

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- กัญญา บุญยเกียรติ. 2536. การคำนวณขั้นต้นในวิชาวิศวกรรมเคมี. กรุงเทพฯ. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปิยธิดา ธรรมบำรุง, วัลลภ อิมสุวรรณ, และ อุษาพรรณ รุ่งพิสุทธิพงศ์. 2543. การสกัดแยกโปรตีนจากน้ำล้างเนื้อปลาสด. โครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พิทักษ์ เจาะจง, สุนีย์ กมลเดชเดชา, และ รพีพรรณ ปมุติต. 2541. फिल्मบริโคได้จากแป้งมันสำปะหลัง. โครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด. 2535. फिल्मและสารเคลือบที่รับประทานได้. อาหาร. 22(1): 42-48.
- หน่วยสำรวจแหล่งประมง. 2516. การศึกษาชีวประวัติของปลาทรายแดงและปูม้าในอ่าวไทยโดยเรือสำรวจประมง 1. กรุงเทพฯ: กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- อภัสรา ชมิดท์. 2537. ชีวเคมี. กรุงเทพฯ: เค.ยู.เพลส์.

### ภาษาอังกฤษ

- Albert, T. 1989. Stabilization energies of protein conformation. In: Fasman, G. D. editor. Prediction of protein structure and the principles of protein conformation. New York: Plenum.
- A.O.A.C. 1995. Official method of analysis. 16th ed. Washington D.C.: Association of Official Analytical Chemists.
- ASTM. 1999. Annual book of ASTM standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.
- Banker, G. S. 1966. Film coating theory and practice. J. Pharm. Sci. 55(1): 81 – 89.
- Boye, I. J., Ma, Y. C., and Harwalker, R. V. 1997. Thermal denaturation and coagulation of proteins. In Damodaran, S. and Paraf, A. (eds.), Food protein and their application. New York: Marcel Dekker.
- Brandenburg, H. A., Weller C. L., and Testin, R. F. 1993. Edible films and coating from soy protein. J. Food Sci. 58(5): 1086–1089.

- Byler, M. D., and Purcell, M. J. 1989. FTIR examination of thermal denaturation and gel formation in whey protein. SPIE. 1145: 415-419.
- Caner, C., Vergano, J. P., Wiles, L., J. 1998. Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. J. Food Sci. 63(6): 1049-1053.
- Catsimpoolas, N., and Meyer, W. E. 1970. Gelation phenomena of soybean globulins: Protein-protein interactions. Cereal Chem. 47: 559-562.
- Cheftel, C. J., Cuq, L. J., and Lorient, D. 1985. Amino acids, peptides and proteins, In Fennema, O. R.(ed.), Food Chemistry. New York: Marcel Dekker.
- Choi, S. W., and Han, H. J. 2001. Physical and mechanical properties of pea-protein-based edible films. J. Food Sci. 66(2): 319-322.
- Cunningham, P., Ogale, A. A., and Dawson, P. L. 2000. Tensile properties of soy protein isolate films produced by a thermal compaction technique. J. Food Sci. 65(4): 668-671.
- Copeland, R. A. 1994. Method for protein analysis. London: Chaan and Hall.
- Cuq, B., Aymard, C., Cuq, J. L., and Guilbert, S. 1995. Edible packaging films based on fish myofibrillar protein: formulation and functional properties. J. Food Sci. 60(6): 1369-1374.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L., and Guilbert, S. 1996. Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as affected by film thickness. J. Food Sci. 61(3): 580-584.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L., and Guilbert, S. 1997. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizer. J. Agric. Food Chem. 45: 622-626.
- Donhowe, G. I., and Fennema, O. R. 1994. Edible films and coatings: Characteristics, formation, definitions, and testing methods. In Krochta, M. J., Baldwin, A. E., and Nisperos-Carriedo, O. M. (eds.), Edible coatings and films to improve food quality. Pennsylvania: Technomic Company.
- Fang, Y., Tung, A. M., Britt, J. I., Yada, S., and Dalgleish, G. D. 2002. Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. J. Food Sci. 67(1): 188-193.

- Gennadios, A., and Weller, C. L. 1990. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. Food Technol. 44(10): 63-69.
- Gennadios, A., Weller, C. L., Hanna M. A., and Froning, G. W. 1996. Mechanical and barrier properties of egg albumin films. J. Food Sci. 61(3): 585-589.
- Gontard, N., Guilbert, S., and Cuq, J. L. 1992. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. J. Food Sci. 57(1): 190-195.
- Guilbert, S. 1986. Technology and application of edible film. In M. Mathlouthi (ed.), Food packaging and preservation theory and practice. London: Elsevier Applied Science Publisher.
- Guilbert, S., and Biquet, B. 1996. Edible films and coatings. In Bureau, G., and Multon, L. J. Food packaging technology (v.1). New York: Wiley-VCH.
- Hegg, O. P. 1982. Conditions for the formation of heat-induced gels of some globular food proteins. J. Food Sci. 47(6): 1241-1244.
- Hill, E. S., Ledward, A. D., and Mitchell, R. J. 1998. Functional properties of food macromolecules. Maryland: Aspen Publishers.
- Holmes, K. L., Noguchi, S. F., and McDonal, G. A. 1992. The alaska pollock resource and other species used for surimi. In Lanier, T. C. and Lee, C. M. (eds.), Surimi Technology. New York: Marcel Dekker.
- Iwata, K., Ishizaki, S., Handa, A., and Tanaka, M. 2000. Preparation and characterization of edible films from fish water soluble protein. Fisheries Sci. 66(7): 372-378.
- Jangchud, A., and Chinnan, M. S. 1999. Peanut protein film as affected by drying temperature and pH of film forming solution. J. Food Sci. 64(1): 153-157.
- Kester, J. J., and Fennema, O. R. 1986. Edible films and coatings: A review. Food Technol. 40(12): 47-59.
- Krochta, M. J. 1997. Edible films solve problems. Food Technol. 51(2): 60-64.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227: 680-685.
- Lee, A. F. 1996. Basic food chemistry. Connecticut: AVI Publishing company.
- Lin, M. T., Park, J. W., and Morrissey, M. T. 1995. Recovered protein and reconditioned water from surimi processing waste. J. Food Sci. 60(1): 4-9.



- Mathlouthi, M. 1994. Food packaging and preservation. London: Blackie academic & professional.
- McHugh, H. T., Aujard, F. J., and Krochta, M., J. 1994. Plasticized whey protein edible films: Water vapor permeability properties. J. Food Sci. 59(2): 416-429.
- McHugh, H. T., and Krochta, M. J. 1994. Sorbitol- vs glycerol-plasticized whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. J. Agric. Food Chem. 42(4): 841-845.
- Morrissey, A. P., Mulvihill, M. D., and O'Veill, M. E. 1987. Functional properties of muscle proteins, Development in Food Protein. London: Elsevier Apply Science.
- Murphy, R. Y., Marks, B. P., and Marcy, J. A. 1998. Apparent specific heat of chicken breast patties and their constituent proteins by differential scanning calorimetry. J. Food Sci. 63(1): 88-91.
- Oakenfull, D., Pearce, J., and Burley, W. R. 1997. Protein gelation. In Damodaran, S. and Paraf, A. (eds.), Food protein and their application. New York: Marcel Dekker.
- Parris, N., and Coffin, R. D. 1997. Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic zein films. J. Agric. Food Chem. 45(5): 1596-1599.
- Perez-Gago, B. M., Nadaud, P., and Krochta, M. J. 1999. Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. J. Food Sci. 64(6): 1034-1037.
- Perez-Gago, B. M., and Krochta, M. J. 2001. Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. J. Food Sci. 66(5): 705-710.
- Pigott, M. G., and Tucker, W. B. 1990. Seafood effect of technology on nutrition. New York: Marcel Dekker.
- Pol, H., Dawson, P., Acton, J., and Ogale, A. 2002. Soy protein isolate/corn-zein laminated films: Transport and mechanical properties. J. Food Sci. 67(1): 212-217.
- Robertson, G. L. 1993. Food packaging principle and practice. New York: Marcel Dekker.



- Sanchez, C. A., Popineau, Y., Mangavel, C., Larre, C., and Gueguen, J. 1998. Effect of different plasticizers on the mechanical and surface properties of wheat gliadin films. J. Agric. Food Chem. 46: 4539-4544.
- Shahidi, F., and Botta, J. R. 1994. Seafood: Chemistry, processing technology and quality. London: Blackie Academic & Professional.
- Suzuki, T. 1981. Fish and krill protein : Processing technology. London: Applied Science Publishers.
- Toyoda, K., Kimura, I., Fijita, T., Noguchi, F. S., and Lee, C. M. 1992. The surimi manufacturing process. In Lanier, T. C., and Lee, C. M.(eds.), Surimi technology. New York: Marcel Dekker.
- Voet, D., and Voet, G. J. 1995. Biochemistry. 2nd ed. New York: John Wiley & son.
- Wahyni, M., Ishizaki, S., and Tanaka, M. 1999. Improvement of functional properties of fish water soluble proteins with glucose-6-phosphate through the maillard reaction. Fisheries Sci. 65(4): 618-622.
- Whitaker, R. J., and Tannenbaum R. S. 1977. Food proteins. New York: AVI Publishing Company.
- Wu, L. C., and Bates, C. R. 1973. Soy protein-lipid films 2. optimization of film formation. J. Food Sci. 38: 783-787.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สมบัติทางกายภาพของฟิล์ม



ตารางที่ 15 สมบัติต่างๆ ของแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้ pH ของสารละลายและอุณหภูมิในการให้ความร้อนต่างๆ กัน

Treatment		ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
pH	temperature ( $^{\circ}$ C)	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	Water vapor permeability (g.m/m <sup>2</sup> .s.Pa) $\times 10^{-10}$	Total solubility (%)
3	60	0.87 <sup>b</sup> $\pm$ 0.05	4.11 <sup>a</sup> $\pm$ 0.33	5.43 <sup>d</sup> $\pm$ 0.10	74.20 <sup>f</sup> $\pm$ 2.30
3	70	1.32 <sup>de</sup> $\pm$ 0.08	8.96 <sup>a</sup> $\pm$ 1.21	4.88 <sup>c</sup> $\pm$ 0.08	47.08 <sup>bc</sup> $\pm$ 3.56
3	80	1.30 <sup>cd</sup> $\pm$ 0.09	4.99 <sup>a</sup> $\pm$ 1.11	5.16 <sup>cd</sup> $\pm$ 0.10	55.99 <sup>d</sup> $\pm$ 1.78
3	90	0.52 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	6.33 <sup>a</sup> $\pm$ 0.42	3.82 <sup>a</sup> $\pm$ 0.04	65.42 <sup>e</sup> $\pm$ 4.26
9	60	1.18 <sup>cd</sup> $\pm$ 0.15	25.27 <sup>b</sup> $\pm$ 1.56	4.14 <sup>b</sup> $\pm$ 0.09	51.40 <sup>ab</sup> $\pm$ 3.28
9	70	1.84 <sup>f</sup> $\pm$ 0.02	48.72 <sup>c</sup> $\pm$ 4.41	4.99 <sup>c</sup> $\pm$ 0.03	42.56 <sup>cd</sup> $\pm$ 1.52
9	80	ขึ้นรูปไม่ได้	ขึ้นรูปไม่ได้	ขึ้นรูปไม่ได้	ขึ้นรูปไม่ได้
9	90	ขึ้นรูปไม่ได้	ขึ้นรูปไม่ได้	ขึ้นรูปไม่ได้	ขึ้นรูปไม่ได้
11	60	1.00 <sup>b</sup> $\pm$ 0.14	44.82 <sup>c</sup> $\pm$ 3.37	4.10 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.10	54.48 <sup>d</sup> $\pm$ 0.47
11	70	1.16 <sup>c</sup> $\pm$ 0.07	87.06 <sup>e</sup> $\pm$ 4.96	5.17 <sup>cd</sup> $\pm$ 0.16	38.46 <sup>a</sup> $\pm$ 2.37
11	80	1.38 <sup>e</sup> $\pm$ 0.024	67.06 <sup>d</sup> $\pm$ 2.92	4.23 <sup>b</sup> $\pm$ 0.38	39.87 <sup>a</sup> $\pm$ 2.07
11	90	1.01 <sup>b</sup> $\pm$ 0.17	90.96 <sup>e</sup> $\pm$ 2.66	4.05 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.24	56.01 <sup>d</sup> $\pm$ 2.81

a, b, ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$

ตารางที่ 16 สมบัติต่างๆ ของแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้กิลีเซอรอลปริมาณต่างๆ เป็นพลาสติกไซเซออร์

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน				
ปริมาณกิลีเซอรอล (% ของปริมาณโปรตีนที่ใช้)	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	Water vapor permeability (g.m/m <sup>2</sup> .s.Pa) x 10 <sup>-10</sup>	Total solubility (%)
40	2.91 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06	12.57 <sup>c</sup> $\pm$ 0.56	1.49 <sup>c</sup> $\pm$ 0.02	50.10 <sup>b</sup> $\pm$ 3.88
50	1.85 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03	47.07 <sup>b</sup> $\pm$ 4.89	1.88 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02	50.33 <sup>b</sup> $\pm$ 2.50
60	1.62 <sup>c</sup> $\pm$ 0.09	65.44 <sup>a</sup> $\pm$ 6.66	2.03 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05	65.65 <sup>a</sup> $\pm$ 1.62

a, b, c ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$

ตารางที่ 17 สมบัติต่างๆ ของแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้ซอร์บิทอลปริมาณต่างๆ เป็นพลาสติกไซเซออร์

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน				
ปริมาณซอร์บิทอล (% ของปริมาณโปรตีนที่ใช้)	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	Water vapor permeability (g.m/m <sup>2</sup> .s.Pa) x 10 <sup>-10</sup>	Total solubility (%)
40	5.05 <sup>a</sup> $\pm$ 0.11	7.59 <sup>c</sup> $\pm$ 0.29	1.15 <sup>c</sup> $\pm$ 0.04	25.64 <sup>c</sup> $\pm$ 1.39
50	3.57 <sup>b</sup> $\pm$ 0.10	14.70 <sup>b</sup> $\pm$ 1.08	1.47 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03	36.93 <sup>b</sup> $\pm$ 2.16
60	3.25 <sup>c</sup> $\pm$ 0.09	18.45 <sup>a</sup> $\pm$ 1.22	1.59 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05	42.60 <sup>a</sup> $\pm$ 3.01

a, b, c ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$

ตารางที่ 18 สมบัติต่างๆ ของแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้โพลีเอทิลีน ไกลคอล ปริมาณต่างๆ เป็นพลาสติกไซเซอร์

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน				
ปริมาณโพลีเอทิลีน ไกลคอล (% ของปริมาณโปรตีนที่ใช้)	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	Water vapor permeability (g.m/m <sup>2</sup> .s.Pa) $\times 10^{-10}$	Total solubility (%)
40	2.23 <sup>a</sup> $\pm$ 0.09	28.01 <sup>c</sup> $\pm$ 2.51	1.45 <sup>c</sup> $\pm$ 0.02	41.63 <sup>b</sup> $\pm$ 2.73
50	2.04 <sup>b</sup> $\pm$ 0.07	52.80 <sup>b</sup> $\pm$ 5.09	1.54 <sup>b</sup> $\pm$ 0.04	45.11 <sup>b</sup> $\pm$ 2.23
60	1.54 <sup>c</sup> $\pm$ 0.06	65.76 <sup>a</sup> $\pm$ 2.60	1.61 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	59.14 <sup>a</sup> $\pm$ 1.41

a, b, c ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$



ตารางที่ 19 สมบัติต่างๆ ของแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้กลีเซอรอล 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ กัน

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน				
ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	Water vapor permeability (g.m/m <sup>2</sup> .s.Pa) $\times 10^{-10}$	Total solubility (%)
0	1.76 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06	63.14 <sup>c</sup> $\pm$ 2.98	1.52 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	61.45 <sup>d</sup> $\pm$ 1.70
2	1.78 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05	37.99 <sup>b</sup> $\pm$ 1.60	1.60 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.03	52.11 <sup>c</sup> $\pm$ 2.06
4	1.77 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06	38.66 <sup>b</sup> $\pm$ 3.31	1.65 <sup>bc</sup> $\pm$ 0.06	51.34 <sup>bc</sup> $\pm$ 2.06
6	1.87 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.12	31.88 <sup>a</sup> $\pm$ 2.49	1.74 <sup>c</sup> $\pm$ 0.06	48.38 <sup>ab</sup> $\pm$ 1.52
8	1.95 <sup>b</sup> $\pm$ 0.07	31.67 <sup>a</sup> $\pm$ 3.20	1.93 <sup>d</sup> $\pm$ 0.13	46.38 <sup>a</sup> $\pm$ 1.94

a, b,....ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$

ตารางที่ 20 สมบัติต่างๆ ของแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้ซอร์บิทอล 40% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ กัน

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน				
ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)	Tensile strength <sup>ns</sup> (MPa)	Elongation at break (%)	Water vapor permeability (g.m/m <sup>2</sup> .s.Pa) $\times 10^{-10}$	Total solubility (%)
0	4.90 $\pm$ 0.60	7.59 <sup>d</sup> $\pm$ 0.27	1.17 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	58.11 $\pm$ 2.32
2	5.10 $\pm$ 0.16	6.90 <sup>c</sup> $\pm$ 0.37	1.34 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02	56.29 $\pm$ 2.06
4	5.18 $\pm$ 0.12	6.15 <sup>b</sup> $\pm$ 0.28	1.35 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03	51.95 $\pm$ 2.78
6	5.05 $\pm$ 0.12	5.73 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.24	1.38 <sup>bc</sup> $\pm$ 0.03	48.20 $\pm$ 2.50
8	4.81 $\pm$ 0.03	5.56 <sup>a</sup> $\pm$ 0.25	1.41 <sup>c</sup> $\pm$ 0.04	45.62 $\pm$ 0.84

a, b....ตัวเลขที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแต่ละแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$

ns คือไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$

## ภาคผนวก ข.

### การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

#### 1. ปริมาณความชื้น (Moisture content) ตามวิธีมาตรฐาน A.O.A.C. (1995)

##### 1.1 อุปกรณ์

- 1.1.1 ถ้วยอะลูมิเนียม
- 1.1.2 เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง
- 1.1.3 เตาอบ
- 1.1.4 Desiccator

##### 1.2 วิธีการทดลอง

ชั่งตัวอย่าง  $5 \pm 0.1$  กรัม ใส่ในถ้วยอะลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำมาอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาทำให้เย็นใน desiccator จากนั้นชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของถ้วย นำไปอบซ้ำที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักของถ้วยคงที่

##### 1.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ})}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}} \times 100$$

#### 2. ปริมาณโปรตีน ตามวิธีมาตรฐาน A.O.A.C (1995)

##### 2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

- 2.1.1 ชุดอุปกรณ์การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl method
- 2.1.2 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 2.1.3 โพแทสเซียมซัลเฟต ( $K_2SO_4$ )
- 2.1.4 คอปเปอร์ซัลเฟต ( $CuSO_4$ )
- 2.1.5 กรดซัลฟูริกเข้มข้น
- 2.1.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- 2.1.7 กรดบอริก
- 2.1.8 เมทิล เรด (Methyl red)



### 2.1.9 เมททิลีน บลู (Methylene blue)

#### 2.3 วิธีการทดลอง

- ชั่งตัวอย่างมา 0.5 – 1.6 กรัม ใส่ลงใน Kjeldahl flask
  - เติมนิโตรเจนเชื่อมซัลเฟต 15 กรัม และ คอปเปอร์ซัลเฟต 0.6 กรัม
  - เติมนิโตรเจนซัลเฟตเข้มข้น 25 มิลลิลิตร
  - นำไปย่อยบนชุดอุปกรณ์ย่อยโปรตีนจนได้ของเหลวใส ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
  - เติมน้ำกลั่นลงไปจนได้ปริมาณเป็น 250 มิลลิลิตร
  - แบ่งตัวอย่างมา 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่
  - เตรียมกรดบอริก 4 เปอร์เซ็นต์ 20 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นตัวจับแอมโมเนียที่จะกลั่นได้
- จากตัวอย่าง หยดเมททิล เรด – เมททิลีน บลู 2 ถึง 3 หยด เพื่อใช้เป็นอินดิเคเตอร์
- นำตัวอย่างที่แบ่งไว้ 50 มิลลิลิตรมาเติมนิโตรเจนละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 เปอร์เซ็นต์ 20 มิลลิลิตร แล้วนำมากลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation)
  - นำสารละลายที่กลั่นได้ในกรดบอริกมาไตเตรตด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพูม่วง

#### 2.4 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} = \frac{(A \times 5) \times N \times 14 \times R \times 100}{S}$$

โดย A คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้กับสารตัวอย่าง หน่วยเป็นมิลลิลิตร

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้กับ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  หน่วยเป็นนอร์มอล (N)

R คือ % Recovery เมื่อใช้  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  เป็นสารตัวอย่าง

S คือ น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ มีหน่วยเป็นกรัม

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%)} = \% \text{ไนโตรเจน} \times f$$

โดย f คือ factor กรณีเนื้อปลา  $f = 6.25$

### 3. ปริมาณไขมัน ตามวิธีมาตรฐาน A.O.A.C (1995)

#### 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

##### 3.1.1 Soxhlet apparatus

- 3.1.2 Thimble
- 3.1.3 กระดาษกรอง
- 3.1.4 ปีโตรเลียม อีเทอร์
- 3.1.5 Desiccator
- 3.1.6 ขวดกั้นกลม
- 3.1.7 เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง

### 3.2 วิธีการทดลอง

- ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แห้ง 2 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง แล้วนำไปใส่ใน Thimble ใน extraction tube ของ Soxhlet apparatus
- ใส่ปีโตรเลียม อีเทอร์ ประมาณ 200 มิลลิลิตร ลงในขวดกั้นกลม (ของ Soxhlet apparatus) ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน
- นำไปกลั่นแบบไหลย้อนกลับ (reflux) บน heating mantle ใช้อุณหภูมิปานกลาง โดยให้อัตราการกลั่นตัวของ ปีโตรเลียม อีเทอร์ ประมาณ 2 – 3 หยดต่อวินาที ใช้เวลาในการกลั่น ประมาณ 4 - 5 ชั่วโมง
- ระเหยปีโตรเลียมอีเทอร์ ออกจากขวดกั้นกลมที่สกัดไขมัน จากนั้นนำไปอบที่ อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- ทำให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนักขวดกั้นกลม

### 3.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{[\text{น้ำหนักขวดกั้นกลม + ไขมัน}] - \text{น้ำหนักขวดกั้นกลม}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}} \times 100$$

## 4. ปริมาณเก่า ตามวิธีมาตรฐาน A.O.A.C (1995)

### 4.1 อุปกรณ์

- 4.1.1 crucible (Crucible)
- 4.1.2 เตาเผา
- 4.1.3 เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง
- 4.1.4 Desiccator
- 4.1.5 เตาอบ

### 4.2 วิธีการทดลอง

- นำครุชชีเบลไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของครุชชีเบล
- ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 3 – 5 กรัม ใส่ในครุชชีเบล
- นำไปอบแห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส
- นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ หรือ ตัวอย่างที่ใช้เป็นสีขาว
- นำมาทำให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก

#### 4.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{[(\text{น้ำหนักครุชชีเบล} + \text{เถ้า}) - \text{น้ำหนักครุชชีเบล}]}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}} \times 100$$

#### 5. ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

คำนวณโดยนำค่าที่ได้จากการคำนวณหาองค์ประกอบในข้อ 1 ถึง 4 มาบวกกันแล้วหักออกจาก 100 จะได้เป็นปริมาณคาร์โบไฮเดรต

#### 6. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Biuret assay (Copeland, 1994)

##### 6.1 การเตรียม Biuret reagent

- ผสม  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  1.5 กรัม และ sodium potassium tartrate 6.00 กรัม และเติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เข้าด้วยกันในบีกเกอร์ คนให้เข้ากัน
- เติม 10% NaOH (w/v) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน
- ถ่ายของผสมทั้งหมดลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรทั้งหมดเป็น 1 ลิตร
- เก็บ Biuret reagent ที่ได้ในขวดพลาสติก reagent ที่ได้จะมีสีฟ้าเข้ม และสามารถเก็บได้นานประมาณ 1 ปี ที่อุณหภูมิห้อง

##### 6.2 การเตรียมโปรตีนมาตรฐาน bovine serum albumin (BSA)

- ชั่งน้ำหนัก BSA แห้ง 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 100 มิลลิลิตร (ละลายใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร)
- แบ่งสารละลายที่ได้ใส่ขวดเล็กๆ ขวดละ 1 มิลลิลิตร (ใช้ขวดทนความเย็น)
- ทำให้แข็งอย่างรวดเร็วใน dry ice หรือ ethanol bath

- เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บได้นานกว่า 1 ปี

### 6.3 วิธีทดลอง (Biuret assay for soluble proteins)

- นำหลอดทดลองขนาดเล็กมา 8 หลอด แต่ละหลอดให้ผสม reagents ต่างๆ ตามตารางที่ 21

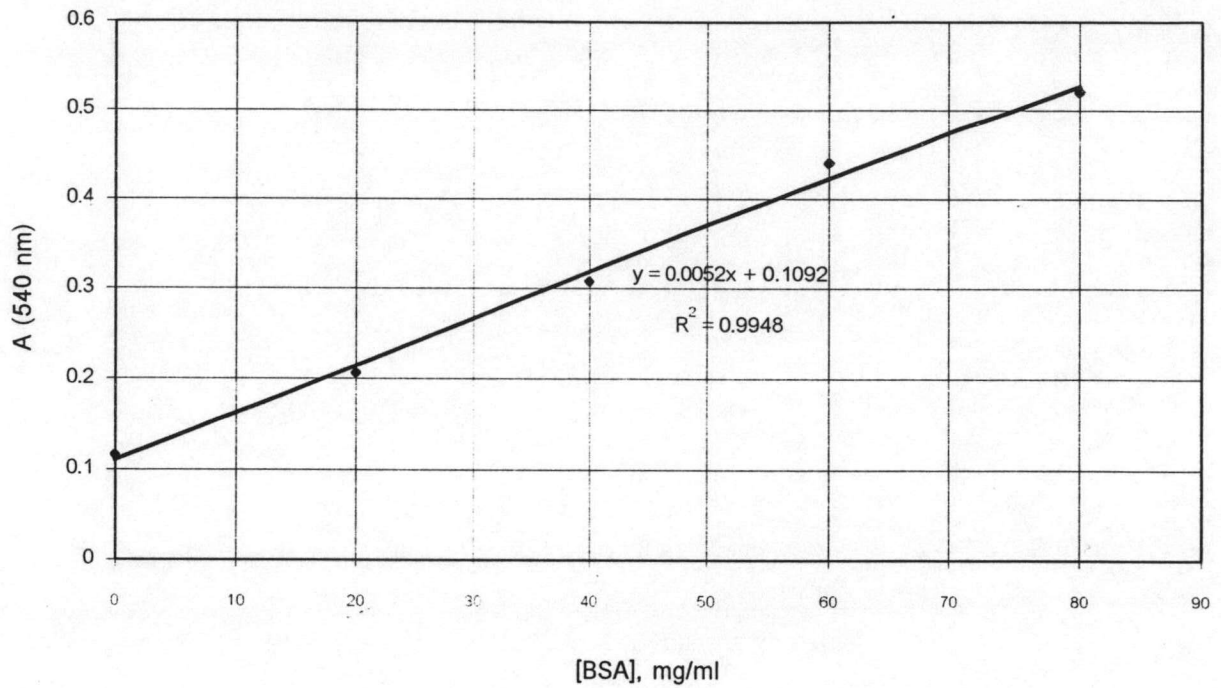
- หลอดที่ 6 – 8 ใส่โปรตีนตัวอย่างที่ต้องการศึกษา (unknown) แล้วผสมให้เข้ากันดี
- เติม Biuret reagent ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในทุกๆ หลอด ผสมให้เข้ากัน
- ตั้งหลอดทดลองทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
- นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ทุกหลอด
- นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากหลอดที่ 1 – 5 มาเขียนกราฟ จะได้เป็นกราฟมาตรฐาน แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากหลอดที่ 6 – 8 มาเทียบกับกราฟมาตรฐานจะได้ปริมาณโปรตีนในสารละลายตัวอย่าง และสามารถคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์โปรตีนในสารละลายตัวอย่างได้

ตารางที่ 21 Experimental set up for the Biuret assay

หลอดที่	ปริมาณน้ำ (ไมโครลิตร, $\mu\text{l}$ )	ปริมาณ BSA (ไมโครลิตร, $\mu\text{l}$ )	ความเข้มข้นของ BSA (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	500	0	0
2	400	100	20
3	300	200	40
4	200	300	50
5	100	400	80
6	450	0	unknown
7	450	0	unknown
8	450	0	unknown

ที่มา : Copeland, 1994





รูปที่ 51 Standard curve of Biuret assay

#### การคำนวณ (Biuret assay)

จาก Standard curve จะได้สมการเส้นตรง คือ

$$y = 0.0052x + 0.1092$$

ค่า A(540nm) ของโปรตีนตัวอย่างที่วัดได้มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.2257

แทนค่า y ด้วย 0.2257

จะได้ค่า x เท่ากับ 29.286

แสดงว่ามีโปรตีน 29.286 กรัม ในสารละลาย 1000 มิลลิลิตร

นั่นคือ ในสารละลาย 100 มิลลิลิตร มีโปรตีน 2.929 กรัม

มีโปรตีน 3.0 กรัม คิดเป็น 100%

ดังนั้นมีโปรตีน 2.929 กรัม คิดเป็น 97.63 %

เพราะฉะนั้น ถ้าต้องการใช้สารละลายโปรตีน 3% ในการผลิตฟิล์มบริเวณได้จากโปรตีนละลายน้ำ จากปลาทรายแดง จะต้องใช้โปรตีน 3.07 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร

## ภาคผนวก ค.

### วิธีการทดสอบสมบัติต่างๆ ของฟิล์ม

#### 1. การตรวจสอบค่าความต้านทานแรงดึงขาดและร้อยละการยืดตัวของฟิล์มตามวิธีมาตรฐาน ASTM D 882 (1999)

##### 1.1 อุปกรณ์

- เครื่อง Texture analyzer รุ่น TA-XT2i โดยใช้หัวทดสอบแบบ tensile grip ซึ่งประกอบด้วยหัวทดสอบที่มีลักษณะเป็นหัวหนีบ 2 หัว ติดตั้งในตำแหน่งตรงข้ามกันในแนวตั้ง ระยะห่างของหัวตั้งไว้ที่ 3 เซนติเมตร เครื่อง Texture analyzer นี้จะต่อเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ และเครื่องพิมพ์ เครื่องจะรายงานผลเป็นกราฟแสดงค่าของแรงที่ใช้ในการดึงฟิล์มให้ยืดออกจนกระทั่งขาด ที่ระยะทางการดึง (มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร) ต่างๆ และจะแสดงจุดที่ใช้แรงในการดึงฟิล์มสูงสุดในกราฟ และค่าระยะทางที่สามารถดึงแผ่นฟิล์มให้ยืดออกได้สูงสุดจนกระทั่งฟิล์มขาด ซึ่งจะนำมาคำนวณเป็นค่าความต้านทานแรงดึงขาด และค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์มได้ตามลำดับ

- เครื่องวัดความหนาของแผ่นฟิล์ม

##### 1.2 ชิ้นตัวอย่าง

ตัดแผ่นฟิล์มตัวอย่างที่ต้องการทดสอบให้มีขอบเรียบ เป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้ากว้าง 20 มิลลิเมตร และยาว 45 มิลลิเมตร จำนวน 6 ชิ้น

##### 1.3 วิธีการทดสอบ

ยึดปลายด้านหนึ่งของชิ้นตัวอย่างกับหัวทดสอบให้แน่นแล้วจึงยึดปลายอีกข้างหนึ่ง (ควรใส่ถุงมือจับชิ้นตัวอย่างเพื่อป้องกันการเกิดตำหนิที่แผ่นฟิล์ม) เริ่มทดสอบโดยปรับเครื่องทดสอบให้มีอัตราเร็วให้การดึง 0.5 มิลลิเมตร/วินาที ระยะห่างระหว่างหัววัดทั้งสองเป็น 30 มิลลิเมตร เครื่องทดสอบจะอ่านค่าแรงที่ใช้ในการดึงชิ้นตัวอย่างออกมาในหน่วยนิวตัน (N) และระยะทางที่สามารถดึงฟิล์มให้ยืดออกไปได้ในหน่วยมิลลิเมตร จากนั้นนำมาคำนวณและรายงานค่าการต้านทานแรงดึงขาดในหน่วยนิวตันต่อตารางเมตรหรือเมกะปาสคาล (MPa) และค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์ม ตามลำดับ

## 1.4 การคำนวณ

### 1.4.1 ค่าการต้านทานแรงดึงขาด

$$\text{การต้านทานแรงดึงขาด (MPa)} = \frac{\text{ค่าแรงที่อ่านได้ (N)}}{\text{ความกว้าง (m)} \times \text{ความหนา (m)}}$$

$$\text{ค่าร้อยละการยืดตัว} = \frac{\text{ระยะยืดตัวของชิ้นทดสอบ} \times 100}{\text{ความยาวเดิมของชิ้นตัวอย่างระหว่างหัวทดสอบ}}$$

## 2. การทดสอบความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม ตามวิธีมาตรฐาน ASTM E 96 – 95 (1999)

### 2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

2.1.1 ขวดแก้วสำหรับทดสอบ เป็นขวดแก้วทรงกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.6 เซนติเมตร พร้อมวงแหวนพลาสติกสำหรับรัดปากขวด (ทำมาโดยเฉพาะ)

2.1.2 เครื่องวัดความหนาของแผ่นฟิล์ม

2.1.3 เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง

2.1.4 ซิลิโคน กรีส

2.1.5 ซิลิกาปิดที่อบแห้งแล้ว

2.1.6 Desiccator

2.1.7 น้ำกลั่น

### 2.2 ชิ้นตัวอย่าง

ตัวอย่างแผ่นฟิล์มที่มีขนาด 5 x 5 เซนติเมตร ตัวอย่างละ 3 ชิ้น โดยชิ้นตัวอย่างต้องปราศจากรอยขีดข่วน รอบพับ และรูรั่วที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

### 2.3 วิธีทดสอบ

นำขวดแก้วทรงกระบอกมาใส่ซิลิกาปิดที่อบแห้งแล้วประมาณ 2 ใน 3 ของขวด (จะได้น้ำหนักของซิลิกาปิดประมาณ  $26 \pm 1.00$  กรัม) ทาสิลิโคน กรีส บริเวณปากขวดให้ทั่ว ปิดปากขวดด้วยชิ้นตัวอย่าง แล้วรัดด้วยวงแหวนพลาสติก นำขวดทดสอบที่มีตัวอย่างไปชั่งน้ำหนักเริ่มต้น แล้ววางขวดทดสอบลงใน Desiccator ที่บรรจุน้ำกลั่นไว้ภายใน เก็บไว้ที่อุณหภูมิเฉลี่ย  $30 \pm 3$

องศาเซลเซียส จากนั้นซึ่งน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไปของขวดทดสอบทุก 1 ชั่วโมง จนน้ำหนักขวดทดสอบคงที่ และนำค่าที่ได้มาคำนวณค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ

#### 2.4 การคำนวณ

$$\text{ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ} = \frac{w \times x}{[A \times t \times (p_2 - p_1)]}$$

- โดย w คือ weight gain (g)  
 x คือ ความหนาของแผ่นฟิล์ม (m)  
 A คือ พื้นที่หน้าตัดของแผ่นฟิล์มที่ศึกษา (m<sup>2</sup>)  
 t คือ เวลาที่ความแตกต่างของน้ำหนักขวดคงที่ (s)  
 p<sub>2</sub> - p<sub>1</sub> คือ ความแตกต่างของความดันไอน้ำที่ทั้งสองด้านของแผ่นฟิล์ม (Pa)

การคำนวณค่าความแตกต่างของความดันไอน้ำที่ทั้งสองด้านของแผ่นฟิล์ม (กัญญาบุญเกียรติ, 2536)

Basic 1 lb dry air

อุณหภูมิขณะทำการทดลองประมาณ 30 องศาเซลเซียส

จากตารางไอน้ำพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาวะอิ่มตัวด้วยไอน้ำมีปริมาณไอน้ำเท่ากับ 0.027 lb water/lb dry air

$$\begin{aligned} \text{เมื่อ wet air} &= \text{water} + \text{dry air} \\ &= 0.027 \text{ lb} + 1 \text{ lb} \\ &= \frac{0.027 \text{ mol}}{18} + \frac{1 \text{ mol}}{29} \\ &= 1.50 \times 10^{-3} \text{ mol} + 0.034 \text{ mol} \\ &= 0.035 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} P_{\text{water}} &= \frac{1.50 \times 10^{-3}}{0.035} \times 100 \\ &= 4.225 \% \text{ หรือ } 0.0422 \text{ atm} \end{aligned}$$

$$1 \text{ atm} = 1.01325 \times 10^5 \text{ Pa}$$

$$0.0422 \text{ atm} = 4275.91 \text{ Pa}$$

ดังนั้นค่าความแตกต่างของความดันไอน้ำที่ทั้งสองด้านของแผ่นฟิล์มเท่ากับ 4275.91 Pa



### 3. การทดสอบค่าการละลายทั้งหมดของแผ่นฟิล์มตามวิธีของ Jangchud และ Chinnan (1999)

#### 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

- 3.1.1 หลอดทดลองแบบฝาเกลียวขนาด 50 มิลลิลิตร
- 3.1.2 เครื่องเขย่า
- 3.1.3 กระจกตวง 100 มิลลิลิตร
- 3.1.4 ตู้อบ
- 3.1.5 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4
- 3.1.6 ขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร
- 3.1.7 น้ำกลั่น

#### 3.2 ชิ้นตัวอย่าง

ตัดแผ่นฟิล์มตัวอย่างที่ต้องการทดสอบให้มีขนาดกว้าง 2 เซนติเมตร และยาว 2 เซนติเมตร จำนวน 3 ชิ้น

#### 3.3 วิธีทดสอบ

นำแผ่นฟิล์มตัวอย่างไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำแผ่นฟิล์มมาชั่งน้ำหนัก จะได้เป็นน้ำหนักเริ่มต้นของแผ่นฟิล์มทดสอบ ใส่แผ่นฟิล์มที่อบแล้วลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเขย่าตลอดเวลา จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 ที่อบแห้งแล้ว และล้างซ้ำด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำกลับไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนักหลังอบ จะได้ น้ำหนักสุดท้ายของแผ่นฟิล์ม

#### 3.4 การคำนวณ

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

#### 4. การวัดค่าสี

##### 4.1 อุปกรณ์

- เครื่องวัดสี Minolta Croma Meter model CR-300 ซึ่งต่อเข้ากับหัววัดซึ่งตั้งค่าให้ใช้แหล่งแสงแบบ C หรือแสงธรรมชาติในการวัด

- แผ่นกระดาษแข็งสีขาว

##### 4.2 ชิ้นตัวอย่าง

แผ่นฟิล์มตัวอย่างขนาดกว้าง 5 เซนติเมตร ยาว 5 เซนติเมตร ซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและความชื้นสัมพัทธ์  $50 \pm 5\%$  เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

##### 4.3 วิธีการทดสอบ

วางแผ่นฟิล์มตัวอย่างลงบนแผ่นกระดาษสีขาว ซึ่งใช้แผ่นเดียวกันตลอดงานวิจัย แล้วใช้เครื่องวัดสี Minolta วัดค่าสีในระบบ L a b

#### 5. ค่าความสามารถในการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนตามวิธีมาตรฐาน ASTM D1434 – 82, 1999

##### 5.1 อุปกรณ์

- เครื่อง OX – TRAN 1000
- เครื่องวัดความหนาของแผ่นฟิล์ม

##### 5.2 ชิ้นตัวอย่าง

แผ่นฟิล์มตัวอย่างขนาดกว้าง 5 เซนติเมตร ยาว 5 เซนติเมตร ซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและความชื้นสัมพัทธ์  $50 \pm 5\%$  เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

##### 5.3 วิธีการทดสอบ

วัดอัตราการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนผ่านแผ่นฟิล์มโดยให้เครื่อง OX – TRAN 1000 ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 0 % จะได้ค่าอัตราการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนในหน่วย ลูกบาศก์เซนติเมตร/ตารางเมตร/วัน/ความดันบรรยากาศ จากนั้นนำมาคำนวณค่าการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนต่อไป

#### 5.4 การคำนวณ

$$\text{การซึมผ่านของแก๊สออกซิเจน} = \frac{\text{อัตราการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจน} \times 5.16 \times 10^{-10} \times \text{ความหนา}}{1.013 \times 10^5}$$

จากการคำนวณจะได้ค่าการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนมีหน่วยเป็น  $\text{mol.m/m}^2.\text{s.Pa}$

### 6. การวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวและภาพตัดขวางของฟิล์มโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

#### 6.1 อุปกรณ์

- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดซึ่งต่ออยู่กับจอภาพและเครื่องพิมพ์
- เครื่องฉาบทอง
- แท่งทองเหลืองสำหรับวางตัวอย่างเพื่อส่องดูพื้นผิว
- แท่งทองเหลืองสำหรับวางตัวอย่างเพื่อส่องดูภาพตัดขวาง
- ที่คีบชนิดปลายแหลม
- กรรไกรขนาดเล็ก
- เทปกาวสองหน้าแบบบาง

#### 6.2 ขึ้นตัวอย่าง

แผ่นฟิล์มตัวอย่างขนาดกว้าง 5 เซนติเมตร ยาว 5 เซนติเมตร ซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและความชื้นสัมพัทธ์  $50 \pm 5\%$  เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

#### 6.3 วิธีการทดสอบ

ติดเทปกาวสองหน้าแบบบางลงบนแท่งทองเหลืองสำหรับวางตัวอย่างในจุดที่กำหนด หากเป็นแท่งสำหรับวางตัวอย่างเพื่อส่องดูพื้นผิวจะมีลักษณะผิวหน้าเรียบ ส่วนแท่งสำหรับวางตัวอย่างเพื่อส่องดูภาพตัดขวางจะมีร่องตั้งฉากกับพื้นผิวสำหรับติดตัวอย่างในลักษณะตั้งฉาก ใช้กรรไกรตัดแผ่นฟิล์มตัวอย่างให้มีขนาดใหญ่กว่าพื้นที่ที่จะติดตัวอย่างเล็กน้อย หากเป็นตัวอย่างที่จะดูภาพตัดขวางให้ใช้วิธีฉีกแผ่นฟิล์มแทนการตัดด้วยกรรไกร (ควรสวมถุงมือขณะทำ) แล้วใช้ที่คีบชนิดปลายแหลมคีบตัวอย่างมาติดบนเทปกาว จากนั้นตัดแต่งขอบให้เรียบ นำไปฉาบทองด้วยเครื่องฉาบทอง แล้วจึงนำตัวอย่างมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดซึ่งต่ออยู่กับจอภาพและเครื่องพิมพ์

7. การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE Electrophoresis ตามรายงานของ Laemmli (1970) ซึ่งปรับปรุงโดย Iwata และคณะ (2000)

7.1 อุปกรณ์

- ชุด Minigel electrophoresis ยี่ห้อ Heofer รุ่น mini VE เป็นเครื่องที่ใช้หล่อแผ่นเจลขนาดกว้าง 8 เซนติเมตร ยาว 9 เซนติเมตร สามารถหล่อเจลพร้อมกันได้ 2 แผ่น มีช่องสำหรับหยอดตัวอย่างได้ทั้งหมด 10 ช่องต่อเจล 1 แผ่น ต่ออยู่กับเครื่องกำเนิดกระแสไฟฟ้า

7.2 การเตรียมสารเคมี

7.2.1 Stock solutions

ตารางที่ 22 การเตรียมสารเคมีสำหรับทำ SDS-PAGE Electrophoresis

สารเคมี	ความเข้มข้นสุดท้าย(%)	ปริมาณที่ใช้
1. Acrylamide solution (30% acrylamide, 0.8% bisacrylamide, 200 ml)		
- Acrylamide (FW 71.08)	30	60 g
- Bisacrylamide (FW 154.17)	0.8	1.6 g
- Deionized water (เก็บสารละลายในตู้เย็น)	-	to 200 ml



ตารางที่ 22 การเตรียมสารเคมีสำหรับทำ SDS-PAGE Electrophoresis (ต่อ)

สารเคมี	ความเข้มข้นสุดท้าย(%)	ปริมาณที่ใช้
2. 4x Resolving gel buffer (1.5 M Tris-Cl, pH 8.8, 200 ml)		
- Tris (FW 121.1)	1.5 M	36.3 g
- Deionized water	-	150 ml
- HCl	to pH 8.8 ± 0.05	-
- Deionized water	-	to 200 ml
(เก็บสารละลายในตู้เย็น)		
3. 4x Stacking gel buffer (0.5 M Tris-Cl, pH 6.8, 50 ml)		
- Tris (FW 121.1)	0.5 M	3.0 g
- Deionized water	-	40 ml
- HCl	to pH 6.8 ± 0.05	-
- Deionized water	-	to 50 ml
(เก็บสารละลายในตู้เย็น)		
4. 10% SDS		
- SDS (FW 288.38)	10%	10 g
- Deionized water	-	to 100 ml
(เก็บสารละลายที่อุณหภูมิห้อง)		
5. 10% Ammonium persulphate (initiator)		
- Ammonium persulphate (FW 228.2)	10%	0.1 g
- Deionized water	-	to 1 ml
(เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้)		

ตารางที่ 22 การเตรียมสารเคมีสำหรับทำ SDS-PAGE Electrophoresis (ต่อ)

สารเคมี	ความเข้มข้นสุดท้าย(%)	ปริมาณที่ใช้
<b>6. Resolving gel overlay</b>		
(0.375 M Tris-Cl, 0.1% SDS, pH 8.8, 100 ml)		
- 4x Resolving gel buffer	0.375 M	25 ml
- 10% SDS	0.1%	1.0 ml
- Deionized water	-	to 100 ml
(เก็บสารละลายในตู้เย็น)		
<b>7. 2x Treatment buffer</b>		
(0.125 M Tris-Cl, 4% SDS, 20% v/v glycerol, 0.2 M DTT, 0.02% bromophenol blue, pH 6.8, 10 ml)		
- 4x Stacking gel buffer	0.125 M	2.5 ml
- 10% SDS	4%	4.0 ml
- Glycerol	20%	2.0 ml
- Bromophenol blue	0.02%	2.0 mg
- Dithiothreitol (DTT; FW 154.2)	0.2 M	0.31 g
- Deionized water	-	to 10.0 ml
(แบ่งใส่หลอดเล็กๆ หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร เก็บที่ -20 องศาเซลเซียส จะเก็บได้นาน 6 เดือน)		
<b>8. Tank buffer</b>		
(0.025 M Tris, 0.192 M glycine, 0.1% SDS, pH 8.3, 10 l)		
- Tris (FW 121.1)	0.025 M	30.28 g
- Glycine (FW 75.07)	0.192 M	144.13 g
- SDS	0.1%	10 g
- Deionized water	-	to 10 l
(เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 1 เดือน)		

## 7.3 วิธีทดลอง

## 7.3.1 การเตรียม Resolving gel solution

ตารางที่ 23 การเตรียม Resolving gel solution เมื่อต้องการแผ่นเจลหนา 1 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น

สารเคมี	ความเข้มข้นสุดท้ายของเจล				
	5%	7.5%	10%	12.5%	15%
Acrylamide solution	3.3 ml	5 ml	6.7 ml	8.3 ml	10 ml
4x Resolving gel buffer	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
10% SDS	0.3 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Deionized water	11.4 ml	9.7 ml	8 ml	5.4 ml	4.7 ml
Ammonium persulphate*	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l
TEMED*	6.7 $\mu$ l	6.7 $\mu$ l	6.7 $\mu$ l	6.7 $\mu$ l	6.7 $\mu$ l

\* เต็มแล้วควรหล่อเจลทันที

ตารางที่ 24 ความเข้มข้นของเจลที่เหมาะสมกับการแยกโปรตีนชนิดต่างๆ

Seperation size range (kD)	%Acrylamide in resolving gel
36 – 205	5%
24 – 205	7.5%
14 – 205	10%
14 – 66	12.5%
14 – 45	15%

## 7.3.2 การเตรียม Stacking gel solution

ตารางที่ 25 การเตรียม Stacking gel solution สำหรับเจลหนา 1 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น

สารเคมี	ปริมาณ
Acrylamide solution	0.88 ml
4x Stacking gel buffer	1.66 ml
10% SDS	66 $\mu$ l
Deionized water	4.06 ml
Ammonium persulphate*	33.4 $\mu$ l
TEMED*	3.3 $\mu$ l

\* เติมแล้วควรหล่อเจลทันที

## 7.3.3 การเตรียมสารละลายสำหรับย้อมเจล

## 7.3.3.1 Fixing solution

ตารางที่ 26 การเตรียม Fixing solution ปริมาณ 1 ลิตร

สารเคมี	ปริมาณ
Methanol	500 ml
Acetic acid 100%	100 ml
Deionized water	400 ml

## 7.3.3.2 Staining solution

ตารางที่ 27 การเตรียม Staining solution ปริมาณ 1 ลิตร

สารเคมี	ปริมาณ
Coomassie brilliant blue stain	2.50 g
Fixing solution	to 1 liter



## 7.3.3.3 การเตรียม Destain solution

ตารางที่ 28 การเตรียม Destain solution ปริมาณ 1 ลิตร

สารเคมี	ปริมาณ
Methanol	70 ml
Acetic acid 100%	70 ml
Deionized water	860 ml

## 7.3.4 ขั้นตอนการทดลอง

## 7.3.3.1 การเตรียมแผ่นอะครีลาไมด์เจล

- ล้างแผ่นกระจกสำหรับหล่อเจลด้วยน้ำสะอาด ตามด้วยน้ำ deionized จากนั้นล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์

- ประกอบแผ่นกระจกทั้งสองแผ่นเข้าหากันโดยใช้แผ่นพลาสติกสีขาวที่มีความหนา 1 มิลลิเมตร คั่นไว้ที่ขอบทั้ง 2 ด้าน

- ประกอบแผ่นกระจกเข้ากับตัวเครื่องโดยให้กระจกแผ่นที่มีรอยเว้าหันเข้าด้านในของตัวเครื่อง

- ใช้เข็มฉีดยาหรือไมโครปิเปตดูด resolving gel solution แล้วค่อยๆ หยดลงในช่องระหว่างแผ่นกระจก ระวังอย่าให้เกิดฟอง ใส่ resolving gel solution จนสารละลายอยู่ต่ำกว่าขอบบนของกระจกแผ่นที่มีรอยเว้าประมาณ 1.5 – 2 เซนติเมตร

- หยอดสารละลาย บิวทานอลต่อหน้า อัตราส่วน 1 ต่อ 1 ปิดทับหน้าเจล ตั้งทิ้งไว้บนพื้นที่เรียบ รอให้เจลแข็ง ใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง

- ใช้เข็มฉีดยาหรือไมโครปิเปตดูด stacking gel solution แล้วค่อยๆ หยดลงในช่องระหว่างแผ่นกระจก ระวังอย่าให้เกิดฟอง ใส่ stacking gel solution จนสารละลายสูงถึงขอบบนของกระจกแผ่นที่มีรอยเว้า

- เสียบหัวพลาสติกลงในช่องระหว่างแผ่นกระจก เพื่อให้เกิดช่อง (well) สำหรับหยอดตัวอย่าง แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เจลชั้นบนนี้แข็ง ใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ดึงหัวพลาสติกออก จะได้แผ่นเจลที่พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่าง

### 7.3.3.2 การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้

- สารละลาย Fish water soluble protein 3% w/v
- สารละลาย Fish water soluble protein 3% w/v ที่ปรับ pH เป็น

$9 \pm 0.05$

- สารละลาย Fish water soluble protein 3% w/v ที่ปรับ pH เป็น

$9 \pm 0.05$  และให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

- แผ่นฟิล์มบริโคมได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

ตัวอย่างที่เป็นสารละลายสามารถนำมาใช้ได้เลยด้วยตัวอย่างที่เป็นแผ่นฟิล์มต้องผ่านกระบวนการก่อนดังนี้

### 7.3.3.3 การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์

นำสารละลายโปรตีนตัวอย่างมาเจือจางด้วย 2x Treatment buffer โดยเมื่อเจือจางแล้วสารละลายที่ได้ควรมีความเข้มข้นของโปรตีนในช่วง 5 – 15 ไมโครกรัม ในสารละลาย 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำสารละลายที่ได้ใส่ใน Appendrof tube นำไปต้มในน้ำกลั่นอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที หากสารละลายมีตะกอนควรนำไปเหวี่ยงแยกก่อน จึงนำสารละลายส่วนใสมาใช้ ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง จะได้ตัวอย่างที่พร้อมสำหรับการวิเคราะห์

### 7.3.3.4 การเตรียมตัวอย่างจากแผ่นฟิล์มโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

นำแผ่นฟิล์มโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงมาใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมระหว่าง 2% SDS-8M urea-20 mM และ Tris-HCl pH 8.8 (เติมหรือไม่เติม 2-Mercaptoethanol แล้วแต่กรณี) ปริมาณ 20 มิลลิลิตร กวนผสมเป็นเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์โดยเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับในข้อ 7.3.3.3

### 7.3.3.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์

ประกอบส่วนแผ่นเจลเข้ากับแท่งค์ คลายส่วนฐานของแท่นหล่อเจลออก แล้วใส่สารละลาย tank buffer ลงในช่องด้านหลังของแผ่นกระจกที่ใช้หล่อเจลจนสารละลายท่วมแผ่นเจล แล้วจึงดูดสารละลายตัวอย่างในข้อ 7.3.3.3 หยดลงในแต่ละ well ปริมาณ 5 – 10 ไมโครลิตร ต่อ well เติม tank buffer ลงในแท่งค์ให้ท่วมถึงระดับขีดล่างของตัวแท่งค์ ต่อชุดวิเคราะห์เข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้า กำหนดกระแสไฟฟ้า 125 โวลต์ กดปุ่ม start รอจนตัวอย่างวิ่ง

ลงมาตามแผ่นเจลจนสุดของล่างของแผ่นเจล ปิดเครื่องแล้วถอดเครื่องกำเนิดไฟฟ้าออก และแผ่นเจลออกจากแผ่นกระจกนำมาแช่ใน fixing solution เป็นเวลาประมาณ 30 นาที แล้วจึงนำมาแช่ใน staining solution เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง และนำมาแช่ใน destain solution อีกประมาณ 48 ชั่วโมง จะมองเห็นแถบโปรตีนที่วิเคราะห์ นำแผ่นเจลที่ได้มาวางบนแผ่นกระจกที่ปูด้วยกระดาษแก้วใส แล้วปิดทับด้วยกระดาษแก้วใสอีกแผ่นหนึ่ง พยายามรีดกระดาษแก้วให้แนบกับแผ่นเจลอย่าให้มีฟองอากาศ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 48 ชั่วโมง จะได้แผ่นเจลที่แห้ง

ภาคผนวก ง.

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ 29 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม บริเวณได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ pH และอุณหภูมิการผลิต ต่างๆ

SOV	df	MS	F
pH(A)	2	0.410	62.01*
Temperature(B)	3	0.603	91.09*
AB	4	0.112	16.92*
Error	20	$6.61 \times 10^{-3}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 30 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์ม บริเวณได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ pH และอุณหภูมิการผลิต ต่างๆ

SOV	df	MS	F
pH(A)	2	13218.00	1729.44*
Temperature(B)	3	1063.19	139.11*
AB	4	430.45	56.32*
Error	20	7.64	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )



ตารางที่ 31 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มบริโค  
ได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ pH และอุณหภูมิการผลิตต่างๆ

SOV	df	MS	F
pH(A)	2	-	-
Temperature(B)	3	-	-
AB	4	-	-
Error	20	-	-

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

- ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 32 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มบริโค  
ได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ pH และอุณหภูมิการผลิตต่างๆ

SOV	df	MS	F
pH(A)	2	630.52	89.49*
Temperature(B)	3	360.68	51.19*
AB	4	263.35	37.37*
Error	20	7.05	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 33 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า L ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีน  
ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ pH และอุณหภูมิการผลิตต่างๆ

SOV	df	MS	F
pH(A)	2	1.01	2.27
Temperature(B)	3	$7.97 \times 10^{-2}$	0.18
AB	4	0.42	0.94
Error	20	0.94	

ตารางที่ 34 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า a ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีน  
ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ pH และอุณหภูมิการผลิตต่างๆ

SOV	df	MS	F
pH(A)	2	$9.67 \times 10^{-2}$	2.64
Temperature(B)	3	$7.80 \times 10^{-3}$	0.21
AB	4	$1.53 \times 10^{-2}$	0.42
Error	20	$3.67 \times 10^{-2}$	

ตารางที่ 35 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า b ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีน  
ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ pH และอุณหภูมิการผลิตต่างๆ

SOV	df	MS	F
pH(A)	2	1.14	2.29
Temperature(B)	3	0.79	1.59
AB	4	0.24	0.49
Error	20	0.50	

ตารางที่ 36 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม  
บริโคมได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้กาลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซ-  
เซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	1.88	457.94*
Error	9	$4.11 \times 10^{-3}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 37 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์ม  
บริโคมได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้กาลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซ-  
เซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	2881.79	126.15*
Error	9	22.84	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 38 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มบริโคม  
ได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้กาลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	$3.11 \times 10^{-21}$	246.82*
Error	9	$1.26 \times 10^{-23}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 39 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มบริเวณ  
ได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	317.48	39.83*
Error	9	7.97	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 40 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า L ของฟิล์มบริเวณได้จากโปรตีน  
ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	$3.10 \times 10^{-2}$	0.08
Error	9	0.40	

ตารางที่ 41 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า a ของฟิล์มบริเวณได้จากโปรตีน  
ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	$1.82 \times 10^{-2}$	1.70
Error	9	$1.07 \times 10^{-2}$	



ตารางที่ 42 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า b ของฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	0.23	0.77
Error	9	0.30	

ตารางที่ 43 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	3.70	359.71*
Error	9	$1.03 \times 10^{-2}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 44 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	121.74	133.03*
Error	9	0.91	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 45 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มบริเวณ  
ได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	$2.11 \times 10^{-21}$	133*
Error	9	$1.58 \times 10^{-23}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 46 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มบริเวณ  
ได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	298.19	56.92*
Error	9	5.24	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 47 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า L ของฟิล์มบริเวณได้จากโปรตีน  
ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	$1.21 \times 10^{-2}$	0.91
Error	9	0.13	

ตารางที่ 48 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า a ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีน  
ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซออร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	$1.23 \times 10^{-3}$	0.14
Error	9	$8.97 \times 10^{-3}$	

ตารางที่ 49 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า b ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีน  
ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซออร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	0.34	0.85
Error	9	0.40	

ตารางที่ 50 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการต้านทานแรงดึงของฟิล์มบริโค  
ได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ใช้โพลีเอทิลีน ไกลคอลเป็นพลาสติก-  
ไซเซออร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	0.51	94.50*
Error	9	$5.34 \times 10^{-3}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 51 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มบริเวณใต้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้โพลีเอททิลีน ไกลคอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	1471.38	113.19*
Error	9	13.00	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 52 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มบริเวณใต้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ใช้โพลีเอททิลีน ไกลคอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	$2.69 \times 10^{-22}$	33.29*
Error	9	$8.08 \times 10^{-24}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

- ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 53 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มบริเวณใต้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้โพลีเอททิลีน ไกลคอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	343.55	71.67*
Error	9	4.79	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )



ตารางที่ 54 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า L ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีน  
ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้โพลีเอททิลีน ไกลคอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	0.93	1.99
Error	9	0.47	

ตารางที่ 55 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า a ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีน  
ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้โพลีเอททิลีน ไกลคอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	$1.27 \times 10^{-2}$	1.26
Error	9	$1.01 \times 10^{-2}$	

ตารางที่ 56 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า b ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีน  
ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้โพลีเอททิลีน ไกลคอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

SOV	df	MS	F
Treatment	2	0.25	0.37
Error	9	0.66	

ตารางที่ 57 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการต้านทานแรงดึงของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอล 40% เป็นพลาสติกไซเซออร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	0.89	77.18*
Error	15	$1.15 \times 10^{-2}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 58 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอล 40% เป็นพลาสติกไซเซออร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	2.89	35.15*
Error	15	$8.22 \times 10^{-2}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 59 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอล 40% เป็นพลาสติกไซเซออร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	$3.42 \times 10^{-22}$	36*
Error	15	$9.50 \times 10^{-24}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 60 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ใช้ซอร์บิทอล 40% เป็นพลาสติกไซเซออร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	110.81	22.80*
Error	15	4.86	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 61 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า L ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอล 40% เป็นพลาสติกไซเซออร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	0.23	2.49*
Error	15	$9.13 \times 10^{-2}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 62 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า a ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอล 40% เป็นพลาสติกไซเซออร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	$8.56 \times 10^{-3}$	5.01*
Error	15	$1.71 \times 10^{-3}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 63 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า b ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้ซอร์บิทอล 40% เป็นพลาสติกไซเซออร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	0.29	7.12*
Error	15	$4.06 \times 10^{-2}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 64 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ใช้กลีเซอรอล 60% เป็นพลาสติกไซเซออร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	0.14	17.47*
Error	15	$8.27 \times 10^{-3}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 65 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดถึงจุดขาดของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ใช้กลีเซอรอล 60% เป็นพลาสติกไซเซออร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	674.31	86.86*
Error	15	7.76	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )



ตารางที่ 66 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้กลีเซอรอล 60% เป็นพลาสติกไซเซอร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	$1.00 \times 10^{-21}$	19.80*
Error	15	$5.04 \times 10^{-23}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

- ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ 67 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ใช้กลีเซอรอล 60% เป็นพลาสติกไซเซอร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	133.42	38.10*
Error	15	3.50	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 68 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า L ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้กลีเซอรอล 60% เป็นพลาสติกไซเซอร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	0.17	9.04*
Error	15	$1.83 \times 10^{-2}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ 69 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า a ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีน ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้กลีเซอรอล 60% เป็นพลาสติกไซเซอร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	$3.06 \times 10^{-3}$	4.32*
Error	15	$7.08 \times 10^{-4}$	

\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

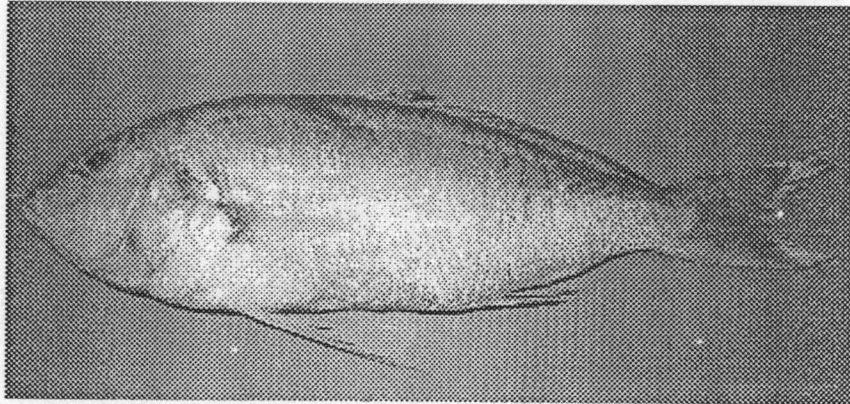
ตารางที่ 70 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติของค่า b ของฟิล์มบริโคได้จากโปรตีน ละลายน้ำจากปลาทรายแดง ที่ใช้กลีเซอรอล 60% เป็นพลาสติกไซเซอร์ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

SOV	df	MS	F
Treatment	4	0.22	6.91*
Error	15	$3.13 \times 10^{-2}$	

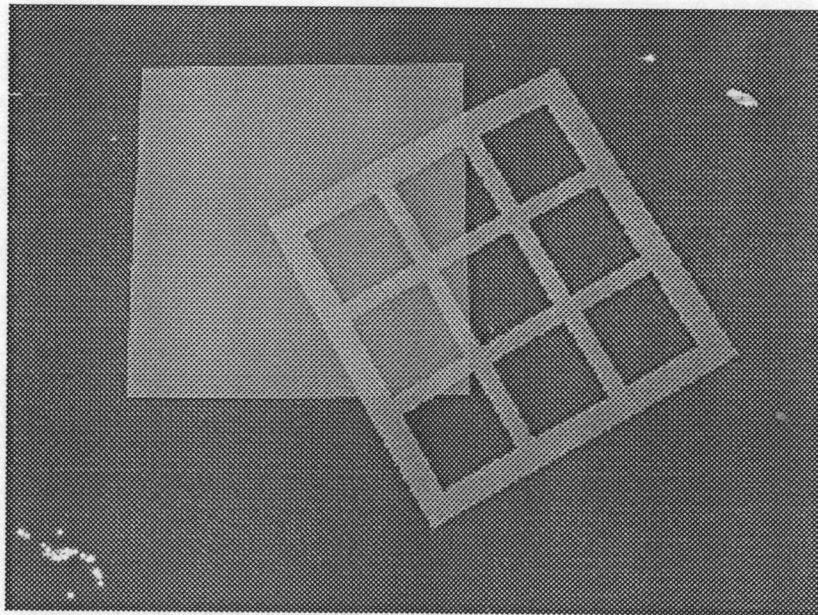
\* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ภาคผนวก จ.

รูปภาพที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

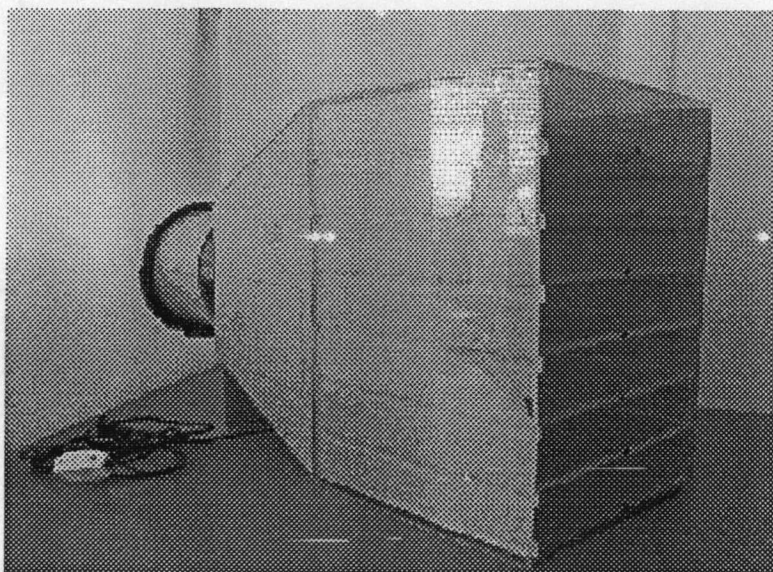


รูปที่ 51 ปลาทรายแดงสายพันธุ์ *Nemipterus hexodon*



รูปที่ 52 แม่พิมพ์ซิลิโคนสำหรับขึ้นรูปแผ่นฟิล์ม

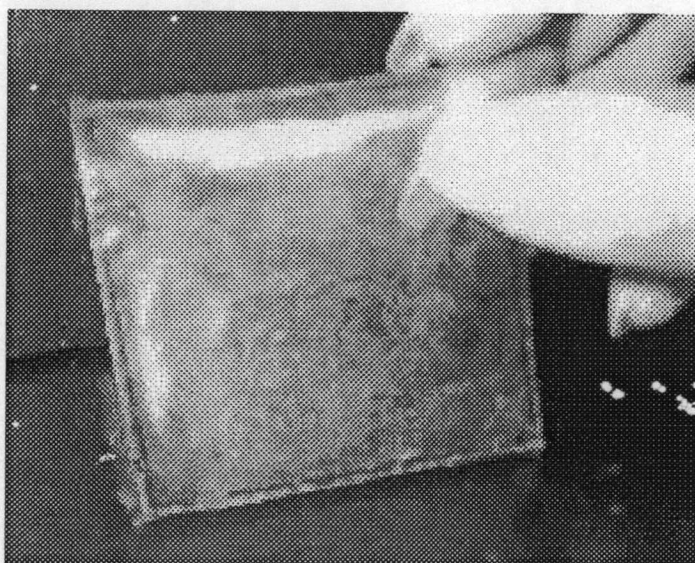




รูปที่ 53 ตู้ทำแห้งฟิล์ม (ประกอบเอง)

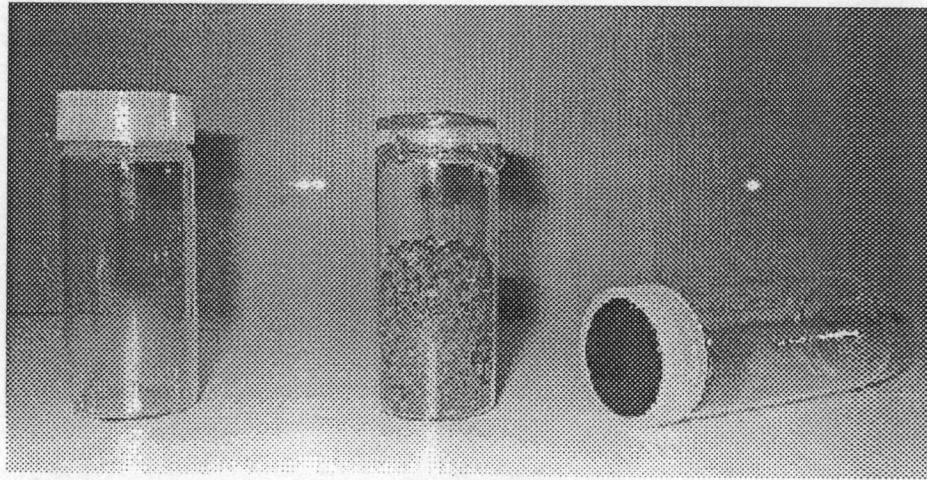
รายละเอียดประกอบรูปที่ 53

ตู้ทำแห้งฟิล์มประกอบโดยใช้แผ่นอะครีลิคหนา 6 มิลลิเมตร ตลอดทั้งตู้ ตัวตู้มีขนาด 30 x 30 x 60 เซนติเมตร แบ่งเป็นทั้งหมด 7 ชั้น แต่ละชั้นสามารถดึงออกจากตัวตู้ได้ ด้านหลังติดพัดลมขนาดเล็กเพื่อช่วยระบายอากาศให้แผ่นฟิล์มแห้งเร็วขึ้น



รูปที่ 54 แผ่นฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง





รูปที่ 55 อุปกรณ์วิเคราะห์ค่าการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม

#### รายละเอียดประกอบรูปที่ 55

อุปกรณ์วิเคราะห์ค่าการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม เป็นขวดแก้วทรงกระบอกขนาดเล็ก มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.6 เซนติเมตร ฝาขวดเป็นพลาสติก บริเวณขอบด้านล่างของฝาเป็นร่องสามารถตัดออกมาเป็นวงแหวนพลาสติกขนาดพอดีกับปากขวด เพื่อรัดแผ่นฟิล์มที่จะวิเคราะห์ไม่ให้เลื่อนหลุดจากปากขวด ขณะทดลองใส่ซิลิกาปิดไว้ภายในขวด แล้วปิดปากขวดด้วยแผ่นฟิล์มตัวอย่างรัดด้วยวงแหวนพลาสติก (ขวดกลาง) แล้วนำไปวางใน desiccator ที่บรรจุน้ำกลั่นไว้ภายใน

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวปรมาภรณ์ เกิดทรัพย์ เกิดเมื่อวันที่ 15 เมษายน 2521 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร จาก ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2541 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2542