

การพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่ได้จากวัสดุเชิงประกอบ
พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เซลลูโลส และอนุภาคนาโนเงิน
จากกระบวนการชีวสังเคราะห์
Development of Active Packaging from
PVA-Cellulose-Biosynthesized AgNPs Composites

อุษา สุขขา, จงจิตร จันตรา, สิริฉัตรณ์ช ภัคดีพรหมมา*

ภาควิชาพื้นฐานทั่วไป สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ชุมพร 86160

Usa Sukkha, Jongjit Jantra, Sirichatnach Pakdeepromma*

Department of General Science and Liberal Arts,

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Chumphon 86160

Received 5 March 2024; Received in revised 30 July 2024; Accepted 7 September 2024

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟสำหรับยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* โดยทำการเตรียมฟิล์มวัสดุเชิงประกอบจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเซลลูโลสจากวัสดุเศษเหลือทางใบปาล์ม (PVA-C) จากผลการวิเคราะห์ทดสอบเส้นใยเซลลูโลสที่ได้จากทางใบปาล์มด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี และเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ พบว่าสามารถพอกขาวและกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากทางใบปาล์มได้ในขั้นตอนเดียว โดยใช้สารละลายผสมระหว่างสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และผลการศึกษาอิทธิพลของปริมาณเซลลูโลสต่อสมบัติทางกายภาพและสมบัติการย่อยสลายโดยการฝังดินของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C พบว่าฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C ที่มีเซลลูโลสอยู่ 5% w/w เป็นฟิล์มวัสดุเชิงประกอบที่มีการกระจายตัวของเซลลูโลสที่ค่อนข้างสม่ำเสมอ มีการซึมผ่านไอน้ำมีค่าเท่ากับ $14.04 \pm 3.09 \text{ g.m} \times 10^{-4} / \text{m}^2 \cdot \text{hour}$. mmHg และปริมาณความชื้นของฟิล์ม 26.29% (± 0.83) สามารถย่อยสลายได้หมดภายในเวลา 2 วัน และพบว่าเซลลูโลสในฟิล์มจะเกิดการกระจุกตัวกันเป็นกลุ่มก้อนเมื่อปริมาณเซลลูโลสเพิ่มสูงขึ้นมากกว่า 5% w/w สำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน (AgNPs) ด้วยกระบวนการชีวสังเคราะห์จากสารสกัดใบชะมวง พบว่าสามารถสังเคราะห์ AgNPs ได้ที่ pH 7 ภายในระยะเวลา 2 ชั่วโมง โดยมีลักษณะค่อนข้างกลมและมีขนาดเฉลี่ย $25.9 \pm 5.6 \text{ nm}$ และผลการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของ AgNPs ที่เติมลงในฟิล์มวัสดุเชิงประกอบต่อการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* บนแผ่นฟิล์ม พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้เป็นอย่างดี ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C-Ag เพื่อใช้เป็นบรรจุภัณฑ์แอคทีฟสำหรับบรรจุอาหารแห้ง

คำสำคัญ: บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ; เซลลูโลส; ทางไบโपाल์ม; อนุภาคนาโนเงิน; เชื้อรา *Aspergillus ochraceus*

Abstract

This work aims to study and develop active packaging for the inhibition of *Aspergillus ochraceus*. Composite films were prepared using poly (vinyl alcohol) and cellulose extracted from oil palm fronds (PVA-C). FTIR and XRD results indicated that bleaching process, as well as the removal of lignin and hemicellulose from oil palm fronds, can be achieved in a single step using a mixed solution of H_2O_2 and NaOH. The effects of cellulose content on the physical properties and degradation behavior, assessed via soil burial, were investigated. It was found that the PVA-C composite film containing 5% w/w cellulose exhibited the best properties, including good cellulose dispersion, a water vapor permeability (WVP) of $14.04 \pm 3.09 \text{ g.m} \times 10^{-4} / \text{m}^2 \cdot \text{hour} \cdot \text{mmHg}$, a moisture content of 26.29% (± 0.83), and complete degradation within 2 days. Cellulose aggregation was observed when cellulose content exceeded 5% w/w. Silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized through a biosynthesis process using *Garcinia cowa* extracted solution at pH 7 and a reaction time of 2 h. The obtained AgNPs are spherical, with an average particle size of $25.9 \pm 5.6 \text{ nm}$. The antifungal properties of the composite film were evaluated base on varying AgNPs concentrations. It was found that the PVA-C5-Ag composite film exhibited strong antifungal activity against *Aspergillus ochraceus*. Therefore, the PVA-C5-Ag composite film demonstrated high potential as a biodegradable active packaging material for dried food in future applications.

Keywords: Active packaging; Cellulose; Oil palm frond; AgNPs; *Aspergillus ochraceus*

1. บทนำ

อาหารส่วนใหญ่เมื่อเก็บรักษาไว้ระยะเวลาหนึ่ง จะเกิดการเสื่อมเสียขึ้น ซึ่งมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัยด้วยกัน เช่น ความชื้น ออกซิเจน แสง กระบวนการทางชีวเคมีจากเอนไซม์ในอาหารที่ยังคงดำเนินอยู่ หรือจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร จะเป็นตัวกระตุ้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์บางชนิดที่ปนเปื้อนในอาหารนอกจากจะทำให้อาหารเน่าเสียแล้วยังสามารถผลิตสารพิษที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้อีกด้วย [1, 2] ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเทคนิคในการลดการเน่าเสียของอาหารขึ้นมามากมายวิธี ตัวอย่างเช่น การใช้ความร้อนเพื่อฆ่าจุลินทรีย์ การเติมสารเคมีที่มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ลงไป ตลอดจนการใช้เทคโนโลยีการบรรจุมาช่วยลดการเสื่อมเสียของอาหาร เช่น การใช้ระบบการบรรจุแบบปลอดเชื้อ (Aseptic packaging system) และการใช้บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (Active packaging) [2, 3] ปัจจุบันมีนักวิจัยหลายกลุ่มให้ความสนใจศึกษาเกี่ยวกับบรรจุภัณฑ์แอคทีฟเป็นอย่างมาก ซึ่งบรรจุภัณฑ์แอคทีฟคือบรรจุภัณฑ์ที่สามารถปกป้อง ยืดอายุการเก็บรักษา และคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทั้งทางด้านกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัสโดยการควบคุมองค์ประกอบของบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ ที่ผ่านมานักวิจัยได้พยายามพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟมาอย่างต่อเนื่อง เช่น การพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟโดยใช้สารเคมีช่วยควบคุมปริมาณแก๊สออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ หรือความชื้น ทำให้บรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์มีความเหมาะสมตามชนิดและประเภทของอาหาร [3] การพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟด้านจุลินทรีย์โดยการเติมสารหรือเคลือบสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ลงในบรรจุภัณฑ์ ส่งผลให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่บริเวณพื้นผิวของอาหารหยุดการเจริญเติบโตและอาจตายได้ในที่สุด [3, 4] การพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟของนักวิจัยนอกจากจะมีวัตถุประสงค์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารแล้ว นักวิจัยยังให้ความสำคัญกับปัญหาสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการใช้

บรรจุภัณฑ์อีกด้วย เนื่องจากบรรจุภัณฑ์ที่ทำมาจากพลาสติกที่ไม่สามารถย่อยสลายได้จะก่อให้เกิดไมโครพลาสติกที่มีขนาดเล็กทำให้ยากต่อการเก็บและการกำจัด จึงเกิดการปนเปื้อนของไมโครพลาสติกในแหล่งน้ำ ดิน และในสิ่งมีชีวิตอีกด้วย ปัจจุบันมีรายงานการตรวจพบไมโครพลาสติกปนเปื้อนในแหล่งน้ำทั่วโลก รวมไปถึงในสัตว์น้ำ เนื่องจากสัตว์กินไมโครพลาสติกเข้าไปและไม่สามารถย่อยสลายได้ทำให้เกิดการตกค้างสะสมของไมโครพลาสติกในตัวของสัตว์ ดังนั้นมนุษย์ก็อาจจะได้รับไมโครพลาสติกเข้าสู่ร่างกายได้จากการบริโภคสัตว์ที่มีไมโครพลาสติกสะสมอยู่ หรือการบริโภคน้ำโดยตรงจากแหล่งน้ำ [5, 6] อีกทั้งยังมีรายงานการวิจัยว่าไมโครพลาสติกนั้นส่งผลเสียต่อเซลล์มนุษย์เช่น ส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์ [7] ทำให้เซลล์เกิดความผิดปกติ [8] ดังนั้นการพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่ย่อยสลายได้โดยใช้พอลิเมอร์สังเคราะห์ เช่น พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ พอลิแลกติกแอซิด และพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นได้เองในธรรมชาติเช่น เซลลูโลส ไคโตซาน เจลาติน จึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก [9]

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีรายงานการเพาะปลูกจากสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรว่าในปี 2565 มีการเพาะปลูกปาล์มน้ำมันมากถึง 6.4 ล้านไร่ [10] ทุกครั้งที่มีการเก็บเกี่ยวทะลายปาล์มน้ำมันเกษตรกรจะตัดทางใบปาล์มทิ้งทำให้มีทางใบปาล์มกลายเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ซึ่งมีการคาดการณ์ว่ามีปริมาณมากกว่า 10 ล้านตัน/ปี [11] โดยทางใบปาล์มนั้นมีเส้นใยเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบมากกว่าร้อยละ 40 [12, 13] จึงเป็นที่น่าสนใจในการพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่ย่อยสลายได้ โดยใช้ทางใบปาล์มเป็นแหล่งเซลลูโลสเพื่อเป็นการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและเป็นการลดปริมาณการใช้พอลิเมอร์สังเคราะห์ในการผลิตบรรจุภัณฑ์ นอกจากนี้การพัฒนาบรรจุภัณฑ์ที่มีสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่พบได้ในอาหารที่สามารถก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคก็เป็นเรื่องที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง โดยกลุ่มผู้วิจัยมีความ

สนใจศึกษาเชื้อ *Aspergillus ochraceus* ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบได้บ่อยในอาหารแห้ง เช่น ปลาตากแห้ง เมล็ดกาแฟ และถั่ว เนื่องจากเชื้อราชนิดนี้สามารถสร้างสารพิษต่อผู้บริโภค เช่น Ochratoxins aflatoxins และ Penicillic acid [14-16] และจากการรายงานพบว่า AgNPs สามารถยับยั้งการผลิต Aflatoxins จากเชื้อราชนิดนี้ได้ [15] และมีการรายงานว่า AgNPs มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หรือฆ่าจุลินทรีย์ได้ดี รวมถึงมีการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ การเกษตร และอุตสาหกรรมอาหารอย่างแพร่หลาย [17]

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่ย่อยสลายได้จากวัสดุเชิงประกอบพอลิเมอร์สังเคราะห์ (PVA) กับเซลลูโลสที่สกัดได้จากทางใบปาล์ม และทำการปรับปรุงสมบัติการต้านเชื้อ *Aspergillus ochraceus* ของฟิล์มที่พัฒนาขึ้นมานี้โดยใช้ AgNPs ที่ได้จากกระบวนการชีวสังเคราะห์ (Biosynthesis) โดยใช้สารสกัดจากใบชะมวง ซึ่งเป็นกระบวนการสังเคราะห์ที่ง่าย ขั้นตอนไม่ยุ่งยากซับซ้อน และยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การสกัดเซลลูโลสจากทางใบปาล์ม

2.1.1 การเตรียมตัวอย่างทางใบปาล์ม

ทางใบปาล์มจากสวนใน ต.ดอนยาง อ.ปะทิว จ.ชุมพร ถูกนำมาล้างด้วยน้ำสะอาดก่อนทำการลดขนาดวัสดุเศษเหลือทางใบปาล์มด้วยเครื่องย่อยกิ่งไม้ จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง นำทางใบปาล์มอบแห้งที่ได้ไปทำการลดขนาดด้วยเครื่องบดป่น จะได้ผงทางใบปาล์มสำหรับการสกัดเซลลูโลสในขั้นตอนต่อไป

2.1.2 การสกัดเส้นใยเซลลูโลส

ทำการสกัดเส้นใยเซลลูโลสโดยใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เข้มข้น 24% v/v เพื่อทำการฟอกขาว และใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 4% w/v เพื่อกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากผงทางใบปาล์มอบแห้ง เริ่มต้นจากการผสมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ปริมาตร 250 mL เข้ากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 200 mL ทำการปั่นกวนสารละลายผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมผงทางใบปาล์มอบแห้งน้ำหนัก 7 g ลงไป ปั่นกวนของผสมเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 60°C เมื่อครบเวลาทำการกรองเส้นใยเซลลูโลสและล้างด้วยน้ำกลั่นจนเป็นกลาง ทำการอบเส้นใยเซลลูโลสที่ได้ที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเส้นใยเซลลูโลสที่ได้ไปปั่นให้ละเอียดอีกครั้งแล้วทำการคัดแยกขนาดอนุภาคเซลลูโลสให้มีขนาด 200 μm

2.1.3 การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์เส้นใยเซลลูโลส

ตรวจวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันที่สำคัญของเส้นใยเซลลูโลสที่สกัดได้จากใบทางปาล์มด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด สเปกโตรสโกปี (Fourier transform Infrared (FTIR) Spectroscopy) ในช่วงเลขคลื่น 4,000-500 cm^{-1} และตรวจสอบโครงสร้างผลึกของเส้นใยเซลลูโลสด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction; XRD) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ทดสอบ XRD มาคำนวณหาค่าดัชนีความเป็นผลึก (Crystallinity index) จากความสัมพันธ์ของความเข้มพิกัดสมการที่ (1)

$$\text{Crystallinity index (\%)} = \frac{(I_{(200)} - I_{am})}{I_{(200)}} \times 100 \quad (1)$$

โดย $I_{(200)}$ คือ ความเข้มพิกัดในระนาบ (200) ของผลึกเซลลูโลส ที่ตำแหน่งพิกัด 2θ เท่ากับ 22.3° และ

I_{am} คือ ความเข้มของส่วนที่เป็นอสัณฐาน (Amorphous) ที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 18.9° [18, 19, 20]

2.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยกระบวนการชีวสังเคราะห์

งานวิจัยนี้ทำการสังเคราะห์ AgNPs ด้วยกระบวนการชีวสังเคราะห์ ซึ่งมีขั้นตอนการสังเคราะห์ที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.2.1 การเตรียมสารสกัดจากใบชะมวง

ใบชะมวงที่ใช้ในงานวิจัยนี้เก็บมาจากพื้นที่จังหวัดชุมพร เริ่มต้นด้วยการนำใบชะมวงมาล้างทำความสะอาด แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำใบชะมวงอบแห้งที่ได้ไปทำการลดขนาดด้วยเครื่องปั่นจนเป็นผงละเอียด ทำการสกัดสารจากใบชะมวงโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย โดยใช้อัตราส่วนผงใบชะมวง 10 g ต่อน้ำกลั่น 100 mL ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองเอาตะกอนออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารสกัดที่ได้ไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4°C เพื่อใช้สำหรับการสังเคราะห์ AgNPs ในขั้นตอนต่อไป

2.2.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน

ขั้นตอนการสังเคราะห์ AgNPs เริ่มต้นโดยการเติมสารสกัดใบชะมวงปริมาตร 50 mL ที่ละลายลงในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรด (AgNO_3) เข้มข้น 0.05 M ปริมาตร 100 mL (อัตราส่วน 1:2 โดยปริมาตร) ปั่นกวนขณะผสมสารละลายตลอดเวลา ทำการปรับค่าพีเอชของสารละลายผสมให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.1 M และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 0.1 M จากนั้นปั่นกวนสารละลายต่อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สังเกตสีของสารละลายผสมจะมีการเปลี่ยนแปลงจนมีสีน้ำตาลเข้มและมีอนุภาคของแข็งเกิดขึ้นอยู่ในรูปของสารแขวนลอย ซึ่งชี้ให้เห็นว่าซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) ถูกรีดิวซ์เปลี่ยนไปเป็นอนุภาคโลหะเงิน (Ag^0)

2.2.3 การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์อนุภาคนาโนเงิน

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์เบื้องต้นเพื่อยืนยันการเกิดขึ้นของ AgNPs ทำโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง

ด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ในช่วงความยาวคลื่น 300 - 800 nm เตรียมตัวอย่างโดยการเจือจางสารแขวนลอย 20 เท่าด้วยน้ำกลั่นก่อนนำมาทำการวิเคราะห์ จากนั้นทำการตรวจสอบโครงสร้างผลึกของอนุภาคนาโนที่ได้ด้วยเครื่อง XRD และตรวจสอบสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) เตรียมตัวอย่างโดยนำสารแขวนลอยตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที เพื่อเก็บตะกอน ล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำตะกอนอบแห้งที่ได้มาบดในโกร่งบดสารให้ละเอียดก่อนนำไปวิเคราะห์จากภาพถ่าย SEM ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค AgNPs ด้วยโปรแกรม Image J โดยทำการหาค่าขนาดเฉลี่ยจากการวัดขนาดอนุภาคอย่างน้อย 100 อนุภาค

2.3 การเตรียมฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ

2.3.1 การเตรียมสารละลายเซลลูโลสจากทางใบปาล์ม

ขั้นตอนการเตรียมสารละลายเซลลูโลสจากทางใบปาล์ม เริ่มต้นโดยการเตรียมสารละลายผสมระหว่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ และยูเรีย ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) ปริมาตร 100 mL (ซึ่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 6 g ผสมกับยูเรียปริมาณ 4 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนเป็น 100 mL) จากนั้นนำผงเซลลูโลสจากทางใบปาล์มปริมาณ 0.50 g ผสมลงในสารละลายผสมโซเดียมไฮดรอกไซด์และยูเรียที่เตรียมไว้ ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาปล่อยสารละลายทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงทำการปรับค่าพีเอชของสารละลายให้เป็นกลางด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 6.0 M จากนั้นทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

2.3.2 การเตรียมฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลส

เตรียมฟิล์มวัสดุเชิงประกอบโดยผสมสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinyl alcohol, PVA) เข้มข้น 5% w/v กับสารละลายเซลลูโลสจากใบทางปาล์ม (Cellulose; C) ที่เตรียมไว้ให้อัตราส่วนโดยน้ำหนักของ PVA:C เป็น 100:0 (PVA-C0; ตัวควบคุม) 95:5 (PVA-C5) 90:10 (PVA-C10) และ 85:15 (PVA-C15) ปั่นกวนสารละลายผสมให้เข้ากันที่อุณหภูมิ 50°C ทำการขึ้นรูปฟิล์มวัสดุเชิงประกอบโดยใช้เทคนิคการหล่อแบบสารละลาย โดยเทสารละลายผสมที่ได้ ปริมาตร 50 mL ลงในแม่พิมพ์ขนาดพื้นที่ 64 cm² จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการลอกแผ่นฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C ออกจากแม่พิมพ์แล้วเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อรอทดสอบสมบัติในขั้นตอนต่อไป

2.4 ศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลส

เนื่องจากฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C15 ไม่สามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ ดังนั้นการศึกษาศักยภาพของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลส จึงทำการทดสอบเฉพาะฟิล์ม PVA-C5 และ PVA-C10 เปรียบเทียบกับฟิล์ม PVA-C0 ซึ่งเป็นตัวควบคุมเท่านั้น

2.4.1 ความหนาของแผ่นฟิล์ม

วัดความหนาของแผ่นฟิล์ม (Thickness) โดยใช้ไมโครมิเตอร์ โดยทำการวัดความหนาของแผ่นฟิล์มแบบสุ่มตำแหน่ง จำนวน 10 ตำแหน่งต่อ 1 แผ่นฟิล์ม แล้วหาค่าเฉลี่ย โดยแต่ละตัวอย่างฟิล์มทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

2.4.2 ปริมาณความชื้นของแผ่นฟิล์ม

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นของแผ่นฟิล์ม (Moisture content, MC) ดัดแปลงวิธีการมาจาก Ebrahimi และคณะ [21] เริ่มจากการชั่งตัวอย่างฟิล์มในแคปซูลอะลูมิเนียมที่ได้ทำการชั่งน้ำหนักไว้ก่อนหน้าแล้วเพื่อหาค่าน้ำหนักฟิล์มก่อนทำการอบ จากนั้นนำแคปซูลอะลูมิเนียมที่มีตัวอย่างฟิล์มไปอบในตู้อบลมร้อนที่

อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปชั่งน้ำหนักอีกครั้งเพื่อหาค่าน้ำหนักฟิล์มหลังทำการอบ ทำการคำนวณหาปริมาณความชื้นของฟิล์มตัวอย่างดังสมการที่ (2) ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

$$\text{ปริมาณความชื้น (MC\%)} = \frac{M_i - M_d}{M_i} \times 100 \quad (2)$$

โดย M_i คือ น้ำหนักฟิล์มก่อนทำการอบ และ M_d คือ น้ำหนักฟิล์มหลังทำการอบ

2.4.3 ความสามารถในการละลายน้ำของแผ่นฟิล์ม

ทำการวิเคราะห์สมบัติด้านการละลายน้ำของแผ่นฟิล์ม (Water solubility, WS) โดยดัดแปลงวิธีการมาจาก Moghadam และคณะ [22] โดยตัดฟิล์มแต่ละตัวอย่างให้มีขนาด 2 x 2 cm แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปใส่ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาค่าน้ำหนักของฟิล์มก่อนทำการละลาย ทำการแช่ฟิล์มตัวอย่างลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 40 mL ปั่นกวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลากรองส่วนของฟิล์มที่ไม่ละลายแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปใส่ในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ก่อนนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาค่าน้ำหนักของฟิล์มหลังทำการละลาย คำนวณหาค่าการละลายน้ำของฟิล์มตัวอย่างดังสมการที่ (3) ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

$$\text{การละลายน้ำ (WS\%)} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100 \quad (3)$$

โดย W_i คือ น้ำหนักฟิล์มเริ่มต้นก่อนทำการละลาย และ W_f คือ น้ำหนักของฟิล์มหลังจากทำการละลายแล้ว

2.4.4 การซึมผ่านไอน้ำ ของแผ่นฟิล์ม

ทำการวัดสมบัติการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม (Water Vapor Permeability, WVP) โดยใช้มาตรฐาน ASTM E96-93 โดยนำแคปซูลอะลูมิเนียมมาบรรจุซิลิกาเจล 25 g ปิดผนึกให้สนิทด้วยฟิล์มตัวอย่างแล้วนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อบันทึกค่า จากนั้นนำไปวางในโถดูดความชื้นที่มีสารละลายอิ่มตัวโซเดียมคลอไรด์ (ความชื้นสัมพัทธ์ 75% ที่อุณหภูมิ 25°C) แล้วชั่งน้ำหนักทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน นำค่าที่ได้มาทำการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (แกน Y) กับเวลาที่ผ่านไป (แกน X) เพื่อหาค่าความชัน คำนวณหาอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ โดยใช้สมการที่ (4) และการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์ม โดยใช้สมการที่ (5) ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

$$WVTR \text{ (g/m}^2 \cdot \text{hour)} = \frac{\text{slope}}{\text{File Area}} \quad (4)$$

$$WVP \text{ (g.m/m}^2 \cdot \text{hour} \cdot \text{mmHg)} = \frac{WVTR}{\Delta P} \times L \quad (5)$$

โดย L คือความหนาของฟิล์ม (mm) และ ΔP คือความแตกต่างของความดันไอน้ำทั้งสองด้านของตัวอย่างฟิล์ม [23]

2.4.5 การย่อยสลายของฟิล์ม

ทำการวิเคราะห์สมบัติการย่อยสลายของฟิล์ม (Degradation) ด้วยเทคนิคการฝังกลบดินโดยดัดแปลงวิธีการมาจาก Ai และคณะ [24] เพื่อสะท้อนให้เห็นถึงการย่อยสลายวัสดุชีวภาพในสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ โดยอาศัยการย่อยสลายจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดิน ทำการตัดฟิล์มตัวอย่างให้มีขนาด 1x1 cm นำมาชั่งน้ำหนักเพื่อบันทึกค่า จากนั้นนำแผ่นในลอนมาประกบสองข้างของแผ่นฟิล์มเพื่อให้ง่ายต่อการแยกแผ่นฟิล์มออกจากดินหลังการฝังกลบ นำฟิล์มตัวอย่างฝังลงในกระถางที่บรรจุดินสำหรับปลูกพืชให้มีความลึกประมาณ 10 cm วางกระถางไว้ในที่ร่ม พร้อมฉีดพรมน้ำให้ดินมีความชื้นตลอดระยะเวลาทำการทดลอง ทำการชั่งน้ำหนักแผ่นฟิล์มทุก

2 วัน คำนวณการย่อยสลายของฟิล์มตามสมการที่ (6) โดยใช้ถุงพลาสติค (Polypropylene) เป็นกลุ่มควบคุม ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

$$\text{การย่อยสลายของแผ่นฟิล์ม (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad (6)$$

โดย A คือ น้ำหนักของแผ่นฟิล์มเริ่มต้น (g) และ B คือ น้ำหนักของแผ่นฟิล์มหลังการย่อยสลาย (g)

2.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลส-AgNPs

2.5.1 การเตรียมฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลส-AgNPs

งานวิจัยนี้เลือกใช้วัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลส ที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของ PVA:C เป็น 95:5 ซึ่งมีสมบัติทางกายภาพดีที่สุดมาปรับปรุงสมบัติการยับยั้งเชื้อรา โดยทำการเติมสารแขวนลอย AgNPs ที่เตรียมด้วยกระบวนการชีวสังเคราะห์จากสารสกัดใบชะมวงลงไปในการละลายผสม PVA-C5 ให้มีความเข้มข้นของ AgNPs ภายหลังการผสม เป็น 0 $\mu\text{g/mL}$ (PVA-C5-Ag0; ตัวควบคุม) 10 $\mu\text{g/mL}$ (PVA-C5-Ag10) 50 $\mu\text{g/mL}$ (PVA-C5-Ag50) และ 100 $\mu\text{g/mL}$ (PVA-C5-Ag100) ทำการปั่นจนให้เข้ากันที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นขึ้นรูปฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ โดยเทของผสมที่ได้ปริมาตร 50 mL ลงในแม่พิมพ์ขนาดพื้นที่ 64 cm^2 จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการลอกแผ่นฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5-Ag ออกจากแม่พิมพ์แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราในขั้นตอนต่อไป

2.5.2 ทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ศึกษาสมบัติการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราของแผ่นฟิล์มวัสดุประกอบ PVA-C5-Ag โดยดูผลการยับยั้งต่อเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* เริ่มต้นทำการ

เชื้อรา *Aspergillus ochraceus* ให้ได้ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 104-105 spore/mL จากนั้นปิเปตมา 1 mL หยดลงในอาหารแข็งพืตโต (Potato dextrose agar) ที่เตรียมไว้ แล้วทำการเกลี่ยบนจานเพาะเชื้อ (Spread plate) ทิ้งไว้ให้แห้ง ทำการตัดแผ่นฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5-Ag แต่ละความเข้มข้นของ AgNPs ให้เป็นรูปวงกลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 cm จำนวน 4 ชิ้น จากนั้นนำแผ่นฟิล์มทั้ง 4 ชิ้น มาวางทับลงบนอาหารแข็งพืตโตที่มีเชื้อกระจายอยู่แล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ทำการบันทึกผลโดยการถ่ายรูปและวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ที่เกิดขึ้น

2.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

งานวิจัยนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี One-way analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย วิธี Tukey's multiple comparison test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลการศึกษาการสกัดเส้นใยเซลลูโลสที่ได้จากทางใบปาล์ม

การสกัดเส้นใยเซลลูโลสจากทางใบปาล์มด้วยสารละลายผสมระหว่าง 4% w/v NaOH และ 24% v/v H_2O_2 พบว่าเส้นใยเซลลูโลสที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นใยสีเหลืองอ่อนดังแสดงใน Figure 1(a) ซึ่งให้เห็นว่าวิธีการเตรียมเซลลูโลสในงานวิจัยนี้สามารถฟอกขาวผงบดทางใบปาล์มได้ และผลจากการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของผงบดทางใบปาล์ม (Raw material) และเส้นใยเซลลูโลสด้วยเทคนิค FTIR ในโหมดการวัดแบบ Attenuated total reflectance (ATR) แสดงได้ดัง Figure 1(b) ซึ่งข้อมูลสเปกตรัมอินฟราเรดของเซลลูโลสที่สกัดได้แสดงแถบการดูดกลืนของเซลลูโลสในตำแหน่งเลขคลื่น 1421, 1366, 1315, 1159, 1029 และ 897 cm^{-1} ซึ่งสอดคล้อง

กับการสั่นของพันธะ C-H₂ (Symmetric bending) พันธะ C-H (Bending) พันธะ C-H₂ (Wagging) พันธะ C-O-C (Asymmetric stretching) พันธะ C-O (Stretching) และพันธะ C-H (Rocking) ตามลำดับ [12, 19, 20, 25, 26] นอกจากนี้ยังปรากฏแถบการดูดกลืนตำแหน่งเลขคลื่น 3320 cm^{-1} สอดคล้องกับการสั่นของพันธะ O-H (Stretching) ของหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล [12, 19, 20] ตำแหน่งเลขคลื่น 2890 cm^{-1} สอดคล้องกับการสั่นของพันธะ C-H (Stretching) [12, 20] และตำแหน่งเลขคลื่น 1630 cm^{-1} สอดคล้องกับการสั่นของพันธะ O-H (Bending) ในโมเลกุลของน้ำที่ถูกดูดซับไว้ในเซลลูโลสอีกด้วย [19, 20, 25, 27] เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบ FTIR สเปกตรัมของผงบดทางใบปาล์มกับผงเซลลูโลส พบว่าสเปกตรัมของผงบดทางใบปาล์มปรากฏแถบการดูดกลืนในตำแหน่งเลขคลื่น 1732 cm^{-1} ซึ่งสอดคล้องกับการสั่นของพันธะ C=O (Stretching) ของหมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิลที่มาจากเอมิเซลลูโลสและลิกนิน [12, 19, 20, 25, 26] และแถบการดูดกลืนในตำแหน่งเลขคลื่น 1235 cm^{-1} ซึ่งสอดคล้องกับการสั่นของพันธะ C-O (Stretching) ของลิกนิน [12, 20, 25] ในขณะที่แถบการดูดกลืนดังกล่าวไม่ปรากฏในสเปกตรัมของเซลลูโลสที่สกัดได้ ซึ่งให้เห็นว่ากระบวนการสกัดเซลลูโลสในงานวิจัยนี้สามารถกำจัดลิกนินและเอมิเซลลูโลสออกจากผงบดทางใบปาล์มได้

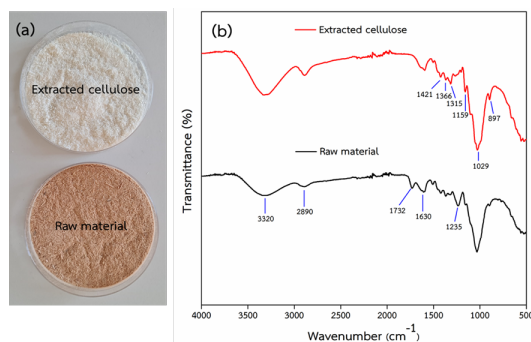


Figure 1 (a) Digital images of raw material and extracted cellulose and (b) FTIR spectra of raw material and extracted cellulose.

การศึกษาโครงสร้างผลึกของผงบดทางใบปาล์มและเส้นใยเซลลูโลสในงานวิจัยนี้ ทำโดยการวิเคราะห์ทดสอบด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ ซึ่งรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของตัวอย่างแสดงได้ดัง Figure 2 จากผลการวิเคราะห์พบว่ารูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของผงบดทางใบปาล์มและเส้นใยเซลลูโลสปรากฏพิคการเลี้ยวเบนที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 16.0° , 22.3° และ 34.8° ซึ่งพิคดังกล่าวสอดคล้องกับรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ที่เกิดจากระนาบ (110) (200) และ (004) ของโครงสร้างผลึกเซลลูโลส I (Cellulose I) ตามลำดับ [12, 19, 26, 28] แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างผลึกของเซลลูโลสไม่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อผ่านกระบวนการสกัดในงานวิจัยนี้ เนื่องจากรูปแบบเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของสารตัวอย่างทั้งก่อนและหลังกระบวนการสกัดเส้นใยเซลลูโลสจากทางใบปาล์มปรากฏพิคในตำแหน่งเดียวกัน แต่เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความเป็นผลึกของสารตัวอย่างซึ่งคำนวณมาจากความเข้มพิค พบว่าผงบดทางใบปาล์มมีค่าดัชนีความเป็นผลึกเท่ากับ 51.77% ซึ่งสอดคล้องกับค่าที่ได้รายงานไว้ในงานวิจัยที่ผ่านมา [12, 13] ส่วนเส้นใยเซลลูโลสที่สกัดได้ในงานวิจัยนี้มีค่าดัชนีความเป็นผลึกเพิ่มสูงขึ้นเป็น 65.53% เนื่องจากในผงบดทางใบปาล์มมีองค์ประกอบที่เป็นผลึกคือเซลลูโลส และองค์ประกอบที่เป็นอสัณฐานคือลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ดังนั้นค่าดัชนีความเป็นผลึกของตัวอย่างจะสามารถบ่งบอกถึงสัดส่วนของเซลลูโลสที่มีอยู่ในสารตัวอย่างได้ โดยค่าดัชนีความเป็นผลึกของตัวอย่างที่เพิ่มขึ้นจะบ่งบอกถึงสัดส่วนของผลึกเซลลูโลสที่มีอยู่ในสารตัวอย่างมีปริมาณเพิ่มขึ้น [12, 13, 19, 26, 28] จากค่าดัชนีความเป็นผลึกที่เพิ่มขึ้นของเซลลูโลสที่สกัดได้ และผลการวิเคราะห์ข้อมูลสเปกตรัมอินฟราเรดของเซลลูโลสที่สกัดได้ซึ่งไม่ปรากฏแถบการดูดกลืนของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสนั้น ยืนยันได้ว่าการกำจัดองค์ประกอบลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากทางใบปาล์มและการฟอกขาวเซลลูโลสสามารถทำได้ในขั้นตอนเดียวโดยใช้สารละลายผสมระหว่าง 4% w/v NaOH กับ 24% v/v H_2O_2 ที่อุณหภูมิ $60^\circ C$ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

นอกจากนี้ยังพบว่าค่าดัชนีความเป็นผลึกของเซลลูโลสที่เพิ่มขึ้นจากผงบดทางใบปาล์มในงานวิจัยนี้มีค่าเท่ากับ 13.76% ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่ได้รายงานไว้ในงานวิจัยที่ผ่านมาคือ 14.12% [12] แต่ในงานวิจัยดังกล่าวต้องทำการสกัดเซลลูโลสจากทางใบปาล์ม 2 ขั้นตอนโดยสกัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสก่อนด้วย 15 wt.% NaOH ที่อุณหภูมิ $90-100^\circ C$ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากกรองและการล้างด้วยน้ำหลายๆ ครั้ง เซลลูโลสจะถูกนำไปอบแห้งก่อนแล้วจึงทำการฟอกขาวเซลลูโลสด้วย 10% v/v H_2O_2 อุณหภูมิ $90-100^\circ C$ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

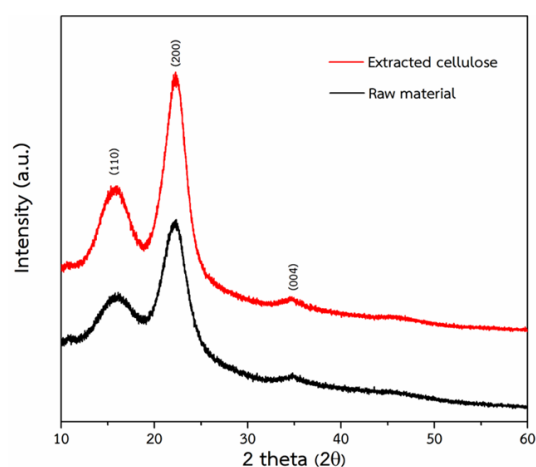


Figure 2 The XRD patterns of raw material and extracted cellulose.

3.2 ผลการศึกษาการเตรียมอนุภาคนาโนเงินด้วยกระบวนการชีวสังเคราะห์

งานวิจัยนี้ใช้เทคนิคการดูดกลืนแสงช่วงยูวี-วิสิเบิลในการศึกษาการสังเคราะห์สารแขวนลอย AgNPs โดยสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารแขวนลอย AgNPs จะแสดงพิคในช่วงความยาวคลื่น 390 - 500 nm [29-31] ซึ่งเกิดจากปรากฏการณ์คลื่นผิวพลาสมอนเรโซแนนซ์ (Surface plasmon resonance; SPR) สำหรับผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 300-800 nm ของสารสกัดจากใบชะมวงและสารแขวนลอย AgNPs ที่สังเคราะห์ขึ้นแสดงไว้ใน Figure 3 (a) สังเกตพบว่า

สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารแขวนลอย AgNPs ที่สังเคราะห์ขึ้น แสดงพีคการดูดกลืนที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 408 nm ซึ่งสอดคล้องกับพีค SPR ของ AgNPs ที่สังเคราะห์ด้วยกระบวนการชีวสังเคราะห์ในงานวิจัยที่ผ่านมา [29-32] และพีคที่ความยาวคลื่นดังกล่าวไม่ปรากฏในสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากใบชะมวง จึงเป็นการพิสูจน์ในเบื้องต้นว่าสามารถสังเคราะห์ AgNPs ได้ด้วยกระบวนการชีวสังเคราะห์โดยใช้สารสกัดจากใบชะมวง จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการรายงานว่าการสกัดจากใบชะมวงมีสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) หลายชนิด ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันที่สามารถทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) ให้กับซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) ได้ และเมื่อซิลเวอร์ไอออนเกิดปฏิกิริยารีดักชันเปลี่ยนไปเป็นอนุภาคโลหะเงิน (Ag^0) แล้ว สารพฤกษเคมีดังกล่าวยังทำหน้าที่เป็นสารให้ความคงตัว (Stabilizing agent) ทำให้อนุภาคนาโนที่เกิดขึ้นสามารถคงตัวอยู่ได้โดยไม่เกิดการเกาะรวมกันเป็นกลุ่มอีกด้วย [32-34]

การวิเคราะห์ทดสอบอนุภาคของแข็งที่เกิดขึ้นในสารแขวนลอยด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ เป็นการทดสอบเพื่อยืนยันว่าอนุภาคของแข็งที่เกิดขึ้นคือโลหะเงิน โดยรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของอนุภาคของแข็งแสดงไว้ใน Figure 3 (b) ซึ่งปรากฏพีคที่ตำแหน่ง 2θ เท่ากับ 38.4° 43.7° 64.8° และ 77.7° รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ดังกล่าวสอดคล้องกับไฟล์มาตรฐาน JCPDS หมายเลข 04-0783 ซึ่งเป็นรูปแบบการเลี้ยวเบนของผลึกโลหะเงินที่มีโครงสร้างผลึกเป็นแบบ Face centered cubic (fcc) โดยพีคที่ปรากฏเกิดจากการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ที่เกิดจากระนาบ (111) (200) (220) และ (311) ตามลำดับ [32] ดังนั้นจึงสามารถระบุได้ว่าอนุภาคของแข็งที่เกิดขึ้นคืออนุภาคของโลหะเงิน โดยซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) เกิดปฏิกิริยารีดักชันแล้วเปลี่ยนไปเป็นอนุภาคโลหะเงิน (Ag^0) นอกจากนี้ยังสังเกตได้ว่าลักษณะของพีคที่เกิดขึ้นเป็นพีคกว้าง ซึ่งเป็นลักษณะของผลึกที่มีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตร [35] ดังนั้นอนุภาคของโลหะเงินที่เกิดขึ้นในงานวิจัยนี้จึงมีความเป็นไปได้ที่จะมีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตร

การศึกษาขนาดและรูปร่างของ AgNPs ที่สังเคราะห์ขึ้นโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 50,000 เท่า แสดงภาพถ่ายที่ได้ดัง Figure 3 (c) พบว่า AgNPs ที่สังเคราะห์ได้ส่วนใหญ่มีลักษณะค่อนข้างกลม ขนาดของ AgNPs มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ 25.9 ± 5.6 nm จากผลการศึกษาพองอนุภาคของแข็งที่เกิดขึ้นในสารแขวนลอยด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ยืนยันได้ว่า AgNPs สามารถเตรียมได้ด้วยกระบวนการชีวสังเคราะห์โดยใช้สารสกัดจากใบชะมวงและสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเข้มข้น 0.05 M ที่อุณหภูมิห้องและมีค่าพีเอชเป็นกลาง

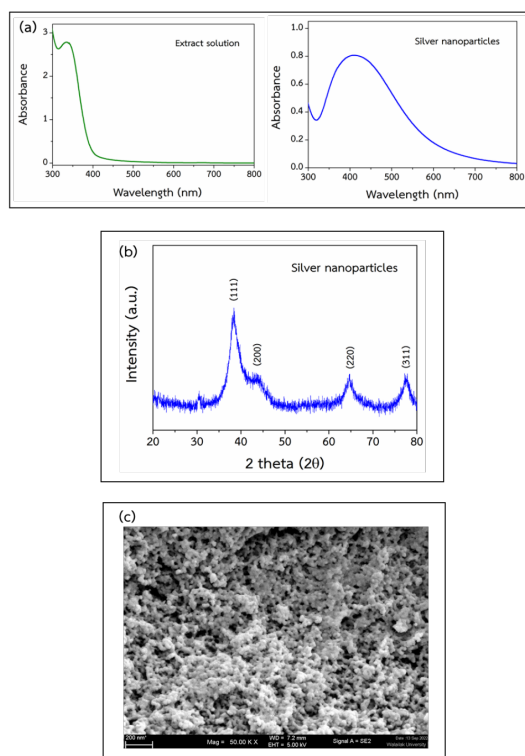


Figure 3 (a) UV-vis spectra of extract solution and silver nanoparticles (b) The XRD pattern of silver nanoparticles and (c) SEM image of silver nanoparticles.

3.3 ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลส

ผลการศึกษาอิทธิพลของปริมาณเซลลูโลสต่อการขึ้นรูปฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลสที่อัตราส่วนองค์ประกอบต่างๆ แสดงดัง Figure 4 พบว่าฟิล์ม PVA-C0 (ตัวควบคุม) ฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5 และ PVA-C10 สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มและลอกออกจากแม่พิมพ์ได้โดยไม่เกิดการแตกหักเสียหายของฟิล์ม เมื่อพิจารณาผลของปริมาณเซลลูโลสต่อลักษณะของฟิล์มที่ได้ พบว่าฟิล์ม PVA-C0 มีความใสแผ่นฟิล์มมีความยืดหยุ่น และพื้นผิวของฟิล์มมีความเรียบตลอดทั่วทั้งแผ่นฟิล์ม ส่วนฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5 นั้นมีสีขาวขุ่น แผ่นฟิล์มมีความยืดหยุ่น ลักษณะพื้นผิวก่อนข้างเรียบและมีการกระจายตัวของเซลลูโลสที่ค่อนข้างสม่ำเสมอทั่วทั้งแผ่นฟิล์ม ส่วนฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C10 ที่มีปริมาณเซลลูโลสเพิ่มสูงขึ้นเป็น 10% w/w พบว่าแผ่นฟิล์มยังคงมีความยืดหยุ่น แต่เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5 แผ่นฟิล์มจะมีสีขาวขุ่นมากขึ้น พื้นผิวมีความขรุขระมากขึ้น มีการกระจายตัวของเซลลูโลสที่ไม่สม่ำเสมอ เกิดการกระจุกตัวของเซลลูโลสทั่วแผ่นฟิล์ม และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนเซลลูโลสจนถึง 15% w/w พบว่าพื้นผิวฟิล์มมีความขรุขระมากยิ่งขึ้น มีการกระจุกตัวของเซลลูโลสที่มีขนาดใหญ่เกิดขึ้นทั่วทั้งแผ่นฟิล์ม ในอัตราส่วนนี้ PVA และเซลลูโลสไม่สามารถจับกันเป็นแผ่นฟิล์มได้ จึงเห็นลักษณะของแผ่นฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C15 เกิดเป็นช่องว่างกระจายตัวทั่วทั้งแผ่น โดยที่อัตราส่วนของเซลลูโลสที่มากกว่า 5% w/w มีการกระจุกตัวกันเป็นกลุ่มก้อนของเซลลูโลสในฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลส เนื่องจากปริมาณการเติมเซลลูโลสลงในองค์ประกอบหลัก PVA ที่มากเกินไปส่งผลให้เซลลูโลสเกิดการจับตัวกันแล้วเกิดการตกตะกอนตามแรงโน้มถ่วงโลกลงมาด้านล่างของแผ่นฟิล์มที่ทำการหล่อขึ้นรูป ซึ่งปรากฏการณ์นี้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาของ Sanchez-Garcia และคณะ [36] ที่ศึกษาผลการเติมเซลลูโลสลงในองค์ประกอบหลักพอลิเมอร์ 3 ชนิด

คือพอลิแลคติกแอซิด (PLA) พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-วารอเรต (PHBV) และ พอลิคาโพรแลคโตน (PCL) พบว่าการกระจายตัวของเซลลูโลสจะกระจายตัวได้ดีจนถึงอัตราส่วนของเซลลูโลสเท่ากับ 5% w/w เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของเซลลูโลสมากเกินกว่า 5% w/w เซลลูโลสจะเกิดการเกาะตัวรวมกันเป็นกลุ่มก้อนสีขาวเกิดขึ้นในฟิล์ม ดังนั้นในการทดสอบสมบัติทางกายภาพของฟิล์มเพื่อหาอัตราส่วนโดยน้ำหนักของ PVA:C ที่เหมาะสมในการนำไปพัฒนาเป็นบรรจุภัณฑ์แอคทีฟในลำดับถัดไป จะทำการทดสอบเฉพาะฟิล์มวัสดุเชิงประกอบที่สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ คือฟิล์ม PVA-C5 และ PVA-C10 เปรียบเทียบกับฟิล์ม PVA-C0 ซึ่งเป็นตัวควบคุมเท่านั้น

ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลส ที่สัดส่วนต่างๆ แสดงดัง Table1 พบว่าความหนาเฉลี่ยของฟิล์ม PVA-C0 มีค่าน้อยที่สุดคือ 0.075 ± 0.012 mm ฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5 มีความหนาเฉลี่ย 0.229 ± 0.026 mm และ PVA-C10 มีความหนาเฉลี่ย 0.442 ± 0.052 mm ซึ่งเห็นได้อย่างชัดเจนว่าแนวโน้มความหนาของฟิล์มจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณเซลลูโลสที่ผสมลงไป นอกจากนี้เมื่อพิจารณาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของความหนาของตัวอย่างฟิล์มแต่ละแผ่น ซึ่งเป็นค่าที่คำนวณมาจากการวัดความหนาแผ่นฟิล์มแบบสุ่มจำนวน 10 ตำแหน่งต่อแผ่นฟิล์ม พบว่าค่า S.D. ของฟิล์ม PVA-C0 มีค่าอยู่ในช่วง 0.008-0.010 mm เมื่อทำการผสมเซลลูโลสลงไปในองค์ประกอบหลัก PVA พบว่าค่า S.D. ของฟิล์ม PVA-C5 อยู่ในช่วง 0.024-0.031 mm และฟิล์ม PVA-C10 อยู่ในช่วง 0.042-0.069 mm เห็นได้อย่างชัดเจนว่าเมื่อปริมาณของเซลลูโลสสูงขึ้น ค่า S.D. จะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นไปด้วย ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางกายภาพของฟิล์มที่ว่าเมื่อปริมาณของเซลลูโลสเพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลทำให้การกระจายตัวของเซลลูโลสลดต่ำลง เซลลูโลสเกิดการกระจุกตัวกันเป็นกลุ่มก้อนในบางบริเวณของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ ทำให้ฟิล์มมีความขรุขระและความหนาของฟิล์มที่ไม่สม่ำเสมอมากขึ้น ดังนั้นค่า S.D. จึงมีค่าเพิ่มขึ้น

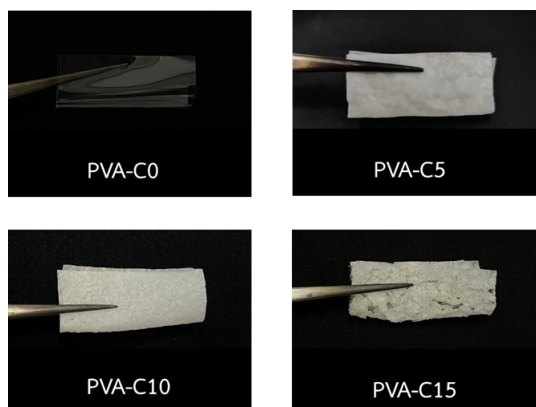


Figure 4 Digital images of PVA-cellulose composite films.

ผลการทดสอบความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ พบว่าฟิล์ม PVA-C0 มีความสามารถในการละลายน้ำสูงที่สุดเฉลี่ย 100% (± 0.00) เนื่องจากโครงสร้างของ PVA ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลอยู่เป็นจำนวนมาก จึงส่งผลให้ PVA มีสมบัติการละลายน้ำได้ดี [37, 38] เมื่อเติมเซลลูโลสลงไปพบว่าฟิล์มวัสดุเชิงประกอบมีความสามารถในการละลายน้ำลดลง โดยฟิล์ม PVA-C5 มีความสามารถในการละลายน้ำเฉลี่ย 98.49% (± 0.50) และฟิล์ม PVA-C10 มีความสามารถในการละลายน้ำเฉลี่ยต่ำสุดคือ 90.59% (± 5.19) เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าโครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลสประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลเป็นจำนวนมาก และหมู่ไฮดรอกซิลดังกล่าวสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้ทั้งภายในและระหว่างโมเลกุล ทำให้โครงสร้างเซลลูโลสเกิดการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบมีความเป็นผลึกสูง จึงส่งผลให้เซลลูโลสมีสมบัติที่ไม่ละลายน้ำ [39, 40] จากผลการวิเคราะห์ XRD ซึ่งพบว่าเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการสกัดในงานวิจัยนี้มีความเป็นผลึกค่อนข้างสูงดังนั้นเมื่อทำการเติมเซลลูโลสลงไปในองค์ประกอบหลัก PVA สมบัติการละลายน้ำของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบจึงมีแนวโน้มลดลงเมื่อเซลลูโลสเพิ่มขึ้น สำหรับผลการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นของแผ่นฟิล์มพบว่า ฟิล์ม PVA-C0 มี

ปริมาณความชื้นน้อยที่สุดเฉลี่ย 9.01% (± 0.40) และเมื่อผสมเซลลูโลสลงไปในฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5 และ PVA-C10 ปริมาณความชื้นของฟิล์มมีค่าเพิ่มมากขึ้นเฉลี่ย 26.29% (± 0.83) และ 34.36% (± 1.11) ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากในสถานะที่มีความชื้น พันธะไฮโดรเจนที่เกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างเซลลูโลสจะเกิดการแตกออกของพันธะ แล้วไปสร้างพันธะไฮโดรเจนใหม่กับโมเลกุลของน้ำ ส่งผลให้เซลลูโลสสามารถดูดซับโมเลกุลของน้ำได้ดี [41] จากผลการหาปริมาณความชื้นของแผ่นฟิล์มในงานวิจัยนี้ มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sitti Fatimah Mhd Ramle และคณะ [42] ที่ศึกษาพบว่าอัตราส่วนของเส้นใยเซลลูโลสจากไม้ไผ่ที่เพิ่มขึ้น จะส่งผลให้อัตราการดูดซับน้ำของฟิล์มมากขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้ยังทำการทดสอบสมบัติการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์ม ซึ่งสังเกตเห็นว่าฟิล์ม PVA-C0 มีการซึมผ่านของไอน้ำน้อยที่สุดคือ 3.43 ± 0.59 เมื่อผสมเซลลูโลสลงไป ฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลสมีการซึมผ่านของไอน้ำสูงขึ้นตามปริมาณเซลลูโลสที่เพิ่ม โดยฟิล์ม PVA-C5 มีการซึมผ่านของไอน้ำเท่ากับ 14.04 ± 3.09 และ PVA-C10 มีการซึมผ่านของไอน้ำสูงที่สุดคือ 16.95 ± 1.41 โดยค่าการซึมผ่านของไอน้ำของ PVA-C5 ที่ได้ในงานวิจัยนี้มีค่าใกล้เคียงกับ โพลีเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (LDPE) และฟิล์มในกลุ่มโพลีโพรพิลีน (PP) ซึ่งมีการซึมผ่านของไอน้ำอยู่ในช่วง 9-12 และช่วง 6-12 ตามลำดับ [43] ปัจจุบันฟิล์มทั้งสองชนิดนี้ถูกนำมาใช้ในการบรรจุอาหารแห้ง เช่น ข้าวสาร ขนมขบเคี้ยว และผลิตภัณฑ์ที่มีกึ่งสำเร็จรูป [44] เนื่องจากสามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดี ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5 เพื่อใช้เป็นบรรจุภัณฑ์แอคทีฟสำหรับบรรจุอาหารแห้งเพื่อให้อาหารแห้งในบรรจุภัณฑ์ยังคงสมบัติที่สำคัญของอาหารแห้งคือ มีความชื้นน้อยกว่า 25% และมีค่าวอเตอร์แอคทีวิตี (Water activity) น้อยกว่า 0.6 [45]

Table 1 Physical properties of PVA-cellulose composite films.

Parameters	PVA-C0	PVA-C5	PVA-C10
Thickness (mm)	0.075±0.012 ^c	0.229±0.026 ^b	0.442±0.052 ^a
Water solubility (%)	100±0.00 ^a	98.49±0.50 ^a	90.59±5.19 ^b
Moisture content (%)	9.01±0.40 ^c	26.29±0.83 ^b	34.36±1.11 ^a
Water vapor permeability (g.m x 10 ⁻⁴ /m ² .hour.mmHg)	3.43±0.59 ^b	14.04±3.09 ^a	16.95±1.41 ^a

Means with different letters within a row are significantly different (P<0.05).

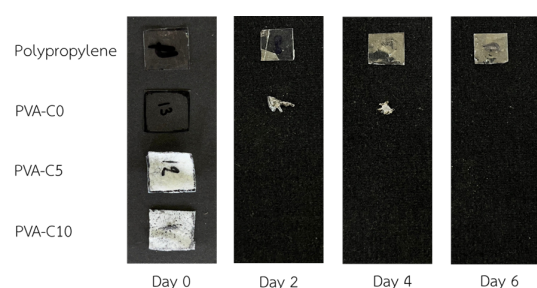


Figure 5 Morphology changes of polypropylene film and of PVA-cellulose composite films at different soil-burying stages.

การศึกษาการย่อยสลายของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบจากการใช้เทคนิคการฝังกลบดินโดยอาศัยการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ที่มีความหลากหลายในดิน และการใช้ถุงพลาสติก (Polypropylene) ซึ่งมีสมบัติไม่ละลายน้ำและไม่ย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ เป็นตัวควบคุม ผลการทดลองแสดงดัง Figure 5 พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน ถุงพลาสติกมีน้ำหนักหายไป 7.4% ซึ่งน่าจะมีสาเหตุมาจากการลดขนาด (Fragmentation) ของถุงพลาสติกที่ใช้เป็นตัวควบคุม เมื่อพิจารณาวัสดุเชิงประกอบ PVA-C พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 2 วัน ฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5 และ PVA-C10 มีการย่อยสลายสูงที่สุด (100%) ในขณะที่ PVA-C0 มีการย่อยสลาย 67.74% เมื่อทำการฝังกลบต่อเพื่อศึกษาการย่อยสลายของฟิล์ม พบว่าฟิล์ม PVA-C0 สามารถย่อยสลายได้หมด (100%) ภายในระยะเวลา 6 วัน จากงานวิจัยที่ผ่านมา

มีการรายงานว่า การย่อยสลายของ PVA สามารถเกิดขึ้นได้จากหลากหลายปัจจัยเช่น จุลินทรีย์ ออกซิเจน น้ำ และ อุณหภูมิ เป็นต้น [46] จึงมีความเป็นไปได้ว่า การย่อยสลายของ PVA จากการฝังกลบดินเกิดผ่านกระบวนการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ เนื่องจากภายในดินมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถย่อย PVA ได้ดี เช่น *Pseudomonads*, *Sphingomonads*, *Penicillium* sp. และ *Geotrichum fermentans* โดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อการย่อยสลาย PVA ได้แก่ เอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส (Hydrolase) และเอนไซม์ในกลุ่มออกซิโดรีดักเทส (Oxidoreductase) [47] นอกจากนี้ดินที่ใช้ในการฝังกลบยังมีความชื้นในดินและในการทดลองมีการรดน้ำเพื่อให้ความชื้นกับดินตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าการย่อยสลายของ PVA จากการฝังกลบในดินอาจเกิดการย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolytic degradation) ซึ่งเป็นกลไกที่น้ำเข้ามาเกี่ยวข้องในการย่อยสลาย ร่วมกับกระบวนการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ และเมื่อทำการเติมเซลล์ูลอสไปผสมในฟิล์ม พบว่าฟิล์มวัสดุเชิงประกอบมีการย่อยสลายมากขึ้น เนื่องจากภายในดินมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลล์ูลเลส (Cellulase) ออกมาย่อยสลายเซลล์ูลอสได้ เช่น *Bacillus* sp., *Cellulomonas* sp. และ *Aspergillus* sp. [48] จึงส่งผลให้ฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลล์ูลอสเกิดการย่อยสลายได้ดี และสมบัติในการดูดซับน้ำที่สูงของโมเลกุลเซลล์ูลอส ทำให้ฟิล์มวัสดุเชิง

ประกอบ PVA-เซลลูโลสสามารถดูดความชื้นในดินได้ดี ทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายด้วย จุลินทรีย์และการย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ที่ดีมากขึ้น

3.4 ผลการศึกษาสมบัติของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลส-AgNPs

จากการศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลส พบว่าฟิล์ม PVA-C5 ซึ่งมีปริมาณเซลลูโลสอยู่ 5% w/w เป็นฟิล์มที่มีกระจายตัวของเซลลูโลสที่ดี มีปริมาณความชื้นและการซึมผ่านไอน้ำต่ำที่สุด จึงเหมาะสมในการนำมาปรับปรุงเพื่อเพิ่มสมบัติการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยการเติมสารแขวนลอย AgNPs ที่ได้จากกระบวนการชีวสังเคราะห์ลงไป โดยให้ความเข้มข้นของ AgNPs เท่ากับ 0 $\mu\text{g/mL}$ (PVA-C5-Ag0; ตัวควบคุม) 10 $\mu\text{g/mL}$ (PVA-C5-Ag10) 50 $\mu\text{g/mL}$ (PVA-C5-Ag50) และ 100 $\mu\text{g/mL}$ (PVA-C5-Ag100) ผลการศึกษาคือผลของปริมาณ AgNPs ต่อฟิล์มวัสดุเชิงประกอบที่ความเข้มข้นต่างๆ แสดงดัง Figure 6 พบว่าฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5-Ag ที่ทุกความเข้มข้นของ AgNPs มีลักษณะการกระจายตัวของ AgNPs ค่อนข้างดี สังเกตได้จากสีของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบที่มีความสม่ำเสมอกันตลอดทั้งแผ่นฟิล์ม นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อปริมาณ AgNPs เพิ่มสูงขึ้นสีของฟิล์มวัสดุเชิงประกอบจะเปลี่ยนจากสีเหลืองอ่อนไปจนถึงสีน้ำตาลเข้มเมื่อปริมาณ AgNPs สูงขึ้นถึง 100 $\mu\text{g/mL}$

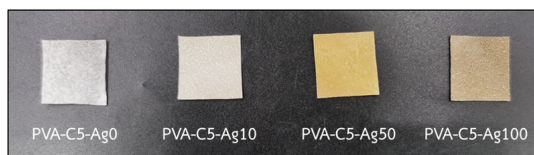


Figure 6 Digital images of PVA-cellulose-AgNPs composite films.

ผลการปรับปรุงสมบัติการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราบนแผ่นฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5 ในงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาผลต่อการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus*

ochraceus ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบได้บ่อยในอาหารแห้งและสามารถก่อให้เกิดการสร้างสารที่เป็นพิษต่อมนุษย์ [14-16] โดยผลการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* แสดงไว้ใน Figure 7 สังเกตพบว่าบนแผ่นฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5-Ag0 ที่ใช้เป็นตัวควบคุม เชื้อรา *Aspergillus ochraceus* เจริญเติบโตได้ดีปกคลุมทั่วทั้งแผ่นฟิล์ม ในขณะที่แผ่นฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5-Ag10 สามารถสังเกตเห็นบริเวณการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) รอบแผ่นฟิล์มได้อย่างชัดเจน โดยมีระยะการยับยั้งเท่ากับ 3.2 ± 1.4 mm ซึ่งให้เห็นว่าการเติม AgNPs ที่ได้จากกระบวนการชีวสังเคราะห์ลงในแผ่นฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* ได้ตั้งแต่ความเข้มข้นของ AgNPs เท่ากับ 10 $\mu\text{g/mL}$ เมื่อความเข้มข้นของ AgNPs ในแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้นเป็น 50 $\mu\text{g/mL}$ พบว่าบริเวณการยับยั้งเชื้อของฟิล์ม PVA-C5-Ag50 มีขนาดกว้างขึ้นเมื่อเทียบกับฟิล์ม PVA-C5-Ag10 และบริเวณการยับยั้งเชื้อของฟิล์มแต่ละแผ่นมีขนาดวงที่กว้างจนเกิดการซ้อนทับกันส่งผลให้ไม่สามารถวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งเชื้อได้ และเมื่อปริมาณความเข้มข้นของ AgNPs เพิ่มขึ้นจนถึง 100 $\mu\text{g/mL}$ พบว่าเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* แทบจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในจานเพาะเชื้อที่มีแผ่นฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5-Ag100 อยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากผลการศึกษาสมบัติการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราบนแผ่นฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5-Ag สามารถกล่าวได้ว่า AgNPs ที่ได้จากกระบวนการชีวสังเคราะห์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* ได้ และความสามารถในยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราของฟิล์มจะดียิ่งขึ้นเมื่อปริมาณ AgNPs ในแผ่นฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งผลการวิจัยในครั้งนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของกลุ่มผู้วิจัยที่ได้ศึกษาผลของ AgNPs ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium* sp. ที่ทำให้เกิดโรคกิ่งแห้งของทุเรียน [32] พบว่า AgNPs ที่ได้จากกระบวนการชีวสังเคราะห์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต

ของเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้ และผลการยับยั้งจะขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นและขนาดของ AgNPs เนื่องจากปัจจัยดังกล่าวส่งผลถึงปริมาณและความสามารถของ AgNPs ในการผ่านผนังเซลล์เชื้อราเข้าไปภายในเซลล์ ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่า AgNPs ที่สามารถผ่านเข้าไปในผนังเซลล์ของเชื้อรา จะเข้าไปทำลายออร์แกเนลล์ต่างๆที่อยู่ในเซลล์ เช่น ไมโทคอนเดรีย ไรโบโซม แวกคิวโอล หรือแม้กระทั่งทำลายสารชีวโมเลกุล เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมัน ก่อให้เกิดภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน (Oxidative stress) จากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของเชื้อรา จึงส่งผลทำให้เชื้อราหยุดการเจริญเติบโต และเกิดการตายของเซลล์อย่างเป็นระบบ (Apoptosis) ขึ้น [49]

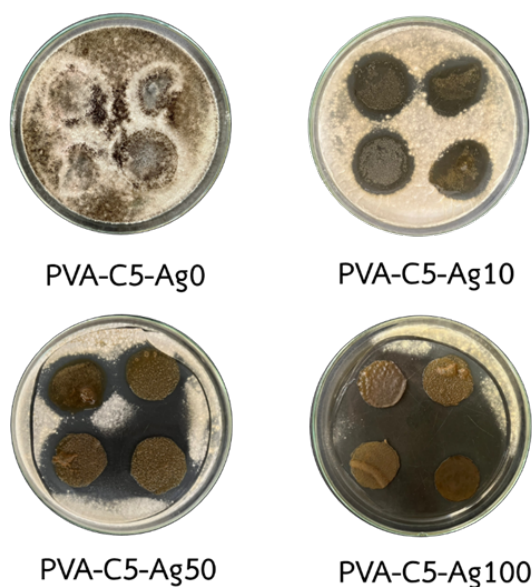


Figure 7 Inhibition zone of PVA-cellulose-composite films against *Aspergillus ochraceus*.

4. สรุป

การศึกษาพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่ย่อยสลายได้จากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเส้นใยเซลลูโลสจากทางใบปาล์มซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร พบว่าฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-เซลลูโลส ที่อัตราส่วน PVA:C

เท่ากับ 95:5 โดยมีผล มีสมบัติทางกายภาพที่ดีที่สุด และสามารถย่อยสลายได้หมดภายใน 2 วัน และผลการปรับปรุงสมบัติการต้านเชื้อราโดยการเติมสารแขวนลอยอนุภาคซิลเวอร์นาโน (AgNPs) ที่ได้จากกระบวนการชีวสังเคราะห์จากสารสกัดใบชะมวง พบว่าฟิล์มวัสดุเชิงประกอบ PVA-C5-Ag สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* ได้ตั้งแต่ความเข้มข้นของ AgNPs เท่ากับ 10 µg/mL

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังวิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ ในขณะที่ยังดำเนินงานวิจัย

6. References

- [1] Onyeaka, H.N. and Nwabor, O.F., 2022, Food preservation and safety of natural products, Academic press, Cambridge, 15 p.
- [2] Amit, S.K., Uddin, M., Rahman, R., Islam, S.M.R. and Khan, M.S., 2017, A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing, Agric. Food Secur. 6(51): 1-22.
- [3] Ahmed, M.W., Haque, M.A., Mohibullah, M., Khan, M.S.I., Islam, M.A., Mondal, M.H.T. and Ahmmed, R., 2022, A review on active packaging for quality and safety of foods: Current trends, applications, prospects and challenges, Food Packag. Shelf Life. 33: 100913.

- [4] Fadji, T., Rashvand, M., Daramola, M.O. and Iwarere, S.A., 2023, A Review on antimicrobial packaging for extending the shelf life of food, *Processes*. 11: 590.
- [5] Ghosh, S., Sinha, J.K., Ghosh, S., Vashisth, K., Han, S. and Bhaskar, R., 2023, Microplastics as an emerging threat to the global environment and human health, *Sustainability*. 15: 10821.
- [6] Zolotova, N., Kosyreva, A., Dzhililova, D., Fokichev, N. and Makarova, O., 2022, Harmful effects of the microplastic pollution on animal health: a literature review, *PeerJ*. 10: e13503.
- [7] Caputi, S., Diomedede, F., Lanuti, P., Marconi, G.D., Carlo, D.P., Sinjari, B. and Trubiani, O., 2022, Microplastics affect the inflammation pathway in Human gingival fibroblasts: a study in the Adriatic Sea. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 19 (13): 7782.
- [8] Palaniappan, S., Sadacharan, C.M. and Rostama, B., 2022, Polystyrene and polyethylene microplastics decrease cell viability and dysregulate inflammatory and oxidative stress markers of MDCK and L929 Cells *In vitro*. *Expo. Health*. 14 (1): 75–85.
- [9] Westlake, J.R., Tran, M.W., Jiang, Y., Zhang, X., Burrows, A.D. and Xie, M., 2022, Biodegradable active packaging with controlled release: principles, progress, and prospects, *ACS Food Sci. Technol*. 2: 1166–1183.
- [10] Office of Agricultural Economics (OAE-Thailand), The volume of oil palm production in Thailand, Available Source: <https://www.oae.go.th>, February 9, 2024. (in Thai)
- [11] Bureau of Animal Nutrition Development, The use of agricultural waste and agro-industrial by-product as a raw material in animal feed. Available Source: <https://www.nutrition.dld.go.th>, February 25, 2024. (in Thai)
- [12] Kumneadklang, S., Thonga, S.O. and Larpiattawornb, S., 2019, Characterization of cellulose fiber isolated from oil palm frond biomass, *MRS-Thailand conference*, p.7.
- [13] Megashah, L.N., Ariffin, H., Zakaria, M.R. and Hassan, M.A., 2018, Properties of cellulose extract from different types of oil palm biomass, *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.*, p.11.
- [14] Harris, J.P. and Mantle, P.G., 2001, Biosynthesis of ochratoxins by *Aspergillus ochraceus*, *Phytochemistry*. 58 (5): 709–716.
- [15] Naqvi, S.I.Z., Kausar, H., Afzal, A., Hashim, M., Mujahid, H., Javed, M., Hano, C. and Anjum, S., 2023, Antifungal activity of *juglans-regia*-mediated silver nanoparticles (AgNPs) against *aspergillus-ochraceus*-induced toxicity in *in vitro* and *in vivo* settings, *J. Funct. Biomater*. 14: 221.

- [16] Bacon, C.W., Sweeney, J.G., Robbins, J.D. and Burdick, D., 1973, Production of penicillic acid and ochratoxin A on poultry feed by *Aspergillus ochraceus*: temperature and moisture requirements, Appl Environ Microbiol. 26 (2) :155-160.
- [17] Jasni, A.H., Ali, Z.A., Sagadevan.S. and Wahid.Z., 2021, Silver nanoparticles in various new applications, pp. 1-19, In Kumar, S., Kumar, P. and Pathak, C.S., Silver micro-nanoparticles-properties, synthesis, characterization, and applications, IntechOpen, London.
- [18] Segal, L., Creely, J.J., Martin, A.E.J. and Conrad, C.M., 1959, An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer, Text. Res. J. 29(10): 786-794.
- [19] Nordin, N.A., Sulaiman, O., Hashim, R. and Kassim, M.H.M., 2016, Characterization of different parts of oil palm fronds (*Elaeis Guineensis*) and its properties, IJASEIT. 6: 74-76.
- [20] Plermjai, K., Boonyarattanakalin, K., Mekprasart, W., Pavasupree, S., Phoochong, W. and Pecharapa, W., 2018, Extraction and characterization of nanocellulose from sugarcane bagasse by ball-milling-assisted acid hydrolysis, AIP Conf. Proc., p.7.
- [21] Ebrahimi, S.E., Koocheki, A., Milani, E. and Mohebb, M., 2016, Interactions between *Lepidium perfoliatum* seed gum – grass pea (*Lathyrus sativus*) protein isolate in composite biodegradable film, Food Hydrocoll. 54: 302-314.
- [22] Moghadam, M., Salami, M., Mohammadian, M., Khodadadi, M. and Djomeh, Z.E., 2020, Development of antioxidant edible films based on mung bean protein enriched with pomegranate peel, Food Hydrocoll. 104: 105735.
- [23] Rachtanapun, P., Jantrawut, P., Klunklin, W., Jantanasakulwong, K., Phimolsiripol, Y., Leksawasdi, N., Seesuriyachan, P., Chaiyaso, T., Insomphun, C., Phongthai, S., Sommano, S.R., Punyodom, W., Reungsang, A. and Ngo, T.M.P., 2021, Carboxymethyl bacterial cellulose from Nata de coco: effects of NaOH, Polymers. 13: 348.
- [24] Ai, B., Zheng, L., Li, W., Zheng, X., Yang, Y., Xiao, D., Shi, J. and Sheng, Z., 2021, Biodegradable cellulose film prepared from banana pseudo-stem using an ionic liquid for mango preservation, Front. Plant Sci. 12: 625878.
- [25] Horikawa, Y., Hirano, S., Mihashi, A., Kobayashi, Y., Zhai, S. and Sugiyama, J., 2019, Prediction of lignin contents from infrared spectroscopy: chemical digestion and lignin/biomass ratios of *Cryptomeria japonica*, Appl. Biochem. Biotechnol. 188:1066-1076.

- [26] Najahi, A., Tarrés, Q., Aguilar, A.D., Putaux, J.L. and Boufi, S., 2023, High-lignin-containing cellulose nanofibrils from date palm waste produced by hydrothermal treatment in the presence of maleic acid, *Biomacromolecules*. 24: 3872-3886.
- [27] Hospodarova, V., Singovszka, E. and Stevulova, N., 2018, Characterization of cellulosic fibers by FTIR spectroscopy for their further implementation to building materials, *AJAC*. 9: 303-310.
- [28] Daicho, K., Saito, T., Fujisawa, S. and Akira Isogai, A., 2018, The crystallinity of nanocellulose: dispersion-induced disordering of the grain boundary in biologically structured cellulose, *ACS Appl. Nano Mater.* 1: 5774-5785.
- [29] Narayanan, K.B. and Park, H.H., 2014, Antifungal activity of silver nanoparticles synthesized using turnip leaf extract (*Brassica rapa* L.) against wood rotting pathogens, *Eur. J. Plant. Pathol.* 140: 185-192.
- [30] Yu, C., Tang, J., Liu, X., Ren, X., Zhen, M. and Wang, L., 2019, Green Biosynthesis of silver nanoparticles using *Eriobotrya japonica* (Thunb.) leaf extract for reductive catalysis, *Materials*. 12 (1): 189.
- [31] Ashraf, J.M., Ansari, M.A., Khan, H.M., Alzohairy, M.A. and Choi, I., 2016, Green synthesis of silver nanoparticles and characterization of their inhibitory effects on AGEs formation using biophysical Techniques, *Sci. Rep.* 6: 20414.
- [32] Sukkha, U., Khejonrak, A., Kamonpha, P., Ruangvittayanon, A., Pakdeepromma, S. and Kongtragoul, P., 2023, Biosynthesis of silver nanoparticles using *Garcinia cowa* aqueous leaf extract and their antifungal activity against durian dieback pathogen, *Chiang Mai J. Sci.* 50(5): 1-14.
- [33] Phukhatmuen, P., Raksat, A., Laphookhieo, S., Charoensup, R., Duangyod, T. and Maneerat, W., 2020, Bioassay-guided isolation and identification of antidiabetic compounds from *Garcinia cowa* leaf extract, *Heliyon*. 6(4): e03625.
- [34] Ritthiwigrom, T., Laphookhieo, S. and Pyne, S.G., 2013, Chemical constituents and biological activities of *Garcinia cowa* Roxb., *Maejo Int. J. Sci. Technol.* 7(02): 212-231.
- [35] Holder, C.F. and Schaak, R.E., 2019, Tutorial on powder X-ray diffraction for characterizing nanoscale materials, *ACS Nano*. 13(7): 7359-7365.
- [36] Sanchez- Garcia, M.D., Gimenez, E. and Lagaron, J.M., 2008, Morphology and barrier properties of solvent cast composites of thermoplastic biopolymers and purified cellulose fibers, *Carbohydr. Polym.* 71: 235-244.
- [37] Liu, F., Zhang, X., Xiao, X., Duan, Q., Bai, H., Cao, Y., Zhang, Y., Alee, M. and Yu, L., 2023, Improved hydrophobicity, antibacterial and mechanical properties of polyvinyl alcohol/quaternary chitosan composite films for antibacterial packaging, *Carbohydr. Polym.* 312: 120755.

- [38] Tian, G., Li, L., Li, Y. and Wang, Q., 2022, Water-soluble poly(vinyl alcohol)/biomass waste composites: a new route toward ecofriendly materials, *ACS Omega*. 7: 42515-42523.
- [39] Naz, S., Ahmad, N., Akhtar, J., Ahmad, N.M., Ali, A. and Zia, M., 2016, Management of citrus waste by switching in the production of nanocellulose, *IET Nanobiotechnology*. 10(6): 395-399.
- [40] Etale, A., Onyianta, A.J., Turner, S.R. and Eichhorn, S.J., 2023, Cellulose: A review of water interactions, applications in composites, and water treatment, *Chem. Rev.* 123: 2016-2048.
- [41] Sahu, P. and Gupta, M.K., 2022, Water absorption behavior of cellulosic fibres polymer composites: a review on its effects and remedies, *J. Ind. Text.* 51(5S): 7480S-7512S.
- [42] Ramle, S.F.M., Ahmad, N.A., Rawi, N.F.M., Zahidan, N.S. and Boon Jia Geng, B.J., 2020, Physical properties and soil degradation of PLA/PBAT blends film reinforced with bamboo cellulose, *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, p.7.
- [43] AsahiKASEI, Barrier properties on the coating single-component film. Available Source: https://acpvdc.com/en/latex_property.html, July 24, 2024.
- [44] Food division, Food Packaging. Available Source: <https://food.fda.moph.go.th>, July 24, 2024. (in Thai)
- [45] James, M.J., Martin, J.L. and David A.G., 2005, *Modern Food Microbiology*, Springer, Boston, 13 p.
- [46] Korotcenkov, G., 2020, *Handbook of Humidity Measurement Methods, Materials and Technologies Volume 3: Sensing Materials and Technologies*, CRC Press, New York, 16 p.
- [47] Singh, R., Kumar, N., Mehrotra, T., Bisaria, K. and Sinha. S., 2021, *Environmental Hazards and Biodegradation of Plastic Waste: Challenges and Future Prospects*, pp. 193-214.
- [48] Datta, R., 2024, Enzymatic degradation of cellulose in soil: A review, *Heliyon*. 10: e24022.
- [49] Cruz-Luna, A.R., Cruz-Martínez, H., Vásquez-López, A. and Medina, D.I., 2021, Metal nanoparticles as novel antifungal agents for sustainable agriculture: current advances and future directions, *J. Fungi*. 7(12): 1033.