

# การผลิตฟิล์มที่รับประทานได้จากโปรตีนสกัดจากถั่วเขียว

## EDIBLE FILM PRODUCTION FROM ISOLATED MUNGBEAN PROTEIN

วุฒิชัย นาครักษา  
Woatthichai Narkrugsa

ธัญญาภรณ์ ศิริเลิศ  
Tunyaporn Sirilert

คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
Faculty of Agricultural Technology  
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

(ได้รับเมื่อ มีนาคม 2541)

### บทคัดย่อ

การผลิตฟิล์มที่รับประทานได้จากโปรตีนสกัดจากถั่วเขียวโดยใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ในการละลายโปรตีนออกจากถั่วเขียวได้ 89-90 เปอร์เซ็นต์ และนำมาตกตะกอนที่ pH 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ได้ระหว่าง 84-85 เปอร์เซ็นต์ เมื่อปล่อยให้โปรตีนที่สกัดได้ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำก้อนโปรตีนซึ่งมีความชื้น 84.9 เปอร์เซ็นต์ และมีโปรตีน 4.5-4.7 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักแห้ง) มาผสมกับแป้งข้าวเหนียวเพื่อใช้เป็นโครงสร้างหลักของฟิล์ม ในอัตราส่วนแป้งข้าวเหนียวต่อโปรตีน (0.05 : 1, 0.10 : 1 และ 0.15 : 1, โดยน้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักแห้ง) และผสมกับกลีเซอรินความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักแห้งของโปรตีน) โดยควบคุมอัตราส่วนระหว่างของเหลวต่อของแข็ง ในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน (30 : 70, 20 : 80 และ 10 : 90) นำของผสมที่ได้ 70 ก. มาเกลี่ยลงบนกระดาษผิวเรียบ (20 × 30 ตร.ซม.) ที่หุ้มด้วยพลาสติกพอลิโพรพิลีน แล้วรีดให้เรียบเสมอกันด้วยลูกกลิ้ง จากนั้นนำมาอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60° ซ. เป็นเวลา 4 ชม. ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิ

ห้องจึงลอกฟิล์มออกจากแผ่นกระจก ฟิล์มที่ได้มีความชื้นอยู่ระหว่าง 22.55–28.05 เปอร์เซ็นต์ ความหนาอยู่ระหว่าง 0.10–0.16 มม. สามารถต้านทานการซึมผ่านของไขมันมากกว่า 36 ชม.ขึ้นไป ซึ่งฟิล์มที่ได้จากการเตรียมโดยใช้อัตราส่วนระหว่างคาร์โบไฮเดรต (แป้งข้าวเหนียว) ต่อโปรตีนสกัดจากถั่วเขียวเท่ากับ 0.15 : 1 และใช้อัตราส่วนระหว่างของแข็งต่อของเหลวเท่ากับ 10 : 90 จะมีคุณสมบัติในการต้านการซึมผ่านของไอน้ำ การต้านแรงดึงขาด การยืดตัว และความสามารถในการละลายน้ำได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ได้จากการทดลองอื่น ๆ ในการเตรียมฟิล์มนี้ ปัจจัยในการเตรียมคือ อัตราส่วนระหว่างคาร์โบไฮเดรต (แป้งข้าวเหนียว) ต่อโปรตีน (น้ำหนักแห้ง ต่อ น้ำหนักแห้ง) และอัตราส่วนระหว่างของเหลวต่อของแข็ง จะมีผลต่อคุณสมบัติของฟิล์มในด้านอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ และการต้านทานแรงดึงขาดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่  $P \leq 0.01$

## ABSTRACT

*Edible film production from isolated mungbean protein that isolated by using sodium carbonate 0.1N to solubilize 89–90% of mungbean protein from the other compositions in seed and 84–85% of protein in this solution could be precipitated at pH 4.5 with additional 0.1N HCl, was done. After protein was sedimentation at room temperature for 30 min, protein paste (84.9% moisture content and 4.5–4.7% protein) was directly mixed with glutinous starch as carbohydrate for film structure portion in the ratio carbohydrate/protein 0.05 : 1, 0.10 : 1 and 0.15 : 1 (weight/weight, drybasis), and 10% glycerin (base on dry basis weight of protein) as plasticizer of film. Protein paste 70 g was spreaded on the smooth glass covered with polypropylene sheet and pressed with wooden drum. Film was dried in hot air oven at 60° C for hrs. and removed from the base after cooling at room temperature. Edible films from the process had 22.5–28.05% moisture, 0.10–0.16 mm of thickness and >36 hrs. grease resistant. Comparing between treatments, film produced from treatment using carbohydrate/protein 0.15 : 1 and liquid:solid ratio 10 : 90, was the best film characteristics in water vapour transmission rate (WVTR), tensile strength(TS), elongation(E) and water solubility index (WSI). Processing factors, carbohydrate/protein and liquid/solid, highly significant affected to WVTR and TS of film at  $P \leq 0.01$ .*

## คำนำ

ฟิล์มที่รับประทานได้ (Edible film) เป็นวัสดุที่ใช้ในการห่อหุ้ม (wrap) อาหาร ช่วยชะลอการเสื่อมเสียของอาหารจากการออกซิเดชัน (Oxidation) และการหายใจ (Respiration) อีกทั้งยังช่วยรักษาคุณภาพของอาหารที่อาจลดลงเนื่องมาจากสิ่งแวดล้อมด้วย<sup>2, 10, 18, 19, 20, 21</sup> กระบวนการผลิตฟิล์มที่รับประทานได้นี้วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตจะประกอบด้วยส่วนที่เป็นโครงสร้างหลักคือ พอลิเมอร์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ตัวอย่างเช่น อะไมโลส<sup>14</sup> สตาร์ช<sup>1, 10, 18</sup> เซลลูโลส และอนุพันธ์ (Cellulose and derivatives)<sup>10, 12, 18, 25</sup> และโปรตีน เช่น โปรตีนเวย์ (Whey protein)<sup>13, 22, 23</sup> กลูเต็น (Gluten)<sup>8, 16, 17</sup> คอลลาเจน (Collagen)<sup>9</sup> เซอีน (Zein)<sup>24</sup> เคซีน (Casein)<sup>6, 7, 21</sup> โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง<sup>15</sup> และโปรตีนสกัดจากถั่วเขียว<sup>27</sup> เป็นต้น และส่วนที่ทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ (Plasticizer) ที่ใช้กันส่วนใหญ่ ได้แก่ กลีเซอริน (Glycerin)<sup>8, 13, 22, 23</sup> ซอร์บิทอล (Sorbitol)<sup>8, 12, 13, 22, 23</sup> โมโน-และไดกลีเซอไรด์ (Mono- and Di-glycerides)<sup>7, 12</sup> เป็นต้น สำหรับฟิล์มที่มีโครงสร้างหลักเป็นโปรตีนพบว่า ฟิล์มที่ได้สามารถนำมาใช้เป็นฟิล์มเคลือบอาหาร ช่วยป้องกันการแพร่กระจายของความชื้น และใช้ห่อหุ้มอาหารที่เน่าเสียง่าย<sup>18, 19, 20</sup>

ในการผลิตฟิล์มที่ใช้โปรตีนเป็นโครงสร้างหลักนิยมใช้การขึ้นรูปบนวัสดุที่มีผิวเรียบร่วมกับตัวทำละลาย (Solvent casting) ที่เป็นน้ำ โดยโปรตีนที่ใช้ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของโปรตีนสกัด ที่แยกโดยอาศัยคุณสมบัติในการละลายได้ของโปรตีนนั้น ๆ นอกจากนี้ ในส่วนของพลาสติกไซเซอร์นิยมใช้กลีเซอริน หรือซอร์บิทอล ในส่วนผสมของแผ่นฟิล์มเช่นกัน<sup>15, 18, 19, 27</sup> สำหรับการผลิตฟิล์มที่รับประทานได้จากโปรตีนสกัดจากถั่วเขียวนั้น Cheappimolchai<sup>27</sup> ได้นำน้ำเสียจากโรงงานผลิตวุ้นเส้นในประเทศไทยมาแยกเอาโปรตีนออกด้วยสารละลายเกลือแคลเซียมคลอไรด์ก่อนแล้วจึงตกตะกอนเอาโปรตีนด้วยการปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่ pH 4.5 ตะกอนที่ได้นำมาหมუნเหวียงจนได้ก้อนโปรตีน (Protein paste) นำมาปรับ pH ให้เป็นกลาง และทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60° ซ. เป็นเวลา 3 ชม. โปรตีนที่ได้มีความบริสุทธิ์ 77.21 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำโปรตีนที่ได้ความเข้มข้น 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มาผสมกับกลีเซอรินที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ในตัวทำละลายที่เป็นน้ำ แล้วนำมาขึ้นรูปบนแผ่นพลาสติกเรียบ และทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 23 ± 2° ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ ฟิล์มที่ได้ค่อนข้างเรียบใสมีสีเหลืองอมน้ำตาล สามารถต้านการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน และไขมันได้ดี ใอน้ำซึมผ่านได้สูง

และสามารถนำมาใช้เคลือบเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ และข้าวกล้องเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาโดยลดการเกิดออกซิเดชันได้

ดังนั้น ในการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะปรับปรุงกระบวนการผลิต และคุณสมบัติของฟิล์มที่รับประทานได้จากโปรตีนสกัดจากถั่วเขียว โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณสมบัติในการยอมให้ไอน้ำซึมผ่าน และความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่รับประทานได้จากโปรตีนสกัดจากถั่วเขียวของ Cheappimolchai<sup>27</sup>

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การสกัดโปรตีนออกจากถั่วเขียว

ถั่วเขียว ซื้อมาจากตลาดอุดมผล เขตตลาดกระบี่ กรุงเทพฯ ซึ่งมีความชื้น 8.84 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณโปรตีน 18.23 เปอร์เซ็นต์ วิธีการสกัดโปรตีนออกจากถั่วเขียวดัดแปลงจากวิธีการของวุฒิชัย<sup>3</sup> (รูปที่ 1) ดังนี้ นำถั่วเขียวที่กระเทาะเปลือกแล้วมาแช่น้ำ 2-3 ชม. เพื่อให้เมล็ดถั่วเขียวนุ่ม จากนั้นนำมาบดกับสารละลายเกลือโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ในอัตราส่วนถั่วเขียวต่อสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเท่ากับ 1 : 5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ได้ของผสมที่มีปริมาตรสุทธิ 500 มล. นำมากรองผ่านซิลค์สกรีน ขนาด 90 เมส (mesh) นำสารละลายที่แยกได้มาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีการเกลดัล (Kjeldahl method, AOAC method No. 984.13<sup>4</sup>) เพื่อประเมินประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีน ดังนี้

$$\text{ประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีน} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลาย 500 มล.} \times 100}{\text{ปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในวัตถุดิบเริ่มต้นก่อนการสกัด}}$$

นำสารละลายโปรตีนที่ได้มาตกตะกอนโดยการปรับให้สารละลายมี pH 4.5 แล้วปล่อยให้ตะกอนของโปรตีนเกิดการแยกชั้นที่อุณหภูมิ 14 °C. เป็นเวลา 16-18 ชม. จากนั้นเทน้ำส่วนบนออก โปรตีนที่ได้จะมีลักษณะเป็นก้อน สามารถนำไปเป็นวัตถุดิบในการเตรียมฟิล์มได้เลยโดยไม่ต้องทำแห้ง และนำก้อนโปรตีนที่ได้บางส่วนมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นและหาปริมาณโปรตีนในก้อนโปรตีน เพื่อใช้ในการคำนวณหาประสิทธิภาพในการตกตะกอน ดังนี้

$$\text{ประสิทธิภาพในการตกตะกอน} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนที่ตกตะกอนได้จากสารละลาย 500 มล.} \times 100}{\text{ปริมาณโปรตีนที่ละลายในสารละลาย 500 มล.}}$$

## การเตรียมฟิล์ม

ในการเตรียมฟิล์มจะใช้วิธีการขึ้นรูปของผสมระหว่างโครงสร้างหลัก และพลาสติก-ไซเซออร์ (รูปที่ 2) บนกระจกแผ่นเรียบที่หุ้มด้วยพลาสติกพอลิโพรพิลีนขนาด 20 × 30 ตร.ซม. โดยศึกษาปัจจัยในกระบวนการผลิต 2 ปัจจัย คือ อัตราส่วนระหว่างของเหลวต่อของแข็ง 3 ระดับ คือ 30 : 70, 20 : 80 และ 10 : 90 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และอัตราส่วนระหว่างคาร์โบไฮเดรต (แป้งข้าวเหนียว ความชื้น 12.02 เปอร์เซ็นต์) ต่อโปรตีน (ก้อนโปรตีนสกัดจากถั่วเขียว โดยคือน้ำหนักแห้ง) 3 ระดับ คือ 0.05 : 1, 0.10 : 1 และ 0.15 : 1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก โดยคือน้ำหนักแห้ง) นำส่วนผสมที่เป็นโครงสร้างนี้มาผสมกับส่วนของพลาสติกไซเซออร์ คือ กลีเซอริน (Merck Art. 4094, German) จำนวน 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีนสกัด โดยคือน้ำหนักแห้ง) ด้วยเครื่องกวน (Rotor, IKA-Ruhrwerk RW20, German) ที่ความเร็วของใบพัดกวน 180 รอบต่อนาที ที่ 80° ซ. ในอ่างน้ำร้อน เป็นเวลา 40 นาที นำส่วนผสมที่ได้ในรูปของแป้งเปียก (paste) ปริมาณ 70 ก. (โดยน้ำหนักเปียก) มาเกลี่ยลงบนแผ่นกระจกที่หุ้มด้วยพลาสติกขนาดดังกล่าวข้างต้น แล้วใช้ลูกกลิ้งไม้รีดให้ส่วนผสมกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอทั่วแผ่นกระจก หลังจากนั้นนำมาอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60° ซ. เป็นเวลา 4 ชม. ลอกแผ่นฟิล์มที่ได้ออกจากแผ่นกระจก ฟิล์มที่ได้นำมาวิเคราะห์ และตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพดังต่อไปนี้

ปริมาณความชื้น ใช้วิธีการ AOAC method No. 925.10<sup>4</sup> โดยการนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้น้ำหนัก 2 ก. ใส่ในกระป๋องอลูมิเนียมที่มีฝาปิด นำมาอบในตู้อบลมร้อนที่ระดับอุณหภูมิ 130 ± 2° ซ. เป็นเวลา 1 ชม. คำนวณหาน้ำหนักที่หายไป ค่าที่ได้จะอยู่ในรูปร้อยละของความชื้น

ความหนาของแผ่นฟิล์ม วัดด้วยเครื่อง Bench Micrometer (Model BS-1133) โดยนำแผ่นฟิล์มขนาด 5 × 5 ตร.ซม. วางลงบนฐานวางตัวอย่าง เปิดสวิทซ์ให้เครื่องวัดทำงาน เครื่องจะให้ค่าที่ใช้ในการคำนวณความหนาบนสเกลหน้าปัดของเครื่องเพื่อใช้ในการคำนวณตามสูตรดังต่อไปนี้

ความหนาของแผ่นฟิล์ม =  $A (B \times 0.0025)$  มม.

โดย A คือ ค่าที่เข้มบนสเกลหน้าปิดเบนไปของช่องใหญ่

B คือ ค่าที่เข้มบนสเกลหน้าปิดเบี่ยงเบนไปของช่องเล็ก ซึ่ง 1 ช่องเล็ก มี 5 ช่องย่อย และ 1 ช่องย่อยมีค่าเท่ากับ 0.0025 มม.

**อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ** (Water vapour transmission rate, WVTR) แบบ Dish method (ASTM<sup>5</sup>) โดยการตัดแผ่นฟิล์มเป็นรูวงกลมพื้นที่ผิว (S) เท่ากับ 50 ตร.ซม. วางลงบนถ้วยสแตนเลส (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายนอก 9.6 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 7.8 ซม. และสูง 2.0 ซม.) ซึ่งภายในบรรจุซิลิกาเจลน้ำหนัก 30 ก. เชื่อมปิดขอบฟิล์มกับขอบของถ้วยสแตนเลสด้วยพาราฟิน หลังจากนั้นนำถ้วยดังกล่าวใส่ลงในโถดูดความชื้น ที่ปรับค่าความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ด้วยน้ำ และเก็บที่อุณหภูมิ 38° ซ. ชั่งน้ำหนักถ้วยสแตนเลสพร้อมฟิล์มและซิลิกาเจลที่เปลี่ยนแปลงไปทุก ๆ 4 ชม. จนน้ำหนักแตกต่างกัน 0.0001 ก. นำค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ มาวาดกราฟ ค่าความลาดชันของกราฟ (Slope,m) คือ น้ำหนักน้ำที่ถูกดูดซับด้วยซิลิกาเจลผ่านแผ่นฟิล์ม (ก.) ต่อ 1 ซม. นำค่าที่ได้มาคำนวณหาอัตราการซึมผ่านในหน่วยน้ำหนักน้ำที่เพิ่มขึ้นคิดเป็นกรัมต่อพื้นที่ฟิล์ม 1 ตร.ม. ต่อวันหรือ 24 ชม.ด้วยสูตรต่อไปนี้

$$WVTR = \frac{(m \times 24) \times 100^2}{S}$$

โดย m คือ ค่าความลาดชันของกราฟของน้ำหนักน้ำที่ถูกดูดซึมผ่านแผ่นฟิล์ม, ก./ซม.

S คือ พื้นที่ผิวของแผ่นฟิล์มเท่ากับ 50 ตร.ซม.

**การต้านการซึมผ่านไขมัน** (Grease resistant) ของแผ่นฟิล์ม ดัดแปลงวิธีการของ TAPPI-T454<sup>16</sup> โดยการตัดแผ่นฟิล์มเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 8 ตร.ซม. นำมาวางบนแผ่นกระจกหรือแผ่นพลาสติกใส แล้วหยดน้ำมันพืช (ในการทดลองนี้ใช้น้ำมันถั่วเหลือง) ปริมาณ 2 มล. ลงบนแผ่นฟิล์มตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ สังเกต และจับเวลาดูแผ่นฟิล์มจนกระทั่งน้ำมันซึมทะลุผ่านแผ่นฟิล์มจนถึงผิวหน้ากระจกหรือแผ่นพลาสติกใส ระยะเวลาที่น้ำมันซึมผ่านแผ่นฟิล์มจนถึงผิวหน้ากระจกหรือแผ่นพลาสติกใสคิดเป็นค่าความต้านทานการซึมผ่านไขมันของแผ่นฟิล์ม ซึ่งจะอยู่ในรูปของ นาที หรือ ชม.

การต้านทานแรงดึงขาด (Tensile strength, TS) และความสามารถในการยืดตัว (Elongation, E) ของฟิล์ม ใช้วิธีการทดสอบของ ASTM D882-91<sup>5</sup> โดยการกำหนดสภาวะในการทดสอบที่อุณหภูมิ 27 °C. ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วของแกนจับฟิล์มของเครื่องจะต้องควบคุมให้เคลื่อนที่ด้วยความเร็วคงที่ ที่ 100 มม./นาที เพื่อดึงแผ่นฟิล์มขนาด 5.0 × 50 ตร.มม. จนยืดและฉีกขาด นำข้อมูลที่เครื่องบันทึกมาคำนวณตามสูตรต่อไปนี้

$$\text{การต้านทานแรงดึงขาด (กก./ตร.ซม.)} = \frac{\text{แรงที่ดึงสูงสุดที่ฟิล์มทนได้ (กิโลกรัมแรง)}}{\text{พื้นที่ผิวของฟิล์มที่ทดสอบ, ตร.ซม.}}$$

$$\text{ความสามารถในการยืดตัว (\%)} = \frac{\text{ความยาวของฟิล์มเมื่อฉีกขาด} - \text{ความยาวของฟิล์มเริ่มต้น}}{\text{ความยาวของฟิล์มเมื่อเริ่มยืดตัว}} \times 100$$

ดัชนีของการละลายน้ำ (Water solubility index, WSI) ในการทดสอบนี้ใช้วิธีการของ Gontard *et al.*<sup>16</sup> โดยนำแผ่นฟิล์มขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม. ที่ผ่านการชั่งน้ำหนักที่แน่นอน (A) แล้ว แช่ในน้ำกลั่น 50 มล. ที่เติมสารละลายโซเดียมเอไซด์ (Sodium azide) ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ลงไปเล็กน้อยเพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 20° C. เป็นเวลา 24 ชม. จากนั้นนำฟิล์มออกจากน้ำกลั่นและอบแห้งที่อุณหภูมิ 100° C. เป็นเวลา 24 ชม. นำฟิล์มมาทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักฟิล์มหลังการอบ (B) และคำนวณค่าดัชนีการละลายตามสูตร ดังต่อไปนี้

$$\text{ดัชนีการละลายน้ำ (\%)} = \frac{(A - B) \times 100}{A}$$

โดย A คือ น้ำหนักของฟิล์มเริ่มต้น, ก.

B คือ น้ำหนักของแผ่นฟิล์มหลังอบ, ก.

นำผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ (ยกเว้นความชื้น และความหนาของฟิล์ม) มาคำนวณหาค่าความสัมพันธ์กับปัจจัยที่ศึกษาในกระบวนการผลิตในรูปของค่าสัม-

ประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient,  $r$ ) และสัดส่วนของความแปรปรวน (Correlation of determination,  $r^2$ ) จากปัจจัยในกระบวนการผลิตทั้งสองปัจจัย รวมทั้งคำนวณสมการถดถอยพหุคูณ (Multiple regression equation) เพื่อใช้เป็นแบบจำลองในกระบวนการผลิตฟิล์มที่รับประทานได้จากโปรตีนสกัดจากถั่วเขียว โดยใช้โปรแกรม Statgraphic-plus (STSC, Inc.) ในการคำนวณ

## ผลการทดลองและวิจารณ์

ในการสกัดโปรตีนจากถั่วเขียวโดยใช้วิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของวุฒิชัย<sup>3</sup> ซึ่งใช้สารละลายของเกลือโซเดียมคาร์บอเนตเป็นตัวทำละลายในการสกัด พบว่าสามารถละลายโปรตีนจากถั่วเขียวได้ 89-90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าการใช้สารละลายของเกลือแคลเซียมคลอไรด์เป็นตัวทำละลายในการสกัดโปรตีนจากถั่วเขียวตามวิธีการของ Cheappimolchai<sup>27</sup> ทั้งนี้เนื่องจากระดับ pH ของของผสมในระหว่างที่ทำการสกัดด้วยวิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของวุฒิชัย<sup>3</sup> มีค่าอยู่ระหว่าง pH 10-10.5 ซึ่งสามารถละลายโปรตีนจากถั่วเขียวได้มากกว่า และเมื่อใช้สารละลายโปรตีนเป็นโซเดียมคาร์บอเนตที่ทำให้ตกตะกอนด้วยการปรับค่า pH เป็น  $I_p$  (Isoelection point) ซึ่งเป็นค่า pH ที่โปรตีนมีความสามารถในการละลายต่ำที่สุด ในการทดลองนี้ใช้กรดไฮโดรคลอริกในการปรับ pH ของสารละลายโปรตีนที่ได้เข้าสู่ pH 4.5 แล้วปล่อยให้โปรตีนตกตะกอนที่ก้นภาชนะเทอาส่วนที่เป็นน้ำทิ้งจะได้ก้อนโปรตีน จากการนำก้อนโปรตีนที่ได้ไปวิเคราะห์หาความชื้นและปริมาณโปรตีนที่มีอยู่พบว่า ก้อนโปรตีนที่ตกตะกอนได้มีความชื้น 84.9 เปอร์เซ็นต์ และเป็นโปรตีน 4.5-4.7 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปคำนวณหาประสิทธิภาพในการตกตะกอนโปรตีนด้วยวิธีการนี้อยู่ระหว่าง 84-85 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่ากระบวนการในการสกัดโปรตีนออกจากถั่วเขียวในการทดลองนี้มีประสิทธิภาพที่สูงกว่าวิธีของ Cheappimolchai<sup>27</sup>

การเตรียมฟิล์มที่ได้จากการนำก้อนโปรตีนมาผสมกับแป้งข้าวเหนียวในส่วนของโครงสร้างหลัก และกลีเซอริน 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ พบว่าฟิล์มที่ได้จะเรียบเนียนใส มีสีเหลืองอ่อน ๆ สามารถลอกออกจากแผ่นกระจกที่หุ้มด้วยพลาสติกพอลิโพรพิลีนได้ง่าย และเมื่อนำฟิล์มที่ได้จากการเตรียมในแต่ละการทดลองมาวิเคราะห์และทดสอบคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ พบว่า ฟิล์มที่ได้มีความชื้นอยู่ระหว่าง 22.55-28.05 เปอร์เซ็นต์ มีความหนาอยู่ระหว่าง 0.10-0.16 มม. และฟิล์มที่ได้ในทุกการทดลองจะมีค่าการต้านทานการซึมผ่านไอน้ำมากกว่า 36 ซม.ขึ้นไป โดยมีค่า WVTR, TS, E และ WSI ของฟิล์มอยู่ระหว่าง 4.75-7.53



ก./ตร.ม./วัน 0.66–1.32 กิโลกรัมแรงต่อตร.ซม. 9.33–17.33 เปอร์เซนต์ และ 25.93–41.06 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับคุณสมบัติของฟิล์มโปรตีนสกัดจากถั่วเขียว จากการศึกษาของ Cheappimolchai<sup>27</sup> พบว่า ฟิล์มที่ได้มีความหนาใกล้เคียงกัน แต่มีค่า WVTR ต่ำกว่าประมาณ 4–7 เท่า ในขณะที่มีค่า TS โดยเฉลี่ยสูงกว่าเล็กน้อย และมีค่า E ต่ำกว่า ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากการผสมแป้งข้าวเหนียวในส่วนผสมที่เป็นโครงสร้างของฟิล์ม ถึงแม้จะเพิ่มส่วนของกลีเซอรินลงไปในส่วนผสมถึง 10 เปอร์เซนต์ ก็ยังทำให้คุณสมบัติในการยึดตัวของฟิล์มด้อยลงไป แต่อย่างไรก็ตามฟิล์มที่ได้ยังเรียบเนียนใสและมีสีเหลืองอ่อนมากกว่า สามารถต้านการซึมผ่านของไอน้ำและไขมันได้ดีกว่า รวมทั้งสามารถนำไปใช้ในงานที่เมื่อรวมอยู่ในน้ำฟิล์มก็สามารถละลายได้ และเมื่อเปรียบเทียบฟิล์มที่ได้จากการทดลองนี้ทั้ง 9 การทดลองจะเห็นได้ว่าฟิล์มที่ได้จากการทดลองที่ 9 จะมีคุณสมบัติโดยรวมดีที่สุด ในขณะที่ฟิล์มที่ได้จากการทดลองที่ 1 จะมีคุณสมบัติโดยรวมต่ำที่สุด (ตารางที่ 2)

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางสถิติของปัจจัยในการเตรียมฟิล์มคือ อัตราส่วนระหว่างของเหลวต่อของแข็ง( $X_1$ ) และอัตราส่วนระหว่างคาร์โบไฮเดรตต่อโปรตีน( $X_2$ ) ที่มีผลต่อคุณสมบัติของฟิล์มคือ WVTR( $Y_1$ ), TS( $Y_2$ ), E( $Y_3$ ) และ WSI( $Y_4$ ) ในรูปของค่าสหสัมพันธ์ ( $r$ ) (ตารางที่ 3) พบว่าปัจจัยในกระบวนการผลิตคือ  $X_1$  มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับ TS( $r = 0.5208$ ) เท่านั้น ในขณะที่  $X_2$  มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับ WVTR( $r = 0.5925$ ) และ TS( $r = 0.5124$ ) ดังนั้น จะเห็นได้ว่า อิทธิพลของปัจจัยในการเตรียมฟิล์มต่อคุณสมบัติของฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญยิ่งคือ อัตราส่วนระหว่างส่วนที่เป็นโครงสร้างหลัก( $X_2$ ) มากกว่าอัตราส่วนระหว่างของเหลวต่อของแข็ง( $X_1$ ) โดยเฉพาะต่อคุณสมบัติในการต้านการซึมผ่านของไอน้ำประมาณ 35 เปอร์เซนต์ ( $r^2 = 0.3511$ ) และการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มประมาณ 26 เปอร์เซนต์ ( $r^2 = 0.2625$ ) โดยเมื่อนำผลการทดสอบคุณสมบัติของฟิล์มดังกล่าวข้างต้นมาคำนวณและแสดงในรูปของสมการถดถอยพหุคูณจะได้กราฟ (รูปที่ 3, 4, 5 และ 6) และสมการ ดังนี้

WVTR:

$$Y_1 = 5.9031 + 0.2158X_1 - 17.2811X_2 - 0.0043X_1^2, \quad (r^2 = 0.52)$$

TS:

$$Y_2 = 0.3689 + 0.0477X_1 + 0.703712X_2 - 0.0009X_1^2 + 23.1111X_2^2 - 0.0791X_1X_2, \quad (r^2 = 0.68)$$

E:

$$Y_3 = 17.5268 + 0.2629X_1 - 261.1403X_2 + 1593.1111X_2^2 - 1.6911X_1X_2, \quad (r^2 = 0.44)$$

WSI:

$$Y_4 = 15.7739 + 1.4684X_1 + 58.4319X_2 - 0.0202X_1^2 + 422.4667X_2^2 - 0.3141X_1X_2, \quad (r^2 = 0.89)$$

## สรุป

กระบวนการผลิตฟิล์มโปรตีนสกัดจากถั่วเขียวที่ใช้ในการทดลองนี้สามารถปรับปรุงประสิทธิภาพในการสกัดให้สูงขึ้นได้โดยสามารถละลายโปรตีนในถั่วเขียว และตกตะกอนโปรตีนในสารละลายได้ 89-90 เปอร์เซ็นต์ และ 84-85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยโปรตีนที่สกัดได้ในรูปของก้อนโปรตีนสดที่มีความชื้น 84.9 เปอร์เซ็นต์ และเป็นโปรตีนประมาณ 4.5-4.7 เปอร์เซ็นต์ จะนำมาใช้ในการเตรียมฟิล์มทันทีเพื่อหลีกเลี่ยงการสูญเสียคุณสมบัติทางธรรมชาติของโปรตีน (Protein denaturation) โดยผสมกับแป้งข้าวเหนียวในส่วนของโครงสร้างหลัก และกลีเซอริน 10 เปอร์เซ็นต์ (โดยคิดเทียบกับน้ำหนักโปรตีนแห้ง) และนำของผสมหนัก 70 ก. มาเกลี่ยลงบนแผ่นกระจกขนาด 20 × 30 ตร.ซม. ที่หุ้มด้วยพลาสติกพอลิพรอพิลีน แล้วนำอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60° ซ. เป็นเวลา 4 ชม. หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วลอกแผ่นฟิล์มออกจากแผ่นกระจกดังกล่าว นำไปวิเคราะห์และทดสอบคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ จากการศึกษาพบว่า ฟิล์มที่ได้มีความชื้นอยู่ระหว่าง 22.55-28.05 เปอร์เซ็นต์ มีความหนา 0.10-0.16 มม. และสามารถต้านทานการซึมผ่านของไขมันได้มากกว่า 36 ชม.ขึ้นไปทุกการทดลอง โดยฟิล์มที่ได้จากการทดลองที่ 9 ที่ใช้อัตราส่วนระหว่างของเหลวต่อของแข็ง เท่ากับ 10 : 90 และอัตราส่วนระหว่าง คาร์โบไฮเดรตต่อโปรตีน เท่ากับ 0.05 : 1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก โดยคิดเป็นน้ำหนักแห้ง) จะให้ฟิล์มที่มีคุณสมบัติโดยรวมดีที่สุด ซึ่งในกระบวนการเตรียมฟิล์ม ปัจจัยในการเตรียมฟิล์มจะมีผลต่อคุณสมบัติของฟิล์มในด้านอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (WVTR) และการต้านทานแรงดึงขาด (TS) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $P \leq 0.01$

## เอกสารอ้างอิง

1. เกศศิณี ตระกูลทิวากร, วิภา สุโรจนะเมธากุล, ประชา บุญญศิริกุล และสมยศ จรรยาวิลาศ. การทำฟิล์มที่รับประทานได้จากแป้งข้าวเจ้า และแป้งมันสำปะหลัง. *ว. อาหาร*, 2539, 26(4), 249-262.
2. มณฑาทิพย์ ชุ่นฉลาด. ฟิล์มและสารเคลือบที่รับประทานได้. *ว. อาหาร*, 2535, 1, 1-5.
3. วุฒิชัย นาครักษา. การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของพันธุ์ถั่วเขียวที่เหมาะสมต่อการใช้ประโยชน์. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร, 2526.
4. AOAC. Official Method of Analysis. 16<sup>th</sup> edition, the Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., 1995.
5. ASTM. Standard Test Method. The American Society for Testing and Materials Committee on Standard. Philadelphia, 1974.
6. Avena-Bustillos R.J. and Krochta, J.M. Water Vapour Permeability of Caseinate-Based Edible Films as Affected by pH, Calcium Crosslinking and Lipid Content. *J. Food Sci.*, 1993, 58, 904-907.
7. Avena-Bustillos, R.J., Krochta, J.M. and Saltveit, M.E. Water Vapor Resistance of Red Delicious Apples and Celery Sticks Coated With Edible Caseinate-Acetylated Monoglyceride Films. *J. Food Sci.*, 1997, 62, 351-354.
8. Cherian, G., Gennadoios, A., Weller, C. and Chinachoti, P. Thermomechanical Behavior of Wheat Gluten Films: Effect of Sucrose, Glycerin and Sorbitol. *Cereal Chem.*, 1995, 72, 1-6.
9. Crevasse, G.A., Gammon, D. and Sullivan, M.J. Process for Preparation of Meat Products Enclosed in Edible Collagen Film and Wrapped in a Netting. European Patent 0 198 486 B1, 1988.
10. Cuq, B., Gontard, N. and Guilbert, S. Edible Films and Coatings As Active Layers. In Rooney, M.L. (ed). Active Food Packaging. Blackie Academic and Professional, New York, 1995, 111-135.
11. Danilova, M.M. *et al.* Influence of Polysaccharide on the Rheological Properties of Aqueous Solutions of Sodium Carboxymethylcellulose. *Izvestiya Vysshikh Uchenbnykh Zavedenii, Vysshikh*, 1994, 58.

12. Debeaufort, F. and Voilley, A. Effect of Surfactants and Drying Rate on Barrier Properties of Emulsified Edible Films. *Intern. J. Food Sci. & Technol.*, 1995, **30**, 183-190.
13. Fairley, P. *et al.* Mechanical Properties and Water Vapour Permeability of Edible Films from Whey Protein Isolate and Sodium Dodacyl Sulfate. *J. Agri. Food Chem.*, 1996, **44**, 438-443.
14. Garcia, M.A., Martino, M.N. and Zaritzky, N.E. Comparison of Amylose Enrichment Procedures for Food Applications. *Cereal Chem.*, 1995, **72**, 552-558.
15. Gennadios, A. and Weller C.L. Edible Films and Coatings from Soymilk and Soyprotein. *Cereal Food World*, 1991, **36**, 1004-1009.
16. Gontard, N., Guilbert, S. and Cuq, J.L. Edible Wheat Gluten Film: Influence of the Main Process Variables on Film Properties Using Response Surface Methodology. *J. Food Sci.*, 1992, **57**, 190-199.
17. Gottard, N. and Ring, S. Edible Wheat Gluten Film: Influence of Water Content on Glass Transition Temperature. *J. Agri. Food Chem.*, 1996, **44**, 3474-3478.
18. Gontard, N. and Gulibert, S. Bio-packaging Technology and Properties of Edible and/or Biodegradable Material of Agricultural Origin. In Mathlouthi, M. (ed). *Food Packaging and Preservation*. Blackie Academic and Professional, New York, 1994, 200-207.
19. Kester, J.J. and Fennema, O.R. Edible Film and Coatings. *Food Tech.*, 1986, **40**, 47-59.
20. Krochta, J.M. and Mulder-Johnson, C.D. Edible and Biodegradable Polymer Films: Challenges and Opportunities. *Food Technol.*, 1997, **51**, 61-74.
21. McHugh, T.H., Avena, B.R. and Krochta, J.M. Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapour Permeability and Explanation of Thickness Effects. *J. Food Sci.*, 1993, **58**, 899-903.
22. McHugh, T.H. and Krochta, J.M. Sorbitol-vs Glycerol-Plasticized Whey Protein Edible Films: Integrated Oxygen Permeability and Tensile Property Evaluation. *J. Agri. Food Chem.*, 1994, **42**, 841-845.
23. McHugh, T.H., Aujard, J.F. and Krochta, J.M. Plasticized Whey Protein Edible Films: Water Vapour Permeability Properties. *J. Food Sci.*, 1994, **59**, 416-419.

24. Mendoza, M. Preparation and Physical Properties of Zein Based Films. M.S. Thesis, University of Massachusetts, Amherst, 1975.
25. Nelson, K.L. and Fennema, O.R. Methylcellulose Films to Prevent Lipid Migration in Confectionery Products. *J. Food Sci.*, 1991, 56, 504-506.
26. TAPPI. Turpentine for Grease Resistance of Paper. Technical Association of the Pulp and Paper Industry. Technology Park, Atlanta, 1989c.
27. Cheappimolchai, W. Isolated Protein from Mungbean Vermicelli Waste for Edible Film Production. Master's Thesis, Asian Institute of Technology, Bangkok, 1994.

ตารางที่ 1. ปริมาณความชื้น และความหนาของฟิล์มโปรตีนสกัดจากถั่วเขียว

การทดลอง ที่	ปัจจัย		ความชื้น (%)	ความหนา (มม.)
	ปริมาณของเหลว: ปริมาณของแข็ง	ปริมาณคาร์โบไฮเดรต: ปริมาณโปรตีน		
1	30 (30 : 70)	0.05 (0.05 : 1)	28.05 ± 1.22	0.10 ± 0.01
2	30 (30 : 70)	0.10 (0.10 : 1)	27.22 ± 3.83	0.13 ± 0.04
3	30 (30 : 70)	0.15 (0.15 : 1)	25.41 ± 3.09	0.15 ± 0.04
4	20 (20 : 80)	0.05 (0.05 : 1)	24.51 ± 3.29	0.15 ± 0.01
5	20 (20 : 80)	0.10 (0.10 : 1)	26.35 ± 1.41	0.15 ± 0.01
6	20 (20 : 80)	0.15 (0.15 : 1)	27.54 ± 1.03	0.16 ± 0.01
7	10 (10 : 90)	0.05 (0.05 : 1)	23.74 ± 0.59	0.16 ± 0.02
8	10 (10 : 90)	0.10 (0.10 : 1)	24.81 ± 0.75	0.14 ± 0.02
9	10 (10 : 90)	0.15 (0.15 : 1)	22.55 ± 0.53	0.15 ± 0.03

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงในตารางนี้เป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ค่า และคิดค่าเฉลี่ยโดยน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 2. คุณสมบัติทางกายภาพบางประการของฟิล์มโปรตีนสกัดจากถั่วเขียว

การทดลอง ที่	ปัจจัย		คุณสมบัติทางกายภาพ			
	ปริมาณ ของเหลว: ปริมาณของแข็ง	ปริมาณ คาร์โบไฮเดรต: ปริมาณโปรตีน	WVTR <sup>1</sup>	TS <sup>2</sup>	E <sup>3</sup>	WSI <sup>4</sup>
1	30 (30 : 70)	0.05 (0.05 : 1)	7.53 ± 1.00	0.66 ± 0.04	9.33 ± 2.13	25.93 ± 0.96
2	30 (30 : 70)	0.10 (0.10 : 1)	7.44 ± 0.42	0.73 ± 0.12	10.00 ± 0.00	38.27 ± 0.93
3	30 (30 : 70)	0.15 (0.15 : 1)	7.25 ± 0.60	0.86 ± 0.29	11.66 ± 2.88	38.719 ± 0.79
4	20 (20 : 80)	0.05 (0.05 : 1)	6.41 ± 1.03	0.86 ± 0.13	12.66 ± 2.70	36.01 ± 0.98
5	20 (20 : 80)	0.10 (0.10 : 1)	5.82 ± 0.36	0.94 ± 0.26	13.58 ± 3.71	38.95 ± 0.74
6	20 (20 : 80)	0.15 (0.15 : 1)	5.38 ± 0.05	1.03 ± 0.32	14.00 ± 2.55	38.95 ± 1.00
7	10 (10 : 90)	0.05 (0.05 : 1)	5.35 ± 1.47	1.12 ± 0.25	14.33 ± 2.60	27.41 ± 0.77
8	10 (10 : 90)	0.10 (0.10 : 1)	5.32 ± 0.25	1.31 ± 0.48	16.00 ± 2.00	41.06 ± 0.24
9	10 (10 : 90)	0.15 (0.15 : 1)	4.75 ± 0.87	1.32 ± 0.11	17.33 ± 2.06	31.64 ± 0.70

หมายเหตุ: 1) ค่าที่แสดงในตารางนี้เป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ค่า และคิดค่าเฉลี่ยโดยน้ำหนักแห้ง  
2) จากตาราง

<sup>1</sup> Water Vapor Transmission Rate (g/m<sup>2</sup>/day)

<sup>2</sup> Tensile Strength (kg/cm<sup>2</sup>)

<sup>3</sup> Elongation (%)

<sup>4</sup> Water Solubility Index (%)

ตารางที่ 3. ค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่างปัจจัยในกระบวนการเตรียมฟิล์มกับคุณสมบัติทางกายภาพบางประการของฟิล์มโปรตีนสกัดจากถั่วเขียว

คุณสมบัติทางกายภาพ ปัจจัย	WVTR	TS	E	WSI
	ปริมาณของเหลว: ปริมาณของแข็ง	-0.2104 <sup>ns</sup>	0.5208**	0.3580 <sup>ns</sup>
ปริมาณคาร์โบไฮเดรต: ปริมาณโปรตีน	-0.5925**	0.5124**	0.1554 <sup>ns</sup>	0.1380 <sup>ns</sup>

หมายเหตุ: WVTR = Water Vapor Transmission Rate

TS = Tensile Strength

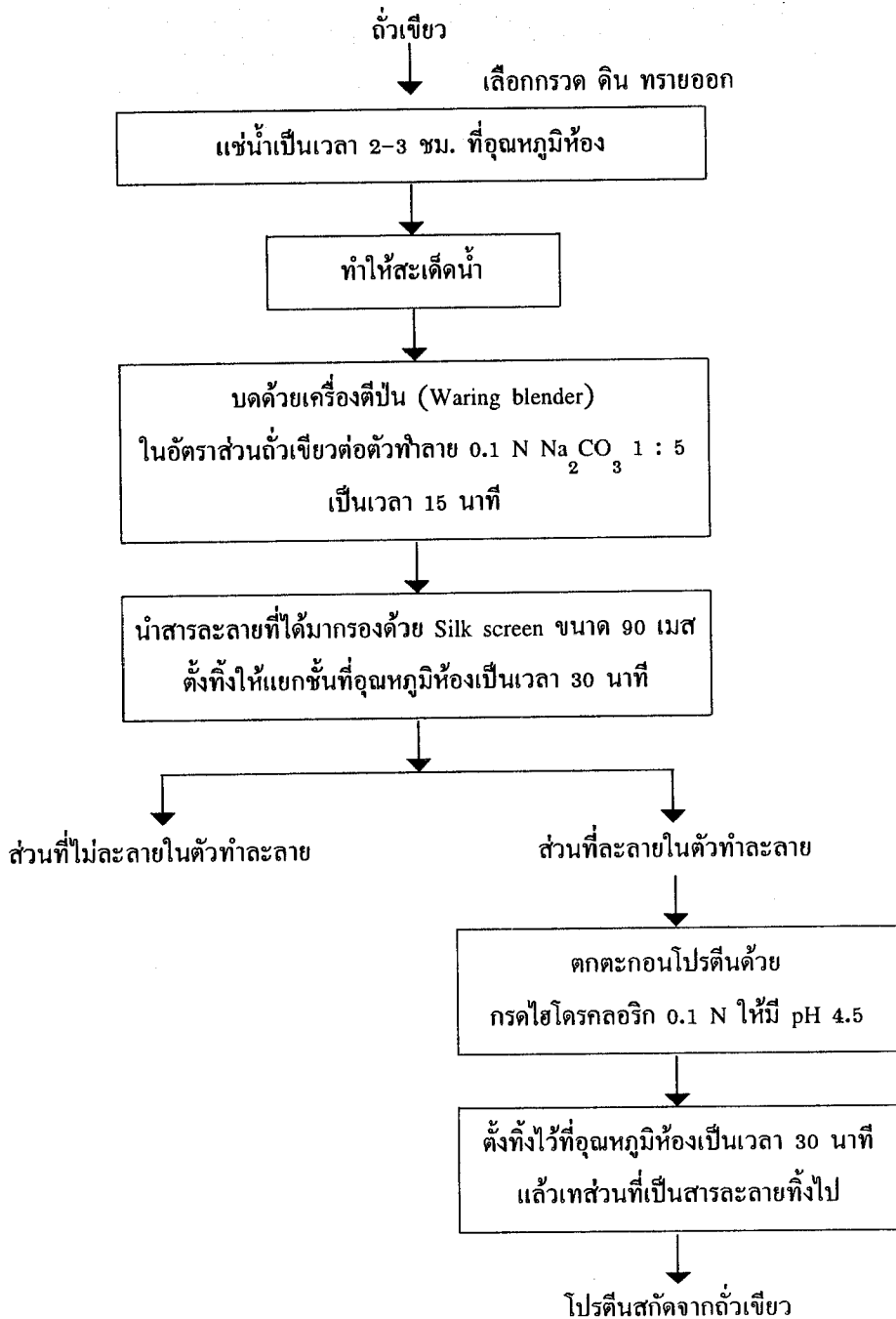
E = Elongation

WSI = Water Solubility Index

ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

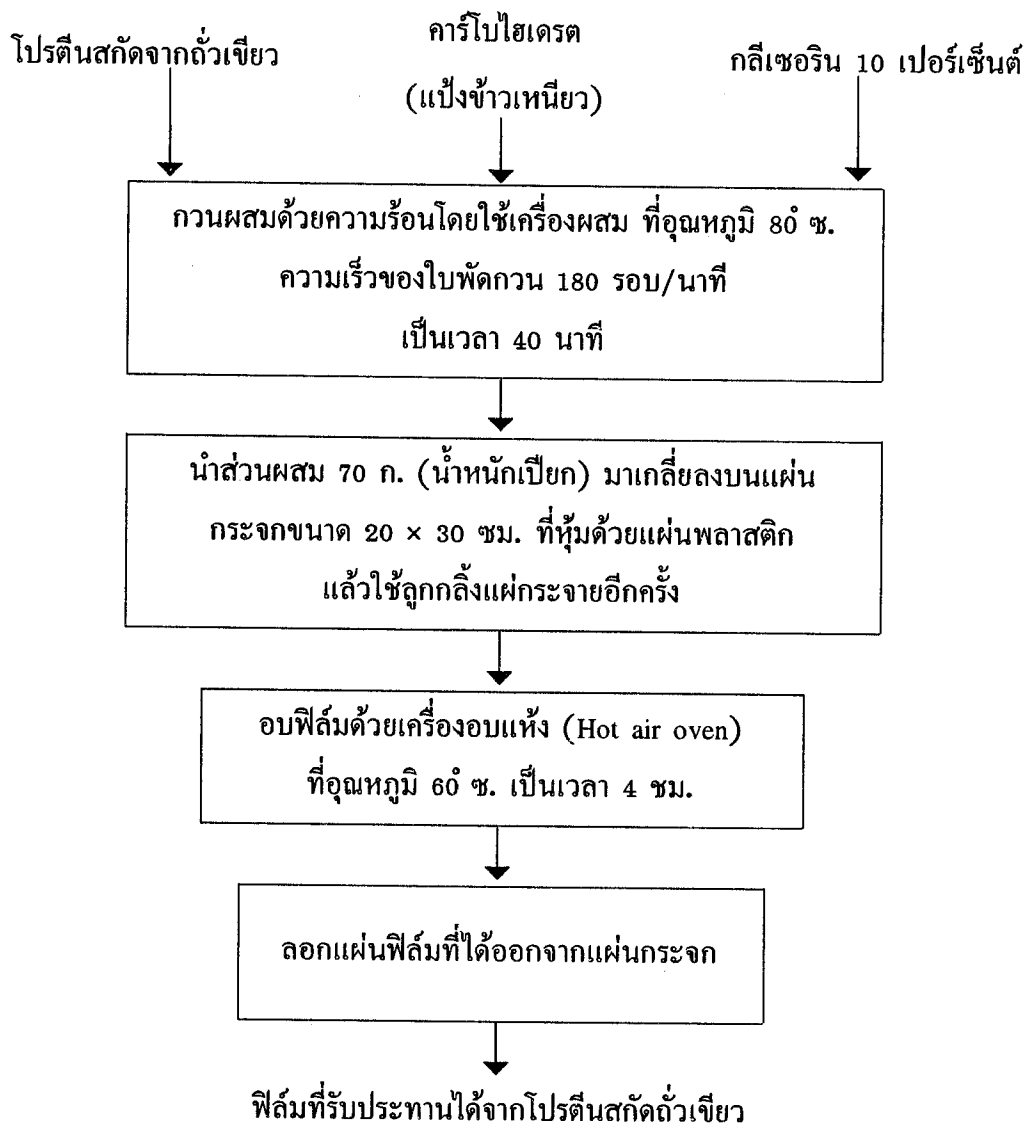
\*\* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01



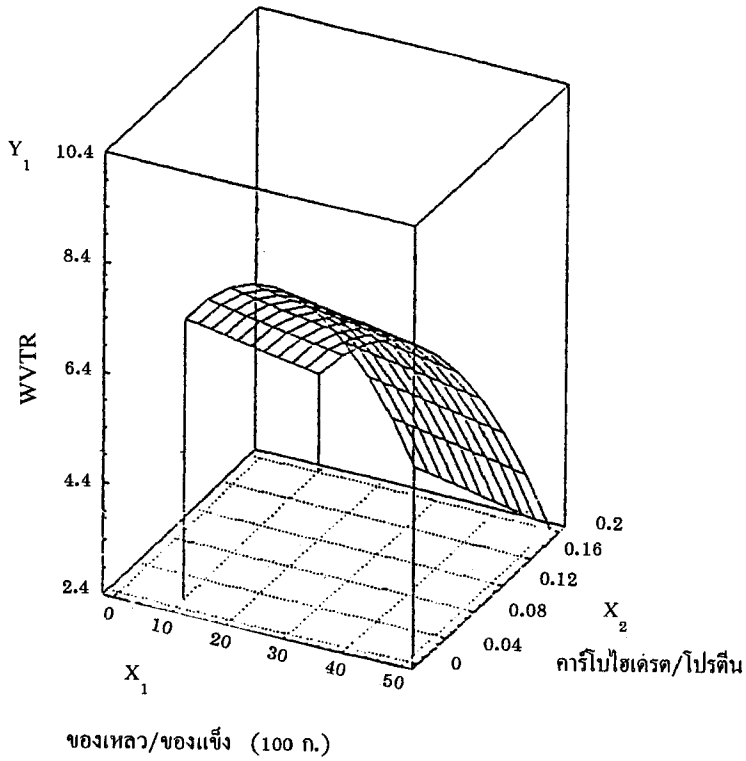


รูปที่ 1. แผนผังการสกัดโปรตีนจากถั่วเขียว

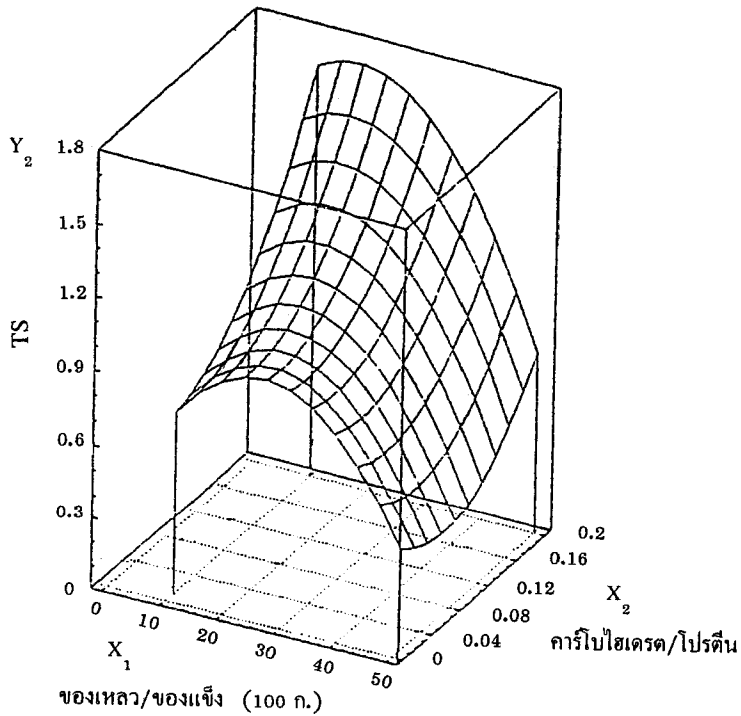
ที่มา: ดัดแปลงจาก วุฒิชัย<sup>3</sup>



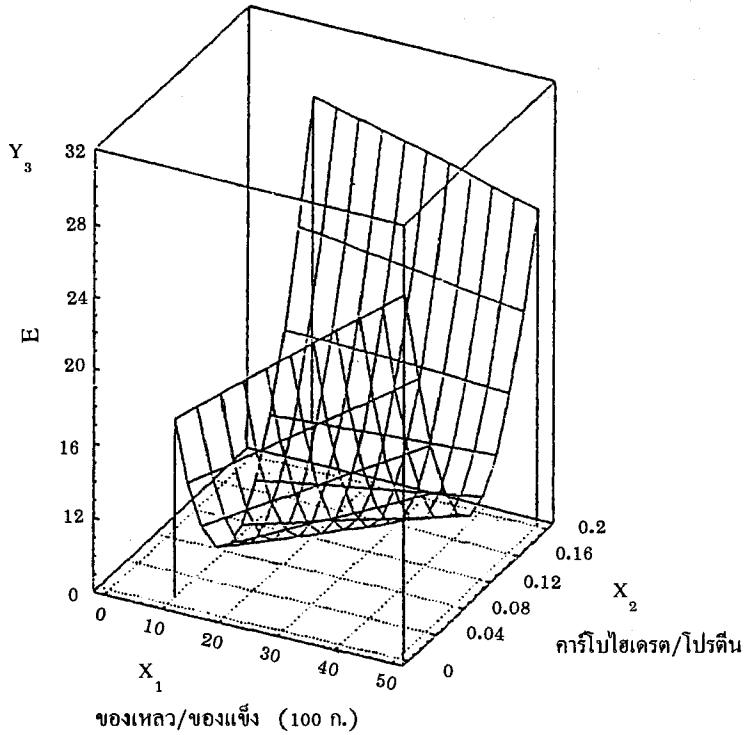
รูปที่ 2. แผนผังการเตรียมฟิล์มโปรตีนสกัดจากถั่วเขียว



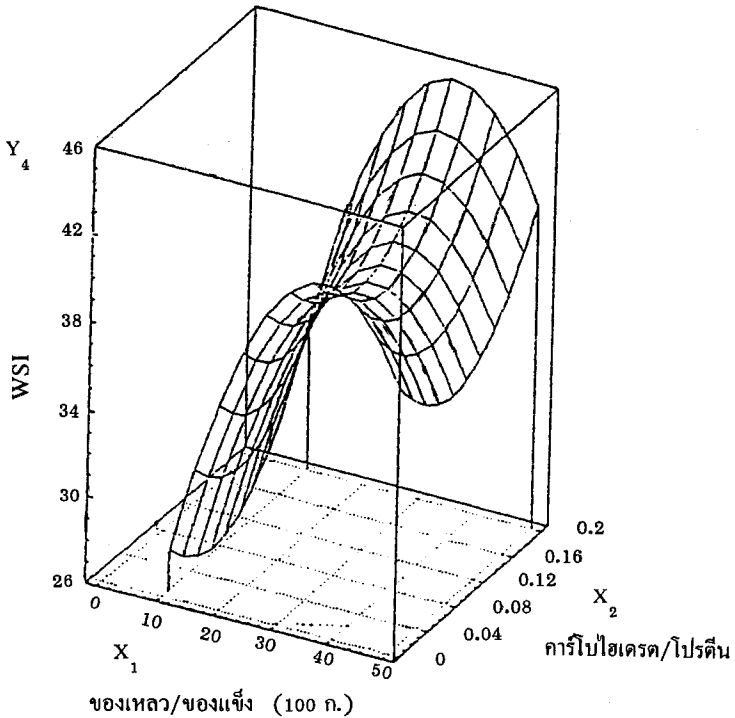
รูปที่ 3. กราฟ Response surface ระหว่างอัตราการซึมผ่านของไอน้ำกับปัจจัยการผลิต



รูปที่ 4. กราฟ Response surface ระหว่างแรงดึงขาดกับปัจจัยการผลิต



รูปที่ 5. กราฟ Response surface ระหว่างแรงยึดตัวกับปัจจัยการผลิต



รูปที่ 6. กราฟ Response surface ระหว่างดัชนีการละลายน้ำกับปัจจัยการผลิต