



รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ “การพัฒนาระบบการผลิตอนุภาคลิทินเป็นสารต้านจุลชีพเพื่อ
ประยุกต์ใช้แทนอนุภาคซิลเวอร์นาโน”

โดย
นางสาวศิริลักษณ์ เลี้ยงประยูร และคณะ
พฤษภาคม 2563

สัญญาเลขที่ RDG62T0099

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนากระบวนการผลิตอนุภาคลิกนินเป็นสารต้านจุลชีพเพื่อ
ประยุกต์ใช้แทนอนุภาคซิลเวอร์นาโน

โดย นางสาวศิริลักษณ์ เลี้ยงประยูร และคณะ

พฤษภาคม 2563

สนับสนุนโดยสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกสว.)
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย วช.-สกสว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	ก
สารบัญภาพ	ข
สารบัญตาราง	ง
บทสรุปผู้บริหาร	1
Executive Summary	2
บทคัดย่อ	3
Abstract	4
บทที่ 1 บทนำ	5
1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการ	6
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	6
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	6
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	6
บทที่ 2 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	13
บทที่ 4 ผลการศึกษาและอภิปรายผล	16
4.1. การสกัดลิกลินและตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมี	16
4.2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตอนุภาคนาโนลิกลินด้วยวิธีทางเคมี	18
4.3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตอนุภาคนาโนลิกลินด้วยวิธีทางกายภาพ	23
4.4. การศึกษาความเสถียรของอนุภาคนาโนลิกลินระหว่างการเก็บรักษา	26
4.5. ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังของมนุษย์	27
4.6. ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ	28
4.7. ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	32
บรรณานุกรม – 1	34
บทที่ 5 วิเคราะห์ต้นทุนการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการและความเป็นไปได้เบื้องต้นทางการตลาด	36
5.1 การศึกษาความเป็นไปได้เบื้องต้นทางการตลาด	36
5.2 ต้นทุนการผลิตนาโนลิกลินระดับห้องปฏิบัติการ	57
บรรณานุกรม – 2	63
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	66
ภาคผนวก ก ข้อมูลแบบสอบถาม	68
ภาคผนวก ข ข้อมูลทางเทคนิคของผลิตภัณฑ์	78
ภาคผนวก ค รายชื่อของสถานประกอบการที่ส่งแบบสอบถาม	81

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1 การประยุกต์ใช้ออนุภาคซิลเวอร์นาโน	7
ภาพที่ 2 กลไกต่าง ๆ ในการทำลายแบคทีเรียด้วยอนุภาคซิลเวอร์นาโน	7
ภาพที่ 3 หลักการการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนแบบ (a) bottom to top approach (b) top to bottom approach.....	8
ภาพที่ 4 ภาพรวมจากการสำรวจศักยภาพและการประยุกต์ใช้ลิกนินขนาดระดับไมครอนและนาโนโดย Beisl et. al, 2017	9
ภาพที่ 5 วิธีที่ 1 การเตรียมอนุภาคนาโนลิกนินจากสารละลายลิกนินในเอทิลีนไกลคอลโดยการตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก (a) วิธีที่ 2 การเตรียมจากสารละลายลิกนินในต่างด้วยกรดไนตริก (b) และผลของอัตราเร็วในการเติมกรดต่อขนาดอนุภาคนาโนลิกนินที่ได้จากการเตรียมด้วยวิธีที่ 1	11
ภาพที่ 6 ขั้นตอนการสกัดลิกนิน 1. ขนอ้อยและสารละลายต่าง 2. สารละลายที่ผ่านการแยกกากอ้อยออกแล้ว 3. สารละลายที่ผ่านการปรับ pH แล้ว 4. ขั้นตอนการกรองลิกนิน 5. กากลิกนินบนกระดาษกรอง 6. กากลิกนินที่แห้งหลังจากการอบ	13
ภาพที่ 7 ATR-FTIR spectrum จากตัวอย่างลิกนินที่ผ่านการล้างและไม่ผ่านการล้าง.....	18
ภาพที่ 8 ร้อยละการละลายได้ของลิกนินใน ethylene glycol, propylene glycol และ tetrahydrofuran.....	19
ภาพที่ 9 การเตรียมอนุภาคนาโนลิกนินด้วยวิธี dialysis.....	20
ภาพที่ 10 ขนาดอนุภาคลิกนินเฉลี่ยจากสารละลายลิกนินที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่าง ๆ หลังจากทำ dialysis เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง	21
ภาพที่ 11 การกระจายตัวของอนุภาคลิกนินจากสารละลายลิกนินที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่าง ๆ หลังจากทำ dialysis เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	21
ภาพที่ 12 ลักษณะของอนุภาคลิกนินจากสารละลายลิกนินที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่าง ๆ หลังจากทำ dialysis เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเปรียบเทียบกับซิลเวอร์นาโน.....	22
ภาพที่ 13 ค่าศักย์ซีต้า (zeta potential) ของสารแขวนลอยอนุภาคนาโนลิกนินที่เตรียมจากสารละลายเริ่มต้นลิกนินความเข้มข้นต่าง ๆ และผ่านการลดขนาดด้วยวิธี dialysis ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง.....	22
ภาพที่ 14 ลักษณะของสารแขวนลอยอนุภาคนาโนลิกนินที่เตรียมจากสารละลายเริ่มต้นลิกนินความเข้มข้นต่าง ๆ และผ่านการลดขนาดด้วยวิธี dialysis ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง.....	23
ภาพที่ 15 หลักการทำงานของเครื่อง microfluidizer (1) และการทดลองลดขนาดอนุภาคลิกนินด้วยเครื่อง microfluidizer (2).....	25
ภาพที่ 16 ขนาดอนุภาคนาโนลิกนินเฉลี่ยที่เตรียมจากสารละลายลิกนินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (1) และค่า zeta potential (2) หลังจากการลดขนาด (0 วัน) และหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 16 - 272 วัน.....	27
ภาพที่ 17 กระบวนการเกิด biofilm	30
ภาพที่ 18 ค่า %DPPH scavenging เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารละลายลิกนินใน ethylene glycol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ก่อนลดขนาดและหลังจากลดขนาดด้วยวิธี dialysis นาน 24 ชั่วโมง .32	

ภาพที่ 19 ค่า %DPPH scavenging เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระของอนุภาค ลิกนินหลังจากลดขนาดด้วยวิธี dialysis นาน 24 และ 48 ชั่วโมงและอนุภาคซิลเวอร์นาโน	33
ภาพที่ 20 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามประเภทสถานประกอบการ	45
ภาพที่ 21 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามชนิดของสารกันเสีย	45
ภาพที่ 22 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามชื่อของสารกันเสีย	46
ภาพที่ 23 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามปริมาณการนำเข้า (ตัน/ปี).....	46
ภาพที่ 24 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามแหล่งนำเข้า.....	47
ภาพที่ 25 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามรูปแบบสารกันเสียที่กำหนด.....	48
ภาพที่ 26 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามประเภทกิจการที่มีการนำสารกันเสียไปใช้งาน	48
ภาพที่ 27 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามขนาดของบริษัทที่มีการนำสารกันเสียไปใช้งาน	49
ภาพที่ 28 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามช่องทางการสั่งซื้อเพื่อนำเข้า/ผลิตสารกันเสีย	49
ภาพที่ 29 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามช่องทางการจัดจำหน่ายผลิตภัณฑ์สารกันเสีย	50
ภาพที่ 30 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามบริการเสริมที่จำเป็นต้องมีในการจำหน่ายสารกันเสีย	50
ภาพที่ 31 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามการตัดสินใจซื้อสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติ ...	51
ภาพที่ 32 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามราคาที่ยอมรับได้การตัดสินใจซื้อสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัด จากธรรมชาติ	51
ภาพที่ 33 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกรูปแบบของผลิตภัณฑ์สารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติที่ สนใจซื้อ	52
ภาพที่ 34 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามการนำสารกันเสียไปใช้ประโยชน์.....	52
ภาพที่ 35 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามชื่อของสารกันเสีย	53
ภาพที่ 36 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามแหล่งวัตถุดิบที่ใช้	54
ภาพที่ 37 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามรูปแบบการรับซื้อสารกันเสีย	54
ภาพที่ 38 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามช่องทางการสั่งซื้อสารกันเสีย	55
ภาพที่ 39 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามการตัดสินใจซื้อสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติ ...	55
ภาพที่ 40 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามราคาที่ยอมรับได้การตัดสินใจซื้อสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัด จากธรรมชาติ	56
ภาพที่ 41 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกรูปแบบของผลิตภัณฑ์สารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติที่ สนใจซื้อ	56
ภาพที่ 42 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามการนำสารกันเสียไปใช้ประโยชน์.....	57

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของลิกนิน	18
ตารางที่ 2 ลักษณะทางกายภาพของสารละลายลิกนินที่ความเข้มข้นต่างๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด หลังการ กวนผสมเป็นเวลา 2 ชั่วโมง	19
ตารางที่ 3 การทดลองลดขนาดอนุภาคลิกนินด้วยเครื่อง homogenizer ขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ ระยะเวลาการทดลองต่าง ๆ	24
ตารางที่ 4 ผลการทดลองลดขนาดอนุภาคของสารแขวนลอยลิกนินและสารแขวนลอยนาโนลิกนินด้วยเครื่อง microfluidizer	26
ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์เมื่อได้รับตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ	28
ตารางที่ 6 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	29
ตารางที่ 7 ความเข้มข้นต่ำสุด (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) ของสารทดสอบในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (minimal inhibitory concentration; mic) และทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (minimal bactericidal concentration; mbc)	31
ตารางที่ 8 มูลค่าการส่งออก silver nitrate ของโลก ระหว่างปี 2557-2561 (10 อันดับแรก)	36
ตารางที่ 9 มูลค่าการนำเข้า silver nitrate ของโลก ระหว่างปี 2557-2561 (10 อันดับแรก)	37
ตารางที่ 10 มูลค่าการส่งออก silver compounds ของโลก ระหว่างปี 2557-2561 (10 อันดับแรก)	37
ตารางที่ 11 มูลค่าการนำเข้า silver compounds ของโลก ระหว่างปี 2557-2561 (10 อันดับแรก)	38
ตารางที่ 12 มูลค่าการนำเข้า silver nitrate ของไทย ระหว่างปี 2557-2561	39
ตารางที่ 13 มูลค่าการส่งออก silver nitrate ของไทย ระหว่างปี 2557-2561	39
ตารางที่ 14 มูลค่าการนำเข้า silver compounds ของไทย ระหว่างปี 2557-2561	40
ตารางที่ 15 มูลค่าการส่งออก silver compounds ของไทย ระหว่างปี 2557-2561	41
ตารางที่ 16 คุณสมบัติและการประยุกต์ใช้ไมโครและนาโนลิกนิน	43
ตารางที่ 17 ราคาจำหน่ายและค่าเฉลี่ยของสารกันเสียชนิดต่างๆ	47
ตารางที่ 18 ราคาซื้อขายมูล ค่าการซื้อขายสารกันเสียและค่าเฉลี่ย	53
ตารางที่ 19 ต้นทุนการผลิตนาโนลิกนินในระดับห้องปฏิบัติการ จำแนกตามกระบวนการผลิต	60

บทสรุปผู้บริหาร

จากศักยภาพของลิกนินทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพทำให้โครงการมีความสนใจในการนำลิกนินมาพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์จากคุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพที่หลากหลายโดยเฉพาะการยับยั้งเชื้อ เพื่อทดแทนการใช้สไตรีนในการก่อก้อนอนุภาคโลหะซึ่งมีรายงานว่าปนเปื้อนสู่สภาพแวดล้อมได้ง่ายเนื่องจากมีขนาดเล็กและมีความเสถียร ซึ่งอาจเกิดผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายซึ่งนอกจากจะยับยั้งเชื้อก่อโรคแล้วยังสามารถทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในสภาพแวดล้อมได้เช่นเดียวกัน จากผลการดำเนินงานที่ผ่านมาของคณะนักวิจัยพบว่าประสิทธิภาพของลิกนินในการยับยั้งการก่อก้อนแบคทีเรียที่ทำการศึกษามีขึ้นเป็นสองเท่าเมื่อมีการลดขนาดอนุภาคลง แต่ต้นทุนในการผลิตอนุภาคนาโนลิกนินยังไม่เหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้ในเชิงอุตสาหกรรมเนื่องจากปริมาณการผลิตที่ต่ำทำให้สัดส่วนของต้นทุนการผลิตต่อประสิทธิภาพการใช้งานยังไม่สอดคล้อง งานวิจัยนี้จึงศึกษาการพัฒนาประสิทธิภาพของกระบวนการผลิตอนุภาคนาโนลิกนินโดยมุ่งเน้นการใช้วิธีการที่ไม่ซับซ้อนและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม โดยศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อในกลุ่มที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเป็นเกณฑ์แรก วิเคราะห์ต้นทุนการผลิตอนุภาคนาโนลิกนินและศึกษาข้อมูลการตลาดและความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์

ผลพบว่าโครงการสามารถพัฒนากระบวนการผลิตอนุภาคนาโนลิกนินแบบง่ายได้โดยนำลิกนินจากกากอ้อยมาละลายใน ethylene glycol (EG) ก่อนนำไปลดขนาดด้วยวิธี dialysis เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยสามารถผลิตสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนลิกนินในน้ำกลั่นที่มีขนาดอยู่ในช่วง 150 – 200 นาโนเมตร ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5,000 – 800,000 ppm เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของอนุภาคนาโนลิกนินพบว่ายังดีกว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโน โดยประจุลบของอนุภาคนาโนลิกนินที่เกิดขึ้นหลังผ่านกระบวนการ dialysis ส่งผลในเชิงลบต่อความสามารถการยับยั้งเชื้อแม้ว่าจะส่งผลต่อความเสถียรของอนุภาคในสารละลายแขวนลอย อย่างไรก็ตามแม้ว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของอนุภาคนาโนลิกนินจะลดลงแต่พบว่ายังคงมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระโดยมีประสิทธิภาพสูงกว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโน 7 เท่า ในขณะที่สารละลายลิกนินใน EG ก่อนนำไปทำ dialysis กลับพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อส่วนใหญ่ที่อนุภาคซิลเวอร์นาโนยับยั้งได้โดยใช้ความเข้มข้นมากกว่าประมาณ 16-32 เท่า จึงนำไปศึกษาต้นทุนและการตลาดเพิ่มเติมจากอนุภาคนาโนลิกนิน

เมื่อศึกษาข้อมูลต้นทุนและการตลาดพบว่าราคาค่าต้นทุนการผลิตของสารละลายลิกนินและอนุภาคนาโนลิกนินเมื่อใช้กระบวนการผลิตจากโครงการอยู่ที่ 842.61 บาทต่อลิตร และ 1,915.29 บาทต่อลิตร ตามลำดับ เนื่องจากอนุภาคนาโนลิกนินซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อไม่แน่นอน ประกอบกับราคาค่าต้นทุนที่มีราคาสูงกว่า 1,000 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งไม่อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ของผู้ประกอบการที่จะซื้อไปใช้แทนสารยับยั้งเชื้อที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน จึงกล่าวได้ว่าสารสกัดนาโนลิกนินยังมีความเป็นไปได้ทางการตลาดค่อนข้างน้อย ในขณะที่สารละลายลิกนินใน EG มีความเป็นไปได้ทางการตลาดสูงมากที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เพื่อทดแทนสารกลุ่ม phenoxyethanol ซึ่งเป็นสารกลุ่ม glycolester ที่ใช้ยับยั้งเชื้อทางการค้า ซึ่งหากเปรียบเทียบว่าประสิทธิภาพการออกฤทธิ์เท่ากับ phenoxyethanol สารละลายลิกนินที่มีความเข้มข้น 0.5% ใน EG สามารถใช้ในปริมาณที่น้อยกว่า phenoxyethanol ได้ถึง 200 เท่า ส่งผลให้ราคาต่อหน่วยจะลดลงเหลือเพียง 4.21 บาทต่อหน่วย และสามารถใช้งานเทียบเท่าปริมาณการใช้สารกลุ่ม Phenoxyethanol ได้โดยไม่มีข้อจำกัดด้านปัจจัยการผลิต

จากการดำเนินงานโครงการวิจัยนี้พบว่าลิกนินยังมีศักยภาพในการใช้เป็นสารต้านจุลชีพได้แม้จะยังไม่สามารถเทียบเท่าอนุภาคซิลเวอร์นาโน ดังนั้นการใช้ประโยชน์ลิกนินจากกากอ้อยซึ่งเป็นผลผลิตพลอยได้ที่สำคัญของประเทศยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้เกิดความเข้าใจเพิ่มขึ้นและมีองค์ความรู้ที่จะสามารถนำลิกนินไปประยุกต์ใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Executive Summary

As a potential bio-material for quality and quantity, lignin has been widely studied in order to benefit from its chemical and biological properties especially antimicrobial activity. Indeed, the utilization of metal nanoparticle as antimicrobial is worldwide but its environmental impact is unclear and many researches point out its negative impact on natural and good microorganisms due to its broad spectrum action. Therefore, lignin becomes an attractive alternative material for bio-antimicrobial agents. From our previous works, antimicrobial activity of lignin increased twice when the size was reduced. However, it was not cost effective and competitive due to low production yield. In this project, we aimed at improving production efficiency and focusing on simple and environmental friendly method. The efficiency of lignin as antimicrobial agent including production cost, market and economical feasibility were studied.

The results indicated the improvement nanolignin production process as it could be simply produced by dissolving lignin powder in ethylene glycol. Then the solution was dialyzed in distilled water for 24 hours. The obtained particle sizes of nanolignin ranged from 150 – 200 nm with the ability to produce different concentration ranged from 5,000 – 800,000 ppm. It was found that antimicrobial activity of nanolignin was much less than that of silver nanoparticle. Surprisingly, the negative charge of nanolignin though was found to enhance its colloidal stability over long storage time but it was negatively impacted on its ability to inhibit bacterial growth. It was explained in other works that this negative charge caused the repulsion with bacterial cells whose cell wall net charge was also negative. However, it was noticed that lignin solution in EG exhibited good level of antimicrobial activity as it was able to inhibit mostly the bacterial strains that was inhibited by silver nanoparticle with around 16 - 32 times higher quantity. Thus, lignin solution was also included in economical study as a new product.

From production cost analysis and market survey data, cost of lignin solution in EG and nanolignin production were 842.21 THB/L and 1,915.29 THB/L, respectively. With the fact that the antimicrobial activity of nanolignin was not obvious as well as its higher production cost, it was less attractive by the market as compared to lignin solution. Lignin solution in EG was found to be more potentially applicable for cosmetic industry and cleaning products to replace phenoxyethanol, a group of glycol ester commercially used as antimicrobial agent. If the same efficiency as phenoxyethanol is assumed, lignin solution at 0.5% in EG can be used at 200 times lower in quantity therefore, a unit cost can be lowered to around 4.21 THB/unit.

From this project, it could be concluded that lignin is still a potential source of natural antimicrobial agent though its efficiency was not yet comparable to commercial silver nanoparticle. Therefore, further research is still necessary in order to better understand and consequently be able to utilize lignin more efficiently.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ต้องการพัฒนาประสิทธิภาพของกระบวนการผลิตอนุภาคนาโนลิควินโดยมุ่งเน้นการใช้วิธีการที่ไม่ซับซ้อนและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม โดยศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อในกลุ่มที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตอนุภาคนาโนลิควินและศึกษาข้อมูลการตลาดและความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ ผลการศึกษาได้กระบวนการผลิตอนุภาคนาโนลิควินแบบง่ายโดยนำลิควินจากกากอ้อยมาละลายใน ethylene glycol (EG) ก่อนนำไปลดขนาดด้วยวิธี dialysis เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยสามารถผลิตสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนลิควินในน้ำกลั่นที่มีขนาดอยู่ในช่วง 150 – 200 นาโนเมตร เมื่อตรวจสอบด้วย dynamic light scattering และเตรียมได้ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 5,000 – 800,000 ppm เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของอนุภาคนาโนลิควินเปรียบเทียบกับอนุภาคซิลเวอร์นาโน พบว่ามีประสิทธิภาพดีกว่า โดยเกิดจากประจุลบของอนุภาคนาโนลิควินที่เกิดขึ้นหลังผ่านกระบวนการ dialysis ที่ส่งผลในเชิงลบต่อความสามารถการยับยั้งเชื้อแม้ว่าจะส่งผลต่อความเสถียรของอนุภาคในสารแขวนลอย อย่างไรก็ตามแม้ว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของอนุภาคนาโนลิควินจะลดลงแต่พบว่ายังคงมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระโดยมีประสิทธิภาพสูงกว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโน 7 เท่า เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH ในขณะที่สารละลายลิควินใน EG ก่อนนำไปทำ dialysis กลับพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อส่วนใหญ่ที่อนุภาคซิลเวอร์นาโนยับยั้งได้โดยใช้ความเข้มข้นมากกว่าประมาณ 16-32 เท่า จึงนำไปศึกษาต้นทุนและการตลาดเพิ่มเติมจากอนุภาคนาโนลิควิน

เมื่อศึกษาข้อมูลต้นทุนและการตลาดพบว่าราคาต้นทุนการผลิตของสารละลายลิควินและอนุภาคนาโนลิควินเมื่อใช้กระบวนการผลิตจากโครงการอยู่ที่ 842.61 บาทต่อลิตร และ 1,915.29 บาทต่อลิตร ตามลำดับ เนื่องจากอนุภาคนาโนลิควินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อไม่แน่นอน ประกอบกับราคาต้นทุนที่สูงกว่า 1,000 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งไม่อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ของผู้ประกอบการทำให้สารสกัดนาโนลิควินยังมีความเป็นไปได้ทางการตลาดค่อนข้างน้อย ในขณะที่สารละลายลิควินใน EG มีความเป็นไปได้ทางการตลาดสูงมากที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เพื่อทดแทนสารกลุ่ม phenoxyethanol ซึ่งเป็นสารกลุ่ม glycol ester ที่ใช้ยับยั้งเชื้อทางการค้า ซึ่งหากเปรียบเทียบว่าประสิทธิภาพการออกฤทธิ์เท่ากับ phenoxyethanol สารละลายลิควินที่ความเข้มข้น 0.5% ใน EG สามารถใช้ในปริมาณที่น้อยกว่า phenoxy ethanol ได้ถึง 200 เท่า ส่งผลให้ราคาต่อหน่วยจะลดลงเหลือเพียง 4.21 บาทต่อหน่วย โดยเมื่อพิจารณาจากปริมาณกากอ้อยของประเทศที่สามารถนำมาสกัดลิควินได้ พบว่าสารละลายลิควินมีศักยภาพในการใช้งานเทียบเท่าปริมาณการใช้สารกลุ่ม phenoxyethanol ได้โดยไม่มีข้อจำกัดด้านปัจจัยการผลิต

Abstract

In this project, we aimed at improving production efficiency and focusing on simple and environmental friendly method. The efficiency of lignin as antimicrobial agent targeting microorganism that caused cosmetic spoilage including production cost, market and economic feasibility were studied. The simple nanolignin production process was obtained. The process consisted of dissolving lignin powder in ethylene glycol then the solution was dialyzed in distilled water for 24 hours. The obtained particle sizes of nanolignin measured by dynamic light scattering ranged from 150 – 200 nm with the ability to produce different concentration ranged from 5,000 – 800,000 ppm. It was found that antimicrobial activity of nanolignin was much less than that of silver nanoparticle. Surprisingly, the negative charge of nanolignin was found to enhance its colloidal stability over long storage time but it was negatively impacted on its ability to inhibit bacterial growth. It was explained in other works that this negative charge caused the repulsion with bacterial cells whose cell wall net charge was also negative. However, it was noticed that lignin solution in EG exhibited good level of antimicrobial activity as it was able to inhibit mostly the bacterial strains that was inhibited by silver nanoparticle with around 16 - 32 times higher quantity. Thus, lignin solution was also included in economic study as a new product.

From production cost analysis and market survey data, cost of lignin solution in EG and nanolignin production were 842.21 THB/L and 1,915.29 THB/L, respectively. With the fact that the antimicrobial activity of nanolignin was not obvious as well as its higher production cost, it was less attractive by the market as compared to lignin solution. Lignin solution in EG was found to be more potentially applicable in cosmetic industry and cleaning products to replace phenoxyethanol, a group of glycol ester commercially used as antimicrobial agent. If the same efficiency as phenoxyethanol is assumed, lignin solution at 0.5% in EG can be used at 200 times lower in quantity therefore, a unit cost can be lowered to around 4.21 THB/unit.

บทที่ 1 บทนำ

1.1. ที่มาและความสำคัญของโครงการ

ลิกนินนับเป็นแหล่งคาร์บอนหมุนเวียนที่มีปริมาณมากที่สุดรองมาจากเซลลูโลส ปัจจุบันลิกนินที่ได้จากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษซึ่งเป็นแหล่งผลิตลิกนินหลักของโลกถูกนำมาใช้ในเชิงการค้าคิดเป็นปริมาณเพียง 2% ของลิกนินทั้งหมดหรือเท่ากับ lignosulfonates ประมาณ 1,000,000 ตัน/ปี ซึ่งได้จาก sulphite pulping และ kraft ลิกนินจาก Kraft pulping ประมาณ 100,000 ตัน/ปี ในขณะที่อุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลของประเทศไทยเพียงอย่างเดียวมีศักยภาพในการผลิตลิกนินประมาณ 6 ล้านตัน/ปี จากกากอ้อยที่เกิดขึ้นเกือบปีละ 30 ล้านตัน [1] อย่างไรก็ตามกากอ้อยที่เกิดขึ้นทั้งหมดปัจจุบันถูกใช้เพื่อการผลิตพลังงานและไฟฟ้าเป็นหลัก ซึ่งการวิเคราะห์ทางเศรษฐศาสตร์ส่วนใหญ่สรุปตรงกันว่า การใช้ชีวมวลทั้งหมดเพื่อผลิตพลังงานเพียงอย่างเดียวไม่สามารถสร้างความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจได้อย่างยั่งยืน ในขณะที่การใช้หลายกระบวนการร่วมกันเพื่อผลิตทั้งพลังงานและสารชีวเคมี หรือแนวคิดโรงกลั่นชีวภาพ (Biorefinery concept) สามารถเพิ่มมูลค่าของชีวมวลได้คุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์มากกว่า ดังนั้นการสกัดลิกนินซึ่งมีปริมาณตั้งแต่ 10 - 20% โดยน้ำหนักแห้งในกากอ้อยเพื่อการผลิตสารมูลค่าเพิ่มจึงนับเป็นแนวทางที่มีศักยภาพในการเพิ่มมูลค่าของอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลโดยรวมอย่างยั่งยืน

เพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์ลิกนิน ทางคณะวิจัยได้มุ่งทำการศึกษาและพัฒนาการใช้ลิกนินในอุตสาหกรรมต่างๆ ซึ่งพบว่าสามารถประยุกต์ใช้ลิกนินที่ได้จากการสกัดจากกากอ้อยภายหลังกระบวนการผลิตน้ำตาลสำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีรายงานถึงปริมาณการใช้งานเป็นจำนวนมาก เช่น การใช้ลิกนินเป็นวัตถุดิบในการผลิตเส้นใยคาร์บอนทดแทนการใช้พอลิเมอร์จากปิโตรเลียม (RDG 5950042) การใช้ลิกนินทดแทนวัสดุยับยั้งการก่อเชื้อกลุ่มโลหะออกไซด์ (RDG 5950094) ที่เสร็จสมบูรณ์ และงานวิจัยที่อยู่ระหว่างการพัฒนาาร่วมกับภาคเอกชน คือ การใช้ลิกนินเป็นส่วนประกอบในการพัฒนาสูตรกาวยาฆ่าแมลงเพื่อลดปริมาณการใช้กาวยาอุตสาหกรรม (RDG 6050094) ที่ได้รับการสนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย สกว.

จากการนำเสนองานวิจัยการใช้ประโยชน์ลิกนินในงานการประชุมวิชาการ เช่น ในงาน Agri-Tech Innovation forum 2018 (วันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2561) และงานประชุม Thailand Tech Show 2018 (วันที่ 4-8 กรกฎาคม 2561) พบว่ามีผู้ประกอบการที่มีความสนใจในการนำลิกนินไปพัฒนาต่อยอด โดยเฉพาะกลุ่มผลิตภัณฑ์สิ่งทอที่สนใจใช้ลิกนิน เพื่อการใช้เป็นวัสดุยับยั้งการก่อเชื้อที่มาจากจากธรรมชาติทดแทนการใช้วัสดุยับยั้งการก่อเชื้อกลุ่มอนุภาคโลหะซึ่งมีรายงานว่าปนเปื้อนสู่สภาพแวดล้อมได้ง่ายเนื่องจากมีขนาดเล็กและมีความเสถียร ซึ่งอาจเกิดผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อมเนื่องจากอนุภาคโลหะ โดยเฉพาะอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายซึ่งนอกจากจะยับยั้งเชื้อก่อโรคแล้วยังสามารถทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในสภาพแวดล้อมได้เช่นเดียวกัน

สิ่งที่สามารถพัฒนาเพิ่มเติม ในการใช้ลิกนินเป็นวัสดุยับยั้งการก่อเชื้อคือ การเพิ่มประสิทธิภาพของการยับยั้งการก่อเชื้อของลิกนินโดยการลดขนาดจากอนุภาคในช่วงไมโครเมตรเป็นนาโนเมตร จากการศึกษาภายใต้โครงการ RDG 5950094 พบว่าประสิทธิภาพของลิกนินในการยับยั้งการก่อเชื้อเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าหรือมีการใช้ลิกนินลดลงเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ทำการศึกษา อย่างไรก็ตามภายใต้การศึกษานั้น ต้นทุนในการผลิตอนุภาคนาโนลิกนินยังไม่เหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้ในเชิงอุตสาหกรรมเนื่องจากปริมาณการผลิตที่ต่ำ ทำให้สัดส่วนของต้นทุนการผลิตต่อประสิทธิภาพการใช้งานยังไม่สอดคล้อง ดังนั้นการศึกษาเพื่อพัฒนาประสิทธิภาพของการผลิตเพิ่มเติมเพื่อให้สามารถลดต้นทุนลงได้ รวมถึงทดสอบคุณสมบัติของอนุภาคนาโนลิกนินที่ได้ทั้งทางด้านการยับยั้งการก่อเชื้อและความเป็นพิษในระดับเซลล์เปรียบเทียบกับ

อนุภาคซิลเวอร์นาโนจึงเป็นแนวทางการวิจัยหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มศักยภาพในการนำอนุภาคนาโนลิกันไปใช้ประโยชน์

1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. ปรับปรุงประสิทธิภาพและลดต้นทุนกระบวนการผลิตอนุภาคนาโนลิกัน โดยอาศัยข้อมูลด้านเทคนิคจากโครงการวิจัยที่ผ่านมาและข้อมูลด้านคุณภาพและราคาของอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางการค้าเป็นตัวเปรียบเทียบ

2. ศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อโดยใช้เชื้อในกลุ่มที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเป็นเกณฑ์และทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังของอนุภาคนาโนลิกันจากงานวิจัยเปรียบเทียบผลกับอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางการค้า

3. วิเคราะห์ต้นทุนการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการและความเป็นไปได้เบื้องต้นทางการตลาดเพื่อจัดทำแบบจำลองทางธุรกิจ

1.3. ขอบเขตของการวิจัย

1. ปรับปรุงประสิทธิภาพในการผลิตนาโนลิกันโดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีการทางเคมีและวิธีทางกายภาพและมุ่งเน้นการใช้วิธีการที่ไม่ซับซ้อนและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม

2. นำอนุภาคนาโนลิกันที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในกลุ่มที่พบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และความเป็นพิษต่อผิวหนังและศึกษาลักษณะทางกายภาพและประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนระหว่างการเก็บรักษา (ทดสอบอย่างน้อย 3 เดือน)

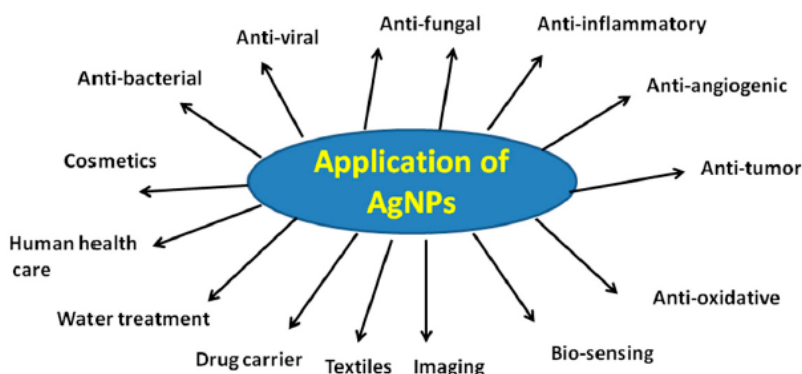
3. วิเคราะห์ต้นทุนการผลิตอนุภาคนาโนลิกันจากเทคโนโลยีที่เหมาะสมที่สุดโดยใช้ข้อมูลทางกายภาพของอนุภาคซิลเวอร์นาโนเป็นแนวทาง ศึกษาต้นทุนการผลิตและความเป็นไปได้ทางการตลาดเพื่อจัดทำแบบจำลองทางธุรกิจ

1.4. ผลที่คาดว่าจะได้รับ

แนวทางในการเพิ่มมูลค่าของลิกันซึ่งเป็นผลผลิตพลอยได้ของอุตสาหกรรมน้ำตาลอย่างคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

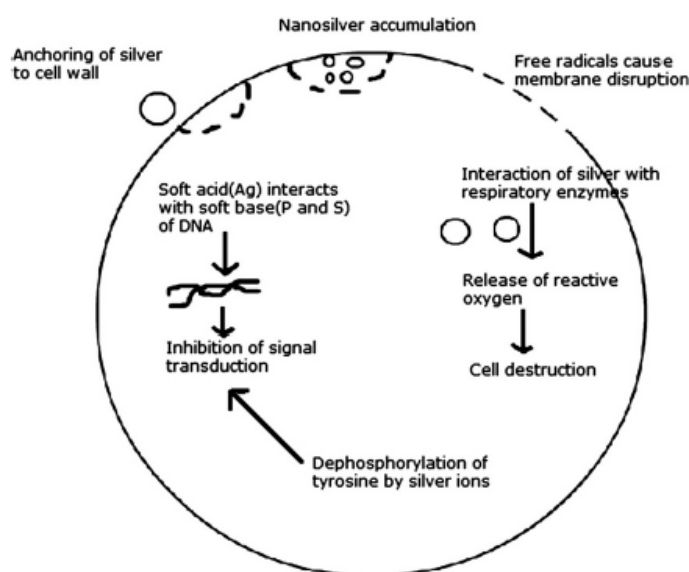
บทที่ 2 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การประยุกต์ใช้นาโนอนุภาคซิลเวอร์นาโน มีการพัฒนาและใช้งานกันอย่างแพร่หลายครอบคลุมตั้งแต่ผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในครัวเรือน ผลิตภัณฑ์บำบัดน้ำ รวมถึงเครื่องสำอาง ยา เครื่องนุ่งห่ม และอาหาร (Bumbudsanpharoke and Ko, 2015, Zhang et al., 2016) (ภาพที่ 1) โดยวัตถุประสงค์หลัก คือ เพื่อกำจัดเชื้อโรค เนื่องจากข้อได้เปรียบหลักของซิลเวอร์เมื่อเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะซึ่งมักเจาะจงกับเชื้อบางกลุ่ม คือ สามารถทำลายเชื้อได้ในช่วงกว้าง (broad spectrum) และยังสามารถทำลายไวรัสบางชนิดได้



ภาพที่ 1 การประยุกต์ใช้นาโนอนุภาคซิลเวอร์นาโน (Zhang et al., 2016)

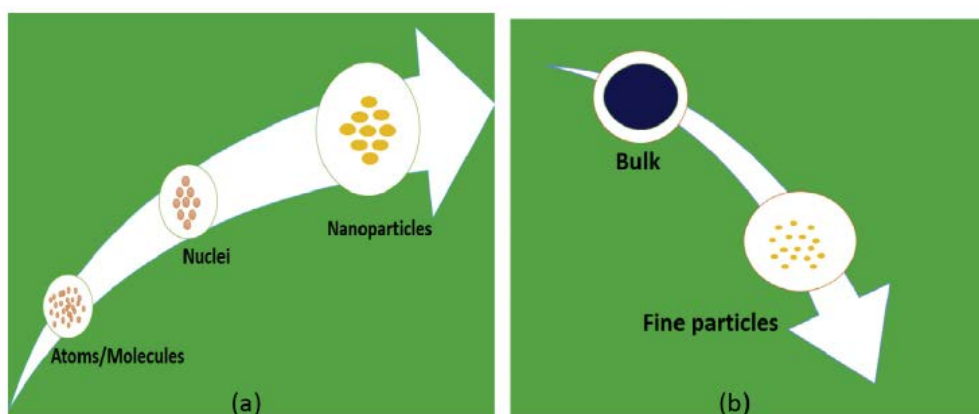
แม้ว่ากลไกการทำลายเชื้อโรคของอนุภาคซิลเวอร์นาโนจะยังไม่มีการระบุแน่ชัด แต่มีงานวิจัยที่เสนอผลของอนุภาคซิลเวอร์นาโนต่อเซลล์แบคทีเรียไว้หลายรูปแบบ เช่น อนุภาคซิลเวอร์นาโนสามารถจับกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น การเลือกผ่าน (cell permeability) ซึ่งทำให้เซลล์ตายในที่สุด หรือการทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (reactive oxygen) ขึ้นในเซลล์และทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายซึ่งทำให้เซลล์ตายเช่นกัน นอกจากนี้ยังมีการกล่าวถึงความเป็นไปได้ที่อนุภาคซิลเวอร์นาโนจะไปจับกับ thiol groups ของเอนไซม์กลุ่มที่สำคัญของเซลล์และทำให้เอนไซม์เสียสภาพส่งผลให้เซลล์ตายเช่นเดียวกัน (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 กลไกต่าง ๆ ในการทำลายแบคทีเรียด้วยอนุภาคซิลเวอร์นาโน (Prabhu and Poulouse, 2012)

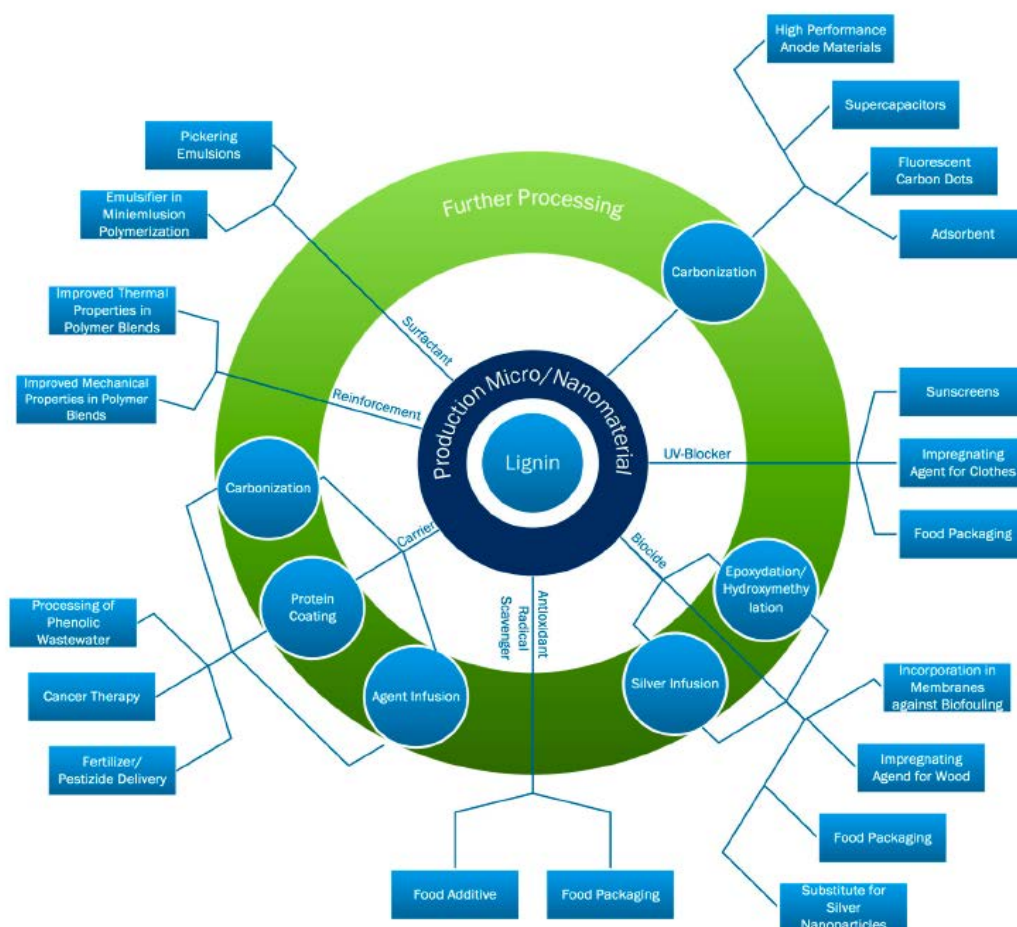
ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาการประยุกต์ใช้ออนุภาคซิลเวอร์นาโนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในแทบทุกผลิตภัณฑ์รอบตัว แต่ผลการศึกษาผลกระทบต่องสิ่งแวดล้อมเนื่องจากขนาดที่เล็กมากที่ทำให้อนุภาคซิลเวอร์นาโนเกิดการปนเปื้อนสู่สภาพแวดล้อมได้ง่ายกลับยังไม่ชัดเจน แม้ว่าผลการทดสอบความเป็นพิษของอนุภาคซิลเวอร์นาโนในสัตว์ทดลองจะยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยัน แต่ผลการศึกษาในหลอดทดลองพบว่ามันสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระ และกระตุ้นการทำงานของ ROS responsive gene ซึ่งทำลาย DNA และกระตุ้นการตายของเซลล์ โดยความเป็นพิษของอนุภาคซิลเวอร์นาโนทั้งในระดับเซลล์และระดับ gene ขึ้นกับขนาดอนุภาค ความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับ (Quang Huy et al., 2013) ปัจจุบันบางกลุ่มประเทศมีข้อกำหนดในการประยุกต์ใช้ออนุภาคซิลเวอร์นาโน เช่น สหภาพยุโรป ที่กำหนดเงื่อนไขว่าหากการใช้ออนุภาคซิลเวอร์นาโนมีวัตถุประสงค์เพื่อการกำจัดเชื้อโรค จะต้องผ่านการตรวจสอบตามกฎหมายของ Biocide Product Regulation (BPR) โดยต้องมีการศึกษาความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นต่อสุขภาพคน สัตว์และสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยสูงสุดของผู้บริโภค โดยจากข้อมูลปี 2017 มีผลิตภัณฑ์ที่เป็นอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางการค้าชื่อ agpure W10 ซึ่งผลิตโดย RAS AG ของเยอรมันนี้เพียงผลิตภัณฑ์เดียวที่มีการตรวจสอบและยืนยันว่าปลอดภัยและขึ้นทะเบียนในชื่อ NM 300 K ที่มีการใช้ในยุโรป (Schneider, 2017)

การผลิตอนุภาคซิลเวอร์นาโนมี 2 หลักการ คือ 1) bottom to top approach เป็นการใช้อนุภาคนิวเคลียสในการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน (ภาพที่ 3 a) โดยมักมีการเติม reducing agent ทั้งอินทรีย์และอนินทรีย์ เช่น โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (NaBH_4) โซเดียมซิเตรต แอสคอร์เบต ไดเมทิลฟอร์มมาไมด์ และเอทิลีนไกลคอล ในการทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันกับอนุภาคซิลเวอร์ในสารละลายที่ทั้งเป็นน้ำและไม่ใช่น้ำ รวมถึงมีการเติม capping agents ซึ่งเป็นสารที่ใช้ในการป้องกันการจับตัวกันของอนุภาคทำให้ลักษณะทางกายภาพของอนุภาคนาโนคงที่ หลักการที่ 2) top to bottom approach อาศัยปฏิกิริยา evaporation – condensation ในเตาเผาอุณหภูมิสูงที่ความดันบรรยากาศ (ภาพที่ 3 b) เปรียบเทียบระหว่าง 2 หลักการข้อดีของหลักการที่ 1 คือ มีการใช้สารเคมีที่ไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ในขณะที่หลักการที่ 2 ใช้พื้นที่ในการเตรียมมากและใช้พลังงานสูงหลายกิโลวัตต์ในการเพิ่มอุณหภูมิเตาเผาเพื่อทำให้เกิดอนุภาคนาโนขนาดเล็กซึ่งก่อให้เกิดความร้อนกับพื้นที่แวดล้อม นอกจากนี้ยังใช้เวลานานในการทำให้อนุภาคนาโนที่ที่สำคัญลักษณะของอนุภาคที่ได้จากวิธีนี้ยังไม่สม่ำเสมอซึ่งส่งผลโดยตรงต่อคุณสมบัติของอนุภาคซิลเวอร์นาโน ปัจจุบันวิธีการที่ใช้ในการผลิตอนุภาคนาโนอย่างแพร่หลายคือวิธีการทางเคมี คือ หลักการที่ 1 (Ahmed et al., 2016) เนื่องจากสามารถผลิตอนุภาคซิลเวอร์นาโนความบริสุทธิ์สูงได้ในปริมาณมากและในเวลาสั้น



ภาพที่ 3 หลักการการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนแบบ (a) bottom to top approach (b) top to bottom approach (Ahmed et al., 2016)

แม้ว่าการใช้อนุภาคซิลเวอร์นาโนจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้หลายชนิดและมีแนวโน้มการใช้งานไปในแทบทุกผลิตภัณฑ์รอบตัว แต่ทั้งในขั้นตอนการผลิตที่มีการใช้สารเคมีที่ไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมรวมถึงผลกระทบของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่อาจเกิดขึ้นเมื่อมีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมยังคงเป็นปัจจัยที่นักวิจัยและหน่วยงานด้านสิ่งแวดล้อมคำนึงถึง ด้วยสาเหตุดังกล่าวแนวโน้มงานวิจัยในช่วง 5 – 10 ปีที่ผ่านมาจึงมีทั้งการศึกษาความเป็นพิษของอนุภาคซิลเวอร์นาโนรวมถึงประยุกต์ใช้สารสกัดจากธรรมชาติ เช่น สารสกัดจากพืช และจุลินทรีย์เป็นทั้ง สาร reductant และ stabilizer ในการผลิตอนุภาคซิลเวอร์นาโน รวมถึงพัฒนาการผลิตอนุภาคนาโนจากธรรมชาติ เช่น อนุภาคนาโนลิคินิน เพื่อใช้เป็นสารยับยั้งการก่อเชื้อ รวมถึงประยุกต์ใช้เป็นสารตัวพาเพื่อควบคุมระยะเวลาในการปลดปล่อยทั้งสารกำจัดแมลง (Pereira et al., 2003) รวมถึงการผลิตยารักษาโรคต่าง ๆ (Vinardell and Mitjans, 2017)



ภาพที่ 4 ภาพรวมจากการสำรวจศักยภาพและการประยุกต์ใช้ลิคินินขนาดระดับไมครอนและนาโนโดย Beisl et. al, 2017 (Beisl et al., 2017)

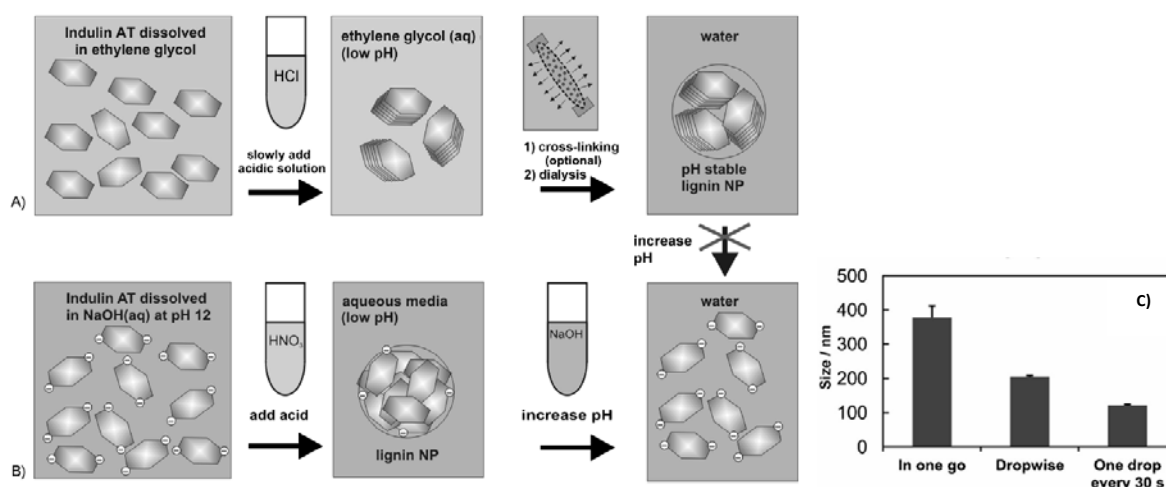
การใช้ลิคินินเพื่อการยับยั้งเชื้อโรค ลิคินินจัดเป็นสารประกอบ phenolic ขนาดใหญ่ (600 - 15000 kDa) มีปริมาณคิดเป็น 25-35% ของไม้และชีวมวลที่เป็น lignocellulose ซึ่งถือเป็นแหล่งทรัพยากรที่น่ากลับมาใช้ได้ที่สำคัญของสารประกอบฟีนอลิก กระบวนการสังเคราะห์ลิคินินในพืชเริ่มจากกระบวนการ polymerization ของ monolignols หลักสามชนิดได้แก่ *p*-coumaryl alcohol, coniferyl alcohol และ sinapyl alcohol โดยโครงสร้างของลิคินินจะประกอบขึ้นจาก monolignols ที่จับตัวกันเป็นโครงข่าย โดยการเชื่อมกันอาจเกิดที่ตำแหน่งใดของ phenolic unit ก็ได้ ทำให้เกิดความหลากหลายของพันธะเคมีในโครงสร้างซึ่งอาจมีมากกว่า 20 ชนิด โดย β -O-4 ether linkage เป็นพันธะที่พบมากที่สุดในลิคินิน

จากความตื่นตัวของนักวิจัยในการคัดเลือกลำโพงสำคัญจากธรรมชาติเพื่อนำมาใช้ประโยชน์พบว่า ลิกนินซึ่งจัดเป็นสารในกลุ่มพอลิฟีนอล มีศักยภาพในการนำมาใช้ในหลากหลายอุตสาหกรรมโดยเฉพาะเพื่อทดแทนวัตถุดิบจากน้ำมันปิโตรเลียม เนื่องจากลิกนินนับเป็น biopolymer ที่มีปริมาณมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส แต่การนำลิกนินไปใช้ประโยชน์ยังมีข้อจำกัดในเรื่องโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของพืช และวิธีการสกัดซึ่งส่งผลโดยตรงต่อคุณสมบัติทางเคมี อย่างไรก็ตามงานวิจัยจำนวนมากพบว่าลิกนินมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Li and Ge, 2012, Azadfar et al., 2015) และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย แต่เนื่องจากความแตกต่างทางโครงสร้างของลิกนินในแต่ละชนิดของพืชส่งผลให้คุณสมบัติและประสิทธิภาพนั้นแตกต่างกัน รวมถึงการต้านอนุมูลอิสระแปรผกผันกับการเกิด oxidation ของโครงสร้างลิกนิน (Donga et al., 2011) แนวทางที่เป็นไปได้เพื่อแก้ปัญหาเรื่องโครงสร้างที่ซับซ้อนและไม่สม่ำเสมอของลิกนินคือการใช้ประโยชน์จากลิกนินที่มีขนาดในระดับ submicron หรืออนุภาคนาโนเนื่องจากคุณสมบัติของวัสดุที่ดัดแปลงให้มีขนาดดังกล่าวสามารถสร้างสมบัติที่แตกต่างอย่างมากจากวัสดุขนาดเริ่มต้นได้ Beisl et. al, 2017 (Beisl et al., 2017) รวบรวมการศึกษาสมบัติของลิกนินที่มีการพัฒนาเป็นนาโนลิกนินพบว่าลิกนินที่มีการพัฒนามักอยู่ในระดับกลางซึ่งยังต้องการการพัฒนาเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ หรือการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ ดังแสดงในภาพที่ 4

การเตรียมอนุภาคนาโนลิกนินเพื่อใช้เป็นสารต้านจุลชีพ (antimicrobial agent) จากโครงสร้างของลิกนินที่ประกอบด้วยหมู่ฟีนอลิกจำนวนมากทำให้ลิกนินมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระรวมทั้งการยับยั้งเชื้อ โดยลิกนินทำให้เยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียถูกทำลายและแตกจนเกิดการสูญเสียสารประกอบภายในเซลล์ ซึ่งการปรับขนาดของลิกนินให้อยู่ในระดับนาโนซึ่งช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวได้มากขึ้นส่งผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองของทีมนักวิจัยก่อนหน้านี้ที่ลดขนาดของลิกนินให้อยู่ในระดับนาโนโดยวิธี solvent precipitation พบว่าลิกนินมีขนาดอนุภาค 140 นาโนเมตร และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า แต่ต้นทุนการผลิตเพิ่มจากขั้นตอนการสกัด ลายเท่า ๆ ทั้งนี้เนื่องมาจากกำลังการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการค่อนข้างต่ำคือ 0.02 กรัม/ชั่วโมง จากการสืบค้นข้อมูลเพิ่มเติมพบว่ามีงานวิจัยที่ศึกษาการเตรียมอนุภาคนาโนลิกนินอย่างง่ายที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตและลดต้นทุน เช่น Frangvill et al. (Camille et al., 2012) ที่ทำการศึกษาศึกษาการเตรียมอนุภาคนาโนลิกนิน ด้วยวิธีการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ไว้ 2 แนวทาง คือ 1) การเปลี่ยน pH ของลิกนินในตัวทำละลายอินทรีย์ และ 2) การเปลี่ยน pH ของสารละลายลิกนินจากต่างเป็นกรดในตัวกลางที่เป็นน้ำ (ภาพที่ 5)

โดยปกติลิกนินสามารถละลายในน้ำได้จำกัด (lignosulfonated) จนถึงไม่ละลาย (alkali lignin / kraft lignin) ขึ้นกับวิธีการสกัด ในขณะที่สามารถละลายได้ดีกว่าในเอทิลีนไกลคอลหรือน้ำที่ pH สูง (มากกว่า 10) ซึ่งมักเป็นสภาวะที่ใช้ในการแยกลิกนินออกจากโครงสร้างเซลลูโลส โดยแนวทางที่ 1 (ภาพที่ 5A) ลดขนาดลิกนินโดยอาศัยการตกตะกอนด้วยกรด โดยพบว่าการเติมกรดอย่างช้า ๆ (1 หยดทุก 30 วินาที) ลงในสารละลายลิกนินในเอทิลีนไกลคอลช่วยให้เกิดอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่า (~ 100 นาโนเมตร) เมื่อเทียบกับอนุภาคลิกนินการเติมกรดด้วยอัตราเร็วที่มากกว่า (~ 350 นาโนเมตร) (เติมครั้งเดียวหรือที่ละหยดต่อเนื่อง) (ภาพที่ 5C) นอกจากนี้เมื่อนำสารแขวนลอยของนาโนลิกนินไปทำ dialysis เพื่อเปลี่ยนตัวทำละลายเป็นน้ำเพื่อเก็บในรูปของสารแขวนลอยในน้ำพบว่ารูปแบบดังกล่าวจะช่วยให้นาโนลิกนินมีความเสถียรแม้กระทั่งที่ pH 10 ซึ่งปกติลิกนินจะอยู่ในรูปที่สามารถละลายได้ แนวทางที่ 2 ซึ่งเป็นการปรับ pH จากของสารละลายลิกนินในต่างเป็นกรด (ภาพที่ 5B) กล่าวได้ว่าเป็นวิธีการที่ช่วยลดขั้นตอนหลังการสกัดแยกลิกนินที่มักใช้สารละลายต่างเพื่อทำลายโครงสร้างของ lignocellulose และปรับ pH ของสารละลายต่างเพื่อแยกลิกนิน ซึ่งส่วนใหญ่ใช้กรดเข้มข้น เช่น 50%H₂SO₄ ผลพบว่าการปรับ pH ของสารละลายลิกนินในต่าง

ด้วยกรดไนตริกจะได้อนุภาคนาโนลิกนินที่เสถียรในช่วง pH ต่ำ (1.7 – 2.5) และละลายได้เมื่อ pH มากกว่า 4 ซึ่งทำให้ต้องพิจารณาถึงสภาวะที่เกี่ยวข้องในการนำนาโนลิกนินไปประยุกต์ใช้



ภาพที่ 5 วิธีที่ 1 การเตรียมนอนุภาคนาโนลิกนินจากสารละลายลิกนินในเอทิลีนไกลคอลโดยการตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริก (A) วิธีที่ 2 การเตรียมจากสารละลายลิกนินในด่างด้วยกรดไนตริก (B) และผลของอัตราเร็วในการเติมกรดต่อขนาดอนุภาคนาโนลิกนินที่ได้จากการเตรียมด้วยวิธีที่ 1 (Camille et al., 2012)

แม้ว่าแนวทางการเตรียมนอนุภาคนาโนลิกนินดังกล่าวจะสามารถผลิตนาโนลิกนินได้ด้วยวิธีการที่ไม่ซับซ้อน แต่ขั้นตอนการเตรียมใช้ระยะเวลาค่อนข้างนาน เช่น การละลายลิกนินในเอทิลีนไกลคอลใช้เวลา 2 ชั่วโมง และการเติมกรดด้วยอัตราเร็วต่ำ รวมถึงการทำ dialysis ใช้เวลานาน 3 วัน อาจส่งผลกระทบต่อต้นทุนการผลิตหากต้องการขยายกำลังการผลิต ทั้งนี้ยังไม่รวมถึงความเข้มข้นของสารละลายลิกนินเริ่มต้นในงานวิจัยนี้และงานวิจัยอื่นที่ทดลองผลิตอนุภาคนาโนลิกนินใช้ยังคงอยู่ในช่วงต่ำ (0.5 – 1% โดยน้ำหนัก) ในงานวิจัยอื่นที่พัฒนาเพิ่มเติมโดยใช้สารละลายลิกนินในเอทิลีนไกลคอลเป็นตัวเริ่มต้นมีการเปลี่ยนแปลงขั้นตอนในการเตรียมเล็กน้อยเพื่อลดระยะเวลา เช่น งานของ Richter et al. (Richter et al., 2016) ทำการละลาย alkali lignin ในเอทิลีนไกลคอลโดยการ vortex เพียง 30 นาที และใช้การเติมกรดแบบเร็วต่างจากงานของ Frangvill et al. 2012 โดยสรุปว่าปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อขนาดอนุภาคของนาโนลิกนินขึ้นกับ 1) ความเข้มข้นของสารละลายลิกนินเริ่มต้น 2) ความเข้มข้นของกรด และ 3) อัตราเร็วในการเติมกรด ในขณะทำงานวิจัยของ Lievonen (Lievonen, 2014) ดัดแปลงความเข้มข้นของสารละลายลิกนินในเอทิลีนไกลคอลจาก 0.56% เป็น 1% ซึ่งส่งผลให้ขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าเช่นกัน ซึ่งงานวิจัยต่อมาได้ศึกษาวิธีการเตรียมนอนุภาคนาโนลิกนินอย่างง่ายโดยใช้ความเข้มข้นลิกนินเริ่มต้นตั้งแต่ 0.1 – 1% แต่ใช้เตตระไฮโดรฟูแรน (THF) เป็นตัวทำละลายเนื่องจากสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ด้วยการระเหย โดยข้อดีของวิธีการนี้คือหลังจากละลายลิกนิน (Kraft lignin) ใน THF แล้วสามารถนำไปลดขนาดโดยวิธี dialysis เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยไม่มีการเติมกรด ซึ่งนับเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อน และไม่จำเป็นต้องผ่านกระบวนการ acetylation ที่มีการใช้สารเคมีที่ค่อนข้างอันตราย เช่น อะเซติลโบรไมด์ ซึ่งเป็นวิธีการทางเคมีที่ใช้ในการเปลี่ยนโครงสร้างของลิกนินเพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (Lievonen et al., 2016) วิธีการส่วนใหญ่ที่กล่าวมาได้นั้นขนาดอนุภาคนาโนลิกนินอยู่ในช่วง 100 – 500 นาโนเมตร แม้ว่าจะมีการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของอนุภาคนาโนลิกนินที่ได้ แต่ข้อมูลเชิงปริมาณของอนุภาคนาโนลิกนิน รวมถึงการทดสอบการยับยั้งเชื้อและความเป็นพิษต่อเซลล์ยังมีน้อย

ในงานวิจัยนี้ นอกจากการศึกษาสภาวะการผลิตนาโนลิกนินที่เหมาะสมทั้งในด้านต้นทุนการผลิต และสมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนลิกนินแล้ว จะได้ทดสอบสมบัติในการยับยั้งเชื้อและความเป็นพิษต่อ เซลล์ผิวหนังโดยเปรียบเทียบกับอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางการค้าในรูปแบบที่คล้ายคลึงกับอนุภาคนาโนลิกนินที่จะผลิตจากโครงการเพื่อเป็นแนวทางในการเปรียบเทียบการใช้ประโยชน์ต่อไป

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1. การสกัดลิกนินและตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมี

ขั้นตอนการสกัดแยกการสกัดลิกนินจากกากอ้อย เริ่มต้นโดยผสมสารละลาย 1 % NaOH กับกากอ้อย โดยใช้สัดส่วนของแข็ง (กากอ้อย) และของเหลว (สารละลายต่าง) เท่ากับ 1:10 (w/v) และทำการต้มแยกโดยใช้เครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองกากอ้อยออกและแยกลิกนินออกโดยการปรับ pH ให้เท่ากับ 2 ด้วย 50% H_2SO_4 10 ml เพื่อให้ลิกนินตกตะกอนและทำการกรองแยกอีกครั้งด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ในระหว่างการกรองทำการล้างลิกนินที่ตกตะกอนได้เพื่อกำจัดเฮมิเซลลูโลสและสารปนเปื้อนอื่น จากนั้นนำตะกอนลิกนินบนกระดาษกรองไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจนกว่าลิกนินจะแห้ง ดังแสดงในภาพที่ 6 ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของลิกนินที่สกัดได้โดยการวัดปริมาณเถ้า (ash content) ปริมาณลิกนินที่ละลายในกรด (acid soluble lignin) และโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิค FTIR



ภาพที่ 6 ขั้นตอนการสกัดลิกนิน 1. ขานอ้อยและสารละลายต่าง 2. สารละลายที่ผ่านการแยกกากอ้อยออกแล้ว 3. สารละลายที่ผ่านการปรับ pH แล้ว 4. ขั้นตอนการกรองลิกนิน 5. กากลิกนินบนกระดาษกรอง 6. กากลิกนินที่แห้งหลังจากการอบ

3.2. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการผลิตอนุภาคนาโนลิกนิน

โดยวัตถุดิบตั้งต้นคือ ลิกนิน ผงที่สกัดได้จากขั้นตอนที่ 3.1

3.2.1. การใช้วิธีการทางเคมี (solvent precipitation)

3.2.1.1. ทดสอบความเข้มข้นเริ่มต้นของลิกนินต่อปริมาณการละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์

ซึ่งปริมาณลิกนินที่สกัดได้จากกากอ้อยก่อนนำไปละลายด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ ethylene glycol, propylene glycol และ THF (ภาพที่ 6) ที่ปริมาณลิกนินเริ่มต้น 0.5%, 1%, 2.5%, 5% และ 10% (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการ dialysis เพื่อลดขนาด โดยเปรียบเทียบขนาดอนุภาคนาโนลิกนินจากระยะเวลาการทำ dialysis ที่ 12, 24 และ 48 ชั่วโมง นำอนุภาคนาโนลิกนินที่ได้ไปตรวจสอบขนาดด้วยเทคนิค dynamic light scattering (DLS)

3.2.1.2. ตรวจสอบประสิทธิภาพการละลายของลิกนินผงในตัวทำละลายอินทรีย์

ทดสอบวิธีการผสมลิกนินผงในตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิดโดยใช้เครื่องกวนผสมแบบแม่เหล็ก 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงสารละลายลิกนินที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เพื่อแยกลิกนินที่ไม่ละลายออกใส่จานแก้ว จากนั้นอบตะกอนลิกนินที่ไม่ละลายที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแห้งของลิกนินที่ไม่ละลายในจานแก้วเพื่อคำนวณประสิทธิภาพในการละลาย

3.2.2. การใช้วิธีการทางกายภาพ

3.2.2.1. ทดสอบการลดขนาดอนุภาคลิกนินด้วยเครื่อง homogenizer

ทำการลดขนาดอนุภาคลิกนินโดยเตรียมสารแขวนลอยลิกนินในน้ำ Deionized (DI) โดยใช้ลิกนิน 2 กรัม ในน้ำ DI 400 มล. ทำการลดขนาดด้วยเครื่อง homogenizer ที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที โดยใช้ระยะเวลาที่ 1, 2, 3 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ ในระหว่างการลดขนาดจะทำการแช่ตัวอย่างในน้ำแข็ง โดยทุก 30 นาทีจะหยุดพัก 15 นาทีเพื่อลดอุณหภูมิและฟองอากาศที่เกิดขึ้น จากนั้นนำตัวอย่างอนุภาคลิกนินที่ได้จากแต่ละช่วงเวลาไปวัดขนาดอนุภาคและ ค่า zeta potential (mV)

3.2.2.2. ทดสอบการลดขนาดอนุภาคลิกนินด้วยเครื่อง microfluidizer

ทำการลดขนาดอนุภาคลิกนินจากตัวอย่าง 2 ชนิด ได้แก่ สารแขวนลอยลิกนินในน้ำ Deionized (DI) ที่ความเข้มข้น 0.5% (w/v) และอนุภาคนาโนลิกนินที่ผ่านการลดขนาดด้วยวิธีทางเคมี (0.5% ลิกนินใน EG และนำไปทำ dialysis) ด้วยเครื่อง Microfluidizer ที่ความดัน 25,000 psi ที่จำนวน 5, 10 และ 15 รอบ จากนั้นนำตัวอย่างอนุภาคลิกนินที่ได้จากแต่ละรอบไปวัดขนาดอนุภาค และค่า zeta potential (mV)

3.3. การวัดกระจายของขนาดอนุภาคด้วยเทคนิค dynamic light scattering

ตรวจสอบการกระจายของขนาดอนุภาค (particle size distribution) ของสารละลาย / สารแขวนลอยของลิกนินหลักการลดขนาดตามข้อ 3.2.1 และ 3.2.2 ด้วยเครื่อง Zetasizer (Model Nano-ZS, Malvern Instrument, Inc) และเปรียบเทียบขนาดจากค่า intensity

3.4. การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของอนุภาคลิกนินด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM)

เตรียมสารแขวนลอยของตัวอย่างอนุภาคนาโนลิกนินโดยหยดลงบน stub และระเหยตัวทำละลายออกก่อนนำไปตรวจสอบลักษณะทางกายภาพและขนาดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Model Quanta 450FEI) โดยใช้กำลังขยายตั้งแต่ 6 – 100,000 เท่า

3.5. การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการก่อเชื้อ

ในงานวิจัยนี้ได้กำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบเป็นกลุ่มที่ก่อให้เกิดการเสียสภาพของเครื่องสำอางโดยจะทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของนาโนลิกนินในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ MIC (minimal inhibitory concentration) โดยทดสอบกับเชื้อ

- *Staphylococcus aureus* (ATCC25923)
- *Streptococcus mutans* (ATCC25175)
- *Propionibacterium acnes* (ATCC11828)
- *Candida albican* (ATCC10231)

- *Escherichia coli* (TISTR 117)
- Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (DMDT 20651)
- *Pseudomonas fluorescens* (TISTR 358)
- *Salmonella Typhimurium* (TISTR 1469)
- *Staphylococcus epidermidis* (DMST 15505)
- *Bacillus sp.* (TISTR 1323)
- *Micrococcus luteus* (TISTR 2374)
- *Pseudomonas aeruginosa* (TISTR 781)
- *Staphylococcus aureus* (DMST 8840)
- *Propionibacterium acnes* (DMST 14916)

เพื่อให้สามารถกำหนดแนวทางการใช้ประโยชน์ในด้านประสิทธิภาพที่สามารถเปรียบเทียบกับอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางการค้าและลักษณะที่ไม่ผ่านกระบวนการลดขนาด

3.6. การทดสอบความเป็นพิษในระดับเซลล์ผิวหนัง

ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง (fibroblasts) ด้วยวิธี sulforhodamine B (SRB) เพื่อใช้บ่งบอกถึงปริมาณเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ โดยเซลล์ที่ใช้ทดสอบคือ เซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังของมนุษย์ พลาสเซจที่ 58 โดยเลี้ยงในอาหาร Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) ที่มี 10% FBS และ 1% penicillin/streptomycin ใน 96-well plates ให้มีจำนวนเซลล์เริ่มต้น 1000 cell/well ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37°C ที่มี CO₂ 5% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นหยดสารแขวนลอยของนาโนลิกันที่เจือจางให้ความเข้มข้นเหมาะสมเหมาะสมด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ทำให้ปลอดเชื้อแล้ว นำไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสี sulforhodamine B (SRB) แล้วเปรียบเทียบการรอดชีวิตของเซลล์กับกลุ่มควบคุม ในการทดสอบนี้ใช้ sodium lauryl sulfate เป็นสารมาตรฐาน

3.7. การศึกษาสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH

วิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน DPPH โดยดัดแปลงวิธีจาก Fagali and Catala (2008) ดูดสารตัวอย่างตัวอย่าง lignin ใน EG (0.5%, 1%, 2.5% และ 5%) และสารแขวนลอยนาโนลิกัน (0.5%, 1%, 2.5% และ 5%) แล้วผสมกับสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 0.25 mM ใน ethanol 1 ml ผสมด้วย vortex mixer ก่อนวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ที่ 0 – 60 นาที ทุก 1 นาที เป็นเวลา 10 นาที และทุก 10 นาที จนครบ 60 นาที คำนวณ % DPPH_{remaining} ได้จากสมการ (1) และคำนวณค่า % DPPH_{scavenging} จากสมการที่ (2) โดยใช้ blank เป็น EG 1 ml ผสมกับสารละลาย DPPH 1 ml สำหรับ lignin และ น้ำกลั่น 1 ml ผสมกับสารละลาย DPPH 1 ml สำหรับสารแขวนลอยนาโนลิกัน

$$\% \text{DPPH}_{\text{remaining}} = (A_f / A_0) \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

A_f : ค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละช่วงเวลา

A₀ : ค่าการดูดกลืนแสงที่จุดเริ่มต้น

$$\% \text{DPPH}_{\text{scavenging}} = 100 - \% \text{DPPH}_{\text{remaining}} \dots\dots\dots(2)$$

3.8. การศึกษาสมบัติของอนุภาคนาโนลิกันในช่วงการเก็บรักษา

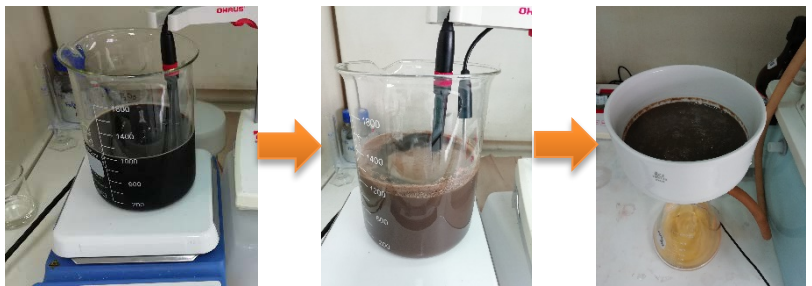
ทำการวัดขนาดอนุภาคนาโนลิกันที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสมจากทั้งวิธีการทางเคมีและกายภาพด้วยเทคนิค DLS ที่เวลาเริ่มต้น (t_{0M}) และหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน (t_{3M}) ที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทดสอบสมบัติในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในช่วงการเก็บรักษา และความเป็นพิษต่อเซลล์เปรียบเทียบกับอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางการค้าและลิกันที่ไม่ผ่านการลดขนาดที่สภาวะการเก็บรักษาเดียวกัน

3.9. วิเคราะห์ต้นทุนการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการและความเป็นไปได้เบื้องต้นทางการตลาดเพื่อจัดทำแบบจำลองทางธุรกิจ

ศึกษาต้นทุนการผลิตอนุภาคนาโนลิกันในระดับห้องปฏิบัติการ รวมถึงรวบรวมข้อมูลข้อจำกัดด้านการผลิต ปัจจัยการผลิต เทคโนโลยี และปัญหาทางด้านเทคนิคปัจจุบัน ปัจจัยด้านตลาด เช่น ราคา การแข่งขัน ช่องทางการจัดจำหน่าย เป็นต้น เพื่อให้ทราบความเป็นไปได้ทางการตลาดเบื้องต้นและจัดทำแบบจำลองทางธุรกิจ

บทที่ 4 ผลการศึกษาและอภิปรายผล

4.1. การสกัดลิกนินและตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมี

นำตัวอย่างกากอ้อยที่เก็บไว้เป็นเวลา 45 วัน มาสกัดด้วย 1% NaOH ตามวิธีการทดลองข้างต้นและวัด pH เริ่มต้นของ black liquor ที่ได้เท่ากับ 12.7 จากนั้นทำการตกตะกอนลิกนินด้วย 50% H₂SO₄ โดยให้ค่า pH ลดลงเท่ากับ 2 จากนั้นกรองตะกอน lignin ผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1	
ทำความสะอาดตะกอนลิกนินโดยเก็บลิกนินบนกระดาษกรองมาผสมในน้ำกลั่นปริมาตร 500 ml พบว่า pH ของน้ำล้างตะกอนมีค่าคงที่ประมาณ 3 – 3.5 หลังทำการล้างและกรองรวม 4 ครั้ง	
นำตะกอนที่ได้จากการกรองไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	

จากการสกัดพบว่าผลได้การสกัดของลิกนินจากกากอ้อยอายุ 45 วัน เท่ากับร้อยละ 9.78 โดยน้ำหนักแห้งของกากอ้อย ซึ่งต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ทำการตกตะกอนลิกนินโดยไม่มีขั้นตอนการล้าง (ร้อยละ 20) ทั้งนี้ส่วนหนึ่งอาจเนื่องมาจากคุณภาพของกากอ้อยเริ่มต้นที่พบว่าหากเป็นกากอ้อยที่เพิ่งผ่านกระบวนการหีบและนำมาสกัดลิกนินจะมีปริมาณลิกนินที่สกัดได้ต่ำกว่าปริมาณลิกนินจากกากอ้อยเก่าซึ่งความแข็งแรงของโครงสร้างเซลล์ลูโลสต่ำกว่า นอกจากนี้ผลได้ที่ลดลงอาจเกิดจากสารปนเปื้อนที่ล้างออกไป

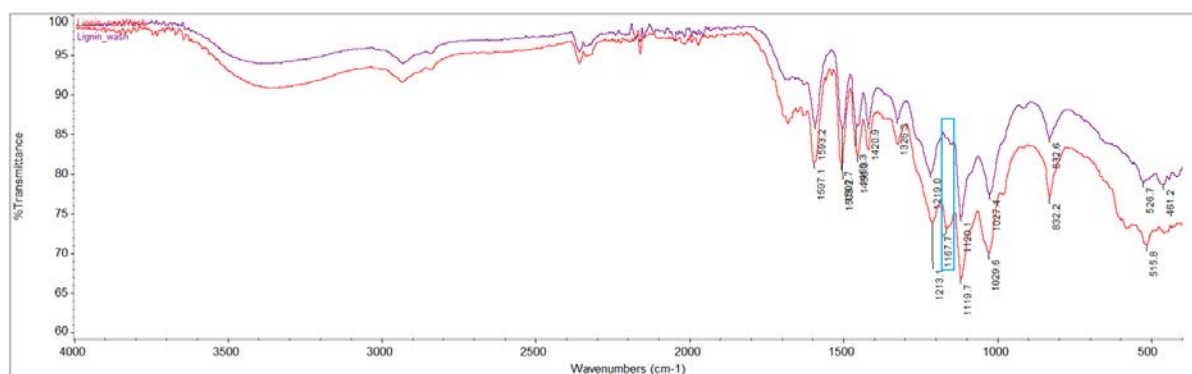
วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของลิกนินที่สกัดได้ที่ไม่ผ่านและผ่านการล้างโดยอ้างอิงจากวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีของเนื้อไม้และเยื่อกระดาษ โดยการวัดปริมาณเถ้า (ash content) ปริมาณลิกนินที่ละลายในกรด (acid soluble lignin; ASL) และปริมาณลิกนินที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble lignin; AIL) ผลพบว่าในตัวอย่างลิกนินที่สกัดได้จากกากอ้อยและตกตะกอนลิกนินโดยผ่านขั้นตอนการล้างมีสารปนเปื้อนลดลงโดยมีปริมาณเถ้าจากลิกนินที่ไม่ผ่านและผ่านการล้างเท่ากับ 34.5% และ 2.33% โดยน้ำหนักตามลำดับ (ตารางที่ 1) ปริมาณ AIL ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีนี้โดยทั่วไปมักจะมีค่ามากกว่าปริมาณลิกนิน ASL ในไม้เนื้ออ่อนจะมีปริมาณ ASL ระหว่าง 0.2 – 0.5% ในขณะที่ไม้เนื้อแข็ง และเยื่อที่ไม่ใช่ไม้ (non wood fibers) จะมีปริมาณ ASL อยู่ในช่วง 3 – 5% (Zabaleta, 2012) เมื่อเปรียบเทียบผลของทั้งสองตัวอย่างพบว่าปริมาณ AIL ของตัวอย่างที่ผ่านการล้างมากกว่าจากตัวอย่างที่ไม่ได้ล้าง 2.7 เท่าและมีปริมาณ ASL ใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของลิกนิน

ตัวอย่าง	% Ash (inorganic residue)	Acid insoluble lignin (AIL)		% Acid-soluble residue (ASL)
		% Lignin	% Inorganic residue	
ลิกนินที่ไม่ล้าง	34.5 ± 0.02	31.8 ± 0.49	3.05 ± 0.54	5.86 ± 0.39
ลิกนินที่ผ่านการล้าง	2.33 ± 0.05	86.1 ± 1.08	2.37 ± 0.05	4.22 ± 0.83

: ผลการทดสอบแสดงค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ทำการตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของลิกนินที่ล้างและล้างด้วยเทคนิค FTIR spectrometry ด้วยเครื่อง Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) instrument (Nicolet IR200, Thermo Fisher Scientific, USA) ทำการวัดการดูดกลืนรังสีที่อยู่ในช่วงคลื่น (wave number) 4000 – 400 cm⁻¹, Resolution 4 cm⁻¹, 128 scan ต่อตัวอย่างและวิเคราะห์โครงสร้างด้วย OMNIC8 software พบว่า peak ที่ wave number 1167.7 cm⁻¹ (□, ภาพที่ 7) ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้าง C-O-C asymmetric band ในโครงสร้างเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสพบในตัวอย่างลิกนินที่ไม่ผ่านการล้างเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ทางเคมี



ภาพที่ 7 ATR-FTIR spectrum จากตัวอย่างลิกนินที่ผ่านการล้างและไม่ผ่านการล้าง

4.2. การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการผลิตอนุภาคนาโนลิกนินด้วยวิธีทางเคมี

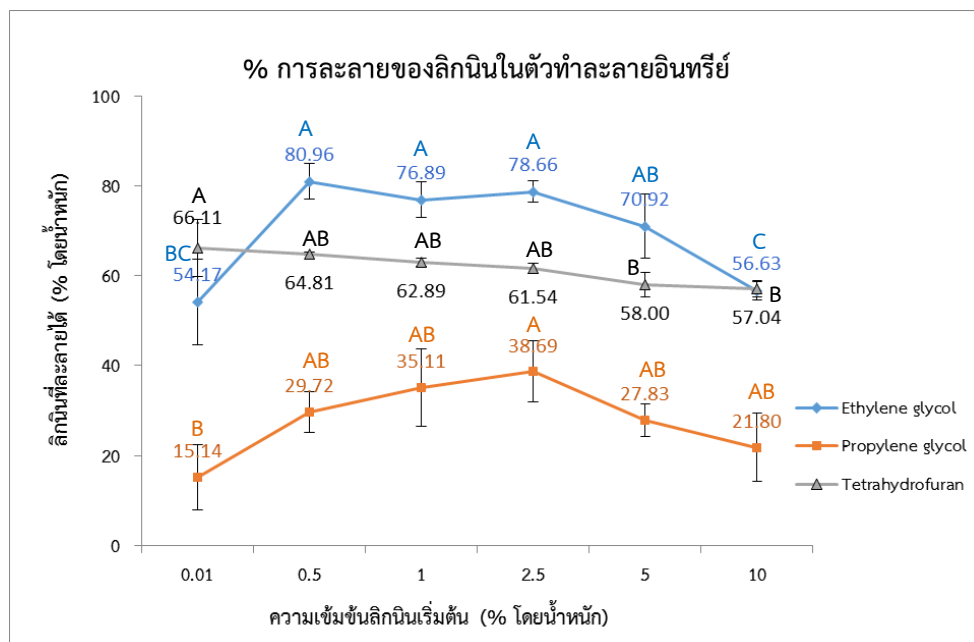
4.2.1 ความเข้มข้นเริ่มต้นของลิกนินและชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์

ทำการทดสอบความเข้มข้นเริ่มต้นของลิกนินต่อปริมาณการละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ Ethylene glycol (EG), Propylene glycol (PG) และ Tetrahydrofuran (THF) ที่ปริมาณลิกนินเริ่มต้น 0.01% (ความเข้มข้นที่ใช้เตรียมอนุภาคนาโนลิกนินจากโครงการ RDG5950094) และความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 0.5%, 1% 2.5%, 5% และ 10% (โดยน้ำหนัก) เพื่อให้สามารถเพิ่มผลได้ของนาโนลิกนินที่ต้องการจะผลิตได้ โดยลักษณะทางกายภาพของสารละลายลิกนินในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ปริมาตร 15 มล. หลังการผสมบนเครื่องกวนแบบแม่เหล็กเป็นเวลา 2 ชั่วโมงดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ลักษณะทางกายภาพของสารละลายลิควินในความเข้มข้นต่างๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด หลังการกวนผสมเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ตัวทำละลายอินทรีย์	ความเข้มข้นลิควินเริ่มต้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)					
	0.01%	0.5%	1%	2.5%	5%	10%
Ethylene glycol (EG)						
Propylene glycol (PG)						
Tetrahydrofuran (THF)						

แม้ว่าจากลักษณะทางกายภาพของสารละลายลิควินในตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดจะคล้ายคลึงกัน แต่เมื่อทำการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที เพื่อแยกส่วนที่ไม่ละลายออกและคำนวณร้อยละการละลายได้ของลิควินในตัวทำละลายต่าง ๆ พบว่า (ภาพที่ 8) ลิควินละลายได้น้อยที่สุดใน PG โดยมีค่าลิควินที่ละลายได้อยู่ในช่วง 15.14% – 38.69% และละลายได้มากที่สุดที่ความเข้มข้นลิควินเริ่มต้น 2.5% นอกจากนี้ลิควินสามารถละลายได้ใน THF มากกว่า PG โดยมีค่าของลิควินที่ละลายได้ใน THF อยู่ในช่วง 57.04 – 66.11% ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกความเข้มข้นเริ่มต้น



ภาพที่ 8 ร้อยละการละลายได้ของลิควินใน ethylene glycol, propylene glycol และ tetrahydrofuran

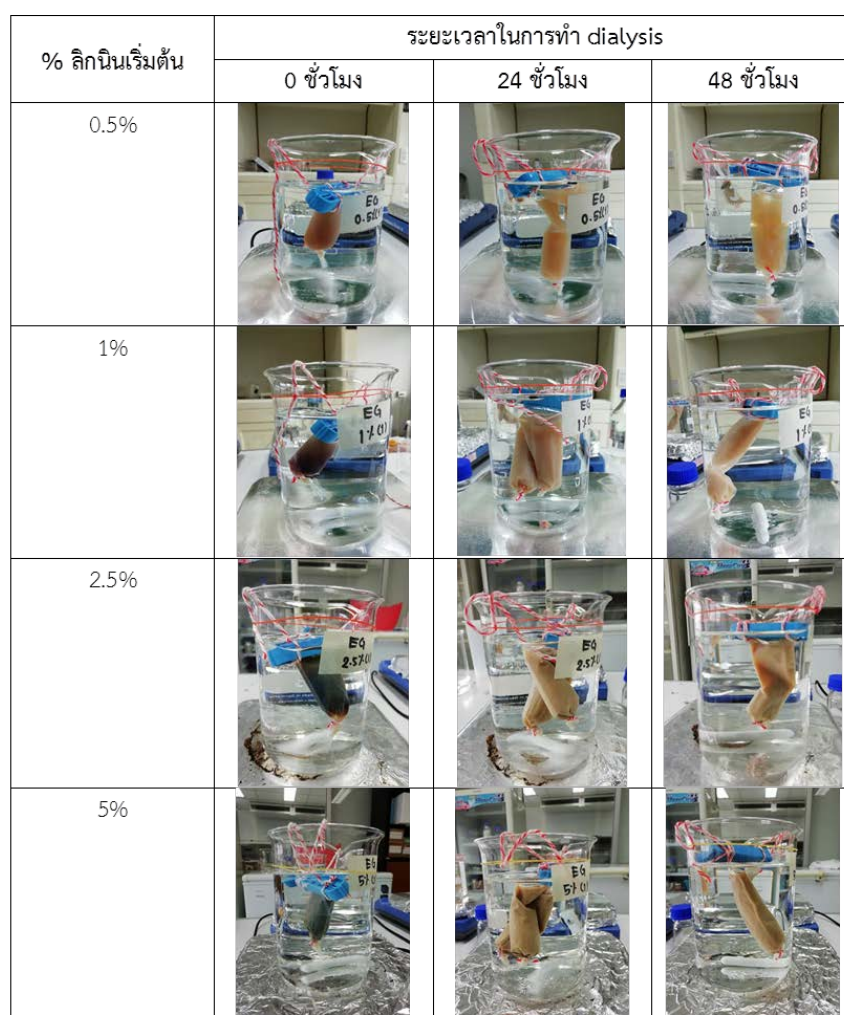
: ผลการทดสอบแสดงค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, ค่าที่กำกับด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการทดลองพบว่าลิกนินสามารถละลายได้ดีที่สุดใน EG โดยมีค่าของลิกนินที่ละลายได้สูงที่สุด 80.96% ที่ความเข้มข้นลิกนินเริ่มต้น 0.5% อย่างไรก็ตามแม้ว่าแนวโน้มการละลายจะลดลงที่ค่าความเข้มข้นลิกนินเริ่มต้น 1%, 2.5% และ 5% แต่ค่าของลิกนินที่ละลายได้จากความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5% - 5% ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

แม้ว่าจากการทดสอบจะสามารถเลือกชนิดตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายลิกนินได้ คือ EG แต่จำเป็นต้องมีการทดสอบถึงผลของความเข้มข้นของลิกนินเริ่มต้นต่อการลดขนาดด้วยวิธี dialysis จากทั้ง 4 ความเข้มข้นคือ 0.5%, 1%, 2.5% และ 5% ต่อไป

4.2.2 การเตรียมอนุภาคนาโนลิกนินด้วยวิธี Dialysis

นำสารละลายลิกนินใน EG ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นลิกนิน 0.5%, 1%, 2.5% และ 5% ปริมาตร 10 มล. ใส่ในถุง dialysis ขนาด molecular weight cut off 6 - 8 kDa ทำการลดขนาดด้วยวิธี dialysis ในน้ำกลั่น ปริมาตร 500 มล. (ภาพที่ 9) โดยเปลี่ยนน้ำกลั่นวันละ 2 ครั้ง หลังจากครบเวลาทำการทดลองคือ 24 และ 48 ชั่วโมง ได้ปริมาตรของสารแขวนลอยอนุภาคนาโนลิกนินประมาณ 30 มล. จากนั้นนำตัวอย่างไปวัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง DLS วัดค่า zeta-potential และตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของอนุภาคด้วยเทคนิค SEM ต่อไป

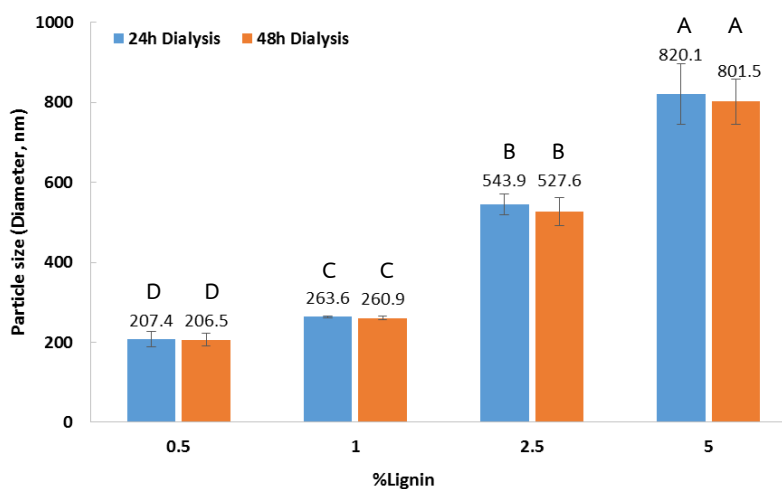


ภาพที่ 9 การเตรียมอนุภาคนาโนลิกนินด้วยวิธี dialysis

4.2.3 ขนาดของอนุภาคนาโนลิกนิน

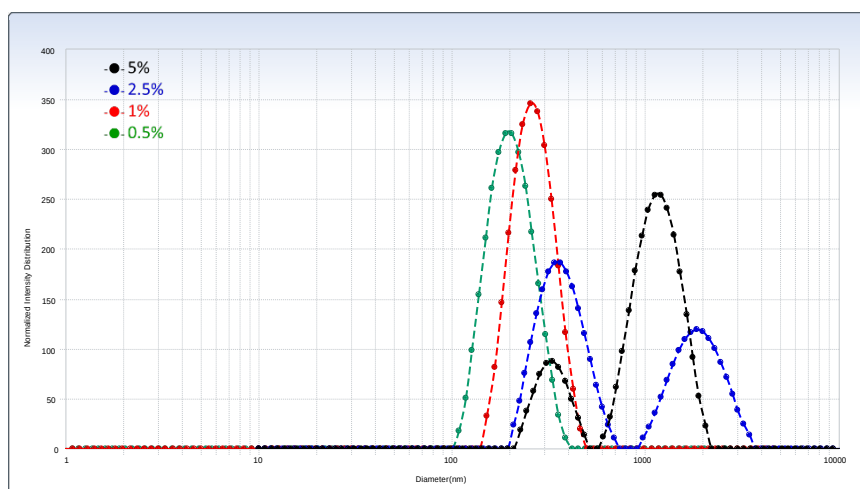
นำตัวอย่างอนุภาคลิกนินจากแต่ละความเข้มข้นและเวลาในการทำ dialysis ไปตรวจสอบขนาดด้วยเทคนิค DLS ผลพบว่าที่ความเข้มข้นของลิกนินเริ่มต้น 0.5% จากการทำให้ dialysis 24 ชั่วโมง มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 200 นาโนเมตร โดยความเข้มข้นของลิกนินเริ่มต้นที่เพิ่มขึ้นส่งผลต่อขนาดของอนุภาคลิกนินที่ใหญ่ขึ้น ที่ความเข้มข้นของลิกนินเริ่มต้น 1%, 2.5% และ 5% มีขนาดอนุภาคลิกนินเฉลี่ยประมาณ 260, 530 และ 800 นาโนเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 10) อย่างไรก็ตามขนาดอนุภาคจากการทำให้ dialysis ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกความเข้มข้นเริ่มต้นของลิกนิน

เมื่อพิจารณาจากลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคลิกนิน (ภาพที่ 11) พบว่าเมื่อปริมาณลิกนินเริ่มต้นเพิ่มขึ้น จำนวนของอนุภาคที่มีขนาดเล็กมีแนวโน้มลดลงโดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 2.5% และ 5% ส่งผลให้ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของนาโนลิกนินสูงขึ้น เมื่อพิจารณาจากภาพถ่าย SEM (ภาพที่ 12) พบว่า ที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นทำให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคขนาดเล็กซึ่งอาจเป็นส่วนหนึ่งที่ส่งผลต่อขนาดอนุภาคเฉลี่ยโดยรวมที่เพิ่มขึ้น

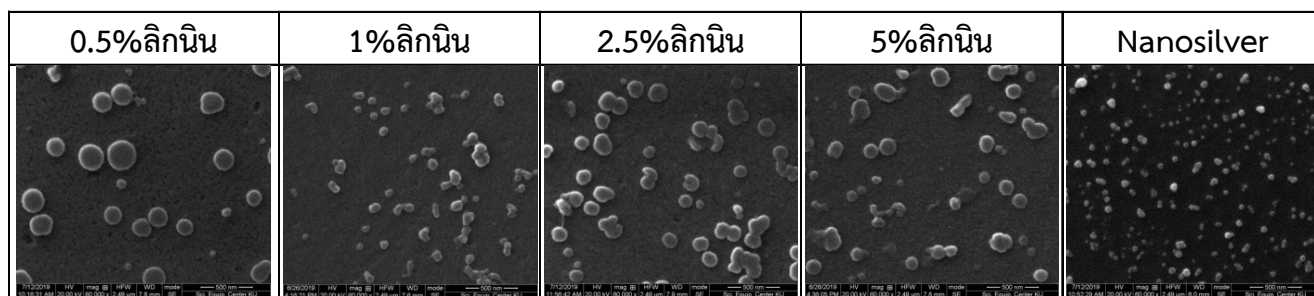


ภาพที่ 10 ขนาดอนุภาคลิกนินเฉลี่ยจากสารละลายลิกนินที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่าง ๆ หลังจากทำให้ dialysis เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง

: ผลการทดสอบแสดงค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, ค่าที่กำกับด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

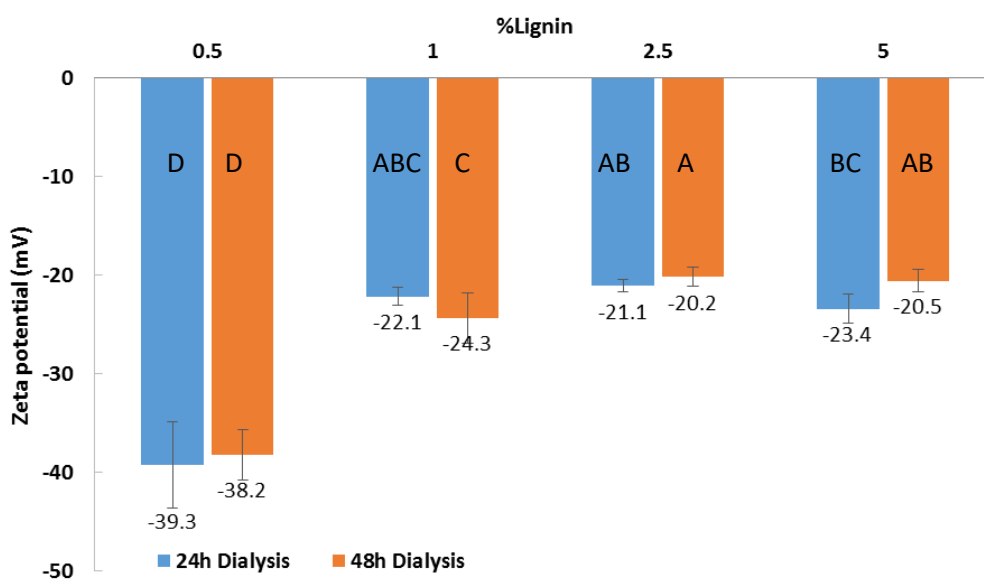


ภาพที่ 11 การกระจายตัวของอนุภาคลิกนินจากสารละลายลิกนินที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่าง ๆ หลังจากทำให้ dialysis เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

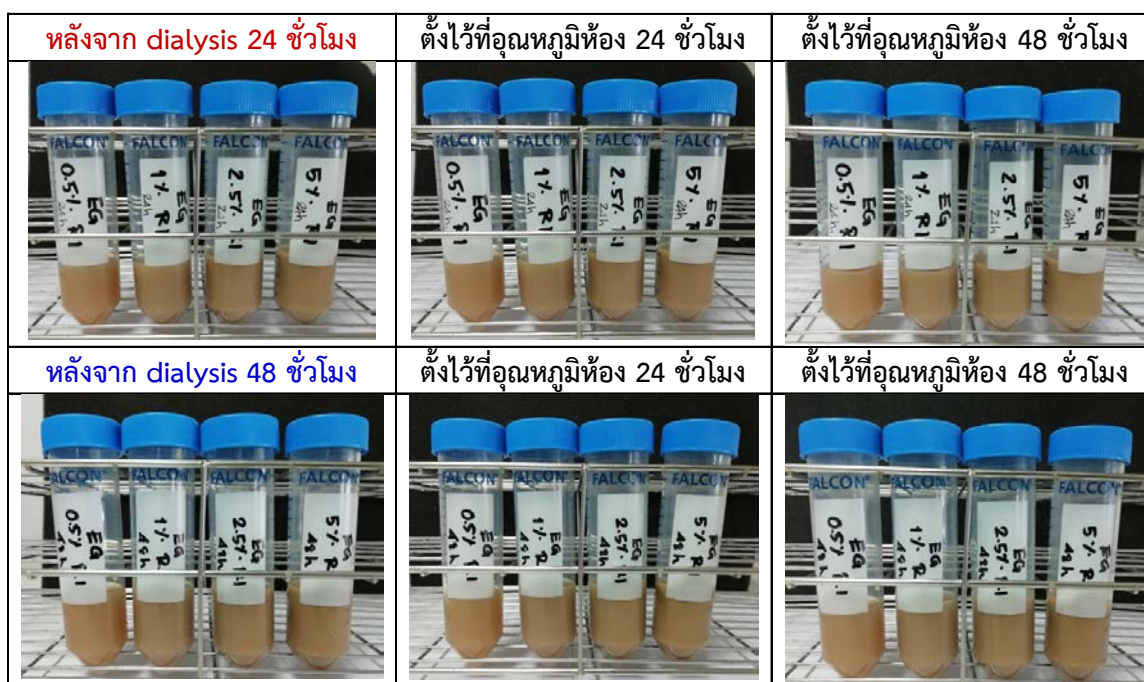


ภาพที่ 12 ลักษณะของอนุภาคลิกนินจากสารละลายลิกนินที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่าง ๆ หลังจากทำ dialysis เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเปรียบเทียบกับซิลเวอร์นาโน

นำสารแขวนลอยของอนุภาคลิกนินที่ได้ไปวัดค่าศักย์ซีต้า (zeta potential) ซึ่งอนุภาคแขวนลอยจะเสถียรเมื่อศักย์ซีต้ามีค่ามากกว่า + 30 mV หรือ น้อยกว่า -30 mV จากผลพบว่าค่า zeta potential ลดลงเมื่อความเข้มข้นของลิกนินเริ่มต้นสูงขึ้น โดยค่าที่ได้ลดลงจาก -39 mV ที่ความเข้มข้นลิกนิน 0.5 % ลงเหลือโดยเฉลี่ย -20 mV ที่ความเข้มข้นลิกนิน 1 – 5% (ภาพที่ 13) อย่างไรก็ตามลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง ยังไม่เกิดการตกตะกอน (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 13 ค่าศักย์ซีต้า (zeta potential) ของสารแขวนลอยอนุภาคนาโนลิกนินที่เตรียมจากสารละลายเริ่มต้นลิกนินความเข้มข้นต่าง ๆ และผ่านการลดขนาดด้วยวิธี dialysis ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง : ผลการทดสอบแสดงค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, ค่าที่กำกับด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



ภาพที่ 14 ลักษณะของสารแขวนลอยอนุภาคนาโนลิกันที่เตรียมจากสารละลายเริ่มต้นลิกันความเข้มข้นต่าง ๆ และผ่านการลดขนาดด้วยวิธี dialysis ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

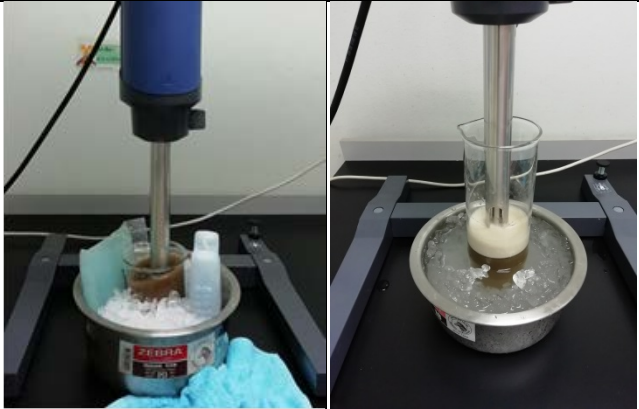
4.3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตอนุภาคนาโนลิกันด้วยวิธีทางกายภาพ

4.3.1 การลดขนาดอนุภาคลิกันด้วยเครื่อง homogenizer

ทำการทดลองลดขนาดอนุภาคลิกันโดยใช้เครื่อง homogenizer ที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที โดยทุก 30 นาทีจะหยุดพักเพื่อลดความร้อนและฟองที่เกิดขึ้น (ตารางที่ 3) ทำให้แต่ละครั้งของการลดขนาดใช้เวลาทั้งสิ้น 45 นาที ดังนั้นระยะเวลาการลดขนาดที่ 1 ชั่วโมง จึงหมายถึงระยะเวลาที่เปิดเครื่อง homogenizer เท่านั้น แต่ระยะเวลารวมที่ใช้ในการลดขนาดจะเท่ากับ 90 นาที ผลการลดขนาดพบว่าเมื่อใช้ระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นขนาดอนุภาคลดลงจาก 2 ไมครอน ซึ่งเป็นขนาดเริ่มต้นของลิกันในน้ำกลั่นเป็น 453 นาโนเมตร เมื่อใช้เวลาในการลดขนาด 4 ชั่วโมง ในขณะที่ความต่างศักย์ซีตามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จาก -36.73 mV เป็น -17.59 mV

แม้แนวโน้มการลดขนาดด้วยวิธีทางกายภาพจะช่วยให้น้ำขนาดของอนุภาคเล็กลง แต่เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาในการลดขนาดที่ 4 ชั่วโมง ซึ่งจะต้องมีระยะเวลาหยุดพัก 15 นาที ทั้งหมด 8 ครั้ง หรือ 2 ชั่วโมง ทำให้ระยะเวลาทั้งหมดที่ใช้คือ 6 ชั่วโมง ซึ่งเป็นข้อจำกัดในการทดสอบที่ระยะเวลานานขึ้น นอกจากนี้การขยายกำลังการผลิตอาจมีข้อจำกัดเนื่องจากขาดเครื่อง homogenizer ที่มีประสิทธิภาพสูงที่เหมาะสมจะใช้กับปริมาณสารที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ทดลองนำสารแขวนลอยลิกันในน้ำกลั่น และสารแขวนลอยอนุภาคนาโนลิกันที่เตรียมได้จากกระบวนการทางเคมี ไปลดขนาดด้วยเครื่อง microfluidizer (Microfluidics, M-110P, Switzerland) เพื่อศึกษาว่าสามารถทำให้น้ำขนาดอนุภาคลิกันเล็กลงได้อีกหรือไม่ โดยได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท พี ซี แอล โฮลดิ้ง จำกัด ให้ทดสอบด้วยเครื่องต้นแบบ

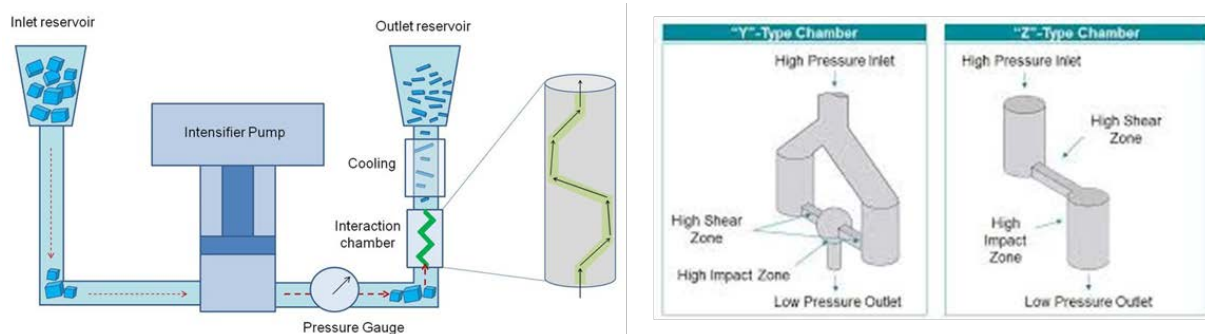
ตารางที่ 3 การทดลองลดขนาดอนุภาคลิกนินด้วยเครื่อง homogenizer ขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ซีต้าที่ระยะเวลาการทดลองต่าง ๆ

การทดลองลดขนาดด้วยเครื่อง homogenizer					
- การลดขนาดอนุภาคลิกนินด้วยเครื่อง homogenizer ที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที - หลังการลดขนาดทุก 30 นาที จะต้องนำตัวอย่างไปแช่ในน้ำแข็งนาน 15 นาที เพื่อลดอุณหภูมิและลดการเกิดฟอง - หลังจากครบระยะเวลาที่ทำการลดขนาด นำตัวอย่างไปตรวจสอบขนาดอนุภาค และค่าความต่างศักย์ zeta				ลักษณะตัวอย่างหลังการลดขนาดด้วยเครื่อง homogenizer ที่ระยะเวลาต่าง ๆ	
					
เริ่มต้น		1 ชั่วโมง		2 ชั่วโมง	
Particle sizes (nm)		618 ± 57.8		538 ± 25.6	
Zeta potential (mV)		-20.18 ± 2.25		-17.59 ± 2.24	

4.3.2 การทดลองลดขนาดอนุภาคลิกนินด้วยเครื่อง microfluidizer

จากผลการทดลองขนาดอนุภาคลิกนินจากทั้งวิธีทางเคมีและวิธีการทางกายภาพพบว่าวิธีการทางเคมีสามารถลดขนาดอนุภาคลิกนินได้เล็กกว่า เพื่อทดสอบว่าจะสามารถลดขนาดของอนุภาคนาโนลิกนินได้จากทั้ง 2 วิธีการข้างต้นให้เล็กลงได้อีกหรือไม่ จึงได้ทดลองนำสารแขวนลอยลิกนินและอนุภาคนาโนลิกนินมาทดลองลดขนาดด้วยเครื่อง microfluidizer ซึ่งหลักการทำงาน คือ การลดขนาดอนุภาคซึ่งแขวนลอยอยู่ในของเหลวด้วยแรงดันสูงจากปั๊มเข้าสู่ interaction chamber ซึ่งมีลักษณะการออกแบบให้ตัวอย่างผ่านเข้าไปด้วยความเร็วสูง ลักษณะดังกล่าวทำให้เกิดแรงเฉือนสูงที่ส่งผลให้อนุภาคมีขนาดเล็กลง (ภาพที่ 15 (1))

จากผลการลดขนาดด้วยเครื่อง microfluidizer ที่สภาวะความดัน 25000 psi และจำนวนรอบเท่ากับ 5, 10 และ 15 รอบ พบว่ามีประสิทธิภาพในการลดขนาดตัวอย่างสารแขวนลอยลิกนินได้ตามจำนวนรอบที่เพิ่มขึ้น โดยระยะเวลาที่ใช้ในการลดขนาดอนุภาคลิกนินด้วยเครื่อง microfluidizer จากขนาดเริ่มต้น 2 ไมครอน ลงเหลือประมาณ 800 นาโนเมตร (ตารางที่ 4) ใช้เวลาเพียงประมาณ 45 นาที (15 รอบ) เนื่องจากอัตราการไหลของตัวอย่างสูงถึง 100 มล./นาที ในขณะที่การใช้เครื่อง homogenizer ที่ 8,000 รอบ/นาทีนาน 1 ชั่วโมงหรือรวม 90 นาที สามารถลดขนาดได้อยู่ที่ประมาณ 600 นาโนเมตร (ตารางที่ 3) อย่างไรก็ตามเนื่องจากเครื่อง microfluidizer เป็นเครื่องที่ขอความอนุเคราะห์ในการใช้งานซึ่งในห้วง ปฏิบัติการของบริษัทไม่สามารถทำการวัดขนาดอนุภาคได้ทันทีหลังการลดขนาด จึงไม่สามารถทดสอบจำนวนรอบเพิ่มเติมได้ แต่จากผลการทดสอบเบื้องต้นกล่าวได้ว่า เครื่อง microfluidizer เป็นเครื่องที่สามารถลดขนาดอนุภาคลิกนินได้ดีและง่ายต่อการขยายกำลังการผลิต



(1) การทำงานของเครื่อง microfluidizer และชนิดของ interaction chamber
ที่มา : Karagiannidis, Hodge et al. (2016)

ตัวอย่าง	การทดลอง	ลักษณะตัวอย่างหลังลดขนาด
	เครื่อง microfluidizer (processing pressure 25,000 psi (1723 bar)) 	
สารแขวนลอยลิกลินในน้ำ deionized (0.5%w/v)		5 รอบ 10 รอบ 15 รอบ
	 	
สารแขวนลอยอนุภาคนาโนลิกลิน (0.5%w/v)	การใส่ตัวอย่าง การเก็บตัวอย่าง	5 รอบ 10 รอบ 15 รอบ

(2) การลดขนาดลิกลินด้วยเครื่อง microfluidizer

ภาพที่ 15 หลักการทำงานของเครื่อง microfluidizer (1) และการทดลองลดขนาดอนุภาคลิกลินด้วยเครื่อง microfluidizer (2)

กรณีตัวอย่างของสารแขวนลอยนาโนลิกลินพบว่าที่สภาวะของเครื่อง microfluidizer ในการทดลอง (ความดัน 25000 psi, interaction chamber แบบ Y-type ที่ 15 รอบ) ไม่สามารถลดขนาดอนุภาคลิกลินได้ต่ำกว่า 160 นาโนเมตร โดยเฉพาะชนิดของ interaction chamber ซึ่ง Z-type จะมีลักษณะที่ทำให้เกิดแรงเฉือนมากกว่า (ภาพที่ 15 (1))

ตารางที่ 4 ผลการทดลองลดขนาดอนุภาคของสารแขวนลอยลิกนินและสารแขวนลอยนาโนลิกนินด้วยเครื่อง microfluidizer

ตัวอย่าง		particle size (nm)*	zeta potential (mV)*
0.5% สารแขวนลอยลิกนิน	เริ่มต้น	2,602 ^A ± 170.8	-40.83 ^{CD} ± 1.59
	5 รอบ	1,588 ^B ± 156.0	-22.57 ^A ± 0.49
	10 รอบ	1,079 ^C ± 261.0	-21.19 ^A ± 1.73
	15 รอบ	895.1 ^C ± 33.1	-21.46 ^A ± 0.71
0.5% สารแขวนลอยนาโนลิกนิน	เริ่มต้น	173.7 ^D ± 1.7	-31.68 ^B ± 1.42
	5 รอบ	164.9 ^D ± 1.3	-37.96 ^C ± 1.04
	10 รอบ	164.2 ^D ± 1.7	-43.61 ^D ± 0.45
	15 รอบ	161.8 ^D ± 2.2	-41.72 ^{CD} ± 2.28

*ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการวัด 3 ครั้ง

: ค่าที่แสดงในแต่ละคอลัมน์กำกับด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

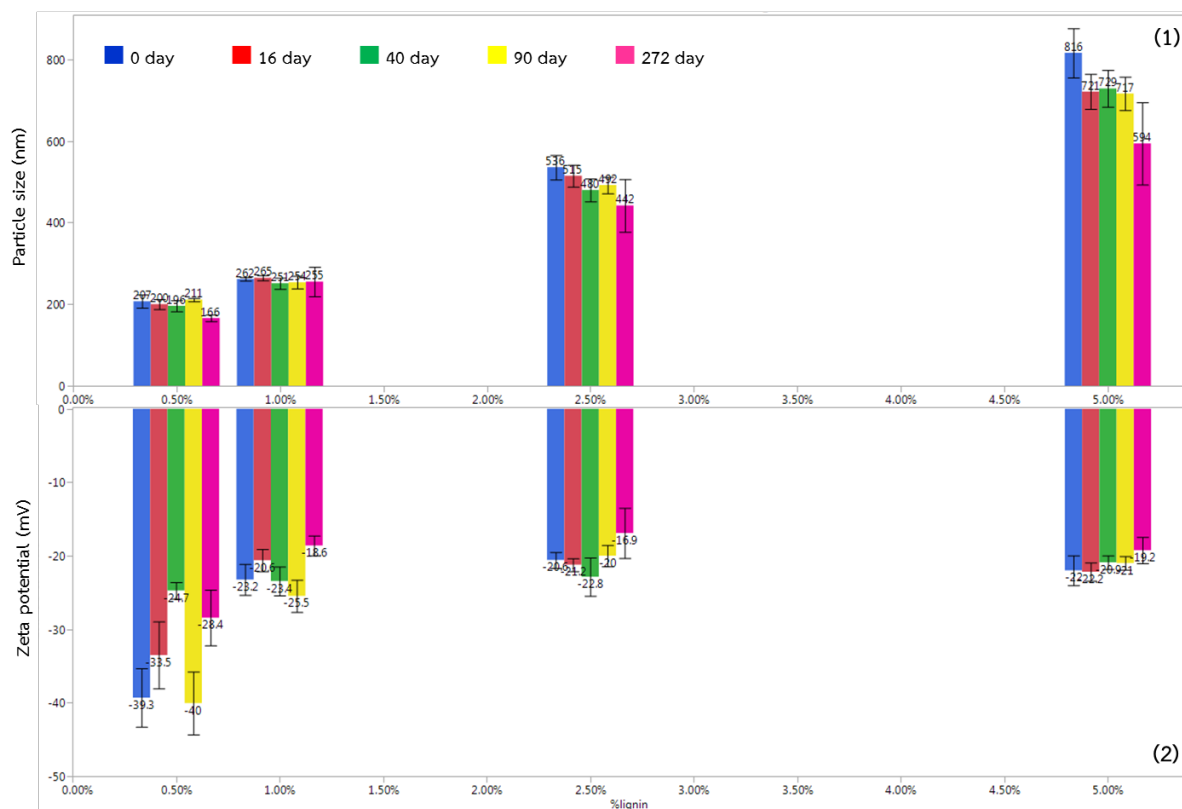
เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคลิกนินที่ได้จากการเตรียมด้วยวิธีทางกายภาพและทางเคมีพบว่า ทั้งสองวิธีการให้ผลขนาดอนุภาคและความเสียรของอนุภาควัดจากค่า zeta potential ในแนวโน้มที่ตรงข้ามกัน โดยวิธีการทางกายภาพ ค่าอนุภาคที่ลดลงจะแปรผกผันกับค่า zeta potential โดยค่าความปั่นป่วนเริ่มต้นจนถึงขนาดอนุภาคที่เล็กที่สุดทั้งการใช้ homogenizer และ microfluidizer มีค่า zeta potential จาก -36.73 เป็น -17.59 mV (ตารางที่ 3) และจาก -40.83 เป็น -21.46 mV (ตารางที่ 4) ตามลำดับ ในขณะที่อนุภาคลิกนินที่ได้จากวิธีการทางเคมีพบว่าที่อนุภาคนาโนเล็กค่า zeta potential จะยังมีความเป็นลบมากซึ่งแสดงถึงความเสียรของสารแขวนลอย ซึ่งเมื่อนำตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมด้วยวิธีทางเคมีไปทดลองลดขนาดเพิ่มเติมด้วยเครื่อง microfluidizer ก็พบว่าผลเป็นไปในทางเดียวกัน (ตารางที่ 4) นอกจากนี้การเตรียมอนุภาคลิกนินด้วยวิธีทางเคมีให้ขนาดอนุภาคเล็กกว่าที่ได้จากการเตรียมด้วยวิธีทางกายภาพ ดังนั้นในการทดสอบขั้นต่อไปจึงเลือกวิธีการผลิตอนุภาคนาโนลิกนินด้วยวิธีการทางเคมี โดยใช้สภาวะดังนี้

1. ทำการสกัดลิกนิน โดยใช้ 1% NaOH อัตราส่วนกากอ้อย : 1% NaOH เท่ากับ 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงแยกลิกนินออกโดยการปรับ pH ให้เท่ากับ 2 ด้วย 50% H₂SO₄ ระหว่างการกรองทำการล้างลิกนินที่ตกตะกอนได้เพื่อกำจัดเอมิเซลลูโลสและสารปนเปื้อนอื่น อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนกว่าลิกนินจะแห้ง
2. ทำการเตรียมสารละลายลิกนินใน ethylene glycol ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.5% โดยน้ำหนัก โดยใช้เวลาในการกวนผสม 2 ชั่วโมง ด้วย magnetic stirrer จากนั้นกรองลิกนินส่วนที่ไม่ละลายออก
3. นำสารละลายลิกนินที่ได้ไปทำการลดขนาดลิกนินด้วยวิธี dialysis (MWCO 6 – 8 kDa) ในน้ำกลั่น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเปลี่ยนน้ำกลั่น 3 – 4 ครั้ง สามารถปรับความเข้มข้นของสารแขวนลอยลิกนินที่ได้ให้ตรงกับความต้องการด้วยการปั่นเหวี่ยงแยกอนุภาคและกระจายตัวใหม่ (resuspension) ในน้ำกลั่น

4.4. การศึกษาความเสียรของอนุภาคนาโนลิกนินระหว่างการเก็บรักษา

เนื่องจากตัวชี้วัดที่มีการศึกษาเพื่อบ่งบอกถึงความเสียรของสารแขวนลอยคือ ค่า zeta potential ในโครงการนี้ได้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า zeta potential ในตัวอย่างสารแขวนลอยอนุภาคนาโนลิกนินหลังการเตรียมที่เวลา 24 ชั่วโมง 16, 40, 90 และ 272 วัน พบว่า ค่า zeta potential ของตัวอย่าง

ลิกนินที่ความเข้มข้นสูง 2.5% – 5% มีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยโดยเมื่อเวลาผ่านไป 272 วัน มีค่า zeta potential ลดลงประมาณ 3 mV ในขณะที่ตัวอย่างจากลิกนินที่ความเข้มข้น 0.5 - 1% ซึ่งมีขนาดอนุภาคเล็กกว่ามีค่า zeta potential เปลี่ยนแปลงประมาณ - 10 mV (ภาพที่ 16) อย่างไรก็ตามขนาดอนุภาคลิกนินเฉลี่ยที่เตรียมจากความเข้มข้นของลิกนินต่ำจะมีการเปลี่ยนแปลงของขนาดอนุภาคน้อยกว่าตัวอย่างที่เตรียมจากความเข้มข้นลิกนินเริ่มต้นสูง



ภาพที่ 16 ขนาดอนุภาคนาโนลิกนินเฉลี่ยที่เตรียมจากสารละลายลิกนินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (1) และค่า zeta potential (2) หลังจากการลดขนาด (0 วัน) และหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 16 - 272 วัน (ขนาดอนุภาคและค่า zeta potential ที่ 0 วัน; ■, 16 วัน; ■, 40 วัน; ■, 90 วัน; ■ และ 272 วัน; ■)

ผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lienonen และคณะ (2016) ซึ่งทำการทดลองใช้สารละลายลิกนินใน THF ที่ความเข้มข้น 0.1, 1, 2, 5 และ 10 มก./มล. ในการเตรียมอนุภาคลิกนินด้วยวิธีการ dialysis และพบว่าขนาดของอนุภาคลิกนินแปรผันตามความเข้มข้นเริ่มต้นลิกนิน โดยขนาดอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นอาจเกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดนิวเคลียส (nucleation growth) ในระหว่างที่ตัวทำละลายอินทรีย์ (THF) ซึ่งที่ความเข้มข้นลิกนินสูงทำให้มีปริมาณลิกนินที่สามารถเกิดเป็นนิวเคลียสได้มากและอย่างรวดเร็ว ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยนี้จะเห็นได้จากที่ความเข้มข้นลิกนินเริ่มต้นสูงจะมีกระจายตัวของอนุภาคมากขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 10

4.5. ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังของมนุษย์

จากผลการทดสอบความเป็นพิษของอนุภาคนาโนลิกนิน ซิลเวอร์นาโนเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Sodium lauryl sulfate ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ใช้อย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดและเครื่องสำอางต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังของมนุษย์ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์เมื่อได้รับตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตัวอย่าง ความเข้มข้น (mg/ml)	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์				
	0.0001	0.001	0.01	0.1	1
0.5% ลิกนิน	104.54 ± 2.57	103.62 ± 1.05	102.57 ± 0.76	101.15 ± 0.78	100.25 ± 2.34
1% ลิกนิน	104.91 ± 1.41	107.39 ± 1.70	108.24 ± 0.93	110.89 ± 0.43	113.65 ± 1.73
2.5% ลิกนิน	112.69 ± 2.79	116.37 ± 3.27	119.36 ± 3.61	121.77 ± 2.14	126.31 ± 3.15
5% ลิกนิน	109.66 ± 0.45	115.16 ± 2.34	119.76 ± 3.14	122.48 ± 2.80	124.58 ± 1.03
1% Nanosilver	106.54 ± 2.07	108.46 ± 2.94	117.28 ± 1.68	117.81 ± 1.95	122.91 ± 0.95
Sodium lauryl sulfate	104.00 ± 1.87	103.96 ± 1.88	102.44 ± 1.85	16.27 ± 4.51	4.55 ± 0.42

: ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลพบว่าอนุภาคนาโนลิกนินและซิลเวอร์นาโนที่เจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์แล้วที่ความเข้มข้น 0.0001 – 1 มก./มล. ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังของมนุษย์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์เฉลี่ย 100 – 126% ในขณะที่ Sodium lauryl sulphate ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 1 มก./มล. เป็นพิษต่อเซลล์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ $16.27 \pm 4.51\%$ และ $4.55 \pm 0.42\%$ ตามลำดับ

4.6. ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ

▪ การทดสอบครั้งที่ 1

ทำการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของอนุภาคนาโนลิกนินในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (minimal inhibitory concentration; MIC) กลุ่มที่ก่อให้เกิดการเสียสภาพของเครื่องสำอางเปรียบเทียบกับอนุภาคซิลเวอร์นาโน ได้แก่เชื้อ

- *Staphylococcus aureus* (ATCC25923)
- *Streptococcus mutans* (ATCC25175)
- *Propionibacterium acnes* (ATCC11828)
- *Candida albican* (ATCC10231)

ผลการทดสอบพบว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. mutans* ได้แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *P. acnes* และ *C. albican* ได้ ในขณะที่อนุภาคนาโนลิกนินที่ความเข้มข้น 0.5% ไม่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 4 ชนิด โดยค่า MIC และ MBC ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนต่อเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 0.008% และ 0.016% ตามลำดับ และต่อการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* เท่ากับ 0.063% และ 0.125% ตามลำดับ ทั้งนี้จะได้ทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อของอนุภาคนาโนลิกนินในกลุ่มอื่นต่อไปเพื่อตรวจสอบว่าสามารถยับยั้งเชื้อกลุ่มใดได้บ้าง

▪ การทดสอบครั้งที่ 2

จากผลการทดสอบครั้งที่ 1 ซึ่งผลการยับยั้งเชื้อของอนุภาคนาโนลิกนินที่ความเข้มข้น 0.5% หรือ 5000 ppm เป็นลบ จึงทำการทดสอบอีกครั้งกับเชื้อก่อโรคลกลุ่มอื่นทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยในการทดสอบครั้งที่ 2 มีการเตรียมอนุภาคนาโนลิกนินที่ความเข้มข้นสูงขึ้น 10 เท่าคือ 50,000 ppm และทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสารละลายลิกนินเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 0.5 % ก่อนการลดขนาด ผลการทดสอบพบว่าอนุภาคนาโนลิกนินไม่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบได้ ในขณะที่ สารละลายลิกนินใน ethylene glycol ที่ความเข้มข้น 0.5% สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้ง 4 ชนิด ทั้งนี้มีการทดสอบเทียบกับ ethylene glycol

ซึ่งใช้เป็นตัวทำลายพบว่าต้องใช้ที่ปริมาณมากกว่า 200 เท่าจึงจะสามารถยับยั้งเชื้อได้ แสดงให้เห็นว่าการยับยั้งเชื้อเป็นผลมาจากลิกนิน

ตารางที่ 6 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

สารทดสอบ	MIC (minimal inhibitory concentration) (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)			
	<i>S. aureus</i> (+)	<i>S. epidermidis</i> (+)	<i>E. coli</i> (-)	<i>P. aeruginosa</i> (-)
SN (10,000 ppm)	39.06	78.06	78.06	39.06
0.5% lignin in EG*	625	625	625	625
LN 1 (5,000 ppm)*	-	-	-	-
LN 2 (5,000 ppm)**	-	-	-	-
LN 2 (50,000 ppm)**	-	-	-	-
EG (Control)	125,000	125,000	125,000	125,000

หมายเหตุ SN: Silver nanoparticle

LN: Lignin nanoparticle

* สารละลายลิกนินเริ่มต้นที่ใช้ในการเตรียมอนุภาคนาโนลิกนิน LN1 มีอายุการเก็บรักษา 20 วัน ณ วันทดสอบ

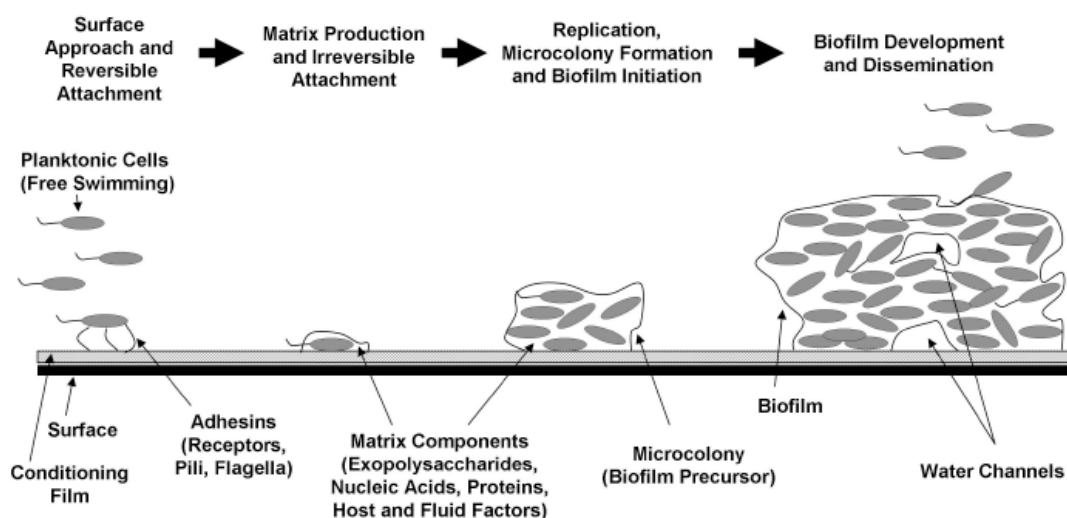
** อนุภาคนาโนลิกนิน LN2 ที่มีอายุการเก็บรักษา 110 วัน ณ วันทดสอบ

เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่มีการศึกษาด้านการยับยั้งเชื้อด้วยลิกนินรวมทั้งสารในกลุ่มอนุภาคนาโนพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าทำลายเชื้อที่สำคัญโดยเฉพาะแบคทีเรียนอกเหนือจากขนาดอนุภาค และรูปร่างของอนุภาคแล้ว คือ การจับตัวบนเซลล์แบคทีเรียโดยอาศัยความแตกต่างของประจุบนอนุภาคนาโนและบนเซลล์แบคทีเรีย โดยทั่วไปโครงสร้างทางเคมีบนผิวเซลล์แบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบแตกต่างกันโดยโครงสร้างผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบประกอบด้วยชั้นของ lipopolysaccharide เป็นชั้นนอกสุดและชั้นในถัดมาคือ peptidoglycan ในขณะที่แกรมบวกมีโครงสร้างผนังเซลล์เป็นชั้นของ peptidoglycan เป็นหลัก อย่างไรก็ตามประจุบนเซลล์ผิวของแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มเป็นลบ ส่งผลให้อนุภาคนาโนที่มีประจุเป็นบวกสามารถเข้าทำลายได้ดีกว่า โดยงานวิจัยของ Abbaszadegan และคณะ (2015) พบว่าเมื่อทดลองใช้อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่มีประจุบวก ลบ เป็นกลาง อนุภาคที่มีประจุบวกสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มได้ดีที่สุดในขณะที่อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่มีความเป็นกลาง และลบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อในระดับปานกลางและน้อยที่สุดตามลำดับ ซึ่งอนุภาคนาโนจากโลหะชนิดอื่น เช่น iron oxide ที่เตรียมทั้งในรูปแบบที่มีประจุบวกและลบก็ให้ผลในการยับยั้งเชื้อที่สูงกว่าจากอนุภาคที่มีการปรับให้ประจุเป็นบวกเช่นเดียวกัน (Arakha et al., 2015) งานวิจัยดังกล่าวอธิบายถึงผลสาเหตุที่อนุภาคนาโนลิกนินในงานวิจัยนี้ซึ่งมีค่า zeta potential ที่เป็นลบสูงแสดงถึงประจุรอบอนุภาคที่เป็นลบไม่น่ามารถยับยั้งการเชื้อได้ แต่มีความเป็นไปได้ว่าการใช้ความเข้มข้นของอนุภาคสูงขึ้นอาจส่งผลให้เกิดความหนาแน่นของโมเลกุล (molecular crowding) และสามารถรบกวนการทำงานของเซลล์แบคทีเรียได้ในที่สุด (Wang et al., 2017)

▪ การทดสอบครั้งที่ 3

ทดลองทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อเพิ่มเติมโดยใช้ความเข้มข้นของอนุภาคนาโนลิกนินเพิ่มขึ้นเป็น 800,000 ppm และทดสอบในแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบกลุ่มละ 5 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับอนุภาคซิลเวอร์นาโนและสารละลายลิกนินเข้มข้น 0.5 % ใน EG

ผลการทดสอบพบว่าอนุภาคนาโนลิควินไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มเมื่อทำการทดสอบใน microplate ในขณะที่อนุภาคซิลเวอร์นาโนยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้ง 10 ชนิดที่ทดสอบ และสารละลายลิควินความเข้มข้น 0.5% ใน EG ที่เตรียมไว้และมีอายุการเก็บรักษา 25 วัน และ 8 เดือน สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 9 ชนิดที่ทดสอบ ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าลิควินในรูปของสารละลายสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยมีประสิทธิภาพค่อนข้างคงที่แม้จะเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 8 เดือน เมื่อพิจารณาจากค่า MIC (ตารางที่ 7) โดยมีเชื้อเพียง 2 สายพันธุ์ คือ *M. luteus* และ *S. aureus* ที่มีค่า MIC เพิ่มขึ้นเมื่อทดสอบด้วยสารละลายลิควินใน EG อายุ 8 เดือน กล่าวได้ว่าประจุลบที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวอนุภาคนาโนลิควิน ซึ่งอาจมาจากทั้งโครงสร้างที่เป็น phenolic hydroxyl group และ carboxyl groups แม้จะทำให้สารแขวนลอยของอนุภาคนาโนมีความเสถียรเป็นอย่างมากโดยยังคงลักษณะความเป็นสารแขวนลอยได้นานกว่า 9 เดือน แต่ขณะเดียวกันส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อของอนุภาคนาโนลิควินอย่างไรก็ตามในสภาพแวดล้อมจริงที่เชื้อแบคทีเรียมักไม่ได้กระจายตัวเป็นโคลนีเดี่ยวแต่หลังจากการเกาะบนพื้นผิวที่เหมาะสม (adhesion) เชื้อจะมีการเพิ่มจำนวนและสร้างสาร biofilm ซึ่งเป็นเหมือนเกราะป้องกันและสร้างสภาวะที่เอื้อต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อซึ่งอาจก่อให้เกิดโรคจากสารที่สร้างขึ้นในระหว่างการเพิ่มจำนวน (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 17 กระบวนการเกิด biofilm (Cadieux et al., 2008)

แม้ในการทดสอบการยับยั้งเชื้อใน microplate ตามวิธีการที่ใช้ในงานวิจัยนี้จะส่งผลเป็นลบ แต่จากการศึกษาของ Gottenbos และคณะ (2001) พบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบสามารถเกาะบนพื้นผิว polymethacrylate (PMMA) ที่มีประจุบวกได้อย่างรวดเร็วแต่มีเพียงแบคทีเรียแกรมบวก คือ *S. aureus* และ *S. epidermis* ที่สามารถเจริญเติบโตได้ในขณะที่ไม่พบการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียแกรมลบ ในขณะที่บนพื้นผิว PMMA ที่มีประจุลบจะมีการเกาะของเชื้อบนพื้นผิวเกิดขึ้นน้อยกว่า แต่หากมีเชื้อที่สามารถเกาะบนพื้นผิวได้เชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและลบจะสามารถเพิ่มจำนวนบนพื้นผิวที่มีประจุลบได้ เห็นได้ว่างานวิจัยทั้งทางด้านการพัฒนาอนุภาคนาโนและการศึกษากลไกการยับยั้งเชื้อยังไม่มีข้อมูลที่ชัดเจนแม้จะมีการศึกษาอย่างแพร่หลาย ประกอบกับวิธีการทดสอบการยับยั้งแต่ละวิธีที่แต่ละงานวิจัยเลือกใช้อาจไม่บ่งบอกถึงกลไกทั้งหมดที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของอนุภาคนาโน

ตารางที่ 7 ความเข้มข้นต่ำสุด (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) ของสารทดสอบในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) และทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC)

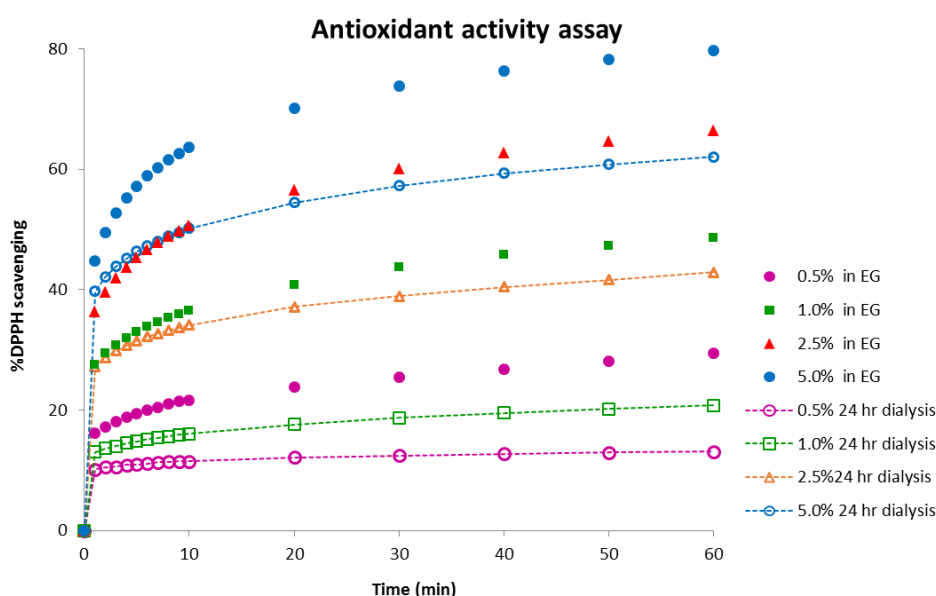
เชื้อจุลินทรีย์	Gram	Minimal Inhibitory Concentration (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)					Minimal Bactericidal Concentration (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)				
		SN	LN	EG	New	Old	SN	LN	EG	New	Old
<i>E. coli</i>	-	39.06	-	250,000	1,250	1,250	78.12	-	250,000	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	19.53	-	125,000	625	625	78.12	-	250,000	1,250	1,250
<i>P. fluorescens</i>	-	39.06	-	125,000	625	625	625.00	-	125,000	-	-
<i>S. Typhimurium</i>	-	39.06	-	125,000	625	625	78.12	-	125,000	1,250	1,250
<i>P. acnes</i>	-	625	-	-	-	-	625	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	+	78.12	-	250,000	1,250	1,250	312.2	-	250,000	-	-
<i>Bacillus sp.</i>	+	39.06	-	250,000	1,250	1,250	312.50	-	250,000	1,250	1,250
<i>M. luteus</i>	+	39.06	-	125,000	625	1,250	78.12	-	250,000	1,250	1,250
<i>S. aureus</i> (MRSA)	+	19.53	-	125,000	625	625	39.06	-	125,000	-	1,250
<i>S. aureus</i>	+	19.53	-	125,000	625	1,250	78.12	-	250,000	1,250	1,250

หมายเหตุ SN: อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ความเข้มข้น 10,000 ppm
LN: อนุภาคนาโนลิกันที่ความเข้มข้น 800,000 ppm
EG: Ethylene glycol
New: สารละลายลิกันใน EG ที่ความเข้มข้น 0.5% (อายุการเก็บรักษา 25 วัน ในวันที่ทดสอบ)
Old: สารละลายลิกันใน EG ที่ความเข้มข้น 0.5% (อายุการเก็บรักษา 240 วัน ในวันที่ทดสอบ)

ในส่วนของการศึกษาการยับยั้งเชื้อกล่าวได้ว่าสารละลายลิกลินใน EG มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ในขณะที่อนุภาคนาโนลิกลินไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้เนื่องจากอนุภาคที่มีประจุลบ แต่หากพิจารณาการประยุกต์ใช้ในลักษณะเป็นสารเคลือบพื้นผิว อาจมีความเป็นไปได้ในการลดการจับตัวของแบคทีเรียบนพื้นผิวโดยเฉพาะพื้นผิวของอุปกรณ์ทางการแพทย์ ซึ่งเป็นปัญหาหนึ่งของการติดเชื้อของผู้ป่วย

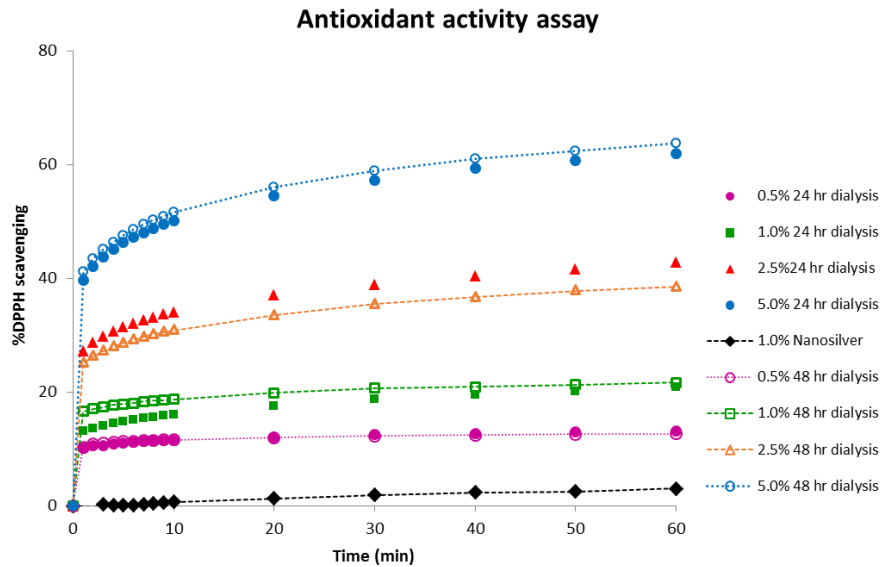
4.7. ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

เพื่อให้เห็นแนวทางการนำไปประยุกต์ใช้และเนื่องจากความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็นคุณสมบัติเด่นหนึ่งของลิกลิน ในงานวิจัยนี้จะได้ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของอนุภาคนาโนลิกลินที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ในขั้นตอนที่เตรียมเป็นสารละลายลิกลินใน ethylene glycol (EG) เปรียบเทียบกับอนุภาคลิกลินที่ลดขนาดแล้วด้วยเทคนิค dialysis ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง และอนุภาคซิลเวอร์นาโน ด้วยวิธี DPPH assay โดยแสดงผลเป็นค่า % DPPH scavenging ซึ่ง % DPPH scavenging สูงแสดงถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี



ภาพที่ 18 ค่า %DPPH scavenging เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารละลายลิกลินใน ethylene glycol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ก่อนลดขนาดและหลังจากลดขนาดด้วยวิธี dialysis นาน 24 ชั่วโมง

ผลการทดสอบพบว่าลิกลินใน EG ก่อนลดขนาดมีค่า %DPPH scavenging สูงกว่าอนุภาคลิกลินที่ลดขนาดด้วยเทคนิค dialysis ที่ 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 18) โดย %DPPH scavenging ของสารละลายลิกลินใน EG ที่ความเข้มข้น 5% ที่เวลาทดสอบ 60 นาที มีค่าเท่ากับ 79.8% และเมื่อนำไปลดขนาดผลพบว่า มีค่า %DPPH scavenging เท่ากับ 62% ซึ่งแนวโน้มดังกล่าวพบในตัวอย่างทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ



ภาพที่ 19 ค่า %DPPH scavenging เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระของอนุภาคลิคินินหลังจากลดขนาดด้วยวิธี dialysis นาน 24 และ 48 ชั่วโมงและอนุภาคซิลเวอร์นาโน

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระระหว่างตัวอย่างในรูปอนุภาคนาโน (นาโนลิคินินหลังลดขนาดด้วยวิธี dialysis 24 และ 48 ชั่วโมง และอนุภาคซิลเวอร์นาโน) ผลพบว่าเวลาการลดขนาดที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของลิคินิน (ภาพที่ 19) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาผลของอนุภาคซิลเวอร์นาโนพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่เวลาทดสอบ 60 นาที มีค่า %DPPH scavenging เท่ากับ 3% กล่าวได้ว่าการต้านอนุมูลอิสระไม่ใช่คุณสมบัติเด่นของอนุภาคซิลเวอร์นาโน

บรรณานุกรม – 1

- Abbaszadegan, Abbas, et al. (2015). "The Effect of Charge at the Surface of Silver Nanoparticles on Antimicrobial Activity against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria: A Preliminary Study." Journal of Nanomaterials 2015: 1-8.
- Ahmed, Shakeel, et al. (2016). "A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise." Journal of Advanced Research 7(1): 17-28.
- Arakha, Manoranjan, et al. (2015). "Antimicrobial activity of iron oxide nanoparticle upon modulation of nanoparticle-bacteria interface." Scientific Reports 5: 14813.
- Azadfar, Mohammadali, et al. (2015). "Structural characterization of lignin: A potential source of antioxidants guaiacol and 4-vinylguaiacol." International Journal of Biological Macromolecules 75: 58-66.
- Beisl, Stefan, et al. (2017). "Lignin from Micro- to Nanosize: Applications." International Journal of Molecular Sciences 18(11): 2367.
- Bumbudsanpharoke, Nattinee and Seonghyuk Ko (2015). Nano-Food Packaging: An Overview of Market, Migration Research, and Safety Regulations.
- Cadieux, Peter, et al. (2008). "Implications of Biofilm Formation on Urological Devices." AIP Conference Proceedings 1049.
- Camille, Frangville, et al. (2012). "Fabrication of Environmentally Biodegradable Lignin Nanoparticles." ChemPhysChem 13(18): 4235-4243.
- Donga, X., et al. (2011). "Antimicrobial and antioxidant activities of lignin from residue of corn stover to ethanol production." Industrial Crops and Products 34: 1629 - 1634.
- Fagali, N. and A. Catala (2008). "Antioxidant activity of conjugated linoleic acid isomers, linoleic acid and its methyl ester determined by photoluminescence and DPPH techniques." Biophysical Chemistry 137(1): 56-62.
- Gottenbos, Bart, et al. (2001). "Antimicrobial effects of positively charged surfaces on adhering Gram-positive and Gram-negative bacteria." Journal of Antimicrobial Chemotherapy 48(1): 7-13.
- Karagiannidis, Panagiotis, et al. (2016). "Microfluidization of Graphite and Formulation of Graphene-Based Conductive Inks." ACS Nano 11.
- Li, Zhili and Yuanyuan Ge (2012). "Antioxidant activities of lignin extracted from sugarcane bagasse via different chemical procedures." International Journal of Biological Macromolecules 51(5): 1116-1120.
- Lievonen, Miikka, et al. (2016). "A simple process for lignin nanoparticle preparation." Green Chemistry 18(5): 1416-1422.
- Lievonen, Mikka (2014). Preparation and characterization of lignin nanoparticles. School of chemical technology, Aalto University. **Master:** 70.

-
- Pereira, Félix M., et al. (2003). "Estimation of solubility effect on the herbicide controlled-release kinetics from lignin-based formulations." Applied Biochemistry and Biotechnology 108(1): 913-919.
- Prabhu, Sukumaran and Eldho K. Poulose (2012). "Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects." International Nano Letters 2(1): 32.
- Quang Huy, Tran, et al. (2013). "Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives." Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology 4(3): 033001.
- Richter, Alexander P., et al. (2016). "Synthesis and Characterization of Biodegradable Lignin Nanoparticles with Tunable Surface Properties." Langmuir 32(25): 6468-6477.
- Schneider, Gregor (2017). "Antimicrobial silver nanoparticles – regulatory situation in the European Union." Materials Today: Proceedings 4: S200-S207.
- Vinardell, Maria Pilar and Montserrat Mitjans (2017). "Lignins and Their Derivatives with Beneficial Effects on Human Health." International Journal of Molecular Sciences 18(6): 1219.
- Wang, Linlin, et al. (2017). "The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future." International journal of nanomedicine 12: 1227-1249.
- Zabaleta, Ana Toledano (2012). Lignin extraction, purification and depolymerization study. Departamento de Ingeniería Química y del Medio Ambiente, Universidad del País Vasco. **Ph.D.:** 280.
- Zhang, Xi-Feng, et al. (2016). "Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches." International Journal of Molecular Sciences 17(9): 1534.

บทที่ 5 วิเคราะห์ต้นทุนการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการและความเป็นไปได้เบื้องต้นทางการตลาด เพื่อจัดทำแบบจำลองทางธุรกิจ

5.1 การศึกษาความเป็นไปได้เบื้องต้นทางการตลาด

เทคโนโลยีนาโน คือ การผสมผสานและประยุกต์องค์ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์ในการสร้างสรรค์วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และสสารต่างๆ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ ที่มีประสิทธิภาพการทำงานหรือมีคุณสมบัติที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งขนาดของอนุภาคในระดับนาโนจะอยู่ในช่วงประมาณ 1 - 100 นาโนเมตร โดยเทคโนโลยี นาโนมีการพัฒนาและนำมาประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ มากมาย ทั้งที่เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ และไม่ใช้ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ (ณยา วงษ์พูน และใจพร พุ่มคำ, 2557) เช่น ด้านการแพทย์ เครื่องสำอาง อาหาร ยานยนต์ คอมพิวเตอร์ เทคโนโลยีด้านอวกาศ การเกษตร และสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์ที่มีการนำเทคโนโลยีนาโนมาประยุกต์ใช้อย่างอนุภาคเงินนาโน หรือซิลเวอร์นาโน (Silver Nano) กำลังเป็นที่นิยม และมีการใช้ประโยชน์จากเงินนาโนหรือซิลเวอร์นาโน (Silver Nano) อย่างแพร่หลาย โดยจะเห็นได้จากมูลค่าทางการตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งจากข้อมูลมูลค่าการนำเข้า-ส่งออกของฐานข้อมูล Global Trade Atlas ระหว่างปี 2557-2561 พบว่า ประเทศที่มีมูลค่าการส่งออกอนุภาคเงินนาโนหรือซิลเวอร์นาโน (Silver Nano) ที่อยู่ในรูปแบบของ Silver Nitrate มากที่สุดของโลก คือ สหราชอาณาจักร โดยในปี 2561 มีมูลค่าการส่งออกอยู่ที่ 2.51 พันล้านบาท และมีมูลค่าการส่งออกเฉลี่ยต่อปีอยู่ที่ 2.72 พันล้านบาท รองลงมาคือ บราซิล ที่มีมูลค่าการส่งออกในปี 2561 อยู่ที่ 844 ล้านบาท และลำดับถัดมา คือ เยอรมนี มีมูลค่าการส่งออกอยู่ที่ 740 ล้านบาท ในปีเดียวกันดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 8 ในส่วนของมูลค่าการนำเข้าของประเทศต่างๆ ในระดับโลก จะพบว่า เนเธอร์แลนด์มีการนำเข้า Silver Nitrate มากที่สุด โดยในปี 2561 มีมูลค่าการนำเข้าอยู่ที่ 952 ล้านบาท และมีมูลค่าการนำเข้าเฉลี่ยต่อปีอยู่ที่ 874 ล้านบาท รองลงมาคือ ฝรั่งเศส และสาธารณรัฐเช็ก ที่มีมูลค่าการนำเข้าในปี 2561 อยู่ที่ 741 ล้านบาท และ 669 ล้านบาท ตามลำดับ รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 8 มูลค่าการส่งออก Silver Nitrate ของโลก ระหว่างปี 2557-2561 (10 อันดับแรก)

หน่วย: ล้านบาท

ลำดับ	ชื่อประเทศ	มูลค่าการส่งออก				
		ปี 2557	ปี 2558	ปี 2559	ปี 2560	ปี 2561
1	สหราชอาณาจักร	3,060	2,270	2,870	2,890	2,510
2	บราซิล	829	729	902	801	844
3	เยอรมนี	673	603	710	748	740
4	เบลเยียม	-	-	-	-	595
5	อิตาลี	289	253	383	352	325
6	สหรัฐอเมริกา	122	108	143	177	218
7	สาธารณรัฐเช็ก	104	64	90	108	129
8	เนเธอร์แลนด์	50	56	91	114	116
9	สเปน	19	61	85	35	69
10	ฝรั่งเศส	732	309	60	42	39

ที่มา: Global Trade Atlas ปี 2557-2561

ตารางที่ 9 มูลค่าการนำเข้า Silver Nitrate ของโลก ระหว่างปี 2557-2561 (10 อันดับแรก)

หน่วย: ล้านบาท

ลำดับ	ชื่อประเทศ	มูลค่าการนำเข้า				
		ปี 2557	ปี 2558	ปี 2559	ปี 2560	ปี 2561
1	เนเธอร์แลนด์	1,230	656	1,170	360	952
2	ฝรั่งเศส	1,980	1,000	903	856	741
3	สาธารณรัฐจีน	644	607	696	763	669
4	เยอรมนี	1,040	743	1,060	737	629
5	เบลเยียม	729	953	718	1,100	272
6	โปแลนด์	103	103	120	128	239
7	เม็กซิโก	40	46	156	134	213
8	สเปน	266	236	318	253	178
9	บราซิล	89	129	182	148	144
10	สวิตเซอร์แลนด์	58	41	63	127	114

ที่มา: Global Trade Atlas ปี 2557-2561

นอกจากนี้ซิลเวอร์ไนเตรทอาจมีการนำเข้าและส่งออกในรูปแบบของวัสดุผสมสารประกอบเงินหรือ Silver Compounds ซึ่งประเทศที่มีมูลค่าการส่งออกมากที่สุดของโลกคือเยอรมนี โดยในปี 2561 มีมูลค่าการส่งออกอยู่ที่ประมาณ 1.05 พันล้านบาท รองลงมาคือ ญี่ปุ่น และสิงคโปร์ที่มีมูลค่าการส่งออกอยู่ที่ 821 ล้านบาทและ 542 ล้านบาทตามลำดับ ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 10 และจากข้อมูลการนำเข้าวัสดุผสมสารประกอบเงินในปีเดียวกันพบว่า สิงคโปร์เป็นประเทศที่มีมูลค่าการนำเข้ามากที่สุดของโลก โดยมีมูลค่าการนำเข้าอยู่ที่ 613 ล้านบาท และมีมูลค่าการนำเข้าเฉลี่ยอยู่ที่ 808 ล้านบาทต่อปี รองลงมาคือ สวิตเซอร์แลนด์ ซึ่งมูลค่าการนำเข้าอยู่ที่ 564 ล้านบาท และมาเลเซียที่มีมูลค่าการนำเข้าอยู่ที่ 513 ล้านบาท (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 10 มูลค่าการส่งออก Silver Compounds ของโลก ระหว่างปี 2557-2561 (10 อันดับแรก)

หน่วย: ล้านบาท

ลำดับ	ชื่อประเทศ	มูลค่าการส่งออก				
		ปี 2557	ปี 2558	ปี 2559	ปี 2560	ปี 2561
1	เยอรมนี	437	429	475	1,010	1,050
2	ญี่ปุ่น	864	698	976	938	821
3	สิงคโปร์	780	601	630	587	542
4	สหรัฐอเมริกา	299	316	289	404	497
5	สหราชอาณาจักร	579	538	592	567	486
6	ไต้หวัน	59	85	117	273	393
7	บราซิล	381	407	380	431	268
8	สวิตเซอร์แลนด์	34	29	37	17	153
9	อิตาลี	47	92	64	55	128
10	ฝรั่งเศส	107	78	65	80	104

หมายเหตุ: ยกเว้น Silver Nitrate และ Nesoi

ที่มา: Global Trade Atlas ปี 2557-2561

และจากข้อมูลการนำเข้า Silver Compounds (ยกเว้น Silver Nitrate และ Nesoi) ในปี 2561 พบว่า สิงคโปร์เป็นประเทศที่มีมูลค่าการนำเข้ามากที่สุดของโลก โดยมีมูลค่าอยู่ที่ 613 ล้านบาท และมีมูลค่าการนำเข้าเฉลี่ยอยู่ที่ 808 ล้านบาทต่อปี ลำดับถัดมาคือ สวิตเซอร์แลนด์ ที่มีมูลค่าการนำเข้าอยู่ที่ 564 ล้านบาท และสุดท้ายคือ มาเลเซียที่มีมูลค่าการนำเข้าอยู่ที่ 513 ล้านบาทในปีเดียวกัน รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 มูลค่าการนำเข้า Silver Compounds ของโลก ระหว่างปี 2557-2561 (10 อันดับแรก)

หน่วย: ล้านบาท

ลำดับ	ชื่อประเทศ	มูลค่าการนำเข้า				
		ปี 2557	ปี 2558	ปี 2559	ปี 2560	ปี 2561
1	สิงคโปร์	907	852	987	682	613
2	สวิตเซอร์แลนด์	549	547	619	509	564
3	มาเลเซีย	606	508	649	673	513
4	เยอรมนี	268	123	160	206	326
5	สาธารณรัฐจีน	22	96	186	261	242
6	จีน	84	112	178	226	208
7	เนเธอร์แลนด์	334	222	315	242	208
8	สหรัฐอเมริกา	87	50	150	132	138
9	ไทย	112	101	123	135	138
10	ไต้หวัน	258	209	218	148	117

หมายเหตุ: ยกเว้น Silver Nitrate และ Nesoi

ที่มา: Global Trade Atlas ปี 2557-2561

สำหรับข้อมูลการนำเข้า-ส่งออกซิลเวอร์นาโนทั้งในรูปของซิลเวอร์ไนเตรตและวัสดุผสมสารประกอบเงินของประเทศไทยนั้นพบว่าประเทศไทยมีการนำเข้าซิลเวอร์นาโนจากต่างประเทศมากกว่าการส่งออก จากรายงานพบว่าประเทศไทยนำเข้าซิลเวอร์ไนเตรตจากประเทศเยอรมนีคิดเป็นมูลค่าสูงที่สุด (6.98 ล้านบาทในปี 2561) รองลงมาคือประเทศสเปนและสหราชอาณาจักร มีมูลค่าอยู่ที่ประมาณ 4.43 ล้านบาทและ 3.27 ล้านบาทตามลำดับ (ตารางที่ 12) สำหรับการส่งออกซิลเวอร์ไนเตรตของไทยพบว่ามีมูลค่ารวมของการส่งออกในปี 2561 อยู่ที่ 918,383 บาทโดยส่งออกไปยังประเทศลาวมากที่สุดคือ 537,190 บาทดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 12 มูลค่าการนำเข้า Silver Nitrate ของไทย ระหว่างปี 2557-2561

หน่วย: บาท

ลำดับ	ชื่อประเทศ	มูลค่าการนำเข้า				
		ปี 2557	ปี 2558	ปี 2559	ปี 2560	ปี 2561
1	เยอรมนี	4,798,860	7,165,935	5,463,306	1,873,070	6,978,287
2	สเปน	3,864,013	2,740,005	3,284,763	3,663,245	4,431,427
3	สหราชอาณาจักร	1,910,529	4,514,904	1,924,491	3,696,532	3,265,552
4	เบลเยียม	-	40,606	133,183	58,377	2,765,722
5	อินเดีย	1,811,093	1,067,657	3,592,903	2,488,702	2,313,739
6	ฝรั่งเศส	87,453	-	62,262	600,898	1,392,775
7	สิงคโปร์	100,036	189,463	307,645	1,404,762	844,572
8	โปแลนด์	1,332,488	3,348,668	2,478,521	1,904,325	760,315
9	จีน	687,167	434,110	1,518	-	71,160
10	ญี่ปุ่น	74,066	65,213	94,803	89,167	49,749
11	อิตาลี	1,626	21,520	20,994	58,516	48,299
12	สหรัฐอเมริกา	1,180	43,698	53,762	69,505	39,228
13	ฮ่องกง	-	-	-	-	26,673
14	ไอร์แลนด์	-	-	-	-	7,455
15	ไต้หวัน	-	3,967	-	-	-
16	มาเลเซีย	69,589	-	70,376	-	-
17	เกาหลีใต้	27,137,282	3,179,277	196,204	2,181	-
18	สวิตเซอร์แลนด์	8,790	10,126	5,416	10,774	-
19	เนเธอร์แลนด์	4,097,379	644,818	595,710	615,712	-
20	มาซิโดเนีย	-	-	14,907	-	-
รวม		45,981,551	23,469,967	18,300,764	16,535,766	22,994,953

ที่มา: Global Trade Atlas ปี 2557-2561

ตารางที่ 13 มูลค่าการส่งออก Silver Nitrate ของไทย ระหว่างปี 2557-2561

หน่วย: บาท

ลำดับ	ชื่อประเทศ	มูลค่าการส่งออก				
		ปี 2557	ปี 2558	ปี 2559	ปี 2560	ปี 2561
1	ลาว	200,100	1,265,410	365,300	386,135	537,190
2	ฮ่องกง	-	-	-	-	197,763
3	เมียนมาร์	-	7,625	-	18,960	174,517
4	เวียดนาม	-	-	-	2,804	8,895
5	กัมพูชา	6,830	9,580	9,720	9,770	-
รวม		206,930	1,282,615	375,020	417,669	918,365

ที่มา: Global Trade Atlas ปี 2557-2561

สำหรับมูลค่าการนำเข้า-ส่งออกซิลเวอร์ไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของวัสดุผสมสารประกอบเงินของประเทศไทยมีมูลค่าสูงมาก จากข้อมูลการนำเข้าวัสดุผสมสารประกอบเงินในปี 2561 พบว่ามีมูลค่าสูงถึง 137 ล้านบาท โดยประเทศที่มีการนำเข้ามากที่สุดคือ ประเทศญี่ปุ่นคิดเป็นมูลค่าประมาณ 105 ล้านบาท รองลงมาคือ เยอรมนีมีมูลค่าการนำเข้าอยู่ที่ประมาณ 20 ล้านบาท และสวิตเซอร์แลนด์ซึ่งมีมูลค่าการนำเข้าอยู่ที่ประมาณ 5 ล้านบาทดังแสดงรายละเอียดใน

ตารางที่ 14 สำหรับการส่งออกด้านการส่งออกวัสดุผสมสารประกอบเงินพบว่ามีมูลค่ารวมการส่งออกในปี 2561 คิดเป็นมูลค่ารวม 162,742 บาท โดยมีการส่งออกไปยังประเทศอินโดนีเซียมากที่สุด รองลงมาคือ ฮองกงและออสเตรเลีย (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 14 มูลค่าการนำเข้า Silver Compounds ของไทย ระหว่างปี 2557-2561

หน่วย: บาท

ลำดับ	ชื่อประเทศ	มูลค่าการนำเข้า				
		ปี 2557	ปี 2558	ปี 2559	ปี 2560	ปี 2561
1	ญี่ปุ่น	58,617,521	53,815,308	85,638,824	110,000,000	105,000,000
2	เยอรมนี	20,607,588	11,953,491	13,846,498	13,892,179	20,142,416
3	สวิตเซอร์แลนด์	33,126	6,159	10,005	32,390	5,036,317
4	ฮ่องกง	23,867,925	32,338,727	20,464,104	6,373,961	3,050,851
5	อินเดีย	846,384	823,173	284,155	1,075,369	2,128,470
6	อิตาลี	49,596	30,379	14,243	275,540	1,316,544
7	โปแลนด์	2,382,777	1,494,465	1,743,677	1,997,301	697,711
8	เบลเยียม	210,796	121,842	26,781	21,841	36,428
9	สหรัฐอเมริกา	2,777,626	92,067	59,136	255,156	29,635
10	สหราชอาณาจักร	3,947	1,697	50,637	129,105	9,668
11	เกาหลีใต้	262,548	177,617	182,139	15,234	8,614
12	สเปน	-	-	-	-	7,124
13	เดนมาร์ก	338,322	-	87,037	-	-
14	บราซิล	994,049	527,297	-	-	-
15	มาเลเซีย	207,589	7,582	-	-	-
16	สาธารณรัฐเช็ก	2,489	-	10,423	-	-
17	เนเธอร์แลนด์	-	77,756	-	-	-
18	จีน	1,822	-	29,000	1,968	-
19	ฝรั่งเศส	477,507	-	-	-	-
20	มาซิโดเนีย	-	-	101,764	-	-
21	สิงคโปร์	-	-	40,666	-	-
รวม		111,681,612	101,467,560	122,589,089	134,070,044	137,463,778

หมายเหตุ: ยกเว้น Silver Nitrate และ Nesoi

ที่มา: Global Trade Atlas ปี 2557-2561

ตารางที่ 15 มูลค่าการส่งออก Silver Compounds ของไทย ระหว่างปี 2557-2561

หน่วย: บาท

ลำดับ	ชื่อประเทศ	มูลค่าการส่งออก				
		ปี 2557	ปี 2558	ปี 2559	ปี 2560	ปี 2561
1	อินโดนีเซีย	-	-	84	-	131,661
2	ฮ่องกง	21,154	31,637	70,292	22,123	20,301
3	ออสเตรเลีย	73,324	11,115	5,802	22,377	6,660
4	เวียดนาม	-	-	12,289	-	4,120
5	สวีเดน	181,071	-	-	-	-
6	เมียนมาร์	-	38,400	-	-	-
7	อินเดีย	18,334	6,694	-	-	-
8	ญี่ปุ่น	-	-	-	11,591	-
9	ไต้หวัน	49,199	-	-	-	-
10	มาดากัสการ์	-	7,866	-	-	-
11	มาเลเซีย	-	107,062	78,330	-	-
12	ลาว	-	26,800	-	-	-
รวม		343,082	229,574	166,797	56,091	162,742

หมายเหตุ: ยกเว้น Silver Nitrate และ Nesoi

ที่มา: Global Trade Atlas ปี 2557-2561

ถึงแม้ว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนจะมีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในภาคอุตสาหกรรมต่างๆ และในผลิตภัณฑ์หลายประเภท แต่ทั้งนี้ก็ยังมีความกังวลในเรื่องของความปลอดภัยในการใช้งานทั้งในด้านสุขภาพของผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้ที่ยังไม่มีรายงานผลการศึกษาวิจัยที่แน่ชัดโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลกระทบในเชิงลบของอนุภาคซิลเวอร์นาโน เนื่องจากอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ใช้มีขนาดอนุภาคเล็กมาก จึงส่งผลให้พื้นที่ผิวสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาตร และการที่มีพื้นที่ผิวสูงนี้เองที่ทำให้อนุภาคซิลเวอร์นาโนมีความไวต่อปฏิกิริยา จึงสามารถทำลายแบคทีเรียและจุลินทรีย์ชนิดที่เป็นประโยชน์และโทษได้ดี ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ที่อาจจะถูกทำลายได้ด้วยอนุภาคซิลเวอร์นาโน ได้แก่ แบคทีเรียในดินที่มีบทบาทสำคัญในการตรึงไนโตรเจน และการสลายสารอินทรีย์ต่างๆ แบคทีเรียดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification bacteria) ที่มีบทบาทสำคัญในการทำความสะอาดน้ำโดยการดึงไนเตรตออกจากน้ำที่ปนเปื้อนจากการใช้ปุ๋ย แบคทีเรียบางชนิดที่อาศัยในสัตว์โดยมีหน้าที่ช่วยในการย่อยอาหารภายในลำไส้ของสัตว์ หรือแบคทีเรียชนิดที่อาศัยในตัวต่อ (European beewolf) ซึ่งจะผลิตสารปฏิชีวนะที่ช่วยป้องกันการติดเชื้อ และแบคทีเรียที่ผลิตแสงเพื่อประโยชน์ในการพรางตัวที่พบในปลาหมึกฮาวาย (Hawaiian squid) เป็นต้น ซึ่งหากแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ ดังกล่าวถูกทำลายไปย่อมส่งผลกระทบต่อวงจรชีวิตของมนุษย์และสัตว์อย่างแน่นอน นอกจากนี้ปัญหาการทำลายแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ตามธรรมชาติจากการใช้ซิลเวอร์นาโนแล้ว ยังพบว่าส่งผลกระทบต่อความควบคุมแบคทีเรียที่เป็นอันตรายอีกด้วย ทั้งนี้มีรายงานว่าแบคทีเรียที่เป็นอันตรายดังกล่าวสามารถต้านทานซิลเวอร์นาโนได้ และยังสามารถต้านทานสารปฏิชีวนะที่ใช้ในปัจจุบันได้อีกด้วย (ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ, 2553)

จากข้อกังวลด้านความปลอดภัยของอนุภาคซิลเวอร์นาโนดังกล่าว ปัจจุบันจึงได้มีการคิดค้นพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่างๆ ด้วยเทคโนโลยีนาโนที่ได้รับการพัฒนาขึ้นโดยหนึ่งในผลิตภัณฑ์นั้นคือ ผลิตภัณฑ์นาโนลิกัน ซึ่งเป็นการ

ประยุกต์ใช้เทคโนโลยีนาโนในการพัฒนาสารสกัดจากลิ้นจี่ให้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการก่อเชื้อ โดยลิ้นจี่เป็นสารที่สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ซึ่งหากมีการเปรียบเทียบกับสารอื่นๆ ที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกันอย่างอนุภาคเงินนาโนหรือซิลเวอร์นาโนนั้น ผลลัพธ์จากนาโนลิ้นจี่จะมีความปลอดภัยมากกว่าหากมีการนำมาใช้ร่วมกับมนุษย์และสัตว์ และเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติและไม่ตกค้าง ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการนำลิ้นจี่และผลิตภัณฑ์จากลิ้นจี่มาใช้ประโยชน์ในหลายด้านเพื่อใช้เป็นสารทดแทนหรือเป็นการใช้ร่วมกับสารยับยั้งการก่อเชื้อที่มีความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมชนิดอื่นๆ เพื่อลดปริมาณสารที่มีความเป็นพิษลง

ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่มีการพัฒนาโดยใช้สารสกัดจากลิ้นจี่เพื่อการยับยั้งการก่อเชื้อ เช่น ผลิตภัณฑ์สำหรับยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราอันเป็นสาเหตุของโรคผิวหนัง โรคในระบบทางเดินหายใจ และทางเดินอาหาร ซึ่งอยู่ในรูปแบบของผงและในสารละลายโดยการฉีดพ่น ชุบ ทำเคลือบ หรือผสมในสิ่งทอ (จักรพล สุนทรวรภาส และคณะ, 2561) การใช้นาโนลิ้นจี่ร่วมกับซิลเวอร์นาโนเพื่อให้สารดังกล่าวมีความมีประสิทธิภาพมากขึ้น กล่าวคือ มีการใช้ซิลเวอร์นาโนเพื่อการยับยั้งจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมอาหาร ยา เครื่องสำอาง เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ซิลเวอร์นาโนเป็นแร่โลหะประเภทหนึ่งที่อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม จึงได้มีการนำนาโนลิ้นจี่ซึ่งเป็นสารยับยั้งการก่อเชื้อเช่นเดียวกันมาใช้ร่วมด้วย เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพให้กับนาโนลิ้นจี่และสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ (Alexander P. Richter *et al.*, 2015) และการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสารสกัดจากลิ้นจี่โดยการนำมาประยุกต์ใช้สำหรับการป้องกันการทำลายเนื้อไม้ของแบคทีเรียและเชื้อราในแผ่นไม้อัด (IULIAN-ANDREI GILCĂ and VALENTIN I. POPA, 2013) เป็นต้น

การประยุกต์ใช้ไมโครและนาโนลิ้นจี่ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ และแนวโน้มทางการตลาด

นอกจากคุณสมบัติการยับยั้งการก่อเชื้อดังที่กล่าวข้างต้นแล้ว เมื่อมีการนำอนุภาคของลิ้นจี่ที่อยู่ในระดับไมโครและนาโนมาประยุกต์ใช้ร่วมกับอนุภาคนาโนชนิดอื่นๆ จะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากลิ้นจี่ในระดับไมโครและนาโนนั้นมีคุณสมบัติที่แตกต่างออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอนุภาคนาโนและเทคโนโลยีที่ใช้ในการผลิต โดยคุณสมบัติอื่นของลิ้นจี่ที่น่าสนใจได้แก่ คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ การป้องกันรังสี UV ความไม่เป็นพิษต่อเซลล์ในสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม อนุภาคมีความเสถียรภาพ เป็นต้น ซึ่งตัวอย่างของการศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ของลิ้นจี่ ได้แก่ การประยุกต์ใช้คุณสมบัติของลิ้นจี่ด้านการต้านอนุมูลอิสระและการป้องกันรังสี UV เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง (Srinivasa Rao Yearla *et al.*, 2015) ผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มจากโพลิไวนิลแอลกอฮอล์ / ไซโตซานที่มีสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Weijun YANG *et al.*, 2016) และการใช้เป็นองค์ประกอบในการพัฒนาแคปซูลนำส่งสาร ยา หรืออุปกรณ์สำหรับสิ่งมีชีวิตในทางการแพทย์ เป็นต้น รายละเอียดคุณสมบัติอื่นๆ ของไมโครและนาโนลิ้นจี่ รวมถึงการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์สามารถสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 16 คุณสมบัติและการประยุกต์ใช้ไมโครและนาโนลิกนิน

คุณสมบัติ	การประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์	หมายเหตุ
1) ความต้านทานต่อการสลายตัวและการป้องกันการทำลายจากจุลินทรีย์	- การป้องกันการทำลายเนื้อไม้ของแบคทีเรียและเชื้อราในแผ่นใยไม้อัด - แผ่นฟิล์มสำหรับใช้ห่อหุ้มวัตถุต่างๆ (เช่นบรรจุภัณฑ์อาหาร แผ่นปิดบาดแผล ฯลฯ)	การใช้อนุพันธ์ของลิกนิน
2) การป้องกัน/ดูดซับรังสี UV และสารต้านอนุมูลอิสระ (UV absorbance and antioxidant activity)	- เครื่องสำอาง (ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว, ผลิตภัณฑ์กันแดด ฯลฯ) - การป้องกันสารกำจัดศัตรูพืช	ลิกนินใช้สำหรับการป้องกันรังสียูวีให้กับจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการกำจัดศัตรูพืช
3) ความสามารถในการคงตัวในรูปแบบของแคปซูล (Capsule Formation)	- สารห่อหุ้มสารกำจัดวัชพืช	ใช้ acetylated lignin ในการห่อหุ้มหรือกักเก็บสารกำจัดวัชพืช
4) ความแข็งแรง (High Stiffness)	- ใช้เป็นพอลิเมอร์เสริมแรง	
5) ความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ในสิ่งมีชีวิต มีขนาดเล็ก และสามารถอยู่ในรูปแบบของแคปซูล	- เป็นสารหรืออุปกรณ์นำส่งยาในสิ่งมีชีวิต	
6) อนุภาคในระดับนาโนมีความเสถียรสูง	- ใช้เป็นสารเติมแต่ง เพื่อทำให้ส่วนผสมของสารหรือผลิตภัณฑ์ต่างๆ มีความคงตัว ไม่เกิดการแยกชั้น	ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมการขุดเจาะบ่อน้ำมัน
7) ค่า pH มีความคงที่/เสถียรภาพ	- เป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ในกระบวนการ polymerization	ใช้ในการเตรียม polystyrene
8) ความสามารถในการนำมาปั่นเป็นเส้นใยด้วยเทคนิคไฟฟ้าสถิตย์ (Possible to electrospun)	- วัตถุดิบสำหรับการผลิตคาร์บอนไฟเบอร์	เส้นผ่านศูนย์กลางของคาร์บอนไฟเบอร์ อยู่ระหว่าง 400 นาโนเมตร ถึง 1 ไมโครเมตร
9) อนุภาคของลิกนินมีความสามารถในการปรับเปลี่ยนรูปร่าง มีพื้นที่ผิวมาก การดูดซับรังสี UV สารต้านอนุมูลอิสระ มีความเสถียรภาพสูง การเข้ากันได้กับพอลิเมอร์คอมโพสิต เสถียรภาพทางความร้อน	- ใช้เป็นวัสดุคอมโพสิต และพอลิเมอร์ฟิลเลอร์	ลิกนินที่มีอนุภาคระดับนาโนช่วยให้เกิดการกระจายของวัสดุได้อย่างสม่ำเสมอในวัสดุคอมโพสิต
10) ความหนาแน่นต่ำ เป็นวัสดุที่ไม่นำไฟฟ้า และอนุภาคหรือสารละลายมีสีอ่อน	- ใช้เป็นสารตัวเติมในยางธรรมชาติ	
11) ความหนาแน่นต่ำ มีคุณสมบัติเสริมแรง และมีจำนวนมาก	- ใช้ในการเสริมแรงในรูปแบบของฟิโนลิกโฟม	
12) ความสัมพันธ์ของ lignin กับสารทำวัตุระเบิด TNT	- เป็นสารสำหรับตรวจจับสารทำวัตุระเบิด TNT	

ที่มา: (Camilla Abbati de Assis et al., 2018)

ผลิตภัณฑ์ที่มีการผลิตขึ้นในอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ จะมีการใช้วัตถุดิบ และสารเคมีที่หลากหลายชนิด และมีสัดส่วนปริมาณการใช้ที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดและวัตถุประสงค์ของผลิตภัณฑ์ และความต้องการของตลาด ซึ่งในการประเมินศักยภาพและความเป็นไปได้ทางการตลาดของการใช้ไมโครและนาโนลิกันเพื่อใช้เป็นสารทดแทน ในภาคอุตสาหกรรมนั้น จะประเมินจากคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ไมโครและนาโนลิกันเปรียบเทียบกับคุณสมบัติของ ผลิตภัณฑ์หรือสารเคมีต่างๆ ที่มีการนำมาใช้ภาคอุตสาหกรรม โดยกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ ไมโครและนาโนลิกัน ได้แก่ 1) กลุ่มผลิตภัณฑ์ประเภทสารเติมแต่งที่มีการใช้กัมอารบิก (Gum Arabic) ซึ่งกลุ่ม ผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้ประโยชน์ คือ เบียร์ น้ำผลไม้หรือเครื่องดื่มแต่งกลิ่นผลไม้ ผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ เป็นต้น 2) กลุ่ม สารเคลือบ โดยมีการใช้กรดเอทิลีนไดอามีนเตตระอะซิติกในผลิตภัณฑ์ทุกชนิดที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ระหว่าง 3.0-9.0 เช่น ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดอย่างแชมพู ครีมนวดผม สบู่เหลว เป็นต้น 3) กลุ่มผลิตภัณฑ์ป้องกันรังสี UV (UV Protection) ในเครื่องสำอาง เช่น ครีมกันแดด และผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารกันแดด ซึ่งมีการใช้สาร ประเภท Benzophenones และ Phenolic Benzotriazoles เป็นต้น ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 16

ทั้งนี้หากพิจารณาจากมูลค่าการนำเข้าซิลเวอร์ไนเตรตและวัสดุสารผสมประกอบเงินที่ประเทศไทยมีการ นำเข้าคิดเป็นมูลค่าสูงในแต่ละปี ดังนั้นนาโนลิกันจึงเป็นอีกทางเลือกที่น่าสนใจเพื่อทดแทนการนำเข้า และทดแทน การใช้ออนุภาคซิลเวอร์นาโนในอนาคต ประกอบกับการศึกษาข้อมูลมูลค่าต่อหน่วย และแนวทางการใช้ประโยชน์ใน ด้านต่างๆ ของนาโนลิกันแล้ว พบว่าการใช้ประโยชน์ที่น่าสนใจ คือ สารตัวเติมด้วยคาร์บอน (Carbon Filler) และ สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรีย (Bactericide & Carrier) แต่ด้วยคุณสมบัติเฉพาะด้านการยับยั้งเชื้อของอนุภาค นาโนลิกันประกอบกับมูลค่าต่อหน่วย ทางโครงการจึงทำการศึกษาการใช้ประโยชน์นาโนลิกันเพื่อใช้เป็นสารยับยั้ง การก่อเชื้อในผลิตภัณฑ์

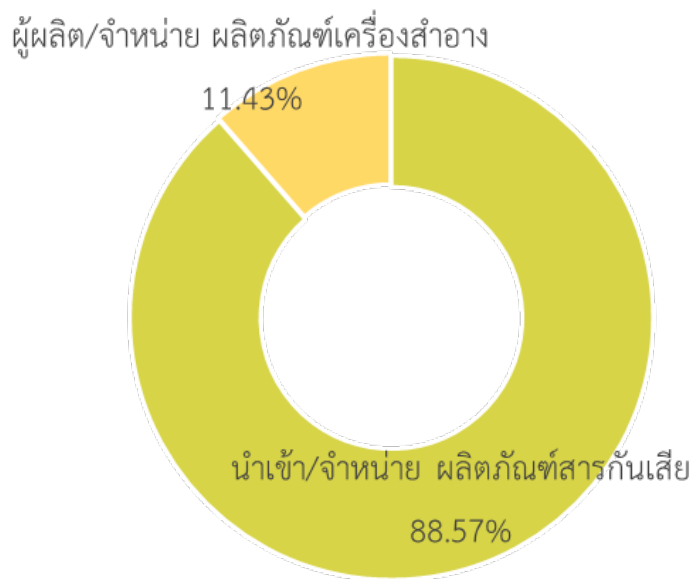
จากข้อมูลดังกล่าว จึงได้ทำการออกแบบสอบถามเพื่อทำการรวบรวมข้อมูลความต้องการเบื้องต้นจาก ผู้ใช้งาน ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผู้ประกอบการนำเข้าและจำหน่ายผลิตภัณฑ์สารกันเสีย มีผู้ตอบแบบสอบถามบางส่วนเป็น ผู้ประกอบการผลิตและจำหน่ายเครื่องสำอาง โดยได้สรุปข้อมูลดังรายละเอียดในหัวข้อถัดไป

ข้อมูลการสำรวจข้อมูลทางการตลาดของผู้ประกอบที่มีการใช้สารกันเสีย

แบบสอบถามเพื่อสำรวจความคิดเห็น เกี่ยวกับรูปแบบการซื้อขายสารกันเสียในเครื่องสำอาง ความต้องการ ของผู้บริโภค รวมถึงการยอมรับเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์สารกันเสียจากสารสกัดนาโนลิกัน ซึ่งประกอบด้วยข้อมูล 3 ส่วน คือ ส่วนที่ 1) ข้อมูลทั่วไปของสถานประกอบการ ส่วนที่ 2) ข้อมูลการผลิต จำหน่าย และความต้องการสำหรับผู้ นำเข้า/ผลิตสารกันเสีย ส่วนที่ 3) ข้อมูลการผลิต จำหน่าย และความต้องการสำหรับผู้ผลิต/จำหน่าย ผลิตภัณฑ์ เครื่องสำอาง หรือผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด ดังแสดงรายละเอียดดังนี้

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของสถานประกอบการ

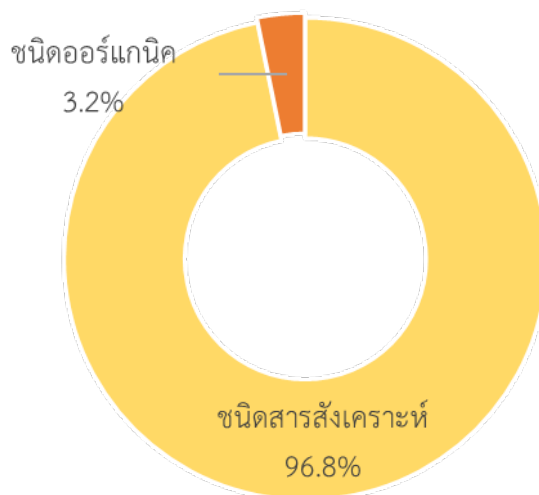
จากข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถามในสถานประกอบการ จำนวน 35 แห่ง พบว่าประเภทของสถาน ประกอบการส่วนใหญ่ ดำเนินกิจการในรูปแบบการนำเข้า/จำหน่าย ผลิตภัณฑ์สารกันเสีย คิดเป็นร้อยละ 88.57 ผู้ผลิต/จำหน่าย ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ร้อยละ 11.43 ดังแสดงในภาพที่ 20



ภาพที่ 20 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามประเภทสถานประกอบการ

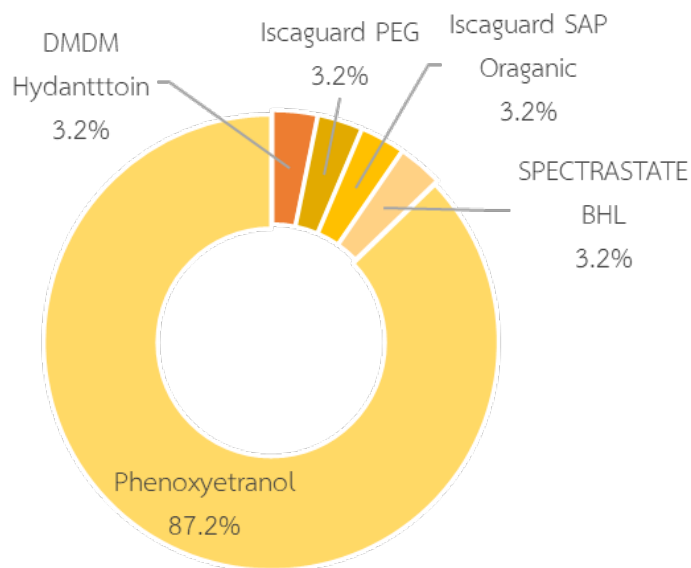
ส่วนที่ 2 ข้อมูลการผลิต จำหน่าย และความต้องการสำหรับผู้นำเข้า/ผลิตสารกันเสีย

จากข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถามในสถานประกอบการ จำนวน 31 แห่ง พบว่าชนิดของสารกันเสียที่มีการนำเข้า/ผลิต และจำหน่ายในธุรกิจเป็นชนิดสารสังเคราะห์ (Chemical Preservative) คิดเป็น ร้อยละ 96.8 ชนิดออร์แกนิก (Organic Preservative) ร้อยละ 3.2 ดังแสดงสัดส่วนในภาพที่ 21

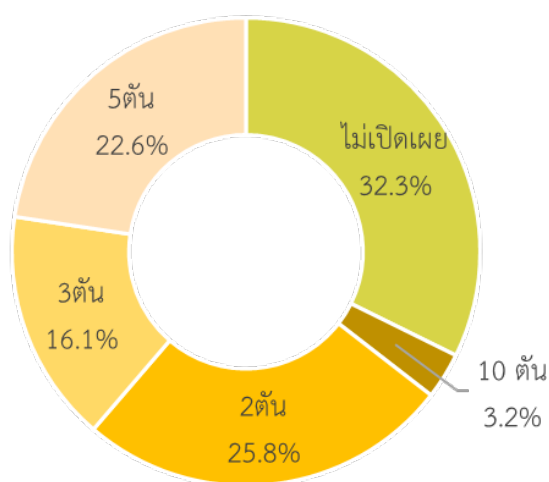


ภาพที่ 21 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามชนิดของสารกันเสีย

สารกันเสียที่มีการใช้มากที่สุดคือ Phenoxyethanol ร้อยละ 87.2 รองลงมาคือ DMDM Hydanttttoin, Iscaguard PEG, SPECTRASTATE BHL และ Iscaguard SAP Oraganic ซึ่งสารกันเสียทุกประเภทที่กล่าวในข้างต้น คิดเป็นร้อยละ 3.2 เท่ากัน และหากจำแนกตามปริมาณการนำเข้าสารกันเสีย มีการนำเข้าตั้งแต่ 2 ตัน/ปี ไปจนถึง 5 ตัน/ปี และอาจมีปริมาณนำเข้ามากถึง 10 ตันต่อปี ดังแสดงในภาพที่22 และ 23



ภาพที่ 22 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามชื่อของสารกันเสีย



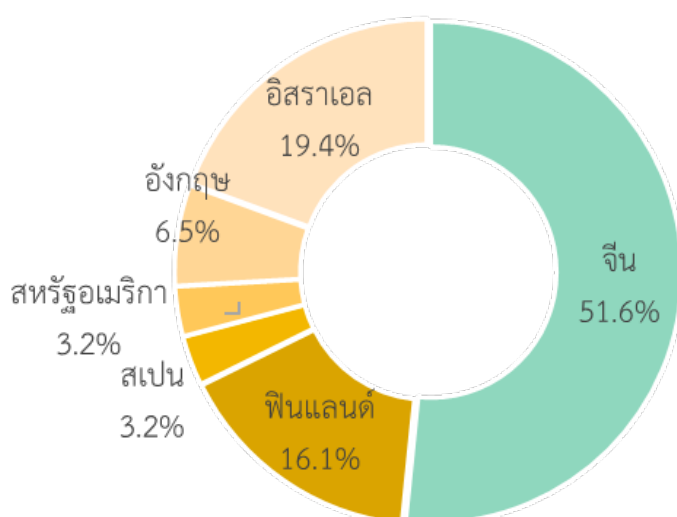
ภาพที่ 23 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามปริมาณการนำเข้า (ตัน/ปี)

แต่เนื่องจากข้อมูลปริมาณการนำเข้านั้นถือเป็นข้อมูลที่ไม่สามารถเปิดเผยได้ ทำให้สถานประกอบการบางแห่งที่ไม่สามารถให้คำตอบได้ จึงทำให้ได้ข้อมูลราคาจำหน่ายสารกันเสียจากสถานประกอบการจำนวนเพียง 20 แห่ง โดยพบว่าราคาของสาร Phenoxyethanol จากจำนวนสถานประกอบการจำนวน 16 แห่งมีราคาจำหน่ายเฉลี่ยอยู่ที่ราคา 1,853.13 บาท/กก. สาร Iscaguard SAP Oraganic ราคา 1,800 บาท/กก. สาร Iscaguard PEG ราคา 1,200 บาท/กก. สาร SPECTRASTATE BHL ราคา 1,200 บาท/กก. สาร DMDM Hydantttoin ราคา 200 บาท/กก. และราคาจำหน่ายเฉลี่ยของสารกันเสียอยู่ที่ราคา 1,250.63 บาท/กก. ดังแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 ราคาจำหน่ายและค่าเฉลี่ยของสารกันเสียชนิดต่างๆ

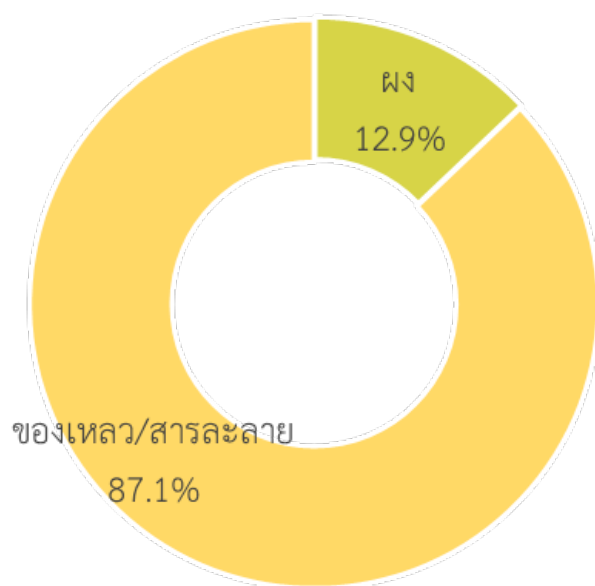
จำนวนสถานประกอบการ (แห่ง)	สารกันเสีย	ราคาจำหน่ายเฉลี่ย (บาท/กก.)
16	Phenoxyethanol	1,853.13
1	SPECTRASTATE BHL	1,200.00
1	DMDM Hydanttttoin	200.00
1	Iscaguard PEG	1,200.00
1	Iscaguard SAP Oraganic	1,800.00
ราคาจำหน่ายเฉลี่ย		1,250.63

โดยแหล่งนำเข้าสารกันเสียที่สำคัญที่สุดคือ ประเทศจีนมีการนำเข้ามากที่สุดถึงร้อยละ 51.6 รองลงมา คือ ประเทศอิสราเอลร้อยละ 19.4 ประเทศฟินแลนด์ร้อยละ 16.1 ประเทศอังกฤษ ร้อยละ 6.5 และประเทศสเปนและสหรัฐอเมริการ้อยละ 3.2 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 24

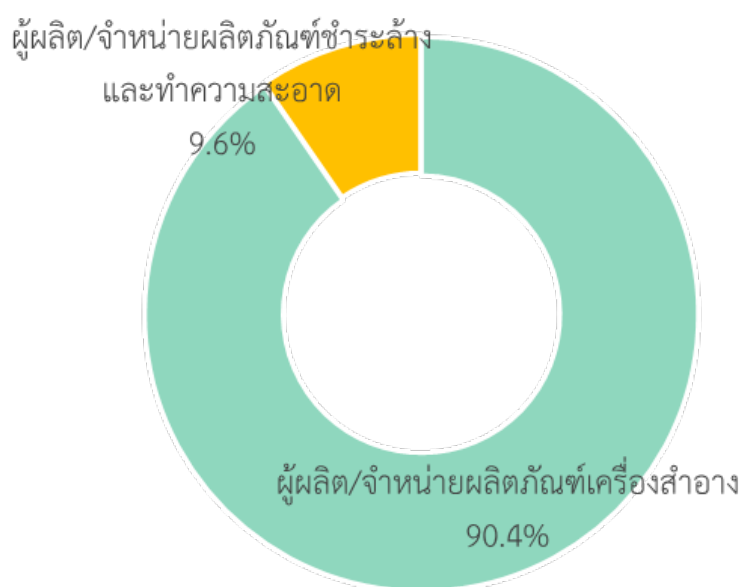


ภาพที่ 24 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามแหล่งนำเข้า

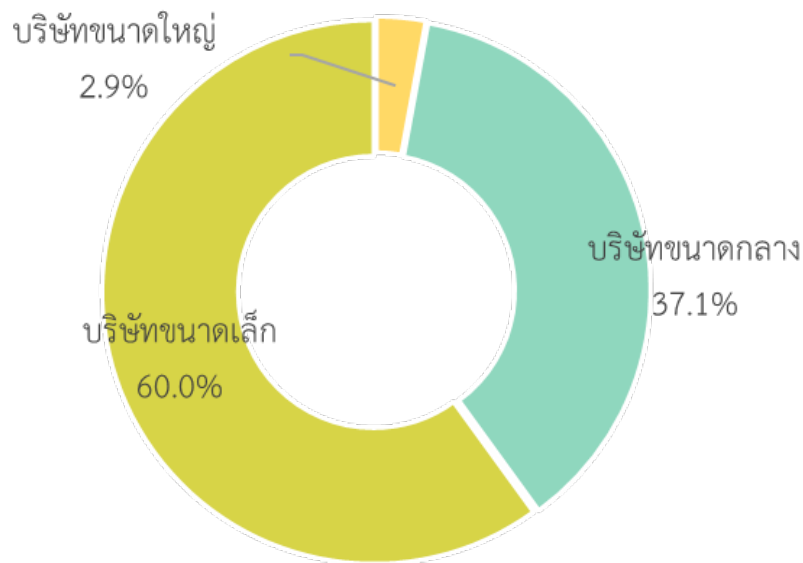
นอกจากนี้ยังพบว่ารูปแบบของสารกันเสียที่จำหน่ายส่วนใหญ่ เป็นสารกันเสียรูปแบบของเหลวหรือ สารละลายร้อยละ 87.1 สารกันเสียรูปแบบผงร้อยละ 12.9 และประเภทกิจการที่มีการนำสารกันเสียไปใช้งานมากที่สุดคือ ผู้ผลิต/จำหน่ายผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ร้อยละ 90.4 ผู้ผลิต/จำหน่ายผลิตภัณฑ์ชำระล้างและทำความสะอาด ร้อยละ 9.6 บริษัทที่มีการนำสารกันเสียไปใช้งานส่วนใหญ่เป็นบริษัทมีขนาดเล็ก ร้อยละ 60 รองลงมา เป็นบริษัท ขนาดกลาง ร้อยละ 37.1 และบริษัทขนาดใหญ่ ร้อยละ 2.9 บริษัทมีการสั่งซื้อเพื่อนำเข้า/ผลิตสารกันเสียผ่านช่องทางการนำเข้าจากบริษัทผู้ผลิตโดยตรงมากที่สุด ร้อยละ 85.7 ผ่านบริษัทนำเข้า-ส่งออก ร้อยละ 14.3 (ภาพที่ 25-28)



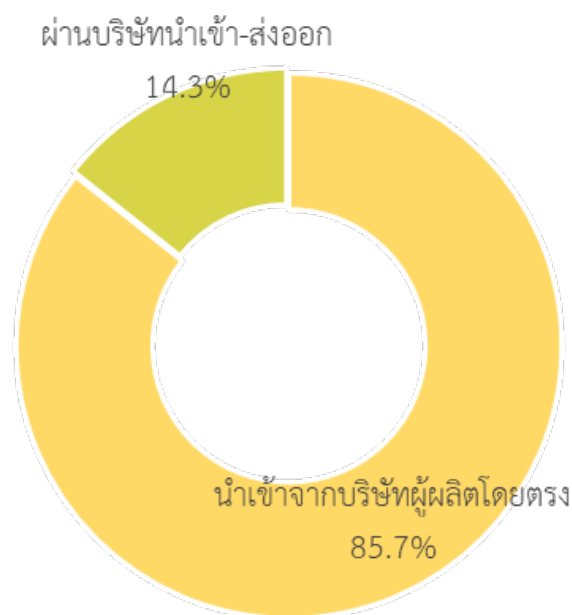
ภาพที่ 25 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามรูปแบบสารกันเสียที่จำหน่าย



ภาพที่ 26 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามประเภทกิจการที่มีการนำสารกันเสียไปใช้งาน

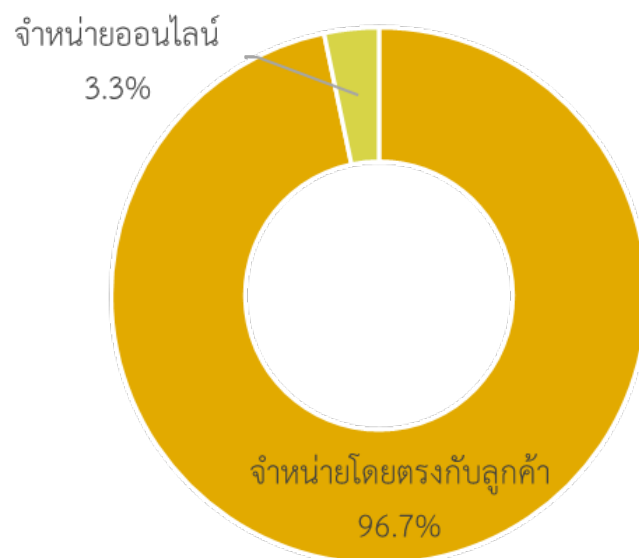


ภาพที่ 27 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามขนาดของบริษัทที่มีการนำสารกันเสียไปใช้งาน

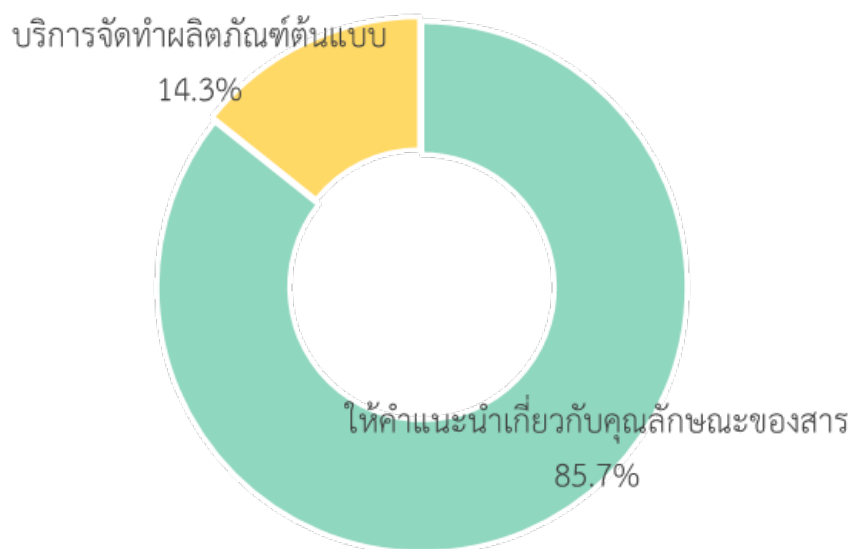


ภาพที่ 28 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามช่องทางการสั่งซื้อเพื่อนำเข้า/ผลิตสารกันเสีย

บริษัทที่มีการจำหน่ายผลิตภัณฑ์สารกันเสียผ่านช่องทางการจำหน่ายโดยตรงกับลูกค้ามากที่สุด (ร้อยละ 96.7) มีการจำหน่ายผลิตภัณฑ์สารกันเสียผ่านช่องทางการจำหน่ายออนไลน์ร้อยละ 3.3 บริการเสริมที่จำเป็นต้องมีในการจำหน่ายสารกันเสียมากที่สุดคือ การให้คำแนะนำเกี่ยวกับคุณลักษณะของสารคิดเป็นร้อยละ 85.7 และบริการจัดทำผลิตภัณฑ์ต้นแบบร้อยละ 14.3 ดังแสดงในภาพที่ 29 และ 30

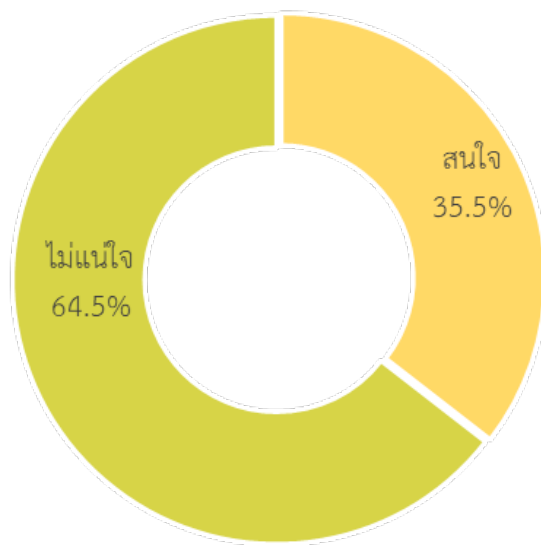


ภาพที่ 29 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามช่องทางการจัดจำหน่ายผลิตภัณฑ์สารกันเสีย

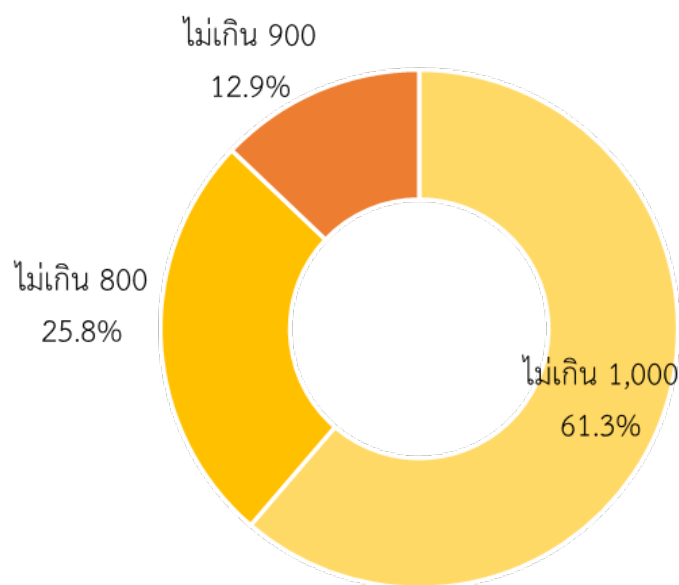


ภาพที่ 30 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามบริการเสริมที่จำเป็นต้องมีในการจำหน่ายสารกันเสีย

หากมีการผลิตสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติ ผู้ประกอบการส่วนใหญ่คิดว่ายังไม่แน่ใจในการซื้อผลิตภัณฑ์ (ร้อยละ 64.5) เนื่องจากผู้ประกอบการมีข้อกังวลหลายปัจจัย เช่น ข้อมูลที่คุณสมบัติของสารกันเสียประสิทธิภาพสารกันเสีย ความปลอดภัย ผลการรับรอง ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นปัจจัยในการคำนึงในการตัดสินใจซื้อ) โดยผู้ประกอบการสนใจซื้อร้อยละ 35.5 ซึ่งราคาของสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติที่ยอมรับได้มากที่สุดไม่เกิน 1,000 บาท/กิโลกรัมร้อยละ 61.3 รองลงมาราคาไม่เกิน 800 บาท/กิโลกรัมคิดเป็นร้อยละ 25.8 และราคาไม่เกิน 900 บาท/กิโลกรัมร้อยละ 12.9 (ภาพที่ 31 และ 32)

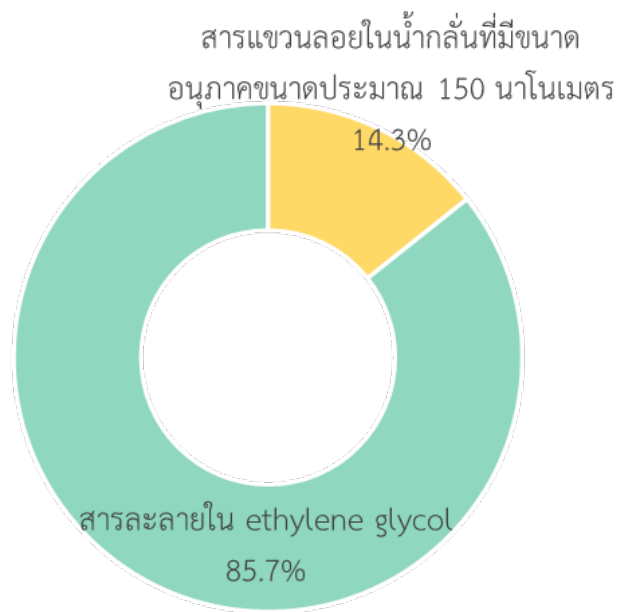


ภาพที่ 31 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามการตัดสินใจซื้อสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติ

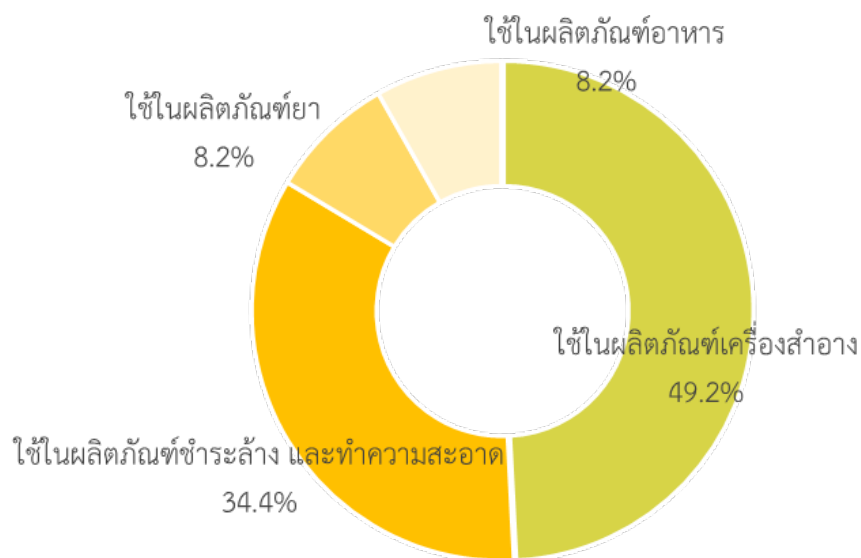


ภาพที่ 32 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามราคาที่ยอมรับได้การตัดสินใจซื้อสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติ

รูปแบบผลิตภัณฑ์ของสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติที่ผู้ประกอบการสนใจจะซื้อมากที่สุด คือ สารละลายใน ethylene glycol ร้อยละ 85.7 สารแขวนลอยในน้ำกลั่นที่มีขนาดอนุภาคขนาดประมาณ 150 นาโนเมตร ร้อยละ 14.3 โดยมีความเห็นว่าสามารถนำสารกันเสียไปใช้ประโยชน์ด้านผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมากที่สุด ร้อยละ 49.2 รองลงมาสามารถนำสารกันเสียไปใช้ประโยชน์ด้านผลิตภัณฑ์ชำระล้าง และทำความสะอาด ร้อยละ 34.4 และสามารถนำสารกันเสียไปใช้ประโยชน์ด้านผลิตภัณฑ์ยา, ผลิตภัณฑ์อาหาร ร้อยละ 8.2 ดังแสดงในภาพที่ 33 และ 34



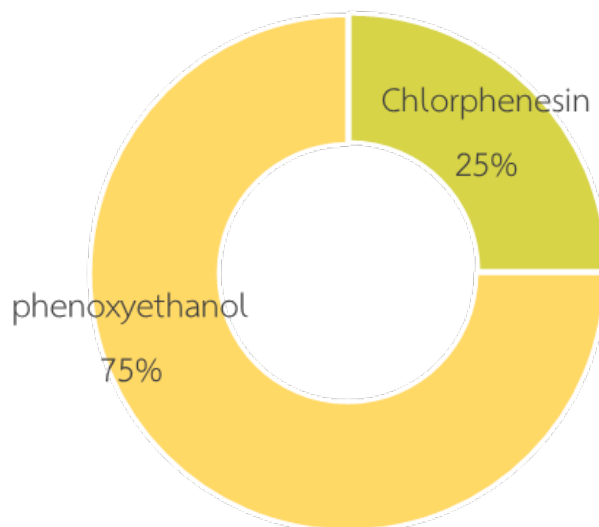
ภาพที่ 33 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกรูปแบบของผลิตภัณฑ์สารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติที่สนใจซื้อ



ภาพที่ 34 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามการนำสารกันเสียไปใช้ประโยชน์

ส่วนที่ 3 ข้อมูลการผลิต จำหน่าย และความต้องการสำหรับผู้ผลิต/จำหน่าย ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง หรือ ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด

จากข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถามในสถานประกอบการจำนวน 4 แห่งซึ่งเป็นผู้ผลิต/จำหน่าย ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางพบว่า ชนิดของสารกันเสียที่มีการนำเข้า/ผลิต และจำหน่ายในธุรกิจ เป็นชนิดสารสังเคราะห์ (Chemical Preservative) โดยมีการใช้สารกันเสีย Phenoxyethanol มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 75 มีการใช้สารกันเสียในปริมาณร้อยละ 0.7-1 ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์ ส่วนสารกันเสีย Chlorphenesin มีการใช้ ร้อยละ 25 และใช้สารกันเสียในปริมาณร้อยละ 0.1-0.3 ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์ ดังแสดงสัดส่วนในภาพที่ 35



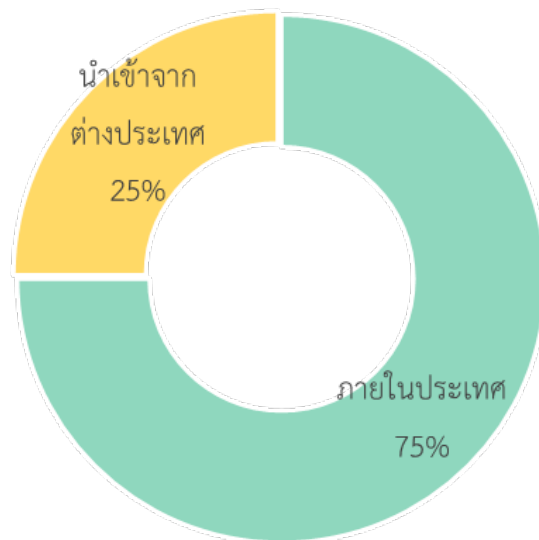
ภาพที่ 35 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามชื่อของสารกันเสีย

แต่เนื่องจากข้อมูลปริมาณการนำเข้านั้นถือเป็นข้อมูลที่ไม่สามารถเปิดเผยได้จึงทำให้สถานประกอบการบางแห่งที่ไม่สามารถให้คำตอบได้ ส่วนในด้านราคาซื้อขายสารกันเสียจากสถานประกอบการจำนวน 4 แห่งนั้นพบว่า สารกันเสีย Chlorphenesin มีราคาซื้อขายอยู่ที่ 5,500 บาท/กก. ด้านมูลค่าการซื้อขายนั้นเนื่องจากผู้ประกอบการไม่สามารถเปิดเผยข้อมูลทำให้ไม่ทราบมูลค่าซื้อขายของสารกันเสีย ส่วนสารกันเสีย phenoxyethanol มีมูลค่าการซื้อขายเฉลี่ยประมาณ 300,000 บาท/ปี และมีราคาเฉลี่ยที่ 1,300 บาท/กก. ดังนั้นราคาซื้อขายสารกันเสียเฉลี่ยประมาณ 3,400 บาท/กก. ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 18

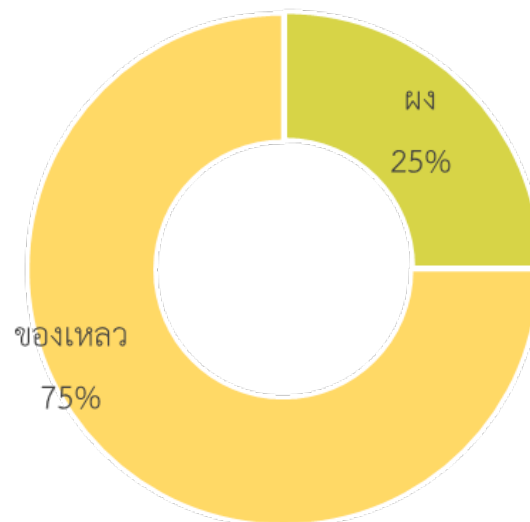
ตารางที่ 18 ราคาซื้อขายมูล ค่าการซื้อขายสารกันเสียและค่าเฉลี่ย

สถานประกอบการ (แห่ง)	สารกันเสีย	ราคาจำหน่ายเฉลี่ย (บาท/กก.)	มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)
3	Phenoxyethanol	1,300	300,000
1	Chlorphenesin	5,500	ไม่ทราบ
ราคาจำหน่ายเฉลี่ย		3,400	300,000

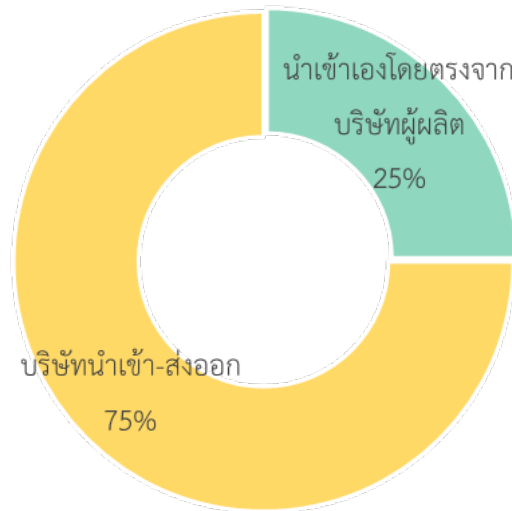
นอกจากนี้ยังพบว่า แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ในส่วนใหญ่มากจากภายในประเทศร้อยละ 75 แหล่งวัตถุดิบนำเข้ามาจากต่างประเทศร้อยละ 25 (ภาพที่ 36) รูปแบบของสารกันเสียที่รับซื้อมาส่วนใหญ่เป็นสารกันเสียรูปแบบของเหลว/สารละลายร้อยละ 75 และเป็นสารกันเสียรูปแบบผงร้อยละ 25 (ภาพที่ 37) สถานประกอบการสั่งซื้อสารกันเสียจากบริษัทผู้ผลิตผ่านช่องทางการนำเข้าเองโดยตรงจากบริษัทผู้ผลิตมากที่สุด ร้อยละ 75 สถานประกอบการสั่งซื้อสารกันเสียบริษัทผู้ผลิตผ่านช่องทางบริษัทนำเข้า-ส่งออก ร้อยละ 25 ดังแสดงสัดส่วนในภาพที่ 38



ภาพที่ 36 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามแหล่งวัตถุดิบที่ใช้

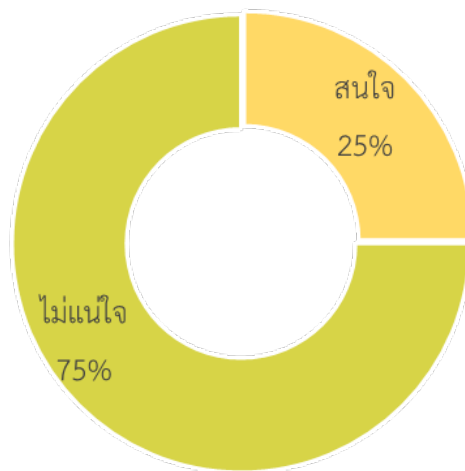


ภาพที่ 37 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามรูปแบบการรับซื้อสารกันเสีย

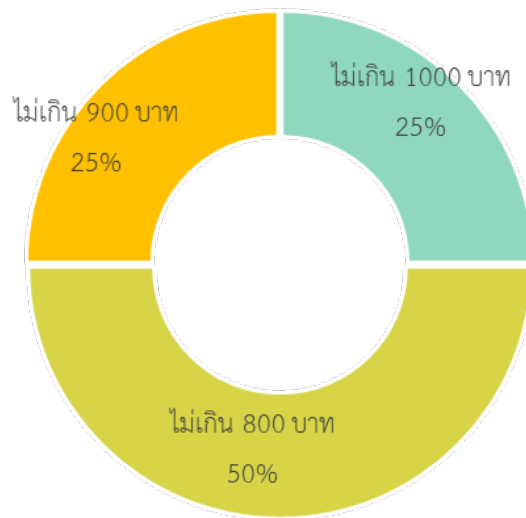


ภาพที่ 38 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามช่องทางการสั่งซื้อสารกันเสีย

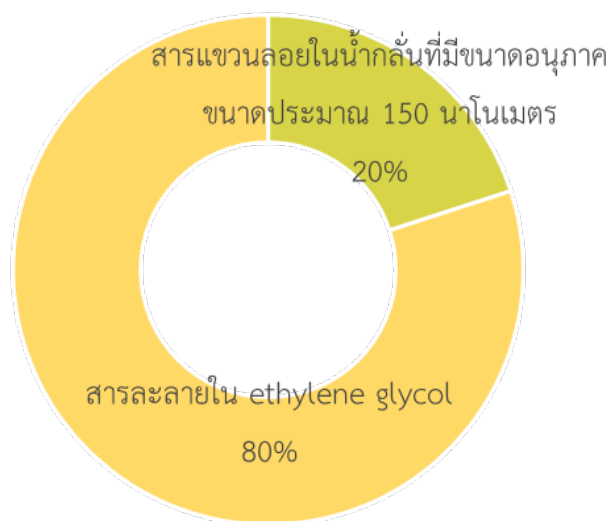
จากผลการศึกษาพบว่าหากมีการผลิตสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติออกจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ผู้ประกอบการคิดว่าจะยังไม่แน่ใจในการซื้อผลิตภัณฑ์ร้อยละ 75 เนื่องจากผู้ประกอบการคำนึงถึงปัจจัยหลายๆ อย่าง เช่น ข้อมูลที่คุณสมบัติของสารกันเสีย ประสิทธิภาพสารกันเสีย ความปลอดภัย ผลการรับรองรวมถึงผลงานวิจัย ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นปัจจัยในการคำนึงในการตัดสินใจซื้อโดยข้อมูลให้มาสำหรับสารกันเสียกลุ่มลิกนินนั้นยังไม่เพียงพอในการตัดสินใจที่จะซื้อ ผู้ประกอบการคิดว่าสนใจในการซื้อผลิตภัณฑ์ร้อยละ 25 ส่วนราคาของสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติที่ยอมรับได้มากที่สุดไม่เกิน 800 บาท/กิโลกรัม ร้อยละ 50 สำหรับราคาที่ยอมรับได้ไม่เกิน 900 บาทและ 1,000 บาทต่อกิโลกรัมอยู่ที่ร้อยละ 25 สำหรับรูปแบบผลิตภัณฑ์สำหรับสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติที่สนใจจะซื้อ คือ สารละลายใน ethylene glycol ร้อยละ 80 สารแขวนลอยในน้ำกลั่นที่มีขนาดอนุภาคขนาดประมาณ 150 นาโนเมตร ร้อยละ 20 โดยผู้ประกอบการมีความเห็นว่าจะสามารถนำสารกันเสียไปใช้ประโยชน์ด้านผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมากที่สุดร้อยละ 95 สำหรับการนำสารกันเสียไปใช้ประโยชน์ด้านผลิตภัณฑ์ชำระล้างและทำความสะอาด ร้อยละ 5 (ภาพที่ 39 ถึง 42)



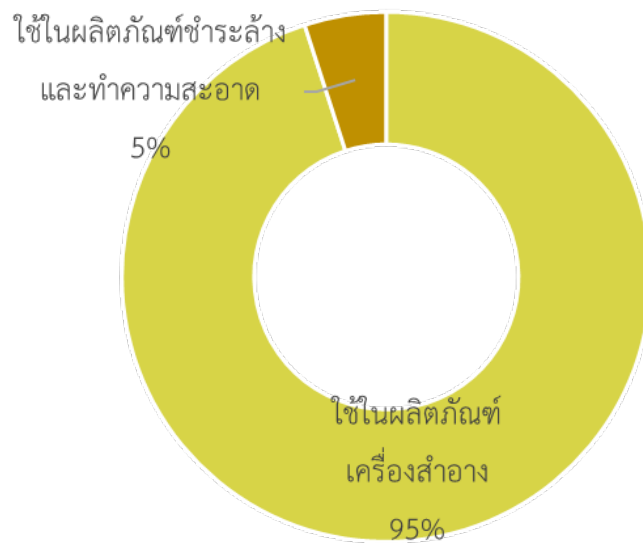
ภาพที่ 39 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามการตัดสินใจซื้อสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติ



ภาพที่ 40 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามราคาที่ยอมรับได้การตัดสินใจซื้อสารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติ



ภาพที่ 41 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกรูปแบบของผลิตภัณฑ์สารกันเสียกลุ่มลิกนินที่สกัดจากธรรมชาติที่สนใจซื้อ

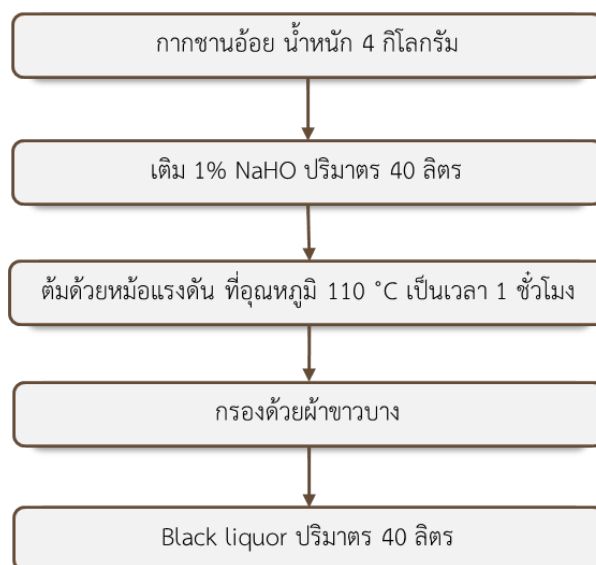


ภาพที่ 42 ร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถาม จำแนกตามการนำสารกันเสียไปใช้ประโยชน์

5.2 ต้นทุนการผลิตนาโนลิกนินระดับห้องปฏิบัติการ

จากการศึกษาข้อมูลคุณสมบัติและรูปแบบของสารนาโนลิกนินเบื้องต้น ทำให้ทราบว่าแนวโน้มทางการตลาดของผลิตภัณฑ์สารกันเสียจากสารสกัดลิกนินและนาโนลิกนิน ส่วนใหญ่ใช้ในเครื่องสำอางมากถึงร้อยละ 90 และใช้ในผลิตภัณฑ์ชำระล้างหรือทำความสะอาดเพียงร้อยละ 10 แต่ในความคิดเห็นของผู้ประกอบคาดว่าจะสามารถนำไปใช้เพิ่มเติมได้ในผลิตภัณฑ์ยา หรือผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งต้นทุนที่ยอมรับได้ในปัจจุบันต้องต่ำกว่า 800-1,000 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งจากการเก็บรวบรวมข้อมูลขั้นตอนการผลิตเพื่อวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต สามารถจำแนกออกเป็น 4 ขั้นตอนย่อย ดังแสดงรายละเอียดขั้นตอนการผลิตดังต่อไปนี้

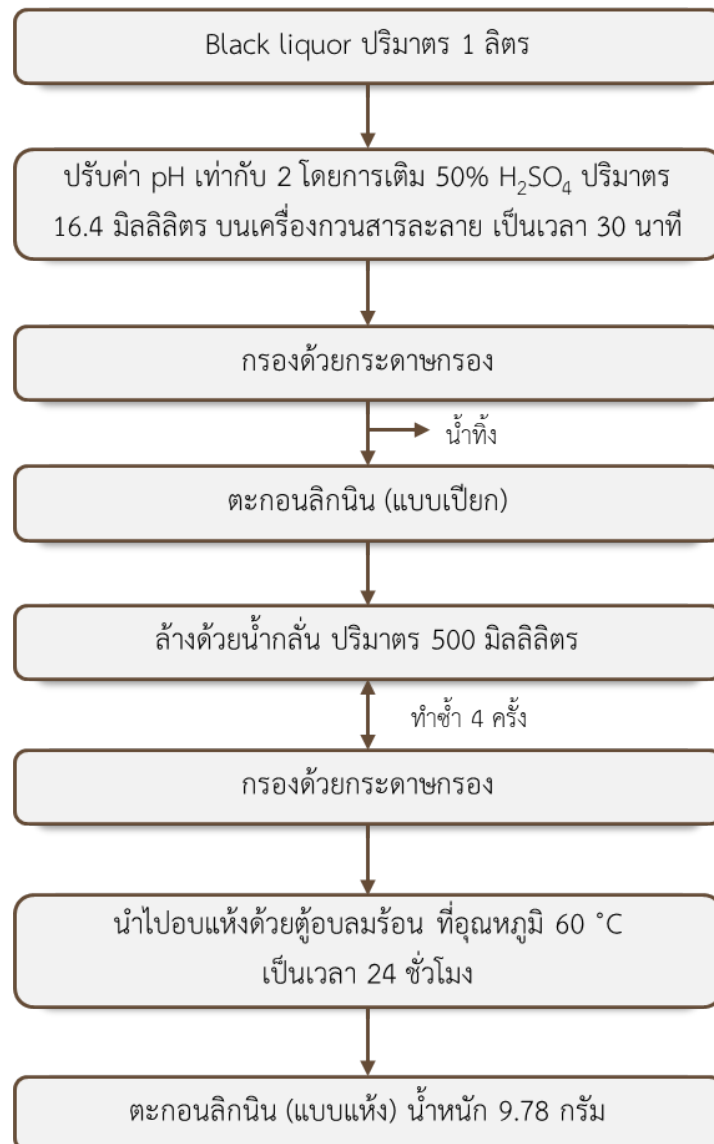
ขั้นตอนที่ 1 กระบวนการสกัดลิกนิน



การผลิตสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากลิกนินจะเป็นการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบที่เป็นส่วนเหลือของกระบวนการผลิตน้ำตาลจากอ้อยคือ กากขานอ้อย โดยในกระบวนการสกัดลิกนินจากกากขานอ้อย จะใช้กากขานอ้อย

น้ำหนัก 4 กิโลกรัม เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1% ปริมาตร 40 ลิตร จากนั้นนำไปต้มในหม้อ ต้มแรงดันที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองเศษกากตะกอนต่างๆ ด้วยผ้าขาวบาง จะได้เป็น สารละลายที่มีลิกนินหรือที่เรียกว่า Black Liquor ปริมาตร 40 ลิตร

ขั้นตอนที่ 2 กระบวนการตกตะกอนลิกนินด้วยกรด



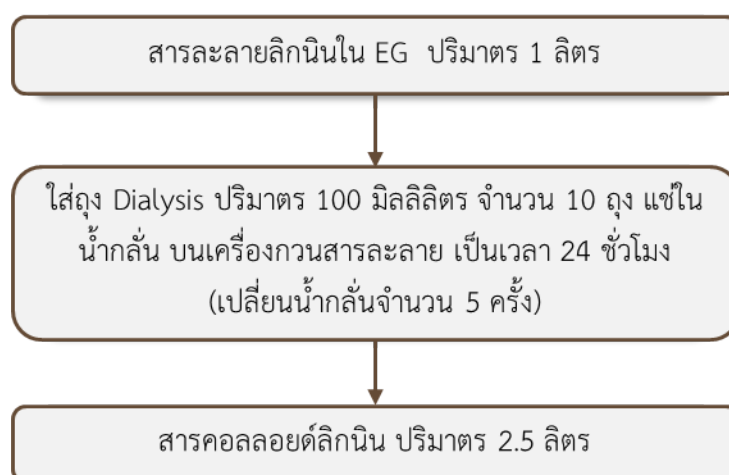
กระบวนการตกตะกอนลิกนินจะใช้ Black Liquor ปริมาตร 1 ลิตร มาทำการปรับค่า pH ให้มีค่าเท่ากับ 2 โดยการเติมกรดซัลฟิวริก (H₂SO₄) ที่ความเข้มข้น 50% ปริมาตร 16.4 มิลลิลิตร แล้วนำไปกวนโดยใช้เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic Stirrer) เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง และล้างด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร (ทำซ้ำ 4 ครั้ง) แล้วจึงนำมาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้ตะกอนลิกนิน (แบบแห้ง) น้ำหนักประมาณ 9.78 กรัม

ขั้นตอนที่ 3 กระบวนการละลายลิกนินด้วย Ethylene Glycol (EG)



สำหรับขั้นตอนการละลายลิกนิน ปริมาณของตะกอนลิกนิน (แบบแห้ง) ที่ใช้จะคิดจากสัดส่วนน้ำหนักของ Ethylene Glycol (EG) ที่ 5% โดยหากมีการใช้สารละลาย EG ปริมาตร 1 ลิตร หรือคิดเป็นน้ำหนัก 1.115 กิโลกรัม จะต้องใช้ตะกอนลิกนิน (แบบแห้ง) น้ำหนัก 5.575 กรัม ซึ่งจะทำให้การผสมด้วยเครื่องกวนสารละลายเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง จะได้อนุภาคลิกนินที่ละลายใน EG ปริมาตร 1 ลิตร ซึ่งสารละลายลิกนินในขั้นตอนนี้เป็นรูปแบบที่ได้รับความสนใจจากผู้ประกอบการสูงถึงร้อยละ 80 โดยจะแสดงต้นทุนสารละลายลิกนินในลำดับถัดไป

ขั้นตอนที่ 4 การเตรียมนูภาคลิกนินด้วยวิธี Dialysis



เมื่อได้สารละลายลิกนินที่อยู่ใน EG ปริมาตร 1 ลิตรแล้ว ขั้นตอนการเตรียมนูภาคลิกนินด้วยวิธี Dialysis จะใช้ถุง Dialysis ที่มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ถุง แล้วนำไปแช่ลงในน้ำกลั่น โดยใช้เครื่องกวนสารละลายกวนเบาๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งกระบวนการนี้ควรมีการเปลี่ยนน้ำกลั่นอย่างน้อย 5 ครั้ง โดยควรเว้นระยะเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง

จากข้อมูลการผลิตนาโนลิกนินในแต่ละขั้นตอนที่กล่าวมาข้างต้น จะมีการจำแนกการคิดต้นทุนออกเป็นหมวด คือ หมวดวัตถุดิบและสารเคมี หมวดวัสดุอุปกรณ์ หมวดค่าเสื่อมราคาของเครื่องมือ และหมวดค่าใช้สอย โดยมีรายละเอียดของต้นทุนการผลิตในแต่ละขั้นตอนดังนี้ (ตารางที่ 19)

1) กระบวนการสกัดลิกนิน ที่มีกำลังการผลิตจากกากชานอ้อยน้ำหนัก 4 กิโลกรัม จะมีต้นทุนด้านวัตถุดิบและสารเคมีอยู่ที่ 395.00 บาท ด้านวัสดุอุปกรณ์อยู่ที่ 50 บาท ด้านค่าเสื่อมราคาของเครื่องมืออยู่ที่ 1.47 บาท และมีค่าใช้สอยที่ประกอบด้วยค่าแรงงาน ค่าไฟฟ้า และค่าน้ำประปาอยู่ที่ 53.67 บาท โดยค่าแรงงานจะคิดเฉพาะส่วนที่มีการปฏิบัติงานเท่านั้น ส่งผลให้ต้นทุนรวมต่อหน่วยในกระบวนการนี้อยู่ที่ 12.50 บาทต่อลิตร

2) กระบวนการตกตะกอนลิกนินด้วยกรด ที่มีการใช้วัตถุดิบตั้งต้นหรือ Black liquor ปริมาตร 1 ลิตร จะทำให้มีต้นทุนด้านวัตถุดิบและสารเคมีอยู่ที่ 23.57 บาท ต้นทุนด้านวัสดุอุปกรณ์อยู่ที่ 19.00 บาท ด้านค่าเสื่อมราคาของเครื่องมืออยู่ที่ 33.30 บาท ทั้งนี้เครื่องมือที่มีอายุการใช้งานเกิน 10 ขึ้นไปจะไม่นำมาคิดค่าเสื่อมราคา และด้านค่าใช้สอยจะมีต้นทุนรวมอยู่ที่ 308.82 บาท ทำให้ต้นทุนต่อหน่วยในกระบวนการนี้เท่ากับ 39.33 บาทต่อกรัม

3) กระบวนการละลายลิกนินด้วย EG จากกำลังการผลิตที่น้ำหนักตะกอนลิกนิน (แบบแห้ง) ที่ 0.5% ของน้ำหนัก EG ที่ปริมาตร 1 ลิตร จะทำให้มีต้นทุนการผลิตด้านวัตถุดิบและสารเคมีอยู่ที่ 619.29 บาท ด้านวัสดุอุปกรณ์ 170.67 บาท ด้านค่าเสื่อมราคาของเครื่องมือ 0.60 บาท และต้นทุนด้านค่าใช้สอยอยู่ที่ 52.06 บาท ทำให้กระบวนการละลายลิกนินด้วย EG มีต้นทุนรวมต่อหน่วยอยู่ที่ 842.61 บาทต่อลิตร ซึ่งตามข้อมูลแบบสอบถามความคิดเห็นของผู้ประกอบการพบว่า ราคานี้เป็นราคาที่ผู้ประกอบการสามารถยอมรับได้

4) กระบวนการเตรียมอนุภาคนาโนลิกนินด้วยวิธี Dialysis เนื่องจากเทคโนโลยีของกระบวนการเตรียมอนุภาคนาโนลิกนินในระดับห้องปฏิบัติการนั้นจะมีต้นทุนด้านการผลิตที่สูง จึงทำให้ต้นทุนด้านวัตถุดิบและสารเคมีมีค่าอยู่ที่ 1,592.62 บาท ด้านวัสดุอุปกรณ์ 3,025.00 บาท ด้านค่าเสื่อมราคาของเครื่องมือ 7.14 บาท และมีค่าใช้สอยอยู่ที่ 163.47 บาท ส่งผลให้มีต้นทุนรวมต่อหน่วยในกระบวนการนี้อยู่ที่ 1,915.29 บาทต่อลิตร

ตารางที่ 19 ต้นทุนการผลิตนาโนลิกนินในระดับห้องปฏิบัติการ จำแนกตามกระบวนการผลิต

รายการ	จำนวน	หน่วย	ต้นทุนต่อหน่วย (บาท)	รวมต้นทุน (บาท)
กระบวนการสกัดลิกนิน				
วัตถุดิบ / สารเคมี				
กากอ้อย	4	กิโลกรัม	0.60	2.40
1% NaOH	400	กรัม	0.48	192.60
น้ำกลั่น	40	ลิตร	5.00	200.00
วัสดุอุปกรณ์				
ผ้าขาวบาง	2	ผืน	25.00	50.00
เครื่องมือ (ค่าเสื่อมราคา)				
เครื่อง Autoclave	1	เครื่อง	1.47	1.47
ค่าใช้สอย				
ค่าแรง	1	ชั่วโมง	37.50	37.50
ค่าไฟฟ้า	2.80	kwh	5.11	14.31
ค่าน้ำประปา	120	ลิตร	0.02	1.86
รวมต้นทุนต่อหน่วย (บาทต่อลิตร)				12.50

รายการ	จำนวน	หน่วย	ต้นทุนต่อหน่วย (บาท)	รวมต้นทุน (บาท)
กระบวนการตกตะกอนลิกนินด้วยกรด				
วัตถุดิบ / สารเคมี				
Black liquor	1	ลิตร	12.50	12.50
50% H ₂ SO ₄	16.4	มิลลิลิตร	65.00	1.07
น้ำกลั่น	2	ลิตร	5.00	10.00
วัสดุอุปกรณ์				
กระดาษกรอง (Whatman No.1)	10	แผ่น	1.90	19.00
เครื่องมือ (ค่าเสื่อมราคา)				
เครื่องกวนสารละลาย	1	เครื่อง	0.15	0.15
pH Meter	1	เครื่อง	1.41	1.41
ปั๊มสุญญากาศ (Aspirator pump)	1	เครื่อง	อายุการใช้งานเกิน 10 ปี จึงไม่นำมาคำนวณ	
ตู้ดูดไอสารเคมี (Fume hood)	1	เครื่อง		
ตู้อบลมร้อน	1	เครื่อง	31.75	31.75
ค่าใช้จ่าย				
ค่าแรง	2.5	ชั่วโมง	37.50	93.75
ค่าไฟฟ้า	41.72	kwh	5.11	213.21
ค่าน้ำประปา	120	ลิตร	0.02	1.86
รวมต้นทุนต่อหน่วย (บาทต่อกรัม)				39.33
กระบวนการละลายลิกนินใน Ethylene Glycol (EG)				
วัตถุดิบ / สารเคมี				
ตะกอนลิกนินแห้ง	5.575	กรัม	39.33	219.29
สารละลาย EG	1.115	กิโลกรัม	0.36	400.00
วัสดุอุปกรณ์				
กระดาษกรอง (Whatman No.5)	11	แผ่น	15.52	170.67
เครื่องมือ (ค่าเสื่อมราคา)				
เครื่องบดละเอียด	1	เครื่อง	0.00	0.00
เครื่องกวนสารละลาย	1	เครื่อง	0.60	0.60
ค่าใช้จ่าย				
ค่าแรง	1	ชั่วโมง	37.50	37.50
ค่าไฟฟ้า	2.48	kwh	5.11	12.70
ค่าน้ำประปา	120	ลิตร	0.02	1.86
รวมต้นทุนต่อหน่วย (บาทต่อลิตร)				842.61
กระบวนการเตรียมนุภาคนาโนด้วยวิธี Dialysis				
วัตถุดิบ / สารเคมี				
สารละลายลิกนิน	1	ลิตร	842.61	842.61
น้ำกลั่น	150	ลิตร	5.00	750.00
วัสดุอุปกรณ์				
ถุง Dialysis	2.5	เมตร	1,210.00	3,025.00
เครื่องมือ (ค่าเสื่อมราคา)				

รายการ	จำนวน	หน่วย	ต้นทุนต่อหน่วย (บาท)	รวมต้นทุน (บาท)
เครื่องกวสารละลาย	1	เครื่อง	7.14	7.14
ค่าใช้จ่าย				
ค่าแรง	1	ชั่วโมง	37.50	37.50
ค่าไฟฟ้า	24.29	kwh	5.11	124.11
ค่าน้ำประปา	120	ลิตร	0.02	1.86
รวมต้นทุนต่อหน่วย (บาทต่อลิตร)				1,915.29

จากข้อมูลคุณสมบัติ การตลาด และต้นทุนการผลิตระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า สารละลายลิกันนินใน EG มีความเป็นไปได้ทางการตลาดสูงมากที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เนื่องจากมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อดีกว่าสารกลุ่ม Phenoxyethanol ถึง 200 เท่า ดังนั้นหากเทียบที่ประสิทธิภาพการออกฤทธิ์เท่ากัน จะใช้สารละลายลิกันนินใน EG ที่ปริมาณน้อยกว่า 200 เท่าเช่นกัน ส่งผลให้ราคาต่อหน่วยจะลดลงเหลือเพียง 4.21 บาทต่อหน่วย การใช้งานเทียบเท่าปริมาณการใช้สารกลุ่ม Phenoxyethanol โดยไม่มีข้อจำกัดด้านปัจจัยการผลิต แต่สำหรับสารสกัดนาโนลิกันนิน จากผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่ามีคุณสมบัติด้านการยับยั้งเชื้อต่ำ ประกอบกับราคาต้นทุนที่มีราคาสูงกว่า 1,000 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งราคานี้ยังไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ประกอบการที่จะซื้อไปใช้แทนสารยับยั้งเชื้อที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดนาโนลิกันนินยังมีความเป็นไปได้ทางการตลาดค่อนข้างน้อย

บรรณานุกรม – 2

- Alexander P. Richter et al., 2015. "Environmentally Friendly Lignin Nanoparticle 'Greens' Silver Nanobullet to Battle Bacteria." [Online.] Available: <https://news.ncsu.edu/2015/07/green-nanobullet/> Retrieved June 3, 2019.
- Alibaba.com. 2562. "Diethylenetriaminepentaacetic กรด 99% DTPA." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://thai.alibaba.com/product-detail/diethylenetriaminepentaacetic-acid-99-dtpa-60654866656.html> สืบค้น 22 มิถุนายน 2562.
- Andrea Porcari. 2013. "Silver Nanoparticles: Situation and Perspective for Industrial Application in the Lombardia Region." [Online]. Available: http://www.nanotec.it/public/wp-content/uploads/2014/04/AIRI_Report_PerspectiveNanosilver_Overview.pdf Retrieved June 16, 2019.
- Camilla Abbati de Assis et al., 2018. "Techno-Economic Assessment, Scalability, and Applications of Aerosol Lignin Micro- and Nanoparticles." [Online]. Available: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acssuschemeng.8b02151> Retrieved June 3, 2019.
- Chemical Max. 2562. "EDTA 4 NA." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.chemicalmax.com/product/edta-4-na/> สืบค้น 22 มิถุนายน 2562.
- Fengchen Group Co.,Ltd. 2019."Glycerol Monostearate (GMS)." [Online]. Available: <http://th.fengchengroup.net/chemicals/organic-chemicals/glycerol-monostearate-40-60-cas-123-94-4.html> Retrieved June 3, 2019.
- IULIAN-ANDREI GÎLCĂ and VALENTIN I. POPA. 2013. " Study on Biocidal Properties of Some Nanoparticles Based on Epoxy Lignin." [Online]. Available: [http://www.cellulosechemtechnol.ro/pdf/CCT3-4\(2013\)/p.239-245.pdf](http://www.cellulosechemtechnol.ro/pdf/CCT3-4(2013)/p.239-245.pdf) Retrieved June 3, 2019.
- myskinrecipes. 2562. "Hydrogenated Castor Oil (Wax)." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.myskinrecipes.com/shop/wax-ธรรมชาติ/1482-hydrogenated-castor-oil.html> สืบค้น 19 มิถุนายน 2562.
- National Toxicology Program. 2019. "Testing Status of Phenolic Benzotriazoles (2-(5-Chloro-2H-benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol) 12013." [Online]. Available: <https://ntp.niehs.nih.gov/testing/status/agents/ts-12013.html> Retrieved June 16, 2019.
- Srinivasa Rao Yearla et al., 2015. "Preparation and characterisation of lignin nanoparticles: evaluation of their potential as antioxidants and UV protectants." [Online.] Available: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17458080.2015.1055842> Retrieved June 3, 2019.
- Weijun YANG et al., 2016. "Antioxidant and antibacterial lignin nanoparticles in polyvinyl alcohol/chitosan films for active packaging." [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669016306604?via%3Dihub#!> Retrieved June 3, 2019.
- จักรพล สุนทรวราภาส และคณะ. 2561. "สารสกัดจากผลผลิตพลอยได้อุตสาหกรรมเกษตรเพื่อการยับยั้งการก่อเชื้อ." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.nstda.or.th/investorsday/2018/projects/detail/1/index.html> สืบค้น 20 มิถุนายน 2562.

-
- จุริรัตน์ ประสาร. 2548. "สิ่งทอเด่น จากอดีต...สู่อนาคต." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:
https://www2.mtec.or.th/th/e-magazine/admin/upload/219_51-54.pdf สืบค้น 23 มิถุนายน 2562.
- ชุดิณณทัณ อุดมเกียรติกุล. 2562. "ผลิตภัณฑ์กันแดดปกป้องผิวอย่างไร?" [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:
https://www.pharmacy.mahidol.ac.th/dic/knowledge_full.php?id=38 สืบค้น 22 มิถุนายน 2562.
- โชคชัย บุญยะกลัมพ. 2561. "รายงานพิเศษ/นวัตกรรมแกรฟีน (graphene) เทคโนโลยีโลกในอนาคต โทรศัพท์พังอได้ในอีก 5 ปี." มติชนสุดสัปดาห์ ฉบับวันที่ 16 - 22 มีนาคม 2561. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:
https://www.matichonweekly.com/column/article_89497 สืบค้น 22 มิถุนายน 2562.
- ฐานความรู้เรื่องความปลอดภัยด้านสารเคมี. 2562. "ฐานข้อมูลโรคที่เกี่ยวข้องกับการทำงานและสารเคมี." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://sci.bsru.ac.th/sciweb/e-magazine/11-1/chapter-5.pdf> สืบค้น 22 มิถุนายน 2562.
- บุญทวี เลิศปัญญาพรชัย. 2554. "ท่อนาโนคาร์บอน (Carbon Nanotube)." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:
<http://sci.bsru.ac.th/sciweb/e-magazine/11-1/chapter-5.pdf> สืบค้น 22 มิถุนายน 2562.
- ประกาศคณะกรรมการเครื่องสำอาง. 2560. "การแสดงคำเตือนที่ฉลากเครื่องสำอางที่มีสารป้องกันแสงแดด พ.ศ. 2560." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.fda.moph.go.th/sites/Cosmetic/Shared%20Documents/InterestingLaws/ประกาศกระทรวง/คำเตือนกันแดด.PDF> สืบค้น 22 มิถุนายน 2562.
- ร้านเคมีภัณฑ์ (1). 2562. "Gum Arabic (กัม อารบิก)." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.chemipan.com/a/index.php?option=com_virtuemart&view=productdetails&virtuemart_product_id=9015&virtuemart_category_id=26&lang=th-th สืบค้น 20 มิถุนายน 2562.
- ร้านเคมีภัณฑ์ (2). 2562. "GMS (Glyceryl Monostearate) (Germany) (กลีเซอรอล โมโนสเตียเรท)." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.chemipan.com/a/th-th/244-สินค้า/328-เคมีทั่วไป/1074-gms-glyceryl-monostearate-germany-กลีเซอรอล-โมโนสเตียเรท-1kg-m.html> สืบค้น 20 มิถุนายน 2562.
- ร้านเคมีภัณฑ์ (3). 2562. "cetyl alcohol (ซีทิว แอลกอฮอล์)." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:
<https://www.chemipan.com/a/th-th/244-สินค้า/328-เคมีทั่วไป/1059-cetyl-alcohol-ซีทิว-แอลกอฮอล์-1kg-m.html> สืบค้น 20 มิถุนายน 2562.
- ร้านเคมีภัณฑ์ (4). 2562. "Ethylene Glycol (EG) (เอทิลีน ไกลคอล)." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:
<https://www.chemipan.com/a/th-th/244-สินค้า/328-เคมีทั่วไป/10802-ethylene-glycol-eg-เอทิลีน-ไกลคอล-1kg-m.html> สืบค้น 20 มิถุนายน 2562.
- ร้านเคมีภัณฑ์ (5). 2562. "EDTA 2Na (Ethylene Diamine Tetra Acetic) (อีดีทีเอ)." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:
<https://www.chemipan.com/a/th-th/244-สินค้า/328-เคมีทั่วไป/10803-edta-2na-ethylene-diamine-tetra-acetic-อีดีทีเอ-500g-m.html> สืบค้น 20 มิถุนายน 2562.
- ร้านเคมีภัณฑ์ (6). 2562. "นาโนไททาเนียม ไดออกไซด์ (เครื่องสำอาง) A (Nano Titanium Dioxide TiO2)." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.chemipan.com/a/th-th/244-สินค้า/326-เคมีเครื่องสำอาง/16430-นาโน-ไททาเนียม-ไดออกไซด์-เครื่องสำอาง-a-nano-titanium-dioxide-tio2-10g-m.html> สืบค้น 23 มิถุนายน 2562.
- ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ. 2553. "มุมมองกลับของซิลเวอร์นาโน." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:
https://www2.mtec.or.th/th/e-magazine/admin/upload/253_8-12.pdf สืบค้น 22 มิถุนายน 2562.
-

สิริวรรณ ลีศิริสรณ์. 2550. "การวิเคราะห์หาปริมาณขององค์ประกอบในผลิตภัณฑ์พีวีซี." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.dss.go.th/images/st-article/pep_12_2550_PVC.pdf สืบค้น 17 มิถุนายน 2562.

อภิชาติ สนธิสมบัติ. 2562. "เส้นใยแก้ว (Glass Fibers)." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://www.ttcexpert.com/2012/Powerpoint/High_Performance_Fibers_PART2.pdf สืบค้น 22 มิถุนายน 2562.

"ความสำคัญและประโยชน์ของคาร์บอนแบลคในทางอุตสาหกรรม." [ม.ป.ป.]. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss_j/2523_93_12.pdf สืบค้น 22 มิถุนายน 2562.

"เอนทีเอในผงซักฟอก." [ม.ป.ป.]. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss_j/2514_68_15_17.pdf สืบค้น 23 มิถุนายน 2562.

บทที่ 6 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการต่อยอดการใช้ประโยชน์ลิกนินจากกากอ้อยโดยพัฒนาเป็นอนุภาคนาโนลิกนิน และใช้เป็นสารต้านจุลชีพเพื่อประยุกต์ใช้แทนอนุภาคซิลเวอร์นาโนซึ่งเป็นสารต้านจุลชีพที่มีการใช้อย่างแพร่หลายแต่ก็มีงานวิจัยจำนวนหนึ่งกล่าวถึงผลกระทบในเชิงลบหากมีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม โดยศึกษาการผลิตอนุภาคนาโนลิกนินใน 2 รูปแบบ คือ การใช้กระบวนการทางกายภาพ และกระบวนการทางเคมี โดยมุ่งหวังให้ได้กระบวนการต้นแบบที่ไม่ซับซ้อนและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม และอนุภาคนาโนลิกนินที่ได้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ โดยเชื้อที่พบในกลุ่มเครื่องสำอางเป็นเชื้อกลุ่มเป้าหมายที่ใช้ทดสอบและมีการเปรียบเทียบประสิทธิภาพและต้นทุนกับอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางการค้า

วิธีการทางกายภาพที่นำมาใช้ คือ การใช้เครื่องผสมความเร็วสูง (Homogenizer) จุดเด่นของกระบวนการคือ ไม่มีการใช้สารเคมีรุนแรงในกระบวนการผลิตเนื่องจากการเตรียมอนุภาคนาโนลิกนินทำในน้ำกลั่น อย่างไรก็ตามผลพบว่าวิธีทางกลแม้จะมีขั้นตอนไม่ยุ่งยากแต่ใช้ระยะเวลานานในการลดขนาดเป็นผลมาจากความร้อนและฟองที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการ นอกจากนี้อนุภาคที่เตรียมได้ยังมีขนาดใหญ่เกินไป (ประมาณ 400 นาโนเมตร) ในขณะที่วิธีการทางเคมี แม้ว่าจะมีขั้นตอนในการเตรียมการมากกว่า ได้แก่ การเตรียมสารละลายลิกนินที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมในตัวทำละลายอินทรีย์ (0.5% ลิกนินใน ethylene glycol) โดยใช้เวลาในการผสม 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปทำ dialysis ในน้ำกลั่นนาน 24 ชั่วโมง และมีการเปลี่ยนน้ำกลั่นในระหว่างนั้น 2 – 3 ครั้ง แต่พบว่าขนาดอนุภาคลิกนินที่ได้มีขนาดเล็กกว่าจากการเตรียมด้วยวิธีทางกล (ประมาณ 150-200 นาโนเมตร) และมีความเสถียรในระหว่างการเก็บรักษานาน 9 เดือน โดยพิจารณาจากค่า zeta potential (ประมาณ -30 mV) แต่เนื่องจากขนาดอนุภาคนาโนลิกนินที่ได้ยังคงมีขนาดใหญ่กว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สามารถเตรียมได้เล็กถึงระดับ 10 นาโนเมตร จึงได้มีการทดลองลดขนาดเพิ่มเติมโดยใช้ microfluidizer ซึ่งเป็นเครื่องมือผลิตอนุภาคนาโนที่ใช้แรงเฉือนจากความดันและความเร็วในการเคลื่อนที่สารเป็นกลไกในการลดขนาด ซึ่งผลพบว่าสภาวะที่ใช้สามารถลดขนาดลงได้เพิ่มเติมเพียงเล็กน้อยซึ่งอาจเนื่องมาจากข้อจำกัดของเครื่องที่ได้รับความนิยมเพราะให้ใช้ทดลองสามารถใช้ความดันได้สูงสุด 25,000 psi ซึ่งอาจยังไม่เหมาะสม ดังนั้นหากพิจารณาจากคุณสมบัติของอนุภาคนาโนลิกนินที่ได้กระบวนการทางเคมีจึงเป็นวิธีที่เหมาะสมและถูกเลือกเป็นกระบวนการต้นแบบ

ในด้านคุณสมบัติทางชีวภาพพบว่าอนุภาคนาโนลิกนินที่เตรียมได้ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เมื่อทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 0.0001 – 1 มก./มล. ซึ่งมีความเป็นพิษน้อยกว่า Sodium lauryl sulfate ที่เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ใช้อย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดและเครื่องสำอาง รวมทั้งอนุภาคนาโนลิกนินยังมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนประมาณ 7 เท่าที่ความเข้มข้นเดียวกันจากการทดสอบด้วยวิธี DPPH assay แต่เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อผลพบว่าอนุภาคนาโนลิกนินไม่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งแกรมบวกและลบ รวมกว่า 10 สายพันธุ์ เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี rezasurin ใน 96-well microplate ในขณะที่สารละลายลิกนินใน EG ก่อนที่จะนำมาทำ dialysis เพื่อลดขนาดพบว่ามีความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ทดสอบเกือบทุกชนิด เมื่อศึกษาเปรียบเทียบกับข้อมูลจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่ามีการอธิบายถึงผลของประจุลบของอนุภาคนาโนว่าจะส่งผลให้การเข้าทำลายเซลล์แบคทีเรียซึ่งมีประจุเป็นลบเช่นกันเกิดได้ยาก ในขณะที่ถ้าเป็นการศึกษาการเข้ายึดเกาะบนพื้นผิวของแบคทีเรีย พื้นผิวที่เป็นประจุลบจะลดการเกาะยึดของแบคทีเรียได้ดีกว่า จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการที่จะพิจารณารูปแบบการใช้ประโยชน์ของอนุภาคนาโนลิกนิน เช่น เพื่อเคลือบพื้นผิวต่างๆ ที่ไม่ต้องการให้เกิดการสะสมของเชื้อแบคทีเรีย

เนื่องจากสารละลายลิกนินใน EG สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีจึงได้นำข้อมูลคุณสมบัติของทั้งอนุภาคนาโนลิกนิน และสารละลายลิกนินที่ได้จากงานวิจัยไปใช้ในการศึกษาต้นทุนการผลิตระดับห้องปฏิบัติการและความเป็นไปได้เบื้องต้นทางการตลาด จากข้อมูลการศึกษาความเป็นไปได้ทางการตลาดของผลิตภัณฑ์สารกันเสียจากสารละลาย

ลิกนินและนาโนลิกนิน พบว่ามีความเป็นไปได้ในการใช้ในเครื่องสำอางมากถึงร้อยละ 90 และใช้ในผลิตภัณฑ์ชำระล้าง หรือทำความสะอาดร้อยละ 10 ในความคิดเห็นของผู้ประกอบการจะสามารถนำไปใช้เพิ่มเติมได้ในผลิตภัณฑ์ยา หรือผลิตภัณฑ์อาหาร และต้นทุนที่ยอมรับได้ในปัจจุบันต้องต่ำกว่า 800 -1,000 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งราคาต้นทุนการผลิตของสารละลายลิกนินและอนุภาคนาโนลิกนินเมื่อใช้กระบวนการผลิตจากโครงการอยู่ที่ 842.61 บาทต่อลิตร และ 1,915.29 บาทต่อลิตร ตามลำดับ

จากข้อมูลคุณสมบัติ การตลาด และต้นทุนการผลิตระดับห้องปฏิบัติการพบว่าอนุภาคนาโนลิกนิน มีคุณสมบัติด้านการยับยั้งเชื้อที่ไม่แน่นอนประกอบกับราคาต้นทุนที่สูงกว่า 1,000 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งยังไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ประกอบการที่จะซื้อไปใช้ทดแทนสารยับยั้งเชื้อที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าสารนาโนลิกนินยังมีความเป็นไปได้ทางการตลาดค่อนข้างน้อย ในขณะที่สารละลายลิกนิน (0.5% ใน EG) มีความเป็นไปได้ทางการตลาดสูงมากที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดเพื่อทดแทนสารกลุ่ม Phenoxyethanol ซึ่งเป็นสารกลุ่ม glycol ester เนื่องจากหากเทียบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์เท่ากันจะสามารถใช้สารละลายลิกนินใน EG ที่ปริมาณน้อยกว่า 200 เท่า ส่งผลให้ราคาต่อหน่วยลดลงเหลือเพียง 4.21 บาทต่อหน่วย และยังสามารถนำไปใช้งานได้เทียบเท่ากับปริมาณการใช้สารกลุ่ม Phenoxyethanol โดยไม่มีข้อจำกัดด้านปัจจัยการผลิต

จากการดำเนินงานโครงการวิจัยนี้พบว่าลิกนินมีศักยภาพในการใช้เป็นสารต้านจุลชีพได้แม้จะยังไม่สามารถเทียบเท่าอนุภาคซิลเวอร์นาโน แต่เนื่องจากทั้งโครงสร้างทางเคมีรวมถึงคุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพมีความผันแปรตามปัจจัยต่าง ๆ ที่ศึกษาค่อนข้างสูง ดังจะเห็นได้จากอนุภาคนาโนลิกนินซึ่งแสดงผลการยับยั้งเชื้อเมื่อเตรียมเป็นอนุภาคนาโนด้วยเทคนิค phase transfer (RDG 5950094) แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อชนิดเดียวกันเมื่อเตรียมด้วยวิธี dialysis เช่นเดียวกับลิกนินที่ละลายใน EG สามารถยับยั้งเชื้อได้แต่หากผ่านการลดขนาดและเป็นสารแขวนลอยที่มีประจุลบจะไม่สามารถใช้เป็นสารยับยั้งเชื้อได้ ดังนั้นการใช้ประโยชน์ลิกนิน จากกากอ้อยซึ่งเป็นผลผลิตพลอยได้ที่สำคัญของประเทศยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้เกิดองค์ความรู้ที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ภาคผนวก ก



แบบสอบถาม

โครงการพัฒนาระบบการผลิตอนุภาคลิพิดเป็นสารต้านจุลชีพเพื่อประยุกต์ใช้แทนอนุภาคซิลเวอร์นาโน

คำชี้แจง

แบบสอบถามนี้จัดทำขึ้นเพื่อสำรวจรูปแบบการซื้อขายสารกันเสียในเครื่องสำอาง ความต้องการของผู้บริโภค รวมถึงการยอมรับเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์สารกันเสียจากสารสกัดนาโนลิพิด

คำอธิบาย

แบบสอบถามนี้ประกอบด้วยข้อมูล 3 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป

ส่วนที่ 2 ข้อมูลการผลิต จำหน่าย และความต้องการสำหรับผู้นำเข้า/ผลิตสารกันเสีย

ส่วนที่ 3 ข้อมูลการผลิต จำหน่าย และความต้องการสำหรับผู้ผลิต/จำหน่าย ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง หรือ ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด

โดยลักษณะสารต้านจุลชีพของโครงการเป็นสารจากธรรมชาติกลุ่มลิพิดที่สกัดได้จากขานอ้อยที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและลบที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน สามารถเตรียมได้เป็น 2 รูปแบบ ได้แก่

- 1) สารแขวนลอยในน้ำกลั่นที่มีขนาดอนุภาคขนาดประมาณ 150 นาโนเมตร
- 2) สารละลายใน ethylene glycol

คณะผู้วิจัยจึงขอความร่วมมือท่านในการกรอกแบบสอบถามเพื่อประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัย ทั้งนี้ข้อมูลทั้งหมดของท่านจะปิดเป็นความลับและนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการศึกษาวิจัยเท่านั้น และขอขอบคุณพระคุณ ณ โอกาสนี้

คณะผู้วิจัย

กรุณาทำเครื่องหมาย ✓ หน้าข้อความ หรือ ระบุข้อความลงในช่องว่าง
ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป

1.1 ข้อมูลผู้ตอบแบบสอบถาม

ชื่อ - สกุล ตำแหน่ง.....
โทรศัพท์..... อีเมล.....

1.2 ข้อมูลสถานประกอบการ

ชื่อสถานประกอบการ.....
ที่อยู่..... ถนน..... หมู่ที่..... ตำบล/แขวง.....
อำเภอ/เขต..... จังหวัด..... รหัสไปรษณีย์.....
โทรศัพท์..... อีเมล.....

ประเภทสถานประกอบการ (สามารถตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

- ☐ ผู้ผลิต นำเข้า/จำหน่าย ผลิตภัณฑ์สารกันเสีย (ตอบเฉพาะส่วนที่ 2)
- ☐ ผู้ผลิต/จำหน่าย ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (ตอบเฉพาะส่วนที่ 3)
- ☐ กลุ่มผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด (ตัวอย่าง สบู่ แชมพู ครีมนวดผม ยาสีฟัน แอลกอฮอล์เจล เจลล้างหน้า ครีมโกนหนวด ครีมอาบน้ำ ฯลฯ)
 - ☐ กลุ่มผลิตภัณฑ์บำรุงผิว (ตัวอย่าง โลชั่นบำรุงผิว ครีมกันแดด เซรั่มบำรุงผม ลิปปาล์มที่ไม่มีสี ฯลฯ)
 - ☐ กลุ่มผลิตภัณฑ์สำหรับการตกแต่ง (ตัวอย่าง ครีมรองพื้น ลิปทูกชนิดที่มีสี บลัชออน ดินสอเขียนคิ้ว มาสคาร่า ฯลฯ)
 - ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)
- ☐ ผู้ผลิต นำเข้า/จำหน่าย ผลิตภัณฑ์ชำระล้างและทำความสะอาด (ตัวอย่าง ผงซักฟอก น้ำยาปรับผ้านุ่ม น้ำยาล้างจาน น้ำยาล้างจาน ฯลฯ) (ตอบเฉพาะส่วนที่ 3)
- ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....(เลือกตอบเฉพาะส่วนที่ 2 หรือส่วนที่ 3)

ส่วนที่ 2 ข้อมูลการผลิต นำเข้า จำหน่าย และความต้องการของผู้บริโภคเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ สำหรับผู้นำเข้า/ผลิต และจำหน่าย ผลิตภัณฑ์สารกันเสีย

2.1 ชนิดของสารกันเสียที่มีการนำเข้า/ผลิต และจำหน่ายในธุรกิจของท่าน (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

2.1.1 ชนิดสารสังเคราะห์ (Chemical Preservative)

- ☐ กลุ่ม *Parabens* (ตัวอย่าง MethylParaben, EthylParaben, isoPropylparaben ฯลฯ)

กรณีการนำเข้า

ปริมาณการนำเข้า..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งนำเข้าจากประเทศ (โปรดระบุ).....

กรณีการผลิต

ปริมาณการผลิต..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบในการผลิต ☐ ภายในประเทศ ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

- ☐ กลุ่ม *Formaldehyde Donors* (ตัวอย่าง DMDM hydantoin, Imidazolidinyl urea ฯลฯ)

กรณีการนำเข้า

ปริมาณการนำเข้า..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งนำเข้าจากประเทศ (โปรดระบุ).....

กรณีการผลิต

ปริมาณการผลิต..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบในการผลิต ☐ ภายในประเทศ ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

- ☐ กลุ่ม *Phenol derivatives* (ตัวอย่าง DMDM hydantoin, Imidazolidinyl urea ฯลฯ)

กรณีการนำเข้า

ปริมาณการนำเข้า..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งนำเข้าจากประเทศ (โปรดระบุ).....

กรณีการผลิต

ปริมาณการผลิต..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบในการผลิต ☐ ภายในประเทศ ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

- ☐ กลุ่ม *Isothiazolinones* (ตัวอย่าง Kathon ฯลฯ)

กรณีการนำเข้า

ปริมาณการนำเข้า..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งนำเข้าจากประเทศ (โปรดระบุ).....

กรณีการผลิต

ปริมาณการผลิต..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

- ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
- แหล่งวัตถุดิบในการผลิต ☐ ภายในประเทศ ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ
- ☐ กลุ่มอื่นๆ (โปรดระบุ)
- กรณีการนำเข้า
- ปริมาณการนำเข้า..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)
- ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
- แหล่งนำเข้าจากประเทศ (โปรดระบุ).....
- กรณีการผลิต
- ปริมาณการผลิต..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)
- ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
- แหล่งวัตถุดิบในการผลิต ☐ ภายในประเทศ ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

2.1.2 ชนิดสารสกัดจากธรรมชาติ (Natural Preservative)

- 1) กลุ่ม/ชื่อสารที่มีการผลิต.....
- กรณีการนำเข้า
- ปริมาณการนำเข้า..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)
- ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
- แหล่งนำเข้าจากประเทศ (โปรดระบุ).....
- กรณีการผลิต
- ปริมาณการผลิต..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)
- ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
- แหล่งวัตถุดิบในการผลิต ☐ ภายในประเทศ ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ
- 2) กลุ่ม/ชื่อสารที่มีการผลิต.....
- กรณีการนำเข้า
- ปริมาณการนำเข้า..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)
- ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
- แหล่งนำเข้าจากประเทศ (โปรดระบุ).....
- กรณีการผลิต
- ปริมาณการผลิต..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)
- ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
- แหล่งวัตถุดิบในการผลิต ☐ ภายในประเทศ ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ
- 3) กลุ่ม/ชื่อสารที่มีการผลิต.....
- กรณีการนำเข้า
- ปริมาณการนำเข้า..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)
- ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
- แหล่งนำเข้าจากประเทศ (โปรดระบุ).....
- กรณีการผลิต
- ปริมาณการผลิต..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)
- ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบในการผลิต ☐ ภายในประเทศ ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

2.1.3 ชนิดออร์แกนิก (Organic Preservative)

1) กลุ่ม/ชื่อสารที่มีการผลิต.....

กรณีการนำเข้า

ปริมาณการนำเข้า..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งนำเข้าจากประเทศ (โปรดระบุ).....

กรณีการผลิต

ปริมาณการผลิต..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบในการผลิต ☐ ภายในประเทศ ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

2) กลุ่ม/ชื่อสารที่มีการผลิต.....

กรณีการนำเข้า

ปริมาณการนำเข้า..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งนำเข้าจากประเทศ (โปรดระบุ).....

กรณีการผลิต

ปริมาณการผลิต..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบในการผลิต ☐ ภายในประเทศ ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

3) กลุ่ม/ชื่อสารที่มีการผลิต.....

กรณีการนำเข้า

ปริมาณการนำเข้า..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งนำเข้าจากประเทศ (โปรดระบุ).....

กรณีการผลิต

ปริมาณการผลิต..... (ตัน/ปี) มูลค่าการซื้อขาย (บาท/ปี)

ราคาจำหน่าย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบในการผลิต ☐ ภายในประเทศ ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

2.2 รูปแบบสารกันเสียที่บริษัทท่านจำหน่าย

☐ ผง ☐ ของเหลว/สารละลาย ☐ อื่นๆ โปรดระบุ

2.3 ประเภทกิจการใดที่มีการนำสารกันเสียของบริษัทท่านไปใช้งาน (กลุ่มลูกค้าของท่าน)

- ☐ ผู้ผลิต/จำหน่ายผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
- ☐ ผู้ผลิต/จำหน่ายผลิตภัณฑ์ชำระล้าง และทำความสะอาด
- ☐ ผู้ผลิต/จำหน่ายผลิตภัณฑ์ยา
- ☐ ผู้ผลิต/จำหน่ายผลิตภัณฑ์อาหาร
- ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)

2.4 บริษัทที่มีการนำสารกันเสียของบริษัทท่านไปใช้งานส่วนใหญ่มีขนาดเท่าใด

- ☐ บริษัทขนาดใหญ่
- ☐ บริษัทขนาดกลาง
- ☐ บริษัทขนาดเล็ก
- ☐ บุคคลธรรมดา
- ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)

2.5 บริษัทของท่านสั่งซื้อเพื่อนำเข้า/ผลิตสารกันเสียผ่านช่องทางใด

- ☐ นำเข้าจากบริษัทผู้ผลิตโดยตรง
- ☐ ผ่านบริษัทนำเข้า-ส่งออก
- ☐ สั่งซื้อออนไลน์
- ☐ ผลิตสารกันเสียจำหน่ายเอง
- ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)

2.6 บริษัทของท่านจำหน่ายผลิตภัณฑ์ผ่านช่องทางใด

- ☐ จำหน่ายโดยตรงกับลูกค้า
- ☐ จำหน่ายผ่านบริษัทตัวแทนจำหน่าย
- ☐ จำหน่ายออนไลน์
- ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)

2.7 บริการเสริมใดที่ท่านจำเป็นต้องมีในการจำหน่ายสารกันเสีย

- ☐ ให้คำแนะนำเกี่ยวกับคุณลักษณะของสาร
- ☐ บริการจัดทำผลิตภัณฑ์ต้นแบบ
- ☐ สื่อการนำเสนอ หรือตัวอย่างสินค้า
- ☐ จัดทำใบรับรองมาตรฐานผลิตภัณฑ์ หรือใบรับรองมาตรฐานแหล่งผลิต
- ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)

2.8 ถ้ามีการผลิต “สารกันเสียกลุ่ม Lignin ที่สกัดจากธรรมชาติ” ท่านสนใจซื้อผลิตภัณฑ์ดังกล่าวหรือไม่

- ☐ สนใจ
- ☐ ไม่สนใจ เพราะ

2.9 ถ้าท่านสนใจ ราคาที่ท่านยอมรับได้ ประมาณ.....บาท/กิโลกรัม

และผลิตภัณฑ์ในรูปแบบใดที่ท่านสนใจจะซื้อ (เลือกตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

- ☐ สารแขวนลอยในน้ำกลั่นที่มีขนาดอนุภาคขนาดประมาณ 150 นาโนเมตร
- ☐ สารละลายใน ethylene glycol

2.10 ท่านคิดว่าสามารถนำสารกันเสียไปใช้ประโยชน์ด้านใดบ้าง (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

- ☐ ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
- ☐ ใช้ในผลิตภัณฑ์ชำระล้าง และทำความสะอาด
- ☐ ใช้ในผลิตภัณฑ์ยา
- ☐ ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร
- ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)

กรุณาส่งแบบสอบถามกลับที่ email: aranee.kung@gmail.com หรือโทรสาร 0 2562 0338
สอบถามข้อมูลได้ที่ นางสาวรัฐณี ทองจันทร์แก้ว โทร. 06 1049 7318

ส่วนที่ 3 ข้อมูลการผลิต จำหน่าย และความต้องการของผู้บริโภคเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ สำหรับผู้ผลิต/จำหน่าย ผลิตภัณฑ์ เครื่องสำอาง หรือผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด

3.1 ชนิดของสารกันเสีย ที่มีการนำมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

3.1.1 ชนิดสารสังเคราะห์ (Chemical Preservative)

- ☐ กลุ่ม *Parabens* (ตัวอย่าง MethylParaben, EthylParaben, isoPropylparaben ฯลฯ)
ผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมสารกลุ่มนี้ คือ
ร้อยละปริมาณที่มีการใช้..... (ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์)
มูลค่าการซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ปี)
ราคาซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ☐ ภายในประเทศ/ผ่านบริษัทนำเข้า ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ
- ☐ กลุ่ม *Formaldehyde Donors* (ตัวอย่าง DMDM hydantoin, Imidazolidinyl urea ฯลฯ)
ผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมสารกลุ่มนี้ คือ
ร้อยละปริมาณที่มีการใช้..... (ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์)
มูลค่าการซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ปี)
ราคาซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ☐ ภายในประเทศ/ผ่านบริษัทนำเข้า ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ
- ☐ กลุ่ม *Phenol derivatives* (ตัวอย่าง DMDM hydantoin, Imidazolidinyl urea ฯลฯ)
ผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมสารกลุ่มนี้ คือ
ร้อยละปริมาณที่มีการใช้..... (ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์)
มูลค่าการซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ปี)
ราคาซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ☐ ภายในประเทศ/ผ่านบริษัทนำเข้า ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ
- ☐ กลุ่ม *Isothiazolinones* (ตัวอย่าง Kathon ฯลฯ)
ผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมสารกลุ่มนี้ คือ
ร้อยละปริมาณที่มีการใช้..... (ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์)
มูลค่าการซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ปี)
ราคาซื้อขายสารกันเสีย..... (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ☐ ภายในประเทศ/ผ่านบริษัทนำเข้า ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ
- ☐ กลุ่มอื่นๆ (โปรดระบุ)
ผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมสารกลุ่มนี้ คือ
ร้อยละปริมาณที่มีการใช้..... (ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์)
มูลค่าการซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ปี)
ราคาซื้อขายสารกันเสีย..... (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)
แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ☐ ภายในประเทศ/ผ่านบริษัทนำเข้า ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

3.1.2 ชนิดสารสกัดจากธรรมชาติ (Natural Preservative)

- 1) กลุ่ม/ชื่อสารที่มีการใช้.....
ผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมสารกลุ่มนี้ คือ
ร้อยละปริมาณที่มีการใช้..... (ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์)

มูลค่าการซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ปี)

ราคาซื้อขายสารกันเสีย..... (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ☐ ภายในประเทศ/ผ่านบริษัทนำเข้า ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

2) กลุ่ม/ชื่อสารที่มีการใช้.....

ผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมสารกลุ่มนี้ คือ

ร้อยละปริมาณที่มีการใช้..... (ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์)

มูลค่าการซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ปี)

ราคาซื้อขายสารกันเสีย..... (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ☐ ภายในประเทศ/ผ่านบริษัทนำเข้า ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

3) กลุ่ม/ชื่อสารที่มีการผลิต.....

ผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมสารกลุ่มนี้ คือ

ร้อยละปริมาณที่มีการใช้..... (ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์)

มูลค่าการซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ปี)

ราคาซื้อขายสารกันเสีย..... (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ☐ ภายในประเทศ/ผ่านบริษัทนำเข้า ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

3.1.3 ชนิดออร์แกนิก (Organic Preservative)

1) กลุ่ม/ชื่อสารที่มีการใช้.....

ผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมสารกลุ่มนี้ คือ

ร้อยละปริมาณที่มีการใช้..... (ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์)

มูลค่าการซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ปี)

ราคาซื้อขายสารกันเสีย..... (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ☐ ภายในประเทศ/ผ่านบริษัทนำเข้า ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

2) กลุ่ม/ชื่อสารที่มีการใช้.....

ผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมสารกลุ่มนี้ คือ

ร้อยละปริมาณที่มีการใช้..... (ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์)

มูลค่าการซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ปี)

ราคาซื้อขายสารกันเสีย..... (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ☐ ภายในประเทศ/ผ่านบริษัทนำเข้า ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

3) กลุ่ม/ชื่อสารที่มีการใช้.....

ผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมสารกลุ่มนี้ คือ

ร้อยละปริมาณที่มีการใช้..... (ต่อหน่วยผลิตภัณฑ์)

มูลค่าการซื้อขายสารกันเสีย (บาท/ปี)

ราคาซื้อขายสารกันเสีย..... (บาท/ ☐ กิโลกรัม หรือ ☐ ลิตร)

แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ☐ ภายในประเทศ/ผ่านบริษัทนำเข้า ☐ นำเข้าจากต่างประเทศ

3.2 ท่านรับซื้อสารกันเสียมาในรูปแบบใด

☐ ผง ☐ ของเหลว/สารละลาย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)

3.3 บริษัทของท่านสั่งซื้อสารกันเสียจากบริษัทผู้ผลิตผ่านช่องทางใด

☐ นำเข้าเองโดยตรงจากบริษัทผู้ผลิต

-
- ☐ บริษัทนำเข้า-ส่งออก
 - ☐ สั่งซื้อออนไลน์
 - ☐ ผลิตเอง
 - ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)

3.4 ถ้ามีการผลิต “สารกันเสียกลุ่ม Lignin ที่สกัดจากธรรมชาติ” ท่านสนใจซื้อผลิตภัณฑ์ดังกล่าวหรือไม่

- ☐ สนใจ
- ☐ ไม่สนใจ เพราะ

3.5 ถ้าท่านสนใจ ราคาที่ท่านยอมรับได้ ประมาณ..... บาท/กิโลกรัม

และผลิตภัณฑ์ในรูปแบบใดที่ท่านสนใจจะซื้อ (เลือกตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

- ☐ สารแขวนลอยในน้ำกลั่นที่มีขนาดอนุภาคขนาดประมาณ 150 นาโนเมตร
- ☐ สารละลายใน ethylene glycol

3.6 ท่านคิดว่าสามารถนำสารกันเสียไปใช้ประโยชน์ด้านใดบ้าง (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

- ☐ ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
- ☐ ใช้ในผลิตภัณฑ์ชำระล้าง และทำความสะอาด
- ☐ ใช้ในผลิตภัณฑ์ยา
- ☐ ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร
- ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)

กรุณาส่งแบบสอบถามกลับที่ email: arannee.kung@gmail.com หรือโทรสาร 0 2562 0338

สอบถามข้อมูลได้ที่ นางสาวอริญณี ทองจันทร์แก้ว โทร. 06 1049 7318

ภาคผนวก ข

Specification

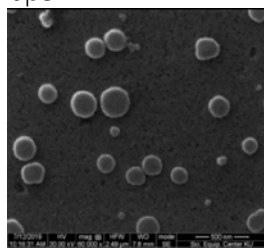
Lignin Nanoparticle

Physical Property

Appearance:	Brown Color
Particle Size:	200 nm
Zeta potential:	-39 mV
Particle Shape:	Spheres
Method of Synthesis:	Dialysis for 24 h
Solvent:	Distilled water
Lignin Concentration Range:	5,000 - 800,000 mg/L
(ppm)	
pH:	5.5



Chemical properties

- Particle shape by Scanning Electron Microscope (SEM)	Spherical shape 
- Particle size by Dynamic Light Scattering (DLS)	Range 150 - 200 nm
- Zeta potential	Range - 36 to - 40 mV
- Stability	- 40 mV at 270 days storage at room temperature

Specification
Lignin Solution in Ethylene Glycol (EG)

Physical Property

Appearance:	Dark Brown Color
Method of Synthesis:	Dissolve in EG (99.5%) for 2 h
Solvent:	EG
Lignin Concentration:	5,000 mg/L (ppm)
pH:	5.5



Biological properties

- Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and Minimal Bactericidal Concentration (MBC)

Microorganisms	Minimal Inhibitory Concentration (ug/ml)	Minimal Inhibitory Concentration (ug/ml)
	Lignin solution in EG	Lignin solution in EG
<i>E. coli</i>	1,250	-
<i>S. aureus</i> (MRSA)	625	1,250
<i>P. fluorescens</i>	625	-
<i>S. Typhimurium</i>	625	1,250
<i>S. epidermidis</i>	1,250	-
<i>Bacillus sp.</i>	1,250	1,250
<i>M. luteus</i>	1,250	1,250
<i>P. aeruginosa</i>	625	1,250
<i>S. aureus</i>	1,250	1,250

- Cytotoxicity test (0.5% lignin in EG diluted in cell culture media from 10 mg/mL to 0.001 mg/mL)

concentration (mg/ml)	% cell survival					
	0.0001	0.001	0.01	0.1	1	10
0.5% lignin in EG	ND	113.78 ± 4.49	100.17 ± 5.35	97.31 ± 5.02	94.00 ± 4.21	82.47 ± 4.84
ethylene glycol	ND	74.57 ± 2.73	75.53 ± 2.10	95.91 ± 4.51	90.81 ± 1.27	83.74 ± 4.36
Sodium lauryl sulfate	92.99 ± 6.82	89.26 ± 1.16	85.54 ± 3.79	61.48 ± 3.39	9.05 ± 0.13	ND

Average from 4 measurements ± standard deviation; ND = Not test

ภาคผนวก ค

รายชื่อของสถานประกอบการที่ส่งแบบสอบถาม

ลำดับที่	รายชื่อสถานประกอบการ
1	บริษัท พิคโก้ เนเชอรัลส์ แลบบอราทอรี จำกัด (เขตลาดกระบัง)
2	บริษัท ไทย ไดโซ แอโรโซล จำกัด (จ.ชลบุรี)
3	บริษัท เกตุวานิชอุตสาหกรรม จำกัด (จ.นครปฐม)
4	บริษัท เค.เอ็ม. อินเตอร์แล็บ จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
5	บริษัท ไมลอทท์ แลบบอราทอรีส์ จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
6	บริษัท เอสเซติก พลัส จำกัด (จ.นครปฐม)
7	บริษัท แพน ราชเทวี กรู๊ป จำกัด (มหาชน) (จ. สมุทรปราการ)
8	บริษัท ไบโอสกอร์ อินโดไชน่า กรู๊ป จำกัด (เขตดอนเมือง)
9	บริษัท ที เอส เจ กรู๊ป จำกัด (เขตบางนา)
10	บริษัท ไรน์แลนด์เฟรช จำกัด (จ.ปทุมธานี)
11	บริษัท พีเจ้น อินดัสทรีส์ (ประเทศไทย) จำกัด (จ. ชลบุรี)
12	บริษัท โมเดิร์น คาส อินเตอร์เนชั่นเนล คอสเมติกส์ จำกัด (ประเวศ)
13	บริษัท ไทยเทคนิค อินดัสทรี จำกัด (เขตยานนาวา)
14	บริษัท แวนน์ คอสเมติกส์ แอนด์ แลบบอราทอรี (จ.สมุทรสาคร)
15	บริษัท สเปเชียลตี้ อินโนเวชั่น จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
16	บริษัท พารากอน เอสเทติก จำกัด (บางกะปิ)
17	บริษัท ไบโอ แอดวานซ์ แมนูแฟคเจอร์ริง จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
18	มูลนิธิโรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร (จ.ปราจีนบุรี)
19	บริษัท ไชยธรรมา จำกัด (จ.ภูเก็ต)
20	บริษัท มิลบอน (ประเทศไทย) จำกัด (จ.ระยอง)
21	บริษัท คอสมาพรอพ จำกัด (เขตบางกะปิ)
22	บริษัท อควา ปูรี แลบบอราทอรีส์ จำกัด (จ.ปทุมธานี)
23	บริษัท เทคโน กรีน อินโนเวชั่น จำกัด (จ.ปทุมธานี)
24	บริษัท บิวตี้ เอส เซทเทร่า จำกัด (จ.นนทบุรี)
25	บริษัท คัลเลอร์คอส จำกัด (จ.สมุทรสาคร)
26	บริษัท ไฮเบอร์แพค จำกัด (จ.ฉะเชิงเทรา)
27	บริษัท เพียวโนเวชั่น จำกัด (เขตทุ่งครุ)
28	บริษัท แมวตาอุตสาหกรรม จำกัด (จ.นครปฐม)
29	บริษัท ทรอปิคานา ออยล์ จำกัด (จ.นครปฐม)
30	บริษัท ยามาฮ่า (ประเทศไทย) จำกัด (จ.ชลบุรี)
31	บริษัท ศิริปัญญา จำกัด (จ.นนทบุรี)

ลำดับที่ รายชื่อสถานประกอบการ

- 32 บริษัท เพอเพคท์ ไลน์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 33 ห้างหุ้นส่วนจำกัด ที.อาร์.เอ (เขตราษฎร์บูรณะ)
- 34 บริษัท รวินท์ อินเตอร์เนชั่นแนล คอสเมติก จำกัด (เขตยานนาวา)
- 35 บริษัท เอสเรติก ซีเครท (แอท-ซี) จำกัด (จ.ฉะเชิงเทรา)
- 36 บริษัท ปวีณ์มล จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 37 บริษัท คิว คอสเน็ท จำกัด (เขตบางกะปิ)
- 38 บริษัท เซนต์ บิวตี้ คอสเมติก (ประเทศไทย) จำกัด (จ.นครปฐม)
- 39 บริษัท โอลิค (ประเทศไทย) จำกัด (จ.พระนครศรีอยุธยา)
- 40 บริษัท โรงงานผลิตภัณฑ์ โคซี่ จำกัด (เขตดินแดง)
- 41 บริษัท เอฟ.ซี.พี. จำกัด (จ.ฉะเชิงเทรา)
- 42 บริษัท ไบเออร์สตอร์ฟ (ประเทศไทย) จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 43 บริษัท แอล เอ็น บี แล็บ กรุป จำกัด (จ.นครปฐม)
- 44 บริษัท เอ-พลัส ซัพพลาย จำกัด (เขตหนองจอก)
- 45 บริษัท พีซีซีเอ แล็บบอราทอรี จำกัด (อ.บ้านบึง จ.ชลบุรี)
- 46 บริษัท บี เอส แมนูแฟคเจอร์ จำกัด (จ.นครปฐม)
- 47 บริษัท กะลาไส จำกัด (จ.ประจวบคีรีขันธ์)
- 48 บริษัท พีแซท คัสสัน (ประเทศไทย) จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 49 บริษัท จอห์นสัน แอนด์ จอห์นสัน (ไทย) จำกัด (เขตลาดกระบัง)
- 50 บริษัท เอ เอส ซี ลาโบลาทอรี จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 51 บริษัท แกมมาโก้ (ประเทศไทย) จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 52 บริษัท ไฮยู คอสเมติกส์ (ประเทศไทย) จำกัด (ชลบุรี) (ย้ายที่ใหม่)
- 53 บริษัท พรอคเตอร์ แอนด์ แกมเบล แมนูแฟคเจอร์ จำกัด (ประเทศไทย) จำกัด (จ.ฉะเชิงเทรา)
- 54 บริษัท ผลิตภัณฑ์สมุนไพร ดร.สาโรช จำกัด (จ.พระนครศรีอยุธยา)
- 55 บริษัท คูรีโนะ (ประเทศไทย) จำกัด (จ.นครปฐม)
- 56 บริษัท ทริปปี้ล เอท แลบบอราทอรีส์ จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 57 บริษัท เอเชียน อินเตอร์เนชั่นแนล คอสเมติก จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 58 บริษัท ไอเดียสแควร์ แลบบอราทอรีส์ จำกัด (เขตจอมทอง)
- 59 บริษัท วรุธร จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 60 บริษัท สุรทินท์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 61 บริษัท อุตสาหกรรมมิตรมงคล จำกัด (บางขุนเทียน)
- 62 บริษัท เรกคิทท์ เบนคีย์เซอร์ เฮลท์แคร์ แมนูแฟคเจอร์ จำกัด (ประเทศไทย) จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 63 เพลลิเน่ แลป (เขตบางบอน)
- 64 บริษัท ไบโอ-คอสแล็บ จำกัด (จ.นครปฐม)

ลำดับที่ รายชื่อสถานประกอบการ

- 65 บริษัท อังกฤษตรางู (แอล.พี.) สาย 5 จำกัด (จ.สมุทรสาคร)
- 66 บริษัท เอส เอส แมนูแฟคเจอร์ริง จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 67 บริษัท เอี่ยม พรอฟ จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 68 บริษัท คริสโก้ (ประเทศไทย) จำกัด (จ.สมุทรสาคร)
- 69 บริษัท ทีเอ็ม คอสเมซายน์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 70 บริษัท ฟลอราอลแมนูแฟคเจอร์ริงกรุ๊ป จำกัด (เขตลาดกระบัง)
- 71 บริษัท ยูนิลีเวอร์ ไทย โฮลดิ้งส์ จำกัด (ลาดกระบัง)
- 72 บริษัท กรีนสวิลล์ จำกัด (เขตลาดกระบัง) (เลขที่ 33,34)
- 73 บริษัท พาสซานา แลบอราทอรี เอเชีย จำกัด
- 74 บริษัท คอมเพล็กซ์ ซายน์ จำกัด (เขตประเวศ)
- 75 บริษัท เนเจอร์ไลน์ พลัส จำกัด (จ.พระนครศรีอยุธยา)
- 76 บริษัท นิโอ แพคทอรี่ จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 77 วิสาหกิจชุมชนชีววิถีตาบลน้ำเกียน (จ.น่าน)
- 78 บริษัท ดีเอกเตอร์ออลิซกรุ๊ป จำกัด (จ.ลาปาง)
- 79 บริษัท เมโกะ บิวตี้ จำกัด (เขตจตุจักร)
- 80 บริษัท ไทย-มีโก้ จำกัด (บางขุนเทียน)
- 81 บริษัท สยาม คอสเมซูติคอล จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 82 บริษัท เอสวีเอ็ม อุตสาหกรรม จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 83 บริษัท สานิตแอนด์ซันส์ จำกัด (บางคอแหลม)
- 84 บริษัท การ์กั๋ว แล็บ จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 85 บริษัท โกลเด้น คอสเมติก จำกัด (จ.ตราด)
- 86 บริษัท ศรีจันทร์สหโอสถ จำกัด (วังทองหลาง)
- 87 บริษัท เฮลตี้ ปี จำกัด (จ.เชียงใหม่)
- 88 บริษัท บ้านพิบูล อโรมา เฮอร์ราพี จำกัด (จ.ตาก)
- 89 บริษัท ยูนิ. ชาร์ม (ประเทศไทย) จำกัด (ฉะเชิงเทรา)
- 90 บริษัท ชินนามิค จำกัด (เขตบึงกุ่ม)
- 91 บริษัท สหแพทย์เภสัช จำกัด (เขตบางขุนเทียน)
- 92 บริษัท เชียงใหม่อ็อกแทนนิค แอนด์ สปา จำกัด (จ.เชียงใหม่)
- 93 บริษัท คาโอ อินดัสเตรียล (ประเทศไทย) จำกัด (จ.ชลบุรี)
- 94 บริษัท บอร์นทราส์ (ประเทศไทย) จำกัด (จ.พระนครศรีอยุธยา)
- 95 บริษัท ไอ เรียล พลัส (ประเทศไทย) จำกัด (จ.นครปฐม)
- 96 บริษัท เวก้าเนเจอร์ล จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 97 บริษัท ผลิดา จำกัด (เขตทุ่งครุ)

ลำดับที่ รายชื่อสถานประกอบการ

- 98 บริษัท ซี แอนด์ บี (ประเทศไทย) (จ.นครราชสีมา)
- 99 บริษัท เอชเอฟซี เพอร์สทีจ แมนูแฟคเจอร์ริง (ประเทศไทย) จำกัด (จ.ฉะเชิงเทรา)
- 100 บริษัท เมอร์รี่ คอสเมติก แลบบอราทอรีส์ จำกัด (จ.สมุทรสาคร) เลขที่ 124/16
- 101 บริษัท ไอ พลัส คิว จำกัด (จ.นครปฐม)
- 102 บริษัท เอ็ม.วาย.อาร์. คอสเมติกส์ โซลูชั่น จำกัด (เขตบางเขน)
- 103 บริษัท วอรัครีมพลัส จำกัด (จ.สระบุรี)
- 104 บริษัท เอส บี อินเตอร์แลบ จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 105 บริษัท โปรโนวาแลบอราทอรีส์ จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 106 บริษัท จูน แลบบอราทอรี จำกัด (เขตยานนาวา) (ถูกพักใช้ไป 3 เดือน)
- 107 บริษัท บิ๊กทรี คอสเมต จำกัด (จ.พิษณุโลก)
- 108 บริษัท ดอกเตอร์ คอสเมติก แล็บ จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 109 บริษัท สยาม เนเชอรัล โปรดักส์ จำกัด (จ. พระนครศรีอยุธยา)
- 110 บริษัท ดีเอ็มเพอร์เรอร์ จำกัด (เขตหลักสี่)
- 111 บริษัท สแตนดาร์ด แมนูแฟคเจอร์ริง จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 112 ห้างหุ้นส่วนจำกัด จัตุรงค์ คลูลิ่ง (จ.นนทบุรี)
- 113 บริษัท สวนสามพราน จำกัด (จ.นครปฐม)
- 114 บริษัท อินเทอร์เน็ตชั่นแนล แลบบอราทอรีส์ จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 115 บริษัท รีเอ็กซ์โปรดักส์ จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 116 บริษัท สกิน อินทิเมท จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 117 บริษัท อาร์ แอนด์ เอ็น อินเตอร์คอส จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 118 บริษัท สกินเทค อินเตอร์ โปรดักส์ จำกัด (วังทองหลาง)
- 119 บริษัท ไทย เฮิร์บ ฟอร์ แฮร์ จำกัด (จ.นครปฐม)
- 120 บริษัท ทีเอ็นพี คอสเมซูติคอล จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 121 บริษัท ใส่ใจ กรู๊ป จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 122 บริษัท เมอร์รี่ คอสเมติก แลบบอราทอรีส์ จำกัด (จ.สมุทรสาคร) เลขที่ 124 สาขา 2
- 123 บริษัท เอเชียน ไฟฟ์โตซูติคอลส์ จำกัด (มหาชน) (จ.ลาพูน)
- 124 บริษัท เคเอเอฟ จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 125 บริษัท ลักส์มิน จำกัด (นนทบุรี)
- 126 บริษัท ครีมเมอร์พลัส จำกัด (จ.สิงห์บุรี)
- 127 บริษัท กิฟฟารีน สกายไลน์ แลบบอราทอรี แอนด์ เฮลท์แคร์ จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 128 บริษัท ฟุคุโยะ เทคโนโลยี จำกัด จ.ชลบุรี
- 129 บริษัท คอสโม พรอฟ จำกัด (จ.ระยอง)
- 130 บริษัท สยามเฮลท์แล็บ จำกัด (เขตวัฒนา)

ลำดับที่ รายชื่อสถานประกอบการ

- 131 บริษัท ปฐวิน จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 132 บริษัท เอลิแอล อินเตอร์เนชั่นแนล (ไทยแลนด์) (จ.ระยอง)
- 133 บริษัท บลอสซัม คอสเมซูติคอล จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 134 บริษัท วาราเอิร์บ จำกัด (จ.เชียงใหม่)
- 135 บริษัท มิราเคิล เฮลธ์ แคร์ จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 136 บริษัท คอสเมต อินโนเวชั่น จำกัด (เขตบางแค)
- 137 บริษัท ชัพพอร์ท แพค จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 138 บริษัท เทพไทย โปรดักต์ จำกัด (จ.สงขลา)
- 139 บริษัท โกลเด้น แอพพริซีเอชั่น จำกัด (เขตหนองแขม)
- 140 บริษัท คอสมินา จำกัด (เขตตลิ่งชัน)
- 141 บริษัท สยามเฮลท์ตี้ดีริงแอนด์คอสเมติก จำกัด (จ.สมุทรสาคร)
- 142 บริษัท แอดวานซ์ คอสเมติกส์ จำกัด (เขตบางขุนเทียน)
- 143 บริษัท คอลเกต-ปาล์มโอลีฟ (ประเทศไทย) จำกัด (จ.ชลบุรี)
- 144 บริษัท เมดิชาย อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด (เขตพระโขนง)
- 145 บริษัท อะเมซิง เกรซ จำกัด (จ.นครปฐม)
- 146 บริษัท สกินเน็กซ์ จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 147 บริษัท คอสเมติวา จำกัด (จ.สมุทรสาคร)
- 148 บริษัท ฟิชชีเอ แล็บบอราทอรี จำกัด (เขตลาดพร้าว)
- 149 บริษัท ไทยนครพัฒนา จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 150 บ. เอสแอลซี อินเตอร์ แล็บ จำกัด (จ.พระนครศรีอยุธยา)
- 151 บริษัท รวมใจ โปรดักส์ จำกัด (จ.สมุทรสาคร)
- 152 บริษัท อีลิเนียม โลฟไซเอนซ์ จำกัด (เขตยานนาวา)
- 153 บริษัท ดี คิว โอโล่ แอสเซท จำกัด (เขตสะพานสูง)
- 154 บริษัท เนเจอร์พรอฟ จำกัด (จ.เชียงใหม่)
- 155 บริษัท วุฒิศักดิ์ เอสเซติก แคร์ จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 156 บริษัท ครีโอลลิตี้ แล็บ จำกัด (เขตสะพานสูง)
- 157 บริษัท พรีเมา แคร์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 158 บริษัท สไมล์กันท์ จำกัด (เขตบางบอน)
- 159 บริษัท แพทย์สะอาด แล็บ จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 160 บริษัท เจ.เอ็ม.ที. ลาบอเรตอรีส์ จำกัด (จ.นครราชสีมา)
- 161 บริษัท แซฟฟรอน แลบบอราทอรีส์ จำกัด (จ.ชลบุรี)
- 162 บริษัท เฮลท์ฟูด แอนด์ คอสเมติก ครีเอชั่น จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 163 บริษัท รูเปียอุตสาหกรรม จำกัด (จ.สมุทรปราการ)

ลำดับที่ รายชื่อสถานประกอบการ

- 164 บริษัท อินเทอร์เน็ตเนชั่นแนล แลบบอราทอรีส์ จำกัด (เขตยานนาวา)
- 165 บริษัท พฤษภา แลบบอราทอรี จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 166 บริษัท เอส แอนด์ เจ อินเทอร์เน็ต จำกัด (มหาชน) นิคมอุตสาหกรรมปิ่นทอง(จ.ชลบุรี)
- 167 บริษัท วี แล็บส์ จำกัด เขตบางกอกน้อย)
- 168 บริษัท อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด (จ.อยุธยา)
- 169 บริษัท เอสทีเอส เนชเชอร์ล โปรดัคส์ จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 170 บริษัท มีสตาจค์มีทรัพย์ จำกัด (จ.นนทบุรี) (เลขที่ 88/40 หมู่ที่ 1)
- 171 บริษัท บี.ที. สเปซชิพ จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 172 บริษัท ไบโอเดอเนช จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 173 บริษัท อังกฤษตรางู (แอล.พี) จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 174 บริษัท ดู เคย์ ตรีม จำกัด มหาชน (นิคมโรจนะ จ. อยุธยา)
- 175 บริษัท เอส.พี.วาย. คอสเมติก จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 176 บริษัท ดีแนเฮิร์บ จำกัด (จ.เชียงใหม่)
- 177 ห้างหุ้นส่วนจำกัด สหวัฒนา อิมพอร์ต เอ็กซพอร์ต (จ.นนทบุรี)
- 178 บริษัท เดอะ เนเชอร์ล บิวตี้ แอนด์คอสเมติก (ประเทศไทย) จำกัด (เขตลาดกระบัง)
- 179 บริษัท อินเทอร์เน็ตไทย ฟาร์มาชูติเคิลล์ แมนูแฟคเจอร์ จำกัด (เขตจตุจักร)
- 180 บริษัท 2 เอ็ม (เมด-เมเกอร์) จำกัด (เขตมีนบุรี)
- 181 มูลนิธิโครงการหลวง (จ.เชียงใหม่)
- 182 บริษัท นวศรี แมนูแฟคเจอร์ จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 183 บริษัท เอส แอนด์ เจ อินเทอร์เน็ตเนชั่นแนล เอนเตอร์ไพรส์ จำกัด (มหาชน)(จ.ชลบุรี) ศรีราชา
- 184 บริษัท เนจ ไซเอนซ์ จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 185 บริษัท เอสเทติก เดฟฟินิชัน (เอส-ดี) จำกัด
- 186 บริษัท เกรทเตอร์ โพลี แมนูแฟคเจอร์ จำกัด (จ.นครปฐม)
- 187 บริษัท เอส บี พี แมนูแฟคเจอร์ จำกัด (จ.ฉะเชิงเทรา)
- 188 บริษัท เอฟซี ลาบบอราทอรี จำกัด (จ.ชลบุรี)
- 189 บริษัท สกิน แคร์ โปรดัคส์ (ประเทศไทย) จำกัด (เขตลาดพร้าว)
- 190 บริษัท เมติคอส จำกัด (จ.นครปฐม)
- 191 บริษัท พฤษภาธารา จำกัด (เขตลาดกระบัง)
- 192 บริษัท บางกอกแล็บ แอนด์ คอสเมติก จำกัด (จ. ราชบุรี)
- 193 บริษัท หมอมวลชน 2000 จำกัด (จ.สมุทรสาคร)
- 194 บริษัท แจส เดอร์มาโตโลจี จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 195 บริษัท นาโอะ โกลเบิล จำกัด (เขตพระโขนง)
- 196 บริษัท โกลบอล เมดดิคัล (ประเทศไทย) จำกัด (บางแค)

ลำดับที่ รายชื่อสถานประกอบการ

- 197 บริษัท ทีเอฟ คอสเมโพลี (ประเทศไทย) จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 198 บริษัท สวอยามสกินแคร์ จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 199 บริษัท อัลลายด์ อินดัสตรีส์ จำกัด (เขตวัฒนา)
- 200 บริษัท สเปเชียลตี้ เนเชอรัล โปรดักส์ จำกัด (จ.ชลบุรี)
- 201 บริษัท อาร์คแอทริช จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 202 บริษัท เอส. ซี. อาร์ทีสทรี จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 203 บริษัท คิว.พี.ซี.ไอ. (ประเทศไทย) จำกัด (จ.นครปฐม)
- 204 บริษัท แอลเอฟ บิวตี้ (ประเทศไทย) จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 205 บริษัท ชาญกิจเทรดดิ้ง จำกัด (เขตสวนหลวง)
- 206 บริษัท ไลอ้อน (ประเทศไทย) จำกัด (จ.ชลบุรี)
- 207 บริษัท ภูตะวัน เอิร์บ แอนด์ คอสเมติก จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 208 บริษัท ลี แอนด์ โค คอสเมซูติคอล จำกัด (เขตคลองสามวา)
- 209 บริษัท เอส เอ็ม เอส เอ็นโซม์ แมนูแฟคเจอร์ริง จำกัด (เขตบึงกุ่ม)
- 210 บริษัท บี. อาร์. ดีโอดอแรงแร้นท์ จำกัด (จ.พิจิตร)
- 211 บริษัท เดอร์มา อินโนเวชั่น จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 212 บริษัท คอสมินโนว่า จำกัด (จ.นนทบุรี)
- 213 บริษัท ดอกบัวคู่ จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 214 บริษัท เอเปิล สทรอง จำกัด (เขตทวีวัฒนา)
- 215 บริษัท เพียว เดอร์มา แลบบอราทอรีส์ จำกัด (ยานนาวา)
- 216 บริษัท โคโคโระ ซาโตะ จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 217 บริษัท เบ็ทเทอร์ ฟาร์ม่า จำกัด(จ.ลพบุรี)
- 218 บริษัท เพียวริตี้ แล็บ จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 219 บริษัท ซาล์ออตเต้-คอสเมติก จำกัด (จ.ชลบุรี)
- 220 บริษัท โอเรียนทัล อโรมา จำกัด (เขตคลองเตย)
- 221 บริษัท มาเจสติก โทเวล จำกัด (เขตวังทองหลาง)
- 222 บริษัท เอ็มพาวเวอร์ริง อินโนเวชั่นส์ จำกัด (จ.สมุทรสาคร)
- 223 บริษัท ไอ.พี. แมนูแฟคเจอร์ริง จำกัด (จ.สมุทรปราการ)
- 224 บริษัท หริกุล กรุ๊ป จำกัด (จ.ปทุมธานี)
- 225 บริษัท จันทร์สว่าง อินเตอร์แล็บ จำกัด (เขตคันนายาว)
- 226 บริษัท ซี.พี.อินเตอร์เทรด จำกัด
- 227 Chemico Inter Corporation Co.,Ltd.
- 228 บจก. โยนิโส เคมีภัณฑ์
- 229 Bonanzatech Co., Ltd

ลำดับที่	รายชื่อสถานประกอบการ
230	บริษัท สัมมิท เคมีคอล จำกัด
231	BEHN MEYER CHEMICAL (T) CO LTD
232	บริษัทสเปเชียลตี้ เนเชอรัล โปรดักส์ จำกัด
233	Chemico Inter Corporation Co.,Ltd.
234	บริษัท กรีน ลีฟ เคมีคอล จำกัด
235	ห้างหุ้นส่วนจำกัด สีนไทยเคมีภัณฑ์และการค้า
236	บริษัท แม็กซ์เวิร์ธ จำกัด
237	บริษัท ไชยเทคเอเชีย โซลูชั่น จำกัด
238	บริษัท แม็กซ์เวย์ จำกัด
239	บริษัท โครต้า (ประเทศไทย) จำกัด
240	บริษัท เจ็บเซ่น แอนด์ เจัสเซ่น เทคโนโลยี (ที) จำกัด
241	บริษัท ดีเคเอสเอส (ประเทศไทย) จำกัด
242	บริษัท โคลอสซอล อินเตอร์เนชันแนล จำกัด
243	บริษัท เบอร์ลี ยูคเกอร์ จำกัด (มหาชน)
244	บริษัท วันรัต (หน้าเขียน) จำกัด
245	บริษัท บรอนสันแอนด์จาคอบส์อินเตอร์เนชันแนล จำกัด