



รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

การผลิตนวัตกรรมกระดาษต้านเชื้อราผ่านกระบวนการเคลือบผิว
ด้วยสารสกัดเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้สู่ความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์

Production of innovative antifungal paper through
coating process with Nam Dok Mai mango peel extract
to commercial feasibility

รหัสโครงการ 4709156

โดย

ปิยะพงษ์ ปานแก้ว
กัลทิมา เชาว์ชาญชัยกุล
เจริญพร โชคบริบาล

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

เดือน กันยายน พ.ศ. 2568

งบประมาณสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2567

จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการสกัดสารออกฤทธิ์จากเปลือกและเมล็ดมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยตัวทำละลายที่มีสมบัติแตกต่างกัน (เฮกเซน, เอทิลอะซิเตตและ เอทานอล) และนำไปผสมร่วมกับไตรเมทิลซิลิลเซลลูโลส (TMSC) เพื่อพัฒนาเป็นนวัตกรรมวัสดุเคลือบกระดาษต้านเชื้อรา จากผลการทดลองสรุปว่าสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายมีขี้ (เอทานอล และ เอทิลอะซิเตต) มีประสิทธิภาพสูงด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และให้ปริมาณสารฟีนอลิกสูง โดยเฉพาะ เมล็ด-เอทานอล และ เมล็ด-เอทิลอะซิเตต แต่ในระหว่างการวิเคราะห์องค์ประกอบสารสำคัญด้วย GC-MS ยืนยันการมีอยู่ของสารฟีนอลิกและอนุพันธ์กรดไขมันที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเด่นชัด ส่วนการจำแนกเชื้อราที่แยกได้จากเอกสารและหนังสือพบความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา โดยมี *Paecilomyces brunneolus* ที่สามารถยับยั้งได้แน่ชัด ขณะที่เชื้อบางกลุ่มยังต้องการการวิเคราะห์เพิ่มเติม ด้านฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราพบว่าสารสกัดจากเปลือกด้วยเฮกเซน มีผลเด่นต่อเชื้อรา C-K ส่วนเมล็ดที่สกัดด้วยเอทานอล ยับยั้งเชื้อรา CH-K3-1 และ CH-K4-1 ได้ชัดเจน นอกจากนี้ การประยุกต์สารสกัดจากเปลือกมะม่วงร่วมกับ TMSC สามารถลดการเปลี่ยนแปลงสีจากรังสี UV คงความแข็งแรงเชิงดึงและความยืดหยุ่นของวัสดุได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม โดยเฉพาะสูตร 25% ME/TMSC ทั้งนี้ การเลือกใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงถือว่ามีความเหมาะสม เนื่องจากมีองค์ประกอบที่ช่วยเสริมสมบัติของฟิล์มโดยตรง มีความปลอดภัยสูงกว่าเมล็ด หาได้ง่าย และสามารถสร้างมูลค่าเพิ่มจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรได้ จึงมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงอุตสาหกรรมและสนับสนุนเศรษฐกิจหมุนเวียน

คำสำคัญ: มะม่วง; กระดาษ; ต้านเชื้อแบคทีเรีย; ต้านเชื้อรา; ดูดกลืนรังสียูวี

Abstract

In this study, bioactive compounds were extracted from the peel and seed of Nam Dok Mai mango using solvents with different polarities (hexane, ethyl acetate, and ethanol), and subsequently incorporated with trimethylsilyl cellulose (TMSC) to develop an innovative antifungal paper-coating material. The results revealed that extracts obtained from polar solvents (ethanol and ethyl acetate) exhibited high antioxidant activity and contained high levels of phenolic compounds, particularly in Seed–ethanol and Seed–ethyl acetate extracts. GC–MS analysis confirmed the presence of phenolics and unsaturated fatty acid derivatives with prominent bioactivities. Fungal isolation from documents and books demonstrated morphological diversity, with *Paecilomyces brunneolus* being reliably identified, whereas other isolates required additional genetic markers for confirmation. Antifungal assays showed that peel extracts obtained with hexane were most effective against strain C-K, while Seed–ethanol extracts significantly inhibited strains CH-K3-1 and CH-K4-1. Moreover, incorporating mango peel extracts into TMSC films reduced color change after UV irradiation, while maintaining tensile strength and flexibility, particularly in the 25% ME/TMSC formulation. Overall, mango peel extract was found to be more suitable than seed extract due to its composition that directly enhances film stability, greater safety, availability, and its potential to add value to agricultural by-products. These findings highlight the potential of mango peel extract as a functional additive in TMSC-based materials for industrial applications and its contribution to promoting a circular economy.

Keywords: mango; working paper; Antibacterial; Antifungal; UV absorption

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากความกรุณาจากคณาจารย์ และบุคคล ที่เกี่ยวข้องหลายฝ่ายด้วยกัน ที่ให้คำปรึกษา และร่วมทำโครงการวิจัยมาโดยตลอด ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนครที่มอบเงินสนับสนุนงบประมาณการวิจัย ภายใต้ทุนงบประมาณผ่านกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2567

อนึ่งคณะผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์อยู่ไม่น้อย จึงขอมอบส่วนดีทั้งหมดนี้ให้แก่เหล่าคณาจารย์ ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาทำให้ผลงานวิจัยเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่เกี่ยวข้อง และ ขอขอบคุณความกตัญญูทศเวทิตาคุณ แด่บิดา มารดา และผู้มีพระคุณทุกท่าน สำหรับข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่จะเกิดขึ้นนั้น ผู้วิจัยขอน้อมรับผิดเพียงผู้เดียว และพร้อมที่จะรับคำแนะนำของทุกท่านเพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยต่อไป

คณะผู้วิจัย



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
 บทที่ 1 บทน า	
1.1 ความสาคัญและที่มาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	2
1.4 วิธีด าเนินงานวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
 บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 กระจาด.....	4
2.2 เซลลูโลส.....	4
2.3 การเสื่อมสลายของกระจาด.....	6
2.4 ไตรเมทิลซิลิลเซลลูโลส (TMSC)	8
2.5 การทดสอบสมบัติของกระจาด.....	12
 บทที่ 3 วิธีด าเนินการวิจัย	
3.1 ขั้นตอนการเตรียมผงจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงน้ าดอกไม้.....	14
3.2 ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงน้ าดอกไม้.....	15
3.3 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงน้ าดอกไม้.....	16
3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลรวม ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วง.....	17
3.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วง.....	19
3.6 การทดสอบสมบัติการต้านเชื้อรา.....	20
3.7 การเคลือบสารละลายบนกระจาด.....	23
3.8 การฉายรังสีอัลตราไวโอเลต (UV) บนกระจาดที่เคลือบสารสกัด.....	24
3.9 การวัดมุมสัมผัสของน้ านกระจาดที่เคลือบด้วยสารสกัด.....	26
3.10 การวัดค่าการดูดกลืนแสงของกระจาดเคลือบสารสกัด.....	26
3.11 การวัดค่าการเปลี่ยนแปลงสีของกระจาดที่เคลือบสารสกัด.....	27
3.12 การวัดสมบัติเชิงกลของกระจาดก่อนและหลังการเคลือบสารสกัด.....	27

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH.....	28
4.2 ผลการวัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด.....	29
4.3 ผลการแยกสารสกัดด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี.....	31
4.4 การศึกษาลักษณะเฉพาะของเชื้อราจากหนังสือ.....	41
4.5 การประเมินฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราแบบ Dual culture บน PDA.....	45
4.6 จุดเด่นของสารสกัดจากเปลือกมะม่วง	48
4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของกระดาษ.....	49
4.8 มุมสัมพันธ์ ๑.....	49
4.9 ความแข็งแรงเชิงดึง.....	49
4.10 ค่าการยึดตัว.....	50

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย.....	51
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	52
เอกสารอ้างอิง.....	53

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 4.1 แสดงค่า DPPH Radical Scavenging Activity ของสารสกัดพืช ทั้งในรูปแบบ DPPH Equivalent ($\mu\text{mol/g}$ extract) และ % Inhibition โดยใช้ตัวท าละลายต่าง ๆ (Hexane, Ethyl acetate, Ethanol) ผลลัพธ์แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD, n=3)	28
ตารางที่ 4.2 ค่า Total Phenolic Content (TPC) ของสารสกัดพืช (Mean $\pm$ SD, n=3) และผลการเปรียบเทียบทางสถิติ (Tukey HSD). โดยใช้ตัวท าละลายแตกต่างกัน (Hexane, Ethyl acetate, Absolute Ethanol)	30
ตารางที่ 4.3 สารส าคัญระเหยง่ายจากสารสกัด : (a) เปลือกมะม่วงที่ใช้ เอทานอล เป็นตัวท าละลาย (b) เปลือกมะม่วงที่ใช้ ethyl aetate เป็นตัวท าละลาย (c) เปลือกมะม่วงที่ใช้ เฮกเซน เป็นตัวท าละลาย (d) เมล็ดมะม่วงที่ใช้ เอทานอล เป็นตัวท าละลาย (e) เมล็ดมะม่วงที่ใช้ เอทิลอะซิเตต เป็นตัวท าละลาย (f) เมล็ดมะม่วงที่ใช้ เฮกเซน เป็นตัวท าละลาย	32
ตารางที่ 4.4 ลักษณะโคโลนีเชื้อราที่แยกได้จากเอกสาร/หนังสือ	42
ตารางที่ 4.5 ผลการจ าแนกเชื้อราจากไอโซเลตด้วยการวิเคราะห์ลำดับ ITS rDNA และการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank	44
ตารางที่ 4.6 ร้อยละการยับยั้งที่ Day 7 (Mean $\pm$ SD, n = 3) ของการทดสอบแบบ dual-culture บน PDA แยกตามชนิดเชื้อราและ treatment แสดงค่าเฉลี่ย, SD, ค่า p-value จาก One-way ANOVA ต่อ species และผลการเปรียบเทียบกับความคลุมบวักด้วย Tukey's HSD	46
ตารางที่ 4.7 แสดงค่าการเปลี่ยนแปลงสี มุมสัมผัส ความแข็งแรงเชิงดึง และค่าการยืดตัว	50

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1	ตัวอย่างกระดาษที่ใช้ในงานต่าง ๆ 4
รูปที่ 2.2	การเชื่อมต่อโมเลกุลของกลูโคสในสายเซลลูโลสด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic 4
รูปที่ 2.3	พันธะไฮโดรเจนระหว่างสายเซลลูโลสในชั้นเดียวกันและระหว่างชั้น 5
รูปที่ 2.4	ปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลติกของ ZnO 7
รูปที่ 2.5	ลำดับของปฏิกิริยาออกซิเดชัน 8
รูปที่ 2.6	การสังเคราะห์ Trimethylsilyl cellulose 9
รูปที่ 2.7	การเปลี่ยนจาก TMSD กลายเป็นเซลลูโลสเมื่อโดนกรดอ่อน ๆ 10
รูปที่ 2.8	การสลายตัวของ TMSD ในสารละลายกรด 10
รูปที่ 2.9	มุมสัมผัสที่เกิดระหว่างของเหลวและของแข็ง 12
รูปที่ 2.10	(a) L-a-b chart ของ CIE lab scale (b) L-a-b Chart ของ Hunter Lab 13
รูปที่ 3.1	การเตรียมผงจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงน้ำ าดงไม้ 15
รูปที่ 3.2	การสกัดสาร คัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงน้ำ าดงไม้ 16
รูปที่ 3.3	การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 21
รูปที่ 3.4	การเคลือบสารละลายลงบนกระดาษ 24
รูปที่ 3.5	(a) หลอดรังสี UV (b) กระดาษผ่านการฉายรังสี UV 25
รูปที่ 4.1	% Inhibition ของสารสกัดพืชด้วยตัวท ละลายต่าง ๆ (Mean $\pm$ SD, n=3) 29
รูปที่ 4.2	กราฟแสดงค่า TPC ของสารสกัดพืชด้วยตัวท ละลายต่าง ๆ (Mean $\pm$ SD) พร้อมตัวอักษรยกก กับกลุ่มทางสถิติ (Tukey HSD, p < 0.05) 31
รูปที่ 4.3	ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่แยกได้จากพื้นผิวเอกสารและหนังสือบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) หลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน พบความแตกต่างทางสัณฐานวิทยา (morphological diversity) ที่เด่นชัดระหว่างแต่ละ isolate ได้แก่ CH-K3-1, CH-K4-1, CH-K4-2, CK และ LA-Ls 41
รูปที่ 4.4	ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา (Mean $\pm$ SD, n = 3) ที่ Day 7 จากการทดสอบแบบ dual-culture บน PDA โดยเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากเมล็ดและเปลือกมะม่วงที่เตรียมด้วยตัวท ละลายต่าง ๆ กับชุดควบคุมบวก DMSO:Eugenol 1:1; (a) C-K, (b) CH-K3-1, (c) CH-K4-1, (d) CH-K4-2 และ (e) La-S. แท่งสีแตกต่างกันแทนแต่ละ treatment (สีคที่ระหว่างทุกแผง) โดยมีแถบ error bar แสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) 47

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสโควิด-19 ตั้งแต่ช่วงปลายปี พ.ศ. 2562 เป็นต้นมา ได้ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างทางเศรษฐกิจและสังคมในหลายมิติ โดยเฉพาะพฤติกรรมของผู้บริโภคที่หันมาพึ่งพาการซื้อขายและบริการผ่านช่องทางดิจิทัลมากยิ่งขึ้น ส่งผลให้ธุรกิจพาณิชย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-Commerce) เติบโตอย่างก้าวกระโดด มีมูลค่าตลาดรวมหลายล้านล้านบาท และมีจำนวนผู้ประกอบการเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง อีกทั้งธุรกิจฟู้ดเดลิเวอรี่และการขนส่งสินค้าแบบออนไลน์ก็มีอัตราการเติบโตสูง เนื่องจากผู้บริโภคต้องการลดการเดินทางและลดความเสี่ยงจากการสัมผัสเชื้อโรคในพื้นที่สาธารณะ

ความเติบโตดังกล่าวนำไปสู่ความต้องการใช้บรรจุภัณฑ์ โดยเฉพาะบรรจุภัณฑ์กระดาษที่มีบทบาทสำคัญในการปกป้องและรักษาคุณภาพสินค้า ทั้งการใช้เป็นกล่องพัสดุสำหรับการขนส่งผลิตภัณฑ์ การใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่ม ตลอดจนการใช้เป็นบรรจุภัณฑ์เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มในเชิงการตลาด ปริมาณความต้องการที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วทำให้บรรจุภัณฑ์กระดาษไม่เพียงแต่ต้องตอบโจทย์ด้านการใช้งานเชิงกายภาพ เช่น ความแข็งแรง ทนแรงกด และทนต่อการขนส่งเท่านั้น แต่ยังต้องมีคุณสมบัติพิเศษที่ตอบโจทย์ด้านความปลอดภัยและการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์

ปัญหาสำคัญที่พบคือ บรรจุภัณฑ์กระดาษมีแนวโน้มเสื่อมสภาพหากเก็บรักษาในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูง ส่งผลให้เชื้อราและแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตบนพื้นผิวได้ง่าย เกิดคราบเชื้อรา กลิ่นไม่พึงประสงค์ และอาจปนเปื้อนสู่ผลิตภัณฑ์อาหารหรือสิ่งของที่บรรจุอยู่ภายใน นอกจากนี้จะทำให้คุณภาพสินค้าลดลงแล้ว ยังส่งผลต่อความเชื่อมั่นของผู้บริโภคและเพิ่มต้นทุนด้านการจัดเก็บและการควบคุมคุณภาพให้กับผู้ประกอบการอีกด้วย

เพื่อตอบสนองต่อปัญหาดังกล่าว ได้มีการพัฒนานวัตกรรมบรรจุภัณฑ์ที่เคลือบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น โพลีแซ็กคาไรด์ โปรตีน ไขมัน หรือน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร ซึ่งมีคุณสมบัติทั้งในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และเพิ่มคุณสมบัติการกันน้ำของพื้นผิวกระดาษ อย่างไรก็ตาม การเลือกใช้สารสกัดที่มีอยู่ทั่วไปและสามารถหาได้ในประเทศเป็นแนวทางที่เหมาะสม เนื่องจากช่วยลดการนำเข้าวัตถุดิบและยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งจากภาคเกษตรกรรม

สำหรับประเทศไทยซึ่งมีฐานเศรษฐกิจการเกษตรเป็นหลัก พบว่ามีพืชผักและสมุนไพรหลายชนิดที่มีศักยภาพในการใช้ประโยชน์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ พืชที่เป็นที่รู้จักและพบได้ทั่วไปในครัวเรือน ได้แก่ มะม่วง ซึ่งนอกจากจะเป็นผลไม้เศรษฐกิจสำคัญที่สร้างรายได้จากการส่งออกในตลาดต้น ๆ ของโลกแล้ว ยังเป็นพืชที่มีความหลากหลายด้านองค์ประกอบทางเคมีที่สามารถนำมาศึกษาเชิงเภสัชวิทยาได้ ปกติการบริโภคมะม่วงมักอยู่ในรูปผลสดหรือผลิตภัณฑ์แปรรูปเพื่อการบริโภคโดยตรง อย่างไรก็ตาม งานวิจัยจำนวนมากได้รายงานสรรพคุณทางยาและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะม่วง เช่น ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด ฤทธิ์สมานแผลในระบบทางเดินอาหาร ฤทธิ์ระงับปวด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น

งานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าเปลือกมะม่วงประกอบด้วยสารสำคัญกลุ่ม *non-flavonoids* โดยเฉพาะ Limonene ซึ่งเป็นสารในกลุ่มโมโนเทอร์พีนที่มีบทบาทสำคัญในด้านการต้านจุลชีพ [1, 2] และมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของ Limonene ต่อแบคทีเรียดื้อยาหลายขนาน (MDR strains) [3, 4] และพบว่า Limonene

มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* อย่างมีนัยสำคัญ [5] นอกจากนี้ ในปีเดียวกัน Liu และคณะ (2020) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยมะนาว (CLO) กับ Limonene ต่อเชื้อ *Streptococcus sobrinus* ในสัตว์ทดลอง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ของ CLO และ Limonene เท่ากับ 4.50 และ 21.00 mg/mL ตามลำดับ อีกทั้งยังสามารถลดการแพร่กระจายของเชื้อ *Streptococcus sobrinus* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) [6] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสาร Limonene แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ในระดับหนึ่ง โดยเฉพาะเชื้อ *Trichophyton mentagrophytes* และ *Microsporum gypsum* ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีบทบาทต่อการก่อโรคผิวหนัง (dermatophytes) [7] การค้นพบเหล่านี้สะท้อนให้เห็นถึงศักยภาพของเปลือกมะม่วงและสารสกัดที่เกี่ยวข้องในการนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อพัฒนาวัสดุป้องกันการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ โดยเฉพาะอุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์กระดาษที่ต้องการนวัตกรรมเพื่อยืดอายุการใช้งานและเพิ่มความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร และสิ่งของที่บรรจุอยู่ภายใน

ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญของการพัฒนานวัตกรรมกระดาษต้านเชื้อราที่เคลือบด้วยสารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราที่ก่อปัญหาการเสื่อมสภาพของบรรจุภัณฑ์ควบคู่ไปกับการประเมินสมบัติเชิงกล สมบัติเชิงความร้อน และสมบัติทางกายภาพของกระดาษที่ผ่านการเคลือบสารสกัด ทั้งนี้เพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ต้านเชื้อราในเชิงพาณิชย์ได้อย่างเหมาะสม อีกทั้งยังเป็นแนวทางการจัดการวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้เกิดประโยชน์สูงสุด ส่งเสริมเศรษฐกิจหมุนเวียน (circular economy) และยกระดับอุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์ของประเทศให้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้นในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย

1. เพื่อศึกษาสมบัติเชิงกล สมบัติทางความร้อน และสมบัติทางกายภาพของกระดาษที่เคลือบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากเปลือกและเมล็ดมะม่วง
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของกระดาษที่เคลือบสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วง

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ใช้เปลือกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้
2. ใช้ตัวท าละลาย เฮาเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล ในการสกัดสาร

1.4 วิธีดำเนินงานวิจัย

1. เตรียมสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วง น้ำดอกไม้ด้วยตัวท าละลายต่าง ๆ
2. ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH
3. วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลรวม
4. ทดสอบสมบัติการต้านเชื้อรา
5. ศึกษาการเคลือบสารละลายบนกระดาษ
6. ทดสอบสมบัติต่าง ๆ ของกระดาษก่อนและหลังการเคลือบสารสกัด

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้องค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากสารสกัดชีวภาพจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงในการพัฒนากระดาษเคลือบสารต้านจุลินทรีย์
2. ช่วยส่งเสริมการบูรณาการองค์ความรู้ด้านวัสดุศาสตร์ จุลชีววิทยา และวิทยาศาสตร์การอาหาร เพื่อยกระดับในงานวิจัยสหสาขา



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระดาษ

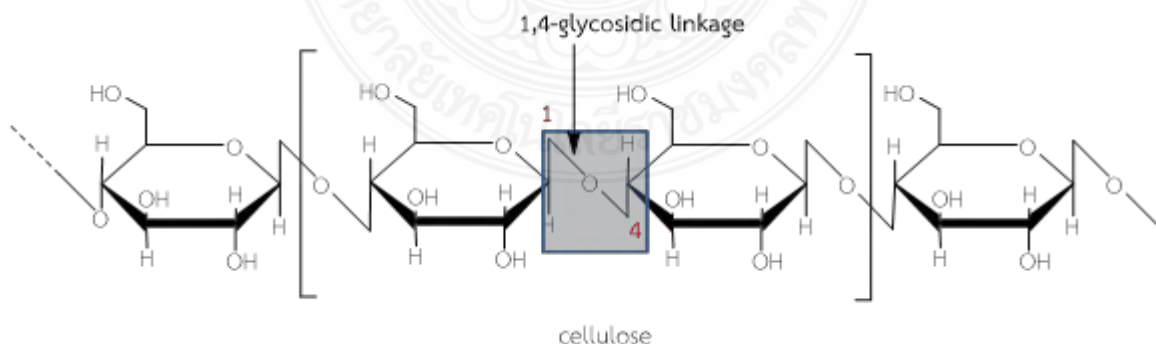
กระดาษ เป็นวัสดุที่ผลิตขึ้นมาสำหรับการจดบันทึก มีประวัติศสาตร์ยาวนาน เชื่อกันว่ามีการใช้กระดาษครั้งแรก ๆ โดยชาวอียิปต์และชาวจีนโบราณ แต่กระดาษในยุคแรก ๆ ล้วนผลิตขึ้นเพื่อการจดบันทึกด้วยกันทั้งสิ้น จึงกล่าวได้ว่าระบบการเขียน คือแรงผลักดันให้เกิดการผลิตกระดาษขึ้นในโลกปัจจุบันกระดาษไม่ได้มีประโยชน์ในการใช้จดบันทึกตัวหนังสือ หรือข้อความ เท่านั้น ยังใช้ประโยชน์อื่น ๆ ได้มากมาย เช่น กระดาษชำระ กระดาษห่อของขวัญ กระดาษลูกฟูกสำหรับทำกล่อง กระดาษรายงาน กระดาษเพื่องานศิลปะ เป็นต้น



รูปที่ 2.1 ตัวอย่างกระดาษที่ใช้ในงานต่าง ๆ

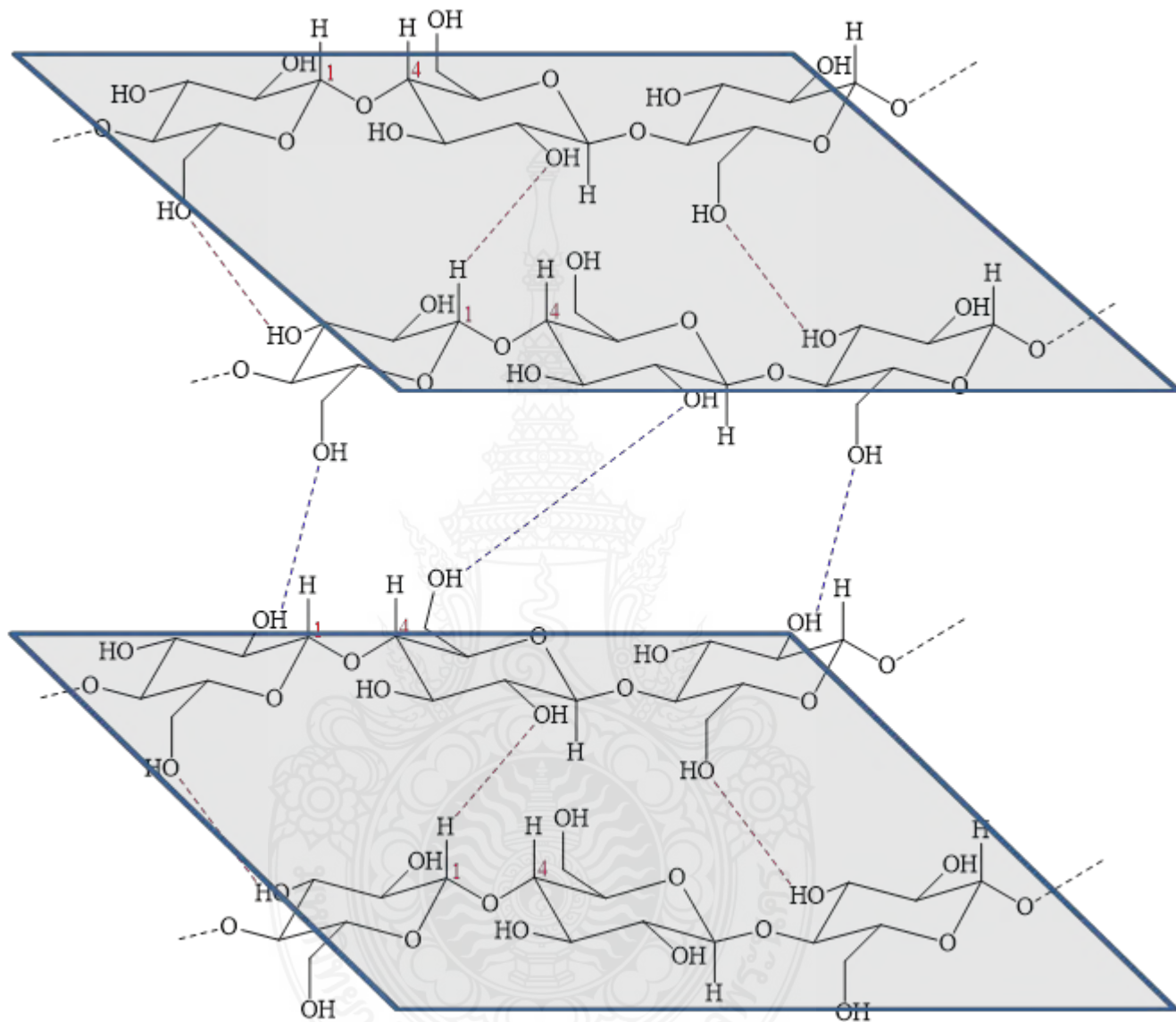
2.2 เซลลูโลส

เซลลูโลส (cellulose) เป็นสารประกอบอินทรีย์มีโครงสร้างเป็นผลึก (crystalline) ที่ประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคส (D-glucose) ซึ่งเป็นน้ำตาลหลักที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตไบเอทานอล เชื่อมต่อกันเป็นสายยาวดังรูปที่ 2.2 ด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic และมีการเชื่อมต่อระหว่างสายของเซลลูโลสด้วยพันธะไฮโดรเจนเกิดเป็นเส้นใย พบได้ในผนังเซลล์พืช



รูปที่ 2.2 การเชื่อมต่อโมเลกุลของกลูโคสในสายเซลลูโลสด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic

สายเซลลูโลสแต่ละเส้นสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ซึ่งเป็นพันธะไฮโดรเจนสายเซลลูโลสในระนาบเดียวกัน และเมื่อเซลลูโลสแต่ละระนาบมาสร้างพันธะไฮโดรเจนก็จะเกิดการเชื่อมระหว่างสายเซลลูโลสต่างระนาบ และเมื่อเซลลูโลสต่างระนาบสร้างแรงยึดเหนี่ยวระหว่างระนาบมากขึ้นจะเกิดเป็นเส้นใยเซลลูโลส ซึ่งพันธะไฮโดรเจนของของเซลลูโลสในระนาบเดียวกันและต่างระนาบแสดงไว้ในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 พันธะไฮโดรเจนระหว่างสายเซลลูโลสในชั้นเดียวกันและระหว่างชั้น

2.3 การเสื่อมสลายของกระดาษ

เนื่องจากกระดาษเป็นวัสดุธรรมชาติ เมื่อใช้งานจะเกิดการย่อยได้ง่าย ซึ่งอัตราการย่อยสลายของกระดาษ ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น

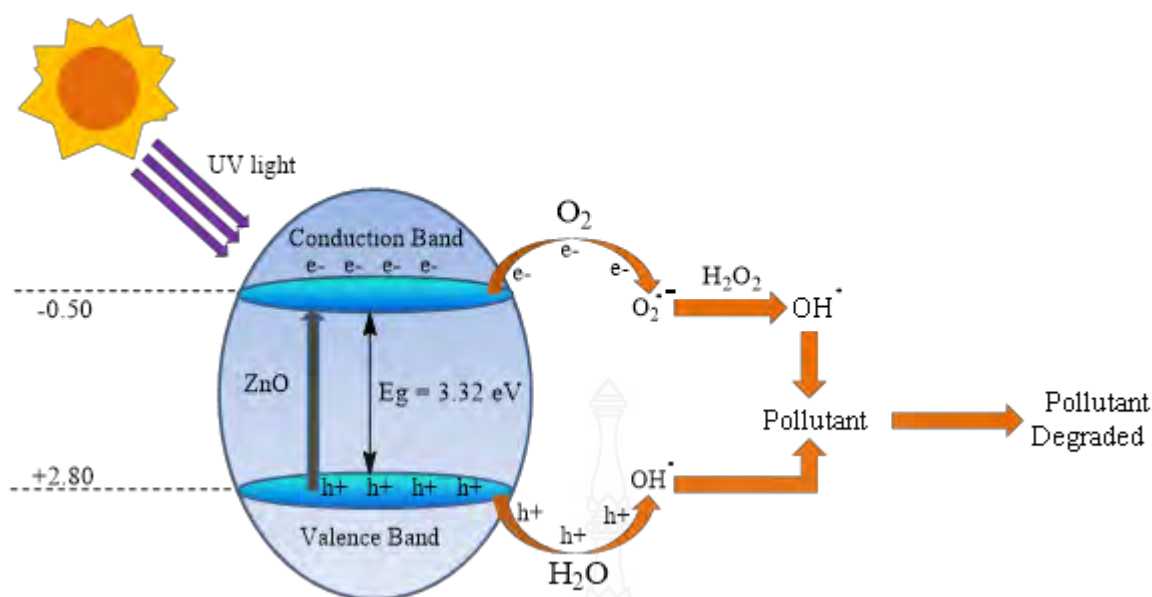
- วัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการผลิตกระดาษ
- สภาพความเป็นกรด-ด่าง (ค่า pH)
- การเสื่อมด้วยจุลินทรีย์ (รา แบคทีเรีย)
- การย่อยสลายเชิงกล
- การเสื่อมสลายด้วยแสง (photocatalytic)
- สภาพอากาศระดับมลพิษและกิจกรรมทางชีวภาพ [1]

1. การเสื่อมสลายด้วยกรด

ปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งของการเสื่อมของกระดาษ คือ การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลสด้วยกรดที่เร่งปฏิกิริยา [2,3] กรดจะทำลายโครงสร้างสายโซ่เซลลูโลสและทำให้ความแข็งแรงเชิงกลลดลงอย่างมาก [2,4] มีงานวิจัยที่ทำเพื่อเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษที่เสื่อมจากกรดมากมาย ตัวอย่าง เช่น สารละลายซิลิโคนที่มีความเข้มข้นซึ่งละลายในแอลกอฮอล์ และ Hexamethyldisiloxane (HMDSO) [5-7] ถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษ โดยพบว่าสารละลายทั้งสองชนิดเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษที่ผ่านการสลายตัวด้วยกรดได้เป็นอย่างดี

2. การสลายตัวด้วยแสง

โฟโตคะตะไลติก (Photocatalytic) เป็นการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง โดยการใช้สารที่มีสมบัติโฟโตคะตะลิสต์ (Photocatalyst Agent) ซึ่งเป็นสารตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาด้วยแสง สามารถใช้กำจัดสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำหรืออากาศที่สัมผัสกับพื้นผิวของสารที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงได้ แสงจะเป็นตัวช่วยเร่งการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีโดยที่ตัวเองไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อสารที่เป็นโฟโตคะตะลิสต์ถูกกระตุ้นด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ตจากแสงอาทิตย์จะเกิดคู่อิเล็กตรอน (e^-) และโฮล (h^+) ที่เกิดขึ้นนี้จะทำปฏิกิริยากับ โมเลกุลของออกซิเจน (O_2) และน้ำ (H_2O) เกิดเป็น Hydroxyl Radicals ($\cdot OH$) และ Superoxide Anion (O_2^-) ส่งผลให้สารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยง่ายและสารอินทรีย์ที่เป็นพิษเปลี่ยนรูปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำ โดย Hydroxyl Radicals จะทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของสารอินทรีย์กลายเป็นน้ำ (H_2O) ในขณะที่ Superoxide Anion จะทำปฏิกิริยากับคาร์บอนในสารอินทรีย์กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ดังแสดงในรูปที่ 2.4 สารที่อนินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นโฟโตคะตะลิสต์ เช่น TiO_2 , ZnO และ SiO_2 เป็นต้น



รูปที่ 2.4 ปฏิกริยาโฟโตคะตะไลติกของ ZnO

แสงสาคัญที่กระตุ้นให้กระดาศเกิดการสลายตัว คือ อัลตราไวโอเลต (Ultraviolet : UV) เนื่องจาก UV เป็นแสงในช่วงคลื่นที่มีความยาวคลื่นต่ำ พลังงานสูง พบในแสงแดด รังสี UV จึงทำให้เกิดปัญหากับผิวหนัง เช่น มะเร็งผิวหนัง ผิวหนังโดนแดดเผา เป็นต้น ซึ่งรังสี UV ก็ยังทำให้กระดาศเกิดความเสียหาย ทำให้กระดาศมีสีเหลืองหรือสีน้ำตาลลง เนื่องมาจากถูกแสงยูวี (UV) ทำลายโครงสร้างกระดาศ หรือทำลายโครงสร้างเม็ดสีที่เคลือบกระดาศ รังสี UV เป็นสเปกตรัมและความยาวคลื่นของแสงยูวีอยู่ในช่วง 200 - 400 nm แบ่งออกได้ดังนี้ คือ

UV-A เป็นแสงที่มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 320 - 400 nm

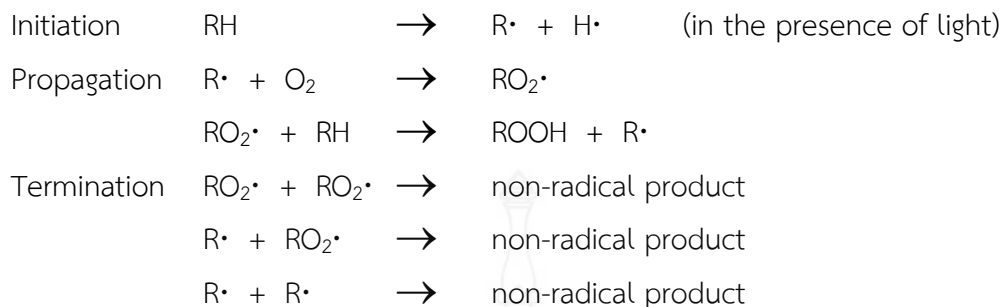
UV-B เป็นแสงที่มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 280 - 320 nm

UV-C เป็นแสงที่มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 200 - 280 nm

แสง UV-C ได้ถูกดูดกลืนอย่างสมบูรณ์โดยโอโซนในชั้นบรรยากาศเป็นรังสีอัลตราไวโอเลตที่มีความยาวคลื่นสั้นที่สุด และไม่สามารถทะลุชั้นโอโซนในบรรยากาศลงมาถึงผิวโลกได้ ทำให้ไม่มีผลต่อการทำอันตรายต่อมนุษย์ สำหรับแสงอาทิตย์ในช่วงความยาวคลื่นของแสง UV-B เป็นสาเหตุให้เกิดการเกรียมแดด เป็นฝ้า และแห้งกร้านซึ่งอาจทำให้เกิดมะเร็งผิวหนังได้สำหรับ UV-A สามารถลอดผ่านกระจก และเมฆเข้าถึงชั้นผิวของกระดาศ เนื่องจากแสง UV-A สามารถแทรกเข้าไปในโครงสร้างของกระดาศเพื่อไปทำลายสารสีที่ปนอยู่เซลลูโลสและเอมิเซลลูโลส ทำให้กระดาศนั้นมีลักษณะที่เหลือง

การย่อยสลายกระดาศด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต นั้นสามารถเกิดขึ้นได้ ส่วนประกอบทางเคมีของกระดาศทั้งหมดมีความอ่อนไหวต่อการย่อยสลายด้วยแสงแดดหรือแสงอัลตราไวโอเลต ปฏิกริยานี้นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของกระดาศ เช่น การเปลี่ยนสีการสูญเสียน้ำหนัก และความเบา ตรวจสอบพื้นผิวและการทำลายคุณสมบัติทางกลและทางกายภาพ ในขณะที่บางชนิดอาจจางลงหรือกลายเป็นสีเหลือง ผลกระทบของการย่อยสลายของรังสียูวีส่วนใหญ่เป็นปรากฏการณ์ที่พื้นผิวของกระดาศ ซึ่งการย่อยสลายกระดาศด้วยรังสี UV มีกระบวนการและกลไกเกิดผ่านเรดิเคิล

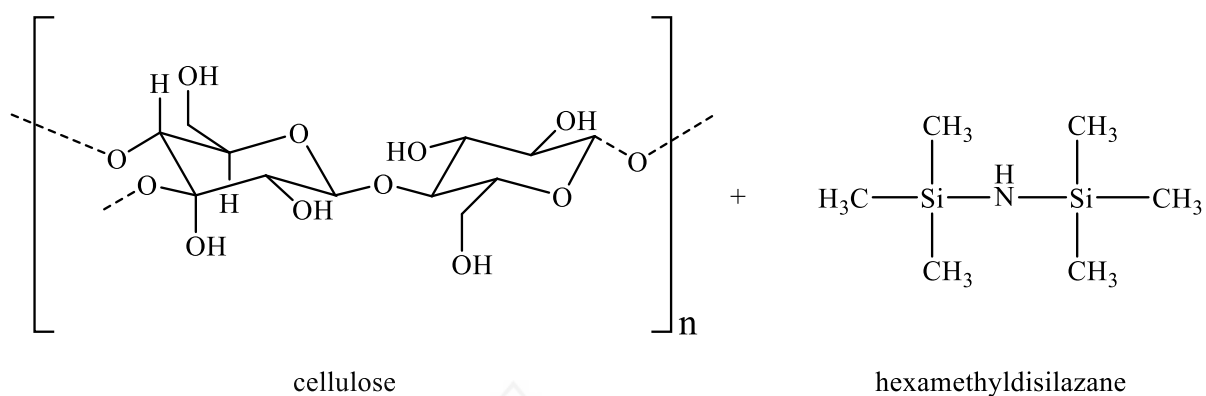
กลไกหลักของการเกิดออกซิเดชันของกระดาษคือการก่อตัวของกลุ่มไฮโดรเปอร์ออกไซด์ การออกซิเดชันของกระดาษเป็นกระบวนการที่ช้าเร่งโดยการสัมผัสกับแสงอัลตราไวโอเล็ตและความร้อน ภาพถ่ายออกซิเดชันของกระดาษสามารถแบ่งออกเป็นกระบวนการที่แยกจากกันได้ดังนี้: การเริ่มต้นการขยายพันธุ์และการสิ้นสุดซึ่งแสดงในรูปที่ 2.5 [8]



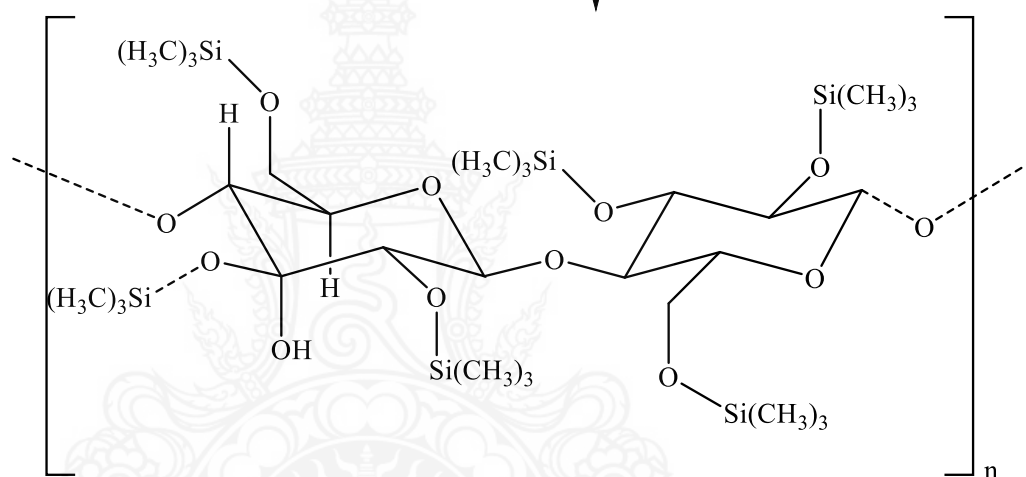
รูปที่ 2.5 ล ทับของปฏิกิริยาออกซิเดชัน

2.4 ไตรเมทิลซิลิลเซลลูโลส (TMSC)

Trimethylsilyl cellulose (TMSC) เป็นเซลลูโลสที่เกิดจากการดัดแปรเซลลูโลสให้มีหมู่ฟังก์ชัน Trimethyl siloxane ($-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$) ซึ่งการเตรียม TMSC สามารถเตรียมได้จากปฏิกิริยา Silylation โดยการนำเซลลูโลสมาทำปฏิกิริยากับ hexamethyldisilazane ในตัวทำละลาย dimethylformamide ใช้ Chlorotrimethylsilane/pyridine เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งปฏิกิริยาการเตรียม TMSC แสดงดังรูปที่ 2.6



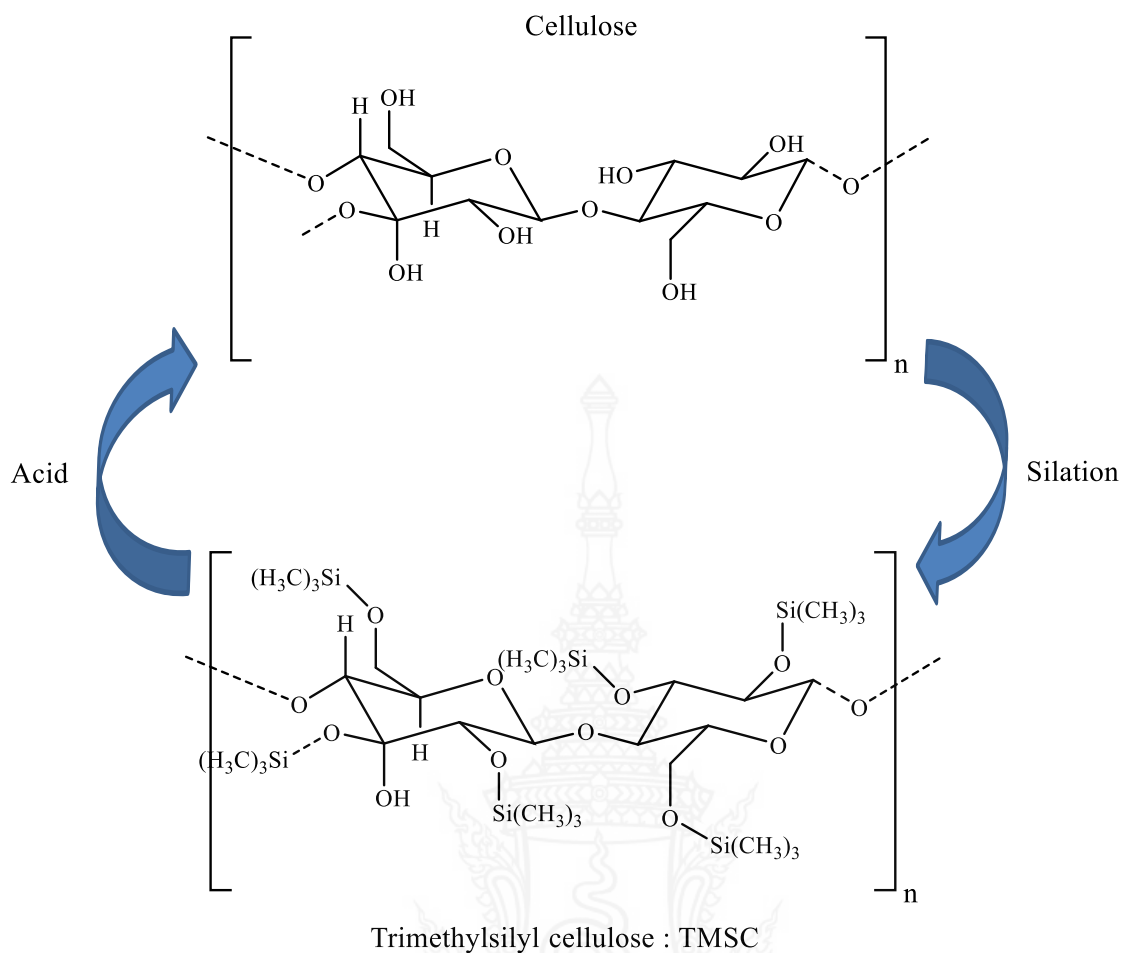
dimethylformamide
chlorotrimethylsilane/
pyridine



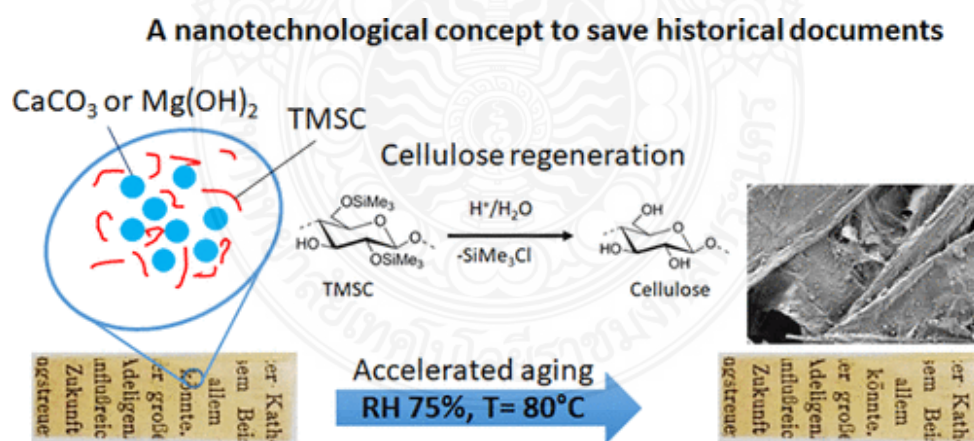
Trimethylsilyl cellulose : TMSC

รูปที่ 2.6 การสังเคราะห์ Trimethylsilyl cellulose

TMSC ที่ได้จากการสังเคราะห์จะมีจุดหลอมเหลวที่ 320–340°C พอลิเมอร์จัดเป็นเทอร์โมพลาสติกซึ่งอาจหลอมรวมเป็นเส้นใยได้ เส้นใยนี้เมื่อได้รับกรดอ่อน ๆ จะทำให้เส้นใยเปลี่ยนกลับมาเป็นเซลลูโลสและ hexamethyldisilazane ได้ การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวแสดงไว้ดังรูปที่ 2.7 และ 2.8



รูปที่ 2.7 การเปลี่ยนจาก TMSC กลายเป็นเซลลูโลสเมื่อโดนกรดอ่อนๆ



รูปที่ 2.8 การสลายตัวของ TMSC ในสารละลายกรด

ที่มา : <https://www.x-mol.com/paper/1325957344063098880>

ในปี ค.ศ. 2015 ลัญจกร และคณะ [26] ศึกษาการเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษโดยใช้สารละลายอนุภาคนาโน พบว่า TMSC มีผลต่อลดความเป็นกรดที่เกิดบนกระดาษเมื่อทดสอบด้วยเครื่อง tensile พบว่ากระดาษที่เคลือบด้วย TMSC มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น 20%

ในปี ค.ศ. 2018 ลัญจกร อมรกิจบำรุงและคณะ [27] ได้ศึกษาการเคลือบกระดาษโดยสารละลายอนุภาคนาโน $Mg(OH)_2$ ในสารละลาย TMSC ช่วยลดความสามารถในการเปียกน้ำและเพิ่มความแข็งแรงเชิงกลของกระดาษด้วยการเคลือบ $Mg(OH)_2$ ในสารละลาย TMSC ตามด้วยการเคลือบ TMSC คุณสมบัติทางกล (เช่น ความแข็งแรงและความยืดหยุ่น) จานวนการเคลือบที่เพิ่มขึ้นโดยอย่างยิ่งหลังจากเร่งอายุมากขึ้น แม้ว่าจะช่วยให้กระดาษมีความเป็นด่างความต้านทานแรงดึงจะถูกยับยั้งด้วยการเคลือบหลายชั้นของเซลลูโลสที่สร้างใหม่จากการเคลือบ TMSC การปรากฏตัวของ $Mg(OH)_2$ ช่วยป้องกันและยับยั้งการสร้างใหม่ของเซลลูโลสบางส่วน

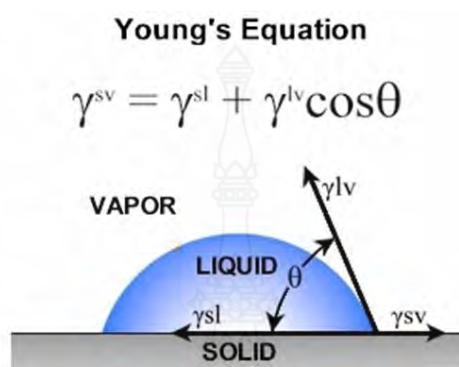
ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับการเพิ่มประสิทธิภาพความแข็งแรงของกระดาษมีรายงานว่าอนุพันธ์ของเซลลูโลสซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของกระดาษยังคงมีเสถียรภาพหลังจากการเคลือบและการเร่งอายุ Seki et al. ใช้สารแขวนลอยแอลกอฮอล์ที่มีอนุพันธ์ของเซลลูโลส (เช่น เมทิลเซลลูโลส คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เอทิลเซลลูโลส ฯลฯ) และแมกนีเซียมคาร์บอเนต ($MgCO_3$) เพื่อเพิ่มความแข็งแรงและสารสารรองอัลคาไลน์ให้กับกระดาษ [28,29] นอกจากนี้ Sundholm et al. ได้ตรวจสอบการย่อยสลายและการปรับปรุงความแข็งแรงของกระดาษโดยใช้สารละลายของเมทิลเซลลูโลส / แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$) [30–32] ในงานก่อนหน้านี้นี้มีการพัฒนาวิธีการทางเลือกที่ใช้ $Mg(OH)_2$ NPs ที่เสถียรโดยไตรเมทิลซิลิลเซลลูโลส (TMSC) ที่ละลายใน HMDSO และนำไปใช้ในรูปแบบของการเคลือบแบบเดี่ยวซึ่งสะสมอัลคาไลน์ไว้สูงถึง ~2% และปรับปรุงกลไกความแข็งแรงสูงถึง ~20% [26]

ดังนั้นในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงมุ่งเน้นหาวิธีในการเพิ่มประสิทธิภาพของกระดาษในการป้องกันรังสี UV โดยใช้ ZnO ที่มีคุณสมบัติในการดูดกลืนรังสี UV จึงคิดที่จะนำ TMSC มาทำการเคลือบกระดาษและผสมกับ ZnO เพื่อตรวจสอบการกระจายตัวที่เสถียรของ ZnO NPs ใน TMSC/HMDSO

2.5 การทดสอบสมบัติของกระดาษ

1. การวัดมุมสัมผัสของหยดน้ำ

การวัดมุมสัมผัสจะแสดงถึงสภาพความเป็นขั้วของพื้นผิวหรือสภาพความไม่เป็นขั้วของพื้นผิว โดยมุมสัมผัสมีค่าต่ำแสดงถึงความชอบน้ำของผิวมีมาก ในขณะที่มุมสัมผัสมีค่าสูงแสดงถึงความไม่ชอบน้ำมาก และลักษณะหยดน้ำมีลักษณะเป็นหยดน้ำกลมมากขึ้น ถ้ามุมสัมผัสของหยดน้ำมีค่ามากกว่า 100 องศา ก็จะมีสภาพคล้าย ๆ หยดน้ำที่อยู่บนใบบัวหรือเรียกว่า Lotus effect ดังแสดงรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 มุมสัมผัสที่เกิดระหว่างของเหลวและของแข็ง

โดย

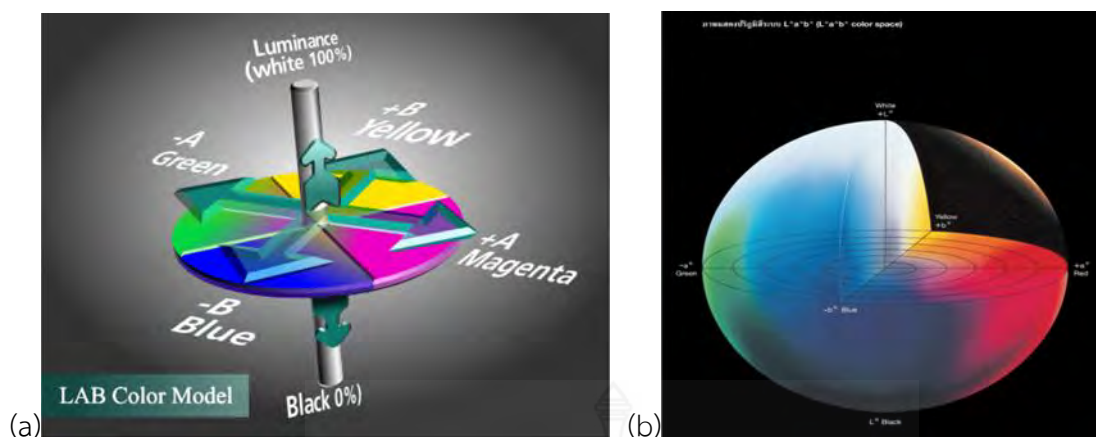
θ	คือ มุมสัมผัส (องศา)
γ^{sl}	คือ พลังงานอิสระหน้าสัมผัสระหว่างของแข็งและของเหลว
γ^{sv}	คือ พลังงานพื้นผิวอิสระของของแข็ง
γ^{lv}	คือ พลังงานพื้นผิวอิสระของเหลว

2. การวัดการเปลี่ยนแปลงสี

ระบบการวัดค่าสี L-a-b เป็นระบบการวัดค่าสีมาตรฐานสากลของ Commission International de TEclairage (CIE) ระบบ L-a-b ซึ่งเป็นระบบการบรรยายสีแบบ 3 มิติโดยที่

แกน L จะบรรยายถึงความสว่างจากค่า	+L	→	-L	แสดงค่า	สีขาว ถึง สีดำ
แกน a จะบรรยายถึงแกนสีจากเขียว	(-a)	→	+a	แสดงค่า	สีเขียว ถึง สีแดง
แกน b จะบรรยายถึงแกนสีจากเขียว	(-b)	→	+b	แสดงค่า	สีน้ำเงิน ถึง สีเหลือง

ลักษณะการบรรยายสีตามระบบของ CIE แสดงได้ดังรูป 2.10 (a) , (b)



รูปที่ 2.10 (a)L-a-b chart ของ CIE lab scale (b) L-a-b Chart ของ Hunter Lab
ที่มา <https://www.aballtechno.com/article/18/หลักการการวัดสี-color-measuring>

อุปกรณ์วัดสีที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือ spectrophotometer ซึ่งอุปกรณ์นี้จะใช้แสงจากแหล่งกำเนิด โดยตั้งค่าความเข้มแสง (intensity) ตามที่ต้องการหรืออุณหภูมิของสี (color temperature) เมื่อทำการวัด การเปลี่ยนแปลงของสีจะได้ค่า L-a-b ซึ่งสามารถนามาคำนวณเป็นค่าการเปลี่ยนแปลงสีรวมหรือ ΔE ตามสมการต่อไปนี้

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

เมื่อ

ΔL : ผลต่างความสว่างของตัวอย่างและมาตรฐาน

Δa : ผลต่างสีแกน a ของตัวอย่างและมาตรฐาน

Δb : ผลต่างสีแกน b ของตัวอย่างและมาตรฐาน

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ขั้นตอนการเตรียมผงจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงน้ำดอกไม้

รายละเอียดแสดงดังรูปที่ 3.1

1. การคัดเลือกผลมะม่วง

- เลือกผลมะม่วงน้ำดอกไม้ที่มีความสมบูรณ์ ไม่มีร่องรอยการเน่าเสียหรือการช้ำ
- คัดแยกผลที่มีลักษณะและขนาดใกล้เคียงกัน เพื่อลดความแปรปรวนของวัตถุดิบ

2. การปอกเปลือกและแยกเมล็ด

- ทาผงสะอาดผิวผลด้วยน้ำสะอาดเพื่อลดสิ่งปนเปื้อนเบื้องต้น
- ปอกเปลือกออกอย่างระมัดระวังเพื่อเก็บรักษาความสมบูรณ์ของเนื้อเยื่อ
- ผ่าผลเพื่อนำเมล็ดออกจากเนื้อ โดยเก็บทั้งเปลือกและเมล็ดไว้ส าหรับแปรรูป

3. การล้างทำความสะอาดวัตถุดิบ

- ล้างเปลือกและเมล็ดด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำสะอาดหลายครั้ง เพื่อขจัดสิ่งสกปรกที่ติดอยู่บนผิว
- สะเด็ดน้ำ และจัดเรียงวัตถุดิบบนถาดที่ผ่านการท ความสะอาดแล้ว

4. การทำให้แห้งเบื้องต้น

- ผึ่งวัตถุดิบที่ล้างแล้วในที่สะอาดและมีการถ่ายเทอากาศที่ดี จนความชื้นผิวลดลง
- ขั้นตอนนี้ช่วยลดเวลาการอบและคงคุณภาพของสารส าคัญภายในวัตถุดิบ

5. การอบแห้ง

- นำวัตถุดิบที่ผ่านการผึ่งลมเข้าสู่ตู้อบลมร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิ (ประมาณ 50–60 °C)
- ทาการอบจนกว่าวัตถุดิบมีความชื้นในระดับที่ต่ำ ที่เหมาะสม ส าหรับการบดเป็นผง

6. การบดเป็นผง

- เมื่อวัตถุดิบเย็นตัวลง นำไปบดด้วยเครื่องบดความเร็วสูงจนได้ผงที่มีความละเอียด
- ทาการร่อนผ่านตะแกรง เพื่อให้ได้ขนาดอนุภาคที่สม่ำเสมอ

7. การบรรจุและเก็บรักษา

- บรรจุผงที่ได้ในถุงปิดสนิทหรือภาชนะที่ป้องกันการซึมผ่านของความชื้นและแสง
- เก็บรักษาในที่แห้งและอุณหภูมิต่ำ เพื่อรักษาคุณภาพเชิงกายภาพและสารส าคัญจนกว่าจะนำไปใช้ทดลอง



รูปที่ 3.1 การเตรียมผงจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงน้ำดอกไม้

3.2 ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงน้ำดอกไม้

รายละเอียดแสดงดังรูปที่ 3.2

1. การเตรียมวัตถุดิบสำหรับการสกัด

- ชั่งผงเปลือกและผงเมล็ดมะม่วงที่ผ่านการอบแห้งและบดละเอียดตามขั้นตอนก่อนหน้า
- บรรจุผงแต่ละชนิดลงในขวดแก้วปิดสนิทที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

2. การสกัดด้วย เฮกเซน

- เติมน้ำ 1 ลิตรลงในขวดแก้วที่บรรจุผงวัตถุดิบจนท่วมตัวอย่าง
- นำขวดเข้าสู่อุปกรณ์เขย่าแบบสั่น (orbital shaker) ที่ควบคุมความเร็วสม่ำเสมอ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- หลังการเขย่า แช่ตัวอย่างทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อให้สารประกอบที่ไม่ขั้วละลายออกมาอย่างเต็มที่
- กรองตัวอย่างเพื่อแยกกากออกจากสารละลาย
- นำสารละลายที่ได้ไปเข้ากระบวนการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator เพื่อแยก เฮกเซน ออกจากสารสกัด
- เก็บสารสกัด เฮกเซน ไว้ในขวดที่ปิดสนิท และนำกากผงเดิมไปใช้ในขั้นตอนถัดไป

3. การสกัดด้วย เอทิลอะซิเตต

- นำกากผงจากขั้นตอน เฮกเซน มาบรรจุในขวดแก้วสะอาด
- เติมน้ำ 1 ลิตรลงในขวดแก้วที่เตรียมไว้
- ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมงเช่นเดียวกัน
- กรองเอาสารละลายออก แล้วนำไปแยกตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator
- เก็บสารสกัด เอทิลอะซิเตต ไว้ในภาชนะปิดสนิท และนำกากผงที่เหลือเข้าสู่การสกัดขั้นสุดท้าย

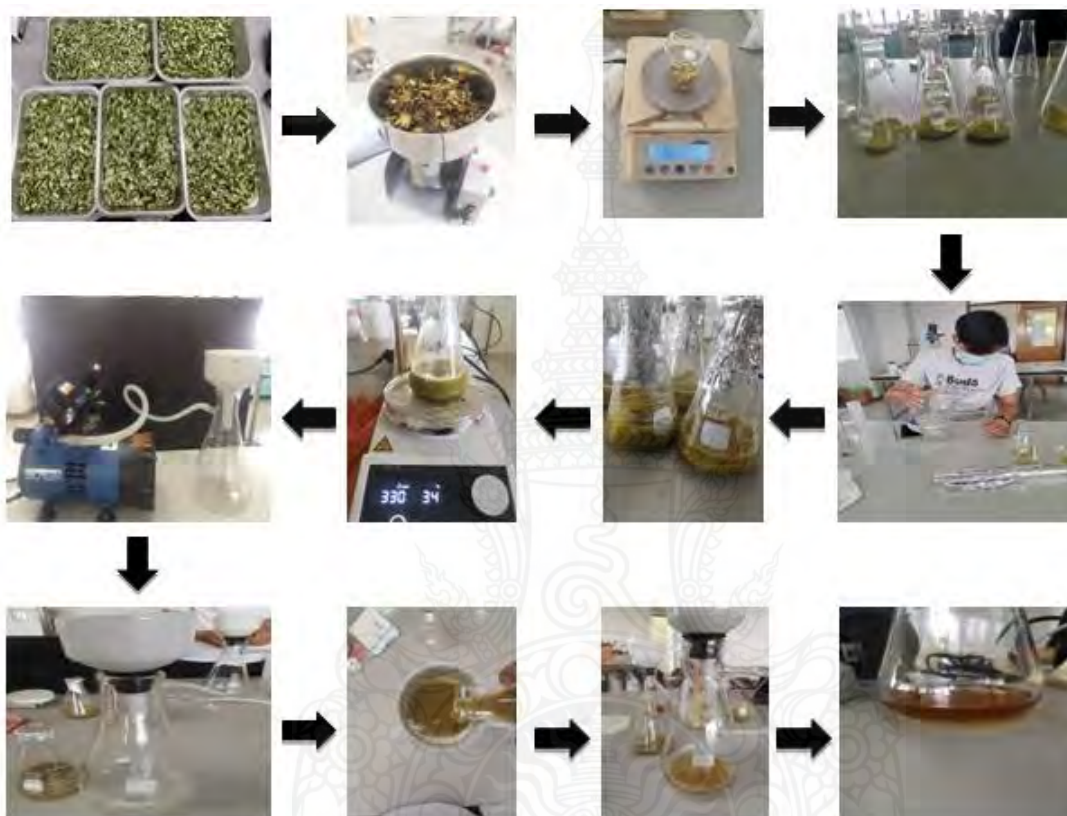
4. การสกัดด้วย เอทานอล

- นำกากผงจากขั้นตอน เอทิลอะซิเตต ใส่ลงในขวดแก้วที่เตรียมไว้
- เติมน้ำ 1 ลิตรลงในขวดแก้วที่เตรียมไว้
- ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง
- กรองเอาสารละลายและระเหยแยกตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator
- เก็บสารสกัด เอทานอล ไว้ในขวดปิดสนิท

- ทากระบวนการเดียวกันทั้งกับผงเปลือกและผงเมล็ดมะม่วง

5. การเก็บรักษาสารสกัด

- สารสกัดแต่ละชนิด (เฮกเซน, เอทิลอะซิเตต, เอทานอล) จากทั้งเปลือกและเมล็ดมะม่วงถูกเก็บในขวดสีชาเพื่อลดการเสื่อมสลายจากแสง
- เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ ต่ำ ประมาณ 4°C จนกว่าจะนำไปใช้ในการทดสอบทางชีวภาพหรือวิเคราะห์คุณสมบัติต่อไป



รูปที่ 3.2 การสกัดสารสำคัญจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงน้ำดอกไม้

3.3 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงน้ำดอกไม้

1. การเตรียมสารละลาย DPPH

- ชั่งสาร DPPH ในปริมาณที่คำนวณได้ให้มีความเข้มข้น 0.1 mM เมื่อละลายในเมทานอล
- ละลายให้เข้ากันและเก็บในภาชนะที่บดแสงเพื่อป้องกันการสลายตัวจากแสง

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

- เตรียมสารละลาย Trolox ความเข้มข้นสูงเป็นสารตั้งต้น (stock solution)
- เจือจางเป็นชุดความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อนำไปสร้างกราฟมาตรฐานในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ

3. การเตรียมสารสกัด

- ละลายสารสกัดแต่ละชนิด (เฮกเซน, เอทิลอะซิเตต, เอทานอล) ในตัวทำละลายที่เหมาะสม (เมทานอลหรือ DMSO ผสมเมทานอล) ให้ได้สารละลายสต็อกความเข้มข้น 10 mg/mL
- ทำการเจือจางต่อเนื่องเพื่อให้ได้ช่วงความเข้มข้นที่ต้องการสำหรับการทดสอบ (เช่น 1–200 µg/mL)

4. การจัดชุดการทดลอง

- เตรียมชุดควบคุมดังนี้
 - Control: DPPH + เมทานอล (ไม่เติมตัวอย่าง)
 - Sample blank: สารสกัด + เมทานอล (ไม่มี DPPH) เพื่อหักลบค่าพื้นหลัง
 - Positive control: Trolox + DPPH ในความเข้มข้นต่าง ๆ
- ในแต่ละ well เติมสารละลาย DPPH และสารตัวอย่างในอัตราส่วนเท่ากัน ปริมาตรรวม 200 µL

5. การเกิดปฏิกิริยา

- ปิดแผ่น microplate ด้วยฟิล์มป้องกันแสง
- ทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้การเกิดปฏิกิริยาเป็นไปอย่างสมบูรณ์

6. การวัดผล

- อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร
- บันทึกค่าของชุดตัวอย่าง ชุดควบคุม และชุด blank อย่างน้อย 3 ซ้ำ

7. การคำนวณผลการยับยั้งอนุมูลอิสระ

- คำนวณร้อยละการยับยั้งด้วยสมการ:

$$\% \text{การยับยั้ง} = \frac{A_{\text{control}} - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}})}{A_{\text{control}}} \times 100$$

- ทำซ้ำการทดลองทั้งหมดอย่างน้อย 3 ชุดอิสระ

8. การหาค่า IC₅₀

- นำค่าร้อยละการยับยั้งที่ได้มาพล็อตกราฟกับความเข้มข้นของตัวอย่าง
- หาค่าความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการยับยั้งร้อยละ 50 (IC₅₀) โดยอาศัยการพิตกราฟเชิงไม่เชิงเส้น หรือการอินเตอร์โพลชันระหว่างจุดที่ครอบคลุม

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลรวม ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วง

การทดสอบปริมาณสารฟีนอลรวมใช้หลักการของปฏิกิริยา Folin–Ciocalteu ซึ่งเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชัน–รีดักชันระหว่างสารประกอบฟีนอลกับรีเอเจนต์ ฟอลิน–ซีโอคัลทิว เมื่อเกิดปฏิกิริยาจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงินเข้ม สามารถตรวจวัดความเข้มสีได้ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ความเข้มของสัญญาณแสงมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณสารประกอบฟีนอลในตัวอย่าง และจะถูกเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างจากกรดแกลลิก (Gallic acid) เพื่อรายงานผลในหน่วย มิลลิกรัมกรดแกลลิกสมมูลต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/g extract)

1. การเตรียมสารมาตรฐาน

- เตรียมสารละลายกรดแกลลิกเข้มข้น 1 mg/mL เป็นสารสต็อก
- เจือจางเป็นชุดความเข้มข้น เช่น 0, 25, 50, 100, 150 และ 200 µg/mL สำหรับใช้สร้างกราฟมาตรฐาน

2. การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์

- เจือจาง Folin–Ciocalteu reagent ในอัตราส่วน 1:10 ด้วยน้ำ ากลั่น
- เตรียมสารละลาย Na_2CO_3 7.5% (w/v) โดยละลายโซเดียมคาร์บอเนตในน้ำ ากลั่น

3. การเตรียมสารสกัด

- ละลายสารสกัดในเมทานอลให้มีความเข้มข้นสต็อก 1 mg/mL
- เจือจางสารสกัดตามช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบ

4. การทดสอบ (แบบ cuvette หรือ microplate)

- ผสมสารมาตรฐานหรือสารสกัด 0.5 mL กับ Folin–Ciocalteu reagent ที่เจือจาง 0.5 mL
- ทิ้งไว้ 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
- เติมน้ำละลาย Na_2CO_3 7.5% ปริมาตร 1.0 mL เขย่าเบา ๆ
- อินคิวเบตในที่มืด 30 นาที
- วัดค่าการดูดกลืนที่ 765 นาโนเมตร

5. การควบคุม

- Blank: ใช้ น้ำ ากลั่นหรือเมทานอลแทนตัวอย่าง
- Sample blank: สารสกัดผสมตัวทำละลาย แต่ไม่ใส่ Folin–Ciocalteu reagent เพื่อหักลบค่าพื้นหลัง

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

- สร้างกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก โดยพล็อตค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน
- หาสมการเชิงเส้นตรง (linear regression) ของกราฟมาตรฐาน
- คำนวณหาความเข้มข้นที่สอดคล้องกับค่าการดูดกลืนของสารสกัด แล้วรายงานเป็น µg GAE/mL
- แปลงค่าเป็น mg GAE/g สารสกัด ตามสูตร:

$$\text{TPC (mg GAE/g extract)} = \frac{C \times V}{m}$$

โดยที่

C คือ ความเข้มข้นสารฟีนอลจากกราฟมาตรฐาน (mg/mL)

V คือ ปริมาตรสารสกัดทั้งหมดที่นำมาทดสอบ (mL)

m คือ มวลสารสกัดที่ใช้ (g)

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วง

1. การทดสอบเชิงคุณภาพ

- การทดสอบด้วยแมกนีเซียมและกรด (Shinoda test)
 - ผสมสารละลายตัวอย่างกับผงแมกนีเซียมเล็กน้อย เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1–2 หยด
 - หากเกิดสีชมพูถึงแดง แสดงการมีอยู่ของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์บางชนิด
- การทดสอบด้วยสารละลายด่างอ่อน (Alkaline reagent test)
 - เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางลงในตัวอย่าง จะปรากฏสีเหลือง
 - เมื่อเติมกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง สีเหลืองจะจางลงหรือหายไป ยืนยันการมีอยู่ของฟลาโวนอยด์
- การทดสอบด้วยอะลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl_3 test)
 - หยดสารละลายตัวอย่างผสมกับ AlCl_3 บนแผ่น TLC แล้วส่องด้วยแสงยูวี 365 นาโนเมตร
 - หากปรากฏการเรืองแสงสีเหลืองหรือเขียว แสดงการตอบสนองของฟลาโวนอยด์

2. การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ใช้วิธีปฏิกิริยาเชิงสีโดย อะลูมิเนียมคลอไรด์-โพแทสเซียมอะซิเตต (AlCl_3 -KAc method) จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร รายละเอียดดังนี้

- เตรียมสารมาตรฐาน quercetin ในช่วงความเข้มข้นที่ก่หนด (เช่น 20–200 $\mu\text{g/mL}$)
- ทาปฏิกิริยากับสารละลาย AlCl_3 และ KAc ตามสัดส่วนมาตรฐานในปริมาตรรวม 5 mL
- วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร
- สร้างเส้นสมการมาตรฐานจากค่าการดูดกลืนแสงของ quercetin ได้สมการเชิงเส้นดังนี้:

$$A = 0.0005C + 0.0356 \quad (R^2 = 0.9965)$$

โดยที่ A คือค่า Absorbance, C คือความเข้มข้นของ quercetin ($\mu\text{g/mL}$)

- ตัวอย่างสารสกัด (เปลือกและเมล็ดมะม่วง) ถูกนำมาทำปฏิกิริยาในสถานะเดียวกัน แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อแทนค่าในสมการมาตรฐาน
- วิธีคำนวณ
 - คำนวณความเข้มข้น quercetin equivalent (QE) ของตัวอย่าง:

$$C_{\text{sample}} = \frac{A_{\text{sample}} - 0.0356}{0.0005} \quad (\mu\text{g/mL})$$

- ปริมาณ quercetin equivalent ในหลอดปฏิกิริยา:

$$m_{\text{QE}} = \frac{C_{\text{sample}} \times V_{\text{rxn}}}{1000} \quad (\text{mg})$$

$$\text{โดย } V_{\text{rxn}} = 5.00 \text{ mL}$$

- มวลสารสกัดที่ใช้จริง:

$$m_{\text{extract}} = \frac{C_{\text{work}} \times V_{\text{aliquot}}}{1000} \quad (\text{g})$$

- คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวม:

$$\text{TFC (mg QE/g extract)} = \frac{m_{\text{QE}}}{m_{\text{extract}}}$$

3. การควบคุมคุณภาพ

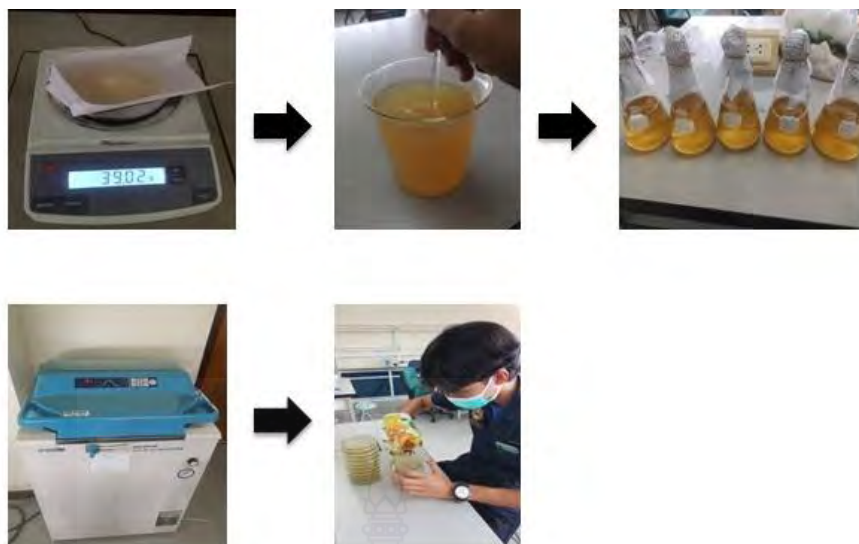
- ทุกตัวอย่างท ำซ้ำ อย่างน้อย 3 ครั้ง และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- สร้างกราฟมาตรฐานใหม่ทุกครั้งที่ทำ การทดลอง เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อน
- ควบคุมการทำงานในที่มืดแสงน้อย เนื่องจากคอมเพล็กซ์ระหว่างฟลาโวนอยด์กับ AlCl_3 สลายตัวได้ง่าย

3.6 การทดสอบสมบัติการต้านเชื้อรา

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในงานวิจัยนี้แสดงดังรูปที่ 3.3 โดยเลือกใช้ Rose Bengal Agar เนื่องจากเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา และสามารถเติมสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เช่น *Tetracycline Hydrochloride* เพื่อเพิ่มความจำเพาะของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยมีขั้นตอนดังนี้

- การชั่งและการละลายสารอาหาร : ชั่งผง Rose Bengal Agar ปริมาณ 30–40 กรัม สำหรับการเตรียมสารละลายในน้ำกลั่นปริมาตรสุดท้าย 1 ลิตร เติมน้ำกลั่น 800–900 มิลลิลิตรลงในปิกเกอร์ ค่อย ๆ เติมผงอาหารที่ชั่งไว้พร้อมกวนจนกระจายตัวสม่ำเสมอ ให้ความร้อนด้วยเตาให้ความร้อนหรือไม่โครเวฟจนผงละลายหมด โดยควบคุมไม่ให้เดือดเพื่อรักษาองค์ประกอบสำคัญ
- การปรับปริมาตรและค่า pH : เติมน้ำกลั่นเพิ่มจนได้ปริมาตรรวม 1 ลิตร ตรวจสอบและปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 5.5–7.0 ตามความเหมาะสม
- การฆ่าเชื้อ : เทสารละลายลงในหลอดทดลองหรือจานเพาะเชื้อ โดยหลีกเลี่ยงการเกิดฟองอากาศ นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15–20 นาที
- การเทลงในจานเพาะเชื้อ : หลังการฆ่าเชื้อ ทิ้งให้สารละลายเย็นลงจนอยู่ที่อุณหภูมิ 45–50 °C ก่อนเทลงในจานเพาะเชื้อหรือหลอดทดลองในปริมาณ 15–20 มิลลิลิตร การควบคุมอุณหภูมิในช่วงดังกล่าวมีความสำคัญ เนื่องจากหากสูงเกินไปอาจทำลายจุลินทรีย์ที่ต้องการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้จากการสังเกตพบว่า เมื่ออุณหภูมิลดลงจาก 60 °C เหลือประมาณ 45 °C ปริมาตรอาหารที่สามารถเทลงในจานเพาะเชื้อเพิ่มขึ้น ซึ่งช่วยให้ได้พื้นผิวที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์
- การทำให้เย็นและแข็งตัว : ปลอຍให้อาหารเลี้ยงเชื้อเย็นและแข็งตัวจนผิวหน้าสม่ำเสมอ เพื่อให้การกระจายตัวและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ
- การเก็บรักษา : เก็บอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมเสร็จแล้วในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C หรือในที่เย็นเพื่อชะลอการเสื่อมสภาพและลดความเสี่ยงการปนเปื้อน หากเป็นอาหารแข็ง เช่น จานเพาะเชื้อ ควรบรรจุในถุงพลาสติกสะอาดหรือห่อด้วยฟิล์มถนอมอาหารก่อนนำไปเก็บ เพื่อป้องกันการสูญเสียความชื้นและยืดอายุการใช้งาน



รูปที่ 3.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

2. การเก็บตัวอย่างกระดาษ การแยกและทำให้เชื้อราบริสุทธ์

ตัวอย่างเชื้อราถูกเก็บจากพื้นผิวเอกสารและหนังสือที่พบการเสื่อมสภาพจากการปนเปื้อนเชื้อราในคลังเก็บ/ห้องสมุด โดยใช้ก้านสาทิปสอดเชื้อที่ขึ้นเล็กน้อยปรับขึ้นด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปาดบนพื้นผิวกระดาษบริเวณที่มีคราบราอย่างเห็นได้ชัด หลังเก็บตัวอย่าง ก้านสาทิปถูกปิดฝาภาชนะปลอดเชื้อและนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 2 ชั่วโมง ภายใต้กล่องขนส่งที่ควบคุมความสะอาด จากนั้นป้ายลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Rose Bengal Agar (RBA; Difco™, USA) ที่มีส่วนผสมของ chloramphenicol ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย จานเพาะเลี้ยงถูกบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C ภายใต้สภาวะมืดเป็นเวลา 5–7 วัน เมื่อโคโลนีเชื้อราปรากฏชัดเจน จึงคัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะสัญญาณแตกต่างกัน และย้ายไปเลี้ยงบน Potato Dextrose Agar (PDA; Merck, Germany) เพื่อทำให้เชื้อบริสุทธ์ กระบวนการย้ายเชื้อทำตัวอย่างน้อยสองครั้งจนได้โคโลนีบริสุทธ์ที่คงที่ และเชื้อบริสุทธ์แต่ละชนิดถูกเก็บรักษาในสภาพ PDA slant ที่อุณหภูมิ 4 °C ส าหรับการทดลองต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อรา ได้ทำการเก็บตัวอย่างเส้นใยสด จากเชื้อราที่ผ่านการเพาะเลี้ยงให้บริสุทธ์ โดยใช้วิธีการกวาดเส้นใยจากพื้นผิวของจานเพาะเลี้ยงอาหาร PDA จากนั้นเส้นใยที่ได้ถูกนำมาสกัดกรดนิวคลีอิก เพื่อแยก Genomic DNA โดยใช้ Presto™ Mini gDNA Yeast Kit (Geneaid, Taiwan) ตามขั้นตอนการสกัดของผู้ผลิต หลังจากสกัดแล้ว ความเข้มข้นของ DNA และความบริสุทธิ์ ถูกตรวจสอบด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์นาโนดรอป (NanoDrop spectrophotometer) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (nm) ซึ่งอัตราส่วน (Ratio) ระหว่างค่าที่ 260/280 nm ถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงความบริสุทธิ์ของกรดนิวคลีอิก จากนั้นทำการขยายชิ้นส่วนของยีนในบริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS region) ของ rDNA ซึ่งเป็นบริเวณที่นิยมใช้สำหรับการจำแนกเชื้อรา เนื่องจากมีความแปรผันสูงระหว่างชนิด (Species-level variability) แต่ยังคงมีลำดับที่คงที่เพียงพอสำหรับการออกแบบไพรเมอร์ (Primer design) โดยใช้ไพรเมอร์มาตรฐาน ได้แก่ ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') และ ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') โดยวิธีปฏิกิริยาถูกใช้พอลิเมอร์เชน (Polymerase Chain Reaction; PCR) โดยใช้สารผสมสำเร็จรูป Quick Taq™ HS DyeMix (Toyobo, Japan) ในปริมาตรปฏิกิริยา 50 ไมโครลิตร ภายใต้สภาวะการเพิ่มปริมาณ โดยการแยกสาย DNA

(Initial denaturation) ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 3 นาที การทำซ้ำ (Cycles) ทั้งหมด 35 รอบ โดยแต่ละรอบประกอบด้วย การแยกสาย (Denaturation) ที่ 95 °C เป็นเวลา 30 วินาที การจับคู่ของไพรเมอร์ (Annealing) ที่ 55 °C เป็นเวลา 30 วินาที การยืดยาว DNA (Extension) ที่ 72 °C เป็นเวลา 60 วินาที และปิดท้ายด้วยการยืดยาวสุดท้าย (Final extension) ที่ 72 °C เป็นเวลา 5 นาที ผลผลิต PCR (PCR product) ถูกนำไปตรวจสอบโดยใช้การรันบนเจลอะการอส (Agarose gel electrophoresis) ความเข้มข้น 1.5% เพื่อยืนยันว่ามีชิ้นส่วน DNA ขนาดประมาณ 500–700 คู่เบส (bp; base pairs) จากนั้นจึงทำให้ชิ้นส่วน DNA ที่ได้บริสุทธิ์ (Purification) โดยใช้ชุด GenepHlow™ Gel/PCR Kit (Geneaid, Taiwan) เพื่อตัดชิ้นส่วนที่ต้องการออกจากเจลและกำจัดสารปนเปื้อนอื่น ๆ DNA ที่บริสุทธิ์แล้วถูกนำไปหาลาดับเบส (DNA sequencing) โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 ในการอ่านลำดับทั้งด้าน 5' และ 3' ผลลัพธ์ที่ได้คือโครมาโทแกรม (Chromatogram) ของลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งต้องผ่านการประมวลผลเพื่อตัดเบสคุณภาพต่ำ (Low-quality bases) และตัดส่วนที่เป็นไพรเมอร์ออก (Primer trimming) จากนั้นลำดับที่สะอาดแล้วถูกนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool for nucleotides) เพื่อค้นหาความคล้ายคลึง (Sequence-similarity) กับลำดับอ้างอิงของเชื้อราที่บันทึกไว้ เกณฑ์การยืนยันชนิด (Identification threshold) กำหนดให้ต้องมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือน (Sequence identity) $\geq 98\%$ และเปอร์เซ็นต์ความครอบคลุม (Query coverage) $\geq 95\%$ จึงถือว่าเป็นการระบุชนิดเชื้อราได้ในระดับที่น่าเชื่อถือ

3. การประเมินฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราแบบ Dual culture บนจาน PDA

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราดาเนินการบนจาน PDA โดยวางแผ่น Antibiotic Test Paper ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร และหยดสารสกัดที่เตรียมไว้ลงบนแผ่นกระดาษทดสอบให้ได้ปริมาตร 40 μL ต่อจุด ปล่อยให้สารซึมเข้าสู่แผ่นจนเกือบแห้งภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ น โคโลนีเชื้อราที่ได้จากขั้นตอนการแยกมาเจาะด้วยคอร์กบอร์เรอร์ (cock borer) ขนาด 6 มม. จากบริเวณชายขอบโคโลนีอายุ 3–5 วัน และย้าย agar plug ที่ได้นับผิวจาน PDA ในตำแหน่งที่ห่างจากแผ่นกระดาษทดสอบ 50 มม. โดยให้หัวเชื้อและแผ่นทดสอบอยู่ตรงข้ามกันบนเส้นผ่านศูนย์กลางเดียวกันของจาน จานแต่ละใบประกอบด้วย 1 หัวเชื้อและ 1 แผ่นทดสอบหนึ่งชนิดต่อจาน

โดยมีชุดการทดสอบประกอบด้วย

- (1) DMSO (ควบคุมลบ),
- (2) DMSO:Eugenol 1:1 (ควบคุมบวก),
- (3) สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงด้วยเฮกเซน
- (4) สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงด้วยเอทิลอะซีเตต
- (5) สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงด้วยเอทานอล
- (6) สารสกัดจากเปลือกมะม่วงด้วยเฮกเซน
- (7) สารสกัดจากเปลือกมะม่วงด้วยเอทิลอะซีเตต
- (8) สารสกัดจากเปลือกมะม่วงด้วยเอทานอล

จานทั้งหมดถูกบ่มที่ 30 °C ภายใต้สภาวะมืด (หรือแสงกระจายอ่อน ๆ) และประเมินผลที่เวลา 7 และ 14 วัน โดยการวัดการเจริญของเส้นใยราตามแนวแกนที่ชี้ไปยังแผ่นทดสอบบันทึกได้นำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเมื่อเทียบกับชุดควบคุม DMSO ตามสมการ Mycelial Growth Inhibition (MGI):

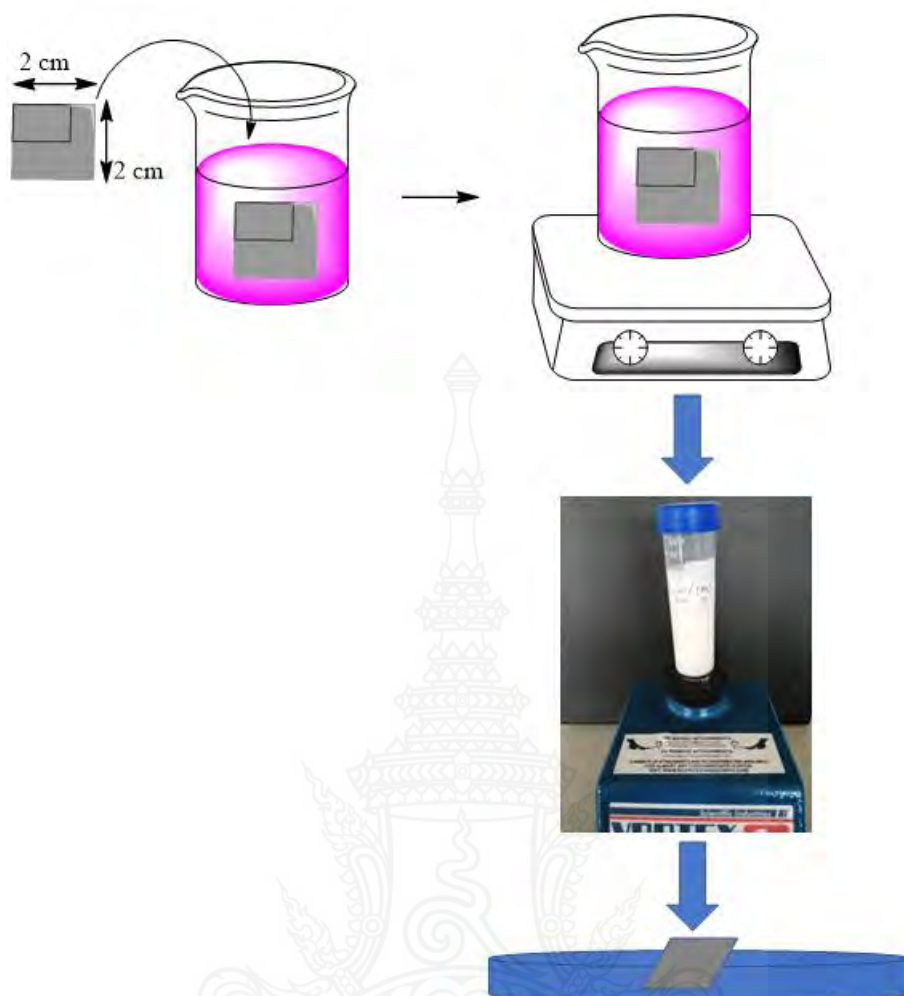
$$\% \text{ inhibition} = \frac{(R_{\text{control}} - R_{\text{treat}})}{R_{\text{control}}} \times 100$$

โดยที่ R_{control} คือ รัศมี/ระยะการเจริญของโคโลนีในชุดควบคุม DMSO และ R_{treat} คือ ระยะการเจริญในจานที่ได้รับสารสกัด/ควบคุมบวก แต่ละชุดทดลองจัดในแบบแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยมีซ้ำ ทางชีวภาพอย่างน้อย 3 จานต่อสาร/ต่อเชื้อรา

3.7 การเคลือบสารละลายบนกระดาษ

ขั้นตอนการเคลือบสารสกัดบนกระดาษแสดงในรูปที่ 3.4 โดยมีรายละเอียดขั้นดังนี้

1. ตัดกระดาษกรอง Whatman เป็นชิ้นขนาดประมาณ $2 \times 2 \text{ cm}^2$
2. เลือกสารสกัดเปลือกมะม่วงในตัวอย่างที่เหมาะสม แล้วเตรียมสารละลายผสมสารสกัดเปลือกมะม่วงและไตรเมทิลซิลิลเซลลูโลส (TMSC) โดยสารสกัดเปลือกมะม่วงมีความเข้มข้น คือ 25%, 20%, 15%, 10% และ 5 % ตามลำดับ
3. นำชิ้นกระดาษที่ตัดเตรียมไว้จุ่มลงในสารละลายสกัดที่เตรียมไว้ล่วงหน้า โดยให้กระดาษจมอยู่ในสารละลายทั้งหมด
4. วางภาชนะบรรจุสารละลายพร้อมกระดาษที่แช่ไว้บนเครื่องเขย่าแบบหมุนวน (vortex mixer) และทำการเขย่าอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 15 นาที เพื่อช่วยให้สารสกัดยึดเกาะและซึมซาบเข้าสู่เส้นใยของกระดาษได้อย่างทั่วถึง
5. หลังครบเวลา นำกระดาษออกจากสารละลายอย่างระมัดระวังเพื่อหลีกเลี่ยงการฉีกขาด
6. วางกระดาษบนพื้นผิวเรียบและสะอาด จากนั้นผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-10 นาที จนกระดาษมีสภาพคงตัวและพร้อมสำหรับใช้งาน ไปใช้ในการทดสอบขั้นถัดไป



รูปที่ 3.4 การเคลือบสารละลายลงบนกระดาษ

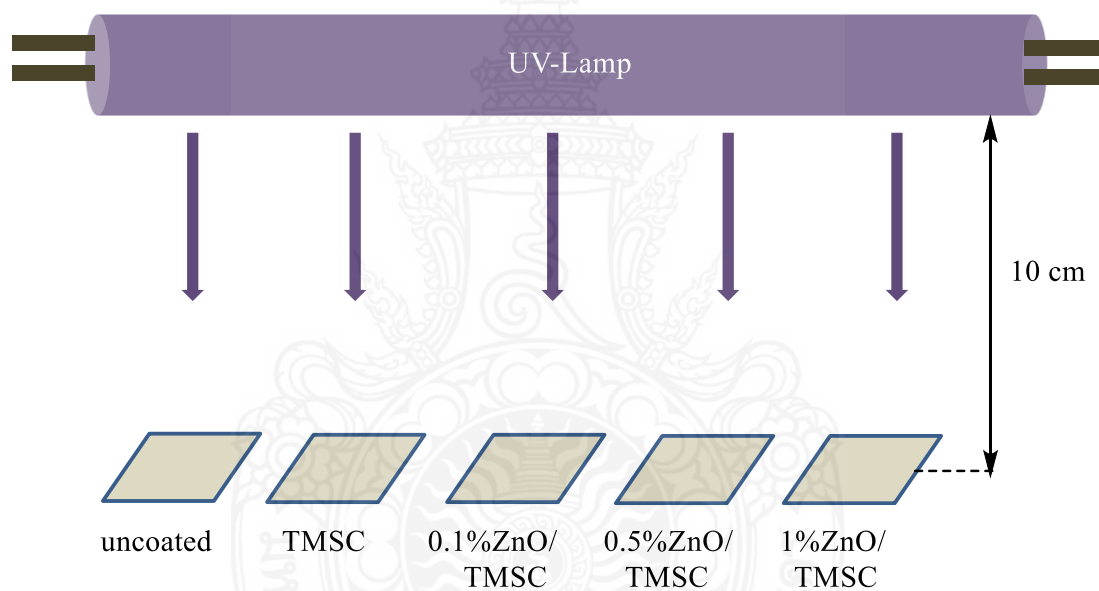
3.8 การฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) บนกระดาษที่เคลือบสารสกัด

หลังจากการเคลือบสารสกัดบนกระดาษกรองแล้ว ได้ทำการตัดชิ้นกระดาษให้มีขนาดมาตรฐาน $2 \times 2 \text{ cm}^2$ เพื่อความสม่ำเสมอในการทดสอบ จากนั้นนำชิ้นกระดาษดังกล่าวไปฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ตภายในเครื่อง UV chamber ที่ติดตั้งหลอดก ลัง 400 W ซึ่งให้รังสีที่มีความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร

ระหว่างการทดลอง ได้กำหนดระยะห่างระหว่างแหล่งกำเนิดรังสีกับพื้นผิวตัวอย่างเป็น 10 เซนติเมตร และเปิดฉายรังสีต่อเนื่องเป็นเวลา 4 ชั่วโมงเต็ม โดยขั้นตอนดังกล่าวดำเนินการที่ศูนย์วิจัยนาโนเทคโนโลยี บูรณาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทั้งนี้ เพื่อให้สภาวะการฉายรังสีมีความคงที่และสามารถเปรียบเทียบผลได้อย่างเป็นระบบ

ขั้นตอนการฉายรังสี UV แสดงไว้ในรูปที่ 3.5

(a)



(b)

รูปที่ 3.5 (a) หลอดรังสี UV (b) กระดาษผ่านการฉายรังสี UV

3.11 การวัดค่าการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษที่เคลือบสารสีกัด

กระดาษตัวอย่างทั้งหมดถูกนำไปฉายรังสี UV และวัดค่าการเปลี่ยนแปลงสีด้วยเครื่องวัดสี (colorimeter) เครื่องวัดจะปล่อยแสง UV ไปตกกระทบบนผิวกระดาษ และตรวจวัดแสงที่กระเจิงออกจากผิวหน้ากระดาษ จากนั้นระบบจะคำนวณค่าการเปลี่ยนแปลงสี ได้แก่ ΔL , Δa , Δb และ ΔE เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษหลังจากเคลือบสารสีกัดโดยใช้สมการดังนี้

$$\Delta L = L_{\text{sample}} - L_{\text{reference}}$$

$$\Delta a = a_{\text{sample}} - a_{\text{reference}}$$

$$\Delta b = b_{\text{sample}} - b_{\text{reference}}$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

โดยที่

L คือ ค่าความสว่าง (Lightness)

A คือ ค่าการเคลื่อนที่ในแกนสีเขียว-แดง

B คือ ค่าการเคลื่อนที่ในแกนสีฟ้า-เหลือง

ΔL , Δa , Δb และ ΔE คือค่าการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษหลังการเคลือบสารสีกัดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอ้างอิง

3.12 การวัดสมบัติเชิงกลของกระดาษก่อนและหลังการเคลือบสารสีกัด

การทดสอบสมบัติเชิงกลของกระดาษ ได้แก่ ความต้านแรงดึงสูงสุด (tensile strength at maximum, MPa) และ ความยืดตัวเมื่อแตก (tensile strain at break, %) ถูกดำเนินการตามมาตรฐาน TAPPI T494 om-01 โดยใช้เครื่องทดสอบแรงดึงสากล (Universal Testing Machine, Instron 5966) ขั้นตอนการทดลองดังนี้

- ตัดตัวอย่างกระดาษขนาดตามมาตรฐาน TAPPI T494 om-01 สำหรับทั้งกระดาษก่อนและหลังการเคลือบสารสีกัด
- ติดตั้งตัวอย่างบนเครื่องทดสอบแรงดึง (Instron 5966) โดยตั้งค่าตามคู่มือการทดสอบ
- ดึงตัวอย่างกระดาษจนถึงจุดแตกและบันทึกค่า ความต้านแรงดึงสูงสุด (MPa) และ ความยืดตัวเมื่อแตก (%)
- ทดลองวัดอย่างน้อย สามครั้งต่อแต่ละตัวอย่าง เพื่อค ำนวณค่าเฉลี่ยของสมบัติทั้งสอง

บทที่ 4

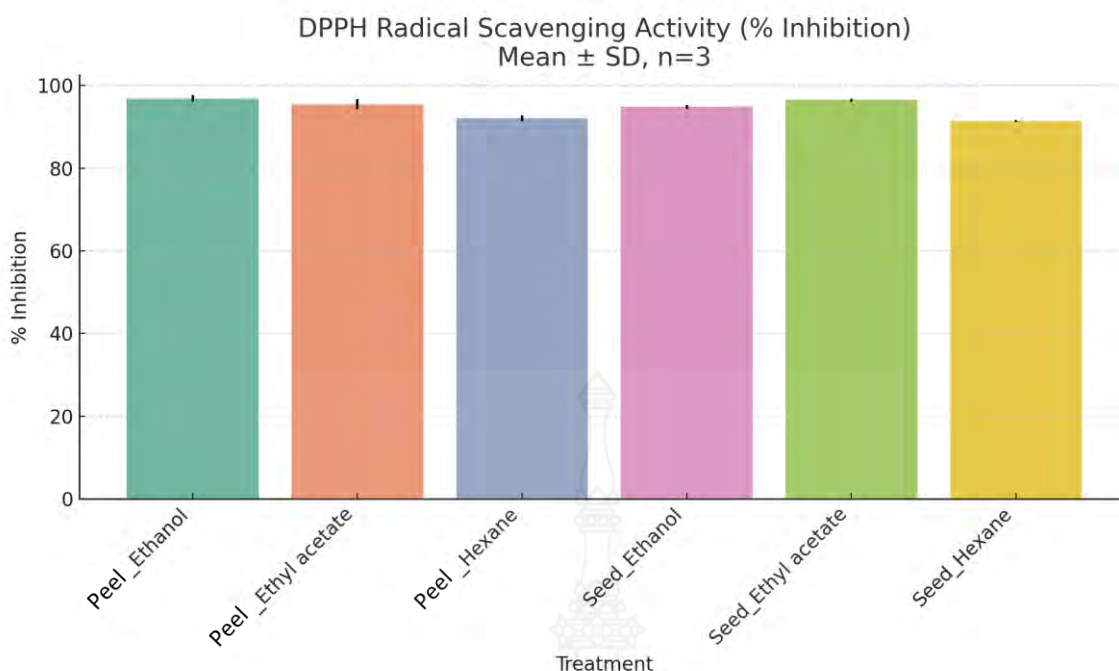
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยวิธี DPPH radical scavenging assay แสดงดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1 โดยพบว่าสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงที่ใช้ตัวทาละลายต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งในแง่ของค่า DPPH Equivalent ($\mu\text{mol/g extract}$) และค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (% inhibition) ผลลัพธ์โดยรวมแสดงว่าสารสกัดที่ใช้ตัวทาละลายมีขี้ (เอทานอล และ เอทิลอะซิเตต) มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ใช้ตัวทาละลายไม่มีขี้ (เฮกเซน) ค่าเฉลี่ย DPPH Equivalent อยู่ในช่วง $20.05\text{--}21.27 \mu\text{mol/g extract}$ โดย เปลือก-เอทานอล ให้ค่ามากที่สุด (21.27 ± 0.16) และ เมล็ด-เฮกเซน ให้ค่าน้อยที่สุด (20.05 ± 0.05) สำหรับค่า % inhibition พบว่าทุก treatment ให้ค่ามากกว่า 90% ซึ่งสะท้อนถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงโดยธรรมชาติ แต่ยังคงมีความแตกต่างที่มีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม โดย เปลือก-เอทานอล (96.91 ± 0.73) และ เมล็ด-เอทิลอะซิเตต (96.53 ± 0.35) มีค่ามากที่สุด ขณะที่ เมล็ด-เฮกเซน (91.40 ± 0.23) มีค่าน้อยที่สุด ผลการวิเคราะห์ One-way ANOVA แสดงให้เห็นความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.0001$) และการทดสอบ Tukey HSD พบว่า เฮกเซน มีค่า DPPH Eq และ % inhibition ต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ เอทานอล และ เอทิลอะซิเตต ในขณะที่ เปลือก-เอทานอล และ เปลือก-เอทิลอะซิเตตไม่แตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับ เมล็ด-เอทานอล และ เมล็ด-เอทิลอะซิเตตซึ่งสะท้อนว่าตัวทาละลายทั้งสองชนิดสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระได้ใกล้เคียงกัน การเปรียบเทียบระหว่างส่วนของพืชยังพบว่าเมล็ดและเปลือกมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระที่สูงทั้งคู่ แต่ เมล็ด-เฮกเซน มีประสิทธิภาพด้อยกว่าอย่างชัดเจน

ตารางที่ 4.1 แสดงค่า DPPH Radical Scavenging Activity ของสารสกัดพืช ทั้งในรูป DPPH Equivalent ($\mu\text{mol/g extract}$) และ % Inhibition โดยใช้ตัวทาละลายต่าง ๆ (เฮกเซน, เอทิลอะซิเตต, เอทานอล) ผลลัพธ์แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD, $n=3$)

Treatment	DPPH Equivalent ($\mu\text{mol/g extract}$)	% Inhibition
เปลือก_เอทานอล	21.27 ± 0.16	96.91 ± 0.73
เปลือก_เอทิลอะซิเตต	20.95 ± 0.26	95.48 ± 1.18
เปลือก_เฮกเซน	20.2 ± 0.15	92.08 ± 0.68
เมล็ด_เอทานอล	20.82 ± 0.1	94.87 ± 0.47
เมล็ด_เอทิลอะซิเตต	21.19 ± 0.08	96.53 ± 0.35
เมล็ด_เฮกเซน	20.05 ± 0.05	91.4 ± 0.23
ANOVA	$F = 34.44, p < 0.0001$	$F = 34.44, p < 0.0001$



รูปที่ 4.1 % Inhibition ของสารสกัดพืชด้วยตัวท ละละต่าง ๆ (Mean ± SD, n=3)

4.2 ผลการวัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด

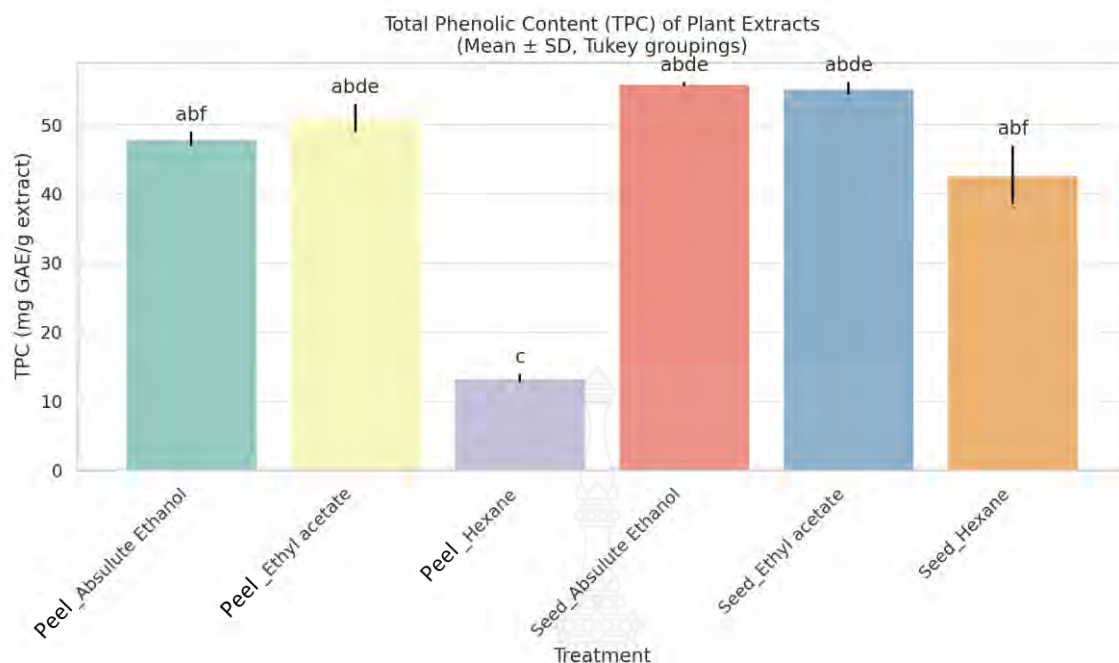
การสกัดสารฟีนอลิกจากเปลือก (peel) และเมล็ด (seed) ของมะม่วงด้วยตัวทละลาย 3 ชนิด (เฮกเซน, เอทิลอะซิเตตและ เอทานอล) พบความแตกต่างเชิงปริมาณอย่างเด่นชัดทั้งระหว่างตัวท ละลายและระหว่างส่วนของพืช ค่าเฉลี่ย ($\pm$ SD; n=3) ที่วัดเป็น mg GAE/g extract (ตารางที่ 4; ภาพที่ 3) แสดงว่าในเปลือก ที่สกัดด้วย เฮกเซน ให้ค่า TPC ต่ำมาก (13.32 ± 0.66) ในขณะที่ เอทิลอะซิเตตและ เอทานอล ให้ค่าสูงกว่าหลายเท่า (51.05 ± 2.01 และ 47.99 ± 1.03 ตามลำดับ) ส่วนใน เมล็ด ทั้ง 3 ตัวทละลายให้ค่า TPC สูง โดยเฉพาะ เอทานอล (55.93 ± 0.30) และ เอทิลอะซิเตต (55.27 ± 0.91) ซึ่งอยู่ในระดับใกล้เคียงกัน ขณะที่ เฮกเซน ต่ำกว่า (42.78 ± 4.20) เมื่อพิจารณาความสม่ำเสมอของผล (precision) จากค่าส่วนเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (CV%) พบว่ากลุ่มที่ใช้ตัวทละลายมีขั้วสูง-ปานกลางให้ความคงเส้นคงวาทีกว่าอย่างชัดเจน วิธีสกัดด้วย เอทานอล/เอทิลอะซิเตตให้ค่าที่ ทั้งสูงและเสถียรมากกว่า เฮกเซน ซึ่งสะท้อนสภาพธรรมชาติของสารฟีนอลิกที่มีความมีขั้ว (polar/semi-polar) และจึงถูกดึงออกได้ดีกว่าโดยตัวท ละลายมีขั้ว

การทดสอบความแตกต่างด้วย One-way ANOVA รวม 6 treatment ให้ค่า $F = 190.60$ และ $p < 0.0001$ ยืนยันอย่างมีนัยสำคัญว่าการเปลี่ยนส่วนของพืชและตัวท ละลายส่งผลต่อค่า TPC โดยรวมอย่างเด่นชัด เมื่อวิเคราะห์แยกภายในแต่ละส่วนของพืช ผลลัพธ์สอดคล้องกันคือในเปลือก (peel) ค่า $F = 716.72$, $p < 0.0001$ และในเมล็ด (seed) ค่า $F = 26.54$, $p = 0.0010$ ทั้งสองกรณีบ่งชี้ความแตกต่างระหว่างตัวทละลายอย่างมีนัยสำคัญ หลังจากนั้นการเปรียบเทียบรายคู่ด้วย Tukey HSD พบว่า (1) เปลือก-เฮกเซน ต่ำกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ (กลุ่มต่ำสุด) (2) เปลือก-เอทิลอะซิเตตและ เปลือก-เอทานอล ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญต่อกันเอง แต่สูงกว่า peel-เฮกเซน อย่างมีนัยสำคัญ (3) ในเมล็ด เมล็ด-เอทานอล และ เมล็ด-เอทิลอะซิเตตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และทั้งคู่สูงกว่า Seed-เฮกเซน อย่างมีนัยสำคัญ

ผลรายสัปดาห์ (effect size เชิงใช้งาน) แสดงให้เห็นความแตกต่างที่มีนัยสำคัญเชิงชีวภาพด้วย เช่น ในเปลือก-เอทิลอะซีเตตสูงกว่า เฮกเซน ประมาณ 3.83 เท่า (+283%) และเอทานอล สูงกว่า เฮกเซน ประมาณ 3.60 เท่า (+260%) ส่วนใน “เมล็ด” เอทานอล และเอทิลอะซีเตตสูงกว่า เฮกเซน ราว 31% และ 29% ตามลำดับ นอกจากนี้ หากเปรียบเทียบ ระหว่างส่วนของพืชภายใต้ตัวทาละลายเดียวกัน เมล็ดให้ค่า TPC สูงกว่าเปลือกอย่างเด่นโดยเฉพาะในเฮกเซน (เมล็ด 42.78 vs เปลือก 13.32; สูงกว่า ~221% เมื่ออิงค่าเปลือก) ขณะที่ความต่างใน เอทิลอะซีเตต (+8.3%) และเอทานอล (+16.5%) มีขนาดปานกลาง ความมีขี้ของตัวทาละลาย เป็นปัจจัยชี้ขาดต่อประสิทธิภาพการดึงสารฟีนอลิก: เฮกเซน (ไม่มีขี้) สามารถสกัดสารกลุ่มนี้ได้จำกัด ขณะที่ เอทานอล (มีขี้) และเอทิลอะซีเตต (กึ่งขี้) ทำได้ดีกว่าอย่างชัดเจน ทั้งในเชิงค่าเฉลี่ยและความเสถียรของผล (SD/CV ต่ำ) ความแตกต่างระหว่างส่วนของพืชสะท้อนองค์ประกอบเมแทบอลิตรองที่แตกต่าง โดยเมล็ดมีแนวโน้มสะสมฟีนอลิกในระดับสูงกว่า จึงให้ค่า TPC สูงอย่างคงที่เมื่อใช้ตัวทาละลายที่เหมาะสม ผลรวมเชิงสถิติและผลเชิงปฏิบัติการจึงขึ้น ได้ว่า เอทานอล และ/หรือ เอทิลอะซีเตต เป็นตัวเลือกที่เหมาะสมสำหรับการสกัดฟีนอลิกจากทั้งเมล็ดและเปลือกของวัตถุดิบนี้ โดยเอทานอล มีข้อได้เปรียบด้านความปลอดภัย การอ้างอิงในงานผลิต และให้ค่าความแปรปรวนต่ำมาก เมล็ด-เอทานอล $SD = 0.30 \text{ mg GAE/g}$ ทั้งนี้หากเป้าหมายคือผลผลิตฟีนอลิกรวมสูงสุด (ตารางที่ 4.2 และ รูปที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ค่า Total Phenolic Content (TPC) ของสารสกัดพืช (Mean $\pm$ SD, n=3) และผลการเปรียบเทียบทางสถิติ (Tukey HSD) โดยใช้ตัวทาละลายแตกต่างกัน (เฮกเซน, เอทิลอะซีเตต, เอทานอล)

Treatment	TPC (Mean $\pm$ SD, mg GAE/g extract)	Tukey Group
เปลือก_เอทานอล	47.99 $\pm$ 1.03	abf
เปลือก_เอทิลอะซีเตต	51.05 $\pm$ 2.01	abde
เปลือก_เฮกเซน	13.32 $\pm$ 0.66	c
เมล็ด_เอทานอล	55.93 $\pm$ 0.3	abde
เมล็ด_เอทิลอะซีเตต	55.27 $\pm$ 0.91	abde
เมล็ด_เฮกเซน	42.78 $\pm$ 4.2	abf



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงค่า TPC ของสารสกัดพืชด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ (Mean $\pm$ SD) พร้อมตัวอักษรยกกากับกลุ่มทางสถิติ (Tukey HSD, $p < 0.05$)

4.3 ผลการแยกสารสกัดด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี

จากการนำสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดมะม่วงมาวิเคราะห์องค์ประกอบสารสำคัญที่สามารถระเหยง่ายด้วยเทคนิค GC-MS สรุปได้ดังตารางที่ 4.3 โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. การสกัดสารเปลือกมะม่วงที่ใช้ตัวทำละลาย

- เอทานอล: พบสารสำคัญ เช่น 5-hydroxymethylfurfural, 1,2,3-Benzenetriol, n-Hexadecanoic acid, Octadecenamide ซึ่งเป็นสารกลุ่มฟีนอลิกและกรดไขมัน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลชีพ
- เอทิลอะซิเตต: พบสารสำคัญ เช่น 1,2,3-Benzenetriol, n-Hexadecanoic acid, (Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrienoic acid, Mangol I และ II ซึ่งเป็นสารฟีนอลิกและกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง
- เฮกเซน: พบสารสำคัญ เช่น Heptacosane, Pentacosane, Hexacosane, Octacosane ซึ่งเป็นสารโมเลกุลยาว เน้นคุณสมบัติด้านความเสถียรเชิงโครงสร้าง มากกว่าฤทธิ์ทางชีวภาพ

2. การสกัดสารเมล็ดมะม่วงที่ใช้ตัวทำละลาย

- เอทานอล: พบสารสำคัญ เช่น 1,2,3-Benzenetriol, Ethyl gallate, Butyl gallate, Palmitoleamide ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของกรดแกลลิกและฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงมาก
- เอทิลอะซิเตต: พบสารสำคัญ เช่น 1,2,3-Benzenetriol, Octadecanoic acid, Palmitoleamide และสารไฮโดรคาร์บอนบางชนิด สะท้อนการดึงสารที่มีขั้วปานกลางได้ดี

- เฮกเซน: พบสารสำคัญ เช่น ไฮโดรคาร์บอนสายยาว (Heptacosane, Octacosane, Nonacosane, Hexacosane) ซึ่งมีความคงตัวสูง แต่มีบทบาทด้านชีวภาพต่ำเมื่อเทียบกับสารฟีนอลิก

3. ความแตกต่างระหว่างตัวทำละลาย

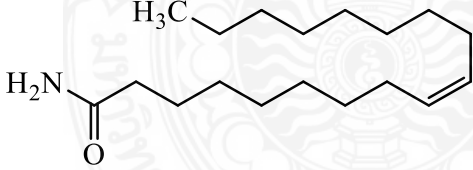
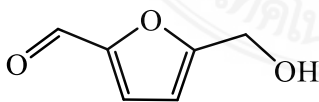
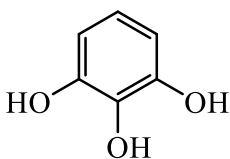
- เอทานอล สามารถดึงสารฟีนอลิกและอนุพันธ์กรดแกลลิกออกมาได้ชัดเจน โดยเฉพาะในเมล็ดมะม่วง ท ให้มีศักยภาพสูงด้านสารต้านอนุมูลอิสระ
- เอทิลอะซิเตต เน้นสกัดสารกึ่งขั้ว เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัวและไตรฟีนอล (1,2,3-Benzenetriol) พบมากในเปลือกมะม่วง สอดคล้องกับผลพลาไวโนอยด์ที่สูงเมื่อใช้ตัวทำละลายชนิดนี้
- เฮกเซน สกัดสารกลุ่ม non-polar hydrocarbon ได้มาก แต่ไม่ใช่สารกลุ่มที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพโดดเด่นด้านต้านอนุมูลอิสระหรือต้านเชื้อโรค

4. ความแตกต่างระหว่างเปลือกและเมล็ดมะม่วง

- เมล็ดมะม่วง: มีสารกลุ่มฟีนอลิกเข้มข้น (Ethyl gallate, Butyl gallate) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงมาก จึงเหมาะสม สำหรับการพัฒนาสารออกฤทธิ์ด้านสุขภาพและเวชสำอาง
- เปลือกมะม่วง: มีความเด่นในกลุ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวและสารอนุพันธ์ที่ช่วยเสริมฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ต้านจุลชีพและปกป้องโครงสร้างเซลล์

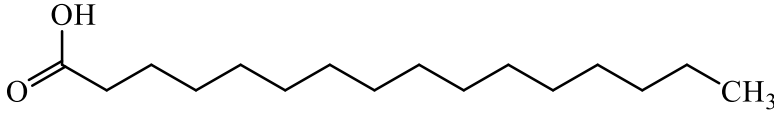
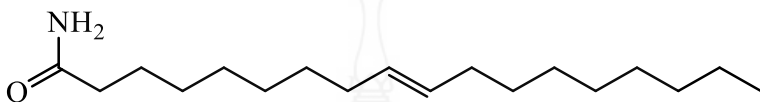
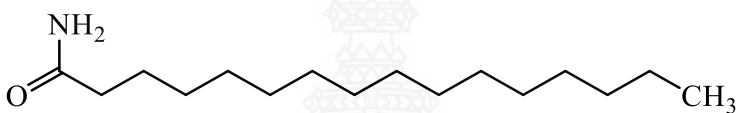
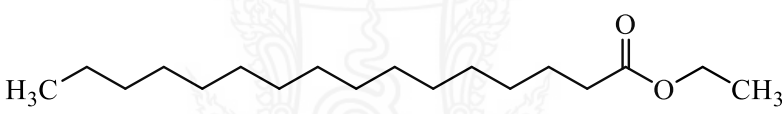
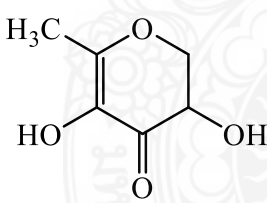
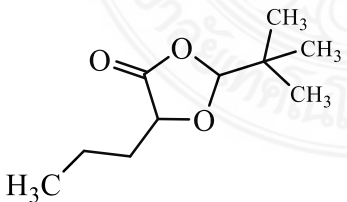
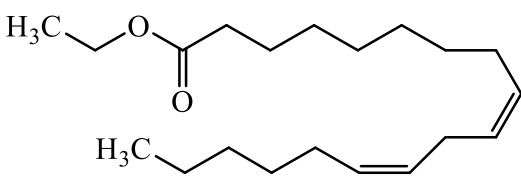
ตารางที่ 4.3 สารสำคัญะเหียง่ายจากสารสกัด :

(a) เปลือกมะม่วงที่ใช้ เอทานอล เป็นตัวทำละลาย

%	RT	Chemical
99.23	36.592	(Z)-9-Octadecenamide 
56.87	12.733	5-hydroxymethylfurfural 
51.68	16.78	1,2,3-Benzenetriol 

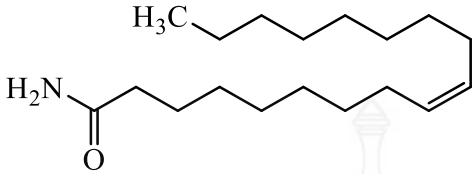
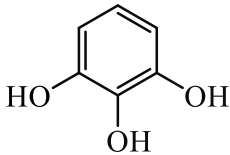
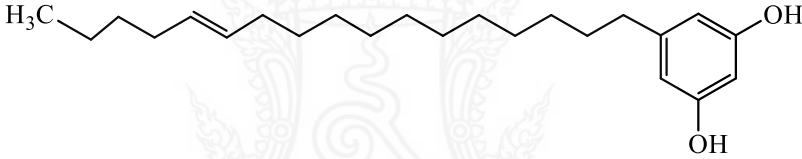
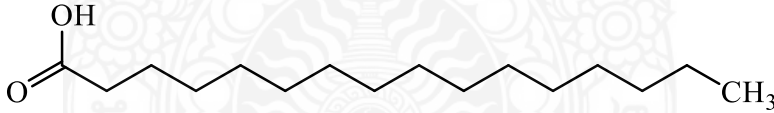
ตารางที่ 4.3 (ต่อ) สารส คัญะเหยง่ายจากสารสกั :

(a) เปลือกมะม่วงที่ไ้ เอทานอล เป็ตัวท ละลาย

9.21	29.573	n-Hexadecanoic acid 
8.98	36.69	9-octadecenamide 
8.29	33.53	Hexadecanamide 
5.62	30.218	Ethyl hexadecanoate 
5.60	10.419	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one 
4.5	11.967	2-t-Butyl-5-propyl-(1,3)-dioxolan-4-one 
4.15	33.251	Linoleic ethyl ester 

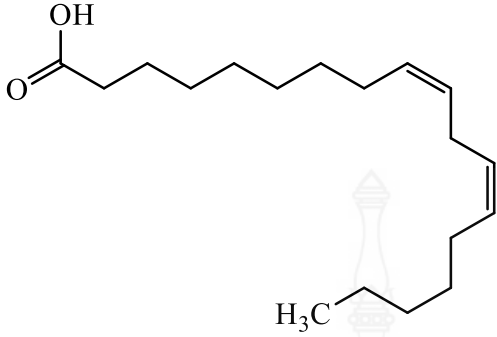
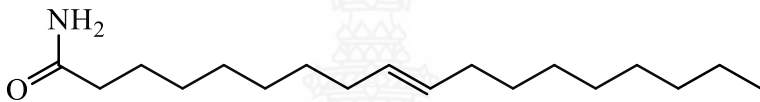
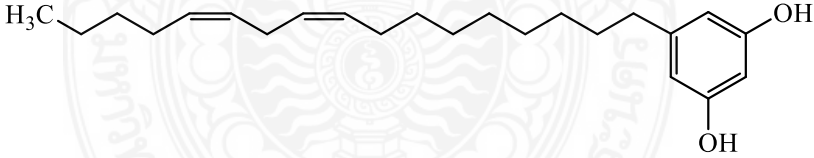
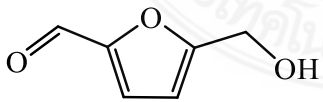
ตารางที่ 4.3 (ต่อ) สารส คัญะเหยง่ายจากสารสกัด :

(b) เปลือกมะม่วงที่ใช้ เอทิลอะซิเตต เป็นตัวท ละลาย

%	RT	Chemical
100	36.592	(Z)-9-Octadecenamide 
25.28	16.769	1,2,3-Benzenetriol 
25.12	45.734	Mangol II 
23.77	29.589	n-Hexadecanoic acid 
9.97	33.538	Hexdecanamide 

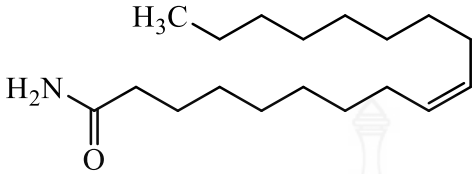
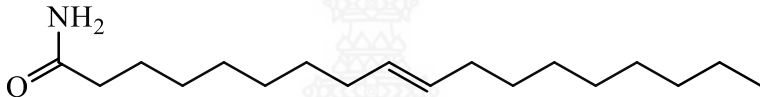
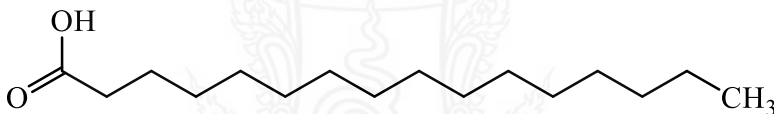
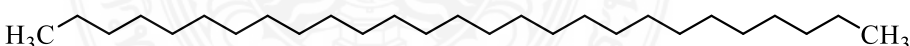
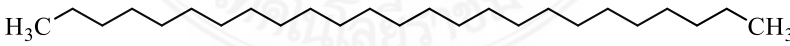
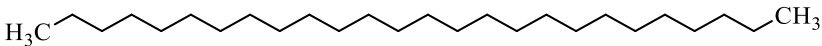
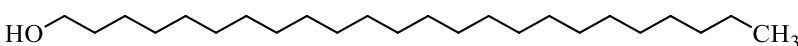
ตารางที่ 4.3 (ต่อ) สารสาคัญะเห่ง่ายจากสารสกัด :

(b) เปลือกมะม่วงที่ใช้ เอทิลอะซิเตต เป็นตัวทละลาย

9.57	32.83	(Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrienoic acid 
8.57	36.695	9-octadecenamide 
6.86	41.696	1-Tetracosanol 
5.72	45.503	Mangol I 
5.25	12.938	5-Hydroxymethylfurfural 

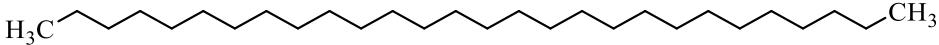
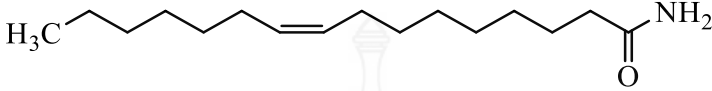
ตารางที่ 4.3 (ต่อ) สารส คัญะเหยง่ายจากสารสกัด :

(c) เปลือกมะม่วงที่ใช้ เฮกเซน เป็นตัวท ละลาย

%	RT	Chemical
100	36.591	(Z)-9-Octadecenamide 
44.91	49.747	No matching
9.01	36.694	9-Octadecenamide 
8.25	29.957	n-Hexadecanoic acid 
7.8	33.541	Hexadecanamide 
6.81	41.79	Heptacosane 
3.78	38.824	Pentacosane 
3.68	40.334	Hexacosane 
3.36	41.704	1-Tetracosanol 

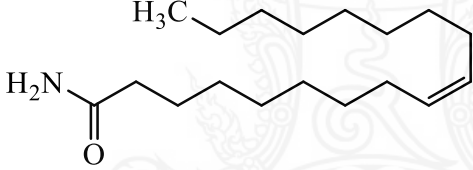
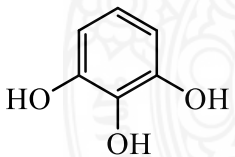
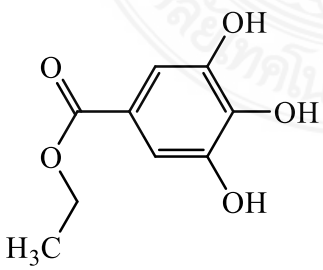
ตารางที่ 4.3 (ต่อ) สารส คัญะเหยง่ายจากสารสกัด :

(c) เปลือกมะม่วงที่ใช้ เฮกเซน เป็นตัวท ละลาย

3	43.199	Octacosane 
2.55	33.181	Palmitoleamide 

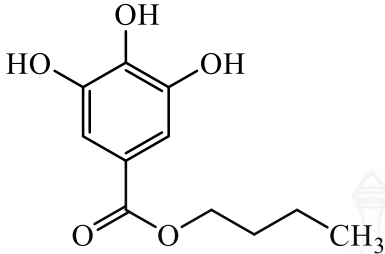
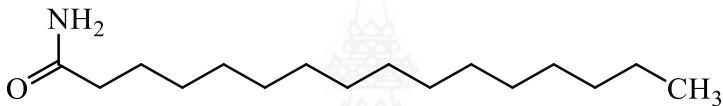
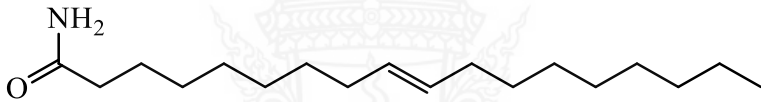
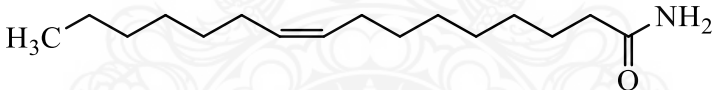
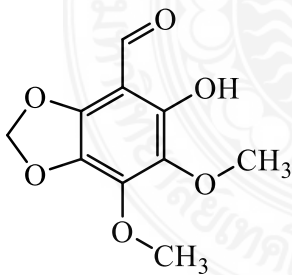
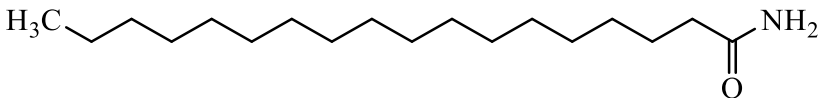
ตารางที่ 4.3 (ต่อ) สารส คัญะเหยง่ายจากสารสกัด :

(d) เมล็ดมะม่วงที่ใช้ เอทานอล เป็นตัวท ละลาย

%	RT	Chemical
100	36.597	(Z)-9-Octadecenamide 
99.24	16.674	1,2,3-Benzennetriol 
25.47	29.274	Ethyl gallate 

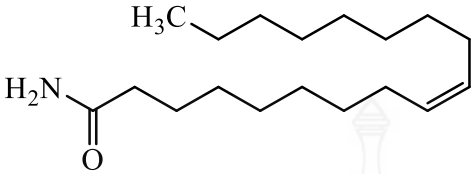
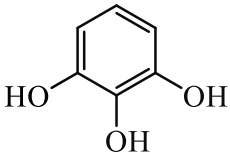
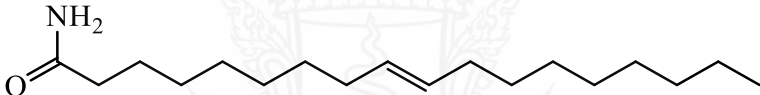
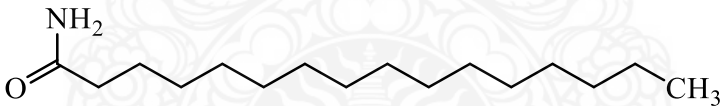
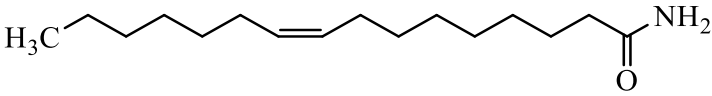
ตารางที่ 4.3 (ต่อ) สารส คัญะเห่ง่ายจากสารส กัด :

(d) เมล็ดมะม่วงที่ใช้ เอทานอล เป็นตัวท ละลาย

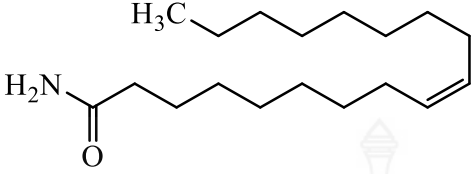
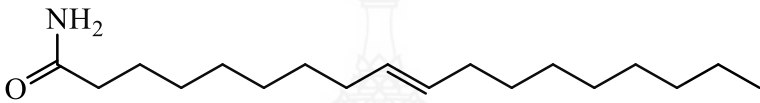
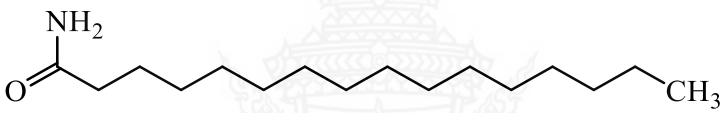
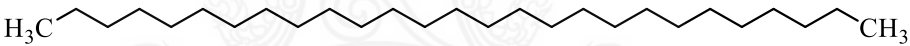
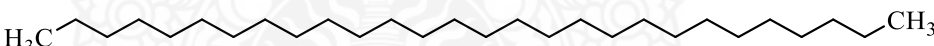
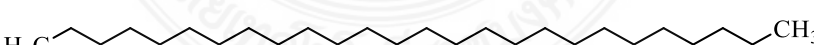
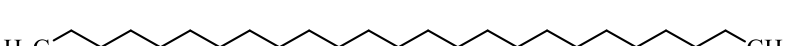
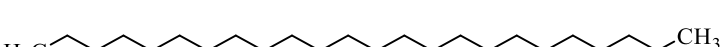
19.3	31.156	Butyl gallate 
8.91	33.541	Hexadecanamide 
8.68	36.697	9-Octadecenamide 
3.86	33.175	Palmitoleamide 
3.69	32.816	5-Hydroxy-6,7-dimethoxy-2H-1,3-benzadioxol-4-carbaldehyde 
1.79	37.023	Octadecanamide 

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) สารส คัญะเห่ง่ายจากสารสกัด :

(e) เมล็ดมะม่วงที่ใช้ เอทิลอะซิเตต เป็นตัวท ละลาย

%	RT	Chemical
100	36.593	(Z)-9-octadecenamide 
23.23	16.888	1,2,3-benzenetriol 
9.64	36.696	9-octadecenamide 
7.51	33.541	Hexadecanamide 
2.82	33.255	Octadecanoic acid 
2.6	9.269	Undecane 
2.16	33.177	Palmitoleamide 

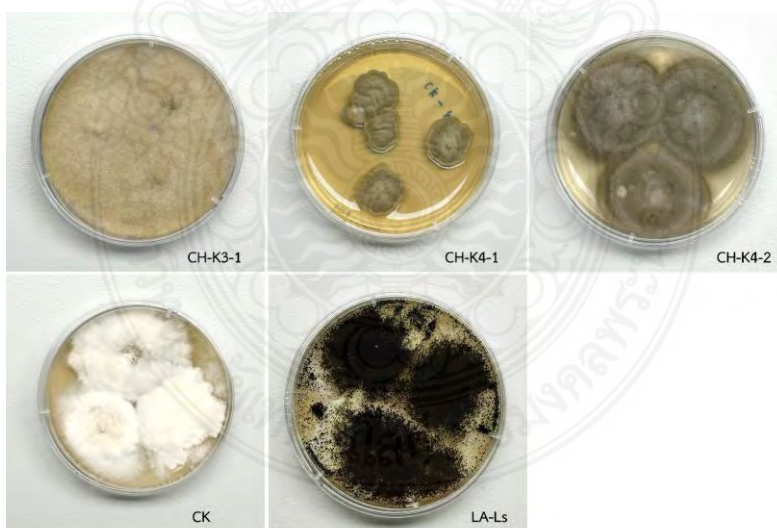
ตารางที่ 4.3 (ต่อ) สารส คัญะเหยง่ายจากสารสกั :
 (f) เมล็ดมะม่วงที่ใช้ เฮกเซน เป็นตัวท ละลาย

%	RT	Chemical
100	36.6	(Z)-9-Octadecenamide 
9.92	36.7	9-Octadecenamide 
5.64	33.546	Hexadecanamide 
4.78	41.791	Heptacosane 
4.77	43.197	Octacosane 
4.57	44.559	Nonacosane 
4.39	40.337	Hexacosane 
4.21	38.828	Pentacosane 
3.21	37.263	Tetracosane 

4.4 การศึกษาลักษณะเฉพาะของเชื้อราจากหนังสือ

จากการแยกเชื้อราบริเวณพื้นผิวเอกสารและหนังสือที่พบการเสื่อมสภาพจากการปนเปื้อนเชื้อราในคลังเก็บ/ห้องสมุด บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Rose Bengal Agar (RBA; Difco™, USA) ที่มีส่วนผสมของ chloramphenicol ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C ภายใต้สภาวะมืดเป็นเวลา 7 วัน พบโคโลนีที่มีลักษณะพื้นฐานแตกต่างกัน จำนวน 5 isolate จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อราที่แยกได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อราที่เจริญบนจานเพาะเลี้ยงมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันชัดเจนในด้าน สี (color), ลักษณะพื้นผิว (texture), รูปร่างขอบเขต (margin), โครงสร้างพื้นผิวโคโลนี (topography) และการสร้างสปอร์ (sporulation pattern) โดยสามารถจำแนกได้อย่างน้อย 5 isolate ที่มีลักษณะเฉพาะดังต่อไปนี้ (รูปที่ 4.3, ตารางที่ 4.4)

เชื้อรา CH-K3-1 พบว่าโคโลนีแผ่คลุมพื้นที่กว้าง สีซีด ผิววาว ละเอียดและสปอร์เกิดในระดับต่ำ ขอบเรียบแบนวุ้น สันนิษฐานว่าเป็นเชื้อราในกลุ่มเจริญเร็วแต่สร้างสปอร์น้อยในระยะแรก ขณะที่ isolate จาก CH-K4-1 แสดงลักษณะโคโลนีหลายโคโลนีเดี่ยว สีเทาอมมะกอก-เขียว ขอบหยักเป็นคลื่น และมีวงรวมศูนย์ชัดเจนซึ่งบ่งชี้การสร้างสปอร์ปานกลางถึงสูง ส่วน isolate จาก CH-K4-2 พบโคโลนีสามกลุ่มใหญ่เกือบแตะกัน สีเทาอมมะกอกเข้ม มี “วงตา” ตรงกลางและโครงสร้างแบบ concentric ring ที่เด่นชัด การสร้างสปอร์สูงมากจนผิวโคโลนีดูเป็นผง ส่วน CK มีลักษณะผิวเป็นผงสีดํา วมะกอกด อย่งหนาแน่น กระจายเป็นหย่อมใหญ่ ขอบโคโลนีเบลอ พุ่งด้วยผงสปอร์ สะท้อนการสร้างสปอร์ในระดับสูงมาก ในขณะที่ isolate จาก LA-As เป็นโคโลนีสีขาวฟูคล้ายสําลิ (floccose) นูนต่ำ ขอบไม่เรียบ มีเส้นใยพุ่งและเริ่มแสดงโทนเทากลางในบางบริเวณ ซึ่งอาจเป็นระยะเริ่มสร้างสปอร์



รูปที่ 4.3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่แยกได้จากพื้นผิวเอกสารและหนังสือบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน พบความแตกต่างทางสัณฐานวิทยา (morphological diversity) ที่เด่นชัดระหว่างแต่ละ isolate ได้แก่ CH-K3-1, CH-K4-1, CH-K4-2, CK และ LA-As

ตารางที่ 4.4 ลักษณะโคโลนีเชื้อราที่แยกได้จากเอกสาร/หนังสือ

Isolate	สีผิวหน้า (Obverse color)	ลักษณะพื้นผิว (Texture)	โครงสร้างพื้นผิว (Topography)	ขอบโคโลนี (Margin)	การสร้างสปอร์ (Sporulation)	ลักษณะเด่นอื่น ๆ
CH-K3-1	เหลืองน ตาลซีด (pale yellow-brown / ochre)	ก ละเอียดเยียด-กึ่งผง (velvety-micro-powdery)	ราบต่ำ มีเนินตื้น เล็กน้อย	เรียบแนบวุ่น (entire, appressed)	ต่ำ ปานกลาง	เส้นใยแนบวุ่นเด่น, ไม่มี pigment แพร่กระจาย
CH-K4-1	เทาอมมะกอก (olive-grey) ถึง เทาเขียว (greyish-green)	ก ละเอียดแน่น-ฟูสั้น (velvety to floccose)	นูนตื้น มีวงร่วม ศูนย์	ขอบหยักเป็นคลื่น (undulate/lobate)	ปานกลาง-สูง	มี fringe รอบขอบ, zonation ชัด
CH-K4-2	เทาอมมะกอกเข้ม (dark olive-grey) มี disc สีดตรงกลาง (pale central disc)	ก ละเอียดแน่น-ผงละเอียด (dense velvety-powdery)	นูนตื้น โครงสร้าง concentric ring	เรียบ มี fringe สีดบาง	สูง	ผิวโคโลนี dull-powdery, sporulation สม่ำเสมอ
CK	เขียวด า (blackish-green) ถึง มะกอกด า (dark olive)	ผงหยาบ-เม็ดกรวด (coarse-powdery to granular)	ราบ-นูนต่ำ	เบลอ ฟู (diffuse margin)	สูงมาก	สปอร์หนาแน่น
LA-As	ขาวน านม(milky white) ถึง ขาวครีม (creamy white) มีปื้นเทาจาง (pale grey patches)	ฟูคล้ายส า (floccose, cottony)	นูนปาน-คลื่นต่ำ มีวงจาง	ขอบไม่เรียบ ขุยพรุ (fimbriate)	ต่ำ-เริ่มต้น	เส้นใย aerial หนาแน่น, ระยะเริ่ม sporulation

จากการขยายชิ้นส่วนยีนในบริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) ของ rDNA สำเร็จสำหรับไอโซเลตทั้งหมด โดยให้แอมพลิฟายคอน (amplicon) มีความยาวอยู่ในช่วง 563–593 bp ตรวจสอบด้วย agarose 1.5% (รูปที่ 4.3) นาชิ้นส่วนที่ได้ไปอ่านค่าลำดับเบสเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม BLASTn โดยใช้เกณฑ์การระบุระดับชนิด (species-level) ที่กำหนดไว้ล่วงหน้า คือร้อยละความเหมือนของลำดับ (sequence identity) $\geq 98\%$ และร้อยละความครอบคลุม (query coverage) $\geq 95\%$

พบว่าในกลุ่มตัวอย่าง CH-K4 พบความสอดคล้องกันสูงระหว่างผลลัพธ์แต่ละตัวอย่างกับสกุล *Paecilomyces* โดยไอโซเลต CH-K4-1 (576 bp) ให้ค่าความครอบคลุม 100% และค่าความเหมือน 99.83% ตรงกับ *Paecilomyces brunneolus* (GenBank accession PP732319.1; isolate CBS 370.70) ซึ่งเกินเกณฑ์ที่กำหนด ยืนยันการระบุชนิดเป็น *P. brunneolus* ได้อย่างน่าเชื่อถือ ในทานองเดียวกัน ไอโซเลต CH-K4-2 ให้ผล BLASTn ตรงกับ *P. brunneolus* รายการอ้างอิงเดียวกัน (PP732319.1) โดยมีค่าความครอบคลุม 100% และค่าความเหมือน 100% ให้มีความสอดคล้องและค่าความเชื่อมั่นของการจำแนกชนิดต่าง ๆ ในกลุ่มตัวอย่างนี้ และไอโซเลตเป็น CH-K4-1 ความยาว 593 bp จับคู่กับ *Paecilomyces zancaiae* (PV554941.1) ด้วยค่าความครอบคลุม 100% แต่มีค่าความเหมือนเพียง 94.72% ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์ที่ใช้ยืนยันระดับชนิดอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นผลดังกล่าวให้ค่าใกล้เคียงในระดับสกุล ที่ระบุ CH-K4-1 สำหรับไอโซเลต CK (568 bp) ผล BLASTn ให้ความสอดคล้องสูงที่สุดกับ *Aspergillus niger* (AF138904.1) โดยมีค่าความครอบคลุม 85% และค่าความเหมือน 97.11% ค่าเหล่านี้ ต่ำกว่าเกณฑ์ทั้งสองข้อ จึงยังไม่เพียงพอที่จะยืนยันระดับชนิดได้อย่างมั่นใจ เหมาะสมที่จะรายงานเป็น *Aspergillus* sp. (ใกล้เคียง *A. niger*) พร้อมขอเสนอแนะให้ทำการหาลำดับเครื่องหมายยีนเพิ่มเติม (เช่น β -tubulin/benA, calmodulin/CaM หรือ RPB2) และ/หรือทำการหาลำดับ ITS ซ้ำเพื่อเพิ่มความครอบคลุมของลำดับ ส่วนไอโซเลต La-As (563 bp) ให้ผลตรงกับ *Xylaria ellisii* (NR_172972.1) ด้วยค่าความครอบคลุม 100% แต่มีค่าความเหมือน 91.18% ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์อย่างมาก จึงระบุได้เพียงในระดับสกุลเป็น *Xylaria* sp. ทั้งนี้ เนื่องจากกลุ่ม *Xylaria* มักต้องอาศัยข้อมูลหลายแหล่งในการยืนยัน (เช่น ลักษณะสัณฐานวิทยา ผลรูป และเครื่องหมายยีนเสริมอย่าง TEF1- α และ RPB2) จึงแนะนำให้ทำการวิเคราะห์เพิ่มเติมดังกล่าวเพื่อยกระดับความเชื่อมั่นในการจำแนกตั้งต้นจากผลการหาลำดับ ITS และการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลชี้ชัดว่าไอโซเลต CH-K4-1 และ CH-K4-2 ถูกระบุเป็น *Paecilomyces brunneolus* อย่างน่าเชื่อถือ (identity $\geq 99.83\%$, coverage 100%) ขณะที่ไอโซเลต CK และ La-As ยังไม่ผ่านเกณฑ์ยืนยันระดับชนิด จึงรายงานเป็น *Aspergillus* sp. (ใกล้เคียง *A. niger*) และ *Xylaria* sp. ตามลำดับ พร้อมขอเสนอแนะให้ทำการเพิ่มข้อมูลจากเครื่องหมายยีนอื่นและ/หรือทำการหาลำดับเพื่อเพิ่มความครอบคลุมของลำดับ ทั้งนี้ การรายงานผลในลักษณะดังกล่าวสอดคล้องกับแนวปฏิบัติสากลในการใช้ ITS สำหรับเชื้อรา โดยยึดเกณฑ์ความเหมือนและความครอบคลุมที่เข้มงวดเพื่อรองรับและประเมินความน่าเชื่อถือระดับของวารสารคุณภาพสูง (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 ผลการจ าแนกชื่อราจากไอโซเลตด้วยการวิเคราะห์ ลำดับ ITS rDNA และการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank

Isolate code	Length of ITS sequence (bp)	Closest match (GenBank accession)	Query coverage (%)	Sequence identity (%)	Identified species
CH-K4-1	576	PP732319.1 <i>Paecilomyces brunneolus</i> isolate CBS 370.70	100	99.83	<i>Paecilomyces brunneolus</i>
CH-K4-2	578	PP732319.1 <i>Paecilomyces brunneolus</i> isolate CBS 370.70	100	100	<i>Paecilomyces brunneolus</i>
CH-K4-1	593	PV554941.1 <i>Paecilomyces zancaiae</i> strain MST-FP1181	100	94.72	<i>Paecilomyces zancaiae</i>
CK	568	AF138904.1 <i>Aspergillus niger</i>	85	97.11	<i>Aspergillus niger</i>
La-As	563	NR_172972.1 <i>Xylaria ellisii</i> DAOMC 252031	100	91.18	<i>Xylaria ellisii</i>

4.5 การประเมินฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราแบบ Dual culture บน PDA

การประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อราแบบ dual-culture บน PDA ที่ Day 7 แสดงให้เห็นความแตกต่างของประสิทธิภาพตามชนิดวัตถุดิบสกัด (เมล็ด/เปลือก) และตัวทาละลายสกัดอย่างจำเพาะต่อเชื้อ (ตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.4a-4.4e) สำหรับการยับยั้งเชื้อรา C-K กลุ่มจาก เปลือกให้ผลเด่น โดยเฉพาะเปลือก-เฮกเซน = $79.82 \pm 1.52\%$ ซึ่งสูงกว่าควบคุมบวก DMSO:Eugenol 1:1 ($64.04 \pm 3.04\%$) ด้วยส่วนต่างประมาณ +15.79 เปอร์เซ็นต์ และเปลือก-เอทิลอะซีเตตมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง $72.81 \pm 1.52\%$ (+8.77 จุดเปอร์เซ็นต์); ส่วนเปลือก-เอทานอล มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง $71.93 \pm 3.04\%$ อยู่เหนือควบคุมเล็กน้อย ขณะที่ชุดเมล็ด (เอทานอล/เอทิลอะซีเตต/เฮกเซน) ให้ผลระดับปานกลาง ($\approx 63-68\%$). ในเชื้อรา CH-K3-1 และ CH-K4-1 รูปแบบกลับกัน คือ เมล็ด-เอทานอล เติบโตที่ $67.54 \pm 4.02\%$ สำหรับทั้งสอง species เหนือควบคุมบวก ($56.67 \pm 6.11\%$ และ $49.35 \pm 1.95\%$ ตามลำดับ) ด้วยส่วนต่าง +10.87 และ +18.19 จุดเปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาพที่ 2b-2c). สำหรับ La-S ตัวทาละลายข้าว (เอทานอล) ให้ผลเด่น โดยเปลือก-เอทานอล = $24.29 \pm 2.47\%$ สูงกว่าควบคุม ($11.43 \pm 2.47\%$) รว +12.86 จุดเปอร์เซ็นต์ และเมล็ด-เอทานอล อยู่ในช่วงสูงถัดมา (ภาพที่ 2e) ส่วน CH-K4-2 แม้ค่าเฉลี่ยสูงสุดเป็น เมล็ด-เฮกเซน $80.58 \pm 3.74\%$ (ควบคุม $71.22 \pm 4.98\%$) แต่ความแตกต่างภาพรวมยังไม่ถึงนัยสาคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.4d)

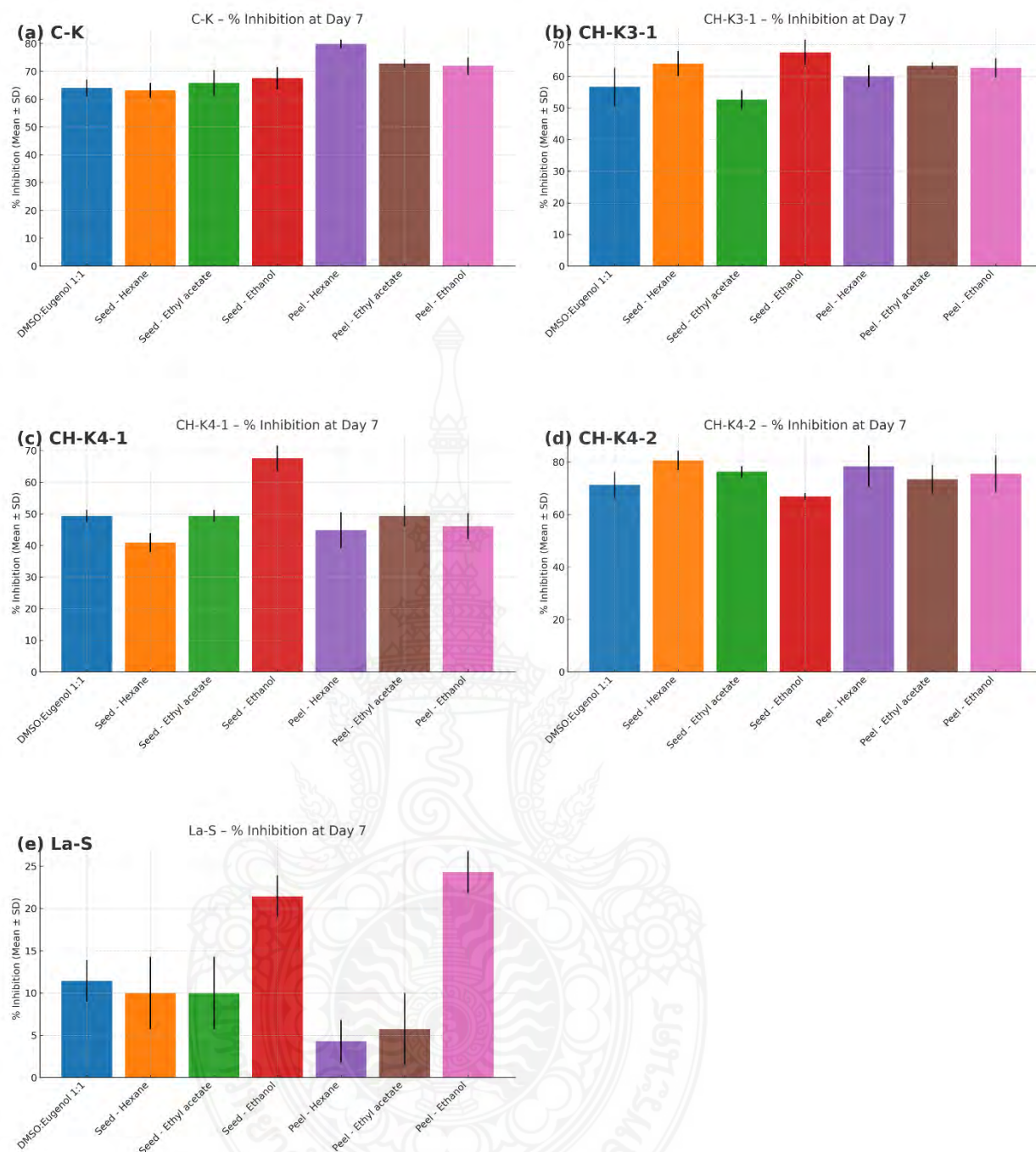
ผลการทดสอบทางสถิติยืนยันรูปแบบดังกล่าวอย่างเป็นระบบด้วย One-way ANOVA แยกตาม species: พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญได้แก่เชื้อรา C-K, CH-K3-1, CH-K4-1 และ La-S ขณะที่ CH-K4-2 ไม่ถึงนัยสำคัญ ($p = 0.08$) (ตารางที่ 4.6). การเปรียบเทียบรายคู่ด้วย Tukey's HSD ($\alpha = 0.05$) เทียบกับควบคุมบวก ระบุว่าใน C-K กลุ่ม เปลือก-เอทิลอะซีเตต และ เปลือก-เฮกเซน สูงกว่าควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ส่วน เปลือก-เอทานอล สูงกว่าแต่ไม่ถึงนัยสำคัญ); ใน CH-K3-1 และ CH-K4-1 กลุ่ม เมล็ด-เอทานอล สูงกว่าควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ; La-S ทั้ง เปลือก-เอทานอล และเมล็ด-เอทานอล สูงกว่าควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ CH-K4-2 ไม่พบคู่ใดแตกต่างจากควบคุมอย่างมีนัยสาคัญแม้ค่าเฉลี่ยบางชุดจะสูงกว่า

ในเชิงความสม่ำเสมอของข้อมูล ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) อยู่ในระดับต่ำถึงปานกลาง โดยกลุ่มที่มีค่าเฉลี่ยสูงมักพบ SD ค่อนข้างแคบ สะท้อนความทาบเข้าได้ดีของการวัด ในขณะที่บางชุดควบคุมมี SD สูงกว่า ซึ่งอาจสะท้อนความแปรปรวนพื้นฐานของเชื้อ/จานทดสอบใน species นั้น ๆ รูปแบบโดยรวมชี้ว่ากลุ่มสาร ไม่ข้าว-กิ่งข้าวจากเปลือก สัมพันธ์กับฤทธิ์ยับยั้งสูงใน C-K (เฮกเซน/เอทิลอะซีเตต) ขณะที่กลุ่มสารข้าวจากเมล็ดเด่นชัดใน CH-K3-1/CH-K4-1 (เอทานอล) และ La-S ตอบสนองต่อสารข้าวจากทั้งเมล็ด/เปลือก (เอทานอล) ได้ดีกว่าตัวทาละลายไม่ข้าว

ตารางที่ 4.6 ร้อยละการยับยั้งที่ Day 7 (Mean $\pm$ SD, n = 3) ของการทดสอบแบบ dual-culture บน PDA แยกตามชนิดเชื้อราและ treatment แสดงค่าเฉลี่ย, SD, ค่า p-value จาก One-way ANOVA ต่อ species และผลการเปรียบเทียบกับควบคุมบวกด้วย Tukey's HSD

Treatment	ค่าเฉลี่ยของ % Inhibition ในการควบคุมเชื้อราแต่ละชนิด (Mean $\pm$ SD)				
	C-K	CH-K3-1	CH-K4-1	CH-K4-2	La-S
DMSO:Eugenol 1:1	64.04 $\pm$ 3.04	56.67 $\pm$ 6.11	49.35 $\pm$ 1.95	71.22 $\pm$ 4.98	11.43 $\pm$ 2.47
เปลือก-เอทานอล	71.93 $\pm$ 3.04	62.67 $\pm$ 3.06	46.1 $\pm$ 4.06	75.54 $\pm$ 6.94	24.29 $\pm$ 2.47 **
เปลือก-เอทิลอะซิเตต	72.81 $\pm$ 1.52 *	63.33 $\pm$ 1.15	49.35 $\pm$ 3.37	73.38 $\pm$ 5.43	5.71 $\pm$ 4.29
เปลือก-เฮกเซน	79.82 $\pm$ 1.52 ***	60.0 $\pm$ 3.46	44.81 $\pm$ 5.62	78.42 $\pm$ 7.78	4.29 $\pm$ 2.47
เมล็ด-เอทานอล	67.54 $\pm$ 4.02	67.54 $\pm$ 4.02*	67.54 $\pm$ 4.02***	66.91 $\pm$ 1.25	21.43 $\pm$ 2.47 *
เมล็ด-เอทิลอะซิเตต	65.79 $\pm$ 4.56	52.67 $\pm$ 3.06	49.35 $\pm$ 1.95	76.26 $\pm$ 2.16	10.0 $\pm$ 4.29
เมล็ด-เฮกเซน	63.16 $\pm$ 2.63	64.0 $\pm$ 4.0	40.91 $\pm$ 2.98	80.58 $\pm$ 3.74	10.0 $\pm$ 4.29
ANOVA p-value	0	0.01	0	0.08	0

การเปรียบเทียบกับควบคุมบวก (DMSO:Eugenol 1:1) ด้วย Tukey's HSD ที่ $\alpha = 0.05$ โดย * p<0.05, ** p<0.01 และ *** p<0.001



รูปที่ 4.4 ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา (Mean $\pm$ SD, n = 3) ที่ Day 7 จากการทดสอบแบบ dual-culture บน PDA โดยเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากเมล็ดและเปลือกมะม่วงที่เตรียมด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ กับชุดควบคุมบวก DMSO:Eugenol 1:1; (a) C-K, (b) CH-K3-1, (c) CH-K4-1, (d) CH-K4-2 และ (e) La-S. แท่งสีแตกต่างกันแทนแต่ละ treatment (สีคิงที่ระหว่างทุกแผง) โดยมีแถบ error bar แสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

4.6 จุดเด่นของสารสกัดจากเปลือกมะม่วง

แม้ว่าจากผลการทดลองสารสกัดจากทั้งเมล็ดและเปลือกมะม่วงจะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อราได้ดี แต่การคัดเลือกเฉพาะสารสกัดเปลือกมะม่วงมาผสมกับไตรเมทิลซิลิลเซลลูโลส (TMSC) มีเหตุผลดังนี้

1. องค์ประกอบสารออกฤทธิ์ที่เหมาะสมต่อการเสริมสมบัติของฟิล์ม

- การวิเคราะห์ GC-MS พบว่าเปลือกมะม่วงมีสารกลุ่มฟีนอลิกและกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายชนิด (เช่น 1,2,3-Benzenetriol, Octadecatrienoic acid, Mangol I และ II) ซึ่งไม่เพียงแต่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่ยังสามารถทำหน้าที่เป็น UV absorber และ stabilizer ของโครงสร้างพอลิเมอร์ได้
- สารในกลุ่มนี้เหมาะสมต่อการปรับปรุงสมบัติของฟิล์ม TMSC โดยตรง เช่น ลดการเปลี่ยนแปลงสี ป้องกันการเสื่อมสภาพจากรังสี UV และเพิ่มความคงทนเชิงกล

2. ความสอดคล้องกับคุณสมบัติด้านวัสดุ

- การทดลองพบว่าเมื่อเติมสารสกัดเปลือกมะม่วงใน TMSC สามารถลดค่า ΔE อย่างมีนัยสำคัญและคงค่าความแข็งแรงเชิงดึงได้ดีกว่า TMSC เดี่ยวหลังการฉาย UV
- ในทางตรงกันข้าม สารสกัดเมล็ดซึ่งมีอนุพันธ์กรดแกลลิกความเข้มข้นสูง แม้จะมีศักยภาพสูงด้านชีวภาพ แต่มีแนวโน้มเพิ่มความมีขี้วมากเกินไป ทำให้สมบัติการไม่ชอบน้ำของฟิล์มเสื่อมลงและอาจกระทบต่อความคงตัวของผิววัสดุ

3. ความปลอดภัยและการประยุกต์ใช้

- เมล็ดมะม่วงเป็นแหล่งที่อาจมีสารแอนตินิวไทรียนหรือสารประกอบที่มีพิษในระดับหนึ่ง (เช่น cyanogenic glycosides) แม้จะไม่ปรากฏชัดในทุกกรณี แต่การใช้สารสกัดเปลือกมะม่วงมีความเสี่ยงต่ำกว่าและเหมาะสมต่อการประยุกต์ในงานวัสดุชีวภาพหรือการอนุรักษ์เอกสารที่ต้องการความปลอดภัย
- เปลือกมะม่วงถือเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีปริมาณมาก สามารถจัดหาได้ง่ายในระดับอุตสาหกรรม จึงตอบโจทย์ทั้งด้านเศรษฐกิจหมุนเวียนและการนำไปใช้จริง

4. ประโยชน์เชิงพาณิชย์

- เปลือกมะม่วงเหมาะสำหรับการนำไปต่อยอดในเชิง บรรจุภัณฑ์ชีวภาพ (bio-packaging) และ วัสดุเคลือบอนุรักษ์ ที่ต้องการสมดุลระหว่างสมบัติทางกายภาพ ความเสถียรต่อรังสี UV และความปลอดภัยในการใช้งาน
- การเลือกใช้เฉพาะสารสกัดจากเปลือกยังทำให้อัตราการผลิตง่ายขึ้น ลดขั้นตอนการสกัดหลายชนิด และสร้างมาตรฐานการใช้งานที่สอดคล้องกับความเป็นไปได้เชิงพาณิชย์

ดังนั้น การเลือกใช้เปลือกมะม่วงเป็นวัตถุดิบหลักสำหรับผสมกับ TMSC จึงมีความเหมาะสมกว่าสารสกัดจากเมล็ดสำหรับงานวิจัยนี้

4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของกระดาษ

จากผลการทดสอบดังตารางที่ 4.7 พบว่ากระดาษไม่เคลือบและกระดาษเคลือบ TMSC มีค่า ΔE หลังการฉายรังสี UV สูง (10.42 และ 11.45 ตามลำดับ) แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงสีอย่างชัดเจน เนื่องจากการเสื่อมสลายของโครงสร้างเซลลูโลสและการเกิดปฏิกิริยาฟิโตออกซิเดชันของหมู่โครโมฟอร์ในเส้นใย เมื่อมีการเติมสารสกัดเปลือกมะม่วง (ME) ลงใน TMSC พบว่าค่า ΔE มีแนวโน้มลดลงตามลำดับความเข้มข้น โดยที่ความเข้มข้น 25% ME/TMSC ให้ค่า ΔE ต่ำที่สุด (4.22) แสดงถึงความสามารถในการป้องกันการเปลี่ยนแปลงสีจากรังสี UV ได้อย่างมีประสิทธิภาพ สาเหตุเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดเปลือกมะม่วง มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสามารถดูดซับรังสี UV ได้โดยตรง จึงช่วยลดการสร้างอนุมูลอิสระที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีบนพื้นผิวของกระดาษ จึงลดการเปลี่ยนแปลงสีของพื้นผิวกระดาษลงได้อย่างมีนัยสำคัญ

4.8 มุมสัมผัสน้ำ

ดังตารางที่ 4.7 กระดาษไม่เคลือบมีค่ามุมสัมผัสน้ำเป็นศูนย์ทั้งก่อนและหลังการฉายรังสี UV ซึ่งแสดงถึงความชอบน้ำสูงของโครงสร้างเซลลูโลสธรรมชาติ ขณะที่การเคลือบ TMSC สามารถเพิ่มสมบัติไม่ชอบน้ำได้อย่างชัดเจน โดยมีค่ามุมสัมผัสก่อน UV เท่ากับ 134.67° และยังคงอยู่ที่ 82.33° หลัง UV อย่างไรก็ตาม เมื่อเติมสารสกัดเปลือกมะม่วง (ME) ลงใน TMSC พบว่าค่ามุมสัมผัสลดลงตามลำดับความเข้มข้น โดยที่ 25% ME/TMSC มีค่าเพียง 90.33° ก่อน UV และลดลงเหลือ 12.67° หลัง UV สะท้อนถึงการเพิ่มสมบัติชอบน้ำของพื้นผิวฟิล์มที่ผสมสารสกัดเปลือกมะม่วง การเปลี่ยนแปลงนี้อธิบายได้จากการที่สารประกอบโพลีฟีนอลในสารสกัดเปลือกมะม่วง มีหมู่ไฮดรอกซิล ($-OH$) จำนวนมากซึ่งเพิ่มความมีขั้วให้กับผิววัสดุ และเมื่อผ่านการฉาย UV โครงสร้างโพลีเมอร์เกิดการแตกพันธะพร้อมทั้งเกิดหมู่ขั้วใหม่ ทำให้ความไม่ชอบน้ำเสื่อมลงอย่างมีนัยสำคัญ

4.9 ความแข็งแรงเชิงดึง

ดังตารางที่ 4.7 กระดาษไม่เคลือบมีค่าแรงดึงต่ำเพียง 9.4 MPa ก่อนการฉาย UV และลดลงเหลือ 4.6 MPa หลัง UV แสดงถึงความเปราะบางต่อรังสี UV อย่างชัดเจน ขณะที่กระดาษเคลือบ TMSC มีค่าแรงดึงเพิ่มขึ้นเป็น 17.4 MPa ก่อน UV แต่ยังคงลดลงเหลือ 7 MPa หลัง UV อย่างไรก็ตาม เมื่อผสมสารสกัดเปลือกมะม่วง (ME) ลงใน TMSC พบว่าค่าแรงดึงก่อน UV อยู่ระหว่าง 12–13 MPa แม้จะต่ำกว่า TMSC เดียว แต่หลัง UV ค่าแรงดึงกลับสูงขึ้นอย่างชัดเจน โดยเฉพาะที่ 25% ME/TMSC มีค่าแรงดึงถึง 13 MPa สูงกว่ากระดาษไม่เคลือบและ TMSC อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดเปลือกมะม่วง มีบทบาทเป็น stabilizer ที่ช่วยยับยั้งการเสื่อมสลายของพันธะโพลีเมอร์จากรังสี UV อีกทั้งยังสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนหรือ crosslinking กับ TMSC ทำให้โครงสร้างของฟิล์มมีความเสถียรและคงสมบัติด้านความแข็งแรงเชิงดึงได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมหลังการฉายรังสี UV

4.10 ค่าการยึดตัว

ดังตารางที่ 4.7 ก่อนการฉายรังสี UV กระดาษทุกชนิดมีค่าการยึดตัวใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 3.8–4.2% แต่หลังการฉาย UV กระดาษไม่เคลือบมีค่าลดลงอย่างมากเหลือเพียง 0.7% สะท้อนถึงการสูญเสียความเหนียวและความยืดหยุ่นของโครงสร้างเส้นใยเซลลูโลส ขณะที่กระดาษเคลือบ TMSC สามารถคงค่าการยึดตัวหลัง UV ได้ที่ 2.7% และเมื่อมีการเติมสารสกัดเปลือกมะม่วง (ME) ลงใน TMSC พบว่าค่าการยึดตัวหลัง UV อยู่ระหว่าง 3.0–3.1% ซึ่งใกล้เคียงกับค่าก่อน UV แสดงถึงการคงสมบัติด้านความเหนียวและความยืดหยุ่นของวัสดุได้ดีกว่ากลุ่มอื่น กลไกดังกล่าวอธิบายได้ว่าสารสกัดเปลือกมะม่วง มีสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถดูดซับรังสี UV และยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ จึงช่วยลดการแตกพันธะของสายโซ่พอลิเมอร์และรักษาโครงสร้างของฟิล์มให้เสถียร ส่งผลให้ค่าการยึดตัวไม่เสื่อมลงมากหลังการฉายรังสี UV

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าการเปลี่ยนแปลงสี มุมสัมผัสน้ำ ำความแข็งแรงเชิงดึง และค่าการยึดตัว

ลักษณะกระดาษ	เปลี่ยนแปลงสี	มุมสัมผัสน้ำ (°)		ความแข็งแรงเชิงดึง (MPa)		ค่าการยึดตัว (%)	
	หลัง UV	ก่อน UV	หลัง UV	ก่อน UV	หลัง UV	ก่อน UV	หลัง UV
กระดาษไม่เคลือบ	10.42 ± 0.31	0	0	9.4 ± 1.1	4.6 ± 0.2	4.2 ± 0.3	0.7 ± 0.3
เคลือบ TMSC	11.45 ± 0.87	134.67 ± 2.5	82.33 ± 2.5	17.4 ± 1.5	7 ± 0.6	4.2 ± 0.2	2.7 ± 0.2
เคลือบ 5%/TMSC	10.65 ± 0.32	120.67 ± 1.2	74.67 ± 2.5	12.1 ± 1.4	6.5 ± 0.7	3.8 ± 0.3	3 ± 0.2
เคลือบ 10%ME/TMSC	9.53 ± 0.92	118.67 ± 5.1	42.33 ± 1.5	12.5 ± 1.0	9 ± 0.5	4.1 ± 0.3	3.1 ± 0.2
เคลือบ 15%ME/TMSC	7.52 ± 0.37	110.33 ± 3.2	32.67 ± 2.5	12.9 ± 1.0	9 ± 0.8	4.2 ± 0.2	3.1 ± 0.1
เคลือบ 20%ME/TMSC	6.35 ± 0.38	100.23 ± 3.2	23.57 ± 2.5	13.1 ± 1.0	11 ± 0.8	4.2 ± 0.2	3.1 ± 0.1
เคลือบ 25%ME/TMSC	4.22 ± 0.32	90.33 ± 3.2	12.67 ± 2.5	13.3 ± 1.0	13 ± 0.8	4.2 ± 0.2	3.1 ± 0.1

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้มุ่งเน้นการสกัดสารออกฤทธิ์จากเปลือกและเมล็ดมะม่วงด้วยตัวทำละลายที่มีสมบัติแตกต่างกัน (เฮกเซน, เอทิลอะซิเตต และเอทานอล) และการประยุกต์ใช้สารสกัดร่วมกับไตรเมทิลซิลิลเซลลูโลส (TMSC) เพื่อเคลือบกระดาษ ผลการวิจัยสามารถสรุปได้ดังนี้

1. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สารสกัดจากตัวทำละลายที่มีขี้ (เอทานอล และ เอทิลอะซิเตต) แสดงประสิทธิภาพสูงทั้งในแง่ค่า DPPH Equivalent และ % inhibition โดยค่า % inhibition สูงกว่า 90% ทุกกลุ่ม และพบว่า เปลือก-เอทานอล และ เมล็ด-เอทิลอะซิเตตให้ค่าการยับยั้งสูงสุด ในขณะที่ เมล็ด-เฮกเซน มีค่าน้อยที่สุด

2. ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (TPC)

พบว่าตัวทำละลายที่มีขี้ (เอทานอล, เอทิลอะซิเตต) สกัดสารฟีนอลิกได้ดีกว่า เฮกเซน อย่างชัดเจน โดยเมล็ดมะม่วงมีค่าฟีนอลิกสูงกว่าเปลือก โดยเฉพาะในกรณี เมล็ด-เอทานอล และเมล็ด-เอทิลอะซิเตตซึ่งให้ค่ามากที่สุด

3. องค์ประกอบสารสำคัญ (GC-MS)

- สารสกัดจากเมล็ดที่ใช้ เอทานอล พบอนุพันธ์ของกรดแกลลิก (Ethyl gallate, Butyl gallate) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง
- สารสกัดจากเปลือกที่ใช้ เอทิลอะซิเตตพบสารฟีนอลิกและกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายชนิดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง
- การใช้ เฮกเซน สกัดได้สารกลุ่มไฮโดรคาร์บอนสายยาวซึ่งมีคุณค่าทางโครงสร้างแต่ไม่โดดเด่นด้านฤทธิ์ชีวภาพ

4. การจำแนกเชื้อราจากเอกสารและหนังสือ

พบความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาและสามารถระบุชนิดได้บางส่วนด้วยการวิเคราะห์ ITS rDNA โดยเฉพาะ *Paecilomyces brunneolus* ซึ่งยืนยันได้อย่างน่าเชื่อถือ ขณะที่บาง isolate เช่น *Aspergillus* sp. และ *Xylaria* sp. ยังต้องการการวิเคราะห์เพิ่มเติมเพื่อยืนยันระดับชนิด

5. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา (Dual culture)

- สารสกัดจากเปลือกด้วย เฮกเซน แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา C-K ได้สูงที่สุด
- สารสกัดจากเมล็ดด้วย เอทานอล มีผลยับยั้งเชื้อรา CH-K3-1 และ CH-K4-1 ได้เด่นชัด
- สำหรับ La-S สารสกัดจากทั้งเปลือกและเมล็ดด้วย เอทานอล ให้ค่าการยับยั้งสูงกว่ากลุ่มควบคุม

6. คุณสมบัติฟิล์มเคลือบ TMSC ผสมสารสกัดเปลือกมะม่วง

- การผสมสารสกัดสามารถลดการเปลี่ยนแปลงสี (ΔE) ภายหลังการฉาย UV ได้อย่างชัดเจน โดยกลุ่ม 25% ME/TMSC มีค่าต่ำสุด
- ค่ามุมสัมผัสลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัด สะท้อนถึงการเพิ่มสมบัติชอบน้ำของฟิล์ม

- ค่าความแข็งแรงเชิงดึงและค่าการยืดตัวยังคงอยู่ในระดับที่เสถียร โดยเฉพาะกลุ่ม 25% ME/TMSC ที่สามารถรักษาความแข็งแรงและความยืดหยุ่นได้หลังการฉายรังสี UV

โดยสรุป การวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเมล็ดและเปลือกมะม่วงมีศักยภาพสูงด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อรา โดยเฉพาะเมื่อใช้ตัวทาละลายมีขี้ผึ้ง และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุชีวภาพอย่าง TMSC เพื่อดำเนินงานการเสื่อมสภาพจากรังสี UV และเพิ่มประสิทธิภาพการใช้งานเชิงฟังก์ชันได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

- ควรมีการวิเคราะห์สารสำคัญเชิงลึกเพิ่มเติม เช่น การใช้ HPLC หรือ LC-MS/MS เพื่อระบุปริมาณฟีนอลิกเฉพาะกลุ่มที่มีบทบาททางชีวภาพ
- การระบุชนิดของเชื้อราที่ได้จากเอกสารและหนังสือ ควรใช้เครื่องหมายยีนหลายตำแหน่ง (multi-locus sequencing) เพื่อเพิ่มความถูกต้องและยืนยันผลการจำแนก
- ควรศึกษากลไกการออกฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัด เช่น การทดสอบการรบกวนของเซลล์หรือการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง



เอกสารอ้างอิง

- [1] M.C. Area, H. Cheradame, Paper aging and degradation: Recent findings and research methods, *Bio Resour.* 6 (2011) 5307–5337.
- [2] J.W. Baty, C.L. Maitland, W. Minter, M.A. Hubbe, S.K. Jordan-Mowery, Deacidification for the conservation and preservation of paper-based works: A review, *Bio Resour.* 5 (2010) 1955–2023.
- [3] D. Klemm, B. Heublein, H.-P. Fink, A. Bohn, Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 44 (2005) 3358–3393.
- [4] R.P. Babu, K. O'Connor, R. Seeram, Current progress on bio-based polymers and their future trends, *Prog. Biomater.* 2 (2013) 2–16.
- [5] H. Cheradame, S. Ipert, E. Rousset, Mass deacidification of paper and books. I: Study of the limitations of the gas phase processes, *Restaurator*, 24 (2003) 227–239.
- [6] Z. Souguir, A.-L. Dupont, J.-B. d'Espinose de Lacaillerie, B. Lavédrine, H. Cheradame, Chemical and physicochemical investigation of an aminoalkylalkoxysilane as strengthening agent for cellulosic materials, *Biomacro-molecules*, 12 (2011) 2082–2091.
- [7] Z. Souguir, A.-L. Dupont, K. Fatyeyeva, G. Mortha, H. Cheradame, S. Ipert, B. Lavedrine, Strengthening of degraded cellulosic material using a diamine alkylalkoxysilane, *RSC Adv.* 2 (2012) 7470–7478.
- [8] D.N.-S. Hon and N. Shiraishi, Eds, Marcel Dekker “Weathering and Photochemistry of Wood.” In *Wood and Cellulosic Chemistry*, Chapter 11, Dekker, Inc., (2001) 513–546.
- [9] D. Sharma, J. Rajput, B.S. Kaith, M. Kaur, S. Sharma, Synthesis of ZnO nanoparticles and study of their antibacterial and antifungal properties, *Thin Solid Films*, 519 (2010) 1224–1229.
- [10] L. Zhang, Y. Jiang, Y. Ding, M. Povey, D. York, Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids), *J. Nanopart. Res.* 9 (2007) 479–489.
- [11] K. Kairyte, A. Kadys, Z. Luksiene, Antibacterial and antifungal activity of photoactivated ZnO nanoparticles in suspension, *J. Photochem. Photobiol. B-Biol.* 128 (2013) 78–84.

- [12] A.Joe, S. Park, K. Shim, D. Kim, K. Jhee, H. Lee, C. Heo, H. Kim, E. Jang, Antibacterial mechanism of ZnO nanoparticles under dark conditions, *J. Ind. Eng. Chem.* 45 (2017) 430–439.
- [13] J. Kolar, M. Strlic, S. Pentzien, W. Kautek, Near-UV, visible and IR pulsed laser light interaction with cellulose, *Appl. Phys. A-Mater.* 71 (2000) 87–90.
- [14] V. Bukovsky, M. Trnková, The influence of secondary chromophores on the light induced oxidation of paper part II: the influence of light on groundwood paper, *Restaurator* 24 (2003) 118–132.
- [15] N.S. Hon, Formation of free radicals in photoirradiated cellulose. I. Effect of wavelength, *J. Polymer Sci. Polymer Chem. Ed.* 13 (1975) 1347–1361.
- [16] G.O. Phillips, O. Hinojosa, J.C. Arthur, T. Mares, Photochemical initiation of free radicals in cotton cellulose, *Text. Res. J.* 36 (1966) 822–827.
- [17] R.H. Wang, J.H.X. And, X.M. Tao, UV-blocking property of dumbbell-shaped ZnO crystallites on cotton fabrics, *Inorg. Chem.* 44 (2005) 3926.
- [18] C. Li, Y. Xie, Q. Liu, Y. Zheng, X. Zhang, W. Dong, The formation and UV-blocking property of flower-like ZnO nanorod on electrospun natural cotton cellulose nanofibers, *Fiber. Polym.* 15 (2014) 281–285.
- [19] D. Yiamsawas, K. Boonpavanitchakul, W. Kangwansupamonkon, Preparation of ZnO Nanostructures by Solvothermal Method, *J. Microscopy Soc. Thailand* 23 (2009) 75–78.
- [20] O. Lupan, L. Chow, G. Chai, A. Schulte, S. Park, O. Lopatiuk-Tirpak, L. Chernyak, H. Heinrich, Biopolymer-assisted self-assembly of ZnO nanoarchitectures from nanorods, *Superlattices Microstruct.* 43 (2008) 292–302.
- [21] M. Jitianu, D.V. Goia, Zinc oxide colloids with controlled size, shape, and structure, *J. Colloid Interface Sci.* 309 (2007) 78–85.
- [22] I. Diez, P. Eronen, M. Osterberg, M.B. Linder, O. Ikkala, R.H. Ras, Functionalization of nanofibrillated cellulose with silver nanoclusters: fluorescence and antibacterial activity, *Macromol. Biosci.* 11 (2011) 1185–1191.
- [23] M. Eita, H. Arwin, H. Granberg, L. Wagberg, Addition of silica nanoparticles to tailor the mechanical properties of nanofibrillated cellulose thin films, *J. Colloid Interface Sci.* 363 (2011) 566–572.

- [24] M. Afsharpour, S. Imani, Preventive protection of paper works by using nanocomposite coating of zinc oxide, *Journal of Cultural Heritage* xxx (2016) xxx-xxx
- [25] M. Jia, X. Zhang, J. Weng, jie Zhang, M. Zhang, Protective coating of paper works: ZnO/cellulose nanocrystal composites and analytical characterization, *Journal of Cultural Heritage* 38 (2019) 64-74.
- [26] L. Amornkitbamrung, T. Mohan, S. Hribernik, V. Reichel, D. Faivre, A. Gregorova, P. Engel, R. Kargl, V. Ribitsch, Polysaccharide stabilized nanoparticles for deacidification and strengthening of paper, *RSC Adv.* 5 (2015) 32950–32961.
- [27] L. Amornkitbamrung, M. Coco Marnul, T. Palani, S. Hribernik, A. Kovalcik, R. Kargl, K.S. Kleinschek, T. Mohan, Strengthening of paper by treatment with a suspension of alkaline nanoparticles stabilized by trimethylsilyl cellulose, *Nano-Structures & Nano-Objects*, 16 (2018) 363-370.
- [28] M. Seki, N. Sonoda, T. Morita, T. Okayama, A new technique for strengthening book papers using cellulose derivatives, *Restaurator* (2005) 239.
- [29] M. Seki, N. Sonoda, S. Hidaka, T. Morita, T. Okayama, A new technique for strengthening book papers with cellulose derivatives. Part 2: Effect of cellulose derivatives on different types of paper, *Restaurator* (2010) 126.
- [30] F. Sundholm, M. Tahvanainen, Paper conservation using aqueous solutions of calcium hydroxide/methyl cellulose: 1. Preparation of the solution, *Restaurator* 24 (2003) 1–17.
- [31] F. Sundholm, M. Tahvanainen, Paper conservation using aqueous solutions of calcium hydroxide / methyl cellulose. 3. The influence on the degradation of papers, *Restaurator* 25 (2004) 15–25.
- [32] F. Sundholm, M. Tahvanainen, Paper conservation using aqueous solutions of calcium hydroxide/methyl cellulose 2. The influence of accelerated ageing temperature on properties of treated paper, *Restaurator* 24 (2003) 178–188.