

PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF BIOPOLYMER-STABILIZED COLLOIDAL PARTICLES: MICROFIBRILLATED CELLULOSE-STABILIZED EMULSIONS AND β -LACTOGLOBULIN-COATED GOLD NANOPARTICLES

THUNNALIN WINUPRASITH 5238128 SCBT/D

Ph.D. (BIOTECHNOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: MANOP SUPHANTHARIKA, Ph.D., PAIROJ LUANGPITUKSA, Dr.Agr.Chem., ANADI NITITHAMYONG, Ph.D., PROMLUCK SOMBOONPANYAKUL, Ph.D.

ABSTRACT

This research focused on stabilization of colloidal particles using biopolymers. Two biopolymer-stabilized colloidal systems were studied; i.e. microfibrillated cellulose (MFC)-stabilized oil-in-water (o/w) emulsions and β -lactoglobulin (β Lg)-coated gold nanoparticles (GNPs). This research consists of four parts.

The first part investigated the effect of number of passes (1-20 passes) through a homogenizer used for MFC preparation on properties of MFC itself and also the properties and stability of o/w emulsions stabilized by MFC. MFC was prepared from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) rind using hot sodium hydroxide extraction, hydrogen peroxide bleaching, and then shearing using a homogenizer. The crystallinity index, degree of polymerization, viscoelasticity, and viscosity of the MFC decreased as the number of homogenization passes increased, indicating that fiber degradation occurred. The 30% o/w emulsions stabilized by MFC (0.7% w/w MFC, pH = 6.8-7.2) obtained at the higher number of homogenization passes exhibited smaller oil droplets, stronger three-dimensional network structures, and were more stable to creaming than those stabilized by MFC obtained at the lower number of homogenization passes. The creaming stability was reduced at low pH or at high salt concentration. Thermal treatment had little influence on the creaming stability of these emulsions. The second part focused on the effect of MFC concentration (0.05-0.70% w/w) on the properties and stability of 10% o/w emulsions (pH = 6.8-7.2). In this study, MFC obtained at 20 homogenization passes was chosen due to its highest emulsion stabilizing properties. The results show that the oil droplet size, color intensity, viscoelasticity, and stability of the MFC-stabilized emulsions increased with MFC concentration. SEM and confocal micrographs revealed that MFC stabilized emulsion by Pickering mechanism. In addition, the rheological data provided evidence for network formation in the emulsions with increasing MFC concentration. All emulsions were stable to coalescence but the stability of creaming decreased with decreasing MFC concentration. These results provided understanding of the influence of processing conditions for MFC preparation as well as its concentration on properties and stability of MFC-stabilized emulsions, leading to a new application in food industry.

The third part was aimed to prepare the β Lg-coated GNPs (pH 3) and to study the influence of β Lg concentration on protein conformational changes and GNPs aggregation. The surface charge of GNPs changed from negative to positive with increasing β Lg concentration, indicating that the globular protein molecules adsorbed to the surfaces of the particles. Extensive particle aggregation occurred when β Lg did not saturate the GNP surfaces, which was attributed to electrostatic bridging flocculation. Modifications in LSPR and SERS spectra after addition of β Lg to the GNP suspensions supported the adsorption of β Lg to the surfaces. Moreover, SERS highlighted the importance of specific functional groups in the binding interaction, and suggested conformational changes of the globular protein after adsorption. The forth part focused on the interactions between β Lg-coated GNP interfaces and bile salts (BS) at pH 7 by primarily focusing on the physicochemical and interfacial compositional changes of protein at the particle surfaces. The BS was shown to adsorb to the β Lg-coated GNP surfaces and alter the interfacial composition, charge, and structure. SERS spectra of β Lg-coated GNP after BS addition contained bands from both β Lg and BS, indicating that the β Lg was not fully displaced by the BS. The impact of the bile salts could be described by an orogenic mechanism: mixed interfaces were formed that consisted of islands of aggregated proteins surrounded by a sea of bile salts. These results provided fundamental information about the interaction between globular protein, colloidal particles, and surface active bile salts that can be used as database for interface science in food emulsion application.

KEY WORDS: MICROFIBRILLATED CELLULOSE / EMULSION / β -LACTOGLOBULIN / GOLD NANOPARTICLES / SURFACE-ENHANCED RAMAN SCATTERING

คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของอนุภาคคอลลอยด์ที่เสถียรด้วยโพลิเมอร์ชีวภาพ:

ระบบอิมัลชันที่เสถียรด้วยเส้นใยเซลลูโลส และ อนุภาคทองคำระดับนาโนที่เคลือบด้วยโปรตีนเบต้า-แลคโตโกลบูลิน

PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF BIOPOLYMER-STABILIZED COLLOIDAL PARTICLES:

MICROFIBRILLATED CELLULOSE-STABILIZED EMULSIONS AND β -LACTOGLOBULIN-COATED GOLD NANOPARTICLES

ธัญญ์นลิน วิทยุประสิทธิ์ 5238128 SCBT/D

ปรด. (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: มานพ สุพรรณธริก, Ph.D., ไพโรจน์ หลวงพิทักษ์, Dr.Agr.Chem., อาณัติ นิธิธรรมชง, Ph.D.,
พร้อมลักษณ์ สมบูรณ์ปัญญากุล, Ph.D.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้สนใจการทำให้อนุภาคคอลลอยด์เสถียรโดยใช้โพลิเมอร์ชีวภาพ ซึ่งศึกษาใน 2 ระบบ ได้แก่ ระบบอิมัลชันที่คงตัวโดยการ
ใช้เส้นใยเซลลูโลสระดับไมโคร และการเคลือบอนุภาคทองคำระดับนาโนด้วยโปรตีนเบต้า-แลคโตโกลบูลิน โดยงานวิจัยนี้ประกอบไปด้วย 4 ส่วนหลัก

ส่วนแรกศึกษาผลของจำนวนรอบ (1-20 รอบ) ในการผ่านเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ของเส้นใยเซลลูโลสต่อคุณสมบัติของเส้นใย
เซลลูโลสเอง รวมทั้งคุณสมบัติและความเสถียรของระบบอิมัลชันที่เตรียมโดยใช้เส้นใยดังกล่าว เส้นใยเซลลูโลสสามารถสกัดได้จากเปลือกมังคุด โดย
การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ร่อนร่วมกับการฟอกสีด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และแยกเส้นใยโดยใช้เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ ผลการทดลองพบว่า คำนี
ความเป็นผลึก, อันดับการพอลิเมอไรเซชัน, สมบัติหุ้ยนหืดและความหนืดของเส้นใยเซลลูโลสลดลง เมื่อจำนวนรอบในการผ่านเครื่องโฮโมจิไนเซอร์
เพิ่มขึ้น บ่งชี้ได้ว่าเส้นใยเกิดการแตกสลายในกระบวนการเตรียมดังกล่าว ระบบอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (น้ำมัน 30%, เส้นใยเซลลูโลส 0.7% ค่าความ
เป็นกรดต่าง = 6.8-7.2) ที่คงตัวด้วยเส้นใยเซลลูโลสที่ได้จากการผ่านเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ที่จำนวนรอบมากนั้น มีขนาดอนุภาคไขมันเล็ก, มีโครงสร้าง
คาข่ายสามมิติที่แข็งแรง, และมีความเสถียรต่อการเกิดคริมมากกว่าระบบอิมัลชันที่คงตัวด้วยเส้นใยที่ได้มาจากการผ่านเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ที่จำนวน
รอบน้อย ความเสถียรต่อการเกิดคริมจะลดลงเมื่ออิมัลชันมีสถานะเป็นกรดหรือมีความเข้มข้นของเกลือสูง ส่วนอุณหภูมิมีผลต่อการเกิดคริมเพียงเล็กน้อย
ส่วนที่สองได้ศึกษาถึงอิทธิพลของความเข้มข้นของเส้นใยเซลลูโลส (0.05-0.70%) ต่อคุณสมบัติและความเสถียรของระบบอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ
(ไขมัน 10%, ค่าความเป็นกรดต่าง = 6.8-7.2) ในการทดลองนี้ใช้เส้นใยเซลลูโลสที่ผ่านเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ 20 รอบ เนื่องจากให้ความคงตัวของ
อิมัลชันสูงสุด ผลการทดลองพบว่าขนาดอนุภาคไขมัน, ความเข้มข้นของสี, สมบัติหุ้ยนหืด และความเสถียรของระบบอิมัลชันเพิ่มขึ้น เมื่อเส้นใยเซลลูโลส
ในระบบเพิ่มขึ้น ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและแบบคอนโฟคอลชนิดที่ใช้เลเซอร์ แสดงให้เห็นว่า เส้นใยเซลลูโลสทำให้ระบบ
อิมัลชันเสถียรด้วยกลไก “Pickering” นอกจากนี้ ข้อมูลเกี่ยวกับคุณสมบัติการไหลชี้ให้เห็นว่าการสร้างร่างแหในอิมัลชันเมื่อความเข้มข้นของเส้นใย
เซลลูโลสเพิ่มขึ้น โดยสรุปผลการทดลองข้างต้นเป็นประโยชน์ในการเพิ่มความเข้าใจในอิทธิพลของกระบวนการเตรียมเส้นใยเซลลูโลสต่อคุณสมบัติ
ของเส้นใยเอง รวมถึงคุณสมบัติและความเสถียรของระบบอิมัลชันที่ใช้เส้นใยเซลลูโลสเพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

ในส่วนที่สามมุ่งเน้นถึงการเตรียมอนุภาคทองคำระดับนาโนที่เคลือบด้วยโปรตีนเบต้า-แลคโตโกลบูลินที่ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 3
และยังศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของโปรตีนและการเกิดการรวมกันของอนุภาคทองคำ พบว่า การดูดซับของโปรตีนบนผิวของอนุภาคอื่นได้
จากการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมของ LSPR และ SERS รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงประจุของอนุภาคจากลบเป็นบวก เมื่อปริมาณโปรตีนในระบบเพิ่มขึ้น การ
รวมกันของอนุภาคทองคำจะเกิดขึ้นเมื่อพื้นผิวของอนุภาคไม่ได้เชื่อมด้วยโมเลกุลของโปรตีน โดยกลไกการเชื่อมของอนุภาคด้วยไฟฟ้าสถิตย์
นอกจากนี้สเปกตรัม SERS ยังบ่งชี้ว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของโปรตีนหลังจากดูดซับบนพื้นผิวของอนุภาค โดยมีหมู่ฟังก์ชันจำเพาะของโปรตีน
เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาดังกล่าว ส่วนที่สี่ได้ศึกษาถึงปฏิกิริยาของเกลือน้ำดีต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนบนผิวสัมผัสของ
อนุภาคทองคำระดับนาโนที่เคลือบด้วยโปรตีนเบต้า-แลคโตโกลบูลิน โดยศึกษาที่ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7 พบว่า มีการดูดซับของเกลือน้ำดีลงบน
อนุภาคดังกล่าว ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของผิวสัมผัส ประจุ และโครงสร้าง การใช้เทคนิค SERS แสดงให้เห็นว่าในระบบที่มีเกลี
อนี้ดีและอนุภาคที่เคลือบด้วยโปรตีน โดยรูปแบบของสเปกตรัมจะเป็นการผสมผสานระหว่างสเปกตรัมของโปรตีนและเกลือน้ำดี แสดงว่าเกลือน้ำดี
สามารถเข้าแทนที่โปรตีนบนอนุภาคได้เป็นบางส่วน ซึ่งกลไกดังกล่าวเรียกว่ากลไก “Orogenic” คือ การแทนที่ของโปรตีนบนผิวสัมผัสด้วยเกลือน้ำดี
โดยโปรตีนจะเกิดการรวมตัวเป็นก้อนท่ามกลางผิวสัมผัสของเกลือน้ำดีโดยรอบ โดยสรุปผลการทดลองนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่ออธิบายเกี่ยวกับ
ปฏิกิริยาระหว่างโปรตีน อนุภาค และเกลือน้ำดี และสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลด้านวิทยาศาสตร์ผิวสัมผัสของอิมัลชันในอาหารต่อไป