

# รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **แผนงานวิจัย:** การลดความสูญเสียในผลิตผลเกษตรจากศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยวและสารพิษจากรา

2. **โครงการวิจัย:** การลดการปนเปื้อนเชื้อราและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรและผลิตภัณฑ์

กิจกรรม: การใช้ประโยชน์จากสารสกัดพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราและสารพิษ

กิจกรรมย่อย (ถ้ามี): ระบุชื่อกิจกรรมย่อยตามแบบ ว1-ก ที่ผ่านการอนุมัติ

3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย):** การพัฒนาอนุภาคนาโนของสารสกัดพืชในการควบคุมเชื้อราและสารพิษ

**ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ):** Synthesized silver nanoparticles using plant extracts for controlling fungi growth and toxin production

## 4. คณะผู้ดำเนินงาน

**หัวหน้าการทดลอง:** นางสาวเนตรา สมบูรณ์แก้ว

หน่วยงานต้นสังกัด: กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

**ผู้ร่วมงาน:** นางสาวรัสมิ์พิน โทศลานันท์

หน่วยงานต้นสังกัด: กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

นายชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์

หน่วยงานต้นสังกัด: กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

นางสาวศิริพร เต็งรัง

หน่วยงานต้นสังกัด: กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

## 5. บทคัดย่อ:

การนำสารสกัดพืชประยุกต์ใช้วิธีการทางนาโนเทคโนโลยีกำลังได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงาน และเป็นการลดการใช้สารเคมีในการสังเคราะห์อนุภาคนาโน อย่างไรก็ตาม การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยสารสกัดพืชยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด การทดลองนี้จึงทดสอบการใช้สารสกัดพืชวงศ์ขิงในปริมาณต่าง ๆ ในการลดขนาดอนุภาคของซิลเวอร์ ด้วยการทดสอบปัจจัยที่มีผลต่อการสังเคราะห์อนุภาคนาโน ได้แก่ ความเข้มข้นและสัดส่วนของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ( $AgNO_3$ ) ต่อปริมาณสารสกัดพืช และอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มเพื่อให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคนาโน พบว่าสารละลาย

AgNO<sub>3</sub> เข้มข้น 4.0 mM ปริมาตร 6 ส่วน ต่อสารสกัดพืช 4 ส่วน บ่มที่อุณหภูมิ 95°C นาน 20-30 นาที เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน สารสกัดข่าและกระชายดำไม่มีประสิทธิภาพในการลดขนาดของอนุภาคเงิน ขณะที่สารสกัดไพล ขมิ้นอ้อย และขมิ้นชัน (จากเหง้าสด) มีประสิทธิภาพในการลดขนาดของอนุภาคเงิน ทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กกลง โดยมีขนาดอนุภาคประมาณ 80-300 นาโนเมตร อนุภาคซิลเวอร์นาโนจากไพล ขมิ้นอ้อย และขมิ้นชัน เข้มข้น 40,000 ppm สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *A. flavus* และ *A. niger* ได้ ส่งผลต่อการลดการผลิตสารพิษของเชื้อราได้

#### Abstracts :

Synthesis of silver nanoparticles using plant extracts has been observed in the recent. The detail of this green synthesis has not yet been fully described. The objective of this study was to identify the appropriate method to synthesize silver nanoparticles using the extract of rhizome of Zingiberaceae. The 60% of silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>) solution at concentration at 4.0 mM was appropriately mixed with 40% of plant extract and heated at 95°C for 20-30 minutes could form the small silver particles. However, only extracts of *Zingiber cassumunar*, *Curcuma zedoaria* and *Curcuma longa* showed efficacy to synthesize the smaller particles. Sizes of obtained particles were between 80 and 300 nanometers. At concentration of 40,000 ppm of the silver particles could control growth and toxin production of *Aspergillus flavus* and *A. niger*.

#### 6. คำนำ:

การใช้สารสกัดจากพืช เช่น สารสกัด กระชายดำ ไพล ปุดสิงห์ ข่า พริกไทย และกระเทียม เป็นวิธีการควบคุมเชื้อราและแบคทีเรียที่ปลอดภัย เป็นทางเลือกที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค อย่างไรก็ตาม การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดพืชที่ผ่านมา มุ่งเน้นผลของสารออกฤทธิ์ในการรักษาหรือบรรเทาอาการเจ็บป่วยในสัตว์และมนุษย์ แต่ยังไม่มียุทธศาสตร์การศึกษารายงานถึงชนิด ความเข้มข้น และกลไกการทำงานของสารสำคัญในพืชเหล่านี้ รวมถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* และ *A. flavus* รวมถึงการทำลายสารโอคราทอกซินและแอฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์เกษตร หากสามารถเข้าใจวิธีการทำงานของสารสำคัญจากสารสกัดพืช จะสามารถนำสารสำคัญเหล่านี้ไปพัฒนาเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ในการควบคุมเชื้อราและลดการปนเปื้อนโอคราทอกซิน ที่สามารถใช้ได้สะดวก รวดเร็วและปลอดภัยต่อผู้บริโภค ทั้งในระดับครัวเรือนหรืออุตสาหกรรม

ในปี 2555 อมราและคณะ รายงานการใช้น้ำคั้นกระเทียมควบคุมเชื้อรา *A. flavus* ในพริกแห้ง โดยนำพริกสดเม็ดใหญ่ชุปในน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้นต่าง ๆ ก่อนนำไปอบแห้ง และเก็บรักษานาน 4 เดือน พบว่า พริกแห้งที่ชุปน้ำคั้นกระเทียมมีการปนเปื้อนของเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินน้อยกว่าพริกกลุ่มที่ไม่ชุปน้ำกระเทียมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าสารจากพืชสามารถควบคุมเชื้อราและสารพิษจากเชื้อราได้

อย่างไรก็ตามปัญหาที่พบในการนำสารสกัดใช้กับผลิตภัณฑ์เกษตร คือ ลักษณะของผลิตภัณฑ์รบกวนด้วยสีและกลิ่นของสารสกัด ยกตัวอย่างถั่วลิสงที่เคลือบด้วยสารสกัดกระชายดำ ทำให้สีของถั่วลิสงเป็นสีม่วงคล้ำของกระชายดำ หรือถั่วลิสงที่เคลือบด้วยสารสกัดปุดสิงห์ มีผิวเงางาม แต่มีกลิ่นคล้ายกับแมงดา ดังนั้นจึงควรพัฒนาวิธีการประยุกต์ใช้สารสกัดพืชเพื่อควบคุมเชื้อราและสารพิษในผลิตภัณฑ์

การนำสารสกัดพืชประยุกต์ใช้กับเทคโนโลยีบางชนิดอาจสามารถลดปัญหาดังกล่าวได้ วิธีการทางนาโนเทคโนโลยีกำลังได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของวัสดุหลายชนิดในทางการแพทย์ เกษศาสตร์ วิศวกรรม ชีววิทยา รวมถึงเกษตรกรรม การพัฒนาอนุภาคนาโน (nanoparticles) ของสารสกัดพืชอาจเป็นวิธีการนำสารสกัดพืชสมุนไพรไปใช้ควบคุมเชื้อราและสารพิษในผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถนำไปต่อยอดเพื่อพัฒนาวัสดุบรรจุภัณฑ์สำหรับผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะกลุ่มที่มีมูลค่าสูง เช่น สมุนไพรแห้งสำหรับสุขภาพ และผลไม้อบแห้ง เป็นต้น

## 7.วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เหง้าข่า (*Alpinia galanga*) กระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) ไพล (*Zingiber cassumunar*) ขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria*) และ ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*)
2. เครื่องกลั่นระเหยแห้งแบบหมุน (Rotary evaporator)
3. ตู้แช่อุณหภูมิต่ำ -20°C
4. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)
5. เตาอบลมร้อน (hot air oven)
6. เครื่อง UV-Vis spectrophotometer
7. สารเคมี ได้แก่ อะซิโรวไนท์ เอทานอล เมทานอล กรดไฮโดรคลอริก สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต และซูโครส
8. อาหารเลี้ยงเชื้อรา Potato Dextrose Agar (PDA)
9. กระดาษกรองเบอร์ 4 (Whatman, England)
10. กระดาษกรอง Glass Microfiber Filter (GF/A) (Whatman, England)

11. หลอดทดลองพลาสติก ขนาด 15 มิลลิตร
12. ไมโครทิวบ์พลาสติกขนาด 1.5 มิลลิตร
13. ปิเปตและทิป ขนาด 5 200 1000 5000 10000 ไมโครลิตร
14. จานเลี้ยงเชื้อแบบพลาสติก
15. เครื่องแก้ว ได้แก่ ขวดดูแรน ปีกเกอร์

## วิธีการ

### 1. การเตรียมตัวอย่างพืช

#### 1.1 การเตรียมตัวอย่างพืชสด

ทำความสะอาดเหง้าข่า กระจายดำ ไพล ขมิ้นอ้อย และขมิ้นชันด้วยน้ำกลั่น ผึ่งให้แห้ง หั่นตัวอย่างเป็นชิ้นบางประมาณ 0.5 ซม. (ภาพที่ 1) หากยังไม่ใช้ตัวอย่างพืชที่ได้ไปทดสอบในทันทีให้นำตัวอย่างพืชเก็บรักษาในถุงพลาสติกแบบมีซิปล ใส่อากาศออกจากถุง และเก็บในตู้แช่อุณหภูมิต่ำ  $-20^{\circ}\text{C}$  เพื่อรอใช้ในการทดลองขั้นต่อไป



ภาพที่ 1 ตัวอย่างพืชที่ใช้สำหรับการทดสอบ

#### 1.2 การเตรียมตัวอย่างพืชอบแห้ง

ทำความสะอาดเหง้ากระจายดำ ไพล ข่า ขมิ้นอ้อย และขมิ้นชันด้วยน้ำกลั่น ผึ่งให้แห้ง หั่นตัวอย่างเป็นชิ้นบางประมาณ 0.5 ซม. นำตัวอย่างพืชทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ  $55-60^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปสกัดด้วยน้ำกลั่น หรือเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ  $-20^{\circ}\text{C}$  เพื่อรอใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

## 2. การเตรียมสารสกัดพืช (plant extract)

### 2.1 การเตรียมสารสกัดพืชจากตัวอย่างสด

นำตัวอย่างพืช (ทีละชนิด) ปริมาณ 50 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่น ปริมาตร 600 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90°C ต่อเนื่องเป็นเวลา 20 นาที ปล่อยให้อุณหภูมิลดลง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 และกระดาษ GF/A ตามลำดับ นำไปใช้ทดสอบในขั้นต่อไป หรือเก็บสารกรองที่ได้ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อรอการทดสอบขั้นต่อไป

### 2.2 จากตัวอย่างแห้ง

นำตัวอย่างพืช (ทีละชนิด) ปริมาณ 50 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่น ปริมาตร 1,200 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90°C ต่อเนื่องเป็นเวลา 20 นาที ปล่อยให้อุณหภูมิลดลง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 และกระดาษ GF/A ตามลำดับ นำไปใช้ทดสอบในขั้นต่อไป หรือเก็บสารกรองที่ได้ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อรอการทดสอบขั้นต่อไป

## 3. การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดพืชและซิลเวอร์ไนเตรต ( $\text{AgNO}_3$ ) ร่วมกับอุณหภูมิและระยะเวลา ทำการทดลองหาสัดส่วนระหว่างสารสกัดพืช และ  $\text{AgNO}_3$  เนื่องจากคุณสมบัติของสารสกัดพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน จึงต้องทดสอบสัดส่วนของสารสกัดพืชและ  $\text{AgNO}_3$  ในอัตราส่วนต่าง ๆ เพื่อหาอัตราส่วนของสารที่เหมาะสม (ตารางที่ 1) หลังจากเติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตลงไป ในสารสกัดพืชแต่ละชนิด สารละลายถูกให้ความร้อนด้วย water bath อุณหภูมิ 75-95°C นาน 20-120 นาที (ขึ้นอยู่กับชนิดตัวอย่างพืช) จากนั้นจะนำไปทดสอบคุณสมบัติอนุภาคนาโนต่อไป (ภาพที่ 2)

**ตารางที่ 1** ปริมาตรและความเข้มข้นสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตต่อปริมาตรของสารสกัดพืช โดยใช้ทดสอบในแต่ละตัวอย่างพืช

ตัวอย่างที่	สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต ( $\text{AgNO}_3$ )		สารสกัดพืช ปริมาตร (mL)
	ความเข้มข้น (mM)	ปริมาตร (mL)	
1	0.1	9.5	0.5
2	0.1	9.0	1.0
3	0.1	8.0	2.0
4	0.1	6.0	4.0
5	0.5	9.5	0.5
6	0.5	9.0	1.0
7	0.5	8.0	2.0
8	0.5	6.0	4.0
9	1.0	9.5	0.5

10	1.0	9.0	1.0
11	1.0	8.0	2.0
12	1.0	6.0	4.0
13	2.0	9.5	0.5
14	2.0	9.0	1.0
15	2.0	8.0	2.0
16	4.0	6.0	4.0
17	4.0	9.5	0.5
18	4.0	9.0	1.0
19	4.0	8.0	2.0
20	4.0	6.0	4.0



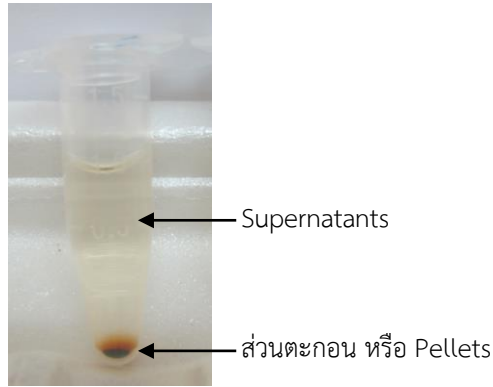
ภาพที่ 2 การศึกษาหาระดับอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการสร้างอนุภาคซิลเวอร์นาโน

#### 4. การทดสอบคุณสมบัติของอนุภาคนาโน

หลังจากบ่มใน water bath นำสารละลายที่ได้ ไปตรวจสอบคุณสมบัติของการเป็นอนุภาคนาโน โดยทดสอบ

##### 4.1 ทดสอบการดูดกลืนแสงของสารละลาย

สารละลาย  $AgNO_3$  ทำปฏิกิริยากับสารสกัดพืช ทำให้เกิดสารละลายสีน้ำตาล การเกิดสารละลายสีน้ำตาลเป็นคุณสมบัติหนึ่งของการสังเคราะห์อนุภาคนาโน นำสารละลายที่ได้ปั่นเหวี่ยงที่ 4,500 รอบ/นาที อุณหภูมิ  $25^{\circ}C$  นาน 20 นาที นำสารละลายส่วนใส (supernatants) ทิ้ง (ภาพที่ 3) เพื่อกำจัด  $AgNO_3$  ส่วนเกินที่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารสกัดพืช จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปในหลอดทดลองที่ยังมีตะกอน (pellets) และเขย่าให้เข้ากัน (Priya *et al.*, 2014) ถ้าสีของสารละลายมีสีเหลืองอำพันถึงสีน้ำตาลแดง แสดงคุณสมบัติเบื้องต้นของสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน ตรวจสอบค่าดูดกลืนแสงของสารละลายที่ได้ หากอยู่ในช่วง 400-450 nm แสดงถึงคุณสมบัติเบื้องต้นของการเกิดอนุภาคซิลเวอร์นาโน (Sista *et al.*, 2016)



ภาพที่ 3 ลักษณะของสารละลายระหว่าง  $\text{AgNO}_3$  และสารสกัดพืช หลังจากปั่นเหวี่ยงที่ 4,500 รอบ/นาที อุณหภูมิ  $25^\circ\text{C}$  นาน 20 นาที

#### 4.2 การวัดขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโน

นำตัวอย่างสารละลายที่มีค่าดูดกลืนแสงในช่วง 400-450 nm ไปเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจสอบขนาดและรูปร่างของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ได้ โดยนำสารละลายปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 rpm/นาที อุณหภูมิ  $25^\circ\text{C}$  นาน 45 นาที จำนวน 2 ครั้ง นำส่วนตะกอนของสารละลายที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง เข้าเครื่อง sonicate ที่อุณหภูมิห้อง นาน 15 นาที และทำให้เป็นแผ่นแห้งบน mica-based glass slide ก่อนนำไปวัดขนาดและรูปร่างของอนุภาคด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM)

### 5. การทดสอบประสิทธิภาพอนุภาคนาโนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

#### 5.1 การเตรียมเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus niger*

เตรียมเชื้อราทั้งสองชนิดโดยวิธีการเพาะเมล็ดธัญพืชบนกระดาษชั่ง (Blotter method) บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ  $30^\circ\text{C}$ ) เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยเขียนใยของเชื้อราที่เจริญบนเมล็ดนำมาวางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) และบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จำแนกเชื้อราที่แยกได้ แล้วคัดเลือกไอโซเลตที่เป็น *A. flavus* และ *A. niger* เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

#### 5.2 ทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคซิลเวอร์นาโนในการยับยั้งเชื้อราและการสร้างสารพิษ

นำตัวอย่างตะกอนที่ได้จากการทดสอบข้อ 4.2 ผสมในอาหาร PDA โดยให้อนุภาคซิลเวอร์นาโนของสารสกัดพืชแต่ละชนิดมีความเข้มข้น 20,000 30,000 และ 40,000 ppm ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร หยด spore suspension ของเชื้อราแต่ละชนิด (ความเข้มข้น  $10^6$  spore/mL) ปริมาตร 1  $\mu\text{L}$  บนอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ บ่มที่อุณหภูมิ  $25^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 3 วัน จำนวน 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อราและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของ เชื้อราดังนี้

$$\text{การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (\%)} = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

A คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA

B คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนอาหาร PDA ที่ผสมอนุภาคซิลเวอร์นาโน

### เวลาและสถานที่

ระยะเวลาทำการทดลอง: เริ่มต้น ตุลาคม 2559 – กันยายน 2561

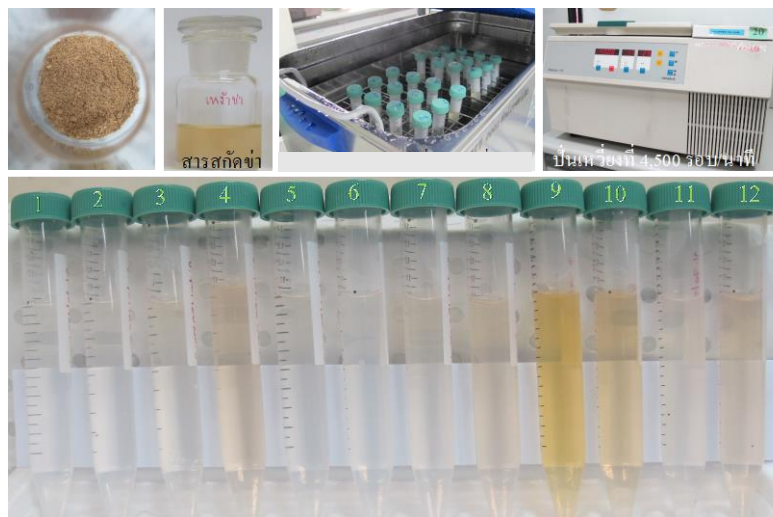
สถานที่ทำการทดลอง: กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

## 8. ผลการทดลองและวิจารณ์

### 1. การสังเคราะห์อนุภาคนาโน

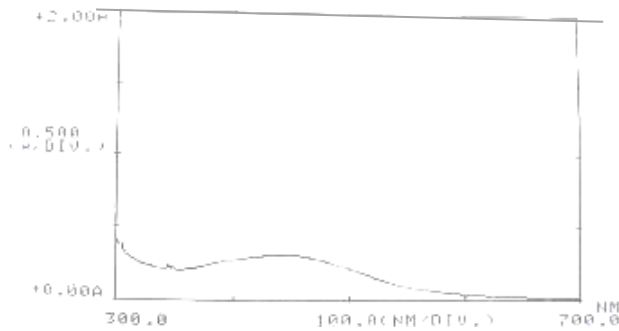
#### 1.1 การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยสารสกัดข้าว

-สารสกัดจากข้าวแห้ง สารละลายระหว่าง  $\text{AgNO}_3$  และสารสกัดข้าวแห้งหมายเลข 4 9 10 และ 12 เปลี่ยนเป็นสีเหลืองถึงน้ำตาลแดง (แต่สีไม่เข้ม) (ภาพที่ 4) โดยมีค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าวตามตารางที่ 2 ซึ่งค่า ABS ที่ได้มีค่าต่ำ สารละลายที่ทำให้เกิดอนุภาคซิลเวอร์นาโน จะได้พีคที่ 430-450 nm พบว่าสารละลายตัวอย่างที่ 9 ให้ค่าดูดกลืนแสงที่ 445 nm สูงที่สุด แต่พีคยังค่อนข้างต่ำ (ภาพที่ 5) จากการตรวจสอบวรรณกรรม การให้ความร้อนที่สูงขึ้นอาจจะช่วยเร่งปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดพืชและสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนสีของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทและสารสกัดข้าวแห้งหลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 120 นาที



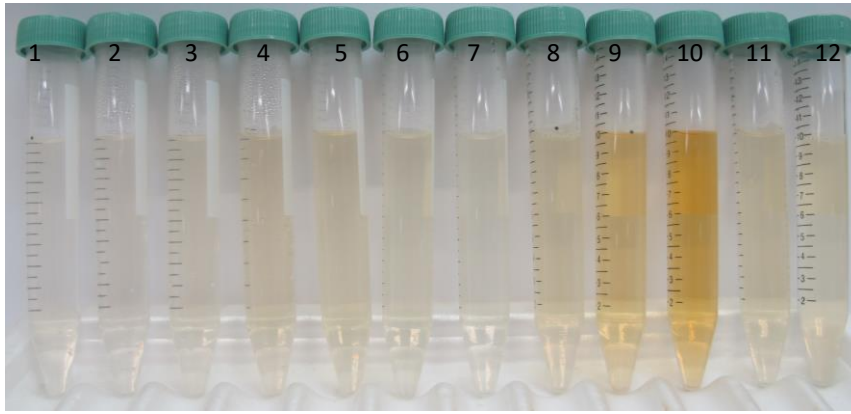


ภาพที่ 5 การดูดกลืนแสงของสารละลายจากสารสกัดข้าว 5% และสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  เข้มข้น 1.0 mM 95% (ตัวอย่างที่ 9) โดยดูดกลืนแสงสูงที่สุดที่ 445 นาโนเมตร

ตารางที่ 2 ผลของปริมาณและความเข้มข้นสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทต่อปริมาณของสารสกัดข้าวผง บ่มที่อุณหภูมิ 75°C นาน 120 นาทีต่อการเปลี่ยนสีและการดูดกลืนแสงที่ 400-450 nm

ตัวอย่าง ที่	สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ( $\text{AgNO}_3$ )		สารสกัดข้าวสด ปริมาณ (mL)	การดูดกลืนแสงที่ 400-450 nm
	ความเข้มข้น (mM)	ปริมาณ (mL)		
1	0.1	9.5	0.5	ไม่มีพิก
2	0.1	9.0	1.0	ไม่มีพิก
3	0.1	8.0	2.0	ไม่มีพิก
4	0.1	6.0	4.0	0.213
5	0.5	9.5	0.5	ไม่มีพิก
6	0.5	9.0	1.0	ไม่มีพิก
7	0.5	8.0	2.0	ไม่มีพิก
8	0.5	6.0	4.0	ไม่มีพิก
9	1.0	9.5	0.5	0.397
10	1.0	9.0	1.0	0.543
11	1.0	8.0	2.0	ไม่มีพิก
12	1.0	6.0	4.0	ไม่มีพิก

-สารสกัดจากข้าวสด สารละลายระหว่าง  $\text{AgNO}_3$  และสารสกัดสด พบว่า ตัวอย่างที่ 9 และ 10 สีของสารละลายเปลี่ยนสีจากสีขาวขุ่นเป็นสีเหลืองอมน้ำตาล เมื่อหลังจากสารละลายถูกให้ความร้อนด้วย ที่ อุณหภูมิ 75°C นาน 120 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4,500 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25°C นาน 20 นาที เพื่อทดสอบการดูดกลืนแสงของสารละลาย (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 การเปลี่ยนสีของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทและสารสกัดข้าวสาคู (สัดส่วนต่างกัน) สารละลาย หมายเลข 1-12 หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 120 นาที

ตารางที่ 3 ผลของปริมาตรและความเข้มข้นสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทต่อปริมาตรของสารสกัดข้าวสาคู บ่มที่อุณหภูมิ 75°C นาน 120 นาทีต่อการเปลี่ยนสีและการดูดกลืนแสงที่ 400-450 nm

ตัวอย่าง ที่	สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (AgNO <sub>3</sub> )		สารสกัดข้าวสาคู ปริมาตร (mL)	การดูดกลืนแสงที่ 400-450 nm
	ความเข้มข้น (mM)	ปริมาตร (mL)		
1	0.1	9.5	0.5	ไม่มีพิก
2	0.1	9.0	1.0	ไม่มีพิก
3	0.1	8.0	2.0	ไม่มีพิก
4	0.1	6.0	4.0	ไม่มีพิก
5	0.5	9.5	0.5	0.236
6	0.5	9.0	1.0	ไม่มีพิก
7	0.5	8.0	2.0	ไม่มีพิก
8	0.5	6.0	4.0	ไม่มีพิก
9	1.0	9.5	0.5	0.467
10	1.0	9.0	1.0	0.695
11	1.0	8.0	2.0	ไม่มีพิก
12	1.0	6.0	4.0	ไม่มีพิก

สารละลายระหว่าง AgNO<sub>3</sub> และสารสกัดข้าวสาคูและข้าวแห้ง มีระดับการดูดกลืนแสงในระดับต่ำ อาจเป็นผลจากสารสกัดข้าวมีองค์ประกอบทางเคมีส่วนใหญ่กว่าร้อยละ 70 เป็นน้ำมันหอมระเหย รวมถึงสารกลุ่มเทอร์ปีน คือ แคโรทีนอยด์ประมาณ 0.6-1.1 mg% และ แทนนิน 17.7 mg% (Sanjutak *et al.*, 2016) สารประกอบเหล่านี้สามารถให้อิออนแกกซิลเวอร์ไอออนได้น้อย (Ill-Min *et al.*, 2016) การสังเคราะห์

อนุภาคซิลเวอร์นาโนจึงเกิดขึ้นได้ปริมาณน้อย การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนเกิดจากการผสมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (แหล่งไอออนเงิน) เข้ากับสารสกัดพืชเป็นตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) ซึ่งสารที่จะช่วยให้เกิดปฏิกิริยาและให้ความคงตัวแก่อนุภาคนาโน ได้แก่ โปรตีน กรดอะมิโน เอนไซม์ อัลคาลอยด์ แทนนิน ฟีนอล คีโตน อัลดีไฮด์ เอไมด์ กรดคาร์บอกซิลิก คาร์โบไฮเดรต ฟลาโวนอยด์ และวิตามินที่มีอยู่แล้วในสารสกัดจากพืช ซึ่งสารสกัดจากพืชประกอบด้วยกลุ่มอัลดีไฮด์ซึ่งมีหน้าที่ในการลดขนาดไอออนเงินลงให้เป็นอนุภาคนาโนเมตร (Ill-Min *et al.*, 2016)

**ตารางที่ 4** ผลของปริมาตรและความเข้มข้นสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทต่อปริมาตรของสารสกัดฆ่าสذب่มที่อุณหภูมิ 95°C นาน 120 นาทีต่อการเปลี่ยนสีและการดูดกลืนแสงที่ 400-450 nm

ตัวอย่างที่	สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (AgNO <sub>3</sub> )		สารสกัดพืช ปริมาตร (mL)	การดูดกลืนแสงที่ 400-450 nm
	ความเข้มข้น (mM)	ปริมาตร (mL)		
13	2.0	9.5	0.5	ไม่มีพีด
14	2.0	9.0	1.0	ไม่มีพีด
15	2.0	8.0	2.0	ไม่มีพีด
16	4.0	6.0	4.0	ไม่มีพีด
17	4.0	9.5	0.5	ไม่มีพีด
18	4.0	9.0	1.0	ไม่มีพีด
19	4.0	8.0	2.0	ไม่มีพีด
20	4.0	6.0	4.0	ไม่มีพีด













หลังจากนั้นได้ทดสอบหาสัดส่วนระหว่างสารละลาย AgNO<sub>3</sub> และสารสกัดฆ่าสذب่มเพิ่มเติม (ตารางที่ 4) โดยทดสอบบ่มที่อุณหภูมิ 95°C นาน 30 นาที (ตามผลการทดลองของ Siddhant Jain and Mohan Singh Mehata, 2007) พบว่าสารละลายหมายเลข 14 เปลี่ยนเป็นสีส้มแดงและมีตะกอน ขณะที่สารละลายหมายเลข 18 เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลส้ม อย่างไรก็ตามไม่มีสารละลายหมายเลขใดที่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400-450 nm

## 1.2 การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยสารสกัดกระชายดำ

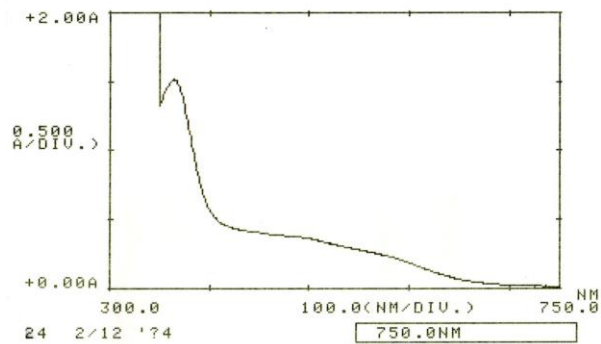
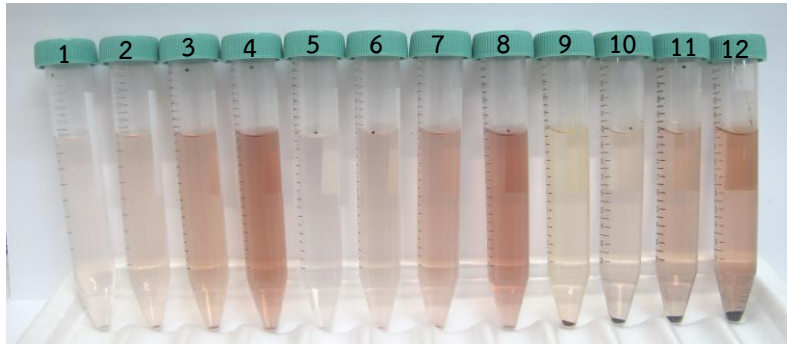
-ทดสอบอัตราส่วนระหว่างสารสกัดกระชายดำแห้งและสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (ตารางที่ 5) พบว่า ลักษณะของสารละลายหลังจากบ่มที่ 75°C นาน 120 นาทีแล้ว พบว่าสีของสารละลายมีสีม่วงอ่อน ม่วง

เข้ม และสีน้ำตาลอมม่วง ไม่ปรากฏพีคที่ 400-450 nm แสดงให้เห็นว่าสารละลายที่ได้ยังไม่มีไม่มีการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน (กานต์พิมลและรินา, 2560)

**ตารางที่ 5** ผลของปริมาตรและความเข้มข้นสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตต่อปริมาตรของสารสกัดจากกระชายดำผง บ่มที่อุณหภูมิ 75°C นาน 120 นาทีต่อการเปลี่ยนสีและการดูดกลืนแสงที่ 400-450 nm

ตัวอย่างที่	สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO <sub>3</sub> )		สารสกัดจากกระชายดำผง ปริมาตร (mL)	การดูดกลืนแสงที่ 400-450 nm
	ความเข้มข้น (mM)	ปริมาตร (mL)		
1	0.1	9.5	0.5	 ไม่มีพีค
2	0.1	9.0	1.0	 ไม่มีพีค
3	0.1	8.0	2.0	 ไม่มีพีค
4	0.1	6.0	4.0	 ไม่มีพีค
5	0.5	9.5	0.5	 ไม่มีพีค
6	0.5	9.0	1.0	 ไม่มีพีค
7	0.5	8.0	2.0	 ไม่มีพีค
8	0.5	6.0	4.0	 ไม่มีพีค
9	1.0	9.5	0.5	 ไม่มีพีค
10	1.0	9.0	1.0	 ไม่มีพีค
11	1.0	8.0	2.0	 ไม่มีพีค
12	1.0	6.0	4.0	 ไม่มีพีค

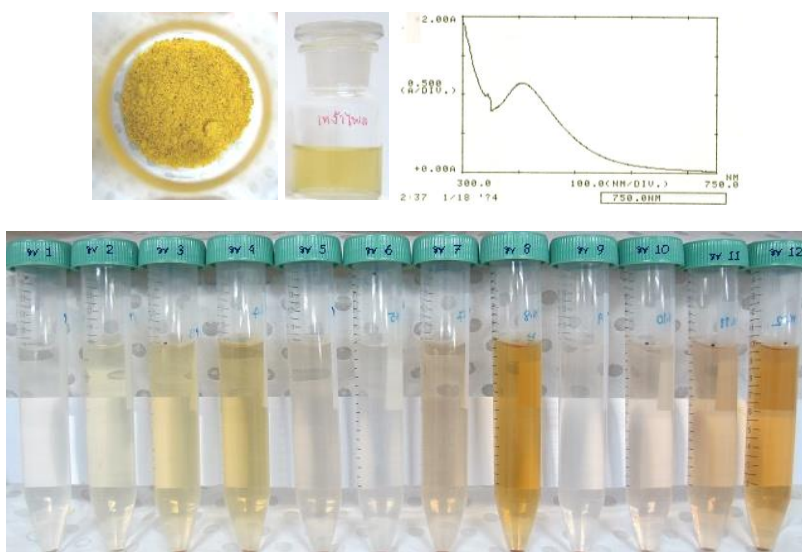
-นำสารสกัดกระชายดำสดมาทดสอบหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างสารสกัดพืชและสารละลาย AgNO<sub>3</sub> (สารละลายหมายเลข 1-12) บ่มที่อุณหภูมิ 75°C นาน 120 นาที พบว่า สารละลายหมายเลข 4 และ 8 มีการเปลี่ยนสีของสารละลายเป็นสีม่วงอมน้ำตาล ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มีการเปลี่ยนสีมากที่สุด เมื่อเทียบกับตัวอย่างหมายเลขอื่น ขณะที่สารละลายหมายเลข 9 10 11 และ 12 เกิดตะกอนในสารละลายจำนวนมาก (ภาพที่ 7) จึงนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4,500 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25°C นาน 20 นาที และทดสอบการดูดกลืนแสงในช่วง 400-450 nm สารละลายทั้ง 12 หมายเลขไม่ดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นดังกล่าว (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 สีของสารละลายหมายเลข 1-12 หลังจากปั่นเหวี่ยงที่ 4,500 รอบ/นาที (ภาพบน) และวัดการดูดกลืนแสง ไม่พบการดูดกลืนแสงที่ 400-450 ในทุกตัวอย่าง (ภาพล่าง)

### 1.3 การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยสารสกัดไพล

-สารสกัดไพลแห้ง ทดสอบอัตราส่วนระหว่างสารสกัดไพลแห้งและสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  บ่มที่ อุณหภูมิ  $75^\circ\text{C}$  นาน 360 นาที พบว่าสารละลายหมายเลข 8 มีการเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองอำพัน และ สารละลายหมายเลข 12 เปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองอมน้ำตาลแดง (ภาพที่ 8) หลังจากนั้นนำสารละลายทั้ง 12 หมายเลขปั่นเหวี่ยงที่ 4,500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ  $25^\circ\text{C}$  นาน 20 นาที และทดสอบการดูดกลืนแสงที่ 400-450 nm พบว่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm ในสารละลายหมายเลข 8 (ตารางที่ 6)

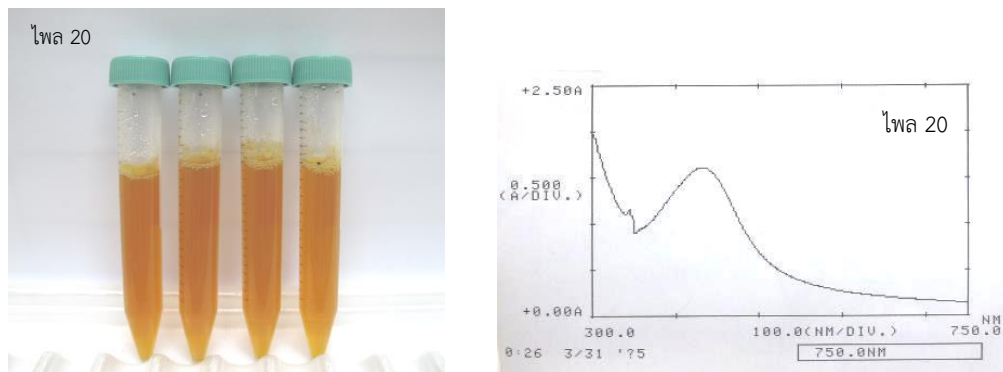


ภาพที่ 8 ผลของสัดส่วนของของสารละลาย  $AgNO_3$  และสารสกัดไพลแห้งต่อการเปลี่ยนสีและการดูดกลืนแสงที่ 400-450 nm ของสารละลายหมายเลข 1-12 หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ  $75^{\circ}C$  นาน 120 นาที และปั่นเหวี่ยงที่ 4,500 รอบ/นาที ที่  $25^{\circ}C$  นาน 20 นาที

ตารางที่ 6 ผลของปริมาณและความเข้มข้นสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทต่อปริมาณของสารสกัดจากไพลอบแห้ง บ่มที่อุณหภูมิ  $75^{\circ}C$  นาน 360 นาที ต่อการเปลี่ยนสีและการดูดกลืนแสงที่ 400-450 nm

ตัวอย่างที่	สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ( $AgNO_3$ )		สารสกัดข่าสด ปริมาตร (mL)	การดูดกลืนแสงที่ 400-450 nm
	ความเข้มข้น (mM)	ปริมาตร (mL)		
1	0.1	9.5	0.5	ไม่มีฟีด
2	0.1	9.0	1.0	ไม่มีฟีด
3	0.1	8.0	2.0	ไม่มีฟีด
4	0.1	6.0	4.0	0.134
5	0.5	9.5	0.5	ไม่มีฟีด
6	0.5	9.0	1.0	ไม่มีฟีด
7	0.5	8.0	2.0	ไม่มีฟีด
8	0.5	6.0	4.0	1.147
9	1.0	9.5	0.5	ไม่มีฟีด
10	1.0	9.0	1.0	ไม่มีฟีด
11	1.0	8.0	2.0	ไม่มีฟีด
12	1.0	6.0	4.0	1.028

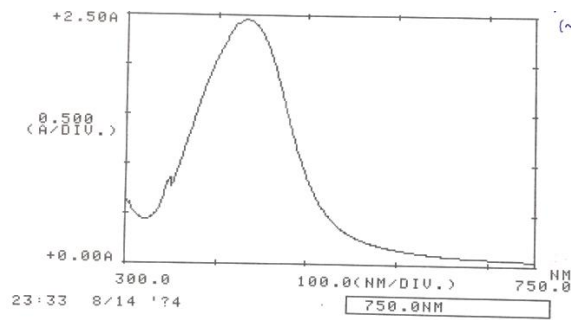
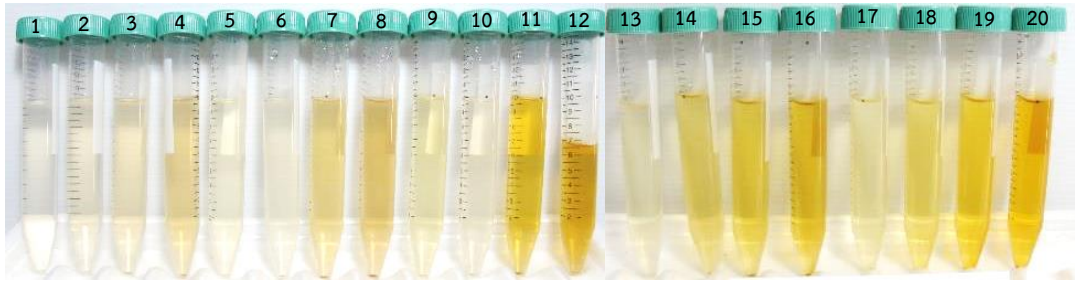
-สารสกัดไพลสด ทดสอบอัตราส่วนระหว่างสารสกัดไพลสดและสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ที่ความเข้มข้นและปริมาตรของสารละลายหมายเลข 16 และ 20 (ภาพที่ 9) โดยปรับอุณหภูมิสำหรับบ่มให้เกิดปฏิกิริยาเป็น  $95^\circ\text{C}$  นาน 60 นาที ตามรายงานการศึกษาของกานต์พิมลและริณา (2560) จากการทดสอบพบว่า สารสกัดไพลสดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอำพัน (ภาพที่ 9) เมื่อนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4,500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ  $25^\circ\text{C}$  นาน 20 นาที พบว่าสารละลายหมายเลข 16 และ 20 ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 440 nm และได้กราฟที่มีพื้นที่ใต้กราฟขนาดใหญ่และค่อนข้างสมมาตร แสดงว่าอุณหภูมิบ่ม  $95^\circ\text{C}$  นาน 60 นาที มีผลต่อการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน และอนุภาคที่ได้มีขนาดเล็ก และความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่เพิ่มขึ้นอาจจะช่วยเร่งปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดพืชและสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของศิริินยา (2557)



**ภาพที่ 9** สีเหลืองอำพันของสารละลายหมายเลข 20 ที่เกิดจากสารสกัดไพลสดและสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  (ซ้าย) และกราฟค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายหมายเลข 20 โดยมีค่าการดูดกลืนแสง 1.505 ที่ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 443 นาโนเมตร (ขวา)

#### 1.4 การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยสารสกัดขมิ้นอ้อย

จากการทดสอบในสารสกัดไพล พบว่าพืชสดให้ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนได้ดีกว่าพืชอบแห้ง ดังนั้นในการทดสอบสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยสารสกัดขมิ้นอ้อย จึงนำขมิ้นอ้อยสดมาสกัด บ่มเพื่อเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ  $95^\circ\text{C}$  นาน 20 นาที พบว่าสีของสารละลายหมายเลข 1-20 มีการเปลี่ยนแปลงชัดเจน โดยเฉพาะสารละลายหมายเลข 11 12 16 และ 20 เปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองอำพันเข้ม (ภาพที่ 10) หลังจากปั่นเหวี่ยงที่ 4,500 รอบ/นาที อุณหภูมิ  $25^\circ\text{C}$  นาน 20 นาที พบว่าสารละลายหมายเลข 16 และสารละลายหมายเลข 20 ให้ค่าการดูดกลืนแสง โดยหมายเลข 20 ให้ค่าดูดกลืนแสงสูงสุดคือ 2.453 ที่ความยาวคลื่น 433 nm (ภาพที่ 10)

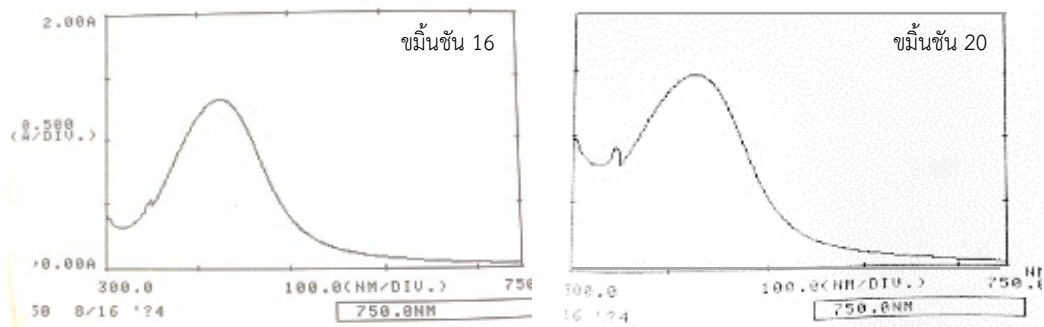
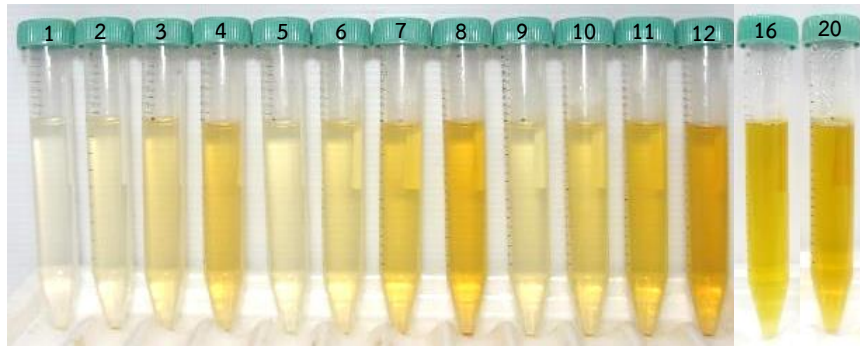


**ภาพที่ 10** สีของสารสกัดขมิ้นอ้อยสตร่วมกับสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  หมายเลข 1-20 หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ  $95^\circ\text{C}$  นาน 20 นาที (บน) กราฟของสารละลายหมายเลข 20 มีค่าการดูดกลืนแสง 2.453 ที่ความยาวคลื่น 433 นาโนเมตร (ล่าง)

### 1.5 การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยสารสกัดขมิ้นชัน

ทดสอบอัตราส่วนระหว่างสารสกัดขมิ้นชันสดและสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  บ่มที่อุณหภูมิ  $95^\circ\text{C}$  นาน 25 นาที พบว่า สีของสารละลายมีการเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองอมน้ำตาล โดยเฉพาะสารละลายหมายเลข 4 8 และ 12 มีสีเหลืองเข้ม ซึ่งสัดส่วนของสารสกัดขมิ้นชัน 4 มิลลิตร กับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท 6 มิลลิตร จึงได้เพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  เป็น 2.0 และ 4.0 mM พบว่าสารละลายหมายเลข 16 และ 20 สารสกัดขมิ้นชัน 4 มิลลิตร ร่วมกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ความเข้มข้น 4.0 mM ปริมาตร 6 มิลลิตร สารสกัดทั้งสองตัวอย่างเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองอำพันเข้ม (ภาพที่ 10) จากนั้นนำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ 4,500 รอบ/นาที อุณหภูมิ  $25^\circ\text{C}$  นาน 20 นาที และทดสอบการดูดกลืนแสง พบว่าสารละลายหมายเลข 16 มีค่าการดูดกลืนแสง 1.316 ที่ความยาวคลื่น 427.0 nm ขณะที่สารละลายหมายเลข 20 มีค่าการดูดกลืนแสง 1.457 ที่ความยาวคลื่น 426.0 nm



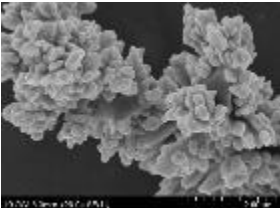
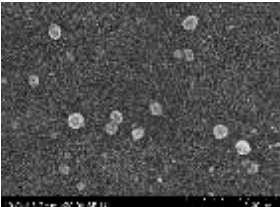
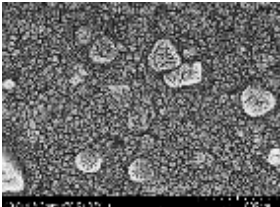
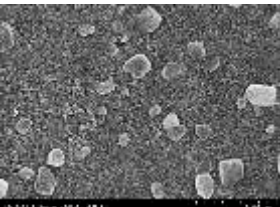
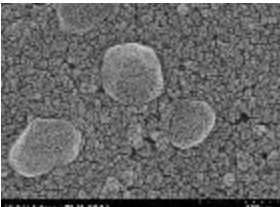
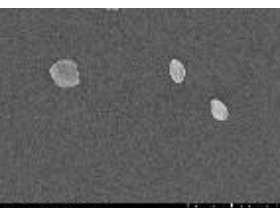
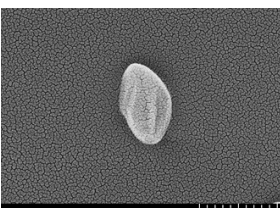


ภาพที่ 11 สีของสารสกัดขมิ้นชันสดร่วมกับสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  ที่ความเข้มข้น 0.1-4.0 mM สารละลาย หมายเลข 1-20 หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ  $95^\circ\text{C}$  นาน 25 นาที (บน) กราฟของสารละลายเบอร์ 16 มีค่าการดูดกลืนแสง 1.316 ที่ความยาวคลื่น 427.0 นาโนเมตร และ สารละลายเบอร์ 20 มีค่าการดูดกลืนแสง 1.457 ที่ความยาวคลื่น 426.0 นาโนเมตร (ล่าง)

## 2. การวัดขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโน

นำสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทร่วมกับสารสกัดพืช ที่มีค่าดูดกลืนแสงสูงในช่วง 400-450 nm ได้แก่ สารละลายจากไพลหมายเลข 20 สารละลายจากขมิ้นอ้อยหมายเลข 20 และสารละลายขมิ้นชันหมายเลข 20 ไปตรวจวัดขนาดด้วยกล้องอิเล็กตรอนกำลังขยายสูง (SEM) พบว่าอนุภาคเงินมีขนาดเล็กลง เมื่อเปรียบเทียบอนุภาคเงินในสารละลาย  $\text{AgNO}_3$  เข้มข้น 4.0 mM และอนุภาคเงินจากสารละลายจากไพลหมายเลข 20 สารละลายจากขมิ้นอ้อยหมายเลข 20 และสารละลายขมิ้นชันหมายเลข 20 โดยอนุภาคเงินจากสารละลายขมิ้นอ้อยหมายเลข 20 มีลักษณะเป็นวงกลม ขนาดประมาณ 80-100 nm อนุภาคเงินจากสารละลายขมิ้นชันหมายเลข 20 มีลักษณะเป็นเหลี่ยม มีขนาดประมาณ 100-200 nm และ อนุภาคเงินจากสารละลายไพลหมายเลข 20 มีลักษณะเป็นรูปไข่ ขนาดอนุภาคประมาณ 200-300 nm (ภาพที่ 12) ซึ่งขนาดและรูปร่างของอนุภาคนั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ชนิดและปริมาตร

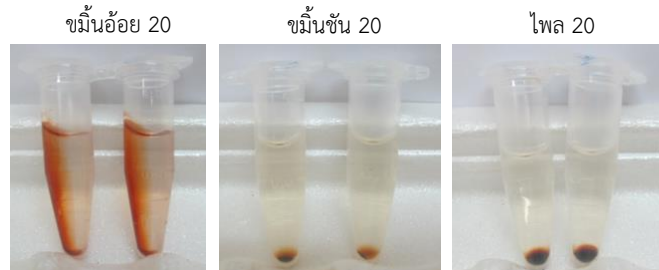
ของสารสกัดพืช และอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์ (Jae Yong Song and Beom Soo Kim, 2008) นอกจากนี้ส่วนประกอบโพลีฟีนอลิกหลายชนิดรวมถึงฟลาโวนอยด์, แทนนิน เป็นต้นซึ่งช่วยลด Ag ions และทำให้รูปร่างของอนุภาคนาโนเสถียร (Mohammed *et al*, 2018)

	ลักษณะอนุภาคภายใต้กล้อง Scanning Electron Microscope (SEM)	
	ขยาย 20,000 เท่า	ขยาย 70,000 เท่า
AgNO <sub>3</sub> Solution		N/A
AgNO <sub>3</sub> + สารสกัดขมิ้น อ้อย		
AgNO <sub>3</sub> + สารสกัด ขมิ้นชัน		
AgNO <sub>3</sub> + สารสกัดไพล		

ภาพที่ 12 ขนาดอนุภาคเงินที่เกิดจากการรีดิวซ์ด้วยสารสกัดขมิ้นอ้อย ขมิ้นชัน และไพล เปรียบเทียบกับขนาดของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO<sub>3</sub> solution)

### 3. ทดสอบประสิทธิภาพอนุภาคนาโนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

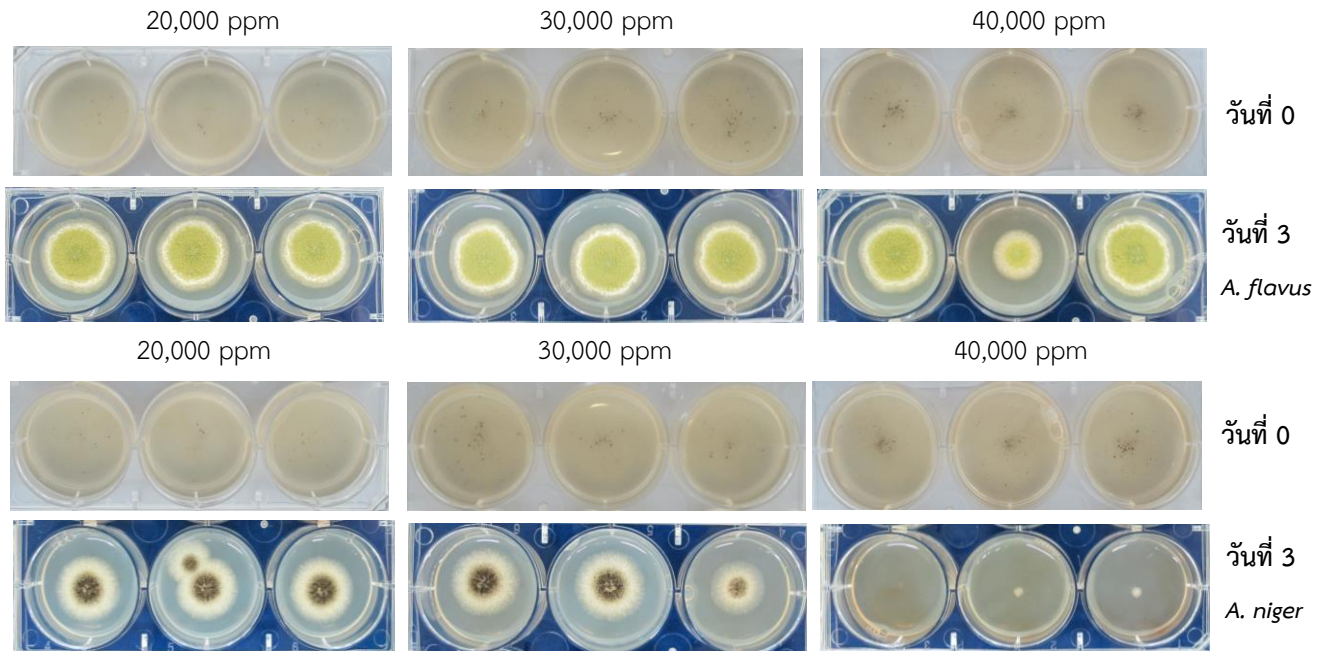
นำส่วนตะกอนที่ได้จากการทดสอบในข้อ 1 และ ข้อ 2 (ภาพที่ 13) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ได้จากสารสกัดขมิ้นอ้อย ขมิ้นชัน และไพลในการควบคุมเชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* ใน Potato Dextrose Agar เพื่อวัดการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 ชนิด (ภาพที่ 14)



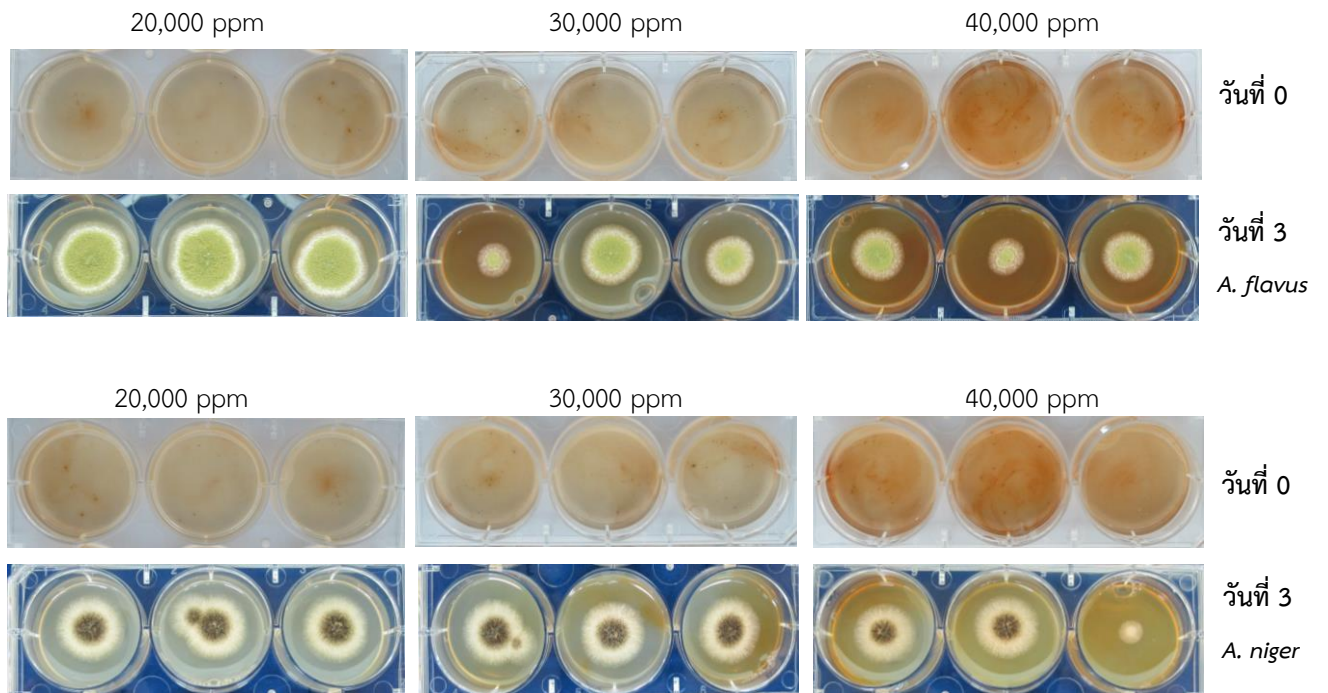
ภาพที่ 14 ตะกอนสารละลายขมิ้นอ้อยเบอร์ 20 ขมิ้นชันเบอร์ 20 และไพลเบอร์ 20

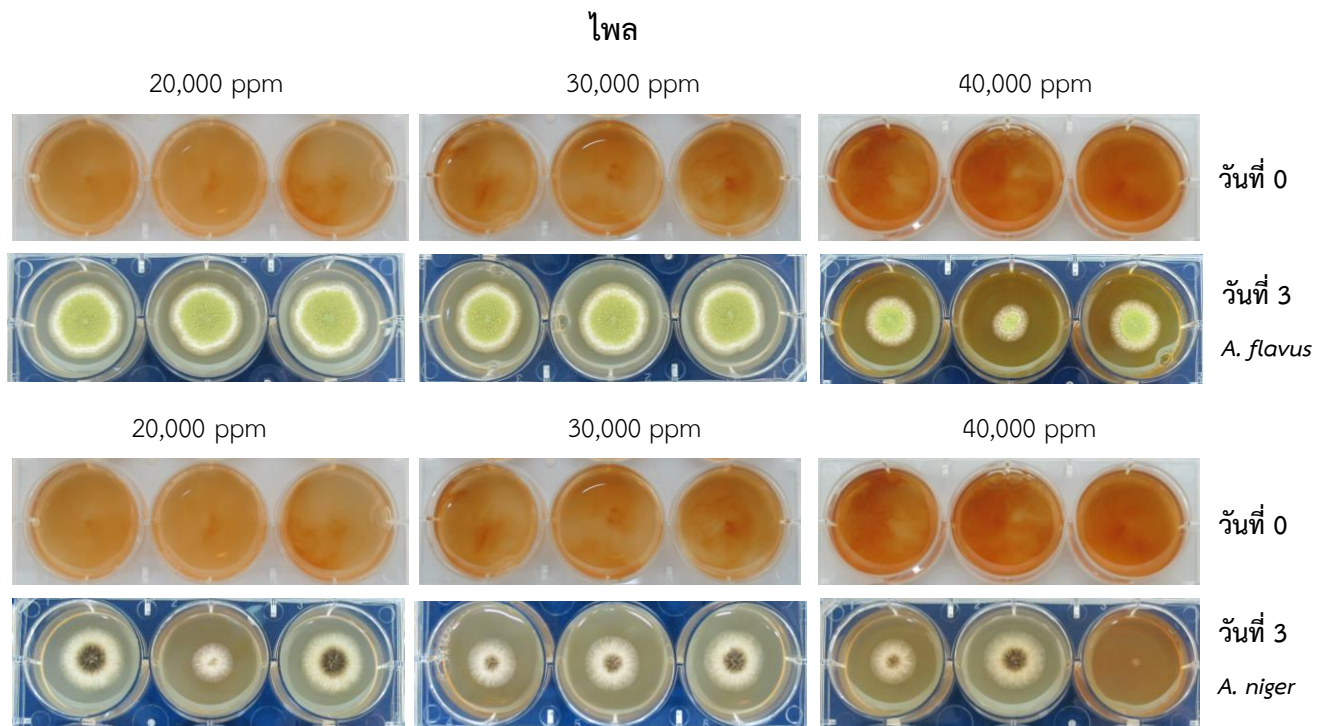
ทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ได้จากสารสกัดขมิ้นอ้อย ขมิ้นชัน และไพลในการควบคุมเชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* ใน PDA เพื่อวัดการเจริญของเชื้อราและการสร้างสารพิษของเชื้อราทั้ง 2 ชนิด (ภาพที่ 15) พบว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารสกัดขมิ้นอ้อย อนุภาคซิลเวอร์นาโนจากขมิ้นชัน อนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารสกัดไพล ที่ความเข้มข้น 40,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* มีการเจริญน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารสกัดขมิ้นอ้อย ขมิ้นชัน และไพล ที่ความเข้มข้นอื่น (ตารางที่ 7) ตามรายงานการศึกษาของ Hala และ Mohamed (2015) อนุภาคเงินสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ อาจเกิดจากอนุภาคเงินเกาะติดกับเยื่อหุ้มเซลล์ และเจาะเข้าไปภายในหรือมีปฏิกิริยากับฟอสฟอรัสที่มีสารประกอบเช่น สูญเสียความสามารถในการจำลอง DNA (DNA replication) หรือโดยเฉพาะอย่างยิ่งการหายใจระดับเซลล์ เมื่อรับไอออนเงินซึ่งส่งผลให้สูญเสียความสามารถในการดำรงชีวิตของเซลล์และในที่สุดก็ส่งผลให้เซลล์

### ไขมันอ้อย



### ไขมันชัน





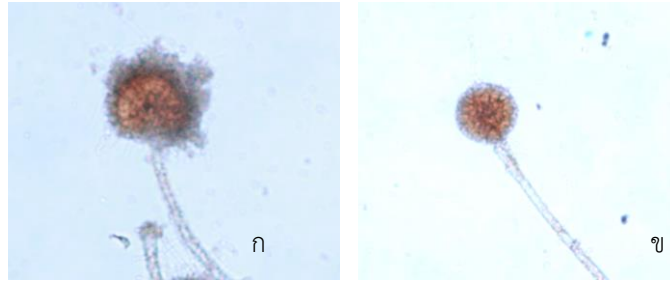
ภาพที่ 15 ทดสอบประสิทธิภาพของอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารสกัดขมิ้นอ้อย 20,000 30,000 และ 40,000 ppm ในการควบคุมเชื้อรา *A. flavus* และ *A.niger*

ตารางที่ 7 การยับยั้งเชื้อรา *A.flavus* และ *A.niger* ที่เจริญบนอาหารผสมอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารสกัดพืชวงศ์ขิงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ชนิด/ความเข้มข้น ของอนุภาคซิลเวอร์นาโน	ชนิดของเชื้อรา	
	<i>A.flavus</i>	<i>A.niger</i>
Control AgNo <sub>3</sub> 10,000 ppm	3.68	2.15
ขมิ้นอ้อย 20,000 ppm	1.77	2.12
ขมิ้นอ้อย 30,000 ppm	1.7	1.97
ขมิ้นอ้อย 40,000 ppm	1.48	0.14
ขมิ้นชัน 20,000 ppm	2.45	2.1
ขมิ้นชัน 30,000 ppm	2.05	1.75
ขมิ้นชัน 40,000 ppm	0.63	0.83
ไพล 20,000 ppm	1.65	1.86
ไพล 30,000 ppm	1.55	1.82
ไพล 40,000 ppm	0.9	1.16

หมายเหตุ ผลการทดลองรายงานเป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ

เมื่อนำเชื้อรา *A. flavus* ที่เจริญบนอาหารผสมอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารสกัดขมิ้นชันความเข้มข้น 40,000 ppm ไปส่องกล้องสเตอริโอ พบว่าก้านชูสปอร์ (conidiophore) ของ *A. flavus* มีลักษณะผิดปกติ ไม่มีสปอร์ที่ก้านชูสปอร์ (ภาพที่ 16) อนุภาคนาโนเงินสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากรวมตัวของสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำหยุดการทำงานของกลุ่มเซลล์ไฟตริลในผนังเซลล์เชื้อรา และไขมันเกิดการสลายภายในเซลล์ (Swarup et.al, 2013)



ภาพที่ 16 ลักษณะของเชื้อรา *A. flavus* (ก) เชื้อรา *A. flavus* ที่ปกติ (ข) เชื้อ *A. flavus* เจริญบนอาหารผสมอนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารสกัดขมิ้นชันความเข้มข้น 40,000 ppm

#### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

สารละลาย  $AgNO_3$  เข้มข้น 4.0 mM ปริมาตร 6 ส่วน ต่อสารสกัดพืช 4 ส่วน บ่มที่อุณหภูมิ  $95^{\circ}C$  นาน 20-30 นาที เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน จากการทดลองพบว่าสารสกัดข่าและสารสกัดกระชายดำ (สกัดด้วยน้ำกลั่น) ไม่มีประสิทธิภาพในการลดขนาดของอนุภาคเงิน ขณะที่สารสกัดไพล ขมิ้นอ้อย และขมิ้นชัน (จากเหง้าสด) มีประสิทธิภาพในการลดขนาดของอนุภาคเงิน ทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กลง โดยมีขนาดอนุภาคประมาณ 80-300 นาโนเมตร อนุภาคซิลเวอร์นาโนจากไพล ขมิ้นอ้อย และขมิ้นชัน เข้มข้น 40,000 ppm สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *A. flavus* และ *A. niger* ได้ ส่งผลต่อการลดการผลิตสารพิษของเชื้อราได้

#### การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ :

1. ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับนักวิจัยที่เกี่ยวข้องและผู้สนใจทั่วไป
2. ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้กับงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### คำขอบคุณ :

ขอขอบคุณนางสาวสุมิตรา ศรีเอี่ยม และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทดลองสารพิษจากเชื้อรา กวป. สำหรับการช่วยเหลือและสนับสนุนการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- กานต์พิมล กรไกร และ รินา ภัทรมานนท์. 2560. อนุภาคเงินนาโนสังเคราะห์ด้วยสารสกัดจากพืชและความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์. ว.วิทย. มข. 45(1) 34-52 (2560)
- ศรินยา โพธิ์ทอง. การสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจากเปลือกผลไม้. วิทยานิพนธ์ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ. แหล่งที่มา: [http://www.thapra.lib.su.ac.th/thesis/showthesis\\_th.asp?id=0000012040](http://www.thapra.lib.su.ac.th/thesis/showthesis_th.asp?id=0000012040). 31 มกราคม 2562
- Hala Y. El-Kassas and Mohamed M. ElKomi. 2015. Biogenic Silver Nanoparticles using Seaweed *Ulva rigida* and their Fungicidal and Cytotoxic Effects. JKAU: Mar. Sci., Vol. 25, No.1, pp: 3-20 (2014A.D./1435A.H.) DOI: 10.4197/Mar.25-1.1
- Jae Yong Song and Beom Soo Kim. 2008. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. Bioprocess Biosyst Eng 32:79-84
- Ill-Min Chung, Inmyoung Park, Kim Seung-Hyun, Muthu Thiruvengadam and Govindasamy Rajakumar. 2016. Plant-Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles: Their Characteristic Properties and Therapeutic Applications. Nanoscale Research Letters 11:40
- Mohammed Rafi Shaik, Mujeeb Khan, Mufsir Kuniyil, Abdulrahman Al-Warthan, Hamad Z. Alkathlan, Mohammed Rafiq H. Siddiqui, Jilani P. Shaik, Anis Ahamed, Adeem Mahmood, Merajuddin Khan , and Syed Farooq Adil. 2018. Plant-Extract-Assisted Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Origanum vulgare* L. Extract and Their Microbicidal Activities. Sustainability ,10, 913;doi:10.3390/su10040913
- Priya Banerjee, Mantosh Satapathy, Aniruddha Mukhopahayay and Papita Das. 2014. Leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticle from widely available Indian plants: synthesis, characterization , antimicrobial property and toxicity analysis. Bioresources and Bioprocessing 1:3.
- Sanjukta RK, Samir D, Puro K, Ghatak S, Shakuntala I and Sen A. 2016. Division of Animal Health, Indian Council of Agricultural Research (ICAR) Research Complex for Northeastern Hill Region, Ribhoi, Meghalaya, India. International Journal of Nanomedicine and Nanosurgery ISSN: 2470-3206.

- Siddhant Jain and Mohan Singh Mehata. 2017. Medicinal Plant Leaf Extract and Pure Flavonoid Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles and their Enhanced Antibacterial Property. Scientific Reports 7, Article number: 15867
- Sista Kameswara Srikar, Deen Dayal Giri, Dan Bahadur Pal, Pradeep Kumar Mishra, Siddh Nath Upadhyay. 2016. Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Review. Green and Sustainable Chemistry, 2016, 6, 34-56.
- Swarup roy, Triparna Mukherjef, Shatarupa Chakraborty, Tapan Kumar Das. 2013. Biosynthesis ,characterization & Antifungal activity of silver nanoparticles synthesized by the fungus aspergillus Foetidus mtcc8876. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures Vol. 8, No. 1, January-March 2013,p. 197-205