

คุณสมบัติด้านการออกซิเดชันของสารสกัดเปลือกมังคุดและผลกระทบต่อคุณสมบัติ
ของฟิล์มเคลือบบริโภคได้

Antioxidant Property of Mangosteen Peel Extract and Its Effect on Edible-Film Properties

พงศธร มันทะ¹, พีรยา โชติถนอม¹ และ บุษกร ทองใบ¹

Pongsaton Munta¹, Pheeraya Chottanom¹ and Boosagorn Tongbai¹

Abstract

The objective of this study was to investigate antioxidant property of mangosteen peel extract which was dried by using a freeze dryer. The properties of edible films from sodium caseinate (NaCas) and carboxymethyl cellulose (CMC), and effect of the extract on the film properties were also studied. In the further study, we will apply the effective films to the fresh produces (fruits and vegetables) and fish fillets. The total phenolic and total anthocyanin content of the extract were 2,430.7 and 484.26 mg/100g, respectively. The antioxidant capacity, 50% inhibitory concentration (IC50) was 599.6 ppm. The CMC film showed better quality of film extensibility, thickness value, water vapour permeability than the NaCas film. While the NaCas film had strength and oxygen permeability lower than the CMC film. The fat and oil resistant values were not significantly different ($p>0.05$). However, infusion of the extract caused the modification of film properties. The use of edible films corporate with mangosteen extract for the shelf-life extension of fresh produces is interested. The next step of this study is to perform the preservation ability of selected films on some fresh produce.

Key word: mangosteen, edible-film, antioxidant

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดเปลือกมังคุดที่ผ่านการทำแห้งแบบระเหิด ในการเป็นสารต้านออกซิเดชันและศึกษาคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มบริโภคได้จาก Sodium caseinate (NaCas) และ Carboxy methyl cellulose (CMC) และผลกระทบของสารสกัดเปลือกมังคุดที่มีต่อคุณสมบัติของแผ่นฟิล์ม ในขั้นตอนต่อไปจะศึกษาการประยุกต์ใช้ฟิล์มที่ผลิตได้กับผลผลิตสดทั้งผัก ผลไม้ และเนื้อปลา ผลการทดลองพบว่าสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และแอนโทไซยานินเท่ากับ 2,430.7 และ 484.26 mg/100g ตามลำดับ เมื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่ามีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระที่คิดเป็นค่า 50% inhibitory concentration (IC50) เท่ากับ 599.6 ppm ฟิล์ม CMC มีคุณสมบัติการยืดตัว ความหนาและป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำสูงกว่าฟิล์ม NaCas ขณะที่ค่าการต้านแรงดึงและประสิทธิภาพการซึมผ่านออกซิเจนต่ำกว่า แต่มีค่าการต้านไขมันและน้ำมันไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามคุณสมบัติดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีการเติมสารสกัดเปลือกมังคุด ในการประยุกต์ใช้ฟิล์มเคลือบบริโภคได้ที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดเพื่อยืดอายุผลผลิตสดเป็นเรื่องที่น่าสนใจซึ่งต้องเลือกใช้ฟิล์มที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสม ซึ่งจะดำเนินการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

คำสำคัญ มังคุด, ฟิล์มบริโภคได้, ต้านออกซิเดชัน

คำนำ

ปัจจุบันการรักษาสุขภาพกำลังได้รับความสนใจจากคนทั่วโลก เริ่มต้นตัวกับการนำผลผลิตทางธรรมชาติมาใช้ประโยชน์เพื่อสุขภาพ โดยหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีหรือสารสังเคราะห์ในผลิตภัณฑ์อาหาร การใช้สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์ เช่น BHT BHA และ TBHQ สามารถยับยั้งการเกิดกระบวนการออกซิเดชันได้ (นิธิยา, 2545) แต่สารสังเคราะห์เหล่านี้ มีความเป็นพิษเมื่อใช้ในระดับที่ไม่เหมาะสม การลดการใช้บรรจุภัณฑ์พลาสติกเป็นอีกแนวทางที่ลดความรุนแรงของภาวะโลกร้อนได้ วิธีการที่สามารถลดทั้งการใช้สารกันเสียสังเคราะห์และการใช้บรรจุภัณฑ์ประเภทพลาสติก คือ การศึกษาการผลิตฟิล์มบริโภค

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

¹ Department of Food Technology and Nutrition, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Mahasarakham 44000

ได้ (edible film) ที่ใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันและการชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งเรียกว่า ฟิล์มแอคทีฟ (active film) ผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาการผลิตฟิล์มเคลือบบริโภคได้จาก sodium caseinate และ carboxy methyl cellulose โดยพัฒนาให้มีคุณสมบัติด้านการเกิดออกซิเดชันจากการมีส่วนผสมของสารสกัดเปลือกมังคุดซึ่งมีรายงานว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ วัตถุประสงค์งานวิจัยนี้คือศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มบริโภคได้จาก sodium caseinate และ carboxy methyl cellulose ที่เตรียมจากสารละลายเข้มข้นต่างกัน และผลกระทบของการผสมสารสกัดเปลือกมังคุดต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของแผ่นฟิล์ม เพื่อนำผลการวิจัยไปใช้กับการผลิตบรรจุภัณฑ์แอคทีฟสำหรับผลิตผลสด (fresh produces) และผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูป (processed food products) ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วิเคราะห์คุณสมบัติของสารสกัดเปลือกมังคุด

หั่นเปลือกมังคุดแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 ± 2 องศาเซลเซียสให้ได้ความชื้น $7 \pm 2\%$ ด้วยเครื่องอบแห้งแบบลมร้อน แล้วสกัดด้วย 0.1% HCl-ethanol (v/v) แล้วทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยโรตารี (Rotary evaporator, BUCHI R-114) นำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิด (Freeze dryer) เก็บรักษาสารสกัดที่ได้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 4 – 5 องศาเซลเซียส

วิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิก (ดัดแปลงจากวิธีของ Bae and Suh, 2006) โดยใช้สารละลายมาตรฐาน Folin-Ciocalteus reagent 0.8 มิลลิลิตร และ sodium carbonate วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer, Spectronic genesy 5) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid เพื่อหาความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัด

วิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินส์ (ดัดแปลงจากวิธีของ Wrolstad and Giusti, 2001) โดยใช้วิธี pH differential โดยนำสารสกัด 1 มิลลิลิตร บัฟเฟอร์ที่ใช้ได้แก่ potassium chloride buffer (KCl, 0.2 M, pH 1.0) และเติม sodium acetate (CH_3COONa , 1 M, pH 4.5) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer, Spectronic genesy 5) แล้วคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินส์ตามวิธีของ (Wrolstad and Giusti, 2001)

วิเคราะห์กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 1-1, diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) โดยวัดการลดลงของค่าดูดกลืนแสงเมื่อสารสกัดเปลือกมังคุดทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

วิเคราะห์กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Total antioxidation assay โดยใช้สารละลาย Sulfuric acid, Sodium phosphate และ Ammonium molybdate วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร เปรียบเทียบกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐานบีเอชเอ

2. ศึกษาคุณสมบัติฟิล์มบริโภคได้และผลกระทบจากสารสกัด

2.1 การเตรียมฟิล์ม carboxy methyl cellulose (CMC) และ Sodium casinate (NaCas)

เตรียมสารละลาย CMC ความเข้มข้น 2.5 % และ 3.0 % ในสารละลาย H_2O -ethanol (31/11) ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ใช้กลีเซอรอลเป็นสารพลาสติกไซเซอร์ทิ้งไว้ให้เย็นก่อนการขึ้นรูป (Alejandra and Roura, 2008) ในขนาด 30x40 เซนติเมตร อบที่ 60 ± 2 องศาเซลเซียส 10-12 ชั่วโมง จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มที่ได้ออกจากถาด เตรียมสารละลาย NaCas 2.5 และ 3.0% โดยใช้กลีเซอรอลเป็นสารพลาสติกไซเซอร์ ทำการขึ้นรูปเช่นเดียวกับฟิล์ม CMC (Schou and Longares, 2004)

2.2 ศึกษาผลกระทบของสารสกัดจากเปลือกมังคุด

ทำการผสมสารสกัดเปลือกมังคุดในสารละลายฟิล์ม โดยแปรระดับความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 3 ระดับ คือ 5000, 2500 และ 1250 ppm ตามลำดับ ทำการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มตามขั้นตอนดังที่กล่าวมา

2.3 วิเคราะห์คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของฟิล์ม

วิเคราะห์ความหนาของแผ่นฟิล์มด้วย เครื่องวัดความหนา (Micrometer) ตัวอย่างละ 5 จุด แล้วนำมาหาค่าความหนาเฉลี่ย วิเคราะห์คุณสมบัติการต้านทานแรงดึง (TS) และการยืดตัว (E) ตามมาตรฐาน TAPPI T494 OM-88 (TAPPI, 1988) แต่ใช้เครื่องมือ Texture analyzer (TA-XT2) วัดค่าแรงที่จุดยอดกราฟซึ่งเป็นค่าแรงที่ใช้ดึงจนฟิล์มขาดออกจากกัน วิเคราะห์ค่าการยืดตัว ณ จุดหัก ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ความยืดหยุ่นและความแข็งแรงของฟิล์ม โดยวัดเป็นเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงความยาว วิเคราะห์คุณสมบัติการซึมผ่านของไอน้ำ (Water vapour transmission rate, WVTR) แบบ Dish method (ASTM) ที่ควบคุมอุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 ± 2 บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 วัน วิเคราะห์คุณสมบัติการซึมผ่านไขมันและน้ำมัน (Grease resistant) ตามวิธีของ TAPPI-T454

ผล

1. คุณสมบัติสารสกัด

เปลือกมังคุดที่ใช้พบว่ามีค่า L^* มีค่า 45.015 ± 0.385 ค่า a^* มีค่า $+3.0025 \pm 1.253$ และค่า b^* มีค่า -0.715 ± 0.293 มีความชื้นเริ่มต้น $54.31 \pm 2\%$ หลังจากการทำแห้งสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธีการทำแห้งแบบระเหิด มีค่า a_w เท่ากับ 0.48 จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัด พบว่าสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานินเฉลี่ยเท่ากับ 2430.7 และ 484.26 มิลลิกรัม/100กรัม ตามลำดับ เมื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าค่าความเข้มข้นที่ใช้ในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) คือ 599.6 ppm ($R^2 = 0.980$) และวิธี total antioxidation เท่ากับ 651 มิลลิกรัม/กรัมคิดเป็น 11.45 เท่าของสารมาตรฐาน BHA

2. คุณสมบัติฟิล์มที่บริโภคได้

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของฟิล์มที่ผลิตขึ้นจาก CMC และ NaCas พบว่าฟิล์มที่เตรียมจากความเข้มข้น 3.0% มีคุณสมบัติการต้านทานแรงดึงขาด การยืดตัว และความหนา มากกว่าฟิล์มเข้มข้น 2.5% และมีค่าการซึมผ่านของไอน้ำและค่าซึมผ่านของออกซิเจนน้อยกว่าฟิล์มที่เตรียมความเข้มข้น 2.5% ยกเว้นฟิล์มจาก NaCas ซึ่งมีค่าการยืดตัวต่ำเมื่อฟิล์มมีความหนามากขึ้น ส่วนค่าการซึมผ่านของไขมันหรือน้ำมันของฟิล์มทั้ง 2 ชนิดไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) (Table 1) จึงพิจารณาเลือกฟิล์มที่มีความเข้มข้น 3.0% ไปพัฒนาให้เป็นฟิล์มแอคทีฟที่สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันโดยการเติมสารสกัดเปลือกมังคุดต่อไป

Table 1 Functional properties of edible-films formed from CMC and NaCas.

Edible films	strength (N/m ²)	extensibility (%)	thickness (mm)	WVP (g.mm/m ² .day.mmHg)	O ₂ permeability (cc./m ² .day)	fat and oil resistant (day)
CMC 2.5 %	5.258 ± 0.131 ^a	101.6 ± 1.673 ^a	0.146 ± 0.005 ^a	0.108 ± 0.009 ^a	4.608 ± 0.035 ^a	> 5 วัน
CMC 3.0 %	6.530 ± 0.299 ^b	130.0 ± 1.581 ^b	0.168 ± 0.010 ^b	0.070 ± 0.003 ^b	1.124 ± 0.044 ^b	> 5 วัน
NaCas 2.5 %	2.251 ± 0.399 ^a	54.2 ± 1.483 ^a	0.088 ± 0.008 ^a	0.279 ± 0.011 ^a	2.108 ± 0.035 ^a	> 5 วัน
NaCas 3.0 %	3.549 ± 0.468 ^b	36.4 ± 1.140 ^b	0.108 ± 0.010 ^b	0.251 ± 0.009 ^b	1.142 ± 0.028 ^b	> 5 วัน

Note Different alphabets (a-b) for each column were significant difference ($p < 0.05$)

3. ผลกระทบของสารสกัดจากเปลือกมังคุด

จากการทดสอบคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของฟิล์ม CMC ที่มีความเข้มข้น 3.0% และผสมกับสารสกัดให้ได้ความเข้มข้น 5,000, 2,500 และ 1,250 ppm (Table 2) พบว่าค่าการแพร่ผ่านไอน้ำของฟิล์มที่มีสารสกัดเข้มข้น 2,500 ppm มีความแตกต่างจากฟิล์มที่มีสารสกัด 1250 ppm และฟิล์มที่ไม่ได้ใส่สารสกัด ส่วนคุณสมบัติการต้านแรงดึง ค่าการยืดตัว ความหนา และการแพร่ผ่านของไขมันและน้ำมันของแผ่นฟิล์มที่ใส่และไม่ได้ใส่สารสกัดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และพบว่าฟิล์มที่มีเข้มข้น 5,000 ppm ทำให้ไม่สามารถขึ้นรูปแผ่นฟิล์มได้

Table 2 Functional properties of CMC films cooperated with mangosteen peel extract

CMC + Mangosteen Peel Extract	strength (N/m ²)	extensibility (%)	thickness (mm)	WVP (g.mm/m ² .day.mmHg)	fat and oil resistant (day)
3.0 g + 0	6.469 ± 0.043 ^a	130.0 ± 1.581 ^a	0.168 ± 0.010 ^a	0.070 ± 0.003 ^a	> 5 วัน
3.0 g + 1250 ppm	6.389 ± 0.545 ^a	129.2 ± 1.095 ^a	0.168 ± 0.013 ^a	0.097 ± 0.009 ^a	> 5 วัน
3.0 g + 2500 ppm	6.561 ± 0.421 ^a	130.2 ± 3.033 ^a	0.162 ± 0.013 ^a	0.411 ± 0.016 ^b	> 5 วัน
3.0 g + 5000 ppm	ND				

Note Different alphabets (a-b) for each column were significant difference ($p < 0.05$) ND data was not detectable.

จากการทดสอบคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของฟิล์ม NaCas ที่มีความเข้มข้น 3.0% ผสมกับสารสกัดเข้มข้น 5,000, 2,500 และ 1,250 ppm (Table 3) พบว่าคุณสมบัติการแพร่ผ่านไอน้ำของฟิล์มที่มีสารสกัดเข้มข้น 1,250 และ 2,500 ppm มีความแตกต่างจากฟิล์มที่ไม่ได้ใส่สารสกัดแต่สำหรับฟิล์ม CMC ที่ 1250 ppm มีค่า WVP ไม่แตกต่างจากฟิล์มที่ไม่ได้ใส่สารสกัด เมื่อใช้สารสกัดเพียง 1,250 ppm ในฟิล์ม NaCas ที่กล่าวมาแสดงให้เห็นถึงความอ่อนไหวของฟิล์มต่อสารสกัดเปลือกมังคุด โดยยอมให้ไอน้ำผ่านได้มากขึ้น ส่วนคุณสมบัติการต้านแรงดึง ค่าการยืดตัว ความหนาและการแพร่ผ่านของไขมันของฟิล์มที่ใส่และไม่ได้ใส่สารสกัดไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$)

Table 3 Functional of NaCas films cooperated with mangosteen peel extract

NaCas + Mangosteen Peel Extract	strength (N/m ²)	extensibility (%)	thickness (mm)	WVP (g.mm/m ² .day.mmHg)	fat and oil resistant (day)
3.0 g + 0	3.549 ± .468 ^a	36.4 ± 1.140 ^a	0.108±.010 ^a	0.251 ± .009 ^a	> 5 วัน
3.0 g + 1250 ppm	3.670 ± .441 ^a	34.4 ± 1.816 ^a	0.106 ± .011 ^a	0.280 ± .007 ^b	> 5 วัน
3.0 g + 2500 ppm	3.639 ± .141 ^a	34.6 ± 1.140 ^a	0.104 ± .005 ^a	0.478 ± .013 ^c	> 5 วัน
3.0 g + 5000 ppm			ND		

Note Different alphabets (a-b) for each column were significant difference (p<0.05) ND data was not detectable.

วิจารณ์

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานินส์ของสารสกัดเปลือกมังคุดมีค่ามากกว่าผลหม่อนสุก (รัตดา, 2551) फिल्मที่ทำจาก CMC และ NaCas มีคุณสมบัติการต้านแรงดึงขาด ค่าการยืดตัวและความหนาสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เนื่องจากการยึดของโมเลกุลที่จับตัวกันมากขึ้นทำให้ฟิล์มหนาและมีความแข็งแรงสามารถต้านทานต่อแรงดึงได้มากขึ้น เช่นเดียวกับการทดลองของปนัดดา(2540) ส่วนคุณสมบัติการซึมผ่านไอน้ำและการซึมผ่านออกซิเจนของแผ่นฟิล์มมีคุณสมบัติลดลงเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากความหนาของฟิล์มเพิ่มมากขึ้นทำให้อุณหภูมิของแก๊สและน้ำซึมผ่านฟิล์มได้ยากขึ้น การเติมสารสกัดเปลือกมังคุดทำให้คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของฟิล์มด้อยลงไปซึ่งแสดงผลกระทบชัดเจนต่อรูปร่างลักษณะ (morphology) ของแผ่นฟิล์ม อาจเป็นเพราะโมเลกุลของสารสกัดเข้าไปแทรกอยู่ในโครงสร้างของแผ่นฟิล์ม ทำให้เกิดช่องว่างมากขึ้นส่งผลให้ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการทดลองของ Yudi Pranoto et al. (2005)

สรุป

จากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นและชนิดของวัตถุดิบที่ใช้เตรียมฟิล์มที่บริโภคได้มีผลต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของแผ่นฟิล์ม และความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกมังคุดมีผลทำให้ค่าการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์มมีค่าเพิ่มสูงขึ้น

คำขอขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและคณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ภายใต้โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปี 2551 และขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยี การอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- นิธิยา รัตนาปนนท์. 2545. เคมีอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
 ปนัดดา พวงเกษม. 2540. การเตรียมฟิล์มบริโภคได้จากแป้งมันสำปะหลังและแนวทางการใช้ประโยชน์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
 รัตดา กองมะณี. 2551. ผลกระทบของการออกซิเดชันต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ และกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของผลหม่อน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.
 Alejandra G. P., Sara I. R., Carlos E. del Valle, María R. M. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings Enriched with natural plant extracts: In vitro and in vivo studies. *Postharvest Biol. Technology* 49(2): 294-300.
 Chen, H. 2002. Formation and properties of casein films and coatings. *Journal of protein-based films and coatings*, 181-211.
 Keter, J.J. and Fennema, O.R. 1986. Edible films and coating: Review. *Journal of Food Tech.* 40 (12):47-59.
 Schou, M., Longares, A., Montesinos-Herrero, C., Monahan, F.J., O'Riordan, D. and O'Sullivan, M. 2005. Properties of edible sodium caseinate films and their application as food wrapping. *LWT Food Sc and Tech* 38: 605-610.
 Park, H. J., Testin, R. F., Vergano, P. J., & Weller, C. L. 1994. Fatty acid concentration effect on tensile strength, elongation, and watervapor permeability of laminated edible films. *Journal of Food Science.* 59: 916-919.
 Wrolstad, R.E. and Giusti, M.M. 2001. Characterization of anthocyanins from *Oxalis triangularis* as potential food colorants. *Journal of Food Chem.* 75: 211-216.
 Yudi, P, Vilas M. Salokhe, Sudip K. Rakshit. 2005. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. *Food Research Int.* 38: 267-272.