



ฟิล์มเคลือบผิวอ่อนตัวจากไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่าง-คอนยัคกลูโคแมนแนน :  
สมบัติทางเคมีกายภาพและลด/ป้องกันการผลิตอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง

Active Different Molecular Weight of Chitosan-Konjac Glucomannan Edible  
Film Coating : Physicochemical and Aflatoxin Binding Properties in Peanuts

อัครชา หาญวัฒนกุล\*

Akkaracha Hanwattanakul

อัญญาณี โมกกรานต์\*\*

Anyanee Mokkran

ธัญจิรา อินทนาศักดิ์\*\*

Thanjira Intanasak

เบญญา เชิดหิรัญกร\*\*\*

Benya Cherdhirunkorn

ชिरาวุฒิ เพชรเย็น\*\*\*

Chiravoot Pechyen

สุรเชษฐ์ ตุ่มมี\*\*\*\*

Surachet Toommee

Received : February 14, 2022

Revised : June 13, 2022

Accepted : July 21, 2022

#### บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้นำคอนยัคกลูโคแมนแนนและไคโตซานมาใช้ในการวิจัยและทดสอบในกระบวนการผลิตฟิล์ม

\*นักศึกษาลัทธิศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีวัสดุและสิ่งทอ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Master of Science program students Materials and Textile Technology Faculty of Science and  
Technology Thammasat University

\*\*นักศึกษาลัทธิศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์  
Bachelor of Science program students Materials Science Faculty of Science and Technology  
Thammasat University

\*\*\*อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีวัสดุและสิ่งทอ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Lecturer in Materials and Textile Technology Faculty of Science and Technology Thammasat University

\*\*\*\*อาจารย์ประจำคณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

Lecturer at Faculty of Industrial Technology Kamphaeng Phet Rajabhat University

ที่สามารถบริโภคได้สำหรับนำมาประยุกต์ใช้ในการเคลือบถั่วลิสงเพื่อลด/ป้องกันการเกิดสารพิษอะฟลาทอกซินที่เกิดขึ้นและอาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค พิล์มบริโภคได้สามารถเตรียมได้โดยการผสม 1% w/v ของคอนยัคกลูโคแมนแนนกับ 1% w/v ของไคโตซานในสารละลายกรดแอซีติก การรวมไคโตซานลงไปฟิล์มบริโภคได้มีการใช้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกัน 3 ช่วง ดังนี้ น้ำหนักโมเลกุลต่ำ (L-Mw), น้ำหนักโมเลกุลปานกลาง (M-Mw) และน้ำหนักโมเลกุลสูง (H-Mw) จากนั้นเติมกลีเซอรอลที่ทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ในแต่ละอัตราส่วนของสารผสม สารละลายคอนยัคกลูโคแมนแนนและไคโตซานผสมกันในอัตราส่วนต่างๆ อัตราส่วนผสมที่แตกต่างกันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในโครงสร้างของแผ่นฟิล์มบริโภคได้และสมบัติต่างๆ ของฟิล์ม จากการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (scanning electron microscopy : SEM) พบว่า ฟิล์ม KGM มีพื้นผิวหยาบและมีความไม่สม่ำเสมอมากที่สุด จากการวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffractometer : XRD) พบว่า ในทุกตัวอย่างของฟิล์มจะเกิดพีกกว้างที่  $2\theta$  เท่ากับ  $20^\circ$  เมื่อมีปริมาณของ KGM เพิ่มมากขึ้น และฟิล์ม KGM/CS มีความเข้ากันได้ดียืนยันได้จากการปรากฏหมู่ฟังก์ชัน N-H bending จากการวิเคราะห์ฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (Fourier Transform Infrared Spectrophotometer : FTIR) นอกจากนี้ฟิล์ม CS(M-Mw) แสดงค่าความทนต่อแรงดึงสูงสุด (39.29 MPa) และฟิล์ม KGM/CS(L-Mw), KGM/CS(M-Mw) และ KGM/CS(H-Mw) มีค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงเท่ากับ 17.84 MPa, 15.88 MPa และ 10.33 MPa ตามลำดับ ฟิล์มผสม KGM/CS(L-Mw) แสดงการยับยั้งอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงได้ดีที่สุด ดังนั้นการนำสารเคลือบมาประยุกต์ใช้สามารถรักษาคุณภาพของถั่วลิสง เนื่องจากได้รับการประเมินลักษณะทางกายภาพและเคมี ดังนั้นการเคลือบฟิล์มบริโภคได้ซึ่งมีคอนยัคกลูโคแมนแนนและไคโตซาน เป็นทางเลือกที่มีแนวโน้มในการควบคุมสารพิษอะฟลาทอกซินที่เกิดจากเชื้อราในถั่วลิสงโดยไม่ส่งผลเสียต่อคุณภาพในการเก็บรักษา

**คำสำคัญ :** ฟิล์มเคลือบผิวบริโภคได้ / คอนยัคกลูโคแมนแนน / ไคโตซาน / อะฟลาทอกซิน / ถั่วลิสง

#### ABSTRACT

In this study, konjac glucomannan (KGM) and chitosan (CS) are researched and tested in the process of edible film production for consumption purposes applied onto peanuts to reduce/prevent aflatoxins that cause harm to consumers. The edible films were prepared by blending 1% w/v of KGM with 1% w/v of CS in acetic acid aqueous solution. In the preparation stage, the incorporation of chitosan in edible films are used by different molecular weights; (Lower molecular weight of chitosan (L-Mw), Medium molecular weight of chitosan (M-Mw) and Higher molecular weight of chitosan (H-Mw). Then, Glycerol was added as a plasticizer in the mixture ratio. The solutions of konjac glucomannan and chitosan are mixed together with different ratios. The different mixture ratios leads to the change in structure and properties of the films. As a result, scanning electron microscopy (SEM) analysis showed that the surface of

KGM film has the most rough and uneven. X-ray diffractometer (XRD) showed that all of the film samples have a very broad peak at  $2\theta$  around  $20^\circ$  when the content of KGM blended into the films increases. The good compatibility of KGM/CS films were confirmed by the presence of N-H bending analyzed by Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR). Furthermore, the CS-M-Mw film shows the maximum tensile strength (39.23 MPa). The KGM/CS-L-Mw, KGM/CS-M-Mw and KGM/CS-H-Mw films were 17.87 MPa, 15.90 MPa and 10.33 MPa, respectively. The KGM/CS-L-Mw film showed the greatest inhibition of aflatoxin produced by fungi in peanuts. Therefore, the application of the tested coatings preserved the quality of peanuts as measured by some physicochemical attributes. From this, composite edible film coatings containing KGM and CS offer a promising alternative to control aflatoxin contamination caused native fungal in peanuts without negatively affecting their quality over storage.

**Keywords :** Edible Film Coating / Konjac Glucomannan / Chitosan / Aflatoxin / Peanuts

#### บทนำ

ฟิล์มหรือสารเคลือบผิวที่สามารถบริโภคได้เป็นวัสดุที่สามารถบริโภคได้โดยตรง ทำหน้าที่กีดขวางและป้องกันรวมไปถึงสามารถเพิ่มคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร นอกจากนี้ฟิล์มเหล่านี้มักทำมาจากส่วนประกอบที่สามารถบริโภคได้ซึ่งเป็นวัสดุพอลิเมอร์ชีวภาพ สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ ฟิล์มโปรตีน เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี คอลลาเจน เป็นต้น ฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น เซลลูโลส เพกติน สตาร์ช กัม เป็นต้น และฟิล์มไขมัน เช่น ไชพาราฟิน ไชผึ้ง ไชรำข้าว ไตรกลีเซอไรด์ เป็นต้น (รังสิณี, 2559) มีส่วนสำคัญในการย่อยสลายได้ทางชีวภาพและไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Trinetta, 2016) การดำรงชีวิตของมนุษย์ในปัจจุบันได้ให้ความสำคัญกับการดูแลสุขภาพร่างกายเป็นอย่างมากโดยมีการปรับเปลี่ยนวิธีการบริโภคอาหารที่มีประโยชน์มากขึ้น อาหารที่นิยมรับประทานและเป็นส่วนประกอบในอาหารคาวหวานต่างๆ รวมไปถึงเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปที่พร้อมรับประทาน คือ ถั่วลิสง ซึ่งถั่วลิสงเป็นพืชตระกูลถั่วอุดมไปด้วยคุณค่าทางสารอาหารที่สูง ซึ่งผู้บริโภคอาจไม่ได้สังเกตถึงอันตรายที่แฝงอยู่ในถั่วลิสง ถั่วลิสงมีสารพิษที่เกิดจากเชื้อราชนิดหนึ่งที่มีชื่อเรียกว่า สารอะฟลาทอกซิน เป็นสารพิษที่เชื้อ *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* สร้างขึ้น สารพิษอะฟลาทอกซินที่เกิดจากเชื้อราขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้นในระหว่างการเจริญเติบโตของพืชและการเก็บรักษา (Dhanamjayulu, et al., 2019) ในระยะพัฒนาฝักหรือภายหลังจากการเก็บเกี่ยว ทำให้เชื้อราสายพันธุ์ *Aspergillus* เข้าทำลายได้ง่ายและเกิดการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซิน มักเกิดการปนเปื้อนมากที่สุดในช่วงก่อนทำการเก็บเกี่ยวเนื่องจากเมื่อฝักแก่เต็มที่แล้วจะแตกออกจึงเป็นช่องทางให้เชื้อราสามารถเข้าทำลายได้ง่าย ถั่วลิสงที่มีการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินในปริมาณที่มากเกินไป ส่งผลให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์และไม่สามารถบริโภคได้ (Yan, et al., 2021) จึงได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงให้สามารถเก็บรักษาได้นานยิ่งขึ้น โดยการเคลือบหรือการห่อหุ้มด้วย

วัสดุบรรจุภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติ สามารถสัมผัสอาหารได้โดยตรง สามารถรับประทานได้ ดังนั้นจึงได้ทำการพัฒนาฟิล์มเคลือบผิวที่สามารถบริโภคได้ผสมโคโตซานและคอนยัคกลูโคแมนแนน นำมาประยุกต์ใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ถั่วลิสง ทั้งนี้โคโตซานเป็นสารพอลิเมอร์จากธรรมชาติสามารถสกัดได้จากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และกระดองปลาหมึก เป็นต้น มีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากมีลักษณะที่ไม่เป็นพิษและปลอดภัยต่อภูมิแพ้ นอกจากนี้ยังมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรีย (Dong, et al., 2020) โดยกลไกในการยับยั้งเชื้อราของโคโตซานเกิดจากการทำงานระหว่างประจุบวกบนสายโซ่โมเลกุลของโคโตซานกับประจุลบบนผิวของเชื้อราทำให้เกิดการรั่วไหลของอิเล็คโทรไลต์ (electrolytes) และส่วนประกอบอื่นๆภายในเซลล์ของเชื้อรา ซึ่งเชื่อว่าจะส่งผลต่อรูปร่างของผนังเซลล์ที่ไปรบกวนกระบวนการทำงานของเอนไซม์ทำให้สามารถสามารถชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ (Dewi and Nur, 2018) นอกจากนี้โคโตซานยังมีความสามารถในการขึ้นรูปเป็นฟิล์มที่ดีและสามารถย่อยสลายได้ชีวภาพ สำหรับคอนยัคกลูโคแมนแนนหรือบุกเป็นสารประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากบุกซึ่งมีหัวอยู่ใต้ดินได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางในการเตรียมฟิล์มที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพหรือบริโภคได้ เนื่องจากไม่เป็นพิษและยังได้รับการนำไปใช้ในด้านวิทยาศาสตร์ทางอาหาร ชีววิทยาและการแพทย์ เนื่องจากมีความสามารถในการดูดซับน้ำสูง (Sun, et al., 2020)

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการเตรียมฟิล์มบริโภคน้ำหนักได้จากวัสดุเชิงประกอบคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซานโดยใช้โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกัน 3 ช่วงน้ำหนักโมเลกุล ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลต่ำ น้ำหนักโมเลกุลปานกลาง และน้ำหนักโมเลกุลสูง ที่จะส่งผลต่อสมบัติเชิงกล ภายภาพและสมบัติในการยับยั้งเชื้อรา และนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารเคลือบถั่วลิสงที่มีโอกาสในการเกิดสารอะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) ที่เป็นสาเหตุให้ถั่วมีการเสื่อมเสียทางกายภาพ สามารถลดปริมาณสารอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนได้ จึงสามารถยืดระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ถั่วลิสงไว้ได้นานขึ้น

### วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

ผงบุก (Konjac powder : บริษัท กรุงเทพเคมีจำกัด) โคโตซาน (Chitosan, Mw = 80-125 kDa, 125-500 kDa and 500-900 kDa, %DD = 90-95% : บริษัท ไบโอดี จำกัด) กลีเซอรอล (Glycerol, C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) : บริษัท กรุงเทพเคมี จำกัด กรดแอซติก (Acetic acid, CH<sub>3</sub>COOH 99.7% : บริษัท เอเพกซ์ เคมีเคิล จำกัด) และน้ำขจัดไอออน (Deionized water)

การเตรียมฟิล์มจากคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซาน

เตรียมสารละลายผงบุก (KGM) ที่ความเข้มข้น 1% w/v ในน้ำ DI นำไปกวนเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และเตรียมสารละลายโคโตซาน (CS) ที่น้ำหนักโมเลกุลต่ำ (L-Mw), น้ำหนักโมเลกุลปานกลาง (M-Mw) และน้ำหนักโมเลกุลสูง (H-Mw) โดยเตรียมโคโตซานแต่น้ำหนักโมเลกุลที่ความเข้มข้น 1% w/v ในสารละลายกรดแอซติก ความเข้มข้น 0.5% v/v นำไปกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสารละลายที่เตรียมได้ทั้งสองมาผสมกันที่อัตราส่วนระหว่างคอนยัคกลูโคแมนแนนต่อโคโตซาน [konjac glucomannan(KGM) : chitosan(CS)] เท่ากับ 100:0,

0:100 และ 80:20 โดยมีชื่อของฟิล์มตัวอย่าง ดังนี้ KGM, CS(L-Mw), CS(M-Mw), CS(H-Mw), KGM/CS(L-Mw), KGM/CS(M-Mw) และ KGM/CS(H-Mw) จากนั้นเติมกลีเซอรอล 0.3% v/v เพื่อทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ นำไปกวนอีกครั้งจนเข้ากันดีเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อได้สารละลายขึ้นรูปฟิล์มแล้วนำมาเทลงบนจานเพาะเชื้อแก้ว ทำให้แห้งโดยการนำเข้าสู่อบลมร้อนที่ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 ชั่วโมง

การเคลือบเมล็ดถั่วลิสงด้วยสารละลายขึ้นรูปฟิล์มบริโกลได้จากคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซาน

วิธีการเคลือบเมล็ดถั่วลิสงด้วยสารละลายขึ้นรูปฟิล์มบริโกลได้สามารถทำได้ตามวิธีการดังต่อไปนี้ เริ่มต้นจากนำเมล็ดถั่วลิสงแห้งพร้อมเปลือกที่ยังไม่ได้ผ่านการอบ 500 กรัม ใส่ลงไปในสารละลายขึ้นรูปฟิล์มที่เตรียมไว้ที่อัตราส่วนต่างๆให้ทั่วเมล็ดถั่วลิสง จากนั้นเทลงบนตะแกรงสแตนเลสแล้วทำให้แห้งบนจานเพาะเชื้อแก้ว เก็บรักษาตัวอย่างถั่วลิสงไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน เพื่อเตรียมนำไปวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินที่เกิดขึ้น

การวิเคราะห์และทดสอบสมบัติของฟิล์มเคลือบผิวบริโกลได้ผสมคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซาน

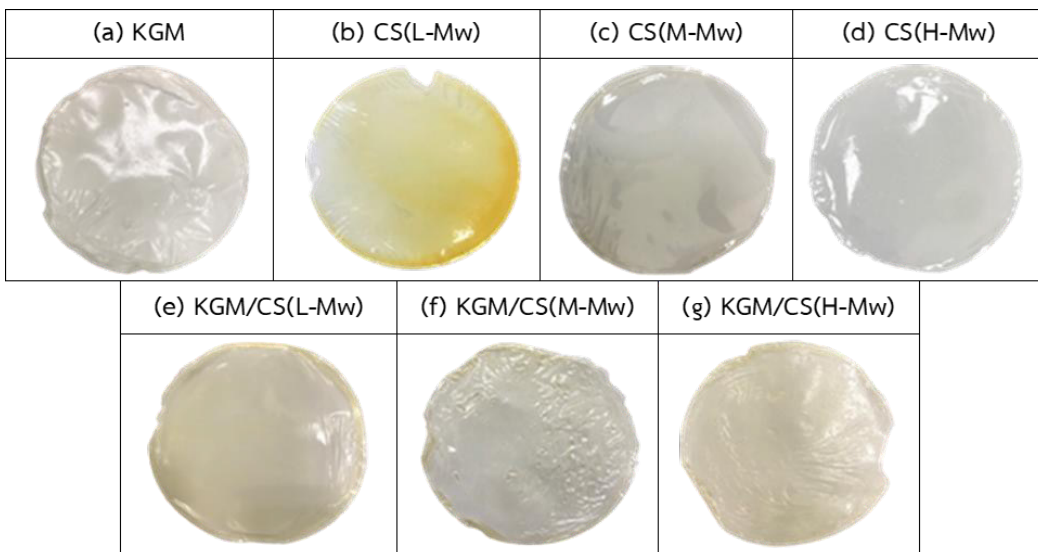
ภายหลังจากการเตรียมฟิล์มและสารละลายเคลือบผิวบริโกลได้จากคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซาน จะนำฟิล์มที่เตรียมได้มาวิเคราะห์และทดสอบสมบัติทางกายภาพ สมบัติเชิงกล สมบัติทางเคมีและสมบัติอื่นๆ รวมไปถึงเมล็ดถั่วลิสงที่ผ่านการเคลือบด้วยสารละลายขึ้นรูปฟิล์มและเมล็ดถั่วลิสงที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบมาทำการทดสอบ ดังนี้

1. วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฟิล์มเคลือบผิวบริโกลได้ผสมคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซาน ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (scanning electron microscopy : SEM)
2. วิเคราะห์โครงสร้างของสารอินทรีย์ของฟิล์มเคลือบผิวบริโกลได้ผสมคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซาน ด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Fourier Transform Infrared Spectrophotometer : FTIR)
3. วิเคราะห์โครงสร้างของผลึกของฟิล์มเคลือบผิวบริโกลได้ผสมคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซาน ด้วยเครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffractometer : XRD)
4. วิเคราะห์สมบัติเชิงกลของฟิล์มเคลือบผิวบริโกลได้ผสมคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซาน โดยการวิเคราะห์หาค่าความสามารถในการต้านทานแรงดึง (tensile strength), เปอร์เซ็นต์ของการยืด (% elongation, %E) ตามมาตรฐาน ASTM D882
5. วิเคราะห์หาปริมาณของอะฟลาทอกซินที่เกิดขึ้นในถั่วลิสงภายหลังจากการทำการเคลือบด้วยสารขึ้นรูปฟิล์มเคลือบผิวบริโกลได้ผสมคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซานเทียบกับถั่วลิสงที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้ fluorescence detector ที่ความยาวคลื่น excitation 360 nm และ emission 440 nm

ผลการวิจัย

1. การเตรียมฟิล์มเคลือบผิวบริโภาคได้

จากการทดลองเตรียมฟิล์มโดยการเตรียมสารละลายคอนยัคกลูโคแมนแนน (KGM) ที่ความเข้มข้น 1% w/v ละลายในน้ำ DI และเตรียมสารละลายไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 3 ช่วง ได้แก่ 80 – 125, 125 – 500 และ 500 – 900 kDa ที่ความเข้มข้น 1% w/v ละลายในสารละลายกรดแอสติกความเข้มข้น 0.5% v/v จากนั้นนำสารละลายทั้งสองชนิดมาผสมกันตามอัตราส่วนที่ต่างกัน และเติมกลีเซอรอลที่ความเข้มข้น 0.3% v/v ลงไปในสารละลายเพื่อทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์และนำไปขึ้นรูปฟิล์มด้วยวิธีการหล่อ (casting method) ดังแสดงในภาพที่ 1 ในการทำการทดลองเตรียมฟิล์มคอนยัคกลูโคแมนแนน ฟิล์มไคโตซาน และฟิล์มผสมระหว่างคอนยัคกลูโคแมนแนนกับไคโตซาน พบว่า ฟิล์มในแต่ละอัตราส่วนจะมีเนื้อสัมผัส ความบาง สี ความโปร่งใสที่ต่างกันออกไป ซึ่งลักษณะที่ต่างกันของฟิล์มเหล่านี้เกิดจากความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลต่ำ (L-Mw), น้ำหนักโมเลกุลปานกลาง (M-Mw) และน้ำหนักโมเลกุลสูง (H-Mw) โดยฟิล์ม CS(L-Mw) ดังภาพที่ 1b มีลักษณะเป็นสีเหลืองและไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะสอดคล้องกับการมีค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงที่มีค่าต่ำสุด จึงส่งผลให้ฟิล์มมีความเปราะแตกง่ายและทำให้สามารถลอกฟิล์มออกจากภาชนะได้ยากที่สุด ในขณะที่ฟิล์มที่มีการผสมระหว่างคอนยัคกลูโคแมนแนนกับไคโตซาน เมื่อไคโตซานมีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้นจะมีแนวโน้มเกิดรอยที่มีลักษณะคล้ายเส้นใยเพิ่มขึ้นบนผิวของฟิล์ม จึงส่งผลให้ผิวของฟิล์มมีความขรุขระมากขึ้น

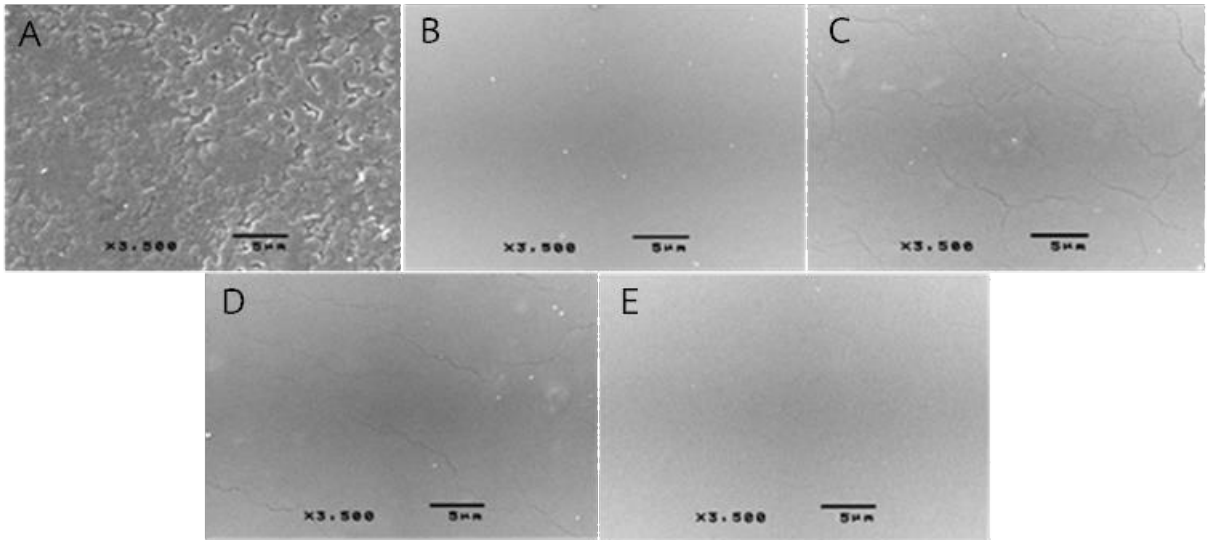


ภาพที่ 1 ลักษณะปรากฏของฟิล์มทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ (a) KGM; (b); CS(L-Mw); (c) CS(M-Mw)

(d) CS(H-Mw); (e) KGM/CS(L-Mw); (f) KGM/CS(M-Mw); (g) KGM/CS(H-Mw)

2. ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มของฟิล์มเคลือบผิวบริโภาคได้

จากการทดสอบลักษณะพื้นผิวของฟิล์มในแต่ละอัตราส่วน แสดงดังภาพที่ 2 พบว่าพื้นผิวของฟิล์ม KGM มีความไม่เรียบ ขรุขระ เนื่องจากสารละลายคอนยัคกลูโคแมนแนนมีความหนืดสูงและเกิดฟองอากาศขึ้นในสารละลายระหว่างทำการหล่อขึ้นรูปฟิล์มซึ่งเป็นการยากที่จะกำจัดฟองอากาศออกไป (Yan, et al., 2020) ในขณะที่ฟิล์มโคโตซานค่อนข้างมีความเรียบและเป็นเนื้อเดียวกัน ถึงแม้ว่าจะมีฟองอากาศเกิดขึ้นในระหว่างเตรียมสารละลายและการหล่อขึ้นรูปฟิล์มแต่สามารถกำจัดฟองอากาศออกไปได้ง่ายกว่าสารละลายคอนยัคกลูโคแมนแนน ส่วนพื้นผิวของฟิล์มผสม KGM/CS(L-Mw), KGM/CS(M-Mw) และ KGM/CS(H-Mw) ค่อนข้างมีความเรียบเนียนและมีความเป็นเนื้อเดียวกัน



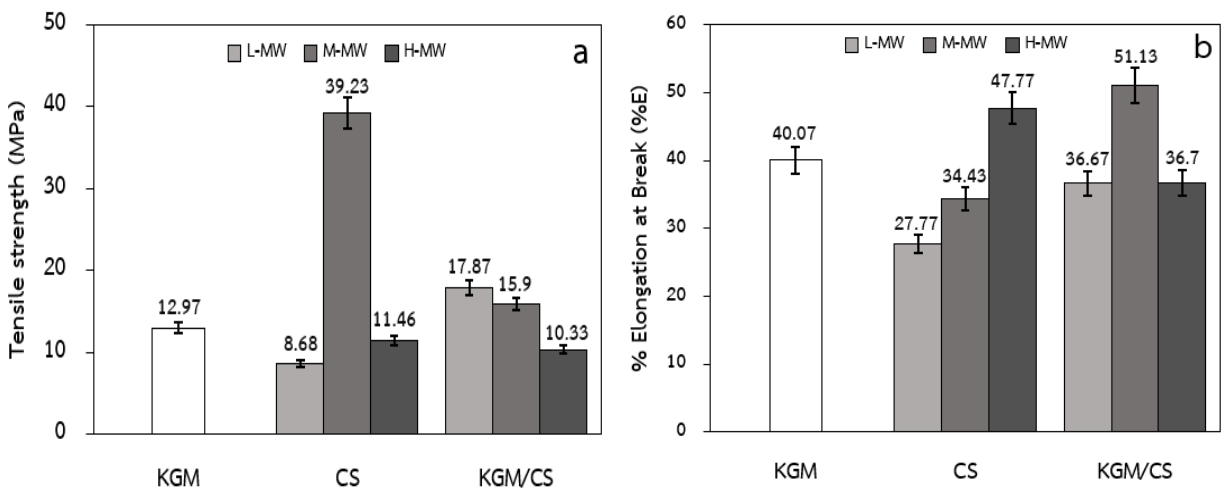
ภาพที่ 2 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มเคลือบผิวบริโภาคได้ (A) KGM; (B) CS; (C) KGM/CS(L-Mw); (D) KGM/CS(M-Mw); (E) KGM/CS(H-Mw)

3. การทดสอบสมบัติเชิงกลและความหนาของฟิล์มเคลือบผิวบริโภาคได้

จากการศึกษาความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงและร้อยละการยืดตัว ณ จุดขาดของฟิล์ม KGM, CS(L-Mw), CS(M-Mw), CS(H-Mw), KGM/CS(L-Mw), KGM/CS(M-Mw) และ KGM/CS(H-Mw) แสดงดังภาพที่ 3a และ 3b พบว่า ฟิล์ม CS(M-Mw) มีค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงมากที่สุดเมื่อเทียบกับฟิล์มอื่น ๆ เนื่องจากโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลปานกลางมีโครงสร้างภายในที่ไม่มีรอยแตก มีความเป็นเนื้อเดียวกันสูง พื้นผิวเรียบและความสม่ำเสมอ ไม่มีฟองอากาศหรือรูพรุนเกิดขึ้น ในขณะที่ฟิล์ม KGM/CS(L-Mw), KGM/CS(M-Mw) และ KGM/CS(H-Mw) มีค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงลดต่ำลงตามลำดับ จากผล



การทดลอง ฟิล์มไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลต่ำมีค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงต่ำที่สุด แต่เมื่อมีการผสมคอนยัคกลูโคแมนแนน ในอัตราส่วนระหว่างคอนยัคกลูโคแมนแนนต่อไคโตซานเท่ากับ 80 : 20 ทำให้ฟิล์มผสมคอนยัคกลูโคแมนแนนและไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลต่ำมีค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึง (TS) มากกว่าฟิล์มอื่น ๆ เนื่องจากการมีปริมาณของคอนยัคกลูโคแมนแนนเพิ่มขึ้นจะทำให้ฟิล์มผสมมีค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงดีขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับการมีอยู่ของพันธะไฮโดรเจนจะทำให้โครงสร้างของฟิล์มมีความเสถียร (Yan, et al., 2020) และที่น้ำหนักโมเลกุลสูงจะทำให้มีค่าของความแข็งแรงที่ต่ำจะมีความเป็นระเบียบต่ำ ซึ่งอาจจะเกี่ยวกับการทำลายโครงสร้างเดิมของไคโตซาน (Alekseeva, et al., 2009) เมื่อค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่าร้อยละการยืดตัว ณ จุดขาด (%E) ลดลง ซึ่งทั้งสองค่านี้เป็นค่าที่สอดคล้องกัน กล่าวคือ ค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงสูงแสดงว่ามีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ความสามารถในการยืดตัวลดต่ำลง เนื่องมาจากการก่อตัวของโครงสร้างที่มีความแน่นมากขึ้น (Bof, et al., 2015) จากการศึกษาผลของการเติมกลีเซอรอล พบว่า กลีเซอรอลที่เติมเข้าไปเพื่อทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์จะทำให้แรงระหว่างโมเลกุลของสายโซ่ของพอลิเมอร์ที่อยู่ใกล้กันอ่อนตัวลง มีปริมาตรอิสระเพิ่มขึ้นและทำให้ความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงลดลงด้วย (Bourtoom, 2008)



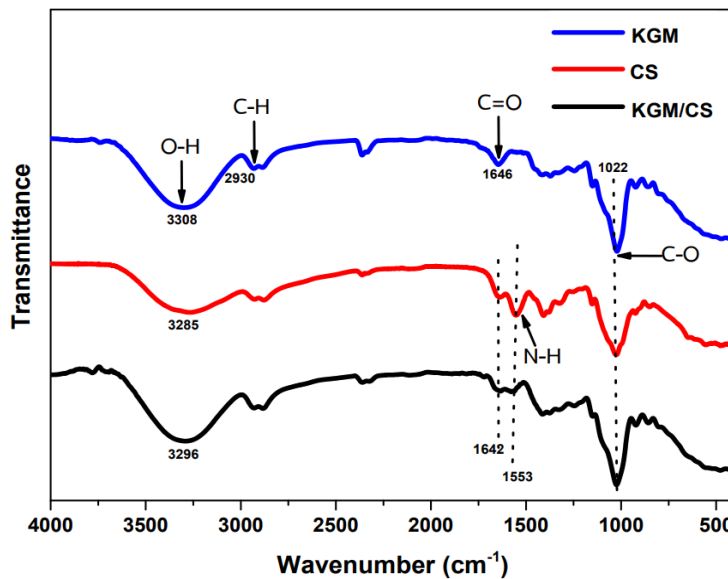
ภาพที่ 3 สมบัติเชิงกลของฟิล์ม KGM, CS และ KGM/CS (a) แสดงค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึง และ (b) แสดงร้อยละการยืดตัว ณ จุดขาดของฟิล์ม

#### 4. การวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีและโครงสร้างผลึกของฟิล์มเคลือบผิวบริโภาคได้

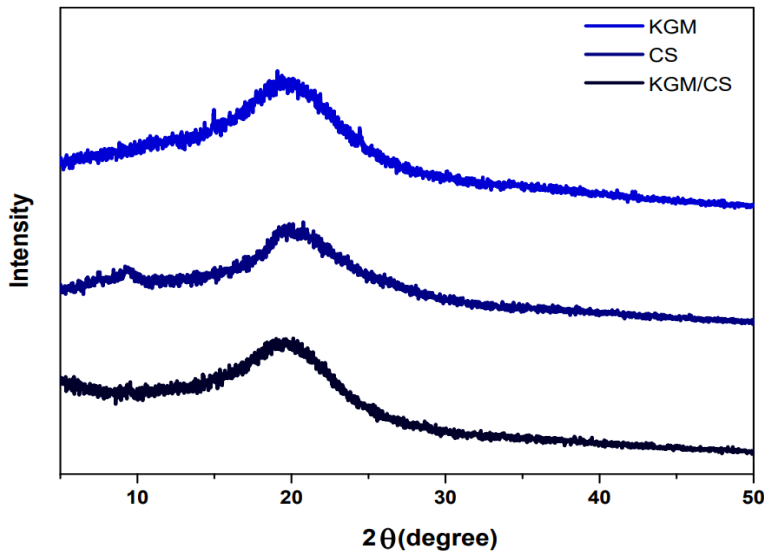
วิเคราะห์เอกลักษณ์ของฟิล์มด้วยเทคนิค FTIR แสดงดังภาพที่ 4 พบว่าฟิล์มคอนยัคกลูโคแมนแนน แสดงการสั่นแบบยืดของหมู่ O-H, C-H, C=O และ C-O ปรากฏพีคที่เลขคลื่นประมาณ  $3308\text{ cm}^{-1}$ ,  $2930\text{ cm}^{-1}$ ,  $1646\text{ cm}^{-1}$  และ  $1022\text{ cm}^{-1}$  ในขณะที่ฟิล์มไคโตซานแสดงการสั่นแบบยืดของหมู่ O-H, C-H, C=O



และ C-O ปรากฏพีคที่เลขคลื่นประมาณ  $3273\text{ cm}^{-1}$ ,  $2930\text{ cm}^{-1}$ ,  $1642\text{ cm}^{-1}$  และ  $1022\text{ cm}^{-1}$  และพีคที่เลขคลื่นประมาณ  $1553\text{ cm}^{-1}$  แสดงการสั่นแบบงอของหมู่  $\text{-NH}_2$  (amide) สำหรับฟิล์ม KGM/CS จะพบว่ามีการสั่นแบบงอของหมู่  $\text{-NH}_2$  ซึ่งเป็นการยืนยันถึงการมีอยู่ของไคโตซานที่ทำการผสมระหว่างคอนยัคกลูโคแมนและไคโตซานแถบของการดูดกลืนจะเกิดการเลื่อนตำแหน่งไปที่เลขคลื่นที่ต่ำลงเมื่อมีปริมาณของคอนยัคกลูโคแมนเพิ่มขึ้นซึ่งแสดงถึงการเพิ่มขึ้นของการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างไคโตซานและคอนยัคกลูโคแมน และจากการวิเคราะห์ที่โครงสร้างผลึกของฟิล์มเคลือบผิวบรีโภาคได้ด้วยเครื่อง XRD แสดงดังภาพที่ 5 พบว่าฟิล์มคอนยัคกลูโคแมนปรากฏพีคกว้าง (broad peak) ที่ตำแหน่งมุม  $2\theta$  ประมาณ  $20^\circ$  และแสดงโครงสร้างที่ไม่เป็นระเบียบหรือมีความไม่เป็นผลึก (amorphous) (Wu, et al., 2019) ในขณะที่ฟิล์มไคโตซานปรากฏพีคที่ตำแหน่ง  $2\theta$  ประมาณ  $9.5^\circ$  และ  $20^\circ$  ตาม JCPDS Card No. 39-1894 (Sari, et al., 2019) ไคโตซานมีโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นกึ่งผลึก (semicrystalline) ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่เป็นผลึกและไม่เป็นผลึก ในฟิล์มไคโตซานมีแรงภายในโมเลกุลระหว่าง  $\text{NH}_3^+$  และหมู่ไฮดรอกซิลที่มีอยู่ในไคโตซานถูกจำกัดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลของสายโซ่ไคโตซานและทำให้ความเป็นผลึกของไคโตซานลดลง (Mathew, et al., 2006)



ภาพที่ 4 สเปกตรัม FTIR ของฟิล์มเคลือบผิวบรีโภาคได้ของ KGM, ฟิล์ม CS และฟิล์ม KGM/CS



ภาพที่ 5 สเปกตรัม XRD ของฟิล์มเคลือบผิวบรีโภาคใต้ของ KGM, ฟิล์ม CS และฟิล์ม KGM/CS

5. วิเคราะห์หาปริมาณของอะฟลาทอกซินที่เกิดขึ้นในถั่วลิสงหลังจากการทำการเคลือบด้วยสารขึ้นรูปฟิล์มเคลือบผิวบรีโภาคได้จากคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซาน

ในขั้นตอนการเตรียมการเคลือบเมล็ดถั่วลิสงจะเตรียมตัวอย่างทั้งหมดดังตารางที่ 1 โดยสารละลายขึ้นรูปฟิล์มจะใช้โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 3 ช่วง ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลต่ำ ปานกลาง และสูง พบว่าถั่วลิสงที่ทำการเคลือบด้วยสารละลาย CS(L-Mw), CS(M-Mw) และ KGM/CS(L-Mw) ไม่สามารถตรวจพบได้ แสดงว่าไม่มีอะฟลาทอกซินเกิดขึ้นที่เมล็ดถั่วลิสง ในขณะที่เมล็ดถั่วลิสงที่ไม่ได้เคลือบมีปริมาณของอะฟลาทอกซินเกิดขึ้น 1.42  $\mu\text{g/Kg}$  และถั่วลิสงที่ทำการเคลือบด้วยสารละลาย CS(H-Mw), KGM/CS(M-Mw) และ KGM/CS(H-Mw) มีปริมาณของอะฟลาทอกซินเท่ากับ 27.19  $\mu\text{g/Kg}$ , 57.88  $\mu\text{g/Kg}$  และ 11.63  $\mu\text{g/Kg}$  ตามลำดับ ที่ระยะการเก็บรักษา 14 วัน ถั่วลิสงที่เคลือบด้วยสารละลาย CS(H-Mw), KGM/CS(M-Mw) มีค่าเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2551) ตามมาตรฐานเลขที่ มกษ. 4702(G) – 2560 ได้กำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมดในเมล็ดถั่วลิสงต้องไม่เกิน 20  $\mu\text{g/Kg}$  และจากการศึกษาอิทธิพลของน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน พบว่า โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสามารถลดหรือป้องกันอะฟลาทอกซินได้ดีกว่าโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง โดยกลไกการยับยั้งเชื้อของโคโตซานเกิดจากการที่โคโตซานมีหมู่  $\text{NH}_3^+$  เกิดแรงทางไฟฟ้า (electrostatic) กับเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีประจุลบ ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีน รวมไปถึงองค์ประกอบภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้การซึมผ่านของสารมีการเปลี่ยนแปลง เกิดการยับยั้งการจำลองของ DNA จึงทำให้เซลล์ตายในที่สุด (บุญภาพ และคนอื่นๆ, 2560) ซึ่งโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะสามารถทะลุไปยังผนังเซลล์เนื่องจากมีขนาดเล็กจึงสามารถข้ามผ่านไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ได้ ควบคุมการจำลอง DNA จึงทำให้เซลล์ตาย ในขณะที่โคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะไม่สามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อราที่เกิดขึ้นได้ แต่จะสร้างชั้นชั้นที่ผิวของเชื้อรา (Li, et al., 2010) จึงทำให้ไม่สามารถวัดการกระจายตัวของสารอะฟลาทอกซินได้

โดยทั่วไปแล้วฟิล์มหรือสารเคลือบควรจะมีการผ่านของออกซิเจนและไอน้ำที่ต่ำ เพื่อไม่ให้อาหารสัมผัสกับสภาพแวดล้อมภายนอก (Bourbon, et al., 2011) จึงจะสามารถชะลอการเกิดเชื้อราได้และประสิทธิภาพของโคโตซานที่สามารถทำลายพื้นผิวของผนังเซลล์ที่จะไปรบกวนเอนไซม์ที่ทำให้เชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตได้

**ตารางที่ 1** ผลการทดสอบหาปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงก่อนและหลังเคลือบด้วยสารละลายขึ้นรูปฟิล์มที่สามารถบริโภคได้

| ตัวอย่าง     | ปริมาณของอะฟลาทอกซิน ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ) | Limit of detection (LOD): $\mu\text{g}/\text{Kg}$ |
|--------------|--|---|
| ไม่ได้เคลือบ | 1.42   | 1.00  |
| CS(L-Mw)     | Not detected                                     | 1.00  |
| CS(M-Mw)     | Not detected                                     | 1.00  |
| CS(H-Mw)     | 27.19  | 1.00  |
| KGM/CS(L-Mw) | Not detected                                     | 1.00  |
| KGM/CS(M-Mw) | 57.88  | 1.00  |
| KGM/CS(H-Mw) | 11.63  | 1.00  |

**อภิปรายผล**

จากผลการทดลอง ในการเตรียมฟิล์มเคลือบผิวบริโภคได้จากคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 3 ช่วง ได้แก่ 80-125 kDa, 125-500 kDa และ 500-900 kDa และนำมาประยุกต์ใช้กับเมล็ดถั่วลิสงเพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อราที่ผลิตสารพิษอะฟลาทอกซิน พบว่า ฟิล์ม CS(M-Mw) มีค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงสูงสุดและฟิล์ม CS(L-Mw) มีค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงต่ำที่สุด แต่เมื่อมีการผสมคอนยัคกลูโคแมนแนน ในอัตราส่วนระหว่างคอนยัคกลูโคแมนแนนต่อโคโตซานเท่ากับ 80 : 20 ทำให้ฟิล์มผสมคอนยัคกลูโคแมนแนนและโคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลต่ำมีค่าความสามารถในการต้านทานต่อแรงดึงมากขึ้น ซึ่งพบว่าน้ำหนักโมเลกุลและอัตราส่วนของคอนยัคกลูโคแมนแนนต่อโคโตซานมีผลต่อสมบัติเชิงกล สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางเคมีและสมบัติในด้านอื่นๆ นอกจากนี้ฟิล์ม CS(L-Mw), CS(M-Mw) และ KGM/CS(L-Mw) สามารถลดหรือชะลอการเกิดอะฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงได้ ดังนั้นฟิล์ม KGM/CS(L-Mw) แสดงให้เห็นถึงความเหมาะสมที่ดีกว่าฟิล์มอื่นๆ คอนยัคกลูโคแมนแนนหรือบุกและโคโตซานจึงสามารถนำไปใช้ทำเป็นฟิล์มหรือสารเคลือบที่สามารถบริโภคได้และนำไปประยุกต์ใช้ในการปกป้องอาหารเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้

**กิตติกรรมประกาศ**

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนบัณฑิตเรียนดีเพื่อศึกษาต่อระดับบัณฑิตศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปีงบประมาณ ๒๕๖๔ ผู้รับทุนขอขอบคุณทุนบัณฑิตเรียนดีเพื่อศึกษาต่อระดับบัณฑิตศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (ตามสัญญาเลขที่ ทบ 28/2563) และได้รับทุนอุดหนุนการทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2565 (ตามสัญญาเลขที่ NRCT-TUGG 5/2565)

เอกสารอ้างอิง

- บุญภาพ ไชยศรีขวัญ, ณัฐธิดา รักกะเปา, อติพล พัดมิยะ, จรัสลักษณ์ เพชรวัง และอุไรวรรณ วีระพันธ์. (2560).  
ฤทธิ์และกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของโคโตซานตลอดจนอนุพันธ์และคอมพอสิตของโคโตซาน. *วารสาร  
วิทยาศาสตร์ มศว*, 33(1), 297-315
- ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ. 2551. (2560, 27 มิถุนายน).  
ราชกิจจานุเบกษา. เล่มที่ 134.
- รังสิณี ไสรวรวิทย์. (2560). *ฟิล์มและสารเคลือบพอลิเมอร์ชีวภาพสำหรับระบบอาหาร*. (พิมพ์ครั้งที่ 2).  
กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Alekseeva, M., Fedoseeva, E., Frolov, V., Nistratov, V. & Smirnova, L. (2009). **The strength of  
chitosan films. the role of molecular weight, the degree of order, the nature of  
contre-ion.** (pp. 65-74).
- Bof, M.J., Bordagaray, V.C., Locaso, D.E. & García, M.A. (2015). Chitosan molecular weight effect  
on starch-composite film properties. *Food Hydrocolloids*, 51, 281-294.
- Bourbon, A.I., et al. (2011). Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films  
incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *Journal of Food  
Engineering*, 106(2), 111-118.
- Bourtoom, T. (2008). Plasticizer effect on the properties of biodegradable blend film from rice  
starch-chitosan. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30, 149-165.
- Dewi, R. & Nur, R. M. (2018). Antifungal Activity of Chitosan on *Aspergillus* spp. *International  
Journal of Bioengineering & Biotechnology*, 2, 24-30.
- Dhanamjayulu, P., Boga, R.B. & Mehta, A. (2019). Inhibition of aflatoxin B1 biosynthesis and  
down regulation of aflR and aflB genes in presence of benzimidazole derivatives  
without impairing the growth of *Aspergillus flavus*. *Toxicon*, 170, 60-67.
- Dong, C., et al. (2020). Effects of edible chitosan coating on Harbin red sausage storage stability  
at room temperature. *Meat Sci*, 159, 107919.
- Li, X.-f., et al. (2010). Chitosan kills *Escherichia coli* through damage to be of cell membrane  
mechanism. *Carbohydrate Polymers*, 79(3), 493-499.
- Mathew, S., Brahmakumar, M., & Abraham, T. E. (2006). Microstructural imaging and  
characterization of the mechanical, chemical, thermal, and swelling properties of  
starch-chitosan blend films. *Biopolymers*, 82(2), 176-187.

- Sari, K., Abraha, K., Roto, R., Mashadi, & Suharyadi, E. (2019). Effect of milling time on microstructures of nano-sized chitosan. *Journal of Physics: Conference Series*, **1170**(1), 012058.
- Sun, J., Jiang, H., Wu, H., Tong, C., Pang, J. & Wu, C. (2020). Multifunctional bionanocomposite films based on konjac glucomannan/chitosan with nano-ZnO and mulberry anthocyanin extract for active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 107.
- Trinetta, V. (2016). **Edible Packaging**. In Reference Module in Food Science.
- Wu, C., et al. (2019). Preparation and characterization of konjac glucomannan-based bionanocomposite film for active food packaging. *Food Hydrocolloids*, **89**, 682-690.
- Yan, L., et al. (2021). Effect of non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus flavus* on aflatoxin contamination of pre-harvest peanuts in fields in China. *Oil Crop Science*, **6**(2), 81-86.
- Yan, Y., et al. (2020). Preparation and characterization of Konjac glucomannan and pullulan composite films for strawberry preservation. *Carbohydrate Polymers*, **243**.
- Ye, X., Kennedy, J.F., Li, B. & Xie, B.J. (2006). Condensed state structure and biocompatibility of the konjac glucomannan/chitosan blend films. *Carbohydrate Polymers*, **64**(4), 532-538.