บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาของปัญหา และแนวเหตุผลทฤษฎีที่สำคัญ

ในปัจจุบันนี้ มีผู้นิยมใช้น้ำมันพืชกันมากขึ้น ทั้งทางด้านบริโภคในครอบครัวและในงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ ตลอดจน วงการเภสัชกรรมได้ใช้น้ำมันพืชกันมาเป็นเวลานาน ในการทำยาเตรียมต่าง ๆ เช่น ยาทา ถู นวด (Liniment) ยาแขวนตะกอน (Suspension) ยาฉีดบางชนิด ครีม (Cream) และโลชั่น (Lotion) ที่ใช้กับผิวหนัง เพื่อให้ผิวหนังอ่อนนุ่มและชุ่มชื่น และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่าง ๆ ส่วนใหญ่น้ำมันที่ใช้ในการทำยาเตรียมต่าง ๆ เหล่านี้ คือ น้ำมันมะกอก (Olive oil) สกัดมาจากผลมะกอก ซึ่งมีมากแถบทะเลเมดิเตอเรเนียน และทวีปอเมริกาใต้ เช่น บราซิล เป็นต้น ประเทศไทย ต้องสั่งน้ำมันมะกอก เข้ามาจากต่างประเทศปีละหลายล้านบาท เพื่อใช้ในวงการอุตสาหกรรมต่าง ๆ

ในปี พ.ศ. 2522 สุหร่าย สายคร และคณะ[1] ได้ทดลองสกัดน้ำมันจากเมล็ดตีนเป็ดน้ำ (Seed of Cerbera odollam, Geartn) ต้นตีนเป็ดน้ำ (Cerbera odollam, Geartn)[2] เป็นพืชอยู่ในวงศ์ Apocynaceae เป็นพืชท้องถิ่น ชอบขึ้นอยู่ตามชายทะเล ชายน้ำ ในภูมิภาคเอเชียอาคเนย์ ในประเทศไทย ก็พบตามริมคลอง ริมแม่น้ำ ห้วยหนอง คลองบึง และชายฝั่งทะเล เป็นไม้ยืนต้น ขนาดกลาง มียางสีขาวในทุกส่วนของต้น ใบเขียวสด ยาวเรียวคล้ายใบสารภี ลักษณะเป็นใบเดี่ยว ๆ ไม่เป็นช่อเหมือนตีนเป็ดต้น ดอกมีกลิ่นหอม สีขาว ลักษณะเป็นหลอดคล้ายดอกพุด ปลายหลอดแยกออกเป็นกลีบห้ากลีบ ภายในปากหลอดมีสีเหลือง ผลมีลักษณะกลมขนาดประมาณผลมะตูม ผิวเรียบเป็นมัน ผลอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่จะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีส้ม แดง เปลือกชั้นในเป็นใยหยาบคล้ายใยเปลือกมะพร้าว ตรงกลางมีเมล็ดแบนล่องเมล็ดประกบติดกัน หุ้มด้วยเปลือกบาง ๆ และมีกะลาแข็งหุ้มอีกชั้นหนึ่ง เมล็ดมีเนื้อสีขาวเหมือนเนื้อ

มะพร้าว ถ้าผลอ่อนเนื้อจะใสคล้ายวุ้น แต่เมื่อแก่จัดเนื้อจะแข็งขึ้น มีปริมาณน้ำมันอยู่ประมาณ 43 %[3] ส่วนในผลอ่อนปริมาณน้ำมันจะต่ำ ในสมัยก่อน ทั้งประเทศไทย และประเทศพม่า ใช้น้ำมันจากเมล็ดตีนเป็ดน้ำเป็นเชื้อเพลิงสำหรับจุดตะเกียง และใช้เป็นส่วนประกอบของน้ำมันใส่ผม เนื้อของเมล็ดจะมีสารจำพวก Cardiac glycoside cerberetin ($C_{27}H_{40}O_8$) สารตัวนี้เมื่อสลายตัวเนื่องจากการดูดซึมของน้ำ (hydrolysed) จะได้ glucose และ cerberetin ซึ่งมีฤทธิ์ต่อระบบไหลเวียนของโลหิตคล้ายคลึงกับพวก digitalis

เมื่อ สุหร่าย สายศร และคณะ นำเมล็ดตีนเป็ดน้ำมาสกัด ตามวิธีการที่แสดงไว้ในภาคผนวก ก. น้ำมันบริสุทธิ์ที่ได้นำมาทดสอบหา Cardiac glycoside โดยใช้สารละลายของ Keller-Kiliani, Liebermann-Burchard และ Kedde reagent ไม่พบว่ามี cardiac glycoside หลงเหลืออยู่อีก และนำไปทดลองกับหนู โดยให้หนูกินเป็นเวลา $1\frac{1}{2}$ เดือน ก็ไม่พบสิ่งผิดปกติใด ๆ

เมื่อนำมาวิเคราะห์หาคุณสมบัติทางกายภาพทางเคมี และหาชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดตีนเป็ดน้ำ ก็พบว่า ใกล้เคียงกับน้ำมันถั่วลิสงและน้ำมันมะกอก ดังตารางที่ 1, 2 และ 3

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันตีนเป็ดน้ำ[1]

น้ำมันตีนเป็ดน้ำมีสีเหลืองอ่อนใส มีกลิ่นหอมคล้ายน้ำมันถั่วลิสง พบว่ามีคุณสมบัติทางกายภาพใกล้เคียงกับน้ำมันพืชหลายชนิด เช่น น้ำมันถั่วลิสง และน้ำมันมะกอก ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1, 2 และ 3

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันตีนเป็ดน้ำ

รายการ	คุณลักษณะ	ปริมาณ
1	ดัชนีหักเห (refractive index) ที่ 28 °C	1.46153
2	ความหนาแน่นสัมพัทธ์ (relative density) ที่ 30°/30 °C	0.91116
3	ความหนืด (viscosity) ที่ 30 °C	56.3 poise
4	จุดหลอมเหลว (melting point)	4 - 7 °C

ทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันตีนเป็ดน้ำ ก็พบว่า ใกล้เคียงกับน้ำมันถั่วลิสง และน้ำมันมะกอก ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันตีนเป็ดน้ำเทียบกับน้ำมันมะกอกและน้ำมันถั่วลิสง[1,4,5,6]

รายการ	คุณสมบัติ	ปริมาณ		
		น้ำมันตีนเป็ดน้ำ	น้ำมันมะกอก	น้ำมันถั่วลิสง
1	Saponification value (มิลลิกรัมโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมันหนึ่งกรัม)	159 - 160	188 - 196	186 - 194
2	ค่ากรด (Acid value)	0.4608	0.3 - 1.0	0.8
3	ค่าไอโอดีนแบบวิจส์ (Iodine value wijs)	63 - 67.5	80 - 88	88 - 98
4	ความถ่วงจำเพาะ	0.9112	0.914 - 0.918	0.917 - 0.926

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันของน้ำมันตีนเป็ดน้ำกับน้ำมันมะกอก และน้ำมันถั่วลิสง พบว่า น้ำมันตีนเป็ดน้ำ จะมีระดับความไม่อิ่มตัวต่ำกว่า และมีน้ำหนักโมเลกุลรวมของกรดไขมันมากกว่าน้ำมันทั้งสองชนิดนั้นเล็กน้อย ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ชนิดและปริมาณของกรดไขมันต่าง ๆ ในน้ำมันตีนเป็ดน้ำ น้ำมันมะกอก และน้ำมันถั่วลิสง[1, 4, 5, 6]

ชนิดของกรดไขมัน	ปริมาณ %		
	น้ำมันตีนเป็ดน้ำ	น้ำมันมะกอก	น้ำมันถั่วลิสง
กรดไขมันชนิดอิ่มตัว	31.6	12.0	18.0
กรดปาลมิติค (palmitic acid)	24.9	10.0	8.2
กรดสเตียริค (stearic acid)	5.0	1.0	3.4
กรดอราชิดิค (arachidic acid)	1.7	0.9	6.1
กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว	68.4	88.0	81.0
กรดปาลมิโตลิอิค (palmitoleic acid)	0.9	0.7	0.3
กรดโอลิอิค (oleic acid)	44.4	79.8	60.4
กรดไลโนลิอิค (linoleic acid)	23.1	7.5	20.3

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาดูว่า คุณสมบัติในการดูดซึมของน้ำมันตีนเป็ดน้ำ และน้ำมันมะกอก ผ่านเยื่อเซลล์จะใกล้เคียงหรือแตกต่างกันอย่างไร สามารถนำมาใช้แทนกันได้หรือไม่ในการทำยาเตรียมต่าง ๆ เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิต และประหยัดเศรษฐกิจของชาติ อีกทั้งเป็นการส่งเสริมเกษตรกรรมในประเทศ และนำทรัพยากรในประเทศมาใช้ให้เป็นประโยชน์

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ส่วนประกอบและโครงสร้างของเยื่อเซลล์

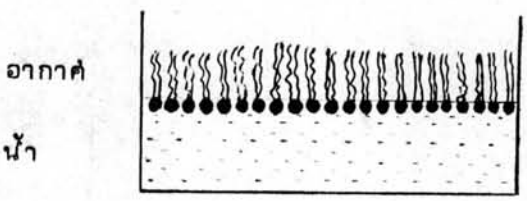
ส่วนประกอบของเยื่อเซลล์ (Composition of Cell Membrane)[7-36]

ส่วนประกอบของเยื่อเซลล์ที่สำคัญ คือ ไขมัน และโปรตีน จะมีคาร์โบไฮเดรท น้ำ และกรดนิวคลีอิครวมอยู่ด้วยเล็กน้อย เยื่อเซลล์ของสัตว์ต่างชนิดกัน จะมีไขมันและโปรตีนชนิดต่าง ๆ ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน

เยื่อเซลล์ส่วนมาก จะมีไขมันอยู่ประมาณ 30 - 40 % โปรตีนประมาณ 50 - 70 % และคาร์โบไฮเดรท ประมาณ 1 - 10 % โดยน้ำหนักของเยื่อเซลล์แห้ง

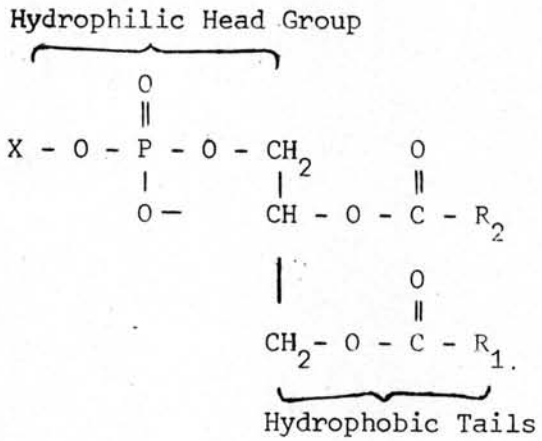
ไขมันที่ประกอบในเยื่อเซลล์ ประมาณ 60 % เป็นพวก Phospholipid และอีก 40 % เป็น Cholesterol และมีจำนวนเล็กน้อยเป็น Glycolipid

ลักษณะที่สำคัญของไขมันที่เป็นส่วนประกอบของเยื่อเซลล์เป็นสารประเภท Amphipathic กล่าวคือ โมเลกุลมี 2 ส่วน ส่วนหนึ่งเป็นส่วนหัว เป็นส่วนที่มีขั้ว (Polar) ซึ่งละลายน้ำได้ (Hydrophilic Head Group) อีกส่วนหนึ่งเป็นส่วนหาง เป็นส่วนที่ไม่มีขั้ว (Non Polar) ไม่ละลายน้ำ (Hydrophobic tail) เป็นพวก Long Chain Hydrocarbon เมื่อเรียงตัวบนผิวน้ำจะเอาส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) หันเข้าหาน้ำ และเอาส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) ชี้ขึ้นสู่อากาศ ในการเรียงตัวแบบชั้นเดียว (Monolayer) หรือสองชั้น (Bilayer)



รูปที่ 1 แสดงการเรียงตัวของไขมันบนผิวน้ำ[23]

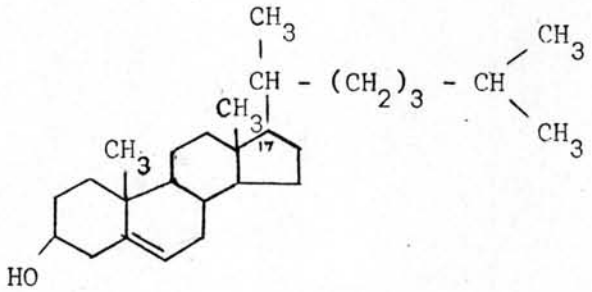
Phospholipid หรือ Phosphoglyceride ได้แก่ ไขมันที่ประกอบด้วย Glyceride, Fatty Acid (R) 2 ตัว, Phosphate และ Alcohol (X) ซึ่ง Phospholipid แต่ละชนิดจะมีโครงสร้างของ Alcohol ต่างกัน ส่วนที่มีขั้ว ได้แก่ Phosphate และ Alcohol ส่วนที่ไม่มีขั้ว ได้แก่ ส่วน Long Chain Hydrocarbon ของ Fatty Acid



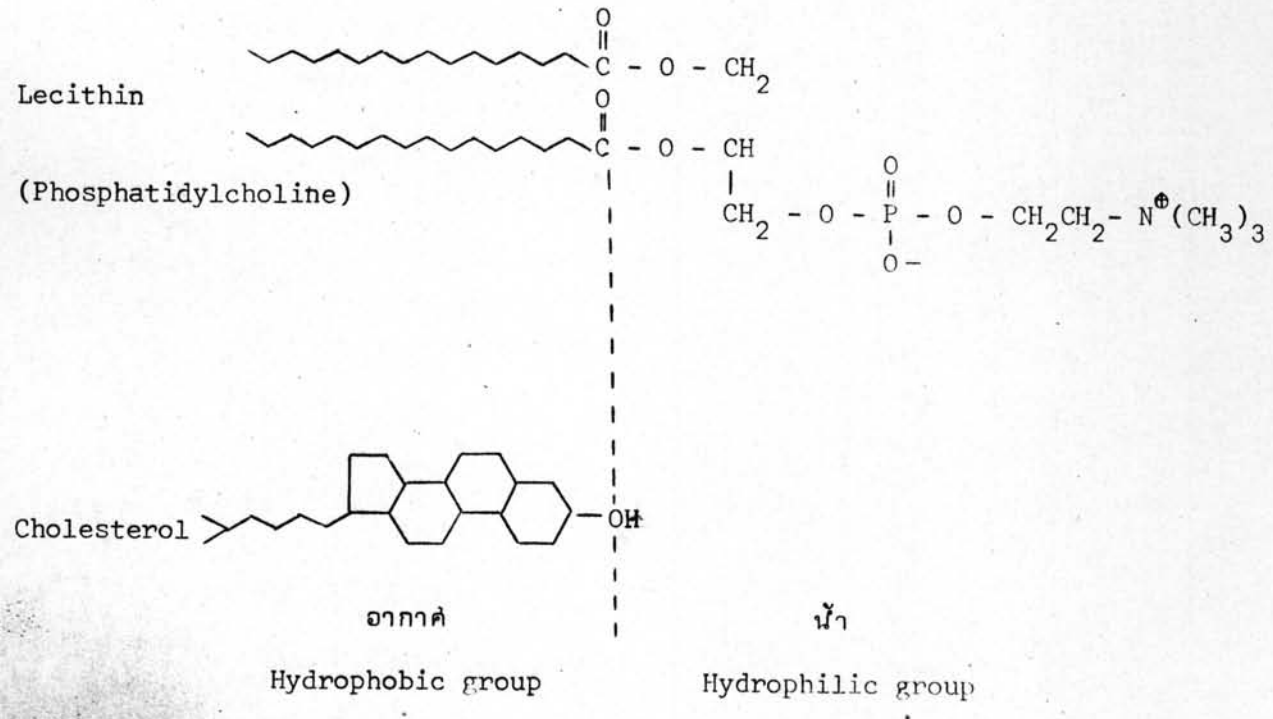
รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างทั่วไปของ Phospholipid

Phospholipid ที่พบมากในเยื่อเซลล์ คือ Phosphatidyl choline (Lecithin) รองลงมาคือ Sphingomyelin และ Phosphatidylethanolamine ส่วน Cerebroside จะพบมากในเยื่อเซลล์ประสาท Phospholipid จะรวมตัวกับโปรตีน และคาร์โบไฮเดรทด้วย Electrostatic Interaction และ Van Der Waals Interaction ซึ่งทำให้เกิดความคงตัว[27]

Cholesterol เป็นไขมันอีกชนิดหนึ่ง ที่พบมากในเยื่อเซลล์เป็นสารไขมันพวกสเตอรอยด์ที่มีคุณสมบัติเป็น Alcohol เป็นโครงสร้างที่สำคัญมากที่สุดอันหนึ่งในเยื่อเซลล์ ปลายข้างหนึ่งเป็น Hydrophilic เพราะว่ามี Hydroxyl Group ปลายอีกข้างหนึ่งมี Hydrocarbon Chain และ Steroid Ring Structure ดังนั้นจึงเป็น Hydrophobic

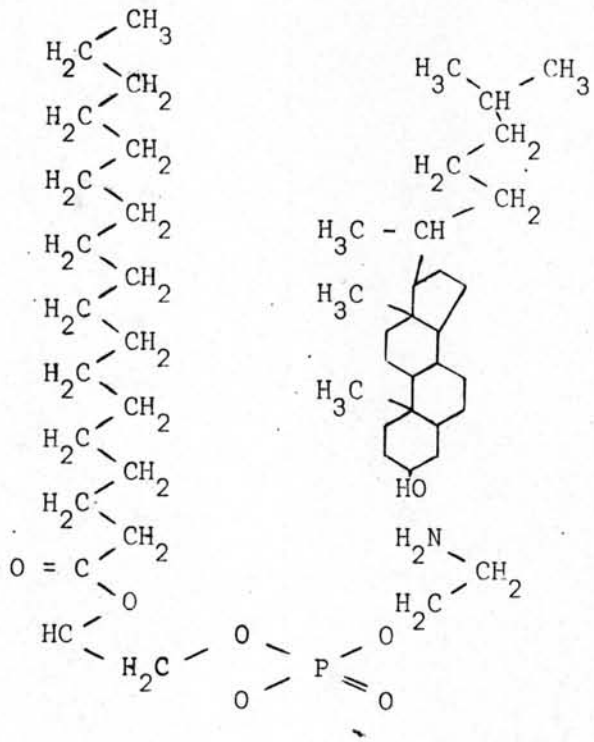


รูปที่ 3 สูตรโครงสร้างของ Cholesterol[29]



รูปที่ 4 แสดงการเรียงตัวของ Phosphatidylcholine และ Cholesterol บนผิวน้ำ[35]

Cholesterol จะรวมตัวแทรกอยู่กับ Phospholipid โดย Phospholipid จะเรียงตัวอยู่ในรูป J โดยส่วนของ Polar Head Group จะโค้งไปจับกับ Hydroxyl Group ของ Cholesterol ด้วย Ionic Interaction ส่วน Hydrocarbon Long Chain จะจับกับส่วน Steroid Nucleus และ Aliphatic Tail ที่เกาะกับ Carbon 17 ของ Cholesterol ส่วน Phosphate Group ของ Phospholipid จะรวมตัวกับ Hydrophilic Side Chain ของโปรตีนด้วย Electrostatic Interaction[27]



รูปที่ 5 การจับรวมกันของ Phosphatidylethanolamine กับ Cholesterol[27]

กรรมปฏิกิริยานี้มีผลทำให้เยื่อเซลล์มีความคงตัว (Stabilization) จำกัดการเคลื่อนไหวของ Hydrocarbon Chain ของ Phospholipid และลดการยอมให้สารซึมผ่านผ่านได้ (Permeability) โดยทำหน้าที่เป็นตัวกลางระหว่างสารที่ละลายในไขมัน และละลายในน้ำ เพื่อให้ผ่านเข้าและออกจากเซลล์ เป็นตัวนำในขบวนการเคลื่อนย้ายชนิด active โดยซึมผ่านผนังเซลล์ในภาวะที่ร่างกายสูญเสียไขมัน เนื่องจากการอดอาหาร เพราะปรากฏว่า Phospholipid จะอยู่ในภาวะปกติเพื่อควบคุมความปกติของเซลล์เนื้อเยื่อต่าง ๆ (36)

เซลล์ของแบคทีเรียชนิดไม่มีนิวเคลียส (Prokaryotes) ไขมันในเยื่อเซลล์จะมีเฉพาะ Phospholipid ส่วนเซลล์ที่มีนิวเคลียส (Eukaryotes) จะมี Cholesterol หรือ Steroid อื่น ๆ รวมอยู่ด้วย(19) สัดส่วนของไขมันที่ประกอบขึ้นในเยื่อเซลล์ของสัตว์นอกจากจะเปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิ และสภาวะโภชนาการแล้ว ยังพบว่าสัตว์ชนิด (Species) เดียวกัน แต่เยื่อเซลล์จากอวัยวะต่างกัน และแม้แต่ Subcellular Membrane ในเซลล์เดียวกันยังมีส่วนประกอบของไขมันต่างกัน(22 - 23)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 สัดส่วนของไขมันชนิดต่าง ๆ ในเยื่อเซลล์[22]

	Myelin	Erythrocyte	Mitochondrion	Microsomes	Escherichia coli and Azotobacter agilis	Bacillus megaterium
Cholesterol	25	25	5	6	0	0
Phosphatidylethanolamine	14	20	28	17	100	45
Phosphatidylserine	7	11	0	0	0	0
Phosphatidylcholine	11	23	48	64	0	0
Phosphatidylinositol	0	2	8	11	0	0
Phosphatidylglycerol	0	0	1	2	0	45
Cardiolipin	0	0	11	0	0	0
Sphingomyelin	6	18	0	0	0	0
Cerebroside	21	0	0	0	0	0
Cerebroside Sulfate	4	0	0	0	0	0
Ceramide	1	0	0	0	0	0
Lysylphosphatidylglycerol	0	0	0	0	0	10
Unknown or Other	12	2	0	0	0	0

โปรตีน มีปริมาณ 50 - 60 % โดยน้ำหนักของเยื่อเซลล์แห้งประกอบด้วยกรดอมิโน (Amino acid) ซึ่งมีประมาณ 20 ชนิด ต่อกันด้วย Peptide Bond โปรตีนแต่ละชนิดจะแตกต่างกันตามชนิดและการเรียงตัวต่อกันของกรดอมิโน ในโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอน (Carbon) ไฮโดรเจน (Hydrogen) ออกซิเจน (Oxygen) และ ไนโตรเจน (Nitrogen) บางชนิดยังมีฟอสฟอรัส (Phosphorus) ซัลเฟอร์ (Sulpher) และเหล็ก (Iron) รวมอยู่ด้วย มีคุณสมบัติเป็น Zwitterion และที่ Isoelectric pH จะมีประจุเป็นกลาง ซึ่งคุณสมบัติทางฟิสิกส์ และเคมีจะต่ำที่สุด

ในเยื่อเซลล์ประกอบด้วย โปรตีนหลายชนิด ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับขบวนการย่อยหลายอย่าง และขบวนการขนส่ง โปรตีนทั้งหมดไม่ได้เป็นเอนไซม์ แต่มีบางส่วนทำหน้าที่เป็นโครงสร้างร่วมกับสารประกอบไขมัน อาจแบ่งโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของเยื่อเซลล์เป็น 2 ชนิดคือ

1. โปรตีนเปลือก หรือโปรตีนผิว (Extrinsic หรือ Peripheral Protein) ได้แก่ โปรตีนที่จับอยู่ด้านนอกของเยื่อเซลล์ มักจะเป็นโปรตีนที่ละลายในน้ำได้ดี สามารถสกัดออกจากเยื่อเซลล์ได้ด้วยขบวนการง่าย ๆ โดยใช้สารละลายเกลือบางชนิด

2. โปรตีนแก่น หรือโปรตีนฝังใน (Intrinsic หรือ Integral Protein) ได้แก่ โปรตีนที่เป็นก้อน (Globular Protein) ประกอบอยู่ภายในชั้นของไขมันโดยอาจมีบางส่วนโผล่ออกมาจากผิวด้านใดด้านหนึ่ง หรือทั้งสองด้าน ส่วนที่ฝังในชั้นของไขมันจะมีลักษณะ Hydrophobic แต่ส่วนที่อยู่ด้านผิวจะมีลักษณะเป็นขั้ว ดังนั้นจึงจัดได้ว่า โปรตีนเหล่านี้มีลักษณะเป็น Amphipathic มักละลายในน้ำไม่ได้ดีนักจะสกัดออกจากเยื่อเซลล์ได้ยาก ต้องใช้สารละลายที่มี Detergent เช่น Sodium Dodecylsulfate หรือ Triton อยู่ด้วย

คาร์โบไฮเดรท มีประมาณ 1 - 10 % โดยน้ำหนักของเยื่อเซลล์แห้งเป็นสารประกอบพวกคาร์บอน ออกซิเจน และไฮโดรเจน ที่ประกอบอยู่ในเยื่อเซลล์ไม่ได้อยู่เป็นอิสระ อาจจะรวมอยู่กับไขมัน เป็น ไกลโคไลปิด (Glycolipid)

หรือรวมกับโปรตีนเป็นไกลโคโปรตีน(Glycoprotein) น้ำตาลที่พบคือ Galactose, Mannose, Galactosamine, Glycosamine และ Sialic acid คาร์โบไฮเดรท เหล่านี้ ยื่นออกมาจากผิวเซลล์ด้านนอก ไม่มีความสำคัญในโครงสร้างของเยื่อเซลล์มากนัก แต่มีความสำคัญในหน้าที่อื่นหลายอย่าง เช่น เป็นตัวกัน (Lock) โปรตีนให้อยู่ในเยื่อเซลล์ไม่ให้เคลื่อนกลับเข้าไปในไซโตพลาสซึม เป็นตัวรับพวกไวรัส และเลคติน เป็นต้น

<u>ลักษณะโครงสร้างของเยื่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต</u> (Model of Biological Membrane)(7 - 36)

แนวความคิดเกี่ยวกับ โครงสร้างของเยื่อเซลล์มีผู้ศึกษาค้นคว้าและเสนอมาเป็นเวลานานจนถึงปัจจุบันนี้ เริ่มมาจากผลงานของ Carl Nageli ในปี คศ. 1855 พบว่า ผิวหน้าของเซลล์นั้นไม่ยอมให้เม็ดสีผ่าน และยังตอบสนองต่อคุณสมบัติการซึมผ่านเยื่อบางของของเหลว (Osmotic Properties) ของเซลล์ ทำให้ขนาดของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปตามสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเป็นส่วนที่ทึบมีความหนืด และลักษณะอื่น ๆ ที่ต่างจากส่วนของไซโตพลาสซึม จึงให้ชื่อว่า Plasma Membrane(27)

ต่อมา Wilhelm Pfeffer และ de Vries ได้ทำการทดลองศึกษาและได้ผลสนับสนุนความคิดของ Carl Nageli

ในปี คศ. 1899 Charles Overton พบว่าโมเลกุลที่มีประจุ (Polar Molecules) จะผ่านเนื้อเยื่อเซลล์ได้ช้ากว่า พวกที่ไม่มีประจุ (Non-Polar Molecules) และสารที่ละลายในไขมัน ไม่ว่าจะมีโมเลกุลขนาดใหญ่หรือเล็กสามารถผ่านเยื่อเซลล์ได้ดี จึงได้สรุปว่า เยื่อเซลล์จะต้องมีไขมันเป็นสารประกอบที่สำคัญ

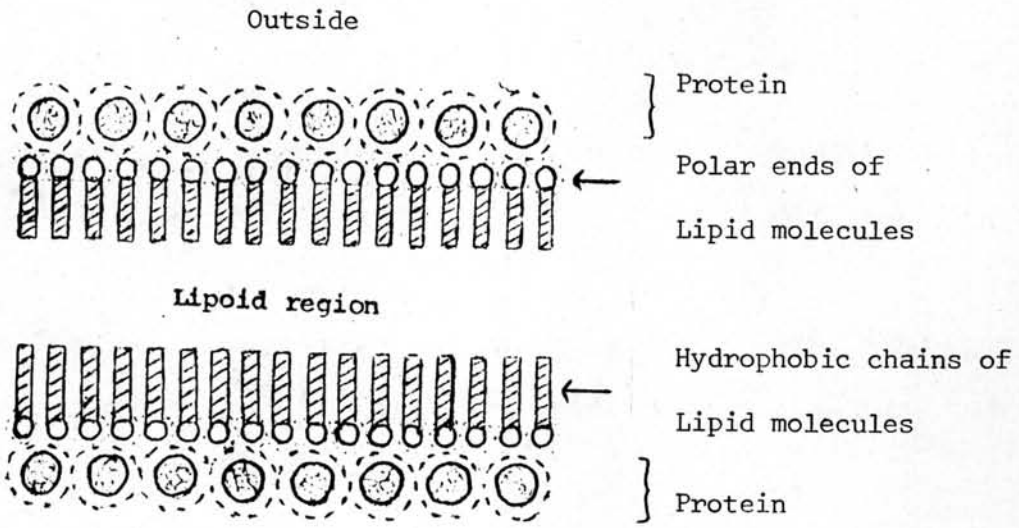
Langmuir และคนอื่น ๆ ก็ได้สนับสนุนว่า เยื่อเซลล์นั้นมีไขมันเป็นส่วนประกอบจากการที่พบว่า เมื่อไขมันเรียงตัวอยู่ในน้ำ จะเอาส่วนที่มีขั้วรวมกับน้ำ และหันส่วนที่ไม่มีขั้วขึ้นสู่อากาศ ซึ่งเชื่อว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกับการเรียงตัวของไขมันในเยื่อเซลล์

ในปี คศ. 1925 Gorter และ Grendel ได้สกัดเอาไขมันออกจากผนังเซลล์เม็ดเลือดแดง แล้วเอามาแผ่กระจายบนน้ำให้มีลักษณะเรียงเดี่ยว (Monolayer) ใน Langmuir Trough พบว่า ปริมาณไขมันนี้เรียงตัวกันโดยมีพื้นที่เป็นสองเท่าของผนังเซลล์เม็ดเลือดแดง เขาจึงเสนอแนะว่า เยื่อเซลล์ต้องประกอบด้วย ไขมัน ที่เรียงตัวเป็นสองชั้น โดยเอาส่วนที่ไม่มีประจุหันเข้าหากัน มีลักษณะที่เรียกว่า Bimolecular Lipid Leaflet

Cole, Harvey และ Shapiro พบว่า แรงตึงผิวของเยื่อเซลล์มีค่าประมาณ 0.6 - 1.0 dynes/cm[20] ซึ่งต่ำกว่าแรงตึงผิวของไขมันที่สร้างชั้นบนน้ำ (≃ 10 dynes/cm) Danielli และ Harvey กล่าวว่า การที่มีแรงตึงผิวต่ำกว่าของไขมันจะต้องมีสารประกอบชนิดอื่นรวมอยู่ในเยื่อเซลล์ด้วย เมื่อทดลองเอาโปรตีนคลุมชั้นของไขมันด้วย แล้ววัดแรงตึงผิว ปรากฏว่า ได้ค่าใกล้เคียงกับแรงตึงผิวของเยื่อเซลล์จริง จึงเริ่มมีความคิดว่ามีโปรตีนคลุมส่วนที่มีประจุของไขมันไว้อีกชั้นหนึ่ง[27]

ข้อสนับสนุนอื่นที่เชื่อว่าโปรตีนเป็นส่วนประกอบในเนื้อเยื่อเซลล์ คือ การใส่ Antigen ลงไป จะทำให้เซลล์แตก แสดงถึงการเกิด Antibody ที่เนื้อเยื่อเซลล์ จากการศึกษาพบว่าไขมันไม่มีคุณสมบัติเป็น Antibody ส่วนโปรตีนและคาร์โบไฮเดรท จะมีคุณสมบัติเป็น Antibody การใส่สาร Polymerized Polyhydroxy Phenols ลงไปในเซลล์จะทำให้เนื้อเยื่อเซลล์ถูกทำลายได้ง่ายขึ้น แสดงว่ามีโปรตีนอยู่ที่เนื่อเยื่อเซลล์ เพราะสารตัวนี้ทำลายเฉพาะโปรตีนเท่านั้น ไม่มีผลต่อไขมันหรือคาร์โบไฮเดรท[19]

ปี คศ. 1943 Davson และ Danielli ได้เสนอโครงสร้างของเยื่อเซลล์ว่าประกอบด้วย โมเลกุลของไขมันเรียงตัวเป็นสองแถว (Bimolecular Leaflet) โดยหันส่วนที่ไม่มีประจุเข้าหากัน และหันส่วนที่มีประจุออกด้านนอก แล้วมีโปรตีนที่มีลักษณะกลม (Globular Protein) คลุมทั้งสองด้านของไขมัน ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปในรูปของ Davson-Danielli Model



รูปที่ 6 Davson-Danielli Model[27]

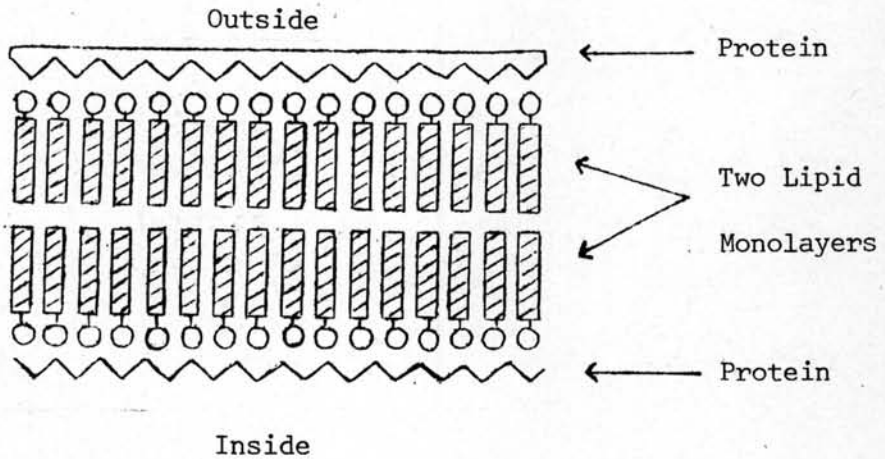
ต่อมาเมื่อเทคโนโลยีเจริญก้าวหน้าขึ้น ได้มีการประดิษฐ์เครื่องมือและวิธีที่จะศึกษาหารายละเอียดเพิ่มเติม เป็นต้นว่า กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Electron Microscope) การแยกโดยรังสีเอ็กเรย์ (X-Ray Diffraction) การวัดการนำไฟฟ้า (Permeability Electrical Conductivity Measurement) ก็ได้ผลสนับสนุน Davson-Danielli Model ทั้งสิ้น

005636

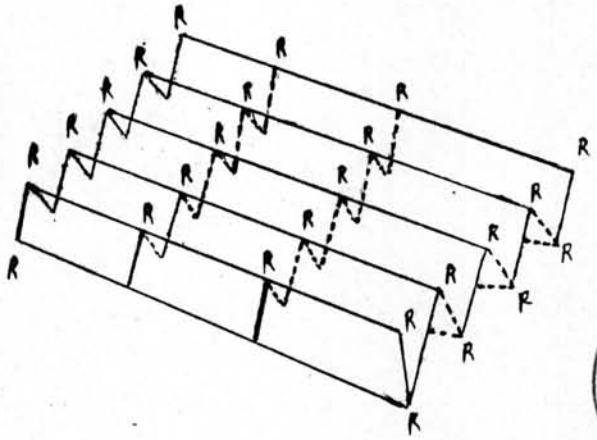
เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนพบว่าเยื่อเซลล์มีลักษณะเป็นสามชั้น (Three-layered Structure หรือ Trilamellar Structure) มีความหนาประมาณ 75 - 100 A^{o} ไขมันที่เป็นแกนกลาง จะมีสีจาง ส่วนโปรตีนกับส่วนที่มีประจุของไขมันจะเป็นสีเข้ม ซึ่งหนาประมาณ 25 - 30 A^{o}

ปี คศ. 1959 J. David Robertson ได้ตั้งสมมติฐาน "Unit Membrane" ขึ้นมา โดยศึกษาจาก เยื่อเซลล์ของ Myelin Sheath ด้วยวิธีการแยกโดยรังสีเอ็กเรย์ และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนพบว่า มีลักษณะคล้ายกับ Davson-Danielli Model

ต่างกันตรงที่ว่า โปรตีนใน Unit Membrane นั้น มีลักษณะเป็นแผ่นบาง ๆ (Extended Conformation) และการกระจายของโปรตีนทั้งสองด้านไม่เหมือนกัน กล่าวคือ โปรตีนที่ปกคลุมไขมันด้านนอก เป็น Mucoprotein ส่วนที่ปกคลุมด้านในเป็น Unconjugated Protein อาจรวมรูปแบบของเยื่อเซลล์ทั้งสองแบบเข้าด้วยกันเป็น Davson-Danielli Robertson Model ซึ่งโปรตีนที่อยู่ด้านนอกจะมีการเรียงตัวเป็น β-Pleated Sheet โดยมีส่วน Ionic Side Chain (R) เกาะกับส่วนที่มีประจุของไขมัน และสิ่งแวดล้อมภายนอกเซลล์[23]



รูปที่ 7 Robertson's Unit Membrane[27]

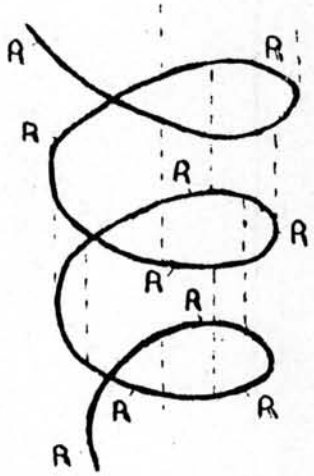


หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

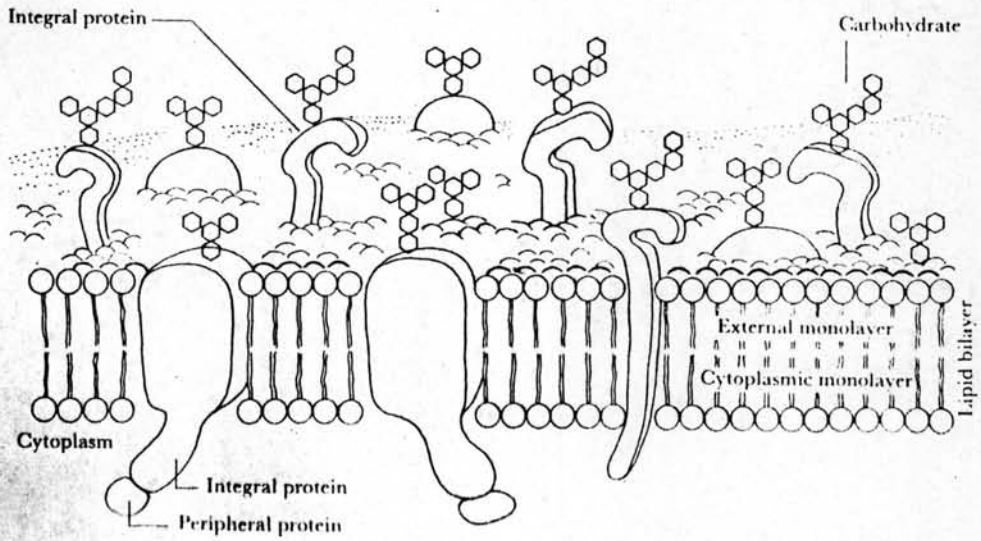
รูปที่ 8 β - Pleated Sheet Structure of Protein[23]

ปี คศ. 1960 Singer และ Wallach ได้เสนอโครงสร้างของเยื่อเซลล์ ในลักษณะ Mosaic Model ขึ้นมา ประกอบด้วยไขมันเรียงตัวเป็นแผ่นคู่ มีโปรตีนแทรกอยู่และเกาะอยู่ตามผิว ส่วนที่มีประจุของทั้งโปรตีนและไขมันจะสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมนอกเซลล์ ขณะที่ส่วนที่ไม่มีประจุจะอยู่ด้านในของเยื่อเซลล์ นอกจากนี้ยังมีโปรตีนบางส่วน ซึ่งมีลักษณะกลม (Globular Protein) แทรกเข้าไปอยู่ในชั้นของไขมันตลอดความหนาทำให้เกิดเป็นทางผ่าน โปรตีนในโครงสร้างแบบนี้จะมีการเรียงตัวแบบ α - Helical Conformation[23]

จากการทำ Optical Rotatory Dispersion และ Circular Dichroism Spectra ของเนื้อเยื่อเซลล์ จะพบลักษณะของโปรตีนแบบ α - Helical Conformation มากกว่าแบบ β - Pleated Sheet[23, 28]



รูปที่ 9 α - Helical Conformation ของโปรตีน[23]



รูปที่ 10 The Mosaic Model[23, 54]

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หลักฐานที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่สนับสนุน Fluid Mosaic Model คือ การศึกษาทางกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน โดยใช้เทคนิคที่เรียกว่า "การกระเทาะให้แตกยณะแข็ง" (Freeze - etching หรือ Freeze - Fracture Electron Microscopy) โดยการเอาเยื่อเซลล์มาแช่ให้แข็งอย่างรวดเร็วด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วทำให้แตกด้วย Microtome Knife เนื้อเยื่อเซลล์จะแตกออกตามแนวที่เปราะที่สุด เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน จะเห็นแผ่นคู่ของเยื่อเซลล์แยกออกจากกัน เผยให้เห็นก้อนเล็ก ๆ แทรกฝังอยู่ระเกะระกะ ซึ่งมีหลักฐานหลายอย่างที่แสดงให้เห็นว่า ก้อนเหล่านั้นก็คือ Intrinsic Protein นั่นเอง

ปี คศ. 1972 Singer และ Nicolson ได้ศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมเกี่ยวกับ Mosaic Model และอธิบายในรูปของ Fluid Mosaic Model โดยกล่าวว่า Globular Protein นั้น อยู่ในลักษณะเหมือนภูเขาน้ำแข็ง (Ice berg) ลอยอยู่ในน้ำทะเล คือส่วนของ Lipid Bilayer โครงสร้างแบบนี้ โมเลกุลของทั้งไขมันและโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบไม่อยู่นิ่งในเยื่อเซลล์ แต่เคลื่อนไหวตลอดเวลา เช่นเดียวกับ โมเลกุลของของเหลว ซึ่งการเคลื่อนไหวจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของไขมันเป็นส่วนใหญ่ ถ้าหากเยื่อเซลล์มีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเป็นส่วนประกอบอยู่มาก ความเหลว (Fluidity) ก็จะสูง ทั้งไขมันและโปรตีนจะเคลื่อนที่ได้เร็ว นอกจากนี้ความเหลวและการเคลื่อนที่ของส่วนประกอบของเยื่อเซลล์ยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิลดลงถึงขีดหนึ่ง เยื่อเซลล์จะเปลี่ยนสภาพจากเหลวมาเป็นผลึก (Gel or Rigid Crystalline State) การเคลื่อนไหวของส่วนประกอบช้าลงไปมาก เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเชื่อว่ามีการทำลายการเกาะกันอย่างอ่อนของไขมัน ในส่วน Hydrocarbon Chain ทำให้การเคลื่อนไหวเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ จนมีสภาพเป็นของเหลว (Liquid Crystalline State) อุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนสภาพนี้ (Transition Temperature) จะยิ่งต่ำหากเยื่อเซลล์มีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบอยู่มาก Cholesterol มีอิทธิพลต่อความเหลวและการเปลี่ยนสภาพเป็นผลึกโดยจะจับกับบริเวณ Polar Head Group ของ Phospholipid หลายตัว ทำให้มีการเคลื่อนที่ช้าลง

ขณะเดียวกันก็ทำให้เกิดตก ผลึกได้ยากขึ้น เนื่องจากในการตกผลึกนั้น ต้องมีการจัดเรียงตัวของ Phospholipid ต่าง ๆ เสียก่อน ดังนั้น Cholesterol จะทำให้เยื่อเซลล์อยู่ในสภาวะที่เรียกว่า Intermediate Fluid State

การที่ Membrane Lipid ส่วนมากอยู่ในสภาวะ Fluid State จากการตรวจสอบโดย Nuclear Magnetic Resonance และ Electron Spin Resonance พบว่าโมเลกุลของไขมัน มีการเคลื่อนที่ไปทางด้านข้าง (Lateral Motion) อย่างอิสระ ซึ่งพบว่าการเคลื่อนที่ของ Phospholipid เร็วมาก ประมาณว่า มีการแลกเปลี่ยนกับโมเลกุลข้าง ๆ ในความเร็วประมาณ 10^7 ครั้ง/วินาที และจะมีการเคลื่อนที่แลกเปลี่ยนระหว่างด้านหนึ่ง ไปอีกด้านหนึ่งของ Lipid Bilayer ที่เรียกว่า Flip - Flop Motion นั้นช้ามาก ช้ากว่าการแลกเปลี่ยนทางด้านข้าง ประมาณ 10^{10} เท่าส่วนโมเลกุลของโปรตีนนั้น พบว่า มีการเคลื่อนที่ไปทางด้านข้างของ Intrinsic Protein ใน Lipid Bilayer ซึ่งพบครั้งแรกโดย Frye และ Edidin ในปี คศ. 1970 การเคลื่อนที่ของโปรตีนนี้มีสัมประสิทธิการแพร่ (Diffusion Coefficient) ประมาณ 2×10^{-10} ตารางเซนติเมตรต่อวินาที ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของเยื่อเซลล์[23] แต่โปรตีนจะไม่มีการเคลื่อนที่แลกเปลี่ยนข้ามเยื่อเซลล์ (Across the Membrane)[9]

ส่วนประกอบของเยื่อเซลล์แต่ละด้านไม่เหมือนกัน เช่น ในเยื่อเซลล์ของเม็ดเลือดแดง ไขมันพวก Phosphatidylcholine และ Sphingomyelin จะมีอยู่ในแผ่นด้านนอกของเยื่อเซลล์เป็นส่วนมาก แต่ Phosphatidylserine และ Phosphatidylethanolamine จะพบอยู่ในแผ่นด้านในเป็นส่วนใหญ่ เป็นต้น มีผลทำให้แผ่นด้านในของเยื่อเซลล์มีประจุลบมากกว่าแผ่นด้านนอก เพราะ Phosphatidylserine เป็นไขมันที่มีประจุลบอยู่สองหน่วยในโมเลกุลซึ่งมากกว่าประจุบวกอยู่หนึ่งหน่วย ต่างกับ Phospholipid ตัวอื่น ๆ ซึ่งมีประจุลบและประจุบวกอย่างละหนึ่งหน่วยเท่ากัน ที่ Physiological pH[7, 11] นอกจากนี้ ในเยื่อเซลล์ของเซลล์ประสาทยังมีการกระจายที่ไม่เท่ากันของ Cholesterol[23]

โปรตีนก็เช่นเดียวกับไขมัน โปรตีนเปลือกส่วนมาก จะอยู่ด้านในหรือด้านที่ติดกับไซโตพลาสซึม โปรตีนแก่นก็มีความแตกต่างในแต่ละด้านของเยื่อเซลล์ โปรตีนบางตัวโผล่ออกมาจากด้านใดด้านหนึ่ง บางตัวจากล่องด้านแต่คนละส่วนกัน เช่น Glycophorin ของเม็ดเลือดแดง ซึ่งมี Polypeptide chain ส่วนปลายด้านกรดอมิโนโผล่ออกมาจากด้านนอก และส่วนปลายด้าน Carboxyl โผล่ออกมาจากด้านในของเซลล์ เป็นต้น

คาร์โบไฮเดรท ซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนน้อยของเยื่อเซลล์ ก็มีการกระจายไม่เท่ากัน คือ ส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณส่วนนอกของเซลล์ เพื่อทำหน้าที่รับส่งสัญญาณ และอื่น ๆ

การที่เยื่อเซลล์รักษาความไม่เท่ากัน ของการกระจายของส่วนประกอบต่าง ๆ อยู่ได้ เนื่องจาก ตรงกลางของแผ่นคู่มีลักษณะ Hydrophobic มาก แต่ส่วนประกอบของเยื่อเซลล์ที่ด้านนอกทั้งสองด้านนั้นมีลักษณะเป็นขั้ว ดังนั้นจึงเป็นการยากที่ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรท จะฟลิกตัวผ่านส่วนกลางของแผ่นคู่ได้

เยื่อเซลล์มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับส่วนประกอบของไซโตพลาสซึม ภายใต้เยื่อเซลล์มีโปรตีน ที่ประกอบเป็นสายยาว เรียกว่า Microfilament และ Microtubule ซึ่งจัดเป็น "โครงของเซลล์" (Cytoskeleton) มีหน้าที่รักษาโครงรูปของเซลล์โดยยึดติดกับส่วนประกอบต่าง ๆ ของเยื่อเซลล์โดยเฉพาะโปรตีน Cytoskeleton นี้ จะเป็นตัวควบคุมการเคลื่อนไหวของโปรตีนหลายตัวที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อเซลล์ ซึ่งมีความสำคัญต่อการทำงานของเซลล์บางชนิด และการสร้างเยื่อเซลล์ขึ้นใหม่

แนวความคิดเกี่ยวกับโครงสร้างของเยื่อเซลล์ มีผู้เสนอต่อมาจนถึงปัจจุบัน แต่ก็ยังยอมรับแนวความคิดเดิมที่ว่า เยื่อเซลล์ประกอบด้วย โมเลกุลของไขมันเรียงตัวเป็นสองชั้น ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วย Phospholipid และ Cholesterol โดยหันส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าหากัน ส่วนที่มีขั้วทั้งสองข้างถูกคลุมไว้ด้วยโปรตีน ซึ่งอาจจะอยู่ในลักษณะกลม (Globular) หรือเป็นแผ่น (Lamellar) ก็ได้ ขึ้นอยู่กับชนิดของเยื่อเซลล์ที่มันคลุมอยู่ มีโปรตีนบางส่วนแทรกอยู่ในชั้นของไขมันไปตลอดความหนา ทำให้เกิดเป็นรูหรือช่องทางผ่าน (Protein Pores)

เยื่อเซลล์นอกจากจะเป็นแผ่นกั้นระหว่างภายนอก และภายในเซลล์แล้ว ยังมีหน้าที่เป็นตัวควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่าง ๆ เยื่อเซลล์จึงมีความสำคัญในการติดต่อระหว่างเซลล์หรือกับสิ่งแวดล้อมภายนอก โดยเป็นตัวรับสัญญาณจากเซลล์อื่น หรือภายนอก เพื่อสั่งให้เกิดปฏิกิริยาบางอย่างภายในเซลล์หรือเพื่อถ่ายทอดต่อไปยังเซลล์อื่น ๆ [7, 8] ดังนั้นเยื่อเซลล์จึงอาจจะถือได้ว่าเป็นส่วนที่สำคัญที่สุดของสิ่งมีชีวิต ดังที่ Fermandez Moran กล่าวไว้ในปี คศ. 1972[8] เนื่องจากการทำงานส่วนใหญ่ของเซลล์ต้องอาศัยเยื่อเซลล์ และเซลล์ส่วนใหญ่ประกอบด้วยเยื่อเซลล์ประมาณ 40 - 90 % ขององค์ประกอบภายในเซลล์ทั้งหมด ซึ่งการทำหน้าที่ต่าง ๆ ของเยื่อเซลล์ขึ้นกับส่วนประกอบและโครงสร้างภายในเยื่อเซลล์ ถ้าหากโครงสร้างเปลี่ยนไป คุณสมบัติของเยื่อเซลล์ก็จะเปลี่ยนไปด้วย ยาและสารเคมีหลายชนิดพบว่าไปมีปฏิกิริยาที่เยื่อเซลล์[37, 38] ดังนั้น การศึกษาถึงการดูดซึมและปฏิริยาของยาหรือสารเคมีต่าง ๆ ที่ร่างกายได้รับเข้าไปว่าจะไปมีผลต่อส่วนประกอบของเยื่อเซลล์อย่างไรบ้างนั้นจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจมาก เพราะอาจจะทำให้ลักษณะและโครงสร้างของเยื่อเซลล์ผิดไปจากเดิมอันจะก่อให้เกิดโรคร้ายแรงบางชนิดได้

การศึกษาเกี่ยวกับเยื่อเซลล์นั้น เป็นการยากลำบากในการที่จะนำเอาเยื่อเซลล์ธรรมชาติมาศึกษา จึงได้มีการคิดสร้างเยื่อเซลล์เทียมขึ้นมาให้มีส่วนประกอบและโครงสร้างใกล้เคียงกับเยื่อเซลล์จริงมากที่สุด แล้วตรวจสอบคุณสมบัติที่ต้องการทราบด้วยวิธีการต่าง ๆ ซึ่งผลการศึกษาในเยื่อเซลล์เทียมนี้ เป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปแล้วว่าให้ผลใกล้เคียงกับเยื่อเซลล์ธรรมชาติ จึงมักจะนำมาใช้ศึกษาขั้นต้น ก่อนที่จะนำไปศึกษาต่อในสัตว์ทดลอง หรือในคนต่อไป

การสร้างเยื่อเซลล์เทียมนี้อาศัยความรู้พื้นฐานจากคุณสมบัติของส่วนประกอบและโครงสร้างของเยื่อเซลล์ธรรมชาติ โดยเริ่มจาก ปี คศ. 1765 Benjamin Franklin[39] ได้ทดลองพบว่า ไขมันนั้นเมื่อตกลงไปในน้ำ มันจะลอยตัวเป็นฝา (Film) อยู่บนผิวน้ำ

ปี คศ. 1890 Lord Rayleigh[39, 40] ได้รายงานว่าเมื่อหยดน้ำมัน (Oil หรือ Slightly Soluble Oil) ลงในน้ำที่สะอาด มันจะกระจายตัวเป็นฟิล์มในลักษณะโมเลกุลชั้นเดียว (monomolecular layer) ถ้าทราบพื้นที่ที่มันลอยตัวอยู่และปริมาตร

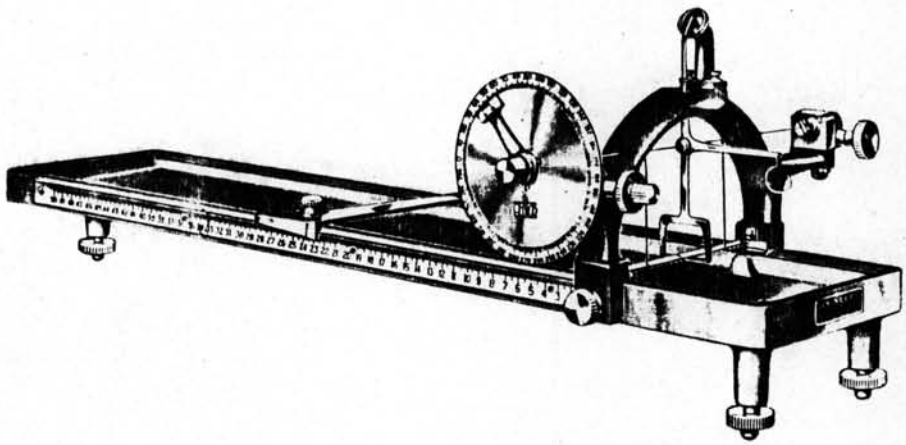
ของน้ำมันที่ใส่ลงไป สามารถนำมาคำนวณความหนาของชั้นน้ำมันที่ลอยตัวอยู่บนผิวน้ำนั้นได้ หรือถ้ารู้น้ำหนักโมเลกุลและความหนาแน่นของน้ำมันนั้นเราก็จะคาดคะเนพื้นที่หน้าตัดของโมเลกุลนั้นได้ Pockel[40, 41] ได้แสดงให้เห็นว่าทำอย่างไร ฟิล์มจึงถูกจำกัดขอบเขตได้โดยที่กั้น (Barriers) ถ้าปริมาณน้ำมันที่มีอยู่บนผิวน้ำมีน้อยมาก จะไม่มีผลต่อแรงตึงผิว (Surface Tension) แต่แรงตึงผิวจะเริ่มลดลงทันที เมื่อปริมาณน้ำมันต่อพื้นที่หนึ่งหน่วยเพิ่มขึ้น ถึงจำนวนที่จำกัดไว้ แรงตึงผิวของฟิล์มจะมีการเปลี่ยนแปลงจนกระทั่งจำกัดพื้นที่ประมาณ 20 A^{o2} ต่อโมเลกุล เรียกจุดนี้ว่า "Pockels Point" ปี คศ. 1899 Lord Rayleigh จึงได้อธิบายเหตุผลที่เกิด Pockels Point ว่าที่พื้นที่นี้โมเลกุลของสารที่ลอยตัวอยู่ที่ผิวจะสัมผัสซึ่งกันและกัน ซึ่งจะทำให้เกิดพลังงานการบีบอัด (Compressive Energy) ต่อฟิล์ม มีผลไปลดพลังงานอิสระ (Total Free Energy) ในการเกิดผิวหน้าใหม่ซึ่งไปลดแรงตึงผิวนั่นเอง

Langmuir, Adam, Harkins และคนอื่น ๆ [39-41] ได้ศึกษาถึงคุณสมบัติของฟิล์มพบว่า เมื่อกระจายไขมันลงบนผิวน้ำ โมเลกุลของมันจะเรียงตัวโดยเอาส่วนที่มีประจุสับกับน้ำ และเอาส่วนที่ไม่มีประจุขึ้นสู่อากาศ การที่ฟิล์มมีการคงตัวอยู่ได้นั้น เนื่องจากมีการดึงกันด้วย Van Der Waal Interaction ระหว่าง Hydrocarbon Chain และมี Electrostatic Interaction ระหว่าง Polar Head Group ในพื้นที่กว้างโมเลกุลของไขมันจะเรียงตัวหลวม ๆ ชั้นเดียว แต่เมื่อบีบให้พื้นที่ลดลง โมเลกุลของไขมันเหล่านี้จะเรียงตัวมีระเบียบมากขึ้นจนกระทั่งพื้นที่ถูกบีบจนไม่พอที่จะเรียงตัวอยู่ที่ผิวต่อไปจึงมีผลทำให้ฟิล์มแตก ที่จุดนี้โมเลกุลของไขมันบางส่วนจะหลุดเข้าไปใต้ผิวน้ำ ทำให้แรงตึงผิวเพิ่มขึ้นอีก

Langmuir ทำการทดลองโดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Film Balance (รูปที่ 11) ซึ่งประกอบด้วย Ring Tensiometer และถาดที่ทราบพื้นที่ โดยมีที่กั้นที่เคลื่อนที่ได้ (Movable Barrier) ติดอยู่ที่ถาด เพื่อเปลี่ยนพื้นที่ของบริเวณที่เรากระจายไขมันไว้บนผิวหน้าของน้ำ วัดแรงตึงผิวที่พื้นที่ต่าง ๆ ด้วย Torsion Wire ของ Ring Tensiometer Compressive Force ต่อหน่วยพื้นที่ของฟิล์มเรียกว่า ความดันผิว (Surface pressure)(¶)

ซึ่งเป็นความแตกต่างระหว่าง แรงตึงผิวของน้ำ เมื่อไม่มีไขมันอยู่ที่ผิวหน้า (γ_o) กับแรงตึงผิวของน้ำเมื่อมีไขมัน (γ)

$$\pi = \gamma_o - \gamma$$

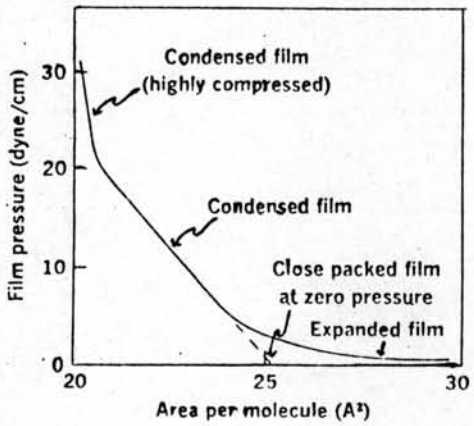


รูปที่ 11 Langmuir's film balance (22)

ความดันผิวที่พื้นที่ต่าง ๆ ที่วัดได้นำมาเขียนกราฟ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความดันผิวกับพื้นที่ผิวต่อหนึ่งโมเลกุล ผลที่ได้พบว่า เมื่อพื้นที่ผิวกว้างมากกว่า 50 A^{o2} ต่อหนึ่งโมเลกุล จะมีความดันผิวน้อยมาก เนื่องจากโมเลกุลของไขมันจะเรียงตัวหลวม ๆ ในลักษณะที่เรียกว่า Gaseous หรือ Expanded Film

เมื่อลดพื้นที่ลงความดันผิวจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วฟิล์มจะมีลักษณะเป็น Two Dimensional Condensed Liquid or Solid หรือ Condensed Film จนกระทั่ง

เมื่อลดพื้นที่ลงจนถึงขีดหนึ่ง โมเลกุลของไขมันจะถูกบีบให้อยู่ชิดกันกับโมเลกุลอื่น นั่นคือ ฟิล์มแตก ที่จุดนี้ความดันผิวจะลดลง



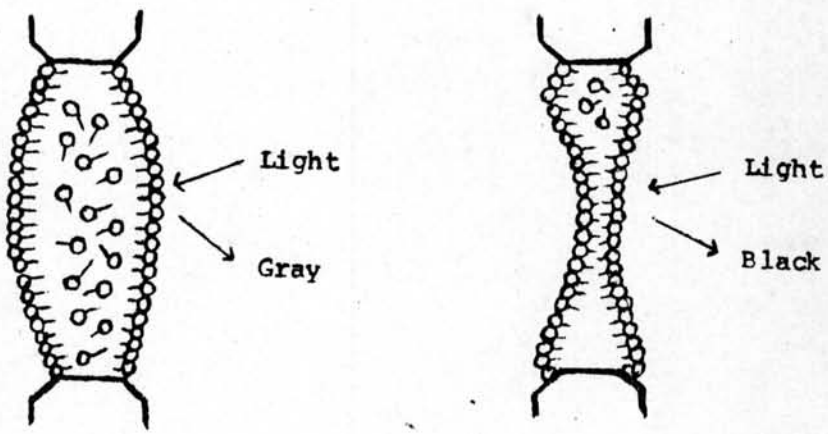
รูปที่ 12 ผลการทดลองของ Langmuir[39]

ฟิล์มที่เกิดจากกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated Fatty Acid) จะต้องการพื้นที่ผิวต่อโมเลกุลมากกว่า กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated Fatty Acid)[41] ซึ่งพื้นที่ผิวต่อโมเลกุลถ้ามีมากจะมีผลทำให้ความซาบซึมได้ของฟิล์มที่สร้างขึ้น มากขึ้นเช่นกัน[20]

จากหลักการดังกล่าว จึงได้มีการสร้าง Monomolecular Film ขึ้นจาก Phospholipid ต่าง ๆ ชนิดกัน และทำให้ฟิล์มมีความคงตัวมากขึ้น ด้วยการเติม Cholesterol เข้าไปด้วย[13, 27] ไขมันที่ใช้ในการเตรียม Artificial Lipid Membrane นี้ อาจจะใช้สารเคมีที่สกัดให้บริสุทธิ์ หรือใช้สารประกอบไขมันที่สกัดจากเซลล์ของสัตว์หรือพืช นำไขมันที่ได้มาละลายใน Organic Solvent ได้แก่ ส่วนผสมของ Chloroform และ Methanol หรือ สารพวก Hydrocarbon อื่น ๆ ซึ่งสารละลายนี้

ระเหยได้ง่าย[24,27,39] เมื่อให้ไขมันเรียงตัวบนผิวน้ำแล้วทิ้งไว้ให้ตัวทำละลายระเหยไปหมดแล้ว จึงหาค่าความตันผิว

วิธีการสร้างเยื่อเซลล์เทียม ได้มีพัฒนาการมากขึ้น ในระยะเวลาต่อมา เพื่อให้ได้โครงสร้างใกล้เคียงกับเยื่อเซลล์ธรรมชาติมากที่สุด ในปี คศ. 1963 Muller[13,24,27,43] และผู้ร่วมงาน ได้ใช้วิธี Painting Method สร้างเยื่อเซลล์เทียมแบบ Bimolecular Lipid Leaflet ชนิดที่เรียกว่า Black Lipid Membrane (BLM) ขึ้น โดยสร้างระหว่างทางเปิดของ Polyethylene หรือ Teflon ที่มีขนาด 0.5 - 5 ตารางเซนติเมตร แล้วสังเกตการหักเหของแสง เยื่อเซลล์ที่เกิดในตอนแรกจะหนาโดยจะเห็นแสงที่หักเหเป็นสีเทา ต่อมาเมื่อทำให้บางลงจะเห็นเป็นสีดำ ซึ่งการเรียงตัวของไขมันจะเป็นแบบ Bimolecular Leaflet



รูปที่ 13 Black Lipid Membrane[24]

Black Lipid Membrane ที่สร้างจาก Phospholipid[13,27,43] จะมีแรงตึงผิวประมาณ 1 dyne/cm ความหนาของฟิล์มประมาณ 70 A^{o} มีความต้านทานไฟฟ้า = 10^{6} - 10^{9} ohm/cm^{2}. มีสัมประสิทธิ์ความซึมซ่านผ่านได้ของน้ำ (Water Permeability)

Coefficient)= 0.5×10^{-3} - 1×10^{-2} cm/sec เมื่อเพิ่ม Cholesterol เข้าไปในฟิล์มจะลดความซึมซ่านผ่านได้ของน้ำลงโดยไปเพิ่มความหนืด (Viscosity) ของส่วน Hydrocarbon Chain ซึ่งพบว่าความซึมซ่านผ่านได้ของน้ำของฟิล์มชนิดนี้เท่า ๆ กับเยื่อเซลล์ธรรมชาติ แต่ความต้านทานไฟฟ้ามีมากกว่า ซึ่งจะทำให้ลดลงได้โดยการเติมโปรตีนลงไปในฟิล์ม BLM นี้มีความซึมซ่านผ่านได้ของประจุบวก (Cation) มากกว่าประจุลบ (Anion) เราสามารถใช้ BLM เป็นตัวแทนในการศึกษาถึงปัญหาของ Natural Membrane Models, Membrane Transport, Conductivities และ Membrane Potentials

เยื่อเซลล์เทียมยังมีการสร้างในรูปแบบอื่น ๆ อีก[27] เช่น Thompson และเพื่อนร่วมงานสร้าง BLM ในลักษณะ Spherical Vesicle Muller และ Rudin สร้างในลักษณะ Spherules ได้เยื่อเซลล์มีความหนา 60 - 100 A^{o} Papahadjopoulous และ Milles สร้างในลักษณะเป็น Vesicle ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 500 A^{o} ล้อมรอบด้วย One or More Bilayer เป็นต้น

Monomolecular Film เป็นรูปแบบเยื่อเซลล์เทียมที่มีผู้นิยมนำมาศึกษาถึง การซึมผ่าน และปฏิกริยาของยา และสารเคมีต่าง ๆ ต่อเยื่อเซลล์กันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อนในการทดลองและง่ายในการศึกษาแปลผล ดังที่ Schulman[37,38] กล่าวว่า รูปแบบนี้ถึงแม้จะไม่ได้เป็นรูปแบบที่แท้จริงของเยื่อเซลล์ธรรมชาติ แต่ก็มีความหมายในการศึกษาถึงระดับโมเลกุล ซึ่งเป็นสารประกอบในเยื่อเซลล์ และสามารถนำผลที่ได้ไปใช้กับเยื่อเซลล์จริงได้

การศึกษาเกี่ยวกับ Monolayer มีมากมาย ส่วนมากจะเป็นการศึกษาหาปฏิกริยาของสารต่าง ๆ ต่อส่วนประกอบของเยื่อเซลล์ เช่น โลหะหนัก ยาฆ่า สารที่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก ยาประเภทต่าง ๆ เครื่องสำอาง สเตียรอยด์ สารที่ทำให้เกิดมะเร็ง ฯลฯ เพื่อศึกษาดูว่าสารต่าง ๆ เหล่านี้ทำปฏิกริยากับส่วนไหนของเยื่อเซลล์ เพื่อประโยชน์ในการวิเคราะห์โรค และการป้องกัน รักษา

ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้ Monomolecular Film ในการศึกษาถึงการซึมผ่านเยื่อเซลล์เทียมของน้ำมันตีนเป็ดน้ำและน้ำมันมะกอก ในปริมาณต่าง ๆ เพื่อเปรียบเทียบผล เป็นการศึกษาเบื้องต้น ก่อนที่จะศึกษาขั้นต่อไปในสัตว์ทดลอง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการซึมผ่านเยื่อเซลล์เทียมของน้ำมันตีนเป็ดน้ำ และน้ำมันมะกอก ในปริมาณ 0.1 µl, 0.25 µl, 0.5 µl, 0.75 µl, 1.0 µl, 1.5 µl, และ 2.0 µl ที่ pH 5.9 ซึ่งใกล้เคียงกับ pH ของผิวหนัง

2. เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการซึมผ่านเยื่อเซลล์เทียมของน้ำมันทั้งสองชนิดในปริมาณเดียวกัน และเปรียบเทียบที่ปริมาณต่าง ๆ กันด้วย

ความสำคัญหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. เพื่อให้ทราบความสามารถในการซึมผ่านเยื่อเซลล์เทียมของน้ำมันมะกอก ในปริมาณต่าง ๆ ซึ่งเป็นน้ำมันที่ผสมอยู่ในยาทา ถู นวด หรือเครื่องสำอาง ต่าง ๆ

2. เพื่อให้ทราบความสามารถในการซึมผ่านเยื่อเซลล์เทียมของน้ำมันตีนเป็ดน้ำที่ผลิตได้จากวัตถุดิบในประเทศ และมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันมะกอก

3. เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการซึมผ่านเยื่อเซลล์เทียมของน้ำมันทั้งสองว่าสามารถใช้แทนกันได้หรือไม่ เนื่องจากน้ำมันตีนเป็ดน้ำเป็นผลิตภัณฑ์ในประเทศ ซึ่งถ้าได้ผลดีจะเป็นการประหยัดเศรษฐกิจของชาติได้ทางหนึ่ง

ขอบเขตการวิจัยและข้อตกลงเบื้องต้น

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยอาศัยลักษณะโครงสร้างเยื่อเซลล์ของสิ่งที่มีชีวิต (Model of Biological Membrance) มาเป็นหลักในการทำเยื่อเซลล์เทียม คือใช้ลักษณะโครงสร้างที่เสนอโดย Danielli และ Davson แต่ทำเป็น Monomolecular Lipid Film โดยหยดไขมันให้เรียงตัวอยู่บนผิวน้ำ โดยเอาส่วนมีขั้วหันเข้าหาน้ำ และส่วนที่ไม่มีขั้วชี้ขึ้นสู่อากาศ เมื่อมีโปรตีนเคลือบข้างบนอีกชั้นจะได้ลักษณะคล้ายข้างหนึ่งของเยื่อเซลล์ ซึ่งผู้วิจัยใช้เยื่อเซลล์ที่เตรียมขึ้นในลักษณะนี้แทนเยื่อเซลล์จริง โดยใช้ Egg Lecithin (แทน Phospholipid), Cholesterol และโปรตีน (ใช้ Bovine Serum Albumin แทน) ในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน เป็นส่วนประกอบในการทำเยื่อเซลล์เทียม บน Subphase pH ≃ 5.9 ซึ่งเป็น pH ที่ใกล้เคียงกับบริเวณผิวหนัง

หยดน้ำมันตีนเป็ดน้ำ หรือน้ำมันมะกอก ในปริมาณที่จะทดลอบ ลงบนเยื่อเซลล์เทียมนี้โดยตรง

การทดลองทำในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2^{o} C

การวัดแรงตึงผิวใช้วิธี Wilhelmy Plate Method[40] โดยเครื่องมือ Tensiometer

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง จะต้องให้สะอาดที่สุด เครื่องแก้วทุกชนิดล้างให้สะอาดแล้วแช่ใน Chromic acid ค้างคืน หรือประมาณ 12 ชั่วโมง แล้วล้างด้วยน้ำประปาและน้ำกลั่นอย่างน้อย 6 ครั้ง[7]