

บรรจุภัณฑ์ด้านจุลชีพจากเซลลูโลส ไคโตซาน และไคโตซานดัดแปร-ซิลเวอร์คอมเพล็กซ์

Antimicrobial Packaging Made from Cellulose, Chitosan, and Modified Chitosan-Silver Complex

ช.วยากรณ์ เพ็ชฌุไพศิษฐ์* และปาณิสรา แสงนาค

ภาควิชาเคมี และ ศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านวัสดุชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยนเรศวร ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

เพชรรุ้ง เสนานูช

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยนเรศวร ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

Chor. Wayakron Phetphaisit* and Panisa Sangnak

Department of Chemistry and Center of Excellence in Biomaterials, Faculty of Science,

Naresuan University, Tha Pho, Muang, Phitsanulok 65000

Petrung Seananud

Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture Natural Resources and Environment,

Naresuan University, Tha Pho, Muang, Phitsanulok 65000

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการพัฒนาวัสดุคอมพอสิตชนิดใหม่จากเซลลูโลส ไคโตซาน ไคโตซานดัดแปร และซิลเวอร์ไอออนที่ถูกตรึงไว้ เพื่อใช้เป็นบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ขั้นแรกเป็นการเตรียมไคโตซานดัดแปร โดยให้ทำปฏิกิริยากับฟอสฟอรีนเอไมด์กับ 2-อะคริลามิโด-2-เมทิลโพรเพนซัลโฟนิคแอซิดมอนอเมอร์ (AMPs) เพื่อใช้เป็นสารเคลือบ ซึ่งหมู่ซัลโฟเนตที่เกิดการเคลือบกับซิลเวอร์ไอออนจะช่วยลดการหลุดออกของซิลเวอร์ไอออนจากบรรจุภัณฑ์ แล้วใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) และรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ (XRD) เพื่อยืนยันการปรากฏของซิลเวอร์ไอออนในเซลลูโลสคอมพอสิต จากนั้นศึกษาผลของความเข้มข้น (0.015-0.6 % โดยน้ำหนัก) ของซิลเวอร์ไอออนต่อประสิทธิภาพการต้านจุลชีพ พบว่าการเคลือบซิลเวอร์ไอออนปริมาณ 0.015 % โดยน้ำหนัก มีประสิทธิภาพเพียงพอในการต้านจุลินชีพทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ นอกจากนี้การเคลือบร่วมกับหมู่ซัลโฟเนตให้การหลุดออกของซิลเวอร์ไอออนสู่สารละลายความเป็นกรด-ด่าง 4-12 เพียง 0.07-0.3 % ซึ่ง

กล่าวโดยสรุปได้ว่าบรรจุภัณฑ์ที่ได้มีการหลุดของโลหะไอออนที่อันตรายออกมาน้อย ทั้งยังแสดงสมบัติการต้านจุลชีพ และสมบัติเชิงกลที่ดี ดังนั้นวัสดุคอมพอสิตที่เตรียมได้นี้มีศักยภาพเพียงพอที่จะใช้เป็นบรรจุภัณฑ์แอคทีฟสำหรับอาหาร

คำสำคัญ : บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ; ซิลเวอร์ไอออน; เซลลูโลส; ไคโตซาน; ปฏิกริยากราฟต์โคพอลิเมอร์

Abstract

In this study, new composite materials from cellulose, chitosan, modified chitosan, and immobilized silver ions have been developed to obtain an active packaging. In the first step, modified chitosan was prepared by graft- copolymerization with 2- acrylamido- 2- methyl propanesulfonic acid monomer (AMPs) as a chelating agent. The sulfonate group was used in chelation with silver ion for reducing the leakage silver ions from the packaging. Scanning electron microscope (SEM) and X-ray diffraction (XRD) pattern confirmed the presence of silver ions in the cellulose composite. The effects of different concentrations (0.015-0.6 wt%) of silver ions on antimicrobial activity have been investigated. It was observed that the chelation of silver ions resulting in the content of 0.015 wt% showed a good potential for antimicrobial activity against both Gram-positive and Gram-negative bacteria. Furthermore, the chelation with sulfonate groups resulted in about 0.07-0.3 % of silver ions being released from the composite to aqueous solution in the pH range 4- 12. In summary, the obtained packaging exhibited very low release of the toxic metal ions. The materials also exhibited good antimicrobial and mechanical properties. Therefore, this composite material displays the potential use as active packaging in food applications.

Keywords: active packaging; silver ion; cellulose; chitosan; graft-copolymerization

1. บทนำ

บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active packaging) ได้รับความสนใจในการพัฒนาจากนักวิจัยทั่วโลกในปัจจุบัน เนื่องจากบรรจุภัณฑ์แอคทีฟเป็นบรรจุภัณฑ์ที่มีสมบัติเฉพาะตามที่ใช้ใช้งานต้องการ ได้แก่ สามารถควบคุมการผ่านเข้าออกของก๊าซ (gas barrier) ออกซิเจน และ/หรือ คาร์บอนไดออกไซด์ สามารถดูดหรือลดก๊าซเอทิลีน หรือมีประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพ เป็นต้น [1] จุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และรา พบว่ามีส่วนอย่างมากต่อการเร่งการเน่าเสีย

ของอาหาร การพัฒนาบรรจุภัณฑ์ที่สามารถลดหรือชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ฝังตัวอยู่ในอาหาร จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับอุตสาหกรรมอาหาร ทั้งการรักษาคุณภาพของอาหารและเพิ่มอายุของอาหาร (shelf life) ให้ยาวนานมากขึ้น การเติมสารเติมแต่ง ได้แก่ กรดอินทรีย์ สารสกัดธรรมชาติ (น้ำมันหอมระเหย) สารแอนติไบโอติก และสารฆ่ารา พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แต่สารเติมแต่งโมเลกุลเล็กเหล่านี้สามารถเกิดการหลุดออกจากบรรจุภัณฑ์ เช่น เกิดการระเหยของกรด หรือ

การเคลื่อนตัว (migration) ของสารเติมแต่งออกจากบรรจุภัณฑ์เมื่อบรรจุภัณฑ์ขึ้นหรือเปื่อย ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของบรรจุภัณฑ์ลดลง เมื่อเก็บบรรจุภัณฑ์นั้นไว้เป็นเวลานาน หรือเมื่อใช้งานที่ต้องสัมผัสกับความชื้น (ไอน้ำจากการคายน้ำของผักผลไม้ หรือของเหลวที่ออกจากเนื้อสัตว์) เป็นเวลานาน

สารเติมแต่งตัวหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ คือ ซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) โดย Ag^+ เมื่อสัมผัสกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียหรือราจะสามารถเกาะกับผนังเซลล์และแทรกเข้าไปภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ รบกวนการทำงานในระดับเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถขยายเซลล์หรือแบ่งเซลล์ และตายในที่สุด ปัจจุบันซิลเวอร์ที่นิยมเติมลงในบรรจุภัณฑ์อยู่ในฟอร์มของอนุภาคซิลเวอร์ขนาดนาโน ซึ่งเป็นอนุภาคขนาดเล็ก มีพื้นผิวมากสามารถเปลี่ยนเป็น Ag^+ มาก ทำให้มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตาม การเติมอนุภาคซิลเวอร์ลงไปผสมร่วมกับบรรจุภัณฑ์โดยตรง อนุภาคซิลเวอร์ดังกล่าวสามารถหลุดออกจากผลิตภัณฑ์ไปปนเปื้อนกับสิ่งแวดล้อมและอาหาร [2] แม้ว่านักวิจัยบางส่วนกล่าวว่าซิลเวอร์เป็นธาตุเฉื่อยที่มีในธรรมชาติและมีความปลอดภัยต่อร่างกายมนุษย์ [3] แต่การปลดปล่อยอนุภาคซิลเวอร์จำนวนมากลงสู่สิ่งแวดล้อมหรืออาหารยังมีข้อถกเถียงกันถึงอันตรายที่สัตว์และมนุษย์ได้รับในระยะยาว เพราะมีการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการพบว่าการรับอนุภาคซิลเวอร์นาโนปริมาณ 1-200 $\mu g/mL$ เป็นเวลา 15 นาที ถึง 24 ชั่วโมง ส่งผลกระทบต่อตัวสุจิ ปอด ตับ สมอง และอวัยวะส่วนอื่น ๆ [4,5] ดังนั้นประเทศต่าง ๆ จึงเริ่มออกมาตรการควบคุมการหลุดของซิลเวอร์ออกจากบรรจุภัณฑ์ โดยเฉพาะสหภาพยุโรปได้ออกเกณฑ์ควบคุมการหลุดของซิลเวอร์ในบรรจุ

ภัณฑ์ที่เกี่ยวกับอาหารว่าต้องมีปริมาณซิลเวอร์หลุดออกจากผลิตภัณฑ์ได้ไม่เกิน 0.05 mg/kg ของอาหาร [6,7] ดังนั้นงานวิจัยใหม่ ๆ จึงเน้นพัฒนาให้อนุภาคซิลเวอร์สามารถอยู่ในผลิตภัณฑ์ได้นาน มีการหลุดออกจากผลิตภัณฑ์ได้น้อยลง เช่น การปรับโครงสร้างของอนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยสารเคมีให้มีหมู่ฟังก์ชันนอลที่สามารถเกิดอันตรกิริยาทางเคมีกับบรรจุภัณฑ์ หรือการทำให้เกิดการฟอร์มคอมเพล็กซ์ของ Ag^+ กับสารคีเลต เช่น เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (EDTA) ก่อนการเติมลงไปในบรรจุภัณฑ์ [6,8,9] ซึ่งงานวิจัยดังกล่าวพบว่าสามารถลดการหลุดออกของซิลเวอร์ในบรรจุภัณฑ์ออกสู่อาหารได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม กรณีของการคีเลต Ag^+ ร่วมกับสารน้ำหนักโมเลกุลต่ำ พบว่าสารน้ำหนักโมเลกุลต่ำเหล่านี้ยังคงสามารถเกิดการเคลื่อนตัวออก (migration) จากบรรจุภัณฑ์เมื่อเก็บบรรจุภัณฑ์นั้นไว้เป็นเวลานาน

งานวิจัยนี้สนใจเตรียมบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารแบบแอคทีฟที่มีสมบัติในการต้านจุลชีพ โดยใช้สารคีเลตน้ำหนักโมเลกุลสูง ที่เตรียมโดยการดัดแปรโครงสร้างทางเคมีของโคโคซานร่วมกับอะโครลามิโด-2-เมทิลโพรเพนซัลโฟนิคแอซิดมอนอเมอร์ (AMPs) ผ่านปฏิกิริยากาปโคพอลิเมไรเซชัน เกิดเป็นพอลิอะโครลามิโดซัลโฟนิคแอซิด (PAMPs) ซึ่งมีหมู่แคตไอออนิกแบบแรงจำนวนมากที่สามารถคีเลตกับ Ag^+ ทั้งโคโคซานยังมีน้ำหนักโมเลกุลสูง ทำให้เกิดการเคลื่อนที่หลุดออกจากบรรจุภัณฑ์ได้ยาก ส่งผลต่อการหลุดออกของซิลเวอร์/สารคีเลตจากบรรจุภัณฑ์ที่น้อยลง ทั้งยังผสมร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมซึ่งย่อยสลายได้ ได้แก่ เส้นใยเซลลูโลสจากชานอ้อย และโคโคซานที่ไม่ดัดแปร โดยเซลลูโลสซึ่งเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติจะเป็นส่วนของโครงสร้างที่แข็งแรงของบรรจุภัณฑ์ ขณะที่โคโคซานซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่ได้จากเปลือกกุ้งและปู เป็นสารเชื่อม

ประสานให้เส้นใยสามารถฟอร์มตัวเป็นถาดบรรจุภัณฑ์ที่ยังช่วยให้ชิ้นงานมีสมบัติการทนต่อแรงดึงที่ดี ซึ่งงานวิจัยนี้กล่าวถึงการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของไคโตซานดัดแปรที่ใช้ในการฟอร์มคอมแพล็กส์ร่วมกับ Ag^+ รวมถึงสมบัติทางกายภาพ สมบัติทางกล และสมบัติการต้านจุลชีพของบรรจุภัณฑ์เซลลูโลสคอมพอสิตดัดแปรคอมแพล็กส์ที่เตรียมได้

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ไคโตซานจากปู (98 % deacetylation, M_n 1.4×10^6 g/mol) จากบริษัทต้าหมิง เอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด 2-อะไครลามิโด-2-เมทิล-1-โพรเพน ซัลโฟนิค แอซิด (99 % AMPS) แอมโมเนียมซีเรียม (IV) ไนเตรต โพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟต กลูโคส ซิลเวอร์ไนเตรต กรดซัลฟิวริก และกรดไนตริก เกรดทางเคมีวิเคราะห์

2.2 ขั้นตอนการทดลอง

2.2.1 การเตรียมไคโตซานดัดแปร (ไคโตซาน-กราฟ-พอลิอะไครลามิโด-2-เมทิล-1-โพรเพนซัลโฟนิคแอซิด, chitosan-g-PAMPs)

เทสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.5 %w/v ที่เตรียมใน 2 % กรดอะซิติก ลงในขวดก้นกลมแบบ 3 คอ จากนั้นเติมสารละลายมอนอเมอร์ลงไป (AMPS) ปั่นกวนให้เข้ากันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาเติม 0.4 %v/v กรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงไป ปั่นกวนให้เข้ากันเป็นเวลา 15 นาที ปรับระบบให้อยู่ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน จากนั้นค่อย ๆ เติมสารละลายของสารริเริ่มปฏิกิริยา (น้ำตาลกลูโคส แอมโมเนียมซีเรียม (IV) ไนเตรตและโพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟตอย่างละ 0.25 times per mole of chitosan) ลงในขวดก้นกลม ปั่นกวนสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ปรับเพิ่มอุณหภูมิเป็น 50 องศาเซลเซียส ปั่นกวนต่อเป็นเวลา 5 ชั่วโมง หลัง

สิ้นสุดปฏิกิริยาจะได้ไคโตซานดัดแปร

2.2.2 การเตรียมเซลลูโลสคอมพอสิตดัดแปร (เซลลูโลส/ไคโตซาน/ไคโตซานดัดแปร)

นำเส้นใยเซลลูโลสที่เตรียมไว้ตามปริมาณที่กำหนดมาผสมร่วมกับสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.5 %w/v ปั่นกวนให้เข้ากันเป็นเวลา 2.4 ชั่วโมง จากนั้นเติมไคโตซานดัดแปรที่เตรียมได้จากข้อ 2.2.1 ลงไป ปั่นกวนต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (อัตราส่วนสารผสมเซลลูโลส : ไคโตซาน : ไคโตซานดัดแปร = 80 : 10 : 10 โดยน้ำหนัก) นำสารผสมทั้งหมดเกลี่ยให้เป็นแผ่น นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำชิ้นงานมาล้างกรดอะซิติก มอนอเมอร์/พอลิเมอร์ ตกค้างออกโดยการล้างด้วยน้ำกลั่นจำนวนหลายครั้ง ก่อนนำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2.3 การเตรียมเซลลูโลสคอมพอสิตดัดแปรคอมแพล็กส์ (เซลลูโลส/ไคโตซาน/ไคโตซานดัดแปร-ซิลเวอร์คอมแพล็กส์)

เตรียมเซลลูโลสคอมพอสิตดัดแปรคอมแพล็กส์โดยนำเซลลูโลสคอมพอสิตดัดแปรที่เตรียมได้จากข้อ 2.2.2 มาแขวนในสารละลายเบส (2 % โซเดียมไฮดรอกไซด์) เพื่อเปลี่ยนหมู่กรดซัลโฟนิค (SO_3H) เป็นหมู่ซัลโฟเนต (SO_3^-) เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างชิ้นงานด้วยน้ำปราศจากไอออน เพื่อกำจัดสารละลายเบส นำชิ้นงานที่ได้แขวนในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ในที่มีด รวมกับการเติม 0.1 N กรดไนตริก (อัตราส่วนสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต : กรดไนตริกเป็น 95 : 5) เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของซิลเวอร์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังสิ้นสุดปฏิกิริยานำสารละลายได้ไปหาปริมาณ Ag^+ ที่ถูกจับโดยชิ้นงานด้วยเครื่อง FAAS ที่ความยาวคลื่น 328.07 nm ชิ้นงานที่ได้หลังอบแห้งนำไปขึ้นรูปเป็นแผ่นบรรจุภัณฑ์ด้วยเครื่องกดอัด (compressive molding)

2.2.4 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมี สมบัติทางกายภาพ สัณฐานวิทยา สมบัติเชิงกล และสมบัติการต้านจุลชีพ

วิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส ไคโตซาน ไคโตซานดัดแปร และเซลลูโลสคอมพอสิตดัดแปรด้วยเครื่องอินฟราเรดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Spectrum GX ในโหมด attenuated total reflectance infrared spectrometry (ATR-IR) ในช่วง $600\text{--}4,000\text{ cm}^{-1}$

ศึกษาสภาพพื้นผิวชิ้นงานด้วยเครื่องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น Leo1455VP โดยมีแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนแบบ thermionic emission ค่ายเร่งอิเล็กตรอนปรับเปลี่ยนได้ในช่วง 20 กิโลโวลต์ โดยนำชิ้นงานขนาด $0.5 \times 1\text{ cm}^2$ ติดลงบนสตั๊ป และเคลือบพื้นผิวของชิ้นงานด้วยทองคำภายใต้สุญญากาศ วิเคราะห์พื้นผิวของชิ้นงานที่กำลังขยาย 300 และ 1000 เท่า โดยใช้อุปกรณ์ตรวจจับสัญญาณที่ต่างกัน 2 ตัว คืออุปกรณ์ตรวจจับสัญญาณอิเล็กตรอนทุติยภูมิ (secondary electron detector, SED) และอุปกรณ์ตรวจจับสัญญาณอิเล็กตรอนกระเจิงกลับ (backscattered electron detector, BED)

วัดความชอบน้ำของชิ้นงานด้วยเครื่องทดสอบมุมสัมผัส (contact angle) ยี่ห้อ Dataphysics รุ่น OCA20 โดยหยดน้ำกลั่นลงบนชิ้นงานพื้นผิวชิ้นงานขนาด $2 \times 2\text{ cm}^2$ ด้วยเข็มฉีดยาปริมาตร $0.5\text{ }\mu\text{L}$ สังเกตมุมสัมผัส (องศา) ของน้ำบนชิ้นงานเปรียบเทียบกับเวลา (วินาที)

ศึกษาการดูดซับน้ำ (water uptake) ของชิ้นงาน โดยแช่ชิ้นงานขนาด $7 \times 7\text{ cm}^2$ หนัก 2 กรัม ในน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิห้องตามเวลาที่กำหนด เมื่อครบกำหนดเวลานำชิ้นงานมาชั่งน้ำหนักส่วนเกินออกจากนั้นชิ้นงานไปชั่งน้ำหนักเปรียบเทียบกับชิ้นงานก่อนแช่น้ำ [10] ความสามารถในการดูดซับน้ำของชิ้นงาน

คำนวณได้ดังสมการ (1)

$$\text{การดูดซับน้ำ (\%)} = \left[\frac{(\text{น้ำหนักก่อนแช่น้ำ} - \text{น้ำหนักหลังแช่น้ำ})}{\text{น้ำหนักก่อนแช่น้ำ}} \times 100 \right] \quad (1)$$

ศึกษาปริมาณ Ag^+ ที่หลุดออกจากเซลลูโลสคอมพอสิตดัดแปรคอมพอสิตที่มีปริมาณ Ag^+ 0.025 % โดยตัดชิ้นงานขนาด $7 \times 7\text{ cm}^2$ หนัก 2 กรัม แช่ในน้ำ DI ที่ปรับ pH เป็น 2, 4, 7, 10 และ 12 ด้วยสารละลายกรดไนตริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นเวลา 14 วัน เมื่อครบกำหนดเวลานำชิ้นงานออก จากนั้นนำน้ำที่ได้ไปวัดปริมาณซิลเวอร์ที่หลุดออกจากชิ้นงานด้วยเทคนิค FAAs ขณะที่ชิ้นทดสอบจะล้างปรับ pH ให้เป็น 7 และทำให้แห้งก่อนนำไปทดสอบประสิทธิภาพการต้านจุลชีพต่อไป

ศึกษาประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพของเซลลูโลสคอมพอสิตดัดแปรคอมพอสิต โดยการเตรียมแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ 4 ชนิด คือ *B. cereus* และ *S. aureus* (แบคทีเรียแกรมบวก) และ *E. coli* และ *S. Typhimurium* (แบคทีเรียแกรมลบ) โดยการเพาะแบคทีเรียชนิดละ 1 หลุม ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (TSB) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นที่ตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยปรับความขุ่นให้มีค่าเท่ากับมาตรฐาน McFarland standard No. 0.5 (ประมาณ $1 \times 10^8\text{ CFU/mL}$) เจือจางแบคทีเรียที่ได้ 10 เท่า (จำนวนเซลล์ $1.5 \times 10^7\text{ CFU/mL}$) จากนั้นใช้ cotton swab ไร้ออกซิเจนจุ่มแบคทีเรียที่ได้จากข้างต้นมาป้ายให้ทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ (TSA) วางแผ่นชิ้นงานขนาด $5 \times 5\text{ mm}^2$ ลงบนผิวหน้า กดแผ่นชิ้นงานให้แนบกับผิวฐาน นำตัวอย่างไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบโดยใช้ยาคอมแรมเฟนิคอล 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร และแผ่นเซลลูโลสเป็นตัวควบคุม โดยแต่ละสูตรจะทดสอบ 3 ซ้ำ วัดประสิทธิภาพการต้านจุลชีพของชิ้นงาน โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ

เคลียร์โซนที่เกิดขึ้นด้วย Vernier Caliper ซึ่งต้องมีค่ามากกว่า 7 mm จึงถือว่ามียูธรีตันจูลซีฟ

ทดสอบสมบัติการทนต่อแรงดึงของเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรรวมแพล็กซ์ โดยตัดชิ้นงานให้เป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด $10 \times 90 \text{ mm}^2$ ระยะจับชิ้นงาน 40 mm ตามมาตรฐาน ASTM D882 (มาตรฐานฟิล์มบาง) แล้วดึงชิ้นงานด้วยเครื่องทดสอบแรงดึงของบริษัท Instron โดยใช้หัวโหลด 1 kN ด้วยอัตราเร็วคงที่ 50 mm/min และทดสอบสุทธละ 10 ชิ้นงาน

3. ผลการวิจัยและอภิปราย

3.1 การสังเคราะห์ไคโตซานดัดแปร

รูปที่ 1 แสดง IR สเปกตรัมของไคโตซาน (รูปที่ 1a) และไคโตซานดัดแปร (รูปที่ 1b) พบว่า IR สเปกตรัมของไคโตซานพบการปรากฏสัญญาณของ secondary amide C=O stretching ของไคตินในไคโตซานที่ไม่ถูกดื้ออะซิดิลเลชันที่ตำแหน่ง 1644 cm^{-1} และสัญญาณของไคโตซาน ได้แก่ สัญญาณของ NH_2 stretching ที่ตำแหน่ง 3277 cm^{-1} สัญญาณของ NH_2 blending ที่ตำแหน่ง 1559 cm^{-1} สัญญาณของ C-H bending ที่ตำแหน่ง 1376 cm^{-1} สัญญาณของ C-O-C stretching bridge และสัญญาณของ C-O stretching

ตำแหน่ง 1150 cm^{-1} และ 1058 cm^{-1} ตามลำดับ [11] หลังเกิดปฏิกิริยากาแรฟโคพอลิเมอร์ (รูปที่ 1b) ยังคงพบสัญญาณที่แสดงถึงไคโตซานและสัญญาณใหม่ของ PAMPs โดยพบการซ้อนกัน (overlap) ของสัญญาณบางส่วนของ O-H stretching และ N-H stretching ที่ตำแหน่ง 3290 cm^{-1} และสัญญาณใหม่ของ PAMPs โดยพบสัญญาณของ C=O stretching (amide I) ที่ตำแหน่ง 1633 cm^{-1} สัญญาณของ NH- blending (amide II) ที่ตำแหน่ง 1531 cm^{-1} สัญญาณของ C-H bending ที่ตำแหน่ง 1372 cm^{-1} สัญญาณของ SO_2 asymmetric stretching และ SO_2 symmetric stretching ที่ตำแหน่ง 1293 cm^{-1} และ 1152 cm^{-1} และสัญญาณของ S=O stretching ที่ตำแหน่ง 1030 cm^{-1} [12]

3.2 การเตรียมเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปร

รูปที่ 2 แสดง IR สเปกตรัมของเซลลูโลส (รูปที่ 2a) และเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปร (รูปที่ 2b) ในอัตราส่วนผสมเซลลูโลส:ไคโตซาน:ไคโตซานดัดแปร = 80:10:10 % โดยน้ำหนัก พบว่า IR สเปกตรัมของเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปร (รูปที่ 2b) ปรากฏสัญญาณซ้อนทับกันทั้งในส่วนของเซลลูโลสและไคโตซาน ได้แก่ สัญญาณของ O-H stretching และ

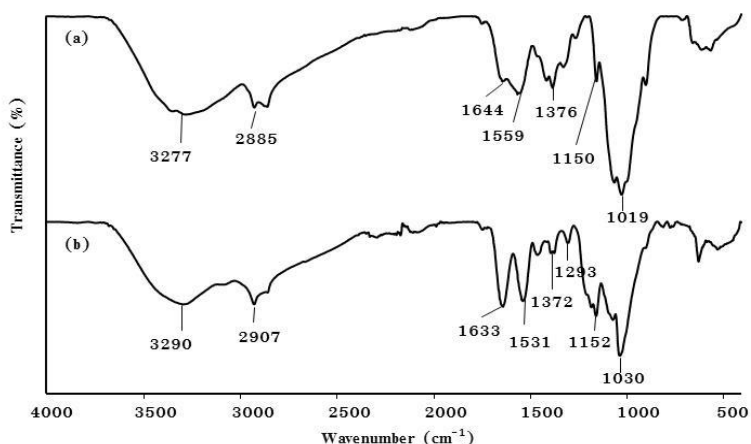


Figure 1 IR spectra of (a) chitosan and (b) modified chitosan

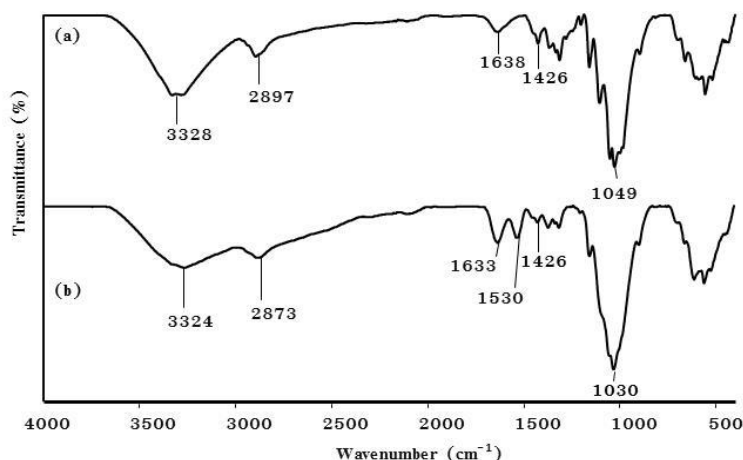


Figure 2 IR spectra of (a) cellulose and (b) modified cellulose composite

N-H stretching ที่ตำแหน่ง 3324 cm^{-1} สัญญาณของ C-H symmetric stretching ที่ตำแหน่ง 2873 cm^{-1} สัญญาณของ C-O stretching จากกลูโคสของเซลลูโลสที่ตำแหน่ง 1638 cm^{-1} สัญญาณของ H-CH และ O-CH bending vibration ที่ตำแหน่ง 1426 cm^{-1} และสัญญาณของ C-O-C และ C-OH stretching ของ 1° อะลิฟาติกและ 2° อัลกอฮอลล์ของเซลลูโลสที่ตำแหน่ง 1049 cm^{-1} [8,13,14] และสัญญาณที่แสดงถึงส่วนของกราฟโคพอลิเมอร์ (PAMPs) ได้แก่ สัญญาณของ C=O stretching (amide I) และสัญญาณของ NH- blending (amide II) ที่ตำแหน่ง 1633 cm^{-1} และ 1530 cm^{-1} ตามลำดับ

3.3 สันฐานวิทยา สมบัติทางกายภาพ สมบัติการต้านจุลชีพ และสมบัติเชิงกลของเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมแพล็กซ์

3.3.1 สันฐานวิทยาของเซลลูโลส และเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมแพล็กซ์

รูปที่ 3 แสดงสันฐานวิทยาพื้นผิวของแผ่นบรรจุภัณฑ์ที่เตรียมจากเซลลูโลสและเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมแพล็กซ์ที่คอมแพล็กซ์ร่วมกับ Ag^+ พบว่าเซลลูโลสที่ใช้ในการเตรียมบรรจุภัณฑ์เป็น

เส้นใยระดับไมโคร (รูปที่ 3a) แผ่นบรรจุภัณฑ์มีการเรียงตัวของเส้นใยแยกออกจากกันอย่างอิสระ และมีช่องว่างระหว่างเส้นใยที่ชัดเจน ขณะที่เส้นใยเซลลูโลสที่ผสมไคโตซานและไคโตซานดัดแปรที่ฟอร์มคอมแพล็กซ์ร่วมกับ Ag^+ (รูปที่ 3b) ชิ้นงานที่ได้ยังคงเห็นเส้นใยเซลลูโลสในลักษณะเส้น แต่มีลักษณะพื้นผิวที่เชื่อมต่อกัน ซึ่งน่าจะเกิดจากการฟอร์มฟิล์มของไคโตซานและไคโตซานดัดแปรรอบ ๆ พื้นผิวของเส้นใย และเมื่อนำชิ้นงานเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมแพล็กซ์ดังกล่าวไปวิเคราะห์โดยใช้อุปกรณ์ตรวจจับสัญญาณอิเล็กทรอนิกส์แบบกระเจิงกลับ (back scattered electron detector) ซึ่งตรวจจับสัญญาณของโลหะหนักที่มีค่าเลขอะตอมสูงได้ดี โดยธาตุที่มีเลขอะตอมสูงจะปรากฏเป็นภาพสว่างกว่าธาตุที่มีเลขอะตอมน้อยกว่า ซึ่งจากภาพ BSE-SEM ปรากฏเฟสที่มีลักษณะเป็นจุดสีขาว แสดงถึง Ag^+ กระจายตัวอยู่ทั่วทั้งชิ้นงาน (รูปที่ 3c และ 3d) น่าจะเกิดมาจากการกระจายตัวแบบเนื้อเดียวกันของไคโตซานดัดแปรที่มี PAMPs ที่เคลือบกับ Ag^+ กับเส้นใยเซลลูโลสและไคโตซานที่ไม่ดัดแปร โดยจุดสีขาวดังกล่าวพบว่ามีขนาดใหญ่กว่า 100 นาโนเมตร โดยมีขนาดประมาณ 200-1000 นาโนเมตร ซึ่ง

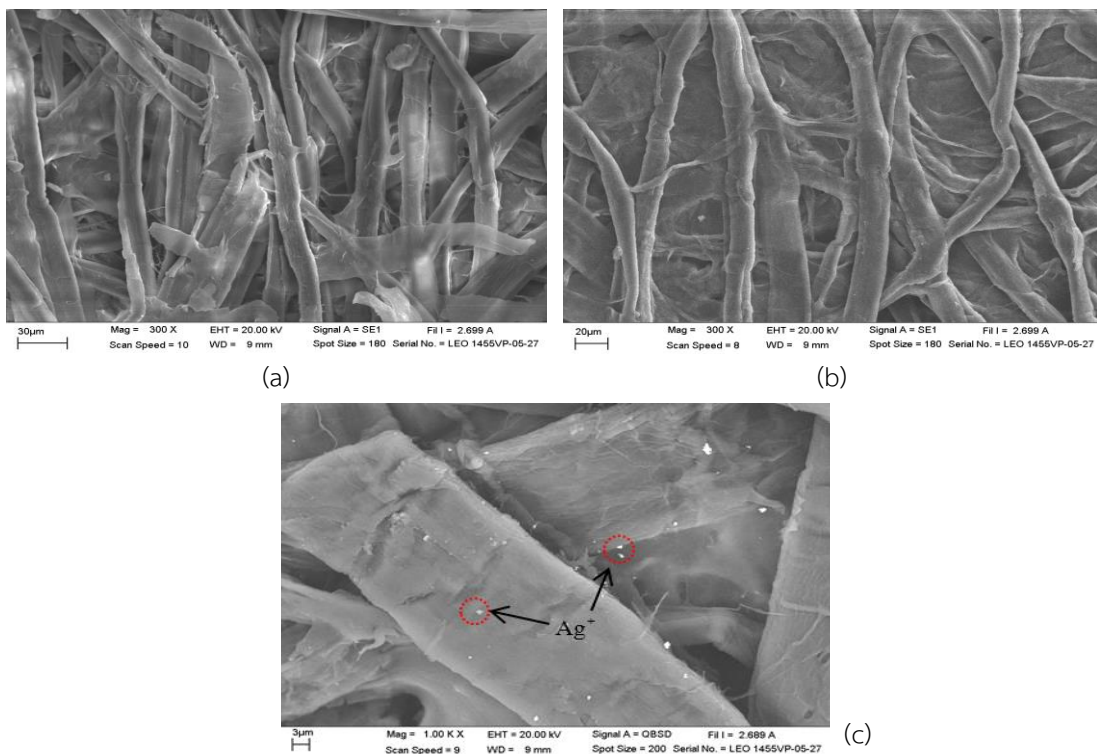


Figure 3 SEM micrographs of (a) cellulose and (b) modified cellulose composite- Ag^+ complex at 300x and BSE-SEM micrograph of modified cellulose composite- Ag^+ complex at (c) 1000x

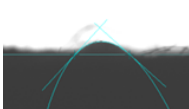
น่าจะเกิดจากการรวมกลุ่มกัน (agglomeration) ของ Ag^+ เนื่องจากความใกล้ชิดกันของตัวคีเลตอะไครลามิโดซัลโฟเนตยูนิทที่อยู่ใกล้กันในสายโซ่ของ PAMPs อย่างไรก็ตาม การรวมกลุ่มกันดังกล่าวพบว่ามีขนาดเล็กกว่าค่อนข้างมากเมื่อเปรียบเทียบกับ การรวมกลุ่มกันของอนุภาคซิลเวอร์นาโนในโคโดซานของงานวิจัยอื่น [11]

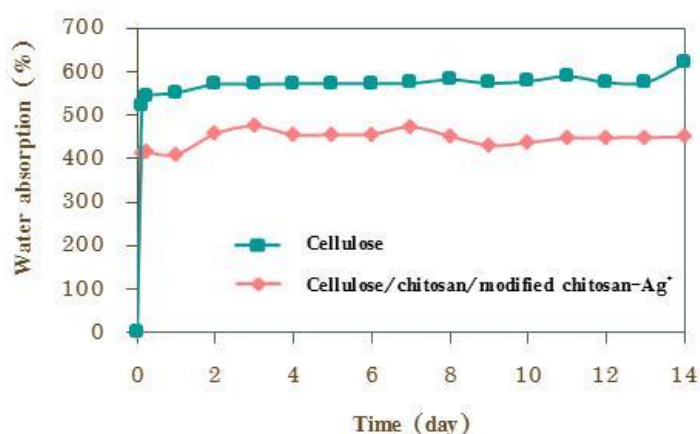
3.3.2 สมบัติทางกายภาพของเซลลูโลส และเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมพ्लีกซ์

ตารางที่ 1 แสดงค่ามุมสัมผัสและการเปลี่ยนแปลงค่ามุมสัมผัส (contact angle relaxation) ของแผ่นบรรจุภัณฑ์ที่เตรียมจากเซลลูโลส และเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมพ्लีกซ์ตามเวลา พบว่าการผสมโคโดซานและโคโดซานดัดแปรทำให้ชั้นงานเซลลูโลส

คอมพอสิตัดัดแปรคอมพ्लีกซ์มีความชอบน้ำลดลง (hydrophobic) เนื่องจากค่ามุมสัมผัสมีค่าเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าหลังหยดน้ำลงบนแผ่นทดสอบเซลลูโลส น้ำถูกดูดซับและหายไปอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ นอกจากโครงสร้างของเซลลูโลสที่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ชอบน้ำอยู่เป็นจำนวนมากในสายโซ่แล้วช่องว่างระหว่างเส้นใยยังมีส่วนอย่างมากต่อการดูดซับน้ำของชั้นงานเซลลูโลส ขณะที่เซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมพ्लีกซ์แม้จะมีส่วนผสมของโคโดซาน ซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์มีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic character) แต่ก็ยังคงมีความชอบน้ำน้อยกว่าเซลลูโลส [13] ทั้งเมื่อผสมร่วมกันยังลดช่องว่างระหว่างเซลลูโลสลง ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่ามุมสัมผัสดำเนินไปช้ากว่าชั้นงานที่เตรียมจากเซลลูโลสเพียงอย่างเดียว [15]

Table 1 Contact angle of packaging prepared from cellulose and modified cellulose composite-Ag⁺ complex

Samples	Times of water absorption (sec.)			
	0	0.5	20	40
Cellulose	CA 106.7° 	CA 47.5° 	-	-
Cellulose/chitosan/ modified chitosan-Ag	CA 116.2° 	CA 114.8° 	CA 110.7° 	CA 108.8° 

**Figure 4** Water absorption of packaging prepared from cellulose and modified cellulose composite-Ag⁺ complex

ศึกษาการดูดซับน้ำของแผ่นบรรจุภัณฑ์พบว่าแผ่นบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 แบบ เกิดการอิมมิดีวหลังการดูดซับประมาณ 2 ชั่วโมง โดยแผ่นบรรจุภัณฑ์ที่เตรียมจากเซลลูโลสเพียงอย่างเดียวสามารถดูดซับน้ำได้ 5.5 เท่าของน้ำหนักชิ้นงานเริ่มต้น ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของเซลลูโลสมีองค์ประกอบของผลึกแบบพารา (para crystalline) และส่วนของอสัณฐานที่ไวต่อโมเลกุลของน้ำจึงทำให้เซลลูโลสมีสมบัติชอบน้ำ [13] การผสมเซลลูโลสร่วมกับไคโตซานและไคโตซานดัดแปรพบว่า

ชิ้นงานมีค่าการดูดซับน้ำลดลง โดยมีค่าลดลงจาก 5.5 เท่าเป็น 4.5 เท่าของน้ำหนักชิ้นงานเริ่มต้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสัดส่วนของส่วนที่ชอบน้ำของเซลลูโลสลดลง และการฟอร์มฟิล์มของไคโตซานขัดขวางการดูดซับน้ำของชิ้นทดสอบ ส่งผลให้ค่าการดูดซับน้ำของชิ้นทดสอบลดลง อย่างไรก็ตาม เซลลูโลสคอมพอสิตดัดแปรคอมพอสิตซ์ยังคงมีค่าการดูดซับน้ำที่สูง เนื่องจากมีโครงสร้างส่วนของ PAMPs ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชอบน้ำเป็นองค์ประกอบร่วมกับเซลลูโลส [12] (รูปที่ 4) ทั้งนี้

ความสามารถในการดูดซับของเหลวของบรรจุภัณฑ์จะมีส่วนอย่างมากในการดูดซับของเหลวที่ออกมาจากอาหาร เช่น ไขมันจากอาหารปรุงสุก สารคัดหลั่งจากเนื้อสัตว์ น้ำจากการคายน้ำของผัก/ผลไม้ ซึ่งความชื้นหรือไอน้ำดังกล่าวส่งผลให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ทำให้อายุการเก็บรักษาของอาหารลดลง [16]

3.3.3 สมบัติการต้านจุลินทรีย์ของเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรและเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมแพล็กซ์

ศึกษาประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ของเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรและเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมแพล็กซ์ที่ฟอร์มคอมเพล็กซ์กับ Ag^+ ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน กับจุลินทรีย์ 4 ชนิด โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (ตารางที่ 2) พบว่าเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรที่มีส่วนผสมของไคโตซานไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งไคโตซานที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ต้องอยู่ในสภาวะสารละลาย [17] และเป็นพอลิแคตไอออนิกไคโตซาน ($-NH_3^+$) [8,9] ขณะที่งานวิจัยนี้ไคโตซานอยู่ในสภาวะแห้งและมีประจุเป็นกลาง ($-NH_2$) เซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรที่ได้จึงไม่แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์

การฟอร์มคอมเพล็กซ์ของไคโตซานดัดแปรร่วมกับ Ag^+ ช่วยให้ชิ้นงานเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมแพล็กซ์มีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยชิ้นงานเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมแพล็กซ์ที่ฟอร์มคอมเพล็กซ์กับ Ag^+ เพียง 0.015 % พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดยมีระยะเคลียร์โซน 10-12 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่น ทั้งการเติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรดลงไปผสมร่วมกับไคโตซานไฮโดรเจลโดยตรง พบว่าในไฮโดรเจลที่มี Ag^+ 0.036-0.051 % มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *B. subtilis* (+)

และ *E. coli* (-) 6-12 และ 6-10 มิลลิเมตร ตามลำดับ [18] หรือการผสมอนุภาคซิลเวอร์นาโนร่วมกับไคโตซานฟิล์ม 0.5-2 % พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *S. aureus* (+) และ *P. aeruginosa* (-) 9-18 และ 11-15 มิลลิเมตร ตามลำดับ [19]

นอกจากนี้ยังพบว่า Ag^+ ในงานวิจัยนี้มีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งมีผนังเซลล์หนา แต่มีเพียงชั้นของเพปทิโดไกลแคนเพียงชั้นเดียว และแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งมีผนังเซลล์แบบหลายชั้น ทั้งชั้นเพปทิโดไกลแคน ชั้นไลโปโปรตีนชั้นฟอสโฟไลปิด และชั้นไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ใกล้เคียงกัน เนื่องจาก Ag^+ มีขนาดเล็กสามารถผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรียทั้ง 2 แบบ เข้าไปได้ง่าย ต่างจากอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่มีการปรับโครงสร้างร่วมกับสารอื่น เพื่อลดการหลุดออกของซิลเวอร์จากบรรจุภัณฑ์ที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งมีผนังเซลล์แบบชั้นเดียว ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งมีผนังเซลล์แบบคอมเพล็กซ์ [9]

ศึกษาการหลุดออกของ Ag^+ จากบรรจุภัณฑ์หลังแช่ชิ้นตัวอย่างในสารละลายกรด-เบส เป็นเวลา 14 วัน ตารางที่ 3 พบว่าการหลุดออกของ Ag^+ จากบรรจุภัณฑ์มีค่าประมาณ 7-33 ng/cm^2 ที่ pH 4-12 ซึ่งอาจเกิดจากการคิเลตที่แรงระหว่างหมู่ซัลโฟเนตกับ Ag^+ ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Martinez-Abad [6] ที่ศึกษาผลของการเตรียมซิลเวอร์คอมพาวนด์รูปแบบต่าง ๆ ต่อการหลุดออกของ Ag^+ จากฟิล์มพลาสติก ซึ่งพบว่าการเตรียมในรูปแบบคิเลตช่วยลดการหลุดออกของ Ag^+ จากฟิล์มพลาสติกได้ดีที่สุด (มีการหลุดออกของซิลเวอร์ 40-50 ng/cm^2) อย่างไรก็ตาม ที่ pH ต่ำ (pH = 2) หมู่กรดซัลโฟเนตจะถูกโปรตอนเตได้ง่าย [20] ทำให้ประสิทธิภาพในการจับ Ag^+ ลดลง การหลุดออกของ Ag^+ จากบรรจุภัณฑ์จึงมีค่าเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ค่าการหลุดออกดังกล่าว (744

ng/cm²) พบว่ามีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ไม่สูงมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับค่าการหลุดออกของซิลเวอร์จากงานวิจัย

อื่นที่มีค่าการหลุดออกของซิลเวอร์จากบรรจุภัณฑ์ตั้งแต่ 40 ng/cm² ถึง 6500 ng/cm² [6]

Table 2 Antimicrobial disc diffusion test of modified cellulose composite-Ag⁺ complex at various Ag⁺ concentrations

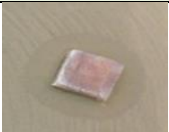
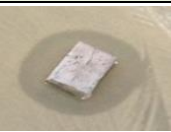
Samples	Zone of inhibition (mm) against the bacteria			
	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>
Cellulose-chitosan-modified chitosan (C)				
C-Ag ⁺ (0.015 %)	 12.13±2.03	 10.13±1.45	 10.19±0.75	 10.68±0.79
C-Ag ⁺ (0.025 %)	 13.06±2.38	 12.90±0.68	 14.28±0.96	 13.39±0.58
C-Ag ⁺ (0.3 %)	 13.41±0.57	 12.26±0.66	 14.14±0.69	 13.81±1.11
C-Ag ⁺ (0.6 %)	 14.94±0.52	 14.18±0.44	 13.42±0.78	 14.23±0.81

Table 3 Ag⁺ release data of modified cellulose composite-Ag⁺ complex with 0.025 % Ag⁺ after immersed in aqueous solution at pH 2-12 after 14 days

Samples	Release of silver (ng/cm ²)				
	pH 2	pH 4	pH 7	pH 10	pH 12
Cellulose/chitosan/modified chitosan-Ag ⁺	743.6	28.6	11.6	7.0	32.6

Table 4 Antimicrobial disc diffusion test of modified cellulose composite-Ag⁺ complex with 0.025 % Ag⁺ after immersed in aqueous solution at pH 2-12 after 14 days

pH	Zone of inhibition (mm) against the bacteria			
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>
2	12.56±0.51	9.69±1.14	10.69±0.79	11.13±1.09
4	13.06±1.23	11.00±1.41	12.38±0.88	12.56±1.55
7	13.44±0.96	10.13±1.47	13.69±1.91	11.38±1.45
10	12.93±0.57	11.94±1.12	13.06±1.06	12.50±1.26
12	14.19±1.27	12.82±0.75	13.13±0.81	12.36±0.60

ทดสอบประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพของเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมเพล็กซ์หลังการจุ่มแช่ในสารละลายกรด-เบส pH 2-12 เป็นเวลา 14 วัน (ตารางที่ 4) พบว่ายังคงมีประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพใกล้เคียงกับชิ้นงานที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลาย และมีค่าโซนในการยับยั้งการต้านจุลชีพทั้ง 4 ชนิดมากกว่า 10 มิลลิเมตร และชิ้นทดสอบที่ผ่านการแช่ในสารละลายกรด pH 2 มีประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพต่ำที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบการหลุดออกของ Ag⁺ จากบรรจุภัณฑ์ที่พบว่าการหลุดออกของ Ag⁺ น้อยมาก (ยกเว้นที่ pH 2) ผลการทดลองจึงอาจกล่าวได้ว่าชิ้นทดสอบทุกชิ้นยังคงมีประสิทธิภาพดีในการต้านจุลชีพ แม้ผ่านการแช่อยู่ในสารละลายกรด-เบสเป็นเวลานาน

3.3.4 โครงสร้างผลึกและสมบัติเชิงกลของเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมเพล็กซ์

ศึกษาโครงสร้างผลึกของเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรคอมเพล็กซ์ด้วยเทคนิค XRD (รูปที่ 5) พบว่าสัญญาณ XRD ปรากฏสัญญาณโครงสร้างผลึก 2θ ของเซลลูโลสที่ตำแหน่ง 22.7° และ 34.2° ซึ่งเป็นสัญญาณระนาบผลึกแบบ (002) และ (040) ซึ่งซ้อนทับกับสัญญาณโครงสร้างผลึกของไคโตซานที่ตำแหน่ง

20.3° (ระนาบผลึก 100) [8,11] นอกจากนี้ยังพบสัญญาณที่ตำแหน่ง 37.6° และ 45.9° ซึ่งเป็นสัญญาณระนาบผลึกแบบ 111 และ 200 ของซิลเวอร์ โดยสอดคล้องกับข้อมูลของ JCPDS card no 98-3722 [19,21,22]

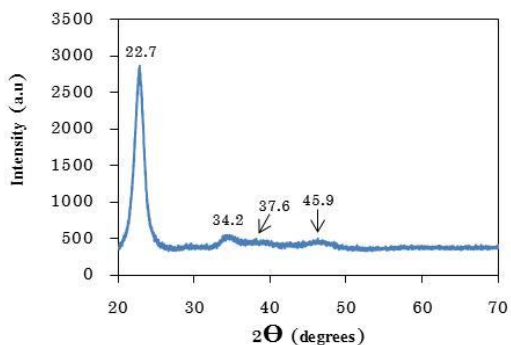


Figure 5 XRD pattern of modified cellulose composite-Ag⁺ complex with 0.3 % Ag⁺

ตารางที่ 5 แสดงผลการทดสอบสมบัติการทนต่อแรงดึงของแผ่นบรรจุภัณฑ์พบว่าชิ้นงานแผ่นบรรจุภัณฑ์ที่เตรียมจากเซลลูโลสเพียงอย่างเดียวมีค่าการทนต่อแรงดึงต่ำ การผสมรวมกับไคโตซานและไคโตซานดัดแปรในอัตราส่วน 20 % โดยน้ำหนัก ช่วยให้ชิ้น

Table 5 Tensile properties of cellulose and modified cellulose composite-Ag⁺ complex

Samples	Tensile strength (MPa)	Maximum elongation at started break (%)
Cellulose	0.76±0.18	1.03±0.07
Modified cellulose composite-Ag ⁺ complex ^a	3.36±0.48	1.99±0.52
Modified cellulose composite-Ag ⁺ complex ^b	9.02±2.48	3.86±0.56
Food commercial packaging	8.63±2.24	2.26±0.36

^a packaging prepared from cellulose : chitosan : modified chitosan-Ag⁺ = 80 : 10 : 10; ^b packaging prepared from cellulose : chitosan : modified chitosan-Ag⁺ = 60 : 30 : 10

ชิ้นงานเซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรรวมเปลือกซ์ที่เตรียมได้มีค่าการทนต่อแรงดึง และค่าการยืดตัวสูงสุดก่อนเกิดการขาดเพิ่มขึ้นมากกว่า 4 และ 2 เท่า ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ค่าการทนต่อแรงดึงของชิ้นงานยังคงมีค่าต่ำกว่าผลผลิตภัณฑ์บรรจุภัณฑ์จากกระดาษที่ขายในท้องตลาด ทั้งนี้เนื่องจากงานวิจัยนี้ใช้เพียงไคโตซานเป็นสารช่วยประสานสำหรับผลผลิตเท่านั้น อย่างไรก็ตาม พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของไคโตซานเป็น 30 % โดยน้ำหนัก และคงปริมาณไคซานดัดแปรซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการฟอร์มคอมเพล็กซ์ร่วมกับ Ag⁺ ไว้ที่อัตราส่วน 10 % โดยน้ำหนัก ชิ้นงานแผ่นบรรจุภัณฑ์เซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรรวมเปลือกซ์ที่เตรียมได้มีค่าการทนต่อแรงดึงและค่าการยืดตัวสูงสุดก่อนเกิดการขาดเพิ่มขึ้น โดยมีค่าใกล้เคียงกับบรรจุภัณฑ์ทางการค้า ทั้งนี้อาจเนื่องจากน้ำหนักโมลกุลที่สูงของไคโตซานในอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นช่วยทำให้เกิดการเกี่ยวพันกันกับเส้นใยเซลลูโลสเพิ่มขึ้น สมบัติเชิงกลของแผ่นบรรจุภัณฑ์เซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรรวมเปลือกซ์ที่เตรียมได้จึงเพิ่มขึ้นตามปริมาณของไคโตซานที่เพิ่มขึ้น [23]

4. สรุป

งานวิจัยนี้ไคโตซานและไคโตซานดัดแปรถูกผสมร่วมกับเส้นใยเซลลูโลสก่อนนำไปฟอร์มคอมเพล็กซ์

ร่วมกับสารต้านจุลชีพ Ag⁺ และขึ้นรูปเป็นแผ่นบรรจุภัณฑ์ด้วยเครื่องกดอัด การเกี่ยวพันกันของไคโตซานและเซลลูโลสช่วยให้ชิ้นงานฟอร์มตัวได้ดีขึ้น มีสมบัติเชิงกลเพิ่มสูงขึ้น แต่มีความชอบน้ำลดลง การคิดรวมระหว่างหมู่ซัลโฟเนตของไคโตซานดัดแปรกับ Ag⁺ ช่วยตรึงให้ Ag⁺ อยู่ในผลผลิตภัณฑ์เซลลูโลสคอมพอสิตัดัดแปรรวมเปลือกซ์ได้ดี ลดการหลุดออกของ Ag⁺ สูสิ่งแวดล้อม ทั้งยังมีประสิทธิภาพดีในการต้านจุลชีพแม้ใช้ Ag⁺ ในปริมาณน้อย นอกจากนี้ชิ้นงานบรรจุภัณฑ์ดังกล่าวยังสามารถใช้ได้กับหลากหลายช่วงความเป็นกรด-เบส โดยเฉพาะ pH 4-12 ซึ่งเหมาะกับการบรรจุอาหารกรดต่ำ (pH > 4.6) ซึ่งเป็นอาหารกลุ่มเสี่ยงต่อการเจริญเติบโตของจุลชีพ ทั้งยังเป็นช่วงความเป็นกรด-เบสที่พบการหลุดของ Ag⁺ ออกจากบรรจุภัณฑ์น้อยมาก แต่ยังคงมีประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพดี

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาเคมี และศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้สถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัยครั้งนี้

6. References

[1] Majid, I., Nayik, G.A., Dar, S.M. and Nanda,

- V., 2016, Novel food packaging technologies: Innovations and future prospective, J. Saudi Soc. Agric. Sci. 17: 454-462.
- [2] Carbone, M., Donia, D.T. Sabbatella, G. and Antiochia, R., 2016, Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging, J. King Saud Univ. Sci. 28: 237-279.
- [3] Zong-ming, X., Qing-bo, Z., Puppala, H., Colvin, V. and Alvarez, P., 2012, Negligible particle- specific antibacterial activity of silver nanoparticles, Nano. Lett. 12: 4271-4275.
- [4] Vazquez- Muñoz, R. , Borrego, B. , Juárez- Moreno, K. , García- García, M. , Mota Morales, J. D. , Bogdanchikova, N. and Huerta-Saquero, A., 2017, Toxicity of silver nanoparticles in biological systems: Does the complexity of biological systems matter?, Toxicol. Lett. 276: 11-20.
- [5] Wang, E. , Huang, Y., Du, Q. and Sun, Y., 2017, Silver nanoparticle induced toxicity to human sperm by increasing ROS (reactive oxygen species) production and DNA damage, Environ. Toxicol. Pharm. 52: 193-199.
- [6] Martinez-Abad, A., Lagaron, J.M. and Ocio, M.J., 2014, Characterization of transparent silver loaded poly(L- lactide) films produced by melt-compounding for the sustained release of antimicrobial silver ions in food applications, Food Control 43: 238-244.
- [7] Orsuwan, A. and Sothornvit, R., 2018, Polysaccharide Nanobased Packaging Materials for Food Application, pp. 239-270, Grumezescu, A. and Butu, A. (Eds.), Handbook of Food Engineering Volume 9: Food Packaging and Preservation, 1st Ed., Academic Press, Cambridge, MA.
- [8] Lin, S., Chen, L., Huang, L., Cao, S., Luo, X. and Liu, K. , 2015, Novel antimicrobial chitosan-cellulose composite films bio conjugated with silver nanoparticles, Ind. Crops Prod. 70: 395-403.
- [9] Wu, Z., Huang, X., Li, Y., Xiao, H. and Wang, X., 2018, Novel chitosan films with laponite immobilized Ag nanoparticles for active food packaging, Carbohydr. Polym. 199: 210-218.
- [10] Dacrory, S., Abou-Yousef, H., Abouzeid, R.E., Kamel, S., Abdel-aziz, M.S. and El-badry, M., 2018, Antimicrobial cellulosic hydrogel from olive oil industrial residue, Int. J. Biol. Macromol. 117: 179-188.
- [11] Kumar, S., Shukla, A., Baul, P.P., Mitra, A. and Halder, D., 2018, Biodegradable hybrid nanocomposites of chitosan/ gelatin and silver nanoparticles for active food packaging applications, Food Packaging Shelf Life 16: 178-184.
- [12] Phetphaisit, C. W. , Yuanyang, S. and Chaiyasith, W.C., 2016, Bio-adsorbent from polyacrylamido- 2- methyl- 1- propane sulfonic acid- graft- natural rubber for

- heavy metal removal from aqueous standard solution and industrial waste water, *J. Hazard. Mater.* 301: 163-171.
- [13] Cazón, P., Vázquez, M. and Velazquez, G., 2018, Composite films of regenerate cellulose with chitosan and polyvinyl alcohol: Evaluation of water adsorption, mechanical and optical properties, *Int. J. Biol. Macromol.* 117: 235-246.
- [14] Luo, P., Liu, L., Xu, W., Fan, L. and Nie, M., 2018, Preparation and characterization of aminated hyaluronic acid/ oxidized hydroxyethyl cellulose hydrogel, *Carbohydr. Polym.* 199: 170-177.
- [15] Huang, Y., Zhang, C., Pan, Y., Zhou, Y., Jiang, L. and Dan, Yi., 2013, Effect of NR on the hydrolytic degradation of PLA, *Polym. Degrad. Stab.* 98: 943-950.
- [16] Gaona-Forero, A., Agudelo-Rodríguez, G., Herrera, A.O. and Castellanos, D.A., 2018, Modeling and simulation of an active packaging system with moisture adsorption for fresh produce: Application in 'Hass' avocado, *Food Packaging Shelf Life* 17: 187-195.
- [17] No, H.K., Park, N.Y., Lee, S.H. and Meyers, S.P., 2002, Antibacterial activity of chitosan and chitosan oligomers with different molecular weights, *Int. J. Food. Microbiol.* 74: 65-72.
- [18] Kozicki, M., Kolodziejczyk, M., Szykowska, M., Pawlaczyk, A., Lesniewska, E, Matusiak, A., Adamus, A. and Karolczak, A., 2016, Hydrogels made from chitosan and silver nitrate, *Carbohydr. Polym.* 140: 74-87.
- [19] Youssef, A. M., Abdel-Aziz, M.S. and El-Sayed, S.M., 2014, Chitosan nanocomposite films based on Ag-NP and Au-NP biosynthesis by *Bacillus Subtilis* as packaging materials, *Int. J. Biol. Macromol.* 69: 185-191.
- [20] Yetimoglu, E.K., Kahraman, M.V., Ercan, O., Akdemir, Z.S. and Apohan N.K., 2007, N-Vinyl pyrrolidone/ acrylic acid/ 2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid based hydrogels: Synthesis, characterization and their application in the removal of heavy metals, *React. Funct. Polym.* 67: 451-460.
- [21] Govindam, S., Nivethaa, E.A.K., Saravanan, R., Narayanan, V. and Steohen, A., 2012, Synthesis and characterization of chitosan- silver nanocomposite, *Appl. Nanosci.* 2: 299-303.
- [22] Dimitrijevic, R., Cvetkovic, O., Miodragovic, Z., Simic, M., Manojlovic, D. and Jovic, V., 2013, SEM/EDX and XRD characterization of silver nanocrystalline thin film prepared from organometallic solution precursor, *J. Min. Metall. Sect. B-Metall.* 49(1): 91-95.
- [23] Shih, C., Shieh, Y. and Twu, Y., 2009, Preparation and characterization of cellulose/ chitosan blend films, *Carbohydr. Polym.* 78: 169-174.