



รายงานการวิจัย

การผลิตแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดผสมกาวไหมและกรดเอเชียติก
(Production of polymer film from poly (lactic acid) sericin
and asiatic acid)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

การผลิตแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดผสมกาวไหมและกรดเอเชียติก
(Production of polymer film from poly (lactic acid) sericin
and asiatic acid)

ผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิธินาถ ศุภกาญจน์
สาขาวิชาวิศวกรรมพอลิเมอร์ สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2554
ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กันยายน 2558

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ 2554 และได้รับการอำนวยความสะดวกด้านการใช้สถานที่ทำการทดลอง เครื่องมือ รวมทั้งอุปกรณ์บางส่วนที่ใช้ในการทดลองจากศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยมีผู้ช่วยวิจัย คือ นายสุรียัน รักแม่



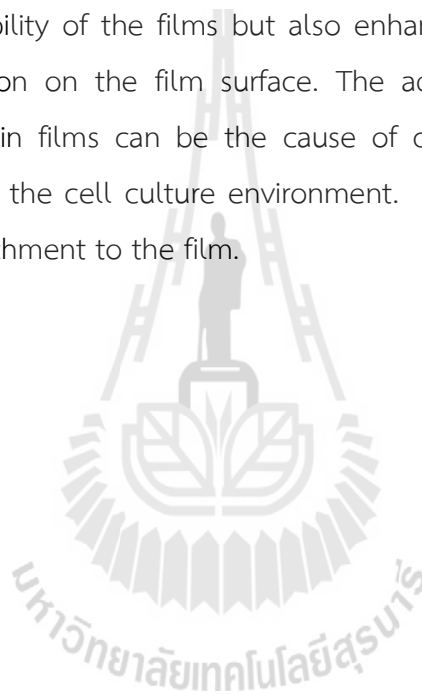
บทคัดย่อภาษาไทย

ในงานวิจัยนี้ศึกษาการเตรียมกาวไหมจากรังไหมสายพันธุ์ไทย โดยการสกัดด้วยน้ำค้างที่เตรียมจากน้ำแช่ขี้เถ้าไม้ผุ่ จากนั้นนำกาวไหมที่เตรียมได้มาผสมกับพอลิแลกติกแอซิดเพื่อเตรียมแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่ปริมาณกาวไหมร้อยละ 10 20 และ 30 เมื่อศึกษาผลของกาวไหมต่อแผ่นฟิล์มในตัวแปรด้านสมบัติทางความร้อน การสลายตัวในสภาวะจำลองของร่างกายมนุษย์ และการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันมนุษย์ ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่ากาวไหมที่เติมลงไปส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้และช่วยให้เซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันมนุษย์เจริญและยึดติดกับแผ่นฟิล์มได้ดีขึ้น เพื่อเพิ่มสมบัติทางชีวภาพของแผ่นฟิล์ม สารสกัดจากใบบัวบกจึงถูกเติมลงในแผ่นฟิล์ม แต่จากผลการวิเคราะห์การปลดปล่อยสารเอเซียติกแอซิดในสารสกัดจากบัวบก พบว่ามีอัตราการปลดปล่อยที่เร็วมาก ดังนั้น จึงไม่เป็นผลดีกับเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันมนุษย์ที่เลี้ยงบนแผ่นฟิล์มนั้น ทำให้เหลือเซลล์อยู่น้อยมากแต่มีการยึดติดของเซลล์ที่ดีมาก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ABSTRACT

In this study, sericin was derived from silkworm *Bombyx mori* (Thai race) by natural alkaline extraction. Then, PLA/sericin films were prepared. Thermal properties, *in vitro* degradability, dynamic mechanical analysis and *in vitro* cytotoxicity of the films illustrated that the incorporation of sericin into PLA matrix not only affected the physical properties and biodegradability of the films but also enhanced human fibroblast cells attachment and proliferation on the film surface. The addition of *Centella asiatica* essence into the PLA/sericin films can be the cause of cell death since the rapidly released of the essence to the cell culture environment. However, the remained cell seemed to have more attachment to the film.



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	4
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	4
1.4 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	5
1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	10
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
2.1 การสกัด การเตรียม และการพิสูจน์เอกลักษณ์กาวไหม.....	11
2.2 การเตรียมแผ่นฟิล์มของพอลิแลกติกแอซิดกับกาวไหม.....	12
2.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์แผ่นฟิล์มของพอลิแลกติกแอซิดกับกาวไหม.....	12
2.4 การศึกษาการสลายตัวของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์ม พอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมภายใต้สภาวะจำลองร่างกายมนุษย์ (<i>In vitro study</i>).....	13
2.5 การสกัดเอเซียติกแอซิดออกจากบับก	14
2.6 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Validation) ด้วยโดยวิธี โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	14
2.6.1 ความเป็นเส้นตรงและช่วงในการวิเคราะห์ (Linearity and range).....	14
2.6.2 ความถูกต้อง (Accuracy) และความแม่นยำ (Precision) ของการวิเคราะห์.....	15
2.6.3 ความจำเพาะของการวิเคราะห์ (Specificity)	15
2.7 การเติมเอเซียติกแอซิดลงในแผ่นฟิล์มของพอลิแลกติกแอซิดกับกาวไหม	15
2.8 การวัดอัตราการปลดปล่อยเอเซียติกแอซิดออกจากแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ในสภาวะ จำลองทางชีวภาพ (<i>in vitro study</i>).....	16

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 ผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของกาวไหม.....	18
3.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด และแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม.....	19
3.3 การศึกษาการสลายตัวของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์ม พอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมภายใต้สภาวะจำลองร่างกายมนุษย์ (<i>In vitro study</i>)	24
3.4 สันฐานวิทยาของ h-FBs ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนชิ้นงานตัวอย่างแผ่นฟิล์ม พอลิแลกติกแอซิดและพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม	29
3.5 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์เอเชียติกแอซิด (Validation).....	33
3.5.1 ความเป็นเส้นตรงและช่วงในการวิเคราะห์ (Linearity and range).....	33
3.5.2 ความจำเพาะของการวิเคราะห์ (Specificity)	34
3.5.3 ความถูกต้อง (Accuracy) และความแม่นยำ (Precision) ของการวิเคราะห์	35
3.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารเอเชียติกแอซิดที่สกัดได้จากใบของบัวบก.....	37
3.7 อัตราการปลดปล่อยสารเอเชียติกแอซิด ออกจากแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม	38
3.8 สันฐานวิทยาของ h-FBs ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนชิ้นงานตัวอย่างแผ่นฟิล์ม พอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมที่มีปริมาณเอเชียติกแอซิด 100 - 2000 ppm	41

บทที่ 4 บทสรุป

4.1 สรุปผลการวิจัย.....	44
4.2 ข้อเสนอแนะ.....	45
บรรณานุกรม	46
ประวัติผู้วิจัย	49
ผลงานเผยแพร่ของโครงการวิจัย	50

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 สมบัติทางความร้อนของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่ปริมาณสัดส่วนกาวไหมแตกต่างกัน.....	21
ตารางที่ 3.2 น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (\overline{M}_w) และการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (MWD) ของพอลิแลกติกแอซิดหลังจากการแช่ใน SBF.....	30
ตารางที่ 3.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่าพื้นที่ใต้กราฟ.....	33
ตารางที่ 3.4 แสดงเวลารีเทนชันและความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้จากสารละลายมาตรฐานเอเชียติกแอซิดเข้มข้น 250 500 และ 750 ppm	36
ตารางที่ 3.5 แสดงเวลารีเทนชันและความเข้มข้นของสารเอเชียติกแอซิดที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดจากบัวบก.....	37
ตารางที่ 3.6 แสดงผลการปลดปล่อยสารเอเชียติกแอซิดออกจากแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีความเข้มข้นของสารเอเชียติกแอซิดในปริมาณต่างๆ กัน (100 - 2000 ppm) เมื่อผ่านการแช่ชิ้นงานใน SBF ที่เวลาต่างๆ	41
ตารางที่ 3.7 น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (\overline{M}_w) และการกระจายน้ำหนักโมเลกุล (MWD) ของพอลิแลกติกแอซิดหลังจากการแช่ใน SBF.....	43

สารบัญญภาพ

หน้า

รูปที่ 1.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ Asiatic acid.....	3
รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ Asiaticoside.....	16
รูปที่ 3.1 SDS-PAGE ของ (a) น้ำหนักโมเลกุลของสารมาตรฐาน, (b) กาวไหมแบบไม่ผ่านการตกตะกอน และ (c) กาวไหมที่ผ่านการตกตะกอน.....	19
รูปที่ 3.2 DSC เทอโมแกรมของ แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม (a) 30 %w/w, (b) 20 %w/w, (c) 10 %w/w และ (d) แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด.....	20
รูปที่ 3.3 รูปแสดง (a) โมดูลัสสะสม (storage modulus, G') และ (b) โมดูลัสสูญเสีย (loss modulus, G'') ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม และแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด.....	23
รูปที่ 3.4 รูปแสดง (a) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และ (b) น้ำหนักที่หายไป ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม และ แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดหลังจากแช่ใน SBF	25
รูปที่ 3.5 รูปแสดง (a) แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด และ แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม (b) 10 %w/w, (c) 20 %w/w และ (d) 30 %w/w หลังการแช่ใน SBF 14 วัน	26
รูปที่ 3.6 รูปแสดงค่า pH ของสารละลาย SBF ตลอดเวลาในการแช่แผ่นฟิล์ม พอลิแลกติกแอซิด และ แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม	28
รูปที่ 3.7 แสดงสัญญาณวิทยาของ h-FBs หลังการเลี้ยงบน (a) ตัวควบคุม (b) วัสดุควบคุมเชิงลบ และ (c) วัสดุควบคุมเชิงบวก	31
รูปที่ 3.8 แสดงสัญญาณวิทยาของ h-FBs หลังการเลี้ยงบน (a) แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด และแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ (b) 10 (c) 20 และ (d) 30 , -1 แสดงพื้นผิวที่ไม่มีเซลล์ h-FBs -2 แสดงรูปภาพที่กำลังขนาดต่ำ และ -3 แสดงรูปภาพที่กำลังขยายสูง.....	32
รูปที่ 3.9 รูปแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นและ พื้นที่ใต้กราฟจากการวิเคราะห์ด้วย HPLC.....	34

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 3.10	รูปแสดงโครมาโทแกรม (a) สารละลายมาตรฐานเอเชียติกแอซิด 1000 ppm + สารละลายมาตรฐานเอเชียติโคไซด์ 1000 ppm และ (b) สารละลายมาตรฐานเอเชียติโคไซด์ 1000 ppm	35
รูปที่ 3.11	รูปแสดงโครมาโทแกรม ของสารเอเชียติกแอซิดที่สกัดจากใบบัวบก.....	37
รูปที่ 3.12	รูปแสดงโครมาโทแกรม ของการปลดปล่อยสารเอเชียติกแอซิดออกจาก แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีความเข้มข้นของสารเอเชียติกแอซิด 2000 ppm หลังการแช่ใน SBF เป็นเวลา (a) 1 วัน (b) 3 วัน และ (c) 5 วัน	39
รูปที่ 3.13	รูปแสดงโครมาโทแกรม ของการปลดปล่อยสารเอเชียติกแอซิดออกจาก แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีความเข้มข้นของสารเอเชียติกแอซิด 2000 ppm หลังการแช่ใน SBF เป็นเวลา (a) 1 วัน (b) 3 วัน และ (c) 5 วัน	40
รูปที่ 3.14	แสดงสัญญาณวิทยาของ h-FBs หลังการเลี้ยงบนแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม ที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 20 และมีสารเอเชียติกแอซิด (a) 100, (b) 250, (c) 500, (d) 750, (e) 1000 และ (f) 2000 ppm; ตัวเลข 1 แสดงรูปภาพที่กำลังขนาดต่ำ และ 2 แสดงรูปภาพที่กำลังขยายสูง.....	42

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาในงานวิจัย

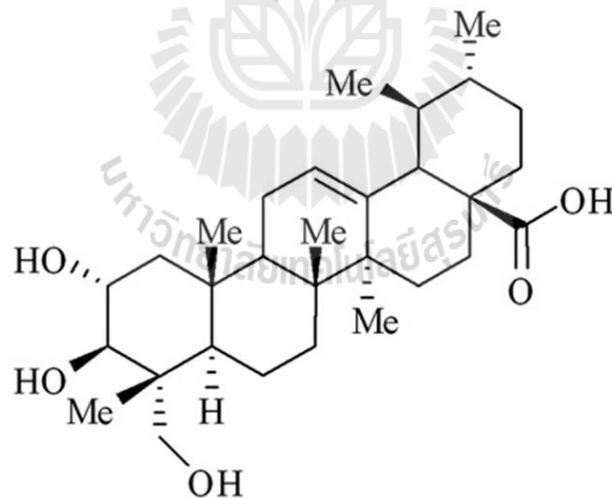
ในปัจจุบันมีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่สามารถสลายตัวได้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ (Biodegradable polymer) เพื่อนำมาในทางการแพทย์หลายชนิด โดยเฉพาะกลุ่มของอะลิฟาติกพอลิเอสเตอร์ (Aliphatic polyesters) เช่น พอลิแลคติกแอซิด (Poly(lactic acid): PLA), พอลิไฮดรอกซีบิวทีเรต (Poly(3-hydroxybutyrate: PHB), พอลิไกลโคลิกแอซิด (Poly(glycolic acid): PGA), พอลิแลคติกโคไกลโคลิเด (Poly(lactide-co-glycolide): PLGA) เป็นต้น พอลิเมอร์กลุ่มอะลิฟาติกพอลิเอสเตอร์สามารถนำมาใช้ทางการแพทย์ได้หลากหลายแบบ เช่น ใช้เป็นวัสดุพวงกระดูก ตัวควบคุมการปลดปล่อยตัวยา วัสดุปิดแผล หรือแม้แต่วัสดุเย็บติดบาดแผล ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ทางการแพทย์เฉพาะด้านนั้นๆ จากลักษณะการใช้งานทั้งหมดวัสดุปิดแผลเป็นอีกการใช้งานที่น่าสนใจสำหรับประเทศไทยเนื่องจากสถิติการเกิดอุบัติเหตุทางรถยนต์ที่บันทึกโดยสำนักงานตำรวจแห่งชาติ (http://statistic.ftp.police.go.th/traff_main.htm) พบว่า การเกิดอุบัติเหตุมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นทุกปี และเสียค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลสูงมากในแต่ละปี ดังนั้นหากสามารถพัฒนาวัสดุปิดแผลที่มีประสิทธิภาพเพื่อใช้ในประเทศได้จะเป็นการลดค่าใช้จ่ายและงบประมาณในการรักษาพยาบาลได้เป็นจำนวนมาก

พอลิเมอร์กลุ่มของอะลิฟาติกพอลิเอสเตอร์ที่มีความน่าสนใจในการพัฒนาเพื่อใช้เป็นแผ่นปิดแผลคือ พอลิแลคติกแอซิด ซึ่งพอลิเมอร์ชนิดนี้นอกจากจะสามารถสลายตัวได้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพแล้ว สารที่เกิดขึ้นจากการสลายตัวยังไม่เป็นพิษต่อเซลล์ของมนุษย์และสามารถถูกกำจัดออกไปจากร่างกายได้ (Russias, Saiz, Nalla, Gryn, Ritchie and Tomsia, 2006, Suganuma and Alexander, 1993, Agrawal and Athanasiou, 1997, Horst, Robert, Suzanne and Antonios, 1995) อย่างไรก็ตาม เป็นที่ทราบกันว่าพอลิแลคติกแอซิดเป็นพอลิเมอร์ที่มีลักษณะแข็งและเปราะจึงเป็นไปได้ค่อนข้างยากที่จะนำพอลิแลคติกแอซิดบริสุทธิ์มาใช้เพื่อเป็นแผ่นปิดแผล ดังนั้นการปรับปรุงคุณภาพของพอลิแลคติกแอซิดให้มีความยืดหยุ่นและความนุ่มให้เหมาะสมจึงเป็นเรื่องสำคัญที่ต้องพิจารณา ซึ่งวิธีการปรับปรุงสมบัติด้านความยืดหยุ่นของพอลิแลคติกแอซิดมีหลายวิธี แต่วิธีการที่น่าสนใจวิธีหนึ่ง คือการทำให้พอลิแลคติกแอซิดอยู่ในรูปของพอลิเมอร์ผสม ซึ่งสามารถทำได้โดยการเติมพอลิเอสเตอร์ตัวอื่นลงไป เช่น พอลิเมอร์ผสมของพอลิแลคติกแอซิดกับพอลิไกลโคลิกแอซิด (Kyriacos, Agrawal, Barber, Stephen, 1998,

Lia, Nicolo, Milena., Gaetano, Matilde, Roberto, 2005, Minna, Albertsson, Sigbritt, 1996) เป็นต้น พอลิเมอร์ผสมดังกล่าวมีการสลายตัวที่ค่อนข้างช้า เนื่องจากลักษณะความเป็นขั้วที่ต่ำของพอลิเมอร์ผสมเมื่อเทียบกับน้ำจึงส่งผลต่ออัตราการสลายตัวของพอลิเมอร์ ดังนั้นพอลิเมอร์ผสมกลุ่มนี้จึงเหมาะสมที่จะใช้สำหรับฝังไว้ในร่างกายมากกว่าที่จะใช้เป็นแผ่นปิดแผล จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มอัตราการสลายตัวของแผ่นปิดแผลโดยการเพิ่มความขั้วให้กับพอลิแลกติกแอซิดควบคู่ไปกับการปรับปรุงสมบัติทางกายภาพต่างๆ โดยการผสมพอลิแลกติกแอซิดกับสารจากธรรมชาติที่มีความเป็นขั้วสูง และสามารถเพิ่มความนุ่มและยืดหยุ่นได้ น่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อพัฒนาแผ่นปิดแผลจากพอลิแลกติกแอซิด สารกลุ่มที่จะนำมาใช้เพื่อเพิ่มสมบัติดังกล่าวควรเป็นสารโมเลกุลใหญ่ที่มีความเป็นขั้วสูง สารกลุ่มที่น่าสนใจมีหลายชนิดและหนึ่งในนั้นคือ กาวไหม (Sericin) ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากกระบวนการฟอกไหม ในอุตสาหกรรมการผลิตเส้นไหมจากรังไหม (*Bombyx mori*) กาวไหมเป็นโปรตีนโมเลกุลใหญ่ (Macromolecular protein) มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 10-300 kDa โดยประกอบไปด้วยกรดอะมิโนทั้งหมด 18 ชนิด ซึ่งกรดอะมิโนส่วนใหญ่มีหมู่ฟังก์ชันที่เป็นองค์ประกอบมีความเป็นขั้วสูง เช่น หมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl) คาร์บอกซิล (Carboxyl) และหมู่อะมิโน (Amino groups) ทำให้กาวไหมสามารถละลายในน้ำและสารละลายอินทรีย์ที่มีขั้วสูงได้ (Zhang, 2002) นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับสมบัติของกาวไหมในด้านต่างๆ เช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation) การป้องกันรังสียูวี ช่วยในการรักษาความชุ่มชื้นของผิวหนัง และยังสามารถเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อมนุษย์หากนำไปใช้ในกรณีที่ต้องสัมผัสกับเนื้อเยื่อมนุษย์โดยตรง (Zhang, 2002, Capar, Aygun, Gecit, 2009) และยังมีรายงานเรื่องประสิทธิภาพของกาวไหมในด้านการแพทย์โดยกาวไหมสามารถใช้ในการรักษาบาดแผลได้โดยปราศจากอาการแพ้ และสามารถกระตุ้นการเกิดเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (fibroblasts) ในผิวหนังมนุษย์ได้ (Aramwit, Sangkul, 2007) จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่ากาวไหมสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย อีกทั้งการนำกาวไหมมาใช้ปรับปรุงสมบัติของพอลิแลกติกแอซิด นอกจากจะลดปัญหาเรื่องสิ่งแวดล้อมจากของเสียในอุตสาหกรรมไหม (Vaithanomsat, Kitpreechavanich, 2008) แล้วยังเป็นการสร้างประโยชน์และเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งได้อย่างมหาศาล อย่างไรก็ตามการเตรียมแผ่นฟิล์มจากสารที่มีความเป็นขั้วต่างกันจะต้องมีการพัฒนาเทคนิคเพื่อให้สามารถเตรียมแผ่นฟิล์มขึ้นมาได้ โดยงานวิจัยนี้มุ่งเน้นการหาวิธีเตรียมแผ่นฟิล์มของพอลิแลกติกแอซิดกับกาวไหม

นอกจากการเพิ่มกาวไหมลงในพอลิแลกติกแอซิดเพื่อเพิ่มสมบัติด้านกายภาพและชีวภาพแล้วสมบัติด้านการสลายตัวหรือการละลายของกาวไหมออกมาจากแผ่นฟิล์มมีความน่าสนใจและสามารถจะใช้เป็นตัวกำหนดการปลดปล่อยตัวยาหรือสารบางชนิดที่ช่วยในกระบวนการรักษาบาดแผลได้ดีขึ้น โดยตัวยาหรือสารที่สามารถช่วยในการรักษาบาดแผลมีหลายชนิด แต่สารที่มาจากธรรมชาติและหาได้ง่ายในประเทศไทยควรได้รับการพิจารณา ก่อนโดยเฉพาะสารสกัดจากสมุนไพรของประเทศไทย โดยพืชที่น่าจะนำมา

ศึกษาและเป็นพืชพันธุ์ท้องถิ่นของไทยที่หาได้ง่ายและมีการใช้ในตำรายาแผนโบราณมากคือ บัวบก (*Centella asiatica* (L.)) สารสกัดจากบัวบกมีสารสำคัญหลักที่ส่งผลต่อการรักษาบาดแผล คือ เอเชียติกแอซิด (Asiatic acid) เอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside) มาเดคาสสิกแอซิด (Madecassic acid) และ มาเดคาสโซไซด์ (Madecassoside) มีงานวิจัยหลายชิ้นชี้ให้เห็นว่าสารสำคัญเหล่านี้ส่งผลดีในการใช้ทางการแพทย์ เช่น รักษาความผิดปกติของผิวหนัง กระตุ้นการสร้างคอลลาเจน ทำให้กระบวนการรักษาบาดแผลเร็วขึ้น เมื่อแยกออกเป็นสารบริสุทธิ์เดี่ยว ๆ มีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าสารเอเชียติโคไซด์สามารถแสดงคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะสำหรับแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิดได้ (Kim, Kim, Veriansyah, Kim, Lee, Oh, Tjandrawinata, 2009) และสารที่ถือว่าเป็นสารสำคัญหลักของสารสกัดจากบัวบก คือ เอเชียติกแอซิด ซึ่งสารสำคัญนี้นอกจากจะช่วยการรักษาเนื้อเยื่อและบาดแผลแล้ว ยังสามารถปกป้องเซลล์จากการถูกทำลายโดยรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ (Lee, Jin, Beak, Lee, Kim, 2003, Byeong-Seon Jeong, 2006) และที่สำคัญที่สุดคือ สามารถป้องกันกระบวนการแบ่งเซลล์ของมนุษย์ไปเป็นเซลล์มะเร็งได้อีกด้วย (Park, Bosire, Lee, Lee, Kim, 2005, Lee, Jin, Kwon, Park, Lee, Jeong, Nam, Huh, Kim, 2002, Siddique, Ara, Beg, Faisal, Ahmad, Afzal, 2008) โครงสร้างทางเคมีของ asiatic acid แสดงดังรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ Asiatic acid (Yun และคณะ, 2008)

จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาซึ่งพบว่า สารสำคัญที่สกัดจากบัวบกมีประโยชน์ทางการแพทย์ และส่งผลดีต่อการรักษาบาดแผล ดังนั้นการเติมสารสกัดจากบัวบกลงในฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดกับกาวใหม่เพื่อการพัฒนาเป็นแผ่นปิดแผลที่มีประสิทธิภาพ จึงเป็นอีกขอบข่ายของงานวิจัยนี้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

การวิจัยนี้มีเป้าหมายหลัก คือ ต้องการทราบความเป็นไปได้ในการผลิตวัสดุปิดแผลจากพอลิเมอร์ผสมระหว่างพอลิแลกติกแอซิดและกาวใหม่ โดยมีวัตถุประสงค์จำเพาะสำหรับการวิจัยเพื่อให้บรรลุถึงเป้าหมายหลักคือ

1. เพื่อให้ทราบสถานะการเตรียมแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ผสมระหว่างพอลิแลกติกแอซิดและกาวใหม่ให้มีสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้เป็นวัสดุปิดแผล
2. เพื่อให้ทราบวิธีการเติมสารสกัดจากบัวบกลงในแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ผสมระหว่างพอลิแลกติกแอซิดและกาวใหม่
3. เพื่อตรวจสอบการปลดปล่อยกรดเอเชียติกออกจากแผ่นฟิล์มภายหลังการแช่ในสารละลายเทียมของร่างกายมนุษย์ ณ ช่วงเวลาต่างๆ รวมทั้งเพื่อตรวจสอบผลของกรดเอเชียติกและกาวใหม่ที่ผสมในแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ต่อเซลล์เนื้อเยื่อมนุษย์ (*in vitro test*)

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ เตรียมแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์จากการผสมพอลิแลกติกแอซิดและกาวใหม่ โดยใช้กาวใหม่ที่สกัดได้จากการต้มรังไหมพันธุ์ไทย (*Bombyx mori* (L.), Ployvoltine race) ในน้ำต่างจากการแช่ไข่ไหมนั้น พิสูจน์เอกลักษณ์กาวใหม่ที่ได้ ก่อนนำไปผสมกับกับพอลิแลกติกแอซิด เพื่อเตรียมเป็นแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ผสม ตรวจสอบสมบัติทางกายภาพของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้ จากนั้นหาวิธีเติมสารเอเชียติกแอซิด (Asiatic acid) ลงในแผ่นฟิล์ม ซึ่งสารเอเชียติกแอซิดสกัดได้จากบัวบก (*Centella asiatica* (L.)) และพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารเอเชียติกแอซิดสกัดที่ได้เทียบกับสารมาตรฐานโดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ที่พัฒนาขึ้น และผ่านการตรวจสอบความถูกต้อง (Validation) แล้ว จากนั้นนำสารสกัดมาจากบัวบกมาผสมลงในแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ และนำแผ่นฟิล์มไปแช่ในสารละลายเทียมของร่างกายมนุษย์ที่ 37°C ติดตามการปลดปล่อยกรดเอเชียติก ณ ช่วงเวลาต่างๆ โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง รวมทั้งตรวจสอบพฤติกรรมการสลายตัวแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ผสมในสารละลายเทียมของร่างกายมนุษย์ที่ 37°C โดยตรวจสอบจากการเปลี่ยนแปลงน้ำหนัก สันฐานวิทยา และน้ำหนักโมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิด

ระหว่างการแช่แผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ผสมในสารละลายเทียมของร่างกายมนุษย์ จากนั้นตรวจสอบผลของเอเชียติกแอซิดและกาวไหมที่ผสมในแผ่นฟิล์มของพอลิเมอร์ผสมต่อเซลล์เนื้อเยื่อมนุษย์

1.4 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

- การสกัดและการใช้ประโยชน์กาวไหมจากรังไหม

Vaithanomsat, Kitpreechavanich (2008) ศึกษาการแยกกาวไหมออกจากน้ำทิ้งในกระบวนการฟอกไหมโดยใช้ 2 ขั้นตอนคือ การกรอง (ultrafiltration) แล้วทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ (Alcalase 2.4L FG, Novozymes A/S, Denmark) ผลการศึกษาพบว่าวิธีการเตรียมกาวไหมด้วยขั้นตอนนี้สามารถเตรียมกาวไหมที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 1046-2795 Da ได้ แตกต่างจากคณะวิจัยของCapar, Aygun, Gecit (2009) ศึกษาวิธีการสกัดกาวไหมจากน้ำทิ้งในอุตสาหกรรมไหมพบว่าสามารถแยกกาวไหมออกจากน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมฟอกไหมได้โดยใช้ 3 ขั้นตอนคือ 1. centrifugation 2. low temperature crystallization อาศัยสมบัติการตกผลึกเพื่อแยกเฟสของกาวไหมออกจากกรดไขมัน และ 3. ultrafiltration เพื่อกรองแยกกาวไหมบริสุทธิ์ออกมา

Wu, Wang, Xu (2007) พัฒนารูปวิธีการสกัดกาวไหมจากน้ำทิ้งอุตสาหกรรมการผลิตเส้นไหมโดยใช้ เอทานอล 75% (v/v) ตกตะกอนกาวไหมออกมาจากน้ำทิ้ง พบว่าตะกอนที่ได้ประกอบไปด้วยโปรตีน น้ำตาล เกล็ด และกรดอะมิโน น้ำหนักโมเลกุลของกาวไหมที่ได้จากการทดสอบด้วยเครื่อง gel filtration chromatography, sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis (SDS–PAGE) และ high performance liquid chromatography (HPLC) แสดงให้เห็นว่ากาวไหมมีช่วงน้ำหนักโมเลกุลที่กว้างมากและเมื่อศึกษาสมบัติทางชีวภาพก็พบว่า กาวไหมสามารถยับยั้งปฏิกิริยา tyrosinase ของ chlorogenic acid ได้อีกด้วย และในปี 2008 นักวิจัยกลุ่มนี้ยังได้รายงานผลการศึกษาการเตรียมโปรตีนที่มีสมบัติทางชีวภาพ (bioactive peptides) จากกาวไหมโดยกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ Protease P. (Amano)’ 6 Food Grade (EC 3.4.21.63, *Aspergillus melleus*, ในสภาวะการทดลองดังนี้ คือ pH 8.40, อุณหภูมิ 43.97 °C และอัตราส่วนของปริมาณ enzyme/substrate เท่ากับ 3:100) ภายใต้สภาวะการทดลองดังกล่าวพบว่ากาวไหมที่ได้มีปริมาณกรดอะมิโน (Ser and Thr) 30% มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 250-4000 Da เกิดการไฮโดรไลซิสของกาวไหม 14.43% และให้ค่า IC₅₀ (ค่าที่แสดงความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเทียบความสามารถในการลด ferrous ion-chelating ลง 50%) อยู่ที่ 0.128 mg/ml และยังมีผลในด้าน tyrosinase-inhibitory จากงานวิจัยนี้จะเห็นได้ว่ากาวไหมที่ผ่านกระบวนการนี้สามารถที่จะพัฒนาไปใช้ในด้านเภสัชศาสตร์ เวชศาสตร์ หรือเวชสำอาง เพื่อการรักษาหรือป้องกันโรคและความผิดปกติที่เกี่ยวข้องกับสารอนุมูลอิสระได้ (Wu, Wang , Xu (2008))

Kundu, Dash, Dash, Kaplan (2008) สรุปผลงานวิจัยเรื่องการใช้ประโยชน์จากกาวไหมในด้านต่างๆ ที่น่าสนใจไว้ดังนี้ คือ เนื่องจากกาวไหม (โดยเฉพาะกาวไหมส่วนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ) มีความเป็น hydrophilic ตามธรรมชาติ จึงมีการใช้เพื่อเพิ่มการละลายน้ำของยาบางชนิดที่ละลายน้ำยาก โดยอาศัยความสามารถของกาวไหมที่สามารถเข้ากับตัวยา เช่น insulin และ lasparaginase แล้วทำให้ตัวยานั้นให้ละลายได้ในน้ำ นอกจากความสามารถในการละลายน้ำของกาวไหมแล้ว โครงสร้างทางเคมีของกาวไหมซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนถึง 18 ชนิดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ จึงสามารถนำมาใช้ในการเตรียม serum-free medium

Zhang (2002) ได้รายงานความเป็นไปได้ในการพัฒนาเป็นวัสดุทางชีวภาพโดยใช้สมบัติที่ดีของกาวไหมในด้านต่างๆ ซึ่งสมบัติเด่นๆ ที่ช่วยส่งเสริมสมบัติทางชีวภาพ คือ ความต้านทานในการเกิดปฏิกิริยา oxidation คุณสมบัติการเป็นสารปฏิชีวนะ ต้านทานต่อแสงอัลตราไวโอเล็ต ดูดซับและปลดปล่อยความชื้นได้ง่าย อย่างไรก็ตาม กาวไหมบริสุทธิ์ไม่สามารถขึ้นรูปได้หรือทำได้ยาก ดังนั้น ในการใช้งานจริงกาวไหมจะต้องได้รับการปรับปรุงคุณสมบัติ ซึ่งกาวไหมสามารถเกิดปฏิกิริยา cross-link ใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการ copolymerization และยังสามารถนำไปผสมกับสารโมเลกุลใหญ่อื่นๆ โดยเฉพาะพอลิเมอร์ เพื่อพัฒนาสมบัติของพอลิเมอร์และตัวของกาวไหมเองได้ และองค์ประกอบที่เป็นกรดอะมิโนจำนวนมากที่มีความเป็นขั้วสามารถช่วยให้วัสดุที่มีส่วนผสมของกาวไหมโดยเฉพาะวัสดุผสมระหว่างพอลิเมอร์กับกาวไหมมีความสามารถในการละลายตัวในสภาวะที่มีน้ำหรือความชื้นได้ดี

- การสกัดและการใช้ประโยชน์กรดเอเชียติกจากบัวบก

สารสำคัญที่อยู่ในบัวบกที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย โดยเฉพาะกรดเอเชียติก (asiatic acid) เอเชียติโคไซด์ (asiaticoside) กรดมาเดคาสสิก (madecassic acid) และ มาเดคาสโซไซด์ (madecassoside) ดังนั้นวิธีการสกัดเพื่อให้ได้สารสำคัญในปริมาณมากและบริสุทธิ์จึงเป็นสิ่งที่สำคัญและน่าสนใจ งานวิจัยหลายงานสามารถสกัดสารสำคัญเหล่านี้ออกมาได้โดยใช้วิธีการที่ต่างกัน เช่น คณะวิจัยของ Kim *et al.* (2009) ที่ศึกษาการสกัดสารกรดเอเชียติกและเอเชียติโคไซด์ด้วยน้ำที่อุณหภูมิและความดันสูง โดยใช้สภาวะการทดลองที่อุณหภูมิ 100-250°C และความดัน 10-40MPa เทียบกับการสกัดด้วยเมทานอลและเอทานอล จากนั้นพิสูจน์เอกลักษณ์เฉพาะสารที่สกัดได้ด้วยด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high-performance liquid chromatography (HPLC)) ผลการศึกษาพบว่า สภาวะการสกัดที่ใช้อุณหภูมิ 250°C และความดัน 40MPa สามารถสกัดกรดเอเชียติกได้ 7.8 มิลลิกรัม/กรัม และเอเชียติโคไซด์ได้ 10.0 มิลลิกรัม/กรัม และยังพบอีกว่าสารทั้งสองชนิดมีขนาดอนุภาคต่างกันโดยการศึกษาจากเครื่อง dynamic light scattering (DLS) คณะวิจัยนี้จึงกรองแยกกรดเอเชียติกและเอเชียติโคไซด์ด้วยเยื่อกรองที่มีขนาดรูพรุนต่างๆ อย่างไรก็ตาม เมื่อเทียบระหว่างเครื่องมือที่ยุ่งยากใช้ในการสกัดสารสำคัญด้วยน้ำที่อุณหภูมิและความดันสูงแล้ว การสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์ยังให้ผลการสกัดที่น่าพึง

พอใจ นอกจากนี้วิธีการสกัดแล้วแหล่งที่ปลูกของบัวบกก็มีส่วนสำคัญที่ส่งผลต่อปริมาณกรดเอเซียติกที่สกัดได้ มีคณะวิจัยของประเทศเนปาล Devkota, Acqua, Comai, Innocenti, Jha (2010) พบว่าบัวบกที่ปลูกหรือขึ้นในดินที่อุดมสมบูรณ์จะส่งผลกระทบต่อกระบวนการสร้างสารกลุ่มกรดเอเซียติกแต่ปริมาณธาตุอาหารในดินจะต้องอยู่ในระดับที่เหมาะสมหากมากเกินไปก็ไม่ดีเพราะพืชจะเกิดกระบวนการ secondary metabolite เพื่อสร้างสารสำคัญกลุ่มนี้ลดลง โดยดินที่เหมาะสมสำหรับการปลูกบัวบกเพื่อสกัดสารสำคัญคือดินปนทราย

นอกจากสารสำคัญกลุ่มกรดเอเซียติกแล้วการใช้สารละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมยังสามารถสกัดสารต้านอนุมูลอิสระได้อีกด้วยโดยมีคณะวิจัยกลุ่มของ Hamid, Shah, Muse, Mohamed (2002) ได้รายงานศึกษาวิธีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากบัวบกทั้งต้นโดยใช้สารละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เอทานอล น้ำ และไลท์ปิโตรเลียมที่ส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติด้านการต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดจากบัวบกโดยใช้เอทานอลให้ผลดีกว่า ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยน้ำ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดขึ้น (1000–3000 ppm) พบว่าคุณสมบัติด้านการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นทั้งคู่ ส่วนสารที่สกัดจากไลท์ปิโตรเลียมไม่ส่งผลกระทบต่อความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ในขณะที่อีกงานวิจัยวิจัยของ Zainol, Hamid, Yusof, Muse (2003) ซึ่งสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากบัวบกด้วยเมทานอล ซึ่งก็ให้ผลเป็นที่น่าพอใจเช่นกัน โดยเฉพาะสารสกัดส่วนรากของบัวบกที่ให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าส่วนอื่น

- งานวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาวัสดุปิดแผลในประเทศไทย

นายแพทย์ถนอม บรรณประเสริฐ และคณะวิจัยจากศูนย์นวัตกรรมเซลล์เนื้อเยื่อและอวัยวะสังเคราะห์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ได้พัฒนาวัสดุปิดแผลต้นแบบที่สามารถผสมเป็นเนื้อเดียวกับแผลและช่วยกระตุ้นการสร้างผิวหนังใหม่ใน 2 สัปดาห์ โดยไม่ทิ้งรอยแผลเป็น เหมาะใช้กับแผลไฟคลอกที่สูญเสียถึงผิวหนังชั้นใน คณะวิจัยได้พัฒนาวัสดุปิดแผลจากส่วนผสมของคลอลาเจนและคาร์โบไฮเดรตโดยผ่านกระบวนการขึ้นรูปแบบแผ่นฟิล์มในสัดส่วนที่ต่างกัน 5 รูปแบบ แต่ละรูปแบบบรรจุโปรตีนคำสั่งที่ต้องการ เช่น คำสั่งกระตุ้นการสร้างเนื้อเยื่อ คำสั่งกระตุ้นการสร้างผิวหนัง คำสั่งกระตุ้นการสร้างเซลล์ต้นกำเนิดและเปลี่ยนเป็นเนื้อเยื่อ เป็นต้น ผลทดลองใช้ต้นแบบวัสดุปิดแผลกับผู้ป่วยอุบัติเหตุที่ไฟคลอกทั่วร่างกายถึง 85% พบว่าวัสดุปิดแผลสามารถยึดติดเนื้อเดิมของผู้ป่วยได้ดี จากนั้นผสมเป็นเนื้อเดียวกันโดยไม่ปรากฏรอยแผลเป็น ปัจจุบันโครงการนี้อยู่ระหว่างการวิจัยพัฒนา โดยศึกษาในหนูทดลอง 20-30 ตัว เพื่อศึกษาปฏิกิริยาที่มีต่อวัสดุ รวมถึงศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุปิดแผลทั้ง 5 รูปแบบว่า รูปแบบไหนใช้งานได้ดีที่สุด เหมาะกับบาดแผลชนิดใด สำหรับเป็นข้อมูลในการวิจัยต่อไป (ที่มา : หนังสือพิมพ์กรุงเทพธุรกิจ คอลัมน์ เทคโนโลยีชีวภาพ วันที่ 17 กรกฎาคม 2550)

รศ.นพ.วิชัย ชีเจริญ และคณะ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้พัฒนาวัสดุปิดบาดแผลเซลล์จากน้ำสับปะรด ซึ่งกระบวนการผลิตเริ่มจากรับประทานสับปะรดที่สุก มาคั้นน้ำ เติร์มเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ

ต้ม ทิ้งให้เย็นเติมเชื้อ *A. xylinum* ใส่ภาชนะเลี้ยงเชื้อ บ่มตามระยะเวลาที่กำหนด 5-15 วัน เพื่อให้ได้แผ่นเซลลูโลสที่มีความหนาตามต้องการ แผ่นเซลลูโลสที่ได้จะถูกแปรรูปให้บริสุทธิ์ โดยวิธีเคมี และกายภาพ และแทนที่ด้วยน้ำสะอาด ตัด ตบแต่ง และทำให้ปราศจากเชื้อ (อนุสิทธิบัตร “กรรมวิธีการผลิตแผ่นดูดซับและให้ความชุ่มชื้น” เลขที่ สิทธิบัตร 2988 ลงวันที่ 18 ธันวาคม 2549) ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นแผ่นเส้นใยสีขาวนวล เรียบนุ่ม เหนียว บริสุทธิ์ โปร่งแสงมีรูพรุนขนาด 200-300 นาโนเมตร อุ่มน้ำได้ดี ทนกรด ต่าง รังสี และความร้อน รวมทั้งให้ความรู้สึกเย็นเมื่อสัมผัส นอกจากนี้ ยังมีคุณสมบัติดูดซับหนอง และเนื้อตาย ลดอาการปวดบาดแผล บาดแผลหายเร็วขึ้น และไม่ติดแผลขณะแกะออก แผ่นเซลลูโลสที่ผลิตขึ้นได้ถูกนำมาทดลองใช้กับผู้ป่วย 13 รายที่มีบาดแผลเฉียบพลันระดับ 2 โดยปิดแผลด้วยแผ่นเซลลูโลสและปิดทับด้วยผ้าก๊อซ พบว่าผู้ป่วยมีบาดแผลหายดีทุกราย ระยะเวลาหายของบาดแผลเฉลี่ย 6-7 วัน ไม่มีผู้ใดเกิดอาการแพ้ ไม่ต้องทำแผลทุกวัน ทำให้สะดวกและลดค่าใช้จ่าย เมื่อเทียบกับการใช้ผ้าปิดแผลแบบเดิมที่ใช้เวลา 7-12 วันในการรักษาบาดแผลให้หาย และต้องล้างทำความสะอาดแผลทุกวัน (ที่มา : หนังสือพิมพ์กรุงเทพธุรกิจ คอลัมน์ วิทยาศาสตร์ วันที่ 3 ตุลาคม 2550 และ สำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์)

ดร.วนิดา จันทร์วิกุล และคณะ จากศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ได้นำไคติน/ไคโตซาน ซึ่งเป็นสารที่สกัดได้จากกากเสียของอุตสาหกรรมอาหารทะเล เช่น เปลือกกุ้ง กระดองปูและแกนหมึก มาพัฒนาเป็นวัสดุปิดบาดแผล เพราะมีการวิจัยแล้วพบว่ามีสารเหล่านี้ไม่เป็นพิษ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ มีคุณสมบัติในการห้ามเลือด ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ และช่วยเร่งทำให้แผลหายได้เร็วขึ้น จึงเหมาะกับการนำมาใช้รักษาแผลประเภทต่างๆ เช่น แผลไฟไหม้ แผลกดทับ หรือแผลจากการผ่าตัด เป็นต้น แต่แผ่นไคโตซานที่พัฒนาขึ้นนั้นมีปัญหาการดูดซับของเหลวจากแผล ในกรณีที่มีบาดแผลมีของเหลวไหลซึมออกมาเยอะ รวมถึงความคงรูปร่างของวัสดุขณะใช้งาน คณะผู้วิจัยได้ทำการวิจัยและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง โดยพัฒนาต้นแบบจากอนุพันธ์ไคติน/ไคโตซาน 2 รูปแบบ คือ แผ่นฟิล์มไคติน-อะคริลิก แอซิดไฮโดรเจล ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มเรียบหนา 2-3 มิลลิเมตร และแผ่นฟิล์มคาร์บอกซีเมธิลไคโตซาน ไฮโดรเจล ซึ่งเป็นแผ่นฟิล์มหนากลายฟองน้ำ ซึ่งแผ่นต้นแบบทั้งสองนี้ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ มีความสามารถดูดซับน้ำและของเหลวได้ดีและมากถึง 30 เท่าของน้ำหนักเริ่มต้น นอกจากนี้ การทดสอบการใช้งานในสัตว์ทดลองเปรียบเทียบกับวัสดุทางการค้า พบว่า ต้นแบบทั้งสองสามารถช่วยรักษาแผลให้หายได้เร็วกว่า มีการอักเสบน้อยกว่า และบาดแผลมีการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ดีขึ้นแผลมีขนาดเล็กลง โดยขณะนี้อยู่ระหว่างการทดสอบกับผู้ป่วยจริง (สิทธิบัตร เรื่อง "กรรมวิธีการผลิตวัสดุตกแต่งแผลจากอนุพันธ์ไคติน/ไคโตซาน" เลขที่ 17473 ลงวันที่ 13 สิงหาคม 2547)

ดร.ปรารธนา คิวสุวรรณ และคณะ จากโครงการวิจัยเคมีและวัสดุศาสตร์ สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ ได้ศึกษาการเตรียมวัสดุปิดแผลชนิดไฮโดรเจลจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสมกับซิลิโคนไฟโบรอินโดย

การฉายรังสีแกมมา ในการทดลองได้ใช้เงื่อนไขต่างๆในการเตรียม เช่น ปริมาณรังสี ความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และซิลค์ไฟโบรอิน เมื่อสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และซิลค์ไฟโบรอินถูกคลื่นรังสีแกมมาจะเกิดโครงร่างแห ได้วัสดุที่สามารถดูดน้ำได้ถึง 100– 1000% ขึ้นกับเงื่อนไขในการเตรียม ความหนาแน่นของการเกิดการเชื่อมโยงเป็นตัวแปรหลักในการบวมของแผ่นไฮโดรเจล จากการศึกษาการบวมในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ของแผ่นไฮโดรเจล พบว่าการบวมของไฮโดรเจลลดลงในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ และการเกิดไฮโดรเจลจะสูง ถ้าปริมาณรังสีที่ใช้สูง การใช้ไฮโดรเจลเป็นวัสดุปิดแผลจะป้องกันการติดเชื้อแผล และทำให้แผลหายเร็วขึ้น และเป็นการลดต้นทุนการผลิตและการนำเข้าสู่ศุบัติแผลจากต่างประเทศ (Prartana Kewsuwan, Suchada Pongpat, Manit Sonsuk, Preparation of Wound Dressing of Polyvinyl alcohol/Silk Fibroin Hydrogels by Gamma Radiation, 30th Congress on Science and Technology of Thailand at Impact Muang Thongthanee Bangkok, 19 – 21 October 2004)

ดร.กัญญวิมว์ กীরติกร นางสาว ศิริพร หมดดล้า นักวิจัยไบโอเทค และ ดร. ภาวดี เมธะคานนท์ นักวิจัยจากศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ ได้ศึกษาคุณสมบัติและศักยภาพของพอลิเมอร์จากราในประเทศไทยในการนำมาใช้เป็นวัสดุปิดแผลโดยคัดเลือกராที่สร้างสารที่ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีความเหนียวเพิ่มขึ้น สารที่ราสร้างถูกทำให้บริสุทธิ์เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพ รวมทั้งคุณสมบัติในการกระตุ้นกระบวนการหายของแผล เพื่อพัฒนาเป็นวัสดุปิดแผล จากการศึกษาพบ ราแมลง 3 ชนิด ผลิตพอลิเมอร์ที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ทดสอบ และกระตุ้นให้เซลล์สร้างสารที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเร่งการหายของแผลได้ในระดับสูง จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี พบว่า พอลิเมอร์จากราแมลงทั้ง 3 สายพันธุ์มีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบหลัก และเป็นพอลิเมอร์ ชนิดกอลลูแคน และมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบรองในระดับที่แตกต่างกัน โดยกรดอะมิโนชนิดที่พบมาก ได้แก่ เซรีน กรดกลูตามิก และกรดแอสปาร์ติก ในขณะนี้การศึกษาวินิจฉัยอยู่ระหว่างการเตรียมพอลิเมอร์เหล่านี้ เพื่อให้อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมกับชนิดของแผล ทดสอบคุณสมบัติทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง รวมทั้งศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตพอลิเมอร์ของราทั้ง 3 สายพันธุ์ เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตพอลิเมอร์ ให้อยู่ในระดับที่สูงขึ้น (ที่มา : ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค))

รศ. ดร. สันติ แม้นศิริ และคณะ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้ผลิตเส้นใยนาโนจากพอลิคาร์โพรแลคโตน (PCL) ไปทดสอบกับเซลล์มีชีวิต (in vitro test) พบว่า เซลล์สามารถเกาะติดได้ และนำไปทดลองปิดแผลสดของของหนูแฮมสเตอร์ เปรียบเทียบกับการปิดแผลด้วยผ้าปิดแผลธรรมดา พบว่า แผลที่ปิดด้วยเส้นใย PCL หายเร็วกว่า โดยแผลเริ่มเล็กลงหลังจาก 4 วัน และหลังจาก 21 วันจะมีแผลเป็นเหลือน้อยกว่าแผลที่ปิดด้วยผ้าปิดแผลธรรมดา เมื่อตัดเนื้อเยื่อบริเวณแผลมาทดสอบ พบว่า เนื้อเยื่อใต้ผิวของ

ผลที่ปิดด้วยเส้นใยนาโนมีการสร้างเซลล์ใต้ผิวใหม่และมีเนื้อเยื่อที่แข็งแรง (ที่มา: <http://physics.kku.ac.th/ssmg/wordpress/?p=525>)

ดร. อรุษา รังสาดทอง ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ (นาโนเทค) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ได้วิจัยเกี่ยวกับเส้นใยนาโนในพอลิเมอร์ โดยได้ผสมยาปฏิชีวนะซีฟาเล็กซิน(Cephalexin) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียเข้ากับพอลิไวนิล แอลกอฮอล์ (Poly vinyl alcohol :PVA) ที่มีคุณสมบัติคงตัวนำมาผ่านกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ให้เส้นใยมีขนาดเล็กประมาณ 100 - 150 นาโนเมตร นอกจากนี้ กลุ่มวิจัยของ รศ.ดร. พิชญ์ ศุภผล วิทยาลัยปิโตรเลียมและปิโตรเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ กลุ่มวิจัยของ ดร.รัฐพล รังกุพันธุ์ สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เป็นกลุ่มวิจัยที่มีงานวิจัยที่เกี่ยวกับการเตรียมเส้นใยสำหรับการใช้งานด้านการแพทย์ออกมาอย่างต่อเนื่องเช่นกัน

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

- เป็นองค์ความรู้สำหรับการวิจัยขั้นถัดไปสำหรับการพัฒนาพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้โดยใช้ผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์และการพัฒนาแผ่นฟิล์มปิดแผลจากพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ในชีวภาพ
- เป็นการเพิ่มประโยชน์การใช้งานและมูลค่าให้กับไบบวบกและน้ำล้างเส้นไหม รวมทั้งเป็นทางเลือกในการลดน้ำเสียจากขบวนการย้อมไหม
- เป็นการส่งเสริมการพึ่งพาตนเองภายในประเทศจากการผลิตแผ่นฟิล์มปิดแผลจากพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ในชีวภาพโดยใช้วัตถุดิบจากทรัพยากรภายในประเทศ
- เป็นการพัฒนาทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีวัสดุของประเทศอย่างต่อเนื่อง
- ได้เอกสารวิชาการที่ตีพิมพ์ระดับประเทศและ/หรือระดับนานาชาติ

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การสกัด การเตรียม และการพิสูจน์เอกลักษณ์กาวยาไหม

กาวยาไหมจะถูกสกัดแยกออกจากรังไหมในกระบวนการฟอกไหม โดยใช้ น้ำแช่ขี้เถ้า โดยน้ำแช่ขี้เถ้า ทำได้โดยการแช่ขี้เถ้าไม้ปูน (*C. pentandar*) กับน้ำสะอาดในอัตราส่วน 1 : 3 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร กวน 15 นาทีแล้วทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงจนขี้เถ้าตกตะกอนหมด ตักเอาเฉพาะส่วนน้ำที่ใส ด้านบน กรองก่อนนำไป ต้มให้มีอุณหภูมิ 80-90°C จากนั้นนำเส้นไหมดิบที่ได้จากรังไหมพันธุ์ไทย (*Bombyx mori*, polyvoltine race) (ซึ่งมีปริมาณกาวยาไหมประมาณ 22% (Vaithanomsat P., Kitpreechavanich V. , 2008) ลงฟอก เป็นเวลา 45-60 นาที ที่อุณหภูมิ 80-90°C แยกเส้นไหมที่ผ่านการฟอกออกไปและนำน้ำไหมที่ได้จากการ ฟอกมากรองผ่านกระดาษกรองที่มีขนาดรูพรุน 10 ไมโครเมตร (Whatman No. 1) ด้วยเครื่องกรอง สูญญากาศ สารละลายที่ได้นำไปสะเทินด้วยกรดน้ำส้ม (Acetic acid) เข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร จากนั้นนำไประเหยด้วยเครื่องทำความร้อนที่อุณหภูมิ 50°C จนปริมาณลดลง 50% เพื่อเพิ่มความเข้มข้น ให้กับน้ำฟอกไหม นำน้ำฟอกไหมที่ได้ใส่ถาดสเตนเลสสตีลแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60°C ในตู้อบลมร้อน จนแห้งก่อนนำไปอบต่อในตู้อบสูญญากาศที่อุณหภูมิ 60°C อีก 12 ชั่วโมง นำกาวยาไหมที่แห้งแล้วมา ละลายน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 40% โดยน้ำหนัก/ปริมาตร จากนั้นสารละลายกาวยาไหม 50 มิลลิลิตร แช่ ในอ่างน้ำแข็งที่อุณหภูมิประมาณ 0°C แล้วตกตะกอนด้วยเอทานอล (AR grade, Carlo Erba) ที่มี อุณหภูมิใกล้ -18°C 200 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิ -18°C 12 ชั่วโมง แล้วรินส่วนที่เป็น สารละลายทิ้งไป แล้วอบในตู้อบสูญญากาศที่อุณหภูมิ 60°C อีก 12 ชั่วโมง จากนั้นบดให้เป็นผงก่อนเก็บ ในภาชนะที่บดแสงในโถดูดความชื้น

การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของกาวยาไหมด้วย SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfat polyacrylamide gel electrophoresis) โดยการเติมกาวยาไหมทั้งแบบตกตะกอนและแบบไม่ได้ ตกตะกอนปริมาณ 0.1 กรัม ลงในสารละลาย SDS ร้อยละ 5 แล้วทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย IKA homogenizer จากนั้นนำสารละลายไปทำให้ร้อนที่ 90 °C ในอ่างน้ำร้อนเป็นเวลา 60 นาที ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg เป็นเวลา 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง นำสารละลายที่อยู่ด้านบน (Supernatant) มา ผสมกับบัฟเฟอร์ปรับปรุง (Treatment buffer) ที่ประกอบด้วย β -mercaptoethanol ในอัตราส่วน 1 : 1 แล้วนำไปต้มเป็นเวลา 3 นาที นำตัวอย่างที่เตรียมได้ปริมาณ 25 ไมโครกรัมใส่ลงไปในเจลของโพลีอะครี ลามด์ (4% stacking gel และ 10% running gel) น้ำหนักโมเลกุลของกาวยาไหมถูกแยกโดยให้ศักย์ไฟฟ้า

ที่คงที่กับเจลที่ 120 V จากนั้นนำไปฉายสีด้วย Coomassie Brilliant Blue R-250 ร้อยละ 0.125 แล้วล้างสีออกด้วยสารละลายผสมของเอทานอลร้อยละ 25 และกรดอะซิติกร้อยละ 10

2.2 การเตรียมแผ่นฟิล์มของพอลิแลกติกแอซิดกับกาวไหม

นำพอลิแลกติกแอซิดมาละลายในคลอโรฟอร์มให้มีความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก จากนั้นเติมสารละลายกาวไหมในเมทานอล 25 มิลลิลิตร ลงในสารละลายพอลิแลกติกแอซิด 100 มิลลิลิตร ศึกษาผลของปริมาณกาวไหมต่อสมบัติของแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์โดยการกำหนดปริมาณของกาวไหมในแผ่นฟิล์มให้แตกต่างกัน ได้แก่ ร้อยละ 0 10 20 และ 30 โดยน้ำหนัก ปิดฝาและกวนสารละลายเพื่อผสมตลอดเวลาด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จนสังเกตเห็นว่าสารละลายกลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำสารละลายที่ได้ประมาณ 10 มิลลิลิตร เทลงในจานเพาะเชื้อ (Petri dish) เกลี่ยให้ทั่วและใช้ฝาปิดให้ตัวทำละลายระเหยออกอย่างช้า ๆ ทิ้งให้แห้ง 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องในตู้ดูดควัน จากนั้นเปิดฝาและนำไปอบในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แผ่นฟิล์มที่แห้งแล้วจะมีความหนาประมาณ 0.3-0.5 มิลลิเมตร

2.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์แผ่นฟิล์มของพอลิแลกติกแอซิดกับกาวไหม

นำแผ่นฟิล์มที่ได้ไป ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาด้วยเครื่อง Optical microscope (Olympus, SZX16) ที่กำลังขยาย 500 เท่า วัดความเป็นผลึกด้วยเครื่องDifferential scanning calorimetry (DSC, Perkin elmer/DSC7) โดยปริมาณร้อยละของผลึก (% X_c) คำนวณจากสมการนี้

$$\%X_c = \frac{(\Delta H_m - \Delta H_c)}{(\Delta H_m^0) \times (\Phi_{PLA})} \times 100 \quad (1)$$

เมื่อกำหนดให้ ΔH_m และ ΔH_c เป็นเอนทาลปีของการหลอมและการเกิดผลึกตามลำดับ Φ_{PLA} เป็นสัดส่วนปริมาณพอลิแลกติกแอซิดในตัวอย่างโดยน้ำหนัก และ ΔH_m^0 เป็นเอนทาลปีของการหลอมของพอลิแลกติกแอซิด 100% ซึ่งมีค่าประมาณ 93 J/g

สมบัติเชิงกลแบบไดนามิกส์ (dynamic mechanical properties) ของแผ่นฟิล์มตรวจสอบโดยเครื่อง Advanced Rheometrics Expansion System (ARES) (Rheometric Scientific, TA Instruments) ทำการทดลองโดยวิธีการบิด (torsion mode) ขึ้นงานตัวอย่างขนาดกว้าง×ยาว เท่ากับ 1×6 เซนติเมตรด้วยความถี่ 6.283 rad/s (1 Hz) จากอุณหภูมิ 28°C ถึง 100°C ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 2°C ต่อนาที

การเพิ่มจำนวนเซลล์และความเข้ากันได้ทางชีวภาพของแผ่นฟิล์มกับเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมนุษย์ (Human fibroblast cells, h-FBs) ตรวจสอบโดยการวางเซลล์ h-FBs จำนวน 1×10^5 เซลล์ / มิลลิลิตร โดยตรงบนพื้นผิวของฟิล์ม บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 6 วัน ใช้สารเลี้ยงเชื้อเปล่า (Blank cultured media) เป็นตัวควบคุม ใช้ Thermanox (Nunc) และแผ่นยูรีเทนฟิล์มที่มี 0.1% zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC) เป็นวัสดุควบคุมเชิงลบและเชิงบวกตามลำดับ

2.4 การศึกษาการสลายตัวของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม ภายใต้สภาวะจำลองร่างกายมนุษย์ (*In vitro* study)

การสลายตัวของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด และแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม ทำในสภาวะทดลองศึกษาโดยการแช่แผ่นฟิล์มขนาด (กว้าง×ยาว) 20×20 มิลลิเมตร จำนวน 3 ชิ้น (น้ำหนักรวมประมาณ 0.3 กรัม) ในสารละลายเทียมของร่างกายมนุษย์ (Simulated body fluid, SBF) 2 มิลลิลิตรในหลอดทดลองขนาด 100 มิลลิลิตร ซึ่งการเตรียม SBF อ้างอิงตามงานวิจัยของ Tadashi และ Hiroaki (2006) ซึ่งสารละลายเทียมของร่างกายมนุษย์เป็นสารละลายที่มีความเข้มข้นของไอออนของอนินทรีย์สารคล้ายคลึงกับของเหลวในร่างกายมนุษย์ และสารละลายนี้ถูกใช้เพื่อทำนายการเปลี่ยนแปลงของวัสดุที่จะเกิดขึ้นในร่างกายมนุษย์หรือบริเวณที่สัมผัสกับของเหลวในร่างกายได้ ก่อนทำการทดลองจะต้องชั่งน้ำหนัก (W_0) และวัดขนาด (T_0) ของชิ้นงานก่อนที่แผ่นฟิล์มจะถูกแช่ไว้เป็นเวลา 0 1 2 3 4 6 10 และ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 37°C ความชื้นสัมพัทธ์ 100% โดยในระหว่างที่แช่ชิ้นงาน สารละลายเทียมของร่างกายมนุษย์จะต้องเปลี่ยนใหม่ทุกวันเพื่อรักษาสมบัติต่าง ๆ ของสารละลายเทียมของร่างกายมนุษย์ให้ใกล้เคียงกับการไหลเวียนของสารละลายในร่างกายมนุษย์ เมื่อครบกำหนดในการแช่ชิ้นงาน จะวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายเทียมของร่างกายมนุษย์โดยเครื่องพีเอชมิเตอร์ จากนั้นนำชิ้นงานออกมาซับด้วยกระดาษซับ และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยเครื่องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ (Olympus, SZX1) แล้ววัดขนาดที่เปลี่ยนแปลง (T_t) และชั่งน้ำหนัก (W_w) จากนั้นนำชิ้นงานไปอบในตู้อบสูญญากาศที่อุณหภูมิ 45°C จนได้น้ำหนักที่คงที่ (W_d) จากนั้นคำนวณหาร้อยละของปริมาณน้ำที่ถูกดูดซับเข้าไปในชิ้นงาน และร้อยละการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักชิ้นงานจากสมการที่แสดงไว้

$$\text{การเพิ่มขึ้นของน้ำหนัก, \%} = \left[\frac{(W_w - W_0)}{W_0} \right] \times 100 \quad (2)$$

$$\text{การเปลี่ยนแปลงขนาด, \%} = \left[\frac{(T_t - T_0)}{T_0} \right] \times 100 \quad (3)$$

$$\text{การลดลงของน้ำหนัก, \%} = \left[\frac{(W_o - W_d)}{W_o} \right] \times 100 \quad (4)$$

ในงานวิจัยนี้ น้ำหนักโมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิดในฟิล์มหลังการแช่ใน SBF ถูกวัดโดยเครื่องโครมาโทกราฟีแบบเจลเลือกผ่าน (Gel permeable chromatography, GPC) ซึ่งมีส่วนประกอบเครื่องมือ ดังนี้คือ คอลัมน์ที่บรรจุ Styrene-divinylbenzene copolymer (300×7.5 mm, particle size: 5µm, PLgel Mixed-C, Agilent) เครื่องตรวจวัดแบบวัดการหักเหแสง (Differential refractometer detector) (Agilent/RI-G1362A), เครื่องกำจัดก๊าซชนิดติดตั้งในเครื่อง (Online degasser) (Agilent/G1322A), เครื่องฉีดสารตัวอย่างแบบอัตโนมัติ (Autosampler) (Agilent/G1329A), เครื่องควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ (Thermostatted column compartment) (Agilent/G1316A) และปั๊มแบบสี่สาย (Quaternary pump) (Agilent/G1311A) โดยใช้คลอโรฟอร์ม (Carlo-Erba) เป็นตัวชะ (Eluent) หรือเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) อัตราการไหลของตัวชะอยู่ที่ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ให้อยู่ที่ 40°C และอุณหภูมิของ Detector ให้อยู่ที่ 35°C ตามลำดับ ละลายตัวอย่างในคลอโรฟอร์มให้มีความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1000 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 4°C (Beckman coulter, microfuge 22R) เพื่อแยกชั้นของกาวไหมและพอลิแลกติกแอซิดออกจากกันก่อนดูเอกสารละลายคลอโรฟอร์มไปวิเคราะห์

การศึกษาผลของกาวไหมในแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ที่เตรียมได้กับเซลล์ร่างกายมนุษย์ด้านการเพิ่มจำนวนเซลล์และความเข้ากันได้ทางชีวภาพของแผ่นฟิล์มกับเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันของมนุษย์ (Human fibroblast cells, h-FBs) ถูกทดสอบโดยการวางเซลล์ h-FBs จำนวน 1×10^5 เซลล์ / มิลลิลิตร โดยตรงบนพื้นผิวของฟิล์ม บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 6 วัน ใช้สารเลี้ยงเชื้อเปล่า (blank cultured media) เป็นตัวควบคุม โดยใช้ Thermanox (Nunc) และแผ่นยูรีเทนฟิล์มที่มี 0.1% zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC) เป็นวัสดุควบคุมเชิงลบและบวกตามลำดับ

2.5 การสกัดเอเชียติกแอซิดออกจากบัวบก

ในงานวิจัยนี้สกัดสารเอเชียติกแอซิดจากบัวบก (ปลูกโดยเกษตรกรด้วยวิธีธรรมชาติในเขต อ. นางรอง จ.บุรีรัมย์) เริ่มต้นโดยการเลือกเฉพาะส่วนของใบของบัวบก ล้างให้สะอาดอบด้วยตู้อบลมร้อนที่ 50°C จนแห้ง บดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 250 μm จากนั้นชั่งมาบัวบกแห้งมา 40 กรัมใส่ขวดก้นกลม ขนาด 1 ลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน (deionized water, DI) DI:เอทานอล (10:90 ปริมาตร/ปริมาตร) 600 มิลลิลิตรแช่ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงก่อน นำไป Reflux ที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมงโดยกวนด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาทีด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กตลอดเวลา นำมากรองผ่านเยื่อกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 μm (HACH) ก่อนนำไประเหยด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 70°C จนสารสกัดเหลือประมาณ 1 ใน 5 ส่วนของสารสกัดตั้งต้น เติมน้ำละลายเมทานอลร้อยละ 80 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดแก้วปิดฝาแล้วตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองผ่านเยื่อกรองขนาดรูพรุน 0.45 μm ด้วยเครื่องกรองดูดอากาศ แล้วนำตะกอนด้านบนไปทำให้แห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และพิสูจน์เอกลักษณ์เอเชียติกแอซิดที่สกัดได้เทียบกับสารมาตรฐานโดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC, Agilent 1200) ที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้อง (Validation) แล้ว โดยใช้คอลัมน์ในการแยกเป็น C-18 (250 mm \times 4.6 mm I.D.; particle size: 5 μm , Water) ระบบรีเวอร์สเฟส สารละลายตัวชะที่ใช้วิเคราะห์นี้คืออะซิโตนไนไตร์ (Acetonitrile, Carlo Erba) เมทานอล และน้ำบริสุทธิ์พิเศษสำหรับ HPLC ในอัตราส่วน 35:10:55 และ อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิคอลัมน์ 35°C ความยาวคลื่นแสงที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ 254 nm ปริมาณฉีด 20 μL ระยะเวลาในการวิเคราะห์ 12 นาที

การเตรียมสารละลายมาตรฐานเตรียมโดยละลายสารมาตรฐานเอเชียติกแอซิด (Asiatic acid, Aldrich) 0.0100 กรัม ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 45 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพื่อเตรียมสารละลายเข้มข้น 1000 ppm

2.6 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Validation) โดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

การทำ Validation เป็นการพิสูจน์ความถูกต้องและความเหมาะสมของวิธีการ เพื่อให้ทราบถึงคุณสมบัติ และข้อจำกัดของวิธีวิเคราะห์นั้น ๆ ในงานวิจัยนี้ใช้

2.6.1 ความเป็นเส้นตรงและช่วงในการวิเคราะห์ (Linearity and range)

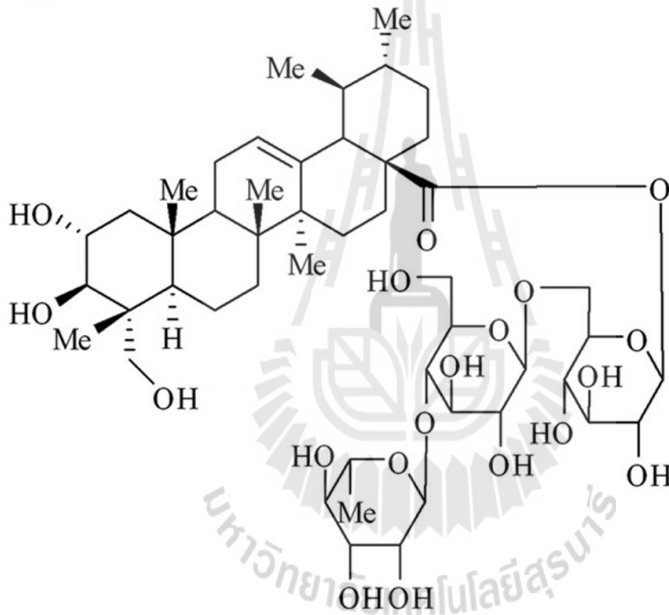
ความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ทำได้โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานของเอเชียติกแอซิดเข้มข้น 100 250 500 750 และ 1000 ppm ทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 5 ครั้ง

2.6.2 ความถูกต้อง (Accuracy) และความแม่นยำ (Precision) ของการวิเคราะห์

ตรวจสอบโดยการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานของเอเชียติกแอซิดที่ความเข้มข้น 300 500 และ 700 ppm ทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 5 ครั้ง จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับ (% Recovery) และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของการวิเคราะห์

2.6.3 ความจำเพาะของการวิเคราะห์ (Specificity)

ความจำเพาะของวิธีของการวิเคราะห์ทำได้โดยการทดลองเติมสารละลายมาตรฐานสารที่มีโมเลกุลใกล้เคียงกับเอเชียติกแอซิด ในงานวิจัยนี้ใช้สารมาตรฐาน เอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside, Fluka) เติมลงในตัวอย่างสารละลายมาตรฐานของเอเชียติกแอซิดให้มีความเข้มข้น 1000 ppm เท่ากัน



รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ Asiaticoside (Yun และคณะ, 2008)

2.7 การเติมเอเชียติกแอซิดลงในแผ่นฟิล์มของพอลิแลกติกแอซิดกับกาวไหม

ละลายสารสกัดจากบัวบกในเอทานอลแล้วเติมลงในสารละลายกาวไหม ก่อนทำตามขั้นตอนในข้อ 2.2 โดยให้แผ่นฟิล์มมีความเข้มข้นของเอเชียติกแอซิด 100 - 2000 ppm โดยคำนวณจากความเข้มข้นของเอเชียติกแอซิดในสารสกัดจากบัวบกที่วิเคราะห์ได้จากเครื่อง HPLC ตามวิธีการวิเคราะห์ที่ผ่านกระบวนการ Validation แล้ว

2.8 การวัดอัตราการปลดปล่อยเอเซียติกแอสิดออกจากแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ในสภาวะจำลองทางชีวภาพ (*in vitro study*)

การวัดอัตราการปลดปล่อยเอเซียติกแอสิดออกจากแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอสิดในสภาวะทดลองศึกษาโดยการแช่แผ่นฟิล์มขนาด (กว้าง×ยาว) 20×20 มิลลิเมตร จำนวน 3 ชิ้นในสารละลายเทียมของร่างกายมนุษย์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตรในหลอดทดลองขนาด 100 มิลลิลิตร เมื่อครบกำหนดในการแช่ชิ้นงาน วิเคราะห์อัตราการปลดปล่อยเอเซียติกแอสิดด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงตามข้อ 2.4 รวมทั้งศึกษาผลของกาวไหมและเอเซียติกแอสิดในแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ที่เตรียมได้กับเซลล์ร่างกายมนุษย์ด้านการเพิ่มจำนวนเซลล์และความเข้ากันได้ทางชีวภาพของแผ่นฟิล์มกับเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมนุษย์ (Human fibroblast cells, h-FBs) ถูกทดสอบโดยการวางเซลล์ h-FBs จำนวน 1×10^5 เซลล์ / มล. โดยตรงบนพื้นผิวของฟิล์ม บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 14 วัน ใช้สภาพเลี้ยงเชื้อเปล่า (blank cultured media) เป็นตัวควบคุม (Reagent control) ใช้ thermanox (Nunc) และแผ่นยูรีเทนฟิล์มที่มี 0.1% zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC) เป็นวัสดุควบคุมเชิงลบและเชิงบวกตามลำดับ



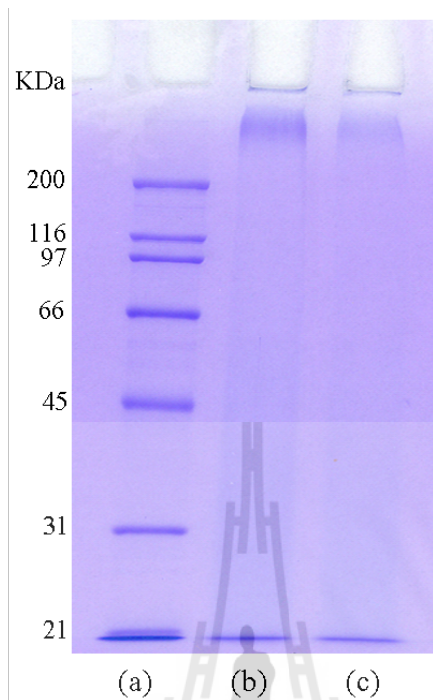
บทที่ 3

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของกาวไหม

SDS-PAGE ของกาวไหมที่สกัดด้วยต่างตามธรรมชาติแสดงในรูปที่ 3.1 กาวไหมทั้งแบบ ตกตะกอนและไม่ตกตะกอนในเอทานอลแสดงตำแหน่งแถบสีที่เกิดขึ้น 2 ตำแหน่งเหมือนกัน คือตำแหน่ง แถบมากกว่า 200 kDa และประมาณ 20 kDa ตำแหน่งแถบสีที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 200 kDa มี ลักษณะเป็นแถบกว้างซึ่งเกิดจากส่วนผสมของโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกัน Takasu และคณะ (2002) รายงานว่ากาวไหมที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 200 kDa จะประกอบไปด้วย ซีรีน ไกลซีน กรด- กลูตามิก กรดแอสปาทิก ไลซีน ฮีโอนีนและไทโลซีน นอกจากนี้ ลักษณะของแถบสีในช่วงน้ำหนักโมเลกุลสูง กว่า 200 kDa ที่พบในตัวอย่างกาวไหมทั้งตกตะกอนและไม่ตกตะกอนสามารถบ่งชี้ได้ว่า การสกัดกาว ไหมออกจากเส้นไหมดิบโดยต่างธรรมชาติและ การตกตะกอนไม่ทำให้กาวไหมเสียสภาพตามธรรมชาติ (Denature)

การสกัดกาวไหมโดยใช้น้ำต่างที่ได้จากซีเอ็นเอ็นนอกจากจะลดปัญหามลภาวะทางน้ำจากการ ใช้สารเคมีอันตรายในการฟอกไหมแล้วยังมีความได้เปรียบในเชิงความสามารถในการสกัดแยกกาวไหม โดยไม่เกิดการเสียสภาพของกาวไหมและเป็นกาวไหมที่มีศักยภาพสำหรับใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตวัสดุ ทางการแพทย์ มีงานวิจัยหลายงานวิจัยที่บ่งชี้ว่าการตกตะกอนกาวไหมในเอทานอลจะเพิ่มความสามารถ ให้กับกาวไหม (Dash และคณะ, 2006, Wu และคณะ, 2007) ทั้งนี้ด้วยเหตุผลด้านความสะอาดและ ความบริสุทธิ์ของกาวไหมที่ได้จากการตกตะกอน งานวิจัยนี้จึงเลือกกาวไหมที่ผ่านการตกตะกอนไปใช้ใน การศึกษาขั้นถัดไป



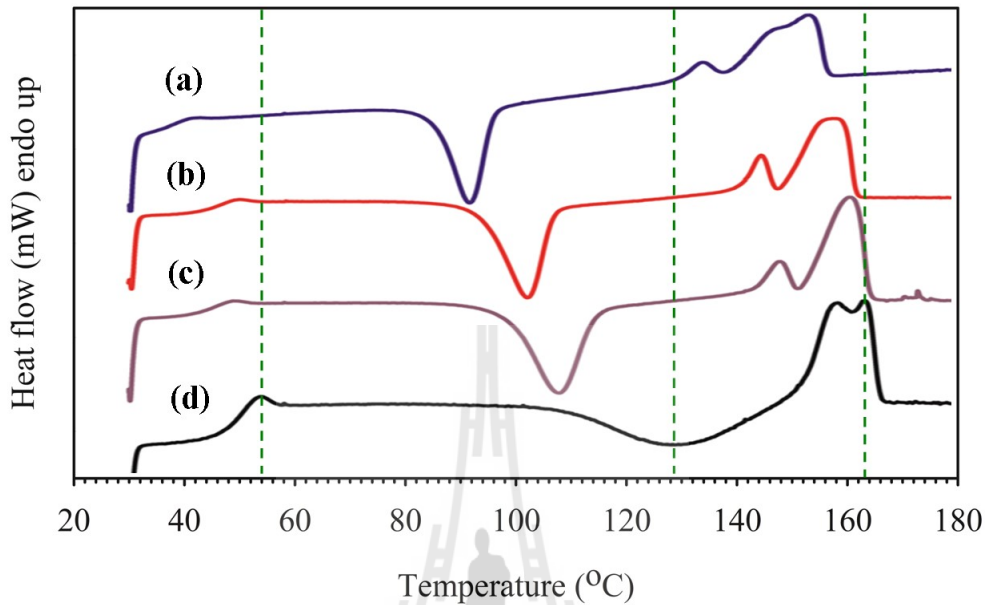
รูปที่ 3.1 SDS-PAGE ของ (a) น้ำหนักโมเลกุลของสารมาตรฐาน, (b) กาวไหมแบบไม่ผ่านการตกตะกอน และ (c) กาวไหมที่ผ่านการตกตะกอน

3.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม

DSC thermograms ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม แสดงในรูปที่ 3.2 และสมบัติทางความร้อนสรุปรวมและแสดงในตารางที่ 3.1 จากรูปที่ 3.2 พบว่า อุณหภูมิกลาสทรานซิชัน (Glass transition temperature, T_g) อุณหภูมิการเกิดผลึก (Crystallization temperature, T_c) และอุณหภูมิการหลอมเหลว (Melting temperatures, T_m) ของพอลิแลกติกแอซิด ในแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมมีค่าต่ำกว่าแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งยัง ลดลงตามปริมาณสัดส่วนของกาวไหมในเนื้อฟิล์ม

ปัจจัยที่ทำให้ค่า T_g ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมมีค่าต่ำกว่าแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดนั้นอาจเกิดจาก อนุภาคขนาดเล็กของกาวไหมที่กระจายอยู่ระหว่างโมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิด ช่วยในการแยกโมเลกุลเหล่านั้นออกจากกันทำให้โมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิดเกิดการเคลื่อนที่ได้ง่ายขึ้น การลดลงของ T_g แสดงให้เห็นว่าแผ่นฟิล์มที่ได้แสดงสถานะคล้ายยาง (rubbery state) ที่อุณหภูมิต่ำลง สอดคล้องกับสมบัติทางกายภาพที่สัมผัสได้ที่อุณหภูมิห้อง คือ แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมจะนิ่ม

และยืดหยุ่นขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด ซึ่งเป็นลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ต้องการเพื่อวัตถุประสงค์ด้านการแพทย์ในเชิงแผ่นฟิล์มเพื่อการปิดบาดแผล



รูปที่ 3.2 DSC เทอร์โมแกรมของ แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม โดยมีกาวไหม (a) 30 %w/w, (b) 20 %w/w, (c) 10 %w/w และ (d) แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด

นอกจากค่า T_g ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมจะมีค่าต่ำกว่าแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดแล้ว ค่า T_c ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมยังมีค่าต่ำลงอีกด้วย ในขณะที่ค่าเอนทาลปีของการเกิดผลึก (Enthalpies of crystallization, ΔH_c) มีค่าสูงขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของเอนทาลปีของการเกิดผลึกบ่งชี้ว่าการเกิดผลึกของพอลิแลกติกแอซิดในแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมจะมีอัตราการเกิดที่เร็วขึ้น นอกจากนี้ลักษณะของผลึกที่ได้จะมีลักษณะที่เปลี่ยนไป โดยพิจารณาจากลักษณะของพีคของการหลอมเหลวผลึก (Melting peak) ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกับแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด โดยแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมจะแสดงลักษณะพีคที่กว้างกว่าและมีการเลื่อนลงมาที่อุณหภูมิที่ต่ำกว่า เมื่อสัดส่วนกาวไหมในแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 30 พีคของการหลอมเหลวผลึกแยกออกเป็นสามพีคเมื่อเทียบกับพอลิแลกติกแอซิดที่มีเพียงสองพีค ปรากฏการณ์นี้อาจมีความสัมพันธ์กับการที่แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมมีพฤติกรรมการเกิดผลึกของพอลิแลกติกแอซิดที่เปลี่ยนไปเนื่องจากการที่มีอนุภาคของกาวไหมแทรกอยู่ในเนื้อพอลิแลกติกแอซิดทำให้ผลึกพอลิแลกติกแอซิดที่เกิดขึ้นมีความสมบูรณ์น้อยลงและมีหลายรูปแบบ

นอกจากนี้ ค่าเอนทาลปีในการหลอมเหลวของ (Enthalpy of melting, ΔH_m) แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมมีค่าสูงกว่าของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด เป็นนัยว่าความเป็นผลึก (x_c) ของพอลิแลกติกแอซิดสูงขึ้นเมื่อมีการเติมกาวไหมลงในเนื้อของพอลิแลกติกแอซิด ความเป็นผลึกที่สูงเป็นสาเหตุที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้แผ่นฟิล์มแข็งและสูญเสียความยืดหยุ่น ซึ่งในการวิจัยนี้ถึงแม้ว่าค่า T_g ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมจะลดลงแต่ความเป็นผลึกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (ดังแสดงในตารางที่ 3.1) ส่งผลต่อความยืดหยุ่นของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้ การปรับลดความเป็นผลึกของพอลิแลกติกแอซิดในแผ่นฟิล์มจึงอยู่ในขอบข่ายที่น่าสนใจในงานวิจัยเพื่อผลิตแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นต่อไป

ตารางที่ 3.1 สมบัติทางความร้อนของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่ปริมาณสัดส่วนกาวไหมแตกต่างกัน

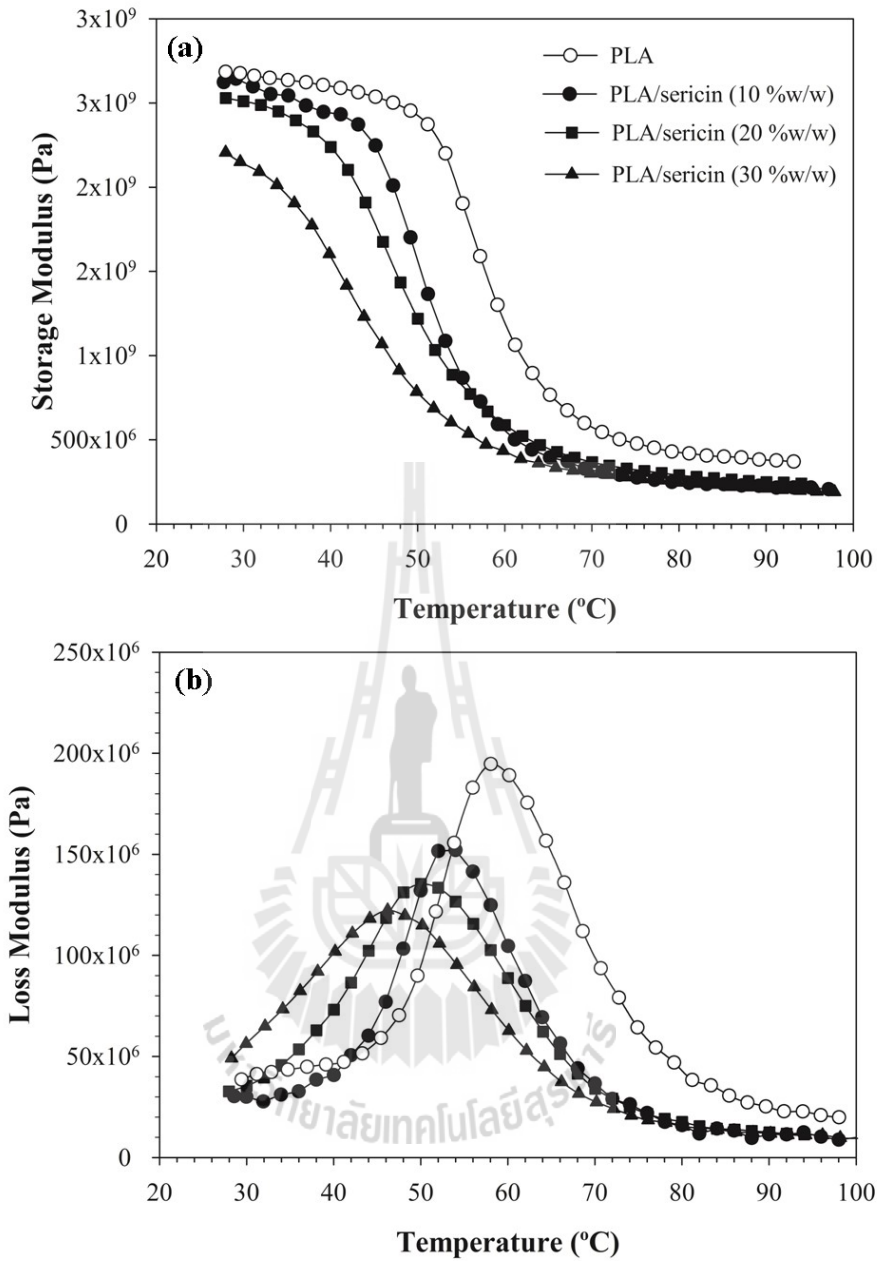
ตัวอย่าง	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_{m1} (°C)	T_{m2} (°C)	ΔH_m (J/g)	% x_c
พอลิแลกติก แอซิด	49.7	122.2	11.9	149.5	154.3	14.7	2.98
แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม							
กาวไหม 10 %w/w	42.7	102.7	29.4	140.1	151.8	33.0	4.30
กาวไหม 20 %w/w	43.0	97.1	28.9	137.1	149.3	33.3	5.98
กาวไหม 30 %w/w	38.5	87.5	24.2	128.1	144.3	30.7	9.94

เพื่อศึกษาผลของกาวไหมที่มีต่อแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดในสมบัติเชิงกลแบบไดนามิกส์ เครื่องวิเคราะห์สมบัติเชิงกลแบบไดนามิกส์ (Dynamic mechanical analysis, DMA) จึงถูกนำมาใช้เพื่อวิเคราะห์สมบัติดังกล่าว รูปที่ 3.3 (a) และ (b) แสดงกราฟค่าโมดูลัสสะสม (storage modulus, G') และค่าโมดูลัสสูญเสีย (loss modulus, G'') ที่ตรวจสอบได้จากเครื่อง DMA ตามลำดับ

รูปที่ 3.3 (a) แสดงผลของอุณหภูมิที่มีต่อค่า G' ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่ปริมาณสัดส่วนกาวไหมแตกต่างกันภายใต้แรงเฉือน ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า G' ในช่วงอุณหภูมิที่ต่ำซึ่งแผ่นฟิล์มอยู่ในบริเวณแข็งคล้ายแก้ว (glassy region) มีค่าสูงที่สุด และ G' ในช่วงอุณหภูมิเดียวกันนี้จะมีค่าลดลงตามปริมาณกาวไหมที่เพิ่มขึ้นในแผ่นฟิล์มนั้น ซึ่งอาจเป็นผลจากการลดลงของแรงอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิดกับพอลิแลกติกแอซิด เนื่องจากถูก

แทรกโดยโมเลกุลของกาวใหม่ซึ่งเกิดแรงอันตรกิริยากับโมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิดได้น้อย เมื่อสัดส่วนกาวใหม่มากขึ้นจึงทำให้ค่า G' ลดลงอย่างชัดเจน ในบริเวณแข็งคล้ายแก้วนี้แรงอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลและรูปแบบการจัดเรียงตัวของโมเลกุลของสายโซ่พอลิแลกติกแอซิดมีผลกระทบต่อค่า G' มาก และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นไปในบริเวณยืดหยุ่นคล้ายยาง (rubbery region) แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดยังมีค่า G' สูงที่สุดอยู่ แต่เมื่อเทียบค่า G' กับแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวใหม่ ความแตกต่างกันของค่า G' ลดลง ปัจจัยที่ส่งผลทำให้ค่า G' ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดมีค่าสูงกว่าแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวใหม่ น่าจะมาจากความสามารถในการต้านทานการเลื่อนไหลของโมเลกุลขนาดใหญ่ของพอลิแลกติกแอซิด การอยู่เรียงชิดกันอย่างหนาแน่นของโมเลกุลพอลิแลกติกแอซิด จึงทำให้มีความต้านทานทางกล และต้องใช้พลังงานกลในการทำลายการเรียงตัวของสายโซ่พอลิแลกติกแอซิดมากกว่า ดังนั้น แผ่นฟิล์มของพอลิแลกติกแอซิดจึงแสดงค่า G' สูงกว่าแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวใหม่ในทุกช่วงอุณหภูมิ ในบริเวณยืดหยุ่นคล้ายยางนี้ อิทธิพลของสัดส่วนกาวใหม่ไม่มีผลต่อ G' อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจจะมีสาเหตุจากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและผ่านช่วงทรานสิชันเข้าสู่บริเวณยืดหยุ่นคล้ายยาง ทั้งโมเลกุลพอลิแลกติกแอซิดและโมเลกุลของกาวใหม่ได้รับพลังงานมากขึ้นและเลื่อนไหลผ่านกันได้ง่ายขึ้น แผ่นฟิล์มจึงแสดงสมบัติที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้น อิทธิพลของสัดส่วนกาวใหม่ในแผ่นฟิล์มจึงแสดงเด่นชัดมากกว่าในช่วงอุณหภูมิต่ำบริเวณแข็งคล้ายแก้ว

รูปที่ 3.3 (b) แสดงการเปลี่ยนแปลงของ G'' ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวใหม่ที่สัมพันธ์กับอุณหภูมิ จากรูปค่า G'' ที่สูงสุดของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวใหม่มีค่าต่ำกว่าของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด และยิ่งต่ำลงเมื่อสัดส่วนปริมาณกาวใหม่ในเนื้อฟิล์มเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่เดียวกันจะเห็นได้ว่าค่า G'' ที่สูงสุดของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวใหม่เกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำกว่าค่า G'' ที่สูงสุดของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด ซึ่งตำแหน่งพีคที่สูงที่สุดสอดคล้องกับค่า T_g ที่สังเกตได้จากผลการทดลองจาก DSC ที่ค่า T_g มีแนวโน้มที่จะลดลงมาที่อุณหภูมิต่ำลงเมื่อปริมาณของกาวใหม่ในแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ สิ่งที่น่าสังเกตอีกประการคือ ลักษณะของพีค G'' ที่มีแนวโน้มกว้างขึ้นเมื่อเติมกาวใหม่ลงไปและเห็นชัดเจนเมื่อปริมาณกาวใหม่ในเนื้อฟิล์มมีร้อยละ 30 การเกิดลักษณะที่กว้างออกของพีค G''



รูปที่ 3.3 รูปแสดง (a)โมดูลัสสะสม (storage modulus, G') และ (b) โมดูลัสสูญเสีย (loss modulus, G'') ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม และ แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด

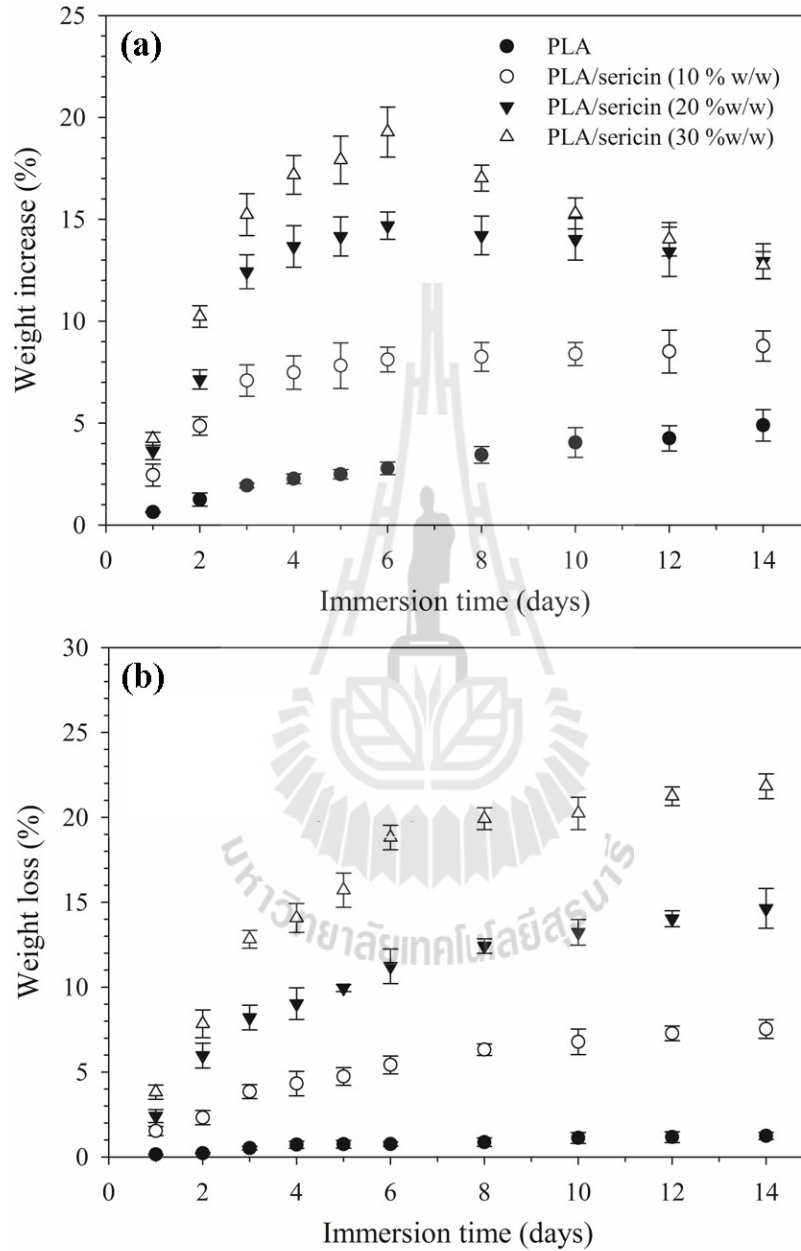
3.3 การศึกษาการสลายตัวของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม ภายใต้สภาวะจำลองร่างกายมนุษย์ (*In vitro study*)

การศึกษาวัสดุที่มีวัตถุประสงค์ในการใช้ทางการแพทย์โดยใช้สภาวะจำลองร่างกายมนุษย์สามารถให้ข้อมูลเบื้องต้นที่จำเป็นในเรื่องการสลายตัวทางชีวภาพของวัสดุเหล่านั้นภายใต้สิ่งแวดล้อมที่จำลองให้เหมือนสภาพร่างกายของมนุษย์ ในงานวิจัยนี้สารละลายเทียมของร่างกายมนุษย์ (Simulated body fluid, SBF) ถูกนำมาทดสอบการสลายตัวของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม รูปที่ 3.4 (a) และ (b) แสดงการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและที่หายไปหลังจากการแช่ชิ้นงานตัวอย่างใน SBF ตามลำดับ

จากรูปที่ 3.4 (a) น้ำหนักของชิ้นงานตัวอย่างแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมทุกตัวอย่างมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงหกวันแรก อัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักชิ้นงานแปรผันตามปริมาณกาวไหมในเนื้อแผ่นฟิล์ม หลักจากหกวันน้ำหนักของชิ้นงานพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 20 และ 30 ลดลงอย่างเห็นได้ชัด ในขณะที่ชิ้นงานพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 10 น้ำหนักค่อนข้างคงที่ ในทางตรงกันข้ามชิ้นงานแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดแสดงการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องของน้ำหนักชิ้นงานตลอดการทดสอบทั้ง 14 วัน การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักชิ้นงานพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมในช่วงแรกของการแช่ใน SBF เกิดจากความสามารถของน้ำในการแทรกซึมเข้าไปในเนื้อชิ้นงานได้ง่ายผ่านอนุภาคกาวไหมในเนื้อชิ้นงาน ซึ่งเกิดจากความสามารถในการเข้ากับน้ำได้ดี (Hydrophilicity) ของกาวไหมร่วมกับการซึมของน้ำเข้าไปในเนื้อของพอลิแลกติกแอซิดเอง ด้วยเหตุนี้จึงทำให้การเพิ่มของน้ำหนักแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมในช่วงแรกแปรผันโดยตรงอย่างมากกับปริมาณกาวไหมในเนื้อฟิล์ม อย่างไรก็ตาม เมื่อถึงจุดจุดหนึ่งกาวไหมจะละลายออกมาใน SBF เป็นสาเหตุให้เกิดการลดลงของน้ำหนักชิ้นงาน ในทางตรงกันข้ามชิ้นงานแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดหลังการแช่ใน SBF เกิน 6 วันมีอัตราการซึมของน้ำเข้าไปในชิ้นงานมากกว่าที่ละลายออกมา จึงเป็นที่น่าสังเกตว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักชิ้นงานที่แช่ใน SBF เกิดจากสมดุลระหว่างการละลายออกมาของทั้งกาวไหมและโอลิโกเมอร์ของพอลิแลกติกแอซิดกับโมเลกุลของน้ำที่ซึมเข้าไปในชิ้นงานในระหว่างการแช่ชิ้นงานใน SBF

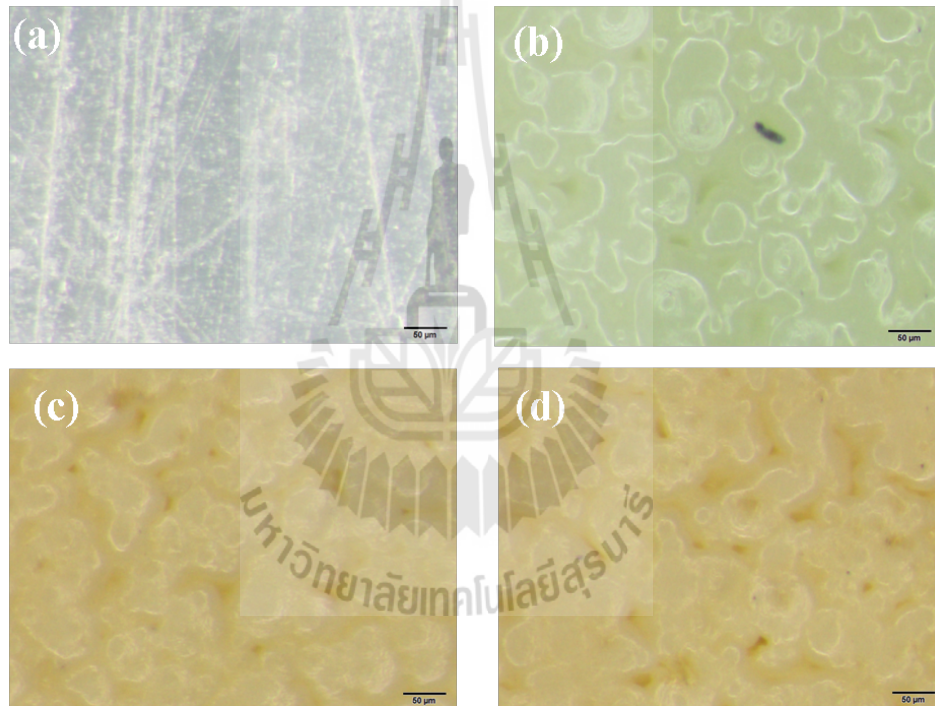
รูปที่ 3.4 (b) แสดงน้ำหนักของชิ้นงานหลังจากที่ชิ้นงานถูกทำให้แห้งจนน้ำหนักคงที่แล้ว แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดมีการสูญเสียน้ำหนักที่น้อยกว่าร้อยละ 2 ตลอดระยะเวลาในการแช่ใน SBF ปัจจัยหลักที่ทำให้แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดมีน้ำหนักที่ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อผ่านการแช่ใน SBF คือน้ำใน SBF ไม่สามารถซึมผ่านเข้าไปในเนื้อชิ้นงานแล้วละลายเอาโมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิด (ที่ยังไม่เกิดการสลายตัว) ออกมาได้ ในทางตรงกันข้ามกาวไหมในแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมสามารถดูดซับน้ำแล้วละลายออกไปได้ง่ายและเกิดโพรงข้างในเนื้อของแผ่นฟิล์ม เป็นสาเหตุให้น้ำในสารละลาย SBF ซึมเข้า

ไปในเนื้อฟิล์มได้ง่ายขึ้น ดังนั้นนอกจากการละลายออกไปของกาวไหมแล้ว การสลายตัวของพอลิแลกติกแอซิดในแผ่นฟิล์มก็เป็นสาเหตุหนึ่งของน้ำหนักที่ลดลงไป



รูปที่ 3.4 รูปแสดง (a) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และ (b) น้ำหนักที่หายไปของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม และ แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดหลังจากแช่ใน SBF

รูปที่ 3.5 (a-d) แสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์ของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดหลังจากแช่ใน SBF ครบ 14 วัน จากภาพจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าเกิดโพรงในเนื้อของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม ลักษณะโพรงที่เกิดขึ้นเกิดจากการที่กาวไหมละลายออกไป ซึ่งจำนวนโพรงแปรผันตามปริมาณกาวไหมในตัวอย่าง นอกจากนี้รูปยังแสดงให้เห็นว่ากาวไหมและพอลิแลกติกแอซิดมีความเข้ากันได้ต่ำมาก ไม่มีการสร้างพันธะเพื่อการยึดติดกันของเฟสทั้งสองและการเตรียมแผ่นฟิล์มแบบนี้อาจยังไม่เหมาะสม แต่ถึงแม้ว่ากาวไหมส่วนใหญ่จะละลายออกไป แต่ในเนื้อฟิล์มที่เหลือยังมีสีเหลือง ซึ่งเป็นสีของกาวไหมยังพบในเนื้อฟิล์ม แสดงว่ากาวไหมส่วนหนึ่งสามารถแทรกเข้าไปและยังคงอยู่ในเนื้อของพอลิแลกติกแอซิดได้ ดังนั้นคุณสมบัติทางชีวภาพบางส่วนของกาวไหมน่าจะยังคงอยู่แม้กาวไหมส่วนใหญ่จะละลายออกไปแล้วก็ตาม

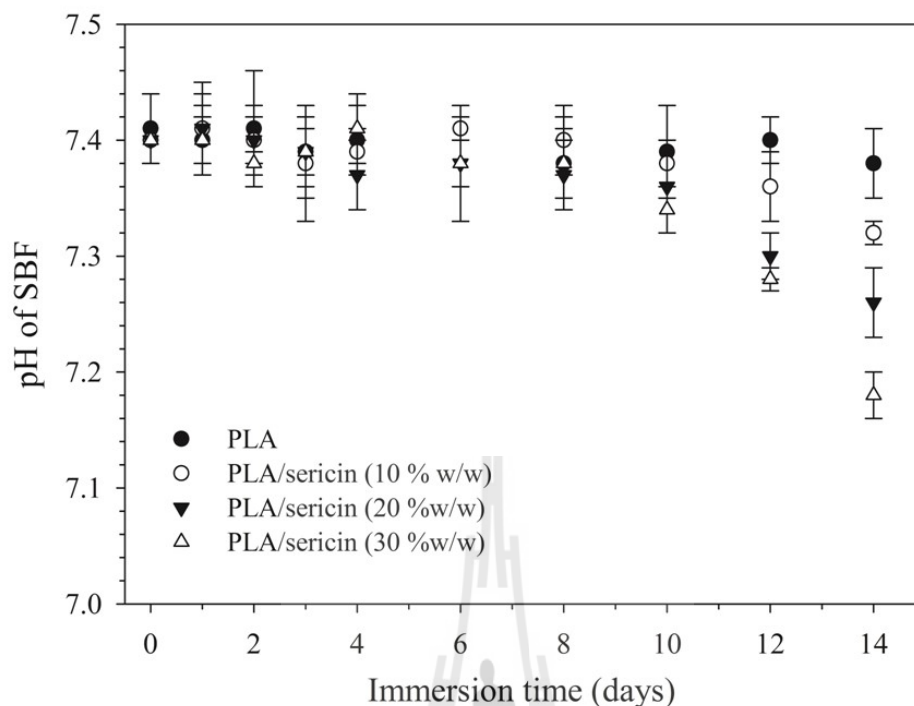


รูปที่ 3.5 รูปแสดง (a) แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด และ แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม (b) 10 %w/w, (c) 20 %w/w และ (d) 30 %w/w หลังการแช่ใน SBF 14 วัน

ค่า pH ของ SBF ที่แปรผันตามเวลาในการแช่ชิ้นงานตัวอย่างใน SBF แสดงดังรูปที่ 3.6 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ลดลงเล็กน้อยในสารละลาย SBF ที่แช่ชิ้นงานตัวอย่างแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 20 และ 30 โดยการเปลี่ยนแปลงค่า pH เกิดขึ้นหลังจากการแช่

ชิ้นงานดังกล่าวใน SBF เป็นเวลา 10 วัน การลดลงดังกล่าวอาจเกิดจากการไฮโดรไลซิสอย่างต่อเนื่องของชิ้นงาน และเกิดการสะสมของมอนอเมอร์และโอลิโกเมอร์ของแลกติกแอซิดจนเกินความสามารถในการรักษา pH ของ SBF

โดยทั่วไป การสลายตัวของพอลิแลกติกแอซิดเกิดขึ้นได้ผ่านกระบวนการสองแบบคือ เกิดการกร่อนของผิวหน้าชิ้นงานของพอลิแลกติกแอซิดและการสลายตัวแบบบัลค์ (Bulk) (Siepmann และ Gopferich, 2001) สำหรับชิ้นงานที่มีเวลาเพียงพอกภายใต้ความชื้นและอุณหภูมิที่พอเหมาะ การสลายตัวแบบบัลค์จึงจะเกิดขึ้น เริ่มต้นโดยการที่น้ำซึมผ่านเข้าไปในเนื้อของพอลิแลกติกแอซิด แล้วเข้าไปเกิดไฮโดรไลซิสตรงตำแหน่งพันธะเอสเทอร์ เกิดเป็นหมู่กรดคาร์บอกซิลิก เมื่อปฏิกิริยานี้ดำเนินต่อไปจำนวนของคาร์บอกซิลิกตรงตำแหน่งปลายของสายโซ่พอลิแลกติกแอซิดจะเพิ่มจำนวนขึ้น จนสุดท้ายตำแหน่งกรดคาร์บอกซิลิกที่สามารถละลายน้ำได้ในตำแหน่งใกล้เคียงกับผิวของชิ้นงานจะถูกชะออกไปอยู่ในสารละลาย SBF จนเกินความสามารถในการรักษา pH ของ SBF จึงเป็นสาเหตุให้ค่า pH ลดต่ำลง (Burkersroda, Schedl และ Gopferich, 2002) ดังแสดงในรูปที่ 3.5 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าหลังจากแช่ชิ้นงานตัวอย่างในสารละลาย SBF ชิ้นงานตัวอย่างแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณร้อยละของกาวไหม 20 และ 30 มีโพรงเล็กๆเกิดขึ้นบนชิ้นงานอย่างเห็นได้ชัด โพรงเหล่านี้จะช่วยให้ SBF ซึมเข้าไปในเนื้อของแผ่นฟิล์มได้ง่ายขึ้นและเกิดการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้เร็วขึ้นและมีการชะหมู่กรดที่ได้จากปฏิกิริยาออกมาสู่ SBF ได้มากขึ้น ซึ่งรูปแบบนี้จะไม่เกิดกับชิ้นงานแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดที่มีความหนาแน่นและไม่มีโพรงในเนื้อของชิ้นงาน การที่ค่า pH ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในช่วง 10 วันแรก อาจเกิดจากทั้งความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์ของ SBF หรือชิ้นงานตัวอย่างยังไม่เกิดการสลายตัว อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยที่กล่าวถึงสาเหตุที่ค่า pH ของสารละลายที่ใช้แช่ชิ้นงานพอลิแลกติกแอซิดไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดจากกรดคาร์บอกซิลิกที่เกิดจากการสลายตัวของพอลิแลกติกแอซิดถูกกักไว้ในเนื้อของชิ้นงาน และไม่ถูกชะออกมาใน SBF



รูปที่ 3.6 รูปแสดงค่า pH ของสารละลาย SBF ตลอดเวลาในการแช่แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด และแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม

น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (\bar{M}_w) ของพอลิแลกติกแอซิด และการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight distribution, MWD) หลังจากการแช่ใน SBF แสดงในตารางที่ 3.2 น้ำหนักโมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิดของทุกตัวอย่าง ดูเหมือนจะคงที่ในระยะเวลาช่วง 6 วันแรกของการแช่ใน SBF เมื่อครบ 14 วันของการแช่ น้ำหนักโมเลกุลของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด ลดลงเล็กน้อยประมาณร้อยละ 4.06 ในขณะที่น้ำหนักโมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิดของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 10 20 และ 30 ลดลงประมาณร้อยละ 7.38 9.01 และ 9.83 ตามลำดับ ดังที่แสดงในรูปที่ 3.5 แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม มีโพรงขนาดเล็กในเนื้อฟิล์ม หลังจากการแช่ใน SBF ซึ่งทำให้น้ำสามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับพันธะเอสเทอร์ของพอลิแลกติกแอซิดได้ง่าย โดยเฉพาะแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 30 จะเห็นได้ว่า ระยะเวลาการแช่ใน SBF 14 วันสามารถทำให้น้ำหนักโมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิดลดลงประมาณร้อยละ 10

เป็นที่ทราบกันดีว่า การสลายตัวของพอลิแลกติกแอซิดเป็นแบบสุ่ม (random) โดยมีการตัดสายโซ่หลัก (backbone) ของพอลิเมอร์ที่ตำแหน่งพันธะเอสเทอร์ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วการสลายพันธะนี้ของ

พอลิเมอร์กลุ่มพอลิ (α -ไฮดรอกซี แอซิด) ซึ่งรวมถึงพอลิแลกติกแอซิดในสภาวะที่ไม่มีเอนไซม์มาเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะสัมพันธ์โดยตรงกับอัตราการดูดซึมของน้ำเข้าไปในชิ้นงานและปริมาณความเข้มข้นของไฮดรอกซิลไอออน (OH^-) ในระบบ ซึ่งเมื่อเกิดไฮดรอกซิลไอออนขึ้นในระบบจะช่วยเร่งให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพันธะเอสเทอร์ของพอลิเมอร์กลุ่มพอลิ (α -ไฮดรอกซี แอซิด) ได้เร็วขึ้น (Park, 1995) อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้พบว่าอัตราการสลายตัวของพอลิแลกติกแอซิดไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าการสลายตัวของพอลิแลกติกแอซิดน่าจะเกิดจากอัตราการดูดซึมน้ำเข้าไปในเนื้อชิ้นงานเท่านั้น

ตารางที่ 3.2 แสดงการกระจายน้ำหนักโมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิดที่มีค่ากว้างขึ้นของชิ้นงานตัวอย่างโดยเฉพาะแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 30 การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพอลิแลกติกแอซิดอาจเกิดในทั้งเฟสที่เป็นอสัณฐานหรือส่วนที่เป็นผลึกขนาดเล็กของพอลิแลกติกแอซิด ถึงแม้ว่า การดูดซึมของน้ำเข้าไปในส่วนที่เป็นผลึกนั้นเกิดได้ยากมาก แต่เมื่อส่วนที่เป็นอสัณฐานรอบ ๆ ผลึกเล็ก ๆ เหล่านั้น เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส จะทำให้เนื้อฟิล์มถูกทำลายได้มากกว่าและผลึกเหล่านั้นอาจจะค่อย ๆ ละลายออกมา ซึ่งผลการทดลองจาก DSC แสดงให้เห็นว่าแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 30 แสดงลักษณะการมีผลึกหลายรูปแบบและเปลี่ยนไปเมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะรูปแบบผลึกที่เกิดขึ้นในแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด การมีทั้งส่วนเป็นอสัณฐานและส่วนที่เป็นผลึกของพอลิแลกติกแอซิดในชิ้นงาน ทำให้การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเกิดขึ้นไม่เป็นลักษณะเดียวกันทั้งชิ้นงาน จึงทำให้เกิดการกระจายน้ำหนักโมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิดที่กว้างมากขึ้น

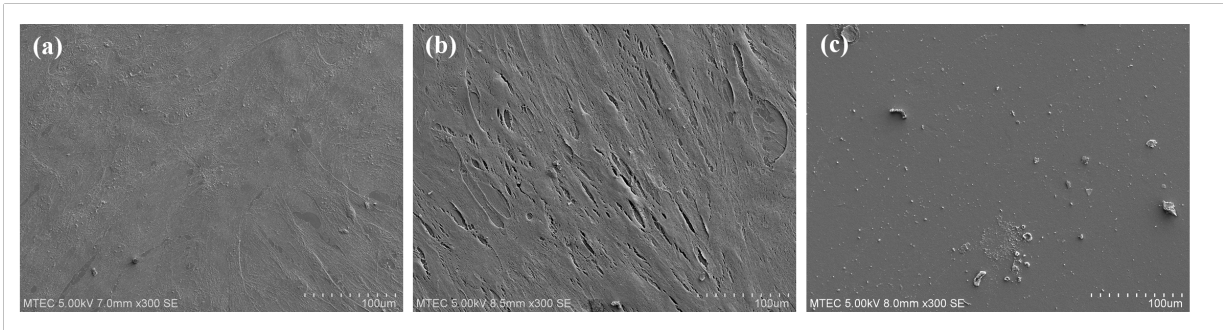
3.4 สัณฐานวิทยาของ h-FBs ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนชิ้นงานตัวอย่างแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม

เพื่อให้ทราบข้อมูลเบื้องต้นสำหรับวัสดุที่ต้องการนำไปใช้เพื่อเป็นวัสดุทางการแพทย์ การศึกษาความเป็นพิษของวัสดุและความเข้ากันได้กับเซลล์ร่างกายมนุษย์มีความจำเป็นอย่างยิ่ง ในงานวิจัยนี้แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมถูกนำมาทดสอบกับเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันของมนุษย์ (h-FBs) โดยใช้เกณฑ์การเพิ่มจำนวนของเซลล์และการยึดติดกับแผ่นฟิล์มเป็นข้อเปรียบเทียบ สัณฐานวิทยาของ h-FBs หลังการเลี้ยงบนตัวควบคุม วัสดุควบคุมเชิงลบและวัสดุควบคุมเชิงบวกแสดงในรูปที่ 3.7 (a-c) ตามลำดับ

ตารางที่ 3.2 น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (\bar{M}_w) และการกระจายน้ำหนักโมเลกุล (MWD) ของพอลิแลกติกแอซิดหลังการแช่ใน SBF

ตัวอย่าง	\bar{M}_w ($\times 10^5$) (วัน)								การกระจายน้ำหนักโมเลกุล (MWD) (วัน)							
	0	1	2	3	4	6	10	14	0	1	2	3	4	6	10	14
พอลิแลกติกแอซิด	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.22	1.20	1.1	2.51	2.51	2.52	2.5	2.56	2.61	2.6	2.7
แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม																
กาวไหม 10 %w/w	1.22	1.22	1.21	1.20	1.20	1.19	1.16	1.0	2.53	2.54	2.56	2.6	2.64	2.72	2.8	2.9
กาวไหม 20 %w/w	1.22	1.22	1.21	1.20	1.20	1.18	1.15	0.9	2.52	2.53	2.53	2.6	2.72	2.81	2.8	3.1
กาวไหม 30 %w/w	1.21	1.21	1.21	1.20	1.19	1.18	1.11	0.8	2.52	2.54	2.56	2.7	2.76	2.82	2.9	3.2

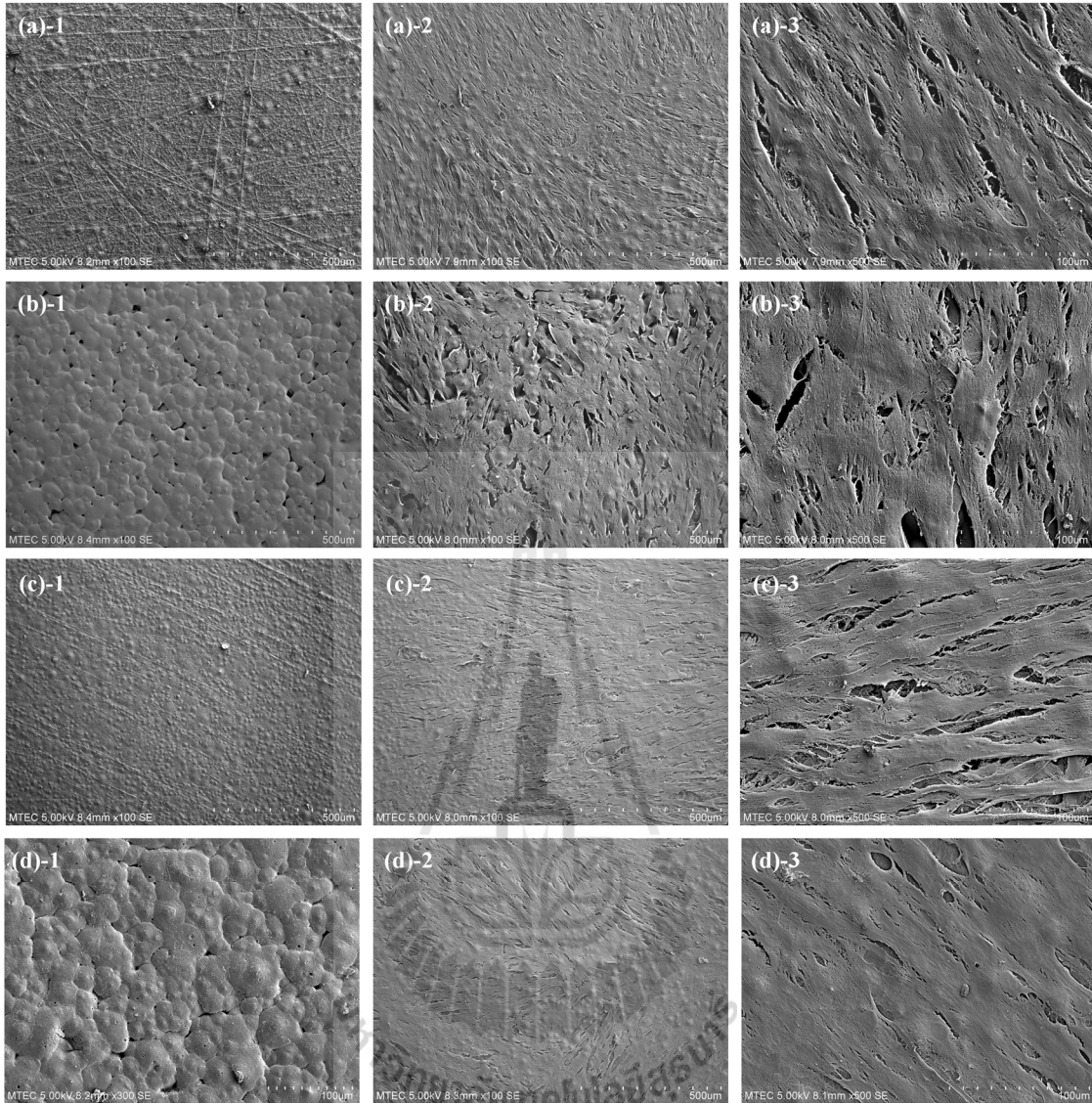




รูปที่ 3.7 แสดงสัณฐานวิทยาของ h-FBs หลังการเลี้ยงบน (a) ตัวควบคุม (reagent control) (b)วัสดุควบคุมเชิงลบ และ (a) วัสดุควบคุมเชิงบวก

สัณฐานวิทยาของ h-FBs ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนชิ้นงานตัวอย่างแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 10 20 และ 30 แสดงในรูปที่ 3.8 (a-d) ตามลำดับ จากรูปที่ 3.8 (a) จะเห็นว่าจำนวน h-FBs ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ h-FBs และจำนวนชั้นใกล้เคียงกับวัสดุควบคุมเชิงลบในรูป 3.7 (b) และเมื่อเติมกาวไหมลงในพอลิแลกติกแอซิดร้อยละ 10 ทำให้พื้นผิวของแผ่นฟิล์มเปลี่ยนไปมีผิวไม่เรียบ (รูป 3.8 b-1) h-FBs ที่เลี้ยงบนชิ้นงานนี้มีจำนวนน้อยลงเล็กน้อยแต่มีการยึดติดกับพื้นผิวชิ้นงานที่ดีมาก แสดงลักษณะเส้นใยที่เชื่อมระหว่างผิวชิ้นงานกับ h-FBs ปริมาณเซลล์ที่น้อยลงอาจเกิดจากสาเหตุที่พื้นผิวของชิ้นงานไม่เรียบจึงทำให้ปริมาณของ h-FBs บนพื้นผิวมีน้อยลง เมื่อปริมาณของกาวไหมเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 20 ผลปรากฏว่าพื้นผิวของแผ่นฟิล์มเรียบขึ้น (รูป 3.8 c-1) ปริมาณ h-FBs มีจำนวนมากขึ้นกว่าแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด มีจำนวนชั้นของเซลล์ และการยึดติดระหว่างเซลล์กับชิ้นงานที่ดีมาก และเมื่อปริมาณกาวไหมเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 30 พื้นผิวของชิ้นงานกลับมาขรุขระอีกครั้ง (รูป 3.8 d-1) แต่ปริมาณ h-FBs ยังมีจำนวนมากและมีการยึดติดระหว่างเซลล์กับชิ้นงานที่ดีมากเช่นเดิม

ด้วยเหตุผลด้านสัณฐานวิทยาของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้ ลักษณะที่เรียบของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 20 และความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของ h-FBs ดังนั้นแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 20 จึงถูกใช้เพื่อการศึกษาสมบัติการปลดปล่อยเอเซียติกแอซิดออกจากชิ้นงานต่อไป



รูปที่ 3.8 แสดงสัณฐานวิทยาของ h-FBs หลังการเลี้ยงบน (a) แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดและแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ (b) 10 (c) 20 และ (d) 30 , -1 แสดงพื้นผิวที่ไม่มีเซลล์ h-FBs -2 แสดงรูปภาพที่กำลังขนาดต่ำ และ -3 แสดงรูปภาพที่กำลังขยายสูง

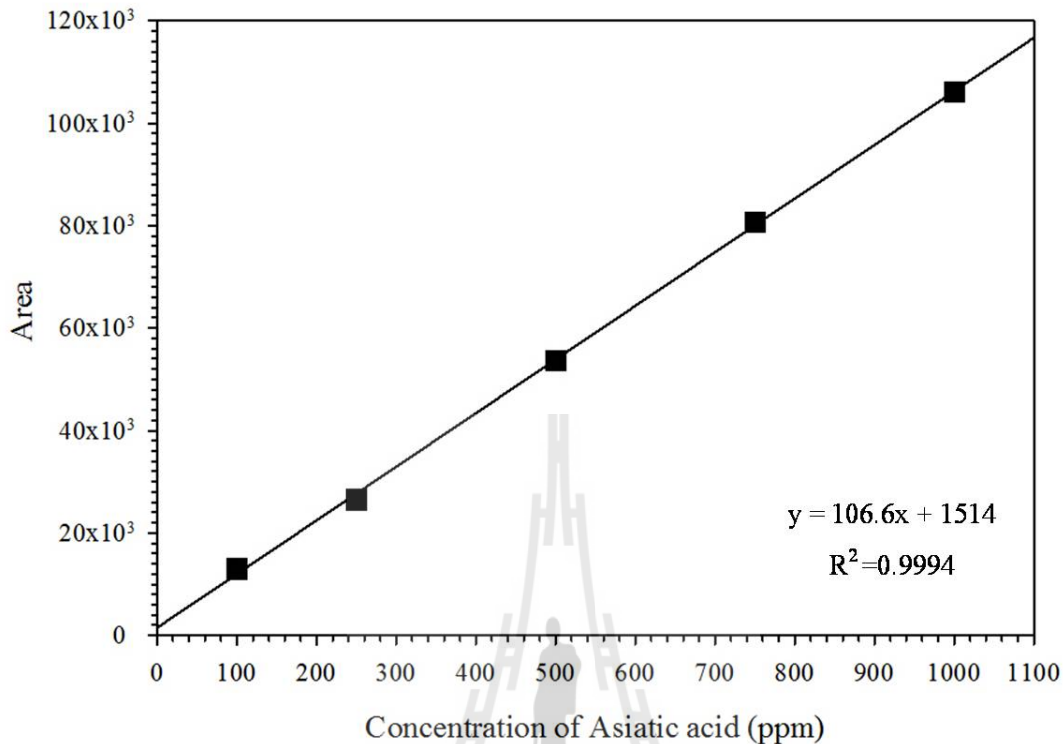
3.5 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์เอเซียติกเอซิด (Validation)

3.5.1 ความเป็นเส้นตรงและช่วงในการวิเคราะห์ (Linearity and range)

ตารางที่ 3.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่าพื้นที่ใต้กราฟ

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน เอเซียติกเอซิด (ppm)	พื้นที่ใต้กราฟเฉลี่ย
100	12938
250	26458
500	53688
750	80662
1000	106042

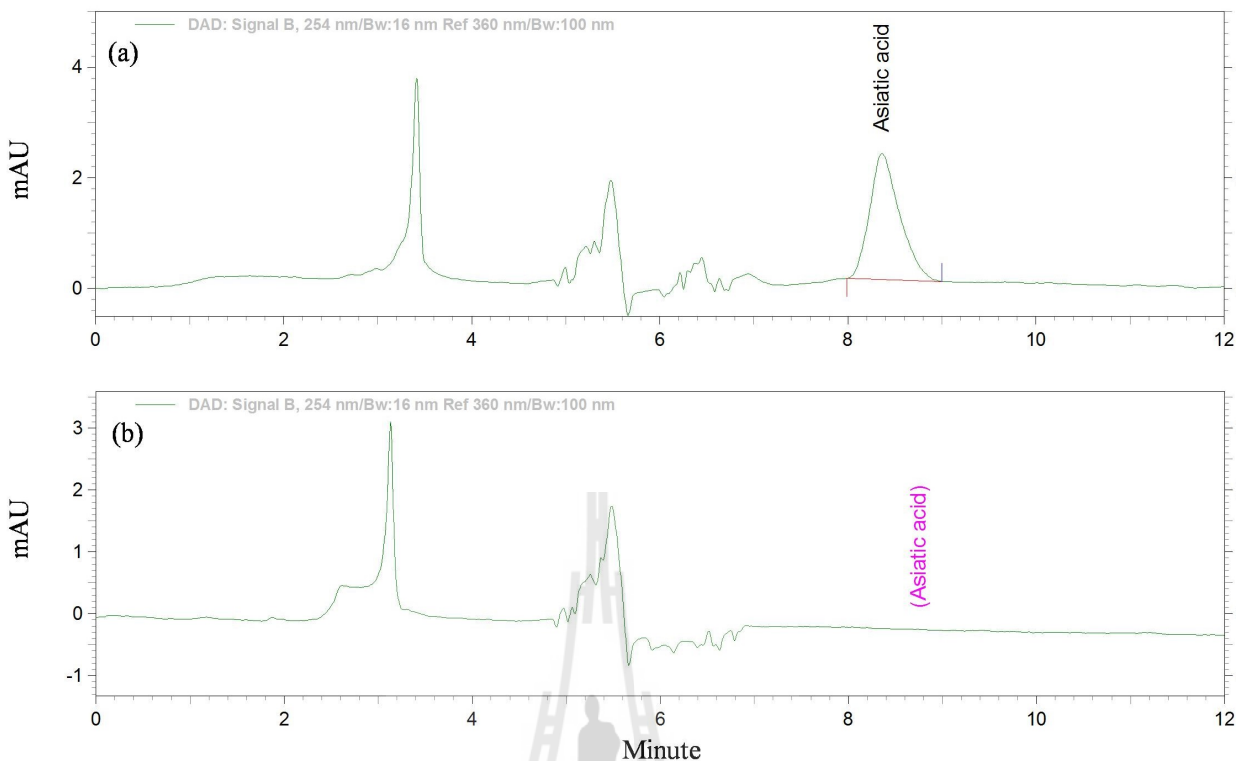
รูปที่ 3.9 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของเอเซียติกเอซิดและพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิควิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น จากรูปแสดงค่า Correlation coefficient (R2) เท่ากับ 0.9994 ซึ่งแสดงถึงความสามารถของวิธีวิเคราะห์นี้ที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของเอเซียติกเอซิดในช่วงความเข้มข้น 100-1000 ppm อย่างมาก และสามารถใช้เส้นกราฟนี้ เป็นกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์สารตัวอย่างในช่วงความเข้มข้น 100-1000 ppm ได้อย่างถูกต้องแม่นยำ



รูปที่ 3.9 รูปแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟจากการวิเคราะห์ด้วย HPLC

3.5.2 ความจำเพาะของการวิเคราะห์ (Specificity)

รูปที่ 3.10 (a) แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเอเชียติกแอซิด 1000 ppm และสารละลายมาตรฐานเอเชียติโคไซด์ 1000 ppm เมื่อนำสารละลายผสมทั้งสองมาวิเคราะห์ด้วยวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมา ผลที่ได้ปรากฏว่าพีคของเอเชียติกแอซิดแยกออกอย่างชัดเจนและเมื่อวิเคราะห์ผลที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานวิเคราะห์ได้ 980 ppm ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริงมาก ในทางตรงกันข้ามเมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีสารมาตรฐานเอเชียติกแอซิดด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นผลแสดงดังรูปที่ 3.10 (b) จากรูปจะพบว่าไม่มีพีคของเอเชียติกแอซิดที่ตำแหน่งเวลารีเทนชันประมาณ 8 นาที นั่นแสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีความจำเพาะเจาะจงต่อการวิเคราะห์เอเชียติกแอซิดอย่างสูง



รูปที่ 3.10 รูปแสดงโครมาโทแกรม (a) สารละลายมาตรฐานเอเชียติกแอซิด 1000 ppm + สารละลายมาตรฐานเอเชียติโคไซด์ 1000 ppm และ (b) สารละลายมาตรฐานเอเชียติโคไซด์ 1000 ppm

3.5.3 ความถูกต้อง (Accuracy) และความแม่นยำ (Precision) ของการวิเคราะห์

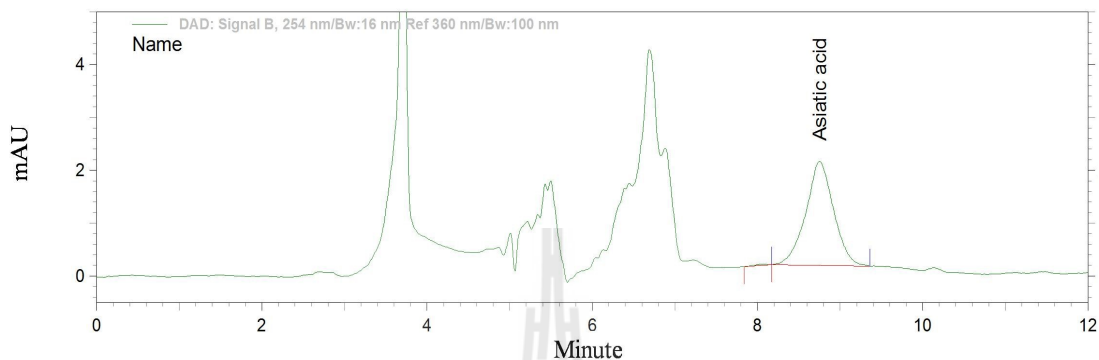
ค่าความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์หมายถึงความสามารถในการทำซ้ำได้ของวิธีวิเคราะห์ ตารางที่ 3.4 แสดงเวลารีเทนชันและความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้จากสารละลายมาตรฐานเอเชียติกแอซิดเข้มข้น 300 500 และ 700 ppm เมื่อคำนวณหาค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของทั้งความเข้มข้นและเวลารีเทนชัน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอเชียติกแอซิด 300 500 และ 700 ppm ที่วิเคราะห์ได้ มีค่า 2.31 1.25 และ 1.74 ตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมานี้ และค่าร้อยละการคืนกลับ (% Recovery) ของตัวอย่างในการวิเคราะห์แต่ละครั้งมีค่าไม่เกินและไม่ต่ำกว่าร้อยละ 5 ($\pm 5\%$) ซึ่งถือว่าให้ค่าความถูกต้อง (Accuracy) วิธีวิเคราะห์ที่สูงมาก เมื่อพิจารณาจากตัวแปรต่างๆที่ใช้เพื่อประเมินวิธีวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์เอเชียติกแอซิดที่พัฒนาขึ้นมานี้สามารถนำมาวิเคราะห์ได้อย่างมีประสิทธิภาพและสามารถให้ความมั่นใจในการวิเคราะห์ปริมาณสารเอเชียติกแอซิดได้

ตารางที่ 3.4 แสดงเวลารีเทนชันและความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้จากสารละลายมาตรฐานเอเชียติกแอซิดเข้มข้น 300 500 และ 700 ppm

Replicate	Testing sample								
	300 ppm			500 ppm			700 ppm		
	Retention time (min)	Concentration (ppm)	Recovery (%)	Retention time (min)	Concentration (ppm)	Recovery (%)	Retention time (min)	Concentration (ppm)	Recovery (%)
1	8.204	303.52	101.17	8.247	509.93	101.99	8.221	695.01	99.29
2	7.997	315.22	105.07	8.213	504.53	100.91	8.210	679.25	97.04
3	8.125	298.04	99.35	8.113	498.27	99.65	8.221	705.12	100.73
4	8.214	303.14	101.05	8.140	515.22	103.04	8.232	711.23	101.60
5	8.047	312.15	104.05	8.147	505.21	101.04	8.198	699.54	99.93
Average	8.117	306.414	102.138	8.172	506.63	101.32	8.216	698.03	99.71
SD	0.095	7.07	2.36	0.056	6.34	1.27	0.013	12.13	1.73
% RSD	1.174	2.31	2.31	0.682	1.25	1.25	0.157	1.74	1.74

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารเอเชียติกแอซิดที่สกัดได้จากใบของบัวบก

รูปที่ 3.11 แสดงโครมาโทแกรมของเอเชียติกแอซิดจากสารสกัดจากใบบัวบก จากโครมาโทแกรม จะพบว่าวิธีการสกัดเอเชียติกแอซิดวิธีนี้สามารถสกัดสารเอเชียติกแอซิดออกจากใบบัวบกได้ แต่อาจยังไม่สามารถสกัดให้ได้สารที่บริสุทธิ์ได้เนื่องจากโครมาโทแกรมที่ได้ยังพบพีคบริเวณอื่นๆ



รูปที่ 3.11 รูปแสดงโครมาโทแกรม ของสารเอเชียติกแอซิดที่สกัดจากใบบัวบก

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างสารสกัดเอเชียติกแอซิดจากใบบัวบกที่เตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ใหม่ 5 ซ้ำแสดงในตารางที่ 3.5 จากตารางจะพบว่าปริมาณสารเอเชียติกแอซิดที่พบในสารสกัดจากกรรมวิธีตามข้อ 2.4 ให้ปริมาณเอเชียติกแอซิดอยู่ที่ประมาณร้อยละ 9 ซึ่งถือว่าอยู่ในปริมาณที่ยอมรับได้และมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปผ่านกระบวนการเพื่อให้ได้สารสกัดที่บริสุทธิ์ขึ้นต่อไป

ตารางที่ 3.5 แสดงเวลาริเทนชันและความเข้มข้นของสารเอเชียติกแอซิดที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดจากบัวบก

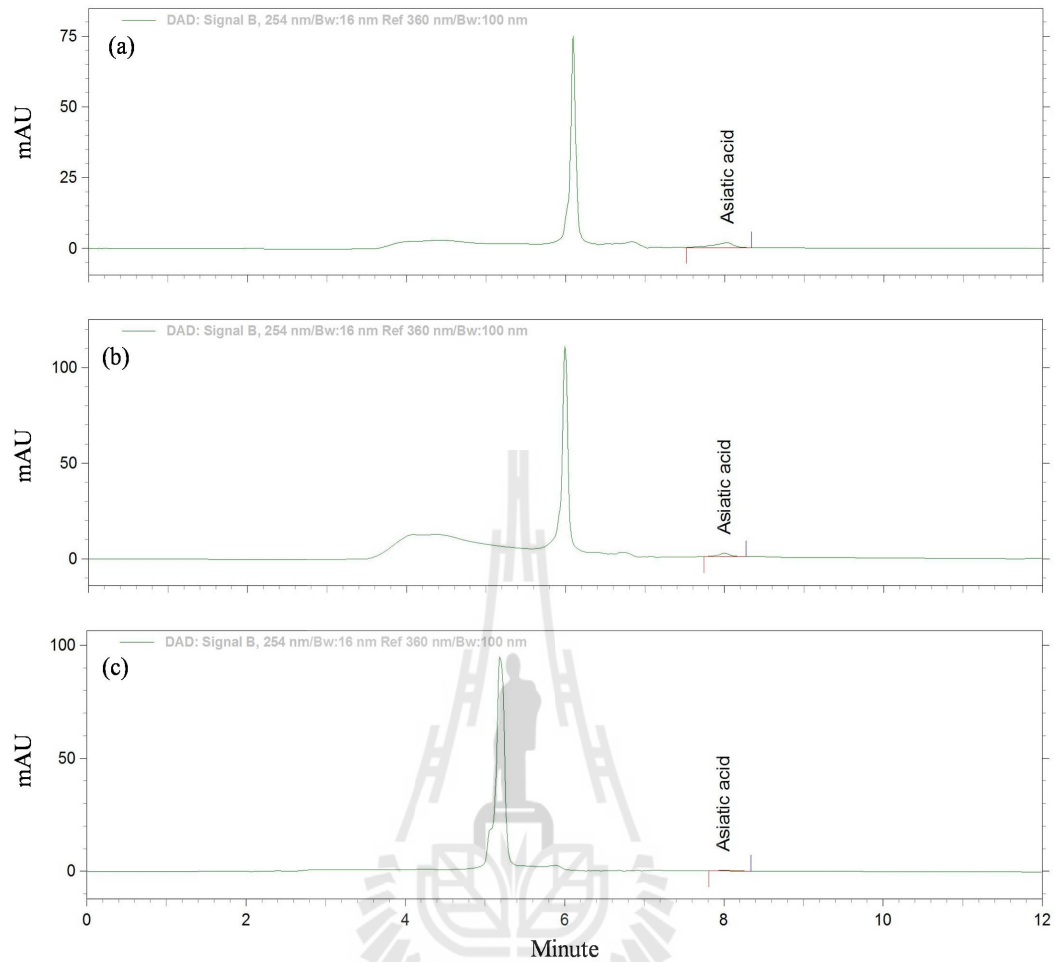
Sample	Wt. of precipitated particle (g)	Retention time (min)	Concentration (ppm)	Fraction in crude extract (%)
1	0.2514	8.321	903.66	8.99
2	0.2561	8.216	945.54	9.23
3	0.2512	8.235	878.65	8.74
4	0.2501	8.264	924.59	9.24
5	0.2563	8.334	956.54	9.33
Average	0.2530	8.274	921.80	9.11
SD	0.0029	0.052	31.50	0.24
% RSD	1.1642	0.628	3.42	2.63

3.7 อัตราการปลดปล่อยสารเอเซียติกแอซิดออกจากแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม

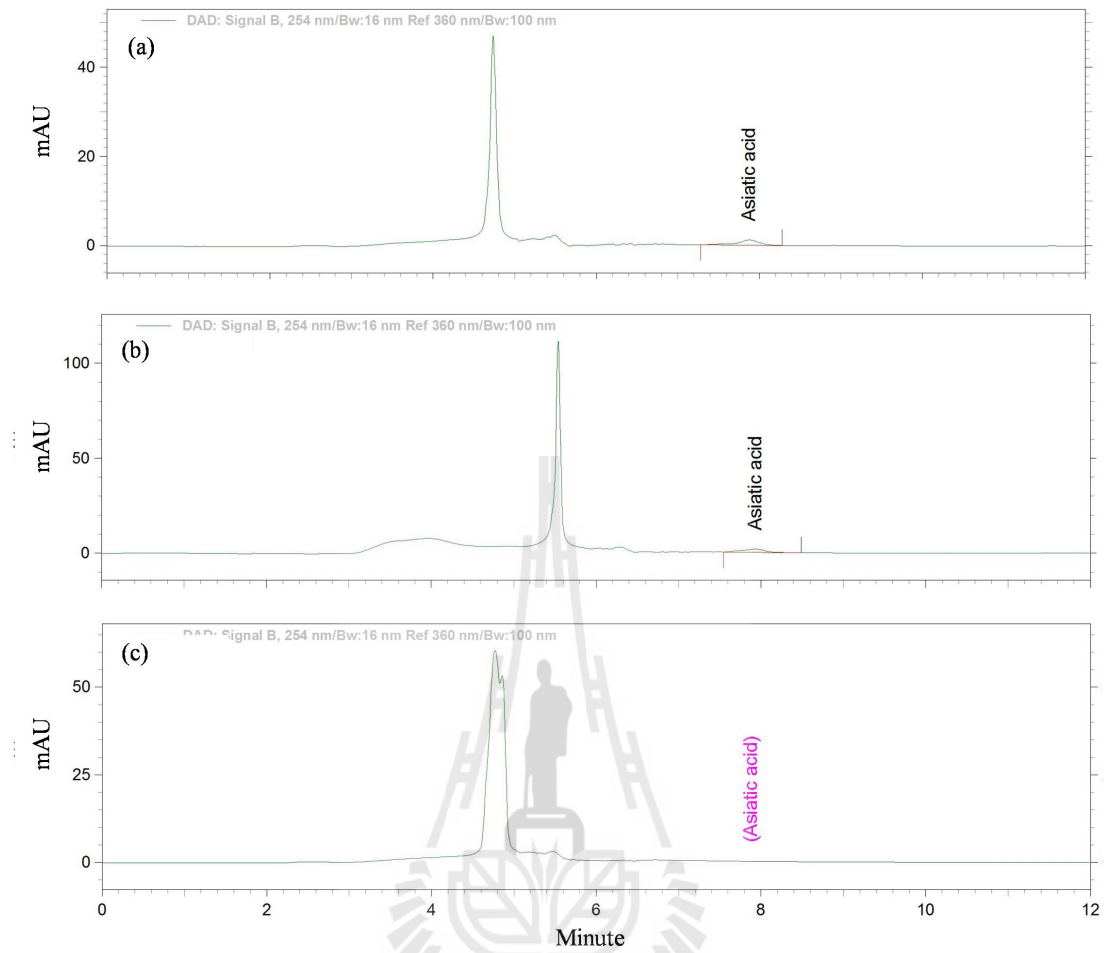
รูปที่ 3.12 และ 3.13 แสดงโครมาโทแกรมการปลดปล่อยสารเอเซียติกแอซิดออกจากแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีความเข้มข้นของสารเอเซียติกแอซิด 1000 และ 2000 ppm ตามลำดับ และข้อมูลแสดงการปลดปล่อยสารเอเซียติกแอซิดออกจากแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีความเข้มข้นของสารเอเซียติกแอซิดในปริมาณต่าง ๆ กัน (100-2000 ppm) เมื่อผ่านการแช่ชิ้นงานใน SBF ที่เวลาต่างๆ แสดงในตารางที่ 3.6

จากโครมาโทแกรมของปลดปล่อยสารเอเซียติกแอซิดออกจากแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมทั้งในผ่านฟิล์มที่มีความเข้มข้นของสารเอเซียติกแอซิด 1000 และ 2000 ppm แสดงให้เห็นว่าสารเอเซียติกแอซิดถูกปลดปล่อยออกมาใน SBF ก่อน 5 วันของการทดสอบ วันที่ 5 ในการแช่ ผลปรากฏว่าไม่มีพีคของเอเซียติกแอซิดในโครมาโทแกรมของทั้งสองตัวอย่าง อัตราการปลดปล่อยออกมาที่เร็วเกินไปอาจมีสาเหตุมาจากการที่สารเอเซียติกแอซิดกระจายตัวอยู่ในเฟสที่เป็นกาวไหมในเนื้อฟิล์มเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งจากหัวข้อก่อนหน้านี้พบว่า การละลายออกมาของกาวไหมเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ในระยะ 6 วันแรกของการแช่ชิ้นงานทดสอบใน SBF การปลดปล่อยสารที่มากเกินไปในช่วงแรกของการทดสอบอาจเป็นผลด้านลบในการทดสอบสมบัติทางชีวภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ h-FBs เนื่องด้วยปริมาณสารที่มีมากเกินไปในระบบ อาจเป็นอันตรายต่อเซลล์ได้ ข้อมูลในตารางที่ 3.6 ยืนยันว่าหลังจากวันที่ 5 ของการแช่ใน SBF ไม่มีการปลดปล่อยสารเอเซียติกแอซิดออกจากแผ่นฟิล์มอีกต่อไป





รูปที่ 3.12 รูปแสดงโครมาโทแกรมของการปลดปล่อยสารเอเชียติกแอซิดออกจากแผ่นฟิล์มพอลิเอทิลีนไกลคอล-กาวไหมที่มีความเข้มข้นของสารเอเชียติกแอซิด 1000 ppm หลังการแช่ใน SBF เป็นเวลา (a) 1 วัน (b) 3 วัน และ (c) 5 วัน



รูปที่ 3.13 รูปแสดงโครมาโทแกรมของการปลดปล่อยสารเอเชียติกแอซิดออกจากแผ่นฟิล์มพอลิเอทีกแอซิด-กาวไหมที่มีความเข้มข้นของสารเอเชียติกแอซิด 2000 ppm หลังการแช่ใน SBF เป็นเวลา (a) 1 วัน (b) 3 วัน และ (c) 5 วัน

ตารางที่ 3.6 แสดงการปลดปล่อยสารเอเชียติกแอซิดออกจากแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีความเข้มข้นของสารเอเชียติกแอซิดในปริมาณต่าง ๆ กัน (100-2000 ppm) เมื่อผ่านการแช่ชิ้นงานใน SBF ที่เวลาต่างๆ

Immersion time (day)	Concentration of asiatic acid in film (ppm)					
	100	250	500	750	1000	2000
1	32.235	56.214	105.321	201.213	385.567	540.482
3	*N/D	24.102	32.210	42.235	65.256	128.451
5	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
7	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
9	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
14	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D

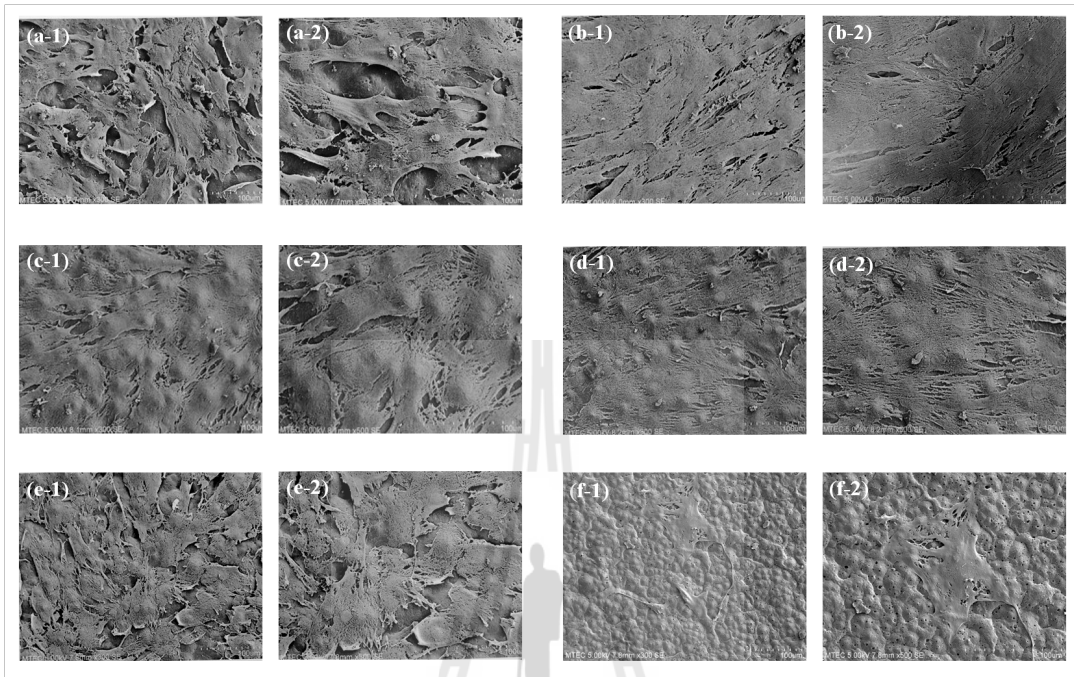
*N/D=Not detected

3.8 สันฐานวิทยาของ h-FBs ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนชิ้นงานตัวอย่างแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณเอเชียติกแอซิด 100 - 2000 ppm

สันฐานวิทยาของ h-FBs ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนชิ้นงานตัวอย่างแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีความเข้มข้นของสารเอเชียติกแอซิด 100, 250, 500, 750, 1000 และ 2000 ppm แสดงในรูปที่ 3.14 (a-f) ตามลำดับ จากรูปจะเห็นได้ชัดเจนว่าเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันของมนุษย์ (h-fibroblast cell (h-FBs)) มีการเจริญและยึดกับชิ้นงานได้ดีในชิ้นงานแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดเอเชียติกแอซิดตั้งแต่ 100-750 ppm โดยเฉพาะแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดเอเชียติกแอซิด 500 ppm เซลล์ h-FBs มีการสร้างเยื่อยึดติดกับแผ่นฟิล์ม จากรูปสามารถยืนยันผลเชิงบวกจากการเติมสารสกัดบัวบกที่มีต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของมนุษย์

จากรูป 3.14 (f-2) จะเห็นได้ชัดเจนว่ามีเซลล์ h-FBs เหลืออยู่เพียงไม่กี่เซลล์บนพื้นผิวของฟิล์มที่มีเข้มข้นของเอเชียติกแอซิด 2000 ppm ดังที่ได้แสดงไว้ในหัวข้อที่ 3.5 การปลดปล่อยสารสกัดจากใบบัวบกออกจากแผ่นฟิล์มอย่างรวดเร็วในระยะแรกของการแช่ในสารละลาย SBF ปรากฏการณ์นี้จึงน่าจะเกิดขึ้นในระหว่างการเพาะเซลล์ด้วย อาจเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้สภาวะที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของเซลล์สูญเสียไปจึงทำให้เซลล์ h-FBs ส่วนใหญ่ตายไปเหลือไว้เพียงส่วนน้อย แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าเซลล์ที่เหลืออยู่ของแผ่นฟิล์มทั้งสองแบบมีการสร้างเส้นใยเพื่อยึดติดกับพื้นผิวของแผ่นฟิล์มที่ดีมาก เมื่อเทียบกับแผ่นฟิล์มที่ไม่มีสารสกัดจากบัวบกแล้ว เซลล์ h-FBs ที่เพาะเลี้ยงบนแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดจากบัวบกดูเหมือนว่าจะยึดติดกับชิ้นงานได้ดีกว่า อย่างไรก็ตามการพัฒนาวิธีการผลิตฟิล์มเพื่อให้มีอัตราการปลดปล่อยสารที่ได้จากการสกัดจากบัวบกออกจากแผ่นฟิล์ม

อย่างเหมาะสมควรได้รับการพัฒนาต่อไป เพื่อให้แผ่นฟิล์มมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการใช้เป็นแผ่นปิดบาดแผลที่มีประสิทธิภาพต่อไป



รูปที่ 3.14 แสดงสัณฐานวิทยาของ h-FBs หลังการเลี้ยงบนแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 20 และมีสารเอเซียติกแอซิด (a) 100, (b) 250, (c) 500, (d) 750, (e) 1000 และ (f) 2000 ppm ; ,ตัวเลข 1 แสดงรูปภาพที่กำลังขนาดต่ำ และ 2 แสดงรูปภาพที่กำลังขยายสูง

น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (\overline{M}_w) ของพอลิแลกติกแอซิด และการกระจายน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight distribution, MWD) ของแผ่นฟิล์มหลังจากการแช่ใน SBF แสดงในตารางที่ 3.7 น้ำหนักโมเลกุลของพอลิแลกติกแอซิดของทุกตัวอย่างค่อนข้างคงที่ในระยะเวลาช่วง 6 วันแรกของการแช่ใน SBF เช่นเดียวกับผลการทดลองในหัวข้อ 3.3 ตารางที่ 3.2 แต่หลังจาก 6 วันของการแช่แผ่นฟิล์มใน SBF อัตราการสลายตัวของพอลิแลกติกแอซิดเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอเซียติกแอซิดเพิ่มขึ้นเกิน 750 ppm และเมื่อครบ 14 วันของการแช่แผ่นฟิล์มใน SBF น้ำหนักโมเลกุลของแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณเอเซียติกแอซิด 100 250 500 750 1000 และ 2000 ppm ลดลงประมาณร้อยละ 22.13 26.23 26.23 33.05 33.88 และ 33.88 ตามลำดับ

ตารางที่ 3.7 น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (\bar{M}_w) และการกระจายน้ำหนักโมเลกุล (MWD) ของพอลิแลกติกแอซิดหลังจากการแช่ใน SBF

ตัวอย่าง	$\bar{M}_w (\times 10^5)$ (วัน)								การกระจายน้ำหนักโมเลกุล (MWD) (วัน)							
	0	1	2	3	4	6	10	14	0	1	2	3	4	6	10	14
พอลิแลกติกแอซิด	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.22	1.20	1.13	2.51	2.51	2.52	2.53	2.56	2.61	2.67	2.73
แผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-20 wt% กาวไหม-สารสกัดเอเซียติกแอซิด																
เอเซียติกแอซิด 100 ppm	1.22	1.22	1.21	1.20	1.20	1.19	1.15	0.95	2.53	2.54	2.56	2.63	2.66	2.81	2.82	2.96
เอเซียติกแอซิด 250 ppm	1.22	1.22	1.21	1.20	1.20	1.19	1.14	0.90	2.53	2.54	2.56	2.63	2.66	2.81	2.83	2.98
เอเซียติกแอซิด 500 ppm	1.22	1.22	1.21	1.20	1.20	1.18	1.13	0.90	2.52	2.53	2.57	2.67	2.74	2.86	2.85	3.17
เอเซียติกแอซิด 750 ppm	1.21	1.21	1.21	1.19	1.19	1.18	1.11	0.81	2.52	2.54	2.57	2.72	2.77	2.85	2.94	3.28
เอเซียติกแอซิด 1000 ppm	1.21	1.21	1.21	1.19	1.18	1.17	1.10	0.80	2.53	2.53	2.61	2.68	2.76	2.85	2.97	3.33
เอเซียติกแอซิด 2000 ppm	1.21	1.20	1.20	1.18	1.17	1.17	1.10	0.80	2.53	2.53	2.60	2.65	2.77	2.86	2.98	3.34

บทที่ 4

บทสรุป

4.1 สรุปผลงานวิจัย

ในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการสกัดกาวไหมออกจากรังไหมในกระบวนการฟอกไหมโดยใช้น้ำต่างจากซีเถ้าไมุ้่นในการฟอกไหม ทำให้ได้กาวไหมที่ไม่เสียสภาพโปรตีนตามธรรมชาติไป จึงมีคุณสมบัติที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้เพื่อเป็นวัสดุชีวภาพ กาวไหมที่เตรียมได้ถูกเติมลงไปในพอลิแลกติกแอซิดเพื่อการเตรียมแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม กาวไหมที่เติมลงไปส่งผลโดยตรงต่อสมบัติทางกายภาพต่างๆ ของแผ่นฟิล์ม ปริมาณกาวไหมที่เพิ่มขึ้นในแผ่นฟิล์มทำให้ค่า T_g และ T_m ของพอลิแลกติกแอซิดในแผ่นฟิล์มลดลง ในขณะที่เดียวกันความเป็นผลึกของพอลิแลกติกแอซิดกลับเพิ่มขึ้น ข้อมูลจากทั้ง DSC และ DMA แสดงให้เห็นว่าการเติมกาวไหมลงในพอลิแลกติกแอซิดทำให้ฟิล์มเหนียวและแข็งขึ้น สิ่งที่เกิดขึ้นเกิดจากความแตกต่างกันของช่วงระหว่างพอลิแลกติกแอซิดกับกาวไหมทำให้ความเข้ากันได้เกิดไม่ตึง เมื่อพิจารณาทางด้านสัณฐานวิทยาโดยกล้องจุลทรรศน์พบว่าไม่มีสีเหลืองซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของกาวไหมการกระจายเข้าไปในเนื้อของแผ่นฟิล์มหลังการทดสอบในสภาวะจำลองของร่างกายมนุษย์ซึ่งถือเป็นสิ่งที่ดี และแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหมที่มีปริมาณกาวไหมร้อยละ 20 ตามน้ำหนักให้พื้นผิวแผ่นฟิล์มที่เรียบ หมายความว่าที่อัตราส่วนนี้กาวไหมสามารถกระจายตัวได้อย่างสม่ำเสมอในเนื้อของพอลิแลกติกแอซิด การเติมกาวไหมลงไปพอลิแลกติกแอซิดสามารถกระตุ้นการสลายตัวของโมเลกุลพอลิแลกติกแอซิดในสภาวะจำลองเลียนแบบร่างกายมนุษย์ เนื่องจากกาวไหมสามารถละลายน้ำได้ดีจึงละลายออกไปแล้วทิ้งโปรงเล็กๆในเนื้อฟิล์มทำให้น้ำซึมผ่านเข้าไปได้ง่าย กระบวนการสลายพันธะเอสเทอร์โดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจึงเกิดได้ง่ายขึ้น

นอกจากอัตราการสลายตัวของพอลิแลกติกแอซิดภายใต้สภาวะจำลองจะเพิ่มขึ้นแล้ว จากงานวิจัยนี้ยังพบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม ไปใช้เพื่อเป็นวัสดุทางชีวภาพสำหรับร่างกายมนุษย์ เนื่องจากการทดสอบกับเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันของมนุษย์พบว่าชิ้นงานนอกจากจะไม่มีความเป็นพิษกับเซลล์ดังกล่าวแล้ว เซลล์ยังมีอัตราการอยู่รอด การยึดติดกับชิ้นงานรวมทั้งการเพิ่มจำนวนที่มากขึ้น

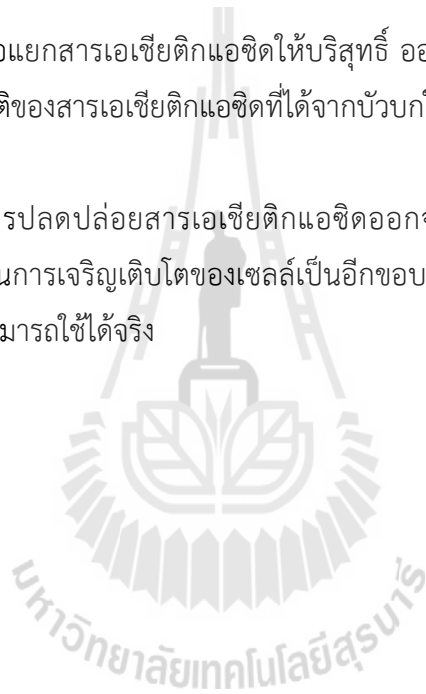
อีกข้อบ่งชี้หนึ่งของงานวิจัยนี้คือการพยายามเพิ่มสมบัติทางชีวภาพโดยการเติมสารสกัดจากบัวบกกลงไปในแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม โดยสารที่สนใจศึกษาในงานวิจัยนี้ คือ เอเซียติกแอซิด แต่จากผลการทดลองได้ข้อสรุปว่าอัตราการปลดปล่อยสารเอเซียติกแอซิดเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 1-3 วันแรกของการศึกษา สภาวะแบบนี้อาจไม่เหมาะสมต่อการดำรงอยู่ของเซลล์ที่เลี้ยง แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อ

พิจารณาเซลล์ที่รอดชีวิตจะพบว่ามีการยึดติดกับชิ้นงานที่ตีมาก ดังนั้นการใส่สารเอเชียติกแอซิดที่สกัดได้จากบวบกไม่อาจสรุปได้ว่าให้ผลเชิงลบ ดังนั้นงานวิจัยนี้ควรได้รับการพัฒนาต่อยอดงานวิจัยต่อไป

4.2 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเริ่มต้นสำหรับการศึกษาการผลิตแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติด้านชีวภาพที่ดี ข้อมูลที่ได้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพทางชีวภาพของวัสดุที่ผลิตขึ้นมา แต่อย่างไรก็ตามยังมีข้อเสนอแนะบางประการที่สามารถใช้เพื่อต่อยอดงานวิจัยนี้ โดยแยกออกเป็น 3 ข้อดังนี้คือ

1. พัฒนารีการเตรียมแผ่นฟิล์มพอลิแลกติกแอซิด-กาวไหม เพื่อให้ได้แผ่นฟิล์มที่อ่อนนุ่มและยืดหยุ่นมากขึ้น
2. เพิ่มกระบวนการเพื่อแยกสารเอเชียติกแอซิดให้บริสุทธิ์ ออกมาจากสารสกัดที่ได้จากบวบก เพื่อให้สามารถศึกษาเฉพาะสมบัติของสารเอเชียติกแอซิดที่ได้จากบวบกในเชิงประสิทธิภาพทางชีวภาพได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้น
3. การควบคุมอัตราการปลดปล่อยสารเอเชียติกแอซิดออกจากแผ่นฟิล์มให้สม่ำเสมอและมีปริมาณที่พอเหมาะในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์เป็นอีกข้อบ่งชี้ที่ต้องทำการวิจัยเพิ่ม เพื่อให้สามารถผลิตวัสดุทางชีวภาพที่สามารถใช้ได้จริง



บรรณานุกรม

- Agrawal, C.M., Athanasiou, K.A. and Heckman, J.D. (1997). Biodegradable PLA-PGA polymers for tissue engineering in orthopadics. **Mater. Sci. Forum.** 250 : 115-129.
- Aramwit P., Sangkul A. (2007) The effects of sericin cream on wound healing in rats. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 71 : 2473-2477.
- Burkersroda F., Schedl L., Gopferich A. (2002). Why degradable polymers undergo surface erosion or bulk erosion. **Biomaterials.** 23 : 4221-4231.
- Capar G., Aygun S. S., Gecit M. R. (2009). Separation of sericin from fatty acids towards its recovery from silk degumming wastewaters. **J. Mem. Sci.** 342 : 179-189.)
- Dash R., Mukherjee S., Kundu S. C. (2006). Isolation, purification and characterization of silk protein sericin from cocoon peduncles of tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta*. **Int. J. Biol. Macromol.** 38 : 255-258.
- Devkota A., Acqua S. D., Comai S., Innocenti G., Jha P. K. (2010). *Centella asiatica* (L.) urban from Nepal: Quali-quantitative analysis of samples from several sites, and selection of high terpene containing populations for cultivation. **Biochem. Sys. Ecol.** 38 : 12-22.
- Hamid A. A., Shah Z. M., Muse R., Mohamed S. (2002). Characterisation of antioxidative activities of various extracts of *Centella asiatica* (L.) Urban. **Food Chem.** 77 : 465-469.
- Horst, A. R., Robert, L. C., Suzanne, G. E. and Antonios, G. M. (1995). Degradation of polydispersed poly(L-lactic acid) to modulate lactic acid release **Biomaterials.** 16 : 441-447.
- Jeong B. S. (2006). Structure-activity relationship study of asiatic acid derivatives for new wound healing agent. **Arch. Pharm. Res.** 29 : 556-562.
- Kim W. J., Kim J., Veriansyah B., Kim J. D., Lee Y. W., Oh S. G., Tjandrawinata R. R. (2009) Extraction of bioactive components from *Centella asiatica* using subcritical water. **J. Supercr. Flu.** 48 : 211-216.

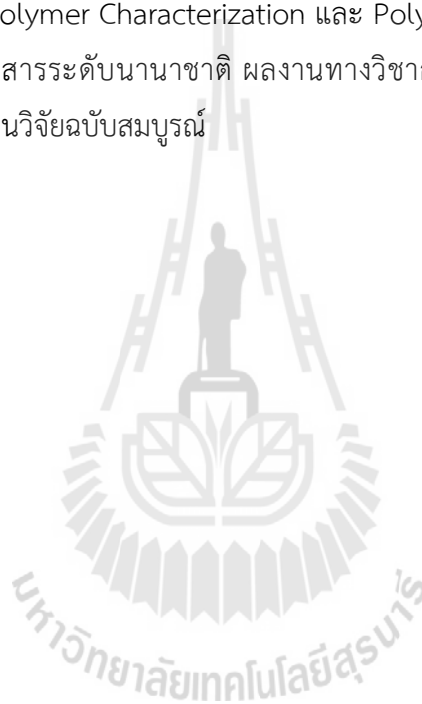
- Kundu S. C., Dash B. C., Dash R., Kaplan D. L. (2008). Natural protective glue protein, sericin bioengineered by silkworms : Potential for biomedical and biotechnological applications. **Prog. Polym. Sci.** 33 : 998-1012.
- Kyriacos A. A., Agrawal C. M., Barber F. A., Stephen S. B. (1998) Orthopaedic Applications for PLA-PGA Biodegradable Polymers. **J. Arthro. Rel. Surg.**, 14 : 726–737.
- Lee Y. S., Jin D. Q., Beak S. M., Lee E. S., Kim J. A. (2003). Inhibition of ultraviolet-A-modulated signaling pathways by asiatic acid and ursolic acid in HaCaT human keratinocytes. **Euro. J. Pharm.** 476 : 173-178.
- Lee Y. S., Jin D. Q., Kwon E. J., Park S. H., Lee E. S., Jeong T. C., Nam D. H., Huh K., Kim J. A. (2002). Asiatic acid, a triterpene, induces apoptosis through intracellular Ca^{2+} release and enhanced expression of p53 in HepG2 human hepatoma cells. **Canc. Lett.** 186 : 83-91.
- Lia R., Nicolo N. A., Milena F., Gaetano G., Matilde T., Roberto G. (2005). In vivo experimental study on bone regeneration in critical bone defects using an injectable biodegradable PLA/PGA copolymer. **Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod.** 99:148-54,
- Minna H., Albertsson A. C., Sigbritt K. (1996). Weight losses and molecular weight changes correlated with the evolution of hydroxyacids in simulated in vivo degradation of homoand copolymers of PLA and PGA. **Polym. Degrad. Stab.** 52 : 283-291.)
- Namviriyachote N., Bang N., Aramwit P. (2009). Sericin film: influence of concentration on its physical properties. **Eng. Technol.** 56: 7-9.
- Park B. C., Bosire K. O., Lee E. S., Lee Y. S., Kim J. A. (2005). Asiatic acid induces apoptosis in SK-MEL-2 human melanoma cells. **Canc. Lett.** 218 : 81-90.
- Park T. G. (1995). Degradation of poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres: effect of copolymer composition. **Biomaterials.** 16 : 1123-1130.
- Russias, J., Saiz, E., Nalla, R. K., Gryn, K., Ritchie, R. O., and Tomsia, A. P. (2006). Fabrication an mechanical properties of HA/PLA composites:A study of *in vitro* degradation. **Mater. Sci. Eng.** 26:1289-1295.
- Siepmann J., Gopferich A. (2001). Mathematical modeling of bioerodible, polymeric drug delivery systems. **Adv. Drug Deliv. Rev.** 48 : 229-247.

- Siddique Y. H., Ara G., Beg T., Faisal M., Ahmad M., Afzal M. (2008). Antigenotoxic role of *Centella asiatica* L. extract against cyproterone acetate induced genotoxic damage in cultured human lymphocytes. **Toxic. in Vitr.** 22 : 10-17.
- Suganuma, J. and Alexander, H. (1993). Biological response of intramedullary bone to poly-L-lactic acid. **J. Appl. Biomater.** 15:13-27.
- Tadashi K., Hiroaki T. (2007). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity. **Biomaterials.** 27 : 2907-2915.
- Vaithanomsat P., Kitpreechavanich V. (2008). Sericin separation from silk degumming wastewater **Sep. Pur. Technol.** 59 : 129-133.
- Wu J. H., Wang Z., Xu S. Y. (2007). Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater. **Food Chem.** 103 : 1255-1262.
- Zainol M. K., Hamid A. A., Yusof S., Muse R. (2003). Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) Urban. **Food Chem.** 81: 575-581.
- Zhang Y. Q. (2002) Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. *Biot. Adv.* 20 : 91-100, Wu J. H., Wang Z., Xu S. Y.(2007) Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater. **Food Chem.** 103 : 1255-1262.)



ประวัติผู้วิจัย

นางสาวนิธินาถ ศุภกาญจน์ ดำรงตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิศวกรรมพอลิเมอร์ สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นครราชสีมา สำเร็จการศึกษา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2536 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาเอกสาขา Macromolecular Science จาก Case Western Reserve University มลรัฐโอไฮโอ ประเทศสหรัฐอเมริกา งานวิจัยที่สนใจ Polymer Characterization และ Polymer Composites มีผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารระดับนานาชาติ ผลงานทางวิชาการ ประกอบด้วย บทความทางวิชาการ 49 บทความ และรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์



ผลงานเผยแพร่ของโครงการวิจัย

- Rakmae, S., Suppakarn, N. Thermal properties, biodegradability and cytotoxicity of PLA/sericin films (2012) **Advanced Materials Research**, 410, pp. 86-89.

