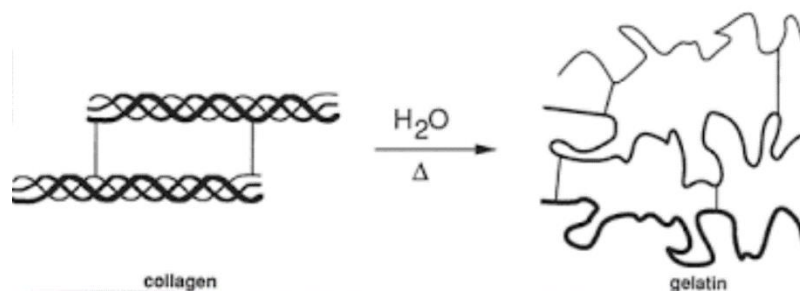
Hoque et al. (2011) ศึกษาสมบัติของฟิล์มเจลาตินจากหมึกกระดองที่เติมเสริมสารสกัดจากเครื่องเทศที่มีฟีนอลิก 3 ชนิด ได้แก่ อบเชย กานพลู และโป๊ยกั๊ก แปรชนิดของสารสกัดตามสถานะออกซิเดชันที่ต่างกันเป็น 2 ชนิด ได้แก่ สารสกัดที่ออกซิไดส์และสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ สำหรับสารสกัดที่ออกซิไดส์เตรียมโดยพ่นออกซิเจนลงในสารสกัดเป็นเวลา 30 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ออกซิไดส์มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่า ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าไม่แตกต่างกัน ( $p>0.05$ )

Insaward, Mahawanich, & Duangmal (2015) ศึกษาผลของการเติมกรดฟีนอลิก (กรดเพอรูลิก กรดแคฟเฟอิก และกรดแกลลิก) ที่ออกซิไดส์และไม่ออกซิไดส์ต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด สำหรับกรดฟีนอลิกที่ออกซิไดส์เตรียมโดยเติมไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เข้มข้น 100 มิลลิกรัม/100 กรัมของสารละลายและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที โดยทั่วไปพบว่าฟิล์มที่เติมกรดฟีนอลิกที่ออกซิไดส์มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มที่เติมกรดฟีนอลิกที่ไม่ออกซิไดส์ ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าใกล้เคียงกัน จากการติดตามรูปแบบของแถบโปรตีนด้วย SDS-PAGE พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมกรดฟีนอลิกที่ออกซิไดส์มีการลดลงของความเข้มของแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ สอดคล้องกับการลดลงของปริมาณไลซีนที่เกิดปฏิกิริยาได้และปริมาณซัลไฟไฮดริลทั้งหมด รวมทั้งการเพิ่มขึ้นของความเข้ม (intensity) ของสเปกตรัมของ FT-IR ในช่วงการยืดของพันธะคาร์บอน-ไนโตรเจน (C-N stretching region) ซึ่งยืนยันการเชื่อมข้ามของโปรตีนที่เพิ่มขึ้นในตัวอย่างที่เติมกรดฟีนอลิกที่ออกซิไดส์

## 2.4 เจลาติน

เจลาตินเป็นโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำ ผลิตโดยนำคอลลาเจนมาไฮโดรไลส์บางส่วน (partial hydrolysis) ทำให้เกิดการแตกออกของโครงสร้างเกลียวสามสาย (triple helix) ของคอลลาเจน โดยทำลายอันตรกิริยานอนโควาเลนต์ที่อยู่ระหว่างสายพอลิเพปไทด์ ทำให้โครงสร้าง

เกลียวของคอลลาเจนเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่เป็นอสัณฐานมากขึ้น (รูปที่ 2.9) มีการนำเจลาตินมาใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์อื่นๆ (Bigi et al., 1998)



รูปที่ 2.9 การผลิตเจลาตินจากคอลลาเจน

ที่มา: Hansen & Lee (1992)

#### 2.4.1 การผลิตเจลาติน

เจลาตินผลิตจากคอลลาเจนซึ่งเป็นโปรตีนที่พบในหนัง กระดูก และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของสัตว์ เช่น หมู วัว และปลา การผลิตเจลาตินในเชิงอุตสาหกรรมมี 2 วิธี (Bigi et al., 2002; Cao et al., 2007; Johnston et al., 1990) วิธีที่หนึ่งคือการใช้สารละลายกรดไฮโดรไลส์คอลลาเจนในหนังสัตว์ จากนั้นจึงสกัดเจลาตินในภาวะที่เป็นกรด วิธีนี้เรียกว่าแอสิดโพรเซส เจลาตินที่ได้เรียกว่าเจลาตินชนิดเอ (type A gelatin) ซึ่งมีจุดไอโซอิเล็กทริกอยู่ในช่วงพีเอชเท่ากับ 7-9 เจลาตินชนิดนี้ผลิตจากหนังของหมู ส่วนอีกวิธีหนึ่งเป็นการใช้สารละลายด่างไฮโดรไลส์คอลลาเจนในหนังหรือกระดูกสัตว์ จากนั้นจึงสกัดเจลาตินในภาวะที่เป็นกลางที่อุณหภูมิ 60-90°C วิธีนี้เรียกว่าอัลคาไลน์โพรเซส หรือโลม์โพรเซส เจลาตินที่ได้เรียกว่าเจลาตินชนิดบี (type B gelatin) ซึ่งมีจุดไอโซอิเล็กทริกอยู่ในช่วงพีเอชเท่ากับ 4-5 เจลาตินชนิดนี้ผลิตจากหนังและกระดูกของวัว (Wasswa et al., 2007) เจลาตินที่ผลิตได้อาจมีลักษณะเป็นแผ่น ชื้น เกล็ด หรือผงสีเหลืองอ่อนหรือสีเหลืองอำพัน ไม่มีรสและไม่มีความมัน พิล์มเจลาตินเป็นที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมยา เนื่องจากมีความใส มี

จุดหลอมเหลวใกล้เคียงกับอุณหภูมิร่างกายมนุษย์ และมีสมบัติเชิงกลที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับฟิล์มจากพอลิเมอร์ชีวภาพโดยทั่วไป (Gomez-Guillen et al., 2002; Yam, 2009)

#### 2.4.2 องค์ประกอบของเจลาติน

Pauling et al. (1951) วิเคราะห์องค์ประกอบของเจลาตินและรายงานว่าเจลาตินประกอบด้วยกรดแอมิโนทั้งหมด 18 ชนิด (ตารางที่ 2.1) โดยกรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ ไกลซีน มีอยู่ประมาณ 27% ของกรดแอมิโนทั้งหมด รองลงมาได้แก่โพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีน มีอยู่ประมาณ 25% ของกรดแอมิโนทั้งหมด และกรดกลูตามิกมีอยู่ประมาณ 10% ของกรดแอมิโนทั้งหมด



ตารางที่ 2. 1 กรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบของเจลาติน (ที่มา: Gelatin Manufacturers Institute of America, 1993)

กรดแอมิโน	ปริมาณ (หน่วย/100 หน่วยของกรดแอมิโนทั้งหมด)		
	Acid pigskin gelatin	Limed calfskin gelatin	Limed bone gelatin
แอลานีน	8.6-10.7	9.3-11.0	10.1-14.2
อาร์จินีน	8.3-9.1	8.6-8.8	5.0-9.0
กรดแอสพาร์ติก	6.2-6.7	6.6-6.9	4.6-6.7
กรดกลูตามิก	11.3-11.7	11.1-11.4	8.5-11.6
ไกลซีน	26.4	26.9-27.5	24.5-28.8
ฮิสทีดีน	30.5	0.7-0.8	0.4-0.7
ไฮดรอกซีไลซีน	0.8-1.0	0.9-1.2	0.7-0.9
ไฮดรอกซีโพรลีน	1.0	14.0-14.5	11.9-13.4
ไอโซลิวซีน	13.5	1.7-1.8	1.3-1.5
ลิวซีน	1.4	3.1-3.4	2.8-3.5
ไลซีน	3.1-3.3	4.5-4.6	2.1-4.4
เมไทโอนีน	4.1-5.2	0.8-0.9	0.0-0.6
เฟนิลแอลานีน	2.1-2.6	2.2-2.5	1.3-2.5
โพรลีน	16.2-18.0	14.8-16.4	13.5-15.5
ซีรีน	2.9-4.1	3.2-4.2	3.4-3.8
ทรีโอนีน	2.2	2.2	2.0-2.4
ไทโรซีน	0.4-0.9	0.2-1.0	0.0-0.2
วาเลีน	2.5-2.8	2.6-3.4	2.4-3.0

### 2.4.3 फिल्मเจลาติน

ที่ผ่านมาได้มีการนำเจลาตินมาพัฒนาเป็นฟิล์มบรีโอบคได้และฟิล์มย่อยสลายได้ เนื่องจากมีจุดหลอมเหลวใกล้เคียงกับอุณหภูมิร่างกายมนุษย์ มีสมบัติเปลี่ยนกลับเมื่อได้รับความร้อน (thermo-reversible) และให้คุณค่าทางโภชนาการ โดยมีการนำมาประยุกต์ในอุตสาหกรรมอาหาร และยา อย่างไรก็ตามฟิล์มเจลาตินยังมีข้อจำกัดในด้านสมบัติเชิงกลและสมบัติการป้องกันความชื้น (Jongjareonrak et al., 2006; Achet et al., 1995) สำหรับสมบัติเชิงกล ฟิล์มเจลาตินนั้นพบว่ามีความแข็งแรงปานกลาง การเกิดเป็นฟิล์มของเจลาตินเป็นผลมาจากอันตรกิริยานีออนโควาเลนต์ ได้แก่ อันตรกิริยาไอออนิกระหว่างหมู่แอมิโนอิสระและหมู่คาร์บอกซิลอิสระของกรดแอมิโน รวมทั้งพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ข้างของกรดแอมิโน (Whistler & Daniel, 1990) ดังนั้นการส่งเสริมการเชื่อมข้ามของโปรตีนโดยพันธะโควาเลนต์ เช่น การใช้ควิโนนเป็นตัวเชื่อมข้ามเพื่อให้เกิดเป็นพันธะคาร์บอน-ไนโตรเจนและคาร์บอน-ซัลเฟอร์ และการบ่มด้วยความร้อนเพื่อส่งเสริมการเกิดพันธะเชื่อมข้ามไดซัลไฟด์จึงเป็นเทคนิคที่อาจช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มเจลาตินได้

## บทที่ 3

### อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัสดุดิบและสารเคมี

##### 3.1.1 วัสดุดิบ

Bovine gelatin powder, food grade (บริษัท ซีที เคมีคอล เทรดตั้ง (ประเทศไทย) จำกัด, กรุงเทพฯ)

Glycerol, food grade (บริษัท สยามแอ็บโซลูทเคมีคอล จำกัด, กรุงเทพฯ)

##### 3.1.2 สารเคมี

Acetic acid, glacial, QR $\acute{e}$ C<sup>TM</sup>, AR grade (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

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

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

Bovine serum albumin, 98%, AR grade (Sigma-Aldrich, Munich, Germany)

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

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

Copper (II) acetate monohydrate, QR $\acute{e}$ C<sup>TM</sup>, AR grade (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

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

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



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

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

Hydroquinone, AR grade (Ajax Finechem, Taren Point, New South Wales, Australia)

Lithium chloride, AR grade (Ajax Finechem, Taren Point, New South Wales, Australia)

Magnesium chloride hexahydrate, QRëC™, AR grade (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

Magnesium nitrate hexahydrate, QRëC™, AR grade (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

Mercaptoethanol, AR grade (Merck, Darmstadt, Germany)

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

*p*-Benzoquinone, AR grade (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

Potassium acetate, AR grade (Ajax Finechem, Taren Point, New South Wales, Australia)

Potassium carbonate, QRëC™, AR grade (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

Potassium chloride, AR grade (VWR International, Poole, UK)

Potassium dihydrogen phosphate, QRëC™, AR grade (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

Potassium iodide, AR grade (Ajax Finechem, Taren Point, New South Wales, Australia)

Potassium nitrate, QRċ™, AR grade (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

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

Protein molecular weight marker, wide range (molecular weight 6,500-200,000 Da), AR grade (Sigma-Aldrich, Munich, Germany)

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

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

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

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

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

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

### 3.2 อุปกรณ์

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

Confocal Raman spectrometer, model NTEGRA Spectra (NT-MDT Spectrum Instruments, Moscow, Russia)

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

Fourier-transform infrared (FT-IR) spectrometer, model Spectrum One (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)

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

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

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

Platform shaker, Innova<sup>®</sup>, model 2050 (New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA)

Refrigerated microcentrifuge, model 22R, equipped with high speed angle rotor, model A1195-A (Hettich, Buckinghamshire, UK)

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

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

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

Universal materials testing machine, model 5565 (Instron, Norwood, MA, USA)

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

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

### 3.3 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.3.1 การศึกษาผลของควิโนนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน

งานวิจัยในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของควิโนนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน โดยเจลาตินที่ใช้เป็นเจลาตินจากวัวที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า แปรชนิดของควิโนนเป็น 2 ชนิด ได้แก่ ไฮโดรควิโนน (HQ) และพารา-เบนโซควิโนน (BQ) และแปรความเข้มข้นของควิโนนเป็น 4 ระดับ ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 3.0% โดยน้ำหนักของเจลาติน ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์โดยใช้ที่ความเข้มข้น 30% โดยน้ำหนักของเจลาติน

ปริมาณส่วนประกอบที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฟิล์มเจลาตินแสดงดังตารางที่ 3.1 กำหนดให้ฟิล์มเจลาตินที่ไม่เติมควิโนนเป็นตัวอย่างควบคุม วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เตรียมตัวอย่างฟิล์มเจลาตินโดยดัดแปลงจากวิธีของ Yamauchi et al. (2009) สำหรับตัวอย่างควบคุมซึ่งได้แก่ฟิล์มเจลาตินที่ไม่เติมควิโนนมีขั้นตอนการเตรียมดังรูปที่ 3.1 เตรียมสารละลายฟิล์มโดยละลายเจลาตินผงปริมาณ 5.00 กรัม ในตัวทำละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  (พีเอช 7.4) ปริมาณ 93.50 กรัม ซึ่งมีกลีเซอรอล 1.50 กรัม ผสมอยู่ด้วย จากนั้นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์ (รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายที่ได้ไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, Julabo Labortechnik, Seelbach, Germany) ที่ 40°C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน นำสารละลายฟิล์มที่ผ่านการให้ความร้อนแล้วมากำจัดฟองอากาศเป็นเวลา 10 นาที โดยใช้อ่างอัลตราโซนิก (รุ่น 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) นำสารละลายฟิล์มที่ได้มาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยบีบอัดสารละลายฟิล์มปริมาตร 40 มิลลิลิตร บรรจุลงในแม่พิมพ์อะคริลิกขนาด 15 เซนติเมตร × 15 เซนติเมตร แล้วนำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ตู้อบลมร้อน (รุ่น 5200, Kubota, Fujioka,

Japan) จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออกและนำไปปรับสมดุล (equilibrate) ในภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติต่อไป

ตารางที่ 3. 1 ปริมาณส่วนประกอบ (กรัม) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฟิล์มเจลาติน 100 กรัม

ส่วนประกอบ	ความเข้มข้นของควิโนนในตัวอย่างฟิล์ม (โดยน้ำหนักของเจลาติน)				
	0%	0.5%	1.0%	1.5%	3.0%
	(ตัวอย่างควบคุม)				
<b>สารละลายเจลาติน</b>					
เจลาติน	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
กลีเซอรอล	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
ตัวทำละลาย*	93.50	53.45	53.47	53.37	53.07
<b>สารละลายควิโนน</b>					
ควิโนน**	0	0.03	0.05	0.08	0.15
$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0	0.02	0.04	0.05	0.11
ตัวทำละลาย*	0	40.00	40.00	40.00	40.00

\* สารละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  (พีเอช 7.4)

\*\* ไฮโดรควิโนนหรือพารา-เบนโซควิโนน

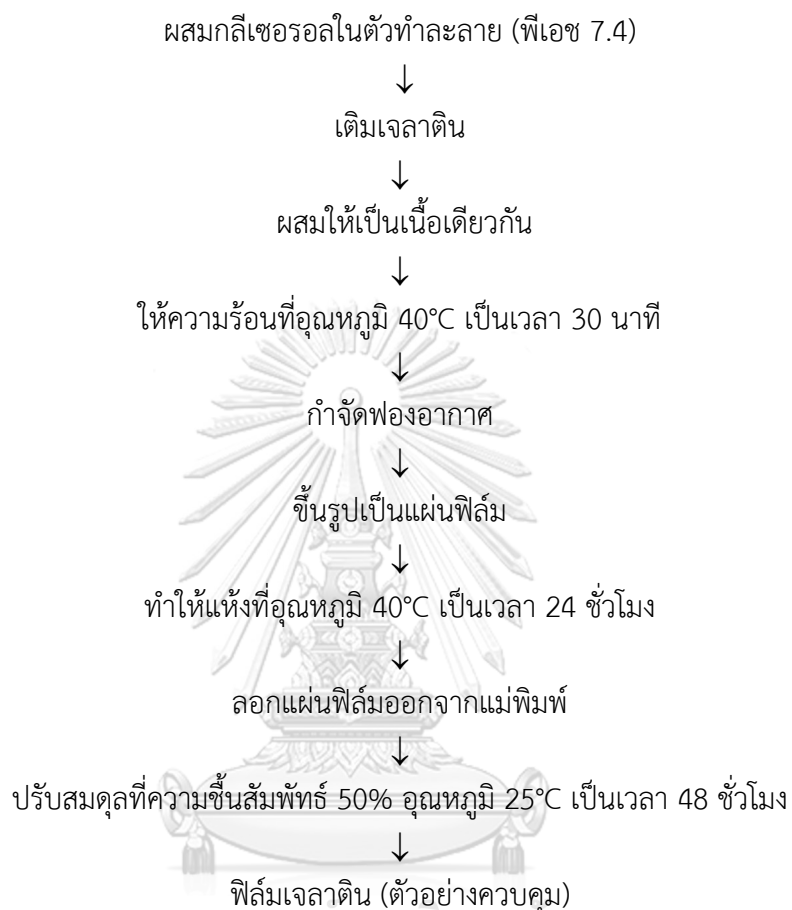
สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่เติมควิโนน (ไฮโดรควิโนนหรือพารา-เบนโซควิโนน) มีขั้นตอนการเตรียมดังรูปที่ 3.2 เตรียมสารละลายฟิล์มโดยละลายเจลาตินผงปริมาณ 5.00 กรัม ในตัวทำละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  (พีเอช 7.4) (ปริมาณดังตารางที่ 3.1) ซึ่งมีกลีเซอรอล 1.50 กรัม ผสมอยู่ด้วย จากนั้นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์ (รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายที่ได้ไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, Julabo Labortechnik, Seelbach, Germany) ที่ 40°C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน จากนั้นทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25°C) ระหว่างนี้เตรียมสารละลายควิโนนและคอปเปอร์ (II) แอซีเทตโมโนไฮเดรต (ปริมาณดังตารางที่ 3.1) ในตัวทำละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  (พีเอช 7.4) ปริมาณ 40.00 กรัม โดย

คอปเปอร์ (II) แอซีเทตทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาของควิโนน จากนั้นผสมสารละลายเจลาตินและสารละลายควิโนนเข้าด้วยกัน ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์ (รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาทีเป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายฟิล์มมากำจัดฟองอากาศเป็นเวลา 10 นาที โดยใช้อ่างอัลตราโซนิก (รุ่น 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) นำสารละลายฟิล์มที่ได้มาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยบีเปตต์ สารละลายฟิล์มปริมาตร 40 มิลลิลิตร บรรจุลงในแม่พิมพ์อะคริลิกขนาด 15 เซนติเมตร × 15 เซนติเมตร แล้วนำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ตู้อบลมร้อน (รุ่น 5200, Kubota, Fujioka, Japan) จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออกและนำไปปรับสมดุลในภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติต่อไป

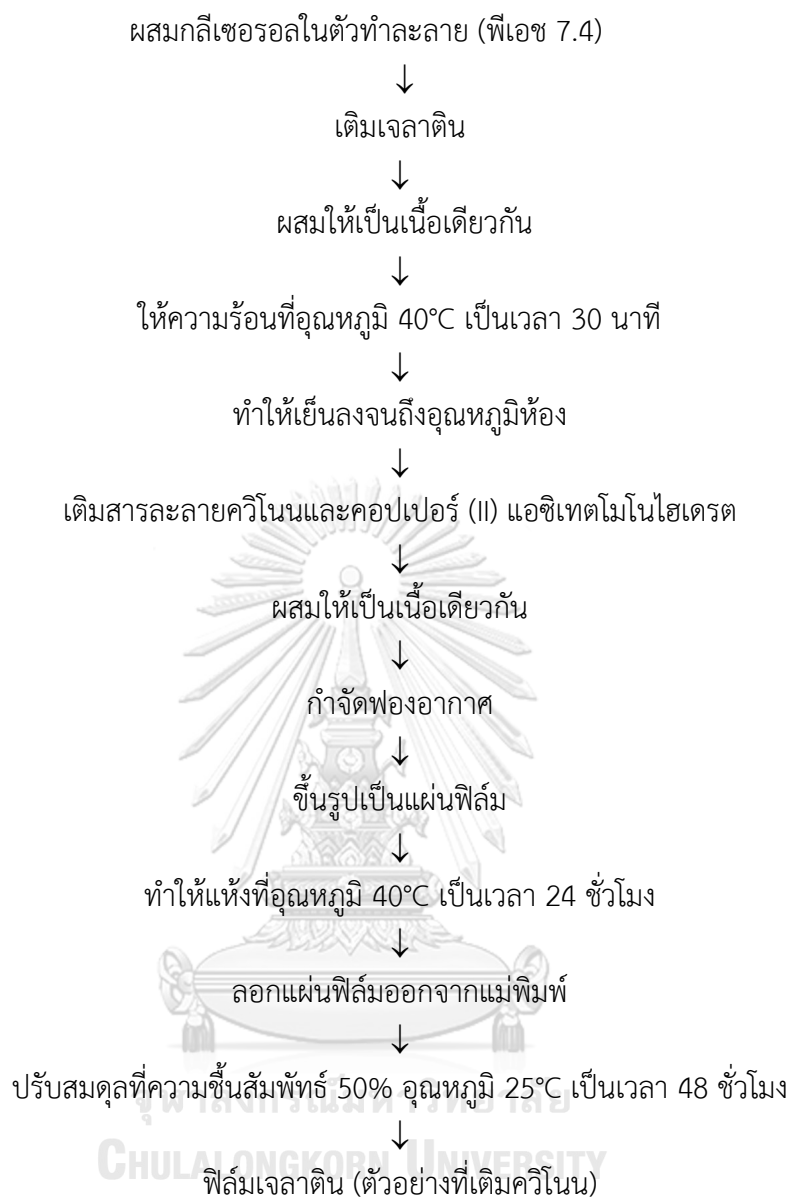
การวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มมีดังต่อไปนี้

#### 3.3.1.1 ความหนา

ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 3 เซนติเมตร × 10 เซนติเมตร วัดความหนาโดยใช้เครื่องมือวัดความหนา (รุ่น 7301, Mitutoyo, Tokyo, Japan) สุ่มวัดความหนาของตัวอย่างขึ้นละ 15 จุด นับเป็น 1 ซ้ำ



รูปที่ 3. 1 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มเจลาตินตัวอย่างควบคุม



รูปที่ 3. 2 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนน



### 3.3.1.2 สมบัติเชิงกล

ทดสอบการดึง (tensile test) ของตัวอย่างฟิล์ม วัดความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดโดยใช้ universal materials testing machine (รุ่น 5565, Instron, Norwood, MA, USA) ซึ่งติดตั้งด้วยโหนดเซลล์ขนาด 5 กิโลกรัม ใช้หัววัด pneumatic side-action grips ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 3 เซนติเมตร × 10 เซนติเมตร ติดตั้งตัวอย่างฟิล์มลงบนส่วนยึดจับ (grip) ทั้งสองด้าน โดยยึดจับด้านที่มีความกว้าง 3 เซนติเมตร กำหนดระยะห่างของส่วนยึดจับเท่ากับ 20 มิลลิเมตร ดึงตัวอย่างฟิล์มด้วยความเร็ว 5 มิลลิเมตร/วินาที จนกระทั่งตัวอย่างฟิล์มขาดออกจากกัน ได้ผลการวัดในรูปของแรงที่ใช้ในการดึงขึ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (หน่วยเป็นกรัม-แรง) และระยะทางที่สามารถดึงขึ้นตัวอย่างให้ยืดออกได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) คำนวณความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดโดยใช้สมการที่ (3.1) และ (3.2) ตามลำดับ

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

เมื่อ  $F$  คือ แรงที่ใช้ในการดึงตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (กรัม-แรง)

$w$  คือ ความกว้างของตัวอย่าง (เมตร)

$d$  คือ ความหนาของตัวอย่าง (เมตร)

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

เมื่อ  $L_f$  คือ ระยะทางที่สามารถดึงขึ้นตัวอย่างให้ยืดออกได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (มิลลิเมตร)

$L_i$  คือ ความยาวของชิ้นตัวอย่างระหว่างส่วนยึดจับก่อนดึง (มิลลิเมตร)

### 3.3.1.3 ความโปร่งใส

การวัดความโปร่งใสของฟิล์มตัดแปลงจากวิธีของ Tang et al. (2005) ความโปร่งใสแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน (%transmittance) ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร วัดโดยใช้ visible spectrophotometer (รุ่น GENESYS20, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 1 เซนติเมตร × 4 เซนติเมตร ติดตั้งตัวอย่างฟิล์มลงบนพื้นผิวด้านในของด้านที่แสงส่องผ่านของคิวเวตต์แก้วที่มีระยะแสงส่องผ่าน (light path length) เท่ากับ 1 เซนติเมตร โดยกำหนดให้ร้อยละของแสงที่ส่องผ่านคิวเวตต์เปล่า (แบล็ก) มีค่าเท่ากับ 100

### 3.3.1.4 ค่าสี

วัดค่าสีของตัวอย่างฟิล์มในระบบ CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) โดยใช้ chroma meter (รุ่น CR-400, Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan) ใช้แหล่งกำเนิดแสงมาตรฐาน CIE (CIE standard illuminant) ชนิด D65 (daylight illuminant) และมุมมองมาตรฐาน CIE เท่ากับ 10 องศา (CIE 10 degree standard observer) สุ่มวัดสีของตัวอย่างฟิล์ม ตัวอย่างละ 5 จุด นับเป็น 1 ซ้ำจากนั้นนำค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ที่ได้มาคำนวณมุมสี (hue angle) และความเข้มสี (chroma) โดยใช้สมการที่ (3.3) และ (3.4) ตามลำดับ

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

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

### 3.3.1.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน ASTM (1999) โดยนำซิลิกาเจลที่อบแห้งแล้ว ปริมาณ 20 กรัม บรรจุลงในขวดแก้วทรงกระบอก ทากรีสบริเวณปากขวด จากนั้นนำตัวอย่างฟิล์ม ขนาด 6 เซนติเมตร × 6 เซนติเมตร วางลงบนปากขวดให้แนบสนิท รััดด้วยยางวงแหวน แล้วพันทับด้วยพาราฟิล์มรอบตำแหน่งของยางวงแหวนอีกชั้นหนึ่ง นำขวดที่ติดตั้งตัวอย่างฟิล์มแล้วไปชั่งน้ำหนัก

บันทึกน้ำหนักที่ได้เป็นน้ำหนักเริ่มต้น จากนั้นนำขวดที่ติดตั้งตัวอย่างฟิล์มแล้วไปบรรจุไว้ในภาชนะ ปิดสนิทที่อิมมัวด้วยน้ำกลั่น เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) ติดตามการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของ ขวดทดสอบทุก 2 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ คำนวณสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำโดยใช้สมการที่ (3.5)

$$\text{สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (กรัม เมตร/พาสคาล ชั่วโมง ตารางเมตร)} = W d/A t (P_2 - P_1) \dots (3.5)$$

เมื่อ  $W$  คือ น้ำหนักของขวดทดสอบ (กรัม)

$d$  คือ ความหนาของแผ่นฟิล์ม (เมตร)

$A$  คือ พื้นที่หน้าตัดของแผ่นฟิล์มที่ไอน้ำผ่านได้ (ตารางเมตร)

$t$  คือ เวลาที่น้ำหนักของขวดทดสอบคงที่ (ชั่วโมง)

$P_2 - P_1$  คือ ความแตกต่างของความดันไอน้ำระหว่างสองด้านของแผ่นฟิล์ม (พาสคาล)

### 3.3.1.6 มุมสัมผัส (contact angle) ระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

วัดมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโดยดัดแปลงจากวิธีของ Tang et al. (2005) โดยใช้ contact angle measuring instrument (model OCA15CE, Data Physics Instruments, Filderstadt, Germany) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 2 เซนติเมตร × 5 เซนติเมตร จากนั้นนำตัวอย่างฟิล์มไปวางบนแท่นวางตัวอย่าง และหยดน้ำกลั่น 4 ไมโครลิตร ลงบนผิวของ ตัวอย่างฟิล์ม แล้ววัดมุมระหว่างหยดน้ำกับผิวหน้าของแผ่นฟิล์ม วัดตัวอย่างละ 3 ชิ้น นับเป็น 1 ซ้ำ

### 3.3.1.7 ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility)

วิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มตามวิธีของ Perez-Gago and Krochta (2001) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 2 เซนติเมตร × 2 เซนติเมตร นำ ตัวอย่างฟิล์มไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (รุ่น 5200, Kubota, Fujioka, Japan) ที่อุณหภูมิ 70°C

เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างฟิล์มมาชั่งน้ำหนัก บันทึกเป็นน้ำหนักเริ่มต้นของตัวอย่างฟิล์ม บรรจุตัวอย่างฟิล์มที่ชั่งน้ำหนักแล้วลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าอย่างต่อเนื่องโดยใช้ platform shaker (รุ่น INNOVA 2050, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA) ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำของผสมที่ได้มารองด้วย กระดาษกรอง Whatman No. 4 ที่อบแห้งและชั่งน้ำหนักแล้ว ชะด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้น นำกระดาษกรองและสิ่งที่ค้างอยู่บนกระดาษกรองไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก เมื่อห้กน้ำหนักกระดาษกรองออกแล้วได้ เป็นน้ำหนักของตัวอย่างฟิล์มหลังอบ คำนวณความสามารถในการละลายน้ำโดยใช้สมการที่ (3.6)

$$\text{ความสามารถในการละลายน้ำ (\%)} = (W_i - W_f) \times 100/W_i \quad \dots(3.6)$$

เมื่อ  $W_i$  คือ น้ำหนักตัวอย่างฟิล์มเริ่มต้น (กรัม)

$W_f$  คือ น้ำหนักของตัวอย่างฟิล์มหลังอบ (กรัม)

### 3.3.1.8 เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้น (moisture sorption isotherm) และ

สมบัติเชิงกลของตัวอย่างฟิล์มที่มีค่าวอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศึกษาพฤติกรรมการดูดความชื้นของตัวอย่างฟิล์ม โดยคัดเลือกตัวอย่างฟิล์ม

ที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุดมาศึกษา นำตัวอย่างฟิล์มมาปรับสมดุลในภาวะที่มีวอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ ได้แก่ 0.11, 0.22, 0.33, 0.43, 0.53, 0.69, 0.84 และ 0.94 ที่อุณหภูมิคงที่ 25°C เป็นเวลา 7 วัน ภาวะที่มีวอเตอร์แอกทิวิตีดังกล่าวควบคุมโดยใช้สารละลายเกลืออิ่มตัวที่มีผลึกเกลือส่วนเกิน (saturated salt solution with excess salt crystals) ของลิเธียมคลอไรด์ โพแทสเซียมแอสซีเทต แมกนีเซียมคลอไรด์ โพแทสเซียมคาร์บอเนต แมกนีเซียมไนเตรต โพแทสเซียมไฮโอไดด์ โพแทสเซียมคลอไรด์ และโพแทสเซียมไนเตรต ตามลำดับ นำตัวอย่างฟิล์มที่ปรับสมดุลแล้วมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีของ AOAC (2000) โดยชั่งตัวอย่างฟิล์มประมาณ 5 กรัม ให้ทราบ

น้ำหนัที่แน่นอน บรรจุลงในจานอลูมิเนียมที่อบแห้งและทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำตัวอย่างเข้าอบในตู้อบลมร้อน (รุ่น 5200, Kubota, Fujioka, Japan) ที่อุณหภูมิ 105°C จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25°C) ในโถดูดความชื้นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก คำนวณปริมาณความชื้นเป็นร้อยละโดยฐานเปียก นำข้อมูลของปริมาณความชื้นที่สัมพันธ์กับวอเตอร์แอกทิวิตีมาสร้างเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้น

สำหรับการวิเคราะห์สมบัติเชิงกลของตัวอย่างฟิล์มที่มีวอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ ใช้วิธีดังหัวข้อ 3.3.1.2

### 3.3.1.9 โครงสร้างระดับจุลภาค

ศึกษาโครงสร้างระดับจุลภาคของภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รุ่น JSM-IT300, JEOL, Tokyo, Japan) โดยใช้ชั้นฟิล์มที่มีความกว้าง 0.5 เซนติเมตร ตัดขวางตัวอย่างฟิล์มด้วยใบมีดที่คมมาก จากนั้นติดตั้งตัวอย่างฟิล์มบนแท่งทองเหลืองที่มีลักษณะเป็นร่องตั้งฉากกับพื้นผิวสำหรับติดตั้งตัวอย่าง โดยติดตั้งให้ด้านที่ตัดด้วยใบมีดอยู่ด้านบน นำไปฉายด้วยทองและศึกษาลักษณะภาคตัดขวางที่กำลังขยาย 1,500 เท่า

### 3.3.1.10 รูปแบบของแถบโปรตีน

ศึกษารูปแบบของแถบโปรตีนโดยใช้ SDS-PAGE โดยดัดแปลงจากวิธีของ Laemmli (1970) เปรียบเทียบรูปแบบของแถบโปรตีนของฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนนและตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมควิโนน

### การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีน

เตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนโดยตัดตัวอย่างฟิล์มเป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งมา 0.3 กรัม บรรจุลงใน sample buffer<sup>1</sup> ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอยู่ใน Eppendorf tube ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 3 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง (25°C) จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกโดยใช้แรงหนีศูนย์กลางสัมพัทธ์ (relative centrifugal force, RCF) เท่ากับ  $31,154 \times g$  ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 15 นาที ด้วย refrigerated micro-centrifuge (รุ่น 22R, Hettich, Buckinghamshire, UK) ที่ติดตั้งด้วย high speed angle rotor (รุ่น A1195-A, Hettich, Buckinghamshire, UK) เก็บส่วนใส (supernatant) เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนต่อไป

### การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

เตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนเช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีน ยกเว้นสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ไม่มีส่วนประกอบของ bromophenol blue วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี modified Lowry (Peterson, 1983) เตรียมกราฟเทียบมาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐานของซีรัมอัลบูมินจากวัว (bovine serum albumin, BSA) โดยชั่ง BSA ปริมาณ 10 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร จากนั้น ปิเปตต์สารละลาย BSA ปริมาตรต่างๆ แล้วใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 1 มิลลิลิตร โดยให้ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 5-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เติม sodium

---

<sup>1</sup> sample buffer สำหรับ reducing SDS-PAGE ประกอบด้วย Tris-HCl เข้มข้น 0.5 โมลาร์, sodium dodecyl sulfate (SDS) เข้มข้น 10%, glycerol เข้มข้น 20%, 2-mercaptoethanol เข้มข้น 3.1% และ bromophenol blue เข้มข้น 1% ส่วน sample buffer สำหรับ non-reducing SDS-PAGE มีส่วนประกอบเช่นเดียวกันแต่ไม่เติม 2-mercaptoethanol

deoxycholate เข้มข้น 0.15% ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลาย trichloroacetic acid เข้มข้น 72% ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปเหวี่ยงแยกโดยใช้ RCF เท่ากับ 31,154×g ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 15 นาที กำจัด ส่วนใส นำตะกอนที่ได้มาเติม Reagent A<sup>2</sup> ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นเติม Reagent B<sup>3</sup> ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นแบล็ก

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างฟิล์มด้วยทำเช่นเดียวกับการเตรียมกราฟเทียบมาตรฐาน แต่ใช้สารละลายตัวอย่างแทนการใช้สารละลาย BSA เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟเทียบมาตรฐานเพื่อคำนวณปริมาณโปรตีนของตัวอย่างฟิล์ม

#### การตรวจสอบรูปแบบของแถบโปรตีน

ตรวจสอบรูปแบบของแถบโปรตีนด้วย SDS-PAGE เริ่มจากเตรียม เจลโดยล้างแผ่นกระจกสำหรับหล่อเจลด้วยน้ำสะอาด จากนั้นชะด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) แล้วเช็ดด้วยเอทานอล โดยประกอบแผ่นกระจกด้านที่มีรอยเว้าเข้าด้านในของ ตัวเครื่อง gel electrophoresis system (รุ่น miniVE, Hoefer, Holiston, MA, USA) วางแผ่น spacer ที่มีความหนา 1 มิลลิเมตร คั่นไว้ที่ขอบทั้งสองด้าน ประกบอีกแผ่นเข้าหากัน จากนั้นติดตั้ง เข้ากับตัวเครื่อง เปิดเต้สารละลาย separating gel เข้มข้น 10% เติมลงในช่องระหว่างแผ่นกระจก

<sup>2</sup> Reagent A ประกอบด้วยสารละลาย 2 ส่วนผสมกันในอัตราส่วน 1:1 โดยสารละลายส่วนแรก ประกอบด้วย sodium deoxycholate เข้มข้น 0.8 นอร์มัล และ SDS เข้มข้น 10% สารละลายส่วนที่สองคือ สารละลาย copper tartrate/carbonate (CTC) ซึ่งประกอบด้วย copper sulfate เข้มข้น 0.1%, potassium tartrate เข้มข้น 0.2% และ sodium carbonate เข้มข้น 10%

<sup>3</sup> Reagent B ประกอบด้วย Folin-Ciocalteu's phenol reagent และน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:5

อย่างช้าๆ เพื่อไม่ให้เกิดฟองอากาศ จนสารละลายอยู่ต่ำกว่าขอบบนของแผ่นกระจกที่มีรอยเว้า ประมาณ 1.5 เซนติเมตร หยอด บิวทานอลทับบริเวณผิวหน้า separating gel ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปริมาณของสารเคมีที่ใช้ในการเตรียม separating gel และ stacking gel แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3. 2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเจลสำหรับการวิเคราะห์โดย SDS-PAGE\*

สารเคมี	Separating gel	Stacking gel
Acrylamide stock solution เข้มข้น 30%	6.7 มิลลิลิตร	0.99 มิลลิลิตร
Separating gel buffer เข้มข้น 1.5 โมลาร์	5 มิลลิลิตร	-
(พีเอช 8.8)		
Stacking gel buffer เข้มข้น 1.5 โมลาร์	-	1.86 มิลลิลิตร
(พีเอช 6.8)		
Sodium dodecyl sulfate เข้มข้น 10%	200 ไมโครลิตร	74.25 ไมโครลิตร
Ammonium persulfate เข้มข้น 10%	100 ไมโครลิตร	37.57 ไมโครลิตร
TEMED	6.7 ไมโครลิตร	3.71 ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	8 มิลลิลิตร	4.56 มิลลิลิตร

\* สำหรับเตรียมเป็นแผ่นเจลหนา 1 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น

เมื่อ separating gel เช็ดตัวแล้ว เทบิวทานอลออก ชะด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง จากนั้นปิเปตต์สารละลาย stacking gel เข้มข้น 4% (ปริมาณของสารเคมีที่ใช้ในการเตรียม แสดงดังตารางที่ 3.2) เติมลงในช่องว่างระหว่างแผ่นของกระจกจนถึงขอบกระจก จากนั้นเสียบ comb ลงบนช่องด้านบน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมงจนกระทั่ง stacking gel เช็ดตัว



จากนั้นถอด comb ออกจะเกิดช่องว่างสำหรับบรรจุตัวอย่าง เติม electrophoresis buffer<sup>4</sup> ลงใน chamber และช่องระหว่างแผ่นเจลจนสารละลายท่วมแผ่นเจล จากนั้นเปิดเตาสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (protein molecular weight marker) และสารละลายตัวอย่างที่มีโปรตีนปริมาณ 7 ไมโครกรัม บรรจุลงในช่องของแผ่นเจลช่องละ 1 ตัวอย่าง และต่อ gel electrophoresis system เข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้า เติม electrophoresis buffer ลงใน chamber กำหนดกระแสไฟฟ้าเท่ากับ 40 มิลลิแอมแปร์ เปิดเครื่องกำเนิดไฟฟ้าจนกระทั่งสังเกตเห็นแถบโปรตีนเคลื่อนลงมาถึงระยะประมาณ 0.5 เซนติเมตร จากขอบล่างของแผ่นเจลจึงปิดเครื่องกำเนิดไฟฟ้า ถอดเครื่องกำเนิดไฟฟ้าแล้วแกะเจลออกจากกระจก นำแผ่นเจลมาแช่ใน staining solution<sup>5</sup> เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปแช่ใน destaining solution<sup>6</sup> จนแถบโปรตีนปรากฏขึ้นทดสอบสารละลายทิ้ง แล้วล้างแผ่นเจลด้วยน้ำกลั่น



<sup>4</sup> Electrophoresis buffer เตรียมโดยผสม Tris เข้มข้น 25 มิลลิโมลลาร์ ปริมาณ 9.06 กรัม, glycine เข้มข้น 1.5% ปริมาณ 43.2 กรัม, SDS เข้มข้น 1% ปริมาณ 3 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 3000 มิลลิลิตร

<sup>5</sup> Staining solution ประกอบด้วย Coomassie blue R-250 ปริมาณ 1 กรัม, ethanol เข้มข้น 95% ปริมาตร 500 มิลลิลิตร, glacial acetic acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร

<sup>6</sup> Destaining solution ประกอบด้วย ethanol เข้มข้น 95% ปริมาตร 250 มิลลิลิตร, glacial acetic acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 650 มิลลิลิตร

### 3.3.1.11 การติดตามการเกิดพันธะคาร์บอน-ไนโตรเจน (C-N) โดยใช้เทคนิคฟูเรียร์แทรนส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR)

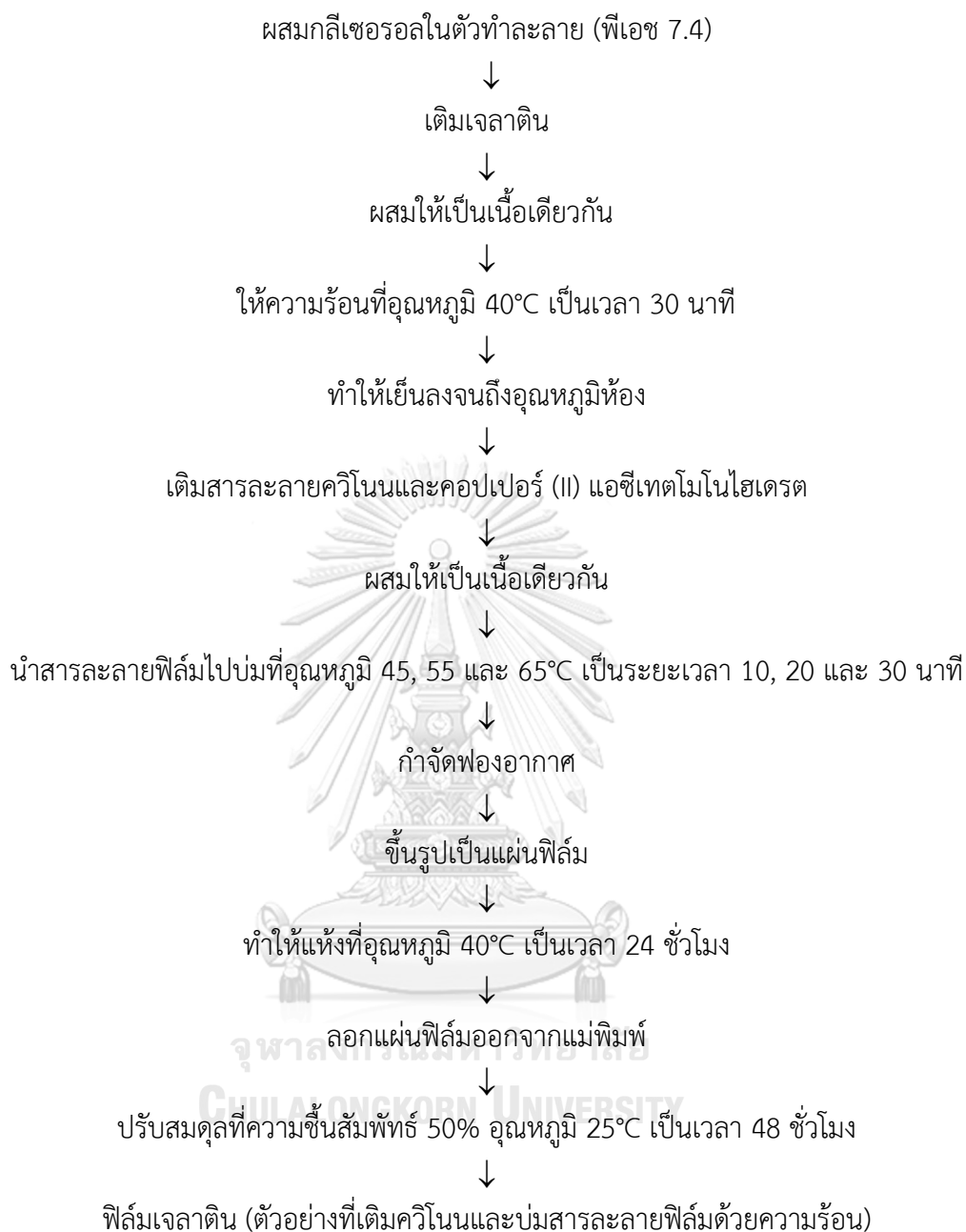
ติดตามการเกิดพันธะ C-N โดยใช้ฟูเรียร์แทรนส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (รุ่น Spectrum One, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) ที่ติดตั้งด้วย attenuated total reflectance (ATR) accessory (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) โดยวัดร้อยละของแสงส่องผ่านในช่วงเลขคลื่น (wavenumber) 4000-516 เซนติเมตร<sup>-1</sup> ความละเอียด 4.00 เซนติเมตร<sup>-1</sup> จำนวนครั้งของการสแกน (number of scan) เท่ากับ 64 วางตัวอย่างลงบน crystal cell จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงร้อยละของแสงส่องผ่าน ทั้งนี้ไม่สามารถใช้เทคนิค FT-IR ในการติดตามพันธะคาร์บอน-ซัลเฟอร์ (C-S) ได้ เนื่องจากธรรมชาติของพันธะ C-S ที่ให้สัญญาณที่ต่ำ (weak signal) ในสเปกตรัม FT-IR (Hampton & Demoin, 2010)

### 3.3.2 การศึกษาผลของการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนน

คัดเลือกจากตัวอย่างฟิล์มที่เติมควิโนนจากข้อ 3.3.1 โดยคัดเลือกตัวอย่างฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนและตัวอย่างฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนที่มีความต้านทานแรงดึงสูงสุดมาชนิดละ 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างควบคุมได้แก่ตัวอย่างฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนและตัวอย่างฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนที่เตรียมโดยไม่มีขั้นตอนการบ่มสารละลายฟิล์ม สำหรับการศึกษาผลของการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน แปรอุณหภูมิการบ่มสารละลายฟิล์มเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 45, 55 และ 65°C และแปรระยะเวลาการบ่มเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 10, 20 และ 30 นาที วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

สำหรับขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างควบคุมเป็นไปตามวิธีที่บรรยายไว้ในหัวข้อ 3.3.1 ส่วนการเตรียมตัวอย่างที่บ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนแสดงดังรูปที่ 3.3 โดยมีรายละเอียดดังนี้

เตรียมสารละลายฟิล์มโดยละลายเจลาตินผงปริมาณ 5.00 กรัม ในตัวทำละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  (พีเอช 7.4) (ปริมาณดังตารางที่ 3.1) ซึ่งมีกลีเซอรอล 1.50 กรัม ผสมอยู่ด้วย จากนั้นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้ โฮโมจีไนเซอร์ (รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายที่ได้ไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, Julabo Labortechnik, Seelbach, Germany) ที่  $40^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน จากนั้นทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ( $25^\circ\text{C}$ ) ระหว่างนี้เตรียมสารละลายควิโนนและคอปเปอร์ (II) แอซีเทตโมโนไฮเดรต (ปริมาณดังตารางที่ 3.1) ในตัวทำละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  (พีเอช 7.4) ปริมาณ 40.00 กรัม จากนั้นผสมสารละลายเจลาตินและสารละลายควิโนนเข้าด้วยกัน ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์ (รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาทีเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำสารละลายฟิล์มไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, Julabo Labortechnik, Seelbach, Germany) ที่อุณหภูมิ 45, 55 และ  $65^\circ\text{C}$  เป็นระยะเวลา 10, 20 และ 30 นาที นำสารละลายฟิล์มมากำจัดฟองอากาศเป็นเวลา 10 นาที โดยใช้อ่างอัลตราโซนิก (รุ่น 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) นำสารละลายฟิล์มที่ได้มาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยบีเปตต์ สารละลายฟิล์มปริมาตร 40 มิลลิลิตร บรรจุลงในแม่พิมพ์อะคริลิกขนาด 15 เซนติเมตร  $\times$  15 เซนติเมตร แล้วนำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ  $40^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ตู้อบลมร้อน (รุ่น 5200, Kubota, Fujioka, Japan) จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออกและนำไปปรับสมดุลในภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ  $25^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติตามข้อ 3.3.1.1-3.3.1.10 และติดตามการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ (S-S) โดยใช้เทคนิครามานสเปกโทรสโกปี



รูปที่ 3. 3 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนนและบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน

### 3.3.2.1 การติดตามการเกิดพันธะ S-S โดยใช้เทคนิครามานสเปกโทรสโกปี

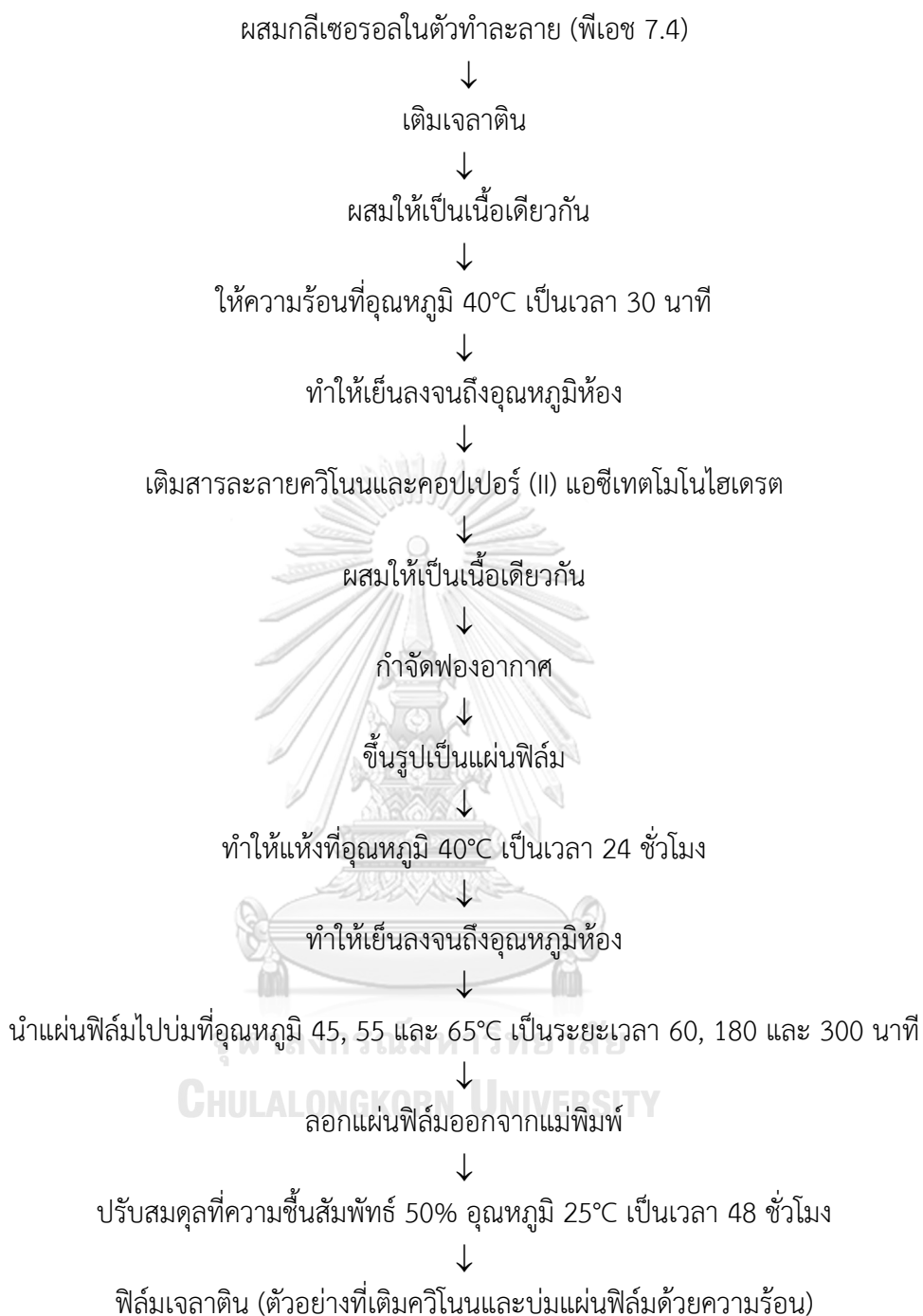
ติดตามการเกิดพันธะ S-S ด้วยคอนโฟคอลรามานสเปกโทรมิเตอร์ (รุ่น NTEGRA Spectra, NT-MDT Spectrum Instruments, Moscow, Russia) โดยใช้ฮีเลียม-นีออนเลเซอร์ (helium-neon laser or HeNe laser) ซึ่งมีความยาวคลื่นเท่ากับ 632.8 นาโนเมตร ติดตามความเข้มสัญญาณ (Raman intensity) ในช่วงรามานชิฟท์ (Raman shift) เท่ากับ 100-6000 เซนติเมตร<sup>-1</sup> ใช้เลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) กำลังขยาย 100 เท่า กำหนด acquisition time เท่ากับ 60 วินาที (accumulation number เท่ากับ 6 และ exposure time เท่ากับ 10 วินาที) วัดตัวอย่างละ 2 จุด

### 3.3.3 การศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลลาตินที่เติมควิโนน

คัดเลือกจากตัวอย่างฟิล์มที่เติมควิโนนจากข้อ 3.3.1 โดยคัดเลือกตัวอย่างฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนและตัวอย่างฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุดมาชนิดละ 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างควบคุมได้แก่ตัวอย่างฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนและตัวอย่างฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนที่เตรียมโดยไม่มีขั้นตอนการบ่มแผ่นฟิล์ม สำหรับการศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อน แปรอุณหภูมิการบ่มเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 45, 55 และ 65°C และแปรระยะเวลาการบ่มเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 60, 180 และ 300 นาที วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

สำหรับขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างควบคุมเป็นไปตามวิธีที่บรรยายไว้ในหัวข้อ 3.3.1 ส่วนการเตรียมตัวอย่างที่บ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนแสดงดังรูปที่ 3.4 โดยมีรายละเอียดดังนี้ เตรียมสารละลายฟิล์มโดยละลายเจลาตินผงปริมาณ 5.00 กรัม ในตัวทำละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  (พีเอช 7.4) (ปริมาณดังตารางที่ 3.1) ซึ่งมีกลีเซอรอล 1.50 กรัม ผสมอยู่ด้วย จากนั้นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้ โฮโมจีไนเซอร์ (รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่

ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายที่ได้ไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, Julabo Labortechnik, Seelbach, Germany) ที่ 40°C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน จากนั้นทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25°C) ระหว่างนี้เตรียมสารละลายควิโนนและคอปเปอร์ (II) แอซีเตตโมโนไฮเดรต (ปริมาณดังตารางที่ 3.1) ในตัวทำละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  (พีเอช 7.4) ปริมาณ 40.00 กรัม จากนั้นผสมสารละลายเจลาตินและสารละลายควิโนนเข้าด้วยกัน ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์ (รุ่น X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็วรอบ 22,000 รอบ/นาทีเป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายฟิล์มมากำจัดฟองอากาศเป็นเวลา 10 นาที โดยใช้อ่างอัลตราโซนิก (รุ่น 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) นำสารละลายฟิล์มที่ได้มาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยบีเบตต์สารละลายฟิล์มปริมาตร 40 มิลลิลิตร บรรจุลงในแม่พิมพ์อะคริลิกขนาด 15 เซนติเมตร  $\times$  15 เซนติเมตร แล้วนำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้ตู้อบลมร้อน (รุ่น 5200, Kubota, Fujioka, Japan) จากนั้นทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25°C) แล้วจึงนำแผ่นฟิล์มไปบ่มในตู้อบลมร้อน (รุ่น 5200, Kubota, Fujioka, Japan) ที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 65°C เป็นระยะเวลา 60, 180 และ 300 นาที ลอกแผ่นฟิล์มออกและนำไปปรับสมดุลในภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติตามข้อ 3.3.1.1-3.3.1.10 และ 3.3.2.1



รูปที่ 3. 4 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนนและบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อน

### 3.3.4 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

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





## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 ผลของควิโนนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน

งานวิจัยในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาผลชนิดและความเข้มข้นของควิโนนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน โดยแปรชนิดของควิโนนเป็น 2 ชนิด ได้แก่ ไฮโดรควิโนน (HQ) และ พารา-เบนโซควิโนน (BQ) และแปรความเข้มข้นของควิโนนเป็น 4 ระดับ ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 3.0% โดยน้ำหนักของเจลาติน กำหนดให้ฟิล์มเจลาตินที่ไม่เติมควิโนนเป็นตัวอย่างควบคุม ผลการวิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างฟิล์มมีดังนี้

##### 4.1.1 ความหนา

ความหนาของตัวอย่างฟิล์มเจลาตินแสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าฟิล์มทุกตัวอย่างมีความหนาไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.10-0.13 มิลลิเมตร

Mahmoud and Savello. (1992), Cuq et al. (1996) และ Galus et al. (2012) รายงานว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อความหนาของฟิล์ม ได้แก่ ปริมาณของแข็ง เนื่องจากในงานวิจัยนี้ ตัวอย่างฟิล์มมีปริมาณของแข็งที่ใกล้เคียงกัน ความหนาของตัวอย่างฟิล์มจึงมีค่าไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ González et al. (2011) ซึ่งศึกษาผลของการเติมเจนิพิน (genipin) ต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยเจนิพินเป็นตัวเชื่อมข้ามโปรตีนที่สกัดได้จากผลของพืชในสกุลการ์ตีเนีย แปรความเข้มข้นของเจนิพินในช่วง 0-10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด พบว่าการเติมเจนิพินไม่มีผลต่อความหนาของตัวอย่างฟิล์ม ( $p > 0.05$ ) ในทำนองเดียวกัน Nuthong et al. (2009) ศึกษาผลของตัวเชื่อมข้ามโปรตีนชนิดกรดพีนอลิกต่อสมบัติของฟิล์มจากโปรตีนพลาสมาสุกร กรดพีนอลิกที่ศึกษา ได้แก่ กรดเพอรูลิก กรดแคฟเฟอิก และกรดแทนนิก โดยแปรความ

เข้มข้นในช่วง 1-3% โดยน้ำหนักของโปรตีน พบว่าการเติมกรดฟีนอลิกไม่มีผลต่อความหนาของฟิล์มจากโปรตีนพลาสมาสุกร โดยตัวอย่างฟิล์มมีความหนาอยู่ในช่วง 0.067-0.072 มิลลิเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ )

ตารางที่ 4. 1 ความหนาของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%

ตัวอย่างฟิล์ม	ความเข้มข้นของควิโนน (%โดยน้ำหนักของเจลาติน)	ความหนา (มิลลิเมตร) <sup>ns</sup>
Control	0	0.13±0.01
HQ	0.5	0.12±0.01
	1.0	0.12±0.01
	1.5	0.10±0.02
	3.0	0.13±0.01
	BQ	0.5
1.0		0.10±0.01
1.5		0.12±0.00
3.0		0.13±0.01

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

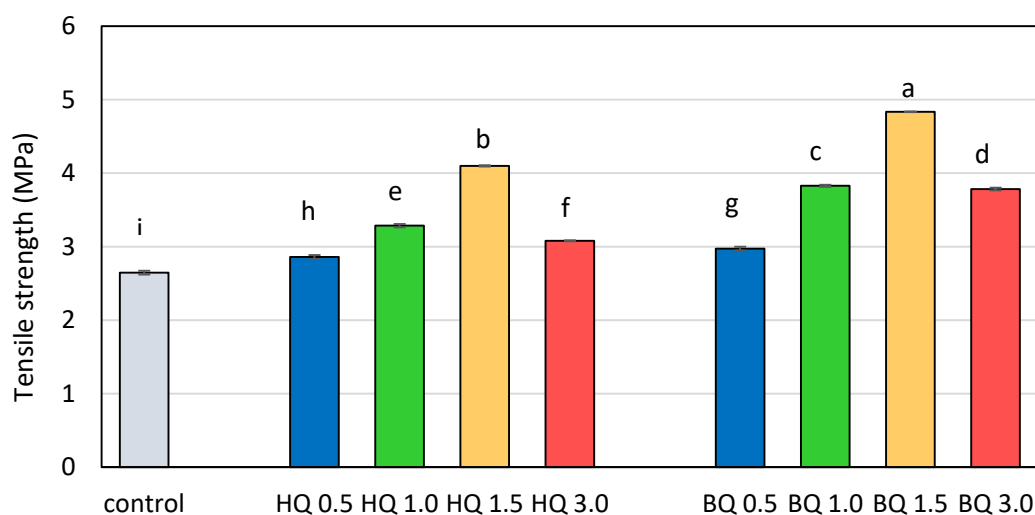
<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ )

ความหนาของฟิล์มเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อสมบัติด้านต่างๆ ของฟิล์ม เช่น สมบัติ

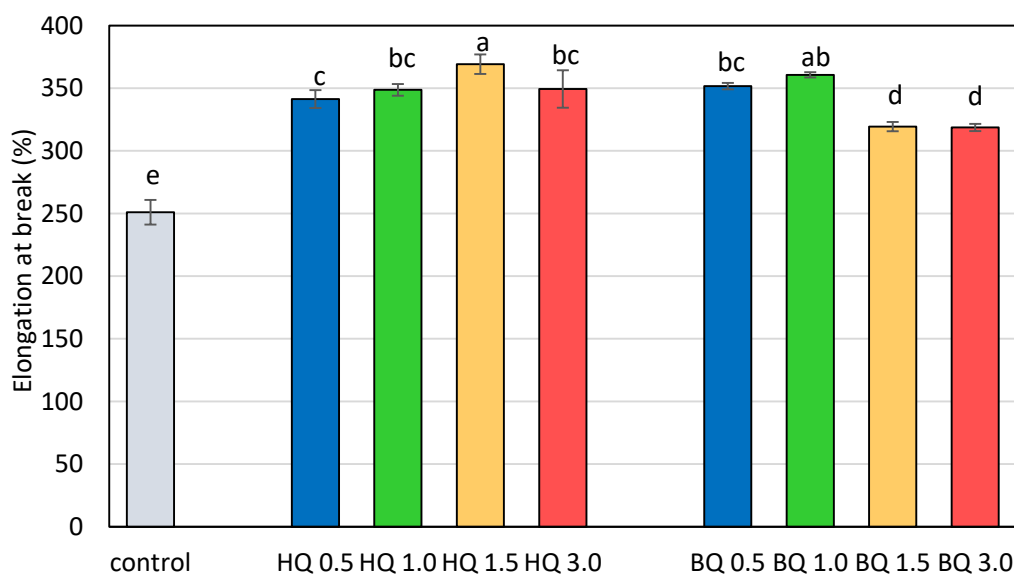
เชิงกล ความโปร่งใส และสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ เนื่องจากตัวอย่างฟิล์มในงานวิจัยนี้มีความหนาไม่แตกต่างกัน ดังนั้นสามารถกล่าวได้ว่าหากตัวอย่างฟิล์มมีสมบัติด้านใดด้านหนึ่งที่แตกต่างกัน ความแตกต่างนั้นไม่ได้เป็นผลมาจากความหนาของฟิล์ม

#### 4.1.2 สมบัติเชิงกล

สำหรับงานวิจัยนี้วิเคราะห์สมบัติเชิงกลของฟิล์มเจลลาตินที่เติมควิโนนโดยการทดสอบแรงดึง ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์มแสดงดังรูปที่ 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ พบว่าการเติมควิโนนสามารถปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มเจลลาติน โดยฟิล์มที่เติมควิโนนทุกตัวอย่างมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าทั้งชนิดและความเข้มข้นของควิโนนมีผลต่อความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาติน



รูปที่ 4. 1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )



รูปที่ 4. 2 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ในกรณีของฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนน พบว่าเมื่อความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนเพิ่มขึ้น ในช่วง 0.5-1.5% ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มมีค่าเพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนเพิ่มขึ้นเป็น 3.0% ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดกลับมีค่าลดลง สำหรับฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนน พบว่าให้ผลในการทำงานเดียวกันกับฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนน โดยเมื่อความเข้มข้นของพารา-เบนโซควิโนนเพิ่มขึ้นในช่วง 0.5-1.5% ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าเพิ่มสูงขึ้น ส่วนการยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าเพิ่มสูงขึ้นในช่วงความเข้มข้นของพารา-เบนโซควิโนนเท่ากับ 0.5-1.0% เมื่อความเข้มข้นของพารา-เบนโซควิโนนเพิ่มสูงขึ้นจากช่วงดังกล่าว ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดจึงกลับมีค่าลดลงอีกครั้งหนึ่ง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างควิโนนทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าพารา-เบนโซควิโนนมีประสิทธิภาพสูงกว่าไฮโดรควิโนนในการปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มเจลลาติน

Strauss and Gibson (2004) เสนอว่าควิโนนสามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่เอมีโนหรือหมู่ซัลไฟไฮไดรลของกรดเอมีโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน เกิดเป็นพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้าม

ชนิดคาร์บอน-ไนโตรเจน และ คาร์บอน-ซัลเฟอร์ (รายละเอียดกลไกของปฏิกิริยาดังแสดงในบทที่ 2 หัวข้อ 2.3) พันธะโควาเลนต์เป็นพันธะที่มีค่าพลังงานพันธะสูง โดยพันธะคาร์บอน-ไนโตรเจน และ คาร์บอน-ซัลเฟอร์มีค่าพลังงานพันธะเท่ากับ 70 และ 62 กิโลแคลอรี/โมล ตามลำดับ ซึ่งนับว่าสูงมาก เมื่อเทียบกับอันตรกิริยานีออนโควาเลนต์ (ได้แก่ พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไอออนิก อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และแรงแวนเดอร์วาลส์) ซึ่งมีค่าพลังงานพันธะเพียง 1-5 กิโลแคลอรี/โมล (Lodish et al., 2000) การเชื่อมข้ามด้วยพันธะโควาเลนต์ซึ่งมีความแข็งแรงสูงจึงส่งผลให้โครงร่างแหของโปรตีนมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นมาก อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้พบว่าการเติมควิโนนที่ความเข้มข้นสูง (3.0%) ทำให้สมบัติเชิงกลของฟิล์มเจลาตินด้อยลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเกิดการรวมตัวกันเองของควิโนนและไม่เกิดปฏิกิริยากับโปรตีน ทำให้เกิดการเชื่อมข้ามโปรตีนได้ลดลง (Balange & Benjakul, 2009)

สำหรับเหตุผลที่พารา-เบนโซควิโนนมีประสิทธิภาพในการปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มเจลาตินสูงกว่าไฮโดรควิโนน เนื่องจากพารา-เบนโซควิโนนอยู่ในรูปที่ถูกออกซิไดส์ (oxidized form) ซึ่ง Strauss & Gibson (2004) อธิบายว่าการที่สารประกอบฟีนอลิกหรือควิโนนที่อยู่ในรูปที่ถูกรีดิวซ์ (reduced form) จะเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนได้นั้น ขั้นตอนแรกจะต้องถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่ถูกออกซิไดส์ก่อน เมื่อทำปฏิกิริยากับโปรตีนแล้วควิโนนที่อยู่ในรูปที่ถูกออกซิไดส์จะถูกเปลี่ยนกลับไปอยู่ในรูปที่ถูกรีดิวซ์ และสามารถถูกออกซิไดส์และทำปฏิกิริยากับโปรตีนได้อีกครั้ง และเกิดเป็นพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโปรตีน (รายละเอียดกลไกของปฏิกิริยาดังแสดงในบทที่ 2 หัวข้อ 2.3) สอดคล้องกับรายงานของ Rawel et al. (2002) ที่เสนอว่าความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบฟีนอลิกกับโปรตีน นอกจากจะขึ้นอยู่กับจำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลแล้ว ยังขึ้นกับความสามารถของสารประกอบฟีนอลิกที่จะถูกออกซิไดส์ไปเป็นควิโนนซึ่งเป็นตัวเชื่อมข้ามที่มีประสิทธิภาพสูง

ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับ Nuthong et al. (2009) ซึ่งศึกษาผลของออกซิเดชันของกรดแคพเพอิกต่อสมบัติของฟิล์มพลาสมาโปรตีนจากสุกร พบว่าการเร่งให้เกิดออกซิเดชันโดยการพ่น

ออกซิเจนลงในสารละลายฟิล์มที่เติมกรดแคฟเฟอิก ทำให้ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น ซึ่งผู้วิจัยเสนอว่าการพ่นออกซิเจนส่งผลให้กรดแคฟเฟอิกบางส่วนถูกออกซิไดส์เป็นควิโนนและมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาและเชื่อมข้ามโปรตีนได้ดีขึ้น

ในทำนองเดียวกัน Hoque et al. (2011) ศึกษาสมบัติของฟิล์มเจลาตินจากหมึกกระดองที่เติมเสริมสารสกัดจากเครื่องเทศที่มีกรดฟีนอลิก 3 ชนิด ได้แก่ อบเชย กานพลู และโป๊ยกั๊ก โดยแปรสถานะออกซิเดชันของสารสกัดออกเป็น 2 สถานะ ได้แก่ สารสกัดที่ออกซิไดส์และสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ พบว่าการเติมสารสกัดที่ออกซิไดส์ทำให้ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าเมื่อเทียบกับการเติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์

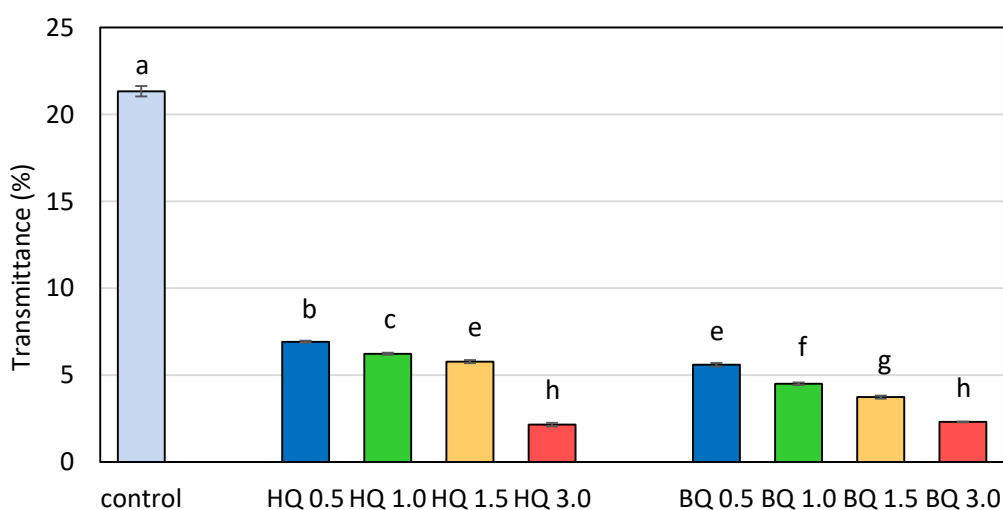
Insaward et al. (2015) รายงานผลในทำนองเดียวกันสำหรับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมกรดฟีนอลิก (กรดเพรูลิก กรดแคฟเฟอิก และกรดแกลลิก) ที่ออกซิไดส์ การเชื่อมข้ามของโปรตีนยืนยันได้จากการลดลงของความเข้มข้นของแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำซึ่งติดตามด้วย SDS-PAGE การลดลงของปริมาณไลซีนที่เกิดปฏิกิริยาได้และปริมาณซัลไฟไฮโดรลทั้งหมด รวมทั้งการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของสเปกตรัมของ FT-IR ในช่วงการยืดของพันธะคาร์บอน-ไนโตรเจน

#### 4.1.3 ความโปร่งใส

รูปที่ 4.3 แสดงความโปร่งใสของตัวอย่างฟิล์มเจลาตินโดยแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน พบว่าการเติมควิโนนมีผลอย่างมากต่อความโปร่งใสของฟิล์มเจลาติน ตัวอย่างฟิล์มที่เติมควิโนนมีค่าแสงส่องผ่านต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และค่าแสงส่องผ่านมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของควิโนนเพิ่มสูงขึ้น ตัวอย่างเช่นฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 3.0% และฟิล์มที่เติม พารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 3.0% มีค่าแสงส่องผ่านต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมถึง 90% González et al. (2011) และ Tang et al. (2005) รายงานการลดลงความโปร่งใสของฟิล์มที่เติมตัวเชื่อมข้ามโปรตีน เช่น กรดฟีนอลิก ความโปร่งใสที่ลดลงนี้เนื่องมาจากการเชื่อมข้ามระหว่าง

โมเลกุลโปรตีนทำให้ฟิล์มมีความหนาแน่นมากขึ้น ทำให้แสงส่องผ่านได้น้อยลง (Tang et al., 2005; Yi et al., 2006; González et al., 2011) รวมทั้งอาจเป็นผลมาจากผลิตภัณฑ์ที่มีสีที่ได้จากปฏิกิริยาของโปรตีนกับควิโนน (Rawel et al., 2002)

ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Gómez-Estaca et al. (2009) ที่ศึกษาการเติมสารสกัดจากโบเรจ (borage) ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรในวงศ์ Boraginaceae ในฟิล์มเจลลาตินจากหนังปลาตาเดียว (sole) พบว่าการเติมสารสกัดจากโบเรจทำให้ฟิล์มเจลลาตินจากหนังปลาตาเดียวมีความทึบแสงเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นผลจากการเชื่อมข้ามโปรตีนโดยสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัด ในขณะที่ Prodpran et al. (2012) รายงานว่าฟิล์มโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์จากปลาตาหวานที่มีการเชื่อมข้ามโปรตีนด้วยกรดแคฟเฟอิก แคทีคิน กรดเพรูลิก และกรดแทนนิก มีค่าแสงส่องผ่านลดลงเมื่อความเข้มข้นของตัวเชื่อมข้ามเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ González et al. (2011) รายงานในทำนองเดียวกันว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เชื่อมข้ามโดยเจนิพินมีความทึบแสงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเจนิพินเพิ่มขึ้น



รูปที่ 4. 3 ความโปร่งใส (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนน และพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.1.4 สี

ค่าสีในระบบ CIELAB ของฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนนแสดงดังตารางที่ 4.2 ตัวอย่างควบคุมมีความสว่าง ( $L^*$ ) สูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 83.37 ฟิล์มที่เติมควิโนนมีความสว่างต่ำกว่า ตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยความสว่างมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของควิโนนเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมไฮโดรควิโนนหรือพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5% ทำให้ค่าสีแดง ( $+a^*$ ) และค่าสีเหลือง ( $+b^*$ ) สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ( $p \leq 0.05$ ) อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นของควิโนนเพิ่มขึ้น ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองกลับมีค่าลดลง ในแง่มูมิ ตัวอย่างควบคุมมีมูมิเท่ากับ 83 องศา ซึ่งใกล้เคียงกับมูมิ 90 องศาซึ่งเป็นมูมิของสีเหลือง (McGuire, 1992) การเติมควิโนนส่งผลให้มูมิมีค่าลดต่ำลงจนเข้าใกล้ 0 องศา ซึ่งเป็นมูมิของสีแดง (McGuire, 1992) หรือกล่าวได้ว่าฟิล์มที่เติมควิโนนมีสีในเฉดส้มไปจนถึงแดง สำหรับความเข้มสี ฟิล์มที่เติมควิโนนเข้มข้น 0.5% มีความเข้มสีสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่ความเข้มสีมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของควิโนนเพิ่มขึ้น



ตารางที่ 4. 2 ค่าสีในระบบ CIELAB ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน  
เข้มข้น 0.5-3.0%

ตัวอย่าง ฟิล์ม	ความเข้มข้น ของควิโนน (%โดย น้ำหนักของ เจลลาติน)	$L^*$	$a^*$	$b^*$	มุมสี (องศา)	ความเข้มสี
Control	0	83.37±0.04 <sup>a</sup>	0.77±0.03 <sup>f</sup>	6.76±0.09 <sup>e</sup>	83.49± 0.28 <sup>a</sup>	6.81±0.09 <sup>i</sup>
HQ	0.5	43.47±0.11 <sup>b</sup>	13.87±0.05 <sup>a</sup>	14.60±0.06 <sup>a</sup>	46.47±0.13 <sup>b</sup>	20.14±0.07 <sup>a</sup>
	1.0	38.60±0.06 <sup>d</sup>	13.29±0.07 <sup>b</sup>	11.81±0.07 <sup>c</sup>	41.65±0.21 <sup>d</sup>	17.78±0.08 <sup>c</sup>
	1.5	35.55±0.13 <sup>e</sup>	12.63±0.10 <sup>c</sup>	9.66±0.07 <sup>d</sup>	37.40±0.40 <sup>e</sup>	15.90±0.04 <sup>e</sup>
	3.0	29.43±0.09 <sup>g</sup>	11.42±0.13 <sup>e</sup>	4.24±0.05 <sup>g</sup>	20.39±0.08 <sup>h</sup>	12.19±0.14 <sup>g</sup>
BQ	0.5	40.45±0.11 <sup>c</sup>	13.84±0.05 <sup>a</sup>	13.20±0.05 <sup>b</sup>	43.65±0.01 <sup>c</sup>	19.13±0.06 <sup>b</sup>
	1.0	35.57±0.14 <sup>e</sup>	13.28±0.06 <sup>b</sup>	9.60±0.03 <sup>d</sup>	35.86±0.15 <sup>f</sup>	16.39±0.05 <sup>d</sup>
	1.5	34.40±0.12 <sup>f</sup>	12.70±0.11 <sup>c</sup>	5.33±0.46 <sup>f</sup>	22.77±0.14 <sup>g</sup>	13.77±0.12 <sup>f</sup>
	3.0	27.72±0.02 <sup>h</sup>	11.65±0.01 <sup>d</sup>	1.57±0.07 <sup>h</sup>	7.67±0.31 <sup>i</sup>	11.75±0.01 <sup>h</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

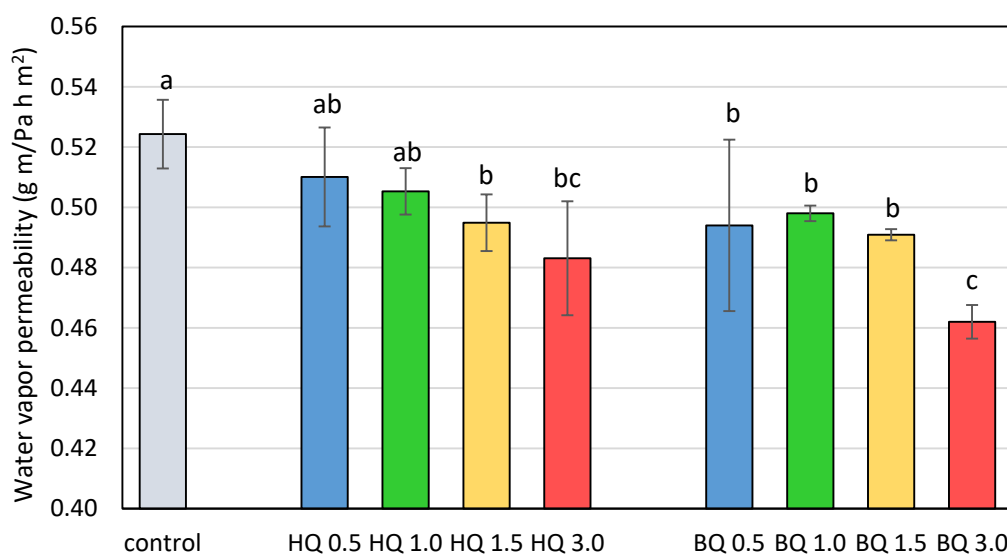
a, b, c... ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของควิโนนที่ต่างกัน โดยทั่วไปพบว่าฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนมีค่า  $L^*$  และค่า  $+b^*$  ต่ำกว่าฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนที่ความเข้มข้นเท่ากัน ในขณะที่  $+a^*$  มีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งทำให้ฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนมีมุมสีเข้าใกล้มุมของสีแดงมากขึ้น และความเข้มสีมีค่าต่ำกว่าฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนน การเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกและควิโนนกับโปรตีนมักได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบที่มีสี โดยสีของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเป็นผลมาจากปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ชนิดของสารประกอบฟีนอลิกและควิโนน ชนิดของกรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน และพีเอช (Pierpoint, 1969) นอกจากนี้สีที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากสีของควิโนนเองและสีของสารประกอบโมเลกุลใหญ่ที่ได้จากการเกิดพอลิเมอร์เชชันของสารประกอบฟีนอลิกหรือควิโนน

ผลที่ได้จากการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hoque et al. (2011) ที่พบว่าการเติมสารสกัดจากเครื่องเทศ (อบเชย กานพลู และโป๊ยกั๊ก) ที่ออกซิไดส์ทำให้ฟิล์มเจลาตินจากหนังหมึกกระดองมี  $L^*$  ลดลง ในขณะที่  $+b^*$  มีค่าสูงขึ้น นอกจากนี้ Nuthong et al. (2009) และ Insaward et al. (2015) รายงานผลในทำนองเดียวกันสำหรับฟิล์มพลาสติกโปรตีนจากสุกรและฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมกรดฟีนอลิกที่ออกซิไดส์

#### 4.1.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

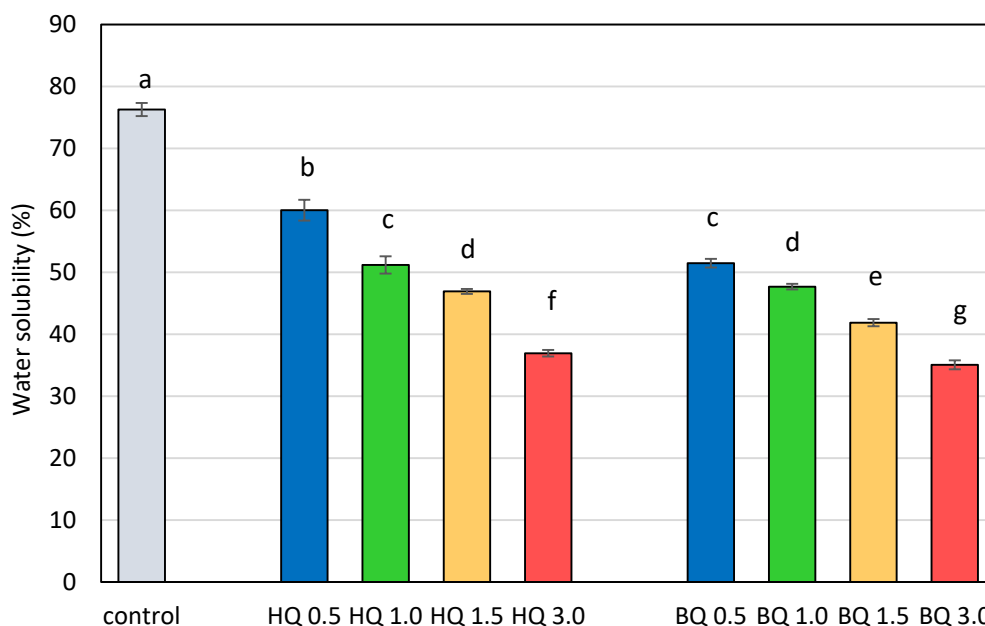
รูปที่ 4.4 แสดงสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนน พบว่าฟิล์มที่เติมควิโนนมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของควิโนนเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างฟิล์มที่เติมควิโนนต่างชนิดกัน พบว่าที่ความเข้มข้นของควิโนนเท่ากัน ฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนน และฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) สมบัติการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำที่ดีขึ้นของฟิล์มที่เติมควิโนนอาจเนื่องมาจากการเชื่อมข้ามของโปรตีนทำให้โครงสร้างของฟิล์มมีความหนาแน่นมากขึ้น ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Cisneros-Zevallos and Krochta (2006) และ González et al. (2011) ที่พบว่าการเชื่อมข้ามโปรตีนในฟิล์มทำให้ปริมาตรอิสระ (free volume) ภายในโครงสร้างตาข่ายของโปรตีนลดลง ไอน้ำจึงเคลื่อนที่ผ่านเมทริกซ์ของฟิล์มในอัตราที่ช้าลง



รูปที่ 4. 4 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.1.6 ความสามารถในการละลายน้ำ

รูปที่ 4.5 แสดงความสามารถในการละลายน้ำได้ของฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนนพบว่าฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนนมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม และฟิล์มที่เติม พารา-เบนโซควิโนนมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกว่าฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนที่ความเข้มข้นเท่ากันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการละลายน้ำมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของควิโนนเพิ่มขึ้น การที่ตัวอย่างฟิล์มที่เติมควิโนนมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำลงนี้เนื่องมาจากการที่ควิโนนสามารถเกิดปฏิกิริยาได้กับหมู่มีซัลของโปรตีนทำให้ปริมาณของหมู่ที่ชอบน้ำของโปรตีนลดลง ประกอบกับเกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนทำให้ฟิล์มโปรตีนมีโครงร่างตาข่ายที่หนาแน่นมากขึ้นและมีน้ำหนักโมเลกุลที่เพิ่มขึ้น โปรตีนจึงมีความสามารถในการละลายน้ำที่ลดลง (Rhim et al., 2000; Hoque et al., 2011)



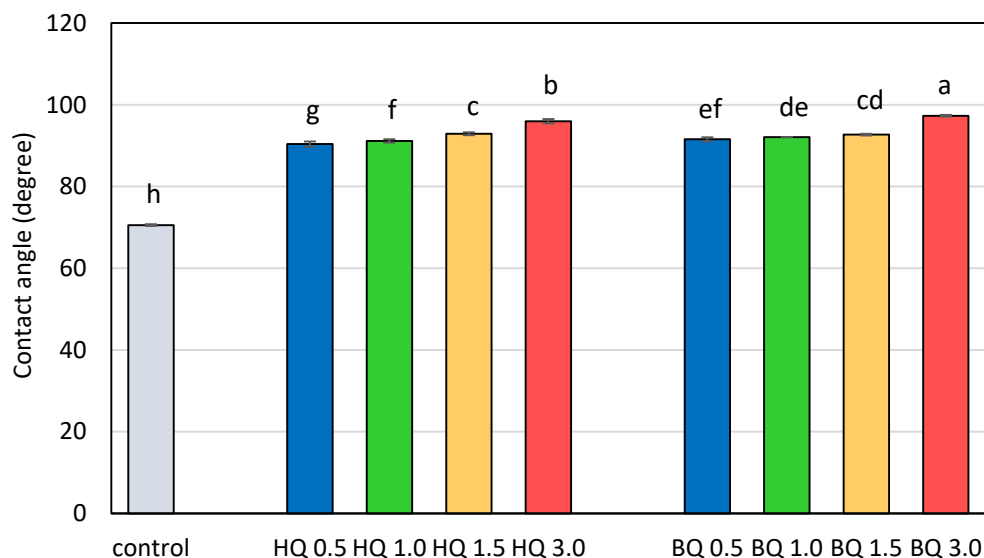
รูปที่ 4. 5 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการรายงานของ Hoque et al. (2011) ที่พบว่าฟิล์มเจลาตินจากหมึกกระดองที่เติมสารสกัดจากอบเชย กานพลู และโป๊ยกั๊ก ที่ออกซิไดส์ มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้ González et al. (2011) ยังรายงานว่า การเติมเงินพินเพียง 0.1% มีผลทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองลดต่ำลง และฟิล์มที่เติมเงินพินในปริมาณ 1% มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมถึง 45% อย่างไรก็ตาม การเติมเงินพินในปริมาณสูงกว่า 1% ไม่มีผลทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

#### 4.1.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

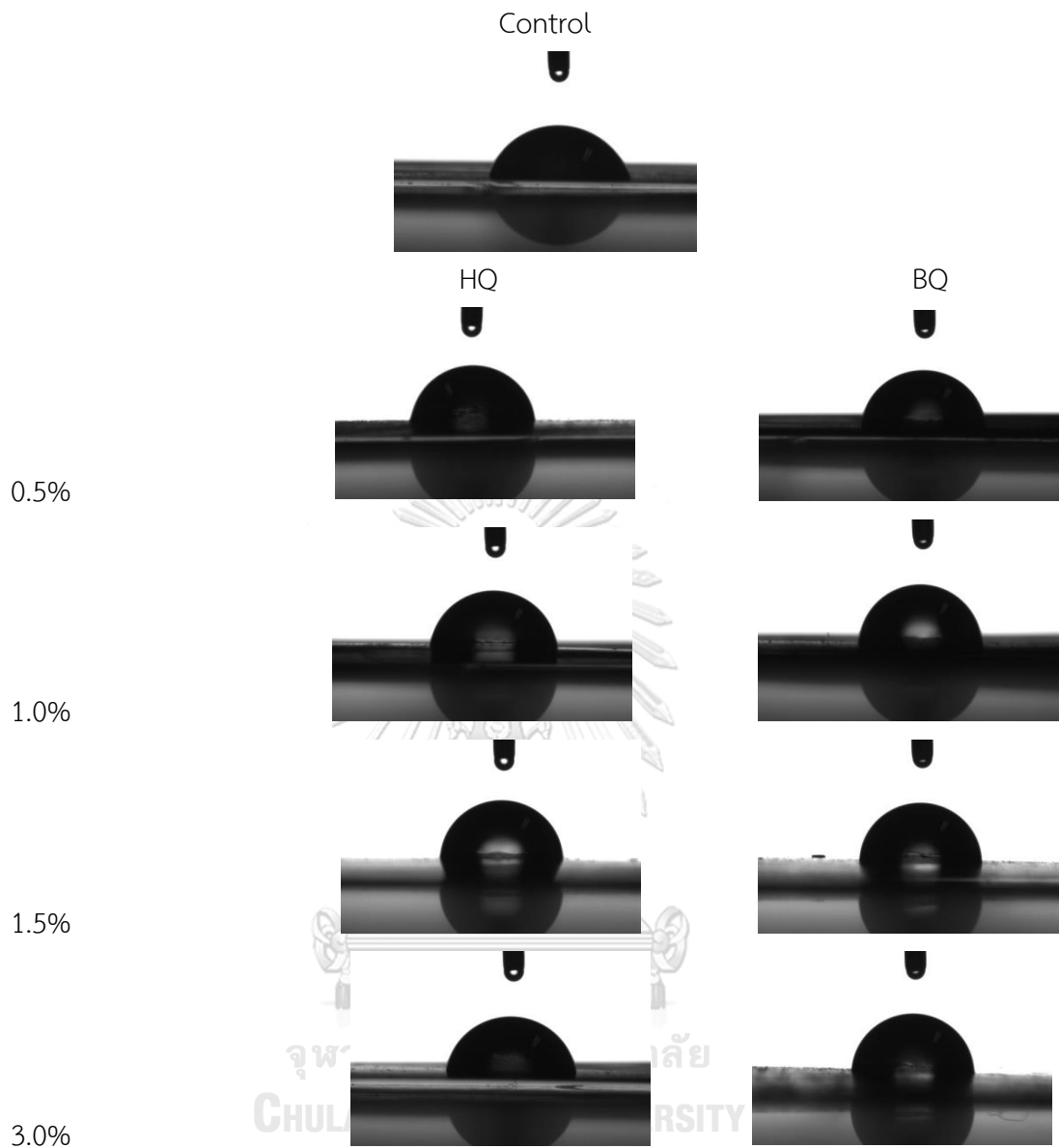
มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มแสดงถึงสมบัติความชอบน้ำ (hydrophilicity) หรือไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ของผิวฟิล์ม หากผิวฟิล์มเปียกโดยสมบูรณ์ (complete wetting) มุมสัมผัสจะมีค่าเท่ากับ 0 องศา แต่ถ้ามุมสัมผัสมีค่าระหว่าง 0-90 องศา ผิวฟิล์มนั้นมีสมบัติชอบน้ำ หากมุมสัมผัสมีค่าสูงกว่า 90 องศา ผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำ และมุมสัมผัสที่มีค่าสูงกว่า 150 องศา ไปจนถึง 180 องศา ซึ่งเป็นมุมสูงสุดเชิงทฤษฎี เป็นลักษณะเฉพาะของผิวฟิล์มที่ไม่ชอบน้ำสูงยิ่ง (superhydrophobic or ultrahydrophobic) ซึ่งอาจเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า lotus effect ดังนั้น หากผิวฟิล์มมีสมบัติชอบน้ำมากกว่า หยดน้ำจะแผ่ขยายสัมผัสกับผิวฟิล์มทำให้มุมสัมผัสมีค่าต่ำกว่า ในทางตรงกันข้ามหากผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำมากกว่า หมูที่ไม่ชอบน้ำบนผิวฟิล์มจะป้องกันไม่ให้ หยดน้ำแผ่ขยายบนผิวฟิล์ม มุมสัมผัสจึงมีค่าสูงกว่า

รูป 4.6 และ 4.7 แสดงมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มของตัวอย่างฟิล์มเจลลาติน ที่เติมควิโนน พบว่ามุมสัมผัสของตัวอย่างฟิล์มที่เติมควิโนนมีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความเข้มข้นของควิโนนเพิ่มขึ้น มุมสัมผัสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยฟิล์มที่เติมควิโนนทุกตัวอย่างมีมุมสัมผัสที่มีค่าสูงกว่า 90 องศา ซึ่งเห็นว่าผิวฟิล์มที่เติมควิโนนมีสมบัติไม่ชอบน้ำ สาเหตุที่ผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากการที่ควิโนนสามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่แอมิโนและหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของเจลลาติน ทำให้หมู่ดังกล่าวซึ่งมีสมบัติชอบน้ำเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้ลดลง (Ou et al., 2005) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Insaward et al. (2014) ที่ศึกษาการเติมกรดแกลลิก กรดแคฟเฟอิก และกรดเพอรูริกที่ออกซิไดส์ ในฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ซึ่งพบว่าผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำเพิ่มสูงขึ้น



รูปที่ 4. 6 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

Strauss & Gibson (2004) ศึกษาการเชื่อมข้ามเจลาตินในโคแอเซอร์เวต (coacervate) ด้วยสารประกอบฟีนอลิก และประเมินความไม่ชอบน้ำของโคแอเซอร์เวตโดยใช้ Sudan III ซึ่งเป็นสีย้อมที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic dye) พบว่าโคแอเซอร์เวตที่เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนสามารถดูดซับ Sudan III ได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่มีการดูดซับ Sudan III แสดงให้เห็นว่าการเชื่อมข้ามทำให้โปรตีนมีสมบัติไม่ชอบน้ำเพิ่มมากขึ้น



รูปที่ 4. 7 รูปร่างของหยดน้ำบนผิวของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน  
เข้มข้น 0.5-3.0%

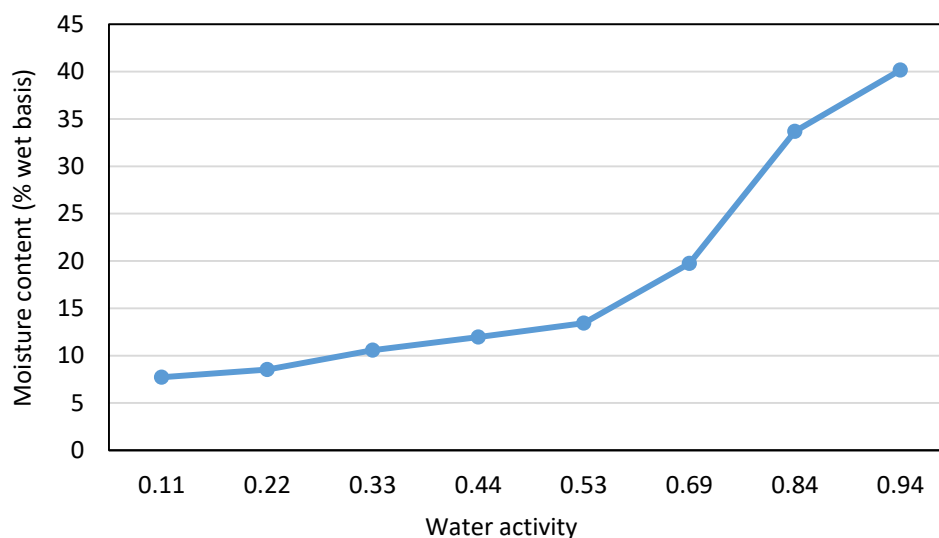
#### 4.1.8 เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้น

ผลการวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น สมบัติต่างๆ รายงานสำหรับตัวอย่างฟิล์มที่ได้ปรับสมดุล ในภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์คงที่ที่ 50% ซึ่งหมายความว่าตัวอย่างฟิล์มมีวอเตอร์แอกทिवิตีเท่ากับ 0.50 อย่างไรก็ตามการนำฟิล์มไปใช้งานในภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์หรือวอเตอร์แอกทिवิตีที่ต่างกันอาจทำให้สมบัติของฟิล์มแตกต่างกันไป ในขั้นตอนนี้จึงเป็นการศึกษาพฤติกรรมการดูดความชื้นของฟิล์ม โดยคัดเลือกตัวอย่างฟิล์มที่มีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดสูงสุด ซึ่งได้แก่ฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% และฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนน 1.5% ติดตามพฤติกรรมการดูดความชื้นที่อุณหภูมิคงที่ 25°C รวมทั้งวิเคราะห์สมบัติเชิงกลของฟิล์มที่วอเตอร์แอกทिवิตีต่างๆ

รูปที่ 4.8 และ รูปที่ 4.9 แสดงเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นของตัวอย่างฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% และตัวอย่างฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ตามลำดับ และตารางที่ 4.3 และ ตารางที่ 4.4 แสดงสมบัติเชิงกลของตัวอย่างฟิล์มทั้งสองที่สัมพันธ์กับวอเตอร์แอกทिवิตี พบว่าตัวอย่างฟิล์มมีเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นชนิด type II ตามการจำแนกของ Brunauer et al. (1940) ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปตัวเอส (sigmoid isotherm) แม้ว่าในช่วงวอเตอร์แอกทिवิตีต่ำๆ (0.11-0.43) จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงของปริมาณความชื้นได้ไม่ชัดเจนนัก เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นชนิด type II นี้เป็นลักษณะเฉพาะของระบบที่ประกอบด้วยสารทั้งที่เป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ (เช่น โพรตีน) และตัวถูกละลายที่มีโมเลกุลเล็ก (เช่น กลีเซอรอลและควิโนน) โดยในช่วงวอเตอร์แอกทिवิตีเท่ากับ 0.11-0.43 ปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและเมื่อวอเตอร์แอกทिवิตีเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นปริมาณความชื้นจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และการเพิ่มขึ้นของปริมาณความชื้นจะช้าลงอีกครั้งในช่วงวอเตอร์แอกทिवิตีสูงๆ (>0.84) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Rachtanapun et al. (2012) ซึ่งศึกษาเส้นพฤติกรรมดูดความชื้นของฟิล์มเดี่ยว (ฟิล์มโพรตีนถั่วเหลืองสกัด และ ฟิล์ม



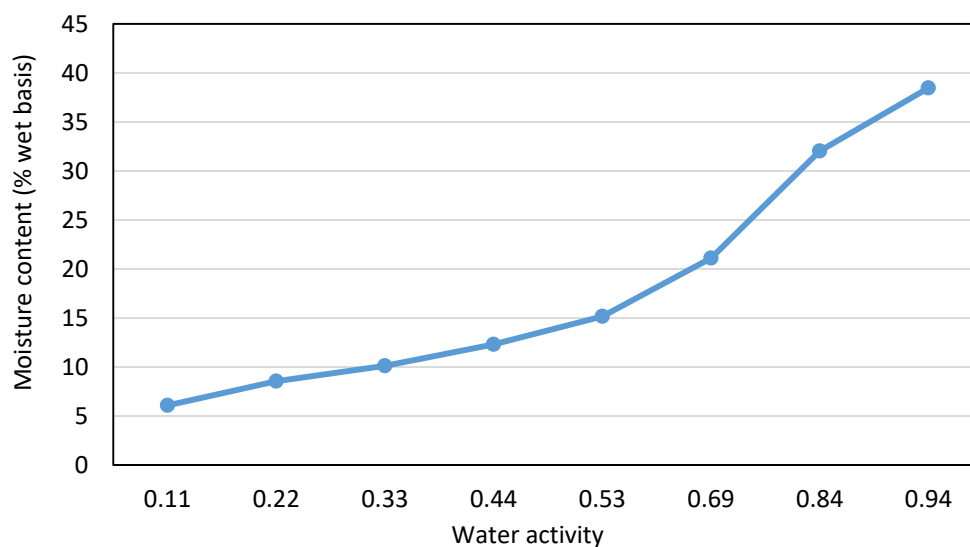
คาร์บอกซีเมทิลโคโทซาน) และฟิล์มคอมพอสิตที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและคาร์บอกซีเมทิลโคโทซาน พบว่าฟิล์มทุกชนิดมีเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นชนิด type II



รูปที่ 4. 8 เส้นพฤติกรรมดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 °C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5%

สำหรับสมบัติเชิงกล (ตารางที่ 4.3 และตารางที่ 4.4) พบว่าวอเตอร์แอกทिवิตีของฟิล์มมีผลต่อความต้านทานแรงดึงขาดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยความต้านทานแรงดึงขาดของตัวอย่างฟิล์มมีค่าลดลงเมื่อวอเตอร์แอกทिवิตีเพิ่มขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีแนวโน้มลดลงเมื่อวอเตอร์แอกทिवิตีมีค่าต่ำมากๆ หรือสูงมากๆ เมื่ออยู่ในภาวะที่มีวอเตอร์แอกทिवิตีต่ำ ฟิล์มจะมีลักษณะแข็งและเปราะ เนื่องจากฟิล์มเกิดการสูญเสียความชื้นไปให้กับสิ่งแวดล้อม ในขณะที่เมื่อตัวอย่างฟิล์มอยู่ในภาวะที่มีวอเตอร์แอกทिवิตีสูง ฟิล์มเกิดการดูดความชื้นจากบรรยากาศโดยรอบ น้ำที่เพิ่มขึ้นจะมีผลเจือจางอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน (dilution effect) ส่งผลให้ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง ผลที่ได้นี้ชี้ให้เห็นว่าการนำฟิล์มไปใช้ต้องคำนึงถึงภาวะที่นำ

ฟิล์มไปใช้งานด้วย



รูปที่ 4. 9 เส้นพฤติกรรมดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 °C ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 1.5%

ตารางที่ 4. 3 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่วอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ

วอเตอร์แอกทิวิตี	ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)	การยืดตัวถึงจุดขาด (%)
0.11	21.60±0.21 <sup>a</sup>	9.17±1.02 <sup>s</sup>
0.22	17.44±0.58 <sup>b</sup>	14.03±1.40 <sup>s</sup>
0.33	10.15±0.87 <sup>c</sup>	186.95±12.74 <sup>c</sup>
0.43	7.54±0.28 <sup>d</sup>	243.83±16.33 <sup>b</sup>
0.53	4.53±0.27 <sup>e</sup>	276.67±8.04 <sup>a</sup>
0.69	4.62±0.14 <sup>e</sup>	167.50±16.39 <sup>d</sup>
0.84	3.77±0.21 <sup>f</sup>	140.83±15.07 <sup>e</sup>
0.94	0.83±0.23 <sup>s</sup>	80.00±2.50 <sup>f</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c... ค่าเฉลี่ยในสมมติเดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

ตารางที่ 4.4 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่วอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ

วอเตอร์แอกทิวิตี	ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)	การยืดตัวถึงจุดขาด (%)
0.11	21.50±1.18 <sup>a</sup>	7.17±0.49 <sup>f</sup>
0.22	18.89±0.02 <sup>b</sup>	12.67±0.26 <sup>f</sup>
0.33	11.23±0.34 <sup>c</sup>	155.25±9.63 <sup>d</sup>
0.43	9.30±0.32 <sup>d</sup>	255.10±5.92 <sup>b</sup>
0.53	6.76±0.26 <sup>e</sup>	278.33±17.56 <sup>a</sup>
0.69	6.21±0.55 <sup>e</sup>	190.27±4.88 <sup>c</sup>
0.84	4.82±0.52 <sup>f</sup>	156.67±1.44 <sup>d</sup>
0.94	1.28±0.20 <sup>g</sup>	84.88±2.68 <sup>e</sup>

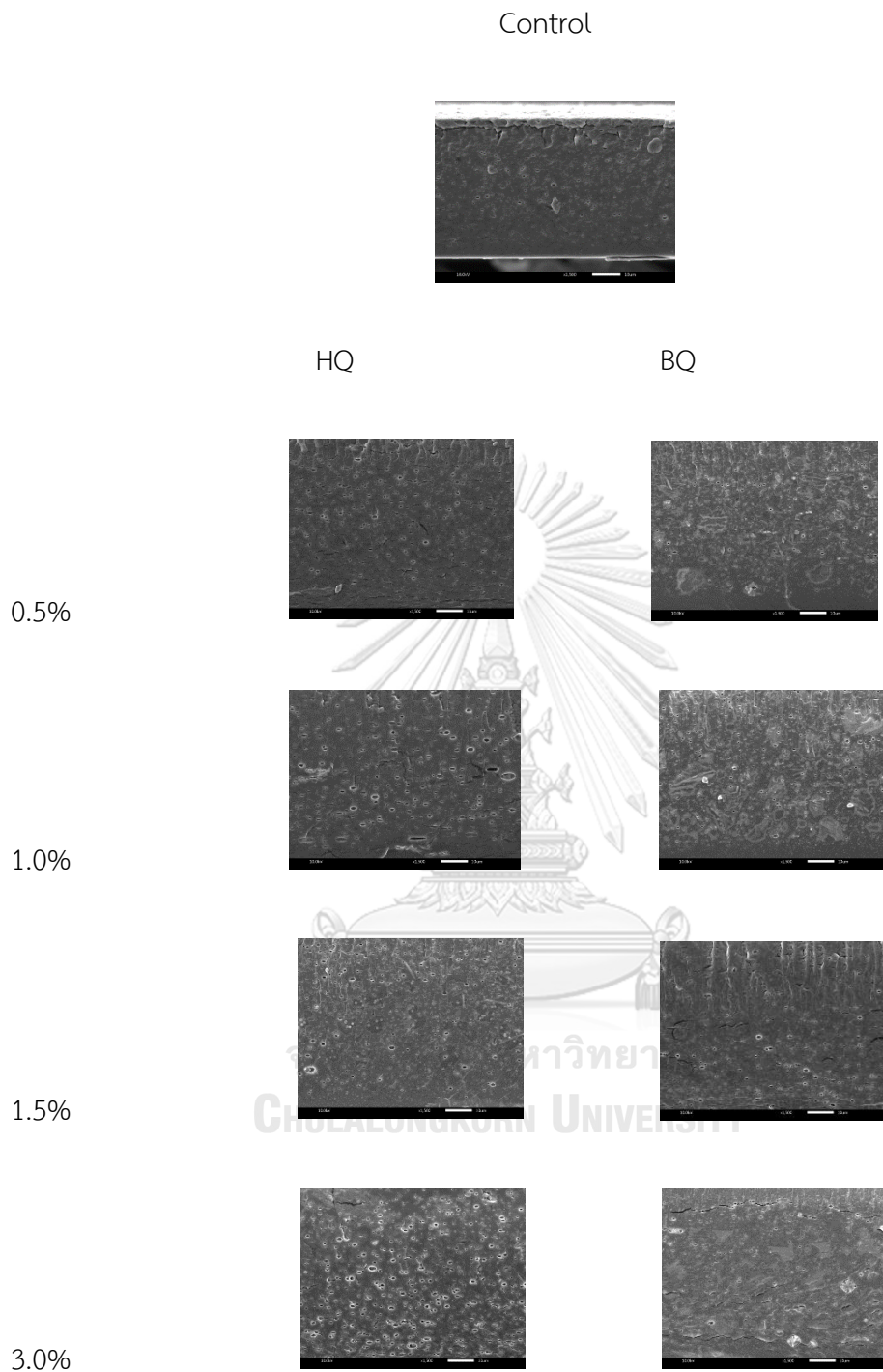
ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

#### 4.1.9 โครงสร้างระดับจุลภาค

รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนนที่ศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าโครงสร้างภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มไม่แตกต่างกันมากนัก โดยเมื่อความเข้มข้นของควิโนนเพิ่มสูงขึ้น ตัวอย่างฟิล์มมีโครงสร้างที่หนาแน่นขึ้นเล็กน้อยซึ่งอาจเกิดจากการเชื่อมข้ามของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น (Haslam, 1989)

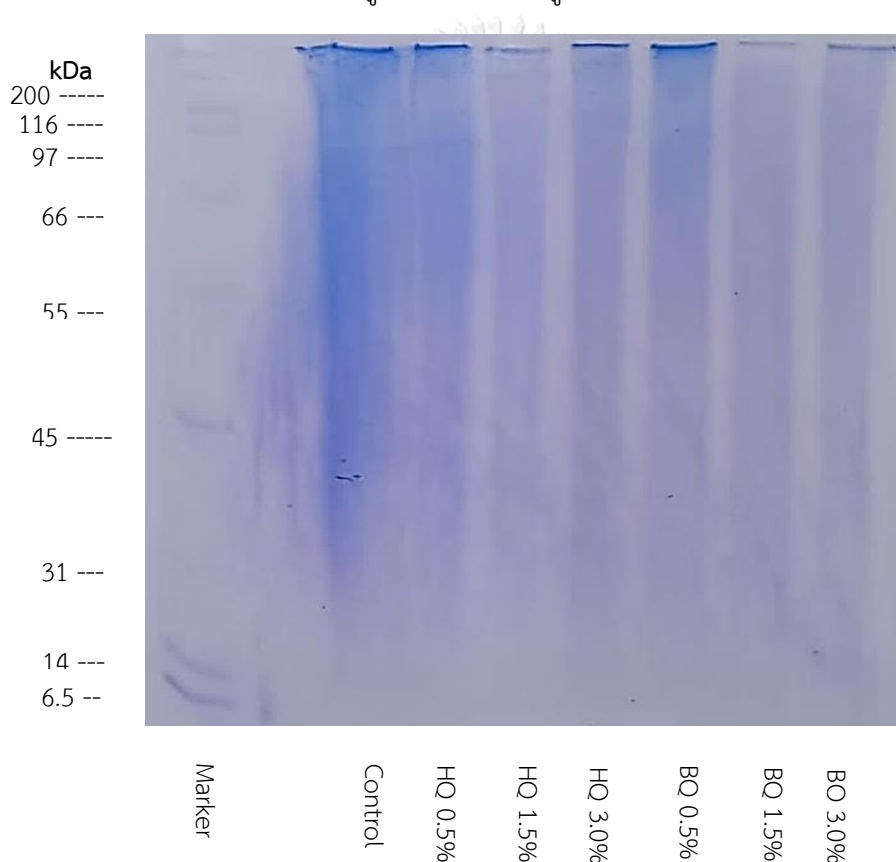
ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Nuthong et al. (2009) ที่พบว่าการเติมกรดแคพเพอิกที่ออกซิไดส์เข้มข้น 3% มีผลให้ฟิล์มพลาสมาโปรตีนจากสุกรมี่โครงสร้างภาคตัดขวางที่หนาแน่นมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม เช่นเดียวกับ González et al. (2011) ที่พบว่าการรวมตัวกันของโปรตีนในฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมเจนิพินที่ความเข้มข้นสูง



รูปที่ 4. 10 ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0% ถ่ายที่กำลังขยาย 1,500 เท่า

#### 4.1.10 รูปแบบของแถบโปรตีน

สำหรับการติดตามการเชื่อมข้ามของโปรตีน งานวิจัยนี้ได้คัดเลือกตัวอย่างฟิล์มมาศึกษารูปแบบของแถบโปรตีนด้วย SDS-PAGE ซึ่งได้แก่ ตัวอย่างควบคุม ฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 0.5% ฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 3.0% ฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5% ฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% และฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 3.0% รูปที่ 4.11 แสดงรูปแบบของแถบโปรตีนที่ศึกษาด้วย SDS-PAGE



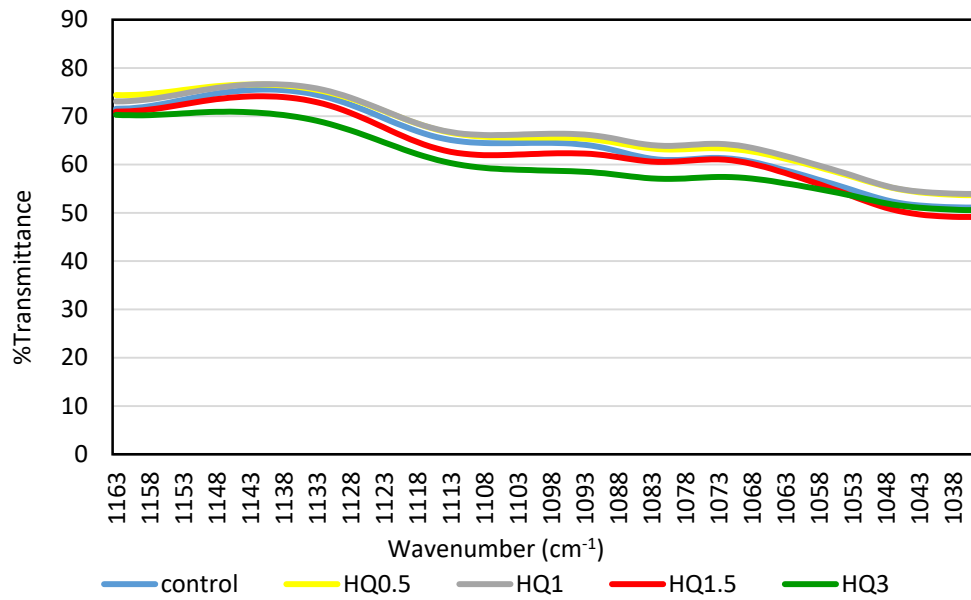
รูปที่ 4. 11 รูปแบบแถบโปรตีนของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%

จากรูปที่ 4.11 จะเห็นได้ว่าแถบของโปรตีนของฟิล์มเจลาตินทุกตัวอย่างมีลักษณะเป็นปื้น (smeared pattern) ไม่แยกออกเป็นแถบที่ชัดเจน ลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะที่พบได้สำหรับเจลาติน เช่นเดียวกับรายงานของ Zhang et al. (2006) ทั้งนี้เนื่องจากเจลาตินเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำคอลลาเจนมาไฮโดรไลส์บางส่วนและได้เป็นเพปไทด์ขนาดต่างๆ จากงานวิจัยนี้สามารถเห็นได้ว่าในตัวอย่างที่เติมควิโนนมีการลดลงของความเข้มของแถบโปรตีน ซึ่งอาจเป็นผลจากการเชื่อมข้ามโปรตีน (Hoque et al., 2011) อย่างไรก็ตามเนื่องจากรูปแบบแถบโปรตีนที่ติดตามด้วย SDS-PAGE ไม่ชัดเจนนัก ในงานวิจัยนี้จึงติดตามการเชื่อมข้ามโปรตีนโดยใช้เทคนิคอื่นร่วมด้วย ได้แก่ FT-IR spectroscopy ซึ่งจะกล่าวถึงในหัวข้อต่อไป

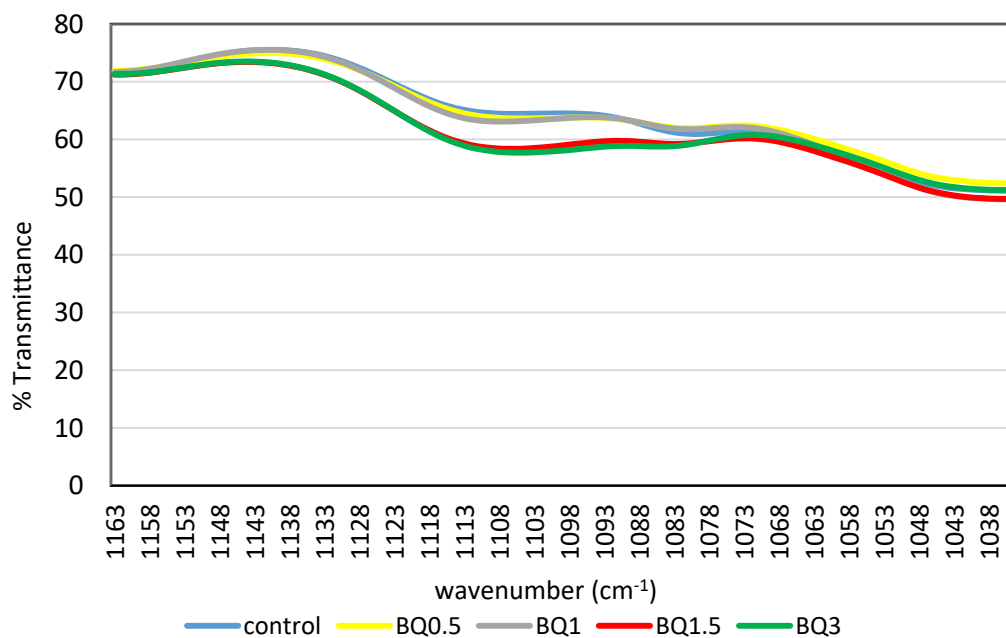
#### 4.1.11 การเกิดพันธะคาร์บอน-ไนโตรเจน

เนื่องจากควิโนนสามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่แอมิโนของกรดแอมิโนที่เป็นหน่วยย่อยของพอลิเพปไทด์และเกิดเป็นพันธะโควาเลนต์ C-N เชื่อมข้ามโปรตีนได้ ในงานวิจัยนี้จึงใช้เทคนิค FT-IR เพื่อติดตามการเกิดพันธะโควาเลนต์ C-N ในตัวอย่างฟิล์มที่เติมควิโนน โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของร้อยละของแสงส่องผ่านในช่วงที่พันธะ C-N เกิดการยืด (C-N stretching region) พบว่าสเปกตรัม FT-IR ของตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนนมีลักษณะใกล้เคียงกับสเปกตรัมของเจลาตินซึ่งรายงานไว้ก่อนหน้านี้โดย Sisson et al. (2009) โดยพบการดูดกลืนแสงที่เลขคลื่นประมาณ 1100 เซนติเมตร<sup>-1</sup> ซึ่งเป็นช่วงเดียวกับช่วงการเกิดการยืดของพันธะ C-N ที่รายงานไว้ก่อนหน้านี้โดย Klein (2012) โดยที่ช่วงเลขคลื่นดังกล่าว ฟิล์มที่เติมควิโนนมีร้อยละของแสงส่องผ่านต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยจะเห็นได้ชัดเจนในตัวอย่างฟิล์มที่เติมควิโนนในปริมาณสูง (1.5 และ 3.0%) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบระหว่างฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน พบว่าตัวอย่างที่เติมพารา-เบนโซควิโนนมีร้อยละของแสงส่องผ่านในช่วงการยืดของพันธะ C-N ต่ำกว่าตัวอย่างที่เติมไฮโดรควิโนน ผลที่ได้นี้ชี้ให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นของพันธะ C-N ในตัวอย่างฟิล์มที่เติมควิโนน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในตัวอย่างที่เติมควิโนนในปริมาณสูงและตัวอย่างที่เติม

## พารา-เบนโซควิโนน



รูปที่ 4. 12 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%



รูปที่ 4. 13 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%

## 4.2 ผลของการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินที่เติมควิโนน

ในขั้นตอนนี้คัดเลือกจากตัวอย่างฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนจากหัวข้อ 4.1 ที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงที่สุดมาประเภทละ 1 ตัวอย่าง ซึ่งได้แก่ ฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% และฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% มาศึกษาผลของการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์ม แปรอุณหภูมิการบ่มสารละลายฟิล์มเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 45, 55 และ 65°C และแปรระยะเวลาการบ่มเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 10, 20 และ 30 นาที เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งได้แก่ฟิล์มชนิดเดียวกันที่ไม่บ่มสารละลายฟิล์ม ผลการวิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างฟิล์มมีดังต่อไปนี้

### 4.2.1 ความหนา

ตารางที่ 4.5 แสดงความหนาของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% และบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 65°C เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที ตามที่ได้กล่าวแล้วว่าปัจจัยที่มีผลต่อความหนาของฟิล์ม ได้แก่ ปริมาณของแข็ง (Mahmoud & Savello, 1992; Cuq et al., 1996; Galus et al., 2012) เนื่องจากตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตในการศึกษานี้มีปริมาณของแข็งที่ใกล้เคียงกัน ฟิล์มที่ได้จึงมีความหนาไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) โดยตัวอย่างฟิล์มที่เติมควิโนนที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มมีความหนาอยู่ในช่วง 0.10-0.13 มิลลิเมตร ดังนั้นในการทดลองนี้หากตัวอย่างฟิล์มมีสมบัติด้านใดด้านหนึ่งที่แตกต่างกัน ความแตกต่างนั้นไม่ได้เป็นผลมาจากความหนาของฟิล์ม



ตารางที่ 4. 5 ความหนาของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มสารละลายฟิล์ม		ความหนา (มิลลิเมตร) <sup>ns</sup>
	อุณหภูมิ (°C)	ระยะเวลา (นาที)	
Control(HQ1.5)	-	-	0.10±0.02
HQ1.5	45	10	0.12±0.01
		20	0.12±0.10
		30	0.12±0.04
	55	10	0.13±0.09
		20	0.11±0.05
		30	0.11±0.01
	65	10	0.13±0.02
		20	0.11±0.02
		30	0.10±0.10
Control(BQ1.5)	-	-	0.12±0.00
BQ1.5	45	10	0.12±0.02
		20	0.11±0.20
		30	0.11±0.02
	55	10	0.13±0.11
		20	0.11±0.03
		30	0.10±0.10
	65	10	0.12±0.04
		20	0.12±0.02
		30	0.11±0.04

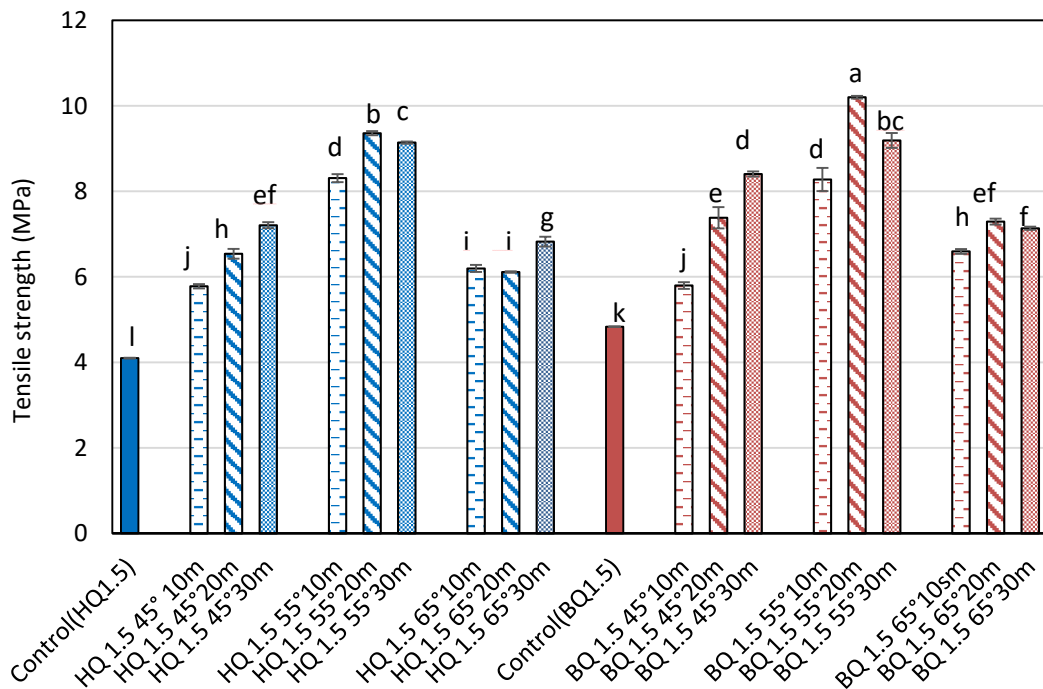
ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ )

#### 4.2.2 สมบัติเชิงกล

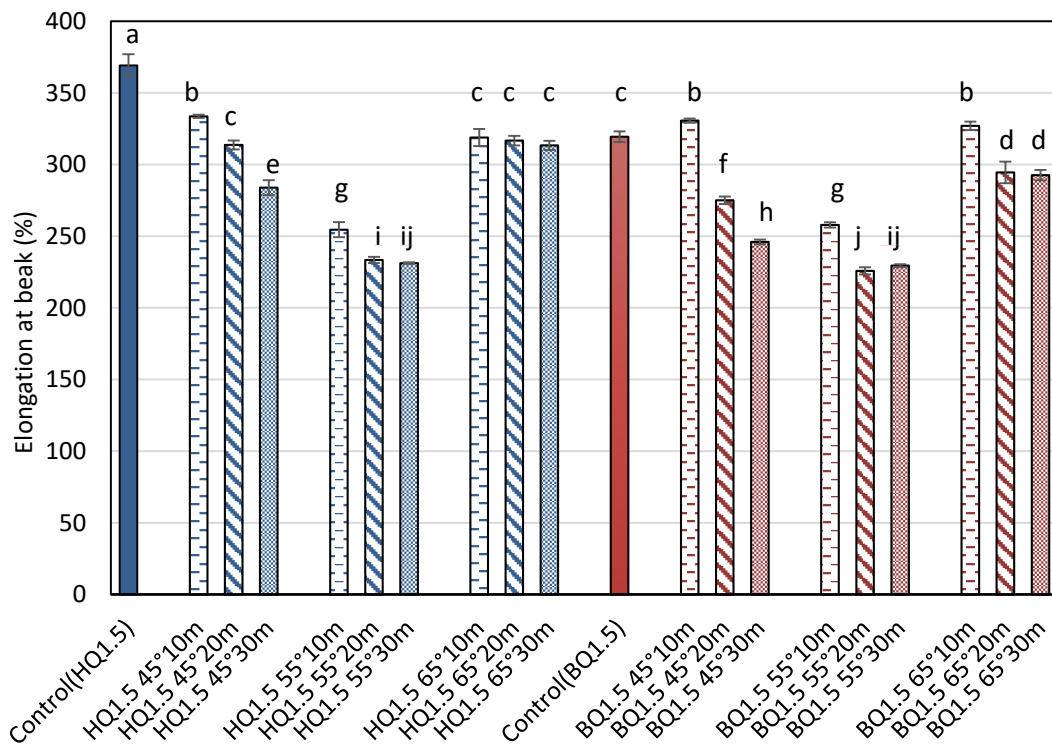
รูปที่ 4.14 และ 4.15 แสดงความต้านทานแรงดึงขาดและการยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% และบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 45, 55 และ 65°C เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที พบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาการบ่มสารละลายฟิล์มมีผลต่อความต้านทานแรงดึงขาดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมซึ่งผลิตโดยไม่มีขั้นตอนการบ่มสารละลายฟิล์ม การบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที ส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงที่สุด โดยฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนน ในช่วงอุณหภูมิการบ่ม 45 และ 55°C พบว่าเมื่ออุณหภูมิการบ่มเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของพันธะไดซัลไฟด์ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนไรออล-ไดซัลไฟด์ (Jensen, 1959) ที่เป็นผลจากการให้ความร้อนแก่โปรตีน แต่เมื่ออุณหภูมิการบ่มสารละลายฟิล์มเพิ่มขึ้นเป็น 65°C ความต้านทานแรงดึงขาดกลับมีค่าลดลง อุณหภูมิการบ่มที่สูงมากเกินไปอาจมีผลทำลายโครงสร้างโปรตีน ทำให้โปรตีนเกิดการจับตัวกัน (aggregation) ส่งผลให้โครงสร้างร่างแหของโปรตีนที่เกิดขึ้นมีความไม่สม่ำเสมอและฟิล์มที่ได้มีความแข็งแรงเชิงกลด้อยลง Schrieber and Gareis (2007) เสนอว่าอุณหภูมิที่สูงกว่า 60°C อาจส่งผลให้โครงสร้างของเจลาตินถูกทำลาย

ในด้านการยึดตัวถึงจุดขาด พบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนในช่วงอุณหภูมิ 45 และ 55°C ทำให้การยึดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง โดยฟิล์มที่ผลิตโดยการบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 55°C มีการยึดตัวถึงจุดขาดต่ำที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเชื่อมข้ามโปรตีนด้วยพันธะโควาเลนต์ที่เกิดขึ้นในระดับสูงในช่วงอุณหภูมิดังกล่าว ฟิล์มจึงยึดตัวได้ลดลง



รูปที่ 4. 14 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ โดย Liu et al. (2004) ที่ศึกษาการปรับปรุงฟิล์มโปรตีนถั่วลิสงโดยการบ่มสารละลายฟิล์มที่ 60, 70, 80 และ 90°C เป็นเวลา 30 นาที พบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 60°C ไม่มีผลต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มที่ได้ ( $p > 0.05$ ) แต่การบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90°C ทำให้ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดยังก์มอดูลัส และความเหนียว (toughness) สูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่บ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )



รูปที่ 4. 15 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

Cao et al. (2007) ศึกษาการบ่มสารละลายฟิล์มโปรตีนคอมพอสิตของโปรตีนถั่วเหลืองและเจลลาตินที่ 50, 60, 70, 80 และ 90°C เป็นเวลา 20 นาที พบว่าเมื่ออุณหภูมิในการบ่มสารละลายฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดเพิ่มสูงขึ้น โดยฟิล์มที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 90°C มีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น 26.8% เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่บ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน

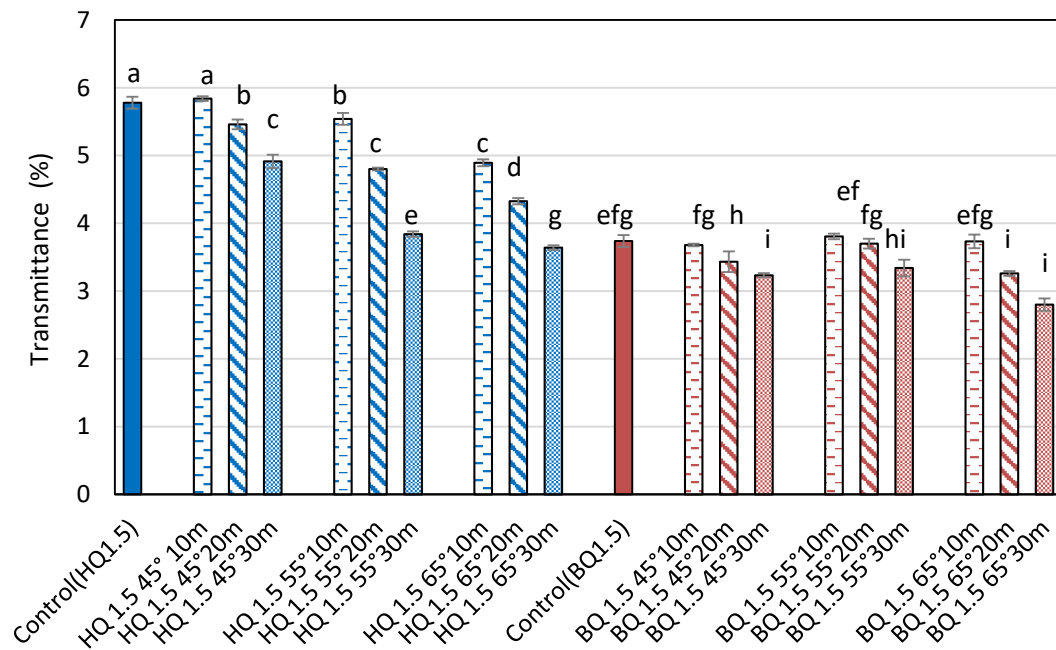
Hoque et al. (2010) ศึกษาผลของอุณหภูมิการบ่มสารละลายฟิล์มต่อสมบัติของฟิล์มเจลลาตินจากหมึกกระดอง โดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 40, 50, 60, 70, 80 และ 90°C เป็นเวลา 30 นาที พบว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 60 และ 70°C ส่งผลให้ฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด แต่เมื่ออุณหภูมิการบ่มสูงกว่า 70°C ความต้านทานแรงดึงขาดกลับมีค่าลดลง ในด้านการยืดตัวถึงจุด

ขาด พบว่าการบ่มในช่วง 40-60°C ส่งผลให้การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง แต่เมื่ออุณหภูมิการบ่มเพิ่มสูงขึ้น (70-90°C) การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าเพิ่มสูงขึ้น

#### 4.2.3 ความโปร่งใส

รูปที่ 4.16 แสดงความโปร่งใสของตัวอย่างฟิล์มในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มสารละลายฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น โดยทั่วไปพบว่าร้อยละของแสงส่องผ่านมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม ( $p \leq 0.05$ ) โดยตัวอย่างฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนมีความโปร่งใสต่ำกว่าฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 30 นาที มีความโปร่งใสต่ำที่สุด

สาเหตุที่การบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนทำให้ฟิล์มมีความโปร่งใสลดลงอาจเนื่องมาจากความร้อนสามารถช่วยเร่งปฏิกิริยาระหว่างควิโนนและโปรตีนได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารประกอบที่มีสี (Pierpoint, 1969) รวมทั้งอาจทำให้โปรตีนเกิดการรวมตัวกันเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้น จึงมีผลขัดขวางการส่องผ่านของแสง ฟิล์มจึงมีความโปร่งใสลดลง (Tang et al., 2005; Yi et al., 2006; Denavi et al., 2009; González et al., 2011)



รูปที่ 4. 16 ความโปร่งใสของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.2.4 ลี

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าสีในระบบ CIELAB ของตัวอย่างฟิล์ม พบว่าเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาการบ่มสารละลายฟิล์มเพิ่มขึ้น ความสว่าง ( $L^*$ ) แนวน้ำตาลลง ในขณะที่ค่าสีแดง ( $+a^*$ ) และค่าสีเหลือง ( $+b^*$ ) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในขณะที่มุมสีของตัวอย่างฟิล์มทั้งหมดอยู่ในช่วง 22-38 องศา ซึ่งอยู่ในเขตสีส้มแดง นอกจากนี้ยังพบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มทำให้ฟิล์มที่ได้มีความเข้มสีเพิ่มขึ้น ตามที่กล่าวแล้วว่าปฏิกิริยาของควิโนนและโปรตีนให้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารประกอบที่มีสี (Pierpoint, 1969) และความร้อนอาจมีผลเร่งปฏิกิริยาดังกล่าว ฟิล์มที่ได้จึงมีสีเข้มขึ้น

ตารางที่ 4. 6 ค่าสีในระบบ CIELAB ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มสารละลายฟิล์ม		$L^*$	$a^*$	$b^*$	มุมสี (องศา)	ความเข้มสี	
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)						
Control(HQ 1.5)	-	-	35.55±0.13 <sup>a</sup>	12.63±0.10 <sup>m</sup>	9.66±0.07 <sup>ab</sup>	37.40±0.40 <sup>a</sup>	15.90±0.04 <sup>h</sup>	
HQ1.5	45	10	34.86±0.07 <sup>b</sup>	13.41±0.11 <sup>k</sup>	9.54±0.06 <sup>cd</sup>	35.43±0.37 <sup>b</sup>	16.46±0.06 <sup>f</sup>	
		20	34.63±0.17 <sup>c</sup>	14.39±0.09 <sup>h</sup>	9.53±0.09 <sup>cd</sup>	33.52±0.40 <sup>c</sup>	17.26±0.03 <sup>d</sup>	
		30	34.57±0.04 <sup>c</sup>	14.63±0.06 <sup>g</sup>	9.45±0.00 <sup>de</sup>	32.87±0.11 <sup>d</sup>	17.42±0.05 <sup>c</sup>	
	55	10	34.54±0.04 <sup>c</sup>	14.57±0.14 <sup>g</sup>	9.42±0.06 <sup>e</sup>	32.87±0.11 <sup>d</sup>	17.35±0.15 <sup>cd</sup>	
		20	34.03±0.03 <sup>hi</sup>	14.90±0.04 <sup>cde</sup>	9.52±0.03 <sup>cd</sup>	32.59±0.14 <sup>d</sup>	17.69±0.03 <sup>b</sup>	
		30	33.78±0.08 <sup>j</sup>	14.98±0.03 <sup>bc</sup>	9.58±0.05 <sup>bc</sup>	32.62±0.15 <sup>d</sup>	17.78±0.04 <sup>b</sup>	
	65	10	34.3±0.04 <sup>de</sup>	14.83±0.02 <sup>de</sup>	9.57±0.03 <sup>bc</sup>	32.85±0.05 <sup>d</sup>	17.66±0.03 <sup>b</sup>	
		20	33.65±0.02 <sup>k</sup>	14.95±0.05 <sup>bcd</sup>	9.65±0.04 <sup>ab</sup>	32.86±0.02 <sup>d</sup>	17.79±0.06 <sup>b</sup>	
		30	32.96±0.05 <sup>l</sup>	15.06±0.04 <sup>b</sup>	9.70±0.02 <sup>a</sup>	32.77±0.04 <sup>d</sup>	17.91±0.04 <sup>a</sup>	
	Control(BQ1.5)	-	-	34.40±0.12 <sup>d</sup>	12.70±0.11 <sup>lm</sup>	5.33±0.05 <sup>l</sup>	22.77±0.14 <sup>j</sup>	13.77±0.12 <sup>l</sup>
	BQ1.5	45	10	34.61±0.02 <sup>c</sup>	12.77±0.01 <sup>l</sup>	5.38±0.01 <sup>l</sup>	22.86±0.02 <sup>j</sup>	13.86±0.00 <sup>l</sup>
			20	34.16±0.01 <sup>fg</sup>	13.45±0.09 <sup>k</sup>	5.58±0.07 <sup>k</sup>	22.53±0.12 <sup>j</sup>	14.56±0.10 <sup>k</sup>
30			34.12±0.02 <sup>gh</sup>	14.00±0.04 <sup>l</sup>	5.87±0.02 <sup>j</sup>	22.72±0.12 <sup>j</sup>	15.18±0.02 <sup>j</sup>	
55		10	34.27±0.02 <sup>ef</sup>	13.74±0.02 <sup>j</sup>	6.18±0.04 <sup>i</sup>	24.22±0.14 <sup>g</sup>	15.06±0.04 <sup>j</sup>	
		20	33.93±0.04 <sup>i</sup>	14.40±0.12 <sup>h</sup>	6.25±0.12 <sup>i</sup>	23.46±0.17 <sup>h</sup>	15.70±0.12 <sup>j</sup>	
		30	31.53±0.03 <sup>m</sup>	14.78±0.03 <sup>ef</sup>	6.25±0.01 <sup>i</sup>	22.95±0.01 <sup>i</sup>	16.05±0.03 <sup>g</sup>	
65		10	30.59±0.05 <sup>n</sup>	14.69±0.09 <sup>fg</sup>	6.75±0.07 <sup>h</sup>	24.67±0.10 <sup>e</sup>	16.17±0.12 <sup>g</sup>	
		20	30.52±0.07 <sup>n</sup>	14.93±0.03 <sup>bcd</sup>	6.84±0.10 <sup>g</sup>	24.60±0.28 <sup>ef</sup>	16.43±0.06 <sup>f</sup>	
		30	28.54±0.07 <sup>o</sup>	15.35±0.12 <sup>a</sup>	6.93±0.07 <sup>f</sup>	24.29±0.22 <sup>fg</sup>	16.85±0.13 <sup>e</sup>	

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

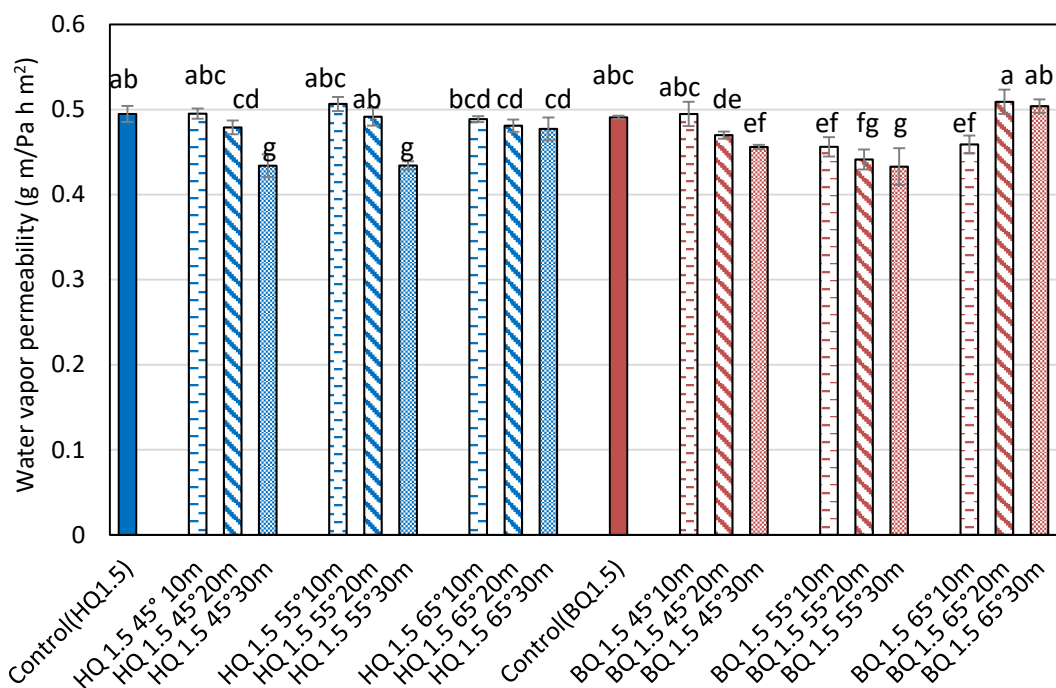
a,b,c,... ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.2.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

รูปที่ 4.17 แสดงสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มที่บ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน พบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มส่งผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิสูงและ/หรือเป็นระยะเวลายาวนาน โดยจะส่งผลให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำมีค่าลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโปรตีนเกิดเป็นโครงร่างตาข่ายที่มีความหนาแน่นมากขึ้น ไอน้ำจึงซึมผ่านได้ยากขึ้น (Gennadios et al., 1996) ในการทดลองนี้พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 55°C เป็นระยะเวลา 30 นาที มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำที่สุด อย่างไรก็ตามเมื่ออุณหภูมิการบ่มสารละลายฟิล์มเพิ่มขึ้นเป็น 65°C สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำกลับมีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลานานมีผลทำให้โปรตีนเกิดการรวมตัวและทำให้เมทริกซ์ของฟิล์มมีความสม่ำเสมอลดลง ไอน้ำจึงซึมผ่านได้มากขึ้น

Liu et al. (2004) ศึกษาการบ่มสารละลายฟิล์มโปรตีนถั่วลิสงที่อุณหภูมิ 60, 70, 80 และ 90°C เป็นเวลา 30 นาที พบว่าการให้ความร้อนในช่วง 60-80°C ส่งผลให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำมีค่าลดต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ( $p \leq 0.05$ ) อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนที่ 90°C กลับมีผลให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำมีค่าสูงขึ้น

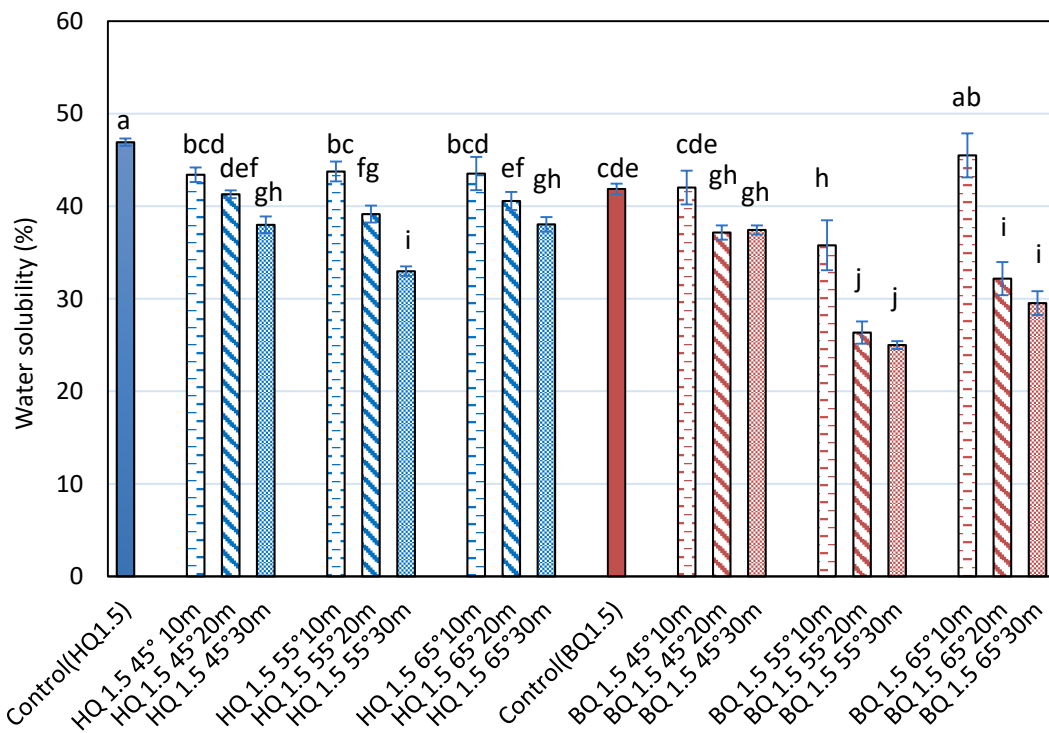




รูปที่ 4.17 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

#### 4.2.6 ความสามารถในการละลายน้ำ

รูปที่ 4.18 แสดงความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มที่บ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน พบว่าฟิล์มที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มทุกตัวอย่างมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการบ่มสารละลายฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ตัวอย่างฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนและบ่มที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 หรือ 30 นาที มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกว่าตัวอย่างฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิและระยะเวลาอื่น การลดลงของความสามารถในการละลายน้ำอาจเป็นผลจากการเชื่อมข้ามของโปรตีนเป็นโครงสร้างที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้นและหุ่มีขั้วที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับน้ำได้มีปริมาณลดลง ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มจึงลดลง

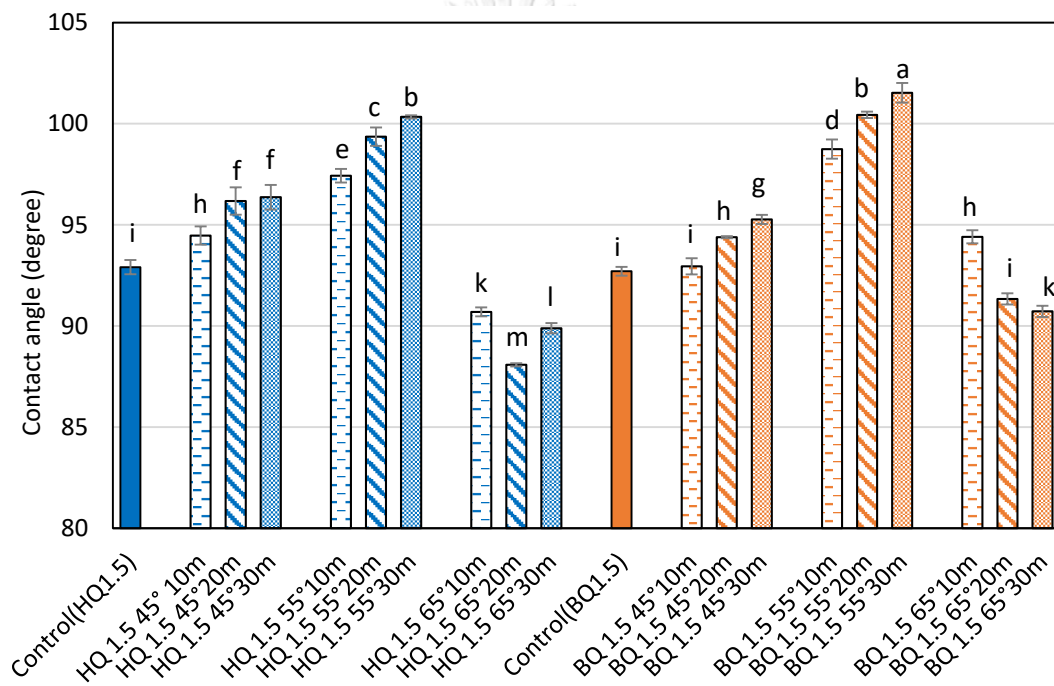


รูปที่ 4. 18 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรคิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

Liu et al. (2004) ศึกษาการบ่มสารละลายฟิล์มโปรตีนฟิล์มถั่วลิสงด้วยความร้อน พบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 30 นาที ทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการบ่มอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

#### 4.2.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

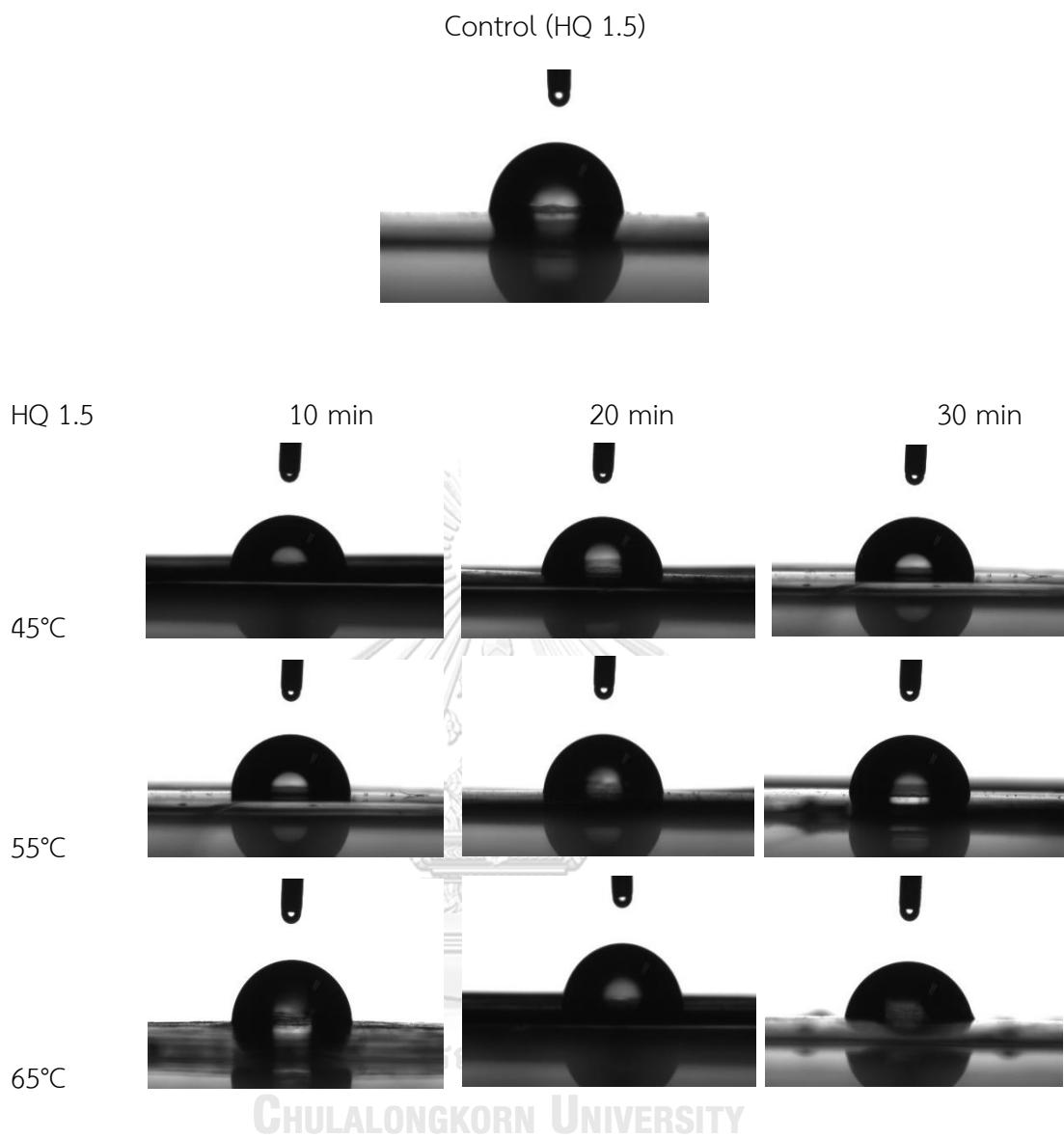
รูปที่ 4.19 และ 4.20 แสดงมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของฟิล์มที่ผลิตโดยการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน โดยทั่วไปพบว่าตัวอย่างที่บ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 45 และ 55°C มีมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มสูงกว่าตัวอย่างควบคุม ( $p \leq 0.05$ ) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าผิวของฟิล์มที่ผลิตโดยการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนมีสมบัติไม่ชอบน้ำเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่ออุณหภูมิในการบ่มสารละลายฟิล์มเพิ่มเป็น 65°C มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มกลับมีค่าลดลง



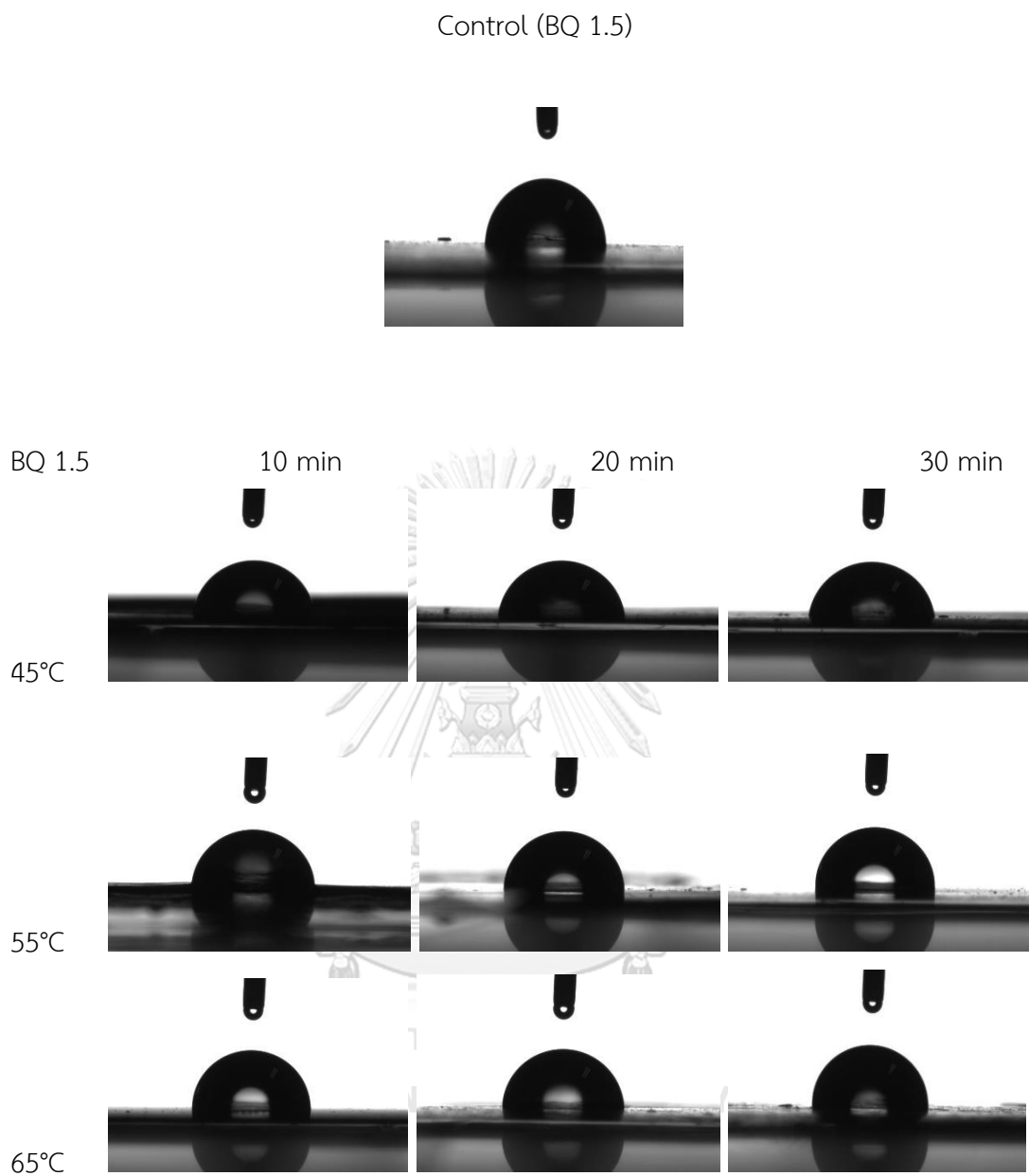
รูปที่ 4. 19 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ในงานวิจัยก่อนหน้านี้ Tang et al. (2009) ศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนสกัดจากพืชในสกุล Phaseolus ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วแดงหลวง และถั่วเขียว พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85°C ทำให้มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าลดลง Miller et al. (1997) เสนอว่าความร้อนมีผลทำให้โครงสร้างสามมิติของโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลง การให้ความร้อนในระดับหนึ่งทำให้โปรตีนเกิดการคลายตัว (unfolding) และเผยหมู่ซัลโฟไฮดริลและหมู่ข้างที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic side group) โปรตีนจึงมีความไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนยังเร่งให้เกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไรออล-ไดซัลไฟด์ (Jensen, 1959) ทำให้หมู่ซัลโฟไฮดริลซึ่งมีสมบัติไม่ชอบน้ำมีปริมาณลดลงและอาจทำให้สมบัติความไม่ชอบน้ำของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป





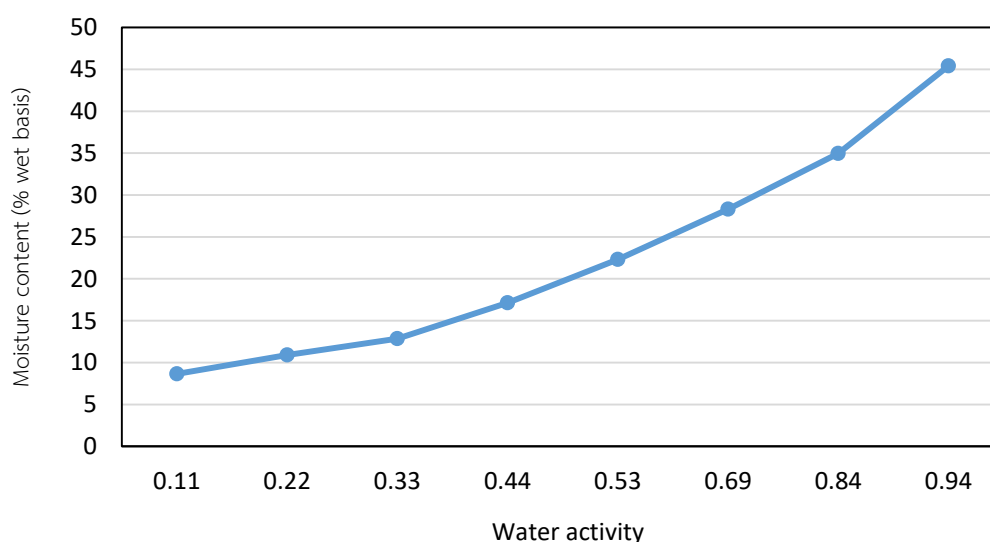
รูปที่ 4. 20 รูปร่างของหยดน้ำบนผิวฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



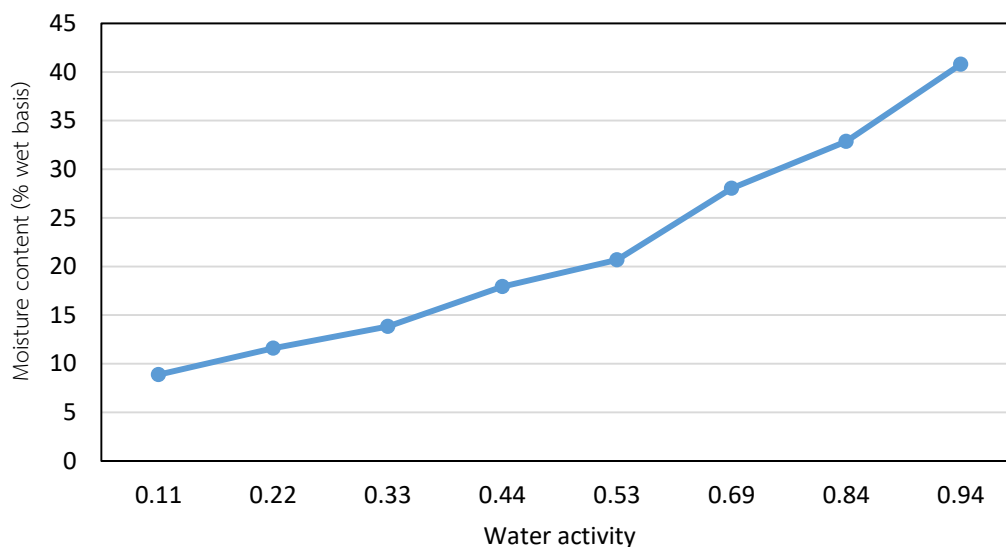
รูปที่ 4.20 (ต่อ) รูปร่างของหยดน้ำบนผิวฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

#### 4.2.8 เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้น

รูปที่ 4.21 และ 4.22 แสดงเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นของตัวอย่างฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ซึ่งผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที และตารางที่ 4.7 และ 4.8 แสดงสมบัติเชิงกลของตัวอย่างฟิล์มที่สัมพันธ์กับ วอเตอร์แอกทิวิตี สาเหตุที่คัดเลือกตัวอย่างดังกล่าวมาศึกษาพฤติกรรมการดูดความชื้นเนื่องจากตัวอย่างดังกล่าวมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดสูงสุด พบว่าตัวอย่างฟิล์มมีเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นชนิด type II ตามการจำแนกของ Brunauer et al. (1940) ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปตัวเอส (รูปที่ 4.21 และ 4.22) แม้ว่าจะมีรูปแบบตัวเอสที่ไม่เด่นชัดนักก็ตาม สำหรับสมบัติเชิงกล (ตารางที่ 4.7 และ 4.8) พบว่าเมื่อวอเตอร์แอกทิวิตีเพิ่มขึ้น ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีแนวโน้มลดลงเมื่อวอเตอร์แอกทิวิตีมีค่าต่ำมากๆ หรือสูงมากๆ ดังนั้นการนำฟิล์มดังกล่าวไปใช้งานในระบบที่มีวอเตอร์แอกทิวิตีแตกต่างกันไปจึงต้องคำนึงถึงสมบัติเชิงกลที่เปลี่ยนแปลงไปด้วย



รูปที่ 4. 21 เส้นพฤติกรรมดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25°C ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที



รูปที่ 4. 22 เส้นพฤติกรรมดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที

ตารางที่ 4. 7 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดที่วอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที

วอเตอร์แอกทิวิตี	ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)	การยืดตัวถึงจุดขาด (%)
0.11	29.38±0.64 <sup>a</sup>	3.67±0.53 <sup>f</sup>
0.22	22.95±0.58 <sup>b</sup>	7.48±0.38 <sup>f</sup>
0.33	19.90±0.80 <sup>c</sup>	70.42±5.43 <sup>e</sup>
0.43	17.49±0.14 <sup>d</sup>	113.80±12.70 <sup>c</sup>
0.53	9.81±0.91 <sup>e</sup>	197.67±9.22 <sup>a</sup>
0.69	8.43±0.43 <sup>f</sup>	192.95±10.45 <sup>a</sup>
0.84	5.97±0.56 <sup>g</sup>	129.72±2.55 <sup>b</sup>
0.94	1.88±0.74 <sup>h</sup>	100.83±5.20 <sup>d</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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



ตารางที่ 4. 8 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดที่วอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ ของฟิล์ม เจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่ อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที

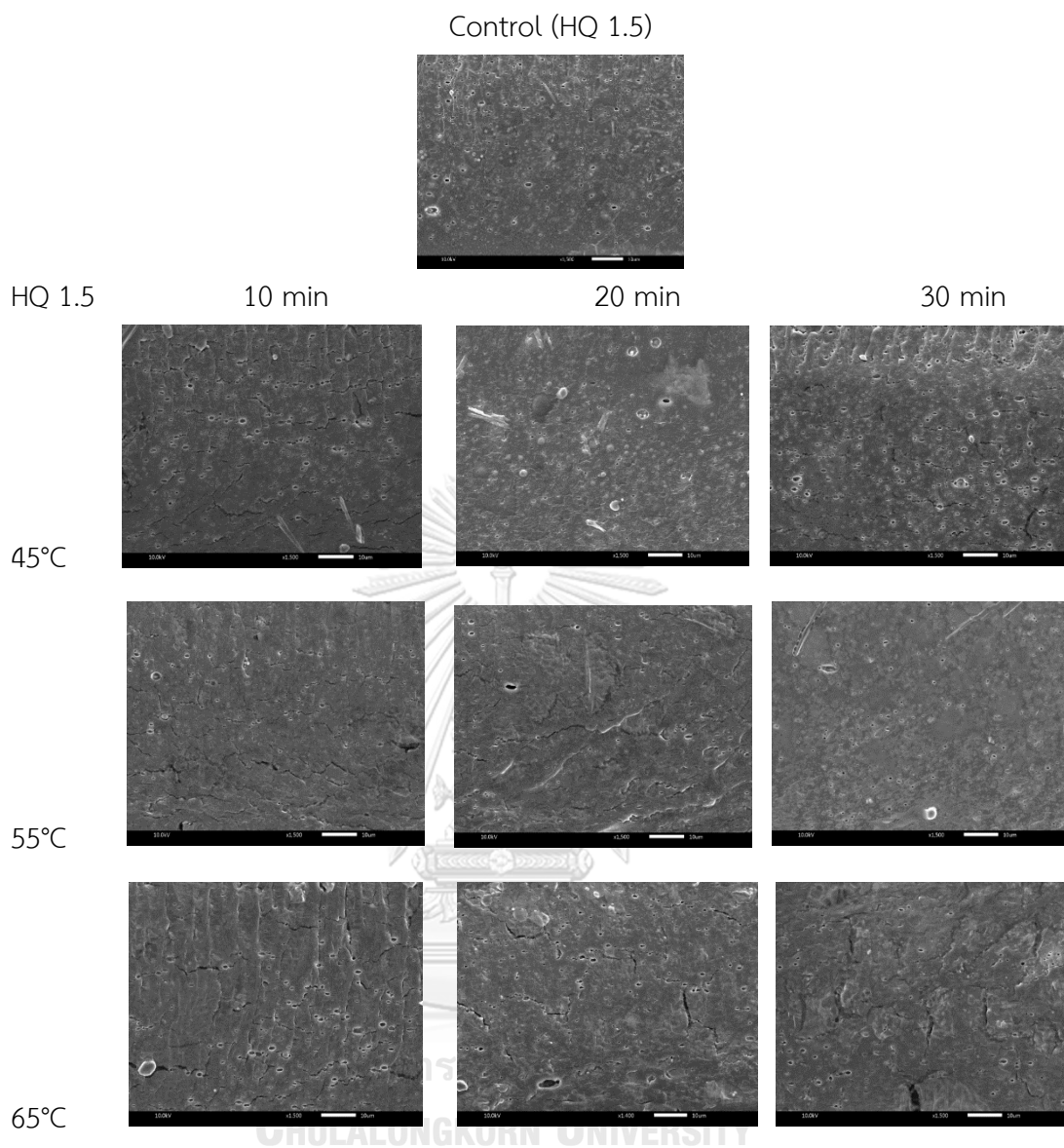
วอเตอร์แอกทิวิตี	ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)	การยืดตัวถึงจุดขาด (%)
0.11	29.19±0.65 <sup>a</sup>	3.57±0.19 <sup>f</sup>
0.22	26.31±2.27 <sup>b</sup>	5.80±0.74 <sup>f</sup>
0.33	21.06±0.66 <sup>c</sup>	73.50±2.70 <sup>e</sup>
0.43	18.74±0.26 <sup>d</sup>	136.50±6.72 <sup>c</sup>
0.53	10.54±0.14 <sup>e</sup>	193.52±6.28 <sup>a</sup>
0.69	9.78±0.60 <sup>ef</sup>	162.65±7.38 <sup>b</sup>
0.84	8.66±0.32 <sup>f</sup>	154.53±4.10 <sup>b</sup>
0.94	2.44±0.36 <sup>g</sup>	95.83±6.29 <sup>d</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

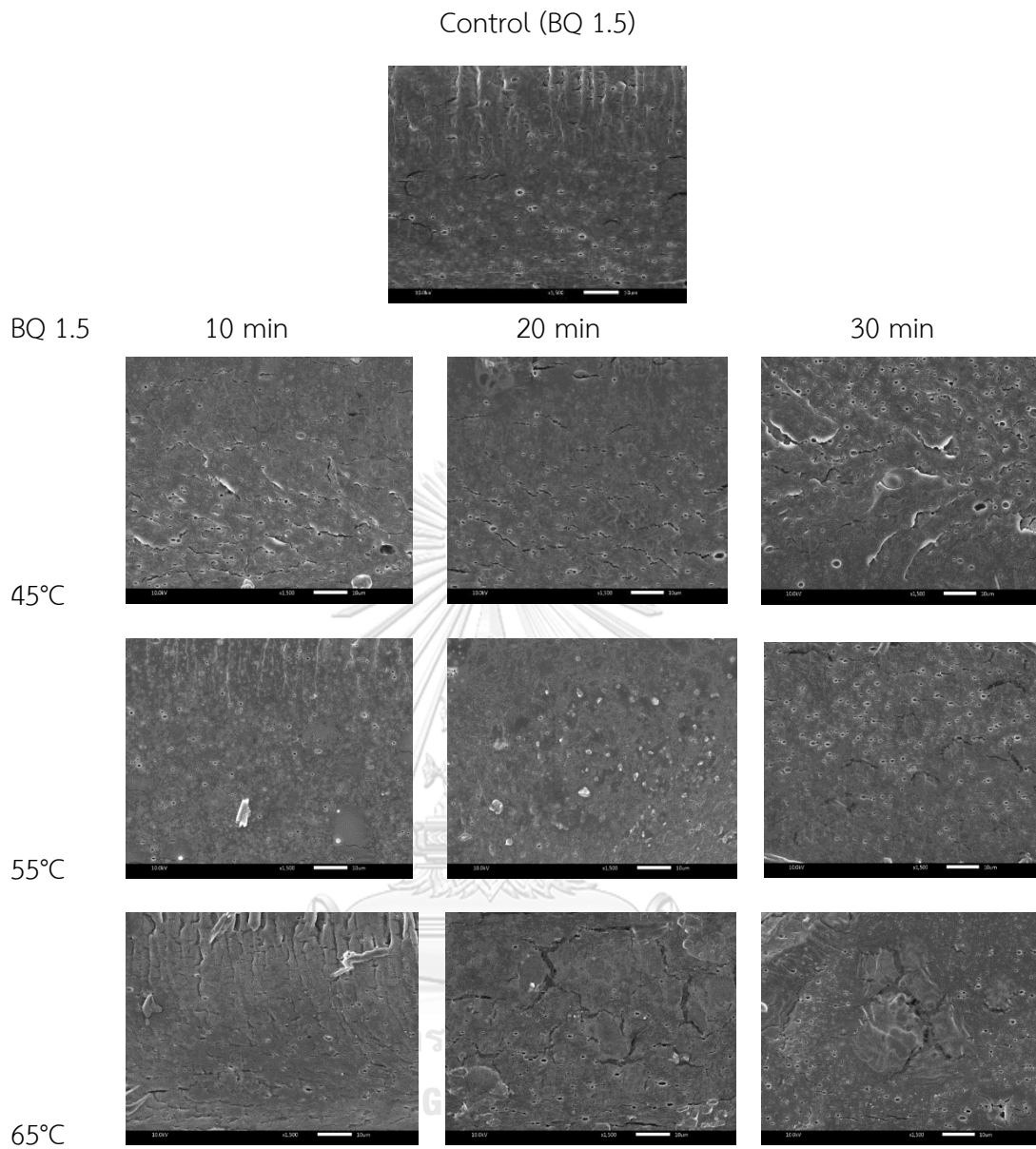
<sup>a,b,c,...</sup>ค่าเฉลี่ยในสมมุติเดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.2.9 โครงสร้างระดับจุลภาค

รูปที่ 4.23 แสดงลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนน และพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลา ต่างๆ พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่ 45 และ 55°C มีลักษณะโครงสร้าง ภาคตัดขวางใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุมที่ผลิตโดยไม่มีสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน แต่เมื่อ อุณหภูมิการบ่มสารละลายฟิล์มเพิ่มเป็น 65°C พบว่าฟิล์มที่ได้มีโครงสร้างที่ไม่สม่ำเสมอมากขึ้น ซึ่ง อาจเป็นผลมาจากการรวมตัวของโปรตีนเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูง ผลการทดลองที่ได้นี้ สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้โดย Wang et al. (2013) ซึ่งรายงานว่าทำให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70-90°C ทำให้ฟิล์มเวียโปรตีนมีโครงสร้างที่มีลักษณะหยาบมากขึ้น เนื่องจากความร้อนทำให้เกิดการ รวมตัวของโปรตีนเกิดเป็นโครงสร้างที่มีขนาดใหญ่



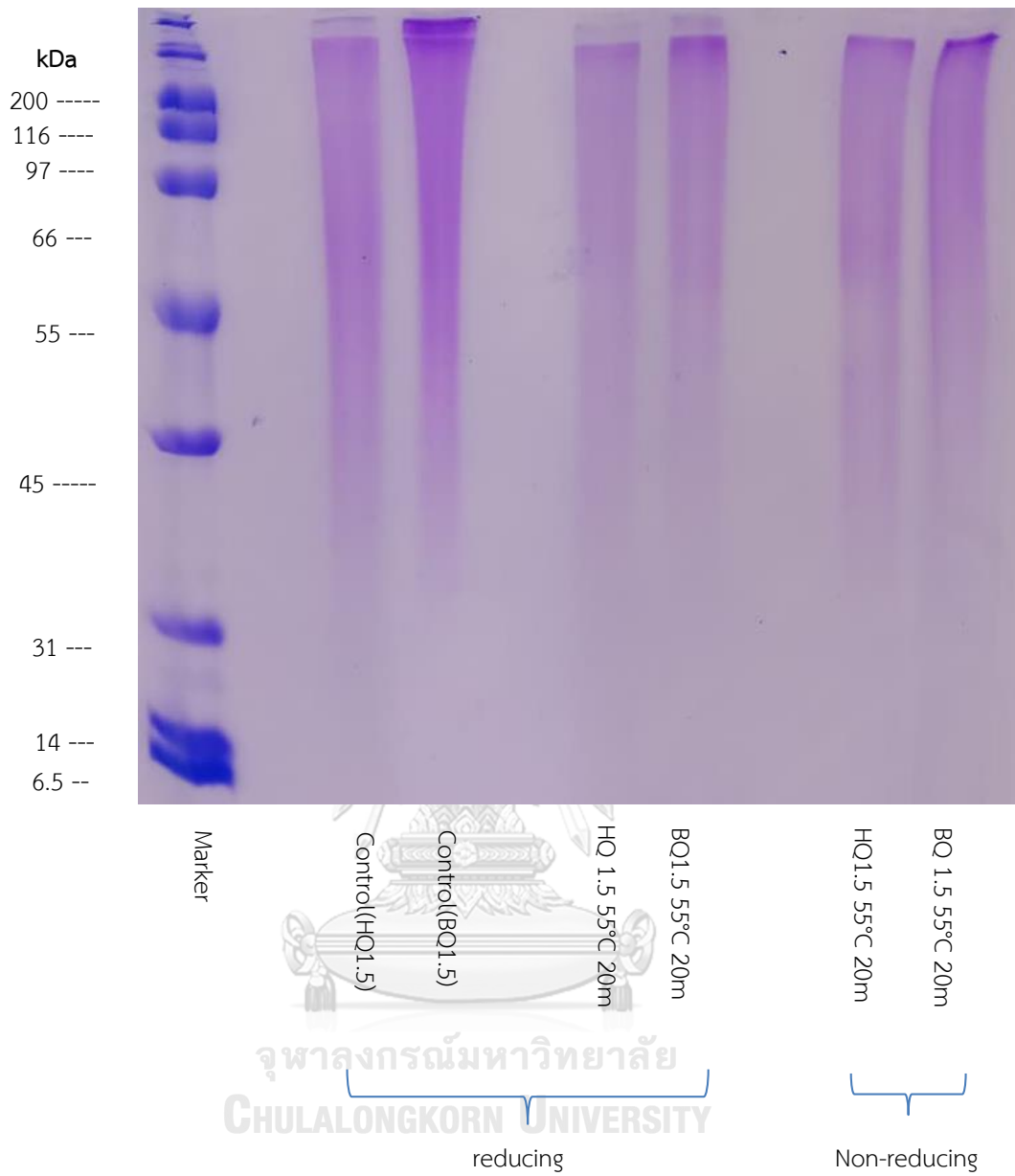
รูปที่ 4. 23 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



รูปที่ 4.23 (ต่อ) ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

#### 4.2.10 รูปแบบของแถบโปรตีน

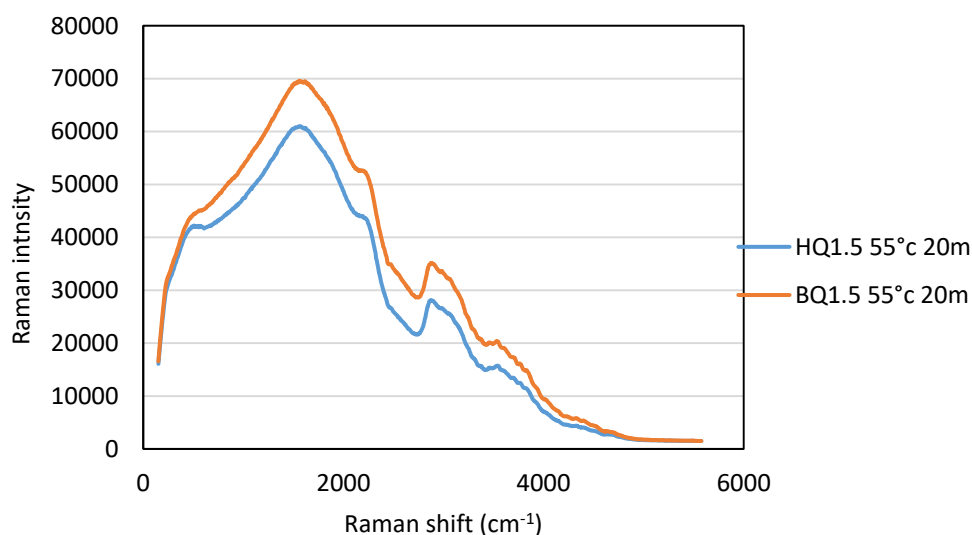
รูปที่ 4.24 แสดงรูปแบบของแถบโปรตีนที่ศึกษาด้วย SDS-PAGE เนื่องจากในงานวิจัยนี้มีสมมติฐานว่าการให้ความร้อนแก่สารละลายฟิล์มโปรตีนจะส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยน ไฮดรอลิซิสไฟต์ และทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์ จึงติดตามการเชื่อมข้ามของโปรตีนโดยศึกษารูปแบบของแถบโปรตีนด้วย non-reducing SDS-PAGE และ reducing SDS-PAGE ซึ่งไม่มีและมีการเติม 2-เมอร์แคปโทเอทานอล ตามลำดับ โดย 2-เมอร์แคปโทเอทานอลทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ ตัวอย่างฟิล์มที่คัดเลือกมาศึกษาในขั้นตอนนี้ ได้แก่ ฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% และฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที พบว่าในตัวอย่างที่มีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน แถบโปรตีนมีความเข้มลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งแสดงว่าการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนสามารถเร่งให้เกิดพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้ามโปรตีน อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่ศึกษาโดย non-reducing SDS-PAGE และ reducing SDS-PAGE พบว่าความเข้มของแถบโปรตีนไม่แตกต่างกันมากนัก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่เจลาตินเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการไฮโดรไลส์คอลลาเจนบางส่วนและมีรูปแบบของแถบโปรตีนที่ไม่มีการแยกของแถบที่ชัดเจน การเปรียบเทียบการเกิดโปรตีนที่ถูกเชื่อมข้ามด้วยพันธะไดซัลไฟด์จึงเห็นได้ไม่ชัดเจน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงติดตามการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ด้วยเทคนิค รามาน สเปกโทรสโกปี ดังรายละเอียดในหัวข้อต่อไป



รูปที่ 4. 24 รูปแบบแถบโปรตีนของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที

#### 4.2.11 การเกิดพันธะไดซัลไฟด์

ตามที่ในงานวิจัยนี้มีสมมติฐานว่าการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนจะส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไฮดรอล-ไดซัลไฟด์ เกิดเป็นพันธะ S-S เชื่อมข้ามโปรตีนนั้น จึงติดตามการเกิดพันธะดังกล่าวด้วยเทคนิครามานสเปกโทรสโกปี โดยคัดเลือกตัวอย่างฟิล์มที่เติมควิโนนทั้ง 2 ชนิด และบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด ซึ่งได้แก่ฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% และมีการบ่มสารละลายฟิล์มที่ 55°C เป็นเวลา 20 นาที และ ฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% และมีการบ่มสารละลายฟิล์มที่ 55°C เป็นเวลา 20 นาที พบว่าสเปกตรัมรามานของตัวอย่างทั้งสองมีลักษณะใกล้เคียงกัน (รูปที่ 4.25) โดยปรากฏความเข้ม (intensity) ในช่วงรามานชิฟต์ประมาณ 500 เซนติเมตร<sup>-1</sup> ซึ่งเกี่ยวข้องกับการยืดของพันธะ S-S (S-S stretching) ดังนั้นจึงพิสูจน์ได้ว่าการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนสามารถส่งเสริมให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์เชื่อมข้ามโปรตีนได้



รูปที่ 4. 25 Raman spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที

### 4.3 ผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลลาตินที่เติมควิโนน

สำหรับการศึกษาในขั้นตอนนี้ ได้คัดเลือกตัวอย่างฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนจากหัวข้อ 4.1 ที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงที่สุดมาชนิดละ 1 ตัวอย่าง ซึ่งได้แก่ ฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% และฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% นำมาศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์ม โดยแปรอุณหภูมิการบ่มแผ่นฟิล์มเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 45, 55 และ 65°C และแปรระยะเวลาการบ่มเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 60, 180 และ 300 นาที เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งได้แก่ฟิล์มชนิดเดียวกันที่ไม่มีการบ่มแผ่นฟิล์ม ผลการวิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างฟิล์มมีดังต่อไปนี้

#### 4.3.1 ความหนา

ตารางที่ 4.9 แสดงความหนาของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% และบ่มแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ จากที่กล่าวในหัวข้อ 4.1.1 แล้วว่าปัจจัยที่มีผลต่อความหนาของฟิล์ม ได้แก่ ปริมาณของแข็ง (Mahmoud & Savello, 1992; Cuq et al., 1996; Galus et al., 2012) เนื่องจากตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตในขั้นตอนนี้มีปริมาณของแข็งที่เท่ากันจึงมีความหนาที่ไม่แตกต่างกัน ( $p>0.05$ ) โดยความหนาของตัวอย่างฟิล์มอยู่ในช่วง 0.10-0.13 มิลลิเมตร ดังนั้นในการทดลองนี้หากตัวอย่างฟิล์มมีสมบัติด้านใดด้านหนึ่งที่แตกต่างกัน ความแตกต่างนั้นไม่ได้เป็นผลมาจากความหนาของฟิล์ม ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kim et al. (2002) ซึ่งศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 85°C เป็นเวลา 6-24 ชั่วโมง พบว่าระยะเวลาการบ่มแผ่นฟิล์มไม่มีผลต่อความหนา ( $p>0.05$ )

ตารางที่ 4. 9 ความหนาของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มแผ่นฟิล์ม		ความหนา (มิลลิเมตร) <sup>ns</sup>
	อุณหภูมิ (°C)	ระยะเวลา (นาที)	
Control(HQ1.5)	0	0	0.10±0.02
HQ1.5	45	60	0.12±0.01
		180	0.12±0.10
		300	0.12±0.04
	55	60	0.13±0.09
		180	0.11±0.05
		300	0.11±0.01
	65	60	0.13±0.02
		180	0.11±0.02
		300	0.10±0.10
Control(BQ1.5)	0	0	0.12±0.00
BQ1.5	45	60	0.13±0.02
		180	0.12±0.12
		300	0.11±0.01
	55	60	0.12±0.10
		180	0.11±0.03
		300	0.11±0.05
	65	60	0.13±0.02
		180	0.11±0.04
		300	0.10±0.02

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

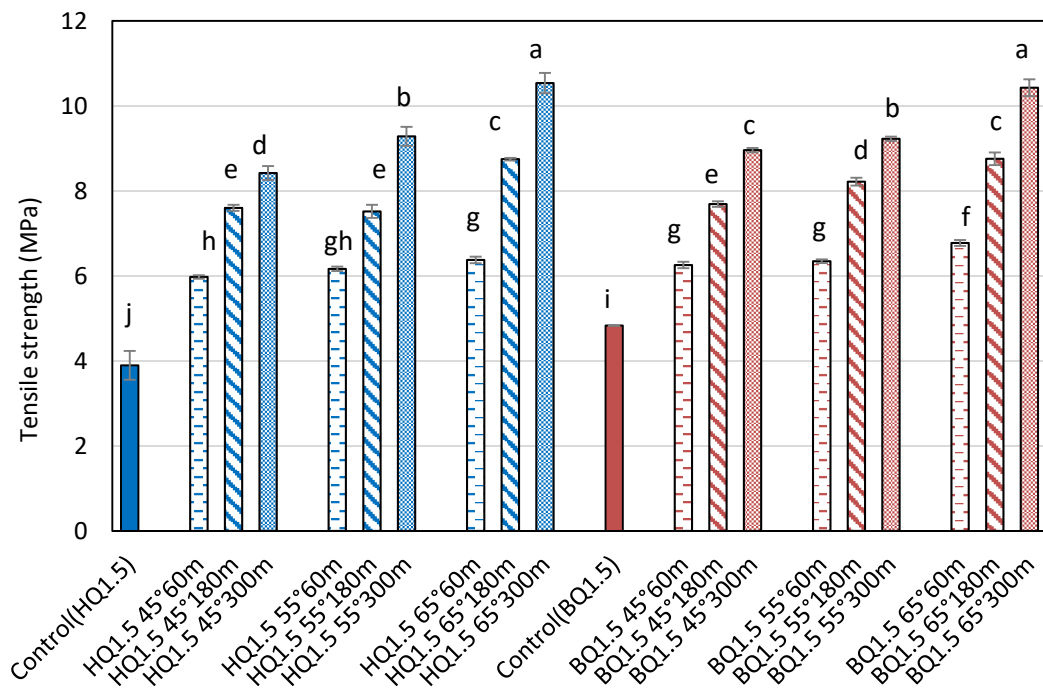
<sup>ns</sup>ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)



#### 4.3.2 สมบัติเชิงกล

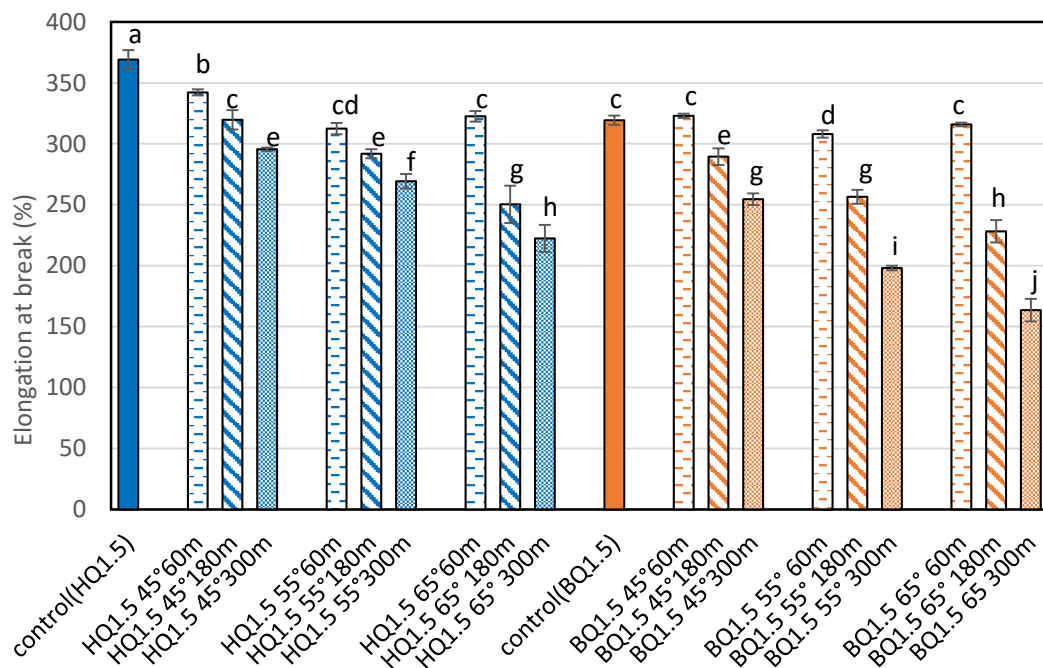
รูปที่ 4.26 และ 4.27 แสดงความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ และระยะเวลาต่างๆ พบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มแผ่นฟิล์มมีผลต่อความต้านทานแรงดึงขาดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าเพิ่มขึ้น โดยฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิและเวลาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาการบ่มแผ่นฟิล์มมีผลต่อการยืดตัวถึงจุดขาด โดยเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง ฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที มีการยืดตัวถึงจุดขาดต่ำกว่าฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิและเวลาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )



รูปที่ 4. 26 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

การบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนทำให้เกิดการเชื่อมข้ามโปรตีนได้ในลักษณะเดียวกันกับการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน โดยส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไฮดรอกซิล-ไดซัลไฟด์ มีงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่รายงานว่า การบ่มสารละลายฟิล์มและการบ่มแผ่นฟิล์มต่างก็มีผลปรับปรุงความแข็งแรงของฟิล์มโปรตีน (นลินทิพย์ คงแก้ว, 2554) และผลที่ได้นี้สอดคล้องกับ Kim et al. (2002) ที่ศึกษาการบ่มแผ่นฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 60, 72.5 และ 85°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และพบว่าฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิ 85°C มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิ 60 และ 72.5°C อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )



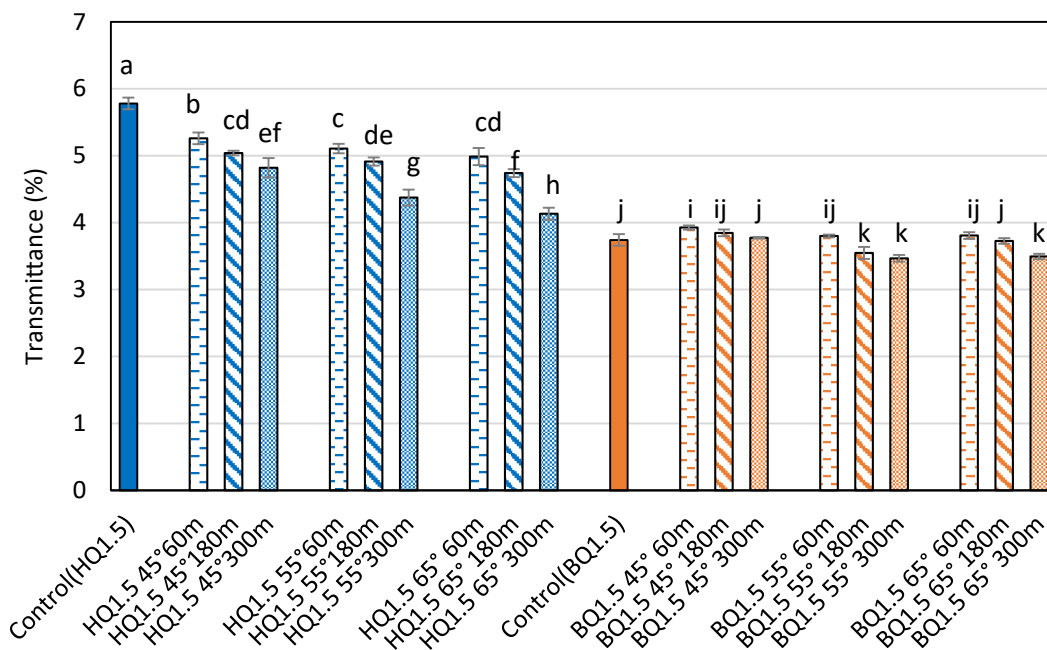
รูปที่ 4. 27 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ในทำนองเดียวกัน Gennadios et al. (1996) ศึกษาการบ่มแผ่นฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองด้วยความร้อน โดยบ่มที่อุณหภูมิ 80 และ 90°C เป็นระยะเวลา 2-24 ชั่วโมง พบว่าเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มเพิ่มสูงขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดที่สูงขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง ในอีกรายงานหนึ่ง Weng & Wu (2015) ศึกษาการบ่มแผ่นฟิล์มเจลลาตินจากปลาเทีย (*Tilapia zillii*) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 80, 100 และ 120°C เป็นระยะเวลา 0.5, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง พบว่าความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มเพิ่มมากขึ้น สำหรับการยืดตัวถึงจุดขาดพบว่า การบ่มที่อุณหภูมิ 80 และ 100°C ไม่มีผลต่อการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาติน แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มเป็น 120°C การยืดตัวถึงจุดขาดกลับมีค่าลดลง ผู้วิจัยเสนอว่าความร้อนสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนเป็นผลให้โครงร่างตาข่ายของโปรตีนมีความแข็งแรงมากขึ้น นอกจากนี้ Hernández-Muñoz et al. (2004a) ศึกษาผลการบ่มแผ่นฟิล์ม กลูเต

นินและไกลอะดินด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 55, 70, 85, 95 และ 115°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง นอกจากนี้อัญชนา อินสวาสดี และคณะ (2557) รายงานผลในทำนองเดียวกัน สำหรับการบ่มแผ่นฟิล์มโพรตีนถั่วเหลืองที่เติมกรดแกลลิก

### 4.3.3 ความโปร่งใส

รูปที่ 4.28 แสดงความโปร่งใสของตัวอย่างฟิล์มในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน พบว่าค่าร้อยละของแสงส่องผ่านมีแนวโน้มลดลงเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น จากงานวิจัยนี้พบว่าฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนมีความโปร่งใสต่ำกว่าฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนที่บ่มที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 180 และ 300 นาที และฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนที่บ่มที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที มีความโปร่งใสต่ำที่สุด สาเหตุที่การบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนทำให้ฟิล์มมีความโปร่งใสลดต่ำลงอาจเนื่องมาจากความร้อนสามารถช่วยเร่งปฏิกิริยาระหว่างควิโนนและโพรตีนซึ่งให้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารประกอบที่มีสี (Pierpoint, 1969) รวมทั้งอาจทำให้เกิดการรวมตัวกันของโพรตีนเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ ดังนั้นจึงทำให้ความสามารถในการส่องผ่านของแสงลดต่ำลง (Tang et al., 2005; Yi et al., 2006; Denavi et al., 2009; González et al., 2011)



รูปที่ 4. 28 ความโปร่งใสของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับ Garcia et al. (2005) ที่ศึกษาการบ่มแผ่นฟิล์มโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์และฟิล์มโปรตีนซาร์โคพลาสมิกจากปลาทิลapia โดยบ่มที่อุณหภูมิ 45 และ 65°C เป็นเวลา 30 นาที พบว่าเมื่ออุณหภูมิการบ่มสูงขึ้น ฟิล์มที่ได้มีสีเข้มขึ้นและมีความทึบแสงมากขึ้น

#### 4.3.4 สี

ตารางที่ 4.10 แสดงค่าสีในระบบ CIELAB ของตัวอย่างฟิล์มที่ผ่านการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ พบว่าความสว่าง ( $L^*$ ) มีแนวโน้มลดลงเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น ในด้านมุมสี ตัวอย่างฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนมีมุมสีอยู่ในช่วง 29-37 องศา ในขณะที่ตัวอย่างฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนมีมุมสีอยู่ในช่วง 22-23 องศา ซึ่งมีค่าเข้าใกล้มุมสีของสีแดงมากขึ้น ในด้านของความเข้มสี พบว่าความเข้มสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาการบ่มแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4. 10 ค่าสีในระบบ CIELAB ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน  
เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มแผ่นฟิล์ม		L*	a*	b*	มุมสี (องศา)	ความเข้มสี
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)					
Control(HQ1.5)	-	-	35.55±0.13 <sup>a</sup>	12.63±0.10 <sup>m</sup>	9.66±0.07 <sup>ab</sup>	37.40±0.40 <sup>a</sup>	15.90±0.04 <sup>h</sup>
HQ1.5	45	60	34.57±0.15 <sup>b</sup>	15.01±0.08 <sup>i</sup>	9.03±0.05 <sup>f</sup>	31.03±0.04 <sup>b</sup>	17.53±0.10 <sup>i</sup>
		180	34.04±0.11 <sup>cd</sup>	15.71±0.10 <sup>ef</sup>	9.43±0.08 <sup>c</sup>	30.97±0.1 <sup>b</sup>	18.32±0.12 <sup>ef</sup>
		300	32.77±0.03 <sup>g</sup>	15.95±0.17 <sup>d</sup>	9.57±0.11 <sup>b</sup>	30.96±0.03 <sup>b</sup>	18.6±0.20 <sup>c</sup>
	55	60	34.11±0.05 <sup>cd</sup>	14.72±0.05 <sup>jk</sup>	8.67±0.12 <sup>g</sup>	30.51±0.40 <sup>c</sup>	17.08±0.04 <sup>jk</sup>
		180	33.17±0.13 <sup>f</sup>	15.64±0.12 <sup>fg</sup>	9.17±0.05 <sup>de</sup>	30.37±0.24 <sup>cd</sup>	18.13±0.10 <sup>fg</sup>
		300	32.67±0.14 <sup>gh</sup>	16.06±0.01 <sup>d</sup>	9.27±0.04 <sup>de</sup>	29.96±0.11 <sup>de</sup>	18.54±0.02 <sup>cd</sup>
	65	60	34.2±0.16 <sup>cd</sup>	14.88±0.09 <sup>ij</sup>	8.63±0.07 <sup>g</sup>	30.13±0.1 <sup>cd</sup>	17.20±0.12 <sup>j</sup>
		180	33.66±0.15 <sup>e</sup>	15.49±0.11 <sup>g</sup>	9.07±0.09 <sup>ef</sup>	30.37±0.44 <sup>cd</sup>	17.95±0.05 <sup>gh</sup>
		300	32.51±0.11 <sup>h</sup>	17.00±0.04 <sup>b</sup>	9.75±0.12 <sup>ab</sup>	29.82±0.24 <sup>e</sup>	19.6±0.10 <sup>a</sup>
Control(BQ1.5)	-	-	34.40±0.12 <sup>d</sup>	12.70±0.11 <sup>lm</sup>	5.33±0.05 <sup>l</sup>	22.77±0.14 <sup>ji</sup>	13.77±0.12 <sup>l</sup>
BQ1.5	45	60	33.97±0.11 <sup>d</sup>	14.84±0.16 <sup>ij</sup>	6.38±0.06 <sup>k</sup>	23.10±0.11 <sup>f</sup>	16.13±0.16 <sup>m</sup>
		180	32.28±0.03 <sup>j</sup>	16.97±0.03 <sup>b</sup>	7.05±0.07 <sup>i</sup>	22.57±0.18 <sup>g</sup>	18.38±0.05 <sup>de</sup>
		300	31.89±0.03 <sup>j</sup>	17.93±0.14 <sup>a</sup>	7.41±0.04 <sup>h</sup>	22.46±0.23 <sup>g</sup>	19.4±0.11 <sup>b</sup>
	55	60	32.66±0.11 <sup>gh</sup>	14.56±0.31 <sup>k</sup>	6.10±0.06 <sup>m</sup>	22.74±0.26 <sup>fg</sup>	15.79±0.30 <sup>n</sup>
		180	31.77±0.16 <sup>j</sup>	15.27±0.08 <sup>h</sup>	6.08±0.07 <sup>m</sup>	21.71±0.34 <sup>hi</sup>	16.44±0.05 <sup>l</sup>
		300	31.23±0.03 <sup>k</sup>	15.88±0.11 <sup>de</sup>	6.2±0.08 <sup>lm</sup>	21.33±0.13 <sup>i</sup>	17.05±0.12 <sup>jk</sup>
	65	60	32.61±0.06 <sup>gh</sup>	14.93±0.06 <sup>i</sup>	6.2±0.10 <sup>lm</sup>	22.56±0.24 <sup>g</sup>	16.16±0.10 <sup>m</sup>
		180	31.14±0.02 <sup>k</sup>	15.68±0.04 <sup>fg</sup>	6.27±0.04 <sup>kl</sup>	21.77±0.15 <sup>hi</sup>	16.89±0.03 <sup>k</sup>
		300	30.18±0.11 <sup>l</sup>	16.65±0.10 <sup>c</sup>	6.57±0.07 <sup>l</sup>	21.54±0.30 <sup>hi</sup>	17.90±0.07 <sup>h</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a,b,c,... ค่าเฉลี่ยในสัณฐานเดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

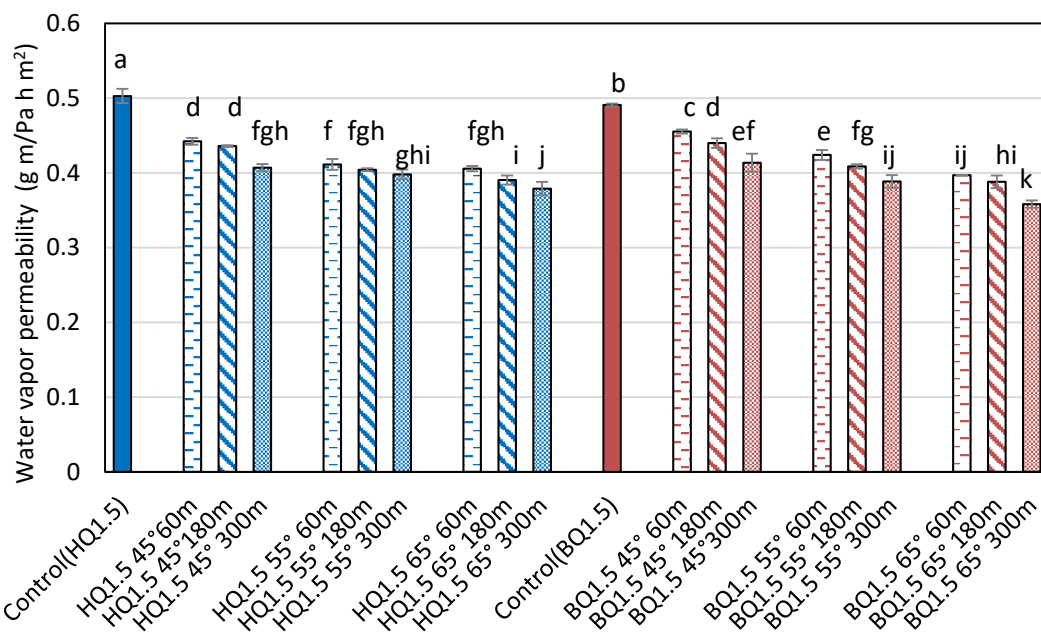
Kim et al. (2002) ศึกษาการบ่มฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 60, 72.5 และ 85°C และพบว่าตัวอย่างฟิล์มมีสีเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิการบ่มแผ่นฟิล์มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Hernández-Muñoz et al. (2004a) ที่ศึกษาผลการบ่มแผ่นฟิล์มกลูเตนินและไกลอะดินด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 55, 70, 85, 95 และ 115°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการบ่มที่อุณหภูมิสูงกว่า 55°C ทำให้ฟิล์มมีสีเข้มขึ้นเล็กน้อย แต่เมื่ออุณหภูมิการบ่มเพิ่มเป็น 115°C

ฟิล์มที่ได้มีสีเข้มมากขึ้น สีที่เข้มขึ้นของตัวอย่างฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลาานานอาจเป็นผลจากหลายปัจจัย เช่น สีของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา สีของควิโนน และสีของเพปไทด์ รวมทั้งสีของสารประกอบโมเลกุลใหญ่ที่เกิดจากพอลิเมอร์เซชันของควิโนน (Pierpoint, 1969) ซึ่งปฏิกิริยาต่างๆ เหล่านี้อาจถูกเร่งได้ในภาวะที่มีอุณหภูมิสูง

#### 4.3.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

รูปที่ 4.29 แสดงสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างที่มีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อน พบว่าการบ่มแผ่นฟิล์มส่งผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ โดยตัวอย่างฟิล์มที่มีการบ่มแผ่นฟิล์มมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ตัวอย่างฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิ  $65^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 300 นาที มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำกว่าฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิและเวลาอื่น โดยสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำมีแนวโน้มลดลงเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มเพิ่มขึ้น การลดลงของสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มอาจเนื่องมาจากความร้อนอาจทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนเพิ่มขึ้น เป็นผลให้โครงสร้างตาข่ายของโปรตีนมีความหนาแน่นมากขึ้น ไอน้ำจึงซึมผ่านได้ยากขึ้น (Gennadios et al., 1996)

ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ โดย Gennadios et al. (1996) และ Kim et al. (2002) ที่รายงานว่า การให้ความร้อนแก่แผ่นฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองส่งผลให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำมีค่าลดลง นอกจากนี้ Ali et al. (1997) ยังรายงานในทำนองเดียวกันสำหรับฟิล์มกลูเตน

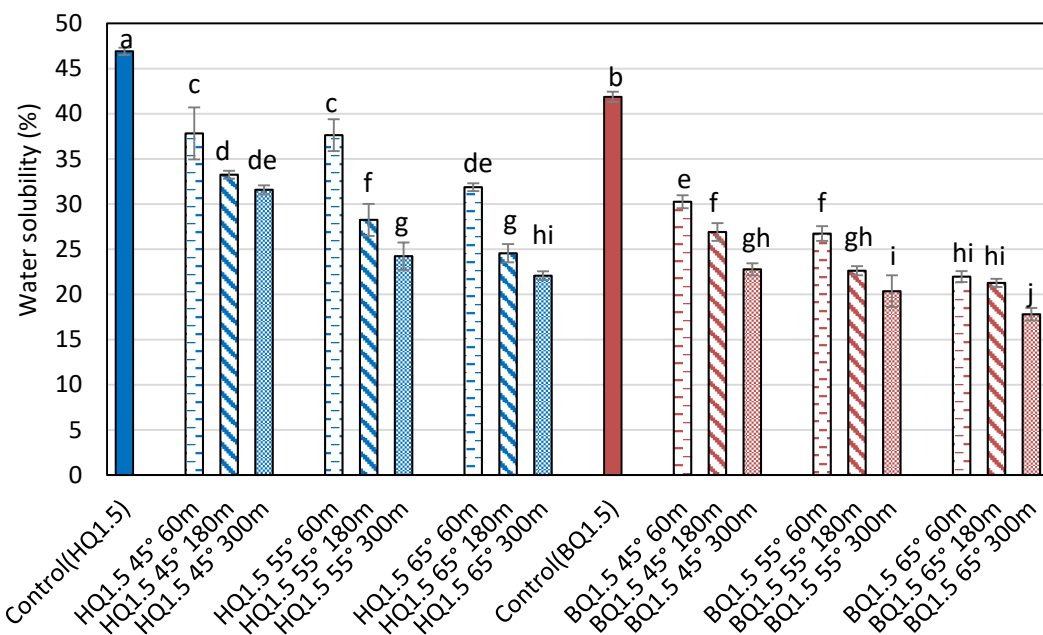


รูปที่ 4. 29 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

#### 4.3.6 ความสามารถในการละลายน้ำ

รูปที่ 4.30 แสดงความสามารถในการละลายน้ำของของตัวอย่างฟิล์ม พบว่าแผ่นฟิล์มที่ผ่านการบ่มด้วยความร้อนทุกตัวอย่างมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการบ่มแผ่นฟิล์ม ( $p \leq 0.05$ ) โดยตัวอย่างฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำกว่าตัวอย่างฟิล์มที่บ่มด้วยอุณหภูมิและระยะเวลาอื่นๆ ความสามารถในการละลายน้ำมีแนวโน้มลดลงเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น การลดลงของความสามารถในการละลายน้ำนี้เนื่องมาจากการเชื่อมข้ามโปรตีนเป็นผลให้โปรตีนมีความสามารถในการละลายน้ำลดลง



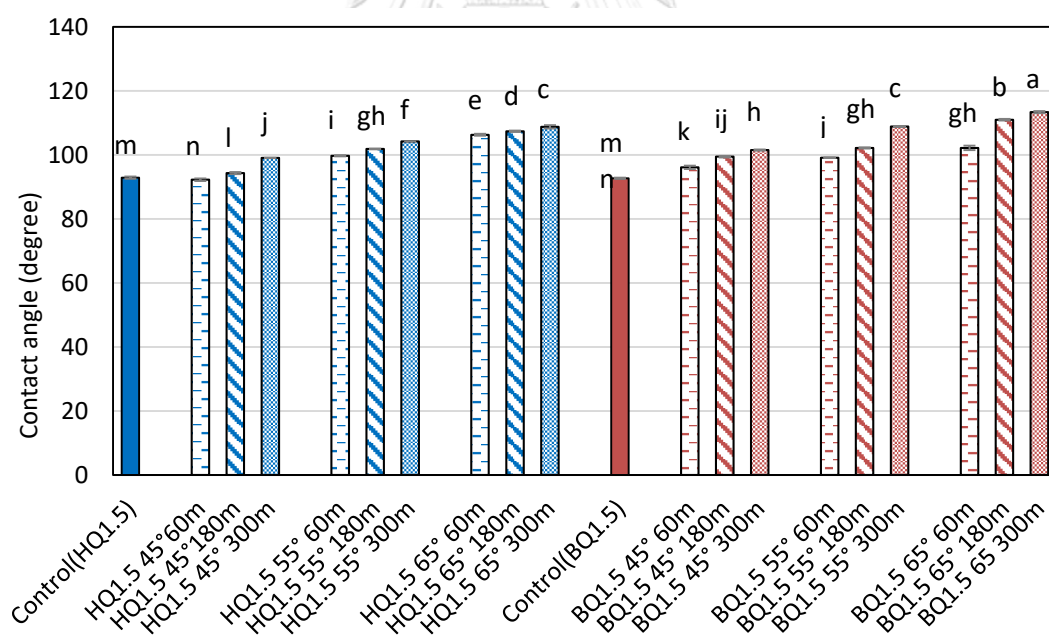


รูปที่ 4. 30 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

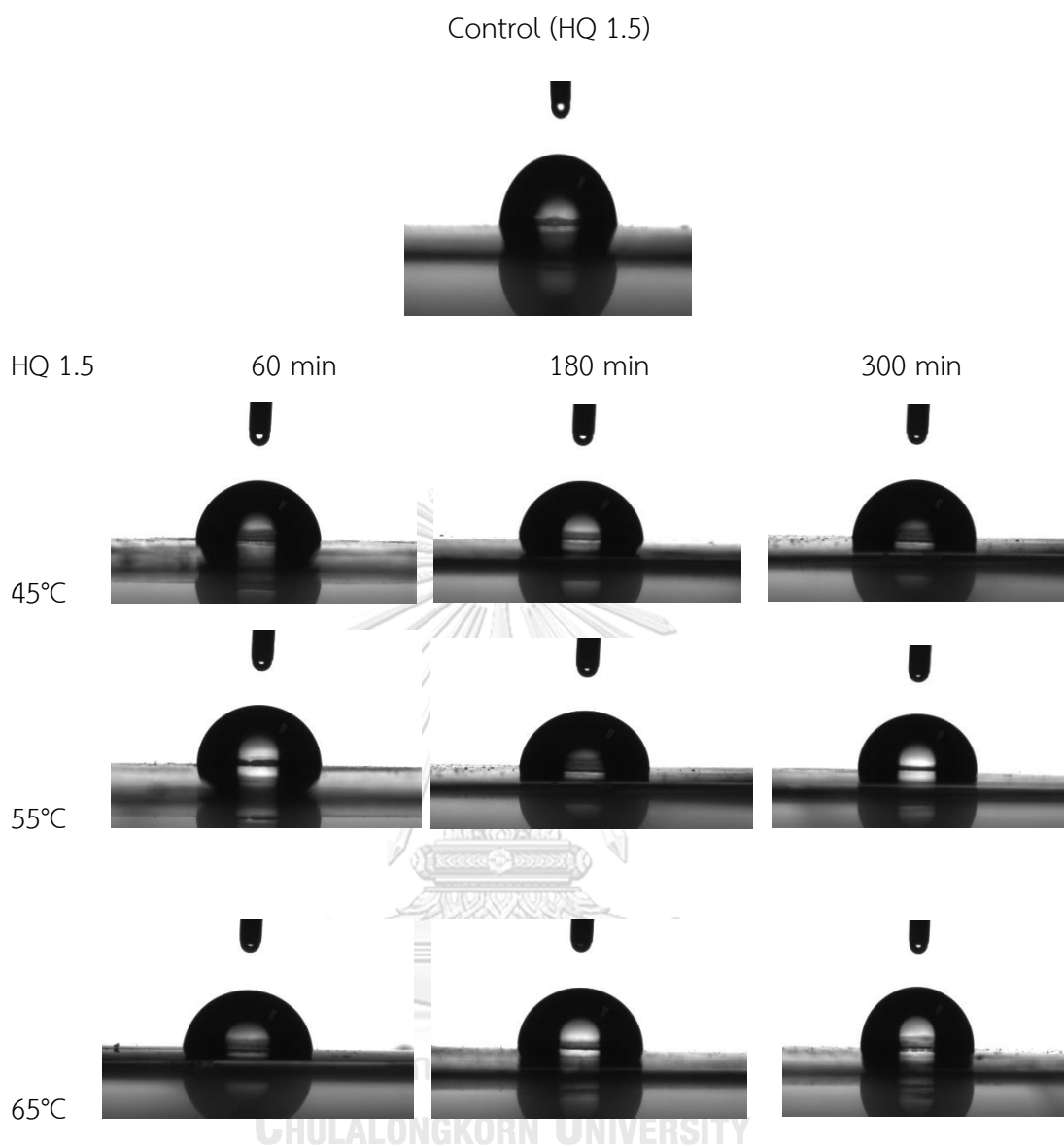
ผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนนี้ที่ผ่านมาได้มีรายงานที่แตกต่างกันไป ตัวอย่างเช่น Hernández-Muñoz et al. (2004a) ที่ศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มกลูเตนินและไกลอะตินด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 55, 70, 85, 95 และ 115°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการบ่มแผ่นฟิล์มไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม ในขณะที่ Gennadios et al. (1996) รายงานว่าการให้บ่มแผ่นฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 95°C ส่งผลให้ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มมีค่าต่ำกว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 80°C

#### 4.3.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

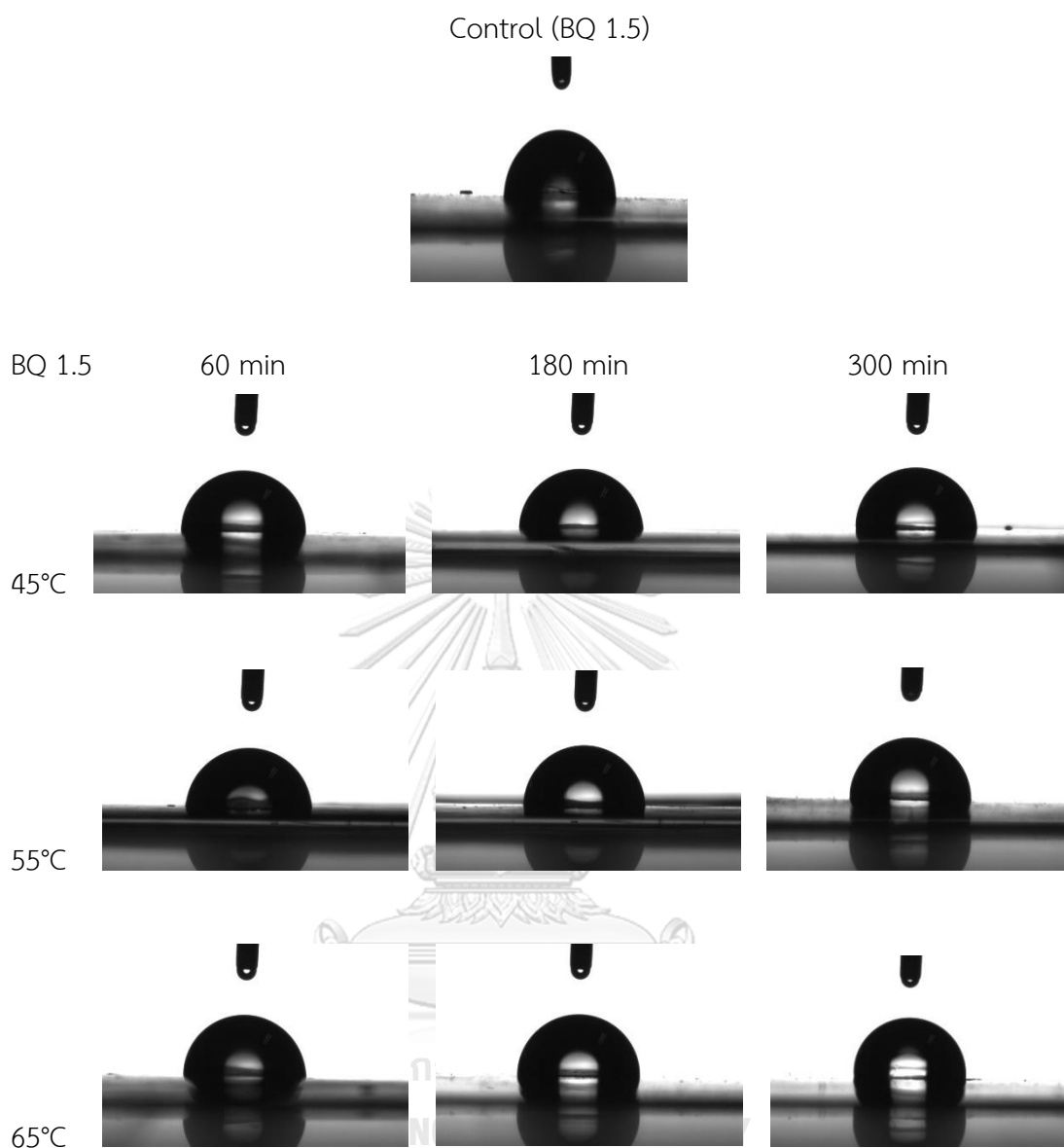
รูปที่ 4.31 และ 4.32 แสดงมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของตัวอย่างฟิล์ม พบว่าตัวอย่างที่มีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนมีมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มสูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการบ่มแผ่นฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่ามุมสัมผัสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าการบ่มแผ่นฟิล์มที่เติมควิโนนทำให้ผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้น ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับ Jiang et al. (2007) ซึ่งรายงานว่า การเชื่อมข้ามโพรตีนมีผลทำให้ผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามมีบางงานวิจัยที่รายงานผลที่แตกต่างไป เช่น Tang et al. (2009) ซึ่งศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มโพรตีนสกัดจากพืชในสกุล *Phaseolus* ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วแดงหลวง และถั่วเขียว และพบว่า การบ่มแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ  $85^{\circ}\text{C}$  ทำให้มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าลดลง ซึ่งแสดงว่าผิวฟิล์มมีสมบัติชอบน้ำเพิ่มขึ้น



รูปที่ 4. 31 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )



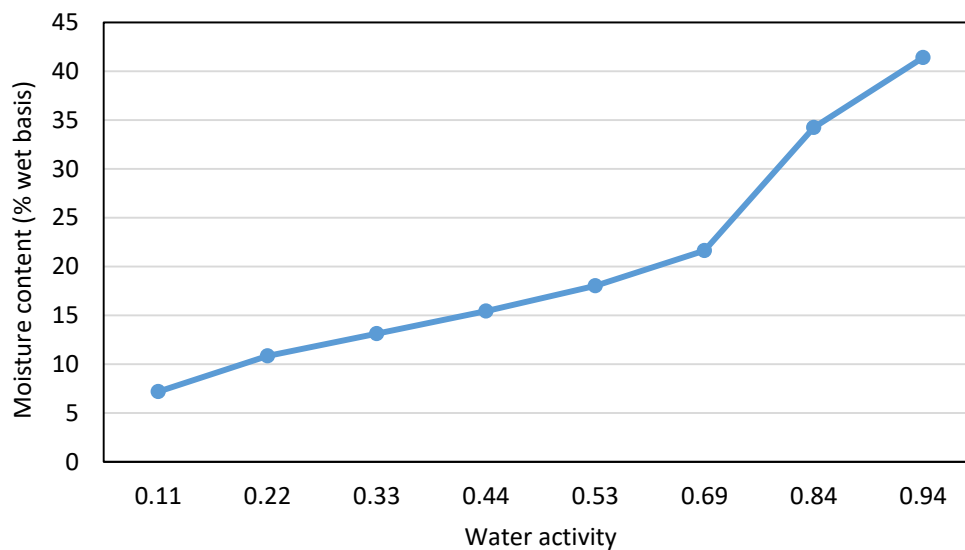
รูปที่ 4. 32 รูปร่างของหยดน้ำบนผิวฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



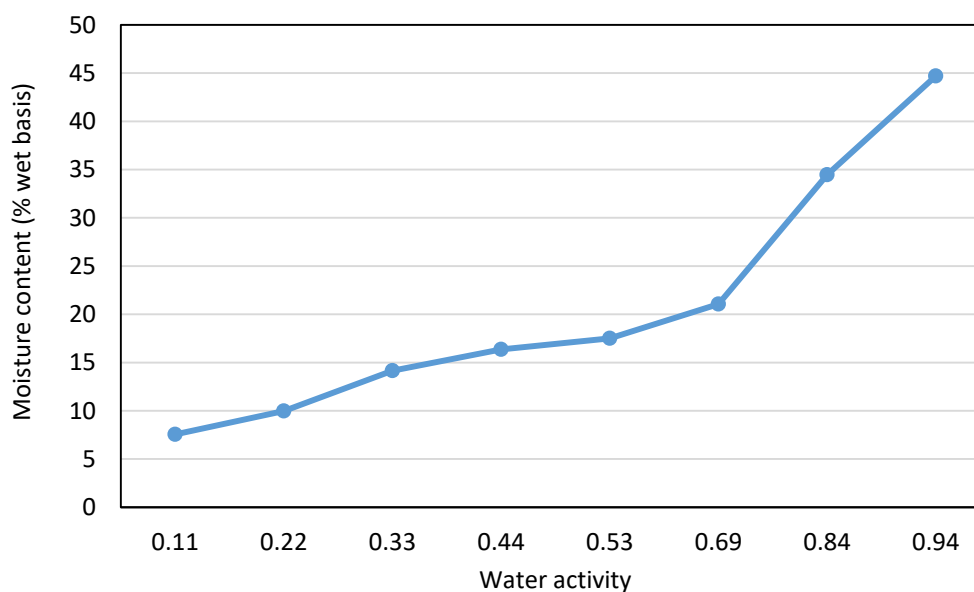
รูปที่ 4.32 (ต่อ) รูปร่างของหยดน้ำบนผิวฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

#### 4.3.8 เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้น

รูปที่ 4.33 และรูปที่ 4.34 แสดงเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% และผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที ตามลำดับ และตารางที่ 4.10 และตารางที่ 4.11 แสดงความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์มที่สัมพันธ์กับวอเตอร์แอกทिवิตี สาเหตุที่คัดเลือกตัวอย่างดังกล่าวมาศึกษาพฤติกรรมการดูดความชื้น เนื่องจากตัวอย่างดังกล่าวมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดที่สูงที่สุด พบว่าตัวอย่างฟิล์มมีเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นชนิด type II ตามการจำแนกของ Brunauer et al. (1940) ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปตัวเอส (รูปที่ 4.33 และรูปที่ 4.34) สำหรับสมบัติเชิงกล (ตารางที่ 4.10 และตารางที่ 4.11) พบว่าเมื่อวอเตอร์แอกทिवิตีเพิ่มขึ้น ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีแนวโน้มลดลงเมื่อวอเตอร์แอกทिवิตีมีค่าต่ำมากๆ หรือสูงมากๆ ดังนั้นการนำฟิล์มดังกล่าวไปใช้งานกับผลิตภัณฑ์ที่มีวอเตอร์แอกทिवิตีแตกต่างกันไปจึงต้องคำนึงถึงสมบัติเชิงกลที่เปลี่ยนแปลงไปด้วย



รูปที่ 4. 33 เส้นพฤติกรรมกราฟดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที



รูปที่ 4. 34 เส้นพฤติกรรมกราฟดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที

ตารางที่ 4. 11 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดที่วอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ ของฟิล์ม เจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที

วอเตอร์แอกทิวิตี	ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)	การยืดตัวถึงจุดขาด (%)
0.11	40.46±3.75 <sup>a</sup>	3.45±0.69 <sup>e</sup>
0.22	29.73±2.86 <sup>b</sup>	5.12±0.83 <sup>e</sup>
0.33	24.92±0.22 <sup>c</sup>	25.65±0.53 <sup>d</sup>
0.43	19.23±0.23 <sup>d</sup>	134.73±3.60 <sup>b</sup>
0.53	16.13±0.21 <sup>e</sup>	160.33±5.03 <sup>a</sup>
0.69	12.08±0.99 <sup>f</sup>	154.80±4.95 <sup>a</sup>
0.84	8.77±0.66 <sup>g</sup>	140.63±4.86 <sup>b</sup>
0.94	4.17±0.74 <sup>h</sup>	108.33±16.27 <sup>c</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>a,b,c,...</sup>ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 4. 12 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดที่วอเตอร์แอกทิวิตีต่างๆ ของฟิล์ม เจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที

วอเตอร์แอกทิวิตี	ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)	การยืดตัวถึงจุดขาด (%)
0.11	34.62±0.51 <sup>a</sup>	2.80±0.58 <sup>g</sup>
0.22	23.96±0.73 <sup>b</sup>	5.43±0.577 <sup>g</sup>
0.33	21.39±0.08 <sup>c</sup>	35.77±2.13 <sup>f</sup>
0.43	19.15±0.70 <sup>c</sup>	125.02±3.97 <sup>d</sup>
0.53	12.31±0.52 <sup>d</sup>	210.37±9.07 <sup>a</sup>
0.69	11.50±0.49 <sup>d</sup>	188.05±7.56 <sup>b</sup>
0.84	8.66±1.04 <sup>e</sup>	152.30±5.01 <sup>c</sup>
0.94	2.81±0.57 <sup>f</sup>	106.67±10.41 <sup>e</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

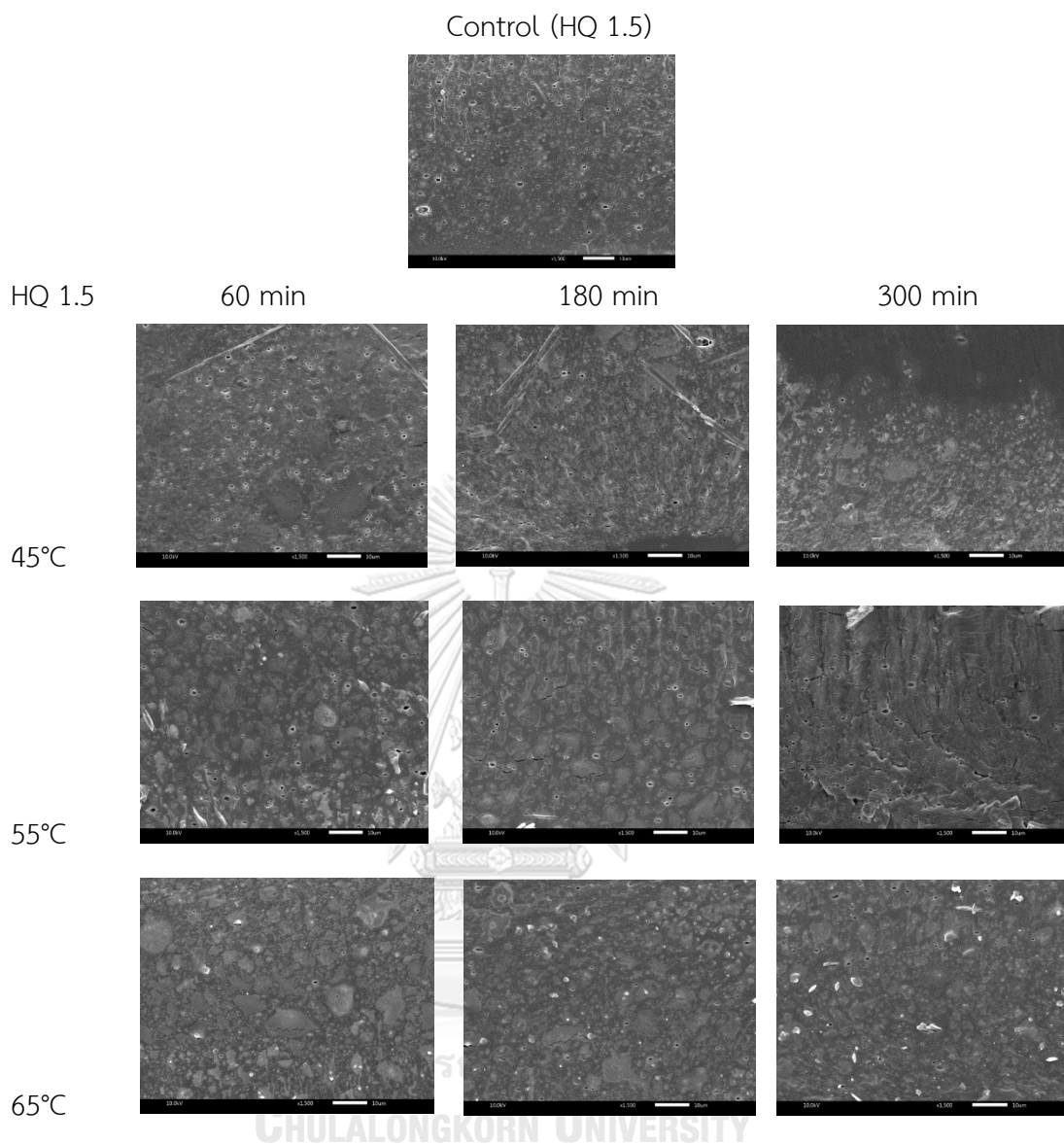
<sup>a,b,c,...</sup>ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

#### 4.3.9 โครงสร้างระดับจุลภาค

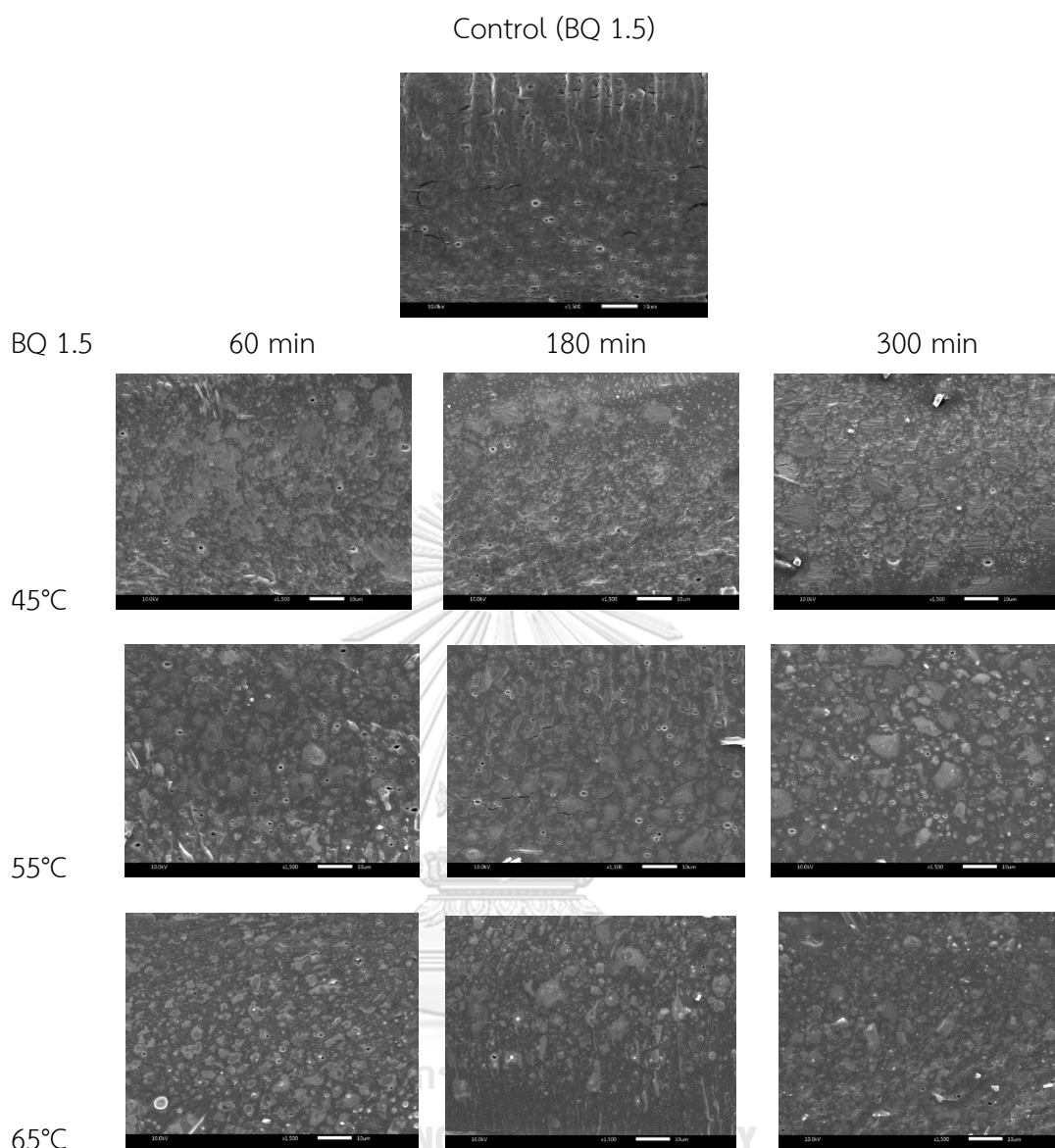
รูปที่ 4.35 แสดงลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์ม พบว่าตัวอย่างที่มีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนมีลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยความร้อน อย่างไรก็ตามผลที่ได้นี้แตกต่างไปจากรายงานก่อนหน้านี้ ตัวอย่างเช่น Wang et al. (2013) ศึกษาการบ่มแผ่นฟิล์มเวียโปรตีนที่อุณหภูมิ 70-90°C พบว่าโครงสร้างของฟิล์มมีลักษณะที่เกิดการรวมตัวกันของโปรตีนทำให้โครงสร้างมีลักษณะที่หยาบมากขึ้น นอกจากนี้ อัญชนา อินสวาสดี และคณะ (2557) รายงานว่าแผ่นฟิล์มที่บ่มด้วยความร้อนมีลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางที่มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม







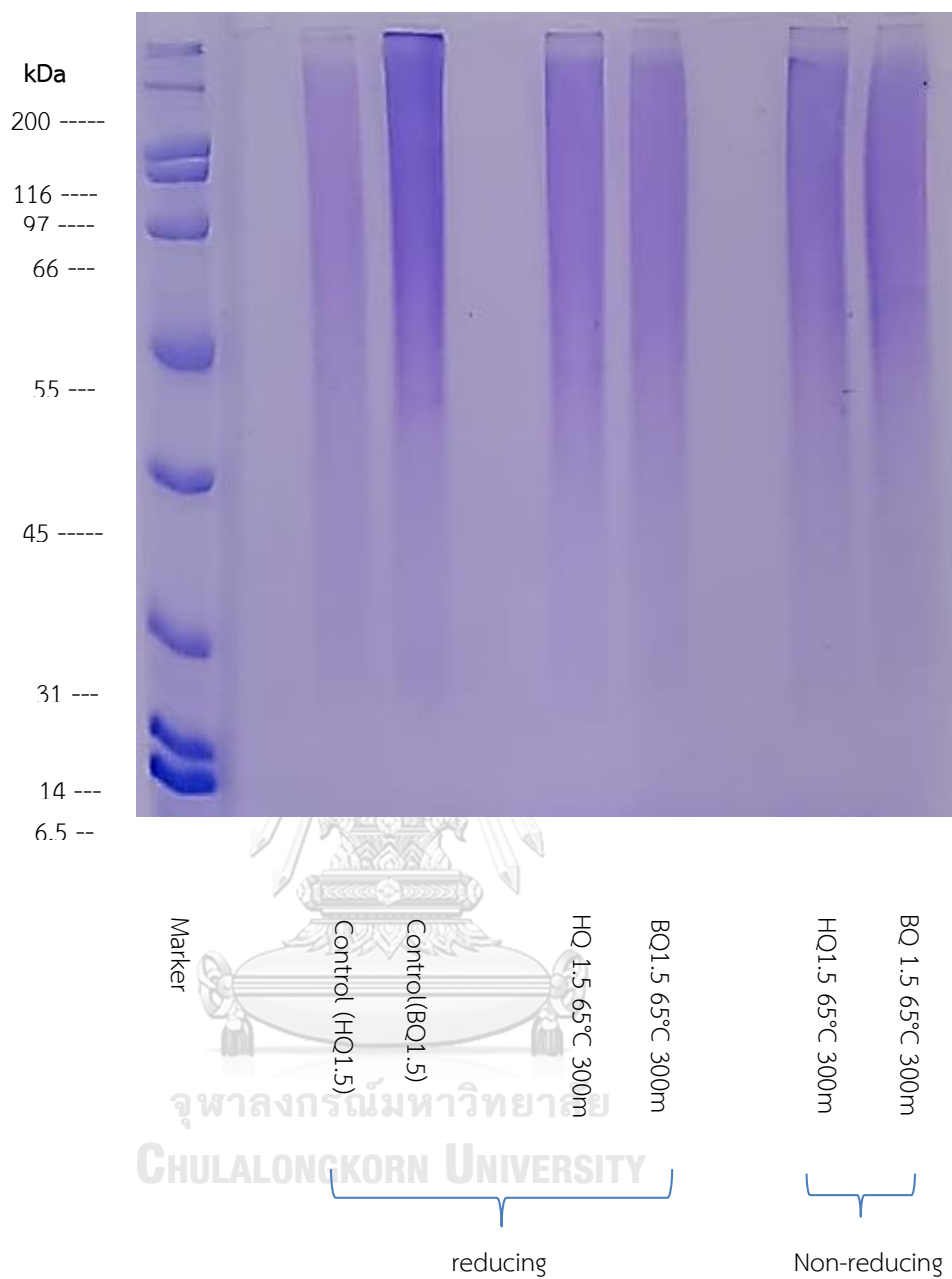
รูปที่ 4. 35 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



รูปที่ 4.35 (ต่อ) ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

#### 4.3.10 รูปแบบของแถบโปรตีน

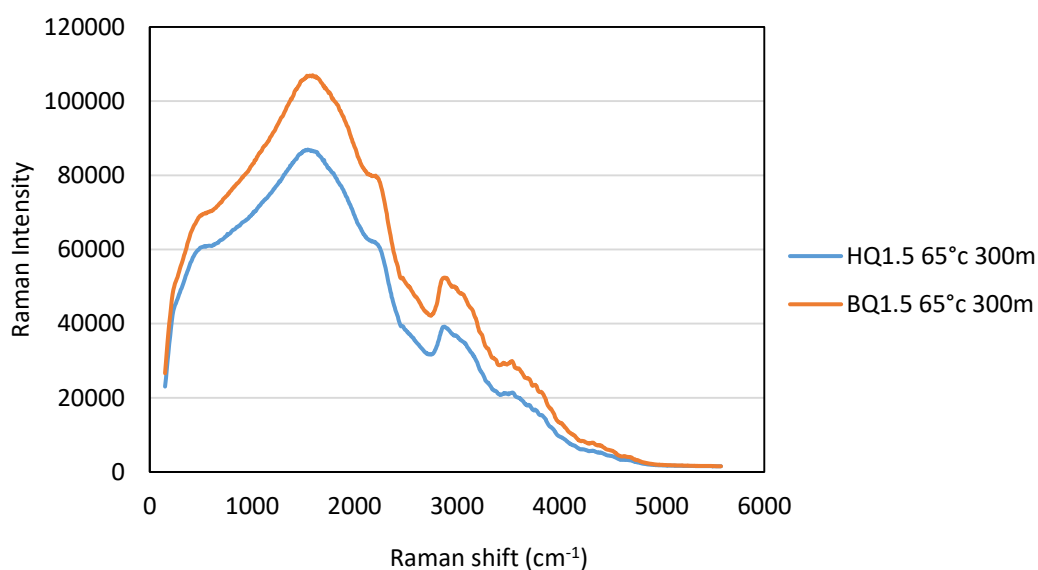
เช่นเดียวกับตอนที่ 4.2 งานวิจัยนี้ตั้งสมมติฐานว่าการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนจะส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไฮดรอลิซิสไฟต์ ซึ่งทำให้เกิดการเชื่อมข้ามโปรตีนด้วยพันธะไฮดรอลิซิส งานวิจัยในขั้นตอนนี้จึงติดตามการเชื่อมข้ามของโปรตีนโดยศึกษารูปแบบของแถบโปรตีนด้วย SDS-PAGE โดยตัวอย่างฟิล์มที่คัดเลือกมาศึกษาได้แก่ฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% และฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการการบ่มแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที สำหรับตัวอย่างที่เติมไฮโดรควิโนนไม่พบการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของแถบโปรตีนที่เห็นได้ชัดเจน แต่สำหรับตัวอย่างที่เติมพารา-เบนโซควิโนนพบว่าในตัวอย่างที่มีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อน แถบโปรตีนมีความเข้มลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งแสดงว่าการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนสามารถเร่งให้เกิดพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้ามโปรตีน และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่ศึกษาโดย non-reducing SDS-PAGE และ reducing SDS-PAGE พบว่าความเข้มของแถบโปรตีนไม่แตกต่างกันมากนัก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่เจลาตินเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสคอลลาเจนบางส่วนและมีรูปแบบของแถบโปรตีนที่ไม่มีการแยกของแถบที่ชัดเจน การเปรียบเทียบการเกิดโปรตีนที่ถูกเชื่อมข้ามด้วยพันธะไฮดรอลิซิสไฟต์ด้วย โดย non-reducing SDS-PAGE และ reducing SDS-PAGE จึงเห็นได้ไม่ชัดเจน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงติดตามการเกิดพันธะไฮดรอลิซิสไฟต์ด้วยเทคนิครามานสเปกโทรสโกปีดังรายละเอียดในหัวข้อต่อไป



รูปที่ 4. 36 รูปแบบแถบโปรตีนของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที

#### 4.3.11 การเกิดพันธะไดซัลไฟด์

ตามที่ในงานวิจัยนี้มีสมมติฐานว่าการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนจะส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไฮดรอล-ไดซัลไฟด์ เกิดเป็นพันธะ S-S เชื่อมข้ามโปรตีนนั้น จึงติดตามการเกิดพันธะดังกล่าวด้วยเทคนิครามานสเปกโทรสโกปี พบว่าตัวอย่างที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนและบ่มแผ่นฟิล์มที่ 65°C เป็นเวลา 300 นาที มีสเปกตรัมรามานที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน (รูปที่ 4.37) และผลที่ได้นี้ใกล้เคียงกับผลตอนที่ 4.2 โดยปรากฏความเข้มในช่วงรามานชิฟต์ประมาณ 500 เซนติเมตร<sup>-1</sup> ซึ่งเกี่ยวข้องกับการยึดของพันธะ S-S ดังนั้นจึงยืนยันได้ว่าการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนสามารถส่งเสริมให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์เชื่อมข้ามโปรตีนได้



รูปที่ 4. 37 Raman spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

ควิโนนทั้งไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนสามารถนำมาใช้เพื่อปรับปรุงความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลาตินได้ ในงานวิจัยนี้พบว่าเมื่อความเข้มข้นของควิโนนอยู่ในช่วง 0.5-1.5% โดยน้ำหนักของเจลาติน ความต้านทานแรงดึงขาดและการยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นของควิโนนเพิ่มขึ้นถึง 3.0% ความต้านทานแรงดึงขาดและการยึดตัวถึงจุดขาดกลับมีค่าลดลง โดยในงานวิจัยนี้พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด ได้แก่ ฟิล์มที่เติม ไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% และฟิล์มที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% นอกจากนี้ยังพบว่าควิโนนที่อยู่ในรูปที่ออกซิไดส์ซึ่งได้แก่พารา-เบนโซควิโนนมีประสิทธิภาพในการปรับปรุงความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลาตินสูงกว่าควิโนนที่อยู่ในรูปรีดิวซ์ซึ่งได้แก่ไฮโดรควิโนน นอกจากสมบัติเชิงกลแล้ว การเติม ควิโนนยังมีผลต่อสมบัติด้านอื่นของฟิล์ม ได้แก่ สมบัติเชิงแสง และสมบัติความไม่ชอบน้ำ โดยทั่วไปพบว่าฟิล์มที่เติมควิโนนมีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) ลดลงในขณะที่มีค่า  $a^*$  และ  $b^*$  เพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้มุมสีเข้าใกล้มุมของสีแดงมากขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้ฟิล์มมีความขุ่นสีสูงขึ้นและมีความโปร่งใสต่ำลง ในขณะที่สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำและความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของควิโนนเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำเพิ่มมากขึ้น สำหรับพฤติกรรมการดูดความชื้นที่อุณหภูมิคงที่  $25^{\circ}\text{C}$  พบว่าฟิล์มที่เติมควิโนนเข้มข้น 1.5% มีเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นชนิด type II โดยวอเตอร์แอกทิวิตีที่เปลี่ยนแปลงมีผลต่อความต้านทานแรงดึงขาดและการยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์ม การเกิดพันธะ โควาลেন্ট C-N เชื่อมข้ามโปรตีนที่เหนียวนำโดยการเติมควิโนนสามารถยืนยันได้จากรูปแบบของแถบโปรตีนที่ติดตามด้วย SDS-PAGE และการดูกลืนแสงที่เลขคลื่นประมาณ  $1100 \text{ เซนติเมตร}^{-1}$  ที่ติดตามด้วยเทคนิค FT-IR ซึ่งเป็นช่วงของการเกิดการยึดของพันธะ C-N

สำหรับการศึกษาผลของการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% พบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ  $55^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 20 นาที ส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุดและมีการยึดตัวถึงจุดขาดต่ำสุด นอกจากนี้ยังพบว่าผลการบ่มสารละลายฟิล์มยังส่งผลต่อสมบัติด้านอื่นของฟิล์มที่ได้ โดยการบ่ม

สารละลายฟิล์มทำให้ฟิล์มที่ได้มีความสว่างและความโปร่งใสดลดลง และความเข้มสีเพิ่มขึ้น โดยฟิล์มที่ได้มีมุมสปีอยู่ในช่วงของสีส้มแดง นอกจากนี้ยังพบว่า การบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลาสั้นส่งผลให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำและความสามารถในการละลายน้ำลดต่ำลง และการบ่มสารละลายฟิล์มยังทำให้ฟิล์มที่ได้มีผิวที่ไม่ชอบน้ำ จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิครามานสเปกโทรสโกปียืนยันการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ โดยปรากฏความเข้มในช่วงรามานชิฟต์ประมาณ  $500 \text{ เซนติเมตร}^{-1}$  ซึ่งเกี่ยวข้องกับพันธะ S-S

สำหรับการศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มที่เติมไฮโดรควิโนน และพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% พบว่าตัวอย่างฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มแผ่นฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น โดยการบ่มแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ  $65^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 300 นาที ส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุดและมีการยืดตัวถึงจุดขาดต่ำสุด นอกจากนี้การบ่มแผ่นฟิล์มยังทำให้ฟิล์มที่ได้มีความเข้มสีเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่มีความโปร่งใส สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ และความสามารถในการละลายน้ำลดต่ำลง นอกจากนี้แผ่นฟิล์มที่บ่มด้วยความร้อนยังมีผิวที่ไม่ชอบน้ำ การเกิดพันธะไดซัลไฟด์ในตัวอย่างที่บ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนสามารถยืนยันได้ด้วยเทคนิครามาน สเปกโทรสโกปีเช่นเดียวกัน

## รายการเอกสารอ้างอิง

- Achet, D., & He, X. W. (1995). Determination of the renaturation level in gelatin films. *Polymer*, 36(4), 787-791.
- Ahmadi, R., Kalbasi-Ashtari, A., Oromiehie, A., Yarmand, M.-S., & Jahandideh, F. (2012). Development and characterization of a novel biodegradable edible film obtained from psyllium seed (*Plantago ovata* Forsk). *Journal of Food Engineering*, 109(4), 745-751.
- Ali, Y., Ghorpade, V. M., & Hanna, M. A. (1997). Properties of thermally-treated wheat gluten films. *Industrial Crops and Products*, 6(2), 177-184.
- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis*, 17th ed. Washington, D. C: The Association of Analytical Chemists.
- ASTM. (1999). *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.
- Balange, A. K., & Benjakul, S. (2009). Effect of oxidised phenolic compounds on the gel property of mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) surimi. *LWT - Food Science and Technology*, 42(6), 1059-1064.
- Bigi, A., Bracci, B., Cojazzi, G., Panzavolta, S., & Roveri, N. (1998). Drawn gelatin films with improved mechanical properties. *Biomaterials*, 19(24), 2335-2340.
- Bigi, A., Cojazzi, G., Panzavolta, S., Roveri, N., & Rubini, K. (2002). Stabilization of gelatin films by crosslinking with genipin. *Biomaterials*, 23(24), 4827-4832.
- Brunauer, S., Deming, L. S., Deming, W. E., & Teller, E. (1940). On a Theory of the van der Waals Adsorption of Gases. *Journal of the American Chemical Society*, 62(7), 1723-1732.
- Cao, N., Fu, Y., & He, J. (2007). Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1153-1162.
- Cisneros-Zevallos, L., & Krochta, J. M. (2006). Internal Modified Atmospheres of Coated Fresh Fruits and Vegetables: Understanding Relative Humidity Effects. *Journal of Food Science*, 67(6), 1990-1995.
- Cochran, W. G., & Cox, G. M. (1957). *Experimental designs*.



- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L., & Guilbert, S. (1996). Rheological Model for the Mechanical Properties of Myofibrillar Protein-Based Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(4), 1116-1122. doi:10.1021/jf950389n
- de Carvalho, R. A., & Grosso, C. R. F. (2004). Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. *Food Hydrocolloids*, 18(5), 717-726.
- Denavi, G., Tapia-Blácido, D. R., Añón, M. C., Sobral, P. J. A., Mauri, A. N., & Menegalli, F. C. (2009). Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. *Journal of Food Engineering*, 90(3), 341-349.
- Dias, A. B., Müller, C. M., Larotonda, F. D., & Laurindo, J. B. (2010). Biodegradable films based on rice starch and rice flour. *Journal of Cereal Science*, 51(2), 213-219.
- Erowid. (2005). Synthesis of para-Benzoquinone (online). Retrieved 04 April 2018, from <https://erowid.org/archive/rhodium/chemistry/benzoquinone.html>
- Feeney, R. E., Blankenhorn, G., & Dixon, H. B. F. (1975). Carbonyl-amine reactions in protein chemistry. In C. B. Anfinsen, J. T. Edsall, & F. M. Richards (Eds.), *Advances in Protein Chemistry* (Vol. 29, pp. 135-203): Academic Press.
- Fernandes Pedro, A., & Ramos Maria, J. (2003). Theoretical Insights into the Mechanism for Thio/Disulfide Exchange. *Chemistry – A European Journal*, 10(1), 257-266.
- Fernández, L., de Apodaca, E. D., Cebrián, M., Villarán, M. C., & Maté, J. I. (2007). Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of WPI-based edible films. *European Food Research and Technology*, 224(4), 415-420.
- Fujimori, E. (1965). Ultraviolet light-induced change in collagen macromolecules. *Biopolymers*, 3(2), 115-119.
- Galus, S., Mathieu, H., Lenart, A., & Debeaufort, F. (2012). Effect of modified starch or maltodextrin incorporation on the barrier and mechanical properties, moisture sensitivity and appearance of soy protein isolate-based edible films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16, 148-154.

- García, F. T., & Sobral, P. J. d. A. (2005). Effect of the thermal treatment of the filmogenic solution on the mechanical properties, color and opacity of films based on muscle proteins of two varieties of Tilapia. *LWT - Food Science and Technology*, 38(3), 289-296.
- Gelatin*. (1993). New York: Gelatin Manufacturers Institute of America.
- Gennadios, A., Ghorpade, V., Weller, C. L., & Hanna, M. (1996). Heat curing of soy protein films. *Transactions of the ASAE*, 39(2), 575-579.
- Ghanbarzadeh, B., & Oromiehi, A. (2008). Biodegradable biocomposite films based on whey protein and zein: Barrier, mechanical properties and AFM analysis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43(2), 209-215.
- Gómez-Estaca, J., Giménez, B., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2009). Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *Journal of Food Engineering*, 92(1), 78-85.
- Gómez-Guillén, M. C., Turnay, J., Fernández-Díaz, M. D., Ulmo, N., Lizarbe, M. A., & Montero, P. (2002). Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 16(1), 25-34.
- González, A., Strumia, M. C., & Alvarez Igarzabal, C. I. (2011). Cross-linked soy protein as material for biodegradable films: Synthesis, characterization and biodegradation. *Journal of Food Engineering*, 106(4), 331-338.
- Ha, C. R., & Iuchi, I. (2003). *Transglutaminase*. New York: Marcel Dekker.
- Hampton, C., & Demoin, D. (2010). Vibrational spectroscopy tutorial: sulfur and phosphorus. *Organic Spectroscopy [online]*. Retrieved from, [http://faculty.missouri.edu/~glaserr/8160f8110/A8103\\_Silver.pdf](http://faculty.missouri.edu/~glaserr/8160f8110/A8103_Silver.pdf). [2014, October 8169].
- Han, J., Seo, G., Park, I., Kim, G., & Lee, D. (2006). Physical and mechanical properties of pea starch edible films containing beeswax emulsions. *Journal of Food Science*, 71(6), E290-E296.
- Hansen, E. F., Lee, S. N., & Sobel, H. (1992). The Effects of Relative Humidity on Some Physical Properties of Modern Vellum: Implications for the Optimum Relative

- Humidity for the Display and Storage of Parchment. *Journal of the American Institute for Conservation*, 31(3), 325-342. doi:10.2307/3179727
- Harper, B., Barbut, S., Lim, L.-T., & Marcone, M. (2013). Characterization of 'wet' alginate and composite films containing gelatin, whey or soy protein. *Food Research International*, 52(2), 452-459.
- Haslam, E. (1989). *Vegetable tannins revisited*. Cambridge: Cambridge University.
- Hernández-Muñoz, P., Villalobos, R., & Chiralt, A. (2004a). Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin-rich films. *Food Hydrocolloids*, 18(3), 403-411.
- Hernández-Muñoz, P., Villalobos, R., & Chiralt, A. (2004b). Effect of thermal treatments on functional properties of edible films made from wheat gluten fractions. *Food Hydrocolloids*, 18(4), 647-654.
- Hoque, M. S., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2010). Effect of heat treatment of film-forming solution on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. *Journal of Food Engineering*, 96(1), 66-73.
- Hoque, M. S., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2011). Properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1085-1097.
- Insaward, A., Duangmal, K., & Mahawanich, T. (2015). Mechanical, Optical, and Barrier Properties of Soy Protein Film As Affected by Phenolic Acid Addition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(43), 9421-9426.
- Jangchud, A., & Chinnan, M. (1999). Properties of peanut protein film: sorption isotherm and plasticizer effect. *LWT-Food Science and Technology*, 32(2), 89-94.
- Jensen, E. V. (1959). Sulfhydryl-Disulfide Interchange. *Science*, 130(3385), 1319-1323.
- Jiang, Y., Tang, C.-H., Wen, Q.-B., Li, L., & Yang, X.-Q. (2007). Effect of processing parameters on the properties of transglutaminase-treated soy protein isolate films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(2), 218-225.
- Jo, C., Kang, H., Lee, N. Y., Kwon, J. H., & Byun, M. W. (2005). Pectin- and gelatin-based film: effect of gamma irradiation on the mechanical properties and biodegradation. *Radiation Physics and Chemistry*, 72(6), 745-750.

- Johnston-Banks, F. A. (1990). Gelatine. In P. Harris (Ed.), *Food Gels* (pp. 233-289). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Tanaka, M. (2006). Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe red snapper: Chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties. *Food Hydrocolloids*, 20(8), 1216-1222.
- Kanatt, S. R., Rao, M., Chawla, S., & Sharma, A. (2012). Active chitosan–polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 290-297.
- Kim, K. M., Weller, C. L., Hanna, M. A., & Gennadios, A. (2002). Heat Curing of Soy Protein Films at Selected Temperatures and Pressures. *LWT - Food Science and Technology*, 35(2), 140-145.
- Klein, D. R. (2012). *Organic Chemistry As a Second Language*. Hoboken: John Wiley & Sons.
- Kuan, Y.-H., Bhat, R., Patras, A., & Karim, A. A. (2013). Radiation processing of food proteins – A review on the recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 30(2), 105-120.
- Kunte, L., Gennadios, A., Cuppett, S., Hanna, M., & Weller, C. L. (1997). Cast films from soy protein isolates and fractions 1. *Cereal Chemistry*, 74(2), 115-118.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
- Lee, K. Y., Shim, J., & Lee, H. G. (2004). Mechanical properties of gellan and gelatin composite films. *Carbohydrate Polymers*, 56(2), 251-254.
- Lim, L.-T., Mine, Y., & Tung, M. A. (1998). Transglutaminase cross-linked egg white protein films: tensile properties and oxygen permeability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4022-4029.
- Liu, C.-C., Tellez-Garay, A. M., & Castell-Perez, M. E. (2004). Physical and mechanical properties of peanut protein films. *LWT - Food Science and Technology*, 37(7), 731-738.
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). *Molecular Cell Biology*, 4th ed. New York: W. H. Freeman and Company.

- Mahmoud, R., & Savello, P. (1992). Mechanical properties of and water vapor transferability through whey protein film. *Journal of Dairy Science* 75, 942-946.
- Mariniello, L., Di Pierro, P., Esposito, C., Sorrentino, A., Masi, P., & Porta, R. (2003). Preparation and mechanical properties of edible pectin-soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. *Journal of Biotechnology*, 102(2), 191-198.
- Marquié, C. (2001). Chemical Reactions in Cottonseed Protein Cross-Linking by Formaldehyde, Glutaraldehyde, and Glyoxal for the Formation of Protein Films with Enhanced Mechanical Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4676-4681.
- Marquié, C., Tessier, A.-M., Aymard, C., & Guilbert, S. (1997). HPLC Determination of the Reactive Lysine Content of Cottonseed Protein Films To Monitor the Extent of Cross-Linking by Formaldehyde, Glutaraldehyde, and Glyoxal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(3), 922-926.
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, 27(12), 1254-1255.
- Michon, T., Chenu, M., Kellershon, N., Desmadril, M., & Guéguen, J. (1997). Horseradish Peroxidase Oxidation of Tyrosine-Containing Peptides and Their Subsequent Polymerization: A Kinetic Study. *Biochemistry*, 36(28), 8504-8513.
- Migneault, I., Dartiguenave, C., Bertrand, M. J., & Waldron, K. C. (2004). Glutaraldehyde: behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking. *Biotechniques*, 37(5), 790-796, 798-802.
- Miller, K. S., & Krochta, J. M. (1997). Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 8(7), 228-237.
- Monedero, F. M., Fabra, M. J., Talens, P., & 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(4), 509-515.
- Nuthong, P., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2009). Effect of phenolic compounds on the properties of porcine plasma protein-based film. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 736-741.

- O'Brien, P. J., Siraki, A. G., & Shangari, N. (2005). Aldehyde Sources, Metabolism, Molecular Toxicity Mechanisms, and Possible Effects on Human Health. *Critical reviews in toxicology*, 35(7), 609-662.
- O'Connell, J. E., & Fox, P. F. (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy Journal*, 11(3), 103-120.
- Ou, S., Wang, Y., Tang, S., Huang, C., & Jackson, M. G. (2005). Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. *Journal of Food Engineering*, 70(2), 205-210.
- Pauling, L., Corey, R. B., & Branson, H. R. (1951). The structure of proteins: Two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 37(4), 205.
- Pelissari, F. M., Andrade-Mahecha, M. M., do Amaral Sobral, P. J., & Menegalli, F. C. (2013). Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). *Food Hydrocolloids*, 30(2), 681-690.
- Perez-Gago, M. B., & Krochta, J. M. (2001). Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. *Food Engineering and Physical Properties*, 66, 705-710.
- Pérez-Mateos, M., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. (2009). Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 53-61.
- Perkasa, D. P., Erizal, E., Darmawan, D., & Rasyid, A. (2013). Effect of gamma irradiation on mechanical and thermal properties of fish gelatin film isolated from *lates calcarifer* scales. 2013, 13(1).
- Peterson, G. L. (1983). Determination of total protein. *Methods in Enzymology* 91, 95-119.
- Pierpoint, W. S. (1969). o-Quinones formed in plant extracts. Their reaction with bovine serum albumin. *Biochemical Journal*, 112(5), 619-629.
- Prodpran, T., Benjakul, S., & Phatcharat, S. (2012). Effect of phenolic compounds on protein cross-linking and properties of film from fish myofibrillar protein. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(5), 774-782.

- Rachtanapun, P., Luangkamin, S., Tanprasert, K., & Suriyatem, R. (2012). Carboxymethyl cellulose film from durian rind. *LWT - Food Science and Technology*, *48*, 52–58.
- Rahman, M., Dey, K., Fahmida, P., Sharmin, N., A. Khan, R., Sarker, B., . . . Chowdhury, A. M. S. (2011). *Preparation and Characterization of Gelatin-Based PVA Film: Effect of Gamma Irradiation* (Vol. 60).
- Rawel, H. M., Czajka, D., Rohn, S., & Kroll, J. (2002). Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, *30*(3), 137-150.
- Rayner, M., Ciolfi, V., Maves, B., Stedman, P., & Mittal, G. S. (2000). Development and application of soy-protein films to reduce fat intake in deep-fried foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *80*(6), 777-782.
- Rhim, J. W., Gennadios, A., Handa, A., Weller, C. L., & Hanna, M. A. (2000). Solubility, tensile, and color properties of modified soy protein isolate films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(10), 4937-4941.
- Roy, S., Weller, C. L., Gennadios, A., Zeece, M. G., & Testin, R. F. (2006). Physical and molecular properties of wheat gluten films cast from heated film-forming solutions. *Journal of Food Science*, *64*(1), 57-60.
- Sabato, S., Nakamurakare, N., & Sobral, P. (2005). Effect of ionizing radiation on tilapia (*Oreochromis niloticus*) Protein Biofilms.
- Schrieber, R., & Gareis, H. (2007). *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*.
- Sisson, K., Zhang, C., Farach-Carson, M. C., Chase, D. B., & Rabolt, J. F. (2009). Evaluation of cross-linking methods for electrospun gelatin on cell growth and viability. *Biomacromolecules*, *10*(7), 1675-1680.
- Soazo, M., Perez, L. M., Rubiolo, A. C., & Verdini, R. A. (2013). Effect of freezing on physical properties of whey protein emulsion films. *Food Hydrocolloids*, *31*(2), 256-263.
- Strauss, G., & Gibson, S. M. (2004). Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients. *Food Hydrocolloids*, *18*(1), 81-89.

- Stuchell, Y. M., & Krochta, J. M. (1994). Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein films. *Journal of Food Science*, 59(6), 1332-1337.
- Tang, C.-H., & Jiang, Y. (2007). Modulation of mechanical and surface hydrophobic properties of food protein films by transglutaminase treatment. *Food Research International*, 40(4), 504-509.
- Tang, C.-H., Jiang, Y., Wen, Q.-B., & Yang, X.-Q. (2005). Effect of transglutaminase treatment on the properties of cast films of soy protein isolates. *Journal of Biotechnology*, 120(3), 296-307.
- Tang, C.-H., Xiao, M.-L., Chen, Z., Yang, X.-Q., & Yin, S.-W. (2009). Properties of cast films of vicilin-rich protein isolates from Phaseolus legumes: Influence of heat curing. *LWT - Food Science and Technology*, 42(10), 1659-1666.
- Wang, Y., Liu, A., Ye, R., Wang, W., & Li, X. (2015). Transglutaminase-induced crosslinking of gelatin–calcium carbonate composite films. *Food Chemistry*, 166, 414-422.
- Wang, Y., Xiong, Y. L., Rentfrow, G. K., & Newman, M. C. (2013). Oxidation promotes cross-linking but impairs film-forming properties of whey proteins. *Journal of Food Engineering*, 115(1), 11-19.
- Wasswa, J., Tang, J., & Gu, X. (2007). Utilization of fish processing by-products in the gelatin industry. *Food Reviews International*, 23(2), 159-174.
- Weng, W., & Wu, F. (2015). Water resistance and mechanical property improvement of tilapia (*Tilapia zillii*) scale gelatin films by dehydrated thermal treatment. *Journal of Food Science and Technology*, 52(6), 3358-3366.
- Weng, W., & Zheng, H. (2015). Effect of transglutaminase on properties of tilapia scale gelatin films incorporated with soy protein isolate. *Food Chemistry*, 169, 255-260.
- Whistler, A., & Daniel, J. R. (1990). *Function of polysaccharides in foods* (A. L. Branen, P. M. Davidson, & S. Salinen Eds.). New York: Marcel Dekker.
- Yam, K. L. (2009). *The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology* (3rd ed.). Hoboken: Wiley.
- Yamauchi, A., Hatanaka, Y., Muro, T., & Kobayashi, O. (2009). Enzyme-free quinone crosslinking reaction for proteins: A macromolecular characterization study using gelatin. *Macromolecular Journals*, 9, 875-883.



Yi, J. B., Kim, Y. T., Bae, H. J., Whiteside, W. S., & Park, H. J. (2006). Influence of transglutaminase-induced cross-linking on properties of fish gelatin films. *Journal of Food Science*, 71(9), E376-E383.

Zhang, Z. K., Li, G. Y., & L. Shi, B. (2006). Physicochemical properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate derived from bovine lamed split wastes. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 90, 23-28.

นลินทิพย์ คงแก้ว. (2554). ผลของลิพิดและการบ่มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มอีมีลชันโปรตีนถั่วเหลือง. (วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต), จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อัษฎนา อินสวาสดี, เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์, & ธนจันทร์ มหาวนิช. (2557). การเตรียมฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดโดยใช้กรดฟีนอลิกและการบ่ม. (วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต), จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
**CHULALONGKORN UNIVERSITY**

## ภาคผนวก ก

## ข้อมูลเฉพาะของผลิตภัณฑ์

## ก.1 เจลาตินจากวัว (edible bovine gelatin)

ผลิตภัณฑ์ของ: บริษัท ซีที เคมีคอล เทรดิง (ประเทศไทย) จำกัด, กรุงเทพฯ

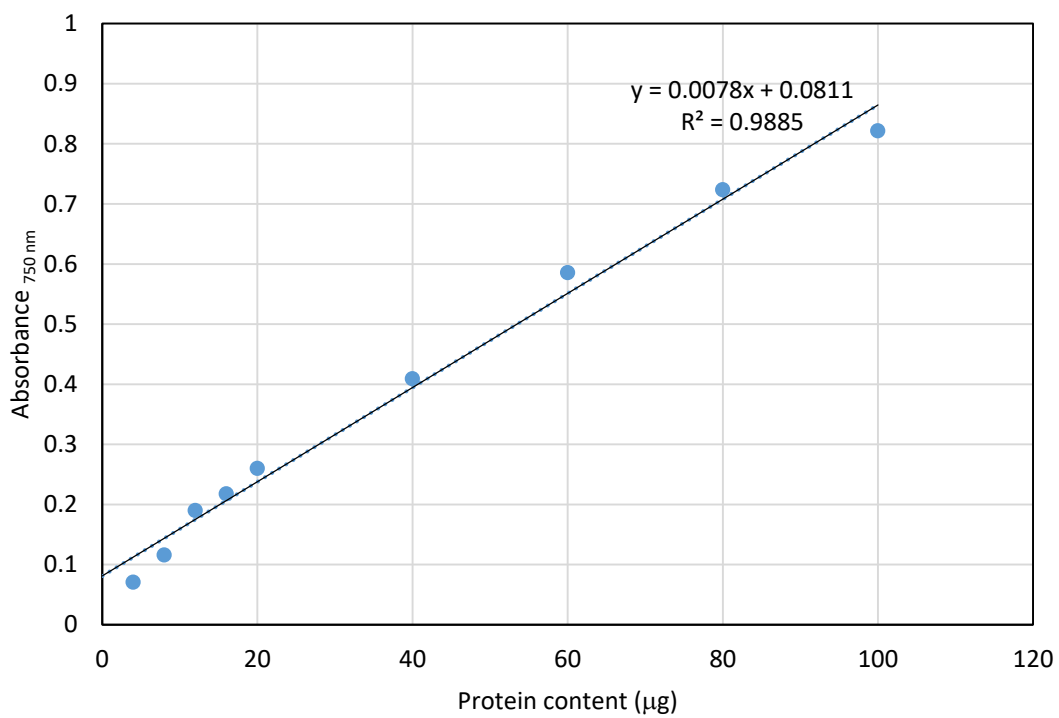
ข้อมูลวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์:

ความแข็งแรงของเจล (bloom)	246 g
ความหนืด	36 mPs
ความชื้น	≤ 12%
เถ้า	≤ 2%
ซิลเฟอไรไดออกไซด์	≤ 40 ppm
เพอร์ออกไซด์	≤ 10 ppm
พีเอช	5.8
โลหะหนัก	≤ 40 ppm
ปรอท	≤ 0.10 ppm
ตะกั่ว	≤ 3 ppm
สารหนู	≤ 1 ppm
แคดเมียม	≤ 0.5 ppm
โครเมียม	≤ 10 ppm
ทองแดง	≤ 30 ppm
สังกะสี	≤ 50 ppm

ข้อมูลวิเคราะห์จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์:

Total count	≤ 1000 CFU/g
Coliforms total	Absent / 1 g
Fecal Coliforms	Absent / 10 g
Salmonella	Negative / 25 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Negative / 1 g
<i>Clostridium perfringens</i>	Negative / 10 mg
Anaerobic sulfate reducing bacteria	≤ 10 CFU/g

ภาคผนวก ข  
กราฟเทียบมาตรฐาน



รูปที่ ข. 1 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified Lowry

## ภาคผนวก ค

## ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ ค. 1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน  
เข้มข้น 0.5-3.0%

ตัวอย่างฟิล์ม	ความเข้มข้นของควิโนน (% โดยน้ำหนักเจลลาติน)	ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)
Control	0	2.65 ± 0.03 <sup>f</sup>
HQ	0.5	2.86 ± 0.03 <sup>e</sup>
	1.0	3.29 ± 0.02 <sup>c</sup>
	1.5	3.90 ± 0.34 <sup>b</sup>
	3.0	3.08 ± 0.01 <sup>d</sup>
	BQ	0.5
	1.0	3.83 ± 0.01 <sup>b</sup>
	1.5	4.83 ± 0.00 <sup>a</sup>
	3.0	3.78 ± 0.02 <sup>b</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a,b,c,...ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

ตารางที่ ค. 2 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%

ตัวอย่างฟิล์ม	ความเข้มข้นของควิโนน (% โดยน้ำหนักเจลลาติน)	การยืดตัวถึงจุดขาด (%)
Control	0	251.17 ± 9.83 <sup>e</sup>
HQ	0.5	341.33 ± 7.15 <sup>c</sup>
	1.0	348.67 ± 4.65 <sup>bc</sup>
	1.5	369.17 ± 7.75 <sup>a</sup>
	3.0	349.33 ± 14.98 <sup>bc</sup>
BQ	0.5	351.67 ± 2.51 <sup>bc</sup>
	1.0	360.65 ± 2.11 <sup>ab</sup>
	1.5	319.33 ± 3.75 <sup>d</sup>
	3.0	318.67 ± 2.89 <sup>d</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตารางที่ ค. 3 ความโปร่งใส (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนน และพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%

ตัวอย่างฟิล์ม	ความเข้มข้นของควิโนน (% โดยน้ำหนักเจลลาติน)	ร้อยละของแสงส่องผ่าน
Control	0	21.33±0.30 <sup>a</sup>
HQ	0.5	4.75±0.04 <sup>b</sup>
	1.0	3.61±0.01 <sup>d</sup>
	1.5	2.81±0.01 <sup>f</sup>
	3.0	1.46±0.00 <sup>h</sup>
BQ	0.5	4.25±0.02 <sup>c</sup>
	1.0	3.18±0.02 <sup>e</sup>
	1.5	2.31±0.02 <sup>g</sup>
	3.0	0.66±0.02 <sup>i</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a,b,c,...ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

ตารางที่ ค. 4 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%

ตัวอย่างฟิล์ม	ความเข้มข้นของควิโนน (% โดยน้ำหนักเจลาติน)	สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (กรัม เมตร/พาสคาล ชั่วโมง ตารางเมตร)
Control	0	$0.52 \pm 0.01^a$
HQ	0.5	$0.51 \pm 0.02^{ab}$
	1.0	$0.51 \pm 0.01^{ab}$
	1.5	$0.49 \pm 0.01^b$
	3.0	$0.48 \pm 0.02^{bc}$
BQ	0.5	$0.49 \pm 0.03^b$
	1.0	$0.50 \pm 0.00^b$
	1.5	$0.49 \pm 0.00^b$
	3.0	$0.46 \pm 0.01^c$

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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



ตารางที่ ค. 5 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%

ตัวอย่างฟิล์ม	ความเข้มข้นของควิโนน (% โดยน้ำหนักเจลาติน)	ความสามารถในการละลายน้ำ (%)
Control	0	76.28 ± 1.06 <sup>a</sup>
HQ	0.5	60.03 ± 1.68 <sup>b</sup>
	1.0	51.19 ± 1.40 <sup>c</sup>
	1.5	46.92 ± 0.40 <sup>d</sup>
	3.0	36.93 ± 0.53 <sup>f</sup>
BQ	0.5	51.47 ± 0.69 <sup>c</sup>
	1.0	47.69 ± 0.44 <sup>d</sup>
	1.5	41.87 ± 0.57 <sup>e</sup>
	3.0	35.07 ± 0.73 <sup>g</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตารางที่ ค. 6 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%

ตัวอย่างฟิล์ม	ความเข้มข้นของควิโนน (% โดยน้ำหนักเจลลาติน)	มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม (องศา)
Control	0	70.50 ± 0.21 <sup>h</sup>
HQ	0.5	90.40 ± 0.63 <sup>g</sup>
	1.0	91.10 ± 0.42 <sup>f</sup>
	1.5	92.91 ± 0.35 <sup>c</sup>
	3.0	95.98 ± 0.54 <sup>b</sup>
BQ	0.5	91.56 ± 0.49 <sup>ef</sup>
	1.0	92.08 ± 0.02 <sup>de</sup>
	1.5	92.70 ± 0.22 <sup>cd</sup>
	3.0	97.31 ± 0.21 <sup>a</sup>

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตารางที่ ค. 6 ข้อมูลสำหรับเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นที่ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5%

วอเตอร์แอกทิวิตี	ปริมาณความชื้น (% โดยฐานเปียก)
0.11	7.73 ± 1.86
0.22	8.53 ± 1.02
0.33	10.57 ± 0.43
0.43	11.96 ± 0.49
0.53	13.43 ± 1.24
0.69	19.75 ± 3.17
0.84	33.70 ± 3.35
0.94	40.17 ± 1.43

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ ค. 8 ข้อมูลสำหรับเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นที่ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5%

วอเตอร์แอกทิวิตี	ปริมาณความชื้น (% โดยฐานเปียก)
0.11	6.08 ± 0.49
0.22	8.55 ± 0.52
0.33	10.13 ± 0.70
0.43	12.31 ± 0.14
0.53	15.16 ± 0.18
0.69	21.10 ± 0.09
0.84	32.03 ± 0.53
0.94	38.46 ± 0.19

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ ค. 7 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน  
เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มสารละลายฟิล์ม		ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)
	อุณหภูมิ (องศา)	เวลา (นาที)	
Control(HQ1.5)	-	-	3.90±0.34 <sup>k</sup>
HQ1.5	45	10	5.78±0.05 <sup>i</sup>
		20	6.54±0.12 <sup>s</sup>
		30	7.20±0.07 <sup>de</sup>
	55	10	8.31±0.09 <sup>c</sup>
		20	9.36±0.05 <sup>b</sup>
		30	9.14±0.03 <sup>b</sup>
	65	10	6.20±0.08 <sup>h</sup>
		20	6.11±0.02 <sup>h</sup>
		30	6.82±0.12 <sup>f</sup>
Control(BQ1.5)	-	-	4.84±0.00 <sup>j</sup>
BQ1.5	45	10	5.80±0.08 <sup>i</sup>
		20	7.39±0.25 <sup>d</sup>
		30	8.41±0.06 <sup>c</sup>
	55	10	8.28±0.27 <sup>c</sup>
		20	10.20±0.03 <sup>a</sup>
		30	9.19±0.18 <sup>b</sup>
	65	10	6.60±0.06 <sup>s</sup>
		20	7.29±0.07 <sup>de</sup>
		30	7.14±0.04 <sup>e</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตารางที่ ค. 8 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มสารละลายฟิล์ม		การยืดตัวถึงจุดขาด (%)
	อุณหภูมิ (องศา)	เวลา (นาที)	
Control(HQ1.5)	-	-	369.17±7.75 <sup>a</sup>
HQ1.5	45	10	333.60±1.10 <sup>b</sup>
		20	313.64±3.14 <sup>c</sup>
		30	283.85±5.20 <sup>e</sup>
	55	10	254.53±5.23 <sup>g</sup>
		20	233.35±2.18 <sup>i</sup>
		30	231.20±0.59 <sup>ji</sup>
	65	10	318.80±5.97 <sup>c</sup>
		20	316.67±3.33 <sup>c</sup>
		30	313.33±3.25 <sup>c</sup>
Control(BQ1.5)	-	-	319.33±3.75 <sup>c</sup>
BQ1.5	45	10	330.64±1.45 <sup>b</sup>
		20	275.02±2.62 <sup>f</sup>
		30	245.97±1.61 <sup>h</sup>
	55	10	257.85±1.88 <sup>g</sup>
		20	225.80±2.56 <sup>j</sup>
		30	229.43±1.00 <sup>ji</sup>
	65	10	326.99±2.98 <sup>b</sup>
		20	294.46±7.55 <sup>d</sup>
		30	292.61±3.64 <sup>d</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a,b,c,...ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ ค. 9 ความโปร่งใสของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มสารละลายฟิล์ม		ร้อยละของแสงส่องผ่าน
	อุณหภูมิ (องศา)	เวลา (นาที)	
Control(HQ 1.5)	-	-	2.81±0.01 <sup>a</sup>
HQ1.5	45	10	2.59±0.01 <sup>b</sup>
		20	2.53±0.01 <sup>c</sup>
		30	2.40±0.00 <sup>e</sup>
	55	10	2.49±0.01 <sup>d</sup>
		20	2.41±0.01 <sup>e</sup>
		30	2.21±0.01 <sup>h</sup>
	65	10	2.31±0.01 <sup>f</sup>
		20	2.09±0.01 <sup>j</sup>
		30	1.97±0.02 <sup>m</sup>
Control(BQ1.5)	-	-	2.31±0.02 <sup>f</sup>
BQ1.5	45	10	2.25±0.01 <sup>g</sup>
		20	2.14±0.02 <sup>i</sup>
		30	2.02±0.02 <sup>l</sup>
	55	10	2.15±0.01 <sup>i</sup>
		20	2.05±0.01 <sup>k</sup>
		30	1.89±0.12 <sup>n</sup>
	65	10	1.88±0.02 <sup>n</sup>
		20	1.40±0.00 <sup>o</sup>
		30	1.21±0.01 <sup>p</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>a,b,c...</sup>ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ค. 10 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มสารละลายฟิล์ม		สภาพซึมผ่านได้ของไอน้ำ (กรัม เมตร/พาสคาล ชั่วโมง ตารางเมตร)
	อุณหภูมิ (องศา)	เวลา (นาที)	
Control(HQ 1.5)	-	-	0.50±0.01 <sup>ab</sup>
HQ1.5	45	10	0.49±0.01 <sup>abc</sup>
		20	0.48±0.01 <sup>cd</sup>
		30	0.43±0.01 <sup>g</sup>
	55	10	0.51±0.01 <sup>ab</sup>
		20	0.49±0.01 <sup>abc</sup>
		30	0.43±0.01 <sup>g</sup>
65	10	0.49±0.00 <sup>bcd</sup>	
	20	0.48±0.01 <sup>cd</sup>	
	30	0.48±0.01 <sup>cd</sup>	
Control(BQ1.5)	-	-	0.49±0.00 <sup>abc</sup>
BQ1.5	45	10	0.49±0.01 <sup>abc</sup>
		20	0.47±0.00 <sup>de</sup>
		30	0.46±0.00 <sup>ef</sup>
	55	10	0.46±0.11 <sup>ef</sup>
		20	0.44±0.01 <sup>fg</sup>
		30	0.43±0.02 <sup>g</sup>
65	10	0.46±0.01 <sup>ef</sup>	
	20	0.51±0.01 <sup>a</sup>	
	30	0.50±0.01 <sup>ab</sup>	

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตารางที่ ค. 11 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มสารละลายฟิล์ม		ความสามารถในการละลายน้ำ (%)
	อุณหภูมิ (องศา)	เวลา (นาที)	
Control(HQ1.5)	0	0	46.92±0.40 <sup>a</sup>
HQ1.5	45	10	43.40±0.78 <sup>bcd</sup>
		20	41.29±0.42 <sup>cdef</sup>
		30	37.99±0.90 <sup>gh</sup>
	55	10	43.75±1.08 <sup>bc</sup>
		20	39.15±0.92 <sup>fg</sup>
		30	32.97±0.52 <sup>i</sup>
	65	10	43.53±1.80 <sup>bcd</sup>
		20	40.57±0.98 <sup>ef</sup>
		30	38.03±0.79 <sup>gh</sup>
Control(BQ1.5)	0	0	41.87±0.57 <sup>cde</sup>
BQ1.5	45	10	42.02±1.82 <sup>cde</sup>
		20	37.16±0.77 <sup>gh</sup>
		30	37.43±0.49 <sup>gh</sup>
	55	10	35.78±2.70 <sup>h</sup>
		20	26.35±1.20 <sup>k</sup>
		30	24.99±0.42 <sup>k</sup>
	65	10	45.49±2.38 <sup>ab</sup>
		20	32.17±1.79 <sup>i</sup>
			30

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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



ตารางที่ ค. 12 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มสารละลายฟิล์ม		มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม (องศา)
	อุณหภูมิ (องศา)	เวลา (นาที)	
Control(HQ 1.5)	0	0	92.91±0.35 <sup>i</sup>
HQ1.5	45	10	94.47±0.45 <sup>h</sup>
		20	96.18±0.68 <sup>f</sup>
		30	96.37±0.61 <sup>f</sup>
	55	10	97.43±0.34 <sup>e</sup>
		20	99.36±0.46 <sup>c</sup>
		30	100.34±0.08 <sup>b</sup>
	65	10	90.70±0.22 <sup>k</sup>
		20	88.08±0.08 <sup>m</sup>
		30	89.89±0.25 <sup>l</sup>
Control(BQ1.5)	0	0	92.70±0.22 <sup>i</sup>
BQ1.5	45	10	92.95±0.40 <sup>i</sup>
		20	94.39±0.05 <sup>h</sup>
		30	95.26±0.22 <sup>g</sup>
	55	10	98.75±0.48 <sup>d</sup>
		20	100.44±0.16 <sup>b</sup>
		30	101.53±0.49 <sup>a</sup>
	65	10	94.41±0.33 <sup>h</sup>
		20	91.34±0.28 <sup>i</sup>
		30	90.72±0.27 <sup>k</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a,b,c,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ ค. 15 ข้อมูลสำหรับเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นที่ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที

วอเตอร์แอกทिवิตี	ปริมาณความชื้น (% โดยฐานเปียก)
0.11	8.66 ± 0.43
0.22	10.91 ± 0.24
0.33	12.86 ± 0.88
0.43	17.14 ± 2.05
0.53	22.32 ± 0.82
0.69	28.32 ± 1.16
0.84	34.97 ± 0.84
0.94	45.41 ± 0.68

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ ค. 16 ข้อมูลสำหรับเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นที่ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพาราเบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 20 นาที

วอเตอร์แอกทिवิตี	ปริมาณความชื้น (% โดยฐานเปียก)
0.11	8.88 ± 0.71
0.22	11.60 ± 0.42
0.33	13.84 ± 0.32
0.43	17.92 ± 0.77
0.53	20.68 ± 1.05
0.69	28.03 ± 0.85
0.84	32.85 ± 0.70
0.94	40.79 ± 0.63

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ ค. 13 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน  
เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มแผ่นฟิล์ม		ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)
	อุณหภูมิ (องศา)	เวลา (นาที)	
Control(HQ1.5)	-	-	3.90±0.34 <sup>i</sup>
HQ1.5	45	60	5.98±0.04 <sup>h</sup>
		180	7.60±0.07 <sup>e</sup>
		300	8.42±0.16 <sup>d</sup>
	55	60	6.18±0.05 <sup>gh</sup>
		180	7.52±0.15 <sup>e</sup>
		300	9.28±0.22 <sup>b</sup>
	65	60	6.38±0.08 <sup>g</sup>
		180	8.75±0.03 <sup>c</sup>
		300	10.54±0.24 <sup>a</sup>
Control(BQ1.5)	-	-	4.84±0.00 <sup>i</sup>
BQ1.5	45	60	6.26±0.08 <sup>g</sup>
		180	7.69±0.07 <sup>e</sup>
		300	8.96±0.05 <sup>c</sup>
	55	60	6.35±0.04 <sup>g</sup>
		180	8.22±0.09 <sup>d</sup>
		300	9.23±0.05 <sup>b</sup>
	65	60	6.78±0.07 <sup>f</sup>
		180	8.76±0.15 <sup>c</sup>
		300	10.43±0.20 <sup>a</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตารางที่ ค. 14 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนน  
เข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มแผ่นฟิล์ม		การยืดตัวถึงจุดขาด (%)
	อุณหภูมิ (องศา)	เวลา (นาที)	
Control(HQ 1.5)	-	-	369.17±7.75 <sup>a</sup>
HQ1.5	45	60	342.17±2.47 <sup>b</sup>
		180	319.64±7.94 <sup>cd</sup>
		300	295.50±1.32 <sup>e</sup>
	55	60	312.43±4.65 <sup>cd</sup>
		180	291.78±3.74 <sup>e</sup>
		300	269.26±6.00 <sup>f</sup>
65	60	60	322.50±4.33 <sup>c</sup>
		180	250.33±15.30 <sup>g</sup>
		300	222.37±11.06 <sup>h</sup>
	55	60	308.00±3.04 <sup>d</sup>
		180	256.53±5.69 <sup>g</sup>
		300	198.07±1.95 <sup>i</sup>
Control(BQ1.5)	-	-	322.94±1.76 <sup>c</sup>
		45	289.40±6.84 <sup>e</sup>
		180	254.50±4.77 <sup>g</sup>
	55	60	245.97±1.61 <sup>h</sup>
		180	308.00±3.04 <sup>d</sup>
		300	256.53±5.69 <sup>g</sup>
BQ1.5	45	60	289.40±6.84 <sup>e</sup>
		180	254.50±4.77 <sup>g</sup>
		300	245.97±1.61 <sup>h</sup>
	55	60	308.00±3.04 <sup>d</sup>
		180	256.53±5.69 <sup>g</sup>
		300	198.07±1.95 <sup>i</sup>
65	60	60	315.87±1.52 <sup>cd</sup>
		180	228.17±9.22 <sup>h</sup>
		300	163.50±9.30 <sup>j</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตารางที่ ค. 15 ความโปร่งใสของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มแผ่นฟิล์ม		ร้อยละของแสงส่องผ่าน
	อุณหภูมิ (องศา)	เวลา (นาที)	
Control(HQ1.5)	-	-	2.81±0.01 <sup>a</sup>
HQ1.5	45	60	5.26±0.09 <sup>b</sup>
		180	5.04±0.04 <sup>cd</sup>
		300	4.82±0.14 <sup>ef</sup>
	55	60	5.11±0.07 <sup>c</sup>
		180	4.91±0.06 <sup>de</sup>
		300	4.37±0.12 <sup>g</sup>
	65	60	4.99±0.13 <sup>cd</sup>
		180	4.74±0.06 <sup>f</sup>
		300	4.13±0.09 <sup>h</sup>
Control (BQ1.5)	-	-	2.31±0.02 <sup>j</sup>
BQ1.5	45	60	3.93±0.03 <sup>i</sup>
		180	3.85±0.05 <sup>ij</sup>
		300	3.77±0.01 <sup>j</sup>
	55	60	3.8±0.02 <sup>ij</sup>
		180	3.55±0.09 <sup>k</sup>
		300	3.47±0.05 <sup>k</sup>
	65	60	3.81±0.1 <sup>ij</sup>
		180	3.73±0.04 <sup>j</sup>
		300	3.49±0.04 <sup>k</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตารางที่ ค. 16 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มแผ่นฟิล์ม		สภาพซึมผ่านได้ของไอน้ำ (กรัม เมตร/พาสคาล ชั่วโมง ตารางเมตร)
	อุณหภูมิ (องศา)	เวลา (นาที)	
Control(HQ1.5)	-	-	0.50±0.01 <sup>a</sup>
HQ1.5	45	60	0.44±0.01 <sup>d</sup>
		180	0.44±0.00 <sup>d</sup>
		300	0.40±0.01 <sup>fgh</sup>
	55	60	0.41±0.01 <sup>f</sup>
		180	0.40±0.01 <sup>fgh</sup>
		300	0.39±0.01 <sup>ghi</sup>
	65	60	0.40±0.00 <sup>fgh</sup>
		180	0.39±0.01 <sup>i</sup>
		300	0.37±0.01 <sup>j</sup>
Control(BQ1.5)	-	-	0.49±0.00 <sup>b</sup>
BQ1.5	45	60	0.45±0.00 <sup>c</sup>
		180	0.43±0.01 <sup>d</sup>
		300	0.41±0.01 <sup>ef</sup>
	55	60	0.42±0.01 <sup>e</sup>
		180	0.40±0.00 <sup>fg</sup>
		300	0.38±0.01 <sup>ij</sup>
	65	60	0.39±0.00 <sup>hi</sup>
		180	0.38±0.01 <sup>ij</sup>
		300	0.35±0.01 <sup>k</sup>

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตารางที่ ค. 17 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มแผ่นฟิล์ม		ความสามารถในการละลายน้ำ (%)
	อุณหภูมิ (องศา)	เวลา (นาที)	
Control(HQ1.5)	-	-	46.91±0.40 <sup>a</sup>
HQ1.5	45	60	37.82±2.88 <sup>c</sup>
		180	33.25±0.44 <sup>d</sup>
		300	31.58±0.50 <sup>de</sup>
	55	60	37.62±1.77 <sup>c</sup>
		180	28.25±1.77 <sup>f</sup>
		300	24.22±1.53 <sup>g</sup>
65	60	31.87±0.43 <sup>de</sup>	
	180	24.55±1.01 <sup>g</sup>	
	300	22.07±0.49 <sup>hi</sup>	
Control(BQ1.5)	-	-	41.87±0.57 <sup>b</sup>
BQ1.5	45	60	30.25±0.72 <sup>e</sup>
		180	26.90±0.98 <sup>f</sup>
		300	22.78±0.66 <sup>gh</sup>
	55	60	26.73±0.81 <sup>f</sup>
		180	22.61±0.51 <sup>gh</sup>
		300	20.35±1.75 <sup>i</sup>
65	60	21.97±0.60 <sup>hi</sup>	
	180	21.27±0.45 <sup>hi</sup>	
	300	17.80±0.69 <sup>j</sup>	

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>a,b,c...</sup>ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ค. 18 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่างฟิล์ม	ภาวะการบ่มแผ่นฟิล์ม		มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม (องศา)	
	อุณหภูมิ (องศา)	เวลา (นาที)		
Control(HQ 1.5)	-	-	92.91±0.35 <sup>m</sup>	
HQ1.5	45	60	92.28±0.40 <sup>n</sup>	
		180	94.34±0.31 <sup>l</sup>	
		300	99.06±0.07 <sup>j</sup>	
	55	60	99.74±0.20 <sup>ij</sup>	
		180	101.87±0.11 <sup>gh</sup>	
		300	104.22±0.01 <sup>f</sup>	
	65	60	106.31±0.30 <sup>e</sup>	
		180	107.41±0.18 <sup>d</sup>	
		300	108.79±0.54 <sup>c</sup>	
	Control(BQ1.5)	-	-	92.70±0.22 <sup>mn</sup>
	BQ1.5	45	60	96.14±0.51 <sup>k</sup>
			180	99.46±0.24 <sup>ij</sup>
300			101.51±0.17 <sup>h</sup>	
55		60	99.14±0.07 <sup>i</sup>	
		180	102.20±0.19 <sup>gh</sup>	
		300	108.90±0.13 <sup>c</sup>	
65		60	102.20±0.71 <sup>gh</sup>	
		180	111.01±0.25 <sup>b</sup>	
		300	113.38±0.32 <sup>a</sup>	

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

<sup>a,b,c...</sup>ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )



ตารางที่ ค. 23 ข้อมูลสำหรับเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นที่ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที

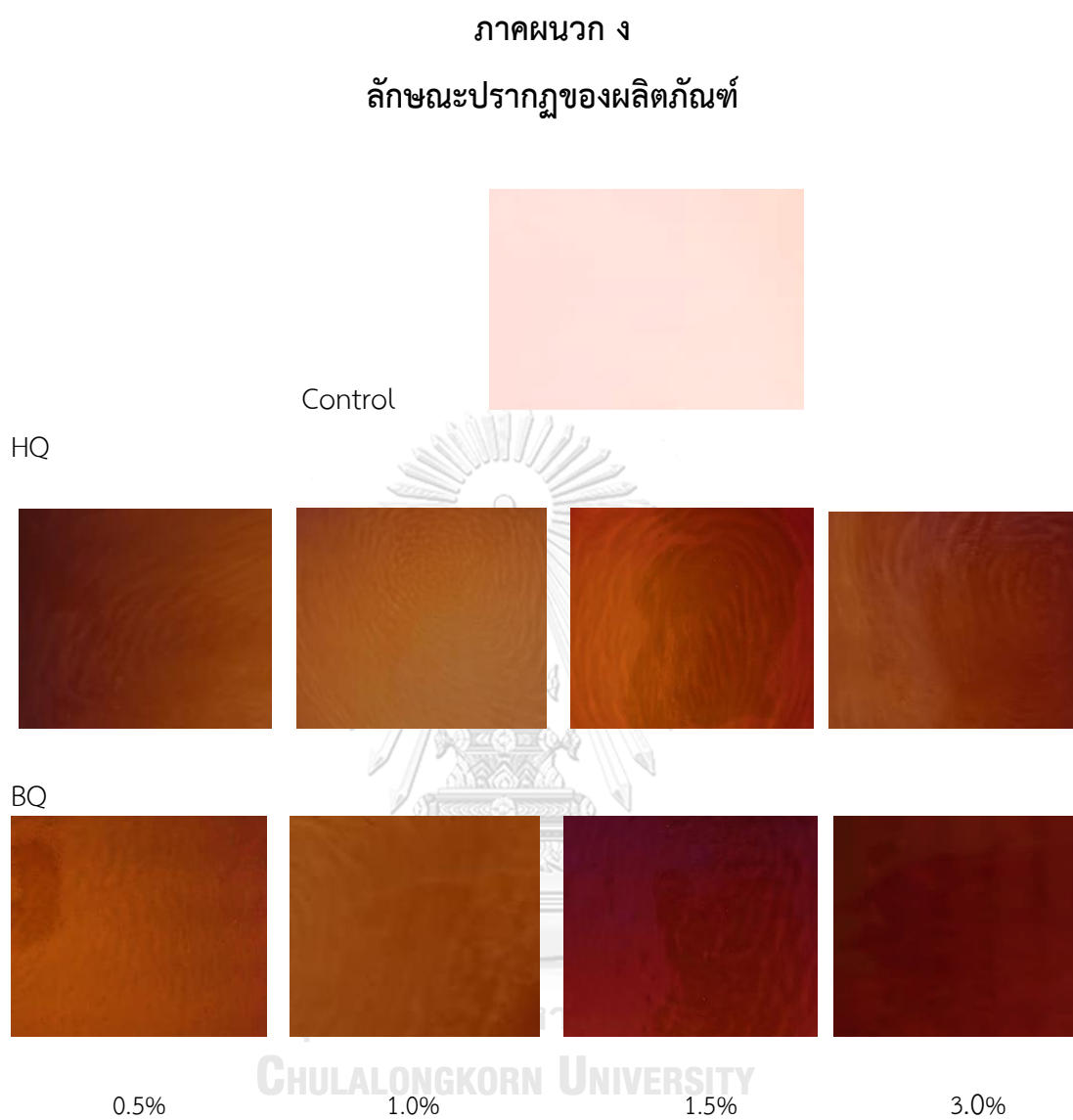
วอเตอร์แอกทिवิตี	ปริมาณความชื้น (% โดยฐานเปียก)
0.11	7.19 ± 0.69
0.22	10.83 ± 0.63
0.33	13.11 ± 0.94
0.43	15.42 ± 0.44
0.53	18.01 ± 0.80
0.69	21.63 ± 1.95
0.84	34.24 ± 1.40
0.94	41.39 ± 1.36

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

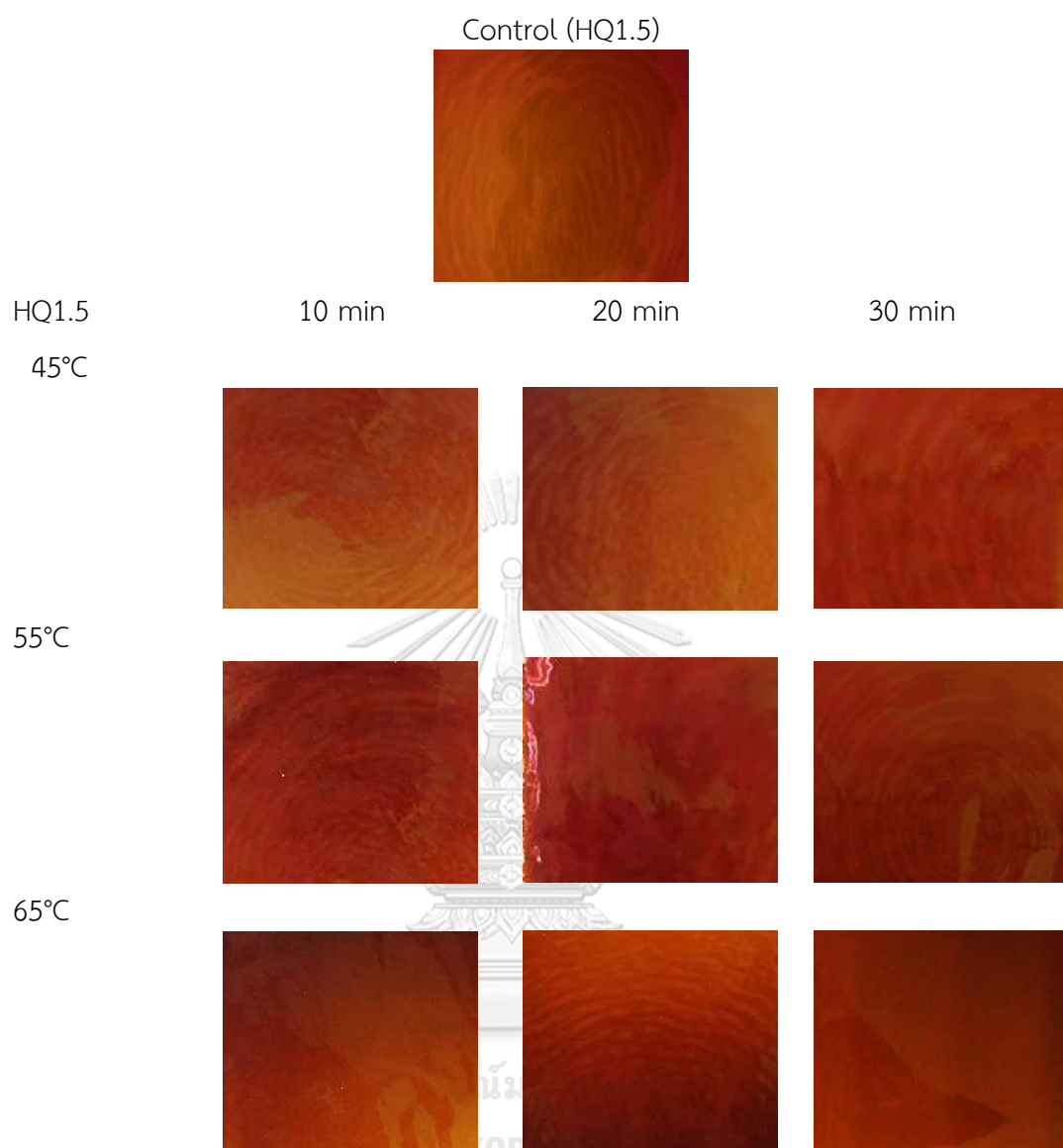
ตารางที่ ค. 16 ข้อมูลสำหรับเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นที่ 25°C ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพาราเบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 300 นาที

วอเตอร์แอกทिवิตี	ปริมาณความชื้น (% โดยฐานเปียก)
0.11	7.56 ± 0.89
0.22	9.97 ± 0.34
0.33	14.17 ± 0.65
0.43	16.37 ± 1.32
0.53	17.51 ± 2.97
0.69	21.05 ± 0.54
0.84	34.46 ± 1.92
0.94	44.71 ± 2.11

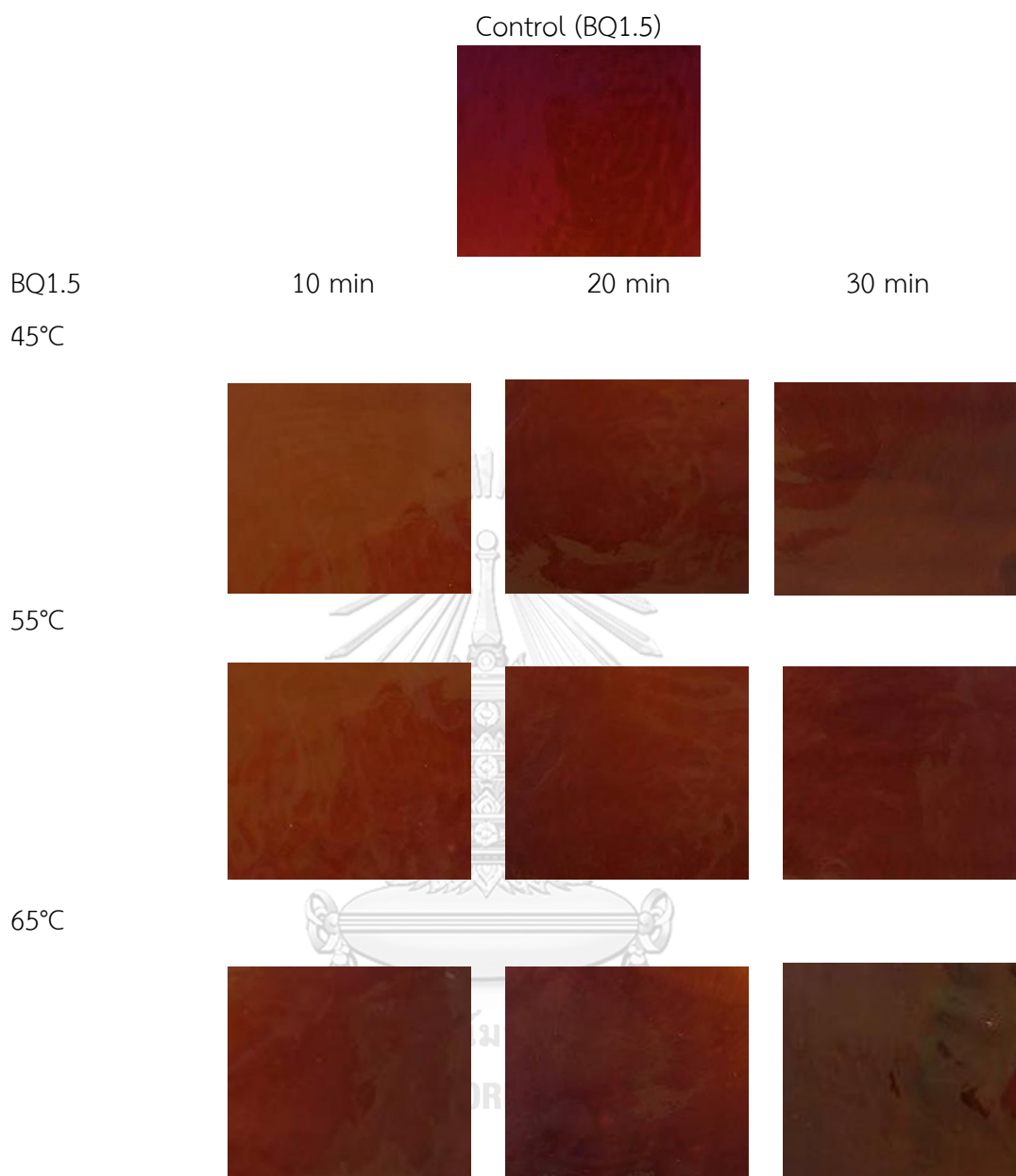
ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ



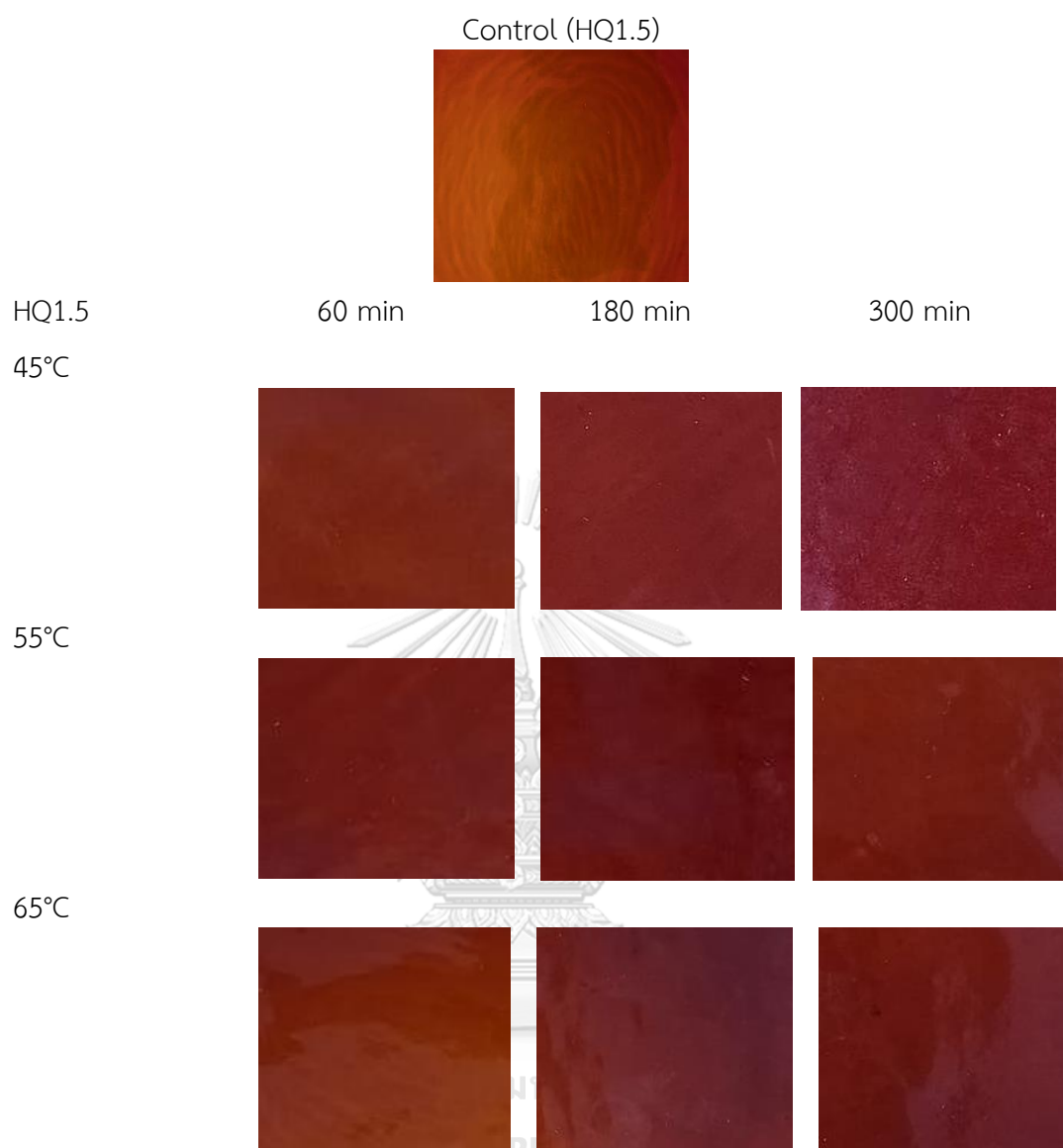
รูปที่ ง. 1 ลักษณะปรากฏของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรคอร์ติโซนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5-3.0%



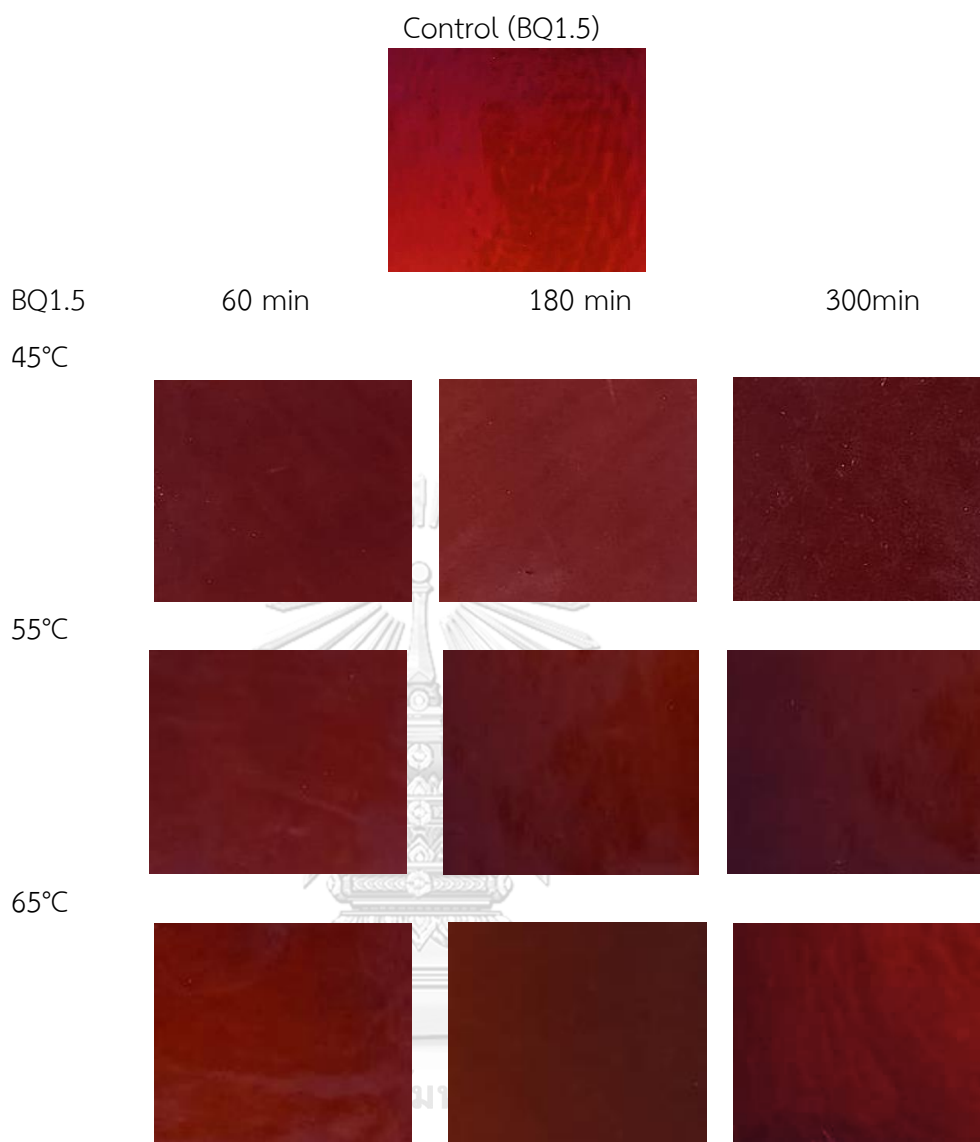
รูปที่ ง. 2 ลักษณะปรากฏของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



รูปที่ ง.2 (ต่อ) ลักษณะปรากฏของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



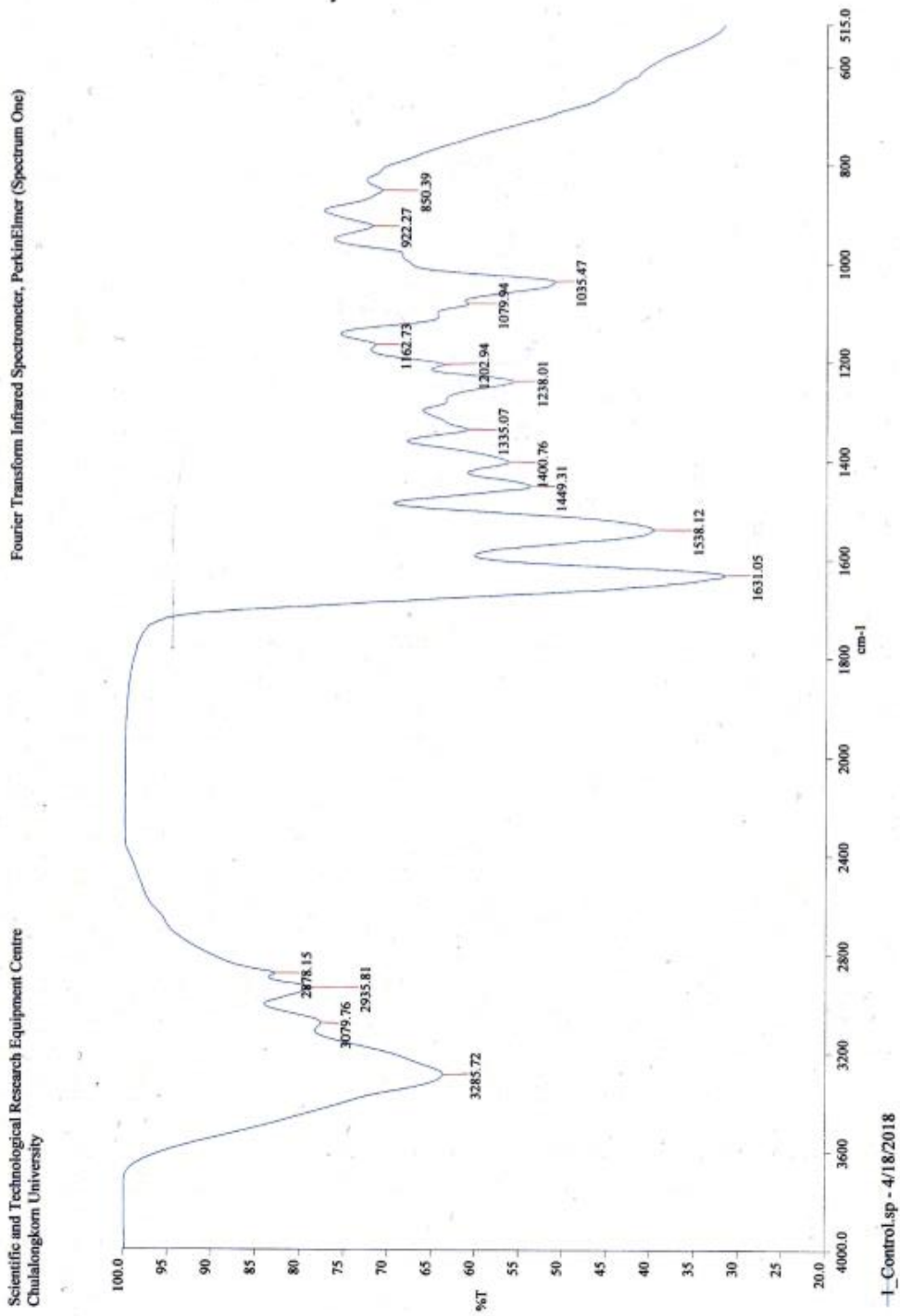
รูปที่ ง. 3 ลักษณะปรากฏของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



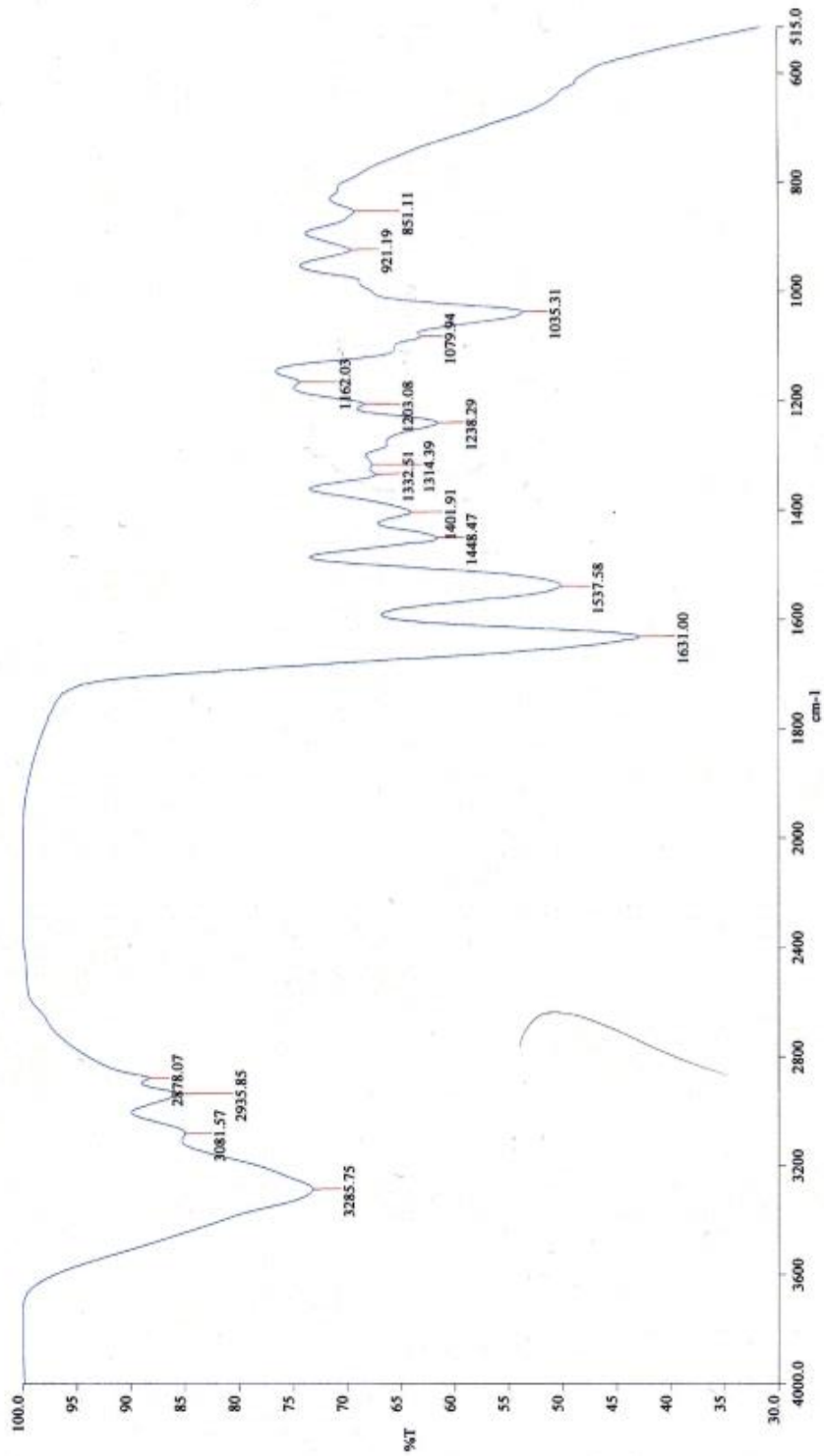
รูปที่ ง.3 (ต่อ) ลักษณะปรากฏของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนและพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5% ที่ผลิตโดยมีการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

## ภาคผนวก จ

## สเปกตรัมของฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี



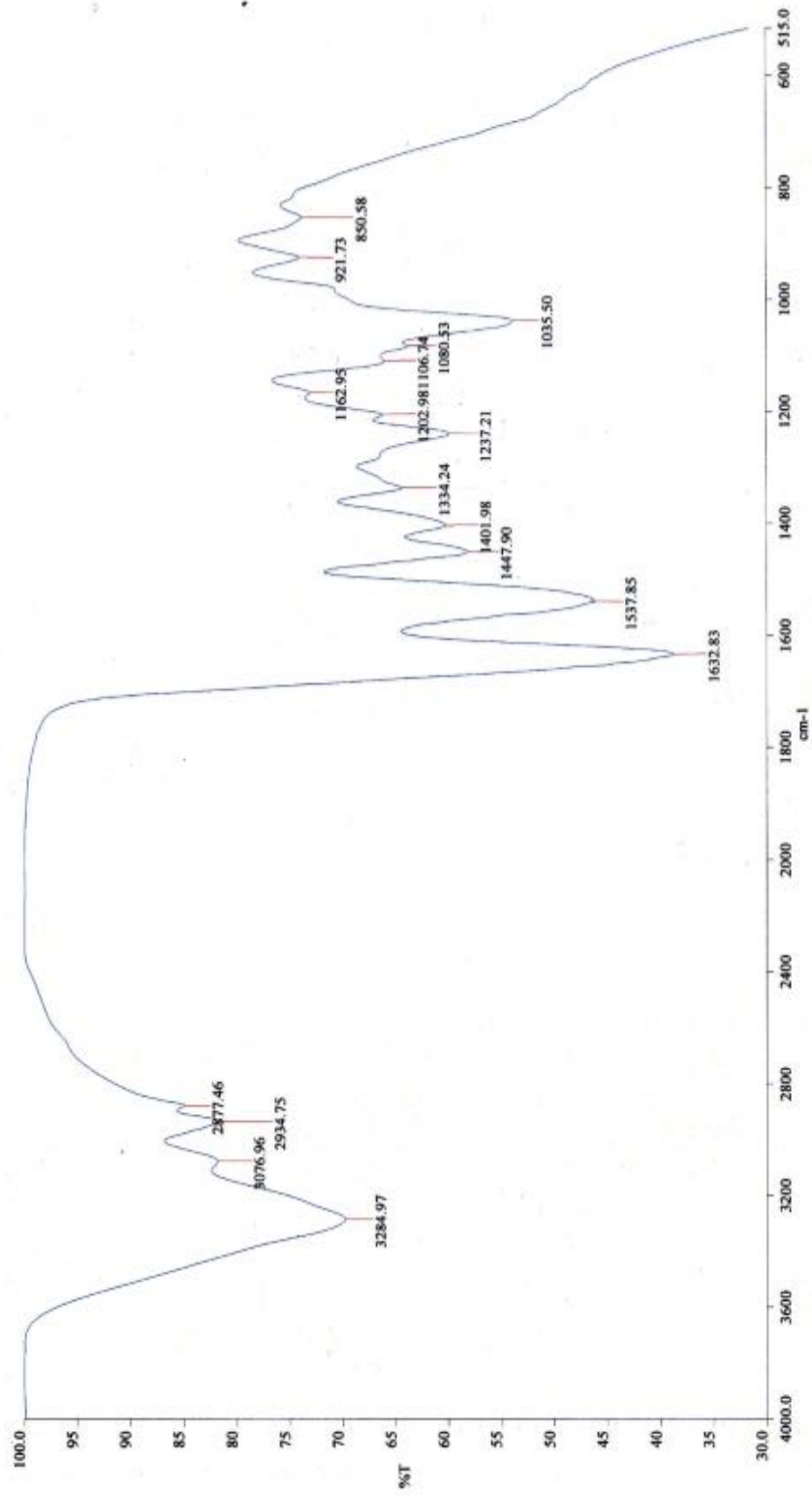
รูปที่ จ. 1 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลลาติน



-2\_Ha-0.5.sp - 4/18/2018

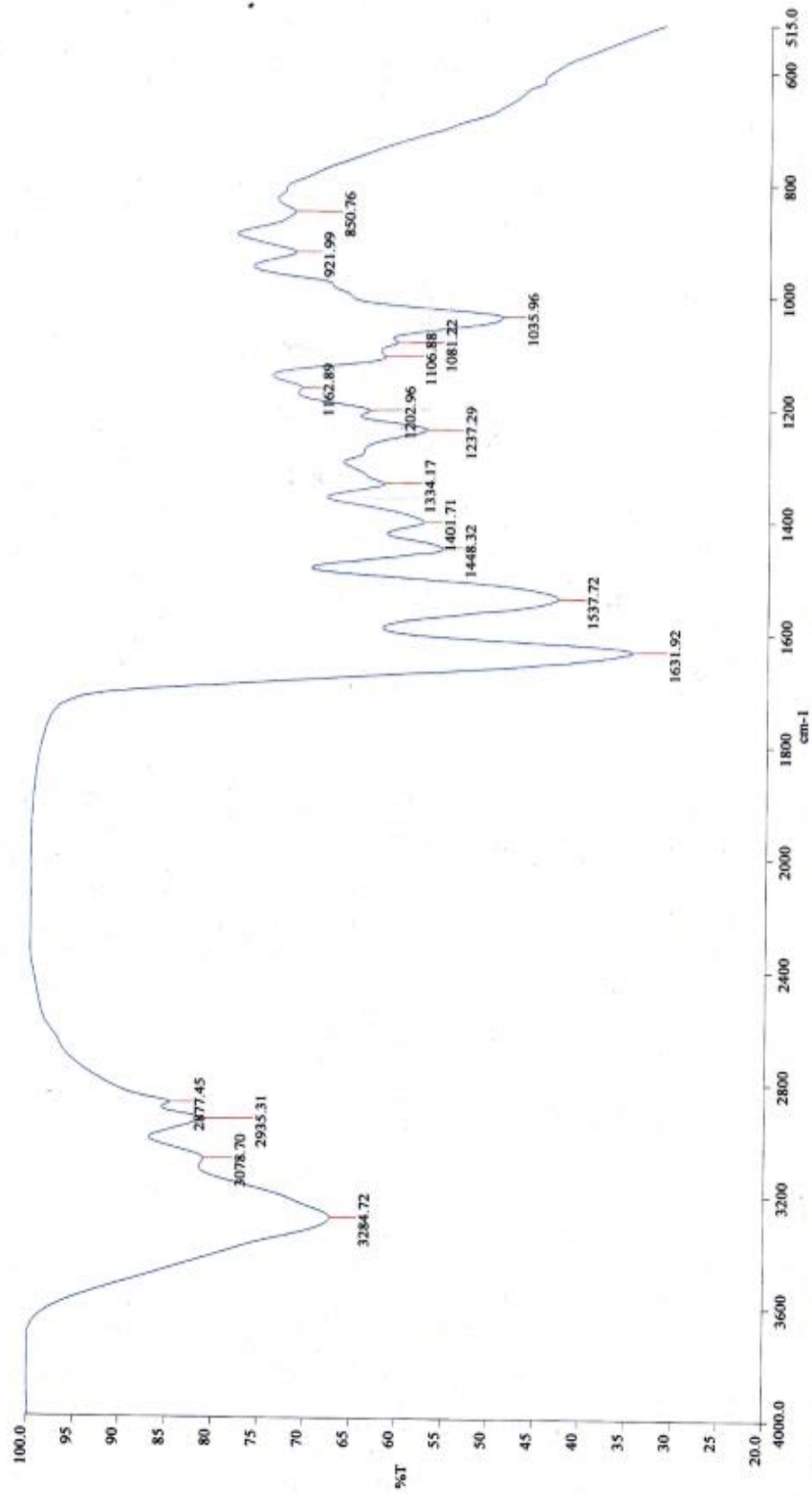
รูปที่ จ. 2 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 0.5%





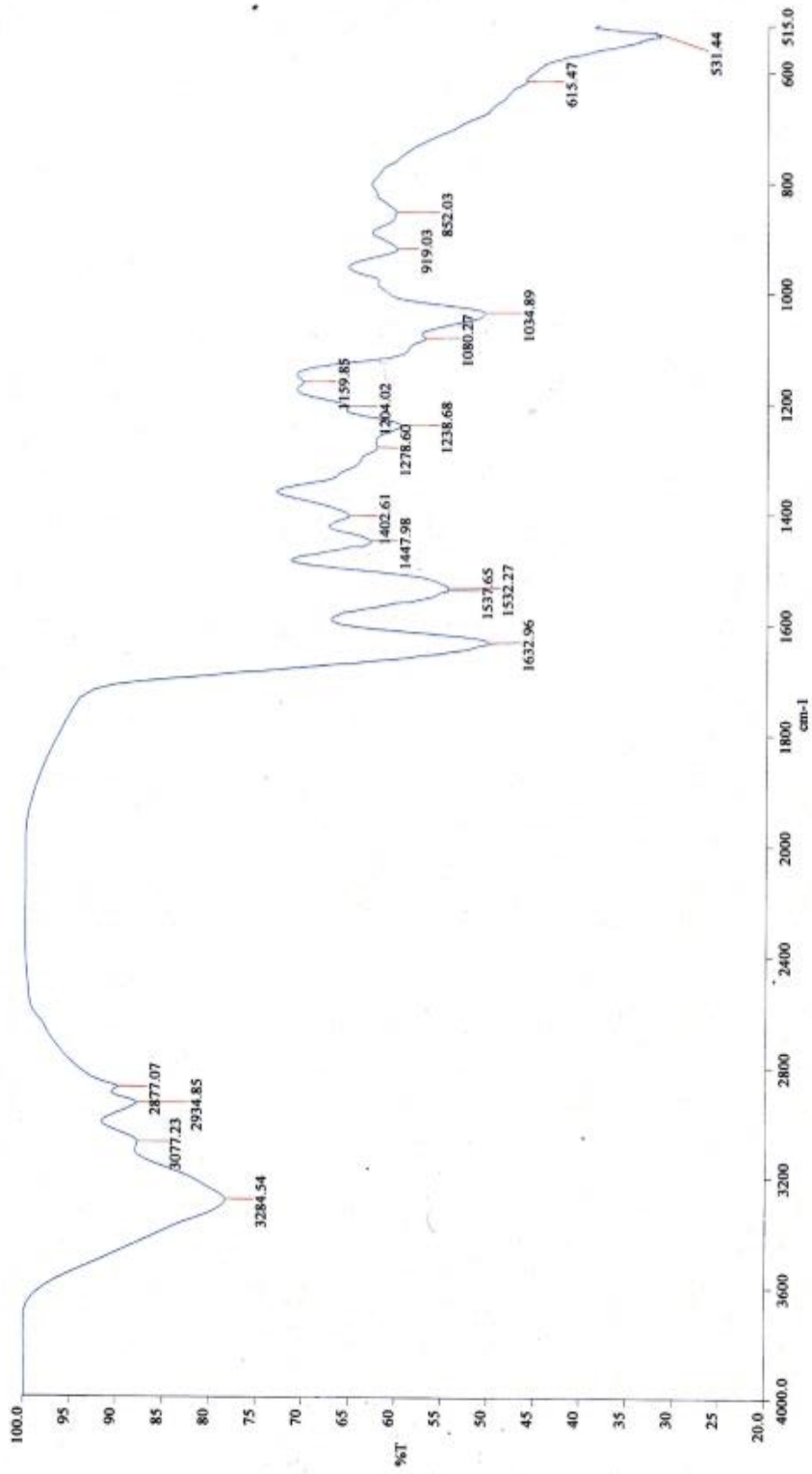
3\_His 1.sp - 4/18/2018

รูปที่ จ. 3 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรควิโนนเข้มข้น 1.0%



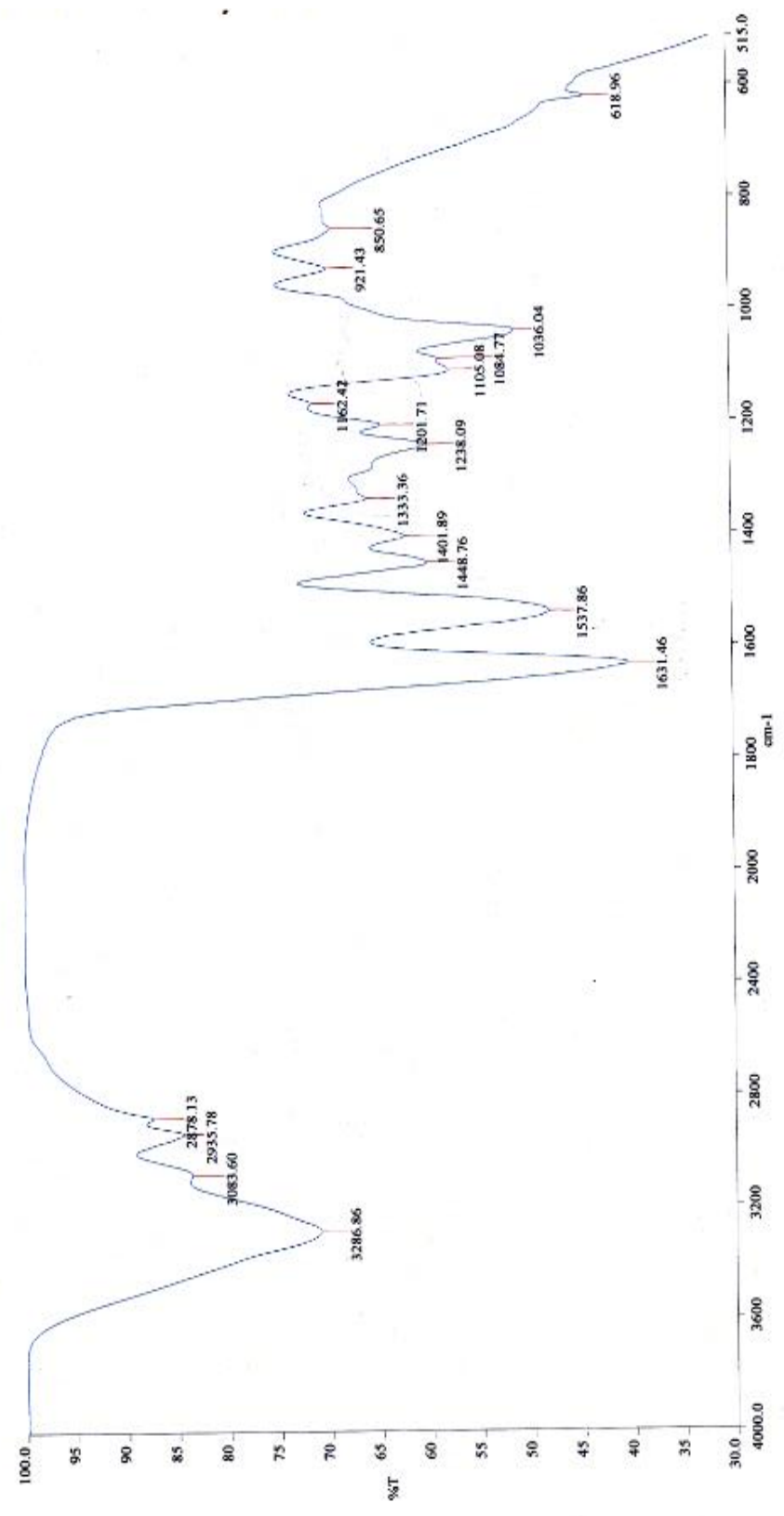
-4\_Ha 1.5.sp - 4/18/2018

รูปที่ จ. 4 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมไฮโดรควิโนเนนเข้มข้น 1.5%



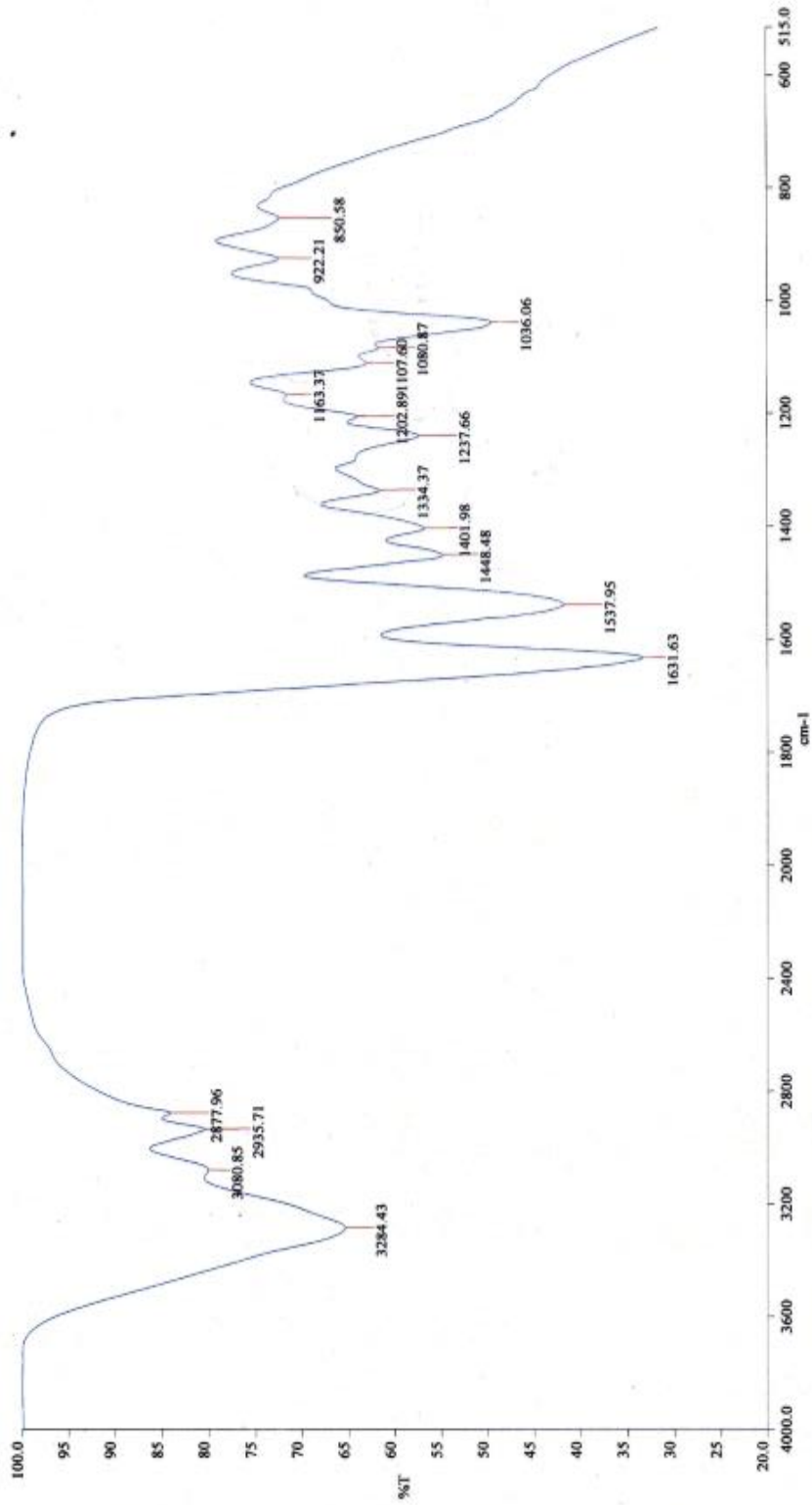
-5\_His 3.sp - 4/18/2018

รูปที่ จ. 5 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมไฮโดรคอลลอยด์เข้มข้น 3.0%

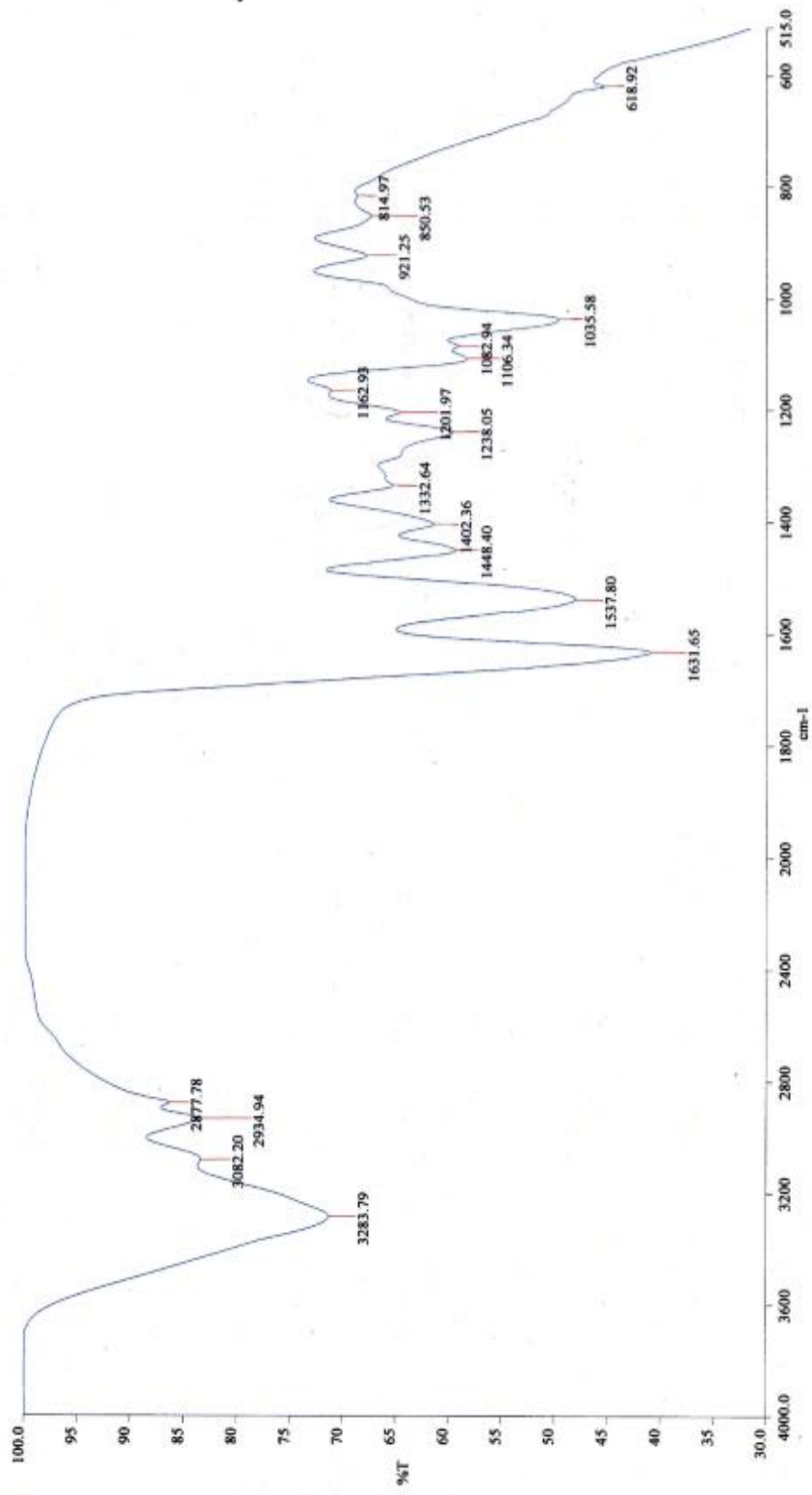


6-Ba-0.5.sp - 4/18/2018

รูปที่ จ. 6 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 0.5%

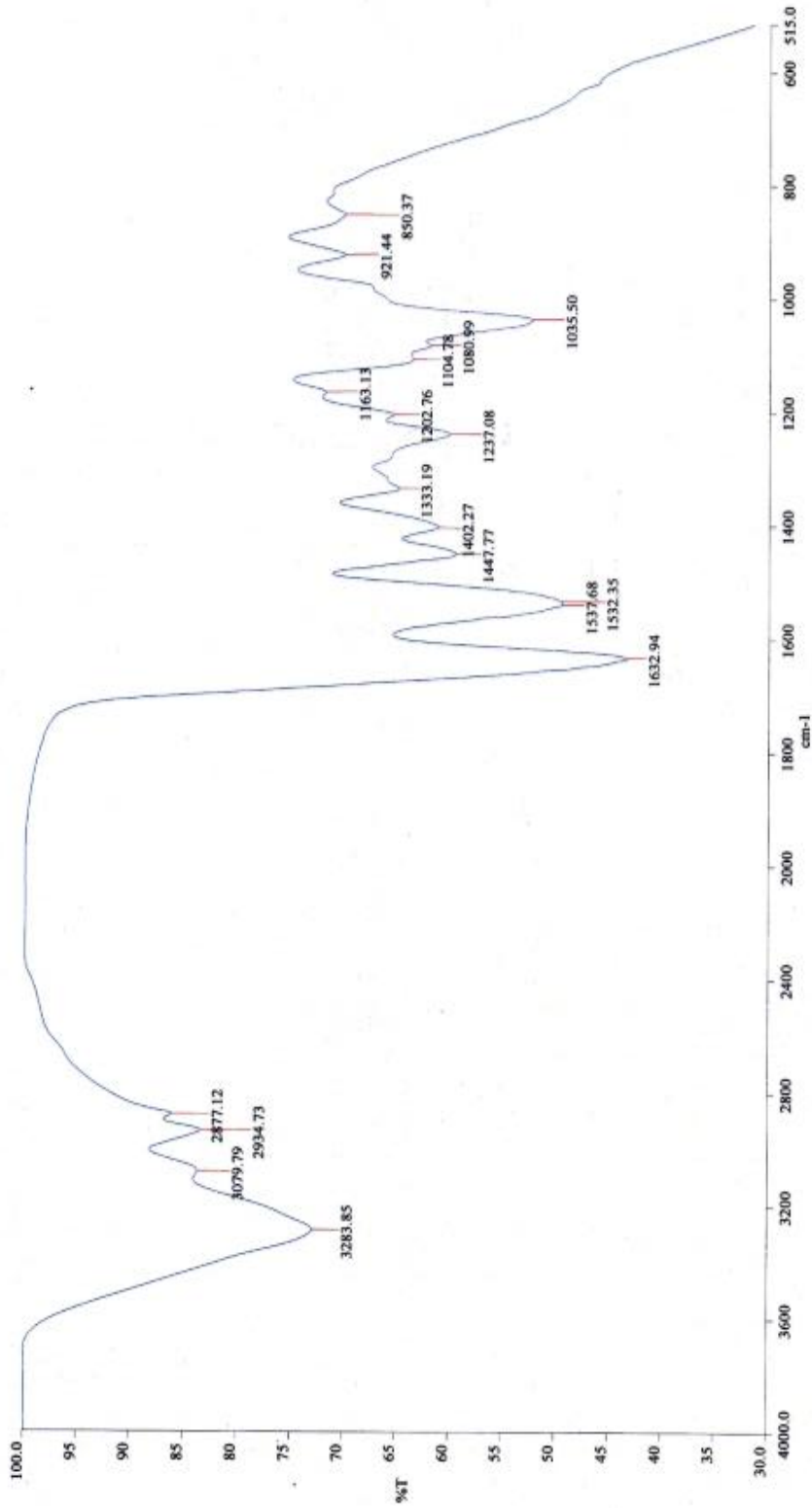


รูปที่ จ. 7 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.0%



-8\_Ba 1.5.sp - 4/18/2018

รูปที่ ๘. 8 FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 1.5%



รูปที่ 9. FT-IR spectrum ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมพารา-เบนโซควิโนนเข้มข้น 3.0%

รายการอ้างอิง



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
**CHULALONGKORN UNIVERSITY**



## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวภารวี กุศลินกุล เกิดเมื่อวันที่ 9 กันยายน พ.ศ. 2536 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาบัณฑิตสาขาวิทยาศาสตร์การอาหารเพื่อสุขภาพ ภาควิชาโภชนาการอาหาร คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปีการศึกษา 2557 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2558

นางสาวภารวี กุศลินกุล ได้นำเสนอผลงานภาคบรรยายในการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติมหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช ครั้งที่ 7 ในหัวข้อผลของควิโนนและการบ่มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน

### ผลงานตีพิมพ์

ภารวี กุศลินกุล และ ธนจันทร์ มหาวนิช. 2560. ผลของควิโนนและการบ่มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน. เรื่องเต็มในการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช ครั้งที่ 7. อาคารเฉลิมพระเกียรติ 80 พรรษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช. 24 พฤศจิกายน 2560.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
**CHULALONGKORN UNIVERSITY**