สมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มไคโตซานผสมน้ำมันหอมระเหยจากเทพทาโร

Antibacterial properties of chitosan film blended with essential oil from Cinnamomum porrectum

วัชรวดี ลิ่มสกุล[1] ธงชัย สุธีรศักดิ์[1*] เสาวลักษณ์ รอดเจริญ[1] และ ปริวรรต วรรณงาม[1]

[1]คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต อ.กะทู้ จ.ภูเก็ต 83120

Wadcharawadee Limsakul[1] Thongchai Suteerasak[1*] Saowalak Rodcharoen and Pariwat Wanngam[1]

[1]Faculty of Technology and Environment, Prince of Songkla University, Phuket campus, Phuket, 83120 Thailand

[*]Corresponding Author, E mail: thongchai.s@phuket.psu.ac.th

Received: 11 September 2020 | Revised: 18 November 2020 | Accepted: 18 December 2020

บทคัดย่อ

ฟิล์มถนอมอาหารที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบันซึ่งส่วนใหญ่ผลิตได้จากปิโตรเคมีภัณฑ์สำเร็จรูป ฟิล์มเหล่านี้มีความแข็งแรงทนทานต่อการฉีกขาดและ ราคาถูก แต่หลังการใช้ประโยชน์ในช่วงสั้น ๆ ฟิล์มเหล่านี้จะกลายเป็นขยะที่ย่อยสลายได้ยากตามธรรมชาติ งานวิจัยมีวัตถุประสงค์หลักคือการศึกษาสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มไคโตซานที่ผสมกับน้ำมันหอมระเหยจากเทพทาโร เพื่อนำไปสู่การทำงานต้นแบบฟิล์มถนอมอาหาร โดยเลือกเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* มาใช้ในการทดสอบสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว ผลที่ได้ พบว่า ค่าระดับการบวมน้ำของต้นแบบแผ่นฟิล์มยืดมีค่าลดลงเมื่อปริมาณความเข้มข้นของสารละลายน้ำมันหอมระเหยในฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น โดยการผสมกันของไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยสามารถเพิ่มความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่ดีขึ้นแบบมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามมีเพียงสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2.5 % (W/V) เท่านั้นที่เหมาะกับการนำไปทดสอบการขึ้นรูปเป็นฟิล์มยืด

ABSTRACT

At present, food preservation film is widely used and most is produced from readymade petrochemical. The food preservation film usually has high tensile and tear strength, and cheap price. However, the film is normally used in a short time, and abandoned as non-biodegradable waste. This research aims to study antibacterial properties of chitosan film blended with organic essential oil from Cinnamomum porrectum for used as food preservation film. The antibacterial properties were studied using 2 types of bacteria, i.e., *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The results showed that swelling of the chitosan film decreased, when the concentration of the organic essential oil was increased. Moreover, the addition of organic essential oil from Cinnamomum porrectum resulted in better antibacterial properties of the chitosan film. Nevertheless, only chitosan solution of 2.5 % (W/V) could be fabricated in film form.

คำสำคัญ: ฟิล์มยืดห่อหุ้มอาหาร การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เทพทาโร ฟิล์มไคโตซาน
Keywords: Cling film, Antibacterial, Cinnamomum porrectum, Chitosan film

บทนำ

ฟิล์มยืดห่อหุ้มอาหารเป็นหนึ่งผลิตภัณฑ์ที่ทำขึ้นมาจากปิโตรเคมีภัณฑ์ ฟิล์มยืดดังกล่าวถูกคิดค้นขึ้นมาเพื่อจุดประสงค์ในการห่อหุ้มและถนอมอาหาร ซึ่งปัจจุบันมีใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในบ้านเรือนและในงานอุตสาหกรรม เนื่องจากฟิล์มดังกล่าวมีความแข็งแรง ทนทานต่อการฉีกขาดและมีราคาถูก รวมถึงสามารถป้องกันปัจจัยต่างๆที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหาร (Lin et al., 2019) อย่างไรก็ตามฟิล์มยืดดังกล่าวไม่สามารถนำมาใช้งานซ้ำได้อีก ส่งผลให้เกิดขยะจากฟิล์มยืดเหล่านี้เป็นจำนวนมาก โดยฟิล์มยืดดังกล่าวใช้เวลาในการย่อยสลายตามธรรมชาติยาวนานเช่นเดียวกับพลาสติกทั่วไป และอาจสร้างผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในระยะยาวหากไม่มีการจัดการที่ถูกต้อง ปัจจุบันได้มีการพยายามคิดค้นวัสดุที่ผลิตจากธรรมชาติและสามารถย่อยสลายได้โดยไม่ส่งผลกระทบกับสิ่งแวดล้อมนำมาใช้ทดแทนฟิล์มยืดที่ผลิตจากปิโตรเคมีภัณฑ์ หนึ่งในวัสดุธรรมชาติที่ถูกนำมาพิจารณาใช้ทดแทนพลาสติดจากปิโตรเคมีภัณฑ์คือวัสดุที่เป็นผลผลิตจากไคโตซาน (Yadav et al., 2020) ทั้งนี้ไคโตซานเป็นสารโพลีเมอร์ชีวภาพชนิดหนึ่งที่ได้มาจากการย่อยสารไคติน (Chitin) ที่อยู่ในเปลือกกุ้ง และปู ไคโต-ซานจะมีสมบัติที่อ่อนตัวสามารถขึ้นรูปเป็นเจล เม็ด เส้นใย หรือคอลลอยด์ รวมถึงการใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่าง ๆ ได้ อีกทั้งยังง่ายต่อการย่อยสลายตามธรรมชาติ และเป็นการช่วยลดปริมาณของเสียที่เกิดจากอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งได้อีกทางหนึ่ง (สิริรัตน์ และคณะ, 2552) มีงานวิจัยมากมายที่ศึกษาเกี่ยวกับการนำไคโตซานมาพัฒนาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ช่วยในการถนอมอาหารและวัตถุดิบในการทำอาหาร (วิไลลักษณ์, 2562 ; Mujtaba et al., 2019) รวมถึงนำวัสดุที่มีส่วนผสมของไคโตซานนำมาใช้ในการจัดทำเป็นฟิล์มห่ออาหาร ซึ่งวัสดุที่นำมาผสมกับไคโตซานที่พบมากคือ เจลาตินและเควอซิติน (Nagahama et al., 2009; Mitelut et al., 2015 ; Yadav et al., 2020)

ปัจจุบันการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ถูกนำมาใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพของฟิล์มยืดห่อหุ้มอาหารให้สามารถเก็บอาหารได้นานขึ้น โดยสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียของฟิล์มยืดถนอมอาหารที่ดีจะเป็นการเพิ่มคุณภาพและป้องกันอาหารจากจุลินทรีย์ก่อโรคระหว่างการเก็บ (Dıblan and Kaya, 2018; Zhang and Han, 2019) ซึ่งในงานวิจัยของ Yadav et al. (2020) ที่ศึกษาเกี่ยวกับการใช้ไคโตซานผสมกับเจลาตินและเควอซิตินในการพัฒนาฟิล์มยืดถนอมอาหารที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมก็ได้คำนึงถึงปัจจัยดังกล่าวด้วยเช่นกัน โดยผลที่ได้พบว่าสารประกอบที่เป็นส่วนผสมของไคโตซานผสมกับเจลาตินและเควอซิตินให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าไคโตซานผสมกับเจลาตินเพียงอย่างเดียว หากพิจารณาสารประกอบอื่น ๆ ที่มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่า สารสกัดจากธรรมชาติอีกหลายชนิดและสารสกัดจำพวกน้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติสามารถยับยั้งแบคทีเรียบางชนิดได้เช่นกัน เช่นน้ำมันสกัดจากใบเปปเปอร์มินท์ (peppermint) ที่สามารถต่อต้านและยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ (Kang et al., 2019) โดยน้ำมันหอมระเหยจากเทพทาโร ก็เป็นหนึ่งสารประกอบที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และแบคทีเรียเช่นกัน โดยน้ำมันเทพทาโรที่มีกลิ่นคล้ายตะไคร้ มีส่วนกอบสำคัญคือ ซิตรอล (citral) มิวยูรอลอล (muurolol) และไลโมนีน (limonene) ซึ่งพบว่า มีองค์ประกอบสำคัญบางชนิดคล้ายกับน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และผิวส้มที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ รวมถึงมีฤทธิ์ในการไล่แมลง (เกษม และคณะ, 2550; พิชญดา และคณะ, 2552)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มไคโตซานที่ผสมกับน้ำมันหอมระเหยจากเทพทาโร โดยเลือกเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิดมาใช้ในการทดสอบสมบัติการยับยั้งเชื้อดังกล่าว ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ซึ่งแบคทีเรียทั้งสองชนิดเป็นแบคทีเรียที่มีโอกาสพบการปนเปื้อนในอาหารมากที่สุด และหากผู้บริโภคได้รับเชื้อดังกล่าวเข้าไปอาจสร้างอันตรายอย่างรุนแรงต่อสุขภาพของผู้ที่ได้รับเชื้อ ทั้งนี้ผลที่ได้จากการวิจัยอาจนำไปสู่การพัฒนาฟิล์มยืดห่อหุ้มอาหารทางเลือกใหม่เพื่อสุขภาพที่มีสมบัติยับยั้งแบคทีเรียและสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติเป็นการลดผลกระทบที่อาจเกิดต่อสิ่งแวดล้อม รวมถึงช่วยลดปริมาณของเสียที่เกิดจากอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งได้อีกทางหนึ่ง

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมไคตินเป็นสารตั้งต้นในการเตรียมไคโตซาน

การเตรียมไคโตซานที่ใช้ในงานวิจัยนี้อาศัยหลักการเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับที่ใช้ในงานวิจัยของ สิริรัตน์ และคณะ (2552) เริ่มจากการนำเปลือกกุ้งสด (กุ้งขาว: Litopenaeus vannamei) มาล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วนำไปอบไล่ความชื้นให้แห้งด้วยอุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส และชั่งน้ำหนักเพื่อให้ได้น้ำหนักวัตถุดิบเริ่มต้น (W_{begin}) จากนั้นแยกส่วนที่เป็นเนื้อและไขมันที่ติดกับเปลือกออกเพื่อให้ได้เฉพาะส่วนเปลือก นำเปลือกกุ้งดังกล่าวมาตัดเป็นชิ้นเพื่อนำไปสกัดไคโตซาน โดยมีขั้นตอนดังนี้

1.1 ขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุแคลเซี่ยมคาร์บอเนตในเปลือกกุ้งโดยการแช่เปลือกกุ้งที่เตรียมไว้ก่อนหน้านี้ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 M เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยอัตราส่วนน้ำหนักของเปลือกกุ้งต่อปริมาตรสารละลาย HCl คือ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร โดยทำการกวนเล็กน้อยในช่วงแรกของการเกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) จากนั้นกรองเอาส่วนที่เป็นสารละลายทิ้ง และเติมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 1 M แช่เปลือกกุ้งซ้ำอีกครั้งที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) ต่ออีก 12 ชั่วโมง นำเปลือกกุ้งมาล้างด้วยน้ำจนมีค่า pH เป็นกลาง (ทดสอบโดยใช้กระดาษลิตมัส) นำมาตากลมบนถาดนาน 30 นาที และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

1.2 ขั้นตอนการกำจัดโปรตีน หลังจากกำจัดแคลเซียมคาร์บอเนตนำเปลือกกุ้งมาแช่ต่อในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 4% (W/V) กวนในช่วงแรกของการเกิดปฏิกิริยาและแช่ทิ้งไว้เป็นเวลาเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) โดยมีอัตราส่วนน้ำหนักเปลือกกุ้งต่อปริมาตรสารละลาย NaOH เป็น 1 กรัม ต่อ 20 มิลลิลิตร จากนั้นกรองเอาสารละลายออกและเติมสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 4% (W/V) ด้วยอัตราส่วนเท่าเดิม โดยต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และล้างเปลือกกุ้งด้วยน้ำจนเป็นกลาง นำมาตากลมบนถาดนาน 30 นาที อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

1.3 ขั้นตอนการสกัดไคโตซาน นำไคติน (เปลือกกุ้งที่ได้จากขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุและโปรตีน) มาแช่ในสารละลาย NaOH ความเข้มข้นร้อยละ 50 % (W/V) ด้วยอัตราส่วน 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร กวนตลอดเวลาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็น กรองสารละลายทิ้งและนำมาล้างด้วยน้ำจนมีค่า pH เป็นกลาง นำมาตากลมเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไคโตซานที่ได้เก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น (เพื่อควบคุมให้มีความชื้นที่ร้อยละ 10 ± 0.5) ชั่งน้ำหนักไคโตซานที่ได้จากการแปรรูป (W_{after}) เพื่อคำนวณหาร้อยละผลผลิตจากสมการ (1) (ฐิตาพร และคณะ, 2560)

$$\text{ร้อยละผลผลิตไคโตซาน} = \frac{W_{after}}{W_{begin}} \times 100 \quad \text{.....(1)}$$

2. การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเทพทาโรด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation)

การสกัดน้ำมันหอมระเหยอาศัยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำเช่นเดียวกับที่ใช้ในงานวิจัยของ พิชญดา และคณะ (2552) แต่ในงานวิจัยนี้ใช้ส่วนใบของเทพทาโรแทน โดยเริ่มต้นจากการนำใบเทพทาโรหันเป็นชิ้นเล็ก ๆ จำนวน 200 กรัม บรรจุลงใน ขวดรูปกรวยขนาด 1000 มิลลิลิตร โดยมีสายยางเชื่อม 2 สาย สายหนึ่งต่อกับเครื่องควบแน่น (Condenser) ส่วนอีกสายหนึ่งเชื่อมให้ไอน้ำผ่านเข้ามาจากขวดรูปกรวยขนาด 1000 มิลลิลิตร ที่บรรจุน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ที่ถูกต้มด้วยเตาไฟฟ้า (Hot plate) เชื่อมต่อสายยางลงไปในขวดรูปกรวยที่บรรจุใบเทพทาโรอยู่ ทำการกลั่นเป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยของเหลวที่ได้มีลักษณะขุ่น นำของเหลวดังกล่าวไปกลั่นอีกครั้ง หลังจากนั้นนำของเหลวที่ผ่านการกลั่นมาแยกน้ำมันหอมระเหยออกมา การแยกน้ำมันหอมระเหยอาศัยด้วยตัวทำละลายเฮกเซน (Hexane) เป็นตัวช่วยในการแยก ทำการแยกด้วยกรวยแยก 3 ครั้ง ครั้งละ 200 มิลลิลิตร ซึ่งน้ำมันหอมระเหยอยู่ชั้นข้างล่างสุด จากนั้นทำการระเหยเอาเฮกเซนออกโดยการนำไปต้มในหม้อต้มที่อุณหภูมิประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส จนเฮกเซนระเหยออกจนหมด สุดท้ายทำการวัดปริมาตรของน้ำมันหอมระเหยที่ได้

3. การเตรียมฟิล์มไคโตซานและการขึ้นรูปเป็นฟิล์ม

วิธีการเตรียมการขึ้นรูปไคโตซานฟิล์มมีพื้นฐานการเตรียมงานต้นแบบเช่นเดียวกับที่ใช้ในงานของ Priyadarshi and Negi (2017) แต่เพิ่มการทดสอบหาปริมาณไคโตซานที่เหมาะสมกับการขึ้นรูปและสัดส่วนของน้ำมันหอมระเหยที่ผสมเข้าไปเพื่อหาสัดส่วนของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถทำให้เกิดการขึ้นรูปได้ เริ่มจากการนำไคโตซานที่ได้ก่อนหน้านี้มาทำให้เป็นผงเพื่อนำไปเตรียมเป็นสารละลายไคโตซาน 1 2.5 และ 5 % (W/V) ชั่งผง

ไคโตซาน 1 2.5 และ 5 กรัม นำผงไคโตซานแต่ละขนาดมวลไปละลายในสารละลายกรดอะซิติก 3% (V/V) จนมีปริมาตร 100 มิลลิลิตร กวนผสมที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เติม Tween® 80 ความเข้มข้น 1 % (V/V) และเติมกลีเซอรอล ความเข้มข้น 3 % (V/V) ของน้ำหนักแห้งไคโตซาน แล้วทำการกวนผสมที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที ด้วยเครื่องกวนผสม หลังจากนั้นนำไปทดสอบการขึ้นรูปที่แต่ละความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน จากนั้นนำสารละลายไคโตซานที่เตรียมไว้ผสมกับน้ำมันหอมระเหยจากเทพทาโรที่ความเข้มข้น 1 5 10 25 % (V/V) จากนั้นกวนผสมต่อเป็นเวลา 12 นาที ด้วย เครื่องกวนสารพร้อมให้ความร้อน ทั้งนี้มีการเตรียมสารละลายไคโตซานเปล่าที่ไม่ได้เติมน้ำมันหอมระเหย (เป็นตัวควบคุม) แยกออกมาเพื่อเปรียบเทียบผลการทดลอง นำสารละลายไคโตซานที่ผ่านการผสมแล้วไปกรองผ่านกระดาษกรองเพื่อแยกอนุภาคที่ไม่สามารถละลายออกไป นำสารละลายไคโตซานผสมน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรและสารละลายไคโตซานเปล่าที่ผ่านการกรองแล้วเข้าเครื่องเขย่าคลื่นเสียงความถี่สูง เพื่อทำให้ฟองอากาศหายไปเป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม ด้วยการนำสารละลายทั้ง 2 ชนิด ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เทลงในจานเพาะเชื้อและนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 ชั่วโมง จากนั้นนำไปใส่ในโถดูดความชื้นทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จะได้แผ่นฟิล์มสำหรับการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

4. การทดสอบการบวมน้ำของแผ่นฟิล์ม

การทดสอบการดูดซับน้ำโดยการตัดแผ่นฟิล์มทั้งสองชนิดให้ได้ขนาด 2x2 เซนติเมตร นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมงให้แห้งและนำไปชั่งน้ำหนักจะได้น้ำหนักแห้งขอแผ่นฟิล์ม (w1) จากนั้นนำแผ่นฟิล์มดังกล่าวไปแช่น้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และนำแผ่นฟิล์มดังกล่าวไปชั่งน้ำหนักฟิล์มที่ดูดซับน้ำไว้ (w2) นำผลลัพธ์ของมวลทั้งสองไปคำนวณหาค่าระดับการบวมน้ำของแผ่นฟิล์ม (Film swelling degree) ด้วยสมการ (2) ต่อไปนี้ (Yadav et al., 2020)

$$\text{Film swelling degree} = \frac{w2-w1}{w1} \quad \text{.....(2)}$$

5. การถ่ายภาพพื้นผิวของฟิล์มด้วยกล้องจุลทรรศน์

การศึกษาลักษณะพื้นผิวของแผ่นฟิล์มอาศัยการวิเคราะห์ผลด้วยการถ่ายภาพพื้นผิวฟิล์มด้วยกล้องจุลทรรศน์ของ OLYMPUS รุ่น CH30RF200 ที่กำลังขยาย 5 เท่า

6. การเพาะเลี้ยงเชื้อ

แบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ เชื้อ *Escherichia coli (E. coli)* และ *Staphylococcus aureus (S. aureus)* การเตรียมเชื้อเริ่มต้นจากการนำแบคทีเรียทั้งสองมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ต่อมานำ Single colony ที่ได้ของแต่ละเชื้อมาเพาะต่อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นวัดความขุ่นของเชื้อ (เจือจางโดยใช้น้ำเกลือ 0.85%) ด้วยเครื่อง spectro-photometer ที่ความยาวคลื่นที่ 600 นาโนเมตร เพื่อให้ได้จำนวนมาตรฐานตาม 0.5 McFarland Standard (CLSI, 2018) ซึ่งเป็นค่าความขุ่นมาตรฐานที่ใช้เปรียบเทียบกับความขุ่นของแบคทีเรีย โดยมีจำนวนแบคทีเรียเป็น 1 X 108 CFU/mL และนำเชื้อที่ได้มาเพาะลงบนอาหาร Muller Hinton Agar (MHA) ด้วยวิธี Spread plate ด้วยการ swap ด้วยไม้พันสาลีที่ฆ่าเชื้อแล้ว

7. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเป็นการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดในแผ่นฟิล์มยืดทั้งสองประเภท โดยอาศัยขั้นตอนการทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion technique เช่นเดียวกับที่ใช้ในงานวิจัยของ พรพิมล และคณะ (2558) การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อในที่นี้ใช้วิธีการทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ด้วยวิธี Agar disc diffusion technique บนอาหารวุ้นแข็ง MHA ก่อนหน้านี้ วิธีการทำ Agar Diffusion Test ในงานวิจัยนี้แบ่งเป็นการทดสอบการยับยั้งเชื้อโดยน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรอย่างเดียวเปรียบเทียบกับการยับยั้งเชื้อบนฟิล์มจากไคโตซานผสมน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรและฟิล์มจากไคโตซานอย่างเดียว

7.1 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคโดยน้ำมันหอมระเหยจากเทพทาโร โดยนำแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบที่เตรียมไว้มาเกลี่ยลงบนอาหารเพาะเชื้อ MHA ให้ทั่วผิวหน้าอาหารด้วยไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อ โดยกำหนดให้เกลี่ยทำมุม 45 องศาโดยประมาณ จำนวน 3 ระนาบ ให้ถี่ที่สุด ทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที จากนั้นนำแผ่น paper disc ที่ชุ่มด้วยน้ำมันหอมระเหยจากเทพทาโร นำมาวางลงบนผิวหน้าอาหารที่เขียนระบุตำแหน่งไว้โดยดูจากประสิทธิ์ภาพการยับยั้ง

แบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยโดยตรง จากนั้นนำไปบ่มใน Incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และบันทึกผลโดยวัดจากขนาดของโซนยับยั้ง (clear zone) ด้วยเวอร์เนีย (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) จากการเตรียมชุดทดลอง 3 ชุด

7.2 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคของแผ่นฟิล์มไคโตซานผสมน้ำมันหอมระเหยจากเทพทาโรและแผ่นฟิล์มไคโตซานเพียงอย่างเดียว โดยนำแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบมาเกลี่ยลงบนอาหารเพาะเชื้อ MHA ให้ทั่วผิวหน้าอาหารด้วยไม้พันสาลีที่ฆ่าเชื้อ โดยกำหนดให้เกลี่ยทำมุม 45 องศาโดยประมาณ จำนวน 3 ระนาบให้ถี่ที่สุด ทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที จากนั้นนำแผ่นฟิล์มทั้งสองชนิดมาตัดเป็นวงกลมให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ซึ่งเท่ากับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc นำแผ่นฟิล์มวางลงบนผิวหน้าอาหารที่เขียนระบุตำแหน่งไว้ โดยกำหนดให้ชุดควบคุม คือ แผ่นฟิล์มไคโตซานเปล่า จากนั้นนำไปบ่มใน Incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และบันทึกผลโดยวัดจากขนาดของโซนยับยั้งด้วยเวอร์เนีย (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) จากการเตรียมชุดทดลอง 3 ชุด

ตารางที่ 1 ค่าระดับการบวมน้ำของงานต้นแบบแผ่นฟิล์มยืดที่สัดส่วนของน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรต่างกัน

ไคโตซานผสมกับน้ำมันหอมระเหย (25%)	น้ำหนัก (ก่อนทดสอบ) (กรัม)	น้ำหนัก (หลังทดสอบ) (กรัม)	ค่าระดับการบวมน้ำของแผ่นฟิล์ม
0 % (V/V) (ไคโตซานอย่างเดียว)	0.38	1.38	100 %
1 % (V/V)	0.44	2.51	207 %
5 % (V/V)	0.20	1.40	120 %
10 % (V/V)	0.15	0.89	74 %

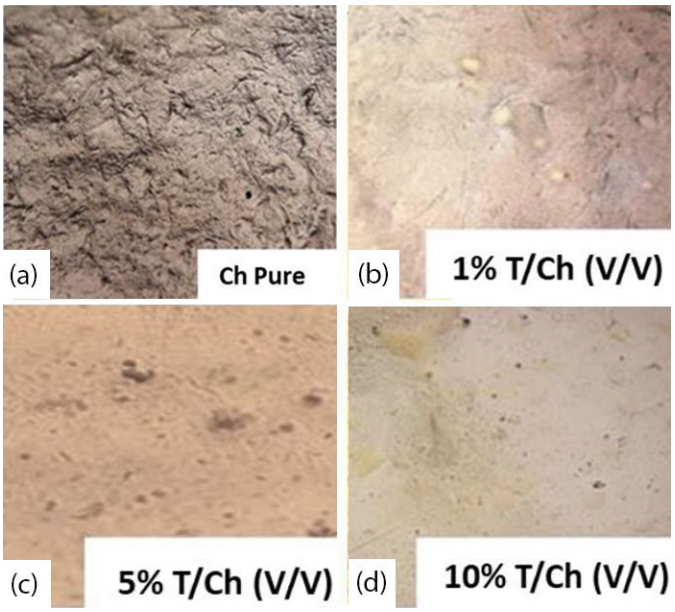
ผลการวิจัย

1. การเตรียมงานต้นแบบฟิล์มยืด

จากการทดลองผลิตฟิล์มยืดจากไคโตซานที่กำหนดให้ใช้สารละลายไคโตซาน 1 2.5 และ 5 % (W/V) ในการขึ้นรูปเป็นฟิล์มยืด ผลที่ได้จากการเตรียมงานต้นแบบพบว่า เวลาที่ใช้ในการอบแห้งเพื่อขึ้นรูปเป็นฟิล์มไคโตซานแต่ละความเข้มข้นมีค่าไม่เท่ากันโดย สารละลายไคโตซาน 1 % (W/V) ใช้เวลา 24 ชั่วโมง สารละลายไคโตซาน 2.5 % (W/V) ใช้เวลา 32 ชั่วโมง และสารละลายไคโตซาน 5 % (W/V) ใช้เวลา 48 ชั่วโมง โดยความเข้มข้นสารละลายไคโตซาน 2.5 % (W/V) เหมาะกับการนำไปทดสอบการขึ้นรูปเป็นฟิล์มยืดเนื่องจากมีความเหนียวทนต่อการยืด ส่วนความเข้มข้น 1 % (W/V) ฟิล์มที่ได้บางและเปราะ และความเข้มข้น 5 % (W/V) ฟิล์มค่อนข้างหนาและแข็งเกินไป และเมื่อนำสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2.5 % (W/V) ผสมกับน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรโดยกำหนดให้สารผสมน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ผสมกับสารละลายไคโตซานด้วยความเข้มข้น 4 ค่า คือ 1 5 10 และ 25 % (V/V) ผลที่ได้จากการทดลองขึ้นรูปเป็นฟิล์มยืดพบว่า มีเพียงความเข้มข้นของเทพทาโร 25 % (V/V) เท่านั้นที่ไม่สามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มยืดได้

2. การทดสอบการบวมน้ำของฟิล์มยืด

จากการนำฟิล์มยืด 4 ชนิดไปทดสอบการบวมน้ำของฟิล์ม และคำนวนหาค่าระดับการบวมน้ำของแผ่นฟิล์ม (Film swelling degree) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งผลที่ได้พบว่าฟิล์มยืดที่เตรียมจากสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2.5 % (W/V) กับน้ำมันหอมละเหยเทพทาโรความเข้มข้น 10 % (V/V) ให้ค่าระดับการบวมน้ำของแผ่นฟิล์มน้อยที่สุดที่ 74% ในขณะที่ผลของการใช้ไคโตซานทำฟิล์มยืดเพียงอย่างเดียวให้ผลรองลงมาที่ 100% และฟิล์มที่มีความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรน้อยสุดกลับให้ค่าระดับการบวมน้ำของแผ่นฟิล์มมากที่สุด เพราะไคโตซานมีสมบัติการอุ้มน้ำค่อนข้างดี (สุธิดา, 2552) หากพิจารณาในลักษณะของแนวโน้มของข้อมูลทั้งสองตัวแปร พบว่า แนวโน้มของค่าระดับการบวมน้ำของแผ่นฟิล์มลดลงเมื่อปริมาณความเข้มข้นของสารละลายน้ำมันหอมระเหยในฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรที่ผสมเข้าไปเกิดการแทรกตัวอยู่ในสารละลายไคโตซาน ส่งผลให้ลดสมบัติการซึมผ่านและกักตัวของน้ำในฟิล์มยืดไคโตซานดังกล่าว



รูปที่ 1 สภาพพื้นผิวของแผ่นฟิล์มยืดต้นแบบทั้ง 4 ชนิด (a) ฟิล์มยืดจากไคโตซานอย่างเดียว (b) ฟิล์มยืดจากไคโตซานผสมน้ำมันหอมระเหยเทพทาโร 1% (V/V) (c) ฟิล์มยืดจากไคโตซานผสมน้ำมันหอมระเหยเทพทาโร 5% (V/V) และ (d) ฟิล์มยืดจากไคโตซานผสมน้ำมันหอมระเหยเทพทาโร 10% (V/V)

3. สภาพพื้นผิวของแผ่นฟิล์มยืด

จากการตรวจสอบสภาพพื้นผิวของแผ่นฟิล์มยืดต้นแบบทั้ง 4 แบบ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 5 เท่า ให้ผลของสภาพพื้นผิวของแผ่นฟิล์มยืดทั้ง 4 แบบดังแสดงในรูปที่ 1 ซึ่งพบว่า พื้นผิวของฟิล์มยืดที่ผลิตจากไคโตซานเพียงอย่างเดียวมีพื้นผิวขรุขระไม่มีความเรียบสม่ำเสมอดังแสดงในรูป 1a เมื่อเปรียบเทียบกับพื้นผิวของฟิล์มไคโตซานที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยเทพทาโร พบว่า พื้นผิวของฟิล์มที่น้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนผสมมีสภาพพื้นผิวที่ค่อนข้างเรียบสม่ำเสมอมากกว่าแผ่นฟิล์มยืดที่ผลิตจากไคโตซานเพียงอย่างเดียวมาก นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบพื้นผิวฟิล์มที่ความเข้มข้นน้ำมันหอมระเหยต่างกัน (รูปที่ 1b ถึง 1d) พบว่า ที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่เพิ่มขึ้นสภาพพื้นผิวยิ่งดูเรียบมากขึ้น ผลดังกล่าวเกิดจากการจับตัวกันของสารละลายไคโตซานกับน้ำมันหอมระเหยเทพทาโร คล้ายกับที่พบการจับตัวกันของไคโตซานกับเจลาตินในงานของ Yadav et al. (2020)

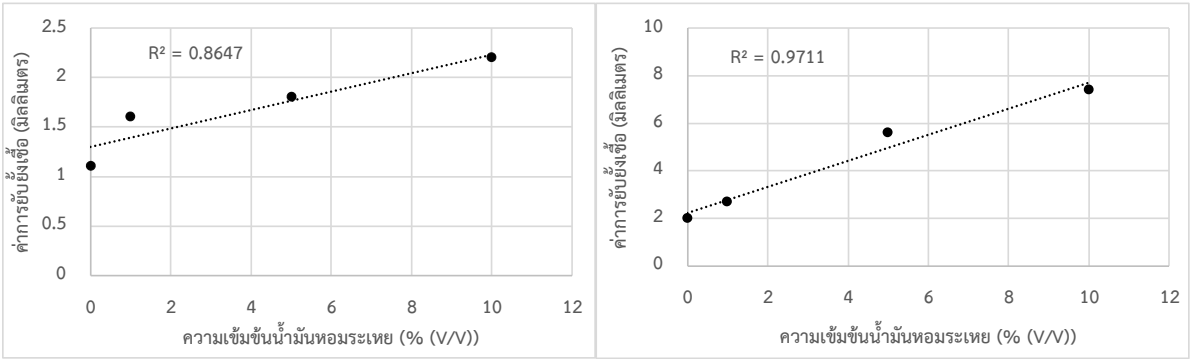
4. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

จากการทดสอบพื้นที่การยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ในวัตถุทดสอบทั้ง 5 ประเภท แสดงผลดังตารางที่ 2 พิจารณาการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* พบว่า น้ำมันหอมระเหยมีค่าการยับยั้งเชื้อที่วัดจากขนาดของโซนยับยั้ง (clear zone) สูงสุด (2.8 มิลลิเมตร) รองลงมาคือ ฟิล์มยืดไคโตซานมีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย 10 % (V/V) ที่มีค่าการยับยั้งเชื้อ 2.2 มิลลิเมตร ส่วนฟิล์มยืดที่ผลิตจากไคโตซานเพียงอย่างเดียวมีค่าการยับยั้งเชื้อน้อยที่สุด ในส่วนของเชื้อ *S. aureus* พบว่า ฟิล์มยืดไคโตซานมีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย 10 % (V/V) (7.4 มิลลิเมตร) ที่มีค่าการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรเพียงอย่างเดียว (7.2 มิลลิเมตร) ส่วนฟิล์มยืดที่ผลิตจากไคโตซานเพียงอย่างเดียวยังคงมีค่าการยับยั้งเชื้อน้อยที่สุดเช่นเดิมคือมีค่าการยับยั้งเชื้อเพียงแค่ 2.0 มิลลิเมตร เท่านั้น

พิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรที่ใช้ผสมในสารละลายไคโตซานสำหรับทำเป็นฟิล์มยืดและค่าการยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิด (รูปที่ 2) พบว่า มีความสัมพันธ์กันชัดเจน โดยตัวแปรทั้งสองที่ทดสอบด้วยเชื้อ *E. coli* มีความสัมพันธ์กัน 93 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อ *S. aureus* นั้นพบความสัมพันธ์กันระหว่างตัวแปรทั้งสอง มีค่า 98.5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการผสมกันของไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยสามารถเพิ่มความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดที่ดีขึ้น

ตารางที่ 2 ค่าการยับยั้งเชื้อในบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli*

วัตถุทดสอบ	Inhibition zone *E. coli* (มิลลิเมตร)	Inhibition zone *S. aureus* (มิลลิเมตร)
น้ำมันหอมระเหยเทพทาโร	2.8	7.2
ฟิล์มยืดไคโตซานเพียงอย่างเดียว	1.1	2.0
ฟิล์มยืดไคโตซานมีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย 1 % (V/V)	1.6	2.7
ฟิล์มยืดไคโตซานมีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย 5 % (V/V)	1.8	5.6
ฟิล์มยืดไคโตซานมีส่วนผสมน้ำมันหอมระเหย 10 % (V/V)	2.2	7.4



(a) (b)

รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียและความเข้มข้นน้ำมันหอมระเหยเทพทาโร (a) เชื้อ *E. coli* และ (b) เชื้อ *S. aureus*

วิจารณ์ผลการวิจัย

การขึ้นรูปเพื่อจัดทำฟิล์มต้นแบบโดยใช้สารละลายไคโตซาน 1 % (W/V) 2.5 % (W/V) และ 5 % (W/V) และใช้สารละลายกรดอะซิติก 3% (V/V) เป็นตัวทำละลาย พบว่าความเข้มข้นสารละลายไคโตซาน 2.5 % (W/V) เหมาะกับการนำไปขึ้นรูปเป็นฟิล์มยืดเนื่องจากมีความเหนียว ทนต่อการยืด ส่วนความเข้มข้น 1 % (W/V) และ 5 % (W/V) ฟิล์มที่ได้บาง/เปราะ และหนา/แข็ง ตามลำดับ ผลดังกล่าวอาจเกิดจากสัดส่วนปริมาณของไคโตซานในสารละลายกรดอะซิติกที่มีปริมาณที่ไม่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปฟิล์มจากสารละลายในสองความเข้มข้นดังกล่าว สอดคล้องกับที่ สุธิดา (2552) ได้ระบุไว้ว่าปริมาณของกรดอะซิติกเป็นหนึ่งตัวแปรที่ส่งผลต่อความข้นหรือใส และความหนืดของสารละลายไคโตซานขณะที่เป็นของเหลว ซึ่งผลดังกล่าวสามารถสะท้อนถึงการจับตัวเป็นเนื้อเดียวกันของสารละลายไคโตซานที่เตรียมไว้ก่อนนำไปอบและขึ้นรูปเป็นฟิล์มทั้ง 3 ความเข้มข้นดังกล่าว

ความสามารถในการบวมน้ำเป็นหนึ่งสมบัติสำคัญที่พบมากในการนำมาใช้ในการทดสอบแผ่นฟิล์มยืดที่ผลิตจากส่วนผสมของไคโตซาน ซึ่งผลที่พบในงานวิจัยนี้ พบว่า ตัวไคโตซานเองสามารถทำให้เกิดการบวมน้ำได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่หากเพิ่มส่วนผสมที่เป็นสารชนิดอื่นเข้าไปจะส่งผลต่อการบวมน้ำของแผ่นฟิล์มได้ เช่นในงานวิจัยของ Yadav et al. (2020) ที่เติมเจลาตินและเควอซิตินเข้าไป โดยเจลาตินที่ใส่เข้าไปส่งผลให้ความสามารถในการบวมน้ำเพิ่มสูงขึ้น แต่เควอซิตินช่วยลดผลการบวมน้ำที่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้เป็นการเติมน้ำมันหอมระเหยเข้าไปโดยพบว่า เมื่อเพิ่มสัดส่วนความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเข้าไปมากขึ้นสามารถลดเปอร์เซ็นต์ของการบวมน้ำของแผ่นฟิล์มยืดที่ผลิตขึ้นมาได้ ปัจจัยดังกล่าวเกิดจากสมบัติในการดูดซับจับตัวกับน้ำมันของไคโตซาน ซึ่งตัวไคโตซานเองเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่เป็นประจุบวกสามารถทำให้ขั้วลบที่อยู่ในตัวน้ำมันสูญเสียเสถียรภาพตามกลไกการสะเทิน (Neutralize) ช่วยลดช่องว่างที่ทำให้น้ำแทรกตัวลงไปในสารผสมไคโตซานและน้ำมัน (สุธิดา, 2552) นั่นหมายความว่า น้ำมันหอมระเหยเทพทาโรที่เติมเข้าไปสามารถลดการบวมน้ำของแผ่นฟิล์มยืดได้ เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยที่แทรกตัวเข้าไปอยู่ในแผ่นฟิล์มไปลดพื้นที่ผิวของแผ่นฟิล์มในการสัมผัสจับตัวกับน้ำ ส่งผลให้แนวโน้มของการบวมน้ำลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามหากเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย

เทพทาโรที่ความเข้มข้นมากกว่า 10 % (V/V) จะทำให้ฟิล์มไม่สามารถทำการขึ้นรูปเป็นฟิล์มยืดได้ เนื่องจากโมเลกุลของน้ำมันหอมระเหยเข้าไปผสมและแทรกตัวในสารละลายไคโตซานมากเกินไป จนทำให้เกิดการแยกชั้นของสารทั้งสองประเภท ส่งผลให้สารละลายไคโตซานรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกันได้ยากขึ้น นอกจากนี้สารละลายผสมดังกล่าวอยู่ในสภาวะที่เป็นของเหลวซึ่งความร้อนจากการอบไล่ความชื้นไม่สามารถระเหยส่วนที่เป็นของเหลวในสารผสมดังกล่าวได้ ดังผลการทดลองที่พบว่าสารละลายไคโตซานที่ผสมกับน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรความเข้มข้น 25 % (V/V) ขึ้นรูปเป็นฟิล์มยืดไม่ได้

เมื่อพิจารณาในส่วนของความสามารถในการต่อต้านและยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มยืดไคโตซานพบว่า ผลของการยับยั้งเชื้อที่พบมีความสอดคล้องกับผลที่พบในงานวิจัยของ Yadav et al. (2020) ที่ศึกษาฟิล์มที่มีไคโตซานเป็นส่วนผสม ซึ่งในงานวิจัยดังกล่าวได้ทดลองใช้เชื้อ *E. coli* ด้วยเช่นกัน ทั้งนี้ผลดังกล่าวมาจากการที่สารละลายไคโตซานมีสมบัติในการยับยั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียในตัวเอง (สุธิดา, 2552; บุญภพ และคณะ, 2560) ในส่วนของน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรที่ใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิตฟิล์มยืดต้นแบบในงานวิจัยนี้ ต่างก็เป็นที่ประจักษ์แล้วในงานวิจัยของ เกษม และคณะ (2550) และงานของ พิชญดา และคณะ (2552) ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ทั้งนี้ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียของไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยจากเทพทาโรเมื่อใช้เพียงตัวใดตัวหนึ่งเพียงอย่างเดียวอาจไม่โดดเด่นนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อทดสอบกับเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ดังนั้นอาจต้องมีการนำไคโตซานไปผสมกับสารชนิดอื่นหรือสังเคราะห์อนุพันธ์กลุ่ม deoxy-chitosan จึงจะสามารถเพิ่มฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น (บุญภพ และคณะ, 2560) เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยดังกล่าวมาผสมกับสารละลายไคโตซานและนำไปขึ้นรูปทำเป็นฟิล์มยืดได้ให้ผลของความสัมพันธ์ที่ดีระหว่างความสามารถในการยับยั้งเชื้อกับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย โดยมีการยับยั้งเชื้อที่เพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรที่ใส่เข้าไป ปัจจัยดังกล่าวอาจเกิดจากซิทราล (Citral) สารประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยเทพทาโร ซึ่งเป็นที่ทราบดีว่าสารประกอบซิทรารเป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียได้ เช่นเดียวกับที่พบสารประกอบดังกล่าวในตะไคร้ที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ด้วยเช่นเดียวกัน (Khonsung, 2012) ทั้งนี้หากต้องการปรับปรุงให้งานต้นแบบฟิล์มยืดดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อเพิ่มขึ้นอาจต้องหาทางเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรให้มากยิ่งขึ้นควบคู่กับการทำให้สารประกอบดังกล่าวสามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ หรืออาจทดสอบโดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากสารสกัดอย่างอื่นแทนที่น้ำมันหอมระเหยเทพทาโรและสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้มากยิ่งขึ้น

สรุปผลการวิจัย

ค่าระดับการบวมน้ำของต้นแบบแผ่นฟิล์มยืดมีค่าลดลงเมื่อปริมาณความเข้มข้นของสารละลายน้ำมันหอมระเหยในฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น นั่นหมายความว่าน้ำมันหอมระเหยเทพทาโรที่เติมเข้าไปสามารถลดการบวมน้ำของแผ่นฟิล์มยืดได้ นอกจากนี้การผสมกันของไคโตซานและน้ำมันหอมระเหยสามารถเพิ่มความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ที่ดีขึ้นแบบมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้มีเพียงสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 2.5 % (W/V) เท่านั้นที่เหมาะกับการนำไปทดสอบการขึ้นรูปเป็นฟิล์มยืด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต ที่ได้ให้การสนับสนุนอุปกรณ์และทุนวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา สำหรับการดำเนินการวิจัย ขอขอบคุณ พ.อ.วินัย พุกศรีสุข รองผู้อำนวยการกองการศึกษา โรงเรียนทหารการสัตว์ กรมการสัตว์ทหารบก สำหรับข้อแนะนำความช่วยเหลือในเรื่องของน้ำมันหอมระเหย

เอกสารอ้างอิง

เกษม ต้นสุวรรณ วิภา พลันสังเกต นวลพรรณ ศิรินุพงศ์, พิมพ์พิมล เพ็ญจำรัส และ ปราณี รัตนสุวรรณ. (2550). รายงานวิจัยเรื่ององค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเทพธาโร. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา. 2: 1-18.

ฐิตาพร ชัยศิลปะ สมจิต ดาริห์อนันต์ เฉลิมวุธ สมปาก และนิรมล ศากยวงศ์. (2560). สมบัติบางประการและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของลิ้นทะเล. Thai Journal of Science and Technology 6(1): 11-21.

บุญภพ ไชยศรีขวัญ ณัฐธิดา รักกะเปา อติพล พัฒิยะ จรัสลักษณ์ เพชรวัง และ อุไรวรรณ วีระพันธ์. (2560). ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ของไคโตซานตลอดจนอนุพันธ์และคอมพอสิตของไคโตซาน. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว. 33(1): 297-315.

พรพิมล เพ็ชรโยธิน จันทนา ไพรบูรณ์ และ อนงค์ จีรภัทร (2558). ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว (Propionibacterium acnes) จากสารสกัดของสาหร่ายทะเล. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. 38(3): 273-282.

พิชญดา ฉายแสง บงกชรัตน์ปิติยนต์ และ นุจารี ประสิทธิ์พันธ์. (2552). การผลิตน้ำมันหอมระเหยจากเศษราก ไม้เทพทาโร. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 40(3): 329-332.

วิไลลักษณ์ กล่อมพงษ์ (2562). ผลของไคโตซานจากเปลือกกุ้งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลากะพงขาวระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ 22(1): 53-62.

สิริรัตน์ จงฤทธิพร พรรณทิพย์ สุวรรณสาครกุล ปวเรศวร์ อินทุเศรษฐ และ รัดดาวัลย์ บุญแต่ง. (2552). คุณสมบัติของไคโตซานที่สกัดได้จากเปลือกกุ้งขาว. วารสารการประมง 62(6): 519-524.

สุธิดา คงทอง. (2552). ไคติน-ไคโตซาน. วารสารวิชาการอุตสาหกรรมศึกษา 3(1): 1-7.

CLSI. (2018). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 11th ed. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Dıblan, S. and Kaya, S. (2018). ANTIMICROBIALS USED IN ACTIVE PACKAGING FILMS. Food and Health 4(1): 63-79.

Kang, J., Jin, W., Wang, J., Sun, Y., Wu, X. and Liu, L. (2019) Antibacterial and anti-biofilm activities of peppermint essential oil against *Staphylococcus aureus*. Leben-smittel-Wissenschaft and Technologie 101: 639-645.

Khonsung, P. (2012). Cymbopogon citratus (DC) Stapf. Thai Journal of Pharmacology 34(2): 37-51.

Lin, L., Abdel-Shafi, A.-S. M., and Cui, H. (2019). Novel packaging systems in food. Encyclopedia of Food Security and Sustainibility 484–491.

Mitelut, A. C., Tanase, E. E., Popa, V. I., and Popa, M. E. (2015). Sustainable alternative for food packaging: Chitosan biopolymer- A review. Agrolife Scientific Journal 4(2): 52–61.

Mujtaba, M., Morsi, R., Kerch, G., Elsabee, M., Kaya, M., Labidi, J., and Khawar, K. M. (2019). Current advancements in chitosan-based film production for food technology: A Review. International Journal of Biological Macro-molecules 121: 889–904.

Nagahama, H., Maeda, H., Kashiki, T., Jayakumar, R., Furuike, T., and Tamura, H. (2009). Preparation and characterization of novel chitosan/gelatin membranes using chitosan hydrogel. Carbohydrate Polymers 76: 255–260.

Priyadarshi, R., and Negi, Y. S. (2017). Effect of varying filler concentration on zinc oxide nanoparticle embedded chitosan films as potential food packaging material. Journal of Polymers and the Environment 25(4): 1087–1098.

Yadav, S., Mehrotra, G. K., Bhartiya, P., Singh, A. and Dutta, P. K. (2020). Preparation, physicochemical and biological evaluation of quercetin based chitosan-gelatin film for food packaging. Carbohydrate Polymers 227: 115348, 1-9.

Zhang, Z. and Han, X. (2019). Polymer antibacterial agent immobilized polyethylene films as efficient antibacterial cling films. Materials Science and Engineering C 105: 110088.

❑❑❑❑❑