


การเตรียมเส้นใยเจลาตินโดยการปั่นแบบไฟฟ้าสถิตและการเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลาติน  
ด้วยวิธีต่างๆ



นางสาวหทัยรัตน์ จีระธวัชชัย

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PREPARATION OF GELATIN ELECTROSPUN FIBER AND CROSSLINKING OF  
GELATIN FIBER MAT BY VARIOUS METHODS

Miss Hathairat Jeeratawatchai

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2007

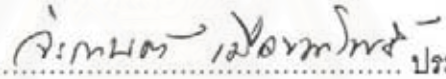
Copyright of Chulalongkorn University

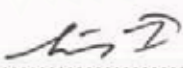
หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเตรียมเส้นใยเจลาตินโดยการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต และการเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลาตินด้วยวิธีต่างๆ
โดย	นางสาวหทัยรัตน์ จีระธวัชชัย
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ ดร.รัฐพล รั้งภูพันธ์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้  
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต


  
..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ ดร.บุญสม เลิศธีรวงค์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.จirkanต์ เมืองนาโพธิ์)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(อาจารย์ ดร.รัฐพล รั้งภูพันธ์)

  
..... กรรมการ  
(อาจารย์ ดร.ไศรดา กนกพานนท์)

  
..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ วรรณงคลชัย)

หทัยรัตน์ จีระธวัชชัย : การเตรียมเส้นใยเจลาตินโดยการปั่นแบบไฟฟ้าสถิตและการเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลาตินด้วยวิธีต่างๆ (PREPARATION OF GELATIN ELECTROSPUN FIBER AND CROSSLINKING OF GELATIN FIBER MAT BY VARIOUS METHODS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.ดร.ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ.ดร.รัฐพล รั้งภูพันธ์, 106 หน้า.

ในงานวิจัยนี้ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ การเตรียมเส้นใยเจลาตินและการเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลาติน โดยส่วนแรกทำการศึกษาผลของการเตรียมเส้นใยเจลาตินโดยวิธีการปั่นแบบไฟฟ้าสถิตจากสารละลายเจลาติน ชนิด A และเจลาติน ชนิด B ที่ละลายในกรดฟอริก จากการศึกษาพบว่า การเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการปั่นไม่ส่งผลต่อลักษณะของเส้นใยที่ปั่นได้จากสารละลายเจลาตินทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 25% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเมื่อทำการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารละลายเจลาตินที่ใช้ในกระบวนการปั่นเส้นใยในช่วง 2.5%-60% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าคงที่ พบว่า ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้จะแตกต่างกันขึ้นกับความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน ซึ่งสามารถแบ่งลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็น 4 แบบ คือ ผลิตภัณฑ์เป็นอนุภาคหรือเม็ดปิด ขนาดเฉลี่ยประมาณ 450-2000 นาโนเมตร เกิดในช่วงความเข้มข้น 2.5%-5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผลิตภัณฑ์เป็นเส้นใยขนาดเล็กเชื่อมอยู่ระหว่างเม็ดปิดเกิดในช่วง 7.5%-15% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีขนาดเม็ดปิดและเส้นใยเฉลี่ยประมาณ 500-1300 และ 50-130 นาโนเมตร ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์เป็นเส้นใยต่อเนื่องเกิดในช่วง 20%-50% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 150-800 นาโนเมตร ผลิตภัณฑ์เป็นเส้นใยแบนคล้ายริบบิ้นเกิดที่ความเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ส่วนการศึกษาการเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลาติน โดยใช้วิธีการเชื่อมขวางแบบต่างๆ พบว่า การเชื่อมขวางทางกายภาพทำให้น้ำหนักแผ่นเส้นใยมีค่าลดลง และมีร้อยละการเชื่อมขวางน้อยมากเมื่อเทียบกับวิธีทางเคมีแบบต่างๆ และโครงสร้างพื้นฐานของเส้นใยที่เชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพไม่มีการเปลี่ยนแปลง ทั้งนี้เนื่องจากแผ่นเส้นใยไม่มีการสัมผัสน้ำในกระบวนการเชื่อมขวางทางกายภาพ อีกทั้งการเชื่อมขวางในกลุ่มนี้จะมีข้อจำกัดในแง่กลไกการเกิดปฏิกิริยา เมื่อเปรียบเทียบการเชื่อมขวางระหว่างแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A และชนิด B ที่ใช้วิธีการเชื่อมขวางเหมือนกัน พบว่า เจลาติน ชนิด B มีร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยสูงกว่าเจลาติน ชนิด A และย่อยสลายทางชีวภาพได้ช้ากว่า เจลาติน ชนิด A สำหรับทุกวิธีที่ใช้ ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากปริมาณหมู่คาร์บอกซิลิกของเจลาติน ชนิด B ที่มากกว่าเจลาติน ชนิด A

ภาควิชา...วิศวกรรมเคมี... ลายมือชื่อนิสิต.....  
สาขาวิชา...วิศวกรรมเคมี... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....  
ปีการศึกษา...2550..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....



# # 4970668721: MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEY WORD: GELATIN/ ELECTROSPINNING/ NANOFIBER/ CROSSLINKING/ BIOMATERIALS

HATHAIRAT JEERATAWATCHAI: PREPARATION OF GELATIN ELECTROSPUN FIBER AND CROSSLINKING OF GELATIN FIBER MAT BY VARIOUS METHODS.

THESIS PRINCIPAL ADVISOR: ASSOC.PROF.SIRIPORN DAMRONGSAKKUL, Ph.D., THESIS COADVISOR: RATTHAPOL RANGKUPAN, Ph.D., 106 pp.

This work consists of 2 parts; preparation of gelatin electrospun fibers and crosslinking of gelatin fiber mats. Gelatin fiber was prepared by electrospinning using type A and type B gelatins in formic acid. It was found that, at the concentration of 25% by weight per volume, changes in voltage had no effects on obtained electrospun fiber. Considering the effect of gelatin concentration used in spinning process (2.5-60% by weight per volume) at a constant voltage, it was found that the obtained products can be grouped into 4 types depended on the concentration of gelatin solution. The first group is gelatin particles or beads at the average size of 450-2000 nm obtained from 2.5-5% gelatin solution. The second group obtained from 7.5-15% gelatin solution is the small fiber linked among beads. The average sizes of beads and fiber are 500-1300 and 50-130 nm, respectively. The third group is a continuous gelatin fiber with the average size of 150-800 nm spun from 20-50% gelatin solution. The last group is a flat ribbon occurred when spinning 60% gelatin solution. When gelatin fiber mats were crosslinked via various methods, it was observed that the physical crosslinking results in a much lower weight loss and crosslinking percentage of fibers than those crosslinked by chemical methods. Moreover, the morphology of gelatin fiber mat does not after often physical crosslinking. This might be due to the fact that gelatin fiber did not directly contact to water in physical crosslinking process. In addition, the sites of physical crosslinking are limited. The comparison of crosslinked type A and B gelatin fibers using the same crosslinking method showed that the crosslinking percentage of type B gelatin fiber was higher while the biodegradability of type B gelatin fiber was slower than that of type A gelatin. This could be the results of higher contents of carboxylic group in type B gelatin compared to type A gelatin.

Department: ...Chemical Engineering... Student's signature: *หทัยรัตน์ เจียรตาวatchai*

Field of study: .Chemical Engineering... Principal Advisor's signature: *Siriporn Damrongsakkul*

Academic year: .....2007..... Co-Advisor's signature: *R. Rattapol*

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยได้รับความช่วยเหลือจากหลายๆ ท่าน ซึ่งผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล อาจารย์ที่ปรึกษา, อ.ดร.รัฐพล รั้งกฤษณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม, รศ.ดร.จิรกานต์ เมืองนาโพธิ์, อ.ดร.ไศรดา กนกพานนท์ และ รศ.ดร.สมศักดิ์ วรรณมงคลชัย เป็นอย่างสูงสำหรับการให้คำปรึกษาต่องานวิจัย การออกแบบและวางแผนการวิจัย การตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ และแนวทางในการดำเนินงานวิจัย

ขอขอบคุณ ทูสนับสนุนงานวิจัยจากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมพอลิเมอร์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ ห้องปฏิบัติการ iTissue คณะแพทยศาสตร์ และสถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการแนะนำให้ความช่วยเหลือและเชื้อเพื่อเครื่องมือในการวิเคราะห์ในงานวิจัย

ขอขอบคุณ คุณอิศราวุธ ประเสริฐสังข์ ที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือด้านการใช้พลาสติก และ คุณจุฑามาศ รัตนวราภรณ์ ที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือด้านความรู้เกี่ยวกับการย่อยสลายทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ

ขอบคุณมากๆ สำหรับ พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมพอลิเมอร์ และสถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ ที่ได้ให้กำลังใจ คำแนะนำ และความช่วยเหลือจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัย กราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัวที่เป็นกำลังใจ ที่ให้การสนับสนุนตลอดมาจนกระทั่งงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
1.1 มุมเหตุจูงใจและที่มาของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	4
2. ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 วิธีการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต (Electrospinning).....	5
2.1.1 อุปกรณ์หลักที่ใช้ในการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต.....	5
2.1.2 หลักการพื้นฐานในการปั่นเส้นใย.....	6
2.1.3 กลไกการเกิดเส้นใย.....	7
2.1.4 ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการปั่นเส้นใย.....	8
2.1.5 สมบัติของเส้นใยขนาดนาโนเมตร.....	9
2.1.6 การใช้ประโยชน์จากเส้นใย.....	9
2.2 โปรตีน (Protein).....	11
2.2.1 โครงสร้างของโปรตีน.....	12
2.2.2 ประเภทของโปรตีน.....	13
2.2.3 สมบัติของโปรตีน.....	14
2.3 เจลาติน (Gelatin).....	15
2.3.1 การผลิตเจลาติน.....	16
2.3.2 สมบัติของเจลาติน.....	18
2.3.3 การใช้ประโยชน์จากเจลาติน.....	21
2.4 การเชื่อมขวาง.....	23

	หน้า
2.4.1 การเชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพ.....	23
2.4.2 การเชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมี.....	25
2.5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	28
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย.....	34
3.1 แผนการดำเนินงานวิจัย.....	34
3.2 วัตถุประสงค์และสารเคมี และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....	37
3.3 วิธีการทดลอง.....	38
3.3.1 การปั่นเส้นใยเจลาติน.....	38
3.3.2 การเชื่อมขวาง.....	39
3.3.3 การทดสอบลักษณะสมบัติของแผ่นเส้นใยเจลาติน.....	41
3.3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	43
3.4 สถานที่ทำการวิจัย.....	43
4. ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง.....	44
4.1 การเตรียมเส้นใยเจลาติน.....	44
4.1.1 อิทธิพลของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต.....	44
4.1.2 อิทธิพลของความเข้มข้นสารละลายเจลาตินที่ใช้ในกระบวนการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต.....	48
4.1.3 ความหนืดและค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายเจลาตินที่ใช้ในกระบวนการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต.....	55
4.2 การเชื่อมขวาง.....	58
4.2.1 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาติน.....	58
4.2.2 ร้อยละการเชื่อมขวาง.....	64
4.2.3 โครงสร้างพื้นฐานของแผ่นเส้นใย.....	69
4.2.4 การย่อยสลายทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการของแผ่นเส้นใยเจลาติน.....	72
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	78
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	78
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	79
รายการอ้างอิง.....	80



	หน้า
ภาคผนวก.....	85
ภาคผนวก ก.....	86
ภาคผนวก ข.....	92
ภาคผนวก ค.....	95
ภาคผนวก ง.....	100
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	106



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 กรดอะมิโนที่ได้จากการไฮโดรไลซ์เจลาตินอย่างสมบูรณ์.....	16
4.1 สรุปลักษณะของการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A และ ชนิด B.....	77
ก.1 การเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ให้กับสารละลายเจลาติน ชนิด A และ เจลาติน ชนิด B ที่ความเข้มข้น 25% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร.....	86
ก.2 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน ชนิด A ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 15 กิโลโวลต์ และ 20 กิโลโวลต์.....	87
ก.3 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน ชนิด B ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์.....	89
ก.4 การวัดค่าการนำไฟฟ้าและความหนืดของสารละลายเจลาติน ชนิด A ที่ความเข้มข้นค่าต่างๆ ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง.....	90
ก.5 การวัดค่าการนำไฟฟ้าและความหนืดของสารละลายเจลาติน ชนิด A ที่ความเข้มข้น 40% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ระยะเวลาต่างๆ.....	90
ก.6 การวัดค่าการนำไฟฟ้าและความหนืดของสารละลายเจลาติน ชนิด B ที่ความเข้มข้นค่าต่างๆ ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง.....	91
ก.7 การวัดค่าการนำไฟฟ้าและความหนืดของสารละลายเจลาติน ชนิด B ที่ความเข้มข้น 40% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ระยะเวลาต่างๆ.....	91
ข.1 น้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ขนาด 5 x 5 ตารางเซนติเมตร ก่อนและหลังการเชื่อมขวาง.....	93
ข.2 น้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ขนาด 5 x 5 ตารางเซนติเมตร ก่อนและหลังการเชื่อมขวาง.....	94
ค.1 ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระและระดับการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาตินชนิด A.....	96
ค.2 ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระและระดับการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาตินชนิด B.....	98
ง.1 น้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ก่อนการย่อยสลายและหลังการย่อยสลาย.....	100
ง.2 น้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ก่อนการย่อยสลายและหลังการย่อยสลาย.....	103

## สารบัญญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
2.1 เทคนิคการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต.....	6
2.2 แบบจำลองการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสารละลายที่ปลายคะปิลลารี.....	7
2.3 โครงสร้างของโปรตีน.....	13
2.4 โครงสร้างเจลาติน.....	16
2.5 ขั้นตอนการสกัด acidic gelatin และ basic gelatin.....	17
2.6 สัดส่วนวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเจลาตินและสัดส่วนการผลิตเจลาตินทั่วโลก.....	18
2.7 การใช้เจลาตินในอุตสาหกรรม.....	21
2.8 สถานะของสสาร คือ ของแข็ง ของเหลว ก๊าซ และพลาสมา.....	25
2.9 การเชื่อมขวางของคอลลาเจนกับ GA.....	26
2.10 โครงสร้างของ 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC).....	26
2.11 การเชื่อมขวางของคอลลาเจนกับ EDC และ NHS.....	27
3.1 แผนผังการเตรียมสารละลายและการปั่นเส้นใยเจลาติน.....	35
3.2 แผนผังการเชื่อมขวางและการลักษณะสมบัติของแผ่นเส้นใยเจลาติน.....	36
3.3 การทำปฏิกิริยาระหว่าง TNBS กับหมู่อะมิโนอิสระของเจลาติน.....	41
4.1 ภาพ SEM ของเม็บบิดเจลาติน ชนิด A ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต โดยใช้สารละลาย ความเข้มข้น 25%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าค่าต่างๆ.....	45
4.2 ภาพ SEM ของเม็บบิดเจลาติน ชนิด B ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต โดยใช้สารละลาย ความเข้มข้น 25%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าค่าต่างๆ.....	46
4.3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเส้นใยเจลาติน ชนิด A และเจลาติน ชนิด B เมื่อ เปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต.....	47
4.4 ภาพ SEM ของเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 15 กิโลโวลต์ โดยใช้สารละลายเจลาตินความเข้มข้นค่าต่างๆ.....	50
4.5 ภาพ SEM ของเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ โดยใช้สารละลายเจลาตินความเข้มข้นค่าต่างๆ.....	51
4.6 ขนาดเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็บบิดและเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ได้จากการปั่นแบบ ไฟฟ้าสถิตที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยมีความต่างศักย์ไฟฟ้า 15 และ 20 กิโลโวลต์.....	52
4.7 ภาพ SEM ของเส้นใยเจลาติน ชนิด B ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ โดยใช้สารละลายเจลาตินความเข้มข้นค่าต่างๆ.....	53

ภาพประกอบ	หน้า
4.8 ขนาดเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดปิดและเส้นใยเจลลาติน ชนิด B ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิตที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยมีความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์.....	54
4.9 ความหนืดของสารละลายเจลลาติน ชนิด A และ ชนิด B ที่ละลายในกรดฟอร์มิกเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นสารละลายต่างๆ.....	56
4.10 ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายเจลลาติน ชนิด A และ ชนิด B ที่ละลายในกรดฟอร์มิกเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นสารละลายต่างๆ.....	57
4.11 ร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ชนิด A ภายหลังจากเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ เปรียบเทียบกับน้ำหนักก่อนการเชื่อมขวาง.....	60
4.12 ร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ชนิด B ภายหลังจากเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ เปรียบเทียบกับน้ำหนักก่อนการเชื่อมขวาง.....	63
4.13 ร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ชนิด A ที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางและที่ผ่านการเชื่อมขวาง.....	66
4.14 ร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ชนิด B ที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางและที่ผ่านการเชื่อมขวาง.....	68
4.15 ภาพ SEM ของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ชนิด A ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ.....	70
4.16 ภาพ SEM ของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ชนิด B ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ.....	71
4.17 ร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ชนิด A ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ หลังการย่อยสลายด้วยเอนไซม์คอลลาจีเนส.....	73
4.18 ร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ชนิด B ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ หลังการย่อยสลายด้วยเอนไซม์คอลลาจีเนส.....	75
ข.1 ความหนาของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ที่ความเข้มข้น 40% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร.....	92
ค.1 รูปกราฟแสดงสมการที่ใช้ในการหาปริมาณหมู่อะมิโนอิสระจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ $\beta$ -alanine กับค่าการดูดกลืนแสง.....	95

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 มูลเหตุจูงใจและที่มาของงานวิจัย

เทคนิคอิเล็กทรอนิกส์สปินนิง หรือ กระบวนการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต เป็นวิธีการเตรียมเส้นใยโดยใช้แรงผลักทางไฟฟ้าจากประจุที่อยู่บนหยดหรือลำพอลิเมอร์เหลว โดยเส้นใยที่ได้มีขนาดตั้งแต่วัดระดับน้อยกว่า 10 นาโนเมตร ถึง หลายไมโครเมตร [Ki C.S. และคณะ, 2005 และ Murugan R. และคณะ, 2006] ด้วยความหลากหลายของขนาดเส้นใย จึงมีการนำเส้นใยที่ผลิตจากวิธีนี้มาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น การแพทย์ เกษษกรรม วิศวกรรม การทหาร และอื่น ๆ ข้อดีของกระบวนการนี้คือ ใช้พลังงานในการผลิตต่ำ เทคโนโลยีไม่ซับซ้อน และสังเคราะห์เส้นใยที่มีขนาดเล็กมากได้ มีอัตราส่วนระหว่างพื้นผิวต่อปริมาตร (Surface-to-volume Ratio) สูงมาก มีน้ำหนักเบา ส่วนมากมีลักษณะเป็นผืนผ้าที่ไม่ได้ทอ (non-woven fabric) มีรูพรุนขนาดเล็กอยู่เป็นจำนวนมาก มีความพรุนสูง ทำให้มีการส่งผ่านของของเหลวหรือแก๊สได้ดี ส่งผลทำให้มีสมบัติเชิงกลดีขึ้น [บุศรินทร์ เชมะปะบุตร, 2549] แต่ยังมีข้อจำกัดในเรื่องการผลิตเส้นใยให้ได้ปริมาณมาก ๆ เนื่องจากขนาดที่เล็กมากของเส้นใย รวมถึงการกระจายตัวของขนาดเส้นใยที่ค่อนข้างกว้าง [Wang Y. และคณะ, 2002]

ในทางการแพทย์ มีการนำเส้นใยขนาดไมโครเมตรและนาโนเมตรที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิตไปประยุกต์ใช้หลายด้าน เช่น ทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก (Bone Tissue Engineering) วัสดุตกแต่งแผล (Wound Dressing) ระบบส่งยา (Drug Delivery System) [บุศรินทร์ เชมะปะบุตร, 2549] คณะผู้วิจัยมีเป้าหมายที่จะผลิตแผ่นเส้นใยเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยโปรตีน (Controlled release of protein) ซึ่งเป็นรูปแบบใหม่ในการรักษาการบาดเจ็บของเส้นประสาทที่ถูกกดทับ อาการบาดเจ็บของเส้นประสาทที่ถูกกดทับนี้ไม่ทำให้เส้นประสาทขาดออกจากกัน ดังนั้นโดยทั่วไปจะปล่อยให้เส้นประสาทภายในงอกใหม่เอง ซึ่งใช้เวลานานหลายเดือน แนวคิดในการรักษาอาการบาดเจ็บนี้ จะนำแผ่นเส้นใยหุ้มรอบตำแหน่งที่บาดเจ็บของเส้นประสาท เพื่อทำหน้าที่เป็นวัสดุควบคุมการปลดปล่อยโปรตีน ซึ่งมีผลทำให้การงอกใหม่ของเส้นประสาทหลังการบาดเจ็บมีอัตราเร็วขึ้นและคืนหน้าที่ได้เร็วขึ้น [Lee AC และคณะ, 2003, Xu X และคณะ, 2003, Wang S และคณะ, 2003 และ Ikeguchi R และคณะ, 2006]

การเลือกวัสดุที่จะผลิตเป็นเส้นใย จึงเป็นส่วนที่มีความสำคัญมาก วัสดุดังกล่าวจะต้องเป็นวัสดุที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพและสามารถดูดซับโปรตีนได้ ซึ่งเจลาตินเป็นชีววัสดุที่เริ่มมีรายงานการนำมาผลิตเป็นแผ่นเส้นใยด้วยวิธีการปั่นเส้นใยแบบ



ไฟฟ้าสถิต ดังเช่นรายงานของ Huang Z.M. [Huang Z.M. และคณะ, 2004] ซึ่งได้ศึกษาลักษณะของเส้นใยเจลาตินที่ได้จากวิธีการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต จากสารละลายเจลาติน ชนิด A ใน 2,2,2-trifluoroethanol โดยทำการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายในช่วง 2.5-15% และรายงานของ Li M. [Li M. และคณะ, 2006] ได้ทำการศึกษาการปั่นเส้นใยของพอลิเมอร์ผสมระหว่าง เจลาติน ชนิด B กับ Camphorsulfonic acid-Polyaniline (CPSA-PANi) ซึ่งพอลิเมอร์ทั้งสองชนิดละลายใน 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-Propanol (HFP) โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนผสมของพอลิเมอร์ทั้งสองชนิด อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานเปรียบเทียบผลกระทบของสถานะในกระบวนการผลิตที่มีต่อแผ่นเส้นใยเจลาตินทั้ง ชนิด A และ ชนิด B ด้วยกระบวนการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต และได้มีรายงานการนำเส้นใยเจลาตินที่ผลิตจากกระบวนการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิตมาใช้ในการปลดปล่อยสมุนไพรไทย ดังเช่น รายงานของ Panprung S. [Panprung S. และคณะ, 2008] ได้ทำการศึกษาการปั่นเส้นใยเจลาตินผสมกับสมุนไพรไทย คือ *Centella asiatica* (ในประเทศไทย เรียกว่า บัวบก) ซึ่งใช้ในการรักษาแผลไฟไหม้ แผลบาดเจ็บที่บริเวณผิวหนัง แผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ โดยได้มีการผสมสารละลายระหว่างเจลาติน ชนิด A ที่ละลายในกรดอะซิติก และ สารสกัดจาก *Centella asiatica* ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นตั้งแต่ 5%-30% โดยน้ำหนัก

นอกจากนี้ ด้วยความสามารถในการละลายน้ำได้ง่ายของเจลาติน ทำให้เมื่อขึ้นรูปเจลาตินให้อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมแล้ว จะต้องทำการปรับเปลี่ยนเจลาตินให้ไม่ละลายน้ำและมีความสามารถในการย่อยสลายช้าลง เพื่อให้สอดคล้องกับการนำไปใช้งาน วิธีการควบคุมอัตราการย่อยสลายของชีววัสดุที่นิยมใช้ คือ การเชื่อมขวางของชีววัสดุ ซึ่งมีหลายวิธี อาทิ การเชื่อมขวางโดยใช้ความร้อน (Dehydrothermal treatment, DHT) การเชื่อมขวางโดยสารเคมี เช่น กลูตารัลดีไฮด์ (GA) และ 1-ethyl-3-(3-dimethylamino propyl)carbodiimide hydrochloride (EDC) ซึ่งกลไกการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ จะแตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น การเชื่อมขวางแบบใช้ความร้อนเป็นการเชื่อมขวางระหว่างไฮดรอกซิลของโมเลกุลจากปฏิกิริยาการรวมตัว (condensation) ด้วยการสร้างพันธะเอไมด์ระหว่างหมู่เอมีนกับหมู่คาร์บอกซิลิกและมีการขับโมเลกุลของน้ำออกม [Pieper J.S, และคณะ, 2000] การเชื่อมขวางของ GA เกิดจากหมู่แอลดีไฮด์ของ GA เชื่อมขวางกับหมู่เอมีน ของเจลาติน โดยวิธีนี้โมเลกุลของ GA จะเข้าไปแทรกอยู่ภายในแผ่นเส้นใย [Ruiz M. และคณะ, 2002] และการเชื่อมขวางของ EDC เกิดจากหมู่เอมีนของ EDC เชื่อมขวางกับหมู่คาร์บอกซิลิกของเจลาติน [Goissis G. และคณะ 1998] ซึ่งวิธีการเชื่อมขวางที่ต่างกัน ส่งผลให้ความสามารถในการย่อยสลายและสมบัติอื่นๆ ของชีววัสดุแตกต่างกัน ดังที่ได้มีรายงาน โดยนฤนาถ [นฤนาถ, 2550] ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการเชื่อมขวางของโครงเลี้ยงเซลล์เจลาติน-ไคโตซานที่ขึ้นรูปด้วยวิธีการทำแห้งแข็งพบว่า โครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเชื่อมขวางแบบใช้ความร้อน

และแบบแซ่สารกลูตาไรต์ไฮด์ มีการหดตัวน้อยกว่าโครงเลี้ยงเซลล์แบบใช้ความร้อนร่วมกับการอบไอสารละลายสารเคมีกลูตาไรต์ไฮด์ และแบบใช้ความร้อนร่วมกับการอบไอสารละลาย EDC และขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเชื่อมขวางแบบต่างๆ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยโครงเลี้ยงเซลล์ที่เชื่อมขวางแบบใช้สารเคมี มีระดับการเชื่อมขวาง ความทนแรงกด การสูญเสียน้ำหนักและการหดตัวสูงกว่าโครงเลี้ยงเซลล์แบบ DHT และโครงเลี้ยงเซลล์ที่เชื่อมขวางแบบอบไอสารละลาย GA มีลักษณะสมบัติใกล้เคียงกับโครงเลี้ยงเซลล์ที่เชื่อมขวางแบบแซ่ EDC แต่โครงเลี้ยงเซลล์ทั้งสองชนิดนี้มีการสูญเสียน้ำหนักและการหดตัวที่ค่อนข้างสูง

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาผลของปัจจัยสภาวะที่มีต่อการผลิตเส้นใยเจลลาตินทั้งชนิด A และชนิด B ด้วยกระบวนการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ปัจจัยที่จะศึกษาได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลาย และความต่างศักย์ไฟฟ้า จากนั้นจะคัดเลือกแผ่นเส้นใยเจลลาตินที่ผลิตได้มาทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของการเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลลาตินด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ การใช้ความร้อน (DHT) การใช้ความร้อนร่วมกับการอบไอสารละลาย GA การใช้ความร้อนร่วมกับการแซ่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ การใช้ความร้อนร่วมกับการแซ่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล การใช้ความร้อนร่วมกับการฟ่นละของสารละลายก่อนการแซ่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ การใช้ความร้อนร่วมกับการฟ่นละของสารละลายก่อนการแซ่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล และ การใช้ความร้อนร่วมกับการใช้พลาสมา โดยจะมีการทำการทดสอบความสามารถในการเชื่อมขวาง ลักษณะโครงสร้างแผ่นเส้นใย และความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ผลลัพธ์จากงานวิจัยนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการผลิตแผ่นเส้นใยเจลลาตินที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาการบาดเจ็บของเส้นประสาทจากการกดทับต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาอิทธิพลของสภาวะที่มีต่อคุณลักษณะและสมบัติของเส้นใยซึ่งผลิตโดยวิธีการปั่นแบบไฟฟ้าสถิตของเจลลาติน ชนิด A และ เจลลาติน ชนิด B
2. เพื่อเปรียบเทียบคุณลักษณะและความสามารถในการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ การใช้ความร้อน สารเคมี และการใช้พลาสมา

### 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1. เตรียมเส้นใยเจลาติน ชนิด A และ เส้นใยเจลาติน ชนิด B โดยวิธีการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต
 

ปัจจัยที่จะศึกษาได้แก่

  - 1.1 เจลาติน ชนิด A และ เจลาติน ชนิด B ความเข้มข้น 25 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 10, 12.5, 15, 17.5, 20 และ 25 กิโลโวลต์
  - 1.2 เจลาติน ชนิด A ที่ความเข้มข้นสารละลายเจลาติน 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร  
 เจลาติน ชนิด B ที่ความเข้มข้นสารละลายเจลาติน 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
2. ทำการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาตินโดยใช้ความร้อน สารเคมี และการใช้พลาสมา ซึ่งมีวิธีการแตกต่างกัน 7 วิธี คือ
  - การใช้ความร้อน (DHT)
  - การใช้ความร้อนร่วมกับการอบไอน้ำ GA
  - การใช้ความร้อนร่วมกับการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ
  - การใช้ความร้อนร่วมกับการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล
  - การใช้ความร้อนร่วมกับการฟ่นละของสารละลายก่อนการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ
  - การใช้ความร้อนร่วมกับการฟ่นละของสารละลายก่อนการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล
  - การใช้ความร้อนร่วมกับการใช้พลาสมา
3. วิเคราะห์คุณลักษณะ และสมบัติของเส้นใยและแผ่นเส้นใยเจลาตินที่เตรียมได้ ดังนี้
  - 3.1 ลักษณะของเส้นใยขนาดนาโนเมตร โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)
  - 3.2 ความสามารถในการเชื่อมขวาง
  - 3.3 ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 วิธีการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต (Electrospinning) [วลัยพร หงส์โรจนวนิวัฒน์, 2547]

วิธีอิเล็กโตรสปินนิง (Electrospinning) หรือ การปั่นแบบไฟฟ้าสถิต (Electrostatic spinning) ถูกคิดค้นขึ้นตั้งแต่ในปี 1914 แต่เป็นที่รู้จักแพร่หลาย ในช่วงปี 1930 เป็นวิธีที่อาศัยแรงทางไฟฟ้าในการเอาชนะแรงตึงผิวของของเหลว เพื่อทำให้เกิดการพุ่งเป็นลำ (jet) ของสารละลาย ซึ่งมีประจุไฟฟ้า อันเป็นผลจากการเชื่อมต่อกับแหล่งกำเนิดศักย์ไฟฟ้าแรงสูง (High voltage power supply) ส่งผลทำให้เกิดการยืดตัวของสารละลายพอลิเมอร์หรือพอลิเมอร์หลอมเหลวที่บรรจุใน capillary droplet เกิดเป็นเส้นที่มีขนาดเล็กซ้อนทับกันบนวัสดุรองรับ (collector) ที่เป็นโลหะหรือวัสดุที่มีสมบัตินำไฟฟ้าได้ [Doshi J. และ Reneker DH., 1995] วิธีนี้เป็นวิธีการปั่นเส้นใยแบบหนึ่ง ซึ่งสามารถใช้เตรียมเส้นใยที่มีขนาดเล็กมากได้ โดยเส้นใยที่ได้มีขนาดตั้งแต่ระดับน้อยกว่า 10 นาโนเมตร ถึง หลายไมโครเมตร เทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตนี้แตกต่างจากเทคนิคการผลิตเส้นใยโดยทั่วไปที่ใช้แรงทางกล คือ ใช้แรงทางไฟฟ้าในการก่อให้เกิดการยืดตัวของสารละลายพอลิเมอร์ ซึ่งอัตราการยืดตัวสุดท้ายของเส้นใยที่ได้จะมีค่าสูงมาก เมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการปั่นเส้นใยแบบอื่นๆ ที่สามารถใช้ผลิตเส้นใยที่มีความละเอียดสูง กระบวนการผลิตเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตจะมีความซับซ้อนในการผลิตเส้นใยน้อยกว่าวิธีอื่น ใช้อุปกรณ์ที่มีราคาไม่สูงมากนัก อีกทั้งยังสามารถเตรียมเส้นใยได้ในเวลาอันรวดเร็ว สามารถเตรียมเส้นใยได้จากสารละลายพอลิเมอร์ตั้งต้นในปริมาณน้อยๆ ได้ อย่างไรก็ดีถึงแม้ว่าความเร็วในการปั่นเส้นใยจะสูงก็ตาม แต่เนื่องจากขนาดของเส้นใยที่ได้มีขนาดเล็กมากทำให้ต้องใช้เวลาพอสมควรเพื่อให้ได้ปริมาณของเส้นใยที่มากพอ ส่วนลักษณะของเส้นใยที่ได้จะเป็นแผ่นเส้นใยที่ไม่ได้ทอ (non-woven fabric) เนื่องจากแผ่นเส้นใยนี้เกิดจากการซ้อนทับกันของเส้นใยจึงมีลักษณะที่สำคัญ คือ เป็นวัสดุที่มีความพรุนสูง โดยที่รูพรุนที่ได้มีขนาดเล็กมาก จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง ในทางการแพทย์ [Warner SB. และคณะ, 1999 และ Wang Y. และคณะ, 2002]

##### 2.1.1 อุปกรณ์หลักที่ใช้ในการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต

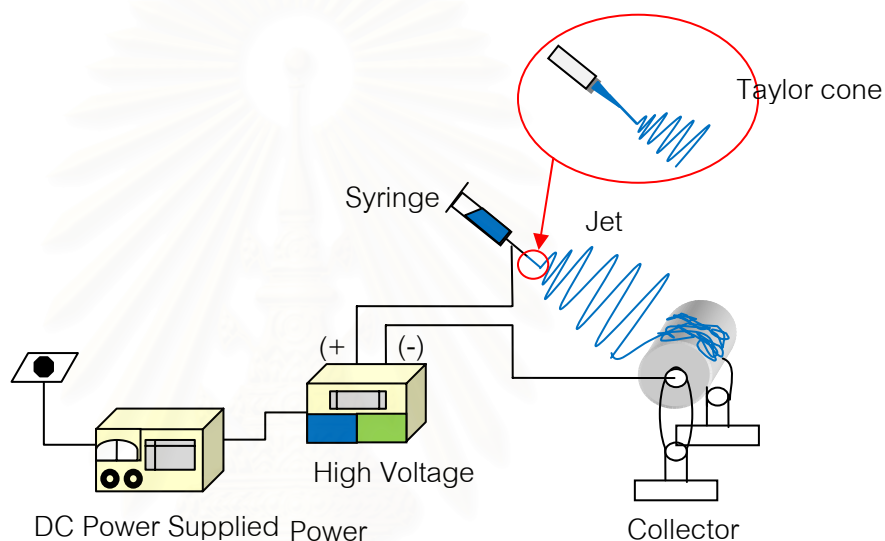
ประกอบด้วย 3 ส่วนหลักๆ ดังแสดงในรูปที่ 2.1 ดังนี้

2.1.1.1 เครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูง ทำหน้าที่สร้างความต่างศักย์ไฟฟ้าระหว่างปลายเข็มของสารละลายพอลิเมอร์ (emitting electrode) และ ฉากรองรับเส้นใย (collecting

electrode) ซึ่งสามารถปรับค่าความต่างศักย์ได้ในช่วง 0 – 30 กิโลโวลต์ กำลังเคลื่อนไฟฟ้าควรอยู่ในระดับมิลลิแอมป์ หรือต่ำกว่าเพื่อไม่ให้เกิดอันตรายเนื่องจากไฟฟ้าช็อตต่อผู้ปฏิบัติงาน

2.1.1.2 หลอดสำหรับบรรจุพอลิเมอร์ตัวอย่าง ซึ่งอาจเป็นปิเปตหรือหลอดฉีดยา โดยมีช่องเปิดเพื่อให้พอลิเมอร์ตัวอย่างสามารถไหลออกมาได้ ในกรณีใช้หลอดฉีดยาสามารถใช้เข็มฉีดยาต่อตรงส่วนเปิด โดยทั่วไปมักต่อกับเครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูง ที่ด้านแรงดันไฟฟ้าศักย์สูง

2.1.1.3 อุปกรณ์โลหะที่ใช้รองรับเส้นใย ซึ่งอาจมีหลายลักษณะ เช่น เป็นแผ่นตะแกรงโลหะ เป็นลูกกลิ้งที่หุ้มด้วยโลหะ ซึ่งสามารถควบคุมอัตราเร็วรอบการหมุนของลูกกลิ้งได้ หรืออาจเป็นฉากที่หุ้มด้วยโลหะ



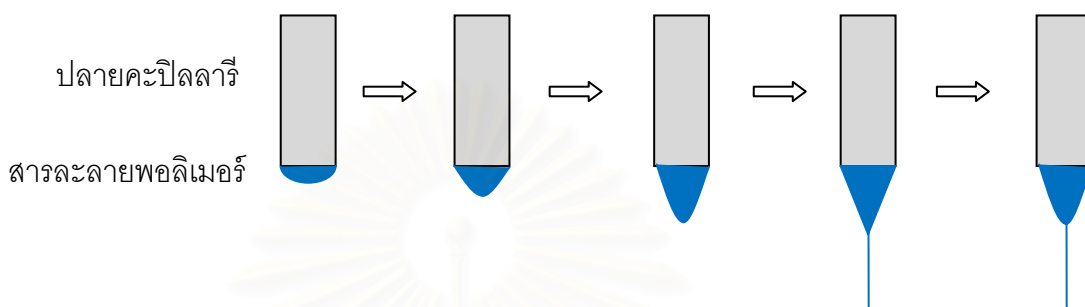
รูปที่ 2.1 เทคนิคการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต

## 2.1.2 หลักการพื้นฐานในการปั่นเส้นใย

ในการผลิตเส้นใยพอลิเมอร์ขนาดนาโนเมตร โดยวิธีการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ได้มีการใช้ความต่างศักย์สูงกับสารละลายพอลิเมอร์ หรือพอลิเมอร์หลอมเหลว เพื่อให้สามารถพุ่งออกจากแคปิลลารีได้ ก่อนที่สารละลายพอลิเมอร์หรือพอลิเมอร์หลอมเหลวจะมาถึงแผ่นรองรับ ตัวทำละลายที่ออกมาพร้อมกับเส้นใยจะเกิดการระเหยออกไปก่อน หรือพอลิเมอร์หลอมเหลวอาจเกิดการแข็งตัวกลายเป็นเส้นใยขนาดเล็กตกลงมาที่แผ่นรองรับอย่างไม่เป็นระเบียบ มีลักษณะเป็นแบบเส้นใยที่ไม่ถักทอลักษณะคล้ายแผ่นกระดาษ (non-woven fabric) โดยปกติจะต่อหัวประจุไฟฟ้าหัวหนึ่งเข้าไปในสารละลายพอลิเมอร์และอีกหัวต่อเข้ากับแผ่นรองรับ แต่ส่วนมากแผ่นรองรับจะต่อกับสายดิน เมื่อเริ่มให้ประจุไฟฟ้าแก่สารละลายพอลิเมอร์ ประจุจะเคลื่อนที่ไปบริเวณพื้นผิวของสารละลายที่ปลายแคปิลลารี เมื่อแรงของสนามไฟฟ้าเพิ่มขึ้น สารละลายที่ปลายแคปิลลารีจะเปลี่ยนรูปร่างจากครึ่งทรงกลมเป็นทรงกรวย หรือที่รู้จักกันในชื่อของ Taylor cone



เมื่อสนามไฟฟ้าเพิ่มมากขึ้นถึงจุดหนึ่งที่เป็นจุดที่แรงทางไฟฟ้ามีค่ามากกว่าแรงตึงผิวของของเหลว จะทำให้ของเหลวพุ่งออกจากปลาย Taylor cone ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ที่พุ่งออกมาจะเกิดความไม่เสถียร และเกิดการยืดตัวทำให้ลำของเหลว (jet) ยาวขึ้น และเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กลง ขณะเดียวกับที่ตัวทำละลายระเหยออกไปเหลือไว้แต่เส้นใยพอลิเมอร์ ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 แบบจำลองการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสารละลายที่ปลายกะปิลดารี

### 2.1.3 กลไกการเกิดเส้นใย

เทคนิคการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิตมีขั้นตอนการเกิดของเส้นใยอยู่ 3 ขั้นตอน ดังนี้

#### 2.1.3.1 การเกิดลำของเหลว และเกิดเส้นใยปรากฏออกมาเป็นเส้นตรง (Initiation of charged jet)

การเริ่มต้นของลำเส้นใยจะเกิดหยดของสารละลายพอลิเมอร์เกาะที่ปลายเข็ม เป็นผลมาจากแรงตึงผิวเมื่อเกิดความต่างศักย์ระหว่างปลายเข็มกับฉากรองรับ ซึ่งจะเกิดประจุเดียวกับศักย์ไฟฟ้าเนื่องจากขั้วเหมือนกันทำให้ประจุเหมือนกันถูกผลักรวมออกมาบริเวณผิวหน้าของสารละลาย เมื่อเพิ่มศักย์ไฟฟ้ามากขึ้น จะเกิดการสะสมของประจุ (อาจเป็นประจุลบก็ได้ขึ้นอยู่กับแหล่งกำเนิดไฟฟ้า) ที่ผิวหน้าของสารละลายมากขึ้นด้วย ซึ่งแรงผลักรวมทางไฟฟ้าระหว่างประจุที่ผิวหน้าจะทำให้หยดสารละลายเปลี่ยนรูปร่างเป็นลักษณะโคน ที่เรียกว่า Taylor cone เมื่อแรงผลักรวมระหว่างประจุบนผิวหน้าของสารละลายสูงกว่าแรงตึงผิว ลำของเหลว (jet) ที่มีประจุจะพุ่งออกจากจุดยอดของ Taylor cone

#### 2.1.3.2 การยืดตัวออกของลำเส้นใยของเหลว (Elongation of charged jet)

เมื่อลำเส้นใยพุ่งออกมาและตกลงบนฉากรองรับ การยืดขยายของเส้นใยจะเป็นไปอย่างต่อเนื่องและหมุนไปในทิศทางที่ไม่แน่นอน ซึ่งระยะทางระหว่างปลายเข็มกับฉากรองรับจะมีผลทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยที่ได้ต่างกัน เมื่อระยะห่างเพิ่มขึ้นขนาดเส้นใยที่ได้ก็จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กลงเรื่อยๆ และจะเกิดการโค้งงอเนื่องจากแรงผลักรวมทางไฟฟ้า (Electrically driven bending instability) ของประจุที่อยู่บนเส้นใย

### 2.1.3.3 การแข็งตัวของลำเส้นใยของเหลว (Solidification of the charged jet)

ระหว่างที่มีการยืดของลำเส้นใย จะเกิดการระเหยของตัวทำละลาย ทำให้ลำเส้นใยแข็งตัวกลายเป็นเส้นใย การระเหยของตัวทำละลายอาจเกิดก่อนหรือหลังจากที่เส้นใยตกบนฉากรองรับก็ได้

ในขั้นตอนและกระบวนการที่ทำให้เกิดเส้นใย จะเห็นได้ว่าการยืดตัวของพอลิเมอร์เป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เส้นใยมีขนาดเล็กกลง แต่ยังมีปัจจัยอื่นๆที่มีผลต่อขนาดที่เล็กกลง เช่น การแยกตัวของลำของเหลวพอลิเมอร์เป็นสอง หรือมากกว่า (Splitting) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพอลิเมอร์และตัวแปรต่างๆ ในกระบวนการผลิต

### 2.1.4 ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการปั่นเส้นใย

สามารถแบ่งได้เป็น 2 แนวทาง ดังนี้

#### 2.1.4.1 ปัจจัยทางด้านสารละลาย

ปัจจัยทางด้านสารละลายนั้น ประกอบด้วย ความหนืดของสารละลาย (Viscosity) การนำไฟฟ้า (Conductivity) แรงตึงผิว (Surface tension) น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ (Molecular weight) ระบบของตัวทำละลาย (Solvent system) คุณสมบัติของสารละลาย กล่าวคือ เมื่อความหนืดของสารละลายและน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มสูงขึ้น ทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนการนำไฟฟ้าและคุณสมบัติของสารละลายหากเพิ่มสูงขึ้น จะทำให้เส้นใยมีขนาดลดลง ทั้งนี้ปัจจัยเหล่านี้อาจไม่เป็นไปตามที่กล่าวข้างต้นเสมอไป เนื่องจากการปรับเปลี่ยนปัจจัยหนึ่งๆ อาจมีผลต่อปัจจัยอื่นๆ ด้วย

#### 2.1.4.2 ปัจจัยทางด้านกระบวนการ

ปัจจัยด้านกระบวนการ ประกอบด้วย ความต่างศักย์ไฟฟ้า (Voltage) ระยะทางระหว่างปลายเข็มถึงฉากรองรับ (Gap distance) ขั้วศักย์ไฟฟ้า (Polarity) อัตราการไหลของสารละลายพอลิเมอร์ (Flow rate) ขนาดของหัวเข็มฉีดยา (Spinneret size) โดยถ้าความต่างศักย์ไฟฟ้า ระยะทางระหว่างปลายเข็มถึงฉากรองรับ มีค่าเพิ่มขึ้น จะส่งผลให้เส้นใยที่ได้มีขนาดเล็กลง ส่วนการเพิ่มอัตราการไหลของสารละลายพอลิเมอร์และขนาดของหัวเข็มฉีดยา จะทำให้เส้นใยที่เตรียมได้มีขนาดใหญ่ขึ้น ทั้งนี้ปัจจัยเหล่านี้อาจไม่เป็นไปตามที่กล่าวนี้เสมอไป เนื่องจากการปรับเปลี่ยนปัจจัยหนึ่งๆ อาจมีผลต่อปัจจัยอื่นๆ เช่นกัน

ปัจจัยต่างๆ เหล่านี้จะมีผลต่อขนาดและรูปร่างของเส้นใยที่ปั่นได้ ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ ได้พยายามควบคุมการผลิตเส้นใยที่ได้จากกระบวนการนี้ เพื่อให้มีขนาดและรูปร่างคงที่สม่ำเสมอ อีกทั้งยังมีความต้องการที่จะผลิตเส้นใยให้มีลักษณะเป็นเส้นใยเดี่ยวแลต่อเนื่อง มากกว่าที่จะให้ออกมาเป็นผืนเส้นใยที่ไม่ได้ทอดงที่เป็นอยู่

### 2.1.5 สมบัติของเส้นใยขนาดนาโนเมตร

รูปร่างของเส้นใยที่ผลิตได้ บางครั้งมีรูปร่างคล้ายลูกบิด เป็นเส้นใยที่มีรูพรุน หรือบางครั้งก็ได้เส้นใยรูปร่างแปลกๆ ซึ่งรูปร่างและขนาดของเส้นใยขึ้นอยู่กับ ชนิดของพอลิเมอร์ สมบัติของตัวทำละลาย และสภาวะในการผลิต

#### 2.1.5.1 สมบัติทางกายภาพ

สมบัติการระบายอากาศและไอน้ำของผืนผ้าที่ทำจากเส้นใยขนาดนาโนเมตร สามารถวัดได้โดยใช้ Dynamic moisture vapor permeation cell (DMPC) ซึ่งขนาดของรูพรุนโดยเฉลี่ยของผืนผ้าแบบไม่ถักทอที่ผลิตจากเส้นใยขนาดนาโนเมตร มีขนาดเล็กกว่าผืนผ้าที่ผลิตด้วยเส้นใยจากการปั่นหลอมถึง 4 – 100 เท่า ส่งผลให้ความต้านทานการไหลของอากาศเพิ่มขึ้นประมาณ 156 เท่า แต่การระบายความชื้นไม่ได้ลดลง

#### 2.1.5.2 สมบัติทางกล

เนื่องจากเส้นใยขนาดนาโนเมตรมีขนาดเล็กมาก ทำให้การวัดสมบัติทางกลของเส้นใยเดี่ยวขนาดนาโนเมตร โดยใช้เครื่องมือที่ใช้กันอยู่ทั่วไปยังไม่ประสบผลสำเร็จ ดังนั้นการวัดสมบัติทางกล จึงเป็นการวัดสมบัติทางกลของผืนเส้นใย

### 2.1.6 การใช้ประโยชน์จากเส้นใย

โดยทั่วไปเส้นใยที่เตรียมได้จากกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตจะเป็นเส้นใยที่ไม่ได้ทอ และเกิดการซ้อนทับกันของเส้นใย ทำให้เกิดช่องว่างระหว่างเส้นใยที่มีขนาดเล็ก โดยที่ขนาดของรูพรุนเหล่านี้จะขึ้นกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย และระยะเวลาในการปั่นเส้นใย (จำนวนชั้นของเส้นใยที่ซ้อนทับกัน) ทำให้เส้นใยนั้นมีรูพรุนขนาดเล็กมาก และสามารถควบคุมได้ โดยการเลือกใช้พอลิเมอร์ตั้งต้นและตัวแปรที่เหมาะสม ด้วยพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่มากของเส้นใย ประกอบกับลักษณะของแผ่นเส้นใยที่มีความพรุนสูง ทำให้มีการนำไปประยุกต์ประโยชน์ได้หลายด้าน ดังนี้

#### 2.1.6.1 การประยุกต์ใช้ในด้านกรอง

การใช้เส้นใยมาทำเป็นไส้กรองมีข้อดี คือ มีประสิทธิภาพในการกรองสูงและต้านทานการไหลของอากาศต่ำ ประสิทธิภาพการกรองขึ้นอยู่กับความละเอียดของเส้นใย ซึ่งการประยุกต์ใช้เส้นใยขนาดนาโนเมตรมาทำเป็นโครงสร้างไส้กรอง เนื่องจากมีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของเส้นใยสูง มีแรงยึดเกาะที่ผิวสูง ทำให้ตัวกรองที่มีเส้นใยขนาดนาโนเมตรเป็นองค์ประกอบสามารถดักจับอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่า 0.5 ไมโครเมตร ได้ดี

### 2.1.6.2 การประยุกต์ใช้ด้านการแพทย์

ในทางการแพทย์เนื้อเยื่อและอวัยวะของมนุษย์ เช่น กระดูกอ่อน ฟัน และผิวหนังมีโครงสร้างการเรียงตัวในระดับนาโนเมตรหรืออยู่ในรูปของเส้นใยขนาดนาโนเมตรอยู่แล้ว งานวิจัยทางด้านไฟฟ้าสถิตจึงมุ่งเน้นการใช้งานทางด้านวิศวกรรมชีวการแพทย์ เช่น

- อวัยวะเทียม (Medical prostheses) ได้มีการเสนอให้มีการใช้งานเส้นใยขนาดนาโนเมตรกับอวัยวะเทียมที่เกี่ยวกับเนื้อเยื่ออ่อน เช่น หลอดเลือดต่างๆ เป็นต้น นอกจากนี้ฟิล์มเยื่อบางจากเส้นใยขนาดนาโนเมตรยังสามารถนำมาติดกับอวัยวะเทียม เพื่อลดความแตกต่างระหว่างความแข็งแรงของเนื้อเยื่อของร่างกายมนุษย์กับอวัยวะเทียมที่จะฝังเข้าไปในร่างกายมนุษย์ได้

- โครงสร้างรองรับของเนื้อเยื่อ (Tissue template) เซลล์ของมนุษย์สามารถยึดติดและทำหน้าที่ได้ดีบนเส้นใยที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่าขนาดของเซลล์ ด้วยเหตุนี้โครงสร้างรองรับที่ทำจากเส้นใยขนาดนาโนเมตรสามารถนำมาใช้เป็นการเลี้ยงเซลล์ได้ เนื่องจากโครงสร้างจำลองของแผ่นเส้นใยประกอบด้วยเส้นใยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางที่เล็กกว่าขนาดของเซลล์และสามารถจำลองหน้าที่ของ Natural extracellular matrix (ECM) ได้

- วัสดุตกแต่งแผล (Wound dressing) เส้นใยพอลิเมอร์ขนาดนาโนเมตรสามารถพันลงบนแผลไฟไหม้ได้โดยตรง ซึ่งจะช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น โดยปกติแผ่นผ้าก๊อชจากเส้นใยขนาดนาโนเมตรจะมีรูพรุนขนาด 500 – 1,000 ไมโครเมตร ซึ่งเล็กพอที่จะปกป้องแผลจากแบคทีเรีย และแผ่นเส้นใยขนาดนาโนเมตร ยังมีพื้นที่ผิวสูงถึง 5 – 100 ลูกบาศก์เมตรต่อกรัม ซึ่งช่วยในการดูดซับของเหลวและทำให้การให้ยาทางผิวหนังมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น

- วัสดุควบคุมการปลดปล่อยยา โดยในการควบคุมการปลดปล่อยยาเข้าสู่ร่างกายด้วยการรักษาระดับความเข้มข้นของยาในร่างกายให้คงที่ตลอดช่วงเวลารักษา นอกจากนี้ยังมีเป้าหมายสูงสุดคือ ต้องการควบคุมการปลดปล่อยยาให้สามารถออกฤทธิ์เฉพาะที่ในปริมาณและเวลาที่พอเหมาะสมควรตามแผนการรักษา อันจะทำให้การรักษาได้ผลดีและมีความปลอดภัยต่อผู้ป่วย นำไปสู่การพัฒนาวัสดุควบคุมการปลดปล่อยยาให้มีรูพรุนขนาดเล็ก เพื่อยินยอมให้เกิดการแพร่ของยาอย่างสม่ำเสมอ

- ด้านเวชภัณฑ์ โดยปกติแล้วยังยามีขนาดเล็กเท่าใดร่างกายของมนุษย์ก็สามารถดูดซึมได้ง่ายขึ้นเท่านั้น การให้ยาผ่านเส้นใยพอลิเมอร์ขนาดนาโนเมตร อาศัยหลักการที่ว่า อัตราการละลายของอนุภาคของยาจะเพิ่มขึ้นตามพื้นที่ผิวที่เพิ่มขึ้นของยาหรือของพาหะ (Carrier) การทำให้ยาอยู่ในโครงสร้างขนาดนาโนเมตรมีหลายวิธี เช่น อนุภาคยาเกาะอยู่ที่ผิวของเส้นใยขนาดนาโนเมตร ทั้งยาและพาหะผสมรวมกันอยู่ในเส้นใยขนาดนาโนเมตร และขึ้นรูปพาหะให้อยู่ใน

รูปทรงคล้ายท่อหุ้มด้วยเยื่ออยู่ข้างใน โดยสองวิธีสุดท้ายเป็นรูปแบบที่ต้องการมากที่สุด อย่างไรก็ตามอย่างไรก็ตามงานวิจัยเรื่องการส่งผ่านยาโดยใช้เส้นใยขนาดนาโนเมตรยังอยู่ในขั้นเริ่มต้น

### 2.1.6.3 การประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์

เครื่องช่วยหายใจหรือชุดป้องกันร่างกาย จากเชื้อโรคหรือก๊าซพิษไม่ให้เข้าสู่ร่างกายทั้งทางการแพทย์หรือการเชื่อมผ่านทางผิวหนัง เป็นผลิตภัณฑ์เป้าหมายหนึ่งของการผลิตเส้นใย จึงมีการทดลองใช้วิธีการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ผลิตเส้นใยขนาดนาโนเมตรที่เรียงตัวเป็นชั้น มีน้ำหนักเบา มีความพรุนสูง แต่ขนาดรูเล็ก ทำให้มีความต้านทานการผ่านของสารเคมีที่ปนมาในอากาศสูง มีความต้านทานการระบายอากาศและความชื้นต่ำ แต่มีประสิทธิภาพในการดักจับสารปนเปื้อนในอากาศสูง

## 2.2 โปรตีน (Protein) [ณัฐ งามเจตธรรมย์, 2545 และ นิภาวดี แสงยนต์, 2545]

โปรตีน (protein) มาจากคำภาษากรีกว่า proteios ซึ่งหมายถึง มีความสำคัญเป็นอันดับหนึ่ง โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พบมากในเซลล์ และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตเป็นอันดับ 2 รองจากน้ำ ในร่างกายของเราจะมีโปรตีนอยู่ประมาณ 1 ใน 7 ของน้ำหนักตัว โปรตีนจะช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโต และซ่อมแซมเซลล์ต่างๆ ของร่างกาย โปรตีนหลายชนิดเป็นเอนไซม์ที่ช่วยเร่งและควบคุมปฏิกิริยาเคมีในสิ่งมีชีวิต บางชนิดทำหน้าที่ควบคุมระบบต่างๆ ให้ทำงานได้ตามปกติ ดังนั้นในกรณีที่ร่างกายขาดพลังงานจากสารชีวโมเลกุลประเภทคาร์โบไฮเดรตและไขมัน จะสามารถได้รับพลังงานจากการสลายโปรตีนได้ ในร่างกายจะมีโปรตีนมากกว่าร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก อาหารที่มีโปรตีนมากได้แก่ เนื้อสัตว์ ไข่ นม และถั่วชนิดต่างๆ เมื่อรับประทานโปรตีนเข้าไปในร่างกายจะผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ทำให้ได้หน่วยที่เล็กที่สุดของโปรตีน ร่างกายจะสามารถดูดไปใช้ประโยชน์ได้ เรียกหน่วยย่อยหรือสารเคมีนี้ว่า กรดอะมิโน (amino acid) ซึ่งกรดอะมิโนแต่ละโมเลกุลประกอบด้วยธาตุหลัก 4 ธาตุ ได้แก่ ไฮโดรเจน ออกซิเจน คาร์บอน และไนโตรเจน โดยยึดกันด้วยพันธะเปปไทด์ นอกจากนั้นกรดอะมิโนบางชนิดยังมีกำมะถัน (S) และฟอสฟอรัส (P) เป็นส่วนประกอบด้วย กรดอะมิโนที่พบในพืชและสัตว์มีประมาณ 20 ชนิด ทั้งนี้เราสามารถแบ่งกรดอะมิโนได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย(essential amino acid) เป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้เอง หรือสร้างได้ปริมาณน้อยมากไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย จำเป็นต้องได้จากอาหารที่รับประทานเข้าไปเท่านั้น เพื่อช่วยในการสร้างร่างกาย และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอให้ดีขึ้น กรดอะมิโนกลุ่มนี้มีอยู่ 8 ตัว คือ ลิวซีน (leucine) ไอโซลิวซีน (isoleucine) ไลซีน (lysine) เมไธโอนีน (methionine) เฟนิลอะลานีน (phenylalanine) ธรีโอนีน (threonine) ทริป



ไตรเฟน (tryptophan) และวาเลีน (valine) สำหรับเด็กต้องการกรดอะมิโนจำเป็นเพิ่มขึ้นอีกตัว คือ ฮิสติดีน (histidine))

2. กรดอะมิโนที่ร่างกายสังเคราะห์ได้ (non-essential amino acid) เป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ได้จากกรดอะมิโนและสารอินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น อะลานีน (alanine) อาร์จินีน (arginine) ซีสเทอีน (cysteine) โพรลีน (proline) และไทโรซีน (tyrosine) เป็นต้น

### 2.2.1 โครงสร้างของโปรตีน

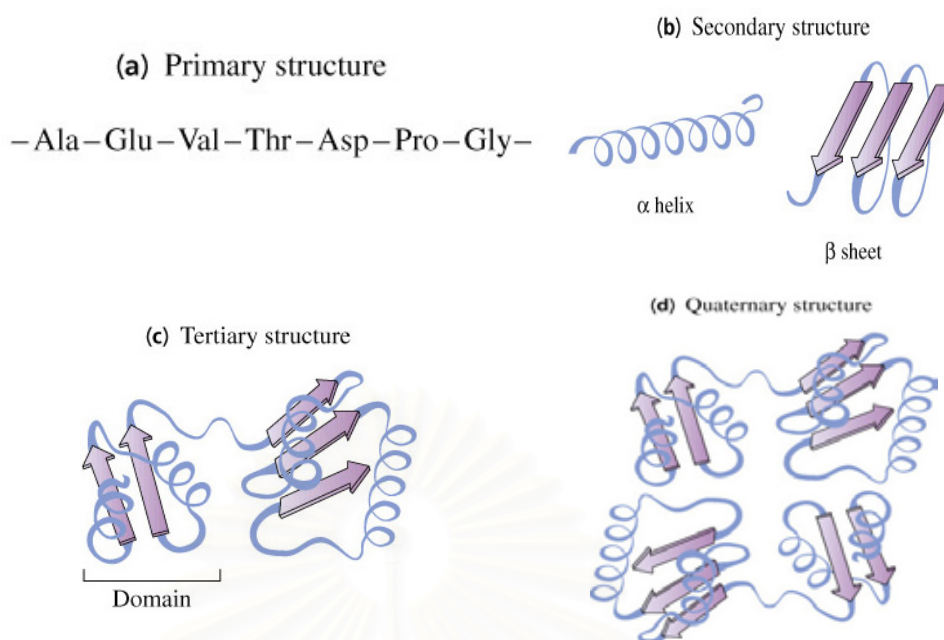
โครงสร้างโปรตีนสามารถแบ่งได้เป็น 4 โครงสร้าง ดังแสดงตัวอย่างโครงสร้างโปรตีนแบบต่างๆ ในรูปที่ 2.3

2.2.1.1 **โครงสร้างปฐมภูมิ** (primary structure) หมายถึง โครงสร้างของโปรตีนในลักษณะที่กรดอะมิโน เรียงตัวเป็นสายโซ่พอลิเปปไทด์ที่จำเพาะ

2.2.1.2 **โครงสร้างทุติยภูมิ** (secondary structure) หมายถึง โครงสร้างของโปรตีนในลักษณะที่มีโซ่พอลิเปปไทด์ขดม้วนเป็นเกลียวในลักษณะเกลียวอัลฟา หรือโครงรูปแบบซิกแซกมาเรียงขนานกันเป็นแผ่นพับ (pleated sheet) โดยคงรูปอยู่ได้ด้วยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) และพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) โครงสร้างนี้พบในโปรตีนเส้นใย

2.2.1.3 **โครงสร้างตติยภูมิ** (tertiary structure) หมายถึง โครงสร้างของโปรตีนในลักษณะที่มีโซ่พอลิเปปไทด์ขดม้วนแน่นในลักษณะกลม โดยคงรูปอยู่ได้ด้วยพันธะไดซัลไฟด์ และพันธะอ่อน ได้แก่ พันธะไฮโดรเจน พันธะไฮโดรโฟบิก (hydrophobic bond) และแรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals force) โครงสร้างนี้พบในโปรตีนกลอบูลาร์

2.2.1.4 **โครงสร้างจตุรภูมิ** (quaternary structure) หมายถึง โครงสร้างของโปรตีนในลักษณะที่มีโซ่พอลิเปปไทด์มากกว่าหนึ่งโซ่อยู่รวมกันด้วยพันธะไฮโดรเจน พันธะไฮโดรโฟบิก และแรงแวนเดอร์วาลส์ แต่ละโซ่พอลิเปปไทด์ อาจเรียกว่า หน่วยย่อย (subunit) หรือ โปรโตเมอร์ (protomer) ซึ่งอาจจะเหมือนกัน หรือต่างกันก็ได้ โปรตีนที่มีโครงสร้างลักษณะนี้เรียกว่า โอลิโกเมอร์ิกโปรตีน (oligomeric protein) เช่น ฮีโมโกลบิน ประกอบด้วยโซ่อัลฟา 2 โซ่ และโซ่เบตา 2 โซ่



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของโปรตีน (a) โครงสร้างปฐมภูมิ (b) โครงสร้างทุติยภูมิ  
 (c) โครงสร้างตติยภูมิ (d) โครงสร้างจตุรภูมิ

[<http://www.columbia.edu/cu/biology/courses/c2005/images/3levelpro.4p.jpg>]

## 2.2.2 ประเภทของโปรตีน [[http://www.tpa.or.th/writer/read\\_this\\_book\\_topic.php](http://www.tpa.or.th/writer/read_this_book_topic.php)]

ประเภทโปรตีนแบ่งตามหน้าที่ ได้ดังนี้

2.2.2.1 โปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่ง (transport protein) คือโปรตีนที่ทำหน้าที่ลำเลียงแก๊สออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ เช่น ฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง

2.2.2.2 โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ (enzyme) คือ โปรตีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับปฏิกิริยาต่างๆในร่างกาย เช่น กระบวนการหายใจ กระบวนการสังเคราะห์โปรตีน กระบวนการย่อยอาหาร

2.2.2.3 โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้าง (structural protein) คือ โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างของร่างกาย เช่น คอลลาเจนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

2.2.2.4 โปรตีนที่ทำหน้าที่สะสม (storage protein) คือ โปรตีนที่สะสมเป็นอาหาร

2.2.2.5 โปรตีนฮอร์โมน (protein hormone) เป็นโปรตีนที่ควบคุมการทำงานของร่างกายให้เป็นปกติ เช่น อินซูลิน (insulin) ฮอโมนโกรท (growth hormone) ฮอโมนกระตุ้นต่อมไทรอยด์ (thyroid stimulating hormone )

2.2.2.6 โปรตีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการเคลื่อนไหว (contractile protein) คือ โปรตีนที่อยู่ในเซลล์ของกล้ามเนื้อ คือ ไมโอซิน และแอกติน

2.2.2.7 โปรตีนที่ทำหน้าที่ป้องกัน (protective protein) คือ โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นภูมิคุ้มกันโรคให้กับร่างกาย

2.2.2.8 โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นสารพิษ (toxin) เช่น พิษงู พิษคอตีบ

### 2.2.3 สมบัติของโปรตีน

2.2.3.1 เกิดปฏิกิริยาไบยูเรต (Biuret reaction) ได้ คือ โปรตีนสามารถทำปฏิกิริยากับ  $\text{CuSO}_4$  ในด่างให้สารเชิงซ้อน (complex) ของ  $\text{Cu}^{2+}$  มีสีม่วง จึงนำมาใช้ในการหาปริมาณของโปรตีนในสารละลายได้

2.2.3.2 โปรตีนสามารถดูดแสง ในช่วงความยาวคลื่น 180-220 นาโนเมตร และช่วงอินฟราเรด

2.2.3.3 โปรตีนสามารถสูญเสียแอกติวิตีทางชีวภาพ (denaturation) โดยพันธะอ่อนจะถูกทำลายไป สาเหตุมาจาก ภาวะที่อุณหภูมิที่สูงเกินไป การเปลี่ยนแปลง pH ที่สูงหรือต่ำเกินไป และสารบางชนิด เช่น ยูเรีย และกวานิดิเนียมไอออน (guanidinium ion) ดังนั้น จึงใช้สารเหล่านี้ในการแยกหน่วยย่อยของโปรตีนออกจากกัน ส่วนพันธะเปปไทด์และพันธะไดซัลไฟด์ยังคงอยู่ ซึ่งพันธะไดซัลไฟด์สามารถถูกทำลายได้ด้วยสารเคมี เช่น กรดเพอร์ฟอร์มิก (performic acid) และตัวรีดิวซ์ (reducing agent) เช่น เบตา-เมอร์แคปโตเอทานอล และไดไธโอไธรอล (dithiothreitol)

กระบวนการแอนนีลิ่ง (annealing หรือ renaturation หรือ refolding) เป็นกระบวนการทำให้โปรตีนที่สูญเสียแอกติวิตีทางชีวภาพ กลับมีแอกติวิตีทางชีวภาพเหมือนเดิม หลังจากที่แยกเอาตัวทำลายสภาพการขดตัวออกไปจากกระทำโดยวิธีไดอะลิซิส (dialysis)

2.2.3.4 โปรตีนสามารถแตกตัวได้เช่นเดียวกับกรดอะมิโน ดังนั้นที่จุด Isoelectric point (pI) โปรตีนจะมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ ซึ่งไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ในสนามไฟฟ้า ที่จุด pH สูงกว่า pI โปรตีนจะมีประจุสุทธิเป็นลบ ทำให้เคลื่อนที่เข้าหาขั้วบวก และที่จุด pH ต่ำกว่า pI โปรตีนจะมีประจุสุทธิเป็นบวก ทำให้เคลื่อนที่เข้าหาขั้วลบ

2.2.3.5 โปรตีนส่วนใหญ่ละลายได้ในน้ำหรือสารละลายเกลือที่เจือจาง ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการละลายของโปรตีน มีดังนี้

2.2.3.5.1 ความเข้มข้นของเกลือ โปรตีนจะละลายเพิ่มขึ้นเมื่อเติมเกลืออนินทรีย์ลงไปปริมาณน้อย เรียกว่า salting in แต่เมื่อเติมเกลืออนินทรีย์ลงไปปริมาณที่มาก ๆ โปรตีนกลับละลายลดลง และเกิดการตกตะกอนเพิ่มขึ้น เรียกว่า salting out ดังนั้น จึงนำเทคนิค salting out มาใช้ในการทำให้โปรตีนบริสุทธิ์โดยไม่ทำให้โปรตีนเสียแอกติวิตีทางชีวภาพ เช่น ใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulfate,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) ในการตกตะกอนโปรตีน

2.2.3.5.2 ในสภาพที่เป็นต่าง ไอออนของโลหะหนัก เช่น  $Cd^{2+}$   $Cu^{2+}$   $Fe^{2+}$   $Hg^{2+}$   $Pb^{2+}$  และ  $Zn^{2+}$  สามารถตกตะกอนโปรตีนที่มีประจุสุทธิเป็นลบได้ และในสภาพที่เป็นกรด โปรตีนที่มีประจุสุทธิเป็นบวกสามารถจับกับ anion ของกรดบางชนิด เช่น กรดไตรคลอโรอะซีติก (trichloroacetic acid หรือ TCA) และตกตะกอนโปรตีนได้

2.2.3.5.3 pH มีผลทำให้ประจุสุทธิบนโมเลกุลของโปรตีนเปลี่ยนแปลงได้ และโปรตีนจะละลายได้น้อยที่สุด หรือตกตะกอนได้มากที่สุดที่จุด pI ของมัน เนื่องจากโปรตีนมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ เรียกการตกตะกอนโปรตีนที่จุด pI ว่า isoelectric precipitation

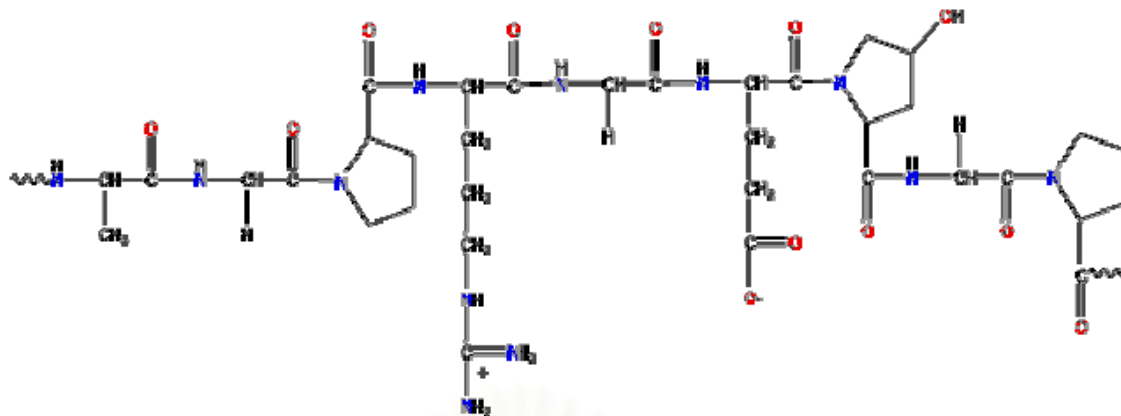
2.2.3.5.4 ความร้อน มีผลทำให้การละลายของโปรตีนลดลง ทั้งนี้เพราะไปทำลาย weak bond ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน

2.2.3.5.5 ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซีโตน และเอทานอล สามารถตกตะกอน โปรตีนได้ดีที่อุณหภูมิใกล้  $0^{\circ}C$  หรือ ต่ำกว่า โดยไม่เสียแอกติวิตีทางชีวภาพ เพราะไปลดความสามารถในการทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายของน้ำได้ นอกจากนี้ ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide, DMSO) และ N,N-ไดเมทิล ฟอร์มาไมด์ (N,N-dimethylformamide, DMF) ก็เป็นตัวทำละลายของโปรตีนที่ดีในภาวะอุณหภูมิปกติ

**2.3 เจลาติน (Gelatin)** [บุญรัตน์ กิตติสาภรณ์ และคณะ, 2533 และ ปารีชาติ ลบรัมย์, 2548]

เจลาตินเป็นสารอินทรีย์เคมีชนิดหนึ่งที่เป็นโปรตีน ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่างๆ 18 ชนิด (ดังแสดงในตารางที่ 2.1) เกาะเกี่ยวกันอยู่ด้วยพันธะเปปไทด์ ไม่ได้เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ แต่ได้จากการไฮโดรไลซ์ของคอลลาเจนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันด้วยกรดหรือด่าง จึงมีโครงสร้างเหมือนกับคอลลาเจน แต่มีสายของพอลิเปปไทด์ที่สั้นกว่า โครงสร้างขดเป็นวงไม่เป็นระเบียบ ดังแสดงในรูปที่ 2.4 เจลาตินสามารถสกัดได้จากส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของสัตว์ เช่น ผิวหนัง เอ็น และกระดูก เจลาตินเป็นโปรตีนสายเดี่ยว ประกอบด้วยหน่วยที่ซ้ำกันของ Gly-Pro-Pro และ Gly-Pro-hydroxypro เป็นส่วนใหญ่

ลักษณะที่สำคัญของเจลาติน คือ สามารถละลายน้ำได้ดี เปลี่ยนสภาพย้อนกลับจากสารละลายไปเป็นเจลได้ มีสมบัติเป็นแอมโฟเทริก สามารถพองตัวเมื่อแช่น้ำเย็น สามารถทำให้อยู่ในรูปแผ่นฟิล์มบาง และมีคุณสมบัติเป็น Protective colloid เมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายที่ใส [วีระศักดิ์ สหชัยเสรี, 2544]



รูปที่ 2.4 โครงสร้างเจลาติน

[<http://www.lsbu.ac.uk/water/hygel.html>]

ตารางที่ 2.1 กรดอะมิโนที่ได้จากการไฮโดรไลซ์เจลาตินอย่างสมบูรณ์

ชนิดกรดอะมิโน	%โดยน้ำหนัก	ชนิดกรดอะมิโน	%โดยน้ำหนัก
Alanine	11.0	Methionine	0.9
Arginine	8.8	Phenylalanine	2.2
Aspartic acid	6.7	Proline	16.4
Glutamic acid	11.4	Serine	4.2
Glycine	27.5	Threonine	2.2
Histidine	0.78	Tyrosine	9.3
Leucine & Isoleucine	5.1	Vaccine	2.6
Lysine	4.5	Cysteine	Trace

2.3.1 การผลิตเจลาติน [Tabata Y. และ Ikada Y., 1998 และ Young S. และคณะ, 2005]

การผลิตเจลาตินมีด้วยกัน 2 วิธี ดังแสดงในรูปที่ 2.5 คือ

#### 2.3.1.1 Acid Process

วิธีนี้นิยมใช้กับวัตถุดิบจำพวกหนังหมู กรดที่ใช้ส่วนมากได้แก่ กรดไฮโดรคลอริก (HCl), กรดซัลฟิวริก ( $H_2SO_4$ ), กรดฟอสฟอริก ( $H_3PO_4$ ), กรดซัลฟูรัส ( $H_2SO_3$ ) เวลาในการแช่หนังสัตว์นาน 24 ชั่วโมง การแช่หนังสัตว์ในกรดนี้เพื่อเปลี่ยนคอลลาเจนไปเป็นเจลาตินได้ง่ายขึ้น ช่วยกำจัดสารที่ไม่ต้องการจำพวกสารโปรตีนที่ละลายน้ำได้ เช่น มูซิน (mucin) และ อัมบูมิน

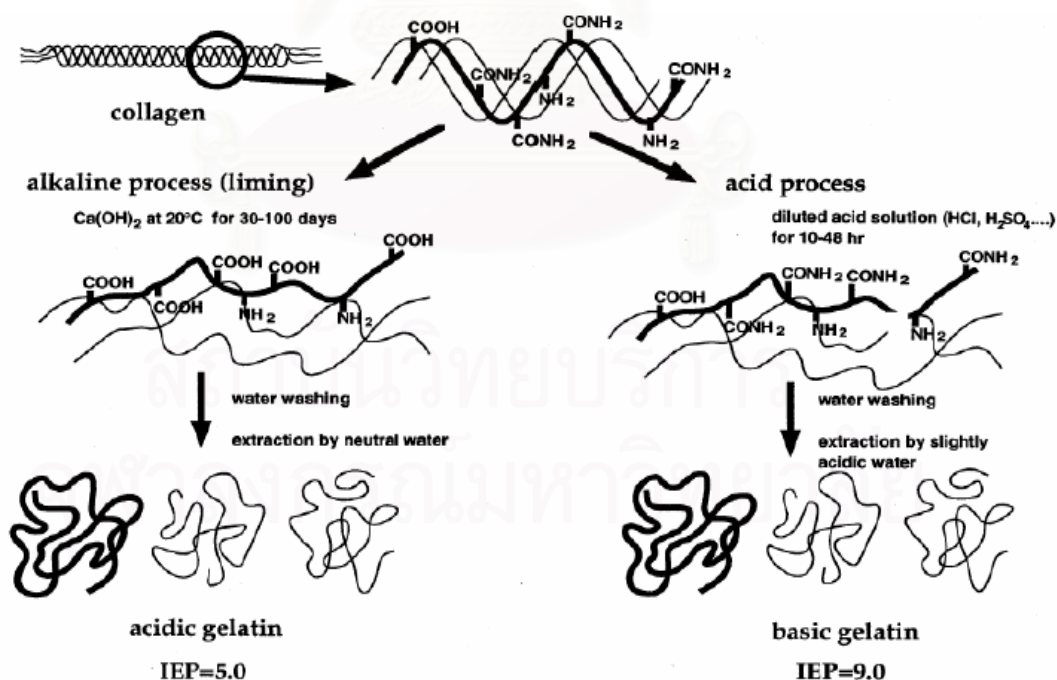


(albumin) ซึ่งมีผลต่อสีและความใสของเจลาติน ซึ่งจากกระบวนการนี้ทำให้ได้เจลาตินที่มีหมู่อะมิโนอยู่จำนวนมาก โดยเจลาตินที่ได้ เรียกว่า เจลาติน ชนิด A (type A gelatin) มีค่าไอโซอิเล็กตริก (Isoelectric point) ที่ 7.0 – 9.0 ซึ่งใกล้เคียงกับคอลลาเจนและเหมาะกับการใช้งานร่วมกับโปรตีนที่มีสมบัติเป็นกรด

### 2.3.1.2 Liming Process

วิธีนี้นิยมใช้กับวัตถุดิบที่เป็นพวกกระดูก เขาและหนังจากโค และกระป๋องสารละลายต่างที่ใช้ ได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) เป็นขบวนการไฮโดรไลซิสกลุ่มเอไมด์ในคอลลาเจน ซึ่งจะได้เจลาตินที่มีกลุ่มคาร์บอกซิลปริมาณมาก ทำให้เจลาตินมีประจุลบโดยเจลาตินที่ได้จากกระบวนการนี้ เรียกว่า เจลาติน ชนิด B (type B gelatin) มีค่าไอโซอิเล็กตริก (Isoelectric point) ที่ 4.6 – 5.2 ซึ่งเหมาะกับการใช้งานร่วมกับโปรตีนที่มีสมบัติเป็นเบส

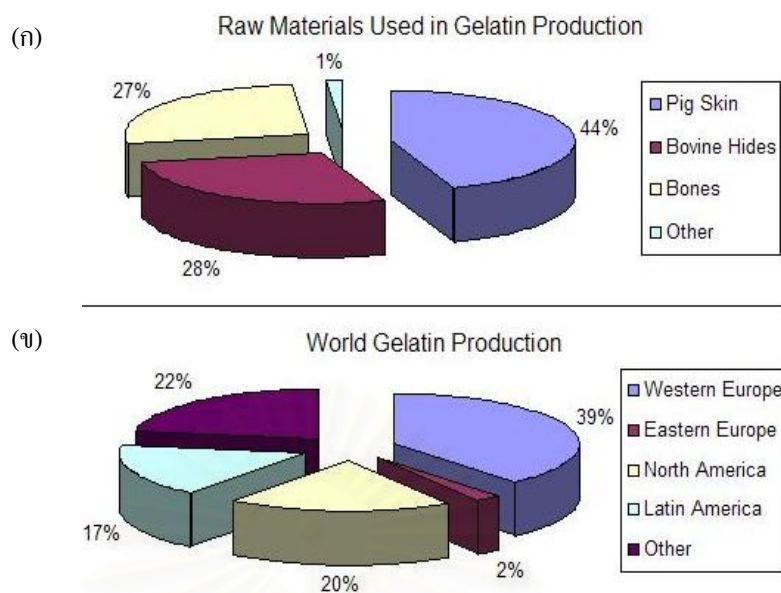
วัตถุดิบที่ผ่านขบวนการ Liming Process หรือ Acid Process จะถูกนำมาสกัดเจลาตินโดยใช้น้ำร้อน อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดอยู่ในช่วง 55 – 100 °C ถ้าใช้อุณหภูมิสกัดสูงเกินไปเจลาตินที่ได้จะมีคุณภาพต่ำ ส่วนมากนิยมสกัดที่อุณหภูมิต่ำเพราะจะได้เจลาตินที่มีคุณภาพดีคือ ค่าความแข็งแรงของเจลสูง สีไม่คล้ำ สารละลายของเจลาตินที่สกัดได้จะผ่านการฟอกสีก่อนนำไปผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เพื่อลดความชื้นออกบางส่วนแล้วจึงนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C



รูปที่ 2.5 ขั้นตอนการสกัด acidic gelatin และ basic gelatin

[Tabata Y. และ Ikada Y., 1998]





รูปที่ 2.6 (ก) สัดส่วนวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเจลาติน (ข) สัดส่วนการผลิตเจลาตินทั่วโลก  
[[http://en.wikipedia.org/?title=Gelatin#Edible\\_gelatins](http://en.wikipedia.org/?title=Gelatin#Edible_gelatins)]

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเจลาตินส่วนมากนิยมใช้หนังสัตว์ เพราะกรรมวิธีการผลิตค่อนข้างง่ายกว่าการใช้วัตถุดิบชนิดอื่น แต่สำหรับการผลิตเจลาตินที่ใช้เป็นอาหาร หมูจัดเป็นวัตถุดิบที่สำคัญกว่าหนังสัตว์ชนิดอื่นๆ เพราะแนวโน้มที่จะนำมาผลิตให้ได้เจลาตินที่มีเกรดสูงมีมาก ดังนั้นในประเทศที่มีการผลิตเป็นอุตสาหกรรม เช่น ยุโรป ส่วนมากนิยมนำไปแปรรูปเพื่อทำเป็นอาหารในอุตสาหกรรมครีวรีออน สัดส่วนวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเจลาตินและสัดส่วนการผลิตเจลาตินทั่วโลกแสดงในรูปที่ 2.6

### 2.3.2 สมบัติของเจลาติน

โดยทั่วไปเจลาตินในทางการค้าจะมีน้ำหนักโมเลกุล ช่วง 1,500 – มากกว่า 250,000 (เฉลี่ยระหว่าง 50,000 และ 70,000) และมีลักษณะเป็นเม็ดหยาบจนถึงเป็นผงละเอียด มีความชื้น 9 – 12% ไม่มีรส ไม่มีกลิ่น มีสีขาวถึงสีน้ำตาลอ่อน มีค่าความถ่วงจำเพาะ 1.3 – 1.4

สารละลายของเจลาตินมีสมบัติทางด้านฟิสิกส์และเคมีของเจลาติน ขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ดังนี้

1. แหล่งของเจลาติน
2. วิธีการผลิต
3. สภาพที่ใช้ในการสกัดและความเข้มข้น
4. คุณภาพที่ใช้ในการสกัด

5. ความเป็นกรด – ต่าง
6. สมบัติทางเคมีของสารปนเปื้อน หรือสารที่เติมเข้าไป

### 2.3.2.1 การเกิดเจล (Gelation)

สมบัติที่สำคัญของเจลาตินในการนำมาใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ คือ การที่เจลาตินสามารถกลับมารวมตัวเป็นเจลขึ้นใหม่ได้หลังจากผ่านการให้ความร้อนหรือการทำให้เป็นสารละลาย ขบวนการขึ้นรูปของเจลมีสามขั้นตอน คือ ขั้นที่หนึ่งจะเกิดการจัดเรียงตัวของห่วงโซ่โมเลกุลที่อยู่อย่างโดดเดี่ยวให้กลับมาอยู่ในลักษณะการจัดลำดับในรูปของเกลียวหรือโครงสร้างของคอลลาเจน ขั้นที่สอง จะเกิดการเชื่อมต่อกันของเจล โดยสองหรือสามส่วนจะทำให้เกิดโครงสร้างแบบผลึก และขั้นตอนที่สาม โครงสร้างจะมีความคงตัวโดยพันธะไฮโดรเจน ซึ่งจะเกิดระหว่างบริเวณเกลียว (Helical regions)

โครงสร้างที่เกิดการแข็งตัวหรือเปลี่ยนสภาพเป็นเจล ขึ้นอยู่กับ

- ความเข้มข้นของเจล โดยความแข็งตัวของเจลจะเป็นสัดส่วนกับ (ความเข้มข้นของเจล)<sup>1/2</sup> และจะเพิ่มตามมวลโมเลกุลของเจลาติน
- อุณหภูมิ จะเป็นสัดส่วนผกผันกับความแข็งตัวของเจล ถ้าลดอุณหภูมิ ความแข็งตัวของเจลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ยิ่งเก็บไว้นานความแข็งตัวของเจลจะเพิ่มขึ้น
- ความบริสุทธิ์ของเจลาติน
- ค่าความเป็นกรด-ต่าง
- สารที่เติมลงไปเจลาติน

### 2.3.2.2 การละลาย (Solubility)

เจลาตินไม่ละลายในแอลกอฮอล์ อะซิโตน คาร์บอนเตตระคลอไรด์ อีเทอร์ เบนซีน บีโตรเลียมอีเทอร์ และตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วอื่นๆ แต่ละลายได้ใน น้ำ กรดอะซิติก สารละลาย เจ็จของ polyhydric alcohol เช่น กลีเซอรอล ซอร์บิทอล พรอพิลีนไกลคอล และแมนนิทอล เมื่อเจลาตินละลายน้ำจะดูดน้ำไว้ในโมเลกุล และเกิดการพองตัว เป็นผลให้แรงเกาะ ระหว่างโมเลกุลน้อยลง และเปลี่ยนแปลงลักษณะจากแข็งเปราะ เป็นอ่อนนุ่ม ยืดหยุ่นได้ การดูดน้ำของเจลาตินเป็นปฏิกิริยาคายความร้อน ซึ่งสามารถเร่งปฏิกิริยาได้โดยการลด อุณหภูมิลง และที่ความเข้มข้นของเกล็ดต่างๆ เมื่อมีการเติม ฟอสเฟต ซีเตรต หรือซัลเฟต ในสารละลายเจลาติน จะช่วยทำให้ความสามารถในการละลายดีขึ้น แต่ถ้าความเข้มข้นของเกล็ดสูงเกินไปจะทำให้เจลาตินเกิดการตกตะกอน

### 2.3.2.3 เสถียรภาพ (Stability)

เจลาตินแห้งที่เก็บในภาชนะที่ปิดสนิท ที่อุณหภูมิห้องมีอายุการเก็บหลายปี แต่ก็สามารถที่จะสลายตัวได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 100 °C และจะเกิดการสันดาปอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิสูงกว่า 500 °C สารละลายหรือเจลเจลาตินเป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และมีความไวต่อการสลายตัวของ proteolytic enzymes เสถียรภาพของเจลาตินขึ้นกับอุณหภูมิที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์ electrolysis และค่าความเป็นกรด-ด่าง

### 2.3.2.4 ความแข็งแรงของเจล (Gel Strength)

การทดสอบคุณภาพของเจลาตินที่สำคัญอันหนึ่ง คือการวัดค่าความแข็งแรงของเจล โดยในปี 1923 The Gelatin Research Society of America ได้กำหนดให้ใช้เครื่อง Bloom Gelometer ในการทดสอบและแบ่งระดับความแข็งแรงของเจล เจลาติน เรียกว่าค่า Gel strength หรือ Bloom strength ของเจลาติน สามารถหาได้หลายวิธี แต่วิธีที่ใช้กันทั่วไปในอุตสาหกรรม คือการละลายตัวอย่างเจลาติน 7.5 กรัมในน้ำ (60 °C) 105 กรัม เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นแล้วใส่ในอ่างน้ำ (water bath) อุณหภูมิ 10°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เอาออกมาหาค่า bloom strength (หน่วยเป็นค่าน้ำหนัก) โดยใช้หัวกด plunger ของเครื่อง Bloom Gelometer กดลงบนพื้นผิวของเจลของเจลาตินให้พื้นผิวกดลึกลงเป็นระยะทาง 4 มิลลิเมตร อ่านค่าน้ำหนักจากเครื่อง Bloom Gelometer ปกติค่าที่ได้จะอยู่ในช่วง 50 – 300 กรัม เจลาตินที่มี bloom strength สูงๆ จะเป็นเจลได้เร็ว ในการค้าเจลาตินจากหนังหมู ส่วนใหญ่เป็นเจลาติน ชนิด A มีค่า bloom strength ระหว่าง 75 – 300 กรัม [ศรีสุวรรณ และคณะ, 2531]

### 2.3.2.5 ความหนืด (Viscosity)

ความหนืดเป็นสมบัติที่สำคัญรองจากความแข็งแรงของเจล ค่าความหนืดของเจลาตินจะแปรผกผันกับอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่าง แต่จะแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินและมวลโมเลกุลของเจลาติน เจลาตินชนิดที่มี bloom strength สูง จะมีความหนืดน้อยกว่า เจลาตินที่มี bloom strength ต่ำ โดยทั่วไปเจลาตินมีความหนืด ประมาณ 15 – 70 cp

### 2.3.2.6 การพองตัว (Swelling)

เมื่อนำเจลาตินมาแช่น้ำจะสามารถดูดซับน้ำได้ถึง 10 เท่าของน้ำหนักเจลาตินแล้ว จะเกิดการพองตัว และมีความยืดหยุ่นซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นยกกำลังสอง และจำนวนการเชื่อมขวาง การพองตัวจะทำให้จำนวนการเชื่อมขวางลดลง และจะมีการเชื่อมขวางน้อยที่สุดที่ Isoelectric point อย่างไรก็ตามที่ pH ของสารละลายเจลาตินต่ำกว่า Isoelectric point การเลือกชนิดของ anions สามารถควบคุมการพองตัวได้ และที่ pH สูงกว่า Isoelectric

point การเลือกชนิดของ cations สามารถควบคุมการพองตัวได้เช่นกัน โดยไอออนเหล่านี้จะไปทำให้พันธะไฮโดรเจนเกิดการแตกออก ทำให้การพองตัวของเจลาตินเพิ่มขึ้น

### 2.3.2.7 สี (Color)

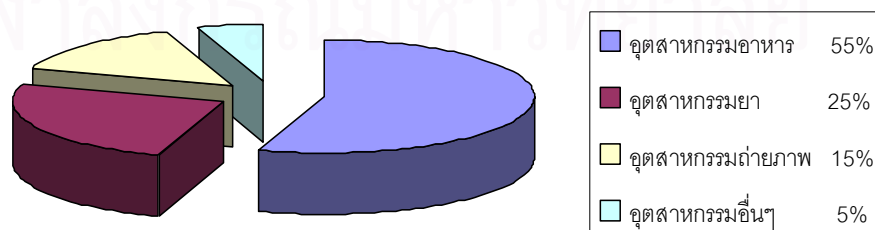
สีของเจลาตินจะขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบ และคุณภาพของวัตถุดิบ รวมทั้งจำนวนครั้งที่ทำการสกัด โดยทั่วไปเจลาตินที่สกัดจากหนังหมูจะมีสีที่อ่อนกว่าเจลาตินที่ได้จากกระดูกสัตว์ อย่างไรก็ตามพบว่าสมบัติของเจลาตินไม่ขึ้นอยู่กับสี

### 2.3.2.8 ความขุ่น (Turbidity)

ความขุ่นของสารละลายเจลาตินอาจเกิดจากการปนเปื้อนของสารที่ไม่ละลายน้ำ ที่มาจากขั้นตอนการสกัด การเติมเกลือจะช่วยรักษาความใส ความหนืด และความแข็งแรงของเจลให้คงที่ นอกจากนี้ ความขุ่นยังขึ้นกับสัดส่วนของส่วนผสมในสารละลายและ pH อีกด้วย

## 2.3.3 การใช้ประโยชน์จากเจลาติน [วีระศักดิ์ สหชัยเสรี, 2544]

เนื่องจากเจลาตินเป็นสารโปรตีนที่มีคุณค่า ผลิตจากผลพลอยได้ของสัตว์ที่มีราคาถูกลงและสารละลายเจลาตินมีสมบัติในการเปลี่ยนเป็นเจลแบบผันกลับได้ (reversible gel-to-sol transition) ทำให้สารละลายเจลาตินมีความเหนียว สามารถเป็น protective colloid เมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายที่ใส ด้วยสมบัติที่ดีของเจลาติน ทำให้มีการใช้สารประเภทนี้มากในปีหนึ่งๆ ประมาณ 110,000 – 140,000 ตัน มูลค่าเกินกว่า 400 ล้านดอลลาร์สหรัฐ [ปาริชาติ ลบรัมย์, 2548] และคาดว่าจะมีแนวโน้มมากขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากปัจจุบันตลาดของผลิตภัณฑ์ที่มีเจลาตินเป็นส่วนประกอบหลักกำลังขยายตัวอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งเป็นตลาดที่ใหญ่ที่สุดของการใช้เจลาติน เจลาตินในส่วนนี้เรียกว่า edible gelatin ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ซึ่งคาดว่าจะมีการใช้มากถึงร้อยละ 55 ของตลาดทั่วโลก ตลาดที่ใหญ่รองลงมา คือ อุตสาหกรรมยา ซึ่งใช้ประมาณร้อยละ 25 ของตลาดทั่วโลก และใช้ในอุตสาหกรรมถ่ายภาพร้อยละ 15 นอกนั้นก็ร้อยละ 5 ใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น อุตสาหกรรมกระดาษขัด อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมลูกกอล์ฟและไม้ขีด ดังแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 การใช้เจลาตินในอุตสาหกรรม

[ชิตชม วิทวัสวงศ์ และคณะ, 2529]

## อุตสาหกรรมที่มีการใช้ประโยชน์จากเจลาติน

### 2.3.3.1 อุตสาหกรรมอาหาร

เป็นอุตสาหกรรมที่มีการใช้เจลาตินมากที่สุด มีอัตราการใช้ประมาณปีละ 17,000 ตัน มีอัตราการเพิ่มการใช้ปีละ 0.5% โดยใช้ในรูปแบบสารละลายในน้ำหรือสารละลายกอลลีเซอริน ส่วนใหญ่ใช้เป็นสารประกอบของขนม เช่นขนมเยลลี่ มาชเมลโลว์ ครีมเปรี้ยว ไอศกรีม หรือใช้ encapsulate กลิ่นอาหารหรือวิตามิน เพื่อป้องกันการออกซิเดชันจากอากาศ ส่วนใหญ่ อุตสาหกรรมอาหารจะใช้เจลาตินชนิดเอมากกว่า อย่างไรก็ตามยังพบชนิดบีบ้างเช่นกัน

### 2.3.3.2 อุตสาหกรรมภาพถ่าย

ได้มีการใช้เจลาตินในอุตสาหกรรมนี้มาเป็นเวลานานแล้ว โดยใช้เป็นตัวเชื่อมสารไวแสงเข้ากับแผ่นฟิล์ม เจลาตินที่ใช้จะเป็นชนิดบีชนิดพิเศษที่มีการแยกสารที่มีสมบัติเป็น sensitizer และ strainer ต่อสารไวแสงออกไป ทำให้เจลาตินมีสมบัติเฉื่อยและไม่มีผลควบคุมขนาดผลึกและความไวแสงของผลึก silver halide นอกจากนี้เจลาตินยังทำหน้าที่ protective colloid และ bromine acceptor และเป็นตัวกลางสำหรับการฉายผิวแผ่นฟิล์ม และในกระบวนการผลิตแผ่นฟิล์มสมัยใหม่ กระบวนการผลิตและควบคุมคุณภาพของเจลาตินเฉื่อยสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมภาพถ่ายค่อนข้างจะสำคัญมาก เพราะหากมีสิ่งเจือปนเพียงเล็กน้อยในระดับพีพีเอ็มจะมีผลต่อภาพถ่ายที่ได้เป็นอันมาก ผลิตภัณฑ์ภาพถ่ายที่ใช้มากที่สุดจะอยู่ในรูปฟิล์มเอกซ์เรย์ กระดาษอัดรูป กระดาษสี นอกจากนี้ยังอาจมีการใช้เจลาตินในรูปแบบอนุพันธ์เช่น pthaloylated gelatin นอกจากนี้เจลาตินชนิดเอยังอาจมีที่ใช้ในอุตสาหกรรมภาพถ่ายบ้างในส่วนของผลิตภัณฑ์กราฟิควาร์ต

### 2.3.3.3 อุตสาหกรรมยา

ส่วนใหญ่จะใช้เจลาตินในรูปแบบแคปซูลบรรจุยา ซึ่งจะมีแคปซูลบรรจุยาสองชนิดคือ แคปซูลเจลาตินนิ่ม และแคปซูลเจลาตินแข็ง แคปซูลเจลาตินนิ่มจะมีลักษณะสีเหลืองใส นิยมใช้บรรจุยาในรูปแบบสารละลายในน้ำมัน เช่นผลิตภัณฑ์น้ำมันตับปลา วิตามิน น้ำมันกระเทียม ผลิตภัณฑ์ที่มี bloom strength ต่ำ หากเป็นชนิดเอจะมีค่าในช่วง 170 – 180 กรัม หรือชนิดบี 150 – 175 กรัมหรือส่วนผสมของเจลาตินทั้งสองชนิดนี้ แคปซูลเจลาตินแข็งมีลักษณะแข็งกว่า ใช้ทำแคปซูลลักษณะสองฝารวมเข้าด้วยกัน มักผสมสีลงในเนื้อแคปซูล ใช้บรรจุยาชนิดผง ผลิตภัณฑ์ที่มีค่า bloom strength สูงกว่าแคปซูลเจลาตินนิ่ม หากเป็นชนิดเอจะมีค่าในช่วง 250 - 280 กรัม หรือชนิดบี 225 – 250 กรัมหรือส่วนผสมของเจลาตินทั้งสองชนิดนี้ นอกจากนี้ยังอาจใช้เจลาตินช่วยเพิ่มโปรตีนในน้ำเลือด โดยใช้เจลาตินพิเศษที่มีความบริสุทธิ์สูง ปราศจากสารปนเปื้อน (pyrogen free gelatin) ผลิตในรูปแบบของยาฉีดเข้าร่างกาย



### 2.3.3.4 อุตสาหกรรมอื่นๆ

เจลาตินสามารถใช้เป็นส่วนผสมของพลาสติกเพื่อช่วยควบคุมอัตราการพอลิเมอไรเซชัน ในอุตสาหกรรมชุบโลหะด้วยไฟฟ้า มีการเติมเจลาตินลงไปเพื่อช่วยให้ได้ผิวโลหะที่มันแวววาว และใช้ในการเคลือบผิวเพื่อป้องกันการกัดกร่อน เจลาตินอาจใช้เคลือบเม็ดปุ๋ยเพื่อให้มีการละลายตามเวลาที่ต้องการ และเป็นแหล่งไนโตรเจนไปในตัว ในอาหารสัตว์อาจใช้เจลาตินเพื่อเคลือบวิตามินเพื่อป้องกันการออกซิเดชันจากอากาศ

## 2.4 การเชื่อมขวาง (crosslinking)

การเชื่อมขวางเป็นวิธีที่ใช้ปรับปรุงคุณสมบัติของโครงข่ายเซลล์ที่นิยมใช้กันในปัจจุบัน จึงนำมาประยุกต์ใช้กับแผ่นเส้นใย เพื่อที่จะปรับปรุงโครงสร้างของแผ่นเส้นใย เนื่องจากโดยทั่วไปการเชื่อมขวางเป็นการทำให้สมบัติเชิงกลดีขึ้น ช่วยชะลออัตราการย่อยสลาย เพื่อให้มีความเหมาะสมในการนำมาใช้งานในด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อมากขึ้น [Ma L. และคณะ, 2003] กระบวนการเชื่อมขวางนั้นมีวิธีการอยู่หลายวิธี โดยจะแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ การเชื่อมขวางทางกายภาพ, การเชื่อมขวางทางเคมี และการเชื่อมขวางโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา

การเชื่อมขวางทางกายภาพ ได้แก่ การใช้ความร้อน หรือ dehydrothermal treatment (DHT) การใช้รังสี เช่น UV-irradiation การใช้พลาสมา (Plasma treatment) เป็นต้น การเชื่อมขวางทางเคมี ได้แก่ การใช้สารเคมีเข้าไปทำปฏิกิริยาเคมีกับสารนั้นๆ โดยสารเชื่อมขวางที่นิยมใช้ ได้แก่ สารที่มีหมู่แอลดีไฮด์ (เช่น กลูตารัลดีไฮด์ (GA), formaldehyde, glyceraldehydes) และ 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) เป็นต้น [Young S. และคณะ, 2005] และยังมี การนำตัวเร่งปฏิกิริยา มาใช้ในการเชื่อมขวางอีกด้วย เช่น การใช้ transglutaminase เป็นต้น

### 2.4.1 การเชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพ

#### 2.4.1.1) การเชื่อมขวางโดยการใช้ความร้อน (dehydrothermal treatment, DHT)

การเชื่อมขวางแบบใช้ความร้อน เป็นวิธีที่ใช้เพื่อต้องการหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี โดยอาศัยความร้อน ภายใต้สุญญากาศที่ความดัน 0 มิลลิบาร์ ทำการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่แล้วปรับเปลี่ยนระยะเวลาให้ได้ระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุด เพื่อให้ได้โครงข่ายเซลล์ที่มีสมบัติที่ดีและเหมาะสมมากที่สุด [Ueda H. และคณะ, 2002] การเชื่อมขวางระหว่างสายไซ (interchain crosslinks) จากปฏิกิริยาการรวมตัว (condensation) จะเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างพันธะเอไมด์ (amide) ในสารจำพวกโปรตีนซึ่งมีหมู่เอมีน (amine) เป็นองค์ประกอบ โดยจะเกิดการเชื่อมขวาง



ระหว่างหมู่เอมีนกับหมู่คาร์บอกซิลิกของโมเลกุลโปรตีนที่อยู่ติดกัน และมีการจับโมเลกุลของนี้ ออกมา เมื่อโปรตีนผ่านการเชื่อมขวางแบบใช้ความร้อนแล้ว ทำให้ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระและความสามารถในการกักเก็บน้ำในโครงเลี้ยงเซลล์ลดลง ส่งผลให้ความทนต่อแรงดึง (tensile strength) เพิ่มขึ้น [Pieper J.S. และคณะ, 1998] แต่การเชื่อมขวางด้วยวิธีนี้ก็ยังไม่เป็นที่นิยมกับคอลลาเจน เนื่องจากจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของคอลลาเจน (denature collagen) และความแข็งแรงของโครงเลี้ยงเซลล์ยังไม่เป็นที่น่าพอใจ [Wess T.G. และคณะ, 2000]

#### 2.4.1.2) การเชื่อมขวางโดยใช้พลาสมา [สุพิชญา ชื่นชนม์, 2547]





พลาสมาเป็นสถานะหนึ่งของสสาร ซึ่งโดยทั่วไปเรียกว่าเป็นสถานะที่ 4 ของสสาร ถัดจากของแข็ง ของเหลวและก๊าซ (ดังแสดงในรูปที่ 2.8) สถานะที่ 4 ของสสารนี้ มีการกล่าวถึงครั้งแรก โดยเซอร์ วิลเลียม ครูกส์ (Sir William Crookes) เมื่อ ค.ศ. 1879 และคำว่าพลาสมา (plasma) ถูกใช้ครั้งแรกเมื่อ ค.ศ. 1928 โดยนายเออร์วิง แลงมัวร์ (Irving Langmuir) ผู้ที่สังเกตเห็นการแตกตัวของอะตอมไปเป็นไอออนและอิเล็กตรอน เมื่อกระแสไฟแรงสูงถูกส่งผ่านสายไฟหนา (ลวดโคมไฟ) หลังจากนั้น เขาได้รับรางวัลโนเบล ในสาขาเคมีในปี ค.ศ. 1932 และนักวิทยาศาสตร์อีกคนหนึ่งชื่อ ฮานส์ อัลฟ์เวน (Hannes Alfvén) ได้รับรางวัลโนเบลในสาขาฟิสิกส์ในปี ค.ศ. 1970 จากผลงานเกี่ยวกับพลาสมาเช่นกัน [<http://th.wikipedia.org/wiki/>]

พลาสมา คือ ก๊าซที่ถูกกระตุ้นหรือได้รับพลังงานมากพอจนบางส่วนเกิดการแตกตัวเป็นไอออนและอิเล็กตรอนอิสระรวมกันอยู่ในระบบ และมีประจุไฟฟ้าอิสระทั้งบวกและลบโดยเฉลี่ยแล้วเท่ากัน มีสมบัติทางไฟฟ้าเปลี่ยนแปลงไปจากก๊าซในภาวะปกติ เช่น ก๊าซไฮโดรเจนไม่ใช่ตัวนำไฟฟ้า แต่เมื่อเปลี่ยนสถานะไปเป็นพลาสมาก็จะเป็นตัวนำไฟฟ้าได้ สสารทุกชนิดสามารถทำให้เป็นพลาสมาได้เมื่อรับพลังงานในรูปแบบต่างๆ เช่น ความร้อน คลื่นวิทยุ คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า สสารและธาตุหนัก ยิ่งทำให้เป็นพลาสมาได้ยาก ไฮโดรเจนซึ่งเป็นธาตุเบาที่สุด สามารถทำให้เป็นพลาสมาได้ง่ายที่สุด รั้งสีพลาสมาประกอบด้วยอนุภาคหรือไอออน จึงมีความเร็วต่ำกว่าแสงในสุญญากาศ คือประมาณ 300,000 กิโลเมตรต่อวินาที ในธรรมชาติมีตัวอย่างพลาสมาให้เห็นได้ เช่น ฟ้าแลบ ฟ้าผ่า ปฏิกิริยาพลาสมา คือกระบวนการเปลี่ยนแปลงที่เกิดกับพลาสมาร้อน เช่น บริเวณใจกลางดวงอาทิตย์เกิดปฏิกิริยานิวเคลียร์ฟิวชั่นขึ้น อะตอมไฮโดรเจนในสถานะพลาสมา ร้อนหลอมตัวกันจนเป็นฮีเลียม

เทคโนโลยีพลาสมาเป็นเทคโนโลยีที่มีการวิจัยพัฒนามากในช่วงไม่กี่สิบปีที่ผ่านมา ในปัจจุบันได้มีการนำเอาพลาสมามาใช้ประโยชน์เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุในหลายๆ จุดประสงค์เช่น การสร้างชั้นบางมากบนพื้นผิว (surface deposition) การดัดแปรพื้นผิว (surface modification) เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากเทคโนโลยีพลาสมาเป็นหนึ่งในเทคโนโลยีสะอาด (Clean technology) ซึ่งเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เพราะใช้น้ำและสารเคมีน้อยมาก และเป็นกา

ปรับปรุงเฉพาะระดับผิวไม่กระทบคุณภาพดั้งเดิมของวัสดุนั้นๆ จึงสามารถประยุกต์ใช้ในหลายๆ ด้าน เช่น ด้านสิ่งทอ ด้านอิเล็กทรอนิกส์ ด้านโลหะ ด้านการเกษตร และอื่นๆ

[[http://www.nn.nstda.or.th/front\\_office/upload/file/MTEC/Brochure%20](http://www.nn.nstda.or.th/front_office/upload/file/MTEC/Brochure%20)]

<b>Solid</b>	<b>Liquid</b>	<b>Gas</b>	<b>Plasma</b>
Example <b>Ice</b> $H_2O$	Example <b>Water</b> $H_2O$	Example <b>Steam</b> $H_2O$	Example <b>Ionized Gas</b> $H_2 \rightarrow H^+ + H^+ + 2e^-$
<b>Cold</b> $T < 0^\circ C$	<b>Warm</b> $0 < T < 100^\circ C$	<b>Hot</b> $T > 100^\circ C$	<b>Hotter</b> $T > 100,000^\circ C$ $I > 10 \text{ electron Volts}$
			
<b>Molecules Fixed in Lattice</b>	<b>Molecules Free to Move</b>	<b>Molecules Free to Move, Large Spacing</b>	<b>Ions and Electrons Move Independently, Large Spacing</b>

รูปที่ 2.8 สถานะของสสาร คือ ของแข็ง ของเหลว ก๊าซ และพลาสมา

[[http://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=duen&month=11-](http://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=duen&month=11-2005&date=05&group=7&gblog=63)

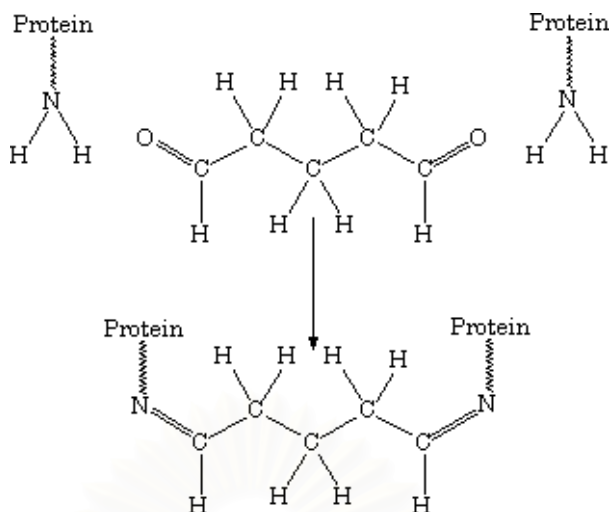
[2005&date=05&group=7&gblog=63](http://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=duen&month=11-2005&date=05&group=7&gblog=63)]

## 2.4.2 การเชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมี

### 2.4.2.1) การเชื่อมขวางโดยใช้กลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde : GA)

GA เป็นสารที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในงานด้านชีวการแพทย์ (biomedical) เป็นสารเชื่อมขวาง (crosslinking agent) สำหรับโปรตีน และ พอลิแซคคาไรด์

ตัวอย่างการเชื่อมขวางของคอลลาเจนด้วย GA จะทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างหมู่แอลดีไฮด์ (-CHO) ของ GA กับหมู่เอมีน (-NH<sub>2</sub>) ของคอลลาเจน ดังแสดงในรูปที่ 2.9 ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเดียวกันกับการเชื่อมขวางของเจลาติน เนื่องจากเจลาตินมีหมู่เอมีน (-NH<sub>2</sub>) เหมือนกับคอลลาเจนโดยเจลาตินใช้หมู่เอมีนในการเชื่อมขวาง และ GA ใช้หมู่แอลดีไฮด์ในการเชื่อมขวาง



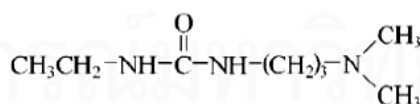
รูปที่ 2.9 การเชื่อมขวางของคอลลาเจนกับ GA

[<http://www.lsbu.ac.uk/biology/enzyme/practical5.html>]

การเชื่อมขวางเป็นการทำให้สมบัติเชิงกลของโครงเล็ยงเซลล์มีความแข็งแรงมากขึ้น และทำให้ความชอบน้ำ (hydrophilic) ลดลง โครงเล็ยงเซลล์ที่มีองค์ประกอบที่แตกต่างกันจะมีระดับของการย่อยสลายทางชีวภาพที่ไม่เท่ากัน ซึ่งพบว่าเมื่อทำการเชื่อมขวางด้วย GA สามารถลดระดับของการย่อยสลายทางชีวภาพให้ช้าลงได้อย่างมาก [Ma L., และคณะ, 2003]

#### 2.4.2.2) การเชื่อมขวางด้วย 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC)

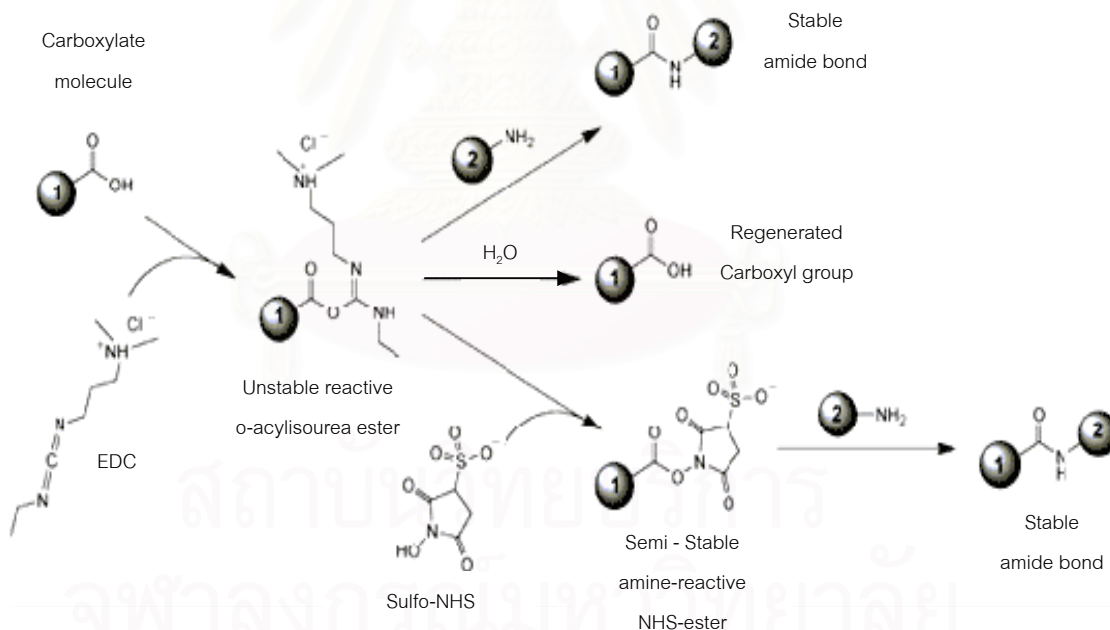
EDC (แสดงโครงสร้างในรูปที่ 2.10) เป็นสารที่นิยมใช้ในการเชื่อมขวาง เนื่องจากเป็นสารที่ไม่มีพิษ และมีความเข้ากันได้ดีกับเซลล์และเลือด (biocompatible) โดยทำการเชื่อมขวางร่วมกับ N-hydroxysuccinimide (NHS) และบัฟเฟอร์ 2-morpholinoethane sulfonic acid (MES)



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของ 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC)

[Christiaens P. และคณะ, 2006]

ตัวอย่างการเชื่อมขวางของคอลลาเจนด้วย EDC และ NHS จะมีกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงในรูปที่ 2.11 โดยการเชื่อมขวางจะเกิดขึ้นระหว่างหมู่คาร์บอกซิลิกของกรดอะมิโน aspartic หรือ glutamic ซึ่งแสดงประจุรวมเป็นลบในคอลลาเจนกับ EDC ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือหมู่ O-acrylisourea จากนั้นจะเกิดการเชื่อมขวางต่อโดยหมู่ O-acrylisourea ไปทำปฏิกิริยากับหมู่เอมีนของกรดอะมิโน lysine หรือ hydroxylysine ซึ่งแสดงประจุรวมเป็นบวก ได้เป็นกรดอะมิโนของคอลลาเจน ที่ต่อกันกับ 1-ethyl-3-(3-dimethyl aminopropyl)urea และการเติม N-hydroxyl succinimide (NHS) ในระหว่างการเชื่อมขวาง ช่วยเพิ่มจำนวนการเชื่อมขวาง ลดปริมาณหมู่อะมิโนอิสระ และเพิ่มอัตราการปฏิกิริยาในการเชื่อมขวาง โดย NHS จะยับยั้งปฏิกิริยา 2 ปฏิกิริยา คือ การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของหมู่ O-acylisourea กลายเป็น 1-ethyl-3-(3-dimethyl aminopropyl)urea และกลับไปเริ่มต้นใหม่ที่หมู่คาร์บอกซิลิกของกรดอะมิโน และปฏิกิริยาที่สองคือ หมู่ O-acylisourea ที่ไม่เสถียรมีการจัดเรียงตัวอยู่ในรูปของหมู่ N-acylurea จะถูก NHS เปลี่ยนให้เป็นหมู่ NHS-activated carboxylic ซึ่งจะมีความไวต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ pH ต่ำๆ เมื่อเปรียบเทียบกับหมู่ O-acrylisourea [Olde Damink L.H.H. และคณะ, 1996]



รูปที่ 2.11 การเชื่อมขวางของคอลลาเจนกับ EDC และ NHS

[<http://www.piercenet.com/Objects/View.cfm?type=ProductFamily&ID=02030312>]

ความแตกต่างระหว่างการใช้สารเคมี EDC และ GA คือ โมเลกุลของ EDC จะไม่มีสารพิษตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังการเชื่อมขวาง คือ อนุพันธ์ของยูเรีย หรือ 1-

ethyl-3-(3-dimethyl aminopropyl)urea ที่สามารถกำจัดออกได้โดยการละลายน้ำทำให้ไม่มีสารตกค้างในโมเลกุลของสารพวกโปรตีน ด้วยเหตุนี้โปรตีนที่เชื่อมขวางด้วย EDC จึงมีความเป็นพิษที่ต่ำกว่า อย่างไรก็ตาม EDC กำลังอยู่ในระหว่างกระบวนการรับรองความปลอดภัยจากองค์การอาหารและยา [Liu H. และคณะ, 2004] ส่วนการเชื่อมขวางโดยใช้ GA จะมี GA ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์หลังการเชื่อมขวาง โมเลกุลของ GA จะเข้าไปแทรกวมอยู่กับโปรตีน จึงมีกระบวนการกำจัดหมู่แอลดีไฮด์ของ GA ที่ตกค้างอยู่โดยการล้างโปรตีนที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยไกลซีน เพื่อเข้าไปทำปฏิกิริยากับหมู่แอลดีไฮด์ของ GA ที่เกินพอและล้างต่อด้วยน้ำหลายๆรอบ [Ozeki M. และ Tabata Y., 2005] ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเชื่อมขวางด้วย GA มีความเป็นเนื้อเดียวกันสูงเนื่องจาก GA มีการกระจายตัวของพันธะทางเคมีอย่างเป็นระเบียบในโมเลกุล ซึ่งส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้นั้นมีสมบัติทางกลที่สูงขึ้น [Goissis G. และคณะ, 1998] นอกจากนี้ GA ยังได้รับรองความปลอดภัยจากองค์การอาหารและยาจากประเทศสหรัฐอเมริกาแล้วในปัจจุบัน [U.S. Food and Drug Administration. March 3, 2006]

## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Huang Z.M. และคณะ (2004) ได้ศึกษาลักษณะของเส้นใยเจลลาตินซึ่งได้จากการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต จากสารละลายเจลลาติน ชนิด A ใน 2,2,2-trifluoroethanol โดยทำการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายในช่วง 2.5-15% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการปั่นเส้นใย คือ ตั้งแต่ 5-12.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ได้ขนาดเส้นใยอยู่ในช่วง 100-340 นาโนเมตร สารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำหรือสูงกว่าช่วงนี้จะไม่สามารถปั่นเป็นเส้นใยได้และเมื่อนำแผ่นเส้นใยที่ได้จากการปั่น เส้นใยในช่วงความเข้มข้น 5-12.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มาทดสอบแรงดึง พบว่า เส้นใยที่ปั่นได้ จากสารละลายที่มีความเข้มข้น 7.5% สามารถทนแรงดึงได้มากที่สุด

Pek Y.S. และคณะ (2004) ศึกษาการเชื่อมขวางของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำจากคอลลาเจนผสมกับ chondroitin-6-sulfate โดยการขึ้นรูปโครงเลี้ยงเซลล์ในอัตราส่วนคอลลาเจน 92% chondroitin-6-sulfate 8% โดยใช้เทคนิคการทำแห้งแข็ง (freeze-drying) ก่อน แล้วจึงนำมาเชื่อมขวางแบบใช้ความร้อนในตู้อบสุญญากาศ (vacuum oven) ที่สภาวะ 105 องศาเซลเซียส ความดัน 0 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาเชื่อมขวางอีกครั้งโดยการแช่ในสารเคมี 14 มิลลิโมล ของ EDC และ 5.5 มิลลิโมล ของ NHS ซึ่งสามารถเพิ่มความสามารถในการบวมน้ำของโครงเลี้ยงเซลล์ขึ้น 1.5 เท่า และเพิ่มความแข็งแรงทางกลขึ้น 3 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี EDC/NHS ในการเชื่อมขวางโครงเลี้ยงเซลล์เพียงอย่างเดียว



Ki C.S. และคณะ (2005) ทำการศึกษาลักษณะของเส้นใยเจลลาติน ซึ่งได้จากการปั่นเส้นใยด้วยวิธีการปั่นแบบไฟฟ้าสถิตของสารละลายเจลลาตินในกรดฟอร์มิก โดยศึกษาผลของปัจจัยที่มีต่อลักษณะและขนาดของเส้นใยที่ปั่นได้ ในส่วนแรกเป็นการศึกษาผลกระทบของเวลาในการเก็บสารละลายเจลลาตินก่อนนำไปปั่นเส้นใย โดยทำการวัดความหนืดของสารละลายที่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลา (0-48 ชั่วโมง) ผลการศึกษาพบว่าใน 2-3 ชั่วโมงแรก ความหนืดเกือบจะไม่ลดลง โดยความหนืดจะเสถียรที่เวลาไม่เกิน 5 ชั่วโมง และพบว่าหลังจาก 48 ชั่วโมง ความหนืดจะลดลงครึ่งหนึ่งเนื่องจากการขาดของสายโมเลกุล เมื่อนำสารละลายที่เวลาต่างๆ (0-24 ชั่วโมง) มาปั่นเส้นใย พบความแตกต่างของขนาดเส้นใยเพียงเล็กน้อย การศึกษาในส่วนที่สอง คือการศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นสารละลายเจลลาติน (7-12%โดยน้ำหนัก) พบว่าที่ความเข้มข้น 7%โดยน้ำหนัก ได้เส้นใยที่มีเม็ดปิด และเมื่อเพิ่มความเข้มข้น จะได้เส้นใยเรียบ ไม่มีเม็ดปิด ขนาดของเส้นใยอยู่ในช่วง 70-170 นาโนเมตร โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นจะได้เส้นใยขนาดใหญ่ขึ้น การศึกษาในส่วนสุดท้าย คือการศึกษาผลกระทบของความต่างศักย์ไฟฟ้าและระยะห่างของการปั่นเส้นใย พบว่าความต่างศักย์ไฟฟ้าและระยะห่างของการปั่นเส้นใย ไม่ส่งผลกระทบต่อขนาดของเส้นใยที่ปั่นได้

Murugan R. และคณะ (2006) ได้รายงานถึงเทคนิคการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต เพื่อใช้ในการสร้างโครงเลี้ยงเซลล์สำหรับงานทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ซึ่งกล่าวว่า พอลิเมอร์ที่สามารถนำมาผลิตเป็นเส้นใยควรเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถสลายตัวได้ตามธรรมชาติ ซึ่งมีทั้งพอลิเมอร์ธรรมชาติ เช่น คอลลาเจน เจลาติน ไคโตซาน และพอลิเมอร์สังเคราะห์ เช่น พอลิแลคติกแอซิก พอลิไกลโคลิกแอซิก พอลิแลคติก ไคโตซาน และพอลิเมอร์ชนิดต่างๆ ผลิตเป็นเมมเบรนเส้นใย เพื่อเป็นโครงเลี้ยงเซลล์และนำมาทดลองเลี้ยงเซลล์ พบว่า เซลล์จะเกาะที่โครงเลี้ยงเซลล์จากเส้นใยคอลลาเจน อย่างหนาแน่นเมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน โครงเลี้ยงเซลล์จากเส้นใยเจลาติน ยังมีข้อดีเนื่องจากเส้นใยที่ผลิตได้จะเสียรูปได้ง่ายเมื่อน้ำหรือความชื้น จึงควรมีการปรับปรุงการละลายน้ำของเจลาติน สำหรับโครงเลี้ยงเซลล์จากเส้นใยไคโตซาน พบว่าเมื่อนำมาตรวจดูด้วยเทคนิคการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) จะพบลักษณะของรูพรุนที่ต่อเนื่องกันของเมมเบรนคล้ายกับโครงสร้างของโครงเลี้ยงเซลล์ในธรรมชาติ (Extracellular matrix) สำหรับโครงเลี้ยงเซลล์จากเส้นใยพอลิแลคติกแอซิก จะพบการเรียงตัวของเส้นใยเป็น 2 แบบซึ่งเกิดจากความเร็วรอบของการหมุนได้ ถ้าความเร็วรอบการหมุนมาก ทำให้เกิดการเรียงตัวของเส้นใยเป็นระเบียบไปในทิศทางเดียวกัน แต่ถ้าความเร็วรอบการหมุนน้อย ทำให้เกิดการเรียงตัวของเส้นใยไม่เป็นระเบียบ ซึ่งเมื่อนำโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งแบบเส้นใยเรียงตัวเป็นระเบียบและเส้นใยเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ มาทดสอบเลี้ยงเซลล์พบว่าโครงเลี้ยงเซลล์ทั้งสองชนิด



ให้ผลเหมือนกัน คือเซลล์สามารถเกาะติดโครงเลี้ยงเซลล์ได้ดี ทำให้สรุปได้ว่าเส้นใยที่เกิดจากการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต สามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้หลากหลายเช่น การทำเครื่องสำอาง แผ่นปิดแผล เนื้อเยื่อเทียม เป็นต้น

Li M. และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาการปั่นเส้นใยของพอลิเมอร์ผสมระหว่าง 8% โดยน้ำหนัก เจลาติน ชนิด B กับ 3% โดยน้ำหนัก Camphorsulfonic acid-Polyaniline (CPSA-PANi) ซึ่งพอลิเมอร์ทั้งสองชนิดละลายใน 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-Propanol (HFP) โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 15:85, 30:70, 45:55, 60:40 และเจลาตินเพียงอย่างเดียว พบว่าทุกอัตราส่วนสามารถปั่นได้เส้นใยเรียบ ไม่มีเม็ดบิด ซึ่งเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PANi ขนาดเส้นใยจะมีค่าลดลงจาก  $803 \pm 121$  นาโนเมตร จนถึง  $61 \pm 13$  นาโนเมตร และเมื่อปั่นเส้นใยลงบน glass cover slips แล้วนำไปเชื่อมขวาง ด้วย 0.2% EDC ใน 90% ethanol เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำมาเลี้ยงเซลล์ H9c2 cardiac rat myoblast พบว่าทุกอัตราส่วนของเส้นใยผสม PANi กับเจลาตินให้ผลเหมือนกันคือ ส่งเสริมการเกาะติดและการแบ่งตัวของเซลล์

Zhang Y.Z. และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาการเชื่อมขวางของเมมเบรนเส้นใยเจลาติน ชนิด A โดยเตรียมเมมเบรนจากการปั่นเส้นใยของเจลาติน ชนิด A ที่ละลายใน 2,2,2-trifluoroethanol และทำการเชื่อมขวางเมมเบรนด้วยการอบไอน้ำของกลูตารัลดีไฮด์ ที่อุณหภูมิห้อง โดยทำการเปลี่ยนแปลงเวลาในการอบไอน้ำเป็น 6 ชั่วโมง, 12 ชั่วโมง, 1, 2, 3 และ 4 วัน จากนั้นทดสอบการเชื่อมขวางด้วยการนำเมมเบรนที่ผ่านการเชื่อมขวางแช่ในน้ำปราศจากอิออน (Deionized water) พบว่า เมมเบรนที่ผ่านการเชื่อมขวางที่เวลา 6 ชั่วโมง, 12 ชั่วโมง และ 1 วัน ละลายในน้ำหลังจากแช่ไว้เป็นเวลา 2 วัน เพราะฉะนั้นการเชื่อมขวางของเส้นใยเจลาตินควรจะทำเป็นเวลา 3 วัน และเมื่อนำเมมเบรนที่ผ่านการเชื่อมขวางมาทดสอบค่าความแข็งแรงต่อแรงดึง พบว่าเมมเบรนที่ผ่านการเชื่อมขวางมีความแข็งแรงต่อแรงดึงมากกว่าเมมเบรนที่ไม่ได้ผ่านการเชื่อมขวาง ประมาณ 10 เท่า

Chong E.J. และคณะ (2007) ทำการศึกษาการปั่นเส้นใยของสารละลายพอลิเมอร์ผสมระหว่าง 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ของพอลิคาโพรแลกโตน และ 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของเจลาติน ชนิด A ซึ่งละลายใน 2,2,2-trifluoroethanol ในอัตราส่วนเท่ากัน เพื่อใช้สำหรับการรักษาบาดแผลและการสร้างชั้นผิวหนัง พบว่าเส้นใยที่ปั่นได้เป็นเส้นใยเรียบและมี interconnected structure เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยอยู่ในช่วง 300-600 นาโนเมตร (ขนาดเฉลี่ยประมาณ  $470 \pm 120$  นาโนเมตร) และเมื่อปั่นเส้นใยเป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง นำเมมเบรนเส้นใยที่

ปั่นได้ไปวัดด้วย Image analysis software ได้ความหนาของเมมเบรนเส้นใย 28 ไมโครเมตร ซึ่งสามารถผลิตเป็นโครงเลี้ยงเซลล์ เมื่อนำไปเลี้ยงเซลล์ Human dermal fibroblast (HDF) เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับเมมเบรนที่ได้จากการปั่นเส้นใยลงบนแผ่น Polyurethane dressing (Tegaderm™, 3M Medical) ที่จะเรียกว่า Tegaderm-nanofiber (TG-NF) ไม่พบความแตกต่างอย่างชัดเจนของจำนวนเซลล์บนเมมเบรนเส้นใยที่เป็นโครงเลี้ยงเซลล์กับ TG-NF และเมื่อเวลาผ่านไปเซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ

Yang D. และคณะ (2007) ศึกษาการปั่นเส้นใยของพอลิเมอร์ผสมระหว่าง 17% โดยน้ำหนักของเจลาติน ชนิด A ที่ละลายในกรดฟอร์มิก กับ 10% โดยน้ำหนักของ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่ละลายในน้ำ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการปลดปล่อยสาร โดยเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนกาผสมของเจลาติน/PVA ตั้งแต่ 10/0, 7/3, 5/5, 3/7, 1/9 และ 0/10 พบว่า เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของ PVA การนำไฟฟ้าของสารละลายลดลง แต่ความหนืดของสารละลายเพิ่มมากขึ้น ซึ่งทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเส้นใยมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย และเมื่อนำแผ่นเส้นใยที่ปั่นได้ไปทดสอบหาค่าความแข็งแรงต่อแรงดึง (Tensile strength) พบว่าที่อัตราส่วน PVA มาก ทำให้เส้นใยที่ได้มีค่าความแข็งแรงต่อแรงดึงมากขึ้น ซึ่งการเพิ่ม PVA ในการปั่นเส้นใยเจลาตินจะช่วยให้เส้นใยมีสมบัติทางกลที่ดีขึ้น และเมื่อศึกษาการปลดปล่อยสาร Raspberry ketone (RK) โดยการเติมลงในสารละลายเจลาติน/PVA ก่อนนำไปปั่นเส้นใย และนำเส้นใยผืนผ้าไปเชื่อมขวาง ด้วยไอของกลูตารัลดีไฮด์ โดยทำการศึกษาผลกระทบของเวลาที่ทำการอบไอต่อการปลดปล่อยสาร ด้วยการนำไปแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ พบว่าเมื่อใช้เวลาในการอบไอมากขึ้น อัตราการปลดปล่อยจะลดลง และเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนเจลาติน/PVA ที่ 7/3 และ 9/1 โดยใช้เวลาในการอบไอเท่ากัน พบว่าที่อัตราส่วน 7/3 ซึ่งมี PVA มากกว่าจะสามารถปลดปล่อยสารได้มากกว่า เนื่องจาก PVA สามารถละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ได้มากกว่าเจลาติน

นฤนาท (2550) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการเชื่อมขวางของโครงเลี้ยงเซลล์เจลาติน-โคโตซานที่ถูกขึ้นรูปด้วยวิธีการทำแห้งแข็ง โดยในขั้นแรกจะศึกษาการเชื่อมขวางแบบแช่และแบบใช้ความร้อนร่วมกับอบไอสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ (GA) ซึ่งมีปัจจัยที่ศึกษา 3 ปัจจัย คือ อุณหภูมิ (4, 25, 37 องศาเซลเซียส), เวลา (6, 12, 24, 48 ชั่วโมง), และความเข้มข้นของสารละลาย GA (0.03, 0.06, 0.085, 0.12% wt/v) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการเชื่อมขวางแบบแช่คือ ใช้ความเข้มข้นของ GA 0.06% โดยปริมาตร อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในที่มืดและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการเชื่อมขวางแบบใช้ความร้อนร่วมกับอบไอสารละลาย GA คือ ใช้ความเข้มข้นของ GA 0.0047% โดยปริมาตร อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 24 ชั่วโมงในที่มืด และการศึกษาชั้นที่สองเป็นการศึกษาการเปรียบเทียบการเชื่อมขวาง โดยมีการเชื่อมขวาง 4 แบบ ได้แก่ การเชื่อมขวางแบบใช้ความร้อน (DHT) การเชื่อมขวางด้วยการแช่สารเคมีกลูตารัลดีไฮด์ (GA) การเชื่อมขวางแบบใช้ความร้อนร่วมกับการอบไอสารละลาย สารเคมีกลูตารัลดีไฮด์ และการเชื่อมขวางแบบใช้ความร้อนร่วมกับแช่สารละลาย EDC ซึ่งผลการเปรียบเทียบ พบว่า โครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเชื่อมขวางแบบใช้ความร้อน และแบบแช่สารกลูตารัลดีไฮด์ มีการหดตัวน้อย ประมาณ 5% ส่วนโครงเลี้ยงเซลล์แบบใช้ความร้อนร่วมกับการอบไอสารละลาย สารเคมีกลูตารัลดีไฮด์ และ แบบใช้ความร้อนร่วมกับแช่สารละลาย EDC มีการหดตัวมาก ประมาณ 40% และขนาดรูพรุนของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการเชื่อมขวางแบบต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โครงเลี้ยงเซลล์ที่เชื่อมขวางแบบใช้สารเคมี มีระดับการเชื่อมขวาง ความทนแรงกด การสูญเสียน้ำหนักและการหดตัวสูงกว่าโครงเลี้ยงเซลล์ที่เชื่อมขวางแบบ DHT และโครงเลี้ยงเซลล์ที่เชื่อมขวางแบบอบไอสารละลาย GA มีลักษณะสมบัติใกล้เคียงกับโครงเลี้ยงเซลล์ที่เชื่อมขวางแบบแช่ EDC/NHS แต่โครงเลี้ยงเซลล์ทั้งสองชนิดนี้มีการสูญเสียน้ำหนักและการหดตัวที่ค่อนข้างสูง

Panprung S. และคณะ (2008) ทำการศึกษาการบั่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ผสมกับสมุนไพรรักษาแผลไฟไหม้ คือ *Centella asiatica* (ในประเทศไทย เรียกว่า บัวบก) ซึ่งใช้ในการรักษาแผลไฟไหม้ แผลบาดเจ็บที่บริเวณผิวหนัง แผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ โดยในขั้นตอนแรกจะทำการทดสอบการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาตินเพียงอย่างเดียว เพื่อนำไปใช้เชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยผสมระหว่างเจลาตินและสมุนไพรรักษาแผลไฟไหม้ ซึ่งวิธีการเชื่อมขวางจะใช้การอบไอสารละลาย สารเคมีกลูตารัลดีไฮด์ (GA) ความเข้มข้น 50% โดยปริมาตร โดยเปลี่ยนแปลงเวลาที่ใช้ในการอบไอสารละลาย ตั้งแต่ 5 – 180 นาที และนำแผ่นเส้นใยที่ผ่านการเชื่อมขวางที่เวลาต่างๆ มาทดสอบการบวมน้ำ พบว่า การบวมน้ำของแผ่นเส้นใยที่ผ่านการเชื่อมขวางที่เวลาน้อยกว่า 30 นาที ลักษณะโครงสร้างของเส้นใยจะถูกทำลายไป และการเชื่อมขวางที่เวลามากกว่า 30 นาที จะสามารถรักษาโครงสร้างของเส้นใยได้ แต่ยังคงมีการละลายติดกันของเส้นใยที่อยู่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงเลือกที่เวลา 60 นาที ในการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาตินผสมสมุนไพรรักษาแผลไฟไหม้ โดยแผ่นเส้นใยเจลาตินผสมสมุนไพรรักษาแผลไฟไหม้เตรียมโดยการบั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิตของสารละลายผสมระหว่าง 22% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของเจลาติน ชนิด A ที่ละลายในกรดอะซิติก และสารสกัดจาก *Centella asiatica* ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นตั้งแต่ 5% - 30% โดยน้ำหนัก หลังจากนั้นจะทำการบั่นเส้นใยผสมที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 15 กิโลโวลต์ ระยะห่างจากปลายเข็มถึงฉากรองรับ 20 เซนติเมตร พบว่า การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสมุนไพรรักษาแผลไฟไหม้ไม่มีผลกระทบต่อขนาดและลักษณะเส้นใยที่ผลิตได้ โดยเส้นใยมีขนาดประมาณ 226 – 232 นาโนเมตร จึงได้เลือกใช้เส้นใยเจลาติน ความเข้มข้น 22% ผสมกับสมุนไพรรักษาแผลไฟไหม้

30%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มาทำการทดสอบการปลดปล่อยสมุนไพร ซึ่งได้ทำการเปรียบเทียบกับแผ่นฟิล์มเจลลาตินที่ได้ดูดซับสมุนไพร พบว่า ที่เวลา 5 นาที และ 24 ชั่วโมง แผ่นเส้นใยเจลลาตินปลดปล่อย 18%และ50%ของน้ำหนักสมุนไพรที่ใส่ ตามลำดับและแผ่นฟิล์มเจลลาตินปลดปล่อยได้ 32%และ 69% ที่เวลา 5 นาที และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ และที่เวลามากกว่า 24 ชั่วโมงจะมีการปลดปล่อยเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งที่เวลา 7 วัน แผ่นเส้นใยปลดปล่อย 56%และแผ่นฟิล์มปลดปล่อย 77%ของน้ำหนักสมุนไพรที่ใส่ สรุปได้ว่าแผ่นเส้นใยเจลลาตินปลดปล่อยสมุนไพรได้ช้ากว่าแผ่นฟิล์มเจลลาติน ทุกช่วงเวลา



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 3

### อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

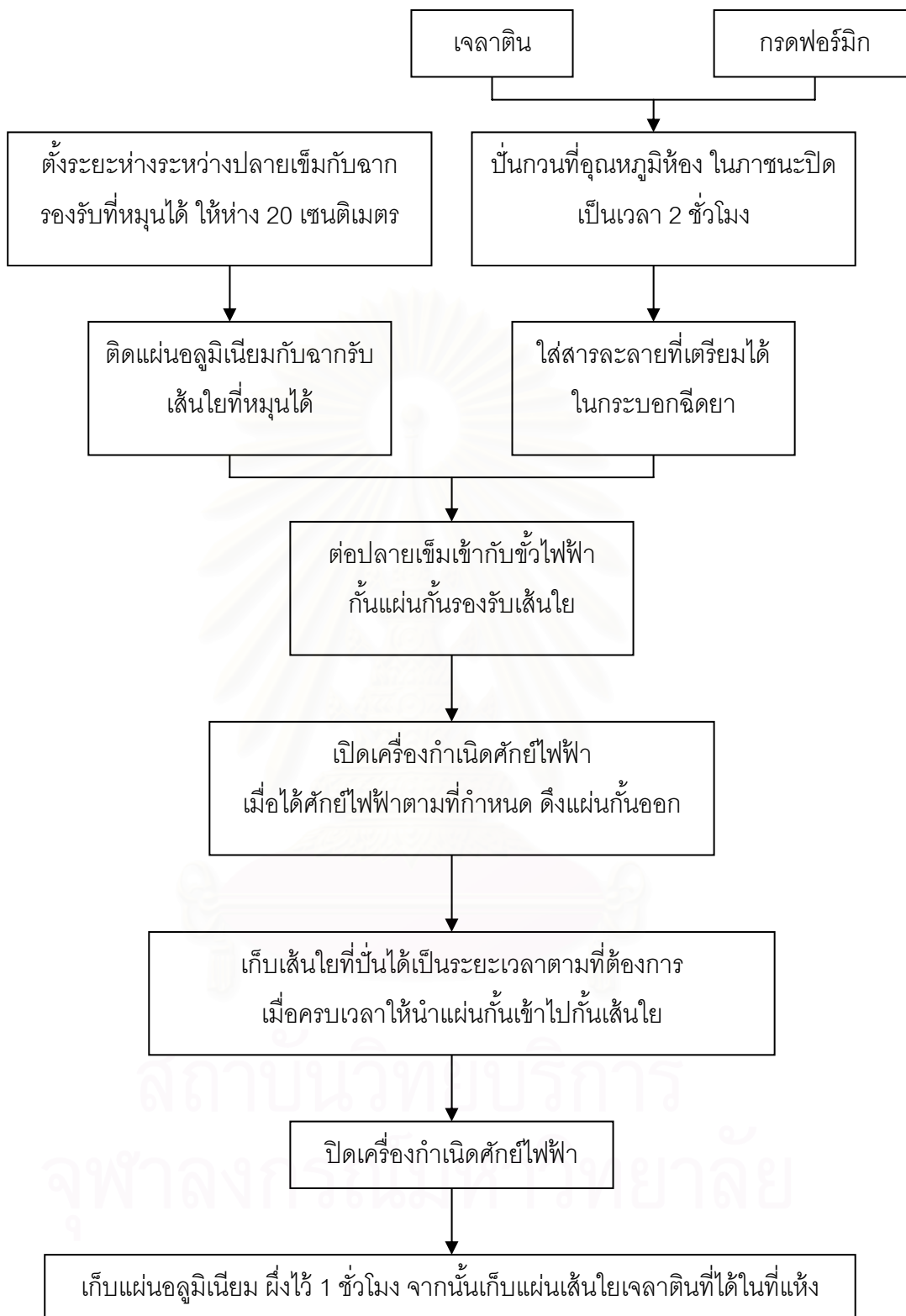
#### 3.1 แผนการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ การเตรียมเส้นใยเจลาติน ดังแสดงในแผนผังรูปที่ 3.1 การเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลาตินและการทดสอบลักษณะสมบัติของแผ่นเส้นใยเจลาติน ดังแสดงในแผนผังรูปที่ 3.2

การเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาตินแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม โดยมีรายละเอียดวิธีการที่แตกต่างกัน 7 วิธี ได้แก่

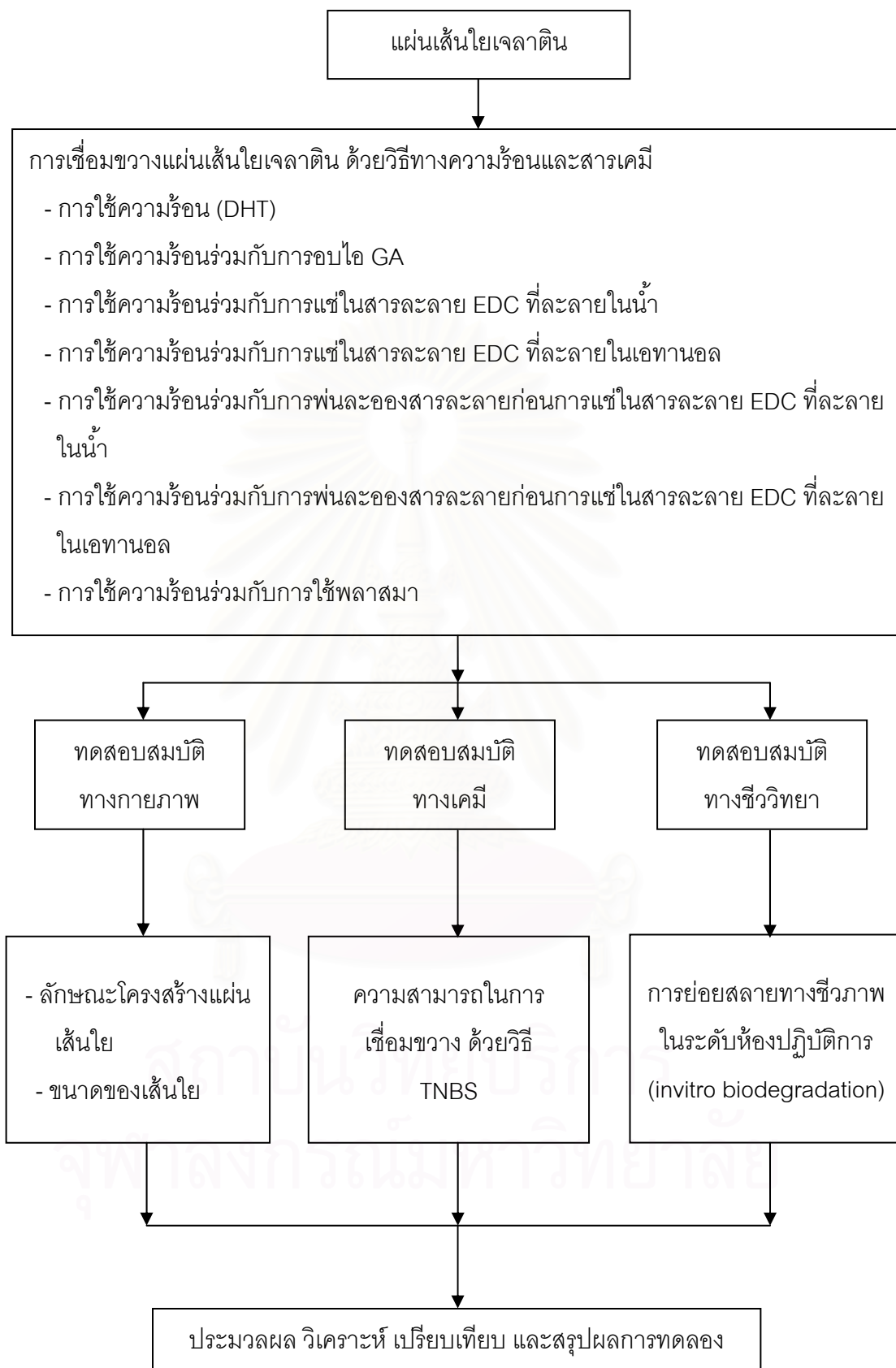
- 3.1.1 การเชื่อมขวางทางกายภาพ
  - การใช้ความร้อน (dehydrothermal treatment, DHT)
  - การใช้ความร้อนร่วมกับการใช้พลาสมา
- 3.1.2 การเชื่อมขวางทางกายภาพร่วมกับทางเคมี
  - การใช้ความร้อนร่วมกับการอบไอน้ำกลูตารัลดีไฮด์ (GA)
  - การใช้ความร้อนร่วมกับการแช่ในสารละลาย 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) ที่ละลายในน้ำ
  - การใช้ความร้อนร่วมกับการแช่ในสารละลาย 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) ที่ละลายในเอทานอล
  - การใช้ความร้อนร่วมกับการฟ่นละของสารละลายก่อนการแช่ในสารละลาย 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) ที่ละลายในน้ำ
  - การใช้ความร้อนร่วมกับการฟ่นละของสารละลายก่อนการแช่ในสารละลาย 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) ที่ละลายในเอทานอล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.1 แผนผังการเตรียมสารละลายและการปั่นเส้นใยเจลาติน





รูปที่ 3.2 แผนผังการเชื่อมขวางและการลักษณะสมบัติของแผ่นเส้นใยเจลาติน

## 3.2 วัตถุดิบและสารเคมี และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

### 3.2.1) วัตถุดิบ

- เจลาติน ชนิด A น้ำหนักโมเลกุล 100kDa, pI = 9 (Nitta Gelatin, Japan)
- เจลาติน ชนิด B น้ำหนักโมเลกุล 100kDa, pI = 5 (Nitta Gelatin, Japan)
- สารละลายกรดฟอร์มิก ความเข้มข้น 98 % (CARLO ERBA, Reagent grade)
- น้ำกลั่น (double-distilled water)
- Absolute Ethanol (99.7-100%, VWR International Ltd., Poole Dorset, United Kingdom)
- Dimethylaminopropyl carbodiimide hydrochloride (EDC) (nacalai tesque, Japan)
- N-hydroxysuccinimide (NHS) (nacalai tesque, Japan)
- Glutaraldehyde (Ajax Finechem, Newzealand)
- Sodium dihydrogen phosphate monohydrate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , Merck, Darmstadt, Germany)
- Sodium phosphate dibasic heptahydrate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , Sigma Co., St. Louis, USA)
- Glycine ultrapure (Usb Corporation , USA)
- 2,4,6-trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS) (nacalai tesque, Japan)
- $\beta$ -Alanine (Nacalai Tesque, Inc., Kyoto, Japan)
- Sodium hydrogen carbonate ( $\text{NaHCO}_3$  99%, Fluka, Buchs, Germany)
- Hydrochloric acid (HCl 36.5-38%, J.T. Baker, NJ, USA)
- Enzyme bacterial collagenase (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)

### 3.2.2) อุปกรณ์

- แผ่นอลูมิเนียม (Aluminum foil)
- ฉากรับเส้นใยที่หมุนได้
- นาฬิกาจับเวลา
- เข็มเบอร์ 23 (0.6 x 40 มิลลิเมตร) โดยตัดปลายแหลมของเข็มออก
- กระบอกฉีดยา (Syringe) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
- ขั้วแอโนดและขั้วแคโทด (Anode and Cathode)

- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (4-digit balance) รุ่น AG204 ของบริษัท Mettler Toledo, Switzerland
- เครื่องกำเนิดศักย์ไฟฟ้าแรงสูง (High – voltage power supply, Model : ES30 –5W)
- แท่งกวนแม่เหล็กและแผ่นให้ความร้อน (Magnetic stirrer/hot plate) รุ่น HTS-1003 ของบริษัท Laboratory & Medical Supplies (LMS)
- ตู้อบสูญญากาศ (Vacuum drying oven and pump) รุ่น VD23 ของ บริษัท Binder ประเทศเยอรมัน
- Fine coat (JFC-1100E, JEOL Ltd., Tokyo, Japan)
- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM: Phillip Model: XL 30 CP)
- Polystyrene tissue culture discs (NUNC, Denmark)
- 24-well polystyrene tissue culture plates (NUNC, Denmark)
- Micropipette (Pipetman P20, P200, P1000 and P5000, USA)
- กระดาษไม่มีขุย
- โถดูดความชื้น (Desiccator, SR Lab, Thailand)
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, 1235 PC, Shel-Lab)
- Spectrophotometer รุ่น SmartSpecTM 3000 ของบริษัท BIO-RAD
- Laminar flow hood รุ่น 252 ของบริษัท Trane International
- เครื่องวัดความหนืด (Viscometer) รุ่น DV-II+ ของบริษัท Brookfield
- เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity meter) รุ่น LC116 ของบริษัท Mettler toledo

### 3.3 วิธีการทดลอง

#### 3.3.1 การปั่นเส้นใยเจลาติน

##### 3.3.1.1) การเตรียมสารละลายเจลาติน

เตรียมสารละลายเจลาติน ชนิด A ความเข้มข้น 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายเจลาติน ชนิด B ความเข้มข้น 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในสารละลายกรดฟอร์มิก โดยปั่นกวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

##### 3.3.1.2) การขึ้นรูปเส้นใยเจลาติน

นำสารละลายเจลาตินที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3.1.1 ใส่ในกระบอกฉีดยาปริมาตร 10 มิลลิลิตร ติดเข็มเบอร์ 23 ที่ตัดปลายออกแล้ว ต่อเข็มเข้ากับเครื่องกำเนิดศักย์ไฟฟ้าแรงสูง และติด

แผ่นอะลูมิเนียมเข้ากับฉากรับเส้นใยที่หมุนได้ โดยให้ฉากรับเส้นใยห่างปลายเข็ม 20 เซนติเมตร ปั่นเส้นใยเป็นเวลา 30 นาที ผึ่งเส้นใยที่ปั่นได้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และเก็บในที่แห้ง โดยการปั่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A และเส้นใยเจลาติน ชนิด B ที่ความเข้มข้น 25 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 10, 12.5, 15, 17.5, 20 และ 25 กิโลโวลต์ และที่ความเข้มข้นค่าอื่นๆ ปั่นเส้นใยเจลาตินที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ โดยในการปั่นแบบไฟฟ้าสถิตจะเกิดหยดของสารละลายพอลิเมอร์เกาะที่ปลายเข็ม และเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าที่ปลายเข็มจะเกิดความต่างศักย์ระหว่างปลายเข็มกับฉากรับ โดยหยดของสารละลายพอลิเมอร์จะเกิดการสะสมประจุซึ่งประจุเหมือนกันถูกผลักรวมออกมาบริเวณผิวหน้าของสารละลาย เมื่อเพิ่มศักย์ไฟฟ้ามากขึ้นจะเกิดการสะสมของประจุที่ผิวหน้าของสารละลายมากขึ้นด้วย ซึ่งแรงผลักรวมไฟฟ้าระหว่างประจุที่ผิวหน้าจะทำให้หยดสารละลายเปลี่ยนรูปร่างเป็นลักษณะโคน ที่เรียกว่า Taylor cone เมื่อแรงผลักรวมประจุบนผิวหน้าของสารละลายสูงกว่าแรงตึงผิวของลำของเหลว (jet) ที่มีประจุ จะพุ่งออกจากจุดยอดของ Taylor cone เมื่อลำเส้นใยพุ่งออกมาจะเกิดการยืดตัวและเกิดการระเหยของตัวทำละลาย ทำให้ลำเส้นใยแข็งตัวกลายเป็นเส้นใย สะสมอยู่บนฉากรับเส้นใย

### 3.3.1.3) การขึ้นรูปแผ่นเส้นใยเจลาติน

เตรียมสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 40% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปั่นเส้นใยที่ความต่างศักย์ 20 กิโลโวลต์ (สภาวะดังกล่าวได้คัดเลือกจากเส้นใยเจลาตินที่ได้ในหัวข้อ 3.3.1.2) เป็นเวลา 30 ชั่วโมง ผึ่งแผ่นเส้นใยให้แห้งและเก็บในที่แห้ง เพื่อนำไปศึกษาการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ

## 3.3.2 การเชื่อมขวาง

นำแผ่นเส้นใยเจลาติน ที่ได้จากขั้นตอนในข้อ 3.3.1.3 แล้ว มาตัดให้มีขนาด 5 x 5 ตารางเซนติเมตร เพื่อนำไปทำการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ ดังต่อไปนี้

### 3.3.2.1) การเชื่อมขวางแบบใช้ความร้อน (Dehydrothermal treatment, DHT)

นำแผ่นเส้นใยเจลาตินมาเชื่อมขวางด้วยการให้ความร้อนในสภาวะสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส ความดัน 0 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

### 3.3.2.2) การเชื่อมขวางโดยวิธีการใช้ความร้อนร่วมกับการอบไอสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde, GA)

นำแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยการให้ความร้อนในสภาวะสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส ความดัน 0 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เช่นเดียวกับ

วิธีในหัวข้อ 3.3.2.1 มาเชื่อมขวางอีกครั้ง ด้วยการอบไอน้ำ GA โดยนำแผ่นเส้นใยเจลาตินวางไว้บน ตะแกรงในขวดโหลสุญญากาศ ที่มีสารละลาย GA ความเข้มข้น 0.06% ละลายผสมใน สารละลายที่ประกอบด้วยอะซีโตนกับกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 0.01 โมลาร์ ในอัตราส่วน 75:25 ทำการห่อภาชนะด้วยกระดาษอะลูมิเนียม เพื่อให้ GA เชื่อมขวางได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด เนื่องจาก GA จะทำงานได้ดีในสภาพที่เป็นกรดและในที่มืด และทำการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่ในสารละลาย Glycine 0.1 โมลาร์ เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง เพื่อให้ glycine เข้าไปจับกับหมู่แอลดีไฮด์ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยาจากการเชื่อมขวางระหว่างเจลาตินกับ Glutaraldehyde ตามด้วยการล้างด้วยน้ำกลั่น 4 ครั้ง ครั้งละ 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไป ระเหยน้ำออกที่อุณหภูมิห้อง ใน Laminar flow hood

### 3.3.2.3) การเชื่อมขวางโดยวิธีการใช้ความร้อนร่วมกับการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ และการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล

นำแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยการให้ความร้อน ในหัวข้อ 3.3.2.1 มาเชื่อมขวางอีกครั้ง โดยการแช่ในสารละลายที่ผสมกันระหว่างสารละลาย EDC 14 มิลลิโมลาร์ กับสารละลาย N-hydroxy-succinimide (NHS) 5.5 มิลลิโมลาร์ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่ใน phosphate buffered saline (PBS) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตามด้วยการล้างด้วยน้ำ กลั่น 4 ครั้ง ครั้งละ 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไประเหยน้ำออกที่อุณหภูมิห้อง ใน Laminar flow hood

### 3.3.2.4) การเชื่อมขวางโดยวิธีการใช้ความร้อนร่วมกับการฟ่นละออง และการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ และ การฟ่นละอองและการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล

นำแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยการให้ความร้อน ในหัวข้อ 3.3.2.1 มาเชื่อมขวางอีกครั้ง โดยการฟ่นละอองสารละลายผสมระหว่างสารละลาย EDC 14 มิลลิโมลาร์ กับสารละลาย N-hydroxy-succinimide (NHS) 5.5 มิลลิโมลาร์ ที่อุณหภูมิห้อง ทำการฟ่นละออง สารละลายผสมให้ทั่วทั้งแผ่นเจลาตินและทิ้งไว้ 30 นาที ทำซ้ำจำนวน 5 ครั้ง หลังจากนั้น แช่แผ่น เส้นใยในสารละลายผสม ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่ใน phosphate buffered saline (PBS) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตามด้วยการล้างด้วยน้ำกลั่น 4 ครั้ง ครั้งละ 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไประเหยน้ำออกที่อุณหภูมิห้อง ใน Laminar flow hood

### 3.3.2.5) การเชื่อมขวางโดยวิธีการใช้ความร้อนร่วมกับการใช้พลาสมา

นำแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยการให้ความร้อน ในหัวข้อ 3.3.2.1 มาเชื่อมขวางอีกครั้ง โดยตัดแผ่นเส้นใยให้มีขนาด 2.5 x 2.5 ตารางเซนติเมตร ร้อยแผ่นเส้นใยด้วย



ด้วยเย็บผ้า เพื่อขึงยึดในภาชนะทรงกระบอกที่ต่อกับเครื่องกำเนิดพลาสมา ที่ใช้แก๊สอาร์กอน แผ่นเส้นใยจะถูกเชื่อมขวางด้วยกระบวนการพลาสมาที่ ความดัน 5 Pa จำนวน 1 pluse จากนั้นเก็บแผ่นเส้นใยที่ได้ในภาชนะสุญญากาศ

### 3.3.3 การทดสอบลักษณะสมบัติของแผ่นเส้นใยเจลาติน

#### 3.3.3.1) ลักษณะพื้นผิวแผ่นเส้นใยเจลาติน

พิจารณาลักษณะพื้นผิวของแผ่นเส้นใยโดยรวม ลักษณะเส้นใยและขนาดเส้นใย ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope หรือ SEM) ความต่างศักย์ 12-15 kV โดยทำการเคลือบทองบนแผ่นเส้นใยด้วย Ion sputtering device ก่อน

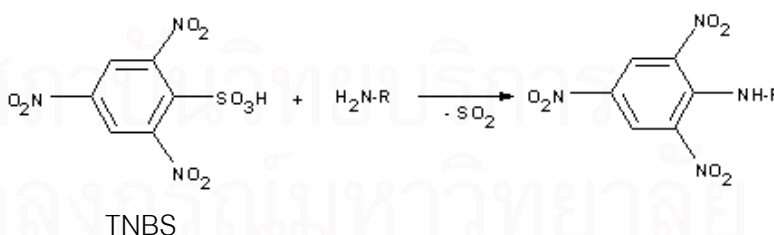
#### 3.3.3.2) ขนาดของเม็ดปิดและเส้นใย

การหาขนาดของเม็ดปิดและเส้นใยของแผ่นเส้นใย จะทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดปิด และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย จำนวน 100 จุด จากนั้นนำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดปิดและเส้นใยมาหาค่าเฉลี่ย

#### 3.3.3.3) ระดับการเชื่อมขวางและปริมาณหมู่อะมิโนอิสระ

การวัดระดับการเชื่อมขวางดัดแปลงมาจากวิธีของ Nagai N. [Nagai N. และคณะ, 2004] ซึ่งวัดได้โดยใช้ 2, 4, 6-trinitro-benzensulfonic acid (TNBS) ซึ่งสามารถบ่งบอกถึงปริมาณหมู่อะมิโนอิสระหรือ  $-NH_2$  ในโมเลกุล เนื่องจากหมู่  $-NH_2$  เป็นองค์ประกอบที่พบในเจลาติน โดย TNBS

จะทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนอิสระของเจลาติน



รูปที่ 3.3 การทำปฏิกิริยาระหว่าง TNBS กับหมู่อะมิโนอิสระของเจลาติน

[[http://www.hplc.cz/Der/amin\\_UV.html](http://www.hplc.cz/Der/amin_UV.html)]

ถ้าปริมาณหมู่อะมิโนในแผ่นเส้นใยหลังจากการเชื่อมขวางเหลือน้อยลง แสดงว่าเกิดการเชื่อมขวางภายในแผ่นเส้นใย โดยการวัดระดับการเชื่อมขวาง ทำโดยการชั่งน้ำหนักแผ่นเส้นใย

ลาติน (ซึ่งมีตัวอย่าง 2 ชนิด คือ แผ่นเส้นใยที่ผ่านการเชื่อมขวางและแผ่นเส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง) 5 มิลลิกรัม แล้วบีบอัด 0.4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ของ  $\text{NaHCO}_3$  ปริมาตร 1 มิลลิกรัม และ 0.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ของสารละลาย TNBS (2,4,6-trinitro-benzensulfonic acid) ปริมาตร 1 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดทดลองและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในอ่างให้ความร้อน เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หากพบว่าเจลาตินยังละลายไม่หมดให้เติม 6 N กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ปริมาตร 2 มิลลิกรัม และเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer แล้วนำค่าการดูดกลืน (Absorbance) ที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ซึ่งเตรียมจากสาร  $\beta$ -alanine ที่ทราบความเข้มข้นเพื่อหาปริมาณหมู่อะมิโนอิสระ (กราฟมาตรฐานแสดงในภาคผนวก ค) จากนั้นนำปริมาณหมู่อะมิโนอิสระที่ได้มาคำนวณหาระดับการเชื่อมขวางจากสูตร

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

โดยที่ A คือ น้ำหนักแผ่นเส้นใยก่อนเชื่อมขวาง (มิลลิกรัม) x ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระก่อนเชื่อมขวาง (มิลลิกรัม)

B คือ น้ำหนักแผ่นเส้นใยหลังเชื่อมขวาง (มิลลิกรัม) x ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระหลังเชื่อมขวาง (มิลลิกรัม)

### 3.3.3.4) การย่อยสลายทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ

การทดสอบหาความสามารถในการย่อยสลายของแผ่นเส้นใยในระดับห้องปฏิบัติการโดยใช้เอนไซม์คอลลาจีเนส (collagenase) ความเข้มข้น 0.018292 ยูนิต์ต่อมิลลิกรัม (1 มิลลิกรัม = 2.69 ยูนิต์) ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Pek YS. [Pek YS. และคณะ, 2003] ทำโดยการแช่แผ่นเส้นใยขนาด 1 x 1 ตารางเซนติเมตร ในสารละลาย phosphate-buffered saline (PBS buffer) ที่ pH 7.4 ที่มีเอนไซม์คอลลาจีเนส ความเข้มข้น 12.5 ยูนิต์/มิลลิกรัม และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 และ 210 นาที เมื่อครบเวลาจะทำการเหวี่ยง (centrifuge) แผ่นเส้นใยที่อยู่ในสารละลายให้ตกตะกอน จากนั้นเทสารละลายคอลลาจีเนสออก เติมน้ำกลั่น เพื่อล้างสารละลายคอลลาจีเนส ทำให้แห้งโดยการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และชั่งน้ำหนัก ทำการทดลองซ้ำ 4 ครั้ง (n=4) โดยที่การย่อยสลายของทางชีวภาพของเจลาติน สามารถคำนวณได้จากน้ำหนักที่ลดลง ดังแสดงในสูตร

$$\% \text{ น้ำหนักที่ลดลงหลังการย่อยสลาย} = \frac{w_0 - w_t}{w_0} \times 100$$

โดยที่  $w_0$  คือ น้ำหนักแห้งเริ่มต้น

และ  $w_t$  คือ น้ำหนักแห้งภายหลังการแช่ในสารละลายคอลลาจีเนสที่ระยะเวลาต่างๆ

### 3.3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองจะมีการทำซ้ำอย่างน้อย  $n=3$  และมีการเปรียบเทียบความแตกต่าง โดยใช้ t-test ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์มินิแทบ (Minitab system for Windows version 14, USA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $P\text{-value} < 0.05$ ) โดยใช้ผลจากแผ่นเส้นใยเจลลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางแบบให้ความร้อนเป็นตัวเปรียบเทียบ รวมทั้งมีการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม

## 3.4 สถานที่ทำการวิจัย

- ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมพอลิเมอร์ ชั้น 5 ตึกอาคารอนุสาสน์ยंत्रกรรม ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
- ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีแบบปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ชั้น 10 สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกวิทยาลัยปิโตรเลียมและปิโตรเคมีและสถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ
- ห้องปฏิบัติการ i-Tissue ชั้น 9 ตึก อ.ป.ร. คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

ผลการทดลองแบ่งเป็น 2 ส่วนหลัก คือ การเตรียมเส้นใยเจลาตินและการเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลาติน

#### 4.1 การเตรียมเส้นใยเจลาติน

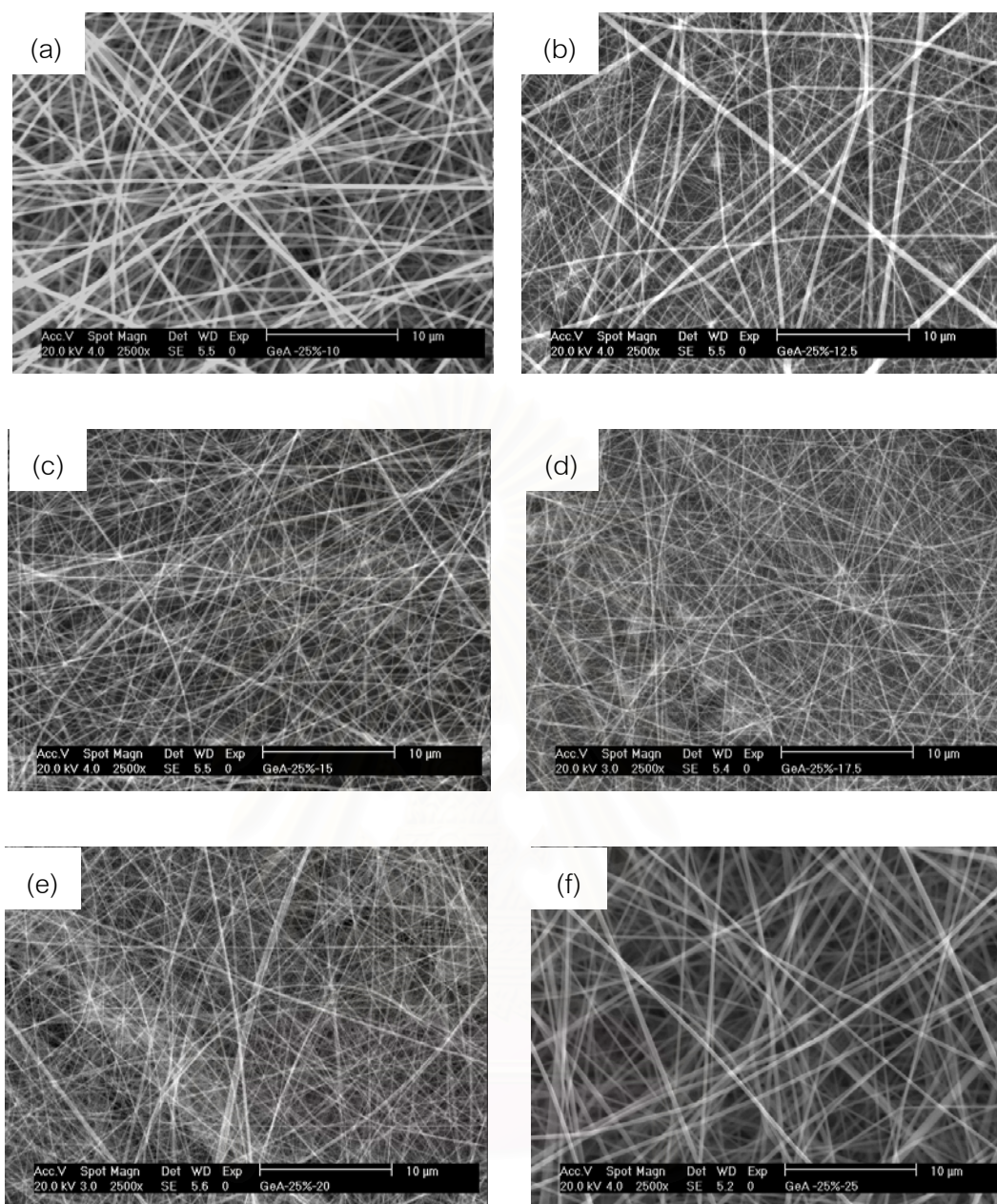
จากการทดลองเตรียมเส้นใยเจลาติน โดยใช้เจลาติน ชนิด A และ ชนิด B โดยทำการศึกษาสองปัจจัย คือ ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ให้แก่สารละลายเจลาตินในกระบวนการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต และความเข้มข้นสารละลายเจลาตินที่ใช้ในการปั่นเส้นใย ได้ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลองดังแสดงในหัวข้อ 4.1.1 และ 4.1.2

##### 4.1.1 อิทธิพลของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่มีต่อลักษณะและขนาดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต

จากการศึกษาผลของความต่างศักย์ไฟฟ้า ที่ใช้ในกระบวนการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิตที่ให้แก่สารละลายเจลาติน ชนิด A และเจลาติน ชนิด B ที่ความเข้มข้นสารละลาย 25% โดยน้ำหนัก ต่อปริมาตร ดังแสดงในรูปที่ 4.1 และ 4.2 พบว่า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ 10, 12.5, 15, 17.5, 20 และ 25 กิโลโวลต์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิตของเจลาตินทั้งสองชนิดเป็นเส้นใยเรียบ ไม่มีเม็ดบิด โดยเจลาติน ชนิด A มีขนาดเส้นใยเฉลี่ยประมาณ 190 – 300 นาโนเมตรและเจลาติน ชนิด B มีขนาดเส้นใยเฉลี่ยประมาณ 127 – 187 นาโนเมตร ดังแสดงในรูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่า การเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าไม่มีผลอย่างชัดเจนต่อลักษณะและขนาดของเส้นใยเจลาตินที่เกิดขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ki C.S. [Ki C.S. และคณะ, 2005]

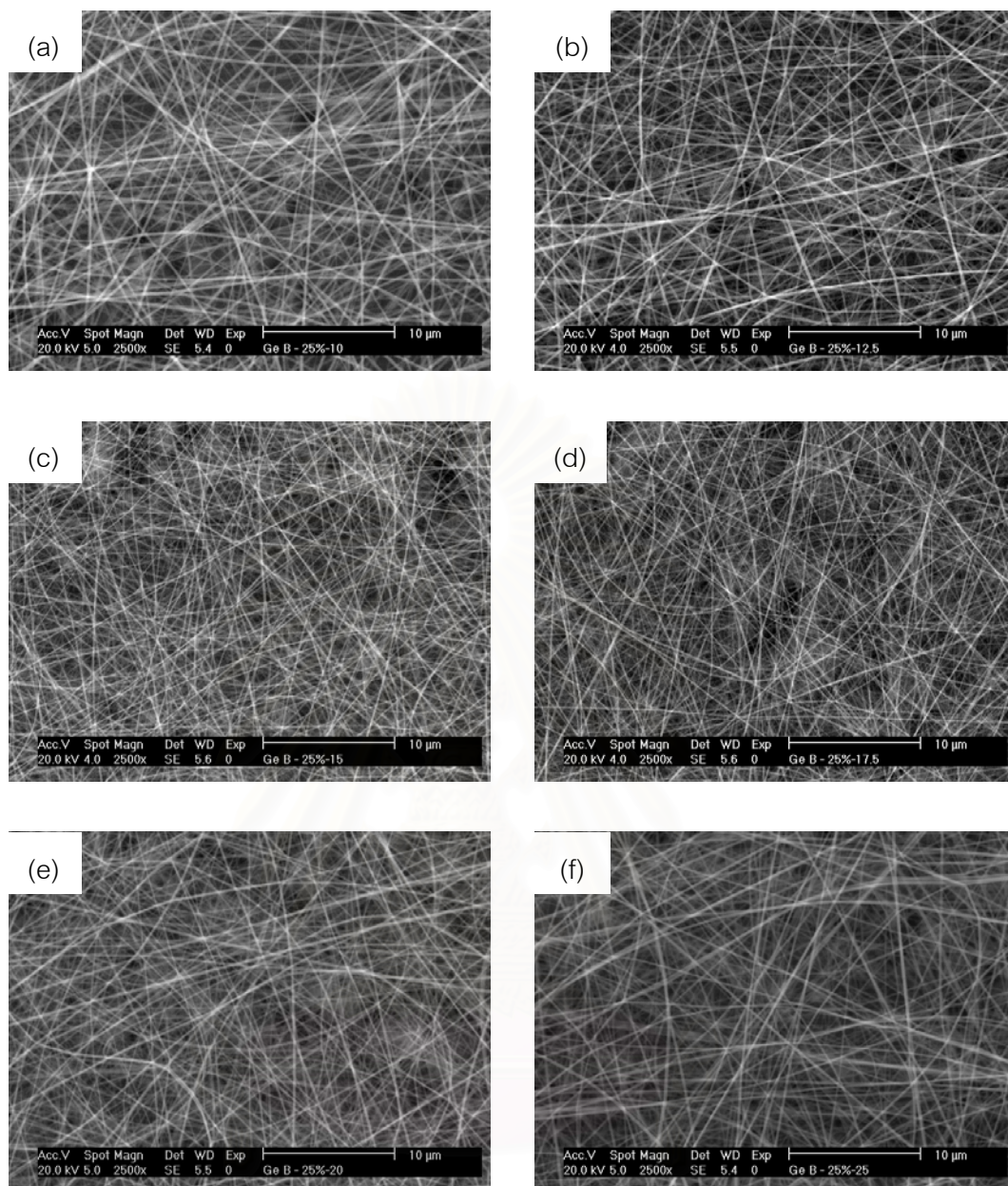
จากผลการทดลองที่ได้ในการศึกษาอิทธิพลของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต พบว่า การเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าไม่ส่งผลอย่างชัดเจนต่อการเกิดเส้นใยเจลาติน และเนื่องจากในการศึกษานี้มุ่งเน้นการเตรียมเส้นใยเจลาติน ดังนั้นจึงเลือกใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 15 และ 20 กิโลโวลต์ เพื่อทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นสารละลายเจลาตินที่ใช้ในกระบวนการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิตอย่างละเอียดในช่วง 2.5% - 60 % โดยน้ำหนัก ต่อปริมาตร ในหัวข้อ 4.2



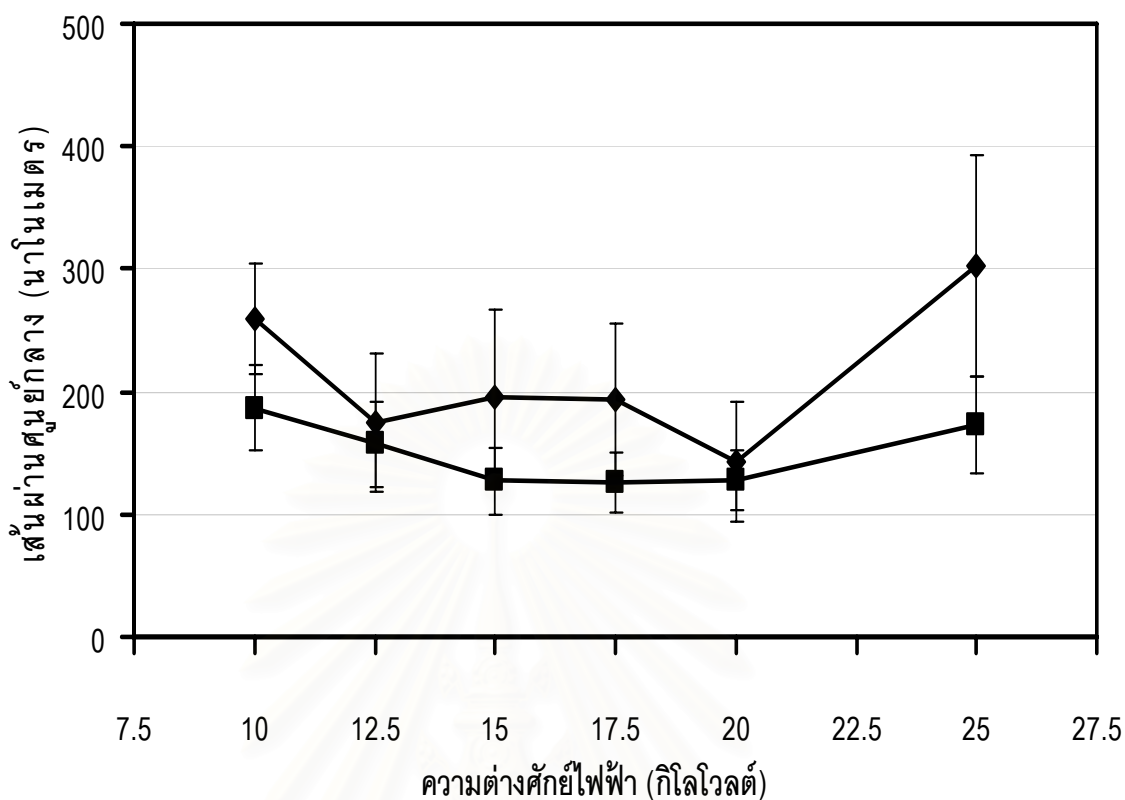


รูปที่ 4.1 ภาพ SEM ของเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต โดยใช้สารละลายความเข้มข้น 25 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า (a) 10 (b) 12.5 (c) 15 (d) 17.5 (e) 20 (f) 25 กิโลโวลต์





รูปที่ 4.2 ภาพ SEM ของเม็บบีดเจลาติน ชนิด B ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต โดยใช้สารละลายความเข้มข้น 25 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า (a) 10 (b) 12.5 (c) 15 (d) 17.5 (e) 20 (f) 25 กิโลโวลต์



รูปที่ 4.3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเส้นใยเจลาติน ชนิด A และเจลาติน ชนิด B เมื่อเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต โดยใช้สารละลายเจลาตินที่มีความเข้มข้น 25% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

◆ เจลาติน ชนิด A      ■ เจลาติน ชนิด B

#### 4.1.2 อิทธิพลของความเข้มข้นสารละลายเจลาตินที่มีต่อลักษณะและขนาดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต

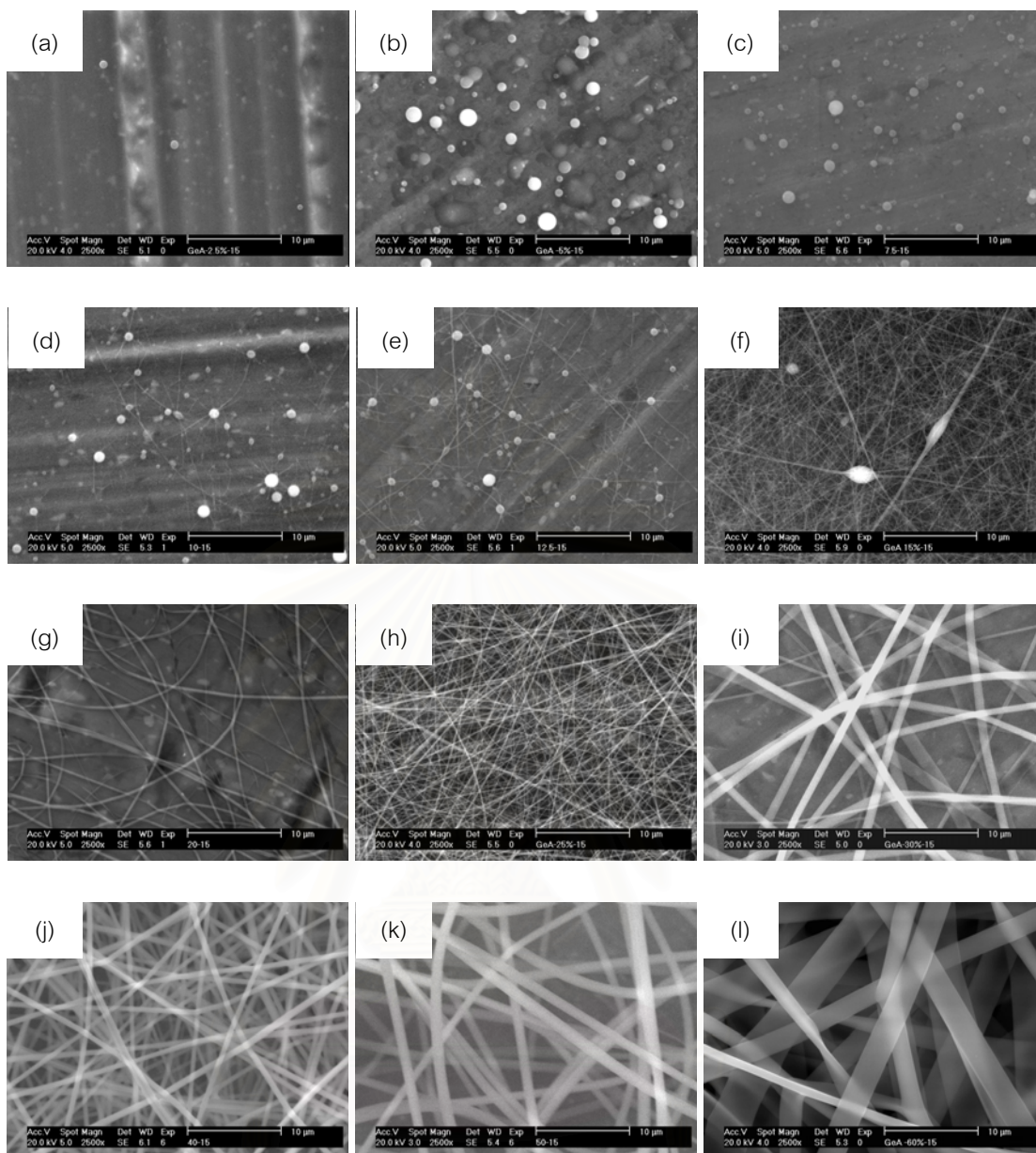
การเตรียมเส้นใยเจลาติน ชนิด A โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน ตั้งแต่ 2.5% - 60% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าคงที่ที่ 15 และ 20 กิโลโวลต์ ระยะห่างระหว่างปลายเข็มถึงฉากรองรับ 20 เซนติเมตร ได้ผลของลักษณะผลิตภัณฑ์เจลาตินชนิด A ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ดังแสดงในรูปที่ 4.4 และรูปที่ 4.5 พบว่า ที่ความเข้มข้น 2.5% - 5% (รูปที่ 4.4a - 4.4b และ รูปที่ 4.5a - 4.5b) จะไม่พบเส้นใย แต่ปรากฏอนุภาคหรือเม็ดปิด (sub microparticles) กระจายอยู่ทั่วไป เนื่องจาก สารละลายมีความเข้มข้นไม่มากเพียงพอที่จะทำให้สายพอลิเมอร์เกิดการเกี่ยวพันกัน (Entanglement) จึงเกิดเป็นหยดสารละลายออกมา เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 7.5% - 15% (รูปที่ 4.4c - 4.4f และ รูปที่ 4.5c - 4.5f) พบว่า มีเส้นใยผสมเม็ดปิดเกิดขึ้น โดยเป็นเส้นใยที่เชื่อมต่อระหว่างเม็ดปิด ซึ่งมีขนาดเล็กมาก เนื่องจากเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น เกิดการพุ่งออกมาเป็นลำเส้นใย แต่สารละลายยังมีความเข้มข้นในการเกี่ยวพันกันของพอลิเมอร์ไม่มากเพียงพอ ทำให้เกิด Capillary instability บนลำเส้นใย ซึ่งทำให้เกิดการยืดตัวออกเป็นช่วง โดยช่วงของลำเส้นใยที่เกิดการยืดออกจากกันมากกว่าจะเกิดเป็นเส้นใยที่มีขนาดเล็ก และช่วงที่ไม่เกิดการยืดตัวจะเกิดเป็นเม็ดปิด เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายมากขึ้นจาก 20% จนถึง 50% (รูปที่ 4.4g - 4.4k และ รูปที่ 4.5g - 4.5k) จะได้เส้นใยที่มีลักษณะเรียบเป็นสายยาวต่อเนื่อง ไม่มีเม็ดปิด เนื่องจากความหนืดของสารละลายเจลาตินอยู่ในช่วงที่เหมาะสม โดยขนาดเส้นใยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นจนถึง 60% (รูปที่ 4.4l และ รูปที่ 4.5l) เส้นใยจะมีลักษณะแบนคล้ายริบบิ้นอย่างชัดเจน ซึ่งอาจเกิดเนื่องจาก การระเหยออกอย่างรวดเร็วของตัวทำละลายในขณะที่พุ่งเป็นเส้นใยออกมาก่อนถึงที่รองรับ ทำให้ผิวของลำเส้นใยเกิดการแข็งตัวกลายเป็นเส้นใยกลวง และเกิดการพับตัวตรงบริเวณกึ่งกลางกลายเป็นเส้นใยแบนคล้ายริบบิ้นสอดคล้องกับรายงานของ Reneker D.H. [Reneker D.H. และ Yarin A.L., 2008] รูปที่ 4.6 แสดงภาพรวมของอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารละลายเจลาติน ชนิด A ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 15 และ 20 กิโลโวลต์ ที่มีต่อลักษณะและขนาดของผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้ ซึ่งสามารถแบ่งช่วงความเข้มข้นที่ทำให้เกิดลักษณะผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันเป็น 4 ช่วง คือช่วงความเข้มข้น 2.5% - 5% จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นเม็ดปิด ช่วงความเข้มข้นของสารละลาย 7.5% - 15% จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นเส้นใยผสมเม็ดปิด ช่วงความเข้มข้น 20% - 50% ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นเส้นใยเรียบ ไม่มีเม็ดปิด และที่ความเข้มข้น 60% จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นเส้นใยแบนคล้ายริบบิ้น

กรณีการใช้เจลาติน ชนิด B ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน ชนิด B ตั้งแต่ 2.5% - 60% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าคงที่ที่ 20 กิโล

โวลต์ แสดงไว้ในรูปที่ 4.7 และ 4.8 พบว่า ผลการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน ชนิด B คล้ายกับการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน ชนิด A กล่าวคือที่ความเข้มข้น 2.5% - 7.5% ไม่พบเส้นใย แต่ปรากฏเม็ดปิดกระจายอยู่ทั่วไป ที่ความเข้มข้น 10% - 15% มีเส้นใยเกิดขึ้นแต่เป็นเส้นใยขนาดเล็กเชื่อมระหว่างเม็ดปิด เมื่อเพิ่มความเข้มข้นมากขึ้นจนถึง 40% ได้เส้นใยที่มีลักษณะเรียบเป็นสายยาวต่อเนื่อง ไม่มีเม็ดปิด และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นจนถึง 50% - 60% เส้นใยที่ได้จะมีลักษณะแบนคล้ายริบบิ้น

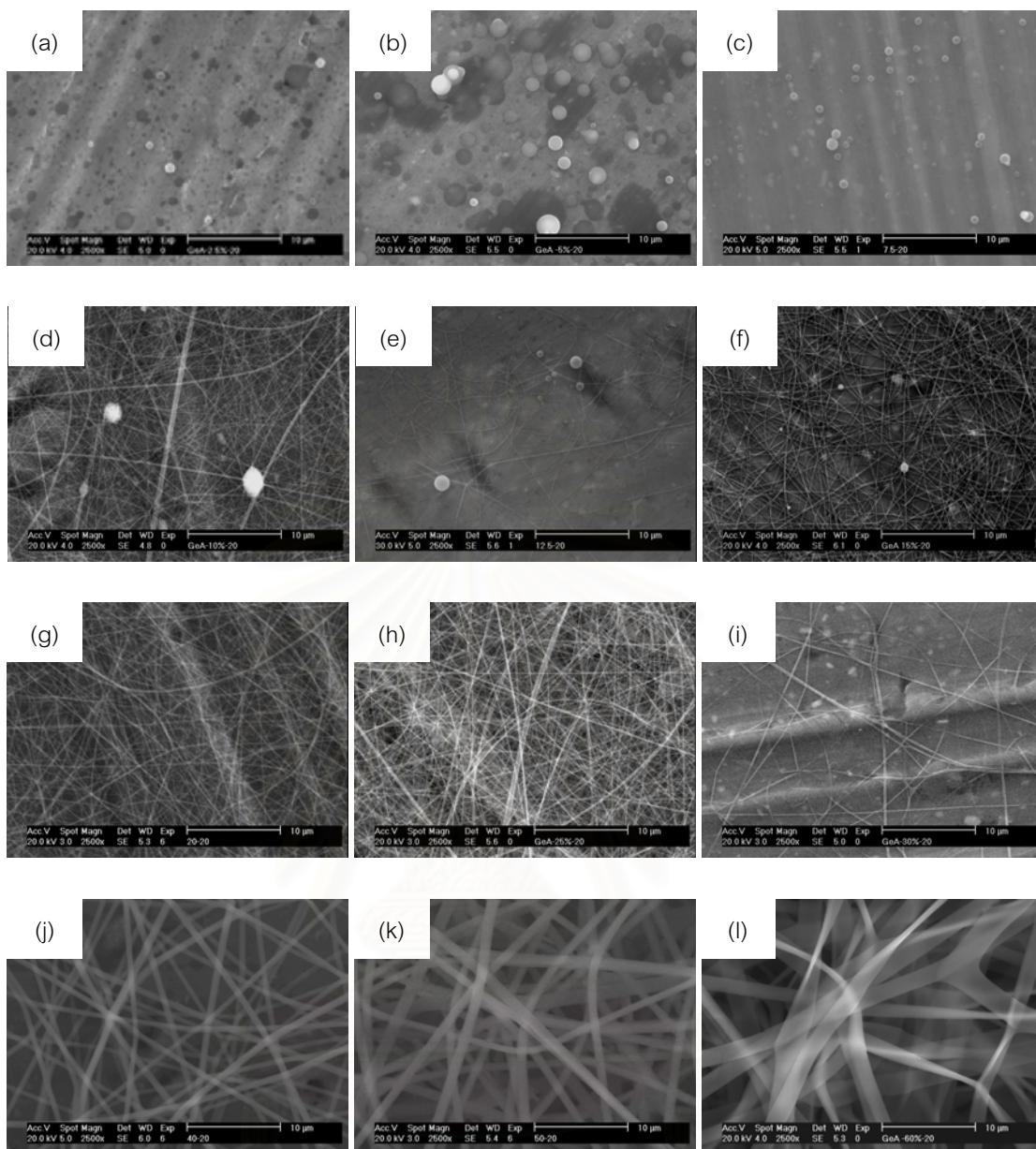
เมื่อเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นสารละลายเจลาตินชนิด A และ ชนิด B ที่มีต่อขนาด และลักษณะของเส้นใยที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ดังแสดงในรูปที่ 4.6 และ รูปที่ 4.8 จะเห็นได้ชัดว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเรื่อยๆ ขนาดของเส้นใยก็จะเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งเป็นผลมาจาก ความหนืดของสารละลายที่เพิ่มขึ้น โดยเส้นใยเจลาตินสามารถผลิตได้ในช่วงความเข้มข้นสารละลายเจลาติน 20% - 50% สำหรับเจลาติน ชนิด A ซึ่งมีขนาดเส้นใยเฉลี่ยประมาณ 150 นาโนเมตร ถึงประมาณ 1,000 นาโนเมตร และเจลาติน ชนิด B สามารถผลิตเส้นใยได้ในช่วงความเข้มข้นสารละลายเจลาติน 20% - 40% โดยมีขนาดเส้นใยเฉลี่ยประมาณ 150 - 600 นาโนเมตร



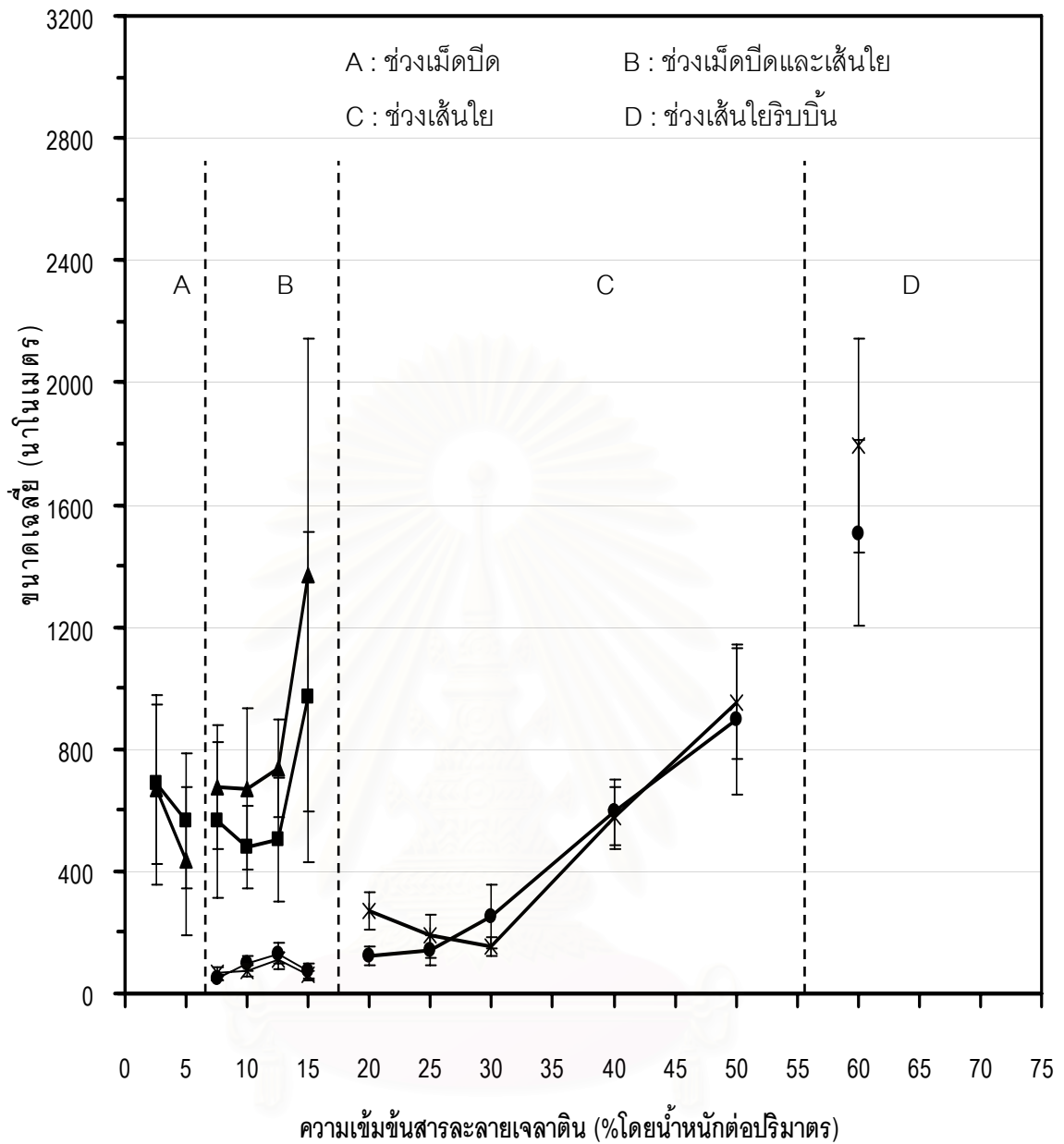


รูปที่ 4.4 ภาพ SEM ของเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 15 กิโลโวลต์ โดยใช้สารละลายเจลาตินความเข้มข้น (a) 2.5% (b) 5% (c) 7.5% (d) 10% (e) 12.5% (f) 15% (g) 20% (h) 25% (i) 30% (j) 40% (k) 50% (l) 60% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร



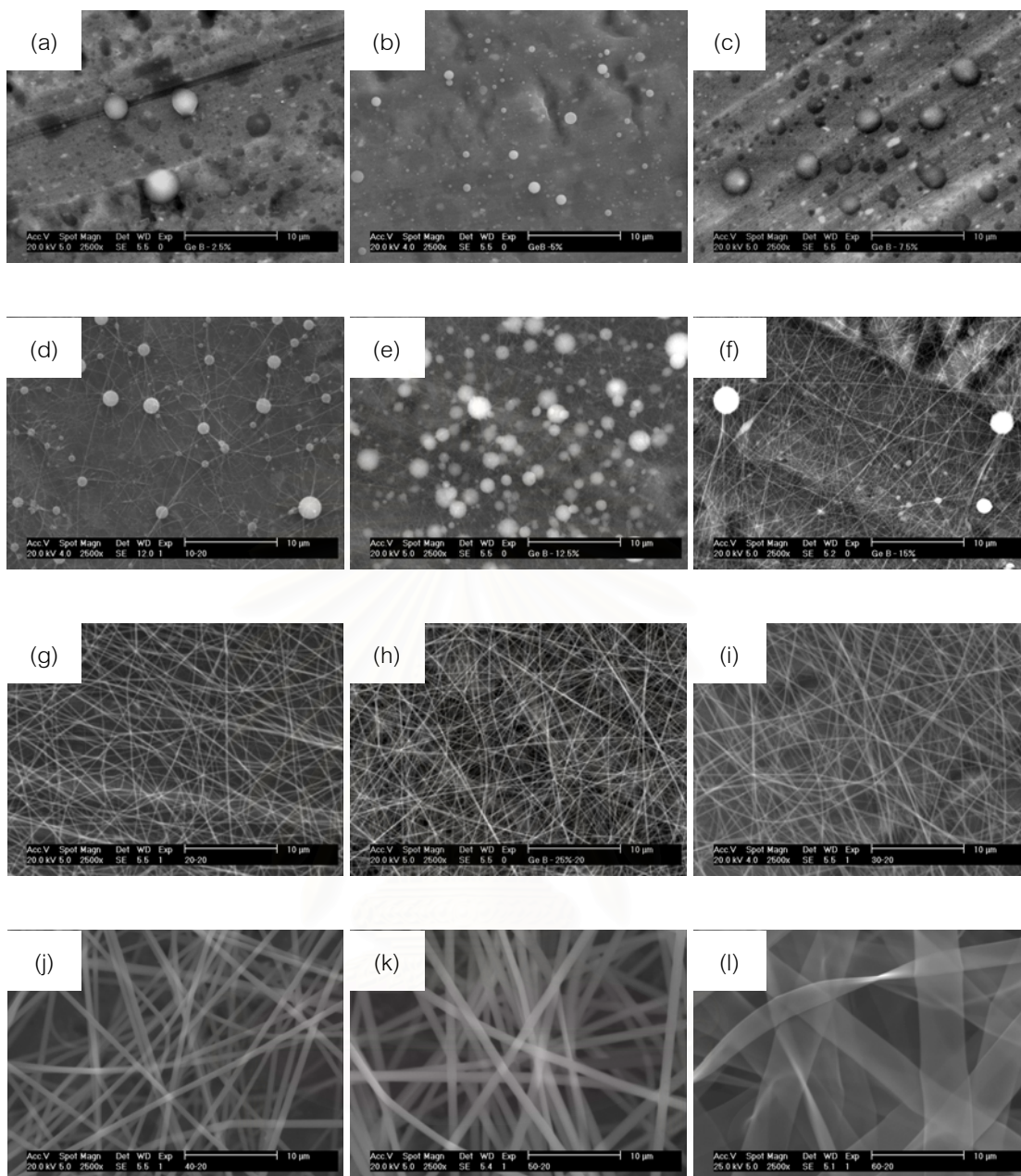


รูปที่ 4.5 ภาพ SEM ของเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ โดยใช้สารละลายเจลาตินความเข้มข้น (a) 2.5% (b) 5% (c) 7.5% (d) 10% (e) 12.5% (f) 15% (g) 20% (h) 25% (i) 30% (j) 40% (k) 50% (l) 60% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

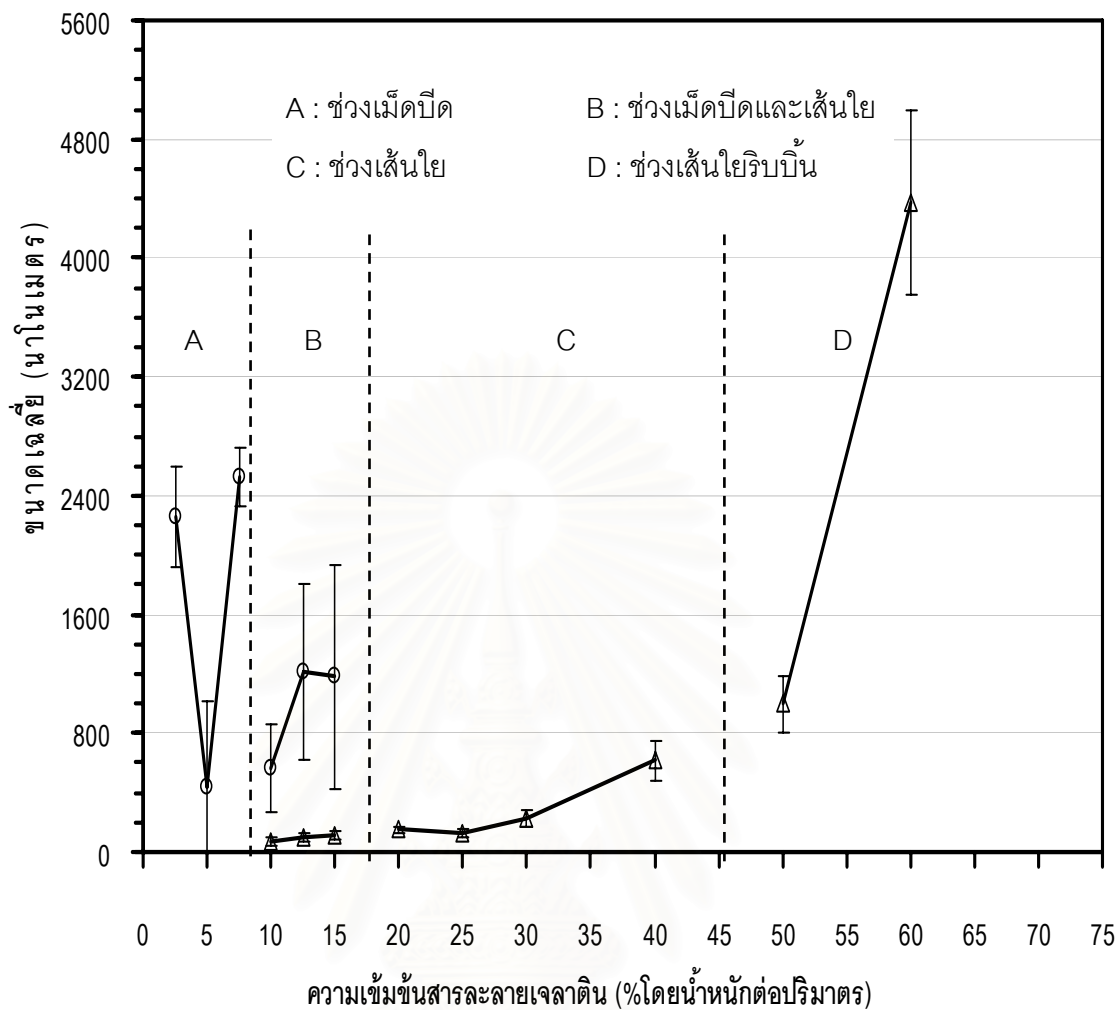


รูปที่ 4.6 ขนาดเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดบีดและเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยมีความต่างศักย์ไฟฟ้า 15 และ 20 กิโลโวลต์

■ เมล็ดบีดที่ 15 กิโลโวลต์    ▲ เมล็ดบีดที่ 20 กิโลโวลต์    \* เส้นใยที่ 15 กิโลโวลต์    ○ เส้นใยที่ 20 กิโลโวลต์



รูปที่ 4.7 ภาพ SEM ของเส้นใยเจลาติน ชนิด B ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ โดยใช้สารละลายเจลาตินความเข้มข้น (a) 2.5% (b) 5% (c) 7.5% (d) 10% (e) 12.5% (f) 15% (g) 20% (h) 25% (i) 30% (j) 40% (k) 50% (l) 60% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร



รูปที่ 4.8 ขนาดเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดเปิดและเส้นใยเจลาติน ชนิด B ที่ได้จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยมีความตึงศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลวัตต์

○ เม็ดเปิดที่ 20 กิโลวัตต์      △ เส้นใยที่ 20 กิโลวัตต์

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

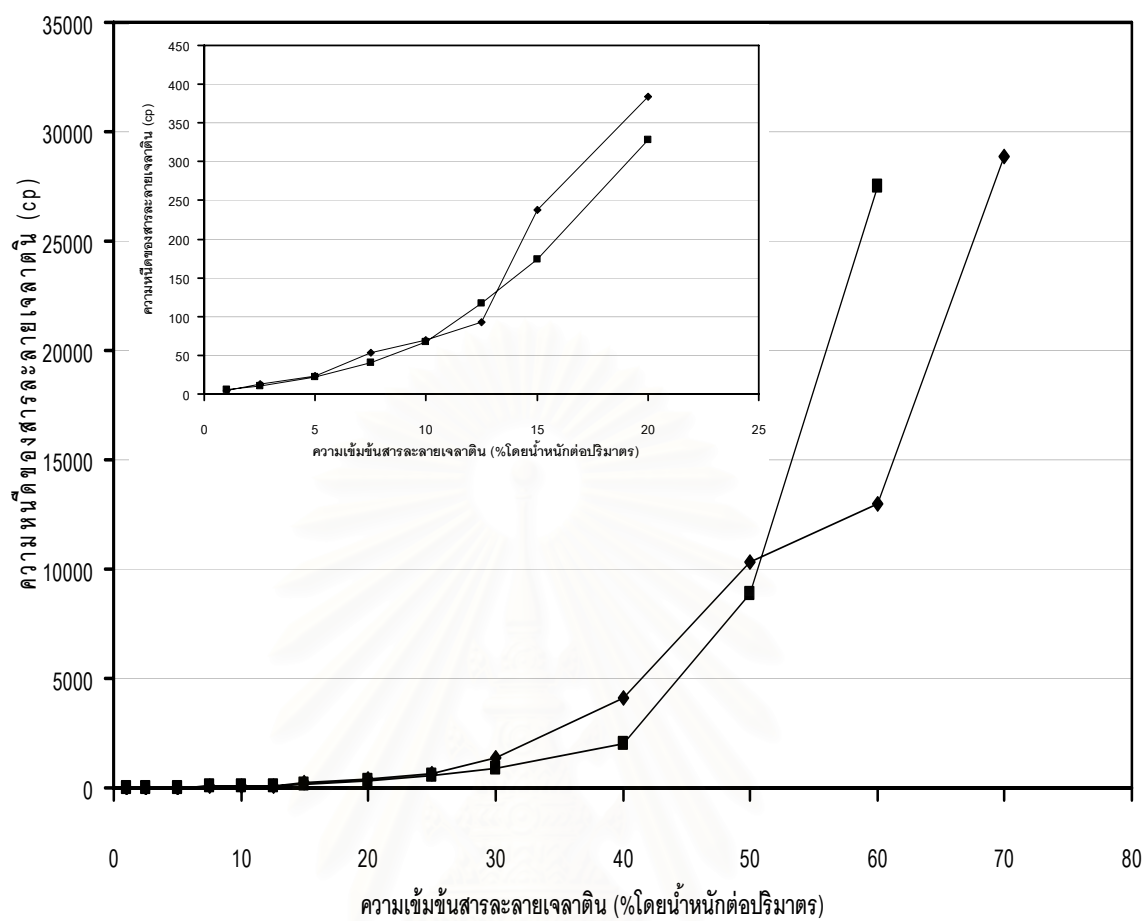
#### 4.1.3 ความหนืดและค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายเจลาติน ที่ใช้ในกระบวนการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต

จากการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นสารละลายเจลาติน พบว่า การเปลี่ยนแปลงลักษณะและขนาดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จะขึ้นกับความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินที่ใช้ในการปั่น โดยความเข้มข้นจะส่งผลต่อความหนืดและค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย จึงได้มีการทดสอบค่าความหนืดและค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายเจลาตินทั้งสองชนิด ที่เตรียมไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เนื่องจากเป็นตัวแทนเวลาในช่วงกลางระหว่างการเตรียมสารละลายและการปั่นเส้นใย

ความหนืดของสารละลายเจลาติน ชนิด A และ ชนิด B แสดงในรูปที่ 4.9 พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินเพิ่มมากขึ้นจะส่งผลทำให้ความหนืดของสารละลายเจลาตินมากขึ้นด้วย โดยในช่วงความเข้มข้น 1% - 20% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ความหนืดของสารละลายจะค่อยเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นมากกว่า 20% ความหนืดของสารละลายจะเพิ่มขึ้นมาก โดยเจลาตินทั้งสองชนิดมีลักษณะการเพิ่มของความหนืดของสารละลายคล้ายคลึงกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นสารละลายเจลาติน ดังที่กล่าวมาแล้ว คือ เมื่อความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น ความหนืดของสารละลายจะมากขึ้นส่งผลให้เส้นใยและเม็ดปิดที่เตรียมได้มีขนาดใหญ่ขึ้น

เมื่อทำการวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายเจลาตินทั้งสองชนิด ดังแสดงในรูปที่ 4.10 พบว่า สารละลายเจลาติน ชนิด A และ ชนิด B มีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน ค่าการนำไฟฟ้าจะมากขึ้นด้วย แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน



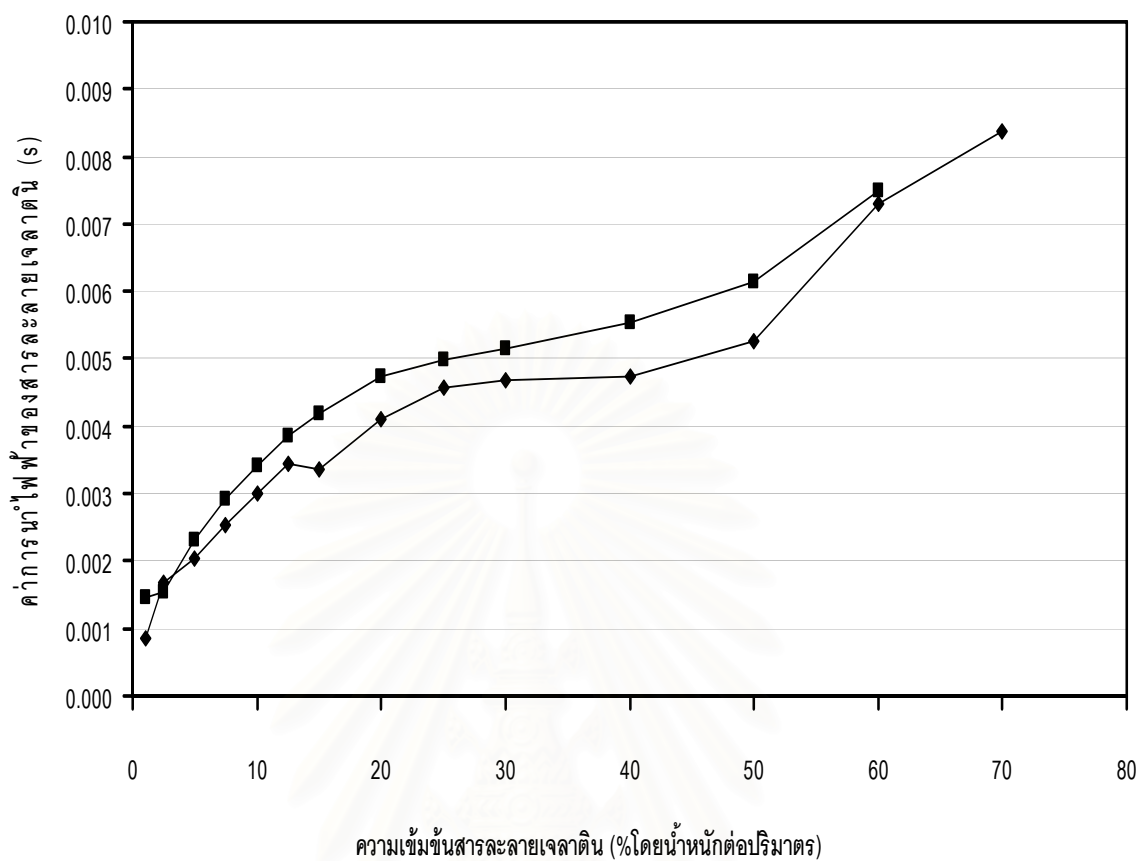


รูปที่ 4.9 ความหนืดของสารละลายเจลาติน ชนิด A และ ชนิด B ที่ละลายในกรดฟอร์มิก เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นสารละลายต่างๆ

◆ เจลาติน ชนิด A      ■ เจลาติน ชนิด B

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 4.10 ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายเจลาตินิน ชนิด A และ ชนิด B ที่ละลายในกรดฟอร์มิก เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นสารละลายต่างๆ

◆ เจลาตินิน ชนิด A      ■ เจลาตินิน ชนิด B

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 4.2 การเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลาติน

แผ่นเส้นใยเจลาติน ทั้งเจลาติน ชนิด A และ ชนิด B ที่จะนำมาเป็นตัวแทนในการศึกษาผลของวิธีการเชื่อมขวางแบบต่างๆ จะเลือกจากการเตรียมโดยใช้สารละลายเจลาตินความเข้มข้นสารละลาย 40% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่สามารถผลิตเส้นใยที่มีลักษณะเรียบเป็นสายยาวต่อเนื่อง ไม่มีเม็ดปืด และทำการปั่นเส้นใยที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ เนื่องจาก การเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไม่มีผลอย่างชัดเจน โดยจะปั่นเส้นใยเป็นเวลา 30 ชั่วโมง เพื่อให้แผ่นเส้นใยมีความหนาสามารถคงรูปได้ โดยแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A มีความหนาเฉลี่ยประมาณ  $38 \pm 3$  ไมโครเมตร และแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B มีความหนาเฉลี่ยประมาณ  $29 \pm 2$  ไมโครเมตร ซึ่งการเชื่อมขวางจะใช้วิธีที่แตกต่างกันทั้งวิธีทางกายภาพและทางเคมี และจะมีการวัดการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาตินก่อนและหลังการเชื่อมขวาง การทดสอบหาปริมาณหมู่อะมิโนอิสระก่อนเชื่อมขวางและหมู่อะมิโนอิสระที่เหลือหลังจากการเชื่อมขวาง ซึ่งสามารถนำค่าหมู่อะมิโนอิสระมาคำนวณหาค่าร้อยละการเชื่อมขวาง

### 4.2.1 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาติน

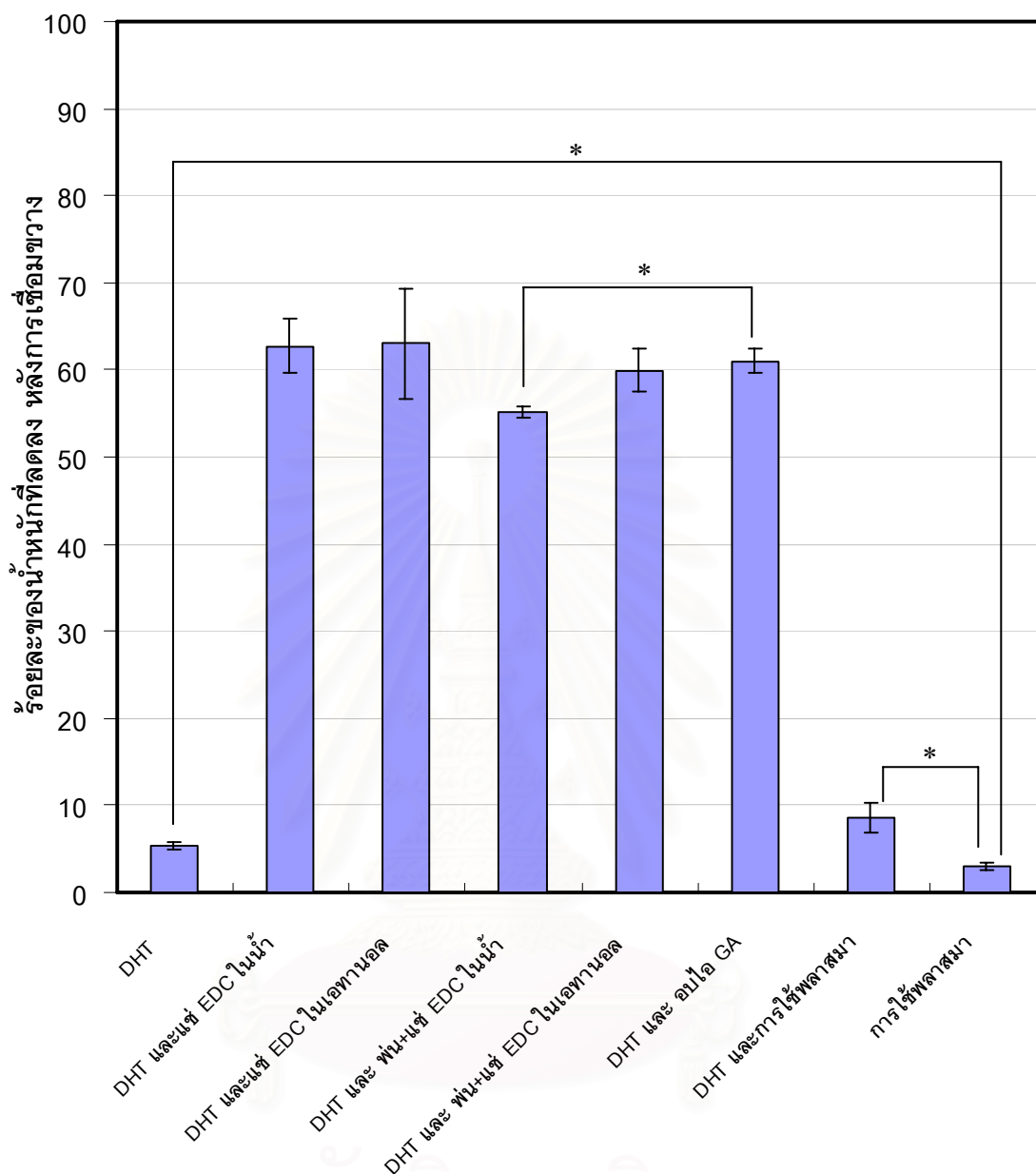
รูปที่ 4.11 แสดงร้อยละการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A โดยการเปรียบเทียบน้ำหนักหลังการเชื่อมขวางกับน้ำหนักก่อนการเชื่อมขวาง พบว่า การเชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมี ทำให้น้ำหนักแผ่นเส้นใยเจลาตินลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ประมาณ 50% - 60% ของน้ำหนักแผ่นเส้นใยก่อนการเชื่อมขวาง ซึ่งน้ำหนักที่ลดลงอาจเกิดจาก เส้นใยเจลาตินบางส่วนเกิดการละลายหายไปในขณะที่ปฏิกิริยาเชื่อมขวางยังไม่สมบูรณ์ และบางส่วนของเส้นใยเจลาตินที่ไม่ถูกเชื่อมขวางอาจเกิดการละลายระหว่างการล้างสารเคมีที่อาจจะเหลือค้างอยู่หลังการเชื่อมขวาง ในขณะที่การเชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพทั้งวิธี DHT และการใช้พลาสมาอย่างเดียวและการใช้ทั้งสองวิธีร่วมกัน ส่งผลให้น้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาตินลดลงประมาณ 3 - 8% ของน้ำหนักแผ่นเส้นใยก่อนการเชื่อมขวาง ซึ่งน้อยกว่าวิธีทางเคมีอย่างมาก

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีที่แตกต่างกัน พบว่า ร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT มีน้ำหนักหายไป 5% ของน้ำหนักแผ่นเส้นใยก่อนการเชื่อมขวาง ซึ่งน่าจะเกิดจากการระเหยของน้ำที่เกิดจากปฏิกิริยาเชื่อมโยงระหว่างหมู่เอมีนกับหมู่คาร์บอกซิลิกของโมเลกุลโปรตีนที่อยู่ติดกัน รวมถึงการระเหยของความชื้นเริ่มต้นที่มีอยู่ในแผ่นเส้นใยด้วย ส่วนการเชื่อมขวางแบบแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำและที่ละลายในเอทานอล พบว่า มีการลดลงของน้ำหนักมากที่สุด ประมาณ 63% แสดงให้เห็นว่าวิธีการเชื่อมขวางที่ให้แผ่นเส้นใยสัมผัสกับสารละลาย EDC โดยตรงด้วยการแช่ จะ

ทำให้เจลาตินละลายไปในสารละลายก่อนที่จะเกิดปฏิกิริยาเชื่อมขวางโดยสมบูรณ์ ไม่ว่าจะตัวทำละลายที่ใช้จะเป็นน้ำหรือเอทานอลก็ตาม และเมื่อใช้วิธีการพ่นสารละลาย EDC บนแผ่นเส้นใยให้ชุ่มแล้วรอให้แห้ง ซึ่งเป็นการจำกัดปริมาณสารละลายที่สัมผัสกับแผ่นเส้นใยโดยตรง จากนั้นจึงค่อยนำไปแช่ในสารละลาย ซึ่งวิธีนี้ช่วยลดการละลายของแผ่นเส้นใยเจลาตินได้เล็กน้อย ดังจะเห็นได้จากน้ำหนักที่ลดลง ซึ่งมีค่าประมาณ 55%-59% แต่เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติของร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงหลังจากการเชื่อมขวางโดยใช้สาร EDC ที่ละลายในน้ำและที่ละลายในเอทานอล ทั้งแบบแช่แผ่นเส้นใยเจลาติน และแบบพ่นสารละลายก่อนแช่แผ่นเส้นใยเจลาติน พบว่า การเชื่อมขวางทั้ง 4 วิธีไม่มีความแตกต่างของร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทำการเชื่อมขวางด้วยวิธีอบไอ GA ซึ่งเป็นอีกหนึ่งวิธีที่ไม่ให้แผ่นเส้นใยเจลาตินสัมผัสกับสารละลายโดยตรง ผลปรากฏว่ามีแนวโน้มที่จะสามารถลดการละลายของแผ่นเส้นใยเจลาตินลงได้เล็กน้อยเทียบกับวิธีการแช่แผ่นเส้นใยในสารละลาย EDC โดยน้ำหนักที่ลดลงประมาณ 61% และเมื่อมีการเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า ร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางโดยการอบไอ GA แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการเชื่อมขวางด้วยการพ่นละอองก่อนการแช่สารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ

เมื่อพิจารณาร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของการเชื่อมขวางในกลุ่มที่ใช้วิธีทางกายภาพ พบว่า วิธี DHT และการใช้พลาสมา ทำให้น้ำหนักของแผ่นเส้นใยหายไป 8% ในขณะที่การเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT อย่างเดียว และการใช้พลาสมาอย่างเดียว ทำให้น้ำหนักของแผ่นเส้นใยหายไป 5% และ 3% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า การเชื่อมขวางด้วยการใช้พลาสมาอย่างเดียว มีผลทำให้น้ำหนักแผ่นเส้นใยลดลงน้อยมาก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.11 ร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ภายหลังจากการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ เปรียบเทียบกับน้ำหนักก่อนการเชื่อมขวาง

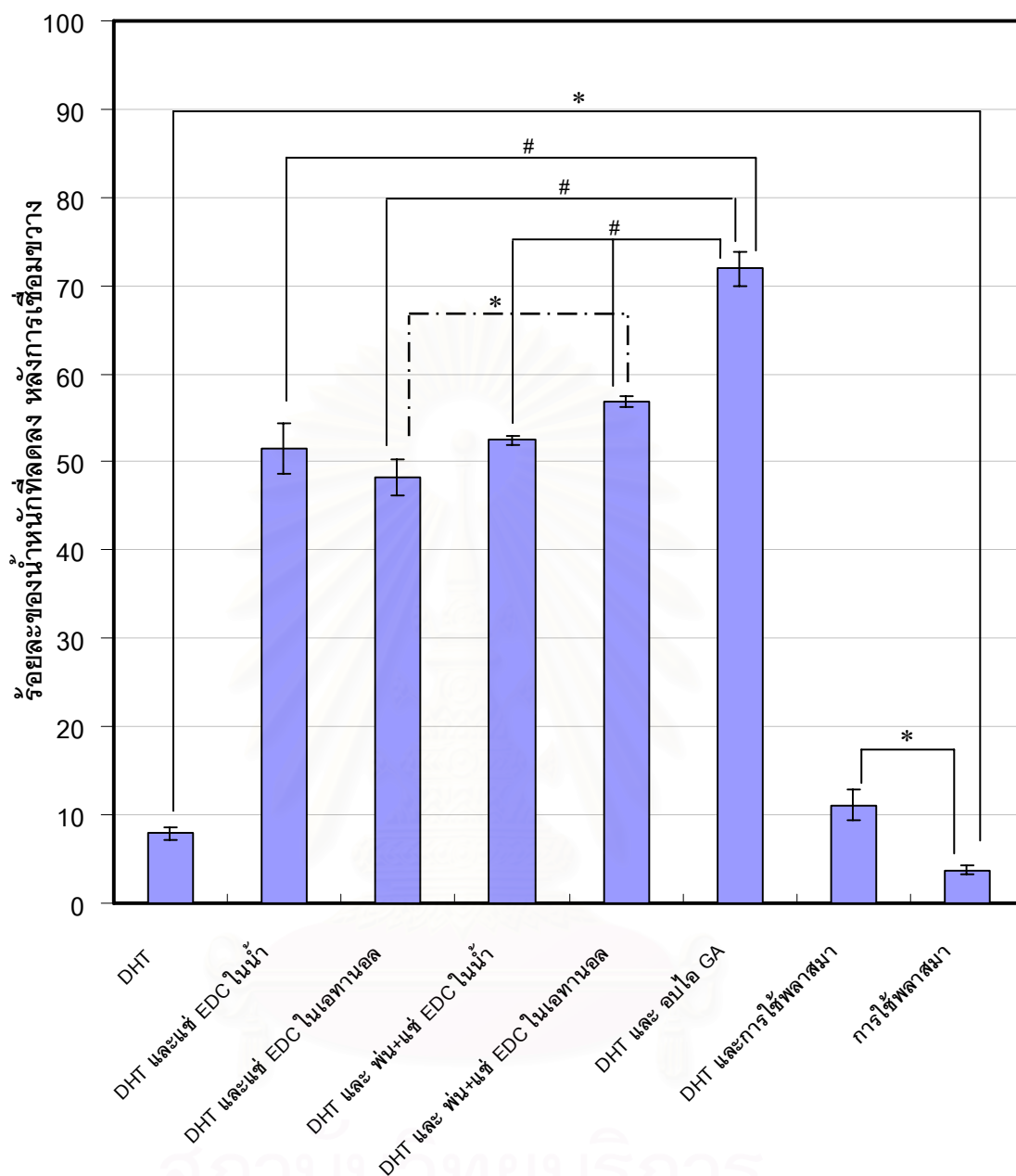
\* แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มของแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ  $P < 0.05$

รูปที่ 4.12 แสดงร้อยละการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B พบว่าการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมี ทำให้น้ำหนักแผ่นเส้นใยเจลาตินลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ประมาณ 48% - 57% ของน้ำหนักแผ่นเส้นใยก่อนการเชื่อมขวาง ในขณะที่การเชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพอย่างเดียวทั้งวิธี DHT และการใช้พลาสติกมา ส่งผลให้น้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาตินเกิดการลดลงประมาณ 4 - 11% ของน้ำหนักแผ่นเส้นใยก่อนการเชื่อมขวาง ซึ่งน้อยกว่าวิธีทางเคมีอย่างมากเช่นเดียวกับที่พบกรณีการเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีที่แตกต่างกัน พบว่า ร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT มีน้ำหนักหายไป 8% ของน้ำหนักแผ่นเส้นใยก่อนการเชื่อมขวาง การเชื่อมขวางแบบแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำและที่ละลายในเอทานอล พบว่า มีการลดลงของน้ำหนัก ประมาณ 48 - 51% และการเชื่อมขวางแบบพ่นละอองก่อนการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำและที่ละลายในเอทานอล พบว่า มีการลดลงของน้ำหนัก ประมาณ 52 - 56% และเมื่อทำการเปรียบเทียบทางสถิติระหว่างการเชื่อมขวางทั้ง 4 วิธีที่ใช้สารละลาย EDC พบว่า ร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางโดยใช้สาร EDC ที่ละลายในน้ำและที่ละลายในเอทานอล ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่การเชื่อมขวางโดยวิธีการแช่สาร EDC ในเอทานอล แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับวิธีการพ่นละอองก่อนการแช่สาร EDC ในเอทานอล เมื่อพิจารณาการเชื่อมขวางด้วยวิธีอบไอ GA พบว่า มีการลดลงของน้ำหนักมากที่สุด ประมาณ 72% ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบทางสถิติกับการเชื่อมขวางด้วยสาร EDC พบว่า ร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางโดยการอบไอ GA มีค่ามากกว่าการเชื่อมขวางโดยใช้สาร EDC ที่ละลายในน้ำและเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อทำการเปรียบเทียบร้อยละการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาตินทั้งสองชนิด ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีการทางเคมี พบว่า เมื่อพิจารณาในกลุ่มที่ใช้สารละลาย EDC แผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่เชื่อมขวางโดยการแช่สารละลาย EDC มีร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงมากที่สุด ซึ่งตรงข้ามกับแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ที่เชื่อมขวางโดยการพ่นละอองก่อนการแช่สารละลาย EDC มีร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงมากที่สุด แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบทางสถิติกลับพบว่า ร้อยละที่ลดลงของน้ำหนักแผ่นเส้นใยของเจลาตินทั้งสองชนิดมีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือ แผ่นเส้นใยเจลาตินทั้งสองชนิดที่ผ่านการเชื่อมขวางโดยสารละลาย EDC ไม่มีความแตกต่างกันของร้อยละที่ลดลงของน้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาตินอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อเปรียบเทียบการเชื่อมขวางโดยการอบไอ GA ของแผ่นเส้นใยเจลาตินทั้งสองชนิด พบว่า แผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B มีร้อยละที่ลดลงของน้ำหนักมากกว่าของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A อย่างมาก









รูปที่ 4.12 ร้อยละของน้ำหนักรีดลดลงของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ภายหลังจากการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ เปรียบเทียบกับน้ำหนักรีดก่อนการเชื่อมขวาง

\* แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มของแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ  $P < 0.05$

# แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มของแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ  $P < 0.01$

#### 4.2.2 ร้อยละการเชื่อมขวาง

แผ่นเส้นใยเจลลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางแล้วจะนำมาตรวจวัดปริมาณหมู่อะมิโนอิสระโดยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยวิธี TNBS และนำค่าหมู่อะมิโนอิสระที่ได้มาคำนวณหาร้อยละการเชื่อมขวาง โดยปริมาณหมู่อะมิโนอิสระของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ชนิด A และ ชนิด B ที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง ประมาณ 0.020 มิลลิกรัม และ 0.021 มิลลิกรัม ต่อ น้ำหนักแผ่นเส้นใยเจลลาติน 1 มิลลิกรัม ตามลำดับ และแผ่นเส้นใยเจลลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางจะมีปริมาณหมู่อะมิโนอิสระลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังมีรายละเอียดดังนี้

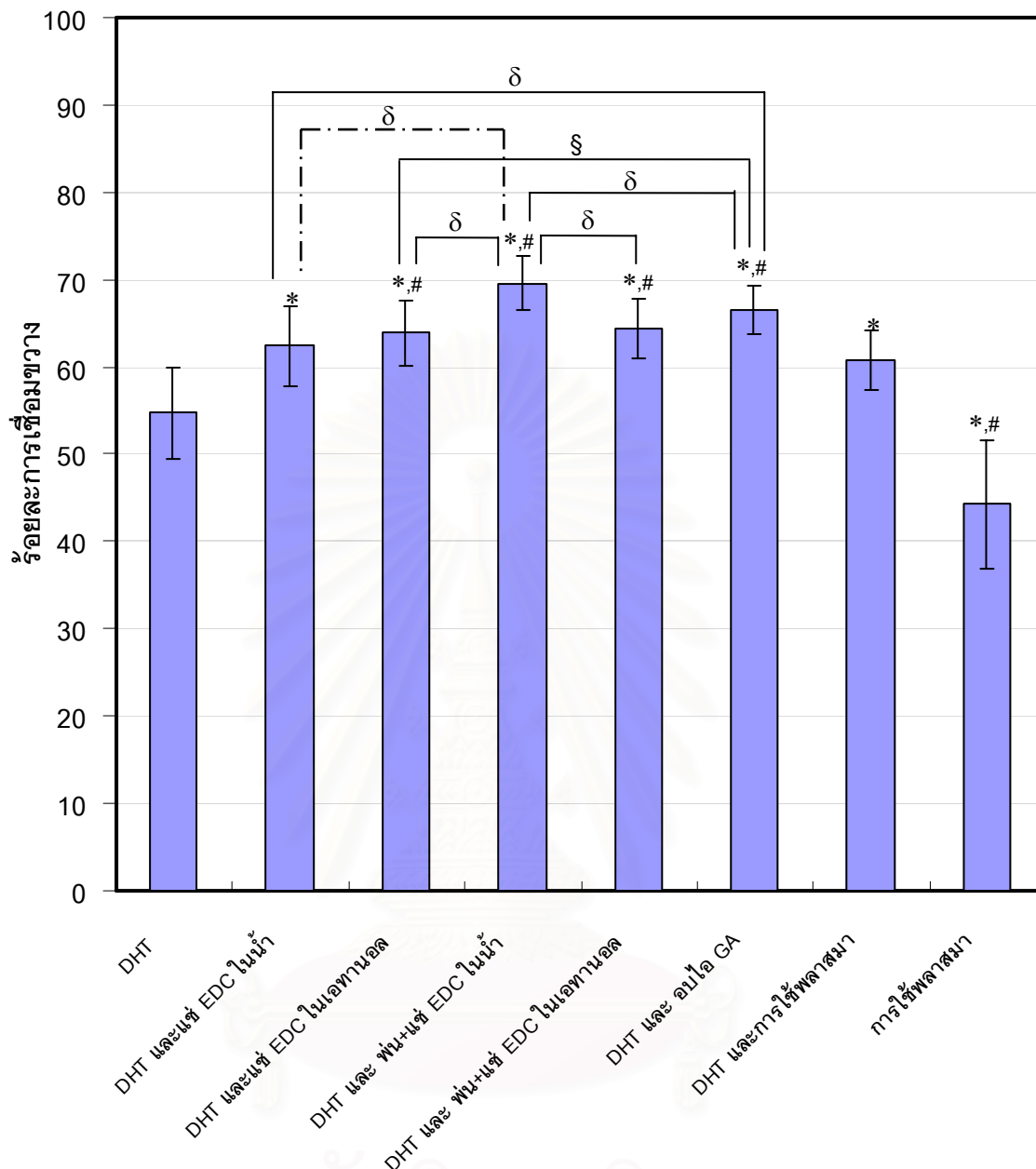
จากรูปที่ 4.13 แสดงร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ชนิด A พบว่า ร้อยละการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT มีค่าประมาณ 54% ซึ่งน้อยกว่าร้อยละการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมีแบบต่างๆ หลังจากการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เป็นไปตามที่คาดหมายไว้ เนื่องมาจากการเชื่อมขวางด้วยความร้อน (DHT) มีข้อจำกัดคือ สามารถเชื่อมขวางหมู่เอมีนและหมู่คาร์บอกซิลิกที่อยู่ใกล้กันเท่านั้น [Ueda H., และคณะ, 2005] และการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมีแบบต่างๆ สำหรับเจลลาติน จำเป็นต้องทำเป็นขั้นตอนที่ 2 ต่อจากการเชื่อมขวางด้วยความร้อนเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการละลายไปหมดก่อนเกิดปฏิกิริยาเชื่อมขวางทางเคมี เมื่อเปรียบเทียบรายละเอียดของผลการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมีแบบต่างๆ พบว่า การแช่แผ่นเส้นใยในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำและที่ละลายในเอทานอล จะให้ร้อยละการเชื่อมขวางประมาณ 62 – 64% ซึ่งสูงกว่าการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT เพียงอย่างเดียว เนื่องจากการเชื่อมขวางจะเกิดขึ้นระหว่างหมู่คาร์บอกซิลิกของกรดอะมิโนกับสาร EDC ซึ่งการแช่แผ่นเส้นใยจะเป็นการทำให้หมู่คาร์บอกซิลิกที่มีอยู่มากสัมผัสกับสาร EDC โดยตรงได้ทั่วแผ่นเส้นใย รวมถึงการใช้สาร NHS ช่วยทำให้เกิดปฏิกิริยาเชื่อมขวางได้ดีขึ้น และเมื่อพิจารณาร้อยละการเชื่อมขวางด้วยวิธีการพ่นละอองสารละลายก่อนการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำและที่ละลายในเอทานอล พบว่ามีค่าประมาณ 64 – 69% ซึ่งมีค่ามากกว่าการเชื่อมขวางแบบแช่ในสารละลาย EDC เพียงอย่างเดียว เนื่องจากการเชื่อมขวางด้วยวิธีนี้จะมีการเชื่อมขวางในขั้นตอนการพ่นละอองสารละลายก่อน และเมื่อนำมาแช่สารละลายอีกครั้งจะทำให้เกิดการเชื่อมขวางได้รวดเร็ว ทั่วแผ่นเส้นใย อย่างไรก็ตามเมื่อมีการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ใช้สารเคมี EDC เป็นสารที่ใช้เชื่อมขวาง พบว่า ร้อยละการเชื่อมขวางมีค่าใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นแต่การพ่นละอองก่อนการแช่ EDC ในน้ำ มีร้อยละการเชื่อมขวางสูงกว่าวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับร้อยละการเชื่อมขวางด้วยวิธีการอบไอน้ำ GA มีค่าประมาณ 66% ซึ่งมีค่ามากกว่าการเชื่อมขวางด้วยวิธีการแช่สารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำและที่ละลายในเอทานอล เนื่องจาก การเชื่อมขวางแบบอบไอน้ำอาศัยวิธีการเชื่อมขวางโดยใช้ไอระเหยของ GA ที่ฟุ้งกระจายภายในภาชนะปิด ซึ่ง GA จะเข้าไปแทรกอยู่ในแผ่นเส้นใยและเกิดการเชื่อมขวางระหว่างหมู่แอลดีไฮด์ (-CHO) ของ GA กับหมู่เอมีน (-NH<sub>2</sub>) ของเจลลาติน

และเมื่อเปรียบเทียบการเชื่อมขวางของกลุ่มที่ใช้ EDC กับการเชื่อมขวางโดยการอบไอ GA พบว่า ร้อยละการเชื่อมขวางของการอบไอ GA มีค่ามากกว่าการเชื่อมขวางด้วยการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำและที่ละลายในเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญ และมีค่าน้อยกว่าการเชื่อมขวางด้วยการฟ้นละอองก่อนการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อพิจารณาร้อยละการเชื่อมขวางในกลุ่มของวิธีการทางกายภาพแบบต่างๆ พบว่า วิธี DHT ร่วมกับการใช้พลาสติก จะมีค่าร้อยละการเชื่อมขวางประมาณ 60% ซึ่งมากกว่าการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนร้อยละการเชื่อมขวางด้วยการใช้พลาสติก เพียงอย่างเดียว มีค่าประมาณ 44% ซึ่งมีค่าน้อยที่สุดและน้อยกว่าการเชื่อมขวางด้วยวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากการเชื่อมขวางด้วยพลาสติก เกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าของแผ่นเส้นใย เท่านั้น



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.13 ร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง และที่ผ่านการเชื่อมขวาง

\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเทียบกับการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT

# แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเทียบกับการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT ร่วมกับการใช้พลาสมา

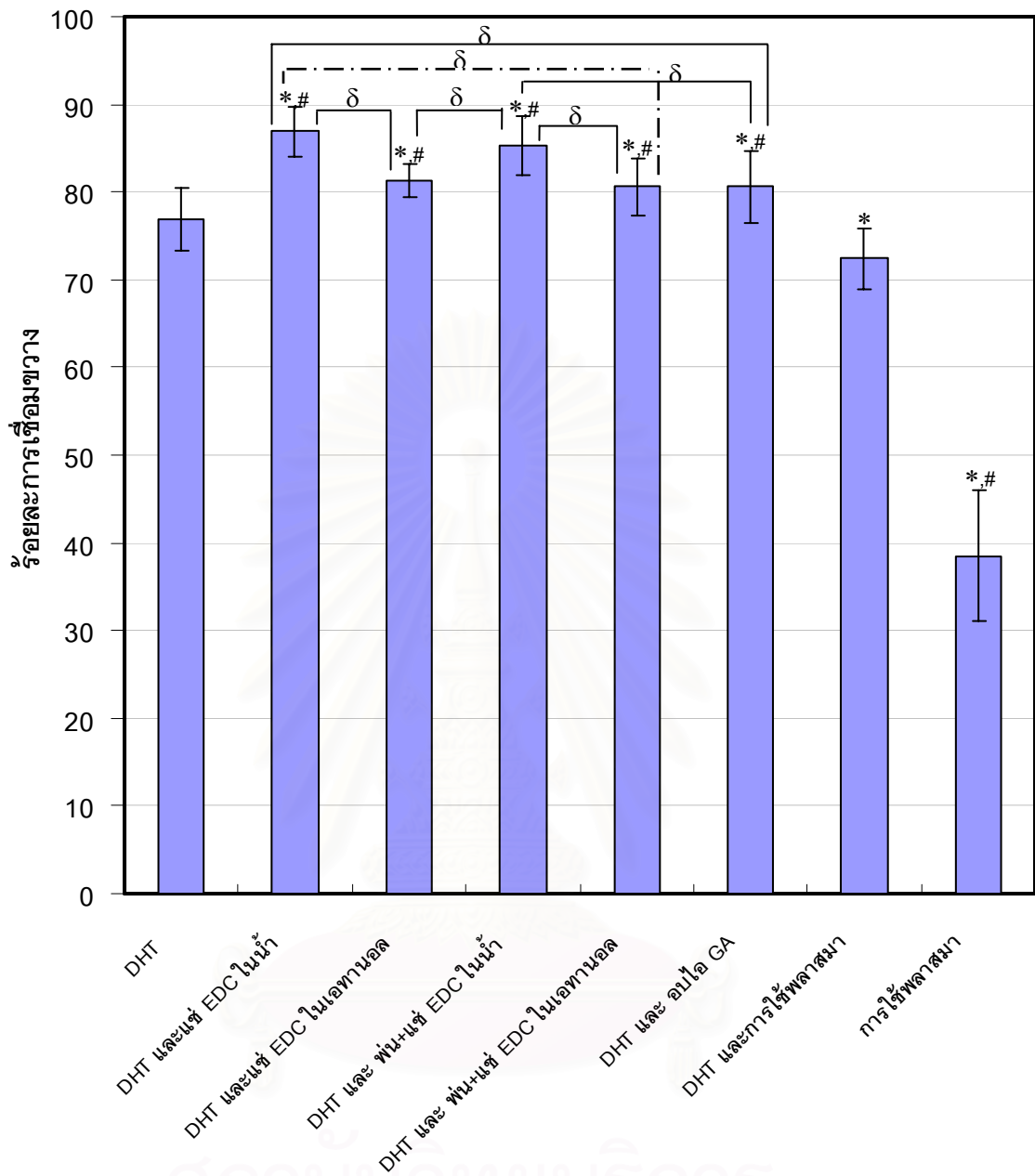
§ แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มของแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมี ที่ระดับนัยสำคัญ  $P < 0.05$

δ แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มของแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมี ที่ระดับนัยสำคัญ  $P < 0.01$

ร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B แสดงในรูปที่ 4.14 พบว่า ร้อยละการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT มีค่าประมาณ 77% ซึ่งน้อยกว่าร้อยละการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมี ภายหลังจากการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT อย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับร้อยละการเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A การเชื่อมขวางด้วยวิธีการแช่แผ่นเส้นใยในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ มีร้อยละการเชื่อมขวางประมาณ 87% ซึ่งมีค่าสูงกว่าการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล ซึ่งมีค่าประมาณ 81% และการเชื่อมขวางด้วยวิธีการพ่นละอองก่อนการแช่แผ่นเส้นใยในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ มีร้อยละการเชื่อมขวางประมาณ 85% มีค่าสูงกว่าการพ่นละอองก่อนแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล ซึ่งมีค่าประมาณ 80% และเมื่อเปรียบเทียบการเชื่อมขวางด้วยวิธีการพ่นละอองก่อนการแช่ในสารละลาย EDC กับการแช่สารละลาย EDC พบว่า ร้อยละการเชื่อมขวางด้วยวิธีการพ่นละอองก่อนการแช่สารละลาย EDC มีค่าใกล้เคียงกับร้อยละการเชื่อมขวางด้วยวิธีการแช่สารละลาย EDC ทั้งวิธีที่ EDC ละลายในน้ำและที่ละลายในเอทานอล เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ใช้สารเคมี EDC เป็นสารที่ใช้เชื่อมขวาง พบว่า ร้อยละการเชื่อมขวางของกลุ่มที่ใช้สาร EDC ละลายในน้ำ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และร้อยละการเชื่อมขวางของกลุ่มที่ใช้สาร EDC ละลายในเอทานอล ก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเปรียบเทียบการเชื่อมขวางระหว่างกลุ่มที่ใช้ EDC ละลายในน้ำ จะมีค่าร้อยละการเชื่อมขวางสูงกว่ากลุ่มที่ใช้ EDC ละลายในเอทานอล อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณาร้อยละการเชื่อมขวางด้วยวิธีการอบไอน้ำ GA พบว่ามีค่าประมาณ 80% ซึ่งมีค่าใกล้เคียงมากกับกลุ่มการเชื่อมขวางด้วยสาร EDC ที่ละลายในเอทานอล และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณาร้อยละการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT ร่วมกับการใช้พลาสมา พบว่ามีค่าประมาณ 72% ซึ่งมีค่าร้อยละการเชื่อมขวางน้อยกว่าการเชื่อมขวางด้วยสารเคมีอย่างมีนัยสำคัญ และร้อยละการเชื่อมขวางด้วยการใช้พลาสมาเพียงอย่างเดียว มีค่าประมาณ 39% ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการเชื่อมขวางด้วยวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ คล้ายกับร้อยละการเชื่อมขวางของเจลาติน ชนิด A

จากรูปที่ 4.13 และรูปที่ 4.14 เมื่อเปรียบเทียบการเชื่อมขวางระหว่างแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A และชนิด B ที่ใช้วิธีการเชื่อมขวางเหมือนกัน พบว่า ร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B มีค่าสูงกว่า ร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A สำหรับทุกวิธีที่ใช้ ทั้งนี้จากการตรวจวัดปริมาณหมู่อะมิโนอิสระของเจลาตินทั้งสองชนิดนี้มีค่าใกล้เคียงกันมาก แต่เจลาติน ชนิด B ผลิตมาจากขบวนการไฮโดรไลซิสกลุ่มเอไมต์ในคอลลาเจนในสารละลายต่าง ทำให้ได้เจลาตินที่ได้มีปริมาณหมู่คาร์บอกซิลิกมาก [Tabata Y. และ Ikada Y., 1998 และ Young S. และคณะ, 2005] ดังนั้นปริมาณหมู่คาร์บอกซิลิกที่มาก อาจจะเป็นสาเหตุทำให้เจลาติน ชนิด B เกิดการเชื่อมขวางได้มากกว่าเจลาติน ชนิด A ซึ่งการเชื่อมขวางจะทำปฏิกิริยาที่หมู่อะมิโนอิสระ และหมู่คาร์บอกซิลิกที่มีอยู่ในโมเลกุล





รูปที่ 4.14 ร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ชนิด B ที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง และที่ผ่านการเชื่อมขวาง

\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเทียบกับการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT

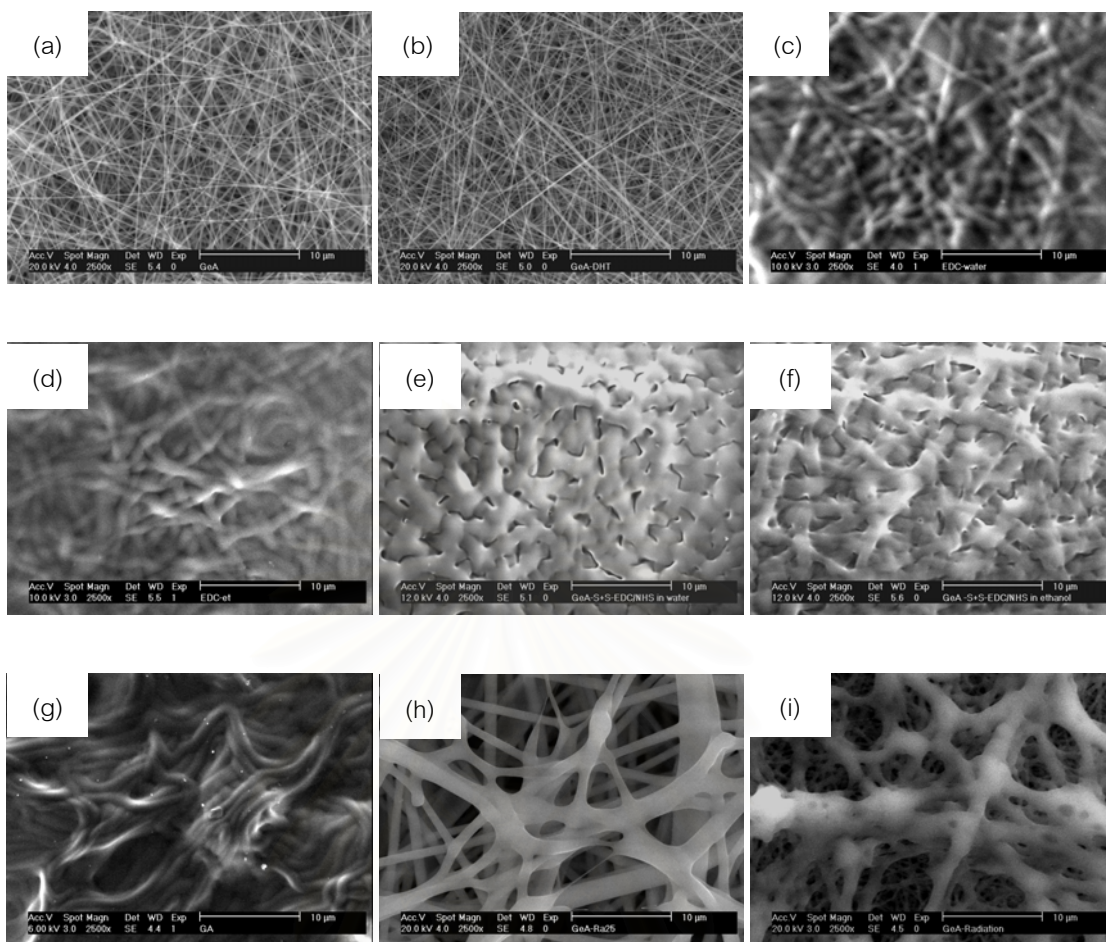
# แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเทียบกับการเชื่อมขวางด้วยวิธี DHT ร่วมกับการใช้พลาสมา

δ แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มของแผ่นเส้นใยเจลลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมี ที่ระดับนัยสำคัญ  $P < 0.01$

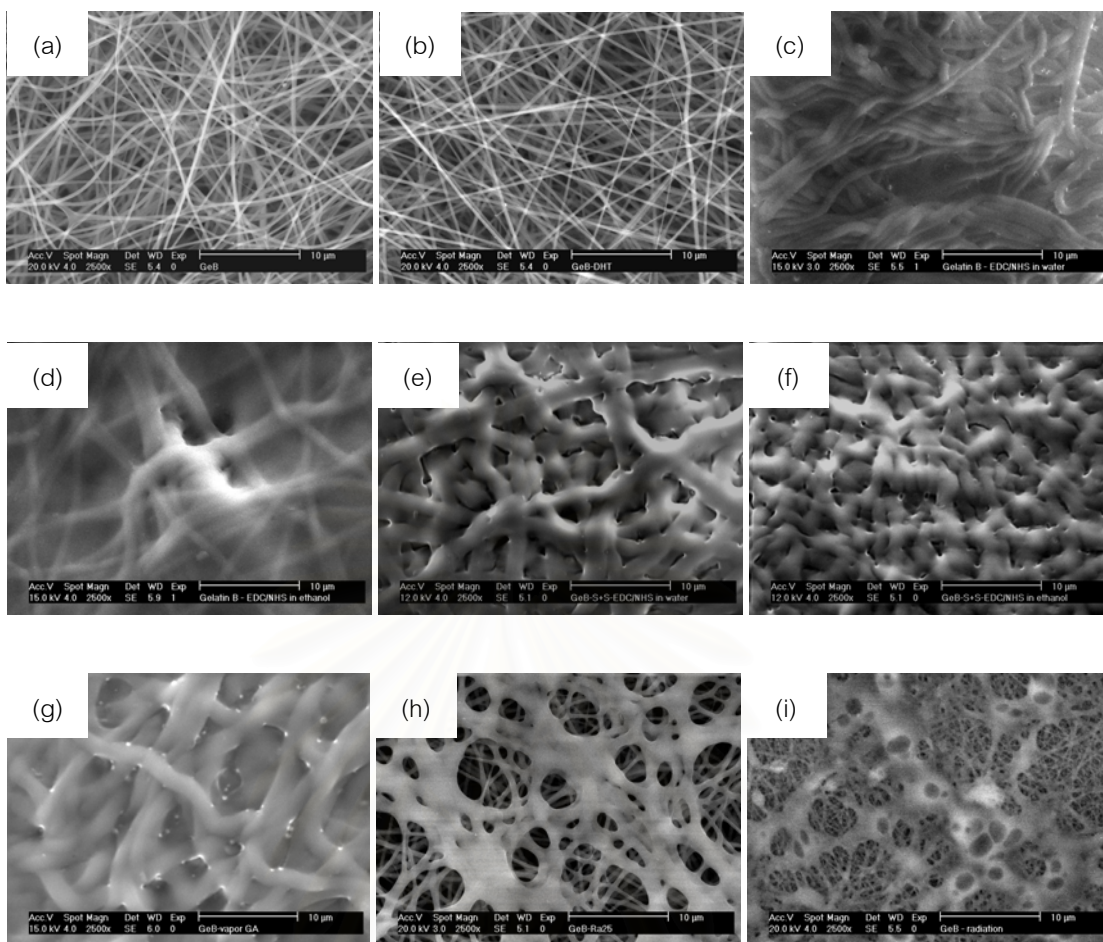
#### 4.2.3 โครงสร้างพื้นฐานของแผ่นเส้นใย

จากรูปที่ 4.15 แสดงโครงสร้างพื้นฐานของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางและที่เชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ พบว่า แผ่นเส้นใยเจลาตินที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง ได้เส้นใยมีลักษณะเรียบและต่อเนื่อง มีรูพรุนเชื่อมต่อกันระหว่างเส้นใย และเมื่อนำแผ่นเส้นใยมาทำการเชื่อมขวางด้วยวิธีการต่างๆ พบว่า การเชื่อมขวางโดยใช้ความร้อน (DHT) ไม่ทำให้โครงสร้างของเส้นใยเจลาตินเกิดการเปลี่ยนแปลง สำหรับการเชื่อมขวางโดยการแช่สารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำแผลที่ละลายในเอทานอล พบว่า ยังมีลักษณะของเส้นใยอยู่โดยเกิดการบวมตัวขึ้นเล็กน้อยทำให้เส้นใยอยู่ใกล้กันชิดติดกัน รูพรุนระหว่างเส้นใยแคบลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงขนาดรูพรุนภายในแผ่นเส้นใยอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ ระดับของการเชื่อมขวางในโครงเลี้ยงเซลล์ [Lee C.R., 2001] และเมื่อพิจารณาลักษณะของเส้นใยที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีการพ่นละอองสารละลายก่อนการแช่ในสาร EDC ที่ละลายในน้ำแผลที่ละลายในเอทานอล พบว่า เส้นใยเกิดการบวมตัวมากที่สุด แต่ยังมีรูพรุนระหว่างเส้นใยเล็กน้อย สำหรับการเชื่อมขวางด้วยวิธีการอบไอน้ำ GA ทำให้เส้นใยเกิดการบวมตัวขึ้นและหลอมประสานเข้าด้วยกัน ไม่เห็นความเป็นเส้นใยที่ต่อเนื่องและไม่มีรูพรุน และเมื่อพิจารณาลักษณะเส้นใยที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยการ DHT ร่วมกับการใช้พลาสมา และการเชื่อมขวางด้วยการใช้พลาสมาเพียงอย่างเดียว พบว่า มีลักษณะเส้นใยคล้ายคลึงกัน คือมีการหลอมละลายของเส้นใยเจลาตินที่ผิวหน้าของแผ่นทำให้เส้นใยเกิดการเชื่อมติดกัน แต่ลักษณะเส้นใยเจลาตินภายในไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงนัก

จากรูปที่ 4.16 แสดงโครงสร้างพื้นฐานของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางและที่เชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ พบว่า แผ่นเส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางมีลักษณะเส้นใยที่เรียบเป็นสายยาว มีรูพรุนเชื่อมต่อกันเหมือนแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A และเมื่อผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีที่เหมือนกัน จะทำให้ลักษณะโครงสร้างของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B คล้ายกับกรณีของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A



- รูปที่ 4.15 ภาพ SEM ของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ
- (a) เส้นใยเจลาตินที่ไม่ได้เชื่อมขวาง
  - (b) การใช้ความร้อน (DHT)
  - (c) การใช้ความร้อนร่วมกับการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ
  - (d) การใช้ความร้อนร่วมกับการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล
  - (e) การใช้ความร้อนร่วมกับการพ่นละอองก่อนการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ
  - (f) การใช้ความร้อนร่วมกับการพ่นละอองก่อนการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล
  - (g) การใช้ความร้อนร่วมกับการอบไอ GA
  - (h) การใช้ความร้อนร่วมกับการใช้พลาสมา
  - (i) การใช้พลาสมา



รูปที่ 4.16 ภาพ SEM ของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ

(a) เส้นใยเจลาตินที่ไม่ได้เชื่อมขวาง

(b) การใช้ความร้อน (DHT)

(c) การใช้ความร้อนร่วมกับการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ

(d) การใช้ความร้อนร่วมกับการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล

(e) การใช้ความร้อนร่วมกับการพ่นละอองก่อนการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ

(f) การใช้ความร้อนร่วมกับการพ่นละอองก่อนการแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายใน

เอทานอล

(g) การใช้ความร้อนร่วมกับการอบไอ GA

(h) การใช้ความร้อนร่วมกับการใช้พลาสมา

(i) การใช้พลาสมา

#### 4.2.4 การย่อยสลายทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการของแผ่นเส้นใยเจลาติน

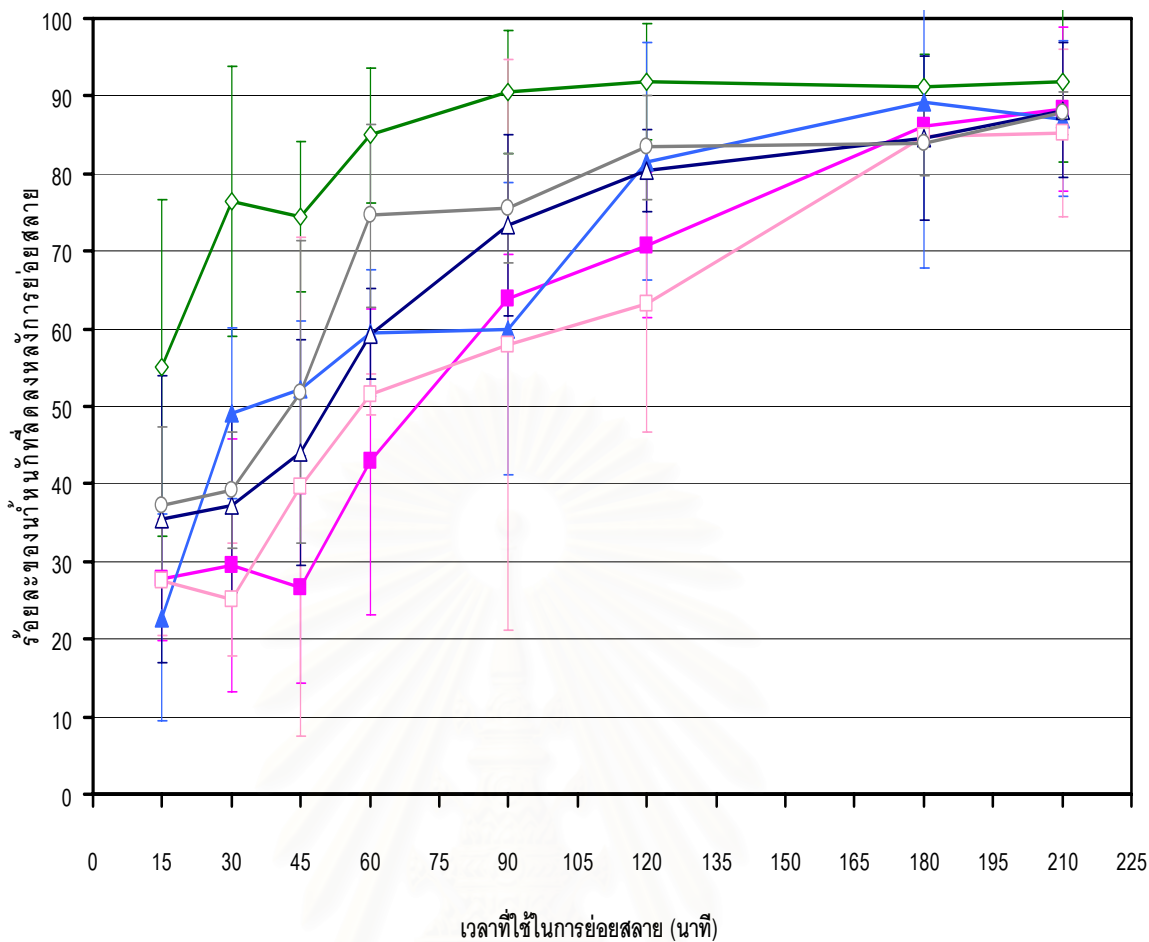
การนำแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ มาทำการทดสอบการย่อยสลายทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการด้วยเอนไซม์คอลลาจีเนส ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่างๆ เพื่อจำลองสภาวะของร่างกาย โดยหาการย่อยสลายของแผ่นเส้นใยเจลาตินในรูปของร้อยละของน้ำหนักที่ถูกย่อยสลายเทียบกับเวลา

จากรูปที่ 4.17 แสดงร้อยละของน้ำหนักที่หายไปภายหลังจากการย่อยสลายของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ พบว่า น้ำหนักของแผ่นเส้นใยที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพ จะมีการลดลงมากที่สุด โดยน้ำหนักลดลงประมาณ 55% เมื่อแช่แผ่นเส้นใยในสารละลาย 15 นาที เมื่อเวลานานขึ้นแผ่นเส้นใยมีน้ำหนักลดลงมากขึ้น จนถึงที่เวลา 210 นาที น้ำหนักลดลงประมาณ 92% เมื่อทำการเปรียบเทียบน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยที่เชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพกับวิธีทางเคมี พบว่า ทุกช่วงเวลาแผ่นเส้นใยที่เชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพมีการลดลงของน้ำหนักมากกว่าแผ่นเส้นใยที่เชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมี แสดงให้เห็นว่า แผ่นเส้นใยที่เชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพย่อยสลายเร็วกว่าแบบที่เชื่อมขวางด้วยวิธีการทางเคมี ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบร้อยละการเชื่อมขวาง ที่กล่าวไว้ในหัวข้อ 4.2.2 และเมื่อพิจารณาการย่อยสลายของแผ่นเส้นใยที่เชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมีแบบต่างๆ พบว่า การลดลงของน้ำหนักแผ่นเส้นใยหลังการย่อยสลาย มีค่าใกล้เคียงกัน ที่เวลา 15 นาที น้ำหนักลดลงประมาณ 23%-37% และเมื่อเวลานานขึ้นแผ่นเส้นใยจะมีน้ำหนักลดลงมากขึ้นคล้ายกับแผ่นเส้นใยที่เชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพ และเมื่อถึงเวลา 210 นาที น้ำหนักลดลงประมาณ 85%-88% ซึ่งผลการย่อยสลายของแผ่นเส้นใยเจลาตินด้วยเอนไซม์คอลลาจีเนสสอดคล้องกับผลของร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาติน คือ เมื่อร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยมีค่ามากจะช่วยชะลอความสามารถในการย่อยสลายของแผ่นเส้นใยเจลาติน

อนึ่งเนื่องจากแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีพลาสมา มีจำนวนไม่เพียงพอสำหรับการทดสอบการย่อยสลายทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ ทำให้ไม่มีผลการทดสอบการย่อยสลายทางชีวภาพ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





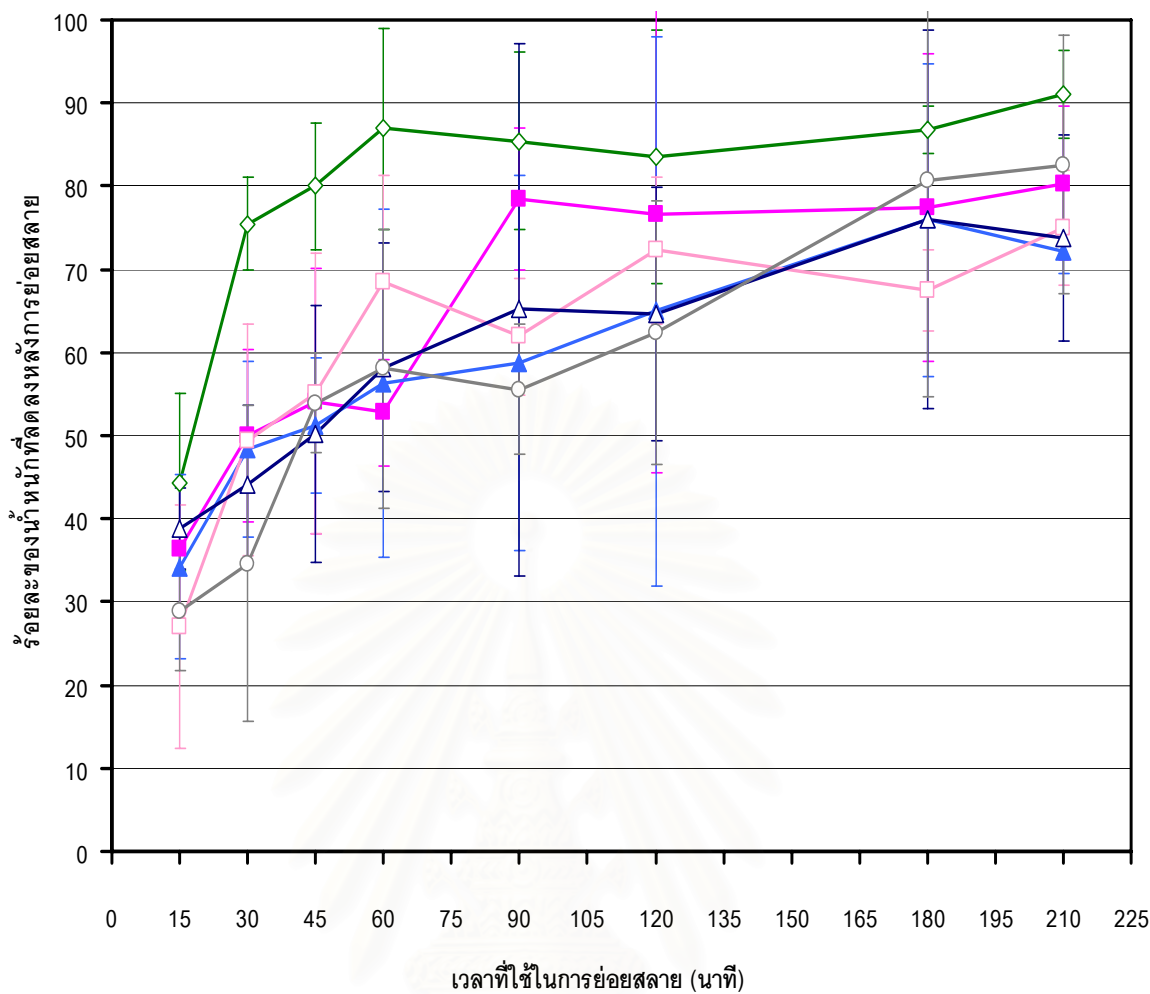
รูปที่ 4.17 ร้อยละของน้ำหนักรีดลงของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ หลังการย่อยสลายด้วยเอนไซม์คอลลาจีเนส ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่างๆ

- ◇— DHT
- DHT และการแช่สาร EDC ที่ละลายในน้ำ
- ▲— DHT และการแช่สาร EDC ที่ละลายในเอทานอล
- DHT และการฟ้นละอองก่อนการแช่สาร EDC ที่ละลายในน้ำ
- △— DHT และการฟ้นละอองก่อนการแช่สาร EDC ที่ละลายในเอทานอล
- DHT และการอบไอ GA

จากรูปที่ 4.18 แสดงร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงหลังการย่อยสลายของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ พบว่า น้ำหนักของแผ่นเส้นใยที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพ จะมีการลดลงมากที่สุด เมื่อแช่แผ่นเส้นใยในสารละลายคอลลาจีเนส เป็นเวลา 15 นาที น้ำหนักแผ่นเส้นใยลดลงประมาณ 44% ของน้ำหนักแผ่นเส้นใยก่อนการย่อยสลาย และเมื่อถึงเวลา 210 นาที น้ำหนักลดลงประมาณ 91% โดยถ้าเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายนานขึ้นแผ่นเส้นใยมีน้ำหนักลดลงมากขึ้น เมื่อทำการเปรียบเทียบน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยที่เชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพกับวิธีทางเคมี พบว่า ทุกช่วงเวลาแผ่นเส้นใยที่เชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพมีการลดลงของน้ำหนักมากกว่าแผ่นเส้นใยที่เชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมี เช่นเดียวกับกรณีแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A และเมื่อพิจารณาการย่อยสลายของแผ่นเส้นใยที่เชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมี พบว่าการลดลงของน้ำหนักแผ่นเส้นใยหลังการย่อยสลาย มีค่าใกล้เคียงกัน โดยที่เวลา 15 นาที น้ำหนักลดลงประมาณ 29%-39% และเมื่อถึงเวลา 210 นาที น้ำหนักลดลงประมาณ 72%-83%

จากรูปที่ 4.17 และรูปที่ 4.18 เมื่อเปรียบเทียบร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงหลังการย่อยสลายของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A และชนิด B ที่ใช้วิธีการเชื่อมขวางวิธีเดียวกัน พบว่า แผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A จะมีการลดลงของน้ำหนักแผ่นเส้นใยรวดเร็วกว่าแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B แสดงถึง ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่เร็วกว่าแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ซึ่งสอดคล้องกับผลของร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใย คือ แผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B มีร้อยละการเชื่อมขวางสูงกว่าแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ทำให้การย่อยสลายของแผ่นเส้นใยเจลาตินชนิด B ช้ากว่าแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A





รูปที่ 4.18 ร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ หลังการย่อยสลายด้วยเอนไซม์คอลลาจีเนส ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่างๆ

- ◇ DHT
- DHT และการแช่สาร EDC ที่ละลายในน้ำ
- ▲ DHT และการแช่สาร EDC ที่ละลายในเอทานอล
- DHT และการฟั่นละอองก่อนการแช่สาร EDC ที่ละลายในน้ำ
- △ DHT และการฟั่นละอองก่อนการแช่สาร EDC ที่ละลายในเอทานอล
- DHT และการอบไอ GA

จากตารางที่ 4.1 แสดงการสรุปผลของการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ ของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A และ ชนิด B ที่ได้ศึกษาในงานวิจัยนี้ ซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนว่าร้อยละของน้ำหนักที่ลดลงของแผ่นเส้นใยของเจลาตินทั้ง 2 ชนิด ภายหลังจากการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ มีค่าใกล้เคียงกัน ในขณะที่ร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยของเจลาติน ชนิด B มีค่ามากกว่าร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยของเจลาติน ชนิด A ทุกวิธีของการเชื่อมขวาง และโครงสร้างพื้นฐานของแผ่นเส้นใยทั้ง 2 ชนิด ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีเดียวกัน จะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะคล้ายกัน และเมื่อนำแผ่นเส้นใยที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ มาทดสอบการย่อยสลาย พบว่า แผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A จะถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ซึ่งสอดคล้องกับผลของร้อยละการเชื่อมขวางที่ได้



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.1 สรุปอิทธิพลของการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ ของแผ่นเส้นใยเจลลาติน ชนิด A และ ชนิด B

ลำดับ ที่	แผ่นเส้นใยเจลลาติน ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีต่างๆ	ร้อยละของน้ำหนักที่ ลดลงของแผ่นเส้นใย		ร้อยละการเชื่อมขวาง ของแผ่นเส้นใย		โครงสร้างพื้นฐานแผ่นเส้นใย ทั้งชนิด A และ ชนิด B	เวลาที่แผ่นเส้นใยถูกย่อยสลายไป (นาที)			
		ชนิด A	ชนิด B	ชนิด A	ชนิด B		ชนิด A		ชนิด B	
							50%	90%	50%	90%
1	ไม่มีการเชื่อมขวาง	-	-	-	-	เส้นใยเรียบ เป็นสายยาว ไม่มีเม็ดบีด	-	-	-	-
2	การใช้ความร้อน (DHT)	5%	8%	54%	77%	เส้นใยเรียบ เป็นสายยาว ไม่มีเม็ดบีด	15	60	15	60
3	การใช้ความร้อนร่วมกับการแช่ใน สารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ	63%	51%	62%	87%	เส้นใยบวมตัวขึ้นเล็กน้อย รูพรุนระหว่างเส้นใยแคบลง	60	180	30	>210
4	การใช้ความร้อนร่วมกับการแช่ใน สารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล	63%	48%	69%	81%	เส้นใยบวมตัวขึ้นเล็กน้อย รูพรุนระหว่างเส้นใยแคบลง	30	180	45	>210
5	การใช้ความร้อนร่วมกับการฟ้นละอองก่อน การแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในน้ำ	55%	52%	64%	85%	เส้นใยบวมตัวมากที่สุด มีรูพรุนเล็กน้อย	60	210	45	>210
6	การใช้ความร้อนร่วมกับการฟ้นละอองก่อน การแช่ในสารละลาย EDC ที่ละลายในเอทานอล	59%	56%	66%	80%	เส้นใยบวมตัวมากที่สุด มีรูพรุนเล็กน้อย	45	210	45	>210
7	การใช้ความร้อนร่วมกับการ การอบไอกลูคาร์ลไฮด์ (GA)	61%	72%	61%	80%	เส้นใยเกิดการบวมตัวขึ้นและหลอมประสาน เข้าด้วยกันและไม่มีรูพรุน	45	210	45	>210
8	การใช้ความร้อนร่วมกับการใช้พลาสมา	8%	11%	60%	72%	เส้นใยที่ผิวหน้าเกิดการหลอมละลายติดกัน เส้นใยภายในไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง	-	-	-	-
9	การใช้พลาสมา	3%	4%	44%	39%	เส้นใยที่ผิวหน้าเกิดการหลอมละลายติดกัน เส้นใยภายในไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง	-	-	-	-



## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ การเตรียมเส้นใยเจลาติน การเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลาติน จากการศึกษาผลของอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าในการเตรียมเส้นใยเจลาติน โดยวิธีการปั่นแบบไฟฟ้าสถิตจากสารละลายเจลาติน ชนิด A และเจลาติน ชนิด B ที่ละลายในกรดฟอร์มิก พบว่า ที่ความเข้มข้น 25% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ของสารละลายเจลาติน การเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าจะไม่ส่งผลอย่างชัดเจนต่อขนาดและลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ได้ และเมื่อศึกษาอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารละลายเจลาตินในช่วง 2.5%-60% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินมากขึ้นจะส่งผลต่อที่ขนาดและลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น โดยขนาดของผลิตภัณฑ์จะเพิ่มมากขึ้น ถ้าสารละลายเจลาตินมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น และลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้จะแตกต่างกันขึ้นกับความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน ซึ่งสามารถแบ่งช่วงของความเข้มข้นออกได้เป็น 4 ช่วง คือ ช่วงความเข้มข้นสารละลายเจลาตินน้อย (1%-5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) สารละลายมีความหนืดไม่มากเพียงพอ ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นอนุภาคหรือเม็ดปิด ช่วงของความเข้มข้นที่เพิ่มมากขึ้น (7.5%-15% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ความหนืดของสารละลายเพิ่มมากขึ้น จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นเส้นใยขนาดเล็กเชื่อมอยู่ระหว่างเม็ดปิด และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นถึงค่าหนึ่งที่ทำให้ความหนืดของสารละลายมีค่าเหมาะสม (20%-50% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นเส้นใยออกมาต่อเนื่อง เป็นสายยาวไม่มีเม็ดปิด และที่ความเข้มข้นสูง (60% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นเส้นใยแบนคล้ายริบบิ้น ซึ่งผลิตภัณฑ์เจลาตินทั้งสองชนิดที่เตรียมได้มีความคล้ายคลึงกัน ทั้งการศึกษาค่าอิทธิพลของความต่างศักย์ไฟฟ้าและการศึกษาค่าอิทธิพลของความเข้มข้นสารละลาย

การศึกษารายละเอียดที่สองคือ การศึกษาการเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยเจลาติน โดยใช้วิธีการเชื่อมขวางแบบต่างๆ พบว่า การเชื่อมขวางทางกายภาพทำให้อายุที่ลดลงของน้ำหนักมีค่าน้อยมาเมื่อเทียบกับวิธีทางเคมี และเมื่อเปรียบเทียบวิธีทางเคมี พบว่า แผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีการพ่นละอองก่อนการแช่สารละลาย EDC จะมีค่าอายุที่ลดลงของน้ำหนักน้อยที่สุด เนื่องจากการพ่นละอองเป็นการจำกัดปริมาณสารละลายที่สัมผัสกับแผ่นเส้นใยโดยตรงและทำให้เกิดการเชื่อมขวางของเส้นใยก่อนบางส่วน จากนั้นจึงค่อยนำไปแช่ในสารละลาย ซึ่งวิธีนี้ช่วยลดการละลายของแผ่นเส้นใยเจลาตินได้เล็กน้อยโดยจะช่วยให้เจลาตินละลายไปในสารละลายก่อนที่จะเกิดปฏิกิริยาเชื่อมขวางโดยสมบูรณ์ ส่วนแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ที่ผ่าน

การเชื่อมขวางด้วยวิธีการแซ่สารละลาย EDC มีค่าร้อยละที่ลดลงของน้ำหนักน้อยที่สุด แผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยวิธีทางกายภาพมีค่าร้อยละการเชื่อมขวางน้อยกว่าและมีความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพที่เร็วกว่าแผ่นเส้นใยเจลาตินที่เชื่อมขวางด้วยวิธีทางเคมีแบบต่างๆ เพราะการเชื่อมขวางทางกายภาพจะเกิดการเชื่อมขวางที่พื้นผิวของแผ่นเส้นใยเท่านั้น และเมื่อเปรียบเทียบการเชื่อมขวางระหว่างแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A และชนิด B ที่ใช้วิธีการเชื่อมขวางเหมือนกัน พบว่า ร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B มีค่าสูงกว่าร้อยละการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A โดยทั้งนี้จากการตรวจวัดปริมาณหมู่อะมิโนอิสระของเจลาตินทั้งสองชนิดนี้มีค่าใกล้เคียงกันมาก แต่เนื่องจากเจลาติน ชนิด B ผลิตมาจากขบวนการไฮโดรไลซิสกลุ่มเอไมด์ในคอลลาเจนในสารละลายต่าง ทำให้ได้เจลาตินที่ได้มีปริมาณหมู่คาร์บอกซิลิกมาก ดังนั้นปริมาณหมู่คาร์บอกซิลิกที่มาก อาจจะเป็นสาเหตุทำให้เจลาติน ชนิด B เกิดการเชื่อมขวางได้มากกว่าเจลาติน ชนิด A ผลของการเชื่อมขวางนี้ยังสอดคล้องกับความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพของแผ่นเส้นใย กล่าวคือ แผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ที่เกิดการเชื่อมขวางมากกว่า จะย่อยสลายทางชีวภาพได้ช้ากว่าแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

เพื่อให้ผลการวิจัยนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น จึงมีแนวทางปรับปรุงและศึกษาเพิ่มเติม ดังต่อไปนี้

1. ควรมีการศึกษาปัจจัยที่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์จากการปั่นแบบไฟฟ้าสถิตของสารละลายเจลาตินเพิ่มมากขึ้น เช่น การศึกษาเกี่ยวกับอัตราการไหลของสารละลายเจลาติน
2. ควรมีการศึกษาการกระจายตัวของเส้นใยที่ตกลงบนฉากรองรับ เนื่องจาก การกระจายตัวของเส้นใยส่งผลต่อความหนาของแผ่นเส้นใย
3. ควรมีการศึกษาการเตรียมแผ่นเส้นใยโดยการปั่นเส้นใยเจลาตินร่วมกับการปั่นเส้นใยพอลิเมอร์ชนิดอื่น เพื่อช่วยชะลอความสามารถในการละลายน้ำของแผ่นเส้นใยเจลาติน จึงจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยโปรตีนและงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ
4. ควรมีการตรวจวัดหมู่คาร์บอกซิลิกของแผ่นเส้นใยเจลาตินก่อนและหลังการเชื่อมขวาง เพื่อยืนยันการอธิบายผลของร้อยละการเชื่อมขวางของเจลาติน ชนิด A และชนิด B

## รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ชิดชม วิทวัสวงศ์, มณฑาทิพย์ ชุ่มฉลาด, สมชาญ เลิศปิ่นณะพงษ์ และสมยศ จรรยาวิลาส. การผลิตเจลาตินจากหนังหมู, บทความวิจัย, หน้า 7-17. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาอาหาร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2529.

ณัฐ งามเจตธรรมย์. การพัฒนาปุ๋ยเคมีชนิดปลดปล่อยช้าที่เคลือบด้วยโปรตีนจากกากถั่วเหลือง, วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.

นิภาวดี แสงยนต์. การแยกโปรตีนจากผงมะขามโดยใช้โปรตีนเอส, วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.

นฤนาท ไชยถาวร. ผลของวิธีการเชื่อมโยงพันธะที่มีต่อลักษณะสมบัติของโครงเลี้ยงเซลล์ที่ทำจากเจลาติน-ไคโตซาน, วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2550.

บุญรัตน์ กิตติสาภรณ์, นงนุช สุขสุพลสิริ และวนิดา กิตติบรรลุ. การสกัด Geletin edible จากหนังหมู, โครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์, หน้า 1-8. สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2533.

บุศรินทร์ เหมชะปะบุตร. การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต (Electrospinning). วารสารสมาคมโพลิเมอร์ (ประเทศไทย) 6, 2 (พฤษภาคม-สิงหาคม 2549): 2.

ปาริชาติ ลบแยม. การสกัดและทำให้บริสุทธิ์ของเจลาตินจากเศษหนังสัตว์ใหญ่ที่ยังไม่ผ่านการฟอกโดยใช้แอลคาไลน์โปรตีนเอส, วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2548.

วลัยพร หงส์โรจนวิวัฒน์. โพลิเมอร์นาโนไฟเบอร์ โดยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง. วารสารเทคโนโลยีและวัสดุ, 34 (มกราคม-มีนาคม 2547): 17-20.

วีระศักดิ์ สหชัยเสรี. โปรตีนเทคโนโลยี, โครงการตำราและเอกสารประกอบการเรียนเคมี, หน้า 177-179. ภาควิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2544.

ศรีสุวรรณ อุทชนผล, ศุภลักษณ์ บัณฑิตกุล และมีนา บุญญาภิรัตน์. การใช้ gum ชนิดต่างๆ ในการทำผลิตภัณฑ์ jelly, โครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์, หน้า 7-11. สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2531.

สุพิชญา ชื่นชนม. สมบัติและสัณฐานวิทยาของเส้นใยประดิษฐ์ที่ดัดแปรด้วยเครื่องที่ตาพินซ์, วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์โพลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2547.

สุภาณี เรื่อยรณาคม. คุณลักษณะการอบแห้งและผลของสภาวะการอบแห้งที่มีต่อคุณสมบัติของเจลาติน, วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2523.

#### ภาษาอังกฤษ

Chong E.J., Phan T.T., Lim I.J., Zhang Y.Z., Bay B.H., Ramakrishna S. and Lim C.T.

Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution. Acta Biomaterialia 3 (2007): 321-330.

Christiaens P., Vermeeren V., Wenmackers S., Daenen M., Haenen K., Nesladek M., Vandeven M., Ameloot M., Michiels L. and Wagner P. EDC-mediated DNA attachment to nanocrystalline CVD diamond films. Biosensors and Bioelectronics 22(2) (2006): 170-177.

Olde Damink L.H.H., P.J. Dijkstra, Van Luyn M.J.A, Van Wachem P.B., Nieuwenhuis P. and Feijien J. Cross-linking of dermal sheep collagen using a water soluble carbodiimide. Biomaterials 17 (1996): 765-773.

Doshi J. and Reneker D.H. Electrospinning process and applications of electrospun fibres. J Electrostatics 35(2-3) (1995): 151-160.

Goissis G., Yoshioka SA., Braile DM. and Ramirez VDA. The chemical protecting Group concept Applied in Cross-linking of natural Tissues with Glutaraldehyde Acetals. Artificial Organs 22 (1998): 210.

Huang Z.M., Zhang Y.Z., Ramakrishna S. and Lim C.T. Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers. Polymer 45 (2004): 5361-5368.

Ikeguchi R., Kakinoki R., Matsumoto T., Yamakawa T., Nakayama K., Morimoto Y., Tsuji H., Ishikawa J. and Nakamura T. Basic fibroblast growth factor promotes nerve regeneration in a C-ion-implanted silicon chamber. Brain Res 1090(1) (2006): 51-57.

Ki C.S., Baek D.H., Gang K.D., Lee K.H., Um I.C. and Parka Y.H. Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution. Polymer 46 (2005): 5094-5102.

- Lee A.C., Yu V.M., Lowe JB 3rd, Brenner M.J., Hunter D.A. and Mackinnon S.E. Controlled release of nerve growth factor enhances sciatic nerve regeneration. Sakiyama-ElbertSE, Exp Neurol. 184(1) (2003): 295-303.
- Lee C.R., Grodzinsky A.J. and Spector M. The effects of cross-linking of collagen-glycosaminoglycan scaffolds on compressive stiffness, chondrocyte-mediated contraction, proliferation and biosynthesis. Biomaterials 22 (2001): 3145-3154.
- Li M., Guo Y., Wei Y., MacDiarmid A.G. and Lelkes P.I. Electrospinning polyaniline-contained gelatin nanofibers for tissue engineering applications. Biomaterials 27 (2006): 2705–2715.
- Liu H., Mao J., Yao K., Yang G. and Cui L. and Cao, Y. A study on a chitosan-gelatin-hyaluronic acid scaffold as artificial skin in vitro and its tissue engineering applications. Biomaterials 15(1) (2004): 25-40.
- Ma L., Gao C., Mao Z., Zhou J., Shen J., Hu X. and Han C. Collagen/chitosan porous scaffolds with improved biostability for skin tissue engineer. Biomaterials 24 (2003): 4833-4841.
- Murugan R. and Ramakrishna S. Nano-Featured Scaffolds for Tissue Engineering: A Review of Spinning Methodologies. Tissue Engineering 12(3) (2006): 435-447.
- Nagai N., Yunoki S., Suzuki T., Sakata M., Tajima K. and Munekata M. Application of cross-linked salmon atelocollagen to the scaffold of human periodontal ligament cells. Bioscience and bioengineering 97(6) (2004): 389-394.
- Ozeki M. and Tabata Y. In vivo degradability of hydrogels prepared from different gelatins by various cross-linking methods. Biomaterials Science 16 (2005): 549-561.
- Panprung S., Apichart S. and Pitt S. Electrospun gelatin fiber mats containing a herbal-*Centella asiatica* - extract and release characteristic of asiaticoside. Nanotechnology 19 (2008).
- Pek Y.S., Spector M., Yannas I.V. and Gibson L.J. Degradation of a collagen-chondroitin-6-sulfate matrix by collagenase and by chondroitinase. Biomaterials 25 (2004): 473-482.



- Pieper J.S., Hafmans T., Veerkamp J.H. and van Kuppevelt T.H. Development of tailor-made collagen-glycosaminoglycan matrices: EDC/NHS cross-linking and ultrastructural aspects. Biomaterials 21 (2000): 581-593.
- Reneker D.H. and Yarin A.L. Electrospinning jets and polymer nanofibers. Polymer 10.1016 (2008).
- Ruiz M., Sastre A.M., Guibal E. Palladium sorption on glutaraldehyde-crosslinked chitosan. Reactive & Functional Polymer 45 (2002): 155-173.
- Tabata Y. and Ikada Y. Protein release from gelatin matrices. Advanced Drug Delivery Reviews 31 (1998): 287–301.
- Ueda H., Nakamura T., Yamamoto M. and Nagata N. Repairing of rabbit skull defect by dehydrothermally crosslinked collagen sponges incorporating transforming growth factor  $\beta$ 1. Journal of controlled Release 88 (2005): 256-274.
- U.S. Food and drug Administration, Department of Health and Human Services, (March 3, 2006).
- Wang S., Cai Q., Hou J., Bei J., Zhang T., Yang J. and Wan Y. Acceleration effect of basic fibroblast growth factor on the regeneration of peripheral nerve through a 15-mm gap. J Biomed Mater Res A 66(3) (2003): 522-531.
- Wang Y., Serrano S. and Santiago-Aviles JJ. Raman characterization of carbon nanofibers prepared using Electrospinning. Synthesis Metals 138 (2002): 423-427.
- Warner S.B., Buer A., Grimler M., Ugbolue S.C., Rutledge G.C. and Shin M.Y. A fundamental investigation of the formation and properties of electrospun fibers, Annual Report (M98-D01), National Textile Center (1999)
- Wess T.J. and Orgel J.P. Change in collagen structure: drying, dehydrothermal treatment and relation to long term deterioration. Thermochimica Acta 365 (2000): 119-128.
- Xu X., Yee W.C., Hwang P.Y., Yu H., Wan A.C., Gao S., Boon K.L., Mao H.Q., Leong K.W. and Wang S. Peripheral nerve regeneration with sustained release of poly(phosphoester) microencapsulated nerve growth factor within nerve guide conduits. Biomaterials 24(13) (2003): 2405-2412.

Yang D., Li Y. and Nie J. Preparation of gelatin/PVA nanofibers and their potential application in controlled release of drugs. Carbohydrate Polymers 69 (2007): 538–543.

Young S., Wong M., Tabata Y. and Mikos AG. Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules. Journal of Controlled Release 109 (2005): 256-274.

Zhang Y.Z., Venugopal J., Huang Z.M., Lim C.T. and Ramakrishna S. Crosslinking of the electrospun gelatin nanofibers. Polymer 47 (2006): 2911–2917.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

### ขนาดเม็ดปิดและเส้นใย

ตาราง ก.1 การเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ให้กับสารละลายเจลาติน ชนิด A และเจลาติน ชนิด B ที่ความเข้มข้น 25% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ความต่าง ศักย์ไฟฟ้า (กิโลโวลต์)	เส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (นาโนเมตร)	
	เจลาติน ชนิด A	เจลาติน ชนิด B
10	260 $\pm$ 45	187 $\pm$ 34
12.5	175 $\pm$ 56	157 $\pm$ 34
15	196 $\pm$ 70	127 $\pm$ 28
17.5	193 $\pm$ 62	126 $\pm$ 25
20	143 $\pm$ 49	128 $\pm$ 24
25	303 $\pm$ 90	173 $\pm$ 39

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ก.2 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน ชนิด A ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 15 กิโลโวลต์ และ 20 กิโลโวลต์

- ลักษณะและเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเจลาตินที่ได้ ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 15 กิโลโวลต์

ความเข้มข้น (%โดยน้ำหนัก ต่อปริมาตร)	ลักษณะที่พบ	เส้นผ่านศูนย์กลาง $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (นาโนเมตร)					
		เม็ดปิด			เส้นใย		
		ขนาดเล็ก	เล็กที่สุด	ใหญ่ที่สุด	ขนาดเล็ก	เล็กที่สุด	ใหญ่ที่สุด
2.5	<i>sub microparticles</i>	686 $\pm$ 262	37	1190	-	-	-
5.0	<i>sub microparticles</i>	567 $\pm$ 222	85	1200	-	-	-
7.5	เม็ดปิดและเส้นใย	567 $\pm$ 255	206	1600	70 $\pm$ 16	45	97
10.0	เม็ดปิดและเส้นใย	478 $\pm$ 136	261	835	74 $\pm$ 18	37	131
12.5	เม็ดปิดและเส้นใย	504 $\pm$ 204	208	1090	108 $\pm$ 25	59	159
15.0	เม็ดปิดและเส้นใย	970 $\pm$ 540	359	2490	61 $\pm$ 15	36	98
20.0	เส้นใย	-	-	-	270 $\pm$ 64	116	407
25.0	เส้นใย	-	-	-	188 $\pm$ 70	88	330
30.0	เส้นใย	-	-	-	153 $\pm$ 29	90	232
40.0	เส้นใย	-	-	-	576 $\pm$ 101	376	899
50.0	เส้นใย	-	-	-	950 $\pm$ 180	573	1560
60.0	เส้นใย (Ribbon)	-	-	-	1793 $\pm$ 350*	1170	2670

\* วัดขนาดด้านที่มีความกว้างมากที่สุด



- ลักษณะและเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเจลาตินที่ได้ ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์

ความเข้มข้น (%โดยน้ำหนัก ต่อปริมาตร)	ลักษณะที่พบ	เส้นผ่านศูนย์กลาง $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (นาโนเมตร)					
		เม็ดปิด			เส้นใย		
		ขนาดเฉลี่ย	เล็กที่สุด	ใหญ่ที่สุด	ขนาดเฉลี่ย	เล็กที่สุด	ใหญ่ที่สุด
2.5	<i>sub microparticles</i>	667 $\pm$ 309	174	1830	-	-	-
5.0	<i>sub microparticles</i>	435 $\pm$ 243	191	1550	-	-	-
7.5	เม็ดปิดและเส้นใย	675 $\pm$ 205	311	1170	52 $\pm$ 10	41	69
10.0	เม็ดปิดและเส้นใย	670 $\pm$ 263	105	1290	98 $\pm$ 24	51	150
12.5	เม็ดปิดและเส้นใย	737 $\pm$ 157	455	956	132 $\pm$ 33	58	246
15.0	เม็ดปิดและเส้นใย	1370 $\pm$ 773	263	2890	75 $\pm$ 24	13	132
20.0	เส้นใย	-	-	-	124 $\pm$ 29	83	234
25.0	เส้นใย	-	-	-	143 $\pm$ 49	64	260
30.0	เส้นใย	-	-	-	252 $\pm$ 107	155	694
40.0	เส้นใย	-	-	-	593 $\pm$ 109	404	878
50.0	เส้นใย	-	-	-	898 $\pm$ 244	480	2300
60.0	เส้นใย (Ribbon)	-	-	-	1507 $\pm$ 303*	1000	2280

\* วัดขนาดด้านที่มีความกว้างมากที่สุด

ตาราง ก.3 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน ชนิด B ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์

ความเข้มข้น (%โดยน้ำหนัก ต่อปริมาตร)	ลักษณะที่พบ	เส้นผ่านศูนย์กลาง $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (นาโนเมตร)					
		เม็ดปิด			เส้นใย		
		ขนาดเฉลี่ย	เล็กที่สุด	ใหญ่ที่สุด	ขนาดเฉลี่ย	เล็กที่สุด	ใหญ่ที่สุด
2.5	<i>sub microparticles</i>	2260 $\pm$ 582	939	3810	-	-	-
5.0	<i>sub microparticles</i>	431 $\pm$ 202	124	1290	-	-	-
7.5	<i>sub microparticles</i>	2525 $\pm$ 608	1400	4190	-	-	-
10.0	เม็ดปิดและเส้นใย	561 $\pm$ 292	182	1410	73 $\pm$ 24	36	156
12.5	เม็ดปิดและเส้นใย	1218 $\pm$ 592	129	2890	100 $\pm$ 23	52	159
15.0	เม็ดปิดและเส้นใย	1180 $\pm$ 754	290	5840	117 $\pm$ 27	52	187
20.0	เส้นใย	-	-	-	149 $\pm$ 21	70	230
25.0	เส้นใย	-	-	-	128 $\pm$ 24	59	199
30.0	เส้นใย	-	-	-	226 $\pm$ 58	134	590
40.0	เส้นใย	-	-	-	616 $\pm$ 134	91	1120
50.0	เส้นใย (Ribbon)	-	-	-	997 $\pm$ 187*	123	1420
60.0	เส้นใย (Ribbon)	-	-	-	4373 $\pm$ 622*	2590	5720

\* วัดขนาดด้านที่มีความกว้างมากที่สุด

ตาราง ก.4 การวัดค่าการนำไฟฟ้าและความหนืดของสารละลายเจลาติน ชนิด A ที่ความเข้มข้น  
ค่าต่างๆ ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	ค่าการนำไฟฟ้า (s)	ค่าความหนืด (cp)
formic acid	$0.501 \times 10^{-3}$	5.25
2.5	$1.673 \times 10^{-3}$	12.70
5.0	$2.050 \times 10^{-3}$	23.20
7.5	$2.540 \times 10^{-3}$	53.70
10.0	$3.000 \times 10^{-3}$	69.70
12.5	$3.450 \times 10^{-3}$	93.00
15.0	$3.360 \times 10^{-3}$	238.20
20.0	$4.100 \times 10^{-3}$	383.50
25.0	$4.580 \times 10^{-3}$	643.40
30.0	$4.670 \times 10^{-3}$	1338.00
40.0	$4.740 \times 10^{-3}$	4131.00
50.0	$5.250 \times 10^{-3}$	10303.00
60.0	$7.310 \times 10^{-3}$	13017.00

ตาราง ก.5 การวัดค่าการนำไฟฟ้าและความหนืดของสารละลายเจลาติน ชนิด A ที่ความเข้มข้น  
40% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลา	ค่าการนำไฟฟ้า (s)	ค่าความหนืด (cp)
2 ชั่วโมง	$4.740 \times 10^{-3}$	5228.00
3 ชั่วโมง	$4.460 \times 10^{-3}$	4131.00
6 ชั่วโมง	$4.430 \times 10^{-3}$	3371.00
1 วัน	$4.200 \times 10^{-3}$	2813.00

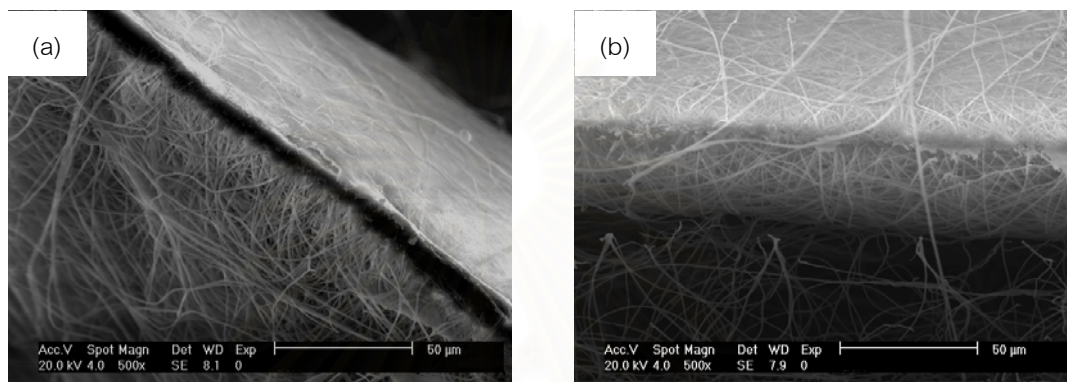
ตาราง ก.6 การวัดค่าการนำไฟฟ้าและความหนืดของสารละลายเจลาติน ชนิด B ที่ความเข้มข้น  
ค่าต่างๆ ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	ค่าการนำไฟฟ้า (s)	ค่าความหนืด (cp)
formic acid	$0.501 \times 10^{-3}$	5.25
2.5	$1.538 \times 10^{-3}$	10.40
5.0	$2.310 \times 10^{-3}$	21.90
7.5	$2.910 \times 10^{-3}$	40.40
10.0	$3.410 \times 10^{-3}$	67.70
12.5	$3.850 \times 10^{-3}$	117.60
15.0	$4.200 \times 10^{-3}$	173.40
20.0	$4.740 \times 10^{-3}$	328.80
25.0	$5.000 \times 10^{-3}$	599.10
30.0	$5.140 \times 10^{-3}$	912.80
40.0	$5.550 \times 10^{-3}$	2042.00
50.0	$6.150 \times 10^{-3}$	8908.00
60.0	$7.500 \times 10^{-3}$	27504.00

ตาราง ก.7 การวัดค่าการนำไฟฟ้าและความหนืดของสารละลายเจลาติน ชนิด B ที่ความเข้มข้น  
40% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลา	ค่าการนำไฟฟ้า (s)	ค่าความหนืด (cp)
2 ชั่วโมง	$5.550 \times 10^{-3}$	3431.00
3 ชั่วโมง	$5.520 \times 10^{-3}$	2042.00
6 ชั่วโมง	$5.500 \times 10^{-3}$	1500.00
1 วัน	$5.110 \times 10^{-3}$	1416.00

**ภาคผนวก ข**  
**น้ำหนักแผ่นเส้นใยเจลาตินก่อนและหลังการเชื่อมขวาง**  
**ด้วยวิธีทางกายภาพและทางเคมี**



รูปที่ ข.1 ความหนาของแผ่นเส้นใยเจลาติน ที่ความเข้มข้น 40%โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ โดยปั่นเส้นใยเป็นเวลา 30 ชั่วโมง  
 (a) แผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A (b) แผ่นเส้นใยเจลาตินชนิด B

ตาราง ข.1 น้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ขนาด 5 x 5 ตารางเซนติเมตร ก่อนและหลังการเชื่อมขวาง

วิธีการเชื่อมโยงพันธะ	แผ่นที่	นน.เริ่มต้น (กรัม)	นน.หลังอบ 60 °C (กรัม)	%นน.ที่หายไป หลัง อบ 60 °C	นน.หลัง DHT (กรัม)	%นน.ที่หายไป หลัง DHT	นน.หลังการเชื่อมโยงพันธะ (กรัม)	%นน.ที่หายไปหลังการเชื่อมขวาง	%นน.ที่หายไปทั้งหมด
DHT	1	0.0907	0.0861	5.07	0.0863	4.85	-	-	4.85
	2	0.0922	0.0869	5.75	0.0872	5.42	-	-	5.42
	3	0.0912	0.0866	5.04	0.0858	5.92	-	-	5.92
DHT และ แซ่ใน EDC ที่ละลายในน้ำ	1	0.0751	0.0702	6.52	0.0705	6.13	0.0301	57.30	59.92
	2	0.0860	0.0808	6.05	0.0808	6.05	0.0332	58.91	61.40
	3	0.0757	0.0698	7.79	0.0706	6.74	0.0250	64.59	66.97
DHT และ แซ่ใน EDC ที่ละลายในเอทานอล	1	0.0740	0.0695	6.08	0.0676	8.65	0.0315	53.40	57.43
	2	0.0835	0.0785	5.99	0.0788	5.63	0.0236	70.05	71.74
	3	0.0814	0.0766	5.90	0.0770	5.41	0.0327	57.53	59.83
DHT และ พัน+แซ่ EDC ที่ละลายในน้ำ	1	0.0830	0.0784	5.54	0.0772	6.99	0.0366	52.59	55.90
	2	0.0805	0.0773	3.98	0.0763	5.22	0.0367	51.90	54.41
	3	0.0822	0.0777	5.47	0.0793	3.53	0.0367	53.72	55.35
DHT และ พัน+แซ่ EDC ที่ละลายในเอทานอล	1	0.0674	0.0627	6.97	0.0635	5.79	0.0276	56.54	59.05
	2	0.0708	0.0655	7.49	0.0673	4.94	0.0260	61.37	63.28
	3	0.0739	0.0699	5.41	0.0683	7.58	0.0314	54.03	57.51
DHT และ อบไอ GA	1	0.0835	0.0787	5.75	0.0801	4.07	0.0325	59.43	61.08
	2	0.0941	0.0902	4.14	0.0907	3.61	0.0384	57.66	59.19
	3	0.0782	0.0739	5.50	0.0734	6.14	0.0291	60.35	62.79
DHT และ การใช้พลัสมา*	1	0.0133	0.0125		0.0126		0.0121	3.45	8.63
	2	±	±	5.79	±	5.37	±	±	±
	3	0.0003	0.0003		0.0003		0.0003	1.83	1.73
การใช้พลัสมา*	1	0.0241	0.0227				0.0233	3.05	3.05
	2	±	±	5.79	-	-	±	±	±
	3	0.0024	0.0022				0.0023	0.44	0.44

\* การทำ Radiation ใช้แผ่นเส้นใยขนาด 2.5 x 2.5 ตารางเซนติเมตร



ตาราง ข.2 น้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ขนาด 5 x 5 ตารางเซนติเมตร ก่อนและหลังการเชื่อมขวาง

วิธีการเชื่อมโยงพันธะ	แผ่นที่	นน.เริ่มต้น (กรัม)	นน.หลังอบ 60 °C (กรัม)	%นน.ที่หายไป หลัง อบ 60 °C	นน.หลัง DHT (กรัม)	%นน.ที่หายไป หลัง DHT	นน.หลังการเชื่อมโยงพันธะ (กรัม)	%นน.ที่หายไปหลังการเชื่อมขวาง	%นน.ที่หายไปทั้งหมด
DHT	1	0.0833	0.0768	7.80	0.0766	8.04	-	-	8.04
	2	0.1193	0.1108	7.12	0.1109	7.04	-	-	7.04
	3	0.1271	0.1170	7.95	0.1160	8.73	-	-	8.73
DHT และ แช่ใน EDC ที่ละลายในน้ำ	1	0.1065	0.0968	9.11	0.0983	7.70	0.0499	49.24	53.15
	2	0.1009	0.0916	9.22	0.0914	9.42	0.0466	49.02	53.82
	3	0.0813	0.0750	7.75	0.0761	6.40	0.0427	43.89	47.48
DHT และ แช่ใน EDC ที่ละลายในเอทานอล	1	0.1042	0.0943	9.50	0.0939	9.88	0.0515	45.15	50.58
	2	0.0768	0.0698	9.11	0.0700	8.85	0.0395	43.57	48.57
	3	0.0745	0.0679	8.86	0.0695	6.71	0.0406	41.58	45.50
DHT และ พัน+แช่ EDC ที่ละลายในน้ำ	1	0.1127	0.1032	8.43	0.1035	8.16	0.0527	49.08	53.24
	2	0.1074	0.0980	8.75	0.0966	10.06	0.0515	46.69	52.05
	3	0.1101	0.1013	7.99	0.1001	9.08	0.0525	47.55	52.32
DHT และ พัน+แช่ EDC ที่ละลายในเอทานอล	1	0.0722	0.0653	9.56	0.0666	7.76	0.0317	52.40	56.09
	2	0.0959	0.0870	9.28	0.0872	9.07	0.0413	52.64	56.93
	3	0.1081	0.0980	9.34	0.0989	8.51	0.0458	53.69	57.63
DHT และ อบไธ GA	1	0.1168	0.1076	7.88	0.1075	7.96	0.0355	66.98	69.61
	2	0.0819	0.0752	8.18	0.0759	7.33	0.0232	69.43	71.67
	3	0.1224	0.1137	7.11	0.1140	6.86	0.0313	72.54	74.43
DHT และ การใช้พลาสมา*	1	0.0208	0.0190		0.0192		0.0185	3.82	11.10
	2	±	±	8.53	±	7.57	±	±	±
	3	0.0003	0.0003		0.0003		0.0003	1.83	1.73
การใช้พลาสมา*	1	0.0142	0.0130				0.0137	3.76	3.76
	2	±	±	8.53	-	-	±	±	±
	3	0.0006	0.0006				0.0006	0.44	0.44

\* การทำ Radiation ใช้แผ่นเส้นใยขนาด 2.5 x 2.5 ตารางเซนติเมตร

## ภาคผนวก ค

### การหาระดับการเชื่อมขวางจากปริมาณหมู่อะมิโนอิสระ

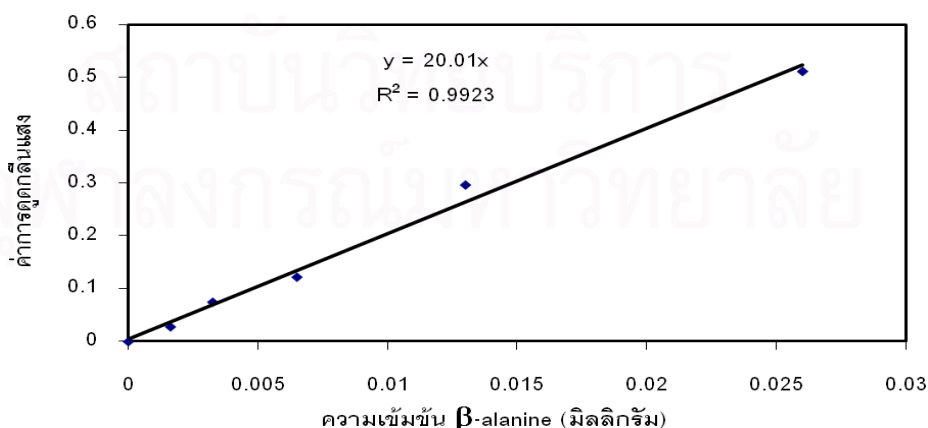
การหาปริมาณหมู่อะมิโนอิสระและร้อยละการเชื่อมขวางทำได้โดยใช้วิธี 2,4,6-trinitrobenzensulfonic acid (TNBS) [Nagai N. และคณะ, 2004] โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. ใส่แผ่นเจลลาตินที่มีน้ำหนัก 5 มิลลิกรัม ลงไปในสารละลาย  $\text{NaHCO}_3$  ความเข้มข้นร้อยละ 0.4 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในน้ำกลั่นที่ pH 8.5 และตามด้วย 1 มิลลิลิตร ของสารละลาย TNBS ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในน้ำกลั่น (สารละลาย TNBS นี้ไม่สามารถทำเก็บไว้ใช้ได้เนื่องจากสารประเภทนี้มีความไวต่อแสง)
2. ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในอ่างให้ความร้อน เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
3. หากพบว่าแผ่นเจลลาตินยังละลายไม่หมดให้เติม กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 6 N ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer เพื่อวัดปริมาณกรดอะมิโนอิสระที่เหลืออยู่ในแผ่นเส้นใยเจลลาติน ร้อยละการเชื่อมขวางสามารถคำนวณได้จากสูตร

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

โดยที่ A คือ น้ำหนักแผ่นเส้นใยก่อนเชื่อมขวาง (มิลลิกรัม) x ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระก่อนเชื่อมขวาง (มิลลิกรัม)

B คือ น้ำหนักแผ่นเส้นใยหลังเชื่อมขวาง (มิลลิกรัม) x ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระหลังเชื่อมขวาง (มิลลิกรัม)



รูปที่ ค.1 รูปกราฟเทียบมาตรฐานแสดงสมการที่ใช้ในการหาปริมาณหมู่อะมิโนอิสระจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ  $\beta$ -alanine กับค่าการดูดกลืนแสง

ตาราง ค.1 ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระและระดับการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลาตินชนิด A

ชนิดของตัวอย่าง	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระ			ระดับการเชื่อมขวาง
			ต่อน้ำหนัก 5 มิลลิกรัม	ต่อน้ำหนัก 1 มิลลิกรัม	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
เจลาติน ชนิด A	1	2.100	0.105	0.021	0.020 $\pm$ 0.001	-
	2	2.028	0.101	0.020		
	3	2.088	0.104	0.021		
	4	1.761	0.088	0.018		
DHT	1	0.978	0.049	0.010	0.009 $\pm$ 0.001	54.71 $\pm$ 5.15
	2	0.813	0.041	0.008		
	3	0.840	0.042	0.008		
	4	0.963	0.048	0.010		
DHT และ แซใน EDC ที่ละลายในน้ำ	1	0.636	0.032	0.006	0.007 $\pm$ 0.001	62.43 $\pm$ 4.54
	2	0.810	0.040	0.008		
	3	0.747	0.037	0.007		
	4	0.789	0.039	0.008		
DHT และ แซใน EDC ที่ละลายในเอทานอล	1	0.696	0.035	0.007	0.007 $\pm$ 0.000	63.90 $\pm$ 3.77
	2	0.657	0.033	0.007		
	3	0.720	0.036	0.007		
	4	0.792	0.040	0.008		
DHT และ ฟ้น+แซ EDC ที่ละลายในน้ำ	1	0.597	0.030	0.006	0.006 $\pm$ 0.000	69.53 $\pm$ 3.07
	2	0.579	0.029	0.006		
	3	0.573	0.029	0.006		
	4	0.669	0.033	0.007		
DHT และ ฟ้น+แซ EDC ที่ละลายในเอทานอล	1	0.651	0.033	0.007	0.007 $\pm$ 0.000	64.43 $\pm$ 3.42
	2	0.762	0.038	0.008		
	3	0.699	0.035	0.007		
	4	0.711	0.036	0.007		
DHT และ อบไอ GA	1	0.699	0.035	0.007	0.007 $\pm$ 0.000	66.55 $\pm$ 2.78
	2	0.657	0.033	0.007		
	3	0.651	0.033	0.007		
	4	0.648	0.032	0.006		

ชนิดของตัวอย่าง	หลอด ที่	ค่าการดูด กลืนแสง	ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระ			ระดับการเชื่อมขวาง ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยง เบนมาตรฐาน
			ต่อน้ำหนัก 5 มิลลิกรัม	ต่อน้ำหนัก 1 มิลลิกรัม	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยง เบนมาตรฐาน	
เจลาติน ชนิด A	1	2.634	0.071	0.014	0.015 ± 0.001	-
	2	2.583	0.070	0.014		
	3	2.916	0.078	0.016		
DHT และ การใช้พลาสมา	1	0.993	0.027	0.005	0.006 ± 0.000	60.72 ± 3.40
	2	1.041	0.028	0.006		
	3	1.152	0.031	0.006		
การใช้พลาสมา	1	1.692	0.046	0.009	0.008 ± 0.001	44.25 ± 7.42
	2	1.551	0.042	0.008		
	3	1.278	0.034	0.007		

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ค.2 ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระและระดับการเชื่อมขวางของแผ่นเส้นใยเจลลาตินชนิด B

ชนิดของตัวอย่าง	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระ			ระดับการเชื่อมขวาง
			ตัวอย่างหนัก 5 มิลลิกรัม	ตัวอย่างหนัก 1 มิลลิกรัม	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
เจลลาติน ชนิด B	1	2.121	0.106	0.021	0.021 ± 0.001	-
	2	2.019	0.101	0.020		
	3	2.286	0.114	0.023		
	4	2.040	0.102	0.020		
DHT	1	0.510	0.025	0.005	0.005 ± 0.001	76.84 ± 3.62
	2	0.516	0.026	0.005		
	3	0.372	0.019	0.004		
	4	0.558	0.028	0.006		
DHT และ แซ่ใน EDC ที่ละลายในน้ำ	1	0.252	0.013	0.003	0.003 ± 0.001	86.89 ± 2.87
	2	0.375	0.019	0.004		
	3	0.234	0.012	0.002		
	4	0.246	0.012	0.002		
DHT และ แซ่ใน EDC ที่ละลายในเอทานอล	1	0.447	0.022	0.004	0.004 ± 0.000	81.28 ± 1.81
	2	0.387	0.019	0.004		
	3	0.360	0.018	0.004		
	4	0.387	0.019	0.004		
DHT และ ฟัน+แซ่ EDC ที่ละลายในน้ำ	1	0.408	0.020	0.004	0.003 ± 0.001	85.33 ± 3.43
	2	0.222	0.011	0.002		
	3	0.330	0.016	0.003		
	4	0.279	0.014	0.003		
DHT และ ฟัน+แซ่ EDC ที่ละลายในเอทานอล	1	0.480	0.024	0.005	0.004 ± 0.001	80.61 ± 3.29
	2	0.438	0.022	0.004		
	3	0.414	0.021	0.004		
	4	0.306	0.015	0.003		
DHT และ อปไฮ GA	1	0.303	0.015	0.003	0.004 ± 0.001	80.57 ± 4.09
	2	0.531	0.027	0.005		
	3	0.393	0.020	0.004		
	4	0.414	0.021	0.004		

ชนิดของตัวอย่าง	หลอด ที่	ค่าการดูด กลืนแสง	ปริมาณหมู่อะมิโนอิสระ			ระดับการ เชื่อมขวาง
			ต่อน้ำหนัก 5 มิลลิกรัม	ต่อน้ำหนัก 1 มิลลิกรัม	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยง เบนมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยง เบนมาตรฐาน
เจลาติน ชนิด B	1	2.715	0.073	0.015	0.015 $\pm$ 0.001	-
	2	2.871	0.077	0.015		
	3	2.622	0.071	0.014		
DHT และ การใช้พลาสมา	1	0.831	0.022	0.004	0.004 $\pm$ 0.000	72.40 $\pm$ 3.40
	2	0.792	0.021	0.004		
	3	0.639	0.017	0.003		
การใช้พลาสมา	1	1.575	0.042	0.008	0.009 $\pm$ 0.001	38.51 $\pm$ 7.45
	2	1.530	0.041	0.008		
	3	1.935	0.052	0.010		

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## ภาคผนวก ง

## การย่อยสลายทางชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ

ตาราง ง.1 น้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด A ก่อนการย่อยสลายและหลังการย่อยสลาย

เวลา (นาที)	แผ่น ที่	DHT					DHT และการเข้สาร EDC ที่ละลายในน้ำ				
		น้ำหนักก่อน การย่อย สลาย	น้ำหนักหลัง การย่อย สลาย	%น้ำหนักที่ลดลง			น้ำหนักก่อน การย่อย สลาย	น้ำหนักหลัง การย่อย สลาย	%น้ำหนักที่ลดลง		
					เฉลี่ย	SD.				เฉลี่ย	SD.
15	1	0.0028	0.0007	75	55	22	0.0012	0.0009	25	28	8
	2	0.0046	0.0013	72			0.0005	0.0004	20		
	3	0.0016	0.0011	31			0.0011	0.0008	27		
	4	0.0043	0.0025	42			0.0013	0.0008	38		
30	1	0.0020	0.0001	95	76	17	0.0006	0.0004	33	29	16
	2	0.0030	0.0012	60			0.0013	0.0007	46		
	3	0.0057	0.0021	63			0.0014	0.0013	7		
	4	0.0016	0.0002	88			0.0016	0.0011	31		
45	1	0.0037	0.0013	65	74	10	0.0021	0.0012	43	27	12
	2	0.0016	0.0004	75			0.0015	0.0013	13		
	3	0.0032	0.0004	88			0.0008	0.0006	25		
	4	0.0047	0.0014	70			0.0016	0.0012	25		
60	1	0.0020	0.0001	95	85	9	0.0022	0.0018	18	43	20
	2	0.0031	0.0005	84			0.0018	0.0008	56		
	3	0.0031	0.0004	87			0.0022	0.0014	36		
	4	0.0023	0.0006	74			0.0013	0.0005	62		
90	1	0.0034	0.0005	85	91	8	0.0015	0.0005	67	64	6
	2	0.0045	0.0008	82			0.0027	0.0011	59		
	3	0.0037	0.0001	97			0.0017	0.0005	71		
	4	0.0039	0.0001	97			0.0027	0.0011	59		
120	1	0.0023	0.0004	83	92	8	0.0010	0.0002	80	71	9
	2	0.0048	0.0005	90			0.0010	0.0003	70		
	3	0.0022	0.0001	95			0.0012	0.0003	75		
	4	0.0020	0.0000	100			0.0031	0.0013	58		
180	1	0.0031	0.0003	90	91	4	0.0006	0.0001	83	86	2
	2	0.0028	0.0002	93			0.0015	0.0002	87		
	3	0.0028	0.0004	86			0.0007	0.0001	86		
	4	0.0023	0.0001	96			0.0018	0.0002	89		
210	1	0.0029	0.0002	93	92	10	0.0026	0.0002	92	88	11
	2	0.0013	0.0003	77			0.0014	0.0002	86		
	3	0.0043	0.0000	100			0.0012	0.0003	75		
	4	0.0037	0.0001	97			0.0012	0.0000	100		

เวลา (นาที)	แผ่น ที่	DHT และการแพร่สาร EDC ที่ละลายในเอทานอล					DHT และการฟอสฟอไรต์ก่อนการแพร่สาร EDC ที่ละลายในน้ำ				
		น้ำหนักก่อน การย่อย สลาย	น้ำหนักรัง การย่อย สลาย	%น้ำหนักที่ลดลง			น้ำหนักรัง การย่อย สลาย	น้ำหนักรัง การย่อย สลาย	%น้ำหนักที่ลดลง		
					เฉลี่ย	SD.				เฉลี่ย	SD.
15	1	0.0015	0.0014	7	23	13	0.0009	0.0007	22	27	7
	2	0.0007	0.0005	29			0.0008	0.0006	25		
	3	0.0011	0.0009	18			0.0008	0.0006	25		
	4	0.0008	0.0005	38			0.0008	0.0005	38		
30	1	0.0012	0.0005	58	49	11	0.0007	0.0005	29	25	7
	2	0.0011	0.0005	55			0.0009	0.0007	22		
	3	0.0006	0.0004	33			0.0006	0.0004	33		
	4	0.0014	0.0007	50			0.0006	0.0005	17		
45	1	0.0011	0.0006	45	52	9	0.0008	0.0008	0	40	32
	2	0.0011	0.0005	55			0.0007	0.0005	29		
	3	0.0011	0.0006	45			0.0011	0.0003	73		
	4	0.0011	0.0004	64			0.0007	0.0003	57		
60	1	0.0009	0.0004	56	59	8	0.0005	-0.0002	140	52	3
	2	0.0007	0.0003	57			0.0011	0.0005	55		
	3	0.0013	0.0006	54			0.0010	0.0005	50		
	4	0.0007	0.0002	71			0.0008	0.0004	50		
90	1	0.0014	0.0004	71	60	19	0.0006	0.0002	67	58	37
	2	0.0010	0.0004	60			0.0005	0.0000	100		
	3	0.0012	0.0008	33			0.0013	0.0006	54		
	4	0.0008	0.0002	75			0.0009	0.0008	11		
120	1	0.0011	0.0004	64	82	15	0.0010	0.0002	80	63	17
	2	0.0013	0.0003	77			0.0011	0.0003	73		
	3	0.0014	0.0002	86			0.0007	0.0003	57		
	4	0.0007	0.0000	100			0.0007	0.0004	43		
180	1	0.0008	0.0000	100	89	21	0.0007	0.0001	86	85	1
	2	0.0006	0.0000	100			0.0007	0.0001	86		
	3	0.0014	0.0006	57			0.0013	0.0002	85		
	4	0.0010	0.0000	100			0.0006	0.0001	83		
210	1	0.0011	0.0003	73	87	10	0.0005	0.0001	80	85	11
	2	0.0017	0.0001	94			0.0007	0.0001	86		
	3	0.0016	0.0001	94			0.0006	0.0000	100		
	4	0.0016	0.0002	88			0.0004	0.0001	75		

เวลา (นาที)	แผ่น ที่	DHT และการฟั่นละของก่อนการแช่สาร EDC ที่ละลายในเอทานอล					DHT และการอบไอบี GA				
		น้ำหนักก่อน การย่อย สลาย	น้ำหนักหลัง การย่อย สลาย	%น้ำหนักที่ลดลง			น้ำหนักก่อน การย่อย สลาย	น้ำหนักหลัง การย่อย สลาย	%น้ำหนักที่ลดลง		
					เฉลี่ย	SD.				เฉลี่ย	SD.
15	1	0.0009	0.0008	11	35	19	0.0024	0.0016	33	37	10
	2	0.0013	0.0009	31			0.0024	0.0017	29		
	3	0.0010	0.0005	50			0.0035	0.0023	34		
	4	0.0014	0.0007	50			0.0025	0.0012	52		
30	1	0.0024	0.0014	42	37	11	0.0012	0.0007	42	39	7
	2	0.0013	0.0008	38			0.0018	0.0011	39		
	3	0.0019	0.0010	47			0.0017	0.0009	47		
	4	0.0014	0.0011	21			0.0024	0.0017	29		
45	1	0.0012	0.0005	58	44	14	0.0017	0.0005	71	52	19
	2	0.0011	0.0005	55			0.0030	0.0020	33		
	3	0.0010	0.0007	30			0.0033	0.0011	67		
	4	0.0021	0.0014	33			0.0038	0.0024	37		
60	1	0.0011	0.0005	55	59	6	0.0033	0.0013	61	75	12
	2	0.0022	0.0010	55			0.0026	0.0003	88		
	3	0.0013	0.0005	62			0.0038	0.0011	71		
	4	0.0009	0.0003	67			0.0037	0.0008	78		
90	1	0.0015	0.0002	87	73	12	0.0031	0.0007	77	75	7
	2	0.0014	0.0003	79			0.0027	0.0008	70		
	3	0.0005	0.0002	60			0.0036	0.0011	69		
	4	0.0019	0.0006	68			0.0026	0.0004	85		
120	1	0.0016	0.0004	75	80	5	0.0027	0.0004	85	83	7
	2	0.0013	0.0003	77			0.0033	0.0004	88		
	3	0.0018	0.0003	83			0.0023	0.0003	87		
	4	0.0022	0.0003	86			0.0034	0.0009	74		
180	1	0.0010	0.0003	70	85	11	0.0031	0.0005	84	84	4
	2	0.0019	0.0003	84			0.0028	0.0003	89		
	3	0.0019	0.0002	89			0.0032	0.0005	84		
	4	0.0019	0.0001	95			0.0042	0.0009	79		
210	1	0.0019	0.0002	89	88	9	0.0040	0.0006	85	88	3
	2	0.0012	0.0002	83			0.0035	0.0003	91		
	3	0.0020	0.0004	80			0.0029	0.0004	86		
	4	0.0010	0.0000	100			0.0035	0.0004	89		

ตาราง ง.2 น้ำหนักของแผ่นเส้นใยเจลาติน ชนิด B ก่อนการย่อยสลายและหลังการย่อยสลาย

เวลา (นาที)	แผ่น ที่	DHT					DHT และการแช่สาร EDC ที่ละลายในน้ำ				
		น้ำหนักก่อน การย่อย สลาย	น้ำหนักหลัง การย่อย สลาย	% น้ำหนักที่ลดลง			น้ำหนักก่อน การย่อย สลาย	น้ำหนักหลัง การย่อย สลาย	% น้ำหนักที่ลดลง		
					เฉลี่ย	SD.				เฉลี่ย	SD.
15	1	0.0021	0.0012	43	44	11	0.0017	0.0011	35	36	8
	2	0.0021	0.0011	48			0.0013	0.0008	38		
	3	0.0013	0.0009	31			0.0015	0.0011	27		
	4	0.0048	0.0021	56			0.0011	0.0006	45		
30	1	0.0040	0.0008	80	75	6	0.0009	0.0004	56	50	10
	2	0.0017	0.0005	71			0.0013	0.0005	62		
	3	0.0024	0.0007	71			0.0009	0.0005	44		
	4	0.0036	0.0007	81			0.0013	0.0008	38		
45	1	0.0028	0.0007	75	80	8	0.0012	0.0004	67	54	16
	2	0.0030	0.0008	73			0.0006	0.0003	50		
	3	0.0020	0.0002	90			0.0009	0.0003	67		
	4	0.0033	0.0006	82			0.0009	0.0006	33		
60	1	0.0027	0.0001	96	87	12	0.0005	0.0002	60	53	6
	2	0.0030	0.0004	87			0.0011	0.0006	45		
	3	0.0020	0.0006	70			0.0010	0.0005	50		
	4	0.0038	0.0002	95			0.0009	0.0004	56		
90	1	0.0056	0.0003	95	85	11	0.0011	0.0002	82	78	9
	2	0.0038	0.0004	89			0.0014	0.0004	71		
	3	0.0024	0.0003	88			0.0009	0.0001	89		
	4	0.0040	0.0012	70			0.0007	0.0002	71		
120	1	0.0038	0.0014	63	84	15	0.0011	0.0004	64	77	31
	2	0.0038	0.0006	84			0.0005	-0.0001	120		
	3	0.0023	0.0000	100			0.0042	0.0022	48		
	4	0.0046	0.0006	87			0.0008	0.0002	75		
180	1	0.0021	0.0002	90	87	3	0.0016	0.0003	81	77	18
	2	0.0026	0.0004	85			0.0009	0.0004	56		
	3	0.0026	0.0004	85			0.0011	0.0003	73		
	4	0.0016	0.0002	88			0.0021	0.0000	100		
210	1	0.0019	0.0002	89	91	5	0.0006	0.0001	83	80	9
	2	0.0039	0.0006	85			0.0028	0.0004	86		
	3	0.0056	0.0004	93			0.0007	0.0001	86		
	4	0.0068	0.0002	97			0.0009	0.0003	67		

เวลา (นาที)	แผ่น ที่	DHT และการแพร่สาร EDC ที่ละลายในเอทานอล					DHT และการฟั่นละของก่อนการแพร่สาร EDC ที่ละลายในน้ำ				
		น้ำหนักก่อน การย่อย สลาย	น้ำหนักหลัง การย่อย สลาย	%น้ำหนักที่ลดลง			น้ำหนักก่อน การย่อย สลาย	น้ำหนักหลัง การย่อย สลาย	%น้ำหนักที่ลดลง		
					เฉลี่ย	SD.				เฉลี่ย	SD.
15	1	0.0008	0.0004	50	34	11	0.0024	0.0015	37	27	15
	2	0.0012	0.0009	25			0.0012	0.0007	42		
	3	0.0007	0.0005	29			0.0036	0.0030	17		
	4	0.0018	0.0012	33			0.0008	0.0007	12		
30	1	0.0014	0.0006	57	48	11	0.0004	0.0002	50	49	14
	2	0.0016	0.0009	44			0.0012	0.0007	42		
	3	0.0014	0.0009	36			0.0016	0.0005	69		
	4	0.0007	0.0003	57			0.0008	0.0005	37		
45	1	0.0007	-0.0001	114	51	8	0.0016	0.0008	50	55	17
	2	0.0016	0.0009	44			0.0010	0.0003	70		
	3	0.0010	0.0004	60			0.0015	0.0005	67		
	4	0.0008	0.0004	50			0.0015	0.0010	33		
60	1	0.0012	0.0008	33	56	21	0.0017	0.0003	82	68	13
	2	0.0010	0.0002	80			0.0011	0.0004	64		
	3	0.0006	0.0002	67			0.0017	0.0008	53		
	4	0.0011	0.0006	45			0.0004	0.0001	75		
90	1	0.0017	0.0004	76	59	23	0.0017	0.0007	59	62	7
	2	0.0017	0.0010	41			0.0028	0.0013	54		
	3	0.0008	0.0005	37			0.0016	0.0005	69		
	4	0.0010	0.0002	80			0.0015	0.0005	67		
120	1	0.0014	0.0009	36	65	33	0.0012	0.0002	83	72	9
	2	0.0027	0.0017	37			0.0015	0.0004	73		
	3	0.0015	0.0001	93			0.0017	0.0005	71		
	4	0.0016	0.0001	94			0.0021	0.0008	62		
180	1	-0.0065	0.0002	103	76	19	0.0008	0.0003	63	68	5
	2	0.0010	0.0003	70			0.0011	0.0003	73		
	3	0.0010	0.0004	60			0.0017	0.0005	71		
	4	0.0017	0.0005	71			0.0014	0.0005	64		
210	1	0.0011	0.0003	73	72	3	0.0015	0.0004	73	75	7
	2	0.0019	0.0006	68			0.0018	0.0003	83		
	3	0.0012	0.0003	75			0.0012	0.0004	67		
	4	0.0011	0.0003	73			0.0017	0.0004	76		

เวลา (นาที)	แผ่น ที่	DHT และการปนละของก่อนการแช่สาร EDC ที่ละลายในเอทานอล					DHT และการอบไอ GA				
		น้ำหนักก่อน การย่อย สลาย	น้ำหนักหลัง การย่อย สลาย	%น้ำหนักที่ลดลง			น้ำหนักก่อน การย่อย สลาย	น้ำหนักหลัง การย่อย สลาย	%น้ำหนักที่ลดลง		
					เฉลี่ย	SD.				เฉลี่ย	SD.
15	1	0.0007	0.0008	-14	39	5	0.0034	0.0025	26	29	7
	2	0.0006	0.0004	33			0.0019	0.0015	21		
	3	0.0007	0.0004	43			0.0021	0.0013	38		
	4	0.0010	0.0006	40			0.0010	0.0007	30		
30	1	0.0007	0.0003	57	44	9	0.0012	0.0006	50	35	19
	2	0.0005	0.0003	40			0.0012	0.0006	50		
	3	0.0009	0.0005	44			0.0009	0.0008	11		
	4	0.0020	0.0013	35			0.0011	0.0008	27		
45	1	0.0006	0.0003	50	50	15	0.0008	0.0003	63	54	6
	2	0.0008	0.0003	63			0.0004	0.0002	50		
	3	0.0007	0.0005	29			0.0015	0.0007	53		
	4	0.0010	0.0004	60			0.0008	0.0004	50		
60	1	0.0010	0.0005	50	58	15	0.0009	0.0005	44	58	17
	2	0.0017	0.0010	41			0.0028	0.0005	82		
	3	0.0010	0.0003	70			0.0008	0.0004	50		
	4	0.0007	0.0002	71			0.0009	0.0004	56		
90	1	0.0007	0.0003	57	65	32	0.0009	0.0004	56	56	8
	2	0.0014	0.0003	79			0.0006	0.0003	50		
	3	0.0006	0.0000	100			0.0006	0.0002	67		
	4	0.0004	0.0003	25			0.0004	0.0002	50		
120	1	0.0011	0.0004	64	65	15	0.0009	0.0004	56	62	16
	2	0.0008	0.0004	50			0.0012	0.0005	58		
	3	0.0022	0.0009	59			0.0007	0.0001	86		
	4	0.0007	0.0001	86			0.0014	0.0007	50		
180	1	0.0007	0.0004	43	76	23	0.0029	0.0015	48	81	26
	2	0.0009	0.0001	89			0.0011	0.0003	73		
	3	0.0005	0.0001	80			0.0015	0.0001	93		
	4	0.0013	0.0001	92			0.0012	-0.0001	108		
210	1	0.0009	0.0002	78	74	12	0.0010	0.0003	70	83	16
	2	0.0009	0.0004	56			0.0004	0.0000	100		
	3	0.0012	0.0002	83			0.0009	0.0002	78		
	4	0.0014	0.0003	79			0.0014				



## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวหทัยรัตน์ จีระธวัชชัย เกิดที่จังหวัดสมุทรสาคร ในวันที่ 19 กันยายน 2526 จบการศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายในปี พ.ศ.2545 จากโรงเรียนสตรีวิทยา สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปีการศึกษา พ.ศ.2548 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต เมื่อปีการศึกษา 2549 สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลงานวิจัยที่มีการเผยแพร่

- หทัยรัตน์ จีระธวัชชัย ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล และ รัฐพล รังกุพันธุ์, การศึกษาเบื้องต้นของการเตรียมเส้นใยเจลาติน Type A ด้วยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง, การประชุมวิชาการวิศวกรรมชีวการแพทย์แห่งชาติ ครั้งที่ 5, วันที่ 8 กรกฎาคม พ.ศ. 2550, กรุงเทพมหานคร, หน้า 187-191.

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย