

การเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์สปันนาโนของพอลิไฮดรอกซีอัลคานอเอตบรรจุน้ำมันไพล

A Preparation of Electrospun Polyhydroxyalkanoate Nanofibers Loaded with Plai Oil

ศตายุ กิจมงคลไพศาล^{1*} ณัฐพล ถนัคชางแสง² ธงชัย คุบโคกกรวด³
 สนิ บุญญกุล² และ นันทพงษ์ ขำทอง⁴

Stayu Kitmongkonpaisan^{1*} Nuttapol Tanadchangsang² Thongchai Koobkokkrud³
 Sani Boonyagul² and Nanthaphong Khamthong⁴

¹นักศึกษาระดับปริญญาโท วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต

²อาจารย์ประจำ คณะวิศวกรรมชีวการแพทย์, มหาวิทยาลัยรังสิต

³หัวหน้าห้องปฏิบัติการ ห้องปฏิบัติการนาโนเวชสำอาง ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ

⁴อาจารย์ประจำ วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต

¹Master Student in College of Oriental Medicine, Rangsit University

²Lecturer in Faculty of Biomedical Engineering, Rangsit University

³Leader in Nano-cosmeceutical laboratory, National Nanotechnology Center (NANOTEC)

⁴Lecturer in College of Oriental Medicine, Rangsit University

*Corresponding author, E-mail: staryu.thp@hotmail.com

บทคัดย่อ

แผ่นฟิล์มเส้นใยนาโนเป็นรูปแบบนำส่งยาทางผิวหนังที่พัฒนามาจากครีมหรือเจล แผ่นฟิล์มมีความยืดหยุ่นสามารถติดผิวหนังคน และควบคุมการปลดปล่อยยาได้ การสังเคราะห์แผ่นเส้นใยนาโนด้วยพอลิเมอร์ชีวภาพสำหรับเป็นแมทริกซ์ในการปลดปล่อยยาหรือสารสกัดสมุนไพร ได้รับความสนใจจากนักวิจัยอย่างมากในปัจจุบัน โดยในงานวิจัยนี้ได้ผลิตเส้นใยนาโนจากพอลิไฮดรอกซีอัลคานอเอต (Polyhydroxyalkanoate, PHA) ซึ่งมีน้ำมันไพลบรรจุอยู่ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อหาอัตราส่วนของพอลิเมอร์ต่อน้ำมันไพล และทดสอบการขึ้นรูปเส้นใยนาโน แล้วนำมาตรวจสอบคุณสมบัติทางวัสดุ โดยผสมละลาย PHA และน้ำมันไพลใน dichloromethane ด้วยความเข้มข้น 8%w/v แล้วขึ้นรูปด้วยวิธีอิเล็กโตรสปินนิ่งเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วจึงผสมน้ำมันไพลที่ความเข้มข้น 5% และ 40%w/w ตามลำดับ ซึ่งคุณสมบัติของวัสดุแผ่นฟิล์มเส้นใยนาโนถูกประเมินด้วย ค่าแรงดึงวัดโดยเครื่อง texture analyzer พบว่าค่าความยืดหยุ่น และการยึดเมื่อขาด อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ของวัสดุ โดยสามารถบ่งชี้ได้ว่ามีน้ำมันไพลบรรจุอยู่ในเส้นใยนาโน โดยไม่ทำให้คุณสมบัติความเป็นผลึกของ PHA เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้จากการตรวจสอบลักษณะพื้นฐานของพื้นผิวของแผ่นเส้นใยโดยเครื่อง scanning electron microscope พบว่า เส้นใยนาโนที่บรรจุน้ำมันไพล 5% และ 40%w/w มีลักษณะเป็นทรงกระบอกขนาดสม่ำเสมอ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยส่วนใหญ่มีขนาดประมาณ 1 ไมโครเมตร จากนั้นทำการตรวจสอบแผ่นเส้นใยนาโนโดยเครื่อง FTIR พบว่า แสดงพีคของหมู่อัลเคนของสาร terpinen-4-ol ซึ่งแสดงว่ามีน้ำมันไพลบรรจุอยู่ภายในโครงสร้าง PHA คือ ปรากฏคลื่นความถี่ในช่วง 2800 ถึง 3000 ซม.⁻¹ จึงสรุปว่า โมเลกุลของสารน้ำมันไพลรวมอยู่ในเส้นใยนาโนพอลิเมอร์ชีวภาพ สุดท้ายได้ทำการทดสอบการ

ยึดเกาะของเซลล์ (cell adhesion) ของ Keratinocyte HaCaT cells บนแผ่นเส้นใยนาโนพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตที่มีน้ำมันไพลบรรจุอยู่ปรากฏว่า เซลล์ HaCaT สามารถเจริญและยึดเกาะบริเวณขอบของตัวอย่างได้หลังจากผ่านการบ่ม 48 ชั่วโมง ซึ่งบ่งชี้ได้ว่ามีความปลอดภัยต่อผิวหนังมนุษย์

คำสำคัญ: น้ำมันไพล, พอลิเมอร์ชีวภาพ, พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต, แผ่นแปะผิวหนัง, อิเล็กโทรสปินนิง, เส้นใยนาโน, คุณสมบัติของวัสดุ

Abstract

A biopolymer nanofiber film is a form of transdermal drug delivery system, which was developed from gels or creams. Films, which are flexible, can be attached on human skin and controlled for drug release application. The synthesis of biopolymer nanofiber as a matrix for drug control release of drug and herbal extracts has received extensive attention. In this research, we focused on the nanofiber production from polyhydroxyalkanoate (PHA) containing Plai oil. This study aims to figure out the suitable proportion of the mixture of biopolymer and Plai oil and to perform the characterization. The nanofiber forming was performed by dissolving PHA and Plai oil in dichloromethane. The concentration of the PHA solutions was at 8%. Then, the solution was formed in the electrospinning for 4 h, then mixed with 5% and 40% w/w of Plai oil, respectively. The material properties of the nanofiber films were characterized by the texture analyzer. It was found that the stiffness and the elongation at break of the nanofiber films were in the acceptable range of the standards. The morphology and diameter of PHA nanofibers were characterized by the scanning electron microscopy (SEM). Within 1000x microscale, fiber shapes were found to have a cylindrical shape and the diameter was over one micrometer. With FTIR measurement, it was found that nanofiber film samples containing Plai oil in various amount had a similar peak graph showing frequency ranging 2,800-3,000 cm^{-1} . Therefore, it can be concluded that terpinen-4-ol substance molecules should be included in the biopolymer nanofiber. At last, the biocompatibility of HaCaT cells on PHA nanofibers and the 40% Plai oil loaded PHA fibers as cells could grow and adhere at the edge of both materials. The results indicate that PHA nanofibers and the 40% Plai oil loaded PHA fibers are safe to the human skin.

Keywords: Plai oil, Biopolymer, Polyhydroxyalkanoate, Transdermal patch, Electrospinning, Nanofiber, Material properties

1. บทนำ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นในการพัฒนาตำรับยาแผนโบราณที่เป็นรูปแบบดั้งเดิม (conventional dosage form) ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยการประยุกต์ใช้ระบบการนำส่งยาเฉพาะที่ (local drug delivery system) ซึ่งช่วยในการออกฤทธิ์ของสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนัง โดยสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาในอัตราคงที่ (sustained release) เพิ่มความคงตัวให้แก่สารสำคัญ ชี้อายุการเก็บรักษา ลดปริมาณการใช้สารสำคัญ สะดวกในการใช้งานมากขึ้น และปลอดภัยต่อผู้ใช้ เนื่องจากสามารถควบคุมการออกฤทธิ์เฉพาะที่ได้ (Sachan & Bajpai, 2013) รูปแบบที่จะนำมาพัฒนาโดยการนำสารสำคัญบรรจุอยู่ในเส้นใยนาโน (nanofiber) และมีคุณสมบัติเด่นคือ มีลักษณะเป็นผ้าที่ประกอบด้วยเส้นใยขนาดนา

โนที่ทับซ้อนกัน ทำให้มีสัดส่วนพื้นที่ผิวสัมผัสต่อปริมาตรสูง (high specific surface area) ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมการปลดปล่อยยา (drug release controllable) ช่วยส่งเสริมฤทธิ์ทางชีวภาพ การเข้ากันได้ทางชีวภาพ (promote bioactivity and biocompatibility) เพิ่มความแข็งแรงและการยืดหยุ่น (strength/elasticity increasing) และมีความเป็นรูพรุนสูง (highly nanoporous) (Ko & Wan, 2014) การขึ้นเส้นใยโดยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง (electrospinning technique) เป็นกระบวนการที่อาศัยแรงทางไฟฟ้าเพื่อผลัดสารละลายให้ยืดออกมาเป็นเส้น จนได้เป็นเส้นใยขนาดระดับไมโครถึงนาโนที่ตกทับกันบนฉากรับที่ต่อสายกราวด์ (Reneker & Yarin, 2008; Thompson, Chase, Yarin, & Reneker, 2007) เป็นเทคนิคที่ง่าย และนิยมในการขึ้นเส้นใยนาโนแบบไม่ถักไม่ทอ (non-woven nanofabrication) สามารถพัฒนารูปแบบคุณลักษณะของเส้นใยได้หลากหลาย จึงมีบทบาทสำคัญต่องานวิจัยทางการแพทย์เป็นอย่างมาก

ในงานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการขึ้นเส้นใยนาโนจากพอลิเมอร์ชีวภาพ polyhydroxyalkanoate (PHA) ซึ่งทำการบรรจุน้ำมันไพล (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zingiber cassumunar* Roxb.) ตามตำราแพทย์แผนไทยจะนำมาใช้บรรเทาอาการปวดอักเสบของกล้ามเนื้อ น้ำมันไพลเป็นน้ำมันหอมระเหยที่ประกอบด้วยสารกลุ่มหลัก คือ sabinene, terpinene, terpinen-4-ol และ DMPBD (Pithayanukul, Tubprasert, & Wuthi-Udomlert, 2007) พอลิเมอร์ PHA เป็นสารประเภท polyester จากธรรมชาติ สามารถพบได้ในจุลินทรีย์หลากหลายชนิด ซึ่งจะเกิดการสะสมแหล่งคาร์บอนภายใต้สภาวะขาดแคลนอาหาร (Anderson & Dawes, 1990; Lenz & Marchessault, 2005) ซึ่งในกระบวนการผลิตแล้วสารพอลิเมอร์ชีวภาพ polyester ใช้พลังงานในระดับที่ต่ำ จึงมีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นวัสดุทดแทนพลาสติกที่ย่อยสลายได้ยาก (Chen, 2009) การพัฒนาการใช้ไขมันไพลจากดั้งเดิม เช่น ลูกประคบและครีม ไปสู่รูปแบบที่ทันสมัย โดยการรวมไขมันไพลไปไว้ในเส้นใยนาโน โดยงานวิจัยนี้จะหาสัดส่วนระหว่างพอลิเมอร์ PHA กับน้ำมันไพลที่เหมาะสม วิเคราะห์เปรียบเทียบลักษณะพื้นฐาน การบรรจุไขมันไพลในเส้นใยนาโนและความแข็งแรงยืดหยุ่นของแต่ละสัดส่วน

2. วัตถุประสงค์

1. ศึกษาเปรียบเทียบผลกระทบของการบรรจุไขมันไพลในปริมาณน้อยที่ 5%w/w ปริมาณมากที่สุดที่ 40%w/w ต่อเส้นใยนาโน ในเชิงคุณลักษณะพื้นฐาน (morphology) โครงสร้างทางเคมี (chemical structure) และความทนต่อแรงดึง (tensile strength)
2. ศึกษาความปลอดภัยต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ โดยทดสอบการเจริญของเซลล์ผิวหนัง Keratinocyte HaCaT cells บนแผ่นเส้นใยนาโนพอลิไฮดรอกซีอัลคานอยด์ที่มีน้ำมันไพลบรรจุอยู่

3. อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัสดุอุปกรณ์

Polyhydroxyalkanoate (PHA) copolymer สังเคราะห์ได้จากการเลี้ยงเชื้อ *Ralstonia eutropha* โดยมีแหล่งคาร์บอนเป็น glycerol : levulinic acid ในอัตราส่วน 7 : 3 ตามรายงานการวิจัยของ (Tanadchangsang and Yu, 2013) PHA copolymer ประกอบด้วย 80% ของ 3-hydroxybutyrate และ 20% ของ 3-hydroxyvalerate โดยประมาณ น้ำมัน

โพลกลั่นซื้อจากบริษัท เครื่องหอมไทย-จีน จำกัด Dichloromethane (DCM, analytical grade) และซื้อจากบริษัท Sigma Aldrich (USA)

3.2 การเตรียมเส้นใยนาโนด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

สารละลายพอลิเมอร์เตรียมโดยการละลาย PHA ใน dichloromethane ที่ความเข้มข้น 8% w/v จะนำมาบรรจุน้ำมันโพล 5% and 40% w/w ต่อความเข้มข้นของ PHA โดยการเติมน้ำมันโพลลงในสารละลายพอลิเมอร์ตามสัดส่วนแล้วนำมาปั่นเส้นใยนาโนด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงใช้กระบอกฉีดขนาด 5 มล. และเข็มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มม. ยาว 25 มม. ที่ระดับความต่างศักย์ 20 kV (Gamma High Voltage) อัตราเร็วในการฉีด 1 มล./ชม. ฉากรับที่หุ้มด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ระยะห่างจากปลายเข็ม 20 ซม. โดยใช้ระยะเวลาในการปั่นเส้นใย 4 ชม.

3.3 การตรวจสอบลักษณะพื้นฐาน

การตรวจสอบคุณลักษณะและขนาดของเส้นใยนาโน ทำการเคลือบผิวเส้นใยด้วยแพลตินัมโดยเครื่อง sputter coater เพื่อให้ตัวอย่างเกิดสภาพการนำไฟฟ้า บันทึกภาพที่ความต่างศักย์เร่งอิเล็กตรอน 5 kV ด้วยโปรแกรม Image J software (www.imagej.nih.gov) โดยใช้เครื่องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) (JSM-6400, JEOL Ltd., Tokyo, Japan)

3.4 การตรวจสอบโครงสร้างเคมีด้วย FTIR

นำตัวอย่างเส้นใยนาโน PHA และเส้นใยนาโน PHA ที่มีน้ำมันโพลบรรจุอยู่ตัดให้มีขนาดพอเหมาะตรวจสอบด้วยเครื่องมือ ATR-FTIR โดยสแกนในช่วง 3500 – 900 ซม.⁻¹

3.5 การตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อน

ตัดตัวอย่างให้มีน้ำหนักที่แน่นอน (5 มก.) บรรจุลงใน aluminium cup ทำการปิดซีลให้สนิท โดยมี aluminium cup วางเปล่าเป็นตัวอย่างอ้างอิง ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Differential Scanning calorimeter ที่อุณหภูมิ 150 -350 องศาเซลเซียส

3.6 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกลของเส้นใยนาโน

การเตรียมตัวอย่างขนาด 0.5 ซม. x 3 ซม. จำนวนตัวอย่างละ 3 แผ่น แล้วนำตัวอย่างที่ได้ติดกับกระดาษขนาด 3 ซม. x 3 ซม. ที่เจาะรูตรงกลาง แล้วปิดหัวท้ายด้วยกระดาษทรายขนาด 2 ซม. x 3 ซม. นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Texture analyzer

3.7 ทดสอบการยึดเกาะของ HaCaT cell บนเส้นใยนาโนที่มีน้ำมันโพล

ทำการเพาะเลี้ยง HaCaT cell ที่ได้จากผิวหนังผู้ใหญ่ใน Dulbecco's modified Eagle's medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะบรรยากาศ 5% CO₂ และตัวอย่างเส้นใยนาโนผ่านการทำให้ปลอดเชื้อได้แสงยูวีเป็นเวลา 1 ชม.ของแต่ละด้าน

การเตรียมตัวอย่าง โดยนำ HaCaT cell จำนวน 200,000 เซลล์ ต่อลงใน 6-well plate ที่มีตัวอย่างเส้นใยนาโนที่บรรจุน้ำมันโพล 5% และ 40% w/w ขนาด 1 ซม. x 1 ซม. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชม. ฆ่าล้างตัวอย่างเส้นใยนาโนด้วย Dulbecco's phosphate-buffered saline (DPBS) นำมาแช่ในสารละลาย 4% glutaraldehyde ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน ฆ่าล้างอีกครั้งด้วย DPBS ทำการ dehydrate ด้วย ethanol ความเข้มข้นที่

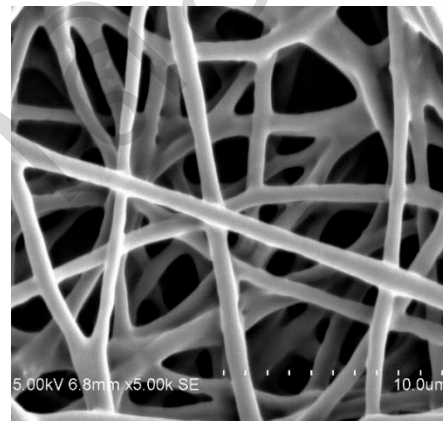
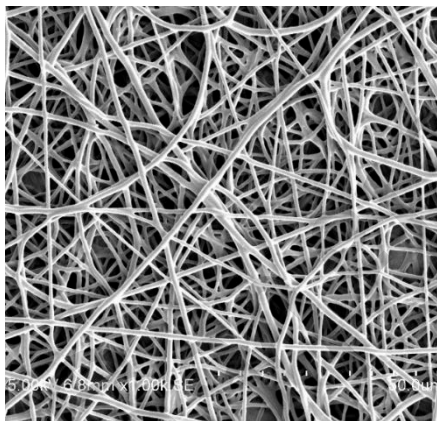
50% ถึง 100% และปมใน desiccator เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำไปตรวจสอบลักษณะการเจริญของเซลล์ด้วยกล้อง optical microscope

4. ผลการวิจัย

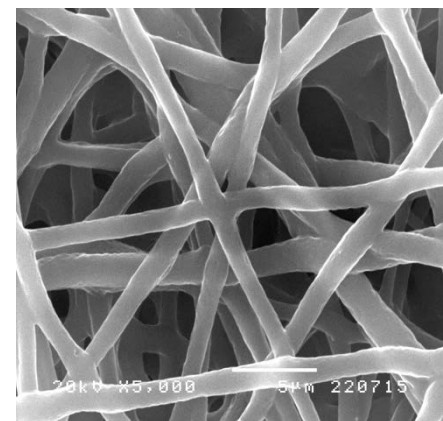
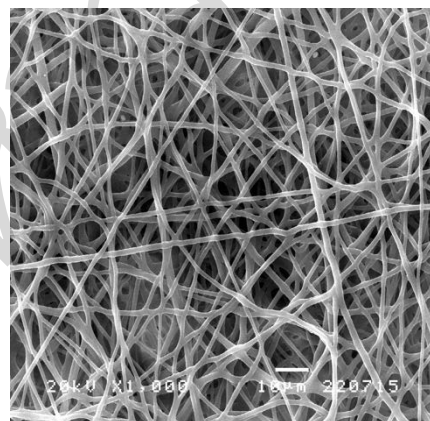
ลักษณะพื้นฐานของเส้นใยนาโน

การผลิตเส้นใยนาโนชนิดไม่ถักไม่ทอ ด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต จะใช้หลักการของความต่างศักย์ระหว่างศักย์ไฟฟ้าสูงที่ปลายเข็มและศักย์ศูนย์บนฉากรับ (ต่อสายกราวด์) ประจุไฟฟ้าที่เครื่อง high voltage ปลดปล่อย จะเกิดการรวมตัวที่หยดสารละลาย PHA ที่ปลายเข็ม ซึ่งถูกผลักจากจุดศักย์ไฟฟ้าสูง ไปยังจุดที่ศักย์ไฟฟ้าต่ำกว่า ทำให้หยดสารละลายถูกดึงยืดออกเส้นใย จนสามารถมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางในระดับนาโน ในขณะที่เดียวกันตัวทำละลาย DCM ก็จะระเหยออกไป ทำให้เส้นใยสามารถคงตัวในรูปเส้นใยทรงกระบอก และตกทับกันบนฉากรับ

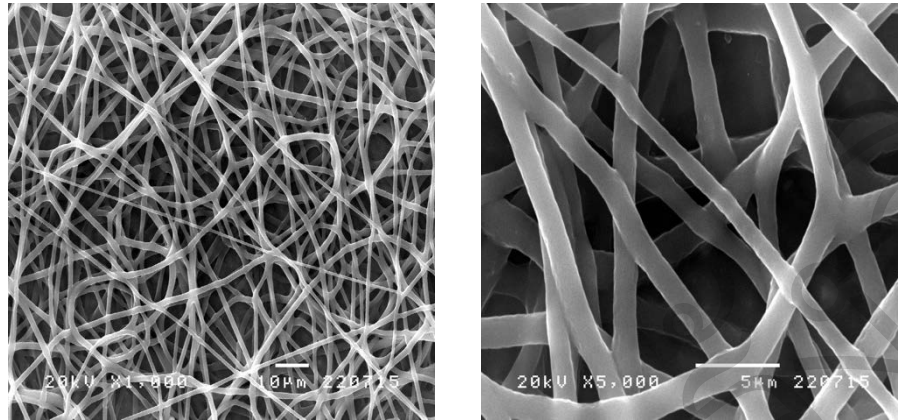
A



B



C



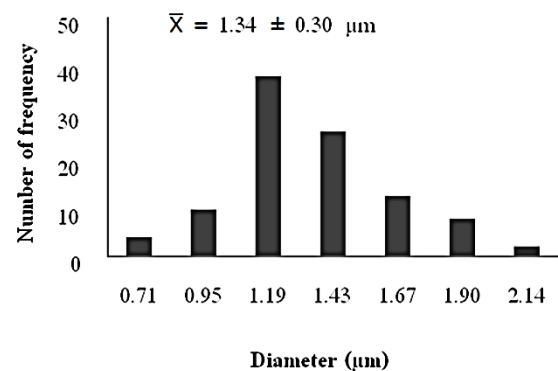
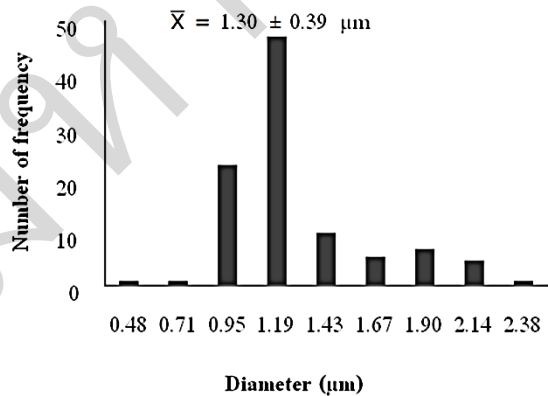
รูปที่ 1 ภาพภายใต้กล้อง SEM ของ เส้นใยนาโน PHA ที่บรรจุน้ำมันไพล; 8% PHA (A), 5% Plai oil loaded (B) และ 40% Plai oil loaded (C)

ในการศึกษานี้ ผู้วิจัยได้ทำการคัดเลือกความเข้มข้นของสารละลาย PHA ที่ 8%w/v ซึ่งอ้างอิงตามงานวิจัยก่อนหน้านี้ โดยสารละลาย 8%PHA สามารถขึ้นรูปเส้นใยที่มีลักษณะทรงกระบอกที่คงที่ และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่ำกว่า 1 μm

จากผลการทดลอง เส้นใยนาโนที่บรรจุน้ำมันไพล 5% และ 40%w/w มีลักษณะเป็นทรงกระบอกขนาดสม่ำเสมอ ในทางกลับกัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่า 8%PHA (0.83±0.14 μm) ที่ 1.34±0.16 และ 1.28±0.34 μm ตามลำดับ ดังรูปที่ 2 และ ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเส้นใยนาโน

ตัวอย่าง	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย
5% Plai oil loaded nanofibers	1.34±0.16 μm
40% Plai oil loaded nanofibers	1.28±0.34 μm



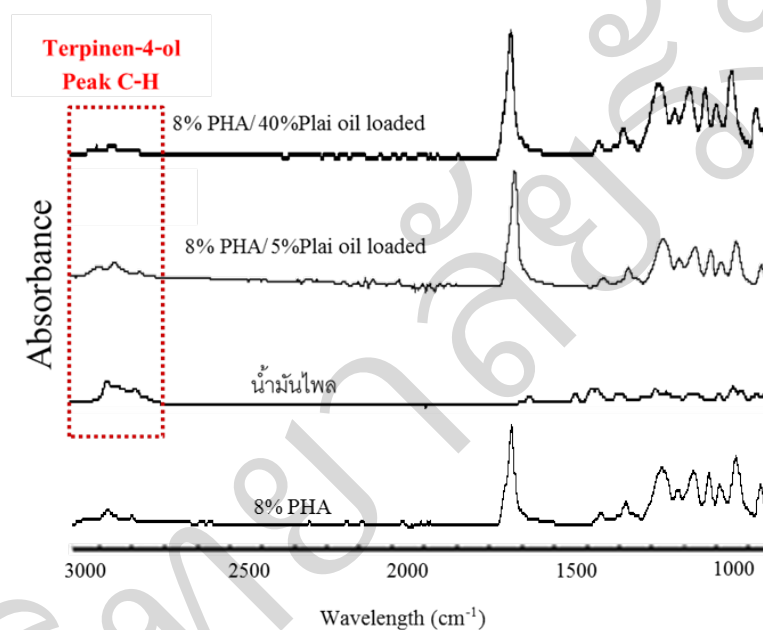
8% PHA nanofiber loaded 5% Plai

8% PHA nanofiber loaded 40% Plai

รูปที่ 2 แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของขนาดของเส้นใยนาโน PHA ที่บรรจุน้ำมันไพล 5% Plai oil loaded และ 40% Plai oil loaded

สเปกตรัม FTIR ของเส้นใยนาโน

น้ำมันไพลกลั่นจัดอยู่ในกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยที่มีสารสำคัญคือ terpinen-4-ol ซึ่งตรวจวัดด้วยวิธี FTIR (รูปที่ 3) จะแสดงพีคในช่วง 2800 ถึง 3000 cm^{-1} บ่งชี้ถึงโครงสร้างหมู่ C-H ที่มีความถี่การสั่นในแบบยืดหด ซึ่งสัมพันธ์กับโครงสร้างวงแหวนไซโคลเฮกเซนของ terpinen-4-ol โดยเส้นใยนาโนที่บรรจุน้ำมันไพล 5%w/w จะแสดงพีคของหมู่ C-H ที่สูงขึ้นจากพีคเดียวกันของ 8% PHA ซึ่งแสดงว่าน้ำมันไพลสามารถบรรจุอยู่ภายในโครงสร้าง PHA ได้

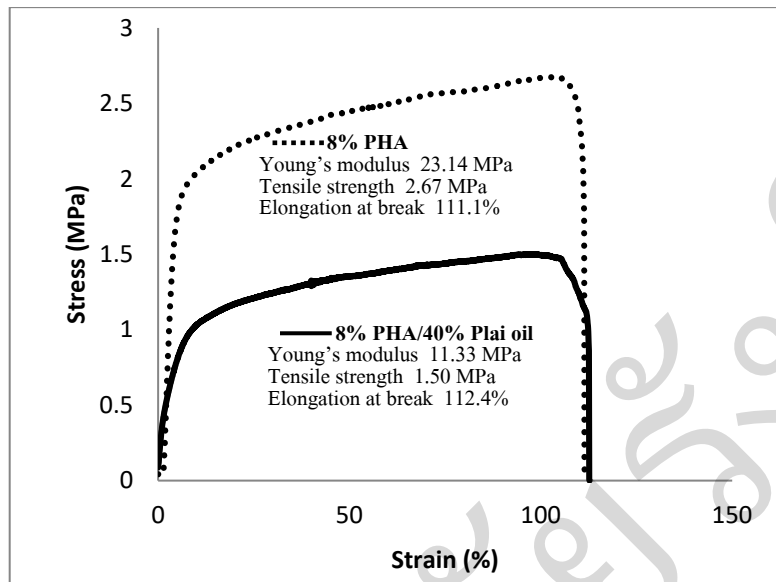


รูปที่ 3 สเปกตรัม FTIR ของเส้นใยนาโนที่บรรจุน้ำมันไพล น้ำมันไพลเปล่า และ 8% PHA

การบรรจุน้ำมันไพลต่อคุณสมบัติเชิงกล

จากผลการทดลองของ FTIR ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างเห็นได้ชัด จึงนำตัวอย่าง 8% PHA และ 8% PHA ที่บรรจุน้ำมันไพล 40%w/w มาทำการทดลองเชิงกล ดังรูปที่ 4 ซึ่งแสดงเส้นโค้งความเค้น-ความเครียดของเส้นใยนาโน

คุณสมบัติเชิงกลของเส้นใยนาโน 8% PHA มีค่า Young's modulus เท่ากับ 23.14 MPa ค่า tensile strength เท่ากับ 2.67 MPa และ elongation at break เท่ากับ 111.1% การที่บรรจุน้ำมันไพลลงในเส้นใยนาโน 40% ส่งผลให้ค่าความทนต่อแรงดึงลดลง ซึ่งค่า Young's modulus เท่ากับ 11.33 MPa ค่า tensile strength 1.50 MPa แต่ค่า elongation at break ไม่เปลี่ยนแปลงที่ 112.4%



รูปที่ 4 เส้นโค้งความเค้น-ความเครียด ของเส้นใยนาโน 8% PHA และ 8% PHA ที่บรรจุน้ำมันไพล 40%w/w

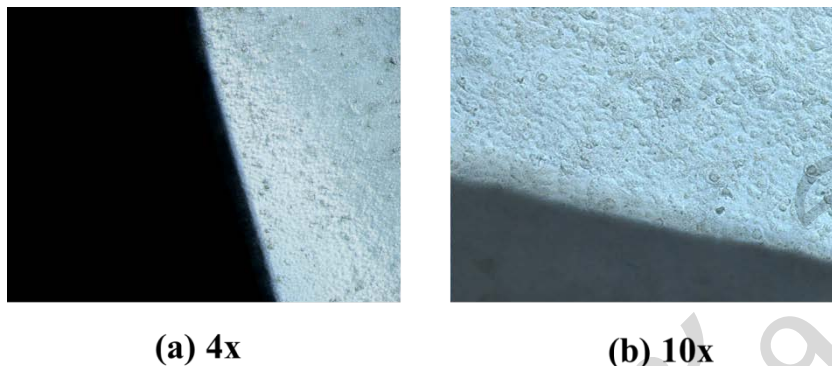
รูปที่ 5 และรูปที่ 6 แสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์ของ เส้นใยนาโน PHA ที่บรรจุน้ำมันไพล 5% และ 40%w/w ตามลำดับ จะเห็นว่าเซลล์ HaCaT (ในส่วนที่บวม) สามารถเจริญเข้าซึบบริเวณขอบของตัวอย่างได้หลังจากผ่านการบ่ม 48 ชม.



(a) 4x

(b) 10x

รูปที่ 5 ภาพขยายของเซลล์ HaCaT บนเส้นใยนาโนที่บรรจุน้ำมันไพล 5% ที่กำลังขยาย (a) 4x และ (b) 10x



รูปที่ 6 ภาพขยายของเซลล์ HaCaT บนเส้นใยนาโนที่บรรจุน้ำมันไพล 40% ที่กำลังขยาย (a) 4x และ (b) 10x

5. การอภิปรายผล

จากลักษณะสัณฐานของเส้นใยนาโนที่บรรจุน้ำมันไพล 5% และ 40%w/w มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยที่ใหญ่ขึ้นจากเส้นใยนาโน PHA เปล่า เช่นเดียวกับสเปกตรัมของ FTIR ในช่วงความยาวคลื่น 3000 ถึง 2800 cm^{-1} ซึ่งแสดงพีกของพันธะคู่ C=C ของวงแหวน cyclohexane ที่พีกของเส้นใยนาโนที่บรรจุไพล 40%w/w แตกต่างจาก เส้นใยนาโน PHA เปล่า ซึ่งบ่งชี้ว่าเส้นใยนาโนมีน้ำมันไพลบรรจุอยู่จริง

การทดสอบคุณสมบัติเชิงกลบ่งชี้ได้ว่ามีน้ำมันไพลบรรจุอยู่ในเส้นใยนาโน โดยไม่ทำให้คุณสมบัติความเป็นผลึกของ PHA เปลี่ยนแปลง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงที่ลดลงของค่า Young's modulus และ tensile strength แต่ค่า elongation at break ยังคงเดิม

การทดสอบการยึดเกาะ จะเห็นว่าเซลล์ HaCaT สามารถเจริญชีวบริเวณขอบของตัวอย่างได้หลังจากผ่านการบ่ม 48 ชั่วโมง ซึ่งบ่งชี้ถึงความเข้ากันได้ทางชีวภาพ และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ อย่างไรก็ตามในการเจริญของเซลล์บนวัสดุยังไม่สามารถบอกผลได้ ดังนั้นควรมีการทดสอบการเจริญในเชิงปริมาณต่อไป

6. บทสรุป

ในงานวิจัยนี้ได้ผลิตเส้นใยนาโนจากพอลิไฮดรอกซีอัลคานอเอต (Polyhydroxyalkanoate, PHA) ซึ่งมีน้ำมันไพลบรรจุอยู่ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อหาอัตราส่วนของพอลิเมอร์ต่อน้ำมันไพล และทดสอบการขึ้นรูปเส้นใยนาโน แล้วนำมาตรวจสอบคุณสมบัติทางวัสดุ โดยผสมละลาย PHA และน้ำมันไพลใน dichloromethane ด้วยความเข้มข้น 8%w/v แล้วขึ้นรูปด้วยวิธีอิเล็กโตรสปินนิงเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วจึงผสมน้ำมันไพลที่ความเข้มข้น 5% และ 40%w/w ตามลำดับ ซึ่งคุณสมบัติของวัสดุแผ่นฟิล์มเส้นใยนาโนถูกประเมินด้วย ค่าแรงดึงวัดโดยเครื่อง texture analyzer พบว่าค่าความยืดหยุ่น และ elongation at break อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ของวัสดุ โดยสามารถบ่งชี้ได้ว่ามีน้ำมันไพลบรรจุอยู่ในเส้นใยนาโน โดยไม่ทำให้คุณสมบัติความเป็นผลึกของ PHA เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้จากการตรวจสอบลักษณะสัณฐานของพื้นผิวของแผ่นเส้นใยโดยเครื่อง scanning electron microscope พบว่า เส้นใยนาโนที่บรรจุน้ำมันไพล 5% และ 40%w/w มีลักษณะเป็นทรงกระบอกขนาดสม่ำเสมอ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยส่วนใหญ่มีขนาดประมาณ 1 ไมโครเมตร จากนั้นทำการตรวจสอบแผ่นเส้นใยนาโนโดยเครื่อง FTIR พบว่า แสดงพีก

ของหมู่อัลเคนของสาร terpinen-4-ol ซึ่งแสดงว่ามีน้ำมันไพลบรรจุอยู่ในโครงสร้าง PHA คือ ปรากฏคลื่นความถี่ในช่วง 2800 ถึง 3000 ซม.⁻¹ จึงสรุปว่า โมเลกุลของสารน้ำมันไพลรวมอยู่ในเส้นใยนาโนพอลิเมอร์ชีวภาพ สุดท้ายได้ทำการทดสอบการยึดเกาะของเซลล์ (cell adhesion) ของ Keratinocyte HaCaT cells บนแผ่นเส้นใยนาโนพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตที่มีน้ำมันไพลบรรจุอยู่ปรากฏว่า เซลล์ HaCaT สามารถเจริญและยึดเกาะบริเวณขอบของตัวอย่างได้ หลังจากผ่านการบ่ม 48 ชั่วโมง ซึ่งบ่งชี้ถึงความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ดังนั้นจากผลการทดลองทั้งหมดสรุปได้ว่า เทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง สามารถขึ้นเส้นใย PHA ที่บรรจุน้ำมันไพลได้ มีคุณลักษณะการยึดหยุ่นที่ดี จะสามารถรองรับการเคลื่อนไหวของร่างกายคนที่มีการเคลื่อนไหว และยังมีความปลอดภัยต่อเซลล์ผิวหนังคนอื่นอีกด้วย ทั้งนี้การวิเคราะห์ที่ปลอดภัยควรจะมีการวิจัยในขั้นต่อไป

7. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยซึ่งได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต เลขที่ 58/2557

8. เอกสารอ้างอิง

- Anderson, A. J., & Dawes, E. A. (1990). Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiological reviews*, 54(4), 450-472.
- Chen, G. Q. (2009). A microbial polyhydroxyalkanoates (PHA) based bio-and materials industry. *Chemical Society Reviews*, 38(8), 2434-2446.
- Ko, F. K., & Wan, Y. (2014). *Introduction to nanofiber materials*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Lenz, R. W., & Marchessault, R. H. (2005). Bacterial polyesters: biosynthesis, biodegradable plastics and biotechnology. *Biomacromolecules*, 6(1), 1-8.
- Pithayanukul, P., Tubprasert, J., & Wuthi-Udomlert, M. (2007). In vitro antimicrobial activity of Zingiber cassumunar (Plai) oil and a 5% Plai oil gel. *Phytotherapy research*, 21(2), 164-169.
- Reneker, D. H., & Yarin, A. L. (2008). Electrospinning jets and polymer nanofibers. *Polymer*, 49(10), 2387-2425. doi:10.1016/j.polymer.2008.02.002
- Sachan, R., & Bajpai, M. (2013). Transdermal drug delivery system: A review. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*, 3(1), 748-765.
- Thompson, C. J., Chase, G. G., Yarin, A. L., & Reneker, D. H. (2007). Effects of parameters on nanofiber diameter determined from electrospinning model. *Polymer*, 48(23), 6913-6922. doi:10.1016/j.polymer.2007.09.017