



รายงานการวิจัย

การเพิ่มมูลค่าไหมบ้านและไหมเอรี่ด้วยการพัฒนาเป็นวัสดุปิดแผลหน้าที่

เฉพาะด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

(Value adding of domesticated and eri silks by a development
into functional wound dressing by using
an electrospinning technique)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

การเพิ่มมูลค่าไหมบ้านและไหมอีรี่ด้วยการพัฒนาเป็นวัสดุปิดแผลหน้าที่
เฉพาะด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง
(Value adding of domesticated and eri silks by a development
into functional wound dressing by using
an electrospinning technique)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร.สินีนานู ศิริ

สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

นางสาวกนกพร พลเยี่ยม

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2556-2557

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กรกฎาคม 2560

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องการเพิ่มมูลค่าไหมบ้านและไหมอีรี่ด้วยการพัฒนาเป็นวัสดุทำหน้าที่เฉพาะนี้ เป็นโครงการวิจัยที่พัฒนาการใช้โปรตีนไหม (เซอริซินและไฟโบรอิน) เป็นวัสดุหน้าที่เฉพาะ ซึ่งในการศึกษานี้ได้ผลิตเป็นแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ อนุภาคนาโนซิลเวอร์ และไฮโดรเจล โดยเน้นที่การมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของวัสดุที่ผลิต ซึ่งโครงการนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2556–2557 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และเครื่องมือในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้วิจัย

กรกฎาคม 2560



บทคัดย่อภาษาไทย

ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การเพิ่มมูลค่าไหมบ้านและไหมอีรี่ด้วยการพัฒนาเป็นวัสดุปิดแผลหน้าที่เฉพาะด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

(ภาษาอังกฤษ) Value adding of domesticated and eri silks by a development into functional wound dressing by using an electrospinning technique

บทคัดย่อ

เส้นไหมประกอบด้วยโปรตีนหลักสองชนิดคือไฟโบรอินและเซอริซิน โดยไฟโบรอินเป็นโปรตีนแกนของเส้นไหม ส่วนเซอริซินทำหน้าที่เป็นโปรตีนกาวซึ่งถูกกำจัดทิ้งในกระบวนการผลิตเส้นไหมในอุตสาหกรรมสิ่งทอ งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการเพิ่มมูลค่าของโปรตีนไหม โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซอริซิน โดยนำไปใช้ในการผลิตชีววัสดุสำหรับปิดแผลหน้าที่จำเพาะในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ซึ่งครอบคลุมการผลิตแผ่นโครงร่างเส้นไหมอิเล็กโตรสปิน อนุภาคนาโนซิลเวอร์ และไฮโดรเจล นอกจากนี้ยังได้เปรียบเทียบการใช้เส้นไหมจากไหม 2 ชนิด คือไหมบ้าน (*Bombyx mori*) และไหมอีรี่ (*Samia cynthia ricini*)

จากการศึกษาพบว่าเซอริซินมีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเล็กน้อย โดยเซอริซินในสภาพที่สลายตัวมีกิจกรรมดังกล่าวสูงกว่าเซอริซินที่อยู่ในสภาพสมบูรณ์ นอกจากนี้พบว่าเฉพาะเซอริซินจากไหมบ้านที่มีกิจกรรมยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย แต่เซอริซินจากไหมอีรี่ไม่พบกิจกรรมดังกล่าว เมื่อนำเซอริซินไปผลิตโครงร่างเส้นไหมอิเล็กโตรสปิน อนุภาคนาโนซิลเวอร์ และไฮโดรเจล พบว่าเซอริซินมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำไปผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์และแผ่นไฮโดรเจล แต่ไม่สามารถใช้ผลิตแผ่นโครงร่างเส้นไหมอิเล็กโตรสปินได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้พัฒนาการผลิตแผ่นโครงร่างเส้นไหมอิเล็กโตรสปินจากไฟโบรอินที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์เพื่อใช้เป็นชีววัสดุสำหรับปิดแผลหน้าที่จำเพาะในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ผลการศึกษาพบว่าแผ่นโครงร่างเส้นไหมที่ผลิตได้สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* ดังนั้นแผ่นโครงร่างเส้นไหมที่ผลิตได้จึงมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นแผ่นปิดรักษาบาดแผลให้หายเร็วได้

จากการศึกษาการใช้เซอริซินเป็นสารรีดิวซ์และสารให้ความคงตัวในการผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยเทคโนโลยีสีเขียว (green technology) พบว่าเซอริซินจากไหมบ้านและไหมอีรี่สามารถนำไปใช้ในการผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ โดยพบว่าเซอริซินจากไหมอีรี่มีคุณสมบัติในการรีดิวซ์สูงกว่าเซอริซินจากไหมบ้านและสามารถใช้ในการผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในปริมาณที่สูงกว่า ทั้งนี้อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ผลิตได้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 13 นาโนเมตร และมีกิจกรรมในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง *S. aureus* และ *E. coli* ดังนั้นวิธีในการผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่พัฒนาขึ้นนี้ เป็นวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและมี

ต้นทุนการผลิตที่ต่ำ น่าจะสามารถนำไปใช้ในการผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในปริมาณที่สูงเพื่อการใช้ประโยชน์ได้

นอกจากนี้ในการศึกษานี้ยังได้พัฒนาการนำเซอร์จีนไปใช้ในการผลิตแผ่นไฮโดรเจลบรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์เพื่อใช้เป็นชีววัสดุสำหรับปิดแผลหน้าที่จำเพาะในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยใช้แสงในการกระตุ้นการเกิดอนุภาคนาโนซิลเวอร์ภายในไฮโดรเจล ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและมีต้นทุนต่ำ ทั้งนี้ไฮโดรเจลที่ผลิตได้นอกจากสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ได้ดีแล้ว ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อสิว *Proionibacterium acnes* ได้ดีด้วย ดังนั้นวิธีการผลิตแผ่นไฮโดรเจลบรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากเซอร์จีนในการศึกษานี้ น่าจะมีประโยชน์ต่อการพัฒนาเป็นแผ่นปิดรักษาสิวต่อไป



บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Abstract

Silk threads compose of two major proteins, fibroin and sericin, which fibroin is the core protein of the silk threads, and the sericin is the glue protein that is removed during the silk thread production in industries. Therefore, this work is interesting to study the value adding of silk proteins, in particular, sericin, via the production of a functional wound dressing for bacterial inhibition, including electrospun scaffolds, silver nanoparticles, and hydrogels. In addition, sericins derived from domesticated silkworms (*Bombyx mori*) and eri silkworms (*Samia cynthia ricini*) are compared.

The results showed that sericin exhibited low antibacterial activity, and the degraded sericin possessed the antibacterial activity greater than the intact protein. Furthermore, only *B. mori* sericin exhibited the antibacterial activity, but not *S. c. ricini* sericin. When sericin was used for the production of electrospun scaffold, silver nanoparticles and hydrogel, the results showed that the properties of sericin are suitable for the production of silver nanoparticles and hydrogel but could not be used for the production of the electrospun scaffold. Thus, this work fabricated electrospun scaffold derived from fibroin containing silver nanoparticles as the functional wound dressing for bacterial inhibition. The results showed that the fabricated scaffolds possessed antibacterial activity against both Gram-positive *Staphylococcus aureus* and Gram-negative *Escherichia coli*. Therefore, the produced fibrous scaffold is potentially developed to a fast-healing wound dressing.

From the study to use sericin as reducing and stabilizing agents for a green production of silver nanoparticles, the results showed that sericin derived from both domesticated and eri silks could be used for a production of silver nanoparticles. Nevertheless, sericin of eri silk exhibited the greater reducing activity and produced more silver nanoparticles as compared with sericin of domesticated silk. The produced silver nanoparticles of approximately 13 nm in a diameter exhibited antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli*. Therefore, the developed method to produce silver nanoparticles is environmentally friendly and low cost, which is likely used for a mass production of silver nanoparticles for any application.

In addition, this work studied the use of sericin for a production of silver nanoparticles embedded hydrogel as the functional wound dressing for bacterial inhibition.

The formation of silver nanoparticles was mediated by light exposure, which was simple and low cost. The produced hydrogels exhibited good antibacterial activity against not only *S. aureus* and *E. coli*, but also the acne-causing bacteria *Propionibacterium acnes*. Thus, the method to produce silver nanoparticles embedded hydrogel in this work could be potentially developed to a production of acne-wound dressing.



สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย	2
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	4
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ฅ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 กรอบแนวคิด	4
บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ไหม	5
2.1.1 ไหมกลุ่มมัดเบอร์รี่	5
2.1.2 ไหมกลุ่มที่ไม่ใช่มัดเบอร์รี่	6
2.2 โพรตีนไหม	6
2.3 รายงานการสกัดเซอร์ริซินของไหม	7
2.3.1 โพรตีนเซอร์ริซินจากไหมในกลุ่มมัดเบอร์รี่	7
2.3.2 โพรตีนเซอร์ริซินจากไหมกลุ่มที่ไม่ใช่มัดเบอร์รี่	9
2.4 การใช้ประโยชน์จากเซอร์ริซิน	9
2.5 โครงร่างชีวิตวัสดุและการประยุกต์ใช้โปรตีนเซอร์ริซินทางการแพทย์	10
2.6 อิเล็กโตรสปินนิง	11
2.7 อนุภาคนาโนซิลเวอร์	12
2.8 การประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนซิลเวอร์	13

2.9 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้เทคโนโลยีสีเขียว (Green technology).....	13
2.10 ไฮโดรเจล	14
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	15
3.1 การสกัดเชอริซินจากรังไหม	15
3.1.1 การสกัดเชอริซินจากไหมบ้าน	15
3.1.2 การสกัดเชอริซินจากรังไหมอีรี่	15
3.2 การสกัดไฟโบรอินจากรังไหม.....	15
3.3 การศึกษาการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของโปรตีนเชอริซิน	16
3.4 การผลิตแผ่นเส้นโครงร่างจากโปรตีนเชอริซิน	16
3.5 การผลิตโครงร่างไฟโบรอิน	17
3.5.1 การผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์	17
3.5.2 การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	17
3.6 การผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนเชอริซิน	17
3.6.1 สภาวะในการผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนเชอริซิน	17
3.6.2 สมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนซิลเวอร์	17
3.6.3 คุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	18
3.7 การสังเคราะห์ไฮโดรเจลและไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากเชอริซินและไฟโบรอิน	18
3.7.1 การสังเคราะห์ไฮโดรเจลและไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์	18
3.7.2 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนซิลเวอร์	19
3.7.3 การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	19
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติ.....	19
3.9 สถานที่เก็บข้อมูล.....	19
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปราย	20
4.1 สารสกัดเชอริซินจากรังไหมและฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย	20
4.1.1 การสกัดเชอริซินจากไหมบ้าน (<i>B. mori</i>)	20
4.1.2 การสกัดเชอริซินจากไหมอีรี่ (<i>S. c. ricini</i>).....	22
4.1.3 ผลของสารสกัดเชอริซินต่อการเจริญของแบคทีเรีย.....	24

4.2 การผลิตแผ่นโครงร่างเซอริชินจากไหมบ้านและไหมอีรี่.....	26
4.2.1 เทคนิคอเล็กโตรสปินนิง.....	26
4.2.2 เทคนิคการผสมสารละลายเซอริชินในแอลกอฮอล์.....	26
4.2.3 การศึกษาสมบัติเชิงกายภาพและชีวภาพของโครงร่างเซอริชิน.....	27
4.3 การผลิตแผ่นโครงร่างไฟโบรอิน.....	28
4.3.1 การผลิตแผ่นเส้นใยอเล็กโตรสปินไฟโบรอิน.....	28
4.3.2 การผลิตแผ่นเส้นใยอเล็กโตรสปินไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์.....	30
4.3.3 การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย.....	32
4.4 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์จากเซอริชินของไหมบ้านด้วยวิธีเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม.....	33
4.4.1 การสกัดเซอริชินและการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์.....	33
4.4.2 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนซิลเวอร์.....	36
4.4.3 ผลของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ต่อการเจริญของแบคทีเรีย.....	37
4.5 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์จากเซอริชินของไหมอีรี่ด้วยวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม.....	39
4.5.1 เซอริชินที่สกัดด้วยน้ำ.....	39
4.5.2 เซอริชินที่สกัดด้วยโซเดียมคาร์บอเนต.....	40
4.6 การเปรียบเทียบการใช้เซอริชินจากไหมบ้านและไหมอีรี่ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม.....	41
4.6.1 การเปรียบเทียบเซอริชินจากไหมอีรี่และไหมบ้านที่สกัดได้.....	41
4.6.2 การเปรียบเทียบการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยเซอริชินจากไหมบ้านและไหมอีรี่โดย.....	42
4.6.3 คุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้.....	44
4.6.4 คุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์ได้.....	45
4.7 การผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนไฟโบรอินจากไหมบ้าน.....	46
4.8 การสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนไฟโบรอินและเซอริชิน.....	48
4.8.1 การสกัดไฟโบรอิน.....	48
4.8.2 การสกัดโปรตีนเซอริชิน.....	49
4.8.3 การสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากไฟโบรอิน.....	50
4.8.4 การสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากเซอริชิน.....	51

4.8.5 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของเซอร์ชินไฮโดรเจล.....	52
4.8.6 การศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียของไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์	55
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	58
สรุปผลดำเนินการ.....	60
ภาคผนวก	67
ภาคผนวก ก การเตรียมสารละลาย.....	68
ภาคผนวก ข การเตรียม gradient SDS-PAGE	71
ภาคผนวก ค อาหารเลี้ยงเชื้อและยาปฏิชีวนะ	73
ประวัตินักวิจัย.....	76



สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	รายงานการสกัดเซอรีซินของไหมต่างสายพันธุ์.....	9
ตารางที่ 4.1	การสกัดเซอรีซินจากไหมบ้านด้วยน้ำและโซเดียมคาร์บอเนต.....	21
ตารางที่ 4.2	การสกัดเซอรีซินจากไหมอีรีด้วยน้ำและโซเดียมคาร์บอเนต.....	23
ตารางที่ 4.3	พารามิเตอร์ที่ใช้ในการผลิตเส้นใยจากไฟโบรอิน.....	29
ตารางที่ 4.4	พารามิเตอร์ที่ใช้ในการผลิตเส้นใยจากไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์...	31



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2.1 ไหมไทยสายพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ.....	5
ภาพที่ 2.2 รังไหมอีรี่.....	6
ภาพที่ 2.3 ภาพตัดขวางของเส้นไหมที่ประกอบด้วยโปรตีนไฟโบรอินและเซอร์ซิซิน.....	7
ภาพที่ 2.4 ผลการสกัดโปรตีนภายในต่อมไหม.....	8
ภาพที่ 2.5 แบบแผนโปรตีนเซอร์ซิซินสายพันธุ์ <i>B. mori</i>	8
ภาพที่ 2.6 ส่วนประกอบของเครื่องอิเล็กทรอนิกส์.....	11
ภาพที่ 4.1 โปรตีนเซอร์ซิซินที่สกัดจากไหมบ้านด้วยน้ำ.....	20
ภาพที่ 4.2 โปรตีนเซอร์ซิซินที่สกัดจากไหมบ้านด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต.....	21
ภาพที่ 4.3 โปรตีนเซอร์ซิซินที่สกัดจากไหมอีรี่ด้วยน้ำกลั่น.....	22
ภาพที่ 4.4 โปรตีนเซอร์ซิซินที่สกัดได้จากไหมอีรี่ด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต.....	23
ภาพที่ 4.5 การเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดโปรตีนเซอร์ซิซินที่ได้จากไหมบ้านและไหมอีรี่ ด้วยน้ำและโซเดียมคาร์บอเนต.....	24
ภาพที่ 4.6 การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดโปรตีนเซอร์ซิซินที่มีสภาพสลาย (degraded proteins) ที่ได้จากการสกัดไหมบ้าน.....	25
ภาพที่ 4.7 การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดโปรตีนเซอร์ซิซินที่มีสภาพสลาย (degraded proteins) ที่ได้จากการสกัดไหมอีรี่.....	25
ภาพที่ 4.8 ลักษณะหดยสารละลายเซอร์ซิซินจากไหมบ้านและไหมอีรี่บนแผ่นรองรับ.....	26
ภาพที่ 4.9 โครงร่างเซอร์ซิซินซึ่งผลิตจากการผสมสารละลายเซอร์ซิซินในแอลกอฮอล์ 3 วิธี.....	27
ภาพที่ 4.10 การเจริญของแบคทีเรียบนแผ่นโครงร่างเซอร์ซิซินจากไหมบ้าน.....	28
ภาพที่ 4.11 ลักษณะของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากไฟโบรอิน.....	29
ภาพที่ 4.12 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้ไฟโบรอินทำหน้าที่เป็นสารให้ความคง ตัวและใช้กลูโคสเป็นสารรีดิวซ์.....	30
ภาพที่ 4.13 ลักษณะของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์.....	31
ภาพที่ 4.14 ลักษณะของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากไฟโบรอินและไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโน ซิลเวอร์.....	32
ภาพที่ 4.15 การยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของแผ่นเส้นใยไฟโบรอินและแผ่นเส้นใย ไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์.....	33
ภาพที่ 4.16 โปรตีนเซอร์ซิซินที่สกัดจากไหมบ้านด้วยน้ำบน 6-15% linear gradient SDS- PAGE.....	33

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ประเทศไทยมีการเลี้ยงไหมมานานกว่า 3000 ปี โดยเริ่มมีการพัฒนาส่งเสริมการปลูกหม่อนเลี้ยงไหม สาวไหม และทอผ้าไหม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตเป็นสินค้าส่งออก ในปี พ.ศ. 2554 มีมูลค่าการส่งออกไหมเส้นไหม ผ้าไหม 432,059,964 บาท และมูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์ไหม 237,688,487 บาท (กรมศุลกากร, 2554) เส้นไหมเป็นเส้นใยโปรตีนจากหนอนไหมในระยะดักแด้เพื่อใช้ปกป้องตัวอ่อนที่จะพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย โดยแบ่งผีเสื้อที่ผลิตหนอนไหมเป็นสองกลุ่มหลัก คือ กลุ่มไหมมัลเบอร์รี่ (mulberry silkworms) หรือเรียกอีกอย่างว่าเป็นกลุ่มไหมบ้าน (domesticated silkworms) นิยมนำมาเลี้ยงในครัวเรือนและอุตสาหกรรมสิ่งทอ เช่น ไหมบ้าน (*Bombyx mori*) ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Bombycidae สำหรับกลุ่มที่สองคือ กลุ่มที่ไม่ใช่มัลเบอร์รี่ (non-mulberry silkworms) หรือเรียกอีกอย่างว่าเป็นกลุ่มของไหมป่า (wild silkworms) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่พบในธรรมชาติ เช่น ไหมทาสาร์ (*Antheraea mylitta* หรือ *Antheraea pernyi*) และ ไหมอีรี่ (*Samia* spp.) ซึ่งในกลุ่มของไหมป่า เริ่มมีการพัฒนาบางสายพันธุ์ให้เป็นไหมเลี้ยงเพื่อประโยชน์เชิงเศรษฐกิจ เช่น ไหมอีรี่

ในเส้นไหมทั้งสองกลุ่มพบว่ามีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลักสองชนิด คือไฟโบรอินและเซอร์ซิซิน ไฟโบรอินเป็นโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบหลักในรังไหมประมาณ 70% ซึ่งเป็นโปรตีนเส้นใยชนิดที่ไม่มีขั้ว (Sinohara, 1979) มีความเหนียว ยืดหยุ่น เป็นมันวาว (Huang et al., 2017) จึงถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ ในขณะที่เซอร์ซิซินเป็นโปรตีนกาวที่ห่อหุ้มมัดโปรตีนไฟโบรอินเข้าด้วยกันและช่วยในการรักษาโครงสร้างของรังไหม พบประมาณ 20–30% ของรังไหม ในอุตสาหกรรมสิ่งทอโปรตีนเซอร์ซิซินทั้งหมดจะถูกกำจัดออกในกระบวนการผลิตเส้นไหม โดยที่เซอร์ซิซินทั้งหมดจะถูกกำจัดออกมาในรูปของน้ำเสียระหว่างกระบวนการผลิตเส้นไหม โดยที่รังไหมแห้งประมาณ 400,000 ตัน จะมีเซอร์ซิซินที่ถูกกำจัดออกประมาณ 50,000 ตัน จะเห็นได้ว่าหากเซอร์ซิซินที่ถูกกำจัด สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายในการกำจัดและยังไม่เกิดของเสียในสิ่งแวดล้อมอีกด้วย (Zhang, 2002) ดังนั้นปัจจุบันจึงมีความสนใจในการศึกษาการนำโปรตีนเซอร์ซิซินไปใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ เช่น ผลิตภัณฑ์เสริมความงาม และผลิตภัณฑ์ทางแพทย์ เป็นต้น (Kundu et al., 2008; Zhang, 2002)

เซอร์ซิซินเป็นโปรตีนที่มีขนาดใหญ่ มีขนาดของโปรตีนในช่วง 10–300 กิโลดาลตัน (Zhang, 2002) พบว่ามีรายงานวิจัยเกี่ยวกับสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Dash et al., 2008) ส่งเสริมการยึดเกาะของเซลล์ และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Aramwit et al., 2010; Senakoon et al., 2009; Zhang et al., 2008) นอกจากนี้พบว่าเซอร์ซิซินยังมีสมบัติในการต้านการอักเสบ โดยช่วยลดการปลดปล่อย IL-1 β และ TNF- α จากเซลล์โมโนไซต์ (monocyte) และมาโครฟาจ (macrophages) ดังนั้นจึงคาดว่าโปรตีนเซอร์ซิซินอาจส่งผลส่งเสริมการหายของบาดแผลได้ (Aramwit et al., 2009) สำหรับไฟโบรอินจัดเป็นสารชีวภาพอีกชนิดหนึ่งที่มีการนำมาผลิตเป็นวัสดุปิดแผล ไฟโบรอินมีสมบัติกระตุ้นให้เกิดการต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

มนุษย์ในระดับต่ำ นอกจากนี้ไฟโบรอินยังมีสมบัติในการเข้ากับระบบทางชีวภาพได้ดี สามารถสลายตัวได้เองตามธรรมชาติอย่างช้า ๆ (biodegradability) และยังมีสมบัติที่ช่วยในการยึดเกาะและการเจริญของเซลล์ ทำให้เกิดการส่งเสริมการหายของบาดแผล

จากรายงานวิจัยข้างต้นแสดงถึงสมบัติของเซอริซินซึ่งเหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้เป็นวัสดุปิดแผลหน้าที่เฉพาะ (functional wound dressing) เนื่องจากมีสมบัติยับยั้งการเจริญแบคทีเรียและต้านการอักเสบ แต่ยังไม่มียางานถึงการผลิตเป็นวัสดุปิดแผลหน้าที่เฉพาะในรูปแบบแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ ซึ่งด้วยรูปร่างของแผ่นเส้นใยที่ประกอบด้วยรูขนาดเล็กจำนวนมากเพื่อแลกเปลี่ยนอากาศ และปกป้องบาดแผลจากเชื้อโรคนอกตลอดจนการมีพื้นที่สัมผัสต่อปริมาตรสูง ซึ่งเป็นลักษณะที่ส่งเสริมกระบวนการรักษาบาดแผลให้เกิดได้เร็ว ดังนั้นแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากเซอริซินจึงน่าจะมีคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการผลิตเพื่อใช้เป็นวัสดุปิดที่มีสมบัติเร่งการหายของบาดแผลและสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ทั้งนี้เนื่องจากยังไม่มีรายงานเปรียบเทียบกิจกรรมยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของเซอริซินจากไหมบ้านและไหมอีรี่ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงจะได้เปรียบเทียบสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียของเซอริซินจากไหมทั้งสองสายพันธุ์ด้วย นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังได้พัฒนาวัสดุปิดแผลจากเซอริซินที่มีสมบัติต้านแบคทีเรียสูงที่สุดผสมกับไฟโบรอิน ซึ่งยังไม่มีรายงานการผลิตวัสดุปิดแผลในลักษณะดังกล่าว

นอกจากแผ่นอิเล็กทรอนิกส์แล้ว เซอริซินมีคุณสมบัติที่สามารถขึ้นรูปเป็นไฮโดรเจลได้ ซึ่งเป็นสภาวะที่พอลิเมอร์มีการสร้างพันธะกันเป็นโครงร่างสามมิติมีลักษณะเป็นโครงตาข่ายและมีน้ำแทรกตัวอยู่ในโครงสร้างดังกล่าว เนื่องจากไฮโดรเจลมีคุณสมบัติเป็นสารที่มีความนุ่ม ชื่น และสามารถซึมซับของเหลวได้ดี ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวเหมาะสมต่อการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์เพื่อใช้เป็นแผ่นปิดแผลและทางเวชสำอางเพื่อใช้เป็นแผ่นรักษาผิวพรรณ (Aramwit et al., 2009) ในการผลิตไฮโดรเจลเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์รักษาผิวพรรณทางเวชสำอาง มีการเพิ่มสารออกฤทธิ์ชนิดต่าง ๆ เพื่อเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ เช่น สารคอลลาเจน วิตามิน กลูตาไธโอน เป็นต้น อนุภาคนาโนซิลเวอร์เป็นอนุภาคนาโนชนิดหนึ่งที่มีความสนใจและถูกนำมาใช้เป็นเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์จำนวนมาก เช่น สิ่งทอ ภาชนะบรรจุอาหาร สเปรย์ฆ่าเชื้อ เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากอนุภาคนาโนซิลเวอร์มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้หลายชนิด ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Aramwit et al., 2014) ในด้านเวชสำอาง แผ่นปิดรักษาผิวเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่เป็นที่ต้องการของตลาด ซึ่งต้องมีคุณสมบัติดูดซับของเหลวจากผิวได้ผิวหนัง ช่วยปกป้องผิวจากแบคทีเรียและสิ่งสกปรก และช่วยฟื้นฟูผิวหนังให้กลับสู่สภาพปกติได้เร็ว (Ahamed et al., 2015) ดังนั้นในงานวิจัยนี้สนใจที่จะผลิตแผ่นไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วย เพื่อพัฒนาไปสู่การประยุกต์ใช้เป็นแผ่นปิดรักษาผิว โดยพัฒนากระบวนการผลิตไฮโดรเจลและอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนไหมทั้งสองชนิดโดยไม่ต้องใช้สารเคมี เพื่อให้เกิดความปลอดภัย และคงคุณสมบัติทางชีวภาพของโปรตีนไหม

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

(เดิม)

- 1) ศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบและสมบัติของโปรตีนเซอริซินจากไหมบ้านและไหมอีรี่ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย
- 2) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากเซอริซินที่ได้จากไหมทั้งสองสายพันธุ์ และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากเซอริซินผสมไฟโบรอิน
- 3) เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่ผลิตได้

(เปลี่ยนแปลง)

- 1) ศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบและสมบัติของโปรตีนเซอริซินจากไหมบ้านและไหมอีรี่ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย
- 2) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากเซอริซินที่ได้จากไหมทั้งสองสายพันธุ์ และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากเซอริซินผสมไฟโบรอิน
- 3) เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่ผลิตได้
- 4) ศึกษาการผลิตอนุภาคนาโนเงินจากการใช้โปรตีนไหมจากไหมบ้านและไหมอีรี่และคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย
- 5) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจลที่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนไหมและคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย

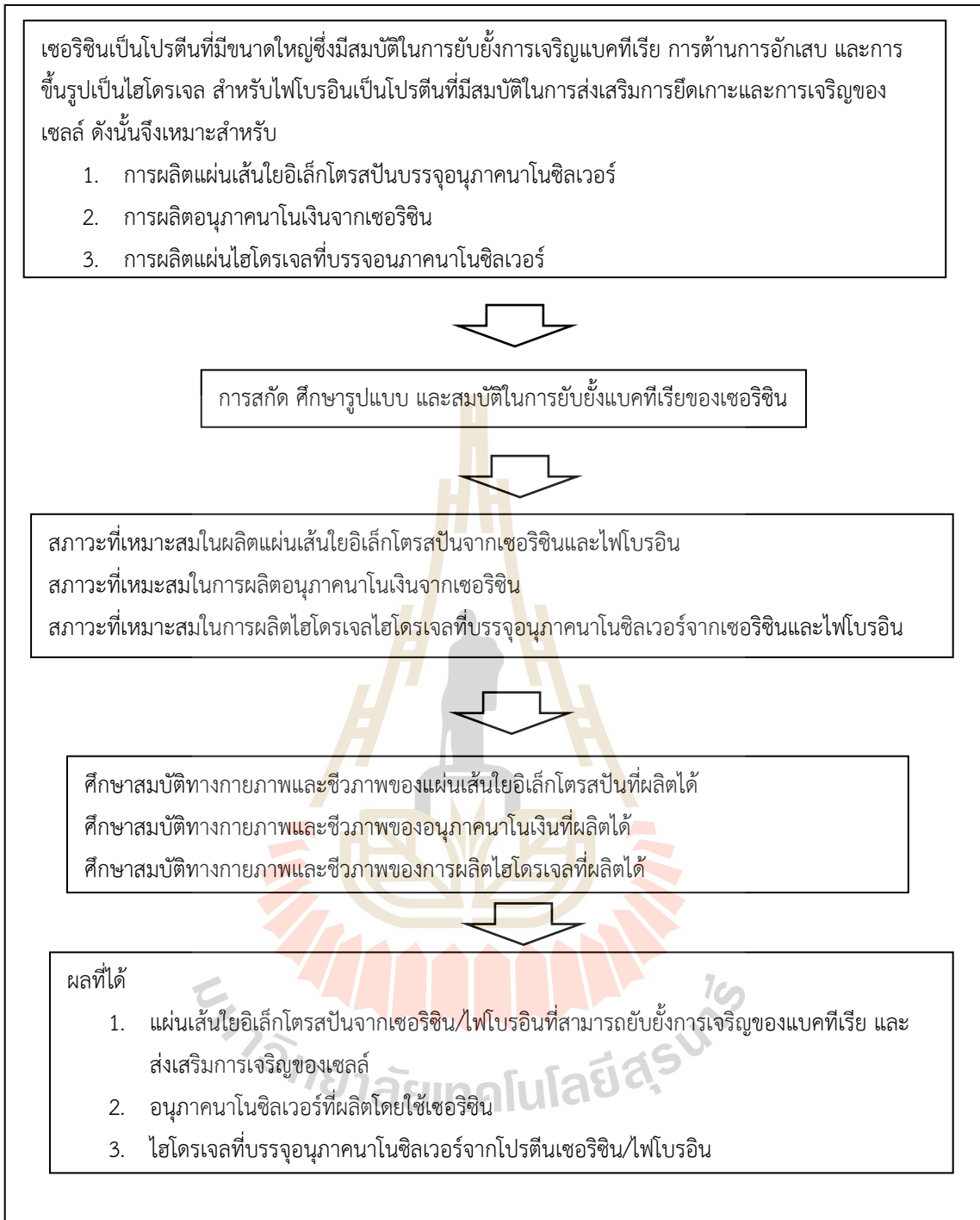
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

โครงการวิจัยนี้มีขอบเขตรอบคลุมการศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบและสมบัติจากไหมบ้านและไหมอีรี่ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย การนำเซอริซินที่ได้จากไหมทั้งสองสายพันธุ์มาผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่ผลิตได้ รวมทั้งการนำเซอริซินที่ได้จากไหมทั้งสองสายพันธุ์มาสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของแผ่นเส้นอนุภาคนาโนเงินที่ผลิตได้ นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์โดยการผลิตไฮโดรเจลที่มีอนุภาคเงินจากโปรตีนเซอริซิน และศึกษาคุณสมบัติเชิงกายภาพและคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของไฮโดรเจลที่ผลิตได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เซอริซินเป็นโปรตีนที่เหลือทิ้งในกระบวนการทอผ้า แต่เนื่องจากเซอริซินมีสมบัติในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียและต้านการอักเสบ ตลอดจนมีสมบัติในการขึ้นรูปเป็นไฮโดรเจลได้ง่าย และสามารถผลิตเป็นแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ได้ ดังนั้นการผลิตไฮโดรเจลและแผ่นอิเล็กทรอนิกส์จากเซอริซินที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การยับยั้งแบคทีเรีย น่าจะเป็นการเพิ่มมูลค่าของโปรตีนดังกล่าวได้

1.5 กรอบแนวคิด



บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไหม

หนอนไหมจัดอยู่ในวงศ์ Bombycidae หรือ Saturniidae สามารถผลิตเส้นใยที่มีความเหนียวซึ่งเหมาะในการนำไปใช้ถักทอเป็นผ้าไหมที่มีความละเอียด ประณีต สวยงาม จนได้รับความสนใจทั้งในประเทศและต่างประเทศ ไหมจึงถือว่าเป็นแมลงเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ ในภาคอีสานพบว่ามีการเพาะเลี้ยงหนอนไหมเป็นจำนวนมาก เนื่องจากเพาะเลี้ยงได้ง่าย มีความแข็งแรงสูง อายุหนอนไหมสั้น สามารถเลี้ยงได้ตลอดทั้งปี หนอนไหมยังสามารถจำแนกตามชนิดของอาหาร แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ หนอนไหมที่กินใบหม่อนหรือกลุ่มมัลเบอร์รี่ (mulberry silkworms) และ หนอนไหมที่ไม่ได้กินใบหม่อนเป็นอาหารหรือกลุ่มที่ไม่ใช่มัลเบอร์รี่ (non-mulberry silkworms) (Kundu et al., 2008)

2.1.1 ไหมกลุ่มมัลเบอร์รี่

ในประเทศไทยคาดว่ามีการเลี้ยงไหมมานานกว่า 3000 ปี ไหมไทยพันธุ์พื้นเมืองที่เลี้ยงมาแต่โบราณมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Bombyx mori* จัดอยู่ในวงศ์ Bombycidae ซึ่งให้เส้นใยไหมที่มีคุณภาพสูง และมีขนาดเล็ก ไหมชนิดนี้ถูกเลี้ยงด้วยใบหม่อน (*Morus spp.*) สำหรับไหมพันธุ์พื้นเมืองของไทยที่ถูกส่งเสริมในเชิงครัวเรือนและอุตสาหกรรมคือ ไหมพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ และพันธุ์สำโรง สำหรับไหมพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ (ภาพที่ 2.1) มีลักษณะเด่นคือ เลี้ยงง่าย มีความแข็งแรงสูง อายุหนอนไหมสั้น เส้นไหมสาวได้ง่าย และมีสีเหลืองเข้ม สำหรับไหมพันธุ์สำโรง ซึ่งมีลักษณะเด่นคือ ให้ไขต่อแผ่นสูง ให้เส้นไหมสูงถึง 15–20 กิโลกรัม และเส้นไหมมีสีเหลือง นอกจากนี้ยังมีการผสมข้ามสายพันธุ์เพื่อเป็นการปรับปรุงพันธุ์ให้มีคุณภาพสูงขึ้น ซึ่งที่เลี้ยงกันอยู่ทั่วไปในปัจจุบันได้แก่ พันธุ์ไหมไทยลูกผสมอุบลราชธานี 60–35 (ดอกบัว) พันธุ์ไหมไทยลูกผสมสกลนคร พันธุ์ไหมไทยลูกผสมอุดรธานีและพันธุ์ไหมไทยลูกผสมสกลนคร 2 (กระทวงเกษตรและสหกรณ์, 2559)



ภาพที่ 2.1 ไหมไทยสายพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ (ศูนย์รวมผ้าไหมและผลิตภัณฑ์ผ้าไหมไทย, 2531)

2.1.2 ไหมกลุ่มที่ไม่ใช่มัดเบอร์รี่

มีรายงานการผลิตเส้นใยไหมจากหนอนไหมพันธุ์ที่พบตามธรรมชาติ ซึ่งหนอนไหมในวงศ์นี้จัดเป็นผีเสื้อกลางคืนอยู่ในวงศ์ Saturniidae มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย นี้ มีรายงานทั้งสิ้น 3 สกุล ได้แก่ ไหมทาทซาร์ ไหมมูก้า และไหมอีรี่ โดยหนอนไหมทาทซาร์ แบ่งเป็น 2 ชนิด ได้แก่ อินเดียทรอปิคอล ทาทซาร์ (Indian tropical tasar; *Antheraea mylitta*) หนอนไหมชนิดนี้จะกินใบของพืช *Terminalia arjuna*, *Terminalia tomentosa* และ *Sorea robusta* และอีกกลุ่มคือ ไชนิส เทมเพอเรท โอ๊ค ทาทซาร์ (Chinese temperate oak tasar; *Antheraea pernyi*) ซึ่งหนอนไหมชนิดนี้จะกินใบของพืช *Quercus* spp. และ *Philosamia* spp. ไหมมูก้า (*A. assamas*) ซึ่งกินใบของต้นอบเชย การบูร และเสียด (Assam, 2010; Bhardwaj et al., 2015; Kasoju et al., 2009; Kundu et al., 2008) สำหรับไหมอีรี่ (*Samia cynthia ricini*) ซึ่งกินใบต้นมันสำปะหลัง ฝรั่ง อ้อยช้าง และมะละกอเป็นอาหาร (Subramanian et al., 2013)

หนอนไหมอีรี่ แม้ว่าจะมีต้นกำเนิดจากประเทศอินเดีย แต่ในปัจจุบันประเทศไทยมีการส่งเสริมการเลี้ยงไหมอีรี่ เพื่อประโยชน์ทางอุตสาหกรรมสิ่งทอ เนื่องจากหนอนไหมอีรี่มีความแข็งแรงสูง เลี้ยงง่าย สามารถผลิตรังไหมรวมทั้งการสาวไหมได้โดยใช้วัสดุและเทคโนโลยีพื้นบ้าน รังไหมมีขนาดใหญ่ และเส้นใยมีความยืดหยุ่นสูง (ภาพที่ 2.2) และที่สำคัญคือ ไหมป่าอีรี่สามารถเลี้ยงด้วยใบมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นพืชที่ปลูกมากทางภาคอีสานของประเทศไทย

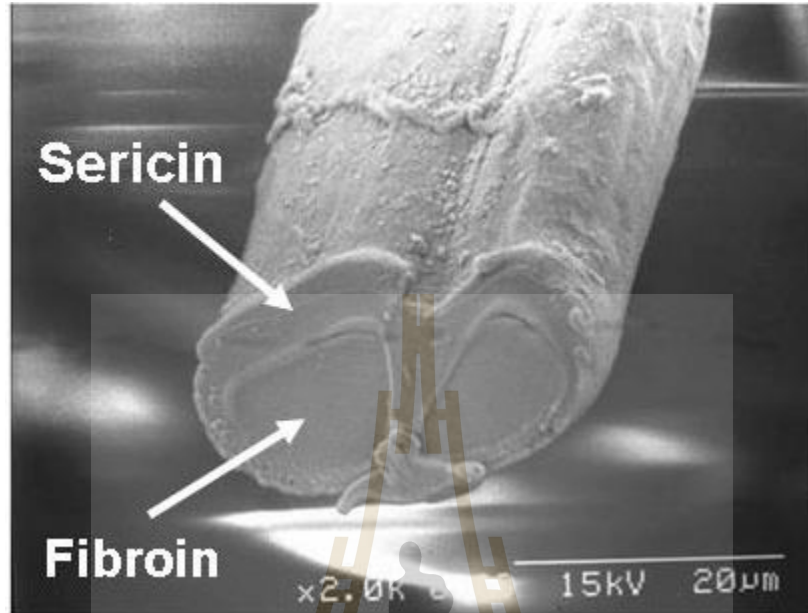


ภาพที่ 2.2 รังไหมอีรี่ (Assam, 2010)

2.2 โพรตีนไหม

ไหมเป็นโพรตีนเส้นใยที่ผลิตได้จากหนอนไหม ประกอบด้วยโพรตีน 2 ชนิด คือ โพรตีนไฟโบรอิน 75–85% และโพรตีนเซอริซิน 15–25% (Zhang, 2002) เซอริซินเป็นโพรตีนขาว ช่วยยึดโพรตีนไฟโบรอินให้เชื่อมติดกัน (ภาพที่ 2.3) ทำให้เกิดความเสถียรของโครงสร้างของรังไหม เซอริซินถูกหลั่งออกมาจากต่อมใต้สมองส่วนกลางของหนอนไหม ซึ่งประกอบไปด้วยสายพอลิเปปไทด์หลายขนาด ซึ่งอยู่ในช่วง 24–400 กิโลดาลตัน (Gamo et al., 1977; Michaille et al., 1986; Takasu et al., 2002; Tokutake, 1980) และเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโนในเซอริซินพบว่าประกอบด้วยกรดอะมิโน 18 ชนิด โดยชนิดที่พบมากที่สุดคือ เซอริน (40%) รองลงมาคือ ไกลซีน (16%) (Gamo et al., 1977; Michaille et al., 1986) ในอุตสาหกรรม

สิ่งทอต้องมีการกำจัดกาไหมทิ้ง เพื่อให้เส้นใยไหมมีความเรียบและมันวาว ซึ่งกาไหมนี้จะเป็นของเสียในอุตสาหกรรมสิ่งทอ แต่อย่างไรก็ตามปัจจุบันได้มีการศึกษาการนำเซอริซินไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ยา เป็นต้น

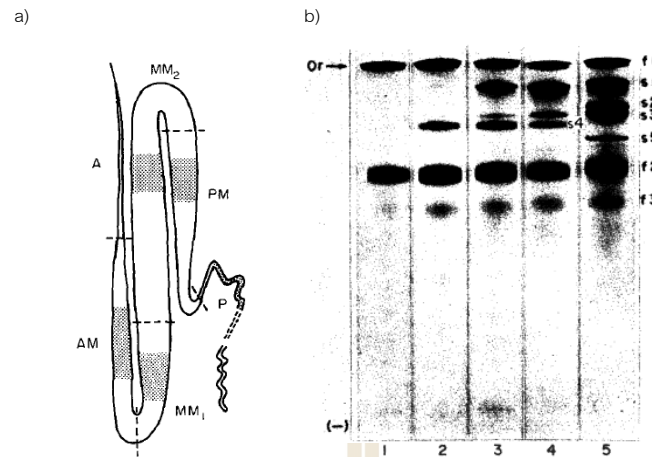


ภาพที่ 2.3 ภาพตัดขวางของเส้นไหม ที่ประกอบด้วยโปรตีนไฟโบรอินสองเส้นถูกรวมเข้าด้วยกันด้วยเซอริซิน ที่ห่อหุ้มอยู่ด้านนอก (Freddi et al., 2003)

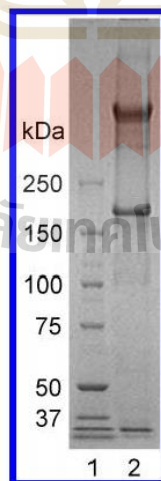
2.3 รายงานการสกัดเซอริซินของไหม

2.3.1 โปรตีนเซอริซินจากไหมในกลุ่มมัลเบอร์รี่

จากการศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนเซอริซินจากต่อมใต้สมองส่วนกลาง (middle silk gland; MSG) ของ *B. mori* (ภาพที่ 2.4a) เมื่อสกัดด้วย 0.35M Tris-HCl buffer, pH 8.6, 8M urea พบว่าประกอบด้วยสายพอลิเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 80 134 145 177 และ 309 กิโลดาลตัน โดยรายงานว่า พอลิเปปไทด์ของเซอริซิน 5 สาย ได้แก่ s-1 s-2 s-3 s-4 และ s-5 ซึ่งถูกหั่นออกมาจากส่วนของต่อม MSG ที่แตกต่างกัน โดย s-1 s-2 และ s-3 เป็นองค์ประกอบหลัก นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่า s-1 s-2 และ s-3 ถูกหั่นจากต่อมใต้สมองส่วนหลัง ส่วนกลาง และส่วนหน้าของ MSG ตามลำดับ (Tokutake, 1980) อย่างไรก็ตาม พบว่าขนาดของโปรตีนเซอริซินมีความแตกต่างไปเมื่อสกัดจากรังไหม ซึ่งมีขนาด 24 150 250 และ 400 กิโลดาลตัน ซึ่งสกัดด้วย 0.13 M-ethylene diamine/0.06 M-cupric hydroxide solution [19] นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงขนาดโปรตีนเซอริซินที่แตกต่างไป (250 และ 180 กิโลดาลตัน ดังแสดงในภาพที่ 2.5) เมื่อสกัดด้วย 8M LiBr (Teramoto and Miyazawa, 2005) จากข้อมูลข้างต้นทำให้คาดว่าหากได้แถบโปรตีนที่ไม่ครบถ้วนอันเนื่องมาจากการสกัด จะมีผลต่อกิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียของเซอริซิน



ภาพที่ 2.4 ต่อมไหมบริเวณต่าง ๆ ที่ถูกสกัด และผลการสกัดโปรตีนภายในต่อมไหม a) ต่อมไหมที่ ถูกแบ่ง ออกเป็นห้าส่วนโดยบริเวณที่นำมาสกัดโปรตีนคือบริเวณที่ระบายด้วยสีเทา โดยคำย่อ A: the anterior gland, AM: the anterior section in the middle gland, MM: the middle section in the middle gland, PM: the posterior section in the middle gland, P: the posterior gland และ b) การแยก โปรตีนที่สกัดจากต่อมไหมทั้งห้าตำแหน่ง โดย (1) the posterior gland; (2) the posterior section in the middle gland; (3) the rear part of the middle section in the middle gland; (4) the fore part of the middle section in the middle gland; (5) the anterior section in the middle gland ซึ่งคำย่อ f: fibroin และ s: sericin (Gamo et al., 1977)



ภาพที่ 2.5 แบบแผนโปรตีนเซอริซินสายพันธุ์ *B. mori* โดยแถวที่ 1 คือแถบโปรตีนมาตรฐาน และแถวที่ 2 คือแบบแผนโปรตีนเซอริซิน

2.3.2 โปรตีนเซอรีซินจากไหมกลุ่มที่ไม่ใช่มัดเบอร์รี่

จากการศึกษาโปรตีนเซอรีซินจากรังไหมในกลุ่มนี้ มีค่อนข้างจำกัด โดยพบรายงานเฉพาะ *P. ricini* (*S. c. ricini*) และ *A. assama* ว่ามีเซอรีซินขนาด 66 กิโลดาลตัน เมื่อสกัดด้วย 0.025 N NaOH (Ahmad et al., 2004) จากการศึกษาสมบัติทางชีวเคมีของโปรตีนเซอรีซิน พบว่าการสกัดโปรตีนเซอรีซินจากไหมต่างสายพันธุ์ จากบริเวณสกัดที่แตกต่างกัน และวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน ทำให้ได้แบบแผนโปรตีนเซอรีซินที่ต่างกักัน (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 รายงานการสกัดเซอรีซินของไหมต่างสายพันธุ์

สายพันธุ์	แหล่งที่มา	น้ำหนัก โมเลกุล (กิโลดาลตัน)	วิธีการสกัด	เอกสารอ้างอิง
<i>กลุ่มมัดเบอร์รี่</i>				
<i>B. mori</i>	ต่อมไหม	80–310	0.35 M Tris-HCl/8M urea	(Kasaju et al., 2009)
<i>B. mori</i>	รังไหม	24, 150, 250, 400	0.13 M ethylenediamine/ 0.06 M-cupric hydroxide solution	(Kasaju et al., 2009)
<i>B. mori</i>	รังไหม	180, >250	8 M LiBr	(Dash et al., 2008)
<i>กลุ่มที่ไม่ใช่มัดเบอร์รี่</i>				
<i>A. mylitta</i>	เพदनเคิล	200	1%SDS/ 2% beta-mercaptoethanol	(Minoura et al., 1995)
<i>A. assama</i>	รังไหม	66	0.025 N NaOH	[30]
<i>P. ricini</i>	รังไหม	66	0.025 N NaOH	(Ahn et al., 2001)

2.4 การใช้ประโยชน์จากเซอรีซิน

จากรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนเซอรีซิน พบว่าเซอรีซินประกอบด้วยกรดอะมิโนเซรีนประมาณ 30% ซึ่งเซอรีนเป็นองค์ประกอบที่มีอัตราส่วนสูงที่สุดในผิวหนังของมนุษย์ ดังนั้นจึงมีการนำเซอรีซินไปใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง เช่น สบู่ แชมพูสระผม ครีม โลชั่น หรือแม้แต่กระทั่งนำไปผลิตเป็นเส้นใยทอผ้า สำหรับผู้ที่มีผิวแพ้ง่าย เป็นต้น เซอรีซินยังมีสรรพคุณในการช่วยลดความดันโลหิต ลดระดับน้ำตาลในเลือด ช่วยกระตุ้นการปลูกผม เนื่องจากกรดอะมิโนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลัก 70% ของเซอรีซิน มีสมบัติที่สามารถดูดน้ำและพองตัว อีกทั้งยังสามารถละลายในน้ำร้อนได้ จึงสามารถยึดติดกับผิวหนัง ซึมซาบและรักษาความชุ่มชื้น

และเป็นที่น่าสนใจกว่าเซอร์ซินสามารถยึดติดและคงทนได้ดีกว่าคอลลาเจน อีกทั้งยังรักษาความชุ่มชื้นได้ยาวนานกว่า

ในการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการนำเซอร์ซินมาเชื่อมต่อกับยาเพื่อใช้ประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ โดยการเชื่อมต่อของเซอร์ซิน-แอล-แอสพาราจिनเนส (sericin-L-asparaginase) จะทำให้ความเสถียรของยาสูงขึ้น ยึดระยะเวลาการสลายตัว และลดการต่อต้านของระบบภูมิคุ้มกัน จึงถูกนำไปใช้เป็นยาต้าน โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว (lymphoblastic leukemia) (Zhang et al., 2004) และยังมีการใช้เซอร์ซิน เบต้า กลูโคซิเดส (sericin- β -glucosidase) เพื่อใช้เป็นกลูโคส เซ็นเซอร์ (glucose sensor) (Zhang, 2002) และ เซอร์ซิน-อินซูลิน (sericin-insulin) สำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน เพื่อช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้มีระยะเวลาในการสลายตัวเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังพบว่า ช่วยลดการต่อต้านของระบบภูมิคุ้มกันอีกด้วย (Dash et al., 2008)

2.5 โครงสร้างชีววัสดุและการประยุกต์ใช้โปรตีนเซอร์ซินทางการแพทย์

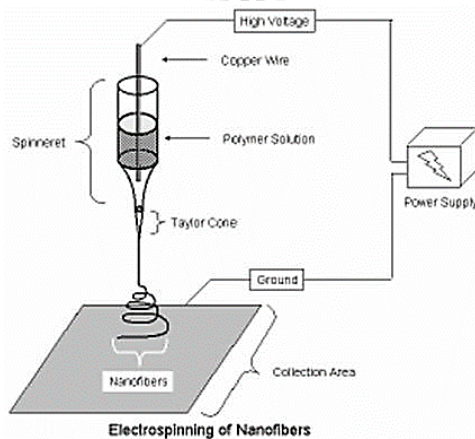
เซอร์ซินถูกนำมาใช้โครงสร้างสองมิติและสามมิติเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ การผลิตโครงสร้างเซอร์ซินและเซอร์ซินร่วมกับสารอื่น เช่น สาร PEG-ED ด้วยเทคนิค ฟริช ทรายอิ่ง (freeze-drying) (Teramoto and Miyazawa, 2005) สารพอลิอคริลิก แอซิด (poly(acrylic acid)) ด้วยเทคนิคฟิล์ม (Ahn et al., 2001) เป็นต้น จากรายงานที่ผ่านมาพบว่ามีการผลิตโครงสร้างสองมิติและสามมิติจากเซอร์ซิน ดังนี้ การผลิตแผ่นฟิล์มเซอร์ซินเพื่อใช้เป็นชีววัสดุในการเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ซึ่งพบว่าแผ่นฟิล์มเซอร์ซินช่วยให้เซลล์เกิดการยึดเกาะและการเจริญเติบโตได้ดีเช่นเดียวกับคอลลาเจน ซึ่งเหมาะสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Minoura et al., 1995) การศึกษาการผลิตแผ่นฟิล์มเซอร์ซินร่วมกับพอลิอคริลิก แอซิด (polyacrylic acid) เพื่อใช้เป็นชีววัสดุในการยึดเกาะของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ (Ahn et al., 2001) มีการนำแผ่นฟิล์มจากเซอร์ซินไปใช้เป็นกระจกตาเทียม (artificial cornea) ที่สามารถเกิดการแลกเปลี่ยนออกซิเจนได้เป็นอย่างดี จึงสามารถนำไปใช้เป็นคอนแทกซ์เลนส์ได้ และแผ่นฟิล์มจากเซอร์ซินยังมีความยืดหยุ่นสูงจึงนำไปประยุกต์ใช้เป็นหลอดเลือดเทียม (artificial blood vessels) (Zhang, 2002) การผลิตไฮโดรเจลจากเซอร์ซินและศึกษาการใช้ประโยชน์ในด้านระบบนำส่งยาและวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Huang et al., 2003) เมื่อทำการเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์บนขวดเลี้ยงเซลล์ที่เคลือบด้วยเซอร์ซิน พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง เซลล์มีการเจริญเพิ่มสูงขึ้น 250% เมื่อเปรียบเทียบกับขวดเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีการเคลือบด้วยเซอร์ซิน (Tsubouchi et al., 2005) การผลิตแผ่นฟิล์มเซอร์ซินเพื่อใช้เป็นชีววัสดุในการเลี้ยงเซลล์อีพิทีเลียล (epithelial cell) ซึ่งพบว่าแผ่นฟิล์มเซอร์ซินไม่เป็นพิษกับเซลล์และสามารถใช้เป็นวัสดุเลี้ยงเซลล์ได้ [31] การผลิตโครงสร้างรูพรุนที่ผลิตโดยเทคนิคฟริชทรายอิ่งระหว่างเซอร์ซินร่วมกับเจลาติน พบว่าเมื่อเลี้ยงเซลล์บนโครงสร้างสามมิติ เซลล์มีการเจริญเติบโตได้ตามปกติ มีผลต่อการอักเสบต่ำ ดังนั้นจึงเหมาะแก่การนำไปประยุกต์ใช้เป็นชีววัสดุ (Mandal et al., 2009) การผลิตไฮโดรเจลจากเซอร์ซินร่วมกับพอลิเมอร์พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ พบว่าเซลล์มีการยึดเกาะและสามารถเจริญเติบโตได้มากกว่าเซลล์ที่เลี้ยงบนโครงสร้างพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ไม่เพียงแต่เจริญที่ผิวเซลล์ แต่ยังมีมีการเจริญภายในรูพรุนอีกด้วย ดังนั้นโครงสร้างที่ผลิตนี้สามารถ

นำไปใช้ประโยชน์เป็นวัสดุทางการแพทย์และวัสดุปิดแผลได้ (Mandal et al., 2011) และการผลิตแผ่นฟิล์มผสมระหว่างเซอริซินร่วมกับคอลลาเจนที่อัตราส่วน 1 ต่อ 2 พบว่าทำให้การแลกเปลี่ยนอากาศได้ดี ดังนั้นจึงเหมาะแก่การประยุกต์ใช้เป็นวัสดุปิดแผล (Akturk et al., 2011) การผลิตเส้นใยนาโน อิเล็กโตรสปินจากเซอริซิน โดยเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเส้นใย (Zhang et al., 2012) แต่อย่างไรก็ตาม การผลิตโครงสร้างแผ่นเส้นใยนาโนอิเล็กโตรสปินยังไม่มีการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพ

แม้จะมีการศึกษาประสิทธิภาพของเซอริซินในยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย แต่ยังไม่มียางานการเปรียบเทียบแบบแผนของโปรตีนเซอริซินที่สกัดได้จากไหมต่างสายพันธุ์และวิธีที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังไม่มียางานถึงการผลิตเส้นใยนาโนอิเล็กโตรสปินจากเซอริซินที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

2.6 อิเล็กโตรสปินนิ่ง

เทคนิคอิเล็กโตรสปินนิ่ง เป็นที่รู้จักตั้งแต่ปี ค.ศ. 1930 และเป็นที่รู้จักอย่างแพร่หลายในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา เป็นเทคนิคที่ใช้ในการผลิตแผ่นเส้นใยที่มีราคาถูก ผลิตได้ง่าย และขนาดของเส้นใยสามารถผลิตได้ตั้งแต่ขนาดประมาณ 10 นาโนเมตร จนถึงระดับซึบไมโครเมตร (Bhardwaj and Kundu, 2010; Liang et al., 2007; Lowery et al., 2010) โดยระบบของ อิเล็กโตรสปินนิ่ง ประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 3 ส่วนคือ แหล่งกำเนิดศักย์ไฟฟ้ากำลังสูง หลอดบรรจุสารละลายที่ติดเข็มโลหะ และวัสดุรองรับที่เป็นโลหะ (ภาพที่ 2.6) เมื่อไม่ให้ศักย์ไฟฟ้ากำลังสูงแก่ระบบบริเวณปลายเข็มโลหะจะมีการรวมตัวของสารละลายโพลิเมอร์ที่มีลักษณะเป็นหยดรูปครึ่งทรงกลม อันเกิดจากแรงตึงผิว (surface tension) เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าบริเวณส่วนปลายของเข็มโลหะทำให้เกิดประจุที่ผิวของสารละลาย และเกิดแรงผลักทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic repulsion) ขึ้นในทิศตรงข้ามกับแรงตึงผิว เมื่อระบบสามารถเอาชนะแรงตึงผิวของสารละลายโพลิเมอร์จะทำให้สารละลายโพลิเมอร์มีลักษณะเป็นรูปร่างทรงกรวย หรือเรียกว่า กรวยของเทเลอร์ (Taylor's cone) เมื่อสนามไฟฟ้าที่ให้แก่ระบบมีค่ามากขึ้นจนกระทั่งถึงค่าวิกฤตหนึ่งจะเกิดแรงขับเคลื่อนให้สารละลายพุ่งออกมาเป็นสาย (solution jet) ออกจากปลายเข็ม ซึ่งสารละลายโพลิเมอร์ที่ถูกยืดออกเป็นเส้นใยระดับนาโนเมตรตกลงบนวัสดุรองรับ ลักษณะของเส้นใยที่ได้เป็นเส้นใยแบบเข็มโลหะจะเกิดไม่ถักทอหรือเส้นใยแบบถักทอ ขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุรองรับ



ภาพที่ 2.6 ส่วนประกอบของเครื่องอิเล็กโตรสปินนิ่ง (Liang et al., 2007)

เส้นใยนาโนที่ได้มีคุณสมบัติที่ดีคือมีพื้นที่ผิวสัมผัสต่อมวลมาก มีรูพรุนทำให้อากาศผ่านเข้าออกได้ดี (Min et al., 2004) ดังนั้นจึงมีการนำมาประยุกต์ใช้แผ่นเส้นใยที่ผลิตด้วยวิธีการดังกล่าวในหลายด้าน ได้แก่ 1) ด้านการทหาร เช่น การประดิษฐ์ชุดป้องกันอาวุธเคมีและอาวุธชีวภาพของทหาร 2) ด้านสิ่งแวดล้อม เช่น วัสดุกรองอนุภาคระบบบำบัดน้ำเสีย 3) ด้านวิศวกรรมอิเล็กทรอนิกส์และพลังงาน เช่น ตัวตรวจจับความก๊าซและร้อน 4) ด้านผลิตภัณฑ์เสริมความงาม เช่น เครื่องสำอาง และ 5) ด้านการแพทย์ เช่น ชีววัสดุทางการแพทย์ (biomedical nanostructure) การปลดปล่อยยา (drug release) การตรึงเอนไซม์ (enzyme immobilization) การทำวิศวกรรมเนื้อเยื่อ และการทำวัสดุรักษาบาดแผล (Noh et al., 2006; Rho et al., 2006; Tokutake, 1980) เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การนำโครงร่างเส้นใยไปใช้เป็นวัสดุปิดแผล เนื่องจากโครงร่างเส้นใยจะซ้อนทับกันแบบไม่ถักทอ ที่คล้ายกับ extracellular matrix (ECM) ทำให้เซลล์สามารถเข้ายึดเกาะและเจริญได้ดี นอกจากนี้แผ่นเส้นใยนาโนอิเล็กทรอนิกส์ยังมีอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรและจำนวนรูพรุนที่สูง การที่มีรูพรุนจำนวนมากช่วยให้มีการแลกเปลี่ยนสารอาหาร และมีการสื่อสารระหว่างเซลล์ได้ดี ทำให้กระบวนการรักษาบาดแผลเกิดขึ้นได้ดี แม้จำนวนรูพรุนของแผ่นเส้นใยนาโนอิเล็กทรอนิกส์จะมีมาก แต่มีขนาดเล็กกว่าขนาดของแบคทีเรีย จึงสามารถทำหน้าที่ป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียจากภายนอกได้ นอกจากนี้แผ่นเส้นใยนาโนอิเล็กทรอนิกส์ยังสามารถผลิตได้จากสารโพลีเมอร์สังเคราะห์และโพลีเมอร์ธรรมชาติจำนวนมาก

2.7 อนุภาคนาโนซิลเวอร์

อนุภาคนาโนคือ อนุภาคที่มีขนาดอยู่ระหว่าง 1–100 นาโนเมตร โดยอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้นั้นมีรูปร่างและอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่แตกต่างกันออกไป ส่งผลต่อคุณสมบัติเฉพาะตัวของอนุภาคนาโน ซึ่งคุณสมบัติเฉพาะตัวนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในหลายด้าน เช่น การแพทย์ อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมผงซักฟอก เป็นต้น

อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกัน ส่งผลให้แสดงสมบัติที่แตกต่างกันด้วย เช่น สมบัติในการดูดกลืนแสง อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นประมาณ 420 นาโนเมตร แสดงถึงอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีรูปร่างกลม (Vigneshwaran et al., 2006) เป็นต้น นอกจากนี้อนุภาคนาโนซิลเวอร์ยังมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย จึงพบว่ามี การนำไปประยุกต์ใช้งานกับผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์หลายชนิดที่ต้องการให้ผลิตภัณฑ์มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เช่น แผ่นปิดแผล ถุงเท้าที่เคลือบด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ และผงซักฟอกที่ช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและลดกลิ่นอับ เป็นต้น

สำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์นั้น ใช้ซิลเวอร์ในเตรตเป็นสารตั้งต้น ซึ่งเมื่ออยู่ในรูปของสารละลายจะแตกตัวเป็นไอออนในรูป Ag^+ และ NO^- และการที่จะเกิดการสร้างเป็นอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้นั้น โมเลกุลจะอยู่ในรูป Ag^0 ดังนั้นจึงต้องมีการเติมสารบางชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) คือสามารถให้อิเล็กตรอนแก่สารอื่นได้ ทำให้ Ag^+ กลายเป็นอะตอม Ag^0 และเกิดเป็นอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ (Bhaduri et al., 2013)

2.8 การประยุกต์ใช้อุณหภูมิโนซิลเวอร์

อุณหภูมิโนซิลเวอร์ถูกนำมาประยุกต์ใช้งานอย่างกว้างขวางด้วยคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทำให้มีการผลิตอุณหภูมิโนซิลเวอร์ปริมาณมากเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมที่ต้องระวังการปนเปื้อนหรือติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น อุตสาหกรรมสุขภาพ อุตสาหกรรมภาชนะบรรจุอาหาร และอุตสาหกรรมสิ่งทอ เป็นต้น ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์มีส่วนผสมของอุณหภูมิโนซิลเวอร์ ได้แก่ แผ่นปิดแผลที่มีอุณหภูมิโนซิลเวอร์ มีการใช้งานในทางการแพทย์มาแล้วมากกว่า 1 ทศวรรษ และนำมาทดสอบกับแผลหลายชนิดเช่น แผลไฟไหม้ แผลเปื่อยเรื้อรัง และแผลผิวหนังอักเสบ ผลการทดสอบพบว่าแผ่นปิดแผลที่มีอุณหภูมิโนซิลเวอร์สามารถลดระยะเวลาการฟื้นตัวของบาดแผลได้ 3.35 วันและลดการติดเชื้อของบาดแผลเนื่องจากแบคทีเรียเมื่อเปรียบเทียบกับการพันผ้าพันแผลแบบธรรมดา (Huang et al., 2007)

สายหรือท่อที่ใช้สอดเข้าไปในร่างกาย (Catheters) เป็นอุปกรณ์ทางการแพทย์สำหรับใช้ในโรงพยาบาล ทำให้มีโอกาสติดเชื้อได้สูง นำไปสู่การทดลองใช้อุณหภูมิโนซิลเวอร์เคลือบที่บริเวณผิวของสายที่ใช้สอดเข้าไปในร่างกาย ผลการทดลองพบว่าสายที่ได้รับการเคลือบด้วยอุณหภูมิโนซิลเวอร์สามารถลดการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยทำการทดสอบกับสัตว์ทดลอง นอกจากนี้ผลการศึกษาในหนูทดลองยืนยันว่าสายที่ใช้สอดเข้าไปในร่างกายที่เคลือบด้วยอุณหภูมิโนซิลเวอร์ไม่เป็นพิษต่อหนูทดลอง (Paladini et al., 2013; Roe et al., 2008)

วัสดุทางด้านทันตกรรม อุณหภูมิโนซิลเวอร์ถูกประยุกต์ใช้ในอุปกรณ์ทันตกรรมโดยมีการเติมอุณหภูมิโนซิลเวอร์ในอุปกรณ์ที่ใช้ยึดในทันตกรรมจัดฟัน เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในบริเวณที่วัสดุทันตกรรมจัดฟันปิดทับอยู่ พบว่าอุปกรณ์ทันตกรรมที่มีส่วนผสมของอุณหภูมิโนซิลเวอร์สามารถลดการเจริญของแบคทีเรีย *Streptococcus milleri* แบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* ได้ (Magalhes et al., 2012)

2.9 การสังเคราะห์อุณหภูมิโนซิลเวอร์โดยใช้เทคโนโลยีสีเขียว (Green technology)

การสังเคราะห์อุณหภูมิโนซิลเวอร์ มีวิธีการสังเคราะห์ทั้งวิธีทางเคมีและกายภาพ โดยวิธีทางเคมีจำเป็นต้องใช้สารเคมีที่เป็นพิษในกระบวนการสังเคราะห์ ซึ่งมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้มีความคิดริเริ่มในการพัฒนาเพื่อหาวิธีการสังเคราะห์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยการนำสารชีวภาพมาใช้ในการสังเคราะห์อุณหภูมิโนซิลเวอร์ เช่น สารสกัดจากพืช หรือสารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสิ่งมีชีวิต ซึ่งในปฏิกิริยาสารชีวภาพเหล่านี้จะทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์และสารที่ทำให้คงตัวแทนการใช้สารเคมี จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยเทคโนโลยีสีเขียวเป็นผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม (Ahmad and Sharma, 2012)

การสังเคราะห์อุณหภูมิโนซิลเวอร์โดยใช้สารสกัดจากพืช เป็นการสังเคราะห์อุณหภูมิโนซิลเวอร์โดยใช้สารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของพืชรวมไปถึงสารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบ เช่น เอนไซม์ โปรตีน กรดอะมิโน และพอลิแซคคาไรด์บางชนิดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ไอออนของโลหะไปเป็นอุณหภูมิโนซิลเวอร์ของโลหะ ตัวอย่างพืชที่มีการศึกษานำสารสกัดมาสังเคราะห์อุณหภูมิโนซิลเวอร์ เช่น เปลือกมะม่วง (*Mangifera*

indica) ใบชา (*Camellia sinensis*) ผลมะละกอ (*Carica papaya*) เปลือกต้นมะเดื่อชุมพร (*Ficus racemose*) และใบกะเพรา (*Ocimum tenuiflorum*) เป็นต้น (Ahmed et al., 2016)

2.10 ไฮโดรเจล

ไฮโดรเจลคือ การสร้างพันธะกันเป็นโครงร่างสามมิติของพอลิเมอร์ มีลักษณะเป็นโครงตาข่ายและมีน้ำแทรกตัวอยู่ในโครงร่าง ทำให้มีคุณสมบัติเป็นสารที่มีความชื้น นุ่ม โปร่งใส และสามารถดูดซับของเหลวได้สูง ซึ่งไฮโดรเจลทั่วไปสามารถเตรียมได้จากพอลิเมอร์ธรรมชาติและพอลิเมอร์สังเคราะห์ ตัวอย่างไฮโดรเจลที่ผลิตจากพอลิเมอร์ธรรมชาติ เช่น พอลิแซคคาไรด์ และพอลิเปปไทด์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อยสลายได้เองโดยกระบวนการทางชีวภาพ และสามารถส่งเสริมกิจกรรมภายในเซลล์ ส่วนไฮโดรเจลที่ผลิตจากพอลิเมอร์สังเคราะห์ เช่น พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol) พอลิอะครีลิก แอซิด (polyacrylic acid) และพอลิเอททิลีน ไกลคอล (polyethylene glycol) ไม่มีคุณสมบัติส่งเสริมกิจกรรมทางชีวภาพและอาจก่อให้เกิดอาการอักเสบต่อเนื้อเยื่อได้เล็กน้อย (Shi et al., 2015)

จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการผลิตโครงร่างเส้นใยนาโนอิเล็กทรอนิกส์พอลิเมอร์ธรรมชาติกันอย่างแพร่หลาย แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานถึงการผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์พอลิเมอร์เพื่อใช้เป็นวัสดุที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เพื่อพัฒนาไปสู่การใช้เป็นวัสดุปิดแผลที่มีสมบัติเร่งการหายของบาดแผลและสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย



บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 การสกัดเซอริซินจากรังไหม

3.1.1 การสกัดเซอริซินจากไหมบ้าน

การสกัดโปรตีนจากรังไหมบ้าน *Bombyx mori* (สายพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ) แบ่งเป็น 2 วิธี คือ การสกัดด้วยน้ำและโซเดียมคาร์บอเนต โดยใช้รังไหมน้ำหนัก 5 กรัม ตัดให้เป็นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ สกัดโปรตีนเซอริซินโดยใช้น้ำ 200 มิลลิลิตร ในอัตราส่วนระหว่างรังไหมต่อน้ำ 1:30 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 60 นาที และสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.5% ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นกรองรังไหมส่วนที่ไม่ละลายทิ้ง สารสกัดโปรตีนที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 วิธีนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 วัดความเข้มข้นของโปรตีนที่สกัดได้โดยใช้ Bradford protein assay (Bio-Rad, USA) จากนั้นตรวจสอบขนาดของโปรตีนที่สกัดได้โดยใช้ 4–16% gradient sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) ใช้กระแสไฟฟ้า 30 มิลลิแอมแปร์ เป็นเวลา 60 นาที ย้อมสีด้วย Coomassie brilliant blue R-250 เพื่อดูรูปแบบของโปรตีน

3.1.2 การสกัดเซอริซินจากรังไหมอิตาลี (*S. c. ricini*)

การสกัดโปรตีนจากรังไหมอิตาลีแบ่งเป็น 2 วิธี คือการสกัดด้วยน้ำและสกัดด้วยโซเดียมคาร์บอเนต รังไหมอิตาลีชั่งน้ำหนัก 5 กรัม ตัดให้เป็นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ จากนั้นสกัดโปรตีนเซอริซินจากไหมอิตาลีด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 60 นาที และสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.5% ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำรังไหมส่วนที่ไม่ละลายทิ้ง สารสกัดโปรตีนที่ได้จากทั้ง 2 วิธี นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 วัดความเข้มข้นของโปรตีนที่สกัดได้โดยใช้ Bradford protein assay จากนั้นตรวจสอบขนาดของโปรตีนที่สกัดได้โดยใช้ 4–16% SDS-PAGE โดยใช้กระแสไฟฟ้า 30 มิลลิแอมแปร์ เป็นเวลา 60 นาที ย้อมสีด้วย Coomassie brilliant blue R-250 เพื่อศึกษารูปแบบของโปรตีน

3.2 การสกัดไฟโบรอินจากรังไหม

นำรังไหมมากำจัดโปรตีนกาวหรือเซอริซินด้วยสารละลาย 0.5% Na_2CO_3 ในอัตราส่วนรังไหมต่อสารละลาย 1:50 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 80 °ซ จากนั้นสกัดไฟโบรอินด้วยสารละลาย Ajisawa's solution (calcium chloride : methanol : water ในอัตราส่วน 1:2:8 โมล) โดยใช้ไหมต่อสารละลาย 1:30 (น้ำหนัก/ปริมาตร) จากนั้นกำจัดเกลือที่ใช้สกัดโปรตีนด้วยการไดอะไลซิส (dialysis) ในน้ำกลั่น วัดความเข้มข้นของโปรตีนที่สกัดได้โดยใช้ Bradford protein assay และหาน้ำหนักแห้งของโปรตีน จากนั้นตรวจสอบขนาดของโปรตีนที่สกัดได้โดยใช้ 4–16% SDS-PAGE

3.3 การศึกษาการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของโปรตีนเซอร์ซิน

เมื่อนำสารสกัดเซอร์ซิน มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยใช้ *Staphylococcus aureus* เป็นตัวแทนของแบคทีเรียแกรมบวก และ *Escherichia coli* เป็นตัวแทนของแบคทีเรียแกรมลบ โดยใช้วิธี agar-well diffusion assay ได้เตรียมความเข้มข้นเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นให้ได้ 1×10^8 colony forming unit (CFU) ต่อมิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงแบบเหลว Mueller Hinton (MH) และทำการกระจายเซลล์แบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เตรียมสารละลายเซอร์ซินที่สกัดได้ โดยการกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร จากนั้นปิเปตสารละลายเซอร์ซินที่ได้จากการสกัดทั้งแบบน้ำและแบบโซเดียมคาร์บอเนตปริมาณ 40 ไมโครกรัม ลงบนกระดาษกรอง วางบนจานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ในการทดลองนี้ใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลิน และน้ำกลั่น เป็นชุดควบคุมเชิงบวกและชุดควบคุมเชิงลบ ตามลำดับ จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงยับยั้งแบคทีเรียซึ่งปรากฏเป็นวงใส แต่ละสถานะใช้ 3 ตัวอย่าง ในการทดลองเพื่อหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และแต่ละการทดลองมีการทำซ้ำ 2 ครั้ง เพื่อยืนยันผลการทดลอง

3.4 การผลิตแผ่นเส้นโครงร่างจากโปรตีนเซอร์ซิน

3.4.1 เทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

ในการผลิตโครงร่างด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโครงร่างคือ ความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ อัตราไหลของสารละลาย ความต่างศักย์ ระยะห่างระหว่างเข็มฉีดยาและวัสดุรองรับ และชนิดของวัสดุรองรับ ซึ่งในการทดลองได้กำหนดปัจจัยต่อไปนี้คงที่ คือ ระยะห่างระหว่างเข็มฉีดยาและวัสดุรองรับ และชนิดวัสดุรองรับเป็นแบบแกนหมุน โดยปรับสภาวะเฉพาะ ค่าความเข้มข้นของสารละลาย อัตราไหล และความต่างศักย์ โดยในการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายทำโดยเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็งและการดึงน้ำออกด้วย polyethylene glycol (PEG)

3.4.2 เทคนิคการตกตะกอนโปรตีน

จากการสังเกตพบว่าโปรตีนเซอร์ซินเกิดการเปลี่ยนสภาพเป็นของแข็งในแอลกอฮอล์ได้ง่าย ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ศึกษาวิธีใหม่ในการผลิตโครงร่างเซอร์ซินด้วยการผสมสารละลายเซอร์ซินในแอลกอฮอล์ในรูปแบบต่าง ๆ คือ วิธีที่ 1 การผสมสารละลายเซอร์ซินในแอลกอฮอล์ด้วยการ sonication เทส่วนผสมใน mold เพื่อขึ้นรูปแล้วระเหยแห้ง วิธีที่ 2 การสเปรย์สารละลายเซอร์ซินในแอลกอฮอล์ แล้วนำเม็ดเซอร์ซินที่ได้ไปเทใน mold เพื่อขึ้นรูปแล้วระเหยแห้ง และวิธีที่ 3 การผสมสารละลายเซอร์ซินในแอลกอฮอล์แล้วทำแห้งแบบเยือกแข็ง

3.5 การผลิตโครงสร้างไฟโบรอิน

3.5.1 การผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์

ผลิตเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากโปรตีนไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์ โดยมีการปรับความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ อัตราไหลของสารละลาย ความต่างศักย์ และระยะห่างระหว่างเข็มฉีดยาและวัสดุรองรับ โดยพอลิเมอร์ในการทดลองนี้คือสารละลายไฟโบรอิน และสารละลายไฟโบรอินที่ผสมกับอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ซึ่งในการทดลองได้กำหนดปัจจัยต่อไปนี้คือ ระยะห่างระหว่างเข็มฉีดยาและวัสดุรองรับ และชนิดวัสดุรองรับเป็นแบบแกนหมุน โดยปรับสภาวะเฉพาะ ค่าความเข้มข้นของสารละลาย อัตราไหล และความต่างศักย์

3.5.2 การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ทำการทดสอบสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ในการทดลองได้เตรียมแบคทีเรียให้มีความเข้มข้นที่ 1×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงแบบเหลว MH ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นใส่แผ่นเส้นใยที่ผลิตได้ ซึ่งตัดเป็นแผ่นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10×10 มิลลิเมตร บ่มแบคทีเรียและแผ่นเส้นใยที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นวัดจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย

3.6 การผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนเซอริซิน

3.6.1 สภาวะในการผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนเซอริซิน

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้โปรตีนเซอริซินของไหมนางน้อยและไหมอีรีในการทดลองนี้เป็นแบบ green synthesis กล่าวคือ ไม่ใช้สารเคมีในการทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์และสารให้ความคงตัว แต่ใช้โปรตีนเซอริซินทำหน้าที่ทั้งสอง โดยในการสังเคราะห์ใช้ปริมาตรสุทธิ 220 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วยเซอริซินความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 190 มิลลิลิตร น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 60°C โดยติดตามการเกิดอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่เวลา 6 12 24 และ 48 ชั่วโมง ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 300–900 นาโนเมตร ในการศึกษานี้ได้ทดลองเปรียบเทียบการใช้โปรตีนเซอริซินที่สกัดด้วยน้ำและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตด้วยเช่นกัน

3.6.2 สมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนซิลเวอร์

อนุภาคที่สังเคราะห์ได้ถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) ที่ 200 กิโลโวลต์ เพื่อหาขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้ โดยหยดสารแขวนลอยของอนุภาคที่สังเคราะห์ได้ 10 ไมโครลิตร ลงบนกริดทองแดงที่เคลือบด้วยคาร์บอน ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ก่อนที่จะทำการทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน และวัดขนาดของอนุภาคโดยใช้โปรแกรม Image

J โดยวัดจาก 120 อนุภาค เพื่อหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการสร้างกราฟการกระจายของขนาดอนุภาคโดยใช้โปรแกรม OriginPro 8.0 นอกจากนี้วิเคราะห์องค์ประกอบของอนุภาคด้วยเครื่องวิเคราะห์ธาตุเชิงพลังงาน (Energy Dispersive X-Ray Spectrometer, EDS) วิเคราะห์ระนาบผลึกที่เป็นองค์ประกอบของอนุภาคด้วยเทคนิค selected area electron diffraction (SAED) และเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ (X-ray diffraction, XRD)

3.6.3 คุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรีย

เจือจางสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์ได้ 9 ความเข้มข้น โดยเริ่มจากความเข้มข้นที่ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเจือจางลงครึ่งละสองเท่า การทดลองนี้ใช้แบคทีเรีย 2 ชนิดคือ *S. aureus* และ *E. coli* เป็นตัวแทนแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ตามลำดับ ในการทดลองได้เตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ 1×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ในอาหารเหลว Mueller Hinton (MH) จากนั้นได้ผสมเซลล์แบคทีเรียปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารเหลว MH ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดความขุ่นของแบคทีเรียโดยวัด optical density ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD600) โดยในแต่ละการทดลองใช้ตัวอย่างเท่ากับ 6 เพื่อหาค่าเฉลี่ยและเบี่ยงเบนมาตรฐาน และทำการทดลอง 2 ซ้ำ เพื่อยืนยันผลการทดลอง ในการหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) หรือค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สารทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ เป็นการวิเคราะห์จากค่า OD600 สำหรับการหาค่า minimum bactericidal concentration (MBC) หรือค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้ 99.99% ในการทดลองได้นำแบคทีเรียบ่มกับอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ความเข้มข้น MIC และสูงกว่าอีก 2 ค่า มากระจายบนอาหาร MHA agar จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง และบันทึกผลโดยดูการเติบโตของเชื้อทดสอบบนพื้นผิวของอาหารดังกล่าว และนับจำนวนโคโลนี

3.7 การสังเคราะห์ไฮโดรเจลและไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากเซอร์จีนและไฟโบรอิน

3.7.1 การสังเคราะห์ไฮโดรเจลและไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์

สังเคราะห์ไฮโดรเจลโดยใช้โปรตีนไฟโบรอินหรือเซอร์จีนความเข้มข้น 1% การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO_3) เป็นสารตั้งต้น จากนั้นนำโปรตีนที่ได้รับการผสมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในอัตราส่วนเซอร์จีนต่อสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเท่ากับ 3 ต่อ 1 โดยปริมาตร นำสารละลายผสมใส่ในแม่พิมพ์ และบ่มภายใต้สภาวะที่มีแสงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ความเข้มแสงประมาณ 450 ลักซ์) จากนั้นนำตัวอย่างบางส่วนไปบดและกระจายในน้ำก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 300–900 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อยืนยันการเกิดอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากค่า surface plasmon resonance peak

3.7.2 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนซิลเวอร์

ในโครงการวิจัยนี้ ทำการศึกษาขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscopy (SEM), Phenom-World, Netherland) โดยการนำไฮโดรเจลไปอบให้แห้งโดยใช้อุณหภูมิ 40 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไฮโดรเจลที่อบแห้งแล้วไปศึกษาภายใต้กล้อง โดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ และใช้กำลังขยาย 15,000 เท่า ศึกษาองค์ประกอบธาตุของไฮโดรเจลที่สังเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ โดยใช้เทคนิค Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDX) และศึกษาโครงสร้างผลึกของอนุภาคนาโนซิลเวอร์เพื่อบ่งชี้เอกลักษณ์ของธาตุเงินโดยใช้เครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคชัน (X-ray Diffractometer (XRD), Bruker, UK) โดยนำไฮโดรเจลวางบนกระจกใสแล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 12 ชั่วโมงจากนั้นจึงนำตัวอย่างไปวิเคราะห์

3.7.3 การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในวิธี agar well diffusion โดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ แบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* แบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* และแบคทีเรียก่อสิว *Propionibacterium acnes* สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ได้ปรับความเข้มข้นเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นให้ได้ 1×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร จากนั้นวางไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร และสูง 4 มิลลิเมตร บนจานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* ได้เตรียมความเข้มข้นเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นให้ได้ 1×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร จากนั้นวางไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์บนจานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่ไม่มีก๊าซออกซิเจน โดยใช้ไนโตรเจนเชื้อปราศจากออกซิเจนและใช้ Anaerocult® A Merck ซึ่งบรรจุสารที่จับกับออกซิเจนและสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้บรรยากาศภายในโด

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติ

ในการทดลองแต่ละครั้งมีการใช้จำนวนตัวอย่างอย่างน้อย 3 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละคู่ของค่าสังเกตด้วยวิธีของ Tukey โดยค่าที่ $p < 0.05$ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

3.9 สถานที่เก็บข้อมูล

อาคารเครื่องมือ 1 และ 2 (F1 และ F2) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

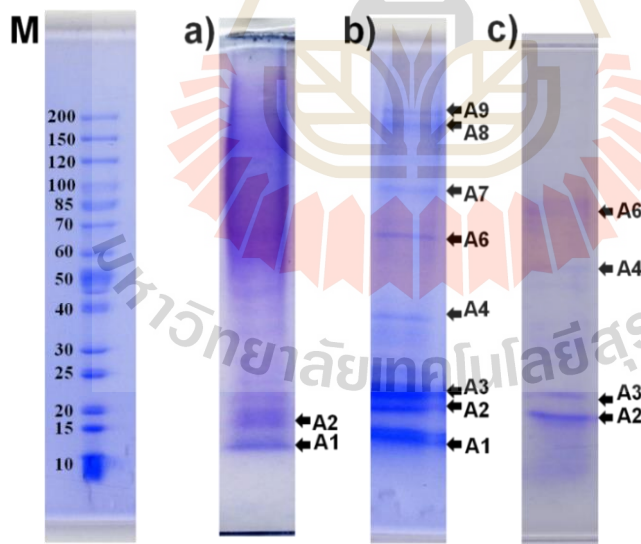
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปราย

4.1 สารสกัดเซอริซินจากรังไหมและฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย

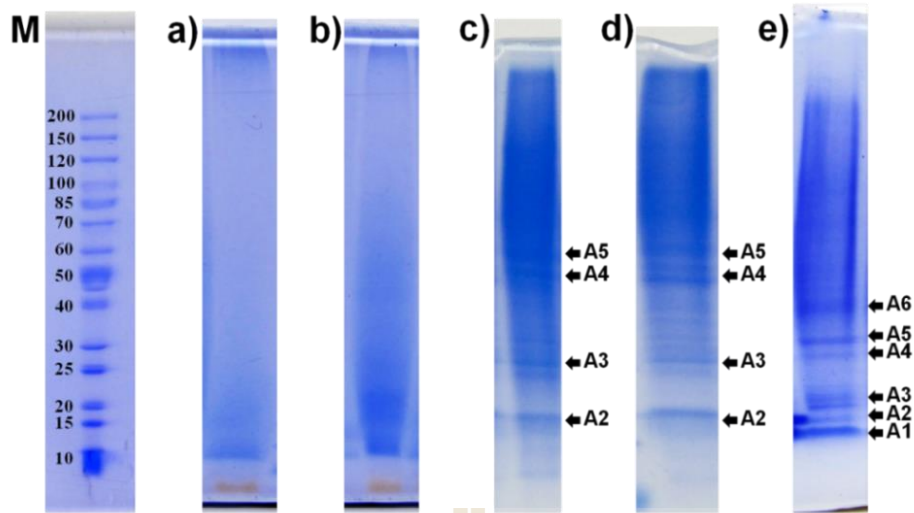
ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนเซอริซินจากไหมบ้านและไหมออร์แกนิกที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำกลั่นและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.25% และ 0.50% โดยใช้อุณหภูมิในช่วง 60–100 °ซ และระยะเวลา 10–90 นาที

4.1.1 การสกัดเซอริซินจากไหมบ้าน (*B. mori*)

ผลการสกัดเซอริซินจากรังไหมบ้านด้วยน้ำในสภาวะต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 4.1 และตารางที่ 4.1 ในการสกัดเซอริซินจากไหมบ้านด้วยน้ำ พบว่าสภาวะที่สกัดเซอริซินได้แถบโปรตีนจำนวนมากที่สุด คือ การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งได้โปรตีนขนาดประมาณ 15 20 25 40 70 120 150 และ 200 กิโลดาลตัน (เรียกว่า A1 A2 A3 A4 A6 A7 A8 และ A9 ตามลำดับ) ส่วนสภาวะต่าง ๆ ที่ใช้ในการสกัดเซอริซินจากไหมบ้านด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตพบว่าได้จำนวนแถบโปรตีนน้อยกว่าการสกัดด้วยน้ำ (ภาพที่ 4.2 และตารางที่ 4.1) นอกจากนี้พบว่าการใช้อุณหภูมิในช่วง 60–80 °ซ สามารถสกัดโปรตีนเซอริซินออกมาได้ในรูปแถบโปรตีนที่มีการสลายตัวไม่มาก แต่หากใช้อุณหภูมิที่สูงกว่าช่วงดังกล่าว พบว่าโปรตีนที่สกัดได้จะอยู่ในรูปโปรตีนที่ถูกสลาย (degraded proteins) ในทางตรงกันข้ามหากใช้อุณหภูมิต่ำกว่าช่วงดังกล่าว พบว่าสกัดได้แถบโปรตีนเซอริซินจำนวนน้อยลง เซอริซินที่สกัดได้ถูกนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze-drying) และนำไปใช้ทดสอบสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียต่อไป



ภาพที่ 4.1 รูปแบบของโปรตีนเซอริซินที่สกัดจากไหมบ้านด้วยน้ำ โดย a คือ การสกัดเซอริซินที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 60 นาที สำหรับ b คือ การสกัดเซอริซินที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 10 นาที และ c คือ การสกัดเซอริซินที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 10 นาที โดย M คือโปรตีนมาตรฐาน และ A1-A9 คือโปรตีนขนาดต่าง ๆ ที่พบบน 6–15% linear gradient SDS-PAGE



ภาพที่ 4.2 รูปแบบของโปรตีนเซอร์ริซินที่สกัดได้จากไหมบ้านด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต โดย a คือ การสกัดเซอร์ริซินด้วยสารละลาย 0.25% ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 90 นาที สำหรับ b คือ การสกัดเซอร์ริซินด้วยสารละลาย 0.25% ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 20 นาที สำหรับ c คือ การสกัดเซอร์ริซินด้วยสารละลาย 0.50% ที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 30 นาที สำหรับ d คือ การสกัด เซอร์ริซินด้วยสารละลาย 0.50% ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และ e คือ การสกัดเซอร์ริซินด้วยสารละลาย 0.50% ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 10 นาที โดย M คือโปรตีนมาตรฐาน และ A1-A6 คือโปรตีนขนาดต่าง ๆ ที่พบบน 6–15% linear gradient SDS-PAGE

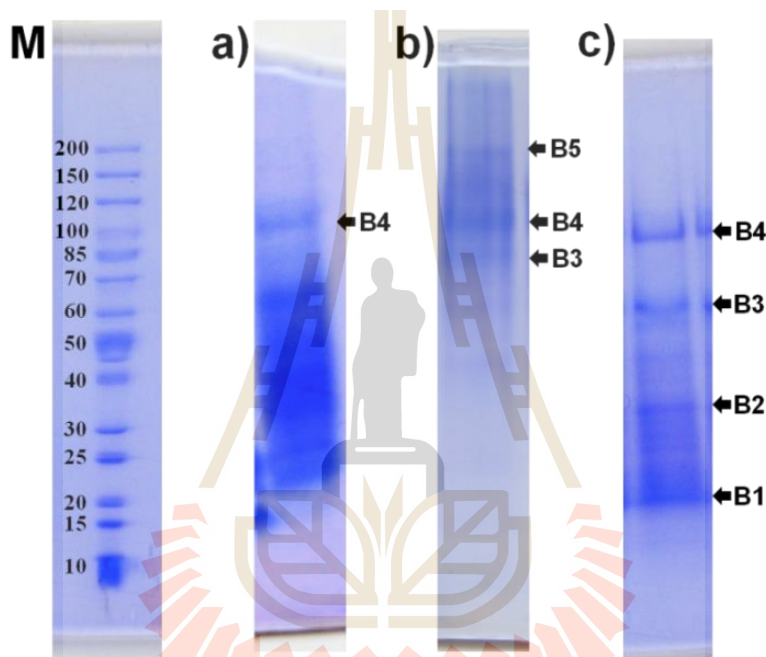
ตารางที่ 4.1 ผลการสกัดเซอร์ริซินจากไหมบ้านด้วยน้ำและโซเดียมคาร์บอเนต

สารสกัด	ความเข้มข้น (%)	อุณหภูมิ (°ซ)	เวลา (นาที)	แถบโปรตีนเซอร์ริซินที่สกัดได้								
				A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9
น้ำ	—	100	60	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	—	80	10	+	+	+	+	—	+	+	+	+
	—	60	10	—	+	+	+	—	+	—	—	—
Na ₂ CO ₃	0.25%	100	90	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.25%	100	30	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.50%	80	30	—	+	+	+	+	—	—	—	—
	0.50%	60	30	—	+	+	+	+	—	—	—	—
	0.50%	60	10	+	+	+	+	+	+	—	—	—

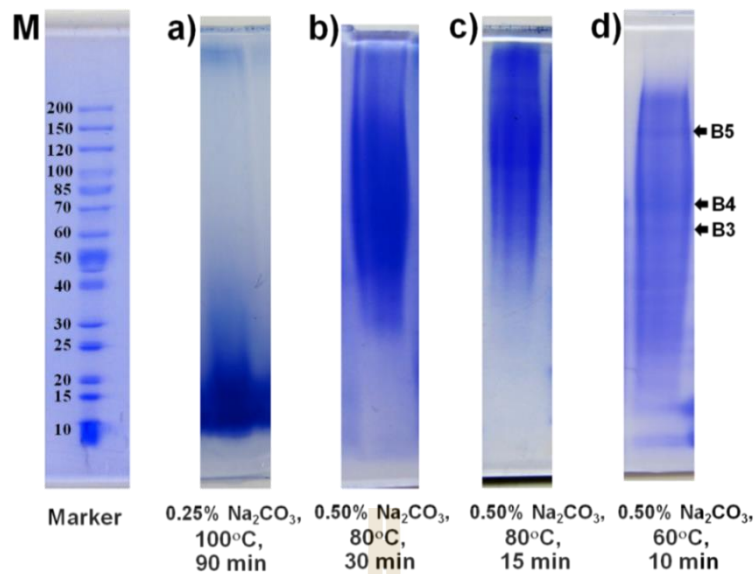
หมายเหตุ: A1-A9 คือแถบโปรตีนขนาดประมาณ 15 20 25 40 50 70 120 150 และ 200 กิโลดาลตัน ตามลำดับเครื่องหมาย “+” หมายถึง พบโปรตีนดังกล่าว และเครื่องหมาย “—” หมายถึงไม่พบโปรตีนดังกล่าว

4.1.2 การสกัดเซอริซินจากไหมอีรี่ (*S. c. ricini*)

การเปรียบเทียบการสกัดเซอริซินจากไหมอีรี่ด้วยน้ำและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิในช่วง 60–100 °ซ และระยะเวลาในช่วง 10–90 นาที ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.3–4.4 และตารางที่ 4.2 โดยพบว่าการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 80 °ซ และเวลา 10 นาที ได้แถบโปรตีน เซอริซินจำนวนมากที่สุดคือ 4 แถบ ที่มีขนาดประมาณ 20 40 70 และ 120 กิโลดาลตัน (เรียกว่า B1 B2 B3 และ B4 ตามลำดับ) ส่วนการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต พบว่าส่วนใหญ่ได้โปรตีนเซอริซินในรูปที่ถูกสลายเป็น smear bands อย่างไรก็ตามเซอริซินที่สกัดได้นี้ถูกนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze-drying) และนำไปใช้ทดสอบสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียต่อไป



ภาพที่ 4.3 รูปแบบของโปรตีนเซอริซินที่สกัดจากไหมอีรี่ด้วยน้ำกลั่น โดย a คือ การสกัดเซอริซินที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 60 นาที สำหรับ b คือ การสกัดเซอริซินที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 10 นาที และ c คือ การสกัดเซอริซินที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 10 นาที โดย M คือโปรตีนมาตรฐาน และ B1-B5 คือโปรตีนขนาดต่าง ๆ ที่พบบน 6–15% linear gradient SDS-PAGE



ภาพที่ 4.4 รูปแบบของโปรตีนเซอร์ซินที่สกัดได้จากไหมอีรีด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต โดย a คือ การสกัดเซอร์ซินด้วยสารละลาย 0.25% ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 90 นาที สำหรับ b คือ การสกัดเซอร์ซินด้วยสารละลาย 0.50% ที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 30 นาที สำหรับ c คือ การสกัดเซอร์ซินด้วยสารละลาย 0.50% ที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 15 นาที และ d คือ การสกัดเซอร์ซินด้วยสารละลาย 0.50% ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 10 นาที โดย M คือ โปรตีนมาตรฐาน และ B3-B5 คือ โปรตีนขนาดต่าง ๆ ที่พบบน 6–15% linear gradient SDS-PAGE

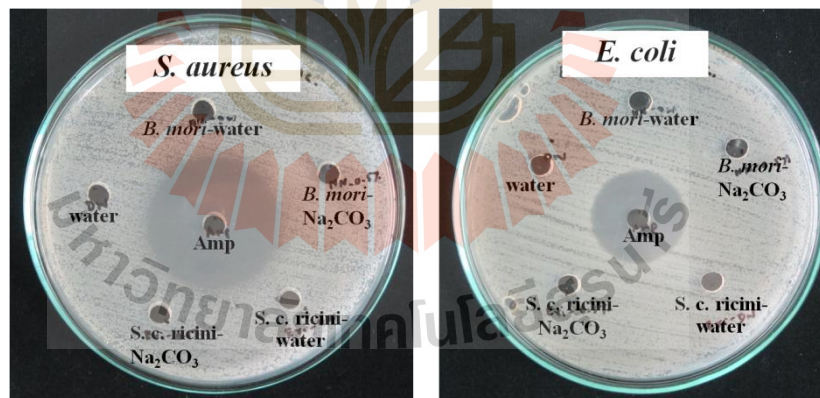
ตารางที่ 4.2 ผลการสกัดเซอร์ซินจากไหมอีรีด้วยน้ำและโซเดียมคาร์บอเนต

สารสกัด	ความเข้มข้น (%)	อุณหภูมิ (°ซ)	เวลา (นาที)	แถบโปรตีนเซอร์ซินที่สกัดได้				
				B1	B2	B3	B4	B5
น้ำ	—	100	60	—	—	—	+	—
	—	100	10	—	—	+	+	+
	—	80	10	+	+	+	+	—
Na ₂ CO ₃	0.25%	100	90	—	—	—	—	—
	0.50%	80	30	—	—	—	—	—
	0.50%	80	15	—	—	—	—	—
	0.50%	60	10	—	—	+	+	+

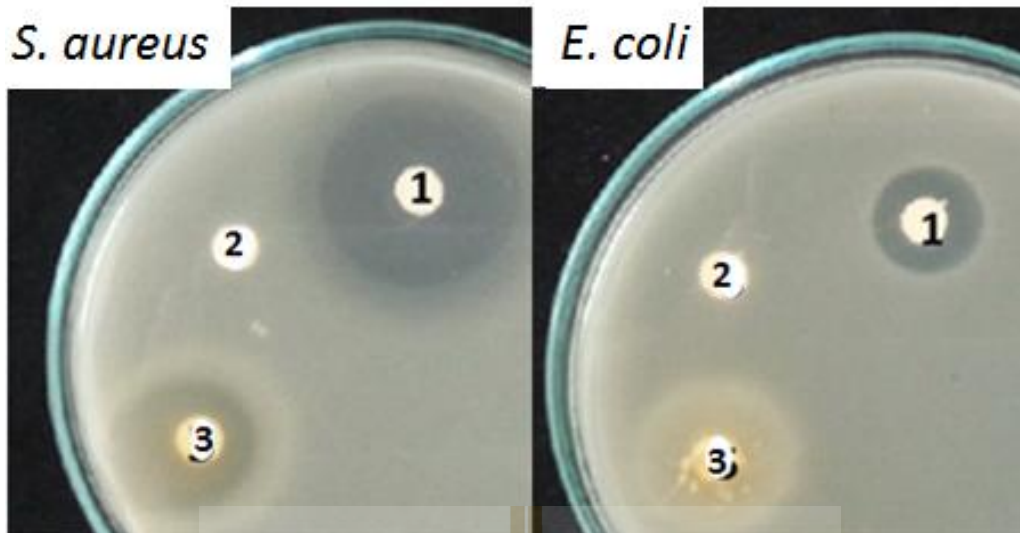
หมายเหตุ: B1-B5 คือแถบโปรตีนขนาดประมาณ 15 20 25 40 50 70 120 150 และ 200 กิโลดาลตัน ตามลำดับเครื่องหมาย “+” หมายถึง พบโปรตีนดังกล่าว และเครื่องหมาย “—” หมายถึงไม่พบโปรตีนดังกล่าว

4.1.3 ผลของสารสกัดเซอริซินต่อการเจริญของแบคทีเรีย

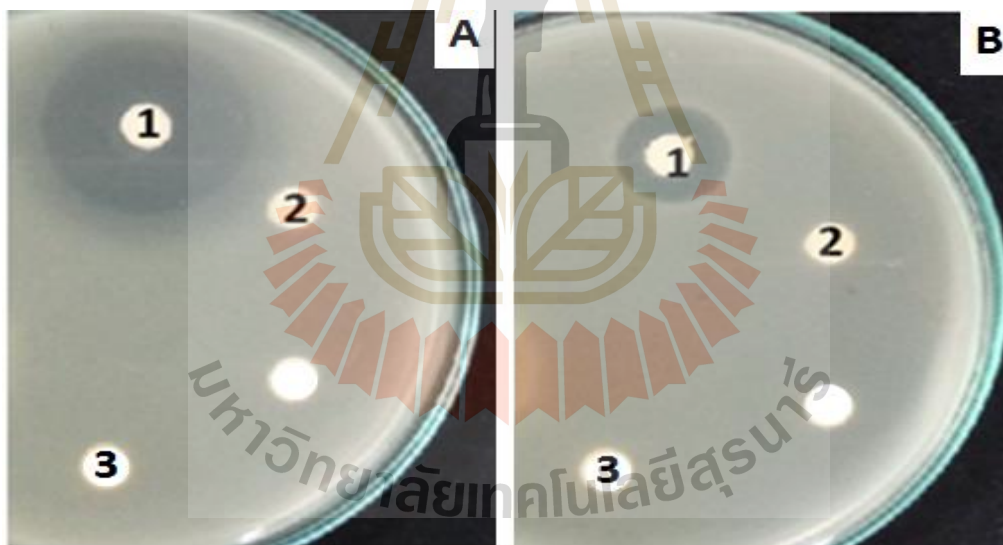
เมื่อนำสารสกัดเซอริซินที่ได้จากข้อ 4.1.1–4.1.2 มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยใช้ *S. aureus* เป็นตัวแทนของแบคทีเรียแกรมบวก และ *E. coli* เป็นตัวแทนของแบคทีเรียแกรมลบ โดยใช้วิธี agar-well diffusion assay พบว่าสารสกัดเซอริซินจากโหมบ้านและโหมอีรีที่มีแถบโปรตีนมากที่สุดในสภาวะที่สกัดด้วยน้ำและโซเดียมคาร์บอเนต ไม่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (ภาพที่ 4.5) จากการสืบค้นงานวิจัยก่อนหน้านี้ พบรายงานว่าสารสกัดเซอริซินจากโหมบ้านมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแต่ไม่มีการแสดงถึงรูปแบบโปรตีนที่สกัดได้ ด้วยสภาวะในการสกัดที่ 80–100 °ซ เป็นเวลา 30–90 นาที ซึ่งจากงานวิจัยนี้ทราบว่าสภาวะดังกล่าวไม่สามารถสกัดให้ได้โปรตีนเซอริซินที่เห็นเป็นแถบโปรตีนบน SDS-PAGE ได้นอกจากนี้ มีรายงานว่าสารสกัดเซอริซินจากโหมอีรีที่อยู่ในสภาพสลายและมีขนาดต่ำกว่า 66 กิโลดาลตันเท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย (Nuchadomrong et al., 2009) ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการสกัดเซอริซินด้วยวิธีดังกล่าว และพบว่าสารสกัดเซอริซินจากโหมบ้านที่ได้มีสภาพเป็น degraded protein มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยที่โปรตีนปริมาณ 40 ไมโครกรัม มีค่าของ inhibition zone ต่อเชื้อ *S. aureus* เป็น 15.8 ± 3.6 มิลลิเมตร (ภาพที่ 4.6) แต่อย่างไรก็ดีพบว่าในการสกัดเซอริซินจากโหมบ้านด้วยวิธีดังกล่าวในแต่ละครั้งจะได้ค่า inhibition zone ที่แตกต่างกันมาก ซึ่งคาดว่าเกิดจากรูปแบบของโปรตีนที่สลายนั้นแตกต่างกันในแต่ละครั้งของการสกัด ดังนั้นการศึกษาหารูปแบบโปรตีนที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียจึงมีความจำเป็นและจะได้มีการศึกษาต่อไป สำหรับสารสกัดเซอริซินจากโหมอีรีที่ใช้ปริมาณ 40 ไมโครกรัม ไม่พบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบนอาหารแข็งดังกล่าว (ภาพที่ 4.7) รูปแบบของโปรตีนสารสกัดเซอริซินจากโหมอีรีอาจมีผลต่อสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย



ภาพที่ 4.5 ผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ของสารสกัดโปรตีนเซอริซินที่ประกอบด้วยจำนวนแถบโปรตีนมากที่สุดที่ได้จากการสกัดโหมบ้านและโหมอีรีด้วยน้ำและโซเดียมคาร์บอเนต ตัวควบคุมเชิงบวกคือแอมพิซิลิน (25 ไมโครกรัม) และตัวควบคุมเชิงลบคือน้ำ สำหรับสารสกัดเซอริซินใช้ปริมาณ 40 ไมโครกรัม



ภาพที่ 4.6 ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ของสารสกัดโปรตีน เซอริซินที่มีสภาพสลาย (degraded proteins) ที่ได้จากการสกัดไหมบ้าน โดยหมายเลข 1 คือ แอมพิซิลิน (25 ไมโครกรัม) หมายเลข 2 คือโปรตีน bovine serum albumin (40 ไมโครกรัม) หมายเลข 3 คือสารสกัดเซอริซินจากไหมบ้านน้ำ (40 ไมโครกรัม)



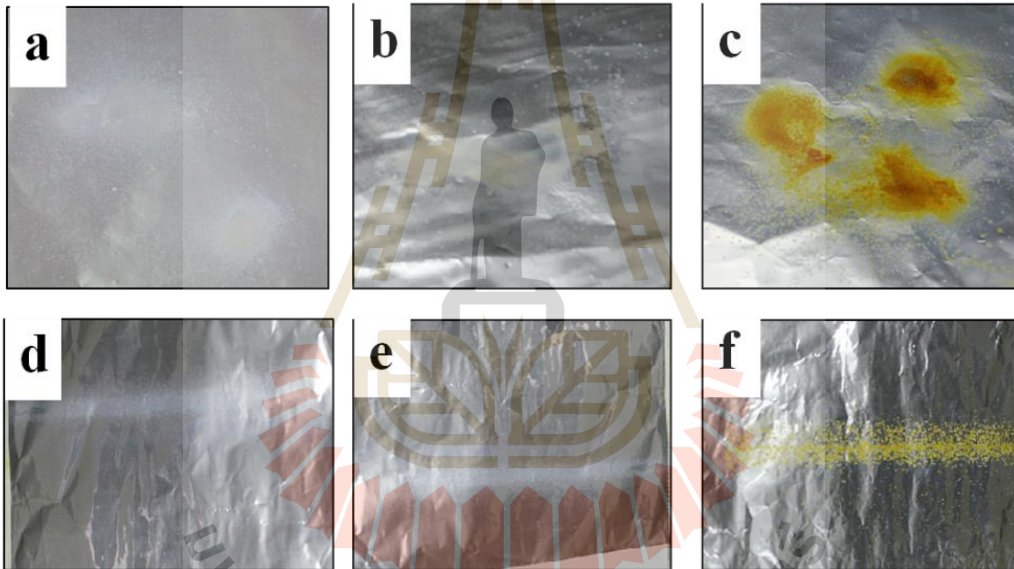
ภาพที่ 4.7 ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* (A) และ *E. coli* (B) ของสารสกัดโปรตีนเซอริซินที่มีสภาพสลาย (degraded proteins) ที่ได้จากการสกัดไหมอี่รี่ โดยหมายเลข 1 คือ แอมพิซิลิน (25 ไมโครกรัม) หมายเลข 2-3 คือ สารสกัดเซอริซินจากไหมอี่รี่ด้วยโซเดียมคาร์บอเนตและน้ำตามลำดับ (40 ไมโครกรัม)

4.2 การผลิตแผ่นโครงสร้างเซอริซินจากไหมบ้านและไหมอีรี่

ในการผลิตโครงสร้างเซอริซินจากไหมบ้านและไหมอีรี่ ได้ศึกษาการผลิตโครงสร้างโดยใช้เทคนิคต่าง ๆ ดังนี้

4.2.1 เทคนิคคอลลอยด์สปินนิง

การผลิตโครงสร้างด้วยเทคนิคคอลลอยด์สปินนิง ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโครงสร้างคือ ความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ อัตราไหลของสารละลาย ความต่างศักย์ และระยะห่างระหว่างเข็มฉีดยาและวัสดุรองรับ เนื่องจากสารละลายเซอริซินที่สกัดได้มีความเข้มข้นต่ำซึ่งเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้ไม่สามารถผลิตเป็นเส้นใยได้ แม้มีการปรับความต่างศักย์และค่าอัตราการไหลแล้ว ยังไม่สามารถทำให้เกิดเป็นเส้นใยได้ ผลที่ได้เป็นหยดขนาดใหญ่ของสารละลายบนวัสดุรองรับ (ภาพที่ 4.8) จึงได้ศึกษาการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายให้ได้ 30–40% ด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็งและการดึงน้ำออกด้วย polyethylene glycol เพื่อผลิตแผ่นเส้นใยต่อไป



ภาพที่ 4.8 ลักษณะของหยดสารละลายเซอริซินจากไหมบ้านและไหมอีรี่บนแผ่นรองรับเนื่องจากสารละลายมีความหนืดไม่เพียงพอ (A-F)

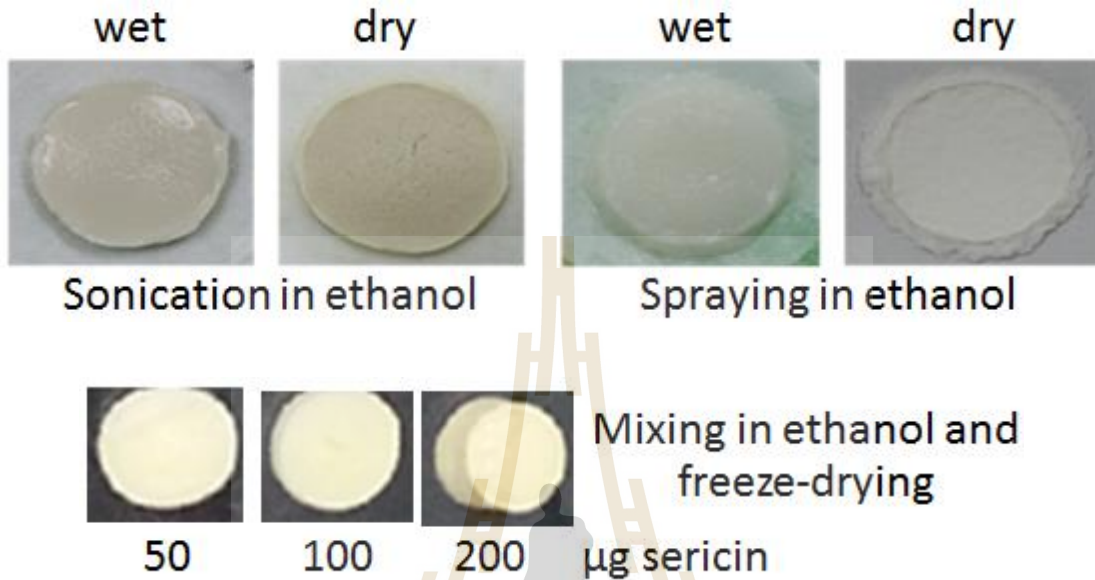
4.2.2 เทคนิคการผสมสารละลายเซอริซินในแอลกอฮอล์

จากการสังเกตพบว่าโปรตีนเซอริซินเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพเป็นของแข็งในแอลกอฮอล์ ในการศึกษานี้ จึงได้ศึกษาวิธีใหม่ในการผลิตโครงสร้างเซอริซินด้วยการผสมสารละลายเซอริซินในแอลกอฮอล์ในรูปแบบต่าง ๆ คือ วิธีที่ 1 การผสมสารละลายเซอริซินในแอลกอฮอล์ด้วยการ sonication เทส่วนผสมใน mold เพื่อขึ้นรูปแล้วระเหยแห้ง

วิธีที่ 2 การสเปรย์สารละลายเซอริซินในแอลกอฮอล์ แล้วนำเม็ดเซอริซินที่ได้ไปเทใน mold เพื่อขึ้นรูปแล้วระเหยแห้ง

วิธีที่ 3 การผสมสารละลายเซอริซินในแอลกอฮอล์แล้วทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ผลการผลิตโครงร่างเซอริซินด้วยวิธีทั้งสามแสดงในภาพที่ 4.9 ผลการศึกษาพบว่า ทั้ง 3 วิธีสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นโครงร่างเซอริซินได้ ซึ่งสมบัติเชิงกายภาพและชีวภาพของโครงร่างเซอริซินจะได้ทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

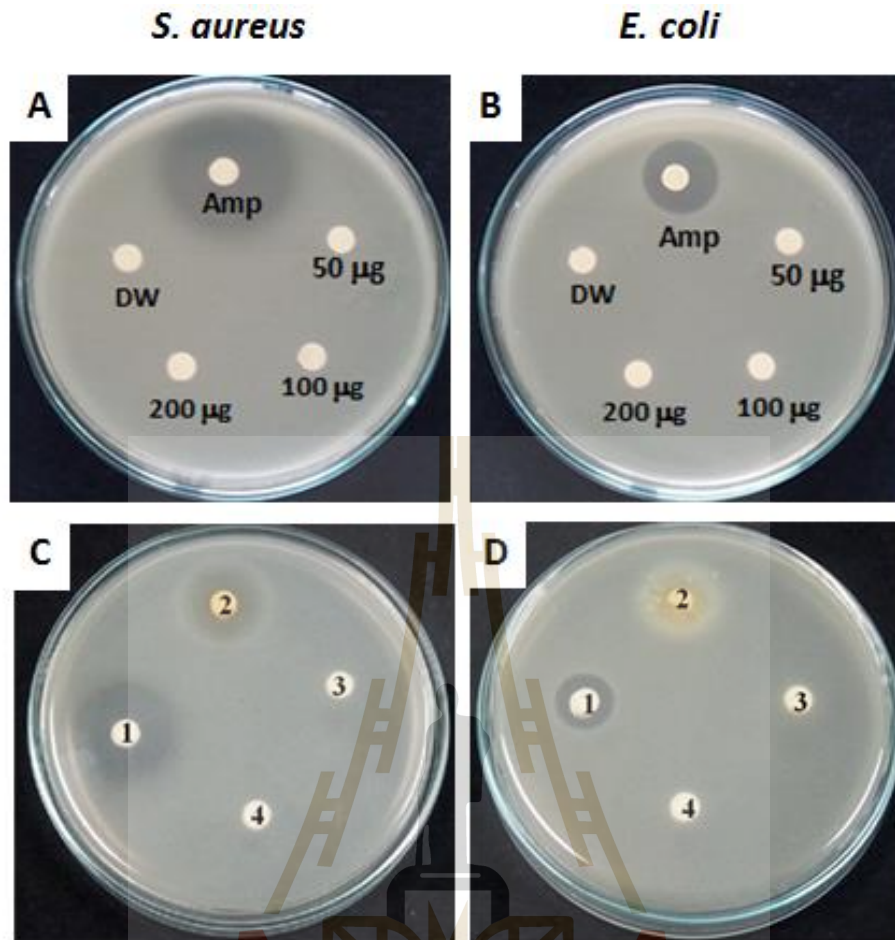


ภาพที่ 4.9 โครงร่างเซอริซินซึ่งผลิตจากการผสมสารละลายเซอริซินในแอลกอฮอล์ 3 วิธี คือ วิธีที่ 1 การผสมสารละลายเซอริซินในแอลกอฮอล์ด้วยการ sonication เทส่วนผสมใน mold เพื่อขึ้นรูปแล้วระเหยแห้ง วิธีที่ 2 การสเปรย์สารละลายเซอริซินในแอลกอฮอล์ แล้วนำเม็ดเซอริซินที่ได้ไปเทใน mold เพื่อขึ้นรูปแล้วระเหยแห้ง และวิธีที่ 3 การผสมสารละลายเซอริซินในแอลกอฮอล์แล้วทำแห้งแบบเยือกแข็ง

4.2.3 การศึกษาสมบัติเชิงกายภาพและชีวภาพของโครงร่างเซอริซิน

ในการศึกษาสมบัติเชิงกายภาพและชีวภาพของโครงร่างเซอริซิน ได้เริ่มศึกษาจากสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย จากการทดลองนำแผ่นโครงร่างเซอริซินจากโหลใหม่ที่ผลิตด้วยวิธีที่ 3 มาทดสอบด้วย agar disc diffusion assay เนื่องจากสารละลายเซอริซินก่อนนำไปผลิตแผ่นโครงร่าง มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ 40 ไมโครกรัม ดังนั้นจึงต้องการทราบว่าการเปลี่ยนรูปโปรตีนเซอริซินเป็นแผ่นโครงร่างมีผลต่อสมบัติดังกล่าวหรือไม่

ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.10 พบว่าแผ่นโครงร่างที่ผลิตจากเซอริซิน 50 100 และ 200 ไมโครกรัม ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียซึ่งสังเกตจากไม่พบ inhibition zone เมื่อทดสอบโดยนำแผ่นโครงร่างดังกล่าวไปละลายในน้ำ และนำโปรตีนเซอริซินที่ปลดปล่อยออกมาที่ 40 ไมโครกรัม พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียเช่นกัน ซึ่งอาจเกิดจากการที่โปรตีนเสียโครงสร้างและหน้าที่ไป ดังนั้นในการศึกษาต่อไปจะได้ทดลองการผลิตโครงร่างจากสารละลายเซอริซินที่ไม่ผสมกับแอลกอฮอล์



ภาพที่ 4.10 ผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย *S. aureus* (A และ C) และ *E. coli* (B และ D) ของแผ่นโครงร่าง เซอริซินจากไหมบ้าน โดย A และ B คือ การใช้แผ่นโครงร่างเซอริซินที่ 50 100 และ 200 ไมโครกรัม C และ D คือ การทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียโดยใช้สารละลายเซอริซินที่สกัดใหม่ 40 ไมโครกรัม (หมายเลข 2) แผ่นโครงร่างที่ผลิตจากเซอริซิน 40 ไมโครกรัม (หมายเลข 3) และเซอริซินที่ปล่อยปล่อยจากแผ่นโครงร่างปริมาณ 40 ไมโครกรัม (หมายเลข 4) สำหรับหมายเลข 1 คือ แอมพิซิลิน (25 ไมโครกรัม)

4.3 การผลิตแผ่นโครงร่างไฟโบรอิน

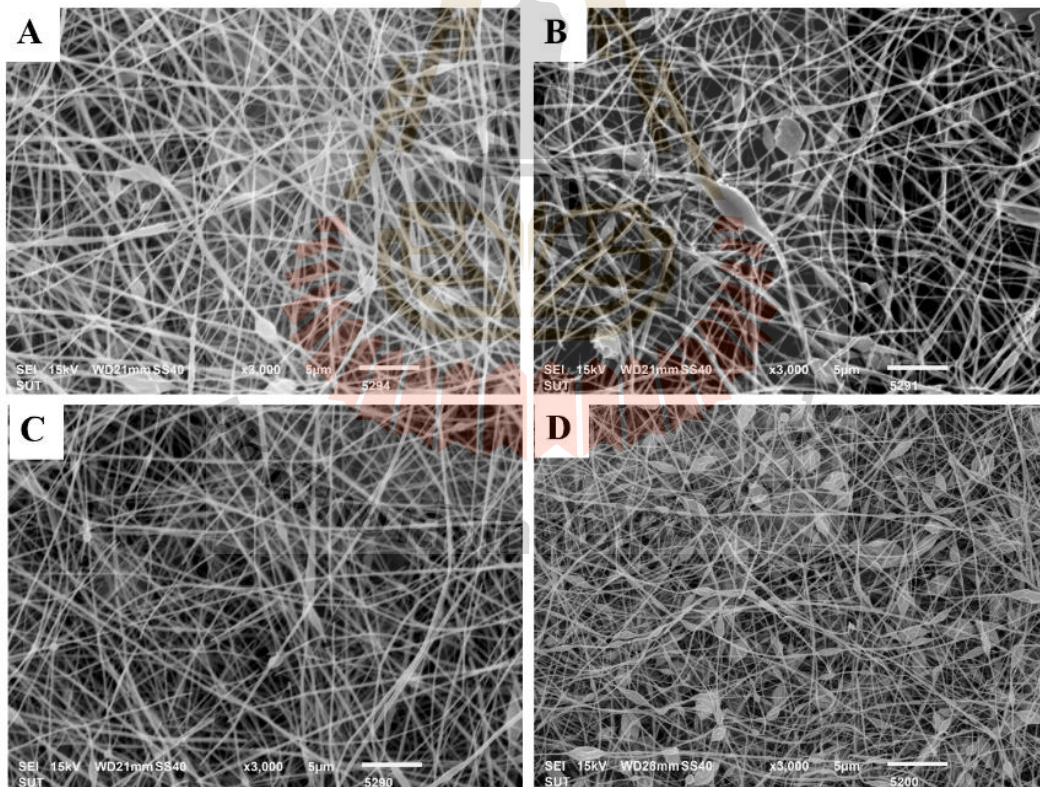
4.3.1 การผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ไฟโบรอิน

ศึกษาผลของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่มีต่อการผลิตและขนาดของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ไฟโบรอิน ได้แก่ ระยะห่างระหว่างเข็มฉีดยาและวัสดุรองรับ และชนิดวัสดุรองรับเป็นแบบแกนหมุน โดยปรับสภาพเฉพาะค่า ความเข้มข้นของสารละลาย อัตราไหล และความต่างศักย์ จากนั้นจึงนำเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ไฟโบรอินที่ผลิตได้ไป วิเคราะห์ผลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ผลของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่มีต่อขนาดเส้นผ่าน

ศูนย์กลางและลักษณะของเส้นใยอิเล็กโตรสปินจากไฟโบรอินแสดงในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.11 จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นไฟโบรอิน 25% ที่ระยะห่าง 10 เซนติเมตร อัตราการไหล 0.2 มิลลิลิตร/ชั่วโมง ความต่างศักย์ไฟฟ้า 18 กิโลโวลต์ ให้ลักษณะเส้นใยที่เป็นเส้นที่ตีกว่าใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 14 15 และ 16 กิโลโวลต์ ซึ่งมีลักษณะของเส้นใยผสมหดยดมากกว่า

ตารางที่ 4.3 พารามิเตอร์ที่ใช้ในการผลิตเส้นใยจากไฟโบรอิน

ความเข้มข้นของไฟโบรอิน (% น้ำหนักแห้ง)	ระยะห่าง (ซม.)	อัตราไหล (มล./ชม.)	ความต่างศักย์ (กิโลโวลต์)	ผลที่เกิดขึ้น
25%	10	0.2	14	เกิดเส้นใย มีหยดผสมบ้าง
25%	10	0.2	15	เกิดเส้นใยผสมหดยดจำนวนมาก
25%	10	0.2	16	เกิดเส้นใยผสมหดยดขนาดใหญ่
25%	10	0.3	18	เกิดเส้นใย ไม่มีหยดผสม

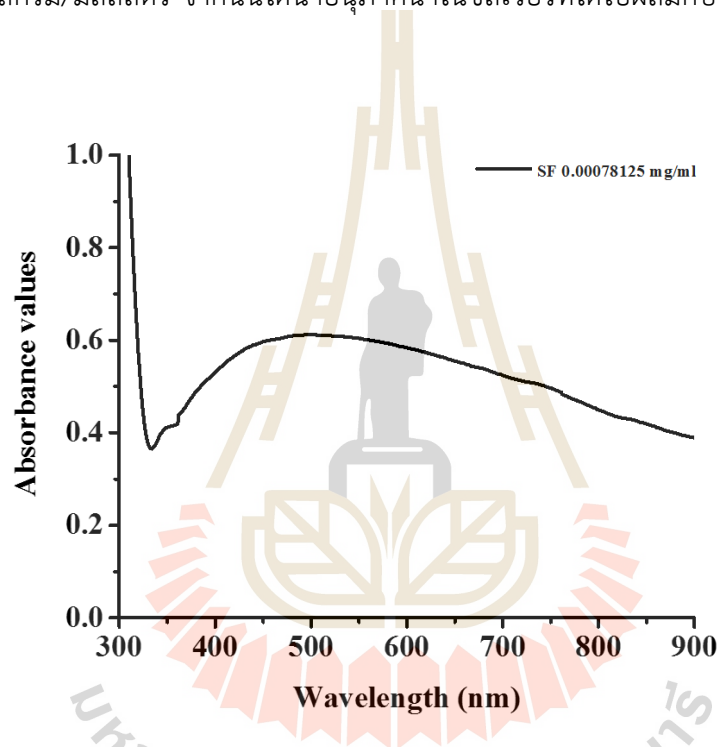


ภาพที่ 4.11 ลักษณะของเส้นใยอิเล็กโตรสปินจากไฟโบรอิน ที่ศึกษาภายใต้กล้อง SEM ที่กำลังขยาย 3000 เท่า เมื่อศึกษาภายใต้สภาวะที่ค่าความเข้มข้น 25% ระยะห่างระหว่างปลายเข็มและแผ่นรองรับเท่ากับ 10

เซนติเมตร อัตราการไหลเท่ากับ 0.2 มิลลิลิตร/ชั่วโมง และค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าเท่ากับ (A) 14 (B) 16 (C) 18 และ (D) 15 กิโลโวลต์ ตามลำดับ

4.3.2 การผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์

สังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้ไฟโบรอินเป็นสารให้ความคงตัว โดยความเข้มข้นของไฟโบรอินที่ใช้ในการสังเคราะห์คือ 0.078 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้กลูโคสเป็นสารรีดิวซ์ ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องภายใต้แสงขาวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.12 ซึ่งพบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นประมาณ 475 นาโนเมตร นอกจากนี้สามารถคำนวณปริมาณอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่เกิดขึ้นได้ 56.6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นได้นำอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ได้ไปผสมกับสารละลายไฟโบรอินเพื่อผลิตเส้นใย



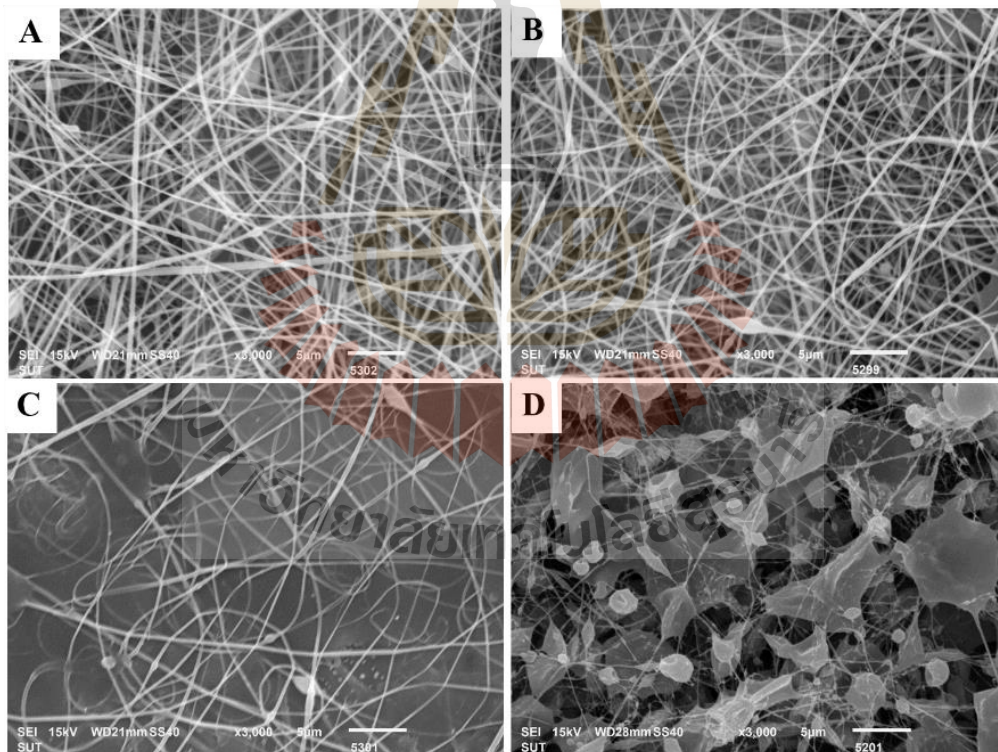
ภาพที่ 4.12 ผลการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้ไฟโบรอินทำหน้าที่เป็นสารให้ความคงตัวและใช้กลูโคสเป็นสารรีดิวซ์ โดยการสังเคราะห์ทำที่อุณหภูมิห้องภายใต้แสงขาวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การผลิตเส้นใยไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์ โดยผสมอนุภาคนาโนในแผ่นเส้นใย 10 มิลลิกรัม พารามิเตอร์ที่ใช้ในการผลิตเส้นใยเพื่อให้ได้เส้นใยแสดงไว้ในตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.13 จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นไฟโบรอิน 25% ที่ระยะห่าง 10 เซนติเมตร อัตราการไหล 0.2 มิลลิลิตร/ชั่วโมง ความต่างศักย์ไฟฟ้า 14 กิโลโวลต์ ให้ลักษณะเส้นใยที่เป็นเส้นแต่มีหยดผสมเล็กน้อย ในขณะที่ใช้ความต่างศักย์ 18 กิโลโวลต์ พบว่าเกิดเส้นใยน้อยมาก นอกจากนี้ที่สภาวะที่ใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 15 และ 16 กิโลโวลต์ พบว่าเกิดหยด และเส้นใยผสมหยด ตามลำดับ

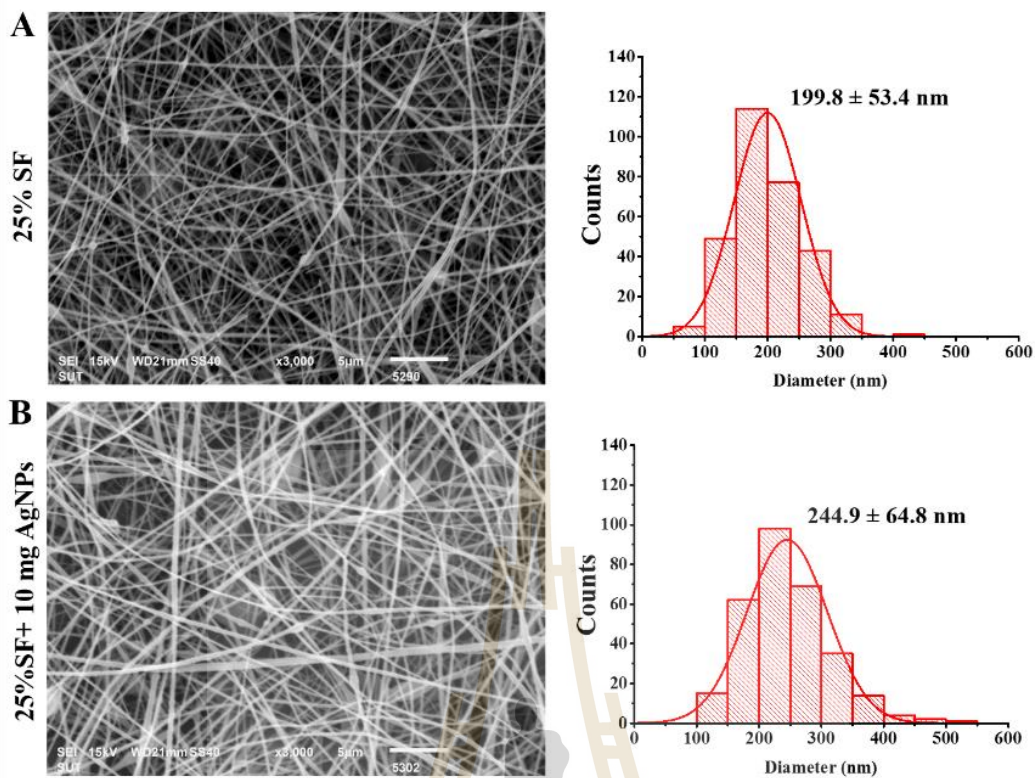
เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเส้นใยระหว่างเส้นใยที่มีไฟโบรอินและไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์ดังแสดงในภาพที่ 4.14 พบว่าเส้นใยไฟโบรอินมีค่าเฉลี่ยที่ 199.8 ± 53.4 นาโนเมตร ในขณะที่เส้นใยไฟโบรอินผสมกับอนุภาคนาโนซิลเวอร์มีค่าเฉลี่ย 244.9 ± 64.8 นาโนเมตร ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย

ตารางที่ 4.4 พารามิเตอร์ที่ใช้ในการผลิตเส้นใยจากไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์

ความเข้มข้นของไฟโบรอิน (% น้ำหนักแห้ง)	ระยะห่าง (ซม.)	อัตราไหล (มล./ชม.)	ความต่างศักย์ (กิโลโวลต์)	ผลที่เกิดขึ้น
25%	10	0.2	14	เกิดเส้นใย มีหยดผสมเล็กน้อย
25%	10	0.2	15	เกิดหยดขนาดใหญ่จำนวนมาก
25%	10	0.2	16	เกิดเส้นใยผสมหยดขนาดใหญ่
25%	10	0.3	18	เกิดเส้นใยน้อย



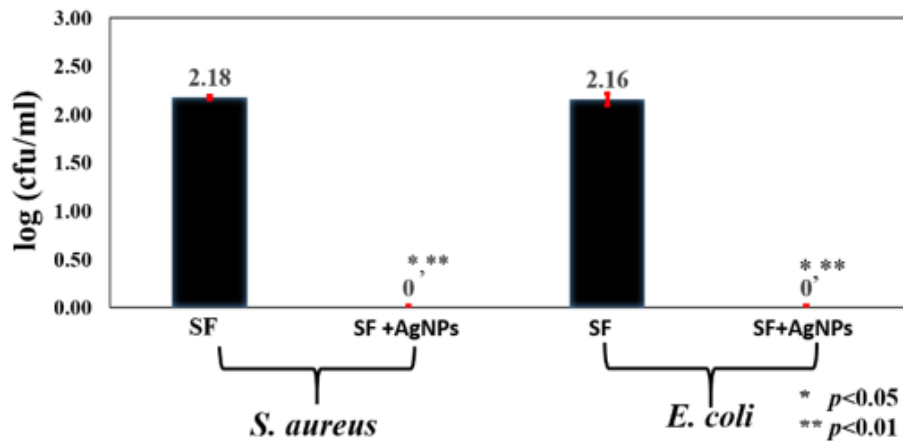
ภาพที่ 4.13 ลักษณะของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ปั่นจากไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์ 10 มิลลิกรัม ที่ศึกษาภายใต้กล้อง SEM ที่กำลังขยาย 3000 เท่า เมื่อศึกษาภายใต้สภาวะที่ค่าความเข้มข้น 25% ระยะห่างระหว่างปลายเข็มและแผ่นรองรับเท่ากับ 10 เซนติเมตร อัตราการไหลเท่ากับ 0.2 มิลลิลิตร/ชั่วโมง และค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าเท่ากับ (A) 14 (B) 16 (C) 18 และ (D) 15 กิโลโวลต์ ตามลำดับ



ภาพที่ 4.14 ลักษณะของเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากไฟโบรอิน (A) และเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์ 10 มิลลิกรัม (B)

4.3.3 การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ผลการทดสอบแผ่นเส้นใยไฟโบรอิน และแผ่นเส้นใยไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิดคือ *E. coli* และ *S. aureus* ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.15 โดยพบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของแบคทีเรียเท่ากับ 1×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร แผ่นเส้นใยไฟโบรอินที่ผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์อินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$) (ค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบกับปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในแผ่นเส้นใยที่มีเฉพาะไฟโบรอิน) สันนิษฐานว่าแผ่นเส้นใยดังกล่าวมีการปลดปล่อยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ออกจากเส้นใยได้ดีจึงไม่พบการเกิดแบคทีเรียในงานเพาะเชื้อ

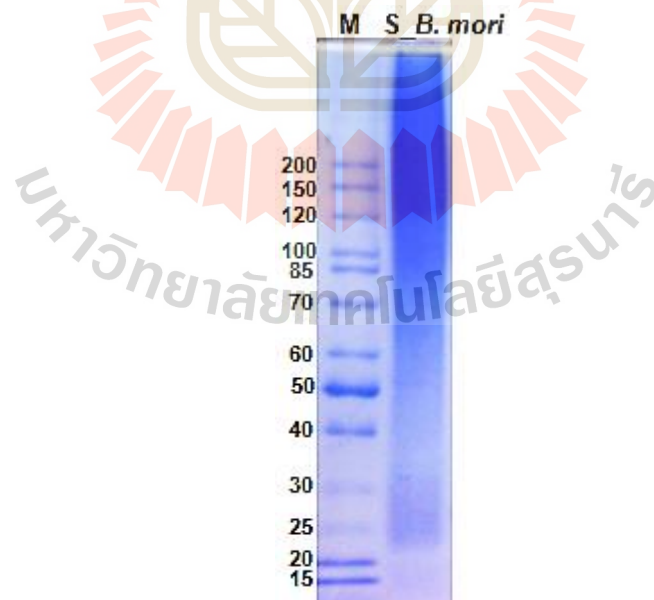


ภาพที่ 4.15 การยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ของแผ่นเส้นใยไฟโบรอินและแผ่นเส้นใยไฟโบรอินผสมอนุภาคนาโนซิลเวอร์

4.4 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์จากเซอร์ริซินของไหมบ้านด้วยวิธีเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

4.4.1 การสกัดเซอร์ริซินและการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์

ในการทดลองนี้ ได้สกัดเซอร์ริซินโดยใช้น้ำ เนื่องจากทำได้ง่ายและไม่ต้องมีการกำจัดเกลือออกก่อนนำไปใช้ทดลอง ผลการศึกษาพบว่าสามารถสกัดได้เซอร์ริซินในรูปโปรตีนที่ถูกสลาย (degraded proteins) ดังแสดงในภาพที่ 4.16 เนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสูงและใช้เวลานาน



ภาพที่ 4.16 รูปแบบของโปรตีนเซอร์ริซินที่สกัดจากไหมบ้านด้วยน้ำบน 6–15% linear gradient SDS-PAGE โดย M คือโปรตีนมาตรฐาน และ *S_B. mori* คือ เซอร์ริซินที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

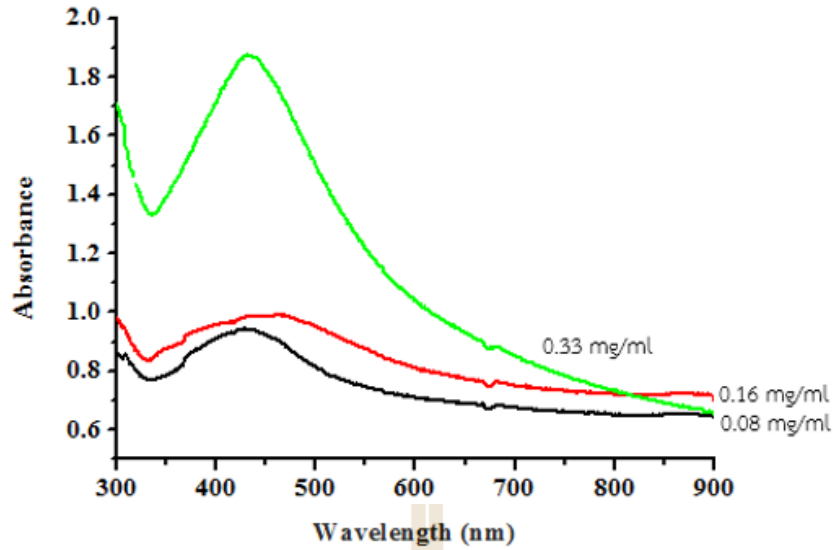
ในการศึกษาได้ใช้โปรตีนเซอรีซินของไหมบ้านในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้ความเข้มข้นของโปรตีนเซอรีซินที่แตกต่างกัน (วัดปริมาณโปรตีนด้วย Bradford protein assay) คือ 0.08 0.16 และ 0.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ประกอบด้วยโปรตีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และสารละลายซิลเวอร์ในเตรตความเข้มข้น 1 โมลาร์ ในสภาวะที่มีหรือไม่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 2 โมลาร์ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer โดยการสแกนความยาวคลื่นตั้งแต่ 300–900 นาโนเมตร

อนุภาคนาโนซิลเวอร์มีสมบัติที่สามารถบ่งชี้ถึงลักษณะของอนุภาคนาโนได้คือ คุณสมบัติในการดูดกลืนแสง เกิดจากการที่อนุภาคมีขนาดเล็กกว่าความยาวคลื่นที่มาตกกระทบจะทำให้เกิดปรากฏการณ์ “เซอร์เฟอพลาสมอน เรโซแนนซ์” (Surface Plasmon Resonance, SPR) ซึ่งจะทำให้โลหะเงินจากเดิมที่มีสีเงินขาว เปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม เซอร์เฟอพลาสมอน เรโซแนนซ์ เป็นคลื่นความหนาของประจุที่เกิดจากการสั่นของอิเล็กตรอนอิสระ ที่มีลักษณะการสั่นพร้อมเพรียงกัน เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นบริเวณรอยต่อของผิวโลหะกับไดอิเล็กทริก เช่น อากาศหรือน้ำ ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด และความกว้างของสเปกตรัมของการสแกนการดูดกลืนแสงจะขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่าง และประภทของวัสดุ จากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (maximum absorbance) ของอนุภาคนาโนของเงินอยู่ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 400–460 นาโนเมตร (Bogle et al., 2006) ซึ่งขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้

ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ทำการสังเคราะห์ใน 2 สภาวะ คือสภาวะที่มีและไม่มีกลูโคส ในปฏิกิริยา โดยกลูโคสสามารถทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ในปฏิกิริยาได้

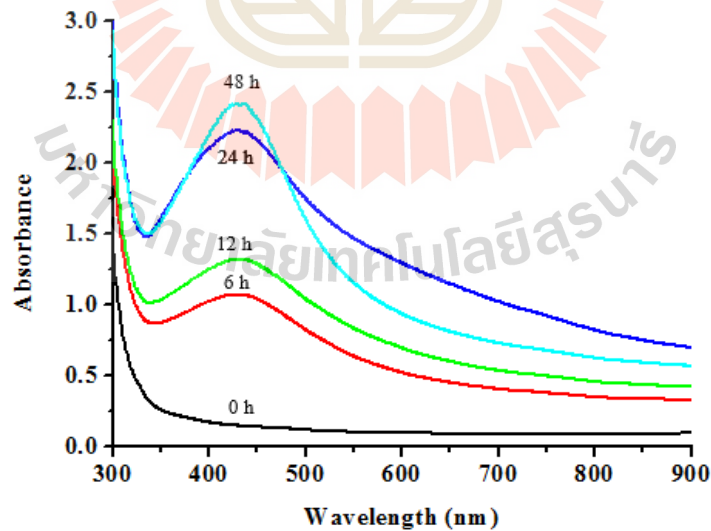
1) สภาวะที่มีกลูโคส

การศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ โดยใช้เซอรีซินเป็นทั้งสารรีดิวซ์และสารให้ความคงตัว และได้เพิ่มกลูโคสเป็นสารรีดิวซ์อีกชนิดหนึ่งในปฏิกิริยา ผลของการใช้เซอรีซินที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์แสดงในภาพที่ 4.17 โดยพบว่าเซอรีซินที่มีความเข้มข้น 0.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 0.16 และ 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นประมาณ 428 นาโนเมตร



ภาพที่ 4.17 ผลของความเข้มข้นของเซอริซินต่อการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ ในสถานะที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นสารรีดิวซ์ ทำการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้เซอริซินที่ความเข้มข้น 0.08 0.16 และ 0.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

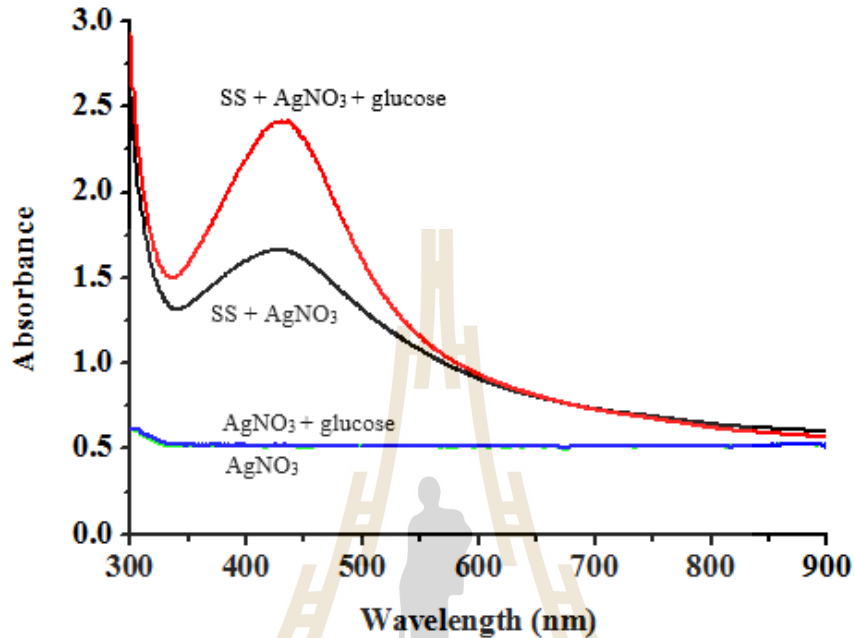
การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเกิดของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ โดยใช้ระยะเวลาในการสังเคราะห์ที่แตกต่างกัน คือ 0 6 12 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.18 โดยพบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ คือ 48 ชั่วโมง เนื่องจากมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นประมาณ 420 นาโนเมตร สูงสุด และพบว่าปริมาณอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์ได้ (ค่า A₄₂₀ ที่เพิ่มขึ้น) แปรผันตามระยะเวลาในการสังเคราะห์ที่เพิ่มขึ้น



ภาพที่ 4.18 ผลของระยะเวลาต่อการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ โดยการใช้เซอริซินที่ความเข้มข้น 0.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีน้ำตาลกลูโคสเป็นสารรีดิวซ์ ทำการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 0 6 12 และ 48 ชั่วโมง

2) สถานะที่ไม่มีกลูโคส

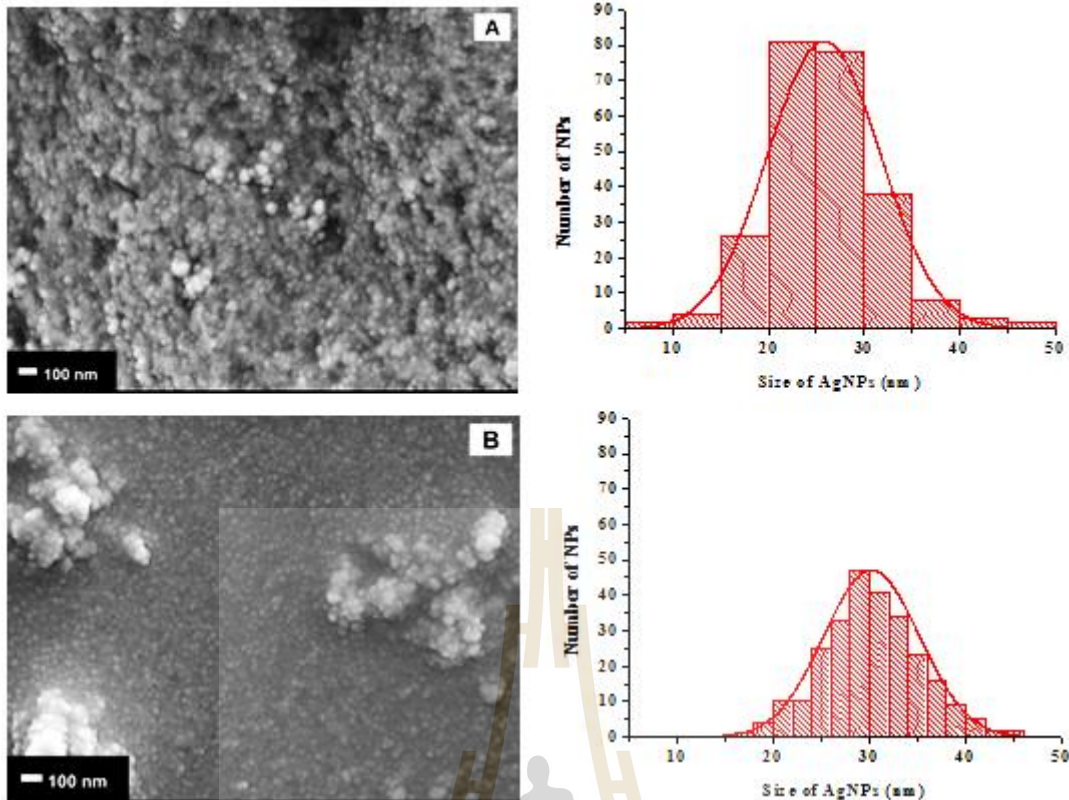
ในการทดลองนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้เฉพาะโปรตีนเซอรีซินทำหน้าที่เป็นทั้งสารรีดิวซ์และสารให้ความคงตัว โดยไม่ใช้กลูโคสในปฏิกิริยา ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.19 โดยพบว่าเซอรีซินสามารถทำหน้าที่เป็นทั้งสารรีดิวซ์และสารให้ความคงตัว แต่ให้ผลผลิตของอนุภาคนาโนซิลเวอร์น้อยกว่าในปฏิกิริยาที่ใช้กลูโคสเป็นสารรีดิวซ์ร่วม



ภาพที่ 4.19 ผลการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้เซอรีซินทำหน้าที่สารรีดิวซ์และสารให้ความคงตัว โดยไม่ใช้กลูโคสในปฏิกิริยา การสังเคราะห์ทำที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4.4.2 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนซิลเวอร์

การศึกษาสมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้แก่การศึกษาขนาด รูปร่าง และลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์ด้วยโปรตีนเซอรีซินของไหมบ้าน โดยมีและไม่มีกลูโคสเป็นสารรีดิวซ์ร่วม พบว่าอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์ได้มีรูปร่างเป็นทรงกลมและมีขนาดเฉลี่ย 25.8 ± 5.8 และ 30.2 ± 7.0 นาโนเมตรตามลำดับ (ภาพที่ 4.20)

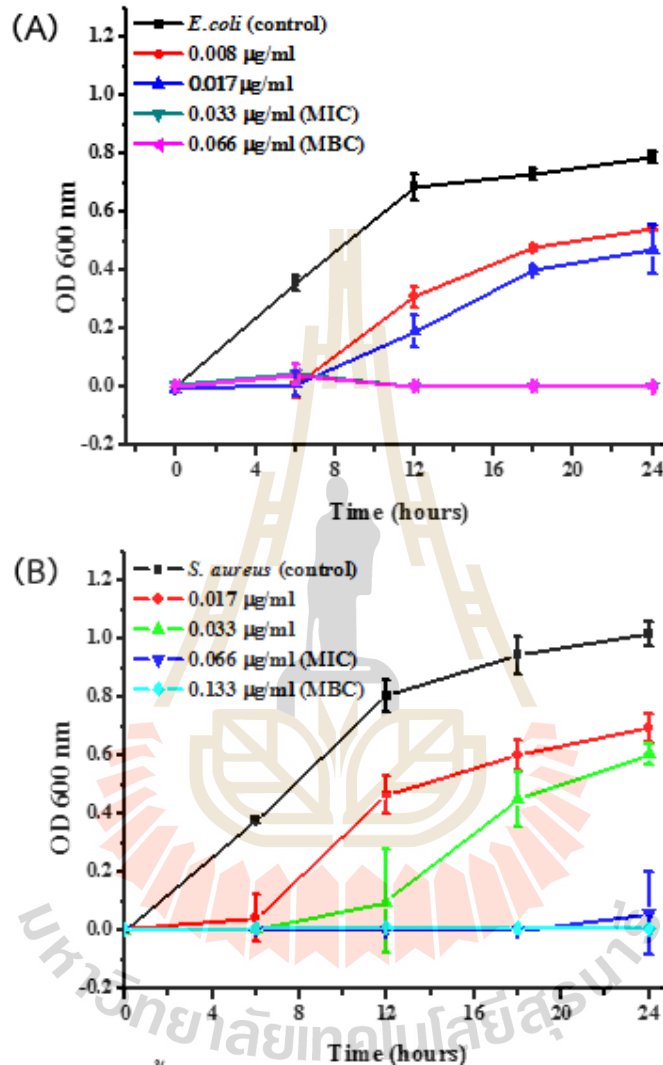


ภาพที่ 4.20 ลักษณะของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์จากโปรตีนเซอร์จีนของไหมบ้านที่ความเข้มข้น 0.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมี (A) และไม่มี (B) กลูโคสเป็นสารรีดิวซ์ร่วม

4.4.3 ผลของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ต่อการเจริญของแบคทีเรีย

การศึกษาผลของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ต่อการเจริญของแบคทีเรีย ทำการทดลองโดยการเจือจางสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ 12 ความเข้มข้น โดยเริ่มจากความเข้มข้นสูงสุด แล้วเจือจางลงครึ่งละสองเท่า ในการทดลองนี้ใช้แบคทีเรีย 2 ชนิดคือ *S. aureus* และ *E. coli* โดยเปิดเชื้อแบคทีเรียปริมาณ 1×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในสารแขวนลอยของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่เจือจางไว้ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดความขุ่นของแบคทีเรียที่ OD600 ทำการทดลอง 6 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยค่า minimum inhibitory concentration (MIC) คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ สำหรับค่า minimum bactericidal concentration (MBC) ซึ่งคือค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้ 99.99% นั้น ได้นำเชื้อแบคทีเรียที่บ่มกับอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ค่า MIC และอีก 2 ค่าที่สูงขึ้น มากระจายในอาหารรูน MH แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง โดยค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ไม่มีเชื้อเจริญบนอาหารรูนคือค่า MBC โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบผลของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์ด้วยเซอร์จีนที่สกัดด้วยน้ำจากไหมบ้านในการยับยั้งแบคทีเรีย และใช้สารละลายเซอร์จีนเป็น negative control ด้วย

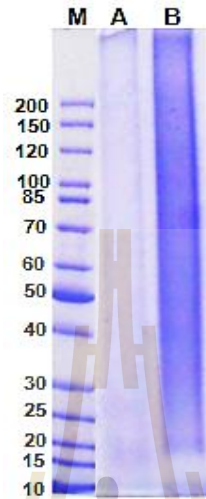
ผลการทดสอบแสดงในภาพที่ 4.21 โดยพบว่าอนุภาคนาโนของเงินที่สังเคราะห์ได้สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.033 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 4.21A) และค่า MBC เท่ากับ 0.066 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดสอบอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์ได้ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 0.066 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 4.21B) และค่า MBC เท่ากับ 0.133 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 4.21 ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *E. coli* (A) และ *S. aureus* (B) ของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์ด้วยเซอริซินของไหมบ้าน

4.5 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์จากเซอริซินของไหมอีรี่ด้วยวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

การสกัดโปรตีนเซอริซินจากไหมอีรี่ด้วยน้ำและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.5% พบว่าโปรตีนที่สกัดได้อยู่ในรูปที่ถูกสลาย (degraded proteins) (ภาพที่ 4.22) เนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสูงและใช้เวลานาน เซอริซินที่สกัดได้ถูกนำไปสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ และนำไปใช้ทดสอบสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียต่อไป

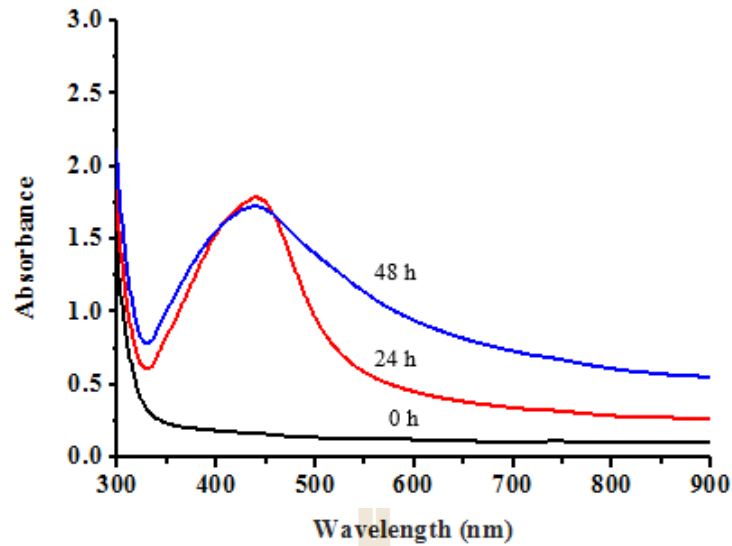


ภาพที่ 4.22 รูปแบบของโปรตีนเซอริซินที่สกัดจากไหมอีรี่ด้วยน้ำและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.5% โดย M คือโปรตีนมาตรฐาน A คือ การสกัดเซอริซินด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง B คือ การสกัดเซอริซินด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.5% ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 10 นาที ที่พบบน 6–15% linear gradient SDS-PAGE

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้โปรตีนเซอริซินของไหมอีรี่ โดยใช้ความเข้มข้นของโปรตีนเซอริซิน 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในปฏิกิริยาประกอบด้วยโปรตีนเซอริซิน น้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 2 โมลาร์ และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตความเข้มข้น 1 โมลาร์ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 60 °ซ ที่เวลาแตกต่างกันคือ 24 และ 48 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 300–900 นาโนเมตร ในการศึกษานี้ได้ทดลองเปรียบเทียบการใช้โปรตีนเซอริซินที่สกัดด้วยน้ำและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

4.5.1 เซอริซินที่สกัดด้วยน้ำ

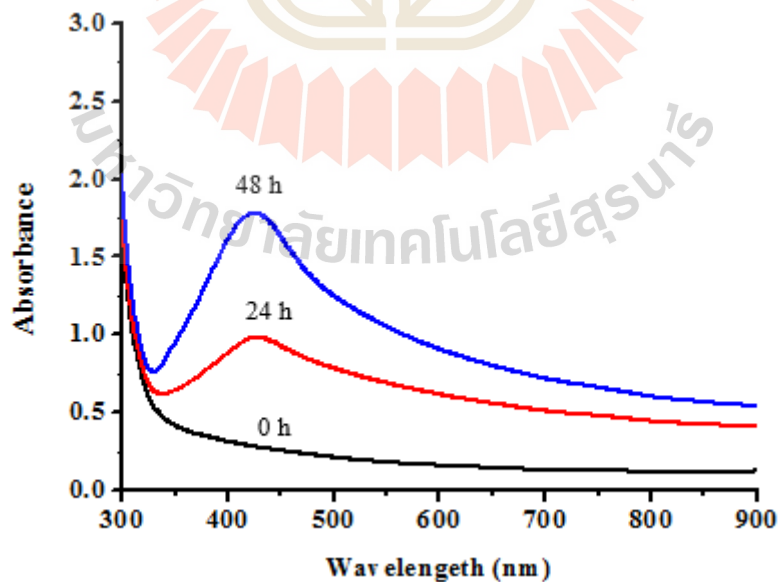
การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยเซอริซินที่สกัดด้วยน้ำจากไหมอีรี่และใช้น้ำตาลกลูโคสร่วมด้วยในปฏิกิริยา พบว่าที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง อนุภาคนาโนซิลเวอร์มีค่า maximum absorption ใกล้เคียงกัน (ประมาณ 450 นาโนเมตร) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบความกว้างของพีค พบว่าที่เวลา 48 ชั่วโมง มีพีคกว้างกว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง ทั้งนี้อาจเกิดจากอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ 48 ชั่วโมง มีการเกาะกลุ่มกันซึ่งทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่แตกต่างกันมากขึ้น (ภาพที่ 4.23)



ภาพที่ 4.23 ผลของระยะเวลาต่อการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้เซอริซินที่สกัดด้วยน้ำและปฏิกิริยาที่เวลา 0 24 และ 48 ชั่วโมง

4.5.2 เซอริซินที่สกัดด้วยโซเดียมคาร์บอเนต

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยเซอริซินของไหมอีรี่ที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.5% พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ คือ 48 ชั่วโมง เนื่องจากมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร มีค่าสูงกว่าการสังเคราะห์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.24)

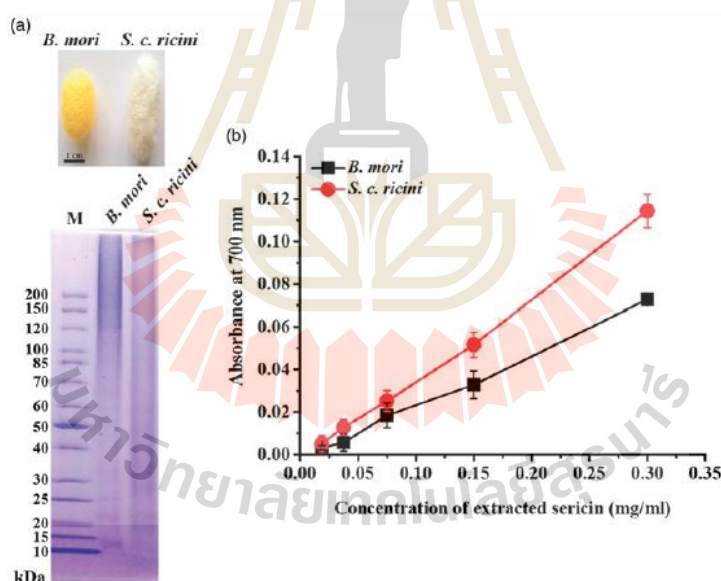


ภาพที่ 4.24 ผลของระยะเวลาต่อการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้เซอริซินของไหมอีรี่ที่สกัดด้วยโซเดียมคาร์บอเนต ปฏิกิริยาที่เวลา 0 24 และ 48 ชั่วโมง

4.6 การเปรียบเทียบการใช้เซอร์ริซินจากไหมบ้านและไหมอิตาลีในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

4.6.1 การเปรียบเทียบเซอร์ริซินจากไหมอิตาลีและไหมบ้านที่สกัดได้

ศึกษาการสกัดโปรตีนเซอร์ริซินจากไหมอิตาลีและไหมบ้าน โดยใช้ น้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 100 °ซ พบว่าเซอร์ริซินที่สกัดได้มีน้ำหนัก 4.05±2.44 มิลลิกรัม และ 8.56±1.47 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักรังไหมก่อนสกัด 1 กรัม ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าว แม้ว่าโปรตีนเซอร์ริซินที่สกัดได้มีปริมาณน้อยกว่าการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ แต่กระบวนการดังกล่าวจำเป็นต้องผ่านขั้นตอน dialysis อย่างน้อย 72 ชั่วโมง เพื่อนำเกลือออกจากระบบ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกวิธีสกัดด้วยน้ำซึ่งใช้เวลาน้อยกว่าและไม่ยุ่งยาก ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.25A โดยพบว่าการสกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 100 °ซ สามารถสกัดได้เซอร์ริซินจากไหมอิตาลี ที่มีแถบโปรตีนขนาด 18 22 และ 27 กิโลดาลตัน ร่วมกับโปรตีนที่อยู่ในรูปที่ถูกสลาย (degraded proteins) ส่วนเซอร์ริซินที่สกัดจากไหมบ้าน มีแถบโปรตีนขนาด 13 22 26 และ 122 กิโลดาลตัน ร่วมกับโปรตีนที่อยู่ในรูปที่ถูกสลาย (degraded proteins) เช่นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่ระบุว่า การสกัดโปรตีนเซอร์ริซินจากไหมอิตาลีด้วยน้ำ โปรตีนที่ได้มักอยู่ในรูปแบบโปรตีนที่ถูกสลาย ขณะที่การสกัดด้วยยูเรีย จะทำให้ได้แถบโปรตีนเซอร์ริซินที่ไม่ถูกสลาย (Chaisabai et al., 2017)



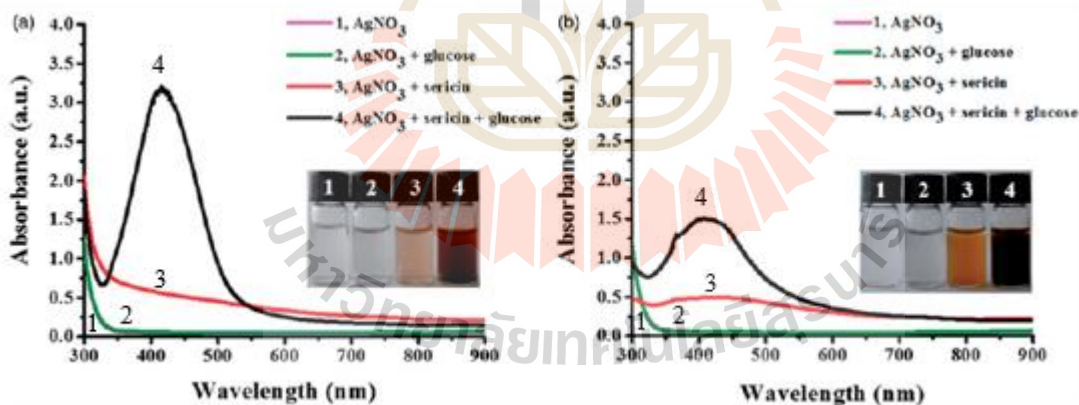
ภาพที่ 4.25 โปรตีนเซอร์ริซินที่สกัดจากไหมบ้านและไหมอิตาลีบน 12.5% SDS-PAGE (A) และความสามารถในการรีดิวซ์ของเซอร์ริซินทั้งสองชนิด (B)

นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ของโปรตีนเซอร์ริซินจากไหมบ้านและไหมอิตาลี ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.25B โดยพบว่าโปรตีนเซอร์ริซินที่สกัดได้จากไหมทั้ง 2 ชนิด มีคุณสมบัติเป็นสารรีดิวซ์ที่ดีและมีความแรงเพิ่มขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นโปรตีนเซอร์ริซินสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าโปรตีนดังกล่าวมี

ศักยภาพที่จะใช้เป็นสารรีดิวซ์ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนเซอร์ริซินจากไหมอีรี่ มีค่า reducing activity สูงกว่าเซอร์ริซินจากไหมบ้านอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งค่า reducing capacity คือความสามารถของสารในการให้อิเล็กตรอนกับสารอื่นและทำให้ตัวเองอยู่ในสถานะเสถียร (Prasong, 2011)

4.6.2 การเปรียบเทียบการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยเซอร์ริซินจากไหมบ้านและไหมอีรี่โดยเทคโนโลยีสีเขียว

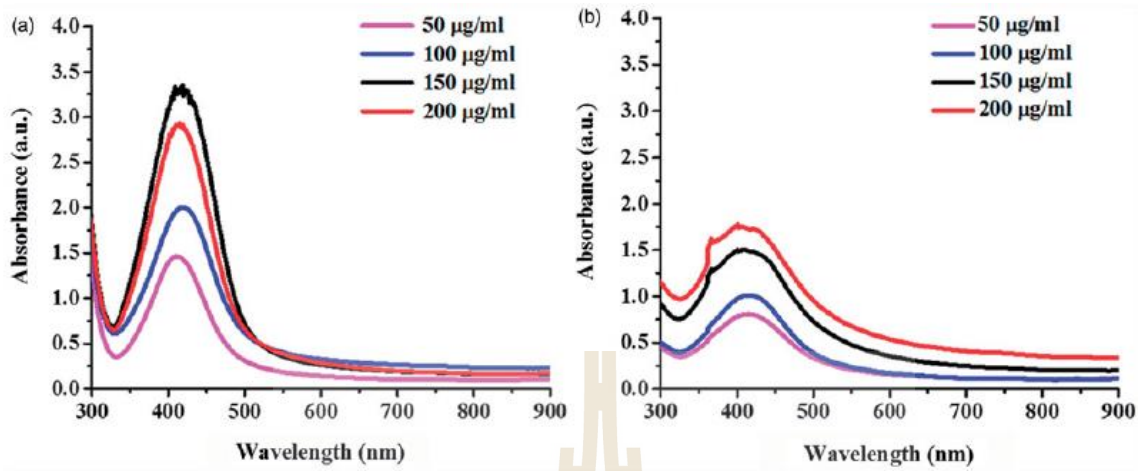
ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้โปรตีนเซอร์ริซินของไหมทั้ง 2 ชนิด ในการทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์และสารที่ทำให้คงตัวร่วมกับ AgNO_3 ในปฏิกิริยาประกอบด้วยกลูโคสและไม่มีกลูโคสที่ทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ร่วม ผลการทดลองในภาพที่ 4.26 แสดงถึงการเกิดอนุภาคนาโนเงินในสถานะที่มีกลูโคสและไม่มีกลูโคส โดยสารละลายจะเกิดปฏิกิริยาและเปลี่ยนสีจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีน้ำตาล ซึ่ง surface plasmon resonance (SPR) peak ที่เป็นเอกลักษณ์ของอนุภาคซิลเวอร์ พบเฉพาะในปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยกลูโคสและเซอร์ริซินเท่านั้น โดยที่สารสกัดเซอร์ริซินอย่างเดียวไม่มีประสิทธิภาพพอที่จะทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ในการทำให้เกิดการฟอร์มตัวเป็นอนุภาคนาโนเงินภายใน 24 ชั่วโมง และความสูงของพีค SPR ของปฏิกิริยาที่ใช้ไหมอีรี่และไหมบ้านคือ 419 และ 408 นาโนเมตร ตามลำดับ ขณะที่ไม่พบพีค SPR ในปฏิกิริยาที่มีเฉพาะ AgNO_3 หรือ AgNO_3 ร่วมกับกลูโคส จากผลดังกล่าวเมื่อพิจารณาจากพีค SPR แสดงให้เห็นว่าเซอร์ริซินของไหมอีรี่ทำให้เกิดการฟอร์มตัวเป็นอนุภาคได้ดีกว่าเซอร์ริซินของไหมบ้าน



ภาพที่ 4.26 การดูดกลืนแสงในช่วง 300–900 นาโนเมตรของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์จากเซอร์ริซินของไหมจากไหมอีรี่ (A) และไหมบ้าน (B)

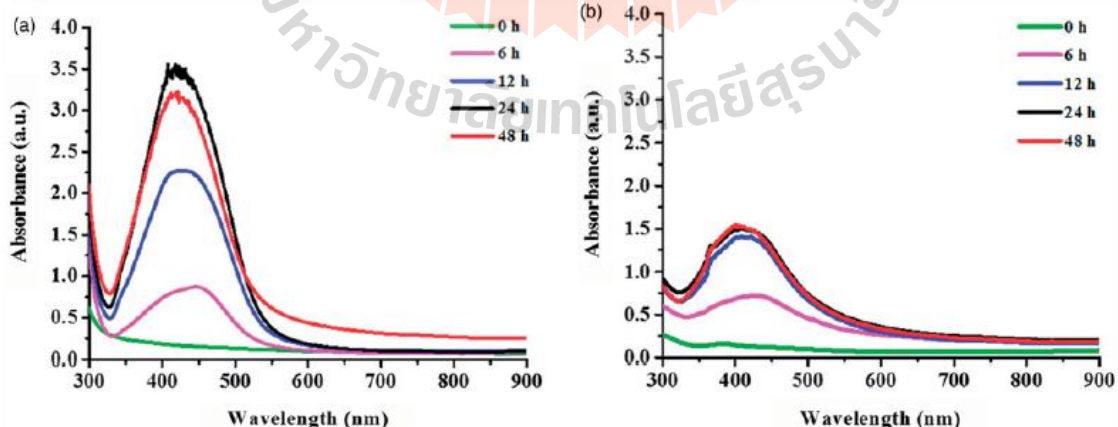
ภาพที่ 4.27 แสดงค่าการดูดกลืนแสงขณะที่มีการฟอร์มตัวเป็นอนุภาคซิลเวอร์โดยใช้เซอร์ริซินของไหมอีรี่และไหมบ้านภายใต้สภาวะความเข้มข้นต่างกัน (50–200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเซอร์ริซินเพิ่มขึ้น ความสูงของพีค SPR มีค่าเพิ่มขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้พบว่าผลการทดลองนี้

สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ คือการผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้เซอริซินของไหมอี่จะมีปริมาณสูงกว่าการใช้เซอริซินจากไหมบ้านในการผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์



ภาพที่ 4.27 การดูดกลืนแสงในช่วง 300–900 นาโนเมตรของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์โดยใช้เซอริซินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยที่ A คือเซอริซินจากไหมอี่ และ B คือเซอริซินจากไหมบ้าน

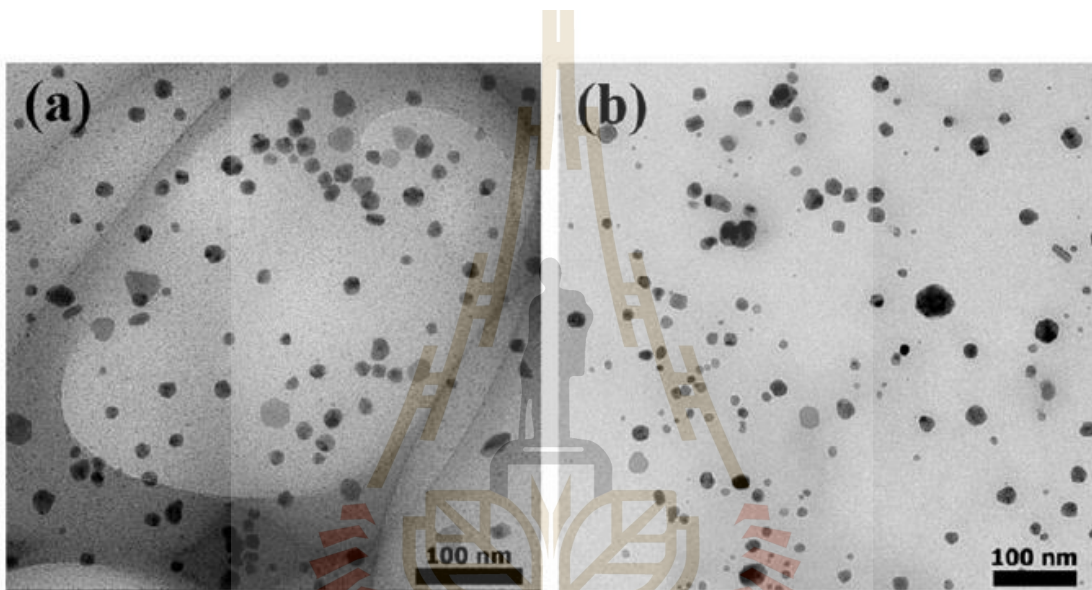
การติดตามการเกิดอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในระยะเวลา 48 ชั่วโมงแสดงในภาพที่ 4.28 โดยพบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาของปฏิกิริยา จะทำให้เกิดอนุภาคนาโนซิลเวอร์เพิ่มขึ้น โดยดูได้จากค่าดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นของพีก SPR โดยปฏิกิริยาที่ใช้เซอริซินของไหมอี่มีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้สูงกว่าในปฏิกิริยาที่ใช้เซอริซินจากไหมบ้าน ซึ่งสอดคล้องกับค่า reducing activity ของ เซอริซินจากไหมอี่ที่สูงกว่าเซอริซินจากไหมบ้าน ซึ่งสนับสนุนให้เกิดการเพิ่มขึ้นของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ทั้งนี้คาดว่ากรดอะมิโนในโครงสร้างของเซอริซินทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ (โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอะมิโน ฟีนิลอะลานีน ฮิสเทอีน ไทโรซีน และฮิสทีดีน) โดยกรดอะมิโนดังกล่าวมีสูงถึง 7.88% ในเซอริซินของไหมอี่ ในขณะที่มีเพียง 2.21% ในเซอริซินของไหมบ้าน



ภาพที่ 4.28 การดูดกลืนแสงในช่วง 300–900 นาโนเมตรของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์จากเซอริซินในช่วง 48 ชั่วโมง โดยที่ A คือ ปฏิกิริยาที่ใช้เซอริซินจากไหมอี่ และ B คือปฏิกิริยาที่ใช้เซอริซินจากไหมบ้าน

4.6.3 คุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้

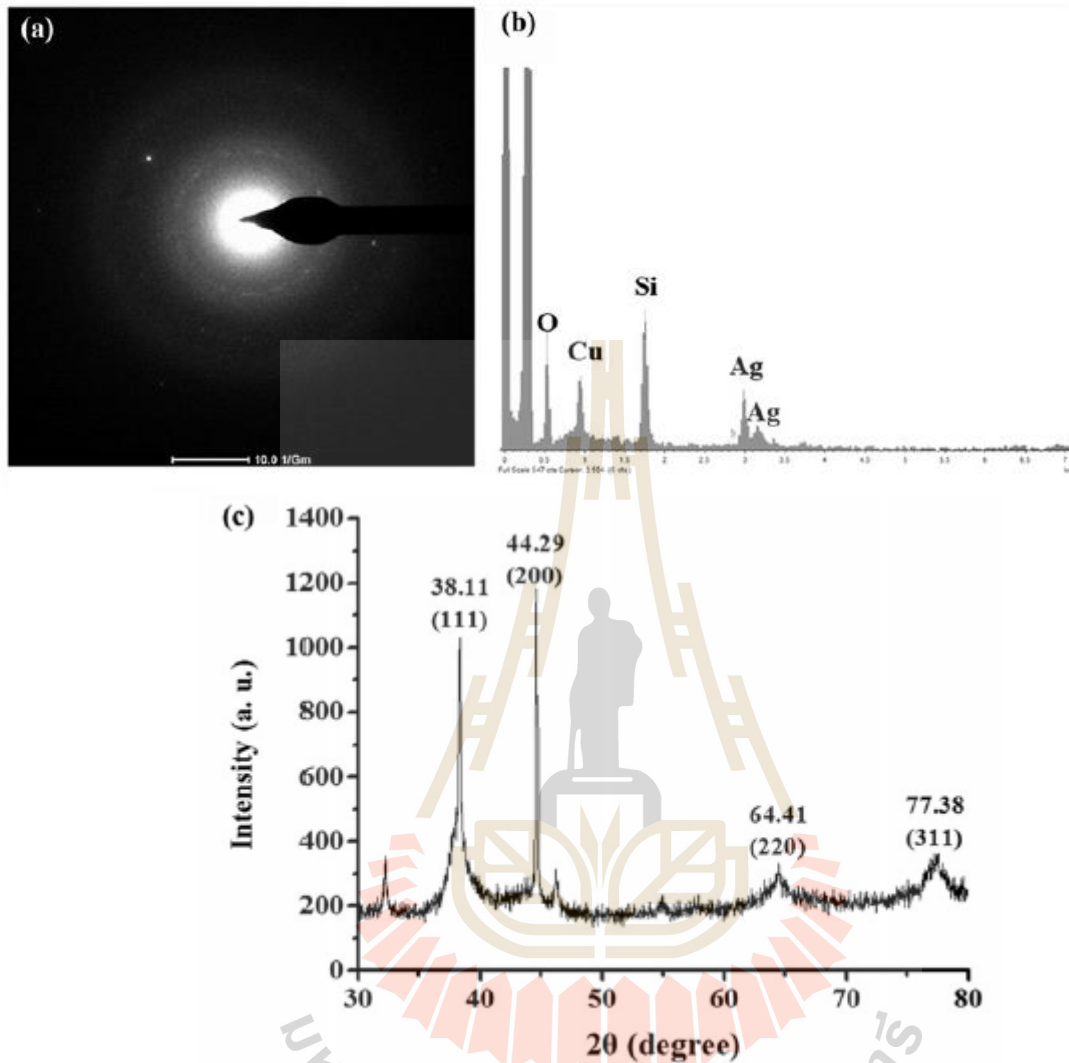
การศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์โดยใช้เซอริซินจากไหมอีรี่และไหมบ้านโดยใช้ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านแสดงในภาพที่ 4.29 โดยพบว่าอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์จากการใช้เซอริซินจากไหมทั้ง 2 ชนิด มีขนาดและรูปร่างเหมือนกัน โดยส่วนใหญ่มีรูปร่างเป็นทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 13.6 ± 5.1 และ 13.3 ± 6.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยขนาดของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์โดยใช้เซอริซินจากไหมอีรี่มีขนาดในช่วง 5.5-30.5 นาโนเมตร ในขณะที่อนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์โดยใช้เซอริซินจากไหมบ้านมีขนาดในช่วง 2.4 ถึง 38.1 นาโนเมตร จากภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าอนุภาคนาโนซิลเวอร์มีการกระจายตัวดี เนื่องจากคุณสมบัติของเซอริซินที่มีประจุเป็นลบล้อมรอบอนุภาค



ภาพที่ 4.29 ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของอนุภาคซิลที่สังเคราะห์โดยใช้เซอริซินจากไหมอีรี่ (A) และไหมบ้าน (B)

เมื่อนำอนุภาคที่ได้ไปศึกษาโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิค TEM-SAED (ภาพที่ 4.30A) พบว่ามีค่า d-spacing เท่ากับ 2.38 และ 1.22 อังสตรอม เมื่อแปรผลตามการมาตรฐาน JCPDS เบอร์ 4-0787 พบว่าตรงกับระนาบ 1 1 1 และระนาบ 3 1 1 ของผลึกอนุภาคนาโนซิลเวอร์ และเมื่อศึกษาองค์ประกอบของธาตุด้วยเทคนิค TEM-EDX (ภาพที่ 4.30B) พบว่าโครงสร้างดังกล่าวมีธาตุเงินเป็นองค์ประกอบ ซึ่งชี้ถึงเอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ในขณะที่ธาตุอื่น ได้แก่ ออกซิเจน และคาร์บอน ที่ปรากฏคาดว่าป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนเซอริซินเหลืออยู่ สำหรับคอปเปอร์ คาดว่าเป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบของกริดซึ่งประกอบด้วยคาร์บอนที่เคลือบด้วยคอปเปอร์ ในขณะเดียวกันเมื่อนำอนุภาคที่ได้ไปศึกษารูปแบบโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิค XRD (ภาพที่ 4.30C) พบค่าการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์เท่ากับ 38.11° 44.29° 64.41° และ

77.38° เมื่อแปรผลตามการวัดมาตรฐาน JCPDS เบอร์ 04-0783 พบว่าสอดคล้องกับระนาบ 1 1 1 2 0 0 2 2 และ 3 1 1 จากผลการวิเคราะห์ข้างต้นจึงสรุปได้ว่าอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้เป็นอนุภาคนาโนซิลเวอร์

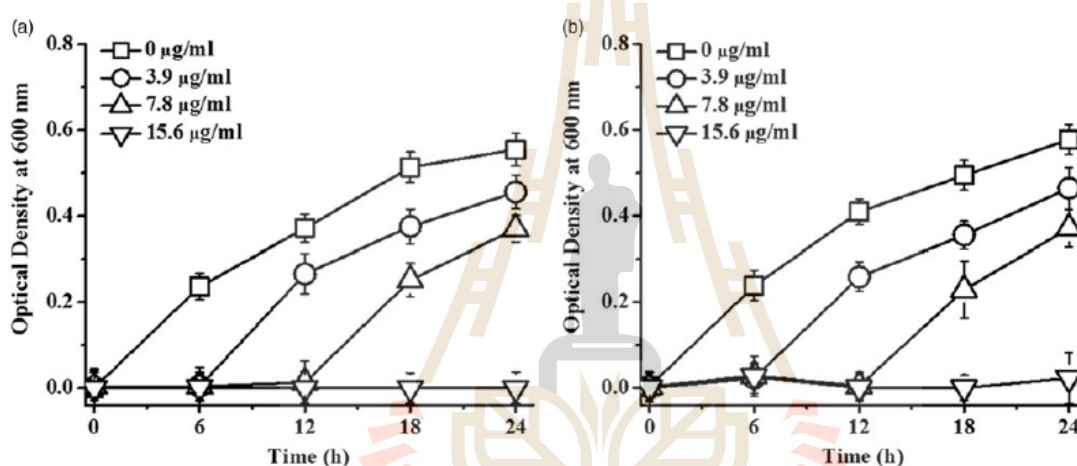


ภาพที่ 4.30 องค์ประกอบของแร่ธาตุ และลักษณะโครงสร้างผลึกของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์โดยใช้เซอริซินของไหมอีรี่ โดยภาพ A คือผลการวิเคราะห์ด้วย TEM-SAED ของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้ ภาพ B คือผลการวิเคราะห์ด้วย TEM-EDX และภาพ C คือผลการวิเคราะห์ด้วย XRD

4.6.4 คุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์ได้

การศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์ขึ้น โดยใช้ *E. coli* เป็นตัวแทนแบคทีเรียแกรมลบ และ *S. aureus* เป็นตัวแทนแบคทีเรียแกรมบวก ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.31 ซึ่งพบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ถูกยับยั้งการเจริญด้วยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์จากเซอริซินของไหมอีรี่ และแปรผันตามความเข้มข้นของอนุภาคนาโน สำหรับค่า MIC และ MBC ของอนุภาค

นาโนซิลเวอร์ต่อ *E. coli* เท่ากับ 15.60 และ 62.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนค่า MIC และ MBC ของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ต่อ *S. aureus* เท่ากับ 31.25 และ 62.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่สังเคราะห์ด้วยเซอร์จีนของไหมบ้าน พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้เช่นเดียวกัน โดยมีค่า MIC และ MBC ต่อ *E. coli* เท่ากับ 6.25 และ 12.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีค่า MIC และ MBC ต่อ *S. aureus* เท่ากับ 12.50 และ 25.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งกลไกในการทำลายแบคทีเรีย คาดว่าอนุภาคนาโนซิลเวอร์สามารถแพร่ผ่านเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรีย มีผลต่อกระบวนการแบ่งเซลล์และการทำงานของโปรตีนและเอนไซม์ต่าง ๆ รวมทั้งทำให้เกิด oxidative stress และชักนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis (Choi et al., 2010) นอกจากนี้พบว่าอนุภาคนาโนซิลเวอร์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีผนังเซลล์ชั้น peptidoglycan ที่บางกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Kim et al., 2007)

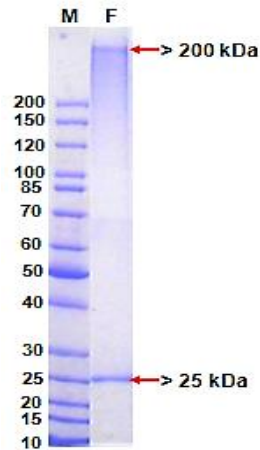


ภาพที่ 4.31 ผลของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ต่อการเจริญของแบคทีเรีย *E. coli* (A) และ *S. aureus* (B) โดยอนุภาคนาโนซิลเวอร์นี้สังเคราะห์จากเซอร์จีนของไหมอีรี่

4.7 การผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนไฟโบรอินจากไหมบ้าน

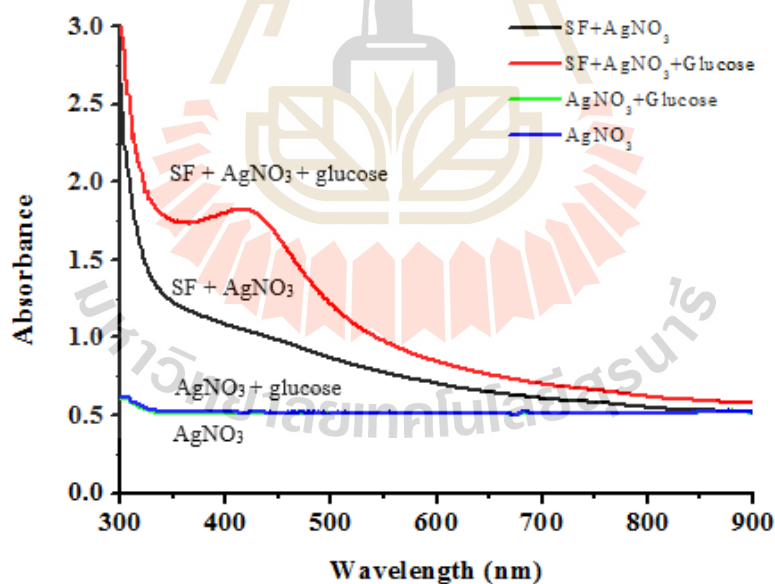
ในการศึกษานี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้โปรตีนไฟโบรอินของไหมบ้านโดยศึกษาในปฏิกิริยาที่ใช้ไฟโบรอินร่วมกับกลูโคส และที่ใช้เฉพาะไฟโบรอิน

ในการสกัดไฟโบรอินไหมบ้านด้วยสารละลาย Ajisawa's reagent ในอัตราส่วน 1 กรัม ต่อ สารละลาย 40 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 1 นาที พบว่าสามารถสกัดโปรตีนไฟโบรอินได้ โดยปรากฏแถบโปรตีนที่มีขนาดประมาณ 25 กิโลดาลตัน และขนาดมากกว่า 200 กิโลดาลตัน (ภาพที่ 4.32) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าโปรตีนไฟโบรอินจากรังไหมบ้านประกอบด้วย 2 subunit คือ light chain และ heavy chain ที่มีขนาดประมาณ 25 และ 350 กิโลดาลตัน ตามลำดับ (Tanaka et al., 1999)



ภาพที่ 4.32 รูปแบบของโปรตีนไฟโบรอินที่สกัดได้จากไหมบ้านด้วยสารละลาย Ajisawa 's reagent โดย M คือโปรตีนมาตรฐาน F คือ โปรตีนไฟโบรอินที่สกัดด้วยสารละลาย Ajisawa 's reagent ที่พบบน 6-15% linear gradient SDS-PAGE

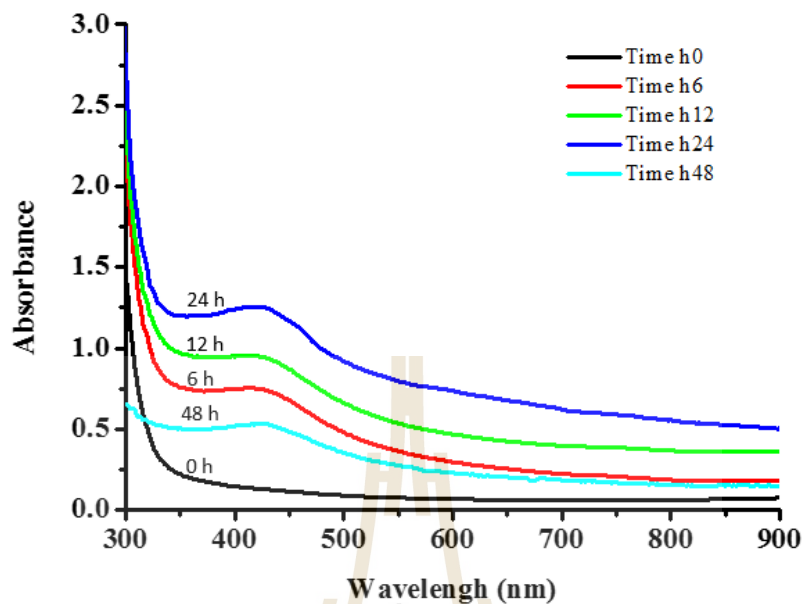
การศึกษการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนไฟโบรอินของไหมบ้านโดยใช้และไม่ใช้กลูโคส ที่ความเข้มข้นโปรตีนไฟโบรอิน 0.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.33 โดยพบว่าเฉพาะปฏิกิริยาที่ใช้ไฟโบรอินร่วมกับกลูโคสเท่านั้นที่สามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ แสดงให้เห็นว่าไฟโบรอินมีสมบัติเป็นสารรีดิวซ์ที่ไม่ดี ซึ่งแตกต่างจากโปรตีนเซอรีซิน



ภาพที่ 4.33 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนไฟโบรอินในสถานะที่ใช้หรือไม่ใช้กลูโคสในปฏิกิริยา ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเกิดของอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนไฟโบรอิน พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมคือ 24 ชั่วโมง เนื่องจากมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 420 นาโนเมตร สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่เวลา 12 และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ และพบว่าที่เวลา 48 ชั่วโมง สามารถสังเคราะห์

อนุภาคนาโนของเงินได้ต่ำที่สุด (ภาพที่ 4.34) ซึ่งอาจเกิดจากการจับกลุ่มตกตะกอนของอนุภาคนาโนของเงิน ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่นที่ 420 นาโนเมตร ลดลง

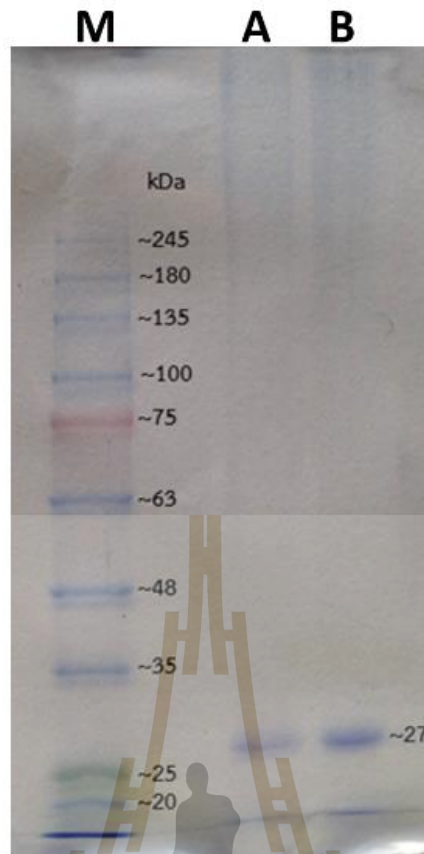


ภาพที่ 4.34 ผลของระยะเวลาต่อการสังเคราะห์อนุภาคนาโนซิลเวอร์โดยใช้โปรตีนไฟโบรอินที่ความเข้มข้น 0.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้น้ำตาลกลูโคส ปฏิกริยาที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 0 6 12 และ 48 ชั่วโมง

4.8 การสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนไฟโบรอินและเซอร์ซิน

4.8.1 การสกัดไฟโบรอิน

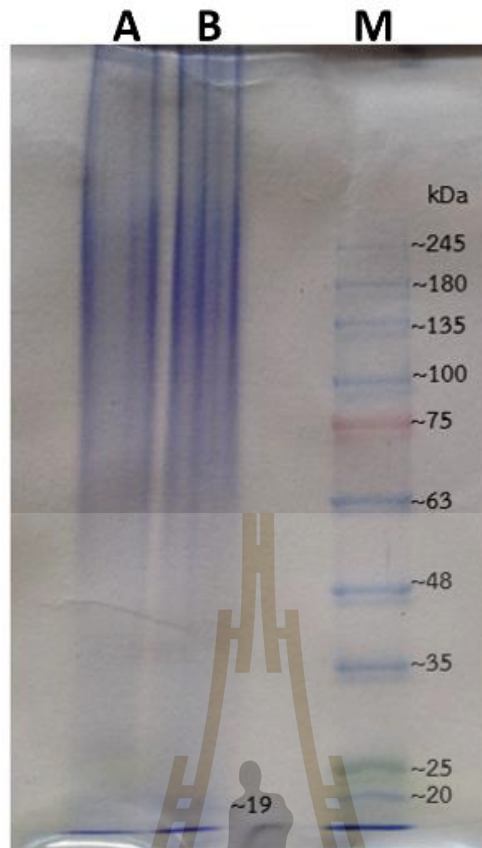
การสกัดโปรตีนไฟโบรอินจากรังไหม *B. mori* และหาน้ำหนักแห้งของโปรตีน พบว่าสามารถสกัดได้ปริมาณโปรตีน 0.42 กรัมต่อ 1 กรัมของรังไหม เมื่อนำโปรตีนที่สกัดได้มาตรวจสอบขนาดโดยใช้ 4–16% gradient SDS-PAGE ดังแสดงในภาพที่ 4.35 ซึ่งพบโปรตีนไฟโบรอินขนาดประมาณ 27 กิโลดาลตัน ซึ่งเป็น light chain fibroin (Kim et al., 2005) แต่ไม่พบ heavy chain fibroin ซึ่งคาดว่าโปรตีนดังกล่าวอาจถูกทำลายไประหว่างกระบวนการสกัด



ภาพที่ 4.35 แบบแผนของโปรตีนไฟโบรอินที่สกัดได้บน 4–16% gradient SDS-PAGE เมื่อ A คือ ไฟโบรอิน 5 ไมโครกรัม B คือ ไฟโบรอิน 10 ไมโครกรัม และ M คือโปรตีนมาตรฐาน

4.8.2 การสกัดโปรตีนเซอรีซิน

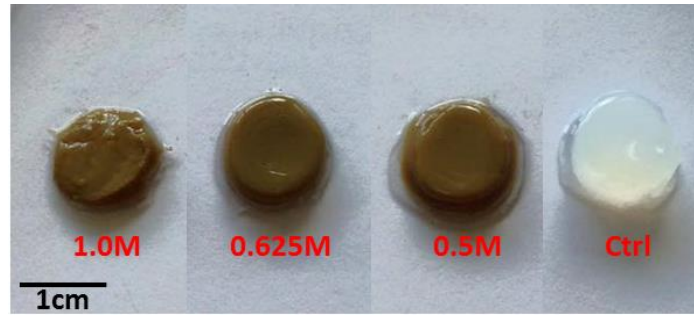
การสกัดโปรตีนเซอรีซินจากรังไหม *B. mori* และหาน้ำหนักแห้งของโปรตีน พบว่าสามารถสกัดได้ ปริมาณโปรตีน 0.14 กรัม ต่อ 1 กรัมของรังไหม เมื่อนำโปรตีนที่สกัดได้มาตรวจสอบขนาดโดยใช้ 4–16% gradient SDS-PAGE ดังแสดงในภาพที่ 4.36 ซึ่งพบโปรตีนเซอรีซินมีขนาดประมาณ 20 กิโลดาลตัน และแถบ smear ของโปรตีนขนาดใหญ่ ซึ่งอาจเกิดจากโมเลกุลของโปรตีนขนาดใหญ่ที่ละลายน้ำได้ต่ำค้างบนหลุมเจล และมีเพียงบางส่วนที่ละลายน้ำได้ ทำให้เกิดแถบ smear ที่เข้มด้านข้างของแถบโปรตีน ซึ่งจากการเห็นแถบ โปรตีนเซอรีซินที่ไม่ชัดเจนจะเป็นผลมาจากวิธีการสกัดที่ใช้อุณหภูมิ 100 °ซ นานถึง 1 ชั่วโมง ทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพและไม่เห็นเป็นแถบโปรตีนที่ชัดเจน (Teramoto et al., 2005)



ภาพที่ 4.36 แบบแผนของโปรตีนเซอร์ซินที่สกัดได้บน 4–16% gradient SDS-PAGE เมื่อ A คือ เซอร์ซิน 5 ไมโครกรัม B คือ เซอร์ซิน 10 ไมโครกรัม และ M คือโปรตีนมาตรฐาน

4.8.3 การสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากไฟโบรอิน

การสังเคราะห์ไฮโดรเจลจากโปรตีนไฟโบรอิน โดยใช้ไฟโบรอินความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่ความเข้มข้น 0.5 0.625 และ 1.0 โมลาร์ ตามลำดับ บ่มภายใต้แสงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.37 โดยพบว่าลักษณะทางกายภาพของไฮโดรเจลที่ผลิตได้มีการเปลี่ยนสีไปเป็นสีน้ำตาลและไม่คงรูป เมื่อเปรียบเทียบกับไฮโดรเจลจากไฟโบรอินที่ไม่ได้เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่มีสีขาวขุ่นและคงรูป โดยเมื่อยิ่งเพิ่มความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเตรต ยิ่งมีผลให้ไม่สามารถทำให้สภาพไฮโดรเจลที่คงรูปได้มากขึ้น ซึ่งคาดว่าเกิดจากการที่ซิลเวอร์ไนเตรตทำให้โปรตีนไฟโบรอินเสียสภาพและไม่สามารถสร้างโครงข่ายของไฮโดรเจลได้ดี ดังนั้นจึงยังต้องมีการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจลที่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากไฟโบรอินต่อไป



ภาพที่ 4.37 ไฮโดรเจลจากโปรตีนไฟโบรอิน (Ctrl) เปรียบเทียบกับไฮโดรเจลจากโปรตีนไฟโบรอินที่ผสมซิลเวอร์ไนเตรต 0.5 0.625 และ 1.0 โมลาร์

4.8.4 การสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากเซอร์ซิซ

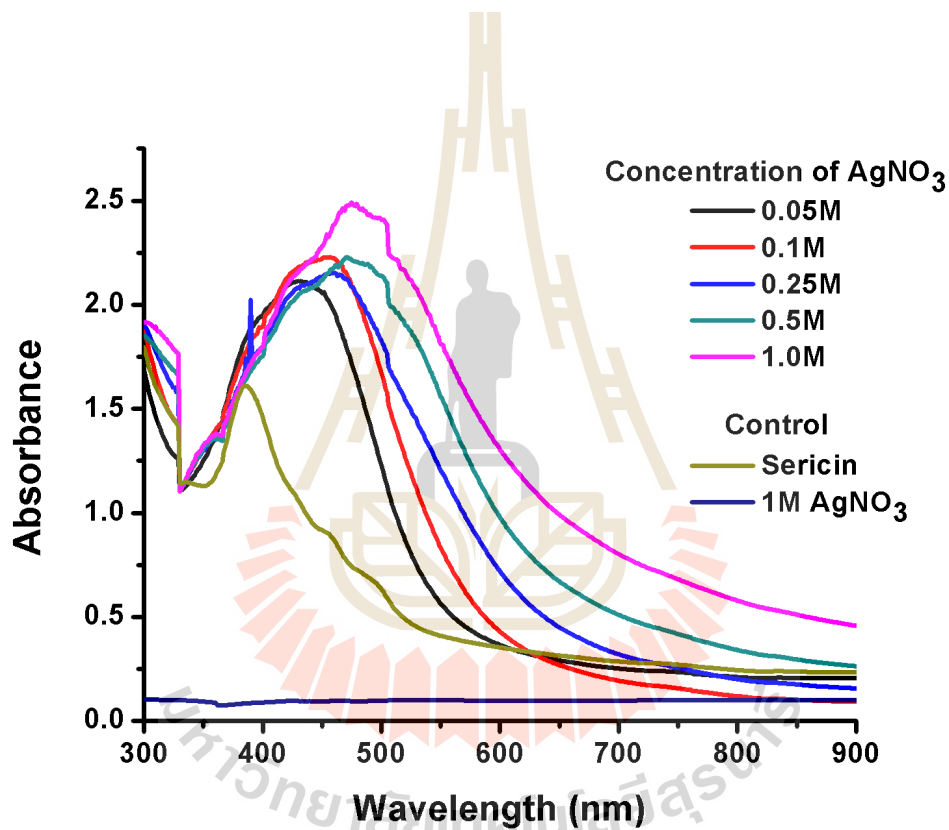
การสังเคราะห์ไฮโดรเจลจากโปรตีนเซอร์ซิซโดยใช้โปรตีนเซอร์ซิซที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และเติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตความเข้มข้นต่างกันคือ 0.05 0.1 0.25 0.5 และ 1.0 โมลาร์ ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.38 พบว่าลักษณะทางกายภาพของไฮโดรเจลจากเซอร์ซิซที่ไม่ได้เติมซิลเวอร์ไนเตรตที่มีสีเหลือง (Ctrl) แตกต่างไปจากไฮโดรเจลจากเซอร์ซิซผสมซิลเวอร์ไนเตรตซึ่งมีสีน้ำตาล ทั้งนี้สีน้ำตาลที่เกิดขึ้นน่าจะเป็นสีของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเกิดไฮโดรเจล นอกจากนี้พบว่าสีน้ำตาลที่เปลี่ยนไปนั้นมีแนวโน้มจะเข้มข้นตามความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่เติมลงไป



ภาพที่ 4.38 ไฮโดรเจลที่ผลิตจากเซอร์ซิซ (ctrl) และไฮโดรเจลผลิตจากเซอร์ซิซผสมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.25 0.5 และ 1.0 โมลาร์

เมื่อนำไฮโดรเจลจากเซอร์ซิซผสมซิลเวอร์ไนเตรตที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 0.25 0.5 และ 1.0 โมลาร์ มาหาค่าดูดกลืนแสงสูงสุด เพื่อศึกษาการเกิดอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.39 โดยพบว่าไฮโดรเจลดังกล่าวมีค่าดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 430 453 459 471 และ 475 นาโนเมตร

ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับช่วงดูดกลืนแสงสูงสุดของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่อยู่ในช่วง 390–500 นาโนเมตร ทั้งนี้คาดว่าค่าดูดกลืนแสงสูงสุดมีความสอดคล้องกับขนาดของอนุภาค โดยอนุภาคขนาดเล็กจะมีค่าดูดกลืนแสงสูงสุดต่ำกว่าอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ (Agnihotri et al., 2014) ผลจากการทดลองนี้คาดว่า โปรตีนเซอร์ริซินทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์และเป็นสารทำให้คงตัวในปฏิกิริยาและแสงทำหน้าที่กระตุ้นให้เกิดสร้างอนุภาคนาโนซิลเวอร์ (He et al., 2017) สำหรับไฮโดรเจลจากเซอร์ริซินที่ไม่ได้ผสมซิลเวอร์ในเตรต มีค่าดูดกลืนแสงสูงสุดที่ประมาณ 380 นาโนเมตร และสารละลายซิลเวอร์ในเตรตความเข้มข้น 1 โมลาร์ ไม่ดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 300–900 นาโนเมตร ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของไฮโดรเจลจากเซอร์ริซินผสมซิลเวอร์ในเตรตเป็นผลมาจากการเกิดอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในไฮโดรเจลดังกล่าว



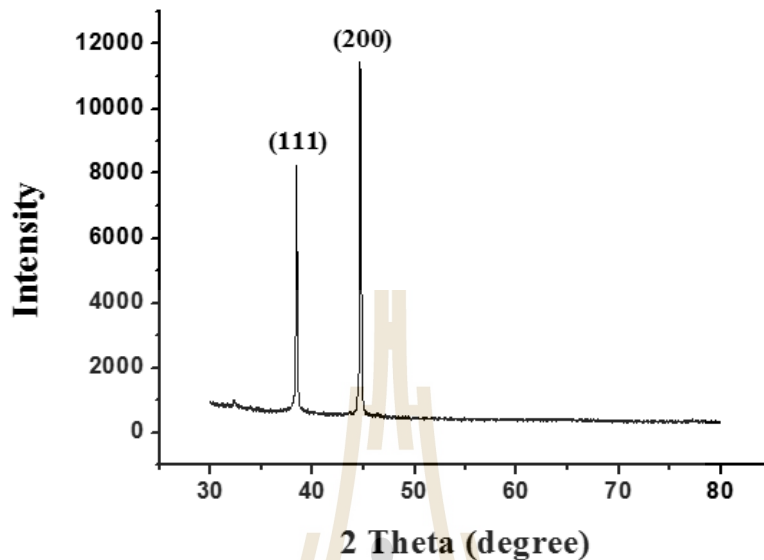
ภาพที่ 4.39 การดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 300–900 นาโนเมตร ของไฮโดรเจลจากเซอร์ริซินผสมซิลเวอร์ในเตรตที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เปรียบเทียบกับไฮโดรเจลจากเซอร์ริซิน และสารละลายซิลเวอร์ในเตรต

4.8.5 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของเซอร์ริซินไฮโดรเจล

การศึกษาการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์

การศึกษาการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของไฮโดรเจลจากเซอร์ริซินที่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์ดังแสดงในภาพที่ 4.40 พบว่าเกิดพีคขึ้นมุม 2 Theta ที่ประมาณ 38.4 และ 44.6 องศา ในระนาบ 111 และ 200

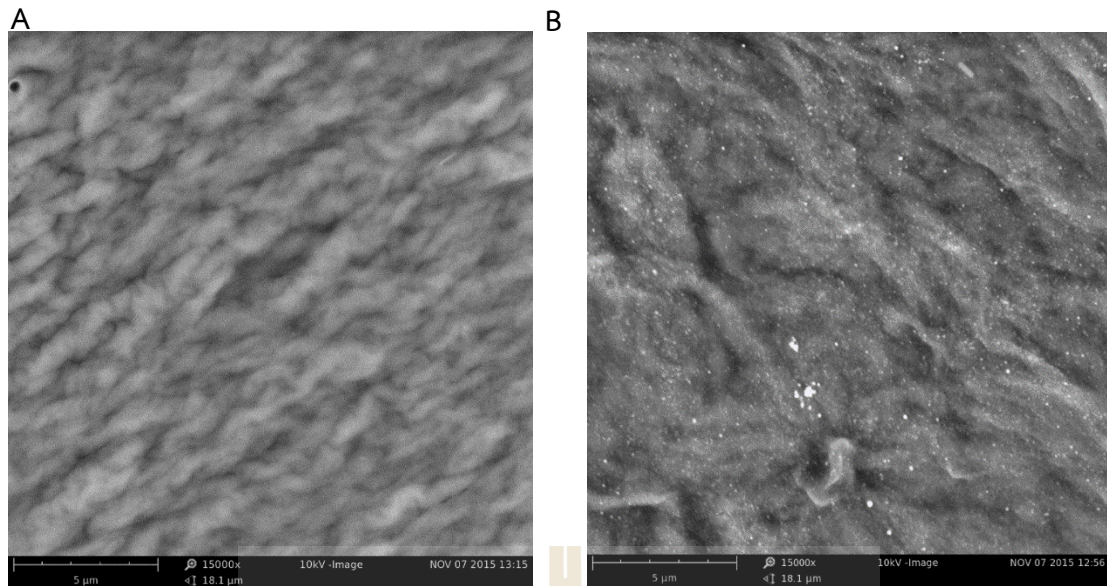
ตามลำดับ ซึ่งพิกที่ที่เกิดขึ้นดังกล่าวสอดคล้องกับพิกของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้ (Khan et al., 2011) ผลจากการศึกษาดังกล่าวเป็นการยืนยันได้ว่าไฮโดรเจลจากเซอร์ชินข้างต้นมีอนุภาคนาโนซิลเวอร์อยู่ใน



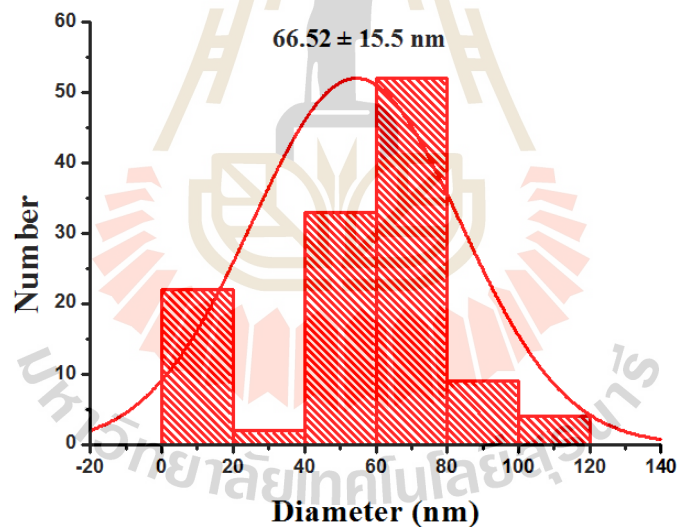
ภาพที่ 4.40 การวิเคราะห์โครงสร้างของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในไฮโดรเจลจากเซอร์ชินด้วยเทคนิค XRD

การวิเคราะห์ด้วยภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

การศึกษาลักษณะพื้นผิวของไฮโดรเจลเซอร์ชินที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแสดงในภาพที่ 4.41 พบว่าพื้นผิวของไฮโดรเจลของเซอร์ชินไม่พบอนุภาคนาโนซิลเวอร์ (ภาพที่ 4.41A) แต่ผิวของไฮโดรเจลของเซอร์ชินที่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์ มีจุดเรืองแสงอันเนื่องมาจากอนุภาคนาโนซิลเวอร์กระจายอยู่ทั่วพื้นผิว (ภาพที่ 4.41B) เมื่อวัดขนาดของอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากภาพที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าขนาดของอนุภาคนาโนซิลเวอร์มีการกระจายอยู่ในช่วง 38–120 นาโนเมตร โดยมีค่าเฉลี่ยที่ 66.52 ± 15.5 นาโนเมตร (ภาพที่ 4.42)



ภาพที่ 4.41 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของไฮโดรเจลจากเซอร์ซิซ (A) และไฮโดรเจลจากเซอร์ซิซที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์ (B)

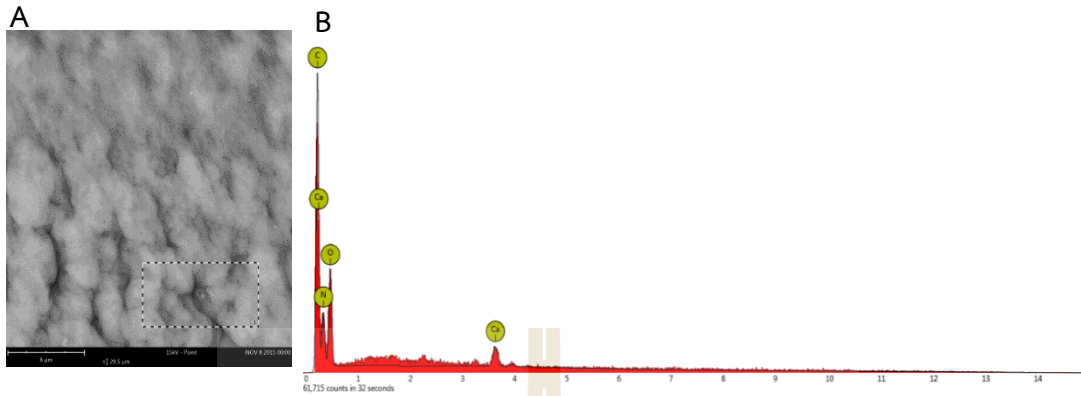


ภาพที่ 4.42 การกระจายของขนาดอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่บรรจุในไฮโดรเจลจากเซอร์ซิซ

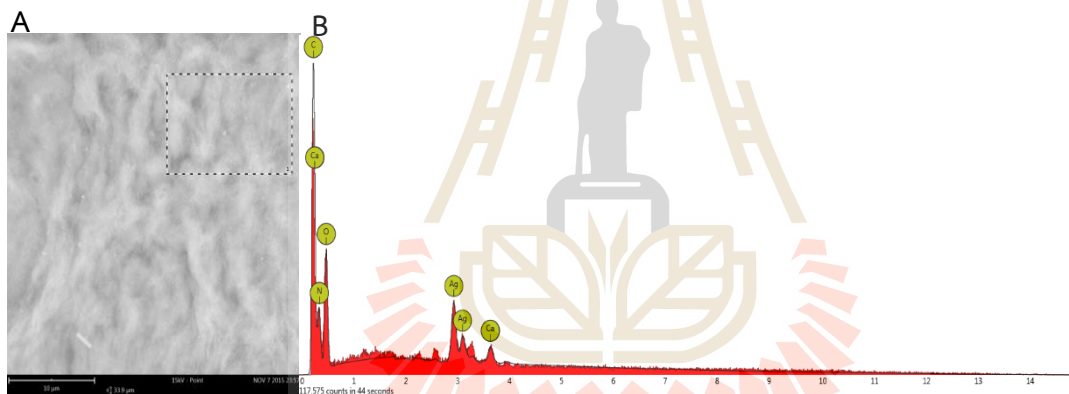
การวิเคราะห์ธาตุเชิงพลังงาน

การศึกษาธาตุต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของไฮโดรเจลจากเซอร์ซิซทั้งที่มีและไม่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์แสดงดังภาพที่ 4.43–4.44 โดยไฮโดรเจลจากเซอร์ซิซมีธาตุที่เป็นองค์ประกอบพื้นฐานของโปรตีนคือ คาร์บอนไดออกไซด์ ออกซิเจน และไนโตรเจน (ภาพที่ 4.38) แต่ในส่วนของไฮโดรเจล จากเซอร์ซิซที่บรรจุ

อนุภาคนาโนซิลเวอร์ นอกเหนือจากธาตุข้างต้นแล้วยังพบธาตุซิลเวอร์เป็นองค์ประกอบด้วย (ภาพที่ 4.39) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนซิลเวอร์น่าจะแทรกตัวอยู่ในไฮโดรเจล



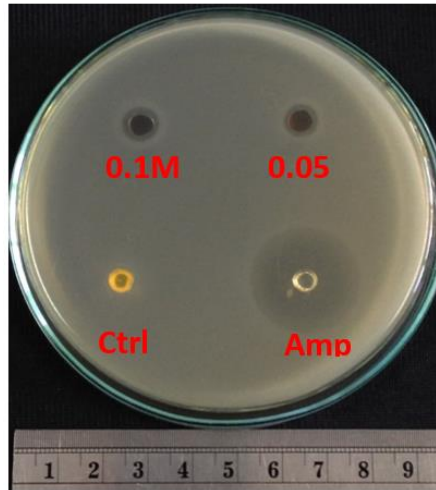
ภาพที่ 4.43 การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุในไฮโดรเจลที่ไม่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยเทคนิค SEM-EDX โดยที่ A คือ พื้นที่ในรอยประเป็นบริเวณที่ใช้วิเคราะห์ และ B คือ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุ



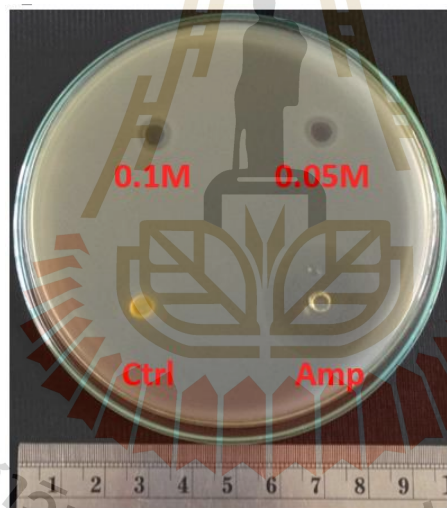
ภาพที่ 4.44 การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุในไฮโดรเจลที่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยเทคนิค SEM-EDX โดยที่ A คือ พื้นที่ในรอยประเป็นบริเวณที่ใช้วิเคราะห์ และ B ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุ

4.8.6 การศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียของไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์

การศึกษาคุนสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของไฮโดรเจลที่ผลิตได้ แสดงดังภาพที่ 4.45-4.46 โดยพบว่าไฮโดรเจลจากเซอร์ซิซินที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งแกรมบวก *S. aureus* และแกรมลบ *E. coli* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเฉลี่ยที่ 0.60 ± 0.05 และ 0.82 ± 0.02 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่ในส่วนของไฮโดรเจลจากเซอร์ซิซิน (Ctrl) พบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้จึงไม่เป็นวงใสบริเวณรอบไฮโดรเจล



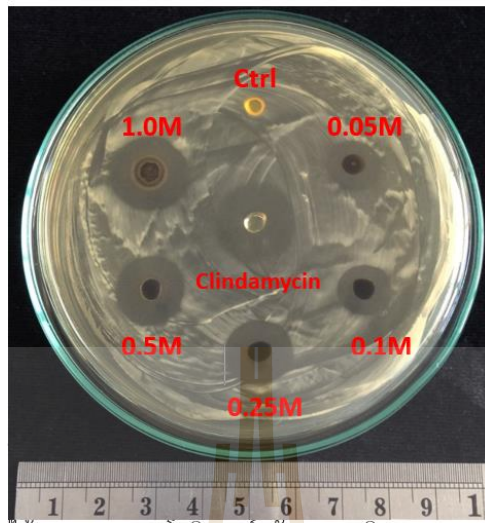
ภาพที่ 4.45 การยับยั้งการเจริญเติบโตของไฮโดรเจลที่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ผลิตจากซิลเวอร์ไนเตรตเริ่มต้น 0.05 และ 0.1 โมลาร์ต่อแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* โดย Ctrl คือ เซอร์ซิโนไฮโดรเจลที่ไม่ได้บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์ (ตัวควบคุมเชิงลบ) และ Amp คือ แอมพิซิลลิน (ตัวควบคุมเชิงบวก)



ภาพที่ 4.46 การยับยั้งการเจริญเติบโตของไฮโดรเจลที่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ผลิตจากซิลเวอร์ไนเตรตเริ่มต้น 0.05 และ 0.1 โมลาร์ต่อแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* โดย Ctrl คือ เซอร์ซิโนไฮโดรเจลที่ไม่ได้บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์ (ตัวควบคุมเชิงลบ) และ Amp คือ แอมพิซิลลิน (ตัวควบคุมเชิงบวก)

นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อแบคทีเรียที่ก่อสิว *Propionibacterium acnes* ผลการศึกษาแสดงดังรูปที่ 4.47 พบว่าไฮโดรเจลจากเซอร์ซิโนที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ใช้ซิลเวอร์ไนเตรตเริ่มต้น เข้มข้น 0.05 0.1 0.25 0.5 และ 1.0 โมลาร์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อก่อสิวได้ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสคือ 1.17 ± 0.06 1.27 ± 0.12 1.43 ± 0.12

1.60±0.10 และ 1.73±0.06 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยจะเห็นได้ว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่ใหญ่ขึ้นจะสอดคล้องกับความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ ไนเตรตเริ่มต้นในขั้นตอนสังเคราะห์ไฮโดรเจล



ภาพที่ 4.47 การยับยั้งการเจริญเติบโตของไฮโดรเจลที่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ผลิตจากซิลเวอร์ไนเตรตเริ่มต้น 0.05 0.1 0.25 0.5 และ 1.0 โมลาร์ต่อแบคทีเรียแกรมบวก *P. acnes* โดย Ctrl คือ เซอริซินไฮโดรเจลที่ไม่ได้บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์ (ตัวควบคุมเชิงลบ) และ Clindamycin คือ คลินดามัยซิน (ตัวควบคุมเชิงบวก)



บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการใช้โปรตีนเซอริซินจากไหม (รวมถึงโปรตีนไฟโบรอินจากไหม) เป็นชีววัสดุในการผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ การผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์ และการผลิตไฮโดรเจลบรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์ เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของโปรตีนดังกล่าวซึ่งมักถูกกำจัดทิ้งในอุตสาหกรรมทอผ้า โดยในงานวิจัยนี้วัสดุที่ผลิตได้จะเน้นเป็นวัสดุที่มีหน้าที่เฉพาะ ซึ่งในที่นี้เน้นด้านฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ผลการวิจัยมีข้อมูลโดยสรุปดังนี้

1. การใช้โปรตีนไหมในการผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์

โปรตีนเซอริซินซึ่งมีรายงานว่ามียุทธในการยับยั้งแบคทีเรีย ในการศึกษาพบว่าสถานะในการสกัดที่ได้เซอริซินที่สลายบางส่วน (degraded sericin) มียุทธในการยับยั้งแบคทีเรีย แต่เซอริซินที่มีสภาพค่อนข้างสมบูรณ์ (intact sericin) ไม่พบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย นอกจากนี้พบว่าเฉพาะเซอริซินจากไหมบ้าน (*B. mori*) ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย แต่เซอริซินจากไหมอิตาลี (*S. c. ricini*) ไม่พบกิจกรรมดังกล่าวสำหรับไฟโบรอินไม่พบกิจกรรมในการยับยั้งแบคทีเรีย เมื่อนำเซอริซินมาผลิตเป็นแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์พบว่าไม่สามารถผลิตเป็นเส้นใยที่ต่อเนื่องได้ เนื่องจากสมบัติของโปรตีนเซอริซินที่มีขนาดโมเลกุลต่ำและมักสลายเป็นโปรตีนขนาดเล็กในกระบวนการสกัด ในการศึกษานี้ได้ทดลองขึ้นรูปโดยการตกตะกอนโปรตีนและบรรจุในวัสดุขึ้นรูป แต่พบว่าแผ่นวัสดุจากเซอริซินที่ได้ไม่มีกิจกรรมในการยับยั้งแบคทีเรีย สำหรับไฟโบรอินสามารถอิเล็กทรอนิกส์เป็นโครงร่างเส้นใยได้ง่าย ในการศึกษานี้ได้ผลิตโครงร่างเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ไฟโบรอินที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย 244.9 ± 64.8 นาโนเมตร และพบว่าโครงร่างเส้นใยที่ผลิตได้มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีทั้งต่อแบคทีเรีย แกรมบวก *S. aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli*

2. การผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์

เนื่องจากอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ อย่างหลากหลาย ในศึกษานี้จึงได้ทดลองใช้โปรตีนเซอริซินจากไหมบ้านและไหมอิตาลีในการผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์ด้วยเทคโนโลยีสีเขียว ซึ่งมีต้นทุนที่ต่ำกว่าการใช้สารเคมี และกระบวนการผลิตเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ผลการศึกษาพบว่าเซอริซินจากไหมอิตาลีและไหมบ้านมีความสามารถในการเป็นสารรีดิวซ์ และสามารถใช้ในการผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ โดยเซอริซินจากไหมอิตาลีสามารถผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์ได้ในปริมาณที่สูงกว่าการใช้เซอริซินจากไหมบ้าน คาดว่าเป็นเพราะเซอริซินจากไหมอิตาลีมีความสามารถในการรีดิวซ์ที่สูงกว่า โดยอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ผลิตได้มีขนาดประมาณ 13 นาโนเมตร และมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย แกรมบวก *S. aureus* แลแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli*

3. การผลิตไฮโดรเจลบรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์

ในการศึกษานี้ได้ใช้เซอริซินและไฟโบรอินในการผลิตไฮโดรเจล ซึ่งพบว่าเซอริซินมีคุณสมบัติที่เหมาะสมกว่าในการผลิตไฮโดรเจล นอกจากนี้ในการศึกษานี้ได้พัฒนาวิธีอย่างง่ายในการผลิตไฮโดรเจลจากเซอริซินที่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์ โดยใช้แสงทำหน้าที่กระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ผลการศึกษา

พบว่าสามารถผลิตไฮโดรเจลที่มีอนุภาคนาโนได้ โดยการเกิดอนุภาคนาโนซิลเวอร์ในไฮโดรเจลวิเคราะห์จากวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่อยู่ในช่วง 430–475 นาโนเมตร ลักษณะรูปร่างพื้นผิวของไฮโดรเจลที่มีการเรียงแสงของโลหะจากภาพกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของไฮโดรเจลที่บรรจุอนุภาคนาโนซิลเวอร์พบพีคที่มุม 2θ ที่เป็นเอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ประมาณ 38.4 และ 44.6 องศา รวมไปถึงการวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุของไฮโดรเจล ซึ่งพบธาตุซิลเวอร์เป็นองค์ประกอบสำหรับการศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย พบว่าไฮโดรเจลที่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์ที่ผลิตจากเซอริซิน สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่ 0.82 ± 0.02 และ 0.60 ± 0.05 เซนติเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อสิว *P. acnes* โดยความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย แปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ในเตรตเริ่มต้นที่ใช้ในการผลิตอนุภาคนาโนซิลเวอร์



สรุปผลดำเนินการ

หัวข้อ	ผลการดำเนินงาน
1. การบรรลุวัตถุประสงค์	
1) ศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบและสมบัติของโปรตีนเซอริซินจากไหมบ้านและไหมอีรี่ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย	100%
2) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากเซอริซินที่ได้จากไหมทั้งสองสายพันธุ์ และแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากเซอริซินผสมไฟโบรอิน	100%
3) เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่ผลิตได้	100%
4) ศึกษาการผลิตอนุภาคนาโนเงินจากการใช้โปรตีนไหมจากไหมบ้านและไหมอีรี่และคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย	100%
5) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจลที่มีอนุภาคนาโนซิลเวอร์จากโปรตีนไหมและคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย	100%
2. ผลงานตีพิมพ์	
2017. Jaisabai W, Khamhaengpol A and Siri S*. Sericins of mulberry and non-mulberry silkworms for eco-friendly synthesis of silver nanoparticles. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology . DOI: 10.1080/21691401.2017.1328686. (IF2016=5.605)	Published paper
20xx. Kaarj K, Chumpol J, Khamhaengpol A, Siri S. Rapid microwave-mediated synthesis of silver nanoparticles using silk sericin as green reducing and stabilizing agents.	Submission
20xx. Chumsuk S, Khamhaengpol A, Sritong N, Siri S. Simple photomediated synthesis of servicing hydrogel containing silver nanoparticles and its antibacterial activity against <i>Propionibacterium acnes</i> .	Submission
3. การนำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการ	
2016. Chaisabai W. and Siri S. Green synthesis of silver nanoparticles by using sericin of eri silkworms (<i>Samia cynthia ricini</i>). International Conference on Advances in Science, Engineering, Technology and Natural Resources (ICASETNR-16).	May 11-12, 2016. Bayview Hotel, Singapore.
2015. Chumsuk S. and Siri S. Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles using silk sericin and their potent anti-bacterial activity. International Conference on Biological, Environment and Food Engineering (BEFE-2015).	May 15-16, 2015. Bayview Hotel, Singapore.

บรรณานุกรม

- Agnihotri, S., Mukherji, S., and Mukherji, S. (2014). Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. **RSC Advances**. 4(8): 3974-3983.
- Ahmad, N., and Sharma, S. (2012). Green synthesis of silver nanoparticles using extracts of *Ananas comosus*. **Green and Sustainable Chemistry**. 2(04): 141.
- Ahmad, R., Kamra, A., and Hasnain, S. E. (2004). Fibroin silk proteins from the nonmulberry silkworm *Philosamia ricini* are biochemically and immunochemically distinct from those of the mulberry silkworm *Bombyx mori*. **DNA and cell biology**. 23(3): 149-154.
- Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., and Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. **Journal of Advanced Research**. 7(1): 17-28.
- Ahn, J.-S., Choi, H.-K., and Cho, C.-S. (2001). A novel mucoadhesive polymer prepared by template polymerization of acrylic acid in the presence of chitosan. **Biomaterials**. 22(9): 923-928.
- Akturk, O., Tezcaner, A., Bilgili, H., Deveci, M. S., Gecit, M. R., and Keskin, D. (2011). Evaluation of sericin/collagen membranes as prospective wound dressing biomaterial. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. 112(3): 279-288.
- Assam, E. c. o. (2010). World association of young scientists science, remixed. [On-line]. Available: Available from: <http://ways.org/en/content>
- Bhaduri, G. A., Little, R., Khomane, R. B., Lokhande, S. U., Kulkarni, B. D., Mendis, B. G., and Šiller, L. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using sunlight. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**. 258: 1-9.
- Bhardwaj, N., and Kundu, S. C. (2010). Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology Advances**. 28(3): 325-347.

- Bhardwaj, N., Rajkhowa, R., Wang, X., and Devi, D. (2015). Milled non-mulberry silk fibroin microparticles as biomaterial for biomedical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**. 81: 31-40.
- Bogle, K., Dhole, S., and Bhoraskar, V. (2006). Silver nanoparticles: synthesis and size control by electron irradiation. **Nanotechnology**. 17(13): 3204.
- Chaisabai, W., Khamhaengpol, A., and Siri, S. (2017). Sericins of mulberry and non-mulberry silkworms for eco-friendly synthesis of silver nanoparticles. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**. 2017: 1-8.
- Choi, J. E., Kim, S., Ahn, J. H., Youn, P., Kang, J. S., Park, K., Yi, J., and Ryu, D.-Y. (2010). Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. **Aquatic Toxicology**. 100(2): 151-159.
- Dash, R., Mandal, M., Ghosh, S. K., and Kundu, S. C. (2008). Silk sericin protein of tropical tasar silkworm inhibits UVB-induced apoptosis in human skin keratinocytes. **Molecular and Cellular Biochemistry**. 311(1): 111-119.
- Freddi, G., Mossotti, R., and Innocenti, R. (2003). Degumming of silk fabric with several proteases. **Journal of Biotechnology**. 106(1): 101-112.
- Gamo, T., Inokuchi, T., and Laufer, H. (1977). Polypeptides of fibroin and sericin secreted from the different sections of the silk gland in *Bombyx mori*. **Insect Biochemistry**. 7(3): 285-295.
- He, H., Tao, G., Wang, Y., Cai, R., Guo, P., Chen, L., Zuo, H., Zhao, P., and Xia, Q. (2017). In situ green synthesis and characterization of sericin-silver nanoparticle composite with effective antibacterial activity and good biocompatibility. **Materials Science and Engineering: C**.
- Huang, J., Valluzzi, R., Bini, E., Vernaglia, B., and Kaplan, D. L. (2003). Cloning, expression, and assembly of sericin-like protein. **Journal of Biological Chemistry**. 278(46): 46117-46123.
- Huang, Y., Li, X., Liao, Z., Zhang, G., Liu, Q., Tang, J., Peng, Y., Liu, X., and Luo, Q. (2007). A randomized comparative trial between acticoat and SD-Ag in the treatment of residual burn wounds, including safety analysis. **Burns**. 33(2): 161-166.

- Kasoju, N., Bhonde, R. R., and Bora, U. (2009). Fabrication of a novel micro–nano fibrous nonwoven scaffold with *Antheraea assama* silk fibroin for use in tissue engineering. **Materials Letters**. 63(28): 2466-2469.
- Khan, M. A. M., Kumar, S., Ahamed, M., Alrokayan, S. A., and AlSalhi, M. S. (2011). Structural and thermal studies of silver nanoparticles and electrical transport study of their thin films. **Nanoscale research letters**. 6(1): 434.
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J.-H., Park, S. J., Lee, H. J., Kim, S. H., Park, Y. K., Park, Y. H., and Hwang, C.-Y. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**. 3(1): 95-101.
- Kim, U.-J., Park, J., Kim, H. J., Wada, M., and Kaplan, D. L. (2005). Three-dimensional aqueous-derived biomaterial scaffolds from silk fibroin. **Biomaterials**. 26(15): 2775-2785.
- Kundu, S. C., Dash, B. C., Dash, R., and Kaplan, D. L. (2008). Natural protective glue protein, sericin bioengineered by silkworms: Potential for biomedical and biotechnological applications. **Progress in Polymer Science**. 33(10): 998-1012.
- Liang, D., Hsiao, B. S., and Chu, B. (2007). Functional electrospun nanofibrous scaffolds for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**. 59(14): 1392-1412.
- Lowery, J. L., Datta, N., and Rutledge, G. C. (2010). Effect of fiber diameter, pore size and seeding method on growth of human dermal fibroblasts in electrospun poly(ϵ -caprolactone) fibrous mats. **Biomaterials**. 31(3): 491-504.
- Magalhes, A. P. R., Santos, L. B., Lopes, L. G., Estrela, C. R., Estrela, C., Torres, r. M., Bakuzis, A. F., Cardoso, P. C., and Carri, M. S. (2012). Nanosilver application in dental cements. **ISRN Nanotechnology**. 2012: 1-6.
- Mandal, B. B., Ghosh, B., and Kundu, S. C. (2011). Non-mulberry silk sericin/poly (vinyl alcohol) hydrogel matrices for potential biotechnological applications. **International Journal of Biological Macromolecules**. 49(2): 125-133.
- Mandal, B. B., Priya, A. S., and Kundu, S. C. (2009). Novel silk sericin/gelatin 3-D scaffolds and 2-D films: Fabrication and characterization for potential tissue engineering applications. **Acta Biomaterialia**. 5(8): 3007-3020.

- Michaille, J.-J., Couble, P., Prudhomme, J.-C., and Garel, A. (1986). A single gene produces multiple sericin messenger RNAs in the silk gland of *Bombyx mori*. **Biochimie**. 68(10): 1165-1173.
- Min, B.-M., Lee, G., Kim, S. H., Nam, Y. S., Lee, T. S., and Park, W. H. (2004). Electrospinning of silk fibroin nanofibers and its effect on the adhesion and spreading of normal human keratinocytes and fibroblasts in vitro. **Biomaterials**. 25(7): 1289-1297.
- Minoura, N., Aiba, S. I., Gotoh, Y., Tsukada, M., and Imai, Y. (1995). Attachment and growth of cultured fibroblast cells on silk protein matrices. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**. 29(10): 1215-1221.
- Noh, H. K., Lee, S. W., Kim, J.-M., Oh, J.-E., Kim, K.-H., Chung, C.-P., Choi, S.-C., Park, W. H., and Min, B.-M. (2006). Electrospinning of chitin nanofibers: Degradation behavior and cellular response to normal human keratinocytes and fibroblasts. **Biomaterials**. 27(21): 3934-3944.
- Nuchadomrong, S., Senakoon, W., Sirimungkararat, S., Senawong, T., and Kitikoon, P. (2009). Antibacterial and antioxidant activities of sericin powder from eri silkworm cocoons correlating to degumming processes. **Int. J. Wild Silkworm and silk**. 13: 69-78.
- Paladini, F., Pollini, M., Deponti, D., Di Giancamillo, A., Peretti, G., and Sannino, A. (2013). Effect of silver nanocoatings on catheters for haemodialysis in terms of cell viability, proliferation, morphology and antibacterial activity. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**. 24(4): 1105-1112.
- Prasong, S. (2011). Screening of antioxidant activity of some *Samia ricini* (Eri) silks: comparison with *Bombyx mori*. **Journal of Biological Sciences**. 11(4): 336-339.
- Rho, K. S., Jeong, L., Lee, G., Seo, B.-M., Park, Y. J., Hong, S.-D., Roh, S., Cho, J. J., Park, W. H., and Min, B.-M. (2006). Electrospinning of collagen nanofibers: Effects on the behavior of normal human keratinocytes and early-stage wound healing. **Biomaterials**. 27(8): 1452-1461.
- Roe, D., Karandikar, B., Bonn-Savage, N., Gibbins, B., and Roulet, J.-B. (2008). Antimicrobial surface functionalization of plastic catheters by silver nanoparticles. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. 61(4): 869-876.

- Shi, L., Yang, N., Zhang, H., Chen, L., Tao, L., Wei, Y., Liu, H., and Luo, Y. (2015). A novel poly(**Y**-glutamic acid)/silk-sericin hydrogel for wound dressing: Synthesis, characterization and biological evaluation. **Materials Science and Engineering: C**. 48: 533-540.
- Subramanian, K., Sakthivel, N., and Qadri, S. (2013). Rearing technology of eri silkworm (*Samia cynthia ricini*) under varied seasonal and host plant conditions in Tamil Nadu. **International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research**. 2(2): 130-141.
- Takasu, Y., Yamada, H., and Tsubouchi, K. (2002). Isolation of three main sericin components from the cocoon of the silkworm, *Bombyx mori*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**. 66(12): 2715-2718.
- Tanaka, K., Kajiyama, N., Ishikura, K., Waga, S., Kikuchi, A., Ohtomo, K., Takagi, T., and Mizuno, S. (1999). Determination of the site of disulfide linkage between heavy and light chains of silk fibroin produced by *Bombyx mori*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology**. 1432(1): 92-103.
- Teramoto, H., and Miyazawa, M. (2005). Molecular orientation behavior of silk sericin film as revealed by ATR infrared spectroscopy. **Biomacromolecules**. 6(4): 2049-2057.
- Teramoto, H., Nakajima, K.-i., and Takabayashi, C. (2005). Preparation of elastic silk sericin hydrogel. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**. 69(4): 845-847.
- Tokutake, S. (1980). Isolation of the smallest component of silk protein. **Biochemical Journal**. 187(2): 413-417.
- Tsubouchi, K., Igarashi, Y., Takasu, Y., and Yamada, H. (2005). Sericin enhances attachment of cultured human skin fibroblasts. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**. 69(2): 403-405.
- Vigneshwaran, N., Nachane, R. P., Balasubramanya, R. H., and Varadarajan, P. V. (2006). A novel one-pot 'green' synthesis of stable silver nanoparticles using soluble starch. **Carbohydrate Research**. 341(12): 2012-2018.

Zhang, X., Khan, M. M. R., Yamamoto, T., Tsukada, M., and Morikawa, H. (2012). Fabrication of silk sericin nanofibers from a silk sericin-hope cocoon with electrospinning method. **International Journal of Biological Macromolecules**. 50(2): 337-347.

Zhang, Y.-Q., Tao, M.-L., Shen, W.-D., Zhou, Y.-Z., Ding, Y., Ma, Y., and Zhou, W.-L. (2004). Immobilization of L-asparaginase on the microparticles of the natural silk sericin protein and its characters. **Biomaterials**. 25(17): 3751-3759.

Zhang, Y. Q. (2002). Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. **Biotechnol Adv.** 20(2): 91-100.

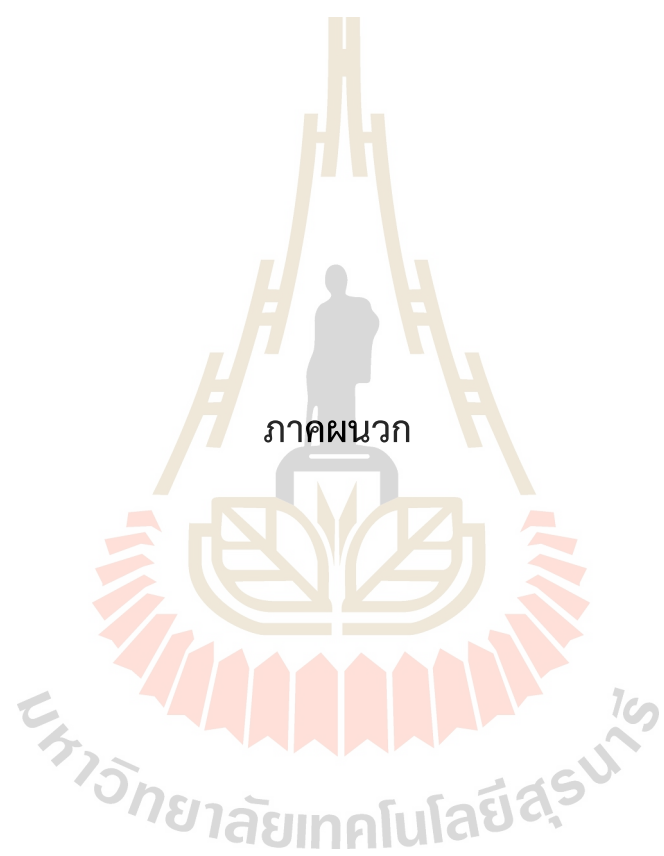
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2559). กระทรวงเกษตรฯ ชูการสร้างอาชีพปลูกหม่อนเลี้ยงไหม ฝ่าวิกฤตปัญหาภัยแล้งในพื้นที่ลุ่มเจ้าพระยา. [On-line]. Available:

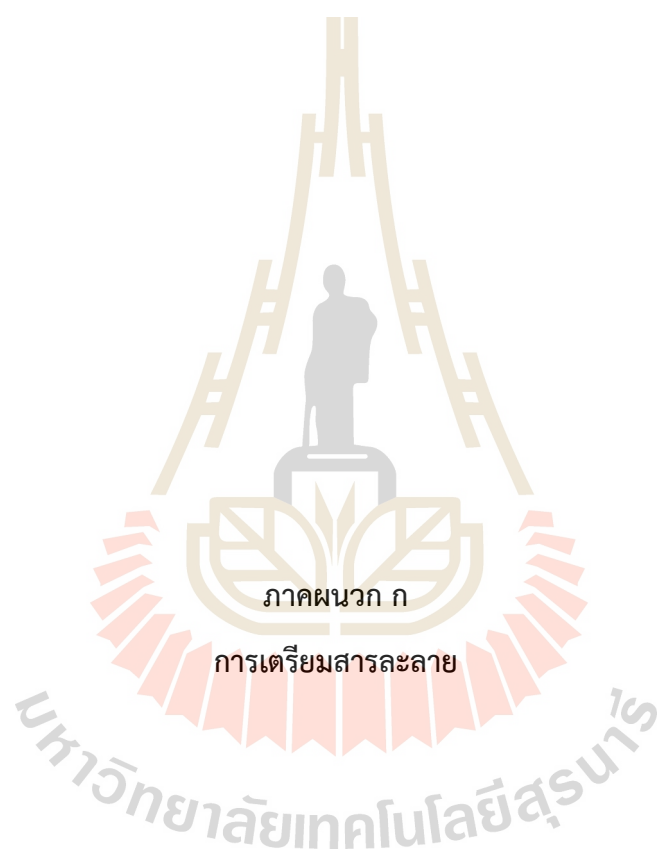
https://www.moac.go.th/ewt_news.php?nid=18349&filename=apai

ศูนย์รวมผ้าไหมและผลิตภัณฑ์ผ้าไหมไทย. (2531). รวมพันธุ์ไหมไทยลูกผสมที่ให้ผลผลิตสูง. [On-line].

Available: <http://www.silkthailand.com/articles/article7.htm>







การเตรียมสารละลาย

1. สารละลายในการสกัดไหม

1.1 0.5 % Na₂CO₃

Na ₂ CO ₃	0.5	กรัม
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น	100.00	มิลลิลิตร

1.2 Ajsawa's reagent (CaCl₂: MeOH: H₂O) ในอัตราส่วน 1:2:8 mole

CaCl ₂	147.02	กรัม
น้ำกลั่น	144.00	มิลลิลิตร
Methanol	80.81	มิลลิลิตร

2. สารละลายในการเตรียม Sodium dodecyl sulphate Polyacrylamide gel (SDS-PAGE)

2.1 30% (w/v) Acrylamide 500 มิลลิลิตร

Acrylamide	30.00	กรัม
Bis-acrylamide	0.80	กรัม
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น	100.00	มิลลิลิตร
กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1		

2.2 1.5 M Tris-HCl pH 8.8

Tris (hydroxymethyl)-aminomethane	18.17	กรัม
น้ำกลั่น	60.00	มิลลิลิตร
ปรับ pH 8.8 ด้วย Hydrochloric acid (HCl)		
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น	100.00	มิลลิลิตร

2.3 0.5 M Tris-HCl pH 6.8

Tris (hydroxymethyl)-aminomethane	6.057	กรัม
น้ำกลั่น	60.00	มิลลิลิตร
ปรับ pH 6.8 ด้วย HCl		
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น	100.00	มิลลิลิตร

2.4 10 % (w/v) Ammonium persulfate 10 มิลลิลิตร

Ammonium persulfate	0.05	กรัม
น้ำกลั่น	0.50	มิลลิลิตร

2.5 Solubilizing solution 1 มิลลิลิตร

น้ำกลั่น	425.00	ไมโครลิตร
----------	--------	-----------

0.5 M Tris-HCL pH 6.8	125.00 ไมโครลิตร
10% Glycerol	100.00 ไมโครลิตร
10% Sodium dodecyl sulfate (SDS)	200.00 ไมโครลิตร
1% Bromophenol blue	50.00 ไมโครลิตร
β -mercaptoethanol	100.00 ไมโครลิตร

2.6 Coomassie brilliant blue R - 250

Coomassie brilliant blue R - 250	0.10 กรัม
Methanol	40.00 ไมโครลิตร
Acetic acid	10.00 ไมโครลิตร
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ	100.00 ไมโครลิตร

2.7 Destain solution ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

Methanol	400.00 มิลลิลิตร
Acetic acid	100.00 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	500.00 มิลลิลิตร

2.8 Electrode buffer pH 8.3 (5x)

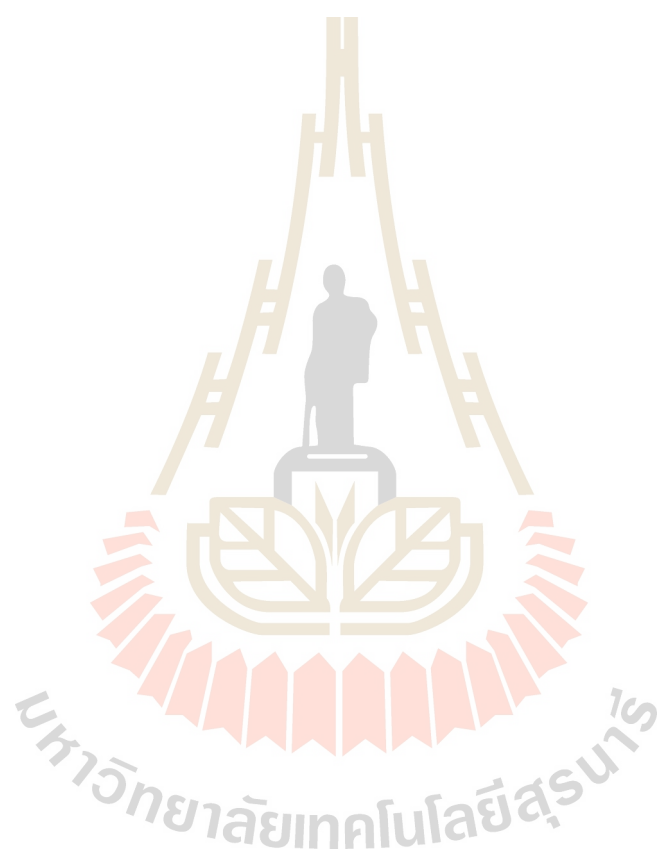
Tris (hydroxymethyl)-aminomethan	15.00 มิลลิลิตร
Glycine	72.00 มิลลิลิตร
SDS	5.00 มิลลิลิตร
Tris (hydroxymethyl)-aminomethane	15.00 กรัม
Glycine	72.00 กรัม
น้ำกลั่นปริมาตร	400.00 มิลลิลิตร
ปรับ pH เป็น 8.3 ด้วย HCl	
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ	1,000.00 มิลลิลิตร



การเตรียม 6–15% gradient SDS-PAGE

Solution components	Separating gel		Stacking gel
	6%	15%	5%
	(ไมโครลิตร)	(ไมโครลิตร)	(ไมโครลิตร)
H ₂ O	2,600	1,100	1,400
30% acrylamide	1,000	2,500	330
1.5 M Tris (pH 8.8)	1,300	1,300	
1.0 M Tris (pH 6.8)			250
10% SDS	50	50	20
10% ammonium persulfate	50	50	20
TEMED	4	2	2
Volume (ไมโครลิตร)	5,004	5,002	2,022





อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. MHB (Mueller Hinton Broth) medium 15 % Agar

MH medium 23.00 กรัม

Agar 15.00 กรัม

Adjust the volume to 1000 mL of dH₂O and autoclave.

2. LB agar

Bacto-tryptone 10.00 กรัม

Bacto-yeast extract 5.00 กรัม

Sodium chloride 10.00 กรัม

Agar 2.00 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000.00 มิลลิลิตร

autoclave.

ยาปฏิชีวนะ

Antibiotics	Stock solution (mg/mL)	Solvent
Ampicillin	25	Water

ประวัตินักวิจัย

ชื่อ-สกุล รองศาสตราจารย์ ดร.สินีนานู ศิริ (Sineenat Siri)

สถานที่ทำงาน สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง
จ. นครราชสีมา 30000 โทรศัพท์ 044-223305, 089-7119112 โทรสาร 044-224633
อีเมลล์: ssinee@sut.ac.th

ประวัติการศึกษา

วท.บ. (ชีววิทยา เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง)	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2532-2536
M.Sc. (Biological Science, Emphasis Mol. Biol.)	U. of Southern Mississippi, USA	2537-2540
Ph.D. (Cell Biology, Emphasis Mol. Biol.)	U. of Connecticut, USA	2540-2546

Publications

2017. Chumpol J and **Siri S***. Simple green production of silver nanoparticles facilitated by bacterial genomic DNA and their antibacterial activity. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**. DOI: 10.1080/21691401.2017.xxxxxxx. (IF2016=5.605)
2017. Jaisabai W, Khamhaengpol A and **Siri S***. Sericins of mulberry and non-mulberry silkworms for eco-friendly synthesis of silver nanoparticles. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**. DOI: 10.1080/21691401.2017.1328686. (IF2016=5.605)
2017. Janthima R, Khamhaengpol A and **Siri S***. Egg extract of apple snail for eco-friendly synthesis of small silver nanoparticles and their antibacterial activity. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**. DOI: 10.1080/21691401.2017.1313264. (IF2016=5.605)
2017. Khamhaengpol A and **Siri S***. Composite electrospun scaffold derived from recombinant fibroin of weaver ant (*Oecophylla smaragdina*) as cell-substratum. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 183(1): 110-125. DOI 10.1007/s12010-017-2433-4 (IF2015=1.606)
2017. Khamhaengpol A and **Siri S***. Green synthesis of silver nanoparticles using tissue extract of weaver ant larvae. **Materials Letters**. 192: 72-75. (IF2015= 2.437)

2017. Busayapongchai P and **Siri S***. Sensitive detection of estradiol based on ligand binding domain of estrogen receptor and gold nanoparticles. **Analytical Biochemistry**. 518: 60-68. (IF2015=2.243)
2017. Busayapongchai P and **Siri S***. Estrogenic Receptor-Functionalized Magnetite Nanoparticles for Rapid Separation of Phytoestrogens in Plant Extracts. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 181:925-938. DOI: 10.1007/s12010-016-2259-5. (IF2015=1.606)
2017. Busayapongchai P and **Siri S***. Simple assay for screening phytoestrogenic compounds using oestrogen receptor immobilized magnetite nanoparticles. **IET Nanobiotechnology**. 11(4): 395-402. DOI 10.1049/iet-nbt.2016.0139. (IF2015=1.500)
2016. Khamhaengpol A and **Siri S***. Fluorescent light mediated a green synthesis of silver nanoparticles using the protein extract of weaver ant larvae. **Journal of Phytochemistry and Phytobiology B: Biology**. 163:337-344. (IF2015=3.035)
2016. Chumwangwapee S, Chingsongnoen A and **Siri S***. A Plasms modified cellulose-chitosan porous membrane allows efficient DNA binding and provides antibacterial properties: A step towards developing a new DNA collecting card. **Forensic Science International: Genetics**. 25: 19-25. (IF2015=4.988)
2016. Chumpol J and **Siri S***. Electrospun cellulose acetate membrane for size separating and antibacterial screening of crude polysaccharides. **IET Nanobiotechnology**. 10(6): 405-410. DOI: 10.1049/iet-nbt.2015.0120. (IF2015=1.500)
- 2015. Chaisri P, Chingsungnoen A, Siri S*. Repetitive Gly-Leu-Lys-Gly-Glu-Asn-Arg-Gly-Asp Peptide Derived from Collagen and Fibronectin for Improving Cell-Scaffold Interaction. Apply Biochemistry and Biotechnology. 175:2489-2500. (IF2014=1.735)**
2013. Chaisri P, Chingsungnoen and **Siri S***. Repetitive RGD peptide as cell-stimulating agent on electrospun PCL scaffold for tissue engineering. **Biotechnology Journal**. 8: 1232-1331. (IF2012=3.446)
2012. Ngernpimai S, Thomas C, Maensiri S and **Siri S***. Stability and cytotoxicity of well-dispersed magnetite nanoparticles prepared by hydrothermal method. **Advanced Materials Research**. 506: 122-125. (IF2011=0.220)
2010. **Siri S***, Wadbua P, Amornkitbamrung V, Kampa N, and Maensiri S. Surface modification of electrospun PCL scaffolds by plasma treatment and addition of adhesive proteins

- to promote fibroblast cell adhesion. **Materials Science and Technology**. 26: 1292-1297. (IF2009 = 0.794)
2010. Wadbua P, Promdonkoy B, Maensiri S and **Siri S***. Different properties of electrospun fibrous scaffolds of separated heavy-chain and light-chain fibroins of *Bombyx mori*. **International Journal of Biological Macromolecules**. 46: 493-501. (IF2009 = 2.366)
2010. **Siri S*** and Maensiri S. Alternative biomaterials: Natural, non-woven, fibroin-based silk nanofibers of weaver ants (*Oecophylla smaragdina*). **International Journal of Biological Macromolecules**. 46: 529-534. (IF2009 = 2.366)
2010. Bophimai P and **Siri S***. Fatty acid composition of six edible dung beetles in Thailand. **International Journal of Food Research**. 17: 1025-1030.
2009. Daengskul S, Thomas C, Thomas I, Mongkolkachit C, **Siri S**, Amornkitbamrung V and Maensiri S*. Magnetic and cytotoxicity properties of $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ ($0 \leq x \leq 0.5$) nanoparticles prepared by a simple thermal hydro-decomposition. **Nanoscale Research Letters**. 4 (8): 839-845. (IF2008=1.731)
2009. Daengskul S, Mongkolkachit C, Thomas C, **Siri S**, Thomas I, Amornkitbamrung V and Maensiri S*. A simple thermal decomposition synthesis, magnetic properties, and cytotoxicity of $\text{La}_{0.7}\text{Sr}_{0.3}\text{MnO}_3$ nanoparticles. **Applied Physics A**. 96: 691-699. (IF2008=1.884)
2009. Daengskul S, Mongkolkachit C, Thomas C, Thomas I, **Siri S**, Amornkitbamrung V and Maensiri S*. Synthesis and characterization of $\text{LaMnO}_{3+\delta}$ nanoparticles prepared by a simple thermal hydro-decomposition method. **Optoelectronics and Advanced Materials-Rapid Communications**. 3(2): 106-109. (IF2008= 0.577)
2008. Labauyai S, **Siri S** and Maensiri S*. Synthesis of yttrium iron garnet ($\text{Y}_3\text{Fe}_5\text{O}_{12}$) nanopowders by a simple proteic sol-gel process. **Journal of Optoelectronics and Advanced Materials**. 10(10): 2694-2699. (IF 2008= 0.577)
2007. **Siri S***, Kaewjumpol G, Trongpanich Y and Maensiri S. Single and composite electrospun PCL and PLCG fibers and their biological properties. **International Journal of Electrospun Nanofibers and Applications**. 1(1): 29-40.
2007. Kampa N, Waropastrakul S, Thomas W, Suwannachot N, **Siri S***, Amornkitbamrung V and Maensiri S. Comparison of wound morphology in response to electrospun PCL nanofiber and gauze patches in hamsters. **International Journal of Electrospun Nanofibers and Applications**. 1(3): 195-203.

2007. Chen MJ, Peter Chiou P, Lin P, Lin CM, **Siri S**, Peck K, Chen TT*. Suppression of growth and cancer-induced angiogenesis of aggressive human breast cancer cells (MDA-MB-231) on the chorioallantoic membrane of developing chicken embryos by E-peptide of pro-IGF-I. **Journal of Cellular Biochemistry**. 101(5): 1316-1327. (IF2007 = 3.381)
2007. Trongpanich Y*, Phimwapi S, Niamsanit S, Wangsomnuk PP, Boonmee M, **Siri S**. Isolation and characterization of bacteria capable of producing pyridoxamine (PM) and pyridoxamine 5'-phosphate (PMP), vitamin B6 compounds. **The Journal of General and Applied Microbiology**. 53(5): 295-299. (IF2007 = 0.925)
2006. **Siri S**, Chen MJ, Chen TT*. Biological activity of rainbow trout Ea4-peptide of the pro-insulin-like growth factor (pro-IGF)-I on promoting attachment of breast cancer cells (MDA-MB-231) via alpha2- and beta1-integrin. **Journal of Cellular Biochemistry**. 99(6): 1524-35. (IF 2006 = 3.409)
2006. **Siri S**, Chen MJ, Chen TT*. Inhibition of human breast cancer cell (MBA-MD-231) invasion by the Ea4-peptide of rainbow trout pro-IGF-I. **Journal of Cellular Biochemistry**. 99(5): 1363-73. (IF 2006 = 3.409)
2005. Trongpanich Y*, Niamsanit S, and **Siri S**. Vitamin B-6 degradation by pyridoxamine-pyruvate transaminase and pyridoxine 4-oxidase from *Ochrobactrum anthropi* and *Enterobacter cloacae*-like bacteria. **ScienceAsia**. 31(3):307-311.



ประวัตินักวิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวกนกพร พลเยี่ยม

สถานที่ทำงาน ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ. ขอนแก่น 40001

ประวัติการศึกษา

วท.บ. (ชีววิทยา)

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

M.Sc. (Biochemistry)

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

