

# การเตรียมและพิสูจน์ลักษณะเฉพาะของฟิล์มอนุพันธ์ไคโตซานผสม พอลิไวนิลแอลกอฮอล์สำหรับบรรจุภัณฑ์อาหาร Fabrication and Characterization of Chitosan Derivative-Poly(vinyl alcohol) Blend Films for Food Packaging Applications

พรพิลาศ อ่อนศรี, ศุวิมล จันวิเศษ, ธัญวลัย ฉัตรคำจุนเจริญ, วิไลพร ไกรสุวรรณ\*

สาขาวิชาเทคโนโลยีวัสดุพอลิเมอร์ คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ นครนายก 26120

Phornphilat Onsri, Suwimon Janwised, Tanwalai Chatkumpjunjalearn,  
Wilaiporn Kraisuwan\*

*Division of Polymer Materials Technology, Faculty of Agricultural Product Innovation and Technology,*

*Srinakharinwirot University, Nakhon Nayok 26120*

Received 13 August 2023; Received in revised 24 October 2023; Accepted 31 October 2023

## บทคัดย่อ

ในปัจจุบันการพัฒนามาวัสดุพอลิเมอร์ชีวภาพที่ยั่งยืนในอุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์อาหารกำลังได้รับการวิจัยอย่างแพร่หลาย เนื่องจากปัญหาขยะพลาสติกจากปิโตรเลียมซึ่งไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ในการศึกษานี้ได้พัฒนาฟิล์มบรรจุภัณฑ์แอสที่พหุนิวติยอลสลายได้ทางชีวภาพจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่ผสมอนุพันธ์ที่มีประจุบวกของไคโตซาน คือ เอ็น-2-ไฮดรอกซิล-3-ไตรเมทิลแอมโมเนียมไพรอิลไคโตซานคลอไรด์ (HTCC) วิเคราะห์โครงสร้างของฟิล์มด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี ศึกษาอิทธิพลของปริมาณ HTCC (10%, 20%, 30% และ 40% w/w) ต่อการดูดซึมน้ำ สมบัติเชิงกล การย่อยสลายทางชีวภาพ และพฤติกรรมต้านจุลชีพต่อแบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli*) และแกรมบวก (*Staphylococcus aureus*) ของฟิล์ม PVA/HTCC ผลการวิจัย พบว่า การดูดซึมน้ำของฟิล์มเพิ่มขึ้นตามปริมาณ HTCC ที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณ HTCC ส่งผลให้ฟิล์มมีค่าความต้านทานแรงดึงลดลง ในขณะที่ค่าการยืดตัว ณ จุดขาดเพิ่มขึ้น ในส่วนของกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ พบว่าการเพิ่มปริมาณ HTCC มีแนวโน้มที่จะลดความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพของฟิล์ม ผลการต้านจุลชีพ พบว่าฟิล์ม PVA บริสุทธิ์ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ในขณะที่ฟิล์ม PVA/HTCC มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่ดีเยี่ยม โดยเฉพาะฟิล์มที่มีปริมาณ HTCC 40% (w/w) จากผลการทดลองทั้งหมดนี้แสดง

ให้เห็นว่า พิล์ม PVA/HTCC มีสมบัติเชิงกลที่ดี สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ และมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นการใช้งานในอุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์อาหารจึงมีแนวโน้มที่ดี

**คำสำคัญ:** อนุพันธ์ไคโตซาน; พอลิไวนิลแอลกอฮอล์; ฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย; บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ

## Abstract

Currently, the development of sustainable bio-polymer materials is widely researched due to the issue of non-biodegradable petroleum-based plastic waste in the food packaging industries. In this study, active biodegradable packaging films were developed from poly(vinyl alcohol) (PVA) containing positively charged derivative of chitosan, *N*-[(2-hydroxyl-3-trimethyl ammonium) propyl]chitosan chloride (HTCC). The structures of the PVA/HTCC films were characterized by Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy. The effects of HTCC contents (10%, 20%, 30%, and 40% w/w) on water absorption, mechanical properties, biodegradable, and antimicrobial behaviors against Gram-negative (*Escherichia coli*) and Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) strains of the PVA/HTCC films were investigated. The results showed that water absorption of the PVA/HTCC films increased with increasing amounts of HTCC. Furthermore, the increasing in HTCC content resulted in decreased tensile strength, while elongation at break increase. Regarding the biodegradation process, it was found that increasing the content of HTCC tended to minimize the biodegradability of the films. The antimicrobial activity results showed that the pure PVA film had no antibacterial activity. However, the PVA/HTCC films exhibited excellent antimicrobial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, especially the film containing 40% (w/w) of HTCC. These results suggest that the PVA/HTCC films possess good mechanical properties, biodegradability, and antibacterial activity, making their application in the food packaging industry is promising.

**Keywords:** Chitosan derivative; Poly(vinyl alcohol); Antibacterial activity; Active packaging

## 1. บทนำ

บรรจุภัณฑ์ประเภทฟิล์มและสารเคลือบเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์อาหาร โดยทำหน้าที่ป้องกันผลิตภัณฑ์จากปัจจัยภายนอก ได้แก่ ความชื้น ความร้อน แสง จุลินทรีย์ และฝุ่นละออง [1] บรรจุภัณฑ์ส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์แบบใช้แล้วทิ้งที่ผลิตจากปิโตรเลียม เนื่องจากใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำ มีสมบัติเชิงกลดี มีความยืดหยุ่น และทนต่อการกัดกร่อน แต่มีข้อเสีย คือ อาจก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพจากการปล่อยสารอันตรายจากบรรจุภัณฑ์พลาสติกลงในอาหาร นอกจากนี้บรรจุภัณฑ์พลาสติกจากปิโตรเลียมใช้เวลาในการย่อยสลายนาน จึงตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นานหลายทศวรรษหรือศตวรรษ ทำให้ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม และสุขภาพอย่างรุนแรง [2] ดังนั้นเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว จึงมีการพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active packaging) จากพอลิเมอร์ที่มีสมบัติย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ซึ่งปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน สามารถคงคุณค่าทางโภชนาการ รวมถึงสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ [3]

พอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ได้แก่ แป้ง เซลลูโลส เจลาติน พอลิแลคติกแอซิด พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ พอลิคาโพรแลคโตน และอื่น ๆ โดยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นพอลิเมอร์ที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีสมบัติเชิงกลดี ไม่เป็นพิษ มีความสามารถในการขึ้นรูปฟิล์ม มีความโปร่งใส ทนทานต่อสารเคมี และสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ [4] แต่มีข้อเสีย คือ มีความชอบน้ำสูง จึงมีการนำพอลิไวนิลแอลกอฮอล์มาใช้ร่วมกับวัสดุอื่น เพื่อปรับปรุงความชอบน้ำและสมบัติเชิงกลให้ดีขึ้น [5] จากการศึกษาพบว่ามีการใช้วัสดุที่ได้จากธรรมชาติในการเตรียมฟิล์มคอมโพสิต เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ เนื่องจากมีความแข็งแรงไม่เป็นพิษ การซึมผ่านออกซิเจนต่ำ และสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ [6]

ไคโตซาน (chitosan, CS) เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นอนุพันธ์ของไคติน พบมากในธรรมชาติ โครงสร้างประกอบด้วย 2-amino-2-deoxy-(1,4)- $\beta$ -D-glucopyranan มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ไม่เป็นพิษ เข้ากันได้ทางชีวภาพย่อยสลายได้ทางชีวภาพ [7] และยังมีสมบัติในการขึ้นรูปฟิล์ม [8] จึงมีการนำมาประยุกต์ใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาผลผลิตทางการเกษตร [9] รวมถึงนำมาใช้เป็นวัสดุคอมโพสิตที่มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ [10,11] แต่มีข้อจำกัด คือ ไม่สามารถละลายได้ในน้ำ เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว จึงมีการดัดแปรโครงสร้างทางเคมีของไคโตซานผ่านปฏิกิริยาควอเทอร์ไนเซชัน ได้อนุพันธ์ไคโตซานที่มีประจุบวก หรือเรียกว่า ควอเทอร์นารีแอมโมเนียมไคโตซาน (quaternary ammonium chitosan) ที่มีสมบัติคล้ายกับไคโตซาน แต่สามารถละลายได้ในน้ำ มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านอนุมูลอิสระ และมีโครงสร้างแบบอสัณฐานมากกว่าไคโตซานที่ไม่มีการดัดแปรโครงสร้าง ในอุตสาหกรรมอาหาร ควอเทอร์นารีแอมโมเนียมไคโตซาน มักใช้เป็นสารเคลือบ สารตั้งต้นในการเตรียมฟิล์ม หรือใช้เป็นสารตัวพาส์สำหรับบรรจุสารออกฤทธิ์ เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม และยืดอายุการเก็บรักษาอาหารให้ยาวนานมากขึ้น [12,13]

ปัจจุบันมีงานวิจัยที่พัฒนาฟิล์มบรรจุภัณฑ์จากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (poly(vinyl alcohol), PVA) และควอเทอร์นารีแอมโมเนียมไคโตซาน ด้วยกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospinning) [14,15] ซึ่งเป็นกระบวนการผลิตเส้นใยขนาดนาโนเมตร ทำให้มีรูพรุนขนาดเล็ก แต่มีข้อจำกัดในการขึ้นรูป เนื่องจากอิทธิพลของตัวแปรต่าง ๆ เช่น ศักย์ไฟฟ้า ความเข้มข้นการนำไฟฟ้า และอัตราการไหลของสารละลายพอลิเมอร์ ซึ่งส่งผลต่อโครงสร้าง และสมบัติของแผ่นเส้นใยนาโน นอกจากนี้มีการศึกษาการเตรียมฟิล์มบรรจุภัณฑ์จากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และควอเทอร์นารีแอมโมเนียมไคโตซานที่มีอัตราส่วนแตกต่างกัน ด้วยวิธีการหล่อแบบด้วยตัวทำละลาย เพื่อศึกษาผลของควอเทอร์นารีแอมโมเนียมไคโตซานต่อสมบัติเชิงกล การซึมผ่านของออกซิเจน การ

ซึมผ่านของไอน้ำ และสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม [16] อย่างไรก็ตาม จากสมบัติที่ไวต่อน้ำของควอเทอร์นารีแอมโมเนียมไคโตซาน และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ อาจส่งผลต่อสมบัติเชิงกลและสมบัติทางเคมีของฟิล์มบรรจุภัณฑ์ที่เตรียมได้ เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว จึงมีการใช้สารเชื่อมขวางที่ได้จากธรรมชาติ เพื่อหลีกเลี่ยงข้อเสียจากการใช้สารเชื่อมขวางทางเคมี กรดซิตริก (citric acid, CA) เป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีอยู่ในธรรมชาติ พบได้ในผักและผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว รวมถึงสามารถสังเคราะห์ได้จากกระบวนการหมัก นิยมใช้เป็นสารเชื่อมขวางในฟิล์มคอมโพสิต เนื่องจากกรดซิตริกมีหมู่คาร์บอกซิลิกที่สามารถจับกับหมู่ไฮดรอกซิลของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์หรือพอลิแซ็กคาไรด์ผ่านพันธะเอสเทอร์ [17] ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มความเสถียรในน้ำ และเพิ่มปริมาณเจล [18] ทำให้มีความสามารถในการปรับปรุงสมบัติเชิงกลและสมบัติทางเคมีของฟิล์ม นอกจากนี้กรดซิตริกยังไม่เป็นพิษ มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านอนุมูลอิสระ และมีต้นทุนต่ำ [19] จึงมีประสิทธิภาพในการควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนพื้นผิวอาหารได้

จากการศึกษาข้างต้น พบว่ายังไม่มียานวิจัยที่มีการขึ้นรูปฟิล์มจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ควอเทอร์นารีแอมโมเนียมไคโตซาน โดยใช้กรดซิตริกเป็นสารเชื่อมขวาง ด้วยวิธีการหล่อแบบด้วยตัวทำละลาย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและพัฒนาฟิล์มบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่มีสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และควอเทอร์นารีแอมโมเนียมไคโตซาน คือ เอ็น-2-ไฮดรอกซิล-3-ไตรเมทิลแอมโมเนียมโพรพิลไคโตซานคลอไรด์ ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน โดยใช้กรดซิตริกเป็นสารเชื่อมขวาง จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของฟิล์มด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี รวมถึงศึกษาผลการดูดซึมน้ำ สมบัติเชิงกล การย่อยสลายทางชีวภาพ และการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาฟิล์มคอมโพสิตสำหรับบรรจุภัณฑ์อาหารจากวัสดุที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ

## 2. อุปกรณ์และวิธีการ

### 2.1 สารเคมี

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละไฮโดรไลซิส 86-90) จากบริษัท Chem-Supply Pty Ltd ไคโตซาน (มวลโมเลกุล 100,000 Da, ร้อยละการกำจัดหมู่อะซีติล, %DD 95) จากบริษัท Seafresh Chitosan Lab ไกลซีดีล ไตรเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (GTMAC, มวลโมเลกุล 151.63 g/mol, ความบริสุทธิ์ 90%) และกรดซิตริก (มวลโมเลกุล 192.12 g/mol, ความบริสุทธิ์ 95%) จากบริษัท Sigma-Aldrich และกรดแอสซิติค (99.7%) จากบริษัท RCI Labscan

### 2.2 การสังเคราะห์ N-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)propyl]chitosan chloride (HTCC)

ชั่งผงไคโตซาน น้ำหนัก 5 กรัม ละลายในกรดแอสซิติค เข้มข้น 1% (w/v) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร กวนต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน กรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อให้ได้สารละลายไคโตซานสีเหลืองใส จากนั้นหยดไกลซีดีล ไตรเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (GTMAC) น้ำหนัก 15.16 กรัม (4 equiv.  $\text{NH}_2$ ) ลงในสารละลายไคโตซาน กวนต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ทำให้บริสุทธิ์ด้วยกระบวนการไดอะลิซิส (dialysis process) เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำสารละลาย HTCC ที่สังเคราะห์ได้ไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) [20]

### 2.3 การเตรียมฟิล์มพอลิไวนิลแอลกอฮอล์/อนุพันธ์ของไคโตซาน

การเตรียมฟิล์มพอลิไวนิลแอลกอฮอล์/อนุพันธ์ของไคโตซาน (PVA/HTCC) ที่อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยวิธีการหล่อแบบด้วยตัวทำละลาย (Table 1) กำหนดให้ PVA เป็นวัสดุเนื้อพื้น (matrix phase) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในคอมโพสิต ทำหน้าที่ช่วยให้โมเลกุลของ HTCC กระจายตัวอยู่ภายในโครงสร้างของฟิล์มอย่างสม่ำเสมอ ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มทำได้โดยชั่ง PVA น้ำหนัก 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 และ 5.0 กรัม ละลายใน

น้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กวนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนละลายหมด จากนั้น ชั่ง HTCC น้ำหนัก 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 40 มิลลิลิตร กวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผสมสารละลาย PVA และสารละลาย HTCC เข้าด้วยกัน กำหนดให้อัตราส่วนโดยมวลของ PVA/HTCC เท่ากับ 100:0, 90:10, 80:20, 70:30 และ 60:40 ตามลำดับ จากนั้นชั่งกรดซิตริก (CA) 0.1 กรัม ละลาย

ในน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เทสารละลาย CA ลงในสารละลาย PVA/HTCC กวนจนเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเทสารละลายทั้งหมดลงในแม่พิมพ์ ขนาด 25x100 มิลลิเมตร อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ชั่วโมง วัดความหนาฟิล์มด้วยไมโครมิเตอร์วัดภายนอกแบบดิจิทัล (INSIZE รุ่น 3109-25A, ประเทศจีน) โดยแผ่นฟิล์ม 1 สุ่ม ทำการวัดทั้งหมด 10 จุด เพื่อหาค่าเฉลี่ยความหนาของฟิล์มที่เตรียมได้

Table 1 The composition of PVA/HTCC films.

Film samples	Weight ratio of PVA:HTCC	PVA (g)	HTCC (g)	CA (g)
HTCC-0	100:0	5.0	0.0	0.1
HTCC-10	90:10	4.5	0.5	0.1
HTCC-20	80:20	4.0	1.0	0.1
HTCC-30	70:30	3.5	1.5	0.1
HTCC-40	60:40	3.0	2.0	0.1

#### 2.4 การวิเคราะห์ฟิล์มด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานซฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

ศึกษาและวิเคราะห์โครงสร้างของฟิล์มด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานซฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (รุ่น Nicolet iS5, ประเทศสหรัฐอเมริกา) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงเลขคลื่น 4,000-500  $\text{cm}^{-1}$  ด้วยความละเอียด 4  $\text{cm}^{-1}$  ที่มีการสแกน 16 ครั้ง/นาที

#### 2.5 การทดสอบการดูดซึมน้ำของฟิล์ม

ตัดฟิล์มขนาด 2x2 ตารางเซนติเมตร อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแห้งของฟิล์มแต่ละสูตร ( $W_d$ ) จากนั้นนำไปแช่ในน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำฟิล์มมาซับของเหลวส่วนเกินออก และชั่งน้ำหนักเปียก ( $W_s$ ) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ คำนวณหาอัตราการดูดซึมน้ำของฟิล์ม ดังสมการที่ (1) [21]

$$\text{Swelling ratio} = \frac{W_s - W_d}{W_d} \quad (1)$$

#### 2.6 การทดสอบสมบัติเชิงกลของฟิล์ม

ทดสอบสมบัติเชิงกลตามมาตรฐาน ASTM D638 ด้วยเครื่องทดสอบแรงดึงเอกประสงค์ (รุ่น Instron 5966, ประเทศสหรัฐอเมริกา) เพื่อวัดค่าความทนต่อแรงดึง (Tensile strength) และการยืด ณ จุดขาด (Elongation at break) โดยตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 15x100 ตารางมิลลิเมตร กำหนดตัววัดแรงดึง เท่ากับ 1 กิโลนิวตัน ระยะห่างตัวรองรับตัวอย่าง เท่ากับ 50 มิลลิเมตร ทดสอบด้วยความเร็ว 10 มิลลิเมตร/นาที ดึงชิ้นงานทดสอบจนชิ้นงานขาดออกจากกัน ทำการทดสอบสมบัติเชิงกลตัวอย่างละ 5 ชิ้น [22]

#### 2.7 การทดสอบการย่อยสลายของฟิล์ม

ตัดฟิล์มขนาด 3x3 ตารางเซนติเมตร อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ฝังในกระถางที่มีดินสำเร็จรูปสำหรับปลูกไม้ดอกไม้ประดับที่ระดับความลึก 10 เซนติเมตร และวางกระถางในที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำตัวอย่างฟิล์มที่ทดสอบมา

ทำความเข้าใจความสะอาด บันทึกลักษณะทางกายภาพของฟิล์ม ทุก ๆ 1 สัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ [23,24]

### 2.8 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม

ทดสอบสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม ด้วยวิธีการแพร่ในอาหารแข็ง (Agar-diffusion method) โดยศึกษาเชื้อแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* (*E. coli*) TISTR780 และ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) TISTR746 ที่มีปริมาณเชื้อ  $10^6$ - $10^7$  CFU/mL โดยทำการเกลี่ยเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารแข็ง จากนั้นนำฟิล์มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ( $D_s$ ) วางลงในตำแหน่งที่กำหนดไว้บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกรัศมีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ( $R_a$ ) โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใส (Clear zone) ( $D_c$ ) ในหน่วยมิลลิเมตร คำนวณหารัศมีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ดังสมการที่ 2 [25]

$$R_a \text{ (mm)} = \frac{D_c - D_s}{2} \quad (2)$$

### 3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

#### 3.1 ผลการสังเคราะห์ N-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)propyl]chitosan chloride (HTCC)

จากการทดลอง พบว่า HTCC ที่สังเคราะห์ได้ มีลักษณะคล้ายสำลี มีสีขาวอมเหลือง (Figure 1) และสามารถละลายได้ในน้ำ โดยการสังเคราะห์ HTCC เติร์ยมได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างหมู่อะมิโนของโคโตซาน ซึ่งทำหน้าที่เป็นนิวคลีโอไฟล์กับไกลซิดิลไตรเมทิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (GTMAC) ในสารละลายกรดแอสติกเจือจาง ในสภาวะนี้ GTMAC จะเกิดการโปรโตเนตที่อะตอมของออกซิเจนแล้ววงอีพอกไซด์จะเปิดออก และเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนของโคโตซาน (Figure 2)

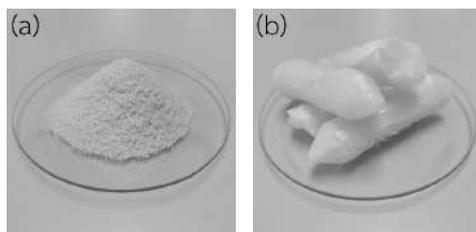


Figure 1 Physical characteristics of (a) CS and (b) N-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)propyl] chitosan chloride (HTCC).

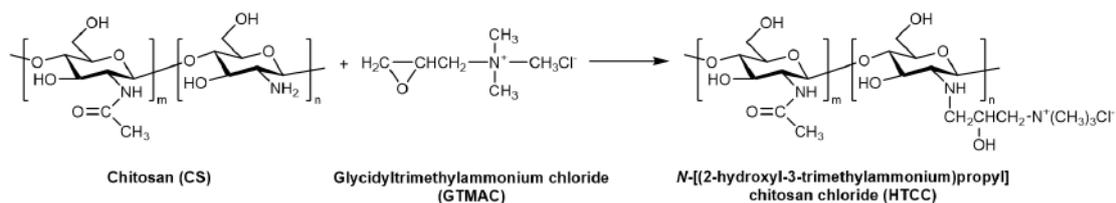
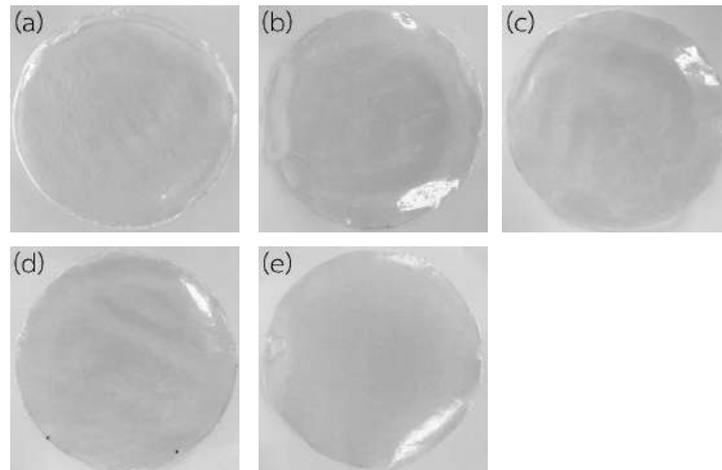


Figure 2 Synthetic scheme of N-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)propyl]chitosan chloride (HTCC) [26].

### 3.2 ลักษณะทางกายภาพของฟิล์ม

ลักษณะทางกายภาพของฟิล์ม PVA/HTCC ที่อัตราส่วนต่าง ๆ โดยมีกรดซิตริกทำหน้าที่เป็นสารเชื่อม

ขวาง พบว่า ฟิล์มทุกสูตรมีลักษณะผิวเรียบ และมีสีเหลืองใสจากการเพิ่มปริมาณ HTCC (Figure 3) โดยฟิล์ม PVA/HTCC มีความหนาเฉลี่ย เท่ากับ  $190 \pm 10$  ไมโครเมตร



**Figure 3** Physical characteristics of PVA/HTCC films (a) HTCC-0, (b) HTCC-10, (c) HTCC-20, (d) HTCC-30, and (e) HTCC-40.

### 3.3 ผลการวิเคราะห์ฟิล์มด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานซอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของฟิล์มด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานซอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี แสดง FTIR สเปกตรัมของ PVA, CS, HTCC และฟิล์ม PVA/HTCC ที่อัตราส่วนต่าง ๆ ที่เชื่อมขวางด้วยกรดซิตริก (Figure 4) พบว่า สเปกตรัมของ PVA ปรากฏหมู่ O-H stretching ในช่วงเลขคลื่น  $3400-3200 \text{ cm}^{-1}$  หมู่ C-H stretching ที่เลขคลื่น  $2939 \text{ cm}^{-1}$  และหมู่ C=O stretching ที่เลขคลื่น  $1720 \text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ไม่สมบูรณ์ของไวนิลแอลกอฮอล์ [16] สเปกตรัมของ CS และ HTCC ปรากฏหมู่ฟังก์ชันที่เหมือนกัน ได้แก่ หมู่ N-H stretching และ O-H stretching ซึ่งเกิดจากการซ้อนทับกันในช่วงเลขคลื่นประมาณ  $3400-3200 \text{ cm}^{-1}$  หมู่ C-H stretching ที่เลขคลื่น  $2918 \text{ cm}^{-1}$  และหมู่ C=O stretching ของเอไมด์ ที่เลขคลื่น  $1637 \text{ cm}^{-1}$  นอกจากนี้

ใน HTCC ยังพบหมู่ C-H bending ของควอเทอนารีแอมโมเนียม ( $-N(\text{CH}_3)_3$ ) ที่เลขคลื่น  $1476 \text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่เป็นลักษณะเฉพาะสำหรับใช้ยืนยันปฏิกิริยาการสังเคราะห์ HTCC [26]

สำหรับฟิล์ม PVA/HTCC ที่เชื่อมขวางด้วยกรดซิตริก ปรากฏหมู่ C=O stretching ของเอสเทอร์ ที่เลขคลื่น  $1728 \text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเกิดจากการเชื่อมขวางของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ทั้งที่มาจาก PVA และ HTCC กับหมู่คาร์บอกซิลิก (-COOH) ของกรดซิตริก [27,28] (Figure 5) แต่เนื่องจากใน PVA มีหมู่ C=O stretching ที่เลขคลื่น  $1720 \text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ไม่สมบูรณ์ของไวนิลแอลกอฮอล์ ทำให้พีคทั้งสองเกิดการซ้อนทับกัน และมีลักษณะกว้างขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าหมู่ฟังก์ชันซึ่งมาจาก HTCC ที่เลขคลื่น  $1637 \text{ cm}^{-1}$  มีความสูงของพีคเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ HTCC เพิ่มขึ้น [16]

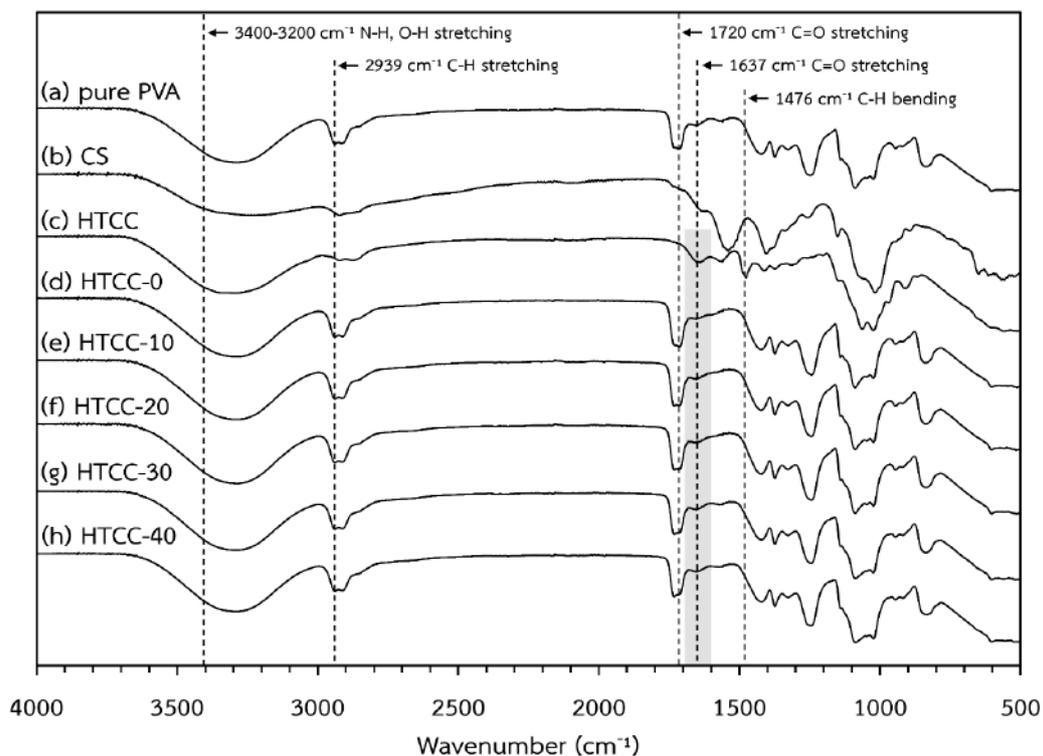


Figure 4 FTIR spectra of (a) pure PVA, (b) CS, (c) HTCC, and PVA/HTCC films (d) HTCC-0, (e) HTCC-10, (f) HTCC-20, (g) HTCC-30, and (h) HTCC-40.

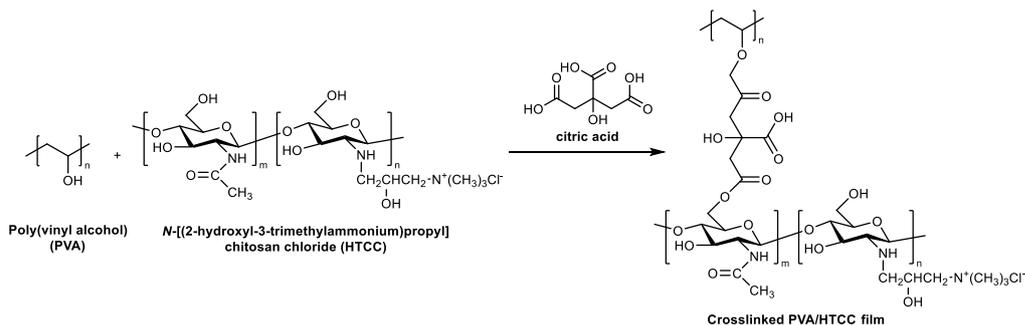


Figure 5 Proposed crosslinking mechanism of PVA and HTCC with citric acid.

### 3.4 ผลการทดสอบการดูดซึมน้ำของฟิล์ม

การทดสอบสมบัติการดูดซึมน้ำของฟิล์ม PVA/HTCC ที่อัตราส่วนต่าง ๆ เป็นการศึกษาแนวโน้มการดูดซึมน้ำของฟิล์ม ซึ่งจำเป็นอย่างยิ่งในการควบคุมสภาพบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ [29] จากการทดลอง

พบว่า ฟิล์ม HTCC-0 มีค่าการดูดซึมน้ำต่ำสุด เท่ากับ 2.34 เท่าของน้ำหนักเดิม (Figure 6) และละลายน้ำอย่างรวดเร็ว เนื่องจาก PVA มีหมู่ไฮดรอกซิลที่มีความชอบน้ำทำให้ฟิล์มมีความเสถียรในน้ำต่ำ ส่วนฟิล์ม PVA/HTCC พบว่า ค่าการดูดซึมน้ำและเสถียรภาพในน้ำเพิ่มขึ้น เมื่อ

ปริมาณของ HTCC เพิ่มขึ้น โดยฟิล์ม HTCC-40 มีค่าการดูดซึมน้ำสูงสุด เท่ากับ 10.35 เท่าของน้ำหนักเดิม และไม่ละลายในน้ำเมื่อแช่เป็นเวลา 60 นาที สาเหตุเนื่องมาจากโมเลกุลของ HTCC เป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุบวก (polycationic) เมื่อเกิดการบวมน้ำ [30] สายโซ่พอลิเมอร์จึงเกิดแรงผลักกันทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic

repulsion) ระหว่างโมเลกุล ทำให้โครงสร้างของฟิล์มขยายได้มากขึ้น ฟิล์มจึงมีค่าการดูดซึมน้ำเพิ่มสูงขึ้น [31] และนอกจากนี้หมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลของ HTCC สามารถเกิดการเชื่อมขวางกับหมู่คาร์บอกซิลิกของกรดซिटริกเกิดเป็นพันธะเอสเทอร์ที่แข็งแรง ทำให้ฟิล์มมีความเสถียรอยู่ในน้ำได้เป็นเวลานาน

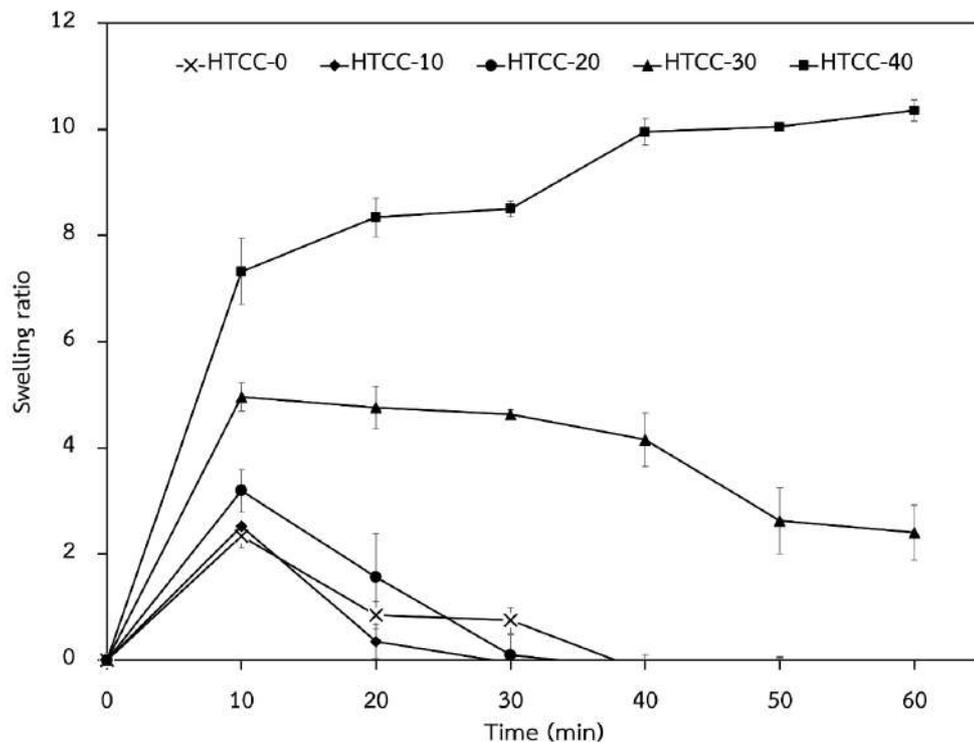


Figure 6 Swelling ratio of PVA/HTCC films.

### 3.5 ผลการทดสอบสมบัติเชิงกลของฟิล์ม

ความต้านทานแรงดึง และค่าการยืดตัว ณ จุดขาดเป็นสมบัติเชิงกลที่สำคัญของฟิล์มบรรจุภัณฑ์ โดยฟิล์มจำเป็นต้องมีความต้านทานแรงดึง และความยืดหยุ่นที่เหมาะสมกับการใช้งาน โดยทั่วไปสมบัติเชิงกลของฟิล์มคอมโพสิตจะขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์ (active compound) พอลิเมอร์เมทริกซ์ และแรงกระทำที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลของส่วนประกอบต่าง ๆ ในคอมโพสิต จากการทดลองพบว่า

ฟิล์ม PVA/HTCC แสดงค่าความต้านทานแรงดึง และค่าการยืดตัว ณ จุดขาดของฟิล์มอยู่ระหว่าง 4.21-6.61 MPa และ 74.90-114.26% ตามลำดับ (Figure 7) โดยค่าความต้านทานแรงดึงของฟิล์มมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของ HTCC เพิ่มขึ้น เนื่องจาก HTCC ทำให้ความสามารถในการตกผลึกของ PVA ลดลง จึงส่งผลให้ค่าความต้านทานแรงดึงลดต่ำลง [32] ในขณะที่ค่าการยืดตัว ณ จุดขาดมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เนื่องจาก HTCC ทำให้เกิดช่องว่าง (free volume)

ระหว่างสายโซ่ [33] เมื่อถูกดึงตามแนวแรง ทำให้สายโซ่สามารถเคลื่อนที่ได้มากขึ้น ส่งผลให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น

จากการทดสอบดังกล่าวพบว่า ฟิล์มที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (LDPE) ซึ่งเป็นพลาสติกที่ใช้มากที่สุดในระดับอุตสาหกรรมสำหรับ

บรรจุภัณฑ์อาหาร โดยมีค่าความต้านทานแรงดึงอยู่ระหว่าง 10-20 MPa และค่าการยืดตัว ณ จุดขาดของฟิล์มอยู่ระหว่าง 80-500% [34] ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ว่าฟิล์มคอมโพสิตเป็นวัสดุที่มีศักยภาพสำหรับบรรจุภัณฑ์และการถนอมอาหาร

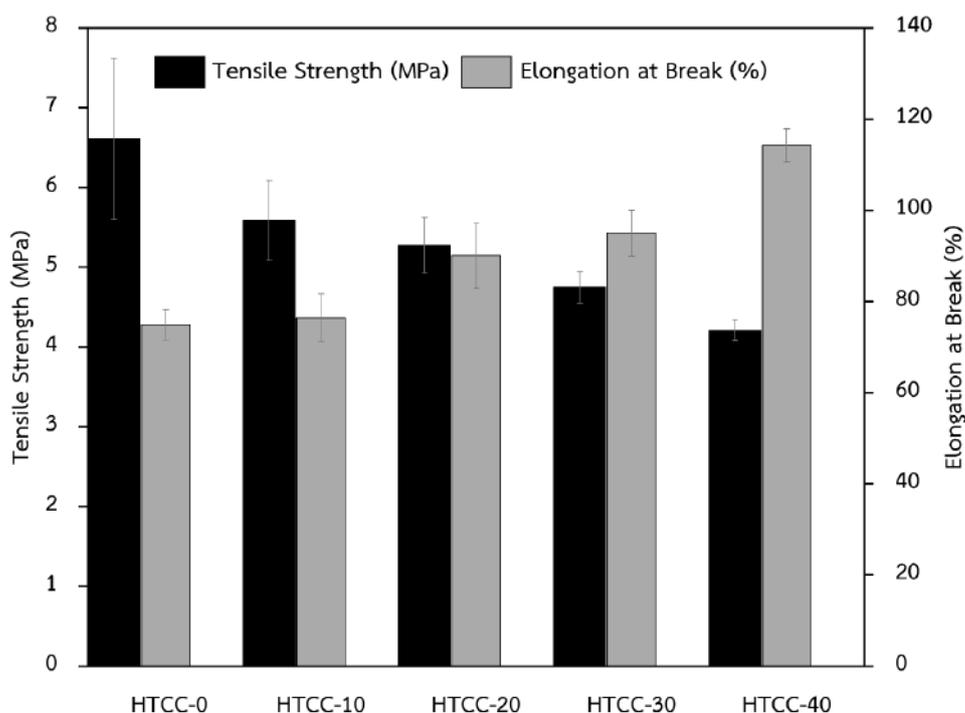


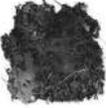
Figure 7 Mechanical properties of PVA/HTCC films.

3.6 ผลการทดสอบการย่อยสลายของฟิล์ม

การทดสอบการย่อยสลายของฟิล์ม PVA/HTCC โดยนำฟิล์มไปฝังกลบในดินเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (Table 2) ฟิล์มจะเกิดกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพจากการกระทำของจุลินทรีย์ และปัจจัยทางชีวภาพในสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับความสามารถในการดูดซึมน้ำของฟิล์ม [35] จากผลการทดลอง พบว่า ฟิล์ม HTCC-0 มีการย่อยสลายในดินมากที่สุด และฟิล์ม HTCC-40 มีการย่อยสลายในดินน้อยที่สุด เนื่องจากการเพิ่มปริมาณ HTCC

มากขึ้นมีแนวโน้มที่จะสามารถต้านจุลินทรีย์ในดินได้เพิ่มขึ้น [36] ในขณะที่โครงสร้างที่มีรูพรุนของฟิล์ม PVA ทำให้โมเลกุลของน้ำผ่านเข้าสู่โครงสร้างของพอลิเมอร์ได้มากขึ้น ซึ่งสามารถกระตุ้นการแตกตัว และเพิ่มขนาดของรูพรุน ทำให้อัตราการพองตัวของฟิล์มเพิ่มขึ้น ส่งผลให้จุลินทรีย์สามารถทำลายโครงสร้างของพอลิเมอร์ได้ดีขึ้น [37] จึงเกิดการย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้อย่างรวดเร็ว

Table 2 Photographs of PVA/HTCC films buried in soil for 1, 2, 3, and 4 weeks.

Film samples	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
HTCC-0				
HTCC-10				
HTCC-20				
HTCC-30				
HTCC-40				

### 3.7 ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม PVA/HTCC ที่อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* โดยการวัดรัศมีการยับยั้งเชื้อ (zone of inhibition) พบว่า ฟิล์ม HTCC-0 ไม่พบบริเวณใส เนื่องจาก PVA ไม่มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ในขณะที่ฟิล์ม HTCC-10, HTCC-20, HTCC-30 และ HTCC-40 พบบริเวณใส ทั้งในเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เนื่องจาก HTCC มีหมู่ควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่แสดงความเป็นประจุบวก (polycationic) สามารถเกิดอันตรกิริยากับผนังเซลล์ของแบคทีเรียซึ่งมีประจุลบ โดยแรงไฟฟ้าดังกล่าวทำให้เกิดความเสียหายต่อผนังเซลล์

ส่งผลให้แรงดันออสโมติกไม่สมดุล และแรงไฟฟ้ายังก่อให้เกิดความเสียหายต่อชั้นเพปทิโดไกลแคนในผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ด้วยกลไกดังกล่าวทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ [38] ดังนั้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ HTCC จะทำให้ประจุบวกบนสายโซ่พอลิเมอร์มากขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มดีขึ้น [39] นอกจากนี้ยังพบว่า ฟิล์ม PVA/HTCC สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าเชื้อ *E. coli* เนื่องจากผนังเซลล์ด้านนอกของ *E. coli* ประกอบด้วยลิโปพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งทำหน้าที่เป็นเกราะป้องกันที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการแพร่ของสารต้านแบคทีเรียผ่านผนังเซลล์ [40] (Figure 8)

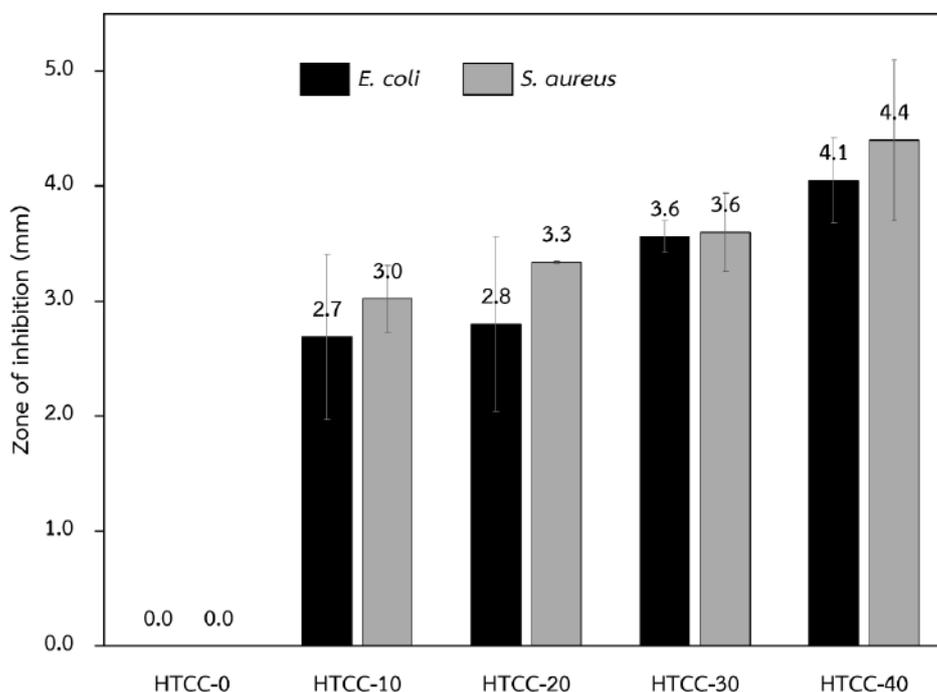


Figure 8 Zone of inhibition of PVA/HTCC films against *E. coli* and *S. aureus*.

#### 4. สรุป

งานวิจัยนี้ได้เตรียมฟิล์มจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-2-ไฮดรอกซิล-3-ไตรเมทิลแอมโมเนียมโพรพิลโคโตนานคลอไรด์ โดยใช้กรดซัลฟิวริกเป็นสารเชื่อมขวาง ด้วยวิธีการหล่อแบบด้วยตัวทำละลายจากการศึกษาพบว่า เมื่อความเข้มข้นของ HTCC เพิ่มขึ้นฟิล์มจะมีค่าการดูดซึมน้ำและมีเสถียรภาพในน้ำมากขึ้น โดยฟิล์ม HTCC-40 มีเสถียรภาพในน้ำมากที่สุด เนื่องจากแรงผลักรันทางไฟฟ้าสถิตของโมเลกุล HTCC ซึ่งมีประจุบวก ทำให้โครงสร้างของฟิล์มขยายได้มาก จึงดูดซึมน้ำได้มากขึ้น และการเกิดปฏิกิริยาการเชื่อมขวางระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของ HTCC กับหมู่คาร์บอกซิลิกของกรดซัลฟิวริกเกิดเป็นพันธะเอสเทอร์ที่แข็งแรง ทำให้ฟิล์มมีความเสถียรในน้ำ การศึกษาสมบัติเชิงกลของฟิล์ม PVA/HTCC พบว่า เมื่อปริมาณของ HTCC เพิ่มขึ้น ความต้านทานแรง

ดึงมีค่าลดลง ในขณะที่ค่าการยืดตัว ณ จุดขาดเพิ่มขึ้น เป็นผลมาจากการที่ HTCC ทำให้ความสามารถในการตกผลึก PVA ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่า ฟิล์ม PVA/HTCC ที่อัตราส่วนต่าง ๆ สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ด้วยการฝังกลบในดิน การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ของฟิล์ม PVA/HTCC พบบริเวณใสในเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยเมื่อเพิ่มปริมาณ HTCC ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้น เนื่องจาก HTCC เป็นอนุพันธ์ของโคโตนานที่มีประจุบวกของหมู่ควอเตอร์นารีแอมโมเนียม ทำให้สามารถจับกับผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งมีประจุลบ จึงขัดขวางการเคลื่อนที่ของสารผ่านเข้าออกสู่เซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้เชื้อแบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ จากผลการทดสอบดังกล่าว ทำให้สามารถสรุปได้ว่า ฟิล์มบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ PVA/HTCC ที่พัฒนาขึ้นจากวัสดุที่เป็นมิตรต่อ

สิ่งแวดล้อม สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ โดยฟิล์ม HTCC-40 มีความเป็นไปได้มากที่สุดสำหรับการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์อาหาร

## 5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คณะเทคโนโลยี และนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

## 6. References

- [1] Abdullah, Cai, J., Hafeez, M. A., Wang, Q., Farooq, S., Huang, Q., Tian, W. and Xiao, J., 2022, Biopolymer-based functional films for packaging applications: A review, *Front Nutr.* 9: 1-20.
- [2] Gupta, V., Biswas, D. and Roy, S., 2022, A comprehensive review of biodegradable polymer-based films and coatings and their food packaging applications, *Materials (Basel)*. 15(17): 1-38.
- [3] Ahmed, M. W., Haque, M. A., Mohibullah, M., Khan, M. S. I., Islam, M. A., Mondal, M. H. T. and Ahmmed, R., 2022, A review on active packaging for quality and safety of foods: Current trends, applications, prospects and challenges, *Food Packag. Shelf Life*. 33: 1-12.
- [4] Oun, A. A., Shin, G. H., Rhim, J. W. and Kim, J. T., 2022, Recent advances in polyvinyl alcohol-based composite films and their applications in food packaging, *Food Packag. Shelf Life*. 34: 1-16.
- [5] Abedi-Firoozjah, R., Chabook, N., Rostami, O., Heydari, M., Kolahdouz-Nasiri, A., Javanmardi, F., Abdolmaleki, K. and Mousavi Khaneghah, A., 2023, PVA/starch films: An updated review of their preparation, characterization, and diverse applications in the food industry, *Polym Test*. 118: 1-14.
- [6] Yin, W., Qiu, C., Ji, H., Li, X., Sang, S., McClements, D. J., Jiao, A., Wang, J. and Jin, Z., 2023, Recent advances in biomolecule-based films and coatings for active and smart food packaging applications, *Food Biosci.* 52: 1-12.
- [7] Shahbaz, U., Basharat, S., Javed, U., Bibi, A. and Yu, X. B., 2022, Chitosan: A multipurpose polymer in food industry, *Polym. Bull.* 80(4): 3547-3569.
- [8] Flórez, M., Guerra-Rodríguez, E., Cazón, P. and Vázquez, M., 2022, Chitosan for food packaging: Recent advances in active and intelligent films, *Food Hydrocolloids*. 124: 1-16.
- [9] Phromchan, W., Rugkong, A. and Chiarawipa, R., 2022, Effects of chitosan films and temperatures on shelf life of Kratom (*Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil) leaves, *Thai J. Sci. Technol.* 30(5): 80-91. (in Thai)
- [10] Tepsorn, R. and Somsap, J., 2018, Morphology of edible nanofibers based chitosan-cellulose acetate-gelatin blend fortified with eugenol by electrospinning and electrospinning-spraying techniques, *Thai J. Sci. Technol.* 26(7): 1130-1140. (in Thai)
- [11] Phetphaisit, C. W. and Sangnak, P., 2018, Antimicrobial packaging made from cellulose, chitosan, and modified chitosan-silver complex, *Thai J. Sci. Technol.* 28(5): 759-773. (in Thai)

- [12] Freitas, E. D., Moura, C. F., Jr., Kerwald, J. and Beppu, M. M., 2020, An overview of current knowledge on the properties, synthesis and applications of quaternary chitosan derivatives, *Polymers (Basel)*. 12(12): 1-41.
- [13] Qiu, Y. L., Li, Y., Zhang, G. L., Hao, H., Hou, H. M. and Bi, J., 2024, Quaternary-ammonium chitosan, a promising packaging material in the food industry, *Carbohydr. Polym.* 323: 1-4.
- [14] Wu, J. Y., Ooi, C. W., Song, C. P., Wang, C. Y., Liu, B. L., Lin, G. Y., Chiu, C. Y. and Chang, Y. K., 2021, Antibacterial efficacy of quaternized chitosan/poly (vinyl alcohol) nanofiber membrane crosslinked with blocked diisocyanate, *Carbohydr Polym.* 262: 1-14.
- [15] Deng, H., Lin, P., Xin, S., Huang, R., Li, W., Du, Y., Zhou, X. and Yang, J., 2012, Quaternized chitosan-layered silicate intercalated composites based nanofibrous mats and their antibacterial activity, *Carbohydr Polym.* 89(2): 307-313.
- [16] Hu, D. and Wang, L., 2016, Fabrication of antibacterial blend film from poly (vinyl alcohol) and quaternized chitosan for packaging, *Mater. Res. Bull.* 78: 46-52.
- [17] Kanatt, S. R. and Makwana, S. H., 2020, Development of active, water-resistant carboxymethyl cellulose-poly vinyl alcohol-Aloe vera packaging film, *Carbohydr Polym.* 227: 1-10.
- [18] Wu, H., Lei, Y., Lu, J., Zhu, R., Xiao, D., Jiao, C., Xia, R., Zhang, Z., Shen, G., Liu, L., Li, S. and Li, M., 2019, Effect of citric acid induced crosslinking on the structure and properties of potato starch/chitosan composite films, *Food Hydrocolloids*. 97: -10.
- [19] Sahraee, S., Milani, J. M., Regenstein, J. M. and Kafil, H. S., 2019, Protection of foods against oxidative deterioration using edible films and coatings: A review, *Food Biosci.* 32: 1-8.
- [20] Graisuwan, W., Wiarachai, O., Ananthanawat, C., Puthong, S., Soogarun, S., Kiatkamjornwong, S. and Hoven, V. P., 2012, Multilayer film assembled from charged derivatives of chitosan: Physical characteristics and biological responses. *J. Colloid Interface Sci.* 376(1): 177-188.
- [21] Wiriyoontorn, S. and Sriphalang, S., 2015, Preparation of cassava starch/poly(vinyl alcohol)/montmorillonite nanocomposites for coating controlled-release fertilizer, *KKU Sci. J.* 43(3): 503-514. (in Thai)
- [22] Amri, M. R., Md Yasin, F., Abdullah, L. C., Al-Edrus, S. S. O. and Mohamad, S. F., 2021, Ternary nanocomposite system composing of graphene nanoplatelet, cellulose nanofiber and jatropa oil based waterborne polyurethane: Characterizations, mechanical, thermal properties and conductivity, *Polymers (Basel)*. 13(21): 1-17.
- [23] Rudnik, E. and Briassoulis, D., 2011, Degradation behaviour of poly(lactic acid) films and fibres in soil under mediterranean field conditions and laboratory simulations testing, *Ind Crops Prod.* 33(3): 648-658.

- [24] Guohua, Z., Ya, L., Cuilan, F., Min, Z., Cai-qiong, Z. and Zongdao, C., 2006, Water resistance, mechanical properties and biodegradability of methylated-cornstarch/poly(vinyl alcohol) blend film, *Polym. Degrad. Stab.* 91(4): 703-711.
- [25] Yang, D., Liu, Q., Gao, Y., Wan, S., Meng, F., Weng, W. and Zhang, Y., 2023, Characterization of silver nanoparticles loaded chitosan/polyvinyl alcohol antibacterial films for food packaging, *Food Hydrocolloids.* 136: 1-9.
- [26] Noppakundilokrat, S., Buranagul, P., Graisuwan, W., Koopipat, C. and Kiatkamjornwong, S., 2010, Modified chitosan pretreatment of polyester fabric for printing by ink jet ink, *Carbohydr. Polym.* 82(4): 1124-1135.
- [27] Wardhono, E. Y., Pinem, M. P., Susilo, S., Siom, B. J., Sudrajad, A., Pramono, A., Meliana, Y. and Guenin, E., 2022, Modification of physio-mechanical properties of chitosan-based films via physical treatment approach, *Polymers (Basel).* 14(23): 1-14.
- [28] Vineeth, S. K., Gadhav, R. V. and Gadekar, P. T., 2021, Polyvinyl alcohol-cellulose blend wood adhesive modified by citric acid and its effect on physical, thermal, mechanical and performance properties, *Polym. Bull.* 80: 8013-8030.
- [29] Balavairavan, B. and Saravanakumar, S. S., 2021, Characterization of ecofriendly poly (vinyl alcohol) and green banana peel filler (GBPF) reinforced bio-films, *J Polym Environ.* 29(9): 2756-2771.
- [30] Akhmetova, A., Myrzakhmetov, B., Wang, Y., Bakenov, Z. and Mentbayeva, A., 2022, Development of quaternized chitosan integrated with nanofibrous polyacrylonitrile mat as an anion-exchange membrane, *ACS Omega.* 7(49): 45371-45380.
- [31] Fan, L., Yang, J., Wu, H., Hu, Z., Yi, J., Tong, J. and Zhu, X., 2015, Preparation and characterization of quaternary ammonium chitosan hydrogel with significant antibacterial activity, *Int. J. Biol.* 79: 830-836.
- [32] Guo, S., Zhang, X., Ma, R., Ge, X., Shen, H., Liang, W., Zhang, G. and Li, W., 2023, Preparation and characterization of polyvinyl alcohol/glutaraldehyde cross-linked chitosan/ $\epsilon$ -Polylysine degradable composite film and its antibacterial effect, *J Food Eng.* 359: 1-9.
- [33] Yu, Q., Song, Y., Shi, X., Xu, C. and Bin, Y., 2011, Preparation and properties of chitosan derivative/poly(vinyl alcohol) blend film crosslinked with glutaraldehyde, *Carbohydr. Polym.* 84(1): 465-470.
- [34] Aragón-Gutierrez, A., Arrieta, M. P., López-González, M., Fernández-García, M. and López, D., 2020, Hybrid biocomposites based on poly(lactic acid) and silica aerogel for food packaging applications, *Materials.* 13: 1-17.
- [35] Hiremani, V. D., Goudar, N., Khanapure, S., Gasti, T., Eelager, M. P., Narasagoudr, S. S., Masti, S. P. and Chougale, R. B., 2022, Physicochemical and antimicrobial properties of *Phyllanthus reticulatus* fruit extract doped chitosan/poly (vinyl

- alcohol) blend films for food packaging applications, *J. Food Meas.* 17(2): 1548-1561.
- [36] Dudeja, I., Mankoo, R. K., Singh, A. and Kaur, J., 2023, Development, characterisation and biodegradability of rice straw lignin based sustainable biopolymeric films, *Int. J. Food Sci.* 58(5): 2754-2763.
- [37] Amaregouda, Y., Kamanna, K., Gasti, T. and Kumbar, V., 2022, Enhanced functional properties of biodegradable polyvinyl alcohol/carboxymethyl cellulose (PVA/CMC) composite films reinforced with L-alanine surface modified CuO nanorods, *J Polym Environ.* 30(6): 2559-2578.
- [38] Chaisrihwun, B., Rakkapao, N., Phatthiya, A., Pechwang, J. and Werapun, U., 2017, Anti-microbial activity and mechanisms of chitosan along with chitosan based derivatives and composites, *SWU Sci. J.* 33(1): 297-315. (in Thai)
- [39] Li, C., Jiang, T., Zhou, C., Jiang, A., Lu, C., Yang, G., Nie, J., Wang, F., Yang, X. and Chen, Z., 2023, Injectable self-healing chitosan-based POSS-PEG hybrid hydrogel as wound dressing to promote diabetic wound healing, *Carbohydr Polym.* 299: 1-14.
- [40] Qiu, W., Wang, Q., Li, M., Li, N., Wang, X., Yu, J., Li, F. and Wu, D., 2021, Peptidoglycan-inspired peptide-modified injectable hydrogels with enhanced elimination capability of bacterial biofilm for chronic wound healing, *Compos. B. Eng.* 227: 1-14.