Science and Technology

RMUTT Journal

Vol.10 No.1 (2020) : 10-18

www.sci.rmutt.ac.th/stj

Online ISSN 2229-1547

การผลิตกระดาษชานอ้อยที่มีคุณสมบัติต้านแบคทีเรียสาเหตุของกลิ่นเท้า

Production of Bagasse Paper with Antibacterial Activity against Foot-Odor Causing Bacteria

สุจยา ฤทธิศร[1*] และ ทรงพล จำดิษฐ์[2]

[1]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12110

[2]สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

*E-mail: ritthisorn_s @rmutt.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของไทเทเนียมไดออกไซด์ (TiO_2) และซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มีรายงานว่าเป็นสาเหตุหนึ่งของอาการเท้าเหม็นจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ทำการทดสอบด้วยวิธีบรอทไมโครไดลูชัน (broth microdilution) ผลการทดลองพบว่าไทเทเนียมไดออกไซด์ในระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ (25 mM) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ในขณะที่ซิลเวอร์ไนเตรตมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) *B. subtilis S. aureus* และ *S. epidermidis* เท่ากับ 0.3906 0.7813 และ 0.7813 mM ตามลำดับ และมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) 0.3906 0.7813 และ 0.7813 mM ตามลำดับ เมื่อนำซิลเวอร์ไนเตรตผสมกับสารเคลือบแล้วเคลือบลงบนผิวของกระดาษชานอ้อยที่ผลิตขึ้นเอง พบว่าฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* และ *S. epidermidis* ของกระดาษที่มีและไม่มีสารเคลือบ (coating agent) ไม่แตกต่างกัน

คำสำคัญ : ไทเทเนียมไดออกไซด์ ซิลเวอร์ไนเตรต โรคเท้าเหม็น กระดาษชานอ้อย

Received: December 13, 2019

Revised: January 10, 2020

Accepted: April 12, 2020

Abstract

The aim of this study was to evaluate the antibacterial activities of titanium dioxide (TiO_2) and silver nitrate ($AgNO_3$) against 3 foot-odor causing bacteria, including *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Broth microdilution assay revealed that the highest concentration (25mM) of TiO_2 was unable to inhibit all tested bacteria while the minimum inhibitory concentration (MIC) of $AgNO_3$ against *B. subtilis, S. aureus* and *S. epidermidis* were 0.3906, 0.7813 and 0.7813 mM, respectively and the minimum bactericidal concentration (MBC) of $AgNO_3$ were 0.3906, 0.7813 and 0.7813 mM, respectively. When $AgNO_3$ was coated on handmade bagasse paper, the antibacterial activity of the coated paper against *B. subtilis* and *S. epidermidis* was not different from that of the uncoated paper.

Keywords: Titanium dioxide, Silver nitrate, Foot odor, Bagasse paper

1. บทนำ

กลิ่นเท้า (foot odor) เป็นปัญหาหนึ่งที่ส่งผลต่อสุขภาพและบุคลิกภาพของบุคคล สาเหตุที่ทำให้เกิดกลิ่นเท้านั้นเนื่องจากบริเวณเท้ามีต่อมเหงื่ออยู่เป็นจำนวนมาก เมื่อมีเหงื่อออกจะทำให้แบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณเท้าเจริญเพิ่มจำนวนแล้วย่อยสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของเหงื่อทำให้เกิดกลิ่นและกลายเป็นกลิ่นเหม็นของเท้า (foot malodor) ในที่สุด บางรายอาจรุนแรงจนพัฒนาเป็นอาการของโรคเท้าเหม็น (pitted keratolysis) ได้ [1] แบคทีเรียที่มีการรายงานว่าเป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นเท้า ได้แก่ *Kytococcus sedentarius* (*Micrococcus sedentarius*) *Bacillus subtilis, Staphylococcus epidermidis Staphylococcus aureus* และ *Propionibacterium* sp. *Brevibacterium* sp. แบคทีเรียเหล่านี้อาศัยอยู่บริเวณผิวหนังของมนุษย์และย่อยสลายกรดอะมิโนบางชนิด เช่น เมไทโอนีน (methionine) และลิวซีน (leucine) ในเหงื่อทำให้เกิดสารประกอบบางชนิดที่มีกลิ่นเฉพาะออกมา ได้แก่ กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) มีเทนไทออล (methanethiol) และกรดไอโซวาลีริก (isovaleric acid) [1-4]

ในปัจจุบันได้มีความสนใจที่จะนำสารเคมีบางชนิด เช่น ซิลเวอร์ไนเตรต (silver nitrate, $AgNO_3$) และไทเทเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide, TiO_2) มาผสมหรือเคลือบทำให้วัสดุมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเพื่อประยุกต์ใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น การบำบัดน้ำเสีย [5] การผลิตน้ำดื่ม [6] หรือผลิตออกมาในรูปของผลิตภัณฑ์ต่าง เช่น ผงซักฟอก และลูกกลิ้งดับกลิ่น รวมทั้งการพัฒนาการผลิตวัสดุทางการแพทย์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บริเวณพื้นผิวได้ [7-8] โดยกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารทั้งสองชนิดนั้นเกี่ยวข้องกับการทำลายระบบเยื่อหุ้มบริเวณต่าง ๆ ของเซลล์ ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์บางชนิด รวมทั้งทำให้ดีเอ็นเอเกิดความเสียหาย [9]

งานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการนำไทเทเนียมไดออกไซด์และซิลเวอร์ไนเตรตมาเคลือบลงบนผิวของกระดาษชานอ้อยเพื่อทำให้มีกระดาษดังกล่าวมีคุณสมบัติยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของกลิ่นเท้า รวมทั้งศึกษาความเป็นไปได้ในการนำกระดาษดังกล่าวมาผลิตเป็นแผ่นรองภายในรองเท้าซึ่งเป็นการใช้

ประโยชน์และเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของไทเทเนียมไดออกไซด์และซิลเวอร์ไนเตรต

2.1.1 แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองนี้ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 แบคทีเรียที่ใช้เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) แบคทีเรียจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ในอาหาร brain heart infusion broth (BHI broth) ที่ผสมกลีเซอรอล 10% (v/v) เมื่อจะใช้ทดลองจึงนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร brain heart infusion agar (BHI agar) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

2.1.2 การหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimum inhibitory concentration, MIC) และการหาความเข้มข้นต่ำที่สุดของไทเทเนียมไดออกไซด์และซิลเวอร์ไนเตรตที่สามารถฆ่าเชื้อ (minimum bactericidal concentration, MBC)

ทำการทดสอบด้วยวิธีบรอทไมโครไดลูชัน (broth microdilution) โดยใช้ไมโครไตเตอร์เพลตชนิด 96 หลุม (96-well microtiter plate) แล้วเจือจางซิลเวอร์ไนเตรตและไทเทเนียมไดออกไซด์ด้วยอาหาร Mueller Hinton broth (MHB) ให้ความเข้มข้นลดลงครั้งละสองเท่า (two-fold dilution) โดยให้สุดท้ายแล้วแต่ละหลุมมีอาหาร MHB เท่ากับหลุมละ 100 ไมโครลิตร

เตรียมแบคทีเรียสำหรับทดสอบโดยเลือกโคโลนีเดี่ยวที่เพาะเลี้ยงไว้บน BHI agar จำนวน 3-5 โคโลนี นำมาเลี้ยงในอาหาร BHI broth จนกระทั่งมีความขุ่นเทียบเท่ากับสารละลาย McFarland no. 0.5 ($1.5x10^8$ CFU/mL) แล้วนำไปเจือจางให้ได้จำนวนเซลล์ประมาณ 10^6 CFU/mL จากนั้นนำไปเติมลงในหลุมที่มีอาหาร MHB (ที่เจือจางสารที่ต้องการทดสอบไว้แล้ว) ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อหลุม ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

อ่านผลค่า MIC จากความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารทดสอบ (ซิลเวอร์ไนเตรตหรือไทเทเนียมไดออกไซด์) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้

อ่านผลค่า MBC โดยนำอาหาร BHI broth จากหลุมที่ไม่พบการเจริญไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร BHI agar แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค่า MBC คือค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

บันทึกผลค่า MIC และ MBC ของซิลเวอร์ไนเตรตและไทเทเนียมไดออกไซด์เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 การเตรียมและการศึกษาคุณสมบัติของกระดาษชานอ้อย

2.2.1 การเตรียมกระดาษชานอ้อย

นำชานอ้อย 100 กรัม มาต้มกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, NaOH) ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ 0 10 15 และ 20 % (w/v) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำเยื่อมาล้างทำความสะอาดเยื่อด้วยน้ำจะกระทั่งสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ถูกล้างออกจนหมด จากนั้นบีบน้ำออกจนเยื่อหมาด

นำเยื่อไปตีปั่นเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำเยื่อที่ได้มาขึ้นแผ่นบนตะแกรงขนาด 40 x 60 เซนติเมตร โดยเปิดน้ำใส่อ่างแล้วจุ่มตะแกรงสำหรับช้อนเยื่อลงในอ่างแล้วกดให้จมน้ำ นำเยื่อที่เตรียมไว้กระจายให้ทั่วแผ่นตะแกรงแล้วจึงยกตะแกรงขึ้นจากอ่างน้ำ นำไปตากแดดให้เยื่อหมาด จากนั้นนำมาตากในที่ร่มจนแห้ง จากนั้นจึงลอกกระดาษที่ได้ออกจากตะแกรง

2.2.2 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของกระดาษชานอ้อย

นำกระดาษชานอ้อยที่เตรียมได้จากวิธีตามข้อ 2.2.1 มาศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ความขาวสว่าง (brightness: %ISO) ด้วยเครื่อง Mini scan xe รุ่น 4510LAV, China และด้านความเหนียว เช่น ความต้านแรงดันทะลุ (bursting strength: kPa/m^2) ด้วยเครื่อง Burst tester for paper รุ่น P2000, China และความต้านทานแรงฉีกขาด (tearing strength: gf.m) ด้วยเครื่อง Elmondorf tear fully automatrd/manual รุ่น F53984, Japan แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) โดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range Test ด้วยโปรแกรม SPSS for Window Version 18

2.3 การศึกษาคุณสมบัติต้านแบคทีเรียของกระดาษชานอ้อยที่เคลือบด้วยซิลเวอร์ไนเตรตหรือไทเทเนียมไดออกไซด์

2.3.1 การเคลือบกระดาษชานอ้อยด้วยซิลเวอร์ไนเตรตหรือไทเทเนียมไดออกไซด์

ผสมซิลเวอร์ไนเตรต (หรือไทเทเนียมไดออกไซด์) กับสารเคลือบที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ 0 1 และ 2 กรัม โดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายของซิลเวอร์ไนเตรต (หรือไทเทเนียมไดออกไซด์) มีค่าเท่ากับค่า MIC ของสารแต่ละชนิด แล้วนำสารละลายที่ได้ไปเคลือบกระดาษชานอ้อยที่ตัดให้มีขนาด กว้าง x ยาว เท่ากับ 12 x 17 นิ้ว ด้วยวิธีบีบอัด (padding)

2.3.2 การทดสอบคุณสมบัติต้านแบคทีเรียของกระดาษชานอ้อยที่เคลือบด้วยซิลเวอร์ไนเตรตหรือไทเทเนียมไดออกไซด์

เลี้ยงแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบด้วยอาหาร BHI broth ให้ได้จำนวนเซลล์เท่ากับ 1.5 x 10^8 CFU/mL นำไปผสมกับอาหาร BHI agar ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปเททับบนผิวหน้าของอาหาร BHI agar ที่อยู่ในจานเพาะเชื้อ รอให้อาหารเย็นและแข็งตัว

ตัดกระดาษชานอ้อยที่เคลือบสารยับยั้งแบคทีเรียแล้ว โดยตัดให้มีลักษณะเป็นวงกลมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25±5 มิลลิเมตร แล้วนำไปวางบนผิวหน้าอาหาร BHI agar ที่ได้เพาะเชื้อไว้แล้ว ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

ประเมินผลการทดสอบโดยสังเกตบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ระหว่างกระดาษชานอ้อยกับอาหารเพาะเชื้อ วัดความกว้างของบริเวณยับยั้งแล้วคำนวณระยะเขตยับยั้ง (H) จากสูตร

$$H = \frac{(D - d)}{2}$$

โดย H คือ ระยะเขตยับยั้งรอบตัวอย่าง (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

D คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

d คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของชิ้นตัวอย่าง (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

3.1 การหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimum inhibitory concentration, MIC) และการหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของไทเทเนียมไดออกไซด์และซิลเวอร์ไนเตรตที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (minimum bactericidal concentration, MBC)

เมื่อทดสอบสารยับยั้งแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ ซิลเวอร์ไนเตรตและไทเทเนียมไดออกไซด์กับแบคทีเรียจำนวน 3 ชนิด คือ *B. subtilis S. aureus* และ *S. epidermidis* ด้วยวิธีบรอทไมโครไดลูชัน หลังจากบ่มเชื้อในสภาะที่กำหนด สังเกตการเจริญของแบคทีเรียเพื่อหาค่า MIC และ MBC ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 1

ผลการทดลองพบว่าซิลเวอร์ไนเตรตมีค่า MIC และ MBC สามารถยับยั้งและฆ่าแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยซิลเวอร์ไนเตรตยับยั้งและทำลายแบคทีเรีย *B. subtilis* (MIC และ MBC มีค่าเท่ากับ 0.3906 มิลลิโมลาร์ (mM)) ได้ดีกว่า *S. aureus* และ *S. epidermidis* (MIC และ MBC มีค่าเท่ากับ 0.7813 mM) ในขณะที่ความเข้มข้นของไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ (0.1953 ถึง 25 mM) ไม่สามารถยับยั้งหรือฆ่าแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้ ทั้งนี้เนื่องมาจากกลไกการยับยั้งแบคทีเรียของไทเทเนียมไดออกไซด์นั้นต้องอาศัยการกระตุ้นจากแสง (photocatalysis) [5,6] แต่จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้ต้องการผลิตแผ่นกระดาษรองเท้าซึ่งใช้รองไว้ภายในรองเท้าขณะสวมใส่ หากนำไปใช้งานจริงจึงมีโอกาสน้อยที่แสงจะสามารถเข้าไปกระตุ้นไทเทเนียมออกไซด์ได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้เลือกเฉพาะซิลเวอร์ไนเตรตมาใช้ในการเคลือบกระดาษเพื่อทำการทดลองต่อไป

ตารางที่ 1 ค่า MIC และ MBC ของซิลเวอร์ไนเตรตและไทเทเนียมไดออกไซด์เมื่อทดสอบกับแบคทีเรียด้วยวิธีบรอทไมโครไดลูชัน

แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ	ความเข้มข้น (mM)			
	TiO_2		$AgNO_3$	
	MIC	MBC	MIC	MBC
B. subtilis	>25	>25	0.3906	0.3906
S. aureus	>25	>25	0.7813	0.7813
S. epidermidis	>25	>25	0.7813	0.7813

3.2 การศึกษาคุณสมบัติของกระดาษชานอ้อยที่เตรียมได้

หลังจากนำกระดาษชานอ้อยที่ได้จากการต้มเยื่อด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 10 15 และ 20 % (w/v) แล้วนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติต่าง ๆ ได้แก่ ความขาวสว่าง ความต้านทานแรงดันทะลุ และความต้านทานแรงฉีกขาด ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 2 โดยพบว่ากระดาษที่เตรียมจากการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันมีคุณสมบัติด้านความขาวสว่างและความแข็งแรงของกระดาษแตกต่างกัน

กระดาษที่เตรียมได้โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ10 มีความขาวสว่างมากที่สุด (77.97 %ISO) แต่การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จากร้อยละ 10 เป็นร้อยละ 20 ส่งผลให้กระดาษที่ได้มีค่าความขาวสว่างลดลง (72.07 %ISO) เนื่องจากการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นสูงจะทำให้เยื่อกระดาษมีสีเหลืองและคล้ำลงจากปฏิกิริยาอัลคาไลน์ดาร์กเคนนิง (alkaline darkening) ของสารประกอบฟีนอลิกลิกนิน (phenolic lignin compound) กับด่างแล้วเกิดเป็นโครงสร้างที่ดูดกลืนแสงได้ (light absorbing structure) [10]

การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมจากร้อยละ 10 เป็นร้อยละ 15 จะทำให้กระดาษที่ได้มีค่าความต้านแรงดันทะลุและความต้านทานแรงฉีกขาดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จากร้อยละ 15 เป็นร้อยละ 20 กระดาษที่เตรียมได้มีความแข็งแรงลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเยื่อที่ได้จากการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 20 นั้นจะมีลักษณะเป็นเส้นละเอียดและสั้น เมื่อช้อนเยื่อด้วยตะแกรงจึงมีเยื่อบางส่วนหลุดลอดไปบางส่วน ทำให้ปริมาณเยื่อที่จะสานตัวเป็นกระดาษลดลง นอกจากนี้การใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นสูงจะทำให้ได้ปริมาณเยื่อกระดาษ (pulp) ลดลง [11] จึงส่งผลต่อความแข็งแรงของกระดาษที่เตรียมได้ ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในกระบวนการเตรียมเยื่อกระดาษจากเนื้อเยื่อพืช [12]

ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางกายภาพของกระดาษจากชานอ้อย

ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดอกไซด์ (ร้อยละ)	ความขาวสว่าง (%ISO)	ความต้านทานแรงดันทะลุ ($Kpa.m^2$)	ความต้านทานแรงฉีกขาด ($mN.m^2/g$)
10	$77.97^{a} \pm 0.34$	$2.14^{b} \pm 0.10$	$704.50^{b} \pm 8.36$
15	$75.18^{b} \pm 0.26$	$2.55^{a} \pm 0.12$	$710.50^{a} \pm 8.92$
20	$72.07^{c} \pm 0.62$	$2.09^{c} \pm 0.05$	$657.33^{c} \pm 4.72$

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

จากข้อมูลที่ได้ ผู้วิจัยจึงเลือกใช้กระดาษที่เตรียมโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 15 เพื่อไปใช้ในการทดลองต่อไป เนื่องจากผู้วิจัยต้องการผลิตกระดาษสำหรับใช้เป็นแผ่นรองภายในรองเท้า จึงให้ความสำคัญกับความแข็งแรงและเหนียวมากกว่าความขาวของกระดาษ

3.3 การศึกษาคุณสมบัติของกระดาษชานอ้อยที่เคลือบด้วยซิลเวอร์ไนเตรต

หลังจากนำแผ่นกระดาษชานอ้อยที่เตรียมโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 15 มาเคลือบด้วยซิลเวอร์ไนเตรต (0.7813 mM) แล้วจึงนำไปทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ดังตารางที่ 3

ผลการทดลองพบว่าค่าความขาวสว่าง ความต้านทานแรงดันทะลุ และความต้านทานแรงฉีกขาดของกระดาษที่เตรียมได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

3.4 การศึกษาความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุของกลิ่นเท้าของกระดาษชานอ้อยที่เคลือบด้วยซิลเวอร์ไนเตรต

ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของกระดาษชานอ้อยที่เตรียมได้หลังจากเคลือบด้วยซิลเวอร์ไนเตรตพบว่ากระดาษเคลือบซิลเวอร์ไนเตรตเพียงอย่างเดียวและกระดาษเคลือบซิลเวอร์ไนเตรตที่ผสมสารเคลือบ 1 และ 2 กรัม ให้ผลการยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน (เมื่อทดสอบกับ *B. subtilis* และ *S. epidermidis*) แต่กระดาษชานอ้อยที่เคลือบซิลเวอร์ไนเตรตโดยใช้สารเคลือบสามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีกว่าชุดทดลองที่ไม่มีสารเคลือบ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติกระดาษจากชานอ้อยที่ผ่านการเคลือบด้วยซิลเวอร์ไนเตรต

สภาวะที่ทดสอบ (กระดาษเคลือบสารชนิดต่าง ๆ)	ความขาวสว่าง (%ISO)	ความต้านทานแรงดันทะลุ ($Kpa.m^2$)	ความต้านทานแรงฉีกขาด ($mN.m^2/g$)
กระดาษชานอ้อย + $AgNO_3$	45.60 ± 0.56^a	2.57 ± 0.17^a	800 ± 0.00^a
กระดาษชานอ้อย + $AgNO_3$ + สารเคลือบ 1 กรัม	45.58 ± 0.45^a	$2..54 \pm 0.08^a$	800 ± 0.00^a
กระดาษชานอ้อย + $AgNO_3$ + สารเคลือบ 2 กรัม	45.82 ± 0.52^a	2.58 ± 0.11^a	800 ± 0.00^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

ตารางที่ 4 การยับยั้งแบคทีเรียของกระดาษชานอ้อยที่เคลือบด้วยซิลเวอร์ไนเตรต

สภาวะที่ทดสอบ (กระดาษเคลือบสารชนิดต่าง ๆ)	ระยะเขตยับยั้งรอบตัวอย่าง (mm)		
	B. subtilis	***S. aureus***	***S. epidermidis***
กระดาษชานอ้อย	0.00	0.00	0.00
กระดาษชานอ้อย + $AgNO_3$	1.17 ± 0.29^a	2.33 ± 0.17^a	2.67 ± 0.45^a
กระดาษชานอ้อย + $AgNO_3$ + สารเคลือบ 1 กรัม	1.33 ± 0.29^a	3.33 ± 0.17^b	3.00 ± 0.45^a
กระดาษชานอ้อย + $AgNO_3$ + สารเคลือบ 2 กรัม	1.67 ± 0.29^a	3.33 ± 0.17^b	3.50 ± 0.45^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

การฆ่าเชื้อแบคทีเรียของซิลเวอร์ไนเตรตคือไอออนของซิลเวอร์ โดยเมื่อซิลเวอร์สัมผัสกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียจะสามารถแพร่กระจายประจุไปเกาะบริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรีย และเกิดการแทรกเข้าไปภายในเซลล์ทำให้เกิดการรวมตัวกันของดีเอ็นเอภายในเซลล์ ประจุบวกของซิลเวอร์เข้าไปจับกับเอนไซม์โปรติเนส (proteinase) ที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับระบบเมตาบอลิซึม (metabolism) ของเซลล์ จะจับกับหมู่ (-SH) ที่มีอะตอมของซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบซึ่งมีประจุเป็นลบจึงทำให้โปรตีนแปลงสภาพ (denature) ส่งผลให้การควบคุมระบบลำเลียงสารเข้าและออกจากเซลล์ผิดปกติ เมื่อการ

ลำเลียงสารเข้าออกเซลล์ผิดปกติ จึงส่งผลให้เซลล์แตกทำให้แบคทีเรียตาย หรืออาจทำให้ไอออนซิลเวอร์สามารถเข้าไปภายในเซลล์แบคทีเรียได้ ส่งผลให้ดีเอ็นเอภายในเซลล์ที่ประกอบด้วยฟอสฟอรัสจำนวนมากเกิดการรวมตัวกัน และส่งผลให้แบคทีเรียไม่สามารถเพิ่มจำนวนเนื่องจากไอออนซิลเวอร์เป็นเบสอ่อน (soft base) จึงสามารถจับกับกรดอ่อนได้ (soft acid) จำพวกฟอสฟอรัส (P) และกำมะถัน (S) อีกทั้งไอออนซิลเวอร์ที่เข้าไปภายในเซลล์สามารถจับกับโปรตีนอื่นได้อีก เช่น โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการหายใจระดับเซลล์ (respiration) ดังนั้นเมื่อโปรตีนทำงานผิดปกติ แบคทีเรียก็จะตาย กระบวนการทำงานของเอนไซม์หยุดทำงาน รบกวนกระบวนการหายใจ (respiration) และกระบวนการสืบพันธุ์ (reproduction) ของเซลล์แบคทีเรีย เซลล์แบคทีเรียหยุดการเจริญเติบโต เสื่อมสภาพและตายในที่สุด [13]

4. สรุปผลการวิจัย

การทดสอบความสามารถของไทเทเนียม-ไดออกไซด์และซิลเวอร์ไนเตรตในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของกลิ่นเท้าพบว่าไทเทเนียม-ไดออกไซด์ในระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญแบคทีเรียได้ ในขณะที่ซิลเวอร์ไนเตรตมีค่า MIC และ MBC ต่อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ คือ *B. subtilis S. aureus* และ *S. epidermidis* เท่ากับ 0.3906 0.7813 และ 0.7813 mM ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า ซิลเวอร์ไนเตรตมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและฆ่าแบคทีเรียได้ในความเข้มข้นเดียวกัน

ในขั้นตอนของการเตรียมเยื่อเพื่อทำกระดาษชานอ้อยพบว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 15 ทำให้ได้กระดาษที่มีความเหนียวมากที่สุด เมื่อนำกระดาษชานอ้อยที่เตรียมได้ไปเคลือบซิลเวอร์ไนเตรตและทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุของกลิ่นเท้าพบว่ากระดาษที่เคลือบด้วยซิลเวอร์ไนเตรตเพียงลำพังกับกระดาษที่ผสมสารเคลือบผิว (coating agent) ให้ผลการยับยั้งแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *S. epidermidis* ได้ไม่แตกต่างกัน

ผลที่ได้จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่จะพัฒนากระดาษชานอ้อยมาใช้เป็นแผ่นรองภายในรองเท้าที่มีคุณสมบัติยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุของกลิ่นเท้า แต่อย่างไรก็ตามควรจะมีการทดสอบเรื่องการแพ้หรือการระคายเคืองต่อผิวหนังของผู้ใช้เพื่อการนำไปต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับใช้งานจริง

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

6. เอกสารอ้างอิง

[1] Fernandez-Crehuet P. and Ruiz-Villaverde R. Pitted keratolysis: an infective cause of foot odour. *CMAJ*. 2015. 187(7) : 519.

[2] Yamuna V. and Sudha S. Antimicrobial activity of fabrics treated with *Quercus infectoria* extract for foot odour control. *BTAIJ*. 2013. 7(6) : 231-235.

[3] Sharquie K.E., Noaimi A.A. and Hameed S.D. Topical 15% Zinc sulfate solution is an effective therapy for feet odor. *JCDSA*. 2013. 3 : 203-208.

[4] Ara K., Hama M., Akiba S., Koike K., Okisaka K., Hagura T., Kamiya T. and Tomita F. Foot odor due to microbial

metabolism and its control. *Can J Microbiol*. 2006. 52(4) : 357-364.

[5] ชลดา ธีรการุณวงศ์. ปฏิกิริยาการเร่งด้วยแสงโดยไทเทเนียมไดออกไซด์. *วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา*. 2554. 6(1) : 62-73.

[6] Han C., Lalley J., Namboodiri, D., Cromer, K. and Nadagouda M.N. Titanium dioxide-based antibacterial surfaces for water treatment. *Curr Opin Chem Eng*. 2013. 11 : 46-51.

[7] สนอง เอกสิทธิ์. งานวิจัยขึ้นห้าง: การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนแบบควบคุมสัณฐานวิทยา การจัดการความรู้เพื่อแปรรูปผลงานวิจัยพื้นฐานให้เป็นผลิตภัณฑ์นวัตกรรมทำกำไร. *วารสารสถาบันวิทยาศาตร์และเทคโนโลยีขั้นสูง*. 2558. 1(1) : 1-16.

[8] ณปภา เอี่ยมจิรกุล, ปิยะนารถ เอกวรพจน์ และฐิติวัลคุ์ พูลนวม. อนุภาคนาโนเงินในงานทันตกรรม.วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 2556. 6(1) : 77-86.

[9] Kubacka A., Diez, M.S., Rojo D., Bargiela R., Ciordia S., Zapico I., Albar J.P., Barbas C. Martins dos Santos V. A. P., Fernández-García M. and Ferrer M. Understanding the antimicrobial mechanism of TiO_2- based nanocomposite films in a pathogenic bacterium. *Sci Rep*. 2014. 4 : 1-9.

[10] Li L., Lee S., Lee H. L. and Youn H. J. Hydrogen peroxide bleaching of hardwood kraft pulp with adsorbed birch xylan and its effect on paper properties. *Bioresources*. 2011. 6(1) : 721-736.

[11] Hu H. and Zhang H. Substitution of sodium hydroxide with magnesium hydroxide as an alkali source in the peroxide bleaching of softwood TMP. *Cellulose Chem Technol*. 43(7-8) : 325-330.

[12] Harun S. and Geok S.K. Effect of sodium hydroxide pretreatment on rice straw composition. *Indian J Sci Technol*. 2016. 9(21) : 1-9.

[13] Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramírez JT, Yacaman MJ. The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology. 2005. 16(10) : 2346-53