

กระดาษออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เคลือบด้วยนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์จากวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม/เหล็กออกไซด์

Bioactive Paper Coated with Green Synthesized Nanosilver/Magnetic oxide

ณัฐณรี ศรีเชียงสา (Natnaree Srichiangsa)* อัจจิมา อุ่นแก้ว (Artjima Ounkaew)**

ณัฐวิวัฒน์ ศรีขาว (Natwat Srikhao)** ดร.พรนภา เกษมศิริ (Dr.Pornnapa Kasemsiri)^{1***}

(Received: August 11, 2021; Revised: October 19, 2021; Accepted: November 3, 2021)

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นพัฒนาบรรจุภัณฑ์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ กระดาษเคลือบด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์/เหล็กออกไซด์ (AgNPs/Fe₃O₄) ที่ 0 %wt/v 0.1 %wt/v และ 0.2 %wt/v โดยที่ AgNPs เคลือบลงบน Fe₃O₄ ด้วยการสังเคราะห์จากวิธีทางธรรมชาติโดยใช้สารสกัดจากกากกาแฟที่ใช้แล้ว (ex-SCG) เป็นสารรีดิวซ์ทางชีวภาพ กระดาษที่เคลือบด้วย AgNPs/Fe₃O₄ ที่ 0.1 %wt/v แสดงการกระจายอย่างสม่ำเสมอของ AgNPs/Fe₃O₄ ที่ปรับปรุงการต้านทานความชื้น กิจกรรมต้านแบคทีเรีย และคุณสมบัติทางกล กระดาษที่เคลือบด้วย AgNPs/Fe₃O₄ ที่ 0.1 %wt/v มีศักยภาพสูงที่สามารถนำไปใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ABSTRACT

This research focused on the development of bioactive packaging. The papers are coated with Nanosilver/Magnetic oxide (AgNPs/Fe₃O₄) at 0 %wt/v, 0.1 %wt/v and 0.2 %wt/v. The AgNPs were doped on Fe₃O₄ via green synthesis using extracted spent coffee ground (ex-SCG) as a bio-based reducing agent. The paper coated with AgNPs/Fe₃O₄ at 0.1 %wt/v showed the uniform dispersion of AgNPs/Fe₃O₄ that improved the water resistance, antibacterial activities, and mechanical properties. The paper coated with AgNPs/Fe₃O₄ at 0.1 %wt/v has a high potential to apply as bioactive packaging.

คำสำคัญ: อนุภาคนาโนซิลเวอร์ อนุภาคเหล็กออกไซด์ บรรจุภัณฑ์ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Keywords: Silver nanoparticle, Magnetic oxide, Bioactive packaging

¹Corresponding author: pornkas@kku.ac.th

*นักศึกษา หลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

**นักศึกษา หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

***รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

ปัจจุบันมีการผลิตบรรจุภัณฑ์ที่หลากหลายประกอบด้วย ผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับการอุปโภคและบริโภคส่วนใหญ่ผลิตจากพลาสติกที่ได้จากปิโตรเลียม เช่น พอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น (LLDPE) พอลิเอทิลีนความหนาแน่นสูง (HDPE) และพอลิโพรพิลีน (PP) เป็นต้น [1] ซึ่งเป็นวัสดุที่ไม่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพจึงก่อให้เกิดปัญหาในการกำจัดและเป็นมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม [2] พลาสติกที่ย่อยสลายทางชีวภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากมีศักยภาพในการใช้ทดแทนพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ได้จากปิโตรเลียม โดยโซเดียมคาร์บอกซิเมทิลเซลลูโลส (CMC) เป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ที่เป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลส (cellulose) โดยส่วนใหญ่ใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหาร (food additive) สังเคราะห์จากเซลลูโลส ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชที่ใช้กันแพร่หลายในการผลิตพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายทางชีวภาพ เนื่องจากสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ อย่างไรก็ตามวัสดุที่ผลิตจาก CMC ยังคงพบว่ามีคุณสมบัติทางกลต่ำ ไม่มีความทนทานต่อเสถียรภาพทางความร้อนและมีการดูดซึมน้ำสูง เพื่อปรับปรุงข้อบกพร่องเหล่านี้จำเป็นต้องใช้วัสดุพอลิเมอร์สังเคราะห์ เช่น การเติมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่มีสมบัติการดูดซับความชื้นต่ำ ป้องกันการดูดซึมน้ำได้ดีและสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ [3-4]

บรรจุภัณฑ์กระดาษเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่เป็นที่นิยมในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นวัสดุที่มีการหมุนเวียน และย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ไม่ก่อให้เกิดมลพิษทางสิ่งแวดล้อม ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลลูโลสจากแหล่งต่างๆ ในธรรมชาติ อย่างไรก็ตามบรรจุภัณฑ์กระดาษยังมีข้อจำกัดในด้านโครงสร้างเป็นรูพรุน ความต้านทานจุลินทรีย์ต่ำ และคุณสมบัติเชิงกลต่ำยากต่อการต้านทานความชื้น ทำให้อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารสั้นลง [5] ดังนั้นเพื่อพัฒนาคุณสมบัติของบรรจุภัณฑ์กระดาษ มีการศึกษาการเคลือบกระดาษด้วยนาโนเซลลูโลสเพื่อปิดอุดรูพรุนของกระดาษ โดยมีการเติมเซอร์บิทอลที่เป็นพลาสติกไซเซอร์เพื่อให้บรรจุภัณฑ์กระดาษมีความเหนียวเพิ่มขึ้น และเติมกรดซิตริกเพื่อให้เกิดความเชื่อมขวางของสารเคลือบกระดาษสามารถต้านทานความชื้นได้ [6] บรรจุภัณฑ์อาหารที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพได้รับความสนใจในการพัฒนาทั้งในด้านวิชาการและด้านอุตสาหกรรม โดยมุ่งเน้น ความแข็งแรง [7] ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ [2] และการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในอาหาร โดยพบว่าอาหารที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อแบคทีเรียบางชนิด เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* (*E. coli*) และ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในคนหากได้รับแบคทีเรีย *S. aureus* ปนเปื้อนในปริมาณที่ก่อโรคน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม จะสามารถทำให้กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อ่อนเพลีย บางรายรุนแรงมีอาการปวดศีรษะ ปวดกล้ามเนื้อ และความดันโลหิตเปลี่ยนแปลง [8] บรรจุภัณฑ์ออกฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถเตรียมด้วยขั้นตอนที่ไม่ซับซ้อน โดยการเติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในฟิล์ม เช่น น้ำมันหอมระเหย สารสกัดธรรมชาติที่มีองค์ประกอบของฟีนอลิก กรดที่ได้จากผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว [9] และอนุภาคโลหะออกไซด์ เป็นต้น จากงานวิจัยที่ผ่านมาของคณะผู้วิจัยพบว่าการใช้สารสกัดจากกากกาแฟร่วมกับกรดซิตริกตั้งแต่ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ในฟิล์มแป้งผสม PVA ส่งผลให้เกิดงานร่วมในการยับยั้งเชื้อ *E. Coli* และ *S. Aureus* [10] นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Trongchuen และคณะ [11] พบว่าโพลีเอทิลีนคอมพอสิตที่เติมน้ำมันหอมระเหยออริกานอร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก ร่วมกับสารสกัดจากกากกาแฟ และเส้นใยกากกาแฟร้อยละ 10 ทำให้เกิดงานร่วมในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* เนื่องจากสารสกัดจากกากกาแฟมีองค์ประกอบของกรดคาเฟอิก คลอโรจีนิกและองค์ประกอบของฟีนอลิกที่ช่วยในการยับยั้งแบคทีเรียร่วมกับน้ำมันหอมระเหยและกรดซิตริก แต่อย่างไรก็ตามการเติมน้ำมันหอมระเหยและกรดในฟิล์มบรรจุภัณฑ์อาจทำให้น้ำมันหอมระเหยและกรดภายในฟิล์มแทรกซึมปะปนกับอาหารส่งผลให้อาหารมีรสชาติเปลี่ยนไปจากเดิมด้วยเหตุนี้จึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาฟิล์มบรรจุภัณฑ์ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น การเติมอนุภาคโลหะออกไซด์ที่ได้รับรองจากมาตรฐานความปลอดภัย EU safety regulations ในบรรจุภัณฑ์อาหารจึง

เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง เนื่องจากกลไกการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากการซึมผ่านไอออนของโลหะเข้าสู่ภายในเซลล์ ส่งผลให้เซลล์เกิดความเสียหายและเข้าไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ไอออนโลหะ ซึ่งกลไกนี้จะไม่ส่งผลกระทบต่อกลิ่นและรสชาติของอาหาร

อนุภาคนาโนซิลเวอร์ (AgNPs) เป็นวัสดุออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลาย เช่น บรรจุภัณฑ์อาหาร วัสดุทางการแพทย์ และวัสดุสิ่งทอ AgNPs สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ด้วยกลไกที่หลากหลาย ดังนี้ (i) รบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มแบคทีเรียทำให้เกิดรั่วไหลภายในเซลล์ (ii) เข้าทำปฏิกิริยาการสลายอาหารภายในเซลล์ส่งผลให้เกิดการเสียสมดุล และ (iii) ขัดขวางระบบการทำงานของ ดีเอ็นเอ และการขัดขวางการส่งผ่านสารอาหารภายในเซลล์ การสังเคราะห์ AgNPs สามารถสังเคราะห์ได้ด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารเคมี ได้แก่ โบโรไฮเดรต ซิเตรต แอสคอร์เบต และสารประกอบไฮโดรเจน เพื่อทำปฏิกิริยากับซิลเวอร์ไนเตรตและเกิดปฏิกิริยารีดักชัน ซึ่งทำให้ได้อนุภาคของ AgNPs ที่มีความเสถียรสูง อย่างไรก็ตามสารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์มีความเป็นพิษและเป็นสารอันตราย วิธีการสังเคราะห์โดยผ่านกระบวนการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Green synthesis) จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการสังเคราะห์ AgNPs จากสารสกัดธรรมชาติที่ไม่มีความเป็นพิษในการสังเคราะห์ เช่น ชาเขียว [12] กาแฟ [13] แป้งและยางธรรมชาติ [14] เป็นต้น โดยทั่วไปแล้วการนำสารสกัดธรรมชาติมาใช้ในการสังเคราะห์จะต้องพิจารณาถึงองค์ประกอบที่จำเป็นต่อการเกิดปฏิกิริยาของ AgNPs ได้แก่ สารประกอบเทอพานอยด์ โกลโคไซด์ อัลคาลอยด์ และฟีนอลิก ในงานวิจัยของ Nadagouda และคณะ [15] พบว่าคาเฟอีนและสารประกอบพอลิฟีนอลสามารถเกิดปฏิกิริยากับไอออนของซิลเวอร์ไนเตรตทำให้ได้ AgNP ซึ่งในงานวิจัยของ Dhand และคณะ [13] ได้สังเคราะห์ AgNPs โดยใช้สารสกัดจากเมล็ดกาแฟอาราบิก้า พบว่ามีขนาดอนุภาค AgNPs อยู่ในช่วง 20-30 นาโนเมตร โครงสร้างอนุภาคนาโนซิลเวอร์มีลักษณะเป็นผลึกสี่เหลี่ยม AgNPs ที่สังเคราะห์จากซิลเวอร์ไนเตรตความเข้มข้น 0.05-0.1 โมลลาร์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ได้

จากงานวิจัยที่ผ่านมาการสังเคราะห์ AgNPs นั้นสามารถสังเคราะห์ได้จากสารสกัดธรรมชาติ ซึ่งการใช้สารสกัดจากธรรมชาติจากวัสดุที่เป็นของเสีย เช่น กากกาแฟ ในการสังเคราะห์ AgNPs ยังไม่มีผู้ศึกษาวิจัย และนอกจากนี้การเตรียม AgNPs บน Fe_3O_4 ที่ทำหน้าที่เป็นตัวรองรับ ซึ่งทำให้สามารถแยก AgNPs/ Fe_3O_4 ออกจากสารละลายที่ใช้ในการสังเคราะห์ได้ง่ายด้วยการใช้แม่เหล็ก ทำให้ทราบปริมาณที่แน่นอนในการเติมในพอลิเมอร์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาการสังเคราะห์ AgNPs/ Fe_3O_4 ด้วยสารสกัดกากกาแฟและกระดาศบรจุภัณฑ์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพที่ประกอบด้วย AgNPs สังเคราะห์ด้วยสารสกัดกากกาแฟ เพื่อพัฒนาเป็นบรรจุภัณฑ์ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

วิธีการวิจัย

1. วัสดุอุปกรณ์

โซเดียมคาร์บอกซิเมทิลเซลลูโลส (CMC) ความบริสุทธิ์ 99.99% พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่มีระดับการเกิดพอลิเมอร์เชน 1,700-1,800 ความหนืด 25-32 เซนติพอยซ์, การไฮโดรไลซิส 98-99 ร้อยละโดยโมล ผลิตจาก Laboratory reagents & Fine Chemical ซิลเวอร์ไนเตรต ความบริสุทธิ์ 99.8% จากบริษัท RCI Labscan Limited กากกาแฟ (SCG) จากร้านคอฟฟี่เดอเฟอเรส สาขามหาวิทยาลัยขอนแก่น (อบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และแยกขนาดด้วยตะแกรงเบอร์ 60) กลีเซอรอล มวลโมเลกุล 92.09 กรัม/โมล จาก KEMAUS โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Micropearls) จากบริษัท RCI Labscan Limited เพอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) มวลโมเลกุล 278.02 กรัม/โมล จาก KEMAUS เพอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) มวลโมเลกุล 278.02 กรัม/โมล จาก AppliChem กรดซิตริก จากบริษัท RCI Labscan Limited ปรุศจากประจุ (Deionized water: DI)

2. วิธีทดลอง

2.1 การสังเคราะห์อนุภาคเหล็กออกไซด์ [16] เพื่อเป็นตัวรองรับ 1 เตรีมน้ำ DI 125 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเฟอร์ริกคลอไรด์ ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 4 กรัม กวนเป็นเวลา 10 นาที เติมน้ำซัลเฟต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 2.7 กรัม กวนต่อเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม ลงในน้ำ DI 40 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆ เทลงในสารละลาย กวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะได้อนุภาคเหล็กออกไซด์เกิดขึ้นในสารละลาย เหล็กออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะถูกแยกโดยใช้แม่เหล็ก และนำเหล็กออกไซด์ที่ถูกแยกออกมาบให้แห้งที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง หลังจากทำการอบแห้งแล้ว อนุภาคเหล็กออกไซด์จะถูกนำไปชะล้างด้วยน้ำ DI เพื่อทำการปรับค่า pH จนกระทั่งอนุภาคเหล็กออกไซด์มีความเป็นกลาง หลังจากนั้นอนุภาคเหล็กออกไซด์จะถูกนำไปอบแห้งอีกครั้งที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

2.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยวิธีทางธรรมชาติ โดยใช้คลื่นไมโครเวฟ โดยการเตรียมน้ำ DI ที่ 90 องศาเซลเซียส ใส่กากกาแฟที่โดยใช้อัตราส่วนกากกาแฟต่อน้ำ DI ที่ 1:10 กวนเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นกรองสารละลายด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายที่กรองเบื้องต้นไปตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง เติมนอนุภาคเหล็กออกไซด์ (Fe_3O_4) และสารละลายซิลเวอร์ในเตรตเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ลงใน ex-SCG 50 มิลลิลิตร กวนเป็นเวลา 2 นาที เทสารละลายลงในโถแก้ว แล้วปิดฝา นำเข้าเครื่องไมโครเวฟยี่ห้อ SHARP รุ่น R-219 30 นาที ที่กำลังไฟต่ำสุด เพื่อให้เกิดอนุภาคนาโนซิลเวอร์ (AgNPs) บนอนุภาคเหล็กออกไซด์ (Fe_3O_4) จากนั้นทำการแยก AgNPs/ Fe_3O_4 ออกจาก ex-SCG ด้วยแม่เหล็ก นำเข้าอบให้แห้งที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

2.3 กระบวนการเตรียมสารเคลือบกระดาษ โดยการละลาย CMC 1 กรัม ใน ex-SCG 25 มิลลิลิตร และละลาย PVA 1 กรัม ใน ex-SCG 25 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำสารละลาย CMC และ PVA ผสมกัน กวนให้เข้ากัน เติมนอนุภาค AgNPs/ Fe_3O_4 ในปริมาณที่แตกต่างกัน ดังนี้ 0, 0.1 และ 0.2 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตรลงในสารละลาย PVA/CMC หลังจากนั้นสารละลายจะถูกนำเข้าสู่เครื่องอัลตราโซนิก เป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำให้อนุภาค AgNPs/ Fe_3O_4 สามารถกระจายตัวสารละลาย PVA/CMC เติมนกลีเซอรอล 0.5 มิลลิลิตร กวนเป็นเวลา 2 นาที เติมนครดซิทริก 0.75 กรัม กวนเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้เคลือบลงบนกระดาษด้วย Doctor Blad

3. การวิเคราะห์ลักษณะของอนุภาคนาโนซิลเวอร์/เหล็กออกไซด์ (AgNPs/ Fe_3O_4)

วิเคราะห์โครงสร้างผลึกของ AgNPs และ Fe_3O_4 ด้วยเทคนิควิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ (X-ray Diffractometer: XRD) ที่มุม $0^\circ \leq 2\theta \leq 80^\circ$

4. การวิเคราะห์คุณสมบัติของกระดาษเคลือบด้วย AgNPs/ Fe_3O_4

ทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *E. coli* และ *S. aureus* โดยก่อนการทดสอบทำการเพาะเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Brain heart infusion broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อที่ได้ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร วางบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Muller Hinton agar และทำการตรวจนับเชื้อให้ได้ 106 CFU/mL ทำการตัดชิ้นงานขนาด 1×1 เซนติเมตร เพื่อนำไปวางบนจานที่เตรียมไว้จากนั้นทิ้งไว้ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดรัศมีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย, วิเคราะห์ลักษณะพื้นฐานของกระดาษที่เคลือบด้วย AgNPs/ Fe_3O_4 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) มีการใช้อุปกรณ์สำหรับการเคลือบตัวอย่างทั้งหมดด้วยทองคำบาง, วิเคราะห์สมบัติทางกลของกระดาษที่เคลือบด้วย AgNPs/ Fe_3O_4 โดยการทดสอบสมบัติต้านทานต่อแรงดึงด้วยเครื่อง Universal testing machine (Instron, Model 5567) โหลดเซลล์ขนาด 5 กิโลนิวตันตามวิธี ASTM D 882-10 (2015), การวิเคราะห์ความชื้นที่มีผลต่อการดูดซึมน้ำของกระดาษเคลือบด้วย AgNPs/ Fe_3O_4 โดยการ

นำชิ้นงานตัวอย่างขนาด 2x2 เซนติเมตร เก็บในกล่องที่มีเกลือ $MgCl_2$ K_3CO_3 $Mg(NO_3)$ และ $NaCl$ ซึ่งให้ค่าความชื้น 32% 43% 52% และ 75% ตามลำดับ เป็นเวลา 45 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ผลการวิจัย

1. ผลการวิเคราะห์ลักษณะของอนุภาคนาโนซิลเวอร์/เหล็กออกไซด์ ($AgNPs/Fe_3O_4$)

การวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของ $AgNPs$ และ Fe_3O_4 ด้วยเทคนิควิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ (X-ray Diffractometer: XRD) ที่มุม $0^\circ \leq 2\theta \leq 80^\circ$ จากภาพที่ 1 แสดงระนาบของอนุภาคเหล็กออกไซด์ (Fe_3O_4) และอนุภาคนาโนซิลเวอร์เหล็กออกไซด์ ($AgNPs/Fe_3O_4$) ที่ศึกษาด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ Fe_3O_4 พบพีคที่ตำแหน่ง 30.22° , 35.66° , 43.25° , 53.55° , 57.25° และ 62.88° แสดงถึงระนาบ (220), (311), (400), (422), (511) และ (440) ตามลำดับ แสดงถึงลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ Face cubic (FC) [17] เมื่อทำการสังเคราะห์ $AgNPs$ ลงบน Fe_3O_4 โดยในการสังเคราะห์ที่เวลา 30 นาที จะพบตำแหน่งพีคของ $AgNPs$ ที่ตำแหน่ง 28.19° , 44.41° , 64.44° และ 77.47° แสดงถึงระนาบ (111), (200), (220) และ (311) ตามลำดับ ของ Face-center cubic (FCC) [18] จากผลการศึกษาลักษณะโครงสร้างผลึกของ $AgNPs/Fe_3O_4$ แสดงให้เห็นว่าสามารถสังเคราะห์ $AgNPs$ ลงบน Fe_3O_4 ได้ด้วยวิธีอย่างง่ายและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

2. ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของกระดาษเคลือบด้วย $AgNPs/Fe_3O_4$

จากการศึกษาการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารเคลือบผิวของกระดาษที่อัตราส่วน $AgNPs/Fe_3O_4$ แตกต่างกันใน PVA/CMC ที่ใช้เคลือบกระดาษด้วยวิธี Agar diffusion ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหารจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* (*E. coli*) และแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ดังแสดงในภาพที่ 2 จากผลการทดลองพบว่าการเติมกรดซิตริกสามารถช่วยยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ จะเห็นได้จาก $AgNPs/Fe_3O_4$ ที่ 0 %wt/v มีโซนการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* เป็น 2.84 มิลลิเมตร และ 3.19 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งเป็นผลจากการดัดแปรที่มีคุณสมบัติด้านจุลชีพเนื่องจากแสดงลักษณะความเป็นกรด (acidulation) และสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทางอ้อม เนื่องจากเป็นสารที่สามารถจับกับไอออนของโลหะ (chelating agent) ที่เป็นสารตั้งต้นสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย [19] จากการเพิ่มปริมาณของ $AgNPs/Fe_3O_4$ ใน PVA/CMC ที่ใช้เคลือบกระดาษ พบว่าที่ $AgNPs/Fe_3O_4$ 0.1 %wt/v แสดงให้เห็นโซนการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด มีโซนการยับยั้ง เป็น 5.56 มิลลิเมตร และ 3.69 มิลลิเมตร ทั้งนี้ นอกจากฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของกรดซิตริกแล้ว ยังมีสารสกัดจากกาแฟ (ex-SCG) อนุภาคนาโนซิลเวอร์ ($AgNPs$) และอนุภาคเหล็กออกไซด์ (Fe_3O_4) ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดย $AgNPs$ และ Fe_3O_4 มีการปลดปล่อยซิลเวอร์ไอออนของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ และเหล็กไอออนของอนุภาคเหล็กออกไซด์ที่สามารถทำลายโปรตีนในแบคทีเรียและสร้างออกซิเจนที่แอกทีฟสามารถยับยั้งการเคลื่อนผ่านเมมเบรนได้ จากภาพที่ 2 จะเห็นว่า การยับยั้งแบคทีเรียของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) จะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) เนื่องจากแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) มีเยื่อหุ้มเซลล์เพียงหนึ่งชั้นจึงทำให้แบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) ถูกยับยั้งได้ง่ายกว่า [20] เนื่องจากแทรกซึมของกรดซิตริก ไอออนของเงินและไอออนของเหล็กเข้าไปในเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกได้ง่ายกว่า อีกทั้งยังสามารถจับและขจัดไอออนโลหะที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างมากในการค้นพบการเกิดงานร่วมของกรดซิตริกและอนุภาคนาโนซิลเวอร์และอนุภาคเหล็กออกไซด์ต่อความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามการนำมาเป็นผลิตภัณฑ์บรรจุอาหารจำเป็นจะต้องทดสอบความปลอดภัยตามมาตรฐาน ในงานวิจัยของ N. Srikhao

และคณะ [21] ระบุว่าควรมีการปลดปล่อยไอออนเงินไม่เกิน 60 มิลลิกรัมของสารตั้งต้นต่อกิโลกรัมของอาหารซึ่งจะทำการทดสอบต่อไป

จากการศึกษาความขึ้นที่มีผลต่อการดูดซึมความขึ้นของ AgNPs/Fe₃O₄ ที่ 0.1 %wt/v ดังแสดงในภาพที่ 3 โดยพบว่า ที่ความขึ้นสัมพัทธ์ในช่วง 32% 43% และ 52% ขึ้นงานมีการดูดซึมความขึ้นน้อยมาก แสดงให้เห็นว่าขึ้นงานมีความต้านทานความขึ้นได้ดีในช่วงความขึ้นดังกล่าว อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาความขึ้นสัมพัทธ์ที่ 75% พบว่าขึ้นงานมีการดูดซึมความขึ้นในช่วง 7.41% ถึง 9.63% เนื่องจากพอลิเมอร์เมตริกซ์ที่เป็นสารเคลือบกระดาศ PVA/CMC เข้าไปอุดตันรูพรุนและเพิ่มความขรุขระบนพื้นผิวของกระดาศเคลือบ ส่งผลให้สามารถต้านทานความขึ้นได้ และเมื่อเติม AgNPs/Fe₃O₄ ในปริมาณที่เหมาะสม จะทำให้ AgNPs/Fe₃O₄ มีการกระจายตัวที่ติดบนพื้นผิวและทำให้ความขรุขระบนพื้นผิวกระดาศเพิ่มขึ้น หากเติม AgNPs/Fe₃O₄ ในปริมาณที่ไม่เหมาะสมจะทำให้อนุภาค AgNPs/Fe₃O₄ รวมกลุ่มกัน ไม่เกิดการกระจายตัวของอนุภาคความสามารถในการต้านทานความขึ้นจะลดลง ในงานวิจัยของ A. Ounkaew [22] พบว่าการเติมสารเคลือบกระดาศด้วยแป้งที่มี AgNPs ในปริมาณที่เหมาะสม จะทำให้ AgNPs มีการกระจายตัวที่ติดบนพื้นผิวและทำให้ความขรุขระบนพื้นผิวกระดาศเพิ่มขึ้น

จากการวิเคราะห์พื้นผิวขึ้นงานตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด ดังภาพที่ 4 พบว่าที่การเติม AgNPs/Fe₃O₄ 0.1 %wt/v มีการกระจายตัวของอนุภาคที่ดี และจะเห็นการรวมตัวกันของอนุภาคบนพื้นผิว เมื่อเติม AgNPs/Fe₃O₄ 0.2 %wt/v เนื่องจากการเติมสารเคลือบกระดาศด้วย PVA/CMC ที่มี AgNPs/Fe₃O₄ ในปริมาณที่เหมาะสม จะทำให้ AgNPs/Fe₃O₄ มีการกระจายตัวที่ติดบนพื้นผิวและทำให้ความขรุขระบนพื้นผิวกระดาศเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลของความขึ้นที่มีผลต่อการดูดซึมน้ำทำให้กระดาศเคลือบด้วย AgNPs/Fe₃O₄ มีคุณสมบัติในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์บรรจุอาหาร

และจากตารางที่ 2 แสดงค่าความต้านทานแรงดึงและค่ามอดูลัสแรงดึงของกระดาศที่เคลือบด้วย PVA/CMC ที่มี AgNPs/Fe₃O₄ ตามลำดับ โดยการเติม AgNPs/Fe₃O₄ ที่ 0.1 %wt/v ส่งผลให้ได้ค่าความต้านทานแรงดึงและค่ามอดูลัสแรงดึงสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 51.21 เมกกะปาสคาล และ 4.86 เมกกะปาสคาล ตามลำดับ เนื่องจากกระดาศที่เคลือบด้วย PVA/CMC ที่มีการเติม AgNPs/Fe₃O₄ ในเมตริกซ์ทำหน้าที่เป็นวัสดุเสริมแรงช่วยในการกระจายการรับแรง [23] นอกจากนี้ในงานวิจัยของ J. Jung และคณะ [24] และ E. Amini และคณะ [25] พบว่า AgNPs สามารถเกิดแรงกระทำกับหมู่ไฮดรอกซิลของเซลลูโลสทำให้เพิ่มความแข็งแรงกับกระดาศที่มีการเคลือบด้วย AgNPs สำหรับการเติม AgNP/Fe₃O₄ ใน PVA/CMC ที่ 0.2 %wt/v ค่าความต้านทานแรงดึงและค่ามอดูลัสแรงดึงมีค่าลดลง เนื่องจากการรวมกลุ่มของอนุภาค AgNPs/Fe₃O₄ ส่งผลให้ความสามารถในการกระจายการรับแรงมีค่าลดลง

สรุป

ในงานนี้สามารถผลิตบรรจุภัณฑ์ที่ช่วยถนอมอาหาร และต้านเชื้อแบคทีเรียได้จากสังเคราะห์ AgNPs/Fe₃O₄ เคลือบลงบนกระดาศบรรจุภัณฑ์ โดยการสังเคราะห์ AgNPs/Fe₃O₄ ด้วยวิธีทางธรรมชาติ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและมีการสังเคราะห์อย่างง่ายโดยมีการนำกากกาแฟที่ใช้แล้วมาสกัดเพื่อเป็นสารรีดิวซ์ทางชีวภาพในการสังเคราะห์ AgNPs ลงบน Fe₃O₄ จากการวิเคราะห์ SEM แสดงให้เห็นถึงการกระจายตัวที่ดีของกระดาศเคลือบด้วย AgNPs/Fe₃O₄ 0.1 %wt/v และยังสามารถต้านทานความขึ้นได้เป็นอย่างดี และจากการทดสอบเชิงกลพบว่า AgNPs/Fe₃O₄ 0.1 %wt/v สามารถต้านแรงดึงได้ดีที่สุด เมื่อนำกระดาศเคลือบด้วย AgNPs/Fe₃O₄ ทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียพบว่าที่กระดาศเคลือบด้วย AgNPs/Fe₃O₄ 0.1 %wt/v มีการทำงานร่วมกันกับกรดซิตริกในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและ

กรรมลบ ดังนั้นจากผลการวิจัยจึงสรุปได้ว่า กระจกเคลือบด้วย AgNPs/Fe₃O₄ 0.1 %wt/v มีประสิทธิภาพเหมาะแก่การนำไปประยุกต์ใช้งานในด้านบรรจุภัณฑ์อาหารและยืดอายุอาหารที่เน่าเสียง่าย

กิตติกรรมประกาศ

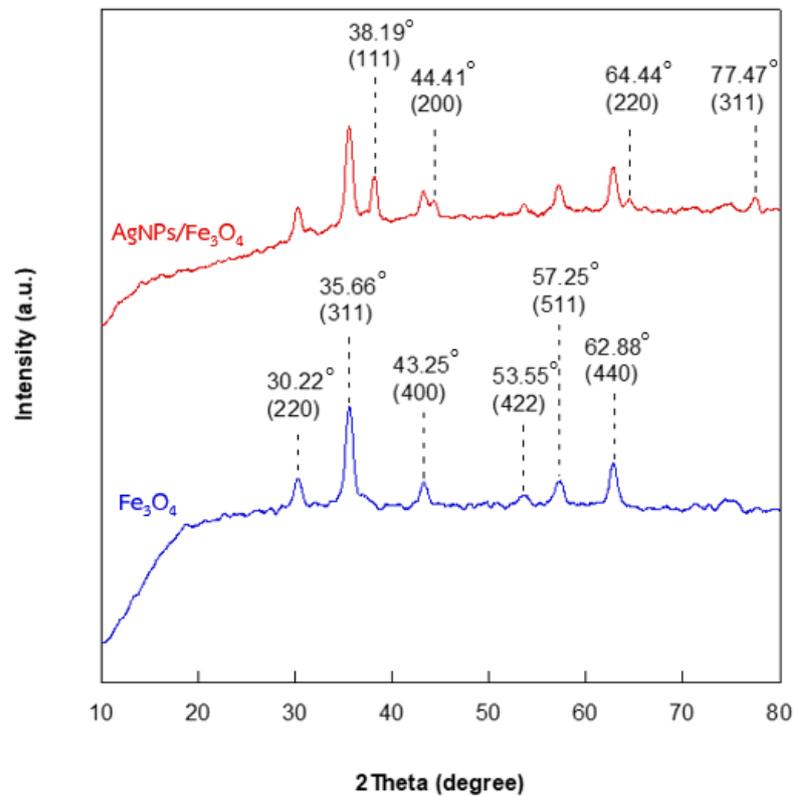
งานวิจัยนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม โดยหน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการพัฒนากำลังคน และทุนด้านการพัฒนาสถาบันอุดมศึกษา การวิจัยและการสร้างนวัตกรรม สัญญาเลขที่ B05F630052

เอกสารอ้างอิง

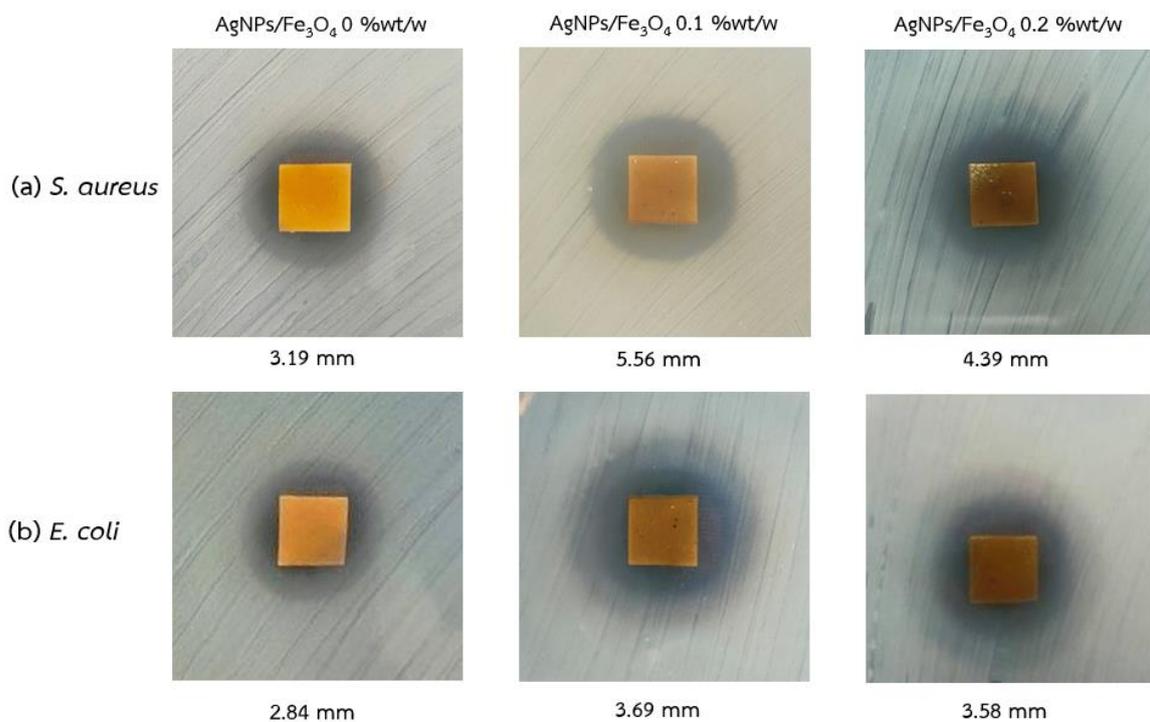
1. Ramkumar PL, Kulkarni DM, Abhijit VWR, Cherukumudi A. Investigation of Melt Flow Index and Impact Strength of Foamed LLDPE for Rotational Moulding Process. *Procedia Mater Sci* [Internet]. 2014;6(Icmpc):361–367.
2. Seligra PG, Medina Jaramillo C, Famá L, Goyanes S. Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch-glycerol with citric acid as crosslinking agent. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2016;138:66–74.
3. Tang X, Alavi S. Structure and physical properties of starch/poly vinyl alcohol/laponite RD nanocomposite films. *J Agric Food Chem*. 2012;60(8):1954–1962.
4. Contat L, Ribes A. Thermal degradation of polypropylene / starch-based materials with enhanced biodegradability. 2004;86.
5. Jin K, Tang Y, Liu J, Wang J, Ye C. Nanofibrillated cellulose as coating agent for food packaging paper. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2021;168:331–338.
6. Herrera MA, Mathew AP, Oksman K. Barrier and mechanical properties of plasticized and cross-linked nanocellulose coatings for paper packaging applications. *Cellulose*. 2017;24(9):3969–3980.
7. Priya B, Kumar V, Pathania D, Singh A. Synthesis , characterization and antibacterial activity of biodegradable starch / PVA composite films reinforced with cellulosic fibre. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2014;109:171–179.
8. Vermeiren L, Devlieghere F, Beest M Van, Kruijff N De, Debevere J. Developments in the active packaging of foods. 1999;10:77–86.
9. Reddy N, Yang Y. Citric acid cross-linking of starch films. *Food Chem* [Internet]. 2010;118(3):702–711.
10. Ounkaew A, Kasemsiri P, Kamwilaisak K, Saengprachatanarug K, Mongkolthananuk W, Souvanh M, et al. Polyvinyl Alcohol (PVA)/Starch Bioactive Packaging Film Enriched with Antioxidants from Spent Coffee Ground and Citric Acid. *J Polym Environ* [Internet]. 2018;26(9):3762–3772.
11. Trongchuen K, Ounkaew A, Kasemsiri P, Hiziroglu S, Mongkolthananuk W, Wannasutta R, et al. Bioactive Starch Foam Composite Enriched With Natural Antioxidants from Spent Coffee Ground and Essential Oil. 2018;1700238:1–9.



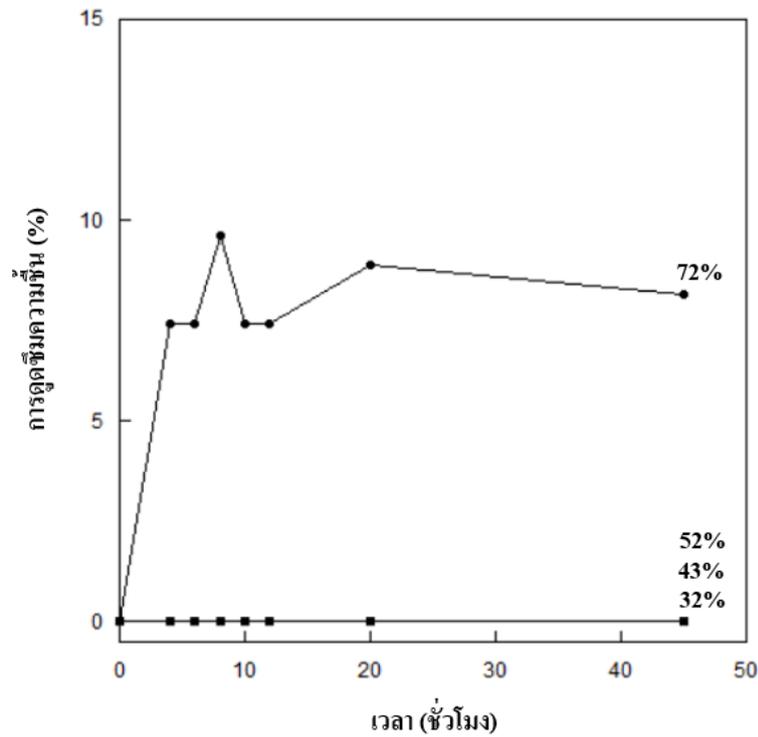
12. Vilchis-nestor AR, Sánchez-mendieta V, Camacho-lópez MA, Gómez-espinosa RM, Camacho-lópez MA, Arenas-alatorre JA. Solventless synthesis and optical properties of Au and Ag nanoparticles using *Camellia sinensis* extract. 2008;62:3103–3105.
13. Dhand V, Soumya L, Bharadwaj S, Chakra S, Bhatt D, Sreedhar B. Green synthesis of silver nanoparticles using *Coffea arabica* seed extract and its antibacterial activity. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2016;58:36–43.
14. Bakar NHHA, Ismail J, Bakar MA. Synthesis and characterization of silver nanoparticles in natural rubber. 2007;104:276–283.
15. Nadagouda MN, Varma RS. Green synthesis of silver and palladium nanoparticles at room temperature using coffee and tea extract. 2008;859–862.
16. Tomke PD, Rathod VK. Facile fabrication of silver on magnetic nanocomposite (Fe_3O_4 @Chitosan-AgNP nanocomposite) for catalytic reduction of anthropogenic pollutant and agricultural pathogens. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2020;149:989–999.
17. Huang Y, Yang Y, Huan W, Yuan H, Wang L, Carlini R. Preparation of Magnetic Pearlescent Pigment Mica / Fe_3O_4 by Thermally Decomposing Ferric Formate Composite Containing Hydrazine. *J Inorg Organomet Polym Mater* [Internet]. 2018;28(3):651–670.
18. Mehata MS. Green synthesis of silver nanoparticles using *Kalanchoe pinnata* leaves (life plant) and their antibacterial and photocatalytic activities. *Chem Phys Lett* [Internet]. 2021;778(April):138760.
19. Søltoft-jensen J, Hansen F. Biochemical Hurdles [Internet]. *Emerging Technologies for Food Processing: An Overview*. Elsevier Ltd; 2005. 0–12 p.
20. López-De-Dicastillo C, Gómez-Estaca J, Catalá R, Gavara R, Hernández-Muñoz P. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. *Food Chem*. 2012;131(4):1376–1384.
21. Srikhao N, Kasemsiri P, Ounkaew A, Lorwanishpaisarn N, Okhawilai M, Pongsa U, et al. Bioactive Nanocomposite Film Based on Cassava Starch/Polyvinyl Alcohol Containing Green Synthesized Silver Nanoparticles. *J Polym Environ* [Internet]. 2021;29(2):672–684.
22. Ounkaew A, Kasemsiri P, Srichiangsa N, Hizioglu S, Maraphum K, Posom J, et al. Green synthesis of nanosilver coating on paper for ripening delay of fruits under visible light. *J Environ Chem Eng* [Internet]. 2021;9(2):105094.
23. Wang X, Han B, Yu RP, Li FC, Zhao ZY, Zhang QC, et al. Magnetic-responsive Fe_3O_4 nanoparticle impregnated cellulose paper actuators. *Extrem Mech Lett* [Internet]. 2018;25:53–59.
24. Jung J, Kasi G, Seo J. Amini2016_Article_Silver-nanoparticle-impregnate. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2018;112:530–536.
25. Amini E, Azadfallah M, Layeghi M, Talaei-Hassanlou R. Silver-nanoparticle-impregnated cellulose nanofiber coating for packaging paper. *Cellulose*. 2016;23(1):557–570.



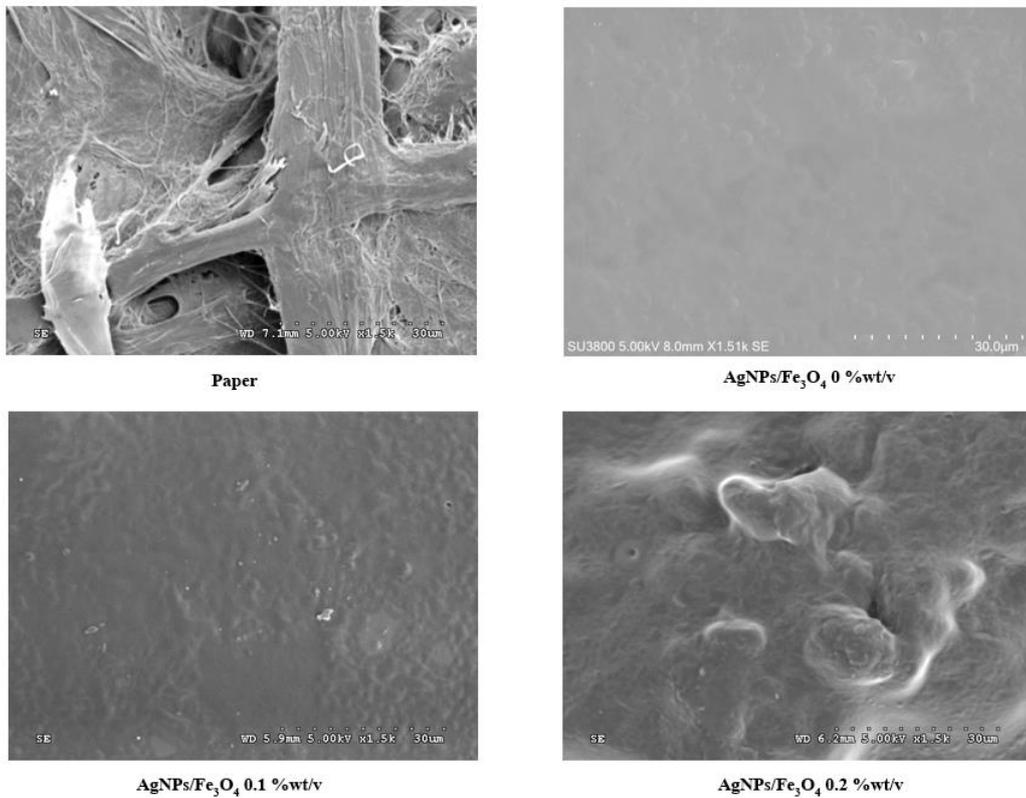
ภาพที่ 1 กราฟ XRD ของอนุภาคเหล็กออกไซด์ (Fe₃O₄) และอนุภาคนาโนซิลเวอร์เหล็กออกไซด์ (AgNPs/Fe₃O₄)



ภาพที่ 2 ความสามารถในการต้านทานแบคทีเรียของของกระดาศเคลือบ (a) *S. aureus* และ (b) *E. coli*



ภาพที่ 3 กราฟแสดงค่าการดูดซึมน้ำของ AgNPs/Fe₃O₄ ที่ 0.1 %wt/v ที่ค่าความชื้นสัมพัทธ์ในช่วง 32% 43% 52% และ 72% โดย ● แสดงค่าความชื้นสัมพัทธ์ที่ 72% และ ■ แสดงค่าความชื้นสัมพัทธ์ที่ 32% 43% และ 52%



ภาพที่ 4 การวิเคราะห์พื้นผิวชิ้นงานตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM)

ตารางที่ 1 แสดงค่าโซนการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S.aureus* และ *E.coli* ของกระดาษที่เคลือบด้วย PVA/CMC ที่มี AgNPs/Fe₃O₄ แตกต่างกัน

	ปริมาณ AgNPs/Fe ₃ O ₄	ขนาดโซนการยับยั้ง (mm)	ขนาดชิ้นงาน (mm)	ระยะโซนการยับยั้ง (mm)
<i>S.aureus</i>	0 %wt/w	13.74	10.55	3.19
	0.1 %wt/w	15.98	10.42	5.56
	0.2 %wt/w	14.77	10.39	4.39
<i>E.coli</i>	0 %wt/w	13.13	10.29	2.84
	0.1 %wt/w	14.23	10.54	3.69
	0.2 %wt/w	14.18	10.65	3.58

ตารางที่ 2 แสดงค่าความต้านทานแรงดึง (Tensile strength) และค่ามอดูลัสแรงดึง (Modulus) ของกระดาษที่เคลือบด้วย PVA/CMC ที่มี AgNPs/Fe₃O₄ แตกต่างกัน

ปริมาณ AgNPs/Fe ₃ O ₄	ค่าความต้านทานแรงดึง (MPa)	ค่ามอดูลัสแรงดึง (MPa)
0 %wt/w	48.51±1.88	4.79±0.23
0.1 %wt/w	51.21±0.71	4.86±0.32
0.2 %wt/w	47.69±1.30	4.59±0.16