

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Bacillus subtilis* BBK-1 และการเตรียมแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปิน  
ด้านแบคทีเรีย



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาจุลชีววิทยาและเทคโนโลยีจุลินทรีย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2559  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

BIOSURFACTANT PRODUCTION FROM *Bacillus subtilis* BBK-1 AND PREPARATION OF  
ANTIBACTERIAL ELECTROSPUN FIBERS

Miss Tipnipa Yoochang



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Microbiology and Microbial Technology

Department of Microbiology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก <i>Bacillus subtilis</i> BBK-1 และการเตรียมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ด้านแคโทดที่เรีย
โดย	นางสาวทิพนิภา อยู่แฉ่ง
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาและเทคโนโลยีจุลินทรีย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. จิรรัตน์ อนันตกุล

---

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(รองศาสตราจารย์ ดร. จิรรัตน์ อนันตกุล)

.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จันทร์ประทีป นภาธร)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สาโรจน์ ศิริสันสนียกุล)

ทิพนิก้า อยู่แฉ่ง : การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Bacillus subtilis* BBK-1 และการเตรียมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นด้าแนคที่เรีย (BIOSURFACTANT PRODUCTION FROM *Bacillus subtilis* BBK-1 AND PREPARATION OF ANTIBACTERIAL ELECTROSPUN FIBERS) อ.ที่ปริกาษาวิทยาลัยนัพนธ์หลัก: รศ. จิราภรณ์ ธนียวัน, อ.ที่ปริกาษาวิทยาลัยนัพนธ์ร่วม: รศ. ดร. จิรารัตน์ อนันตกุล, 156 หน้า.

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *B. subtilis* BBK-1 ในอาหารเหลวปรับปรุงสูตรที่ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคส 60 กรัม แอมโมเนียมไนเตรด 2 กรัม สารสกัดจากยีสต์ 5 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.5 กรัม ไอร์ออนซัลเฟต 0.15 กรัม โซเดียมคลอไรด์ 5 กรัม ในอาหารเหลว 1 ลิตร ความเป็นกรดเบสเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 7.5 ในการเพาะเลี้ยงระดับขวดเขย่า ควบคุมอุณหภูมิการเพาะเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.40 กรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจึงได้ขยายระดับการผลิตเป็นระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ พบว่า ภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงเชื้อ คือ ควบคุมอุณหภูมิเลี้ยงเชื้อ 30 องศาเซลเซียส อัตราเร็วใบกวน 300 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm เป็นเวลา 3 วัน ให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ 4.55 กรัมต่อลิตร มีค่าประสิทธิภาพการผลิต ( $Q_p$ ) และผลผลิตที่ได้ต่อหน่วยเซลล์ ( $Y_{p/X}$ ) เท่ากับ 0.0632 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 0.5522 กรัมต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ให้ปริมาณผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมากกว่าในระดับขวดเขย่าถึง 11.41 เท่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าความเข้มข้นวิกฤตการเกิดไมเซลล์เท่ากับ 439.88 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าแรงตึงผิวต่ำสุดเท่ากับ 39.03 มิลลินิวตันต่อเมตร และมีสมบัติต้านจุลินทรีย์ทั้ง แบคทีเรีย และรา เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้ในการเตรียมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นด้าแนคที่เรีย พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เติมลงไปมีผลต่อความหนืด ความนำไฟฟ้า พิเอซ และค่าแรงตึงผิวของสารละลายพอลิเมอร์เจลาตินที่ใช้ขึ้นรูปเส้นใย ทำให้เส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นด้าแนคที่เรียผลิตได้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กลง เมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นด้าแนคที่เรียไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยไอกลูตาแรดดิไฮด์เป็นเวลา 10 และ 30 นาที พบว่าช่วยทำให้เส้นใยมีความแข็งแรงขึ้น และช่วยทำให้แผ่นเส้นใยมีเปอร์เซ็นต์การบวมพองและน้ำหนักที่หายไปของแผ่นเส้นใยลดลง นอกจากนี้ ยังพบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นด้าแนคที่เรียที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สามารถช่วยลดอัตราการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 6538P ได้ดีกว่าแผ่นแปะสิ่วทางการค้า

ภาควิชา	จุลชีววิทยา	ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาและเทคโนโลยีจุลินทรีย์	ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกาษาหลัก .....
ปีการศึกษา	2559	ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกาษาร่วม .....

# # 5671970323 : MAJOR MICROBIOLOGY AND MICROBIAL TECHNOLOGY

KEYWORDS: BIOSURFACTANT / BACILLUS SUBTILIS / ELECTROSPUN FIBERS

TIPNIPA YOOCHANG: BIOSURFACTANT PRODUCTION FROM *Bacillus subtilis* BBK-1 AND PREPARATION OF ANTIBACTERIAL ELECTROSPUN FIBERS. ADVISOR: ASSOC. PROF. JIRAPORN THANİYAVARN, CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. JIRARAT ANUNTAGOOL, Ph.D., 156 pp.

Biosurfactant from *B. subtilis* BBK-1 was produced upon cultivating in modified medium which consisted of 60 g glucose, 2 g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 5 g yeast extract, 0.5 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.15 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  and 5 g NaCl in 1 litre of medium (pH 7.5). The cultivation flask was shaken at 30°C and 200 rpm. After 3 days of cultivation, the highest crude biosurfactant was produced at 0.40 g/L. To improve biosurfactant yield and productivity, the biosurfactant production was scaled up to 5-L bioreactor. The optimum condition was found at 30°C, 300 rpm agitation and 1.5 vvm aeration rate for 3 days. This condition resulted in the biosurfactant concentration ( $P$ ), productivity ( $Q_p$ ) and yield ( $Y_{p/x}$ ) of 4.55 g/L, 0.0632 g-P/L/h and 0.5522 g-P/g-X, respectively. The amount of biosurfactant produced after scaling up increased by 11.4-fold. The obtained biosurfactant showed a critical micelle concentration value of 439.88 mg/L at the surface tension of 39.03 mN/m. In addition, it showed potent antimicrobial property against bacteria and fungi. For preparation of antibacterial electrospun fibers, addition of biosurfactant into electrospun polymer solution had effect on viscosity, conductivity, pH and surface tension of solution. The presence of biosurfactant resulted in a decrease in diameter of electrospun fiber. Crosslinking of electrospun fiber by saturated glutaraldehyde for 10 and 30 minutes could improve mechanical properties, decrease degree of swelling and percentage of weight loss of the fiber mat. Furthermore, the biosurfactant-loaded electrospun fiber showed antibacterial activity against *S. aureus* ATCC 6538P that was better than commercialized acne dressing.

Department: Microbiology Student's Signature .....

Field of Study: Microbiology and Microbial Technology Advisor's Signature .....

Co-Advisor's Signature .....

Academic Year: 2016

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์จิราภรณ์ ธนียวัน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. จิรารัตน์ อนันตกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ซึ่งได้ให้ความรู้ ความเมตตา คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ในการทำวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขต้นฉบับวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการในการสอบ ตลอดจนให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ รวมทั้งช่วยปรับปรุงและแก้ไขเล่มวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จันทร์ประทีป นภاطر และรองศาสตราจารย์ ดร. สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล ที่กรุณารับเป็นกรรมการในการสอบตลอดจนให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ และช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2559 ภายใต้โครงการวิจัยเรื่อง การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Bacillus subtilis* BBK-1 เพื่อเตรียมเป็นเส้นใยนาโนด้านจุลินทรีย์

ขอขอบขอบคุณเจ้าหน้าที่บนภาควิชาจุลชีววิทยา และ คุณ รุ่งนภา อ่อนชู เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการประกันคุณภาพอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร สำหรับการช่วยเหลือและคำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัย

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ทุกคนในภาควิชาจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งห้องปฏิบัติการ 1804/14 ตึกมหาวชิรุณหิศ สำหรับการช่วยเหลือ กำลังใจ และความหวังดีที่มีให้เสมอมา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านของบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้ช่วยอำนวยความสะดวกต่างๆ

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา พี่สาว ที่ให้การสนับสนุน ช่วยเหลือ รวมถึงให้กำลังใจเป็นอย่างดีในทุกๆ ด้านแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษาไปได้ด้วยดี

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญภาพ .....	ฑ
สารบัญตาราง.....	ถ
บทที่ 1 บทนำ .....	1
1.1 ประวัติความเป็นมา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย .....	4
1.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน .....	5
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2 ปรีทศน์วรรณกรรม .....	6
2.1 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ .....	6
2.2 สมบัติสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	8
2.2.1 แรงตึงผิว (surface tension) และ แรงตึงระหว่างผิวที่ประจัน (interfacial tension).....	8
2.2.2 ค่ากระจายน้ำมัน (oil displacement).....	8
2.2.3 ค่าความเข้มข้นวิกฤตในการเกิดไมเซลล์ (critical micelle concentration, CMC) ...	9
2.2.4 การก่ออิมัลชัน (Emulsification).....	10
2.2.5 ค่าเฮลลอปี่ (hydrophilic-lipophilic balance) .....	11
2.3 ข้อดีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	12
2.3.1 ย่อยสลายทางชีวภาพได้ .....	12

2.3.2 มีประสิทธิภาพที่ดีแม้อยู่ในสภาวะ อุณหภูมิ พีเอช และปริมาณไอออนเกลือที่ไม่เหมาะสม .....	12
2.3.3 มีโครงสร้างหลากหลาย.....	12
2.3.4 มีความเป็นพิษต่ำ.....	13
2.3.5 สามารถก่อกอิมัลชันได้ดี .....	13
2.4 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์และไลโปโปรตีน.....	15
2.4.1 กลุ่มของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์ .....	15
2.4.1.1 เซอร์แฟกทิน .....	15
2.4.1.2 อีทูริน .....	16
2.4.1.3 เฟนจีซิน .....	16
2.4.1.4 เคอร์สเตคินส์.....	17
2.4.2 วิธีสังเคราะห์สารในกลุ่มไลโปเพปไทด์ .....	18
2.4.3 สมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์.....	20
2.4.3.1 ด้านการเจริญของแบคทีเรีย รา.....	20
2.4.3.2 ด้านไวรัส.....	20
2.4.3.3 ด้านการอักเสบ.....	21
2.4.3.4 ยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม .....	21
2.4.3.5 ต้านมะเร็ง .....	22
2.4.3.6 กำจัดตัวอ่อนยุง.....	22
2.4.4 กลไกการยับยั้งเชื้อของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์ .....	23
2.4.5 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์ .....	24
2.4.5.1 ด้านการแพทย์.....	24
2.4.5.2 ด้านอาหาร.....	24



2.4.5.3 ด้านสิ่งแวดล้อม.....	25
2.4.5.4 ด้านนาโนเทคโนโลยี.....	25
2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มไลโปเพปไทด์ .....	27
2.5.1 แหล่งคาร์บอน .....	27
2.5.2 แหล่งไนโตรเจน .....	27
2.5.3 แหล่งแร่ธาตุและวิตามิน .....	28
2.5.4 อุณหภูมิและพีเอช .....	28
2.5.5 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ .....	29
2.6 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มไลโปเพปไทด์ในระดับขยายส่วน .....	30
2.7 เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง .....	32
2.7.1 หลักการของเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง.....	32
2.7.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเส้นใยอิเล็กโทรสปิน .....	33
2.7.2.1 ปัจจัยเรื่องของการละลายพอลิเมอร์.....	33
2.7.2.1.1 ความหนืด.....	33
2.7.2.1.2 ความนำไฟฟ้า.....	34
2.7.2.1.3 ค่าแรงตึงผิว .....	34
2.7.2.2 ปัจจัยด้านกระบวนการ .....	35
2.7.2.2.1 ความต่างศักย์ไฟฟ้า .....	35
2.7.2.2.2 ระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดยาและฉากรับเส้นใย .....	35
2.7.2.2.3 อัตราการป้อนสารละลาย.....	36
2.7.2.3 ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม .....	36
2.8 การประยุกต์ใช้เส้นใยอิเล็กโทรสปิน .....	38
2.8.1 ด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ.....	38

2.8.2 เครื่องสำอาง.....	39
2.8.3 ระบบนำส่งยา.....	39
2.8.4 เทคโนโลยีการกรอง.....	40
2.8.5 เซ็นเซอร์ตรวจวัดทางชีวภาพ.....	40
2.8.6 การประดิษฐ์ชุดป้องกัน.....	41
2.8.7 เทคโนโลยีด้านพลังงาน.....	41
2.8.8 การตรึงเอนไซม์.....	41
2.8.9 เมมเบรนที่มีความจำเพาะสูง.....	42
2.8.10 วัสดุปิดแผล.....	43
2.9 การขึ้นรูปเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์.....	44
2.9.1 เจลาติน.....	44
2.9.2 การเชื่อมขวางเส้นใย.....	45
บทที่ 3 วิธีการทดลอง.....	47
3.1 อุปกรณ์.....	47
3.2 เคมีภัณฑ์.....	48
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง.....	49
3.3.1 ผลิตสารลดแรงตึงผิวจาก <i>B. subtilis</i> BBK-1 ในระดับขวดเขย่า.....	49
3.3.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ.....	49
3.3.1.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร.....	49
3.3.1.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	49
3.3.1.4 การสกัดแยกหาปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้.....	50
3.3.2 ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก <i>B. subtilis</i> BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดย กระบวนการหมักแบบแบตช์.....	50

3.3.2.1 การเตรียมหัวเชื้อ .....	50
3.3.2.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	50
3.3.3 คำนวณค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ .....	51
3.3.4 การแยกและวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครโมโทกราฟี (High Performance Liquid Chromatography, HPLC).....	51
3.3.5 หาค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ .....	52
3.3.6 ทดสอบสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ในการต้านจุลินทรีย์ .....	52
3.3.6.1 ทดสอบการต้านจุลินทรีย์โดยวิธี agar well diffusion.....	53
3.3.6.2 หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) .....	54
3.3.6.3 หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการฆ่าแบคทีเรีย (MBC).....	54
3.3.7 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์บนด้านแบคทีเรีย .....	54
3.3.7.1 เตรียมสารละลายเจลาตินร่วมกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ .....	54
3.3.7.2 ศึกษาสมบัติของสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	55
3.3.7.3 ผลิตเส้นใยโดยใช้เทคนิคอิเล็กทรอนิกส์บนนิ่ง.....	55
3.3.7.4 การนำแผ่นอิเล็กทรอนิกส์บนทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางเส้นใย.....	55
3.3.7.6 ทดสอบความต้านทานแรงดึง (tensile strength) และเปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาด (elongation at break) .....	56
3.3.7.7 ทดสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะของแผ่นเส้นใยหลังจากสัมผัสน้ำ .....	56
3.3.7.8 สมบัติการต้านแบคทีเรียของแผ่นเส้นใย .....	57
บทที่ 4 ผลการทดลอง .....	58
4.1 ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก <i>B. subtilis</i> BBK-1 ในระดับขวดเขย่า.....	58

4.2	ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก <i>B. subtilis</i> BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดย กระบวนการหมักแบบแบตช์.....	61
4.3	คำนวณค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์.....	65
4.4	การแยกและวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครโมโท กราฟี.....	66
4.5	หาค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	69
4.6	ทดสอบสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ในการต้านจุลินทรีย์.....	70
4.7	การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ทอสปันด้านแบคทีเรีย.....	74
4.7.1	สมบัติของสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	74
4.7.2	รูปร่างและขนาดเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM).....	76
4.7.3	ความหนา ความต้านทานแรงตึง (tensile strength) และเปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุด ขาด (% elongation at break) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ทอสปัน.....	80
4.7.4	การเปลี่ยนแปลงลักษณะของแผ่นเส้นใยหลังจากสัมผัสน้ำ.....	83
4.7.5	สมบัติการต้านแบคทีเรียของแผ่นเส้นใย.....	87
บทที่ 5	สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	91
	รายการอ้างอิง.....	101
	ภาคผนวก.....	119
	ภาคผนวก ก สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	120
	ภาคผนวก ข สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	121
	ภาคผนวก ค หลักการการวัดค่าแรงตึงผิวด้วยวิธี Du Nouy Ring.....	122
	ภาคผนวก ง ถังหมักที่ใช้ในการทดลอง.....	125
	ภาคผนวก จ กราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์.....	129
	ภาคผนวก ฉ การเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แบคทีเรียต่างๆ.....	130
	ภาคผนวก ช ผลของการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อการผลิตเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ทอสปัน.....	148

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ ..... 156



## สารบัญญภาพ

รูปที่ 2.1 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว.....	6
รูปที่ 2.2 การจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวในวัฏภาคต่าง ๆ A. น้ำและอากาศ B. น้ำและน้ำมัน C. น้ำมันและอากาศ .....	7
รูปที่ 2.3 การจัดเรียงตัวของไมเซลล์รูปแบบต่างๆ .....	7
รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะการกระจายน้ำมันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก <i>Pseudomonas</i> sp.(EM19) .....	9
รูปที่ 2.5 การเกิดโครงสร้างไมเซลล์ในน้ำเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจนถึงค่า CMC .....	10
รูปที่ 2.6 แสดงลักษณะการที่สารลดแรงตึงผิวไปช่วยเพิ่มความตัวของอิมัลชัน.....	11
รูปที่ 2.7 ลักษณะโครงสร้างของเซอร์แฟกทีน.....	15
รูปที่ 2.8 โครงสร้างของอิทูริน.....	16
รูปที่ 2.9 โครงสร้างของ เฟนจีซิน เอ.....	17
รูปที่ 2.10 โครงสร้างของ เคอร์สตาคินส์.....	17
รูปที่ 2.11 ลักษณะของ NRPS โมดูล ของระบบการสังเคราะห์เซอร์แฟกทีน .....	19
รูปที่ 2.12 วิธีการสังเคราะห์เซอร์แฟกทีน.....	19
รูปที่ 2.13 กลไกการยับยั้งเชื้อโดยสารในกลุ่มไลโปเปปไทด์.....	23
รูปที่ 2.14 แสดงส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์โทรสปินนิ่ง .....	33
รูปที่ 2.15 แสดงลักษณะโครงสร้างปฐภูมิของเจลลาติน.....	45
รูปที่ 4.1 รูปแบบของการเจริญของเชื้อและประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ <i>B. subtilis</i> BBK-1 ในอาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีแหล่งคาร์บอนกลูโคส 6 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมคลอไรด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ .....	60
รูปที่ 4.2 ลักษณะของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้จาก <i>B. subtilis</i> BBK-1 เป็นของเหลวหนืด สีเหลืองถึงน้ำตาลเข้ม .....	60

<b>รูปที่ 4.3</b> แสดงอิทธิพลของอัตราการให้อากาศและอัตราการกวนต่อ ก) น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (กรัมต่อลิตร) ค) ประสิทธิภาพการผลิต (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) .....	62
<b>รูปที่ 4.4</b> ลักษณะของโฟมที่เกิดขึ้นระหว่างในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก <i>B. subtilis</i> BBK -1 .....	63
<b>รูปที่ 4.5</b> รูปแบบของการเจริญและประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ <i>B.subtilis</i> BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรแบบแบตช์ ที่ภาวะควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราให้อากาศ 1.5 vvm และ อัตราการกวน 300 rpm .....	64
<b>รูปที่ 4.6</b> แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก <i>B. subtilis</i> BBK-1 ที่ช่วงเวลาต่างๆ .....	66
<b>รูปที่ 4.7</b> ความเข้มข้นวิกฤตของการไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก <i>B. subtilis</i> BBK-1... ..	69
<b>รูปที่ 4.8</b> แสดงค่า pH ของสารละลายเจลาติน (GE) และ สารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) .....	75
<b>รูปที่ 4.9</b> แสดงค่าความนำไฟฟ้าของสารละลายเจลาติน (GE) และ สารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร).....	75
<b>รูปที่ 4.10</b> แสดงค่าความหนืดของสารละลายเจลาติน (GE) และ สารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) .....	75
<b>รูปที่ 4.11</b> แสดงค่าแรงตึงผิวของสารละลายเจลาติน (GE) และ สารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร).....	76
<b>รูปที่ 4.12</b> แสดงขนาดเส้นใยของเส้นใยอิเล็กโทรสปินที่ทำจากสารละลายเจลาตินและ สารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการสปินเป็นเวลา 5 นาที และผ่านการเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตารัลดีไฮด์ที่ระยะเวลา 10 และ 30 นาที.....	77
<b>รูปที่ 4.13</b> แสดงภาพภายใต้กล้อง SEM ของเส้นใยอิเล็กโทรสปินจากเจลาติน (ก) เส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (ข) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที (ค) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที (ภาพ ก-ค กำลังขยาย 5000x).....	78

<b>รูปที่ 4.14</b> แสดงภาพภายใต้กล้อง SEM ของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นจากเจลาตินผสมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 12.5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ก) เส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (ข) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที (ค) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที (ภาพ ก-ค กำลังขยาย 5000x).....	78
<b>รูปที่ 4.15</b> แสดงภาพภายใต้กล้อง SEM ของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นจากเจลาตินผสมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ก) เส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (ข) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที (ค) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที (ภาพ ก-ค กำลังขยาย 5000x).....	78
<b>รูปที่ 4.16</b> แสดงภาพภายใต้กล้อง SEM ของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นจากเจลาตินผสมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 50 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ก) เส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (ข) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที (ค) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที (ภาพ ก-ค กำลังขยาย 5000x).....	79
<b>รูปที่ 4.17</b> แสดงภาพภายใต้กล้อง SEM ของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นจากเจลาตินผสมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ก) เส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (ข) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที (ค) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที (ภาพ ก-ค กำลังขยาย 3000x).....	79
<b>รูปที่ 4.18</b> แสดงลักษณะแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่น (ก) แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาติน (ข) แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร).....	81
<b>รูปที่ 4.19</b> แสดงขนาดความหนาของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาติน (GE) และ แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ไม่ได้ผ่านการเชื่อมขวาง และผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ตามลำดับ.....	82
<b>รูปที่ 4.20</b> แสดงความต้านทานแรงดึง (Tensile strength) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาติน (GE) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ไม่ได้ผ่านการเชื่อมขวาง และผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ตามลำดับ.....	82
<b>รูปที่ 4.21</b> แสดงเปอร์เซ็นต์ยืดที่จุดขาด (% elongation) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาติน (GE) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ไม่ได้ผ่านการเชื่อมขวาง และผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ตามลำดับ.....	83



- รูปที่ 4.22** แสดงลักษณะแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินเมื่อสัมผัสน้ำ (ก) แผ่นอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางละลายทันทีเมื่อสัมผัสน้ำ (ข) แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวาง 10 และ 30 นาที ยังคงสภาพอยู่ได้หลังจากสัมผัสน้ำ..... 85
- รูปที่ 4.23** แสดงเปอร์เซ็นต์บวมพองของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาติน (GE) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที และแผ่นแปะสิวบริษัท 3M Nexcare ..... 85
- รูปที่ 4.24** แสดงเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาติน (GE) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที และแผ่นแปะสิวบริษัท 3M Nexcare ..... 86
- รูปที่ 4.25** เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P ในอาหารเหลว Mueller Hinton ที่มีการเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาติน (GE) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมและชุดทดสอบที่เติมเพียงสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอิสระความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง ..... 89
- รูปที่ 4.26** เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P ในอาหารเหลว Muller Hinton ที่มีการเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาติน (GE) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อมขวาง 10 และ 30 นาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุม และแผ่นแปะสิวบริษัท 3M Nexcare ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง ..... 90
- รูปที่ ค.1** ภาพแสดงขั้นตอนการวัดค่าแรงตึงผิวด้วยวิธี Du Nouy Ring..... 122
- รูปที่ ค.2** แสดงองค์ประกอบของเครื่องวัดค่าแรงตึงผิวรุ่น K6 บริษัท KRUSS ประเทศเยอรมัน.... 123
- รูปที่ ง.1** ถังหมักระดับห้องปฏิบัติการ ขนาด 5 ลิตร รุ่น WP-Winpact บริษัท กิ๊ปไทย, ประเทศไทย ..... 125
- รูปที่ จ.1** กราฟมาตรฐานแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 0-1 กรัมต่อลิตร..... 129



## สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 ช่วงค่า HLB ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและการนำไปประยุกต์ใช้.....	11
ตารางที่ 2.2 แสดงตัวอย่างผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ที่มีส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ .....	14
ตารางที่ 2.3 แสดงคุณสมบัติของไลโปเพปไทด์ที่นำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์.....	24
ตารางที่ 2.4 แสดงพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ใช้ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มไลโปเพปไทด์ในถังหมัก.....	31
ตารางที่ 2.5 สรุปผลของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อลักษณะของเส้นใย.....	37
ตารางที่ 4.1 ผลศึกษาการแปรผันแหล่งคาร์บอนและปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย <i>B.subtilis</i> BBK-1 ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ในขวดเขย่า .....	59
ตารางที่ 4.2 ผลศึกษาการแปรผันอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย <i>B. subtilis</i> BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรแบบแบตช์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน .....	62
ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบผลการคำนวณค่าพารามิเตอร์ของการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ <i>B. subtilis</i> BBK-1 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 วัน ในระดับขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 rpm และระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm อัตราการกวน 300 rpm .....	65
ตารางที่ 4.4 ค่าการกระจายน้ำมันและการต้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก <i>B. subtilis</i> BBK-1 ซึ่งผ่านการวิเคราะห์และทำให้บริสุทธิ์ด้วยเครื่อง HPLC .....	68
ตารางที่ 4.5 ผลศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก <i>B. subtilis</i> BBK-1 ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร .....	71
ตารางที่ 4.6 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (MIC) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก <i>B. subtilis</i> BBK-1.....	72
ตารางที่ 4.7 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อทดสอบ (MBC) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก <i>B. subtilis</i> BBK-1 .....	73



<b>ตารางที่ ข.1</b> แสดงสมบัติของสารละลายเจลาตินและสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75 (% น้ำหนักต่อปริมาตร) .....	148
<b>ตารางที่ ข.2</b> แสดงขนาดของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่ทำจากสารละลายเจลาตินและสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการส핀เป็นเวลา 5 นาที และผ่านการเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตารัลดีไฮด์ที่ระยะเวลา 10 และ 30 นาที.....	149
<b>ตารางที่ ข.3</b> แสดงขนาดความหนา ความต้านทานแรงดึง (tensile strength) และ เปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาด (% elongation) ของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการส핀เป็นเวลา 72 นาที และนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตารัลดีไฮด์ที่ระยะเวลา 10 และ 30 นาที .....	150
<b>ตารางที่ ข.4</b> แสดงเปอร์เซ็นต์บวมพองและเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปของแผ่นเส้นใยหลังจากสัมผัสน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการส핀เป็นเวลา 72 นาที และนำแผ่นเส้นใยไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตารัลดีไฮด์ที่ระยะเวลา 10 และ 30 นาที.....	151
<b>ตารางที่ ข.5</b> แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ <i>S.aureus</i> ATCC 6538P ที่เวลาต่างๆ เมื่อเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ .....	152
<b>ตารางที่ ข.6</b> แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ <i>S.aureus</i> ATCC 6538P ที่เวลาต่างๆ เมื่อเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และผ่านการเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตารัลดีไฮด์เป็นเวลา 10 และ 30 นาที ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	153
<b>ตารางที่ ข.7</b> แสดงจำนวนเชื้อ log cfu/ml ของ <i>S.aureus</i> ATCC 6538P ที่เวลาต่างๆ เมื่อเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ .....	154
<b>ตารางที่ ข.8</b> แสดงจำนวนเชื้อ log cfu/ml ของ <i>S.aureus</i> ATCC 6538P ที่เวลาต่างๆ เมื่อเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิว	

ชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อมขวางเวลาต่างๆ ลงใน อาหารเลี้ยงเชื้อ .....	155
--	-----



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ประวัติความเป็นมา

ปัจจุบันสารลดแรงตึงผิวมีบทบาทสำคัญในชีวิตประจำวันของมนุษย์ มีการใช้สารลดแรงตึงผิวอย่างมากมายทั้งในระดับครัวเรือนและอุตสาหกรรม คาดการณ์ว่าในปีค.ศ. 2018 จะมีการเติบโตของตลาดการผลิตสารลดแรงตึงผิวทั่วโลกและทำรายได้ถึง 2,210.5 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (Shekhar และคณะ, 2014) อย่างไรก็ตามการใช้สารลดแรงตึงผิวนั้นสามารถก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมได้ เพราะสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์นั้นย่อยสลายเองได้ยาก และก่อให้เกิดการตกค้างของสารในสิ่งแวดล้อม (Van Hamme และคณะ, 2006) การศึกษาสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน เพราะสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม รวมถึงมีโครงสร้างและบทบาทหน้าที่ที่หลากหลาย เช่น เป็นสารก่ออิมัลชัน สารทำให้เกิดฟอง สารชะล้าง สารช่วยทำให้เปียก สารช่วยเพิ่มการละลาย จึงทำให้มีการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้ในงานต่าง ๆ มากมาย เช่น การขุดเจาะน้ำมัน การบำบัดสิ่งแวดล้อม อุตสาหกรรมอาหารและยา ทำให้คาดหวังว่าในอนาคตจะมีการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาใช้ทดแทนสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ เพราะนอกจากจะมีคุณสมบัติดังที่กล่าวมาข้างต้น สารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังสามารถทนต่อภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิสูง ค่าความเป็นกรดเบสสูง และความเข้มข้นของเกลือสูงได้อีกด้วย (Cameotra และ Makkar, 2004; Mukherjee และคณะ, 2006; Dastgheib และคณะ, 2008)

ถึงแม้ว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะมีข้อดีต่างๆ มากมาย แต่การนำไปใช้ทดแทนสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ยังไม่เป็นที่นิยมเท่าที่ควร เนื่องจากกำลังการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังไม่ประสบความสำเร็จในระดับอุตสาหกรรม เพราะมีข้อจำกัดในเรื่องต้นทุนการผลิตที่สูงแต่ให้ผลผลิตที่ต่ำ ดังนั้นเพื่อพัฒนาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้ไปสู่ในระดับอุตสาหกรรมได้ จึงจำเป็นต้องมีวิธีการปรับปรุงกระบวนการผลิต ซึ่งวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายมี 3 วิธีได้แก่ 1) เลือกใช้สารตั้งต้นที่มีราคาถูก สิ่งที่เหลือใช้ทางการเกษตรหรือจากกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมที่ยังคงมีปริมาณสารอาหารที่เหมาะสมมาใช้เป็นแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อช่วยในการลดต้นทุนในกระบวนการผลิต 2) พัฒนาระบบการหมักให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น เช่น หาภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อตลอดจนกระบวนการสกัดแยกผลิตภัณฑ์จากน้ำหมัก เพื่อให้ได้ผลผลิตมากที่สุด 3) ปรับปรุงพัฒนาสายพันธุ์ที่ให้ประสิทธิภาพการผลิตมากขึ้น ซึ่งวิธีนี้สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตได้มากหลายเท่า อย่างไรก็ตาม

ตาม สองวิธีแรกได้รับความสนใจในการศึกษาเพื่อการปรับปรุงกระบวนการผลิตมากกว่า เนื่องจากให้ผลผลิตที่มีความเสถียรมากกว่า (Mukherjee และคณะ, 2006)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีหลายชนิดโดยแบ่งตามโครงสร้างทางเคมี (Muthusamy และคณะ, 2008) งานวิจัยนี้สนใจสารลดแรงตึงผิวในกลุ่มของไลโปเพปไทด์ เนื่องจากมีสมบัติโดดเด่นในการต้านจุลินทรีย์ ตัวอย่างสารลดแรงตึงผิวในกลุ่มนี้ได้แก่ เซอร์แฟกทีน อีทูริน เบซิลโลไมซิน เป็นต้น (Ines และ Dhouha, 2015) เซอร์แฟกทีนเป็นตัวอย่างของสารในกลุ่มไลโปเพปไทด์ที่มีการศึกษาเป็นอย่างมาก โดยเซอร์แฟกทีนนั้นได้มีการศึกษาครั้งแรกในปี ค.ศ. 1968 เกี่ยวกับคุณสมบัติในการยับยั้งการแข็งตัวของไฟบริน (Arima และคณะ, 1968) และมีการค้นพบคุณสมบัติอื่นของเซอร์แฟกทีนตามมาอีกมากมาย เช่น คุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ ต้านไวรัส ยับยั้งมะเร็ง ยับยั้งไมโคพลาสมา และสามารถลดคลอเรสเตอรอลได้ ซึ่งนำไปสู่การพัฒนาแนวทางใหม่ของผลิตภัณฑ์เทคโนโลยีชีวภาพทางการแพทย์ (Chen และคณะ, 2015) นอกจากนี้ไลโปเพปไทด์ ยังมีความสามารถในการชักนำกลไกการต้านทานโรคของพืช ช่วยลดการสร้างไบโอฟิล์มของกลุ่มแบคทีเรียบริเวณรากพืช นำไปสู่การวิจัยผลิตภัณฑ์ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช (Meena และ Kanwar, 2015) นอกจากนี้ยังมีการนำสารในกลุ่มไลโปเพปไทด์ไปประยุกต์ใช้กับอาหารอีกด้วย เช่น เป็นตัวอิมัลซิฟายเพื่อช่วยในการควบคุมการรวมกันของอนุภาคเม็ดไขมัน (fat globule) และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาในอุตสาหกรรมอาหารจำพวกเบเกอรี่ (Mandal และคณะ, 2013) เป็นสารก่อนานโอมัลซินต้านเชื้อก่อโรคในอาหาร (Joe และคณะ, 2012) เป็นต้น

*Bacillus subtilis* BBK-1 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คัดแยกโดย นิรันดร์ รุ่งสว่าง (2542) จากอาหารหมัก ตลาดสามย่าน จังหวัดกรุงเทพมหานคร สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในอาหารเหลว กำหนดสูตรที่ประกอบด้วยซูโครส 5 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมไนเตรต 2 กรัมต่อลิตร สารสกัดจากยีสต์ 5 กรัมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 30 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น 7.5 เมื่อทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบ/นาที สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่า  $CMC^{-1}$  เท่ากับ 40 และเมื่อทำการวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้พบว่า เป็นประเภทไลโปเพปไทด์ 3 ชนิด ได้แก่ เบซิลโลไมซินแอล ไพลพาสทาทิน และเซอร์แฟกทีน ต่อมาได้มีงานวิจัยเพิ่มเติมของ Roongsawang และคณะ (2002) ศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตสารไลโปเพปไทด์ทั้ง 3 ชนิด โดยแปรผันแหล่งคาร์บอนจาก ซูโครส เป็น กลูโคส กลีเซอรอล และ พาราฟิน พบว่า กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดในการผลิต เบซิลโลไมซินแอล ไพลพาสทาทิน และเซอร์แฟกทีน ซึ่งการใช้กลีเซอรอลจะมีผลทำให้การผลิตไลโปเพปไทด์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ วิโรจน์ รักเกียรติสกุล (2552) ได้ทดลองใช้เชื้อเดียวกันและเลี้ยงในอาหารเหลวแอลบีที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ การทดลองดังกล่าวให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.091 กรัมต่อลิตร ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์มุ่งเน้นในการเพิ่มผลผลิตของสารลดแรงตึง



ชีวภาพ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจหาค่าประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในระดับขวดเขย่าในขั้นแรก เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการปรับปรุงประสิทธิภาพและเพิ่มปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *B. subtilis* BBK-1 ในการระดับถังหมักขนาด 5 ลิตรต่อไป

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาเทคโนโลยีการสร้างแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เพื่อให้เส้นใยมีฟังก์ชันการใช้งานตามที่ต้องการกำลังได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากลักษณะที่พิเศษของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ คือ มีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตร (surface-to-volume ratio) ที่มาก และมีรูพรุนขนาดเล็ก ทำให้การส่งผ่านของเหลวหรือแก๊สดีขึ้น นอกจากนี้ ยังมีสมบัติเชิงกลที่เหนือกว่าวัสดุอื่น ในด้านความแข็งแรงและความยืดหยุ่น ทำให้มีการนำเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ไปประยุกต์ใช้ในงานต่าง ๆ มากมาย เช่น ใช้เป็นวัสดุควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากเครื่องสำอางเข้าสู่ผิว วิศวกรรมเนื้อเยื่อ อวัยวะเทียม วัสดุปิดแผล เป็นต้น (Bhardwaj และ Kundu, 2010) พอลิเมอร์ที่ใช้ในการผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ 1) พอลิเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น ไนลอน-6 พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 2) พอลิเมอร์ชีวภาพ เช่น ไคติน ไคโตซาน คอลลาเจน และเจลาติน พอลิเมอร์ชีวภาพมีข้อดีกว่าพอลิเมอร์สังเคราะห์ คือ สามารถย่อยสลายได้ มีความเป็นพิษต่ำ และมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Huang และคณะ, 2004; Ki และคณะ, 2005) โดยพอลิเมอร์ชีวภาพที่มักถูกนำมาใช้ในการผลิตเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ส่วนใหญ่คือ คอลลาเจน เจลาติน ไคโตซาน และ กรดไฮยาลูโรนิก เป็นสารตั้งต้น และอาจมีการเติมสารอื่นลงไป เช่น สารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ เพื่อให้เส้นใยมีฟังก์ชันการใช้งานตามที่ต้องการ (Bhattarai และคณะ, 2006; Rujitanaroj และคณะ, 2008)

เจลาตินเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่ถูกเลือกใช้ในการทำเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่มีงานวิจัยพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากมีสมบัติที่ดี มีความเป็นพิษต่ำ มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต สามารถย่อยสลายได้ในร่างกาย ทำให้มีการนำเจลาตินไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ เช่น อวัยวะเทียม วัสดุปิดแผล วัสดุระบบขนส่งยา เป็นต้น (Mano และคณะ, 2007) ซึ่งการผลิตเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากเจลาตินให้มีคุณภาพดีได้นั้น ต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ ร่วมกัน ทั้งปัจจัยของสมบัติสารละลาย ปัจจัยเชิงกระบวนการ และ ปัจจัยสิ่งแวดล้อม ยกตัวอย่างงานวิจัย Okutan และคณะ (2014) ที่ศึกษาผลของปัจจัยความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินที่เหมาะสมต่อการผลิตเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ พบว่า ความเข้มข้นของเจลาตินที่เหมาะสมในการเกิดเส้นใยที่มีคุณภาพดี มีความเรียบ กระจายตัวสม่ำเสมอ และไม่มีปดส์เกิดขึ้นกับเส้นใย คือ ความเข้มข้นเจลาตินที่ 22 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากเจลาติน โดยเติมสารออกฤทธิ์ต่างๆ ลงไป เพื่อให้เส้นใยมีฟังก์ชันการใช้งานตามที่ต้องการ เช่น การเติมสารสกัดที่ผลิตได้จากไดอะตอม *Phaeodactylum tricornutum* ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Kwak และคณะ, 2014) หรือ การเติมสารสกัดจากบัวบก (*Centella asiatica*) ที่สามารถรักษาแผลเปื่อย ลดการระคายเคืองผิว

เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ ในด้านวัสดุปิดแผล (wound dressing) (Sikareepaisan และคณะ, 2008) หรือการเติมโนซินซึ่งเป็นสารถนอมอาหาร เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในด้าน บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active packaging) (Dheraprasart และคณะ, 2009)ต้น

อย่างไรก็ตามการนำเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ไปประยุกต์ใช้ในงานต่างๆ ยังมีข้อจำกัด เนื่องจาก เส้นใยอิเล็กทรอนิกส์มีคุณสมบัติละลายน้ำได้และทนต่อแรงดึงได้ต่ำ จึงต้องมีการนำเส้นใยได้ไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางเส้นใย (crosslinking) ซึ่งสามารถทำได้ทั้งโดยวิธีทางกายภาพ และ วิธีทางเคมี อย่างไรก็ตาม วิธีทางกายภาพเช่น การดีไฮโดรเทอร์มอลทรีตเมนต์ (dehydrothermal treatment) การฉายรังสียูวี (UV-irradiation) จะให้ประสิทธิภาพไม่ดีเทียบเท่ากับวิธีทางเคมี ซึ่งสารเคมีที่นิยมนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางในการเชื่อมขวางเส้นใย ได้แก่ กลูตาราลดีไฮด์ เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูงในการทำให้เส้นใยคงตัว โดยเฉพาะเส้นใยจำพวกโปรตีนและ พอลิแซ็กคาไรด์ และเส้นใยที่ได้ยังทนต่อการละลายน้ำและมีสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้น (Zhang และคณะ, 2006) สอดคล้องกับการรายงาน Dheraprasart และคณะ (2009) ที่พบว่าเส้นใยเจลลาตินที่มีการเติมโนซินที่ผ่านปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยไอกลูตาราลดีไฮด์ เป็นเวลา 5 นาที ช่วยทำให้เส้นใยมีความคงตัว และมีสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการเชื่อมขวางเพียง 5 นาทีนั้นอาจไม่เพียงพอต่อการเชื่อมขวางเส้นใยทั้งแผ่นอย่างสมบูรณ์ และ Sikareepaisan และคณะ (2008) ได้ศึกษาสมบัติเชิงกลและการบวมตัวของเส้นใยที่ผ่านการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยไอกลูตาราลดีไฮด์ที่ระยะเวลาต่างๆ ผลการทดลองพบว่า เส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่ผ่านการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยไอกลูตาราลดีไฮด์ เป็นเวลาดังแต่ 30 นาที เป็นต้นไป ช่วยทำให้เส้นใยยังมีความคงตัว และทนต่อการละลายน้ำได้ดีขึ้น

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์ในการเพิ่มผลผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพจาก *B. subtilis* BBK-1 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ศึกษาสมบัติของสารลดแรงดึงผิวที่ผลิตได้เบื้องต้น และสนใจนำสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ไปประยุกต์ใช้ในการเตรียมเป็นแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่มีสมบัติต้านแบคทีเรีย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

ผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพจาก *B. subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ เพื่อเพิ่มผลผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพให้ได้ปริมาณมาก และนำมาประยุกต์ใช้ในการเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ต้านแบคทีเรีย

### 1.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน

- 1.3.1 ผลิตสารลดแรงตึงผิวจาก *B. subtilis* BBK-1 ในระดับขวดเขย่า
- 1.3.2 ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *B. subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยกระบวนการหมักแบบแบตช์
- 1.3.3 คำนวณค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์
- 1.3.4 การแยกและวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครโมโทกราฟี
- 1.3.5 หาค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ
- 1.3.6 ทดสอบสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ในการต้านจุลินทรีย์
- 1.3.7 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์บนด้านแบคทีเรีย

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

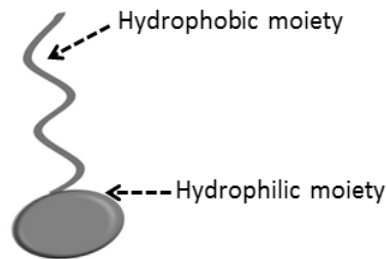
- 1.4.1 สามารถเพิ่มผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากระดับขวดเขย่าได้
- 1.4.2 ทราบปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อใช้ในการพัฒนาต่อไป
- 1.4.3 สามารถนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ไปประยุกต์ใช้ในการเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ต้านจุลินทรีย์ได้
- 1.4.4 ทราบอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวที่มีผลต่อเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์
- 1.4.5 เป็นประโยชน์ในการพัฒนากระบวนการเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์

## บทที่ 2

### ปรีทัศน์วรรณกรรม

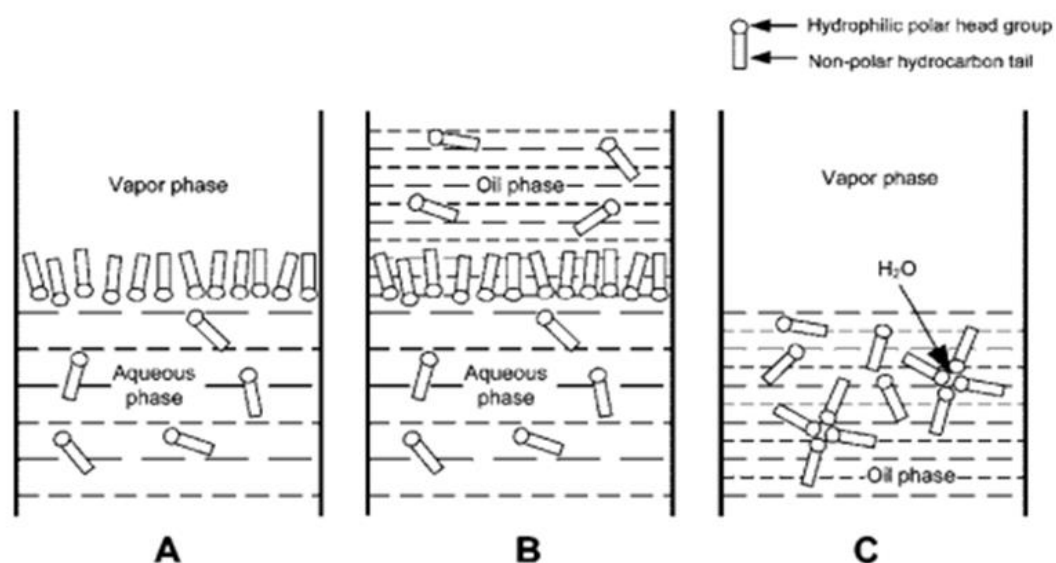
#### 2.1 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ คือ สารชีวโมเลกุลที่มีสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว (surface-active substance) สร้างจากสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะจุลินทรีย์ต่างๆ ทั้ง แบคทีเรีย รา และยีสต์ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ถูกผลิตจากจุลินทรีย์จะหลั่งออกมาออกเซลล์หรือเกาะบริเวณพื้นผิวของเซลล์ โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีลักษณะเป็นแอมฟิฟิลิก (amphiphilic molecules) คือ ประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic moiety) ส่วนใหญ่เป็นพวกโปรตีนและน้ำตาลที่มีหมู่คาร์บอกซิลิก หมู่ไฮดรอกซิล หมู่อะมิโน หมู่ฟอสเฟต เป็นต้น และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic moiety) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนหรือกรดไขมันทั้งกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (saturated fatty acid) และไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) เป็นต้น ซึ่งมีทั้งขนาดและโครงสร้างที่หลากหลายส่งผลให้มีประสิทธิภาพแตกต่างกัน (Marchant และ Banat, 2012) แสดงโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว ดังรูปที่ 2.1

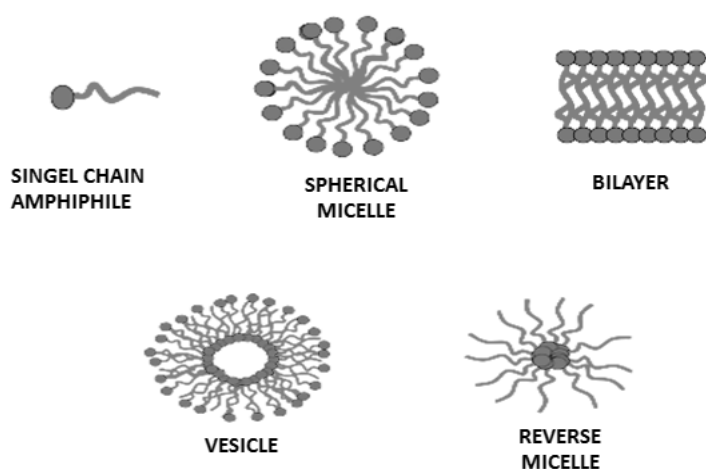


รูปที่ 2.1 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว (Santos และคณะ, 2016)

จากลักษณะโครงสร้างดังกล่าวทำให้โมเลกุลสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถสะสมบริเวณผิวสัมผัสระหว่างวัฏภาค (phase) สองชนิดได้ ทำให้มีสมบัติช่วยลดแรงระหว่างผิว (interfacial tension) ระหว่างของเหลวด้วยกันได้ และแรงตึงผิว (surface tension) ระหว่างของเหลวและอากาศ โดยหันโครงสร้างส่วนที่ชอบน้ำเข้าสู่โมเลกุลน้ำ และหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำออกเข้าสู่อากาศ (Muthusamy และคณะ, 2008) ดังรูปที่ 2.2 และที่ความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์จากโมเลกุลเดี่ยวๆ ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะเกิดการจัดเรียงตัวในรูปแบบต่าง ๆ โดยลักษณะการจัดเรียงตัวมีหลายรูปแบบ ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.2 การจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวในวัฏภาคต่าง ๆ A. น้ำและอากาศ B. น้ำและน้ำมัน C. น้ำมันและอากาศ ดัดแปลงจาก Chaiyasit และคณะ (2008)



รูปที่ 2.3 การจัดเรียงตัวของไมเซลล์รูปแบบต่างๆ (Nistico และคณะ, 2015)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีบทบาทสำคัญต่อด้านกายภาพของจุลินทรีย์ในธรรมชาติ กล่าวคือ สารลดแรงตึงผิวที่จุลินทรีย์ผลิตนั้นจะช่วยเพิ่มความสามารถในการนำโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำเข้าสู่เซลล์ (Das และคณะ, 2008) ช่วยในการเคลื่อนที่แบบกลุ่มของจุลินทรีย์ โดยสารลดแรงตึงผิวมีส่วนช่วยในกระบวนการทางด้านกายภาพของเซลล์ทั้งการส่งสัญญาณ และการเปลี่ยนแปลงสภาพของกลุ่มจุลินทรีย์

นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างไบโอฟิล์มในการยึดเกาะซึบสเตรต (Zhong และคณะ, 2007) และยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการอยู่รอดของเซลล์ในสิ่งแวดล้อมที่มีไอออนหนักต่าง ๆ (Maier และคณะ, 2001)

## 2.2 สมบัติสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

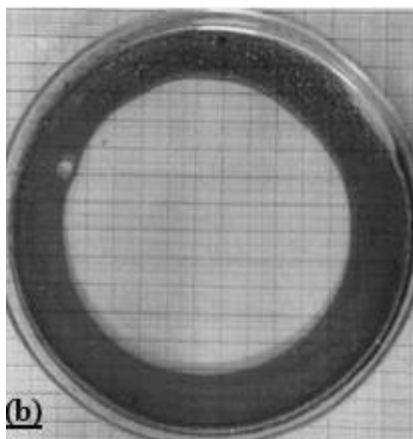
### 2.2.1 แรงตึงผิว (surface tension) และ แรงตึงระหว่างผิวที่ประจัน (interfacial tension)

แรงตึงผิว คือ แรงที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าของของเหลว แบ่งได้ 2 ชนิด คือ แรงตึงผิวระหว่างของเหลวกับอากาศ (surface tension) และ แรงระหว่างผิวประจันของของเหลว 2 ชนิด (interfacial tension) ซึ่งสารลดแรงตึงผิวมีส่วนช่วยลดแรงดังกล่าวได้ สามารถวัดแรงเหล่านี้ได้จากเครื่องมือ ที่เรียกว่า เทนซิโอมิเตอร์ (tensiometer) มีหน่วยเป็นมิลลินิวตันต่อเมตร หรือ ไดน์ต่อเซนติเมตร ค่าแรงตึงผิวของน้ำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีสมบัติที่ดีสามารถลดค่าแรงตึงผิวของน้ำจาก 72 ลงเหลือ 35 มิลลินิวตันต่อเมตร และแรงตึงระหว่างผิวที่ประจัน ระหว่าง น้ำและเฮกซะเดคเคน จาก 40 ลดลงเหลือ 1 มิลลินิวตันต่อเมตร (Mulligan, 2005) ค่าแรงตึงผิวจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว และจะมีค่าคงที่เมื่อถึงค่าความเข้มข้นหนึ่งๆ ที่เรียกว่า ค่าความเข้มข้นวิกฤตในการเกิดไมเซลล์ (critical micelle concentration) (Fracchia และคณะ, 2012) เซอร์แฟกทีนซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดหนึ่งจาก *B. subtilis* สามารถลดค่าแรงตึงผิวของน้ำลงเหลือ 25 มิลลินิวตันต่อเมตร และ แรงตึงระหว่างผิวที่ประจัน ระหว่าง น้ำและเฮกซะเดคเคน จาก 40 ลดลงเหลือน้อยกว่า 1 มิลลินิวตันต่อเมตร (Cooper และคณะ, 1981) แรมโนลิพิด จาก *P. aeruginosa* สามารถลดค่าแรงตึงผิวของน้ำลงเหลือ 26 มิลลินิวตันต่อเมตร และ แรงตึงระหว่างผิวที่ประจัน ระหว่าง น้ำและเฮกซะเดคเคน จาก 40 ลดลงเหลือน้อยกว่า 1 มิลลินิวตันต่อเมตร (Hisatsuka และคณะ, 1971) นอกจากนี้มีการรายงานว่ โซโฟโรลิพิดจาก *T. bombicola* สามารถลดค่าแรงตึงผิวของน้ำลงเหลือ 33 มิลลินิวตันต่อเมตร และ แรงตึงระหว่างผิวที่ประจัน ระหว่าง น้ำและเฮกซะเดคเคน จาก 40 ลดลงเหลือ 5 มิลลินิวตันต่อเมตร (Cavalero และ Cooper, 2003)

### 2.2.2 ค่ากระจายน้ำมัน (oil displacement)

การกระจายตัวในน้ำมันของสารลดแรงตึงผิวเป็นคุณสมบัติหนึ่งของสารลดแรงตึงผิวในการเปลี่ยนมุมสัมผัสระหว่างน้ำและน้ำมัน เป็นแรงที่ผิวหน้าของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการกระจายน้ำมันที่ลอยเป็นแผ่นฟิล์มอยู่บนผิวหน้าของน้ำให้เคลื่อนที่กระจายออกไป (Morikawa และคณะ, 1993) สามารถศึกษาคุณสมบัตินี้ของสารได้โดยการวัดการวัดขนาดของพื้นที่วงใส (clear zone) ที่เกิด

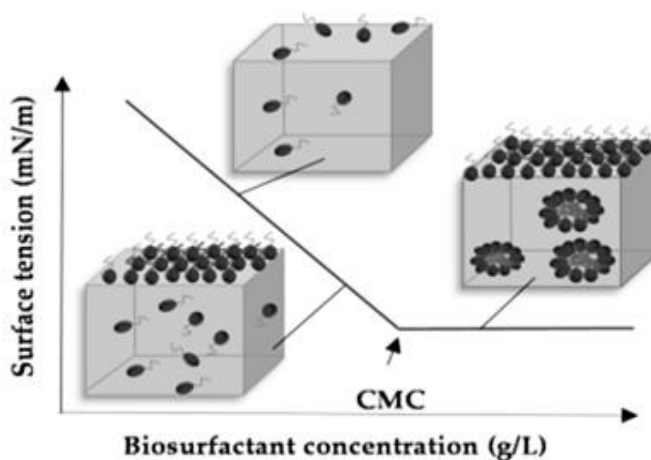
แทนที่แผ่นฟิล์มของน้ำมันที่ปกคลุมอยู่บนผิวหน้าของน้ำ ดังรูปที่ 2.4 และคำนวณพื้นที่ของการกระจายน้ำมันจากขนาดพื้นที่วงสี่ เท่ากับ  $\pi r^2$  มีหน่วยเป็น ตารางเซนติเมตร ซึ่งค่าการกระจายน้ำมันจะแปรผันตรงกับปริมาณความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว



**รูปที่ 2.4** แสดงลักษณะการกระจายน้ำมันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Pseudomonas* sp.(EM19) (Diab, 2013)

### 2.2.3 ค่าความเข้มข้นวิกฤตในการเกิดไมเซลล์ (critical micelle concentration, CMC)

ความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ คือ ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่น้อยที่สุดที่ทำให้สารลดแรงตึงผิวโมเลกุลเดี่ยวก่อตัวเป็น ไมเซลล์ เป็นค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถลดแรงตึงผิวได้ต่ำที่สุดและถึงจะเพิ่มความเข้มข้นของสารมากกว่านี้ก็ไม่สามารถลดค่าแรงตึงผิวได้อีก ดังรูปที่ 2.5 สารลดแรงตึงผิวที่มีประสิทธิภาพดีจะมีค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์น้อย ปัจจัยที่มีผลต่อค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ ได้แก่ ความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิ และ ไอออน (Mulligan และ Gibbs, 2004) โดยทั่วไปแล้ว สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะมีประสิทธิภาพและมีค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์น้อยกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ถึง 40 เท่า (Desai และ Banat, 1997)

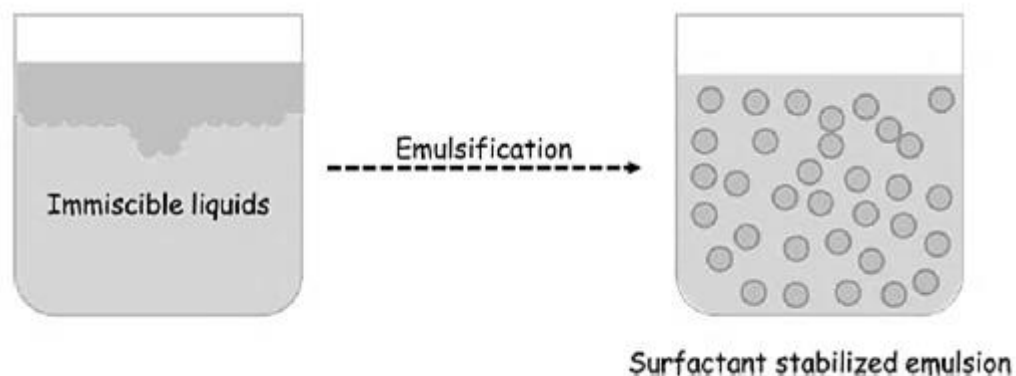


รูปที่ 2.5 การเกิดโครงสร้างไมเซลล์ในน้ำเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจนถึงค่า CMC (Santos และคณะ, 2016)

#### 2.2.4 การก่ออิมัลชัน (Emulsification)

อิมัลชัน คือ ระบบที่ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด ที่เข้ากันไม่ได้หรือไม่ละลายในกันและกัน โดยจะมีของเหลวชนิดหนึ่งกระจายตัวเป็นหยดเล็ก ๆ อยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง เป็นระบบที่มีความคงตัวทางอุณหพลศาสตร์ (thermodynamic) ต่ำ การเติมสารลดแรงตึงผิวลงไปจะช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างผิวของเหลวทั้งสองและพลังงานอิสระที่พื้นที่ผิว เป็นการช่วยเพิ่มความคงตัวของอิมัลชัน ดังรูปที่ 2.6 อิมัลชันที่มีความเสถียรจะสามารถคงอยู่ได้นานเป็นเดือนถึงปี ประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวสามารถทำได้โดยการวัดการดูดกลืนแสงหรือวัดความสูงอิมัลชัน โดยทั่วไปแล้วสารลดแรงตึงผิวที่มีมวลโมเลกุลสูงจะมีความสามารถเป็นตัวอิมัลซิฟายเออร์ได้ดีกว่าสารลดแรงตึงผิวที่มีมวลโมเลกุลต่ำ เนื่องจากมันสามารถเกาะกับน้ำมันได้ดีจึงส่งผลทำให้ก่ออิมัลชันได้ดี ยกตัวอย่างเช่น ไลโปแซน ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีมวลโมเลกุลสูงจะมีความสามารถลดค่าแรงตึงผิวไม่ดี แต่กลับเป็นตัวอิมัลซิฟายเออร์ที่ดีในน้ำมันเสถียร (Cirigliano และ Carman, 1985) ในทางตรงกันข้าม กับไซโฟโรลิติดจาก *T. bombicola* ที่มีความสามารถลดค่าแรงตึงผิวและค่าแรงตึงระหว่างผิวที่ประจันได้ดี จะเป็นตัวอิมัลซิฟายเออร์ที่ไม่ดี (Cavaleiro และ Cooper, 2003) ดังนั้นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแบบมวลโมเลกุลสูงจึงเหมาะ กับนำไปประยุกต์ใช้ในการทำอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง





รูปที่ 2.6 แสดงลักษณะการที่สารลดแรงตึงผิวไปช่วยเพิ่มความตัวของอิมัลชัน (Sharma และคณะ, 2016)

### 2.2.5 ค่าเฮชแอลบี (hydrophilic-lipophilic balance)

ค่าเฮชแอลบี คือ ค่าที่แสดงสมบัติชอบน้ำและชอบน้ำมันในโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว มีค่าตั้งแต่ 0-20 ค่าเฮชแอลบีของสารจะบ่งบอกแนวโน้มชนิดของอิมัลชันและการนำไปประยุกต์ใช้ ค่าเฮชแอลบีมีค่าน้อยกว่า 6 แสดงว่า สารลดแรงตึงผิวนั้นมีแนวโน้มจะเกิดอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันเสถียร แต่ถ้าค่าเฮชแอลบีมีค่าระหว่าง 8-18 แสดงว่าสารนั้นมีแนวโน้มเกิดอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำเสถียร ดังตารางที่ 2.1 (Tadros, 2009)

ตารางที่ 2.1 ช่วงค่า HLB ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและการนำไปประยุกต์ใช้ (Tadros, 2009)

ช่วงของHLB	การนำไปประยุกต์ใช้
0-3	สารลดโฟม (anti-foaming agent)
4-6	อิมัลซิไฟเออร์ชนิด น้ำ-ใน-น้ำมัน (water -in- oil emulsifier)
7-9	สารทำเปียก (wetting agent)
8-18	อิมัลซิไฟเออร์ชนิด น้ำมัน-ใน-น้ำ (oil-in- water emulsifier)
13-15	สารชะล้างทั่วไป (typical detergent)
15-18	ตัวทำละลาย (solubilizer)

## 2.3 ข้อดีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

### 2.3.1 ย่อยสลายทางชีวภาพได้

โดยทั่วไปแล้ว สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ทางเคมีมักไม่ย่อยสลายเองและตกค้างในสิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดผลกระทบต่อระบบนิเวศ ตรงกันข้ามกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ถูกสร้างจากสิ่งมีชีวิต ซึ่งมีโครงสร้างที่ไม่ซับซ้อน ทำให้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพไม่ตกค้างในสิ่งแวดล้อมและถูกย่อยสลายได้ง่ายจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม (Oberbremer และคณะ, 1990)

### 2.3.2 มีประสิทธิภาพที่ดีแม้อยู่ในสภาวะ อุณหภูมิ พีเอช และปริมาณไอออนเกลือที่ไม่เหมาะสม

ปัจจัยภายนอกต่างๆ เช่น อุณหภูมิและพีเอช ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จากการศึกษาของ Sharma และคณะ (2015) พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Enterococcus faecium* MRTL9 ยังคงมีประสิทธิภาพที่ดีในการลดค่าแรงตึงผิวและการก่ออิมัลชัน ในช่วงพีเอชที่กว้าง ตั้งแต่ 6-10 และมีประสิทธิภาพที่ดีในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง ตั้งแต่ 0-120 องศาเซลเซียส การที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความเสถียร และยังคงมีประสิทธิภาพที่ดีแม้อยู่ในสภาวะอุณหภูมิและพีเอชไม่เหมาะสม ทำให้สามารถนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้ในสิ่งแวดล้อมและงานอุตสาหกรรมได้หลากหลายรูปแบบ

### 2.3.3 มีโครงสร้างหลากหลาย

จุลินทรีย์สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีโครงสร้างหลากหลายกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ โครงสร้างที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อยของสารลดแรงตึงผิวนั้น มีผลทำให้สารมีสมบัติแตกต่างกันได้ เช่น ช่วยในการก่ออิมัลชัน การแยกชั้นของวัฏภาค การทำให้เปียก การเกิดฟอง การละลาย ลดความหนืด (Bodour และคณะ, 2003) จุลินทรีย์สายพันธุ์หนึ่งอาจผลิตสารลดแรงตึงผิวได้หลายชนิดในลักษณะของสารผสม (mixture) หรือผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทเดียวกันแต่มีโครงสร้างเคมีที่แตกต่างกันไป (variation) โดยลักษณะของโครงสร้างนั้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์และสารตั้งต้นที่ใช้ผลิตสารนั้นๆ ดังนั้นทำให้เราสามารถเลือกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้กับอุตสาหกรรมได้หลายประเภท (Symmank และคณะ, 2002)

### 2.3.4 มีความเป็นพิษต่ำ

ผลิตภัณฑ์สารชะล้างต่างๆที่ใช้ในครัวเรือนในปัจจุบัน มักประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ถึง 10-18% ซึ่งของเสียจากผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เหล่านี้มักถูกปล่อยลงสู่แหล่งแม่น้ำธรรมชาติ ทำให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมตามมา นอกจากนี้ยังมีความเป็นพิษต่อทั้งมนุษย์และสัตว์อีกด้วย สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความเป็นพิษต่ำเมื่อเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีค่า LC50 สูงกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ถึงสิบเท่า และเมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ เช่น Marlon A-350 พบว่า สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์นอกจากจะมีความเป็นพิษสูงกว่าแล้ว ยังเป็นสารก่อมะเร็งอีกด้วย (Edwards และคณะ, 2003) ดังนั้น สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีความเป็นพิษต่ำสามารถนำไปใช้ในทางด้านอาหาร ยา และ เครื่องสำอาง ได้

### 2.3.5 สามารถก่อกอิมัลชันได้ดี

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีมวลโมเลกุลสูงจะสามารถก่อกอหรือสลายอิมัลชันได้ดี ตัวอย่างเช่น ไกลโฟแซน เป็นตัวอิมัลซิไฟเออร์ในน้ำมันที่รับประทานได้ นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดโพลิเมอร์ ก็มีความสามารถเคลือบหยดน้ำมันได้ดี ทำให้อิมัลชันมีความเสถียร จากคุณลักษณะเรื่องการก่อกออิมัลชันได้ดีและมีความเป็นพิษต่ำของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ทำให้มีการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้ในก่อกออิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ สำหรับอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง (Nitschke และ Costa, 2007)

จากข้อดีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ทำให้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพถูกนำไปใช้ในงานหลากหลาย เช่น สารชะล้าง สารก่อกออิมัลชัน สารทำให้เกิดฟอง สารช่วยทำให้เปียก สารช่วยเพิ่มการละลาย เป็นต้น ทำให้ในปัจจุบันมีการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพอย่างกว้างขวาง มีการจดสิทธิบัตรและนำไปใช้จริงในระดับอุตสาหกรรมแล้ว เช่น ในอุตสาหกรรมอาหารและการเกษตร การแพทย์ บำบัดทางชีวภาพในสิ่งแวดล้อม เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงตัวอย่างผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ที่มีส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Reis และ คณษ, 2013)

Biosurfactant	Origin	Supplier	Application
BioFuture	Bacterial rhamnolipid	BioFuture Ltd, Ireland	Bioremediation of contaminated soil with hydrocarbon
EC-601	Bacterial rhamnolipid	Ecochem Ltd, Canada	Dispersive agent of water-insoluble hydrocarbons
EC-1800	Bacterial consortium	Ecochem Ltd, Canada	Cleans up oil spills in soil, sand and gravel
EC-2100W	Bacterial consortium	Ecochem Ltd, Canada	Degrades hydrocarbon based compounds in waste water treatment plants, lagoons, storage tanks, sumps and other aqueous environments
JBR products	Microbial rhamnolipid	Jeneil Biosurfactant Co., LTC, USA	Used in different industries, such food and agro-industrial markets
Petrosolv	Bacterial unknown	Enzyme Technologies Inc, USA	Oil removal; oil recovery and processing
Surfactin	<i>Bacillus subtilis</i>	Sigma-Aldrich Co. LLC, USA	Antifungal, antibacterial and antitumor activities



## 2.4 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์และไลโปโปรตีน

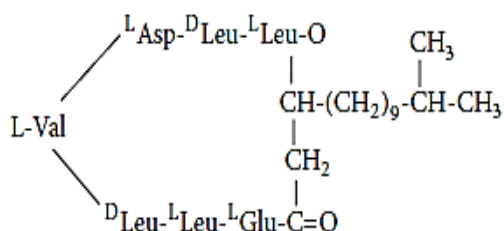
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์สามารถผลิตได้จากแบคทีเรีย โดยเฉพาะในกลุ่ม *Bacillus* ส่วนมากมีสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ เช่น เซอร์แฟกทิน (surfactin) ไลเคนิซิน (lichenysin) กรามิซิดิน (gramicidin) โครงสร้างไลโปเพปไทด์ประกอบด้วยลิพิดเชื่อมต่อกับสายเพปไทด์ (Meena และ Kanwar, 2015) โดยปกติแล้ว สารไลโปเพปไทด์ที่มีโครงสร้างของส่วนไขมันมาก โดยเฉพาะพวกที่มีโครงสร้างขนาดกลาง (คาร์บอน 10 ถึง 12 อะตอม) จะมีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียได้ดี นอกจากนี้ ไลโปเพปไทด์ที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมสูง (คาร์บอน 14 หรือ 16 อะตอม) มีความสามารถฆ่าทั้งแบคทีเรียและราได้เป็นอย่างดี (Mandal และคณะ, 2013)

### 2.4.1 กลุ่มของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์

สารลดตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์มี 4 กลุ่ม ได้แก่ เซอร์แฟกทิน (surfactin) อิทุริน (iturin) เฟนจีซิน (fengycin) (Ongena และ Jacques, 2008)

#### 2.4.1.1 เซอร์แฟกทิน

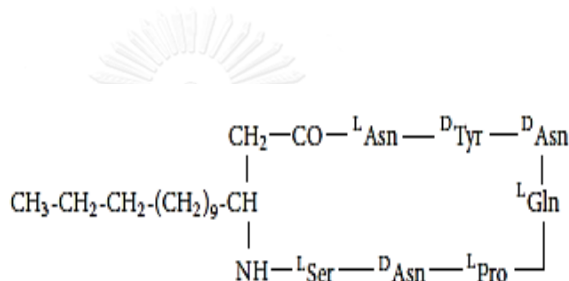
คือ ไลโปเพปไทด์ที่มีมวลโมเลกุลประมาณ 1.36 kDa โครงสร้างประกอบด้วยวงของกรดอะมิโน 7 โมเลกุลได้แก่ Glu Leu Leu Val Asp Leu Leu เชื่อมต่อกับกรดไขมันสายยาว ( $\beta$ -hydroxy fatty acid) ที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอน 12-16 อะตอม และเชื่อมกันในรูปแบบของ วงแหวนแลกโตน (cyclic lactone ring) ดังรูปที่ 2.7 เซอร์แฟกทินมีความหลากหลายขึ้นกับ ตำแหน่งของกรดอะมิโน และขนาดของส่วนกรดไขมัน (Korenblum และ คณะ, 2012) กรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic amino acids) ของเซอร์แฟกทิน จะอยู่ในตำแหน่งที่ 2, 3, 4, 6 และ 7 ของวงกรดอะมิโน ในขณะที่กรดอะมิโนที่ชอบน้ำหรือมีขั้ว (hydrophilic amino acids) เช่น Glu และ Asp จะอยู่ตำแหน่งที่ 1 และ 5 ของวงกรดอะมิโน โดยปกติแล้ว ไอโซฟอร์มของเซอร์แฟกทินที่ได้จากจุลินทรีย์ จะอยู่ในรูปของสารผสม (mixture) ของเพปไทด์ที่มีความผันแปร (variants) หรือมีสายโซ่ไขมันที่มีความยาวแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์และภาวะที่ใช้ในการเลี้ยง (Seydlová และ Svobodová, 2008)



รูปที่ 2.7 ลักษณะโครงสร้างของเซอร์แฟกทิน (Meena และ Kanwar, 2015)

### 2.4.1.2 อีทูริน

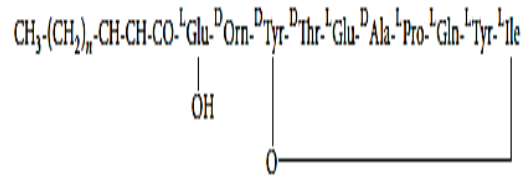
อีทูริน (iturin) เป็นลิโปเพปไทด์ ที่มีมวลโมเลกุลประมาณ 1.1 kDa โครงสร้างของอีทูริน เอ ประกอบด้วย กรดอะมิโน 7 โมเลกุลต่อกันเป็นวงและเชื่อมต่อกับโมเลกุลของกรดไขมัน ( $\beta$ -amino) ที่มี 14-17 คาร์บอนอะตอม กรดอะมิโนในโครงสร้าง มีลำดับดังนี้ Asn Tyr Asn Gln Pro Asn Ser ดังรูปที่ 2.8 อีทูริน โอเพอรอน มีขนาด 38-40 kb และประกอบด้วย 4 open reading frame ได้แก่ *ItuA* *ItuB* *ItuC* และ *ItuD* สารในกลุ่มอีทูริน เอ ได้แก่ เบซิลโลไมซินแอล เบซิลโลไมซินเอฟ เบซิลโลไมซินแอล และ ไมโคซัพทิลิน สารในกลุ่มนี้ได้รับความสนใจศึกษาอย่างมาก เนื่องจากมีสมบัติทางชีวภาพและเคมีกายภาพที่ดี ทำให้มีการนำสารในกลุ่มนี้ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา (Meena และ Kanwar, 2015)



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของอีทูริน (Meena และ Kanwar, 2015)

### 2.4.1.3 เฟนจิจิน

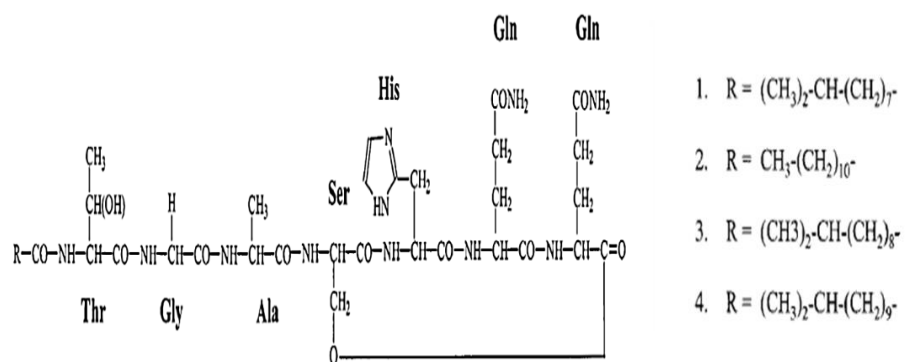
เฟนจิจิน (fengycin) หรือมีอีกชื่อว่า ไพลพาสทาทิน (plipastatin) คือ กลุ่มลิโปเพปไทด์ที่มีโครงสร้าง ประกอบด้วยกรดอะมิโน 10 โมเลกุล เชื่อมต่อกับสายของกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 14 -17 อะตอม ดังรูปที่ 2.9 ส่วนของกรดอะมิโนในเฟนจิจิน ประกอบด้วย กรดอะมิโน 10 โมเลกุล มีลำดับดังนี้ Glu Orn Tyr Thr Glu Ala Pro Gln Tyr Ile และมีการเชื่อมกันเป็นวงแลกโทนบริเวณ phenolic-OH group ของ Tyr และ C-terminal-COOH group ของ Ile (Pathak และคณะ, 2012) ความหลากหลายเฟนจิจิน ขึ้นกับ กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 6 และจำนวนคาร์บอนอะตอมในสายกรดไขมัน โดยถ้ากรดอะมิโนในตำแหน่งที่ 6 คือ Ala จะเป็น เฟนจิจินเอ ในขณะที่ถ้าเป็น Val จะเป็น เฟนจิจินบี ซึ่งมีรายงานว่า ลิโปเพปไทด์ในกลุ่มนี้ มีความสามารถยับยั้งราได้ (Deleu และคณะ, 2008)



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของ เพนจิจิน เอ (Meena และ Kanwar, 2015)

#### 2.4.1.4 เคอร์สตาคินส์

เป็นไลโปเพปไทด์กลุ่มใหม่ของ *Bacillus* sp. (Hathout และคณะ, 2000) ถูกค้นพบได้จากการใช้เทคนิค Matrix assisted laser desorption/ionization (MALDI) เพื่อทำการศึกษาความแตกต่างระหว่างสปอร์ของแต่ละสายพันธุ์ของ *Bacillus* และได้ค้นพบไลโปเพปไทด์กลุ่มใหม่จาก *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* จึงเป็นที่มาของชื่อเรียกไลโปเพปไทด์กลุ่มนี้ นอกจากนี้ยังพบว่าไลโปเพปไทด์กลุ่มนี้สามารถฆ่า *Stachybotrys charatum* ได้ และสารกลุ่มนี้มักพบตรงบริเวณผิวของสปอร์เป็นส่วนใหญ่ (Cho และคณะ, 2003) โครงสร้างของสารกลุ่มนี้ประกอบด้วยสายเพปไทด์ที่มีกรดอะมิโน 7 โมเลกุล มีลำดับดังนี้ Thr Gly Ala Ser His Gln Gln เชื่อมต่อกับสายกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนแตกต่างกันดังรูปที่ 2.10 และมีการฟอร์มเป็นวงแลกโทนบริเวณ carboxyl terminal amino acid และ hydroxyl group บริเวณ side chain ของ serine



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของ เคอร์สตาคินส์ (Hathout และคณะ, 2000)

## 2.4.2 วิธีสังเคราะห์สารในกลุ่มไลโปเพปไทด์

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มไลโปเพปไทด์ถูกสังเคราะห์จาก กลุ่มเอนไซม์สังเคราะห์เพปไทด์โดยไม่อาศัยไรโบโซม (non-ribosomal peptide synthetase) เรียกโดยย่อว่า NRPSs หรือ ลูกผสม (hybrid) ระหว่าง พอลิคีไทด์ ซินเทส และ NRPSs เรียกโดยย่อว่า PKSs/NRPSs (Walia และ Cameotra, 2015)

NRPS โมดูล คือ กลุ่มเอนไซม์ขนาดใหญ่ที่อยู่ในลักษณะเป็นหน่วยซ้ำ ๆ มีหน้าที่ในการสังเคราะห์เพปไทด์ โดยแต่ละโมดูล ถูกแบ่งเป็น catalytic domain ประกอบด้วย adenylation domain (A domain), condensation domain (C domain), thiolation domain (T domain), epimerization domain (E domain) และ thioesterase domain (Te domain) ดังรูปที่ 2.11

ในกระบวนการสังเคราะห์เซอร์แฟกทิน ถูกสังเคราะห์จาก *SrfA* โดยมียีนที่สำคัญคือ *comA* และ *sfp* ดังรูปที่ 2.12

1. ยีน *comA* มีหน้าที่แปรรหัสให้โปรตีน *comA* ซึ่งจะไปเป็นตัวกระตุ้นโปรโมเตอร์ *SrfA* โอเพอรอน ก่อให้เกิดการถอดรหัสของ *SrfA* โอเพอรอน

2. *SrfA* โอเพอรอน ประกอบด้วย 4 open reading frame ได้แก่ *SrfA-A* *SrfA-B* *SrfA-C* และ *SrfA-D*

*SrfA-A* ผลิตเอนไซม์  $E_{1A}$  ที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์ Glu Leu Leu

*SrfA-B* ผลิตเอนไซม์  $E_{1B}$  ที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์ Val Asp Leu

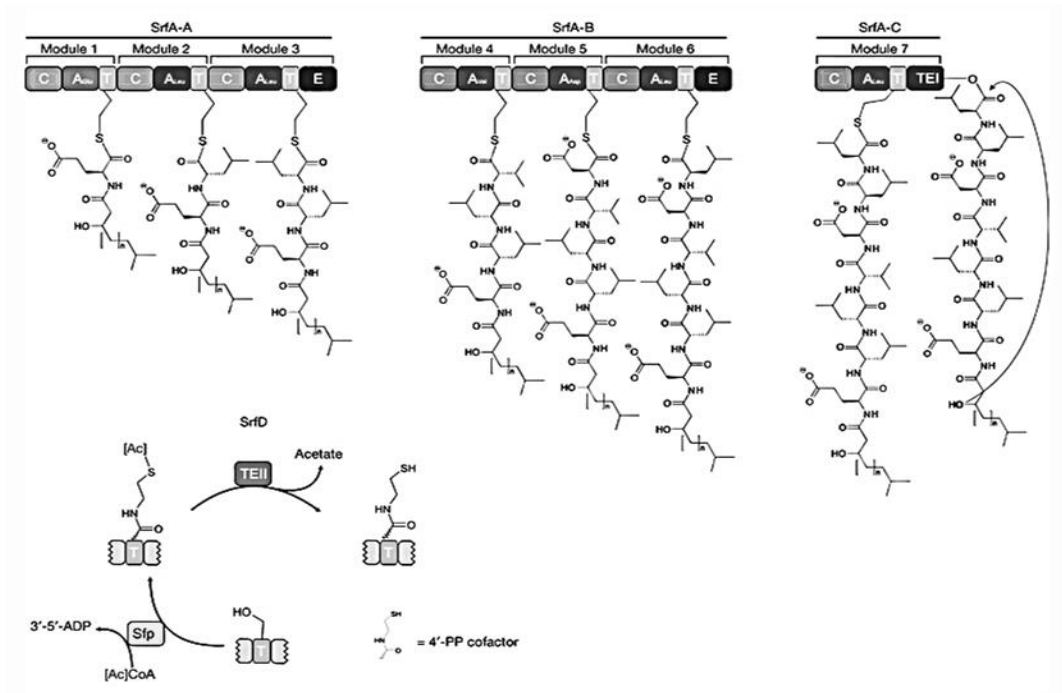
*SrfA-C* ผลิตเอนไซม์  $E_2$  ที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์ Leu

*SrfA-D* ผลิตเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนการเกิดวงแลกโตน

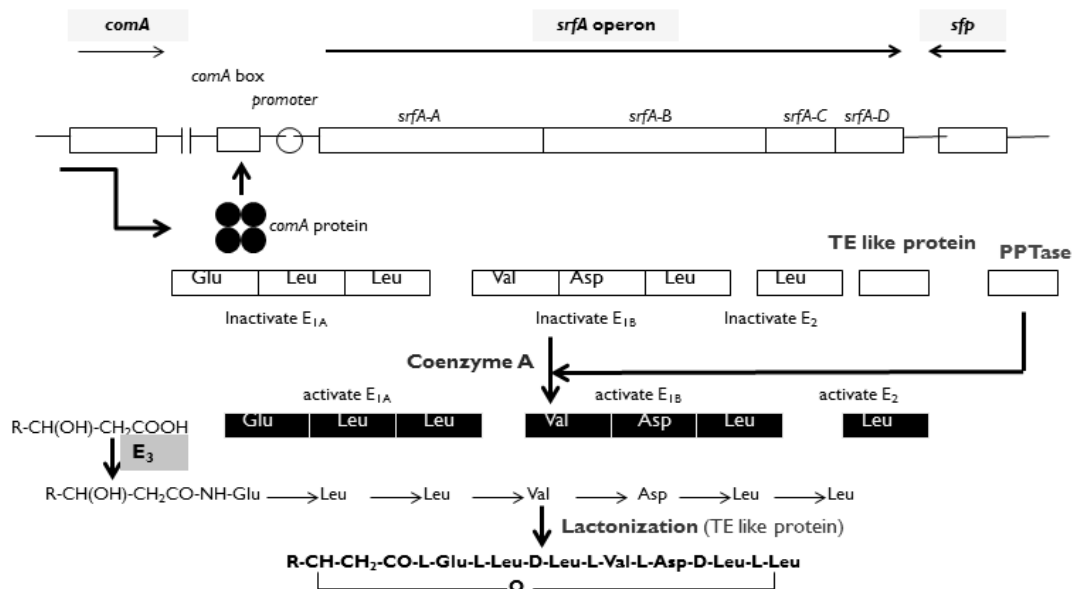
3. ยีน *sfp* ผลิตเอนไซม์ phosphopantetheinyltransferase (PPTase) ซึ่งมีหน้าที่ในการเคลื่อนย้ายหมู่ phosphopantethein จาก Coenzyme A ไปสู่เซรินแต่ละตัวของเอนไซม์ ( $E_{1A}$ ,  $E_{1B}$  และ  $E_2$ ) ซึ่งหลังจากถอดและแปลรหัสจาก *SrfA* โอเพอรอน เอนไซม์เหล่านี้ยังไม่สามารถทำงานได้เมื่อเอนไซม์เหล่านี้ได้รับหมู่ phosphopantethein แล้วจะสามารถทำงานได้

การสังเคราะห์เพนจิซินคล้ายกับเซอร์แฟกทิน คือถูกสังเคราะห์จาก NRPSs เช่นกัน โดยเพนจิซินมี *fen* โอเพอรอน ที่ประกอบด้วย 5 open reading frame คือ *fen A-E* ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์สายเพปไทด์ ในขณะที่การสังเคราะห์อิทูรินจะถูกสังเคราะห์จาก hybrid complex (PKS-NRPSs) โดยมี *Itu* โอเพอรอน ที่มี 4 open reading frame คือ *Itu d*, *Itu A*, *Itu B* และ *Itu C* นอกจากนี้ ยังพบว่าการสังเคราะห์ อิทูริน เอ เกี่ยวข้องกับยีนที่สังเคราะห์ PKSs ซึ่งทำหน้าที่ในกระบวนการ elongation และ  $\beta$ -amination ของสายกรดไขมันก่อนที่สายกรดไขมันจะจับกับสายเพปไทด์





รูปที่ 2.11 ลักษณะของ NRPS โมดูล ของระบบการสังเคราะห์เซอร์แฟกทิน (Koglin และคณะ, 2008)



รูปที่ 2.12 วิธีการสังเคราะห์เซอร์แฟกทิน (นิรันดร์ รุ่งสว่าง, 2542)

### 2.4.3 สมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์

นอกจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มไลโปเพปไทด์จะมีความสามารถในการลดค่าแรงตึงผิวได้อย่างดีแล้ว (Meena และ Kanwar, 2015) ยังมีงานวิจัยอีกมากมายที่รายงานถึง ความสามารถของสารลดแรงตึงผิวในกลุ่มไลโปเพปไทด์ ดังนี้ (Chen และคณะ, 2015; Meena และ Kanwar, 2015)

#### 2.4.3.1 ด้านการเจริญของแบคทีเรีย รา

เซอร์แฟกทิน คือ กลุ่มของไลโปเพปไทด์ที่มีประสิทธิภาพอย่างมากในการต้านการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรค โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ก่อโรคในพืช (Gordillo และ Maldonado, 2012) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า เซอร์แฟกทิน สามารถยับยั้งพวกแบคทีเรียที่อยู่เหล่านี้ได้ คือ *Alcaligenes faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่ต้านต่อเมทิลลีน (Das และคณะ, 2008) แต่อย่างไรก็ตาม เซอร์แฟกทินยังมีข้อจำกัดต่อการนำไปใช้ต้านรา (Ongena และ Jacques, 2008) อีทูรินและเฟนิจซิน คือ กลุ่มของไลโปเพปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของราที่ก่อโรคในพืชได้เป็นอย่างดี ดังนั้นจึงมีงานวิจัยมากมายสนใจพัฒนา นำไลโปเพปไทด์ในกลุ่มนี้ไปใช้ในเป็นตัวควบคุมศัตรูพืช (Gordillo และ Maldonado, 2012) โดยสารในกลุ่มนี้มีผลไปทำลายเซลล์เมมเบรนของราเป้าหมาย ทำให้ราเป้าหมายตายในที่สุด (Deleu และคณะ, 2003) เมื่อไม่นานนี้ มีการค้นพบ ไลโปเพปไทด์ชนิดใหม่ คือ คินนูริน (kinnurin) ที่แยกได้จาก *B. cereus* ซึ่งพบว่าสารนี้มีความสามารถต้านราได้เป็นอย่างดีเช่นกัน (Ajesh และคณะ, 2013)

#### 2.4.3.2 ด้านไวรัส

เซอร์แฟกทินมีสมบัติในการต้านไวรัสได้หลายชนิด ได้แก่ Semliki Forest virus, Herpes simplex virus (HSV-1 และ HSV 2), Simian immunodeficiency virus, Vesicular stomatitis virus, Feline calicivirus และ Murine encephalomyocarditis virus โดยประสิทธิภาพการต้านไวรัสขึ้นกับความยาวของสายคาร์บอน ส่วนใหญ่แล้ว เซอร์แฟกทินจะมีประสิทธิภาพในการต้านไวรัสที่มีเปลือกชั้นนอกหุ้ม โดยเฉพาะพวก Herpes virus และ retrovirus ได้ดีกว่าพวกไวรัสที่ไม่มีเปลือกชั้นนอกหุ้ม (Seydlová และ Svobodová, 2008) กลไกการต้านไวรัสของเซอร์แฟกทิน คือ เซอร์แฟกทินจะไปแทรกบริเวณลิพิดเมมเบรนของไวรัส ดังนั้นยิ่งเซอร์แฟกทินมีจำนวนคาร์บอนในสายเอซิลมาก จะ

ทำให้เซอร์แฟกทินมีความเป็นไฮโดรโฟบิกสูง ทำให้แทรกบริเวณลิพิดเมมเบรนของไวรัสได้ดีขึ้น ส่งผลทำให้เปลือกชั้นนอกของไวรัส ซึ่งเป็นที่อยู่ของพวกโปรตีนต่างๆ เสียหาย ดังนั้นไวรัสจึงสูญเสียสมบัติในการยึดเกาะกับเซลล์เจ้าบ้าน (Singla และคณะ, 2014) นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่ เซอร์แฟกทิน สามารถต้านพวก Cell-free virus ได้แก่ *Porcine parvovirus*, *Pseudo rabies virus*, *Bursal disease virus* และ *Newcastle disease virus* (Huang และคณะ, 2006)

#### 2.4.3.3 ด้านการอักเสบ

ลักษณะโครงสร้างแอมฟิฟิลิกของเซอร์แฟกทินทำให้มันสามารถจับกับเซลล์เมมเบรนและสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น เอนไซม์ และ ไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ (LPSs) ได้ (Chang และคณะ, 2011) มีหลายงานวิจัยที่พบว่า เซอร์แฟกทินสามารถไปยับยั้งกระบวนการอักเสบ (inflammatory effect) ที่เกิดจากอันตรกิริยา ระหว่าง LPS กับ เซลล์ (Dae และคณะ, 2006) เซอร์แฟกทินสามารถยับยั้ง LPS-induced expression ของ อินเตอร์ลิวคิน-1 บีตา และ เอนไซม์ inducible nitric oxide synthase ยิ่งไปกว่านั้นเซอร์แฟกทินยังไปช่วยลดระดับของ plasma endotoxin, tumor necrosis factor และ nitric oxide ในหนูที่อยู่ในภาวะ septic shock นอกจากนี้เซอร์แฟกทินก็สามารถยับยั้งอันตรกิริยา ระหว่าง lipid A กับ LPS-binding protein (LBP) โดยที่ไม่มีผลต่อการรอดชีวิตของเซลล์ยูคาริโอตที่ใช้ทดสอบ (Seydlová และ Svobodová, 2008)

#### 2.4.3.4 ยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม

แบคทีเรียใช้การยึดเกาะพื้นผิวและสร้างไบโอฟิล์มเพื่อให้อยู่รอดต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสม (Dunne, 2002) มีการรายงานถึงเซอร์แฟกทินว่า นอกจากจะมีสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์แล้ว ยังสามารถเป็นตัวขัดขวางการยึดเกาะพื้นผิวรวมถึงการสร้างไบโอฟิล์มของแบคทีเรีย ยกตัวอย่าง เช่น การเคลือบเซอร์แฟกทินบนผิวของสายสวนปัสสาวะสามารถช่วยลดการก่อไบโอฟิล์มได้ (Mireles และคณะ, 2001) ไลโปเพปไทด์จาก *B. circulans* ก็สามารถต้านการยึดเกาะของแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ (Das และคณะ, 2009) รวมถึงยังสามารถยับยั้งการก่อไบโอฟิล์มของพวก *S. aureus* และ *E. coli* ได้ถึง 97% และ 90% ตามลำดับ (Rivardo และคณะ, 2009) กลไกของเซอร์แฟกทินที่ไปขัดขวางการยึดเกาะและสร้างไบโอฟิล์มของแบคทีเรีย เกิดจากแรงผลัทางไฟฟ้าที่เกิดขึ้นระหว่างประจุลบของเซอร์แฟกทินที่เคลือบอยู่บนพื้นผิวและประจุลบของแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถไป

เกาะบริเวณพื้นผิวนั้น ๆ ได้ (Zeraik และ Nitschke, 2010) ดังนั้น ทำให้มีงานวิจัยมากมาย ที่สนใจจะนำสารในกลุ่มนี้ด้านการปนเปื้อนพวกแบคทีเรียที่อาจยึดเกาะตามอุปกรณ์ต่างๆ ที่สำคัญ เช่น วัสดุอุปกรณ์ในโรงงาน โรงพยาบาล เป็นต้น

#### 2.4.3.5 ต้านมะเร็ง

มีรายงานว่าเซอร์แฟกทินสามารถต้านต่อเซลล์มะเร็งเต้านมได้ เซอร์แฟกทินยังมีผลไปทำลายการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไลน์มะเร็งลำไส้ พวก HCT15 และ HT29 ได้ (Sivapathasekaran และคณะ, 2010) การยับยั้งเซลล์เหล่านี้เกิดจากเซอร์แฟกทินไปมีผลทำให้วัฏจักรเซลล์หยุดชะงัก และยังไปกระตุ้นการเกิดอะพอพโทซิส ผ่านการยับยั้ง cell survival regulating signals พวก ERK และ PI3 K/Akt (Das Neves และคณะ, 2007) มีรายงานว่า เซลล์มะเร็งเต้านม T47D และ MDA-MB-231 จะมีเปอร์เซ็นต์รอดชีวิตต่ำลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเซอร์แฟกทินและเพิ่มเวลาที่ใช้ในการทรีท (Duarte และคณะ, 2014) ยังมีรายงานว่า เซอร์แฟกทินมีผลไปยับยั้งการเพิ่มจำนวนและกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส ในเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 (Lee และคณะ, 2012) นอกจากนี้ยังพบว่าเซอร์แฟกทินสามารถสร้างพวกสารอนุมูลอิสระ อนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (reactive oxygen species) ซึ่งมีผลไปทำให้เกิดการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส จากผลการศึกษาเหล่านี้ทำให้นักวิทยาศาสตร์สนใจที่จะนำเซอร์แฟกทินมาใช้ในการรักษารวมถึงป้องกันมะเร็งต่อไปในอนาคต (Cao และคณะ, 2010)

#### 2.4.3.6 กำจัดตัวอ่อนยุง

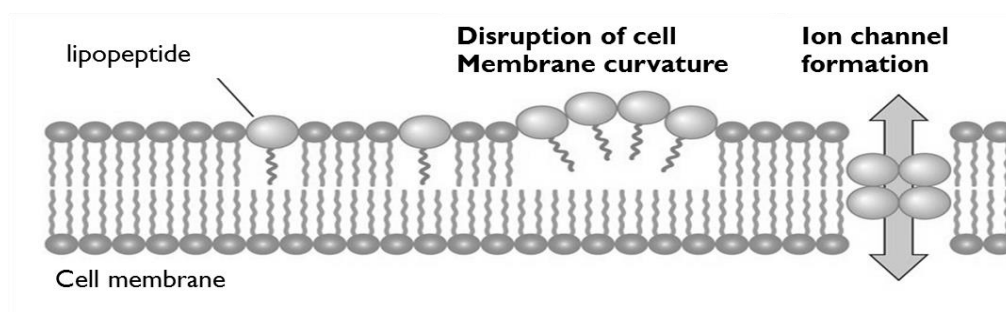
ยุงนั้นเป็นแมลงดูดเลือดและเป็นพาหะของโรคต่าง ๆ ในมนุษย์ เช่น โรคมาลาเรีย โรคไข้เหลือง ไข้เลือดออก โรคสมองอักเสบ (Encephalitis) โรคเวสต์ไนล์ไวรัส (West Nile virus) และโรคเท้าช้าง (Lymphatic filariasis) เป็นต้น มีรายงานว่า น้ำเลี้ยงเชื้อของ *B. subtilis* ที่ผลิตเซอร์แฟกทิน สามารถกำจัดลูกน้ำและตัวโม่งของยุงสายพันธุ์ *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles stephensi* และ *Aedes aegypti* ได้ ดังนั้นเซอร์แฟกทินอาจสามารถถูกนำมาใช้ในการควบคุมโรคมาลาเรียต่อไปในอนาคตได้ (Geetha และคณะ, 2010)

#### 2.4.4 กลไกการยับยั้งเชื้อของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์

ไลโปเพปไทด์มีโครงสร้างเป็นแอมฟิพาติก ทำให้มันสามารถแทรกไปยังบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นลิพิดไบเลเยอร์ได้ ผลจากการแทรกของไลโปเพปไทด์นั้นทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียไม่เสถียร นอกจากนี้ไลโปเพปไทด์ยังไปกระตุ้นการสร้างรูช่องว่าง (pore and channel) ของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้สารต่างๆ รั่วไหลออกจากเซลล์ จึงทำให้เซลล์ในที่สุด (Bernheimer และ Lois, 1970)

เซอร์แฟกทิน เป็นตัวอย่างของสารในกลุ่มไลโปเพปไทด์ที่มีการศึกษากันอย่างมากถึงกลไกการยับยั้งเชื้อ (Carrillo และคณะ, 2003; Heerklotz และคณะ, 2004) สามารถอธิบายได้ดังนี้ คือ เริ่มแรกเซอร์แฟกทินจะไปแทรกบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ และมีการก่อคีเลต กับ  $Ca^{2+}$  ที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เซอร์แฟกทินสามารถแทรกเยื่อหุ้มเซลล์ได้ลึกขึ้น ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดรูช่องว่าง และเสียหายมากขึ้น เยื่อหุ้มเซลล์จึงสูญเสียลักษณะความเป็นเยื่อเลือกผ่าน ส่งผลทำให้ของเหลวหรือสารต่างๆ รั่วไหลออกจากเซลล์ (Mangoni และ Shai, 2011) มีงานวิจัยพบว่า การเกิดรูช่องว่างที่เยื่อหุ้มเซลล์ทำให้  $Na^+$  และ  $K^+$  ไหลทะลัก (influx) ไม่สามารถควบคุมได้ ส่งผลทำให้เซลล์ตายในที่สุด (Mangoni และ Shai, 2011)

มีรายงานว่า ไลโปเพปไทด์ชนิดอิทูริน และ เฟนจิซิน สามารถต้านราได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในขณะที่เซอร์แฟกทินไม่สามารถต้านราได้ (Gong และคณะ, 2015) โดยอิทูรินและเฟนจิซินจะไปมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้โครงสร้างลิพิดเมมเบรนเกิดรู ทำให้เกิดการรั่วของโพแทสเซียมไอออนบนเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลทำให้เซลล์ตายในที่สุด (Ongena และ Jacques, 2008) ไมโคซบิทัลิน (สารในกลุ่มอิทูริน) สามารถต้านการเจริญของราได้หลายสายพันธุ์ ยกเว้น *Aspergillus* spp. (Fickers และคณะ, 2009) เมื่อศึกษาเพิ่มเติมพบว่า การทำงานของไมโคซบิทัลินจะดีขึ้นตามปริมาณ ฟอสโฟลิพิด สเตอรอล คอเลสเตอรอลของเยื่อหุ้มเซลล์ (Nasir และคณะ, 2010; Nasir และ Besson, 2011)



รูปที่ 2.13 กลไกการยับยั้งเชื้อโดยสารในกลุ่มไลโปเพปไทด์ (Seydlová และ Svobodová, 2008)

### 2.4.5 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์

เนื่องจากคุณลักษณะของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์ที่นอกจากจะมีสมบัติในการลดแรงตึงผิวที่ดีแล้ว ยังเป็นสารต้านการเจริญของแบคทีเรียและราได้เป็นอย่างดีอีกด้วย ทำให้มีงานวิจัยจำนวนมาก สนใจนำสารลดแรงตึงผิวในกลุ่มนี้ไปประยุกต์ใช้ในงานต่าง ๆ มากมาย เช่น

#### 2.4.5.1 ด้านการแพทย์

เนื่องจากสารในกลุ่มไลโปเพปไทด์มีคุณลักษณะที่พิเศษกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มอื่น คือ มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและรา รวมถึงเป็นสารต้านไวรัส ต้านมะเร็ง ต้านคอเรสเตอรอล เป็นต้น ทำให้มีงานวิจัยจำนวนมากสนใจศึกษาสารลดแรงตึงผิวในกลุ่มไลโปเพปไทด์เพื่อประยุกต์ใช้ในการด้านการแพทย์ (Meena และ Kanwar, 2015)

ตารางที่ 2.3 แสดงคุณสมบัติของไลโปเพปไทด์ที่นำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ (Meena และ Kanwar, 2015)

Microorganisms	Biosurfactant type	Activity/application
<i>Bacillus subtilis</i> MZ-7 and <i>B. amyloliquefaciens</i> ES-2	Surfactin	Antimicrobial and antifungal activities [32–35]; inhibition of fibrin clot formation [36]; hemolysis and formation of ion channels in lipid membranes [32]; antitumor activity against Ehrlich's ascites carcinoma cells and antiviral activity against HIV-1 [32]; high concentration of Surfactin affects the aggregation of amyloid $\beta$ -peptide into fibrils, a key pathological process associated with Alzheimer's disease [37]; antifungal, antiviral, antitumor, insecticidal, and antimycoplasma activities [38].
<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. amyloliquefaciens</i> B128 and <i>B. amyloliquefaciens</i> PPCB004	Iturin	Antimicrobial activity and antifungal activities against profound mycosis. Effect on the morphology and membrane structure of yeast cells [32]. Increase in the electrical conductance of bimolecular lipid membranes and acting as nontoxic and nonpyrogenic immunological adjuvant [32].
<i>Bacillus subtilis</i>	Iturin and Surfactin	Both bioagents show broad hypocholesterolemic activities [39] and can act as antibiotics, antiviral, and antitumor agents; immuno-modulators; specific toxins; and enzyme inhibitors [40].

#### 2.4.5.2 ด้านอาหาร

ในอุตสาหกรรมอาหาร มีรายงานว่า ไลโปเพปไทด์มีบทบาทเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ในการเตรียมวัตถุดิบในกระบวนการอบขนมปัง โดยใช้เซอร์แฟกทินเป็น

ตัวควบคุมเนื้อสัมผัสและปริมาตรของขนมปัง นอกจากนี้เซอร์แฟกทินยังเป็นตัวไขมันชิฟายไขมันในขนมปัง เพื่อป้องกันการรวมกันของพวกอนุภาคเม็ดไขมัน เมื่อไม่นานมานี้ พบว่าไลโปเพปไทด์ที่ผลิตได้จาก กลุ่ม *Enterobacteriaceae* มีศักยภาพต่อการนำประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากเป็นตัวไขมันชิฟายเออร์ที่ดีแม้อยู่ในภาวะที่อาหารมีความหนืดสูงและมีค่าพีเอชต่ำ นอกจากนี้ด้วยคุณสมบัติการต้านเชื้อได้ดีของไลโปเพปไทด์ ทำให้นักวิจัยสนใจนำไลโปเพปไทด์มาเป็นสารถนอมอาหารเพื่อช่วยป้องกันการอาหารเน่าเสีย ซึ่งตอนนี้ยังอยู่ในขั้นตอนของกระบวนการวิจัยพัฒนาเพื่อให้มีความปลอดภัยและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (Mandal และคณะ, 2013)

#### 2.4.5.3 ด้านสิ่งแวดล้อม

เนื่องจากสารในกลุ่มไลโปเพปไทด์มีสมบัติในการลดค่าแรงตึงผิวและเป็นตัวไขมันชิฟายที่ดี ทำให้นักวิจัยสนใจนำสารในกลุ่มนี้มาประยุกต์ใช้กับสิ่งแวดล้อม ในการบำบัดทางชีวภาพ (bioremediation) และการเก็บเกี่ยวน้ำมัน (enhanced oil recovery) (Mulligan, 2005; Whang และคณะ, 2008) มีรายงานว่าเซอร์แฟกทินสามารถเป็นตัวเร่งในขบวนการย่อยสลายทางชีวภาพของพวกสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้เป็นอย่างดี (Lai และคณะ, 2009) นอกจากนี้ สารในกลุ่มไลโปเพปไทด์ เช่น เซอร์แฟกทิน และ เฟนจีซิน ยังมีความสามารถช่วยเก็บเกี่ยวพวกน้ำมันชนิดหนัก (heavy oil) ได้ดีอีกด้วย (Sen, 2008)

Whang และคณะ (2008) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันดีเซลโดยใช้เซอร์แฟกทินร่วมแรมโนลิพิท พบว่า เซอร์แฟกทินปริมาณ 40 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถช่วยส่งเสริมกระบวนการย่อยน้ำมันดีเซลได้อย่างมีประสิทธิภาพเป็นสองเท่าเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเซอร์แฟกทิน และ Lai และคณะ (2009) พบว่า ไลโปเพปไทด์สามารถกำจัดปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนจากดินได้มีประสิทธิภาพกว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์

#### 2.4.5.4 ด้านนาโนเทคโนโลยี

ปัจจุบันนาโนเทคโนโลยีกำลังได้รับความสนใจอย่างมาก ทำให้นักวิจัยสนใจนำสารลดแรงตึงผิวในกลุ่มไลโปเพปไทด์ไปประยุกต์ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโน

ยกตัวอย่างเช่น มีการรายงานของ Reddy และคณะ (2009) ในการนำเซอร์แฟกทินไปประยุกต์ใช้เป็นตัวแม่แบบ (template) และตัวทำเสถียร (stabilizing agent) ในกระบวนการสังเคราะห์อนุภาคเงินและทองในระดับนาโน ต่อมา Reddy และคณะ (2011) ก็ใช้เซอร์แฟกทินเป็นสารแม่แบบ (templating agent) ในการทำให้ ซิงค์ออกไซด์ระดับนาโนมีความเสถียร นอกจากนี้ Singh และคณะ (2011) ได้ศึกษาการนำเซอร์แฟกทินที่ผลิตได้จาก *B. amyloliquifaciens* มาประยุกต์ใช้ในการสังเคราะห์แคดเมียมซัลไฟด์ระดับนาโน พบว่า สามารถสังเคราะห์แคดเมียมซัลไฟด์ระดับนาโนได้โดยตรงจากสารลดแรงตึงผิวที่สกัดได้ และเซอร์แฟกทินนี้สามารถทำให้แคดเมียมซัลไฟด์ระดับนาโนมีความเสถียรนานถึง 6 เดือน

นอกจากนี้ยังมีนักวิจัยสนใจนำเซอร์แฟกทินไปประยุกต์ใช้ในก่อนานาโนอิมัลชัน เช่น Joe และคณะ (2012) พบว่า เซอร์แฟกทินสามารถก่อนานาโนอิมัลชันได้กับน้ำมันที่ใช้ในอาหาร โดยเฉพาะกับน้ำมันดอกทานตะวัน ยิ่งไปกว่านั้นนาโนอิมัลชันที่เตรียมได้ยังมีความสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคในอาหาร เช่น *Salmonella typhi*, *Listeria monocytogenes* และ *Staphylococcus aureus* และสปอร์ของ *B. circulans* ได้เป็นอย่างดี



## 2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มไลโปเพปไทด์

### 2.5.1 แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนที่มักนำมาใช้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ กลุ่มที่ละลายน้ำ ได้แก่ กลูโคส ซูโครส กลีเซอรอล และกลุ่มที่ไม่ละลายน้ำ เช่น ไฮโดรคาร์บอน น้ำมัน พืชชนิดต่างๆ ซึ่งสมบัติของแหล่งคาร์บอนแต่ละชนิด ย่อมส่งผลต่อชนิด คุณภาพ และปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ นอกจากนี้ก็มีการใช้แหล่งคาร์บอนที่มีราคาถูก สามารถผลิตทดแทนใหม่ได้ และเหลือทิ้งจากการเกษตร มาใช้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เพื่อลดต้นทุนการผลิตเช่นกัน ตัวอย่างเช่น ไขมันจากสัตว์ กากน้ำตาล เป็นต้น (Raza และคณะ, 2007)

ยกตัวอย่างการศึกษาหาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในการผลิตเซอร์แฟกทิน โดยแปรผัน กลูโคส ซูโครส กาแลกโทส มอลโทส แมนนิทอล เด็กซ์ทริน Al-Ajlani และคณะ (2007) พบว่า ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ทำให้ผลิตเซอร์แฟกทินได้มากที่สุด นอกจากนี้ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนก็มีผลต่อการผลิตเซอร์แฟกทินเช่นกัน Yeh และคณะ (2005) พบว่า การเติมกลูโคสที่มากเกินไป จะทำให้ระบบเป็นกรดมาก ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารของเชื้อ เป็นผลทำให้เชื้อผลิตเซอร์แฟกทินลดลง

การเติมไฮโดรคาร์บอนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถช่วยเพิ่มการผลิตสารลดแรงตึงผิวได้ เนื่องจากเชื้อสามารถใช้สารลดแรงตึงผิวย่อยสารไฮโดรคาร์บอนเพื่อเป็นอาหารได้ ดังนั้นการเติมไฮโดรคาร์บอนเป็นการกระตุ้นให้เชื้อมีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมากขึ้น (Abdel-Mawgoud และคณะ, 2008) ตัวอย่างไฮโดรคาร์บอนที่ถูกนำมาศึกษาเพื่อการผลิตเซอร์แฟกทิน ได้แก่ เคโรซีน ดีเซล เบนซีน เฮปเทน ผลการทดลองพบว่า เคโรซีน เป็นไฮโดรคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตเซอร์แฟกทิน (Abdel-Mawgoud และคณะ, 2008)

### 2.5.2 แหล่งไนโตรเจน

ไนโตรเจนมีความจำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ โดยมีความสำคัญต่อกระบวนการสร้างโปรตีนและเอนไซม์ แหล่งไนโตรเจนที่ถูกใช้ในการผลิตสารในกลุ่มไลโปเพปไทด์แบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ คือ รูปแบบอินทรีย์ ได้แก่ ยูเรีย ทรีปโตน สารสกัดจากเนื้อ สารสกัดจากยีสต์ รูปแบบสารอนินทรีย์ ได้แก่ แอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไนเตรต และ แอมโมเนียมซัลเฟต (Wei และ Chu, 1998; Yeh และคณะ, 2005; Das Neves และคณะ, 2007; Fonseca และคณะ, 2007; Abdel-Mawgoud และคณะ, 2008)

Abdel-Mawgoud และคณะ (2008) ได้ศึกษาหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *B. subtilis* BS5 โดยเปรียบเทียบระหว่างไนโตรเจนอินทรีย์และไนโตรเจนอนินทรีย์ ผลการศึกษาพบว่า โซเดียมไนเตรต เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

### 2.5.3 แหล่งแร่ธาตุและวิตามิน

แร่ธาตุและวิตามินเป็นปัจจัยสำคัญในการส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สำหรับการผลิตเซอร์แฟกทินพบว่าการเติม  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Mn^{2+}$  และ  $Fe^{2+}$  ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ช่วยเพิ่มปริมาณการผลิตเซอร์แฟกทิน จาก 330 เป็น 2600 mg/L (Wei และ Chu, 1998) ทั้งนี้ยังพบว่าเมื่อไม่เติม  $Mg^{2+}$  และ  $K^+$  เชื้อจะผลิตเซอร์แฟกทินได้ลดลงเหลือเพียง 0.4 g/L และการไม่เติม  $Mn^{2+}$  และ  $Fe^{2+}$  ก็ทำให้เชื้อผลิตเซอร์แฟกทินลดลงเช่นกัน เหลือเพียง 0.6 g/L ในขณะที่การเติมเพียง  $Fe^{2+}$  หรือ  $Mn^{2+}$  เชื้อจะมีการผลิตเซอร์แฟกทินมากขึ้นกว่าเดิมถึง 80% แสดงให้เห็นว่าการเติมแร่ธาตุมีความสำคัญต่อการผลิตเซอร์แฟกทินเป็นอย่างมาก จากการศึกษาพบว่า  $Mg^{2+}$  เป็นโคแฟกเตอร์ ที่ช่วยกระตุ้น *B.subtilis* Sfp protein ให้ทำงานเพื่อผลิตเซอร์แฟกทิน (Kinsinger และคณะ, 2003)  $Fe^{2+}$  เป็น Co factor ในเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เซอร์แฟกทิน (Wei และ Chu, 1998) แร่ธาตุ  $K^+$  มีหน้าที่กระตุ้นการหลั่ง (secretion) เซอร์แฟกทินที่เชื้อผลิตออกมา และ  $Mn^{2+}$  ช่วยทำให้เชื้อดูดซึมแร่ธาตุ  $K^+$  มากขึ้น (Cooper และคณะ, 1981; Kinsinger และคณะ, 2005; Liu และคณะ, 2012)

### 2.5.4 อุณหภูมิและพีเอช

โดยปกติแล้ว *B. subtilis* จะผลิตเซอร์แฟกทินที่อุณหภูมิในช่วง 25 ถึง 37 องศาเซลเซียส (Georgiou และคณะ, 1992; Abdel-Mawgoud และคณะ, 2008) มีงานวิจัยที่พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อลักษณะของสารลดแรงตึงผิวที่เชื้อผลิต Sen และ Swaminathan (2005) พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเซอร์แฟกทินโดย *B. subtilis* DSM 3256 คือ 37.4 องศาเซลเซียส พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อก็เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการผลิต เนื่องจากพบว่าการควบคุมพีเอชมีผลทำให้เพิ่มผลผลิตได้มากขึ้น Sen และ Swaminathan (1997) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของพีเอชที่มีผลต่อการสร้างลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยแปรผันพีเอชตั้งแต่ 6-9 ผลการทดลองพบว่าพีเอชที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตสารในกลุ่มนี้คือ 6.75

### 2.5.5 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

มีงานวิจัยมากมายที่พบว่า ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีผลโดยตรงกับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B.subtilis* (Yeh และคณะ, 2005; Guez และคณะ, 2008)

Sheppard และ Cooper (1990) พบว่าอัตราการถ่ายโอนออกซิเจน (oxygen transfer rate) เป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญในกระบวนการผลิตเซอร์แฟกทินรวมถึงการผลิตในระดับขยายส่วน (scaling-up)

Ghribi และ Ellouze-Chaabouni (2011) พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ อิมิตัวถึง 30% จะช่วยทำให้เชื้อมีการผลิตเซอร์แฟกทินมากขึ้นถึง 4.92 กรัม/ลิตร

Yeh และคณะ (2005) และ Fonseca และคณะ (2007) พบว่า การเพิ่มความเร็วของการกวนมีผลทำให้ค่าการละลายออกซิเจนในน้ำเพิ่มขึ้น และส่งผลทำให้เชื้อมีการผลิตเซอร์แฟกทินเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการรายงานของ Yeh และคณะ (2005) ที่พบว่าเมื่อเพิ่มความเร็วของการกวนในช่วง 200 ถึง 250 rpm จะทำให้เชื้อมีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมากที่สุด อย่างไรก็ตาม Shaligram และ Singhal (2010) พบว่าการให้ความเร็วของการกวนกับระบบมากเกินไป คือมากกว่า 350 rpm ส่งผลทำให้เชื้อมีการผลิตสารลดแรงตึงผิวลดลง เนื่องจากในระบบมีการสะสมของโฟมมากเกินไป

ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจนหรือ ค่า  $KLa$  มีผลโดยตรงกับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ซึ่งพารามิเตอร์ที่มีผลต่อค่า  $KLa$  ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (liquid medium) ความไวของแก๊ส (gas superficial) ค่าแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ (surface tension of liquid medium) และอนุภาคของแข็งในระบบ (solid particles) จากการศึกษาพบว่า การเกิดโฟมมากในระบบจะทำให้ค่า  $KLa$  ลดลง และส่งผลทำให้เชื้อที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ อย่าง *B. subtilis* มีการเจริญลดลง (Fahim และคณะ, 2013)

## 2.6 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มไลโปเพปไทด์ในระดับขยายส่วน

โดยทั่วไปแล้ว การศึกษาหาภาวะการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์นิยมศึกษาในระดับขวดเขย่า เนื่องจากสะดวก ทำจำนวนซ้ำหลายครั้งได้ อย่างไรก็ตามการทดลองระดับขวดเขย่าก็ยังมีข้อจำกัดในเรื่องการติดตามการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึม การปรับความเป็นกรดต่าง รวมถึงการเติมสารต่างๆ เพิ่มเติมในระหว่างการเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นก่อนที่จะมีการพัฒนากระบวนการผลิตสารในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาปัจจัยเหล่านี้ในถังหมักขนาดเล็กในระดับห้องปฏิบัติการก่อน เนื่องจากถังหมักที่ใช้ในระดับห้องปฏิบัติการนั้นจำลองมาจากถังหมักที่ใช้ในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ เพียงแต่มีขนาดเล็กกว่า ทำให้สามารถศึกษาและแปรผันปัจจัยต่างๆ มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตของเชื้อได้เหมาะสม โดยที่เสียค่าใช้จ่ายน้อย ก่อนที่จะพัฒนารูปแบบการผลิตสารนั้นสู่ระดับนำร่องและระดับอุตสาหกรรมต่อไป

### กระบวนการหมักแบบแบตช์

กระบวนการหมักแบบแบตช์ คือ กระบวนการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในระบบปิดที่มีสารอาหารเริ่มต้นปริมาณจำกัด เมื่อลงเชื้อในระบบแล้วจะไม่มีสารอาหารเติมใด ๆ เพิ่มลงไปอีก เซลล์จะเจริญจนกระทั่งองค์ประกอบของสารอาหารที่จำเป็นหมดไป หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม เป็นต้น การเลี้ยงเชื้อแบบแบตช์นี้จะสามารถให้ข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาการเลี้ยงเชื้อในระบบแบบเฟดแบตช์ต่อไปได้

มีงานวิจัยมากมายที่สนใจศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไลโปเพปไทด์จาก *B. subtilis* ในถังหมักแบบแบตช์ ยกตัวอย่างเช่น

Pretorius และคณะ (2015) รายงานว่า ออกซิเจน เป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญในการเพิ่มผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชนิดไลโปเพปไทด์ การทดลองแสดงให้เห็นว่าจลนศาสตร์การผลิตไลโปเพปไทด์มากขึ้นเมื่อเพิ่มออกซิเจนในระบบ สอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ เช่นกันที่พบว่า ออกซิเจนในระบบมีผลต่อการผลิตไลโปเพปไทด์ กล่าวคือ ถ้าในระบบมีอัตราการโอนถ่ายออกซิเจน (oxygen transfer rate) สูง จะช่วยกระตุ้นการผลิตเซอร์แฟกทินซึ่งเป็นสารในกลุ่มไลโปเพปไทด์อย่างมีนัยสำคัญ (Coutte และคณะ, 2013; Rangarajan และ Clarke, 2015) ออกซิเจนเป็นปัจจัยสำคัญต่อการผลิตไลโปเพปไทด์เนื่องจากออกซิเจนเกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการสังเคราะห์เพปไทด์ (Guez และคณะ, 2008)

การถ่ายโอนออกซิเจนในระบบ ขึ้นกับ อัตราการกวน และ อัตราการให้อากาศ ทำให้งานวิจัยจำนวนมากสนใจศึกษาอิทธิพลของพารามิเตอร์ทั้งสองในการเพิ่มผลผลิตสารในกลุ่มไลโปเพปไทด์ ดังตารางที่ 2.4 มีการศึกษาผลของการให้อัตราการกวนตั้งแต่ 140-458 รอบต่อนาที ร่วมกับอัตราการให้อากาศจนถึง 1 vvm นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการแปรผันการควบคุมอุณหภูมิในระบบตั้งแต่ 30-37.5 องศาเซลเซียส อีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการผลิตสารในกลุ่มไลโปเพปไทด์ คือ พีเอชในระบบ

โดยพีเอชในระบบควบคุมให้อยู่ในช่วง 6 ถึง 7 เนื่องจากถ้าพีเอชในระบบต่ำกว่าพีเอช 5 จะทำให้การผลิตสารในกลุ่มไลโปเพปไทด์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้การผลิตสารในกลุ่มไลโปเพปไทด์ในกระบวนการหมักในถังหมักแบบแบตช์ ต้องมีระบบจัดการโฟมอย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากในระหว่างกระบวนการผลิต จะมีโฟมเกิดขึ้นจำนวนมาก ทำให้มีความจำเป็นต้องมีระบบจับเก็บโฟมที่อาจล้นออกมา ซึ่งระบบการจับเก็บโฟมที่ดีสามารถนำโฟมที่ล้นออกไปทำการสกัดแยกผลิตภัณฑ์ต่อไปได้ นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยที่พบว่าการเติมสารพวกสารลดฟองลงไป มีผลทำให้การผลิตสารลดแรงตึงผิวในกลุ่มไลโปเพปไทด์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญอีกด้วย (Rangarajan และ Clarke, 2015) ดังนั้นการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มไลโปเพปไทด์จะต้องมีการคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้อย่างรอบคอบ เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพการเพิ่มผลผลิตสารสูงสุด

**ตารางที่ 2.4** แสดงพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ใช้ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มไลโปเพปไทด์ในถังหมัก (Rangarajan และ Clarke, 2015)

สายพันธุ์	ภาวะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม				อ้างอิง
	ความเร็ว ใบกวน (rpm)	การให้ อากาศ (vvm)	อุณหภูมิ (°C)	พีเอช	
<i>B. megaterium</i>	458	1	33.3	6.7	(Dhanarajan และคณะ, 2014)
<i>B. circulans</i>	432	0.83	30	6.26	(Sivapathasekaran และ Sen, 2013)
<i>B. subtilis</i> BBG 21	250 (S) 150 (F)	-	30	7	(Fahim และคณะ, 2013)
<i>B. subtilis</i> BS 5	250	-	30	6.5	(Abdel-Mawgoud และคณะ, 2008)
<i>B. subtilis</i> DSM 3256	140	0.75	37.5	6.8	(Sen และ Swaminathan, 1997)
<i>B. subtilis</i> ATCC 21332	300	1	32	7	(Davis และคณะ, 1999)

หมายเหตุ S หมายถึง surfactin, F หมายถึง Fengycin

## 2.7 เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง

อิเล็กโทรสปินนิง (electrospinning) หรือ กระบวนการปั่นแบบไฟฟ้าสถิต ถูกคิดค้นและจดสิทธิบัตรมาตั้งแต่ปี 1934 โดย Formhals หลังจากนั้นก็มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน จะเห็นได้จากจำนวนที่เพิ่มขึ้นอย่างทวีคูณของผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ ผลงานจดสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้องกับอิเล็กโทรสปินนิงที่เกี่ยวกับการพัฒนาออกแบบเครื่องมือ การผลิตและประยุกต์ใช้เส้นใยอิเล็กโทรสปิน เป็นต้น (Mit-uppatham และคณะ, 2004; Bhardwaj และ Kundu, 2010) เนื่องจากเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงเป็นเทคนิคที่ง่าย สะดวกต่อการผลิตเส้นใย และเส้นใยที่ผลิตได้มีขนาดตั้งแต่ระดับ 10 นาโนเมตร ถึงมากกว่า 1 ไมโครเมตร ทำให้เส้นใยมีลักษณะพิเศษ คือ มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง สมบัติเชิงกลของเส้นใยในด้านความแข็งแรงและความยืดหยุ่นจึงดีขึ้น นอกจากนี้โครงร่างเส้นใยยังมีรูพรุนขนาดเล็กจำนวนมากทำให้การส่งผ่านแก๊สและของเหลวดีขึ้น (Liang และคณะ, 2007)

### 2.7.1 หลักการของเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง

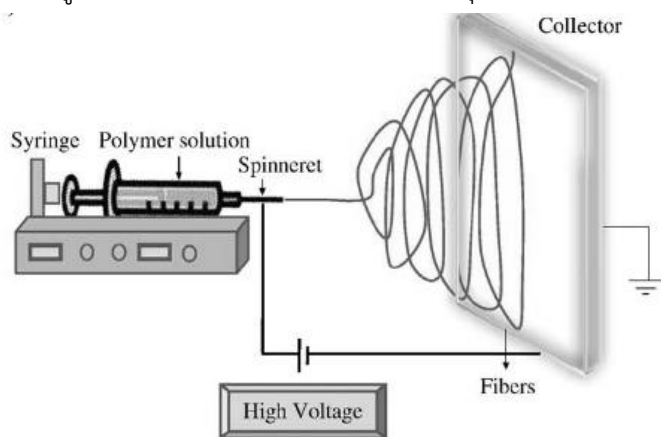
การทำงานของระบบอิเล็กโทรสปินนิง คือ อาศัยแรงไฟฟ้าในการเอาชนะแรงตึงผิวของสารละลายพอลิเมอร์ อันเป็นผลจากการเชื่อมต่อนิวตันกับแหล่งกำเนิดศักย์ไฟฟ้าแรงสูง ทำให้เกิดประจุไฟฟ้าที่ผิวหน้าพอลิเมอร์ และเนื่องจากประจุที่เกิดขึ้นมีขั้วเหมือนกันจึงมีแรงผลักระหว่างประจุขึ้น แรงผลักระหว่างประจุนี้เรียกว่า แรงผลักระหว่างไฟฟ้าคูลอมบ์ (repulsive coulombic force) ชนิดประจุขึ้นกับชนิดแหล่งกำเนิดไฟฟ้าแรงสูง เมื่อแรงผลักระหว่างประจุนี้มีค่ามากพอจนชนะแรงตึงผิวของพอลิเมอร์ จะทำให้เกิดการยืดและพุ่งตัวของพอลิเมอร์ไปยังวัสดุรองรับที่เป็นสายดิน (grounded collector) จากนั้นพอลิเมอร์จะมีการแข็งตัวเป็นเส้นใยโดยการระเหยออกของตัวทำละลาย หรือถ่ายเทความร้อนโดยตรงให้กับสิ่งแวดล้อม (Liang และคณะ, 2007; Sill และ Von Recum, 2008)

อุปกรณ์หลักที่ใช้ในการปั่นเส้นใยแบบไฟฟ้าสถิต ประกอบด้วย 3 ส่วนใหญ่ ดังแสดงในรูปที่ 2.14 (Huang และคณะ, 2004) ได้แก่

1. เครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูง (high voltage power supply) ทำหน้าที่สร้างความต่างศักย์ไฟฟ้าระหว่างปลายเข็มของสารละลายพอลิเมอร์ (emitting electrode) และฉากรองรับเส้นใย (collecting electrode) ซึ่งสามารถปรับค่าความต่างศักย์ได้ในช่วง 0-50 กิโลโวลต์ มีข้อควรระวังคือ ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ควรอยู่ไม่ควรเกินระดับมิลลิแอมป์ เพื่อป้องกันอันตรายจากไฟฟ้าช็อตที่อาจเกิดขึ้นกับผู้ใช้งานได้

2. หลอดฉีดยาสำหรับบรรจุสารละลายพอลิเมอร์ (syringe with needle) โดยทั่วไปแล้วจะใช้หลอดฉีดยาที่ทำจากแก้ว โดยจะต้องมีช่องเปิดเพื่อให้สารละลายพอลิเมอร์ไหลออกมาได้ และตรงช่องเปิดของหลอดฉีดยานั้นจะหนีบด้วยเข็มฉีดยาที่ต่อกับเครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูง

3. วัสดุรองรับเส้นใยที่ทำจากโลหะ (metal collector) มีหลายลักษณะ เช่น แผ่นตะแกรงโลหะ ฉากที่หุ้มด้วยโลหะ ลูกกลิ้งที่ทำจากโลหะซึ่งสามารถควบคุมอัตราเร็วรอบการหมุน เป็นต้น



รูปที่ 2.14 แสดงส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์สปินนิ่ง (Huang และคณะ, 2004)

## 2.7.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่น

มีการรายงานว่าลักษณะและขนาดของเส้นใยขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยประกอบกัน ดังนี้ (Pillay และคณะ, 2013)

### 2.7.2.1 ปัจจัยเรื่องของสารละลายพอลิเมอร์

#### 2.7.2.1.1 ความหนืด

พบว่าความหนืดมีผลโดยตรงต่อการเกิดเส้นใย เมื่อความหนืดของสารละลายต่ำเกินไป สารละลายลักษณะสเปรย์จะเกิดขึ้นแทน และอนุภาคพอลิเมอร์จะเกิดการรวมตัวแทนที่จะเกิดเป็นเส้นใย นอกจากนี้สายโซ่พอลิเมอร์เกิดการเชื่อมต่อกันน้อย จึงเป็นสาเหตุของการเกิดปัดส์ แต่เมื่อความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์สูงขึ้นจะส่งผลทำให้สารละลายพอลิเมอร์เกิดการยึดตัวออกเป็นลักษณะเส้นใยจนถึงฉากรองรับ นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารละลายสูงจะทำให้ลักษณะเส้นใยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่า เนื่องจากในสารละลายที่มีความเข้มข้นพอลิเมอร์ต่ำจะมีค่าแรงตึงผิวที่ต่ำด้วย ทำให้แรงผลัไฟฟ้าสูงกว่าจนเอาชนะแรงตึงผิวได้ง่ายกว่า จนเกิดการเหนี่ยวนำให้สารละลายพอลิเมอร์แตกเป็นละอองฝอย

#### 2.7.2.1.2 ความนำไฟฟ้า

สารละลายพอลิเมอร์ที่มีความนำไฟฟ้าสูง มีความสามารถในการเคลื่อนที่ของประจุไฟฟ้าได้ดีกว่าสารละลายพอลิเมอร์ที่มีความนำไฟฟ้าต่ำ ทำให้เส้นใยที่พุ่งออกจากสารละลายความนำไฟฟ้าสูงเกิดแรงดึงของสารละลายได้ดีกว่าสารละลายที่มีความนำไฟฟ้าต่ำ ทำให้ได้เส้นใยขนาดเล็ก (Baumgarten, 1971; Fong และคณะ, 1999; Huang และคณะ, 2001; Zong และคณะ, 2002) รายงานว่าการเติม NaCl ลงในสารละลายพอลิเมอร์พอลิเอทิลีนออกไซด์ (polyethylene oxide, PEO) ที่มีน้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย มีผลทำให้สารละลายมีประจุเพิ่มขึ้น และช่วยลดแรงต้านของสารละลาย ทำให้สารละลายพุ่งออกมาได้เร็วขึ้น เส้นใยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กลง และกระจายตัวสม่ำเสมอ ในขณะที่ถ้าทำให้สารละลายพอลิเมอร์มีความเป็นกลาง ไม่มีประจุ จะทำให้แรงดึงสารละลายลดลง ส่งผลทำให้เกิดเส้นใยขนาดใหญ่ขึ้น

#### 2.7.2.1.3 ค่าแรงตึงผิว

ค่าแรงตึงผิวที่สูงของสารละลายมีผลไปยังยังกระบวนการการเกิดเส้นใยได้ เนื่องจากทำให้สารละลายไม่สามารถพุ่งออกมาเป็นสาย ทำให้พอลิเมอร์ที่ตกไปยังฉากรองรับมีลักษณะเป็นหยดของพอลิเมอร์ (Hohman และคณะ, 2001)

Haghi และ Akbari (2007) รายงานว่าลักษณะของเส้นใยขึ้นอยู่กับค่าแรงตึงผิวของสารละลายพอลิเมอร์ ถ้าสารละลายมีค่าแรงตึงผิวต่ำจะทำให้ผลิตเส้นใยได้ดี ไม่เกิดปัดส์ อย่างไรก็ตาม มีรายงานเพิ่มเติมของ (Zhang และคณะ (2005)) และ Pham และคณะ (2006) พบว่า ค่าแรงตึงผิวที่ต่ำของสารละลายไม่ได้ทำให้ผลิตเส้นใยได้เรียบเสมอไป ดังนั้นปัจจัยเรื่องค่าแรงตึงผิวของสารละลายจึงยังเป็นพารามิเตอร์ที่ยังต้องมีการศึกษาค้นคว้าต่อไป เพื่อให้สารละลายพอลิเมอร์ชนิดนั้นๆที่มีค่าแรงตึงผิวที่เหมาะสมต่อการผลิตเส้นใยนาโน

#### 2.7.2.1.4 ความเข้มข้น

ความเข้มข้นของพอลิเมอร์มีผลต่อความหนืดและแรงตึงผิวของสารละลาย มีงานวิจัยที่รายงานว่า ความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่ต่ำเกินไปจะทำให้



ให้ค่าแรงตึงผิวของสารละลายต่ำลงไปด้วย ส่งผลทำให้สารละลายพอลิเมอร์ไม่แข็งแรงพอที่จะต้านแรงศักย์ไฟฟ้าได้ สารละลายพอลิเมอร์จึงถูกฉีกออกมาเป็นเม็ด (droplet) บนฉากรองรับมากกว่าจะเกิดเป็นเส้นใย ในขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นพอลิเมอร์มากขึ้นจะช่วยทำให้สารละลายถูกฉีกออกมาเป็นเส้นใยที่มีผิวเรียบมากขึ้น อย่างไรก็ตามถ้าความเข้มข้นพอลิเมอร์มากเกินไปจะทำให้สารละลายมีความหนืดมากเกินไปจนสารละลายไม่สามารถพุ่งออกมาเป็นเส้นใยได้เช่นกัน (Ki และคณะ, 2005; Haghi และ Akbari, 2007)

## 2.7.2.2 ปัจจัยด้านกระบวนการ

### 2.7.2.2.1 ความต่างศักย์ไฟฟ้า

ในกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง ปัจจัยเรื่องความต่างศักย์ไฟฟ้าเป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากความต่างศักย์จะเป็นตัวเหนี่ยวนำให้เกิดประจุในสารละลาย ซึ่งเมื่อแรงทางไฟฟ้าในสารละลายมากกว่าแรงตึงผิวของสารละลาย จะทำให้หยดสารละลายที่ปลายเข็มเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากหยดเป็นรูปทรงกรวย และดึงยืดออกเป็นเส้นใยในที่สุด (Baumgarten, 1971) โดยส่วนใหญ่แล้วการเพิ่มความต่างศักย์ไฟฟ้าจะทำให้สารละลายยืดออกเพิ่มขึ้นทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเล็กลง (Zhang และคณะ, 2005) อย่างไรก็ตามก็มีรายงานว่าการเพิ่มความต่างศักย์ไฟฟ้า อาจทำให้เส้นใยเกิดบิดสัได้ ดังนั้นการผลิตเส้นใยอิเล็กโทรสปินนิงจำเป็นต้องเลือกใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าให้เหมาะสมกับสารละลายพอลิเมอร์ (Haghi และ Akbari, 2007)

### 2.7.2.2.2 ระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดยาและฉากรับเส้นใย

โดยทั่วไปแล้วพบว่า เมื่อเพิ่มระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดยาและฉากรับเส้นใย จะทำให้เส้นใยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลดลง (Doshi และ Reneker, 1995) อย่างไรก็ตามถ้าระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดยาและฉากรับเส้นใยน้อยเกินไป จะทำให้มีเวลาในการระเหยตัวทำละลายไม่เพียงพอ ทำให้ตัวทำละลายเหลืออยู่ในระบบเป็นสาเหตุให้เส้นใยมารวมกันทำให้เส้นใยมีลักษณะแบน (Baumgarten, 1971) แต่เมื่อเพิ่มระยะห่าง

มากขึ้นจะช่วยทำให้เส้นใยมีลักษณะกลม มีมิติมากขึ้น (Buchko และคณะ, 1999)

#### 2.7.2.2.3 อัตราการป้อนสารละลาย

อัตราการป้อนสารละลายมีผลต่อความไวในการพุ่งออกของสารละลายและอัตราการระเหยของสารละลาย อัตราการป้อนสารละลายต้องมีความเหมาะสมไม่เร็วจนเกินไป เพราะมีแนวโน้มทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและขนาดของรูพรุนเพิ่มขึ้น รวมถึงเกิดปัดสกับเส้นใยจำนวนมาก เนื่องจากความต่างศักย์ไฟฟ้าอาจไม่มากพอที่จะทำให้หยดสารละลายพอลิเมอร์ยืดออกเป็นเส้นใยระหว่างเคลื่อนที่ไปยังฉากรองรับเส้นใย รวมถึงการระเหยตัวทำละลายเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ (Yuan และคณะ, 2004)

#### 2.7.2.3 ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม

ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญสำหรับกระบวนการผลิตเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ความชื้น และอุณหภูมิ จากการศึกษาปัจจัยของสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อกระบวนการผลิตเส้นใย พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิในกระบวนการผลิตทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยลดลง เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิมีผลทำให้ความความหนืดต่ำลง (Mit-uppatham และคณะ, 2004) ความชื้นของอากาศในระหว่างกระบวนการผลิตก็มีผลต่อลักษณะของเส้นใยเช่นกัน Casper และคณะ (2004) รายงานว่า ถ้าในระบบมีความชื้นสูงจะทำให้เกิดการควบแน่นเป็นหยดน้ำบนผิวเส้นใย ส่งผลทำให้ผิวเส้นใยมีรูพรุนมากขึ้น ในขณะที่ถ้าในระบบมีความชื้นต่ำ จะทำให้ตัวทำละลายที่อยู่ในสารละลายระเหยเร็วเกินไปก่อนที่สารละลายจะพุ่งออกมาจากปลายเข็มฉีดยาไปยังฉากรองรับเส้นใย ทำให้สารละลายพอลิเมอร์อุดตันอยู่ที่ปลายเข็มฉีดยา

ตารางที่ 2.5 สรุปผลของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อลักษณะของเส้นใย (Bhardwaj และ Kundu, 2010)

ปัจจัย	ลักษณะของเส้นใย
ความหนืด	ความหนืดต่ำ : เกิดบิดส์กับเส้นใย ความหนืดมาก: เส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มขึ้น บิดส์ลดลง
ความเข้มข้นพอลิเมอร์	เส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นพอลิเมอร์
ความนำไฟฟ้า	เส้นผ่านศูนย์กลางเล็กลง เมื่อสารละลายมีความนำไฟฟ้าสูง
แรงตึงผิว	ยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัดเกี่ยวกับผลที่มีต่อลักษณะเส้นใย และบางรายงานพบว่าสารละลายที่มีค่าแรงตึงผิวสูงมีผลทำให้การผลิตเส้นใยไม่เสถียร
ความต่างศักย์ไฟฟ้า	เส้นผ่านศูนย์กลางเล็กลง เมื่อเพิ่มความต่างศักย์ไฟฟ้า
ระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดยากับฉากรองรับ	ระยะห่างที่ไม่เหมาะสมทำให้เกิดบิดส์กับเส้นใย
อัตราการป้อนสารละลาย	เกิดบิดส์กับเส้นใยมากขึ้น เมื่อเพิ่มอัตราการป้อนสารละลาย
ความชื้น	ความชื้นสูงมีผลทำให้เส้นใยเกิดรู
อุณหภูมิ	อุณหภูมิสูงมีผลทำให้เส้นใยมีเส้นผ่านศูนย์กลางลดลง

## 2.8 การประยุกต์ใช้เส้นใยอิเล็กทรอนิกส์

เนื่องจากคุณลักษณะพิเศษของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ คือ เส้นใยมีขนาดเล็กมากจึงมีพื้นที่ผิวมาก มีรูขนาดเล็ก มีสมบัติเชิงกลในด้านความแข็งแรงเชิงกลสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุอื่น และกระบวนการผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กทรอนิกส์เป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยาก สามารถปรับพารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้ง่าย เพื่อให้ได้ลักษณะของเส้นใยได้ที่ต้องการ ทำให้มีการนำเส้นใยไปประยุกต์ใช้กับงานต่าง ๆ มากมาย ดังนี้ (Bhardwaj และ Kundu, 2010)

### 2.8.1 ด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

วิศวกรรมเนื้อเยื่อ คือ ศาสตร์ที่รวมองค์ความรู้ของวิศวกรรมและวิทยาศาสตร์สุขภาพเพื่อใช้พัฒนาหาวัสดุทดแทนทางชีวภาพ รวมทั้งฟื้นฟูบำรุงรักษาหรือปรับปรุงการทำงานของเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่สูญเสียหรือบาดเจ็บ ดังนั้นการวิจัยหาวัสดุชีวภาพมีบทบาทสำคัญในวิศวกรรมเนื้อเยื่อ เนื่องจากต้องเป็นวัสดุที่ใช้ไว้สำหรับเซลล์ในการเจริญเติบโต การเพิ่มจำนวน และการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ เมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะเส้นใยที่ผลิตได้จากกรรมวิธีอื่น เช่น วิธีให้โมเลกุลหน่วยย่อยวางตัวเข้าด้วยกันอย่างเป็นระเบียบด้วยตนเอง (self-assembly) การแยกเฟส (phase separation) พบว่าอิเล็กทรอนิกส์เป็นวิธีที่สามารถผลิตให้โครงสร้างเส้นใยขนาดเล็ก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วงระดับไมโครเมตร เส้นใยซ้อนทับกันหลายชั้นทำให้เกิดเป็นวัสดุที่มีพื้นที่ผิวสัมผัสและมีรูพรุนจำนวนมาก นอกจากนี้ยังมีการเชื่อมต่อรูพรุนที่ดี เกิดเป็นโครงสร้างที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์และเนื้อเยื่อ (Nerem และ Sambanis, 1995)

#### โครงสร้างเซลล์ในวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (scaffolds)

ในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โครงสร้างเซลล์ที่มีสมบัติย่อยสลายโดยชีวภาพเป็นวัสดุที่มีความจำเป็นมาก เนื่องจากโครงสร้างเซลล์เป็นสิ่งที่ใช้เป็นแม่แบบชั่วคราวในการเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell seeding) และเพิ่มจำนวนให้มีปริมาณมากพอ แล้วชักนำให้เปลี่ยนแปลง (differentiate) ไปเป็นเนื้อเยื่อที่มีความสมบูรณ์และทำงานได้ตามวัตถุประสงค์ (Li และคณะ, 2007) มีงานวิจัยมากมายที่รายงานถึงการใช้เทคนิคอิเล็กทรอนิกส์ในการสร้างโครงสร้างเซลล์เพื่อใช้ในวิศวกรรมเนื้อเยื่อ เนื่องจากโครงสร้างเซลล์ที่ประดิษฐ์ขึ้นมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมอันตรกิริยาระหว่างเซลล์กับโครงสร้าง และเซลล์กับเซลล์ปกติได้ดี ทำให้มีการแสดงออกลักษณะยีนและฟีโนไทป์ที่ปกติเหมือนเซลล์เริ่มต้น (He และคณะ, 2007) โครงสร้างเซลล์ส่วนใหญ่นิยมใช้ชีววัสดุจากธรรมชาติ เนื่องจากส่งเสริมความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย ไม่เกิดการต่อต้านต่อภูมิคุ้มกันของร่างกาย เช่น คอลลาเจน แอลจินेट ไทม กรดไฮยาลูโรนิก ไพบริโนเจน ไคโตซาน แป้ง หรือวัสดุสังเคราะห์ขึ้น เช่น พอลิคาโพรแลคโตน เป็นต้น (Pavlov และคณะ, 2004; Albany และ Seliktar, 2005; Wayne และคณะ, 2005;

Yoo และคณะ, 2005) ตัวอย่างของโครงสร้างเซลล์ที่ใช้ในวิศวกรรมเนื้อเยื่อที่มีการศึกษาและพัฒนาแล้ว ได้แก่ กระดูกอ่อน (Fertala และคณะ, 2001; Rho และคณะ, 2006) ผิวหนัง (Venugopal และ Ramakrishna, 2005) กระดูก (Yoshimoto และคณะ, 2003; Chen และคณะ, 2006) หลอดเลือดแดง (Huang และคณะ, 2000; Nagapudi และคณะ, 2002) กล้ามเนื้อหัวใจ (Zong และคณะ, 2003) เส้นประสาท (Silva และคณะ, 2004) เป็นต้น

### 2.8.2 เครื่องสำอาง

ในปัจจุบันเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ถูกนำมาเป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง เช่น แผ่นมาร์สก์หน้า ซึ่งอาจมีการเติมสารเติมแต่ง (additives) เพื่อให้ฟังก์ชันตามที่ต้องการ เช่น เพื่อบำรุงรักษาผิว ทำความสะอาด รวมถึงใช้ในการบำบัดรักษาในทางการแพทย์ ข้อดีของแผ่นมาร์สก์หน้าที่ทำจากเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์คือ การที่มีพื้นที่ผิวมากช่วยทำให้ง่ายต่อการที่สารเติมแต่งจะสัมผัสผิวได้รวดเร็วมากขึ้น ทำให้ออกฤทธิ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น สอดคล้องกับการรายงานของ (Huang และ Chang, 2003) ที่พบว่าแผ่นมาร์สก์หน้าที่ทำจากเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์มีความอ่อนโยนและสามารถซึมซาบเข้าสู่ผิวหนังได้ดีขึ้น ช่วยทำให้การบำรุงรักษาผิวดีขึ้น (Huang และ Chang, 2003) นอกจากนี้ยังสามารถช่วยต่อต้านริ้วรอย ช่วยสมานและแก้ไขแผลเป็นได้อีกด้วย (Ramakrishna และคณะ, 2006)

### 2.8.3 ระบบนำส่งยา

ระบบนำส่งยา คือ รูปแบบการเตรียมยาเพื่อควบคุมให้ปลดปล่อยยาในอัตราและปริมาณที่กำหนด เพื่อนำยาไปยังอวัยวะหรือเป้าหมายในร่างกายได้ตามต้องการ เพื่อทำให้เกิดผลสูงสุดในการรักษาและลดผลข้างเคียง ทั้งนี้พอลิเมอร์ที่เลือกใช้ต้องมีสมบัติทางชีวภาพสำคัญคือ มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย (biocompatible) สามารถย่อยสลายได้ในร่างกาย (biodegradable) (Kost และ Langer, 2001) ด้วยคุณสมบัติเส้นใยที่พิเศษของเส้นใยนาโน คือ พื้นที่ผิวมาก ทำให้มีการนำมาประยุกต์ในระบบนำส่งยาอย่างกว้างขวาง เนื่องจากอัตราการละลายของยา (dissolution rate) จะเร็วและมีประสิทธิภาพจำเป็นต้องอาศัยทั้งตัวยาและตัวพา (carriers) ที่มีพื้นที่ผิวมาก (Verreck และคณะ, 2003) มีการรายงานถึงสารละลายที่มีการเติมยาที่มีมวลโมเลกุลต่ำเหล่านี้สามารถใช้เป็นระบบนำส่งยาได้ เช่น ยาที่มีโครงสร้างลิพอฟิลิก (lipophilic) พวกริบูโพรเฟน (ibuprofen) (Jiang และคณะ, 2004) เซฟาโซลิน (cefazolin) (Katti และคณะ, 2004) ไรแฟมพิซิน (rifampin) พาซิแทกเซล (paclitaxel) (Zeng และคณะ, 2003) และ ไอทราโคนาโซล (Itraconazole) (Verreck และคณะ, 2003) และ ยาที่มีโครงสร้างไฮโดรฟิสิก (hydrophobic) พวกริบูโพรเฟน (mefoxin) และ เททราไซคลิน ไฮโดรคลอไรด์ (tetracycline hydrochloride) (Zong และคณะ, 2002) นอกจากนี้มี

การศึกษาของ Zhang และคณะ (2006) ที่ทำการเอนแคปซูลเลทโปรตีน ฟลูออเรสซินไอโซไทโอไซยาเนต (fluorescein isothiocyanate) ที่คอนจูเกตกับ โปรตีนโบวีนซีรัมอัลบูมิน (bovine serum albumin) กับ โพลีเอทิลีนไกลคอล (polyethylene glycol, PEG) ในอิลเล็กโทรสปีนไฟเบอร์พอลิคาโพรเล็กโตน พบว่า ระบบนำส่งยานี้มีประสิทธิภาพในการช่วยควบคุมการออกฤทธิ์ของยาเป็นเวลาถึง 5 วัน

#### 2.8.4 เทคโนโลยีการกรอง

แผ่นกรองระดับนาโนถูกพัฒนามาใช้ในกรองในช่วงหลายปีที่ผ่านมา เนื่องจากลักษณะพิเศษของแผ่นกรองระดับนาโนคือมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่เล็กมาก ทำให้มีศักยภาพในการดักจับอนุภาคที่มีขนาดเล็กมากๆ ได้ (Kattamuri และคณะ, 2005) แผ่นเส้นใยนาโนมีความสามารถในการกำจัดพวกรวมอนุภาคในอากาศ (airborne particles) ที่มีขนาดตั้งแต่ 1 ไมครอนถึง 5 ไมครอน ได้เป็นอย่างดี ซึ่งการดักจับอนุภาคเหล่านี้ เกิดจากกลไกทางกายภาพรวมถึงกลไกทางไฟฟ้าของแผ่นกรอง (Ramakrishna และคณะ, 2006) ตัวอย่างงานวิจัยพัฒนาแผ่นกรองระดับนาโน เช่น งานวิจัยของ Burger และคณะ (2006) ประสบความสำเร็จในการพัฒนาเส้นใยอิลเล็กโทรสปีนที่ทำจาก polyurethane cationomers (PUCs) และมีการเติมสารฆ่าเชื้อในกลุ่มควอเทอร์นารี แอมโมเนียมคอมพาวด์ (quaternary ammonium compounds, QACs) และผลการทดลองพบว่าแผ่นเส้นใยที่ผลิตได้สามารถต้านเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงการประยุกต์ใช้แผ่นกรองระดับนาโนเพื่อทำให้สารชีวโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่มีความบริสุทธิ์ขึ้น (purification) เช่น พลาสมิดดีเอ็นเอ (Endres และคณะ, 2003) ซุปเปอร์คอยด์ ดีเอ็นเอ (Haber และคณะ, 2004) และโปรตีน (Yang และคณะ, 2002)

#### 2.8.5 เซ็นเซอร์ตรวจวัดทางชีวภาพ

เซ็นเซอร์ตรวจวัดทางชีวภาพ คือ เครื่องตรวจวัดที่อาศัยการทำงานร่วมกันระหว่างตัวแปลงสัญญาณ (transducer) และสารชีวภาพ เทคโนโลยีนี้ถูกนำไปใช้ในงานหลายด้าน เช่น สิ่งแวดล้อม อาหาร และ การแพทย์ เป็นต้น เนื่องจากสารชีวภาพหรือแก๊สในธรรมชาติที่ตรวจวัดมีปริมาณน้อยมากๆ ดังนั้นเครื่องตรวจวัดต้องมีความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (selectivity) อย่างมาก ในปัจจุบันเส้นใยอิลเล็กโทรสปีนได้รับความสนใจในการพัฒนาเป็นตัวตรวจวัดทางชีวภาพ เนื่องจากเส้นใยมีพื้นที่ผิวมาก ซึ่งเป็นลักษณะที่ต้องการมากที่สุดในการปรับปรุงความไวของตัวตรวจวัด เนื่องจากการมีพื้นที่ผิวมากทำให้ตัวตรวจวัดทางชีวภาพสามารถจับแก๊สที่จะใช้วิเคราะห์ได้ปริมาณมากขึ้น ทำให้เพิ่มความไวของระบบตรวจวัดมากขึ้นตามไปด้วย (Figeys และ Pinto, 2000) มีราย

งานวิจัยมากมายที่สามารถพัฒนาตัวตรวจวัดชีวภาพที่ทำจากเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่ทำจากพอลิเมอร์ต่างๆ เช่น พอลิอะนิลีน (polyaniline) พอลิไพโรล (polypyrrole) พอลิเอมิกแอซิด (polyamic acid) ไนลอน-6 (nylon-6) พอลิไวน์แอลกอฮอล์ (poly(vinyl alcohol), PVA) (Wang และคณะ, 2004)

### 2.8.6 การประดิษฐ์ชุดป้องกัน

ชุดป้องกันในอุดมคติของมนุษย์ คือ ต้องมีน้ำหนักเบา ระบายอากาศได้ดี และทนต่อพวกสารเคมีต่าง ๆ ดังนั้นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จึงเป็นตัวเลือกหนึ่งที่มีศักยภาพต่อการนำไปประยุกต์ใช้กับเทคโนโลยีประดิษฐ์ชุดป้องกัน เนื่องจาก เส้นใยที่ผลิตได้ด้วยวิธีนี้ จะมีน้ำหนักเบา มีพื้นที่ผิวมาก มีความเป็นรูพรุนจึงสามารถระบายอากาศได้ดี และทนต่อการแทรกซึมของละอองสารเคมีที่เป็นอันตราย (Gibson และคณะ, 1999) นอกจากนี้อาจมีการเคลือบสารเติมแต่งต่าง ๆ ลงไปที่ผ้าเพื่อปรับปรุงพื้นผิวผ้าให้มีสมบัติตามที่เรากำลังต้องการ เช่น เคลือบด้วยสารที่คุณสมบัติไม่ชอบน้ำ พวกพาราฟิน แวกซ์ ซิลิโคน เทฟลอน เคลือบสารต้านแบคทีเรียพวก อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) และนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ ( $\text{TiO}_2$ ) และอนุภาคเงินนาโน (nanosilver) สารป้องกันรังสียูวี เช่น นาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO) และนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ ( $\text{TiO}_2$ ) และอนุภาคตัวนำไฟฟ้า (เช่น ไททาเนียมไดออกไซด์นาโน ซิงค์ออกไซด์นาโน) ทำให้ไม่เก็บประจุไฟฟ้าสถิต (Ramakrishna และคณะ, 2006)

### 2.8.7 เทคโนโลยีด้านพลังงาน

เนื่องจากเส้นใยนาโนมีขนาดเล็กมาก ทำให้มีขนาดพื้นที่ผิวและรูพรุนสูง นอกจากนี้เส้นใยนาโนบางชนิดมีคุณสมบัตินำไฟฟ้าได้ ทำให้นักวิจัยสนใจนำเส้นใยนาโนมาพัฒนาเป็นตัวกระจายไฟฟ้าสถิต ป้องกันการกักความร้อนหรือสนิม ตัวป้องกันสัญญาณรบกวนแม่เหล็กไฟฟ้า เซลล์สุริยะ อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ขนาดเล็ก เซนเซอร์ เป็นต้น เพราะการที่เส้นใยมีพื้นที่ผิวมากช่วยทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้าเกิดขึ้นได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตามตัวให้พลังงานที่ทำจากเส้นใยนาโนยังคงมีประสิทธิภาพการให้พลังงานที่ต่ำ ทำให้ปัจจุบันตัวให้พลังงานที่ทำจากเส้นใยนาโนยังอยู่ในขั้นของการวิจัยและพัฒนาเพื่อปรับปรุงให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น (Norris และคณะ, 2000)

### 2.8.8 การตรึงเอนไซม์

โดยทั่วไปแล้ว การตรึงเอนไซม์จะตรึงบนวัสดุที่ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ (inert) และ ไม่ละลายน้ำ (insoluble) เพื่อจุดประสงค์ คือ สามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ใหม่ได้ (reusability)

ควบคุมการปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้ดีขึ้น และมีความเสถียร (Jia และคณะ, 2002; Bacheva และคณะ, 2003) ซึ่งความสามารถต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้นของเอนไซม์ที่ถูกตรึงนั้น ขึ้นอยู่กับลักษณะโครงสร้างของตัวยึดเกาะ เช่น มีความเข้ากันได้ หรือ มีสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิก (hydrophilicity) (Ye และคณะ, 2005) ที่ผ่านมาถึงแม้ว่ามีการพัฒนาตัวยึดเกาะเอนไซม์ แต่ก็พบว่ายังมีปัญหาคือ ปริมาณเอนไซม์ (enzyme loading) ยังถูกตรึงได้ปริมาณน้อย ทำให้ปัจจุบันนักวิจัยสนใจที่จะศึกษาและพัฒนาวัสดุที่มีรูพรุน เช่น เมมเบรน เจล หรือ อนุภาคที่มีรูพรุน เพื่อใช้ในตรึงเอนไซม์ให้ได้ปริมาณมากขึ้น (Arica และคณะ, 1999; Wang และคณะ, 2001; Jia และคณะ, 2002) และด้วยความที่มีพื้นที่ผิวสูงและมีรูพรุนมากของเส้นใยอีเล็กโทรสปิน ทำให้ถูกนำมาใช้เป็นวัสดุตรึงเอนไซม์ได้ดี ยกตัวอย่างเช่น Jia และคณะ (2002) พบว่าเส้นใยอีเล็กโทรสปินที่ทำจากพอลิสไตรีน (polystyrene) สามารถตรึงเอนไซม์แอลฟาโคโมทรูปซิน ( $\alpha$  chymotrypsin) ได้ และเอนไซม์มีไฮโดรไลติกแอกทิวิตี (hydrolytic activity) เพิ่มขึ้นถึง 65 เปอร์เซ็นต์มากกว่าเอนไซม์ที่ถูกตรึงด้วยวิธีอื่น เช่นเดียวกับ Lee และคณะ (2005) พบว่าเส้นใยอีเล็กโทรสปินที่ทำจากโปรตีนไหมไฟโบรอิน (silk fibroin, SF) สามารถตรึงเอนไซม์แอลฟาโคโมทรูปซิน ได้ และเอนไซม์จะมีแอกทิวิตีมากขึ้นถ้าเส้นใยโปรตีนไหมไฟโบรอิน มีขนาดเล็กถึง 205 นาโนเมตร นอกจากนี้ Ye และคณะ (2006) พบว่า เส้นใยอีเล็กโทรสปินจาก พอลิอะคริโลไนไตรล์-โค-มาลิก แอซิด (poly (acrylonitrile-co-maleic acid)) ก็มีความสามารถในการตรึงไลเปสได้ดีเช่นกัน

### 2.8.9 เมมเบรนที่มีความจำเพาะสูง

เมมเบรนที่มีความจำเพาะ คือ เมมเบรนที่สามารถจับกับโมเลกุลเป้าหมาย หรือ ลิแกนด์ (ligand) โดยโมเลกุลเหล่านั้นจะถูกตรึงบริเวณบนพื้นผิวเมมเบรน เมมเบรนที่มีความจำเพาะถูกใช้ในลิควิดโครมาโทกราฟีแบบเบดนิ่ง (fixed-bed liquid chromatography) และ เมมเบรนสำหรับกรอง (membrane filtration) (Klein, 2000) โดยส่วนใหญ่แล้วโมเลกุลหรือลิแกนด์นั้นจะจับกับเมมเบรนด้วยแรงโควาเลนต์ (Gibson และคณะ, 2001) ยกตัวอย่างงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับเมมเบรนที่มีความจำเพาะ เช่น Bamford และ Al-Lamee (1992) ได้ทำการศึกษาเมมเบรนเส้นใยพอลิยูรีเทนในการจับกับ โปรตีน A และ IgG เพื่อทำให้บริสุทธิ์ขึ้น เมมเบรนที่ใช้ทำโปรตีนให้บริสุทธิ์ (protein purification) มักทำจากวัสดุที่เป็นไฮโดรฟิลิก เช่น เซลลูโลส เป็นต้น นอกจากนี้มีการรายงานว่ามีเมมเบรนที่มีความจำเพาะสามารถถูกนำไปใช้กับงานในด้านกำจัดพวกสารอินทรีย์ในน้ำเสียได้ดีอีกด้วย (Kaur และคณะ, 2006)



### 2.8.10 วัสดุปิดแผล

ลักษณะของวัสดุปิดแผลที่ดีในอุดมคติ คือ มีประสิทธิภาพในห้ามเลือดและป้องกันจุลินทรีย์ที่จะเข้ามาทางบาดแผล สามารถดูดซึมของเหลวหรือหนองที่ไหลออกมาจากแผล มีการส่งผ่านของเหลวหรือแก๊สได้ดี มีสมบัติในการยึดเกาะที่ดี คือ สามารถยึดเกาะกับเนื้อเยื่อแต่ต้องไม่ยึดเกาะเนื้อเยื่อที่เป็นแผล นอกจากนี้วัสดุปิดแผลจะต้องมีความเข้ากันได้กับ เซลล์ผิวหนัง (keratinocytes) และ ไฟโบรบลาสต์ (fibroblasts) (Katti และคณะ, 2004; Min และคณะ, 2004) มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาเทคนิคอิเล็กทรอนิกส์สำหรับการเตรียมวัสดุปิดแผล ยกตัวอย่างเช่น Rho และคณะ (2006) ได้ศึกษาสมบัติเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่ทำจากคอลลาเจนชนิด I ในการรักษาบาดแผลของหนูพบว่าเส้นใยที่ทำจากคอลลาเจนสามารถสมานแผลของหนูได้ดีกว่าเส้นใยสังเคราะห์ นอกจากนี้วัสดุปิดแผลจากเส้นใยธรรมชาติแล้ว Jia และคณะ (2002) ได้ทำการเตรียมเส้นใยด้านแบคทีเรียแบบไม่ถักทอ (non-woven) จากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ซึ่งเป็นเส้นใยสังเคราะห์และมีการเติมอนุภาคเงินเพื่อให้มีสมบัติป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย ผลการทดลองพบว่าเส้นใยที่ได้สามารถต้านเชื้อทดสอบได้ดี

## 2.9 การขึ้นรูปเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาติน

สารละลายพอลิเมอร์ที่ใช้ในการขึ้นรูปเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาติน แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ พอลิเมอร์สังเคราะห์และพอลิเมอร์ชีวภาพ นอกจากนี้สารละลายพอลิเมอร์ยังสามารถเตรียมได้ในรูปของแบบผสมกันระหว่างพอลิเมอร์สังเคราะห์และพอลิเมอร์ชีวภาพ (Ohgo และคณะ, 2003) พอลิเมอร์ชีวภาพมีข้อดีเหนือกว่าพอลิเมอร์สังเคราะห์ ในเรื่องของมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกายของสิ่งมีชีวิต มีความเป็นพิษต่ำ และย่อยสลายได้ (Huang และคณะ, 2004; Ki และคณะ, 2005) ตัวอย่างพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีรายงานว่าสามารถเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินได้ ได้แก่ คอลลาเจนเจลาติน ไคติน ไหม เซลลูโลส ซึ่งพอลิเมอร์แต่ละชนิดมีสมบัติต่างกันจึงถูกนำไปใช้งานต่าง ๆ กัน (Zhang และคณะ, 2005)

เนื่องจากเจลาตินเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่สามารถเข้ากันได้ทางชีวภาพกับสิ่งมีชีวิต และเจลาตินยังเป็นพอลิเมอร์ที่มีราคาถูก สามารถหาได้ง่ายตลอดปี (Songchotikunpan และคณะ, 2008; Moon และ Farris, 2009) ทำให้งานวิจัยจำนวนมากสนใจศึกษาการผลิตเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาติน เพื่อการประยุกต์ใช้ในงานต่าง ๆ มากมาย เช่น อาหาร เครื่องสำอาง และระบบนำส่งยา เป็นต้น (Vandervoort และ Ludwig, 2004) ซึ่งการเตรียมสารละลายอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินจำเป็นต้องเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวอย่างตัวทำละลายที่มีรายงานว่าสามารถทำให้สารละลายเจลาตินขึ้นรูปเป็นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินได้ ได้แก่ กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก เอทิลอะซิเตท (Song และคณะ, 2008; Songchotikunpan และคณะ, 2008)

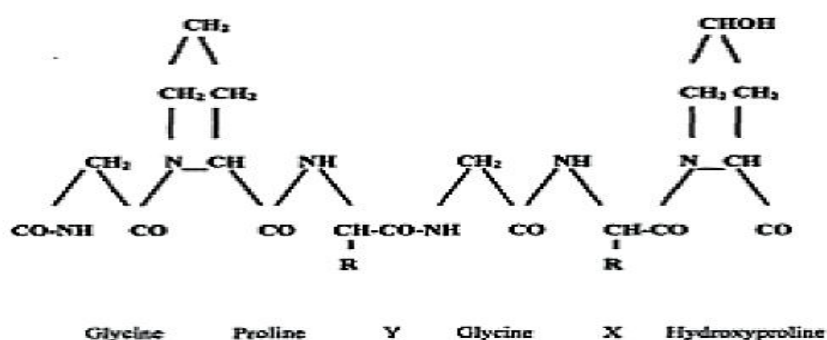
### 2.9.1 เจลาติน

เจลาติน คือ พอลิเมอร์ชีวภาพที่ได้จากปฏิกิริยาย่อยสลายของคอลลาเจนที่เป็นองค์ประกอบผิวหนัง เส้นเอ็น กระดูกอ่อน และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของสัตว์จำพวก วัว หมู และปลา (Zhang และคณะ, 2006) วิธีการย่อยคอลลาเจนให้เป็นเจลาตินที่นิยมใช้ได้แก่ การย่อยด้วยกรด เบส หรือใช้เอนไซม์ เป็นต้น การย่อยคอลลาเจนด้วยกรดเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการย่อยคอลลาเจนที่มีความซับซ้อนน้อย เช่น คอลลาเจนของหมูหรือหนังปลา ในขณะที่วิธีย่อยด้วยเบสนั้นจะเหมาะสมกับคอลลาเจนที่มีความซับซ้อนมากกว่า เช่น คอลลาเจนจากหนังวัว นอกจากนี้ยังมีวิธีการย่อยคอลลาเจนด้วยเอนไซม์ ซึ่งเป็นวิธีทางเลือกใหม่ในการย่อยคอลลาเจนที่ใช้ระยะเวลาในกระบวนการไม่นานแต่สามารถให้ผลผลิตที่มากขึ้นและมีความบริสุทธิ์สูง (Mariod และ Adam, 2013) เจลาตินถูกจำแนกได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่ เจลาตินชนิดเอ (type A) คือ เจลาตินที่ได้จากการทรिटคอลลาเจนด้วยสารละลายกรด และ เจลาตินชนิดบี (type B) คือ เจลาตินที่ได้จากการทรिटคอลลาเจนด้วยสารละลายเบส ซึ่งเจลาตินทั้งสองชนิดมีความต่างกันโดย เจลาตินชนิดบี (type B) นั้นจะมีส่วนของหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl

group) มากทำให้มีประจุลบและมีจุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric points) เท่ากับ 4-5 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าเจลาตินชนิดเอ (type A) ที่มี จุดไอโซอิเล็กทริกเท่ากับ 8-9 (Montero และคณะ, 1990)

### โครงสร้างของเจลาติน

เจลาตินมีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 15 ถึง 300 กิโลดาลตัน ขึ้นกับชนิดและกรรมวิธีการผลิต โครงสร้างปฐมภูมิของเจลาติน (primary structure) ประกอบด้วยกรดอะมิโนแตกต่างกัน 18 ชนิด ซึ่งจะพบกรดอะมิโนชนิด โกลซีน โพรลีน และ ไฮดรอกซีโพรลีน ในปริมาณสูง โดยจะมีลักษณะการจัดเรียงตัวแบบ Gly-X-Y แบบนี้ไปอย่างต่อเนื่อง โดยตำแหน่ง X ส่วนใหญ่คือ โพรลีน และตำแหน่ง Y คือ ไฮดรอกซีโพรลีน ดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 แสดงลักษณะโครงสร้างปฐมภูมิของเจลาติน (Mariod และ Adam, 2013)

เจลาตินเป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ มีความเป็นพิษต่ำ และยังมีสมบัติที่ดีในการดูดซับน้ำ หากได้รับความร้อนจะหลอมเหลวและเมื่อเย็นลงก็จะกลายเป็นเจล ด้วยคุณสมบัติที่ดีของเจลาตินทำให้มีการนำไปใช้อย่างกว้างในอุตสาหกรรมอาหาร การผลิตแคปซูลยา และในงานอื่นอย่างแพร่หลาย แต่อย่างไรก็ตามพอลิเมอร์เจลาตินยังมีข้อจำกัดต่อการนำไปใช้งาน เนื่องจากเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่แข็งแรง และไวต่อการละลายน้ำ ทำให้ต้องมีการปรับปรุงก่อนนำไปใช้งาน วิธีที่นิยมใช้คือ การเชื่อมขวาง (Bigi และคณะ, 2001)

#### 2.9.2 การเชื่อมขวางเส้นใย

การเชื่อมขวางเส้นใย (crosslinking) คือ การทำปฏิกิริยาให้เกิดพันธะเคมีเชื่อมขวางสายโซ่ภายในโมเลกุล ทำให้พอลิเมอร์มีความคงรูปแข็งแรงมากขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถเชื่อมพื้นผิวระหว่างพอลิเมอร์กับสารออกฤทธิ์ทำให้ลดการเคลื่อนที่อย่างอิสระของสารออกฤทธิ์ส่งผลทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในชะลอการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากพอลิเมอร์ การเชื่อมขวางทำได้ทั้งวิธีกายภาพ

เช่น การฉายแสงยูวี การทำดีไฮโดรเทอร์มอล และวิธีทางเคมีโดยใช้สารเคมี ได้แก่ พอลิเอทิลีนไกลคอล กลูตาราลดีไฮด์ ไกลออกซอล เป็นต้น (Zhang และคณะ, 2006)

### การเชื่อมขวางด้วยกลูตาราลดีไฮด์

กลูตาราลดีไฮด์ เป็นสารที่นิยมถูกใช้ในการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในงานชีวการแพทย์ เนื่องจาก สามารถใช้ง่าย ราคาไม่แพง รวมถึงมีความปลอดภัย และยังได้รับรองความปลอดภัยจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (Migneault และคณะ, 2004) กลูตาราลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมขวางระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ โดยเฉพาะพอลิเมอร์จำพวกโปรตีน และ พอลิแซ็กคาไรด์ การเชื่อมขวางนี้ใช้พันธะโควาเลนต์ ซึ่งเป็นพันธะที่แข็งแรงมาก หมู่ฟังก์ชันของโปรตีนที่หมู่อัลดีไฮด์ของกลูตาราลดีไฮด์จะไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวาง ได้แก่ เอมีนปฐมภูมิ (-NH<sub>2</sub>) คาร์บอกซิล (-COOH) ซัลไฟไฮดริล (-SH) คาร์บอนิล (-CHO) ซึ่งมักพบอยู่บนพื้นผิวของโครงสร้างโปรตีน (Jayakrishnan และ Jameela, 1996)

Zhang และคณะ (2006) ได้หาวิธีพัฒนาแผ่นอิเล็กทรอนิกส์โปรสปีนเจลาตินให้มีสมบัติเชิงกลดีขึ้น และสามารถต่อการละลายน้ำมากขึ้น จากการศึกษาพบว่า การนำแผ่นอิเล็กทรอนิกส์โปรสปีนเจลาตินไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตาราลดีไฮด์เป็นเวลาตั้งแต่ 3 วัน ขึ้นไป ช่วยทำให้เส้นใยมีความแข็งแรง ลักษณะเส้นใยที่ดูจากภายใต้กล้องจุลทรรศน์มีลักษณะไม่เปลี่ยนแปลงมากนักแม้แผ่นเส้นใยจะจุ่มอยู่ในน้ำถึง 3 วัน

Sikareepaisan และคณะ (2008) ได้เตรียมวัสดุปิดแผลที่ทำจากแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โปรสปีนเจลาตินร่วมกับสารสกัดบัวบก (*Centella asiatica*) และศึกษาสมบัติเชิงกลในด้านความแข็งแรง รวมถึงการบวมพองของแผ่นเส้นใยเมื่อโดนน้ำ จากการศึกษาพบว่า เมื่อนำแผ่นเส้นใยนี้ไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตาราลดีไฮด์เป็นเวลา 30 นาที จะช่วยทำให้เส้นใยมีความแข็งแรงมากขึ้น และช่วยในการดูดซับน้ำมากขึ้นด้วย ทำให้มีเปอร์เซ็นต์บวมพองสูง นอกจากนี้การนำแผ่นเส้นใยไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตาราลดีไฮด์ยังช่วยควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์บัวบกจากแผ่นเส้นใยได้ดีอีกด้วย

### บทที่ 3 วิธีการทดลอง

#### 3.1 อุปกรณ์

- ถังหมัก (fermenter) ขนาด 5 ลิตร ยี่ห้อ Winpact scientific รุ่น FS01 Double Jacket นำเข้าโดยบริษัท กิบไทย จำกัด
- เครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) รุ่น Pro star ของบริษัท Varian, USA
- คอลัมน์ C18 reversed phase cosmosil ขนาด 4.6x150 มม. ของบริษัท Nacalai, USA
- เครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อ (autoclave) รุ่น ss-325 และรุ่น ES-315 ของบริษัท Tomy Seiko, Ltd. รุ่น MLS 3020 ของบริษัท Sanyo Co., Ltd. และรุ่น HV-25 ของบริษัท Hirayama, Co., Ltd., Japan
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow cabinet) รุ่น 25 Manometer ของบริษัท Dwyer Instrument, USA
- เครื่องชั่งหยาด รุ่น PG 2002-S ของบริษัท Metler Toledo, Switzerland
- เครื่องชั่งละเอียด รุ่น AG 285 ของบริษัท Metler Toledo, Switzerland
- ตู้บ่มเชื้อ (incubator) รุ่น BE 800 ของบริษัท Memmert, Germany
- เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (incubator shaker) รุ่น Innova<sup>TM</sup> 4300 ของบริษัท New Brunswick Scientific, UK
- เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge) รุ่น J2-21 ของบริษัท BECKMAN, USA
- เครื่องวัดค่าแรงตึงผิว (ring tensiometer) รุ่น K6 ของบริษัท Kruss, Germany
- เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter) ของบริษัท Metler Toledo, Switzerland
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น Spectronic 20 Genesys ของบริษัท Thermo Spectronic, USA
- เครื่องระเหยแห้งแบบสุญญากาศ (rotary vacuum evaporator) รุ่น N-N ของบริษัท Eyela, Japan
- เครื่องระเหยแห้งแบบสุญญากาศ (centrifuge evaporator) รุ่น eppendorf concentrator 5301 ของบริษัท Modotech, Germany
- ตู้อบ (hot air oven) รุ่น UE 600 ของบริษัท Memmert, Germany

- ไมโครปิเปต (micropipette) รุ่น P10, P20, P100, P200, P1000 และ P5000 ของบริษัท Gilson, USA
- ตู้ควบคุมความชื้น (desicator)
- เครื่องวัดความหนา (digital micrometer) รุ่น serie 293 บริษัท Mitutoyo, Japan
- เครื่องวัดความหนืด (viscometer) รุ่น Premium R บริษัท Fungilab, Spain
- เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer) รุ่น TA.XT plus บริษัท Stable Micro Systems, UK
- เครื่อง (portable Multiparameter) รุ่น sension 156 ของบริษัท HACH, USA
- แหล่งกำเนิดศักย์ไฟฟ้าแรงสูง (DC power supply) รุ่น ES30P-5W ของบริษัท Gamma High-Voltage Research, USA
- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) รุ่น JSM-5800 LV ของบริษัท JEOL, Japan

### 3.2 เคมีภัณฑ์

- เจลาติน ชนิดเอ ของบริษัท Sigma Chemical Co., USA
- กลูโคส ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ของบริษัท Bio Springer, France
- สารสกัดจากข้าวมอลต์ (malt extract) ของบริษัท Difco Laboratories, USA
- แบคโต – เพปโตน (bacto - peptone) ของบริษัท Difco Laboratories, USA
- แบคโตอะการ์ (bacto agar) ของบริษัท Difco Laboratories, USA
- น้ำมันสังเคราะห์ (synthetic oil) ของบริษัท Tokyo kasei, Japan
- แอมโมเนียมไนเตรต ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) ของบริษัท Sigma Chemical Co., USA
- โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ของบริษัท Fisher Chemical, Belgium
- ทริสไฮโดรคลอไรด์ (Tris HCl) ของบริษัท Sigma Chemical Co., USA
- เมทานอล (methanol) ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- ไอร์ออนซัลเฟต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ของบริษัท Ajax Finechem, Australia
- แมกนีเซียมซัลเฟต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ของบริษัท Ajax Finechem, Australia
- กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (concentration HCl) ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- กรดแอสติก (acetic acid) ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany
- อะซิโตรไนไทรล์ (acetonitrile) HPLC grade ของบริษัท RCI Labscan, Thailand
- น้ำ HPLC grade ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany

- กรดไตรฟลูออโรอะซิติก (trifluoroacetic acid) HPLC grade บริษัท Fisher Scientific, USA
- กระจาดาชกรอง (nylon membrane) ขนาด 47 มม. มีรูพรุน 0.45 ไมครอน ของบริษัท E. Merk, Dramstadt, Germany

### 3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

#### 3.3.1 ผลิตสารลดแรงตึงผิวจาก *B. subtilis* BBK-1 ในระดับขวดเขย่า

##### 3.3.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ

นำ *B. subtilis* BBK-1 ที่คัดแยกโดย นิรันดร์ รุ่งสว่าง (2542) มาเลี้ยงไว้บนอาหารแข็งแอลบีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อมา 1 ลูกป ใสลงในอาหารเหลวแอลบีปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มในตู้บ่มเชื้อที่มีการเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง จนได้ความหนาแน่นของเชื้อ 0.1- 0.2 เมื่อนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

##### 3.3.1.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร

ปลูกเชื้อ 4 % (ปริมาตร/ปริมาตร) ลงในอาหารเหลวกำหนดสูตรปริมาตร 50 มิลลิลิตร ดัดแปลงจาก นิรันดร์ รุ่งสว่าง (2542) ที่มีการแปรผันแหล่งคาร์บอนเป็น ซูโครสและกลูโคสปริมาณ 0.5, 3, 6, 9 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และแปรผันเปอร์เซ็นต์ไฮเดียมคลอไรด์ปริมาณ 0.5 และ 3 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ส่วนประกอบอื่นตามอาหารเหลวกำหนดสูตร (กรัม/ลิตร) คือ แอมโมเนียมไนเตรด 2 กรัม สารสกัดจากยีสต์ 5 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.5 กรัม ไอร์ออนซัลเฟต 0.15 กรัม ความเป็นกรดเบสเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 7 ควบคุมอุณหภูมิการเพาะเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส ควบคุมอัตราเร็วรอบกวนเป็น 200 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 วัน ติดตามการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของเชื้อโดยเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง มาปั่นเหวี่ยงที่เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เพื่อแยกส่วนเซลล์หาน้ำหนักเซลล์แห้งและนำส่วนน้ำใสมาทดสอบประสิทธิภาพสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

##### 3.3.1.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

###### การวัดค่าแรงตึงผิว

นำส่วนน้ำใสจากการเลี้ยงเชื้อมาวัดค่าแรงตึงผิวโดยวิธี Du Nuoy Ring ด้วยเครื่องวัดค่าแรงตึงผิว (Tensiometer รุ่น K6) และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การลดลงของค่าแรงตึงผิว ดังสมการ

$$\% \text{ ลดลงของค่าแรงตึงผิว} = \frac{\text{ค่าแรงตึงผิวเริ่มต้น} - \text{ค่าแรงตึงผิว ณ เวลานั้น}}{\text{ค่าแรงตึงผิว ณ เวลานั้น}} \times 100$$

ทดสอบการกระจายน้ำมันของน้ำเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเซลล์ตามวิธีของ (Morikawa และคณะ, 1993)

เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ลงบนจานแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร ที่มีกระดาษกราฟรองอยู่เป็นมาตรฐานวัดความกว้างใส (โดย 1 ช่องใหญ่ของกราฟมีค่าเท่ากับ 1 เซนติเมตร) จากนั้นหยดมันดิบ 15 ไมโครลิตร ให้น้ำมันดิบกระจายไปทั่วจานแก้ว แล้วเติมตัวอย่างลงไป 10 ไมโครลิตร แล้วให้อ่านบริเวณใสและคำนวณหาพื้นที่

$$\text{พื้นที่ของบริเวณใส} = \pi r^2 ; \text{เมื่อ } r \text{ คือ รัศมีความกว้างของบริเวณใส (cm)}$$

### 3.3.1.4 การสกัดแยกหาปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้

นำส่วนน้ำใสจากการเลี้ยงเชื้อมาปรับค่าพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 2.0 ด้วย HCl 6 N เพื่อตกตะกอนของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไลโปเพปไทด์ (นิรันดร์ รุ่งสว่าง, 2542) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นแยกเก็บส่วนของตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที และล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นพีเอช 2 แล้วจึงนำมาสกัดด้วยเมทานอล จากนั้นระเหยเมทานอลด้วยเครื่อง evaporator ภายใต้สุญญากาศ แล้วชั่งน้ำหนักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้หน่วยเป็นกรัมต่อลิตร

3.3.2 ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *B. subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยกระบวนการหมักแบบแบตช์

#### 3.3.2.1 การเตรียมหัวเชื้อ

ทำเหมือนข้อ 3.3.1.1

#### 3.3.2.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 5 ลิตร

นำหัวเชื้อที่เตรียมได้ความเข้มข้น 4 % (ปริมาตรต่อปริมาตร) มาเพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร ด้วยอาหารเหลวกำหนดสูตร (หน่วยกรัมต่อลิตร) ที่ได้จากการทดลอง 3.3.1 ประกอบด้วย กลูโคส 60 กรัม แอมโมเนียมไนเตรต 2 กรัม สารสกัดจากยีสต์ 5 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.5 กรัม ไอร์รอนซัลเฟต 0.15 กรัม โซเดียมคลอไรด์ 5 กรัม ความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 7 ควบคุมอุณหภูมิการเพาะเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส แปรผันการควบคุมอัตราเร็วรอบกวนในถังเป็น 200, 300, 400 rpm และแปรผันอัตราการให้อากาศเป็น 0.5, 1, 1.5 vvm ตามลำดับ ทำการติดตามการเจริญของเชื้อ และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยการสกัดแยกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นเวลา 5 วัน โดยหาน้ำหนักเซลล์แห้งและนำน้ำเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเซลล์มาติดตามปริมาณ



น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNSA) (Bernfeld, 1995) และทดสอบประสิทธิภาพสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเหมือนข้อ 3.3.1.3.

#### การติดตามปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Dinitrosalicylic acid

นำส่วนน้ำใสที่แยกเซลล์ออกมาปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่หลอดทดลอง เติม DNSA 1 มิลลิลิตรลงไป ในจากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปแช่เย็น 5 นาที หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของกลูโคส

#### 3.3.3 คำนวณค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์

คำนวณค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพระหว่างการผลิตในถังหมักแบบแบตช์และระดับขวดเขย่า

$$X = \text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/L)} \quad P = \text{น้ำหนักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้ (g/L)}$$

$$Y_{P/X} = \text{ผลผลิตที่ได้ต่อหน่วยเซลล์ (g-P/g-X)}$$

$$Q_p = \text{ประสิทธิภาพการผลิต (g-P/L/h)}$$

$$q_p = \text{อัตราการผลิตจำเพาะ (g-P/g-X/h)}$$

$$\mu = \text{อัตราการเจริญจำเพาะ (h}^{-1}\text{)}$$

วิเคราะห์และสรุปผลพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

#### 3.3.4 การแยกและวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครโมโทกราฟี (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

ละลายสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ ด้วยเมทานอลใน 10 % เมทานอล จากนั้นนำไปแยกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ C18 reversed phase เป็นเฟสคงที่ (stationary phase) และใช้สารชะหรือเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นสารที่มีการปรับอัตราส่วนตามเวลาที่เปลี่ยนไป (gradient elution) ได้แก่ สารละลาย A (อะซิโตนไนโตรล์ 10 % + กรดไตรฟลูออโรอะซิติก 0.1 %) และสารละลาย B (อะซิโตนไนโตรล์ 100 % + กรดไตรฟลูออโรอะซิติก 0.05%) เป็นตัวพาด้วยอัตราการไหลเท่ากับ 0.5 มล.ต่อนาที เริ่มต้นระบบด้วยการชะคอลัมน์ด้วยสารละลาย A เป็นเวลา 5 นาที และมีลิเนียร์เกรเดียนท์จาก 10-100% ของสารละลาย B เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นชะด้วย สารละลาย B เป็นเวลา 20 นาที และชะตามด้วยสารละลาย A เป็นเวลา 5 นาที โดยใช้เวลาทั้งหมดในการชะคอลัมน์ 50 นาที ตรวจวัดสารที่ออกมาจากคอลัมน์ด้วย UV

detector ที่ความยาวคลื่น เท่ากับ 220 นาโนเมตร เก็บตัวอย่างจากฟีกที่ปรากฏบนโครมาโตแกรมในแต่ละช่วงเวลา (retention time) จากนั้นนำไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบเซ็นตริฟิวจ์ (Centrifuge evaporator) (นิรันดร์ รุ่งสว่าง, 2542)

นำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยเครื่อง HPLC และระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบสูญญากาศมาเตรียมความเข้มข้นเท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายทริสไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ เพื่อวิเคราะห์สมบัติเบื้องต้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพปไทด์คือ สมบัติการกระจายน้ำมัน ตามวิธีของ (Morikawa และคณะ, 1993) และ สมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี agar disc diffusion ตามวิธีของ (Das และคณะ, 2008)

### 3.3.5 หาค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์หรือค่าจุดวิกฤตการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ สามารถทำได้โดยเจือจางสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ด้วย 50 มิลลิโมลาร์ บัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 8 โดยเตรียมให้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความเข้มข้น 1 10 100 250 500 1,000 2,000 3,000 4,000 5,000 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร นำแต่ละความเข้มข้นไปวัดค่าแรงตึงผิว และนำไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวกับค่าแรงตึงผิว เพื่อหาค่า CMC คือความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารลดแรงตึงผิวที่สามารถลดแรงตึงผิวของน้ำได้ต่ำที่สุด

### 3.3.6 ทดสอบสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ในการต้านจุลินทรีย์

นำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้มาละลายในบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ เตรียมความเข้มข้นให้ได้ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อนำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆโดยวิธี agar well diffusion ดัดแปลงจาก (Clinical and laboratory standards institute, 2009) แหล่งที่มาของจุลินทรีย์ต่างๆ ที่นำมาทดสอบ มีดังนี้

MSCU: ศูนย์เก็บรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ATCC : ศูนย์เก็บรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์แห่งชาติ ประเทศสหรัฐอเมริกา

TISTR : สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

DMST : ศูนย์เก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์แห่งชาติ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

จุลินทรีย์ทดสอบ
แบคทีเรีย
<i>S. aureus</i> MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P
<i>M. luteus</i> MSCU 0350 / TISTR 884
<i>B. subtilis</i> MSCU 0271 / ATCC 16633
<i>B. cereus</i> MSCU 0486 / ATCC 11778
<i>L. monocytogenes</i> DMST 17303
<i>E. coli</i> MSCU 0349 / TISTR 780 / ATCC 8739
<i>S. typhimurium</i> MSCU 0492
ราและยีสต์
<i>A. niger</i> MSCU 0361
<i>A. flavus</i> MSCU 0580
<i>Penicillium sp.</i> MSCU 0390
<i>C. albicans</i> MSCU 0028 / ATCC 10231
<i>C. tropicalis</i> MSCU 0544
<i>Fusarium sp.</i> MSCU 0050

### 3.3.6.1 ทดสอบการต้านจุลินทรีย์โดยวิธี agar well diffusion

เตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ โดยเฉพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง NA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายโคลนนี้เดี่ยวของเชื้อลงในอาหารเพาะเชื้อเหลว Mueller-Hinton broth (MHB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เตรียมความเข้มข้นของเซลล์แบคทีเรียเท่ากับ  $10^8$  CFU/ml (เท่ากับ 0.5 McFarland) สำหรับการเตรียมสปอร์แขวนลอยของราทดสอบจะเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง PDA บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-96 ชั่วโมง เตรียมสปอร์ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อความเข้มข้นเท่ากับ  $10^5$  spore/ml สำหรับการเตรียมยีสต์ทดสอบ จะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง YM บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายโคลนนี้เดี่ยวของยีสต์ลงในอาหารเพาะเชื้อเหลว YM บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เตรียมความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เท่ากับ  $10^6$  CFU/ml จากนั้นนำเชื้อทดสอบที่เตรียมได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง Mueller Hiton Agar (MHA) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร สำหรับแบคทีเรีย อาหารแข็ง PDA ปริมาตร 20 มิลลิลิตร สำหรับรา และอาหารแข็ง YM ปริมาตร 20 มิลลิลิตร สำหรับยีสต์ โดยใช้ไม้พ่นสาาลีปลอดเชื้อจุ่มเชื้อทดสอบพอ

หมาด ๆ ทำให้ทั่วผิวหน้าอาหาร ใช้ที่เจาะจุกคอร์ก (cork borer) เบอร์ 4 เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อเจาะหลุมบนอาหารเพาะเชื้อ ปิเปตสารสกัด 50 ไมโครลิตรใส่ลงในหลุมที่เจาะไว้ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสสำหรับแบคทีเรียและ 30 องศาเซลเซียสสำหรับยีสต์เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สำหรับรา จะบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48-96 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (inhibition zone) บัพเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ พีเอช 8 ใช้เป็นตัวควบคุม

### 3.3.6.2 หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC)

นำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้มาละลายใน บัพเฟอร์ทริสไฮโดรคลอไรด์ เตรียมความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพลงในหลุมแรก 100 ไมโครลิตร และเจือจางตามลำดับส่วน 2 เท่า (2-fold serial dilution) ด้วยอาหาร Muller Hinton ให้มีความเข้มข้น 250-0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร จากนั้นเติมเชื้อทดสอบลงในหลุมละ 45 ไมโครลิตร เติม 0.3 % resazurin หลุมละ 5 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงสำหรับแบคทีเรีย สำหรับราจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว PDB ในการทดสอบและบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-96 ชั่วโมง สำหรับยีสต์จะใช้อาหารเหลว YM ในการทดสอบ และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์หลุมสุดท้ายที่ไม่มีการเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์ (สีน้ำเงิน) จะเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้ (MIC) ดัดแปลงจาก Clinical and laboratory standards institute (2009)

### 3.3.6.3 หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการฆ่าแบคทีเรีย (MBC)

ตรวจผลไมโครเพลตจากการหาค่า MIC และนำเชื้อจากหลุมที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ (สีน้ำเงิน) ที่ความเข้มข้นสูงกว่าค่า MIC ขึ้น 3 หลุม และความเข้มข้นต่ำกว่าค่า MIC ลง 2 หลุม มาขีดเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Muller Hinton สำหรับแบคทีเรีย อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง YM สำหรับยีสต์ และอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA สำหรับรา ตรวจความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อไม่เจริญบนอาหาร จะเป็นความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อได้ (MBC) ดัดแปลงจาก Clinical and laboratory standards institute (2009)

### 3.3.7 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์บนต้านแบคทีเรีย

#### 3.3.7.1 เตรียมสารละลายเจลาตินร่วมกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

เตรียมสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 22 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในกรดแอสติค (70:30 ปริมาตร/ปริมาตร กรดแอสติค:น้ำกลั่น) ปริมาตร 20 มิลลิตร โดยกวนสารละลายบนเครื่องกวน

สารละลาย (magnetic stirrer) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จนสารละลายใสเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้โดยแปรผันความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ของสารละลายเจลาติน จากนั้นกวนบนเครื่องกวนสารละลายอีกเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

### 3.3.7.2 ศึกษาสมบัติของสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

นำสารละลายที่เตรียมได้จากการทดลองที่ 3.3.7.1 มาวัดความเป็นกรดเบสของสารละลาย โดยใช้ pH meter วัดความนำไฟฟ้าของสารละลายโดยใช้เครื่อง Portable Multiparameter (HACH: sension 156, USA ) ความหนืดของสารละลายโดยใช้เครื่อง viscometer (Fungilab Model: Premium R, Spain) และวัดค่าแรงตึงผิวโดยเครื่อง Tensiometer (Krüss: K6, Germany)

### 3.3.7.3 ผลิตเส้นใยโดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง

นำสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.7.2 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร มาบรรจุลงในหลอดฉีดยา ที่มีปลายเข็มฉีดยาหนีบกับสายขั้วบวก (positive lead) ที่มาจาก แหล่งกำเนิดศักย์ไฟฟ้าแรงสูง (high voltage supply) ขนาด 15 kV ส่วนสายดินหนีบกับวัสดุรองรับ (collector) ที่เป็นลูกกลิ้งที่ทำจากโลหะ โดยมีระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดยากับวัสดุรองรับ 20 เซนติเมตร ผลิตแผ่นเส้นใยเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

### 3.3.7.4 การนำแผ่นอิเล็กโทรสปินทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางเส้นใย

เนื่องจากแผ่นอิเล็กโทรสปินเจลาตินมีข้อจำกัดในเรื่องเจลาตินไวต่อการละลายน้ำ ทำให้จำเป็นต้องนำแผ่นอิเล็กโทรสปินที่ผลิตได้ ไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางก่อนนำไปใช้ วิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายคือ การเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตารัลดีไฮด์ (Jayakrishnan และ Jameela, 1996) ซึ่งทำได้โดยนำแผ่นอิเล็กโทรสปินเจลาตินที่ผลิตได้ในข้อที่ 3.3.7.3 มาทำการเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยโดยใช้ไอระเหยของสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ความเข้มข้น 50 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาตร 250 มิลลิลิตรในภาชนะแก้วปิด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยแปรผันเวลาที่ใช้ในการเชื่อมขวางเท่ากับ 10 และ 30 นาที ตามลำดับ จากนั้นนำแผ่นเส้นใยมาวางทิ้งไว้ในตู้ดูดควัน 1 ชั่วโมงก่อนนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อกำจัดไอระเหยส่วนเกินออกจากแผ่นเส้นใย

### 3.3.7.5 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดเส้นใย

นำแผ่นเส้นใยที่ผ่านการสปินเป็นเวลา 5 นาที มาศึกษาลักษณะรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด SEM (JSM-5800 LV) และขนาดเส้นใยโดยเฉลี่ยวิเคราะห์ได้จากการนำภาพ SEM มาทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยอย่างน้อย 100 ตำแหน่ง เป็นต้นไป วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SemAfore 5.21

### 3.3.7.6 ทดสอบความต้านทานแรงดึง (tensile strength) และเปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาด (elongation at break)

นำแผ่นเส้นใยที่ผ่านการสปินเวลา 72 ชั่วโมงมาวัดความหนาแผ่นเส้นใยโดยใช้ดิจิตอลไมโครมิเตอร์ (Mitutoyo: serie 293, Japan) และศึกษาสมบัติเชิงกลของแผ่นเส้นใยโดยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer) (Stable Micro Systems: TA.XT plus, UK) โดยยึดปลายทั้งสองด้านของแผ่นเส้นใยเข้ากับหัวหนีบ โดยกำหนดระยะตัวหนีบทั้งสองตัวห่างกัน 10 มิลลิเมตร และกำหนดความเร็ว 2 มิลลิเมตรต่อวินาที จากนั้นคำนวณหาความต้านทานแรงดึงและความยืดที่จุดขาดดังนี้

$$Ts \text{ (MPa)} = \frac{F_{max}}{A}$$

เมื่อ  $F_{max}$  คือ แรงสูงสุดที่ทำให้ฟิล์มขาด (นิวตัน)  $A$  คือ พื้นที่หน้าตัดของฟิล์ม (ตารางเมตร)

$$E \text{ (%) } = \frac{\Delta l}{l_0} \times 100$$

เมื่อ  $l_0$  คือ ความยาวเริ่มต้นของฟิล์ม (มิลลิเมตร)

$\Delta l$  คือ ความยาวที่เปลี่ยนแปลงไปของฟิล์ม (มิลลิเมตร)

### 3.3.7.7 ทดสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะของแผ่นเส้นใยหลังจากสัมผัสน้ำ

นำแผ่นเส้นใยที่ผ่านการสปินเป็นเวลา 72 ชั่วโมงมาตัดเป็นแผ่นรูปวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.65 เซนติเมตรและชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำไปแช่บัฟเฟอร์แอซิเตท (acetate buffer) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลากำหนดนำแผ่นเส้นใยชั่งน้ำหนักทันที หลังจากนั้นนำแผ่นเส้นใยไปอบให้แห้งสนิทเพื่อบันทึกน้ำหนักแห้งคงที่ของแผ่นเส้นใย คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ระดับการบวมพองของเส้นใยและน้ำหนักที่หายไปของแผ่นเส้นใยหลังจากสัมผัสน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดังสมการ และทำการทดลองเปรียบเทียบกับแผ่นแปะสิวของบริษัท 3M Nexcare

$$\text{ระดับการบวมพองเส้นใย (\%)} = \frac{M - M_d}{M_d} \times 100$$

$$\text{น้ำหนักที่หายไป (\%)} = \frac{M_i - M_d}{M_i} \times 100$$

เมื่อ  $M$  คือ น้ำหนักแผ่นเส้นใยหลังจากสัมผัสน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

$M_0$  คือ น้ำหนักแห้งของแผ่นเส้นใยหลังจากสัมผัสน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

$M_i$  คือ น้ำหนักแห้งเริ่มต้นของแผ่นเส้นใย

### 3.3.7.8 สมบัติการต้านแบคทีเรียของแผ่นเส้นใย

ใส่แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์แผ่นรูปวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.65 เซนติเมตร ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Muller Hinton ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่มีเชื้อ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P ความเข้มข้น  $10^6$  CFU/ml จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เขย่าหลอดทดลองในระหว่างการบ่มโดยใช้เครื่องเขย่า ที่มีอัตราการเขย่าเท่ากับ 180 rpm เก็บตัวอย่างทุกๆ 0, 2, 4, 8, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง มาเจือจางและกระจายเชื้อลงบนอาหารแข็ง Muller Hinton บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเห็นการเจริญของเชื้อ แล้วนับโคโลนีที่เกิดขึ้น คำนวณ  $\log$  CFU/ml เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเชื้อตั้งสมการ และเปรียบเทียบกับแผ่นแปะสิวของบริษัท 3M Nexcare

$$\% \text{ การรอดชีวิตของเชื้อ} = \frac{\text{จำนวน } \log \frac{CFU}{ml} \text{ ของเชื้อ ณ เวลานั้นๆ}}{\text{จำนวน } \log \frac{CFU}{ml} \text{ ของเชื้อ ณ เวลาเริ่มต้น}} \times 100$$

## บทที่ 4 ผลการทดลอง

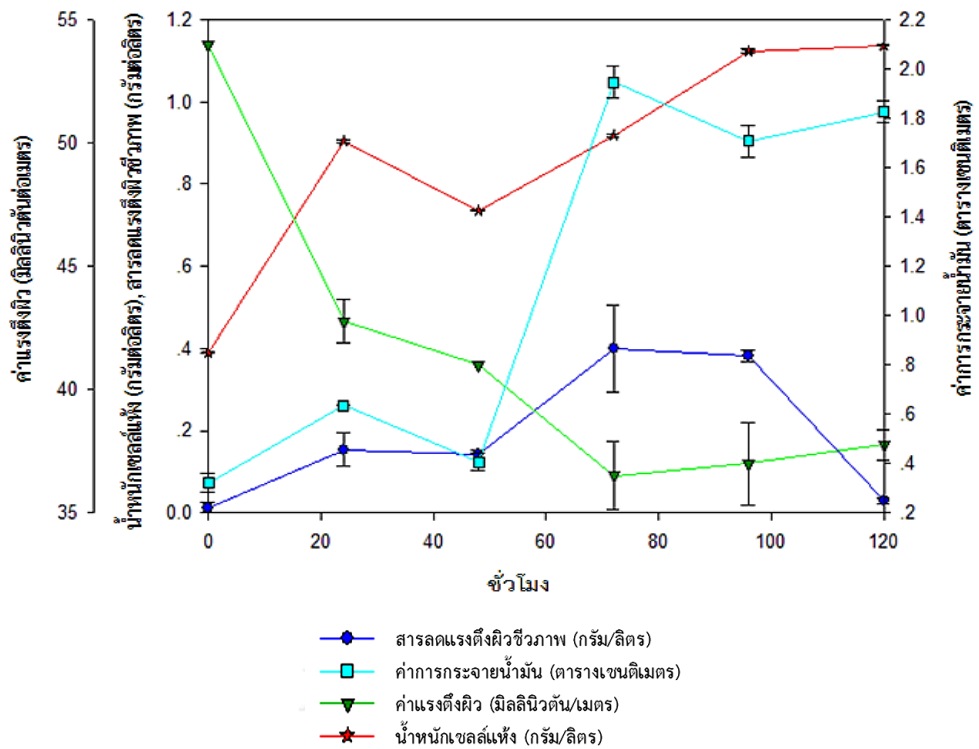
### 4.1 ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *B. subtilis* BBK-1 ในระดับขวดเขย่า

การทดลองเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวกำหนดสูตรในระดับขวดเขย่าที่ทำการแปรผันหาแหล่งคาร์บอนและปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่อัตราส่วนต่างๆ เก็บตัวอย่างมาทดสอบทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน พบว่าในอาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีแหล่งคาร์บอน คือ กลูโคส ปริมาณ 6 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และโซเดียมคลอไรด์ 0.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่เพาะเลี้ยงโดยควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เหมาะสมที่สุดในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เนื่องจากที่ภาวะดังกล่าวให้เปอร์เซ็นต์ลดลงของค่าแรงตึงผิวมากที่สุดเท่ากับ 47.94 เปอร์เซ็นต์ดังแสดงผลในตารางที่ 4.1 และเมื่อทำการทดลองเพื่อติดตามการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในภาวะดังกล่าว พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 3 วันจะให้ประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ดีที่สุดคือ มีค่าแรงตึงผิวน้ำต่ำสุดของน้ำเลี้ยงเชื้อลดลงจากเดิม 54 มิลลินิวตันต่อเมตร เป็น 36.5 มิลลินิวตันต่อเมตร ให้ค่าการกระจายน้ำมันมากที่สุดเท่ากับ 1.95 ตารางเซนติเมตร และให้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ  $0.92 \pm 0.00$  กรัมต่อลิตร ดังแสดงผลในรูปที่ 4.1 เมื่อทำการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ พบว่ามีปริมาณสารที่สกัดได้  $0.40 \pm 0.11$  กรัมต่อลิตร มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีเหลืองถึงน้ำตาลเข้ม ดังรูปที่ 4.2



**ตารางที่ 4.1** ผลศึกษาการแปรผันแหล่งคาร์บอนและปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B.subtilis* BBK-1 ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ในขวดเขย่า

แปรผันปริมาณแหล่งคาร์บอนและปริมาณโซเดียมคลอไรด์	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าการกระจายตัวน้ำมัน (ตารางเซนติเมตร)	%การลดลงของค่าแรงตึงผิว	pH
0.5% ซูโครส 3% โซเดียมคลอไรด์	0.64±0.00	0.07±0.00	14.29	7.89±0.27
0.5% ซูโครส 0.5% โซเดียมคลอไรด์	0.69±0.00	0.79±0.10	16.88	7.96±0.38
0.5% กลูโคส 0.5% โซเดียมคลอไรด์	0.79±0.01	1.04±0.07	19.21	7.45±0.19
3% กลูโคส 0.5% โซเดียมคลอไรด์	0.89±0.00	1.19±0.06	26.76	7.30±0.00
6% กลูโคส 0.5% โซเดียมคลอไรด์	0.92±0.00	1.95±0.07	47.94	7.20±0.00
9% กลูโคส 0.5% โซเดียมคลอไรด์	0.74±0.00	1.19±0.06	43.07	7.20±0.00



รูปที่ 4.1 รูปแบบของการเจริญของเชื้อและประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพของ *B. subtilis* BBK-1 ในอาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีแหล่งคาร์บอนกลูโคส 6 เปอร์เซ็นต์ และ โซเดียมคลอไรด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์



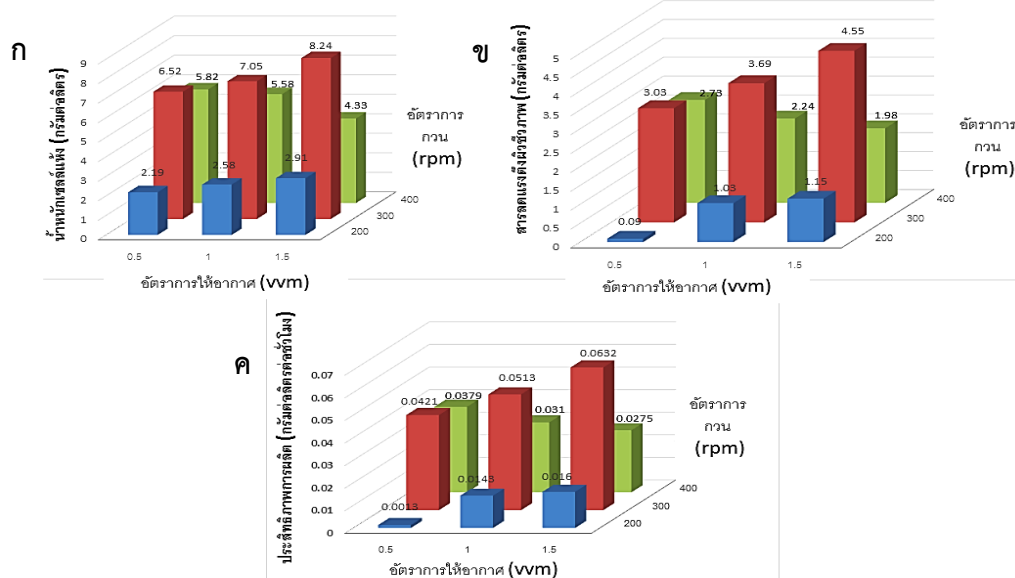
รูปที่ 4.2 ลักษณะของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่สกัดได้จาก *B. subtilis* BBK-1 เป็นของเหลวหนืดสีเหลืองถึงน้ำตาลเข้ม

#### 4.2 ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *B. subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยกระบวนการหมักแบบแบตช์

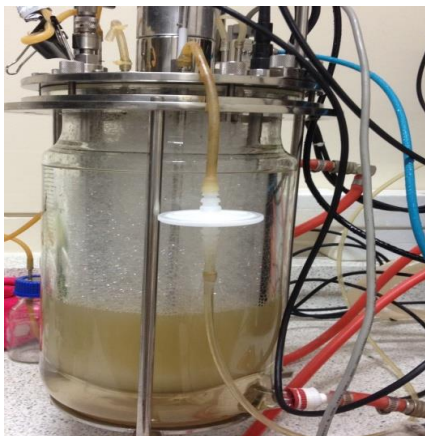
จากการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้ปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมักรวม 2 ลิตร และใช้กระบวนการหมักแบบแบตช์ ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส แปรผันอัตราการให้อากาศที่ 0.5, 1 และ 1.5 vvm ร่วมกับอัตราการกวนที่ 200, 300 และ 400 rpm ตามลำดับ ติดตามการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของเชื้อ ทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน พบว่า การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะได้ปริมาณมากที่สุด ที่ภาวะอัตราการให้อากาศ 1.5 vvm ร่วมกับอัตราการกวน 300 rpm ซึ่งให้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ  $8.24 \pm 0.03$  กรัมต่อลิตร สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ  $4.55 \pm 0.32$  กรัมต่อลิตร มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเหลืองจนถึงน้ำตาลเข้ม ผลผลิตต่อหน่วยเซลล์ ( $Y_{p/X}$ ) เท่ากับ 0.5526 กรัมต่อกรัม และ ประสิทธิภาพการผลิต ( $Q_p$ ) เท่ากับ 0.0632 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3 และจากการทดลองจะเห็นได้ว่าการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีการแปรผันตามอัตราการให้อากาศและอัตราการกวน กล่าวคือ ถ้าตัวแปรทั้งสองมีค่าเพิ่มขึ้นจะทำให้การผลิตสารมีค่าเพิ่มขึ้นเช่นกัน อย่างไรก็ตามการเพิ่มอัตราการให้อากาศที่มากเกินไป เช่น เพิ่มถึง 400 rpm ไม่ได้ส่งผลให้มีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพิ่มเติม แต่กลับทำให้มีการเจริญและประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของเชื้อลดลงอย่างมาก ดังกราฟรูปที่ 4.3 และจากการสังเกตพบว่าที่ภาวะที่ให้อัตราการให้อากาศและอัตราการกวนมากเกินไปจะส่งผลทำให้เกิดโฟมจำนวนมากอีกด้วย ดังรูปที่ 4.4

ตารางที่ 4.2 ผลศึกษาการแปรผันอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B. subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรแบบแบตช์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

อัตราการกวน (rpm)	อัตราการให้อากาศ (vvm)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/L)	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (g/L)	ผลผลิตต่อหน่วยเซลล์ ( $Y_{P/X}$ ) (g-P/g-X)	ประสิทธิภาพการผลิต ( $Q_p$ ) (g-P/L/h)
200	0.5	2.19±0.02	0.09±0.07	0.0411	0.0013
	1	2.58±0.01	1.03±0.06	0.3992	0.0143
	1.5	2.91±0.00	1.15±0.12	0.3952	0.0160
300	0.5	6.52±0.00	3.03±0.28	0.4647	0.0421
	1	7.05±0.03	3.69±0.35	0.5234	0.0513
	1.5	8.24±0.03	4.55±0.32	0.5522	0.0632
400	0.5	5.82±0.00	2.73±0.24	0.4691	0.0379
	1	5.58±0.01	2.24±0.04	0.4014	0.0311
	1.5	4.33±0.01	1.98±0.01	0.4573	0.0275

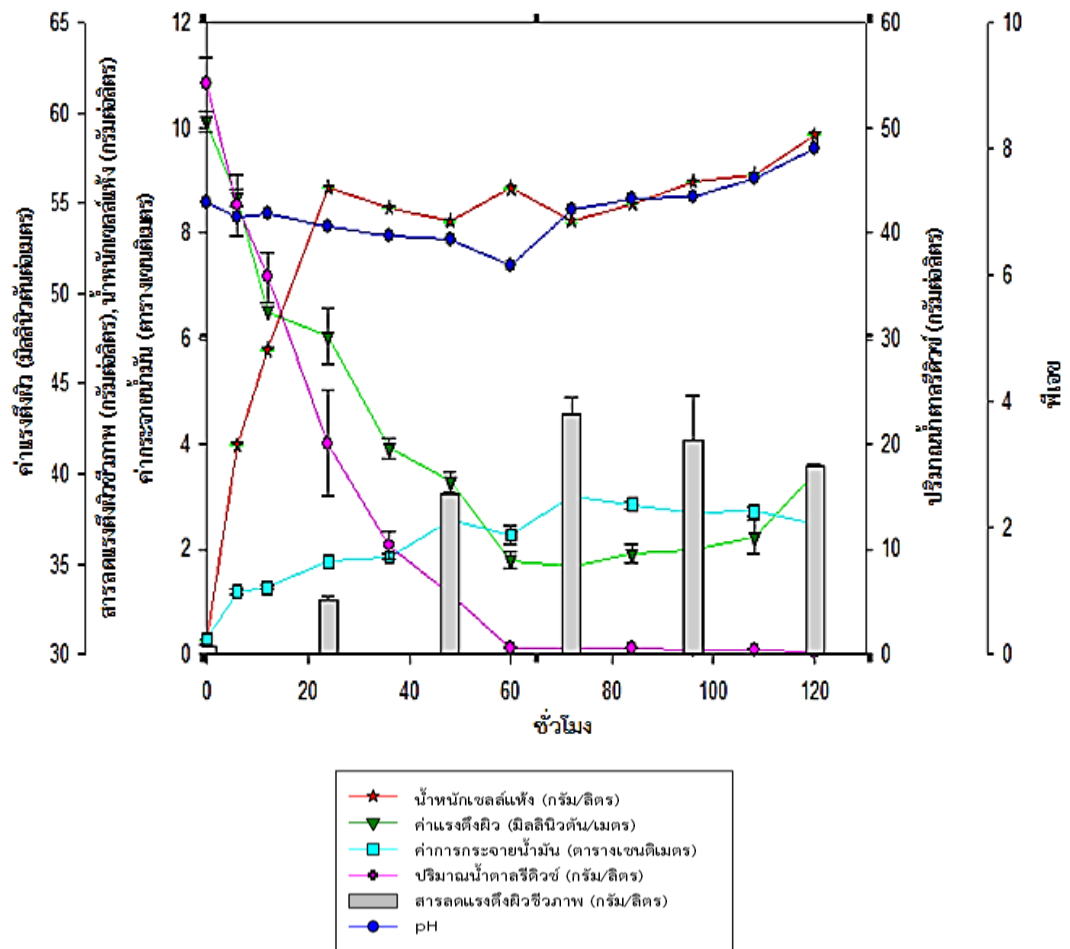


รูปที่ 4.3 แสดงอิทธิพลของอัตราการให้อากาศและอัตราการกวนต่อ ก) น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ข) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (กรัมต่อลิตร) ค) ประสิทธิภาพการผลิต (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)



**รูปที่ 4.4** ลักษณะของโฟมที่เกิดขึ้นระหว่างในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *B. subtilis* BBK -1

จากการติดตามการเจริญของเชื้อและประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในภาวะ อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm ร่วมกับอัตราการการกวน 300 rpm เป็นเวลา 5 วัน พบว่า ช่วงเวลา 24 ชั่วโมงของการทดลอง เชื้อมีการเจริญอย่างรวดเร็วแบบเอกซ์โพเนนเชียล และจะมีการสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมากที่สุดใน 72 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงที่เชื้อมีการเจริญเริ่มคงที่หรือเข้าสู่ช่วง stationary โดยพบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อมีค่าแรงตึงผิวลดลงจากค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นเดิม 54 มิลลินิวตันต่อเมตร เป็น 34.87 มิลลินิวตันต่อเมตร ค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 3.02 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ และจากกราฟสังเกตได้ว่า เชื้อมีการเริ่มใช้น้ำตาลกลูโคสที่ 6 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ และใช้จนเกือบหมดภายใน 48 ชั่วโมง ค่าพีเอชของน้ำเลี้ยงเชื้อจะมีค่าเริ่มต้นที่ 7.15 และมีการลดลงถึง 6.13 ที่ 60 ชั่วโมง และ เพิ่มขึ้นอีกเป็น 7.05 ในชั่วโมงที่ 72 ของการทดลอง ดังรูปที่ 4.5 จากผลการทดลองในการผลิตสารลดแรงตึงผิวในถังหมักขนาด 5 ลิตรพบว่า เชื้อมีประสิทธิภาพในการผลิตสารลดแรงตึงผิวที่ดีกว่าในระดับขวดเขย่า คือ สามารถให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นถึง 11.41 เท่า



รูปที่ 4.5 รูปแบบของการเจริญและประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพของ *B. subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรแบบแบตช์ ที่ภาวะควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราให้อากาศ 1.5 vvm และ อัตราการกวน 300 rpm

#### 4.3 คำนวณค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์

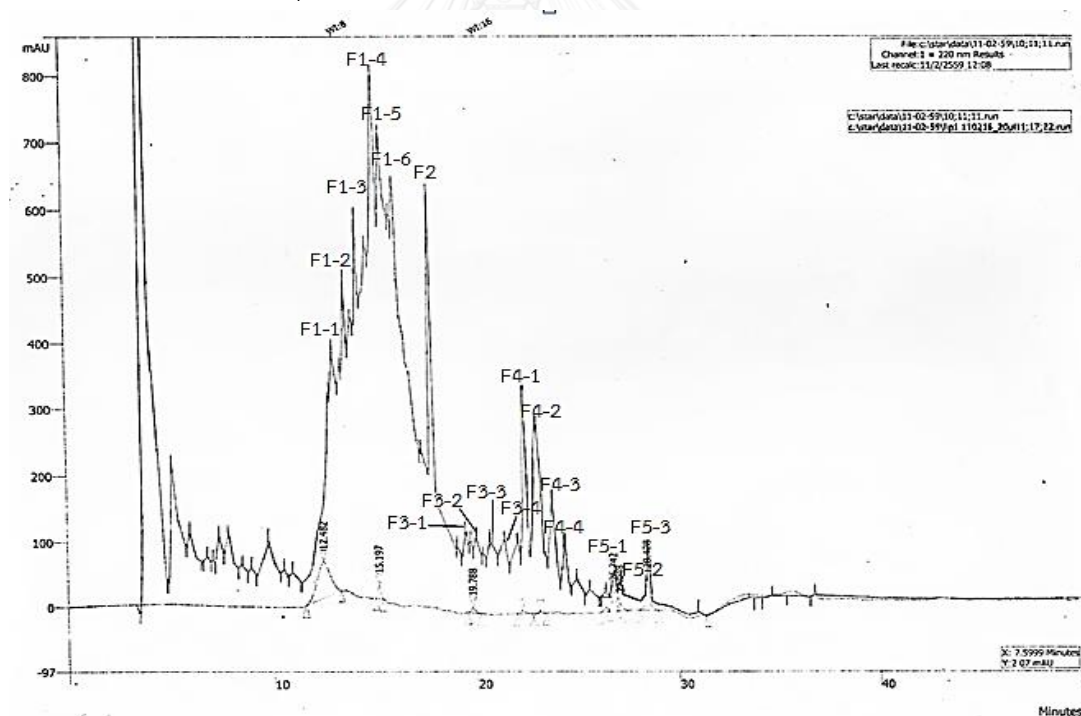
เมื่อทำการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพระหว่างการผลิตในระดับขวดเขย่าและในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ โดยการคำนวณค่าจลนพลศาสตร์นั้น พบว่า ปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (P) และประสิทธิภาพการผลิตสาร ( $Q_p$ ) ในถังหมัก จะให้ค่าสูงกว่า แสดงถึงผลผลิตและประสิทธิภาพในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพดีกว่าระดับขวดเขย่า ดังแสดงในตารางที่ 4.3 เนื่องมาจากการผลิตในถังหมักนั้นมีการควบคุมอุณหภูมิ อัตราการให้อากาศ และควบคุมอัตราการกวน จึงทำให้สามารถควบคุมการผลิตได้ดีกว่าในระดับขวดเขย่า ดังนั้นในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *B.subtilis* BBK-1 จึงเลือกผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตรแบบแบตช์ ปริมาตรอาหารรวม 2 ลิตร ที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm อัตราการกวน 300 rpm และทำการสกัดสารที่เวลาเพาะเลี้ยงเป็น 3 วัน เพื่อให้ได้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวสูงที่สุดเพื่อใช้ในการทำการทดลองต่อไป

**ตารางที่ 4.3** เปรียบเทียบผลการคำนวณค่าพารามิเตอร์ของการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *B. subtilis* BBK-1 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 วัน ในระดับขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 rpm และระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm อัตราการกวน 300 rpm

ค่าพารามิเตอร์	ระดับขวดเขย่า (200 rpm)	ระดับถังหมักแบบแบตช์ ขนาด 5 ลิตร (300 rpm, 1.5 vvm)
น้ำหนักเซลล์แห้ง (X) (กรัมต่อลิตร)	0.92	8.24
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (P) (กรัมต่อลิตร)	0.40	4.55
ผลผลิตต่อหน่วยเซลล์ ( $Y_{P/X}$ ) (กรัมต่อกรัม)	0.4348	0.5522
ประสิทธิภาพการผลิต ( $Q_p$ ) (กรัมต่อลิตรต่อชม.)	0.0056	0.0632
อัตราการผลิตจำเพาะ ( $q_p$ ) (กรัมต่อกรัมต่อชม.)	0.0060	0.0077
อัตราการเจริญจำเพาะ ( $\mu$ ) (กรัมต่อลิตรต่อชม.)	0.0119	0.0479

#### 4.4 การแยกและวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครโมโทกราฟี

นำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้ โดยการตกตะกอนด้วยกรดไฮโดรคลอริกและทำการสกัดด้วยเมทานอลมาวิเคราะห์และแยกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์ด้วยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครโมโทกราฟี พบลำดับส่วนในช่วงเวลา (retention time) ต่างๆ ประมาณ 5 ส่วน คือ 13.0-16.2 นาที 17.8 นาที 19.5-21.7 นาที 22.3-24.3 นาที และ 26.3-28.4 นาที ดังแสดงบนโครมาโทแกรม ในรูปที่ 4.6 จากนั้นทำการเลือกเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ 18 ตัวอย่าง ได้แก่ F1-1, F1-2, F1-3, F1-4, F1-5, F1-6, F2, F3-1, F3-2, F3-3, F3-4, F4-1, F4-2, F4-3, F4-4, F5-1, F5-2 และ F5-3 โดยแต่ละตัวอย่างออกมาที่เวลา เท่ากับ 13.035, 13.655, 14.275, 15.204, 15.535, 16.160, 17.816, 19.581, 20.067, 20.698, 21.743, 22.364, 22.986, 23.734, 24.313, 26.764, 27.058, และ 28.448 นาที ตามลำดับ จากนั้นนำตัวอย่างที่ออกมาแต่ละเวลาไปศึกษาสมบัติเบื้องต้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพบริสุทธิ์ในกลุ่มไลโปเพปไทด์ โดยวัดค่าการกระจายน้ำมัน (Morikawa และคณะ, 1993) และสมบัติการต้านจุลินทรีย์โดยวิธี agar disc diffusion ตามวิธีของ (Das และคณะ, 2008)



รูปที่ 4.6 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *B. subtilis* BBK-1 ที่ช่วงเวลาต่างๆ



เมื่อนำตัวอย่างสารลดแรงตึงผิวที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิควิดโครโมโทกราฟีของช่วงเวลาต่างๆ มาเตรียมความเข้มข้นเท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาวัดค่าการกระจายน้ำมัน และ ทดสอบสมบัติในการต้าน *S. aureus* ATCC 6538P และ *E. coli* ATCC 8739 ซึ่งเป็นตัวแทนทดสอบในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ตามลำดับ ทดสอบโดยวิธี agar disc diffusion ตามวิธีของ (Das และคณะ, 2008) โดยมีชุดควบคุมคือสารละลายบัฟเฟอร์ทริส ไฮโดรคลอไรด์พบว่า ชุดควบคุม ไม่มีความสามารถกระจายน้ำมันและต้านจุลินทรีย์ ในขณะที่ตัวอย่าง ช่วงเวลาที่ 17.816, 22.364, 22.986, 23.734 27.058 นาที มีความสามารถในการกระจายน้ำมัน และต้านจุลินทรีย์ได้ ดังข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 4.4 โดยตัวอย่างที่มีความสามารถในการกระจาย น้ำมันดีที่สุดคือ F4-1 (RT= 22.364 นาที) และ F4-2 (RT= 22.986 นาที) อย่างไรก็ตามมีบาง ตัวอย่าง ที่ไม่พบการกระจายน้ำมัน แต่มีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ เช่น F1-4 (RT=15.204 นาที) และ F5-3 (RT=28.448 นาที)



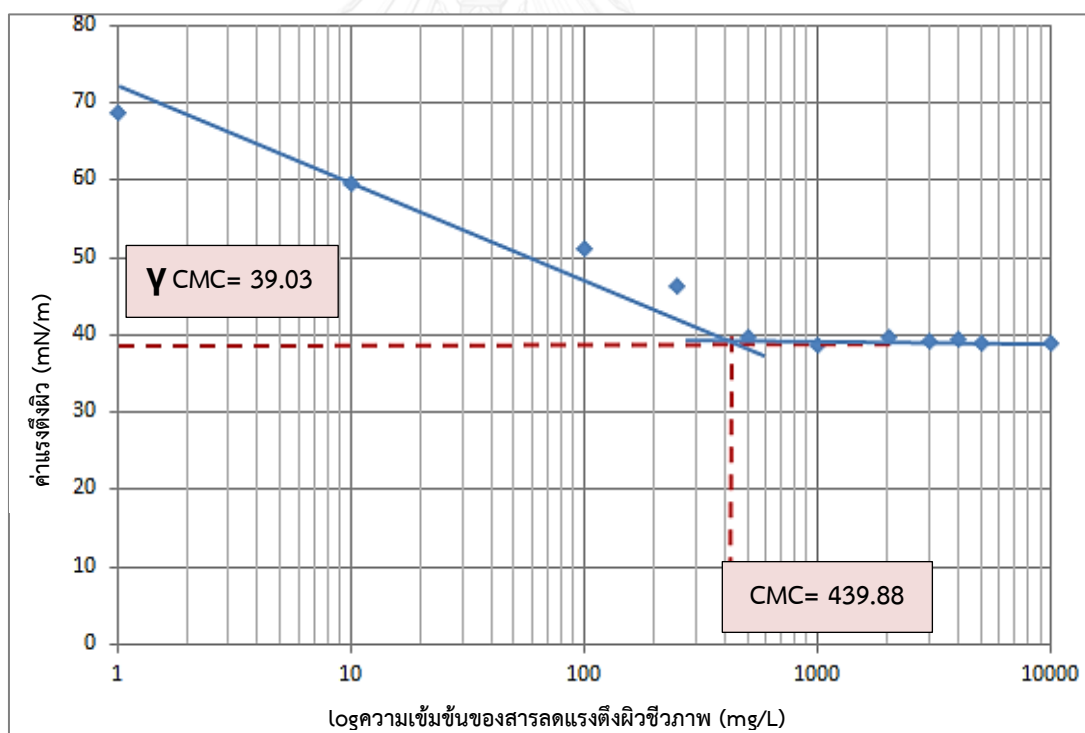
**ตารางที่ 4.4** ค่าการกระจายน้ำมันและการต้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *B. subtilis* BBK-1 ซึ่งผ่านการวิเคราะห์และทำให้บริสุทธิ์ด้วยเครื่อง HPLC

ตำแหน่ง พีค	เวลา (นาที)	ค่าการกระจายน้ำมัน (ตารางเซนติเมตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)	
			<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	<i>E. coli</i> ATCC 8739
F1-1	13.035	-	-	-
F1-2	13.655	-	-	-
F1-3	14.275	-	-	-
F1-4	15.204	-	7.5±0.1	7.0±0.3
F1-5	15.535	-	-	-
F1-6	16.160	-	-	-
F2	17.816	0.785	10.0±0.0	9.8±0.2
F3-1	19.581	-	-	-
F3-2	20.067	-	-	-
F3-3	20.698	-	-	-
F3-4	21.743	-	-	-
F4-1	22.364	10.174	8.0±0.0	7.5±0.0
F4-2	22.986	7.065	8.0±0.0	7.0±0.0
F4-3	23.734	1.130	8.0±0.0	7.0±0.0
F4-4	24.313	-	-	-
F5-1	26.764	0.126	-	-
F5-2	27.058	0.126	7.0±0.0	7.0±0.0
F5-3	28.448	-	7.5±0.0	7.0±0.0

**หมายเหตุ** – หมายถึง ให้ผลลบกับการทดสอบ

#### 4.5 หาค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้จาก *B. subtilis* BBK-1 มาหาประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวโดยการวัดหาค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่น้อยที่สุดที่ทำให้สารลดแรงตึงผิวก่อตัวเป็นรูปแบบไมเซลล์และยังเป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถในการลดแรงตึงผิวได้ต่ำที่สุดของสาร แม้ว่า会增加ความเข้มข้นของสารมากกว่าค่านี้ก็ไม่สามารถลดแรงตึงผิวได้อีก การหาค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ทำได้โดยแปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ ตั้งแต่ 1 ถึง 10000 มิลลิกรัมต่อลิตร นำแต่ละความเข้มข้นไปวัดค่าแรงตึงผิว และนำไปเขียนกราฟหาค่า CMC ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวและค่าแรงตึงผิว จากกราฟผลการทดลองพบว่า ค่าแรงตึงผิวแบ่งออกได้เป็น 2 ช่วง ในช่วงแรกค่าแรงตึงผิวมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง ตามความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิวที่เพิ่มขึ้น และในช่วงที่สอง ค่าลดแรงตึงผิวจะมีค่าค่อนข้างคงที่ จากการหาค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *B.subtilis* BBK-1 พบว่ามีค่าเท่ากับ 439.88 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าแรงตึงผิว ณ การเกิดไมเซลล์ ( $\gamma_{CMC}$ ) เท่ากับ 39.03 มิลลินิวตันต่อเมตร ดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 ความเข้มข้นวิกฤตของการไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *B. subtilis* BBK-1

#### 4.6 ทดสอบสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ในการต้านจุลินทรีย์

จากการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไปทดสอบสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆด้วยวิธี agar well diffusion จากการสังเกตจากบริเวณใสที่เกิดขึ้น พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้ดี ดังแสดงในตารางที่ 4.5 โดยเชื้อที่ถูกยับยั้งมากที่สุด 4 อันดับแรก ได้แก่ *B. subtilis* MSCU 0271 / ATCC 16633, *B. cereus* MSCU 0486 / ATCC 11778, *M. luteus* MSCU 0350 / TISTR 884 และ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P นอกจากนี้ยังพบว่า ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถต้านการเจริญของ *E. coli* MSCU 0349 / TISTR 780 / ATCC 8739, *C. albicans* MSCU 0028 / ATCC 10231, *C. tropicalis* MSCU 0544 และ *Fusarium sp.* MSCU 0050 ได้ แต่อย่างไรก็ตาม เชื้อดังกล่าวสามารถถูกยับยั้งได้เมื่อทดสอบกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้น *C. albicans* MSCU 0028 / ATCC 10231

เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *B. subtilis* BBK-1 มาทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (MIC) และ หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการฆ่าแบคทีเรีย (MBC) พบว่า สารสามารถยับยั้งเชื้อทดสอบ และสามารถฆ่าเชื้อทดสอบ บางสายพันธุ์ได้ ค่า MIC และ MBC แสดงในตารางที่ 4.6 และ 4.7 ตามลำดับ โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่า MIC ต่อเชื้อทดสอบอยู่ในช่วง 12.5 ถึง 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC อยู่ในช่วง 25-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดย *M. luteus* MSCU 0350 / TISTR 884 และ *A. niger* MSCU 0361 มีค่า MIC ต่ำสุดที่ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ *M. luteus* MSCU 0350 / TISTR 884, *L. monocytogenes* DMST 17303, *A. niger* MSCU 0361, *A. flavus* MSCU 0580 และ *Penicillium sp.* MSCU 0390 มีค่า MBC ต่ำสุดที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างไรก็ตาม สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีค่าความเข้มข้นน้อยกว่า 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อทดสอบ *E. coli* MSCU 0349 / TISTR 780 / ATCC 8739, *C. albicans* MSCU 0028 / ATCC 10231 และ *C. tropicalis* MSCU 0544

ตารางที่ 4.5 ผลศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *B. subtilis* BBK-1 ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

จุลินทรีย์	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)
<b>แบคทีเรีย</b>	
<i>S. aureus</i> MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P	11.6±0.1
<i>M. luteus</i> MSCU 0350 / TISTR 884	12.3±0.1
<i>B. subtilis</i> MSCU 0271 / ATCC 16633	20.4±0.2
<i>B. cereus</i> MSCU 0486 / ATCC 11778	14±0.0
<i>L. monocytogenes</i> DMST 17303	7.6±0.1
<i>E. coli</i> MSCU 0349 / TISTR 780 / ATCC 8739	12±0.2 *****
<i>S. Typhimurium</i> MSCU 0492	11.5±0.0
<b>ราและยีสต์</b>	
<i>A. niger</i> MSCU 0361	10.5±0.8
<i>A. flavus</i> MSCU 0580	9.5±0.3
<i>Penicillium sp.</i> MSCU 0390	10.0±0.2
<i>C. albicans</i> MSCU 0028 / ATCC 10231	ไม่มีโซนยับยั้งเกิดขึ้น *****
<i>C. tropicalis</i> MSCU 0544	4.6±0.5 *****
<i>Fusarium sp.</i> MSCU 0050	19±0.0 *****

\*\*\*\*\* หมายถึง คือ ใช้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.6 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (MIC) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *B. subtilis* BBK-1

จุลินทรีย์	ค่า MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
<b>แบคทีเรีย</b>	
<i>S. aureus</i> MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P	25.0±0.0
<i>M. luteus</i> MSCU 0350 / TISTR 884	12.5±0.0
<i>B. subtilis</i> MSCU 0271 / ATCC 16633	25.0±0.0
<i>B. cereus</i> MSCU 0486 / ATCC 11778	15.63±0.0
<i>L. monocytogenes</i> DMST 17303	25.0±0.0
<i>E. coli</i> MSCU 0349 / TISTR 780 / ATCC 8739	มากกว่า 250±0.0
<i>S. Typhimurium</i> MSCU 0492	31.25±0.0
<b>ราและยีสต์</b>	
<i>A. niger</i> MSCU 0361	12.5±0.0
<i>A. flavus</i> MSCU 0580	25.0±0.0
<i>Penicillium sp.</i> MSCU 0390	25.0±0.0
<i>C. albicans</i> MSCU 0028 / ATCC 10231	มากกว่า 250±0.0
<i>C. tropicalis</i> MSCU 0544	มากกว่า 250±0.0
<i>Fusarium sp.</i> MSCU 0050	15.63±0.0

ตารางที่ 4.7 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อทดสอบ (MBC) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *B. subtilis* BBK-1

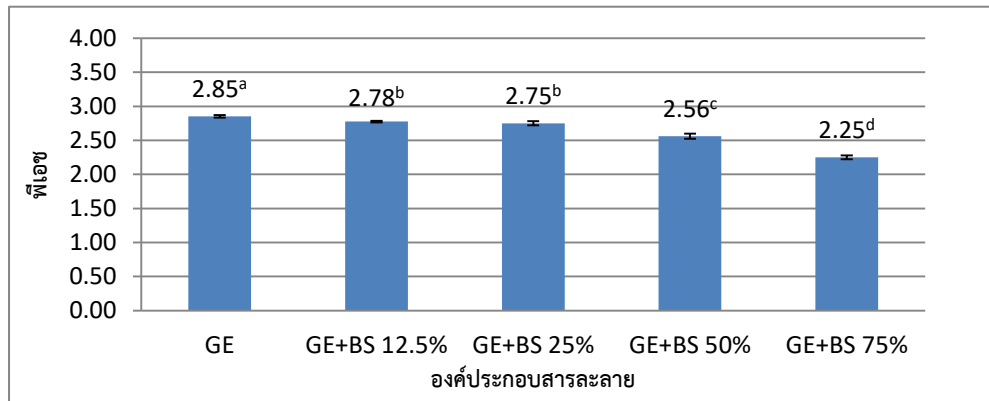
จุลินทรีย์	ค่า MBC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
<b>แบคทีเรีย</b>	
<i>S. aureus</i> MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P	50.0±0.0
<i>M. luteus</i> MSCU 0350 / TISTR 884	25.0±0.0
<i>B. subtilis</i> MSCU 0271 / ATCC 16633	50.0±0.0
<i>B. cereus</i> MSCU 0486 / ATCC 11778	มากกว่า 250±0.0 หรือ ไม่สามารถฆ่าเชื้อนี้ได้
<i>L. monocytogenes</i> DMST 17303	25.0±0.0
<i>E. coli</i> MSCU 0349 / TISTR 780 / ATCC 8739	มากกว่า 250±0.0 หรือ ไม่สามารถฆ่าเชื้อนี้ได้
<i>S. Typhimurium</i> MSCU 0492	31.25±0.0
<b>ราและยีสต์</b>	
<i>A. niger</i> MSCU 0361	25.0±0.0
<i>A. flavus</i> MSCU 0580	25.0±0.0
<i>Penicillium sp.</i> MSCU 0390	25.0±0.0
<i>C. albicans</i> MSCU 0028 / ATCC 10231	มากกว่า 250±0.0 หรือ ไม่สามารถฆ่าเชื้อนี้ได้
<i>C. tropicalis</i> MSCU 0544	มากกว่า 250±0.0 หรือ ไม่สามารถฆ่าเชื้อนี้ได้
<i>Fusarium sp.</i> MSCU 0050	มากกว่า 250±0.0 หรือ ไม่สามารถฆ่าเชื้อนี้ได้

#### 4.7 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นด้านแบคทีเรีย

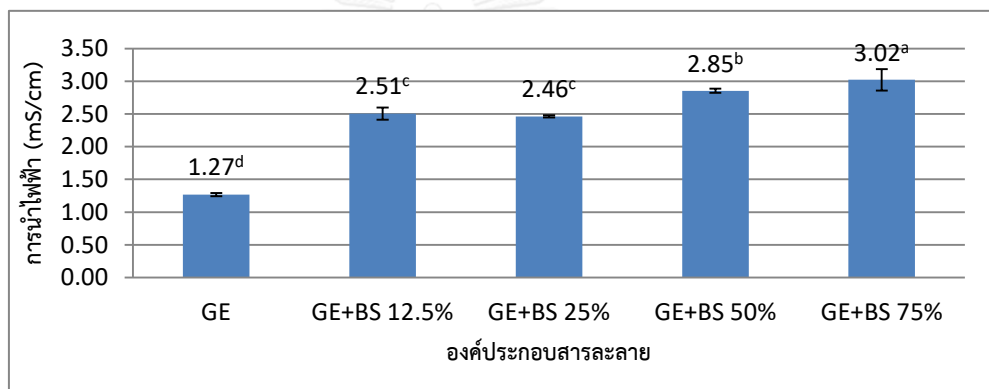
##### 4.7.1 สมบัติของสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

จากการเตรียมสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 22 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในกรดแอสซิดิก (70:30 ปริมาตร/ปริมาตร กรดแอสซิดิก:น้ำกลั่น) และเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แปรผันความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ของสารละลายเจลาติน จากนั้นนำสารละลายมาวัดค่าพีเอช โดยใช้ pH meter วัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายโดยใช้เครื่องมือ Portable Multiparameter วัดความหนืดของสารละลายโดยใช้เครื่องมือ viscometer และวัดค่าแรงตึงผิวของสารละลายโดยใช้เครื่องมือ Tensiometer ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.8, 4.9, 4.10 และ 4.11 จะเห็นได้ว่า ค่าพีเอชของสารละลายเจลาตินและสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) โดยค่าพีเอชของสารละลายเจลาตินมีค่าเท่ากับ  $2.85 \pm 0.02$  และพีเอชจะมีค่าลดลงแปรผันตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารลดแรงตึงผิวคือ  $2.78 \pm 0.0$ ,  $2.75 \pm 0.03$ ,  $2.56 \pm 0.04$  และ  $2.25 \pm 0.03$  ตามลำดับ ผลการวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายพบว่า มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) โดยค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายเจลาตินมีค่าเท่ากับ  $1.27 \pm 0.02$  mS/cm และค่าการนำไฟฟ้าจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารลดแรงตึงผิวคือ  $2.51 \pm 0.09$ ,  $2.46 \pm 0.02$ ,  $2.85 \pm 0.03$  และ  $3.02 \pm 0.16$  mS/cm ตามลำดับ แต่เมื่อวัดความหนืดของสารละลายนั้น จะพบว่า สารละลายมีความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) จากความความหนืดของสารละลายที่มีเพียงเจลาตินจะมีค่าเท่ากับ  $384.34 \pm 2.87$  cP แต่พอเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กลับพบว่ามีค่าลดลงแปรผันตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารลดแรงตึงผิวดังนี้คือ  $184.18 \pm 4.58$ ,  $183.30 \pm 1.30$ ,  $167.12 \pm 1.86$  และ  $166.8 \pm 1.30$  cP ตามลำดับ โดยสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวความเข้มข้น 12.5 กับ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีค่าความหนืดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \geq 0.05$ ) เช่นเดียวกับสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวความเข้มข้น 50 กับ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่มีค่าความหนืดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) เมื่อวัดค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะพบว่า ค่าแรงตึงผิวของสารละลายที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้นต่างๆ มีค่าแรงตึงผิวลดลงจากสารละลายเจลาตินอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ( $P \leq 0.05$ ) จาก  $43.10 \pm 0.89$  mN/m มีค่าแรงตึงผิวลดลงเท่ากับ  $37.10 \pm 0.61$ ,  $36.20 \pm 0.45$ ,  $35.80 \pm 0.45$  และ  $36.00 \pm 0.00$  mN/m ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า ความนำไฟฟ้าของสารละลายเจลาตินจะเพิ่มขึ้นเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพลงไป ในขณะที่ค่าพีเอช ความหนืดและค่าแรงตึงผิวของสารละลายมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

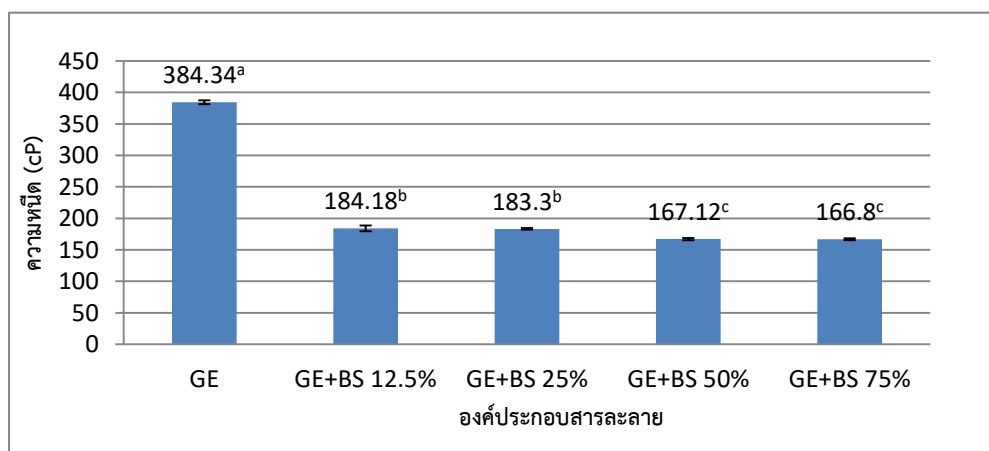




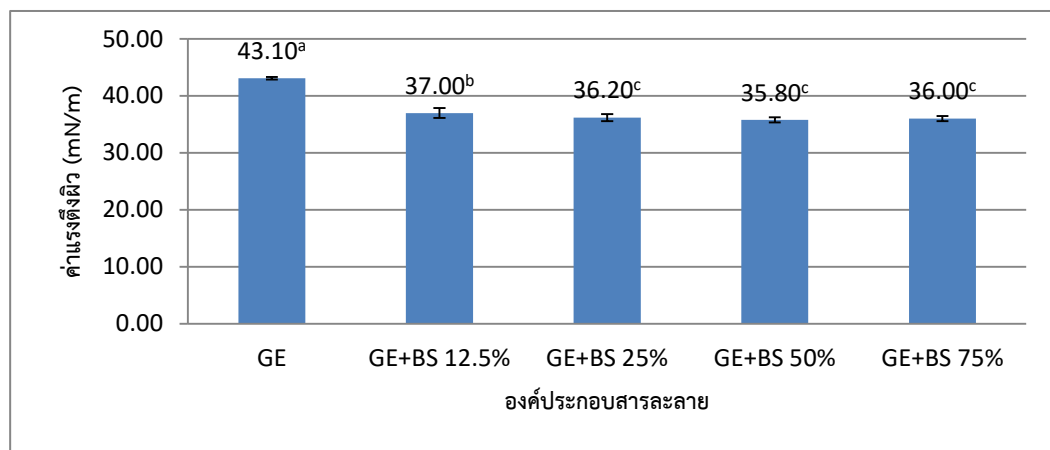
รูปที่ 4.8 แสดงค่า pH ของสารละลายเจลาติน (GE) และ สารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)



รูปที่ 4.9 แสดงค่าความนำไฟฟ้าของสารละลายเจลาติน (GE) และ สารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)



รูปที่ 4.10 แสดงค่าความหนืดของสารละลายเจลาติน (GE) และ สารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)



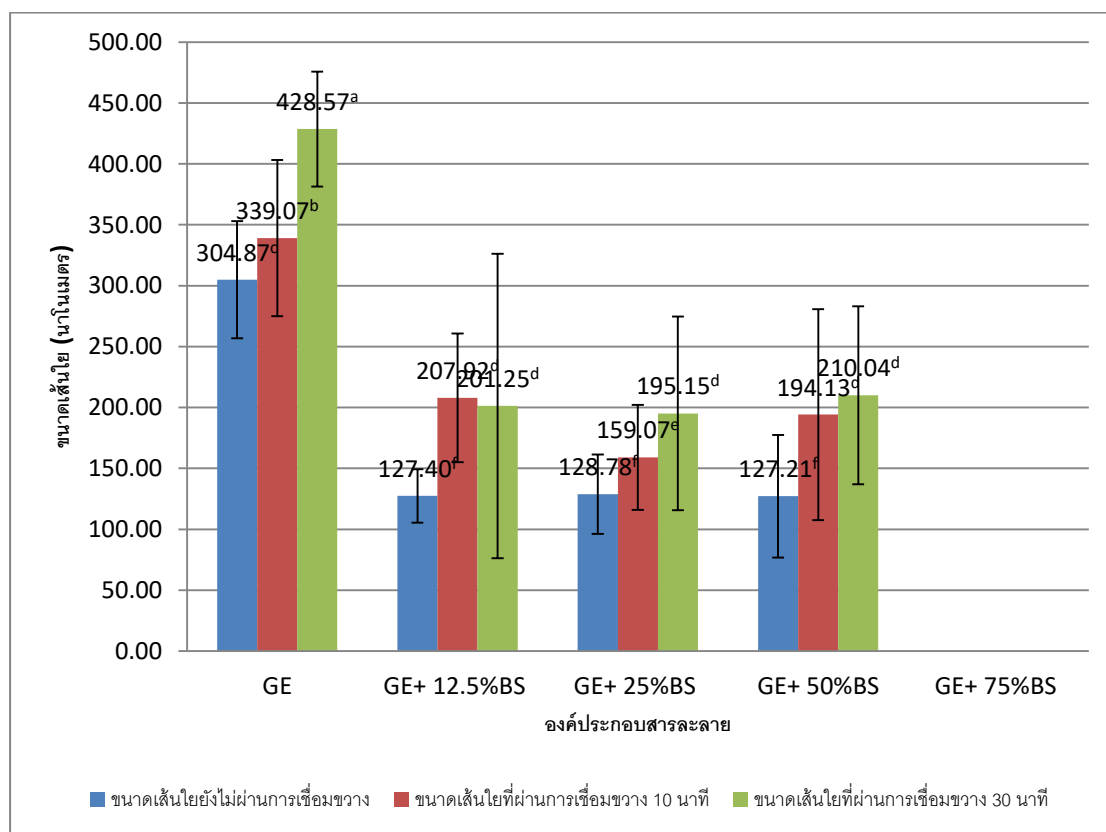
**รูปที่ 4.11** แสดงค่าแรงดึงผิวของสารละลายเจลาติน (GE) และ สารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)

**หมายเหตุ** ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี one-way ANOVA

#### 4.7.2 รูปร่างและขนาดเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)

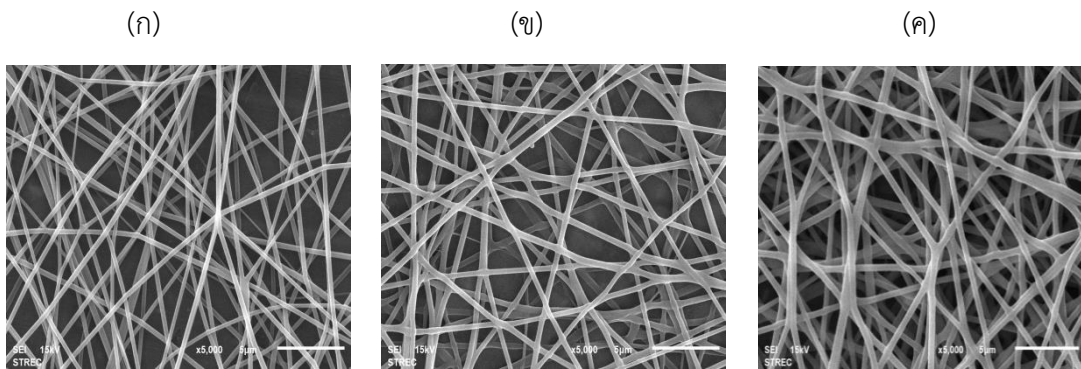
จากการศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดเส้นใยอิเล็กโทรสปินจากสารละลายเจลาตินและเส้นใยอิเล็กโทรสปินจากสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการสปินเป็นเวลา 5 นาที พบว่า สามารถผลิตเส้นใยได้ มีลักษณะกระจัดกระจายอย่างสุ่ม มีขนาดระดับนาโนเมตร ดังรูปที่ 4.12 โดยที่เส้นใยที่มีเพียงพอลิเมอร์เจลาติน 22 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีขนาดเส้นใยเท่ากับ  $304.87 \pm 48.16$  นาโนเมตร และเมื่อนำเส้นใยเจลาตินไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยไอกลูตาราลดีไฮด์ที่เวลา 10 และ 30 นาที เส้นใยมีขนาดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เท่ากับ  $339.07 \pm 64.18$  และ  $428.57 \pm 47.13$  นาโนเมตรตามลำดับ และเมื่อเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพลงในสารละลายเจลาตินที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่า ขนาดของเส้นใยที่ผลิตได้มีขนาดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) คือมีขนาดประมาณ 127-128 นาโนเมตร โดยที่ความเข้มข้น 50 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะเริ่มพบเม็ดปิดขนาดใหญ่จำนวนมาก ดังรูปที่ 4.16 และเมื่อนำเส้นใยอิเล็กโทรสปินที่ผลิตได้นี้ไปทำการเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตาราลดีไฮด์ที่ระยะเวลา 10 และ 30 นาที พบว่า ส่งผลทำให้เส้นใยมีขนาดใหญ่กว่าขนาดเส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) โดยที่ระยะเวลาการเชื่อมขวางที่เวลา 10 และ 30 นาที เส้นใยที่ผลิตได้ของสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 50 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีขนาดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) แต่อย่างไรก็ตาม

การเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มากเกินไปเช่น 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะพบว่าเกิดปัญหาเกี่ยวกับเส้นใยคือไม่สามารถผลิตเส้นใยได้ ดังรูปที่ 4.17

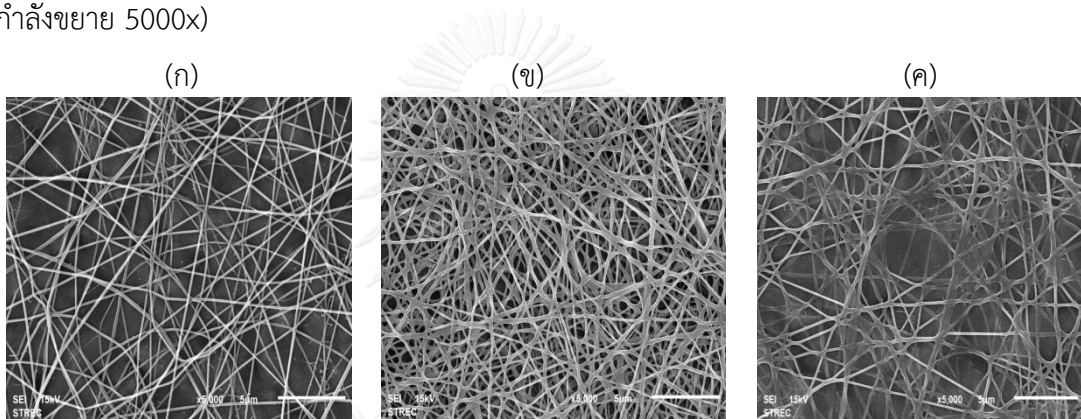


**รูปที่ 4.12** แสดงขนาดเส้นใยของเส้นใยอีเล็กโทรสปินที่ทำจากสารละลายเจลาตินและสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการสปินเป็นเวลา 5 นาที และผ่านการเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตาราลดีไฮด์ที่ระยะเวลา 10 และ 30 นาที

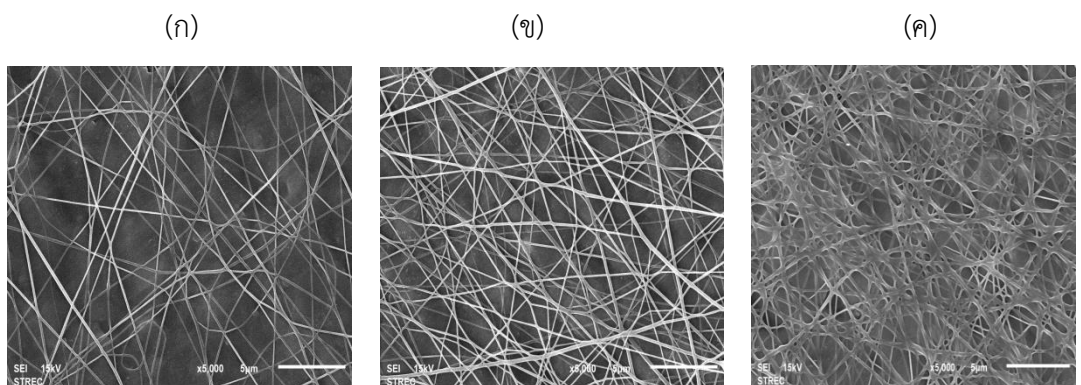
**หมายเหตุ** ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี one-way ANOVA



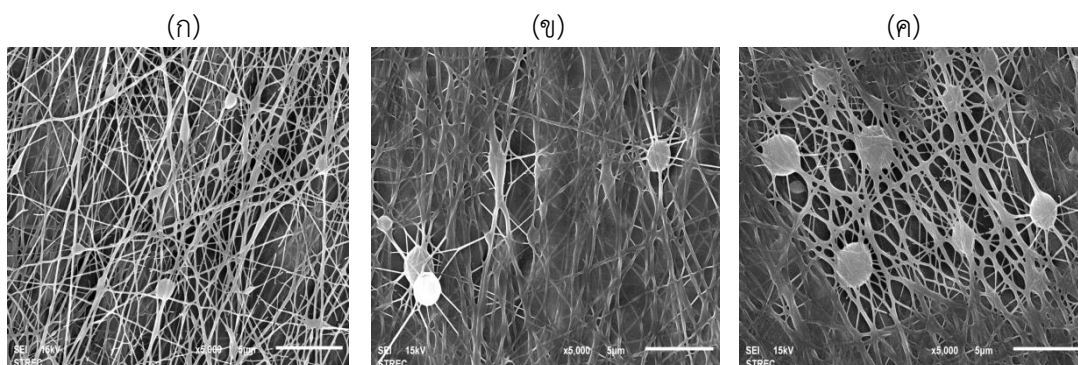
**รูปที่ 4.13** แสดงภาพภายใต้กล้อง SEM ของเส้นใยโพลิแล็กโทรสปีนจากเจลาติน (ก) เส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (ข) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที (ค) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที (ภาพ ก-ค กำลังขยาย 5000x)



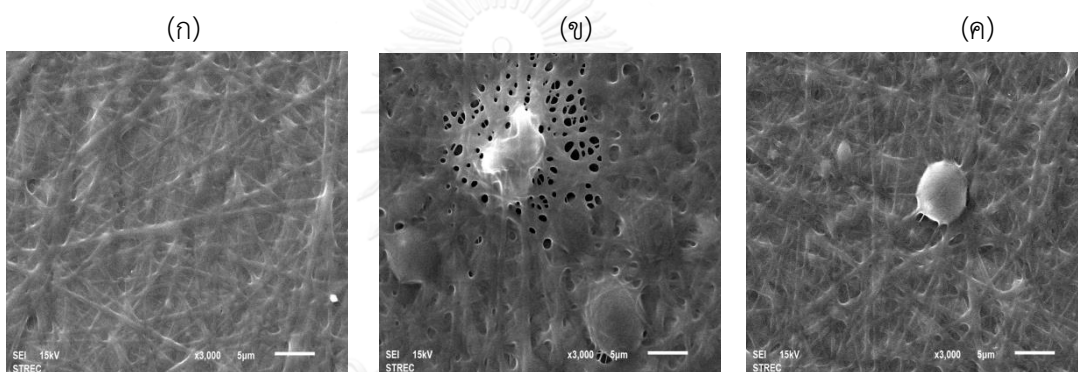
**รูปที่ 4.14** แสดงภาพภายใต้กล้อง SEM ของเส้นใยโพลิแล็กโทรสปีนจากเจลาตินผสมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 12.5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ก) เส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (ข) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที (ค) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที (ภาพ ก-ค กำลังขยาย 5000x)



**รูปที่ 4.15** แสดงภาพภายใต้กล้อง SEM ของเส้นใยโพลิแล็กโทรสปีนจากเจลาตินผสมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ก) เส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (ข) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที (ค) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที (ภาพ ก-ค กำลังขยาย 5000x)



**รูปที่ 4.16** แสดงภาพภายใต้กล้อง SEM ของเส้นใยโพลีแล็กโทรสปีนจากเจลาตินผสมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 50 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ก) เส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (ข) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที (ค) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที (ภาพ ก-ค กำลังขยาย 5000x)



**รูปที่ 4.17** แสดงภาพภายใต้กล้อง SEM ของเส้นใยโพลีแล็กโทรสปีนจากเจลาตินผสมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ก) เส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (ข) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที (ค) เส้นใยผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที (ภาพ ก-ค กำลังขยาย 3000x)

จากผลการทดลองการศึกษารูปร่างลักษณะของเส้นใยแล้วพบว่าเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพตั้งแต่ความเข้มข้น 50 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นต้นไป จะทำให้เกิดปัญหาขึ้นกับเส้นใย คือขนาดเส้นใยไม่สม่ำเสมอ เกิดปดส์จำนวนมากขึ้นกับเส้นใย และที่ความเข้มข้น 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ก็ไม่สามารถผลิตออกมาเป็นเส้นใยได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงตัดสินใจเลือกความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินและสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มาทำการทดลองขั้นต่อไป

#### 4.7.3 ความหนา ความต้านทานแรงดึง (tensile strength) และเปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาด (% elongation at break) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่น

จากการนำสารละลายเจลาตินและสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มาทำการสปินเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าสามารถผลิตเป็นแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นได้ดังรูป 4.18 เมื่อวัดความหนาของแผ่นเส้นใยด้วยเครื่องดิจิทัลไมโครมิเตอร์ ผลการทดลองพบว่า เส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีความหนาน้อยกว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่ไม่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) คือ จากความหนาของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่มีความหนา  $284.4 \pm 0.07$  ไมโครเมตร แต่พอเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ทำให้แผ่นเส้นใยหนาเพียง  $122.6 \pm 0.02$  ,  $102.9 \pm 0.01$  ไมโครเมตร ตามลำดับ โดยปริมาณความเข้มข้นสารลดแรงดึงผิวที่เติมลงไป ไม่ได้มีผลต่อความหนาของแผ่นเส้นใยอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) เมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นที่ผลิตได้ไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาทีพบว่า เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางกับแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาติน ไม่ได้มีผลทำให้ความหนาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ต่างจากแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวาง 30 นาที ที่พบว่าทำให้แผ่นเส้นใยหนามากขึ้นกว่าแผ่นเส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางและแผ่นเส้นใยที่ผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที อย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) ดังรูปที่ 4.19

ผลการทดสอบความต้านทานแรงดึง (Tensile strength) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นโดยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer) พบว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีความต้านทานแรงดึงไม่ต่างกับแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่ไม่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญ  $P > 0.05$  โดยแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินมีความต่างทานแรงดึงเท่ากับ  $1.30 \pm 0.13$  MPa และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีความต่างทานแรงดึงเท่ากับ  $0.87 \pm 0.40$  MPa และ  $0.63 \pm 0.16$  MPa ตามลำดับ เมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินและเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพไปผ่านปฏิกิริยาเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที พบว่า ค่าความต่างทานแรงดึงของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินไม่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 30 นาที มีค่าความต้านทานแรงดึงมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) ในขณะที่แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อม

ขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที มีค่าความต้านแรงดึงเพิ่มขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $P>0.05$ ) คืออยู่ในช่วงระหว่าง  $1.12\pm 0.94$  ถึง  $1.76\pm 0.29$  ดังรูปที่ 4.20

ผลการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาด (% elongation) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer) พบว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพมีเปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาดไม่ต่างจากแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่ไม่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญ ( $P>0.05$ ) โดยแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นที่ไม่มีสารลดแรงดึงผิวชีวภาพมีเปอร์เซ็นต์ที่จุดขาดเท่ากับ  $0.89\pm 0.28$  เปอร์เซ็นต์ และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีเปอร์เซ็นต์ที่จุดขาดเท่ากับ  $0.94\pm 1.06$  และ  $2.59\pm 3.11$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที พบว่าเปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาดของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผ่านการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางที่เวลาต่างๆ ไม่ต่างกับแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ไม่ผ่านการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางอย่างมีนัยสำคัญ ( $P>0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ในช่วง  $3.39\pm 1.13$  ถึง  $6.99\pm 6.22$  ดังรูปที่ 4.18 จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพมีค่าเปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาดน้อยมาก แสดงว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นที่ผลิตได้ มีความเปราะ ไม่มีความยืดหยุ่น ทำให้ถูกดึงขาดได้อย่างง่าย

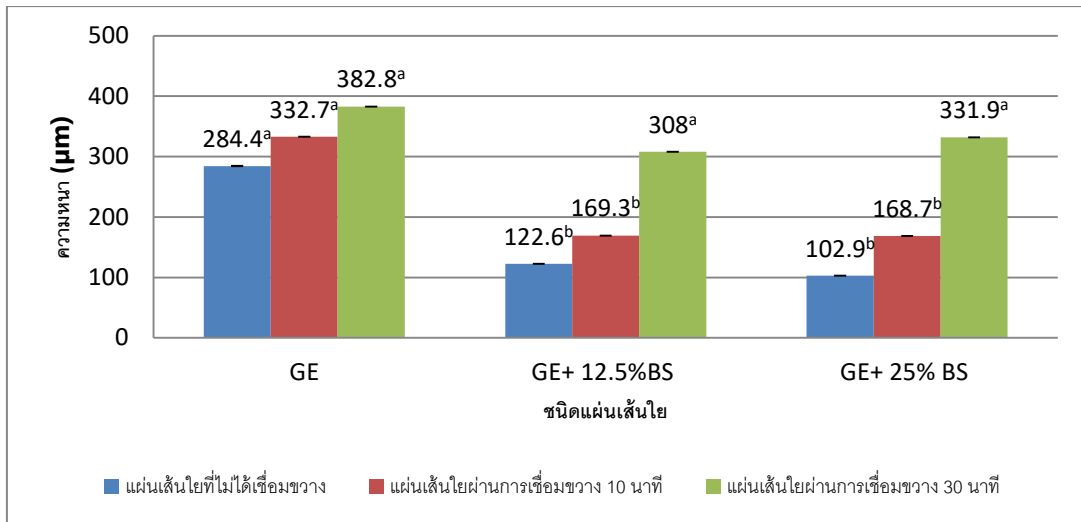


(ก)

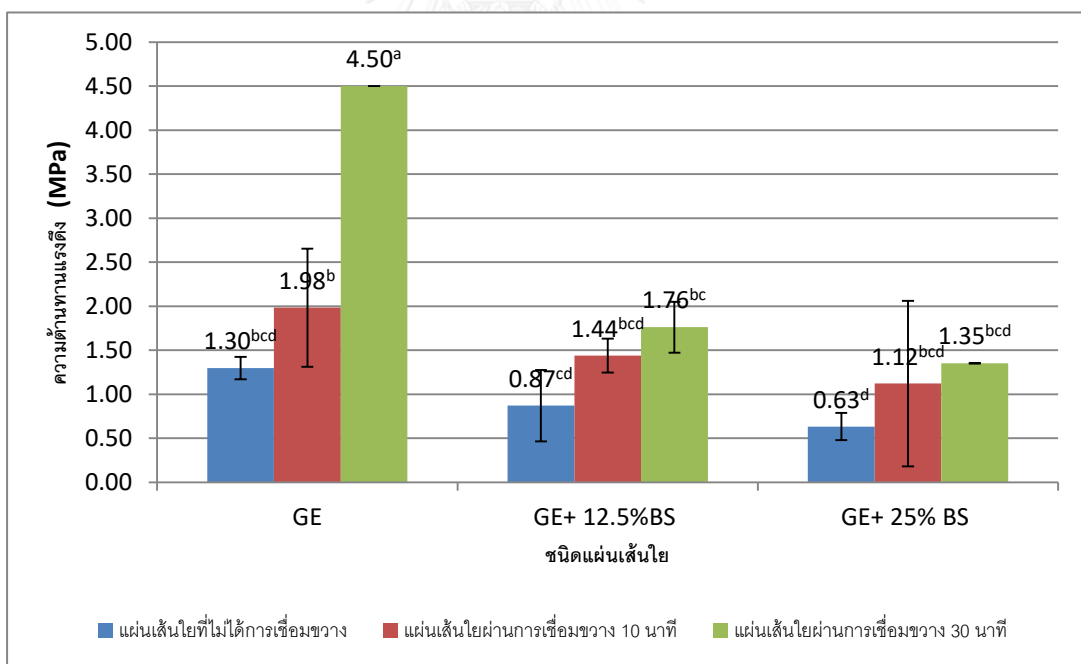


(ข)

**รูปที่ 4.18** แสดงลักษณะแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่น (ก) แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาติน (ข) แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)

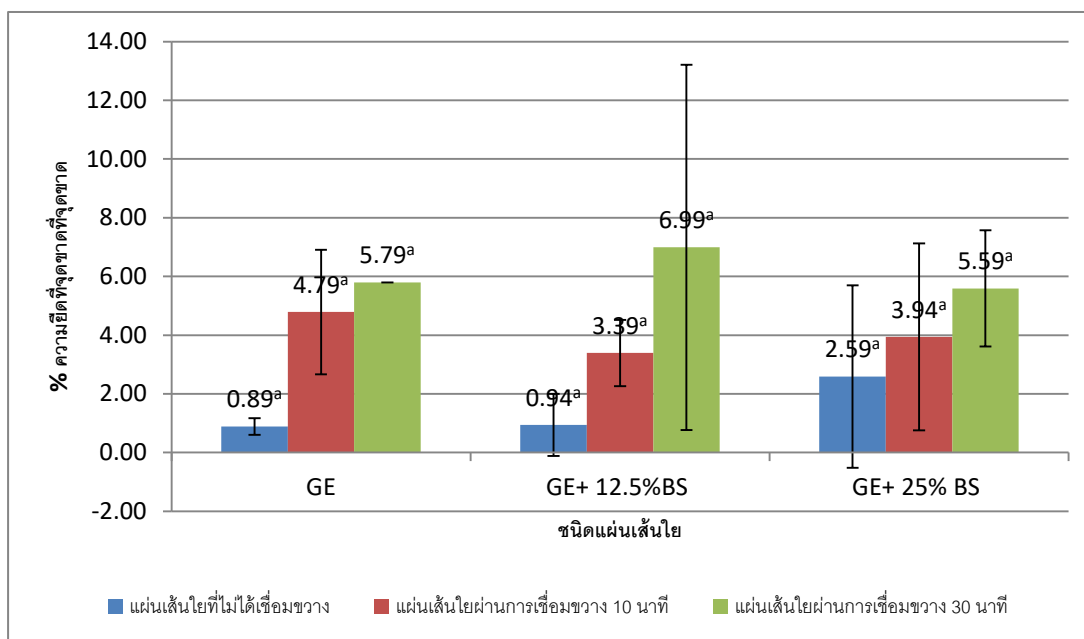


รูปที่ 4.19 แสดงขนาดความหนาของแผ่นเส้นใยอีเล็กโตรสปินเจลลาติน (GE) และ แผ่นเส้นใยอีเล็กโตรสปินเจลลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ไม่ได้ผ่านการเชื่อมขวาง และผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ตามลำดับ



รูปที่ 4.20 แสดงความต้านทานแรงดึง (Tensile strength) ของแผ่นเส้นใยอีเล็กโตรสปินเจลลาติน (GE) และแผ่นเส้นใยอีเล็กโตรสปินเจลลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ไม่ได้ผ่านการเชื่อมขวาง และผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ตามลำดับ





**รูปที่ 4.21** แสดงเปอร์เซ็นต์ยืดที่จุดขาด (% elongation) ของแผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลต (PET) และแผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ไม่ได้ผ่านการเชื่อมขวาง และผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ตามลำดับ

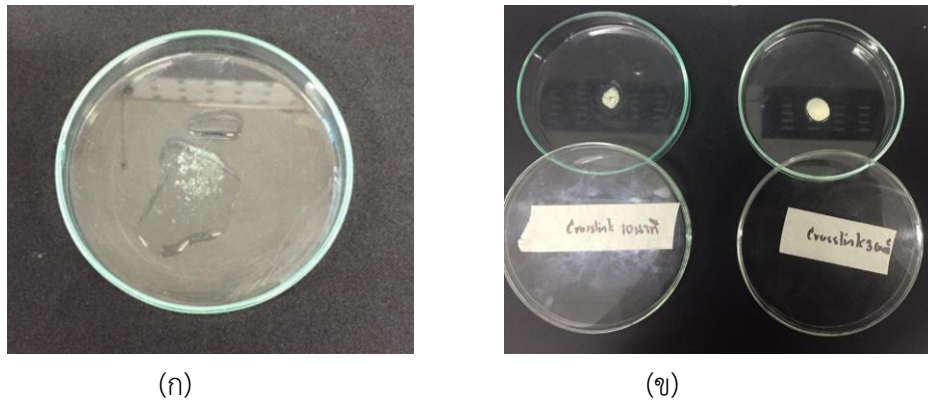
**หมายเหตุ** ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี one-way ANOVA

#### 4.7.4 การเปลี่ยนแปลงลักษณะของแผ่นเส้นใยหลังจากสัมผัสน้ำ

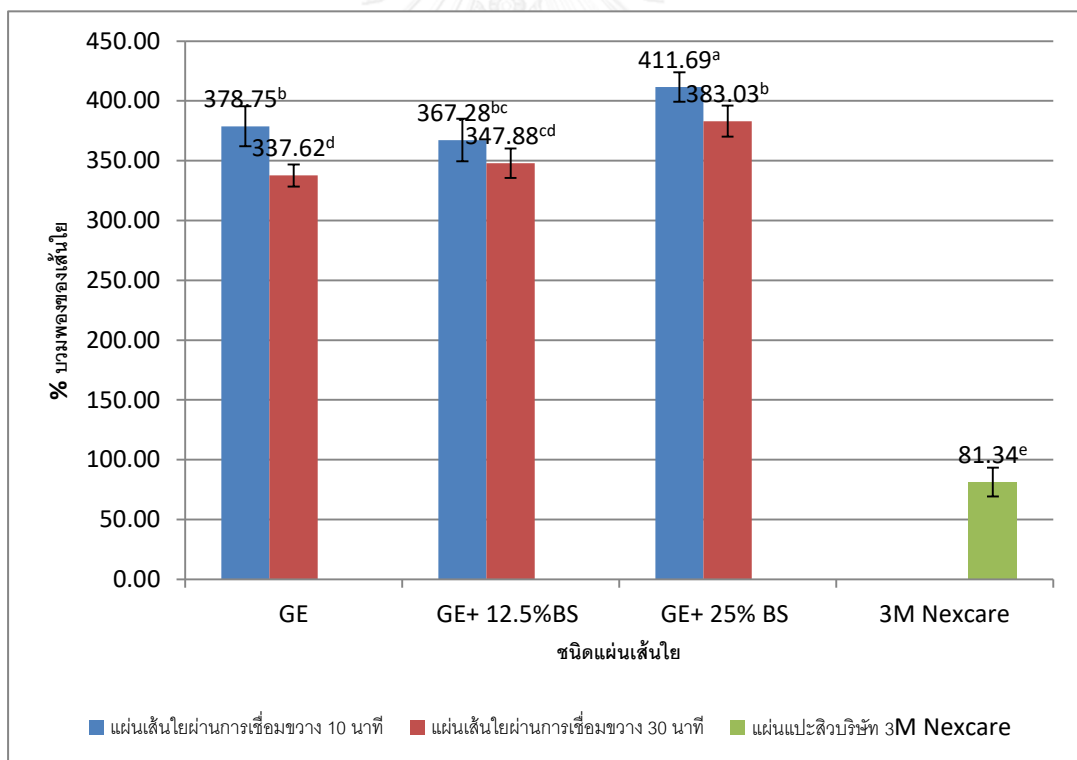
เมื่อนำแผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตและแผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มาตัดเป็นแผ่นรูปวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.65 เซนติเมตรนำไปแช่บัฟเฟอร์แอซีเตท เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า แผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตและแผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ที่ไม่ผ่านการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวาง จะละลายในบัฟเฟอร์ทันที ดังรูปที่ 4.22(ก) ดังนั้นทำให้ไม่สามารถวัดเปอร์เซ็นต์บวมพองและน้ำหนักที่หายไปของแผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตและแผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง แต่เมื่อนำแผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตและแผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที มาทดสอบสมบัติการบวมพองของเส้นใยหลังจากสัมผัสน้ำ พบว่าแผ่นเส้นใยทนต่อการละลายน้ำมากขึ้น ดังรูปที่ 4.22(ข) และแผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตที่

มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีเปอร์เซ็นต์การบวมพองมากขึ้นกว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปืนเจลาตินที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) จาก  $378 \pm 16.75$  เพิ่มขึ้นเป็น  $411.69 \pm 12.33$  เปอร์เซ็นต์ และเมื่อแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปืนเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปืนเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใช้เวลาในการปฏิบัติการเชื่อมขวางมากขึ้นเป็น 30 นาที จะช่วยทำให้เปอร์เซ็นต์การบวมพองของเส้นใยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อทดสอบเปอร์เซ็นต์บวมพองของแผ่นแปะสิวของบริษัท 3M Nexcare หลังสัมผัสน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่า มีเปอร์เซ็นต์บวมพองของแผ่นเท่ากับ  $81.34 \pm 12.02$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์บวมพองน้อยกว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปืนเจลาตินและแผ่นเส้นใยเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) ดังรูปที่ 4.23

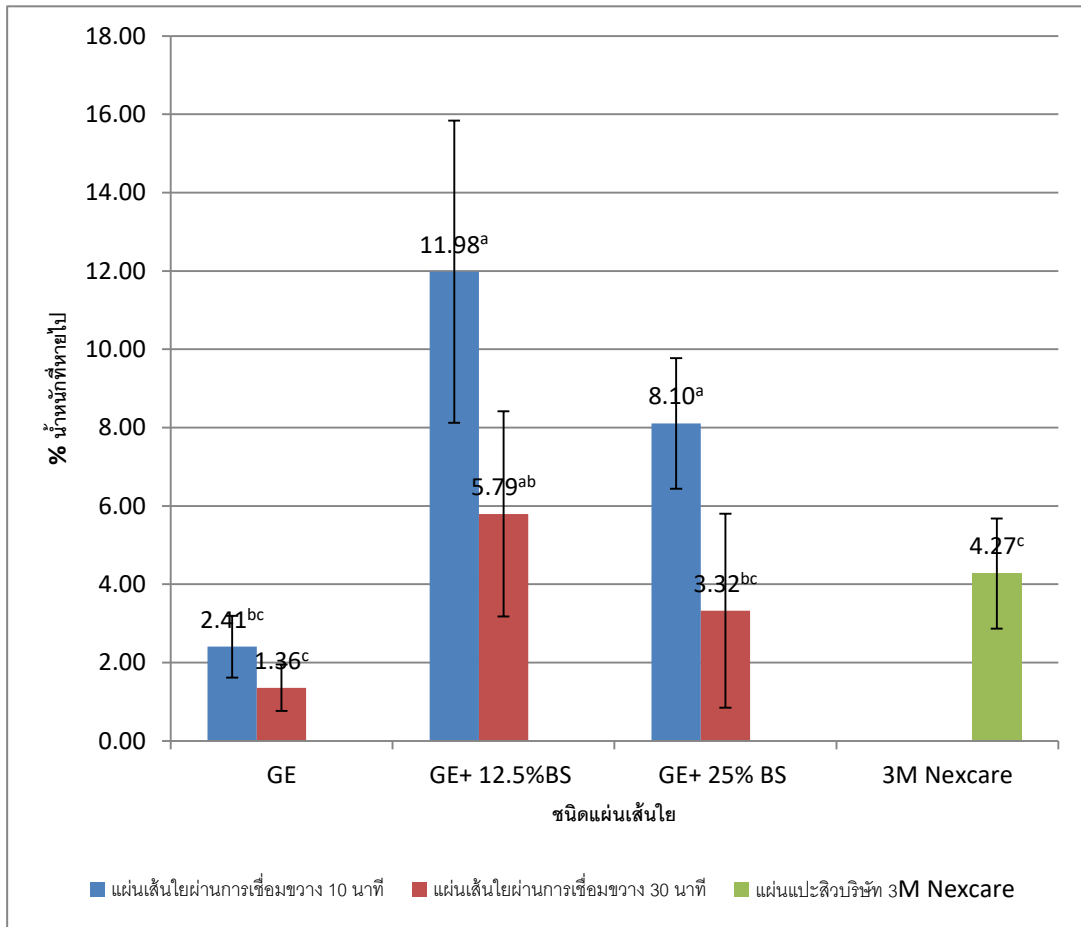
การทดสอบเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปเมื่อสัมผัสน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปืนเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปืนเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที พบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปืนที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปเท่ากับ  $11.98 \pm 3.86$  และ  $8.10 \pm 1.67$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าแผ่นอิเล็กทรอนิกส์ปืนเจลาตินที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) และเมื่อแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปืนเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปืนเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพทำปฏิบัติการเชื่อมขวาง 30 นาที พบว่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อทดสอบเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปของแผ่นแปะสิวของบริษัท 3M Nexcare พบว่ามีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปเท่ากับ  $4.27 \pm 1.41$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกับแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปืนเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปืนเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที อย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ดังรูปที่ 4.24



รูปที่ 4.22 แสดงลักษณะแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โทรสปั้นเจลาตินเมื่อสัมผัสน้ำ (ก) แผ่นอิเล็กทรอนิกส์โทรสปั้นเจลาตินที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางละลายทันทีเมื่อสัมผัสน้ำ (ข) แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โทรสปั้นเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวาง 10 และ 30 นาที ยังคงสภาพอยู่ได้หลังจากสัมผัสน้ำ



รูปที่ 4.23 แสดงเปอร์เซ็นต์บวมพองของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โทรสปั้นเจลาติน (GE) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โทรสปั้นเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที และแผ่นแปะสิวบริษัท 3M Nexcare



รูปที่ 4.24 แสดงเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปของแผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนไตรสปีนเจลาติน (GE) และแผ่นเส้นใยโพลีเอทิลีนไตรสปีนเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที และแผ่นแปะสลิคบริษัท 3M Nexcare

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี one-way ANOVA

#### 4.7.5 สมบัติการต้านแบคทีเรียของแผ่นเส้นใย

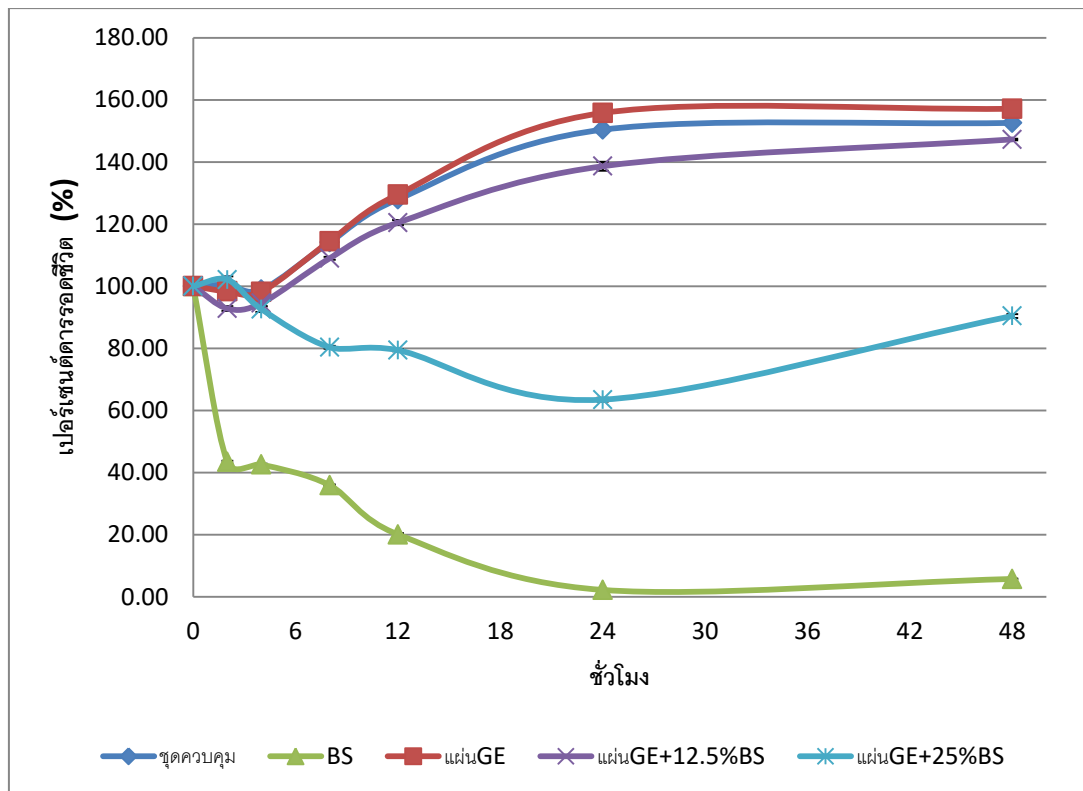
การศึกษาแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินและแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ต่อประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของเชื้อ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Muller Hinton โดยมีชุดควบคุมคือ อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Mueller Hinton ที่มีเชื้อ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P และไม่มีการเติมแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินใดๆ ผลการทดลองพบว่าแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้และเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตใกล้เคียงกับชุดควบคุม จากการทดสอบแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่า ไม่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบเช่นกัน เชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงขึ้นตลอด 48 ชั่วโมง แต่อย่างไรก็ตามเชื้อมีแนวโน้มการรอดชีวิตน้อยกว่า ชุดควบคุม และ แผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่มีการเติมเพียงสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอิสระที่ปริมาณเท่ากัน พบว่า ชุดการทดลองที่มีเพียงการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอิสระ สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่า โดยเชื้อรอดชีวิตเพียง 40 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ 2 ชั่วโมงแรกของการทดลอง และเชื้อทดสอบมีการเจริญลดลงอย่างต่อเนื่อง และแทบไม่พบการเจริญของเชื้อตั้งแต่ 24 ชั่วโมง ไปตลอดจนถึง 48 ชั่วโมงของการทดลอง เมื่อทดสอบแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่าเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยกว่าชุดควบคุมและแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยที่เชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต  $80.35 \pm 0.47$  เปอร์เซ็นต์ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 8 ของการทดลองและเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำสุดเท่ากับ  $63.50 \pm 0.59$  เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง ดังรูปที่ 4.25

ผลการทดสอบแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านการเชื่อมขวาง 10 และ 30 นาที พบว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P ได้ โดยเชื้อสามารถรอดชีวิตได้ใกล้เคียงกับชุดควบคุมตลอดช่วงเวลา 48 ชั่วโมงของการทดสอบ แต่อย่างไรก็ตาม สังเกตได้ว่าแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที มีการเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเชื้อต่ำกว่าชุดควบคุมและชุดการทดลองที่มีแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที นอกจากนี้ยังสังเกตได้ว่า การนำแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินไปผ่านการเชื่อมขวาง ช่วยลดความสามารถในการละลายของแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินได้อย่างชัดเจน ซึ่งต่างกับแผ่นเส้นใยอีเล็กโทรสปินเจลลาตินที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวางจะละลายอย่างรวดเร็ว

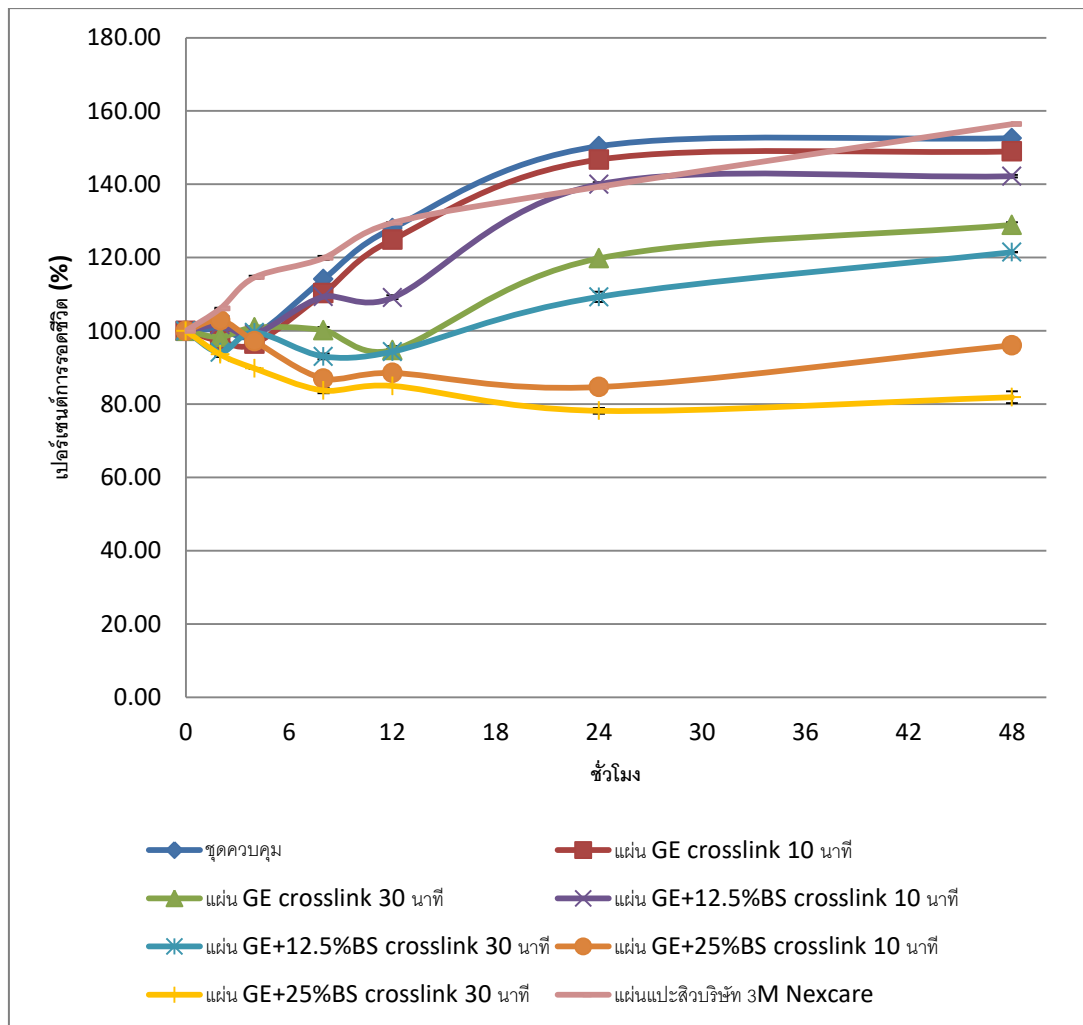
เมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ พบว่า ไม่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบเช่นกัน เชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงขึ้นตลอด 48 ชั่วโมง ดังรูปที่ 4.26 และในทำนองเดียวกันกับผลของอิทธิพลการเชื่อมขวางข้างต้น แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 30 นาที มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำกว่าชุดควบคุมและชุดการทดลองที่มีแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง รูปที่ 4.25 และผ่านการเชื่อมขวาง 10 นาที รูปที่ 4.26 ในขณะที่เมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ พบว่า แผ่นเส้นใยสามารถยับยั้งเชื้อได้ โดยเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยกว่าชุดควบคุม และชุดทดสอบที่ใส่แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และผ่านการเชื่อมขวางที่เวลาต่างๆ โดยพบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และผ่านการเชื่อมขวางเป็น 30 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมากที่สุด โดยที่เชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 83.71 เปอร์เซ็นต์ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 8 ของการทดลองและเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำสุดที่  $78.19 \pm 0.78$  เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง

ถึงแม้ว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง ที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเพียง  $63.50 \pm 0.59$  เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง แต่การเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยนั้นทำให้ช่วยลดความสามารถในการละลายของแผ่นเส้นใยได้มากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

ดังนั้นจากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และผ่านการเชื่อมขวางเชื่อมขวางเป็นเวลา 30 นาที เป็นภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนด้านแบคทีเรีย *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P นอกจากนี้แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และผ่านการเชื่อมขวางเชื่อมขวางเป็นเวลา 30 นาที ยังสามารถยับยั้งเชื้อได้มากกว่าแผ่นแปะสิวบริษัท 3M Nexcare อีกด้วย



รูปที่ 4.25 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P ในอาหารเหลว Mueller Hinton ที่มีการเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปันเจลาติน (GE) และแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปันเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมและชุดการทดสอบที่เติมเพียงสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอิสระ ความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง



รูปที่ 4.26 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P ในอาหารเหลว Muller Hinton ที่มีการเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ทรานสปาร์เรนต์ (GE) และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ทรานสปาร์เรนต์ที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (GE+BS) ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อมขวาง 10 และ 30 นาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุม และแผ่นแปะสิวบริษัท 3M Nexcare ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง



## บทที่ 5

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวกำหนดสูตรในระดับขวดเขย่าที่ทำการแปรผันหาแหล่งคาร์บอนและปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่อัตราส่วนต่างๆ พบว่าในอาหารเหลวกำหนดสูตรที่ประกอบด้วย (หน่วยกรัมต่อลิตร) กลูโคส 60 กรัม แอมโมเนียมไนเตรต 2 กรัม สารสกัดจากยีสต์ 5 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.5 กรัม ไอร์ออนซัลเฟต 0.15 กรัม โซเดียมคลอไรด์ 5 กรัม ความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 7 ควบคุมอุณหภูมิการเพาะเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส และเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เหมาะสมที่สุดในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เนื่องจากให้เปอร์เซ็นต์ค่าลดลงของค่าแรงตึงผิวมากที่สุดเท่ากับ 47.94 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทำการทดลองติดตามการเจริญและประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ภาวะดังกล่าว พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 3 วันจะให้ประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ดีที่สุดคือ สามารถลดค่าแรงตึงผิวน้ำเลี้ยงเชื้อจากเดิม 54 มิลลินิวตันต่อเมตร เหลือเพียง 36.5 มิลลินิวตันต่อเมตร ให้ค่าการกระจายน้ำมันมากที่สุดเท่ากับ 1.95 ตารางเซนติเมตร ให้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ  $0.92 \pm 0.00$  กรัมต่อลิตร เมื่อทำการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตในภาวะดังกล่าว ได้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ  $0.40 \pm 0.11$  กรัมต่อลิตร

การศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *B. subtilis* BBK-1 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ พบว่า อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm ร่วมกับอัตราการกวน 300 rpm จะให้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ  $8.24 \pm 0.03$  กรัมต่อลิตร สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ  $4.55 \pm 0.32$  กรัมต่อลิตร ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเหลืองจนถึงน้ำตาลเข้ม นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มอัตราการให้อากาศและอัตราการกวนจะส่งผลต่อการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ กล่าวคือ การเพิ่มอัตราการให้อากาศที่มากเกินไปจะส่งผลทำให้มีการเจริญและประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของเชื้อลดลงอย่างมาก เนื่องจาก มีโฟมเกิดขึ้นมากในระบบ ลักษณะดังกล่าวสอดคล้องกับการรายงานของ (Yeh และคณะ, 2005) ที่ได้อธิบายว่า การให้อัตราการให้อากาศและอัตราการกวนที่มากเกินไปทำให้เกิดโฟมในระบบมาก และส่งผลทำให้มีอัตราการส่งผ่านออกซิเจนสู่อาหารเลี้ยงเชื้อลดลง ทำให้การเจริญและการผลิตสารของเชื้อมีประสิทธิภาพลดลง

การติดตามการเจริญของเชื้อและประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักแบบแบตช์ที่ภาวะอัตราการให้อากาศ 1.5 vvm ร่วมกับอัตราการกวน 300 rpm ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน พบว่า ช่วงเวลา 24 ชั่วโมงของการทดลอง เชื้อมีการเจริญอย่างรวดเร็วแบบเอกซ์โพเนนเชียล และสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมากที่สุดใน 72 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงที่

เชื้อมีการเจริญเริ่มคงที่หรือเข้าสู่ช่วง stationary น้ำเลี้ยงเชื้อที่ 72 ชั่วโมง มีค่าแรงดึงผิวเท่ากับ 34.87 มิลลินิวตันต่อเมตรจากค่าแรงดึงผิวเริ่มต้น 54 มิลลินิวตันต่อเมตร ค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 3.02 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ เชื้อมีการเริ่มใช้น้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ และ ใช้งานเกือบหมดในเวลา 48 ชั่วโมง ค่าพีเอชของน้ำเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นที่ 7.15 มีการลดลงถึง 6.13 และ เพิ่มขึ้นอีกเป็น 7.05 ในชั่วโมงที่ 72 ของการทดลอง และจากการสังเกตที่หลังชั่วโมงที่ 72 ของการทดลอง ปริมาณสารลดแรงดึงผิวชีวภาพมีปริมาณลดลง ทั้งนี้มีความเป็นไปได้ที่ ณ ชั่วโมงนั้นๆ น้ำตาลที่เป็นแหล่งคาร์บอนมีปริมาณไม่เพียงพอ เชื้อจึงมีการนำสารที่ผลิตขึ้นมาเป็นแหล่งคาร์บอนแทน (Yeh และคณะ, 2005)

การศึกษาเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ระหว่างการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพในระดับขวดเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 rpm และระดับถังหมักแบบแบตช์ขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm อัตราการกวน 300 rpm พบว่าการเจริญและการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพเมื่อเลี้ยงในถังหมักมีค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ สูงกว่าและเร็วกว่าเมื่อเลี้ยงในแบบขวดเขย่าเพราะการเลี้ยงในถังหมัก การควบคุมภาวะต่าง ๆ จะมีความแม่นยำมากกว่าในแบบขวดเขย่า อีกทั้งยังมีการให้อากาศที่สูงกว่ามาก ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญในการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ (Chen และคณะ, 2015) โดยการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ เป็นเวลา 3 วัน จะให้ปริมาณสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ (P) (กรัมต่อลิตร) ผลผลิตต่อหน่วยเซลล์ ( $Y_{P/XX}$ ) (กรัมต่อกรัม) ประสิทธิภาพการผลิต ( $Q_p$ ) (กรัมต่อลิตรต่อชม.) เท่ากับ 4.55 กรัมต่อลิตร 0.5526 กรัมต่อกรัม 0.0632 กรัมต่อลิตรต่อชม. ตามลำดับ ซึ่งการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพในถังหมักแบบแบตช์ให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นถึง 11.41 เท่า

สารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผ่านการทำบริสุทธิ์โดยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครโมโทกราฟี (HPLC) ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถูกนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพในกลุ่มไลโปเพปไทด์ โดยวัดจากค่าการกระจายน้ำมัน และ ทดสอบสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ พบว่า ตัวอย่างที่ช่วงเวลา 17.816 นาที 22.3-24.3 นาที และ 26.3-28.4 นาที มีความสามารถในการกระจายน้ำมันเฉลี่ยเท่ากับ 0.785, 6.123 และ 0.126 ตารางเซนติเมตรตามลำดับ และตัวอย่างที่ช่วงเวลาดังกล่าวมีสมบัติเป็นสารต้านเชื้อ *S. aureus* ATCC 6538P และ *E. coli* ATCC 8739 ได้ด้วย ซึ่งผลของตัวอย่างที่ออกมาในลำดับส่วนช่วงเวลาต่าง ๆ มีความสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเบื้องต้นของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ ที่ได้จากงานวิจัยของ นิรันดร์ รุ่งสว่าง (2542) และ Roongsawang และคณะ (2002) ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์โครงสร้างของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ทั้ง 3 ชนิด โดยวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุล และวิเคราะห์หาชนิดของกรดอะมิโนแล้ว พบว่ามีองค์ประกอบเป็นสารจำพวกไลโปเพปไทด์ชนิด เบซิลไมซินแอล, โพลฟอสฟาติล และเซอร์แฟกทิน

เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดไปศึกษาความสามารถในการลดค่าแรงตึงผิว ซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จากการทดลองหาค่าความเข้มข้นวิกฤตในการเกิดไมเซลล์ (CMC) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่น้อยที่สุดที่ทำให้สารลดแรงตึงผิวก่อตัวเป็นรูปแบบไมเซลล์และยังเป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถในการลดแรงตึงผิวได้ต่ำที่สุดของสาร พบว่า มีค่า CMC เท่ากับ 439.88 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าแรงตึงผิว ณ การเกิดไมเซลล์ (Y<sub>CMC</sub>) เท่ากับ 39.03 มิลลินิวตันต่อเมตร ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ วิโรจน์ รักเกียรติสกุล (2552) ที่ทำการหาค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *B. subtilis* BBK-1 พบว่ามีค่า CMC เท่ากับ 316 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าแรงตึงผิว ณ การเกิดไมเซลล์ (Y<sub>CMC</sub>) เท่ากับ 35 มิลลินิวตันต่อเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดอื่น พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *B. subtilis* BBK-1 มีค่า CMC ต่ำกว่าสารลดแรงตึงผิวที่ผลิตจากเชื้ออื่น เช่น *S. thermophiles* A และ *L. pantarum* CFR2194 ที่มีค่า CMC เท่ากับ 2000 และ 6000 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Rodrigues และคณะ, 2006; Madhu และ Prapulla, 2014) และเมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์พบว่า มีค่า CMC ต่ำกว่า ไทรทอน เอกซ์ 100 (537 มิลลิกรัมต่อลิตร) และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (1,004 มิลลิกรัมต่อลิตร) (มาติกา อันแก้ว, 2553) ซึ่งสารลดแรงตึงผิวที่มีค่า (Rodrigues และคณะ, 2006) CMC ต่ำนั้น ถือว่าเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประสิทธิภาพดี เนื่องจากใช้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวน้อยในการลดค่าแรงตึงผิว (Ranasalva และคณะ, 2014)

ผลการศึกษาคูณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *B. subtilis* BBK-1 ต่อแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และรา พบว่า สารสามารถต้านการเจริญต่อเชื้อ *B. subtilis* MSCU 0271 / ATCC 16633, *B. cereus* MSCU 0486 / ATCC 11778, *M. luteus* MSCU 0350 / TISTR 884 และ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P ได้ดี โดยสารมีค่า MIC ต่อเชื้อทดสอบอยู่ในช่วง 17.5 ถึง 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC อยู่ในช่วง 25-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีตัวอย่างงานวิจัยที่ทำการศึกษากิจกรรมยับยั้งของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มไลโปเพปไทด์ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครโมโทกราฟี ต่อแบคทีเรียที่ก่อโรคพบว่ามีค่า MIC อยู่ในช่วง 30 ถึง 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Das และคณะ, 2008) จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารที่ผลิตได้มีผลยับยั้งต่อแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าจุลินทรีย์ในกลุ่มอื่น ๆ สอดคล้องการรายงานที่พบว่าแบคทีเรียในกลุ่ม *B. subtilis* ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มไลโปเพปไทด์ที่มีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียได้หลายชนิด โดยเฉพาะในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก (Singh และ Cameotra, 2004; Fernandes และคณะ, 2007) และเป็นที่น่าสนใจในงานนี้ ที่พบว่าสารที่ผลิตได้สามารถต้านการเจริญของเชื้อรา *A. niger* ได้ดีอีกด้วย มีการรายงานถึงเซอร์แฟกทินซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดหนึ่งไลโปเพปไทด์ซึ่งผลิตได้จากแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus*

และมีฤทธิ์เป็นสารต้านการเจริญของรา (Vitullo และคณะ, 2012) กลไกการต้านเชื้อของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มไลโปเพปไทด์คือ เกิดจากส่วนหางที่ละลายไขมันของสารลดแรงตึงผิวไปแทรกบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ด้วยแรงไฮโดรโฟบิก (hydrophobic อันตรกิริยา) ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดรูและสูญเสียคุณสมบัติการเลือกผ่านสาร ส่งผลทำให้เซลล์ตายในที่สุด (Carrillo และคณะ, 2003)

เพื่อเพิ่มมูลค่าของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ งานวิจัยนี้จึงสนใจนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้ในการทำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์แบนคทีเรีย เนื่องจากปัจจุบันงานทางด้านวัสดุนาโนกำลังได้รับความสนใจอย่างมากเพราะความพิเศษของวัสดุนี้ คือ มีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง มีช่องว่างขนาดเล็ก ทำให้มีการส่งผ่านของเหลวและก๊าซได้ดี และยังมีสมบัติเหนือกว่าวัสดุอื่นในเรื่องของสมบัติเชิงกลทั้งในความแข็งแรงและความยืดหยุ่น จึงทำให้มีการนำประยุกต์ใช้ในด้านต่าง ๆ มากมาย เช่น อวัยวะเทียม วัสดุควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ วัสดุปิดแผล เป็นต้น ในการเตรียมแผ่นเส้นใยในงานวิจัยนี้ใช้เทคนิคที่เรียกว่า อิเล็กโทรสปินนิ่ง เนื่องจากเป็นวิธีที่มีขั้นตอนไม่ซับซ้อน และมีความสะดวกในการปรับพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ควบคุมการเกิดเส้นใย

ขั้นตอนแรกของการศึกษาการผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์แบนคทีเรานั้น ผู้วิจัยสนใจศึกษาผลของการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้นเท่ากับ 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ของสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 22 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในกรดแอสติค (70:30 กรดแอสติค:น้ำกลั่น) ผลการทดลองพบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เติมลงไปนั้นมีผลต่อสมบัติของสารละลายเจลาตินทั้ง พีเอช ความนำไฟฟ้า ความหนืด และค่าแรงตึงผิวของสารละลายเจลาติน โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีผลทำให้ ความนำไฟฟ้าของสารละลายเจลาตินเพิ่มขึ้น ในขณะที่ทำให้ค่า พีเอช ความหนืดและค่าแรงตึงผิวของสารละลายเจลาตินมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ (Kriegel และคณะ, 2009) ที่ได้ศึกษาผลการเติมสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์คือ SDS DTAB และ Brij 35 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวก ประจุลบ และ ไม่มีประจุ ตามลำดับ ลงไปสารละลายไคโตซาน ผลการทดลองพบว่า สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ชนิดประจุบวก และประจุลบ มีผลทำให้ความนำไฟฟ้าของสารละลายไคโตซานเพิ่มขึ้น ในขณะที่สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ชนิดไม่มีประจุไม่ทำให้ความนำไฟฟ้าของสารละลายเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ การเติมสารลดแรงตึงผิวยังส่งผลทำให้ความหนืดและค่าแรงตึงผิวของสารละลาย โดยเฉพาะสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบจะมีผลทำให้ค่าแรงตึงผิวของสารละลายไคโตซานลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากผลของแรงดึงดูดไฟฟ้าระหว่างไคโตซานและสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ โดยไคโตซานซึ่งมีประจุเป็นบวกสามารถจับกับประจุลบของ SDS นอกจากนี้ ยังมีแรงไฮโดรโฟบิกระหว่างส่วนหางของ SDS กับหมู่แอสติลของไคโตซาน การจับกันของสารลดแรงตึงผิวประจุลบกับโมเลกุลไคโตซานจึงมีผลทำให้ในสารละลายมีค่าแรงตึงผิวลดลง

เมื่อนำสารละลายเจลาตินและสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มาทำการขึ้นรูปเส้นใยโดยวิธี อิเล็กโทรสปินนิ่ง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นศึกษาลักษณะสัณฐานภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และวัดขนาดเส้นใยด้วย โปรแกรม SemAfore 5.21 ผลการทดลองพบว่า เส้นใยเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีขนาดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) จากขนาดเส้นใยเจลาตินที่มีขนาด  $304.87 \pm 48.16$  นาโนเมตร เหลือเพียงขนาดประมาณ 127-128 นาโนเมตร แต่ที่ความเข้มข้น 50 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะเริ่มพบเม็ดปดส์ขนาดใหญ่จำนวนมาก และการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่าไม่สามารถผลิตเส้นใยได้ สาเหตุของเส้นใยที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแล้วทำให้มีขนาดลดลง อธิบายได้จากสมบัติของสารละลายที่มีผลต่อลักษณะสัณฐานและขนาดเส้นใยที่ผลิตได้ เช่น ความหนืด ความนำไฟฟ้า ค่าแรงตึงผิว ของสารละลายพอลิเมอร์ที่ใช้ในสปิน กล่าวคือ ความหนืดของสารละลายที่มากจะทำให้เส้นใยที่ผลิตได้มีขนาดใหญ่ ในขณะที่ความหนืดที่น้อยของสารละลายจะส่งผลทำให้ขนาดเส้นใยที่ผลิตได้มีขนาดลดลง (Mit-uppatham และคณะ, 2004) เช่นเดียวกับค่าแรงตึงผิวของสารละลายที่มีค่าต่ำก็จะช่วยทำให้เส้นใยที่ผลิตได้มีขนาดเล็กเช่นกัน (Zhang และคณะ, 2006) อย่างไรก็ตาม ก็มีการรายงานอื่นที่พบว่า ความหนืดและค่าแรงตึงผิวที่ไม่เหมาะสมหรือมีค่าต่ำเกินไปก็ทำให้ไม่สามารถสปินออกมาเป็นเส้นใยได้ หรืออาจพบลักษณะที่เรียกว่า ปดส์ เกิดขึ้นเส้นใยได้เช่นกัน (Bhardwaj และ Kundu, 2010) นอกจากนี้ ความนำไฟฟ้าของสารละลายก็มีผลต่อลักษณะสัณฐานและขนาดของเส้นใย เช่น การเติมสารสกัดชีวภาพที่ได้จากโตอะตอม *P. tricornutum* ทำให้ความนำไฟฟ้าของสารละลายเจลาตินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และเส้นใยที่มีการเติมสารสกัดนี้มีขนาดเล็กกว่าเส้นใยที่มีเพียงองค์ประกอบเจลาตินในสารละลาย (Kwak และคณะ, 2014) ซึ่งผลการทดลองที่พบว่า การเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพทำให้ความนำไฟฟ้าของสารละลายเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อาจเกิดจาก สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีประจุ รวมถึงสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ใช้ อยู่ในรูปสารสกัดหยาบ (crude extract) ซึ่งอาจมีองค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในกระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลงเหลืออยู่ เช่น โซเดียมคลอไรด์ มีผลทำให้สารละลายที่เตรียมได้มีประจุ และมีความนำไฟฟ้าเพิ่มขึ้นได้

จากข้อจำกัดของเจลาตินที่มีความไวต่อการละลายน้ำและสมบัติเชิงกลในด้านความแข็งแรงและยืดหยุ่นที่ต่ำ ซึ่งมีผลต่อการนำแผ่นเส้นใยไปประยุกต์ใช้ในระยะเวลา (Zhang และคณะ, 2006) ผู้วิจัยจึงสนใจนำเส้นใยอิเล็กโทรสปินที่ผลิตได้ไปทำการเชื่อมขวางด้วยไฮดรอกซีอะคริลิกโดยแปรผันเวลาที่ใช้ คือ 10 และ 30 นาที เพื่อให้เส้นใยอิเล็กโทรสปินมีความทนต่อการละลายในน้ำ และมีสมบัติเชิงกลในด้านความแข็งแรงและความยืดหยุ่นดีขึ้น ผลการทดลองพบว่า การนำเส้นใยไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวาง ส่งผลทำให้ เส้นใยมีขนาดใหญ่กว่าเส้นใยที่ไม่ผ่านปฏิกิริยาการเชื่อมขวางอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) โดยที่ระยะเวลาการเชื่อมขวางที่เวลา 10 และ 30 นาที เส้นใยที่ผลิตได้จาก

สารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 50 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีขนาดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P>0.05$ ) สอดคล้องงานอื่น ๆ ที่พบว่า การทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางทำให้เส้นใยที่ผลิตได้มีขนาดใหญ่ขึ้น (Dheraprasart และคณะ, 2009) การเชื่อมขวางด้วยไอโกลูทาราลดีไฮด์ทำให้เส้นใยจำพวกโปรตีน มีขนาดใหญ่ขึ้น เนื่องจากหมู่อัลดีไฮด์ (aldehyde group) ของสารกลูทาราลดีไฮด์สามารถไปจับกับหมู่อะมิโนอิสระของกรดอะมิโนไลซีน กรดอะมิโนไฮดรอกซีไลซีน ในสายพอลิเพปไทด์ ทำให้สายพอลิเมอร์เชื่อมกันด้วยพันธะโควาเลนต์และมีขนาดใหญ่ขึ้น (Zhang และคณะ, 2006)

จากการเตรียมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ด้วยเทคนิคอิเล็กทรอนิกส์เป็นเวลาดำเนินการ 72 ชั่วโมง พบว่า การเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพลงในสารละลายเจลาตินมีผลทำให้ได้แผ่นเส้นใยมีความหนาลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P\leq 0.05$ ) ทั้งนี้เมื่อพิจารณาผลของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยประกอบด้วย คือแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเล็กกว่าเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่ไม่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญ ( $P\leq 0.05$ ) ดังนั้น เมื่อใช้เวลาในกระบวนการผลิตเท่ากันคือ 72 ชั่วโมง ทำให้เส้นใยที่ทับถมกันจนเป็นแผ่นเส้นใยมีความหนาน้อยกว่า นอกจากนี้ ยังพบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวาง 30 นาที มีความหนาขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P\leq 0.05$ ) สอดคล้องกับผลของอิทธิพลการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางที่ทำให้เส้นใยมีเส้นผ่านศูนย์กลางมากขึ้น ดังนั้น เมื่อเส้นใยทับถมกันจนเป็นแผ่นเส้นใยจึงมีความหนาเพิ่มขึ้น

ผลการทดสอบสมบัติเชิงกลในด้านความแข็งแรงและความยืดหยุ่น โดยทดสอบความต้านแรงดึง (tensile strength) และ เปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาด (% elongation) ผลการทดสอบความต้านแรงดึงของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีความต้านทานแรงดึงไม่ต่างกับแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่ไม่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญ ( $P>0.05$ ) และเมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินไปผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ทำให้แผ่นเส้นใยมีค่าความต้านแรงดึงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P\leq 0.05$ ) ปฏิกิริยาการเชื่อมขวางทำให้เส้นใยมีสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้น เนื่องจากการเชื่อมระหว่างสายโซ่โมเลกุลเป็นการยึดจับกันของมอนอเมอร์เป็นโครงสร้างตาข่ายแบบร่างแหอย่างหนาแน่น ส่งผลให้สายโซ่โมเลกุลยับยักตัวยากเมื่อได้รับแรงหรือความร้อน (Bigi และคณะ, 2001) ผลการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาด (% elongation) ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ

ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาดไม่ต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่ผลิตได้ไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวาง ก็ไม่ได้ทำให้เปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) นอกจากนี้ แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่เติมสารลดแรงตึงผิวมีเปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาดที่ต่ำมาก แสดงว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่ทำจากเจลลาตินไม่มีความยืดหยุ่น เพราะขาดง่าย สอดคล้องกับรายงานของ (Zhang และคณะ, 2006) ที่รายงานว่าเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินมีสมบัติเชิงกลที่ต่ำ ซึ่งสามารถปรับปรุงให้ดีขึ้นด้วยการใช้ระยะเวลาทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางให้นานขึ้น

การทดสอบลักษณะแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อสัมผัสกับน้ำ พบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ไม่ผ่านการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางจะละลายน้ำทันทีเมื่อสัมผัสกับน้ำ ทำให้ไม่สามารถวัดเปอร์เซ็นต์บวมพองและน้ำหนักที่หายไปได้ แต่เมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปผ่านการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที มาทดสอบสมบัติการบวมพองของเส้นใยหลังจากสัมผัสกับน้ำ พบว่าแผ่นเส้นใยทนต่อการระลายน้ำมากขึ้น และหลังจากสัมผัสกับน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีเปอร์เซ็นต์การบวมพองมากขึ้นกว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ ยังพบว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปมากกว่าแผ่นอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่ไม่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามการนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่ผลิตได้ไปทำปฏิกิริยาการเชื่อมขวาง 30 นาที ก็สามารถช่วยลดเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปของแผ่นเส้นใยหลังจากสัมผัสกับน้ำได้มากขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์บวมพองและเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกับแผ่นแปะสิวบริษัท 3M Nexcare พบว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีเปอร์เซ็นต์บวมพองมากกว่าแผ่นแปะสิวอย่างมีนัยสำคัญ และมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปไม่แตกต่างกัน แสดงว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่ทำจากเจลลาตินสามารถดูดซับน้ำได้ดีกว่าแผ่นแปะสิว 3M Nexcare

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการต้านการเจริญของเชื้อ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P พบว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่ไม่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลลาตินที่เติมสารลด

แรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ไม่สามารถต้านการเจริญของเชื้อทดสอบได้ และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่มีการเติมเพียงสารลดแรงดึงผิวชีวภาพอิสระ ที่มีปริมาณสารเท่ากับที่เติมลงไปในการขึ้นรูปแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่า ชุดการทดลองที่มีเพียงการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพอิสระ สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่า โดยไม่พบการเจริญของเชื้อตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ไปจนถึง 48 ชั่วโมงของการทดลอง เมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ไปทดสอบการต้านการเจริญของเชื้อ พบว่า เชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงถึง  $63.50 \pm 0.59$  เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง ทั้งนี้สาเหตุที่แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อได้น้อยกว่าชุดการทดลองของการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพอิสระ ที่มีปริมาณสารเท่ากับที่เติมลงไปในการขึ้นรูปแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) เนื่องจากเทคนิคอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนนี้อาจทำให้สูญเสียปริมาณสารออกฤทธิ์ไปในระหว่างกระบวนการขึ้นรูปแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนได้ ทำให้ชุดการทดลองที่เติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีความเข้มข้นของสารลดแรงดึงผิวต่ำกว่าความเข้มข้นวิกฤตที่สามารถต้านแบคทีเรียได้

เมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวที่ความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ไปทำการเชื่อมขวางด้วยไอโกลูตาราลดีไฮด์ โดยแปรผันเวลาการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ผลการทดลองพบว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และผ่านการเชื่อมขวางเป็นเวลา 10 และ 30 นาที สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้ โดยที่แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และผ่านการเชื่อมขวางเป็น 30 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมากที่สุด เชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำสุดที่  $78.19 \pm 0.78$  เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่ไม่มีการเติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพและผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที ประกอบตามด้วย พบว่า เชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำกว่าชุดควบคุมเช่นกัน ดังนั้นการเชื่อมขวางที่เวลา 30 นาที จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้มีการตกค้างของไอโอะเรเทกกลูตาราลดีไฮด์ได้ ซึ่งไอโอะเรเทกกลูตาราลดีไฮด์นี้ถูกรายงานว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้เช่นกัน (Jayakrishnan และ Jameela, 1996) ดังนั้นเชื้อจึงอาจถูกยับยั้งได้นอกเหนือจากผลของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่เติมลงไป นอกจากนี้แผ่นอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่เติมสารลดแรงดึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และผ่านการ



เชื่อมขวางเป็น 30 นาที มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P ได้ดีกว่าแผ่นแปะสิวบริษัท 3M Nexcare อีกด้วย

ถึงแม้ว่าการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ทรสปันจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อไม่ด้อยไปกว่าแผ่นเส้นใยที่ไม่ได้ผ่านการเชื่อมขวาง แต่พบว่ามีส่วนช่วยให้แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ไม่ไวต่อการละลายน้ำ เส้นใยมีความแข็งแรงมากขึ้น และช่วยชะลอการปลดปล่อยสารจากแผ่นเส้นใยได้มากขึ้น ทำให้แผ่นเส้นใยสามารถถูกนำไปประยุกต์ใช้ในงานต่าง ๆ ได้ยาวนานขึ้นกว่าเดิม สอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ก่อนหน้านี้ ที่ได้ศึกษาลักษณะของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ หลังจากไปทำการเชื่อมขวาง Zhang และคณะ (2006) พบว่าเมื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินไปเชื่อมขวางด้วยไฮดรอกซีอะคริลิกเป็นเวลา 3 วัน ทำให้เส้นใยสามารถทนต่อการละลายในน้ำมากขึ้น รวมถึงช่วยให้เส้นใยแข็งแรงขึ้นอีกด้วย นอกจากนี้ Yang และคณะ (2007) ได้รายงานถึงอิทธิพลของการเชื่อมขวางด้วยไฮดรอกซีอะคริลิกที่มีผลต่อแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เจลาตินร่วมกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ที่มีการเติมสารสกัดจากราสเบอร์รี่ (raspberry) ผลการทดสอบพบว่าเมื่อให้เวลาการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางกับแผ่นเส้นใยมากขึ้น จะส่งผลทำให้มีการเชื่อมขวางระหว่างเส้นใยมากขึ้น เส้นใยจึงมีขนาดใหญ่ขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยกักเก็บสารและชะลอการปลดปล่อยสารได้ดีขึ้น

### ข้อเสนอแนะ

ทั้งนี้การที่แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ทรสปันเจลาตินที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและผ่านการเชื่อมขวาง 30 นาที มีผลทำให้เชื้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ใดๆ อาจเป็นผลมาจากไฮดรอกซีอะคริลิกที่ยังตกค้างอยู่ ดังนั้นเพื่อแก้ปัญหาการตกค้างของไฮดรอกซีอะคริลิกที่มีผลยับยั้งเชื้อนอกเหนือจากการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในงานวิจัยต่อไปเสนอแนะว่าควรใช้เวลาในการล้างทิ้งไว้ในตู้ดูดควันและตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสมากกว่า 1 ชั่วโมง

จากผลวิจัยที่พบว่า แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ทรสปันเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และทำปฏิกิริยาเชื่อมขวาง 30 นาที สามารถลดการเจริญของเชื้อ *S. aureus* MSCU 0353 / TISTR 118 / ATCC 6538P ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ใดๆ อย่างไรก็ตามแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ทรสปันเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ก็ยังไม่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้อย่าง 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ในงานวิจัยต่อไปจึงควรหาสารออกฤทธิ์อื่น ๆ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ มา

ใช้ละลายร่วมกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ รวมถึงทำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์มากยิ่งขึ้นก่อนนำมาขึ้นรูปแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ เพื่อเป็นการเสริมฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

เพื่อนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ด้านแบคทีเรียที่ผลิตได้ซึ่งมีสมบัติในการดูดซับน้ำได้ดีไปประยุกต์ใช้ในเพื่อการดูดซับของเหลวจากส้วมใต้ผืนหนัง ควรมีการทดสอบความเป็นพิษ (toxicity) ของแผ่นเส้นใยในงานวิจัยต่อไป เพื่อเป็นการยืนยันว่าแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ด้านแบคทีเรียสามารถนำไปใช้กับผืนหนังได้จริง เช่นทดสอบความเป็นพิษต่อเคอราติโนไซต์ และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ด้วยวิธี MTT assay และทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ เพื่อให้แผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์คงเสถียรภาพต่อการดูดซับน้ำและต้านเชื้อแบคทีเรีย



## รายการอ้างอิง

- Abdel-Mawgoud AM, Aboulwafa MM & Hassouna NA (2008) Optimization of surfactin production by *Bacillus subtilis* isolate BS5. *Appl Biochem Biotechnol* **150**: 305-325.
- Ajesh K, Sudarshani S, Arunan C & Sreejith K (2013) Kannurin, a novel lipopeptide from *Bacillus cereus* strain AK1: isolation, structural evaluation and antifungal activities. *J Appl Microbiol* **115**: 1287-1296.
- Al-Ajlani MM, Sheikh MA, Ahmad Z & Hasnain S (2007) Production of surfactin from *Bacillus subtilis* MZ-7 grown on pharmamedia commercial medium. *Microb Cell Fact* **6**: 1-8.
- Almany L & Seliktar D (2005) Biosynthetic hydrogel scaffolds made from fibrinogen and polyethylene glycol for 3D cell cultures. *Biomaterials* **26**: 2467-2477.
- Arica MY, Baran T & Denizli A (1999)  $\beta$ -Galactosidase Immobilization into Poly(hydroxyethyl methacrylate) Membrane and Performance in a Continuous System. *J Appl Polym Sci* **72**: 1367-1373.
- Arima K, Kakinuma A & Tamura G (1968) Surfactin, a crystalline peptidelipid surfactant produced by *Bacillus subtilis*: isolation, characterization and its inhibition of fibrin clot formation. *Biochem Biophys Res Commun* **31**: 488-494.
- Bacheva AV, Baibak OV, Belyaeva AV, Oksenoit ES, Velichko TI, Lysogorskaya EN, Gladilin AK, Lozinsky VI & Filippova IY (2003) Activity and Stability of Native and Modified Subtilisins in Various Media. *Biochemistry Moscow* **68**: 1261-1266.
- Bamford CH & Al-Lamee KG (1992) Studies of a novel membrane for affinity separations. *J Chromatogr* **606**: 19-31.
- Baumgarten PK (1971) Electrostatic spinning of Acrylic Microfibers. *J Colloid Interface Sci* **36**: 71-79.
- Bernfeld P (1995) Amylase  $\alpha$  and  $\beta$ , In *Methods in Enzymology*. Colowick, S.P., Kaplan, N.O., Eds.; Academic Press: New York NY, USA.
- Bernheimer AW & Lois SA (1970) Nature and properties of a cytolytic agent produced by *Bacillus subtilis*. *J Gen Microbiol* 361-369.

- Bhardwaj N & Kundu SC (2010) Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol Adv* **28**: 325-347.
- Bhattarai N, Li Z, Edmondson D & Zhang M (2006) Alginate-based nanofibrous scaffolds: structural, mechanical, and biological properties. *Adv Mater* **18**: 1463-1467.
- Bigi A, Cojazzi G, Panzavolta S, Rubini K & Roveri N (2001) Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking. *Biomaterials* **22**: 763-768.
- Bodour AA, Drees KP & Maier RM (2003) Distribution of biosurfactant-producing bacteria in undisturbed and contaminated arid southwestern soils. *Appl Environ Microbiol* **69**: 3280-3287.
- Buchko CJ, Chen LC, Shen Y & Martin DC (1999) Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films. *Polymer* **40**: 7397-7407.
- Burger C, Hsiao BS & Chu B (2006) Nanofibrous materials and their applications. *Annu Rev of Mater Res* **36**: 333-368.
- Cameotra SS & Makkar RS (2004) Recent applications of biosurfactants as biological and immunological molecules. *Curr Opin Microbiol* **7**: 262-266.
- Cao XH, Wang AH, Wang CL, Mao DZ, Lu MF, Cui YQ & Jiao RZ (2010) Surfactin induces apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells through a ROS/JNK-mediated mitochondrial/caspase pathway. *Chem Biol Interact* **183**: 357-362.
- Carrillo C, Teruel JA, Aranda FJ & Ortiz A (2003) Molecular mechanism of membrane permeabilization by the peptide antibiotic surfactin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1611**: 91-97.
- Casper LC, Stephens JS, Tassi NG, Bruce Chase D & Rabolt JF (2004) Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process. *Macromolecules* **37**: 573-578.
- Cavalero DA & Cooper DG (2003) The effect of medium composition on the structure and physical state of sophorolipids produced by *Candida bombicola* ATCC 22214. *J Biotechnol* **103**: 31-41.

- Chaiyasit W, McClements DJ, Weiss J & Decker EA (2008) Impact of surface-active compounds on physicochemical and oxidative properties of edible oil. *Food Chem* **56**: 550-556.
- Chang CC, Chen WC, Ho TF, Wu HS & Wei YH (2011) Development of natural anti-tumor drugs by microorganisms. *J Biosci Bioeng* **111**: 501-511.
- Chen J, Chu B & Hsiao BS (2006) Mineralization of hydroxyapatite in electrospun nanofibrous poly(L-lactic acid) scaffolds. *J Biomed Mater Res A* **79**: 307-317.
- Chen WC, Juang RS & Wei YH (2015) Applications of a lipopeptide biosurfactant, surfactin, produced by microorganisms. *Biochem Eng J* **103**: 158-169.
- Cho SJ, Lee SK, Cha BJ, Kim YH & Shin KS (2003) Detection and characterization of the *Gloeosporium gloeosporioides* growth inhibitory compound iturin A from *Bacillus subtilis* strain KS03. *FEMS Microbiol Lett* **223**: 47-51.
- Cirigliano M & Carman M (1985) Purification and characterization of liposan, a bioemulsifier from *Candida lipolytica*. *Appl Environ Microbiol* 846-850.
- Clinical and laboratory standards institute (2009) *Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard: 9th ed.* CLSI, Wayne, PA.
- Cooper DG, Macdonald CR, Duff SJB & Kosaric N (1981) Enhanced production of surfactin from *Bacillus subtilis* by continuous product removal and metal cation additions. *Appl Environ Microbiol* 408-412.
- Coutte F, Lecouturier D, Leclère V, Béchet M, Jacques P & Dhulster P (2013) New integrated bioprocess for the continuous production, extraction and purification of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* in membrane bioreactor. *Process Biochem* **48**: 25-32.
- Dae KS, Cho JY, Park HJ, Im CR, Lim JH, Yun HI, Park SC, Kim SK & Rhee MH (2006) A comparison of the anti-inflammatory activity of surfactin A, B, C, and D from *Bacillus subtilis*. *J Microbiol Biotechnol* **16**: 1656-1659.
- Das Neves LCM, De Oliveira KS, Kobayashi MJ, Penna TCV & Converti A (2007) Biosurfactant production by cultivation of *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372 in semidefined glucose/casein-based media. *Appl Biochem Biotechnol* **136-140**: 539-554.

- Das P, Mukherjee S & Sen R (2008) Improved bioavailability and biodegradation of a model polyaromatic hydrocarbon by a biosurfactant producing bacterium of marine origin. *Chemosphere* **72**: 1229-1234.
- Das P, Mukherjee S & Sen R (2008) Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans*. *J Appl Microbiol* **104**: 1675-1684.
- Das P, Mukherjee S & Sen R (2009) Antiadhesive action of a marine microbial surfactant. *Colloids Surf B Biointerfaces* **71**: 183-186.
- Dastgheib SM, Amoozegar MA, Elahi E, Asad S & Banat IM (2008) Bioemulsifier production by a halothermophilic *Bacillus* strain with potential applications in microbially enhanced oil recovery. *Biotechnol Lett* **30**: 263-270.
- Davis DA, Lynch HC & Varley J (1999) The production of surfactin in batch culture by *Bacillus subtilis* ATCC 21332 is strongly influenced by the conditions of nitrogen metabolism. *Enzyme Microb Technol* **25**: 322-329.
- Deleu M, Paquot M & Nylander T (2008) Effect of fengycin, a lipopeptide produced by *Bacillus subtilis*, on model biomembranes. *Biophys J* **94**: 2667-2679.
- Deleu M, Bouffieux O, Razafindralambo H, Paquot M, Hbid C, Thonart P, Jacques P & Brasseur R (2003) Interaction of surfactin with membranes: A computational approach. *Langmuir* **19**: 3377-3385.
- Desai JD & Banat IM (1997) Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol Mol Biol Rev* **61**: 47-64.
- Dhanarajan G, Mandal M & Sen R (2014) A combined artificial neural network modeling–particle swarm optimization strategy for improved production of marine bacterial lipopeptide from food waste. *Biochem Eng J* **84**: 59-65.
- Dheraprasart C, Rengpipat S, Supaphol P & Tattiyakul J (2009) Morphology, release characteristics, and antimicrobial effect of nisin-loaded electrospun gelatin fiber mat. *J Food Prot* **72**: 2293-2300.
- Diab EA (2013) Screening bacterial strains isolated from used motor oil-polluted desert soil for the production of biosurfactants and the possibility of applying the produced biosurfactants for washing and bioremediation of the polluted soil. *IJSR* **4**: 887-895.

- Doshi J & Reneker DH (1995) Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *J electrostat* **35**: 151-160.
- Duarte C, Gudiña EJ, Lima CF & Rodrigues LR (2014) Effect of biosurfactants on the viability and proliferation of human breast cancer cells. *AMB Express* **4**: 1-12.
- Dunne WM (2002) Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin Microbiol Rev* **15**: 155-166.
- Edwards KR, Lepo JE & Lewis MA (2003) Toxicity comparison of biosurfactants and synthetic surfactants used in oil spill remediation to two estuarine species. *Mar Pollut Bull* **46**: 1309-1316.
- Endres HN, Johnson JAC, Ross CA & Welp JK (2003) Evaluation of an ion-exchange membrane for purification of plasmid DNA. *Biotechnol Appl Biochem* **37**: 259-266.
- Fahim S, Dimitrov K, Vauchel P, Gancel F, Delaplace G, Jacques P & Nikov I (2013) Oxygen transfer in three phase inverse fluidized bed bioreactor during biosurfactant production by *Bacillus subtilis*. *Biochem Eng J* **76**: 70-76.
- Fernandes PAV, De Arruda IR, Dos Santos AFAB, De Araujo AA, Maior AMS & Ximenes EA (2007) Antimicrobial activity of surfactants produce by *Bacillus subtilis* R14 against multidrug-resistant bacteria. *Braz J Microbiol* **38**: 704-709.
- Fertala A, Han WB & Ko FK (2001) Mapping critical sites in collagen II for rational design of gene-engineered proteins for cell-supporting materials. *J Biomed Mater Res* **57**: 48-58.
- Fickers P, Guez JS, Damblon C, Leclere V, Bechet M, Jacques P & Joris B (2009) High-level biosynthesis of the anteiso-C(17) isoform of the antibiotic mycosubtilin in *Bacillus subtilis* and characterization of its candidacidal activity. *Appl Environ Microbiol* **75**: 4636-4640.
- Figues D & Pinto D (2000) Lab-on-a-chip: a revolution in biological and medical sciences-a lookat some of the basic concepts and novel components used to construct prototype device. *Anal Chem* **72**: 330A-335A.
- Fong H, Chun I & Reneker DH (1999) Beaded nanofibers formed during electrospinning. *Polymer* **40**: 4585-4592.

- Fonseca RR, Silva AJ, De franc FP, Cardoso VL & Sérvulo EF (2007) Optimizing carbon/nitrogen ratio for biosurfactant production by a *Bacillus subtilis* strain. *Appl Biochem Biotechnol* **137-140**: 471-486.
- Fracchia L, Cavallo M, Martinotti MG & Banat IM (2012) Biosurfactants and bioemulsifiers biomedical and related applications present status and future potentials. *Biomed Sci, Eng tech* 325-370.
- Geetha I, Manonmani AM & Paily KP (2010) Identification and characterization of a mosquito pupicidal metabolite of a *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* strain. *Appl Microbiol Biotechnol* **86**: 1737-1744.
- Georgiou G, Lin SC & Sharma MM (1992) Surface-active compounds from microorganism. *Biotechnol* **10**: 60-65.
- Ghribi D & Ellouze-Chaabouni S (2011) Enhancement of *Bacillus subtilis* lipopeptide biosurfactant production through optimization of medium composition and adequate control of aeration. *Biotechnol Res Int* **2011**: 1-6.
- Gibson PW, Schreuder-Gibson HL & Rivin D (1999) Electrospun fiber mats: transport properties. *AIChE J* **45**: 190-1955.
- Gibson PW, Schreuder-Gibson HL & Rivin D (2001) Transport properties of porous membranes based on electrospun nanofibers. *Colloids and Surf A Physicochem Eng Asp* **187-188**: 469-481.
- Gong AD, Li HP, Yuan QS, Song XS, Yao W, He WJ, Zhang JB & Liao YC (2015) Antagonistic mechanism of iturin A and plipastatin A from *Bacillus amyloliquefaciens* S76-3 from wheat spikes against *Fusarium graminearum*. *PLoS One* **10**: e0116871.
- Gordillo A & Maldonado MC (2012) Purification of peptides from *Bacillus* strains with biological activity. *Chromatogr Appl* **11**: 201-225.
- Guez JS, Muller CH, Danze PM, Buchs J & Jacques P (2008) Respiration activity monitoring system (RAMOS), an efficient tool to study the influence of the oxygen transfer rate on the synthesis of lipopeptide by *Bacillus subtilis* ATCC6633. *J Biotechnol* **134**: 121-126.
- Haber C, Skupsky J, Lee A & Lander R (2004) Membrane chromatography of DNA: conformation-induced capacity and selectivity. *Biotechnol Bioeng* **88**: 26-34.



- Haghi AK & Akbari M (2007) Trends in electrospinning of natural nanofibers. *physica status solidi (a)* **204**: 1830-1834.
- Hathout Y, Ho YP, Ryzhov V, Demirev P & Fenselau C (2000) Kurstakins: a new class of lipopeptide isolated from *Bacillus thuringiensis*. *J Nat Prod* **63**: 1492-1496.
- He W, Horn SW & Hussain MD (2007) Improved bioavailability of orally administered mifepristone from PLGA nanoparticles. *Int J Pharm* **334**: 173-178.
- Heerklotz H, Wieprecht T & Seelig J (2004) Membrane perturbation by the lipopeptide surfactin and detergents as studied by deuterium, NMR *J Phys Chem B* **108**: 4909-4915.
- Hisatsuka KI, Nakahara T, Sano N & Yamada K (1971) Formation of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa* and its function in hydrocarbon fermentation. *Agric Biol Chem* **35**: 686-692.
- Hohman MM, Shin M, Rutledge G & Brenner MP (2001) Electrospinning and electrically forced jets. I. stability theory. *Phys Fluids* **13**: 2201-2220.
- Huang CF & Chang FC (2003) Comparison of hydrogen bonding interaction between PMMA/PMAA blends and PMMA-co-PMAA copolymers. *Polymer* **44**: 2965-2974.
- Huang L, Nagapudi K, Apkarian RP & Chaikof EL (2001) Engineered collagen-PEO nanofibers and fabrics. *J Biomater Sci Polymer Edn* **12**: 979-993.
- Huang L, McMillan RA, Apkarian RP, Pourdeyhimi B, Conticello VP & Chaikof EL (2000) Generation of synthetic elastin-mimetic small diameter fibers and fiber networks. *Macromolecules* **33**: 2989-2897.
- Huang X, Lu Z, Zhao H, Bie X, Lü F & Yang S (2006) Antiviral activity of antimicrobial lipopeptide from *Bacillus subtilis* fmbj Against Pseudorabies Virus, Porcine Parvovirus, Newcastle Disease Virus and Infectious Bursal Disease Virus *in vitro*. *Int J Pept Res Ther* **12**: 373-377.
- Huang ZM, Zhang YZ, Ramakrishna S & Lim CT (2004) Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers. *Polymer* **45**: 5361-5368.
- Ines M & Dhouha G (2015) Lipopeptide surfactants: production, recovery and pore forming capacity. *Peptides* **71**: 100-112.
- Jayakrishnan A & Jameela SR (1996) Glutaraldehyde as a fixative in bioprostheses and drug delivery matrices. *Biomaterials* **17**: 471-484.

- Jia HF, Zhu GY, Vugrinovich B, Kataphinan W, Reneker DH & Wang P (2002) Enzyme-carrying polymeric nanofibers prepared via electrospinning for use as unique biocatalysts. *Biotechnol Prog* **18**: 1027-1032.
- Jiang H, Fang D, Hsiao B, Chu B & Chen W (2004) Preparation and characterization of ibuprofen-loaded poly(lactide-co-glycolide)/poly(ethylene glycol)-g-chitosan electrospun membranes. *J Biomater Sci Polym Ed* **15**: 279-296.
- Joe MM, Bradeeba K, Parthasarathi R, Sivakumar PK, Chauhan PS, Tipayno S, Benson A & Sa T (2012) Development of surfactin based nanoemulsion formulation from selected cooking oils: Evaluation for antimicrobial activity against selected food associated microorganisms. *J Taiwan Inst Chem Eng* **43**: 172-180.
- Kattamuri N, Shin JH, Kang B, Lee CG, Lee JK & Sung C (2005) Development and surface characterization of positively charged filters. *J Mater Sci* **40**: 4531-4539.
- Katti DS, Robinson KW, Ko FK & Laurencin CT (2004) Bioresorbable nanofiber-based systems for wound healing and drug delivery: optimization of fabrication parameters. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **70**: 286-296.
- Kaur S, Gopal R, Kotaki M, Ma ZW & Ramakrishna S (2006) Oligosaccharide functionalized nanofibrous membrane. *Int J Nanosci* **5**: 1-11.
- Ki CS, Baek DH, Gang KD, Lee KH, Um IC & Park YH (2005) Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution. *Polymer* **46**: 5094-5102.
- Kinsinger RF, Shirk MC & Fall R (2003) Rapid surface motility in *Bacillus subtilis* is dependent on extracellular surfactin and potassium ion. *J Bacteriol* **185**: 5627-5631.
- Kinsinger RF, Kearns DB, Hale M & Fall R (2005) Genetic requirements for potassium ion-dependent colony spreading in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol* **187**: 8462-8469.
- Klein E (2000) Affinity membranes: a 10-year review. *J Membr Sci* **179** 1-27.
- Koglin A, Lohr F, Bernhard F, *et al.* (2008) Structural basis for the selectivity of the external thioesterase of the surfactin synthetase. *Nature* **454**: 907-911.
- Korenblum E, De Araujo LV, Guimarães CR, *et al.* (2012) Purification and characterization of a surfactin-like molecule produced by *Bacillus* sp. H2O-1 and its antagonistic effect against sulfate reducing bacteria. *Microbiology* **12**: 1-13.

- Kost J & Langer R (2001) Responsive polymeric delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev* **46**: 125-148.
- Kriegel C, Kit KM, McClements DJ & Weiss J (2009) Electrospinning of chitosan-poly(ethylene oxide) blend nanofibers in the presence of micellar surfactant solutions. *Polymer* **50**: 189-200.
- Kwak HW, Kang MJ, Bae JH, Hur SB, Kim IS, Park YH & Lee KH (2014) Fabrication of *Phaeodactylum tricornutum* extract-loaded gelatin nanofibrous mats exhibiting antimicrobial activity. *Int J Biol Macromol* **63**: 198-204.
- Lai CC, Huang YC, Wei YH & Chang JS (2009) Biosurfactant-enhanced removal of total petroleum hydrocarbons from contaminated soil. *J Hazard Mater* **167**: 609-614.
- Lee KH, Ki CS, Baek DH, Kang GD, Ihm DW & Park YH (2005) Application of electrospun silk fibroin nanofibers as an immobilization support of enzyme. *Fibers Polym* **6**: 181-185.
- Lee YJ, Won AJ, Lee J, Jung JH, Yoon S, Lee BM & Kim HS (2012) Molecular mechanism of SAHA on regulation of autophagic cell death in tamoxifen-resistant MCF-7 breast cancer cells. *Int J Med Sci* **9**: 881-893.
- Li W-J, Shanti RM & Tuan RS (2007) *Electrospinning Technology for Nanofibrous Scaffolds in Tissue Engineering*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Liang D, Hsiao BS & Chu B (2007) Functional electrospun nanofibrous scaffolds for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev* **59**: 1392-1412.
- Liu X, Ren B, Gao H, *et al.* (2012) Optimization for the production of surfactin with a new synergistic antifungal activity. *PLoS One* **7**: 1-9.
- Madhu AN & Prapulla SG (2014) Evaluation and functional characterization of a biosurfactant produced by *Lactobacillus plantarum* CFR 2194. *Appl Biochem Biotechnol* **172**: 1777-1789.
- Maier RM, Neilson JW, Artiola JF, Jordan FJ, Glenn EP & Descher SM (2001) Remediation of metalcontaminated soil and sludge using biosurfactant technology. *Int J Occup Med Environ Health* **14**: 241-248.
- Mandal SM, Barbosa AE & Franco OL (2013) Lipopeptides in microbial infection control: scope and reality for industry. *Biotechnol Adv* **31**: 338-345.

- Mangoni ML & Shai Y (2011) Short native antimicrobial peptides and engineered ultrashort lipopeptides: similarities and differences in cell specificities and modes of action. *Cell Mol Life Sci* **68**: 2267-2280.
- Mano JF, Silva GA, Azevedo HS, *et al.* (2007) Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends. *J R Soc Interface* **4**: 999-1030.
- Marchant R & Banat IM (2012) Microbial biosurfactants: challenges and opportunities for future exploitation. *Trends Biotechnol* **30**: 558-565.
- Mariod AA & Adam HF (2013) Review: gelatin, source, extraction and industrial applications. *Acta Sci Pol, Technol Aliment* **12**: 135-147.
- Meena KR & Kanwar SS (2015) Lipopeptides as the antifungal and antibacterial agents: applications in food safety and therapeutics. *Biomed Res Int* **2015**: 1-10.
- Migneault I, Dartiguenave C, Bertrand MJ & Waldron KC (2004) Glutaraldehyde: behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking. *BioTechniques* **37**: 790-802.
- Min BM, Lee G, Kim SH, Nam YS, Lee TS & Park WH (2004) Electrospinning of silk fibroin nanofibers and its effect on the adhesion and spreading of normal human keratinocytes and fibroblasts *in vitro*. *Biomaterials* **25**: 1289-1297.
- Mireles JR, 2nd, Toguchi A & Harshey RM (2001) *Salmonella enterica* serovar typhimurium swarming mutants with altered biofilm-forming abilities: surfactin inhibits biofilm formation. *J Bacteriol* **183**: 5848-5854.
- Mit-uppatham C, Nithitanakul M & Supaphol P (2004) Ultrafine electrospun polyamide-6 fibers: effect of solution conditions on morphology and average fiber diameter. *Macromol Chem Phys* **205**: 2327-2338.
- Montero P, Borderías J, Turnay J & Leyzarbe MA (1990) Characterization of hake (*Merluccius merluccius* L.) and trout (*Salmo irideus* Gibb) collagen. *J Agric Food Chem* **38**: 604-609.
- Moon S & Farris RJ (2009) Electrospinning of heated gelatin-sodium alginate-water solutions. *Polym Eng Sci* **49**: 1616-1620.

- Morikawa M, Daido H, Takao T, Murata S, Shimonishi Y & Imanaka T (1993) A new lipopeptide biosurfactant produced by *Arthrobacter sp.* strain MIS38. *J Bacteriol* **175**: 6459-6466.
- Mukherjee S, Das P & Sen R (2006) Towards commercial production of microbial surfactants. *Trends Biotechnol* **24**: 509-515.
- Mulligan CN (2005) Environmental applications for biosurfactants. *Environ Pollut* **133**: 183-198.
- Muthusamy K, Gopalakrishnan S, Ravi TK & Swachidambaram P (2008) Biosurfactants: properties, commercial production and application. *Curr Sci* **94**: 736-747.
- Nagapudi K, Brinkman WT, Leisen JE, Huang L, McMillan RA, Apkarian RP, Conticello VP & Chaikof EL (2002) Photomediated solid-state cross-linking of an elastin-mimetic recombinant protein polymer. *Macromolecules* **35**: 1730-1737.
- Nasir MN & Besson F (2011) Specific interactions of mycosubtilin with cholesterol-containing artificial membranes. *Langmuir* **27**: 10785-10792.
- Nasir MN, Thawani A, Kouzayha A & Besson F (2010) Interactions of the natural antimicrobial mycosubtilin with phospholipid membrane models. *Colloids Surf B Biointerfaces* **78**: 17-23.
- Nerem RM & Sambanis A (1995) Tissue engineering: from biology to biological substitutes. *Tissue Eng* **1**: 3-13.
- Nistico R, Avetta P, Calza P, Fabbri D, Magnacca G & Scarlone D (2015) Selective porous gates made from colloidal silica nanoparticles. *Beilstein J Nanotechnol* **6**: 2105-2112.
- Nitschke M & Costa SGVAO (2007) Biosurfactants in food industry. *Trends Food Sci Technol* **18**: 252-259.
- Norris ID, Shaker MM, Ko FK & Macdiarmid AG (2000) Electrostatic fabrication of ultrafine conducting fibers: polyaniline/polyethylene oxide blends. *Synth Met* **114**: 109-114.
- Oberbremer A, Muller-Hurtig R & Wagner F (1990) Effect of the addition of microbial surfactants on hydrocarbon degradation in a soil population in a stirred reactor. *Appl Microbiol Biotechnol* **32**: 485-489.

- Ohgo K, Zhao C, Kobayashi MJ & Asakura T (2003) Preparation of non-woven nanofibers for *Bombyx mori* silk, *Samia cythia ricini* silk and recombinant hybrid silk with electrospinning method. *Polymer* **44**: 841-846.
- Okutan N, Terzi P & Altay F (2014) Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. *Food Hydrocoll* **39**: 19-26.
- Ongena M & Jacques P (2008) *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol* **16**: 115-125.
- Pathak KV, Keharia H, Gupta K, Thakur SS & Balaram P (2012) Lipopeptides from the banyan endophyte, *Bacillus subtilis* K1: mass spectrometric characterization of a library of fengycins. *J Am Soc Mass Spectrom* **23**: 1716-1728.
- Pavlov MP, Mano JF, Neves NM & Reis RL (2004) Fibers and 3D mesh scaffolds from biodegradable starch-based blends: production and characterization. *Macromol Biosci* **4**: 776-784.
- Pham QP, Sharma U & Mikos AG (2006) Electrospun poly ( $\epsilon$ -caprolactone) microfiber and multilayer nanofiber/microfiber scaffolds: characterization of scaffolds and measurement of cellular infiltration. *Biomacromolecules* **7**: 2796-2805.
- Pillay V, Dott C, Choonara YE, Tyagi C, Tomar L, Kumar P, du Toit LC & Ndesendo VMK (2013) A review of the effect of processing variables on the fabrication of electrospun nanofibers for drug delivery applications. *J Nanomater* **2013**: 1-22.
- Pretorius D, van Rooyen J & Clarke KG (2015) Enhanced production of antifungal lipopeptides by *Bacillus amyloliquefaciens* for biocontrol of postharvest disease. *N Biotechnol* **32**: 243-252.
- Ramakrishna S, Fujihara K, Teo W-E, Yong T, Ma Z & Ramaseshan R (2006) Electrospun nanofibers: solving global issues. *Mater Today* **9**: 40-50.
- Ranasalva NR, Sunil R & Poovarasan G (2014) Importance of biosurfactant in food industry. *IOSR-JAVS* **7**: 6-9.
- Rangarajan V & Clarke KG (2015) Process development and intensification for enhanced production of *Bacillus* lipopeptides. *Biotechnol Genet Eng Rev* **31**: 46-68.

- Raza ZA, Rehman A, Khan MS & Khalid ZM (2007) Improved production of biosurfactant by a *Pseudomonas aeruginosa* mutant using vegetable oil refinery wastes. *Biodegradation* **18**: 115-121.
- Reddy AS, Chen C-Y, Baker SC, Chen C-C, Jean J-S, Fan C-W, Chen H-R & Wang J-C (2009) Synthesis of silver nanoparticles using surfactin: A biosurfactant as stabilizing agent. *Mater Lett* **63**: 1227-1230.
- Reddy AS, Kuo Y-H, Atla SB, Chen C-Y, Chen C-C, Shih R-C, Chang Y-F, Maity JP & Chen H-J (2011) Low-temperature synthesis of rose-like ZnO nanostructures using surfactin and their photocatalytic activity. *J Nanosci Nanotechnol* **11**: 5034-5041.
- Reis RS, Pacheco GJ, Pereira AG & Freire DMG (2013) *Biosurfactants: Production and Applications*. licensee InTech.
- Rho KS, Jeong L, Lee G, Seo BM, Park YJ, Hong SD, Roh S, Cho JJ, Park WH & Min BM (2006) Electrospinning of collagen nanofibers: effects on the behavior of normal human keratinocytes and early-stage wound healing. *Biomaterials* **27**: 1452-1461.
- Rivardo F, Turner RJ, Allegrone G, Ceri H & Martinotti MG (2009) Anti-adhesion activity of two biosurfactants produced by *Bacillus* spp. prevents biofilm formation of human bacterial pathogens. *Appl Microbiol Biotechnol* **83**: 541-553.
- Rodrigues L, Banat IM, Teixeira J & Oliveira R (2006) Biosurfactants: potential applications in medicine. *J Antimicrob Chemother* **57**: 609-618.
- Roongsawang N, Thaniyavarn J, Thaniyavarn S, Kameyama T, Haruki M, Imanaka T, Morikawa M & Kanaya S (2002) Isolation and characterization of a halotolerant *Bacillus subtilis* BBK-1 which produces three kinds of lipopeptides: bacillomycin L, plipastatin, and surfactin. *Extremophiles* **6**: 499-506.
- Rujitanaroj P-o, Pimpha N & Supaphol P (2008) Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun gelatin fiber mats containing silver nanoparticles. *Polymer* **49**: 4723-4732.
- Santos DK, Rufino RD, Luna JM, Santos VA & Sarubbo LA (2016) Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. *Int J Mol Sci* **17**: 1-31.

- Sen R (2008) Biotechnology in petroleum recovery: The microbial EOR. *Prog Energy Combust Sci* **34**: 714-724.
- Sen R & Swaminathan T (1997) Application of response-surface methodology to evaluate the optimum environmental conditions for the enhanced production of surfactin. *Appl Microbiol Biotechnol* **47**: 358-363.
- Sen R & Swaminathan T (2005) Characterization of concentration and purification parameters and operating conditions for the small-scale recovery of surfactin. *Process Biochem* **40**: 2953-2958.
- Seydlová G & Svobodová J (2008) Review of surfactin chemical properties and the potential biomedical applications. *Cent Eur J Med* **3**: 123-133.
- Shaligram NS & Singhal RS (2010) Surfactin—a review on biosynthesis, fermentation, purification and applications. *Food Technol Biotechnol* **48**: 119-134.
- Sharma D, Saharan BS & Kapil S (2016) *Biosurfactants of Lactic Acid Bacteria*. SpringerBriefs in Microbiology.
- Sharma D, Saharan BS, Chauhan N, Procha S & Lal S (2015) Isolation and functional characterization of novel biosurfactant produced by *Enterococcus faecium*. *SpringerPlus* **4**: 1-14.
- Shekhar S, Sundaramanickam A & Balasubramanian T (2014) Biosurfactant producing microbes and their potential applications: A review. *Crit Rev Environ Sci Technol* **45**: 1522-1554.
- Sheppard JD & Cooper DG (1990) The effects of a biosurfactant on oxygen transfer in a cyclone column reactor. *J Chem Technol* **48**: 325-336.
- Sikareepaisan P, Suksamram A & Supaphol P (2008) Electrospun gelatin fiber mats containing a herbal-*Centella asiatica*-extract and release characteristic of asiaticoside. *Nanotechnology* **19**: 015102.
- Sill TJ & Von Recum HA (2008) Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials* **29**: 1989-2006.
- Silva GA, Czeisler C, Niece KL, Beniash E, Harrington DA, Kessler JA & Stupp SI (2004) Selective differentiation of neural progenitor cells by high-epitope density nanofibers. *Science* **303**: 1352-1355.



- Singh BR, Dwivedi S, Al-Khedhairy AA & Musarrat J (2011) Synthesis of stable cadmium sulfide nanoparticles using surfactin produced by *Bacillus amyloliquifaciens* strain KSU-109. *Colloids Surf B Biointerfaces* **85**: 207-213.
- Singh P & Cameotra SS (2004) Potential applications of microbial surfactants in biomedical sciences. *Trends Biotechnol* **22**: 142-146.
- Singla RK, Dubey HD & Dubey AK (2014) Therapeutic spectrum of bacterial metabolites. *Indo Global J Pharm Sci* **2**: 52-64.
- Sivapathasekaran C & Sen R (2013) Performance evaluation of an ANN-GA aided experimental modeling and optimization procedure for enhanced synthesis of marine biosurfactant in a stirred tank reactor. *J Chem Technol Biotechnol* **88**: 794-799.
- Sivapathasekaran C, Das P, Mukherjee S, Saravanakumar J, Mandal M & Sen R (2010) Marine bacterium derived lipopeptides: characterization and cytotoxic activity against cancer cell lines. *Int J Pept Res Ther* **16**: 215-222.
- Song JH, Kim HE & Kim HW (2008) Production of electrospun gelatin nanofiber by water-based co-solvent approach. *J Mater Sci Mater Med* **19**: 95-102.
- Songchotikunpan P, Tattiyakul J & Supaphol P (2008) Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. *Int J Biol Macromol* **42**: 247-255.
- Symmank H, Franke P, Saenger W & Bernhard F (2002) Modification of biologically active peptides: production of a novel lipohexapeptide after engineering of *Bacillus subtilis* surfactin synthetase. *Protein Eng* **15**: 913-921.
- Tadros TF (2009) *Emulsion science and technology*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Van Hamme JD, Singh A & Ward OP (2006) Physiological aspects. part 1 in a series of papers devoted to surfactants in microbiology and biotechnology. *Biotechnol Adv* **24**: 604-620.
- Vandervoort J & Ludwig A (2004) Preparation and evaluation of drug-loaded gelatin nanoparticles for topical ophthalmic use. *Eur J Pharm Biopharm* **57**: 251-261.
- Venugopal J & Ramakrishna S (2005) Biocompatible nanofiber matrices for the engineering of a dermal substitute for skin regeneration. *Tissue Eng* **11**: 847-854.

- Verreck G, Chun I, Peeters J, Rosenblatt J & Brewster ME (2003) Preparation and characterization of nanofibers containing amorphous drug dispersions generated by electrostatic spinning. *Pharm Res* **20**: 810-817.
- Vitullo D, Di Pietro A, Romano A, Lanzott V & Lima G (2012) Role of new bacterial surfactins in the antifungal interaction between *Bacillus amyloliquefaciens* and *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathol* **61**: 689-699.
- Walia NK & Cameotra SS (2015) Lipopeptides: biosynthesis and applications. *J Microb Biochem Technol* **7**: 103-107.
- Wang P, Dai S, Waezsada SD, Tsao A & Davison BH (2001) Enzyme stabilization by covalent binding in nanoporous sol-gel glass for nonaqueous biocatalysis. *Biotechnol Bioeng* **74**: 249-255.
- Wang X, Kim Y-G, Drew C, Ku B-C, Kumar J & Samuelson LA (2004) Electrostatic assembly of conjugated polymer thin layers on electrospun nanofibrous membranes for biosensors. *Nano Lett* **4**: 331-334.
- Wayne JS, Mcdowell CL, Shields KJ & Tuan RS (2005) *In vivo* response of polylactic acid-alginate scaffolds and bone marrow-derived cells for cartilage tissue engineering. *Tissue Eng* **11**: 953-963.
- Wei YH & Chu IM (1998) Enhancement of surfactin production in iron-enriched media by *Bacillus subtilis* ATCC 21332. *Enzyme Microb Technol* **22**: 724-728.
- Whang LM, Liu PW, Ma CC & Cheng SS (2008) Application of biosurfactants, rhamnolipid, and surfactin, for enhanced biodegradation of diesel-contaminated water and soil. *J Hazard Mater* **151**: 155-163.
- Yang D, Li Y & Nie J (2007) Preparation of gelatin/PVA nanofibers and their potential application in controlled release of drugs. *Carbohydr Polym* **69**: 538-543.
- Yang H, Viera C, Fischer J & Etzel MR (2002) Purification of a large protein using ion-exchange membranes. *Ind Eng Chem Res* **41**: 1597-1602.
- Ye P, Xu ZK, Che AF, Wu J & Seta P (2005) Chitosan-tethered poly(acrylonitrile-co-maleic acid) hollow fiber membrane for lipase immobilization. *Biomaterials* **26**: 6394-6403.

- Ye P, Xu ZK, Wu J, Innocent C & Seta P (2006) Nanofibrous membranes containing reactive groups: electrospinning from poly(acrylonitrile-co-maleic acid) for lipase immobilization. *Macromolecules* **39**: 1041-1045.
- Yeh MS, Wei YH & Chang JS (2005) Enhanced production of surfactin from *Bacillus subtilis* by addition of solid carriers. *Biotechnol Prog* **21**: 1329-1334.
- Yoo HS, Lee EA, Yoon JJ & Park TG (2005) Hyaluronic acid modified biodegradable scaffolds for cartilage tissue engineering. *Biomaterials* **26**: 1925-1933.
- Yoshimoto H, Shin YM, Terai H & Vacanti JP (2003) A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials* **24**: 2077-2082.
- Yuan X, Zhang Y, Dong C & Sheng J (2004) Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning. *Polym Int* **53**: 1704-1710.
- Zeng J, Xu X, Chen X, Liang Q, Bian X, Yang L & Jing X (2003) Biodegradable electrospun fibers for drug delivery. *J Control Release* **92**: 227-231.
- Zeraik AE & Nitschke M (2010) Biosurfactants as agents to reduce adhesion of pathogenic bacteria to polystyrene surfaces: effect of temperature and hydrophobicity. *Curr Microbiol* **61**: 554-559.
- Zhang C, Yuan X, Wu L, Han Y & Sheng J (2005) Study on morphology of electrospun poly(vinyl alcohol) mats. *Eur Polym J* **41**: 423-432.
- Zhang Y, Ouyang H, Lim CT, Ramakrishna S & Huang ZM (2005) Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **72**: 156-165.
- Zhang YZ, Venugopal J, Huang ZM, Lim CT & Ramakrishna S (2006) Crosslinking of the electrospun gelatin nanofibers. *Polymer* **47**: 2911-2917.
- Zhong H, Zeng GM, Yuan XZ, Fu HY, Huang GH & Ren FY (2007) Adsorption of dirhamnolipid on four microorganisms and the effect on cell surface hydrophobicity. *Appl Microbiol Biotechnol* **77**: 447-455.
- Zong X, Ran S, Fang D, Hsiao BS & Chu B (2003) Control of structure, morphology and property in electrospun poly(glycolide-co-lactide) non-woven membranes via post-draw treatments. *Polymer* **44**: 4959-4967.

Zong X, Kim K, Fang D, Ran S, Hsiao BS & Chu B (2002) Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer* **43**: 4403-4412.

นิรันดร์ รุ่งสว่าง (2542) การผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Bacillus subtilis* BKK-1. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มาติกา อ้นแก้ว (2553) การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* PY1 ในถังหมักแบบแบตช์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิโรจน์ รักเกียรติสกุล (2552) การผลิตและการก่อกอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Bacillus subtilis* BBK-1. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

**ภาคผนวก ก**  
**สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ**

**1. อาหารเหลวปรับปรุงสูตร (กรัมต่อลิตร)**

กลูโคส	60 กรัม
แอมโนเนียมไนเตรต	2 กรัม
สารสกัดยีสต์	5 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.5 กรัม
ไอรอนซัลเฟต ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.15 กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5 กรัม

เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7.5 นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยแยกนึ่งฆ่าเชื้อกลูโคส ที่ อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**ภาคผนวก ข**  
**สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง**

**1. สารละลายทริสไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ที่ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8**

ทริส เบส 0.61 กรัม

น้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร

ปรับค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

**2. สารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNSA reagent)**

ละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก 1.0 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เติมโปแทสเซียมคาร์เตรต 30 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

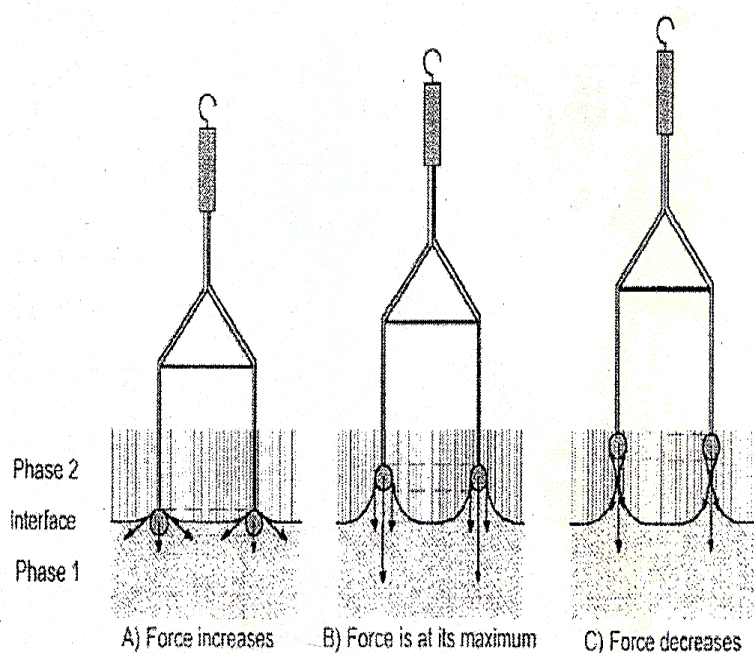
**3. บัฟเฟอร์อะซิเตท (acetate buffer pH 5.5)**

ชั่งโซเดียมอะซิเตท 150 กรัม เติมน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆ เติมกรดอะซิติก 15 มิลลิลิตร อย่างช้าๆ แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

### ภาคผนวก ค

#### หลักการการวัดค่าแรงตึงผิวด้วยวิธี Du Nouy Ring

การวัดค่าแรงตึงผิวด้วยวิธี ring method หรือ Du Nouy Ring method คิดค้นโดย Lecomte Du Nouy ในปี 1919 ซึ่งวิธีนี้จะพิจารณาวงแหวนทองคำขาว (platinum ring) ในแนวระนาบโดยวงแหวนทองคำขาวจะจมในของเหลว และถูกยกขึ้น แรงสูงสุดที่ใช้ในการดึงวงแหวนทองคำขาวพ้นของเหลว คือ ค่าแรงตึงผิว (surface tension)

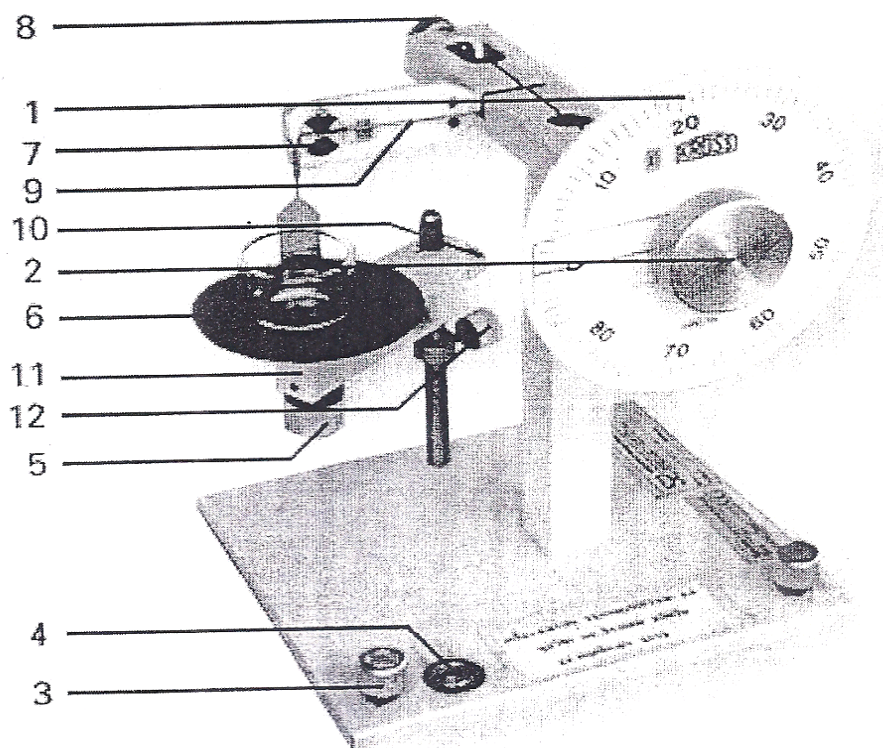


รูปที่ ค.1 ภาพแสดงขั้นตอนการวัดค่าแรงตึงผิวด้วยวิธี Du Nouy Ring



### อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดค่าแรงตึงผิว

ลักษณะและองค์ประกอบของเครื่องวัดค่าแรงตึงผิว (Tensiometer) รุ่น K6 ของบริษัท KRUSS ประเทศเยอรมัน เครื่องวัดค่าแรงตึงผิวนี้ทำการวัดที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  ° ซ ตลอดการทดลอง



CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ ค.2 แสดงองค์ประกอบของเครื่องวัดค่าแรงตึงผิวรุ่น K6 บริษัท KRUSS ประเทศเยอรมัน

- |                                       |                                       |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Scale in mN/m                      | 7. Mark                               |
| 2. Handwhell with pointer             | 8. Handwhell for zero-adjustment      |
| 3. Screws for regulation of the level | 9. balance-beam                       |
| 4. Box level                          | 10. Handwhell for fixing the crossbar |
| 5. Micrometer screw                   | 11. Carrier of sample-table           |
| 6. Sample table                       | 12. Handwhell for fixing the crossbar |

### ขั้นตอนการวัดค่าแรงตึงผิวด้วยเครื่องวัดค่าแรงตึงผิว มีดังนี้

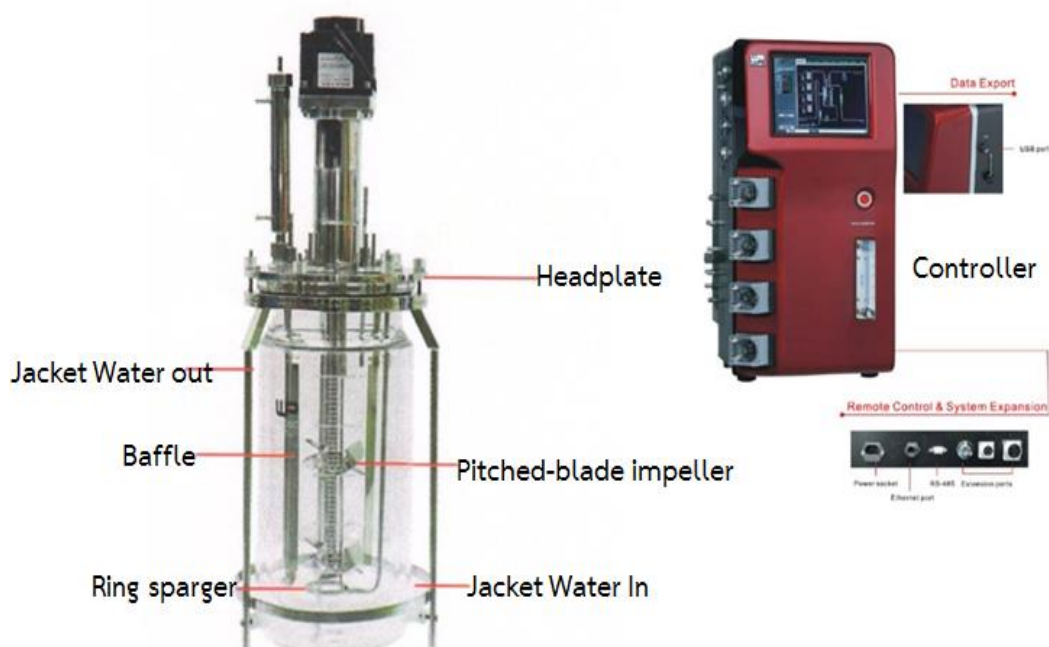
1. ปรับ handwheel with point(2) ให้สเกลมีค่าศูนย์
2. ปรับ zero adjustment (8) โดยหมุนทวนเข็มนาฬิกาให้ balance beam (9) อยู่ในตำแหน่งสมดุลกึ่งกลางของ mask (7)
3. ปรับระดับที่วางสารตัวอย่างโดยหมุน (10) แล้วยกขึ้นให้อยู่ในระดับที่ต้องการ
4. แขนวน ring ลงใน balance beam (9) ปรับให้อยู่ในตำแหน่งสมดุลโดยหมุน zero adjustment (8) ตามเข็มนาฬิกา
5. ใส่สารตัวอย่างในที่ใส่สารตัวอย่างประมาณ 10-15 มล. วางลงบน sample table (6) แล้วหมุน micrometer screw (5) ตามเข็มนาฬิกาเพื่อยกที่ใส่สารตัวอย่างขึ้นให้สัมผัสกับ ring โดยให้ ring จมอยู่ในสารตัวอย่างไม่น้อยกว่า 5 มม.
6. เมื่อ ring สัมผัสกับตัวอย่างแล้วอาจปรับ balance (9) อยู่ในตำแหน่งสมดุลอีกครั้ง โดยหมุน zero adjustment (8) ทวนเข็มนาฬิกา
7. เริ่มวัดค่าแรงตึงผิวโดยหมุน micrometer screw (5) ทวนเข็มนาฬิกาอย่างช้าๆ ในขณะเดียวกันก็หมุน pointer (2) ตามเข็มนาฬิกาอย่างช้าๆ โดยรักษาให้ balance beam (9) อยู่ในตำแหน่งสมดุล
8. เมื่อ ring หลุดออกจากตัวอย่าง อ่านค่าแรงตึงผิวตามสเกล (1) มีหน่วยเป็น mN/m
9. เมื่อเสร็จการทดลองล้าง ring ด้วยน้ำกลั่น สะบัดให้แห้ง (หรือผ่านเปลวไฟ) เก็บเข้ากล่องไม้ ส่วน vessel ล้างให้สะอาดด้วยน้ำเกลือ (หรือ acetone) ซับให้แห้งหรือผ่านเปลวไฟ
10. การเก็บเครื่องจะต้องปรับ zero adjustment (8) ให้ balance beam (9) ยกขึ้น เพื่อป้องกันการแกว่งของ balance beam ปรับที่วางสารตัวอย่างให้อยู่ในระดับเดิม แล้วหมุนเข้าหาตัวเครื่อง

#### ข้อควรระวัง

1. ห้ามกดปุ่มที่อยู่ด้านหลังของ zero adjustment (8) เด็ดขาด เพราะจะทำให้ wire หลุดได้
2. ห้ามหมุน zero adjustment (8) เกิน 1 รอบเด็ดขาด
3. การใช้ ring ต้องใช้ด้วยความระมัดระวังอย่าให้บิดเบี้ยว เพราะถ้า ring เสียรูปจะทำให้การวัดค่าผิดไปได้

การใช้ vessel ต้องใช้ความระมัดระวังเช่นเดียวกัน

ภาคผนวก ง  
 ถังหมักที่ใช้ในการทดลอง



รูปที่ ง.1 ถังหมักระดับห้องปฏิบัติการ ขนาด 5 ลิตร รุ่น WP-Winpact บริษัท กิ๊ปไทย, ประเทศไทย

ส่วนประกอบ	หน้าที่
1. ช่องน้ำออก (Jacket Water out)	นำน้ำเข้าสู่แจ็กเก็ตเพื่อควบคุมอุณหภูมิในถังหมัก
2. ช่องน้ำเข้า (Jacket Water In)	นำน้ำออกสู่แจ็กเก็ตเพื่อควบคุมอุณหภูมิในถังหมัก
3. ฝาปิด (Headplate)	ทำให้เป็นระบบปิดและเป็นที่ตั้งของพวก probe และ condensor
4. ใบกวน (Pitched-blade impeller)	ให้อากาศและเกิดการผสมเพื่อกระจายเซลล์ให้สม่ำเสมอ
5. หัวพ่นอากาศ (Ring sparger)	ให้อากาศในระบบ
6. แผ่นต้าน (Baffle)	ช่วยให้เกิดการผสมได้รวดเร็วขึ้น
7. ระบบควบคุม (Controller)	เป็นหน่วยควบคุม ประมวลผล และส่งคำสั่งไปยังตัวควบคุม เช่นวาล์วต่างๆ

ระบบควบคุมถังหมัก ได้แก่

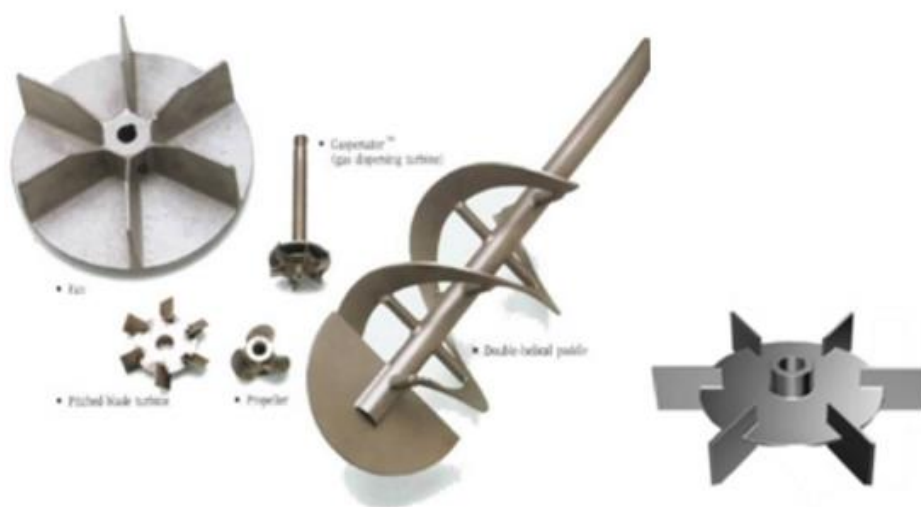
### 1. การให้อากาศ (Aeration)

ปกติการให้อากาศในระบบถังหมักจะได้จากเครื่องอัดอากาศ (Air compressor) ผ่านตัวกรอง (Air filter) ขนาด 0.2 ไมครอน และผ่านหัวฉีดอากาศ ควบคุมอัตราการไหลโดย flow meter



### 2. การกวน (Agitation)

การกวนช่วยให้อาหาร จุลินทรีย์และอากาศคลุกเคล้าอย่างทั่วถึง ระบบการกวนที่มีประสิทธิภาพจะทำให้การละลายของออกซิเจนในอาหารเหลวมีค่าสูงและมีปริมาณเท่ากันในทุกๆ จุดของถังหมัก การกวนอาศัยแกนกวนต่อกับใบพัด เรียกว่า Impeller ช่วยตีฟองอากาศให้มีขนาดเล็ก กระจายไปยังส่วนต่างๆ และมี baffle ช่วยป้องกันการเกิดน้ำวน



### 3. การควบคุมอุณหภูมิ (Temperature control)

เนื่องจากระหว่างการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในขณะหมัก มักมีความร้อนเกิดขึ้นเป็นผลมาจากปฏิกิริยาชีวเคมีในออกซิโดซ์สารอาหารของจุลินทรีย์ และจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความต้องการสภาพอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ดังนั้นจำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิระหว่างการหมัก ในระบบควบคุมอุณหภูมิประกอบด้วยระบบหล่อเย็นกับระบบทำความร้อน โดยอาศัย Temperature probe sensing ที่อยู่ภายในถังหมัก



### 4. การควบคุม pH (pH control)

ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการหมักมักมีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์อยู่แล้ว แต่ในระหว่างการหมัก pH อาจเปลี่ยนแปลงมากจนกระทั่งไม่สามารถสร้างผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจำเป็นต้องควบคุม pH ของน้ำหมักให้อยู่ในช่วงที่พอเหมาะ โดยอาศัยเครื่องมือวัด pH electrode ต่อเข้ากับ control unit เพื่อสั่งให้ปั๊มทำการเติมกรดหรือเบสเมื่อค่า pH ที่วัดได้สูงหรือต่ำกว่าค่า set point ที่กำหนด



## 5. การควบคุมออกซิเจน (Oxygen control)

ปริมาณออกซิเจนในอาหารเหลวมีผลโดยตรงต่อการเจริญและการสร้างผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์ การควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลาย (Dissolve oxygen, DO) ปัจจุบันสามารถวัดและควบคุมด้วย Oxygen probe ทำการควบคุมโดยอาศัยการปรับอัตราการไหลของอากาศหรืออัตราการกวนของมอเตอร์

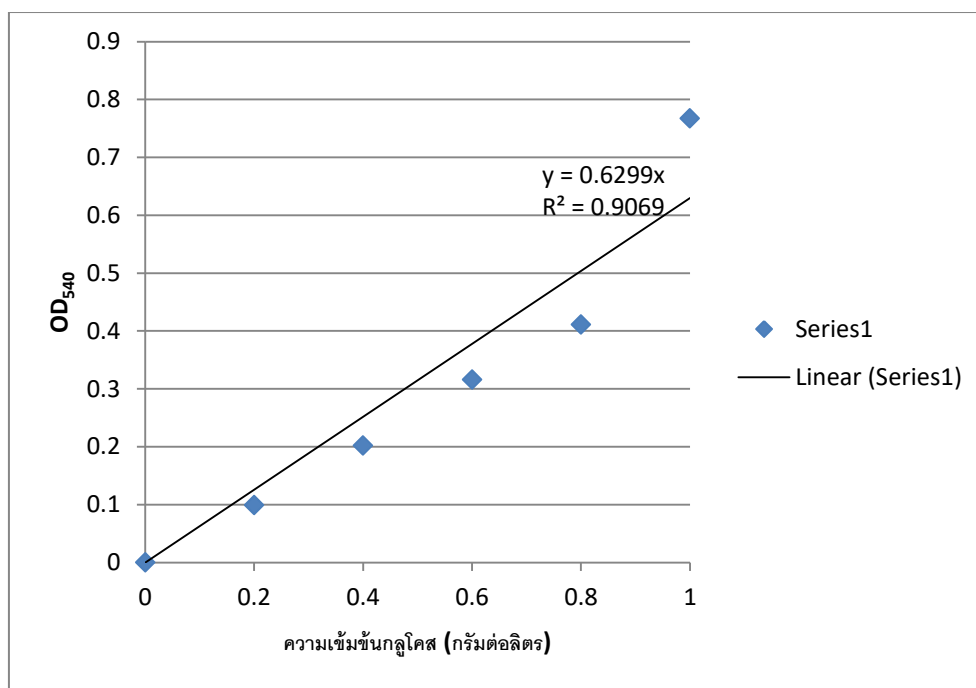


## 6. การป้องกันฟอง (Antifoam control)

การเกิดฟองทำให้ประสิทธิภาพการถ่ายเทออกซิเจนระหว่างบรรยากาศและของเหลวลดลง นอกจากนี้ถ้ามีฟองมากจนล้นออกนอกถังหมัก ก่อให้เกิดการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นได้ง่าย สาเหตุที่เกิดฟองมาจากอากาศที่ถูกตีกวนจนเกิดฟองประกอบด้วยสารพวกโปรตีนที่ถูกขับออกมาจากเซลล์ที่ทำให้อาหารมีความหนืดสูงขึ้น สามารถกำจัดฟองได้โดยการตีฟองให้แตกด้วย Foam breaker ซึ่งเป็นใบพัดติดตั้งเหนือระดับอาหารเหลว ประกอบกับการเติมสาร Antifoam ซึ่งเป็นสารจำพวกลดแรงตึงผิวในปริมาณเล็กน้อย

ภาคผนวก จ  
กราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์

วิเคราะห์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (Bernfield, 1955)



รูปที่ จ.1 กราฟมาตรฐานแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 0-1 กรัมต่อลิตร

## ภาคผนวก ฉ

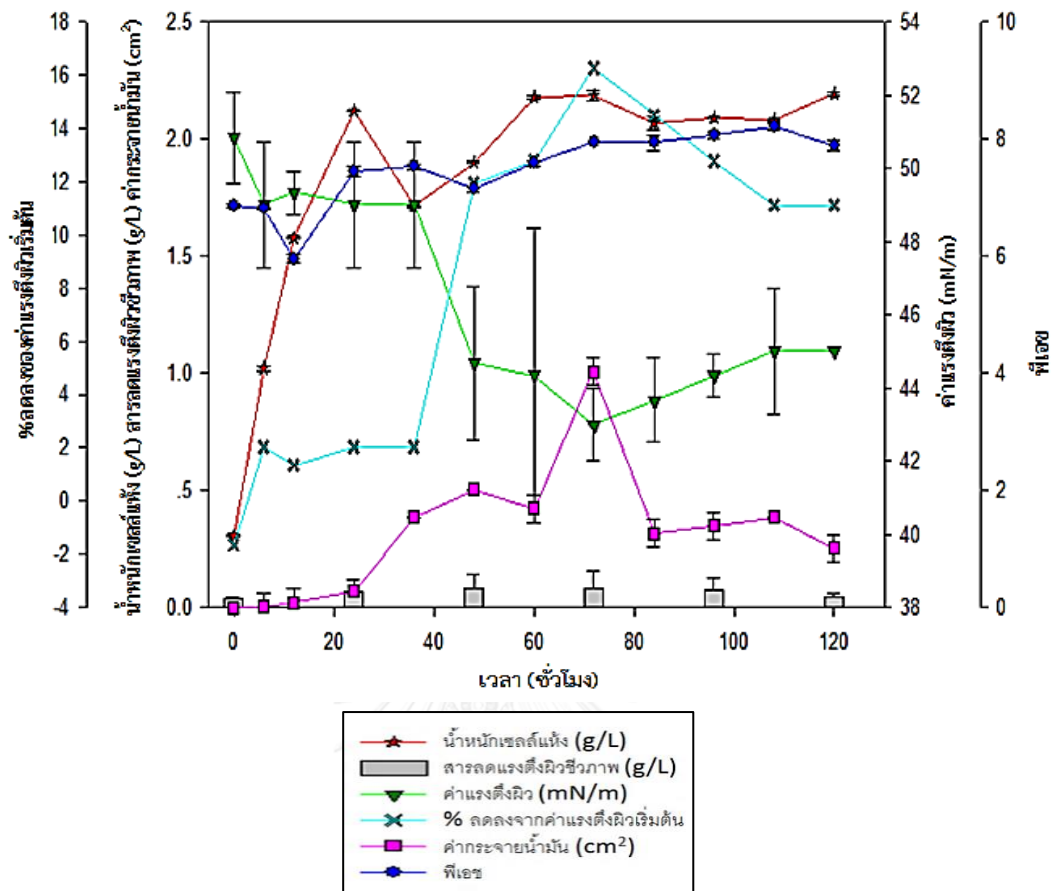
## การเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แบคทีเรียต่างๆ

ตารางที่ ฉ.1 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบคทีเรีย ที่ควบคุมอัตราการกวน 200 rpm อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/L)	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (g/L)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)	%ลดลงจากค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของอาหาร	ค่ากระจายน้ำมัน (cm <sup>2</sup> )	พีเอช
0	0.31±0.01	0.04±0.01	50.83±1.26	-1.64	0.00±0.00	6.87±0.03
6	1.02±0.01		49.00±1.73	2.04	0.00±0.06	6.82±0.01
12	1.58±0.01		49.33±0.58	1.35	0.02±0.06	5.96±0.08
24	2.12±0.00	0.07±0.05	49.00±1.73	2.04	0.07±0.00	7.45±0.10
36	1.71±0.00		49.00±1.73	2.04	0.38±0.00	7.53±0.04
48	1.90±0.01	0.08±0.06	44.67±2.08	11.94	0.50±0.00	7.15±0.04
60	2.18±0.01		44.33±4.04	12.78	0.42±0.06	7.59±0.04
72	2.19±0.02	0.09±0.07	43.00±1.00	16.28	1.01±0.06	7.94±0.00
84	2.07±0.03		43.67±1.15	14.50	0.31±0.06	7.94±0.12
96	2.09±0.00	0.07±0.06	44.33±0.58	12.78	0.35±0.06	8.06±0.06
108	2.08±0.00		45.00±1.73	11.11	0.38±0.00	8.22±0.06
120	2.19±0.01	0.05±0.02	45.00±0.00	11.11	0.25±0.06	7.88±0.08

หมายเหตุ ค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 50 mN/m



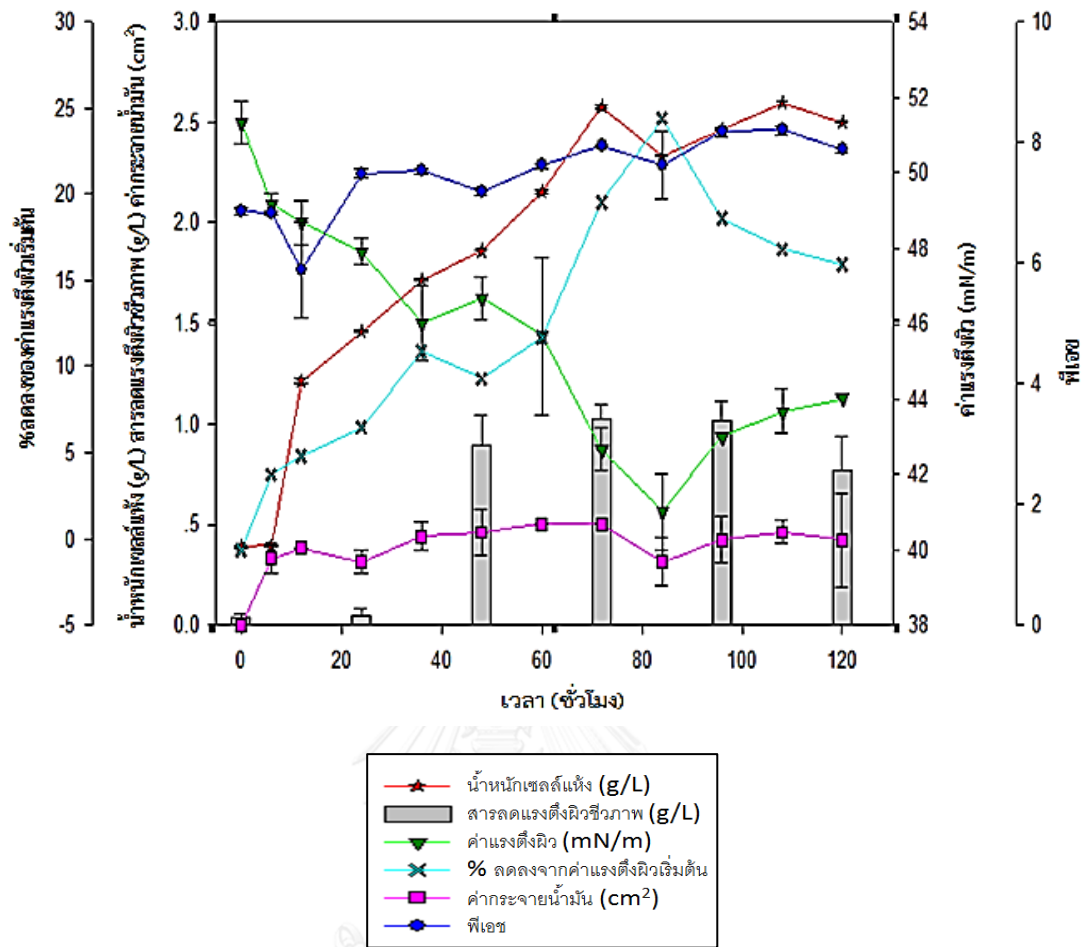


รูปที่ ๑.1 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 200 อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

**ตารางที่ ๑.2** การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 200 rpm อัตราการให้อากาศ 1 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนัก เซลล์แห้ง (g/L)	สารลดแรง ตึงผิวชีวภาพ (g/L)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)	%ลดลง จาก ค่าแรงตึง ผิว เริ่มต้น ของ อาหาร	ค่ากระจาย น้ำมัน (cm <sup>2</sup> )	พีไอช
0	0.39±0.01	0.03±0.02	51.33±0.58	-0.65	0.00±0.00	6.86±0.05
6	0.40±0.01		49.17±0.29	3.73	0.33±0.07	6.83±0.02
12	1.21±0.01		48.67±0.58	4.79	0.38±0.00	5.89±0.78
24	1.46±0.00	0.05±0.03	47.90±0.36	6.47	0.31±0.06	7.49±0.08
36	1.72±0.00		46.00±1.00	10.87	0.44±0.07	7.53±0.04
48	1.86±0.00	0.89±0.15	46.67±0.58	9.29	0.46±0.12	7.19±0.05
60	2.15±0.01		45.67±2.08	11.68	0.50±0.00	7.61±0.04
72	2.58±0.01	1.03±0.06	42.67±0.58	19.53	0.50±0.00	7.94±0.01
84	2.33±0.00		41.00±1.00	24.39	0.31±0.12	7.63±0.55
96	2.47±0.00	1.02±0.10	43.00±0.00	18.60	0.42±0.12	8.18±0.08
108	2.60±0.00		43.67±0.58	16.79	0.46±0.06	8.20±0.07
120	2.50±0.00	0.77±0.17	44.00±0.00	15.91	0.42±0.23	7.88±0.04

หมายเหตุ ค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 51 mN/m

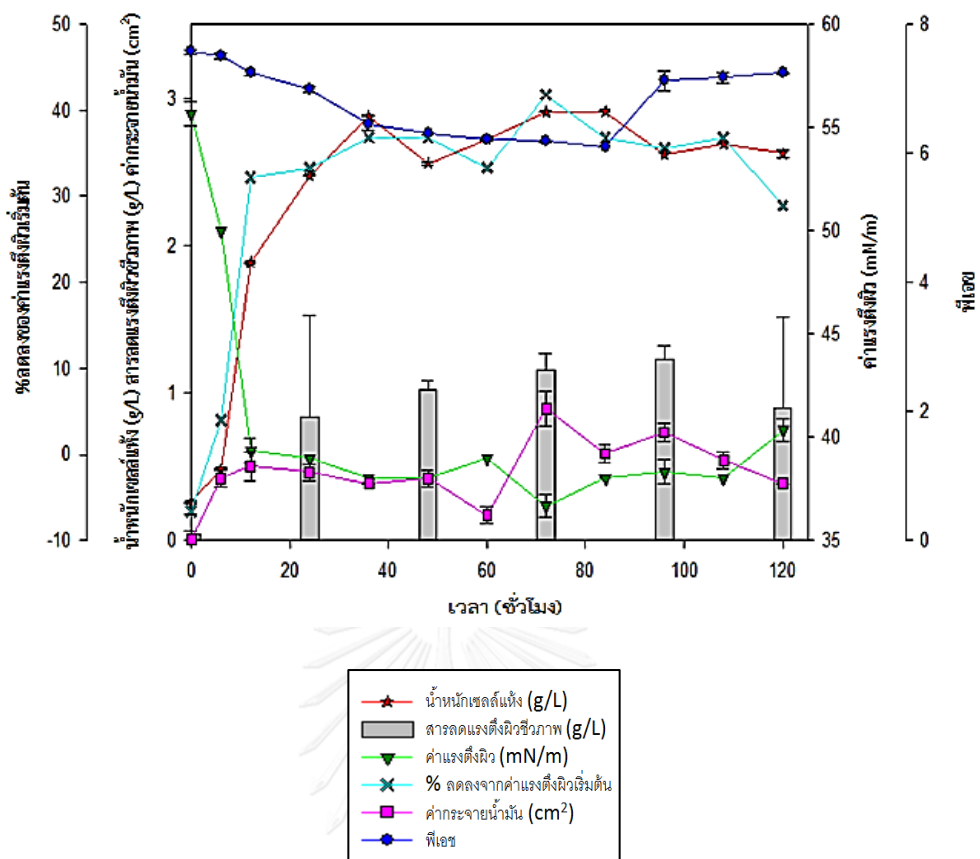


รูปที่ ๑.๒ ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพของ *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 200 อัตราการให้อากาศ 1 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

**ตารางที่ ๓.3** การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 200 rpm อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนัก เซลล์แห้ง (g/L)	สารลดแรง ตึงผิว ชีวภาพ (g/L)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)	%ลดลงจาก ค่าแรงตึงผิว เริ่มต้นของ อาหาร	ค่ากระจาย น้ำมัน (cm <sup>2</sup> )	พีเอช
0	0.26±0.00	0.04±0.03	55.7±0.58	-6.59	0.01±0.17	7.57±0.04
6	0.48±0.00		50.0±0.00	4.00	0.42±0.06	7.52±0.05
12	1.88±0.00		39.3±0.58	32.20	0.50±0.10	7.25±0.05
24	2.47±0.00	0.83±0.69	39.0±0.00	33.33	0.46±0.06	6.99±0.05
36	2.88±0.00		38.0±0.00	36.84	0.38±0.00	6.45±0.08
48	2.56±0.01	1.02±0.06	38.0±0.00	36.84	0.42±0.06	6.31±0.01
60	2.72±0.01		39.0±0.00	33.33	0.17±0.06	6.21±0.01
72	2.91±0.00	1.15±0.12	36.7±0.58	41.82	0.89±0.12	6.19±0.01
84	2.91±0.00		38.0±0.00	36.84	0.59±0.06	6.11±0.01
96	2.62±0.00	1.23±0.09	38.3±0.58	35.65	0.73±0.06	7.13±0.16
108	2.69±0.00		38.0±0.00	36.84	0.55±0.06	7.18±0.08
120	2.62±0.03	0.89±0.62	40.3±0.58	28.93	0.38±0.00	7.25±0.01

หมายเหตุ ค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 52 mN/m

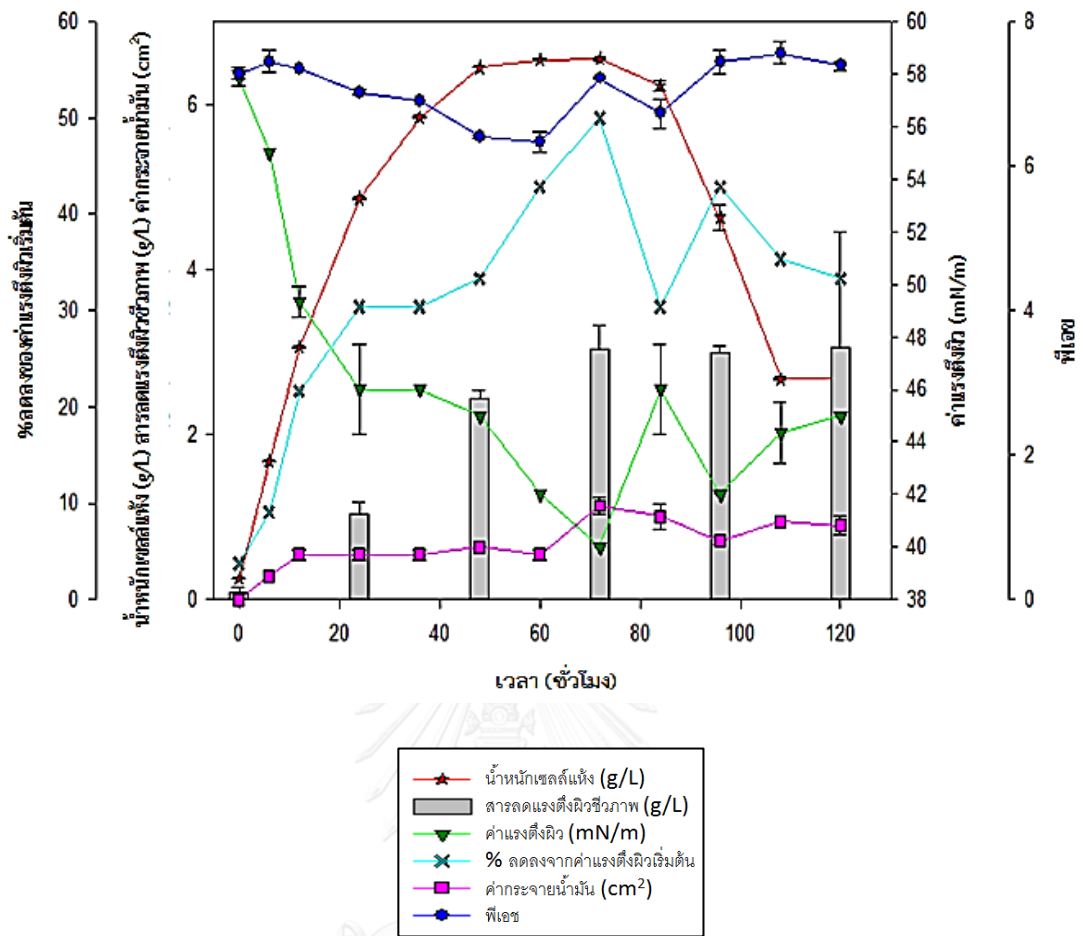


รูปที่ ๓.3 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 200 อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

**ตารางที่ ๑.4** การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 300 rpm อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนัก เซลล์แห้ง (g/L)	สารลดแรง ตึงผิว ชีวภาพ (g/L)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)	%ลดลง จาก ค่าแรงตึง ผิวเริ่มต้น ของ อาหาร	ค่ากระจาย น้ำมัน (cm <sup>2</sup> )	พีเอช
0	0.26±0.00	0.09±0.05	57.83±0.29	3.75	0.00±0.00	7.29±0.08
6	1.67±0.00		55.00±0.00	9.09	0.28±0.00	7.45±0.14
12	3.06±0.00		49.33±0.58	21.62	0.55±0.06	7.34±0.00
24	4.86±0.01	1.04±0.14	46.00±1.73	30.43	0.55±0.06	7.03±0.04
36	5.84±0.00		46.00±0.00	30.43	0.55±0.06	6.90±0.00
48	6.44±0.00	2.44±0.09	45.00±0.00	33.33	0.64±0.00	6.41±0.02
60	6.53±0.01		42.00±0.00	42.86	0.55±0.06	6.34±0.13
72	6.54±0.01	3.03±0.28	40.00±0.00	50.00	1.14±0.10	7.22±0.02
84	6.23±0.06		46.00±1.73	30.43	1.01±0.15	6.73±0.19
96	4.63±0.16	2.98±0.08	42.00±0.00	42.86	0.71±0.05	7.44±0.17
108	2.67±0.00		44.33±1.15	35.34	0.95±0.00	7.56±0.16
120	2.68±0.03	3.05±1.40	45.00±0.00	33.33	0.89±0.12	7.39±0.06

หมายเหตุ ค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 60 mN/m



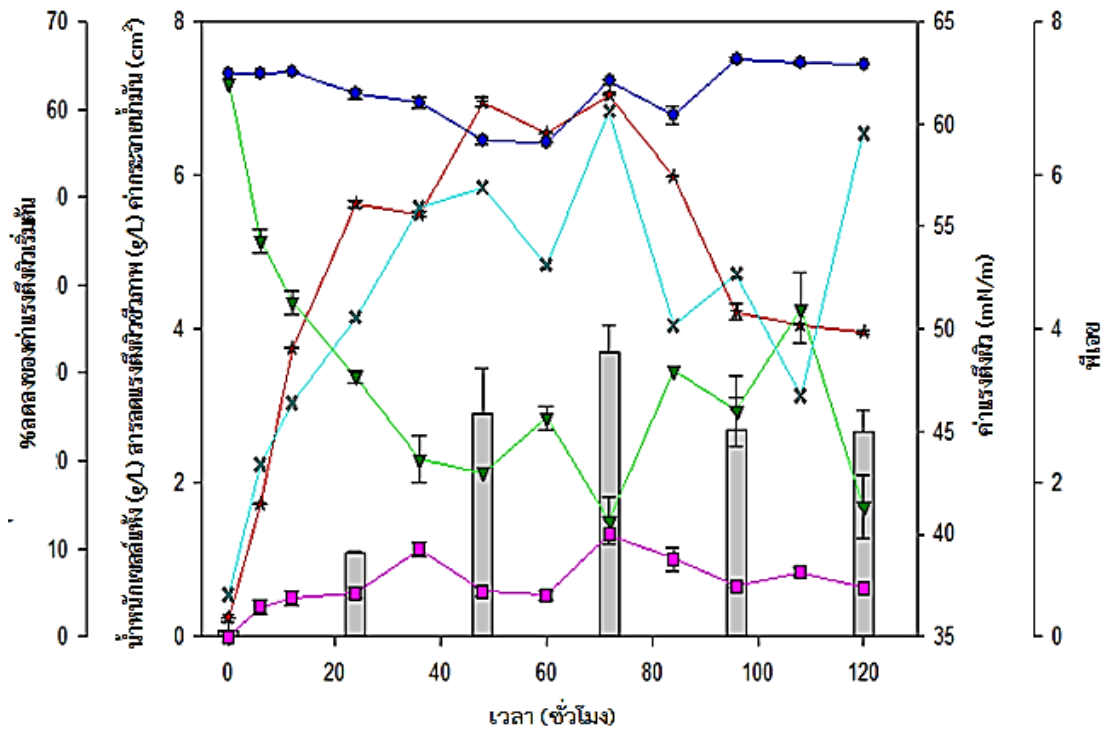
รูปที่ ๑.4 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 300 อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

**ตารางที่ ๑.5** การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 300 rpm อัตราการให้อากาศ 1 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนัก เซลล์แห้ง (g/L)	สารลดแรง ตึงผิว ชีวภาพ (g/L)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)	%ลดลงจาก ค่าแรงตึงผิว เริ่มต้นของ อาหาร	ค่ากระจาย น้ำมัน (cm <sup>2</sup> )	พีเอช
0	0.25±0.00	0.08±0.11	62.00±0.00	4.84	0.00±0.00	7.33±0.00
6	1.73±0.00		54.33±0.58	19.63	0.38±0.10	7.32±0.00
12	3.75±0.01		51.33±0.58	26.62	0.50±0.10	7.35±0.01
24	5.63±0.04	1.07±0.04	47.67±0.29	36.36	0.57±0.07	7.06±0.06
36	5.49±0.03		43.67±1.15	48.85	1.14±0.10	6.95±0.07
48	6.95±0.06	2.89±0.59	43.00±0.00	51.16	0.59±0.06	6.46±0.05
60	6.55±0.01		45.67±0.58	42.34	0.55±0.06	6.43±0.01
72	7.05±0.02	3.69±0.35	40.67±1.15	59.84	1.33±0.00	7.23±0.04
84	5.99±0.00		48.00±0.00	35.42	1.01±0.15	6.78±0.12
96	4.23±0.10	2.68±0.44	46.00±1.73	41.30	0.66±0.03	7.52±0.02
108	4.06±0.01		51.00±1.73	27.45	0.84±0.06	7.46±0.02
120	3.97±0.02	2.66±0.30	41.33±1.53	57.26	0.64±0.00	7.45±0.01

หมายเหตุ ค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 65 mN/m





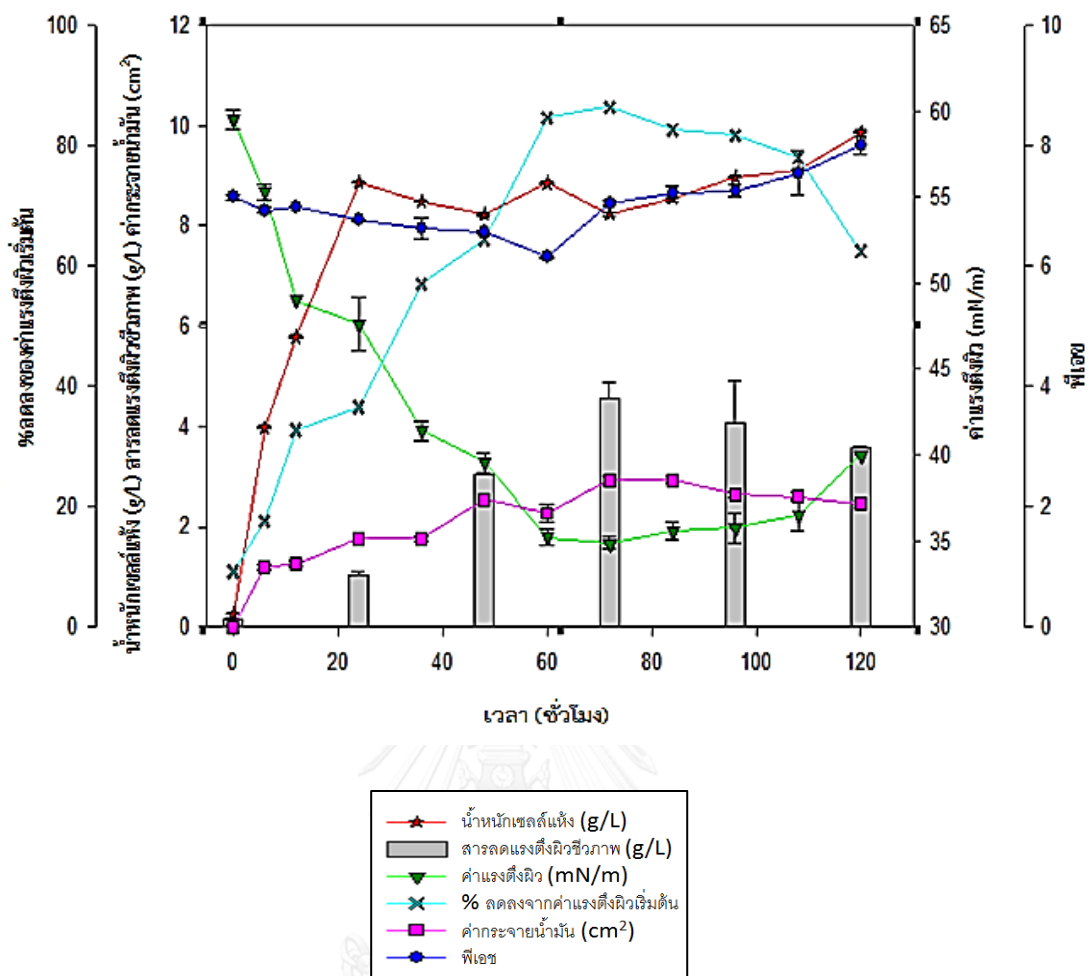
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ ๑.5 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 300 อัตราการให้อากาศ 1 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

**ตารางที่ ๑.6** การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 300 rpm อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนัก เซลล์แห้ง (g/L)	สารลดแรง ตึงผิว ชีวภาพ (g/L)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)	%ลดลง จากค่าแรง ตึงผิว เริ่มต้นของ อาหาร	ค่ากระจาย น้ำมัน (cm <sup>2</sup> )	พีเอช
0	0.26±0.00	0.15±0.04	59.50±0.58	9.24	0.00±0.05	7.15±0.04
6	3.97±0.01		55.29±0.49	17.57	1.19±0.05	6.93±0.04
12	5.78±0.01		49.00±0.00	32.65	1.26±0.05	6.99±0.00
24	8.87±0.02	1.04±0.06	47.60±1.52	36.55	1.77±0.00	6.77±0.01
36	8.48±0.00		41.40±0.55	57.00	1.77±0.05	6.63±0.17
48	8.23±0.02	3.04±0.02	39.56±0.53	64.33	2.54±0.00	6.56±0.03
60	8.85±0.03		35.20±0.45	84.66	2.27±0.17	6.14±0.01
72	8.24±0.03	4.55±0.32	34.88±0.35	86.38	2.93±0.09	7.05±0.06
84	8.55±0.00		35.59±0.50	82.64	2.93±0.06	7.2±0.14
96	8.98±0.00	4.05±0.84	35.77±0.87	81.72	2.64±0.05	7.25±0.10
108	9.10±0.00		36.50±0.93	78.08	2.59±0.08	7.55±0.37
120	9.87±0.01	3.56±0.05	40.00±0.00	62.50	2.45±0.07	8±0.14

หมายเหตุ ค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 65 mN/m

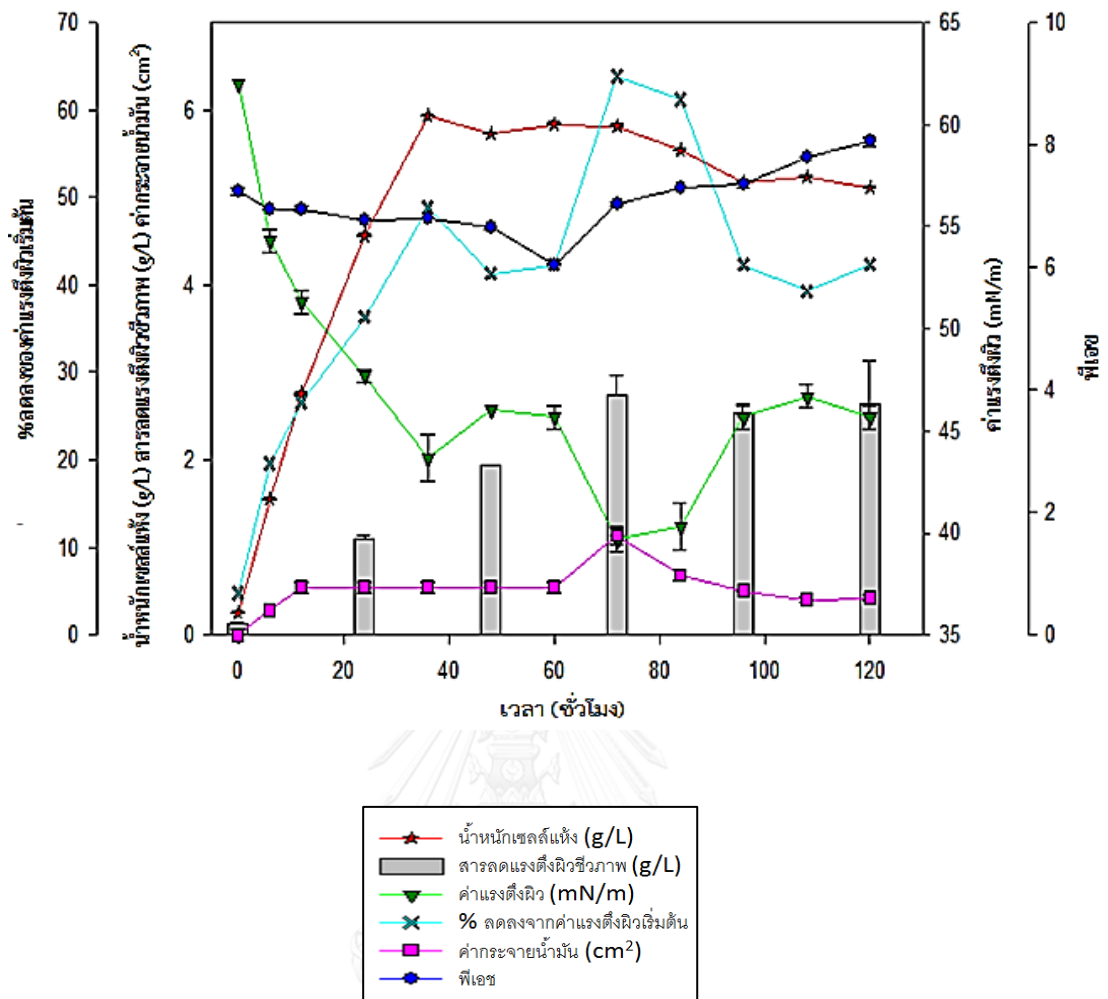


รูปที่ ๑.๖ ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 300 อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

**ตารางที่ ๑.7** การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 400 rpm อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนัก เซลล์แห้ง (g/L)	สารลดแรง ตึงผิว ชีวภาพ (g/L)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)	%ลดลง จาก ค่าแรงตึง ผิวเริ่มต้น ของ อาหาร	ค่ากระจาย น้ำมัน (cm <sup>2</sup> )	พีเอช
0	0.25±0.00	0.12±0.02	62.00±0.00	4.84	0.00±0.06	7.24±0.06
6	1.55±0.00		54.33±0.58	19.63	0.28±0.00	6.95±0.01
12	2.76±0.01		51.33±0.58	26.62	0.55±0.06	6.96±0.04
24	4.57±0.01	1.09±0.06	47.67±0.29	36.36	0.55±0.06	6.79±0.01
36	5.93±0.01		43.67±1.15	48.85	0.55±0.06	6.80±0.01
48	5.73±0.00	1.94±0.01	46.00±0.00	41.30	0.55±0.06	6.66±0.03
60	5.84±0.01		45.67±0.58	42.34	0.55±0.06	6.04±0.01
72	5.82±0.00	2.73±0.24	39.67±0.58	63.87	1.14±0.10	7.04±0.02
84	5.54±0.01		40.33±1.15	61.16	0.68±0.06	7.30±0.00
96	5.18±0.01	2.53±0.10	45.67±0.58	42.34	0.50±0.00	7.35±0.04
108	5.24±0.01		46.67±0.58	39.29	0.40±0.03	7.80±0.01
120	5.12±0.00	2.64±0.48	45.67±0.58	42.34	0.42±0.03	8.05±0.07

หมายเหตุ ค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 65 mN/m

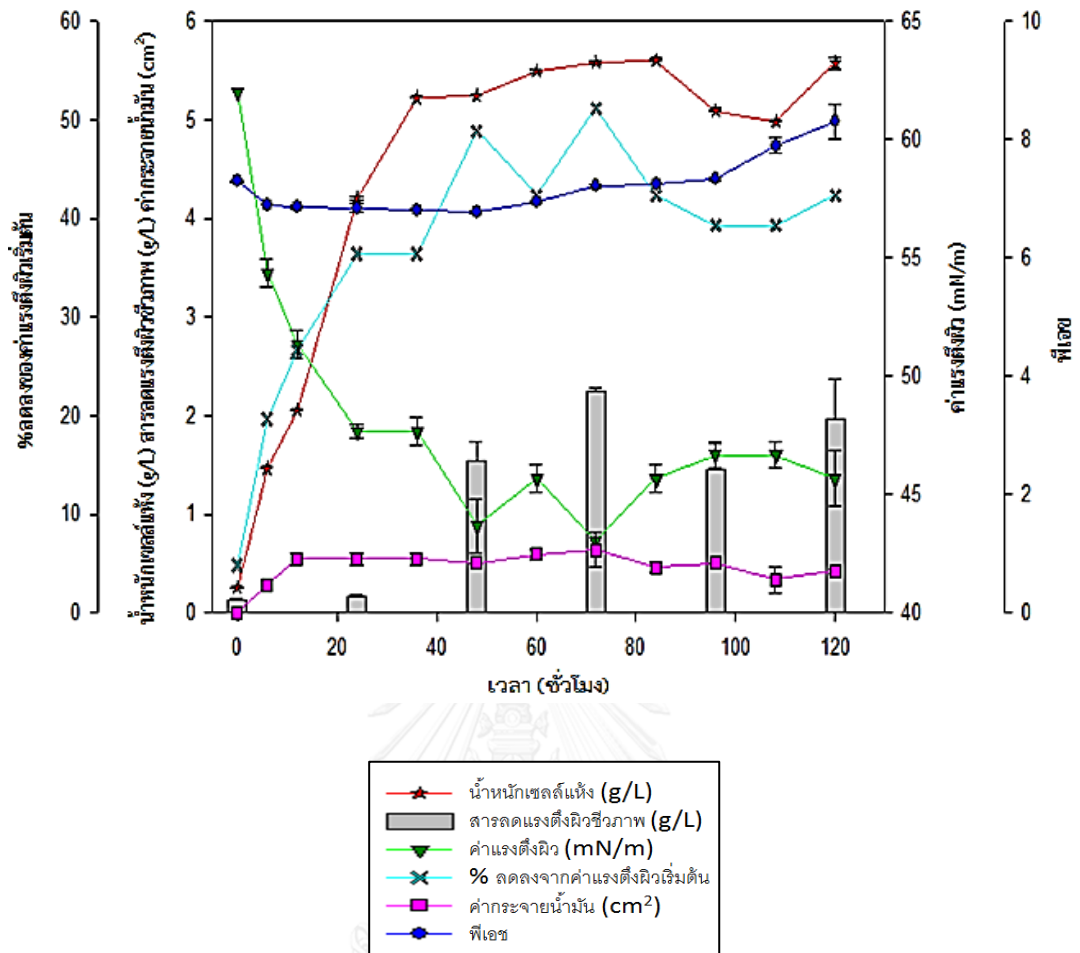


รูปที่ ๗.7 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *B. subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 400 อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

**ตารางที่ ๘.8** การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 400 rpm อัตราการให้อากาศ 1 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนัก เซลล์แห้ง (g/L)	สารลดแรง ตึงผิว ชีวภาพ (g/L)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)	%ลดลงจาก ค่าแรงตึงผิว เริ่มต้นของ อาหาร	ค่ากระจาย น้ำมัน (cm <sup>2</sup> )	พีเอช
0	0.25±0.00	0.12±0.02	62.00±0.00	4.84	0.00±0.00	7.29±0.01
6	1.46±0.00		54.33±0.58	19.63	0.28±0.00	6.90±0.00
12	2.06±0.00		51.33±0.58	26.62	0.55±0.06	6.86±0.04
24	4.21±0.01	0.16±0.03	47.67±0.29	36.36	0.55±0.06	6.84±0.08
36	5.22±0.00		47.67±0.58	36.36	0.55±0.06	6.82±0.01
48	5.24±0.00	1.54±0.20	43.67±1.15	48.85	0.50±0.00	6.76±0.03
60	5.50±0.02		45.67±0.58	42.34	0.59±0.06	6.94±0.01
72	5.58±0.01	2.24±0.04	43.00±0.00	51.16	0.64±0.17	7.22±0.02
84	5.60±0.01		45.67±0.58	42.34	0.46±0.06	7.25±0.00
96	5.10±0.00	1.46±0.26	46.67±0.58	39.29	0.50±0.00	7.34±0.02
108	4.98±0.00		46.67±0.58	39.29	0.33±0.13	7.90±0.13
120	5.57±0.06	1.96±0.40	45.67±1.15	42.34	0.42±0.03	8.30±0.28

หมายเหตุ ค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 65 mN/m



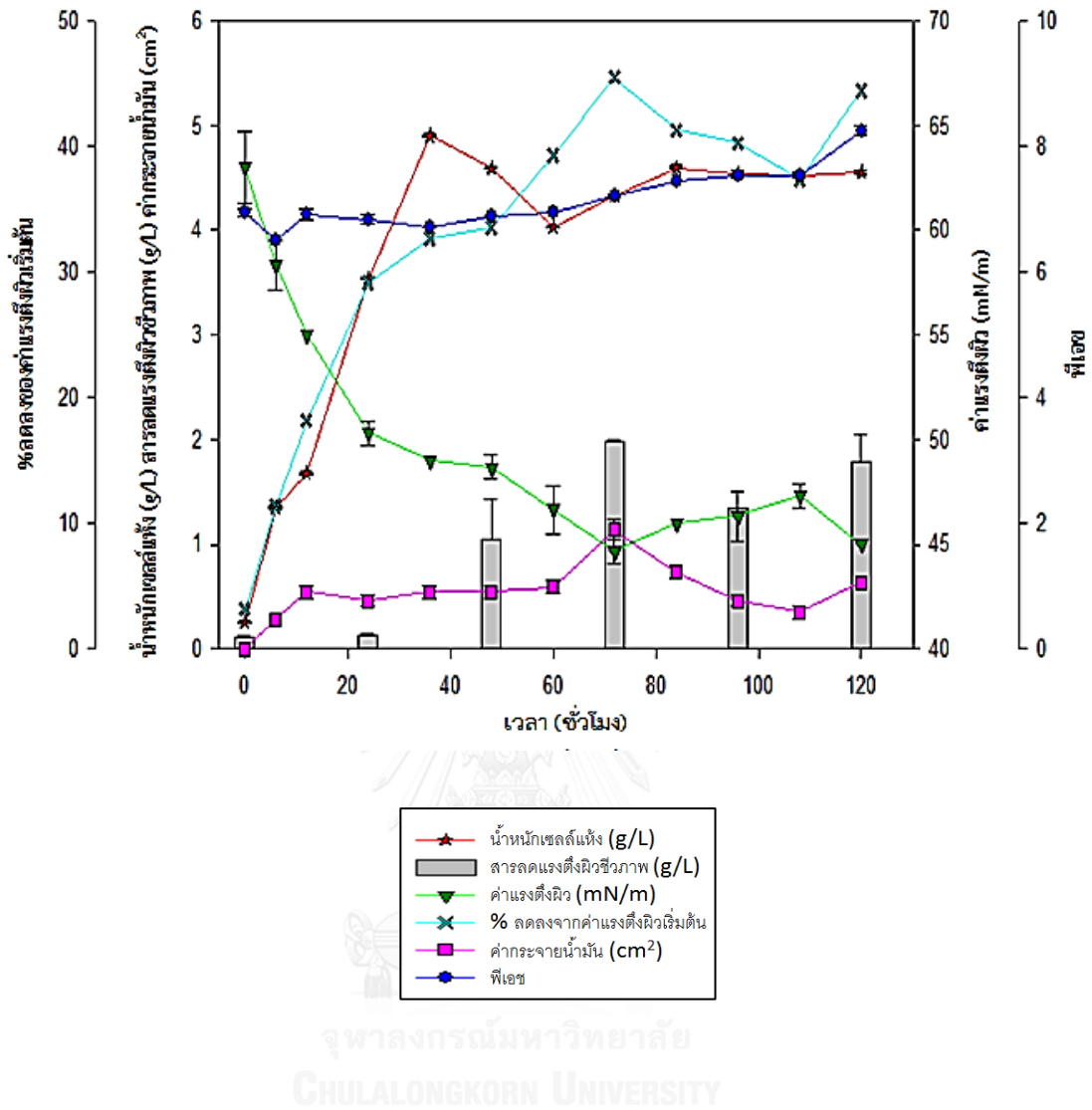
รูปที่ ๘.๘ ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 400 อัตราการให้อากาศ 1 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

**ตารางที่ ๑.๑** การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 400 rpm อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนัก เซลล์แห้ง (g/L)	สารลดแรง ตึงผิว ชีวภาพ (g/L)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)	%ลดลงจาก ค่าแรงตึงผิว เริ่มต้นของ อาหาร	ค่ากระจาย น้ำมัน (cm <sup>2</sup> )	พีเอช
0	0.25±0.00	0.11±0.02	63.00±1.73	3.17	0.00±0.00	6.94±0.06
6	1.35±0.01		58.33±1.15	11.43	0.28±0.00	6.50±0.00
12	1.68±0.01		55.00±0.00	18.18	0.55±0.06	6.92±0.10
24	3.54±0.01	0.13±0.01	50.33±0.58	29.14	0.46±0.06	6.84±0.08
36	4.90±0.01		49.00±0.00	32.65	0.55±0.06	6.72±0.01
48	4.59±0.00	1.04±0.39	48.67±0.58	33.56	0.55±0.06	6.89±0.01
60	4.03±0.00		46.67±1.15	39.29	0.59±0.06	6.95±0.00
72	4.33±0.01	1.98±0.01	44.67±0.58	45.52	1.14±0.10	7.22±0.02
84	4.60±0.01		46.00±0.00	41.30	0.73±0.06	7.45±0.00
96	4.55±0.02	1.34±0.16	46.33±1.15	40.29	0.46±0.06	7.54±0.02
108	4.53±0.01		47.33±0.58	37.32	0.35±0.06	7.55±0.06
120	4.56±0.02	1.79±0.26	45.00±0.00	44.44	0.64±0.00	8.25±0.07

หมายเหตุ ค่าแรงตึงผิวเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 65 mN/m





รูปที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *B.subtilis* BBK-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ ที่ควบคุมอัตราการกวน 400 อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

### ภาคผนวก ข

#### ผลของการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อการผลิตเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์

ตารางที่ ข.1 แสดงสมบัติของสารละลายเจลาตินและสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75 (% น้ำหนักต่อปริมาตร)

องค์ประกอบในสารละลาย	ค่า pH	ค่าความนำไฟฟ้า (mS/cm)	ค่าความหนืด (cP)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)
GE	2.85±0.02 <sup>a</sup>	1.27±0.02 <sup>d</sup>	384.34±2.87 <sup>a</sup>	43.10±0.89 <sup>a</sup>
GE+ BS 12.5 (%w/v)	2.78±0.00 <sup>b</sup>	2.51±0.09 <sup>c</sup>	184.18±4.58 <sup>b</sup>	37.10±0.61 <sup>b</sup>
GE+ BS 25 (%w/v)	2.75±0.03 <sup>b</sup>	2.46±0.02 <sup>c</sup>	183.30±1.30 <sup>b</sup>	36.20±0.45 <sup>c</sup>
GE+ BS 50 (%w/v)	2.56±0.04 <sup>c</sup>	2.85±0.03 <sup>b</sup>	167.12±1.86 <sup>c</sup>	35.80±0.45 <sup>c</sup>
GE+ BS 75 (%w/v)	2.25±0.03 <sup>d</sup>	3.02±0.16 <sup>a</sup>	166.8±1.30 <sup>c</sup>	36.00±0.00 <sup>c</sup>

#### หมายเหตุ

GE หมายถึง เจลาติน , BS หมายถึง สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ , (%w/v) หมายถึง % (น้ำหนัก/ปริมาตร)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี one-way ANOVA

ตารางที่ ข.2 แสดงขนาดของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่ทำงานจากสารละลายเจลาตินและสารละลายเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 75 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการสปินเป็นเวลา 5 นาที และผ่านการเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตารัลดีไฮด์ที่ระยะเวลา 10 และ 30 นาที

องค์ประกอบในสารละลาย	ระยะเวลาในการเชื่อมขวาง (นาที)	ขนาดเส้นใย (นาโนเมตร)
GE	-	304.87±48.16 <sup>c</sup>
GE	10	339.07±64.18 <sup>b</sup>
GE	30	428.57±47.13 <sup>a</sup>
GE+ BS 12.5 (%w/v)	-	127.40±21.92 <sup>f</sup>
GE+ BS 12.5 (%w/v)	10	207.92±52.77 <sup>d</sup>
GE+ BS 12.5 (%w/v)	30	201.25±124.93 <sup>d</sup>
GE+ BS 25 (%w/v)	-	128.78±32.69 <sup>f</sup>
GE+ BS 25 (%w/v)	10	159.07±43.10 <sup>e</sup>
GE+ BS 25 (%w/v)	30	195.15±79.52 <sup>d</sup>
GE+ BS 50 (%w/v)	-	127.21.50.33 <sup>f</sup>
GE+ BS 50 (%w/v)	10	194.13±86.52 <sup>d</sup>
GE+ BS 50 (%w/v)	30	210.04.73.07 <sup>d</sup>
GE+ BS 75 (%w/v)	-	ไม่เป็นเส้นใย
GE+ BS 75 (%w/v)	10	ไม่เป็นเส้นใย
GE+ BS 75 (%w/v)	30	ไม่เป็นเส้นใย

#### หมายเหตุ

GE หมายถึง เจลาติน , BS หมายถึง สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ , (%w/v) หมายถึง % (น้ำหนัก/ปริมาตร)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี one-way ANOVA

**ตารางที่ ข.3** แสดงขนาดความหนา ความต้านทานแรงดึง (tensile strength) และ เปอร์เซ็นต์ความยืดที่จุดขาด (% elongation) ของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการสปินเป็นเวลา 72 นาที และนำแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตารัลดีไฮด์ที่ระยะเวลา 10 และ 30 นาที

องค์ประกอบ	ระยะเวลาในการเชื่อมขวาง(นาที)	ความหนา (ไมโครเมตร)	ความต้านทานแรงดึง (เมกะปาสคาล)	% ความยืดที่จุดขาด
GE	-	284.4±0.07 <sup>a</sup>	1.30±0.13 <sup>bcd</sup>	0.89±0.28 <sup>a</sup>
GE	10	332.7±0.06 <sup>a</sup>	1.98±0.67 <sup>b</sup>	4.79±2.12 <sup>a</sup>
GE	30	382.8±0.03 <sup>a</sup>	4.50±0.00 <sup>a</sup>	5.79±0.00 <sup>a</sup>
GE+ %12.5BS	-	122.6±0.02 <sup>b</sup>	0.87±0.40 <sup>cd</sup>	0.94±1.06 <sup>a</sup>
GE+ %12.5BS	10	169.3±0.02 <sup>b</sup>	1.44±0.19 <sup>bcd</sup>	3.39±1.13 <sup>a</sup>
GE+ %12.5BS	30	308±0.09 <sup>a</sup>	1.76±0.29 <sup>bc</sup>	6.99±6.22 <sup>a</sup>
GE+ %25BS	-	102.9±0.01 <sup>b</sup>	0.63±0.16 <sup>d</sup>	2.59±3.11 <sup>a</sup>
GE+ %25BS	10	168.7±0.05 <sup>b</sup>	1.12±0.94 <sup>bcd</sup>	3.94±3.18 <sup>a</sup>
GE+ %25BS	30	331.9±0.05 <sup>a</sup>	1.35±0.00 <sup>bcd</sup>	5.59±1.98 <sup>a</sup>

#### หมายเหตุ

GE หมายถึง เจลาติน , BS หมายถึง สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี one-way ANOVA

**ตารางที่ ข.4** แสดงเปอร์เซ็นต์บวมพองและเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปของแผ่นเส้นใยหลังจากสัมผัสน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการสปินเป็นเวลา 72 นาที และนำแผ่นเส้นใยไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยไอของกลูตาแรลดีไฮด์ที่ระยะเวลา 10 และ 30 นาที

ชนิดแผ่นเส้นใย	ระยะเวลาในการเชื่อมขวาง(นาที)	เปอร์เซ็นต์บวมพอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไป
GE	-	ไม่สามารถวัดได้	ไม่สามารถวัดได้
GE	10	378.75±16.75 <sup>b</sup>	2.41±0.79 <sup>bc</sup>
GE	30	337.62±9.23 <sup>d</sup>	1.36±0.59 <sup>c</sup>
GE+ %12.5BS	-	ไม่สามารถวัดได้	ไม่สามารถวัดได้
GE+ %12.5BS	10	367.28±17.75 <sup>bc</sup>	11.98±3.86 <sup>a</sup>
GE+ %12.5BS	30	347.88±12.39 <sup>cd</sup>	5.79±2.62 <sup>ab</sup>
GE+ %25BS	-	ไม่สามารถวัดได้	ไม่สามารถวัดได้
GE+ %25BS	10	411.69±12.33 <sup>a</sup>	8.10±1.67 <sup>a</sup>
GE+ %25BS	30	383.03±12.96 <sup>b</sup>	3.32±2.48 <sup>bc</sup>
แผ่นแปะสวียี่บริษัท 3M	-	81.34±12.02 <sup>e</sup>	4.27±1.41 <sup>c</sup>

#### หมายเหตุ

GE หมายถึง เจลาติน , BS หมายถึง สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี one-way ANOVA

**ตารางที่ ข.5** แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *S.aureus* ATCC 6538P ที่เวลาต่างๆ เมื่อเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชั่วโมง	ชุดควบคุม	BS	แผ่น GE	แผ่น GE+12.5%BS	แผ่น GE + 25%BS
0	100.00±0.15	100.00±0.56	100.00±0.56	100.00±0.42	100.00±0.44
2	100.41±0.12	43.44±0.42	98.34±0.23	92.82±0.74	102.14±1.07
4	98.86±0.05	42.59±0.32	98.22±0.29	94.55±0.97	92.61±0.89
8	114.12±0.15	35.94±0.28	114.47±0.05	109.00±0.49	80.35±0.47
12	127.99±0.88	20.10±0.42	129.54±0.50	120.47±0.82	79.41±0.35
24	150.39±0.08	2.23±0.21	155.78±0.54	138.63±1.45	63.50±0.59
48	152.58±0.03	5.78±0.12	157.12±0.64	147.28±0.26	90.43±0.61

หมายเหตุ ชุดควบคุม คือ ไม่มีการเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนใดๆ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

BS คือ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพอิสระ ที่ปริมาณสารเท่ากับที่เติมลงไปแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)

**ตารางที่ ข.6** แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *S.aureus* ATCC 6538P ที่เวลาต่างๆ เมื่อเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และผ่านการเชื่อมขวางด้วยไอกลูตาราลดีไฮด์เป็นเวลา 10 และ 30 นาที ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชั่วโมง	ชุดควบคุม	แผ่น GE ผ่านการเชื่อมขวาง		แผ่น GE+12.5%BS ผ่านการเชื่อมขวาง		แผ่น GE + 25%BS ผ่านการเชื่อมขวาง	
		10 นาที	30 นาที	10 นาที	30 นาที	10 นาที	30 นาที
0	100.00 ±0.15	100.00 ±0.15	100.00 ±0.31	100.00 ±0.06	100.00 ±0.00	100.00 ±0.09	100.00 ±0.33
2	100.41 ±0.12	97.20 ±0.06	98.34 ±0.40	101.65 ±0.06	94.16 ±0.64	102.84 ±0.74	93.56 ±0.69
4	98.86 ±0.05	96.47 ±0.05	100.90 ±0.31	99.17 ±0.71	99.57 ±1.55	97.18 ±0.75	89.74 ±0.12
8	114.12 ±0.15	110.25 ±0.13	100.16 ±0.88	109.33 ±0.45	93.02 ±0.81	86.98 ±0.25	83.71 ±0.68
12	127.99 ±0.88	124.89 ±0.88	94.77 ±1.07	109.03 ±0.65	94.33 ±0.73	88.51 ±0.16	84.98 ±0.11
24	150.39 ±0.08	146.75 ±0.08	119.78 ±0.18	139.99 ±0.56	109.28 ±1.39	84.67 ±1.70	78.19 ±0.78
48	152.58 ±0.03	148.96 ±0.04	128.92 ±0.71	142.20 ±0.35	121.46 ±0.05	96.07 ±0.91	81.90 ±1.61

หมายเหตุ ชุดควบคุม คือ ไม่มีการเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนใดๆ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ตารางที่ ข.7 แสดงจำนวนเชื้อ log cfu/ml ของ *S.aureus* ATCC 6538P ที่เวลาต่างๆ เมื่อเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชั่วโมง	ชุดควบคุม	BS	แผ่น GE	แผ่น GE+12.5%BS	แผ่น GE + 25%BS
0	6.50±0.15	6.74±0.56	6.74±0.56	6.59±0.42	7.06±0.44
2	6.53±0.12	2.93±0.42	6.62±0.23	6.11±0.74	7.21±1.07
4	6.43±0.05	2.87±0.32	6.62±0.29	6.23±0.97	6.54±0.89
8	7.42±0.15	2.42±0.28	7.71±0.05	7.18±0.49	5.67±0.47
12	8.32±0.88	1.35±0.42	8.73±0.50	7.93±0.82	5.60±0.35
24	9.78±0.08	0.15±0.21	10.49±0.54	9.13±1.45	4.48±0.59
48	9.92±0.03	0.39±0.12	10.58±0.64	9.70±0.26	6.38±0.61

หมายเหตุ ชุดควบคุม คือ ไม่มีการเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ใดๆ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

BS คือ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพอิสระ ที่ปริมาณสารเท่ากับที่เติมลงไปแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 12.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)



**ตารางที่ ข.8** แสดงจำนวนเชื้อ log cfu/ml ของ *S.aureus* ATCC 6538P ที่เวลาต่างๆ เมื่อเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนเจลาตินและแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนเจลาตินที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 12.5 และ 25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ผ่านการเชื่อมขวางเวลาต่างๆ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชั่วโมง	ชุดควบคุม	แผ่น GE		แผ่น GE+12.5%BS		แผ่น GE + 25%BS	
		ผ่านการเชื่อมขวาง		ผ่านการเชื่อมขวาง		ผ่านการเชื่อมขวาง	
		10 นาที	30 นาที	10 นาที	30 นาที	10 นาที	30 นาที
0	6.50 ±0.15	6.67 ±0.15	6.56 ±0.31	6.82 ±0.06	6.84 ±0.00	6.57 ±0.09	6.49 ±0.33
2	6.53 ±0.12	6.48 ±0.06	6.45 ±0.40	6.94 ±0.06	6.44 ±0.64	6.76 ±0.74	6.07 ±0.69
4	6.43 ±0.05	6.43 ±0.05	6.62 ±0.31	6.77 ±0.71	6.81 ±1.55	6.39 ±0.75	5.82 ±0.12
8	7.42 ±0.15	7.35 ±0.13	6.57 ±0.88	7.46 ±0.45	6.36 ±0.81	5.72 ±0.25	5.43 ±0.68
12	8.32 ±0.88	8.32 ±0.88	6.21 ±1.07	7.44 ±0.65	6.45 ±0.73	5.82 ±0.16	5.51 ±0.11
24	9.78 ±0.08	9.78 ±0.08	7.85 ±0.18	9.55 ±0.56	7.48 ±1.39	5.57 ±1.70	5.07 ±0.78
48	9.92 ±0.03	9.93 ±0.04	8.45 ±0.71	9.70 ±0.35	8.31 ±0.05	6.32 ±0.91	5.31 ±1.61

หมายเหตุ ชุดควบคุม คือ ไม่มีการเติมแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปนใดๆ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว ทิพนีภา อยู่แฉ่ง เกิดวันที่ 25 มกราคม พ.ศ. 2534 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต เกียรตินิยมอันดับสอง ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2555 และเข้ารับการศึกษต่อในระดับปริญญาโทที่ภาควิชาจุลชีววิทยา สาขาวิชาจุลชีววิทยาและเทคโนโลยีจุลินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2556

#### ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่

ส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ได้เข้าร่วมเสนอผลงานในการประชุมทางวิชาการระดับนานาชาติในงาน The 27 th Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference Innovative Biotechnology ระหว่างวันที่ 17-20 พฤศจิกายน 2558 ณ โรงแรมแมนดาริน จังหวัดกรุงเทพฯ ในหัวข้อเรื่อง Optimization of lipopeptide biosurfactant production by *Bacillus subtilis* BBK-1 in 5-L batch bioreactor