

การเพิ่มประสิทธิภาพการต้านทานน้ำของฟิล์มเคซีนด้วยการเชื่อมขวางโดยกรดอินทรีย์ภายใต้สภาวะด่าง

Enhancement of water resistance in casein films with organic acid cross-linking under alkaline condition

อรุณิชา กำเนิดแขก, จิตพร แก้วเพชร, ธัญญารัตน์ จิฎกานนท์*

ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุและวัสดุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

*Corresponding author. E-mail address: fagitvp@ku.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงสมบัติการต้านทานน้ำของฟิล์มโปรตีนเคซีนเพื่อใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร โดยการดัดแปรโครงสร้างเคซีนแบบผสมผสาน ด้วยการเชื่อมขวางด้วยกรดอินทรีย์ (กรดซิตริก, กรดมาลิก หรือ กรดซัคซินิก) เตรียมสารละลายโซเดียมเคซีนทรอยล 5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ภายใต้สภาวะด่าง (pH 12) เติมน้ำหนักโปรตีน 3 (โดยน้ำหนักต่อโปรตีน) และกลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ ผลการทดลองพบว่า การละลายของฟิล์มเคซีนลดลงจากร้อยละ 81.26 ในฟิล์มพื้นฐาน (pH 7) เป็นร้อยละ 25.72 ถึง 30.51 ในฟิล์มดัดแปร การวิเคราะห์ FT-IR แสดงการเลื่อนตำแหน่งของพีค Amide I และ Amide II ไปยังตำแหน่งความยาวคลื่นสูงขึ้น บ่งชี้การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิและการจัดเรียงตัวใหม่ของโปรตีนจากสภาวะด่าง โครงสร้างหลังจัดเรียงตัวมีความเสถียรด้วยพันธะเชื่อมขวาง ฟิล์มจึงทนทานต่อน้ำเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ฟิล์มทุกสูตรยังต้านทานน้ำมันได้ดี (KIT Rating 12) งานวิจัยนี้ยืนยันว่าการใช้สภาวะด่างร่วมกับการเชื่อมขวางด้วยกรดอินทรีย์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการต้านทานน้ำของฟิล์มเคซีนให้สูงขึ้น

Abstract

This research aimed to improve the water resistance of a casein protein film, a promising biopolymer for biodegradable packaging that is limited by its high hydrophilicity. The study investigated a combined casein modification strategy involving organic acid cross-linking (citric acid, malic acid, or succinic acid) under alkaline condition. Sodium caseinate solution (5%, w/v) was prepared under alkaline condition (pH 12) with 3% acid (by protein weight) and glycerol as a plasticizer, then cast into films. The results showed that water solubility decreased from 81.26% for the control film (pH 7) to 25.72–30.51% in the modified films. FT-IR analysis revealed shifting of Amide I and Amide II peaks to higher wavenumbers, indicating secondary structural changes and protein reorganization into a denser network under alkaline condition. This reorganized structure was stabilized by cross-linking bonds, resulting in increased water durability. Furthermore, all film formulations retained good oil resistance (KIT Rating 12). This research confirms that combining alkaline condition with organic acid cross-linking effectively enhances the water resistance of casein films.

Keywords: Alkaline condition, Biopolymer, Casein film, Cross-linking, Water resistance

วิธีการ

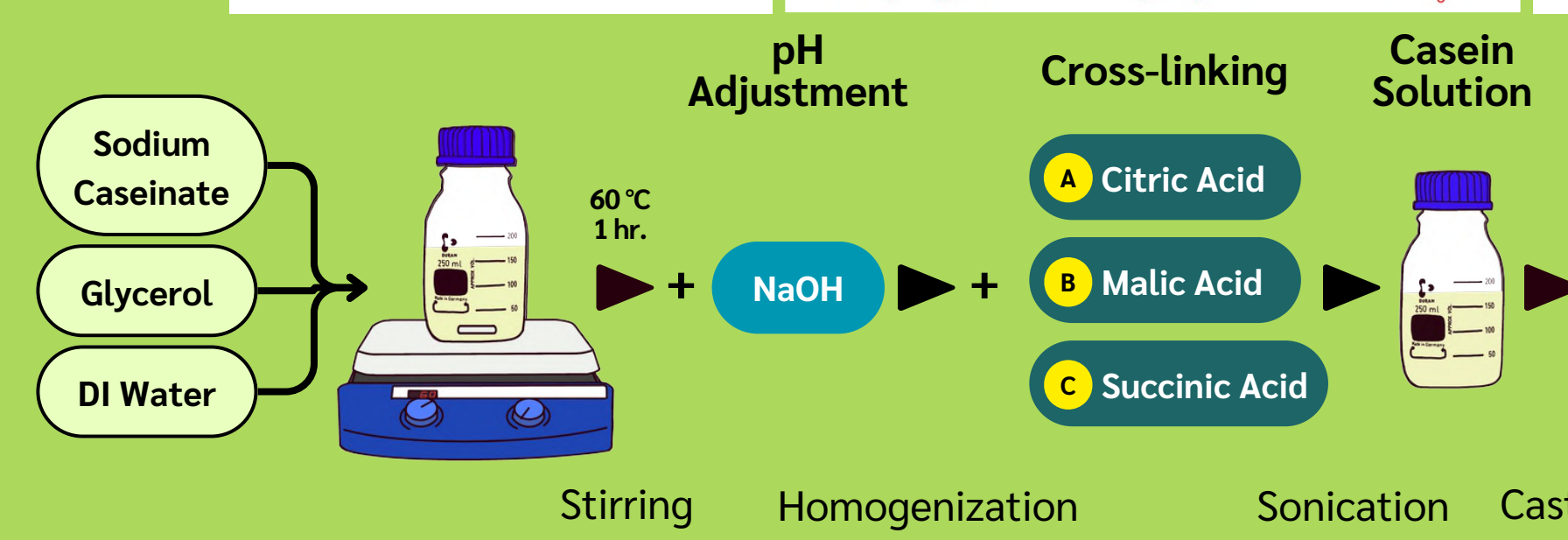


Fig. 2 Schematic diagram of the solution casting method used for the preparation of casein films.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ลักษณะทางกายภาพและสีของฟิล์ม

Table 1 Visual appearance of casein films and color values (L*, a*, b*, and ΔE) prepared under different pH conditions and with various cross-linking treatments.

	pH 7 (Control)	pH 12	pH 12 + 3% Citric Acid	pH 12 + 3% Malic Acid	pH 12 + 3% Succinic Acid
L*	32.44±0.99 ^a	31.57±1.80 ^a	36.08±2.79 ^a	31.47±1.30 ^b	24.55±0.37 ^a
a*	-0.17±0.11 ^a	-0.40±0.19 ^a	-0.22±0.15 ^a	-1.02±0.28 ^b	-0.54±0.10 ^b
b*	-0.32±0.53 ^a	-0.44±0.68 ^a	-1.47±0.28 ^b	-0.37±0.65 ^b	-1.98±0.50 ^b
ΔE:	1.83±0.76 ^a	1.83±0.76 ^a	4.10±2.26 ^b	1.57±1.09 ^b	8.08±0.40 ^d

*Means±SD in the same column followed by different superscripts are significantly different (p < 0.05)

จากการวิเคราะห์ค่าสี พบว่าการดัดแปรฟิล์มเคซีนด้วยสภาวะด่างร่วมกับกรดอินทรีย์ส่งผลต่อค่าความสว่าง (L*) และค่าความแตกต่างของสีรวม (ΔE) อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) โดยฟิล์มสูตร pH 12 + 3% Succinic Acid มีการเปลี่ยนแปลง คือ มีค่า L* ลดลงต่ำสุดอยู่ที่ 24.55±0.37 และมีค่า ΔE สูงสุดถึง 8.08±0.40 ซึ่งส่งผลให้ลักษณะปรากฏของฟิล์มมีสีเหลืองเข้มขึ้น การเปลี่ยนแปลงนี้อาจเกิดจากพันธะเชื่อมขวางระหว่างกรดซัคซินิกและสายโซ่ของโปรตีน เนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลไม่มีหมู่ Hydroxyl (-OH) เป็นองค์ประกอบ จึงทำให้มีความเกาะของสเตรนิกน้อยกว่ากรดซิตริกและกรดมาลิก ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาเชื่อมขวางที่มากกว่าและมีโครงสร้างที่อัดแน่นกว่าสูตรอื่น ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อลักษณะการดูดกลืนแสงและสีของแผ่นฟิล์ม

การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมี

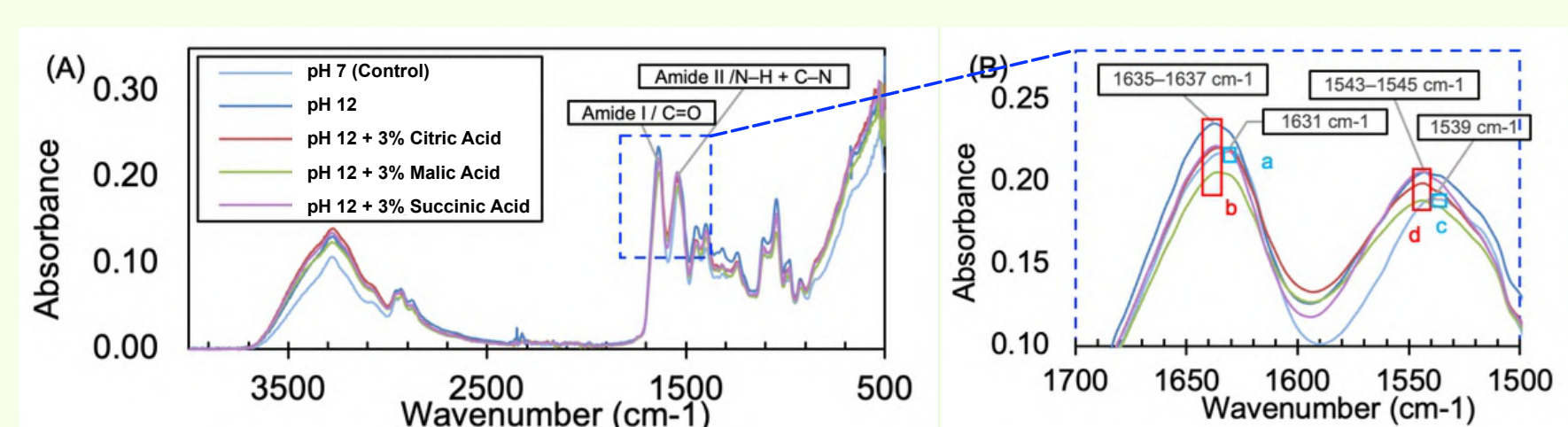


Fig. 3 FT-IR spectra of control and modified casein films: (A) Full spectra and (B) Peak shifting of Amide I and II bands in the 1700–1500 cm⁻¹ region.

การวิเคราะห์สเปกตรัม FT-IR แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระดับโมเลกุลของฟิล์มเคซีนเมื่อผ่านกระบวนการดัดแปร โดยพบการเลื่อนตำแหน่งของพีคไปทางเลขคลื่นที่สูงขึ้นในกลุ่มพีคสำคัญ ได้แก่ Amide I เลื่อนจาก 1631 cm⁻¹ ไปยัง 1635 ถึง 1637 cm⁻¹ และ Amide II เลื่อนจาก 1539 cm⁻¹ ไปยัง 1543 ถึง 1545 cm⁻¹ การเปลี่ยนแปลงตำแหน่งพีคดังกล่าวบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน ซึ่งเป็นผลมาจากสภาวะด่างที่กระตุ้นให้สายโซ่โปรตีนคลายตัวและเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ร่วมกับสารเชื่อมขวาง ส่งผลให้โครงสร้างร่างแหมีความหนาแน่นและเสถียรภาพสูงขึ้น แม้จะไม่ปรากฏพีคพันธะใหม่ที่เกิดขึ้น แต่ความหนาแน่นของโครงสร้างที่เพิ่มขึ้นนี้มีความสอดคล้องโดยตรงกับสมบัติการต้านทานน้ำที่ดีขึ้นของฟิล์มดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ

สรุป

การดัดแปรฟิล์มโปรตีนเคซีนโดยการปรับค่า pH ให้อยู่ในสภาวะด่างร่วมกับการใช้สารเชื่อมขวางจากกรดอินทรีย์ (กรดซิตริก, กรดมาลิก และกรดซัคซินิก) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 สามารถปรับปรุงสมบัติการต้านทานน้ำของฟิล์มได้อย่างมีนัยสำคัญ ฟิล์มที่ผ่านการดัดแปรมีค่าการละลายน้ำลดลงเหลือเพียงร้อยละ 25.72 ถึง 30.51 จากเดิมที่ฟิล์มสูตรพื้นฐานละลายน้ำได้สูงถึงร้อยละ 81.26 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FT-IR ยืนยันการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีผ่านการเลื่อนตำแหน่งของพีค Amide I และ Amide II ซึ่งบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิและการจัดเรียงตัวใหม่ของโปรตีนให้มีความหนาแน่นขึ้น อันเป็นผลมาจากสภาวะด่างและการเชื่อมขวาง ในขณะที่สมบัติการต้านทานน้ำมันของฟิล์มยังคงดีในทุกสูตรการทดลอง โดยมีค่า KIT Rating ที่ระดับ 12 ผลการวิจัยยืนยันว่าการใช้เทคนิคผสมผสานสามารถปรับปรุงความไวต่อความชื้นของฟิล์มโปรตีนได้สำเร็จ ส่งผลให้ฟิล์มเคซีนดัดแปรมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารที่มีไขมันและมีความชื้น เช่น ของบรรจุภัณฑ์ หรือกระดาษเคลือบสำหรับห่ออาหารทอด ซึ่งเป็นทางเลือกใหม่ของวัสดุบรรจุภัณฑ์ย่อยสลายได้ทางชีวภาพในอุตสาหกรรมอาหาร

ติดต่อสอบถามเพิ่มเติมได้ที่ onnichka.kam@ku.th

เคซีน โปรตีนจากนม

ฟิล์มเคซีนมีจุดเด่นด้านการป้องกันการซึมผ่านของแก๊สและการย่อยสลายได้ทางชีวภาพ แต่มีข้อจำกัดสำคัญคือความไวต่อความชื้นสูง เนื่องจากในธรรมชาติโปรตีนเคซีนจะรวมตัวกันเป็นโครงสร้างซับซ้อนที่เรียกว่า "Micelle" โดยมี α₂- และ β-casein อยู่แกนกลาง และมี κ-casein ห่อหุ้มรอบนอกยึดเกาะด้วยแคลเซียมฟอสเฟต ความหนาแน่นของโครงสร้างนี้ก่อให้เกิดความเกาะของสเตรนิก (Steric hindrance) ซึ่งเป็นอุปสรรคขัดขวางไม่ให้อาหารเชื่อมขวางเข้าทำปฏิกิริยาได้อย่างทั่วถึงในสภาวะปกติ

Mechanism of Casein Structure Modification

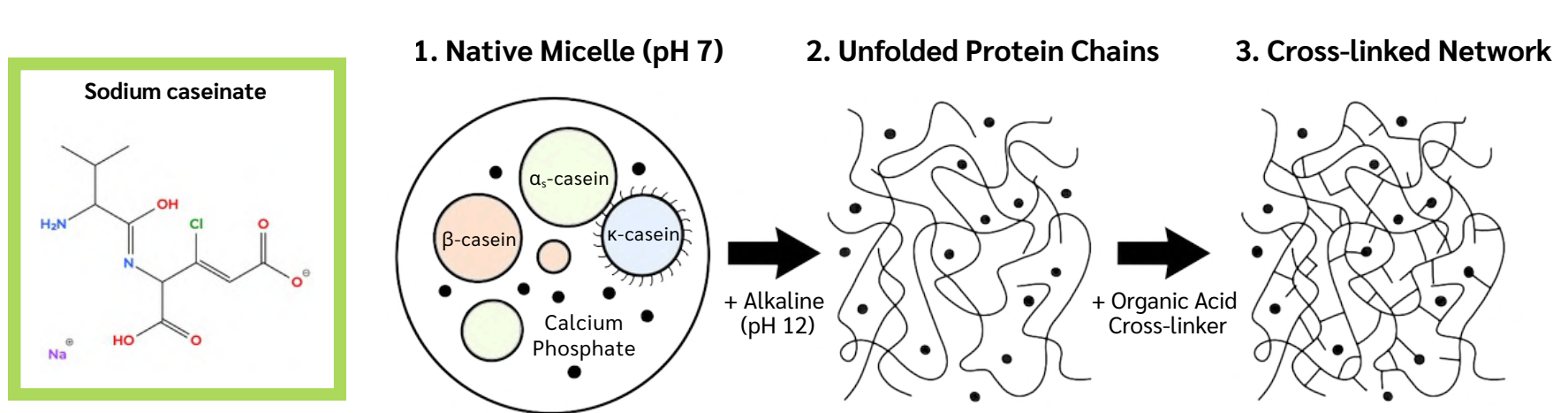


Fig. 1 Schematic diagram of casein structure modification: from native micelle unfolding under alkaline condition (pH 12) to network formation via organic acid cross-linking.

งานวิจัยนี้จึงมุ่งแก้ปัญหาโดยผสมผสานการใช้สภาวะด่าง (pH 12) ร่วมกับการเชื่อมขวาง (Cross-linking) โดยสภาวะด่างจะสร้างแรงผลักทางไฟฟ้ากระตุ้นให้โมเลกุลแตกตัวและคลายออก ส่งผลให้หมู่ฟังก์ชันที่เคยอยู่ในเซ็น Amino (-NH₂) และ Hydroxyl (-OH) หนีออกมา ทำให้กรดอินทรีย์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาสร้างพันธะเชื่อมขวางได้มากขึ้น ผลลัพธ์ที่ได้คือโครงสร้างโมเลกุลที่มีความอัดแน่นและเสถียรเพิ่มขึ้น ซึ่งช่วยปรับปรุงสมบัติการต้านทานน้ำของฟิล์มได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์

- เพื่อศึกษาผลของสภาวะด่างร่วมกับการเชื่อมขวางกรดอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ Citric acid (CA), Malic acid (MA) และ Succinic acid (SA) ต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของฟิล์มเคซีน
- เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการต้านทานน้ำของฟิล์มโปรตีนให้ดียิ่งขึ้น
- เพื่อพัฒนาฟิล์มเคซีน สำหรับประยุกต์ใช้เป็นวัสดุทางเลือกในบรรจุภัณฑ์ย่อยสลายได้ที่ยั่งยืน

การเตรียมฟิล์ม

- เตรียมสารละลาย Sodium Caseinate 5% (w/v) ผสม Glycerol ปรับสภาวะเป็นด่าง (pH 12) ร่วมกับการเติมสารเชื่อมขวาง 3% (Citric, Malic และ Succinic acid)

การขึ้นรูป

- ใช้วิธีเทขึ้นรูป (Solution Casting) และอบแห้ง

การวิเคราะห์ผล:

- ลักษณะทางกายภาพ: ค่าสี (Color)
- องค์ประกอบทางเคมี (FT-IR)
- การละลายน้ำ (Water Solubility)
- การต้านทานน้ำมัน (KIT Test)

สมบัติการละลายในน้ำ

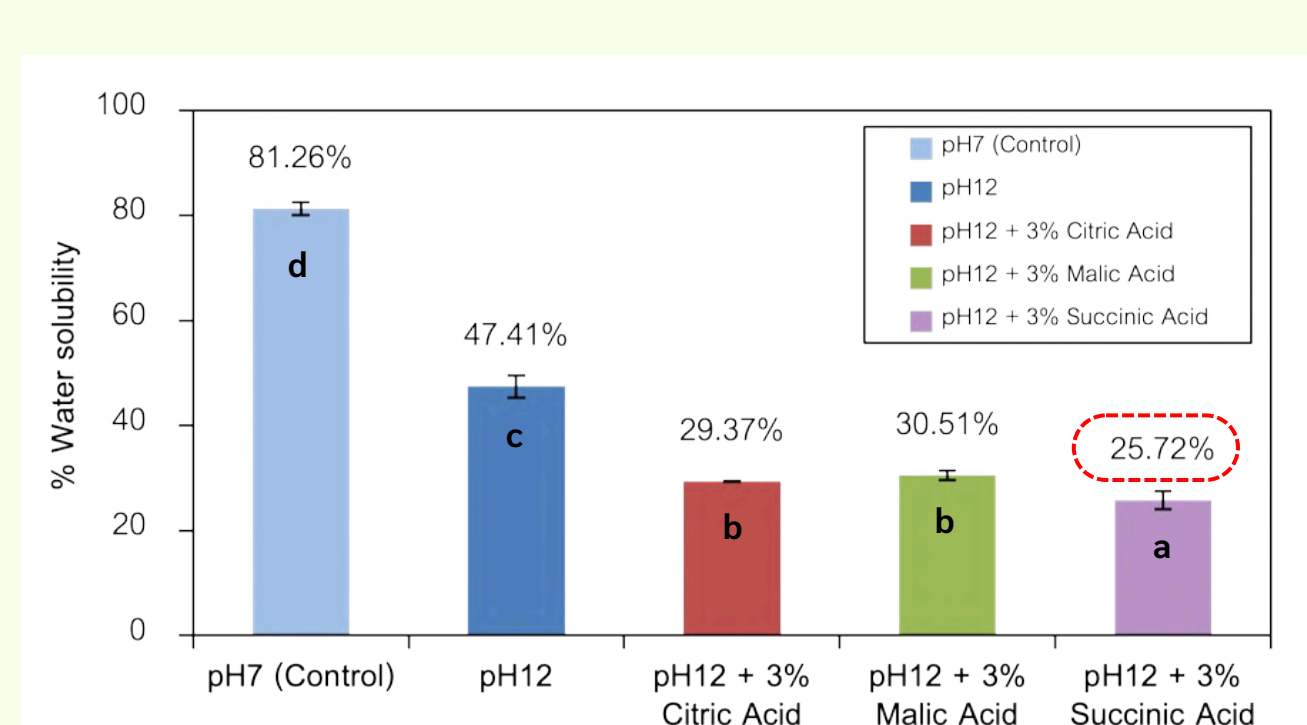


Fig. 4 Water solubility of various casein film formulations.

ผลการทดสอบสมบัติการละลายในน้ำ ชี้ให้เห็นว่าการดัดแปรโครงสร้างช่วยลดความไวต่อความชื้นของฟิล์มเคซีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยค่าการละลายน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) จากร้อยละ 81.26 ในฟิล์มสูตรพื้นฐาน เหลือเพียงร้อยละ 25.72 ถึง 30.51 ในฟิล์มสูตรดัดแปร โดยสูตรที่เติมกรดซัคซินิกแสดงประสิทธิภาพในการต้านทานน้ำได้ดีที่สุด โดยมีค่าความสามารถในการละลายที่ร้อยละ 25.72 การลดลงนี้เป็นผลจากการเกิดพันธะเชื่อมขวางที่หนาแน่นภายใต้สภาวะด่าง ซึ่งทำหน้าที่ขัดขวางการแทรกซึมของโมเลกุลน้ำเข้าสู่โครงสร้างฟิล์มได้อย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิและความเสถียรของโมเลกุลที่เพิ่มขึ้นซึ่งยืนยันด้วยผลการวิเคราะห์ FT-IR

สมบัติการต้านทานน้ำมัน

Table 2 Oil resistance (KIT Rating) of casein films.

Film Formula	KIT Rating												Result	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
pH 7 (Control)	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	No oil absorption
pH 12	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	No oil absorption
pH 12 + 3% Citric Acid	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	No oil absorption
pH 12 + 3% Malic Acid	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	No oil absorption
pH 12 + 3% Succinic Acid	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	No oil absorption

Note: Green dots (●) indicate passing the respective KIT rating level.

จากการทดสอบสมบัติการต้านทานน้ำมัน พบว่าฟิล์มเคซีนทุกสูตรแสดงประสิทธิภาพในการป้องกันการซึมผ่านของไขมันที่ระดับ 12 โดยไม่พบการดูดซับน้ำมันบนผิวหน้าฟิล์ม ซึ่งเป็นผลมาจากสมบัติความเป็น Amphiphilic ของเคซีนที่เมื่อขึ้นรูปเป็นฟิล์มจะหันส่วนที่มีขั้วออกสู่ผิวหน้า ทำให้มีพลังงานพื้นผิวสูงและสามารถผลักดันของเหลวไขมันได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลการทดลองนี้ยืนยันว่าการดัดแปรโครงสร้างเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการต้านทานน้ำ ไม่ส่งผลกระทบต่อสมบัติการต้านทานน้ำมันของเคซีน ฟิล์มที่ได้จึงมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารที่มีไขมันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนทุนงานเสวนาผลงานในงานประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 64

เอกสารอ้างอิง

Atrás, L., Chirali, A. 2015. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. Trends Food Sci. Technol. 48: 51–62. doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.001.

Azoredo, H. M., Wilson, K. W. 2016. Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact - A review. Trends Food Sci. Technol. 52: 109–122. doi.org/10.1016/j.tifs.2016.04.008

Bhatia, S., Al-Hariri, A., Al-Aziz, M. S., Ullah, S., Maken, H. A., Merya, A. M., Albratty, M., Najmi, A., Anwer, M. K. 2022. Gallic Acid crosslinked gelatin and casein based composite films for food packaging applications. Polymers 14: 4065. doi.org/10.3390/polym14104065

Ghamsi, S., Akbar, S. 2014. Formation of natural casein micelle nanocapsule by means of pH changes and ultrasound. Food Hydrocol. 34: 42–47. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.10.028

Khwalida, K., Perez, C., Barco, S., Desobry, S., Hardy, J. 2008. Milk proteins for edible films and coatings. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 48: 239–251. doi.org/10.1080/10407590600649596

Kong, J., Yu, S. 2007. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. Acta Biochim. Biophys. Sin. 39: 549–559. doi.org/10.1111/j.1745-7270.2007.00320.x

Patschold, C., Schreiner, J., Schwarzenböck, U., Henle, T. 2009. Studies on enzymatic crosslinking of casein micelles. Czech J. Food Sci. 27(Special Issue 1): 599–5101. doi.org/10.17221/938-CJFS

Plummer, B., Akhtar, S., Bonnalie, L., Yee, W., Ashby, R., McNulty, M., Garcia, R., Remy, J., Tomasek, P. 2023. Effect of alkaline pH values on physical and functional properties of edible films made from calcium caseinate. Int. Dairy J. 151: 109551. doi.org/10.1016/j.idairy.2023.109551

Ratnay, V., Samy, P. 2015. Bio-Based Coatings for Paper Applications. Coatings 5: 887–930. doi.org/10.3390/coatings5040887

Silva, D.W., Batista, F.C., Scatolino, M.V., Mascarenhas, A.R.F., De Medeiros, D.T., Tonoli, G.H.D., Lazo, D.A.A., Caselli, F.G.T.R., de Souza, T.M., Alves Junior, F.T. 2023. Developing a Biodegradable Film for Packaging with Lignocellulosic Materials from the Amazonian Biodiversity. Polymers 15: 3648. doi.org/10.3390/polym15173648

Wu, S., Cronk, K., Fitzpatrick, J., Xiao, S. 2021. Updating insights into the rehydration of dairy-based powder and the achievement of functionality. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 62: 6664–6681. doi.org/10.1080/10408398.2021.1904203

Yin, Y.C., Yin, S.W., Yang, X.Q., Tang, C.H., Wen, S.H., Chen, Z., Xiao, B.J., Wu, L.Y. 2014. Surface modification of sodium caseinate films by zein coatings. Food Hydrocol. 36: 1–8. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.08.027