

การผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นโปรตีนไหมที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชิตชนก มีใจชื่อ
อาจารย์ ดร. ธรณ์ธันย์ สว่างวรรณ

ทุนวิจัยมหาวิทยาลัยรามคำแหง
ปีงบประมาณ 2558

Fabrication of Electrospun Silk Protein Fiber Mats
for Antibacterial Activities

Asst. Prof. Chidchanok Meechaisue, Ph.D
Thorntan Sawangwan, Ph.D

Research Fund was supported by Ramkhamhaeng University
2015

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่องวิจัย การผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไหมที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย
 ผู้วิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชิตชนก มีใจชื่อ
 อาจารย์ ดร.ธรรณันท์ สว่างวรรณ
 ปีที่ทำการวิจัย 2558

ไหมประกอบด้วยโปรตีนสำคัญ 2 ชนิด ได้แก่ โปรตีนไฟโบรอินซึ่งเป็นส่วนเส้นใยหลัก และหุ้มเคลือบด้วยโปรตีนเซรีซินที่เป็นกาวไหม โปรตีนไหมทั้ง 2 ชนิดนี้ มีความเข้ากันได้กับเซลล์หรือเนื้อเยื่อของมนุษย์และสลายตัวได้ตามธรรมชาติ อีกทั้งเซรีซินยังมีสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย งานวิจัยนี้ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำโปรตีนทั้ง 2 ชนิดมาผลิตแผ่นวัสดุปิดแผลที่ยับยั้งแบคทีเรีย โดยขึ้นรูปเป็นแผ่นเส้นใยด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ซึ่งสามารถผลิตเส้นใยที่มีขนาดเล็กมากในระดับไมโครเมตรถึงนาโนเมตร ได้แผ่นเส้นใยที่มีพื้นที่ผิว และความเป็นรูพรุนสูง สารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอินในกรดไตรฟลูออโรอะซิติก ที่ความเข้มข้น 30% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก สามารถผลิตเป็นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ได้เส้นใยที่มีลักษณะเรียบ ไม่มีเม็ดปมบนเส้นใย และเมื่อนำสารละลายดังกล่าวผสมกับผงเซรีซินที่ปริมาณ 20, 30, 40 และ 50 %โดยน้ำหนัก ได้เส้นใยที่มีผิวเรียบ ไม่มีการเกาะรวมตัวของโปรตีนเซรีซิน บนผิวเส้นใย เมื่อปริมาณเซรีซินเพิ่มมากขึ้น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยใหญ่ขึ้น โดยมีขนาดเส้นใยอยู่ในช่วง 812 - 1064 นาโนเมตร แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินทั้งที่ผสมและไม่ผสมเซรีซินนี้ ได้นำมาแช่ในสารละลายเมทานอลผสมน้ำที่อัตราส่วน 90 : 10 เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างโมเลกุลทำให้ไม่ละลายน้ำ และทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวหนังในคน ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* พบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินที่ผสมเซรีซินปริมาณ 40 และ 50 %โดยน้ำหนัก มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิด โดยอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียลดลงมากเมื่อทดสอบโดยการบ่มแช่แผ่นเส้นใยในอาหารเลี้ยงเชื้อ 8 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ทั้งนี้ที่ปริมาณเซรีซิน 50 %โดยน้ำหนัก แผ่นเส้นใยมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดได้สูงสุด แต่อย่างไรก็ตามยังคงมีแบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่ โดยอัตราการรอดชีวิตอยู่ในช่วงร้อยละ 10 - 20 นอกจากนี้ได้ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของคน (human dermal fibroblast) ด้วยวิธี resazurin microplate assay (REMA) พบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินทั้งที่ไม่ผสมและผสมเซรีซิน 50 %โดยน้ำหนัก ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง

Abstract

Research Title Fabrication of electrospun silk protein fiber mats for antibacterial activities

Research Scholar Asst. Prof. Chidchanok Meechaisue, Ph.D
Thorntan Sawangwan, Ph.D

Research Period 2015-2016

Silk fiber consists of two important proteins, fibroin and sericin. Fibroin is the protein that forms the filaments of silk, whereas sericin is a group of gummy proteins that bind the fibroin filaments. These two types of proteins show good biocompatibility and biodegradability, sericin also show antibacterial activity. In this work, protein fibroin and sericin were fabricated as antibacterial wound dressing by the electrospinning process. This process can produce ultrafine fibers with diameters in the micrometer down to nanometer range. The electrospun fibers formed as non-woven mats exhibit several interesting characteristics, for examples, large surface area, and small pored size. Silk fibroin nanofibers with smooth surface and no bead were prepared from solution of silk fibroin in fluoroacetic acid with concentration of 30% w/w. Then, sericin powder in various amount (i.e. 20, 30, 40 and 50 wt.% base on the weight of fibroin) were incorporated into the neat fibroin solution to electrospin fibers. No agglomerate of sericin were observed on electrospun silk fibroin fibers. It was found that with increasing the amount of sericin, the fibers diameter was increased in the range of 812 – 1064 nm. These electrospun fibroin fibers mat with and without sericin were immersed in a 90/10 (v/v) methanol/water mixture for improving solubility. The antibacterial activity of these materials against common bacteria found on wounds (i.e. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*) were investigated. The electrospun fibroin with 50 wt.% sericin have greatest antibacterial activity with all bacteria in which the rate of survival of bacteria was significantly decrease when incubate in media 8 hrs. These electrospun fibroin with and without 50 wt.% sericin were not cytotoxic with human dermal fibroblast cells.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยรามคำแหง ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย ทำให้การวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีวัสดุ และสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้ ทั้งด้านสถานที่การทำวิจัย เครื่องมือต่างๆ ที่ใช้ในโครงการวิจัย

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1. ความเป็นมาและสภาพปัญหา.....	1
1.2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3. ขอบเขตการวิจัย.....	2
1.4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1. กระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต.....	4
2.1.1. อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต.....	4
2.1.2. กลไกการเกิดเส้นใย.....	5
2.1.3. ปัจจัยที่มีผลต่อการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต.....	7
2.1.4. การประยุกต์ใช้เส้นใยจากการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิตในทางการแพทย์.....	8
2.1.5. การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตเพื่อผลิตเส้นใยที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย.....	10
2.2. ผลิตภัณฑ์ตกแต่งแผ่นต้านเชื้อแบคทีเรีย.....	11
2.3. ไหม.....	14
2.3.1. การผลิต.....	14
2.3.2. โครงสร้างและสมบัติของไหม.....	15
2.3.3. การประยุกต์ใช้ไหมในทางการแพทย์.....	19
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	21
3.1. สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการวิจัย.....	21
3.1.1. สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการเตรียมโปรตีนไฟโบรอิน.....	21
3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมแผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินและโปรตีนไฟโบรอินผสมเจรีซินด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต.....	21
3.1.3 แบคทีเรีย อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี และแผ่นตกแต่งแผ่นต้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้าที่ใช้ในการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย.....	21
3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาความเป็นพิษกับเซลล์.....	22
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	22
3.2.1 อุปกรณ์สำหรับการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต.....	22
3.2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์อื่นๆ.....	23

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	23
3.3.1 การเตรียมโปรตีนไฟโบรอิน.....	23
3.3.2 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะและขนาดของเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินที่ผลิตโดยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต.....	26
3.3.2.1 ตัวทำละลายสำหรับโปรตีนไหมไฟโบรอิน.....	26
3.3.2.2 ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอิน.....	26
3.3.3 การเตรียมแผ่นเส้นใยของโปรตีนไฟโบรอินด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต.....	27
3.3.4 การเตรียมแผ่นเส้นใยของโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต.....	27
3.3.5 การวิเคราะห์ลักษณะและขนาดเส้นใยของแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินและโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน.....	28
3.3.6 การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย.....	28
3.3.6.1 Agar disk diffusion โดยการวัด clear zone.....	28
3.3.6.2 การวัดค่าการดูดกลืนแสงของแบคทีเรียในอาหารเหลว เพื่อศึกษาปริมาณการเจริญของแบคทีเรีย.....	29
3.3.6.3 การนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	30
3.3.7 ความเป็นพิษต่อเซลล์.....	30
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	33
4.1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะและขนาดของเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินที่ผลิตโดยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต.....	33
4.1.1 ผลของตัวทำละลายโปรตีนไหมไฟโบรอิน.....	33
4.1.2 ผลของความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอิน.....	35
4.2 การศึกษาปริมาณโปรตีนเซรีซินผสมกับโปรตีนไฟโบรอินที่มีต่อลักษณะและขนาดของเส้นใยอีเล็กโทรสปิน.....	39
4.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย.....	42
4.3.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของโปรตีนเซรีซินและโปรตีนไฟโบรอิน.....	43
4.3.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินและแผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน.....	44
4.3.2.1 แผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ไม่ได้ผสมสารละลายเมทานอลผสมน้ำ.....	44

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.2.2 แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซอรีนที่สังเคราะห์จากเมลานอลผสมน้ำ.....	47
4.3.3 การทดสอบฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นปิดแผลด้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้า.....	60
4.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง.....	63
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	65
5.1. สรุปผลการวิจัย.....	65
5.2. ข้อเสนอแนะ.....	68
บรรณานุกรม.....	69
ภาคผนวก.....	74

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 คุณสมบัติและหน้าที่สำคัญของกรดอะมิโน 18 ชนิด ในโหมที่มีต่อร่างกาย....	16
4.1 สมบัติของตัวทำละลายที่ใช้ในงานวิจัย.....	33
4.2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอิน ที่ความเข้มข้นของสารละลายตั้งแต่ 30 ถึง 40 %โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก.....	39
4.3 ขนาดเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินผสมโปรตีนเซรีซินที่ปริมาณตั้งแต่ 20 ถึง 40 %โดยน้ำหนัก.....	41
4.4 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารละลายโปรตีนเซรีซินและโปรตีนไฟโบรอิน โดยวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (เซนติเมตร) ด้วยวิธี Agar disc diffusion	43
4.5 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินและแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณต่างๆ ที่ยังไม่ได้แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำ โดยวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (เซนติเมตร) ด้วยวิธี Agar disk diffusion (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นเส้นใย = 1 เซนติเมตร).....	45
4.6 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินและแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิต.....	48
4.7 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินและแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน โดยการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาตรอาหาร 1 มิลลิลิตร และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรีย.....	54
4.8 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นปิดแผลด้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้า โดยวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (เซนติเมตร) ด้วยวิธี Agar disk diffusion (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นปิดแผล = 1 เซนติเมตร).....	61
4.9 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นปิดแผลด้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้าชนิด Acticoat เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ และนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU).....	63
4.10 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน 50 % โดยน้ำหนัก.....	64

สารบัญรูป

รูป	หน้า
2.1 อุปกรณ์สำหรับกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต.....	5
2.2 ลักษณะการสับตัดตัวของกระแสปอลิเมอร์โดยใช้กล้องถ่ายภาพความเร็วสูง...	6
2.3 แผ่นตกแต่งผลทางการค้าที่เคลือบซิลเวอร์เพื่อด้านเชื้อแบคทีเรีย ยี่ห้อ Acticoat และ Tegaderm.....	13
2.4 หนอนไหม <i>Bombyx mori</i> และรังไหม (cocoon).....	15
2.5 โพรตีนไหมไฟโบรอินที่ถูกเคลือบด้วยกาวไหมที่เป็นโพรตีนเซรีซิน.....	15
2.6 โครงสร้างโมเลกุลของเส้นใยไหม.....	19
3.1 แสดงชุดอุปกรณ์การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต.....	23
3.2 ลักษณะรังไหมพันธุ์นางลาย.....	24
3.3 การไดอะไลซิสของสารละลายไหม.....	25
3.4 ลักษณะโพรตีนไฟโบรอิน.....	25
4.1 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงลักษณะของเส้นใยโพรตีนไหมไฟโบรอินที่ได้จากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต จากสารละลายในตัวทำละลายกรดฟอร์มิก (ก, ข และ ค) และตัวทำละลายกรดไตรฟลูออโรอะซิติก (ง, จ และ ฉ) ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	34
4.2 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงลักษณะของเส้นใยโพรตีนไหมไฟโบรอินที่ได้จากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5 ถึง 40 %โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (กำลังขยาย 2000 เท่า).....	37
4.3 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงลักษณะของเส้นใยโพรตีนไหมไฟโบรอินที่ได้จากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 15 ถึง 40 %โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (กำลังขยาย 5000 เท่า).....	38
4.4 ลักษณะเส้นใยอิเล็กโทรสปินโพรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณ 20 ถึง 50 %โดยน้ำหนัก.....	40
4.5 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของเส้นใยโพรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณ 20 ถึง 50 %โดยน้ำหนัก (กำลังขยาย 2000 เท่า).....	40
4.6 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของเส้นใยโพรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณ 20 ถึง 50 %โดยน้ำหนัก (กำลังขยาย 5000 เท่า).....	41

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป	หน้า
4.7 ลักษณะ clear zone ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด <i>S. pyogenes</i> ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินปริมาณ 20, 30, 40 และ 50 %โดยน้ำหนัก โดยแผ่นเส้นใยไม่ได้แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำ.....	45
4.8 ลักษณะ clear zone ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด <i>P. aeruginosa</i> ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินปริมาณ 20, 30, 40 และ 50 %โดยน้ำหนัก โดยแผ่นเส้นใยไม่ได้แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำ.....	46
4.9 อัตราร้อยละการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ก) <i>S. aureus</i> ข) <i>S. epidermidis</i> ค) <i>S. pyogenes</i> ง) <i>P. aeruginosa</i> และ จ) <i>E. coli</i> ที่มีต่อแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน (SF) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน (SS) 40 และ 50% โดยน้ำหนัก เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ (1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.).....	49
4.10 แสดงเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีที่ลดลงของเชื้อ <i>E. coli</i> ก) ก่อนการบ่ม และ ข) หลังการบ่มเป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน 50 %โดยน้ำหนัก.....	53
4.11 อัตราร้อยละการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ก) <i>S. aureus</i> ข) <i>S. epidermidis</i> ค) <i>S. pyogenes</i> ง) <i>P. aeruginosa</i> และ จ) <i>E. coli</i> ที่มีต่อแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน (SF) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน (SS) 40 และ 50% โดยน้ำหนัก เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ (1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง) โดยการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU).....	57
4.12 ลักษณะแผ่นปิดแผลด้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้า.....	60
4.13 ลักษณะ clear zone ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด <i>P. aeruginosa</i> ของแผ่นปิดแผล A) Aquacel B) Acticoat C) Tegaderm เทียบกับแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน.....	62

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและสภาพปัญหา

ไหมเป็นเส้นใยโปรตีนที่นิยมนำมาถักทอเป็นเสื้อผ้า เพราะให้ความสบาย ความสวยงามดูมีคุณค่า จึงมักเรียกไหมว่าเป็นราชินีแห่งเส้นใย โดยอุตสาหกรรมไหมไทยจัดได้ว่าเป็นอุตสาหกรรมที่ทำรายได้ให้แก่ประเทศได้มาก จนเป็นสินค้าเอกลักษณ์ที่ส่งออกไปยังตลาดโลก เส้นใยไหมเป็นเส้นใยธรรมชาติที่ส่วนใหญ่ได้จากหนอนไหมพันธุ์ *Bombyx mori* เส้นใยไหมประกอบด้วยโปรตีนสำคัญ 2 ชนิด โดยแกนกลางเป็นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอิน(fibroin) 2 เส้น ถูกหุ้มเคลือบด้วยโปรตีนเซริซิน (sericin) ที่เป็นกาวไหม (silk glue) ช่วยยึดเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินไว้ด้วยกัน ซึ่งในกระบวนการผลิตเส้นใยไหมโดยทั่วไป โปรตีนเซริซินจะถูกกำจัดออกเมื่อนำรังไหมไปต้มในน้ำเดือด ในช่วงของขั้นตอนการลอกกาวไหม (silk degumming) ดังนั้นโปรตีนเซริซินจึงเป็นของเหลือทิ้งจากการผลิตเส้นใยไหม แต่เนื่องจากโปรตีนเซริซินมีคุณสมบัติในการต้านการเกิดออกซิเดชัน ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านรังสียูวี และดูดความชื้นดี จึงมีผู้นำมาผลิตใช้ในเครื่องสำอาง นำไปเคลือบบนผ้า หรือวัสดุต่างๆ (Zhang, 2002) ทั้งโปรตีนไฟโบรอิน และโปรตีนเซริซินจากเส้นใยไหม เป็นโปรตีนธรรมชาติที่มีความเข้ากันได้กับเซลล์หรือเนื้อเยื่อของมนุษย์ (biocompatibility) และยังสามารถย่อยได้ตามธรรมชาติ (biodegradability) จึงได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ โดยโปรตีนไฟโบรอินได้นำมาขึ้นรูปในลักษณะต่างๆ เช่น เส้นใย แผ่นฟิล์ม โฟม รูปทรงกลม (spheres) และแคปซูล เพื่อนำมาใช้ประยุกต์ใช้เป็นโครงร่างเทียมให้แก่เนื้อเยื่อ (tissue scaffolds) แผ่นวัสดุปิดแผล (wound dressing) วัสดุควบคุมการปลดปล่อยยา (drug delivery) (Altman และคณะ, 2003) ส่วนโปรตีนเซริซินก็มีผู้ทำวิจัยในการขึ้นรูปเป็นรูปแบบต่างๆ เพื่อการประยุกต์ใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์มากขึ้น นอกเหนือจากการใช้ในเครื่องสำอาง

การนำโปรตีนไหมไฟโบรอินที่ได้จากเส้นใยไหม มาผสมกับโปรตีนเซริซินที่เตรียมได้จากน้ำของการลอกกาวไหม ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ นำมาขึ้นรูปเป็นเส้นใยที่มีขนาดเล็กมากในระดับไมโครเมตรถึงนาโนเมตร โดยกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospinning) เป็นอีกหนึ่งแนวทางหนึ่งเพื่อนำโปรตีนไหมไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ ซึ่งกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตนี้ เป็นกระบวนการที่ไม่ซับซ้อน โดยเส้นใยจะสานกันมีลักษณะเป็นแผ่นเส้นใยที่ไม่ได้ทอ (non-woven mat) ซึ่งมีลักษณะเหมือนแผ่นฟิล์ม เนื่องจากแผ่นเส้นใยเกิดจากเส้นใยที่มีขนาดเล็กมาก จึงทำให้แผ่นเส้นใยมีความเป็นรูพรุนสูง และมีค่าอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อมวลที่สูงด้วย (Zhang และคณะ, 2009) แผ่นวัสดุดังกล่าวจึงมีความเหมาะสมในการนำไป

ประยุกต์ใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ เช่น ทำโครงร่างเทียมให้แก่เนื้อเยื่อ โดยนำไปวางบนแผ่นที่รักษาให้หายได้ยากหรือมีความรุนแรงของแผลสูง เนื้อเยื่อที่เกิดใหม่จะเจริญเติบโตแทรกผ่านแผ่นเส้นใยขนาดเล็กนี้ได้ดี โดยมีแผ่นเส้นใยเป็นโครงร่างให้ จะทำให้รักษาแผลให้หายได้เร็ว การทำวัสดุปิดแผลจะทำให้เกิดการซึมผ่านของของเสียและอากาศได้ดี จะทำให้แผลหายได้เร็ว หรือหากผสมยา เช่น ยาแก้ปวดหรือยาแก้อักเสบ หรือสารต้านเชื้อแบคทีเรียลงในวัสดุปิดแผลที่ทำจากแผ่นเส้นใยโปรตีนไหมนี้ เนื่องจากแผ่นเส้นใยนี้มีความเป็นรูพรุนสูงจึงสามารถเก็บกักยาไว้ภายในได้ในปริมาณค่อนข้างมาก และสามารถที่จะควบคุมการปลดปล่อยยาออกมาได้ จะทำให้แผลหายได้เร็วขึ้น หรือสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้น (Ramakrishna และคณะ, 2005)

งานวิจัยนี้เป็นการขึ้นรูปโปรตีนไหมไฟโบรอินผสมเซรีซิน ด้วยกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต เพื่อให้ได้เป็นแผ่นเส้นใยที่เกิดจากเส้นใยขนาดเล็กมากดังกล่าว และศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยจากโปรตีนไหม ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนเซรีซินมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ศึกษาลักษณะกายภาพ และความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง เพื่อนำไปประยุกต์ใช้งานทางด้านการแพทย์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแผ่นเส้นใยอีเล็กโตรสปินจากโปรตีนไหมไฟโบรอินผสมเซรีซิน โดยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

1.2.2 เพื่อศึกษาลักษณะกายภาพ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของแผ่นเส้นใยอีเล็กโตรสปินโปรตีนไหม

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 เตรียมโปรตีนไหมไฟโบรอินและเซรีซินจากไหมพันธุ์ไทย

1.3.2 หาสภาวะที่เหมาะสมของการขึ้นรูปเป็นแผ่นเส้นใยของสารละลายโปรตีนไฟโบรอินในกรดไตรฟลูออโรอะซิติก และโปรตีนไฟโบรอินผสมกับโปรตีนเซรีซินในกรดไตรฟลูออโรอะซิติก โดยกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

1.3.3 วิเคราะห์ขนาดและลักษณะของเส้นใยที่ได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope: SEM) ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่อยู่บนผิวหนังหรือที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวหนัง ความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1.4.1 ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากโปรตีนไหม
ไฟโบรอินผสมเซรีซิน โดยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

1.4.2 ทราบลักษณะกายภาพ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และความเป็นพิษต่อเซลล์
ผิวหนังของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากโปรตีนไหม เพื่อเป็นแนวทางการนำไปประยุกต์ใช้เป็นแผ่น
ปิดแผลที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในทางการแพทย์

บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospinning หรือ electrostatic spinning) เป็นกระบวนการหนึ่งที่สามารถผลิตเส้นใยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็กมากถึงระดับนาโนเมตร หรือที่เรียกกันว่า นาโนไฟเบอร์ (nanofibers) ได้ กระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตมีความซับซ้อนน้อย ใช้อุปกรณ์ในการผลิตที่ง่ายและมีราคาไม่สูงมาก พอลิเมอร์ที่ใช้ในการปั่นเป็นเส้นใยนิยมใช้เป็นสารละลายพอลิเมอร์ ทั้งนี้เนื่องจากมีความสะดวกในการผลิตและกระบวนการซับซ้อนน้อยกว่า โดยใช้สารละลายพอลิเมอร์ในปริมาณที่ค่อนข้างน้อย

ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้จะมีลักษณะเป็นแผ่นเส้นใยที่ไม่ได้ทอ (non-woven fabric) ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้โดยตรง สมบัติของนาโนไฟเบอร์ที่ปั่นได้จากกระบวนการนี้จะมีอัตราส่วนของความยาวต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยสูง มีอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของเส้นใยสูง และแผ่นผ้าที่ได้มีลักษณะเหมือนเป็นแผ่นเยื่อแก้ว (membrane) ที่มีรูพรุนขนาดเล็กระดับไมโครเมตร (microporous) มีความเป็นรูพรุนสูง (high porosity) และมีน้ำหนักเบา จากข้อดีดังกล่าว นาโนไฟเบอร์จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมาย โดยเฉพาะการประยุกต์ใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ เช่น วัสดุตกแต่งแผล วัสดุควบคุมการปลดปล่อยยา โครงวิศวกรรมสำหรับการสร้างเนื้อเยื่อ เป็นต้น (Ramakrishna และคณะ, 2005)

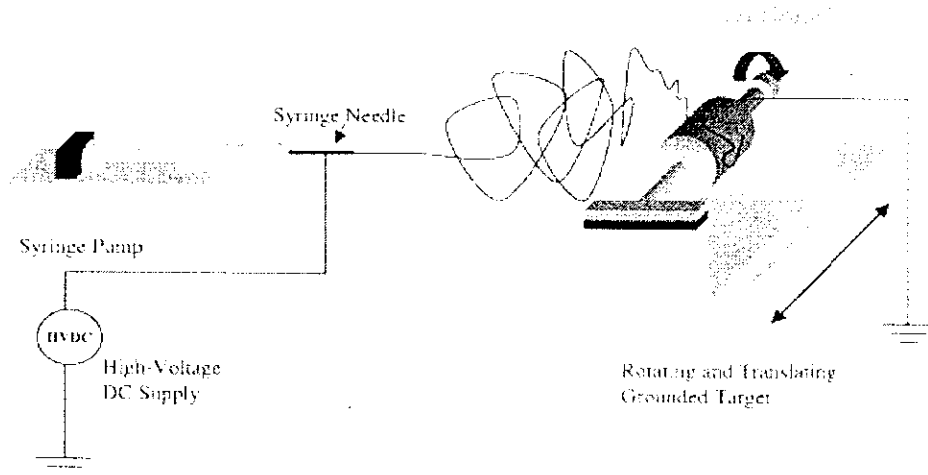
2.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก ดังแสดงในรูปที่ 2.1 ได้แก่

1. เครื่องกำเนิดศักย์ไฟฟ้าแรงสูง (high voltage power supply) สำหรับในงานวิจัยนี้สามารถปรับความต่างศักย์ได้ในช่วง 0 ถึง 30 กิโลโวลต์ และกระแสไฟฟ้าของเครื่องมีค่าต่ำในระดับ 160 ไมโครแอมป์ ซึ่งจะทำให้ไม่เกิดอันตรายเนื่องจากไฟฟ้าช็อตต่อผู้ปฏิบัติ

2. ภาชนะสำหรับบรรจุพอลิเมอร์ตัวอย่าง จะใช้เป็นหลอดฉีดยาโดยสารละลายพอลิเมอร์จะไหลผ่านออกมาทางเข็มฉีดยา เข็มฉีดยาที่เป็นโลหะนี้ยังทำหน้าที่เป็นอิเล็กโทรดนำไฟฟ้าสำหรับการควบคุมอัตราการไหลของพอลิเมอร์ให้ออกจากปลายเข็มฉีดยาจะใช้ปั๊ม (syringe pump) ต่อเข้ากับหลอดฉีดยา

3. อุปกรณ์รองรับเส้นใย อาจมีลักษณะเป็นแผ่นโลหะอลูมิเนียม หรือเป็นลูกกลิ้งที่ห่อหุ้มด้วยแผ่นโลหะอลูมิเนียม ซึ่งสามารถควบคุมอัตราเร็วรอบการหมุนของลูกกลิ้งได้ หรืออาจเป็นอ่างสารละลาย (ในกรณีที่ต้องการให้เส้นใยตกตะกอนเหมือนกับในกรณีการปั่นเส้นใยแบบเปียก) สำหรับในงานวิจัยนี้ใช้แผ่นอลูมิเนียมในการรองรับเส้นใย โดยนำไปหุ้มกับลูกกลิ้ง ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 อุปกรณ์สำหรับกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

ที่มา: ชิตชนก มิตรอุปถัมภ์, สุจินดา จิตต์ใจฉ่ำ, พิษณุ ศุภผล และมานิตย์ นิธิธนากุล. (2546). หลักการและประโยชน์การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต. *ส่งเสริมเทคโนโลยี*, ธันวาคม 2546 มกราคม 2547, 147-155.

การจ่ายกระแสไฟฟ้าจากเครื่องกำเนิดศักย์ไฟฟ้าแรงสูง สามารถทำได้โดยการต่อขั้วส่ง (emitting electrode) กับสารละลายพอลิเมอร์ โดยผ่านวัสดุที่เป็นโลหะตัวนำต่างๆ ในที่นี้จะต่อขั้วส่งโดยตรงกับเข็มฉีดยา และทำการต่อขั้วสายดิน (grounding electrode) กับอุปกรณ์รองรับเส้นใย (ชิตชนก มิตรอุปถัมภ์ และคณะ, 2546)

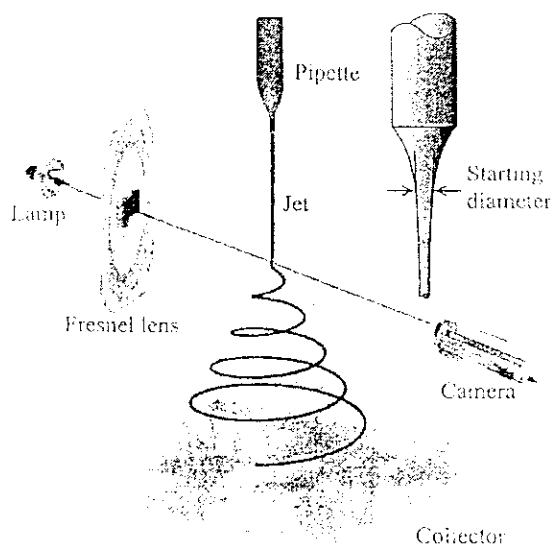
2.1.2 กลไกการเกิดเส้นใย

กลไกการเกิดเส้นใยสำหรับกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตนี้ เริ่มจากการให้ศักย์ไฟฟ้ากำลังสูงแก่พอลิเมอร์หลอมเหลวหรือสายละลายพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนทำให้หยดของสารละลายพอลิเมอร์ที่บริเวณปลายเข็มฉีดยา ซึ่งมีลักษณะเป็นครึ่งทรงกลมเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นลักษณะทรงกรวย ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการผลักกันของประจุไฟฟ้าที่เกิดขึ้น รูปทรงกรวยนี้เรียกว่ากรวยของเทย์เลอร์ (Taylor's cone) เมื่อเพิ่มศักย์ไฟฟ้าขึ้นไปอีก ส่วนยอดโคนจะมีการสะสมของประจุเพิ่มมากขึ้น ทำให้แรงผลักกันของประจุที่เพิ่มขึ้นนี้มากกว่าแรงตึงผิวของพอลิเมอร์หลอมเหลวหรือสารละลายพอลิเมอร์ ทำให้เกิดสายเจ็ต (jet) ของ

พอลิเมอร์หลอมเหลวหรือสารละลายพอลิเมอร์พุ่งออกไปยังอุปกรณ์รองรับ แนวการเคลื่อนที่ของสายเจ็ทนี้ จะเป็นเส้นตรงในช่วงแรก ระยะที่เป็นเส้นตรงนี้จะขึ้นอยู่กับค่าอัตราส่วนระหว่างศักย์ไฟฟ้าต่อระยะทางจากปลายเข็มฉีดยาถึงอุปกรณ์รองรับ หรือค่าสนามไฟฟ้านั่นเอง

หลังจากระยะที่เป็นเส้นตรงนี้ ปฏิสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นจากประจุไฟฟ้าสถิตที่อยู่ภายในสายเจ็ทของพอลิเมอร์และแนวสนามไฟฟ้า จะทำให้เกิดแนวการเคลื่อนตัวของสายเจ็ทที่ไม่เสถียร ทำให้เกิดการเคลื่อนที่คล้ายกับการสับตัวคล้ายไส้ โดยการสับตัว (bending instability) นี้ จะมีลักษณะการสับตัวเป็นสามมิติ โดยมีจุดกลางการสับตัวอยู่ที่จุดสิ้นสุดของการเคลื่อนที่ของสายเจ็ทที่เป็นเส้นตรงโดยที่แนวของการสับตัวจะมีลักษณะเป็นทรงกรวย ดังแสดงในรูปที่ 2.2

ในขณะที่สายเจ็ทของพอลิเมอร์เคลื่อนที่จากปลายเข็มฉีดยาไปยังอุปกรณ์รองรับ ขนาดความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางของสายเจ็ทพอลิเมอร์จะเล็กลงเรื่อยๆ ซึ่งเกิดจากแรงที่เกิดขึ้นเนื่องมาจากการผลักรันของประจุกระแสไฟฟ้าสถิตที่เกิดขึ้นและจากแรงที่เกิดจากการสับตัว ในขณะที่เคลื่อนตัวไปยังอุปกรณ์รองรับ สายเจ็ทพอลิเมอร์จะแข็งตัวกลายเป็นเส้นใยได้โดยการเย็นตัวลง สำหรับกรณีการปั่นเส้นใยจากพอลิเมอร์หลอมเหลว หรือโดยการระเหยของตัวทำละลาย สำหรับการปั่นเส้นใยจากสารละลายพอลิเมอร์



รูปที่ 2.2 ลักษณะการสับตัวของกระแสพอลิเมอร์โดยใช้กล้องถ่ายภาพความเร็วสูง

ที่มา: Reneker, D. H., Yarin, A. L., Fong, H., Koombhongse, S. (2000). Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in electrospinning. *Journal of Applied Physics*, 87, 4531-4547.

เนื่องจากการเคลื่อนที่ของสายเจ็ทพอลิเมอร์นี้มีความเร็วสูงมาก หากสังเกตด้วยตาเปล่า หรือใช้อุปกรณ์ถ่ายภาพที่มีความเร็วชัตเตอร์ไม่สูงมากนัก จะเห็นภาพเป็นเสมือนว่ามีสายเจ็ทพอลิเมอร์พุ่งออกมาเป็นเส้นตรงแล้วจึงแตกแขนงออกเป็นกระแสเล็กๆ หลายๆ เส้น แต่ถ้าใช้อุปกรณ์ถ่ายภาพที่มีความเร็วของชัตเตอร์สูงมากพอ จึงจะเห็นการเคลื่อนตัวของกระแสพอลิเมอร์เป็นแบบการสับัดของเส้น ดังที่กล่าวไปแล้วข้างต้น (Reneker และคณะ, 2000)

2.1.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อขนาดและลักษณะของเส้นใย เป็นสิ่งสำคัญของกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ทั้งนี้เพื่อที่จะสามารถผลิตเส้นใยที่มีขนาดเล็กมากตามความต้องการ มีขนาดและรูปร่างที่คงที่ และสามารถนำนาโนไฟเบอร์ที่ผลิตได้ไปใช้ประโยชน์ได้

ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต อาจแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มด้วยกัน ได้แก่

1. สมบัติของพอลิเมอร์หลอมเหลวหรือสารละลายพอลิเมอร์ เช่น ความหนืด แรงดึงดูดค่าการนำไฟฟ้า เป็นต้น

ปัจจัยที่มีความสำคัญมากต่อการกำหนดขนาดของเส้นใย คือ ค่าความหนืดของพอลิเมอร์ตั้งต้น (ไม่ว่าจะอยู่ในรูปของพอลิเมอร์หลอมเหลวหรือสารละลายพอลิเมอร์) ซึ่งความหนืดนี้มีปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้น (เฉพาะในกรณีพอลิเมอร์ตั้งต้นเป็นสารละลายพอลิเมอร์) น้ำหนักโมเลกุล และอุณหภูมิของพอลิเมอร์ตั้งต้น โดยทั่วไปแล้วพอลิเมอร์ตั้งต้นที่ใช้ในกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตจะเริ่มจากสารละลายพอลิเมอร์ ซึ่งในกรณีนี้ ค่าความหนืดจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของพอลิเมอร์ในสารละลายเพิ่ม หากค่าความหนืดมีค่าต่ำจะเกิดเป็นเพียงหยดของสารละลายพอลิเมอร์ แต่ยังไม่เกิดเป็นเส้นใย เมื่อความหนืดเพิ่มขึ้นจะเริ่มเกิดเป็นเส้นใย และอาจมีเม็ดปม (bead) บนเส้นใยเกิดขึ้นด้วย หากค่าความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์มีค่าสูงมากพอจะไม่เกิดเม็ดปมบนเส้นใย ค่าความหนืดที่เพิ่มขึ้นนี้จะทำให้เส้นใยที่ปั่นได้มีขนาดความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ขึ้น (Mit-uppatham และคณะ, 2004; Sutasinpromprae และคณะ, 2006; Meechaisue และคณะ, 2006)

การเกิดเม็ดปมบนเส้นใยเป็นปัญหาที่อาจเกิดขึ้นได้สำหรับการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตจากสารละลายพอลิเมอร์ ดังที่กล่าวมาแล้ว เม็ดปมที่เกิดขึ้นเป็นผลโดยตรงจากค่าความหนืดของสารละลายที่ไม่สูงพอ ทำให้ค่าแรงดึงดูดเอาชนะแรงทางไฟฟ้าและแรงหนืดได้ เมื่อสารละลายพอลิเมอร์มีค่าความหนืดสูงมากพอ การเกิดเม็ดปมก็จะลดลง การลดแรงดึงดูดของสารละลายโดยการเติมตัวทำละลายหรือสารเคมีอื่นเข้าไปในระบบ ก็อาจทำให้ปริมาณของเม็ดปมที่เกิดขึ้นลดลงได้ นอกจากนี้การเติมเกลือ (เช่น เกลือโซเดียมคลอไรด์ เกลือลิเทียมคลอไรด์) ที่สามารถแตกตัวเป็น

ประจุอิสระได้ในพอลิเมอร์ตั้งต้น ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถลดปัญหาการเกิดเม็ดบวมบนเส้นใย ทั้งนี้ประจุอิสระที่เกิดขึ้นจะทำให้แรงผลักระหว่างประจุมีค่ามากกว่าแรงดึงดูด ทำให้เกิดเม็ดบวมได้ยากขึ้น

สารละลายพอลิเมอร์ในระบบของตัวทำละลายที่แตกต่างกัน จะส่งผลทำให้สมบัติของสารละลายพอลิเมอร์มีค่าที่แตกต่างกัน จึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ลักษณะและขนาดของเส้นใยที่ปั่นได้จากกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตนี้เปลี่ยนแปลงไป (Liu และ Hsieh, 2002; Supaphol และคณะ, 2005)

2. ปัจจัยที่เกิดจากการปรับเปลี่ยนค่าตัวแปรของกระบวนการ เช่น ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้กับระบบ ระยะทางระหว่างปลายเข็มฉีดยาและอุปกรณ์รองรับ อัตราการไหลของพอลิเมอร์ตั้งต้น เป็นต้น

การเพิ่มค่าความต่างศักย์คร่อมระหว่างปลายเข็มฉีดยาและอุปกรณ์รองรับ จะทำให้เส้นใยที่ปั่นได้มีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณการไหลของพอลิเมอร์ตั้งต้นจากกระบวนการ (Supaphol และคณะ, 2005; Baumgarten, 1971) อย่างไรก็ตามได้มีการรายงานว่าการเพิ่มขึ้นของค่าศักย์ไฟฟ้าอาจทำให้เส้นใยที่ปั่นได้มีขนาดเล็กลง (Buchko และคณะ, 1999)

3. สภาพบรรยากาศ เช่น อุณหภูมิของพอลิเมอร์ตั้งต้น ความชื้น ความดัน ชนิดและความเข้มข้นของประจุอิสระในบรรยากาศโดยรอบ สนามไฟฟ้าหรือสนามแม่เหล็กภายนอก เป็นต้น

2.1.4 การประยุกต์ใช้เส้นใยจากการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิตในทางการแพทย์

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตมีลักษณะเป็นแผ่นเส้นใยที่ไม่ได้ทอที่เกิดจากการซ้อนทับกันของเส้นใยขนาดเล็ก ช่องว่างที่เกิดขึ้นระหว่างเส้นใยจึงมีขนาดเล็ก โดยที่ขนาดของช่องรูพรุนเหล่านี้จะขึ้นอยู่กับขนาดความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยที่ได้ และระยะเวลาของการปั่นเส้นใย (จำนวนชั้นของเส้นใยที่ซ้อนทับกัน) ฉะนั้นแผ่นเส้นใยที่ได้จึงมีรูพรุนที่มีขนาดเล็กมากและสามารถควบคุมได้โดยการเลือกใช้พอลิเมอร์ตั้งต้นและตัวแปรกระบวนการที่เหมาะสม ด้วยพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่มากของเส้นใยที่ได้ ประกอบกับลักษณะของเส้นใยที่ได้มีความพรุนสูงทำให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่างโดยเฉพาะวัสดุในทางการแพทย์

วัสดุตกแต่งแผล (wound dressing) เป็นวัสดุที่ใช้รักษาบาดแผล ซึ่งแผ่นเส้นใยจากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตมีพื้นที่ผิวสูง และมีโครงสร้างที่เป็นรูพรุนขนาดเล็กจำนวนมาก จึงมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นวัสดุตกแต่งแผลได้ โดยแผ่นเส้นใยนี้เมื่อนำไปติดบนบาดแผลจะไม่เกิดการรวมตัวของเลือดหรือน้ำเหลืองโดยเกิดการดูดซับของเหลวเหล่านี้ได้ดี สามารถควบคุมการสูญเสียน้ำจากบาดแผล และออกซิเจนซึมผ่านได้ดี จึงทำให้รักษาบาดแผลได้ (Khil และคณะ,

2003) วัสดุตกแต่งแผ่นนี้จะต้องสามารถเข้ากับเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) และดึงดูดให้เซลล์เกิดขึ้นที่ชั้นผิวหนังได้ดีจึงจะเกิดการรักษาเนื้อเยื่อที่บาดเจ็บได้ นอกจากนี้แผ่นเส้นใยสามารถผสมสารที่ช่วยกระตุ้นการเข้ากันได้กับเซลล์ (bioactive agents) รวมทั้งยาชนิดต่างๆ (เช่น ยาต้านเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น) และควบคุมการปลดปล่อยสารเหล่านี้ออกมาเพื่อทำให้การรักษาบาดแผลมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

พอลิเมอร์ที่นำมาใช้ในการผลิตเป็นแผ่นเส้นใยจากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตนี้ มีหลายชนิดส่วนใหญ่จะเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติ เช่น โปรตีนไหมไฟโบรอิน (silk fibroin) คอลลาเจน วัสดุประกอบของคอลลาเจนและไคโตซาน ซึ่งพบว่าเซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนแผ่นเส้นใยเหล่านี้

วิศวกรรมสำหรับการสร้างเนื้อเยื่อ (*scaffolds for tissue engineering*) ปัจจัยที่สำคัญในการสร้างเนื้อเยื่อคือ ต้องมีแหล่งกำเนิดเซลล์ สภาพะในการเพาะและโครงสร้างวิศวกรรมที่สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพในร่างกายที่เหมาะสม โครงสร้างวิศวกรรมเนื้อเยื่อที่เหมาะสมควรทำหน้าที่ให้เหมือนโครงสร้างรอบเซลล์ (extra – cellular matrix : ECM) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่เซลล์มีชีวิตสร้างขึ้นให้มากที่สุด เพื่อที่เซลล์ที่ได้รับการปลูกถ่ายไปสามารถที่จะดำรงอยู่และขยายจำนวนได้จนกระทั่งมีจำนวนมากพอก่อนที่โครงสร้างวิศวกรรมนี้จะถูกย่อยสลายไปในที่สุด

วัสดุที่นำมาผลิตเป็นโครงสร้างดังกล่าวควรมีสมบัติที่สำคัญ คือ มีรูพรุนที่มีขนาดใกล้เคียงกับโครงสร้างโดยรอบเซลล์ ไม่เป็นพิษ มีสมบัติเชิงกลที่เหมาะสมเพื่อให้สามารถรับแรงที่มากระทำได้ ย่อยสลายได้ในเวลาที่เหมาะสม โดยขณะที่ย่อยสลายต้องไม่ปล่อยสารมีพิษซึ่งเป็นผลข้างเคียงจากปฏิกิริยาย่อยสลายออกมาในระดับที่จะทำให้เซลล์โดยรอบตาย

ปัจจุบันเทคนิคที่ใช้ในการสร้างโครงสร้างวิศวกรรมเนื้อเยื่อคือการหล่อแบบทำเป็นโครงสร้างรูพรุน การทอเส้นใยเป็นแผ่น หรือในกรณีที่ต้องการความแข็งแรงของโครงสร้างที่สูงก็สามารถถักจากเส้นใยที่ได้จากกระบวนการปั่นเส้นใยแบบหลอมเหลว นอกเหนือจากเทคโนโลยีดังกล่าว แผ่นเส้นใยที่ได้จากกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับนำมาผลิตเป็นโครงดังกล่าว ทั้งนี้เนื่องจากขนาดของเส้นใยที่มีขนาดเล็ก ทำให้มีพื้นที่ผิวมาก ซึ่งอาจเหมาะต่อการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้อเยื่อนำมาเพาะ นอกจากนี้ยังมีความพรุนสูง ทำให้การแพร่ผ่านของสารอาหาร น้ำ และอากาศ ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้อเยื่อเกิดขึ้นได้โดยง่าย

งานวิจัยที่ได้นำแผ่นเส้นใยจากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตของพอลิเมอร์หลายชนิดไปใช้เป็นโครงสร้างวิศวกรรมเนื้อเยื่อ เช่น พอลิดีแอลแลคไทด์โคไกลโคลิไซด์ (poly(D,L-lactide-co-glycolide)) (Li และคณะ, 2002) พอลิคาโพรแลคโตน (poly(ϵ -caprolactone)) (Yoshimoto

และคณะ, 2003) พอลิเอทิลีนโคไวนิลแอลกอฮอล์ (poly(ethylene-co-vinyl alcohol)) (Kenawy และคณะ, 2003) โดยส่วนใหญ่พบการเจริญเติบโตของเซลล์เป็นไปได้ด้วยดี

วัสดุควบคุมการปลดปล่อยยา (drug release) การควบคุมการปลดปล่อยยาเข้าสู่ร่างกายต้องรักษาระดับความเข้มข้นของยาในร่างกายให้คงที่ตลอดช่วงเวลาการรักษา และต้องควบคุมการปลดปล่อยยาให้สามารถออกฤทธิ์เฉพาะที่ในปริมาณและเวลาที่เหมาะสมตามแผนการรักษาอันจะทำให้การรักษาได้ผลดีและมีความปลอดภัยต่อผู้ป่วย การพัฒนาวัสดุควบคุมการปลดปล่อยยาจึงต้องทำให้มีรูพรุนขนาดเล็กเพื่อยินยอมให้เกิดการแพร่อย่างสม่ำเสมอ แผ่นเส้นใยจากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตมีสมบัติดังกล่าว คือ มีรูพรุนขนาดเล็กจำนวนมาก และมีพื้นที่ผิวสูง จึงเหมาะสมที่จะนำไปใช้ผลิตเป็นแผ่นวัสดุเพื่อควบคุมการปลดปล่อยยาเข้าสู่ร่างกายทั้งชนิดภายในและภายนอกในร่างกาย ซึ่งยาที่นำมาใช้มีหลายชนิด เช่น ยาปฏิชีวนะ (antibiotics) ยาต้านมะเร็ง (anticancer drugs) โปรตีน และดีเอ็นเอ เป็นต้น มีนักวิจัยหลายท่านได้นำแผ่นเส้นใยของพอลิเมอร์ชนิดต่างๆ ที่ได้จากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตไปใช้ผลิตเป็นวัสดุดังกล่าว เช่น พอลิแลคติกแอซิด (poly(L-lactic acid)) (Zeng และคณะ, 2003) พอลิเอทิลีนโคไวนิลอะซิเตท (poly(ethylene-co-vinylacetate)) (Kenawy และคณะ, 2002) และจากผลการทดลองพบว่าแผ่นเส้นใยมีประสิทธิภาพที่สามารถจะควบคุมการปลดปล่อยยาได้

2.1.5 การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตเพื่อผลิตเส้นใยที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

การผลิตเครื่องใช้และเส้นใยที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ในปัจจุบันนิยมผสมอนุภาคซิลเวอร์ หรือปรับปรุงโครงสร้างพอลิเมอร์ให้สามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย ทั้งนี้เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ เช่น งานทางการแพทย์ แผ่นกรองอากาศ หรือผลิตเป็นเสื้อผ้า เป็นต้น การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตก็เช่นเดียวกัน ได้มีนักวิจัยได้นำพอลิเมอร์ชนิดต่างๆ มาผสมอนุภาคซิลเวอร์ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วนำไปปั่นเป็นเส้นใย หรือบางงานวิจัยได้มีการปรับปรุงพอลิเมอร์เพื่อให้มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วจึงนำมาปั่นเป็นเส้นใย เช่น

Wang และคณะ (2005) ได้ผลิตแผ่นเส้นใยพอลิอะคริโลไนไทรล์ (polyacrylonitrile) ที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต โดยเตรียมด้วยการรีดักชันของซิลเวอร์ไอออนในสารละลายไฮดราซีนเนียม ไฮดรอกไซด์ (hydrazinium hydroxide) อนุภาคซิลเวอร์นาโนนี้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 10 นาโนเมตรและกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในแผ่นเส้นใย

Xu และคณะ (2006) ได้ผลิตเส้นใยขนาดเล็กของพอลิแลแลกไทด์ (poly(L-lactide)) ซึ่งสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ผสมกับอนุภาคซิลเวอร์นาโน จากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต พบว่าเส้นใยดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดี โดยทดสอบจากการลดลงของ

แบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ถึง 98.5 เปอร์เซ็นต์ และแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* ได้ 94.2 เปอร์เซ็นต์

Son และคณะ (2006) ผลิตเส้นใยนาโนของเซลลูโลสอะซิเตทที่ปั่นด้วยไฟฟ้าสถิตและผสมซิลเวอร์ไนเตรท (silver nitrate) 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จากนั้นนำไปส่องด้วยรังสียูวี (UV irradiation) ที่ 245 นาโนเมตร จะได้อนุภาคซิลเวอร์นาโนเกิดขึ้นบนผิวของแผ่นเส้นใยเซลลูโลสอะซิเตท ซึ่งทำให้แผ่นเส้นใยนี้มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ขนาดของอนุภาคซิลเวอร์นาโนโดยเฉลี่ยเท่ากับ 21 นาโนเมตร

เจลาตินซึ่งเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติยังได้นำมาปั่นเป็นแผ่นเส้นใยด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตและมีอนุภาคซิลเวอร์อยู่บนแผ่นเส้นใย โดย Rujitanaroj และคณะ (2008) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยอยู่ในช่วง 230 ถึง 280 นาโนเมตร ส่วนอนุภาคซิลเวอร์ที่เกิดขึ้นจากการอบซิลเวอร์ไนเตรทมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ยเท่ากับ 13 นาโนเมตร แผ่นเส้นใยดังกล่าวสามารถนำไปใช้เป็นวัสดุปิดแผลได้ จากการทดสอบพบว่าแผ่นเส้นใยเจลาตินมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* และ *E. coli*

ควอเตอร์ไนซ์ ไคโตซาน (quaternised chitosan) เป็นอนุพันธ์ของไคโตซานที่ปรับปรุงขึ้นทำให้มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ได้นำมาปั่นเป็นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตด้วยการผสมกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (poly(vinyl alcohol)) โดย Ignatova และคณะ (2006) ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยโดยเฉลี่ยอยู่ในช่วง 60 ถึง 200 นาโนเมตร และได้ทดสอบพบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* แผ่นเส้นใยดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุปิดแผลในทางการแพทย์ได้

2.2 ผลิตภัณฑ์ตกแต่งแผลต้านเชื้อแบคทีเรีย (antimicrobial dressing)

ในสมัยก่อนผ้าก๊อชหรือวัสดุที่สามารถดูดซับได้ชนิดอื่นๆ จะนำมาใช้ในการหยุดหรือห้ามเลือดที่แผลเท่านั้น แต่ไม่ได้มีวัตถุประสงค์ในการที่จะช่วยรักษาแผลให้หายได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งการติดเชื้อและการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้แผลหายช้า ดังนั้นผลิตภัณฑ์ตกแต่งแผลที่สามารถป้องกันการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ (antimicrobial dressings) จึงเป็นอีกรูปแบบหนึ่งของผลิตภัณฑ์ที่ได้ถูกออกแบบและพัฒนาขึ้น ซึ่งมีการวิจัยและพัฒนากันหลายรูปแบบ เช่น

ผลิตภัณฑ์ตกแต่งแผลที่ประกอบด้วยไอโอดีน (iodine containing dressing) ซึ่งไอโอดีนจะถูกปลดปล่อยออกมาเพื่อให้เกิดผลการต้านเชื้อแบคทีเรีย และยังมีผลทำให้แผลติดกันได้เร็วขึ้น ผลิตภัณฑ์ทางการค้า เช่น Iodosord®, Iodoflex® (ของบริษัท Smith&Nephew, Hull, UK), PRN® (ของบริษัท PRN Pharmacal, Pensacola, FL, USA) และ Iodosorb®

(ของบริษัท Health Point Ltd, Ft. Worth, TX, USA) เป็นต้น สำหรับ Iodosord® และ Iodoflex® เป็นพอลิเมอร์เด็กซ์แทรน (Dextran) ที่เกิดการเชื่อมโยงสายโซ่โมเลกุลโดยมีไอโอดีนอยู่ภายใน Iodoflex® นั้นสามารถควบคุมการปลดปล่อยไอโอดีนให้ออกมาอย่างช้าๆ ได้ โดยให้ไอโอดีนออกฤทธิ์อย่างน้อย 48 ชั่วโมง ส่วน PRN® เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีผงโพวีโดน-ไอโอดีน (povidone-iodine) สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด และยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราได้อีกด้วย

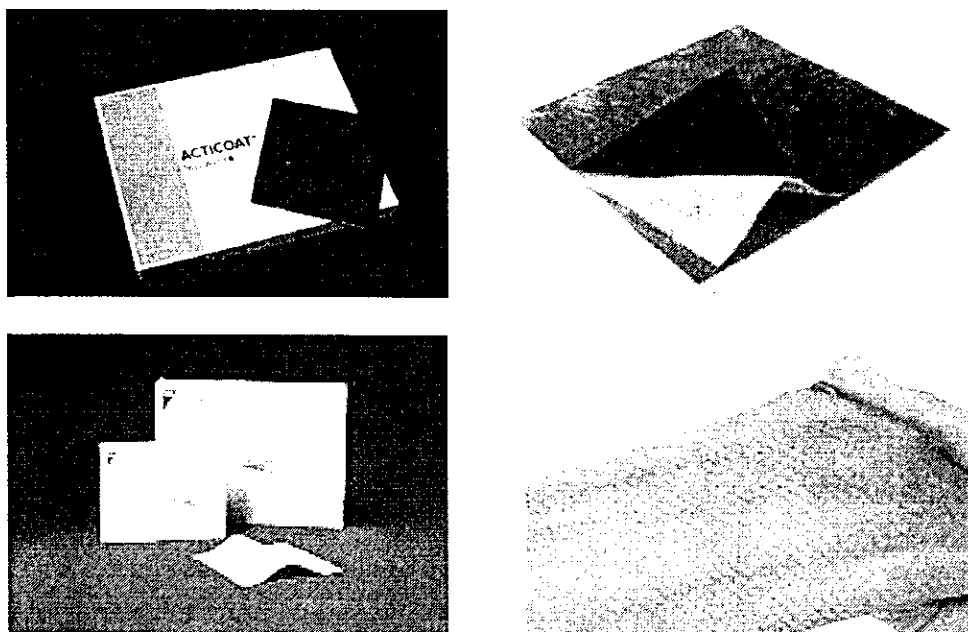
ผ้าก๊อชตกแต่งแผลต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial gauze dressing: AMD) ผลิตภัณฑ์ทางการค้า ได้แก่ Kerlix® (ของบริษัท Tyco Health Care Kendall, Mansfield, MA, USA) ผลิตภัณฑ์นี้จะมีสารพอลิเฮกซะเมทิลีนไบกัวไนด์ (polyhexamethylene biguanide: PHMB) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิดและเป็นสารที่เข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ โดยผลิตภัณฑ์นี้สามารถต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียภายในแผ่นผ้าเอง และยังลดการแทรกผ่านของแบคทีเรียไปยังบาดแผลได้ ซึ่งจะใช้ได้ดีเมื่อแผลเกิดการติดเชื้อ และมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียมาก ลักษณะของแผลจะเป็นแผลเปิด โดยจะเก็บผ้าก๊อชเข้าไปในแผล ผูกด้วยด้ายเย็บ และจะต้องเปลี่ยนผ้าก๊อชทุกวัน

แผ่นพอก (poultice pad) ผลิตภัณฑ์ทางการค้า ได้แก่ Animalintex® (ของบริษัท 3M Animal Care Products, St. Paul, MN, USA) แผ่นนี้ทำจากแผ่นฝ้ายที่ไม่ได้ทอ (nonwoven cotton pad) และมีพลาสติกอยู่ด้านหลัง ผลิตภัณฑ์ประกอบด้วยกรดบอริก (boric acid) ซึ่งเป็นยาฆ่าเชื้อชนิดอ่อน และมีทราคาแคน (tragacanth) ซึ่งเป็นสารที่ใช้พอกจากธรรมชาติ แผ่นพอกหรือแผ่นแปะนี้สามารถปิดบนผิวหนังบาดแผลได้ตามรูปทรงของร่างกาย และสามารถใช้ได้ทั้งขณะร้อน เย็น หรือแห้ง วัตถุประสงค์ของการใช้แผ่นแปะนี้ส่วนใหญ่เน้นไปที่การใช้งานขณะร้อนกับแผลที่ติดเชื้อบริเวณเท้าหรือขอกเท้า ซึ่งเป็นแผลที่สกปรก หรืออาจใช้ขณะเป็นแผ่นแปะที่แห้งและติดบนแผลเปิดที่สะอาด

ผลิตภัณฑ์ตกแต่งแผลถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) ผลิตภัณฑ์ทางการค้า ได้แก่ Activate® (ของบริษัท 3M Animal Care Products, St. Paul, MN, USA), Actisorb® (ของบริษัท Johnson&Johnson Products Inc, New Brunswick, NJ, USA) โดยมีลักษณะเป็นชั้นของวัสดุที่ไม่ได้ทอ และไม่ติดผิวหลายๆ ชั้น ข้อดีของผลิตภัณฑ์นี้ ได้แก่ จะช่วยรักษาความชุ่มชื้นที่บาดแผลซึ่งจะช่วยในการรักษาบาดแผล สามารถดูดซับแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ และช่วยลดกลิ่นของบาดแผล การใช้งานของผลิตภัณฑ์นี้ส่วนใหญ่จะใช้กับบาดแผลที่ติดเชื้อมาก

ผลิตภัณฑ์ตกแต่งแผลเคลือบซิลเวอร์ (silver coated dressing) ผลิตภัณฑ์ทางการค้า เช่น Silverlon® (ของบริษัท Lakemont, GA, USA), Acticoat® (ของบริษัท Smith&nephew, USA) เป็นต้น สำหรับ Silverlon ได้นำมาทดสอบและสามารถฆ่าแบคทีเรียที่

อยู่บนบาดแผลได้ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Streptococcus equi subspecies zooepidemicus* และ *S. aureus* นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ด้านเชื้อราได้อีกด้วย โดยซิลเวอร์จะถูกปลดปล่อยออกมาจากวัสดุตกแต่งแผลและมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดจะมีอัตราการปลดปล่อยซิลเวอร์ที่แตกต่างกันออกไป สำหรับการใช้งานวัสดุตกแต่งแผลนี้จะถูกเปลี่ยนทุกๆ 3 ถึง 4 วัน และจะใช้ในระหว่างที่แผลเกิดการติดเชื้อ



รูปที่ 2.3 แผ่นตกแต่งแผลทางการค้าที่เคลือบซิลเวอร์เพื่อด้านเชื้อแบคทีเรีย
ยี่ห้อ Acticoat และ Tegaderm

จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่ามีผลิตภัณฑ์ตกแต่งแผลหลากหลายชนิดที่สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ผลิออกสู่ท้องตลาด ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้จะมีสารต้านจุลินทรีย์ เช่น ไอโอดีน ซิลเวอร์ไอออน พอลิเฮกซะเมทิลีนไบกัวไนด์ เป็นต้น อยู่ภายในและปลดปล่อยสารเหล่านี้ออกมาที่ผิวของแผล ซึ่งการปลดปล่อยนี้อาจจะปล่อยออกมาอย่างต่อเนื่องหรือสามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อยได้ เพื่อให้เกิดการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้นาน อีกทั้งทำให้สภาพแวดล้อมที่แผลเหมาะสมกับการหายของแผลได้ดี (Innes และคณะ, 2001; Ovington, 2007; Rivera และ Spencer, 2007; Stashak และคณะ, 2004)

2.3 ไหม

เส้นใยไหมเป็นเส้นใยธรรมชาติที่สวยงาม มีเอกลักษณ์เป็นของตัวเอง เช่น มีความเงามันตามธรรมชาติ ดูดีซึ่มความชื้นได้ดี ทั้งตัวดี มีความแข็งแรงสูง เส้นใยไหมเป็นเส้นใยธรรมชาติชนิดเดียวที่เป็นเส้นใยยาว โดยมีความยาวต่อเนื่องตลอดเส้นที่เกิดจากรังไหมแต่ละรัง ความยาวอยู่ระหว่าง 1,300 – 2,000 ฟุต (390 – 600 เมตร) (วีระศักดิ์ อุดมกิจเดชา, 2542)

2.3.1 การผลิต

กระบวนการเพาะเลี้ยงไหมเรียกว่า sericulture ซึ่งเส้นใยไหมผลิตได้จากตัวหนอน (silkworm) หลายชนิด แต่ที่นำมาใช้ประโยชน์มากที่สุดในการทอเป็นผืนผ้าจะเป็นไหมบ้านที่มีชื่อว่า *Bombyx mori* ตัวหนอนเหล่านี้กินใบหม่อนเพียงอย่างเดียว ตัวเมียจะวางไข่เดือนละครั้ง จำนวนไข่อาจมากถึง 700 ฟอง หลังจากนั้น 3 วันต่อมา หนอนจะฟักตัวออกจากไข่และเริ่มกินใบหม่อนอ่อน หนอนตัวไหมจะยาว 1/4 นิ้ว ในระหว่างวงจรชีวิตของตัวหนอนนั้นจะลอกคราบ 4 ครั้ง แต่ละครั้งจะมีหนังใหม่ขึ้นมาให้พอกับขนาดตัวของมันที่ใหญ่ขึ้น หลังจากลอกคราบครั้งที่ 4 มันจะกินอาหารเป็นเวลา 10 วัน ระยะเวลาทั้งหมดที่มันกินนานประมาณ 35 วัน ในช่วงสุดท้ายของระยะเติบโต ตัวหนอนจะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเป็น 10,000 เท่าของเมื่อแรกฟักจากไข่ โดยจะยาวประมาณ 3 นิ้ว ในตอนนี้ตัวหนอนพร้อมที่จะชักใยเป็นรังไหม (cocoon) โดยมันจะฝังตัวกับรังและเริ่มพ่นของเหลวออกมาจากต่อม 2 ต่อมนี่รูเดียวกันจากส่วนหัวของตัวหนอน ของเหลวนี้เมื่อถูกอากาศจะแข็งตัวกลายเป็นเส้นไหม ได้เป็นเส้นใยคู่ โดยเส้นใยคู่นี้จะถูกเคลือบด้วยสารเหนียวคล้ายกาวเรียกว่า เซรีซิน (sericin) (รูปที่ 2.3) ช่วงเวลา 2-3 วัน หนอนไหมสามารถปั่นเส้นใยออกมาได้ยาวถึง 1 ไมล์ (1.6 กิโลเมตร) และล้อมรอบตัวมันเองเอาไว้อย่างสมบูรณ์ ขณะชักใยนี้ขนาดของตัวหนอนจะเล็กลง และเมื่อทำรังเสร็จ ตัวมันเองก็จะกลายเป็นดักแด้แล้วจึงโตเป็นแมลง จากนั้นจะปล่อยสารละลายที่สามารถละลายเส้นใยที่เป็นรังไหมให้เปิดเป็นรูบริเวณปลายของรังเพื่อคลานออกสู่ภายนอกได้ ในธรรมชาติการผสมและวงจรของไหมดังกล่าวเกิดเพียงปีละครั้งเท่านั้น แต่ในการเพาะเลี้ยงโดยอาศัยหลักวิชาการทางวิทยาศาสตร์เข้าช่วย อาจสามารถทำได้ถึงปีละ 3 ครั้ง

ในการผลิตเส้นใยไหม เพื่อให้ได้เส้นใยไหมที่ยาวต่อเนื่อง จะต้องฆ่าแมลงก่อน เพื่อป้องกันไม่ให้แมลงปล่อยสารละลายเจาะรังไหมขาด โดยวิธีที่ทำได้ คือ การนำรังไหมไปต้ม ซึ่งเป็นการต้มเอากาวไหมออกด้วยในขณะเดียวกัน และแมลงจะตายในขณะต้ม ส่วนตัวที่เก็บไว้ทำพันธุ์จะแก่กลายเป็นผีเสื้อ ตัวเมียจะออกไข่และเริ่มเข้าสู่วงจรชีวิตของหนอนไหมอีกครั้ง ส่วนเส้นไหมที่นำมาทอผ้านั้นได้จากการนำรังไหมไปต้มแล้วสาวเส้นใยออกมาจากรังไหม ในบางครั้งอาจได้ความยาวของเส้นใยมากกว่า 1,000 หลา (900 เมตร) การดึงเส้นใยออกจากรังไหมนี้ เรียกว่า การสาวไหม

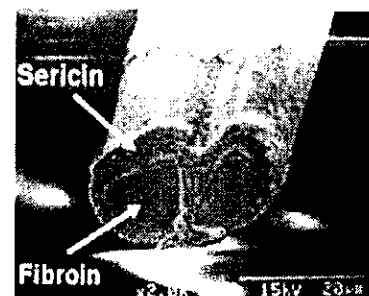
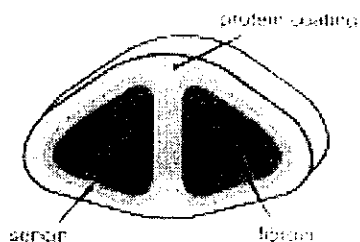
(reeling) เส้นไหมเส้นเดียวมีความบางมาก ดังนั้นในการใช้งานจะรวมเส้นไหม 3-10 เส้นเข้าด้วยกัน เส้นไหมที่ได้จะเรียกว่า reeled silk จากนั้นจะนำไปผ่านกระบวนการ throwing คือการบิดรวมเส้นไหมหลายๆ เส้นอีกครั้ง เพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับเส้นด้ายไหมที่จะใช้ทอต่อไป (นวลแข พาลิวันช, 2542; วีระศักดิ์ อุดมกิจเดชา, 2542; วิมลรัตน์ ศรีจรัสสิน, 2551)



รูปที่ 2.4 หนอนไหม *Bombyx mori* และรังไหม (Cocoon)

2.3.2 โครงสร้างและสมบัติของไหม

ไหมเป็นเส้นใยโปรตีนธรรมชาติที่มีเส้นใยยาวต่อเนื่องตลอดเส้น มีผิวที่ราบเรียบแต่ไม่สม่ำเสมอตามความยาวของเส้นใยเพราะมีกาวติดอยู่รอบเส้นใย โครงสร้างโมเลกุลของไหมประกอบด้วยโปรตีนที่สำคัญ 2 ชนิด คือ โปรตีนของเส้นใยไหมที่เป็นไฟโบรอิน (fibroin) และเคลือบด้วยกาวไหม (silk glue) ที่เป็นโปรตีนชนิดเซรีซิน (sericin) ซึ่งช่วยยึดเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินไว้ด้วยกัน (มณฑา จันทร์เกตุเลียด, 2541) แสดงดังรูปที่ 2.5 โดยเส้นใยไหมมีโปรตีนไฟโบรอินคิดเป็น 65% โดยน้ำหนัก โปรตีนเซรีซินประมาณ 25% โดยน้ำหนัก ที่เหลือเป็นน้ำ แร่ธาตุ และแว็กซ์ ซึ่งเซรีซินละลายได้ในเบสอ่อน เมื่อถูกเอาออกจะได้เส้นใยไหม 2 เส้น เรียกว่า degummed silk เส้นใยมีความเรียบตรง และมีภาคตัดขวางคล้ายรูปสามเหลี่ยม (วิมลรัตน์ ศรีจรัสสิน, 2551)



รูปที่ 2.5 โปรตีนไหมไฟโบรอินที่ถูกเคลือบด้วยกาวไหมที่เป็นโปรตีนเซรีซิน

โดยไฟโบรอินประกอบไปด้วยโปรตีนที่สำคัญ 2 ชนิด ได้แก่ โปรตีนสายโซ่โมเลกุลหนัก (heavy chain) มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 325 kDa และโปรตีนสายโซ่โมเลกุลเบา (light chain) มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 25 kDa สำหรับโครงสร้างของโปรตีนไฟโบรอินเกิดจากกรดอะมิโนหลายชนิด ที่มีคุณสมบัติและหน้าที่ที่สำคัญต่อร่างกาย (แสดงดังในตารางที่ 2.1) โดยโครงสร้างก่อให้เกิดพันธะไฮโดรเจนที่ค่อนข้างมาก มีการจัดเรียงที่เป็นระเบียบดีมาก (แสดงดังในรูปที่ 2.6) มีความเป็นผลึกสูง และยังมีความไม่ชอบน้ำสูง (hydrophobic) จึงส่งผลทำให้เส้นใยไหมมีความเหนียว มีความทนทาน มีสมบัติเชิงกลที่ดี นอกจากนี้โปรตีนไฟโบรอินมีความเข้ากันได้กับเซลล์หรือเนื้อเยื่อมนุษย์ (biocompatibility) สามารถย่อยสลายได้โดยธรรมชาติ (biodegradability) แต่ก็ค่อนข้างช้า (Altman และคณะ, 2003; Wenk และคณะ, 2011)

เซรีซินเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงเช่นเดียวกับไฟโบรอิน มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงประมาณ 10 ถึง 300 kDa ประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด (แสดงในตารางที่ 2.1) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นหมู่ที่มีขั้ว ได้แก่ ไฮดรอกซิล คาร์บอกซิล และหมู่อะมิโน เซรีซินจึงเป็นโปรตีนที่มีความชอบน้ำ (hydrophilic) เป็นโปรตีนที่ละลายน้ำได้ โดยเซรีซินที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (น้อยกว่า 20 kDa) สามารถละลายได้ในน้ำเย็น ซึ่งจะถูกกำจัดออกตั้งแต่ช่วงต้นๆ ในการผลิตเส้นใยไหมจากรังไหม ส่วนใหญ่จะนำเซรีซินที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำนี้ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์สุขภาพ ส่วนเซรีซินที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (มากกว่า 20 kDa) จะละลายในน้ำร้อน ซึ่งจะถูกกำจัดออกในการดัดรังไหมเพื่อเป็นการลอกกาไหม (silk degumming) โดยจะนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตวัสดุทางการแพทย์ ที่สามารถย่อยสลายได้โดยธรรมชาติ โปรตีนเซรีซินมีสมบัติที่ดีหลายประการ เช่น ด้านการเกิดออกซิเดชัน ด้านเชื้อแบคทีเรีย ด้านรังสียูวี ดูดความชื้นได้ดี เป็นต้น (Zhang, 2002)

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติและหน้าที่สำคัญของกรดอะมิโน 18 ชนิด ในไหมที่มีต่อร่างกาย

ชนิดของกรดอะมิโน	คุณสมบัติและหน้าที่สำคัญ
1. aspartic acid	ช่วยขับไล่อาการบาดเจ็บและพิษแอมโมเนียออกจากร่างกาย ช่วยเพิ่มความต้านทานต่อการเหนียวอ่อน ช่วยระบบกล้ามเนื้อและการเคลื่อนไหว
2. threonine	ป้องกันการเกิดไขมันในตับ ช่วยย่อยและช่วยระบบการทำงานของร่างกาย
3. serine	เป็นแหล่งสะสมน้ำตาลกลูโคสในตับและกล้ามเนื้อ จึงช่วยส่งเสริมระบบการทำงานของอินซูลิน เป็นการลดน้ำตาลในเลือด ซึ่งช่วยเผาผลาญไขมันสะสมในร่างกาย ช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันแข็งแรงขึ้น สังเคราะห์กรดไขมันล้อมรอบ Nerve fibers

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติและหน้าที่สำคัญของกรดอะมิโน 18 ชนิด ในนมที่มีต่อร่างกาย (ต่อ)

ชนิดของกรดอะมิโน	คุณสมบัติและหน้าที่สำคัญ
4. glutamic acid	ช่วยลดแอมโมเนียในเลือด ซึ่งมีส่วนสัมพันธ์กับโปรตีนในสมอง และระบบการทำงานของน้ำตาล ช่วยควบคุมโรคสุรา (alcoholism) รักษาปริมาณน้ำของผิวหนังและป้องกันผิวหนังแห้ง
5. proline	รักษาความดันโลหิตสูง มีความสำคัญอย่างมากต่อการทำงานของข้อและเอ็น ช่วยบำรุงรักษากล้ามเนื้อหัวใจ
6. glycine	ควบคุมระดับโคเลสเตอรอล ป้องกันและรักษาความดันโลหิตสูง ช่วยเสริมสร้างการทำงานของตับ
7. alanine	เป็นแหล่งพลังงานสำคัญต่อเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ สมอง และระบบประสาทส่วนกลาง ผลิต antibodies ที่ช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้น ช่วยในกระบวนการทำงานของน้ำตาลและกรดอินทรีย์ สลายแอลกอฮอล์ (digest alcohol)
8. cystine	ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และเพิ่มความแข็งแรงให้ร่างกายในการต่อต้านรังสีและมลพิษ ช่วยในการสังเคราะห์โปรตีน มีความจำเป็นต่อการสร้างผิวหนัง ซึ่งจะช่วยให้แผลไฟไหม้และแผลผ่าตัดหายเร็วขึ้น ส่วนของนมและผิวหนัง จะประกอบด้วย cystine 10-14%
9. valine	ช่วยให้จิตใจกระปรี้กระเปร่า ประสานการทำงานของกล้ามเนื้อ
10. methionine	เป็นแหล่งที่ให้สารกำมะถัน ซึ่งป้องกันการเกิดโรคเกี่ยวกับผม ผิวหนังและเล็บ ช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลโดยการผลิตเลซิตินในตับ ลดไขมันในตับและป้องกันไต ป้องกันผมร่วงและส่งเสริมการเจริญเติบโตของเส้นผม
11. isoleucine	กระตุ้นการทำงานของสมองส่วนบน
12. leucine	ลดน้ำตาลในเลือด ช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น
13. tyrosine	ช่วยในการส่งผ่านเส้นประสาทไปยังสมอง มีผลดีต่อระบบประสาท ช่วยความจำ กระตุ้นการเต้นของหัวใจ
14. phenylalanine	มีผลดีต่อระบบประสาท
15. histidine	พบมากในเม็ดเลือด ใช้ในการรักษารูมาตอย โรคข้ออักเสบ อาการผื่นคัน โรคผื่นคัน แผลพุพองและโรคโลหิตจาง ถ้าขาดจะมีผลต่อการได้ยินเสียงลดลง ส่งเสริมการผลิตเม็ดเลือด ช่วยขยายหลอดเลือด

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติและหน้าที่สำคัญของกรดอะมิโน 18 ชนิด ในไหมที่มีต่อร่างกาย (ต่อ)

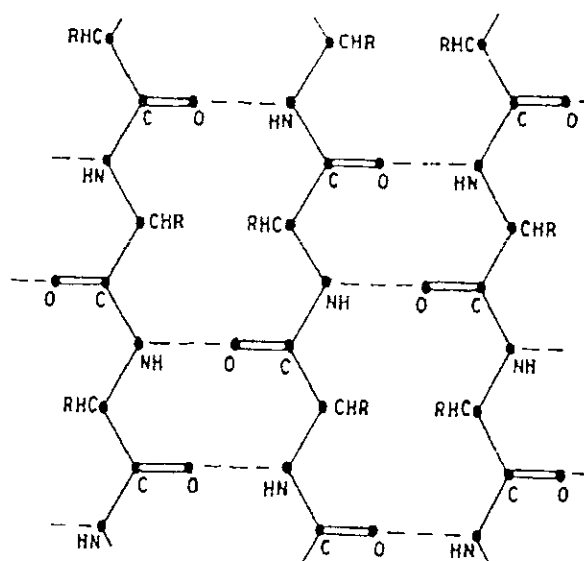
ชนิดของกรดอะมิโน	คุณสมบัติและหน้าที่สำคัญ
16. lysine	ต่อต้านริ้วรอย ช่วยกระตุ้นให้เกิดความสมดุลของธาตุอาหาร และไปลดการเจริญเติบโตของไวรัส การขาด lysine มีผลทำให้เหนื่อยง่าย ยับยั้งการเติบโต ผสมรวม โรคโลหิตจาง และเกิดปัญหาต่อระบบสืบพันธุ์
17. arginine	เสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเซลล์เนื้องอก ช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น
18. tryptophan	สนับสนุนการผลิตเม็ดเลือดแดง ป้องกันและช่วยลดอันตรายที่จะเกิดกับเส้นโลหิตและการชักกระตุกของหัวใจ ทำงานร่วมกับ lysine ในการลดโคเลสเตอรอล

ที่มา : สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน). 2553. มหัศจรรย์ผงไหม.

กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ, หน้า 12-14.

การเรียงตัวของโมเลกุลในเส้นไหมจะเรียงตัวกันอย่างมีระเบียบมาก จากการวิเคราะห์การจัดเรียงตัวของโมเลกุลของโปรตีนไฟโบรอินในไหมด้วยรังสีเอกซ์ (X-ray analysis) พบว่ามีโครงสร้างผลึกเป็นแผ่นแบบเบต้า (β -sheet crystals) ซึ่งมีปริมาณความเป็นผลึกสูงมาก จึงส่งผลทำให้เส้นไหมมีคุณสมบัติพิเศษ คือมีความเหนียวและแข็งแรง เมื่อนำมาทอเป็นผ้า จะมีความสวยงาม และมีความทนทาน

เส้นไหมไหมเป็นเส้นใยยาว ผิวนอกดูเรียบแต่ไม่สม่ำเสมอตลอดความยาวของเส้นใย เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นไหมกว้างประมาณ 9 – 11 ไมครอน โดยหลังจากที่ลอกกาไหมออกแล้ว เส้นไหมจะมีความมันตึ้มมาก ให้ลักษณะความอ่อนนุ่ม สวยงาม เส้นไหมมีความแข็งแรงสูง มีความยืดหยุ่นปานกลาง โดยเมื่อเส้นไหมแห้งสามารถยืดตัวได้ประมาณ 10 – 25% และจะยืดได้มากขึ้นถึง 33 – 35% เมื่อเปียก เส้นไหมไหมมีความสามารถในการคืนตัวกลับได้ดี มีความสามารถในการดูดซึมความชื้นได้ดี สามารถทนความร้อนได้สูงถึง 135 องศาเซลเซียส แต่จะเหลืองไหมหรือสลายที่ 177 องศาเซลเซียส มีความถ่วงจำเพาะ 1.2 – 1.34 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เส้นไหมมีการทิ้งตัวดีไหมเป็นเส้นไหมที่สามารถทนต่อราและแบคทีเรียได้ค่อนข้างดี (นวลแข พาลิวนิช, 2542)



รูปที่ 2.6 โครงสร้างโมเลกุลของเส้นใยไหม

ที่มา: วีระศักดิ์ อุดมกิจเดชา. (2542). วิทยาศาสตร์เส้นใย. กรุงเทพมหานคร. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 93.

2.3.3. การประยุกต์ใช้ไหมในทางการแพทย์

นอกจากการนำเส้นใยไหมมาทอเป็นผืนผ้าเพื่อผลิตเป็นเสื้อผ้า เครื่องนุ่งห่มแล้ว เนื่องจากโปรตีนไหมทั้งไฟโบรอินและเซรีซินมีความเข้ากันได้กับเซลล์หรือเนื้อเยื่อมนุษย์ สามารถย่อยสลายได้โดยธรรมชาติ เราจึงสามารถนำโปรตีนไหมทั้งสอง มาประยุกต์ใช้ในการผลิตวัสดุทางการแพทย์ได้อีกทางหนึ่ง สำหรับการประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ นอกจากจะทำการเป็นไหมเย็บแผลที่นิยมกันทั่วไปแล้ว ยังสามารถนำมาผลิตเป็นวัสดุปิดแผล (wound dressing) และการทำเป็นวัสดุโครงสร้างเทียมให้แก่เนื้อเยื่อ (scaffolding) สำหรับใช้ในงานทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering) วัสดุควบคุมการปลดปล่อยยา (Altman และคณะ, 2003; Wenk และคณะ, 2011) โปรตีนไหมสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ได้อย่างหลากหลาย เนื่องจากมีข้อดี เช่น มีสมบัติเชิงกลที่ดีกว่าเส้นใยธรรมชาติทั่วไปหรือเส้นใยชนิดพิเศษอื่นๆ สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มบางหรือรูปแบบอื่นๆ ได้หลากหลาย เช่น โฟม ไฮโดรเจล รูปทรงกลม (spheres) และแคปซูล เป็นต้น (Hardy และคณะ, 2008)

ในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะผลิตแผ่นเส้นใยจากโปรตีนไหมไฟโบรอินผสมเซรีซิน ด้วยกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตเพื่อใช้เป็นวัสดุในทางการแพทย์ เช่น วัสดุปิดแผล เป็นต้น ซึ่งมีนักวิจัยหลายท่านได้ผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กโตรสปินจากโปรตีนไหม ทั้งจากโปรตีนไฟโบรอิน (Meechaisue และคณะ, 2007) โปรตีนเซรีซิน (Zhang และคณะ, 2012) การผลิตเส้นใยแบบเป็นชั้น (coaxial) โดยโปรตีนไฟโบรอินเป็นแกนกลาง และหุ้มด้วยโปรตีนเซรีซิน (Hang และคณะ

, 2012) ทำให้มีโครงสร้างที่คล้ายกับเส้นใยไหมในธรรมชาติ นอกจากนี้ยังมีการทำวัสดุคอมโพสิตของโปรตีนไหมกับพอลิเมอร์ธรรมชาติชนิดอื่น เช่น ไคโตซาน เป็นต้น (Zhao และคณะ, 2014) แต่งานวิจัยดังกล่าวยังไม่ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่บนผิวหนัง หรือที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวหนังมนุษย์ การผลิตวัสดุปิดแผลจากแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไหมที่สามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย เช่น แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวหนัง แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว เป็นต้น จึงเป็นอีกแนวทางการวิจัยหนึ่งที่น่าสนใจ ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนเซรีซินเองสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ (Zhang, 2002)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการเตรียมโปรตีนไฟโบรอิน

สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) ของบริษัท Carlo Erba (อิตาลี) แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride) และเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ของบริษัท Labscan Asia (ไทย) ทุ้งไดอะไลซิสเซลลูโลส (dialysis tubing cellulose) ของบริษัท Sigma-Aldrich (สหรัฐอเมริกา)

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมแผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินและโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

ผงเซรีซิน สกัดจากไหมพันธุ์ไทยสีเหลือง โดยสถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ(องค์การมหาชน) ส่วนสารเคมีที่ใช้เป็นตัวทำละลายโปรตีนไฟโบรอินและโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน ได้แก่ กรดไตรฟลูออโรอะซิติก (trifluoroacetic acid) และกรดฟอร์มิก (formic acid) ของบริษัท Sigma-Aldrich (สหรัฐอเมริกา)

3.1.3 แบคทีเรีย อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี และแผ่นตกแต่งแผลด้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้าที่ใช้ในการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

แบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยโปรตีนไหม แบคทีเรียชนิดแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25922, *Staphylococcus epidermis* DMST15505, *Streptococcus pyogenes* DMST30653 แบคทีเรียชนิดแกรมลบ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739 และ *Escherichia coli* ATCC25922

อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MU Agar) และ Mueller Broth (MU Broth) ของบริษัท HiMedia (สหรัฐอเมริกา) โซเดียมคลอไรด์ ของบริษัท Ajax Finechem (ออสเตรเลีย)

แผ่นตกแต่งแผลด้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้าที่นำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกับแผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินที่ผสม และไม่ผสมเซรีซิน ได้แก่ Aquacel Ag ของบริษัท ConvaTec (อังกฤษ) ขนาด 10 ซม. x 10 ซม., Acticoat ของบริษัท smith&nephew (สหรัฐอเมริกา) ขนาด 10 ซม. x

10 ซม. และ Tegaderm AgMesh ของบริษัท 3M (สหรัฐอเมริกา) ขนาด 10 ซม. x 20 ซม. โดยในรายงานวิจัยนี้จะใช้ชื่อ Aquacel, Acticoat และ Tegaderm ตามลำดับ

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาความเป็นพิษกับเซลล์

เซลล์ที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ เซลล์ผิวหนัง HDFn (human dermal fibroblast) : Media ได้แก่ dulbecco's modified eagle's medium (DMEM) (GIBCO, บริษัท Invitrogen Corporation, สหรัฐอเมริกา), 100% fetal bovine serum (FBS) (GIBCO, บริษัท Invitrogen Corporation, สหรัฐอเมริกา), L-glutamine (GIBCO, บริษัท Invitrogen Corporation, สหรัฐอเมริกา) และ penicillin-streptomycin ของบริษัท (GIBCO, บริษัท Invitrogen Corporation, สหรัฐอเมริกา), ตัวทำละลาย ได้แก่ dimethylsulfoxide (RCI Labscan) และ สี ย้อม (dye) ได้แก่ resazurin sodium salt ของบริษัท Sigma aldrich (สหรัฐอเมริกา)

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

3.2.1 อุปกรณ์สำหรับการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

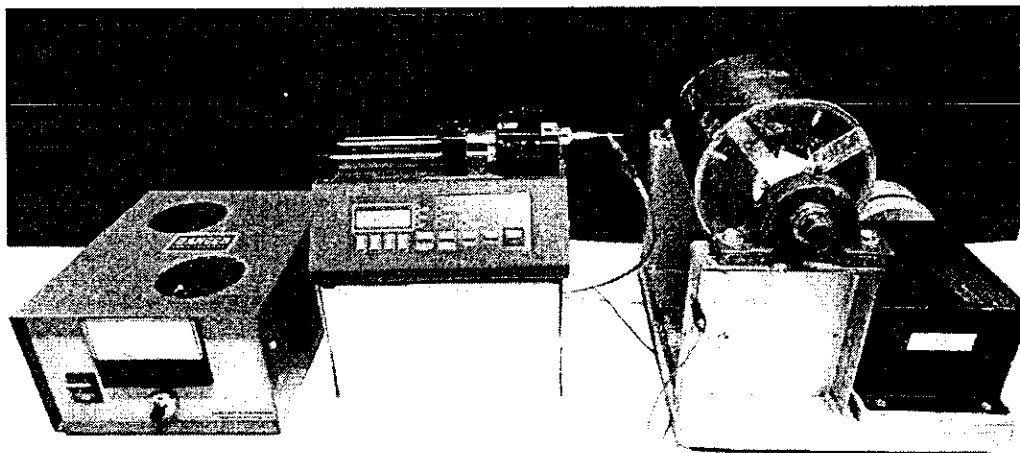
ชุดอุปกรณ์การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตแสดงดังในภาพที่ 3.1 โดยมีรายละเอียด ดังนี้
เครื่องกำเนิดศักย์ไฟฟ้าแรงสูง (high voltage power supply) รุ่น ES30P ของบริษัท Gamma High Voltage Research จำกัด (สหรัฐอเมริกา) ซึ่งสามารถปรับค่าความต่างศักย์ได้ตั้งแต่ 0 ถึง 30 กิโลโวลต์ และให้ความต่างศักย์ชนิดบวก

หลอดฉีดยา ขนาด 5 มิลลิลิตร เป็นหลอดสำหรับบรรจุสารละลายพอลิเมอร์

เข็มฉีดยาเหล็กกล้าไร้สนิม ทำหน้าที่เป็นอิเล็กโทรดนำไฟฟ้าจากเครื่องกำเนิดศักย์ไฟฟ้าแรงสูงไปยังสารละลายพอลิเมอร์ ในงานวิจัยนี้ใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 22 เข็มฉีดยานี้จะตัดให้มีขนาดความยาว 1 เซนติเมตร และปลายของเข็มฉีดยานี้จะตัดตรง

ลูกกลิ้งม้วนเก็บแผ่นเส้นใย ซึ่งหุ้มด้วยแผ่นอลูมิเนียม ทำหน้าที่เป็นอุปกรณ์รองรับเส้นใยที่ปั่นได้ ลูกกลิ้งนี้มีความกว้าง เท่ากับ 15 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลาง เท่ากับ 14 เซนติเมตร

เครื่องบีบหลอดฉีดยา รุ่น NE1000 ของบริษัท Quality in Sensing (QIS) จำกัด โดยควบคุมการไหลของสารละลายพอลิเมอร์ จากหลอดฉีดยา



รูปที่ 3.1 แสดงชุดอุปกรณ์การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

3.2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์อื่นๆ

เครื่องอบแห้งแบบระเหิด (freeze dryer) ของบริษัท Dyru รุ่น DVE230 ใช้สำหรับการเตรียมโปรตีนไหมไฟโบรอิน

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope: SEM) ของบริษัท JEOL รุ่น JSM 6610LV ใช้สำหรับศึกษาสัณฐานวิทยาและขนาดของเส้นใย

เครื่อง UV-visible spectrophotometer ของบริษัท PG Instruments รุ่น T60 ใช้สำหรับตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

ตู้ถ่ายเชื้อระบบ laminar flow รุ่น NU-440-400E Series 9 ของบริษัท NUAIRE (สหรัฐอเมริกา) ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

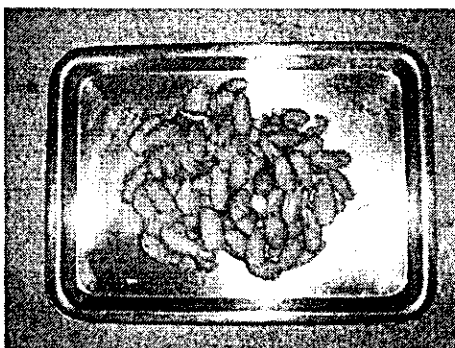
3.3.1 การเตรียมโปรตีนไฟโบรอิน

เส้นใยไหมที่ใช้ในการวิจัยนี้ได้จากรังไหมที่เหลือจากการสาวไหมออกหมดแล้วของไหมบ้าน *Bombyx mori* พันธุ์นางลายซึ่งเป็นไหมพันธุ์ไทย เส้นใยไหมมีสีเหลือง รังไหมที่ได้จะนำมาต้มในน้ำเดือด เพื่อให้ได้เส้นใยไหม และลอกกาไหมออก แล้วนำเส้นใยไหมมาละลายในตัวทำละลาย จากนั้น

ทำไดอะไลซิส (dialysis) และอบแห้งแบบระเหิด ก็จะได้โปรตีนไหมไฟโบรอิน รายละเอียดของขั้นตอนต่างๆ มีดังนี้

การล้างกาไหม

นำรังไหมที่เหลือจากการสาวไหมออกแล้วของไหมพันธุ์นางลาย (แสดงดังในรูปที่ 3.2) มาต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วล้างด้วยน้ำร้อนอีก 1 ครั้งเพื่อให้ได้เส้นใยไหม



รูปที่ 3.2 ลักษณะรังไหมพันธุ์นางลาย

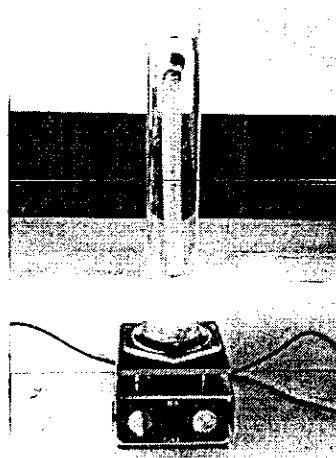
ล้างกาไหม (sericin) ออก โดยต้มในสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จำนวน 3 ครั้ง แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจนแห้ง

การละลายเส้นใยไหม

นำเส้นใยไหมที่ผ่านการล้างกาไหมออกแล้วมาละลายในตัวทำละลายผสมของแคลเซียมคลอไรด์/เอทิลแอลกอฮอล์/น้ำกลั่น อัตราส่วน 1 : 2 : 8 โดยโมล ที่อุณหภูมิประมาณ 70 - 80 องศาเซลเซียส โดยเตรียมสารละลายที่ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (เส้นใยไหม 6 กรัมละลายในตัวทำละลายผสม 94 กรัม)

การไดอะไลซิส (dialysis)

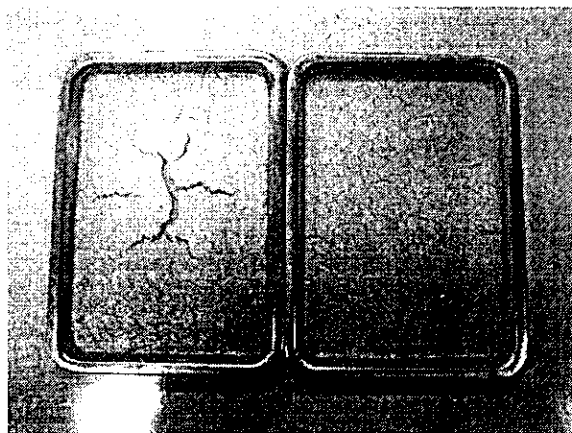
นำสารละลายไหมที่ได้มาผ่านกระบวนการไดอะไลซิส ซึ่งเป็นเทคนิคการแยกสารอนุภาคขนาดเล็กออกจากกันโดยอาศัยชั้นของเมมเบรน (membrane) โดยนำสารละลายไหมมาบรรจุลงในถุงไดอะไลซิสเซลลูโลส จากนั้นจึงนำไปแช่ในกระบอกตวงที่บรรจุน้ำกลั่น พร้อมทั้งกวนตลอดเวลา โดยทำการไดอะไลซิสเป็นเวลา 3 วัน ดังแสดงรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 การไดอะไลซิสของสารละลายไหม

การอบแห้งแบบระเหิด (freeze Dried)

นำสารละลายที่ผ่านการไดอะไลซิสแล้วมาอบแห้งโดยการระเหิดด้วยเครื่องอบแห้งแบบระเหิด สารละลายจะแห้งจนมีลักษณะเป็นฟองน้ำ ซึ่งก็คือโปรตีนไฟโบรอินของไหม ดังแสดงในรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 ลักษณะโปรตีนไฟโบรอิน

3.3.2 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะและขนาดของเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินที่ผลิตโดยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ตัวทำละลายสำหรับโปรตีนไหมไฟโบรอิน และความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอิน

3.3.2.1 ตัวทำละลายสำหรับโปรตีนไหมไฟโบรอิน

โปรตีนไฟโบรอินที่เตรียมได้ นำมาละลายด้วยกรดไตรฟลูออโรอะซิติกหรือกรดฟอร์มิก โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ นำไปปั่นเป็นเส้นใยด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต โดยบรรจุสารละลายดังกล่าวในหลอดฉีดยาขนาด 5 มิลลิลิตร แล้วต่อชุดอุปกรณ์เครื่องปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต โดยต่อขั้วบวก (แคโทด) ของเครื่องจ่ายศักย์ไฟฟ้าแรงสูงเข้ากับปลายเข็มฉีดยา และต่อขั้วลบ (แอโนด) กับฉากรองรับเส้นใยที่เป็นอลูมิเนียม ในการวิจัยนี้ควบคุมการไหลของสารละลายโดยเครื่องปั๊มหลอดฉีดยาที่อัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที ปริมาณศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับสารละลายมีค่าคงที่เท่ากับ 20 กิโลโวลต์ และปรับระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดยาถึงฉากรองรับเส้นใยเท่ากับ 15 เซนติเมตร ใช้เวลาในการปั่นเส้นใย 5 นาที แล้วจึงนำแผ่นเส้นใยที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

3.3.2.2 ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอิน

ละลายโปรตีนไฟโบรอินด้วยด้วยกรดไตรฟลูออโรอะซิติก โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ นำไปปั่นให้ได้แผ่นเส้นใยด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต โดยบรรจุสารละลายดังกล่าวในหลอดฉีดยาขนาด 5 มิลลิลิตร แล้วต่อชุดอุปกรณ์เครื่องปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต โดยต่อขั้วบวก (แคโทด) ของเครื่องจ่ายศักย์ไฟฟ้าแรงสูงเข้ากับปลายเข็มฉีดยา และต่อขั้วลบ (แอโนด) กับแผ่นรองรับเส้นใยที่เป็นอลูมิเนียม ในการวิจัยนี้ควบคุมการไหลของสารละลายโดยเครื่องปั๊มหลอดฉีดยาที่อัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที ปริมาณศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับสารละลายมีค่าคงที่เท่ากับ 20 กิโลโวลต์ และปรับระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดยาถึงฉากรองรับเส้นใยเท่ากับ 15 เซนติเมตร ใช้เวลาในการปั่นเส้นใย 5 นาที แล้วนำแผ่นเส้นใยที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

3.3.3 การเตรียมแผ่นเส้นใยของโปรตีนไฟโบรอินด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

ละลายโปรตีนไฟโบรอินด้วยตัวกรดไตรฟลูออโรอะซิติก ที่ความเข้มข้น 30 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำไปปั่นให้ได้แผ่นเส้นใยด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต บรรจุสารละลายดังกล่าวในหลอดฉีดยาขนาด 5 มิลลิลิตร โดยต่อชุดอุปกรณ์เครื่องปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตเช่นเดียวกับการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะและขนาดของเส้นใย และควบคุมการไหลของสารละลายโดยเครื่องปั๊มหลอดฉีดยาที่อัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที ปริมาณศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับสารละลายมีค่าคงที่เท่ากับ 20 กิโลโวลต์ และปรับระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดยาถึงลูกกลิ้งรองรับเส้นใยเท่ากับ 15 เซนติเมตร ใช้เวลาในการปั่นเส้นใยนาน 6 ชั่วโมง ได้แผ่นเส้นใยที่มีความหนาประมาณ 15 ± 5 มิลลิเมตร

3.3.4 การเตรียมแผ่นเส้นใยของโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

ผสมผงเซรีซิน ปริมาณ 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ลงในสารละลายโปรตีนไฟโบรอิน โดยคำนวณเทียบกับน้ำหนักของโปรตีนไฟโบรอินในสารละลายไฟโบรอิน นำไปปั่นเป็นเส้นใยด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต เช่นเดียวกับการเตรียมแผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอิน ควบคุมการไหลของสารละลายโดยเครื่องปั๊มหลอดฉีดยาที่อัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที ปริมาณศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับสารละลายมีค่าคงที่เท่ากับ 20 กิโลโวลต์ และปรับระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดยาถึงลูกกลิ้งรองรับเส้นใยเท่ากับ 15 เซนติเมตร ใช้เวลาในการปั่นเส้นใย 5 นาที สำหรับการนำไปศึกษาลักษณะและขนาดของเส้นใย หรือใช้เวลาในการปั่น 12 ชั่วโมง เพื่อให้ได้แผ่นเส้นใยที่มีความหนาประมาณ 15 ± 5 มิลลิเมตร

แผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินและโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่เตรียมได้นั้นสามารถละลายน้ำได้ ดังนั้นเพื่อที่จะศึกษาฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียและความเป็นพิษต่อเซลล์ของแผ่นเส้นใย จะต้องเปลี่ยนโครงสร้างของโปรตีนไหมไม่ให้ละลายน้ำ จึงนำไปแช่ในสารละลายเมทานอลผสมน้ำ ในอัตราส่วนโดยปริมาตร 90 : 10 เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาอบสูญญากาศให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จะทำให้ได้แผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินที่ไม่ละลายน้ำ

3.3.5 การวิเคราะห์ลักษณะและขนาดเส้นใยของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินและโปรตีนไฟโบรอินผสมเชริซิน

การวิเคราะห์ลักษณะและขนาดของเส้นใยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ของบริษัท JEOL รุ่น JSM-6610LV การเตรียมชิ้นงานตัวอย่างทำได้โดยตัดแผ่นอลูมิเนียมที่มีแผ่นเส้นใยอยู่ด้านบน หรือแผ่นฟิล์ม ขนาดประมาณ 5 x 5 มิลลิเมตร แล้วนำไปติดลงบนแท่นวางชิ้นงานตัวอย่าง (stub) จากนั้นนำมาเคลือบทองด้วยเครื่องเคลือบทอง (ion sputtering) แล้วจึงนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 2000 เท่า ภาพที่จะนำมาศึกษา ลักษณะเส้นใย ส่วนการวัดขนาดของเส้นใยนั้น ทำได้โดยการนำภาพถ่ายของเส้นใยจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด มาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้โปรแกรม ImageJ โดยโปรแกรมจะให้วัดความยาวของเส้นมาตรฐานที่ปรากฏอยู่ในภาพ เพื่อนำไปเปรียบเทียบกับความกว้างของเส้นใย ซึ่งจะช่วยให้ทราบค่าขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย

3.3.6 การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ศึกษามี 5 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25922, *Staphylococcus epidermis* DMST15505, *Streptococcus pyogenes* DMST30653 ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739 และ *Escherichia coli* ATCC25922 เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบ เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวหนังในคน โดยการศึกษาการต้านเชื้อแบคทีเรียมีวิธีการทดสอบดังนี้

3.3.6.1 Agar disk diffusion โดยการวัด clear zone

การเตรียมตัวอย่าง

โพรตีนไฟโบรอิน และผงเชริซิน นำมาทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย ก่อนที่จะนำไปปั่นเป็นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ ซึ่งเตรียมตัวอย่าง โดยละลายโพรตีนไฟโบรอิน หรือผงเชริซิน ในน้ำที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำไปจุ่มกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยรังสียูวี เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

สำหรับแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และโปรตีนไฟโบรอินผสมเชริซิน (ที่ไม่ได้แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำ) รวมทั้งแผ่นปิดแผลต้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้าที่จะนำมาศึกษาเปรียบเทียบกับแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ ได้นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีนี้เช่นกัน ซึ่งเตรียมโดยตัดตัวอย่างให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยรังสี UV เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

การทดสอบ

การทดสอบทำโดยเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว Mueller Hinton broth (MU broth) บ่มเชื้อแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียหลังการบ่มด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้เท่ากับ 2.0 จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหาร MU broth มา 50 ไมโครลิตร ละเลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar ด้วยเทคนิค spread plate ทั้งไว้จนผิวหน้าของจานอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง นำแผ่นตัวอย่างที่เตรียมไว้มาวางลงบนจานเพาะเลี้ยงที่มีเชื้อแบคทีเรีย โดยวางตัวอย่างแต่ละชิ้นให้ห่างกันพอสมควร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิคที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ตรวจสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ที่เกิดขึ้น

3.3.6.2 การวัดค่าการดูดกลืนแสงของแบคทีเรียในอาหารเหลว เพื่อศึกษาปริมาณการเจริญของแบคทีเรีย

การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างโดยตัดแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโพรตีนไฟโบรอิน และโพรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน (ที่แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำแล้ว) รวมทั้งแผ่นปิดแผลต้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้า นำไปชั่งน้ำหนักในแต่ละตัวอย่างให้ได้ประมาณ 20 ไมโครกรัม ใส่ในหลอดทดลอง

การทดสอบ

การทดสอบทำโดยเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว Mueller Hinton broth (MU broth) บ่มเชื้อแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียหลังการบ่มด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้เท่ากับ 2.0 จากนั้นดูดเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหาร MU broth มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีชิ้นตัวอย่าง แช่ชิ้นตัวอย่างใน MU broth เป็นระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 8 และ 24 ชั่วโมง ตรวจสอบปริมาณการเจริญของแบคทีเรียในแต่ละระยะเวลา โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจะบ่งบอกถึงฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของแผ่นเส้นใย นำค่าการดูดกลืนแสงมาศึกษาอัตราการรอดชีวิต โดยการคำนวณหาร้อยละอัตราการรอดชีวิตดังนี้

$$\text{ร้อยละอัตราการรอดชีวิต} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลาบ่มเชื้อต่างๆ} \times 100}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อเริ่มต้นการบ่มเชื้อ}}$$

3.3.6.3 การนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างโดยตัดแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินและโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน (ที่แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำแล้ว) รวมทั้งแผ่นปิดแผลด้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้า นำไปชั่งน้ำหนักประมาณ 20 ไมโครกรัม ใส่ในหลอดทดลอง

การทดสอบ

การทดสอบทำโดยเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว Mueller Hinton broth (MU broth) บ่มเชื้อแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียหลังการบ่มด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้เท่ากับ 2.0 จากนั้นดูดเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหาร MU broth มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีชั้นตัวอย่าง แช่ชั้นตัวอย่างใน MU broth เป็นระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 8 และ 24 ชั่วโมง ดูดของเหลวในหลอดทดลองแต่ละชั่วโมง 50 ไมโครลิตร มาเจือจางด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ แล้วละเลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar ด้วยเทคนิค spread plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิคที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ตรวจสอบการผ่านเชื้อแบคทีเรีย โดยการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาตรอาหาร 1 มิลลิลิตร และนำมาคำนวณหาร้อยละอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ดังนี้

$$\text{ร้อยละอัตราการรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนแบคทีเรียที่ระยะเวลาบ่มแตกต่างกัน} \times 100}{\text{จำนวนแบคทีเรียเมื่อเริ่มต้นการบ่ม}}$$

3.3.7 ความเป็นพิษต่อเซลล์

1) การเตรียมตัวอย่างทดสอบ

แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก นำมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ Human dermal fibroblast (HDFn) ก่อนการทดสอบจะนำแผ่นเส้นใยดังกล่าวไปแช่ในสารละลายเมทานอลผสมน้ำในอัตราส่วน 90:10 เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาอบสุญญากาศให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

จากนั้นนำแผ่นเส้นใยทั้งสองชนิดมาชั่งน้ำหนัก และแช่ใน medium ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วกรองผ่านแผ่นกรองขนาด 2 ไมโครเมตร เพื่อเตรียมสารละลายสกัด (extraction medium) ที่จะทดสอบที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (น้ำหนัก/ปริมาตร) และ

นำเจือจางใน medium ให้ได้ความเข้มข้น 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.313 และ 0.156 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (น้ำหนัก/ปริมาตร)

2) การเพาะเลี้ยงเซลล์

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนัง HDFn cell line (Gibco, C-004-5C) ใน dulbecco's modified eagle's medium (DMEM) ที่ประกอบด้วย 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS), 2 mM L-glutamine, 3.7 g/L sodium bicarbonate, 100 µg/ml streptomycin และ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใน incubator 5% คาร์บอนไดออกไซด์ จากนั้นนำเซลล์ที่เจริญเติบโตเป็นแบบลอกการิทึม มาเจือจางให้ได้ 3×10^4 cells/ml ใน medium เพื่อนำไปทดสอบ

3) การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

ในการทดสอบความเป็นพิษต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนัง HDFn ใช้วิธี resazurin microplate assay (REMA) เริ่มจากการนำเซลล์ไปเพาะเลี้ยงใน 96-well plate (tissue culture polystyrene plate) โดยใส่เซลล์ใน medium ที่เตรียมไว้หรือ blank medium ปริมาตร 200 µl ต่อหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใน incubator 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อให้เซลล์เกาะติดบนผิว plate

จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ (culture medium) ที่แทนที่ด้วย extraction medium ที่เตรียมจะทดสอบ 200 µl ลงในแต่ละหลุมของ 96-well plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใน incubator 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการบ่ม เติม resazurin solution ที่ความเข้มข้น 125 µg/ml ปริมาตร 50 µl ลงในแต่ละหลุม แล้วบ่มต่อที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใน incubator 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง resazurin solution จะทำปฏิกิริยากับเซลล์ที่มีชีวิต แล้ววัดฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) ด้วย microplate reader (SpectraMax M5) ที่ 530 nm excitation wavelength และ 590 nm emission wavelength

4) การวิเคราะห์หาความเป็นพิษต่อเซลล์

ร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ (survival of cells) คำนวณหาได้จากสมการ

$$\% \text{ survival} = (FU_T/FU_C) \times 100$$

โดย FU_T คือ fluorescent unit จากการที่สารสกัดตัวอย่างกระทำต่อเซลล์

FU_C คือ fluorescent unit จากการที่สาร 1% DMSO กระทำต่อเซลล์

สารที่นำมาเปรียบเทียบกับ ได้แก่ ellipticine เป็น positive control agent

1% dimethylsulfoxide (DMSO) เป็น negative control agent

ทั้งนี้ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์หาได้จาก

$$\% \text{ cytotoxicity} = 100 - \% \text{ survival}$$

โดยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่า 50 หมายถึง การไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (non-cytotoxic) แต่หากร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าหรือเท่ากับ 50 หมายถึง การเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic)

ค่า IC50 เป็นการหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายที่ทดสอบที่เป็นพิษต่อเซลล์ ที่ทำให้เซลล์ตายหรือไม่มีชีวิต น้อยกว่า 50% โดยหาได้จากกราฟระหว่าง % survival กับความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่าง ด้วยการใช้โปรแกรม SOFTMax Pro สำหรับการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์นี้ได้ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

บทที่ 4

ผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ ได้ผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไหมไฟโบรอิน และโปรตีนไหมไฟโบรอินผสมเซรีซิน โดยได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะและขนาดของเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินที่ผลิตโดยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเป็นแผ่นเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินแล้ว ได้ผสมโปรตีนเซรีซินที่ปริมาณต่างๆ ลงในโปรตีนไหมไฟโบรอิน แล้วผลิตเป็นแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ และศึกษาลักษณะและขนาดของเส้นใย ศึกษาฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย รวมทั้งความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง ทั้งนี้เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้แผ่นอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนดังกล่าว ในการผลิตเป็นแผ่นปิดแผลด้านเชื้อแบคทีเรียทางการแพทย์

4.1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะและขนาดของเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินที่ผลิตโดยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

การผลิตเส้นใยด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต เพื่อให้ได้เส้นใยที่มีลักษณะและขนาดที่เหมาะสมกับการนำไปใช้งาน จึงต้องศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะและขนาดเส้นใยดังกล่าว ซึ่งปัจจัยที่สำคัญ คือ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสารละลาย สำหรับในงานวิจัยนี้ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ตัวทำละลายสำหรับโปรตีนไหมไฟโบรอิน และความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอิน

4.1.1 ผลของตัวทำละลายโปรตีนไหมไฟโบรอิน

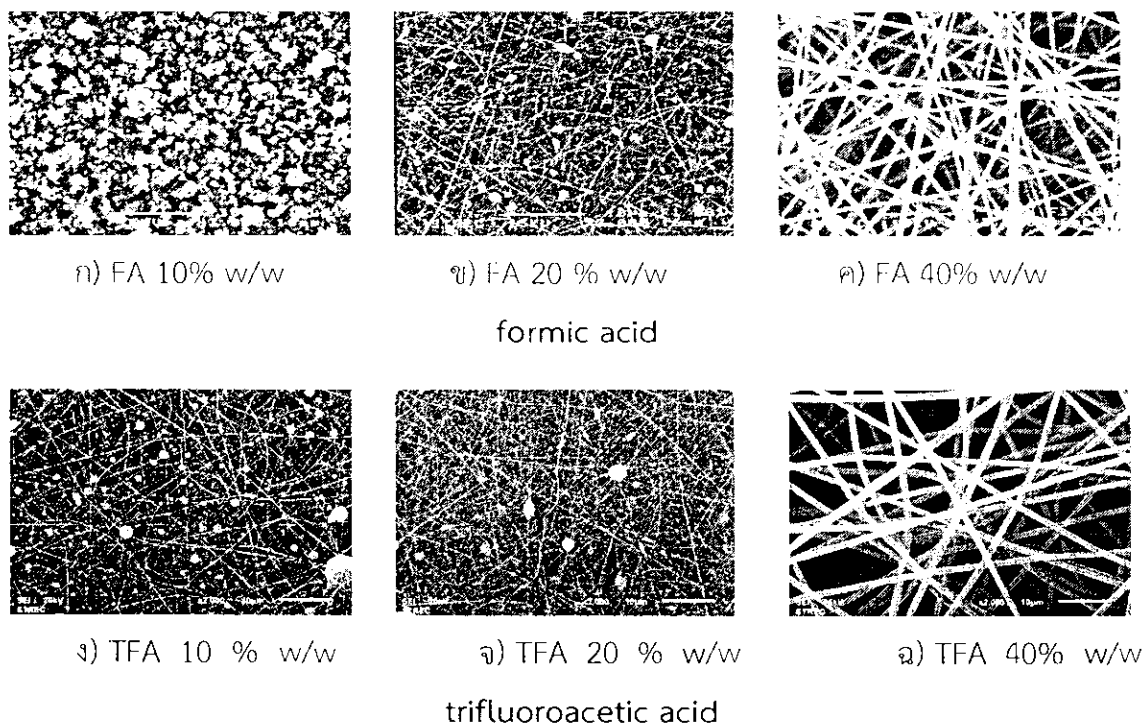
ในการศึกษาวิจัยนี้ โปรตีนไหมไฟโบรอิน ได้นำมาละลายในตัวทำละลายกรดไตรฟลูออโรอะซิติก (trifluoroacetic acid: TFA) เปรียบเทียบกับกรดฟอร์มิก (formic acid: FA) (ชิดชนก มีใจชื่อ, 2550) โดยสมบัติของตัวทำละลายทั้งสองชนิดแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 สมบัติของตัวทำละลายที่ใช้ในงานวิจัย

ตัวทำละลาย	density (g.cm ⁻³)	boiling point (°C)	dielectric constant	surface tension (mN.m ⁻¹)	viscosity (cp)
trifluoroacetic acid	1.489	72.4	39	13.44	0.813
formic acid	1.220	100.8	58.5	37.7	1.57

จากการสังเกตการละลายพบว่า การละลายโปรตีนไหมไฟโบรอินด้วยกรดไตรฟลูออโรอะซิติก ใช้ระยะเวลาในการละลายจนใสเป็นเนื้อเดียวกันประมาณ 1-2 ชั่วโมง ซึ่งน้อยกว่ากว่าการละลายด้วยกรดฟอร์มิกค่อนข้างมาก โดยการละลายด้วยกรดฟอร์มิกใช้ระยะเวลาในการละลายประมาณ 5-6 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของโปรตีนไฟโบรอินเท่ากัน ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าความสามารถในการละลายของโปรตีนไฟโบรอินในกรดไตรฟลูออโรอะซิติกดีกว่ากรดฟอร์มิก

สารละลายโปรตีนไฟโบรอินที่ความเข้มข้น 10 ถึง 40% โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก ในสารละลายกรดทั้งสองชนิด นำมาปั่นให้เป็นเส้นใยขนาดเล็กมากโดยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต โดยสภาวะที่ใช้ในการปั่นเส้นใย ได้แก่ ศักย์ไฟฟ้าที่ 20 กิโลโวลต์ และปรับระยะห่างจากปลายเข็มฉีดยาถึงแผ่นรองรับเส้นใย 15 เซนติเมตร ควบคุมการไหลของสารละลายที่อัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที จากนั้นศึกษาเปรียบเทียบลักษณะเส้นใยด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope: SEM) ได้ผลแสดงดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงลักษณะของเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินที่ได้จากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต จากสารละลายในตัวทำละลายกรดฟอร์มิก (ก, ข และ ค) และตัวทำละลายกรดไตรฟลูออโรอะซิติก (ง, จ และ ฉ) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากภาพถ่ายจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด สารละลายโปรตีนไฟโบรอินในตัวทำละลายกรดไตรฟลูออโรอะซิติกที่ความเข้มข้นต่ำ (10% โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก) จะเกิดเป็นเส้นใยจำนวนมากได้ก่อน และมีเม็ดปมบนเส้นใยผสมอยู่ด้วย ขณะที่สารละลายโปรตีนไฟโบรอินในตัว

ทำละลายกรดฟอร์มิกที่ความเข้มข้นต่ำ (10 % โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก) ยังไม่มีเส้นใยเกิดขึ้น และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเป็น 20 % โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก เส้นใยที่เกิดขึ้นของตัวทำละลายทั้งสองจะมีเม็ดปมบนเส้นใยผสมอยู่ แต่อย่างไรก็ตามในกรดไตรฟลูออโรอะซิติก มีจำนวนเม็ดปมน้อยกว่า และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 40 % โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก เส้นใยที่เกิดขึ้นจากตัวทำละลายกรดไตรฟลูออโรอะซิติกมีขนาดใหญ่กว่า ทั้งนี้อาจกล่าวได้ว่ากรดไตรฟลูออโรอะซิติกเป็นตัวทำละลายสำหรับโพรตีนไหมไฟโบรอินที่ดีกว่ากรดฟอร์มิก เพราะเกิดเป็นเส้นใยได้ก่อนที่ความเข้มข้นต่ำ และเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นปริมาณเม็ดปมก็ลดลงมากกว่า และที่ความเข้มข้นสูงมากขนาดเส้นใยมีขนาดใหญ่กว่า

ทั้งนี้อาจอธิบายได้จากสมบัติของตัวทำละลายทั้งสองในตารางที่ 4.1 ค่าที่ควรพิจารณาก่อน คือ ค่า dielectric constant ซึ่งเป็นสมบัติทางไฟฟ้า เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความมีขั้วของตัวทำละลาย (Tungprapa และคณะ, 2007) แต่กลับพบว่ากรดฟอร์มิก (58.5) มีค่า dielectric constant สูงกว่ากรดไตรฟลูออโรอะซิติก (39) ซึ่งเส้นใยจากสารละลายในกรดฟอร์มิกควรจะผลิตออกมาได้ดีกว่า แต่อย่างไรก็ตามเส้นใยจากสารละลายทั้งสองสามารถผลิตออกมามีลักษณะที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบจุดเดือดของตัวทำละลายพบว่า กรดฟอร์มิก (100.8°C) มีค่าสูงกว่ากรดไตรฟลูออโรอะซิติก (72.4°C) ทั้งนี้เมื่อสายเจ็ทที่ออกมาจากปลายเข็มฉีดยา ระยะทางจากปลายเข็มฉีดยาจนถึงแผ่นรองรับเส้นใย ตัวทำละลายจะมีการระเหยออก ซึ่งหากจุดเดือดของตัวทำละลายมีค่าสูงการระเหยจะยากกว่า (Supaphol และคณะ, 2005) การเกิดเป็นเส้นใยของตัวทำละลายกรดฟอร์มิก จึงเกิดได้ช้ากว่า นอกจากนี้สมบัติในเรื่องแรงตึงผิว (surface tension) ของตัวทำละลายสามารถอธิบายปรากฏการณ์ดังกล่าวได้ ทั้งนี้เนื่องจากกรดไตรฟลูออโรอะซิติกมีค่าแรงตึงผิว (13.44 mN.m^{-1}) ต่ำกว่ากรดฟอร์มิกซึ่งมีค่าแรงตึงผิว (37.7 mN.m^{-1}) ทั้งนี้หากแรงตึงผิวของสารละลายมีค่าต่ำ สายเจ็ทที่ออกมาจากปลายเข็มฉีดยาจะออกมาได้ง่ายกว่า การเกิดเป็นเส้นใยจากสารละลายในกรดไตรฟลูออโรอะซิติกจึงเกิดได้ดีกว่า ดังนั้นในการผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโพรตีนไหมไฟโบรอิน และโพรตีนไหมไฟโบรอินผสมเซรีซิน จึงใช้กรดไตรฟลูออโรอะซิติกเป็นตัวทำละลาย

4.1.2 ผลของความเข้มข้นของสารละลายโพรตีนไหมไฟโบรอิน

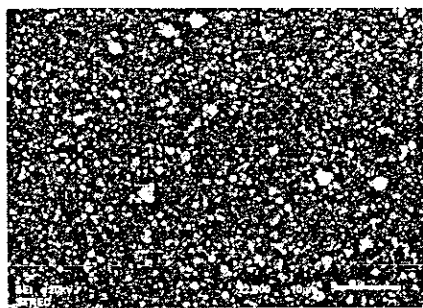
โพรตีนไหมไฟโบรอิน ที่เตรียมได้จากไหมพันธุ์นางลาย ซึ่งเป็นไหมพันธุ์ไทย นำมาละลายด้วยกรดไตรฟลูออโรอะซิติก ที่ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 % โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ตามลำดับ นำไปปั่นเป็นเส้นใยด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ปริมาณศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับสารละลายมีค่าคงที่เท่ากับ 20 กิโลโวลต์ และปรับระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดยาถึงแผ่นรองรับเส้นใยเท่ากับ 15 เซนติเมตร ควบคุมการไหลของสารละลายที่อัตราเร็ว

20 ไมโครลิตรต่อนาที่ นำแผ่นเส้นใยมาศึกษาลักษณะและขนาดของเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินที่ผลิตโดยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

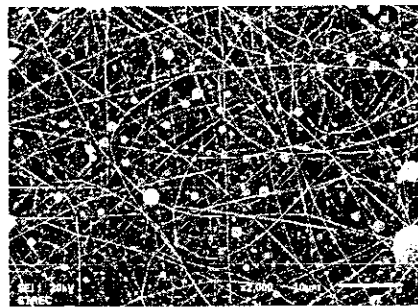
เมื่อนำแผ่นเส้นใยที่ได้จากสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอิน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5 ถึง 40 % โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เพื่อศึกษาลักษณะของเส้นใย ได้ภาพถ่ายแสดงดังในรูปที่ 4.2 (กำลังขยาย 2000 เท่า) และรูปที่ 4.3 (กำลังขยาย 5000 เท่า) โดยพบว่า ที่สารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอินความเข้มข้นต่ำที่ 5 % โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (รูปที่ 4.2 ก) ยังไม่เกิดเป็นเส้นใย แต่เกิดการพ่นของสารละลายออกเป็นฝอยหรือเป็นหยดของสารละลาย ทั้งนี้เนื่องจากสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอินที่ความเข้มข้นต่ำ หรืออีกนัยหนึ่งมีค่าความหนืดของสารละลายต่ำ ปริมาณของสายโซ่โมเลกุลพอลิเมอร์ที่พันกัน (chain entanglements) จึงมีน้อย แรงที่จะทำให้สายพอลิเมอร์หรือที่เรียกว่าสายเจ็ท (jet) คงรูปอยู่ได้จึงไม่มากเพียงพอ สายเจ็ทจึงเกิดการแตกตัวจากปลายหยดของสารละลายออกเป็นเจ็ทขนาดเล็ก จากนั้นแรงตึงผิวของสารละลายที่อยู่ล้อมรอบจะทำให้เกิดเป็นหยดของโปรตีนไหมไฟโบรอินขนาดเล็ก เทคนิคการทำให้เกิดหยดขนาดเล็กมากของสารละลายด้วยไฟฟ้าสถิตนี้ เป็นเทคนิคหนึ่งที่น่าไปประยุกต์ใช้ในการพ่นสารละลายให้เป็นฝอยขนาดเล็กในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมการพิมพ์ ใช้พ่นสารเคมีในทางการเกษตร เป็นต้น (Doshi and Reneker, 1995; Baumgarten, 1971; Buchko และคณะ, 1999)

เส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินที่มีขนาดเล็กระดับนาโนเมตรนั้นจะเริ่มเกิดขึ้นเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นหรือความหนืดเพิ่มมากขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 10 % โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (รูปที่ 4.2 ข) เริ่มเกิดเส้นใยปริมาณมาก ทั้งนี้เมื่อสารละลายมีความหนืดสูงพอจะไม่ทำให้สายเจ็ทแตกตัว และจะได้เส้นใยขนาดเล็กเนื่องจากสายโซ่โมเลกุลในสารละลายพันกันจึงทำให้ป้องกันการแตกตัวของสายเจ็ท แต่อย่างไรก็ตามยังมีหยดของสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอินจำนวนมากปนอยู่กับเส้นใย

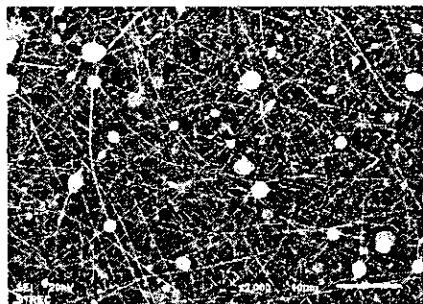
เมื่อความเข้มข้นของสารละลายสูงขึ้นที่ 15 % โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (รูปที่ 4.2 ค และ 4.3 ก) จะเริ่มเกิดเป็นเม็ดปม (bead) บนเส้นใย ปนอยู่กับหยดของสารละลายบ้าง ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของสารละลายยังไม่สูงมาก สายเจ็ทที่พุ่งออกไปนั้นพบว่าบางส่วนยังไม่แข็งดี เพราะมีปริมาณของตัวทำละลายที่มาก ตัวทำละลายจึงระเหยออกไปไม่ทัน และด้วยผลจากการมีสมบัติความยืดหยุ่นหนืด (viscoelastic) ที่ต่ำจึงทำให้เกิดการขมวดตัวหรือหดตัวของสายเจ็ทที่บริเวณนั้น และถึงแม้เมื่อสายเจ็ทจะเกิดการแข็งแต่ก็จะเป็นการแข็งที่บริเวณที่ใกล้ก่อนถึงฉากรองรับแล้ว จึงทำให้สายเจ็ทที่เกิดการขมวดตัวหรือหดตัวนั้นไม่สามารถเกิดการยืดตัวออกเนื่องจากแรงทางประจุได้ทัน จึงเกิดเป็นเม็ดปมบนเส้นใย (ชิดชนก มีใจชื่อ, 2550)



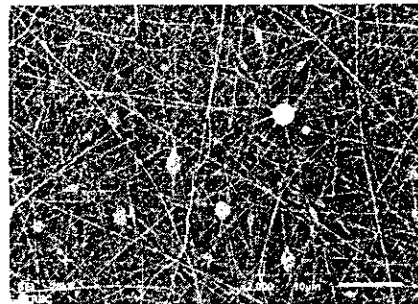
ก) 5 % w/w



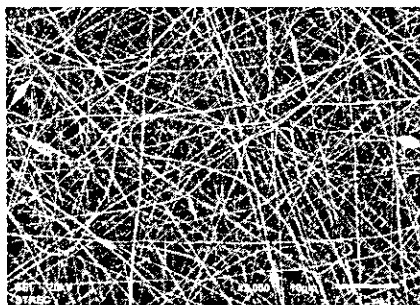
ข) 10 % w/w



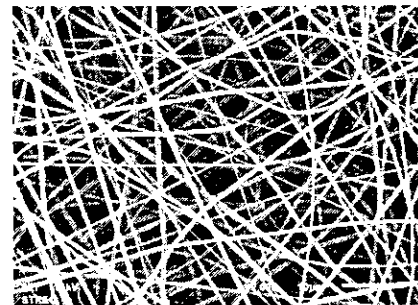
ค) 15 % w/w



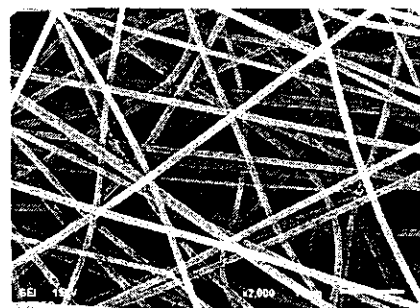
ง) 20 % w/w



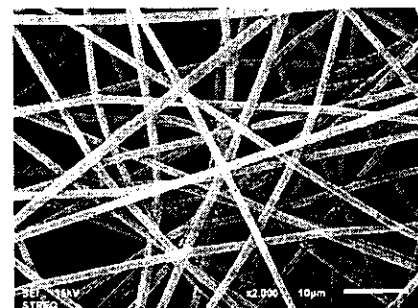
จ) 25 % w/w



ฉ) 30 % w/w

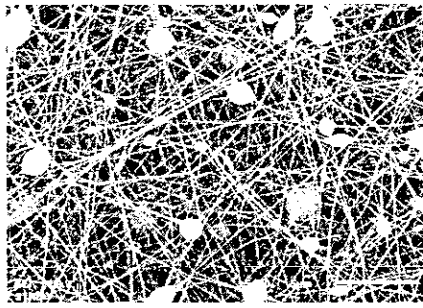


ช) 35 % w/w

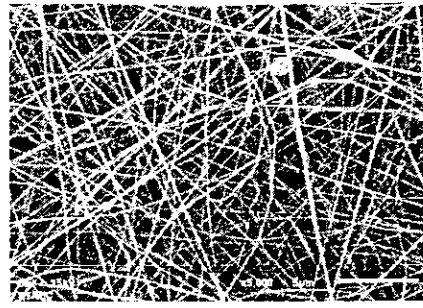


ซ) 40 % w/w

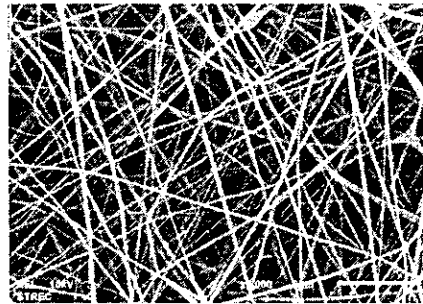
รูปที่ 4.2 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงลักษณะของเส้นใยโพรตีนไหมไฟโบรอินที่ได้จากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5 ถึง 40% w/w (กำลังขยาย 2000 เท่า)



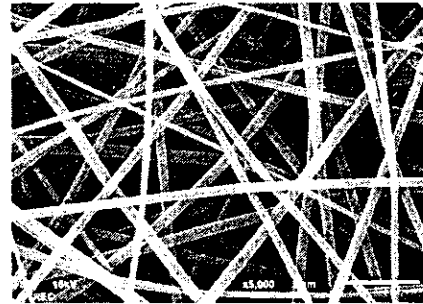
ก) 15 % w/w



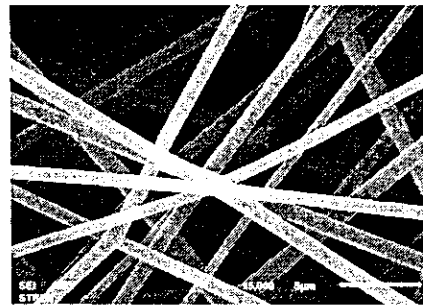
ข) 20 % w/w



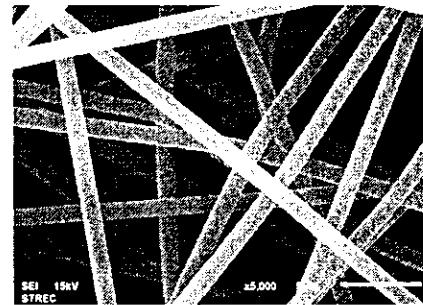
ค) 25 % w/w



ง) 30 % w/w



จ) 35 % w/w



ฉ) 40 % w/w

รูปที่ 4.3 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงลักษณะของเส้นใยโพรตีนไหมไฟโบรอินที่ได้จากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 15 ถึง 40% w/w (กำลังขยาย 5000 เท่า)

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเป็น 20 % โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (รูปที่ 4.2 ง และ 4.3 ข) จะพบว่าจำนวนเม็ดปมจะเริ่มลดปริมาณลง และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเป็น 25 % โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (รูปที่ 4.2 จ และ 4.3 ค) จำนวนเม็ดปมลดปริมาณลงมาก โดยระยะห่างระหว่างเม็ดปมที่เกิดขึ้นบนเส้นใยมากขึ้น และมีลักษณะเรียวยาวขึ้น

และเมื่อสารละลายโพรตีนไหมไฟโบรอินมีความเข้มข้นสูงขึ้น มีความหนืดสูงมากขึ้น ที่ความเข้มข้น 30, 35 และ 40 % โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก จะไม่พบเม็ดปมบนเส้นใย และพบว่าเส้นใยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่มากขึ้น เมื่อสารละลายมีความหนืดสูงหรือมีความเข้มข้นสูง ซึ่งเมื่อนำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและหาค่าเฉลี่ย แสดงผลดังในตาราง 4.1

ตารางที่ 4.2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอิน ที่ความเข้มข้นของสารละลายตั้งแต่ 30 ถึง 40 %โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก

ความเข้มข้นของสารละลาย (% น้ำหนัก/น้ำหนัก)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเฉลี่ย (นาโนเมตร)
30	528 ± 25
35	938 ± 30
40	1098 ± 61

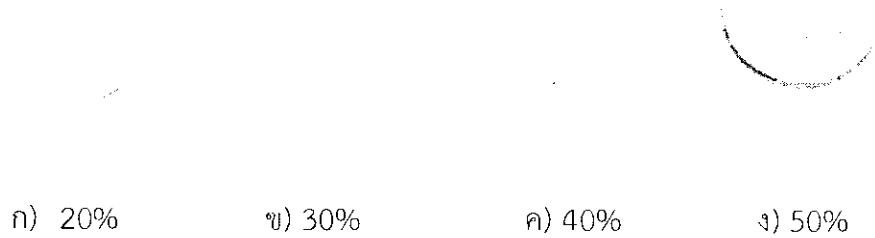
จากตาราง 4.2 ภาพเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่ความเข้มข้นของสารละลายตั้งแต่ 30 ถึง 40 %โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ได้นำมาวัดขนาดหาเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยโดยเฉลี่ย จะเห็นได้ชัดเจนว่า ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอิน จะมีขนาดใหญ่ขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนไฟโบรอินที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำหรือมีค่าความหนืดต่ำ มีการเกี่ยวพันกันของสายโซ่โมเลกุลพอลิเมอร์ต่ำ จึงมีแรงต้านต่อแรงทางประจุที่เข้ามากระทำน้อย สายจึงเกิดการยืดตัวได้ง่าย ส่งผลให้เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยที่ได้มีขนาดเล็ก และในทางตรงกันข้ามสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงหรือมีความหนืดสูง มีการเกี่ยวพันกันของสายโซ่โมเลกุลพอลิเมอร์สูง จึงมีแรงต้านต่อแรงทางประจุที่เข้ามากระทำมาก เป็นผลให้สายจึงเกิดการยืดตัวได้ยาก ทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยที่ได้มีขนาดใหญ่ (Arayanarakul และคณะ, 2006)

สำหรับความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอินที่เลือกมาทำการวิจัยต่อ โดยนำมาผสมกับโปรตีนเซรีซิน ได้แก่ ที่ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนไฟโบรอิน 30 %โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ทั้งนี้เนื่องจากที่ความเข้มข้นดังกล่าวผลิตเป็นเส้นใยที่มีลักษณะเรียบ ไม่มีเม็ดปมบนเส้นใย และมีขนาดเส้นใยที่ไม่ใหญ่มากเกินไป อีกทั้งมีเส้นใยมีจำนวนมาก

4.2 การศึกษาปริมาณโปรตีนเซรีซินผสมกับโปรตีนไฟโบรอินที่มีต่อลักษณะและขนาดของเส้นใยอิเล็กโทรสปิน

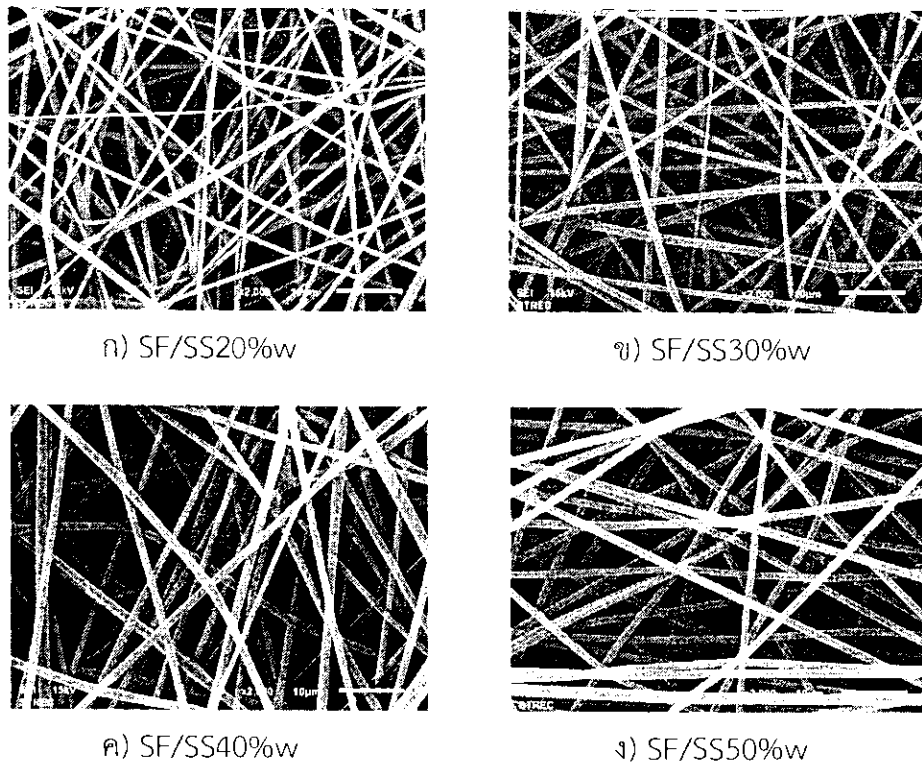
ผงเซรีซินซึ่งเตรียมได้จากไหมพันธุ์ไทย มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาล ปริมาณ 20, 30, 40 และ 50 %โดยน้ำหนัก ผสมลงในสารละลายโปรตีนไฟโบรอินความเข้มข้น 30 %โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก โดยคำนวณเทียบกับน้ำหนักของโปรตีนไฟโบรอินในสารละลายไฟโบรอิน นำไปปั่นเป็นเส้นใยด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ปริมาณศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับสารละลายมีค่าคงที่เท่ากับ 20 กิโลโวลต์ และปรับระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดยาถึงแผ่นรองรับเส้นใยเท่ากับ 15

เซนติเมตร ความคุมการไหลของสารละลายที่อัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อนาที ได้แผ่นเส้นใยที่มีผิวเรียบ สีของแผ่นเส้นใยจะเข้มขึ้นเป็นสีเหลืองอ่อน เมื่อปริมาณเซรีซินเพิ่มขึ้น ลักษณะดังรูปที่ 4.4

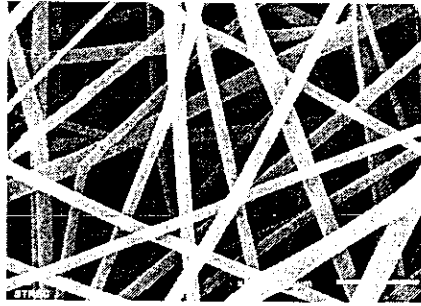


รูปที่ 4.4 ลักษณะเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณ 20 ถึง 50 % โดยน้ำหนัก

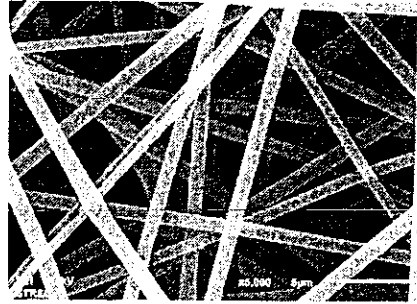
แผ่นเส้นใยที่ได้นำมาถ่ายภาพเพื่อศึกษาลักษณะและขนาดของเส้นใย ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงดังในรูปที่ 4.5 และ 4.6 จากภาพถ่ายเมื่อศึกษาการเข้ากันได้ของสารละลายไฟโบรอิน พบว่าเส้นใยที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นกลมและมีผิวเรียบ ไม่มีการเกาะรวมตัวของโปรตีนเซรีซินบนผิวเส้นใย แสดงว่าโปรตีนเซรีซินเข้ากันได้กับโปรตีนไฟโบรอิน โดยเมื่อสังเกตการละลายผงเซรีซินกับสารละลายโปรตีนไฟโบรอินสามารถละลายเข้ากันได้ดี



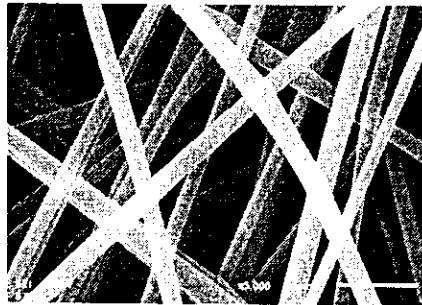
รูปที่ 4.5 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณ 20 ถึง 50 %โดยน้ำหนัก (กำลังขยาย 2000 เท่า)



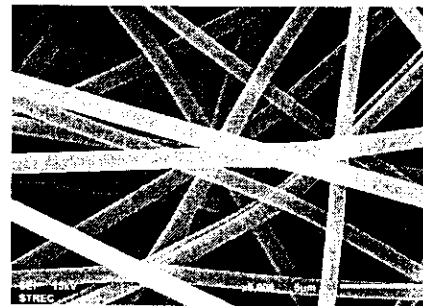
ก) SF/SS20%w



ข) SF/SS30%w



ค) SF/SS40%w



ง) SF/SS50%w

รูปที่ 4.6 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินผสม เซรีซินที่ปริมาณ 20 ถึง 50 %โดยน้ำหนัก (กำลังขยาย 5000 เท่า)

เมื่อนำภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของแผ่นเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินผสมเซรีซิน มาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยโดยเฉลี่ยของเส้นใย ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งพบว่าเส้นใยแต่ละสภาวะมีขนาดที่ค่อนข้างสม่ำเสมอ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยมีแนวโน้มที่ใหญ่ขึ้น เมื่อปริมาณโปรตีนเซรีซินเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากมีปริมาณเนื้อสารที่ผสมอยู่ในสารละลายเพิ่มมากขึ้น เมื่อนำมาปั่นเป็นเส้นใยจึงทำให้มีเนื้อสารอยู่ในเส้นใยเพิ่มมากขึ้นด้วย

ตารางที่ 4.3 ขนาดเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินผสมโปรตีนเซรีซินที่ปริมาณตั้งแต่ 20 ถึง 40 % โดยน้ำหนัก

ปริมาณโปรตีนเซรีซิน (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย (นาโนเมตร)
0	528 ± 25
20	812 ± 30
30	907 ± 52
40	1106 ± 66
50	1064 ± 63

4.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

โปรตีนเซรีซินในเส้นใยไหม มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย (Zhang, 2002) ผงโปรตีนเซรีซิน และโปรตีนไฟโบรอิน จึงได้นำมาศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disk diffusion ส่วนแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินทั้งที่ไม่ผสม และผสมเซรีซินในปริมาณต่างๆ (ได้แก่ ความเข้มข้น 20, 30, 40 และ 50 %โดยน้ำหนัก) ได้นำมาศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disk diffusion เช่นกัน

อย่างไรก็ตามอุปสรรคในการศึกษาวิจัยฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินทั้งที่ไม่ผสม และผสมเซรีซิน คือแผ่นเส้นใยสามารถละลายน้ำได้ ซึ่งทำให้เมื่อวางขึ้นตัวอย่างของแผ่นเส้นใยบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว แผ่นเส้นใยจะละลายหลุดตัวเล็กลง งานวิจัยนี้จึงได้นำแผ่นเส้นใยดังกล่าวแช่ในสารละลายเมทานอลผสมน้ำที่อัตราส่วน 90 : 10 เป็นเวลา 10 นาที และทิ้งไว้ให้แห้ง ซึ่งการแช่ในสารละลายดังกล่าว จะช่วยให้ลดความสามารถในการละลายน้ำได้ ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีนไฟโบรอินจะเปลี่ยนจากอสัณฐาน (amorphous) เป็นเบต้าชีต (β -sheet) (Meechaisue และคณะ, 2007) แผ่นเส้นใยที่เตรียมได้นี้เมื่อแห้งแล้วจะไม่เรียบ จึงไม่เหมาะสมที่จะทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disk diffusion ที่ต้องวางขึ้นตัวอย่างบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ดังนั้น การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินที่ผสมและไม่ผสมเซรีซิน ที่ได้แช่ในสารละลายเมทานอลแล้วนั้น จึงทำโดยการนำมาแช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MU Broth ที่เวลาต่างๆ และศึกษาปริมาณของแบคทีเรียจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร จากนั้นยังได้นำของเหลวจากการบ่มเชื้อ มาบ่มเลี้ยงเชื้อต่อบน Agar เพื่อบันทึกจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU)

แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบนี้ มี 5 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25922, *Staphylococcus epidermis* DMST15505, *Streptococcus pyogenes* DMST30653 ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739 และ *Escherichia coli* ATCC25922 เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบ แบคทีเรียดังกล่าวเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวหนังในคน

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไหมไม่ผสมและผสมเซรีซินนี้ ได้นำมาเปรียบเทียบกับฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นดกแต่งผลต้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้าซึ่งผสมซิลเวอร์เพื่อให้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

รายละเอียดของผลการทดลองการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย มีดังนี้

4.3.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของโปรตีนเซรีซินและโปรตีนไฟโบรอิน

โปรตีนเซรีซิน และโปรตีนไฟโบรอิน ได้นำมาศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disk diffusion โดยเตรียมสารละลายเซรีซินในน้ำกลั่นที่ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารละลายไฟโบรอินในน้ำกลั่นเตรียมที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นนำกระดาษกรองที่ตัดให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตรและฆ่าเชื้อด้วยรังสียูวี จุ่มลงในสารละลายที่ต้องการทดสอบ จากนั้นวางขึ้นทดสอบบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้ 1 คืน นำมาวัด clear zone ที่เกิดขึ้น ได้ผลการทดสอบดังตาราง 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารละลายโปรตีนเซรีซิน และโปรตีนไฟโบรอิน โดยวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (เซนติเมตร) ด้วยวิธี Agar disk diffusion (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นกระดาษกรอง = 1 เซนติเมตร)

เชื้อแบคทีเรีย	ความเข้มข้นสารละลายเซรีซิน (มก./มล.)			ความเข้มข้น สารละลายไฟโบรอิน (มก./มล.)
	2.5	5	10	10
<i>S. aureus</i> ATCC25922	n/a	1.1 ซม.	1.1 ซม.	n/a
<i>S. epidermidis</i> DMST15505	n/a	1.1 ซม.	1.1 ซม.	n/a
<i>S. pyogenes</i> DMST30653	n/a	1.1 ซม.	1.1 ซม.	n/a
<i>P. aeruginosa</i> DMST4739	1.1 ซม.	1.1 ซม.	1.1 ซม.	n/a
<i>E. coli</i> ATCC25922	n/a	1.1 ซม.	1.1 ซม.	n/a

หมายเหตุ n/a หมายถึง no inhibition

จากตาราง 4.4 พบว่าโปรตีนเซรีซินมีแนวโน้มในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวหนังได้ทั้ง 5 ชนิด โดยเริ่มสังเกตได้ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทั้งนี้ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบไม่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนเซรีซิน ผลที่ได้ก็ยังไม่ชัดเจนมากนัก ส่วนโปรตีนไฟโบรอินพบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ศึกษาทั้ง 5 ชนิด ดังนั้นจึงนำโปรตีนไฟโบรอินที่สกัดได้เป็นพอลิเมอร์พื้นฐานป็นเป็นแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ และผสมกับโปรตีนเซรีซินเพื่อให้ได้แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

4.3.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน

เนื่องจากแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินทั้งที่ไม่ผสมและผสมเซรีซินปริมาณต่างๆ ที่เตรียมจากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตนั้น สามารถละลายน้ำได้ ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนไฟโบรอินมีโครงสร้างโมเลกุลเป็นแบบส่ม ซึ่งเมื่อวางชิ้นตัวอย่างของแผ่นเส้นใยบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว แผ่นเส้นใยจะละลายหลุดตัวเล็กลง แต่ก็ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยดังกล่าวด้วยวิธี Agar disk diffusion เพื่อศึกษา clear zone ที่เกิดขึ้น

เพื่อปรับปรุงแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินไม่ให้ละลายน้ำได้ จึงนำไปแช่ในสารละลายเมทานอลผสมน้ำที่อัตราส่วน 90 : 10 เป็นเวลา 10 นาที จะทำให้แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินไม่สามารถละลายน้ำ ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีนไฟโบรอินจะเปลี่ยนโครงสร้างจากแบบส่มเป็นแบบเบต้าชีท แต่เมื่อแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินแห้ง แผ่นเส้นใยมีพื้นผิวที่ไม่เรียบแบน การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disk diffusion เพื่อศึกษา clear zone ที่เกิดขึ้นจึงไม่เหมาะสม การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจึงทำโดยวิธีการนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินแช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MU broth ที่เวลาต่างๆ ได้แก่ 0, 1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง และศึกษาปริมาณของแบคทีเรียจากการดูค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียก่อนการบ่มและหลังบ่มที่ระยะเวลาต่างๆ นอกจากนั้นยังได้นำของเหลวจากการบ่มเชื้อ มาบ่มเลี้ยงเชื้อต่อบน agar เพื่อนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียก่อนการบ่มและหลังที่ระยะเวลาต่างๆ เช่นเดียวกัน

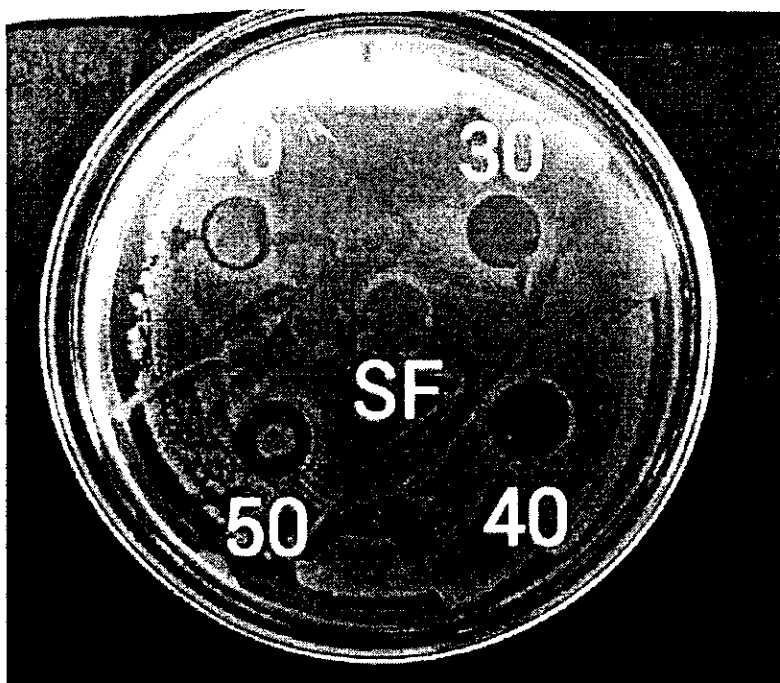
4.3.2.1 แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน ที่ไม่ได้แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำ

แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณต่างๆ ที่ยังไม่ได้แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำ ซึ่งทำให้แผ่นเส้นใยสามารถละลายน้ำได้ นำมาศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar disk diffusion ซึ่งเตรียมตัวอย่างให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยรังสี UV เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นวัด clear zone ที่เกิดขึ้น ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5 และลักษณะการเกิด clear zone ต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. pyogenes* และ *P. aeruginosa* ในรูปที่ 4.7 และ 4.8

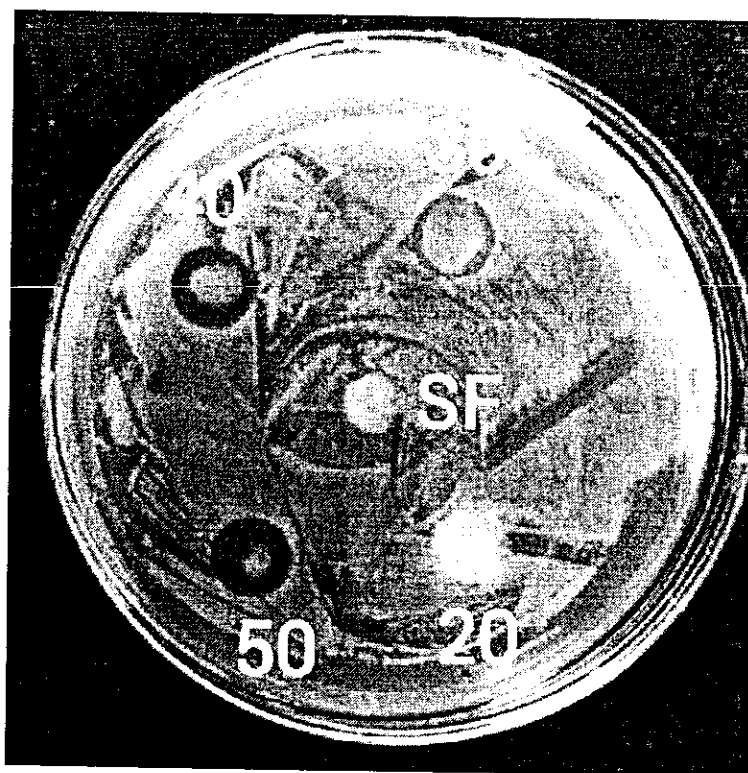
ตารางที่ 4.5 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณต่างๆ ที่ยังไม่ได้แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำ โดยวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (เซนติเมตร) ด้วยวิธี Agar disk diffusion (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นเส้นใย = 1 เซนติเมตร)

เชื้อแบคทีเรีย	แผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอิน	แผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน : ปริมาณเซรีซิน (% โดยน้ำหนัก)			
		20	30	40	50
<i>S. aureus</i> ATCC25922	n/a	n/a	n/a	1.1	1.1
<i>S. epidermidis</i> DMST15505	n/a	1.1	1.1	1.1	1.2
<i>S. pyogenes</i> DMST30653	n/a	n/a	1.1	1.1	1.2
<i>P. aeruginosa</i> DMST4739	n/a	n/a	n/a	1.1	1.2
<i>E. coli</i> ATCC25922	n/a	n/a	n/a	1.1	1.1

หมายเหตุ n/a หมายถึง no inhibition



รูปที่ 4.7 ลักษณะ clear zone ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. pyogenes* ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน ปริมาณ 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยแผ่นเส้นใยไม่ได้แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำ



รูปที่ 4.8 ลักษณะ clear zone ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *P. aeruginosa* ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปันโปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปันโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน ปริมาณ 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยแผ่นเส้นใยไม่ได้แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำ

จากผลการทดลองในตาราง 4.5 พบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปันโปรตีนไฟโบรอินไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในทุกชนิด สำหรับแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปันโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณ 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่ยังไม่พบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเซรีซินเป็น 40 เปอร์เซ็นต์ เริ่มพบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น เมื่อเพิ่มปริมาณเซรีซินเป็น 50 เปอร์เซ็นต์ ในเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. epidermidis*, *S. pyogenes* และ *P. aeruginosa*

แต่อย่างไรก็ตามฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปันไฟโบรอินที่ผสมเซรีซินยังมีค่าไม่สูงนัก และเกิดการละลายเมื่อวางบนวัสดุอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงเตรียมแผ่นเส้นใยเพื่อไม่ให้ละลายน้ำได้ และนำไปทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีอื่น เพื่อหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ทั้งนี้เพื่อให้เห็นผลการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ชัดเจนขึ้น โดยการต้านเชื้อแบคทีเรียจะศึกษาได้จากเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแบคทีเรียที่ลดลง

4.3.2.2 แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน ที่แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำ

แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณต่างๆ ได้นำมาแช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำ ซึ่งจะทำให้ไม่ละลายน้ำ แต่เนื่องจากแผ่นเส้นใยเมื่อแห้งแล้วไม่เรียบมาก จึงไม่เหมาะกับการศึกษาฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Agar disk diffusion. แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณ 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก นำมาศึกษาฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียโดยการบ่มแช่แผ่นเส้นใยในอาหารเหลว MU broth ที่เวลาต่างๆ ได้แก่ 0, 1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง และศึกษาปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (absorbance หรือ optical density: O.D.) ของอาหารเหลวที่มีเชื้อแบคทีเรียและแผ่นเส้นใยแช่อยู่ที่เวลาต่างๆ และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียก่อนการบ่มและหลังที่ระยะเวลาต่างๆ นอกจากนั้นได้นำของเหลวดังกล่าวมาบ่มเลี้ยงเชื้อต่อบน agar เพื่อบันทึกจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียก่อนการบ่มและหลังที่ระยะเวลาต่างๆ เช่นเดียวกัน

1) การศึกษาปริมาณของแบคทีเรียจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของแบคทีเรียในอาหารเหลว

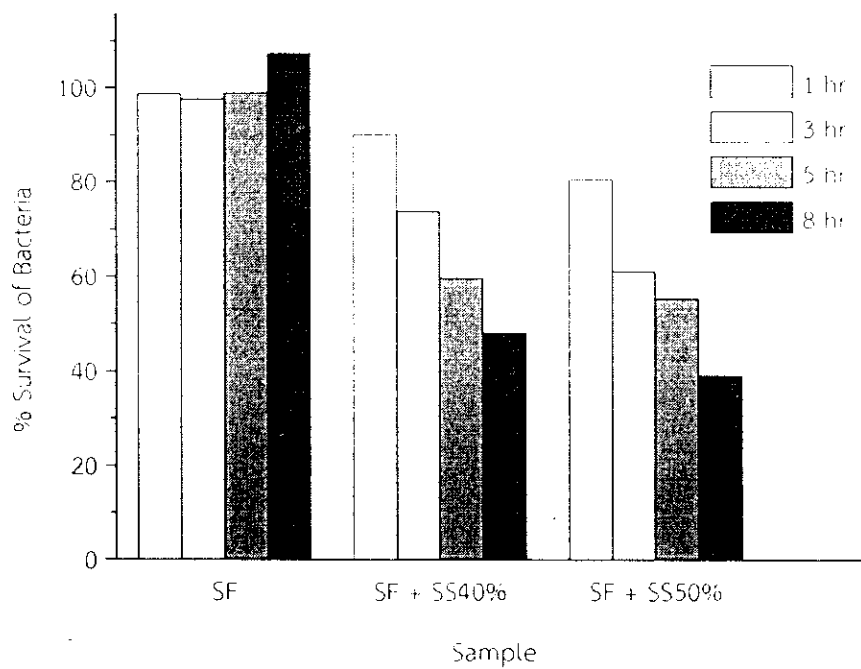
แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณ 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อแช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำและทำให้แห้งแล้ว นำมาตัดให้มีขนาดน้ำหนักประมาณ 20 ไมโครกรัม ใส่ในหลอดทดลองที่มีแบคทีเรียอยู่ในอาหารเหลว MU broth บ่มแช่เป็นระยะเวลา 0, 1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง ตรวจสอบปริมาณการเจริญของแบคทีเรียในแต่ละระยะเวลา โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance หรือ optical density: O.D.) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรีย (% survival of bacteria) โดยเปรียบเทียบการดูดกลืนแสงของระยะเวลาการบ่มต่างๆ กับการดูดกลืนแสงก่อนเริ่มการบ่ม (0 ชม.) คิดเป็นแบคทีเรียที่ยังคงมีชีวิตอยู่ ได้ผลการทดลองแสดงดังในตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.9

ตารางที่ 4.6 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิต

เชื้อแบคทีเรีย ระยะเวลาบ่ม	แผ่นเส้นใย โปรตีนไฟโบรอิน		แผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน : ปริมาณเซรีซิน (% โดยน้ำหนัก)			
			40		50	
	O.D.	%รอดชีวิต	O.D.	%รอดชีวิต	O.D.	%รอดชีวิต
<i>S. aureus</i> ATCC25922						
0 ชม.	0.862	100.00	0.939	100.00	1.059	100.00
1 ชม.	0.851	98.72	0.846	90.10	0.852	80.45
3 ชม.	0.841	97.56	0.693	73.80	0.647	61.10
5 ชม.	0.853	98.96	0.560	59.64	0.587	55.43
8 ชม.	0.926	107.42	0.452	48.14	0.414	39.10
<i>S. epidermidis</i> DMST15505						
0 ชม.	1.005	100.00	0.958	100.00	0.950	100.00
1 ชม.	0.944	93.93	0.828	86.43	0.633	66.63
3 ชม.	0.962	95.72	0.863	90.08	0.572	53.79
5 ชม.	0.825	82.09	0.763	79.65	0.511	60.21
8 ชม.	0.890	88.56	0.709	74.01	0.144	15.16
<i>S. pyogenes</i> DMST30653						
0 ชม.	0.978	100.00	0.970	100.00	0.975	100.00
1 ชม.	0.933	95.40	0.853	87.94	0.842	86.36
3 ชม.	0.857	87.63	0.797	82.16	0.723	74.15
5 ชม.	0.764	78.12	0.730	75.26	0.687	70.46
8 ชม.	0.818	83.64	0.657	67.73	0.555	56.92
<i>P. aeruginosa</i> DMST4739						
0 ชม.	0.962	100.00	1.011	100.00	0.943	100.00
1 ชม.	0.937	97.40	0.966	95.55	0.851	90.24
3 ชม.	0.843	87.63	0.819	81.01	0.715	75.82
5 ชม.	0.824	85.65	0.718	71.02	0.484	51.33
8 ชม.	0.810	84.20	0.683	67.56	0.404	42.84

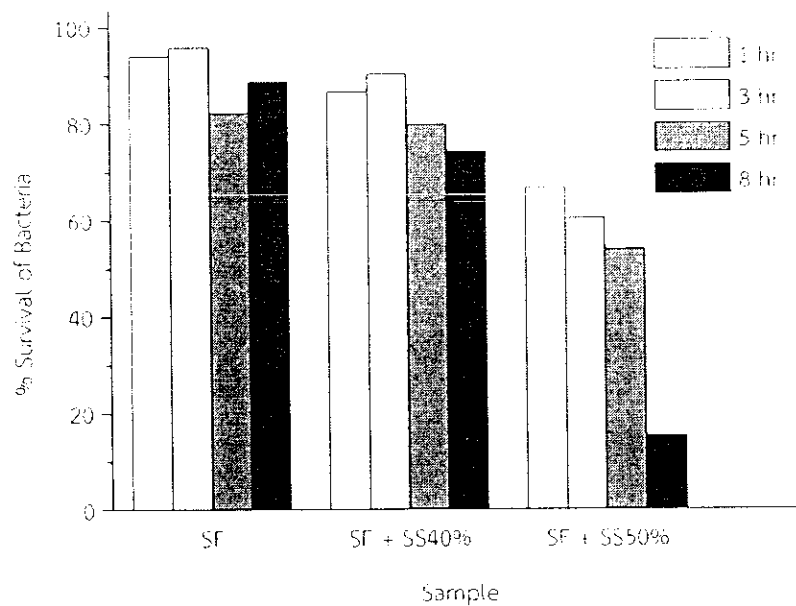
ตารางที่ 4.6 (ต่อ) ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิต

เชื้อแบคทีเรีย	แผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอิน		แผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน : ปริมาณเซรีซิน (% โดยน้ำหนัก)			
			40		50	
	O.D.	%รอดชีวิต	O.D.	%รอดชีวิต	O.D.	%รอดชีวิต
<i>E. coli</i> ATCC25922						
0 ชม.	1.030	100.00	0.942	100.00	0.961	100.00
1 ชม.	0.960	93.20	0.921	97.77	0.842	87.62
3 ชม.	0.935	90.78	0.858	91.08	0.682	70.97
5 ชม.	0.909	88.25	0.748	79.41	0.650	67.64
8 ชม.	0.876	85.05	0.595	63.16	0.568	59.11

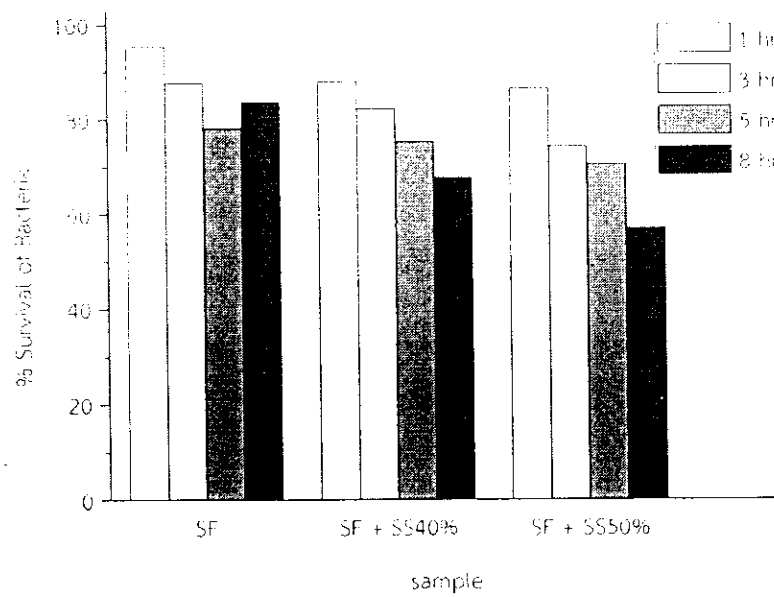


ก) *S. aureus*

รูปที่ 4.9 อัตราร้อยละการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ก) *S. aureus* ข) *S. epidermidis* ค) *S. pyogenes* ง) *P. aeruginosa* และ จ) *E. coli* ที่มีต่อแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน (SF) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน (SS) 40 และ 50% โดยน้ำหนัก เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ (1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.)

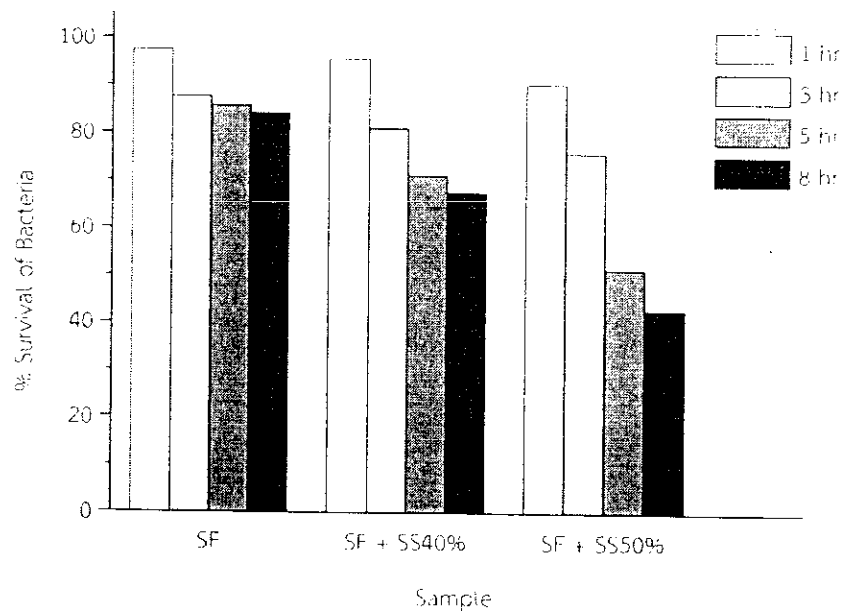


ข) *S. epidermidis*

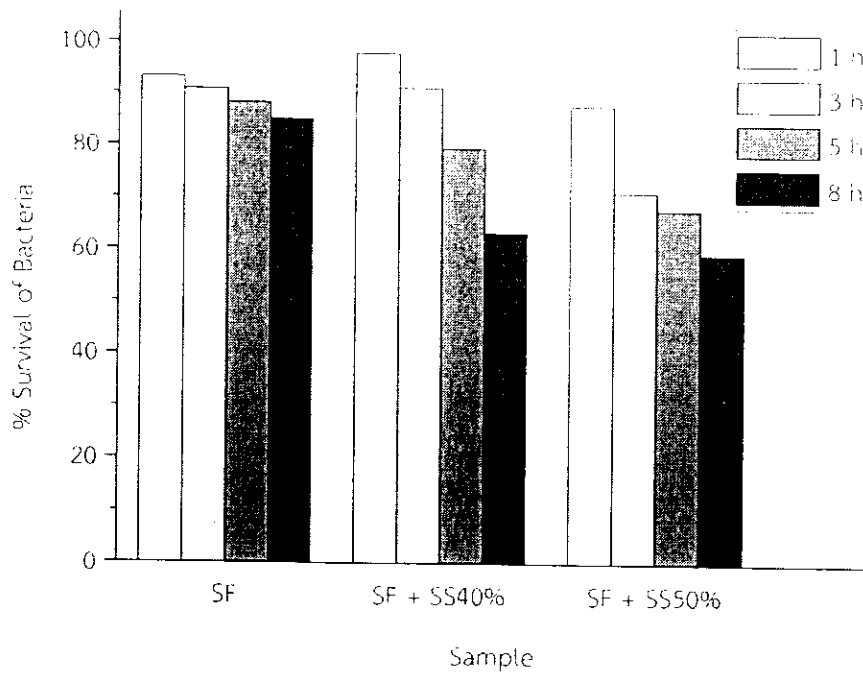


ค) *S. pyogenes*

รูปที่ 4.9 (ต่อ) อัตราร้อยละการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ก) *S. aureus* ข) *S. epidermidis* ค) *S. pyogenes* ง) *P. aeruginosa* และ จ) *E. coli* ที่มีต่อแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรตีนไฟโบรอิน (SF) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน (SS) 40 และ 50% โดยน้ำหนัก เมื่อบ่มเชื้อในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ (1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.)



ง) *P. aeruginosa*



จ) *E. coli*

รูปที่ 4.9 (ต่อ) อัตราร้อยละการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ก) *S. aureus* ข) *S. epidermidis* ค) *S. pyogenes* ง) *P. aeruginosa* และ จ) *E. coli* ที่มีต่อแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนโปรตีนไฟโบรอิน (SF) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน (SS) 40 และ 50% โดยน้ำหนัก เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ (1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.)

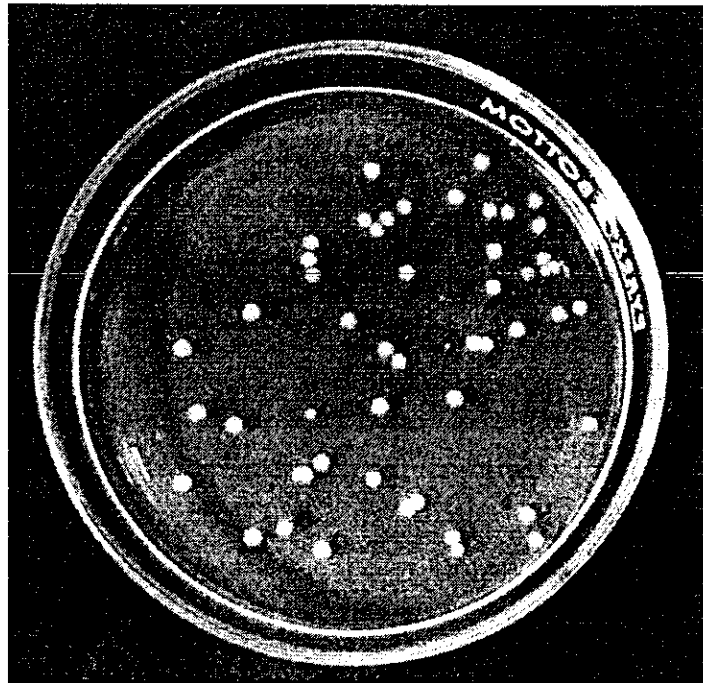
จากผลการทดลองในตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.9 พบว่าการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน โดยการวัดการดูดกลืนแสงนี้ เห็นผลการทดลองที่ชัดเจนมากขึ้นกว่าการศึกษาด้วยการวัด clear zone ทั้งนี้พบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่ศึกษาน้อยมาก แบคทีเรียยังมีอัตราการรอดชีวิตเกินร้อยละ 80 เมื่อบ่มแช่แผ่นเส้นใยในอาหารเลี้ยงเชื้อ 5-8 ชั่วโมง โดยจำนวนเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *S. pyogenes* กลับเพิ่มขึ้นเมื่อบ่มแช่เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง

เมื่อผสมเซรีซินปริมาณ 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินพบว่า ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่ศึกษาเพิ่มมากขึ้น โดยอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่รอดชีวิตมีปริมาณลดลงมาก ทั้งนี้เมื่อปริมาณเซรีซินเพิ่มมากขึ้นเป็น 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่รอดชีวิตมีปริมาณลดลงกว่าปริมาณเซรีซิน 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อเปรียบเทียบในระยะเวลาการบ่มเชื้อที่เท่ากัน

แต่อย่างไรก็ตามแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อบ่มแช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง ยังคงมีแบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่ โดยอัตราการรอดชีวิตของเชื้อ *S. epidermidis* น้อยที่สุดคือ ร้อยละ 15.16 *S. aureus* จำนวนร้อยละ 39.10 ส่วน *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* และ *E. coli* ยังมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียอยู่ถึงร้อยละ 56.92, 42.84 และ 59.11 ตามลำดับ

2) การศึกษาปริมาณของแบคทีเรียจากจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน ที่แช่สารละลายเมทานอลผสมน้ำแล้ว นำมาตัดให้มีขนาดน้ำหนักประมาณ 20 ไมโครกรัม แช่ในหลอดทดลองที่มีแบคทีเรียอยู่ในอาหารเหลว MU broth เป็นระยะเวลา 0, 1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง จากนั้นดูดของเหลวในหลอดทดลองแต่ละชั่วโมง 50 ไมโครลิตร มาเจือจางด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ แล้วละเลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar ด้วยเทคนิค spread plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการดำนเชื้อแบคทีเรีย โดยการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาตรอาหาร 1 มิลลิลิตร โดยรูปที่ 4.10 แสดงตัวอย่างจำนวน โคโลนีที่ลดลงของแบคทีเรียชนิด *E. coli* หลังการบ่มเป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรีย (% survival of bacteria) โดยเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตที่ระยะเวลาการบ่มต่างๆ กับแบคทีเรียก่อนการบ่ม (0 ชม.) ได้ผลการทดลองแสดงดังในตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.11



ก) ก่อนการบ่ม



ข) หลังการบ่ม 8 ชั่วโมง

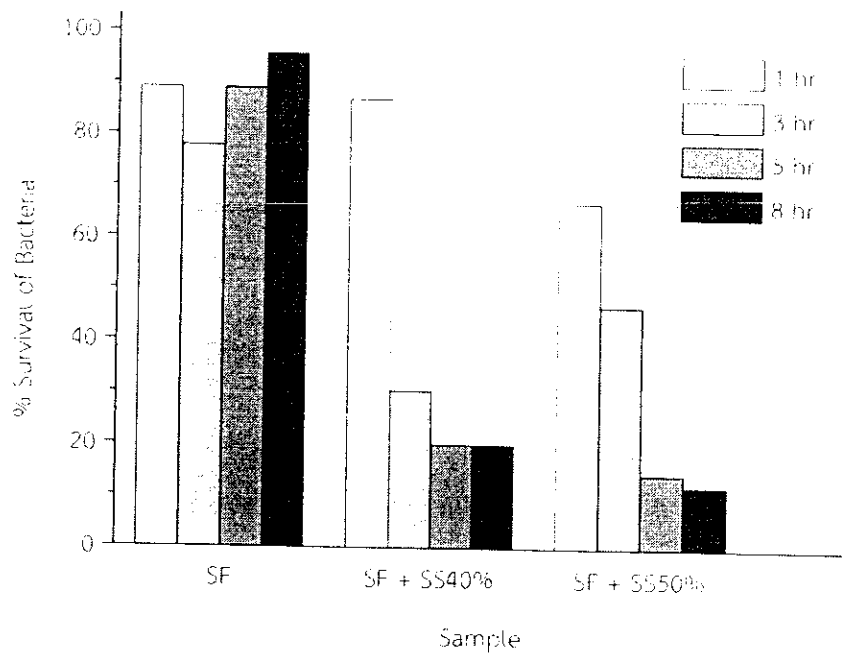
รูปที่ 4.10 แสดงเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีที่ลดลงของเชื้อ *E. coli* ก) ก่อนการบ่ม และ ข) หลังการบ่มเป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

ตารางที่ 4.7 (ต่อ) ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรติไฟเบอร์ และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรติไฟเบอร์ผสมเซรียชึน โดยการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาณอาหาร 1 มิลลิตร และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรีย

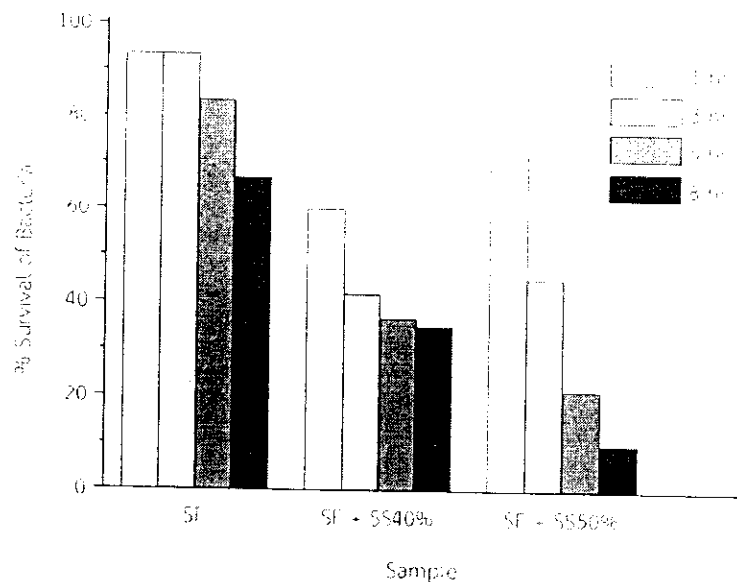
เชื้อแบคทีเรีย	แผ่นเส้นใย โพรติไฟเบอร์		แผ่นเส้นใยโพรติไฟเบอร์ผสมเซรียชึน :			
			ปริมาณเซรียชึน (% โดยน้ำหนัก)			
	CFU/mL	%รอดชีวิต	40		50	
ระยะเวลาการบ่ม			CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต
<i>S. pyogenes</i> DMST30653						
0 ชม.	9.50E+06	100.00	9.50E+08	100.00	3.25E+06	100.00
1 ชม.	8.50E+06	89.47	8.70E+08	91.58	3.00E+06	92.31
3 ชม.	8.30E+06	87.37	5.60E+08	58.95	2.50E+06	76.92
5 ชม.	7.70E+06	81.05	3.30E+08	34.74	9.10E+05	28.00
8 ชม.	7.50E+06	78.95	3.00E+08	31.58	8.00E+05	24.62
<i>P. aeruginosa</i> DMST4739						
0 ชม.	5.00E+10	100.00	4.00E+09	100.00	7.50E+08	100.00
1 ชม.	4.80E+10	96.00	3.15E+09	78.75	5.70E+08	76.00
3 ชม.	4.30E+10	86.00	3.00E+09	75.00	3.00E+08	40.00
5 ชม.	4.30E+10	86.00	2.50E+09	62.50	2.00E+08	26.67
8 ชม.	4.00E+10	80.00	1.90E+09	47.50	9.00E+07	12.00

ตารางที่ 4.7 (ต่อ) ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน โดยการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาณอาหาร 1 มิลลิลิตร และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรีย	แผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอิน		แผ่นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน :			
			ปริมาณเซรีซิน (% โดยน้ำหนัก)			
	ระยะเวลาการบ่ม		40		50	
	CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต
<i>E. coli</i> ATCC25922						
0 ชม.	3.00E+05	100.00	9.50E+06	100.00	5.00E+04	100.00
1 ชม.	2.90E+05	96.67	8.05E+06	84.74	3.65E+04	73.00
3 ชม.	2.50E+05	83.33	6.30E+06	66.32	2.95E+04	59.00
5 ชม.	2.75E+05	91.67	4.65E+06	48.95	1.85E+04	37.00
8 ชม.	2.25E+05	75.00	2.30E+06	24.21	1.00E+04	20.00

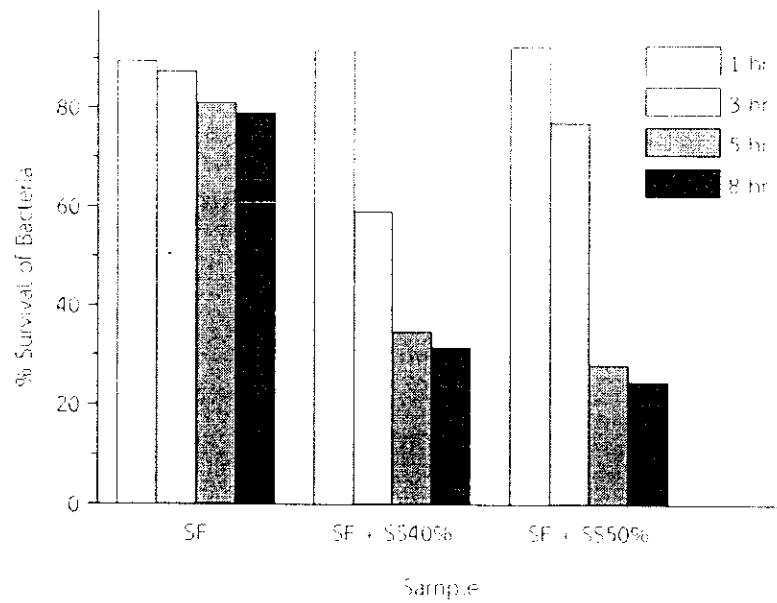
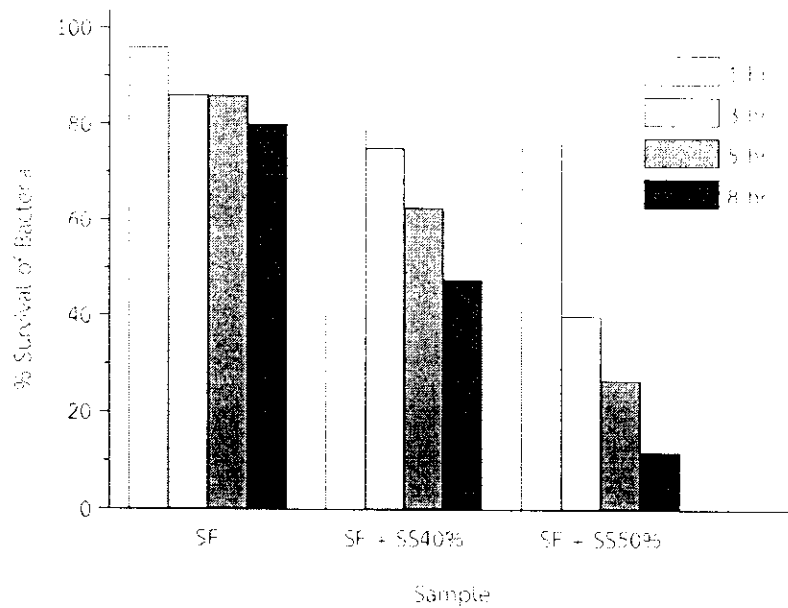


ก) *S. aureus*

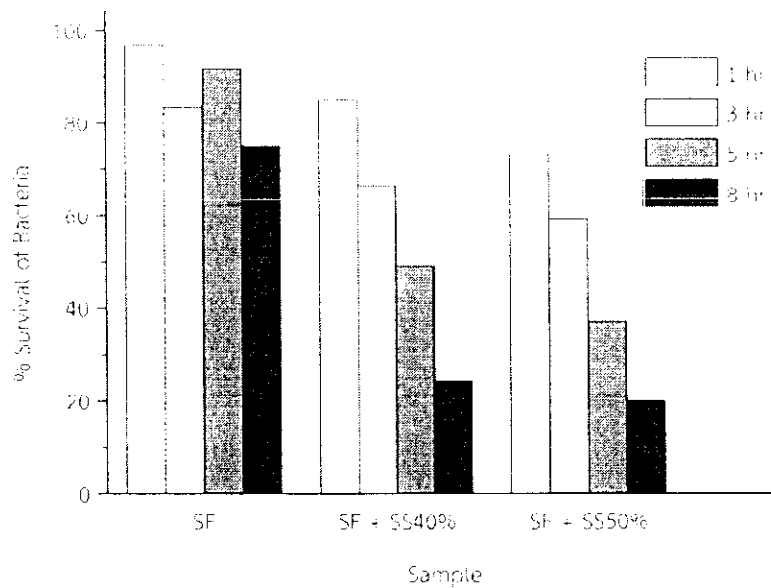


ข) *S. epidermidis*

รูปที่ 4.11 อัตราร้อยละการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ก) *S. aureus* ข) *S. epidermidis* ค) *S. pyogenes* ง) *P. aeruginosa* และ จ) *E. coli* ที่มีต่อแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน (SF) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน (SS) 40 และ 50% โดยน้ำหนัก เมื่อต้มแช่ในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ (1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง) โดยการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU)

ค) *S. pyogenes*ง) *P. aeruginosa*

รูปที่ 4.11 (ต่อ) อัตราร้อยละการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ก) *S. aureus* ข) *S. epidermidis* ค) *S. pyogenes* ง) *P. aeruginosa* และ จ) *E. coli* ที่มีต่อแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน (SF) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน (SS) 40 และ 50% โดยน้ำหนัก เมื่อป้อนเข้าในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ (1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง) โดยการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU)

จ) *E. coli*

รูปที่ 4.11 (ต่อ) อัตราร้อยละการรอดชีวิตของแบคทีเรีย ก) *S. aureus* ข) *S. epidermidis* ค) *S. pyogenes* ง) *P. aeruginosa* และ จ) *E. coli* ที่มีต่อแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอิน (SF) และแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน (SS) 40 และ 50% โดยน้ำหนัก เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ (1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง) โดยการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU)

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.11 พบว่าการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินปริมาณ 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก โดยการนำไปบ่มแช่กับแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระยะเวลาต่างๆ และนำมา spread plate เพื่อนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดวุ้นในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาตรอาหาร 1 มิลลิลิตร ได้ผลการทดลองเป็นไปในแนวทางเดียวกับการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียโดยการวัดการดูดกลืนแสง

โดยพบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอิน มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่ศึกษาน้อย โดยเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการบ่มแช่กับแบคทีเรีย อัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียมีแนวโน้มลดลงแต่ไม่ลดลงมากจากเมื่อเริ่มบ่ม พบว่าที่ระยะเวลาการบ่ม 8 ชั่วโมง อัตราร้อยละการรอดชีวิตของแบคทีเรียชนิด *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* และ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 95.55, 66.67, 78.95, 80.00 และ 75.00 ตามลำดับ

เมื่อผสมเซรีซิน ในแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินพบว่า ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่ศึกษาเพิ่มมากขึ้น โดยอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่รอดชีวิตมีปริมาณลดลงมาก ทั้งนี้เมื่อ

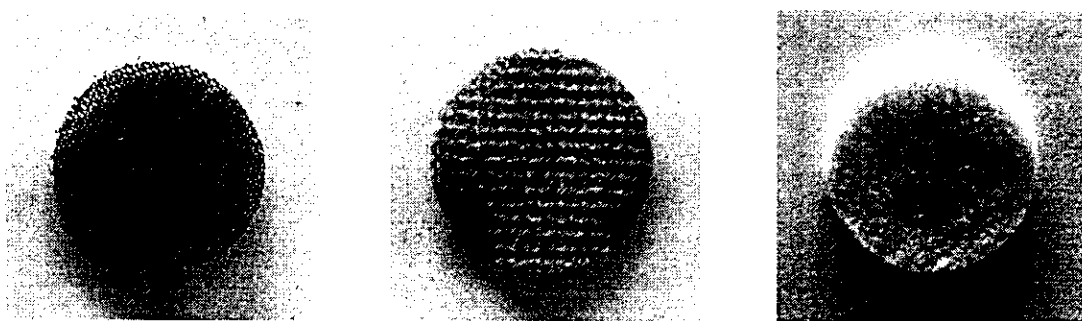
ปริมาณเชริซินเพิ่มมากขึ้นเป็น 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราร้อยละของแบคทีเรียที่รอดชีวิตมีปริมาณลดลงมากกว่าปริมาณเชริซิน 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อเปรียบเทียบในระยะเวลาการบ่มเชื้อที่เท่ากัน

แต่อย่างไรก็ตามแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรตีนไฟโบรอินผสมเชริซิน 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อบ่มแช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง ยังคงมีแบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่ โดยอัตราร้อยละการรอดชีวิตของเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* และ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 12.22, 10.00, 24.62, 12.00 และ 20.00 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วงร้อยละ 10-20 โดยอัตราร้อยละการรอดชีวิตของเชื้อ *S. epidermidis* น้อยที่สุด คือร้อยละ 10

โดยผลการวิจัยเป็นไปในแนวทางการทดสอบอัตราร้อยละการรอดชีวิตของแบคทีเรียโดยการดูลักษณะ ซึ่งพบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรตีนไฟโบรอิน มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่ศึกษาน้อย และเมื่อปริมาณเชริซินเพิ่มมากขึ้นเป็น 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราร้อยละของแบคทีเรียที่รอดชีวิตมีปริมาณลดลงมากกว่าปริมาณเชริซิน 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อเปรียบเทียบในระยะเวลาการบ่มเชื้อที่เท่ากัน นอกจากนี้ยังพบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรตีนไฟโบรอินผสมเชริซิน 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อบ่มแช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง ยังคงมีแบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่ โดยอัตราร้อยละการรอดชีวิตของเชื้อ *S. epidermidis* น้อยที่สุด

4.3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นปิดแผลต้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้า

แผ่นปิดแผลต้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้า 3 ชนิด ได้แก่ Acticoat, Aquacel และ Tegaderm ซึ่งเป็นแผ่นปิดแผลที่ผสมซิลเวอร์เพื่อกำจัดเชื้อแบคทีเรีย นำมาศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกับแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรตีนไฟโบรอินผสมเชริซิน ซึ่งลักษณะของแผ่นปิดแผลทั้ง 3 ชนิด แสดงดังในรูปที่ 4.12



Acticoat

Aquacel

Tegaderm

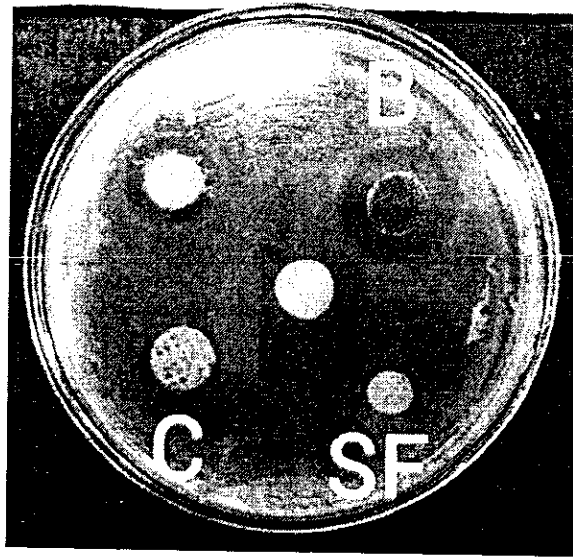
รูปที่ 4.12 ลักษณะแผ่นปิดแผลต้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้า

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธี Agar disk diffusion ทำโดยตัดแผ่นปิดแผลให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ฆ่าเชื้อด้วยรังสียูวี แล้ววางชั้นทดสอบบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้ 1 คืน นำมาวัด clear zone ที่เกิดขึ้น ได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 4.8 และได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งในหน่วยของ colony forming unit (CFU)

ตารางที่ 4.8 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นปิดแผลต้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้า โดยวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (เซนติเมตร) ด้วยวิธี Agar disk diffusion (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นปิดแผล = 1 เซนติเมตร)

เชื้อแบคทีเรีย	แผ่นดกแต่งแผลต้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้า		
	AQUACEL	ACTICOAT	TEGADERM
<i>S. aureus</i> ATCC25922	2.1 ซม.	2.5 ซม.	1.5 ซม.
<i>S. epidermidis</i> DMST15505	1.7 ซม.	1.8 ซม.	1.8 ซม.
<i>S. pyogenes</i> DMST30653	1.4 ซม.	2.0 ซม.	1.3 ซม.
<i>P. aeruginosa</i> DMST4739	1.7 ซม.	2.0 ซม.	1.3 ซม.
<i>E. coli</i> ATCC25922	1.9 ซม.	1.5 ซม.	1.5 ซม.

จากตาราง 4.8 พบว่าแผ่นปิดแผลต้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้าทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดได้ดีกว่าโปรตีนเซริซิน เกิด clear zone ที่กว้างกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะซิลเวอร์ในแผ่นปิดแผลทางการค้าเป็นสารสังเคราะห์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าสารธรรมชาติ โดยแผ่นปิดแผลทางการค้าชนิด Acticoat มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด ทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวก และแกรมลบ ส่วน Tegaderm มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้น้อยที่สุด ซึ่ง Acticoat ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้มากที่สุด เกิด clear zone ที่กว้างที่สุดคือ 2.5 เซนติเมตร นอกจากนี้แผ่นปิดแผลทางการค้าทั้ง 3 ชนิด มีแนวโน้มในการยับยั้ง *S. aureus* ได้มากที่สุดเช่นกัน



รูปที่ 4.13 ลักษณะ clear zone ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *P. aeruginosa* ของแผ่นปิดแผล A) Aquacel B) Acticoat C) Tegaderm เทียบกับแผ่นเส้นใย อิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอิน

จากตารางที่ 4.8 พบว่า Acticoat มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีที่สุด จึงได้นำมาศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ทำโดยการบ่มแผ่นปิดแผลขนาดน้ำหนักประมาณ 20 ไมโครกรัม ในอาหารเหลว MU broth ระยะเวลา 0, 1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง จากนั้นดูดของเหลวในหลอดทดลองแต่ละชั่วโมง 50 ไมโครลิตร มาเจือจางด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ แล้วละเลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar ด้วยเทคนิค spread plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียโดยการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาตรอาหาร 1 มิลลิลิตร ได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นปิดแผลต้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้าชนิด Acticoat เมื่อบ่มเชื้อในอาหารเหลวที่เวลาต่างๆ และนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU)

เชื้อแบคทีเรีย	ระยะเวลาการบ่มเชื้อ (ชั่วโมง)				
	0	1	3	5	8
<i>S. aureus</i> ATCC25922	1.30E+06	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i> DMST15505	7.00E+07	-	-	-	-
<i>S. pyogenes</i> DMST30653	9.50E+08	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> DMST4739	4.00E+09	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC25922	9.50E+06	-	-	-	-

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่พบแบคทีเรีย

จากผลการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ของแผ่นปิดแผล Acticoat พบว่าแผ่นปิดแผลทางการค้านี้มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดได้ดีมาก โดยเพียงการบ่มเชื้อแผ่นปิดแผลทางการค้ากับเชื้อแบคทีเรียเพียง 1 ชั่วโมง ก็ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้หมด โดยไม่พบแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อเลย

4.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง

แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก นำมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของคน (human dermal fibroblast (HDFn)) แผ่นเส้นใยทั้ง 2 ชนิด นำมาเตรียมเพื่อไม่ให้ละลายน้ำได้ โดยการแช่ในสารละลายเมทานอลผสมน้ำในอัตราส่วน 90:10 เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาอบสุญญากาศให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นจึงนำแผ่นเส้นใยแช่ใน medium ที่เลี้ยงเซลล์ ได้สารละลายสกัดที่นำมาทดสอบความเป็นพิษโดยเตรียมที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี resazurin microplate assay (REMA) วัดฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) ด้วย microplate reader คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษ ได้ผลการทดลองดังในตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรตีนไฟโบรอินผสมเชริซิน 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	fluorescence unit	% ความเป็นพิษ (% cytotoxicity)	ความเป็นพิษ	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
1% DMSO (negative control)	1% DMSO	17448 ± 736	0.00	-	-
Ellipticine (positive control)	10.00	35 ± 13	99.80	cytotoxic	2.57
	5.00	22 ± 29	99.88	cytotoxic	
	2.50	9154 ± 979	47.53	non-cytotoxic	
	1.25	9506 ± 710	45.52	non-cytotoxic	
	0.625	10652 ± 1045	38.95	non-cytotoxic	
	0.313	11983 ± 614	31.32	non-cytotoxic	
แผ่นเส้นใย โพรตีนไฟโบรอิน	5000.00	21221 ± 754	-15.31	non-cytotoxic	-
	2500.00	20344 ± 500	-10.54	non-cytotoxic	-
	1250.00	22547 ± 1379	-22.51	non-cytotoxic	-
	625.00	21736 ± 872	-18.11	non-cytotoxic	-
	312.50	21665 ± 477	-17.72	non-cytotoxic	-
	156.25	18711 ± 1004	-1.67	non-cytotoxic	-
แผ่นเส้นใย โพรตีนไฟโบรอิน ผสมเชริซิน 50%	5000.00	23050 ± 1721	-25.25	non-cytotoxic	-
	2500.00	19829 ± 2178	-7.74	non-cytotoxic	-
	1250.00	22913 ± 266	-24.50	non-cytotoxic	-
	625.00	21502 ± 976	-16.83	non-cytotoxic	-
	312.50	21520 ± 395	-19.93	non-cytotoxic	-
	156.25	19566 ± 921	-6.32	non-cytotoxic	-

จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง ได้ทดสอบกับตัว control 2 ชนิด ได้แก่ 1% DMSO เป็น negative control จะไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังเลย ในขณะที่ใช้ ellipticine เป็น positive control ที่สารละลายความเข้มข้น 5 และ 10 $\mu\text{g/ml}$ มีความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.57 $\mu\text{g/ml}$ แต่เมื่อลดความเข้มข้นสารละลายลงเป็น 2.5 $\mu\text{g/ml}$ จะไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ในขณะที่สารละลายสกัดของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรตีนไฟโบรอิน และโพรตีนไฟโบรอินผสมเชริซิน 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ที่ความเข้มข้นสูงตั้งแต่ 156.25 จนถึง 5000 $\mu\text{g/ml}$ เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังพบว่าค่าต่ำกว่า 0 แสดงถึงความไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังเลย แผ่นเส้นใยดังกล่าวจึงสามารถนำไปใช้กับผิวหนังของคนได้โดยไม่เป็นพิษ

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

เส้นไหมเป็นเส้นใยธรรมชาติ ประกอบด้วยโปรตีนสำคัญ 2 ชนิด โดยแกนกลางเป็นเส้นใยโปรตีนไฟโบรอิน (fibroin) 2 เส้น ถูกหุ้มเคลือบด้วยโปรตีนเซรีซิน (sericin) ที่เป็นกาวไหม ช่วยยึดเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินไว้ด้วยกัน ทั้งโปรตีนไฟโบรอิน และโปรตีนเซรีซินจากเส้นไหม เป็นโปรตีนธรรมชาติที่มีความเข้ากันได้กับเซลล์หรือเนื้อเยื่อของมนุษย์ (biocompatibility) และสลายตัวได้ตามธรรมชาติ (biodegradability) จึงได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ทำวัสดุทางการแพทย์ โดยในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นที่การผลิตแผ่นวัสดุปิดแผล (wound dressing) ทางกายภาพ โดยในส่วนโปรตีนเซรีซินมีคุณสมบัติที่สำคัญในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญในการผลิตเป็นแผ่นวัสดุปิดแผลทางการแพทย์อีกด้วย

ในงานวิจัยนี้ได้นำโปรตีนไหมไฟโบรอินที่สกัดได้จากเส้นไหม *Bombyx mori* พันธุ์ไทย ซึ่งมีสีเหลือง มาขึ้นรูปเป็นเส้นใยที่มีขนาดเล็กมากในระดับไมโครเมตรถึงนาโนเมตร โดยกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospinning) โดยเส้นใยจะสานกันมีลักษณะเป็นแผ่นเส้นใยที่ไม่ได้ทอ (non-woven mat) คล้ายแผ่นฟิล์ม แผ่นเส้นใยมีความเป็นรูพรุนสูง และมีค่าอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อมวลที่สูงด้วย จึงเหมาะกับการขึ้นรูปเป็นแผ่นปิดแผลทางการแพทย์ ทั้งนี้ในงานวิจัยได้หาสภาวะที่เหมาะสมในการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตของโปรตีนไฟโบรอิน ได้แก่ ตัวทำละลายสำหรับโปรตีนไฟโบรอิน และความเข้มข้นของสารละลาย โดยได้ศึกษาความเหมาะสมจากลักษณะและขนาดของเส้นใยที่ปั่นได้ นอกจากนี้ได้นำโปรตีนเซรีซิน ซึ่งมีสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ผสมกับสารละลายโปรตีนไฟโบรอิน ที่อัตราส่วนต่างๆ ตั้งแต่ 20 ถึง 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และขึ้นรูปเป็นแผ่นเส้นใยด้วยการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต และศึกษาลักษณะและขนาดของเส้นใย ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใย และความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง เพื่อนำไปประยุกต์ใช้งานเป็นวัสดุปิดแผลต้านเชื้อแบคทีเรียทางการแพทย์

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะและขนาดเส้นใยของโปรตีนไฟโบรอินที่ผลิตด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลายสำหรับโปรตีนไหมไฟโบรอิน และความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอิน โดยการศึกษาชนิดของตัวทำละลายได้เปรียบเทียบกับสารละลายโปรตีนไฟโบรอินในตัวทำละลายกรดไตรฟลูออโรอะซิติกกับกรดฟอร์มิก ที่ความเข้มข้น 10 ถึง 40 %โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก เมื่อนำมาปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต พบว่าสารละลายโปรตีนไฟโบรอินในตัวทำละลายกรดไตรฟลูออโรอะซิติก ที่ความเข้มข้นต่ำ (10-20%

โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก) จะเกิดเป็นเส้นใยจำนวนมากได้ดีกว่า และมีเม็ดปมจำนวนน้อยกว่า และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 30-40 % โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก เส้นใยที่เกิดจากตัวทำละลายกรดไตรฟลูออโรอะซิติกมีขนาดใหญ่กว่า ดังนั้นกรดไตรฟลูออโรอะซิติกจึงเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการผลิตโปรตีนไหมไฟโบรอินด้วยไฟฟ้าสถิต

ในส่วนของการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอิน ได้เตรียมสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอินในกรดไตรฟลูออโรอะซิติก ที่ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 % โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ตามลำดับ นำมาปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตโดยสภาวะที่ใช้ในการปั่นเส้นใย ได้แก่ ศักย์ไฟฟ้าที่ 20 กิโลโวลต์ และปรับระยะห่างจากปลายเข็มฉีดยาถึงแผ่นรองรับเส้นใย 15 เซนติเมตร ควบคุมการไหลของสารละลายที่อัตราเร็ว 20 ไมโครลิตรต่อวินาที เส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอินที่มีขนาดเล็กระดับนาโนเมตรนั้นจะเริ่มเกิดขึ้นเมื่อสารละลายมีความเข้มข้น 10 % โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก แต่จะมีเม็ดปมบนเส้นใยจำนวนมากเช่นกัน และเมื่อสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอินมีความเข้มข้นสูงขึ้นหรือมีความหนืดสูงมากขึ้น ที่ความเข้มข้น 30, 35 และ 40 % โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก จะไม่พบเม็ดปมบนเส้นใย และพบว่าเส้นใยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่มากขึ้น เมื่อสารละลายมีความหนืดสูงหรือมีความเข้มข้นสูง โดยมีขนาดเส้นใย 528, 938 และ 1098 นาโนเมตร ตามลำดับ

แต่อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอินในกรดไตรฟลูออโรอะซิติกที่เลือกมาทำการวิจัยต่อ โดยนำมาผสมกับโปรตีนเซรีซิน ได้แก่ ที่ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอิน 30 % โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ทั้งนี้เนื่องจากที่ความเข้มข้นดังกล่าวผลิตเป็นเส้นใยที่มีลักษณะเรียบ ไม่มีเม็ดปมบนเส้นใย และมีขนาดเส้นใยที่ไม่ใหญ่มากจนเกินไป อีกทั้งมีเส้นใยมีจำนวนมาก โดยปริมาณผงเซรีซินที่ผสมกับสารละลายโปรตีนไหมไฟโบรอิน ได้แก่ ที่ปริมาณ 20, 30, 40 และ 50 % โดยน้ำหนัก เมื่อบั่นเป็นแผ่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตได้แผ่นเส้นใยที่มีผิวเรียบ สีของแผ่นเส้นใยจะเข้มข้นเป็นสีเหลืองอ่อน เมื่อปริมาณเซรีซินเพิ่มขึ้น และเมื่อศึกษาเส้นใยด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope : SEM) พบว่าเส้นใยที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นกลมและมีผิวเรียบ ไม่มีการเกาะรวมตัวของโปรตีนเซรีซินบนผิวเส้นใย แสดงว่าโปรตีนเซรีซินเข้ากันได้ดีกับโปรตีนไหมไฟโบรอิน และเมื่อปริมาณโปรตีนเซรีซินเพิ่มมากขึ้น พบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยมีแนวโน้มที่ใหญ่ขึ้น โดยมีขนาดอยู่ในช่วง 812 – 1064 นาโนเมตร

แผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไหมไฟโบรอินทั้งที่ไม่ผสมและผสมเซรีซินปริมาณต่างๆ ที่เตรียมจากการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตนั้น ได้นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบนี้ มี 5 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25922, *Staphylococcus epidermis* DMST15505, *Streptococcus pyogenes* DMST30653 ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิด

แกรมบวก *Pseudomonas aeruginosa* DMST4739 และ *Escherichia coli* ATCC25922 เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบ แบคทีเรียดังกล่าวเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวหนังในคน จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยด้วยวิธี Agar disk diffusion เพื่อศึกษา clear zone ที่เกิดขึ้น พบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน 40% เริ่มพบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น เมื่อเพิ่มปริมาณเซรีซินเป็น 50 % แต่อย่างไรก็ตามฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียยังมีค่าน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นปิดแผลทางการค้า 3 ชนิด ได้แก่ Acticoat Aquacel และ Tegaderm สำหรับแผ่นปิดแผลทางการค้านี้ Acticoat ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด

เนื่องจากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disk diffusion จะพบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินที่เตรียมได้ สามารถละลายน้ำได้ ซึ่งเมื่อวางชิ้นตัวอย่างของแผ่นเส้นใยบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว แผ่นเส้นใยจะละลายหดรตัวเล็กลง ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนไฟโบรอินมีโครงสร้างโมเลกุลเป็นแบบส้อม ดังนั้นเพื่อปรับปรุงแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินไม่ให้ละลายน้ำได้ จึงนำไปแช่ในสารละลายเมทานอลผสมน้ำที่อัตราส่วน 90 : 10 เป็นเวลา 10 นาที โครงสร้างโมเลกุลของโปรตีนไฟโบรอินจะเปลี่ยนโครงสร้างจากแบบส้อมเป็นแบบเบต้าชีท แต่อย่างไรก็ตามเมื่อแผ่นเส้นใยแห้ง จะได้แผ่นเส้นใยที่ไม่เรียบแบน การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disk diffusion จึงไม่เหมาะสม ดังนั้นได้นำแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินบ่มแช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MU broth ที่เวลาต่างๆ ได้แก่ 0, 1, 3, 5 และ 8 ชั่วโมง และศึกษาปริมาณของแบคทีเรียจากการดูกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียก่อนการบ่มและหลังบ่มที่ระยะเวลาต่างๆ และได้นำของเหลวจากการบ่มเชื้อ มาบ่มเลี้ยงเชื้อต่อบน Agar เพื่อนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) และคำนวณเทียบหาอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียก่อนการบ่มและหลังที่ระยะเวลาต่างๆ เช่นเดียวกัน

พบว่าฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียโดยศึกษาจากอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียจากทั้ง 2 เทคนิค ได้แก่ การวัดค่าการดูกลืนแสง และการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินโปรตีนไฟโบรอิน มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่ศึกษาน้อยมาก ที่ระยะเวลาการบ่มแช่แผ่นเส้นใยในอาหารเลี้ยงเชื้อ 8 ชั่วโมง ยังมีอัตราการรอดชีวิตประมาณร้อยละ 80 แต่เมื่อผสมเซรีซินปริมาณ 40 และ 50% โดยน้ำหนัก พบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่ศึกษาเพิ่มมากขึ้น โดยอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่รอดชีวิตมีปริมาณลดลงมาก ทั้งนี้เมื่อปริมาณเซรีซินเพิ่มมากขึ้นเป็น 50% โดยน้ำหนัก อัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่รอดชีวิตมีปริมาณลดลงมากกว่าปริมาณเซรีซิน 40 %โดยน้ำหนัก เมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาการบ่มเชื้อที่เท่ากัน อย่างไรก็ตามจากการนับจำนวน

โคโลนี พบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน 50 %โดยน้ำหนัก เมื่อบ่มแช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง ยังคงมีแบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่ โดยอัตราการรอดชีวิตอยู่ในช่วงร้อยละ 10-20 แต่เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียจากการคำนวณอัตราการรอดชีวิตโดยการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ของแผ่นปิดแผลทางการค้าชนิด Acticoat พบว่าแผ่นปิดแผลทางการค้านี้มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ตีมากกว่า โดยไม่พบแบคทีเรียที่รอดชีวิต เมื่อเริ่มบ่มแช่แผ่นปิดแผลในอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งแต่ 1 ชั่วโมง

แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซิน 50 %โดยน้ำหนัก นำมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของคน (human dermal fibroblast (HDFn)) ด้วยวิธี resazurin microplate assay (REMA) และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษพบว่าแผ่นเส้นใยทั้ง 2 ชนิด ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง สามารถนำไปใช้กับผิวหนังของคนได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินทั้งที่ผสมและไม่ผสมเซรีซิน สามารถละลายน้ำได้เมื่อนำมาแช่ในสารละลายเมทานอลผสมน้ำที่อัตราส่วน 90 : 10 เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างโมเลกุลทำให้ไม่ละลายน้ำ เมื่อแผ่นเส้นใยแห้งแล้ว จะไม่เรียบและค่อนข้างกรอบ ทำให้อาจไม่เหมาะสมต่อการนำไปใช้งาน จึงควรหาวิธีอื่นในการเปลี่ยนโครงสร้างโมเลกุลนี้ นอกจากนี้แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินผสมเซรีซินที่ปริมาณสูงสุดคือ 50 %โดยน้ำหนัก เมื่อทดสอบฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียยังพบว่าฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียยังไม่มากเมื่อเทียบกับแผ่นปิดแผลด้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้า แต่อย่างไรก็ตามการใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการผลิตแผ่นปิดแผลทางการแพทย์นี้ อาจได้สมบัติที่ไม่เทียบเท่ากับสารสังเคราะห์ ซึ่งหากต้องการสมบัติที่ดีอาจต้องผสมกับสารสังเคราะห์บ้าง แต่ลดปริมาณลงน้อยกว่าการใช้สารสังเคราะห์เพียงอย่างเดียว

บรรณานุกรม

- ชิตชนก มิตรอุปถัมภ์, สุจินดา จิตต์ใจฉ่ำ, พิชญ์ ศุภผล และมานิตย์ นิธิธนากุล. (2546). หลักการและประโยชน์การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต. *ส่งเสริมเทคโนโลยี*, ธันวาคม 2546 – มกราคม 2547, 147-155.
- ชิตชนก มีใจชื่อ. (2550). รายงานการวิจัย เรื่อง การผลิตเส้นใยไหมระดับนาโนเมตรโดยกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต. มหาวิทยาลัยรามคำแหง.
- วีระศักดิ์ อุดมกิจเดชา. 2542. วิทยาศาสตร์เส้นใย. กรุงเทพมหานคร. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นวลแข ปาลิวนิช. 2542. ความรู้เรื่องผ้าและเส้นใย (ฉบับปรับปรุงใหม่). กรุงเทพมหานคร. ซีเอ็ดยูเคชั่น.
- มณฑา จันทรเกตุเลียด. 2541. วิทยาศาสตร์สิ่งทอเบื้องต้น. กรุงเทพมหานคร. สมาคมคหเศรษฐศาสตร์แห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์.
- สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน). 2553. มหัศจรรย์ผงไหม. กรุงเทพมหานคร. โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ.
- วิมลรัตน์ ศรีจรัสสิน. 2551. เทคโนโลยีสิ่งทอเบื้องต้น. กรุงเทพมหานคร. บริษัท คราฟแมนเพรส จำกัด.
- Arayanarakul, K., Choktaweessap, N., Aht-ong, D., Meechaisue, C., and Supaphol, P. (2006). Effects of poly(ethylene glycol), inorganic salt, sodium dodecyl sulfate, and solvent system on electrospinning of poly(ethylene oxide). *Macromolecule Materials and Engineering*, 291, 581-591.
- Altman, G. H., Diaz, F., Jakuba, C., Calabro, T., Horan, R. L., Chen, J., Lu, H., Richmond, J., and Kaplan, D. L. 2003. Silk-based biomaterials. *Biomaterials*. 24: 401-416.
- Doshi, J. and Reneker, D. H. (1995). Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *Journal of Electrostatics*, 35, 151-160.
- Baumgarten, P. K. (1971). Electrostatic spinning of acrylic microfibers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 36(1), 71-79.

- Buchko, C. J., Chen, L. C., Shen, Y., and Martin, D. C. (1999). Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films. *Polymer*, 40, 7397-7404.
- Wenk, E., Merkle, H. P., and Meinel, L. 2011. Silk fibroin as a vehicle for drug delivery application. *Journal of Controlled Release*. 150: 128-141.
- Zhang, X., Reagan, M. R., and Kaplan, D. L. 2009. Electrospun silk biomaterial scaffolds for regenerative medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 61: 988-1006.
- Zhang, Y. 2002. Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. *Biotechnology Advances*. 20: 91-100.
- Hardy, J. G., Romer, L. M., and Scheibel, T. R. 2008. Polymeric materials based on silk proteins. *Polymer*. 49: 4309-4327.
- Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W., Lim, T., and Ma, Z. 2005. An introduction to electrospinning and nanofibers. Singapore. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.
- Hang, Y., Zhang, Y., Jin, Y., Shao, H., and Hu, X. 2012. Preparation of regenerated silk fibroin/silk sericin fibers by coaxial electrospinning. *International Journal of Biological Macromolecules*. 51: 980-986.
- Zhang, X., Khan, M. R., Yamamoto, T., Tsukada, M., and Morikawa, H. 2012. Fabrication of silk sericin nanofibers from a silk sericin-hope cocoon with electrospinning method. *International Journal of Biological Macromolecules*. 50: 337-347.
- Zhao, R., Li, X., Sun, B., Zhang, Y., Zhang, D., Tang, Z., Chen, X., and Wang, C. 2014. Electrospun chitosan/sericin composite nanofibers with antibacterial property as potential wound dressings. *International Journal of Biological Macromolecules*. 68: 92-97.
- Meechaisue, C., Wutticharoenmongkol, P., Waraput, R., Huangjing, T., Ketbumrung, N., Pavasant, P., and Supaphol, P. 2007. Preparation of Electrospun Silk Fibroin Fiber Mats as Bone Scaffolds: A Preliminary

- Study. *Biomedical Materials*. 2(3): 181-188.
- Baumgarten, P. K. (1971). Electrostatic spinning of acrylic microfibers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 36(1), 71-79.
- Buchko, C. J., Chen, L. C., Shen, Y., and Martin, D. C. (1999). Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films. *Polymer*, 40, 7397-7404.
- Ignatova, M., Starbova, K., Markova, N., Manolova, N., and Rashkov, I. (2006). Electrospun nano-fibre mats with antibacterial properties from quaternised chitosan and poly(vinyl alcohol). *Carbohydrate Research*, 341, 2098-2107.
- Innes, M. E., Umraw, N., Fish, J. S., Gomez, M., and Cartotto, R. C. (2001). The use of silver coated dressings on donor site wounds: a prospective, controlled matched pair study. *Burns*, 27, 621-627.
- Kenawy, E. R., Bowlin, G. L., Mansfield, K., Layman, J., Simpson, D. G., Sanders, E. H., and Wnek, G. E. (2002). Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(ethylene-co-vinylacetate), poly(lactic acid), and a blend. *Journal of Controlled Release*, 81, 57-64.
- Kenawy, E. R., Layman, J. M., Watkins, J. R., Bowlin, G. L., Matthews, J. A., Simpson, D. G., and Wnek, G. E. (2003). Electrospinning of poly(ethylene-co-vinyl alcohol) fibers. *Biomaterials*, 24, 907-913.
- Khil, M. S., Cha, D. I., Kim, H. Y., Kim, I. S., and Bhattarai, N. (2003). Electrospun nanofibrous polyurethane membrane as wound dressing. *Journal of Biomedical Materials Research*, 67B, 675-679.
- Li, W., Laurencin, C.T., Caterson, E. J., Tuan, R. S., and Ko, F. K. (2002). Electrospun nanofibrous structure : A novel scaffold for tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research*, 60, 613-621.
- Liu, H. and Hsieh, Y. L. (2002). Ultra-fine fibrous cellulose membranes from electrospinning of cellulose acetate. *Journal of Polymer Science-Polymer Physics*, 40, 2119-2129.
- Meechaisue, C., Dubin, R., Supaphol, P., Hoven, V. P., and Kohn, J. (2006). Electrospun mat of tyrosine-derived polycarbonate fibers for potential use

- as tissue scaffolding material. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 17(9), 1039-1056.
- Mit-uppatham, C., Nithitanakul, M., and Supaphol, P. (2004). Ultrafine electrospun polyamide-6 fibers: effect of solution conditions on morphology and average fiber diameter. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 205, 2327-2338.
- Ovington, L. G. (2007). Advances in wound dressings. *Clinics in Dermatology*, 25, 33-38.
- Reneker, D. H., Yarin, A. L., Fong, H., and Koombhongse, S. (2000). Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in electrospinning. *Journal of Applied Physics*, 87, 4531-4547.
- Rivera, A. E. and Spencer, J. M. (2007). Clinical aspects of full-thickness wound healing. *Clinics in Dermatology*, 25, 39-48.
- Rujitanaroj, P., Pimpha, N., and Supaphol, P. (2008). Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun gelatin fiber mats containing silver nanoparticles. *Polymer*, 49, 4723-4732.
- Son, W. K., Youk, J. H., and Park, W. H. (2006). Antimicrobial cellulose acetate nanofibers containing silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 65, 430-434.
- Stashak, T. S., Farstvedt, E., and Othick, A. (2004). Update on wound dressings: indications and best use. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 148-163.
- Supaphol, P., Mit-uppatham, C., and Nithitanakul, M. (2005). Ultrafine electrospun polyamide-6 fibers: effects of solvent system and emitting electrode polarity on morphology and average fiber diameter. *Macromolecular Materials and Engineering*, 290, 933-942.
- Supaphol, P., Mit-uppatham, C., and Nithitanakul, M. (2005). Ultrafine electrospun polyamide-6 fibers: effect of emitting electrode polarity on morphology and average fiber diameter. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, 43, 3699-3712.
- Sutasinpromprae, J., Jitjaicham, S., Nithitanakul, M., Meechaisue, C., and Supaphol, P. (2006). Preparation and characterization of ultrafine electrospun

- polyacrylonitrile fibers and their subsequent pyrolysis to carbon fibers. *Polymer International*, 55, 825-833.
- Tungprapa, S., Puangparn, T., Weerasombut, M., Jangchud, I., Fakum, P., Semongkhon, S., Meechaisue, C., and Supaphol, P. (2007). Electrospun cellulose acetate fibers: effect of solvent system on morphology and fiber diameter. *Cellulose*, 14, 563-575.
- Wang, Y., Yang, Q., Shan, G., Wang, C., Du, J., Wang, S., Li, Y., Chen, X., Jing, X., and Wei, Y. (2005). Preparation of silver nanoparticles dispersed in polyacrylonitrile nanofiber film spun by electrospinning. *Materials Letters*, 59, 3046-3049.
- Xu, X., Yang, Q., Wang, Y., Yu, H., Chen, X., and Jing, X. (2006). Biodegradable electrospun poly(L-lactide) fibers containing antibacterial silver nanoparticles. *European Polymer Journal*, 42, 2081-2087.
- Yoshimoto, H., Shin, Y. M., Terai, H., and Vacanti, J. P. (2003). A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 24, 2077-2082.
- Zeng, J., Xu, X., Chen, X., Liang, Q., Bian, X., Yang, L., and Jing, X. (2003). Biodegradable electrospun fibers for drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 92, 227-231.

ภาคผนวก
ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

ก. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disk diffusion

ตาราง ก.1 ผลการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (ซม.) ของสารละลายโปรตีนเซรีซิน และโปรตีนไฟโบรอินที่ความเข้มข้นต่างๆ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นกระดาษกรองที่จุ่มสารละลาย = 1 ซม.)

เชื้อแบคทีเรีย สารละลาย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย + ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
<i>S. aureus</i> ATCC25922			
เซรีซิน 2.5 มก./มล.	n/a	n/a	n/a
เซรีซิน 5.0 มก./มล.	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
เซรีซิน 10 มก./มล.	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน 10 มก./มล.	n/a	n/a	n/a
<i>S. epidermidis</i> DMST15505			
เซรีซิน 2.5 มก./มล.	n/a	n/a	n/a
เซรีซิน 5.0 มก./มล.	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
เซรีซิน 10 มก./มล.	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน 10 มก./มล.	n/a	n/a	n/a
<i>S. pyogenes</i> DMST30653			
เซรีซิน 2.5 มก./มล.	n/a	n/a	n/a
เซรีซิน 5.0 มก./มล.	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
เซรีซิน 10 มก./มล.	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน 10 มก./มล.	n/a	n/a	n/a
<i>P. aeruginosa</i> DMST4739			
เซรีซิน 2.5 มก./มล.	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
เซรีซิน 5.0 มก./มล.	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
เซรีซิน 10 มก./มล.	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน 10 มก./มล.	n/a	n/a	n/a
<i>E. coli</i> ATCC25922			
เซรีซิน 2.5 มก./มล.	n/a	n/a	n/a
เซรีซิน 5.0 มก./มล.	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
เซรีซิน 10 มก./มล.	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน 10 มก./มล.	n/a	n/a	n/a

ตาราง ก.2 ผลการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (ซม.) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินที่ไม่ผสมและผสมโปรตีนเซรีซินที่ปริมาณต่างๆ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นเส้นใย = 1 ซม.)

เชื้อแบคทีเรีย ชนิดแผ่นเส้นใย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย + ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
<i>S. aureus</i> ATCC25922			
ไฟโบรอิน	n/a	n/a	n/a
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 20%	n/a	n/a	n/a
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 30%	n/a	n/a	n/a
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
<i>S. epidermidis</i> DMST15505			
ไฟโบรอิน	n/a	n/a	n/a
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 20%	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 30%	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%	1.2	1.2	1.2 ± 0.0
<i>S. pyogenes</i> DMST30653			
ไฟโบรอิน	n/a	n/a	n/a
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 20%	n/a	n/a	n/a
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 30%	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%	1.2	1.2	1.2 ± 0.0
<i>P. aeruginosa</i> DMST4739			
ไฟโบรอิน	n/a	n/a	n/a
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 20%	n/a	n/a	n/a
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 30%	n/a	n/a	n/a
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%	1.2	1.2	1.2 ± 0.0
<i>E. coli</i> ATCC25922			
ไฟโบรอิน	n/a	n/a	n/a
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 20%	n/a	n/a	n/a
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 30%	n/a	n/a	n/a
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%	1.1	1.1	1.1 ± 0.0
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%	1.1	1.1	1.1 ± 0.0

ตาราง ก.3 ผลการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (ซม.) ของแผ่นปิดแผลด้านเชื้อแบคทีเรียทางการค้า (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นปิดแผล = 1 ซม.)

เชื้อแบคทีเรีย สารละลาย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย + ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
<i>S. aureus</i> ATCC25922			
Aquacel	2.0	2.2	2.1 ± 0.1
Acticoat	2.5	2.5	2.5 ± 0.0
Tegaderm	1.3	1.4	1.5 ± 0.1
<i>S. epidermidis</i> DMST15505			
Aquacel	1.7	1.7	1.7 ± 0.0
Acticoat	1.8	1.8	1.8 ± 0.0
Tegaderm	1.6	1.7	1.8 ± 0.1
<i>S. pyogenes</i> DMST30653			
Aquacel	1.4	1.4	1.4 ± 0.0
Acticoat	2.0	2.0	2.0 ± 0.0
Tegaderm	1.3	1.3	1.3 ± 0.0
<i>P. aeruginosa</i> DMST4739			
Aquacel	1.7	1.7	1.7 ± 0.0
Acticoat	2.0	2.0	2.0 ± 0.0
Tegaderm	1.3	1.3	1.3 ± 0.0
<i>E. coli</i> ATCC25922			
Aquacel	1.9	1.9	1.9 ± 0.0
Acticoat	1.4	1.6	1.5 ± 0.1
Tegaderm	1.5	1.5	1.5 ± 0.0

ข. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง

ตาราง ข.1 ผลการดูดกลืนแสงของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินที่ไม่ผสมและผสมโปรตีนเซรีซิน และแผ่นปิดแผลทางการค้า Acticoat เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ที่เวลาต่างๆ

แผ่นทดสอบ ระยะเวลาบ่ม	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย + ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ไฟโบรอิน			
0 ชม.	0.866	0.858	0.862 ± 0.006
1 ชม.	0.844	0.857	0.851 ± 0.009
3 ชม.	0.840	0.842	0.841 ± 0.001
5 ชม.	0.865	0.841	0.853 ± 0.017
8 ชม.	0.874	0.977	0.926 ± 0.073
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%			
0 ชม.	0.926	0.952	0.939 ± 0.018
1 ชม.	0.834	0.858	0.846 ± 0.017
3 ชม.	0.754	0.632	0.693 ± 0.086
5 ชม.	0.596	0.524	0.560 ± 0.051
8 ชม.	0.422	0.482	0.452 ± 0.042
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%			
0 ชม.	0.956	1.162	1.059 ± 0.146
1 ชม.	0.854	0.850	0.852 ± 0.003
3 ชม.	0.738	0.556	0.647 ± 0.129
5 ชม.	0.492	0.682	0.587 ± 0.134
8 ชม.	0.416	0.412	0.414 ± 0.003
Acticoat			
0 ชม.	1.542	1.928	1.735 ± 0.273
1 ชม.	0.978	0.951	0.965 ± 0.019
3 ชม.	0.836	0.893	0.865 ± 0.040
5 ชม.	0.872	0.696	0.784 ± 0.124
8 ชม.	0.682	0.686	0.684 ± 0.003

ตาราง ข.2 ผลการดูดกลืนแสงของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินที่ไม่ผสมและผสมโปรตีนเซรีซิน และแผ่นปิดแผลทางการค้า Acticoat เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ที่เวลาต่างๆ

แผ่นทดสอบ ระยะเวลาบ่ม	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย + ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ไฟโบรอิน			
0 ชม.	0.958	1.052	1.005 ± 0.066
1 ชม.	0.932	0.955	0.944 ± 0.016
3 ชม.	0.978	0.946	0.962 ± 0.023
5 ชม.	0.814	0.836	0.825 ± 0.016
8 ชม.	0.908	0.872	0.890 ± 0.025
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%			
0 ชม.	0.982	0.934	0.958 ± 0.034
1 ชม.	0.822	0.834	0.828 ± 0.008
3 ชม.	0.880	0.846	0.863 ± 0.024
5 ชม.	0.705	0.820	0.763 ± 0.081
8 ชม.	0.682	0.736	0.709 ± 0.038
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%			
0 ชม.	0.944	0.956	0.950 ± 0.008
1 ชม.	0.632	0.634	0.633 ± 0.001
3 ชม.	0.486	0.658	0.572 ± 0.122
5 ชม.	0.518	0.504	0.511 ± 0.010
8 ชม.	0.124	0.164	0.144 ± 0.028
Acticoat			
0 ชม.	1.269	1.124	1.197 ± 0.103
1 ชม.	0.882	0.962	0.922 ± 0.057
3 ชม.	0.778	0.705	0.742 ± 0.052
5 ชม.	0.698	0.736	0.717 ± 0.027
8 ชม.	0.662	0.582	0.622 ± 0.057

ตาราง ข.3 ผลการดูดกลืนแสงของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินที่ไม่ผสมและผสมโปรตีนเซรีซิน และแผ่นปิดแผลทางการค้า Acticoat เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. pyogenes* ที่เวลาต่างๆ

แผ่นทดสอบ ระยะเวลาบ่ม	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย + ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ไฟโบรอิน			
0 ชม.	0.982	0.974	0.978 ± 0.006
1 ชม.	0.924	0.942	0.933 ± 0.013
3 ชม.	0.893	0.821	0.857 ± 0.051
5 ชม.	0.742	0.786	0.764 ± 0.031
8 ชม.	0.906	0.730	0.818 ± 0.124
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%			
0 ชม.	0.973	0.966	0.970 ± 0.005
1 ชม.	0.876	0.830	0.853 ± 0.033
3 ชม.	0.792	0.802	0.797 ± 0.007
5 ชม.	0.711	0.748	0.730 ± 0.026
8 ชม.	0.627	0.686	0.657 ± 0.042
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%			
0 ชม.	0.987	0.962	0.975 ± 0.018
1 ชม.	0.890	0.793	0.842 ± 0.069
3 ชม.	0.718	0.728	0.723 ± 0.007
5 ชม.	0.694	0.680	0.687 ± 0.010
8 ชม.	0.602	0.508	0.555 ± 0.066
Acticoat			
0 ชม.	1.332	1.387	1.360 ± 0.039
1 ชม.	0.962	0.958	0.960 ± 0.003
3 ชม.	0.965	0.922	0.944 ± 0.030
5 ชม.	0.852	0.793	0.823 ± 0.042
8 ชม.	0.832	0.721	0.777 ± 0.078

ตาราง ข.4 ผลการดูดกลืนแสงของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินที่ไม่ผสมและผสมโปรตีนเซรีซิน และแผ่นปิดแผลทางการค้า Acticoat เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ที่เวลาต่างๆ

แผ่นทดสอบ ระยะเวลาบ่ม	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย + ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ไฟโบรอิน			
0 ชม.	0.957	0.966	0.962 ± 0.006
1 ชม.	0.948	0.926	0.937 ± 0.016
3 ชม.	0.834	0.852	0.843 ± 0.013
5 ชม.	0.822	0.826	0.824 ± 0.003
8 ชม.	0.818	0.802	0.810 ± 0.011
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%			
0 ชม.	1.058	0.964	1.011 ± 0.066
1 ชม.	0.954	0.978	0.966 ± 0.017
3 ชม.	0.816	0.821	0.819 ± 0.004
5 ชม.	0.714	0.722	0.718 ± 0.006
8 ชม.	0.650	0.715	0.683 ± 0.046
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%			
0 ชม.	0.924	0.962	0.943 ± 0.027
1 ชม.	0.792	0.910	0.851 ± 0.083
3 ชม.	0.644	0.785	0.715 ± 0.100
5 ชม.	0.466	0.502	0.484 ± 0.025
8 ชม.	0.488	0.320	0.404 ± 0.119
Acticoat			
0 ชม.	1.122	1.404	1.263 ± 0.199
1 ชม.	1.056	1.236	1.146 ± 0.127
3 ชม.	0.976	1.196	1.086 ± 0.156
5 ชม.	0.924	1.152	1.038 ± 0.161
8 ชม.	0.861	0.826	0.844 ± 0.025

ตาราง ข.5 ผลการดูดกลืนแสงของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินที่ไม่ผสมและผสมโปรตีนเซรีซิน และแผ่นปิดแผลทางการค้า Acticoat เมื่อบ่มแช่ในอาหารเหลวที่เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ที่เวลาต่างๆ

แผ่นทดสอบ ระยะเวลาบ่ม	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย + ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ไฟโบรอิน			
0 ชม.	1.094	0.965	1.030 ± 0.091
1 ชม.	0.956	0.964	0.960 ± 0.006
3 ชม.	0.924	0.946	0.935 ± 0.016
5 ชม.	0.866	0.952	0.909 ± 0.061
8 ชม.	0.934	0.818	0.876 ± 0.082
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%			
0 ชม.	0.982	0.901	0.942 ± 0.057
1 ชม.	0.922	0.920	0.921 ± 0.001
3 ชม.	0.882	0.834	0.858 ± 0.034
5 ชม.	0.714	0.781	0.748 ± 0.047
8 ชม.	0.612	0.578	0.595 ± 0.024
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%			
0 ชม.	0.957	0.965	0.961 ± 0.006
1 ชม.	0.826	0.858	0.842 ± 0.023
3 ชม.	0.686	0.678	0.682 ± 0.006
5 ชม.	0.776	0.524	0.650 ± 0.178
8 ชม.	0.564	0.572	0.568 ± 0.006
Acticoat			
0 ชม.	1.522	1.404	1.463 ± 0.083
1 ชม.	1.214	1.196	1.205 ± 0.013
3 ชม.	1.056	1.236	1.146 ± 0.127
5 ชม.	1.140	1.138	1.139 ± 0.001
8 ชม.	0.924	0.826	0.875 ± 0.069

ค. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียโดยการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาณอาหาร 1 มิลลิลิตร

ตาราง ค.1 จำนวนโคโลนี *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาณอาหาร 1 มิลลิลิตร ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินที่ไม่ผสมและผสมโปรตีนเซรีซิน และแผ่นปิดแผลทางการค้า Acticoat ที่ระยะเวลาในการบ่มต่างๆ

แผ่นทดสอบ ระยะเวลาบ่ม	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
ไฟโบรอิน			
0 ชม.	5.00E+08	4.00E+08	4.50E+08
1 ชม.	4.00E+08	4.00E+08	4.00E+08
3 ชม.	4.00E+08	3.00E+08	3.50E+08
5 ชม.	4.00E+08	4.00E+08	4.00E+08
8 ชม.	4.10E+08	4.50E+08	4.30E+08
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%			
0 ชม.	1.40E+06	1.60E+06	1.50E+06
1 ชม.	1.20E+06	1.40E+06	1.30E+06
3 ชม.	4.20E+05	4.90E+05	4.55E+05
5 ชม.	3.00E+05	3.00E+05	3.00E+05
8 ชม.	4.00E+05	2.00E+05	3.00E+05
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%			
0 ชม.	5.00E+08	4.00E+08	4.50E+08
1 ชม.	3.00E+08	3.00E+08	3.00E+08
3 ชม.	1.90E+08	2.30E+08	2.10E+08
5 ชม.	7.00E+07	6.00E+07	6.50E+08
8 ชม.	6.00E+07	5.00E+07	5.50E+08
Acticoat			
0 ชม.	1.30E+06	1.30E+06	1.30E+06
1 ชม.	-	-	-
3 ชม.	-	-	-
5 ชม.	-	-	-
8 ชม.	-	-	-

ตาราง ค.2 จำนวนโคโลนี *S. epidermidis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาตรอาหาร 1 มิลลิตร ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินที่ไม่ผสมและผสมโปรตีนเซรีซิน และแผ่นปิดแผลทางการค้า Acticoat ที่ระยะเวลาในการบ่มต่างๆ

แผ่นทดสอบ ระยะเวลาบ่ม	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
ไฟโบรอิน			
0 ชม.	3.00E+06	3.00E+06	3.00E+06
1 ชม.	2.70E+06	2.90E+06	2.80E+06
3 ชม.	2.50E+06	2.50E+06	2.50E+06
5 ชม.	2.30E+06	2.70E+06	2.50E+06
8 ชม.	2.00E+06	2.00E+06	2.00E+06
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%			
0 ชม.	6.00E+06	6.00E+06	6.00E+06
1 ชม.	4.00E+06	3.20E+06	3.60E+06
3 ชม.	2.50E+06	2.50E+06	2.50E+06
5 ชม.	2.10E+06	2.30E+06	2.20E+06
8 ชม.	2.00E+06	2.20E+06	2.10E+06
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%			
0 ชม.	1.00E+05	1.00E+05	1.00E+05
1 ชม.	7.00E+04	9.00E+04	8.00E+04
3 ชม.	4.00E+04	5.00E+04	4.50E+04
5 ชม.	2.10E+04	2.22E+04	2.15E+04
8 ชม.	1.00E+04	1.00E+04	1.00E+04
Acticoat			
0 ชม.	8.00E+07	6.00E+07	8.00E+07
1 ชม.	-	-	-
3 ชม.	-	-	-
5 ชม.	-	-	-
8 ชม.	-	-	-

ตาราง ค.3 จำนวนโคโลนี *S. pyogenes* บนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาณอาหาร 1 มิลลิลิตร ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินที่ไม่ผสมและผสมโปรตีนเซรีซิน และแผ่นปิดแผลทางการค้า Acticoat ที่ระยะเวลาในการบ่มต่างๆ

แผ่นทดสอบ ระยะเวลาบ่ม	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
ไฟโบรอิน			
0 ชม.	8.00E+06	1.10E+05	9.50E+06
1 ชม.	8.30E+06	8.70E+06	8.50E+06
3 ชม.	8.20E+06	8.40E+06	8.30E+06
5 ชม.	7.60E+06	7.80E+06	7.70E+06
8 ชม.	7.50E+06	7.50E+06	7.50E+06
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%			
0 ชม.	1.00E+07	9.00E+08	9.50E+08
1 ชม.	9.00E+08	8.50E+08	8.70E+08
3 ชม.	5.60E+08	5.60E+08	5.60E+08
5 ชม.	3.10E+08	3.50E+08	3.30E+08
8 ชม.	3.00E+08	3.00E+08	3.00E+08
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%			
0 ชม.	3.20E+06	3.30E+06	3.25E+06
1 ชม.	3.00E+06	3.00E+06	3.00E+06
3 ชม.	3.00E+06	2.00E+06	2.50E+06
5 ชม.	9.20E+05	9.00E+05	9.10E+05
8 ชม.	8.00E+05	8.00E+05	8.00E+05
Acticoat			
0 ชม.	1.00E+07	9.00E+08	9.50E+08
1 ชม.	-	-	-
3 ชม.	-	-	-
5 ชม.	-	-	-
8 ชม.	-	-	-

ตาราง ค.4 จำนวนโคโลนี *P. aeruginosa* บนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาตรอาหาร 1 มิลลิลิตร ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินที่ไม่ผสมและผสมโปรตีนเซรีซิน และแผ่นปิดแผลทางการค้า Acticoat ที่ระยะเวลาในการบ่มต่างๆ

แผ่นทดสอบ ระยะเวลาบ่ม	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
ไฟโบรอิน			
0 ชม.	5.00E+10	5.00E+10	5.00E+10
1 ชม.	4.60E+10	5.00E+10	4.80E+10
3 ชม.	4.30E+10	4.30E+10	4.30E+10
5 ชม.	4.00E+10	4.60E+10	4.30E+10
8 ชม.	4.00E+10	4.00E+10	4.00E+10
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%			
0 ชม.	4.00E+09	4.00E+09	4.00E+09
1 ชม.	3.10E+09	3.20E+09	3.15E+09
3 ชม.	3.00E+09	3.00E+09	3.00E+09
5 ชม.	2.30E+09	2.70E+09	2.50E+09
8 ชม.	2.10E+09	1.70E+09	1.90E+09
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%			
0 ชม.	7.30E+08	7.70E+08	7.50E+08
1 ชม.	5.80E+08	5.60E+08	5.70E+08
3 ชม.	3.00E+08	3.00E+08	3.00E+08
5 ชม.	2.00E+08	2.00E+08	2.00E+08
8 ชม.	9.00E+07	9.00E+07	9.00E+07
Acticoat			
0 ชม.	4.00E+09	4.00E+09	4.00E+09
1 ชม.	-	-	-
3 ชม.	-	-	-
5 ชม.	-	-	-
8 ชม.	-	-	-

ตาราง ค.5 จำนวนโคโลนี *E. coli* บนอาหารเลี้ยงเชื้อในหน่วยของ colony forming unit (CFU) ต่อปริมาณอาหาร 1 มิลลิลิตร ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรตีนไฟโบรอินที่ไม่ผสมและผสมโปรตีนเซรีซิน และแผ่นปิดแผลทางการค้า Acticoat ที่ระยะเวลาในการบ่มต่างๆ

แผ่นทดสอบ ระยะเวลาบ่ม	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
ไฟโบรอิน			
0 ชม.	3.00E+05	3.00E+05	3.00E+05
1 ชม.	2.80E+05	3.00E+05	2.90E+05
3 ชม.	2.50E+05	2.50E+05	2.50E+05
5 ชม.	2.50E+05	3.00E+05	2.75E+05
8 ชม.	2.50E+05	2.00E+05	2.25E+05
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 40%			
0 ชม.	8.00E+06	1.10E+05	9.50E+06
1 ชม.	8.80E+06	7.30E+06	8.05E+06
3 ชม.	6.30E+06	6.30E+06	6.30E+06
5 ชม.	4.70E+06	4.60E+06	4.65E+06
8 ชม.	2.30E+06	2.30E+06	2.30E+06
ไฟโบรอิน+เซรีซิน 50%			
0 ชม.	5.00E+04	5.00E+04	5.00E+04
1 ชม.	3.30E+04	4.00E+04	3.65E+04
3 ชม.	2.70E+04	3.20E+04	2.95E+04
5 ชม.	1.50E+04	2.20E+04	1.85E+04
8 ชม.	1.00E+04	1.00E+04	1.00E+04
Acticoat			
0 ชม.	8.00E+06	1.10E+05	9.50E+06
1 ชม.	-	-	-
3 ชม.	-	-	-
5 ชม.	-	-	-
8 ชม.	-	-	-