วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ปีที่ 32, ฉบับที่ 2 เม.ย.–มิ.ย. 2565
The Journal of KMUTNB., Vol. 32, No. 2, Apr.–Jun. 2022

บทความวิจัย

การพัฒนาบรรจุภัณฑ์ขั้นแรกต้นแบบเพื่อควบคุมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ในระหว่างการขนส่ง

ภูวนาท ฟักเกตุ*
ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 0 5596 4395 อีเมล: puwanartf@nu.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2021.10.002
รับเมื่อ 3 กรกฎาคม 2563 แก้ไขเมื่อ 25 สิงหาคม 2563 ตอบรับเมื่อ 9 กันยายน 2563 เผยแพร่ออนไลน์ 18 ตุลาคม 2564
© 2022King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

บทคัดย่อ

การเน่าเสียของมะม่วงมักเกิดจากโรคแอนแทรคโนส ซึ่งเป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญทางเศรษฐกิจ และมีผลต่อการเลือกซื้อของผู้บริโภค ดังนั้นการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการประยุกต์ใช้แผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโน เพื่อควบคุมเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ของโรคแอนแทรคโนส โดยแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15% (w/w) สามารถเตรียมได้จากกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใช้วิธีเจือจางตัวอย่างในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลวและแข็ง จากการทดลองพบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 10,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีที่สุด โดยสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้ถูกผสมลงในสารละลายพอลิแลคติกแอซิดที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักของพอลิแลคติกแอซิด จากนั้นสารละลายพอลิแลคติกแอซิดที่มี และไม่มีสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนถูกปั่นเป็นแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันภายใต้สภาวะค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ และระยะระหว่างหัวเข็มกับแผ่นรองรับเส้นใย 18 เซนติเมตร จากการทดลองพบว่า เส้นใยอิเล็กโตรสปันที่ได้มีลักษณะเรียบ โดยเส้นใยพอลิแลคติกแอซิดที่ไม่มีสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.53 ไมโครเมตร ขณะที่เส้นใยพอลิแลคติกแอซิดที่มีสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.43–0.79 ไมโครเมตร นอกจากนี้ยังพบว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 15% (w/w) มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีที่สุด

คำสำคัญ: มะม่วง โรคแอนแทรคโนส อนุภาคเงินขนาดนาโน พอลิแลคติกแอซิด การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

การอ้างอิงบทความ: ภูวนาท ฟักเกตุ, "การพัฒนาบรรจุภัณฑ์ขั้นแรกต้นแบบเพื่อควบคุมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ในระหว่างการขนส่ง," *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*, ปีที่ 32, ฉบับที่ 2, หน้า 296–304, เม.ย.–มิ.ย. 2565.

Research Article

Development of Primary Packaging Prototype for Control Anthracnose Disease of 'Nam Dok Mai' Mango Fruits during Transportation

Puwanart Fuggate*
Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand

* Corresponding Author, Tel. 0 5596 4395, E–mail: puwanartf@nu.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2021.10.002
Received 3 July 2020; Revised 25 August 2020; Accepted 9 September 2020; Published online: 18 October 2021
© 2022King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

Abstract

Anthracnose disease of mangoes is regarded as a major postharvest disease in economic considerations, due to its potential impacts on shelf life limitations and consumer choices. Thus, the objective of this research was to investigate the application of electrospun poly(L-lactic acid) fiber mats containing silver nanoparticles (AgNPs) for controlling *Colletotrichum gloeosporioides* that causes anthracnose. Poly(L-lactic acid) (PLLA) fiber mats containing AgNPs concentrations 0, 1, 5, 10 and 15% (w/w) were successfully prepared by electrospinning process. The minimum inhibitory concentration (MIC) values of AgNPs concentrations against *C. gloeosporioides* were determined by broth and agar dilution methods. As results, at the minimal concentration, AgNPs 10,000 ppm revealed the highest inhibition activity on *C. gloeosporioides*. AgNPs substances whereby antimicrobial properties were added to the neat PLLA solution in various concentrations, base on the weight of PLLA powder. Both the neat and the AgNPs-loaded PLLA solution were electrospun into ultra-fine fiber under a fixed electric field of 20 kV/18 cm. The obtained fibers were smooth, without the presence of any kind of aggregation on their surface. The average diameter of the neat PLLA fibers was 0.53 μm, while those of the AgNPs-loaded ones were in the range of 0.43 to 0.79 μm. Moreover, the antimicrobial activity of the 15% (w/w) AgNPs-loaded PLLA fiber mats was considered the greatest against *C. gloeosporioides*.

Keywords: Mango, Anthracnose, Silver Nanoparticles, Poly(L-lactic acid), Electrospinning

Please cite this article as: P. Fuggate, "Development of primary packaging prototype for control anthracnose disease of 'Nam Dok Mai' mango fruits during transportation," *The Journal of KMUTNB*, vol. 32, no. 2, pp. 296–304, Apr.–Jun. 2022 (in Thai).

1. บทนำ

โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* และสร้างความเสียหายให้กับพืชหลายชนิด เช่น มะม่วง มะละกอ มะเขือเทศ และพริก สำหรับในมะม่วงน้ำดอกไม้ จะปรากฏลักษณะอาการของโรคให้เห็นทั้งระยะก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว โดยเชื้อราสามารถติดไปกับผลอ่อนในสภาพพักตัว และเจริญอย่างรวดเร็วเมื่อผลเริ่มสุกทำให้เกิดจุดดำกระจายบนผล และขยายตัวออกกว้าง [1] เมื่อผลมะม่วงสุกมากจะมีกลุ่มสปอร์สีชมพูหรือสีส้ม เกิดบริเวณเนื้อเยื่อที่เน่าดำมาก ผลมะม่วงจะเหี่ยวและเน่าทั้งผลในเวลาต่อมา จากความเสียหายดังกล่าว จึงทำให้มีการใช้สารเคมีป้องกัน และกำจัดโรคพืชอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะสารเคมีประเภทดูดซึม เช่น Carbendarzime Benomyl และ Thiabendazole และเริ่มมีข้อจำกัดในบางประเทศ เนื่องจากมีสารพิษตกค้างเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค [2] ดังนั้นการใช้วิธีการอื่นทดแทนการใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจและจำเป็น ในปัจจุบันได้มีการศึกษาค้นคว้าและวิจัยเพื่อพัฒนาอนุภาคเงินขนาดนาโน สำหรับใช้ควบคุมหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงอย่างกว้างขวาง รวมทั้งการนำนาโนเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้สำหรับการเตรียมเส้นใยอิเล็กโตรสปันของอนุภาคเงินด้วยการพัฒนาในรูปแบบเส้นใยขนาดนาโน ซึ่งมีขนาดเล็กจึงมีพื้นที่ผิวมาก ช่วยให้การแพร่ผ่านของสารออกฤทธิ์ผ่านผิวผลไม้เกิดขึ้นได้ง่ายขึ้น และสามารถส่งผ่านสารออกฤทธิ์ได้ในปริมาณที่มากขึ้นด้วย สำหรับการเตรียมในรูปแบบเส้นใยดังกล่าวยังสามารถช่วยให้สารออกฤทธิ์มีความคงตัวอยู่ได้นานขึ้น เก็บกักปริมาณสารออกฤทธิ์ ควบคุมการปลดปล่อย และการออกฤทธิ์ของสารสำคัญได้ตามต้องการ

ดังนั้นการศึกษาวิจัยนี้จะนำอนุภาคเงินขนาดนาโนมาใช้ในการพัฒนาเป็นแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิด เพื่อประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ขั้นแรก (Primary Packaging) ในการควบคุมเชื้อโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ในระหว่างการขนส่ง

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 การเตรียมวัสดุทดลอง

การทดลองครั้งนี้ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ จากตลาดขายผลไม้ในท้องถิ่น ขนาดผลที่ใช้ คือ 250–350 กรัมต่อผล จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 1 °C) แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง ก่อนที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่างๆ

การเตรียมสารละลายอนุภาคเงินนาโน โดยนำมาเจือจางในน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้น 10,000, 1,000, 100 และ 10 ppm ตามลำดับ จากนั้นกวนให้ละลายเข้ากัน

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) และสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโน ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิเป็นเวลา 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำอาหาร PDA ที่ยังอุ่นผสมกับสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้นต่างๆ ผสมให้เข้ากัน เทใส่จานเลี้ยงเชื้อ เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides*

2.2.1 การเตรียมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

เตรียมเชื้อราโดยแยกเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสจากผลมะม่วง (ข้อ 2.1) ใช้ Tissue Transplanting Method [3] โดยการตัดเนื้อเยื่อของผลมะม่วงบริเวณส่วนที่เป็นรอยต่อของเนื้อเยื่อที่ดีกับเนื้อเยื่อที่เป็นโรค ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 0.5 × 0.5 เซนติเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวนอกด้วยสารละลาย Sodium Hypochlorite ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 3 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง ซับน้ำส่วนเกินออกจากเนื้อเยื่อด้วยกระดาษปลอดเชื้อ แล้วนำมาวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Water Agar (WA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 1 °C) เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นตัดปลายเส้นใยเชื้อรา (Hyphal Tip) เลี้ยงบนอาหาร PDA เพื่อแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Hyphal Tip Isolation และนำไปพิสูจน์โรคโดยนำเชื้อสาเหตุที่แยกได้เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นใช้ Cork Borer ปลอดเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะปลาย

เส้นใยของเชื้อรา นำชิ้นวุ้น (Mycelia Disc) วางบนผลมะม่วงบ่มในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 85–90% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำชิ้นวุ้นออกจากบนผิวมะม่วง บ่มผลมะม่วงไว้อุณหภูมิห้อง (31 ± 1°C) เป็นเวลา 7 วัน ทำการตรวจสอบการเกิดโรคเปรียบเทียบกับอาการโรคที่เกิดในครั้งแรก จากนั้นแยกเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคเก็บไว้ใน Slant เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพ

นำชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากข้อ 2.2.1 บนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นใช้ Cork Borer ปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร แล้วนำ Mycelia Disc วางตรงตำแหน่งจุดศูนย์กลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารละลายอนุภาคเงินนาโนความเข้มข้นต่างๆ โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 1 °C) นาน 10 วัน ประเมินประสิทธิภาพในด้านขนาดโคโลนีของเชื้อ (มิลลิเมตร) ทุกวัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมจนกระทั่งเชื้อราในชุดควบคุมเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.3 ประสิทธิภาพของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโน สำหรับใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ขั้นแรกที่สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

2.3.1 การเตรียมสารละลาย

สำหรับการเตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการผลิตเส้นใยนี้เตรียมจากการนำเม็ดพลาสติกพอลิแลคติกแอซิด (Poly L-lactic Acid) 1.1 กรัม ละลายในตัวทำละลายผสมระหว่าง Decamethylchromocene (DMC) และ N,N-dimethylformamide (DMF) อัตราส่วน 7 : 3 (v/v) ความเข้มข้น 10% (w/v) หลังจากนั้นเตรียมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) ที่ความเข้มข้นต่างๆ สารละลายที่เตรียมได้แต่ละความเข้มข้นให้เข้ากันด้วย Magnetic Stirrer เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 1 °C) ในระหว่างการกวนสารละลายจะต้องควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำ เพื่อป้องกันการสูญเสียคุณสมบัติการออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโน

2.3.2 การปั่นขึ้นรูปแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปัน

นำสารละลายผสมที่ได้แต่ละความเข้มข้น (ข้อ 2.3.1) บรรจุลงในหลอดฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร ที่ติดด้วยเข็มโลหะ จากนั้นนำมาติดตั้งที่เครื่องอิเล็กโตรสปินนิง โดยกำหนดให้แรงดันไฟฟ้าเท่ากับ 20 กิโลโวลต์ อัตราการไหลของสารละลายเท่ากับ 0.8 มิลลิลิตร/ชั่วโมง ระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับวัสดุรองรับ เท่ากับ 18 เซนติเมตร และความเร็วรอบในการหมุนของวัสดุรองรับ 110 รอบ/นาที

2.3.3 การทดสอบการต้านเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของอนุภาคเงินขนาดนาโนที่มีอยู่ในแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิด

นำสปอร์แขวนลอย (Spore Suspension) ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ความเข้มข้น 106 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กระจายบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA หลังจากนั้นนำแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนที่ความเข้มข้นต่างๆ มาตัดเป็นแผ่นกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร วางบนอาหาร PDA แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 1 °C) เป็นเวลา 10 วัน ประเมินประสิทธิภาพการต้านเชื้อ โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส รวมถึงสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

2.4 การวัดความหนาของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโน

วัดความหนาของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโน โดยสุ่มวัดความหนาของตัวอย่างๆ ละ 10 ซ้ำ ด้วยเครื่องวัดความหนาของวัสดุ (Digital Thickness Gage)

2.5 การทดสอบความต้านทานต่อแรงดึงและการยืดตัวของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโน

ทดสอบด้วยเครื่องทดสอบแรงดึง (Texture Analyzer) โดยใช้หัววัด Tensile Grip และตั้งระยะห่างระหว่างคลิปหนีบตัวอย่าง เริ่มต้นเท่ากับ 40 มิลลิเมตร ตั้งค่าความเร็วของ Cross-head เท่ากับ 500 มิลลิเมตร/นาที ใช้สภาวะทดสอบที่อุณหภูมิ 25 ± 1 °C และความชื้นสัมพัทธ์ 50 ± 2% โดย

ใช้แผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนที่มีความกว้าง เท่ากับ 10 มิลลิเมตร แล้วคำนวณค่าการต้านแรงดึงขาดและการยืดตัว ดังนี้

$$Tensile\ strength\ (TS) = F_{max}/A$$

$$Elongation\ at\ break\ (\%E) = (L/L_0) \times 100$$

เมื่อ F_{max} = ค่าแรงสูงสุดที่ทำให้แผ่นเส้นใยขาด

A = ความหนา × ความกว้างของแผ่นเส้นใย

L_0 = ความยาวเริ่มต้นของแผ่นเส้นใย

L = ระยะทางที่แผ่นเส้นใยยืดออก

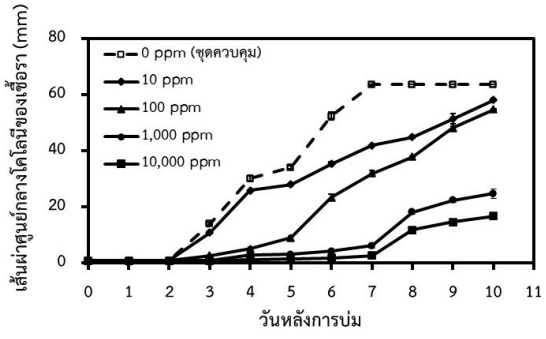
2.6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโน

ตัดตัวอย่างแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโน เป็นแผ่นขนาด 5×5 ตารางมิลลิเมตร แล้วตรวจวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน Scanning Electron Microscope (SEM) เพื่อตรวจดูลักษณะพื้นผิวของเส้นใย บันทึกภาพ และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยนาโน

3. ผลการทดลอง

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides*

จากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนส คือ ความเข้มข้น 10,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับระดับความเข้มข้นอื่นๆ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น (p<0.05) (รูปที่ 1) ไอออนของอนุภาคเงินขนาดนาโนสัมผัสกับเซลล์เมมเบรนของเชื้อจุลินทรีย์ และไปจับกับหมู่ –SH ของเอนไซม์ ทำให้การทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ลดลง จึงส่งผลให้เมแทบอลิซึมต่างๆ ของเชื้อจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไป จนมีผลไปยับยั้งการเจริญหรือทำให้เชื้อจุลินทรีย์ตายได้ และไอออนของอนุภาคเงินขนาดนาโนจะยังสามารถ Catalyze น้ำ และ O_2 ให้กลายเป็น H_2O_2 และ O- ซึ่งมีผลทำให้เซลล์



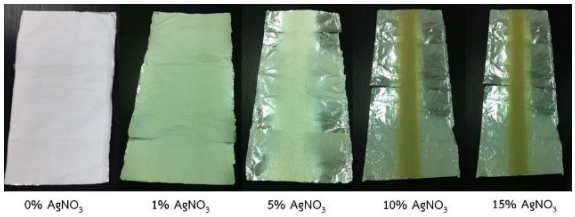
รูปที่ 1 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA ที่มีส่วนผสมของสารละลายอนุภาคเงินนาโนความเข้มข้น 0, 10, 100, 1000 และ 10,000 ppm หลังบ่มที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 1 °C) นาน 10 วัน

ของเชื้อจุลินทรีย์ได้รับความเสียหาย นอกจากนี้ไอออนของอนุภาคเงินขนาดนาโนยังมีผลทำลายโปรตีน และทำให้เซลล์ตาย โดยไปทำปฏิกิริยากับ Nucleophillic Amino Acid Residues ในโปรตีน และไปจับกับ Sulfhydryl, Amino, Imidazole, Phosphate และหมู่ Carboxyl ของเมมเบรนหรือเอนไซม์ ตลอดจนอาจไปขัดขวางการหายใจของเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากการสร้างพันธะ R-S-R-S ขึ้น ซึ่งพันธะดังกล่าวอาจสร้างจากปฏิกิริยาระหว่างซิลเวอร์ที่อยู่ในรูป Oxidic Form และ Sulfhydryl (-S-H) Group [4]

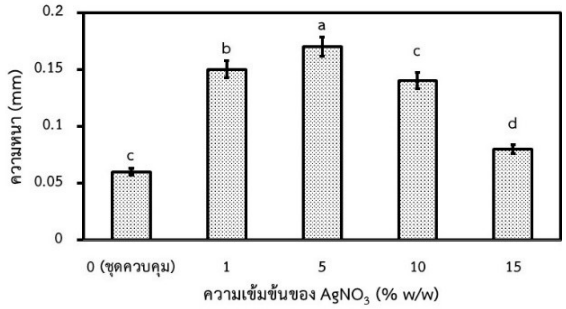
3.2 ประสิทธิภาพของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโน สำหรับใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ขั้นแรกที่ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

3.2.1 การปั่นขึ้นรูปแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปัน

จากการทดลองพบว่า สารละลายพอลิแลคติกแอซิดที่ผสมสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 5, 10 และ 15% (w/w) สารละลายที่ได้มีความหนืดต่ำ ทำให้ปั่นขึ้นรูปได้ยาก ส่วนสารละลายพอลิแลคติกแอซิดที่ผสมสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0 และ 1% (w/w) สารละลายที่ได้มีความหนืดค่อนข้างสูง ทำให้ปั่นขึ้นรูปได้ง่าย และมีลักษณะเป็นแผ่นเรียบสม่ำเสมอ เส้นใยที่ฉีดมี



รูปที่ 2 ลักษณะแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15% (w/w)



รูปที่ 3 ความหนา (mm) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15% (w/w)

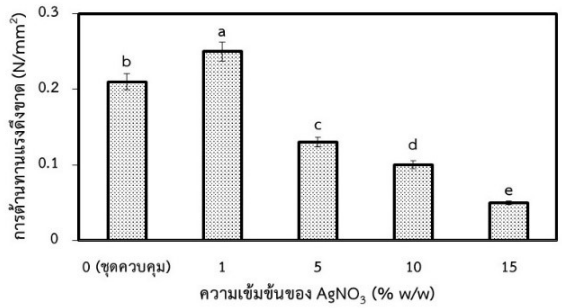
ความต่อเนื่อง ทำให้สามารถลอกเป็นแผ่นได้ง่าย (รูปที่ 2) แสดงให้เห็นว่าความหนืดของสารละลายมีผลต่อความหนืดของตัวทำละลายในการปั่นขึ้นรูปเส้นใย โดยสารละลายที่มีความหนืดน้อยโมเลกุลของตัวทำละลายที่ไม่ได้จับกับโมเลกุลของพอลิเมอร์จะมีความหนาแน่นมาก แต่ในกรณีที่สารละลายมีความหนืดมาก จะเกิดปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของตัวทำละลายกับโมเลกุลของพอลิเมอร์มากขึ้น ส่งผลให้สารละลายยืดออกดีขึ้น [5]

3.2.2 ความหนาของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปัน

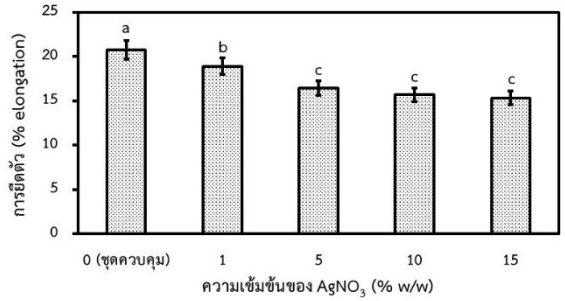
จากการวัดความหนาของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15% (w/w) ด้วย Digital Thickness Gauge พบว่า มีความหนาเท่ากับ 0.06, 0.15, 0.17, 0.14 และ 0.08 มิลลิเมตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 5% (w/w) มีความหนามากกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) (รูปที่ 3) โดยลักษณะแผ่นเส้นใยที่เตรียมได้จากสารละลายพอลิแลคติกแอซิดที่ผสมสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้นต่ำ จะมีลักษณะกระจายตัวค่อนข้างสม่ำเสมอ แต่แผ่นเส้นใยที่เตรียมได้จากสารละลายพอลิแลคติกแอซิดที่ผสมสารละลายอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้นที่สูงขึ้น จะทำให้สารละลายที่ได้มีความหนืดต่ำ และทำให้ปั่นขึ้นรูปได้ยาก นอกจากนี้ยังมีการระเหยของตัวทำละลายช้า ทำให้มีโอกาสเกิดการรวมตัวกันของเส้นใยหลังตกลงบนวัสดุรองรับ ทำให้เส้นใยที่ได้มีขนาดใหญ่ และมีขนาดไม่สม่ำเสมอ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ธนโชติ [6] ที่ผลิตเส้นใยอิเล็กโตรสปันจากสารละลายพอลิเมอร์ Polyethylenoxide (PEO) โดยพบว่า หากความหนืดของสารละลายต่ำ จะเกิดหยดของสารละลายในระหว่างกระบวนการผลิตเส้นใย และหากสารละลายมีค่าความหนืดมาก มีผลให้การควบคุมการไหลของสารละลายไม่สม่ำเสมอทำให้เส้นใยที่ผลิตได้มีขนาดค่อนข้างใหญ่

3.2.3 การต้านทานแรงดึงขาด และการยืดตัวของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปัน

การทดสอบการต้านทานแรงดึงขาด และการยืดตัวของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิด ที่ความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15% (w/w) โดยการใช้เครื่องทดสอบความแข็งแรงของวัสดุ (Texture Analyzer TA-XT2, หัววัด Tensile Grip) ทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 25 ± 1 °C และความชื้นสัมพัทธ์ 50 ± 2% จากการทดลองพบว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 1% (w/w) มีค่าการต้านทานแรงดึงขาดสูงที่สุดเมื่อเทียบกับแผ่นเส้นใยที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยมีค่าการต้านทานแรงดึงขาดเท่ากับ 0.25 นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร ขณะที่ความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 15% (w/w) มีค่าการต้านทานแรงดึงขาดเท่ากับ 0.21, 0.13, 0.10 และ 0.05 นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 4) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของอนุภาคเงินขนาดนาโนที่เหมาะสม มีส่วนทำให้โครงสร้างของสายโซ่



รูปที่ 4 การต้านทานแรงดึงขาด (N/mm^2) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15% (w/w)

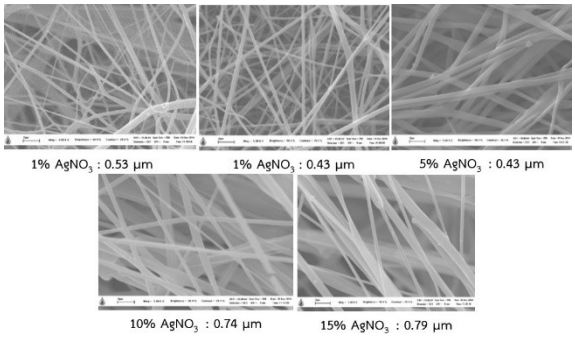


รูปที่ 5 การยืดตัว (% elongation) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15% (w/w)

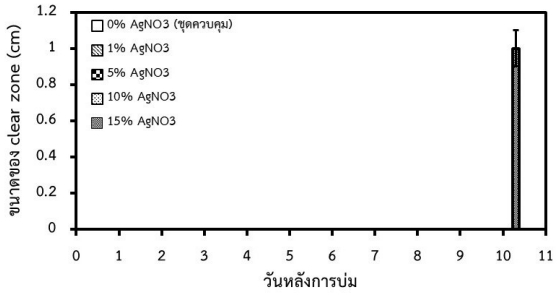
โมเลกุลพอลิแลคติกแอซิดมีการกระจายตัวเพิ่มขึ้น รวมทั้งเกี่ยวข้องกับแรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals Force) ระหว่างโมเลกุลขององค์ประกอบทั้งสอง สำหรับการยืดตัวของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้นต่างๆ พบว่า มีการยืดตัวมากที่สุดโดยมีเท่ากับ 20.73% เมื่อเทียบกับความเข้มข้นระดับต่างๆ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) (รูปที่ 5) เนื่องจากสารละลายพอลิเมอร์ที่มีความเข้มข้นสูง จะทำให้มีความหนืดน้อยลง ส่งผลทำให้อัตราการยืดตัวออกของเส้นใยน้อยกว่าสารละลายพอลิเมอร์ที่มีความเข้มข้นต่ำ [7]

3.2.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดของเส้นใยนาโน

เมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ



รูปที่ 6 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่ 15 kV แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและขนาดของเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15% (w/w)



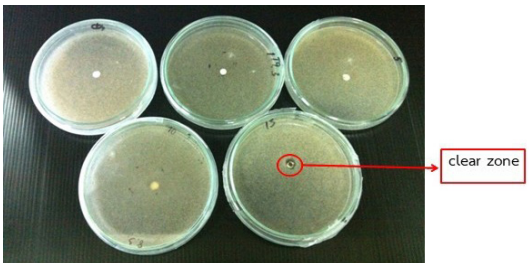
รูปที่ 7 ขนาดของบริเวณใส (Clear Zone) ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อ *C. gloeosporioides* ของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15% (w/w) ในระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิห้อง (31±°C) เป็นเวลา 10 วัน

15% (w/w) (รูปที่ 6) ไปวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) จากภาพถ่ายพบว่า แผ่นเส้นใยประกอบด้วยเส้นใยที่สานกันแบบไม่ถักทอ มีลักษณะผิวเรียบเส้นกลมยาวอย่างสม่ำเสมอทั้งเส้น และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเท่ากับ 0.53, 0.43, 0.43, 0.74 และ 0.79 ไมโครเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 7) ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าเส้นใยจะมีขนาดเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคเงิน

ขนาดนาโนสูงขึ้น ถ้าใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นมากขึ้น จะได้เส้นใยที่มีบีตส์ หรือหยดขนาดเล็กลดลง แต่ถ้าความเข้มข้นของสารละลายมีค่ามาก จะลดปรากฏการณ์การบิดโค้งที่ไม่มีเสถียรภาพ ส่งผลให้เส้นทางการเคลื่อนที่ของสารละลายลดลง จะทำให้เส้นใยมีขนาดใหญ่ขึ้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ ธนโชติ [6] พบว่า ความหนืดมีผลโดยตรงต่อการเกิดเส้นใย เมื่อความเข้มข้นของพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความหนืดสูงขึ้น ทำให้สารละลายยืดยาวออกเป็นเส้นใยได้โดยไม่ขาดออกจากกันจนกว่าจะไปถึงวัสดุรองรับเส้นใย และเมื่อความเข้มข้นของสารละลายสูงขึ้น ทำให้เส้นใยที่ได้มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายมีผลทำให้ความหนืดเพิ่มมากขึ้นโดยน้ำหนัก จึงสามารถเตรียมเส้นใยโดยไม่พบบีตส์ และความหนืดที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้เส้นใยที่ได้มีเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้ามเมื่อความเข้มข้นของพอลิเมอร์น้อยลงความหนืดจะลดลงด้วย ทำให้เกิดบีตส์บนเส้นใย นอกจากนี้การเตรียมพอลิเมอร์ในรูปแบบสารละลายที่มีความเข้มข้นน้อยมีแรงตึงผิวต่ำ ทำให้แรงไฟฟ้าชนะแรงตึงผิวได้ง่าย มีความหนืดต่ำ ทำให้การไหลดีเพิ่มขึ้น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยจึงมีขนาดเล็ก

3.3 ผลของการต้านเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ของอนุภาคเงินขนาดนาโนที่มีอยู่ในแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิด

จากการทดสอบคุณสมบัติการต้านเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15% (w/w) ที่อยู่ในแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิด โดยนำแผ่นเส้นใยตัดเป็นแผ่นกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร วางบนอาหารเลี้ยง PDA ที่มีสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 15% (w/w) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีกว่าความเข้มข้นอื่นๆ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (รูปที่ 7) โดยวันที่ 10 ของการบ่มที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 1 °C) พบบริเวณ



รูปที่ 8 ลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* ของแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15% (w/w) ในวันที่ 10 ของการบ่มที่อุณหภูมิห้อง (31 ± 1 °C)

รูปที่ 9 ลักษณะการประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ขั้นแรกต้นแบบเพื่อควบคุมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ในระหว่างการขนส่ง

ใสรอบแผ่นเส้นใยขนาดกว้าง 1 เซนติเมตร ในขณะที่แผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 0, 1, 5 และ 10% (w/w) ไม่พบบริเวณใสเกิดขึ้น (รูปที่ 8) เนื่องจากเมื่อมีขนาดเล็กลงในระดับนาโนเมตร โลหะเงินจะแตกตัวทำให้เกิดเป็นประจุเงินแขวนลอย อนุภาคนาโนของเงิน จึงสามารถแทรกซึมเข้าไปสู่ผนังของเชื้อจุลินทรีย์ได้โดยจะเข้าไปจับกับหมู่ Sulphydryl (-SH) ของเอนไซม์ในเมมเบรน และทำให้เชื้อจุลินทรีย์ตายลงในที่สุด [8] ดังนั้นแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้นสูงขึ้น จะทำให้มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีขึ้นด้วย

สำหรับการบรรจุภัณฑ์ขั้นแรกต้นแบบสามารถนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับตาข่ายโฟมกันกระแทก เพื่อช่วยลดความเสียหายและปกป้องคุณภาพผลมะม่วงน้ำดอกไม้ในระหว่างการขนส่งได้ (รูปที่ 9)

4. สรุป

แผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 1% (w/w) มีลักษณะเป็นแผ่นเรียบสม่ำเสมอ เส้นใยที่ฉีดมีความต่อเนื่องทำให้สามารถลอกเป็นแผ่นได้ง่าย และมีคุณสมบัติเชิงกลดีที่สุด เนื่องจากสามารถต้านแรงดึงขาดและมีขนาดของเส้นใยเล็กที่สุด แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้

แผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปันพอลิแลคติกแอซิดที่มีอนุภาคเงินขนาดนาโนความเข้มข้น 15% (w/w) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีที่สุด

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนสนับสนุนจากกองทุนวิจัย คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2558

เอกสารอ้างอิง

[1] R. C. Ploetz, "Anthracnose," in *Compendium of Tropical Fruit Diseases*, Ploetz (Ed.). APS Press, St Paul, MN, USA, pp. 35–36, 1994.

[2] S. Pumchai, "Effect of chitosan on induced resistance and controlling of anthracnose disease in mangoes cv. Nam Dok Mai," M.S. thesis, Postharvest Technology Program, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, 2003 (in Thai).

[3] A. J. Slusarenko, A. Patel, and D. Portz, "Control of plant disease by natural products: Allicin from garlic as a case study," *European Journal of Plant Pathology*, vol. 121, no. 3, pp. 313–322, 2008.

[4] H. S. Toh, C. B. McAuley, K. Tschulik, and R. G. Compton, "Chemical interactions between silver nanoparticles and thiols - a comparison of mercaptohexanol against cysteine," *Science China Chemistry*, vol. 57, pp. 1199–1210, 2014.

[5] P. Boosabarat, "Structural and electrical properties of Zno nanofibers spun by electrospinning method," M.S. thesis, Department of Physics, Faculty of Science, Burapha, University, 2017 (in Thai).

[6] T. Thammachat, "Preparation and evaluation of shellac-based electrospun fibers containing an antimicrobial agent," M.S. thesis, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, 2010 (in Thai).

[7] P. Tipduangta and J. Sirithunyalug, "Fundamental and application of electrospinning technology in pharmaceuticals and cosmetics," *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 13, no. 2, pp. 1–15, 2017 (in Thai).

[8] Food and Drug Administration, *Nano Safety*. Aksorn Grphic and Design Publishing Limited Partnership, 2010, pp. 1–66.