สำนักวิทยบริการฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

วิทยานิพนธ์ งานวิจัย
vts 122956
M 121414

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การเตรียมและการหาลักษณะเฉพาะของฟิล์มผสมของไคโตซาน/ไหมเซริซินเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยา

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN/SILK SERICIN BLEND FILM FOR USE AS DRUG DELIVERY SYSTEM

นายธนนชาติ อิ่มสมบัติ

ดร. ปนัดดา แทนสุโพธิ์

นางสาวดรรชนีย์ พลหาญ

ไคโตซาน - ข้อมูล

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สำนักวิทยบริการฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
วันรับ - 9 พ.ค. 2560
วันลงทะเบียน
เลขทะเบียน วจ. 249554
เลขเรียกหนังสือ 547.782 ธ155ก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

พ.ศ. 2557

ฉ.2 2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ปีงบประมาณ 2557)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ที่ได้เอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการและเครื่องมือที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์เป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณศูนย์นวัตกรรมไหม มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่ได้ให้การสนับสนุนรังไหมพันธุ์พื้นบ้านในการทำวิจัย

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคามที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้

คุณค่าและเกียรติภูมิอันใดที่พึงมีในการวิจัยนี้ ผู้วิจัยขออุทิศเป็นเครื่องบูชาแด่คุณบิดารมารดา คุณบูรพาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน

ธนนชาติ อิ่มสมบัติ
ปนัดดา แทนสุโพธิ์
ดรรชนีย์ พลหาญ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ชื่อเรื่อง : การเตรียมและการหาลักษณะเฉพาะของฟิล์มผสมของไคโตซาน/ไหมเซริซินเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยา

ผู้วิจัย : ธนนชาติ อิ่มสมบัติ ปนัดดา แทนสุโพธิ์ และ ดรรชนีย์ พลหาญ

หน่วยงาน : สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ปีที่ได้รับทุน : 2557

บทคัดย่อ

ฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน สามารถขึ้นรูปได้ด้วยเทคนิคการเคลือบด้วยตัวทำละลาย โดยได้ทำการศึกษาอิทธิพลอัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไหมเซริซินที่ส่งผลต่อลักษณะเฉพาะของฟิล์มผสม เช่น ลักษณะสัณฐาน ความหนา การละลาย โครงรูป ความเสถียรต่อความร้อน และ พฤติกรรมการปลดปล่อยยา จากการศึกษาลักษณะสัณฐานภาพตัดขวางของฟิล์มผสม ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่าฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซินมีลักษณะของเนื้อฟิล์มเป็นเนื้อเดียวกันในทุกอัตราส่วน คุณสมบัติในการละลายของฟิล์มเพิ่มมากขึ้นเมื่ออัตราส่วนของไหมเซริซินเพิ่มขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับโครงรูปของฟิล์มที่ศึกษาด้วยเครื่องFT-IR ซึ่งพบว่าโครงรูปของฟิล์มมีลักษณะเด่นเป็นแบบเกลียวสุ่มซึ่งเป็นรูปแบบที่สามารถละลายน้ำได้ จากการศึกษาความเสถียรต่อความร้อนของฟิล์มด้วยเครื่องTGAพบว่าฟิล์มผสมมีความเสถียรต่อความร้อนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่ออัตราส่วนของไหมเซริซินเพิ่มขึ้น สำหรับการศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยยาแบบ *อิน วิโทร* พบว่าความเข้มข้นสะสมของยาที่ปล่อยออกมาขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของไหมเซริซิน ซึ่งฟิล์มผสมเหล่านี้อาจมีศักยภาพสำหรับใช้เป็นระบบนำส่งยา

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

TITLE	:	Preparation and characterization of chitosan/silk sericin blend films for use as drug delivery
RESEARCHER	:	Thanonchat Imsombut, Panadda Tansupo and Duchanee Pholhan
FACULTY	:	Department of Chemistry , Faculty of Science and Technology
ACADEMIC YEAR	:	2014

ABSTRACT

Chitosan/Silk sericin (CS/SS) blend film was successfully prepared by solvent casting technique. Influence of CS/SS ratios on characteristics of blend film such as morphology, solubility chemical structure thermal stability and *in vitro* drug releasing were investigated. The morphology result from Scanning Electron Microscopy (SEM) showed that the cross-section was observed to homogeneous phase for the overall blend ratios. The solubility of blend film was increased with increasing SS ratio to relation the result from Fourier Transform Infrared (FTIR) indicated that CS/SS blend film were shown predominantly in the water soluble form (radom coil) conformation. The thermo gram from Thermo gravimetric Analyzer (TGA) showed that thermal stability of the blend film was slightly increased when the SS ratio was increased. For the *in vitro* drug releasing test from the CS/SS blended films. The cumulative of drug concentration was depended on SS ratio. These blend films might be potential for used as drug delivery system.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	ฉ
สารบัญตาราง	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.3 ขอบเขตการวิจัย	3
1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ	4
1.5 กรอบแนวคิดการวิจัย	4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ไคโตซาน	5
2.1.1 วิธีการสกัดไคโตซาน	6
2.1.2 การประยุกต์ใช้ไคโตซาน	8
2.2 การประยุกต์ใช้ไคโตซานในทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรม	9
2.3 การขึ้นรูปฟิล์มผสมของไคโตซาน	9
2.4 ไหม	10
2.4.1 ไหมไฟโบรอิน (Silk Fibroin)	11
2.4.2 ไหมเซริซิน (Silk Sericin)	11
2.5 โครงสร้างโปรตีน	16
2.5.1 โครงสร้างระดับปฐมภูมิ	16
2.5.1 โครงสร้างระดับทุติยภูมิ	16
2.5.3 โครงสร้างระดับทุติยภูมิของสายบีต้า	17
2.5.4 โครงสร้างระดับตติยภูมิ	17
2.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการทดลอง 22

3.1วัสดุและสารเคมี 22

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 22

3.3 การเตรียมสารละลายเซริซิน 23

3.4 การเตรียมสารละลายไคโตซาน 23

3.5 การเตรียมฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน 23

3.6 การเตรียมฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซินที่มียาเตตระไวคลินไฮโดรคลอไรด์บรรจุอยู่ 23

3.7 การหาลักษณะเฉพาะของฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและเซริซินจากไหม 23

3.7.1 ลักษณะสัณฐาน 23

3.7.2 ความหนาโดยเฉลี่ย 24

3.7.3 โครงรูปของฟิล์มผสม 24

3.7.4 การทดสอบการละลาย 24

3.7.5 การทดสอบความเสถียรด้วยความร้อน 24

3.7.6 การศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยยาของฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน 25

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง 26

4.1 ลักษณะสัณฐาน 26

4.2 ความหนาโดยเฉลี่ย 28

4.3 โครงรูป 28

4.4 การทดสอบการละลาย 29

4.5 การศึกษาความเสถียรต่อความร้อน 30

4.6 การทดสอบการปลดปล่อยยาแบบอินวิโทร 31

บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ 32

5.1 สรุปผลการทดลอง 32

5.2 อภิปรายผลการทดลอง 32

5.3 ข้อเสนอแนะ 33

บรรณานุกรม 35

ภาคผนวก 36

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

1.1 ระดับความเข้มข้นของยาในเลือดผู้ป่วย (plasma concentration of drug) กับเวลา เมื่อมีการให้ยา (*)ในแต่ละครั้ง (---) กับการให้ยาในรูปแบบควบคุมการปลดปล่อยยา ( )............. 1
1.2 โครงสร้างของไคโตซาน.. 2
2.1 โครงสร้างของไคตินไคโตซานและเซลลูโลส... 5
2.2 โครงสร้างของไคตินและไคโตซาน... 6
2.3 ขั้นตอนการสกัดไคโตซาน... 7
2.4 เส้นใยไหมดิบ... 11
2.5 เส้นไหม (a) เส้นไหมติดกันเนื่องจากมีกาวไหมเซริซินเชื่อม (b) ไฟโบรอินสองเส้น.................... 12
2.6 โครงสร้างของแอลฟา-เฮลิกซ์แบบ π–เฮลิกซ์.. 16
2.7 โครงสร้างของสายบีต้า.. 17
2.8 โครงสร้างสามมิติของโปรตีน... 17
2.9 การเตรียมฟิล์มไคโตซานที่บรรจุยาคลอร์เฮกซิดินกลูโคเนท 18
2.10 รูปแบบการปลดปล่อยที่เวลาต่างๆ ของยาคลอร์เฮกซิดิน กลูโคเนทจากฟิล์มไคโตซาน............ 19
2.11 อัตราการบวมของฟิล์มไคโตซานแบบเชื่อมขวางที่บรรจุยาไรโบรฟลาวิน ที่เวลาต่างๆ ที่เตรียมโดยมีการเกิดปฏิกิริยาการเชื่อมขวางด้วยโซเดียมซิเทรตที่มีสภาวะพี เอช ต่างๆ...................... 19
2.12 รูปแบบการปลดปล่อยยาไรโบรฟลาวินจากฟิล์มไคโตซานแบบเชื่อมขวาง ที่เวลาต่างๆ ที่เตรียมโดยมีการเกิดปฏิกิริยาการเชื่อมขวางด้วยโซเดียม ซิเทรตที่มีสภาวะพี เอช ต่างๆ.......... 20
2.13 รูปแบบการปลดปล่อยยาเมธิมาโซลจากฟิล์มไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน..................... 20
2.14 การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของไคโตซานและไหม ไฟโบรอิน.............................. 21

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สารบัญตาราง

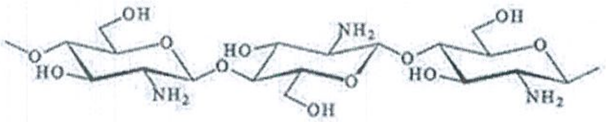
ตาราง หน้า

2.1 ส่วนประกอบของชั้นรังไหมชนิด *Bombyx mori* 12
2.2 กรดอะมิโน 18 ชนิดที่เป็นองค์ประกอบในรังไหม 13
2.3 หน้าที่และคุณสมบัติของกรดอะมิโนสำคัญในผงไหม 14
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 22
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 22
4.1 แสดงความหนาโดยเฉลี่ยของฟิล์มผสมในอัตราส่วนต่างๆ 28
4.2 แสดงร้อยละการละลายของฟิล์มระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน 30

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

สำหรับยาที่ละลายน้ำได้ดี (water-soluble drugs) แม้ว่าจะมีการกระจายตัวดีในร่างกายผู้ป่วย เพราะสามารถละลายในเลือดได้ แต่การให้ยาเตรียมแบบเดิมทำให้เกิดความไม่สะดวกต่อผู้ป่วยในการรับประทานยาหลายครั้งต่อวัน และแพทย์ยังต้องให้ทานยาในปริมาณที่มากกว่าที่ต้องการเสมอ ซึ่งเป็นการเสี่ยงต่อการเกิดอาการข้างเคียงต่อการได้รับยาเกินขนาด ดังนั้นหากมีระบบนำส่งยาที่สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาในอัตราต่างๆที่ต้องการได้ แพทย์ผู้รักษาก็จะสามารถเลือกใช้ระบบนำส่งยานี้กับผู้ป่วยที่มีอาการของโรคที่รุนแรงต่างกันได้

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถสลายตัวได้และมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ โดยเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากการสกัดเปลือกกุ้งและปูเป็นส่วนใหญ่ โครงสร้างของไคโตซานแสดงได้ดังนี้



รูปที่ 1.2 โครงสร้างของไคโตซาน

ไคโตซานมีสมบัติการขึ้นรูปเป็นฟิล์มที่ดี โดยได้มีการศึกษาวิจัยประยุกต์ใช้ไคโตซานเป็นวัสดุปิดแผล (wound dressing materials) (Haya-areekul *et al.*, 2006) และวัสดุเคลือบ (coating) หรือเป็นฟิล์มห่อหุ้มเนื้อสัตว์และผักผลไม้ (Haya-areekul *et al.*, 1991 Ouattarz *et al.*, 2000 Jeon *et al.*, 2000 Chen *et al.*, 1998 Srinivasa *et al.*, 2002 เนื่องจากไคโตซานสามารถเตรียมเป็นฟิล์มได้ง่ายจากสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ไหมเซริซิน (silk sericin) คือ โปรตีนที่ห่อหุ้มเส้นใยของไฟโบรอินจากไหม ที่สร้างมาจากหนอนไหม เป็นโปรตีนที่มีลักษณะใกล้เคียงกับโปรตีนในร่างกายมนุษย์ซึ่งเซริซินประกอบด้วยกรดอะมิโน 16-18 ชนิด จากการวิจัยพบว่า เซริซิน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการทำลายเซลล์ โดย oxygen free radicals ซึ่งเชื่อกันว่าการที่เซลล์ถูกทำลายนี้เป็นสาเหตุให้เกิดโรค มะเร็ง ความแก่ นอกจากนั้นยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียบางชนิดซึ่งเป็นสาเหตุของ โรคผิวหนัง และช่วยรักษาแผลให้หาย เร็วขึ้น จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงได้มีความพยายามพัฒนาฟิล์มที่ทำจากเซริซินเพื่อพัฒนาเป็นวัสดุทางการแพทย์ จากรายงานวิจัย พบว่าฟิล์มไหม เซริซินมีข้อด้อยบางประการคือ มีลักษณะแข็ง และเปราะ ดังนั้นฟิล์มไหมเซริซินดังกล่าวจึงยังไม่สามารถใช้งานทางการแพทย์ และเภสัชกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้จากรายงานการวิจัยยังพบว่าเซริซินสามารถนำมาขึ้นรูปเป็น อนุภาคขนาดไมโครเมตรเพื่อใช้ควบคุมการปลดปล่อยโปรตีนได้

อย่างไรก็ตาม ฟิล์มไหม เซริซินเป็นฟิล์มที่เปราะ แตกหักง่าย โดยมีรายงานถึงฟิล์มผสมของไหม เซริซิน กับไอลิไวนิลแอลกอฮอล (Poly(vinyl alcohol), PVA)ว่าสามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ ดังนั้นจึงคาดว่าอิทธิพลของชนิดพอลิเมอร์ที่แตกต่างกันนี้ (ไหม เซริซินเป็นพอลิเปปไทด์ ขณะที่ไคโตซานเป็นพอลิแซคคาไรด์) จะส่งผลต่อลักษณะเฉพาะและอัตราการปลดปล่อยยาที่บรรจุในฟิล์มผสม ซึ่งจะทำให้สามารถเตรียมฟิล์มที่มีอัตราการปลดปล่อยยาที่แตกต่างกัน เหมาะสำหรับเลือกใช้ในผู้ป่วยที่มีอาการของโรคที่รุนแรงแตกต่างกันต่อไป โดยตัวอย่างยาที่ละลายน้ำได้ดีที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ เตตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์ (tetracycline hydrochloride) เป็นยาปฏิชีวนะระงับ การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย รักษาโรคติดเชื้อในท่อทางเดินปัสสาวะรักษาลำไส้อักเสบ หลอดลมอักเสบ รักษาโรคบิดมีเชื้อ รักษาแผล ฝี หนอง อาการอักเสบต่าง ๆ เนื่องจากการติดเชื้อ โดยทั่วไปแล้วผู้ป่วยมีอาการของโรคที่รุนแรงต่างกัน จึงต้องการยาในปริมาณที่แตกต่างกันด้วย

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนผสมของไคโตซานและไหมเซริซินที่มีผลต่อลักษณะเฉพาะต่างๆ ของฟิล์มผสม

1.2.2 เพื่อศึกษาอิทธิพลของการบรรจุยาเตตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์ที่มีผลต่อลักษณะเฉพาะต่างๆของฟิล์มผสมและพฤติกรรมการปลดปล่อยยาเตตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 การเตรียมสารละลายของไหมเซริซินเตรียมด้วยวิธี ไดอะไลซีส

1.3.2 การเตรียมฟิล์มไคโตซาน ปรับปรุงคุณสมบัติของฟิล์มด้วยไหมเซริซินที่บรรจุและไม่บรรจุยา เตตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์

1.3.3 ศึกษาลักษณะเฉพาะของฟิล์มผสมที่มีอัตราส่วนของไหมเซริซิน และ อัตราส่วนของของยาปฏิชีวนะ ที่แตกต่างกันเช่น สัณฐานของฟิล์มผสม ศึกษาโดยเครื่อง Scanning electron microscope (SEM ศึกษาโครงแบบ (conformation) ด้วย เครื่อง FT-IR (Fourier transform – infrared spectrophotometer

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ

ไคโตซาน หมายถึง พอลิเมอร์ชนิดหนึ่งที่ได้จากธรรมชาติ มีคุณสมบัติที่สามารถแตกสลายได้ทางชีวภาพและสามารถเข้ากับเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตได้โดยไม่ทำให้เนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตเกิดการอักเสบและติดเชื้อ

ไหมเซริซิน หมายถึง โปรตีนชนิดหนึ่งที่ได้จากธรรมชาติคือได้จากรังไหม

ระบบนำส่งยา (drug delivery system) หมายถึง ตัวพา หรือวัสดุที่ใช้ในการห่อหุ้มยา

1.5 กรอบแนวความคิดการวิจัย

1.5.1 ฟิล์มไคโตซานที่เตรียมได้จากไคโตซานที่มีมวลโมเลกุลแตกต่างกันจะส่งผลต่ออัตราการปลดปล่อยยาที่สามารถละลายน้ำได้แตกต่างกัน

1.5.2ฟิล์มที่มีอัตราส่วนผสมของไหมเซริซินจะสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาที่สามารถละลายน้ำได้

1.5.3 อัตราการปลดปล่อยของยาที่สามารถละลายน้ำได้จะสามารถควบคุมได้ด้วยการปรับเปลี่ยนอัตราส่วนของไหมเซริซินที่มีอยู่ในฟิล์มผสม

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ได้ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานไหมเซริซินที่บรรจุยาเตตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์ เช่น อัตราส่วนระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน ประสิทธิภาพการบรรจุยาของฟิล์ม

1.6.2 ได้ทราบถึงอิทธิพลของอัตราส่วนของไหมเซริซินต่ออัตราการปลดปล่อยยาเตตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์

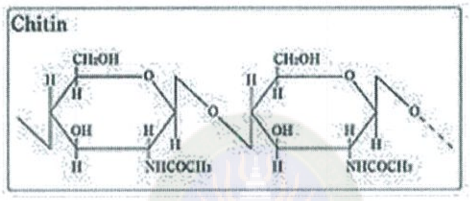
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1.6.3 เป็นการประยุกต์ใช้พอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ (ไคโตซาน) ในทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรม

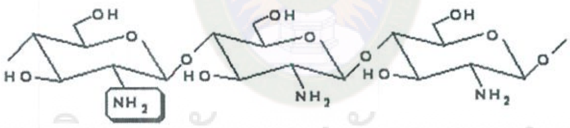
บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไคโตซาน

ไคโตซานเป็นที่จัดเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถแตกสลายทางชีวภาพได้ ซึ่งพอลิเมอร์ชนิดนี้สามารถย่อยสลายได้ด้วยพวกสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ หรือ ย่อยสลายได้ด้วยการเกิดปฏิกิริยากับน้ำ (Hydrolysis reaction) ไคโตซานเตรียมได้จากไคตินโดยปฏิกิริยาการหลุดของหมู่อะซีติล (Deacetylation) โดยการใช้ด่างเข้มข้น หรือเอนไซม์ ซึ่งไคตินเป็นพอลิเมอร์ที่มีมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส ไคตินเป็นองค์ประกอบนอกของสัตว์จำพวกแมลง ปูและกุ้ง เป็นต้น ดังนั้นไคโตซานที่เตรียมได้จากไคตินจึงเป็นพอลิเมอร์ที่มีมากอีกชนิดหนึ่งในธรรมชาติ ซึ่งสูตรโครงสร้างของไคตินไคโตซานและเซลลูโลส ได้แสดงเปรียบเทียบกันดังรูปที่ 2.1



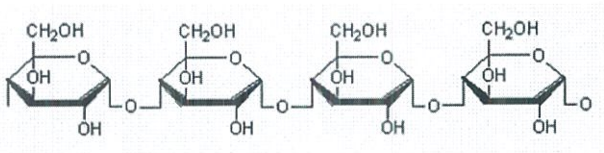
(a)



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

(b)

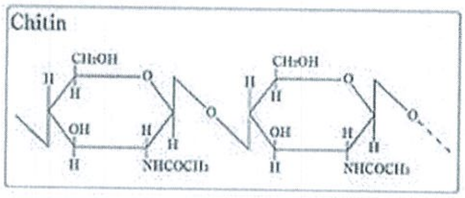
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY



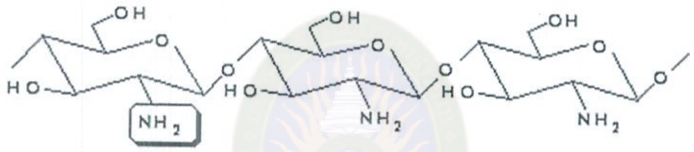
(c)

รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างของไคติน(a) ไคโตซาน(b) และ เซลลูโลส (c)

ไคตินและไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ร่วม (copolymer) ที่มีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 2.2 หากมีหน่วยซ้ำ (Repeating Unit) ของไคตินมากกว่า 50 % จะเรียกพอลิเมอร์ร่วมนี้ว่าไคติน ในทางตรงกันข้ามถ้ามีหน่วยซ้ำของไคโตซานมากกว่า 50 % จะเรียกพอลิเมอร์ร่วมนี้ว่า ไคโตซาน ซึ่งระดับขั้นของการหลุดของหมู่อะซีติล (Degree of deacetylation, DD) เป็นระดับของการเปลี่ยนไคตินเป็นไคโตซาน เป็นค่าที่สามารถระบุชั้นคุณภาพของไคโตซาน นอกเหนือจากค่าน้ำหนักโมเลกุลโดยเฉลี่ย (Molecular weight average) ของไคโตซาน นอกจากนี้ ระดับขั้นการหลุดของหมู่อะซิทิลยังเป็นค่าที่ใช้เปรียบเทียบถึงความสามารถในการละลายของหมู่อะซิทิลอีกด้วย



ไคติน



ไคโตซาน

รูปที่ 2.2 แสดงโครงสร้างของไคตินและไคโตซาน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ไคโตซานจะสามารถละลายน้ำได้ดีกว่าไคตินไคโตซานสามารถละลายได้ดีในสารละลายกรดอ่อน เช่น กรดอะซีติก และกรดแล็กติกเป็นต้น ดังนั้นไคโตซานจึงสามารถขึ้นรูปได้ในสภาวะที่เป็นสารละลาย นอกจากนี้ไคโตซานยังมีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพ (Antimicrobial peptide) ที่ดีกว่าจากเหตุผลดังกว่าจึงทำให้ไคโตซานได้รับความสนใจในการวิจัยและพัฒนาเพื่อประยุกต์ใช้งานด้านต่างๆมากกว่าไคติน

2.1.1 วิธีการสกัดไคโตซาน

2.1.1.1 กระบวนการเปลี่ยนไคตินเป็นไคโตซาน

กระบวนการผลิตไคโตซานมีขั้นตอนหลักอยู่เพียงขั้นตอนเดียว คือ ขั้นตอนการกำจัดหมู่ acetyi เรียกว่าขั้นการเกิดปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิทิล (Deacetylation) ในไคตินด้วยสารละลายด่างเข้มข้นที่ร้อน ผลจากการเกิดปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิทิลทำให้หมู่อะซิทิล (Acetyl group) ที่คาร์บอน

หมู่อะซิทิลคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ กล่าวคือ %DD เกิดกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปแล้วสามารถใช้พอลิเมอร์นั้นให้เกิดอนุพันธ์ที่ละลายในกรดอินทรีย์ หรือกล่าวได้ว่าการลดลงของหมู่อะซิทิลในไคติน (Chitin Regenerated) ผลที่ได้คือ การเพิ่มหมู่อะมิโน ซึ่งเป็นการเพิ่มสมบัติการเป็นสารที่มีประจุบวก (Polycationic Activity) บนพอลิเมอร์ที่ทำให้เกิดสภาพของการเป็นไคโตซานเพิ่มขึ้น (Chitosan Generation) เพราะฉะนั้นโครงสร้างของไคโตซานต่างจากไคตินตรงหน่วยที่เป็น Glucosamineในสายพอลิเมอร์เพิ่มมากกว่า 50เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป

2.1.2 การประยุกต์ใช้ไคโตซาน

ปัจจุบันมีการนำไคตินและไคโตซานมาประยุกต์ในด้านต่างๆ อาทิเช่น

2.1.2.1 ด้านอาหาร ไคโตซานมีสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์และเชื้อราบางชนิด โดยมีกลไก คือ ไคโตซานมีประจุบวก สามารถจับกับเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ที่มีประจุลบได้ ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนและสารอื่นของเซลล์ ในหลายประเทศได้ขึ้นทะเบียนไคตินและไคโตซานให้เป็นสารที่ใช้เติมในอาหารได้ โดยนำไปใช้เป็นสารกัดบูด สารช่วยรักษากลิ่น รส และสารให้ความข้น ใช้เป็นสารเคลือบอาหาร ผัก และผลไม้ เพื่อรักษาความสดหรือผลิตในรูปฟิล์มที่รับประทานได้ (Edible film) สำหรับบรรจุอาหาร

2.1.2.2 ด้านอาหารเสริม มีรายงานว่า ไคโตซานช่วยลดคอเลสเตอรอล และไขมันในเส้นเลือด โดยไคโตซานไปจับกับคอเลสเตอรอล ทำให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมไปใช้หรือดูดซึมได้น้อยลง จึงมีการโฆษณาเป็นผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก ทั้งนี้ต้องใช้ด้วยความระมัดระวัง เนื่องจากไคโตซานสามารถจับ วิตามินที่ละลายได้ดีในไขมัน (วิตามินเอ ดี อี เค) อาจทำให้ขาดวิตามินเหล่านี้ได้ นอกจากนี้ ทางการแพทย์ มีรายงานการนำ N-acetyl-D-glucosamine ไปใช้รักษาไขข้อเสื่อม โดยอธิบายว่า ข้อเสื่อมเกิดเนื่องจากการสึกกร่อนของเนื้อเยื่ออ่อนที่เคลือบอยู่ระหว่างข้อกระดูก ซึ่ง Glucosamine เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ Proteoglycan และ Matrix ของกระดูกอ่อน จึงช่วยทำให้เยื่อหุ้มกระดูกอ่อนหนาขึ้น

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

2.1.2.3 ด้านเภสัชกรรม มีรายงานการใช้ไคโตซานเพื่อควบคุมการปลดปล่อยตัวยาสำคัญ

2.1.2.4 ด้านการเกษตร เนื่องจากไคตินและไคโต-ซานมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ไนโตรเจนจะถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลอย่างช้าๆ รวมทั้งช่วยตรึงไนโตรเจนจากอากาศและดิน จึงใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช และกระตุ้นการนำแร่ธาตุไปใช้ ผลคือ สามารถเพิ่มผลผลิตและคุณภาพการผลิตได้ ทำให้เกษตรกรมี ต้นทุนต่ำลง เนื่องจากลดการใช้ปุ๋ยและยาฆ่าแมลง

2.1.2.5 ด้านการปศุสัตว์ ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และลดการติดเชื้อ ทำให้น้ำหนักตัวของสัตว์เพิ่มขึ้น

2.1.2.6 ด้านการบำบัดน้ำเสีย โดยทั่วไป น้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหาร มีสารแขวนลอยสูง ไคโตซานมีประจุบวก สามารถจับกับโปรตีนและไขมันได้ดี ซึ่งโปรตีนที่ได้สามารถแยกนำไปใช้เป็นอาหาร

สัตว์ต่อไป นอกจากนี้ ไคโตซานยังสามารถดูดซับอิออนของโลหะหนัก และจับสี (Dye) ช่วยในการบำบัดน้ำเสีย

2.1.2.7 ด้านสิ่งทอ นำมาขึ้นรูปเป็นเส้นใย และใช้ในการทอร่วมหรือเคลือบกับเส้นใยอื่นๆ เพื่อให้ได้คุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ ลดการเกิดกลิ่นอับชื้น

2.2 การประยุกต์ใช้ไคโตซานทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรม

ตัวอย่างการประยุกต์ใช้งานด้านการแพทย์และเภสัชกรรม ได้แก่ ฟิล์มห่อหุ้มอาหาร (food packaging) วัสดุเคลือบอาหารที่สามารถรับประทานได้ (Edible food coating) วัสดุบำบัดน้ำเสีย (Waste water treatment) วัสดุวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue engineering) วัสดุศัลยกรรมกระดูก (Orthopaedic) วัสดุปิดแผล (Wound dressing) และระบบนำส่งยาแบบควบคุมการปลดปล่อย (Controlled-drug delivery systems) เป็นต้น

2.3 การขึ้นรูปฟิล์มผสมของไคโตซาน

2.3.1 การผลิตฟิล์ม และสมบัติทางกายภาพของฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรีย-ไคโตซาน

ไคโตซานเป็นพอลิแซคคาไรด์ในธรรมชาติเพียงชนิดเดียวที่มีประจุบวก ซึ่งมีการนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์อย่างมากมาย มีงานวิจัยพบว่าการเติมไคโตแซนลงในสารแขวนลอยเยื่อทั้งจากเยื่อใยยาวหรือเยื่อใยสั้น ในกระบวนการผลิตกระดาษนั้นสามารถปรับปรุงสมบัติทางกายภาพด้านต่าง ๆ ของกระดาษได้ อย่างไรก็ตามยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อเซลลูโลสในระดับไมโครไฟบริลเช่นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ การศึกษาการผลิตฟิล์ม และการศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรีย-ไคโตแซนที่ผลิตได้ ซึ่งจากการศึกษาโดยกำหนดน้ำหนักมาตรฐานของฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรีย-ไคโตแซนคงที่ 30 กรัมต่อตารางเมตร และแปรปริมาณไคโตซานในสารแขวนลอยผสมระหว่างไคโตซานและเซลลูโลสจากแบคทีเรียในช่วง 0 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเยื่ออบแห้ง และค่าความเป็นกรด-ด่างของสารแขวนลอยผสม 4.5 7.0 และ 10.0 พบว่าที่ระดับการผสมไคโตซาน 10 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเยื่ออบแห้ง และค่าความเป็นกรด-ด่าง 10.0 ให้สมบัติทางกายภาพโดยรวมของฟิล์มดีที่สุด โดยจากการขึ้นฟิล์มในสภาวะนี้ดัชนีความต้านแรงดึงของฟิล์มเพิ่มขึ้น 27 เปอร์เซ็นต์ ดัชนีความต้านแรงดันทะลุของฟิล์มเพิ่มขึ้น 42 เปอร์เซ็นต์ ความยืดของฟิล์มเพิ่มขึ้น 35 เปอร์เซ็นต์ และการซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเพิ่มขึ้น 18 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับแผ่นฟิล์มที่ไม่ได้รับการเติมไคโตซาน อย่างไรก็ตามดัชนีความต้านแรงฉีกขาดของฟิล์มลดลง 32 เปอร์เซ็นต์ จากฟิล์มซึ่งไม่ได้รับการเติมไคโตซาน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

2.3.2 การเตรียมฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและเมทิลเซลลูโลส

การศึกษาการลักษณะเฉพาะของฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและเมทิลเซลลูโลสในอัตราส่วนต่างๆ เพื่อทำการศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติเชิงกลของฟิล์มที่เตรียมได้ โดยขึ้นรูปฟิล์มด้วยเทคนิค Casting โดยใช้เมทิลเซลลูโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงเปรียบเทียบกับฟิล์มผสมเมทิลเซลลูโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ พบว่าความเป็นผลึกและการละลายน้ำของฟิล์มพอลิเมอร์ผสมทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณเมทิลเซลลูโลสสูงขึ้น โดยฟิล์มที่มีเมทิลเซลลูโลสน้ำหนักโมเลกุลต่ำให้ความเป็นผลึกและการละลายน้ำมากกว่าฟิล์มที่มีเมทิลเซลลูโลสน้ำหนักโมเลกุลสูง ขณะที่ความทนแรงดึงและการยืดตัวของฟิล์มทั้งสองชนิดกลับลดลงเมื่อปริมาณเมทิลเซลลูโลสสูงขึ้น และเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อปริมาณเมทิลเซลลูโลสสูงกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ โดยฟิล์มที่มีเมทิลเซลลูโลสน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีความทนแรงดึงและการยืดตัวน้อยกว่าฟิล์มที่มีเมทิลเซลลูโลสน้ำหนักโมเลกุลสูง การให้ความร้อนฟิล์มพอลิเมอร์ผสมด้วยความร้อน ทำให้ความเป็นผลึกเพิ่มขึ้นและการละลายน้ำของฟิล์มลดลง และเมื่อปริมาณเมทิลเซลลูโลสต่ำกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ฟิล์มที่ผ่านการให้ความร้อน จะมีความต้านทานต่อแรงดึงมากกว่าและการยืดตัวน้อยกว่าฟิล์มที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน แต่เมื่อปริมาณเมทิลเซลลูโลสมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ฟิล์มที่ผ่านการให้ความร้อน จะให้ความทนแรงดึงน้อยกว่าและการยืดตัวมากกว่าฟิล์มที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน นอกจากนี้ การปรับสภาพฟิล์มพอลิเมอร์ผสมให้เป็นกลางด้วยเมทานอล ส่งผลให้การละลายน้ำของฟิล์มทั้งสองชนิดลดลงอีกด้วย (สุกิจ, 2542)

2.3.3 การศึกษาลักษณะเฉพาะของฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและน้ำมันมะกอกของฟิล์มที่รับประทานได้

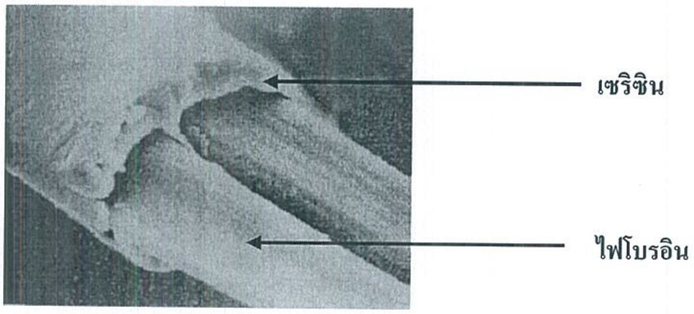
ศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและน้ำมันมะกอก ด้วยการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันมะกอก การเกิดอิมัลชันของไคโตซานทำให้เกิดการรวมตัวอิมัลชันของหยดน้ำมันมะกอกในฟิล์มที่มีความเสถียร ทำให้ฟิล์มที่ได้มีความเป็นเนื้อเดียวกัน มีความบางและโปร่งแสง ความเป็นเนื้อเดียวกันของฟิล์มเกิดจากการกระจายตัวของก้อนไขมันในฟิล์มสามารถวัดได้จากค่า Contact Angle ด้วยกล้องจุลทรรศน์ คุณสมบัติการทนต่อการดึงจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันมะกอก ซึ่งอธิบายได้จากการเกิดพันธะระหว่างโมเลกุลด้วยไขมัน ความชื้นจากการดูดซับไอน้ำผ่านแผ่นฟิล์มและค่าสัมประสิทธิ์การแพร่จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันเพิ่มขึ้น การวัดการละลายของฟิล์มเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพและแสดงถึงความแข็งแรงของฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและน้ำมันมะกอก (Pereda *et al.*, 2012)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

2.4 ไหม

เส้นใยไหมเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่หนอนไหมสังเคราะห์ขึ้นเพื่อห่อหุ้มร่างกายตัวเองรังไหมประกอบไปด้วยเส้นไหมดิบที่เรียกว่าเส้นไหมไฟโบรอิน (Fibroin) สองเส้นร้อยละ 75 โดยน้ำหนักที่เกาะติดกันและเคลือบด้วยกาวไหมหรือที่เรียกว่า เซริซิน (Sericin) ร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก ปริมาณของกาวไหม

จะขึ้นกับพันธุ์ไหมแต่ละชนิด ดังภาพที่ 2.4 นอกจากนี้ในเส้นไหมจะมีไขมันและน้ำมันอยู่ประมาณ 0.5-1 เปอร์เซ็นต์และสารสีธรรมชาติประมาณ 1-1.4 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 2.4 เส้นใยไหมดิบ (สิริรัตน์, 2548)

2.4.1 ไหมไฟโบรอิน

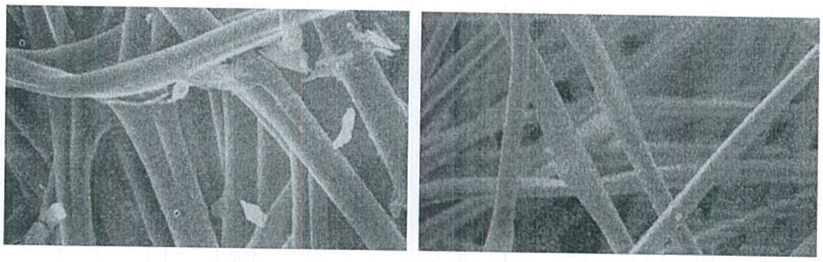
ไฟโบรอิน คือ โปรตีนเส้นใยที่เอามาทอผ้ามีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ มีองค์ประกอบหลักทางเคมีเป็นโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดเดียวกับเซริซิน คือ ไกลซีน อะลานีน เซอรีน และ ไทโรซีน ประมาณ 49.99, 26.54, 11.41 และ 5.35 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ไฟโบรอินมีโครงสร้างที่เป็นผลึกมากมีการเรียงตัวที่เป็นระเบียบ ดังแสดงใน ภาพที่ 2.4 โมเลกุลไฟโบรอินจะเป็นโครงสร้างแบบβ-pleated sheet เหมือนกับ ยึดตัวไปตามแนวยาวเกิดเป็นโครงสร้าง β-pleated sheet แบบ Anti-parallelpleated sheet และกลายเป็นโครงสร้าง 3 มิติ มีแรงระหว่างโมเลกุล คือ พันธะไฮโดรเจนที่บริเวณผลึกของไฟโบรอิน

เนื่องจากไฟโบรอินมีสายโซ่โมเลกุลของพอลิเพปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงมีลักษณะเหยียดยาวยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจนที่แข็งแรงระหว่างหมู่คาร์บอกซิลและหมู่อะมิโนจึงทำให้ไฟโบรอินไม่ละลายน้ำ

2.4.2 ไหมเซริซิน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

กาวไหมหรือเซริซินจะเป็นกาวเชื่อมเส้นใยไฟโบรอินสองเส้นให้ติดกันดังในภาพที่ 2.5(a) องค์ประกอบหลักทางเคมีเป็นโปรตีนก้อนกลมที่มีกรดอะมิโนชนิดเซอรีนเป็นองค์ประกอบหลักอยู่ในช่วง 16-38 เปอร์เซ็นต์แล้วแต่ชนิดของรังไหมแต่ละพันธุ์ เนื่องจากสายโซ่โมเลกุลของพอลิเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าไฟโบรอินจึงทำให้มีคุณสมบัติละลายได้ในน้ำร้อนนอกจากนี้ยังละลายได้เมื่อต้มด้วยสารละลายสบู่ สารซักฟอกสังเคราะห์หรือกรดอินทรีย์ (สิริรัตน์, 2548)



(a) (b)

รูปที่ 2.5 เส้นไหม (a) เส้นไหมติดกันเนื่องจากมีกาวไหมเซริซินเชื่อม (b) ไฟโบรอินสองเส้นแยกออกจากกัน

โดยทั่วไปแล้วไหมเลี้ยงจะมีไฟโบรอินประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์เซริซิน 20-30 เปอร์เซ็นต์เส้นใยจากรังไหม 97 เปอร์เซ็นต์เป็นโปรตีนบริสุทธิ์มีส่วนประกอบอื่นเพียงเล็กน้อยเช่นขี้ผึ้ง คาร์โบไฮเดรตวัตถุมีสีและสารอนินทรีย์ ฯลฯ (เออีอีชิ และ เข็มชัย 2530) แสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบของชั้นรังไหมชนิด *Bombyxmori.* (อรุณี, 2548)

พันธุ์ไหม	ชั้นของรังไหม	ส่วนประกอบ (%)					
		น้ำ	ไฟโบรอิน	เซริซิน	แอลกอฮอล์	อีเทอร์	เถ้า
N 122 x C 122	ชั้นนอก (30%)	10.69	65.86	31.36	1.44	1.36	0.893
	ชั้นกลาง(64%)	10.24	77.30	20.97	1.03	0.70	0.904
	ชั้นใน (6%)	10.06	73.57	23.78	0.96	1.69	0.922
Shuka x Girei	ชั้นนอก (32%)	10.48	70.48	27.16	1.23	1.13	0.835
	ชั้นกลาง(60%)	10.19	77.51	19.70	1.01	0.78	0.867
	ชั้นใน (8%)	9.52	79.05	18.62	1.09	1.24	0.861
Koishimaru	ชั้นนอก (28%)	10.27	73.25	24.13	1.42	1.20	0.804
	ชั้นกลาง(66%)	9.92	76.49	21.10	1.13	1.28	0.831
	ชั้นใน (6%)	9.96	77.55	20.05	1.01	1.39	0.858

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

เส้นใยไหมและกาวไหมประกอบด้วยกรดอะมิโน 18 ชนิดองค์ประกอบของกรดอะมิโนโปรตีนจากรังไหมแสดงไว้ในตารางที่ 2.2 ในตารางที่ 2.3 แสดงคุณสมบัติและหน้าที่สำคัญของกรดอะมิโนในผงไหมที่มีต่อร่างกาย

ตารางที่ 2.2 กรดอะมิโน 18 ชนิดที่เป็นองค์ประกอบในรังไหม (Robson *et al.*, 1998)

ชนิดกรดอะมิโน	น้ำหนักโมเลกุล	ปริมาณ (%โดยโมล)ไฟโบรอิน	ปริมาณ (%โดยโมล)เซริซิน
Glycine	75.06	44.60	13.49
Alanine	89.09	29.40	5.97
Valine*	117.15	2.20	2.75
Leucine*	131.17	0.53	1.14
Isoleucine*	131.17	0.66	0.72
Phenylalnine*	165.19	0.63	0.53
Methionine*	149.21	0.10	0.04
Tryptophane*	204.23	0.11	0.21
Proline	115.13	0.36	0.68
Tyrosine	181.19	5.17	2.61
Cystine/2	240.30	0.20	0.15
Serine	105.09	12.10	33.43
Threonine*	119.12	0.91	9.74
Aspartic acid	133.10	1.30	16.71
Glutamic acid	147.13	1.02	4.42
Histidine	155.16	0.14	1.30
Lysine*	146.19	0.32	3.30
Arginine	174.20	0.47	3.10

* กรดอะมิโนจำเป็นต่อร่างกาย

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ตารางที่ 2.3 หน้าที่และคุณสมบัติของกรดอะมิโนสำคัญในผงไหม

ชนิดกรดอะมิโนในผงไหม	หน้าที่และคุณสมบัติ
Glycine	ควบคุมระดับคอเลสเตอรอล, ป้องกันและรักษาความดันโลหิตสูงและช่วยเสริมสร้างการทำงานของตับ
Alanine	เป็นแหล่งพลังงานสำคัญต่อเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อสมองและระบบประสาทส่วนกลาง, ผลิต antibodies ที่ช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้นและช่วยในกระบวนการทำงานของน้ำตาลและกรดอินทรีย์
Serine	เป็นแหล่งในการสะสมน้ำตาล glucose ในตับและกล้ามเนื้อจึงช่วยส่งเสริมระบบการทำงานของ Insulin เป็นการลดน้ำตาลในเลือดซึ่งช่วยในการเผาผลาญไขมันที่สะสมในร่างกาย, ช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันแข็งแรงขึ้นและสังเคราะห์กรดไขมันล้อมรอบ nervefibers
Aspartic acid	ช่วยขับไล่อาการบาดเจ็บและสารพิษแอมโมเนียออกจากร่างกาย
Glutamic acid	ช่วยป้องกันผิวแห้งซึ่งเหมาะที่จะใช้ทำมอยส์เจอไรเซอร์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

เซริซินเป็นโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเส้นใย เป็นโปรตีนที่ได้รับความสนใจและใช้ประโยชน์ในทางด้านเวชสำอางค์และชีวการแพทย์ ซึ่งจากการศึกษาวิจัยพบว่าเซริวินเป็นโปรตีนที่มีโครงสร้างคล้ายกับเซลล์ผิวหนังมนุษย์มากที่สุดอีกทั้งยังสามารถไหมเซริซินเป็นโปรตีนที่สามารถละลายน้ำได้ซึ่งสกัดได้ด้วยน้ำโดยใช้อุณหภูมิ ประมาณ 80 องศาเซลเซียส

2.4.3 วิธีการสกัดเซริซิน

เซริซินเป็นโปรตีนกาวของเส้นไหมที่ได้รับความสนใจในการใช้ประโยชน์ด้านเวชสำอางและชีวการแพทย์ ซึ่งได้จากเส้นไหมของ Bombyx mori อย่างไรก็ดียังมีการศึกษาและใช้ประโยชน์จากเซอริซินของเส้นไหมชนิดอื่นค่อนข้างจากัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในไหมอีรี่ (Samia cynthia ricini) ที่กำลังได้รับการส่งเสริมการเลี้ยงในภาคประชาชนและอุตสาหกรรมงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาวิธีสกัดเซอริซินจากไหมทั้งสองชนิดและเปรียบเทียบแบบแผนของโปรตีนเซริซินที่ได้ จากการเปรียบเทียบการสกัดเซริซินด้วยน้ำ

170 กิโลดาลตัน แม้ว่าวิธีสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตจะได้ปริมาณเซริซินที่สูงกว่าวิธีสกัดด้วยน้ำ แต่โปรตีนที่ได้มีการสลายตัวมากกว่า

2.4.4 การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดเซริซินจากรังไหม

สำหรับการสกัดเซริซินจากรังไหม(*Bombyx mori*) นั้น รังไหมที่ใช้ในการศึกษาซื้อจากพงษ์เพชร ฟาร์ม จังหวัดกาฬสินธุ์ โดยได้ทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเซริซินด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยเปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด คือ 60 และ 80 องศาเซลเซียส ที่เวลา 30 นาที จากนั้นศึกษาเปรียบเทียบเวลาในการสกัดคือ 10 และ 30 นาที สำหรับการสกัดในน้ำกลั่น เปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด คือ 60, 80 และ 100 องศาเซลเซียส ที่เวลา 10 นาที กรองสารละลายผ่านผ้าขาวบาง การขจัดเกลือด้วยการไดอะไลซิสที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง และเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเซริซินด้วยวิธีทำแห้งเยือกแข็ง (Lyophilization)

2.4.5 ปริมาณและรูปแบบโปรตีนที่สกัดได้

วัดปริมาณเซอริซินที่สกัดได้ด้วย Bradford assay kit (Biorad, USA) โดยเปรียบเทียบและหาค่าความเข้มข้นของโปรตีนที่สกัดได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้จากการวัดปริมาณโปรตีนมาตรฐานซีรัมอัลบูมินที่ความเข้มข้น 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยผสมโปรตีน 5 ไมโครลิตรกับสาร Bradford reagent ปริมาตร 250 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate reader (BioTeK, USA) คำนวณปริมาณเซอริซินที่สกัดได้เป็นเปอร์เซ็นต์จากน้ำหนักรังไหมที่ใช้ จากนั้นศึกษารูปแบบของโปรตีนที่สกัดได้บน 4-15 เปอร์เซ็นต์ Gradient sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) (กนกพร และคณะ, 2555)

2.4.6 การประยุกต์ใช้โปรตีนเซริซิน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

การประยุกต์ใช้ประโยชน์จากเส้นไหมมนุษย์รู้จักใช้ประโยชน์จากไหมมาตั้งแต่อดีต สำหรับประเทศไทยถือได้ว่าไหมเกี่ยวข้องในวิถีชีวิตผู้คนมายาวนานเช่นกันดังปรากฏหลักฐาน จากการค้นพบมรดกโลกบ้านเชียง จังหวัดอุดรธานี ที่พบเศษเส้นไหมที่มีอายุหลายพันปีรวมอยู่ด้วย ในอดีตไหมถูกนำมาทอเป็นเครื่องนุ่งห่มหรือส่วนประกอบของอุปกรณ์ แต่ปัจจุบันมีรายงานการนำไหมไปใช้ประโยชน์มากขึ้น ได้แก่ ส่วนประกอบในเครื่องสำอาง สารเติมแต่งในอาหารและเครื่องดื่ม วัสดุทางการแพทย์ โดยเฉพาะในวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue engineering) การแพทย์ฟื้นฟู (Regenerative medicine) การรักษาด้วยยีน (Gene therapy) การควบคุมการปลดปล่อยยา (Controlled drug delivery) และเทคโนโลยีนาโนชีวภาพ (Bionanotechnology)

2.5 โครงสร้างของโปรตีน

2.5.1 โครงสร้างระดับปฐมภูมิ

โครงสร้างปฐมภูมิ (Primary structure) หมายถึงโครงสร้างที่เกิดจากกรดอะมิโนมาเรียงต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์เป็นสายโซ่เปปไทด์โครงสร้างนี้จะบอกได้เฉพาะจำนวนกรดอะมิโนทั้งหมดในโปรตีนโมเลกุลลักษณะการเรียงตัวของกรดอะมิโน (amino acid sequence) ชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบของโปรตีนและ N-terminal amino acid และ C-terminal acid

2.5.2 โครงสร้างระดับทุติยภูมิ

โครงสร้างทุติยภูมิ (Secondary structure) สายพอลิเปปไทด์พับหรือม้วนเป็นเกลียวซึ่งจะยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะไฮโดรเจน มักทำให้เกิดโครงสร้าง 2 ชนิด คือ เป็น α-helix และ β-pleated sheet ดังภาพที่ 2.6 และภาพที่ 2.7 ตามลำดับ โครงสร้าง α-helix เป็นเกลียวเวียนขวาที่เกิดจากหมู่คาร์บอกซิลกับหมู่อะมิโนตัวที่ 4 ที่ถัดไปในสายพอลิเปปไทด์เดียวกันสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างกันจะเป็นโครงสร้างที่เสถียรน้อยกว่าβ-pleated sheet ที่สร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายพอลิเปปไทด์ 2 สายที่ขนานกันตลอดทั้งสาย โครงสร้างของ β-pleated sheet มี 2 โครงสร้าง คือ

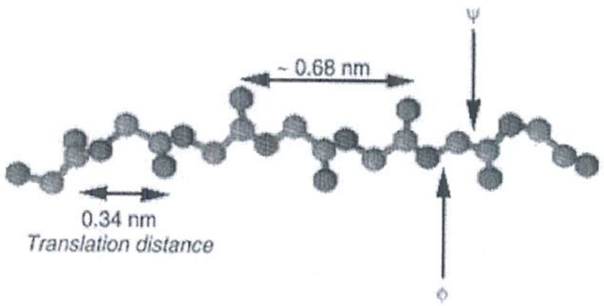
1. Parallel pleated sheet เกิดจากสายพอลิเปปไทด์ที่พับไปมาและยึดกันไว้ด้วยพันธะไฮโดรเจนมีการเรียงลำดับจาก N-terminal amino acid ไป C-terminal amino acid ในทิศทางเดียวกัน
2. Anti-parallel pleated sheet สายเปปไทด์ที่ยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจนมีการเรียงลำดับจาก N-terminal amino acid ไป C-terminal amino acid ในทิศทางที่สวนทางกัน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

รูปที่ 2.6โครงสร้างของแอลฟา-เฮลิกซ์แบบ π–เฮลิกซ์

2.5.3 โครงสร้างระดับทุติยภูมิของสายบีต้า

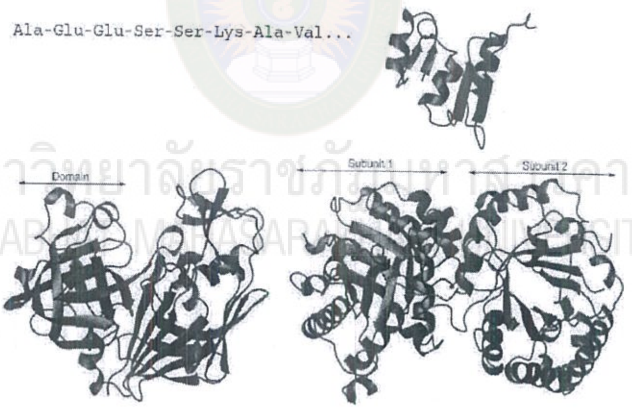
โครงสร้างทุติยภูมินี้จะมีลักษณะแบนไม่เป็นเกลียวเหมือนแอลฟา-เฮลิกซ์มีรูปร่างยาวโดยหนึ่งเกลียวประกอบด้วยกรดอะมิโนมีความยาวของสายประมาณ 0.7 นาโนเมตรมีสองกรดอะมิโนในหนึ่งเกลียวมีระยะ 0.34 นาโนเมตรในสายบีต้าดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 โครงสร้างของสายบีต้า

2.5.4 โครงสร้างระดับตติยภูมิ (Tertiary Structure) หรือโครงสร้างสามมิติ

โครงสร้างระดับตติยภูมิจะเป็นโครงสร้างของโปรตีนที่มีการม้วนพับของเส้นโพลีเปปไทด์มีโครงสร้างทุติยภูมิและมีโครงสร้างที่เป็นแบบสุ่มดังรูปที่ 2.8



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

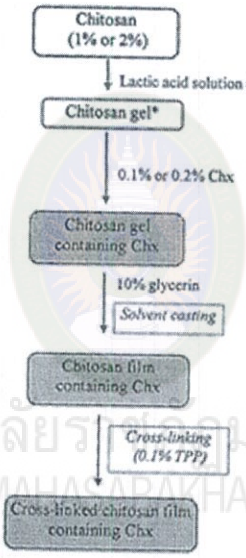
รูปที่ 2.8โครงสร้างสามมิติของโปรตีน

การม้วนพับของโปรตีนทั้งจากโครงสร้างระดับทุติยภูมิและการมีปฏิกิริยาเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันระดับอะตอมทำให้เกิดโครงรูปของโปรตีนขึ้นมีพันธะที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากันของแต่ละอะตอมที่เป็นส่วนประกอบของโปรตีนหลายชนิดเช่นพันธะไดซัลไฟด์แรงอิเล็คโตรสเตติก (Electrostatic Force) แรงวันเดอร์วาลส์แรงไฮโดรโฟบิกและพันธะไฮโดรเจนที่เกิดจากโครงสร้างหลักโดยพบว่าแรงดึงดูดของแต่ละอะตอมจะทำให้เกิดโปรตีนเป็นก้อนกลมที่มีความเสถียรการที่เกิดโครงสร้างสามมิติของโปรตีนแสดงว่าแรง

ดึงดูดของแต่ละอะตอมต้องมากกว่าแรงผลักทำให้เกิดโครงสร้างสามมิติที่เสถียรซึ่งมีความแตกต่างกันในความสัมพันธ์ของความถี่และความแข็ง

2.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

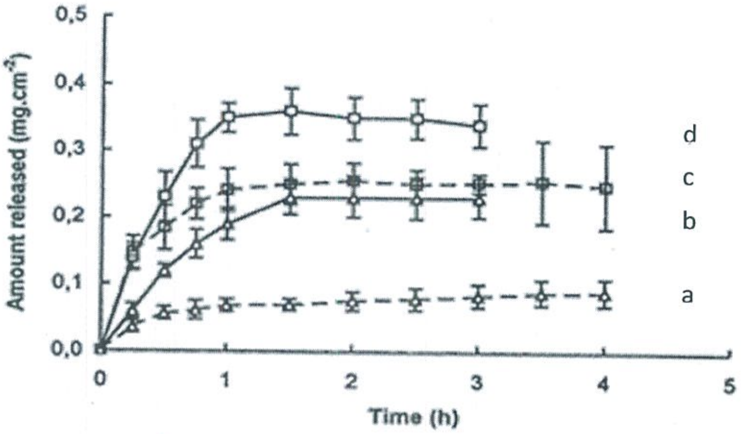
ฟิล์มไคโตซานสามารถเตรียมได้ด้วยเทคนิคการเคลือบของสารละลาย (solution casting method) มีการใช้ฟิล์มไคโตซาบรรจุยาที่ละลายน้ำได้ดีเป็นระบบนำส่งยาแบบเฉพาะที่และควบคุมการปลดปล่อย (local and controlled release drug delivery system) ได้แก่ ยาคลอร์เฮกซิดิน กลูโคเนท (chlorhexidinegluconate, Chx) ที่เป็นยาต้านจุลชีพ ซึ่งมีการใช้เป็นส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปาก โดยมีการใช้ฟิล์มไคโตซานที่บรรจุยานี้เพื่อวัตถุประสงค์ในการรักษาร่องลึกปริทันต์ (periodontal pocket) [8] โดยทำการละลายยาคลอเฮกซิดิน กลูโคเนท ก่อนทำการเตรียมฟิล์ม มีการใช้กลีเซอรีน (glycerin) เป็นสารหล่อลื่นระดับโมเลกุล (plasticizer) เพื่อทำให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่นมากขึ้น และทำปฏิกิริยาการเชื่อมขวางโมเลกุลของไคโตซานโดยใช้ tripolyphosphatepentasodium salt เป็นสารเชื่อมขวาง แสดงการเตรียมฟิล์มไคโตซานที่บรรจุยาดังกล่าว ดังรูปที่ 2.9



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

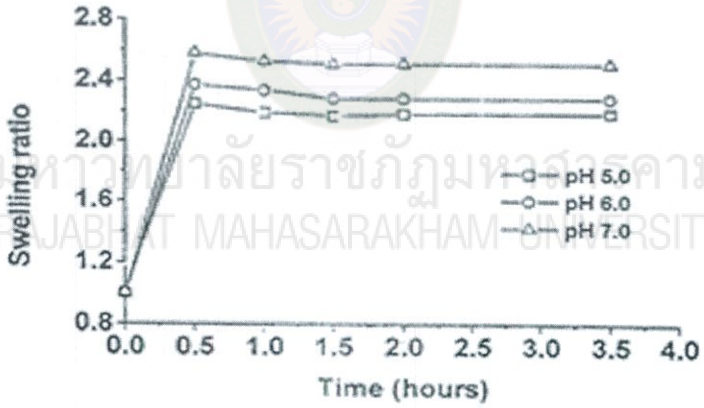
รูปที่ 2.9 การเตรียมฟิล์มไคโตซานที่บรรจุยาคลอร์เฮกซิดิน กลูโคเนท (Edlund *et al.*, 2002)

สำหรับการทดสอบการปลดปล่อยยาคลอเฮกซิดิน กลูโคเนทจากฟิล์มไคโตซาน ได้มีการทดสอบแบบ อิน วิโทร โดยทดสอบการปลดปล่อยยาในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล ได้ผลการทดสอบ ดังรูปที่ 2.10 ซึ่งพบว่าปริมาณการปลดปล่อย (amount release) ของปริมาณยาต่อพื้นที่ของฟิล์มมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อปริมาณยาที่บรรจุอยู่ในฟิล์มเพิ่มมากขึ้น และอัตราการปลดปล่อยยาจะมีค่าลดลง เมื่อฟิล์มไคโตซานผ่านการเกิดปฏิกิริยาเชื่อมขวาง (Edlund et al., 2002)



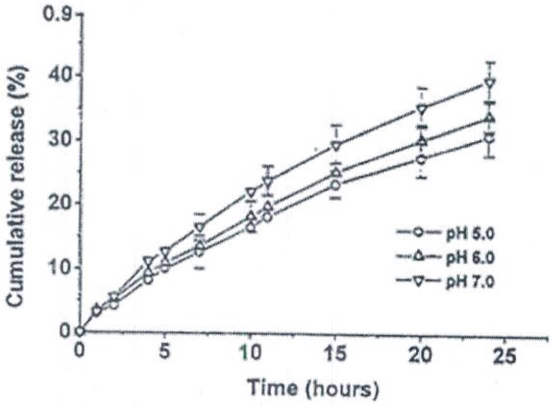
รูปที่ 2.10 รูปแบบการปลดปล่อยที่เวลาต่างๆ ของยาคลอร์เฮกซิดิน กลูโคเนทจากฟิล์มไคโตซานที่บรรจุยา 0.1% (a, b) และ 0.2% (c, d) เมื่อเส้นปะและเส้นทึบแสดงถึงฟิล์มที่ไม่เกิดการเชื่อมขวางและเกิดการเชื่อมขวาง ตามลำดับ (Edlund *et al.*, 2002)

การเกิดปฏิกิริยาเชื่อมขวางของโมเลกุลของไคโตซานพบว่ามีอิทธิพลต่ออัตราการปลดปล่อยยาเช่นกัน ดังการทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางด้วยโซเดียม ซิเทรตที่สภาวะค่าพี เอชต่างๆ พบว่าที่พี เอช 5 โมเลกุลของไคโตซานจะเกิดปฏิกิริยาการเชื่อมขวางในปริมาณที่มากกว่าที่พี เอช 6 และ 7 จึงทำให้ฟิล์มไคโตซานมีอัตราการบวม (swelling ratio) ในน้ำที่น้อยกว่า ดังรูปที่ 2.11 ซึ่งอัตราการบวมในน้ำของฟิล์มมีความสัมพันธ์โดยตรงกับอัตราการปลดปล่อยยาไรโบรฟลาวิน (riboflavin) ดังแสดงในรูปที่ 2.12



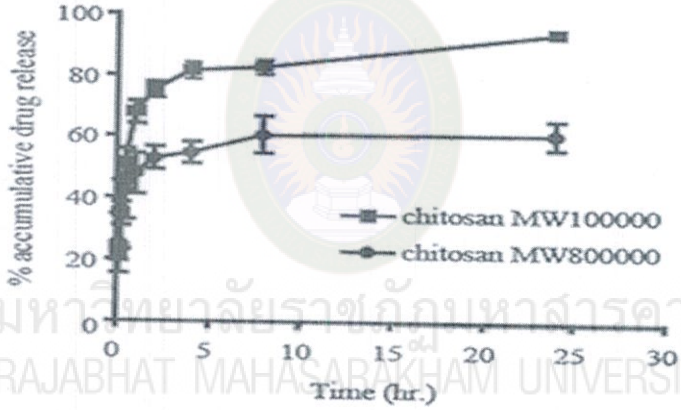
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

รูปที่ 2.11 อัตราการบวมของฟิล์มไคโตซานแบบเชื่อมขวางที่บรรจุยาไรโบรฟลาวิน ที่เวลาต่างๆ ที่เตรียมโดยมีการเกิดปฏิกิริยาการเชื่อมขวางด้วยโซเดียมซิเทรตที่มีสภาวะพี เอช ต่างๆ (Senel *et al.*, 2002)



รูปที่ 2.12 รูปแบบการปลดปล่อยยาไรโบรฟลาวินจากฟิล์มไคโตซานแบบเชื่อมขวาง ที่เวลาต่างๆ ที่เตรียมโดยมีการเกิดปฏิกิริยาการเชื่อมขวางด้วยโซเดียม ซิเทรตที่มีสภาวะพี เอช ต่างๆ (Senel *et al.*, 2002)

สำหรับอิทธิพลของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่มีต่ออัตราการปลดปล่อยยาที่ละลายน้ำได้ดีมีการศึกษาโดยใช้ยาเมธิมาโซล (methimazole) ซึ่งเป็นยาที่มีฤทธิ์ในการรักษาไทรอยด์เป็นพิษ พบว่าอัตราการปลดปล่อยยาเมธิมาโซลมีค่าลดลง เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ใช้เตรียมฟิล์มมีค่ามากขึ้น (Piriyaprasart et al., 2004) ดังแสดงในรูปที่ 2.13



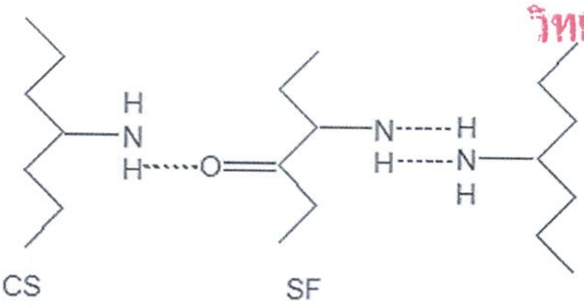
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

รูปที่ 2.13 รูปแบบการปลดปล่อยยาเมธิมาโซลจากฟิล์มไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน (Piriyaprasart *et al.*, 2004)

สำหรับฟิล์มผสมของไคโตซานและไหม ไฟโบรอิน(ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นโปรตีนเช่นเดียวกันกับไหมเซริซิน)ได้มีการรายงานถึงการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของไคโตซาน (chitosan, CS) และไหม ไฟโบรอิน (silk fibroin, SF) ดังแสดงในรูปที่ 2.14 (Chen *et al.*, 2006; Park *et al.*, 1997; Kweon *et al.*, 2001) ซึ่งทำให้รูปแบบโมเลกุล (molecular conformation) ของไหม ไฟโบรอินเปลี่ยนไป และทำให้สมบัติการชอบน้ำ และสมบัติเชิงกลเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งการเปลี่ยนแปลงสมบัติต่างๆเหล่านี้ ยังไม่ได้มีการศึกษาถึงอิทธิพลต่อการปลดปล่อยยาของฟิล์มผสมเหล่านี้ ที่จะได้ทำการศึกษาวิจัยในงานวิจัยนี้

สำนักวิทยบริการฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

วิทยานิพนธ์ งานวิจัย



รูปที่ 2.14 การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของไคโตซานและไหม ไฟโบรอิน

(Chen *et al.*, 2006)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

249554

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและสารเคมี

รังไหมพันธุ์พื้นบ้าน (Silk *Bombyx mori*) โดยความอนุเคราะห์ของศูนย์นวัตกรรมไหม มหาวิทยาลัยมหาสารคาม สารเคมีที่ใช้ในการทดลองแสดง ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

Chemicals	Grade	Supplier
Calcium chloride ($CaCl_2$)	Laboratory reagent	Ajax Finechem
Collagen powder (Type I)	AR grade	Sigma
Ethanol	AR grade	Ajax Finechem
Ethyl acetate	Reagent grade	Carlo Erba
Sodium carbonate	AR grade	Carlo Erba

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือที่ใช้สำหรับการศึกษาทดลองในครั้งนี้แสดงดังตารางที่ 3.2.

ตารางที่ 3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

Instruments	Model	Company
Differential Scanning Calorimeter	Pyris Dimond	Perkin Elmer
Thermo Gravimetric Analizer	Qserie600	Perkin Elmer
FTIR spectrometer	Centurion	Scientific LTD
Scanning electron microscope (SEM)	Spectrum GX JSM-6460LV	JEOL
UV-Visible Spectrophotometer	Lamda 25	Perkin Elmer
Vacuum oven	Vacucell	MMM Group

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.3 วิธีการเตรียมสารละลายเซริซิน

นำรังไหมมาต้ม ณ อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียสในสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ (0.02 M Na_2CO_3) จากนั้นนำน้ำต้มรังไหมหรือ กาวไหมเซริซิน นำมาผ่านกระบวนการไดอะไลซิสเพื่อกำจัด Na_2CO_3 ด้วยเทคนิคไดอะไลซิสในถุงเซลลูโลสซึ่งมีขนาดรูพรุน(Molecular cut off 6000-8000 KDa) ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำมากรองและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีความข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

3.4 การเตรียมสารละลายไคโตซาน

ชั่งไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 100,000 กรัมต่อโมล ปริมาณ 2 กรัม ละลายในสารละลาย 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรของกรดอะซีติกที่มีปริมาตร 400 มิลลิลิตรภายใต้สภาวะการปั่นกวนจะได้สารละลายไคโตซานที่มีความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

3.5. การเตรียมฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน

นำสารละลายไหมเซริซินที่เตรียมได้จากข้อ 3.3 มาผสมกับสารละลายไคโตซานที่เตรียมได้จากข้อ 3.4 ด้วยอัตราส่วน 1/0 1/1 2/1 และ 1/2 ตามลำดับ นำสารละลายที่ผสมกันด้วยอัตราส่วนต่างๆนำไปปั่นกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสารละลายผสมที่ได้เทลงในเพลทแก้วเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จะได้ฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน

3.6 การเตรียมฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซินที่บรรจุยาเตตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์

ฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซินสามารถเตรียมได้ด้วยวิธีเดียวกัน โดยการเติมยาตัวอย่างคือเตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์ลงไปในสารละลายผสมของไคโตซานและไหมเซริซินด้วยอัตราส่วนของฟิล์มผสมต่อยาตัวอย่างที่อัตราส่วน 100/10 ในฟิล์มผสมทุกอัตราส่วน เมื่อทำการขึ้นรูปฟิล์มเรียบร้อยแล้วนำฟิล์มผสมที่มียาตัวอย่างบรรจุอยู่ไปทดสอบอัตราการปลดปล่อยยาต่อไป

3.7 การหาลักษณะเฉพาะของฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน

3.7.1 ลักษณะสัณฐาน

การศึกษาลักษณะสัณฐานฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริน ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) โดยตัดฟิล์มให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ วางในแนวตั้งและแนวนอน จากนั้นนำไปเคลือบด้วยทองคำ เพื่อเหนี่ยวนำอิเล็กตรอน ที่บริเวณผิวหน้าของแผ่นฟิล์มปิดแผล

3.7.2 ความหนาโดยเฉลี่ย

นำแผ่นฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซินที่ได้นำไปวัดด้วยโปรแกรม View Smile Shop โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ประมาณ 12 ค่าแล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.7.3 โครงรูปของแผ่นฟิล์มผสม

โครงรูปแผ่นฟิล์มผสม ศึกษาโดยใช้เทคนิค FT-IR ด้วยเครื่อง Perkin-Elmer Spectrum FTIR spectrometer และใช้อากาศเป็นตัวอ้างอิง โดยใช้ resolution เป็น 4 cm^{-1} จำนวนสแกนเท่ากับ 10 สแกน

3.7.4 ทดสอบการละลาย

นำฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซินที่ได้นำมาตัด ให้ได้ขนาด 2x2 เซนติเมตร แล้วนำไปชั่งหาน้ำหนัก ทำการบันทึกน้ำหนักก่อนละลาย จากนั้นนำไปเขย่าในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนจะนำไปอบในตู้อบสุญญากาศ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักหลังละลาย นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาคุณสมบัติการละลายซึ่งสามารถคำนวณได้ดังสมการที่ 3.1

$$\text{\% การละลายของฟิล์มผสม} = \frac{\text{น้ำหนักฟิล์มก่อนแช่น้ำ} - \text{น้ำหนักฟิล์มที่แช่น้ำ}}{\text{น้ำหนักฟิล์มก่อนแช่น้ำ}} \times 100 \qquad (3.1)$$

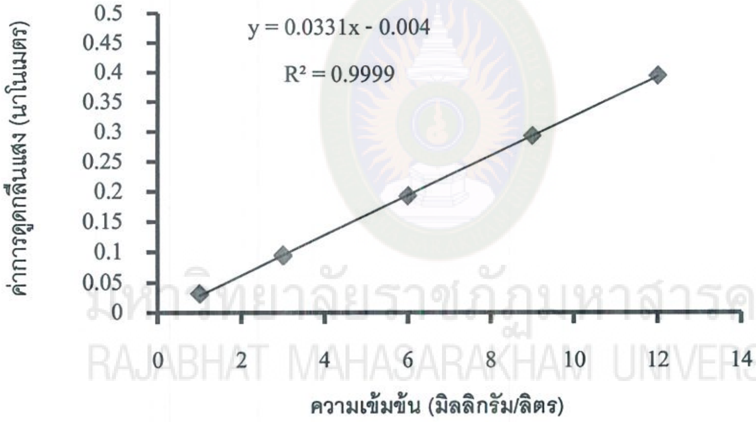
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.7.5 การทดสอบความเสถียรด้วยความร้อน

การทดสอบความเสถียรต่อความร้อนของฟิล์มโดยใช้เครื่อง Thermo Gravimetric Analyzer นำตัวอย่างฟิล์มชั่งน้ำหนักประมาณ 2-3 มิลลิกรัมใส่ลงในแพททินัมแพนจากนั้นทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะแก๊สในโตรเจนอุณหภูมิ 50-800 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 20 องศาเซลเซียส/นาที

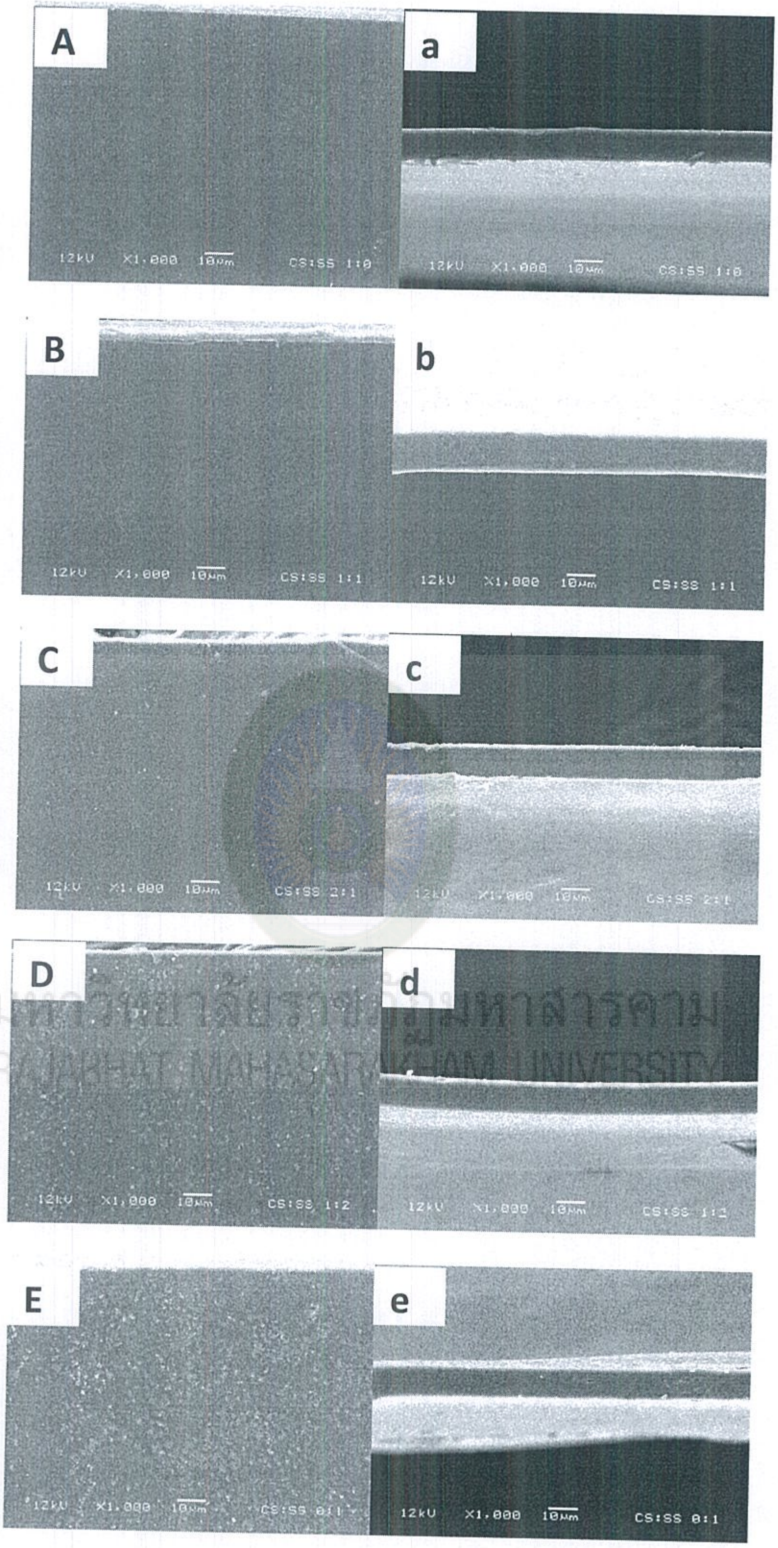
3.8 การศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยยาของฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน

นำฟิล์มผสมที่บรรจุยาตัวอย่างมาตัดให้มีขนาด 2x2 เซนติเมตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 150 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Phosphate Buffer Saline พีเอสเท่ากับ 7.4 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการปิเปตสารละลายปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย Phosphate Buffer Saline ปริมาตร 2 มิลลิลิตรลงไปเพื่อทดแทนสารละลายที่ปิเปตออกมา นำสารละลายที่ปิเปตออกมาไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 353 นาโนเมตรซึ่งเป็นค่าดูดกลืนแสงของยาเตตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์ ทำการวัดด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer จากนั้นทำการคำนวณเพื่อหาความเข้มข้นของยาตัวอย่าง โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของยาที่ปลดปล่อยออกมาจากฟิล์มผสม หลังจากทำการเขย่าที่เวลา 3 6 12 24 และ 48 ชั่วโมง ซึ่งจะคำนวณเทียบจากกราฟมาตรฐานของยาเตตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์ ซึ่งกราฟมาตรฐานของเตตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์แสดงดังรูปที่3.1 ปริมาณยาที่ปลดปล่อยออกมาในแต่ละชั่วโมงจะนำไปรายงานผลในรูปของกราฟเส้น เพื่อเปรียบเทียบการปลดปล่อยยาของฟิล์มผสมที่มีอัตราส่วนของไหมเซริซินที่แตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลา



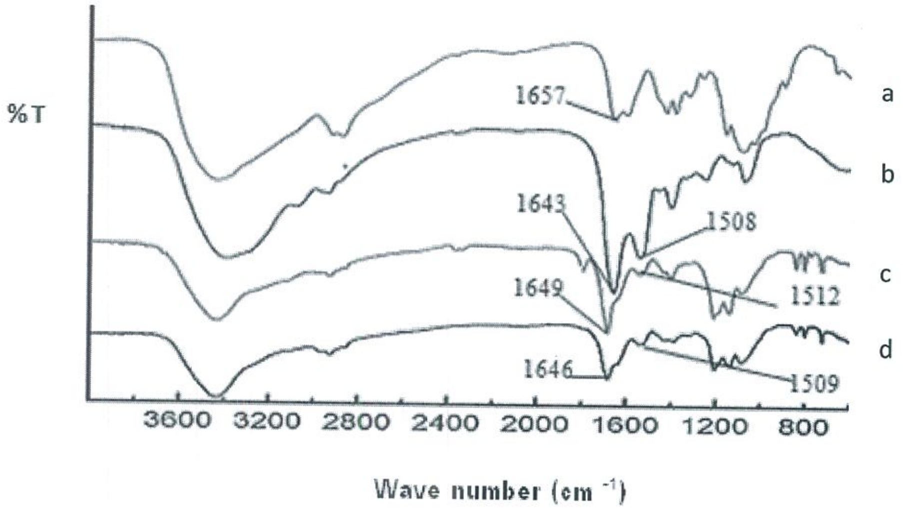
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

รูปที่ 3.1 กราฟมาตรฐานของยาเตตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

รูปที่ 4.1 ลักษณะสัณฐาน(A-E) และภาพตัดขวางของฟิล์มผสม(a-e) ระหว่างไคโตซานและไหมเซริซินในอัตราส่วน 1/0, 1/1 2/1 1/2 และ 0/1 ตามลำดับ



รูปที่ 4.2 แสดงสเปกตรัมอินฟราเรดของแผ่นฟิล์มปิดแผลผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน ในอัตราส่วน 1/0 (a) 0/1 (b) 2/1 (c) และ 1/2 (d) โดยน้ำหนักตามลำดับ

4.4 การทดสอบการละลาย

จากการศึกษาคุณสมบัติการละลายของฟิล์มผสมดังแสดงในตารางที่ 5.2 พบว่า เมื่ออัตราส่วนของไหมเซริซินในฟิล์มผสมเพิ่มขึ้นความสามารถในการละลายของฟิล์มจะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนเซริซิน เป็นโปรตีนที่สามารถละลายน้ำได้ดี ส่วนไคโตซานจะละลายได้ในตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อนๆซึ่งจากงานวิจัยที่มีการใช้ไคโตซานจะทำการละลายไคโตซานในสารละลายกรดอะซิตริกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ซึ่งผลการละลายดังกล่าวจะส่งผลต่อการปลดปล่อยยาออกจากฟิล์มซึ่งฟิล์มที่ละลายได้ดีโมเลกุลของยาจะถูกปลดปล่อยออกมาเร็วกว่าฟิล์มที่สามารถละลายน้ำได้น้อย ผลการศึกษานี้มีความสัมพันธ์กับการศึกษาคุณสมบัติโครงสร้างทางเคมีของฟิล์มผสมที่แสดงถึงคุณลักษณะของโครงสร้างโปรตีนที่สามารถละลายน้ำได้ของไหมเซริซิน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

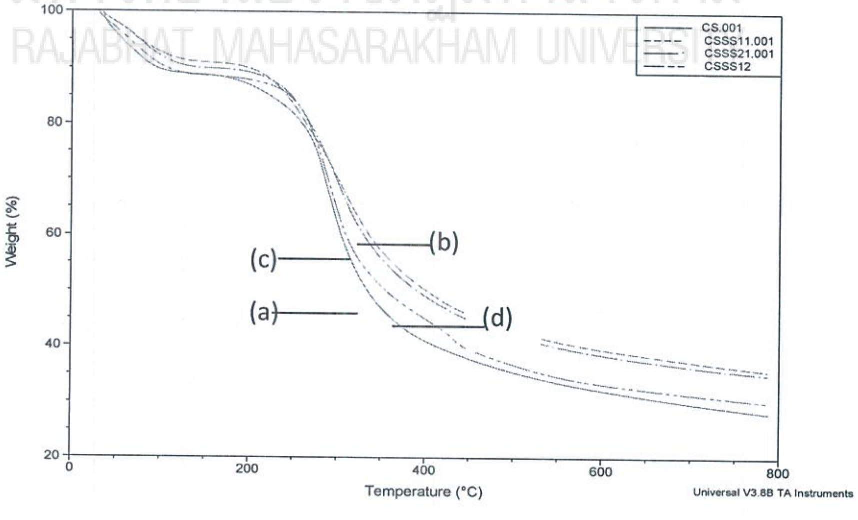
ตารางที่ 4.2 แสดงร้อยละการละลายของฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน

อัตราส่วนผสม ไคโตซาน/ไหมเซริซิน	ร้อยละการ	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1/0	46	± 3.2
1/1	57	± 2.7
2/1	48	± 4.6
1/2	74	± 5.8
0/1	95	± 3.5

4.5 การศึกษาความเสถียรต่อความร้อนของฟิล์มผสม

จากผลการศึกษาความเสถียรต่อความร้อนของฟิล์มผสมพบว่าเมื่อฟิล์มไคโตซานผสมกับไหมเซริซินจะทำให้ฟิล์มผสมมีความเสถียรต่ออุณหภูมิเพิ่มมากขึ้นทั้งนี้จะสังเกตเห็นได้ว่ารูปเทอร์โมแกรม (b) เป็นของฟิล์มผสมในอัตราส่วน 1/1 จะแสดงน้ำหนักที่เหลือจากการเผาไหม้ในร้อยละที่สูงกว่าอัตราส่วนต่างๆ ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า ในอัตราส่วนผสมนี้ฟิล์มมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันและไคโตซานสามารถเข้ากันได้ดีกับไหมเซริซิน ซึ่งโปรตีนจากไหมเมื่อนำมาเผาจะเหลือน้ำหนักของพวกเถ้า จึงส่งผลให้น้ำหนักที่เหลือมีค่ามากกว่าฟิล์มผสมของไคโตซาน

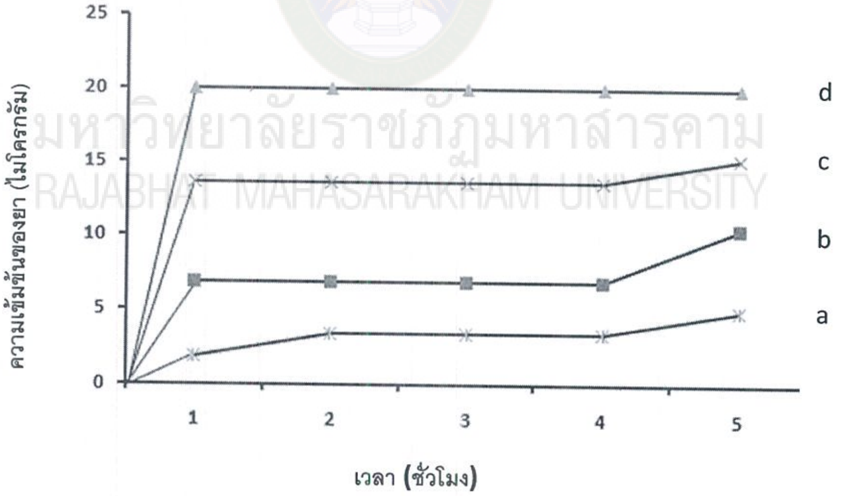
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY



รูปที่ 4.3 แสดงเทอร์โมแกรมจากเครื่อง Thermo gravimetrice analyzer (TGA) ของฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซินในอัตราส่วนอัตราส่วน 1/0 (a) 1/1 (b) 2/1 (c) และ 1/2 (d)ตามลำดับ

4.6 การทดสอบการปลดปล่อยยาแบบ *อิน วิโทร* (*In vitro* releasing test)

การทดสอบการปลดปล่อยยาแบบ *อิน วิโทร* ของฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน ในอัตราส่วนต่างๆ ซึ่งทำการบรรจุยาแล้วนำมาขึ้นรูปเป็นฟิล์มที่มียาบรรจุอยู่ จากการศึกษาการปลดปล่อยยาและปริมาณยาที่สะสมในแต่ละช่วงเวลา เมื่อนำมาพลอตกราฟจะได้กราฟที่แสดงในดังรูป 4.5 โดยแกน Y เป็นปริมาณยาตัวอย่างที่ปลดปล่อยออกมา แกน X คือ ช่วงเวลาต่างๆ ที่ทำการตรวจวัดปริมาณยาตัวอย่าง จากกราฟในช่วง 1 ชั่วโมงแรก ยาตัวอย่างจะปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นการแพร่ของโมเลกุลยาที่อยู่บริเวณผิวและโมเลกุลที่อยู่ใกล้เคียงผิวของฟิล์ม จากนั้นปริมาณยาที่ปลดปล่อยออกมาจะมีปริมาณสะสมที่แตกต่างกันทั้งนี้เนื่องจาก คุณสมบัติการละลายของฟิล์มที่แตกต่างกัน โดยจะสังเกตเห็นได้ว่า ฟิล์มไคโตซาน(กราฟเส้น a) ยาจะถูกปลดปล่อยออกมาช้าเนื่องจากฟิล์มไคโตซานมีคุณสมบัติการละลายที่ต่ำ จึงทำให้ยาปลดปล่อยออกมาช้ากว่าฟิล์มที่มีเซริซินเป็นส่วนผสม นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นได้อีกว่าเมื่อ อัตราส่วนของเซริซินเพิ่มขึ้นโมเลกุลของยาจะปลดปล่อยออกมาได้เร็วขึ้นทั้งนี้เนื่องจากไหมเซริซินเป็นโปรตีนที่สามารถละลายน้ำได้ดีจึงส่งผลต่อการปลดปล่อยยาได้เร็วขึ้น



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

รูปที่ 4.5 รูปแบบของการปลดปล่อยยาเตตระไซคลินไฮโดรคลอไรด์จากฟิล์มไคโตซานที่มีอัตราส่วนของไหมเซริซินที่แตกต่างกันโดย (a) 1/0 (b) 2/1 (c) 1/1 และ (d)1/2 ตามลำดับ

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลการของการเตรียมฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซริซิน โดยศึกษาอิทธิพลอัตราส่วนของไหมเซริซินที่มีผลต่อลักษณะเฉพาะของฟิล์มผสม เช่น ลักษณะสัณฐาน ความหนา โครงรูป การละลาย ความเสถียรต่อความร้อน และ พฤติกรรมการปลดปล่อยยาของฟิล์มผสม
จากการศึกษาวิจัยสามารถสรุปได้ดังนี้

5.1.1 ฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและไหมเซรินสามารถเตรียมได้ด้วยเทคนิคการเคลือบด้วยตัวทำละลาย

5.1.2 อัตราส่วนของไหมเซริซินมีอิทธิพลต่อลักษณะสัณฐานและความเป็นเนื้อเดียวกันของแผ่นฟิล์มเล็กน้อย

5.1.3 คุณสมบัติการละลายของฟิล์มผสมจะเพิ่มขึ้น เมื่ออัตราส่วนของเซริซินเพิ่มขึ้น

5.1.4 โครงรูปของฟิล์มผสมที่เตรียมได้มีลักษณะเด่นเป็นแบบเกลียวสุ่ม (Random coil) ซึ่งเป็นโครงรูปที่สามารถละลายน้ำได้

5.1.5 ความเสถียรต่อความร้อนของฟิล์มเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนของไหมเซริซินเพิ่มขึ้น

5.1.6 พฤติกรรมการปลดปล่อยยาของฟิล์มผสมพบว่าขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของไหมเซริซิน เมื่ออัตราส่วนของไหมเซริซินเพิ่มขึ้น โมเลกุลของยาจะปลดปล่อยออกมาได้เร็วขึ้น

5.2 อภิปรายผลการทดลอง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

5.2.1 ลักษณะสัณฐาน

จากการศึกษาอิทธิพลอัตราส่วนของไหมเซริซินที่มีผลต่อรูปร่างลักษณะสัณฐานของฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานกับไหมเซริซินที่เตรียมได้ พบว่าฟิล์มผสมที่เตรียมได้มีลักษณะพื้นผิวที่เรียบและมีลักษณะพื้นผิวขรุขระเล็กน้อยเมื่ออัตราส่วนของไหมเซริซินเพิ่มขึ้น เนื่องจากอัตราส่วนของไหมเซริซินที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้สารละลายผสมระหว่างไคโตซานกับไหมเซริซินมีความหนืดลดลง เนื่องจากสารละลายไหมเซริซินเป็นสารละลายที่มีความหนืดน้อยกว่าสารละลายไคโตซาน ดังนั้นจึงส่งผลให้การแพร่ของตัวทำละลายแพร่ได้เร็วขึ้นจึงทำให้ฟิล์มผสมที่ได้มีลักษณะพื้นผิวขรุขระเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

5.2.2 ความหนาโดยเฉลี่ย

ความหนาของฟิล์มผสมโดยเฉลี่ยที่เตรียมได้ วัดโดยใช้โปรแกรม View Smile Shop ของเครื่อง Electron Scanning Microscopy โดยวัดความหนาของฟิล์มผสมอย่างน้อย 12 ซ้ำ พบว่าความหนาของแผ่นฟิล์มผสมมีการกระจายตัวโดยเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากฟิล์มผสมมีลักษณะของเนื้อฟิล์มที่เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าไคโตซานกับไหมเซริซินสามารถเข้ากันได้ดี

5.2.3 โครงรูป

การศึกษาโครงรูปของแผ่นฟิล์มผสมที่เตรียมได้ โดยวิเคราะห์จากสเปกตรัมของเครื่อง FT-IR แสดงพบว่าอัตราส่วนของไหมเซริซินที่ผสมลงไปส่งผลต่อโครงรูปของฟิล์มผสม มีโครงรูปเป็นแบบเกลียวสุ่ม ทั้งนี้เนื่องจากไหมเซริซินเป็นโปรตีนที่สามารถละลายน้ำได้ดี ดังนั้นจึงเหนี่ยวนำให้ฟิล์มผสมดังกล่าวมีโครงรูปเป็นแบบเกลียวสุ่ม

5.2.4 การทดสอบการละลาย

จากการศึกษาคุณสมบัติการละลายพบว่า ฟิล์มผสมจะสามารถละลายน้ำได้ดีเมื่ออัตราส่วนของไหมเซริซินเพิ่มขึ้น เนื่องจากไหมเซริซินมีคุณสมบัติความชอบน้ำ (Hydrophobicity) โดยหมู่อะมิโนสายโซ่ของโปรตีนชนิดนี้สามารถเกิดพันธะกับน้ำได้ ทำให้โมเลกุลของน้ำสามารถแทรกเข้าไปสร้างพันธะไฮโดรเจนกับสายโซ่โปรตีนไหมเซริซินได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาโครงรูปของแผ่นฟิล์ม ที่มีลักษณะโครงรูปเป็นแบบเกลียวสุ่ม

5.2.5 ความเสถียรต่อความร้อนของฟิล์มผสม

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

จากการศึกษาคุณสมบัติความเสถียรต่อความร้อนของฟิล์มผสมระหว่างไคซานและไหมเซริซินพบว่าความเสถียรต่อความร้อนของฟิล์มผสมจะเพิ่มขึ้น เมื่ออัตราส่วนของไหมเซริซินเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนไหมเซริซิน เป็นโปรตีนที่สลายตัวด้วยความร้อนแล้วจะเหลือองค์ประกอบที่เป็นพวกเถ้า ดังนั้นจึงทำให้น้ำหนักที่เหลือของฟิล์มผสมที่มีอัตราส่วนของไหมเซริซินมีน้ำหนักที่เหลือจากการสลายตัวด้วยความร้อนมากกว่าฟิล์มของไคโตซาน

5.2.6 การทดสอบการปลดปล่อยยาแบบ *อิน วิโทร*

จากการศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยยาพบว่า การปลดปล่อยยาหรือการแพร่ของโมเลกุลของยาจะขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของไหมเซริซิน กล่าวคือเมื่ออัตราส่วนของไหมเซริซินเพิ่มมากขึ้นในฟิล์มผสม จะทำให้ฟิล์มผสมละลายได้เร็ว ดังนั้นโมเลกุลยาที่มีอยู่ในฟิล์มผสมจึงแพร่ออกมาเร็วด้วย ซึ่งมีความสัมพันธ์กับผลการศึกษาโครงรูปของฟิล์มผสม

5.3 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลการทดลองข้างต้นทำให้ทราบถึงอิทธิผลของอัตราส่วนไหมเซริซินที่มีผลต่อฟิล์มผสม เช่น ต่อลักษณะสัณฐาน ความหนา การละลาย โครงรูป ความเสถียรต่อความร้อน และพฤติกรรมการปลดปล่อยยาของฟิล์มผสม จากข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับระบบนำส่งยาได้ ด้วยการปรับอัตราส่วนของไหมเซริซิน

ในการวิจัยครั้งต่อไปอาจศึกษาอิทธิพลของการใช้สารเชื่อมขวาง โดยทำการเชื่อมขวางไคโตซานกับไหมเซริซินก่อนทำการบรรจุยาตัวอย่าง ซึ่งสารเชื่อมขวางมีคุณสมบัติทำให้สารที่เกิดการเชื่อมขวางมีคุณสมบัติการละลายที่ลดลงได้ และศึกษาอิทธิพลของสารเชื่อมขวางที่ส่งผลการปลดปล่อยยาตัวอย่างต่อไป

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

บรรณานุกรม

ชูขวัญ ทรัพย์มณี. สกัดโปรตีนจากรังไหมสู่ผงไหม. เกษตรกรรมธรรมชาติ 2550 (10) 5: 10-18.16.

สุกิจ ปัญญาชัยเสนะ, การเตรียมเตรียมฟิล์มผสมระหว่างไคโตซานและเมทิลเซลลูโลส. จุฬาลงกรณ์

สิริรัตน์ จารุจินดา. ไหม: การลอกกาวไหมและการฟอกขาวไหม. คัลเลอร์เวย์ 2548 (10) 56:34-38.

อรุณี คงดี. โปรตีนไหม/ซิริซิน วารสารแม่โจ้ปริทัศน์ 2548 (6) 1: 50-54.

เออิอีชิ คาวาอิ และ เข็มชัย เหมะจันทร. วิทยาการไหมเล่ม 1. 2530.

C. –S. Chen, W. Liau, G. –J. Tsai, J. Food Protect, 1998, 61, 1124-1128.

Ghaouth, J. Arul, R. Ponnampalam, M. Boulet, J. Food Sci., 1991, 56, 1618-1620.

H. Kweon, H.C. Ha, I.C. Um and Y.H. Park, J. Appl. Polym. Sci., 2001, 80, 928-934.

M. Pereda, G. Amica, E. Norma and Marcovich, Carbo. Polym., 2012, 1318–1325

Ouattarz, R.E. Simard, G. Piette, A. Begin, R. A. Holley, Int. J. Food Microbiol., 2000, 62, 139-148.

P.C. Srinivasa, R. Baskaram, M.N. Ramesh et. al., Eur. Food Res. Technol., 2002, 215, 504-508.

R. M. Robson, Handbook of fibre chemistry. Marcel Dekker. INC, NewYotk. 1998.

S.J. Park, K.Y. Lee, W.S. Soo and Y. Park, J. Appl. Polym. Sci., 1997, 74, 2571-2575.

S. Piriyaprasarth, J. Nunthanid, W. Daronkaisorn, S. Sae-ieo, S. Yuttawat, S. Santithanes, S. Tangsombutpaiboon, P. Sriamornsak and P. Opanasopit, Proceeding in 30th Congress on Science and Technology of Thailand, 19 – 21 October 2004, Bangkok, Thailand.

S. Senel, G. Ikinci, S. Kas, A. Yousefi-Rad, M.F. Sargon and A.A. Hincal, Int. J. Pharm., 2000, 193, 197-203.

S.W. Haya-areekul, C. Prahsarn, Int. J. Pharm., 2006, 313, 123-128.

U. Edlund, A. -C. Albertsson, Polym. Sci., A.-C. Albertsson, Ed.; Springer: Berlin, 157, 2002, 72.

X. Chen, W. Li and T. Yu (1997) J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys., 1997, 35, 2293-2296.

Y. –J. Jeon, J. Y. V. A. Kamil, F. Shahidi, J. Agric. Food Chem., 2002, 50, 5167-5178.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ นายธนนชาติ อิ่มสมบัติ

ตำแหน่ง อาจารย์

หน่วยงานที่สังกัด สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

ที่อยู่ปัจจุบัน 80/9 ถนนนครสวรรค์ ตำบลตลาด อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม

ประวัติการศึกษา

- กำลังศึกษาต่อ ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ปร.ด.) สาขา เคมี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
- ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขา เคมี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 2554
- ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขา เคมี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 2545

ผลงานวิชาการ

- **Imsombut, T.**, Srisa-ard, M., Srihanam, P.& Baimark, Y. (2011). Preparation of silk fibroin microspheres by emulsification-diffusion method for controlled release drug delevery applications. E-polymer 088, 1618-7229.

- **Imsombut, T.**, Srisuwan, Y., Srihanam, P. & Baimark, Y. (2010). Genipin cross-linked silk fibroin microspheres prepared by simple water-in-oil emulsion solvent diffusion method. Powder Technology 203, 603-608.

- Srihanam, P., Srisuwan, Y., **Imsombut T.** & Baimark, Y. (2010). Silk fibroin microspheres prepared by the water-in-oil emulsion solvent diffusion method for protein delivery. Korean J. Chem. Eng 10.1007, 0322-0324.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

- **Imsombut, T.** and Baimark, Y. Preparation of silk fibroin micropaticles by emulsification-diffusionmethod for drug delivery. Pure and Applied Chemistry International Conference 2010, January 21-23, 2010, Sunee Grand Hotel and Convention Center Ubon Ratchathani, Thailand. P. 679.

- Khotawong, S., **Imsombut, and T.** Butiman, J. Comparison of silk yarn appearance after dyeing with fresh and powder natural dyes. Mahasarakham conference 2010, 6 th, August 26-28, 2010, Taksila Hotel Mahasarakham, Thailand. P. 152.

- Khotawong, S., **Imsombut, T**. and Butiman, J. Extraction of natural dye powder of silk yarn dying. *International Conference* 2009, September 21-22, 2009 faculty of Agriculture Kasetsat University, Bangkok Thailand.

-Khotawong, S., **Imsombut, T**. and Butiman, J. Morphological characteristic of dyeing and chemical structure of silk yarn, with different methods of natural dyed. International workshop on sericulture and weaving silk. August 28-29, 2008, *Taksila Hotel Mahasarakham*, Thailand. P. 43.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ชื่อ นางสาวปนัดดา แทนสุโพธิ์

ตำแหน่ง อาจารย์

หน่วยงานที่สังกัด โปรแกรมวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

ที่อยู่ปัจจุบัน 80/9 ถนนนครสวรรค์ ตำบลตลาด อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม

ประวัติการศึกษา

ปริญญาเอก วท.ด. (เคมี) มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปริญญาโท วท.ม. (เคมีวิเคราะห์) มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปริญญาตรี วท.บ. (เคมี) มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผลงานทางวิชาการ

- Panadda Tansupo, Herbert Budzikiewicz, Saksit Chanthai and Chalerm Ruangviriyachai. Effect of pyoverdin I produced by Pseudomonas aeruginosa on the mobilization of copper (II) and iron (III) contaminated in natural soil and sea sand samples. International Journal of Pure & Applied Chemistry. 2007, 93-98.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

- Panadda Tansupo, Herbert Budzikiewicz, Saksit Chanthai and Chalerm Ruangviriyachai. Effect of environmental conditions on the mobilization of copper (II) and iron (III) by pyoverdin I in artificial contaminated soils. ScienceAsia, 2008, 34: 287-292.

-Panadda Tansupo, Worakarn Chamongkolpradit, Saksit Chanthai and Chalerm Ruangviriyachai. Removal of heavy metals from artificially waste water samples based on micelle- templated silica modified with pyoverdin I. Journal of Environmental Sciences. 2009, 21: 1009-1016.

- Panadda Tansupo, Pirom Suwannasom, Devanand L. Luthria, Saksit Chanthai and Chalerm Ruangviriyachai. Optimized separation procedures for the simultaneous assay of three plant hormones in liquid biofertilizers. Phytochemical Analysis, 2010, Mar; 21: 157-162.

-ปนัดดา แทนสุโพธิ์ ออนวดี สันปะภา สุขสันต์ ไตยันโท ภิรมย์ สุวรรณสม และ เฉลิม เรืองวิริยะชัย การหาปริมาณของออกซินในน้ำหมักชีวภาพอย่างง่าย โดยใช้เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี บรรยายในการประชุมวิชาการเครือข่ายการวิจัยสถาบันอุดมศึกษา ปี 2551 "เทคโนโลยีสู่ชุมชนเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน" วันที่ 17-19 มกราคม 2551 ขอนแก่น.

-Tansupo, P., Suwannasom, P., Chanthai, S. and Ruangviriyachai, C. Simultaneous determination of auxin, gibberellic acid abscisic acid in liquid biofertilizers using SPE and RP-HPLC. Oral presentation at the 9th National Graduate Research Conference; March 14-15, 2008; Burapha University, Bangsaen, Chonburi, Thailand, p. 55.

-Panadda Tansupo, Manop Sriutha, Saksit Chanthai and Chalerm Ruangviriyachai. The application of siderophore for remediation of some heavy metals. Poster presentation at 31st Congress on Science and Technology of Thailand. October 18-20, 2006 Technopolis, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

-Panadda Tansupo, Pirom Suwannasom, Saksit Chanthai and Chalerm Ruangviriyachai. Analysis of plant hormones in bioextract sample using HPLC. Poster presentation at PERCH Congress IV. May 6-9, 2007, Jomtien Plam Beach Resort, Pattaya, Chonburi, Thailand.

-เฉลิม เรืองวิริยะชัย ภิรมย์ สุวรรณสม และ ปนัดดา แทนสุโพธิ์ น้ำหมักชีวภาพกับการพัฒนาอุตสาหกรรมเกษตร การประชุมวิชาการ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งชาติ ประจำปี 2550 (NAC 2007) วันที่ 28-30 มีนาคม 2550 กรุงเทพมหานคร.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ นางสาวดรรชนีย์ พลหาญ

ตำแหน่ง อาจารย์

หน่วยงานที่สังกัด สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

ที่อยู่ปัจจุบัน 80/9 ถนนนครสวรรค์ ตำบลตลาด อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม

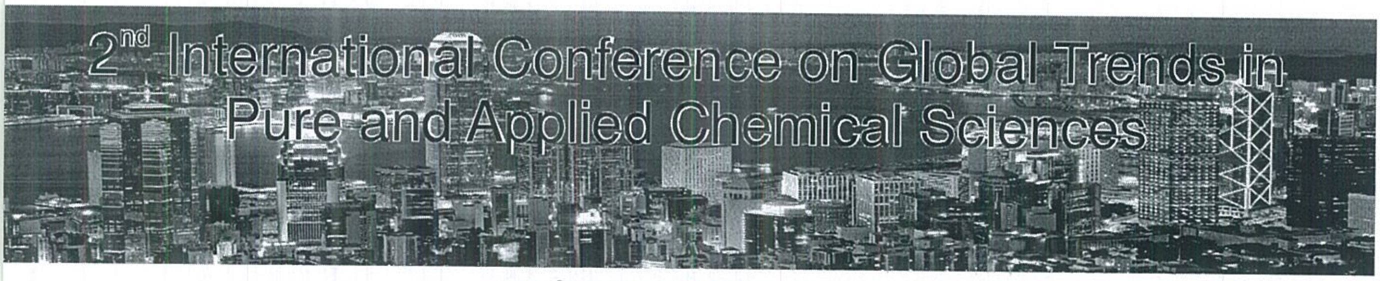
ประวัติการศึกษา

- กำลังศึกษาต่อ ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ปร.ด.) สาขา เคมี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
- ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีพอลิเมอร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 2552
- ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขา เคมี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี 2550

ผลงานทางวิชาการ

- การศึกษาการสังเคราะห์กรดอะดิปิก ด้วยวิธีเคมีสีเขียว
- การปรับปรุงคุณภาพของน้ำยาอุดล้อรถยนต์ที่ผลิตจากน้ำยางธรรมชาติ เพื่อการนำไปใช้ในสภาพอุณหภูมิต่ำ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY



3-4 October 2014 Hong Kong
Organized by: ASIAN JOURNAL OF CHEMISTRY

ACCEPTANCE LETTER

Dated: 13 May 2014

To
Dr. Thanonchat Imsombut
Department of Chemistry
Faculty of Science and Technology
Rajabhat Mahasarakham University
Mahasarakham, 44000
Thailand

Dear Prof./Dr. Thanonchat Imsombut

Thanks for your interest in International Conference on Global Trends in Pure & Applied Chemical Sciences (ICGTCS-2014). I am pleased to inform you that your abstract No. **AB-154** entitled **"Preparation and Characterization of Chitosan/Silk Sericin Blend Films for Use as Drug Delivery System"** has been accepted for POSTER presentation in ICGTCS-2014.

You are requested to send the filled up registration and passport form and remit the fees for attending the conference. Kindly check the registration amount on the website.

Indians Payments can be made in the following two manners:

1. By paypal directly paid to asianicgtcs2014@gmail.com through credit card.
2. Directly to the account please note the following details:
   Account Name : Asian Journal of Chemistry
   Account No. : 50200005047863
   Swift Code : HDFCINBBXXX
   Name of Bank & Address : HDFC Bank, Plot No. 83, Sector-5, Rajendra Nagar, Sahibabad-201005, India
   Quoting purpose of fund : ICGTCS-2014 Registration Fees
   RTGS/NEFT/IFSC : HDFC0001266
   Branch code : 1266
3. Online Registration system on the website through credit card.

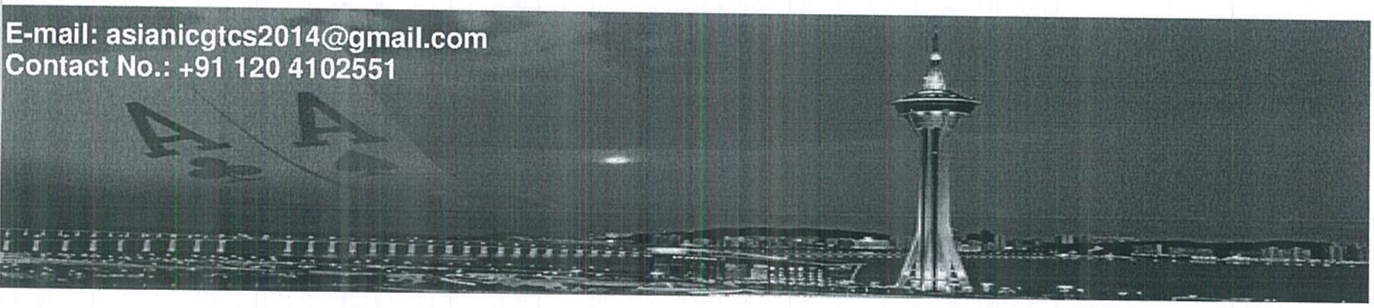
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

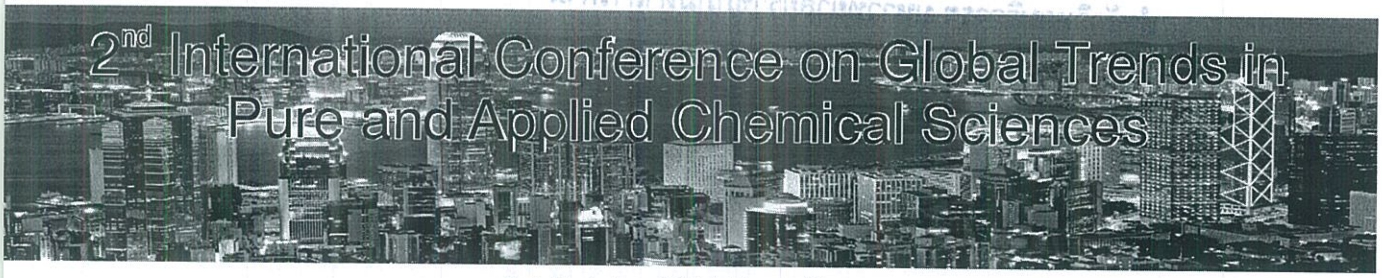
No full-length articles will be considered for the publication in a special issue, unless at least one of the authors for each abstract makes his official registration and pays either by cheque/demand draft or through banks transfer the registration fees. The deadline for the payment and registration is 30 May 2014.

Your early cooperation will be highly solicited.

Kindest regards

Mrs. Anjul Agarwal
Secretary
ICGTCS-2014





3-4 October 2014 Hong Kong
Organized by: ASIAN JOURNAL OF CHEMISTRY

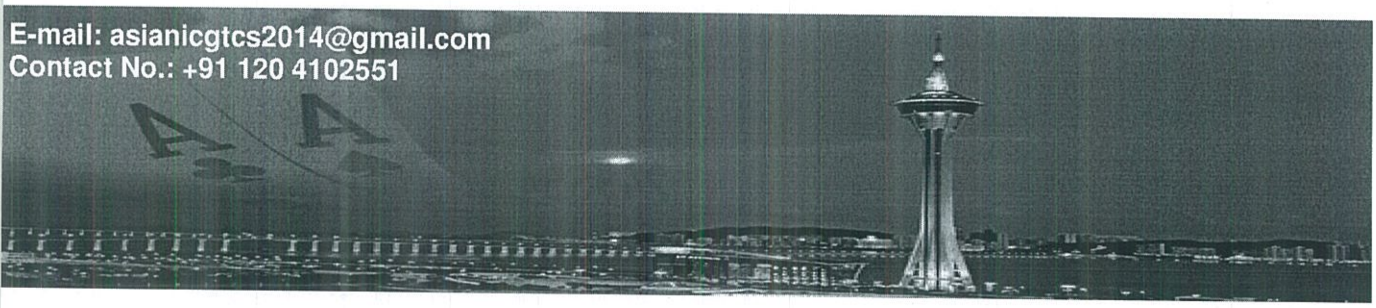
ACCEPTANCE LETTER

INFORMATION ABOUT PRESENTATION

a) Oral Presentation:

1. Each oral presenation will be of total of 10 minutes duratin, about 8 minutes for presentation and 2 minutes for discussion.
3. Pleasure ensure that font size and drawings are such that these can be legible by the auidence even at the end of room 10-12 meters long.

b) Poster Presentation:

1. An area of about 1 M × 1 M would be available for poster display. The area is adequate for display of 12 A4 sheets.
2. Use minimum font size 14 so that the poster can be read from a distance of about 1 M.
3. First sheet must contain the following information presented in a clear manner:
   * Title
   * Authors with the Presenting author name underlined.
   * Affiliation and address.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY