



รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การพัฒนาฟิล์มผสมสารสกัดจากเปลือกสับปะรดต้านจุลินทรีย์

Development of antimicrobial pineapple peel extract-impregnated-film

นางสาวนิรมล ปัญญาบุศยกุล

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562

มหาวิทยาลัยบูรพา

## รายงานฉบับสมบูรณ์

### โครงการ

การพัฒนาฟิล์มผสมสารสกัดจากเปลือกสับปะรดต้านจุลินทรีย์  
Development of antimicrobial pineapple peel extract-impregnated-film

นางสาวนิรมล ปัญญาบุศยกุล

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา เลขที่สัญญา SC08/๒๕๖๒ ผู้วิจัยขอขอบคุณ โรงงานอาหารสยาม จำกัด (มหาชน) จังหวัดชลบุรี ที่อำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

ทั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สำหรับความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ ที่อำนวยความสะดวกในการทำการทดลองจนสามารถทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นิรมล ปัญญาบุศยกุล

มิถุนายน ๒๕๖๔

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการพัฒนาฟิล์มไคโตซานผสมสารสกัดเปลือกสับปะรดที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ โดยอบเปลือกสับปะรด (70 องศาเซลเซียส) บดละเอียด และร่อน (100 เมช) และนำผงเปลือกสับปะรดผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 เขย่าที่ 120 รอบต่อนาที 4 ชั่วโมง กรอง และระเหยด้วยเครื่องระเหยแบบแบบลดความดันได้สารสกัดหยาบ (PPE) จากนั้นจึงนำไปผสมลงในสารละลายฟิล์มได้เป็นฟิล์มไคโตซานที่มีปริมาณสารสกัด PPE 0 0.5 1 1.5 2.0 และ 5.0 % (w/v) และนำไปศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่ (Agar disc diffusion) และวิธี JIS Z 2801 จากการทดลองไม่พบพื้นที่ยับยั้งเมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่ แต่พบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้น PPE ในฟิล์มเพิ่มขึ้น โดยสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้ถึง 1-2 log อย่างไรก็ตามฟิล์มที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรด 5.0 % มีลักษณะที่เหนียวหนืดไม่คงตัว จึงไม่สามารถนำไปวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มด้านอื่น ๆ ต่อได้ จึงเลือกฟิล์มที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรด 0-2.0 % (w/v) ไปศึกษาสมบัติของฟิล์มด้านต่าง ๆ ต่อไป โดยพบว่าความหนาของฟิล์มที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ กัน แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดยมีความหนาอยู่ระหว่าง 0.0716-0.0800 มิลลิเมตร ค่าการต้านแรงดึง (0.058-0.115 MPa) การยืดตัว ณ จุดขาด (105-115 %) ค่าการละลายน้ำ (38.99-45.08 %) และค่าการซึมผ่านของไอน้ำ (0.021-0.027 g.m/m<sup>2</sup>.day.atm) ของฟิล์มมีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณของสารสกัดจากเปลือกสับปะรดมีค่าเพิ่มขึ้น และมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อสารสกัดเปลือกสับปะรดเป็น 2.0 กรัมต่อมิลลิลิตร และจากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรดพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH scavenging activity) และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของสารสกัดเปลือกสับปะรดเพิ่มขึ้น (8.80-13.47 % และ 21.01-232.55 กรัมสมมูล FE/กรัมตัวอย่าง (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ)

**คำสำคัญ:** ฟิล์มไคโตซาน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สมบัติการรีดิวซ์เฟอริก

## ABSTRACT

In this study, the Development of antimicrobial pineapple peel-impregnated- film. Pineapple peel (PP) was dried (70 °C), ground and sifted (100 mesh), were mixed with distilled water (DW) at the PP-to-DW ratio of 1:10 and shaken at 120 rpm for 4 hrs. Then, the mixture was filtered and the filtrate was subjected for rotary evaporator under reduced pressure to get a PP crude extract (PPE). Chitosan (CH) film incorporated with various concentrations of PPE (0 0.5 1.0 1.5 2.0 5.0 % w/v) were evaluated. The antimicrobial activity of the films was evaluated by disc diffusion method and JIS Z 2801 method. Results indicated that the antimicrobial activities of the PPE-CH films increased with the increasing PPE concentration. However, PPE-CH films containing 5.0% has poor properties. PPE-CH films containing 2.0% was chosen to continue their research. The thickness of PPE-CH films showed no significant difference with the increasing PPE in the film. With the increasing PPE concentration in the CH matrix, tensile strength (TS) (0.99-0.115 MPa), elongation at break (EAB)(105-115 %), water vapor permeability (WVP) (0.021-0.027 g.m/m<sup>2</sup>.day.atm) and solubility (38.99-45.08 %) of the PPE-CH film significantly decreased ( $p \leq 0.05$ ). It was also observed that the DPPH scavenging activity and reducing ferric capacity of the film increased with increasing PPE concentration (8.80-13.47 % and 21.01-232.55 g FE / g sample, respectively).

**Keywords:** Chitosan film; antioxidant activity; ferric reduction activity

## สารบัญ

|  | หน้า |
|--|------|
| กิตติกรรมประกาศ .....  | ก    |
| บทคัดย่อ.....  | ข    |
| ABSTRACT.....  | ค    |
| สารบัญ .....   | ง    |
| สารบัญตาราง .....  | ฉ    |
| สารบัญภาพ .....  | ช    |
| 1. บทนำ (Introduction).....  | 8    |
| 1.1 ความสำคัญและความเป็นมาของโครงการฯ.....                                 | 8    |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย .....  | 9    |
| 1.3 ขอบเขตของการวิจัย .....  | 9    |
| 1.4 การสำรวจเอกสารที่เกี่ยวข้อง.....                                       | 9    |
| 2. วิธีการดำเนินการวิจัย (Material & Method).....                          | 16   |
| 2.1 วัสดุดิบ อุปกรณ์ และสารเคมี.....                                       | 16   |
| 2.2 ศึกษาปริมาณของเปลือกสับปะรดที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาฟิล์ม.....          | 17   |
| 2.3 ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของฟิล์มผสมเปลือกสับปะรด .....           | 18   |
| 2.4 ศึกษาสมบัติของฟิล์มผสมเปลือกสับปะรดต้านจุลินทรีย์.....                 | 19   |
| 3. ผลการทดลองและวิจารณ์ (Results & Discussion).....                        | 21   |
| 3.1 ผลของการศึกษาปริมาณของเปลือกสับปะรดที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาฟิล์ม ..... | 21   |
| 3.2 ผลของการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของฟิล์มผสมเปลือกสับปะรด .....   | 22   |
| 3.3 ผลของการศึกษาสมบัติของฟิล์มผสมเปลือกสับปะรดต้านจุลินทรีย์.....         | 25   |

## สารบัญ (ต่อ)

|  |    |
|--|----|
| 4. สรุปผลการทดลอง (Conclusion).....                      | 30 |
| เอกสารอ้างอิง.....                                       | 31 |
| ภาคผนวก.....   | 36 |
| ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์.....           | 37 |
| ภาคผนวก ข การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพและทางเคมี..... | 40 |
| ภาคผนวก ค ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์.....         | 43 |
| ภาคผนวก ง ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....              | 45 |
| ประวัตินักวิจัยและคณะ.....                               | 49 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่  | หน้า |
|---|------|
| ตารางที่ 3-1 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ กัน เมื่อทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion..... | 23   |
| ตารางที่ 3-2 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดต่าง ๆ กันเมื่อทดสอบด้วยวิธี JIS Z 2801 (2000) .....           | 24   |
| ตารางที่ 3-3 ความหนาของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดปริมาณต่าง ๆ กัน.....  | 25   |
| ตารางที่ 3- 4 สมบัติทางกลของฟิล์มไคโตซานที่สารสกัดเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ กัน .....   | 26   |
| ตารางที่ 3-5 สมบัติทางเคมีกายภาพของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน  | 27   |
| ตารางที่ 3-6 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ กัน .....                                    | 29   |



สารบัญภาพ

| ภาพที่   | หน้า |
|--|------|
| ภาพที่ 3-1 A) เปลือกสับปะรด B) เปลือกสับปะรดที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส C) ผงเปลือกสับปะรด และ D) สารสกัดหยาบจากเปลือกสับปะรด .....  | 21   |
| ภาพที่ 3-2 फिल्मโคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ กัน A) 0 % B) 0.5 % C) 1.0 % D) 1.5% E) 2.0% และ F) 5.0%.....  | 21   |
| ภาพที่ 3-3 บริเวณโซนยับยั้งการเจริญของ A) <i>Staphylococcus aureus</i> TISTR2329 และ B) <i>Escherichia coli</i> TISTR527 ของ फिल्मโคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ กัน..... | 22   |
| ภาพที่ 3-4 FT-IR spectra ของ फिल्मโคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ กัน.....  | 28   |

## 1. บทนำ (Introduction)

### 1.1 ความสำคัญและความเป็นมาของโครงการฯ

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ เชื้อรา ลงในอาหารเป็นสาเหตุหลัก ๆ ที่ทำให้เกิดการเรียกกลับ (recall) หรือปฏิเสธการนำเข้า ทำให้เกิดสูญเสียทางเศรษฐกิจของประเทศเอง นอกจากนี้การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ดังกล่าวยังอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ขององค์ประกอบของอาหารส่งผลให้คุณภาพอาหารเปลี่ยนไปจนไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค หรือจุลินทรีย์ดังกล่าวอาจเพิ่มจำนวน สร้างสารพิษจนถึงระดับที่ ทำให้เกิดการเจ็บป่วย (foodborne diseases) ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) หรือทำให้เสียชีวิตได้ การป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนลง ในอาหาร หรือการใส่สารต้านจุลินทรีย์ลงในอาหาร เป็นวิธีหนึ่งที่สามารถลดการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ ป้องกันการเกิดโรค และป้องกันอันตรายที่เกิดจากสารพิษที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นในอาหารได้วิธีหนึ่ง รวมทั้งยังสามารถลดปัญหาการเรียกกลับ และการปฏิเสธการนำเข้าผลิตภัณฑ์ และลดการสูญเสียทางเศรษฐกิจของประเทศได้ อย่างไรก็ตาม การใช้สารต้านจุลินทรีย์ใส่ลงในอาหารโดยตรงอาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพของอาหาร และอาจทำให้ประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ของสารดังกล่าวลดลงได้ เนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างสารต้านจุลินทรีย์ดังกล่าวกับองค์ประกอบในอาหาร (สมศักดิ์ ภัคตวิราภรณ์, 2544) ประกอบกับมีข้อจำกัดในด้านปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่อนุญาตให้ใส่ลงในอาหาร บรรจุภัณฑ์ต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial packaging) โดยเฉพาะอย่างยิ่งบรรจุภัณฑ์ต้านจุลินทรีย์ในรูปของฟิล์มที่รับประทานได้ (edible film) จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ลงในอาหาร หรือป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ในอาหาร เพื่อหลีกเลี่ยงการใส่สารต้านจุลินทรีย์ลงในอาหารโดยตรงได้

สับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr.) เป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญที่สร้างรายได้ให้ประเทศไทย ประมาณปีละ 23,000-25,000 ล้านบาท ประเทศไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกสับปะรดกระป๋องเป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยมีผลผลิตของเกษตรกรประมาณปีละ 1.80-2.00 ล้านตัน มีปริมาณสับปะรดแปรรูปประมาณปีละ ๘๐๕ พันตัน (กรมวิชาการเกษตร., 2560) โดยมีผลิตภัณฑ์สับปะรดส่งออกสำคัญ ได้แก่ สับปะรดกระป๋อง และน้ำสับปะรด ที่มีเปลือกสับปะรดเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้หลัก ๆ จากกระบวนการแปรรูปสับปะรดดังกล่าว คิดเป็นร้อยละ 41 ของผลสับปะรดทั้งผล (Asaolu, Rachael, & Oyeniyi, 2016) ทำให้มีเปลือกสับปะรดจากการแปรรูป ประมาณ 330 พันตันต่อปี มีรายงานว่าเปลือกสับปะรดเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารประกอบพอลิฟีนอล โดยกรดแกลิก อีพิคาเทชิน (epicatechin) คาเทชิน (catechin) และกรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) เป็นสารประกอบพอลิฟีนอลหลักในเปลือกสับปะรด โดยกรดแกลิกที่เป็นสารประกอบพีนอลหลักในเปลือกสับปะรดที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (Banerjee et al., 2018) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดจากเปลือกสับปะรดดังกล่าวมี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียก่อโรคในอาหารหลายชนิด (Punbusayakul, 2018) รวมทั้งยังสามารถยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์ และการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus* sp ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของขนมปังได้อีกด้วย (เพ็ญทิศา สุขทรัพย์ และอิชยา ยอดยิ่ง, 2560)

ปัจจุบันจะเห็นได้ว่า ยังไม่มีงานวิจัยศึกษาฟิล์มผสมเปลือกสับปะรดต้านจุลินทรีย์ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มผสมเปลือกสับปะรดต้านจุลินทรีย์ เพื่อเป็น

แนวทางในการประยุกต์ใช้ฟิล์มดังกล่าวในการลดการเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังเป็นแนวทางการใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมการแปรรูปสับปะรดได้อีกด้วย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนาฟิล์มผสมเปลือกสับปะรดต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาปริมาณของสารสกัดเปลือกสับปะรดที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาฟิล์ม

ในการทดลองนี้จะแปรปริมาณสารสกัดเปลือกสับปะรดที่เติมลงในฟิล์มไคโตซานให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็นร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 5.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อสังเกตความสามารถในการขึ้นรูปฟิล์มไคโตซานผสมสารสกัดเปลือกสับปะรด โดยเลือกปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกสับปะรด ประมาณ 2-3 ความเข้มข้น ที่สามารถขึ้นรูปฟิล์มได้ เพื่อใช้ในการทดลองถัดไป

2. ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของฟิล์มผสมสารสกัดเปลือกสับปะรด

ในการทดลองนี้ เตรียมฟิล์มผสมสารสกัดเปลือกสับปะรด โดยใช้ความเข้มข้นของเปลือกสับปะรดที่สามารถขึ้นรูปฟิล์มได้จากการทดลองที่ 1 มาศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรค 2 วิธี คือ 1) วิธีการแพร่ (agar disc diffusion) และ 2) วิธี JIS Z 2801, 2000 โดยเลือกความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกสับปะรดที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีที่สุด เพื่อนำมาใช้ในการทดลองถัดไป

3. ศึกษาสมบัติของฟิล์มผสมเปลือกสับปะรดต้านจุลินทรีย์

ในการทดลองนี้ เตรียมฟิล์มผสมสารสกัดเปลือกสับปะรด โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดสับปะรดที่มีฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์แกรมบวก และจุลินทรีย์แกรมลบที่ดีที่สุด มาศึกษาสมบัติทางกายภาพ และเคมี ได้แก่ ความหนา ความต้านทานแรงดึง และค่าการยืดตัวเมื่อขาด ด้วยเครื่อง Texture analyzer ความสามารถในการละลายน้ำ ทดสอบอัตราการซึมผ่านน้ำ วิเคราะห์องค์ประกอบของฟิล์มด้วยเครื่องวัดสเปกตรัม (Fourier Transform InfraRed Spectrometer; FTIR) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH assay และ FRAP assay

## 1.4 การสำรวจเอกสารที่เกี่ยวข้อง

### 1.4.1 สับปะรด

สับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr.) เป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญที่สร้างรายได้ให้ประเทศประมาณปีละ ๒๓๐๐๐-๒๕๐๐๐ ล้านบาท มีผลผลิตของเกษตรกรประมาณปีละ ๑.๘๐-๒.๐๐ ล้านตัน โดยมีผลิตภัณฑ์ส่งออกสำคัญ ได้แก่ สับปะรดกระป๋อง และน้ำสับปะรด และประเทศไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกสับปะรดกระป๋องเป็นอันดับหนึ่งของโลก มีปริมาณสับปะรดแปรรูปประมาณปีละ ๘๐๕ พันตัน (กรมวิชาการเกษตร., 2560) ในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์และจังหวัดเพชรบุรีมีพื้นที่ปลูกประมาณ ๖๐ % ของพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ สามารถผลิตสับปะรดได้ผลผลิตเกินความต้องการสำหรับบริโภค จึงต้องส่งไปจำหน่ายที่ต่าง ๆ ต่อมาเมื่อ พ.ศ. ๒๕๑๐ ได้มีการจัดตั้งโรงงานสับปะรดกระป๋องเป็นครั้งแรกที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เกษตรกรสนใจและขยายพื้นที่ปลูก

สับปะรดออกไปอย่างต่อเนื่องมาโดยตลอด ทำให้เกิดอุตสาหกรรมการผลิตสับปะรดกระป๋องขึ้นในพื้นที่แถบนี้มาก โดยเฉพาะในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์มีถึง ๓ โรงงาน ในจังหวัดเพชรบุรีมี ๒ โรงงาน

ประเทศไทยเริ่มนำสับปะรดเข้ามาปลูกครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. ๒๑๙๓ และต่อมาเมื่อปี พ.ศ. ๒๔๕๕ ได้มีผู้นำสับปะรดพันธุ์ smooth cayenne มาปลูกครั้งแรก สับปะรดที่ปลูกกันทั่วโลกมีมากมายหลายชนิดแต่สามารถจำแนกเป็นกลุ่มพันธุ์ตามเกณฑ์การพิจารณาจากลักษณะทางด้านรูปร่าง รูปทรง คุณภาพ และรสชาติ ซึ่งเป็นรูปพรรณสัณฐานภายนอกที่สังเกตได้เป็นเกณฑ์มาตรฐานได้เป็น ๕ กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Smooth cayenne กลุ่ม Queen กลุ่ม Spanish กลุ่ม Maipure หรือ Perolera และกลุ่ม Abacaxi หรือ Pernambuco (จินดา สนิทวงศ์ ณ อยุธยา, 2547) โดยหากอาศัยพื้นฐานด้านรูปพรรณสัณฐานเป็นเกณฑ์สามารถจำแนกสับปะรดที่ปลูกในประเทศไทยได้ประมาณ ๑๐ พันธุ์ และแบ่งเป็นกลุ่มได้ ๓ กลุ่มพันธุ์คือ (๑) กลุ่ม Smooth cayenne ได้แก่ พันธุ์ปัตตาเวีย นางแล และลักกะตา (๒) กลุ่ม Queen สับปะรดในกลุ่มนี้มีรสชาติดีมีกลิ่นหอมเนื้อกรอบมีสีทองปนส้มสม่ำเสมอได้แก่ พันธุ์สวี ภูเก็ต ทรายทอง สิงคโปร์ปัตตาเวีย และปัตตานี และ (๓) กลุ่ม Spanish สับปะรดในกลุ่มนี้มีรสเปรี้ยว ได้แก่ พันธุ์อินทรีแดง และอินทรีขีดขาว

สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียหรือที่นิยมเรียกในนามสับปะรดศรีราชาเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันแพร่หลาย และนิยมในไปแปรรูปมากที่สุด เนื่องจากมีคุณลักษณะประจำพันธุ์เฉพาะเหมาะสมที่จะใช้ในด้านอุตสาหกรรมแปรรูปได้เป็นอย่างดี และยังใช้กินผลสดได้อีกด้วย แหล่งปลูกที่สำคัญแบ่งเป็น ๓ เขต คือ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และเพชรบุรีมีพื้นที่ปลูกประมาณร้อยละ ๕๗-๖๐ ของพื้นที่ปลูกทั้งหมด จังหวัดชลบุรี ระยอง และลำปาง ซึ่งเขตเหล่านี้จะปลูกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียเป็นหลัก กลุ่ม Spanish ซึ่งมีรสเปรี้ยว คือ พันธุ์อินทรีแดงและอินทรีขีดขาวปลูกที่อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา พันธุ์อื่น ๆ ใช้ประกอบอาหารและรับประทานผลสด คือ พันธุ์ภูเก็ต หรือสวีปลูกมากที่จังหวัดชุมพร พันธุ์นางแล และพันธุ์น้ำผึ้งปลูกที่ตำบลนางแล อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย (จินดา สนิทวงศ์ ณ อยุธยา, 2547)

#### 1.4.2 ปริมาณผลิตผลพลอยได้จากสับปะรด

สับปะรดที่นิยมปลูกเนื่องจากมีสัดส่วนของผลที่ใช้ประโยชน์ในเชิงเศรษฐกิจสูง และสามารถส่งโรงงานเพื่อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้แก่ สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย สัดส่วนของผลสับปะรดคิดเป็น น้ำหนักเนื้อ ๓๓ % แกน ๖ % เปลือก ๔๑ % และจุก ๒๐ % ของผลสับปะรดทั้งผล (Asaolu, Rachael, & Oyeniyi, 2016) ซึ่งจะเห็นว่าเปลือกสับปะรดเป็นผลิตผลพลอยได้หลัก ๆ จากกระบวนการแปรรูปสับปะรด ทำให้มีเปลือกสับปะรดจากการแปรรูปประมาณ ๓๓๐ พันตันต่อปี มีรายงานการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกสับปะรดแสดงดังตารางที่ ๑ โดยจะเห็นได้ว่าในเปลือกสับปะรดจะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุด คือ มากกว่าร้อยละ ๕๐ ในขณะที่มีปริมาณโปรตีนไขมัน และเส้นใยในปริมาณใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 1-1 Proximal composition of pineapple peel

| Composition    | g/100 g db   |
|----------------|--------------|
| Crude proteins | 5.11 ± 0.02  |
| Lipids         | 5.31 ± 0.74  |
| Ash            | 4.39 ± 0.14  |
| Crude fibres   | 14.80 ± 0.01 |
| Carbohydrates  | 55.52 ± 0.92 |

ที่มา: Romelle (2016)

### 1.4.3 การใช้ประโยชน์จากเปลือกสับประรด

ปัจจุบันมีการนำเปลือกสับประรดที่เหลือจากกระบวนการแปรรูปสับประรดมาใช้ประโยชน์มากขึ้น โดยอาจนำมาแปรรูปเป็นเปลือกสับประรดอัดเม็ดส่งไปขายต่างประเทศ บางโรงงานขายเปลือกสับประรดสดเพื่อนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์ได้ โดยมีรายงานการใช้ประโยชน์จากเปลือกสับประรดในด้านต่าง ๆ แต่ส่วนใหญ่โรงงานจะจำหน่ายให้กลุ่มเกษตรกรเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยเฉพาะในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น โคเนื้อ โคนม และแกะ ฯลฯ มีรายงานการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเปลือกสับประรดในการเป็นอาหารสัตว์ เปรียบเทียบกับการใช้หญ้าสดกับเปลือกสับประรดร่วมกับอาหารผสมเป็นอาหารโค โดยการใช้โคเนื้อพันธุ์ผสมเพศผู้ มีน้ำหนักเฉลี่ย ๑๖๑ กิโลกรัม ใช้เวลาทดลอง ๑๘๐ วัน พบว่าโคกลุ่มที่ได้กินหญ้าสดร่วมกับอาหารผสมอย่างละครึ่ง (อาหารผสมมีโปรตีน ๒๐ % ประกอบด้วยเปลือกสับประรด ฟางข้าว ข้าวโพดบด ยูเรีย และกากน้ำตาล) มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น ในขณะที่โคกลุ่มที่ได้กินหญ้าสดอย่างเดียว และได้กินอาหารผสมอย่างเดียวจะมีน้ำหนักลดลง ทั้งนี้เนื่องมาจากความสมดุลของพลังงานในอาหารมีความสัมพันธ์กับการทำงานของจุลินทรีย์ที่จะสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารที่โคกินเข้าไปได้มากหรือน้อย ฉะนั้นการใช้อาหารเลี้ยงโค มีได้ขึ้นอยู่กับปริมาณของโปรตีนในอาหารเพียงอย่างเดียว แต่ต้องคำนึงถึงพลังงานด้วย นอกจากนี้ยังมีรายงานใช้สำหรับผลิตแอลกอฮอล์โดยอาศัยกระบวนการหมักจากจุลินทรีย์

จะเห็นได้ว่าการใช้ประโยชน์จากเปลือกสับประรดในปัจจุบันยังมีไม่แพร่หลาย และมีคุณค่าทางเศรษฐกิจน้อย อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าเปลือกสับประรดเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ หลายชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก โดยมีปริมาณของสารดังกล่าวจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด (Saraswaty et al., 2017; Uma et al., 2012) และมีเอนไซม์ที่สำคัญคือ เอนไซม์โบรเมลิน และไคทีเนส เอ (Taira et al., 2005) ซึ่งสารดังกล่าวมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายด้าน เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ เป็นต้น (Omorotionmwan, Ogwu, & Ogwu, 2018)

ในด้านฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ มีการใช้น้ำในการสกัดสารสกัดจากเปลือกสับประรด มาเพื่อทดสอบการยับยั้งรา *Collectotricum capsici* และ *C. gloeosporioides* ในพริก ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและแปลงทดลอง พบว่าสารสกัดยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราทั้ง ๒ ชนิด มีแนวโน้มในการใช้ทดแทนสารเคมีเพื่อควบคุมหรือยับยั้งราอโรคนแตรกโนสในแปลงปลูกพริกของเกษตรกรได้ (ธารทิพย์ รัตนะ, 2559) นอกจากนี้มีรายการการศึกษาผลของอุณหภูมิในการอบแห้งและตัวทำ

ละลายในการสกัดต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด โดยการนำตัวอย่างเปลือกสับปะรด (pineapple peel; PP) ไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด (tray drier) ที่อุณหภูมิ ๗๐ ๘๐ และ ๙๐ องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำตัวอย่างผงเปลือกสับปะรดแช่ในตัวทำละลายต่างชนิดกัน (เอทานอล เมทานอล และน้ำ) นำสภาวะที่ทำให้สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด เพื่อไปศึกษาฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ก่อโรค ๔ ชนิด คือ แบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Salmonella typhimurium* ATCC 13311) และ แบคทีเรียแกรมบวก (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Bacillus cereus* ATCC 6633) ด้วยวิธี agar disc diffusion และ broth dilution ต่อไป จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้อยู่ในช่วง ๑๐ - ๒๒ เปอร์เซ็นต์ โดยอุณหภูมิอบแห้งที่ ๘๐ องศาเซลเซียส ที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด ให้ปริมาณของสารสกัดหยาบมากที่สุด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดที่ได้จากการใช้อุณหภูมิที่ ๗๐ องศาเซลเซียส ในการอบแห้งเปลือกสับปะรดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวสกัดมีปริมาณมากที่สุด ในขณะที่สารสกัดที่ได้จากการใช้อุณหภูมิ ๗๐ องศาเซลเซียส ในการอบแห้งเปลือกสับปะรดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวสกัด มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และวิธี FRAP สูงที่สุด เมื่อทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า สารสกัดจากเปลือกสับปะรดที่อบแห้งที่อุณหภูมิ ๗๐ องศาเซลเซียส โดยใช้เมทานอลเป็นตัวสกัด เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกไวต่อสารสกัดจากเปลือกสับปะรดมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ยกเว้น *B. cereus* ที่สามารถทนต่อสารสกัดมากที่สุด (Punbusayakul, 2018)

อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีงานวิจัยการพัฒนาสารสกัดหรือเปลือกสับปะรดไปพัฒนาเป็นฟิล์มเพื่อควบคุมการเสื่อมเสียของอาหารในด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเสื่อมเสียของอาหารเนื่องมาจากจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาเหตุหลัก ๆ ที่ทำให้เกิดการเสียหายทางเศรษฐกิจหลัก ๆ ของประเทศ

#### 1.4.4 บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (Active packaging)

การพัฒนาบรรจุภัณฑ์มีความสำคัญและมีบทบาทมากขึ้นในการพัฒนาสินค้าของประเทศให้สามารถแข่งขันได้ในระดับสากล ซึ่งรวมถึงการพัฒนาบรรจุภัณฑ์เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบันที่ต้องการความสะดวก นอกเหนือมาจากความสวยงามของบรรจุภัณฑ์ดังกล่าว นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาและวิจัยบรรจุภัณฑ์ที่สามารถป้องกันสินค้าไม่ให้เกิดความเสียหายตลอดอายุไซ้ของผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งบรรจุภัณฑ์สำหรับบรรจุผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องป้องกัน ยับยั้งหรือสามารถฆ่าจุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจปนเปื้อนในอาหารทั้งที่มีมาจากวัตถุดิบ หรือปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการแปรรูป ระหว่างกระบวนการเก็บรักษา หรือการขนส่งไปยังจุดจำหน่ายผลิตภัณฑ์ได้ นอกจากนี้บรรจุภัณฑ์อาจสามารถบ่งชี้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ภายในได้ เช่น ความสดใหม่ของผลิตภัณฑ์ ความสุกแก่ของผลไม้ เป็นต้น เรียกบรรจุภัณฑ์ที่มีสมบัตินอกเหนือจากหน้าที่ของบรรจุภัณฑ์ปกติดังกล่าว ว่า บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active packaging) ซึ่งปัจจุบันเริ่มมีแพร่หลายมากขึ้นเพื่อบ่งชี้คุณภาพ และความปลอดภัยของอาหารให้สอดคล้องกับความต้องการของผู้บริโภคในยุคปัจจุบัน

วัสดุสำหรับการผลิตบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ แบ่งเป็น ๒ ประเภท ได้แก่ วัสดุบรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟจากฟิล์มพอลิเมอร์สังเคราะห์ และ วัสดุบรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟจากฟิล์มพอลิเมอร์ทางชีวภาพ ดังมีรายละเอียดของวัสดุดังกล่าว ต่อไปนี้

##### 1.4.4.1 บรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟจากฟิล์มพอลิเมอร์สังเคราะห์

บรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟจากฟิล์มพอลิเมอร์สังเคราะห์นี้ จะขึ้นรูปด้วยสารประกอบพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่เรียกกันว่าพลาสติกต่าง ๆ กัน ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน เช่น

1) พอลิเอทิลีน (Polyethylene; PE) เป็นพอลิเมอร์ที่นิยมใช้มากที่สุด เนื่องจากมีราคาถูก PE ผลิตจากกระบวนการพอลิเมอไรเซชันของก๊าซเอทิลีน ภายใต้ความดันและอุณหภูมิสูง สามารถผลิต PE ที่มีความหนาแตกต่างกันได้โดยการควบคุมความยาวของสายพอลิเมอร์ PE มีจุดหลอมเหลวต่ำ จึงทำให้ง่ายต่อการขึ้นรูป นิยมใช้สำหรับบรรจุผักและผลไม้สด เนื่องจาก PE มีสมบัติให้ก๊าซซึมผ่านก๊าซได้ดี ทำให้มีก๊าซออกซิเจนซึมผ่านเข้ามาเพียงพอให้พืชหายใจ และให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่พืชคายออกมาก็สามารถซึมผ่านออกได้ PE แบ่งออกเป็น ๓ ประเภทคือ โพลีเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (Low Density Polyethylene หรือ LDPE) หนาแน่นอยู่ในช่วง ๐.๙๑๐-๐.๙๒๕ กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร โพลีเอทิลีนความหนาแน่นปานกลาง (Medium Density Polyethylene หรือ MDPE) หนาแน่นอยู่ในช่วง ๐.๙๒๖-๐.๙๔๐ กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และ โพลีเอทิลีนความหนาแน่นสูง (High Density Polyethylene หรือ HDPE) มีความหนาแน่นในช่วง ๐.๙๔๑-๐.๙๖๕ กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

2) พอลิโพรพิลีน (Polypropylene; PP) PP มีความใสและสามารถป้องกันความชื้นขึ้นได้ อย่างไรก็ตาม PP ป้องกันการซึมผ่านก๊าซได้ไม่ดี เนื่องจากมีช่วงอุณหภูมิในการหลอมละลายสั้น ทำให้ PP เชื่อมติดกันยาก จุดหลอมเหลวของ PP สูง จึงมักเรียกถุงที่ทำจาก PP ว่าถุงร้อน และนิยมใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์สำหรับบรรจุอาหารร้อนได้ (Hot-fill) (สุทธาสินี บุญคง, 2559)

#### 1.4.4.2 บรรจุภัณฑ์แบบแอคทีฟจากฟิล์มพอลิเมอร์ชีวภาพ

พอลิเมอร์ชีวภาพ หมายถึง พอลิเมอร์ที่ผลิตจากสิ่งมีชีวิต โดยเป็นพอลิเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิต เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) โปรตีน (protein) ลิพิด (lipid) เป็นต้น โดยพอลิเมอร์ชีวภาพดังกล่าวอาจมาจากหลาย ๆ แหล่งด้วยกัน เช่น พืช สัตว์ จุลินทรีย์ หรือจากผลิตภัณฑ์พลอยได้จากกระบวนการแปรรูปอาหาร เช่น ผลิตภัณฑ์พลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตเนยแข็ง โปรตีนจากปลาในการผลิตซูริมิ ไคโตซานจากสัตว์เปลือกแข็ง สตาร์ชมันฝรั่งจากกระบวนการแปรรูปมันฝรั่ง หรือจากเนื้อ (puree) ของผักและผลไม้ เป็นต้น (Asaolu, Rachael, & Oyeniyi, 2016; Rojas-Grau et al., 2006; Sothornvit & Rodsamran, 2008, 2010)

การขึ้นรูปฟิล์มจากพอลิเมอร์ชีวภาพนั้นจะต้องมีองค์ประกอบ ๓ อย่าง ได้แก่ พอลิเมอร์ชีวภาพ พลาสติไซเซอร์ (Plasticizer) เพื่อช่วยในการขึ้นฟิล์ม และสารเติมแต่งอื่น ๆ พลาสติไซเซอร์มีหน้าที่ช่วยปรับปรุงสมบัติทางกล ลดค่าการละลาย และเพิ่มความเสถียรทางความร้อนให้กับฟิล์ม พลาสติไซเซอร์ที่นิยมใช้ เช่น กลีเซอรอล (glycerol) ซอร์บิทอล (sorbitol) และ พอลิเอทิลีนไกลคอล (polyethylene glycol เนื่องจากพลาสติไซเซอร์เหล่านี้เข้ากันได้ดีกับพอลิเมอร์และคงความถาวรอยู่ในโครงสร้างของฟิล์ม

#### 1.4.5 พอลิเมอร์ชีวภาพที่ใช้ในการผลิตฟิล์มพอลิเมอร์ชีวภาพ

พอลิเมอร์ชีวภาพแบ่งออกได้เป็น ๔ กลุ่ม ซึ่งมีสมบัติแตกต่าง และเหมาะสำหรับการประยุกต์ใช้ต่าง ๆ กัน (Bourtoom, 2008) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

##### 1) โปรตีน (Proteins)

โปรตีนที่นิยมนำมาขึ้นรูปฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้ คือ โปรตีนจากพืช เช่น ข้าวโพด โปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนจากสัตว์ เช่น เจลาติน คอลลาเจน เป็นต้น ฟิล์มและสารเคลือบบริโภคที่ผลิตจากโปรตีนจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับแหล่งของโปรตีน กระบวนการผลิต เช่น การตัดแปรโครงสร้างของโปรตีน (protein structure) ในระดับต่าง ๆ กระบวนการทางกายภาพ (ความร้อน ความดัน การฉายรังสี) หรือกระบวนการทางเคมี (การสัมผัสกับกรด ต่าง โลหะหนัก เกลือ) หรือการสัมผัสกับเอนไซม์ (Krochta, 2002) มีรายงานว่าโปรตีนเวย์ที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน ทำให้โปรตีนเสียสภาพ ส่งผลให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์ (disulphide) ทำให้ฟิล์มแข็งแรง สามารถต้านแรงดึง รวมทั้งสามารถป้องกันไอน้ำได้ดีขึ้น (Pérez-Gago & Krochta, 1999; Pérez-Gago, Nadaud, & Krochta, 1999)

### 2) พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharides)

พอลิแซ็กคาไรด์เป็นสารที่มีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ มีราคาถูก และย่อยสลายได้ทางชีวภาพ พอลิแซ็กคาไรด์ที่นำมาใช้ในการผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพ เช่น เซลลูโลส และอนุพันธ์ (เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose, CMC)) เมทิลเซลลูโลส (methyl cellulose) ไฮดรอกซีโพรพิลเซลลูโลส (hydroxymethyl cellulose) ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (hydroxypropylmethyl cellulose) สตาร์ชและอนุพันธ์ (เช่น สตาร์ชธรรมชาติ (natural starch) สตาร์ชดัดแปร (modified starch) สตาร์ชพรีเจลาติไนซ์ (pre-gelatinized starch) เดกซ์ทริน (dextrin) มอลโทเดกซ์ทริน (maltodextrin) ) เพกทิน (pectin) สารสกัดจากสาหร่ายทะเล (เช่น วุ้น แอลจีเนต (alginate) คาราจีแนน (carrageenan) ) กัม (gum) (เช่น กัมอะราบิก (Arabic gum) กัวกัม (guar gum) แชนแทนกัม (xanthan gum) ) และไคโตซาน (chitosan) โครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์มีหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมาก ทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจน มีผลให้ฟิล์มมีลักษณะชอบน้ำ โดยทั่วไป ฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์มีสมบัติการป้องกันก๊าซและสมบัติทางกลที่ดี (Baldwin et al., 1995)

เจลาติน เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีความนิยมนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมอาหาร เจลาตินมีสมบัติที่โดดเด่นคือสามารถละลายเมื่ออุณหภูมิสูงหรือฟอรัมเป็นเจลได้เมื่ออยู่ในอุณหภูมิต่ำ นอกจากนี้ฟิล์มเจลาตินยังมีสมบัติป้องกันออกซิเจนได้ดีเยี่ยม ที่ความชื้นสัมพัทธ์ ๐ % แต่ค่าการแพร่ผ่านของออกซิเจนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นคล้ายคลึงกับเซลโลเฟน (Lieberman & Gilbert, 2007) นอกจากนี้ฟิล์มเจลาตินมีความใส ยืดหยุ่น และแข็งแรงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มจากโปรตีนชนิดอื่น ๆ (Kaewprachu & Rawdkuen, 2014)

ไคโตซาน (Chitosan) เป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติหนึ่งที่มีความนิยมนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มีมากเป็นอันดับสองของพอลิเมอร์ทั้งหมดในโลกรองมาจากเซลลูโลส ละลายได้ในกรด และการคงตัวด้วยความร้อน นอกจากนี้ฟิล์มที่ผลิตจากไคโตซานยังมีคุณสมบัติทางกลที่ดี สามารถป้องกันการซึมผ่านของก๊าซได้ดี แต่มีข้อเสียคือความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของน้ำต่ำ

### 3) ไขมัน (Lipids)

ไขมัน ได้แก่ ไขมัน (fat) เช่น ไขมันพาราฟิน ไขมันไข ไขมันแคนเดลิลา ไขมันคาร์นัวบา ไขมันข้าว และน้ำมัน (oil) เช่น น้ำมันโจ๊บา ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ประกอบไปด้วย กลีเซอรอล (glycerol) จับกับกรดไขมัน ๓ ตัว ไขมันไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ฟิล์มหรือสารเคลือบจากไขมันจึงสามารถ



ป้องกันน้ำได้ดี และมีพลังงานพื้นผิว (surface energy) ต่ำ (Han & Aristippos, 2005) ทั้งนี้ไม่นิยมใช้ไขมันในการผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพมากนักในอุตสาหกรรมอาหาร

#### 4) फिल्मคอมโพสิต (Composite films)

ฟิล์มคอมโพสิต เป็นการนำพอลิเมอร์หลาย ๆ ชนิดมาผสมกันขึ้นรูปเป็นฟิล์มให้ได้สมบัติและโครงสร้างตามที่ต้องการ หรือทำให้ฟิล์มมีความคงตัวขึ้น เช่น การผสมโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ ทำให้ฟิล์มที่ได้มีสมบัติป้องกันก๊าซออกซิเจนได้ดี และมีสมบัติทางกลปานกลางถึงดีที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ แต่มีสมบัติป้องกันน้ำต่ำ (Prommakool et al., 2011) โดยทั่วไป มีการนำไขมันมาใช้ร่วมกับโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ในรูปอิมัลชัน หรือทำเป็นสองชั้น (bilayer) เพื่อเพิ่มสมบัติการป้องกันไอน้ำ โดยอาจผลิตฟิล์มในรูปอิมัลชันเพื่อกระจายเม็ดโมเลกุลไขมันในโครงสร้างเมทริกซ์ไฮโดรคอลลอยด์ (Pérez-Gago & Krochta, 2005) การขึ้นรูปฟิล์มแบบอิมัลชันเป็นวิธีที่ง่ายกว่าฟิล์มแบบสองชั้น ถึงแม้ว่า ฟิล์มแบบอิมัลชันมีค่าการป้องกันน้ำต่ำกว่าฟิล์มแบบสองชั้น (Falguera et al., 2011; Pérez-Gago & Krochta, 2005) อย่างไรก็ตาม ขนาดอนุภาคไขมันที่เล็ก และการกระจายอย่างทั่วถึงในโครงสร้างเมทริกซ์ของพอลิเมอร์ ทำให้ฟิล์มแบบอิมัลชันป้องกันน้ำได้ (M. Pérez-Gago & J. Krochta, 2001; M. Pérez-Gago & J. M. Krochta, 2001)

#### 1.4.6 บรรจุภัณฑ์แอคทีฟแบบต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial active packaging)

เทคโนโลยีการบรรจุอาหาร โดยใช้บรรจุภัณฑ์แอคทีฟต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial active packaging) สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตอาหารมากขึ้น โดยสามารถยับยั้ง หรือฆ่าจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสีย รวมถึงจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในอาหาร ทำให้สามารถรักษาคุณภาพของอาหาร เกิดความปลอดภัย และยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้นานขึ้นอีกด้วย โดยสารต้านจุลินทรีย์อาจเป็นสารต้านจุลินทรีย์สังเคราะห์ หรืออาจเป็นสารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติซึ่งเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบัน

เทคโนโลยีการบรรจุภัณฑ์แอคทีฟแบบต้านจุลินทรีย์ มีหลายรูปแบบ ได้แก่ 1) การใส่ซองหรือ แผ่นดูดซับสารต้านจุลินทรีย์ลงในบรรจุภัณฑ์ 2) การผสมสารต้านจุลินทรีย์ลงในพอลิเมอร์ที่ใช้ในการผลิตบรรจุภัณฑ์ 3) การเคลือบหรือการดูดซับสารต้านจุลินทรีย์ไว้ที่พื้นผิวของพอลิเมอร์ ๔) การตรึงสารต้านจุลินทรีย์ให้ยึดเกาะกับพื้นผิวของพอลิเมอร์ด้วยพันธะไอออนิก หรือพันธะโควาเลนต์ และ ๕) การใช้พอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์

อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีงานวิจัยที่พัฒนาฟิล์มผสมเปลือกสับปะรดต้านจุลินทรีย์ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่มีส่วนผสมของเปลือกสับปะรด เพื่อหาความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากเปลือกสับปะรดเป็นฟิล์มต้านจุลินทรีย์ที่อาจต่อยอดในระดับอุตสาหกรรมได้

## 2. วิธีการดำเนินการวิจัย (Material & Method)

### 2.1 วัตถุดิบ อุปกรณ์ และสารเคมี

#### 2.1.1 วัตถุดิบ

เปลือกสับปะรด พันธุ์ศรีราชา ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานอาหารสยาม จำกัด (มหาชน) อ.บ้านบึง จ.ชลบุรี

#### 2.1.2 สายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองได้รับมาจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ประเทศไทย ประกอบด้วย

- 1) *Staphylococcus aureus* TISTR2329
- 2) *Escherichia coli* TISTR527

#### 2.1.3 สารเคมี

- 1) ไคโตซาน (food grade, Thailand)
- 3) กลีเซอรอล (Ajex Finechem, Australia)
- 4) กรดอะซิติก (RCI Ladscan, Thailand)
- 5) กรดไฮโดรคลอริก (RCI Ladscan, Thailand)
- 6) เมทานอล (RCI Ladscan, Thailand)
- 7) เฟอริกคลอไรด์ ไฮเดรต (AppliChem Panreac ITW, Germany)
- 8) เฟอรัสซัลเฟต ไฮเดรต (Ajex Finechem, Australia)
- 9) โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (potassium persulfate) (Mallinckrodt, USA)
- 10) โซเดียม อะไซด์ (sodium azide) (Labo Chemie, India)
- 11) โซเดียมคาร์บอเนต แอนไฮไดรต (Ajex Finechem, Australia)
- 12) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (phosphate buffer saline, PBS)
- 13) สารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent (Sigma-Aldrich, Germany)
- 14) โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (Ajex Finechem, Australia)
- 15) ดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH) (Sigma-Aldrich, Germany)
- 16) สารมาตรฐาน TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-striazine) (Sigma, Switzerland)<sup>13)</sup>
- 17) กรดแกลลิก (gallic acid) (Sigma-Aldrich, China)
- 18) เปปโตน (peptone) (Himedia, India)
- 19) เพนนิซิลลิน (penicillin)
- 20) แอมพิซิลลิน (ampinocillin)
- 21) อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton broth (MHB) (RCI Ladscan, Thailand)

### 2.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น BSA3202S-CW บริษัท Sartorius ประเทศเยอรมนี
- 2) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น BSA224S-CW บริษัท Sartorius ประเทศเยอรมนี
- 3) เครื่องผสม (vortex mixer) รุ่น REAX 2000 บริษัท Heidolph ประเทศเยอรมนี
- 4) เครื่องกวนสาร (magnetic stirrer) รุ่น HT-1003 ยี่ห้อ LAS ประเทศญี่ปุ่น
- 5) เครื่องเขย่าสาร (shaker) รุ่น INNOVA 2050 ยี่ห้อ Innova ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 6) ตู้อบลมร้อน (hot air oven) รุ่น 1350 FX บริษัท Shel Lab ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 7) เครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) รุ่น RC900 บริษัท KnF ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- 8) เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น Z 32 K บริษัท HERMLE Labortechnik GmbH ประเทศเยอรมนี
- 9) เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer) รุ่น TA-XT. plus บริษัท Charpa Techcenter ประเทศอังกฤษ
- 10) เครื่องวัดสารด้วยการดูดกลืนแสง (uv-vis spectrophotometer) รุ่น GEN10S UV-VIS บริษัท Thermo Fisher Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 11) ตู้บ่มเชื้อ (incubator) รุ่น BE600 ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมนี
- 12) ตู้ถ่ายเชื้อ (biological safety cabinet) รุ่น 527042 บริษัท HOTPACK for an extra degree of control ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 13) หม้ออบแรงดันไอน้ำ (autoclave) รุ่น H99LL บริษัท KOKUSAN ประเทศญี่ปุ่น
- 14) ไมโครมิเตอร์ (micrometer)
- 15) ฟิล์มซิลิโคนขึ้นรูปฟิล์มขนาด 19×19 ตารางเซนติเมตร
- 16) ฟิล์มพอลิโพรไพลีน (polypropylene)
- 17) อุปกรณ์เครื่องแก้ว เช่น หลอดทดลอง ปีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ ขวดปรับปริมาตร จานเพาะเชื้อ กรวยแยกสาร เป็นต้น

## 2.2 ศึกษาปริมาณของเปลือกสับปะรดที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาฟิล์ม

### 2.2.1 การเตรียมผงเปลือกสับปะรด

นำเปลือกสับปะรดสดมาทำความสะอาด และหั่นเป็นแผ่นบาง ๆ หนาประมาณ 2 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องตัดแต่งผลไม้ จากนั้นนำมาอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องทำแห้งแบบถาด (tray dryer) จนมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 13 จึงนำเปลือกสับปะรดมาบด ด้วยเครื่องบดละเอียด และร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 50 80 และ 100 เมช ตามลำดับ จึงเก็บตัวอย่างผงเปลือกสับปะรดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

### 2.2.2 การเตรียมสารสกัดจากผงเปลือกสับปะรด

ผสมผงเปลือกสับปะรดกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 น้ำหนักโดยปริมาตร เขย่าส่วนผสมบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยผ้ามีสลิแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนออก นำสารสกัดส่วนในไประเหยด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (rotary

evaporator) แบบลดความดัน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความดัน 60 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนได้เป็นได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ที่มีลักษณะข้นหนืด นำไปใส่โถดูดความชื้นจน น้ำหนักคงที่ แล้วจึงนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

### 2.2.3 การเตรียมฟิล์มผสมผงเปลือกสับประรด

เตรียมฟิล์มโคโตซานผสมสารสกัดเปลือกสับประรดโดยดัดแปลงวิธีของ Hanani, Husna, Syahida, Khaizura, and Jamilah (2018) โดยละลายโคโตซาน (1 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ใน น้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส กวนผสมเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมกลีเซอรอล ความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยน้ำหนักของโคโตซาน กวนผสมเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสารสกัดเปลือกสับประรด ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็นร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 5.0% (w/v) กวนผสมต่อเป็นเวลา 30 นาที นำสารผสมที่ได้ไปเทลงบนซิลิโคนขึ้นรูปฟิล์มขนาด 19 × 19 ตารางเซนติเมตร นำไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เลือกปริมาณของสารสกัดเปลือกสับประรด ประมาณ 2- 3 ความเข้มข้น ที่สามารถขึ้นรูปฟิล์มได้ เพื่อใช้ในการทดลองถัดไป

## 2.3 ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของฟิล์มผสมเปลือกสับประรด

### 2.3.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

การเตรียมจุลินทรีย์ ทำได้โดยถ่ายจุลินทรีย์แกรมบวก (*Staphylococcus aureus* TISTR2329) และจุลินทรีย์แกรมลบ (*Escherichia coli* TISTR527) จาก stock culture ที่ ลงในอาหารเหลว Mueller Hinton broth (MHB) จากนั้นจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 16- 18 ชั่วโมง จึงถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว ลงบนอาหารแข็ง Mueller Hinton agar (MHA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16- 18 ชั่วโมง จึงถ่ายโคโลนีของแบคทีเรียลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ปลอดเชื้อ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 และปรับความขุ่นของสารละลายให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland standard ซึ่งเทียบเท่ากับ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์  $1.5 \times 10^8$  CFU ต่อมิลลิลิตร

### 2.2.2 ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ วิธีการแพร่ (Agar disc diffusion)

ทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่ (agar disc diffusion) ตามวิธีของ Cockerill et al. (2012) ใช้ cotton swab ปลอดเชื้อจุ่มสารแขวนลอยจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ นำมาป้ายลงบนผิวหน้าอาหารแข็งให้ทั่ว จากนั้นนำแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดจากเปลือกสับประรดในปริมาณต่างๆ กัน (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการฉายยูวีเป็นเวลา 30 นาที วางลงบนอาหารแข็งที่ป้ายเชื้อจุลินทรีย์ไว้ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง inhibition zone ที่เกิดขึ้นในหน่วย มิลลิเมตร

### 2.2.3 ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ วิธี JIS Z 2801, 2000

ทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธีการ JIS Z 2801 (2000) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มขนาด 1× 1 ตารางเซนติเมตร วางบนแผ่นสไลด์ที่ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อเปล่า หยดสารละลายจุลินทรีย์แขวนลอย ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ( $1.5 \times 10^8$  CFU ต่อมิลลิลิตร) จากนั้นจึงปิดด้วยฟิล์ม PP ปลอดเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จากนั้นล้างฟิล์ม ด้วย โซเดียม

คลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 990 ไมโครลิตร vortex และทำการเจือจางและตรวจนับจำนวนเชื้อด้วยวิธี drop plate technique นำไปป่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง อ่านผลโดยการนำจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น และรายงานผลเป็น CFU ต่อมิลลิลิตร

จึงคัดเลือกความเข้มข้นของผงเปลือกสับประรดที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีที่สุด เพื่อนำไปศึกษาสมบัติของฟิล์มต่อไป

## 2.4 ศึกษาสมบัติของฟิล์มผสมเปลือกสับประรดต้านจุลินทรีย์

### 2.4.1 วัดความหนาของฟิล์ม

การวัดความหนาของฟิล์มที่ได้ โดยตัดตัวอย่างฟิล์มขนาด 10 × 10 ตารางเซนติเมตร วัดความหนาโดยใช้เครื่องวัดความหนา (thickness gauge digital) ที่ตำแหน่งต่าง ๆ กัน ประมาณ 5 ตำแหน่ง

### 2.4.2 ทดสอบความต้านทานแรงดึง และค่าการยืดตัวเมื่อขาด

ทดสอบการต้านทานแรงดึง และค่าการยืดตัวเมื่อขาด ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (stable micro system รุ่นTA-XT plus จากประเทศสหรัฐอเมริกา) โดยตัดฟิล์มเป็นแผ่นสี่เหลี่ยมขนาด 7×1 ตารางเซนติเมตร โดยกำหนดระยะห่างหัวยึดด้านบนและด้านล่างเริ่มต้นที่ 5 เซนติเมตร ใช้หัววัดแบบดึงและ กำหนดความเร็วในการดึงเป็น 10 มิลลิเมตรต่อวินาที (ปานมันส์ ศิริสมบุรณ์, 2554)

### 2.4.3 ทดสอบความสามารถในการละลายน้ำ

ทดสอบความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม ตามวิธี Ojagh et al. (2010) โดยตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 1 × 3 ตารางเซนติเมตร นำแผ่นฟิล์มแช่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เขย่าตลอดเวลาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำเศษฟิล์มที่ค้างบนกระดาษกรองไปอบ ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ คำนวณค่าความสามารถในการละลายน้ำ จากสมการ 2.1 ดังต่อไปนี้

$$\text{water solubility (\%)} = \left( \frac{\text{intitial dry weight} - \text{final dry weight}}{\text{intitial dry weight}} \right) \times 100 \quad (2.1)$$

### 2.4.4 ทดสอบอัตราการซึมผ่านน้ำ

ทดสอบอัตราการซึมผ่านน้ำ (water vapor permeability coefficient) ตามวิธี ASTM (1995) โดยนำขวดแก้วทรงกระบอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร มาใส่ซิลิกาเจลที่ผ่านการอบแห้งแล้วประมาณ 10 กรัม จากนั้นนำแผ่นฟิล์มขนาด 6 × 6 ตารางเซนติเมตร แล้ววางขวดทดสอบในโถดูดความชื้นที่บรรจุโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว (75 % RH) ไว้ภายใน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส จากนั้นชั่งน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงทุก ๆ 1 ชั่วโมง แล้วนำน้ำหนักที่ได้มาคำนวณค่าการซึมผ่านของไอน้ำ ดังสมการ 2.2 และ 2.3 ต่อไปนี้

$$\text{Water vapor transmission rate (WVTR)} = \frac{\text{Slope}}{\text{sample area (m}^2\text{)}} \quad (2.2)$$

$$\text{Water vapor permeability coefficient (WVPC)} = \left( \frac{\text{WVTR} \times \text{film thickness (mm)}}{\Delta p^*} \right) \quad (2.3)$$

\* $\Delta p$  คือ partial pressure difference of the water vapor across the film (atm)

#### 2.4.5 วิเคราะห์องค์ประกอบของฟิล์มด้วยเครื่องวัดสเปกตรัม

การวิเคราะห์องค์ประกอบของฟิล์ม ดำเนินการโดยใช้อุปกรณ์การวิเคราะห์ FTIR แบบ Single Reflection ATR จากนั้นนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Tensor 2 (Bruker) ที่ทำการวัดที่ 64 scans ด้วยความละเอียด  $4 \text{ cm}^{-1}$  โดยวิเคราะห์ในช่วงคลื่น  $400\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$

#### 2.4.6 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ตามวิธีของ Brand-Williams, Cuvelier, & Berset (1995) นำสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น  $60 \text{ ไมโครโมลาร์}$  ปริมาตร  $1950 \text{ ไมโครลิตร}$  ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จึงนำไปวัดค่าความดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น  $517 \text{ นาโนเมตร}$  ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และนำค่าที่ได้มาคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (scavenging activity) ดังสมการที่ 2.4

$$\text{Scavenging activity (\%)} = \frac{A_{\text{DPPH}} - A_s}{A_{\text{DPPH}}} \times 100 \quad (2.4)$$

โดย  $A_{\text{DPPH}}$  = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ที่  $517 \text{ นาโนเมตร}$

$A_s$  = ค่าความดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ศึกษาที่  $517 \text{ นาโนเมตร}$

#### 2.4.7 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP assay

วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP assay ตามวิธีของ Benzie & Strain (1996) เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมอะซิเตตบัฟเฟอร์ (pH 3.6) ความเข้มข้น  $300 \text{ มิลลิโมลาร์}$  กับสารมาตรฐาน ferric tripyridyltriazine (TPTZ) ความเข้มข้น  $10 \text{ มิลลิโมลาร์}$  ในตัวทำละลายกรดไฮดรอกลอริก ความเข้มข้น  $40 \text{ มิลลิโมลาร์}$  และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ความเข้มข้น  $20 \text{ มิลลิโมล}$  อัตราส่วน  $10 : 1 : 1$  (FRAP reagent) นำสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมปริมาตร  $0.2 \text{ มิลลิลิตร}$  ผสมกับ FRAP reagent ปริมาตร  $1.8 \text{ มิลลิลิตร}$  ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ  $50 \text{ องศาเซลเซียส}$  ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น  $595 \text{ นาโนเมตร}$  ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต รายงานผลเป็นกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อ  $100 \text{ กรัมตัวอย่างแห้ง}$  (g Ferrous sulfate equivalent (FE)/  $100 \text{ g db}$ )

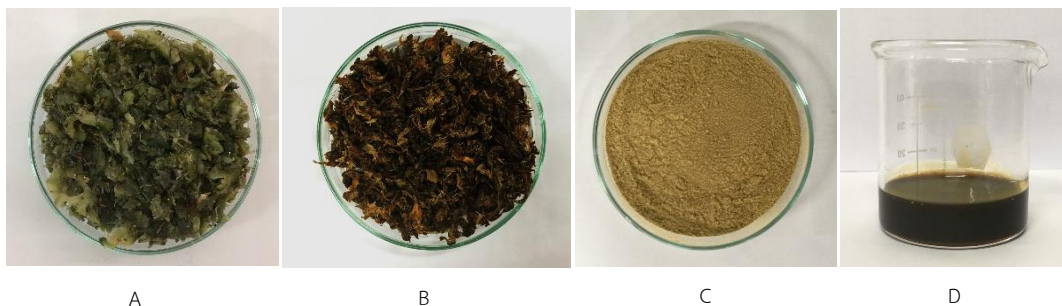
#### การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และทางเคมีกายภาพ โดยวิธี Tukey's comparisons tests ที่ระดับนัยสำคัญ  $0.05$  ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Minitab® 17

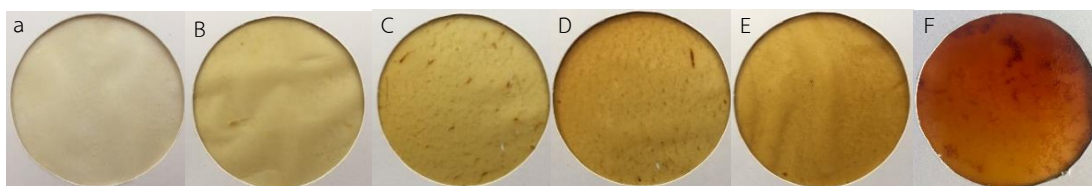
### 3. ผลการทดลองและวิจารณ์ (Results & Discussion)

#### 3.1 ผลของการศึกษาปริมาณของเปลือกสับประรดที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาฟิล์ม

จากการนำเปลือกสับประรดมาหั่นเป็นชิ้นเล็กขนาดประมาณ 2 มิลลิเมตร ดังภาพที่ 3-1 (A) มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 °C จนมีความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 13 จะได้เป็นเปลือกสับประรดแห้งที่มีสีน้ำตาลอ่อน ดังภาพที่ 3-1 (B) เมื่อนำเปลือกสับประรดอบแห้งมาบดให้เป็นผงละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 50 80 และ 100 เมช ตามลำดับ ได้เป็นผงสับประรดสีน้ำตาลอ่อนดังภาพที่ 3-1 (C) จากนั้นนำผงเปลือกสับประรดผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 เขย่าเป็นเวลา 4 ชั่วโมง กรองและนำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศจนได้เป็นสารสกัดหยาบจากเปลือกสับประรด (pineapple peel extract, PPE) ที่มีลักษณะขุ่นหนืด และมีสีน้ำตาลเข้มดังภาพที่ 3-1 (D) โดยประมาณร้อยละของผลที่ได้ (% yield) ของสารสกัดหยาบจากเปลือกสับประรดมีค่าเท่ากับร้อยละ 34.57 จากนั้นจึงนำสารสกัดหยาบจากเปลือกสับประรด ที่ได้มาผสมลงในสารละลายฟิล์มไคโตซานในปริมาณความเข้มข้นต่างๆ ได้เป็นฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากกากกาแพ ดังภาพที่ 3-2 โดยจากการทดลองตอนที่ 4.1 พบว่าสามารถขึ้นรูปฟิล์มโดยใช้ปริมาณสารสกัดผงเปลือกสับประรดความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 5.0 % (w/v) ได้ทั้งหมดจึงนำความเข้มข้นทุกความเข้มข้นไปศึกษาต่อ



ภาพที่ 3-1 A) เปลือกสับประรด B) เปลือกสับประรดที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส C) ผงเปลือกสับประรด และ D) สารสกัดหยาบจากเปลือกสับประรด

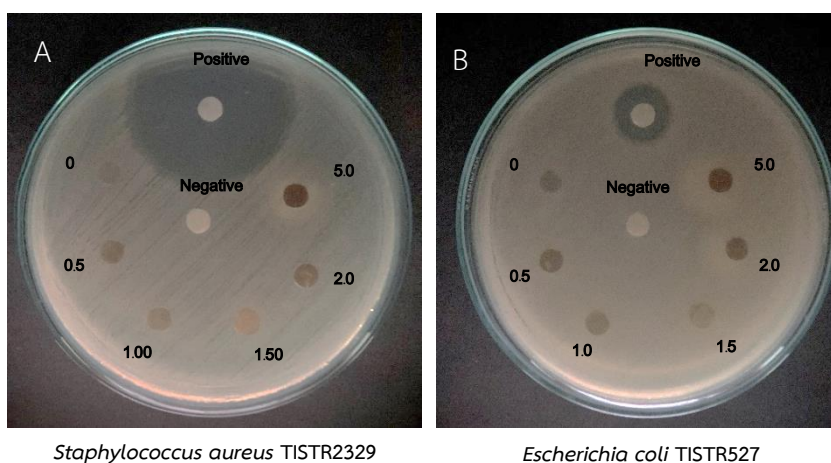


ภาพที่ 3-2 ฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับประรดในปริมาณต่าง ๆ กัน A) 0 % B) 0.5 % C) 1.0 % D) 1.5% E) 2.0% และ F) 5.0%

### 3.2 ผลของการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของฟิล์มผสมเปลือกสับปะรด

#### 3.2.1 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรด ปริมาณต่าง ๆ กัน เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของฟิล์มผสมเปลือกสับปะรดด้วยวิธีการแพร่ โดยทดสอบด้วยเชื้อ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก (*Staphylococcus aureus* TISTR2329) และแบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli* TISTR527) พบว่าฟิล์มไคโตซานผสมสารสกัดเปลือกสับปะรดทุกความเข้มข้นไม่ปรากฏโซนยับยั้ง ทั้งนี้อาจเนื่องจากความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกสับปะรดที่ไม่มากพอส่งผลให้ฟิล์มผสมเปลือกสับปะรดไม่แสดงฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Suklampoo et al. (2014) ที่ทำการศึกษาค่าผลของปริมาณสารสกัดจากเปลือกส้มโอ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เขาหนาม และข้าวเป็น ต่อฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร เช่น *S. aureus* *Bacillus cereus* *Listeria monocytogenes* และ *E. coli* โดยจากปริมาณสารสกัดเปลือกส้มโอร้อยละ 100 150 และ 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าสารสกัดในส่วนของผิวเปลือกส้มโอที่ 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่ปรากฏโซนยับยั้งในเชื้อทุกชนิด แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 150 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จะปรากฏโซนยับยั้งใน *S. aureus* และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นถึง 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จะปรากฏโซนยับยั้งใน *E. coli* นอกจากนี้การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดยังส่งผลให้ความกว้างของโซนยับยั้งเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดที่มากพอจะส่งผลให้เกิดบริเวณโซนยับยั้งได้ และจากงานวิจัยของ Punbusayakul (2018) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกสับปะรดกับจุลินทรีย์ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. cereus*, *S. aureus*, *Salmonella typhimurium* และ *E. coli* โดยจากการศึกษาปริมาณสารสกัดจากเปลือกสับปะรด ได้แก่ 0.0337 0.0675 0.1349 0.2699 และ 0.5398 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าสารสกัดเปลือกสับปะรดตั้งแต่ 0.0337-0.0675 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่ปรากฏโซนยับยั้งในจุลินทรีย์ทุกชนิด แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดตั้งแต่ 0.1349 ขึ้นไป จะปรากฏโซนยับยั้งขึ้นกับ *S. aureus* และ *E. coli* ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกสับปะรดในฟิล์มอาจไม่เพียงพอให้แสดงฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เมื่อทดสอบด้วยวิธีนี้



*Staphylococcus aureus* TISTR2329

*Escherichia coli* TISTR527

ภาพที่ 3-3 บริเวณโซนยับยั้งการเจริญของ A) *Staphylococcus aureus* TISTR2329 และ B) *Escherichia coli* TISTR527 ของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ กัน



ตารางที่ 3-1 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มโคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ กัน เมื่อทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion

| ความเข้มข้นสารสกัดจากเปลือกสับปะรดที่เติมลงในฟิล์มโคโตซาน (กรัมต่อมิลลิลิตร) | ขนาดพื้นที่ในการยับยั้งการเจริญ (Inhibition zone (มิลลิเมตร)) |                                  |
|--|---|----------------------------------|
|  | แบคทีเรียแกรมบวก  | แบคทีเรียแกรมลบ                  |
|  | <i>Staphylococcus aureus</i> TISTR2329                        | <i>Escherichia coli</i> TISTR527 |
| Positive control   | 3.77  | 1.50                             |
| Negative control   | NZ  | NZ                               |
| 0.0  | NZ  | NZ                               |
| 0.5  | NZ  | NZ                               |
| 1.0  | NZ  | NZ                               |
| 1.5  | NZ  | NZ                               |
| 2.0  | NZ  | NZ                               |
| 5.0  | NZ  | NZ                               |

หมายเหตุ: NZ หมายถึงไม่เกิดพื้นที่ในการยับยั้ง

### 3.2.2 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของฟิล์มโคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดปริมาณต่าง ๆ กัน เมื่อทดสอบด้วยวิธี JIS Z 2801 (2000)

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของฟิล์มผสมเปลือกสับปะรดด้วยวิธี JIS Z 2801, 2000 โดยทดสอบด้วยเชื้อ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus* TISTR2329) และแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli* TISTR527) พบว่าฟิล์มโคโตซานผสมสารสกัดเปลือกสับปะรดทุกความเข้มข้นมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) อย่างไรก็ตามหากพิจารณาจากปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลือเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นจะพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลือมีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณสารสกัดเปลือกสับปะรดเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องรายงานของ Hajinezhad et al. (2020) ที่ทำการศึกษาคุณสมบัติเชิงกลและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มเอทิลีนไวน์แอลกอฮอล์ที่ผสมโพพอลิส โดยทำการศึกษาปริมาณโพพอลิสในอัตราส่วนต่างๆ ได้แก่ 0 5 10 15 และ 20 % w/w พบว่าฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ *Aspergillus niger* และ *Saccharomyces cerevisiae* *S. aureus* และ *E. coli* เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณโพพอลิสในฟิล์มเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มปริมาณสารสกัดเปลือกสับปะรดมีผลทำให้ฟิล์มมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากในเปลือกสับปะรดมีสารประกอบฟีนอลหลากหลายชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ แทนนิน กรดแกลลิก และอื่นๆ ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ โดยมีกลไกที่หลากหลาย เช่น สามารถสร้างพันธะที่ซับซ้อนกับโปรตีนที่ตำแหน่งโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย และขัดขวางการซึมผ่านของผนังเซลล์ นอกจากนี้สารประกอบบางตัวยังสามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียและส่งผลให้การซึมผ่านลดลง ดังนั้นการเจริญเติบโตและกิจกรรมที่เซลล์แบคทีเรียจึงถูกยับยั้งส่งผลให้จุลินทรีย์ตาย (Arsyada, Rianti, & Munadzirroh, 2018; Punbusayakul, 2018)

และนอกจากนี้โคโตซานที่เป็นโครงสร้างหลักของฟิล์มยังมีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์โดยมีกลไกการต้านจุลินทรีย์ที่หลากหลาย เช่น โคโตซานจะเข้าจับกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่มีประจุลบ ส่งผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของผนังเซลล์ แบคทีเรียจึงไม่สามารถเจริญเติบโตได้และตายในที่สุด และนอกจากนี้โคโตซานยังมีความสามารถในการเกิดคีเลตกับไอออนของโลหะ ก่อให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้อีกด้วย (Kong et al., 2010; Yilmaz Atay & Çelik, 2017)

ตารางที่ 3-2 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มโคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดต่าง ๆ กันเมื่อทดสอบด้วยวิธี JIS Z 2801 (2000)

| จุลินทรีย์                             | ความเข้มข้น<br>(กรัมต่อ<br>มิลลิลิตร) | จำนวนจุลินทรีย์<br>เริ่มต้น<br>( $\times 10^8$ CFU/<br>มิลลิลิตร) | จำนวน<br>จุลินทรีย์ที่<br>เหลือ <sup>*ns</sup><br>( $\times 10^7$ CFU/<br>มิลลิลิตร) | เปอร์เซ็นต์การ<br>ลดลง<br>(%) <sup>*ns</sup> |
|--|---------------------------------------|---|--|--|
| <i>Staphylococcus aureus</i> TISTR2329 | 0.0                                   | 1.8   | 5.0  | 72.22  |
|  | 0.5                                   | 1.8   | 8.5  | 52.78  |
|  | 1.0                                   | 1.8   | 6.9  | 61.67  |
|  | 1.5                                   | 1.8   | 6.9  | 61.67  |
|  | 2.0                                   | 1.8   | 7.2  | 60.00  |
|  | 5.0                                   | 1.8   | 5.6  | 68.89  |
| <i>Escherichia coli</i> TISTR527       | 0.0                                   | 1.2   | 1.4  | 88.33  |
|  | 0.5                                   | 1.2   | 1.3  | 89.33  |
|  | 1.0                                   | 1.2   | 1.3  | 89.50  |
|  | 1.5                                   | 1.2   | 0.8  | 93.33  |
|  | 2.0                                   | 1.2   | 0.8  | 93.08  |
|  | 5.0                                   | 1.2   | 0.2  | 98.33  |

หมายเหตุ : <sup>\*ns</sup> หมายถึง แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

โดยจากการทดลองตอนที่ 3.2 พบว่าฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มโคโตซานมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดจากเปลือกสับปะรดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ลดลงเมื่อเติมสารสกัดจากเปลือกสับปะรดลงในฟิล์มโคโตซาน แต่ยังสามารถลดจำนวนแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ถึง 1 log โดยสามารถลดแบคทีเรียแกรมลบได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ดังนั้นฟิล์มที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีที่สุดคือ ฟิล์มที่มีความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกสับปะรด 5.0 % (w/v) อย่างไรก็ตามฟิล์มที่มีสารสกัด 5.0 % ถึงแม้จะสามารถขึ้นรูปได้ แต่ฟิล์มที่ได้มีความเหนียว และหดตัว จึงไม่สามารถนำไปใช้สำหรับการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพต่อไปได้ ดังนั้นจึงเลือกฟิล์มที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรด 2.0 % (w/v) ไปทำการศึกษาสมบัติของฟิล์มต่อไป

### 3.3 ผลของการศึกษาสมบัติของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ กัน

#### 3.3.1 ความหนาของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดปริมาณต่าง ๆ กัน

ความหนาของฟิล์มไคโตซานที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 (w/v) แสดงในตารางที่ 3-3 พบว่าความหนาของฟิล์มที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ มีความหนาแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดยมีความหนาอยู่ระหว่าง 0.0716-0.0800 มิลลิเมตร ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองมีการควบคุมปริมาณของสารละลายฟิล์มที่ใช้สำหรับการผลิตฟิล์มในปริมาณที่เท่ากัน และมีขนาดพื้นที่ของซิลิโคนขึ้นรูปฟิล์มเท่ากัน จึงทำให้ความหนาของฟิล์มที่มี PPE ในปริมาณต่าง ๆ มีขนาดที่ไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 3-3 ความหนาของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดปริมาณต่าง ๆ กัน

| ความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด<br>(กรัมต่อมิลลิเมตร) | Thickness (mm) <sup>*ns</sup> |
|---|-------------------------------|
| 0.0   | 0.0733±0.0050                 |
| 0.5   | 0.0716±0.0720                 |
| 1.0   | 0.0716±0.0720                 |
| 1.5   | 0.0800±0.0800                 |
| 2.0   | 0.0733±0.0730                 |

หมายเหตุ : <sup>\*ns</sup> หมายถึง แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

#### 3.3.2 ความต้านทานแรงดึง และค่าการยืดตัวเมื่อขาดของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดปริมาณต่าง ๆ กัน

จากการทดสอบค่าความต้านทานแรงดึง (TS) และค่าการยืดตัวเมื่อขาด (EAB) ของฟิล์มไคโตซานที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 % (w/v) แสดงในตารางที่ 3-4 พบว่าค่า TS และ EAB ของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดทุกความเข้มข้นมีค่าน้อยกว่าเมื่อเทียบกับฟิล์มไคโตซานที่ไม่มีการเติมสารสกัด นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มปริมาณของสารสกัดในฟิล์มเพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า TS และ EAB มีแนวโน้มลดลง ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Hamdi et al. (2019) ที่ทำการศึกษาผลของการเติมสารสกัดแคโรทีโนโปรตีนที่ความเข้มข้นต่างกันในฟิล์มที่ผลิตจากไคโตซานของปูม้า โดยทำการศึกษาฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดแคโรทีโนโปรตีน (CPE) ที่ 5% 10% 15% 25% 50% พบว่าฟิล์มไคโตซานที่เติม CPE มีค่า TS และ EAB ต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติม CPE และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CPE ค่า TS และ EAB จะลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเพิ่ม PPE ลงในฟิล์มส่งผลให้โครงสร้างร่างแหของไคโตซานมีความห่างเพิ่มขึ้น และทำให้ระยะห่างระหว่างโมเลกุลของโพลีเมอร์ลดลงจึงทำให้มีความแข็งแรงและความยืดหยุ่นของฟิล์มลดลง

ตารางที่ 3- 4 สมบัติทางกลของฟิล์มไคโตซานที่สารสกัดเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ กัน

| ความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด (กรัมต่อมิลลิลิตร) | TS* (MPa)                 | EAB* (%)                  |
|--|---------------------------|---------------------------|
| 0  | 0.115±0.010 <sup>a</sup>  | 115.55±7.30 <sup>a</sup>  |
| 0.5  | 0.099±0.036 <sup>a</sup>  | 107.62±1.56 <sup>b</sup>  |
| 1.0  | 0.077±0.027 <sup>ab</sup> | 108.72±3.20 <sup>ab</sup> |
| 1.5  | 0.058±0.026 <sup>b</sup>  | 105.33±4.57 <sup>b</sup>  |
| 2.0  | 0.107±0.019 <sup>a</sup>  | 115.91±5.00 <sup>a</sup>  |

หมายเหตุ : <sup>ab</sup> แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น ( $p < 0.05$ ) ในคอลัมน์ TS: Tensile strength EAB: Elongation at break)

### 3.3.3 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดปริมาณต่าง ๆ กัน

จากการทดสอบความสามารถในการละลายน้ำ (WSI) ของฟิล์มไคโตซานที่มีความเข้มข้นของ PPE 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 % (w/v) พบว่าค่า WSI ของฟิล์มไคโตซานไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่า WSI อยู่ระหว่าง 38.9866-45.0786 แต่เมื่อพิจารณาจากค่าในตารางที่ 3-5 แล้วพบว่า ค่า WSI มีแนวโน้มลดลงเมื่อมีการเติม PPE ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Jaisan & Punbusayakul (2016) ซึ่งทำการศึกษาการพัฒนาฟิล์มไคโตซานผสมสารสกัดจากกากกาแฟ (CPE) ที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และอนุมูลอิสระ โดยทำการศึกษาฟิล์มไคโตซานที่ผสม CPE 0, 0.5, 0.75 และ 1 % (w/v) โดยพบว่าค่า WSI ของฟิล์มไคโตซานลดลงเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของ CPE ทั้งนี้เนื่องจากไคโตซานอาจเกิดอันตรกิริยากับสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ใน PPE โดยอาจเกิดการจับกันระหว่างหมู่ที่ขบอบน้ำ ส่งผลให้คุณสมบัติความขบอบน้ำของฟิล์มลดลง (Jaisan & Punbusayakul, 2016; Mangmee & Homthawornchoo, 2016)

### 3.3.4 อัตราการซึมผ่านน้ำของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดปริมาณต่าง ๆ กัน

จากการทดสอบอัตราการซึมผ่านน้ำ (WVP) ของฟิล์มไคโตซานที่มีความเข้มข้นของ PPE 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 % (w/v) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ PPE เพิ่มขึ้น ค่า WVP ของฟิล์มไคโตซานจะลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ (Siripatrawan & Harte, 2010) ซึ่งทำการศึกษาพัฒนาฟิล์มไคโตซานผสมสารสกัดจากชาเขียว (GTE) โดยศึกษาผลของความเข้มข้นของ GTE 0 2, 5, 10 และ 20% (w/v) ในสารละลายฟิล์มต่อคุณสมบัติของฟิล์ม พบว่าค่า WVP ของฟิล์มไคโตซานจะลดลงเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของ GTE ทั้งนี้อาจเนื่องจากกลไกเดียวกันกับผลของค่า WSI โดยหมู่ที่ขบอบน้ำของไคโตซานกับหมู่ที่ขบอบน้ำของสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ใน PPE เกิดการจับกันด้วยพันธะบางอย่าง เช่น ไฮโดรเจน หรือโควาเลนต์ จึงส่งผลให้คุณสมบัติความขบอบน้ำของฟิล์มลดลงและส่งผลให้ฟิล์มมีความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของน้ำได้มากขึ้น (Mangmee & Homthawornchoo, 2016; Siripatrawan & Harte, 2010)

ตารางที่ 3-5 สมบัติทางเคมีกายภาพของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรดที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน

| ความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด (กรัมต่อลิลิตร) | WSI (%) <sup>*ns</sup> | WVP (g.m/m <sup>2</sup> .day.atm) |
|---|------------------------|-----------------------------------|
| 0.0   | 39.7583±2.6678         | 0.0272±0.0002 <sup>a</sup>        |
| 0.5   | 45.0786±3.7567         | 0.0261±0.0009 <sup>ab</sup>       |
| 1.0   | 40.3869±2.5524         | 0.0234±0.0003 <sup>bc</sup>       |
| 1.5   | 38.9866±1.7254         | 0.0251±0.0003 <sup>ab</sup>       |
| 2.0   | 40.3395±1.6036         | 0.0205±0.0021 <sup>c</sup>        |

หมายเหตุ : <sup>ab</sup> แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น ( $p < 0.05$ ) ในคอลัมน์

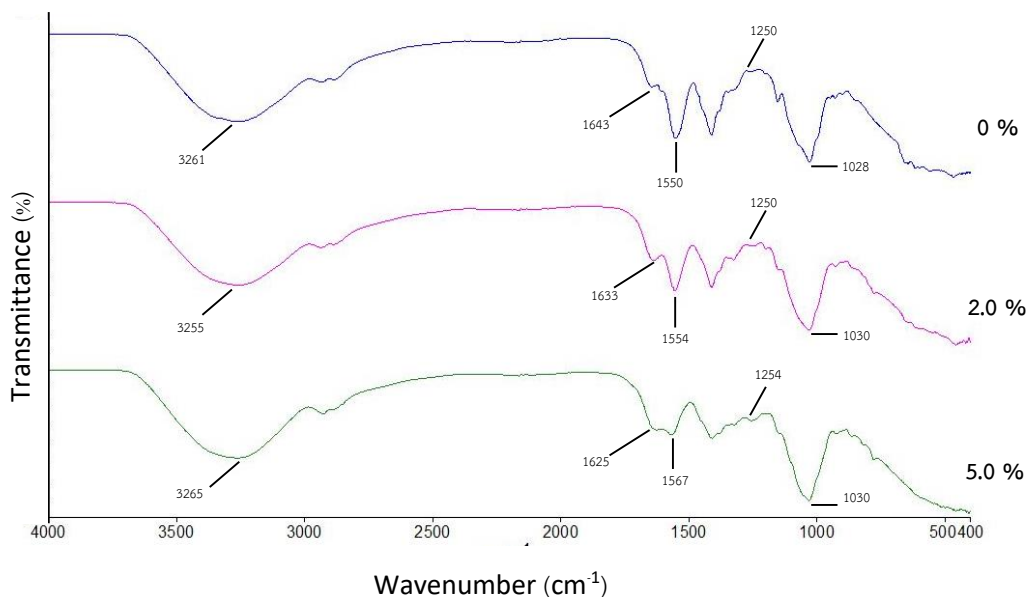
<sup>\*ns</sup> หมายถึง แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

WSI: Water soluble index

WVP: Water vapor permeability

### 3.3.5 โครงสร้างทางเคมีของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดปริมาณต่างๆ กัน

จากการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของฟิล์มด้วยเครื่อง Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) ของฟิล์มไคโตซานที่มีความเข้มข้นของ PPE 0 2.0 และ 5.0 กรัมต่อสารละลายฟิล์ม จากภาพที่ 3-3 จะปรากฏแถบที่ช่วง wave number ประมาณ 3000 - 3500  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงถึง  $\text{NH}_2$  (stretching) และ OH (stretching) ของโครงสร้างไคโตซาน พบพีกที่ 1643  $\text{cm}^{-1}$  ของ amide I 1550  $\text{cm}^{-1}$  ของ amide II และ 1028  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงถึง C-O (stretching) และเมื่อพิจารณาที่ฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรดจะพบพีกที่ตำแหน่งเดียวกันกับฟิล์มไคโตซานควบคุม (0%) แต่พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสัดส่วนมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นที่พีก 1643 1550 1250 และ 1028  $\text{cm}^{-1}$  โดยที่พีก 1643 1250 และ 1028  $\text{cm}^{-1}$  จะมีสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นเมื่อฟิล์มไคโตซานมีสารสกัดเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากที่ตำแหน่งประมาณ 1250 และ 1028  $\text{cm}^{-1}$  เป็นตำแหน่งของ C-O (stretching) ในสารประกอบฟีนอล และที่ตำแหน่งประมาณ 1643 1250 และ 1028  $\text{cm}^{-1}$  เป็นตัวบ่งบอกถึงการมีอยู่ของฟาวโนยด์ (Wijayati, Rini, & Supartono) ซึ่งเป็นสารสำคัญที่มีอยู่ใน PPE ดังนั้นเมื่อฟิล์มไคโตซานมีปริมาณ PPE เพิ่มขึ้น สัดส่วนของพีกดังกล่าวจึงเพิ่มขึ้นด้วย และนอกจากนี้ยังพบว่าที่ตำแหน่งประมาณ 1550 มีสัดส่วนที่ลดลงเมื่อฟิล์มไคโตซานมีสารสกัดเพิ่มขึ้น ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Kaya et al. (2018) ที่ทำวิเคราะห์องค์ประกอบของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจาก ลำต้น ใบ และเมล็ดของ Pistacia terebinthus ที่พบว่าพีกที่ตำแหน่งประมาณ 1532 1322 และ 1204 ของฟิล์มที่มีสารสกัดใบของ Pistacia terebinthus เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มไคโตซานควบคุมเนื่องจากการเกิดอันตรกิริยากันระหว่างโมเลกุลของสารสกัดจากใบ Pistacia terebinthus และเมทริกซ์ฟิล์ม



ภาพที่ 3-4 FT-IR spectra ของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรดในปริมาณต่าง ๆ กัน

### 3.3.6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดปริมาณต่าง ๆ กัน โดยวิธี DPPH assay

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH assay หรือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยากันระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับอนุมูลอิสระโดยสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษาจะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลดีพีพีเอช ทำให้อนุมูลอิสระดีพีพีเอชที่มีสีม่วงกลายเป็นสีเหลืองจากนั้นจึงนำไปวัดค่าดูดการกลืนแสง โดยจากตารางที่ 3-6 พบว่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (scavenging activity) เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณ PPE เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Jaisan & Punbusayakul (2016) ซึ่งทำการศึกษการพัฒนาฟิล์มไคโตซานผสมสารสกัดจากกากกาแฟ (CPE) โดยรายงานว่าการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของฟิล์มไคโตซานเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของ CPE เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากใน PPE อุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิกที่หลากหลาย เช่น ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยทำหน้าที่เป็นตัวรับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช และเปลี่ยนสีของดีพีพีเอชที่มีสีม่วงให้กลายเป็นสีเหลือง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มปริมาณ PPE มีผลทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของฟิล์มไคโตซานเพิ่มขึ้น (Genskowsky et al., 2015)

### 3.3.7 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดปริมาณต่าง ๆ กัน โดยวิธี FRAP assay

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี FRAP assay ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยอาศัยความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ ซึ่งมีสีน้ำเงิน โดยจากตารางที่ 3-6 พบว่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของฟิล์มไคโตซานจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PPE ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Genskowsky et al. (2015) โดยศึกษาผลของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดมากีเบอร์รี่ (MB) ต่อฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบางสายพันธุ์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัด MB 0.5 และ 1 % (w/v) ด้วยวิธี FRAP assay พบว่าฟิล์มไคโตซานมี

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ MB ทั้งนี้เนื่องจากเหตุผลเดียวกันกับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay โดยใน PPE อุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยมีกลไกที่หลากหลาย เช่น ทำหน้าที่เป็นตัวรับอนุมูลอิสระและยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ในการจับกับไอออนของโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Li et al., 2014)

ตารางที่ 3-6 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในฟิล์มโคโตะซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในปริมาณต่างๆ กัน

| ความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด (กรัมต่อมิลลิลิตร) | ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity (%)) | ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ FRAP (g FE/g sample) |
|--|--|--|
| 0.0  | 8.80±0.91 <sup>b</sup>                                 | 18.66±4.33 <sup>e</sup>                      |
| 0.5  | 8.80±0.39 <sup>b</sup>                                 | 77.63±2.17 <sup>d</sup>                      |
| 1.0  | 8.72±1.50 <sup>b</sup>                                 | 115.13±3.23 <sup>c</sup>                     |
| 1.5  | 12.91±1.56 <sup>a</sup>                                | 159.89±4.42 <sup>b</sup>                     |
| 2.0  | 13.47±1.13 <sup>a</sup>                                | 232.80±0.32 <sup>a</sup>                     |

หมายเหตุ : <sup>ab</sup> แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น (p<0.05) ในคอลัมน์

#### 4. สรุปผลการทดลอง (Conclusion)

การทดลองที่ 1 จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่า สารละลายโคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดทุกความเข้มข้น (0 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 5.0% (w/v)) สามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ อย่างไรก็ตามไม่พบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มของฟิล์มโคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดปริมาณต่าง ๆ กัน เมื่อทดสอบโดยวิธีการแพร่ แต่พบว่าฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของฟิล์มโคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดมากขึ้นเมื่อปริมาณของสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในฟิล์มเพิ่มขึ้น เมื่อทดสอบโดยวิธี JIS โดยฟิล์มที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีที่สุด คือ ฟิล์มที่มีความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกสับปะรด 5.0 % (w/v) อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าฟิล์มโคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรด 5.0 % จะสามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ แต่ฟิล์มมีลักษณะเหนียว และหดรัดตัว ไม่สามารถนำไปใช้สำหรับการวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มด้านอื่น ๆ ได้ ดังนั้นจึงเลือกฟิล์มที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรด 2.0 % (w/v) ไปทำการศึกษาสมบัติของฟิล์มในการทดลองที่ 2 ต่อไป

การทดลองที่ 2 เมื่อทดสอบสมบัติของฟิล์ม พบว่า ฟิล์มโคโตซานที่มีสารสกัดทุกความเข้มข้นมีความหนาแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดยมีความหนาอยู่ระหว่าง 0.0716-0.0800 โดยสมบัติทางกลของฟิล์ม ได้แก่ ค่าการต้านแรงดึง การยืดตัว ณ จุดขาด ค่าการละลายน้ำของฟิล์ม และค่าการซึมผ่านของไอน้ำอยู่ในช่วง 0.058-0.115 (MPa) 105.33-115.91 (%) 38.9866-45.0786 (%) 0.0205-0.0272 (g.m/m<sup>2</sup>.day.atm) ตามลำดับ โดยมีแนวโน้มลดลง เมื่อปริมาณสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในฟิล์มเพิ่มขึ้น และจากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของฟิล์มโคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรดพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH scavenging activity) และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดจากเปลือกสับปะรดในฟิล์มเพิ่มขึ้น

จากผลการทดลองดังกล่าว จึงสามารถสรุปได้ว่าฟิล์มโคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือกสับปะรดมีศักยภาพในการเป็นฟิล์มต้านจุลินทรีย์และสามารถเป็นทางเลือกสำหรับใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ต้านจุลินทรีย์สำหรับอุตสาหกรรมอาหารได้



## เอกสารอ้างอิง

- Arsyada, I., Rianti, D., & Munadzirroh, E. (2018). Antibacterial activity of mixed pineapple peel (*Ananas comosus*) extract and calcium hydroxide paste against *Enterococcus faecalis*. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 51(1), 20-24.
- Asaolu, O., Rachael, T., & Oyeniyi. (2016). Assessment of feeding value of vegetable-carried pineapple fruit wastes to Red Sokoto goats in Ogbomoso, Oyo State of Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 15, 1648-1660.
- ASTM. (1995). *Standard test methods for water vapor transmission of material*, E 96-95. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Material.
- Baldwin, E. A., Nisperos-Carriedo, M., Shaw, P. E., & Burns, J. K. (1995). Effect of Coatings and Prolonged Storage Conditions on Fresh Orange Flavor Volatiles, Degrees Brix, and Ascorbic Acid Levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(5), 1321-1331.
- Banerjee, S., Ranganathan, V., Patti, A., & Arora, A. (2018). Valorisation of pineapple wastes for food and therapeutic applications. *Trends in Food Science & Technology*, 82, 60-70.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Bourtoom, T. (2008). Edible films and coatings: Characteristics and properties. *International Food Research Journal*, 15(3), 237-248.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Cockerill, F. R., Wikler, M., Bush, K., Dudley, M., Eliopoulos, G., & Hardy, D. (2012). Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twentysecond informational supplement; [... provides updated tables for... M02-A11 and M07-A9]*.
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 292-303.
- Genskowsky, E., Puente, L. A., Pérez-Álvarez, J. A., Fernandez-Lopez, J., Muñoz, L. A., & Viuda-Martos, M. (2015). Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (*Aristotelia chilensis*). *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 1057-1062.

- Hajinezhad, S., Razavizadeh, B., Niazmand, R., & Ghasemi, I. (2020). Antimicrobial, mechanical, and physicochemical properties of ethylene vinyl alcohol (EVOH) extruded films blended with propolis. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 2020-2032.
- Hamdi, M., Nasri, R., Li, S., & Nasri, M. (2019). Bioactive composite films with chitosan and carotenoproteins extract from blue crab shells: Biological potential and structural, thermal, and mechanical characterization. *Food Hydrocolloids*, 89, 802-812.
- Han, J. H., & Aristippos, G. (2005). 15 - Edible films and coatings: a review. In J. H. Han (Ed.), *Innovations in Food Packaging* (pp. 239-262). London: Academic Press.
- Jaisan, C., & Punbusayakul, N. (2016). Development of Coffee Pulp Extract-Incorporated Chitosan Film and Its Antimicrobial and Antioxidant Activities. *KKU Research Journal*, 21(2), 140-149.
- Kaewprachu, P., & Rawdkuen, S. (2014). Mechanical and physico-chemical properties of biodegradable protein- based films: A comparative study. *Food and Applied Bioscience Journal*, 2(1), 14-29.
- Kaya, M., Khadem, S., Cakmak, Y., Mujtaba, M., İlk, S., Akyüz, L., . . . Deligoz, E. (2018). Antioxidative and antimicrobial edible chitosan films blended with stem, leaf and seed extracts of Pistacia terebinthus for active food packaging. *RSC Advances*, 8, 3941–3950.
- Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 51-63.
- Krochta, J. (2002). *Proteins as Raw Materials for Films and Coatings: Definitions, Current Status, and Opportunities*. Boca Raton: CRC Press.
- Li, T., Shen, P., Liu, W., Liu, C., Liang, R., Yan, N., & Chen, J. (2014). Major polyphenolics in pineapple peels and their antioxidant interactions. *International Journal of Food Properties*, 17, 1805-1817.
- Lieberman, E., & Gilbert, S. (2007). Gas permeation of collagen films as affected by cross-linkage, moisture, and plasticizer content. *Journal of Polymer Science: Polymer Symposia*, 41, 33-43.
- Mangmee, K., & Homthawornchoo, W. (2016). Antioxidant activity and physicochemical properties of rice starchchitosan-based films containing green tea extract. *Food and Applied Bioscience Journal*, 4(3), 126-137.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122(1), 161-166.

- Omorotionmwan, F., Ogwu, H., & Ogwu, M. (2018). Antibacterial Characteristics and Bacteria Composition of Pineapple (*Ananas comosus* [Linn.] Merr.) peel and pulp. *Food and Health*, 5, 1-11.
- Pérez-Gago, M., & Krochta, J. (2001). Lipid Particle Size Effect on Water Vapor Permeability and Mechanical Properties of Whey Protein/Beeswax Emulsion Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 996-1002.
- Pérez-Gago, M., & Krochta, J. M. (2001). Denaturation Time and Temperature Effects on Solubility, Tensile Properties, and Oxygen Permeability of Whey Protein Edible Films. *Journal of Food Science*, 66, 705-710.
- Pérez-Gago, M. B., & Krochta, J. M. (1999). Water Vapor Permeability of Whey Protein Emulsion Films as Affected by pH. *Journal of Food Science*, 64(4), 695-698.
- Pérez-Gago, M. B., & Krochta, J. M. (2005). 22 - Emulsion and bi-layer edible films. In J. H. Han (Ed.), *Innovations in Food Packaging* (pp. 384-402). London: Academic Press.
- Pérez-Gago, M. B., Nadaud, P., & Krochta, J. M. (1999). Water Vapor Permeability, Solubility, and Tensile Properties of Heat-denatured versus Native Whey Protein Films. *Journal of Food Science*, 64(6), 1034-1037.
- Prommakool, A., Sajjaanantakul, T., Janjarasskul, T., & Krochta, J. (2011). Whey protein-okra polysaccharide fraction blend edible films: Tensile properties, water vapor permeability and oxygen permeability. *Journal of the science of food and agriculture*, 91(2), 362-369.
- Punbusayakul, N., Samart, K., & Sudmee, W. (2018). Antimicrobial Activity of Pineapple Peel Extract. In *Paper presented at the Innovation of Functional Foods in Asia (IFFA2018)*. Phayao University.
- Rojas-Graü, M., Avena-Bustillos, R., Friedman, M., Henika, P., Martin-Belloso, O., & McHugh, T. (2006). Mechanical, Barrier, and Antimicrobial Properties of Apple Puree Edible Films Containing Plant Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(24), 9262-9267.
- Romelle, F. D., Rani, P., & Manohar, R. S. (2016). Chemical composition of some selected fruit peels. *European Journal of Food Science and Technology*, 4(4), 12-21.
- Saraswaty, V., Risdian, C., Primadona, I., Andriyani, R., Sri Andayani, D. G., & Mozef, T. (2017). Pineapple peel wastes as a potential source of antioxidant compounds. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 60, 012013.

- Siripatrawan, U., & Harte, B. R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 770-775.
- Sothornvit, R., & Rodsamran, P. (2008). Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3), 407-415.
- Sothornvit, R., & Rodsamran, P. (2010). Mango film coated for fresh cut mango in modified atmosphere packaging. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(8), 1689-1695.
- Suklampoo, L., Thawai, C., Weethong, R., Champathong, W., & Wongwongsee, W. (2014). Antimicrobial Activities of Crude Extracts from Pomelo Peel of Khao-nahm-peung and Khao-paen Varieties. *KMITL-Science and Technology Journal*, 12(1), 55-61.
- Taira, T., Toma, N., Ichi, M., Takeuchi, M., & Ishihara, M. (2005). Tissue Distribution, Synthesis Stage, and Ethylene Induction of Pineapple ( *Ananas comosus* ) Chitinases. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 69(4), 852-854.
- Uma, C., Gomathi, D., Ravikumar, G., Kalaiselvi, M., & Palaniswamy, M. (2012). Production and properties of invertase from a *Cladosporium cladosporioides* in SmF using pomegranate peel waste as substrate. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S605-S611.
- Wijayati, N., Rini, A. R. S., & Supartono. Hand Sanitizer with Pineapple Peel Extract as Antibacterial against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. In *International Conference on Mathematics, Science, and Education 2016 (ICMSE 2016)* C-40.
- Yilmaz Atay, H., & Çelik, E. (2017). Investigations of antibacterial activity of chitosan in the polymeric composite coatings. *Progress in Organic Coatings*, 102, 194-200.
- กรมวิชาการเกษตร. (2560). ยุทธศาสตร์สี่ปี 2560-2569. <http://www.doa.go.th/main/?fbclid=IwAR2t00P8LnJcYtRdNy5zJz3vBKWmjD8VuTheJKLEmbgcLWo2mIhI2RNnG4s>
- จินดา สนิทวงศ์ ณ อยุธยา. (2547). การใช้เศษเหลือและผลพลอยได้จากสับปะรดเป็นอาหารสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง: กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์.
- ธารทิพย์ รัตน์ชะ. (2559). ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสับปะรดและมะละกอ ในการต่อต้านราก่อโรคแอนแทรกโนสในพริก วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 24(3), 456-468.
- ปานมนัส ศิริสมบูรณ์. (2554). เทคโนโลยีเนื้อสัมผัสของผลผลิตเกษตรและอาหาร. กรุงเทพฯ: มีนเซอร์วิส ซัพพลาย.

- เพ็ญทิศา สุขทรัพย์ และอิชยา ยอดยิ่ง. (2560). ฤทธิ์การต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของขนมปังของสารสกัดจากเปลือกสับปะรด. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สมศักดิ์ ภัคดีวารกรณ์. (2544). การผลิตฟิล์มที่รับประทานได้จากแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลัง. . วิทยานิพนธ์ (วท.ม.(วิทยาศาสตร์การอาหาร)) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สุทธาสินี บุญคง. (2559). ผลของอุณหภูมิ ภาชนะบรรจุและสภาวะการเก็บรักษาต่อคุณภาพผักซีเพื่อการส่งออก. วิทยานิพนธ์ (วท.ม. (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร)), มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก  
การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

## การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

### 1. Muller Hinton Agar (MHA)

#### สารเคมี

1. Muller Hinton Broth
2. Agar
3. น้ำกลั่น

#### วิธีเตรียม

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB 21 กรัม ผสมกับผงวุ้น 15 กรัม เติมน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนแล้วคนให้เข้ากันจนอาหารใส จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทลงบนจานเพาะเชื้อให้มีอาหารเลี้ยงเชื้อ (MHA) ประมาณ 20 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจนอาหารแข็ง

### 2. Muller Hinton Broth (MHB)

#### สารเคมี

1. Muller Hinton Broth
2. น้ำกลั่น

#### วิธีเตรียม

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB 21 กรัม เติมน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนแล้วคนให้เข้ากันจนอาหารใส จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

### 3. วิธีการเตรียม McFarland Standard

#### สารเคมี

1. แบเรียมคลอไรด์ ( $BaCl_2$ )
2. กรดซัลฟิวริก ( $H_2SO_4$ )
3. น้ำกลั่น

#### การเตรียมสาร

1. กรดซัลฟิวริก ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร ( $H_2SO_4$ )

เตรียมโดยการเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรโดยใช้น้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เก็บในขวดแก้วที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สามารถเก็บไว้ได้นาน 1 ปี

2. แบเรียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.175 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ( $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ )

เตรียมโดยการชั่งแบเรียมคลอไรด์ 1.175 กรัม ปรับปริมาตรโดยใช้น้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เก็บในขวดแก้วที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สามารถเก็บไว้ได้นาน 1 ปี



## การเตรียมมาตรฐาน McFarland

| McFarland standard<br>No. | Vol. (ml)  |                                     | Approx. cell<br>density ( $1 \times 10^8$<br>CFU/ml) |
|---------------------------|--|-------------------------------------|--|
|                           | BaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O<br>(1.175%) | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%) |  |
| 0.5                       | 0.5  | 99.5                                | 1.5  |
| 1                         | 1.0  | 99.0                                | 3  |
| 2                         | 2.0  | 98.0                                | 6  |
| 3                         | 3.0  | 97.0                                | 9  |
| 4                         | 4.0  | 96.0                                | 12   |

ภาคผนวก ข  
การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพและทางเคมี

### การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay

#### เครื่องมืออุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว เช่น ขวดปรับปริมาตร บีกเกอร์ หลอดทดลอง เป็นต้น
2. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

#### สารเคมี

- 1) กรดแกลลิก (Gallic acid)
- 2) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
- 3) เมทานอล (Methanol)

#### การเตรียมสารละลาย

การเตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

ชั่ง DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ) 0.0024 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าให้เข้ากัน เก็บไว้ในที่มืด (เตรียมใหม่ทุกครั้งเมื่อทำการทดลอง)

### การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี FRAP assay

#### เครื่องมืออุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว เช่น ขวดปรับปริมาตร บีกเกอร์ หลอดทดลอง เป็นต้น
2. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

#### สารเคมี

1. โซเดียมอะซีเตท กรดอะซีติก สำหรับอะซีเตทบัฟเฟอร์
2. กรดไฮโดรคลอริก
3. สารมาตรฐาน TPTZ
4. สารละลายเฟอริกคลอไรด์

#### การเตรียมสารเคมี

1. กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลลาร์

เตรียมโดยการนำกรดไฮโดรคลอริก 0.33 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. สารมาตรฐาน TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลลาร์

เตรียมโดยการชั่งสารมาตรฐาน TPTZ 0.3123 กรัม ปรับปริมาตรด้วยกรดไฮโดรคลอริกในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3. สารละลายเฟอริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลลาร์

เตรียมโดยการชั่งเฟอริกคลอไรด์ 0.5406 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4. อะซีเตทบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลลาร์

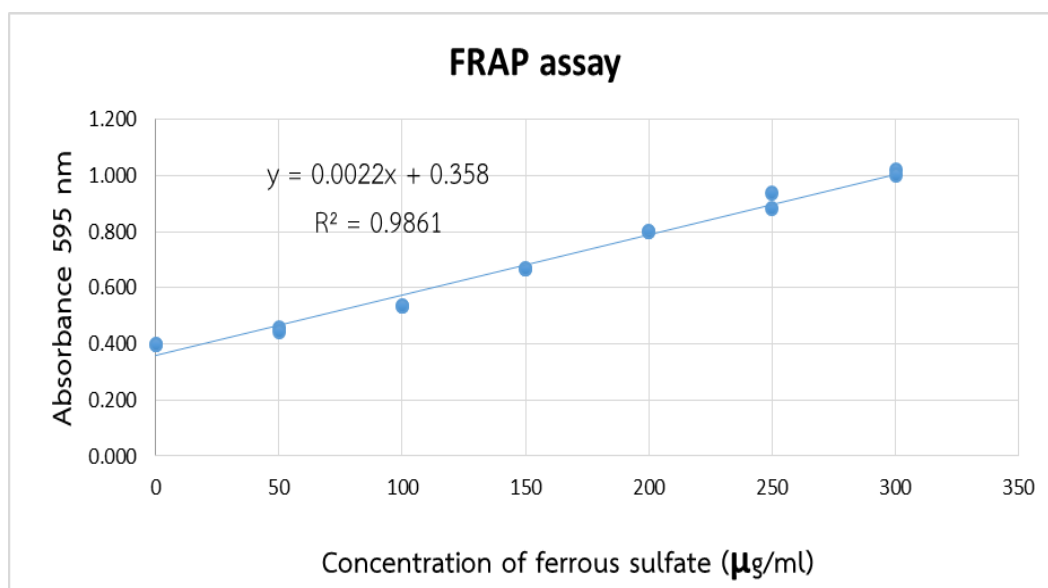
เตรียมโดยการชั่งโซเดียมอะซีเตท 3.1 กรัม ผสมกับกรดอะซีติก 16 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

5. เฟอร์รัสซัลเฟต ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลลาร์

เตรียมโดยการชั่งสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต 0.0139 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร

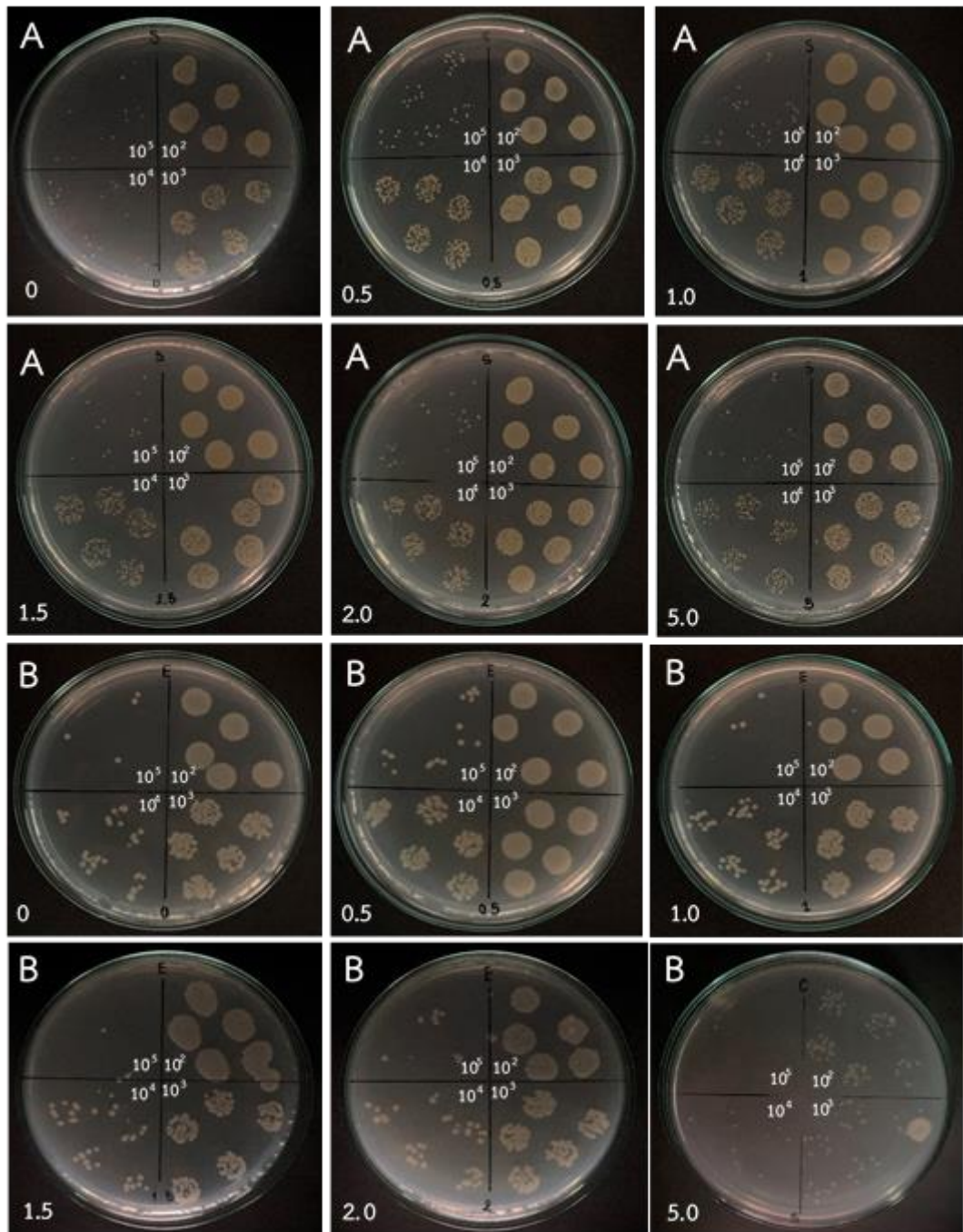
การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ผสมสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ (acetate buffer pH 3.6) สารมาตรฐาน ferric tripyridyltriazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในตัวทำละลายกรดไฮดรอกลอลิกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และเฟอริกคลอไรด์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ อัตราส่วน 10:1:1 (FRAP reagent)
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตที่ปริมาตร 0 500 1000 1500 2000 2500 และ 3000  $\mu\text{l}$  ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร 10 ml จะได้ความเข้มข้นเป็น 0 50 100 150 200 250 และ 300  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ
3. นำสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ อย่างละ 0.2 มิลลิลิตร ผสมกับ FRAP reagent ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร นาไปป่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
4. จากนั้นนาไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่องตรวจวัดสารด้วยการดูดกลืนแสง (UV-vis spectrophotometer) โดยใช้น้ำกลั่นเป็น Blank



ภาพผนวก ข-1 กราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟตความเข้มข้น 0- 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ภาคผนวก ค  
ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์



ภาคผนวก ค-1 จำนวนแบคทีเรียที่เหลือหลังจากทดสอบกับฟิล์มโคโตซานที่มีสารสกัดจากเปลือก สับปะรดที่ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 5.0 โดย A) *Staphylococcus aureus* B) *Escherichia coli*

ภาคผนวก ง  
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางผนวก ง-1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* TISTR2329 ด้วยวิธี JIS Z 2801, 2000

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|
| treat  | 5  | 473.4  | 94.67  | 0.32    | 0.887   |
| Error  | 6  | 1801.9 | 300.31 |         |         |
| Total  | 11 | 2275.2 |        |         |         |

ตารางผนวก ง-2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* TISTR2329 ด้วยวิธี JIS Z 2801, 2000

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|
| treat  | 5  | 139.7  | 27.95  | 1.23    | 0.397   |
| Error  | 6  | 135.8  | 22.64  |         |         |
| Total  | 11 | 275.6  |        |         |         |

ตารางผนวก ง-3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนาของฟิล์มโคโตซานที่มีสารสกัดเปลือก สับปะรด

| Source | DF | Adj SS   | Adj MS   | F-Value | P-Value |
|--------|----|----------|----------|---------|---------|
| treat  | 4  | 0.000287 | 0.000072 | 0.55    | 0.698   |
| Error  | 25 | 0.003233 | 0.000129 |         |         |
| Total  | 29 | 0.003520 |          |         |         |

ตารางผนวก ง-4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความต้านทานแรงดึงของฟิล์มโคโตซานที่มีสาร สกัดเปลือกสับปะรด

| Source | DF | Adj SS  | Adj MS   | F-Value | P-Value |
|--------|----|---------|----------|---------|---------|
| treat  | 4  | 0.01553 | 0.003882 | 6.15    | 0.001   |
| Error  | 30 | 0.01894 | 0.000631 |         |         |
| Total  | 34 | 0.03447 |          |         |         |



ตารางผนวก ง-5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการยึดตัวเมื่อขาดของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรด

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|
| treat  | 4  | 649.4  | 162.35 | 7.24    | 0.000   |
| Error  | 30 | 672.9  | 22.43  |         |         |
| Total  | 34 | 1322.3 |        |         |         |

ตารางผนวก ง-6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรด

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|
| treat  | 4  | 69.01  | 17.252 | 2.59    | 0.101   |
| Error  | 10 | 66.59  | 6.659  |         |         |
| Total  | 14 | 135.59 |        |         |         |

ตารางผนวก ง-7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการซึมผ่านน้ำของฟิล์มไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกสับปะรด

| Source | DF | Adj SS   | Adj MS   | F-Value | P-Value |
|--------|----|----------|----------|---------|---------|
| treat  | 4  | 0.000082 | 0.000020 | 18.05   | 0.000   |
| Error  | 10 | 0.000011 | 0.000001 |         |         |
| Total  | 14 | 0.000093 |          |         |         |

ตารางผนวก ง-8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH assay (scavenging activity)

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|
| treat  | 4  | 70.54  | 17.636 | 12.70   | 0.001   |
| Error  | 10 | 13.88  | 1.388  |         |         |
| Total  | 14 | 84.43  |        |         |         |

ตารางผนวก ง-9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ FRAP assay (g FE/g sample)

| Source | DF | Adj SS  | Adj MS  | F-Value | P-Value |
|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| treat  | 4  | 79198.0 | 19799.5 | 1849.99 | 0.000   |
| Error  | 10 | 107.0   | 10.7    |         |         |
| Total  | 14 | 79305.0 |         |         |         |

## ประวัตินักวิจัยและคณะ

### หัวหน้าโครงการวิจัย

|                       |   |
|-----------------------|---|
| ชื่อ-นามสกุล (ไทย)    | นางสาวนิรมล ปัญญบุศยกุล   |
| ชื่อ-นามสกุล (อังกฤษ) | Ms. Niramol Punbusayakul  |
| ตำแหน่งปัจจุบัน       | อาจารย์ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา  |
| ที่อยู่ปัจจุบัน       | ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ๑๖๙ ถนนลงหาดบางแสน ตำบลแสนสุข อำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี ๒๐๑๓๑ |

### ประวัติการศึกษา

| ปี พ.ศ.ที่จบ | คุณวุฒิ | สาขาวิชา            | สถานศึกษา                                      |
|--------------|---------|---------------------|--|
| ๒๕๕๐         | ปร.ด.   | เทคโนโลยีชีวภาพ     | มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี          |
| ๒๕๓๙         | วท.ม.   | วิทยาศาสตร์การอาหาร | สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง |
| ๒๕๓๖         | วท.บ.   | เทคโนโลยีชีวภาพ     | สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง |

### ประวัติการทำงาน / ผลงาน

| ปี พ.ศ.                            | ตำแหน่ง  | สถานที่ทำงาน   |
|------------------------------------|--|--|
| ๑ กุมภาพันธ์ ๒๕๕๙-ปัจจุบัน         | ผู้ช่วยศาสตราจารย์                               | ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา |
| ๑๑ มิถุนายน ๒๕๕๕- ๓๑ มกราคม ๒๕๕๙   | ผู้ช่วยศาสตราจารย์                               | สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง             |
| ๑๖ มิถุนายน ๒๕๔๓- ๑๐ มิถุนายน ๒๕๕๕ | อาจารย์  | สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง             |
| ๑ กรกฎาคม ๒๕๓๙- ๑๕ มิถุนายน ๒๕๔๓   | อาจารย์  | สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย         |
| ๒๕๕๓- มกราคม ๒๕๕๙                  | กรรมการสภาวิชาการ                                | มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง                                      |
| ๒๕๕๓- ๒๕๕๗                         | คณะกรรมการประจำสำนักวิชาสำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร |  |

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

- ๒๕๕๑- มกราคม ๒๕๕๙    ประธานหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต และกรรมการหลักสูตร  
 ดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
- ๒๕๕๑                            หัวหน้าฝ่ายวิเทศสัมพันธ์ สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัย  
 แม่ฟ้าหลวง
- ๒๕๕๑- ๒๕๕๓                    ผู้ช่วยหัวหน้าสาขาวิชาวิทยาศาสตรการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์  
 มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย

### ผลงานทางวิชาการ

#### Book Chapter:

Rawdkuen, S., **Punbusayakul, N.** & Lee, D.S. (2016). Antimicrobial packaging for meat products. In Barrow-Velazquez, J. (Ed.). *Antimicrobial food packaging*. (pp. 229-241). San Diego: Academic Press.

#### International Journal:

**Punbusayakul, N.** 2018. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Wines from Different Currant Cultivars. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*. 22(1): 27-30.

Jaisan, C., Chase, S., **Punbusayakul, N.** 2015. Antioxidant and antimicrobial activities of various solvents extracts of Arabica coffee pulp. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*. 19(5): 224-227.

Jaisan, C., Ketwal, S., Chumchaitrakul, P., **Punbusayakul, N.** 2015. Antimicrobial and antioxidant activities of hot water extracts from fermented tea and coffee pulp extract. *International Journal of Tea Science*. 11(1&2): 19-23.

Kristanti, R.A., Hadibarata, T., **Punbusayakul, N.** 2014. Beneficial effects of commercial Assam green tea infusion on the microbial growth and oxidative stability of cooked beef. *International Food Research Journal* 21(4): 1313-1320.

**Punbusayakul, N.**, Talapatra, S. Ajayan, PM. Surareungchai, W. 2013. Label-free as-grown double wall carbon nanotubes bundles for *Salmonella typhimurium* immunoassay. *Chemistry Central Journal*, 7:102.

**Punbusayakul, N.** 2012. Carbon nanotubes architectures in electroanalysis. *Procedia Engineering*. 32: 683-689.

Kristanti, R.A., **Punbusayakul, N.** 2009. Inhibitory effect of commercial Assam green tea infusion in watermelon juice. *J. Food & Ag-Ind. Special issue*: S249-255.

Kristanti, R.A., **Punbusayakul, N.** 2009. Antioxidant and antimicrobial activity of commercial green tea in Chiang Rai. *Acta Horticulture (ISHS)* 837:53-58

**Punbusayakul, N.**, Talapatra, S., Ci, L., Surareungchai, W, Ajayan, P.M. 2007. Double walled carbon nanotube electrodes for electrochemical sensing, *Electrochem. Solid-State Letter* 10: F13-F17. (impact factor : 2.009)

**Punbusayakul, N.**, Ci, L., Talapatra, S., Surareungchai, W., Ajayan, P.M. 2007. Ultralong aligned multi-walled carbon nanotube microelectrodes for electrochemical sensing. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 8: 1-6 (impact factor : 2.194)

Ci, L., Wei, N., **Punbusayakul, N.**, Vajtai, R., Talapatra, S., Ajayan, PM. 2007. Multifunctional macro architectures of double-walled carbon nanotube fibers. *Adv. Mat.* 19: 1719 – 1723.

Thanaboripat, D., Prem Sri, T., **Punbusayakul, N.**, Sukcharoen, O. 1996. Effect of food preservatives on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* in liquid medium. *ASEAN Food Journal*. 11(2) 61-64pp.

#### **Thai Journal:**

**Punbusayakul, N.\***, Banterngsook, K., Padthong, S. (2018). Antimicrobial activity of soybean residue extract. *Agricultural Science Journal*, 49 (2) (Supplement): 153-156. (in Thai)

Limungkoon, K., Duanghom, V., **Punbusayakul, N.\*** (2017) Effect of drying temperature on antioxidant and antimicrobial activities of coffee pulp extract. *The Journal of Applied Science*. 16 (Special issue): 55-60.

Jaisan, C., & **Punbusayakul, N.\*** (2016). Development of coffee pulp extract-incorporated chitosan film and its antimicrobial and antioxidant activities. *KKU Research Journal*, 21(14), 140-149.

- Ploypradub, C., Cheamsuphakit, B., **Punbusayakul, N.\*** 2010. Antioxidant properties of different parts of Arabica coffee berry and spent coffee ground. *Agricultural Science Journal* 41(3/1)(Suppl.): 577-580. (in Thai)
- Wati, R., Sampanvejsobha, S., **Punbusayakul N.\*** 2009. Effect of extraction conditions on assam green tea. *Agricultural Science Journal* 40:1 (Suppl.): 47-50
- Punbusayakul, N.\*** (2000). Use of defatted soy flour for partially replacing of wheat flour in butter cakes. *UTCC*, 20(1): 22-29. (in Thai)
- Punbusayakul, N.\*** (1999). Use of defatted soy flour for partially replacing of wheat flour in cookies. *UTCC*, 19(4): 3-9. (in Thai)
- Punbusayakul, N.\*** (1999). Utilization of defatted soy flour for partial replacing of wheat flour in chiffon cake. *Food*. 29(3): 180-186p. (in Thai)
- Punbusayakul, N.\*** (1999). HACCP and Hurdle technology. *Food*, 29(4): 299-302. (in Thai)
- Punbusayakul, N.\*** (1999). Waste as protein source. *UTCC*, 19(1): 8-15. (in Thai)
- Punbusayakul, N.\*** (1998). Fruit and vegetable pigments. *UTCC*, 18(2): 6-14. (in Thai)
- Conference Proceedings & Abstract:**
- Punbusayakul, N.\*** Samart, K., & Sudmee, W., (2017). Antimicrobial activity of pineapple peel extract. In. *Proceedings of Innovation of Functional Foods in Asia (IFFA) Functional Foods: Trends in Research and Markets, Jan 22-24, 2017, Phayao, Thailand*, p. 141-149.
- Banterngsook, K., Padthong, S., & **Punbusayakul, N.\*** (2017). Effect of temperature and solvent on antioxidant activity of soybean residue extract. In. *Proceedings of The 9th Science Research Conference, May 25-26, 2017, Chonburi, Thailand*, p. BI379-BI384.
- Sudmee, W., Samart, K., & **Punbusayakul, N.\*** (2017). Effect of temperature and solvent on antioxidant activity of pineapple peel extract. In. *Proceedings of The 9th Science Research Conference, May 25-26, 2017, Chonburi, Thailand*, p. BI379-BI384.
- Raudhah, Kusnandar, F., **Punbusayakul, N.**, & Konsue, N.\* (2016). Development of macroencapsulated probiotic and prebiotic fortified pineapple yogurt. In

Proceedings of The 18th Food Innovation Asia Conference 2016 (FIAC 2016), Bangkok, Thailand, p. 458-466.

**Punbusayakul, N.\***, Seta, S. 2015. Effect of drying methods on bioactive compounds and antioxidant of Arabica coffee. Proceedings, 1<sup>st</sup> Joint ACS AGFD-ACS ICSCS Symposium on Agricultural and Food Chemistry, March 4-5, Montien Riverside Hotel, Bangkok, Thailand, p162-167.

Aprilia, A.A., Jaisan, C., **Punbusayakul, N.\***, Seta, S. 2014. Antimicrobial and antioxidant activities of microwave-assisted extracts from coffee ground residue. Proceedings, 1<sup>st</sup> Joint ACS AGFD-ACS ICSCS Symposium on Agricultural and Food Chemistry, March 4-5, Montien Riverside Hotel, Bangkok, Thailand, p292-198.

**Punbusayakul, N.\***, Naradisorn M. 2012. The Trial of Implementation of Problem-Based Learning to a Freshmen In Agro-Industry School, Mae Fah Luang University Telecommunication, Technology and Problem Based-Learning International Conference (TT-PBL), March 5-7, 2012, Wanasom Wellness and Aesthetic Resort, Mae Fah Luang University, Chiang Rai Thailand. Abstract.

Sarnkhunkeaw, W., Theppakorn, T., **Punbusayakul, N.\***. 2012. Effect of extraction method to the antimicrobial activity of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) In Chiang Rai Province. Proceedings, Pure and Applied Chemistry International Conference 2012 (PACCON2012), January 11-13, 2012, The Empress Hotels Chiang Mai, Chiang Mai, Thailand. p783-785.

Sarnkhunkeaw, W., **Punbusayakul, N.\***. 2012. Effect of extraction method on the antioxidant activity of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba*), Zimi Cultivar, In Chiang Rai Province. Abstract, 9th National Conference on Postharvest Technology (9th NPHT), June 23-24, 2011, Pattaya Park Beach Resort, Chonburi, Thailand.

**Punbusayakul, N.\***, and Surareungchai, W. 2010. Electrochemical sensing properties characterization of as-grown carbon nanotubes, Proceedings, Pure and Applied Chemistry International Conference 2010 (PACCON 2010), January 21-23, 2010, Sunee Grand Hotel and Convention Center, Ubon Ratchathani, Thailand, p615-618.

Paiyarach, D., **Punbusayakul, N.\*** Nutritional quality and a prospected functional food ingredient of thai lotus (*Nelumbo nucifera*) seed. Proceedings, Annual

Conference 47<sup>th</sup>, March 17-20, 2009 at Kasetsart University, , Bangkok, Thailand. p671-679.

Kristanti, R.A., Sampanvejsobha, S., **Punbusayakul N.**, Susceptibility testing of commercial green tea in Chiang Rai against pathogenic bacteria. Proceedings Tea International Conference on Tea Production and Tea Products, November 26-28, 2008 at Mae Fah Luang University, Chiang Rai, Thailand p137-144.

**Punbusayakul, N.\***, Talapatra, S., Ci, L., Surareungchai, W., Ajayan, P.M., 2007, Comparison of edge plane pyrolytic graphite and novel carbon nanotubes architectures electrochemical properties. Proceedings, German-Thai Symposium in Nanoscience and Nanotechnology, September 8-11, Bangsaen Beach, Chonburi, Thailand. p38-42.

**Punbusayakul, N.\***, Ci, L., Talapatra, S., Surareungchai, W., Ajayan, P.M. 2006. Electrochemical sensing properties of ultra long aligned multi-walled carbon nanotube microelectrodes, Proceedings, MRS Symposium, November 27 - December 1, 2006, Boston, Massachusetts USA, 2007; p963: Article No. 0963-Q21-05.

**Punbusayakul, N.\***, Talapatra, S., Ci, L., Surareungchai, W., Ajayan, P.M. 2006. Electrochemical properties of macro architectures of carbon nanotube electrodes. Proceedings, The 209th Electrochemical Society International Conference 2006: May 7-11, Denver, Colorado USA.

Phensajjai, M., Apntanapong, M. Premsri, T. and **Punbusayakul, N.** 1999. Reduction of cadmium by *Bacillus megatherium*, *Proteus vulgaris* and *Zoogloea ramigera*. In CD-ROM The 5th Asia-pacific Biochemical Engineering Conference 1999 and the 11th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology, 15-18 November 1999 Arcadia Hotel & Resort, Phuket, Thailand.

**Punbusayakul, N.\*** 1999. Smoking Charcoal Production from Flavored Source Manufacturing Waste. Proceedings, 10<sup>th</sup> World Congress of Food Science and Technology, 3-8 October 1999, Sydney, Australia. p80.

**Punbusayakul, N.\*** and Rattanatharathorn, W. 1999. Production of Scented Coconut (*Cocos mucifera* Linn.) Juice Wine. Proceedings, The 30<sup>th</sup> Year Kaset Chaokhun, 24-25 June 1999, KMITL, Bangkok, Thailand. p399-467 (in Thai)



Apintanapong, M., **Punbusayakul, N.** and Phensajjai, M. 1997. Reduction of Xylitol from D-xylose by *Candida guilliermondii* NCYC and *Candida tropicalis* ATCC 9968. Proceedings, The 23<sup>rd</sup> Congress on Science and Technology of Thailand, 20-22 October 1997, The Lotus Hotel Pang Suan Kaew, Chiang Mai, Thailand. p614-615.