

ฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบด้วยไคโตซานสำหรับประยุกต์เป็น
แผ่นปิดแผล



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ สาขาวิชาปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

COMPOSITE FILMS OF SCOBY CELLULOSE/HYDROLYZED COLLAGEN COATED WITH
CHITOSAN FOR WOUND DRESSING APPLICATIONS



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Petrochemistry and Polymer Science
Field of Study of Petrochemistry and Polymer Science

FACULTY OF SCIENCE

Chulalongkorn University

Academic Year 2021

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบด้วยไคโตซานสำหรับประยุกต์เป็นแผ่นปิดแผล
โดย	น.ส.พันธิตรา ยาแก้ว
สาขาวิชา	ปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.ภาวี ศรีกุลกิจ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....	คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	
.....	ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)	
.....	อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.ภาวี ศรีกุลกิจ)	
.....	กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ โฮวัฒน์)	
.....	กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สิริรัตน์ จารุจินดา)	

6072226023 : MAJOR PETROCHEMISTRY AND POLYMER SCIENCE

KEYWORD: SCOPY Bacterial cellulose/hydrolyzed collagen film, chitosan coating
Pantitra Yakaew : COMPOSITE FILMS OF SCOPY CELLULOSE/HYDROLYZED
COLLAGEN COATED WITH CHITOSAN FOR WOUND DRESSING
APPLICATIONS. Advisor: Assoc. Prof. KAWEE SRIKULKIT, Ph.D.

SCOPY Bacterial Cellulose (BC) is a biocompatible polymer comprising various properties including purity, mechanical strength, water absorptivity, and non-toxicity which is suitable for wound dressing application. In this study, SCOPY BC/hydrolyzed collagen (HC) blend films at the BC:HC wt% ratios of 90:10, 80:20, and 70:30 in the presence of 5 wt% glycerol as a plasticizer were prepared by mechanical blending and casting. Finally, dried films were coated with 1%(w/v) acidic chitosan solution, resulting in flexible and resilient films. Characterizations of chitosan coated blend films were carried out using FTIR, SEM and TGA analyses. The finding results showed that chitosan layer adhered firmly onto BC surface due to intermolecular hydrogen bonding interaction. The antibacterial activity test revealed that chitosan coated BC/HC films exhibited antibacterial activity. Moreover, the composite film was loaded with ascorbic acid in 0.1 M phosphate buffer solution (PBS, pH 7.4) by immersion for 12 h. Cumulative release of ascorbic acid was investigated using UV-Vis spectroscopy. The results showed that composite films not only preserved the active ascorbic acid but also controlled the releasing performance of ascorbic acid. Therefore, it could be concluded that the designed composite films are novel for active wound dressing application.

Field of Study: Petrochemistry and
Polymer Science

Student's Signature

Academic Year: 2021

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้อย่างสมบูรณ์เป็นเพราะได้รับความร่วมมือจากบุคคลหลายท่าน ทั้งคำแนะนำทางวิชาการ ความเอื้อเฟื้อในด้านเครื่องมือ วัสดุดิบ และสถานที่ทำวิทยานิพนธ์อีกทั้งยังได้รับความช่วยเหลือและแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์จากผู้ทรงคุณวุฒิด้านต่าง ๆ เป็นอย่างดี ข้าพเจ้าจึงใคร่ขอขอบคุณบุคคล และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

รองศาสตราจารย์ ดร.กาวิ ศรีกุลกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ให้โอกาสผู้วิจัยในการทำวิจัยครั้งนี้รวมทั้งให้ความรู้คำปรึกษา คำแนะนำและสนับสนุนในการทำจัดหาวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำวิจัย ตลอดจนการช่วยเหลือเอาใจใส่ดูแล และจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์เป็นอย่างดีมาโดยตลอด

ศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข ที่ให้ความกรุณาสละเวลามาเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ โยვნ่น และ รองศาสตราจารย์ ดร.สิริรัตน์ จารุจินดา ที่ให้ความกรุณาสละเวลาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ตลอดจนให้คำแนะนำและความรู้เพิ่มเติมเป็นอย่างดีมาโดยตลอดในการจัดทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ทำวิจัย

รุ่นพี่ เพื่อน บุคลากร ในหลักสูตรปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์และภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่คอยให้คำปรึกษาและช่วยเหลือเอื้อเฟื้อเพื่อการเรียนและการทำวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวที่ให้การสนับสนุน และคอยให้กำลังใจในการทำวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีอีกทั้งอาจารย์ทุกท่านที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทความรู้ให้แก่ข้าพเจ้าจนสามารถสรรสร้างวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จ

พนัชิตรา ยาแก้ว

สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	1
สารบัญรูปภาพ.....	1
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ขอบเขตการดำเนินงานวิจัย.....	2
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 วารสารปริทรรศน์.....	3
2.1 แบคทีเรียลเซลลูโลส.....	3
2.2 ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน.....	4
2.3 ไคโตซาน.....	7
2.4 แอสคอร์บิกแอซิด.....	8
2.5 ไฮโดรเจล.....	9
2.6 บาดแผล.....	9
2.7 การหายของบาดแผล (Wound healing).....	10

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	13
บทที่ 3 วิธีการทดลอง.....	19
3.1 วัตถุประสงค์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	19
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	19
3.2.1 เครื่องมือวิเคราะห์และทดสอบสมบัติ	20
3.3 ขอบเขตการทดลอง	23
3.4 ขั้นตอนการทดลอง	24
3.4.1 การเพาะเลี้ยงสโคมบี้แบคทีเรียลเซลลูโลส	24
3.4.2 การเตรียมฟิล์มคอมพอสิตสโคมบี้แบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซาน.....	24
3.5 การวิเคราะห์และทดสอบสมบัติ.....	25
3.5.1 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค ATR-FTIR.....	25
3.5.2 การทดสอบสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM)	25
3.5.3 การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA	25
3.5.4 การทดสอบสมบัติเชิงกล.....	25
3.5.5 การทดสอบสมบัติการดูดซึมน้ำ.....	26
3.5.6 การทดสอบสมบัติการต้านแบคทีเรียตามมาตรฐาน AATCC TM 147	26
3.5.7 การทดสอบการดูดซึมน้ำและปลดปล่อยยา.....	26
3.5.7.1 ประสิทธิภาพการกักเก็บยาของฟิล์มคอมพอสิต.....	26
3.5.7.2 การเตรียมกราฟมาตรฐาน (calibration curve).....	27
3.5.7.3 การศึกษาการปลดปล่อยยา.....	28
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	29
4.1 ลักษณะทางกายภาพของสโคมบี้แบคทีเรียลเซลลูโลสและฟิล์มสโคมบี้แบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซาน	29

4.1.1	ลักษณะทางกายภาพของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส	29
4.1.2	ลักษณะทางกายภาพของฟิล์มสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบ โคโตซาน	29
4.2	ผลการวิเคราะห์และทดสอบสมบัติของฟิล์มคอมพอสิตสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์ คอลลาเจนเคลือบโคโตซาน	32
4.2.1	ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของฟิล์มด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด สเปกโทรสโคปี (ATR-FTIR).....	32
4.2.2	ผลการวิเคราะห์สัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด(SEM)...	34
4.2.3	ผลการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA.....	35
4.2.4	ผลทดสอบสมบัติเชิงกล	40
4.2.5	ผลสมบัติการดูดซึมน้ำ	43
4.2.6	ผลสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยมาตรฐาน AATCC TM 147	45
4.2.7	ผลการทดสอบการกักเก็บและปลดปล่อยยา.....	46
4.2.7.1	ผลประสิทธิภาพการกักเก็บยาของฟิล์มคอมพอสิต	46
4.2.7.2	ผลการศึกษาการปลดปล่อยยาด้วยเทคนิค UV- spectrophotometry	48
บทที่ 5	สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	52
5.1	สรุปผลการทดลอง.....	52
5.2	ข้อเสนอแนะ	53
บรรณานุกรม.....		54
ประวัติผู้เขียน.....		59

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 สมบัติของคอลลาเจนชนิดดั้งเดิมและไฮโดรไลซ์คอลลาเจน.....	7
ตารางที่ 3.1 สูตรการเตรียมฟิล์มคอมพอสิต.....	25
ตารางที่ 4.1 ตำแหน่งเลขคลื่นเอกลักษณ์ของหมู่ฟังก์ชันที่ปรากฏในสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน และไคโตซาน.....	34
ตารางที่ 4.2 อุณหภูมิการสลายตัวของฟิล์มคอมพอสิต.....	40
ตารางที่ 4.3 สมบัติเชิงกลของของขึ้นทดสอบ.....	42
ตารางที่ 4.4 บริเวณยับยั้งการเจริญ (Clear zone of inhibition) ของ <i>Staphylococcus aureus</i>	46
ตารางที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงของแอสคอร์บิกแอซิดในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต pH 7.4 ที่ความยาวคลื่น 265 nm.....	48

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 2.1	แบคทีเรียลเซลลูโลส [6]	4
รูปที่ 2.2	การสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลลูโลสภายในไซโตพลาสซึม	4
รูปที่ 2.3	โครงสร้างคอลลาเจนที่เกิดจากสายพอลิเพปไทด์สามสายพันกันเป็นเกลียว [9].....	5
รูปที่ 2.4	การเสียสภาพของสายคอลลาเจนกลายเป็นสายเพปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำลง [10]	5
รูปที่ 2.5	โครงสร้างโคโตซาน [14].....	7
รูปที่ 2.6	โครงสร้างแอสคอร์บิกแอซิด.....	8
รูปที่ 2.7	ความสามารถในด้านต่างๆ ของไฮโดรเจลในปัจจุบัน [19].....	9
รูปที่ 2.8	ระยะเวลาและขั้นตอนในการหายของบาดแผล [22].....	12
รูปที่ 2.9	แสดงระยะการหายของบาดแผล [19]	12
รูปที่ 3.1	เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์.....	20
รูปที่ 3.2	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	20
รูปที่ 3.3	เครื่องวิเคราะห์น้ำหนักภายใต้ความร้อน (Thermogravimetric analyzer, TGA).....	21
รูปที่ 3.4	เครื่องทดสอบสมบัติเชิงกลอเนกประสงค์ (Universal testing machine, UTM).....	21
รูปที่ 3.5	เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer).....	22
รูปที่ 3.6	เครื่องควบคุมอุณหภูมิพร้อมเขย่า (Shaking water bath).....	22
รูปที่ 3.7	ขอบเขตการทดลองในงานวิจัย	23
รูปที่ 3.8	การเพาะเลี้ยงสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส.....	24
รูปที่ 4.1	การเพาะเลี้ยงสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส.....	29
รูปที่ 4.2	ลักษณะทางกายภาพของฟิล์มคอมพอสิตสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบโคโตซาน	30
รูปที่ 4.3	XRD ดิฟแฟรกโทแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส.....	31
รูปที่ 4.4	ปฏิกิริยา Schiff base ระหว่างโคโตซานและสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส.....	31

รูปที่ 4.5 FTIR สเปกตรัมของ ก) สโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ข) ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนและ फिल्मคอมพอสิตของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนอัตราส่วน ค) 90:10 ง) 80:20 จ) 70:30	33
รูปที่ 4.6 FTIR สเปกตรัมของ ก) สโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ข) ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน ค) ไคโตซาน และ फिल्मคอมพอสิตที่ผ่านการเคลือบไคโตซานของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนอัตราส่วน ง) 90:10 จ) 80:20 ฉ) 70:30	33
รูปที่ 4.7 สัณฐานวิทยาของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไคโตซาน และ फिल्मคอมพอสิตที่ผ่าน และไม่ผ่านการเคลือบไคโตซาน	35
รูปที่ 4.8 การเกิดพันธะบนพื้นผิวระหว่างโครงสร้างสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสและไคโตซาน	35
รูปที่ 4.9 TG เทอร์โมแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนและไคโตซาน	37
รูปที่ 4.10 TG เทอร์โมแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน และ फिल्मคอมพอสิตที่ไม่ผ่านการเคลือบไคโตซาน	37
รูปที่ 4.11 TG เทอร์โมแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไคโตซานบริสุทธิ์ และ फिल्मคอมพอสิตที่ผ่านการเคลือบไคโตซาน	38
รูปที่ 4.12 DTG เทอร์โมแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนและไคโตซาน .	38
รูปที่ 4.13 DTG เทอร์โมแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน และ फिल्मคอมพอสิตที่ไม่ผ่านการเคลือบไคโตซาน	39
รูปที่ 4.14 DTG เทอร์โมแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไคโตซานและ फिल्मคอมพอสิต ที่ผ่านการเคลือบไคโตซาน	39
รูปที่ 4.15 Stress-strain curves ของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสและ फिल्मคอมพอสิต.....	41
รูปที่ 4.16 Stress-strain curves ของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไคโตซาน และ फिल्मคอมพอสิตที่ผ่านการเคลือบไคโตซาน	42
รูปที่ 4.17 ร้อยละการดูดซึมน้ำของของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไคโตซาน และ फिल्मคอมพอสิตที่ผ่านและไม่ผ่านการเคลือบไคโตซาน	44
รูปที่ 4.18 ลักษณะทางกายภาพของฟิล์มตัวอย่างที่มีการดูดซึมน้ำหลังจาก 48 ชั่วโมง.....	44

รูปที่ 4.19 สมบัติการต้านแบคทีเรีย <i>Staphylococcus aureus</i> ของ ก) สโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ข) फिल्मคอมพอสิต ค) फिल्मคอมพอสิตเคลือบโคโตซาน และ ง) แผ่นแปะแผลจาก फिल्मคอมพอสิต เคลือบโคโตซาน	46
รูปที่ 4.20 ประสิทธิภาพในการกักเก็บยาของ फिल्मคอมพอสิต	47
รูปที่ 4.21 กราฟมาตรฐานของแอสคอร์บิกแอซิดในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.4 ...	49
รูปที่ 4.22 ปริมาณแอสคอร์บิกแอซิดที่ถูกปลดปล่อยสะสมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส โคโตซาน และ फिल्मคอมพอสิตที่ไม่ผ่านการเคลือบโคโตซาน	50
รูปที่ 4.23 ปริมาณแอสคอร์บิกแอซิดที่ถูกปลดปล่อยสะสมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส โคโตซาน และ फिल्मคอมพอสิตเคลือบโคโตซาน	50



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของงานวิจัย

เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ที่มีมากที่สุดในโลกและเป็นหนึ่งในวัสดุธรรมชาติที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในหลากหลายผลิตภัณฑ์ เช่น กระดาษและสิ่งทอ โครงสร้างมหภาคของเซลลูโลสจะอยู่ในรูปไฟบริล มีความเป็นผลึกที่แตกต่างกันไปตามแหล่งที่พบ ในพืชแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ ลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) ที่พบตามลำต้นไม้ทั้งชนิดเนื้ออ่อนและเนื้อแข็ง ลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยลิกนินที่ทำหน้าที่เหมือนกาวช่วยยึดเซลลูโลสเอาไว้ด้วยกัน อีกชนิดจะอยู่ในรูปของเส้นใย เช่น ฝ้าย ลิ้นจี่ ป่าน ปอ เป็นต้น ซึ่งเส้นใยจะมียูนิทประกอบของเซลลูโลสบริสุทธิ์สูง เซลลูโลสจากสาหร่ายหรือในเพรียงหัวหอม (tunicate) จะอยู่ในรูปไมโครไฟบริลมีความเป็นผลึกสูง ในบรรดาเซลลูโลสทั้งหมด แบบที่เรียลเซลลูโลสมีลักษณะพิเศษและมีสมบัติพิเศษต่างๆ เช่น สภาพของเซลลูโลสมีโครงสร้างตาข่าย มีความบริสุทธิ์สูง มีความแข็งแรง อุ่มน้ำ และสามารถขึ้นรูปเป็นไฮโดรเจลได้ [1] เซลลูโลสประกอบไปด้วยหน่วยย่อยของมอนอเมอร์ $\beta(1\rightarrow4)$ D-glucose ที่บิดเป็นโครงสร้างผลึกที่มากขึ้นในเซลลูโลส I (โครงสร้าง triclinic α และ β) และเซลลูโลส II ผลึกเซลลูโลสเกิดจากการรวมตัวกันของสายโซ่ผลิตภัณฑ์ที่หลั่งออกมาจาก cellulose synthase complexes ที่ถูกจัดเรียงตัวในเยื่อหุ้มเซลล์ โดยปกติจะก่อตัวเป็นลักษณะ rosettes ในเซลล์พืชและเป็นเส้นแนวแกนในแบคทีเรีย [2]

การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย มีข้อได้เปรียบเฉพาะมากกว่ากระบวนการผลิตเส้นใยพืชโดยการลดการใช้สารเคมีและพลังงานในระหว่างการทำให้บริสุทธิ์และสามารถปรับพื้นผิวของเซลล์ผ่านตัวกลางเพื่อปรับเปลี่ยนการก่อตัวของผลึกให้เหมาะสมในระหว่างการสังเคราะห์ นอกจากนี้โมเลกุลของพันธะไฮโดรเจนในอาหารเลี้ยงสามารถควบคุมอัตราส่วน α/β และน้ำหนักโมเลกุลเซลลูโลสได้อีกด้วย ผลึกแบคทีเรียลเซลลูโลสมีรูปแบบสุมตามการเคลื่อนไหวของแบคทีเรียและรูปแบบ pellicle ที่ส่วนต่อประสานระหว่างออกซิเจนและตัวกลางที่เติบโตขึ้นตามรูปร่างของภาชนะที่ใช้ในการสังเคราะห์ [2]

Pellicles (เรียกอีกอย่างว่าเห็ดขาวหรือการเพาะเลี้ยงทางชีวภาพของแบคทีเรียและยีสต์ (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast, SCOBY) เกิดขึ้นตามธรรมชาติบนพื้นผิวของการหมักชาคอมบูชา (Kombucha) และถูกนำมาใช้เป็นวัสดุมานานนับพันปี เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะควบคุม โครงสร้างเซลลูโลสที่ซับซ้อนสามารถเติมสารเติมแต่งลงไปเพื่อการนำไปประยุกต์ใช้ในกิจกรรมเกี่ยวกับแสง (optical activity) การนำไฟฟ้าและการสลายตัวของตัวเร่งปฏิกิริยาทางแสง (photocatalytic) ความสามารถในการผลิตของแบคทีเรียที่ผลิตได้ง่าย ทำให้การสังเคราะห์วัสดุ

เซลลูโลสเป็นเป้าหมายที่น่าสนใจสำหรับการสังเคราะห์ทางชีววิทยา [2] ดังนั้นโครงการวิจัยจึงต้องการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลสด้วยไคโตซานและไฮโดรไลซ์คอลลาเจน (hydrolyzed collagen) เพื่อเพิ่มสมบัติด้านความยืดหยุ่น ด้านเชื้อแบคทีเรีย

1.2 วัตถุประสงค์

เตรียมฟิล์มสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน

เคลือบฟิล์มไคโตซานลงบน ฟิล์มสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน

วิเคราะห์หุ้มฟังก์ชัน สัณฐานวิทยาของฟิล์มคอมพอสิต ทดสอบสมบัติเชิงกลด้วยมาตรฐาน ASTM D882 (ด้านการทนแรงดึง) สมบัติทางความร้อน ความสามารถในการอุ้มน้ำด้วยวิธีการชั่งน้ำหนัก สมบัติด้านเชื้อแบคทีเรียด้วยมาตรฐาน AATCC TM 147 การทดสอบการดูดซึมและปลดปล่อยยา

1.3 ขอบเขตการดำเนินงานวิจัย

เตรียมพ สัตส่วนสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลสตั้งแต่ร้อยละ 70-90 ต่อไฮโดรไลซ์คอลลาเจน ร้อยละ 10-30 หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์หุ้มฟังก์ชัน สัณฐานวิทยาของฟิล์มคอมพอสิต ทดสอบสมบัติเชิงกลด้วยมาตรฐาน ASTM D882 (ด้านการทนแรงดึง) ความสามารถในการอุ้มน้ำด้วยวิธีการชั่งน้ำหนัก สมบัติด้านเชื้อแบคทีเรียด้วยมาตรฐาน AATCC TM 147 การทดสอบการดูดซึมและปลดปล่อยยา

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ฟิล์มสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบด้วยไคโตซานที่มีสมบัติเหมาะสมในการนำไปแปะบนผิวหนัง

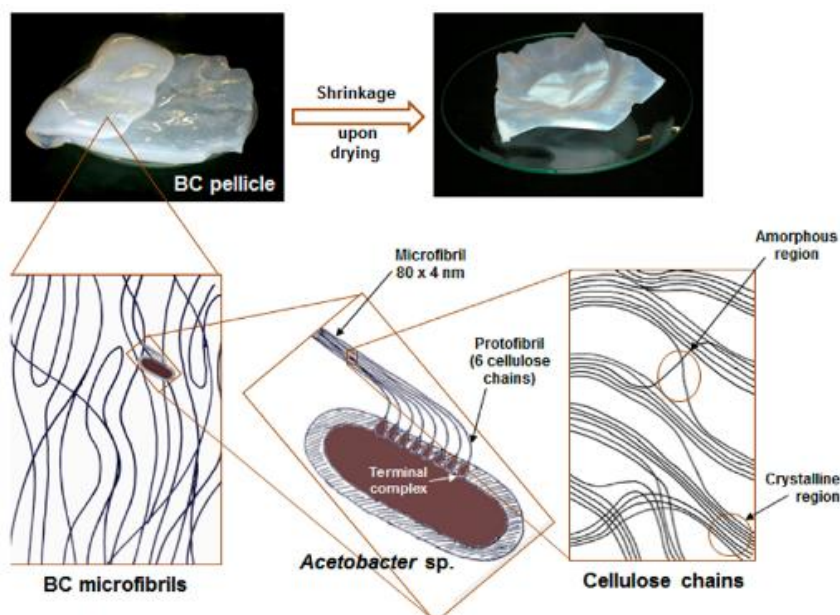
บทที่ 2

วารสารปริทรรศน์

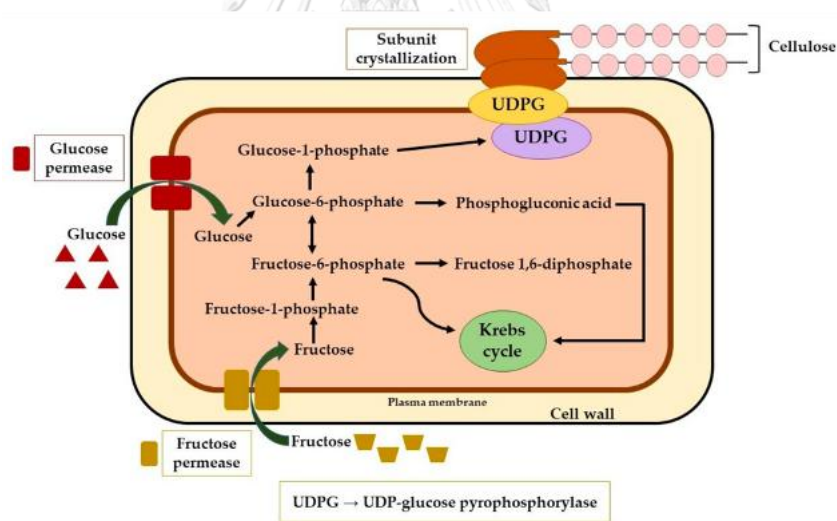
2.1 แบคทีเรียเซลลูโลส

แบคทีเรียเซลลูโลสเป็นเซลลูโลสที่ผลิตจากแบคทีเรียได้หลายชนิด เช่น *Acetobacter Komagataeibacter* *Agrobacterium* *Rhizobium* และ *Sarcina*. ซึ่งผลผลิตขึ้นอยู่กับสปีชีส์และสารตั้งต้นที่เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเฉพาะ *Komagataeibacter xylinus* (รู้จักกันในชื่อ *Gluconacetobacter xylinus* หรือ *Acetobacter xylinum*) ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบชนิดใช้ออกซิเจนที่ให้เส้นใยเซลลูโลสที่แข็งแรงที่สุด ถูกพบครั้งแรกโดย Brown ในปีค.ศ. 1988 เป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติ [3] ซึ่งโครงสร้างทางเคมีของแบคทีเรียเซลลูโลสมีลักษณะเป็นพอลิแซ็กคาไรด์เส้นตรงที่เกิดจากกลูโคส ($(C_6H_{12}O_6)_n$) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4- glycosidic bonds เช่นเดียวกับเซลลูโลสที่ได้จากพืช แบคทีเรียเซลลูโลสประกอบด้วยเส้นใยเซลลูโลส มีรูพรุนจำนวนมาก [4] น้ำหนักเบา ลักษณะเป็นโครงร่างตาข่าย 3 มิติ [5] มีความละเอียดมาก (3-8 nm) จึงให้ความรู้สึกคล้ายกับเนื้อเยื่อที่อ่อนนุ่ม [6] ดังรูปที่ 2.1 เซลล์สามารถยึดเกาะและแบ่งเซลล์ได้ดี [4] และเนื่องจากแบคทีเรียเซลลูโลสไม่พบเอมิเซลลูโลสหรือลิกนินเมื่อเทียบกับเซลลูโลสที่ได้จากพืช ส่งผลให้แบคทีเรียเซลลูโลสมีความบริสุทธิ์สูง ซึ่งเป็นสมบัติที่ดีและเหมาะสมสำหรับใช้ประโยชน์บนเนื้อเยื่อมนุษย์ จากหลายงานวิจัยก่อนหน้านี้ยืนยันได้ว่า แบคทีเรียเซลลูโลสมีความทนทานต่อเนื้อเยื่อมนุษย์และไม่ทำ hypersensitivity reactions ต่อเนื้อเยื่อมนุษย์ [7] นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์ได้จากหลากหลายแหล่ง ได้แก่ ขยะจากอุตสาหกรรมที่มีส่วนประกอบของคาร์บอน เป็นต้น แบคทีเรียเซลลูโลสยังมีสมบัติเชิงกลสูงมาก อุ่นน้ำได้ดี มีความสามารถในการผ่านเข้าออกของแก๊สได้ [8] มีความเป็นผลึกสูงถึง 90% ขึ้นรูปได้ง่าย ไม่เป็นพิษและยังสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ เนื่องจากโครงสร้างมีความสามารถรักษาน้ำหนักแห้งในน้ำ จึงทำให้ไบโอพอลิเมอร์ชนิดนี้มีความยืดหยุ่นสูงในสภาวะความชื้น จากสมบัติที่กล่าวมาทั้งหมดแบคทีเรียเซลลูโลสจึงมีสมบัติพิเศษที่เหมาะสมกับการออกแบบเป็นวัสดุที่เร่งการหายของแผล [3]

การสังเคราะห์เส้นใยแบคทีเรียเซลลูโลสเกิดจากกระบวนการ oxidative fermentation ใน medium ขั้นตอนแรกทำการหมักเชื้อที่ pH ตั้งแต่ 3-7 ที่อุณหภูมิ 25-30 °C ในน้ำตาลที่เป็นแหล่งคาร์บอน แบคทีเรียเซลลูโลสเริ่มเกิดจากบริเวณไซโตพลาสซึมภายในเมมเบรนของแบคทีเรีย [3] ดังรูปที่ 2.2



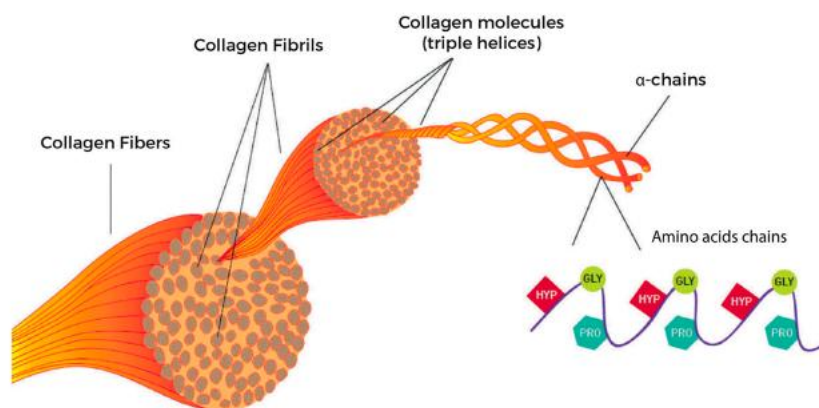
รูปที่ 2.1 แบคทีเรียเซลลูโลส [6]



รูปที่ 2.2 การสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสภายในไซโตพลาสซึม

2.2 ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน

คอลลาเจนเป็นโปรตีนที่ถูกสร้างโดยร่างกายมนุษย์ ประกอบด้วยกรดอะมิโนไกลซีน (33%) โพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีน (22%) (โครงสร้างปฐมภูมิ) ใน triplex helix ซึ่งประกอบขึ้นจากสายโซ่แอลฟา 3 สายประกอบเข้าด้วยกัน ดังรูปที่ 2.3 แต่ละสายแอลฟาประกอบด้วย 1014 กรดอะมิโน มวลโมเลกุลประมาณ 100 kDa

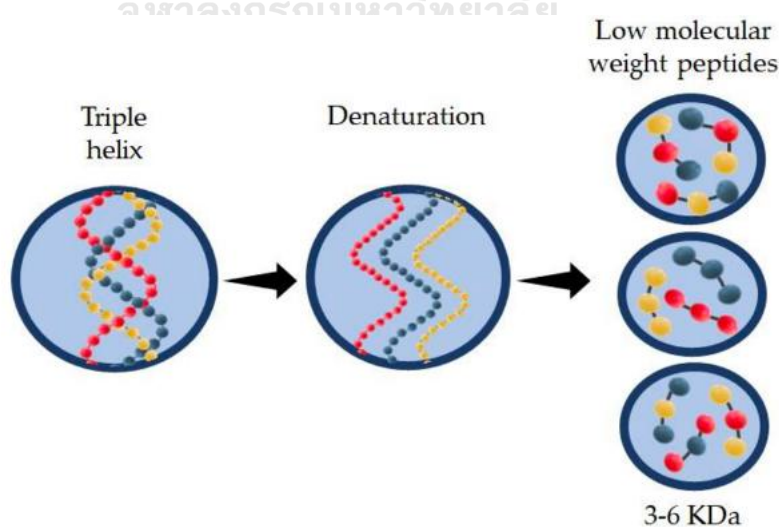


รูปที่ 2.3 โครงสร้างคอลลาเจนที่เกิดจากสายพอลิเพปไทด์สามสายพันกันเป็นเกลียว [9]

โดยปกติคอลลาเจนชนิดที่ 1 สามารถถูกสกัดจากแหล่งที่มาได้อย่างหลากหลาย แต่อย่างไรก็ตามแหล่งหลักๆ ได้มาจากวัว เป็นหลัก เนื่องจากความพร้อมใช้งานและยังเข้ากันได้ดีในทางชีวภาพอีกด้วย ซึ่งคอลลาเจนที่ได้มักได้มาจากส่วนของกระดูก เนื้อเยื่อปอด และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เป็นต้น

นอกจากนี้ยังสกัดได้จากผลิตภัณฑ์จากหมูซึ่งมีความคล้ายคลึงกับคอลลาเจนของมนุษย์เป็นอย่างมาก ซึ่งไม่มีข้อจำกัดในการใช้เนื่องจากอาการแพ้จึงนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุเสริมแรงเส้นเอ็น การซ่อมแซมกล้ามเนื้อ และใช้เป็นวัสดุปิดแผลสำหรับศัลยกรรมตกแต่ง

ทางเลือกในการสกัดคอลลาเจนไม่เพียงแต่พบในวัวและหมูเท่านั้นแต่ยังสามารถสกัดจากเส้นเอ็น (tendon) และผิวหนังของแกะ เนื้อเยื่อปลา ก้างปลา กระดูกไก่ เป็นต้น [10]



รูปที่ 2.4 การเสถียรภาพของสายคอลลาเจนกลายเป็นสายพอลิเพปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำลง [10]

จากรูปที่ 2.4 แสดงให้เห็นว่าการเสถียรภาพของคอลลาเจนที่เกิดจาก 3 สายโซ่ชนิดแอลฟา ใน random coiled ซึ่งเมื่อใช้ความร้อนประมาณ 40 °C สายโซ่จะแยกออกจากกัน ซึ่งกระบวนการดังกล่าวคือกระบวนการไฮโดรลิซิสโดยเอนไซม์กลุ่มที่ย่อยโปรตีน ได้แก่ alcalase papain pepsin เป็นต้น ผลผลิตจากกระบวนการดังกล่าวเรียกว่า hydrolyzed collagen (HC) ซึ่งประกอบไปด้วย เพปไทด์ที่มีขนาดเล็ก น้ำหนักโมเลกุลต่ำ 3-6 kDa ซึ่งสมบัติการละลายและ functional activity (ต้านออกซิเดชัน ต้านแบคทีเรีย) ขึ้นกับชนิดและระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis) และ ชนิดของเอนไซม์ในกระบวนการ นอกจากนี้กระบวนการไฮโดรลิซิสสามารถใช้สารเคมีอื่นที่มีความเป็นกรดได้ ได้แก่ กรดอะซิติก ไฮโดรคลอริก ฟอสฟอริก หรือ alkaline media การสกัดสองชนิดนี้มีการคัดกรองที่รุนแรงและสร้างเกลือที่มีความเข้มข้นจำนวนมากหลังปฏิกิริยาสะเทิน ดังนั้นจึงมีทางเลือกวิธีการสกัดโดยอาศัยการใช้อุณหภูมิหรือความดันสูง ตั้งแต่ 100-374 °C และความดัน 22 MPa

สมบัติที่แตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างคอลลาเจนกับไฮโดรไลซ์คอลลาเจน แสดงไว้ในตารางที่ 2.1 หลังจากกระบวนการเสถียรภาพ โครงสร้าง triple helix ของคอลลาเจนเปลี่ยนแปลงจาก random coil เนื่องจากการแตกออกของพันธะไฮโดรเจนในกระบวนการไฮโดรลิซิส หลังจากการหรีดนี้ทำให้เกิดการแตกออกของพันธะพอลิเพปไทด์เป็นเพปไทด์ที่มีขนาดสายสั้นลงเป็นจำนวนมาก น้ำหนักโมเลกุลของคอลลาเจนเพปไทด์จากกระบวนการไฮโดรลิซิสมีค่าต่ำมาก (3-6 kDa) เมื่อเทียบกับคอลลาเจนดั้งเดิม (285-300 kDa) นอกจากนี้องค์ประกอบและระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis) ยังเป็นปัจจัยในการเพิ่มสมบัติในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactivities) ต่างๆ เช่น สมบัติความสามารถในการต้านออกซิเดชัน เป็นสารลดความดันโลหิต (antihypertensive) [11] ความสามารถในการต้านแบคทีเรีย และเพิ่มชีวประสิทธิผลสูง (bioavailability) สมบัติดังกล่าวสอดคล้องกับค่าน้ำหนักโมเลกุลซึ่งทำให้ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนทำหน้าที่เป็นผู้ให้อิเล็กตรอนเพื่อที่จะสร้างความเสถียรให้กับผลิตภัณฑ์เมื่อทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ

คอลลาเจนดั้งเดิมเป็นที่รู้จักอย่างแพร่หลายเนื่องจากมีความสามารถในการเข้ากันได้และย่อยสลายในทางชีวภาพได้อย่างดีเยี่ยม ความสามารถในการตอบสนองปฏิกิริยาในทางภูมิคุ้มกันต่ำ (low immunogenicity) และมีความสามารถในการขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้สูง อย่างไรก็ตามไฮโดรไลซ์คอลลาเจนมีความสามารถในการละลายน้ำที่ดีแต่ไม่สามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้จึงจำเป็นต้องรวมตัวกับไบโอพอลิเมอร์ชนิดอื่นๆ เพื่อขึ้นรูป แต่เมื่อเปรียบเทียบกับคอลลาเจนดั้งเดิมแล้วพบว่า ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนมีความสามารถในการกักเก็บยาได้เป็นจำนวนมาก (higher therapeutic loading) ราคาคุ้มกับประสิทธิภาพ ไม่จำเป็นต้องสกัดหลายขั้นตอน มีความสามารถกระจายตัว ดูดซึมและย่อยได้ง่ายในร่างกายมนุษย์ นอกจากนี้ยังมีความหนืดต่ำ มีกลิ่นธรรมชาติ ไม่มีสี โปร่งแสง มีความสามารถในการอัดเป็นผง (powder compressibility) เป็นสารพาหะ (carrier substance)

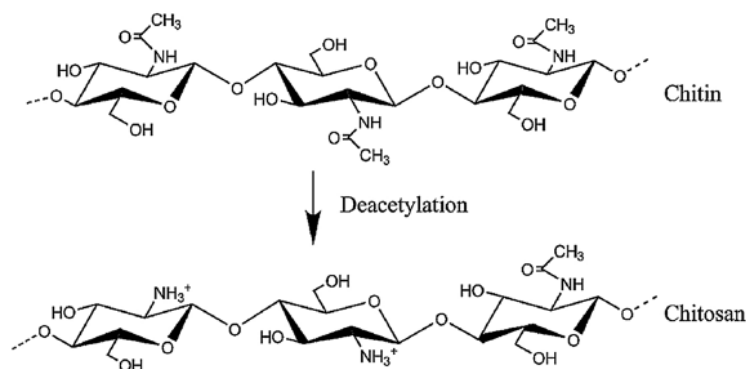
และก่อให้เกิดอาการแพ้ต่ำ ในผิวหนังไฮโดรไลซ์คอลลาเจนทำหน้าที่ทำลายคอลลาเจนที่เสียหาย โดยการส่งสัญญาณที่ผิดปกติในไฟโบรบลาสต์เพื่อสร้างเส้นใยคอลลาเจนชิ้นใหม่ นอกจากนี้ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนยังทำหน้าที่เป็น chemotactic properties เพื่อที่ช่วยในการย้ายเซลล์และเพิ่มปริมาณการแบ่งเซลล์ซึ่งเป็นกระบวนการที่สำคัญในการรักษาของบาดแผลสร้าง [11]

ตารางที่ 2.1 สมบัติของคอลลาเจนชนิดดั้งเดิมและไฮโดรไลซ์คอลลาเจน

สมบัติ	ชนิดของคอลลาเจน	
	คอลลาเจนดั้งเดิม	ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน
มวลโมเลกุล	~ 300 kDa	3-6 kDa
จุดไอโซอิเล็กทริก (pI)	7.0-8.3	3.68-5.7
ความหนืด	สูง	ต่ำ
การขึ้นรูปเป็นฟิล์ม	สามารถขึ้นรูปได้	ไม่สามารถขึ้นรูปได้

2.3 ไคโตซาน

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์เส้นตรงที่ประกอบด้วย β 1-4 N-acetyl- D- glucosamine ได้มาจากกระบวนการดีอะเซทิลเลชัน (deacetylation) ของไคตินในรูปที่ 2.5 โดยสมบัติและความแข็งแรงซึ่งขึ้นกับปริมาณการกำจัดหมู่อะเซทิล (degree of deacetylation) การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (polydispersity) และน้ำหนักโมเลกุล [12] ไคโตซานเป็นหนึ่งในวัสดุทางการแพทย์ที่เป็นที่รู้จักในทางการแพทย์ เช่น วัสดุปิดบาดแผล มีความสามารถเข้ากันได้ทางชีวภาพได้อย่างดีเยี่ยม ความเป็นพิษต่ำ ตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันได้ดี [13] เนื่องจากไคโตซานมีสมบัติดังกล่าวจึงสามารถเร่งการซ่อมแซมเนื้อเยื่อและบาดแผล นอกจากนี้ยังไม่เป็นพิษกับเซลล์ นอกจากนี้ยังมีสมบัติในการต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านมะเร็ง และห้ามเลือด แต่อย่างไรก็ตามไคโตซานมีความสามารถในการละลายที่ต่ำ ยกเว้นในตัวกลางที่มีความเป็นกรดซึ่งอาจจะส่งผลต่อการวิเคราะห์ที่มีความยากขึ้น [14]



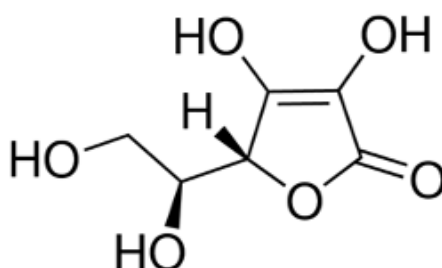
รูปที่ 2.5 โครงสร้างไคโตซาน [14]

2.4 แอสคอร์บิกแอซิด

วิตามินซีหรือที่รู้จักกันในชื่อ แอสคอร์บิกแอซิด มีชื่อทางเคมีว่า 2,3-didehydro-L-threohexano- 1,4-lactone โครงสร้างดังรูปที่ 2.6 มีสมบัติเป็นกรด ละลายน้ำได้ มีความสามารถในการต้านการออกซิเดชัน และยังเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์หลายชนิด [15] นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในกระบวนการไฮดรอกซิเลชันของโพรตีนและไลซีนในการสังเคราะห์คอลลาเจน ซึ่งทำให้เกิดการเชื่อมขวางและความมีเสถียรภาพของโครงสร้างเกลียวในคอลลาเจน ซึ่งจำเป็นต่อการตอบสนองในทางภูมิคุ้มกันอย่างเหมาะสม การแบ่งเซลล์ไมโทซิส [16] และการย้ายตำแหน่งของเม็ดเลือดขาวชนิดมอโนไซต์ไปที่บาดแผลเพื่อเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นเม็ดเลือดขาวชนิดแมโครฟาจในระหว่างระยะการอักเสบในกระบวนการหายของแผล [17] นอกจากนี้วิตามินซียังมีความจำเป็นต่อกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) อีกด้วย [18]

ปัจจัยที่สำคัญของแอสคอร์บิกแอซิดสำหรับการรักษาบาดแผลคือการสังเคราะห์และเชื่อมขวางคอลลาเจนซึ่งจะส่งผลให้หลอดเลือดและหลอดเลือดฝอยมีความแข็งแรงมากขึ้น จากงานวิจัยโดย Dunphy และคณะในปี 1956 พบความเชื่อมโยงระหว่างแผลสด (acute wound) ในสัตว์ทดลองและปริมาณกรดแอสคอร์บิกที่เพียงพอต่อการหายของบาดแผล งานวิจัยดังกล่าวศึกษาแผลของหนูตะเภาที่ขาดแอสคอร์บิกแอซิดควบคู่ไปกับการรักษาบาดแผลเบื้องต้นพบว่ามีการตอบสนองของไฟโบรบลาสต์และเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cell) แต่ไม่พบการสังเคราะห์ขึ้นของคอลลาเจน จึงสรุปได้ว่าปริมาณของแอสคอร์บิกแอซิดส่งผลต่อการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนเพื่อรักษาบาดแผลให้หายได้ [15]

แหล่งที่พบแอสคอร์บิกเป็นจำนวนมาก ได้แก่ ผักผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว สตรอเบอร์รี่ มะเขือเทศ กะหล่ำดอก บล็อกโคลี แคนตาลูป เป็นต้น [16]



รูปที่ 2.6 โครงสร้างแอสคอร์บิกแอซิด

2.5 ไฮโดรเจล

ไฮโดรเจลถูกจัดแบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ไฮโดรเจลชนิดถาวร (chemical or permanent gels) ที่เชื่อมขวางกันด้วยพันธะโควาเลนต์ซึ่งแข็งแรงและเสถียรกว่าพันธะไฮโดรเจน ไฮโดรเจลชนิดชั่วคราว (physical or reversible gels) ที่เชื่อมขวางกันด้วยการเกี่ยวพันกันของโมเลกุล (molecular entanglement) หรือพันธะแบบทุติยภูมิ เช่น ไอออนิก พันธะไฮโดรเจน หรือแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interactions) ในทางปฏิบัติเจลที่ถูกเชื่อมขวางไม่สามารถละลายได้เนื่องจากแรงปฏิกริยาทางกายภาพซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากสายโซ่พอลิเมอร์ที่มีความแตกต่างกัน โดยทั่วไปไฮโดรเจลสามารถมีรูปแบบ เช่น slab microparticles nanoparticles coatings และฟิล์ม [14]

ปัจจุบันนอกจากบทบาทอย่างง่ายในการแยกบาดแผลออกจากสิ่งปนเปื้อนและสร้างความชุ่มชื้นแก่บาดแผลแล้วแต่ยังมีการเพิ่มบทบาทหน้าที่ในการช่วยรักษาบาดแผลในด้านต่าง ๆ [19] ดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ความสามารถในด้านต่างๆ ของไฮโดรเจลในปัจจุบัน [19]

2.6 บาดแผล

บาดแผล (wounds) สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ บาดแผลสด (acute wounds) และบาดแผลเรื้อรัง (chronic wounds) [20]

แผลสดหรือแผลใหม่ มักเกิดจาก acute injury หรือ acute mechanical trauma มีชื่อเรียกต่างกันไปตามสาเหตุ เช่น บาดแผลถูกยิง (gunshot wound) บาดแผลถูกแทง (stabbed

wound) แผลถูกกัด (bite wound) บาดแผลจากของร้อน เช่น บาดแผลไหม้จากการอาบแดด (sunburn) ไฟไหม้ (flame burn) น้ำร้อนลวก (scald burn) แผลไหม้จากสารเคมี (chemical burn) แผลผ่าตัด (surgical wound) เป็นต้น [21]

บาดแผลเรื้อรังหรือแผลเรื้อรังเป็นแผลที่หายยากหรือหายช้ากว่าระยะเวลาหนึ่ง เพราะกระบวนการหายของแผลถูกขัดขวาง (disruption of normal wound healing process) จึงไม่สามารถดำเนินไปตามขั้นตอนปกติที่บาดแผลธรรมดาควรจะหายได้ และไม่สามารถกำหนดเวลาได้แน่นอน (no clear-cut definition) ว่านานแค่ไหนจึงจะเรียกว่าแผลเรื้อรัง อาจจะนานแค่ 4-8 สัปดาห์เป็นแผลที่ไม่หาย (nonhealed wound) ก็เรียกว่าแผลเรื้อรัง อย่างไรก็ตาม แพทย์ส่วนใหญ่ตกลงกันว่าถ้าบาดแผลใดหายนานเกินกว่า 3-4 เดือน จะเรียกบาดแผลนี้ว่าแผลเรื้อรัง บาดแผลเรื้อรังซึ่งมักพบในผู้สูงอายุหรือวัยกลางคน เป็นภาวะของผู้ป่วย ครอบครัวยุคใหม่ และสังคม เป็นปัญหาทางการแพทย์สาธารณสุข [21]

2.7 การหายของบาดแผล (Wound healing)

การหายของบาดแผล (wound healing) เกิดขึ้นจาก 4 ระยะ ได้แก่

ระยะที่ 1 การหยุดของเลือด (Hemostasis)

เมื่อมีบาดแผลเกิดขึ้น จะมีการฉีกขาดของเส้นเลือด ทำให้เลือดไหล ร่างกายจะมีปฏิกิริยาต่อเส้นเลือด ทำให้เกิดกระบวนการ hemostasis และ clot formation ส่งผลให้เกิดการแข็งตัวของเลือดและการจับกลุ่มของเกล็ดเลือด โดยอาศัยสารเคมีจากเซลล์ที่เกิดการบาดเจ็บเป็นตัวกระตุ้นนำไปสู่กระบวนการแข็งตัวของเลือด ทำให้เลือดหยุดและปกคลุมบาดแผลในระยะแรก และเกล็ดเลือดมีการปล่อย cytokine ต่างๆมากระตุ้นทำให้กระบวนการหายของแผลดำเนินต่อไปด้วย เช่น Platelet – Derived Growth Factor (PDGF), Transforming growth factors (TGF), Fibroblast Growth Factor -2 (FGF-2) เป็นต้น

ระยะที่ 2 การอักเสบ (Inflammation)

กระบวนการอักเสบ (inflammation) เริ่มต้นภายใน 10-30 นาทีหลังจากเกิดบาดแผล ซึ่งกระบวนการอักเสบจะไปกระตุ้นทำให้เกิดกระบวนการ vascular permeability จากนั้นเกิดการกระตุ้นสารที่ทำให้หลอดเลือดขยายตัว (vasodilation complement activation) เกิดการเคลื่อนย้ายของเซลล์เม็ดเลือดขาวมายังตำแหน่งที่เกิดบาดแผล (white blood cell migration) ทำให้เกิดอาการปวด บวม แดง ร้อน บริเวณแผล เม็ดเลือดขาวที่มาบริเวณแผล จะช่วยทำลายซากของเซลล์ที่เสียหาย (cell debris) เชื้อแบคทีเรีย และสารเคลือบเซลล์ (extracellular matrix) นอกจากนี้ macrophage ซึ่งเป็นเซลล์ที่สำคัญต่อการหายของแผล ยังหลั่ง growth factor มากระตุ้นการเกิด proliferation ต่อไป กรณีที่แผลไม่มีการติดเชื้อ แผลจะสามารถหายได้ภายใน 3 วัน

ระยะที่ 3 การเจริญและแบ่งเซลล์ (Proliferation)

กระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ใหม่ ยังประกอบไปด้วยกระบวนการย่อยๆ อีก ดังนี้

การสร้าง granulation tissue คอลลาเจนและสารเคลือบเซลล์ชนิด fibronectin หรือ proteoglycan จะถูกสร้างขึ้นจาก fibroblast โดยมี cytokine มาเป็นตัวกระตุ้นทำให้เกิดการแบ่งตัวและเคลื่อนย้ายของเซลล์ fibroblast (fibroblast proliferation & migration) และเกิดการสังเคราะห์คอลลาเจน (Collagen Synthesis) สารประกอบต่างๆที่มีความสำคัญต่อกระบวนการนี้ เช่น วิตามินซี ธาตุเหล็ก ออกซิเจน

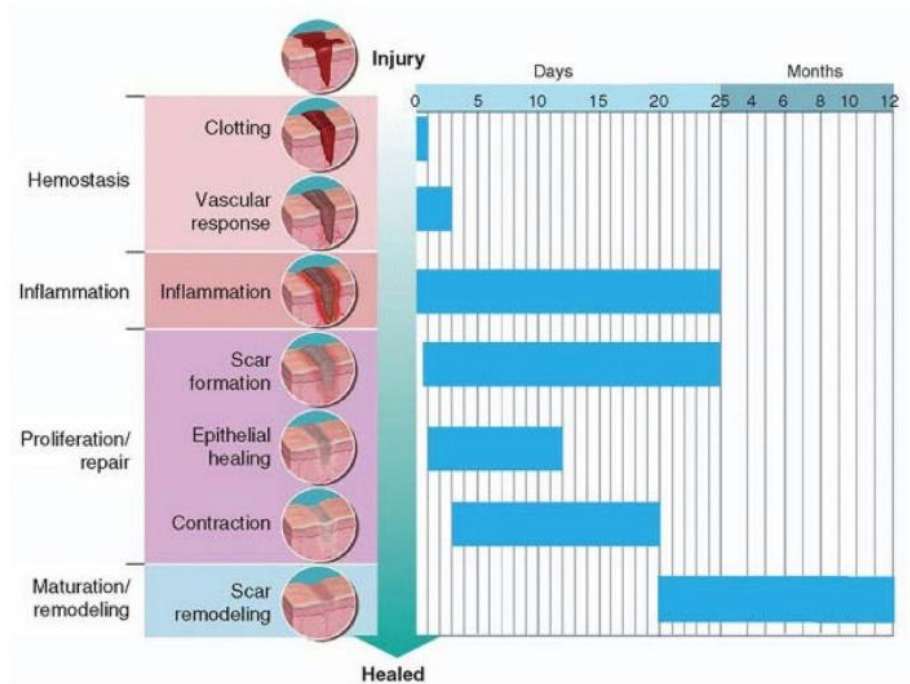
Angiogenesis การสร้างหลอดเลือดที่เกิดขึ้นในระยะนี้ ถูกกระตุ้นโดย macrophage และในภาวะที่เนื้อเยื่อมีออกซิเจนต่ำ (tissue hypoxia) Macrophage จะหลั่งสารกลุ่ม transforming growth factor มากระตุ้น endothelial cell เพื่อสร้างเส้นเลือดใหม่เกิดขึ้น

การหดตัวของบาดแผล (wound contracture) เซลล์ fibroblast มีบทบาทสำคัญในการเกิดบาดแผลหดตัว โดยเซลล์ดังกล่าวจะเคลื่อนที่ไปยังบริเวณขอบแผล และเปลี่ยนชนิดเป็น myofibroblast ซึ่งจะมีความสามารถในการหดตัวของเซลล์ และดึงขอบแผลเข้าหากัน

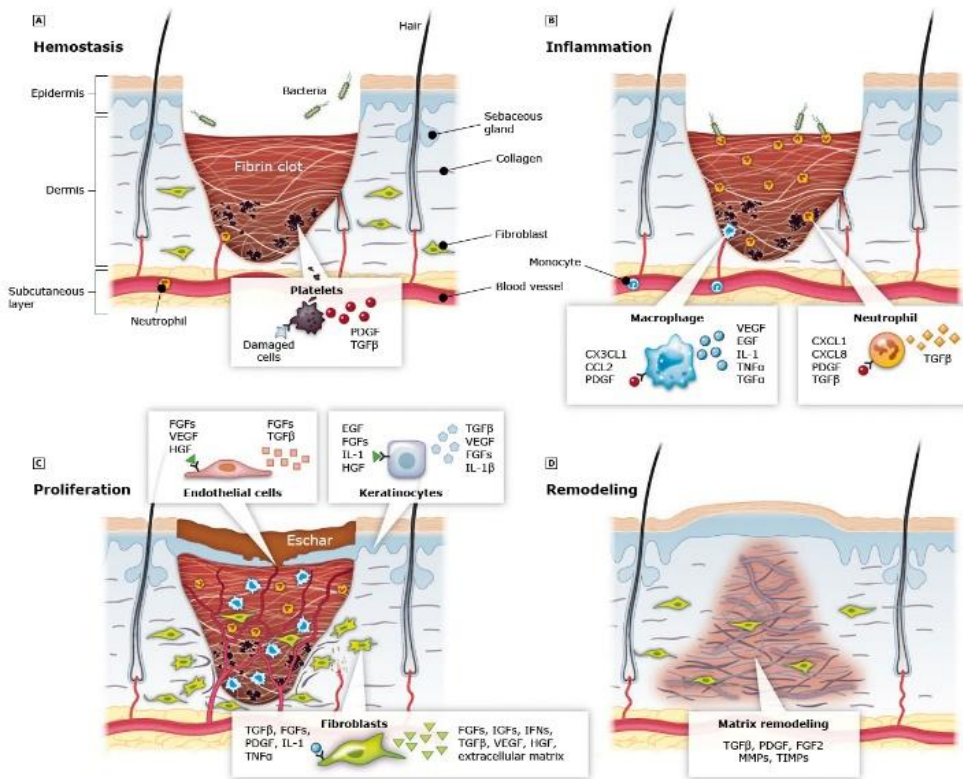
การสร้างเนื้อเยื่อผิวหนัง (epithelization) เซลล์เยื่อผิวหนังชนิด keratocyte เคลื่อนตัวมาปกคลุม granulation tissue โดยที่มีการเคลื่อนตัวและเจริญมาจากบริเวณขอบแผล โดยการกระตุ้นของ growth factor ต่างๆที่หลั่งจาก macrophage เช่น Fibroblast Growth Factor, Insulin-like Growth Factor, Epidermal Growth Factor เป็นต้น การสร้างเนื้อเยื่อผิวหนัง เกิดได้ดีในแผลที่มีความชุ่มชื้น เซลล์เยื่อผิวหนังจะแบ่งตัวและเคลื่อนตัวมาปกคลุม granulation tissue จนหมด ถึงจะหยุดกระบวนการ เรียกว่า Contract inhibition

ระยะที่ 4 การปรับรูปร่าง (Remodeling)

Remodeling phase หรือ Maturation phase เป็นระยะสุดท้ายของกระบวนการหายของแผล เริ่มประมาณ 20 วัน หลังการเกิดบาดแผลและดำเนินต่อไปจนถึงปี ระยะนี้แผลจะมีความแข็งแรงมากขึ้น (increase tensile strength) โดยมีการเกิด collagen fiber crosslink และมีการลดจำนวนเซลล์ต่างๆ ลง (decreasing cellularity) ซึ่งช่วงนี้แผลเป็นจะมีหลอดเลือดมาเลี้ยงลดลง การสังเคราะห์คอลลาเจนลดลง และมีการทำลายของคอลลาเจนมากขึ้น จนถึงภาวะสมดุลของการสร้างและทำลายคอลลาเจน ทำให้รอยแผลเป็นนิ่มลงแบนลง เรียบ และมีสีจาง ซึ่งกระบวนการเหล่านี้ ถูกควบคุมโดย macrophage [22]



รูปที่ 2.8 ระยะเวลาและขั้นตอนในการหายของบาดแผล [22]



รูปที่ 2.9 แสดงระยะการหายของบาดแผล [19]

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แบคทีเรียลนาโนเซลลูโลสซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพจากธรรมชาติที่มีการประยุกต์ใช้งานในหลากหลายมิติเนื่องจากสมบัติที่ดีเยี่ยม อย่างไรก็ตามผลตอบแทนของแบคทีเรียลนาโนเซลลูโลสกลับได้ปริมาณต่ำ ต้นทุนเมื่อเทียบกับต้นทุนการผลิตที่สูงจึงเป็นสิ่งที่ท้าทายการประยุกต์ใช้งานในด้านเทคโนโลยีต่างๆ Sharma และคณะ [23] ศึกษาการผลิตแบคทีเรียลนาโนเซลลูโลสโดยการหมักชาดำจากใบชาสดและใบชาที่ใช้แล้ว เป็นการผลิตแบคทีเรียลนาโนเซลลูโลสที่ให้ความคุ้มค่าและมีคุณภาพสูง การผสมผสานทางชีวภาพของแบคทีเรียและยีสต์ (SCOBY) ถูกนำมาใช้เพื่อหมักในน้ำชา จากการทดลองพบว่า ในใบชาสดให้ผลผลิตที่มีน้ำหนักแห้ง 13.3 g/L ในใบชาที่ใช้แล้ว 12.8 g/L ในระยะเวลาหมัก 20 วันมีปริมาณกลูโคสเกิดขึ้น 60 g/l จากการคำนวณ conversion yields ของชาทั้งสองเท่ากับ 0.32 และ 0.31 กรัมของแบคทีเรียลนาโนเซลลูโลสต่อกรัมของน้ำตาล ผลการวิเคราะห์เมื่อแบคทีเรียลเซลลูโลสโดยใช้ Attenuated total reflectance-Fourier transformed infrared spectroscopy (ATR-FTIR), Field emission scanning electron microscopy (FE-SEM) และ x-ray diffraction (XRD) ยืนยันโครงสร้าง ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และสมบัติทางเคมีที่คล้ายคลึงกับของแบคทีเรียลนาโนเซลลูโลส ดังนั้นน้ำชาดำหมักจึงเป็นตัวกลางที่มีศักยภาพในการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสซึ่งการใช้น้ำชาหมักสำหรับการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสในระดับอุตสาหกรรม เป็นการลดต้นทุนการผลิตลงอย่างมาก

น้ำผึ้งเป็นอาหารหวานที่ผลิตจากผึ้งโดยใช้น้ำหวานจากดอกไม้ น้ำผึ้งมีรสหวานเนื่องจากมีน้ำตาลฟรุกโทสและกลูโคสเป็นองค์ประกอบ มีความหวานใกล้เคียงกับน้ำตาลทรายและสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนทดแทนสำหรับน้ำตาลนำเข้า ชาคอมบูชา (Kombucha) ประกอบด้วยยีสต์และแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดอะซิติกได้โดยเฉพาะ *Acetobacter xylinum* ซึ่งทำการสร้างเมือกเซลลูโลสจากชาที่มีรสหวาน Kombucha ผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสด้วยความบริสุทธิ์และโครงสร้างที่ละเอียด สามารถนำมาใช้ในหลายรูปแบบ เช่น อิมัลชันไฟเออร์ สารที่ทำให้เกิดการคงตัว สารช่วยกระจายตัว สารเพิ่มความข้นหนืดและสารที่ทำให้เกิดเจล ปัจจุบันมีการใช้แบคทีเรียลเซลลูโลสในการใช้งานพิเศษหลายอย่าง เช่น แกนหลักสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนและกระดูก การตกแต่งบาดแผล ผิวหนังเทียม ทันตกรรมรากเทียม การปลูกถ่ายหลอดเลือด การปิดสายสวน รวมทั้งการตกแต่งและใช้เป็นเส้นเลือดเทียม สารเพิ่มปริมาณยา มาส์กหน้า ใช้ประโยชน์ในการผลิตยาเม็ดอุตสาหกรรมตัวกรอง อุตสาหกรรมกระดาษ ไตอะแพรมสำหรับลำโพงคุณภาพสูง สารเพิ่มปริมาณในอาหาร ผ่าพันแผลในทางการแพทย์ การบำบัดน้ำเสียรวมทั้งใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องนุ่งห่ม Al-Kalifawi [24] ทำการศึกษาการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสในซูโครสและชาน้ำผึ้งที่อุณหภูมิ 27 °C นานกว่า 20 วันโดยใช้ Kombucha (Khubdat Humza) ผลการศึกษาพบว่า ผลผลิตสูงสุดของแบคทีเรียลเซลลูโลสคือ 66.0 และ 34.2 g/L สำหรับน้ำตาลซูโครสและตัวกลางที่เป็นน้ำผึ้ง

100 g/L และ 10% หลังจากระยะเวลาการหมัก 14-18 วัน ตามลำดับ การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยใช้น้ำตาลซูโครสใช้ระยะเวลาในการหมักนานกว่าน้ำผึ้ง 1.5-2 เท่า นอกจากนี้อุณหภูมิยังเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเซลลูโลสซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วงใน 20 - 50 °C และการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสจะลดต่ำลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 50 °C การผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ผิวและความลึกของอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลการวิจัยแนะนำว่าผลผลิตของแบคทีเรียเซลลูโลสจากน้ำผึ้งเป็นแหล่งคาร์บอนทางเลือกที่ยังไม่ได้รับการสนับสนุน โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำผึ้งนั้นหายากและมีราคาแพงในอิรัก

Cruz และคณะ [25] ทำการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นโมเลกุลที่ชะลอหรือยับยั้งการปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลอื่นๆ ถูกใช้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในไม่กี่ปีที่ผ่านมาในอาหารลดน้ำหนัก สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติกำลังเข้ามาแทนที่การใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เนื่องจากมีความปลอดภัย คุณค่าทางโภชนาการและการรักษาโรค ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเป็นส่วนผสมที่ได้รับความนิยมซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โปรตีนน้ำหนักโมเลกุลต่ำนี้ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพที่ยอดเยี่ยม ย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่าย และเป็นแอนติเจนที่อ่อนแอซึ่งเป็นวัสดุชีวภาพในการผลิตเครื่องสำอางที่ปลอดภัย มีสมบัติให้ความชุ่มชื้นที่ดีแก่ผิวหนัง สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของไฮโดรไลซ์คอลลาเจนขึ้นกับขนาดของโมเลกุล น้ำหนักโมเลกุลของเปปไทด์ยิ่งต่ำ ยิ่งเพิ่มความสามารถในการให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนเพื่อให้อนุมูลมีความเสถียรมากยิ่งขึ้น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของไฮโดรไลซ์คอลลาเจนส่วนใหญ่เกิดจากการมีกรดอะมิโนที่ไม่เข้ากับน้ำในเปปไทด์ กลไกที่แท้จริงของเปปไทด์ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่กรดอะมิโนชนิดอะโรมาติกและฮิสติดีนบางชนิดมีรายงานว่า มีบทบาทสำคัญในสารต้านอนุมูลอิสระ การรับประทานไฮโดรไลซ์คอลลาเจนทางปากช่วยเพิ่มปริมาณของเปปไทด์ที่ได้จากคอลลาเจนในกระแสเลือดและสามารถทำให้ผิวหนังมีลักษณะที่ดีขึ้นเช่น ความยืดหยุ่น ความชุ่มชื้นของผิวและการสูญเสียน้ำของผิวหนัง นอกจากนี้การรับประทานไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเป็นประจำทุกวันจะช่วยปกป้องผิวหนังจากการเกิดฝ้าที่เกิดจากรังสียูวี ช่วยกระตุ้นการสร้างไฟโบรบลาสต์และเมทริกซ์นอกเซลล์ผิวหนัง ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนถูกระบุว่าเป็นส่วนผสมเครื่องสำอางที่ปลอดภัย สำหรับสูตรเฉพาะที่มีสมบัติให้ความชุ่มชื้นที่ดีที่ชั้น stratum corneum ของผิวหนัง ช่วยลดริ้วรอยของผิวหนังที่เกิดจากอายุ (แห่งกร้าน หย่อนคล้อยและริ้วรอย) การใช้ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเป็นส่วนผสมหลักในสูตรที่ปลอดภัยสำหรับการปกป้องผิวหนังได้รับการตรวจสอบและเปรียบเทียบเมื่อมีการใช้เฉพาะและหรือช่องปาก

Ao และคณะ [26] ได้นำสารต้านแบคทีเรียที่ละลายน้ำได้ คือ quaternized chitosan (hydroxypropyltrimethyl ammonium chloride chitosan) ที่มี degree of substitution ที่เหมาะสมเข้าสู่แบคทีเรียเซลลูโลสโดยการเพิ่มลงในตัวกลางเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเซลลูโลส

ผลการวิจัยพบว่า การเติมโคโตซานอาจส่งผลต่อผลผลิตของแบคทีเรียลเซลลูโลส โครงสร้างรูพรุน เสถียรภาพทางความร้อน การดูดซับน้ำและสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย คอมพอสิตที่มีปริมาณโคโตซานต่ำที่สุด ($13.65 \pm 0.30\%$) ไม่สามารถยับยั้งการผลิตไบโอฟิล์มของแบคทีเรีย ในขณะที่คอมพอสิตที่มีปริมาณโคโตซานสูงที่สุด ($62.05 \pm 0.90\%$) ให้ผลผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสในปริมาณต่ำและให้โครงสร้างที่ยุงเหยิง คอมพอสิตที่มีความเข้มข้นโคโตซานที่เหมาะสม ($37.33 \pm 0.80\%$) มีรูพรุนปกติ มีเสถียรภาพทางความร้อน การดูดซับน้ำที่ดีและสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 25923) และ *S. aureus* ที่ทนต่อ methicillin (ATCC 43300) ที่ดี สิ่งสำคัญที่สุดคือ คอมพอสิตไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (NIH3T3 cell) เชื่อว่าฟิล์มคอมพอสิตมีสมบัติการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ดีและมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพอาจเป็นวัสดุที่มีศักยภาพสำหรับใช้เป็นวัสดุปิดแผลในการใช้งานทางคลินิก

Sousa Moraes และคณะ [27] ศึกษาเปรียบเทียบวัสดุปิดบาดแผลของแบคทีเรียลเซลลูโลส/คอลลาเจนไฮโดรเจลบนหลังหนูกับเอนไซม์คอลลาจิเนสในรูปแบบครีมและแผ่นที่ยังไม่ได้ถูกการรักษา ไฮโดรเจลถูกวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscopy; SEM) การวิเคราะห์ทางความร้อนด้วย Thermogravimetric analysis (TGA), Fourier transformed-infrared spectroscopy (FT-IR) และ XRD ตามที่ทดสอบในหลอดทดลองและการประเมินผลด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า คอมพอสิตแบคทีเรียลเซลลูโลสคอลลาเจนไฮโดรเจลแสดงให้เห็นถึงการซ่อมแซมบาดแผลได้ดีขึ้นและสังเกตเห็นความแตกต่างของการซ่อมแซมเนื้อเยื่อระหว่างการรักษาในวันที่ 7 หลังการผ่าตัดอย่างมีนัยสำคัญ เส้นใยคอลลาเจนมีคุณภาพปริมาณ และทิศทางที่ดีขึ้น ($p = 0.0001$) ในไฮโดรเจลคอมพอสิตและกลุ่มเอนไซม์คอลลาจิเนสในรูปแบบครีมซึ่งสัมพันธ์กับกลุ่มควบคุม จึงสรุปได้ว่าแบคทีเรียลเซลลูโลส/คอลลาเจนไฮโดรเจลสามารถรักษาบาดแผลได้ดีกว่าครีมคอลลาจิเนสและกลุ่มควบคุมดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า คอมพอสิตดังกล่าวมีศักยภาพสำหรับการฟื้นฟูผิวหนังจากบาดแผล

Yuan และคณะ [28] ทำการพัฒนาวัสดุห้ามเลือดที่สามารถย่อยสลายได้และมีสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียโดยสามารถดูดซับเลือดได้ในปริมาณมากเพื่อหยุดการไหลของเลือดภายในบาดแผลที่ไม่สามารถปิดกั้นได้ ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาวัสดุห้ามเลือดชนิดใหม่ โดยการ coupling ออกซิไดซ์แบคทีเรียลเซลลูโลส โคโตซาน และคอลลาเจน ซึ่งจะเกิดแรงทางไฟฟ้าสถิตกระทำระหว่างประจุลบของออกซิไดซ์แบคทีเรียลเซลลูโลสและประจุบวกของโคโตซาน การนำคอลลาเจนมาใช้ในงานวิจัยนี้เพื่อเพิ่มสมบัติการทำงาน เช่น การแข็งตัวของเลือดและการช่วยในการรักษาบาดแผล โดยประเมินประสิทธิภาพของออกซิไดซ์แบคทีเรียลเซลลูโลส เปรียบเทียบกับออกซิไดซ์แบคทีเรียลเซลลูโลส/โคโตซาน และออกซิไดซ์แบคทีเรียลเซลลูโลส/คอลลาเจน/โคโตซานคอมพอสิต ในการทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือดโดยใช้แบบจำลองการบาดเจ็บของตับหนู ผลการทดลองปรากฏว่า ออกซิไดซ์

แบคทีเรียลเซลลูโลส มีความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพในร่างกายได้เร็วกว่าวัสดุห้ามเลือดทางการค้าชนิด oxidized regenerated plant cellulose โดยนาโนคอมพอสิตที่กลุ่มผู้วิจัยผลิตขึ้นมีความแข็งแรงเชิงกลที่เหมาะสม สมบัติด้านจุลชีพหลากหลายสายพันธุ์และการย่อยสลายทางชีวภาพที่ดีเยี่ยมในร่างกาย นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการห้ามเลือดที่ยอดเยี่ยมของคอมพอสิตได้รับการยืนยันในร่างกาย คอมพอสิตแสดงสมบัติในการเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการแข็งตัวของเลือด (procoagulant) มากขึ้นและความสามารถในการแข็งตัวของเลือด การยึดติดกันระหว่างเม็ดเลือดแดงและเกล็ดเลือดมีมากขึ้นพร้อมกับการสูญเสียเลือดลดลง นอกเหนือจากการหยุดของเลือดที่เร็วกว่าผลิตภัณฑ์ห้ามเลือดในทางการค้า คอมพอสิตที่ผลิตขึ้นยังมีสมบัติด้านเชื้อแบคทีเรียที่ดี และมีศักยภาพที่ดีในการใช้เป็น hemostat ที่ดูดซึมได้เพื่อควบคุมการตกเลือดภายในบาดแผล

Romero และคณะ [29] ทำการผลิตกระดาษจากแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไคโตซานจากสองวิธีที่แตกต่างกัน วิธีแรกเป็นการผลิตแผ่นกระดาษแบคทีเรียลเซลลูโลสแล้วแช่ในสารละลายของไคโตซาน วิธีที่สองเป็นการนำเยื่อแบคทีเรียลเซลลูโลสชุบด้วยไคโตซานก่อนนำมาผลิตแผ่นกระดาษ จากนั้นจึงวัสดุนาโนคอมพอสิตที่พัฒนาขึ้นไปตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ สมบัติของการต้านจุลชีพ การต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งการผลิตแผ่นไบโอฟิล์มบนพื้นผิวแบคทีเรีย/ไคโตซานนาโนคอมพอสิตทั้งสองประเภทยังคงมีลักษณะไม่ชอบน้ำ สมบัติเป็นตัวกั้นอากาศ และมีความเป็นผลึกสูง อย่างไรก็ตามแผ่นกระดาษแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผลิตแล้วแช่ในสารละลายของไคโตซานแสดงให้เห็นโครงข่ายเส้นใยหนาแน่นและมีรูพรุนมีขนาดเล็กกว่าของเยื่อแบคทีเรียลเซลลูโลสชุบด้วยไคโตซานก่อนนำมาผลิตแผ่นกระดาษ หลังจากผ่านไป 96 ชั่วโมงในการเพาะเลี้ยงในตัวกลาง ไคโตซานถูกปลดปล่อยออกมาจากนาโนคอมพอสิตเพียง 5% เท่านั้น แสดงให้เห็นว่าไคโตซานถูกเก็บรักษาไว้อย่างดี วัสดุนาโนคอมพอสิตยังสามารถแสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* และยีสต์ *Candida albicans* นอกจากนี้แผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไคโตซานยังสามารถต้านการก่อตัวของไบโอฟิล์มบนพื้นผิวได้อีกด้วย การเพิ่มปริมาณไคโตซานสามารถเพิ่มฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของแผ่นกระดาษแบคทีเรียลเซลลูโลสได้ซึ่งทำให้กระดาษนาโนคอมพอสิตที่ผลิตขึ้นมีสมบัติทางกายภาพจากแบคทีเรียลเซลลูโลส มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ต้านการก่อตัวของไบโอฟิล์มและสารต้านอนุมูลอิสระจากไคโตซาน

Tapias และคณะ [30] ทำการพัฒนาวัสดุย่อยสลายได้จากจุลินทรีย์ที่ผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์มีศักยภาพพิเศษที่จะนำไปใช้ในบรรจุภัณฑ์อาหาร ซาคอมบูชาหรือชาหมักเป็นเครื่องดื่มหมักที่ผลิตโดยกลุ่มของแบคทีเรียและยีสต์ซึ่งเกิดจากผลพลอยได้ที่ขึ้นอยู่กับแบคทีเรียลเซลลูโลสถูกสร้างขึ้นบนพื้นผิวของเครื่องดื่ม ในงานวิจัยนี้ศึกษาการพัฒนาวัสดุชนิดใหม่ที่มีพื้นฐานมาจากผลพลอยได้จากซาคอมบูชา ได้รับการพัฒนาจากแผ่นที่ลอยและจมอยู่ในน้ำแต่ละแผ่น

มีการกระจายในน้ำและทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยอัลตราโซนิก फिल्मที่ได้จากการเทลงในแม่แบบ (casting) มีความสม่ำเสมอสูง โดยไม่มีรอยแตก โครงสร้างจุลภาคประกอบด้วยเซลลูโลสเมทริกซ์ที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันและมีความต่อเนื่องกันของกลุ่มเส้นใยนาโนรูปร่างรีบิ้น การวิเคราะห์ด้วยอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีและการวิเคราะห์ทางความร้อนแสดงให้เห็นว่าสารประกอบนี้ประกอบด้วยสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและต่ำ การเพิ่มปริมาณกลีเซอรอลแก่ฟิล์มทำให้อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะของแก้วลดลงและเพิ่มความยืดหยุ่น ความชุ่มชื้นและการซึมผ่านของไอน้ำ फिल्मที่ได้จากแผ่นที่จมอยู่ในน้ำมีกระบวนการเติมสารเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับพอลิเมอร์ (plasticization) ซึ่งกระทำในระหว่างการแช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ फिल्मทั้งสองประเภทผลิตจากแผ่นที่ลอยเหนือน้ำและแผ่นที่จมใต้น้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติโดดเด่นที่ $69 \pm 2\%$ และ $72 \pm 2\%$ ของการยับยั้งอนุมูลอิสระตามลำดับ อาจเป็นเพราะพอลิฟีนอลหรือสารอื่นๆ จากอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลการวิจัยพบว่าการใช้เซลลูโลสที่เป็นผลพลอยได้จากชาคอมบูชาในการจัดทำฟิล์มอาจมีข้อได้เปรียบเนื่องจากกระบวนการที่คุ้มค่า (ไม่มีการแยก ไม่ทำให้บริสุทธิ์) ซึ่งมีความน่าสนใจทั้งสมบัติทางกายภาพ สมบัติทางเคมีและการเก็บรักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพตามธรรมชาติ

Pasaribu และคณะ [31] ศึกษาการเตรียมแบคทีเรียเซลลูโลสเป็นวัสดุปิดแผลโดยมีปริมาณในโคโตซานและคอลลาเจนที่แตกต่างกันโดยวิธีการ *ex situ* โดยการแช่แบคทีเรียเซลลูโลสในสารละลายโคโตซาน/คอลลาเจน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า แบคทีเรียเซลลูโลสที่แช่ลงในโคโตซานก่อนจะแช่ลงในสารละลายคอลลาเจน (BC/Chi/Col) มีสมบัติทางความร้อนดีกว่าแบคทีเรียเซลลูโลสที่แช่ลงในคอลลาเจนก่อนจะนำแช่ลงในสารละลายโคโตซานตามลำดับ (BC/Col/Chi) อย่างไรก็ตาม BC/Col/Chi มีศักยภาพมากกว่า BC/Chi/Col เมื่อเปรียบเทียบกันเนื่องจากมีรูพรุนขนาดใหญ่และมีการทดสอบสมบัติต้านแบคทีเรียผ่านวิธีการแพร่ในอาหารวุ้นแข็ง (disc diffusion test) ในแบคทีเรียชนิด *S. aureus* และ *E. coli* พบว่า BC/Col/Chi มีการต้านแบคทีเรียที่ดีกว่า BC/Chi/Col ตรวจสอบได้จากบริเวณพื้นที่การยับยั้งเชื้อ (zone of inhibition) ที่ใหญ่กว่า

Demir และคณะ [32] ศึกษาการเตรียมวัสดุปิดแผลจากแซนแทน-เจลาติน และแซนแทน-เจลาติน-เคราตินสำหรับนำส่งวิตามินซี โดยนำแซนแทน-เจลาตินมาทำการเชื่อมขวางโดยใช้กลีเซอรอลที่มีปริมาณแตกต่างกัน ซึ่งสัดส่วนที่ดีที่สุดคือ แซนแทน : เจลาติน : กลีเซอรอล เท่ากับ 1:1:2 (w/w/w) ให้ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ สมบัติเชิงกล อัตราการแพร่ผ่านของไอน้ำ และความมีรูพรุน การเติมเคราตินลงไปในสูตรดังกล่าวส่งเสริมความอยู่รอดของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 และเพิ่มปริมาณการปลดปล่อยโปรตีน นอกจากนี้ยังเพิ่มความสามารถในการทนแรงดึง และการยึดตัวที่จุดขาดของไฮโดรเจลอีกด้วย การแพร่ผ่านไอน้ำของแซนแทน-เจลาติน

และแซนแทน-เจลาติน-เคราตินอยู่ระหว่าง 3059.09 ± 126 ถึง 4523 ± 133 ดังนั้นจึง
 เหมาะกับ granulating แผลที่มี exudate น้อยถึงปานกลาง นอกจากนี้แซนแทน-เจลาติน
 และแซนแทน-เจลาติน-เคราตินที่บรรจุวิตามินซีเข้าไปยังมีความสามารถในการดูดซึมน้ำมากขึ้นด้วย
 ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซึม exudate จากบาดแผล วิตามินซีถูกปลดปล่อยเป็นเวลา
 100 ชั่วโมง และนอกจากนี้วิตามินซียังช่วยเพิ่มปริมาณการสังเคราะห์คอลลาเจนของเซลล์
 ไฟโบรบลาสต์ L929 อีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามในบรรดาไฮโดรเจลทั้งหมดสามารถยับยั้งการแพร่
 ของแบคทีเรีย จึงสรุปว่างานวิจัยดังกล่าวมีคุณสมบัติที่เหมาะสมกับการนำมาประยุกต์ใช้
 เป็นวัสดุปิดแผล

Voss และคณะ [33] ศึกษาการนำเซลลูโลสและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เชื่อมขวางด้วย
 กลูตารอลดีไฮด์ซึ่งบรรจุวิตามินซีและโพรพอลิสด้วยการ encapsulated ลงในคอมพอสิตเพื่อเป็น
 วัสดุปิดแผลในผู้ป่วยเบาหวาน โดยวิธีการเทฟิล์ม (casting method) จาก Higuchi model
 อธิบายได้ว่า จลนศาสตร์การปลดปล่อยวิตามินซีในขณะที่กลศาสตร์การปลดปล่อยถูกยืนยันด้วย
 Korsmeyer-Peppas model นอกจากนี้ฟิล์มดังกล่าวยังมีคุณสมบัติต้านแบคทีเรีย *E. coli*
 และ *S. aureus* สมบัติการต้านแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้ถูกพบที่บาดแผลทั้งในหนูทดลองที่เป็นและ
 ไม่เป็นเบาหวานซึ่งพบว่าการเร่งการหายของบาดแผลเป็นการทำงานร่วมกันระหว่างวิตามินซีและ
 โพรพอลิสซึ่งสัมพันธ์กับการวิเคราะห์ทางมิถุวิทยา (Histological analysis) ดังนั้นวัสดุดังกล่าว
 จึงเหมาะกับการนำมาประยุกต์ใช้ในผู้ป่วยเบาหวาน

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. เพปโทน จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. จำกัด ประเทศอินเดีย
2. ผงยีสต์สกัด จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. จำกัด ประเทศอินเดีย
3. ก้อนหัวเชื้อสโคปี จากซาหมักคอมมูชา
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์
5. ไฮโปคลอไรต์
6. เกล็ดโคโตซาน degree of acetylation $\approx 85\%$ จากบริษัท Bonafides Marketing จำกัด ประเทศไทย
7. น้ำส้มสายชูหมัก (apple cider vinegar)
8. กรดแอสติค 100% เกรดวิเคราะห์ จากบริษัท Merck KGaA Sigma-aldrich ประเทศเยอรมนี
9. ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) (1X) pH 7.4 จากบริษัท Gibco จำกัด ประเทศสหราชอาณาจักร
10. กรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid) เกรดสำหรับวิเคราะห์ จากบริษัท Chem-supply จำกัด ประเทศออสเตรเลีย
11. น้ำปราศจากไอออน (deionized water)
12. กลีเซอรอล 99.5% เกรดสำหรับวิเคราะห์ จากบริษัท QRec ประเทศนิวซีแลนด์
13. ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน จากบริษัท Meiji จำกัด ประเทศญี่ปุ่น

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. ภาชนะพลาสติก
2. ผ้าขาวบาง
3. ปีกเกอร์ (beaker) ขนาด 50 100 2000 มิลลิลิตร
4. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
6. เครื่องปั่นความเร็วสูง
7. เครื่องให้ความร้อนและกวนสาร (hot plate)
8. แท่งแม่เหล็กกวนสาร (magnetic bar)

9. แม่แบบ (polytetrafluoroethylene) ขนาด 9 x 8.5 นิ้ว
10. ขวดสีชา
11. ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask)
12. ไมโครปิเปตขนาด 100 1000 μl
13. คิวเวตขนาด 3.5 ml

3.2.1 เครื่องมือวิเคราะห์และทดสอบสมบัติ

1. เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FT-IR) ของบริษัท Thermo Fisher Scientific รุ่น Nicolet 6700-FT-IR ประเทศสหรัฐอเมริกา ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์

2. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) ของบริษัท JEOL solution for innovation รุ่น JSM-6480LV ประเทศญี่ปุ่น ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

3. เครื่องวิเคราะห์น้ำหนักภายใต้ความร้อน (Thermogravimetric analyzer, TGA) ของบริษัท Mettler Toledo รุ่น TGA/DSC3+ ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 เครื่องวิเคราะห์น้ำหนักภายใต้ความร้อน (Thermogravimetric analyzer, TGA)

4. เครื่องทดสอบสมบัติเชิงกลอเนกประสงค์ (Universal testing machine, UTM) ของบริษัท Tinius Olsen รุ่น M250 ประเทศสหรัฐอเมริกา ดังรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 เครื่องทดสอบสมบัติเชิงกลอเนกประสงค์ (Universal testing machine, UTM)

5. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer) ของบริษัท Lab tech ประเทศสหรัฐอเมริกา ดังรูปที่ 3.5



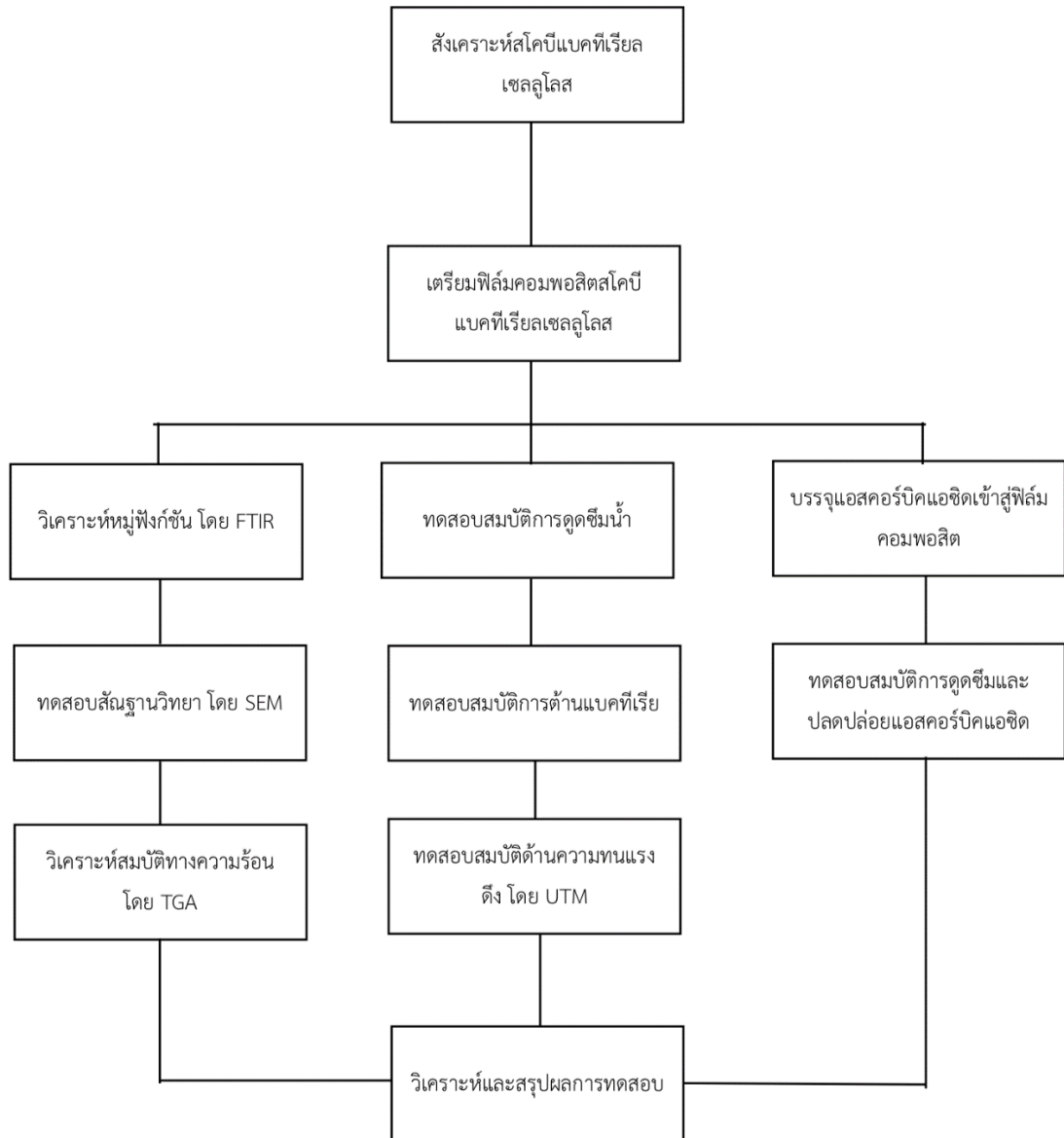
รูปที่ 3.5 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer)

6. เครื่องควบคุมอุณหภูมิพร้อมเขย่า (Shaking water bath) ของบริษัท Lab tech ประเทศสหรัฐอเมริกา ดังรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.6 เครื่องควบคุมอุณหภูมิพร้อมเขย่า (Shaking water bath)

3.3 ขอบเขตการทดลอง

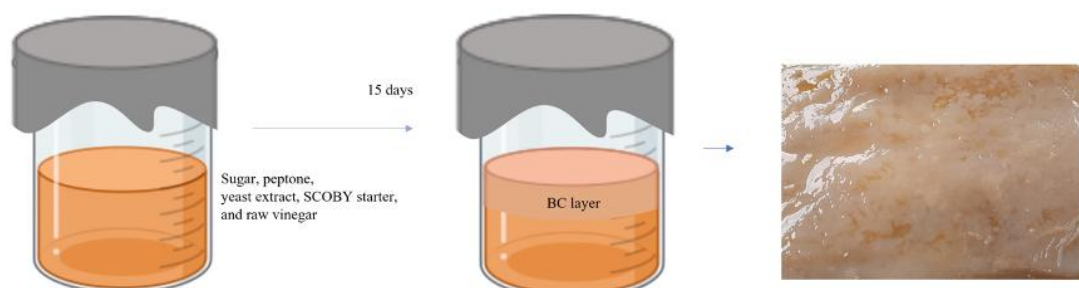


รูปที่ 3.7 ขอบเขตการทดลองในงานวิจัย

3.4 ขั้นตอนการทดลอง

3.4.1 การเพาะเลี้ยงสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส

ในการเพาะเลี้ยงสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส การเพาะเลี้ยงจะทำภายในภาชนะพลาสติกขนาด 20 x 15 x 12 นิ้ว ที่ได้ทำความสะอาดและตากให้แห้งแล้ว ตักกลางในการเพาะเลี้ยง (culture medium) ประกอบด้วยเพปโตน 5 g/l ผงยีสต์ 5 g/l น้ำตาล 50 g/l ส่วนผสมทั้งหมดได้นำมาฆ่าเชื้อผ่านการต้มเป็นเวลา 30 นาที และทิ้งไว้จนเย็นที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำหัวเชื้อชาคอมบูชาและสารเริ่มปฏิกิริยาทั้งหมด 250 ml รวมทั้งน้ำส้มสายชูหมักปริมาณ 200 ml จะถูกเทลงในภาชนะที่เตรียมไว้ซึ่งมีผ้าขาวบางปิดทับไว้ด้านบน เพื่อไม่ให้สัมผัสกับแสงแดดโดยตรงเป็นเวลา 15 วัน หลังจากนั้นไฮโดรเจลจะปรากฏขึ้นบริเวณผิวหน้า ดังรูปที่ 3.7 [34] หลังจากนั้นนำไฮโดรเจลมาทำความสะอาดโดยต้มในโซเดียมไฮดรอกไซด์และฟอกขาวโดยใช้ไฮโปคลอไรต์เพื่อนำสิ่งเจือปน เช่น by-products แบคทีเรีย และสีส่วนเกินออก จะได้สโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรเจลที่สะอาดขึ้นเพื่อนำไปเตรียมฟิล์มคอมพอสิตสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานในขั้นต่อไป



รูปที่ 3.8 การเพาะเลี้ยงสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส

3.4.2 การเตรียมฟิล์มคอมพอสิตสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซาน

ฟิล์มสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนถูกเตรียมโดยการปั่นผสมและหล่อแบบที่อัตราส่วนสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส (BC) : ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน (HC) เท่ากับ 90 : 10, 80 : 20 และ 70 : 30 โดยมี 5% wt glycerol เป็นพลาสติกไซเซอร์ ตัวอย่างเช่น BC90 : HC10 ถูกเตรียมโดยใช้ BC 1.98 g (น้ำหนักแห้ง) และ HC 0.30 g ถูกผสมเข้าด้วยกัน หลังจากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออน (DI) ลงไป 150 ml และผสมเข้าด้วยกันโดยใช้เครื่องปั่นความเร็วสูง ทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อกำจัดฟองอากาศและของเหลวที่ลอยอยู่ด้านบน หลังจากนั้นทำการเทฟิล์มลงในแม่แบบขนาด 9 x 8.5 นิ้ว ทิ้งไว้ให้แห้งในอุณหภูมิห้อง ละลายไคโตซานร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรลงในกรดแอซิดิก

เข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร ใช้อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการเคลือบสารละลายไคโตซานลงบนฟิล์ม ทิ้งไว้ในตู้ดูดควันจนฟิล์มแห้งสนิทสามารถลอกออกจากแม่แบบได้ง่าย จากนั้นนำไปวิเคราะห์และทดสอบสมบัติต่างๆ ในขั้นตอนในหัวข้อ 3.5 ต่อไป

ตารางที่ 3.1 สูตรการเตรียมฟิล์มคอมพอสิต

Sample	Mass of BC (g)	Mass of HC (g)
BC70 : HC30	1.47	0.63
BC80 : HC20	1.68	0.42
BC90 : HC10	1.89	0.21

3.5 การวิเคราะห์และทดสอบสมบัติ

3.5.1 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค ATR-FTIR

ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของฟิล์มคอมพอสิตด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีด้วยโหมด ATR (Attenuated total reflectance-Fourier transformed infrared spectroscopy, ATR-FTIR) ด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (FT-IR) ของบริษัท Thermo Fisher Scientific รุ่น Nicolet 6700-FT-IR ประเทศสหรัฐอเมริกา ทำการทดสอบในช่วงเลขคลื่น 4000-400 cm^{-1} resolution 4.0 cm^{-1} สแกนเป็นจำนวน 32 ครั้ง

3.5.2 การทดสอบสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM)

นำฟิล์มคอมพอสิตเข้าอบที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างเคลือบทองคำ หลังจากนั้นทำการทดสอบสัณฐานวิทยาบริเวณภาคตัดขวางของชิ้นตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) ของบริษัท JEOL solution for innovation รุ่น JSM-6480LV ประเทศญี่ปุ่น กำลังขยาย 1000 และ 20000 เท่า ทำการทดสอบด้วยค่าพลังงานอิเล็กตรอนที่ 5 กิโลโวลต์

3.5.3 การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA

วิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเครื่องวิเคราะห์น้ำหนักภายใต้ความร้อน (Thermogravimetric analyzer, TGA) ของบริษัท Mettler Toledo รุ่น TGA/DSC3+ ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ทดสอบในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 50–600 °C ด้วยอัตราการให้ความร้อน (heating rate) ที่ 10 °C/min ภายใต้บรรยากาศแก๊สไนโตรเจน

3.5.4 การทดสอบสมบัติเชิงกล

ทดสอบสมบัติด้านความทนแรงดึงด้วยเครื่องทดสอบเชิงกลอเนกประสงค์ (Universal testing machine, UTM) บริษัท Tinius Olsen รุ่น M250 ประเทศสหรัฐอเมริกา ตามมาตรฐาน

ASTM D882 ทำการตัดฟิล์มเป็นลักษณะสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 15 x 100 mm ระยะยึดดึง (gauge length) 50 mm ขนาดโหลดเซลล์ 500 N ด้วยอัตราเร็วคงที่ 10 mm/min

3.5.5 การทดสอบสมบัติการดูดซึมน้ำ

ทดสอบสมบัติการดูดซึมน้ำด้วยการชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง โดยการชั่งน้ำหนักแห้ง (W_d) หลังจากนั้นแช่ชิ้นตัวอย่างลงในน้ำ DI ปริมาตร 20 ml เป็นเวลาตั้งแต่ 0, 1, 2, 3, 4, 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากนั้นทำการชั่งน้ำหนักเปียก (W_w) โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ เพื่อคำนวณหาค่าเฉลี่ย คำนวณประสิทธิภาพการดูดซึมน้ำตามสมการต่อไปนี้

$$\text{ประสิทธิภาพการดูดซึมน้ำ (\%)} = \frac{(W_w - W_d)}{W_d} \times 100 \quad (3.1)$$

กำหนดให้ W_d คือ น้ำหนักแห้ง (g)

W_w คือ น้ำหนักเปียก (g)

3.5.6 การทดสอบสมบัติการต้านแบคทีเรียตามมาตรฐาน AATCC TM 147

ทดสอบสมบัติการต้านแบคทีเรียตามมาตรฐาน AATCC TM 147 ทำการตัดชิ้นตัวอย่างให้มีลักษณะสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 25 x 50 mm และวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (nutrient agar) ภายใต้สภาวะทดสอบที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สภาวะไม่มีแสง ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ หลังจากนั้นคำนวณบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ (clear zone of inhibition) จากสมการต่อไปนี้

$$W = \frac{(T - D)}{2} \quad (3.2)$$

กำหนดให้ W คือ ความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ (clear zone of inhibition)

T คือ เส้นผ่านศูนย์กลางทั้งของชิ้นตัวอย่างและบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ

D คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของชิ้นตัวอย่าง

3.5.7 การทดสอบการดูดซึมน้ำและปลดปล่อยยา

3.5.7.1 ประสิทธิภาพการกักเก็บยาของฟิล์มคอมพอสิต

เริ่มจากนำแอสคอร์บิกแอซิด 250 mg ใส่ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.4 ปริมาตร 50 ml แบ่งใส่ลงในขวดสีชาปริมาณ 5 ml ทำการตัดชิ้นตัวอย่างขนาด 1 cm² หลังจากนั้นแช่ลงในสารละลายแอสคอร์บิกแอซิดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 °C หลังจากนั้น

จะนำมาชั่งน้ำหนักส่วนเกินออกด้วยกระดาษกรองและทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer) ที่ช่วงความยาวคลื่น 200-600 nm ตามสมการต่อไปนี้

$$\text{Ascorbic acid loading Efficiency (\%)} = \frac{A_0 - A}{A} \times 100 \quad (3.3)$$

กำหนดให้ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเริ่มต้น
 A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายหลังจากแช่ขึ้นตัวอย่าง
 หลังจากนั้นนำค่าที่ได้จากสมการที่ (3.3) ไปคำนวณหาปริมาณแอสคอร์บิกแอซิดที่ถูกดูด
 ซึบเข้าไปจากสมการต่อไปนี้

$$\text{Amount of adsorbate} = \frac{\text{Ascorbic acid loading Efficiency (\%)} \times 25 \text{ mg}}{100} \quad (3.4)$$

และนำค่าที่ได้จากการคำนวณในสมการ (3.4) คำนวณหาปริมาณแอสคอร์บิกแอซิดที่
 ถูกดูดซับเข้าไปเทียบกับตัวปริมาณตัวดูดซับจากสมการต่อไปนี้

$$\text{Loading capacity} = \frac{\text{Amount of adsorbate (mg)}}{\text{Amount of sorbent (g)}} \quad (3.5)$$

3.5.7.2 การเตรียมกราฟมาตรฐาน (calibration curve)

เตรียมกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของแอสคอร์บิกแอซิดในสารละลาย
 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.4 ที่ความเข้มข้น 0.001 0.002 0.003 0.004 และ 0.005 mg/ml
 โดยนำไปวัดค่าความสามารถในการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV- spectrophotometer โดยพบว่า
 ที่ความยาวคลื่น 265 nm มีความสามารถในการดูดกลืนแสงได้สูงที่สุด หลังจากนั้นนำมาพล็อตกราฟ
 ผ่านสมการต่อไปนี้

$$y = mx + c \quad (3.6)$$

กำหนดให้ m คือ ความชัน
 c คือ จุดตัดแกน y

นำกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ที่คำนวณได้ นำไปหาปริมาณแอสคอร์บิกแอซิดที่
 ปลดปล่อยออกมาในขั้นตอนที่ 3.5.7.3 ต่อไป

3.5.7.3 การศึกษาการปลดปล่อยยา

นำฟิล์มที่เตรียมจากในข้อ 3.5.7.1 ทำการแช่ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.4 ปริมาตร 15 ml นำใส่เครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 37 °C ความเร็วรอบ 100 rpm หลังจากนั้นทำการเก็บสารละลายตัวอย่างออกมา 3 ml และเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) ลงไปแทนที่ด้วยปริมาตร 3 ml เช่นเดิม ทำเช่นนี้ทุกๆ 1, 2, 3, 4, 5, และ 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer) ที่ช่วงความยาวคลื่น 200-600 nm และคำนวณปริมาณแอสคอร์บิกแอซิดที่ปลดปล่อยออกมาจากการคำนวณโดยใช้กราฟมาตรฐาน (calibration curve) จากสารละลายแอสคอร์บิกแอซิดที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน (ความเข้มข้นตั้งแต่ 1-5 µg/ml)

ร้อยละการปลดปล่อยในแต่ละช่วงเวลาจะถูกคำนวณดังสมการ (4) ในรูปของร้อยละของปริมาณตัวยาแอสคอร์บิกแอซิดที่ถูกปลดปล่อยสะสมเปรียบเทียบกับเวลา (ชั่วโมง)

$$\text{Drug release (\%)} = \frac{\text{release drug}}{\text{total drug}} \times 100 \quad (3.7)$$

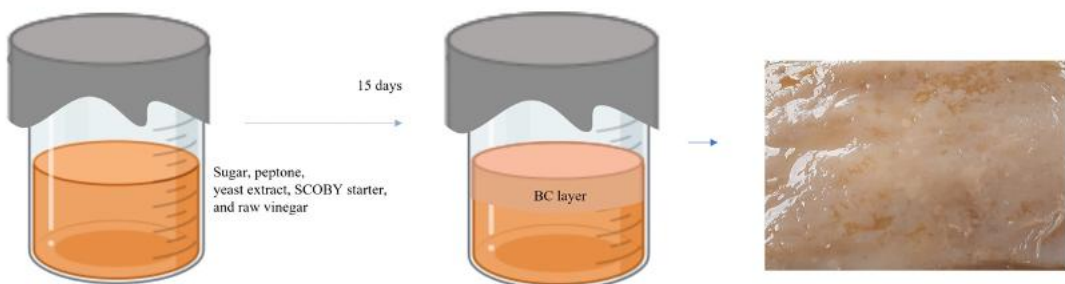
บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ลักษณะทางกายภาพของสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลสและฟิล์มสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซาน

4.1.1 ลักษณะทางกายภาพของสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส

หลังจากทำการเพาะเลี้ยงสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยน้ำตาล เพปโทน ยีสต์สกัดในภาชนะที่บ่มเป็นเวลา 15 วัน จะได้วุ้นแบคทีเรียลเซลลูโลสดังรูปที่ 4.1 มีลักษณะเป็นแผ่นไฮโดรเจลสีน้ำตาลลอยอยู่บนผิวหน้าของภาชนะ ทั้งนี้เนื่องจากในระหว่างการขยาย จำนวนของ lactic acid bacteria และ acetic acid bacteria แบคทีเรียชนิดนี้จะสร้างเปลือก เซลลูโลสห่อหุ้มเซลล์ไว้เพื่อป้องกันตัวเองจากการถูกทำลายจากแสงแดด ในขณะเดียวกันแบคทีเรีย ชนิดนี้ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ทำให้เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเป็นเวลานานมากขึ้น จึงปรากฏมีลักษณะเป็นเหมือนวุ้นมาสะสมตัวมากขึ้นบนผิวหน้าระหว่างชั้นของอากาศกับ ชั้นของเหลว โครงสร้างของสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลสจะเป็นตาข่ายสามมิติของเส้นใยเซลลูโลส ฟิลาเมนต์มีความสามารถในการดูดซับน้ำไว้ได้หลายเท่าของน้ำหนักแห้งเนื่องจากหมู่เซลลูโลส ไฮดรอกซิลมีสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิก หากแต่นำไปทำให้แห้งด้วยเทคนิคการระเหิดของผลิตภัณฑ์น้ำแข็ง ในโครงสร้าง เช่นเทคนิคแช่แข็ง-ละลาย (freeze-thaw) หรือแช่แข็ง-ทำให้แห้ง (freeze-dry) จะปรากฏให้เห็นโครงสร้างสามมิติของเส้นใยฟิลาเมนต์ที่รูพรุนสูง พื้นที่ผิวมาก จึงเหมาะที่จะนำไป ประยุกต์เป็นวัสดุต่างๆ เช่น แผ่นปิดแผลปลดปล่อยยา วิศวกรรมเนื้อเยื่อ นาโนคอมพอสิตที่มีสมบัติ ด้านเคมีไฟฟ้า เป็นต้น

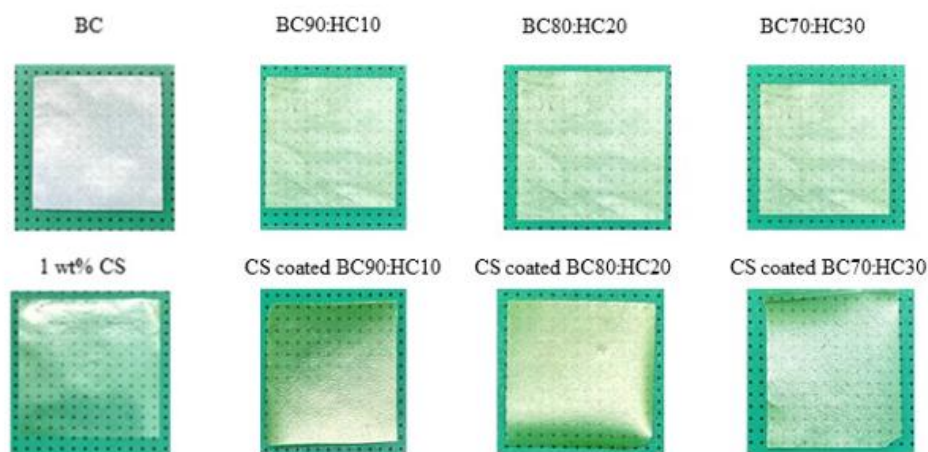


รูปที่ 4.1 การเพาะเลี้ยงสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส

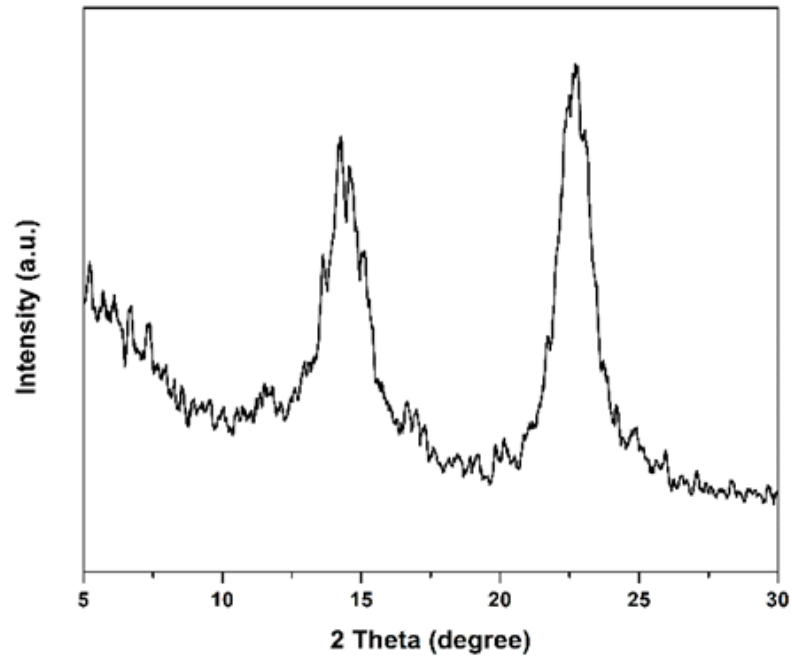
4.1.2 ลักษณะทางกายภาพของฟิล์มสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน เคลือบไคโตซาน

หลังจากเพาะเลี้ยงสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลสจากหัวข้อ 4.1 ทำการทำความสะอาดโดยการฟอกสีด้วยไฮโปคลอไรท์ ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนจน pH เท่ากับ 7 ทำให้แห้งแล้วปั่นผสม

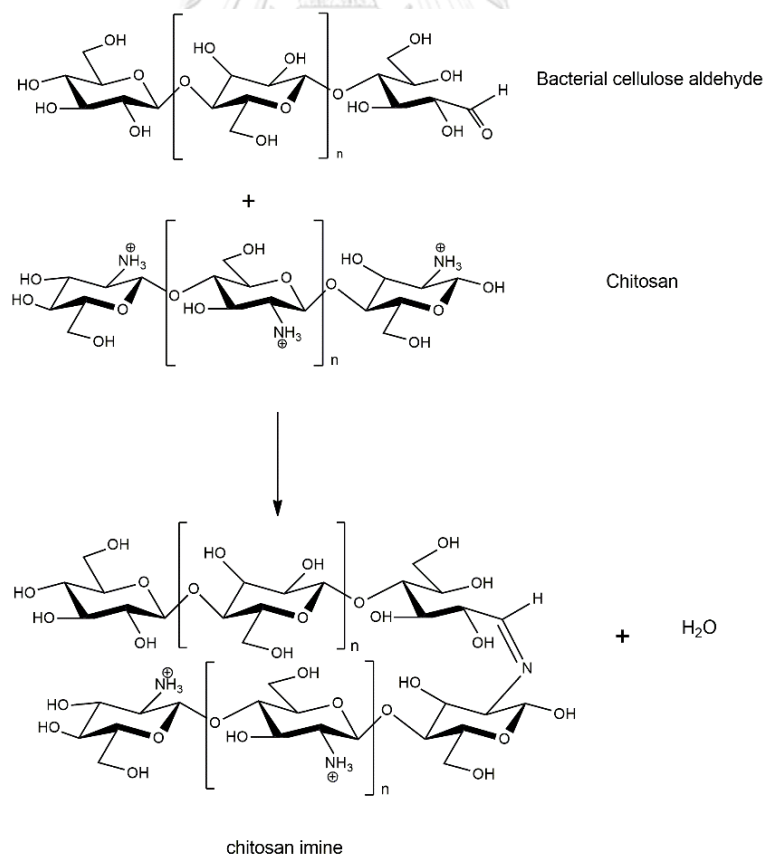
ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนด้วยอัตราส่วนต่างๆ กัน ได้แก่ BC90 : HC10, BC80 : HC20 และ BC70 : HC30 ตามลำดับ หลังจากนั้นทำการเทฟิล์มด้วยวิธีหล่อแบบจนกระทั่งฟิล์มแห้งเคลือบด้วยไคโตซาน จะได้ฟิล์มที่มีลักษณะ ดังรูปที่ 4.2 โดยฟิล์มแบบคิที่เรียลเซลลูโลสที่ได้มีลักษณะทึบแสง เนื่องจากโครงสร้างเกิดการจัดเรียงตัวอย่างมีทิศทาง ทำให้เกิดผลึกซึ่งยืนยันด้วย XRD ดิฟแฟรกโทแกรม ดังรูปที่ 4.3 เมื่อแสงส่องผ่านจึงทำให้เกิดการหักเหแสงเกิดขึ้น จึงสังเกตเห็นได้เป็นลักษณะทึบแสง ส่วนฟิล์มไคโตซานมีสีเหลืองอ่อน โปร่งแสง โค้งงอ พบได้ ฟิล์ม BC : HC มีลักษณะสีเหลืองอ่อนและ โปร่งแสงซึ่งบ่งบอกว่าฟิล์มมีความเป็นผลึกต่ำ ส่วนสีเหลืองอ่อนมาจากไฮโดรไลซ์คอลลาเจนซึ่งมีธาตุ ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับแสงโดยจะดูดกลืนคลื่นแสงบางช่วง (ช่วงแสง สีน้ำเงิน) และปลดปล่อยคลื่นแสงในช่วงแสงสีเหลืองออกมา ในขณะที่ฟิล์ม CS coated BC : HC จะปรากฏสีเหลืองเข้มกว่า ทั้งนี้เนื่องจากเกิดปฏิกิริยา Schiff base ระหว่างหมู่ BC hemiacetal (หมู่รีดิวซิงที่ปลายสายโซ่แบบคิที่เรียลเซลลูโลส) กับหมู่อะมิโนของไคโตซานได้เป็นหมู่ imine (-C=N-) ซึ่งหมู่ imine สามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้ที่มีความยาวคลื่นแสงที่ 480.1 นาโนเมตร (แสงสีน้ำเงิน บริสุทธิ์) และปลดปล่อยคลื่นแสงที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 570-580 นาโนเมตรซึ่งเป็นแสงสีเหลือง ส่งผลให้ฟิล์มปรากฏเป็นสีเหลืองเข้ม นอกจากนี้หมู่ imine ยังทำหน้าที่เป็นหมู่เชื่อมขวางระหว่าง ไคโตซานและเซลลูโลส ดังแสดงในรูปที่ 4.4 ซึ่งส่งผลให้ฟิล์มเคลือบไคโตซานมีสมบัติเชิงกลดีขึ้น แต่ส่งผลต่อสมบัติการดูดซึมน้ำ ทำให้ดูดซึมน้ำได้ลดลง ดังจะอธิบายต่อไป



รูปที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพของฟิล์มคอมพอสิตส์คิที่เรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซาน



รูปที่ 4.3 XRD ดิฟแฟรกโทแกรมของสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส

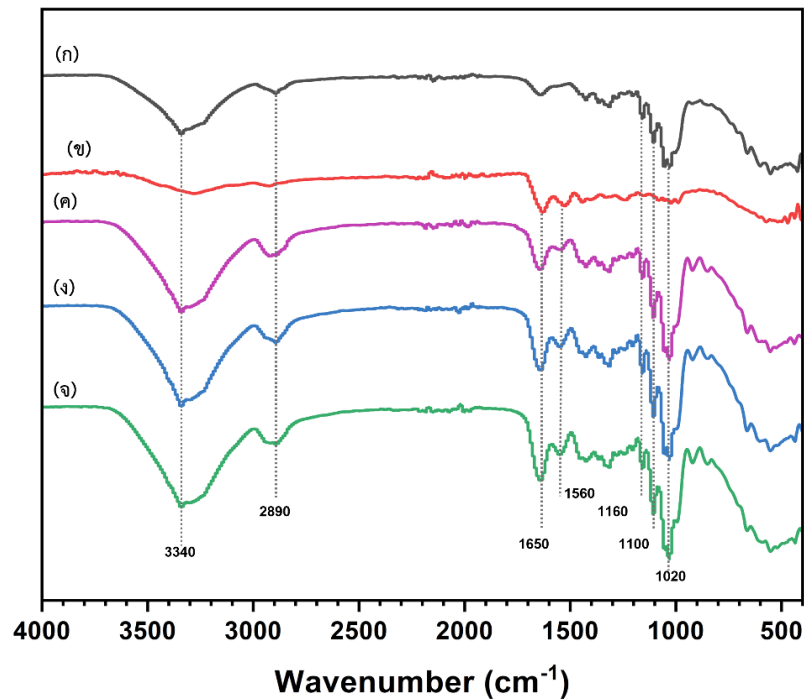


รูปที่ 4.4 ปฏิกิริยา Schiff base ระหว่างไคโตซานและสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส

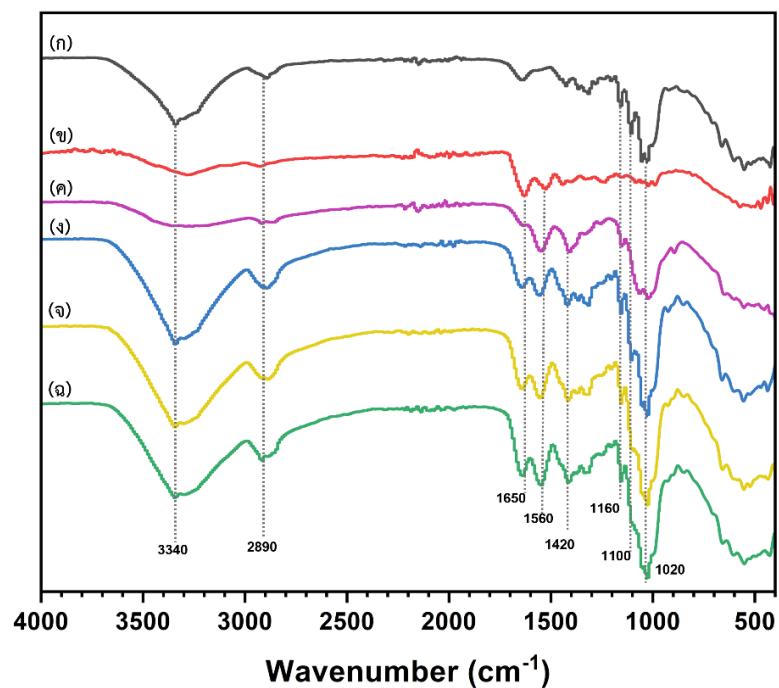
4.2 ผลการวิเคราะห์และทดสอบสมบัติของฟิล์มคอมพอลิเมอร์โคปี้แบคทีเรียเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซาน

4.2.1 ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของฟิล์มด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโคปี (ATR-FTIR)

หลังจากเตรียมฟิล์มคอมพอลิเมอร์ของสโคปี้แบคทีเรียเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานเรียบร้อยแล้ว นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 °C หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของฟิล์มโดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโคปีด้วยโหมด ATR แสดงในรูปที่ 4.5, 4.6 และในตารางที่ 4.1 แสดงสเปกตรัม FTIR ของแบคทีเรียเซลลูโลสจะปรากฏเลขคลื่นเอกลักษณ์ของหมู่ไฮดรอกซิลที่ 3340 cm^{-1} C-H 2980 cm^{-1} เซลลูโลสเฮมิแอสเซทัล 1650 cm^{-1} (reducing sugar) ซึ่งมีความเข้มของพีกที่ชัดเมื่อเทียบกับเซลลูโลสที่อยู่ในรูปเส้นใย แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียเซลลูโลสมีหมู่เอมิเซทัลจำนวนมากว่าเนื่องจากเส้นใยมีขนาดระดับนาโนเมตรมีพื้นที่ผิวสูง นอกจากนี้ยังพบ C–O–C stretching ของพันธะ 1,4- β -D-glucoside 1160 cm^{-1} C–O bending 1100 cm^{-1} และ C–O–C pyranose ring skeletal vibration ที่เลขคลื่น 1020 cm^{-1} หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์สเปกตรัม FTIR ของฟิล์มสโคปี้แบคทีเรียเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนแสดงเลขคลื่นเอกลักษณ์ 3340 cm^{-1} (broader band) 2980 cm^{-1} (CH_2 vibration band) และ 1650 cm^{-1} (strong band of collagen amide group) ซึ่งที่เลขคลื่น 1650 cm^{-1} เกิดการซ้อนทับกันของพีกเอกลักษณ์ของหมู่คาร์บอนิลในเซลลูโลสและหมู่เอไมด์ในไฮโดรไลซ์คอลลาเจน ซึ่งเป็นการเพิ่มความเข้มของพีกดังกล่าว จึงยืนยันได้ว่า เกิดอันตรกิริยาระหว่างเซลลูโลสและไฮโดรไลซ์คอลลาเจน และสุดท้ายวิเคราะห์ฟิล์มสโคปี้แบคทีเรียเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซาน พบเลขคลื่นเอกลักษณ์ที่ 1560 cm^{-1} ซึ่งเปลี่ยนลักษณะการสั่นแบบ deformation ของหมู่ N-H ของไคโตซาน และพบพีกที่เลขคลื่น 1650 cm^{-1} ปรากฏอย่างเด่นชัด ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของหมู่ imine ที่ไม่พบในฟิล์มไคโตซานอิสระ อย่างไรก็ตามพีกที่เลขคลื่น 1650 cm^{-1} ยังเป็นเอกลักษณ์ของหมู่คาร์บอนิลของแบคทีเรียเซลลูโลสและหมู่เอไมด์ของคอลลาเจนอีกด้วย แต่ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์แบบ ATR-FTIR จะวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของฟิล์ม ซึ่งในกรณีของฟิล์มเคลือบไคโตซานได้ทำการวิเคราะห์ด้านชั้นเคลือบไคโตซาน จึงทำให้พิสูจน์ได้ว่าพีกที่ตำแหน่ง 1650 cm^{-1} เป็นพีกของหมู่ imine นอกจากนี้ยังพบ C–O–C stretching ของพันธะ 1,4- β -D-glucoside 1160 cm^{-1} , C–O bending 1100 cm^{-1} และ C–O–C pyranose ring skeletal vibration 1020 cm^{-1}



รูปที่ 4.5 FTIR สเปกตรัมของ ก) สโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ข) ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนและฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนอัตราส่วน ค) 90:10 ง) 80:20 จ) 70:30



รูปที่ 4.6 FTIR สเปกตรัมของ ก) สโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ข) ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน ค) ไคโตซาน และฟิล์มคอมพอสิตที่ผ่านการเคลือบไคโตซานของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนอัตราส่วน ง) 90:10 จ) 80:20 ฉ) 70:30

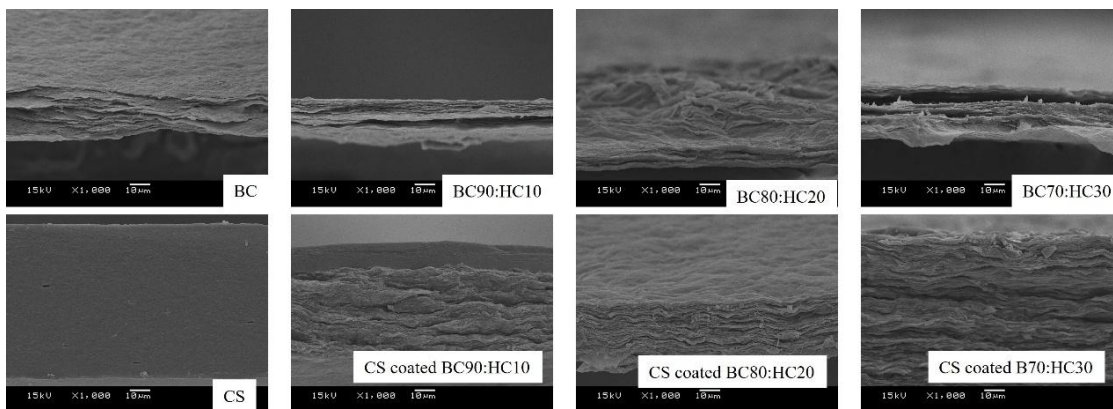
ตารางที่ 4.1 ตำแหน่งเลขคลื่นเอกลักษณ์ของหมู่ฟังก์ชันที่ปรากฏในสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน และไคโตซาน

Functional groups	Wavenumber (cm ⁻¹)		
	Bacterial cellulose	Hydrolyzed collagen	Chitosan
C-O-C stretching	1020	-	1020
C-O bending	1100	-	-
C-O-C stretching	1160	-	1160
CH ₂	-	-	1420
N-H deformation	-	1560	1560
NHCO	-	1650	1650
Hemiacetal and C=N (imine)	1650	-	-
C-H	2980	-	-
O-H	3340	-	-

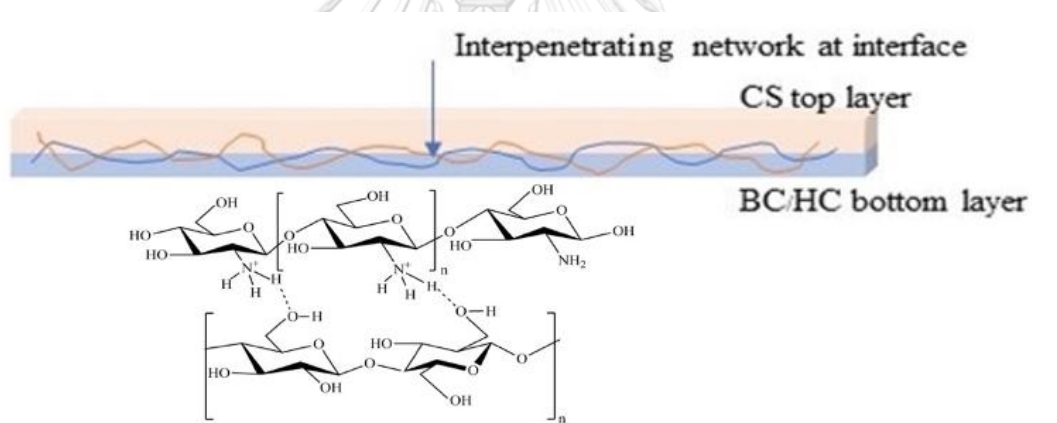
4.2.2 ผลการวิเคราะห์สัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด(SEM)

หลังจากเตรียมฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานเรียบร้อยแล้ว นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเริ่มจากการเตรียมตัวอย่างโดยทำการหักฟิล์มในไนโตรเจนเหลวเพื่อศึกษาลักษณะภาพตัดขวาง หลังจากนั้นเคลือบด้วยทองคำ หลังจากนั้นนำไปการวิเคราะห์สัณฐานวิทยาจากภาพตัดขวางของด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) ได้ผลการทดสอบดังในรูปที่ 4.7 พบว่าสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสมีลักษณะซ้อนทับเป็นชั้น เมื่อผสมไฮโดรไลซ์คอลลาเจนลงไปในสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสทำให้เกิดเป็นลักษณะเหมือนชั้นเคลือบ เมื่อใส่ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนมากขึ้นจะสังเกตเห็นลักษณะเป็นชั้นเคลือบมากขึ้น เนื่องจากเกิดอันตรกิริยาทางกายภาพระหว่างสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสกับไฮโดรไลซ์คอลลาเจน แสดงให้เห็นว่า ฟิล์มมีลักษณะที่เข้ากันได้ดี ส่วนลักษณะฟิล์มสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานไม่สังเกตเห็นฟิล์มไคโตซานเคลือบ เนื่องจากไคโตซานอาจจะซึมเข้าสู่เนื้อฟิล์มทำให้เห็นเป็นเนื้อเดียวกัน เช่นเดียวกับฟิล์มสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนที่ไม่ได้เคลือบไคโตซานทับ แสดงให้เห็นถึงอันตรกิริยาระหว่างไคโตซานและสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส (ปราศจากสารเชื่อมขวางทางเคมี)

การกระจายตัวของไฮโดรไลซ์คอลลาเจนในแบคทีเรียลเซลลูโลสเมทริกซ์ และการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานและแบคทีเรียลเซลลูโลสทางกายภาพนั้นแสดงไว้ในรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.7 สัณฐานวิทยาของสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไคโตซาน และฟิล์มคอมพอลิตที่ผ่านและไม่ผ่านการเคลือบไคโตซาน

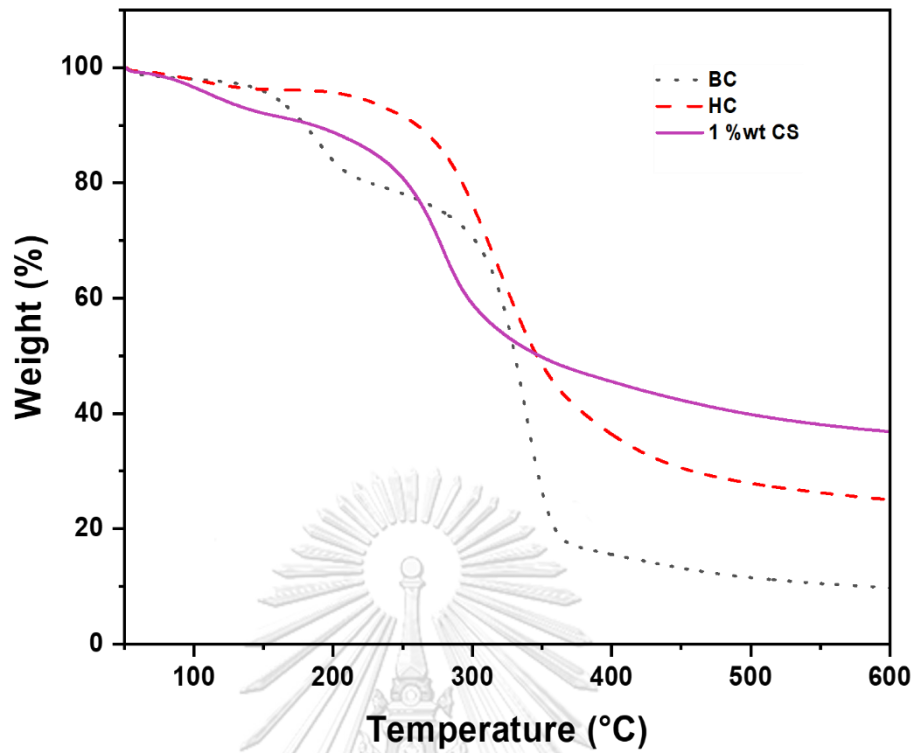


รูปที่ 4.8 การเกิดพันธะบนพื้นผิวระหว่างโครงสร้างสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลสและไคโตซาน

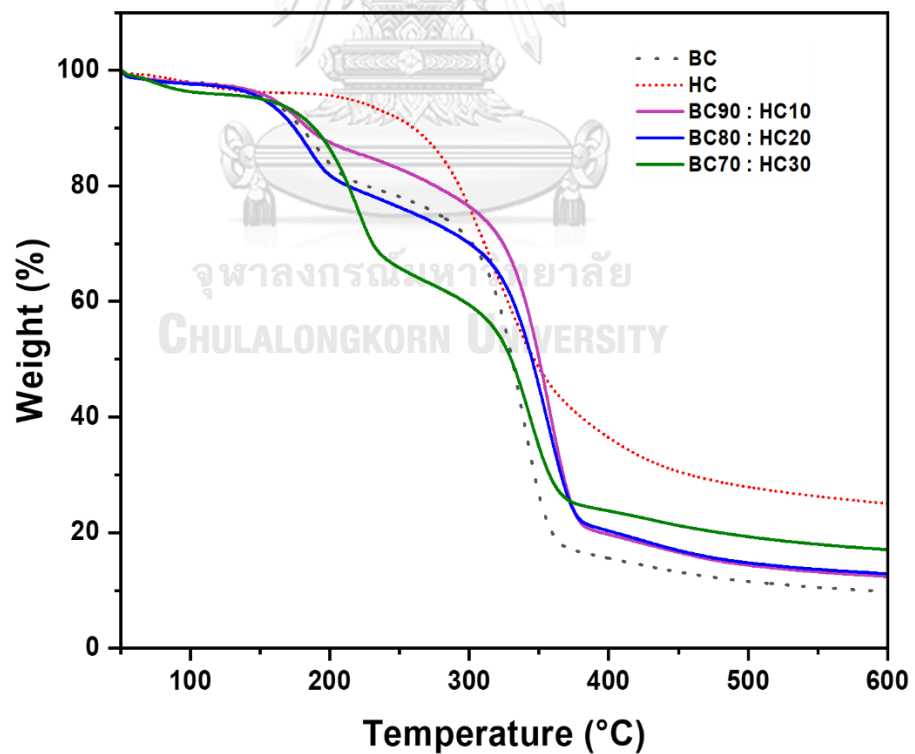
4.2.3 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA

หลังจากเตรียมฟิล์มคอมพอลิตของสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานเรียบร้อยแล้ว นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนโดยเทคนิควิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารโดยอาศัยสมบัติทางความร้อน (Thermogravimetric analysis, TGA) ทดสอบในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 50–600 °C ด้วยอัตราการให้ความร้อน (heating rate) ที่ 10 °C/min ภายใต้บรรยากาศแก๊สไนโตรเจน ได้ผลการวิเคราะห์ดังรูปที่ 4.9, 4.10, 4.11 และตารางที่ 4.2 จะพบว่า มีการสลายตัวทางความร้อนของชิ้นตัวอย่างสามขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนแรกอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 25-250 °C โดยเป็นขั้นตอนการระเหยของน้ำและกลีเซอรอล เนื่องจากเกิดการดูดซับน้ำและเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของน้ำ ซึ่งสัมพันธ์กับ

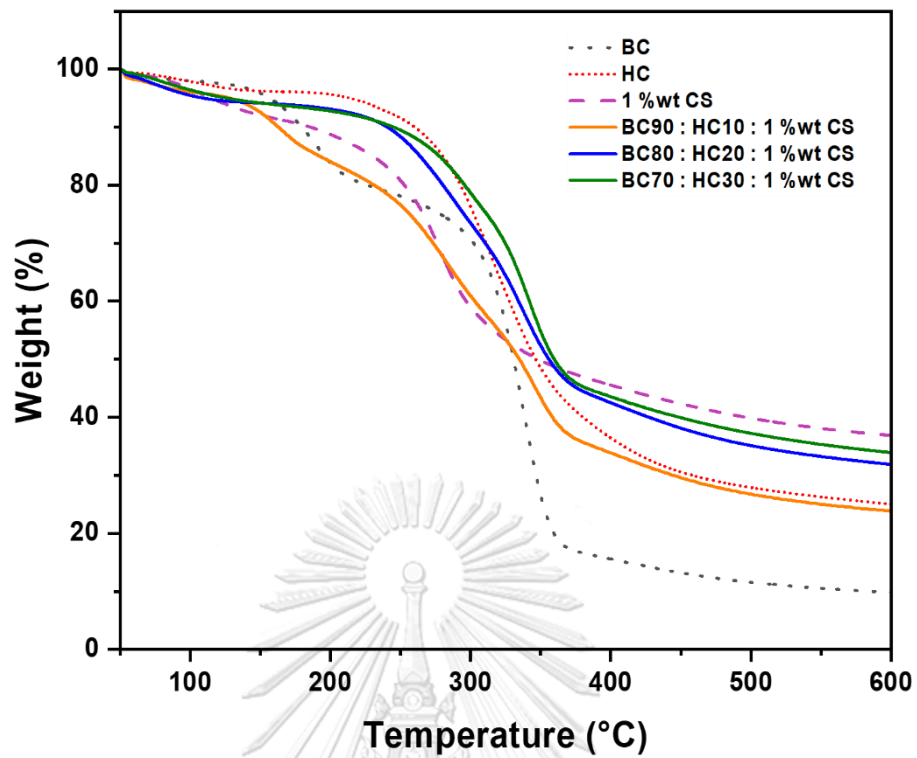
การเพิ่มขึ้นของปริมาณไฮโดรไลซ์คอลลาเจนนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำ ชั้นที่สองอยู่ที่อุณหภูมิ 200-350 °C เป็นการสลายตัวของโปรตีนและพอลิไฮดรอกซีเลต (ในเส้นใยเซลลูโลส) ซึ่งมีการสูญเสียมวลมากที่สุด การสูญเสียมวลของตัวอย่างในระยะนี้อยู่ที่ประมาณ 60% ซึ่งจะพบว่าสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสบริสุทธิ์สลายตัวที่อุณหภูมิ 317.08 °C และโคโตซานมีอุณหภูมิการสลายตัวที่ 250.62 °C ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน มีอุณหภูมิการสลายตัวที่ 300-400 °C [35] ซึ่งจากการศึกษาพบว่าฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน มีอุณหภูมิการสลายตัวอยู่ในช่วงการสลายตัวของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสและไฮโดรไลซ์คอลลาเจน แสดงให้เห็นถึงความเข้ากันได้ดีระหว่างแบคทีเรียลเซลลูโลสและไฮโดรไลซ์คอลลาเจน ซึ่งเมื่อเคลือบด้วยโคโตซานจะพบว่าอุณหภูมิการสลายตัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการศึกษาสรุพบว่า ในระยะนี้เป็นช่วงที่มีอัตราการสูญเสียมวลสูงสุดเนื่องจากสอดคล้องกับการสลายตัวของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน และกลีเซอรอล ขั้นตอนสุดท้ายอยู่ที่ 300-350 °C จนกระทั่งถึงอุณหภูมิ 600 °C ระยะนี้สัมพันธ์กับการสลายตัวของสารที่ตกค้างนำไปสู่การก่อตัวของสารอนินทรีย์และก่อให้เกิดเถ้าคาร์บอน ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสสลายตัวเหลือเถ้าคาร์บอนน้อยที่สุดคือ 9.81% และโคโตซานมีปริมาณเถ้าคาร์บอนเหลืออยู่มากที่สุดคือ 36.86% ซึ่งจากปริมาณเถ้าคาร์บอนที่เหลืออยู่มากที่สุดอาจเกิดจากโคโตซานที่สลายตัวผ่าน free radical mechanism เป็นอนุมูลอิสระซึ่งสามารถกลับมารวมกันได้โดยการเชื่อมขวางอีกครั้ง ซึ่งมีเสถียรภาพทางความร้อนมากกว่าสายโซ่ตรงปกติ ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นผ่านการเกิดเถ้าคาร์บอนปริมาณมากที่สุด และปริมาณเถ้าคาร์บอนจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นตามปริมาณการเติมไฮโดรไลซ์คอลลาเจน และเมื่อเคลือบด้วยโคโตซานก็จะพบเถ้าคาร์บอนมากขึ้นกว่าฟิล์มคอมพอสิตที่ไม่ได้เคลือบ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบเสถียรภาพทางความร้อนดังรูปที่ 4.12, 4.13 และ 4.14 พบว่า ฟิล์มสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสที่เป็นโครงสร้างหลักมีอุณหภูมิการสลายตัวอยู่สูงสุดอยู่ที่ 338 °C โคโตซานที่ 279 °C ฟิล์มคอมพอสิตที่ผ่านและไม่ผ่านการเคลือบโคโตซาน อุณหภูมิการสลายตัวอยู่สูงสุดอยู่ที่ 340-345 °C และ 345-355 °C ตามลำดับ จะพบว่าฟิล์มมีเสถียรภาพทางความร้อนมากขึ้น เนื่องจากฟิล์มคอมพอสิตมีช่วงอุณหภูมิการสลายตัวเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสและฟิล์มโคโตซานบริสุทธิ์ ซึ่งจากผลการศึกษาทั้งหมดในส่วนนี้สัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของฟิล์มโดยเทคนิคเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโคปี (ATR-FTIR) ที่กล่าวไปข้างต้น ซึ่งเป็นการยืนยันได้ว่าเกิดอันตรกิริยาระหว่างสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนและโคโตซาน และนอกจากนี้ยังยืนยันได้อีกว่าการเติมไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเข้าไปไม่ได้เข้าไปทำการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีภายในโครงสร้าง



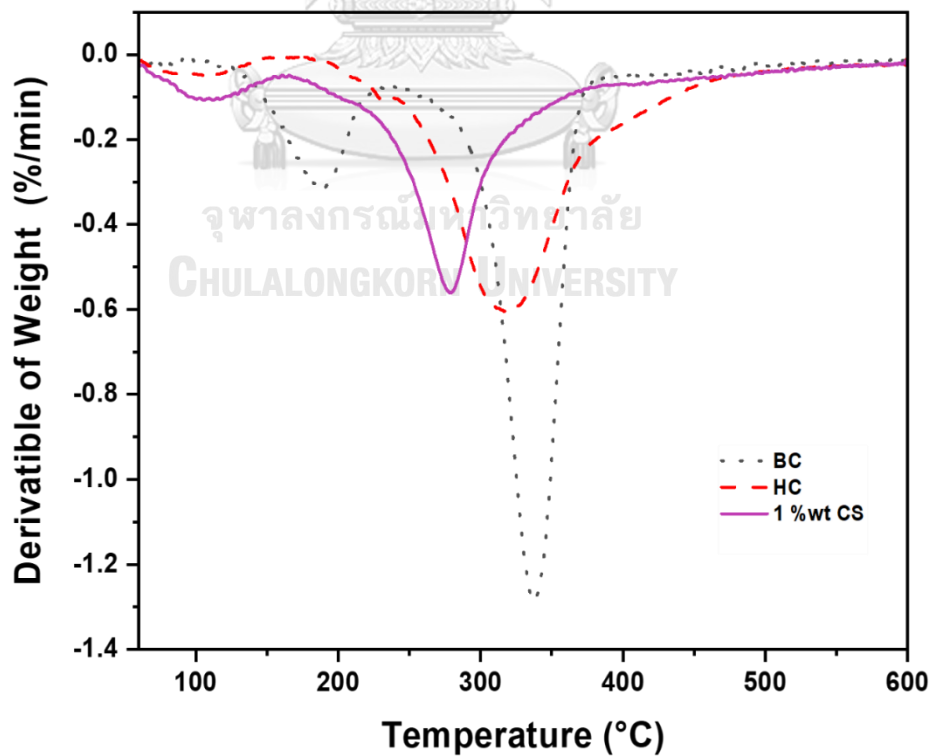
รูปที่ 4.9 TG เทอร์โมแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนและไคโตซาน



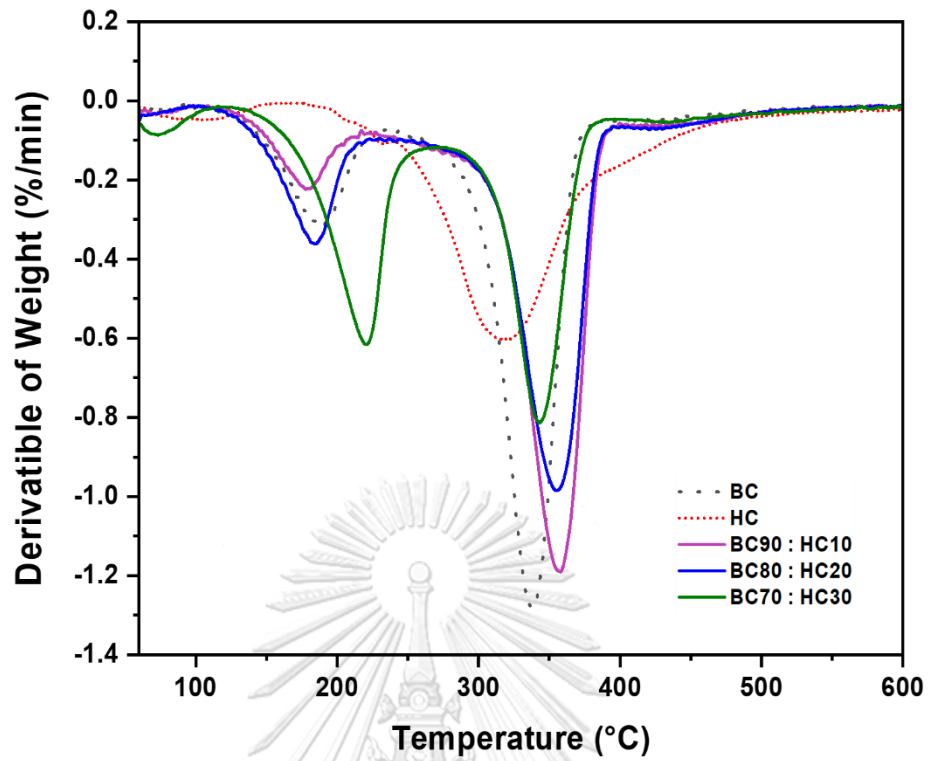
รูปที่ 4.10 TG เทอร์โมแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน และฟิล์มคอมพอสิตที่ไม่ผ่านการเคลือบไคโตซาน



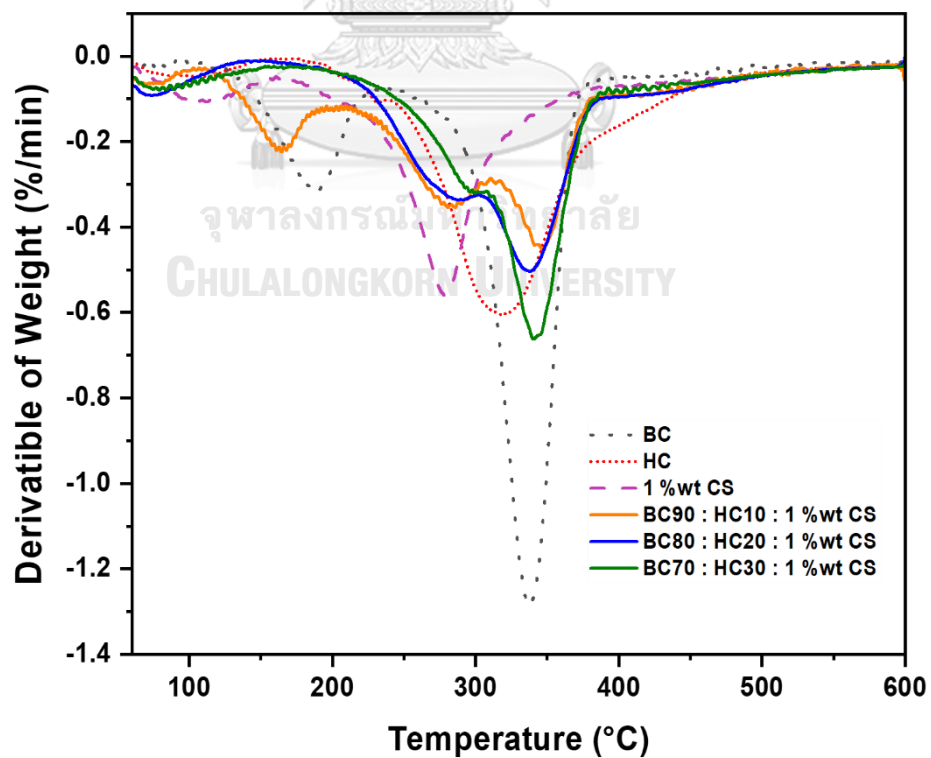
รูปที่ 4.11 TG เทอร์โมแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส โคโตซานบริสุทธิ์ และฟิล์มคอมพอสิตที่ผ่านการเคลือบโคโตซาน



รูปที่ 4.12 DTG เทอร์โมแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนและโคโตซาน



รูปที่ 4.13 DTG เทอร์โมแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน และฟิล์มคอมพอสิตที่ไม่ผ่านการเคลือบไคโตซาน



รูปที่ 4.14 DTG เทอร์โมแกรมของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไคโตซานและฟิล์มคอมพอสิต ที่ผ่านการเคลือบไคโตซาน

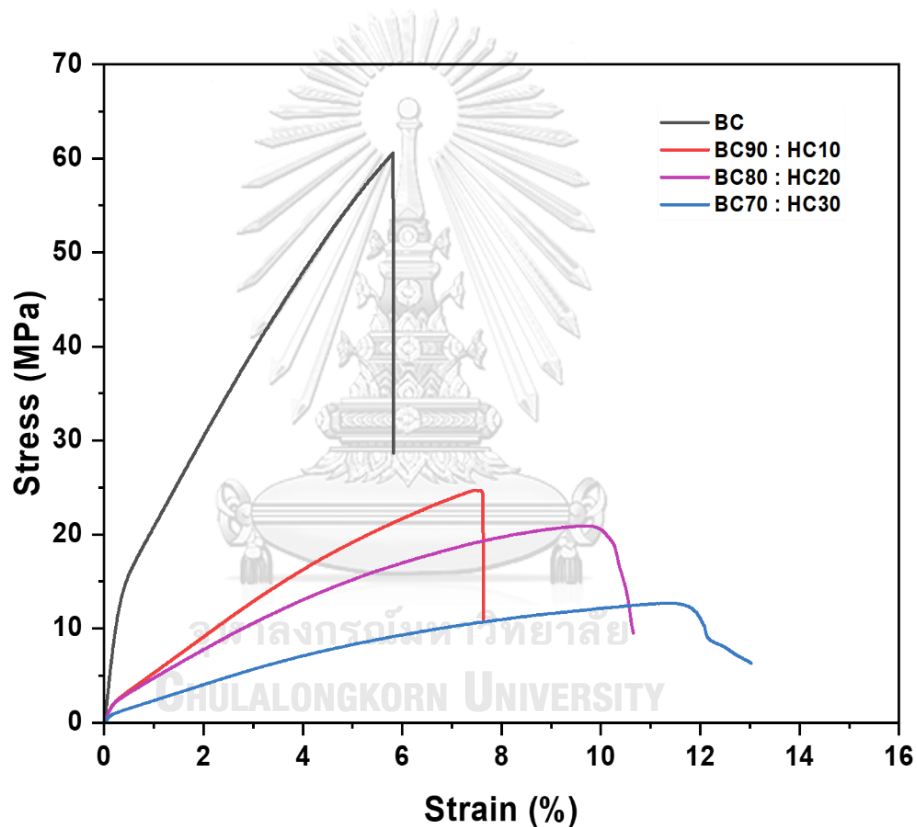
ตารางที่ 4.2 อุณหภูมิการสลายตัวของฟิล์มคอมพอสิต

Sample	T _{onset} (°C)	T _{max} (°C)	T _{endset} (°C)	Char residue at 600°C (%)
BC	317.08	338.86	360.71	9.81
HC	268.83	320.05	382.47	25.03
1 %wt CS	250.62	279.31	324.41	36.86
BC70 : HC30	313.54	345.44	374.30	17.32
BC80 : HC20	333.39	352.83	375.03	17.91
BC90 : HC10	336.20	354.50	376.53	14.89
BC70 : HC30 : 1 %wt CS	302.09	343.70	371.24	35.74
BC80 : HC20 : 1 %wt CS	325.11	337.45	387.89	31.89
BC90 : HC10 : 1 %wt CS	338.95	346.83	360.84	36.59

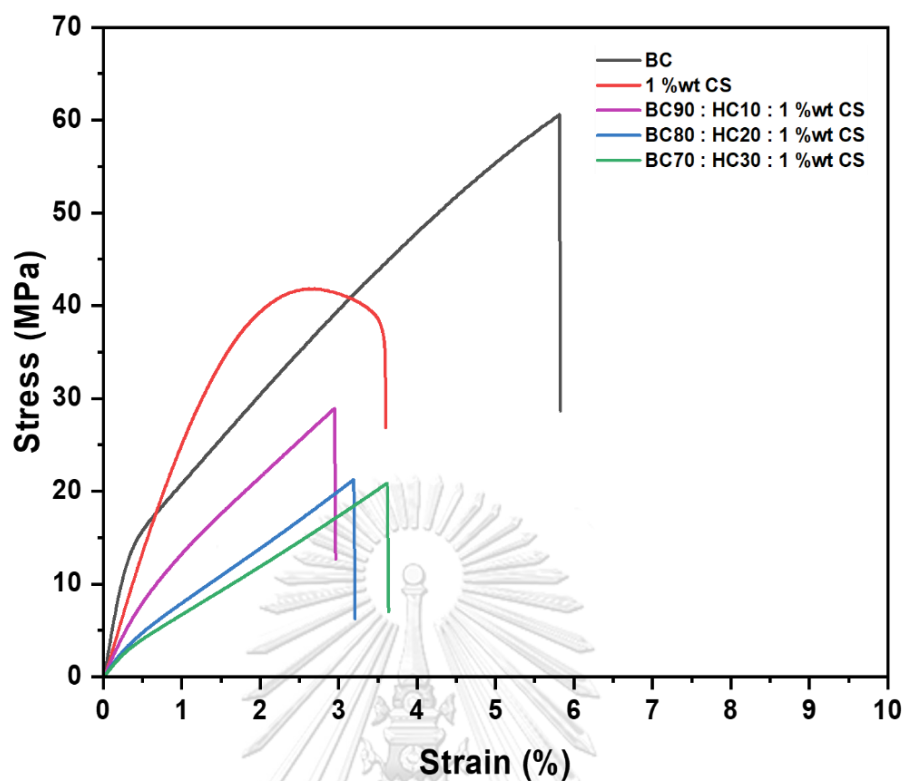
4.2.4 ผลทดสอบสมบัติเชิงกล

หลังจากเตรียมฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานเรียบร้อยแล้ว นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการตัดฟิล์มเป็นลักษณะสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 15 x 100 mm ก่อนทำการทดสอบเก็บชิ้นตัวอย่างไว้ภายในอุณหภูมิ 25 °C ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50% เป็นเวลาอย่างน้อย 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปทดสอบสมบัติเชิงกล (Tensile testing) โดยเครื่องทดสอบอเนกประสงค์ (Universal Testing Machine, UTM) ตามมาตรฐาน ASTM D882 ระยะยึดดึง (gauge length) 50 mm ขนาดโหลดเซลล์ 500 N ด้วยอัตราเร็วคงที่ 10 mm/min ได้ผลการทดสอบดังรูปที่ 4.13 และตารางที่ 4.3 ค่าสมบัติความแข็งแรงเชิงกลของฟิล์มสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส (ความหนาของฟิล์ม $53.00 \pm 4.47 \mu\text{m}$) มีค่ามอดูลัสของยังเท่ากับ $925.35 \pm 51.29 \text{ MPa}$ ค่าความทนแรงดึงเท่ากับ $61.56 \pm 4.71 \text{ MPa}$ และการยืดตัวที่จุดขาดอยู่ที่ $6.58 \pm 1.14 \%$ ไคโตซาน (ความหนาของฟิล์ม $54.00 \pm 5.48 \mu\text{m}$) มีค่ามอดูลัสของยังเท่ากับ $2771.9 \pm 171.41 \text{ MPa}$ ค่าความทนแรงดึงเท่ากับ $41.91 \pm 0.97 \text{ MPa}$ และการยืดตัวที่จุดขาดอยู่ที่ $4.64 \pm 1.34 \%$ บ่งชี้ให้เห็นว่าฟิล์มสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสมีความทนแรงดึงมากกว่าฟิล์มไคโตซานแต่มีค่ามอดูลัสของยังที่น้อยกว่าฟิล์มไคโตซาน บ่งชี้ให้เห็นว่าฟิล์มสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสมีความแข็งแรงสูงกว่าฟิล์มไคโตซาน ซึ่งในงานวิจัยนี้ต้องการปรับปรุงสมบัติเพิ่มความยืดหยุ่นให้ฟิล์มคอมพอสิตจึงมีการเติมไฮโดรไลซ์คอลลาเจนลงไป เมื่อพิจารณาจากกราฟความเค้น ความเครียด ในรูปที่ 4.15 ปรากฏค่าความแข็งแรงเชิงกลของฟิล์มคอมพอสิต

สโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนมีแนวโน้มที่จะลดลงเมื่อมีการเพิ่มปริมาณไฮโดรไลซ์คอลลาเจนแต่ในทางตรงกันข้ามร้อยละการยืดตัวที่จุดขาดมีค่ามากยิ่งขึ้น แสดงให้เห็นว่าฟิล์มคอมพอสิตมีสมบัติยืดหยุ่นดีขึ้นเมื่อเติมไฮโดรไลซ์คอลลาเจน และเมื่อเคลือบฟิล์มคอมพอสิตสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนด้วยไคโตซานโดยพิจารณาจากกราฟความเค้นความเครียดในรูปที่ 4.16 แสดงให้เห็นว่า ความแข็งตึงของฟิล์มคอมพอสิตที่เคลือบด้วยไคโตซานค่อยๆ เพิ่มขึ้นทีละน้อยแต่ความยืดหยุ่นลดลงเมื่อเทียบกับฟิล์มคอมพอสิตที่ไม่ถูกเคลือบในรูปที่ 4.15 ซึ่งถูกยืนยันโดยการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันโดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโคปี (ATR-FTIR) ที่กล่าวไปข้างต้น



รูปที่ 4.15 Stress-strain curves ของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสและฟิล์มคอมพอสิต

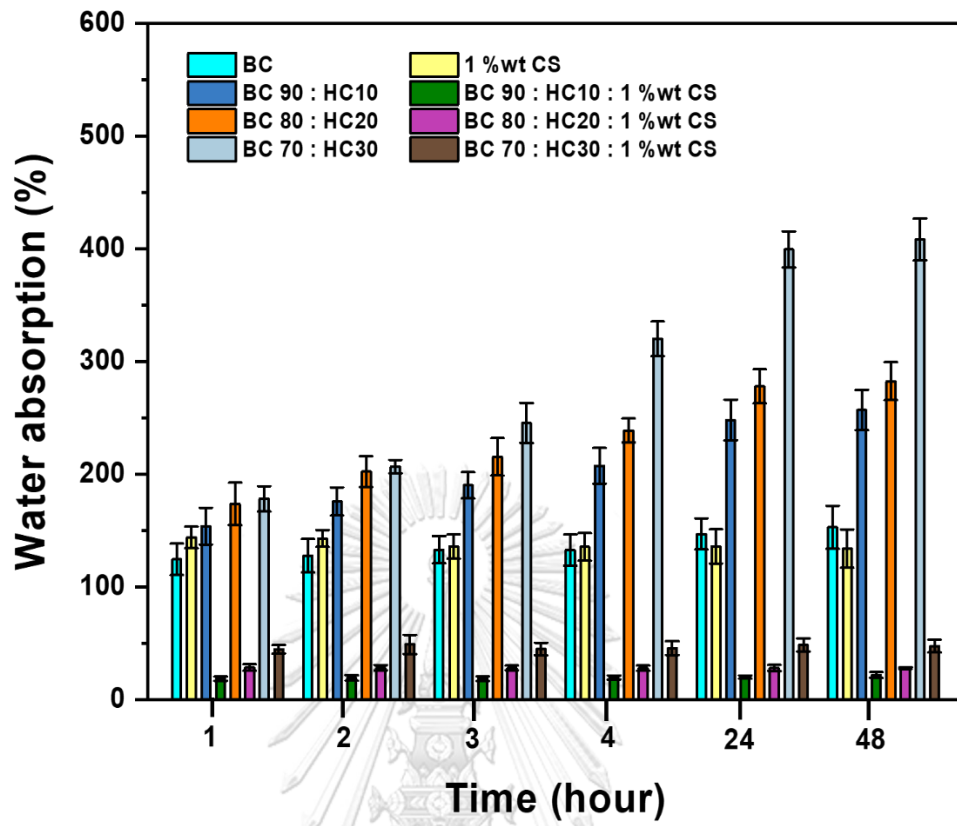


รูปที่ 4.16 Stress-strain curves ของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส โคโตซาน และฟิล์มคอมพอสิตที่ผ่านการเคลือบโคโตซาน ตารางที่ 4.3 สมบัติเชิงกลของของชิ้นทดสอบ

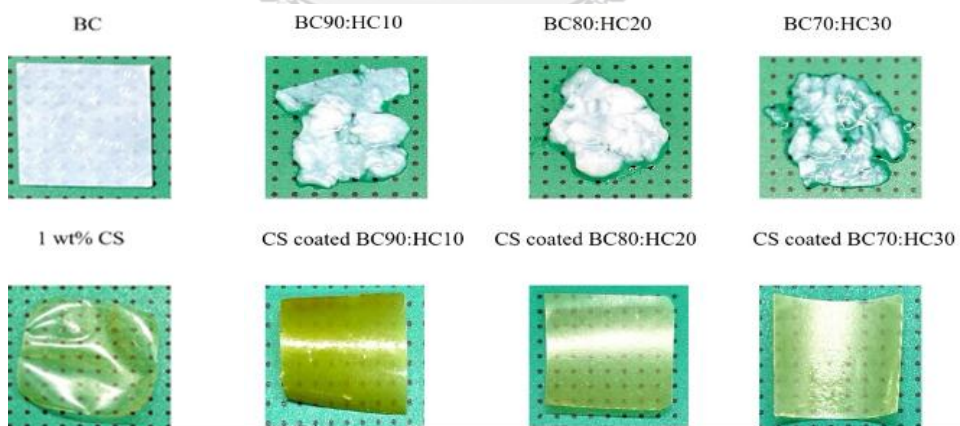
Sample	Young's modulus (MPa)	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)
BC	925.35 ± 51.29	61.56 ± 4.71	6.58 ± 1.14
1 %wt CS	2771.9 ± 171.41	41.91 ± 0.97	4.64 ± 1.34
BC70 : HC30	194.75 ± 43.30	12.40 ± 0.98	12.19 ± 4.32
BC80 : HC20	315.86 ± 37.13	18.02 ± 2.01	11.21 ± 1.93
BC90 : HC10	413.35 ± 57.43	23.47 ± 1.23	6.81 ± 0.99
BC70 : HC30 : 1 %wt CS	594.63 ± 66.58	20.54 ± 3.47	3.86 ± 0.27
BC80 : HC20 : 1 %wt CS	614.64 ± 37.18	21.21 ± 1.59	3.51 ± 0.13
BC90 : HC10 : 1 %wt CS	1551.74 ± 242.93	29.16 ± 1.90	2.99 ± 0.55

4.2.5 ผลสมบัติน้ำการดูดซึม

หลังจากเตรียมฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานเรียบร้อยแล้ว นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการทดสอบสมบัติการดูดซึมน้ำซึ่งเป็นสมบัติที่สำคัญของวัสดุปิดแผล โดยทำการชั่งน้ำหนักแห้งของฟิล์ม หลังจากนั้นแช่ฟิล์มลงในน้ำปราศจากไอออน (DI) เป็นเวลา 1, 2, 3, 4 และ 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักเปียกของฟิล์มทำการทดสอบ 3 ซ้ำเพื่อหาค่าเฉลี่ยร้อยละการดูดซึมน้ำของฟิล์มสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสฟิล์มไคโตซาน ฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน และฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซาน ถูกคำนวณตามสมการที่ (3.1) และแสดงผลการทดสอบในรูปที่ 4.17 ร้อยละการดูดซึมน้ำของฟิล์มคอมพอสิตสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสและฟิล์มไคโตซานอยู่ในช่วงร้อยละ 100 – 150 โดยน้ำหนัก ซึ่งฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน มีร้อยละการดูดซึมน้ำเพิ่มขึ้นจากสองเท่าเป็นสี่เท่าขึ้นกับปริมาณไฮโดรไลซ์คอลลาเจนและปริมาณสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากในโครงสร้างของทั้งสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสและไฮโดรไลซ์คอลลาเจนต่างมีหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลซึ่งยึดมั่นได้จากการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชัน จึงทำให้มีการดูดซึมน้ำที่ดีเพิ่มมากขึ้น ที่เวลาสมดุ (24 ชั่วโมง) ฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนมีการบวมตัวและเปลี่ยนรูปร่างดังแสดงในรูปที่ 4.18 แสดงให้เห็นว่าไม่เกิดการเชื่อมขวางทางกายภาพระหว่างไฮโดรไลซ์คอลลาเจนและสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสเนื่องจากความเป็นจริงไฮโดรไลซ์คอลลาเจนมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจึงขาดหมู่ไฮดรอกซิลที่เพียงพอต่อการสร้างพันธะไฮโดรเจนที่แข็งแรงเพิ่มขึ้น หลังจากเคลือบไคโตซานร้อยละการดูดซึมน้ำมีค่าลดลงอย่างมาก แสดงให้เห็นถึงอันตรกิริยาระหว่างไคโตซานและสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส(ปราศจากสารเชื่อมขวางทางเคมี) ส่งผลให้คุณสมบัติการดูดซึมน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญ การกระจายตัวของไฮโดรไลซ์คอลลาเจนในสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสเมทริกซ์ และการเชื่อมขวางระหว่างไคโตซานและสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสทางกายภาพนั้นแสดงไว้ในรูปที่ 4.6 ดังนั้นจากฟิล์มที่วิจัยขึ้นจึงถือได้ว่าเป็นการตกแต่งบาดแผลโดยที่สโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนและไคโตซานทำหน้าที่เป็นสารดูดซับของเหลว สารต้านการออกซิเดชันและสารต้านแบคทีเรีย ตามลำดับ



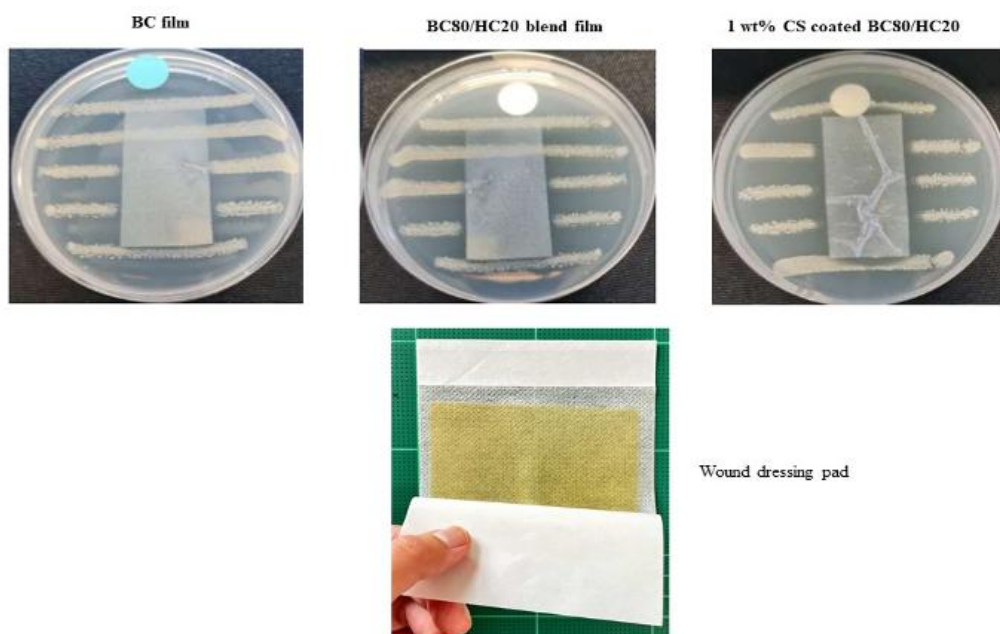
รูปที่ 4.17 ร้อยละการดูดซึมน้ำของของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส โคโตซาน และฟิล์มคอมพอสิตที่ผ่านและไม่ผ่านการเคลือบโคโตซาน



รูปที่ 4.18 ลักษณะทางกายภาพของฟิล์มตัวอย่างที่มีการดูดซึมน้ำหลังจาก 48 ชั่วโมง

4.2.6 ผลสมบัติด้านเชื้อแบคทีเรียด้วยมาตรฐาน AATCC TM 147

เป็นที่ทราบกันดีว่า โคโตซานในสภาวะที่เป็นกรดอ่อนๆ อยู่ในรูปแบบประจุบวกซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในการศึกษาครั้งนี้ทำการประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียตามวิธีมาตรฐาน AATCC TM 147 (วิธีการแพร่กระจายบนจานเพาะเชื้อ) หลังจากเตรียมฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบโคโตซานเรียบร้อยแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการตัดชิ้นตัวอย่างให้มีลักษณะสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 25 x 50 mm และวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (nutrient agar) ภายใต้สภาวะทดสอบที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สภาวะไม่มีแสง ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ หลังจากนั้นคำนวณบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ (clear zone of inhibition) ตามสมการที่ (3.2) สังเกตฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของวิธีการแพร่กระจายบนจานเพาะเชื้อโดยพื้นที่ยับยั้งที่มองเห็นได้ดังแสดงในรูปที่ 4.19 สำหรับฟิล์มสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสและฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน จะสังเกตเห็นกลุ่มของแบคทีเรียที่เติบโตภายใต้ฟิล์มได้ชัดเจนและไม่พบโซนการยับยั้งที่ชัดเจน สิ่งเหล่านี้บ่งชี้ว่าทั้งสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลสและไฮโดรไลซ์คอลลาเจนไม่สามารถต้านทานเชื้อ *Staphylococcus aureus* เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มคอมพอสิตสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบโคโตซาน พบว่าฟิล์มคอมพอสิตที่ผ่านการเคลือบด้วยโคโตซานมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญซึ่งยืนยันได้จากการไม่พบโคโลนีของแบคทีเรียบนฟิล์มทดสอบ เช่นเดียวกับการปรากฏตัวของขอบเขตยับยั้งการเจริญ (clear zone) บริเวณที่ชัดเจนของการยับยั้งที่สังเกตพบอาจเกิดจากปฏิกิริยาไฟฟ้าสถิตระหว่างกลุ่ม NH_3^+ ของโคโตซานอะซิเตตและกลุ่มฟอสโฟไรลของส่วนประกอบฟอสโฟลิปิดของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย [36]



รูปที่ 4.19 สมบัติการต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ของ ก) สโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส ข) फिल्मคอมพอสิต ค) फिल्मคอมพอสิตเคลือบไคโตซาน และ ง) แผ่นแปะแผลจากฟิล์มคอมพอสิตเคลือบไคโตซาน

ตารางที่ 4.4 บริเวณยับยั้งการเจริญ (Clear zone of inhibition) ของ *Staphylococcus aureus*

Sample	Clear zone of inhibition (mm)
BC	0.00 ± 0.00
BC80 : HC20	1.79 ± 0.27
BC80 : HC20 : 1 wt% CS	2.79 ± 0.27

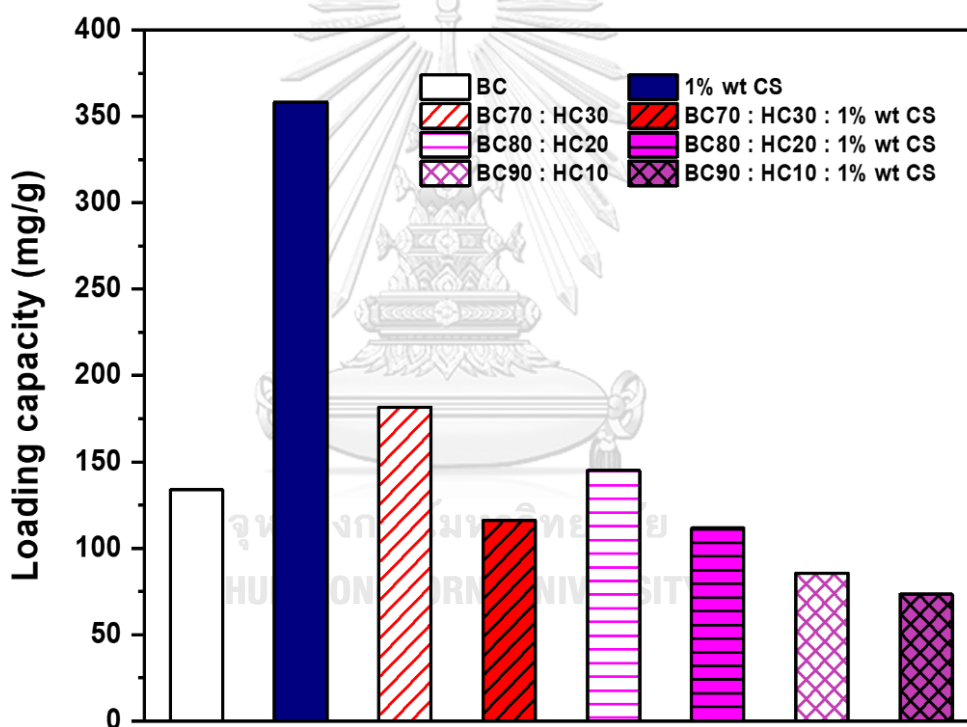
4.2.7 ผลการทดสอบการกักเก็บและปลดปล่อยยา

4.2.7.1 ผลประสิทธิภาพการกักเก็บยาของฟิล์มคอมพอสิต

แอสคอร์บิกแอซิด (L-ascorbic acid) เป็นสารที่มีสมบัติการละลายน้ำ 0.33 g/ml จัดว่าเป็นสารที่มีการละลายน้ำได้ดี มวลโมเลกุล 176.12 g/mol มีความสามารถในการดูดกลืนคลื่นแสงได้สูงสุด 265 nm มีหน้าที่หลากหลายในร่างกายโดยเฉพาะมีบทบาทสำคัญในกระบวนการไฮดรอกซิลเลชันของกรดอะมิโนชนิดโพรลีนและไลซีนในการสังเคราะห์คอลลาเจน วิตามินซียังช่วยเพิ่มปริมาณการสังเคราะห์คอลลาเจนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ได้อีกด้วย

หลังจากเตรียมฟิล์มคอมพอสิตของสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานเรียบร้อยแล้ว นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บยาของฟิล์มคอมพอสิตด้วยวิธีเอกซิทู (ex situ) เริ่มจากนำแอสคอร์บิกแอซิด 250 mg

ใส่ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.4 ปริมาตร 50 ml แบ่งใส่ลงในขวดสีชาปริมาตร 5 ml หลังจากนั้นทำการตัดชิ้นตัวอย่างขนาด 1 cm^2 แผลงในสารละลายแอสคอร์บิกแอซิดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ หลังจากนั้นจะนำมาซับน้ำส่วนเกินออกด้วยกระดาษกรองและนำไปแผลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.4 เพื่อทำการศึกษาการปลดปล่อยยา ซึ่งจะกล่าวถึงในหัวข้อถัดไป นำสารละลายที่อยู่ในขวดสีชาวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer) จากสารละลายเริ่มต้นก่อนแช่ชิ้นตัวอย่างและสารละลายหลังแช่ชิ้นตัวอย่างในช่วงความยาวคลื่น 200-600 nm ตามสมการที่ (3.3), (3.4), และ (3.5) ตามลำดับ ได้ผลดังรูปที่ 4.20 และตารางที่ 4.5 พบว่า ฟิล์มไคโตซานมีสมบัติในการกักเก็บยาได้มากที่สุด เท่ากับ 358.3215 mg/g รองลงมาเป็นสโคปีแบคทีเรียลเซลลูโลส เท่ากับ 133.9672 mg/g และสูตรฟิล์มคอมพอสิตที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดคือ BC70 : HC30 : 1%wt CS เท่ากับ 116.3212 mg/g



รูปที่ 4.20 ประสิทธิภาพในการกักเก็บยาของฟิล์มคอมพอสิต

ตารางที่ 4.5 ประสิทธิภาพในการกักเก็บยาของฟิล์มคอมพอสิต

Sample	Loading capacity (mg/g)
BC	133.9672
1 %wt CS	358.3215
BC70 : HC30	181.7624
BC70 : HC30 : 1 %wt CS	116.3212
BC80 : HC20	145.0905
BC80 : HC20 : 1 %wt CS	111.7147
BC90 : HC10	85.5790
BC90 : HC10 : 1 %wt CS	73.4301

4.2.7.2 ผลการศึกษาการปลดปล่อยยาด้วยเทคนิค UV- spectrophotometry

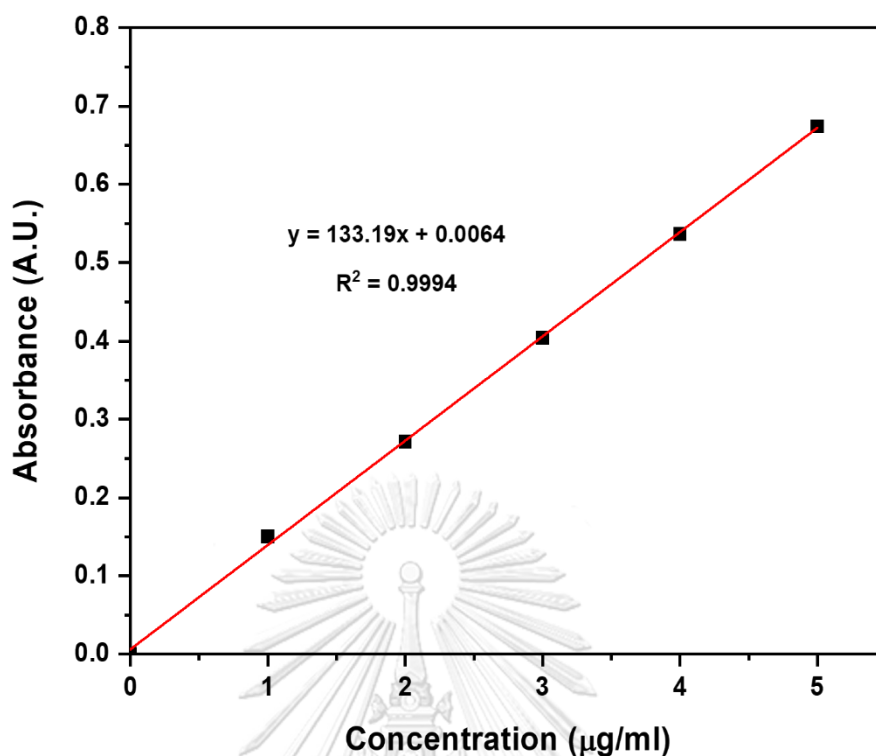
1. การเตรียมกราฟมาตรฐาน

จากการศึกษาโดยการเตรียมกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของแอสคอร์บิกแอซิดในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.4 ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 $\mu\text{g/ml}$ โดยนำไปวัดค่าความสามารถในการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-spectrophotometer โดยพบว่าที่ความยาวคลื่น 265 nm มีความสามารถในการดูดกลืนแสงได้สูงที่สุด ได้ผลดังตารางที่ 4.6 หลังจากนั้นนำมาคำนวณพล็อตกราฟตามสมการ (3.6) จะได้ค่าความชันเท่ากับ 133.19 จุดตัดแกน y เท่ากับ 0.0064 และค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยเท่ากับ 0.9994 ดังรูปที่ 4.21

ตารางที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงของแอสคอร์บิกแอซิดใน

สารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต pH 7.4 ที่ความยาวคลื่น 265 nm

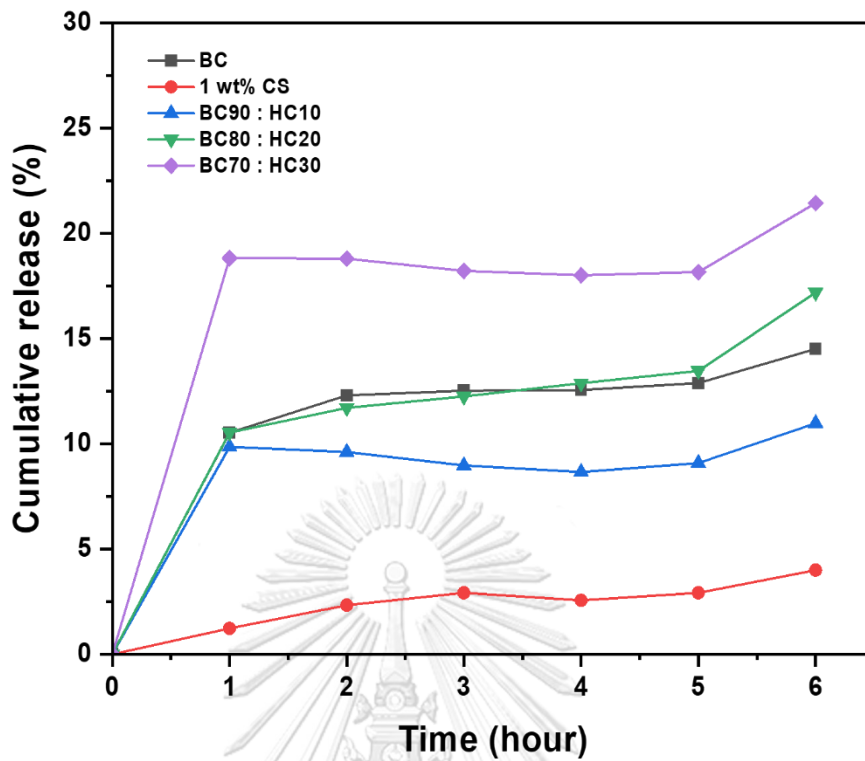
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance (A.U.)
1	0.1505
2	0.2713
3	0.4041
4	0.5367
5	0.6741



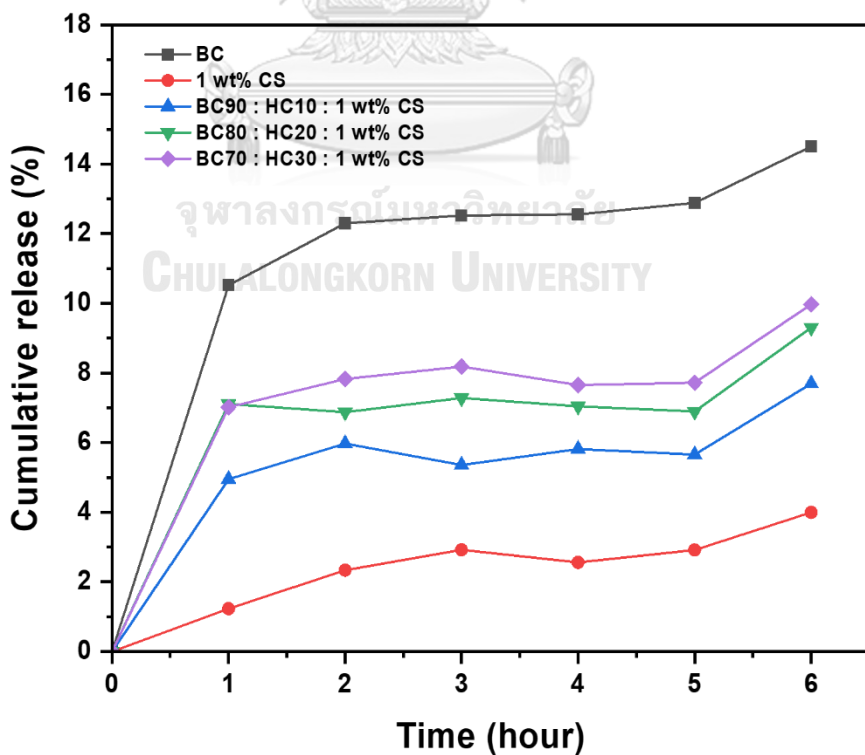
รูปที่ 4.21 กราฟมาตรฐานของแอสคอร์บิกแอซิดในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.4

2. การศึกษาการปลดปล่อยยาด้วยเทคนิค UV- spectrophotometry

การศึกษาการปลดปล่อยยาด้วยเทคนิค UV- spectrophotometry จะทำโดยใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.4 เนื่องจากจำลองจากสภาวะในร่างกาย นำฟิล์มที่เตรียมจากในข้อ 4.2.7.1 ทำการแช่ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.4 เพื่อจำลองสภาวะบริเวณผิวหนังและบาดแผลของมนุษย์ ปริมาตร 15 ml นำใส่เครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 37 °C ความเร็วรอบ 100 rpm หลังจากนั้นทำการเก็บสารละลายตัวอย่างออกมา 3 ml และเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) ลงไปแทนที่ด้วยปริมาตร 3 ml เช่นเดิม ทำเช่นนี้ทุกๆ 1, 2, 3, 4, 5, และ 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer) ที่ช่วงความยาวคลื่น 200-600 nm และคำนวณปริมาณแอสคอร์บิกแอซิดที่ปลดปล่อยออกมาจากการคำนวณโดยใช้กราฟมาตรฐาน (calibration curve) จากแอสคอร์บิกแอซิดที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน ดังในข้อ 4.2.7.2.1 ร้อยละการปลดปล่อยในแต่ละช่วงเวลาจะถูกคำนวณดังสมการ (3.7) ในรูปของปริมาณตัวยาแอสคอร์บิกแอซิดที่ถูกปลดปล่อยสะสมเปรียบเทียบกับเวลา (ชั่วโมง)



รูปที่ 4.22 ปริมาณแอสคอร์บิกแอซิดที่ถูกปลดปล่อยสะสมของสโคปีแบคที่เรียวเซลลูโลส ไคโตซาน และฟิล์มคอมพอสิตที่ไม่ผ่านการเคลือบไคโตซาน



รูปที่ 4.23 ปริมาณแอสคอร์บิกแอซิดที่ถูกปลดปล่อยสะสมของสโคปีแบคที่เรียวเซลลูโลส ไคโตซาน และฟิล์มคอมพอสิตเคลือบไคโตซาน

จากรูปที่ 4.22 และ 4.23 แสดงปริมาณยาที่สะสมที่ออกมาจากสโคปีแคคที่เรียลเซลล์ูโลสฟิล์มไคโตซานและฟิล์มคอมพอสิตสโคปีแคคที่เรียลเซลล์ูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานเทียบกับเวลา จะพบว่า ฟิล์มคอมพอสิตให้ผลการทดสอบที่ดีกว่าฟิล์มสโคปีแคคที่เรียลเซลล์ูโลสและไคโตซาน เนื่องจากมีการเติมไฮโดรไลซ์คอลลาเจนลงซึ่งเป็นสารป้องกันการออกซิไดซ์ของฟิล์มดังกล่าวมาแล้วข้างต้น ซึ่งจากผลการศึกษาฟิล์มคอมพอสิตให้ปริมาณยาที่สะสมออกมามากขึ้นเมื่อเทียบกับเวลาในการทดลองที่มากขึ้น เนื่องจากความแตกต่างระหว่างแอสคอร์บิกแอซิดที่พื้นผิวของฟิล์มคอมพอสิตมีประจุลบและโครงสร้างไฮโดรไลซ์คอลลาเจนมีประจุลบเช่นกัน ทำให้เกิดแรงทางไฟฟ้าสถิตผลักกันในการปลดปล่อยยาแต่เมื่อมีการเคลือบด้วยไคโตซาน ไคโตซานจะปรับสมดุลประจุไฮโดรไลซ์คอลลาเจนให้เป็นกลางซึ่งจะสามารถกักเก็บแอสคอร์บิกแอซิดได้มากขึ้น และปลดปล่อยได้ดีขึ้นตามปริมาณไฮโดรไลซ์คอลลาเจนที่มากขึ้น โดยสูตรฟิล์มคอมพอสิตสโคปีแคคที่เรียลเซลล์ูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานที่มีการปลดปล่อยยาที่มากที่สุดคือ BC70 : HC30 : 1 %wt CS



บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อเตรียมฟิล์มคอมพอสิตส์โคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานโดยกระบวนการหล่อแบบ โดยเตรียมจากอัตราส่วนสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเท่ากับ 70:30, 80:20 และ 90:10 หลังจากนั้นเคลือบด้วยไคโตซานร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ทำการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชัน สัณฐานวิทยา ศึกษาสมบัติความร้อน สมบัติเชิงกล สมบัติการดูดซึมน้ำ สมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรีย และประสิทธิภาพในการกักเก็บและการปลดปล่อยยาของฟิล์มคอมพอสิตส์ที่เตรียมได้ จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ดังนี้

1. สามารถเตรียมฟิล์มคอมพอสิตส์โคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานได้สำเร็จด้วยวิธีการหล่อแบบแล้วทิ้งไว้จนแห้ง สามารถยืนยันเอกลักษณ์ได้จากเทคนิค ATR-FTIR และสมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA

2. ผลการศึกษาสัณฐานวิทยาของฟิล์มคอมพอสิต ปริมาณไฮโดรไลซ์คอลลาเจนที่เติมลงไปใ้ฟิล์มคอมพอสิต ส่งผลต่อสัณฐานวิทยาของฟิล์ม สังเกตพบเป็นลักษณะชั้นเคลือบ แสดงให้เห็นว่าฟิล์มมีความเข้ากันได้ดี สังเกตพบชั้นเคลือบไคโตซานแต่ไม่พบทุกสภาวะเนื่องจากอาจเกิดจากการเคลือบที่บางเกินไปหรือมีการซึมเข้าสู่ชั้นฟิล์ม

3. ผลการศึกษสมบัติทางความร้อนของฟิล์มคอมพอสิต พบว่า ฟิล์มคอมพอสิตของสโคบีเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน มีอุณหภูมิการสลายตัวอยู่ในช่วงการสลายตัวของสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลสและไฮโดรไลซ์คอลลาเจน แสดงให้เห็นถึงความเข้ากันได้ดีระหว่างแบคทีเรียลเซลลูโลสและไฮโดรไลซ์คอลลาเจน ซึ่งเมื่อเคลือบด้วยไคโตซานจะพบว่าอุณหภูมิการสลายตัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

4. ผลการศึกษสมบัติเชิงกลของฟิล์มคอมพอสิต พบว่าการเติมสโคบีแบคทีเรียลเซลลูโลสเพิ่มขึ้นทำให้ค่าการทนแรงดึง และมอดุลัสของยังสูงขึ้น

5. ผลการศึกษสมบัติการดูดซึมน้ำของฟิล์มคอมพอสิต พบว่าปริมาณการเติมไฮโดรไลซ์คอลลาเจนมากขึ้นส่งผลให้ฟิล์มคอมพอสิตสามารถดูดซึมน้ำได้มากขึ้น

6. ผลการศึกษสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มคอมพอสิต พบว่า ฟิล์มคอมพอสิตเคลือบไคโตซานมีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าฟิล์มคอมพอสิตที่ไม่ได้เคลือบ

7. ผลการศึกษประสิทธิภาพในการกักเก็บและปลดปล่อยยาของฟิล์มคอมพอสิต โดยฟิล์มมีประสิทธิภาพในการกักเก็บยาได้นานถึง 6 ชั่วโมง

8. จากการวิเคราะห์ผลทดสอบทั้งหมดในข้อดังกล่าวข้างต้น สรุปว่า สูตรฟิล์มคอมพอสิตส์โคบีแบคทีเรียลเซลลูโลส/ไฮโดรไลซ์คอลลาเจนเคลือบไคโตซานที่สมบัติเหมาะสมมากที่สุดในการใช้เป็นวัสดุปิดแผลคือ 70/30 (BC70 : HC30 : 1 %wt CS)

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการวิเคราะห์ขนาดและลักษณะรูพรุนเพิ่มเติมซึ่งอาจส่งผลต่อการดูดซับของเหลวที่ออกมาจากบาดแผลและการระบายอากาศที่เหมาะสมของบาดแผล

2. ควรทำการทดสอบการปลดปล่อยยาแบบ in situ เพื่อศึกษาความแตกต่างของปริมาณยาที่กักเก็บและปลดปล่อยออกมาว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ และควรทำการทดสอบกับยาหลากหลายชนิด เช่น ยาที่มีประจุบวก ได้แก่ amoxicillin เนื่องจากอาจจะมีผลต่อการกักเก็บยาหรือการปลดปล่อยยาที่แตกต่างกัน



บรรณานุกรม

- [1] Brigham, C. Biopolymers. in Green Chemistry, pp. 753-770, 2018.
- [2] Anderson, L.A., Islam, M.A., and Prather, K.L.J. Synthetic biology strategies for improving microbial synthesis of "green" biopolymers. J Biol Chem 293(14) (2018): 5053-5061.
- [3] Popa, L., Ghica, M.V., Tudoroiu, E.E., Ionescu, D.G., and Dinu-Pirvu, C.E. Bacterial Cellulose-A Remarkable Polymer as a Source for Biomaterials Tailoring. Materials (Basel) 15(3) (2022).
- [4] Volova, T.G., et al. Bacterial Cellulose (BC) and BC Composites: Production and Properties. Nanomaterials (Basel) 12(2) (2022).
- [5] Silva, I., Pantoja, B., Almeida, G., Carreira, A.C.O., and Miglino, M.A. Bacterial Cellulose and ECM Hydrogels: An Innovative Approach for Cardiovascular Regenerative Medicine. Int J Mol Sci 23(7) (2022).
- [6] Picheth, G.F., et al. Bacterial cellulose in biomedical applications: A review. Int J Biol Macromol 104(Pt A) (2017): 97-106.
- [7] Jantarat, C., Muenraya, P., Srivaro, S., Nawakitranngsan, A., and Promsornpason, K. Comparison of drug release behavior of bacterial cellulose loaded with ibuprofen and propranolol hydrochloride. RSC Adv 11(59) (2021): 37354-37365.
- [8] Tamahkar, E., Topçu, A.A., Perçin, I., Aslyüce, S., and Denizli, A. CHAPTER 1 - Bacterial cellulose nanofibers for separation, drug delivery, wound dressing, and tissue engineering applications. in Oraon, R., Rawtani, D., Singh, P., and Hussain, D.C.M. (eds.), Nanocellulose Materials, pp. 1-20: Elsevier, 2022.
- [9] Reilly, D.M. and Lozano, J. Skin collagen through the lifestages: importance for skin health and beauty. Plastic and Aesthetic Research 2021 (2021).
- [10] Leon-Lopez, A., Morales-Penalzoa, A., Martinez-Juarez, V.M., Vargas-Torres, A., Zeugolis, D.I., and Aguirre-Alvarez, G. Hydrolyzed Collagen-Sources and Applications. Molecules 24(22) (2019).
- [11] Avila Rodriguez, M.I., Rodriguez Barroso, L.G., and Sanchez, M.L. Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications. J Cosmet Dermatol

- 17(1) (2018): 20-26.
- [12] Hamedi, H., Moradi, S., Hudson, S.M., Tonelli, A.E., and King, M.W. Chitosan based bioadhesives for biomedical applications: A review. Carbohydr Polym 282 (2022): 119100.
- [13] Ferreira, M.O.G., et al. Chitosan Hydrogel in combination with Nerolidol for healing wounds. Carbohydr Polym 152 (2016): 409-418.
- [14] Hamedi, H., Moradi, S., Hudson, S.M., and Tonelli, A.E. Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings: A review. Carbohydr Polym 199 (2018): 445-460.
- [15] Moores J. Vitamin C: a wound healing perspective. Br J Community Nurs. 2013 Dec;Suppl:S6, S-d.b.s.s.P. Vitamin C: a wound healing perspective. Br J Community Nurs 18 (2013).
- [16] Hujoel, P.P. and Hujoel, M.L.A. Vitamin C and scar strength: analysis of a historical trial and implications for collagen-related pathologies. Am J Clin Nutr 115(1) (2022): 8-17.
- [17] Wild, T., Rahbarnia, A., Kellner, M., Sobotka, L., and Eberlein, T. Basics in nutrition and wound healing. Nutrition 26(9) (2010): 862-6.
- [18] Barchitta, M., et al. Nutrition and Wound Healing: An Overview Focusing on the Beneficial Effects of Curcumin. International Journal of Molecular Sciences 20(5) (2019).
- [19] Liang, Y., He, J., and Guo, B. Functional Hydrogels as Wound Dressing to Enhance Wound Healing. ACS Nano (2021).
- [20] Saghadzadeh, S., et al. Drug delivery systems and materials for wound healing applications. Adv Drug Deliv Rev 127 (2018): 138-166.
- [21] อ า ทิ เ ค รี่ อ วิ ท ย์ . Wound dressings [Online]. 2565. Available from: https://www.rama.mahidol.ac.th/surgery/sites/default/files/public/pdf/wound%20management.Jan_.%2031,2011.pdf
- [22] ชัยธร นันทสุภา, หาญณรงค์ ชูพูล. วัสดุเย็บแผล : Suture Materials [Online]. 2565. Available from: <https://w1.med.cmu.ac.th/obgyn/lecturesttopics/46679/>
- [23] Sharma, C. and Bhardwaj, N.K. Biotransformation of fermented black tea into bacterial nanocellulose via symbiotic interplay of microorganisms. Int J Biol

- Macromol 132 (2019): 166-177.
- [24] J., A.-K.E. Produce bacterial cellulose of kombucha (Khubdat Humza) from honey. Journal of Genetic and Environmental Resources Conservation 2(1) (2014): 39-45.
- [25] Aguirre-Cruz, G., Leon-Lopez, A., Cruz-Gomez, V., Jimenez-Alvarado, R., and Aguirre-Alvarez, G. Collagen Hydrolysates for Skin Protection: Oral Administration and Topical Formulation. Antioxidants (Basel) 9(2) (2020).
- [26] Ao, H., et al. Engineering quaternized chitosan in the 3D bacterial cellulose structure for antibacterial wound dressings. Polymer Testing 86 (2020).
- [27] Moraes, P.R.F.d.S., et al. Bacterial Cellulose/Collagen Hydrogel for Wound Healing. Materials Research 19(1) (2016): 106-116.
- [28] Yuan, H., Chen, L., and Hong, F.F. A Biodegradable Antibacterial Nanocomposite Based on Oxidized Bacterial Nanocellulose for Rapid Hemostasis and Wound Healing. ACS Appl Mater Interfaces 12(3) (2020): 3382-3392.
- [29] Cabanas-Romero, L.V., et al. Bacterial Cellulose-Chitosan Paper with Antimicrobial and Antioxidant Activities. Biomacromolecules 21(4) (2020): 1568-1577.
- [30] Ramirez Tapias, Y.A., Peltzer, M.A., Delgado, J.F., and Salvay, A.G. Kombucha Tea By-product as Source of Novel Materials: Formulation and Characterization of Films. Food and Bioprocess Technology 13(7) (2020): 1166-1180.
- [31] Pasaribu, K.M., Gea, S., Ilyas, S., Tamrin, T., and Radecka, I. Characterization of Bacterial Cellulose-Based Wound Dressing in Different Order Impregnation of Chitosan and Collagen. Biomolecules 10(11) (2020).
- [32] Demir, G.C., Erdemli, O., Keskin, D., and Tezcaner, A. Xanthan-gelatin and xanthan-gelatin-keratin wound dressings for local delivery of Vitamin C. Int J Pharm 614 (2022): 121436.
- [33] Voss, G.T., et al. Polysaccharide-based film loaded with vitamin C and propolis: A promising device to accelerate diabetic wound healing. Int J Pharm 552(1-2) (2018): 340-351.
- [34] Kiangkitiwan, N. and Srikulkit, K. Preparation and properties of bacterial cellulose/graphene oxide composite films using dyeing method. Polymer

Engineering & Science 61(6) (2021): 1854-1863.

- [35] Chuysinuan, P., Thanyacharoen, T., Thongchai, K., Techasakul, S., and Ummartyotin, S. Preparation of chitosan/hydrolyzed collagen/hyaluronic acid based hydrogel composite with caffeic acid addition. Int J Biol Macromol 162 (2020): 1937-1943.
- [36] Liu, H., Du, Y., Wang, X., and Sun, L. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage. International Journal of Food Microbiology 95(2) (2004): 147-155.





จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวพันธิตรา ยาแก้ว
วัน เดือน ปี เกิด	29 กันยายน 2535
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต แขนงวิชาพอลิเมอร์และสิ่งทอ ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ผลงานตีพิมพ์	Pantitra Yakaew, Kawee Srikulkit "Bacterial cellulose/collagen blend films coated with chitosan for active and biocompatible wound dressing" Proceeding of The Pure and Applied Chemistry International Conference 2022, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand, June 30-1, 2022, pp 915-919