

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การใช้ประโยชน์โปรตีนจากไหมไทยผลิตวัสดุชีวภาพทางการแพทย์

(Utilization of Protein from Thai Silk for Producing Biomedical Material)

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. มาตินี ชัยสุภกิจสินธุ์

รองศาสตราจารย์ ดร. กัญญา ตันติวิสุทธิคุณ

อาจารย์ จันทร์พร เจ้าทรัพย์

RCH

R

857

M3

เลขหมู่..... 24977

เลขทะเบียน..... 83690

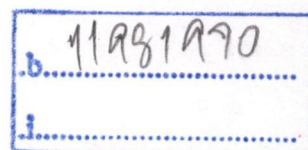
วันเดือนปี..... 11 ก. ย. 2551

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

หมวดเงินอุดหนุน งบประมาณประจำปี 2549

ศูนย์เทคโนโลยีอุตสาหกรรมพระจอมเกล้าลาดกระบัง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล (Hydrogel) และเนื้อเยื่อโครงสร้าง (Scaffold) จากโปรตีนไฟโบรอินของเส้นไหมไทยจากอำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี โดยนำรังไหมมาสกัดโปรตีนเซรีซินออกด้วยน้ำร้อน แบ่งเส้นไหมเป็น 3 ส่วน นำมาผ่านกระบวนการดังต่อไปนี้ ส่วนที่หนึ่งล้างด้วยสบู่และด่าง ส่วนที่สองแช่ในเมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ส่วนที่สามแช่ในเมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ แล้วล้างด้วยสบู่และด่าง เส้นไหมจากแต่ละส่วนนำมาละลายในสารละลายเกลือแคลเซียมคลอไรด์แล้วทำการไดอะไลซิส สารละลายน้ำไหมที่ได้แยกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำมาเตรียมฟิล์มไฮโดรเจล จากนั้นทำการปรับปรุงฟิล์มด้วยสารละลาย อะซิโตน โกลเซอร์ราลดีไฮด์และกลูตาราลดีไฮด์ ที่เวลาต่างๆ เพื่อศึกษาสมบัติการบวม น้ำ ค่าเปอร์เซ็นต์เจล สมบัติเชิงกล การวิเคราะห์หาค่าหมู่ฟังก์ชัน และสมบัติทางความร้อน พบว่าสามารถเตรียมฟิล์มไหมได้จากส่วนที่หนึ่งคือวิธีการล้างเส้นไหมด้วยสบู่และด่างเท่านั้น นอกจากนี้ฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายชนิดต่างๆ ให้ค่าการบวม น้ำลดลง ค่าเปอร์เซ็นต์เจลสูงขึ้น ค่าความทนแรงดึงยืดสูงกว่าฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ไม่ได้ผ่านการปรับปรุง แสดงว่าการปรับปรุงฟิล์มไหมไทยด่านช้างด้วยการแช่ในสารละลายต่างๆช่วยให้ไหมเกิดการจัดตัวเป็นผลึกมากขึ้น ผลการวิเคราะห์ฟิล์มไหมไฟโบรอินทุกชนิดด้วย FTIR พบว่าให้พีคสำคัญของหมู่เอไมด์และหมู่อะมิโนคล้ายกัน การปรับปรุงฟิล์มไหมโดยการแช่ในสารละลายต่างๆ เป็นการลดหมู่ขอบน้ำของไหมลงทำให้แผ่นฟิล์มแข็งแรงขึ้น

สารละลายน้ำไหมไฟโบรอินส่วนที่สองนำไปผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเย็นได้ผงไหมซึ่งนำมาใช้เตรียมเนื้อเยื่อโครงสร้างโดยเทคนิค Salt leaching ด้วยการนำผงไหมมาละลายใน 1,1,1,3,3,3- hexafluoro-2-propanol พบว่าสามารถเตรียมเนื้อเยื่อโครงสร้างได้จากเส้นไหมไทยด่านช้างที่ผ่านการล้างทั้ง 3 กระบวนการดังกล่าวข้างต้น โดยใช้เกลือ 4 ชนิดได้แก่ โซเดียมคลอไรด์(ผลึกสี่เหลี่ยมจัตุรัส) เกลือแอมโมเนียม โมลิบเดต-4-ไฮเดรต(ผลึกสี่เหลี่ยมผืนผ้า) เกลือแอมโมเนียมออกซาลาเทท(ผลึกทรงกระบอก) และเกลือแอมโมเนียมคลอไรด์(ผลึกกลม) ผลการทดสอบสมบัติเชิงกลของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมได้ พบว่าขึ้นอยู่กับกระบวนการล้างเส้นไหมก่อนละลายในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์แล้วไดอะไลซิส ส่วนสมบัติกายภาพเช่น การบวม น้ำ ความมีรูพรุนขึ้นกับรูปร่างและขนาดของผลึกเกลือที่ใช้เป็นโปรเจน การวิเคราะห์หาค่าหมู่ฟังก์ชันพบว่าเนื้อเยื่อโครงสร้างมีพีคของหมู่เอไมด์และหมู่อะมิโน

นอกจากนี้ยังได้วิเคราะห์องค์ประกอบกรดอะมิโนในโปรตีนไฟโบรอินและเซรีซินของไหมไทยจากอำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรีและจากจังหวัดอื่นๆเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานวิจัยต่อไป

Abstract

This research focus on preparation of hydrogel film and scaffold from Thai silk fibroin from Dan Chang district, Supanburee province. Cocoon was extracted with hot water for removing protein sericin, then divided silk fibroin into 3 parts. Each part was treated by the following method: first part washed with soap and alkaline, second part immersed under methanol and bleached by hydrogen peroxide, third part immersed under methanol, bleached by hydrogen peroxide, then washed with soap and alkaline. The treated silk fibroin from each part was dissolved in CaCl_2 solution then followed by dialysis for receiving silk fibroin solution. The silk fibroin solution was divided into 2 fractions. First fraction was used for hydrogel film preparation. Films were modified by soaking in the solution mixture of acetone, glyceraldehyde and glutaraldehyde at the time interval. Water absorption property, gel fraction, mechanical property, functional group analysis and thermal property were investigated. It was found that silk fibroin film can prepared only from treated fibroin fiber with soap and alkaline. Moreover, modified silk fibroin film provided lower water absorption property, but higher gel fraction, and higher tensile strength than unmodified film. All modified silk fibroin film with different solutions showed the same IR spectra.

The second fraction of silk fibroin solution was freeze-dry for getting silk powder which used for preparation silk scaffold by salt leaching technique. The result showed that silk scaffold can prepared from all types of fiber treatment by dissolved silk powder with 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol and using 4 kinds of salts such as Sodium chloride, Ammonium molybdate, Ammonium oxalate and Ammonium chloride. The results of water absorption, porosity, functional group analysis and mechanical property indicated that the properties of scaffold were depended on the treated fiber condition, salt crystal shape and size.

Moreover, amino acid composition from fibroin and sericin of Thai silk Dan Chang district, Supanburee province and another provinces were analysis for preparation data base.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องการใช้ประโยชน์โปรตีนจากไหมไทยผลิตวัสดุชีวภาพทางการแพทย์นี้ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยในหมวดเงินงบประมาณประจำปี พ.ศ. 2549 ศูนย์เทคโนโลยีอุตสาหกรรมพระจอมเกล้าลาดกระบัง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เป็นจำนวนเงิน 507,200.00 บาท (ห้าแสนเจ็ดพันสองร้อยบาทถ้วน) รวมระยะเวลาในการดำเนินงาน 30 เดือน (ตุลาคม 2548 – พฤษภาคม 2551) โดยได้รับความร่วมมือและความช่วยเหลือจากบุคลากรหลายฝ่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง รศ.ดร. นิทัศน์ กฤษณจินดา ผู้อำนวยการศูนย์เทคโนโลยีอุตสาหกรรมพระจอมเกล้าลาดกระบัง (ในขณะนั้น) รศ. ศุทธิ บรรจงจิตร ผู้อำนวยการศูนย์ส่งเสริมและบริการทางวิชาการ พระจอมเกล้าลาดกระบัง รวมทั้งเจ้าหน้าที่ท่านอื่น ๆ ของศูนย์ฯ ภาควิชาเคมีประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ และภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้การสนับสนุนทางด้านเครื่องมือต่าง ๆ ในการวิจัย ฝึวิจัย ขอขอบคุณเกษตรกรที่เลี้ยงไหมในอำเภอ อำเภอด่านช้าง และอำเภอหนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี และ Professor Dr. J. Wiseman จาก School of Bioscience, The University of Nottingham ประเทศอังกฤษ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการวิเคราะห์ส่วนประกอบของกรดอะมิโนในไฟโบรอิน และขอขอบคุณนางสาวปณิษา บัณฑิตกุล ผู้ช่วยนักวิจัย ที่ทำให้งานนี้สำเร็จลงได้

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบุคคลและหน่วยงานที่ได้กล่าวนามมาข้างต้น ที่ได้ให้การสนับสนุนและความช่วยเหลือจนโครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัย

2551

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญรูป.....	VIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ขอบเขตของการศึกษา.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ไหม (Silks)	3
2.2 ไหมไฟโบรอิน (Silk Fibroin)	5
2.2.1 สมบัติของเส้นใยไหมไฟโบรอิน.....	8
2.2.2 การปรับปรุงเส้นใยไหมด้วยวิธีการทางเคมี.....	11
2.2.3 การนำไหมไปใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ.....	12
2.3 ไฮโดรเจล (Hydrogel).....	15
2.4 เนื้อเยื่อวิศวกรรม (Tissue Engineering).....	16
2.4.1 วัสดุสำหรับทำเนื้อเยื่อ โครงสร้าง (Scaffold).....	17
2.4.2 การสังเคราะห์เนื้อเยื่อวิศวกรรม.....	18
2.4.3 สมบัติที่จำเป็นที่สุดของ Scaffold.....	19
2.5 สารก่อกัมพณะเชื่อมโยง.....	20
2.5.1 ฟอรัลดีไฮด์ (Formaldehyde).....	20
2.5.2 กลูตาราลดีไฮด์ (Glutaraldehyde).....	21
2.5.3 ไกลเซอร์รัลดีไฮด์ (Glyceraldehyde).....	22
2.6 โพรเจน (Porogen).....	23
2.6.1 โซเดียมคลอไรด์.....	23
2.6.2 แอมโมเนียมคลอไรด์	24
2.6.3 แอมโมเนียมฟลูออไรด์	25
2.6.4 แอมโมเนียมโมลิบเดต-4-ไฮเดรต	26
2.6.5 แอมโมเนียมอะซิเตต	27
2.6.6 แอมโมเนียมออกซาลเลท โมโนไฮเดรต.....	27
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	28

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	32
3.1 สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้.....	32
แผนภาพการทดลอง.....	34
3.2 วิธีการทดลอง.....	36
3.2.1 กระบวนการที่ใช้ในการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอิน.....	36
3.2.2 การทำฟิล์มจากสารละลายเส้นไหมไฟโบรอินหลังการ Dialysis.....	40
3.2.3 การเตรียมเนื้อเยื่อโครงสร้าง (Scaffold) จากผงไหมไฟโบรอินที่ผ่าน การทำแห้งแบบเย็น.....	43
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล.....	47
4.1 ผลการวิเคราะห์เส้นไหมไฟโบรอินจากกระบวนการเตรียมเส้นไหมต่างๆ.....	47
4.1.1 ผลการตรวจวิเคราะห์สัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกวาด ของเส้นไหมไฟโบรอิน.....	48
4.1.2 ผลการตรวจหาหมู่ฟังก์ชันของเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการ เตรียมต่างๆ ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี.....	49
4.1.3 ผลการศึกษาสมบัติทางความร้อนของเส้นไหมไฟโบรอิน โดยใช้ เทคนิคเทอร์มัลกราวิเมตริก.....	51
4.2 ผลการศึกษาการขึ้นรูปฟิล์มไหมไฟโบรอินจากเส้นไหมไฟโบรอินที่ ผ่านการเตรียมเส้นไหม ที่เตรียมได้จากเทคนิคการเทหล่อ (Casting).....	53
4.2.1 การศึกษาสมบัติการดูดซึมน้ำของฟิล์มไหมไฟโบรอิน.....	53
4.2.2 ผลของค่าสัดส่วนเจด Gel Fraction.....	55
4.2.3 ศึกษาการตรวจหาหมู่ฟังก์ชันของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ด้วยการแช่ สารละลายผสมต่างๆด้วยเทคนิค FTIR.....	56
4.2.4 การศึกษาสมบัติทางความร้อนของฟิล์มไหมไฟโบรอินโดยใช้เทคนิค เทอร์มัลกราวิเมตริก.....	60
4.2.5 การศึกษาสมบัติเชิงกลของฟิล์มไหมไฟโบรอิน.....	63
4.3 ผลการขึ้นรูป Scaffold โดยใช้เกลือชนิดต่างๆเป็น โพรเจน.....	66
4.3.1 การตรวจวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อโครงสร้างด้วยกล้อง จุลทรรศน์แบบส่องกวาด.....	67
4.3.2 ผลการทดสอบความมีรูพรุนของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมได้จาก เกลือ 6 ชนิด.....	69
4.3.3 ผลการทดสอบการดูดซึมน้ำของเนื้อเยื่อโครงสร้าง.....	70
4.3.4 ผลการศึกษาการตรวจหาหมู่ฟังก์ชันของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจาก เกลือ 4 ชนิด ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี.....	71
4.3.5 ผลการศึกษาความแข็งแรงของเนื้อเยื่อโครงสร้าง (Scaffold).....	75
4.4 การวิเคราะห์หาค่าประกอบกรดอะมิโนในโปรตีนไฟโบรอินของไทย.....	77
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	79

เอกสารอ้างอิง.....	82
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก. สีของรังไหมจากพันธุ์ไหมต่างๆ	85
ภาคผนวก ข. เลขคลื่นของหมู่ฟังก์ชันใน โพรตีน.....	86
ภาคผนวก ค. ภาพชิ้นงานฟิล์มไหมไฟโบรอินเมื่อแช่น้ำ	88

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงชื่อของกรดแอลฟาอะมิโนที่พบมากในธรรมชาติ มี 20 ชนิด.....	5
2.2 แสดงสูตรโครงสร้างของกรดอะมิโนที่พบในใหม่.....	6
2.3 แสดงคุณสมบัติและหน้าที่สำคัญของกรดอะมิโนในผนังใหม่ที่มีต่อร่างกาย.....	13
3.1 แสดงกระบวนการที่ใช้ในการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอิน.....	36
3.2 แสดงการปรับปรุงฟิล์มด้วยการแช่สารละลายผสม.....	40
4.1 แสดงภาพลักษณะกายภาพของเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการต่างๆ.....	47
4.2 แสดงอุณหภูมิของการสลายตัวของเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านการเตรียมเส้นไหมวิธีต่างๆ.....	51
4.3 แสดงลักษณะทางกายภาพของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่เตรียมจากเทคนิคการเทหล่อ.....	53
4.4 แสดงอุณหภูมิการสลายตัวของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยสารละลายผสมและไม่ได้ปรับปรุงฟิล์ม.....	60
4.5 แสดงลักษณะทางกายภาพของเนื้อเยื่อโครงสร้าง (Scaffold) โดยขึ้นรูปกับเกลือชนิดต่างๆ.....	67
4.6 แสดงความแข็งแรงของเนื้อเยื่อโครงสร้าง โดยวัดแรงกดอัดและมอดูลัสของการกดอัด.....	76
4.7 แสดงองค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนไฟโบรอิน.....	77

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดง โครงสร้างตามมิติของไหม.....	6
2.2 แสดงลักษณะ โครงสร้างของไหม ไฟโบรอินชนิดแผ่นจับ.....	7
2.3 แสดงแสดงภาคตัดขวางของเส้นไหมจากรังไหม Bombyx mori.....	8
2.4 แสดง โครงสร้างของเส้นใยไหม.....	9
2.5 SEM เส้นไหมไหมเลี้ยง (<i>Bombyx mori</i>)ไหมดิบไม่มีการลอกกาวไหม (เซรีซิน) ออก.....	9
2.6 SEM แสดงเส้นไหมที่มีการลอกกาวไหม (เซรีซิน) ออกโดยสกัดเป็นเวลา 60 นาที.....	10
2.7 แสดงปฏิกิริยาการเตรียมพอลิเมอร์ฟอร์มัลดีไฮด์.....	20
2.8 แสดงปฏิกิริยาการเชื่อม โยงด้วยฟอร์มัลดีไฮด์.....	21
2.9 แสดงปฏิกิริยาพอลิเมอร์กลูตาราลดีไฮด์.....	22
2.10 แสดงปฏิกิริยาของพอลิกลูตาราลดีไฮด์กับกลุ่มอะมิโนของโปรตีน.....	22
2.11 แสดงสูตร โครงสร้างทางเคมีของไกลเซอร์ราลดีไฮด์.....	23
4.1 แสดงรูปของเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการเตรียมต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกวาด.....	49
4.20 แสดงรูปพรูพรุนของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ 4 ชนิด ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกวาดที่กำลังขยาย 350 เท่า และ 50 เท่า ตามลำดับ.....	68

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ประเทศไทยมีการเลี้ยงไหมอยู่เกือบทุกภาคของประเทศ ทำให้มีรังไหมมาก รังไหมส่วนที่ตัดเอาหนอนไหมออกมาเพื่อทำพ่อแม่พันธุ์ หรือรังไหมที่ไม่สามารถนำไปดัดเป็นเส้นใยต่อเนื่องได้จะมีอยู่มากและเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมนำมาดัดแปลงเป็นดอกไม้ประดิษฐ์ซึ่งแม้ว่าจะมีมูลค่าอยู่บ้างแต่หากสามารถนำโปรตีนที่มีในรังไหมมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่นเช่น ทางทางการแพทย์อาจเป็นการเพิ่มมูลค่าและเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมได้ดีกว่า นอกจากนี้ ยังเป็นการใช้ทรัพยากรที่มีในประเทศให้คุ้มค่า

หนอนไหม (Silkworm) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bombyx Mori* อยู่ในวงศ์ Bombycidae หนอนไหมเป็นแมลงที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ และผลิตเส้นไหมซึ่งเป็นเส้นใยธรรมชาติชนิดหนึ่ง มีโครงสร้างที่เรียกว่า โปรตีน สามารถแยกกรดอะมิโนออกจากเส้นไหมโดยการไฮโดรไลซิสด้วยกรด กรดอะมิโนที่พบในเส้นไหมมีทั้งหมด 20 ชนิด โปรตีนเส้นไหมแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ โปรตีนที่เรียกว่าไฟโบรอิน (Fibroin) เป็นเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำ มีประมาณ 70-80% ของน้ำหนักเส้นไหมดิบ และอีกชนิดหนึ่งคือโปรตีนที่เรียกว่าเซรีซิน (Sericin) มีประมาณ 20-30% ของน้ำหนักเส้นไหมดิบซึ่งเป็นกาวไหมที่ทำให้เส้นใยไหมไฟโบรอิน 2 เส้นติดกัน เซรีซินสามารถละลายน้ำได้ ปกติเส้นไหมจะนำไปใช้งานในรูปของเส้นใยสิ่งทอ [1-3] งานวิจัยส่วนใหญ่ในประเทศไทย มุ่งเน้นปรับปรุงเส้นไหมส่วนที่เป็นไฟโบรอินเพื่อให้ยอมสืตติดได้ดีหรือปรับปรุงด้านการทนต่อการยับ สำหรับการศึกษานำโปรตีนไหมมาใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์นั้นในต่างประเทศ เช่น จีน ญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกา มีผู้ตีพิมพ์ผลงานมากขึ้น โดยเฉพาะในช่วง 2-3 ปีที่ผ่านมา เพราะโปรตีนไหมไฟโบรอินเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติมีความเหนียวและทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ที่ยังเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อมนุษย์ได้ดี ส่วนในประเทศไทยมีผู้ทำวิจัยยังไม่มาก อย่างไรก็ตามงานวิจัยในต่างประเทศที่กล่าวถึงใช้ไหมรังสีขาวเป็นหลัก จึงมีความแตกต่างจากรังไหมที่พบในพม่า เวียดนาม อินเดียและไทย ซึ่งมีสีเหลือง ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงให้ความสนใจที่จะศึกษาและดัดแปรรังไหมสีเหลืองซึ่งหาได้ในประเทศไทยอันเป็นการเปิดวิสัยทัศน์ใหม่ให้กับวงการไหมของไทย โดยสอดคล้องกับยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศบนฐานความหลากหลายทางชีวภาพและการสร้างความมั่นคงของฐานทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม องค์ความรู้ที่ได้เป็นการเสริมสร้างศักยภาพทรัพยากรบุคคลและภูมิปัญญาของชาติ

วัสดุชีวการแพทย์ที่ทีมผู้วิจัยสนใจได้แก่ไฮโดรเจล (Hydrogel) และ เนื้อเยื่อโครงสร้าง (Scaffold) สำหรับไฮโดรเจล [4-5] เป็นพอลิเมอร์จำเพาะอีกชนิดหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจเป็นอย่างมาก เพราะเป็นพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างแบบโครงร่างแหสามมิติ มีความสามารถในการดูดซับน้ำและสารละลายบางชนิดได้เป็นอย่างดี โดยที่โครงสร้างของไฮโดรเจลยังคงมีความแข็งแรง ไม่เกิดการละลาย ปริมาณน้ำที่ไฮโดรเจลสามารถดูดซับได้มีค่ามากกว่า 90 % ของน้ำหนักตัวเองและยังสามารถเข้ากันได้ดีกับสารชีวภาพในร่างกายมนุษย์ เช่น เลือด น้ำเหลือง เซลล์ผิวหนัง สามารถนำมาใช้เคลือบวัสดุที่ต้องนำมาสัมผัสกับร่างกายมนุษย์ เช่น ใช้เคลือบอวัยวะเทียมที่ใช้ในร่างกาย เป็นต้น ด้วยสาเหตุดังกล่าวนี้จึงได้มีการนำไฮโดรเจลมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ โดยเฉพาะใช้ผิวหนังเทียมหรือใช้เป็นเนื้อเยื่อวิศวกรรม (Scaffold) เพื่อให้เซลล์ เนื้อเยื่อใหม่เจริญ

ในงานวิจัยนี้รังไหมไทย สีเหลือง จากอำเภอด่านช้าง จ. สุพรรณบุรี ที่ตัดรังเพื่อเอาหนอนไหมออกไปและไม่สามารถนำไปใช้ในการทอผ้าได้แล้ว มาทดลองเตรียมเป็นวัสดุทางการแพทย์โดยแบ่งการทดลองเป็นสองส่วน ส่วนที่ 1 แยกส่วนโปรตีนไฟโบรอินออกจากเซรีซิน แล้วนำมาเตรียมฟิล์มไฮโดรเจลและเนื้อเยื่อโครงสร้าง (Scaffold) หาสภาวะที่เหมาะสมในการขึ้นรูปฟิล์มและเนื้อเยื่อโครงสร้าง จากนั้นทำการศึกษาสมบัติทางกายภาพ

สมบัติเชิงกล สัมประสิทธิ์ และศึกษาชนิดของโพรเจน (Porogen) ซึ่งได้แก่ เกลลี่ชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการทำให้เกิดรูพรุนของเนื้อเยื่อ โครงสร้าง ส่วนที่ 2 ศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในโพรตีนไหมไฟโบรอิน และเซรีซิน เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของประเทศ

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 เพื่อหาสภาวะและเทคนิคที่สามารถเตรียมวัสดุชีวการแพทย์เช่นฟิล์มไฮโดรเจลและเนื้อเยื่อ โครงสร้าง (Scaffold) จากโพรตีนไฟโบรอินที่ได้จากไหมไทยสีเหลืองอำเภอด่านช้าง จังหวัด สุพรรณบุรี
- 1.2.2 เพื่อศึกษาสมบัติเชิงกลและกายภาพของฟิล์มไฮโดรเจลและเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมได้
- 1.2.3 เพื่อศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีอยู่ใน โพรตีนไฟโบรอินและเซรีซินของไหมไทยสี เหลืองจากอำเภอด่านช้าง จังหวัด สุพรรณบุรี

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

- 1.3.1 สกัดแยกโพรตีนไหมไฟโบรอินออกจากโพรตีนไหมเซรีซินของไหมสีเหลืองจากอำเภอด่านช้าง จ. สุพรรณบุรี
- 1.3.2 ศึกษาสภาวะการเตรียมฟิล์มไฮโดรเจลและเนื้อเยื่อ โครงสร้างจากโพรตีนไฟโบรอินของไหมไทย ด่านช้าง
- 1.3.3 ศึกษาสมบัติทางกายภาพ สมบัติเชิงกล สมบัติทางความร้อนและสัมประสิทธิ์ของฟิล์มไฮโดรเจล และเนื้อเยื่อ โครงสร้างจากโพรตีนไฟโบรอิน
- 1.3.4 ศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในโพรตีนไหมไฟโบรอินจากไหมไทยสีเหลืองอำเภอด่านช้าง จังหวัด สุพรรณบุรี

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ได้องค์ความรู้สำหรับเป็นรากฐานของงานวิจัยในขั้นต่อไป
- 1.4.2 เป็นแนวทางใหม่ในการใช้รังไหมให้คุ้มค่า
- 1.4.3 เพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงไหม
- 1.4.4 ลดปริมาณของเสียจากรังไหม
- 1.4.5 สร้างบุคลากรที่มีความรู้ด้านการเตรียมวัสดุชีวการแพทย์จากไหมไทย

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไหม (Silks) [1-3]

หนอนไหม (Silkworm) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bombyx mori* อยู่ในวงศ์ Bombycidae หนอนไหมเป็นแมลงที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ (Completely metamorphosis insect) แบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ ไข่ ตัวหนอน ดักแด้ และผีเสื้อ มีเพียงระยะตัวหนอนเท่านั้นที่กินอาหาร ซึ่งจะนำสารชนิดต่าง ๆ จากใบหม่อนไปสร้างความเจริญเติบโต โดยผ่านการย่อยและดูดซึมเป็นปริมาณ 1 ใน 3 ของสารอาหารทั้งหมด ครึ่งหนึ่งของโปรตีนที่ดูดซึมจากใบหม่อนจะถูกนำไปใช้ผลิตเส้นไหม เมื่อถึงวัย 5 วันแรกต่อมไหม (Silk gland) จะหนักเพียง 6.36% ของน้ำหนักตัวไหม เมื่อไหมสุกก่อนเข้าทำรัง ต่อมาไหมจะหนักถึง 41.97% จะเห็นว่าปลายวัยที่ 5 สารอาหาร โดยเฉพาะ โปรตีนเกือบทั้งหมดถูกเปลี่ยนไปเป็นสารที่ใช้ชักใยทำรังหรือเส้นไหมนั่นเอง และเป็นเส้นใยที่มีคุณสมบัติพิเศษ หาทึ่เปรียบมิได้ ไหมเป็น “ราชินีแห่งเส้นใย” ที่ได้มาจากโปรตีนที่หนอนไหมขับออกมาเพื่อป้องกันตัวเองขณะเป็นดักแด้ เส้นใยที่ได้มีความยาวต่อเนื่อง (Filaments) เส้นใยไหมเป็นเส้นใยธรรมชาติที่ได้จากโปรตีนเช่นเดียวกับเส้นใยขนสัตว์ เส้นไหมเกิดจากการพันออกของตัวหนอนไหม การสังเคราะห์โปรตีนในเส้นไหมทำได้ในเซลล์ของต่อมไหมที่อยู่ในตัวหนอนไหม สารไหมเหลว (Liquid silk) สามารถขับออกมาจากต่อมไหมส่วนท้าย (Posterior silk gland) หลังจากนั้นจะส่งสารไหมเหลวไปที่ต่อมไหมส่วนกลาง (Middle silk gland) ในระหว่างที่อยู่ในต่อมไหมส่วนกลาง สารไหมเหลวจะมีการเปลี่ยนรูปกลายเป็นเจลาติน (Gelatin) ที่มีความแข็งแรงขึ้น ในต่อมไหมส่วนกลางยังมีต่อมที่สามารถสร้างโปรตีนอีกชนิดหนึ่งที่มีสมบัติเป็นกาวในการเคลือบเจลาตินที่ได้ เรียกโปรตีนชนิดนี้ว่า เซรีซิน (Sericin) หลังจากนั้นเจลาตินจะมีความเหนียวและแข็งแรงขึ้น โดยอาศัยการสายหัวไปมาของตัวหนอนไหม อาการเคลื่อนไหวจะเกิดขึ้นที่บริเวณต่อมไหมส่วนหน้า เรียกเจลาตินที่มีความเหนียวขั้นนี้ว่า ไฟโบรอิน (Fibroin) หลังจากที่มีการรวมกันของไฟโบรอิน 2 เส้นและมีการเชื่อมติดกันด้วยกาวไหมเซรีซิน จะมีการผ่านรูขนาดเล็ก (Orifice of spinneret) ออกมาจากตัวของหนอนไหม และได้เป็นเส้นใยที่ใช้ในการทำเครื่องนุ่งห่มหรือสิ่งทอต่าง ๆ สามารถจำแนกไหมออกเป็นสองประเภทดังนี้คือ

2.1.1 ไหมเลี้ยง (Mulberry silk) เป็นหนอนไหมที่มนุษย์เพาะเลี้ยง โดยให้อาหาร คือ ใบหม่อน (Mulberry leaves) สดๆ ซึ่งไหมชนิดนี้มีสีค่อนข้างขาวและหลังการลอกกาวจะมีความมันเงาเพิ่มขึ้น

2.1.2 ไหมป่า (Wild silk) เป็นไหมที่มนุษย์ไม่ได้เพาะเลี้ยง โดยปกติไหมทาชาร์ (Tussah silk) มีแหล่งกำเนิดอยู่ที่จีนและอินเดียเลี้ยงด้วยใบโอ๊คซึ่งไหมป่าจะให้เส้นใยที่มีสีน้ำตาล หยาบและไม่สม่ำเสมอเมื่อเทียบกับเส้นใยจากไหมเลี้ยง

ไหมไทยถือว่าเป็นไหมเลี้ยงซึ่งเป็นตัวอ่อนของผีเสื้อกลางคืนชนิดหนึ่งเป็นแมลงในอันดับเลพิโดอปเทอร่า มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bombyx mori* มีชื่อสามัญว่า silkworm วงศ์ Bombycidae เป็นพันธุ์ไหมที่มีคุณภาพดีที่สุดนิยมเลี้ยงกันมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยปัจจุบันการเลี้ยงไหมและการผลิตไหมได้รับการส่งเสริมให้ทำเป็นระบบอุตสาหกรรมแบบ Sericulture ซึ่งเป็นระบบที่ได้รับการพัฒนามาจากประเทศญี่ปุ่นแต่มีลักษณะที่แตกต่างกัน เนื่องจากเส้นใยมีสีเหลืองและค่อนข้างหยาบ ไหมไทยมีส่วนประกอบที่เป็นกาวไหมปริมาณมากถึง 38 % มากกว่าไหมเลี้ยงชนิดอื่นๆ ซึ่งปกติมีกาวไหมเพียง 20-25 % เท่านั้นทำให้เส้นใยไหมไทยมีลักษณะเฉพาะตัวเมื่อทอผ้าไหมจัดเป็นเส้นใยที่หยาบ สวยงาม มีเอกลักษณ์เป็นของตัวเอง ซึ่งเส้นใยอื่นไม่

สามารถเทียบได้มีสมบัติที่เหมาะสมแก่การทำให้เป็นเส้นใย เพราะให้ความสบายความสวยงามดูมีค่าและมีความทนทาน แข็งแรงที่สุดในการผลิตเส้นใยธรรมชาติทั้งหมด

พันธุ์ไหมในประเทศไทย [6]

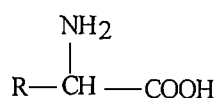
พันธุ์ไหมในประเทศไทยมีจำนวนประมาณ 28 พันธุ์ โดยมีทั้งพันธุ์แท้ของไทยและพันธุ์ผสมที่ได้จากพัฒนา ในที่นี้จะยกตัวอย่างพันธุ์ไหมที่ใช้มากและสำคัญ ดังนี้

1 นางลาย เป็นพันธุ์ไหมแท้พื้นเมือง รังไหมมีสีเหลืองเข้ม ลักษณะมีหัวท้ายค่อนข้างแหลม ขนาด 1.43×2.90 cm จำนวนรังไหม 1300-1400 รังต่อรังไหม 1 กิโลกรัม น้ำหนักรังสด 1 รัง 0.68-1.64 กรัม น้ำหนักเปลือก รัง 1 รัง 0.08-0.24 กรัม ความยาวเส้นใยประมาณ 311 เมตรต่อรัง ความสามารถในการสาวออกสูง เส้นใยมีความเหนียวสูงและเป็นมันเงา

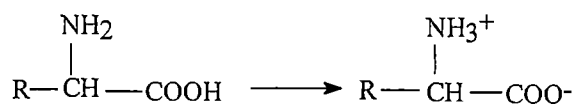
2. ไทยลูกผสมอุบลราชธานี 60-35 (ดอกบัว) เป็นไหมไทยลูกผสม รังไหมมีสีเหลือง ลักษณะมีหัวท้ายค่อนข้างกลม ขนาด 1.5×3.25 cm น้ำหนักรังสด 1 รัง 1.4 กรัม น้ำหนักเปลือก รัง 1 รัง 0.225 กรัม ความยาวเส้นใยประมาณ 519 เมตรต่อรัง และมีการรับรองพันธุ์จากกรมวิชาการเกษตร เมื่อเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2535

3. จุลไทย เบอร์ 1 เป็นไหมลูกผสมคู่ รังไหมมีสีขาวนวลอมเทา ลักษณะมียาวรี มีรอยย่นค่อนข้างละเอียด ขนาด 2.3×3.6 cm น้ำหนักรังสด 1 รัง 1.75 กรัม น้ำหนักเปลือก รัง 1 รัง 0.393 กรัม ความยาวเส้นใยประมาณ 887 เมตรต่อรัง และมีการรับรองพันธุ์จากกรมวิชาการเกษตร เมื่อเดือนมีนาคม พ.ศ. 2546

เส้นใยไหมมีปริมาณของซัลเฟอร์จำนวนเล็กน้อยมาก [5] เป็นสารชีวโมเลกุลที่มีมวลโมเลกุลสูง โปรตีนทุกชนิดประกอบด้วยธาตุคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) ไนโตรเจน (N) ออกซิเจน (O) และกำมะถัน (S) แต่โปรตีนบางชนิดมีธาตุฟอสฟอรัส (P) เหล็ก (Fe) สังกะสี (Zn) และทองแดง (Cu) เพิ่มเข้ามา เส้นไหมเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติชนิดหนึ่งที่ยเรียกว่าโปรตีน (Protein) สามารถถูกแยกออกจากโปรตีนได้โดยการไฮโดรไลส์ด้วยกรด กรดอะมิโนที่พบในโปรตีนมีทั้งหมด 20 ชนิด ดังตารางที่ 2.1 โดยแต่ละชนิดมีโครงสร้างต่างกันที่หมู่ R กรดอะมิโนเหล่านี้ต่อกันเป็นสายโซ่ยาวเรียกว่า โซ่พอลิเพปไทด์ ต่อกันอยู่ในลักษณะเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่มีการแตกกิ่ง พันธะโควาเลนต์ที่เชื่อมอยู่ระหว่างกรดอะมิโนมีชื่อว่า พันธะเพปไทด์ ซึ่งพันธะนี้ เป็นพันธะเอไมด์ที่เกิดการสูญเสีย น้ำจากหมู่คาร์บอกซิลิกของกรดอะมิโนตัวหนึ่งกับหมู่แอลฟาอะมิโนของกรดอะมิโนที่อยู่ถัดไป โมเลกุลของโปรตีนอาจประกอบด้วยโซ่พอลิเพปไทด์เพียงโซ่เดียวหรือมากกว่าก็ได้ โดยมีความยาวที่แตกต่างกันออกไป โดยมีกรดอะมิโนตั้งแต่ประมาณ 40 ถึงมากกว่า 4,000 หน่วย ซึ่งโปรตีนแต่ละชนิดมีส่วนประกอบทางเคมี มวลโมเลกุล และการเรียงลำดับของกรดอะมิโนที่จำเพาะ โดยกรดอะมิโนมีสูตรโมเลกุลทั่วไป คือ



ภายในโมเลกุลของกรดแอลฟาอะมิโน จะมีหมู่อะมิโนต่ออยู่ที่ตำแหน่งแอลฟาคาร์บอนของกรดคาร์บอกซิลิก (กรดอะมิโนทุกตัวมีแอลฟาคาร์บอน ยกเว้น ไกลซีน) แต่เนื่องจากเอมีนเป็นเบสและคาร์บอกซิลิกเป็นกรดจึงเกิดการส่งผ่านโปรตอนจากกรดให้เบส ซึ่งสูตรโมเลกุลของกรดอะมิโนจึงเขียนอยู่ในรูปที่แตกตัวเป็นไอออน หรือรูปที่มีประจุสองขั้วได้ ดังนี้



โครงสร้างที่เป็นประจุของกรดแอลฟาอะมิโน

เส้นไหมเป็นเส้นใยที่เป็นสารประกอบประเภทพอลิเอไมด์ (Polyamide) เกิดจากการมีหน่วยของโมเลกุลขนาดเล็กที่เรียกว่า กรดอะมิโน (Amino acid) มาต่อกันเป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่ด้วยพันธะเปปไทด์

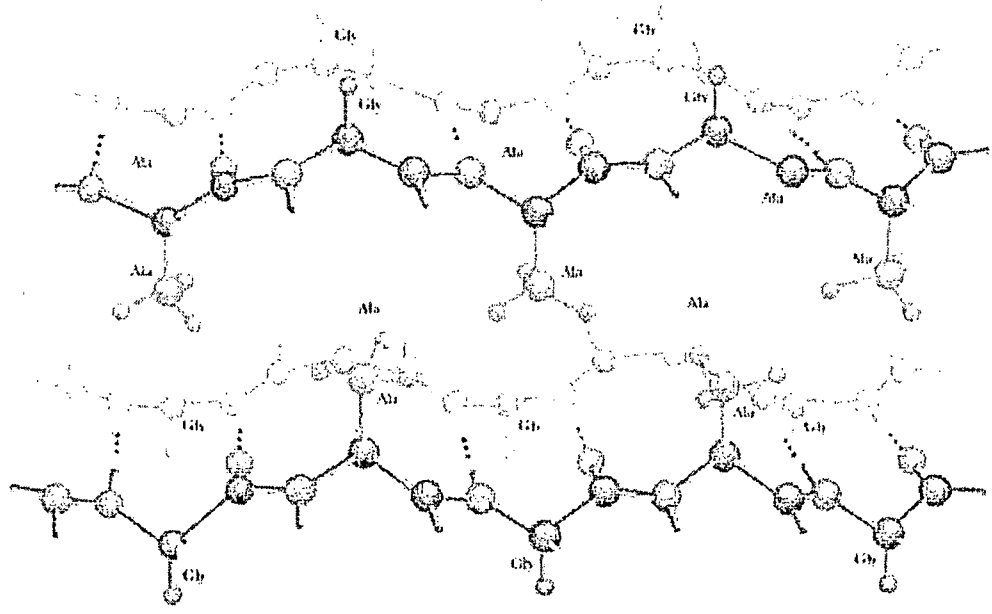
ตารางที่ 2.1 แสดงชื่อของกรดแอลฟาอะมิโนที่พบมากในธรรมชาติ มี 20 ชนิด [5]

กรดแอลฟาอะมิโน	ชื่อย่อ
ไกลซีน (Glycine)	Gly
อะลานีน (Alanine)	Ala
วาลีน (Valine)	Val
ลิวซีน (Leucine)	Leu
ไอโซลิวซีน (Isoleucine)	Ile
เซรีน (Serine)	Ser
ทรีโอนีน (Threonine)	Thr
กรดแอสพาร์ติก (Aspartic acid)	Asp
แอสพาราจีน (Asparagine)	Asn
ซีสเตอีน (Cysteine)	Cys
เมธิโอนีน (Methionine)	Met
กรดกลูตามิก (Glutamic acid)	Glu
กลูตามีน (Glutamine)	Gln
ไลซีน (Lysine)	Lys
อาร์จินีน (Arginine)	Arg
ฮิสติดีน (Histidine)	His
ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine)	Phe
ไทโรซีน (Tyrosine)	Tyr
ทริพโตเฟน (Tryptophan)	Try
โพรลีน (Proline)	Pro

2.2 ไหมไฟโบรอิน (Silk Fibroin) [1-3, 7-8]

โปรตีนเส้นไหมมีองค์ประกอบหลักทางเคมี คือ โปรตีนที่เรียกว่าไฟโบรอิน (Fibroin) เป็นโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำ (ประมาณ 78% ของน้ำหนักไหมดิบ) ประกอบด้วยกรดอะมิโนประมาณ 15 ชนิด กรดอะมิโนหลักๆ ที่พบในเส้นใยได้แก่ ไกลซีน (Glycine, 40%) อะลานีน (Alanine, 29%) และเซรีน (Serine, 12%) แต่ละชนิดมีโครงสร้างต่างกันที่หมู่ R (โซ่ข้าง) ดังแสดงในตารางที่ 2.2 กรดอะมิโนเหล่านี้ต่อกันเป็นสายยาวที่เรียกว่า โซ่พอลิ

เพปไทด์เป็นเส้นยาวขนานกับแกนในลักษณะเป็นเส้นใยหรือเป็นแผ่น มีความแข็ง เหนียวและอาจยืดหยุ่นได้ดังแสดงในรูปที่ 2.3 และมีโครงสร้างปฐมภูมิที่ซ้ำกัน คือ (Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser)_n



รูปที่ 2.1 โครงสร้างสามมิติของไหม

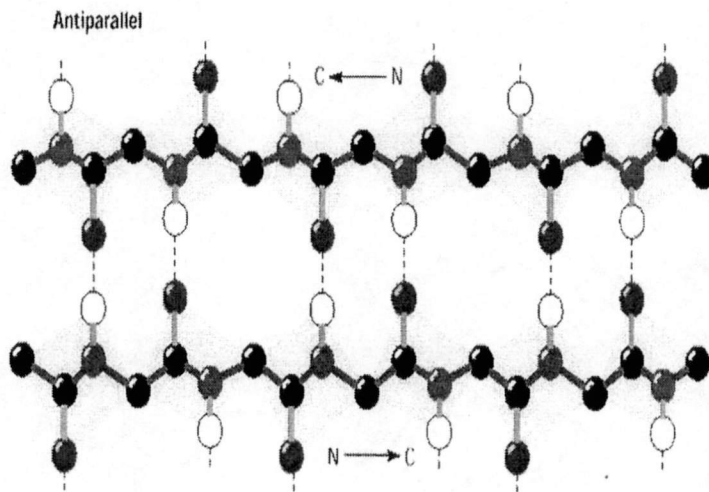
ตารางที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของกรดอะมิโนที่พบในไหม [3]

	R (โซ่ข้าง)	ชื่อ	สัญลักษณ์
กรดอะมิโนที่เป็นกลาง	—H	ไกลซีน (Glycine)	Gly, G
	—CH ₃	อะลานีน (Alanine)	Ala, A
กรดอะมิโนที่โซ่ข้างมีหมู่ OH	—CH ₂ OH	เซรีน (Serine)	Ser, S
	—CH ₂ ——OH	ไทโรซีน (Tyrosine)	Tyr, Y
กรดอะมิโนที่เป็นกรด	—CH ₂ CH ₂ COOH	กรดกลูตามิก (Glutamic acid)	Glu, Q
กรดอะมิโนที่เป็นเบส	—(CH ₂) ₄ NH ₂	ไลซีน (Lysine)	Lys, K

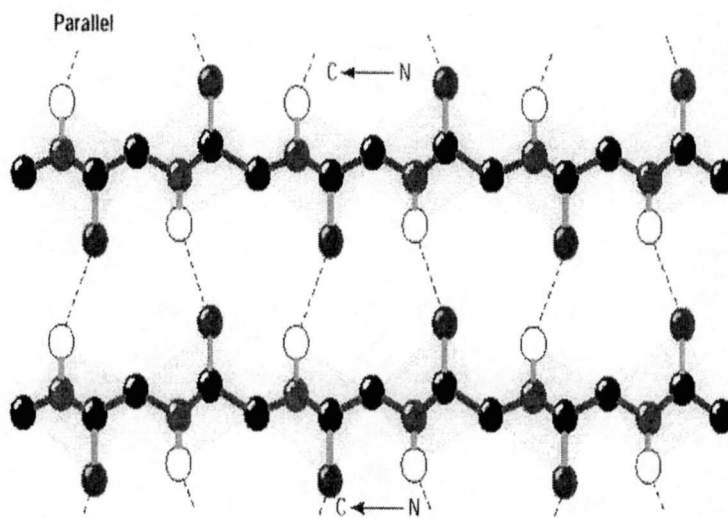
โปรตีนทั้งหลายในธรรมชาติประกอบด้วยสายพอลิเพปไทด์ที่มีโครงสร้างทุติยภูมิ โดยปกติในไฟโบรอินของไหมมักพบโครงสร้างชนิดแผ่นฉับนี้ ซึ่ง β-พลิทเทคซีทมีด้วยกัน 2 โครงสร้าง (รูปที่ 2.2 (ก)) คือ β-พลิทเทคซีทที่สายเพปไทด์ทั้งสองมีทิศทางจากปลายฝั่ง N ไปยัง C ที่อยู่ตรงข้ามกัน เรียกว่า แอนติพาราเลล β-พลิทเทคซีท (Antiparallel pleated sheet structure) (รูปที่ 2.2 (ข)) และ β-พลิทเทคซีทที่สายเพปไทด์ทั้งสองมีทิศทางจากปลายฝั่ง N ไปยัง C เหมือนกัน เรียกว่า พาราเลล β-ซีท (Parallel pleated sheet structure) (รูปที่ 2.2 (ค)) ไฟโบรอินของไหมส่วนใหญ่เป็นโครงสร้างแผ่นฉับแบบแอนติพาราเลล



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะ โครงสร้างของไหมไฟโบรอินชนิดแผ่นพับ

(ก) ลักษณะ โครงสร้างแบบเบต้า (β - plated sheet)

(ข) ลักษณะ โครงสร้างแผ่นพับแบบแอนติพาราเลล (Antiparallel pleated sheet structure)

(ค) พาราเลล (Parallel pleated sheet structure)

การคำนวณน้ำหนักโมเลกุลของไฟโบรอินทำได้ยาก ทั้งนี้เนื่องจากไฟโบรอินไม่ละลายในสารละลายทั่วไป แต่ละลายในสารละลายบางชนิดเท่านั้น เช่น Cupric-ethylenediamine หรือในสารละลายเข้มข้น Lithium iodide หรือ Thiocyanate จากการใช้สารละลายเหล่านี้ร่วมกับการใช้หลักการของการตกตะกอนใน Ultracentrifuge สามารถคำนวณน้ำหนักได้ประมาณ 84,000 กรัม/โมล แต่ถ้าคำนวณจากการอาศัยการวัดสมบัติทางความหนืดจะได้น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50,000 กรัม/โมลหรือมีผู้ใช้การคำนวณโดยอาศัยการวิเคราะห์จาก Terminal amino acid พบว่าน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงระหว่าง 80,000 – 100,000 กรัม/โมล

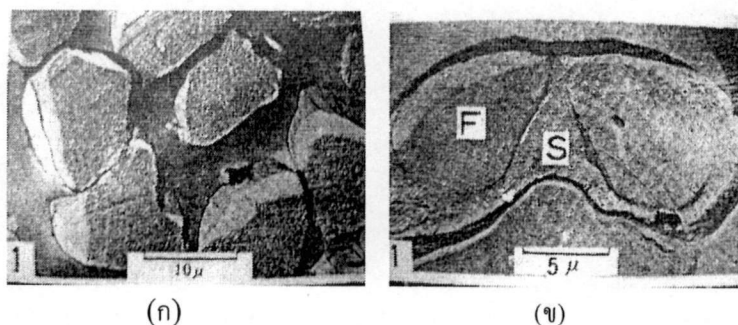
2.2.1 สมบัติของเส้นใยไหมไฟโบรอิน (Properties of Silks Fibroin) [1-3, 5-6]

สมบัติของเส้นใยจะส่งผลโดยตรงต่อสมบัติการใช้งานเฉพาะด้านของผลิตภัณฑ์ดังนั้นต้องเข้าใจและเลือกใช้เส้นใยให้เหมาะสมกับงาน โดยทั่วไปสมบัติของเส้นใยจะถูกกำหนดจากปัจจัยต่างๆ ซึ่งสามารถแบ่งการศึกษาเส้นใยออกได้เป็นสองส่วนคือสมบัติกายภาพและสมบัติทางเคมี

2.2.1.1 สมบัติทางกายภาพ

(1) ลักษณะที่มองเห็นจากกล้องจุลทรรศน์และรูปร่าง

ไหมเป็นเส้นใยยาวต่อเนื่องตลอดเส้นมีความยาวประมาณ 900–1700 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 9 – 11 ไมครอน สีของเส้นใยไหมดิบจะมีสีเหลืองถึงสีครีมเส้นใยไหมที่นำไปใช้ทอผ้า นั้นเกิดจากการพ่นของเหลวที่มีความหนืดจากต่อมขนาดใหญ่สองต่อมภายในตัวหนอนไหมที่โตเต็มวัย โดยส่วนที่เป็นของเหลวหนืด คือ ไฟโบรอินจะถูกเคลือบด้วยโปรตีนอีกชนิดหนึ่งซึ่งเรียกว่าเซรีซินซึ่งเป็นกาวไหมที่ทำให้เส้นใย 2 เส้นติดกันเมื่อ โปรตีนทั้งสองชนิดสัมผัสกับอากาศจะเกิดการแข็งตัวทำให้เส้นใยยึดติดกันกลายเป็นเส้นใยยาวต่อเนื่อง และเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นรอยแตกตามความยาวของเส้นใยด้านตัดขวางจะมีลักษณะรีส่วนนอกของเส้นใยเป็นกาวไหมที่หุ้มโปรตีนไฟโบรอินคล้ายรูปสามเหลี่ยมเรียงคู่กันดังแสดงให้เห็นในภาพตัดขวางและภาพตัดตามยาวของเส้นใยทั้งสองชนิด (รูปที่ 2.3 (ก) และรูปที่ 2.3 (ข)) และสำหรับเส้นใยไหมป่าจะมีขนาดไม่สม่ำเสมอตลอดความยาวทำให้ดูคล้ายลินินและเส้นใยจะมีความหยابกระด้าง ไม่เรียบ ค่อนข้างจะไม่มันเงาเมื่อเทียบกับเส้นใยไหมบอมบิกซ์โมริ

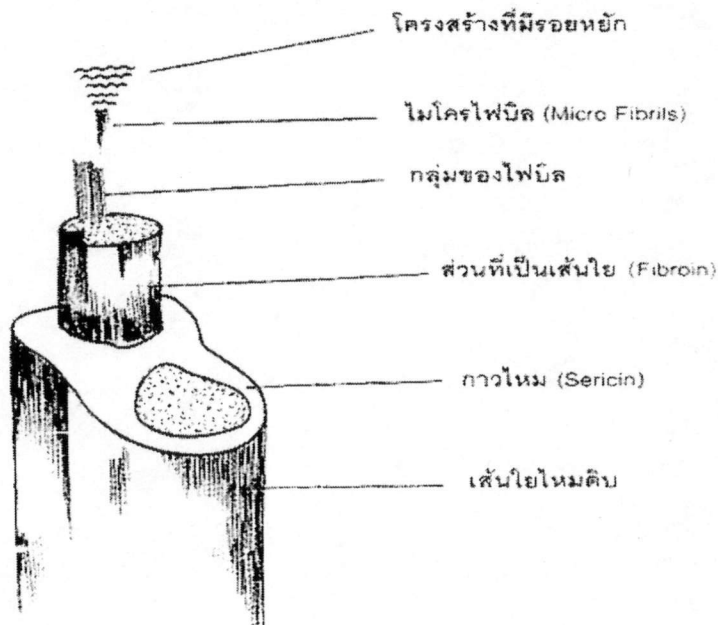


รูปที่ 2.3 แสดงแสดงภาคตัดขวางของเส้นไหมจากรังไหม *Bombyx mori*

(ก) F; ใยไฟโบรอิน (Fibroin), S; กาวเซรีซิน (Sericin)

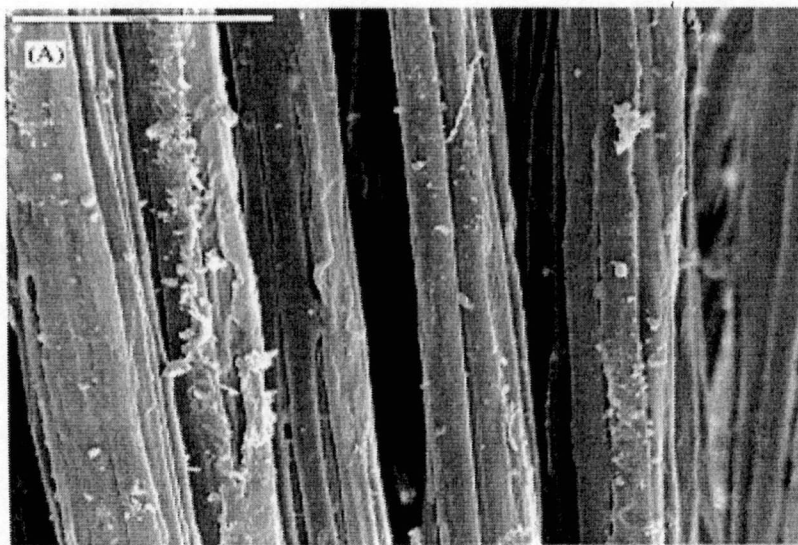
(ข) ใยไฟโบรอิน

ซึ่งหลังจากการลอกกาวไหมแล้วเส้นใยยาวที่เป็นลักษณะสามเหลี่ยมปลายมนทั้งสองเส้นจะแยกตัวออกมาทำให้เส้นใยมีรูปร่างต่างจากเส้นใยไหมดิบ คือมีความละเอียดกว่าและเส้นใยมีความมันเงาสูงกว่า โดยรายละเอียดของโครงสร้างของเส้นใยดังแสดงในรูปที่ 2.4

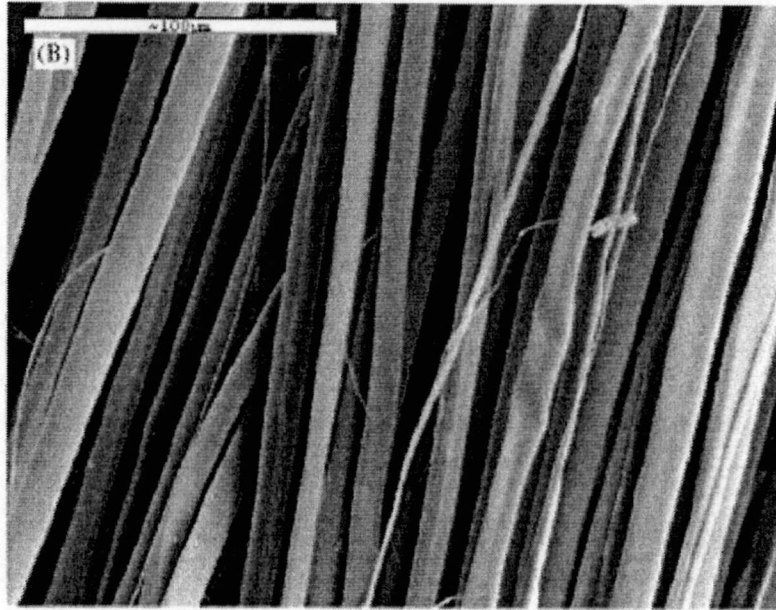


รูปที่ 2.4 โครงสร้างของเส้นใยไหม [2]

จากการศึกษาโครงสร้างพื้นผิวของเส้นใยไหมด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าชั้นนอกสุดของเส้นใยมีปริมาณกาวไหมมากที่สุด ทำให้พื้นผิวของเส้นใยมีลักษณะเป็นคลื่นปกคลุมตามความยาวของเส้นใยดังแสดงในรูปที่ 2.5 และสำหรับไหมที่ลอกกาวแล้วจะมีพื้นผิวค่อนข้างเรียบสม่ำเสมอมากกว่าเส้นใยไหมดิบ ที่ผ่านการลอกกาว รูปที่ 2.6 ไฟบริลเหล่านี้เกิดการพันเกลียวกันเรียงตัวกันมีลักษณะคล้ายโครงร่างคาง่ายทำให้เห็นเป็นเหมือนท่อไปตามแนวยาวของเส้นใยแสดงให้เห็นถึงระบบธรรมชาติที่มีความละเอียดสูงซึ่งไม่พบในเส้นใยชนิดอื่นทำให้เส้นใยมีความเงางามและดีศรีสวยงาม



รูปที่ 2.5 SEM เส้นไหมไหมเลี้ยง (*Bombyx mori*) ไหมดิบไม่มีการลอกกาวไหม (เซรีซิน) ออก [5]



รูปที่ 2.6 SEM แสดงเส้นไหมที่มีการลอกทากาวไหม (เซรีซิน) ออก โดยสกัดเป็นเวลา 60 นาที [5]

(2.) **ความแข็งแรง** ไหมมีความแข็งแรงสูงที่สุดในบรรดาเส้นใยธรรมชาติทั้งหมดด้วยที่ผิวของไหมเรียบมันจึงช่วยลดปัญหาที่เกิดจากการขัดถู สามารถออกแบบผ้าไหมให้มีโครงสร้างเบาบางและคงทนเนื่องจากความละเอียดของเส้นใย ไหมมีค่าความทนแรงดึง ณ จุดขาดอยู่ที่ 3.5 – 5.0 gram/denier ในขณะที่แห้งและจะลดลงเล็กน้อยเมื่อเปียก (ประมาณ 15 – 25%)

(3.) **ความยืดหยุ่น** ไหมเป็นเส้นใยที่มีความยืดหยุ่นเปลี่ยนแปลงได้บ้างตามชนิดของพันธุ์และยืดได้ถึง 20% ของความยาวเดิม ไหมมีความยืดหยุ่นไม่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับขนสัตว์เนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลของไหมไม่มีพันธะมาจับเชื่อมด้านข้างเป็นโครงข่าย ดังนั้นเมื่อถูกยืดจึงไม่สามารถหดกลับคืนสภาพเดิมได้

(4.) **การคืนตัวจากแรงอัด** ไหมทนต่อการยืดหดได้ดี เมื่อทำการซักผ้าจะหดแต่เมื่อตั้งและรีดก็จะกลับรูปเดิม ไม่เกิดการยับย่นได้ง่าย

(5.) **การดูดซับความชื้น** ไหมสามารถดูดซับความชื้นได้ดีในภาวะมาตรฐานสามารถ ดูดซับความชื้นได้ถึง 11% ทำให้รับสีย้อมและสีย้อมฟ้ได้ดีและเมื่อนำมาใช้สวมใส่จะรู้สึกสบายไม่ระคายเคืองผิว เนื่องจากผ้าไหมเป็นตัวนำความร้อนไม่ดีจึงรักษาความอบอุ่นได้นานเหมาะในการนำไปทำเป็นผ้าพันคอ ชุดสูท เป็นต้น

(6.) **ความร้อน** ไหมสามารถทนความร้อนได้ประมาณ 340° F (170° C) ในช่วงสั้นๆ หลังจากนั้นจะเกิดการสลายตัวแต่ดีกว่าขนสัตว์ เมื่อโดนรังสีอัลตราไวโอเลตนานๆ จะมีค่าความแข็งแรงและการยืดตัวลดลง

(7.) **ความถ่วงจำเพาะ** ไหมมีค่าความถ่วงจำเพาะระหว่าง 1.32 – 1.33 แต่มีการทิ้งตัวดีแต่เมื่อเพิ่มน้ำหนักไหมจะมีค่าประมาณ 1.60

2.2.1.2 สมบัติทางเคมีของไหมไฟโบรอิน [1-3]

เนื่องจากการใช้งานของผ้าไหมมีโอกาที่จะสัมผัสกับสารเคมี อุณหภูมิ แสงแดดและสภาวะแวดล้อมต่างๆ เป็นต้น ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสื่อมสภาพหรือสมบัติของไหมเปลี่ยนแปลงไปดังนั้นจึงมีการศึกษาสมบัติทางเคมีเพื่อนำไปใช้งานได้อย่างเหมาะสม ดังนี้

(1.) **กรดและด่าง** สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพอลิเพปไทด์ในเส้นใย ค่าความเป็นกรดเป็นด่างระหว่าง 4-8 จะทำให้เส้นใยเสียหายน้อยมาก

กรดจะทำให้พันธะเพปไทด์ขาดออกจากกัน กรดซัลฟูริกและกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นจะละลายเส้นใยได้ กรดไนตริกทำให้เส้นใยเหลือง ในขณะที่กรดเจือจางจะไม่ทำลายเส้นใย

ต่างจะตัดปลายของพันธะเพปไทด์ออกก่อน โดยด่างโซดาไฟเข้มข้นจะละลายเส้นใยทันที ส่วนต่างอ่อน เช่น สบู่ บอเรียซ์ หรือแอมโมเนีย จะละลายแค่กาวไหมแต่ถ้าต้มเดือดนานๆ อาจ ละลายเส้นใยได้

(2.) สารออกซิไดส์และสารรีดิวซ์ เส้นใยไม่ทนทานต่อสารออกซิไดส์ตั้งนั้นเวลาฟอกเส้นใยจะต้องระวังการใช้ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ใช้สำหรับฟอกไหม การฟอกนี้ ไม่ทำลายพันธะของเพปไทด์ (Peptide) แต่ในบางครั้งก็ตัดส่วนของโซโมเลกุลของพอลิเพปไทด์ ทำให้เส้นไหมมีความเหนียวและความยืดหยุ่นเล็กน้อย แต่เส้นใยจะทนทานต่อสารรีดิวซ์ ได้ดี เช่น โซเดียมไฮโดรซัลไฟท์

(3.) ไหมถูกทำลายด้วยสารที่มีส่วนผสมของเกลือคลอไรด์ผสมอยู่ ได้แก่ เหนือ น้ำยาดับกลิ่นและน้ำเกลือทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งเหนือจะทำให้ผ้าไหมติดคราบ ดังนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์ใหม่ที่ต้องสัมผัสผิวภายหลังการใช้งานทุกครั้งจะต้องทำความสะอาด

(4.) สารละลายอินทรีย์ ส่วนใหญ่ผลิตภัณฑ์ใหม่มักใช้การซักแห้งอยู่เสมอเนื่องมาจากโครงสร้างของเส้นด้ายไหมหรือสีที่ใช้ย้อมทำให้ไหมสามารถทนสารละลายอินทรีย์ทุกชนิด

(5.) สารซักฟอก ไหมทนต่อสารซักฟอกคล้ายขนสัตว์แต่ถูกทำลายได้ด้วยสารซักฟอกประเภทออกซิไดส์ เช่น พวกที่มีโซเดียมไฮโปคลอไรต์ผสมอยู่เพราะทำให้ความแข็งแรงของ เส้นใยลดลงควรใช้สารซักฟอกประเภทไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์หรือ โซเดียมเปอร์บอเรตจะไม่เกิดผลเสียต่อไหม

(6.) แสงแดดและความร้อน แสงแดดและความร้อนสูงเป็นเวลานานๆ จะทำให้ความแข็งแรงของเส้นใยลดลงและเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเนื่องจากทำให้โปรตีนเกิดการสลายตัวได้เร็วขึ้น

(7.) การย้อมสี ไหมมีความสามารถในการรับสีย้อมได้ดีมากสามารถย้อมได้ด้วยสีที่เป็นแอซิด สีเบสิก หรือ สีวัด สีมอร์แดนท์ เมื่อเปรียบเทียบกับขนสัตว์จะได้สีที่เข้มกว่าและย้อมได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าด้วย

2.2.1.3 สมบัติทางชีวภาพ

(1.) รามและแมลง ไหมไม่เกิดราได้ง่ายยกเว้นถูกทิ้งไว้ในสภาวะที่ค่อนข้างชื้นเป็นเวลานาน แมลงไม่กัดกินหากไม่มีสิ่งสกปรกติดอยู่ที่ผ้า

2.2.1.4 สมบัติในการคิดไฟ ไหมเมื่อติดไฟจะลุกไหม้ช้าๆ เมื่อนำออกจากแหล่งให้ความร้อน เปลวไฟจะดับเอง

2.2.1.5 สมบัติในการเป็นตัวนำไฟฟ้าและความร้อน เป็นตัวนำไฟฟ้าและความร้อนที่ไม่ดี

มีการใช้งานของไหมกันอย่างกว้างขวางด้วยไหมมีสมบัติเด่นหลายประการ นอกจากการใช้งานผ้าไหมเป็นไหม 100 % แล้วยังมีการนำไหมไปผสมกับเส้นใยชนิดอื่นได้ด้วย เช่น ไหมผสมฝ้าย ไหมผสมลินินหรือไหมผสมขนสัตว์ เป็นต้น

2.2.2 การปรับปรุงเส้นไหมด้วยวิธีการทางเคมี (Chemical Treatment of Silks) [8-11, 13, 15]

ไหมดิบที่ได้จากรังไหมในแต่ละรังมีความแข็งแรงกระด้างและให้สัมผัสที่ไม่ดีเนื่องจากเส้นไหมดิบมีองค์ประกอบของกาวไหมและสารอื่น ๆ เคลือบอยู่ดังนั้นก่อนนำไหมไปใช้งานจึงจำเป็นต้องมีการปรับปรุงสมบัติของเส้นไหมก่อนนำไปทำเป็นผลิตภัณฑ์นั้นจะต้องผ่านกระบวนการ

ลอกกาวไหมและการตกแต่งสำเร็จ เช่น การตกแต่งเพื่อเพิ่มสมบัติทางความร้อน การตกแต่งเพื่อเพิ่มคุณสมบัติการใช้งาน เป็นต้น

2.2.2.1 การลอกกาว (Degumming)

การลอกกว หมายถึง การลอกเชริซินออก 100% แต่บางครั้งมีการลอกกวเพียง 30%, 50%, 70% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ เส้นใยไหมเมื่อสาวออกจากรังเป็นเส้นใยกระด้างแข็งเพราะมีกาวหุ้ม ฟอกออกได้ด้วยสบู่จะได้ใยที่นุ่มเป็นมันทำให้น้ำหนักไหมลดไปประมาณ 25 % เส้นไหมมีสีขาวขุ่นและเพื่อเพิ่มความสามารถในการย้อมสีเส้นใยจะต้องมีการฟอกขาวเพื่อกำจัดสีธรรมชาติออกไปด้วย

การลอกกวออกจากเส้นใยไหมดิบเป็นการลอกกวเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกออกจากเส้นใยเพื่อให้เส้นใยมีความมันเงามากขึ้นมีวิธีใช้ย้อมอยู่ทั่วไปดังนี้

(1) การลอกกวด้วยโซดา (Degumming)

สารละลายโซดาที่ใช้ในการลอกกวเส้นใยที่นิยมใช้ คือ โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) และโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) ที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 2-9 ชั่วโมงจากนั้นล้างด้วยน้ำอุ่น $40-50^\circ\text{C}$ และน้ำที่อุณหภูมิห้องหลาย ๆ ครั้งวิธีนี้สามารถลอกกวได้สม่ำเสมอแต่ข้อเสียของวิธีนี้คือ สารเคมีที่ใช้มีความเป็นด่างสูงทำให้เส้นใยมีสมบัติแข็งกลดลง

(2) การลอกกวด้วยสบู่

การลอกกวไหมด้วยสบู่เริ่มจากแช่เส้นใยไหมดิบที่อุณหภูมิ 40°C 30 นาทีแล้วเติมสบู่ 15-20% โดยน้ำหนักของเส้น (30-50 เท่าของน้ำหนักไหมดิบ) และต้มต่อเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมงทำให้ได้เส้นไหมที่เงางามและเรียบสวย ข้อเสียของวิธีนี้คือ ถ้าใช้น้ำกระด้างจะทำให้เกิดโคลสบู่ที่เกิดจากแคลเซียมไอออนในน้ำเช่น แคลเซียมแมกนีเซียมและเหล็กทำให้เส้นใยที่ได้มีการลอกกวที่ไม่สม่ำเสมอและมีสีหมองคล้ำ

(3) การลอกกวด้วยเอนไซม์

เอนไซม์ที่ใช้ในการลอกกวได้ คือ เอนไซม์โปรตีเอส (Protease enzyme) ชนิดต่างที่มีค่า pH 9.0 – 10.5 ที่อุณหภูมิ $40 - 65^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมงแล้วล้างน้ำอุ่น $40 - 50^\circ\text{C}$ และน้ำที่อุณหภูมิห้องหลายครั้ง ๆ เอนไซม์สามารถลอกกวได้อย่างสม่ำเสมอ แต่ข้อเสียคือเอนไซม์ที่ใช้มีราคาแพงและมีกลิ่นรุนแรง

(4) การลอกกวด้วยกรด

การนำเส้นใยไปต้มในสารละลายที่เป็นกรดแต่วิธีนี้ไม่เป็นที่นิยมใช้เนื่องจากปัญหาในการควบคุมคุณภาพของไหมที่ลอกกว

(5) การลอกกวด้วยไทโรเทิลอะมีน

เส้นใยที่ผ่านการลอกกวด้วยวิธีนี้จะมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับเส้นใยที่ผ่านการลอกกวด้วยสบู่

(6) การลอกกวด้วยสบู่-โซดา

การลอกกวด้วยสบู่ผสมโซดาจะใช้สบู่ 8 – 15 % o.w.f และโซเดียมคาร์บอเนต 5 – 8 % o.w.f ใช้อัตราส่วนของวัสดุต่อของเหลวเป็น 1:5 ที่อุณหภูมิ 90°C ใช้เวลา 2 – 3 ชั่วโมงหลังจากนั้นนำเส้นใยมาล้างด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตหรือโซเดียมไบคาร์บอเนตที่เป็นด่างอ่อนกว่าที่อุณหภูมิ $40 - 50^\circ\text{C}$ ตามด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องหลาย ๆ ครั้งวิธีนี้จัดว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดวิธีหนึ่งทำให้ได้เส้นใยที่ขาวและมีความสม่ำเสมอในการลอกกวมากขึ้นและช่วยลดข้อเสียในการลอกกวด้วยสบู่จากการใช้สารลดแรงตึงผิวและสารลดความกระด้าง

2.2.3 การนำไหมไปใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ [12]

รังไหมและเส้นไหมสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมายหลายอย่าง เช่นเดียวกับหนอนไหมและดักแด้ได้แก่

- (1) สิ่งทอไหม
- (2) เครื่องสำอาง
- (3) การแพทย์
- (4) สารป้องกันกำจัดแมลง
- (5) สบู่และเทียนไข
- (6) ดอกไม้
- (7) อาหารมนุษย์
- (8) อาหารสัตว์
- (9) ทดแทนนุ่น

นอกจากนั้น นักวิทยาศาสตร์ยังคงศึกษาต่อไปในการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือใช้ คือเส้นไหมที่นำไปใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอไม่ได้แล้วไปดัดเป็นผงไหม เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมและผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ดังนี้ คือ

- วัสดุที่ทำให้ความรู้สึกที่ดีในการสัมผัส โดยการใช้ผงไหมผสมสีแล้วฉีดพ่นบนวัสดุ เพื่อให้เกิดความนุ่มมือและดูดซับความชื้น ไม่เหนียวเหนอะหนะ เช่น ปากกา

ฟิล์ม เคลือบรักษาความสดในอุตสาหกรรมประมง โดยทำการเปรียบเทียบกับสารต่าง ๆ เช่น สารโพลิเมอร์ ฝ้าย ป่าน ปอ กระดาษเคลือบไข (Oil paper) และสารละลายเกลือ 1% พบว่าการเคลือบด้วยฟิล์มไหมรักษาความสดของกุ้งสดได้นานถึง 9 วัน ดีกว่าวัสดุอื่น และดีกว่าน้ำแข็งที่รักษาความสดไว้ได้เพียง 7 วัน

- ถ้าไม่ทำเป็นผง ก็จะนำไปฟอกให้เกิดความอ่อนนุ่ม เพื่อนำไปทำเป็นผ้าฝ้าย เช็ดเลนส์และกระจก แผ่นทำความสะอาดผิวหนัง เช่น การชำระล้างเครื่องสำอาง เหล่านี้เป็นต้น

ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติและหน้าที่สำคัญของกรดอะมิโนในผงไหมที่มีต่อร่างกาย (5)

ชนิดกรดอะมิโนในผงไหม	หน้าที่และคุณสมบัติ
Glycine [#]	<ul style="list-style-type: none"> - ควบคุมระดับคลอเรสเตอรอล - ป้องกันและรักษาความดันโลหิตสูง - ช่วยเสริมสร้างการทำงานของตับ
Alanine [#]	<ul style="list-style-type: none"> - เป็นแหล่งพลังงานสำคัญต่อเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ สมอง และระบบประสาทส่วนกลาง - ผลิต antibodies ที่ช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้น - ช่วยในระบบการทำงานของน้ำตาลและกรดอินทรีย์ digest alcohol (สลายแอลกอฮอล์)
Serine [#]	<ul style="list-style-type: none"> - เป็นแหล่งในการสะสมน้ำตาลกลูโคสในตับ และกล้ามเนื้อ จึงช่วยส่งเสริมระบบการทำงานของอินซูลิน (Insulin) เป็นการลดน้ำตาลในเลือดซึ่งช่วยในการเผาผลาญไขมันที่สะสมในร่างกาย

	<ul style="list-style-type: none"> - ช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันแข็งแรงขึ้น - ช่วยสังเคราะห์กรดไขมันล้อมรอบ Never fibers
Aspartic acid*	<ul style="list-style-type: none"> - ช่วยขับไล่อาการเจ็บ และสารพิษแอมโมเนียออกจากร่างกาย - ช่วยเพิ่มความต้านทานต่อการเหนื่อยอ่อน - ช่วยระบบกล้ามเนื้อ และการเคลื่อนไหว
Tyrosine	<ul style="list-style-type: none"> - ช่วยในการส่งผ่านเส้นประสาทไปยังสมอง อีกทั้งมีผลดีต่อระบบประสาท - ช่วยความจำ - กระตุ้นการเต้นของหัวใจ
Glutamic acid	<ul style="list-style-type: none"> - ช่วยลดแอมโมเนียในเลือดซึ่งมีส่วนสัมพันธ์กับโปรตีนในสมอง และระบบการทำงานของน้ำตาล - ช่วยควบคุมโรคสุรา (Alcoholism) - รักษาปริมาณน้ำของผิวหนัง และป้องกันผิวแห้ง
Threonine*	<ul style="list-style-type: none"> - ป้องกันการเกิดไขมันในตับ - ช่วยย่อยและช่วยระบบการทำงานของร่างกาย
Isoleucine*	<ul style="list-style-type: none"> - กระตุ้นการทำงานของสมองส่วนบน
Leucine*	<ul style="list-style-type: none"> - ลดน้ำตาลในเลือด - ช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น
Arginine	<ul style="list-style-type: none"> - เสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเซลล์เนื้อออก - ช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น - ช่วยเสริมสร้างตับ
Cystine	<ul style="list-style-type: none"> - ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) และเพิ่มความแข็งแกร่งให้ร่างกายต่อต้านรังสี และมลพิษ - ช่วยในการสังเคราะห์โปรตีน - มีความจำเป็นต่อการสร้างผิวหนัง ซึ่งจะช่วยให้แผลไฟไหม้ และแผลผ่าตัดหายเร็วขึ้น - ส่วนของผมและผิวหนังจะประกอบด้วย Cystine 10-14%
Lysine*	<ul style="list-style-type: none"> - ต่อต้านริบโมไวรัส โดยจะช่วยให้เกิดความสมดุลของธาตุอาหาร และการไปลดการเจริญของไวรัส - การขาด Lysine มีผลทำให้เหนื่อยง่าย ขยับยั้งการเติบโต ผมร่วง โรคโลหิตจาง และเกิดปัญหาต่อระบบสืบพันธุ์
Phenylalanine*	<ul style="list-style-type: none"> - มีผลต่อระบบเส้นประสาท
Methionine*	<ul style="list-style-type: none"> - เป็นแหล่งที่ให้สารกำมะถันซึ่งป้องกันการเกิดโรคเกี่ยวกับผม ผิวหนังและเล็บ - ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล โดยการผลิตเลซิตินในตับ - ลดไขมันตับ และป้องกันไต - ป้องกันผมร่วงและส่งเสริมการเจริญของเส้นผม

Valine*	- ช่วยให้จิตใจกระปรี่กระเปร่า ประสานการทำงานของกล้ามเนื้อ
Tryptophan*	- สนับสนุนการผลิตเม็ดเลือดแดง - ป้องกันและช่วยลดอันตรายที่จะเกิดกับเส้นโลหิตแดง และการชักกระตุกของหัวใจ - ทำงานร่วมกับ Lysine ในการลดคลอเลสเทอรอล
Proline	- รักษาความดันโลหิต - มีความสำคัญอย่างมากต่อการทำงานของข้อ และเอ็น - ช่วยบำรุงรักษากล้ามเนื้อหัวใจ
Histidin	- พบมากในเม็ดเลือดแดง ใช้ในการรักษารูมาตอยโรคข้ออักเสบ อาการผื่นคัน โรคผื่นคัน แผลพุพอง และ โรคโลหิตจาง - ถ้าขาด จะมีผลต่อการได้ยินเสียงลดลง - ส่งเสริมการผลิตเซลล์เม็ดเลือด ช่วยขยายหลอดเลือด

หมายเหตุ *กรดอะมิโนที่มีความจำเป็น (Essential amino acid)

*กรดอะมิโนในใหม่ที่พบมาก และมีความสำคัญต่อร่างกายมากที่สุด (3 ชนิด)

2.3 ไฮโดรเจล (Hydrogel) [4]

2.3.1 ลักษณะความสำคัญของไฮโดรเจล

ไฮโดรเจลเป็นหนึ่งในหลายๆชนิดของพอลิเมอร์ ที่มีโครงสร้างเป็น โครงร่างแหสามมิติและสามารถดูดน้ำและสารละลายบางชนิดได้มากกว่า 90% จากคุณสมบัติเด่นของไฮโดรเจลที่สามารถดูดน้ำได้มากนี้ ทำให้ทราบ ว่าโครงสร้างหรือองค์ประกอบของไฮโดรเจลน่าจะมีส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic structure) และสามารถละลายได้ในน้ำ หมู่ฟังก์ชันในไฮโดรเจลที่มีสมบัติ

ความชอบน้ำ เช่น หมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) หมู่คาร์บอกซิล (-COOH group) หมู่เอไมด์ (-CONH₂ group) และ หมู่ต่างๆที่เป็นอนุพันธ์ของหมู่ดังกล่าว เป็นต้น

ไฮโดรเจลสามารถได้จากธรรมชาติ เช่น เจลาติน (Gelatin) วุ้น (Agar) โปรตีนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic protein) และเตรียมได้จากพอลิเมอร์สังเคราะห์ เช่น พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Poly(vinyl alcohol)) พอลิอะคริลิกแอซิด (Poly(acrylic acid)) พอลิอะคริลามิโด (Polyacrylamide)

2.3.2 พันธะทางเคมีของไฮโดรเจล สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

ก.พันธะภายในโมเลกุลของพอลิเมอร์ (Intramolecular interaction) เนื่องจากการเชื่อมต่อกันของ มอนอเมอร์ที่มีองค์ประกอบหลักเป็นคาร์บอน (C) จึงทำให้มีพันธะโควาเลนต์ เพื่อยึดเหนี่ยวระหว่าง โมเลกุลของคาร์บอน

ข.พันธะระหว่างโมเลกุล (Intermolecular interaction) สามารถแบ่งออกได้หลายแบบเช่น พันธะไฮโดรเจน ที่เกิดจากการดึงดูดอะตอมไฮโดรเจน (H) โดยอะตอมของธาตุที่มีค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตี (EN) สูง เช่น F, O, N, Cl เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีแรงไดโพล-ไดโพล ที่เกิดจากการมีแรงยึดเหนี่ยวหรือมีแรงผลักรวมของ โมเลกุลที่ไม่มีขั้ว ซึ่งแรงนี้เป็นแรงที่อ่อนมากที่สุด

จากพันธะต่างๆข้างต้น จะเห็นว่าพันธะภายใน โมเลกุลมีความแข็งแรงมากกว่าพันธะระหว่าง โมเลกุล ดังนั้นการที่จะทำลายโครงสร้างของโมเลกุลพอลิเมอร์ ต้องใช้พลังงานที่สูงมาก

2.3.3 พันธะเชื่อมโยงของไฮโดรเจล มี 2 ลักษณะ คือ

ก. พันธะเชื่อมโยงทางกายภาพ (Physical crosslinked) โดยจะมีการทำให้เกิดเป็นโครงร่างแหสามมิติด้วยพันธะไฮโดรเจน หรือแรงทางไฟฟ้าสถิตย์ โดยจะมีการอยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายปมของเชือก ไฮโดรเจลชนิดนี้สามารถเตรียมได้จากเทคนิคที่เรียกว่า Freezing and thawing สมบัติของไฮโดรเจลที่เตรียมได้จะมีการหลอมเหลวที่อุณหภูมิไม่สูง ประมาณ 55 องศาเซลเซียส และเรียกไฮโดรเจลที่มีพันธะเชื่อมโยงในลักษณะนี้ว่า Physical hydrogel หรือ Pseudogel

ข. พันธะเชื่อมโยงทางเคมี (Chemical crosslinked) โดยจะมีการให้เกิดพันธะเชื่อมโยงที่เป็นพันธะโควาเลนต์ หรือเป็นพันธะทางเคมีอื่นๆ โดยมีการใช้สารเชื่อมโยงเป็นสารเคมี เช่น สารประกอบพวกลอติไฮด์ และมีการใช้แสงหรือความร้อนในการเชื่อมโยง เช่น รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา ซึ่งการเชื่อมโยงโดยวิธีนี้จะได้พันธะเชื่อมโยงเป็นพันธะโควาเลนต์ชนิดคาร์บอน-คาร์บอน (C-C bond) ที่มีความแข็งแรงสูง

2.3.4 การเตรียมไฮโดรเจล

ไฮโดรเจลสามารถเตรียมได้จากสารละลายพอลิเมอร์ที่มีสมบัติการคุดน้ำ หรือสามารถละลายในน้ำได้ เกล็ดในแม่พิมพ์ โดยส่วนมากจะใช้เทคนิคการเทหล่อ (Casting process) ในการเตรียม จากนั้นทำการเชื่อมโยงไฮโดรเจล โดยใช้เทคนิคการฉายรังสี ความร้อน ริดักชัน-ออกซิเดชัน หรือ nucleophilic attack ในวิธีการฉายรังสีต้องทำการฉายรังสีเสียก่อนแล้วค่อยนำไปอบให้แห้ง แต่ถ้าใช้สารเคมีในการเชื่อมโยง จะต้องนำสารละลายในแม่พิมพ์ไปอบให้แห้งเสียก่อนจึงค่อยทำการเชื่อมโยง ในปี 1968 มีการพอลิเมอไรเซชัน โดยใช้มอนอเมอร์ล้อมรอบฟลิกเมตริกซ์ ได้แก่ เกล็ด น้ำตาล และฟลิกน้ำแข็ง เป็นพวกพอรอเจน (Porogen) และเมื่อเอาฟลิกเมตริกซ์ออก จะเกิดเป็นพอลิเมอร์เชื่อมโยงที่เป็นรู ไฮโดรเจลที่เป็นรูใช้ประโยชน์เป็นพื้นผิวบางในโครมาโตกราฟี และเป็นเนื้อเยื่อวิศวกรรมทางการแพทย์

2.3.5 สมบัติของไฮโดรเจลและการนำไปใช้งาน

ไฮโดรเจลมีความสามารถในการดูดซับน้ำหรือสารละลายบางชนิด เช่น สารละลายอิเล็กโทรไลต์ และสารละลายทางชีวภาพ ได้มากกว่า 90% โดยเมื่อหลังจากดูดซับ จะมีสมบัติเชิงกลที่ดี ไม่เกิดการละลายและสลายตัว และไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างซึ่งสมบัตินี้จะมีความคล้ายคลึงกันในอวัยวะบางอย่างของร่างกายมนุษย์ เช่น เส้นเอ็น กล้ามเนื้อ ถ้าใส่เล็ก เซลล์ห่อหุ้มอวัยวะภายใน เป็นต้น และจากสมบัติการเข้ากันได้ดีกับสารชีวภาพ เช่น เลือด น้ำเหลือง เนื้อเยื่อ เซลล์ ผิวหนัง จึงสามารถนำมาใช้ทำเลนส์สัมผัส ใช้ในการเคลือบอวัยวะเทียมเมื่อนำไปใช้ในร่างกายมนุษย์ สามารถใช้เป็นวัสดุปิดแผลที่รักษาหน้าแผลให้มีความเรียบ และไม่ทำลายเซลล์ผิวใหม่ เมื่อมีการลอกออก ไฮโดรเจลที่ใช้เป็นเนื้อเยื่อวิศวกรรมจะยอมให้เซลล์เจริญงอกเข้าไปข้างในและควบคุมการขยายตัวอย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อสำหรับการส่งผ่านท่อขนาดไมโคร หรือท่อภายนอกที่ต้องการ และยังสามารถใช้ในงานด้านต่างๆที่ไฮโดรเจลมีความเหมาะสมและมีสมบัติที่ครอบคลุมการใช้งาน

2.4 เนื้อเยื่อวิศวกรรม (Tissue Engineering) [13-15]

เนื้อเยื่อวิศวกรรม ถูกจำกัดความเป็นศาสตร์ 2 ศาสตร์ที่ใช้ประโยชน์ตามหลักของวิศวกรรมและวิทยาศาสตร์ชีวภาพ เกี่ยวกับการพัฒนาของชีววิทยาเพื่อแทนที่ ซ่อมแซม รักษาหรือปรับปรุงเนื้อเยื่อ ในการออกแบบเนื้อเยื่อวิศวกรรมนั้นวัสดุและเทคนิคการผลิตจะเป็นสิ่งสำคัญ ซึ่งจะต้องเข้าใจหน้าที่ 3 ข้อในเนื้อเยื่อวิศวกรรม ดังนี้

- ใช้แยกเซลล์หรือแทนที่เซลล์ตามความต้องการ
- การส่งผ่านของเนื้อเยื่อ เพื่อการเติบโตไปยังตำแหน่งที่ต้องการ

- การเติบโตเซลล์ใน scaffold 3 มิติ

2 ข้อจำกัดที่สำคัญ ในการแยกเซลล์หรือเหนี่ยวนำเนื้อเยื่อ ได้แก่ขนาดอนุภาคและรูปร่าง ดังนั้น พื้นฐานความต้องการที่ขอมรรับกันอย่างกว้างๆสำหรับการออกแบบพอลิเมอร์ scaffold คือ

- Scaffold จะมีความรูพรุนสูงและขนาดรูที่เหมาะสม
- ต้องการพื้นที่ผิวสูง
- สามารถเสื่อมสลายทางชีวภาพและอัตราการเสื่อมสภาพที่เหมาะสมเท่ากับอัตราการเกิดเนื้อเยื่อใหม่
- Scaffold ต้องมีสมบัติเชิงกลที่สมบูรณ์เพื่อคงสภาพของโครงสร้างเนื้อเยื่อ
- Scaffold ต้องไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (คือ สามารถเข้ากันได้)
- scaffold ต้องเกิดแรงกระทำภายในกับเซลล์ได้ รวมถึงต้องเพิ่มการติดกันของเซลล์ การเติบโต การเป็นก้อนและหน้าที่ที่แตกต่าง

จุดมุ่งหมายของการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ Scaffold ให้เหมาะกับความต้องการเฉพาะอย่าง รูพรุนที่มากและขนาดรูที่เพียงพอจึงเป็นที่ต้องการจากงานวิจัย เพื่อสะดวกในการเพาะเซลล์และแพร่ผ่านตลอด ทำให้โครงสร้างสมบูรณ์ของทั้งเซลล์และสารอาหาร การเสื่อมสภาพทางชีวภาพเป็นส่วนสำคัญของ Scaffold ที่ต้องการ เพื่อดูดซับเนื้อเยื่อแวดล้อมภายนอกที่จำเป็นจากการผ่าตัดเอาออกไป อัตราของการเสื่อมสภาพที่เกิดขึ้นเท่ากับอัตราการเกิดเนื้อเยื่อใหม่ นั่นคือ ขณะเซลล์เกิดขึ้นมีโครงสร้างเมทริกซ์ธรรมชาติรอบๆ เซลล์ Scaffold สามารถให้โครงสร้างที่สมบูรณ์ภายในร่างกาย และในที่สุดก็จะแตกออกจากเนื้อเยื่อใหม่ เนื้อเยื่อใหม่นี้ จะต้องรับน้ำหนักต่อไป

2.4.1 วัสดุสำหรับทำเนื้อเยื่อโครงสร้าง(Scaffold) [14]

พอลิเมอร์เป็นวัสดุแรกสำหรับ scaffold ตัวอย่างเช่น Poly(glycolic acid)(PGA), poly(lactic acid)(PLA), และโคพอลิเมอร์ poly(lactic acid-co-glycolic acid)(PLGA) เป็นตระกูลของ linear aliphatic polyesters ซึ่งจะใช้ส่วนใหญ่ในเนื้อเยื่อวิศวกรรม พอลิเมอร์จะเสื่อมสลายผ่านการไฮโดรไลซิสของพันธะเอสเทอร์ PGA เป็นพอลิเมอร์ชนิดหนึ่งที่น่าสนใจใช้เป็น scaffold เพราะมีธรรมชาติที่ชอบน้ำ PGA เสื่อมสลายเร็วในสารละลายน้ำหรือในสิ่งมีชีวิต แต่สูญเสียสมบัติเชิงกลภายใน 2 ถึง 4 สัปดาห์ ใช้ผลิตเป็นเส้นใยที่ไม่นำมาถักทอเป็นผ้า ซึ่งเป็น scaffold แบบหนึ่งที่ใช้ สำหรับเนื้อเยื่อวิศวกรรม PLA เป็น scaffold ที่ใช้กันทั่วไป มีหมู่เมทิลในหน่วย PLA (เปรียบเทียบกับ PGA) ซึ่งไม่ชอบน้ำ จึงลดโมเลกุลที่เข้าใกล้กับน้ำ นำไปสู่อัตราการไฮโดรไลซิสที่ช้า ใช้เวลาหลายเดือนหรือเป็นปี มีการทดลองปลูกฝัง scaffold PLA ในสิ่งมีชีวิต เพื่อศึกษาอัตราการเสื่อมสลายระหว่าง PGA และ PLA เพื่อใช้เป็นอัตราส่วนของแลคติกและกรดไกลโกลิกในการสังเคราะห์ PLGA พวก linear aliphatic polyester เช่น poly(ϵ -caprolactone) (PCL) และ poly(hydroxyl butyrate)(PHB) ซึ่งใช้ในเนื้อเยื่อวิศวกรรม PCL จะมีอัตราการเสื่อมสลายที่ช้ากว่า PLA, PGA และ PLGA อัตราการเสื่อมสลายที่ช้าทำให้ PCL เป็นที่น่าสนใจน้อยสำหรับการใช้ประโยชน์ในเนื้อเยื่อวิศวกรรม แต่เหมาะสำหรับในเรื่องการปลูกฝังและสามารถควบคุมการปลดปล่อยที่ต้องการการเสื่อมสลายช้า ในปัจจุบันโคพอลิเมอร์ของ PCL จะวิเคราะห์เพื่อปรับปรุงสมบัติการเสื่อมสลาย ส่วน PHB ทำมาจากการหมักสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก PHB และโคพอลิเมอร์ PHB จะเสื่อมสลายได้ช้ามากเพราะตามธรรมชาติจะไม่ชอบน้ำ จึงมีความสนใจน้อยเมื่อเทียบกับ PGA, PLA และ PLGA การสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่สามารถเสื่อมสลายทางชีวภาพอื่นๆคือ poly(propylene fumarate)(PPF) จะเสื่อมสลายผ่านการไฮโดรไลซิสของพันธะเอสเทอร์ คล้ายกับไกลโกลิดและแลคโกลิด แม้กระนั้นก็ตาม การใช้ประโยชน์สำหรับ

เนื้อเยื่อวิศวกรรม จะมีความต้องการคล้ายๆกันคือ ความสามารถที่เข้ากันได้ทางชีวภาพและความสามารถในการเสื่อมสลายทางชีวภาพ ในเมตริกซ์และ scaffold เนื้อเยื่อวิศวกรรม

พอลิเมอร์ธรรมชาติ เช่น โปรตีนและพอลิแซคคาไรด์เป็นประโยชน์ใช้สำหรับเนื้อเยื่อวิศวกรรม คอลลาเจนเป็นเส้นใยโปรตีนและองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นเซลล์ธรรมชาติ ซึ่งใช้สำหรับการเกิดเนื้อเยื่อใหม่ สำหรับซ่อมแซมเนื้อเยื่ออ่อน การจัดการหนึ่งของคอลลาเจนเป็นองค์ประกอบเซลล์ธรรมชาติที่มีสมบัติทางชีววิทยาซึ่งเป็นที่ยอมรับสำหรับการใช้ประโยชน์ของเนื้อเยื่อวิศวกรรม โคพอลิเมอร์ collagen-glycosaminoglycan (GAG) ถูกนำมาสร้าง scaffold สำหรับเนื้อเยื่อวิศวกรรมโดยการเปลี่ยนลักษณะคอลลาเจน (เจลาติน) เพื่อผลิตวัสดุรูพรุนสำหรับซ่อมแซมเนื้อเยื่อ ในด้านอื่นที่เกี่ยวข้องกับคอลลาเจน อาจจะมีการส่งต่อของโรค การต่อต้านเชื้อโรค การจัดการและสมบัติเชิงกลที่ไม่ดี และการควบคุมการเสื่อมสลายทางชีวภาพได้น้อย ส่วนกลุ่มอื่นๆของเส้นใยโปรตีนธรรมชาติ คือไหม ซึ่งใช้ในกระบวนการสิ่งทอมา 20 ปี และใช้ในการเย็บแผลมา 10 ปี เพราะว่ามีสมบัติเชิงกลดีเยี่ยมถึงดี ถึงแม้ว่าไหมเป็นลักษณะของวัสดุที่ไม่เสื่อมสลาย แต่สามารถเสื่อมสลายในกตไกของเอนไซม์ได้ อย่างไรก็ตามอัตราการเสื่อมสลายจะช้ามาก ซึ่งอาจจะเกี่ยวเนื่องกับการเป็นพิษต่อเซลล์ จึงได้มีการปรับเปลี่ยนทางเคมีของวัสดุใหม่เพื่อเพิ่มความสามารถที่เข้ากันได้ และชนิดของไหมอื่นๆ เช่น ไหมแมงมุมและไหมพันธุวิศวกรรม ส่วนพอลิแซคคาไรด์เป็นประเภทของพอลิเมอร์ธรรมชาติ ตัวอย่าง เช่น alginate, chitosan และ hyaluronate จะใช้เป็น scaffold รูพรุนเนื้อเยื่อวิศวกรรม solid-state ดังนั้น โมเลกุลธรรมชาติขนาดใหญ่ที่บริสุทธิ์จะสกัดมาจาก เนื้อเยื่อสัตว์หรือเนื้อเยื่อพืช

2.4.2 การสังเคราะห์เนื้อเยื่อวิศวกรรม [15]

มีวิธีการหลายแบบสำหรับการเตรียมโครงสร้างรูพรุนเพื่อใช้เป็นเนื้อเยื่อวิศวกรรม (Scaffold) เทคนิคแต่แบบจะมีประโยชน์และข้อเสีย ดังนี้

(1) *Textile technologies* : เทคนิคนี้จะใช้สำหรับการเตรียม เส้นใยที่ไม่ทอของพอลิเมอร์ ตัวอย่างเช่น โครงสร้างของพอลิไกลโกลิด (Polyglycolide) ใช้ประโยชน์เป็นเนื้อเยื่อวิศวกรรม โครงสร้างเส้นใยเป็นประโยชน์ต่อการเกิดเซลล์ที่แตกต่างกัน ข้อเสียคือยากที่จะได้รูพรุนจำนวนมากและขนาดรูเท่าๆกัน

(2) *Solvent casting and Particulate leaching (SCPL)* : วิธีการนี้ โครงสร้างรูพรุนจะมีขนาดรูเท่าๆกัน แต่ความหนาถูกจำกัด พอลิเมอร์เริ่มต้นจะละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (เช่น กรดพอลิแลคติก ละลายใน ไดคลอโรโรมีเทน (Dichloromethane)) สารละลายก็จะถูกเทไปในโมลจนเต็มพร้อมกับอนุภาคโปรเจน (Porogen) โปรเจนเป็นเกลืออนินทรีย์ เช่น โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride) ผลึกของ saccharose เจลาติน (Gelatin) หรือ พาราฟิน (Paraffin) ขนาดของอนุภาคโปรเจนจะมีผลต่อรู Scaffold ขณะที่อัตราของพอลิเมอร์กับโปรเจนสัมพันธ์กันโดยตรงต่อจำนวนของรูพรุนในโครงสร้าง จากนั้นปล่อยให้ตัวทำละลายอินทรีย์ระเหย นำพอลิเมอร์จุ่มลงในอ่างของของเหลวสำหรับละลายโปรเจน ในกรณีของโซเดียมคลอไรด์จะใช้น้ำ saccharose และเจลาตินจะใช้น้ำ ตัวทำละลายอะลิฟาติก เช่น เฮกเซน (Hexane) ใช้สำหรับพาราฟิน โปรเจนละลายอย่างสมบูรณ์ โครงสร้างรูพรุนก็เกิดขึ้น มีความหนาเล็กน้อย ข้อเสียของ SCPL คือใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งต้องเอาออกอย่างสมบูรณ์ เพื่อหลีกเลี่ยงความเสียหายต่อเซลล์บน scaffold

(3) *Gas foaming* : เทคนิคนี้จะใช้ก๊าซเป็น โปรเจนพัฒนารูปร่างโครงสร้าง พอลิเมอร์จะถูกเตรียมโดยการอัดในแม่พิมพ์ร้อน ภาชนะจะถูกวางในอ่างขนาดใหญ่ที่เปิด ให้ความดัน CO_2 สูง ความดันภายในอ่างขนาดใหญ่จะเป็นสภาวะของชั้นบรรยากาศ ขณะนี้รูพรุนก็จะเกิดขึ้นโดยโมเลกุลคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยไว้ในพอลิเมอร์ เป็นผลให้โครงสร้างคล้ายฟองน้ำ ปัญหาส่วนใหญ่ของเทคนิคนี้ได้แก่ใช้ความร้อนมากเกินไปขณะการอัด

ในแม่พิมพ์ (ข้อห้าม ในการรวมกัน อุณหภูมิวัสดุอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเมตริกซ์พอลิเมอร์) และโดยข้อเท็จจริงนั้นรูจะไม่เชื่อมกัน

(4) *Emulsification/Freeze-drying* : เทคนิคนี้ไม่ต้องการใช้โปรเจกต์ของแข็งเหมือน SCPL พอลิเมอร์สังเคราะห์ละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสม (เช่น กรดพอลิแลกติก ละลายในไดคลอโรโรมีเทน) เติมน้ำลงในสารละลายพอลิเมอร์ ของเหลวทั้งสองจะผสมกันได้เป็นอิมัลชัน ก่อนที่ของเหลวจะแยกกัน อิมัลชันจะเทไปในแม่พิมพ์และแข็งเร็วโดยการจุ่มไปในไนโตรเจนเหลว อิมัลชันแข็งนำไป Freeze-drying เพื่อเอาน้ำและตัวทำละลายออก โครงสร้างก็จะเป็รูพรุน การ Emulsification และ Freeze-drying เตรียมได้เร็วเมื่อเทียบกับ SCPL ซึ่งจะไม่ต้องการเวลาการแช่แข็ง ไม่ต้องการใช้ตัวทำละลาย นอกจากนั้นขนาดรูจะเล็กและรูพรุนจะเท่าๆกัน Freeze-drying โดยตัวมันเองใช้เทคนิคทั่วไป จะใช้เตรียมฟองน้ำคอลลาเจน คอลลาเจนจะละลายในอะซิติก สารละลายของกรดอะซิติกหรือ กรดไฮโดรคลอริก ถูกเทภายในแม่พิมพ์ แข็งแข็งกับไนโตรเจนเหลว

(5) *Liquid-liquid phase separation* : คล้ายกับเทคนิคที่ 4 กระบวนการนี้ต้องใช้ตัวทำละลายที่มีจุดหลอมเหลวต่ำเพื่อช่วยต่อการทำให้บริสุทธิ์ เช่น ไดออกเซน (Dioxane) ใช้ละลายกรดพอลิแลกติก เติมปริมาณน้ำเล็กน้อยก็จะแยกเฟสกัน ตามด้วยให้ความเย็นที่ต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของตัวทำละลาย จาก Vacuum-drying เพื่อดึงตัวทำละลายออก ก็จะได้รูพรุนของ Scaffold

2.4.3 สมบัติที่จำเป็นที่สุดของ Scaffold [23]

ความสามารถเข้ากันได้ทางชีวภาพ Scaffold จะต้องรวมเป็นเนื้อเดียวกับเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต

รูพรุนของ scaffold จะต้องมีการเปิดซึ่งทำให้การเชื่อมต่อภายใน โครงสร้างรูพรุน อัตราพื้นที่ผิวต่อพื้นที่ปริมาตรจะกว้าง เซลล์จะเจริญภายใน และเซลล์จะแพร่ตลอด โครงสร้างรู ทำให้ง่ายต่อการมีหลอดเลือดใหม่ของ โครงสร้างเนื้อเยื่อรอบๆ scaffold จะแสดงพฤติกรรม microporosity ที่เพียงพอ รูพรุนและการติดกันนั้นเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการแพร่ของสารอาหารและก๊าซ เพื่อเอาของเสียจากการเผาผลาญออกจากเซลล์ ที่เติบโตภายใน scaffold เป็นลักษณะเฉพาะที่สำคัญใน

เนื้อเยื่อวิศวกรรมกระดูก เพราะเนื่องจากลักษณะการเผาผลาญกระดูก ปริมาณการส่งผ่านของเสียจะมีอัตราสูงเกิดขึ้นภายใต้สภาวะการทดลองการปลูกฝังเนื้อเยื่อ อย่างไรก็ตาม ระดับของรูพรุนจะมีอิทธิพลต่อสมบัติอื่นๆของ scaffold นั่นคือ ความเสถียรทางเชิงกล ดังนั้นค่าจะเท่ากันกับความต้องการเชิงกลของเนื้อเยื่อวิศวกรรมเพื่อใช้ในการแทนที่

ขนาดรูพรุน เป็นประเด็นสำคัญมากๆเพราะถ้ารูที่ใช้ขนาดเล็ก รูจะถูกปิดกั้นโดยเซลล์ที่เกิดขึ้น ซึ่งจะป้องกันเซลล์แทรกซึมเข้าไป ป้องกันการเกิดเมตริกซ์เซลล์พิเศษและป้องกันการเกิดหลอดเลือดใหม่ภายในพื้นที่ของ scaffold โดยที่ขนาดรูภายในเป็น 200-900 μm ซึ่งแล้วแต่แนวคิดที่แตกต่างกัน ที่เป็นที่ต้องการของผู้ทดลอง เชื่อว่ากระดูกที่สร้างขึ้นใหม่ จะได้มาโดยเมตริกซ์ชั่วคราว 3D ซึ่งรูขนาดใหญ่ โครงสร้างจะติดกัน ที่อัตราพื้นที่ผิว/ปริมาตรสูง ง่ายต่อเซลล์เนื้อเยื่อและเส้นเลือดเจริญภายใน อย่างไรก็ตาม จะไม่มีผลต่อสมบัติเชิงกล

สมบัติของพื้นผิว ทั้งทางเคมีและลักษณะรูปร่างสามารถควบคุม และส่งผลกระทบต่อ การติดกันของเซลล์ และการเติบโตของเซลล์

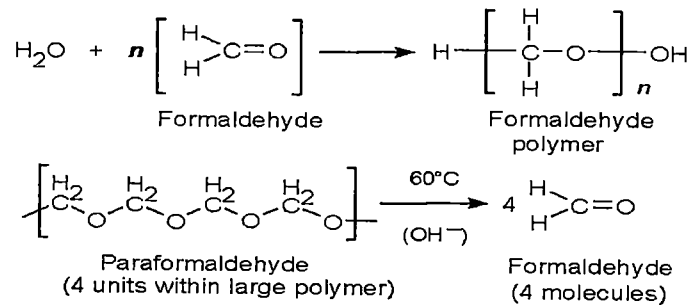
(1) สมบัติทางเคมี จะสัมพันธ์กับความสามารถการติดกันของเซลล์กับวัสดุ นั่นคือ ปฏิกริยาภายในโปรตีนกับวัสดุ

(2) สมบัติของลักษณะรูปร่าง เป็นส่วนที่น่าสนใจเพราะเกี่ยวข้องกับ การสื่อนำกระดูก (Osteoconduction) การสื่อนำกระดูกคือย้ายที่ของเซลล์เนื้อเยื่อกระดูกไปยังผิวของเส้นใย scaffold ซึ่งจะเกิดขึ้นหลังจากการปลูกฝังวัสดุชีวภาพ

2.5 สารก่อกันระเชื่อมโยง [16]

2.5.1 ฟอรั่มัลดีไฮด์ (Formaldehyde)

เป็นก๊าซโมเลกุลเล็ก ๆ จะละลายได้เร็วในน้ำ (HCHO , - CHO เป็นกลุ่ม aldehyde) ซึ่งจะรวมกันทางเคมีเพื่ออยู่ในรูปเมทิลีนไฮเดรต (Methylene hydrate) , $\text{HO} - \text{CH}_2 - \text{OH}$ เป็นรูปแบบของ ฟอรั่มัลดีไฮด์ ในสารละลายปฏิกิริยาเคมีจะเหมือนของฟอรั่มัลดีไฮด์ โมเลกุลเมทิลีนไฮเดรตทำปฏิกิริยากับ โมเลกุลอื่น ๆ เพื่อเป็นพอลิเมอร์ ดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 แสดงปฏิกิริยาการเตรียมพอลิเมอร์ฟอรั่มัลดีไฮด์

(บน) การเตรียมปฏิกิริยาพอลิเมอร์ฟอรั่มัลดีไฮด์

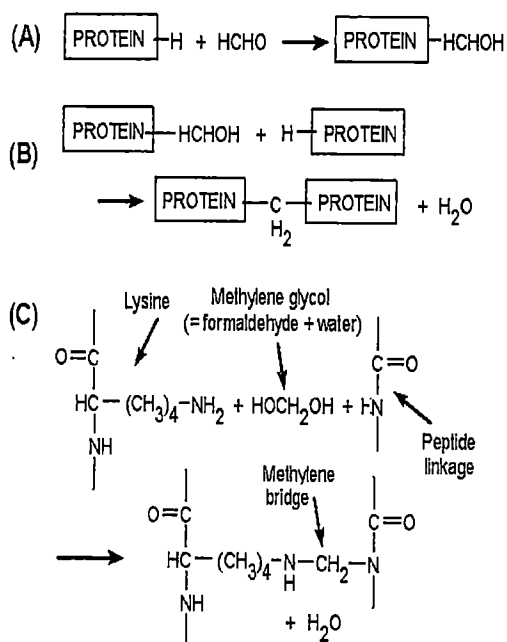
(ล่าง) ปฏิกิริยาการย้อนกลับของ พาราฟอรั่มัลดีไฮด์ (paraformaldehyde) [14]

ของเหลวที่อยู่ในรูปฟอรั่มัลดีไฮด์ (Formalin) มีฟอรั่มัลดีไฮด์ 37-40 % และมีน้ำ 60-63% (โดยน้ำหนัก) ส่วนใหญ่ของฟอรั่มัลดีไฮด์เป็นพอลิเมอร์ที่มี $N = 2 - 8$ (ในสมการของรูปที่ 2.7) แต่ถ้า $n > 100$ ไม่ละลาย ขยายในรูปของผงสีขาว ชื่อพาราฟอรั่มัลดีไฮด์ ใช้ประโยชน์ในฐานะที่เป็นตัวทำให้เสถียร (Monomeric formaldehyde) (หรือเมทิลีนไฮเดรต) การละลายกับน้ำเพื่อแตกพอลิเมอร์เล็ก ๆ ในฟอรั่มัลดีไฮด์ ถ้าใช้น้ำธรรมดาต้องใช้เวลา 2 วัน แต่จะละลายอย่างรวดเร็วทั้งหมดเมื่อฟอรั่มัลดีไฮด์ละลายกับสารละลาย บัฟเฟอร์ (buffer) ที่ pH ของสรีรวิทยา (Physiological) ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ของพอลิเมอร์จะถูกกระตุ้น โดยไฮดรอกไซด์ไอออน (Hydroxide ion) ในสารละลายอัลคาไลน์ (Alkaline) อ่อน ๆ ดังรูปที่ 2.7 โมเลกุลพอลิเมอร์ใหญ่ในพาราฟอรั่มัลดีไฮด์ ต้องการพลังงานมาก ๆ เพื่อการเกิดของไฮดรอกไซด์ไอออน

2.5.1.1 ปฏิกิริยาของฟอรั่มัลดีไฮด์ กับโปรตีน

หมู่อัลดีไฮด์ (Aldehyde) จะรวมกับ N และบางอะตอมอื่นของโปรตีนหรือทั้ง 2 อะตอม ก่อให้เกิดการ cross-link- CH_2 - เรียกว่าเมทิลีนบริดจ์ (Methylene bridge) การศึกษาทางเคมีของการพอกหนังนั้น ประเภทที่พบส่วนใหญ่ของการก่อกันระเชื่อมโยง โดยฟอรั่มัลดีไฮด์ในคอลลาเจน (Collagen) คือระหว่างอะตอม N ที่ปลายของสายโซ่ของไลซีน (Lysine) และอะตอม N ของ เปปไทด์ลิงเกจ (Peptide linkage) (ดังรูปที่ 2.8) และจำนวนของพันธะเชื่อมโยงจะเพิ่มขึ้นตามเวลา การพอกหนังของคอลลาเจน สามารถเปรียบเทียบกับวัสดุที่ทำให้แข็ง

(Hardening) ของเนื้อเยื่อโดยสารทำให้แข็งตัว (Fixative) การทำให้แข็งตัวจากฟอร์มาลดีไฮด์อาจจะเหมาะที่จะกระทำต่อ โปรตีน โดยรวมกันขั้นแรกของฟอร์มาลดีไฮด์กับ โปรตีน จะสมบูรณ์ใน 24 ชั่วโมง แต่จะอยู่ในรูปของเมทิลีนบริดจ์ซึ่งดำเนินการซ้ำมาๆ สารอย่างเช่นพวก คาร์โบไฮเดรต ลิพิด (Lipids) และกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) จะติดอยู่ในตัวเมทริกซ์ที่ไม่ละลายและจะเชื่อมโยงกับโมเลกุลโปรตีน ซึ่งจะไม่ถูกเปลี่ยนแปลงทางเคมีโดยฟอร์มาลดีไฮด์ นอกจากต้องใช้เวลาเพิ่มขึ้น



รูปที่ 2.8 ปฏิกิริยาการเชื่อมโยงด้วยฟอร์มาลดีไฮด์

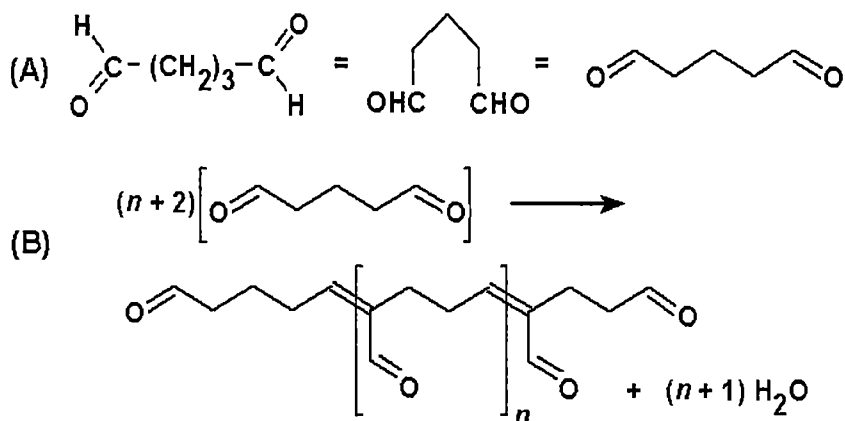
(A) เดิมโมเลกุลฟอร์มาลดีไฮด์ไปใน โปรตีน

(B) ปฏิกิริยาของฟอร์มาลดีไฮด์กับ โมเลกุลโปรตีนอื่นอยู่ในรูปของเมทิลีนบริดจ์ cross-link

(C) การ เกิดพันธะเชื่อมโยงของสายโซ่โพลีเพปไทด์กับฟอร์มาลดีไฮด์ [14]

2.5.2 กลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) [16]

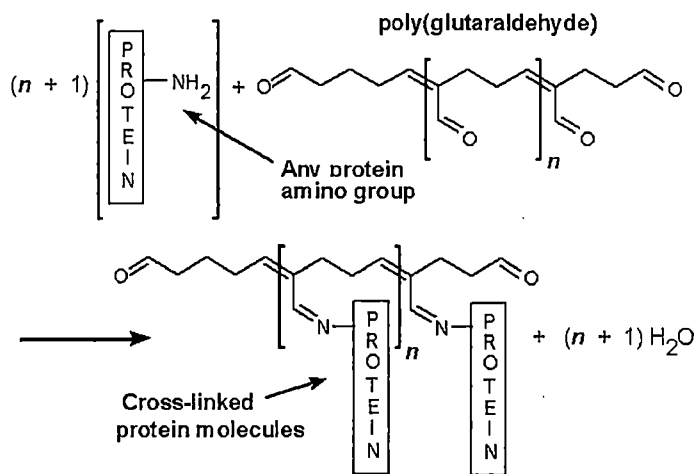
กลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) เป็นโมเลกุลเล็ก ๆ ที่เหมาะสม ในโมเลกุลมีหมู่อัลดีไฮด์ (Aldehyde) 2 หมู่ ถูกแยกโดยโซ่ยึดหยุ่นของ 3 เมทิลีนบริดจ์ (Methylene bridges) คือ $\text{HCO}-(\text{CH}_2)_3-\text{CHO}$ อาจใช้เป็นตัวก่อพันธะเชื่อมโยง เห็นได้ชัดมากกว่าฟอร์มาลดีไฮด์ เพราะเกิดผ่าน หมู่อัลดีไฮด์ทั้ง 2 ทาง $-\text{CHO}$ ในสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ หมู่อัลดีไฮด์เป็นอิสระ จะยึดติดกับด้านข้างของแต่ละหน่วยของโมเลกุลพอลิเมอร์ (ดังรูปที่ 2.9) ที่แต่ละปลาย หมู่ทั้งหมด $-\text{CHO}$ จะรวมกับ N โปรตีนภายในการสัมผัสเป็นไปได้มาก สำหรับการก่อพันธะเชื่อมโยง หมู่อัลดีไฮด์ส่วนเกินมากมายจะไม่สามารถออกจากเนื้อเยื่อ (ดังรูปที่ 2.10)



รูปที่ 2.9 แสดงปฏิกิริยาพอลิเมอร์กลูตาราลดีไฮด์ [14]

(A) 3 โมเลกุลที่แสดงของมอนอเมอร์กลูตาราลดีไฮด์ (monomeric glutaraldehyde)

(B) ปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันของกลูตาราลดีไฮด์ แสดงสายโซ่อัลดีไฮด์ในแต่ละหน่วยพอลิเมอร์

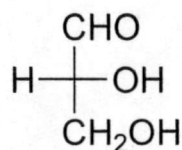


รูปที่ 2.10 ปฏิกิริยาของพอลิกลูตาราลดีไฮด์กับกลุ่มอะมิโนของโปรตีน [14]

2.5.3 ไกลเซอร์ราลดีไฮด์ (Glyceraldehyde) [17]

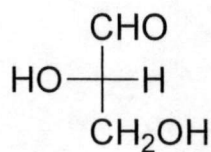
ไกลเซอร์ราลดีไฮด์ (Glyceraldehyde) เป็น trios monosaccharide สูตรทางเคมี $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ เป็น Aldoses โดยทั่วไป ซึ่งเป็นผลึกของแข็ง ไม่มีสี และมีความหวาน ใช้เป็นตัวกลางการผสมในกลไกของคาร์บอไฮเดรต

โมโนแซคคาไรด์ เกิดอิสระในธรรมชาติและส่วนมากเกิดเป็นองค์ประกอบของ โอลิโกแซคคาไรด์ พอลิแซคคาไรด์ และไกลโคไซด์ โมโนแซคคาไรด์ ขึ้นต้นมีหมู่ไฮดรอกซิล และหมู่คาร์บอนิล อะตอมคาร์บอนจะไม่สมมาตรกัน เช่น Aldotrios-glyceraldehyde



D-Glyceraldehyde

$$[\alpha]_D^{25} = + 13.5^\circ$$



L-Glyceraldehyde

$$[\alpha]_D^{25} = - 13.5^\circ$$

รูปที่ 2.11 แสดงสูตร โครงสร้างทางเคมีของไกลเซอร์ราลดีไฮด์

2.6 โพรเจน (Porogen) [18-19]

รูพรุนตัวของไฮโดรเจลถูกเตรียมโดยใช้เกลือ น้ำตาลหรือผลึกน้ำแข็ง รูพรุนของวัสดุไฮโดรเจลจะตั้งผลเนื่องจากการแขวนลอยที่อิมิตวียังยวคของโพรเจนในสารละลายมอนอเมอร์ โพรเจนจะต้องไม่ละลายในสารละลายมอนอเมอร์ แต่จะละลายในสารละลายการชะล้างที่ใช้ โดยที่โซเดียมคลอไรด์ชอบใช้เป็นโพรเจน ส่วนโพแทสเซียมคลอไรด์ น้ำแข็ง น้ำตาลและโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ก็จะถูกนำมาใช้ ซึ่งจะควบคุมขนาดอนุภาคโพรเจนที่น้อยกว่า 25 ไมครอน ซึ่งควรเลือกให้น้อยกว่า 10 ไมครอน ขนาดเล็กๆจะช่วยให้การแขวนลอยของโพรเจนในตัวทำละลาย ความเข้มข้นของโพรเจนอยู่ในช่วงจาก 5% w/w – 50% w/w โดยการเลือก 10% w/w – 20% w/w ในสารละลายของมอนอเมอร์

ตัวอย่างโพรเจนที่ใช้

2.6.1 โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride)



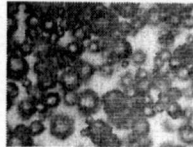
ผลึกเกลือโซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride)

ด้วยกล้อง OM (400 เท่า)

สูตร โมเลกุล	NaCl
คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี	เป็นผลึกของแข็ง สีขาว ไม่มีกลิ่น
น้ำหนักโมเลกุล	58.44
จุดเดือด	1465 °C
จุดหลอมเหลว/จุดเยือกแข็ง	~800 °C
ความถ่วงจำเพาะ(น้ำ=1)	2.16
ความสามารถในการละลายน้ำที่(กรัม/100 มล.)	37
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	5-8
ความคงตัวและการเกิดปฏิกิริยา	
ความคงตัว	สารนี้มีความเสถียร

สารที่เข้ากันไม่ได้	ทำปฏิกิริยากับโบรมีน ไตรฟลูออไรด์ (BF ₃), โบรอน ไตรออกไซด์และแคลเซียมออกไซด์ (B ₂ O ₃ +CAO) และกรดซัลฟูริก โซเดียม สังกะสี
สารอันตรายจากการสลายตัว	ฟุม/ก๊าซพิษของคลอไรด์ (Cl-) เกิดเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 1600 °C
เมื่อสัมผัสกับความชื้นสูง จะทำให้เกิดไอระเหยที่ฤทธิ์ระคายเคืองขึ้น	
<u>อันตรายต่อสุขภาพอนามัย</u>	
สัมผัสทางหายใจ	การหายใจเข้าไปจะทำให้เกิดการระคายเคืองจมูก คอ และ ปอด
สัมผัสทางผิวหนัง	การสัมผัสถูกผิวหนังทำให้ระคายเคือง การสัมผัสเป็นเวลานานจะทำให้ปวดแสบปวดร้อนและแผลไหม้
กินหรือกลืนเข้าไป	การกลืนกินเข้าไปทำให้ระคายเคืองกระเพาะอาหาร และลำไส้ ทำให้คลื่นไส้และอาเจียน
สัมผัสถูกตา	การสัมผัสถูกตา ทำให้เกิดการระคายเคือง ต่อตา ตา แดง เจ็บตา
การก่อมะเร็ง	สารนี้ถูกรายงานว่าเป็นสารไม่ก่อให้เกิดมะเร็งโดย NTP, IARC, OSHA
ความผิดปกติอื่น ๆ	การสัมผัสกับสารเป็นระยะเวลานานหรือการสัมผัสสารซ้ำ จะทำให้เกิดแผลพุพอง

2.6.2 แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium chloride)



ผลึกเกลือแอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium chloride)

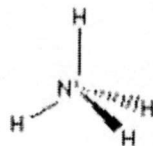
ตัวอย่าง OM (400 เท่า)

สูตรโมเลกุล



Cl⁻

สูตรโครงสร้าง



คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

ผลึกหรือเม็ดเล็ก สีขาว ไม่มีกลิ่น

น้ำหนักโมเลกุล

53.49

จุดเดือด

520 °C

จุดหลอมเหลว/จุดเยือกแข็ง

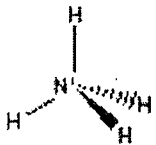
338 °C

ความถ่วงจำเพาะ(น้ำ=1)

1.53

ความสามารถในการละลายน้ำที่(กรัม/100 มล.)	>10
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	4.5-5.5
<u>ความคงตัวและการเกิดปฏิกิริยา</u>	
ความคงตัว	สารนี้มีความเสถียร
สารที่เข้ากันไม่ได้	สารออกซิไดส์อย่างแรง, กรดเข้มข้น, เบสเข้มข้น โลหะทุกชนิด โบรมีน ไตรฟลูออไรด์เงิน และ สารประกอบของเงิน
สถานะที่ควรหลีกเลี่ยง	ความชื้น ความร้อน
<u>อันตรายต่อสุขภาพอนามัย</u>	
สัมผัสทางหายใจ	การหายใจเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคืองทางเดินหายใจส่วนบน
สัมผัสทางผิวหนัง	การสัมผัสถูกผิวหนังจะก่อให้เกิดการระคายเคือง ถ้าสัมผัสสารติดต่อกันเป็นเวลานานๆ ทำให้ผิวหนังอักเสบ
กินหรือกลืนเข้าไป	การกลืนหรือกินเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคือง ทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน แสบไหม้บริเวณปากและท้อง เป็นอันตรายต่อร่างกาย
สัมผัสถูกตา	การสัมผัสถูกตาจะก่อให้เกิดการระคายเคือง
การก่อมะเร็ง	สารนี้เป็นสารก่อมะเร็ง
ความผิดปกติ อื่น ๆ	สารนี้มีผลทำลายปอด หัวใจ และทรวงอก

2.6.3 แอมโมเนียมฟลูออไรด์ (Ammonium Fluoride)

สูตร โมเลกุล	NH_4F
	F ⁻
	
สูตร โครงสร้าง	
คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี	เป็นผลึก สีขาว ไม่มีกลิ่น
น้ำหนักโมเลกุล	37.04
ความถ่วงจำเพาะ(น้ำ=1)	1.015
ความสามารถในการละลายน้ำที่(กรัม/100 มล.)	ได้
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	6
<u>ความคงตัวและการเกิดปฏิกิริยา</u>	
ความคงตัว	สารนี้มีความเสถียร คาร์บอนมอนอกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์ ควีน และไอระเหย
สารที่เข้ากันไม่ได้	กรด ClF_3

สภาวะที่ควรหลีกเลี่ยง	อุณหภูมิสูง
สารอันตรายจากการสลายตัว	ฟลูออไรด์, แอมโมเนีย, ไนโตรเจนออกไซด์ (NO _x)
<u>อันตรายต่อสุขภาพอนามัย</u>	
สัมผัสทางหายใจ	ถ้าหายใจเข้าไป จะรบกวนการเดินของหัวใจ อาจทำให้เสียชีวิต
สัมผัสทางผิวหนัง	ถ้าสัมผัสถูกผิวหนัง ทำให้แสบไหม้
กินหรือกลืนเข้าไป	ถ้ากลืนหรือกินเข้าไป จะเป็นพิษที่กระเพาะอาหารและลำไส้ มีอาการของกระดูกเนื่องมาจากฟลูออรีนอาการชัก หลอดเลือดผิดปกติ อาจทำให้เสียชีวิต
สัมผัสถูกตา	ถ้าสัมผัสถูกตา ทำให้แสบไหม้
การก่อมะเร็ง	สารนี้ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง ตามบัญชีรายชื่อของ IARC, NTP, OSHA
ความผิดปกติ อื่น ๆ	สารนี้มีฤทธิ์กัดกร่อน

2.6.4 แอมโมเนียม โมลิบเดต 4-ไฮดรต (Ammonium molybdate)



ผลึกเกลือแอมโมเนียม โมลิบเดต 4-ไฮดรต (Ammonium molybdate)

ด้วยกล้อง OM (400 เท่า)

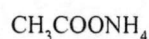
สูตร โมเลกุล	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·H ₂ O
<u>คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี</u>	เป็นผลึก ไม่มีสีจนถึงสีเขียวเหลือง กลิ่นแอมโมเนีย
น้ำหนักโมเลกุล	1235.86
จุดเดือด	520 °C
จุดหลอมเหลว/จุดเยือกแข็ง	338 °C
ความถ่วงจำเพาะ(น้ำ=1)	2.276
ความสามารถในการละลายน้ำที่(กรัม/100 มล.) ละลายง่ายในน้ำเย็น น้ำร้อน	
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	5.0 - 5.5

อันตรายจากสารพิษ

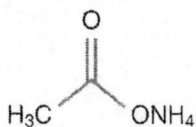
การก่อมะเร็ง	สารนี้ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง
สารพิษพิเศษ	ก๊าซพิษที่เป็นผลิตภัณฑ์ แอมโมเนีย
ผลกระทบจากการได้รับสารพิษ	ทำให้ระคายเคืองต่อจมูกและลำคอ อาจทำให้ปวดศีรษะ ไอกระแอม ปวดศีรษะ หายใจลำบาก

2.6.5 แอมโมเนียมอะซิเตท (Ammonium Acetate)

สูตร โมเลกุล



สูตร โครงสร้าง

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

เป็นผลึกแข็ง สีขาว

น้ำหนัก โมเลกุล

77.08

จุดหลอมเหลว/จุดเยือกแข็ง

114°C

ความถ่วงจำเพาะ(น้ำ=1)

1.07

ความสามารถในการละลายน้ำที่(กรัม/100 มล.) ละลายน้ำ

ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

7

อันตรายจากสารพิษ

สัมผัสทางหายใจ

เป็นอันตรายเมื่อหายใจเข้าไป จะระคายเคืองจมูก
ลำคอ และปอด เป็นเหตุให้เกิดการไอ หอบ หรือ
หายใจสั้น

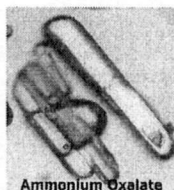
สัมผัสทางผิวหนัง

ถ้าสัมผัสถูกผิวหนังจะระคายเคือง

สัมผัสถูกตา

ถ้าสัมผัสถูกตา ทำให้ไหม้

2.6.6 แอมโมเนียมออกซาเลต โมโนไฮเดรต (Ammonium Oxalate monohydrate)



Ammonium Oxalate

ผลึกเกลือแอมโมเนียมออกซาเลต โมโนไฮเดรต (Ammonium Oxalate monohydrate)

ด้วยกล้อง OM (400 เท่า)

สูตร โมเลกุล

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

เป็นผลึกหรือเป็นเม็ด ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น

น้ำหนัก โมเลกุล

142.11

จุดหลอมเหลว/จุดเยือกแข็ง

70°C

ความถ่วงจำเพาะ(น้ำ=1)

1.50

ความสามารถในการละลายน้ำ

11.8 g/100 g ของน้ำ ละลายที่ 50 °C

ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

6.4

อันตรายจากสารพิษ

สัมผัสทางหายใจ

เป็นอันตรายเมื่อหายใจเข้าไป จะระคายเคืองจมูก
ลำคอ และปอด เป็นเหตุให้เกิดการไอ หอบ หรือ
หายใจสั้น

สัมพัทธ์ทางผิวหนัง

ถ้าสัมพัทธ์ผิวหนังจะระคายเคืองอาจทำให้ผิวไหม้

สัมพัทธ์สุกตา

ถ้าสัมพัทธ์สุกตา ทำให้ไหม้และปวดทรมาน

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Y. Gotoh และคณะ [20] นำสารละลายใหม่ไฟโบรอินผสมกับสารละลายโซเดียมบอเรทที่เติม poly(ethylene glycol) (actPEG) แล้วนำของผสมมาเจือจางกับ ฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (pH7) จากนั้นนำไปกรอง แล้วนำไปเจือจางกับน้ำกลั่น ก็จะได้สารละลาย PEG2-SF เข้มข้น 1.5 % (w/v) และเตรียมฟิล์ม โดยนำสารละลายดังกล่าวไปหล่อบนฟิล์ม PE แล้วปล่อยให้แห้ง จากนั้นนำฟิล์มไปจุ่มในเมทานอล เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำฟิล์มไปทำการทดสอบ ผลการทดสอบด้วย FTIR และ DSC จะแสดงผลของการปรับเปลี่ยนโครงสร้างจาก random coil ไปเป็น β -sheet และผลการทดสอบ water content และ contact angles จะแสดงความชอบน้ำที่เพิ่มขึ้นของผิวฟิล์ม PEG2-SF เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มใหม่ไฟโบรอิน ที่ไม่มี PEG ส่วนผลของการเพาะเซลล์และการเติบโตของเซลล์ Fibroblast cell (L-929) จะมีค่าต่ำมากบนฟิล์ม PEG2-SF ซึ่งอธิบายได้ว่าความชอบน้ำของผิวที่เพิ่มขึ้นจากการปรับเปลี่ยนผิวของใหม่ไฟโบรอิน ด้วย PEG จะทำให้สายโซ่ PEG เคลื่อนที่ได้มากในน้ำ ทำให้การเพาะเซลล์และการเติบโตของเซลล์ไม่เกิดขึ้น จากผลการทดสอบนี้ แสดงว่าสายโซ่ PEG จะขัดขวางการเพาะเซลล์และการเติบโตของเซลล์ ทำให้ไม่สามารถเชื่อมต่อกันได้ทางชีวภาพ แต่จะมีประโยชน์ต่อวัสดุทางการแพทย์ในเรื่องเป็นวัสดุที่กีดขวางการติดกันของเซลล์

H. Kweon และคณะ [21] ทำการศึกษาการเตรียมฟิล์มผสมระหว่างสารละลายใหม่ไฟโบรอินกับสารละลายไคโตซานในกรดอะซิติก 2% ที่อัตราส่วนต่างๆ จากนั้นนำไปตรวจสอบด้วย FTIR, XRD, DTG, DSC และ SEM ซึ่งผลการทดสอบด้วย FTIR, XRD และ DSC จะแสดงลักษณะโครงสร้างของฟิล์มผสมเป็น β -sheet เนื่องจากการอะซิติกที่ใช้ในการละลายไคโตซาน โดยเกิดปฏิกิริยาภายในระหว่าง *Antherea pernyi* SF และไคโตซาน ซึ่งมีอิทธิพลจากหมู่ NH ของ SF และ C=O, NH₂ ของไคโตซาน นั่นคือ ตัวทำละลายกรดอะซิติกจะเหนี่ยวนำความเป็นผลึกโดยเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจาก random coil ไปเป็น β -sheet ส่วนการทดสอบ SEM ของผิวที่แตกหักของฟิล์มผสม ฟิล์มผสมที่มีไคโตซาน 25% จะมีรูปร่างสม่ำเสมอ ส่วนฟิล์มผสมที่มีไคโตซานมากกว่า 40% จะแสดงอนุภาคกลมๆที่ฝังอยู่ในเนื้อเมตริกซ์ ซึ่งจะถูกแยกเฟสเป็น 2 องค์ประกอบของ SF และไคโตซาน

M. Li และคณะ [22] ทำการศึกษาการเตรียม porous จากการผสมระหว่างไฟโบรอิน / PVA ที่อัตราส่วนต่างๆ แบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกทำ Freeze-dried โดยนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80, -50, -20 และ -10 องศาเซลเซียสที่แช่แข็งมาละลายที่อุณหภูมิ 25 °C ทำอย่างนี้ซ้ำไปซ้ำมาตามจำนวนครั้งที่ต้องการ คือ 2, 4, 6 และ 10 แล้วนำไปทำการทดสอบด้วย XRD, SEM และสมบัติเชิงกล ผลจากการทดสอบ XRD แสดงความเป็นผลึกของเจลผสม SF-PVA ที่อัตราส่วน 50/50 และพบว่าอุณหภูมิการแช่แข็งที่ต่ำมากๆ มีความเป็นผลึกสูง ส่วนที่สอง SF-PVA ที่เตรียมจาก Air-dried จะมีความเป็นผลึกที่สูงกว่าจากการ Freeze-dried ทดสอบสมบัติเชิงกลของเจล SF-PVA ที่ได้จาก Air-dried ซึ่งมี PVA มากกว่า 50% และอุณหภูมิการแช่แข็งที่ต่ำมากๆ จะเพิ่มความแข็งแรงเชิงกลให้กับเจล และผลของการนำเจลมาแช่แข็ง-ละลาย ซ้ำมาซ้ำไปหลายรอบ จะเกิดขนาดรูพรุนและความเป็นรูพรุนจะเพิ่มขึ้นเมื่อการแช่แข็ง-ละลาย จำนวนรอบมากขึ้น

M. Li และคณะ [23] ทำการศึกษาฟิล์มใหม่ไฟโบรอินของไหมป่า *Antherea pernyi* ที่ได้จากสารละลายใหม่ไฟโบรอินและทำการเชื่อมโยงด้วยสารละลาย PEG-DE ที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วไปหล่อในงาน PE เพื่อเป็นฟิล์ม จากนั้นนำฟิล์มไปทดสอบด้วย FTIR, XRD, DSC, ค่าการละลาย และการทดสอบสมบัติเชิงกล ผลการ

ทดสอบค่าการละลายน้ำของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ไม่มีการผสมกับ PEG-DE จะละลายน้ำได้ถึง 40 % ส่วนที่มี PEG-DE จะไปปรับปรุงการต้านทานการละลายน้ำของฟิล์มไหมไฟโบรอิน เมื่อเติม PEG-DE 20% จะมีการละลายลดน้อยลง 3% ส่วนการตรวจสอบด้วย FTIR ซึ่งแสดงโครงสร้างโมเลกุลไหมไฟโบรอินพบว่าการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการผสม PEG-DE โดยมีพีค 949 และ 1103 ซึ่งเป็นพีคของ PEG และผลจาก XRD ของฟิล์มที่ไม่มี PEG-DE และที่มี PEG-DE ที่ 10, 20 และ 30% พบว่า มีโครงสร้างเป็น α -helix อันเนื่องมาจากผลึกของ A pernyi fibroin แสดงว่าการมี PEG-DE ในฟิล์มไหมไฟโบรอินจะไม่เปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลของไหมไฟโบรอิน ส่วนผลการทดสอบเชิงกลนั้น ฟิล์มที่มีการผสมด้วย PEG-DE มากกว่า 25% จะเพิ่ม Tensile strength, Elongation at break และความยืดหยุ่น ผลของการผสมด้วย PEG-DE จะปรับปรุงสมบัติเชิงกลที่ค้ำขึ้น ต้องเติม PEG-DE ในช่วง 15-20% แสดงว่า PEG-DE จะเกิดการเชื่อมโยงกับไหมไฟโบรอิน

R. Nazarov และคณะ [24] ได้ทำการศึกษาการเกิดรูพรุน 3 มิติจากกระบวนการ Freeze-drying, Salt leaching และ Gas foaming จากวัสดุไหมธรรมชาติ แล้วนำไปทำการทดสอบ SEM, FTIR, XRD สมบัติเชิงกล และความหนาแน่น ความพรุนตัวของ Scaffold ซึ่งผลมาจากการทดสอบจากวิธี Salt leaching จะมีรูพรุนอยู่ระหว่าง 84-98% ความแข็งแรงเชิงกล 175 ± 3 KPa ส่วน Scaffold จากวิธี Gas foamed จะมีรูพรุน 87-97% ความแข็งแรงเชิงกล 280 ± 4 KPa และ Scaffold จากวิธี Freeze-drying เตรียมที่อุณหภูมิแช่แข็ง (-80 และ -20 °C) และเตรียมที่ระดับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ (15 และ 25%) รูพรุนของ scaffold จะสูงถึง 99% และความแข็งแรงเชิงกลที่มากที่สุดเป็น 30 ± 2 KPa เมื่อเปรียบเทียบผลจากการทดสอบพบว่า เทคนิค Salt leaching และ Gas foaming มีสมบัติการอัดตัวและการเกิดรูพรุนที่สัมพันธ์กับวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก รวมถึงความแข็งแรงเชิงกลที่สูง การเชื่อมต่อกายในรูพรุนดี และขนาดรูมากกว่า 10 microns ส่งผลให้สามารถใช้ประโยชน์ในการประยุกต์ใช้วัสดุทางธรรมชาติ แต่ Scaffold จากวิธี Gas foaming จะมีสมบัติการอัดตัว การเกิดรูพรุน และการกระจายตัวของรูที่สม่ำเสมอกว่า ซึ่งสัมพันธ์ต่อวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกมีการเชื่อมต่อกายในเซลล์สูง และอัตราการเสื่อมสภาพที่ช้า

S.B. Lee และคณะ [25] ได้ทำการศึกษาการเตรียม scaffold จากของผสมระหว่าง β -ไคติน กับคอลลาเจน โดยนำไคตินมาละลายในสารละลาย LiCl-DMAc จากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ ที่อัตราส่วน 100, 300, 500 และ 700 g/g (NaCl/ β -chitin (ความเข้มข้นสารละลาย β -chitin 1%w/v)) แล้วนำมาขึ้นรูป scaffold ที่ได้นั้นนำมาละลายกับน้ำกลั่นเพื่อละลายเอาเกลือออก แล้วนำเจลไคตินไปแช่แข็งที่ -75 °C เสร็จแล้วนำไป freeze-dried ก็จะได้ β -chitin scaffold ต่อจากนั้นนำไปจุ่มในสารละลายคอลลาเจน ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 wt% แล้วนำกลับไปแช่แข็งอีกครั้งที่ -75 °C ตามด้วย freeze-dried คอลลาเจนจะเกิดภายในรูพรุนของไคติน scaffold เสร็จแล้วนำไป crosslink ด้วย UV ในแต่ละด้านของ scaffold แล้วนำไปทำการทดสอบ ผลของการทดสอบพบว่าถ้าความเป็นรูพรุนและการเชื่อมต่อกายในเพิ่มขึ้นนั้น จะเกี่ยวข้องกับจำนวนเกลือที่เติมภายในสารละลายไคติน โดยที่อัตราส่วนของเกลือ/สารละลายไคติน ที่ 500(C5) และ 700(C7) g/g จะมีรูปร่างผิวที่เหมาะสม เนื่องจากความเป็นรูพรุนที่สูง ทำให้เซลล์ส่งผ่านเข้าไปได้ดีภายใน scaffold ฉะนั้นคือ ขนาดรูและความเป็นรูพรุนของไคติน scaffold จะถูกปรับเปลี่ยนได้ โดยขนาดและอัตราส่วนน้ำหนักของอนุภาคโซเดียมคลอไรด์ที่ใช้ ส่วนในเรื่องการสัมผัสเซลล์ จะเห็นว่าที่ความเข้มข้นต่ำ (0.1wt%) ของคอลลาเจนจะเกิดเป็นเส้นใยคล้ายตาข่าย ซึ่งจะเหมาะสมต่อการสัมผัสเส้นใยขั้นเริ่มต้น นั่นคือโครงสร้างที่คล้ายตาข่ายจะเกิดที่ว่างสำหรับเซลล์ เพื่อเคลื่อนที่อย่างอิสระภายในไคติน scaffold และเส้นใยเนื้อเยื่อจะแพร่ได้ดีภายใน scaffold ในทางตรงกันข้าม ถ้าความเข้มข้นคอลลาเจนสูงมาก ๆ เป็นเหตุให้โครงสร้างยุบลง เพราะความหนืดของคอลลาเจนสูง ส่วนไคติน scaffold ที่ไม่มีคอลลาเจนจะมีการสัมผัสเซลล์ที่น้อยมากเพราะมีการ Deacetylation ที่ต่ำและเซลล์ไม่ยอมรับ ส่วนในเรื่องสมบัติเชิงกล ในการใช้

จำนวนเกลือมาก ๆ จะต้องการสำหรับ ความเป็นรูปพรุนและการเชื่อมต่อภายในรูที่สูงนั้น จะส่งผลต่อความแข็งแรงเชิงกลของ scaffold จะทำให้ไม่แข็งแรงเพราะความหนาของผนัง scaffold ลดลง เนื่องจากปริมาณเกลือเพิ่มขึ้น

Y. Liu และคณะ [26] ได้ทำการศึกษา การผสมฟิล์มจากไหมไฟโบรอิน (SF) กับไนลอน 66 ที่ละลายในกรด formic โดยใช้วิธีการหล่อฟิล์ม และทำการตรวจสอบด้วยเครื่อง SEM, DSC และ XRD จากผลการทดสอบอัตราการผสมของไหมไฟโบรอินและไนลอน 66 จะกระทบต่อผลึกหรือความเป็นผลึกขององค์ประกอบทั้ง 2 ที่ความเข้มข้นต่ำๆ คือ 10-30 wt% SF ความเป็นผลึกรวมเพิ่มขึ้น แต่เมื่อปริมาณไหมไฟโบรอินเพิ่มขึ้นถึงระดับที่ 50 wt% SF จะมีการแยกเฟส แม้ว่าตำแหน่งของเฟสจะไม่ชัดเจน โครงสร้างทางเคมีของไหมไฟโบรอินและไนลอน 66 จะใช้ในการอธิบายความเป็นเนื้อเดียวกันของฟิล์มผสม คือก่อนการเตรียมฟิล์มผสม โครงสร้างของไหมไฟโบร อินบริสุทธิ์อยู่ในรูป Amorphous ส่วนไนลอน 66 บริสุทธิ์จะอยู่ในรูป Semicrystalline เมื่อในฟิล์มผสมมีไนลอน 66 เพิ่มขึ้น จะไปเหนี่ยวนำไหมไฟโบรอินเพื่อเป็นผลึกรวม และถ้าไหมไฟโบรอินเพิ่มขึ้นในฟิล์มผสมซึ่งจะไปขัดขวางความเป็นผลึกของไนลอน 66 เพราะความแข็งแรงของปฏิกิริยาระหว่างกัน เมื่ออัตราของไหมไฟโบรอิน/ไนลอน 66 เป็น 1:1 ทั้งไนลอน 66 และไหมไฟโบรอิน จะไม่เด่นมากไปกว่ากัน จึงทำให้เกิดการแยกเฟส

U-J Kim และคณะ [27] ได้ทำการศึกษา กระบวนการเตรียม scaffold จากสารละลายไหมไฟโบรอินที่ความเข้มข้นต่างๆ และจากวิธีไหมไฟโบรอินที่ละลายใน HFIP ที่ความเข้มข้น 8wt% ของไหมไฟโบรอิน และใช้ NaCl เป็นโปรเจกต์ในการเกิดรูพรุน ทำการทดสอบ scaffold จากวิธีสารละลายไหมไฟโบรอิน เปรียบเทียบความเข้มข้นของไหมไฟโบรอินและขนาดรูพรุนของ NaCl พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไหมไฟโบรอินและลดปริมาณของ NaCl จะทำให้การบวมตัว ความพรุนตัวและสมบัติเชิงกลเพิ่มขึ้น เนื่องจากขนาดรูที่ลดลงและการกระจายตัวของเมทริกซ์ไหมไฟโบรอินที่สม่ำเสมอ ส่วนในเรื่องการเสื่อมสภาพด้วยเอ็นไซม์ proteases ที่ความเข้มข้น 1U และ 20U เป็นเวลา 21 วัน ผลที่ได้คือ ที่ความเข้มข้นของสารละลายไหมไฟโบรอิน 4 wt% จะเสื่อมสภาพเร็วกว่าที่ความเข้มข้น 6 และ 8 wt% ตามลำดับ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับวิธีไหมไฟโบรอินที่ละลายใน HFIP ที่ความเข้มข้นเดียวกัน 8 wt% พบว่าวิธีสารละลายไหมไฟโบรอินที่ความเข้มข้นต่างๆ จะเสื่อมสภาพเร็วกว่าวิธีที่ละลายกับ HFIP เนื่องจากลักษณะผิวที่รูพรุนจะขรุขระ ซึ่งจะไปเร่งการเสื่อมสภาพของเอ็นไซม์ proteases

A. Hokugo และคณะ [28] ได้ทำการศึกษา การเตรียม scaffold จากไฟโบรอินผสม Poly (glycolic acid)(PGA) และไม่มี PGA โดยใช้วิธีการ freeze-drying ใช้ปริมาณของ PGA 0, 1.5, 3.0 และ 6.0 mg ของน้ำหนักไฟโบรอิน จากนั้นนำไปทดสอบด้วย SEM, สมบัติเชิงกล, วัดการหดตัว และการเพาะปลูกเซลล์ ผลจาก SEM พบว่า scaffold ทุกๆ ตัวอย่างจะมีรูพรุนเฉลี่ย 30 μm ซึ่งจะมีรูภายในคล้ายๆกันทุกตัวอย่าง ส่วนผลจากการกดอัด scaffold ที่มี PGA อยู่ที่น้ำหนัก 3.0 และ 6.0 mg จะมีความแข็งแรงการกดอัดเพิ่มขึ้นตามน้ำหนัก และเปอร์เซ็นต์การหดตัวของ scaffold นั้นมีค่าลดลง เมื่อเทียบกับ scaffold ที่ไม่มี PGA อยู่ ด้านการเพาะเซลล์นั้น จะเพิ่มขึ้นเมื่อมี PGA อยู่ เทียบกับ scaffold ที่ไม่มี PGA เพราะ PGA จะขัดขวางการหดตัวของฟองน้ำ ทำให้มีปริมาตรที่ว่างซึ่งมีการแทรกซึมและแพร่ของเซลล์มากขึ้น แต่ถ้าจำนวน PGA ใน scaffold ที่ปริมาณ 6.0 mg จะทำให้การแพร่ของเซลล์ลดลง ฉะนั้นจำนวน PGA ที่ 3.0 mg จะดีที่สุด ถ้า PGA ที่มีอยู่ใน scaffold มากเกินไป จะมีผลต่อสิ่งมีชีวิตเมื่อนำมาใช้งาน

S. Jin Park และคณะ [29] ฟิล์มผสมไหมไฟโบรอินและโคโคซาน ถูกเตรียมโดยวิธีการเทตัวทำละลายการรวมเป็นเนื้อเดียวกันระหว่างไหมไฟโบรอินและโคโคซานถูกตรวจสอบโดย (Dynamic mechanical thermal analysis, DMTA) เมื่อเติมโคโคซาน โครงสร้างของไหมไฟโบรอินเปลี่ยนไปตรวจสอบโดย IR spectroscopy

รูปร่างที่เปลี่ยนแปลงของไหมไฟโบรอินจาก random coil ไปเป็นโครงสร้าง β -sheet ถูกเหนี่ยวนำโดยการผสมกับไคโตซานเป็นผลให้ผลึกและความหนาแน่นเพิ่มขึ้นของฟิล์มผสม ฟิล์มผสมที่มีไคโตซาน 30% โดยน้ำหนัก แสดงความเป็นผลึกและความหนาแน่นเพิ่มขึ้นมากที่สุด ซึ่งจะทำให้ tensile strength และ tensile modulus ของฟิล์มผสมเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณของไคโตซาน และค่าสูงสุดที่มีไคโตซานผสมคือ 30% โดยน้ำหนัก

นฤมล ศิริวิฑูรย์ และ วัลยา ศรีสง่า [30] เตรียมฟิล์มไฮโดรเจลจาก 5%พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 5%พอลิอะคริลิกแอซิดและ 3%โปรตีนไหม ในอัตราส่วนต่างๆ และใช้กลูตารัลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมโยงพบว่า การแช่ฟิล์มในกลูตารัลดีไฮด์ทำให้การดูดซึมน้ำของฟิล์มลดลง เวลาที่ดีที่สุดคือ 20 นาที พบว่าไหมสามารถเกิดพันธะเชื่อมโยงกับกลูตารัลดีไฮด์ได้ด้วย เมื่อทดสอบการดูดน้ำของฟิล์มผสมในสารละลายเกลือ NaCl, KI, $MgCl_2$ และ $CaCl_2$ พบว่าฟิล์มดูดน้ำได้ดีในสารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำและไม่ขึ้นกับชนิดของเกลือ

ปริญญญา กาฬยศ ประชานาถ กิตติไควล์ และผ่องเพ็ญ อรรถสิทธิ์ [31] ศึกษาการเตรียมฟิล์มไฮโดรเจลจากพอลิเมอร์ผสมระหว่าง 5%พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 5%พอลิไวนิลไพโรลิโดน กับ 1% เซรีซิน ในอัตราส่วนต่างๆปรับปรุงฟิล์มด้วยความร้อนพบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์เจล ค่าความแข็งแรงดึง และค่าร้อยละการดึงยืด ณ จุดขาดมีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณ 5%พอลิไวนิลไพโรลิโดนเพิ่มขึ้น แต่การดูดซึมน้ำเพิ่มขึ้น

นวลจันทร์ โชคทวีทรัพย์ นิภาพรรณ โสทธิยานนท์และศิริเนตร ประดับวงศ์ [32] ศึกษาการเตรียมฟิล์มไฮโดรเจลจากพอลิเมอร์ผสมระหว่าง 3% พอลิไวนิลแอลกอฮอล์กับ 1% เซรีซิน ในอัตราส่วน 4:1 และ 2:1 ปรับปรุงฟิล์มโดยการให้ความร้อนที่ 100°C เป็นเวลา 4 นาที พบว่า ฟิล์มที่มีพอลิไวนิลแอลกอฮอล์อยู่มากมีการดูดซึมน้ำได้น้อยและฟิล์มผสมดูดซึมน้ำได้ดีใน pH 9 การผสมเซรีซินลงในพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ทำให้ความเป็นผลึกของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ลดลง

มาลินี ชัยศุกกิจสินธุ์ กัญยาดันตวิสุทธิกุล และภาณุพงษ์ ภูทะวัง [33] เตรียมฟิล์มไฮโดรเจลจาก 3%พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสม 1%เซรีซินจากไหมชนิดต่างๆ ได้แก่ไหมไทยสีเหลืองนางน้อย ไหมไทยสีเหลืองค่านช้าง ไหมสีขาวจากสุพรรณบุรี แล้วแช่ใน 25% กลูตารัลดีไฮด์ เป็นเวลาต่างๆกันเพื่อปรับปรุงให้เกิดพันธะเชื่อมโยง พบว่า ไฮโดรเจลผสมไหมขาวจากสุพรรณบุรีสามารถดึงยืดได้ดีกว่าไฮโดรเจลผสมจากไหมเหลือง ในทางตรงข้ามไฮโดรเจลผสมจากไหมเหลืองให้ความทนแรงดึงสูงกว่าไฮโดรเจลผสมจากไหมขาว



บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้

สารเคมี

- รังไหมเหลืองค่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี
- สารละลายกลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) เข้มข้น 25% ของบริษัท Merck
- ไกลเซอร์รัลดีไฮด์ (DL-Glyceraldehyde Dimer) ของบริษัท Fluka , Purum $\geq 97.0\%$
- อะซิโตน (Acetone) ของบริษัท Fisher Scientific
- น้ำกลั่น
- สบู่
- โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate (Na_2CO_3)) ของบริษัท APS Finechem
- แคลเซียมคลอไรด์-2-ไฮเดรต (Calcium chloride 2-hydrate ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)) ของบริษัท Carlo
- 1,1,1,3,3,3-เฮกซะฟลูออโร-2-โพรพานอล (1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol (HFIP)) ($\text{C}_3\text{H}_2\text{F}_6\text{O}$) ของบริษัท Fluka , Puriss $>99.0\%$ bp. 57-60 °C
- โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride (NaCl)) ของบริษัท Carlo
- แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium chloride (NH_4Cl)) ของบริษัท Fluka
- แอมโมเนียมอะซิเตต (Ammonium acetate ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$)) ของบริษัท BDH
- แอมโมเนียมโมลิบเดต-4-ไฮเดรต (Ammonium molybdate 4-hydrate ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)) ของบริษัท Baker Analyzed
- แอมโมเนียมออกซาเลตมอนอไฮเดรต (Ammonium oxalate Monohydrate ($\text{NH}_4\text{OCOCOOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$)) ของบริษัท Baker Analyzed
- แอมโมเนียมฟลูออไรด์ (Ammonium fluoride (NH_4F)) ของบริษัท BDH
- เมทานอล (Methanol (CH_3OH)) ของบริษัท Fisher Scientific UK Limited
- ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide (H_2O_2))
- เอทานอล (Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)) ของบริษัท Marck
- โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (Sodium hydrogen carbonate (NaHCO_3)) บริษัท Carlo

อุปกรณ์

- บีกเกอร์
- กระจกบวกดวง
- แท่งแก้วคน
- ปากคิบบ
- งานเพาะเชื้อ
- ถาดพอลิฟอสฟีน
- แผ่นอะลูมิเนียมฟลอยด์

- กระดาษกรองเบอร์ 1
- กระบอกน้ำกักน้ำ
- ซ้อนตักสาร
- กรรไกร
- ถาดอะลูมิเนียม
- หลอดทดลอง
- พาราฟิน
- กระดาษวัด pH
- ตะแกรงวัดการบวมตัว
- ไมโครปิเปต
- Regenerated cellulose SnakeSkinTM Pleated Dialysis Tubing ของบริษัท Pierce MWCO 3,500

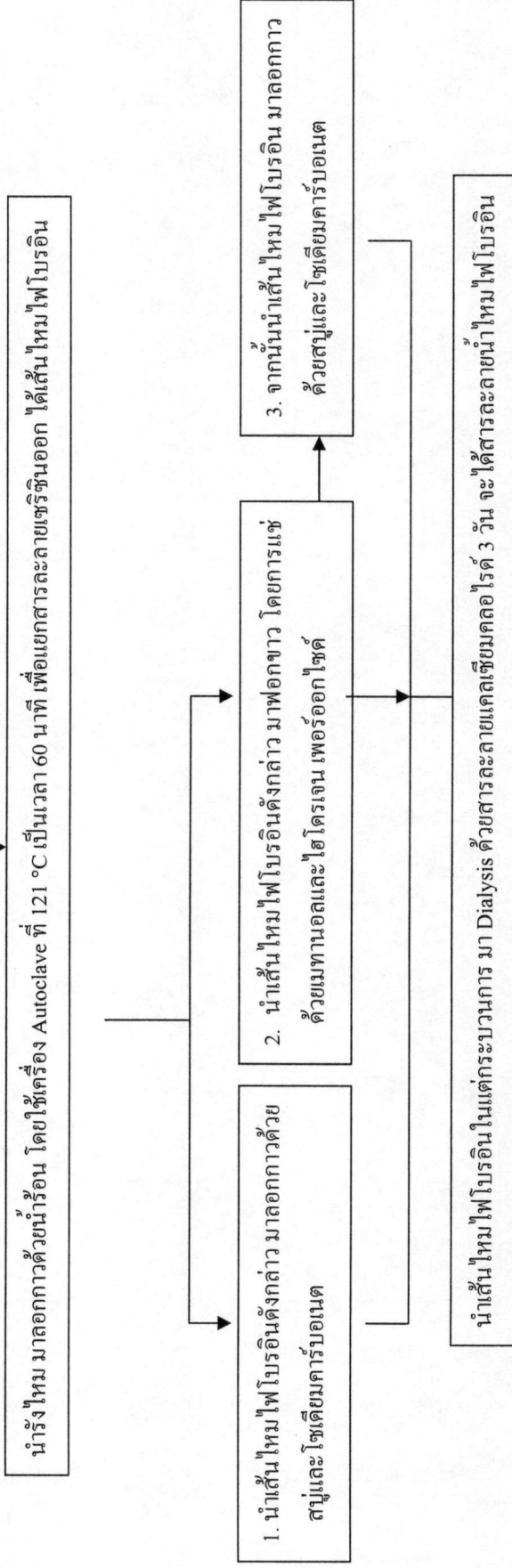
เครื่องมือที่ใช้

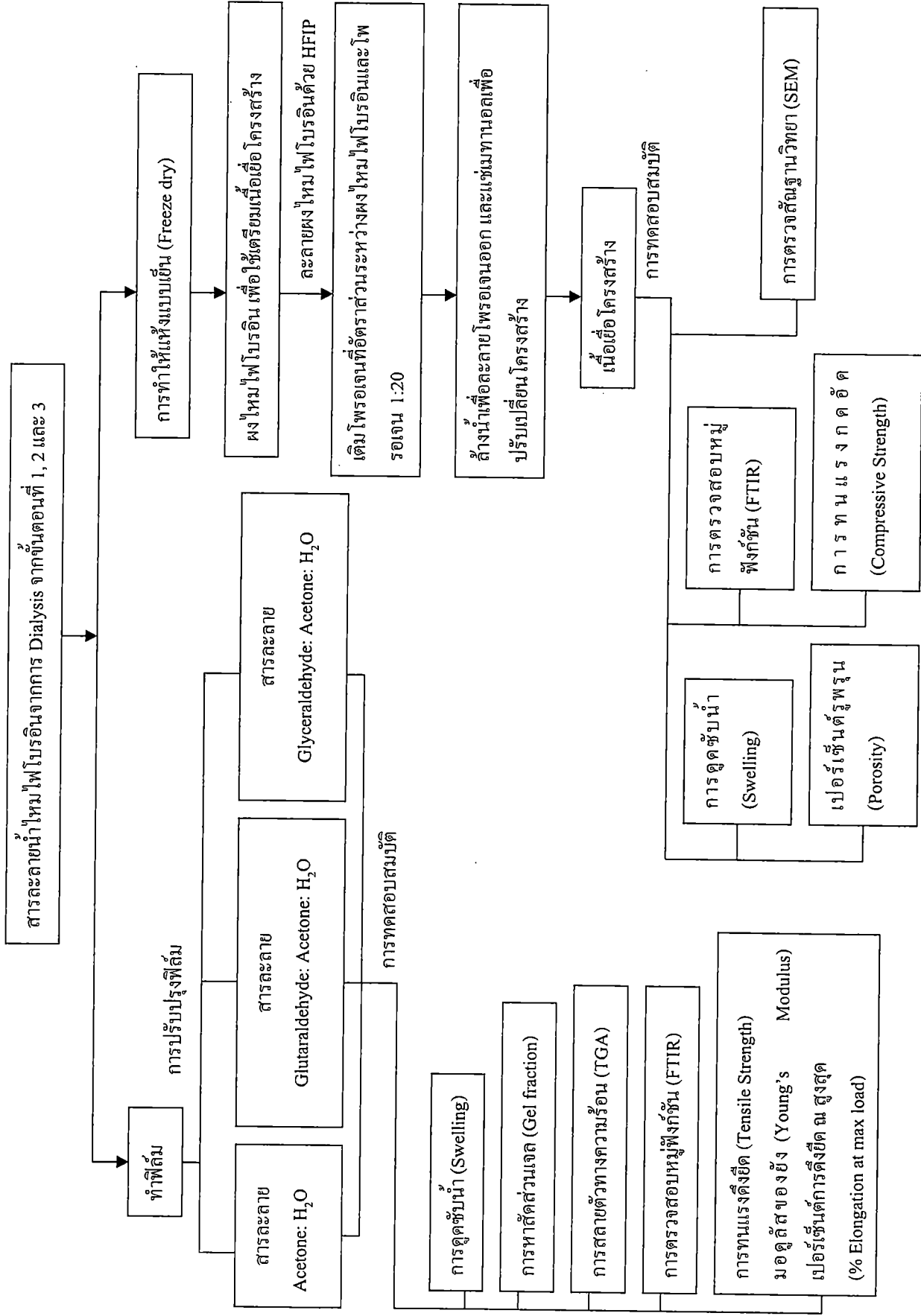
- เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง ของบริษัท Scientific promotion ยี่ห้อ Sartorius
- เครื่องทำความเย็น (Freezer) ที่ -81 องศาเซลเซียส ของบริษัท GES รุ่น PLC-1055
- ตู้อบ
- แท่นให้ความร้อน
- ตู้เย็นธรรมดา
- เครื่อง Auto clave (หม้อนึ่งอัดไอ) รุ่น Hirayama Model HA-300MII
- เครื่อง Freeze dryer
- เครื่องทดสอบสมบัติเชิงกล LLOYD (Universal testing machine) รุ่น LR 5K; LLOYD
- เครื่องเทอร์มัลกราวิมิเตอร์ (TGA): รุ่น Pyris 1 TGA Perkin Elmer
- ฟลูเรียนทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier Transform spectroscopy, FTIR): รุ่น FTIR Spectrum GX Perkin Elmer
- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกวาด (Scanning Electron Microscope, SEM): LEO รุ่น 1455VP
- กล้องจุลทรรศน์และไมโครสเกล : รุ่น Optiphot-pol Nikon
- pH มิเตอร์ ของบริษัท Chatcharee ยี่ห้อ Consort

แผนภาพแสดงการทดลอง



ring ใหม่ จากอ้าเกอด้านข้าง





3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 กระบวนการที่ใช้ในการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอิน

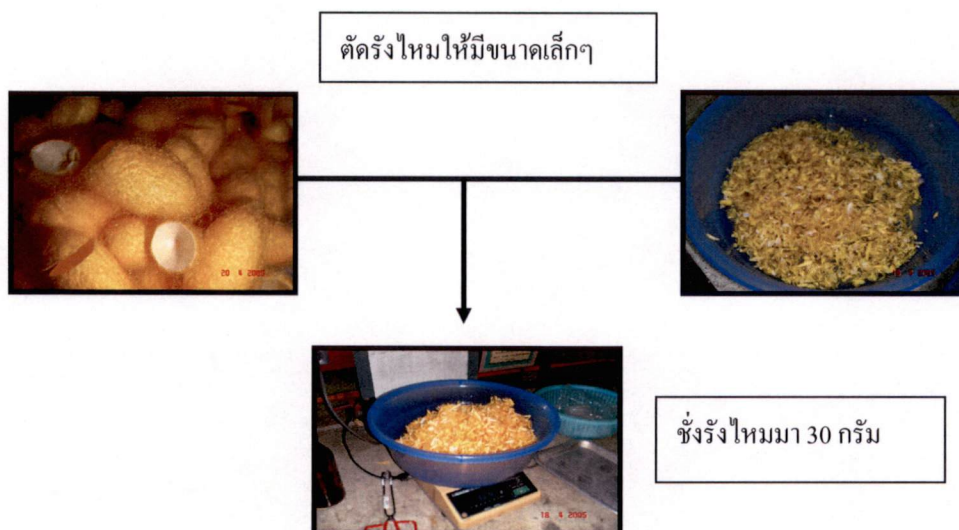
ตารางที่ 3.1 กระบวนการที่ใช้ในการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอิน

แบบ	วิธีการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอิน
1.	การเตรียมเส้นไหมไฟโบรอินเพื่อละลายสารเซรีซิน
2.	การนำเส้นไหมไฟโบรอินจากแบบที่ 1 มาแช่เมทานอล
3.	การนำเส้นไหมไฟโบรอินจากแบบที่ 2 มาแช่ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์
4.	การนำเส้นไหมไฟโบรอินจากแบบที่ 1 มาลอกกาวด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต
5.	การนำเส้นไหมไฟโบรอินจากแบบที่ 3 มาลอกกาวด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต

เส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการต่างๆเหล่านี้ นำไปตรวจสอบ ลักษณะทางกายภาพ สมบัติทางความร้อนด้วย (TGA) ตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันของเส้นไหมไฟโบรอินด้วย (FTIR) และตรวจวิเคราะห์พื้นฐานวิทยาศาสตร์ด้วยกล้องแบบส่องกวาด (SEM)

หลังจากนั้น เลือกเฉพาะเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการที่ 3, 4 และ 5 มาทำการศึกษา โดยนำเส้นไหมไฟโบรอินไปทำการ Dialysis ต่อไป

กระบวนการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอินแบบที่ 1, 2 และ 3





ล้างด้วยน้ำกลั่นประมาณ 3-4 ครั้ง



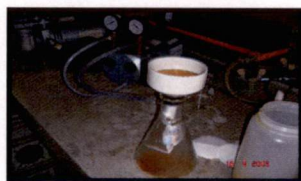
ใส่ไปในขวด PP พร้อมทั้งเติมน้ำกลั่น
300 ml



Autoclave ที่ 121 °C เป็นเวลา 60 นาที



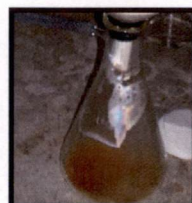
กรองแยกไฟโบรอิน และเซรีซินออก



เส้นใยไฟโบรอิน



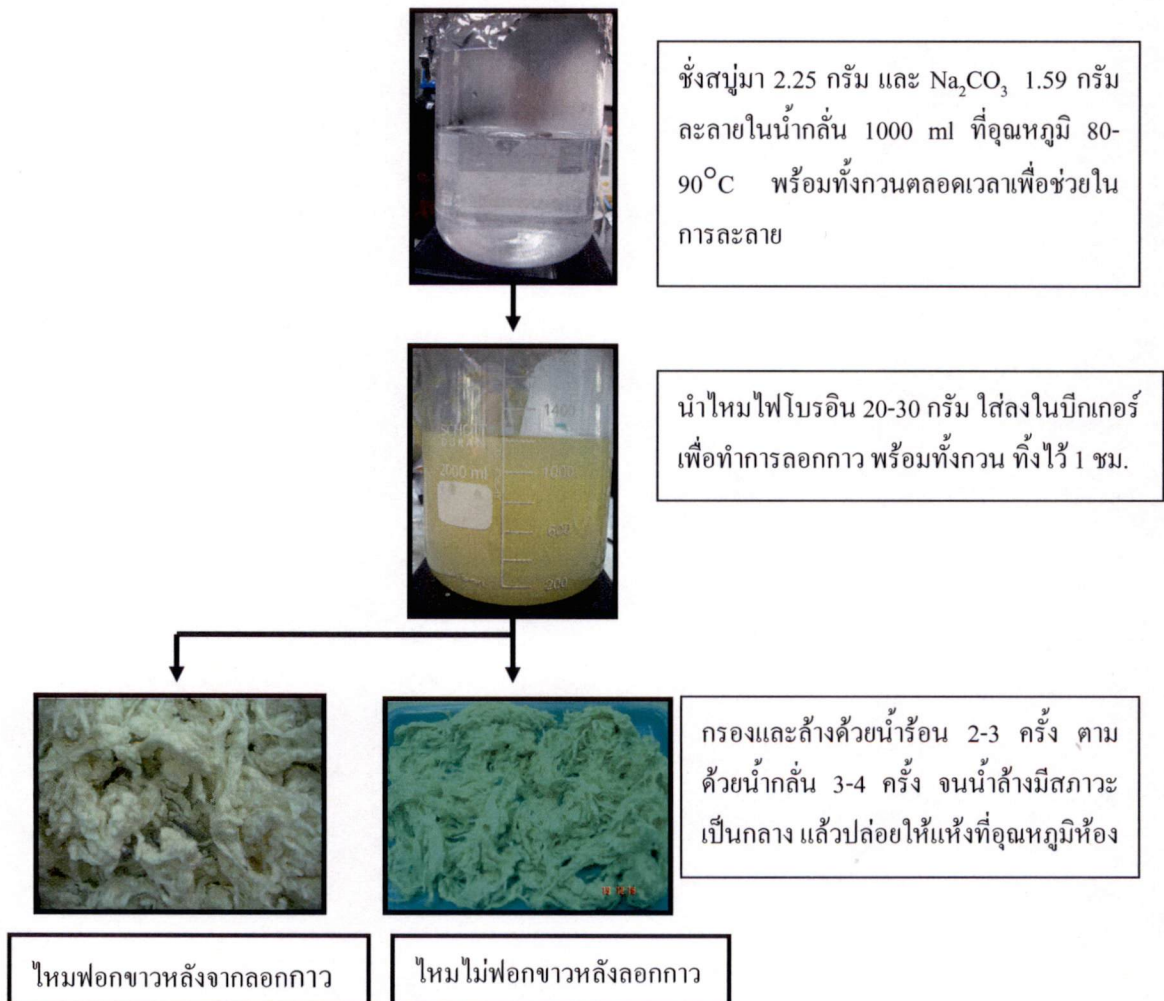
สารละลายสีเหลือง (เซรีซิน)



วิธีการแช่เส้นไหมไฟโบรอินด้วยเมทานอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์



กระบวนการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอินแบบที่ 4 และ 5



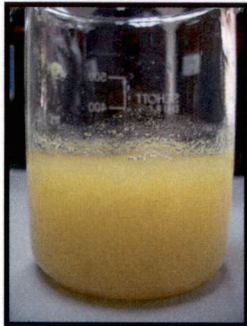
กระบวนการ Dialysis โดยนำเส้นไหมไฟโบรอินในแบบที่ 3, 4 และ 5 มาทำการ Dialysis



ซึ่งไหมไฟโบรอินไม่ฟอกขาวมา 10 กรัม ละลายด้วยสารละลาย 100 ml CaCl_2 (CaCl_2 73 g, Ethanol 47 ml, Deionized water 54 ml) ที่อุณหภูมิประมาณ 80-90°C พร้อมกับกวนตลอดเวลา



ทำ Dialysis โดยนำสารละลายไหมไฟโบรอิน เทใส่ถุง regenerated cellulose แล้วนำไปลอยในน้ำกลั่นพร้อมกับกวนตลอดเวลา ใช้เวลา 3 วัน โดยวันแรกต้องเปลี่ยนน้ำทุกๆ 1 ชม. เป็นจำนวน 5-6 ครั้ง วันที่ 2 และ 3 เปลี่ยนน้ำวันละ 2 ครั้ง ทุกวัน เช้า-เย็น



เมื่อครบกำหนดเวลาก็นำสารละลายไหมในถุง cellulose เทรวมกันในบีกเกอร์แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เพื่อกรองเอาสิ่งสกปรกออก เก็บสารละลายไหมไฟโบรอินในตู้เย็น เพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป

ชั้นรูปฟิล์ม

ชั้นรูป Scaffold

***หมายเหตุ เส้นไหมไฟโบรอินที่ฟอกขาวทำเช่นเดียวกันกับไหมไฟโบรอินที่ไม่ได้ฟอกขาว

3.2.2 การทำฟิล์มจากสารละลายเส้นไหมไฟโบรอินหลังการ Dialysis

3.2.2.1. การเตรียมฟิล์ม

ดวงสารละลายน้ำไหมไฟโบรอินจากการ Dialysis นำมา 40 มล. ซึ่งเมื่อคำนวณหาน้ำหนักไฟโบรอินพบว่ามีความเข้มข้น 66.67 % ของน้ำหนักไหมในการ Dialysis เติลงในภาชนะแล้วปล่อยให้ระเหยแห้งที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งไว้จนเป็นฟิล์ม ลอกฟิล์มออกนำฟิล์มดังกล่าวมาปรับปรุงฟิล์ม ดังตาราง

ตารางที่ 3.2 ตารางการปรับปรุงฟิล์มด้วยสารละลายผสม

สารละลายที่ใช้ในการปรับปรุงฟิล์ม	จำนวนชั่วโมงในการแช่ฟิล์ม			
1. Acetone 60 ml : H ₂ O 30 ml	1	3	6	24
2. Acetone 60 ml : H ₂ O 30 ml :Glyceraldehyde 0.5 g	1	3	6	24
3. Acetone 60 ml : H ₂ O 30 ml :Glutaraldehyde 2 ml (เข้มข้น 25%)	1	3	6	24

ให้นำฟิล์มที่ผ่านการปรับปรุงไปทำการทดสอบสมบัติของฟิล์ม

3.2.2.2. การทดสอบสมบัติทางกายภาพ

ก ทดสอบการดูดซึมน้ำ (Water absorption) ของฟิล์ม

- ตัดตัวอย่างที่เตรียมได้ ให้มีขนาด 1×1 นิ้ว และตัดตะแกรงลวดให้มีขนาดประมาณ 1.5×1.5 นิ้ว พับให้เป็นถุงที่สามารถใส่ฟิล์มได้
- ชั่งน้ำหนักของถุงตะแกรงลวดเปล่า (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) บันทึกผล
- นำถุงตะแกรงลวดที่มีฟิล์มหรือ scaffold แช่ในน้ำกลั่นที่สภาวะควบคุมเป็นเวลา 0 1 2 3 4 5 6 และ 24 ชม.ตามลำดับ
- เมื่อครบกำหนดในแต่ละชั่วโมง นำถุงขึ้นมาชั่งให้แห้งและนำไปชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) บันทึกผล
- นำผลการทดลองที่ได้ในแต่ละชั่วโมง มาคำนวณหาค่าการบวมน้ำ (Swelling) และปริมาณน้ำที่ดูดซับ (Water absorption)

โดย น้ำหนักฟิล์ม = น้ำหนักถุงที่มีแผ่นฟิล์มหรือ scaffold บรรจุ - น้ำหนักถุงเปล่า

$$\% \text{ Water absorption} = \frac{(\text{น้ำหนักรวมฟิล์มหรือ scaffold ที่บวมน้ำ} - \text{น้ำหนักรวมฟิล์มแห้งหรือ scaffold แห้ง})}{\text{น้ำหนักรวมฟิล์มแห้งหรือ scaffold แห้ง}} \times 100$$

ข การหาค่าสัดส่วนเจล (Gel fraction) ของฟิล์ม

- ตัดแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้ ให้มีขนาด 1×1 นิ้ว และตัดตะแกรงลวดให้มีขนาดประมาณ 1.5×1.5 นิ้ว พับให้เป็นถุงที่สามารถใส่ฟิล์มได้
- ชั่งน้ำหนักของถุงตะแกรงลวดเปล่า (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) บันทึกผล และนำฟิล์มใส่ในถุง นำไปชั่งหาน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) บันทึกผล

- นำถุงที่บรรจุฟิล์ม คมในน้ำร้อนในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร เป็นเวลา 1 ชม.
- เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายในบีกเกอร์รวมทั้งถุงตะแกรงลวดไปกรองลดความดัน (ก่อนทำการกรอง ต้องชั่งน้ำหนักกระดาษกรองก่อน)
- นำสิ่งที่เหลือบนกระดาษกรอง รวมทั้งถุงตะแกรงลวด ไปอบในตู้อบสุญญากาศ จนได้น้ำหนักคงที่
- นำผลการทดลองที่ได้ในแต่ละชั่วโมง มาคำนวณหาค่าสัดส่วนเจล (Gel fraction)

ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของฟิล์มที่เหลือ (Gel)

$$\text{โดย น้ำหนักของฟิล์มที่เหลือ (Gel)} = \text{น้ำหนักสิ่งที่เหลือบนกระดาษกรอง} - \text{น้ำหนัก ถุงเปล่า} - \text{น้ำหนักกระดาษกรอง}$$

$$\% \text{ Gel Fraction} = \frac{\text{น้ำหนักของ Gel ที่เหลือ} \times 100}{\text{น้ำหนักของฟิล์มเริ่มต้น}}$$

3.2.2.3. การตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันของเส้นใยไหมไฟโบรอินโดยเทคนิค Fourier Transform Infrared

Spectroscopy : FTIR)

- นำฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงและฟิล์มไหมที่ไม่ได้ผ่านการปรับปรุง ตัดชิ้นงานมีขนาด 1x1 นิ้ว
- นำแผ่นฟิล์มดังกล่าว ไปใส่ในตัวยึดเซลล์ในเครื่องและทำการวัด
- บันทึกเส้นสเปกตรัมที่ได้และนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบ

หมายเหตุ ทำการทดสอบเช่นเดียวกันนี้กับไหมไฟโบรอิน หรือผงไหมไฟโบรอิน

3.2.2.4. สมบัติทางความร้อนใช้หลักการวิเคราะห์ทางความร้อน (Thermalgravimetric Analysis : TGA)

ชั่งชิ้นงานตัวอย่างจากการเตรียม ลงบน Pt Plate ประมาณ 10 mg (1mg = 20 mV)

ตั้งสภาวะของเครื่องดังนี้

Initial temperature 50°C

Maximum temperature 900°C

Isothermal 1

Heating rate =10°C/min

ทำการทดสอบหาอุณหภูมิการสลายตัวของชิ้นงานตัวอย่าง

- ### 3.2.2.5. ทดสอบความทนแรงดึงยืด (Tensile strength) ของฟิล์มไหมไฟโบรอิน เปรอร์เซ็นต์การดึงยืด ณ สูงสุด (% Elongation at max load) และมอดูลัสของยัง (Young's Modulus) ด้วยเครื่องทดสอบเอนกประสงค์ (Universal testing machine) ทำการทดสอบฟิล์มใน 2 ลักษณะ

ก ไม่ต้องแช่น้ำก่อนทำการทดสอบ

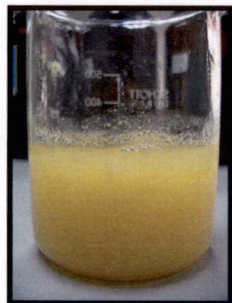
- ตัดแผ่นฟิล์มให้เป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้าโดยมีขนาดความกว้าง 10 ม.ม. และความยาว 40 ม.ม. ซึ่งมีการทำการปรับปรุงฟิล์มเรียบร้อยแล้ว มาวัดความกว้างและความหนาของชิ้นงาน 5 ชิ้นงานต่อ 1 สูตร
- ตั้งค่าของเครื่องทดสอบใช้ Load cell 100 N และตั้งสถานะของเครื่องโดยใช้อัตราเร็วในการดึง (Crosshead speed) 1 ม.ม./นาที และกำหนดช่วงในการหาค่ามอดูลัสของยัง (Young's Modulus) ที่ช่วงความเครียด (Strain) ระหว่าง 0.5% และ 1%
- ทำการทดสอบและบันทึกผล

ข ทำการแช่น้ำก่อนทำการทดสอบเป็นเวลา 10 นาที (ตามสถานะที่จะนำไปใช้งานจริง)

- ตัดแผ่นฟิล์มให้เป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้าโดยมีขนาดความกว้าง 10 ม.ม. และความยาว 40 ม.ม. ซึ่งมีการทำการปรับปรุงฟิล์มเรียบร้อยแล้ว มาวัดความกว้างและความหนาของชิ้นงาน 5 ชิ้นงานต่อ 1 สูตร
- ตั้งค่าของเครื่องทดสอบใช้ Load cell 100 N และตั้งสถานะของเครื่องโดยใช้อัตราเร็วในการดึง (Crosshead speed) 10 ม.ม./นาที และกำหนดช่วงในการหาค่ามอดูลัสของยัง (Young's Modulus) ที่ช่วงความเครียด (Strain) ระหว่าง 0.5% และ 1%
- ทำการทดสอบและบันทึกผล

3.2.3 การเตรียมเนื้อเยื่อโครงสร้าง (Scaffold) จากผงไหมไฟโบรอินที่ผ่านการทำแห้งแบบเย็น

3.2.3.1. ขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อโครงสร้าง



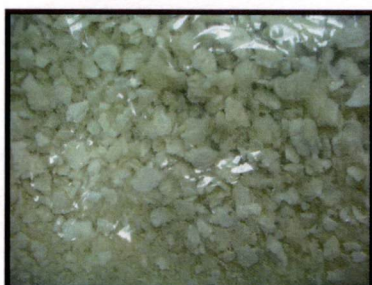
สารละลายไหมไฟโบรอินหลังการ Dialysis และ เก็บในตู้เย็น



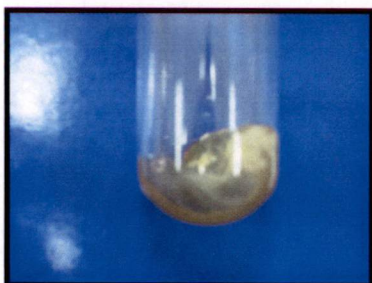
เทสารละลายไหมไฟโบรอินในจานเพาะเชื้อเพื่อนำไป แช่แข็งที่อุณหภูมิ -80°C เป็นเวลาประมาณ 2 ชม.



หลังจากนั้น ทำให้แห้งแบบเย็น โดยนำไประเหย น้ำด้วยเครื่อง Freeze-dried

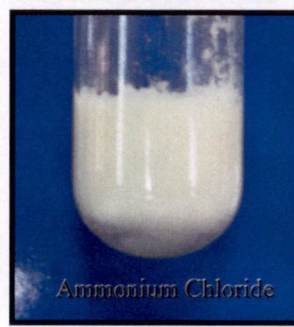
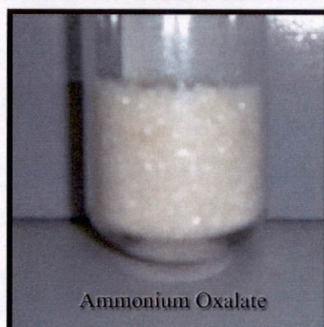
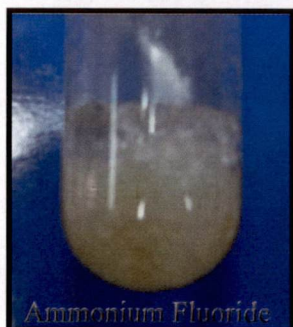
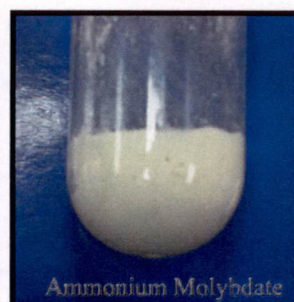
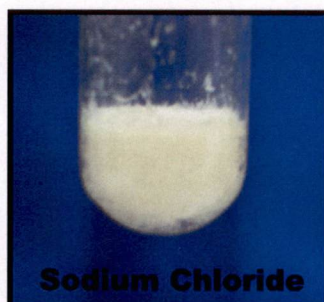
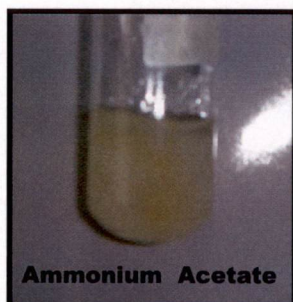


ผงไหมไฟโบรอิน หลังการระเหยน้ำด้วยเครื่อง Freeze-dried



ชั่งผงไหมไฟโบรอินมา 0.34 กรัม ละลายด้วย 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) 2 ml และ ปิดภาชนะเพื่อป้องกันไม่ให้สารละลาย HFIP ระเหย จนละลายไหมอย่างสมบูรณ์ ปล่อยให้ทิ้งไว้ 1 คืน

เมื่อผงไหมไฟโบรอินละลายหมดแล้ว ให้เติมเกลือชนิดต่าง** ปริมาณ 20 เท่าของน้ำหนักไหมไฟโบรอิน พร้อมทั้งปิดภาชนะ เพื่อให้เกลือแทรกซึมทั่วทั้งสารละลาย จากนั้นเปิดภาชนะทิ้งไว้ ประมาณ 2-3 วันเพื่อให้ HFIP ระเหยหมด



นำ scaffold ที่ได้ออกจากโมล (ในที่นี้คือหลอดทดลอง) จากนั้นนำ scaffold ไปแช่ในน้ำกลั่นเพื่อละลายเกลือออก ซึ่งเกลือแต่ละชนิดจะละลายน้ำเป็นเวลาแตกต่างกันทำให้ scaffold เกิดรูพรุน

หลังจากนั้นนำไปแช่เมทานอล เพื่อปรับเปลี่ยนโครงสร้างของ scaffold ประมาณ 2 ชั่วโมง

เมื่อได้ scaffold แล้วนำมาทดสอบ สมบัติทางกายภาพ ทดสอบสมบัติเชิงกลและทดสอบสมบัติทางเคมี

* หมายเหตุ เกลือที่ใช้และเวลาในการละลายเกลือออกจาก scaffold ของเกลือแต่ละชนิด

- | | |
|-----------------------------|----------------------------|
| 1. เกลือ Sodium Chloride | ใช้เวลาในการละลายน้ำ 2 วัน |
| 2. เกลือ Ammonium Oxalate | ใช้เวลาในการละลายน้ำ 5 วัน |
| 3. เกลือ Ammonium Molybdate | ใช้เวลาในการละลายน้ำ 3 วัน |
| 4. เกลือ Ammonium Chloride | ใช้เวลาในการละลายน้ำ 3 วัน |
| 5. เกลือ Ammonium Acetate | ใช้เวลาในการละลายน้ำ 4 วัน |
| 6. เกลือ Ammonium Fluoride | ใช้เวลาในการละลายน้ำ 4 วัน |

ไหมไฟโบรอินที่ฟอกขาวทำเช่นเดียวกันกับไหมไฟโบรอินที่ไม่ฟอกขาว

นำเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแต่ละชนิดมาทำการทดสอบสมบัติดังต่อไปนี้

3.2.3.2. การตรวจวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกวาด

ศึกษาลักษณะพื้นผิวและรูพรุนของ scaffold ที่เกิดจากเกลือแต่ละชนิด โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกวาด (Scanning Electron Microscope, SEM) ที่กำลังขยาย 350X และ 50X ก่อนนำ scaffold ไปทำการวิเคราะห์จะต้องนำ scaffold ไปทำการเคลือบด้วยทองเพื่อป้องกันการเกิดประจุสะสมบนผิว scaffold

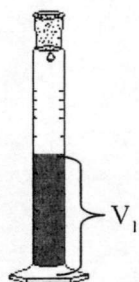
3.2.3.3. ทดสอบสมบัติทางกายภาพ

ก การหาความเป็นรูพรุนของ scaffold [33]

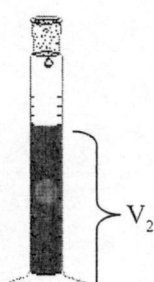
- ◆ ชั่ง scaffold มาเป็นน้ำหนักแห้งของ scaffold (W)
- ◆ วัดปริมาตรของเฮกเซนเริ่มต้นในขวดวัดปริมาตร (V_1)
- ◆ นำ scaffold จากข้อ 1 ที่ทราบน้ำหนักแล้ว จุ่มในเฮกเซนแล้ววัดปริมาตรรวม (V_2)
- ◆ แช่ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วค่อยเอา scaffold ออกจากเฮกเซน วัดปริมาตรที่เหลือของเฮกเซน (V_3)

โดยที่

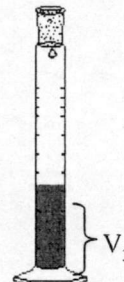
ปริมาตรของ Scaffold	= $V_2 - V_3$	
ปริมาตรของเฮกเซนภายใน Scaffold	= $V_1 - V_3$	
∴ ปริมาตรรวมของ Scaffold (V)	= $(V_2 - V_1) + (V_1 - V_3)$	= $V_2 - V_3$
∴ รูพรุนของ Scaffold % (E)	= $(V_1 - V_3) / (V_2 - V_3) \times 100$	



วัดปริมาตรเฮกเซน



นำ scaffold จุ่มในเฮกเซน ทิ้งไว้ 5 นาที



นำ scaffold ออก

ข ทดสอบการดูดซึมน้ำ (% Water absorption) ของ Scaffold ใช้วิธีการทดสอบแบบเดียวกับของการทดสอบฟิล์ม

3.2.3.4. การตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันของเนื้อเยื่อโครงสร้างโดยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy : FTIR)

- ◆ นำเนื้อเยื่อ โครงสร้างบดให้เป็นผงกับ KBr แล้วใส่ลงใน Al crucible ประมาณ 10-15 มก.
- ◆ นำ crucible เข้าเครื่องอัดให้เป็น Pallet
- ◆ นำ crucible ที่ได้ใส่ในตัวยึดเซลล์ในเครื่องและทำการวัด
- ◆ บันทึกเส้นสเปกตรัมที่ได้และนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบ

3.2.3.5. การทดสอบเชิงกล

ก ทดสอบความแข็งแรงของ Scaffold โดยวัดแรงการกดอัด (Compressive strength) และมอดูลัสของการกดอัด (Compressive Modulus) ด้วยเครื่องทดสอบเอนกประสงค์ (Universal testing machine) ASTM F 451-95

- ◆ ตัดชิ้นงาน scaffold ทรงกระบอกให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ม.ม. และความหนา 7 ม.ม. ทำเช่นเดียวกันนี้กับ scaffold ที่เตรียมได้จากเกลือแต่ละชนิด
- ◆ ตั้งค่าของเครื่องทดสอบ ใช้ Load cell 100 N และตั้งสถานะของเครื่องโดยใช้อัตราเร็วในการกดอัด (crosshead Speed) 2 มม./นาที และกำหนดช่วงความเครียด (strain) 1% ในการหาค่ามอดูลัสของการกดอัด
- ◆ ทำการทดสอบและบันทึกผล

การคำนวณ

$$\text{ความแข็งแรงจากการกดอัด (Compressive Strength)} = \frac{\text{น้ำหนักสูงสุดที่ใช้กด (N)}}{\text{พื้นที่ตัดขวางที่น้อยที่สุด (m}^2\text{)}}$$

$$\text{มอดูลัสของยัง (Compressive modulus)} = \frac{\text{Change in stress (N/m}^2\text{)}}{\text{Change in strain (m/m)}}$$

3.2.4 การหาองค์ประกอบของกรดอะมิโน

ส่งตัวอย่างโปรตีนไหมไฟโบรอินและเซรีซินไปวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ ของ Prof. Dr. Julian Wiesman, School of Bioscience, Sutton Bonington campus, University of Nottingham.






บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการวิเคราะห์เส้นไหมไฟโบรอินจากกระบวนการเตรียมเส้นไหมต่างๆ

นำรังไหมจากอำเภอ ด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี มาผ่านตามกระบวนการใน ข้อ 3.2.1 ตามตารางที่ 3.1

ตารางที่ 4.1 ภาพแสดงลักษณะกายภาพของเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการต่างๆ ตามตารางที่ 3.1

กระบวนการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอิน	ลักษณะเส้นไหมไฟโบรอินที่ได้
1. เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง	
2. เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต	
3. เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอล	
4. เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจน เพอร์ออกไซด์	
5. เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจน เพอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต	

จากผลการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอิน เริ่มจากการนำรังไหมจาก อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี มาต้มด้วยน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง เพื่อกำจัดกาวเซรีซินออกจากเส้นไหมไฟโบรอิน สามารถกำจัดกาวเซรีซินออกได้ 30.47% และจากขั้นตอนนี้ สามารถนำสารละลายกาวเซรีซินมาใช้ประโยชน์ด้านอื่นต่อไปได้เนื่องจากใช้น้ำร้อนในการลอกกาวจึงไม่ทำลายกาวเซรีซิน เส้นไหมไฟโบรอินที่ได้เป็นสีเหลืองค่อนข้างเข้ม และมีความกระด้าง จากนั้นแบ่งเส้นไหมไฟโบรอินเป็น 2 ส่วน คือส่วนหนึ่งนำไปลอกกาวอีกครั้ง โดยการล้างด้วยสบู่และ

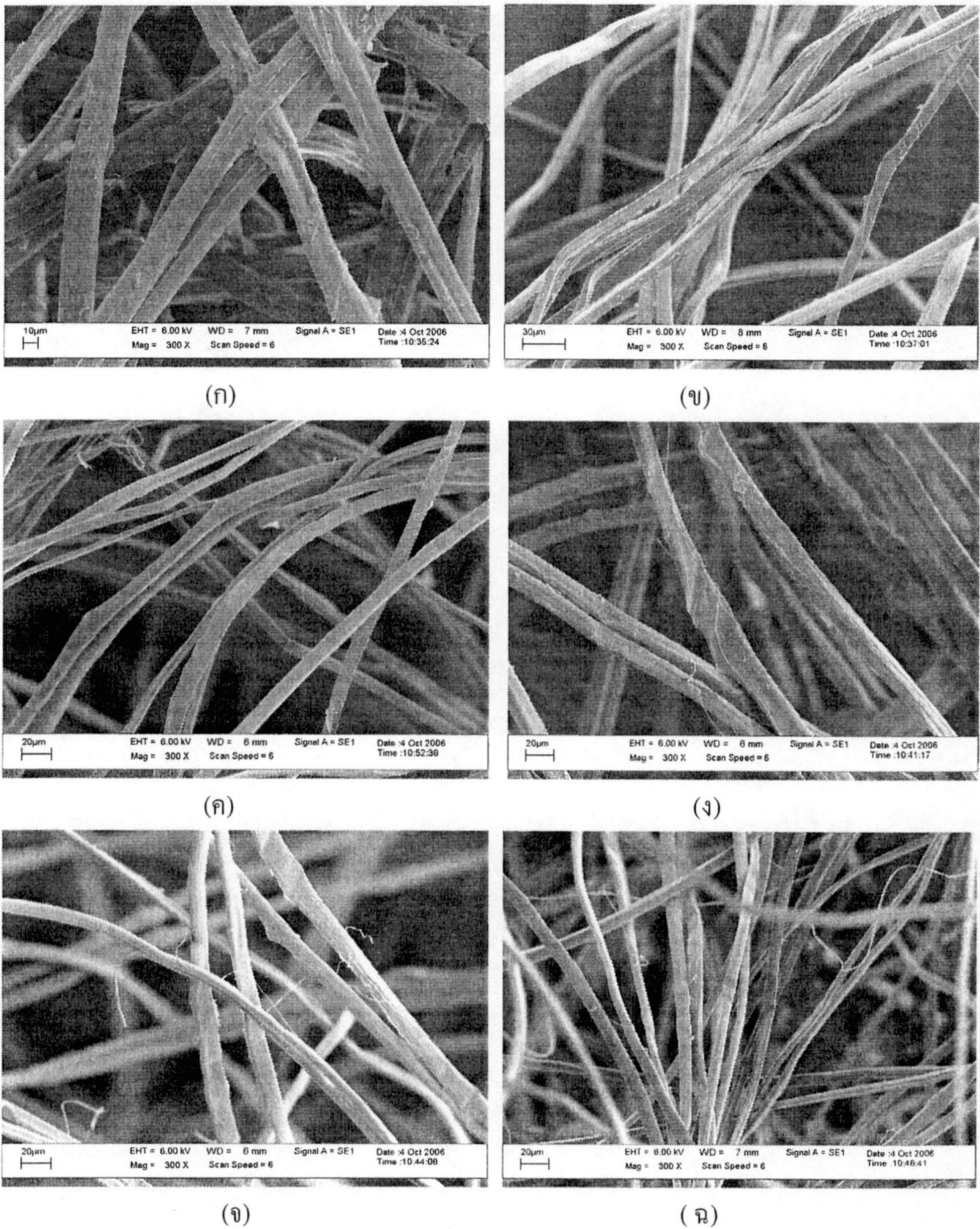
โซเดียมคาร์บอเนต ในขั้นตอนนี้ สามารถลอกกาวยูเรซินออกจากเส้นไหมไฟโบรอินได้ 2.99 % และได้เส้นไหมไฟโบรอินที่มีสีเหลืองอ่อนและมีความนุ่ม เส้นไหมไฟโบรอินอีกส่วนหนึ่งไปแช่เมทานอล 1 วัน เพื่อกำจัดสีเหลืองของเส้นไหม จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้ง แล้วผึ่งให้แห้ง ต่อจากนั้นนำเส้นไหมไฟโบรอินไปแช่ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ 2 คีน เพื่อฟอกขาวเส้นไหมไฟโบรอิน ก็จะได้เส้นไหมไฟโบรอินที่มีสีขาวแต่มีผิวที่หยาบกระด้าง จากนั้นนำเส้นไหมไฟโบรอินดังกล่าวไปล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้ง ผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปผ่านชั้นลอกกาวยูเรซินอีกครั้ง โดยการล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต ได้เส้นไหมไฟโบรอินที่มีสีขาวออกเหลืองและนุ่มขึ้น จากนั้นนำเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการต่างๆ ไปทำการทดสอบ

4.1.1 ผลการตรวจวิเคราะห์สัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกวาด (Scanning Electron Microscopes, SEM) ของเส้นไหมไฟโบรอิน

ทำการตรวจวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของเส้นไหมไฟโบรอินด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกวาด ที่กำลังขยาย 500 เท่า เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวในแต่ละขั้นตอนที่ผ่านมา มีลักษณะต่างๆ ดังรูปที่ 4.1

จากรูปที่ 4.1 (ก) จะเห็นว่าพื้นผิวของเส้นไหมรังไหมไม่เรียบ เนื่องจากมีกาวยูเรซิน เกาะอยู่ตามเส้นไหมไฟโบรอิน ส่วนรูปที่ 4.1 (ข) นำรังไหมไปต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง จะเห็นว่า พื้นผิวของเส้นไหมไฟโบรอินค่อนข้างเรียบมากกว่ารังไหม แต่ผิวของเส้นไหมไฟโบรอินยังไม่เรียบสม่ำเสมอเนื่องจากมีกาวยูเรซินอยู่บ้าง แต่เมื่อนำเส้นไหมไฟโบรอินดังกล่าวไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต ทำให้เส้นไหมไฟโบรอินมีพื้นผิวเรียบสม่ำเสมอมากขึ้น ดังรูปที่ 4.1 (ค) ส่วนรูปที่ 4.1 (ง) นั้น นำเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอล ลักษณะพื้นผิวคล้ายกับรูปที่ 4.1 (ข) คือ ผิวของเส้นไหมไฟโบรอินไม่เรียบและขนาดของเส้นไหมมีขนาดใหญ่ขึ้นเล็กน้อย ถ้านำเส้นไหมไฟโบรอินดังกล่าวไปแช่ด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จะทำให้เส้นไหมไฟโบรอินขาดเป็นเส้นๆ ดังรูปที่ 4.1 (จ) ถ้านำเส้นไหมไฟโบรอินดังกล่าวไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต ลักษณะเส้นไหมไฟโบรอินไม่เปลี่ยนแปลง แต่เส้นไหมจะเรียบสม่ำเสมอมากขึ้น ดังรูปที่ 4.1 (ฉ)

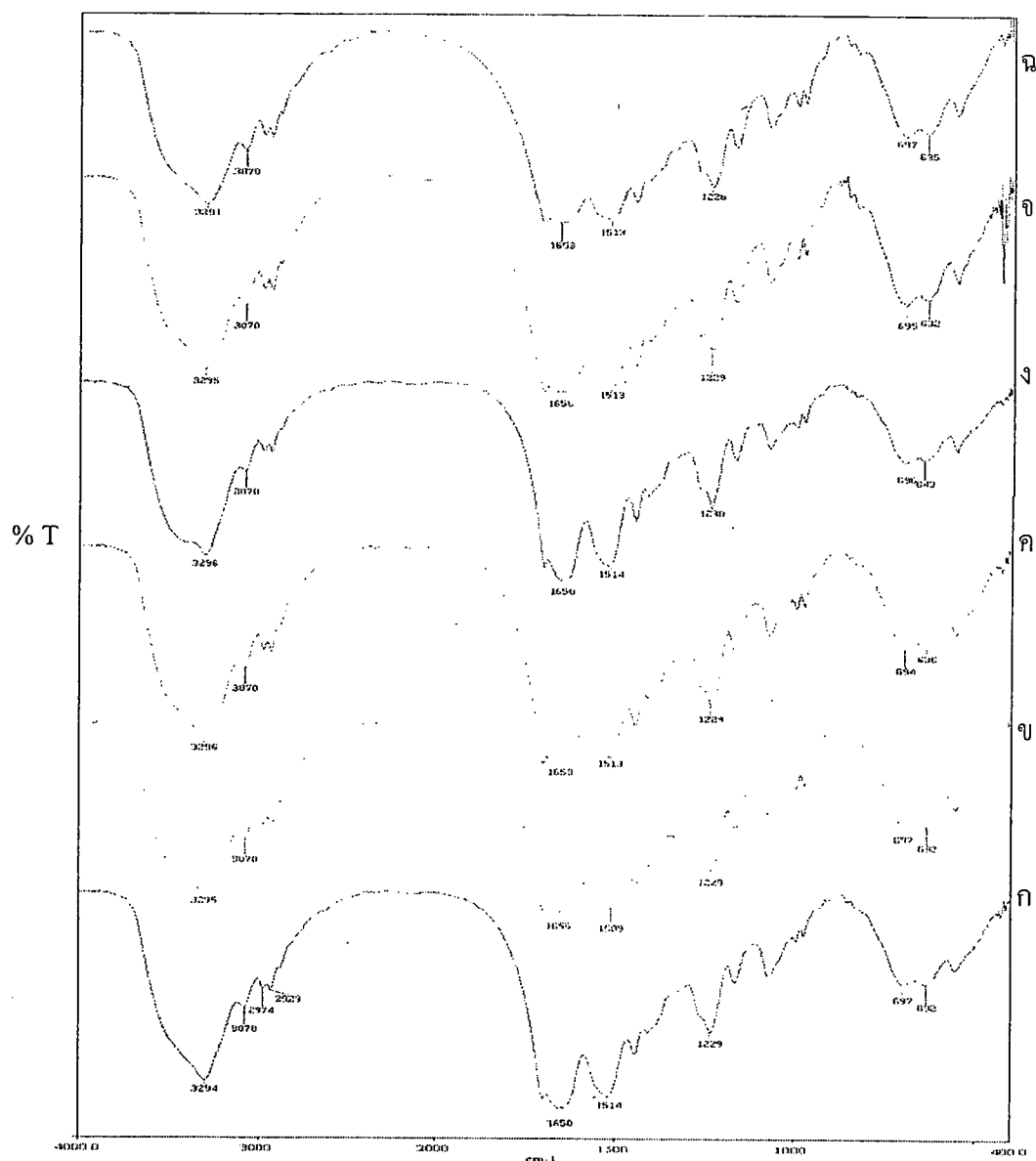
ผลการทดลอง สรุปได้ว่า สบู่และโซเดียมคาร์บอเนต สามารถล้างกาวยูเรซินได้ดี ส่วนเมทานอลทำให้โปรตีนไหมไฟโบรอินเปลี่ยนโครงสร้างเป็น β -sheet และทำให้เส้นไหมพองตัวและกระด้าง ส่วนไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนไหมไฟโบรอิน มองเห็นเป็นเส้นไหมไฟโบรอินขาดเป็นเส้นเล็กๆ



รูปที่ 4.1 แสดงรูปของเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการเตรียมต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องทวาร

- (ก) เส้นไหมที่ได้จากรังไหม อ่างทอดานข้าง
- (ข) เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง
- (ค) เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต
- (ง) เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่แทนทอล
- (จ) เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่แทนทอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
- (ฉ) เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่แทนทอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต

4.1.2 ผลการตรวจหาหมู่ฟังก์ชันของเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการเตรียมต่างๆ ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy : FTIR)



รูปที่ 4.2 แสดงสเปกตรัมของเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการเตรียมต่างๆ

- (ก) เส้นไหมที่ได้จากรังไหม อําเภอด่านช้าง
- (ข) เส้นไหมที่ได้จากการต้มนํ้าร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง
- (ค) เส้นไหมที่ได้จากการต้มนํ้าร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอล
- (ง) เส้นไหมที่ได้จากการต้มนํ้าร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต
- (จ) เส้นไหมที่ได้จากการต้มนํ้าร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต
- (ฉ) เส้นไหมที่ได้จากการต้มนํ้าร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์

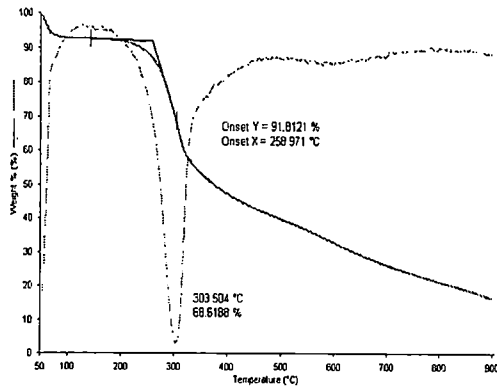
สเปกตรัมของเส้นไหมไฟโบรอินโดยทั่วไปแถบการดูดกลืนคือ O-H Stretching ปรากฏที่เลขคลื่น 3200-3600 cm^{-1} , N-H Stretching ปรากฏที่เลขคลื่น 3300-3400 cm^{-1} , C-H Aliphatic Stretching ปรากฏที่เลขคลื่น 2800-3000 cm^{-1} , C=O Stretching ปรากฏที่เลขคลื่น 1600-1700 cm^{-1} และ C-N Stretching ปรากฏที่เลขคลื่น 1020-1250 cm^{-1} เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบสเปกตรัม รูปที่ 4.3 พบว่าแถบการดูดกลืนของเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการเตรียมต่างๆ มีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือตำแหน่งเลขคลื่น 1509-1514 cm^{-1} (Amide II) เป็นการดูดกลืนของ C=O stretching และเลขคลื่นที่ 1680-1630 cm^{-1} (Amide I) โดยเป็นลักษณะแถบการดูดกลืนของหมู่เอไมด์ทุติยภูมิ (Secondary Amide) และหมู่เอไมด์ปฐมภูมิ (Primary Amide) ตามลำดับซึ่งพบในเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการต่างๆ ส่วนที่ตำแหน่งเลขคลื่น 2990-2850 cm^{-1} เป็นการดูดกลืนของ C-H stretch ของ CH_3 และ CH_2 และเลขคลื่นที่ 1229 cm^{-1} (Amide III), 650 cm^{-1} (Amide IV)

4.1.3 ผลการศึกษาสมบัติทางความร้อนของเส้นไหมไฟโบรอินโดยใช้เทคนิคเทอร์มัลกราวิเมตริก Thermogravimetric Analysis (TGA)

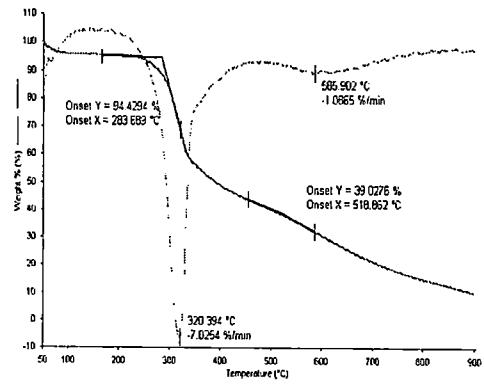
การวิเคราะห์ทางความร้อนของเส้นไหมไฟโบรอิน โดยใช้เทคนิคเทอร์มัลกราวิเมตริก Thermogravimetric Analysis (TGA) ที่อัตราการให้ความร้อน 10 $^{\circ}\text{C}$ /นาที ภายใต้สภาวะไนโตรเจน อุณหภูมิ 50-900 $^{\circ}\text{C}$ ศึกษาเสถียรภาพทางความร้อน โดยพิจารณาอุณหภูมิการสลายตัวของเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการเตรียมต่างๆ ผลการตรวจวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 อุณหภูมิของการสลายตัวของเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านการเตรียมเส้นไหมต่างๆ

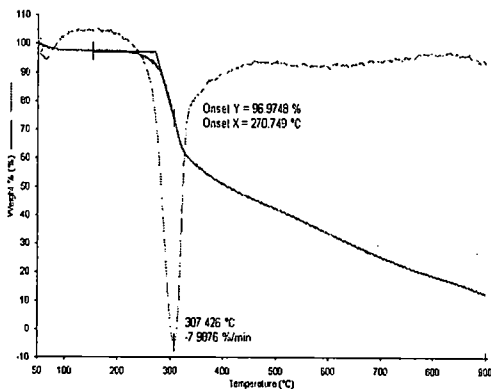
เส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการต่างๆ	อุณหภูมิการสลายตัวของเส้นไหมไฟโบรอิน ($^{\circ}\text{C}$)
1. เส้นไหมที่ได้จากรังไหม อำเภอด่านช้าง	303
2. เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง	320
3. เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต	307
4. เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอล	318
5. เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์	309
6. เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต	306



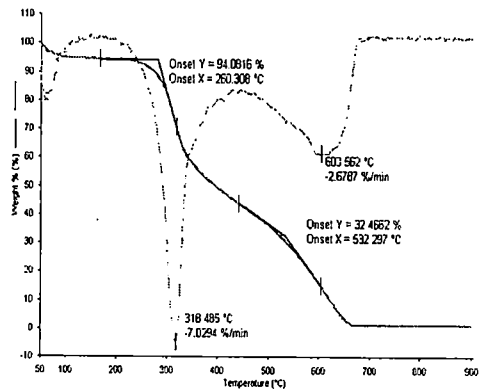
(ก)



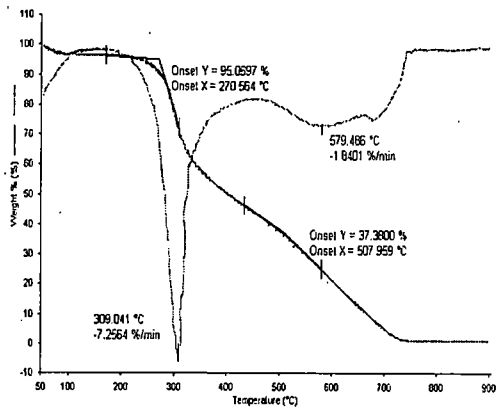
(ข)



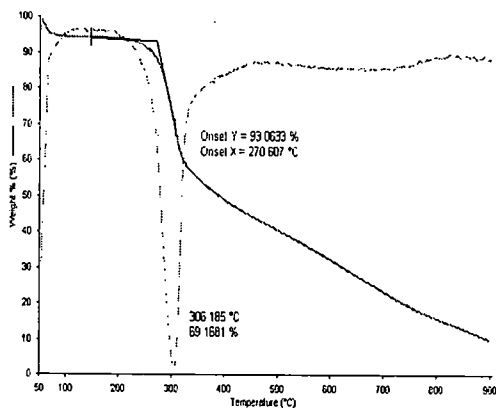
(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

รูปที่ 4.3 เทอร์โมแกรมการสลายตัวทางความร้อนของเส้นไหมไฟเบอร์อินที่ผ่านกระบวนการเตรียมต่างๆ

- (ก) รังไหม จากอำเภอ ค่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี
- (ข) เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง
- (ค) เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต
- (ง) เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่หมักทานอล
- (จ) เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่หมักทานอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
- (ฉ) เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่หมักทานอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต

จากตารางที่ 4.2 ที่สรุปอุณหภูมิการสลายตัวของเส้นไหม และรูปที่ 4.3 เทอร์โมแกรมของเส้นไหมพบว่า เส้นไหมที่ได้จากรังไหมมีอุณหภูมิการสลายตัวที่ 286°C ซึ่งต่ำกว่าเส้นไหมไฟเบอร์อินที่ผ่านกระบวนการเตรียม

ต่างๆ เนื่องจากในรังไหม มีองค์ประกอบ 2 ส่วน คือ กาวเซรีซินและเส้นไหมไฟโบรอิน นั่นคือเป็นการสลายตัวของเส้นไหมที่เริ่มจากการสลายของกาวไหมที่ประกอบด้วยอะมิโนสายโซ่สั้นๆ ซึ่งจากลักษณะดังกล่าว ส่งผลให้รังไหมมีอุณหภูมิการสลายตัวต่ำกว่าเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการเตรียมต่างๆ และเมื่อนำรังไหมไปล้างด้วยน้ำร้อนเพื่อเอา กาวเซรีซินออก ทำให้อุณหภูมิการสลายตัวสูงขึ้น เป็น 320°C แต่ถ้านำเส้นไหมไฟโบรอินดังกล่าวไปแช่เมทานอล ทำให้อุณหภูมิการสลายตัวสูง 318°C อาจเนื่องมาจากสายโซ่ภายในของเส้นไหมไฟโบรอินเปลี่ยนมาอยู่ในลักษณะเป็น β -sheet แต่เมื่อเส้นไหมไฟโบรอินดังกล่าวไปแช่ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จะทำให้อุณหภูมิการสลายตัวลดต่ำลงเป็น 307°C เนื่องมาจากไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เข้าไปตัดส่วนของโซ่โมเลกุลของพอลิเพปไทด์ ทำให้เส้นไหมมีความเหนียวและความยืดต่ำลงเล็กน้อย อุณหภูมิการสลายจึงลดต่ำลง เมื่อนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต โมเลกุลสั้นๆเหล่านี้จะหลุดออกไป

4.2 ผลการศึกษาการขึ้นรูปฟิล์มด้วยเทคนิคการเทหล่อ (Casting) จากเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านการเตรียมเส้นไหม ด้วยกระบวนการต่างๆ

ใช้น้ำไหมไฟโบรอินที่ได้จากการ Dialysis ที่ได้จากเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการเตรียมต่างๆ จำนวน 40 ม.ล. ซึ่งจะมีเนื้อไหมไฟโบรอินประมาณ 1.0 กรัม

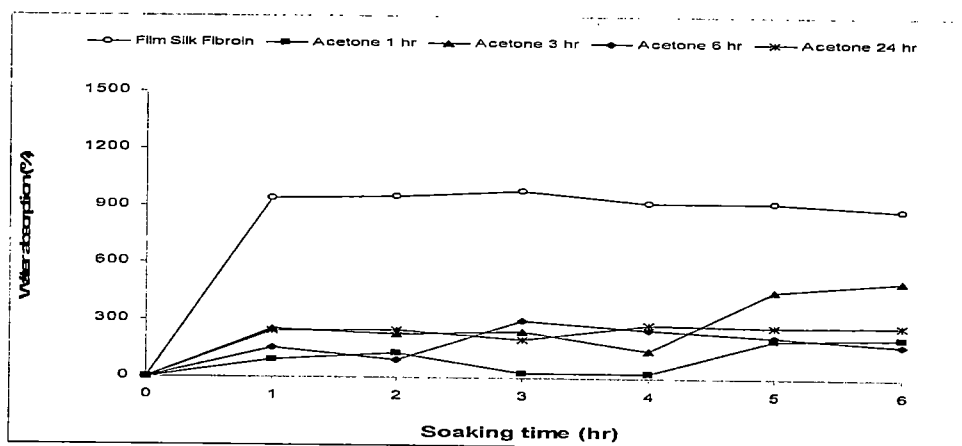
ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะทางกายภาพของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่เตรียมจากเทคนิคการเทหล่อ (Casting)

กระบวนการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอิน	ลักษณะของฟิล์มไหมไฟโบรอิน
เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต	ฟิล์มไหมสีเหลืองใส แข็งแต่เปราะ ขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ ไม่แตกหักง่าย
เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจน เพอร์ออกไซด์	ฟิล์มไหมขุ่นสีขาวออกเหลือง เปราะ แตกหักง่าย ขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้แต่แตกหักง่าย
เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจน เพอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต	ฟิล์มไหมขุ่นสีขาวออกเหลือง เปราะ แตกหักง่าย ขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ แต่แตกหักง่าย

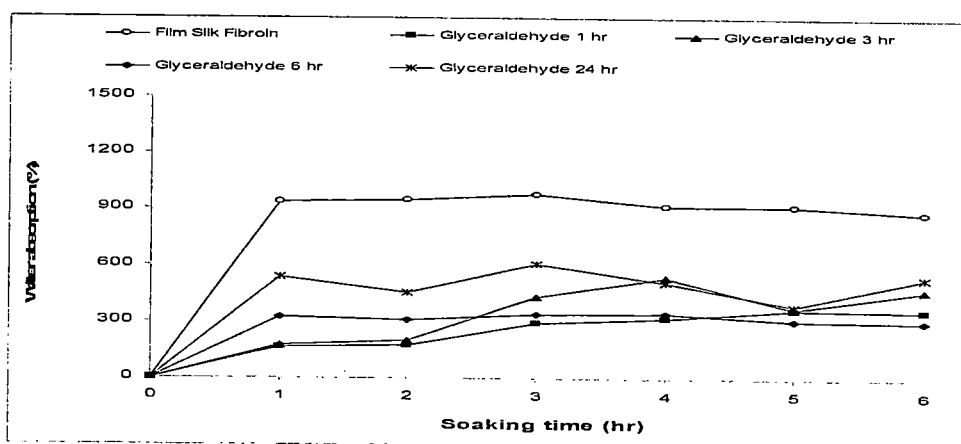
เนื่องจากสามารถเตรียมฟิล์มไหมไฟโบรอินได้จาก เส้นไหมที่ต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนตเท่านั้น จึงนำฟิล์มที่ได้ไปปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายต่างๆ ดังตารางที่ 3.2 (วิธีการทดลอง หน้า 40)

4.2.1 การศึกษาสมบัติการดูดซึมน้ำของฟิล์มไหมไฟโบรอิน

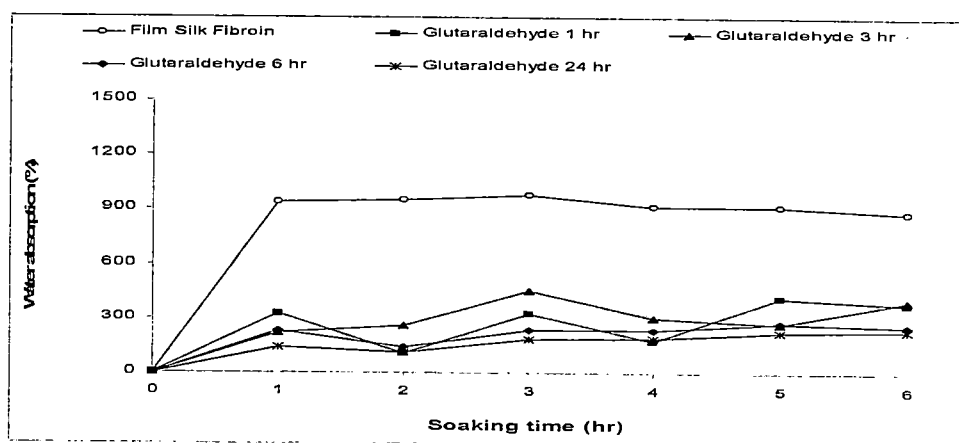
นำฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ปรับปรุงและไม่ได้ปรับปรุงมาแช่น้ำ ตามเวลาที่กำหนด จากนั้นคำนวณหาสมบัติการดูดซึมน้ำของฟิล์มไหมทุกประเภท ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.4, 4.5, และ 4.6 ตามลำดับ



รูปที่ 4.4 ผลการดูดซึมน้ำของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่แช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำที่เวลา 1, 3, 6 และ 24 ชั่วโมง แล้วนำฟิล์มไหมไปแช่น้ำที่เวลา 0 ถึง 6 ชั่วโมง



รูปที่ 4.5 ผลการดูดซึมน้ำของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่แช่สารละลายผสมไกลเซอร์ราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำที่เวลา 1, 3, 6 และ 24 ชั่วโมง แล้วนำฟิล์มไหมไปแช่น้ำที่เวลา 0 ถึง 6 ชั่วโมง

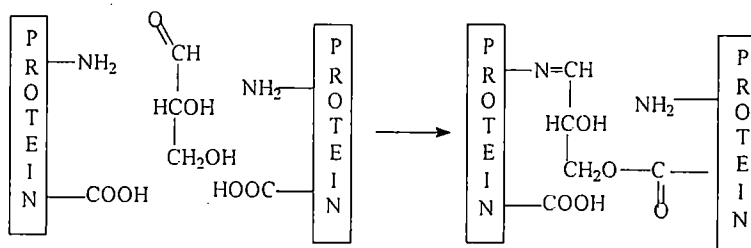


รูปที่ 4.6 ผลการดูดซึมน้ำของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่แช่สารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำที่เวลา 1, 3, 6 และ 24 ชั่วโมง แล้วนำฟิล์มไหมไปแช่น้ำที่เวลา 0 ถึง 6 ชั่วโมง

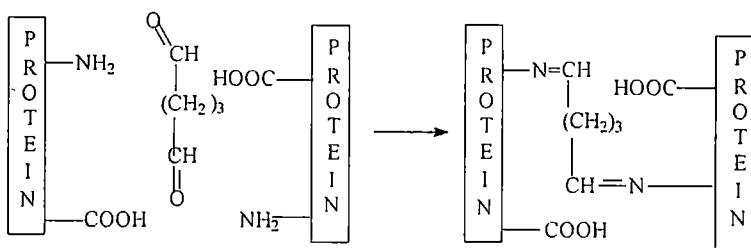
ผลการทดลองของฟิล์มที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมต่างๆ ให้ค่าการดูดซึมน้ำต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่ได้ผ่านการปรับปรุง โดยเรียงลำดับได้ดังนี้ ฟิล์มใหม่ที่แช่สารละลายผสมไกลเซอร์ราลดีไฮด์ดูดซึมน้ำได้ดีกว่าสารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์และดูดซึมน้ำได้ดีกว่าสารละลายผสม อะซิโตน แสดงว่าอาจจะเกิดพันธะเชื่อมโยงระหว่างหมู่เอมิโนของโปรตีนใหม่ไฟโบรอินกับหมู่คาร์บอนิลที่มีอยู่ในอะซิโตน ไกลเซอร์ราลดีไฮด์และกลูตาราลดีไฮด์ ดังแผนภาพจำลองปฏิกิริยาเคมีระหว่าง โปรตีนกับสารก่อพันธะเชื่อมโยง

ในกรณีของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ แม้ว่าอาจจะไม่เกิดพันธะเชื่อมโยง แต่หากหมู่เอมิโนของโปรตีนจากเส้นไหมไฟโบรอินทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิลของอะซิโตนได้ ก็เป็นการลดหมู่ที่ชอบน้ำของเส้นไหมไฟโบรอินลง ทำให้การดูดซึมน้ำลดลงด้วย

แผนภาพจำลองปฏิกิริยาเคมีระหว่าง โปรตีนซึ่งมีหมู่ $-NH_2$ ใน Lysine สามารถเกิดพันธะโคเวเลนต์กับ Acetone



แผนภาพจำลองปฏิกิริยาเคมีระหว่าง โปรตีนซึ่งมีหมู่ $-NH_2$ ใน Lysine และหมู่ $-COOH$ ในกรดอะมิโน Glutamic acid หรือ Aspartic acid สามารถเกิดพันธะโคเวเลนต์เชื่อมโยงด้วย Glyceraldehyde

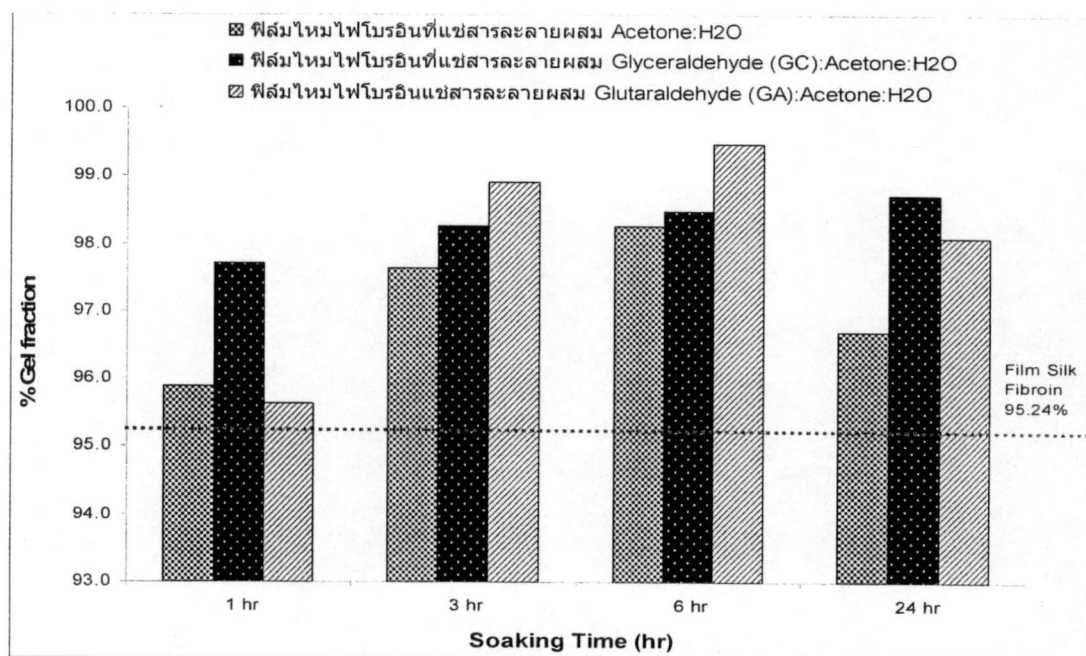


แผนภาพจำลองปฏิกิริยาเคมีระหว่าง โปรตีนซึ่งมีหมู่ $-NH_2$ ใน Lysine และหมู่ $-COOH$ ในกรดอะมิโน Glutamic acid หรือ Aspartic acid สามารถเกิดพันธะโคเวเลนต์เชื่อมโยงด้วย Glutaraldehyde

4.2.2 ผลของค่าสัดส่วนเจล Gel Fraction

สัดส่วนเจลคือส่วนของฟิล์มที่ไม่ละลายน้ำ เมื่อนำฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ปรับปรุงและไม่ได้ปรับปรุง ณ เวลาต่างๆขนาด 1×1 นิ้ว มาต้มในน้ำร้อนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วคำนวณหาค่าสัดส่วนเจลที่ได้ดังแสดงในรูปที่ 4.7 พบว่าฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงด้วยสารละลายผสมต่างๆ จะมาค่าสัดส่วนเจลที่มากกว่าฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ไม่ได้ผ่านการปรับปรุงด้วยสารละลายผสม แสดงว่าทั้งอะซิโตน ไกลเซอร์ราลดีไฮด์ และกลูตาราลดีไฮด์ สามารถเกิดปฏิกิริยาเคมี โดยใช้หมู่คาร์บอนิลทำปฏิกิริยากับหมู่เอมิโนของไฟโบรอินเกิดพันธะ

เชื่อมโยง และฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ถูกปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมไกลเซอรัลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ มีเปอร์เซ็นต์สัดส่วนเจลที่สูงตั้งแต่ชั่วโมงแรกที่แช่ฟิล์ม และมีแนวโน้มสูงขึ้น ส่วนฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ถูกปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ และสารละลายผสม กลูตาแรลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำก็มีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์สัดส่วนเจลสูงขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 6 แล้วกลับลดลงที่ชั่วโมงที่ 24 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในสารละลายผสมมีส่วนของน้ำอยู่ เมื่อเวลาการแช่นานถึง 24 ชั่วโมง อาจทำให้สายโซ่โมเลกุลขนาดเล็กลงหลุดออกพร้อมกับการเกิดพันธะเชื่อมโยง เลยทำให้น้ำหนักโดยรวมของเจลลดลง แต่อย่างไรก็ตามยังมีค่าสูงกว่าค่าสัดส่วนเจลของฟิล์มไหมที่ไม่ได้ปรับปรุง



รูปที่ 4.7 ค่าสัดส่วนเจลของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์มด้วยการแช่ สารละลายผสมเป็นเวลา 1, 3, 6 และ 24 ชั่วโมง

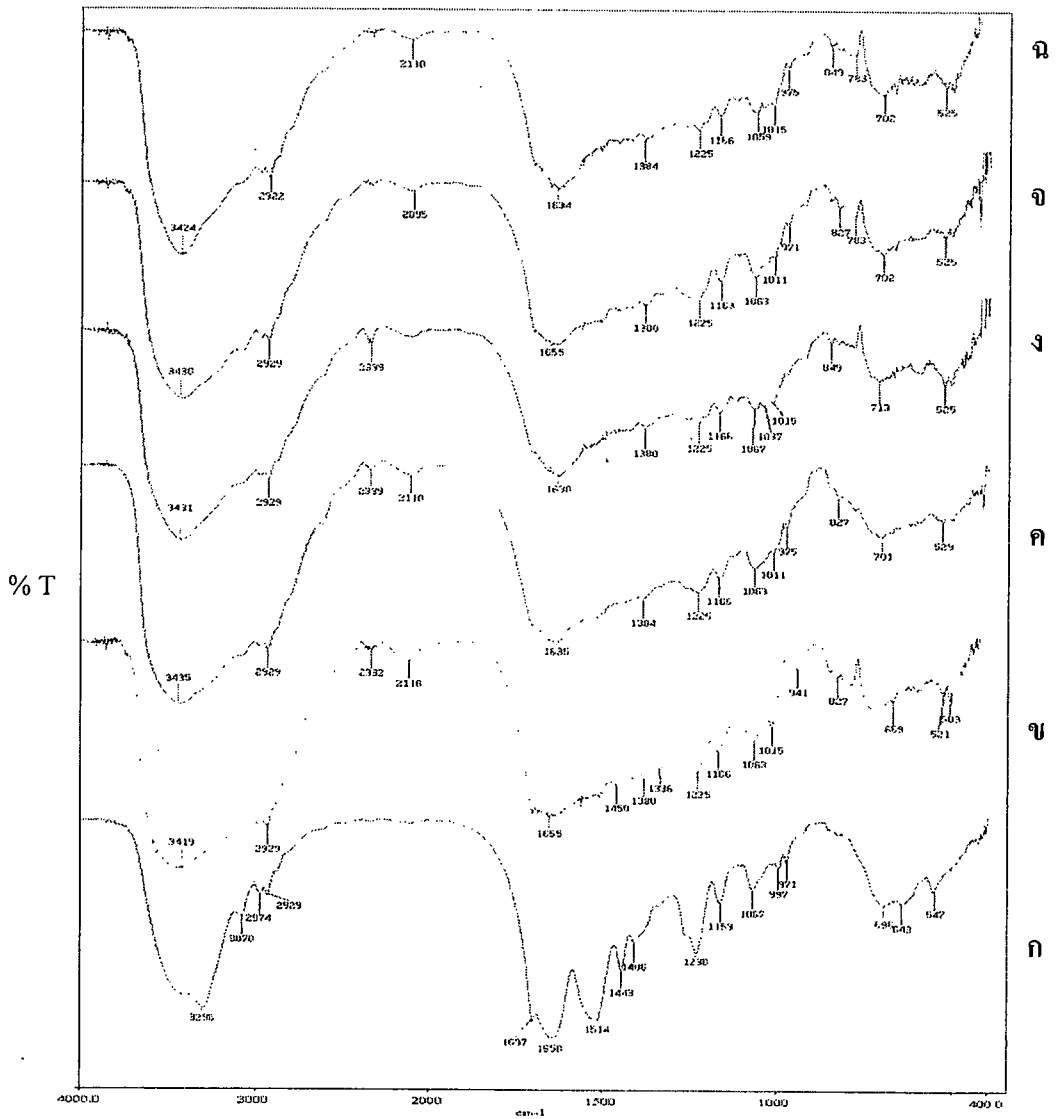
4.2.3 ศึกษาการตรวจหาหมู่ฟังก์ชันของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์มด้วยการแช่สารละลายผสมต่างๆด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy : FTIR)

จากรูปที่ 4. 8 , 4.9, และ 4.10 (ก)เส้นไหมไฟโบรอินที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต พบแถบดูดกลืนที่ตำแหน่งเลขคลื่น $1680-1630\text{ cm}^{-1}$ (Amide I) ซึ่งเกิดจากการสั่นสะเทือนของ C=O stretching ที่อยู่ในโครงสร้างหลักของพอลิเปปไทด์ และพบพิกที่ตำแหน่งเลขคลื่น $1509-1514\text{ cm}^{-1}$ (Amide II) ซึ่งเกิดจากการสั่นสะเทือนของ N-H bending และ C-N stretching ตำแหน่งนี้เปลี่ยนแปลงง่าย หากเกิดการเปลี่ยนโครงสร้างของพอลิเปปไทด์ [30]

จากรูปที่ 4. 8 , 4.9, และ 4.10 (ข) พบว่าเมื่อเปลี่ยนสภาพจากเส้นไหมเป็นฟิล์มไหม ตำแหน่งเลขคลื่น $1590-1514\text{ cm}^{-1}$ (Amide II) ซึ่งเกิดจากการสั่นของ N-H bending และ C-N stretching จะไม่ชัดเจน แต่จะมีการเปลี่ยนแปลงพิกที่ตำแหน่งเลขคลื่น $783-849\text{ cm}^{-1}$ ขึ้นมาแทนซึ่งเป็นพิกพันธะคู่และพิกที่ตำแหน่งเลขคลื่น $3200-3600\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็นพิก-OH stretching กว้างขึ้นแสดงว่าเกิดพันธะไฮโดรเจนมากขึ้น นอกจากนี้ เมื่อนำฟิล์ม

โหมไฟโบรอิน ไปปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายผสมชนิดต่างๆพบว่าหมู่ฟังก์ชันสำคัญของฟิล์มโหมคล้ายกันหมดและคล้ายฟิล์มโหมที่ไม่ได้ปรับปรุง

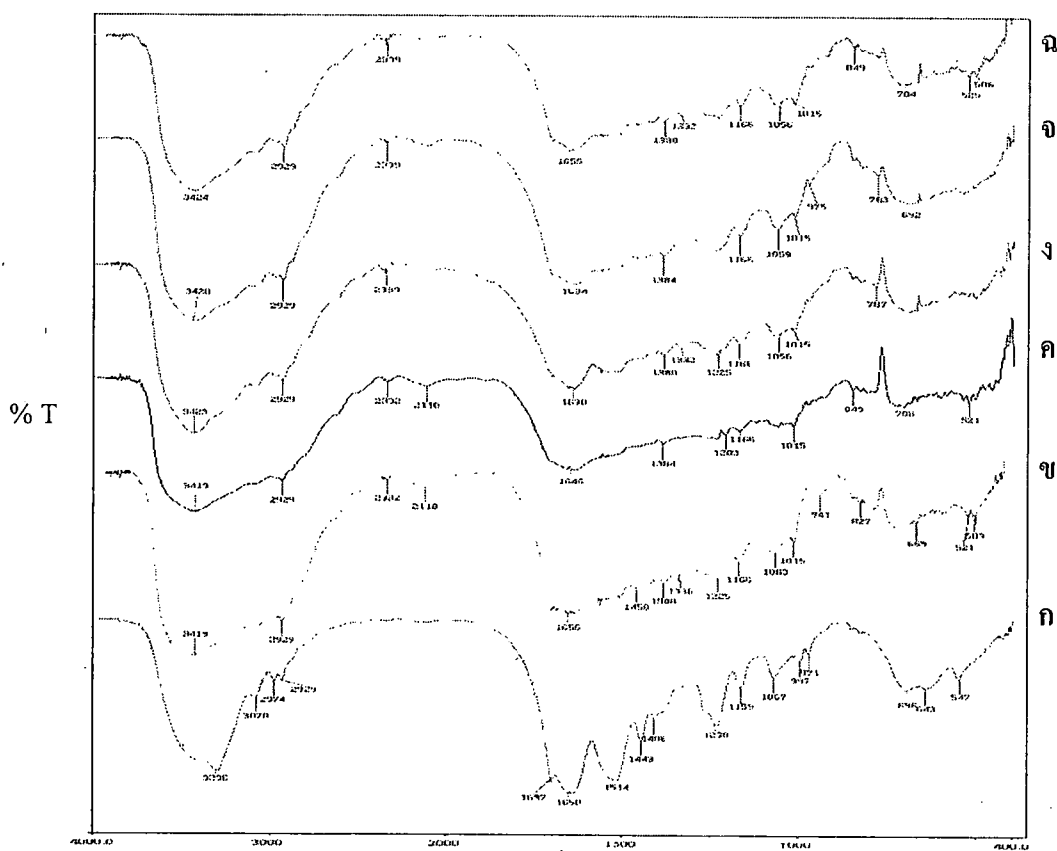
4.2.3.1 ศึกษาการตรวจหาหมู่ฟังก์ชันของฟิล์มโหมไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์มด้วยการแช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ ที่เวลา 1 ถึง 24 ชั่วโมง



รูปที่ 4. 8 แสดงพีคของฟิล์มโหมไฟโบรอินที่ถูกปรับปรุงโดยการแช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ

- (ก) เส้นโหมไฟโบรอินที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต
- (ข) ฟิล์มโหมไฟโบรอินที่ไม่มีการปรับปรุง
- (ค) ฟิล์มโหมไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ 1 ชั่วโมง
- (ง) ฟิล์มโหมไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ 3 ชั่วโมง
- (จ) ฟิล์มโหมไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ 6 ชั่วโมง
- (ฉ) ฟิล์มโหมไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ 24 ชั่วโมง

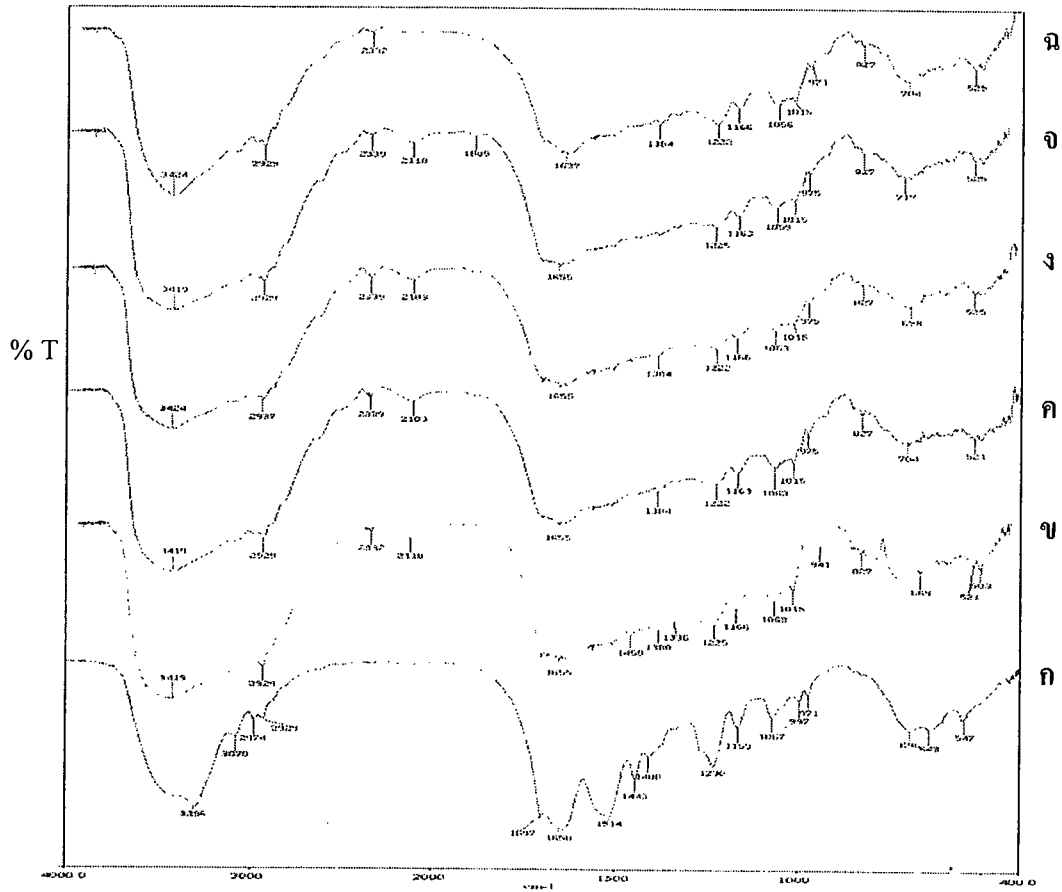
4.2.3.2 ศึกษาการตรวจหาหมู่ฟังก์ชันของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์มด้วยการแช่สารละลายผสม ไกลเซอร์ รัลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ ที่เวลา 1 ถึง 24 ชั่วโมง



รูปที่ 4.9 แสดงพิกของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมไกลเซอร์ รัลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ

- (ก) เส้นใหม่ที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต
- (ข) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ไม่มีการปรับปรุง
- (ค) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมไกลเซอร์ รัลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ 1 ชั่วโมง
- (ง) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมไกลเซอร์ รัลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ 3 ชั่วโมง
- (จ) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมไกลเซอร์ รัลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ 6 ชั่วโมง
- (ฉ) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมไกลเซอร์ รัลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ 24 ชั่วโมง

4.2.3.3 ศึกษาการตรวจหาหมู่ฟังก์ชันของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์มด้วยการแช่สารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ ที่เวลา 1 ถึง 24 ชั่วโมง



รูปที่ 4.10 แสดงพีคของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ

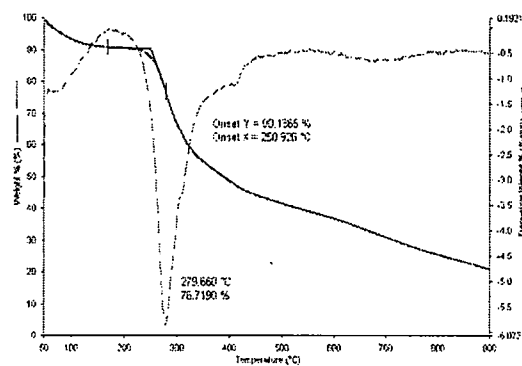
- (ก) เส้นใหม่ที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต
- (ข) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ไม่มีการปรับปรุง
- (ค) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ 1 ชั่วโมง
- (ง) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ 3 ชั่วโมง
- (จ) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ 6 ชั่วโมง
- (ฉ) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ 24 ชั่วโมง

4.2.4 การศึกษาสมบัติทางความร้อนของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินโดยใช้เทคนิค Thermogravimetric Analysis (TGA)

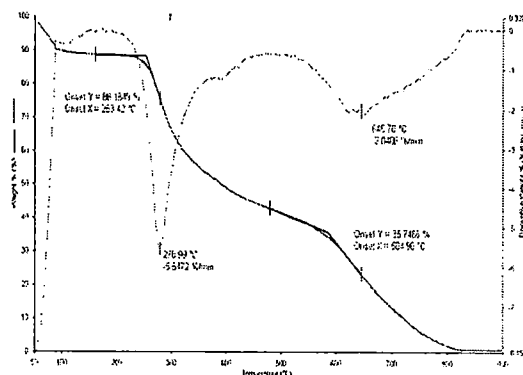
การวิเคราะห์ทางความร้อนของเส้นไหมไฟโบรอินโดยใช้เทคนิคเทอร์โมกราวิเมตริก Thermogravimetric Analysis (TGA) ที่อัตราการให้ความร้อน $10^{\circ}\text{C}/\text{นาที}$ ภายใต้สภาวะไนโตรเจน อุณหภูมิ 50-900 $^{\circ}\text{C}$ ศึกษาเสถียรภาพทางความร้อนโดยพิจารณาอุณหภูมิการสลายตัวของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์มด้วยสารละลายผสมต่างๆ โดยการแช่ที่เวลา 1, 6 และ 24 ชั่วโมงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 อุณหภูมิการสลายตัวของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยสารละลายผสมและไม่ได้ปรับปรุงฟิล์ม

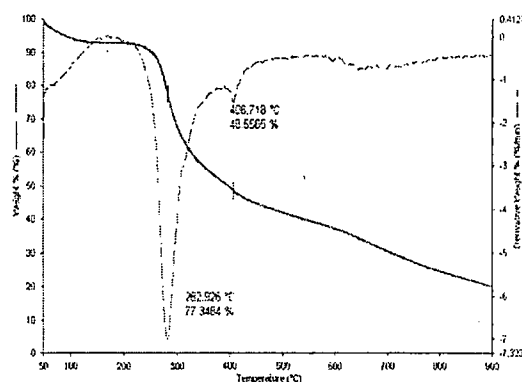
การปรับปรุงฟิล์มด้วยสารละลายผสม	อุณหภูมิการสลายตัวของฟิล์มใหม่ไฟโบรอิน ($^{\circ}\text{C}$)		
เวลาในการแช่สารละลายผสม (ชั่วโมง)	1	6	24
Acetone : H ₂ O	278.99	282.93	282.09
Glyceraldehyde : Acetone : H ₂ O	280.76	281.01	282.92
Glutaraldehyde : Acetone : H ₂ O	278.67	279.53	281.72
ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ไม่ได้ปรับปรุงฟิล์ม	279.66		



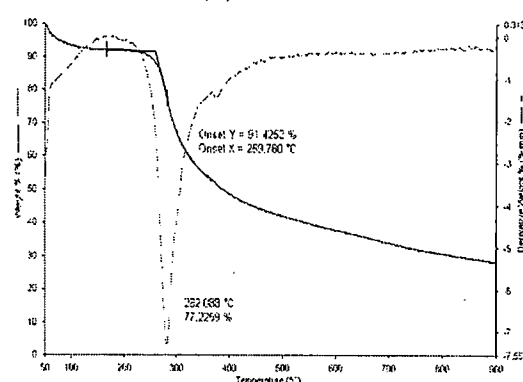
(ก)



(ข)



(ค)

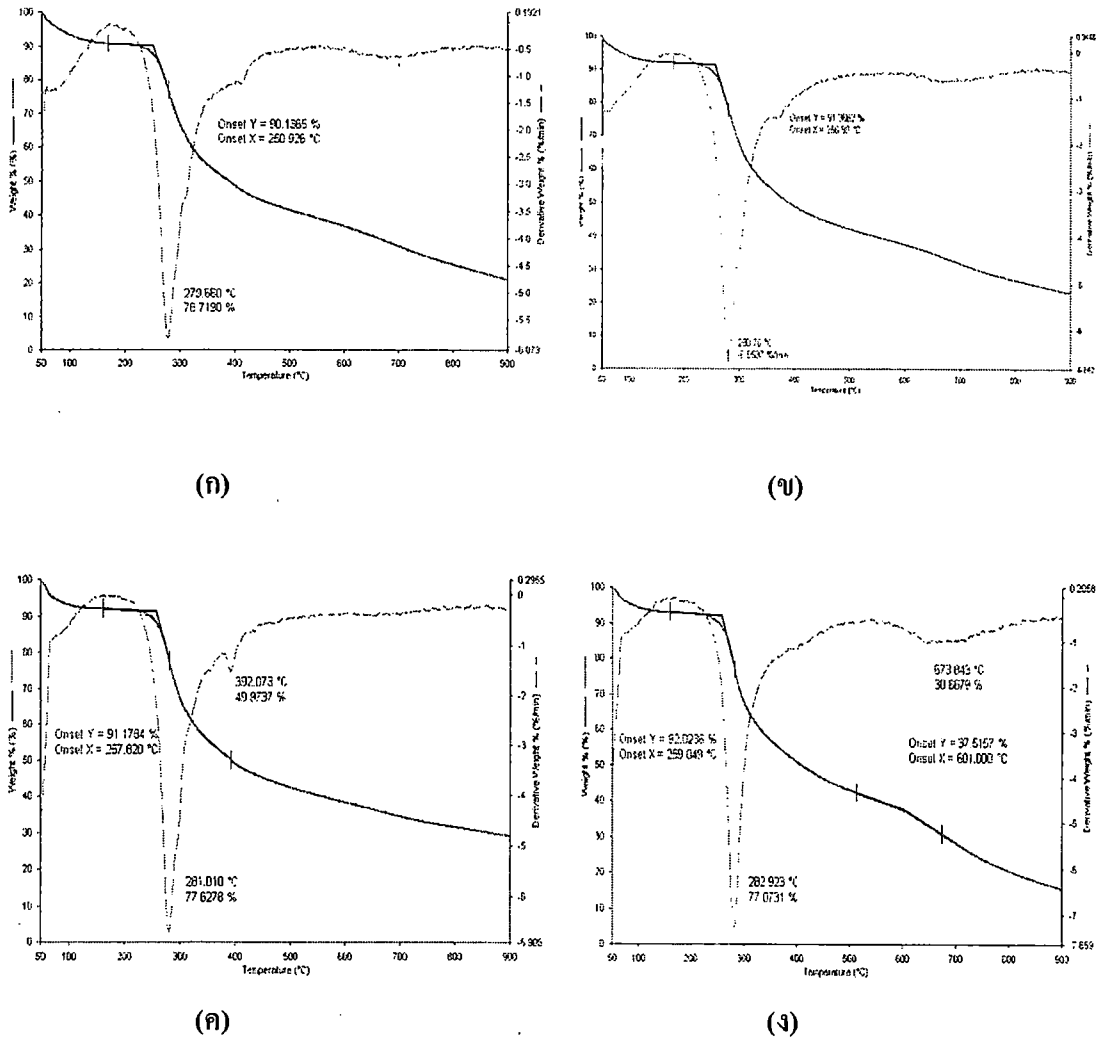


(ง)

รูปที่ 4.11 เทอร์โมแกรมการสลายทางความร้อนของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์มด้วยสารละลายอะซิโตน : น้ำ

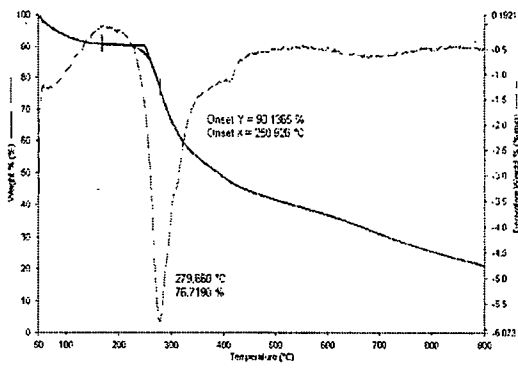
- (ก) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอิน
- (ข) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์ม 1 ชั่วโมง
- (ค) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์ม 6 ชั่วโมง
- (ง) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์ม 24 ชั่วโมง

จากผลอุณหภูมิการสลายตัวของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ถูกปรับปรุงด้วยสารละลายผสมไกลเซอร์ราลดีไฮด์กับอะซิโตน และที่เวลาการแช่ 24 ชั่วโมง จะมีอุณหภูมิการสลายตัวสูงกว่าฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ไม่ได้ถูกปรับปรุง แสดงว่าฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ถูกปรับปรุงได้ปรับโครงสร้างใหม่ไฟโบรอินให้มีความแข็งแรง มีแรงยึดภายในพันธะมากขึ้น

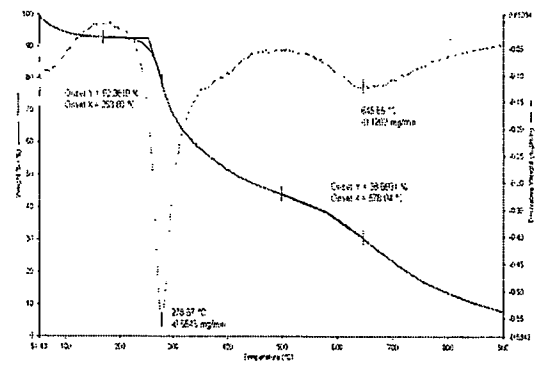


รูปที่ 4.12 เทอร์โมแกรมการสลายทางความร้อนของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์มด้วยสารละลายผสม ไกลเซอร์ราลดีไฮด์ : อะซิโตน : น้ำ

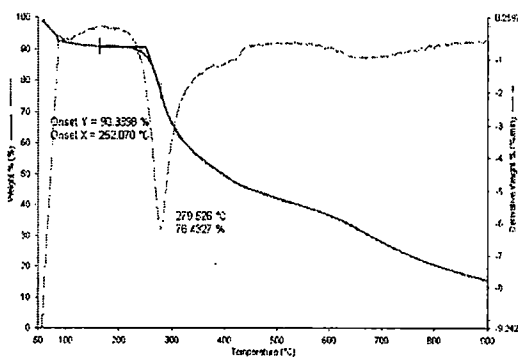
- (ก) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอิน
- (ข) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์ม 1 ชั่วโมง
- (ค) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์ม 6 ชั่วโมง
- (ง) ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์ม 24 ชั่วโมง



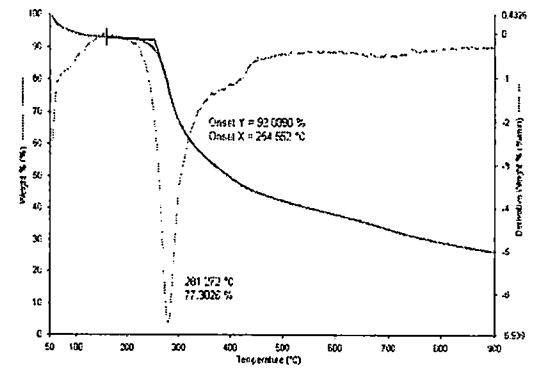
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

รูปที่ 4.13 เทอร์โมแกรมการสลายทางความร้อนของฟิล์มโพลีเมอร์ใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์มด้วยสารละลาย

ผสม กูลดราลดีไฮด์ : อะซิโตน : น้ำ

- (ก) ฟิล์มโพลีเมอร์ใหม่ไฟโบรอิน
- (ข) ฟิล์มโพลีเมอร์ใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์ม 1 ชั่วโมง
- (ค) ฟิล์มโพลีเมอร์ใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์ม 6 ชั่วโมง
- (ง) ฟิล์มโพลีเมอร์ใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์ม 24 ชั่วโมง

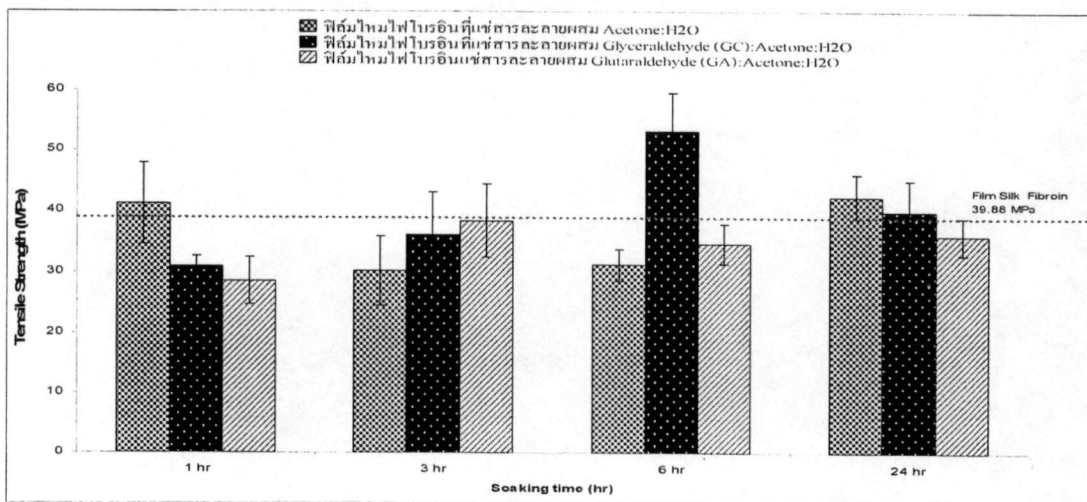
4.2.5 การศึกษาสมบัติเชิงกลของฟิล์มไหมไฟโบรอิน

ขั้นตอนนี้ศึกษาผลของการปรับปรุงฟิล์มไหมไฟโบรอินด้วยสารละลายผสมต่างๆว่ามีผลต่อความทนแรงดึงยึด (Tensile Strength) โมดูลัส (Modulus) และเปอร์เซ็นต์การดึงยึด ณ จุดสูงสุด (% Elongation at Max Load) โดยทำการทดสอบ 2 แบบ คือ

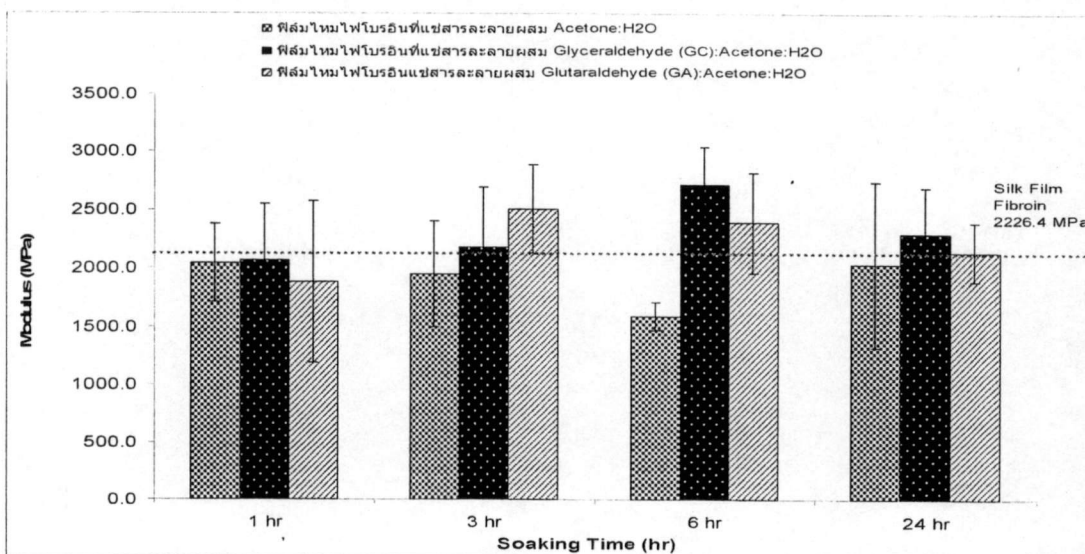
1. นำฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์มด้วยสารละลายผสมต่างๆไปทำการทดสอบสมบัติเชิงกล ใช้ Load cell 100 N อัตราเร็วในการดึง (Crosshead speed) 1 ม.ม./นาที

2. นำฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงฟิล์มด้วยสารละลายผสมต่างๆไปแช่น้ำ 10 นาที ก่อนทำการทดสอบสมบัติเชิงกล ใช้ Load cell 100 N อัตราเร็วในการดึง (Crosshead speed) 10 ม.ม./นาที

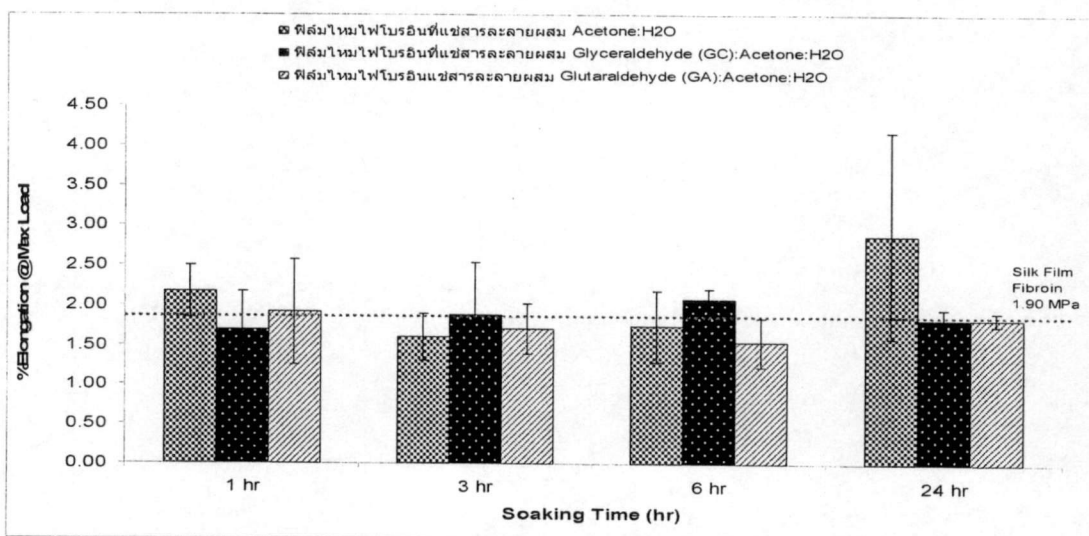
ผลการทดสอบสมบัติเชิงกลแบบที่ 1 ไม่ได้แช่น้ำก่อนทำการทดสอบ



รูปที่ 4.14 ความทนแรงดึงยึดของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ สารละลายผสมไกลเซอรัลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ และสารละลายผสมผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ



รูปที่ 4.15 ค่ามอดูลัสยึดหยุ่นของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ สารละลายผสมไกลเซอรัลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ และสารละลายผสมผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ

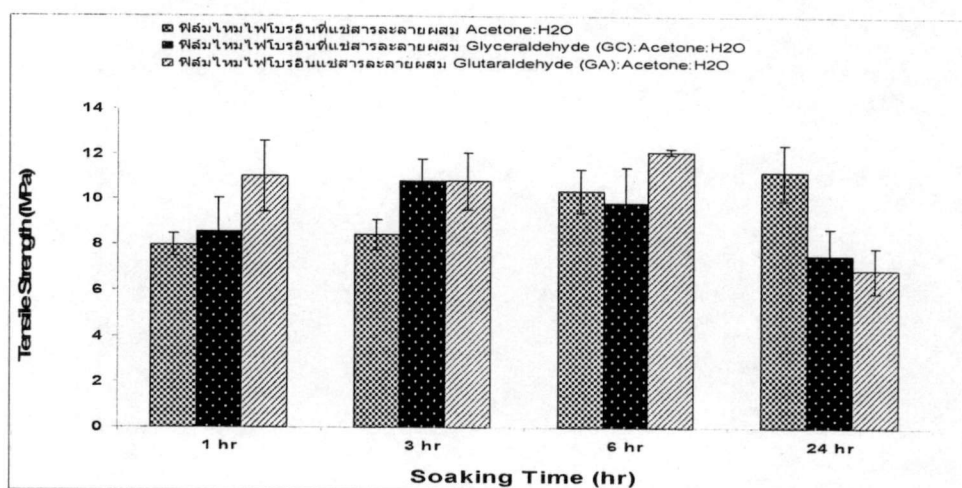


รูปที่ 4.16 ค่า % Elongation at Max Load ของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ สารละลายผสมไกลเซอร์รอลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ และสารละลายผสมผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ

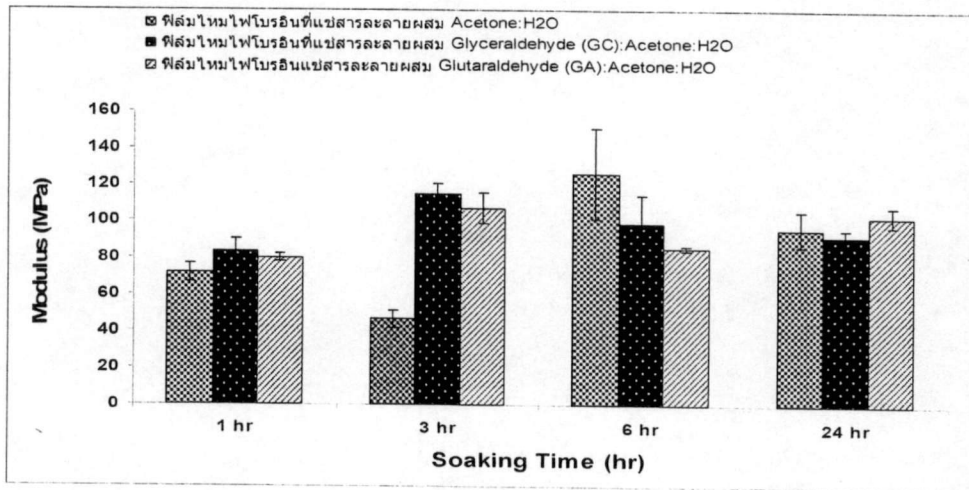
สมบัติเชิงกลของฟิล์มที่ไม่ได้ผ่านการปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายผสมต่างๆ ให้ค่าความทนแรงดึง ยืด ค่ามอดูลัสยืดหยุ่นและค่า % Elongation at Max Load ที่สูงกว่าฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายผสมต่างๆ แสดงว่าโครงสร้างของฟิล์มไหมที่ผ่านการปรับปรุงแข็ง จึงดึงยืดได้น้อย ฟิล์มไหมอาจเกิดพันธะเชื่อมโยงกับสารละลายผสมต่างๆ จึงทำให้สายโซ่เคลื่อนตัวได้ยากเมื่อได้รับแรงดึง

ผลการทดสอบสมบัติเชิงกลแบบที่ 2 แชน้ำ 10 นาที ก่อนทำการทดสอบ

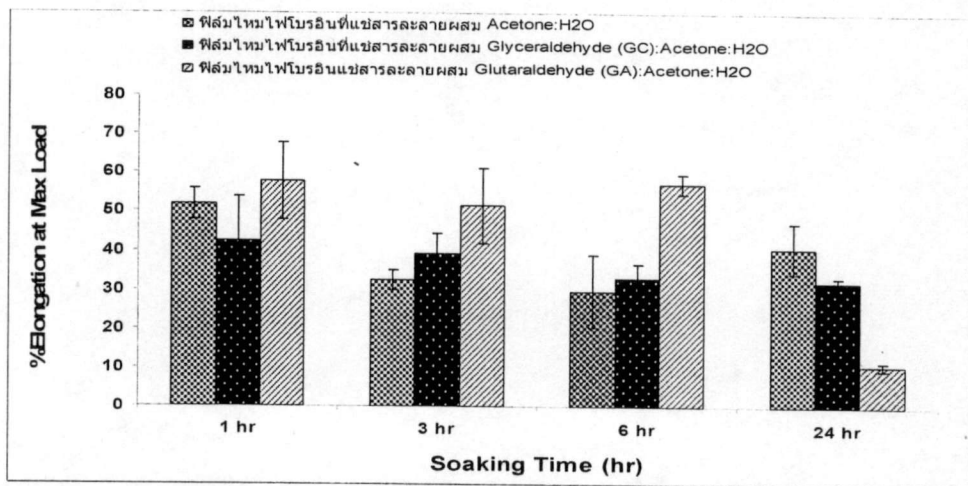
ฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ไม่ได้ผ่านการปรับปรุงฟิล์ม เมื่อนำไปแช่น้ำก่อนทำการทดสอบ 10 นาที ฟิล์มเกิดการเสียหายไม่สามารถนำมาทำการทดสอบได้



รูปที่ 4.17 ค่าความทนแรงดึงยืดของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ สารละลายผสมไกลเซอร์รอลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ และสารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ



รูปที่ 4.18 ค่ามอดุลัสยืดหยุ่นของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ สารละลายผสมไกลเซอร์ราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ และสารละลายผสม กลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ






รูปที่ 4.19 ค่า % Elongation at Max load ของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำ สารละลายผสมไกลเซอร์ราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ และสารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำ

ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายผสมต่างๆ เมื่อนำไปแช่น้ำก่อนทำการทดสอบให้ ค่าความทนแรงดึงยืดและค่ามอดุลัสยืดหยุ่นที่ต่ำกว่าในกรณีที่ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ไม่ได้แช่น้ำที่สถานะเดียวกัน แต่ให้ค่า % Elongation at Max load สูงกว่าฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ไม่ได้แช่น้ำที่สถานะเดียวกัน เนื่องมาจากน้ำเข้าไปแทรกตามโครงสร้างของฟิล์ม ทำให้เกิดช่องว่างระหว่างโครงสร้าง เกิดยืดหยุ่นที่ดี แสดงว่าฟิล์มที่ผ่านการปรับปรุงด้วยสารละลายผสมต่างๆ เมื่อแช่น้ำก่อนทำการทดสอบนั้น มีความยืดหยุ่นที่ดี แต่มีค่าความทนแรงดึงยืดได้น้อย แสดงว่าน้ำมีพฤติกรรมคล้ายกับพลาสติกไซเซออร์ คือน้ำแทรกเข้าไปตาม โครงสร้างของฟิล์ม ทำให้เกิดช่องว่างระหว่างสายโซ่ จึงทำให้สายโซ่โปรตีนของฟิล์มใหม่เกิดเคลื่อนที่ได้ง่าย

4.3 ผลการขึ้นรูป Scaffold โดยใช้เกลือชนิดต่างๆเป็นโปรเจน

ตารางที่ 4.5 ลักษณะทางกายภาพของเนื้อเยื่อโครงสร้างจากเส้นไหมวิธีต่างๆขึ้นรูปด้วยเกลือ 6 ชนิด

กระบวนการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอิน	ชนิดของเกลือ	ความสามารถในการขึ้นรูป Scaffold ที่จะนำไปทดสอบ	รูปของ Scaffold จากเกลือแต่ละชนิด
เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต (กระบวนการที่ 2 ในตารางที่ 4.1)	1. เกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	√	
	2. เกลือแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH ₄ Cl)	√	
	3. เกลือแอมโมเนียมออกซาลเลต (NH ₄ OCO) ₂	√	
	4. เกลือแอมโมเนียมโมลิบเดต (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	√	
	5. เกลือแอมโมเนียมฟลูออไรด์ (NH ₄ F)	×	
	6. เกลือแอมโมเนียมอะซิเตต	×	
เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต (กระบวนการที่ 5 ในตารางที่ 4.1)	1. เกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	√	
	2. เกลือแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH ₄ Cl)	√	
	3. เกลือแอมโมเนียมออกซาลเลต (NH ₄ OCO) ₂	√	

	4. เกลือแอมโมเนียมโมลิบเดท (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	√	
เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอล และไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (กระบวนการที่ 4 ในตารางที่ 4.1)	1. เกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	√	
	2. เกลือแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH ₄ Cl)	√	
	3. เกลือแอมโมเนียมออกซาลาเลท (NH ₄ OCO) ₂	√	
	4. เกลือแอมโมเนียมโมลิบเดท (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	√	

หมายเหตุ √ ชิ้นงานสมบูรณ์ นำออกจากแม่พิมพ์ได้ง่าย

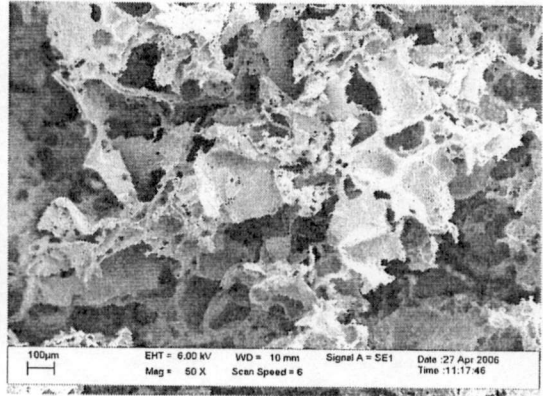
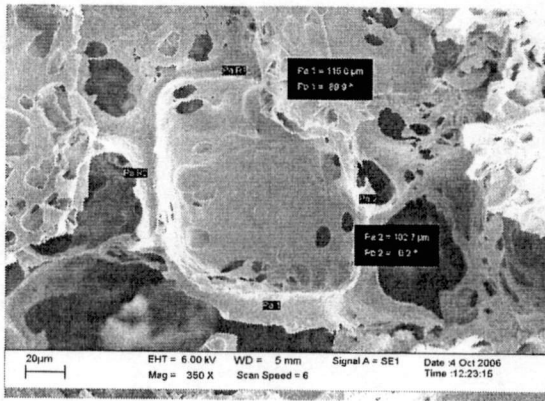
× ชิ้นงานไม่สมบูรณ์ นำออกจากแม่พิมพ์ยาก แดกหักง่าย

ในการขึ้นรูปเนื้อเยื่อ โครงสร้าง เลือกใช้เส้นไหมไฟโบรอินที่เตรียมจากกระบวนการที่ 2 กระบวนการที่ 4 และกระบวนการที่ 5 เท่านั้น การขึ้นรูป Scaffold จากเกลือชนิดต่างๆ นั้น ขนาดและรูปร่างของเกลือจะมีผลสัมพันธ์กับรูพรุนและรูปร่างของ Scaffold ถ้าเกลือมีขนาดไม่เหมาะสม จะทำให้ได้ Scaffold มีรูปร่างที่ไม่สมบูรณ์ และทำให้ออกจากแม่พิมพ์ยาก ส่วนเกลือที่มีขนาดเหมาะสมควรมีน้อยกว่า 10 ไมครอน[26] จะทำให้ได้ Scaffold มีรูปร่างที่สมบูรณ์ และออกจากแม่พิมพ์ได้ง่าย

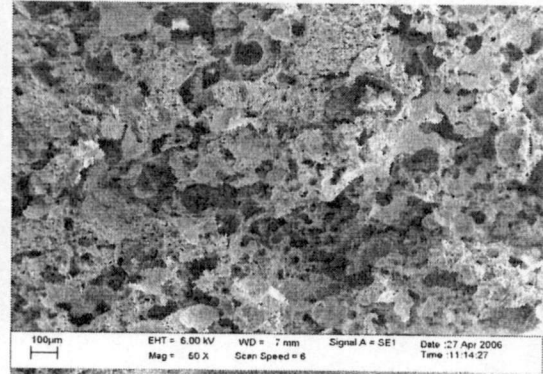
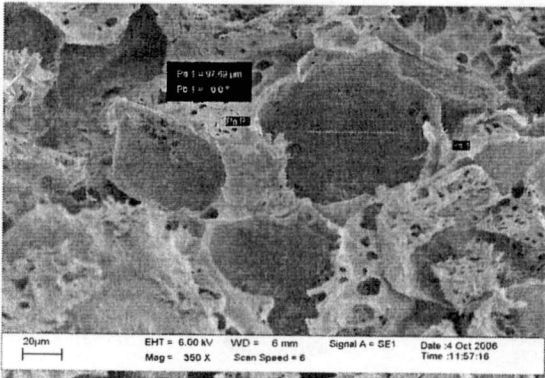
จากผลการขึ้นรูปเนื้อเยื่อ โครงสร้าง (Scaffold) จะเห็นว่า Scaffold จากเกลือ แอมโมเนียมฟลูออไรด์และแอมโมเนียมอะซิเตท ได้เนื้อเยื่อ โครงสร้างรูปร่างที่ไม่สมบูรณ์ แสดงว่าขนาดและรูปร่างของเกลือมีขนาดไม่เหมาะสมที่จะนำมาขึ้นรูปเนื้อเยื่อ โครงสร้าง ส่วนเกลือ โซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมโมลิบเดท แอมโมเนียมออกซาลาเลท และแอมโมเนียมคลอไรด์ สามารถขึ้นรูป Scaffold ได้ จึงนำ Scaffold ที่มีรูปร่างที่สมบูรณ์ ไปทำการทดสอบสมบัติต่างๆ ของ Scaffold ต่อไป

4.3.1 การตรวจวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อ โครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกวาด

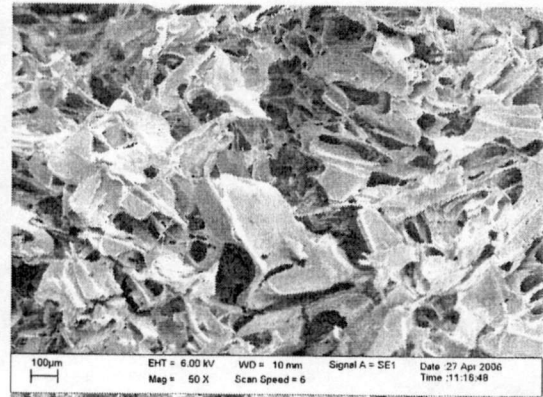
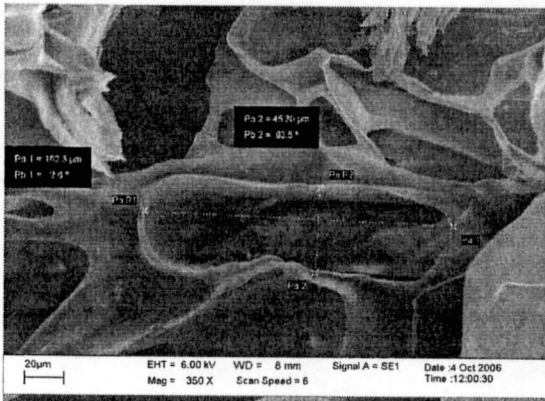
ทำการศึกษาสัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ 4 ชนิด ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกวาด (Scanning Electron Microscope, SEM) ที่กำลังขยาย 350 และ 50 เท่า รูปเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่แสดงเตรียมได้จากเส้นไหมไฟโบรอิน ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต สำหรับเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเส้นไหมที่ผ่านกระบวนการอื่นๆ ให้ผลคล้ายกัน



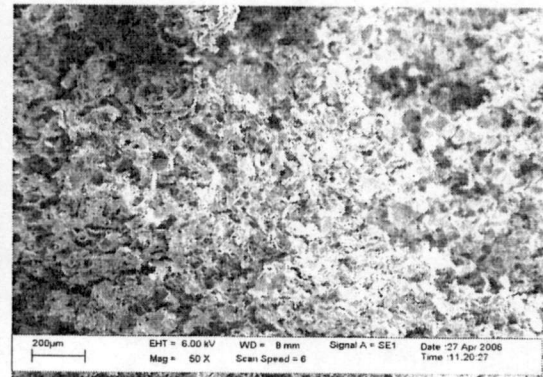
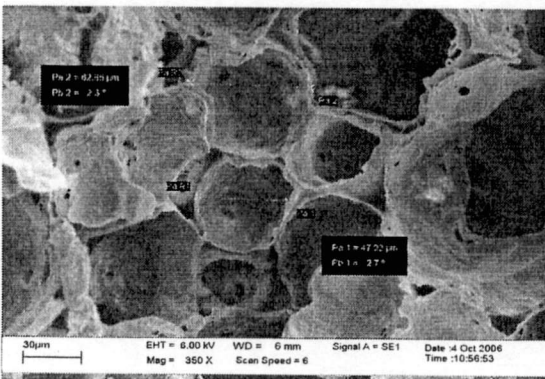
(ก)



(จ)



(ป)



(ง)

รูปที่ 4.20 รูปพรรณของเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ 4 ชนิด ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกวาดที่กำลังขยาย 350 เท่า และ 50 เท่า ตามลำดับ

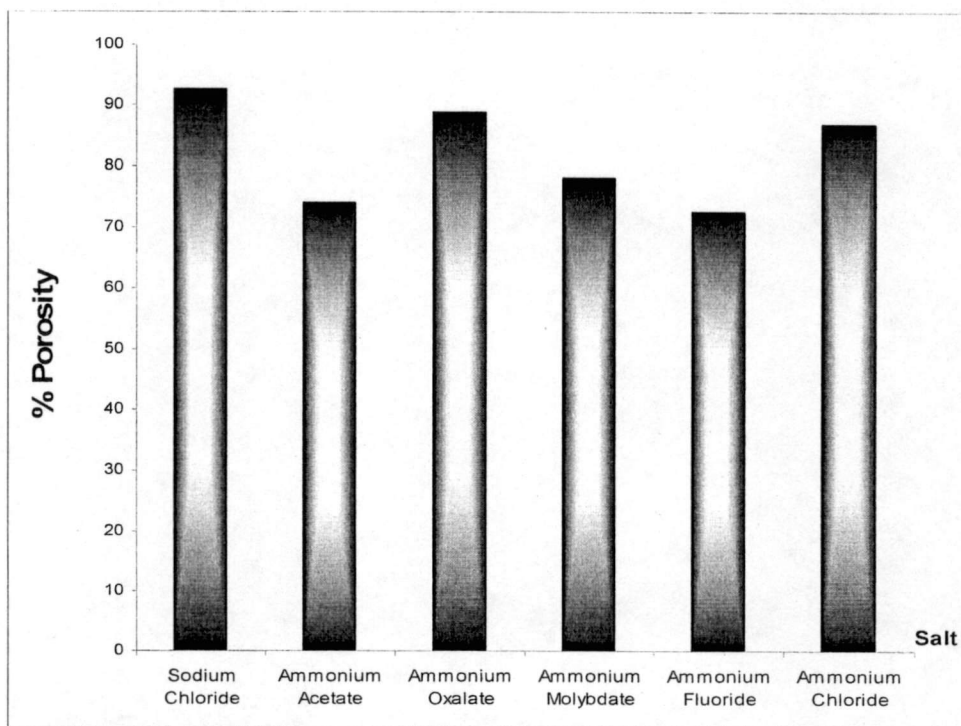
- (ก) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ โซเดียมคลอไรด์
- (ข) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอม โมเนียม โมลิบเดท
- (ค) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอม โมเนียมออกซาลเลท
- (ง) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอม โมเนียมคลอไรด์

จากรูปจะเห็นว่ารูปร่างของรูพรุนของเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่ได้จากเกลือแต่ละชนิด มีรูปร่างรูพรุนตามรูปทรงของเกลือ เช่น เกลือโซเดียมคลอไรด์มีรูปร่างเป็นทรงสี่เหลี่ยม รูพรุนของเนื้อเยื่อ โครงสร้างก็มีรูปร่างเป็นทรงสี่เหลี่ยม เกลือแอม โมเนียมออกซาลเลทมีรูปร่างเป็นทรงกระบอก รูพรุนของเนื้อเยื่อ โครงสร้างก็มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก ส่วนเกลือแอม โมเนียม โมลิบเดทและแอม โมเนียมคลอไรด์ เป็นทรงกลม รูพรุนก็มีรูปร่างเป็นทรงกลม รูพรุนของเนื้อเยื่อ โครงสร้างเป็นรูปปิด แสดงปริมาณของเกลือที่ใช้ยังไม่มากพอ

4.3.2 ผลการทดสอบความมีรูพรุนของเนื้อเยื่อโครงสร้าง

การทดสอบความมีรูพรุนของเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ 6 ชนิด โดยใช้การวัดปริมาตรของเฮกเซนที่สามารถซึมผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อ โครงสร้าง ให้ผลทดสอบดังรูปที่ 4.21

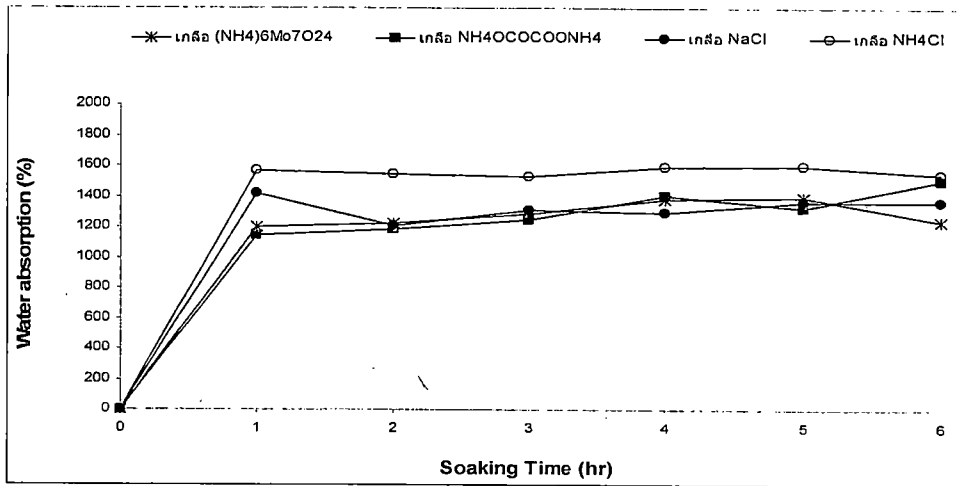
จากกราฟความมีรูพรุนของเนื้อเยื่อ โครงสร้าง (Scaffold) ที่เตรียมจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ให้ความมีรูพรุนสูงสุด 92.59 % รองลงมาคือเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอม โมเนียมออกซาลเลทความมีรูพรุน 88.89 % ส่วนเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอม โมเนียมอะซิเตทความมีรูพรุน 74.07% ใกล้เคียงกับเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอม โมเนียมฟลูออไรด์ให้ความมีรูพรุน 72.73% นั่นก็แสดงว่า ความมีรูพรุนของเนื้อเยื่อ โครงสร้างจะขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของเกลือที่ใช้เตรียม ถ้าเกลือที่ใช้เตรียมมีขนาดใหญ่มากเกินไป เช่น แอม โมเนียมอะซิเตทและแอม โมเนียมฟลูออไรด์ จะทำให้เปอร์เซ็นต์ความมีรูพรุนของเนื้อเยื่อ โครงสร้างมีค่าต่ำ เกิดจากขนาดของเกลือมีขนาดใหญ่ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อกรขึ้นรูปเนื้อเยื่อ โครงสร้าง และส่งผลต่อการดูดซึมน้ำ



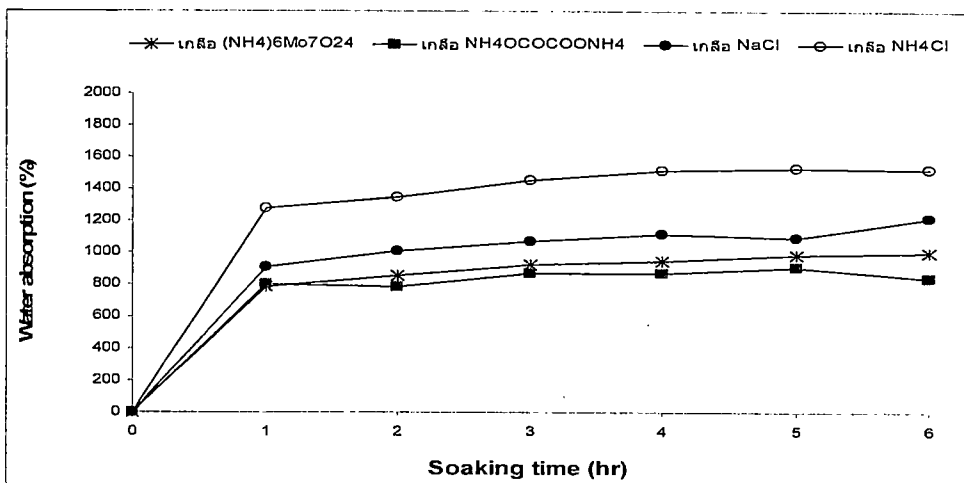
รูปที่ 4.21 แสดงกราฟความมีรูพรุนของเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ 6 ชนิด

4.3.3 ผลการทดสอบการดูดซึมน้ำของเนื้อเยื่อโครงสร้าง

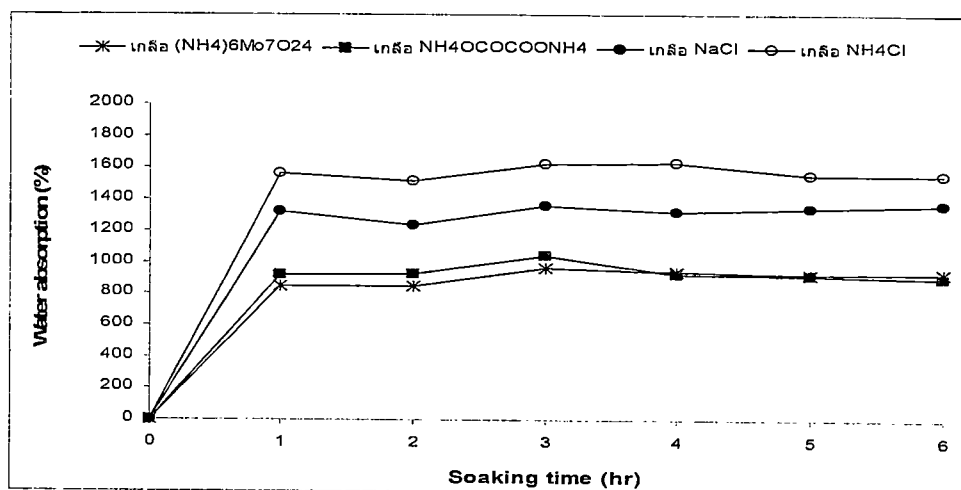
ใช้เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 6 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต มาเตรียมเนื้อเยื่อ โครงสร้างจากเกลือ 4 ชนิด สามารถขึ้นรูปได้เนื้อเยื่อ โครงสร้างจากเกลือ โซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียม โมลิบเดต แอมโมเนียมออกซาลเลท และแอมโมเนียมคลอไรด์



รูปที่ 4.22 ผลการดูดซึมน้ำของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมโดยใช้เกลือ 4 ชนิด และใช้เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต



รูปที่ 4.23 ผลการดูดซึมน้ำของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมโดยใช้เกลือ 4 ชนิด และใช้เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์



รูปที่ 4.24 ผลการดูดซึมน้ำของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียม โดยใช้ 4 ชนิด และใช้เส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต

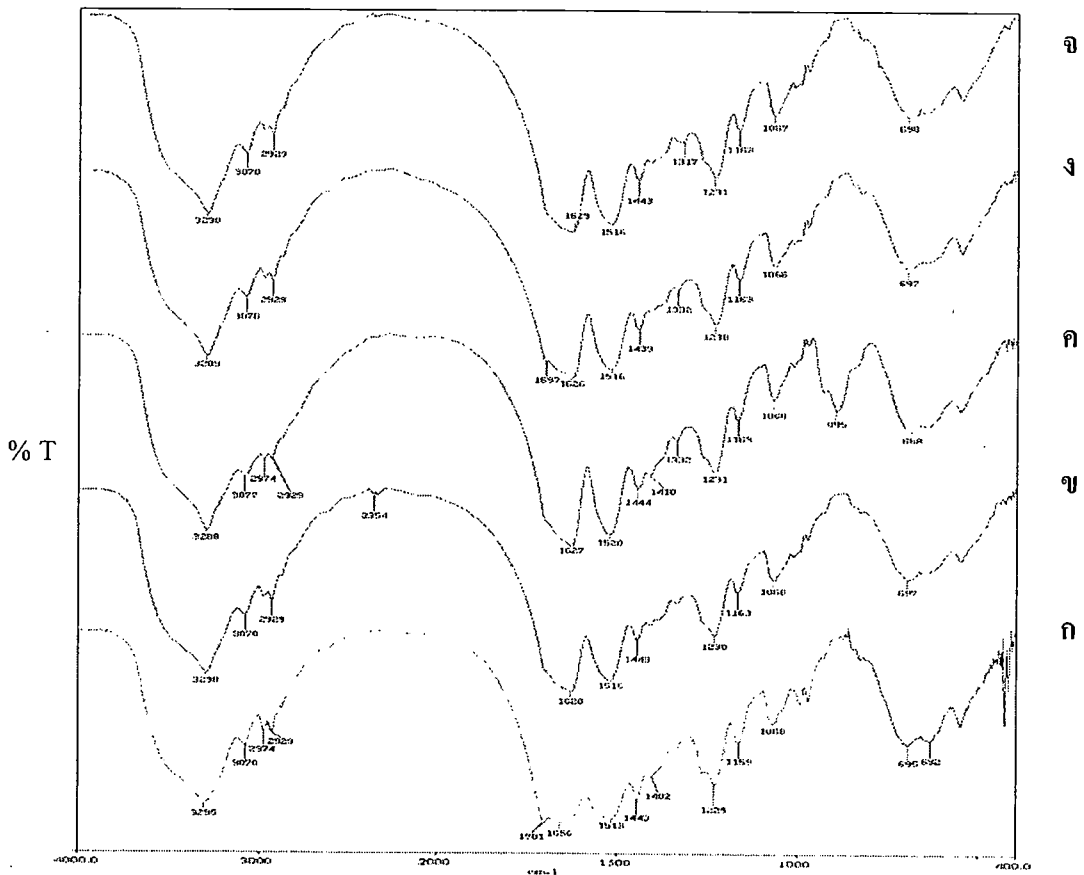
จากรูที่ 4.22, 4.23 และ 4.24 จะเห็นว่าเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเส้นไหมที่ผ่านกระบวนการต่างๆ แต่เติมเกลือชนิดเดียวกัน จะให้ผลการดูดซึมน้ำไปในทิศทางเดียวกัน คือเกลือแอมโมเนียมคลอไรด์ ให้ค่าการดูดซึมน้ำมากที่สุด แสดงว่าชนิดของเกลือและขนาดรูพรุนที่มีผลต่อการดูดซึมน้ำมาก เนื่องจากผลการตรวจวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกวาดและผลควมมีรูพรุนของเนื้อเยื่อโครงสร้าง พบว่าเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอมโมเนียมคลอไรด์มีเปอร์เซ็นต์ความมีรูพรุนสูง จำนวนรูพรุนมาก และมีขนาดรูพรุนเล็ก ทำให้น้ำสามารถซึมเข้าไปในรูพรุนได้มาก และเมื่อพิจารณากระบวนการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอินต่างๆ พบว่ากระบวนการที่มีการใช้สบู่และโซเดียมคาร์บอเนตจะให้ผลเนื้อเยื่อที่มีการดูดซึมน้ำที่ดีกว่า กระบวนการที่ใช้เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์

ดังนั้นประสิทธิภาพการดูดน้ำของเนื้อเยื่อโครงสร้างจึงขึ้นกับชนิดของเกลือและกระบวนการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอินก่อนนำมาทำเนื้อเยื่อโครงสร้าง

4.3.4 ผลการศึกษาการตรวจหาหมู่ฟังก์ชันของเนื้อเยื่อโครงสร้างด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy : FTIR

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือชนิดต่างๆ และเตรียมจากเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการต่างๆ โดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy : FTIR)

4.3.4.1 ผลการศึกษาการตรวจหาหมู่ฟังก์ชันของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ 4 ชนิด ของ เส้นไหมไฟโบรอินที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนตด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy : FTIR)

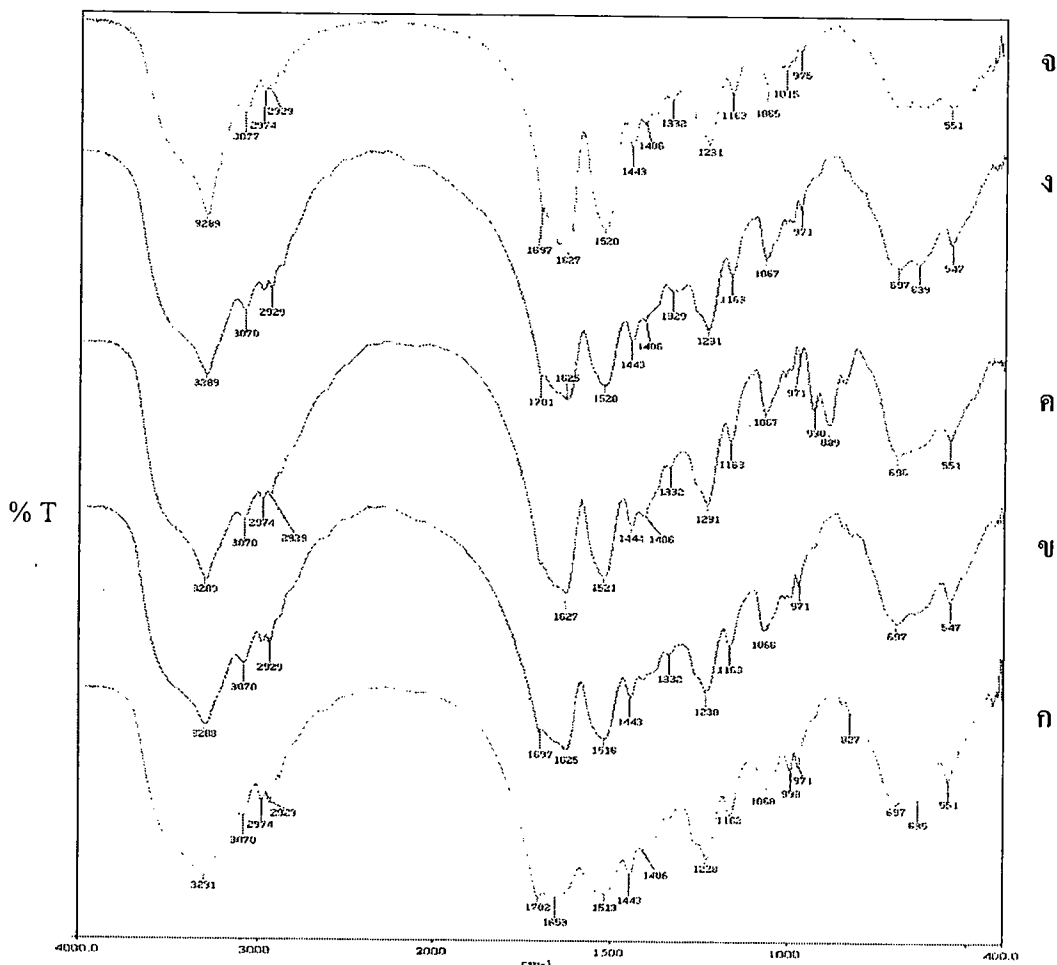


รูปที่ 4.25 แสดงพีคของเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ 4 ชนิด ของ เส้นไหมไฟโบรอินที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต

- (ก) ผงไหมไฟโบรอินที่ได้จากการทำให้สารละลายแห้งแบบเย็น
- (ข) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือโซเดียมคลอไรด์
- (ค) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอมโมเนียมโมลิบเดต
- (ง) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอมโมเนียมออกซาลेट
- (จ) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอมโมเนียมคลอไรด์

รูปที่ 4.25 ก พบว่าแถบการดูดกลืนของผงไหมไฟโบรอินที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต แล้วทำให้แห้งแบบเย็น มีคือตำแหน่งเลขคลื่น $1680-1630\text{ cm}^{-1}$ (Amide I) และ $1509-1514\text{ cm}^{-1}$ (Amide II) เป็นการดูดกลืนของ C=O stretching และ NH bending ตามลำดับ ซึ่งพบในเนื้อเยื่อโครงสร้าง ข, ค, ง และจ ที่เตรียมจากเกลือ 4 ชนิด ด้วยเหมือนกัน ส่วนที่ตำแหน่งเลขคลื่น $2990-2850\text{ cm}^{-1}$ เป็นการดูดกลืนของ C-H stretching ของ CH_3 และ CH_2 และเลขคลื่นที่ 1229 cm^{-1} (Amide III), 650 cm^{-1} (Amide IV) แต่เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอมโมเนียมโมลิบเดต จะพบพีคที่ตำแหน่ง $889-895\text{ cm}^{-1}$ ที่ชัดเจน ซึ่งเป็นพีคของ terminal methylene $-\text{C}=\text{CH}_2$ แสดงว่ากรณีนี้ไหมไฟโบรอินอาจเกิดการขจัดบางหมู่ออกไป

4.3.4.2 ผลการศึกษาการตรวจหาหมู่ฟังก์ชันของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ 4 ชนิด ของเส้นไหมไฟโบรอินที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy : FTIR)

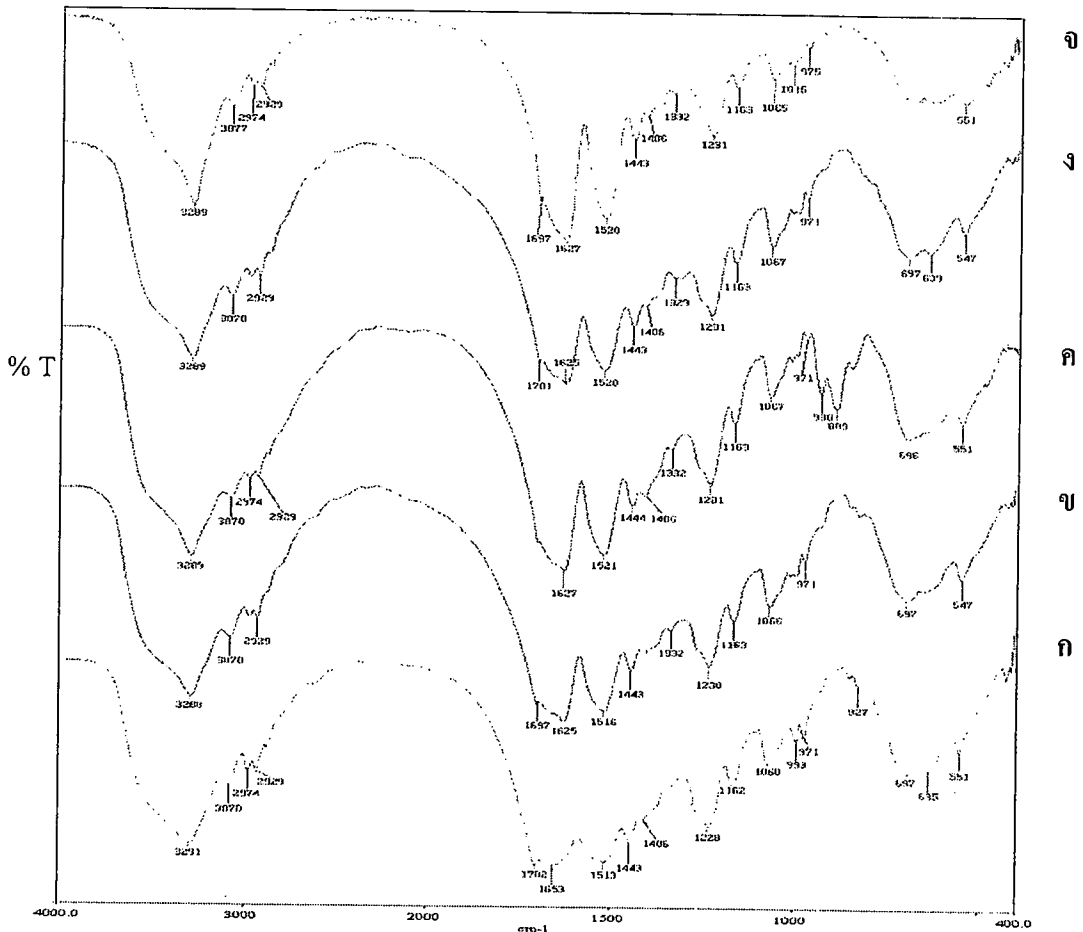


รูปที่ 4.26 แสดงพีคของเนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ 4 ชนิด ของ เส้นไหมไฟโบรอินที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์

- (ก) ผงไหมไฟโบรอินได้จากการทำให้สารถลายแห้งแบบเย็น
- (ข) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ โซเดียมคลอไรด์
- (ค) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอม โมเนียม โมลิบเดท
- (ง) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอม โมเนียมออกซาลเตท
- (จ) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอม โมเนียมคลอไรด์

รูปที่ 4.26 ก ผลการวิเคราะห์ด้วยFTIR พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับรูปที่ 4.2

4.3.4.3 ผลการศึกษาการตรวจหาหมู่ฟังก์ชันของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ 4 ชนิด ของ เส้นไหมไฟโบรอินที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนตด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy : FTIR



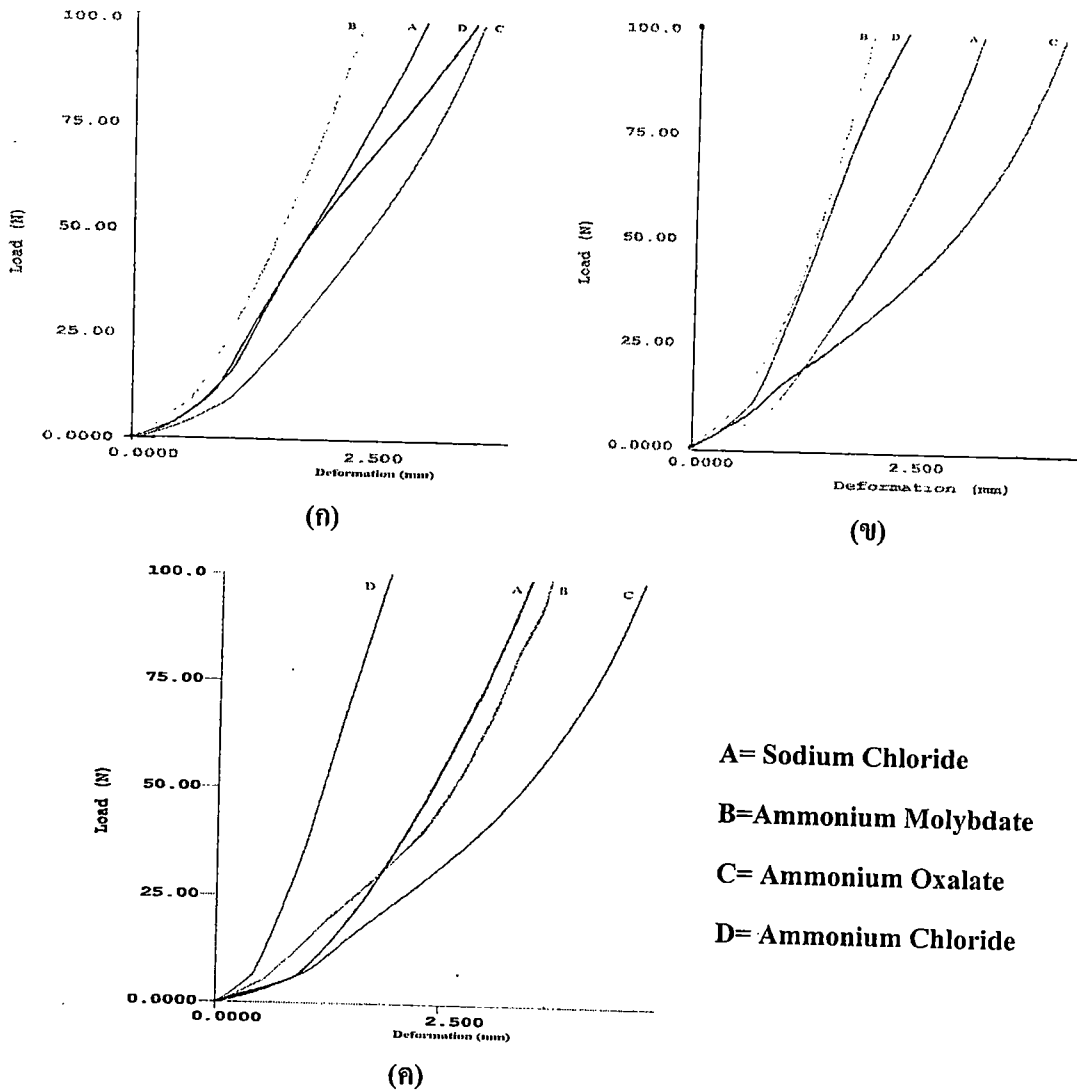
รูปที่ 4.27 แสดงพีคของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ 4 ชนิด ของ เส้นไหมไฟโบรอินที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต

- (ก) ผงไหมไฟโบรอินได้จากการทำให้สารละลายแห้งแบบเย็น
- (ข) เนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือ โซเดียมคลอไรด์
- (ค) เนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอม โมเนียม โมลิบเดต
- (ง) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอม โมเนียมออกซาลาเลท
- (จ) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอม โมเนียมคลอไรด์

รูปที่ 4.27 ผลการวิเคราะห์ด้วย FTIR พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับรูปที่ 4.25 และ 4.26

จากผลการวิเคราะห์ด้วย FTIR แสดงในรูป 4.25, 4.26 และ 4.27 พบว่าหมู่ฟังก์ชันของไหมไฟโบรอินไม่ขึ้นอยู่กับวิธีการเตรียมเส้นไหมแต่อาจขึ้นอยู่กับชนิดของเกลือที่ใช้เตรียมเนื้อเยื่อโครงสร้าง

4.3.5 ผลการทดสอบความแข็งแรงของเนื้อเยื่อโครงสร้างโดยการกดอัด (Compressive strength) และ มอดูลัสของยัง (Young's Modulus) ด้วยเครื่องทดสอบเอนกประสงค์ (Universal testing machine) ASTM F451-9



รูปที่ 4.28 แสดงกราฟความแข็งแรงของเนื้อเยื่อโครงสร้างโดยการกดอัด

- (ก) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเส้นไหมไฟโบรอินได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต
- (ข) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์
- (ค) เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากเส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต

ผลการทดลองในรูป 4.28 ก, ข และ ค แสดงความสามารถรับแรงกดอัดของ scaffold ที่เตรียมจากไหมสภาวะต่างๆ และเกลือ 4 ชนิด พบว่า ความแข็งแรงกดอัดของ scaffold ขึ้นอยู่กับทั้งสภาวะการเตรียมไหมและรูปร่างของผลึกเกลือ เนื้อเยื่อ โครงสร้างที่เตรียมจากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และ โซเดียมคาร์บอเนต ไม่ว่าจะเตรียมจากเกลือชนิดใดให้ความแข็งแรงกดอัดที่ดีกว่า scaffold ที่เตรียมจากไหมสภาวะอื่นๆ

4.3.5 ผลการทดสอบความแข็งแรงของเนื้อเยื่อโครงสร้างโดยวัดแรงกดอัด (Compressive strength) และ มอดูลัสของการกดอัด (Compressive Modulus) ด้วยเครื่องทดสอบ

เอนกประสงค์ (Universal testing machine) ASTM F451-95

ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงความแข็งแรงของเนื้อเยื่อโครงสร้างโดยวัดแรงกดอัดและมอดูลัสของการกดอัด

กระบวนกรเตรียมเส้นไหมไฟเบอร์อิน	ชนิดของเกลือ	Ø (m)	พื้นที่หน้าตัด ชิ้นงาน (m ²) × 10 ⁻⁴	(F) at 1% strain (N)	Stress at 1% strain (MPa)	Compressive Strength at 1% strain (kPa)	Compressive Modulus at 1% strain (kPa)
เส้นไหมที่ได้จากการต้มรีรอนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต	NaCl	0.0247	4.7819	1.448	0.0046	3.028	460
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	0.0200	3.1429	3.785	0.0129	12.043	1290
	NH ₄ OCCOONH ₄	0.0192	2.8965	1.187	0.0043	4.098	430
	NH ₄ Cl	0.0193	2.9267	4.553	0.0163	15.557	1630
เส้นไหมที่ได้จากการต้มรีรอนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์	NaCl	0.0198	3.0803	1.981	0.0069	6.431	690
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	0.0233	4.2656	4.056	0.0144	12.610	1440
	NH ₄ OCCOONH ₄	0.0193	2.9367	1.354	0.0047	4.611	470
	NH ₄ Cl	0.0203	3.2060	3.309	0.0110	10.220	1100
เส้นไหมที่ได้จากการต้มรีรอนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต	NaCl	0.0209	3.4212	2.217	0.0069	6.480	690
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	0.0193	2.9267	2.384	0.0088	8.146	880
	NH ₄ OCCOONH ₄	0.0230	4.1564	1.077	0.0035	2.591	350
	NH ₄ Cl	0.0195	2.9877	3.517	0.0121	11.772	1210

4.4 การวิเคราะห์หองค์ประกอบกรดอะมิโนในโปรตีนไฟโบรอินของไหมไทย

ตารางที่ 4.7 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนไฟโบรอินและเซรีซินของไหมไทยบางชนิด (มก./กก.)

กรดอะมิโน	ขาว สุพรรณ*	ขาว ขอนแก่น*	ด้านข้าง*	เซรีซิน ด้านข้าง	นางน้อย*	เซรีซิน นางน้อย
Cysteic acid	1.44	1.07	1.34	9.4	1.03	7.76
Asp	12.43	7.81	9.03	0.7	7.32	102.76
Met sulpho	1.07	0.60	0.43	121.5	0.37	1.28
Thr	5.82	3.65	4.37	59.2	3.47	47.84
Ser	60.75	39.42	43.24	160.1	29.89	141.48
Glu	10.35	6.44	7.12	50.6	5.16	36.09
Gly	108.17	85.96	92.00	64.8	65.95	51.65
Ala	110.88	78.99	86.05	29.6	56.42	22.42
Val	13.43	8.28	9.49	29.2	6.26	18.66
Ile	3.97	2.51	2.89	7.3	1.68	5.01
Leu	3.60	2.14	2.63	11.9	1.58	8.81
Tyr	41.32	23.01	28.75	0.0	19.40	19.45
Phe	6.29	3.95	4.40	0.8	2.71	3.93
Lys	2.25	1.28	1.95	32.0	1.58	21.29
His	1.59	0.90	1.16	12.4	0.86	10.76
Arg	4.53	2.53	3.15	34.2	2.29	26.23
Pro	2.77	0.00	1.94	5.6	0.00	4.75

* โปรตีนไฟโบรอิน

แม้ว่าในงานวิจัยนี้ศึกษาการเตรียมวัสดุทางการแพทย์จากไหมไทยโดยเฉพาะประโยชน์ของรังไหมไทย สืบเนื่องจาก อำเภอด้านข้าง จังหวัดสุพรรณบุรีก็ตาม แต่ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโนในตัวอย่าง รังไหมนั้น ได้เก็บตัวอย่างรังไหมจากแหล่งอื่นมาวิเคราะห์ด้วยเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของประเทศไทยและใช้ ทำการเปรียบเทียบในการวิจัยครั้งต่อไป เนื่องจากรศ. ดร. กัญญา ตันติวิสุทธิกุล หนึ่งในผู้ร่วมวิจัย มีความร่วมทาง วิชาการกับ Prof. Dr. Julian Wiesman แห่ง Nottingham University จึงส่งตัวอย่างเส้นไหมไฟโบรอินและผงไหม เซรีซินที่สกัดออกมาได้ ไปตรวจวิเคราะห์ โดยการใช้อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์หกรดอะมิโน (Amino acid analyser) ที่ห้องปฏิบัติการของ Nottingham University ตามวิธีการของ Dongfang Li [34] ผลการวิเคราะห์แสดง ในตารางที่ 4.7 พบว่าไหมขาวสุพรรณ มี alanine มากที่สุด (110.88 มก./กก.) รองลงมาคือ glycine (108.17 มก./ กก.) ส่วนไหมขาวขอนแก่น ด้านข้างและนางน้อยนั้น จะมี glycine มากที่สุด (85.96 92.00 และ 65.95 มก./กก.) รองลงมาคือ alanine (78.99 86.05 และ 56.42 มก./กก. ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามไหมไทยทุกชนิดมี serine รอง เป็นอันดับที่ 3 กรดอะมิโนที่พบน้อยมากหรือไม่พบเลยในไหมบางชนิด คือ histidine และ proline สอดคล้องกับ Tamada. [35] ที่รายงานว่า major primary structure ของโปรตีนไฟโบรอิน คือ gly ala-gly ala-gly ser ซึ่งเป็น H-

chain molecule โดยมี glycine alanine และ serine เท่ากับ 45.9 30.3 12.1 mol % ตามลำดับ และรายงานของ Tamada. ที่ว่ามี proline และ histidine เท่ากับ 0.3 และ 0.1 mole% ตามลำดับ

Table 1. Amino acid composition of sulfated fibroin [35]

Amino acid	Sulfated fibroin ^a (mol%)	Fibroin (total) ^b (mol)	Fibroins (calculated) ^c (mol%)		
			H-chain [34]	L-chain [35]	P25 [36]
Gly	39.9	44.1	45.9	8.4	4.1
Ala	27.0	29.5	30.3	14.1	7.3
Ser	7.4	12.0	12.1	9.5	6.4
Tyr	5.4	5.3	5.3	4.2	4.5
Val	3.6	2.1	1.8	7.3	5.5
Asp	3.8	1.5	0.9	13.4	12.3
Glu	2.8	1.1	0.8	7.6	6.8
Thr	1.3	1.0	0.9	3.1	5.5
Ile	1.8	0.6	0.2	8.0	6.4
Leu	1.8	0.5	0.1	7.6	10.0
Phe	1.4	0.7	0.6	3.1	6.8
Pro	1.1	0.5	0.3	3.4	5.5
Met	0.1	0.1	0.1	0.8	0.9
Cys	0.0	0.2	0.1	1.1	4.1
Lys	0.5	0.3	0.2	1.9	3.2
His	0.7	0.2	0.1	1.9	3.6
Arg	1.5	0.5	0.3	3.8	5.9

สรุปผลการวิเคราะห์ใหม่ไทยแสดงว่าไหมจากแหล่งต่างๆของประเทศไทยมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนคล้ายกันแต่ปริมาณของกรดอะมิโนแต่ละชนิดแตกต่างกัน สำหรับไหมเหลือจากอำเภอด่านช้างจังหวัดสุพรรณบุรีที่ใช้เตรียมวัสดุทางการแพทย์ในงานวิจัยนี้ ในโปรตีนไฟโบรอินมีกรดอะมิโน gly, ala, และ Ser 92.00 86.05 และ 43.24 ตามลำดับ ในโปรตีนเซรีซินซึ่งเป็นโปรตีนที่ละลายในน้ำร้อนมีกรดอะมิโน gly, ala, และ Ser 64.8, 29.6 และ 160.1 ตามลำดับ



บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ทำขึ้นที่ประเทศไทย สืบเนื่อง จากอำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี มาทำการลอกกาวย้ำน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 60 นาที เพื่อแยกโปรตีนเซรีซินออก เส้นไหมไฟโบรอินที่ได้แบ่งเป็นสองส่วน ส่วนที่หนึ่งนำไปแช่เมทานอลเพื่อกำจัดสารให้สีเหลืองพวกแคโรทีนออก ส่วนที่สอง นำไปฟอกขาวด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จากนั้นนำเส้นไหมไฟโบรอินทั้ง 2 ส่วนนี้ ไปลอกกาวย้ำอีกครั้งด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต แล้วนำเส้นไหมไฟโบรอินดังกล่าวไปทำการ dialysis เพื่อให้ได้สารละลายของไหมไฟโบรอิน นำสารละลายไหมไฟโบรอินไปขึ้นรูปเป็นฟิล์มและเนื้อเยื่อ โครงสร้าง (Scaffold)

ตอนที่ 1 ผลการเตรียมฟิล์มไหมไฟโบรอิน

1. สามารถเตรียมแผ่นฟิล์มได้จากการต้มรังไหมในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง ล้างด้วยสบู่และโซเดียมคาร์บอเนต แล้วนำไปทำ dialysis แต่ไม่สามารถเตรียมฟิล์มไหมไฟโบรอินจากเส้นไหมที่ได้จากการต้มรังไหมในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แช่เมทานอลกับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และเส้นไหมที่ได้จากการต้มน้ำร้อนในเครื่อง Autoclave 1 ชั่วโมง แช่เมทานอล ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ แล้วนำไปล้างด้วยสบู่กับโซเดียมคาร์บอเนต เนื่องจากเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านการแช่ด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จะ ทำให้สายโซ่โครงสร้างเส้นไหมไฟโบรอินขาดออก น้ำหนักโมเลกุลลดลง

2. ฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงด้วยสารละลายผสม มีการดูดซับน้ำได้น้อยกว่าฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ไม่ได้ปรับปรุง เพราะโครงสร้างของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงด้วยอะซิโตนจะถูกเปลี่ยนจาก random coil ไปเป็น β -sheet ซึ่งเป็นการเพิ่มความแข็งแรงให้กับฟิล์มไหม นอกจากนี้หมู่ NH_2 ของไหมไฟโบรอินสามารถเกิดการเชื่อมโยงกับหมู่ $\text{C}=\text{O}$ ของสารละลายไกลเซอร์ราลดีไฮด์ และของสารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์ได้ จึงเป็นการลดหมู่ชอบน้ำของไหมลง

3. ฟิล์มไหมที่ผ่านการปรับปรุงด้วยสารละลายผสมชนิดต่างๆภายใน 6 ชั่วโมง มีค่าสัดส่วนเจลที่สูงกว่าฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ไม่ได้ปรับปรุง เรียงลำดับดังนี้

Glutaraldehyde > Glyceraldehyde > Acetone

ที่ชั่วโมงที่ 24 แต่กลับลดลง อาจเนื่องจากในสารละลายผสมมีส่วนของน้ำอยู่ เมื่อเวลาการแช่นานถึง 24 ชั่วโมง อาจทำให้สายโซ่โมเลกุลขนาดเล็กๆหลุดออกพร้อมกับการเกิดพันธะเชื่อมโยง ทำให้น้ำหนักโดยรวมของเจลลดลง แต่อย่างไรก็ตามยังมีค่าสูงกว่าค่าสัดส่วนเจลของฟิล์มไหมที่ไม่ได้ปรับปรุง

5. หมู่ฟังก์ชันของฟิล์มไหมไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงด้วยสารละลายผสมชนิดต่างๆ ให้ตำแหน่งเลขคลื่นคล้ายกัน คือ ไม่พบเลขคลื่นที่ $1509\text{-}1514\text{ cm}^{-1}$ (Amide II) ซึ่งเป็นการดูดกลืนของ N-H bending และ C-N Stretching จึงเป็นการสนับสนุนว่า หมู่ NH_2 ของไหมทำปฏิกิริยากับหมู่ $\text{C}=\text{O}$ ของ ไกลเซอร์ราลดีไฮด์ และกลูตาราลดีไฮด์ และมีพีคที่ตำแหน่งเลขคลื่นที่ $783\text{-}849\text{ cm}^{-1}$ ขึ้นมาแทน ซึ่งเป็นพีคพันธะคู่ และพีคที่ตำแหน่งเลขคลื่น $3200\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็น O-H stretching กว้างขึ้น แสดงว่ามีการขจัดน้ำออกไป

6. ผลการทดสอบสมบัติเชิงกล

แบบที่ไม่ได้แช่น้ำก่อนทดสอบ

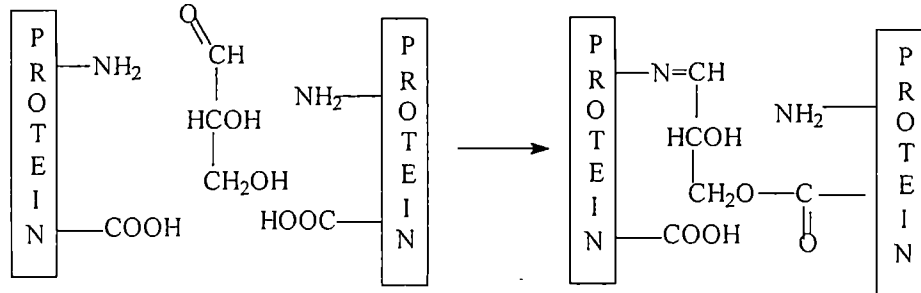
ความทนแรงดึงยึด มอดุลัสยืดหยุ่นและ % Elongation at Max Load ของฟิล์มที่ผ่านการปรับปรุงส่วนใหญ่ให้ค่าต่ำกว่าฟิล์มใหม่ที่ไม่ได้ปรับปรุง แสดงว่าโครงสร้างของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงมีความแข็งแรง ยืดหยุ่นได้น้อย ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินอาจเกิดพันธะเชื่อมโยงกับสารละลายผสมต่างๆ จึงทำให้สายโซ่ของไฟโบรอินยึดเกาะกัน เคลื่อนตัวได้ยากเมื่อได้รับแรงดึง ยกเว้นฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่แช่ในสารละลายผสมไกลเซอร์รอลดีไฮด์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แสดงว่าเมื่อแช่ในสารละลายผสมฟิล์มจะแข็งแรงขึ้น ความยาว ณ จุดสูงสุดของฟิล์มใหม่ส่วนใหญ่ก็ให้ค่าที่ต่ำกว่าฟิล์มใหม่ที่ไม่ได้ปรับปรุง

แบบที่แช่น้ำก่อนทดสอบ

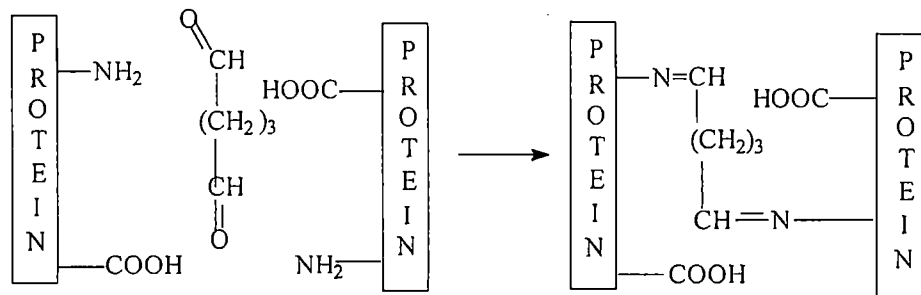
ฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงด้วยการแช่ในสารละลายผสมต่างๆ เมื่อนำไปแช่น้ำก่อนทำการทดสอบให้ค่าความทนแรงดึงยึดและค่ามอดุลัสยืดหยุ่นที่ต่ำกว่าในกรณีฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ไม่ได้แช่น้ำที่สภาวะเดียวกัน แต่ให้ค่า % Elongation at Max load สูงกว่าฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ไม่ได้แช่น้ำที่สภาวะเดียวกัน เนื่องมาจากน้ำมีพฤติกรรมคล้ายกับพลาสติกไซเซอร์ เข้าไปแทรกตามโครงสร้างของฟิล์ม ทำให้เกิดช่องว่างระหว่างโมเลกุลของโซ่ใหม่ เมื่อดึงจึงเกิดยืดหยุ่นได้ดี

ผลการทดลองทั้งหมดแสดงว่า สามารถเตรียมแผ่นฟิล์มจากรังไหมไทย อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี โดยใช้ส่วนของโปรตีนไฟโบรอินและปรับปรุงสมบัติต่างๆของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินด้วยสารละลายผสมที่มีสารก่อพันธะเชื่อมโยง

แผนภาพจำลองปฏิกิริยาเคมีระหว่างโปรตีนกับสารก่อพันธะเชื่อมโยง



แผนภาพจำลองปฏิกิริยาเคมีระหว่างโปรตีนซึ่งมีหมู่ -NH₂ ใน Lysine และหมู่ -COOH ในกรดอะมิโน Glutamic acid หรือ Aspartic acid สามารถเกิดพันธะโคเวเลนต์เชื่อมโยงด้วย Glyceraldehyde



แผนภาพจำลองปฏิกิริยาเคมีระหว่างโปรตีนซึ่งมีหมู่ -NH₂ ใน Lysine และหมู่ -COOH ในกรดอะมิโน Glutamic acid หรือ Aspartic acid สามารถเกิดพันธะโคเวเลนต์เชื่อมโยงด้วย Glutaraldehyde

ตอนที่ 2 ผลการเตรียมเนื้อเยื่อโครงสร้าง (Scaffold)

1. สามารถเตรียมเนื้อเยื่อโครงสร้าง ได้จากเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการต่างๆแล้วทำการ dialysis ได้น้ำไหม จากนั้นทำให้เป็นผงด้วยการทำแห้งแบบเย็น ผงไหมไฟโบรอินที่ได้นำมาเตรียมเนื้อเยื่อโครงสร้างโดยเทคนิค Salt leaching

2. สามารถเตรียมเนื้อเยื่อโครงสร้าง จากเกลือ โซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียม โมลิบเดต แอมโมเนียมออกซาลเตท และแอมโมเนียมคลอไรด์ เนื่องจากขนาดของผลึกเกลือไม่ใหญ่มากเกินไป นั่นคือผลึกเกลือมีขนาดอยู่ในช่วง 200-900 μm

3. การตรวจวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกวาด (SEM) พบว่า รูพรุนของเนื้อเยื่อโครงสร้างมีรูปร่างเหมือนกับผลึกเกลือที่ใช้เตรียม

4. เนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือโซเดียมคลอไรด์มีรูพรุนสูงกว่าเกลือแอมโมเนียมคลอไรด์เล็กน้อย แต่สูงกว่าเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือชนิดอื่น ถ้าเกลือที่ใช้เตรียมมีขนาดใหญ่มากเกินไป จะทำให้เปอร์เซ็นต์ความมีรูพรุนของเนื้อเยื่อโครงสร้างมีค่าต่ำ เกิดจากขนาดของเกลือมีขนาดใหญ่ ซึ่งจะส่งผลต่อการขึ้นรูปเนื้อเยื่อโครงสร้าง และทำให้การดูดซึมน้ำไม่ดี

5. เนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอมโมเนียมคลอไรด์มีการดูดซึมน้ำมากที่สุด เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์ความมีรูพรุนสูง จำนวนรูพรุนมาก และมีขนาดรูพรุนเล็กๆ ทำให้น้ำสามารถซึมเข้าไปในรูพรุนได้มาก และกระบวนการเตรียมเส้นไหมไฟโบรอินก่อนนำมาทำเนื้อเยื่อโครงสร้าง พบว่ากระบวนการที่มีการใช้สบู่และโซเดียมคาร์บอเนตจะให้ผลเนื้อเยื่อที่มีการดูดซึมน้ำที่ดีกว่า กระบวนการที่ใช้เมทานอลและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์

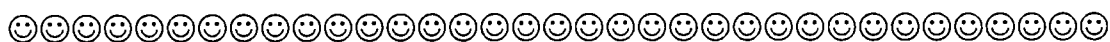
6. ผลการตรวจสอบหมู่ฟังก์ชัน (FTIR) พบว่า หมู่ฟังก์ชันของเนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมได้ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อเทียบกับผงไหมไฟโบรอินหลังการทำให้แห้งแบบเย็น แต่เนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอมโมเนียม โมลิบเดต จะพบพีคที่ตำแหน่ง 889-895 cm^{-1} และ 930 cm^{-1} ที่ชัดเจน ซึ่งเป็นพีคของ terminal methylene $-\text{C}=\text{CH}_2$ แสดงว่ากรณีนี้ไหมไฟโบรอินอาจเกิดการขจัดบางหมู่ออกไป ดังนั้นชนิดของเกลือที่ใช้เตรียมเนื้อเยื่อโครงสร้างมีผลต่อหมู่ฟังก์ชันของไหมไฟโบรอิน

7. ผลทดสอบสมบัติเชิงกล ผลการทดสอบความแข็งแรงของเนื้อเยื่อโครงสร้างโดยการกดอัด (Compressive strength) พบว่า เนื้อเยื่อโครงสร้างที่เตรียมจากเกลือแอมโมเนียมออกซาลเตท ให้ค่าความแข็งแรงโดยการกดอัดน้อยที่สุด ไม่ว่าเตรียมจากเส้นไหมไฟโบรอินที่ผ่านกระบวนการใดๆก็ตาม แสดงว่ารูพรุนที่มีลักษณะทรงกระบอกทำให้เนื้อเยื่อโครงสร้างเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ง่ายกว่ารูปลิ่มเหลี่ยม(เกลือโซเดียมคลอไรด์) และรูพรุนที่มีรูปทรงกลม (เกลือแอมโมเนียมคลอไรด์และเกลือแอมโมเนียม โมลิบเดต)

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการเลือกเนื้อเยื่อโครงสร้างที่จะนำไปประยุกต์ใช้งานควรพิจารณาสมบัติการดูดน้ำและสมบัติเชิงกลเป็นหลัก เพราะเนื้อเยื่อโครงสร้างที่มีการดูดน้ำที่ดี ก็สามารถทำให้เซลล์ดูดซับเข้าไปในรูพรุนได้ดี

2. ควรศึกษาอัตราส่วนของเกลือต่อสารละลายไหมไฟโบรอิน เพื่อให้ได้เนื้อเยื่อโครงสร้างที่มีรูพรุนต่อเนื่อง ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้อเยื่อ



เอกสารอ้างอิง

- [1] วีระศักดิ์ อุดมกิจเดชา วิทยาศาสตร์เส้นใย พิมพ์ครั้งที่ 2 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 2543.
- [2] อภิชาติ สนธิสมบัติ กระบวนการเคมีสิ่งทอ พิมพ์ครั้งที่ 1 คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล กรุงเทพฯ 2543.
- [3] มณฑา จันทร์เกตุเลียด วิทยาศาสตร์สิ่งทอเบื้องต้น พิมพ์ครั้งที่ 1 สมาคมเศรษฐศาสตร์แห่งประเทศไทย ในพระบรมราชินูปถัมภ์ กรุงเทพฯ 2541.
- [4] นวลจันทร์ โชคทวีทรัพย์, นิภาพรรณ โสติดิยานนท์ และศิริเนตร ประดับวงศ์. 2545. “การเตรียมฟิล์มไฮโดรเจลจาก PVA/Sericin โดยวิธีการฉายรังสี และการปรับสภาพทางความร้อน.” โครงการพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- [5] ภาณุพงศ์ ภูทะวัง. 2547. “การศึกษาผลของเชริซินชนิดต่างๆที่มีต่อสมบัติของฟิล์มไฮโดรเจลพอลิไวนิลแอลกอฮอล์”. โครงการพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- [6] จรรย์ยา ปั้นแห่งเพชร, วิทย์วัฒน์ กุญชร ณ อยุธยา, ประเวศ แสงเพชร, สมชาย กั้นหลง, วิโรจน์ แก้วเรือง, โกวิทย์ พงษ์แสวง และ ทิพรธณี เสนะวงศ์. 2546. “การคุ้มครองไหมไทย”, หน้า 21-36. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- [7] อัจฉราพร ไสละสูต “ความรู้เรื่องผ้า” พิมพ์ครั้งที่ 10 สร้างสรรค์-วิชาการ กรุงเทพฯ 2539
- [8] ถลิตา บุญโถม “สมบัติทางกายภาพและการย้อมติดสีของเส้นใยไหมที่ทำการตอกกับไวนิลมอนอเมอร์” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 2546.
- [9] ชัยวัฒน์ เจนวาณิชย์ “เคมีพอลิเมอร์พื้นฐาน” พิมพ์ครั้งที่ 1 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โอเดียนสโตร์ กรุงเทพฯ 2527.
- [10] วัฒนา คล้ายรัศมี “การปรับปรุงสมบัติต่าง ๆ ของเส้นใยไหมโดยวิธีการตอกกับไวนิลมอนอเมอร์ในเอทานอลและน้ำ” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 2547.
- [11] มินะกาเว โมโตอิ. 2530. “วิทยาการไหม เล่ม 1” แปลและเรียบเรียงโดย เออีอีชี คาวาอิ และ เข็มชัย เหมะจันทร์. คณะกรรมการส่งเสริมสินค้าไหมไทย กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม
- [12] G.H. Altman, F. Diaz., C. Jakuba, T. Calabro, R.L. Horan, J. Chen, H. Lu, J. Richmond and D.L. Kaplan 2003. Silk-based biomaterials. *Biomaterial*. 24 : 401-416
- [13] J.S. Antonio, P.C Olga and L.R. Rui , 2004. Bone Tissue Engineering state of the art and future trends. *Macromolecular Bioscience*.4:743-765
- [14] www.materialstoday.com/pdfs_7_5/ma.pdf
- [15] http://en.wikipedia.org/wiki/Tissue_engineering
- [16] John A. Kiernan 2000. Formaldehyde, formalin, paraformaldehyde and glutaraldehyde. Article published in *Microscopy today* (00-1) : 8-12. Available :<http://publish.uwo.ca/~jkiernan/formglut.htm>
- [17] <http://en.wikipedia.org/wiki/Glyceraldehyde>

- [18] <http://msds.pcd.go.th>
- [19] <http://www.emsdiasum.com/microscopy/technical/msds/10500.pdf>
- [20] Y. Gotoh., M. Tsukada., N. Minoura. and Y. Imai. 1997. Synthesis of poly(ethylene glycol)-silk fibroin conjugates and surface interaction between L-929 cells and the conjugates. **Biomaterials**. 18: 267-271
- [21] H. Kweon., I.C. Um. and Y.H. Park 2001. Structural and thermal characteristics of *Antheraea pernyi* silk fibroin / chitosan blend film. **Polymer**.42: 6651-6656
- [22] M. Li., S. Lu., Z. Wu., K. Tan , N. Minoura and S. Kuga 2002. Structure and properties of silk fibroin-poly(vinyl alcohol) gel. **Biological Macromolecules**. 30: 89-94
- [23] M. Li., W. Tao , S. Lu and S. Kuga 2003. Compliant film of regenerated *Antheraea pernyi* silk fibroin by chemical crosslinking. **Biological Macromolecules**. 32: 159-163
- [24] R. Nazarov., H-J. Jim. and D.L. Kplan 2004. Porous 3-D Scaffold from Regenerated Silk Fibroin. **Biomacromolecules**. 5: 718-726
- [25] S.B. Lee., Y.H. Kim., M.S. Chong and Y.M. Lee 2004. Preparation and characteristics of hybrid scaffold composed of β -chitin and collagen. **Biomaterials**. 25: 2309-2317
- [26] Y. Liu., Z. Shao., P. Zhou and X. Chen 2004. Thermal and crystalline behaviour of fibroin/ nylon 66 blend films. **Polymer**. 45: 7705-7710
- [27] U-J. Kim., J. Park., H.J. Kim., M. Wada and D.L. Kaplan 2005. Three-dimensional aqueous-derived biomaterial scaffolds from silk fibroin. **Biomaterials**. 26: 2775-2785
- [28] A. Hokugo., T. Takamoto and Y. Tabata 2006. Preparation of hybrid scaffold from fibroin and biodegradable polymer fiber. **Biomaterials**. 27: 61-67
- [29] S. Jin Park., K. Yong Lee., W. Shik Ha and S. Young Park. Structural changes and their effect on mechanical properties of silk fibroin/ chitosan blends. **Journal of Applied Polymer Science**. 74: 2571-2575
- [30] นฤมล ศรีวิฑูรย์ และวัลยา ศรีสง่า, 2543, การเตรียมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเส้นไหมเหลือทิ้งโครงการงานพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- [31] ปฏิญญา กาลายศ ประชาณาถ กิตติโกวิท และ ผ่องเพ็ญ อรรคสีวร, 2545, การเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลจาก PVA/PVP/Sericin โครงการงานพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- [32] นवलจันทร์ โชคทวีทรัพย์ นิภาพรรณ โสทธิยานนท์และ ศิริเนตร ประดับวงศ์, 2545, การเตรียมฟิล์มไฮโดรเจลจาก PVA/PVP/Sericin โครงการงานพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- [33] M. Chaisupakitsin, K. Tantavisoottikul, P. Putawang. 2006 Swelling and mechanical property of poly(vinyl alcohol) hydrogel blend with various protein sericins from Thai Silk. **Laos Journal on Applied Science**. 1 (1) 347-352

[34] Dongfang Li, 2003. Amino acid analysis of feed stuffs, digesta, faeces and excreta. agricultural & environmental sciences, School of Biosciences, Sutton Bonington campus, University of Nottingham.

[35] Yasushi Tamada. 2004. Sulfonation of silk fibroin by chlorosulfonic acid and the anticoagulant activity **Biomaterials**. 25 (3) 377-383

ภาคผนวก ก.



Ping cocoon



Yellow



Golden-yellow



Deep sasa



Golden-yellow



Pastal-yellow



Whitish sasa



White



White

สีของรังไหมจากพันธุ์ไหมต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

H. Tabunoki, S. Higurashi, O. Ninagi 2004 A carotenoid-binding protein (CBP) plays a crucial role in cocoon pigmentation of silkworm (*Bombyx mori*) larvae FEBS Letters.

567:175-178

ภาคผนวก ข

1. อินฟราเรดสเปกโทรเมตรี FTIR การสั่นของอะมิโน (Amide Vibration)

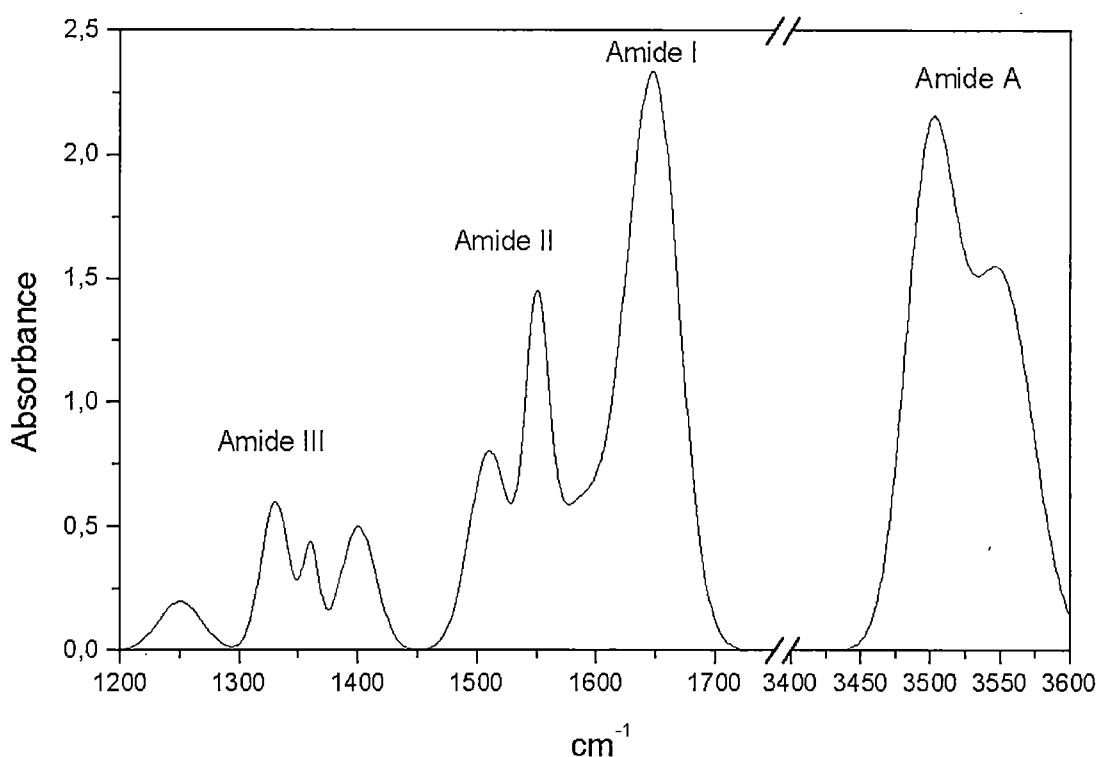
หมู่เพปไทด์ เป็น โครงสร้างที่ซ้ำๆ ของ โปรตีน ให้ลักษณะแถบคลื่นมากกว่า 9 แถบ มีชื่อว่า Amide A, B, I, II ... VII แถบคลื่น Amide A ($\sim 3500 \text{ cm}^{-1}$) และ Amide B ($\sim 3100 \text{ cm}^{-1}$) แผลงกำเนิดมาจากเสียงสะท้อนเฟอร์มี ระหว่างแสงที่หักเหครั้งแรกของ Amide II และ N-H stretching vibration แถบคลื่น Amide I และ Amide II เป็น แถบคลื่นหลักของโปรตีน แถบคลื่น

Amide I (ระหว่าง $1600 - 1700 \text{ cm}^{-1}$) มีความเกี่ยวข้องกับ C=O stretching vibration (70-85%) และสัมพันธ์ต่อ สายโซ่หลักของโปรตีน

Amide II ของ N-H bending vibration (40-60%) และ C-N stretching vibration (18-40%) แถบคลื่นนี้มีความ ว่องไว

Amide III และ IV เป็นแถบคลื่นของสารประกอบมากมาย ซึ่งเป็นผลมาจากของผสมที่เข้ามาแทนที่

Amide V, VI และ VII เป็นการเคลื่อนที่แบบ Out-of-plane



รูปที่ ข.1 แสดงแถบการดูดกลืนคลื่นของโปรตีนด้วย FTIR

Amide A จะมากกว่า 95% เนื่องจาก N-H stretching vibration การสั่นนี้จะไม่ขึ้นอยู่กับสายโซ่หลัก แต่ จะว่องไวมากกว่าต่อความแข็งแรงของพันธะไฮโดรเจน มีเลขคลื่นระหว่าง 3225 และ 3280 cm^{-1} ความยาวพันธะ H ระหว่าง $2.69-2.85 \text{ \AA}$

Amide I เป็นแถบที่มีการดูดกลืนมากของโปรตีน ควบคุมโดย stretching vibration ของ C=O (70-85%) และ หมู่ C-N (10-20%) ความถี่ที่เกิดขึ้นในช่วงระหว่าง 1600 – 1700 cm^{-1} ตำแหน่งแถบคลื่นที่ชัดเจนถูกกำหนดโดยสายโซ่หลักและพันธะ H

Amide II เกิดขึ้นในช่วง 1510 - 1580 cm^{-1} และมีสารประกอบมากกว่า Amide I และ Amide II ได้จาก in-plane N-H bending (40-60% จากระดับพลังงาน) ส่วนที่เหลือของระดับพลังงานจะเคลื่อนขึ้นจาก C-N (18-40%) และ C-C (~10%) stretching vibration

Amide III, V เป็นแถบคลื่นของสารประกอบมากมาย ขึ้นอยู่กับรายละเอียดของสนามแรง, สายโซ่ด้านข้าง และพันธะ H

การสั่นสายโซ่ด้านข้างของกรดอะมิโน (Amino acid side chain vibration)

การสั่นของสายโซ่ด้านข้างจะเกิดในช่วง 1800 -1400 cm^{-1} (Amide I และ Amide II) ถูกตรวจสอบโดย Venyaminov and Kalnin 1990 (Biopolymers 1990; 13-14):1243-57 จำนวนกรดอะมิโนมากมาย 20 ชนิด เพียง 9 ชนิด (Asp, Asn, Glu, Gln, Lys, Arg, Tyr, Phe, His) แสดงแถบการดูดกลืนในช่วงที่อธิบาย

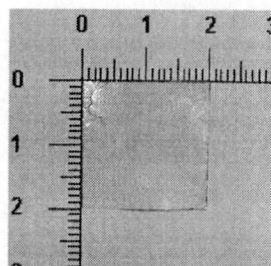
เอกสารอ้างอิง

S. Jin Park., K. Yong Lee., W. Shik Ha and S. Young Park. Structural Changes and Their Effect on Mechanical Properties of Silk Fibroin/Chitosan Blends. **Journal of Applied Polymer Science**. 74: 2571-2575

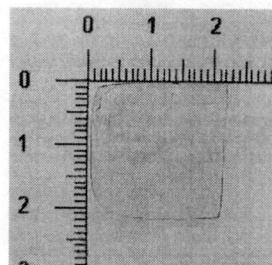
ภาคผนวก ก.

รูปที่ ก.1 การดูซึมน้ำของฟิล์มโพลีเอทิลีนที่ผ่านการปรับปรุงด้วยการแช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำที่
เวลาต่างๆ แล้วนำฟิล์มโพลีเอทิลีนไปแช่น้ำที่เวลา 6 ชั่วโมง

แช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

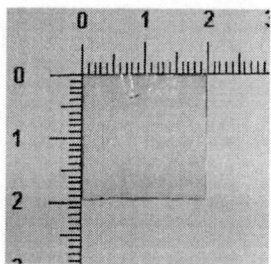


ก่อนแช่น้ำ

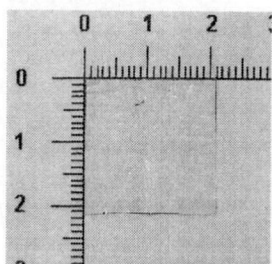


หลังแช่น้ำ

แช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

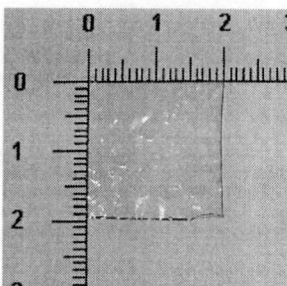


ก่อนแช่น้ำ

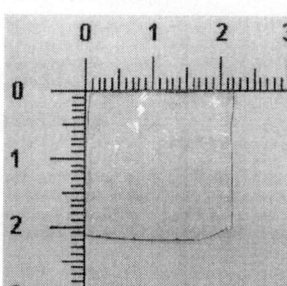


หลังแช่น้ำ

แช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำเป็นเวลา 6 ชั่วโมง



ก่อนแช่น้ำ

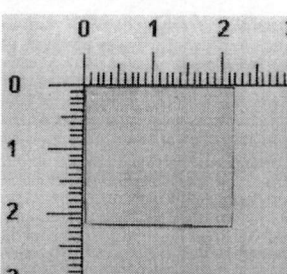


หลังแช่น้ำ

แช่สารละลายผสมอะซิโตนกับน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



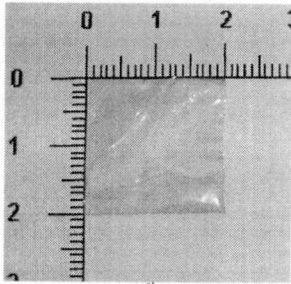
ก่อนแช่น้ำ



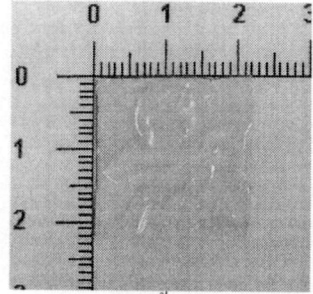
หลังแช่น้ำ

รูปที่ ค.2 การดูดซึมน้ำของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงด้วยการสลายผสมไกลเซอร์ราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำที่เวลาต่างๆ แล้วนำฟิล์มใหม่ไปแช่น้ำที่เวลา 6 ชั่วโมง

แช่สารละลายผสมไกลเซอร์ราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

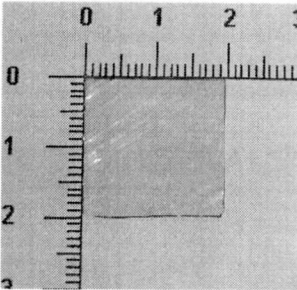


ก่อนแช่น้ำ

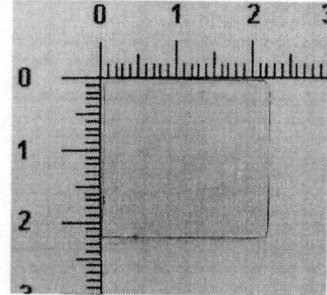


หลังแช่น้ำ

แช่สารละลายผสมไกลเซอร์ราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

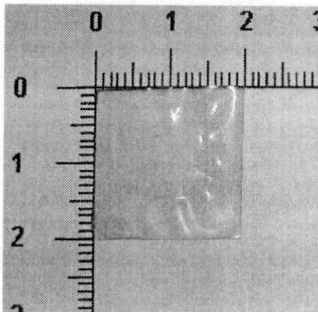


ก่อนแช่น้ำ

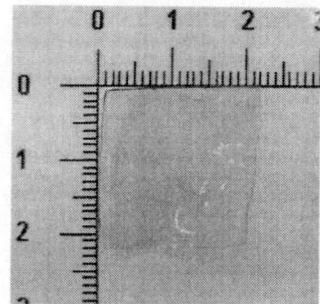


หลังแช่น้ำ

แช่สารละลายผสมไกลเซอร์ราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำเป็นเวลา 6 ชั่วโมง

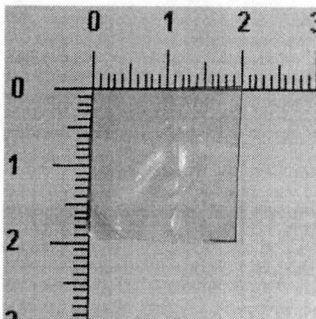


ก่อนแช่น้ำ

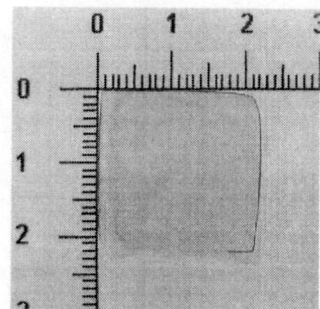


หลังแช่น้ำ

แช่สารละลายผสมไกลเซอร์ราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



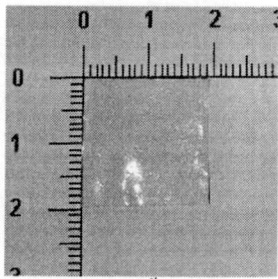
ก่อนแช่น้ำ



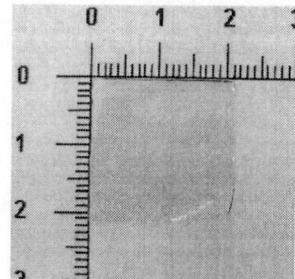
หลังแช่น้ำ

รูปที่ ก.3 การดูซึมผ่านของฟิล์มใหม่ไฟโบรอินที่ผ่านการปรับปรุงด้วยการสลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำที่เวลาต่างๆ แล้วนำฟิล์มใหม่ไปแช่น้ำที่เวลา 6 ชั่วโมง

แช่สารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

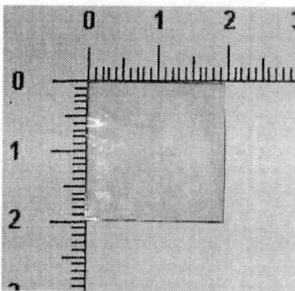


ก่อนแช่น้ำ

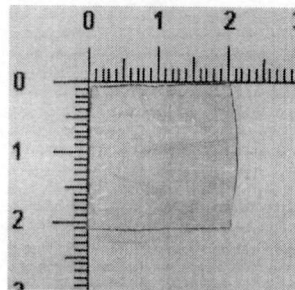


หลังแช่น้ำ

แช่สารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

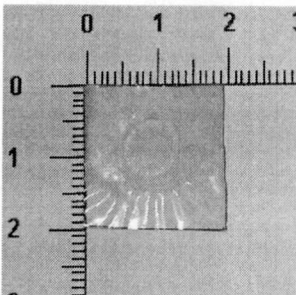


ก่อนแช่น้ำ

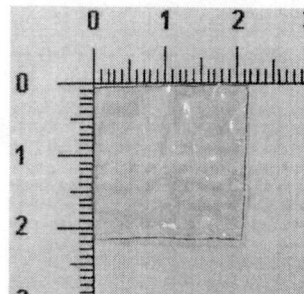


หลังแช่น้ำ

แช่สารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำเป็นเวลา 6 ชั่วโมง

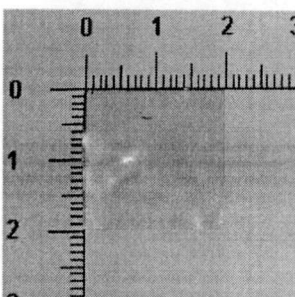


ก่อนแช่น้ำ

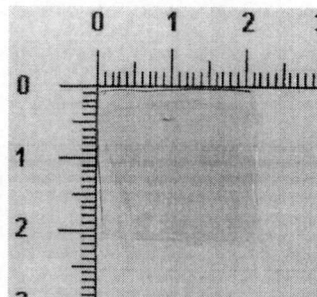


หลังแช่น้ำ

แช่สารละลายผสมกลูตาราลดีไฮด์กับอะซิโตนกับน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



ก่อนแช่น้ำ



หลังแช่น้ำ