

การพัฒนากระดาษห่ออาหารจากเส้นใยเชื้อรา *Trametes versicolor* ที่มีแป้งมันสำปะหลัง
ผสมน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวเป็นสารเคลือบเพื่อต้านเชื้อราและการศึกษาความเป็นไปได้
ในการนำมาใช้ป้องกันเชื้อราในข้าวกล้อง

Development of Antifungal Food Wrapping Paper From *Trametes versicolor* Coated
with Cassava Starch incorporated with Lime Oil and its Potential to
inhibit Mold on Brown Rice

ศิริมาศ สุขมาศ¹ เบญญาภา ศรีแก้ว¹ ทนง เอี้ยวศิริ¹ วันชาติ ปรีชาติวงศ์² และ นฤมล มาแทน^{1*}

Sirimas Sukmas¹ Benyapa Srikaew¹ Tanong Aewsiri¹ Wanchart Preechatiwong² and Narumol Matan^{1*}

¹ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

¹ Food Science and Technology, School of Agricultural Technology, Walailak University

² วิทยาศาสตร์และวิศวกรรมวัสดุ สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์และทรัพยากร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

² Materials Science and Engineering, School of Engineering and Technology, Walailak University

*E-mail: nnarumol@yahoo.com

Received: May 21, 2019

Revised: Oct 12, 2019

Accepted: Nov 18, 2019

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนากระดาษห่ออาหารจากเส้นใยของเชื้อรา *Trametes versicolor* ที่มีแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวเป็นสารเคลือบผิวกระดาษที่พัฒนาขึ้น การศึกษาเริ่มจากการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจากเปลือกกล้วยในปริมาณ 2 ถึง 10 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร สำหรับการเลี้ยงเชื้อราสายพันธุ์ *T. versicolor* ในปริมาณเริ่มต้น 10 มิลลิกรัม โดยการนำไปบ่มไว้ในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 วัน เพื่อให้ได้ปริมาณเส้นใยสูงสุดสำหรับการใช้เป็นเยื่อกระดาษในการผลิตกระดาษห่ออาหาร จากนั้นจึงนำเส้นใยที่ได้มาขึ้นรูปเป็นกระดาษห่ออาหารแล้วจึงทำการพัฒนาสารเคลือบผิวกระดาษจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวในปริมาณ 1 ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ (w w⁻¹) ก่อนนำมาทดสอบการต้านทานเชื้อรา 3 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus niger* เชื้อรา *Aspergillus flavus* และเชื้อรา *Penicillium chrysogenum* (เชื้อราที่แยกได้จากผิวหน้าของกระดาษที่พัฒนาขึ้น) จากนั้นจึงนำกระดาษที่พัฒนาขึ้นและมีสารเคลือบจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยมาบรรจุข้าวกล้องเพื่อหาความเป็นไปได้ในการยับยั้งเชื้อราบนผิวหน้าของข้าวกล้อง ผลการทดลองพบว่าเปลือกกล้วยในปริมาณตั้งแต่ 6 กรัมขึ้นไป ในน้ำ 100 มิลลิลิตร ให้ปริมาณเส้นใยของเชื้อราสายพันธุ์ *T. versicolor* ในระหว่างช่วง 0.225±0.066 กรัม ถึง 0.245±0.061 กรัม ซึ่งเทียบเท่ากับอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุมทางการค่านอกจากนั้นยังพบว่าสารเคลือบกระดาษจากแป้งมันสำปะหลังที่ผสมน้ำมันหอมระเหยมะนาวที่ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสามชนิดที่นำมาทดสอบบนผิวของกระดาษและสามารถยับยั้งเชื้อราตามธรรมชาติที่พบบนผิวหน้าของกระดาษที่เก็บไว้ในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์จากเดิม 1 สัปดาห์ได้นานกว่า 12 สัปดาห์และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาข้าวกล้องจาก 5 วัน เป็นเวลานานกว่า 30 วันโดยไม่พบเชื้อราบนผิวหน้าของข้าวกล้อง จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอาหารห่อกระดาษที่พัฒนามาจากเส้นใยของเชื้อรา *T. versicolor* ที่เคลือบด้วยแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่สามารถเจริญบน

กระดาษจากเชื้อราและมีแนวโน้มในการนำไปห่ออาหารเพื่อความปลอดภัยได้ จึงเป็นทางเลือกให้แก่ผู้บริโภคที่ต้องการเลือกใช้กระดาษที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและย่อยสลายได้

คำสำคัญ: น้ำมันหอมระเหยมะนาว กระดาษต้านเชื้อรา แป้งมันสำปะหลัง สารเคลือบกระดาษ

Abstract

The objective of this research was to develop antifungal food wrapping paper from *Trametes versicolor* mixed with lime oil to inhibit fungal growth on paper packaging. The culture medium was prepared over different amounts of banana peel content (2g to 10g 100 ml⁻¹) and inoculated with *T. versicolor* mycelium at 10mg before it was kept at 25° C for 6 days. Fungal paper process in this study was first developed. Then, the cassava starch incorporated with lime oil (1-10%w w⁻¹) against *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium chrysogenum* (isolation and identification from the fungal paper's surface) was examined. Antifungal food wrapping paper with the cassava starch incorporated with lime oil was also used to inhibit natural mold growth on brown rice. Results indicated that a significant variable affecting high yield pulp (between 0.225±0.066 g to 0.245±0.061 g) was observed on the sixth day when using banana peel content ≥6 g ml⁻¹ (not different from control by using commercial medium). Furthermore, cassava starch incorporated with lime oil at 7.5% ww⁻¹ was the most effective essential oil inhibitor against all molds in this test on paper surface and could extend packaging's shelf life from mold spoilage (1 week) for more than 12 weeks at storage conditions of 25°C and 100%. It was found that antifungal food wrapping paper with the cassava starch incorporated with lime oil (7.5%ww⁻¹) could provide 100% inhibition of surface molds on brown rice for more than 30 days of storage (control start decayed at day 5). Therefore, fungal paper packaging coated with cassava starch incorporated with lime oil is an alternative choice for consumers concerned with food safety and is a potential material for biodegradable packaging development in the future.

Keywords: Lime oil, antimicrobial paper, cassava starch, coating

1. บทนำ

ปัจจุบันบรรจุภัณฑ์พลาสติกเข้ามามีบทบาทสำคัญต่อชีวิตประจำวันของมนุษย์อย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ โดยการผลิตและการใช้พลาสติกในโลกมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุก ๆ ปี [1] ส่งผลให้ปริมาณขยะพลาสติกเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ ก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากพลาสติกเป็นวัสดุที่ย่อยสลายได้ยากในธรรมชาติต้องอาศัยเวลาในการย่อยสลายยาวนาน ดังนั้นการผลิตบรรจุภัณฑ์ที่ย่อยสลายได้เพื่อนำมาใช้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง [2] งานวิจัยนี้สนใจพัฒนากระดาษห่ออาหารเพราะสามารถย่อยสลายได้ง่ายกว่าบรรจุภัณฑ์จากพลาสติก แต่ในการผลิตกระดาษมีหลายขั้นตอนที่ต้องใช้สารเคมีในการผลิต เช่น ขั้นตอนการเตรียมเยื่อไม้ (Pulping process) การฟอกสีเยื่อไม้ (Bleaching process) ซึ่งมีการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งทำให้เกิดมลพิษทางน้ำซึ่งท้ายที่สุดน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิตกระดาษก็กลายเป็นน้ำ

เสียที่มีสารจำพวกแทนนิน (Tannins) ลิกนิน (Lignins) เรซิน (Resins) และสารประกอบคลอรีน (Chlorine compounds) ซึ่งน้ำเสียเหล่านี้ยังมีสารประกอบอินทรีย์ อนินทรีย์ และสารเคมีที่มีความเป็นพิษสูง [3] นอกจากนั้นการผลิตกระดาษโดยทั่วไปใช้เยื่อไม้เป็นวัตถุดิบซึ่งต้องใช้เวลาในการเพาะปลูก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนากระดาษจากเส้นใยของเชื้อราสายพันธุ์ *Trametes versicolor* ซึ่งเป็นเชื้อราสีขาว ซึ่งเส้นใยของเชื้อราสายพันธุ์นี้เมื่อถูกนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวจะให้เส้นใยที่มีลักษณะคล้ายเยื่อกระดาษจึงสามารถนำมาขึ้นรูปเป็นกระดาษได้ ซึ่งเชื้อราสายพันธุ์นี้ยังเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผลิตมาจากวัตถุดิบทางการเกษตรได้ เช่น ปลายข้าว [4] จึงทำให้การผลิตกระดาษจากวิธีการนี้มีต้นทุนต่ำ โดยงานวิจัยนี้ได้นำเปลือกกล้วยซึ่งเป็นวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ในการพัฒนาสูตรอาหารเพื่อเลี้ยงเชื้อรานี้เนื่องจากเปลือกกล้วยมีคาร์โบไฮเดรต วิตามิน กรดอะมิโน

ไขมัน โพลีแซคคาไรด์ [5] ที่เชื้อราสามารถนำมาใช้ในการเจริญได้ ทั้งนี้เชื้อราสายพันธุ์นี้ยังถูกนำไปใช้ในการผลิตยารักษาโรคเครื่องสำอางที่น่ากลับมาใช้ในมนุษย์ได้จึงมีความปลอดภัยในการนำมาผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์กระดาษสำหรับห่ออาหาร [6]

แต่อย่างไรก็ตามกระดาษที่มีการผลิตจากเส้นใยของเชื้อรายังมีข้อจำกัดในการนำไปใช้งาน เนื่องจากมีอายุการเก็บรักษาที่สั้น โดยสาเหตุหลักมาจากการถูกทำลายโดยเชื้อราจากสิ่งแวดล้อมซึ่งพบบนกระดาษทั่วไป ดังนั้นแนวทางในการยืดอายุกระดาษประเภทนี้คือการประยุกต์ใช้สารเคลือบจากแป้งมันสำปะหลังร่วมกับน้ำมันหอมระเหย ซึ่งแป้งมันสำปะหลังนี้มีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำมันหอมระเหยและสามารถรีงกลั่นได้ดี [7] ดังนั้นการประยุกต์ใช้สารเคลือบจากแป้งมันสำปะหลังที่มีน้ำมันหอมระเหยมาเคลือบบนผิวหน้ากระดาษจึงมีแนวโน้มทำให้กระดาษที่ผ่านการเคลือบใช้งานได้นานขึ้น โดยนักวิจัยได้เลือกใช้น้ำมันหอมระเหยจากมะนาวเนื่องจากน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวมีสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial agent) ทำให้ยับยั้งเชื้อราได้หลายชนิด เช่น เชื้อรา *Aspergillus niger* เชื้อรา *Penicillium phrysogenum* และเชื้อรา *Penicillium* sp. ได้อีกด้วย [8] และการใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มและมะนาวในระยะเวลา 15 นาที สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. chrysogenum* *A. niger* และ *Alternaria alternata* จาก 43.8 66.9 และ 34.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับและยังช่วยลดปริมาณสปอร์ได้อีกด้วย [9]

งานวิจัยนี้ได้นำกระดาษที่พัฒนาขึ้นไปห่ออาหารเพื่อหาแนวโน้มในการนำไปเก็บรักษาข้าวกล้อง เนื่องจากข้าวกล้องมีคุณค่าทางโภชนาการสูง และยังมีแหล่งอาหารที่สำคัญต่อร่างกายเพราะมีทั้ง โปรตีน เยื่อใย วิตามินและแร่ธาตุที่มากกว่าข้าวขาวที่ผ่านการขัดสีแล้ว [10] ซึ่งทำให้ข้าวกล้องมักเน่าเสียได้ง่ายจากเชื้อราเพราะข้าวกล้องเป็นแหล่งอาหารที่สมบูรณ์ที่เชื้อราใช้ในการเจริญเติบโต หากมีการเพิ่มมูลค่าข้าวกล้องและเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภคจะทำให้ข้าวกล้องที่เก็บรักษาในกล่องกระดาษที่พัฒนาขึ้นนี้มีมูลค่าที่สูงขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการพัฒนาสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อรา *T. versicolor* จากเปลือกกล้วยและนำเอาเส้นใยที่ได้ไปพัฒนาเป็นกระดาษ จากนั้นจึงพัฒนาสารเคลือบกระดาษจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยมะนาวเพื่อยืดอายุของกระดาษที่พัฒนาขึ้น และทดสอบ

หาความเป็นไปได้ในการนำมาใช้งานจริงโดยการนำกระดาษที่พัฒนาขึ้นไปทดสอบการยืดอายุการเก็บรักษาข้าวกล้อง

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 การพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อราจากเปลือกกล้วย

2.1.1 การเตรียมเปลือกกล้วยทำโดยนำเปลือกกล้วยน้ำว้า (ระยะที่ 6 ผิวเปลือกทั่วผลจะมีสีเหลืองทั้งหมด เป็นระยะผลสุกพอดี แต่ยังไม่มียาง) มาหั่นเป็นชิ้นให้ได้ความยาว 2-3 เซนติเมตร แล้วจึงนำมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมงหรือจนได้ความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปบดด้วยเครื่องบดให้ได้เป็นผงละเอียด จากนั้นนำไปคัดขนาดด้วยตะแกรงเบอร์ 30 จนได้ผงเปลือกกล้วยละเอียดที่มีขนาดเล็กกว่า 0.60 มิลลิเมตรก่อนนำมาทำการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1.2 การเตรียมเชื้อราสายพันธุ์ *Trametes versicolor* นำเชื้อราสายพันธุ์ *T. versicolor* (WU0704) ที่เก็บรักษาไว้ที่ห้องปฏิบัติการด้านเทคโนโลยีการป้องกันเนื้อไม้ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมน้ำมันหอมระเหย มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ มาเลี้ยงไว้ในอาหารเหลว Potato Dextrose Broth (PDB) (Merck Ltd, Thailand) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำหัวเชื้อรามาใช้ในการทดลอง

2.1.3 การพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อรา *T. versicolor* จากเปลือกกล้วยเพื่อผลิตเยื่อกระดาษ โดยชั่งเปลือกกล้วยอบแห้งที่เตรียมไว้ในปริมาณ 2 กรัม 4 กรัม 6 กรัม 8 กรัม และ 10 กรัม มาต้มให้เดือดในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปบรรจุในขวดแก้วเพื่อนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยชุดทดลองควบคุมคือชุดที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ทำการปรับค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อในทุกสูตรให้ได้ 3.5 โดยใช้กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid) จากนั้นจึงนำหัวเชื้อราที่เตรียมไว้ในข้อ 2.1.2 ปริมาณ 10 กรัมมาเติมในอาหารเลี้ยงเชื้อราที่พัฒนาขึ้น แล้วนำไปหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน โดยให้อากาศตลอดระยะเวลาการหมักโดยใช้เครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 125 รอบต่อนาที (Binder, Germany) เมื่อครบ 6 วันจึงทำการเก็บเกี่ยวเส้นใยเชื้อราโดยการนำอาหารเลี้ยงเชื้อมารองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วจึงนำเฉพาะส่วนของ

เส้นใยเชื้อราที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อไปล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วนำเส้นใยเชื้อรามาทำการอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำเส้นใยที่แห้งไปวางในโถดูดความชื้น แล้วนำไปชั่งน้ำหนักแห้งโดยใช้เครื่องชั่งน้ำหนักสี่ตำแหน่งแล้วทำการบันทึกค่า น้ำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณน้ำหนักแห้ง ดังสมการที่ 1

$$\text{ปริมาณน้ำหนักแห้ง} = B - A \quad \dots \text{สมการที่ 1}$$

เมื่อ A คือ น้ำหนักของกระดาดกรอง (g)

B คือ น้ำหนักของกระดาดกรองที่มีเส้นใยเชื้อรา (g)

2.1.4 การวิเคราะห์ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่พัฒนาขึ้น โดยทำการวัดในวันแรกที่เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อปรับ pH ให้ได้ 3.5 และนำอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งชุดทดลองและชุดควบคุมมาทำการวัดค่า pH หลังจากที่ได้เก็บเกี่ยวเส้นใยของเชื้อราในวันที่ 6 ของการบ่ม การวัดค่า pH ทำได้โดยการใช้เครื่อง pH meter model ST3100-F (Ohaus Corp., USA) โดยเริ่มจากการปรับเทียบเครื่อง pH meter ก่อนการใช้งาน แล้วจึงทำการวัดค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วจึงอ่านค่าที่ได้แล้วทำการบันทึกผล

2.1.5 การเตรียมกระดาดจากเส้นใยเชื้อราโดยการนำเส้นใยของเชื้อรา *T. versicolor* ที่เก็บเกี่ยวได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อจากเปลือกกล้วยและอาหารเลี้ยงเชื้อทางการค้า (PDB) ไปผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันร้อนขึ้น (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นจึงนำมาขึ้นรูปกระดาดโดยการผสมเส้นใยที่ได้กับกระดาดทางการค้า (Commercial Cone Cup, Thailand) ในอัตราส่วน 70 ต่อ 30 (เพื่อให้เส้นใยของเชื้อราสามารถยึดเกี่ยวกันจนเป็นกระดาดได้) หลังจากนั้นนำมาเทลงบนพิมพ์รูปร่างกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง (Binder, Germany)

2.1.6 การวัดค่าสี (L^* , a^* และ b^*) ของกระดาดจากเชื้อรา *T. versicolor* ที่พัฒนาขึ้นทำได้โดยการใช้เครื่องวัดสี ColourFlex EZ Colorimeter (Hunter Associates Laboratory Inc., USA) โดยเริ่มจากการปรับเทียบเครื่องวัดสีก่อนการทดลอง แล้วอ่านค่าที่ได้แล้วทำการบันทึกผล โดยรายงานผลเป็นค่า L^* , a^* และ b^* โดยค่า L^* คือค่าความสว่าง

ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100 (Lightness) ค่า a^* คือค่าสีแดง (+) และสีเขียว (-) (Redness/Greenness) และค่า b^* คือค่าสีเหลือง (+) และสีน้ำเงิน (-) (Yellowness/Blueness)

2.2 การพัฒนาสารเคลือบผิวกระดาดจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยจากมะนาว

2.2.1 การเคลือบกระดาดด้วยสารเคลือบผิวกระดาดจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยมะนาว การเตรียมสารเคลือบผิวจากแป้งมันสำปะหลังโดยดัดแปลงจากวิธีของ Souza and et al. [7] โดยชั่งแป้งมันสำปะหลังปริมาณ 5 กรัม สารละลายทวิน 80 ปริมาณ 0.5 กรัม และกลีเซอรอล 0.5 กรัม จากนั้นเติมน้ำลงไปให้น้ำหนัก 70 กรัมผสมให้เข้ากันแล้วนำส่วนผสมที่ได้ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาทีหรือจนได้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมน้ำมันหอมระเหยมะนาว (บริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด) ปริมาณร้อยละ 0 (ชุดควบคุม), 2.5, 5.0, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และเติมน้ำให้น้ำหนักสุดท้ายเท่ากับ 100 กรัม แล้วทำกวนให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนสารด้วยแม่เหล็กเป็นเวลา 5 นาที นำสารเคลือบที่ได้ปริมาณ 1 กรัมมาทดลองบนกระดาดจากเชื้อราที่เตรียมไว้ในข้อ 2.1.5 แล้วอบด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

2.2.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารเคลือบจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยมะนาวในการยับยั้งเชื้อราบนผิวหน้าของกระดาดที่พัฒนาขึ้นโดยใช้วิธีการทดสอบ 2 วิธีดังนี้

2.2.2.1 การนับปริมาณเชื้อราบนผิวหน้าของกระดาด โดยนำกระดาดจากเชื้อรา (ชุดควบคุม) และกระดาดจากเชื้อรา *T. versicolor* ที่เคลือบสารเคลือบจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยมะนาวในความเข้มข้นต่าง ๆ ในข้อ 2.2.1 มาเติมสารละลายสปอร์ของเชื้อรา (ปริมาณ 1 มิลลิลิตร) ในแต่ละสายพันธุ์ของเชื้อราจำนวน 3 สายพันธุ์ 'โต' แก' *Aspergillus niger* *Aspergillus flavus* และ *Penicillium chrysogenum* (ทั้งสามสายพันธุ์เป็นเชื้อราที่แยกได้จากผิวหน้าของกระดาดจากเชื้อรา *T. versicolor*) โดยมีความเข้มข้นของสปอร์เริ่มต้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจนครบ 7 วัน นำกระดาดที่มีการเติมเชื้อราบนพื้นผิวหน้ามานับปริมาณโดยใช้จานอาหารเลี้ยงเชื้อ Malt Extract Agar (MEA) แล้วทำวิเคราะห์หาปริมาณการลดลงของเชื้อราดังสมการที่ 2

ปริมาณการลดลงของเชื้อรา ($\log_{10} \text{CFU.g}^{-1}$) = (A) – (B)

..... สมการที่ 2

เมื่อ A คือ ปริมาณเชื้อราทั้งหมดที่นับได้จากกระดาศชุดควบคุม (CFU g^{-1})

B คือ ปริมาณเชื้อราทั้งหมดที่นับได้จากกระดาศชุดทดลอง (CFU g^{-1})

2.2.2.2 การทดสอบการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าของกระดาศที่เก็บรักษาไว้ในสภาวะเร่ง โดยการนำกระดาศจากเชื้อรา (ชุดควบคุม) และกระดาศจากเชื้อราชุดทดลอง มาเก็บรักษาที่สภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์แล้วสังเกตการเจริญของเชื้อราบนพื้นผิวกระดาศจากเชื้อราโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ สัปดาห์แล้วทำการบันทึกผลการทดลอง

2.3 การศึกษาอายุการเก็บรักษาข้าวกล้องที่บรรจุในกระดาศจากเชื้อราที่มีสารเคลือบผิวจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยมะนาว

การศึกษาอายุการเก็บรักษาข้าวกล้องทำโดยการนำข้าวกล้อง (100 กรัม) บรรจุลงในจานแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตรที่มีกระดาศจากเชื้อราที่มีสารเคลือบผิวจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวที่เตรียมได้จากข้อ 2.1.5 วางอยู่บนผิวหน้าของข้าวกล้องที่อยู่ในจานแก้วแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน ทำการสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อราบนผิวหน้าของข้าวกล้องโดยการให้คะแนนการเจริญของเชื้อราตั้งแต่ระดับ 0 ถึง 5 คะแนน ซึ่งคะแนนระดับ 0 คะแนน คือ ไม่พบการเจริญของเชื้อรา และคะแนนระดับที่ 5 คะแนน คือพบการเจริญของเชื้อราทั่วบริเวณผิวหน้าของข้าวกล้อง คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ของตัวอย่าง [11] แล้วนำคะแนนการเก็บรักษาจนครบ 30 วันมาคำนวณหาร้อยละของการเจริญเติบโตของเชื้อราบนผิวหน้าของกระดาศที่มีสารเคลือบผิวจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวและผิวหน้าของข้าวกล้อง ดังสมการที่ 3

ร้อยละของการเจริญเติบโต = $A/B \times 100$

..... สมการที่ 3

เมื่อ A คือ คะแนนการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าของข้าว

กล้องที่มีกระดาศชุดทดลองอยู่บนผิวหน้า

B คือ คะแนนการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าของข้าว

กล้องที่มีกระดาศชุดควบคุมอยู่บนผิวหน้า

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลที่ได้จากการวัดค่าต่างๆมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ One-Way ANOVA ด้วยโปรแกรม Statistica software (StatSoft India Pvt. Ltd., USA)

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

3.1 ผลการพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อราจากเปลือกกล้วยเพื่อเพิ่มปริมาณเส้นใยเชื้อรา

จากการศึกษาการพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อจากเปลือกกล้วยเพื่อเพิ่มปริมาณเส้นใยเชื้อราสายพันธุ์ *Trametes versicolor* เพื่อนำไปผลิตเป็นกระดาศจากเส้นใยเชื้อราพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจากเปลือกกล้วยตั้งแต่ 6 กรัมถึง 10 กรัมในน้ำ 100 มิลลิลิตร ให้ปริมาณเส้นใยเชื้อรามากที่สุด คือ ระหว่าง 0.225 ± 0.066 กรัม ถึง 0.245 ± 0.061 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อจากเปลือกกล้วยที่มีเปลือกกล้วยปริมาณ 2 และ 4 กรัมต่อ น้ำ 100 มิลลิลิตรและมีปริมาณเส้นใยของเชื้อราที่ใกล้เคียง ($P < 0.05$) กับอาหารเลี้ยงเชื้อทางการค้า PDB ดัง Table 1 ซึ่งจากผลการทดลองที่พบว่าเชื้อราสายพันธุ์ *T. versicolor* เจริญได้เป็นอย่างดีในอาหารเลี้ยงเชื้อจากเปลือกกล้วยเนื่องจากเชื้อราสายพันธุ์นี้สามารถผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิด เช่น เอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส (β -glucosidase) โปรตีนเอส (Protease) และแลคเคส (Laccase) [12], [13] ที่สามารถย่อยคาร์โบไฮเดรต โยอาหารที่มีปริมาณมากในเปลือกกล้วยได้ [5] โดยจะสร้างเส้นใย (Mycelium) จะที่สามารถมองเห็นได้ มีลักษณะกระจายตัวคล้ายเยื่อกระดาศจนสามารถนำมาเก็บเกี่ยวขึ้นรูปเป็นกระดาศได้ [4]

Table 1 Fungal mycelium grown on the medium

Medium	Weight (g 100 ml ⁻¹)	Yields (g 100 ml ⁻¹)	pH
Banana peel	2	0.023±0.008 ^c	5.9
	4	0.126±0.003 ^b	5.9
	6	0.225±0.066 ^a	5.8
	10	0.245±0.061 ^a	5.8
PDB (Control)		0.268±0.060 ^a	5.7

สำหรับความเป็นกรดต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อภายหลังจากที่เชื้อราได้เจริญจนครบ 6 วัน พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปลือกกล้วยให้ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อไม่แตกต่างกันจากอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ซึ่งเชื้อราสามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่า pH เริ่มต้นที่ 3.5 และในระหว่างการเจริญเติบโตได้ผลิตเอ็นไซม์เพื่อย่อยสลายอาหารและให้ผลผลิตคือเส้นใย รวมถึงได้ผลิตสารต่างๆออกมาจนทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ที่สูงขึ้น (มีความเป็นด่าง) ซึ่ง pH ที่วัดได้อยู่ระหว่าง 5.7-5.9 เมื่อทำการเก็บเกี่ยวเส้นใยของเชื้อราแล้วนำเส้นใยของเชื้อราไปขึ้นรูปเป็นกระดาษจากนั้นจึงนำมาวัดค่าสีของกระดาษได้ผลการทดลองดัง Table 2

Table 2 Color (L* a* and b*) of developed fungal paper

Color of paper	Banana peel	PDB (Control)
L*	14.13± 1.40 ^b	29.33±0.73 ^a
a*	1.47± 0.24 ^a	-1.38±0.18 ^b
b*	1.33±0.62 ^b	9.31±1.86 ^a

^{a-b} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P<0.05

จาก Table 2 พบว่า ค่าสีของกระดาษที่ผลิตจากอาหารเลี้ยงเชื้อจากเปลือกกล้วยมีค่าความสว่าง (L*) และค่า b* ต่ำกว่ากระดาษที่ผลิตมาจากอาหารเลี้ยงเชื้อทางการค้า PDB ซึ่ง Jönsson and et al. [12] ได้รายงานเชื้อราสายพันธุ์ *T. versicolor* มักมีสีของเส้นใยตามสีของอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อรา ซึ่งการเปลี่ยนสีขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาของเอนไซม์แลคเคส

ที่เชื้อราสร้างกับกรดของอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นๆ ซึ่งเปลือกกล้วยมีสารสีเหลืองและสีแดงของแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) และรูทีโนไซด์ (Rutinoside) [14] และมีเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase) เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (Peroxidase) ซึ่งทำให้เกิดสีน้ำตาลได้ [15] สารสีและปฏิกิริยาทั้งหมดนี้จึงทำให้กระดาษที่ได้จากขึ้นรูปจากเส้นใยของเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อจากเปลือกกล้วยมีสีออกสีแดงและสว่างน้อยกว่าชุดควบคุม PDB

3.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ของสารเคลือบผิวกระดาษจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยมะนาวในการยับยั้งเชื้อรา

ผลการศึกษาฤทธิ์ของสารเคลือบผิวกระดาษจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยมะนาวในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus niger* เชื้อรา *Aspergillus flavus* และเชื้อรา *Penicillium chrysogenum* ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากผิวหน้าของกระดาษที่พัฒนาขึ้นพบว่าสารเคลือบผิวกระดาษผสมน้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์ได้ดีมากดัง Figure 1 โดยเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยมะนาวเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเคลือบลงบนกระดาษสามารถลดปริมาณของเชื้อรา *A. niger* เชื้อรา *A. flavus* และ เชื้อรา *P. chrysogenum* ได้เท่ากับ 3 log CFU g⁻¹ 2.7 log CFU g⁻¹ และ 2.5 log CFU g⁻¹ ตามลำดับ และเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวให้เพิ่มมากขึ้นตั้งแต่ 7.5 ถึง 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ทั้ง 3 สายพันธุ์ได้อย่างสมบูรณ์ จากผลการทดลองจึงพบว่าแป้งมันสำปะหลังซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตสามารถดูดซับน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวได้นอกจากนั้นแล้วยังพบว่าแป้งมันสำปะหลังสามารถปลดปล่อยไอระเหยของน้ำมันหอมระเหยได้ ซึ่งทำให้ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราทั้งสามชนิดได้ [10] ซึ่งมีรายงานว่าแป้งมันสำปะหลังที่ผสมน้ำมันหอมระเหยสามารถนำมาขึ้นรูปเป็นฟิล์มเคลือบอาหารและยังออกฤทธิ์ในการป้องกันอาหารไม่ให้เน่าเสียได้ [16] ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองนี้

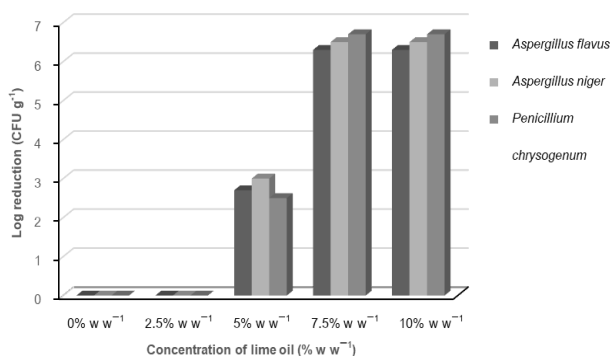


Figure 1 The antimicrobial activity of the cassava starch incorporated with lime oil against mold on surface of wrapping paper from *T. versicolor*

สำหรับผลจากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบแป้งมันสำปะหลังที่มีน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้าของกระดาษที่เก็บรักษาไว้ในสภาวะเร่ง (ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) พบว่า กระดาษที่ผ่านการเคลือบโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยมะนาว ตั้งแต่ 7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Figure 2a) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนผิวหน้ากระดาษได้นานกว่า 12 สัปดาห์ ในขณะที่ชุดการทดลองควบคุม(กระดาษที่ไม่ผ่านการเคลือบด้วยสารเคลือบและกระดาษที่เคลือบด้วยแป้งมันสำปะหลังที่ไม่ผสมน้ำมันหอมระเหย) มีเชื้อราตามธรรมชาติเจริญปกคลุมพื้นผิวกระดาษที่พัฒนาขึ้นตั้งแต่ 3 วันของการเก็บรักษา (Figure 2b)

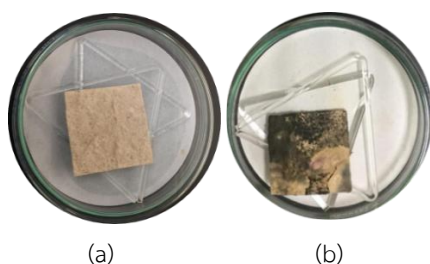


Figure 2 Effect of the cassava starch incorporated with lime oil at concentration 7.5 % w w⁻¹ (a) and (b) control

จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่าไอของน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวได้ถูกปลดปล่อยออกมาจากสารเคลือบกระดาษและไอของน้ำมันหอมระเหยนี้ยังมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของสปอร์และไมซีเลียมของเชื้อราเมื่อ

เปรียบเทียบกับชุดทดลองชุดควบคุม ซึ่งน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวมีสารประกอบหลักซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านทานเชื้อรา คือ สารลิโมนีน (Limonene) ซึ่งสารนี้มีผลทำให้เกิดการเสียหายของผนังเซลล์และออกฤทธิ์ในการต้านทานเชื้อราได้เป็นอย่างดี [17] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารลิโมนีนสามารถออกฤทธิ์โดยทำปฏิกิริยาร่วมกับสารประกอบอื่น ๆ ในกลุ่มโมโนเทอร์พีน (Monoterpenes) ในน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวทำให้การออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อราได้อีกทางหนึ่ง [18] น้ำมันหอมระเหยจากมะนาวยังถูกนำมาใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารอีกหลายชนิด [19] จึงมีความปลอดภัยในการนำมาใช้ในการเติมลงในกระดาษห่ออาหาร

3.3 ผลการศึกษาอายุการเก็บข้าวกล้องที่บรรจุในกระดาษจากเชื้อราที่มีสารเคลือบผิวกระดาษจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยมะนาว

ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาข้าวกล้องที่บรรจุในกล่องกระดาษที่พัฒนาขึ้นมาจากเส้นใยของเชื้อรา *T. versicolor* ที่มีสารเคลือบผิวกระดาษจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยมะนาวพบว่าข้าวกล้องชุดควบคุมที่เก็บรักษาด้วยบรรจุภัณฑ์กระดาษจากเชื้อราที่มีเพียงสารเคลือบผิวจากแป้งมันสำปะหลังโดยไม่ผสมน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวมีการเจริญเติบโตของเชื้อราตามธรรมชาติบนผิวหน้าของข้าวกล้องในปริมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 7 วัน และมีเชื้อราเจริญบนผิวหน้าของข้าวกล้องกว่า 80 เปอร์เซ็นต์และ 100 เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 10 วัน และ 20 วัน ตามลำดับ ส่วนข้าวกล้องที่เก็บรักษาในกล่องกระดาษที่มีสารเคลือบผิวจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวตั้งแต่ปริมาณ 7.5 ถึง 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อราตามธรรมชาติบนผิวหน้าของข้าวกล้องนานถึง 30 วัน ดัง Figure 3 อย่างไรก็ตามตามสภาพดังกล่าวที่ใช้ในการศึกษาเป็นสภาวะเร่ง ซึ่งหากเก็บรักษาไว้ในสภาวะปกติจะสามารถเก็บรักษาข้าวกล้องโดยปราศจากเชื้อราได้นานกว่า 6 เดือน

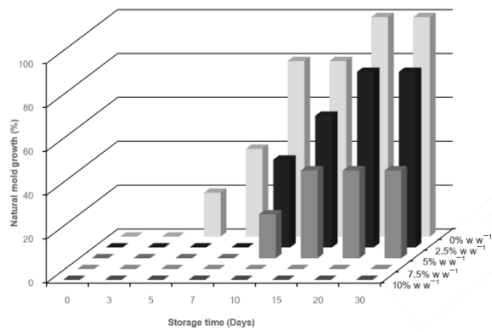


Figure 3 Natural mold growth on surface of brown rice during storage

ทั้งนี้ข้าวกล้องที่ผ่านการเก็บรักษาด้วยกล่องกระดาษที่มีน้ำมันหอมระเหยจากมะนาว 7.5 เปอร์เซ็นต์ในสารเคลือบกระดาษ เมื่อถูกหุงต้มและนำไปทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสกับผู้บริโภคจำนวน 30 คนโดยใช้ 9-point Hedonic พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับกลิ่นรสและให้คะแนนความชอบรวมต่อข้าวกล้องที่หุงสุกในช่วงชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง จึงทำให้การศึกษานี้มีแนวโน้มในการนำไปใช้งานจริงได้ เพราะสามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราและลดการออกของสปอร์ของเชื้อราได้

4. สรุปและเสนอแนะ

เส้นใยของเชื้อรา *Trametes versicolor* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมมาจากเปลือกกล้วยตั้งแต่ 6 ถึง 10 กรัมในน้ำ 100 มิลลิลิตรให้ผลผลิตของเส้นใยใกล้เคียงกันกับการเลี้ยงโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อทางการค้า PDB และเส้นใยของเชื้อรา *T. versicolor* สามารถนำมาขึ้นรูปเป็นกล่องกระดาษได้เป็นอย่างดี ทั้งนี้การใช้สารเคลือบผิวกระดาษจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยมะนาวที่ความเข้มข้นเท่ากับ 7.5 -10 เปอร์เซ็นต์ (% w w⁻¹) สามารถยับยั้งเชื้อราเชื้อรา 3 สายพันธุ์ที่พบในกระดาษ ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus niger* เชื้อรา *Aspergillus flavus* และเชื้อรา *Penicillium chrysogenum* ได้อย่างสมบูรณ์และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาข้าวกล้องให้ปราศจากเชื้อราตามธรรมชาติได้นานกว่า 30 วัน ในสภาวะเร่ง ในขณะที่ชุดทดลองควบคุมพบเชื้อราที่ผิวหน้าของข้าวกล้องในเวลาเพียง 5 วัน ทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาข้าวกล้องได้นานกว่าเดิมกว่า 6 เท่า จากความรู้ของเรื่องนี้ มีข้อเสนอแนะว่า สามารถนำกระดาษจากเชื้อราที่มีสารเคลือบผิวกระดาษจากแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำมันหอมระเหยมะนาวมาประยุกต์ใช้ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อื่นๆ เพื่อป้องกันเชื้อ

ราได้ แต่ต้องมีการศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่เหมาะสมกับการใช้งานในอาหารประเภทนั้น ๆ

5. กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนอุดหนุนประเภทเชื่อมโยงกับบัณฑิตศึกษา สัญญาเลขที่ WU 60611 และทุนอุดหนุนการศึกษาสำหรับผู้มีศักยภาพเข้าศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาประจำปีการศึกษา 2560 สัญญาเลขที่ 03/2560 มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

เอกสารอ้างอิง

- [1] Marsh, K. and Bugusu, B. 2007. Food packaging-roles, materials, and environmental issues. **Journal of food science**. 72(3): R39-R55.
- [2] Malathi, A. N., Santhosh, K. S. and Nidoni, U. 2014. Recent trends of biodegradable polymer: biodegradable films for food packaging and application of nanotechnology in biodegradable food packaging. **Current Trends in Technology and Science**. 3(2): 73-79.
- [3] El-Sakhawy, M. 2005. Effect of bleaching sequence on paper ageing. **Polymer Degradation and stability**. 87(3): 419-423.
- [4] Srikaew, B., Matan, N. and Aewsiri, T. 2017. Innovative production of fungal pulp from *Trametes versicolor* and its application in a fungal paper box containing clove oil. **Journal of food science and technology**. 54(10): 3058-3064.
- [5] Memon, J. R., and et al. 2008. Characterization of banana peel by scanning electron microscopy and FT-IR spectroscopy and its use for cadmium removal. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 66(2): 260-265.

- [6] Tavares, A. P. A., and et al. 2005. Selection and optimization of culture medium for exopolysaccharide production by *Coriolus (Trametes) versicolor*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. 21(8-9): 1499-1507
- [7] Souza, A. C., and et al. 2013. Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. **LWT-Food Science and Technology**. 54(2): 346-352.
- [8] Matan, N. and Matan, N. 2008. Antifungal activities of anise oil, lime oil, and tangerine oil against molds on rubberwood (*Hevea brasiliensis*). **International Biodeterioration & Biodegradation**. 62(1): 75-78.
- [9] Phillips, C. A., Laird, K., and et al. 2012. The use of Citri-V™®-An antimicrobial citrus essential oil vapour for the control of *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* and *Alternaria alternata* in vitro and on food. **Food research international**. 47(2): 310-314.
- [10] Lamberts, L., and et al. 2007. Effect of milling on colour and nutritional properties of rice. **Food chemistry**. 100(4): 1496-1503.
- [11] Suhem, K., and et al. 2017. Enhanced antifungal activity of michelia oil on the surface of bamboo paper packaging boxes using helium-neon (HeNe) laser and its application to brown rice snack bar. **Food Control**. 73: 939-945.
- [12] Jönsson, L., and et al. 1995. Characterization of a laccase gene from the white-rot fungus *Trametes versicolor* and structural features of basidiomycete laccases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology**. 1251(2): 210-215.
- [13] Du, J., and et al. 2015. Potential of extracellular enzymes from *Trametes versicolor* F21a in *Microcystis* spp. Degradation. **Materials Science and Engineering: C**. 48: 138-144.
- [14] Fu, X., and et al. 2018. Comparative analysis of pigments in red and yellow banana fruit. **Food chemistry**. 239: 1009-1018.
- [15] Nadafzadeh, M., Mehdizadeh, S. A., and Soltanikazemi, M. 2018. Development of computer vision system to predict peroxidase and polyphenol oxidase enzymes to evaluate the process of banana peel browning using genetic programming modeling. **Scientia Horticulturae**. 231: 201-209.
- [16] dos Santos Caetano, K., and et al. 2018. Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. **Food packaging and shelf life**. 16: 138-147.
- [17] Matan, N., and Matan, N. 2008. Antifungal activities of anise oil, lime oil, and tangerine oil against molds on rubberwood (*Hevea brasiliensis*). **International Biodeterioration & Biodegradation**. 62(1): 75-78.

- [18] Caccioni, D. R., and et al. 1998. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *International Journal of Food Microbiology*. 43(1-2): 73-79.
- [19] Matan, N. 2012. Antimicrobial activity of edible film incorporated with essential oils to preserve dried fish (*Decapterus maruadsi*). *International Food Research Journal*. 19(4): 1733-1738.