

การพัฒนาแผ่นฟิล์มปิดแผลเซลลูโลสจากแบคทีเรีย  
ร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด

DEVELOPMENT OF BACTERIAL CELLULOSE WOUND DRESSING  
WITH MANGOSTEEN PERICARP EXTRACT INCORPORATION

พรภัสสร มูลสูงเนิน  
PRONPATSORN MOONSUNGNOEN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

KMITL-2019-SC-M-020-058

การพัฒนาแผ่นฟิล์มปิดแผลเซลลูโลสจากแบคทีเรีย  
ร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด

DEVELOPMENT OF BACTERIAL CELLULOSE WOUND DRESSING  
WITH MANGOSTEEN PERICARP EXTRACT INCORPORATION

พรภัตสร มูลสูงเนิน  
PRONPATSORN MOONSUNGNOEN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

KMITL-2019-SC-M-020-058

DEVELOPMENT OF BACTERIAL CELLULOSE WOUND DRESSING  
WITH MANGOSTEEN PERICARP EXTRACT INCORPORATION

PRONPATSORN MOONSUNGNOEN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE  
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY  
DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2019

KMITL-2019-SC-M-020-058

COPYRIGHT 2019

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาแผ่นฟิล์มปิดแผลเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพรภัสสร มุลสูงเนิน
รหัสประจำตัว	59605053
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
พ.ศ.	2562
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.ภัทธวาท มนต์วิเศษ

### บทคัดย่อ

ปัจจุบันการนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ในงานด้านวัสดุปิดแผลมีการศึกษาและค้นคว้าอย่างแพร่หลาย เพื่อเพิ่มคุณสมบัติและประโยชน์ของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย ในงานวิจัยนี้ศึกษาถึงความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดภาวะติดเชื้อและผิวหนังอักเสบในบาดแผลไฟไหม้ ซึ่งการทดสอบความสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอล ให้ผลยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 9431, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 1248, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ค่า MIC ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้คือ 0.049 0.049 0.098 0.098 0.195 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และค่า MBC เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ คือ 0.391 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ทุกสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบ จากนั้นทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนูต่อสารสกัดที่ใช้ร่วมกับแผ่นเซลลูโลส ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.781 และ 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู จึงเลือกความเข้มข้น 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาใช้ร่วมกับแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียทั้ง 6 รูปแบบ เมื่อทดสอบความสามารถในการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ แผ่นเซลลูโลสที่นำมาใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด (BC-1) และ แผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับไคโตซานและสารสกัดเปลือกมังคุด (BC-2) แสดงอัตราการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์สูงและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อนำมาวิเคราะห์ลักษณะพื้นฐานของแผ่นเซลลูโลสทั้ง 2 ชนิด เซลลูโลสมีเส้นใยสานกันเป็นร่างแหอย่างหนาแน่น และแสดงลักษณะของสารสกัดอยู่บนเส้นใยในแผ่นเซลลูโลสที่มีไคโตซานร่วมด้วยเส้นใยจะมีลักษณะหนาขึ้น และรูพรุนภายในแผ่นเซลลูโลสจะเล็กลง สอดคล้องกับอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ และอัตราการดูดซับน้ำ แผ่นเซลลูโลส BC-1 และ BC-2 มีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ  $152.68 \pm 5.61$  และ  $115.51 \pm 12.53$   $\text{g/m}^2\text{-day}$  และอัตราการดูดซับน้ำ  $3.35 \pm 0.26$  และ  $1.40 \pm 0.10$  เท่า ตามลำดับ จากสมบัติเชิงกลจะเห็นได้ว่าแผ่นฟิล์ม BC-1 มีความแข็งแรงมากกว่าแผ่นฟิล์ม BC-2 แต่มีความยืดหยุ่นต่ำกว่า ดังนั้น ในการนำแผ่นฟิล์มทั้ง 2 ชนิดไปใช้ในการรักษาบาดแผล ต้องพิจารณาถึงชนิดของบาดแผลและความเหมาะสมในการนำไปใช้งาน

**คำสำคัญ :** ไคโตซาน เซลลูโลสจากแบคทีเรีย เปลือกมังคุด วัสดุปิดแผล

Thesis Title	Development of Bacterial Cellulose Wound Dressing with Mangosteen Pericarp Extract Incorporation
Student Name	Miss Pronpatsorn Moonsungnoen
Student ID	59605053
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2019
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul
Thesis Co-advisor	Assoc. Prof. Dr. Pathavuth Monvisade

### Abstract

Recently, many researches have been focused on bacterial cellulose (BC) wound dressings to enhance its physical properties, mechanical properties and its advantages. The aim of this study was to determine the antibacterial effect of ethanolic extract of mangosteen pericarp on bacteria that cause skin infection and burn wound inflammation. By a disk diffusion method, ethanolic extract of mangosteen pericarp was used for screening several kinds of these bacteria. The extract had a good potency against all gram-positive bacteria including *Micrococcus luteus* ATCC 9431, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 1248, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. The minimum inhibitory concentrations (MICs) for the above bacteria were 0.049 0.049 0.098 0.098 0.195 mg/mL, respectively, and the minimum bactericidal concentration (MBC) was 0.391 mg/mL for all gram positive strains. BC films with 0.781 and 1.563 mg/mL of the extract was tested with mouse fibroblasts (L929) and did not show any cytotoxic effects on them. Thus, the high concentration of 1.563 mg/mL was selected for investigation of its cumulative release from six types of BC film into a phosphate buffer solution. Two types of film released the highest amount of xanthone, the active compound: a BC film (BC-1) and a BC film modified with chitosan (BC-2). The surface morphology of these two types of film were investigated, and it was found that BC-1 was more porous than BC-2 with apparent particles of mangosteen extract on the surface. In addition, the water vapor transmission rates of BC-1 and BC-2 were  $152.68 \pm 5.61$  and  $115.51 \pm 12.53$  g/m<sup>2</sup>·day, respectively, and their water absorption capacities were  $3.35 \pm 0.26$  and  $1.40 \pm 0.10$  fold, respectively. BC-1 exhibited a higher tensile strength and young's modulus than BC-2 but a lower elongation percentage at break. Two types of film can be used as a proper wound care product, that depends on the wound type and suitability of use.

**Keywords :** Chitosan, Bacterial cellulose, Mangosteen pericarp, Wound dressings

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี จากการได้รับคำแนะนำ และคำปรึกษาจาก รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ต้นจนถึงปัจจุบัน และรศ.ดร.ภัทราวุธ มนต์วิเศษ ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ในการให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ของข้าพเจ้า รวมถึง รศ.ดร.อรไท สุขเจริญ และ ผศ.ดร.สรัญญา พันธุ์พุกษ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้แนะแนวทางในการดำเนินงานวิจัยของข้าพเจ้าให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำ คำปรึกษา และข้อคิดต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ออกมาสมบูรณ์ที่สุด

นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ของภาควิชาชีววิทยาที่คอยอำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ และเบิกจ่ายสารเคมี ตลอดจนเจ้าหน้าที่ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน และขอขอบพระคุณครอบครัวที่คอยให้กำลังใจ ช่วยอำนวยความสะดวกให้แก่ข้าพเจ้าในการจัดหาวัสดุดิบในการดำเนินงาน และสนับสนุนค่าใช้จ่ายของข้าพเจ้าตลอด 3 ปี ขอขอบคุณ พี่ เพื่อน และน้อง จากห้องปฏิบัติการนักศึกษาปริญญาโท 419 ทุกคน ที่คอยเป็นกำลังใจ และช่วยเหลือกันตลอดมา

ความดีอันเกิดจากคุณค่าและประโยชน์จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้คณาจารย์ ผู้ให้ความรู้ บิดา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้า ตลอดจนผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน สำหรับข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นข้าพเจ้าขอน้อมรับไว้แต่เพียงผู้เดียว

นางสาวพรภัสสร มูลสูงเนิน

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ฎ
<b>บทที่ 1 บทนำ.....</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....</b>	<b>4</b>
2.1 เชลลูโลส.....	4
2.1.1 โครงสร้างของเชลลูโลส.....	4
2.1.2 เชลลูโลสจากแบคทีเรีย.....	5
2.1.2.1 แบคทีเรียลเชลลูโลสไฮโดรเจล.....	6
2.1.2.2 แบคทีเรียลเชลลูโลสฟิล์ม.....	7
2.1.2.3 แบคทีเรียลเชลลูโลสนาโนคอมโพสิต.....	8
2.2 เชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i> .....	9
2.2.1 ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์.....	9
2.2.2 วิธีการสังเคราะห์เชลลูโลสของเชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i> .....	9
2.2.3 การสร้างเส้นใยเชลลูโลสของเชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i> .....	10
2.3 วัสดุปิดแผล.....	12
2.3.1 ชนิดของวัสดุปิดแผล.....	12
2.3.1.1 วัสดุปิดแผลแบบดั้งเดิม.....	12
2.3.1.2 วัสดุปิดแผลชนิดใหม่.....	12
2.3.1.3 ผิวน้ำแข็งเทียม.....	14
2.3.1.4 วัสดุปิดแผลชนิดเสริมด้วยยา.....	14
2.3.1.5 วัสดุปิดแผลคอมโพสิต.....	14
2.3.2 คุณสมบัติเบื้องต้นของวัสดุปิดแผล.....	14
2.3.3 คุณสมบัติของวัสดุปิดแผลจากเชลลูโลสจากแบคทีเรีย.....	15
2.3.3.1 การใช้วัสดุปิดแผลเชลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับบาดแผล.....	16
2.4 การใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆของเชลลูโลสจากแบคทีเรีย.....	18
2.4.1 ทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร.....	18
2.4.2 ทางด้านอุตสาหกรรมกระดาษ.....	20
2.4.3 ทางด้านชีวการแพทย์.....	20

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.4 ทางด้านเครื่องสำอาง.....	20
2.5 ไคโตซาน.....	20
2.5.1 คุณสมบัติของไคติน และไคโตซาน.....	21
2.5.2 กระบวนการผลิตไคติน และไคโตซาน.....	22
2.5.2.1 กระบวนการกำจัดโปรตีน (Deproteination).....	23
2.5.2.2 กระบวนการกำจัดเกลือแร่ (Deminerlization).....	23
2.5.2.3 กระบวนการกำจัดหรือลดหมู่อะซิติล (Deacetylation).....	23
2.5.3 การใช้ประโยชน์จากไคโตซานในด้านต่างๆ.....	23
2.5.3.1 ทางด้านชีวการแพทย์.....	23
2.5.3.2 ทางด้านเส้นใยและสิ่งทอ.....	24
2.5.3.3 ทางด้านอาหาร.....	24
2.5.3.4 ทางด้านเครื่องสำอาง.....	24
2.5.3.5 ทางด้านการบำบัดน้ำ.....	25
2.6 มังคุด.....	25
2.6.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์.....	25
2.6.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....	25
2.6.3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในเปลือกมังคุด.....	27
2.6.3.1 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ.....	28
2.6.3.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งอาการอักเสบและอาการแพ้.....	28
2.6.3.3 ฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์.....	28
2.6.3.4 ฤทธิ์ในการยับยั้งมะเร็ง.....	28
2.6.4 การใช้ประโยชน์ของมังคุดเชิงสุขภาพ.....	29
2.6.4.1 การใช้ประโยชน์ทางยา.....	29
2.6.4.2 การใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง.....	29
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	29
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....</b>	<b>33</b>
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี.....	33
3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์.....	33
3.1.2 วัสดุดิบ.....	33
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์.....	33
3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	33
3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	34
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	36
3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุด.....	36
3.2.2 การทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Disk diffusion method.....	36

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.2.1 การเตรียมสารละลายเชื้อ.....	36
3.2.2.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disk diffusion....	37
3.2.3 การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum inhibitory concentration, MIC) โดยวิธี Colorimetric broth microdilution .....	37
3.2.3.1 การเตรียมสารละลายเชื้อ.....	37
3.2.3.2 การทดสอบความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้ง การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ .....	37
3.2.4 การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Minimum bactericidal concentration, MBC) .....	38
3.2.5 การผลิตแผ่นเซลลูโลสจากกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i> TISTR 976 .....	38
3.2.5.1 การเตรียมหัวเชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i> TISTR 976.....	38
3.2.5.2 การหมักแผ่นเซลลูโลส .....	39
3.2.5.3 การทำให้แผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์ .....	39
3.2.6 การเตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด.....	39
3.2.7 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับ สารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธี Disk diffusion method.....	39
3.2.7.1 การเตรียมสารละลายเชื้อ.....	39
3.2.7.2 การทดสอบความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถ ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ .....	39
3.2.8 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) ของแผ่นฟิล์ม เซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด.....	40
3.2.8.1 การเตรียมเซลล์ไลน์ L929 .....	40
3.2.8.2 การเตรียมสารสกัดจากแผ่นเซลลูโลส.....	40
3.2.8.3 การทดสอบความเป็นพิษ .....	40
3.2.9 การเตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลสชนิดต่างๆร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด .....	40
3.2.10 ศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากแผ่นเซลลูโลส.....	42
3.2.10.1 ศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทั้งหมด.....	42
3.2.10.2 ศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ในแต่ละช่วงเวลา.....	42
3.2.10.3 ศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ของแผ่นเซลลูโลส ด้วยวิธี Disk diffusion .....	42
3.2.11 ศึกษาสมบัติทางกายภาพของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส.....	42
3.2.11.1 วิเคราะห์ลักษณะสัณฐานของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัด เปลือกมังคุดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope).....	42

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.11.2 วิเคราะห์เอกลักษณ์ของแผ่นฟิล์มร่วมกับสารสกัดด้วยเครื่อง FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy).....	43
3.2.11.3 วิเคราะห์อัตราการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส .....	43
3.2.11.4 วิเคราะห์อัตราการดูดซับน้ำของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส .....	44
3.2.12 ศึกษาสมบัติทางกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส.....	44
3.2.13 การวิเคราะห์ทางสถิติ .....	45
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล .....</b>	<b>46</b>
4.1 ผลของการสกัดสารจากเปลือกมังคุดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95.....	46
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งแบคทีเรีย ด้วยวิธี Disk diffusion method .....	47
4.3 ผลการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) โดยวิธี Colorimetric broth microdilution .....	53
4.4 ผลการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ (MBC).....	56
4.5 การเตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด.....	57
4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธี Disk diffusion method.....	60
4.7 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด .....	63
4.8 การเตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลสชนิดต่างๆร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด .....	65
4.9 ผลการศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากแผ่นเซลลูโลส .....	66
4.10 ผลการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disk diffusion ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด และแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด .....	69
4.11 ผลการศึกษาศักยภาพทางกายภาพของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส.....	72
4.11.1 ผลการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope).....	72
4.11.2 ผลการวิเคราะห์เอกลักษณ์ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยเครื่อง FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy) .....	76
4.11.3 ผลการวิเคราะห์อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ.....	77
4.11.4 ผลการวิเคราะห์อัตราการดูดซับน้ำของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส.....	80
4.12 ผลการศึกษาศักยภาพเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส .....	82
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....</b>	<b>85</b>

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	85
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	87
เอกสารอ้างอิง.....	88
ภาคผนวก.....	107
ภาคผนวก ก.....	108
ภาคผนวก ข.....	110
ภาคผนวก ค.....	112
ภาคผนวก ง.....	113
ภาคผนวก จ.....	115
ประวัติผู้เขียน.....	156

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงลักษณะของเซลล์โลสที่ผลิตได้จากแบคทีเรียชนิดต่างๆ .....	6
4.1 ปริมาณสารสกัดหยาบและสารออกฤทธิ์แซนโทนที่สกัดเย็นด้วยเอทานอลร้อยละ 95 .....	46
4.2 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกโดยใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด ที่ความเข้มข้น 0.195-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร .....	49
4.3 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบโดยใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ ความเข้มข้น 0.195-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร .....	51
4.4 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบได้ โดยใช้วิธี Colorimetric broth microdilution .....	54
4.4 (ต่อ) ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบได้ โดยใช้วิธี Colorimetric broth microdilution .....	55
4.5 แสดงผลของการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ต่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความ เข้มข้น 0.049-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร .....	56
4.5 (ต่อ) แสดงผลของการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ต่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ ความเข้มข้น 0.049-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร .....	57
4.6 แสดงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.391 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรถึง 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่นำมาใช้ร่วมกับเซลล์โลสจากแบคทีเรียและมีผล ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ .....	61
4.7 แสดงการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion ของแผ่นฟิล์ม เซลล์โลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด และแผ่นฟิล์มเซลล์โลสที่ใช้ร่วมกับโคโคซานที่มี สารสกัดเปลือกมังคุด .....	70
4.8 ค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ และความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม เซลล์โลส ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 .....	78
4.9 เปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของวัสดุปิดแผลทางการค้า .....	79
4.10 เปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นเซลล์โลสจากแบคทีเรีย .....	80
ข-1 แสดงอัตราส่วนของสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0-20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร .....	110
ค-1 แสดงอัตราส่วนของสารละลาย McFarland standard เบอร์ 0.5-10 .....	112
จ-1 ปริมาณสารสกัดหยาบและสารออกฤทธิ์แซนโทนที่สกัดเย็นด้วยเอทานอลร้อยละ 95 .....	115
จ-2 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกโดยใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.195-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร .....	116
จ-3 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบโดยใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.195-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร .....	126
จ-4 แสดงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.391 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรถึง 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่นำมาใช้ร่วมกับเซลล์โลสจากแบคทีเรียและ มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ .....	131

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
จ-5	ความเป็นพิษของสารสกัดจากเปลือกมังคุดเมื่อใช้ร่วมกับแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย ต่อเซลล์ไฟโพรบลาสท์หนู (L929) ..... 136
จ-6	การปลดปล่อยสารออกฤทธิ์แซนโทนจากแผ่นเซลลูโลสเป็นเวลา 8 ชั่วโมง..... 137
จ-7	การปลดปล่อยสารออกฤทธิ์แซนโทนจากแผ่นเซลลูโลสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง..... 139
จ-8	แสดงการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion ของแผ่นเซลลูโลส ที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด และแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด. 141
จ-9	ศึกษาสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 BC-2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม และแผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม..... 146
จ-10	อัตราการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 BC-2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม และ แผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม..... 150
จ-11	ความหนาของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 BC-2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม และแผ่นฟิล์ม ไคโตซานควบคุม ..... 152
จ-12	ความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 BC-2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลส ควบคุม และแผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม..... 154

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างเคมีพื้นฐานของเซลลูโลสและคาร์บอนอะตอมในเซลลูโลส .....	4
2.2 โครงสร้างของเซลลูโลสและการเชื่อมกันภายในสายและระหว่างสายโดยพันธะไฮโดรเจน ..	5
2.3 ลักษณะเซลลูโลสไฮโดรเจลจากแบคทีเรีย.....	7
2.4 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ทำแห้งด้วยวิธีใช้ลมร้อน และแผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง.....	7
2.5 ลักษณะพื้นผิวและภาพตัดขวางของแผ่นเซลลูโลส.....	8
2.6 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ใช้ร่วมกับโคโคซาน .....	8
2.7 ผิวหน้าเซลลูโลสจากแบคทีเรียผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด .....	9
2.8 วิธีหมักทาบอิลิซิมคาร์บอนของเชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i> .....	10
2.9 แบบจำลองการรวมกันของ ribbon ของเชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i> .....	11
2.10 บาดแผลไฟไหม้ระดับ 2 .....	17
2.11 เซลลูโลสจากแบคทีเรียในรูปของตาข่าย.....	17
2.12 การรักษาแผลที่เกิดจากภาวะหลอดเลือดดำบกพร่อง.....	18
2.13 แผนผังการผลิตวุ้นมะพร้าวเบื้องต้น .....	19
2.14 โครงสร้างของไคติน และโคโคซาน .....	21
2.15 ขั้นตอนการเตรียมไคตินและโคโคซาน .....	22
2.16 ผลมังคุด.....	25
2.17 การจำแนกระยะของผลมังคุดออกเป็น 6 ระยะตามความเข้มของสีม่วงแดงของเปลือกผล	26
2.18 โครงสร้างของแซนโทน.....	27
3.1 ตัวอย่างงานหลุมเพาะเชื้อที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายริซาซูริน .....	38
3.2 แก้วตัวอย่างทดสอบการซึมผ่านของไอน้ำ.....	43
3.3 ตัวอย่างชิ้นงานรูปดัมเบลล์ .....	45
4.1 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด .....	50
4.2 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด .....	52
4.3 ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสก่อนทำให้บริสุทธิ์ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ และ แผ่นเซลลูโลสที่กำจัดเซลล์แบคทีเรียด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 .....	58
4.4 ลักษณะพื้นฐานของแผ่นเซลลูโลสแห้งที่ได้จากการผลิตโดยเชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i> TISTR 976 จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope : SEM).....	59
4.5 แผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด.....	60
4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธี Disk diffusion method.....	62
4.7 ลักษณะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยทดสอบกับแผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด .....	64
4.8 ความเป็นพิษของสารสกัดจากเปลือกมังคุดเมื่อใช้ร่วมกับแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์หนู (L929).....	65

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.9 แผ่นเซลล์โลสจากแบคทีเรียที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดและโคโตซานทั้ง 6 แบบ.....	66
4.10 การปลดปล่อยสารออกฤทธิ์แซนโทนจากแผ่นเซลล์โลสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง.....	68
4.11 แสดงการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion ของแผ่นฟิล์มเซลล์โลสและแผ่นฟิล์มเซลล์โลสที่ใช้ร่วมกับโคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด .....	71
4.12 เปรียบเทียบลักษณะพื้นผิวของแผ่นฟิล์มเซลล์โลสควบคุม แผ่นฟิล์ม BC-1 แผ่นฟิล์ม BC-2 และแผ่นฟิล์มโคโตซานควบคุม .....	73
4.13 เปรียบเทียบลักษณะภาพตัดขวางของแผ่นฟิล์มเซลล์โลสควบคุม แผ่นฟิล์ม BC-1 แผ่นฟิล์ม BC-2 และแผ่นฟิล์มโคโตซานควบคุม .....	75
4.14 การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดที่ช่วงเลขคลื่น 700-4000 $\text{cm}^{-1}$ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR-ATR โดยเปรียบเทียบระหว่างแผ่นเซลล์โลสที่มีสารสกัด และแผ่นเซลล์โลสที่ใช้ร่วมกับโคโตซานและสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร .....	76
4.15 เปรียบเทียบอัตราการดูดซับน้ำของแผ่นเซลล์โลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดและแผ่นเซลล์โลสที่ใช้ร่วมกับโคโตซานและสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.....	81
4.16 เปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของแผ่นเซลล์โลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดและแผ่นเซลล์โลสที่ใช้ร่วมกับโคโตซานและสารสกัดเปลือกมังคุด .....	84
ข-1 กราฟมาตรฐานของแซนโทน .....	111

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันมีการนำวัสดุทางชีวภาพมาปรับปรุงให้มีคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่หลากหลายสำหรับใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ เช่น แผ่นปิดแผลสำหรับซ่อมแซมเนื้อเยื่อ วัสดุที่ใช้ในการปลดปล่อยยา หรือโครงสร้างเซลล์สำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Collins and Birkinshaw, 2013) โดยใช้วัสดุจำพวกพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น เซลลูโลส อัลจินेट คอลลาเจน และไคโตซาน เป็นต้น (Xie *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2018) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เซลลูโลส นับว่าเป็นพอลิเมอร์ที่พบในธรรมชาติมากที่สุดในโลก และมีคุณสมบัติเฉพาะ มีความสามารถในการพัฒนาไปเป็นชีววัสดุที่มีประโยชน์ได้

เซลลูโลสพบอย่างกว้างขวางในสิ่งมีชีวิตทั่วไป เช่น ต้นไม้ และเส้นใยจากฝ้าย (Oliveira Barud *et al.*, 2016) อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียบางสายพันธุ์มีความสามารถในการผลิตเซลลูโลสได้เช่นกัน แม้ว่าสูตรโครงสร้างของเซลลูโลสจากพืชและจากแบคทีเรียจะเหมือนกัน แต่เซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียมีเอกลักษณ์ที่แตกต่างจากเซลลูโลสจากพืช (Toda *et al.*, 1997; Keshk, 2014) โดยเซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถผลิตได้จากแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ หลักๆ คือ *Gluconacetobacter xylinus* ที่นิยมใช้ทางการแพทย์ในการผลิตเนื้อเยื่อเทียม หลอดเลือดเทียม และแผ่นปิดแผล ซึ่งเซลลูโลสจากแบคทีเรียง่ายต่อการปรับปรุงคุณลักษณะเพื่อการใช้งานในรูปแบบของแบคทีเรียล เซลลูโลสนาโนคอมโพสิต เช่น การใช้งานเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับคอลลาเจน เซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับเจลาติน เซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับไฟโบรอิน และ เซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับไคโตซาน เป็นต้น (Oliveira Barud *et al.*, 2016) จากคุณลักษณะจำเพาะของเซลลูโลสจากแบคทีเรียนี้ จึงนิยมนำแผ่นเมมเบรนมาใช้ในการดูดซับยา และควบคุมการปลดปล่อยยา (Trovatti *et al.*, 2012) นอกจากนี้ใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะ ยังใช้ร่วมกับวัสดุนาโนจำพวกซิงค์ออกไซด์ และสารสกัดจากพืช เป็นต้น (Shao *et al.*, 2016; Khalid *et al.*, 2017; พรเทพ, 2554) มีการศึกษาการนำเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Acetobacter* sp. A10 มาใช้รักษาแผลพุพองในหนูทดลอง พบว่ามีค่าความรุนแรงของความบาดเจ็บ (skin severity score) จากการใช้วัสดุปิดแผลน้อยกว่าการใช้ผ้าก๊อช ความหนาของผิวหนังชั้นนอก และผิวหนังแท้สร้างตัวได้ดีกว่าการใช้ผ้าก๊อชเช่นกัน (Kwak *et al.*, 2015)

ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคตินซึ่งมีมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส ไคโตซานได้จากการดึงหมู่อะซิติลของไคตินออกในสภาวะที่เป็นด่าง ทำให้ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่มีสมบัติเป็นประจุบวกสามารถละลายได้ในกรดอ่อน ไคโตซานที่อยู่ในรูปของสารละลายสามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง เช่น เจล ฟิล์ม และเส้นใย (Rinaudo, 2006; Ali and Ahmed., 2018) เริ่มแรกไคโตซานใช้ในทางการแพทย์เช่น แผ่นปิดแผล วิศวกรรมเนื้อเยื่อ และพัฒนาเป็นระบบนำส่งยา โดยไคโตซานมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ไม่เป็นพิษ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และใช้เป็นสารให้ความชุ่มชื้นในเครื่องสำอาง (Jayakumar, 2011)

จากการศึกษาคัดแยกเชื้อในกลุ่มผู้ป่วยที่มีบาดแผลไฟไหม้และบาดแผลในผู้ป่วยโรคมะเร็ง พบการติดเชื้อในบาดแผลที่พบบ่อยคือ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Staphylococcus epidermidis* เป็นต้น (Guggenheim *et al.*, 2009; Alharbi and Zayed, 2014) และจากสถิติของ

สถาบันโรคผิวหนังประจำปีพ.ศ. 2557-2559 ลิวเป็นสาเหตุอันดับหนึ่งซึ่งพบในโรคผิวหนังที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย รองลงมาคือโรคผิวหนังอักเสบเรื้อรัง (สถาบันโรคผิวหนัง, 2559) การรักษาโดยใช้ยาปฏิชีวนะเป็นทางเลือกหนึ่งในทางการแพทย์ ยาอาจจะออกฤทธิ์ฆ่าหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้อย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่าง ซึ่งแบคทีเรียแกรมบวกนิยมใช้แวนโคมัยซิน แดปโทมัยซิน แบคทีเรียแกรมลบนิยมใช้เจนตามัยซิน ดอกซีซัยคลิน เป็นต้น (Guillamet and Kollef, 2014; Troughton *et al.*, 2011) และยังพบเชื้อแบคทีเรียบางชนิดที่ดื้อยาปฏิชีวนะ เช่น เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ที่พบว่าดื้อยาแวนโคมัยซิน โซโพรฟลอกซาซิน และ คิวโนโลน (Raad *et al.*, 1998)

มังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.) เป็นพืชไม้เขตร้อนที่มักพบในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น อินโดนีเซีย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ และไทย (Morton, 1987) จากประโยชน์ในตำรายาไทย จึงมีผู้ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเพื่อพัฒนาวัสดุเหลือทิ้งจำนวนมากอย่างเปลือกมังคุดให้มีประโยชน์ การศึกษามุ่งเน้นไปที่การศึกษาเปลือกมังคุดซึ่งพบว่ามีโอกาสพัฒนาเป็นยารักษาแผล เพราะเปลือกมังคุดมีสารกลุ่มแซนโทน โดยเฉพาะสารกลุ่มแมงโกสตินที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียและลดการอักเสบของบาดแผลได้ (จริงแท้, 2557) มังคุดประกอบด้วยสารเมทาบอลิท์ทุติยภูมิคือ แซนโทน ที่พบทั้งในเปลือกมังคุด เนื้อมังคุด และใบ (Suksamram *et al.*, 2006; Orozco and Failla, 2013) และสารประกอบอื่นๆที่อยู่ในเปลือก เช่น แอนโธไซยานิน เพคติน แทนนิน และ เรซิน (Andjani *et al.*, 2017)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาการนำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการรักษาแผล และช่วยลดการอักเสบของแผลอันเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และนำโคโตซานมาใช้ร่วมกับแผ่นเซลลูโลสเพื่อพัฒนาให้แผ่นฟิล์มมีลักษณะที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้เป็นแผ่นฟิล์มปิดแผล ซึ่งเป็นวัสดุคอมโพสิตทางชีววัสดุที่มีความสำคัญ และนำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการอักเสบได้
- 2) เพื่อเตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่มีความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดอาการอักเสบบนแผลได้
- 3) เพื่อพัฒนาแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดร่วมกับโคโตซานให้เป็นแผ่นฟิล์มที่เหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้เป็นแผ่นฟิล์มปิดแผลได้ในอนาคต

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) ศึกษาฤทธิ์เบื้องต้น และความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดการอักเสบของบาดแผล
- 2) เตรียมวัสดุปิดแผลจากเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียและทดสอบความสามารถในฆ่าเชื้อแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มที่ได้ รวมถึงศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929)

- 3) พัฒนาแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดโดยใช้ร่วมกับไคโตซาน ศึกษาอัตราการปลดปล่อยสารออกจากแผ่นฟิล์ม ศึกษาสมบัติทางกายภาพของแผ่นฟิล์ม เช่น ลักษณะสัญญาณของแผ่นฟิล์มจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) วิเคราะห์เอกลักษณ์ของแผ่นฟิล์มที่ได้ด้วยเครื่อง Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ อัตราการดูดซับน้ำ และศึกษาสมบัติเชิงกล ได้แก่ ค่าความต้านทานแรงดึง (Tensile strength) ค่ามอดูลัสของยัง (Young's Modulus) และค่าร้อยละการยืด ณ จุดขาด (% Elongation at break)

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) สามารถพัฒนาแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดมาใช้ร่วมกับไคโตซานเพื่อให้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับผลิตเป็นแผ่นฟิล์มปิดแผล
- 2) สามารถนำเปลือกมังคุดซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีปริมาณมาก และมีคุณสมบัติทางยามาใช้ในการทำให้เกิดประโยชน์มากขึ้นโดยสกัดออกมาในรูปของสารสกัดหยาบและใช้ร่วมกับแผ่นฟิล์มเซลลูโลสเพื่อเพิ่มคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส
- 3) สามารถนำของเหลือทิ้งจากกระบวนการการผลิตกะทิ คือ น้ำมะพร้าวแก่ มาใช้เป็นอาหารสำหรับแบคทีเรียเพื่อใช้ในการผลิตเซลลูโลส

## บทที่ 2

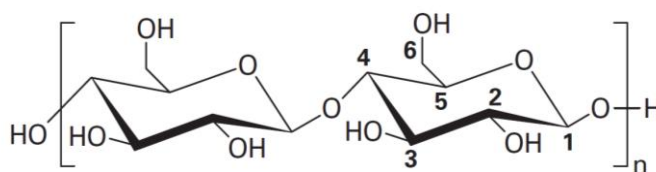
# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 เซลลูโลส

เซลลูโลส (Cellulose) เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ ในปี 1838 Anselme Payen นักเคมีชาวฝรั่งเศส ค้นพบว่าองค์ประกอบเส้นใยของพืชชั้นสูงทุกชนิดมีโครงสร้างทางเคมีที่เป็นเอกลักษณ์ซึ่งคือเซลลูโลส Payen พบว่าเมื่อนำเนื้อเยื่อพืช ปุยฝ้าย ปลายราก เมล็ด และ รังไข่ของดอกไม้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยกรด และแอมโมเนีย ตามด้วยการสกัดโดยใช้น้ำ จะเกิดเป็นเส้นใยที่คงรูป ภายหลังจากนั้น 1 ปี มีการศึกษาโดยนำเซลลูโลสมาย่อย ได้เป็นน้ำตาลเดกซ์โทรส (Wuestenberg, 2015) เซลลูโลสในธรรมชาติพบมากในพืช สาหร่าย สัตว์ และจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของโครงสร้างผนังเซลล์ ช่วยเสริมความแข็งแรงให้กับเซลล์ ช่วยในการเจริญของเซลล์ และช่วยปกป้องเซลล์ โดยเซลลูโลสจากพืชที่พบมากคือฝ้ายและไม้ พื้นฐานของเซลลูโลสในธรรมชาติถูกนำมาใช้เป็นวัสดุทางวิศวกรรม (Engineering material) เป็นเวลากว่าร้อยปี และดำเนินมาจนถึงปัจจุบัน เซลลูโลสยังเป็นส่วนหนึ่งของอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ทั่วโลก เช่น กระดาษ และสิ่งทอ ที่ใช้เซลลูโลสในการผลิตมากที่สุด รวมถึงอุตสาหกรรมอาหาร (Gama *et al.*, 2013; Keshk, 2014; Sandermann, 1973)

#### 2.1.1 โครงสร้างของเซลลูโลส

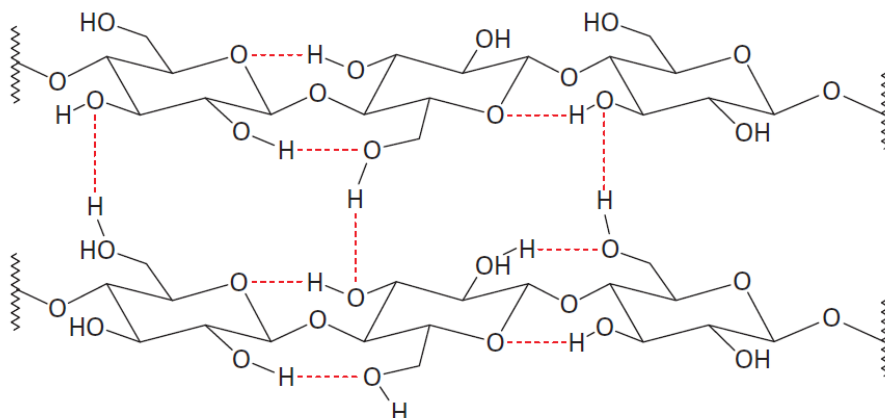
โมเลกุลของเซลลูโลสคือพอลิเมอร์สายตรงของ D-anhydroglucopyranose ( $C_6H_{10}O_5$ ) พันธะที่เชื่อมระหว่างน้ำตาลมอนอเมอร์คือ พันธะไกลโคซิดิก ( $\beta$ -1,4-glycosidic) ดังรูปที่ 2.1 บริเวณคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 2 3 และ 6 มีหมู่ไฮดรอกซิล ที่สามารถเกิดปฏิกิริยาการเกิดพันธะไฮโดรเจนได้ หรือเกิดการแทนที่ของหมู่อื่น สายโซ่เซลลูโลสจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน และแรงทางไฟฟ้าต่างๆ เกิดเป็น bundle ลักษณะคล้ายเส้นด้ายยาว เรียกว่า microfibril (Dufresne, 2012)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างเคมีพื้นฐานของเซลลูโลสและคาร์บอนอะตอมในเซลลูโลส  
ที่มา: Dufresne (2012)

สายโซ่ของเซลลูโลสมีหมู่ไฮดรอกซิลกระจายอยู่ทำให้เกิดการเชื่อมกันภายในโมเลกุล (intra molecular) และระหว่างโมเลกุล (inter molecular) ของพันธะไฮโดรเจน ในขณะเดียวกันโครงสร้างระหว่างสายโซ่เซลลูโลสเชื่อมกันด้วยแรง Van der Waals (French *et al.*, 1993) พันธะทั้ง 2 ชนิดทำให้เกิดเป็นโครงสร้างแบบเป็นผลึก (crystalline) พันธะไฮโดรเจนเชื่อมกันภายในโมเลกุลโดยหมู่ OH ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 กับออกซิเจนจากวงแหวนใกล้เคียง (O5) และหมู่ OH ของคาร์บอน

ตำแหน่งที่ 6 กับออกซิเจนของคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 จากวงแหวนใกล้เคียง และเชื่อมกันระหว่างโมเลกุลด้วยหมู่ OH ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 และออกซิเจนตำแหน่งที่ 3 (O3) ในวัฏจักรของหน่วยย่อย ดังรูปที่ 2.2



**รูปที่ 2.2** โครงสร้างของเซลลูโลสและการเชื่อมกันภายในสายและระหว่างสายโดยพันธะไฮโดรเจน (เส้นทึบคือพันธะไฮโดรเจนภายในสายเดียวกัน เส้นประคือพันธะไฮโดรเจนระหว่างสาย)  
ที่มา: Dufresne (2012)

### 2.1.2 เซลลูโลสจากแบคทีเรีย

การนำเซลลูโลสมาประยุกต์ใช้ส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่เซลลูโลสจากพืช ยังมีแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถผลิตเซลลูโลสได้เช่นกัน แม้ว่าสูตรทางเคมีของเซลลูโลสจากแบคทีเรียจะเหมือนกับเซลลูโลสจากพืช แต่เส้นใยของเซลลูโลสจากแบคทีเรียมีลักษณะทางกายภาพเฉพาะตัว เนื่องจากเส้นใยที่เรียงตัวแบบร่างแหของเส้นใยละเอียดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย 0.1 ไมโครเมตร เล็กกว่าเส้นใยของไม้ 100 เท่า (Toda *et al.*, 1997) โดยเซลลูโลสที่ผลิตได้จากแบคทีเรียเกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์จำพวกน้ำส้มสายชูหมัก คอมบูชา และวุ้นมะพร้าว (nata de coco)

แบคทีเรียที่มีความสำคัญมากที่สุดในการผลิตเซลลูโลสคือ *Acetobacter xylinum* ปัจจุบันคือ *Gluconacetobacter xylinus* พบครั้งแรกในปี 1886 โดย A.J. Brown ในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูโดยเชื้อ *Bacterium aceti* (Acetic acid bacteria) นับว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารปฐมภูมิ (Primary metabolite) แบคทีเรียชนิดนี้พบแพร่หลายทั่วไปในแหล่งที่มีการหมักน้ำตาลและบริเวณที่มีคาร์โบไฮเดรตของพืช เช่น บนผิวรากของพืช น้ำผลไม้ เบียร์ และไวน์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ เป็นต้น นอกจากนี้ *Gluconacetobacter xylinus* ยังพบการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียชนิดอื่น ดังตารางที่ 2.1 เซลลูโลสที่แบคทีเรียผลิตได้จะอยู่ในรูปของเซลลูโลสบริสุทธิ์ปราศจากองค์ประกอบที่พบในพืชเช่น เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เซลลูโลสประกอบไปด้วยสาย  $\beta$ -1,4-glucan เส้นใยที่รวมกันเป็นกลุ่มมีการจัดเรียงตัวสองแบบ คือ แบบเป็นระเบียบ (Crystalline) และไม่เป็นระเบียบ (Non-crystalline) ซึ่งเรียงตัวแบบสุ่ม มีความหนาแน่นน้อยกว่าแบบ Crystalline และมีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารเคมีอื่นๆ ได้ง่าย (de Souza Lima and Borsali, 2004) การจัดเรียงตัวของสารสังเคราะห์เซลลูโลสบนเซลล์เมมเบรนประกอบไปด้วยสายกลูแคนแบบขนานกัน ซึ่งพบในเซลลูโลส I เป็นเซลลูโลสที่พบในธรรมชาติ โดยทั่วไปรูปแบบการจัดเรียงตัวแบบเซลลูโลส I จะเกิดในสิ่งมีชีวิต แต่เซลลูโลส II จะมีความเสถียรมากกว่าซึ่งเกิดจากสาย

โฆ่กฏแค้นจัดเรียงตัวแบบไม่ขนานกัน รูปแบบของการเกิดเป็นเซลลูโลส II นี้ไม่ได้ขึ้นกับการสังเคราะห์ของเซลล์แต่มีกพบเมื่อเซลลูโลส I ผ่านกระบวนการทางเคมี (Brown, 1996; Gama *et al.*, 2013)

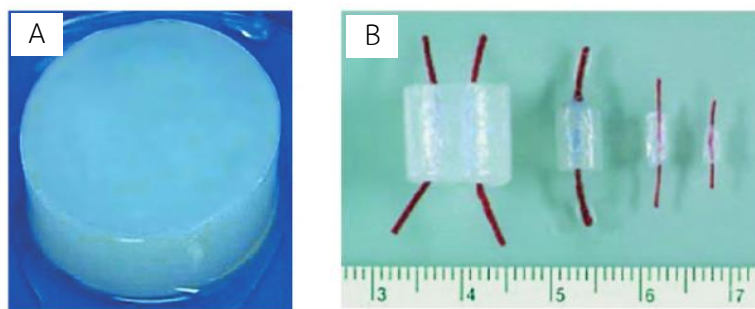
**ตารางที่ 2.1** แสดงลักษณะของเซลลูโลสที่ผลิตได้จากแบคทีเรียชนิดต่างๆ

แบคทีเรีย	ลักษณะของเซลลูโลส
<i>Acetobacter</i>	แผ่นเซลลูโลสที่ประกอบไปด้วยโครงสร้างของ ribbons
<i>Achromobacter</i>	เส้นใย (Fibrils)
<i>Aerobacter</i>	เส้นใย (Fibrils)
<i>Agrobacterium</i>	เส้นใยขนาดสั้นๆ (Short fibrils)
<i>Alcaligenes</i>	เส้นใย (Fibrils)
<i>Pseudomonas</i>	ไม่มีเส้นใยที่ชัดเจน
<i>Rhizobium</i>	เส้นใยขนาดสั้นๆ (Short fibrils)
<i>Sarcina</i>	เซลลูโลสแบบ Amorphous

ที่มา: Jonas and Farah (1998)

### 2.1.2.1 แบคทีเรียเซลลูโลสไฮโดรเจล (Bacterial cellulose hydrogel)

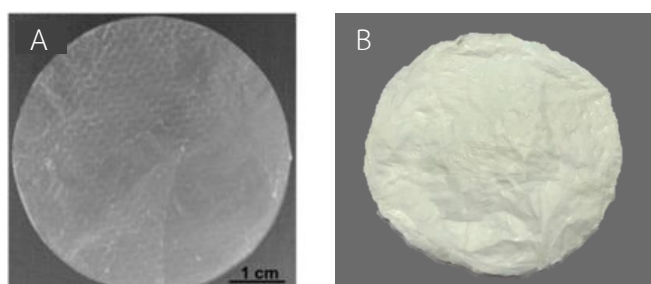
ไฮโดรเจลประกอบด้วยพอลิเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำหรือโคพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำและอุ้มน้ำได้ ไฮโดรเจลจึงถูกนำมาใช้เป็นระบบส่งยา โดยหลายปีที่ผ่านมาได้มีการพัฒนาไฮโดรเจลในหลายรูปแบบ เช่น เซลลูโลสไฮโดรเจล เนื่องจากการรวมตัวของเส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรียเชื่อมกันด้วยพันธะและแรง Van der Waals ช่วยในการตรึงเส้นใยเข้าไว้ด้วยกัน มีความเสถียรและแข็งแรง จากการดูดซับน้ำของชั้นเซลลูโลสทำให้ลักษณะเด่นของเซลลูโลสบริสุทธิ์คือมีความแข็งแรงมากเมื่ออยู่ในสภาวะเปียก (never-dried state) และสามารถอุ้มน้ำได้ถึงหนึ่งร้อยเท่า ลักษณะของเซลลูโลสจากแบคทีเรียในรูปของไฮโดรเจลสามารถออกแบบได้โดยการเลือกใช้ถังหมักตามการใช้งานที่เหมาะสม (Klemm *et al.*, 2011) ภายใต้สภาวะนิ่งโดยหมักภายในภาชนะทรงกลมหรือสี่เหลี่ยมที่เป็นเครื่องแก้วหรือพอลิพรอพิลีน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีลักษณะตามรูปของภาชนะที่ใช้หมัก ดังรูปที่ 2.3 (A) (Gatenholm and Klemm, 2010) แสดงตัวอย่างของเส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ประกอบไปด้วยเส้นใยนาโนไฟเบอร์ที่ชุ่มน้ำ ขนาดที่ได้ขึ้นกับเวลาในกระบวนการหมัก ลักษณะที่เหมือนทอกลงสามารถเตรียมได้โดยใช้ Matrix-type reactor โดยการใส่ท่อทรงกระบอกที่เป็นแก้วหรือซิลิกอนที่ปราศจากเชื้อลงไปจนถึงหมักที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ เซลลูโลสที่ได้ในลักษณะนี้สามารถเตรียมได้ตั้งแต่ขนาด 0.5 มิลลิเมตร จนถึงสเกลขนาดเซนติเมตร และมีความยาวตั้งแต่ 1 หรือมากกว่า 20 เซนติเมตร ดังรูปที่ 2.3 (B) จากการรายงานข้างต้น เซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถขึ้นรูปได้ตามความต้องการขณะการสังเคราะห์ เช่นผลิตออกมาในรูปของทอกลงเพื่อใช้เป็นหลอดเลือดเทียม และท่อไตเทียม เป็นต้น



**รูปที่ 2.3** ลักษณะของเซลลูโลสไฮโดรเจลจากแบคทีเรีย (A) ลักษณะของเซลลูโลสจากแบคทีเรียรูปแบบปกติที่ได้จากการหมักในสภาวะนิ่ง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร และหนา 2 เซนติเมตร (B) เซลลูโลสจากแบคทีเรียในลักษณะของท่อที่มีขนาดแตกต่างกัน  
ที่มา: Gatenholm and Klemm (2010)

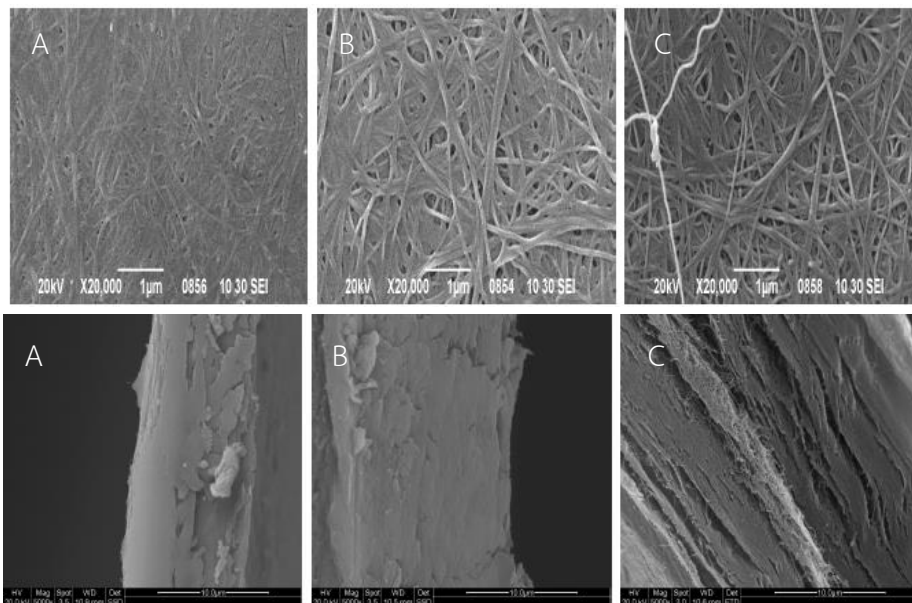
### 2.1.2.2 แบคทีเรียเซลลูโลสฟิล์ม (Bacterial cellulose film)

เซลลูโลสจากแบคทีเรียในรูปของไฮโดรเจลสามารถทำแห้งให้อยู่ในรูปฟิล์มได้หลายวิธี เช่น การรีดด้วยความร้อน (hot-pressing) การทำแห้งที่จุดวิกฤต (Critical point drying) ทำแห้งเยือกแข็ง (Freeze-drying) ทำแห้งด้วยการใช้ตู้อบลมร้อน (Oven drying) การใช้วิธีเปลี่ยนตัวทำละลายจากน้ำให้เป็นเอทานอลหรืออะซิโตน และการทำแห้งภายใต้ความดันปกติหรือความดันสูง เป็นต้น ในขั้นตอนการทำแห้งจะส่งผลอย่างมากต่อลักษณะและคุณสมบัติของแผ่นฟิล์ม โดยการใช้ความร้อนเพียงเล็กน้อยจะช่วยรักษาเสถียรภาพของเส้นใยแอรเจล ทำให้มีความหนาแน่นน้อยลงและความจุในการดูดซับของเหลวกลับสูง ในขณะเดียวกัน ระหว่างการทำแห้งร่วมกับการใช้ความดันเพื่อให้ออกมาในรูปของแผ่นฟิล์ม เส้นใยนาโนไฟบริลจะมีความหนาแน่นสูง อีกวิธีหนึ่งคือนำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียมารีดน้ำออกจากแผ่น และตามด้วยการรีดแบบใช้ความร้อน (Hot-pressing) (Retegi *et al.*, 2010) Zhang *et al.*, (2011) ศึกษาผลของการทำแห้งแผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียด้วยวิธีการแตกต่างกัน ดังรูปที่ 2.5 แสดงลักษณะพื้นผิวและภาพตัดขวางของเซลลูโลสที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน และการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งสุญญากาศ แผ่นฟิล์มมีความบางและมีความหนาแน่นของเส้นใยมากกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง แผ่นฟิล์มที่มีความหนาแน่นมากจะแสดงความแข็งแรงของเส้นใยมากกว่า แต่มีความยืดหยุ่นน้อย



**รูปที่ 2.4** (A) แผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ทำแห้งด้วยวิธีใช้ลมร้อน และ (B) แผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง

ที่มา: de Souza *et al.*, (2013); Kim *et al.*, (2013)

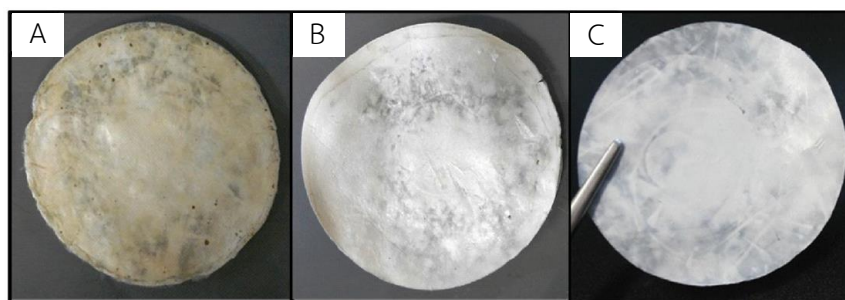


รูปที่ 2.5 ลักษณะพื้นผิวและภาพตัดขวางของแผ่นเซลลูโลส (A) ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (B) ทำแห้งด้วยการใช้เครื่องทำแห้งสุญญากาศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ (C) ทำแห้งในสภาวะแช่เยือกแข็ง

ที่มา: Zhang *et al.*, (2011)

### 2.1.2.3 แบคทีเรียเซลลูโลสนาโนคอมโพสิต (Bacterial cellulose nano composite)

วัสดุนาโนคอมโพสิต คือ วัสดุเชิงประกอบที่เกิดจากการผสมกันของวัสดุตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป ในวัสดุปิดผนึกนาโนคอมโพสิตที่ใช้ร่วมกับเซลลูโลสจากแบคทีเรียเริ่มเป็นวัสดุที่นิยมใช้ เนื่องจากคุณสมบัติทางกายภาพและเชิงกลที่ดี เช่น การใช้เซลลูโลสร่วมกับกักบออัลจินต และการใช้เซลลูโลสร่วมกับโคโตซาน ดังรูปที่ 2.6 (Ajayan *et al.*, 2003; Phisalaphong and Jatupaiboon, 2008)



รูปที่ 2.6 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ใช้ร่วมกับโคโตซาน (A) แผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่เติมสารละลายโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.75 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (B) แผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่แช่ลงในสารละลายโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1 (C) แผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียบริสุทธิ์

ที่มา: Urbina *et al.*, (2018)

## 2.2 เชื้อ *Acetobacter xylinum*

### 2.2.1 ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์

เชื้อ *Acetobacter xylinum* ปัจจุบันคือ *Gluconacetobacter xylinus* จัดอยู่ใน

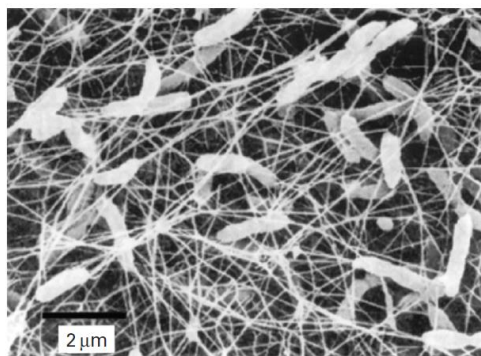
Class Alphaproteobacteria

Order Rhodospirillales

Family Acetobacteraceae

Genus *Gluconacetobacter*

*Acetobacter xylinum* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เจริญในสภาวะที่มีอากาศ (Aerobic) อยู่ในกลุ่ม Acetic acid bacteria รูปร่างเป็นทรงรีหรือท่อน เซลล์ที่พบมีลักษณะโค้งหรือตรง ขนาด 0.6-1.2 x 1.0-3.0 ไมโครเมตร พบทั้งเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ เป็นกลุ่มเล็กๆ หรือเป็นสายสั้นๆ มีแฟลกเจลลาชนิดเพอริทริคัส ไม่เจริญในอาหารที่มีเอทานอลร้อยละ 3 และกรดอะซิติกร้อยละ 5-8 แต่สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตกรดได้จากการใช้เอทานอล น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลไซโลส (Brenner *et al.*, 2005)



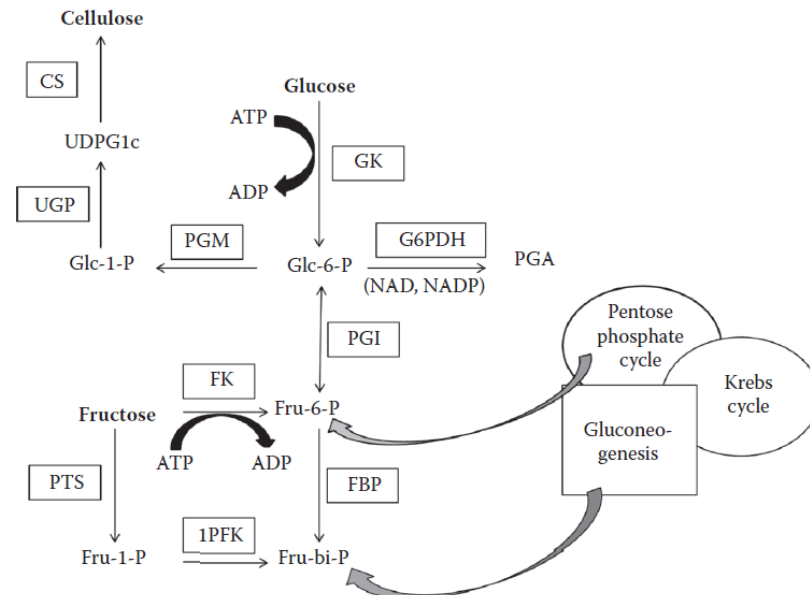
รูปที่ 2.7 ผิวหน้าเซลลูโลสจากแบคทีเรียผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด  
ที่มา: Iguchi *et al.*, (2000)

### 2.2.2 วิธีการสังเคราะห์เซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum*

วิถีเมทาบอลิซึมของคาร์บอนในการผลิตเซลลูโลสขึ้นกับแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยกลูโคสและฟรุกโตสจะถูกใช้แตกต่างกันในวิถีตอนต้นก่อนที่จะเข้าสู่การสังเคราะห์เซลลูโลส โดยผ่าน glucose-6-phosphate ดังรูปที่ 2.8

นอกจากกลูโคสและฟรุกโตส *Acetobacter xylinum* สามารถใช้แหล่งคาร์บอน เช่น ซูโครส แมนนิทอล กลีเซอรอล และ กาแลคโตส ได้เช่นกัน (Mikkelsen *et al.*, 2009) และพบว่าเชื้อ *Acetobacter xylinum* และ *Acetobacter aceti* มีเอนไซม์ invertase เพื่อใช้ในการไฮโดรไลซ์ซูโครส ให้ได้เป็นกลูโคส และฟรุกโตส ในกรณีที่ *Acetobacter xylinum* เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสและฟรุกโตส จะเริ่มต้นวิถีเมทาบอลิซึมต่างกันเพื่อให้ได้ glucose-6-phosphate กลูโคสจะถูกใช้โดยแบคทีเรียและเปลี่ยนไปเป็น glucose-6-phosphate โดยเอนไซม์ glucokinase ในขณะเดียวกันฟรุกโตสเปลี่ยนไปเป็น fructose-6-phosphate โดยเอนไซม์ fructokinase จากนั้นจึงเปลี่ยนไปเป็น glucose-6-phosphate โดยเอนไซม์ phosphoglucisomerase หลังจากนั้นเปลี่ยน glucose-6-phosphate ไปเป็น glucose-1-phosphate โดยใช้เอนไซม์ phosphoglucomutase ตามด้วยการเปลี่ยนให้เป็น uridine diphosphate glucose (UDP-glucose) โดยเอนไซม์ pyrophosphorylase

ซึ่ง UDPGlc (UDP glucose) เป็นสารตัวกลางในการสังเคราะห์เซลลูโลส ถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ Cellulose synthase ที่ถูกควบคุมด้วย c-di-GMP โดยจับกับบริเวณ Active site ของเอนไซม์ Cellulose synthase (Ross *et al.*, 1990; Ross *et al.*, 1991)



รูปที่ 2.8 วิธีเมทาบอลิซึมคาร์บอนของเชื้อ *Acetobacter xylinum* ดัดแปลงจาก Ross *et al.*, (1991) CS: cellulose synthase, FBP: fructose-1,6-bisphosphate phosphatase, GK: glucokinase, FK: fructokinase, G6PDH: glucose-6-phosphate dehydrogenase, 1PFK: fructose-1-phosphate kinase, PGA: phosphogluconic acid, PGI: phosphoglucoisomerase, PGM: phosphoglucomutase, PTS: system of phosphotransferases, UGP: pyrophosphorylase UDPGlc, Fru-bi-P: fructose-1,6-bisphosphate, Fru-6-P: fructose-6-phosphate, Glc-6(1)-P: glucose-6(1)phosphate, UDPGlc: uridine diphosphoglucose.

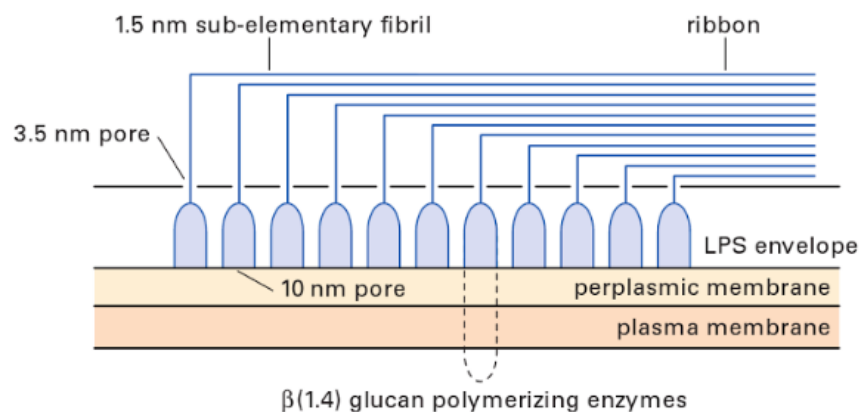
ที่มา: Gama *et al.*, (2013)

### 2.2.3 การสร้างเส้นใยเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum*

แผ่นเซลลูโลสส่วนใหญ่จะสร้างขึ้นเหนือผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงเป็นสมมติฐานว่าการสร้างแผ่นเซลลูโลสของแบคทีเรียใช้เป็นที่อยู่ของเชื้อแบคทีเรียในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่าง ป้องกันไม่ให้เซลล์แห้ง ป้องกันศัตรู และป้องกันการขาดออกซิเจนและอาหาร (Cannon and Anderson, 1991; Klemm *et al.*, 2011) แผ่นเซลลูโลสทำหน้าที่เสมือนตัวช่วยพยุงให้แบคทีเรียสัมผัสกับออกซิเจนที่ผิวหน้าอาหาร โดยคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกกักเก็บไว้จากวัฏจักร TCA คุณสมบัติของแผ่นเซลลูโลสไม่ได้ช่วยพยุงให้แบคทีเรียอยู่ในสภาวะที่เป็นแอโรบิกเท่านั้น แต่ยังช่วยป้องกันแสงอัลตราไวโอเล็ต และช่วยในเรื่องเก็บรักษาความชุ่มชื้น (Yoshino *et al.*, 1996; Schramm and Hestrin, 1954; William and Cannon, 1998)

ภายใต้สภาวะที่เลี้ยงเชื้อโดยใช้อาหารมาตรฐาน *Acetobacter xylinum* จะสร้างเส้นใยออกมาผ่านรูพรุนที่ผนังเซลล์มากกว่า 100 รูพรุนตามยาว ซึ่งมีความยาวขนานไปกับเซลล์ เส้นใย

เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นเส้นใยละเอียดสานกันเป็นโครงสร้างแบบตาข่าย (Aschner and Hestrin, 1946; Ross *et al.*, 1991) เส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรียเกิดจากการสังเคราะห์แบบ Extracellular เป็นเซลลูโลสที่ผลิตออกมาภายนอกเซลล์แบคทีเรีย (Extracellular cellulose) เกิดขึ้นระหว่าง Outer membrane และ Cytoplasm membrane โดยกระบวนการสังเคราะห์เซลลูโลส เส้นใยจะโผล่จากรูพรุนที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียและรวมกัน (Cannon and Anderson, 1991; Jonas and Farah, 1998) ดังรูปที่ 2.9 เริ่มแรกสายโซ่กลูแคนที่จับกลุ่มกันประมาณ 10-100 กลูแคน จะโผล่ออกจากรูพรุนที่ผิวหน้าเมมเบรน (Zaar, 1979) จากนั้นจะรวมกันเป็นไมโครไฟบริล และสร้างเป็นโครงสร้างแบบ ribbon ขึ้นมาจากการรวมกันของไมโครไฟบริลในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Forge and Peterson, 1977) กระบวนการจะเกิดขึ้นบริเวณที่มีอากาศสัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อ เส้นใย ribbon จะมีความหนา 3-4 นาโนเมตร กว้าง 70-130 นาโนเมตร และมีความยาวของเส้นใยตั้งแต่ 1-20 ไมโครเมตร และสร้างเส้นใยร่างแหขึ้นเป็นแผ่นหนา มีโครงสร้างที่แข็งแรงเชื่อมกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (Brown *et al.*, 1976; Zaar, 1977; Yamanaka *et al.*, 2000; Cousins and Brown, 1995)



รูปที่ 2.9 แบบจำลองการรวมกันของ ribbon ของเชื้อ *Acetobacter xylinum* ที่มา: Gama *et al.*, (2013)

ลักษณะของเซลลูโลสจากแบคทีเรียมีโครงสร้างทางเคมีที่เหมือนกับเซลลูโลสจากพืชแต่มีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่ต่างกัน โดยแยกจากค่า Crystallinity index (มากกว่าร้อยละ 60) ซึ่งเซลลูโลสจากแบคทีเรีนับเป็นเซลลูโลสที่ได้จากธรรมชาติ และโครงสร้างของเซลลูโลสในธรรมชาติมีโครงสร้างแบบ Crystalline 2 รูปแบบ ประกอบด้วย รูปแบบอัลฟาและเบต้า คือ เซลลูโลส I  $\alpha$  และ I  $\beta$  (Yoshinaga *et al.*, 1997) เซลลูโลสจากแบคทีเรียจะมีรูปแบบอัลฟาเป็นองค์ประกอบหลัก ประมาณร้อยละ 60 ในขณะที่เซลลูโลสในพืชชั้นสูง เช่น ฝ้าย ป่าน ไม้ และส่วนต่อหุ้มของสัตว์ทะเล มีโครงสร้างแบบเบต้าเป็นองค์ประกอบหลัก และมีเซลลูโลสรูปแบบอัลฟาประมาณร้อยละ 30 โครงสร้างทั้งสองแบบนี้จะพันกันเป็นเกลียว (ribbon) รวมตัวเป็นสายไมโครไฟบริลที่มีขนาดแตกต่างกัน เซลลูโลสมีค่า Degree of polymerization (DP) เป็นจำนวนซ้ำของหน่วยพอลิเมอร์ ซึ่งค่า DP ในเซลลูโลสคือจำนวนซ้ำของ D-glucose เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีค่า DP ระหว่าง 2,000-6,000 ซึ่งในพืชมีค่า DP เฉลี่ย 13,000-14,000 (Belton *et al.*, 1989; Jonas and Farah, 1998)

## 2.3 วัสดุปิดแผล

บาดแผลแบ่งออกเป็นบาดแผลเฉียบพลันและบาดแผลเรื้อรัง โดยร่างกายของมนุษย์จะสามารถซ่อมแซมส่วนที่เสียหายได้ตามระยะเวลาในกระบวนการซ่อมแซมตัวเอง แต่เนื่องจากการรักษาบาดแผลมีกลไกที่ซับซ้อน ซึ่งอาจถูกยับยั้งได้โดยปัจจัยต่างๆ จึงจำเป็นต้องมีกระบวนการที่มีความเหมาะสมในการรักษา จากความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี มีผลิตภัณฑ์รักษาบาดแผลมากกว่า 3,000 ชนิด ถูกพัฒนาออกมาเพื่ออำนวยความสะดวกในการดูแลรักษาบาดแผล การเลือกใช้วัสดุปิดแผลมีความแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับลักษณะของบาดแผลแต่ละชนิด (Dhivya *et al.*, 2015)

### 2.3.1 ชนิดของวัสดุปิดแผล

#### 2.3.1.1 วัสดุปิดแผลแบบดั้งเดิม

วัสดุปิดแผลแบบดั้งเดิม เช่น ผ้าก๊อซ สำลี พลาสเตอร์ และ ผ้าพันแผล ที่นำมาใช้ในรูปแบบของวัสดุปิดแบบปฐมภูมิหรือทุติยภูมิ เพื่อใช้ในการป้องกันการปนเปื้อนสู่บาดแผล เช่นผ้าก๊อซที่ผลิตจากเส้นใยธรรมชาติหรือใยสังเคราะห์ ใช้ในการดูดซับสารคัดหลั่ง และของเหลวจากแผลเปิด ซึ่งผ้าก๊อซมีประสิทธิภาพในการรักษาที่ค่อนข้างต่ำ สารคัดหลั่งจากบาดแผลทำให้เกิดอาการเจ็บปวดขณะเปลี่ยนวัสดุปิดบาดแผล โดยทั่วไปแล้ววัสดุปิดแผลจำพวกนี้ควรใช้กับแผลที่แห้งและมีสารคัดหลั่งไม่มากนัก หรือใช้เป็นวัสดุปิดแผลแบบทุติยภูมิ เนื่องจากวัสดุปิดแผลในกลุ่มนี้ไม่สามารถรักษาความชุ่มชื้นให้กับบาดแผลได้ดีนัก จึงมีการนำวัสดุปิดบาดแผลชนิดใหม่มาใช้ในงานด้านชีวการแพทย์ (Boateng *et al.*, 2008)

#### 2.3.1.2 วัสดุปิดแผลชนิดใหม่

วัสดุปิดแผลชนิดใหม่ถูกพัฒนามาจากวัสดุปิดแผลที่มีคุณสมบัติเพียงแค่ช่วยป้องกันบาดแผลจากการปนเปื้อนเท่านั้น ซึ่งวัสดุปิดบาดแผลที่ถูกพัฒนาขึ้นมาสามารถช่วยรักษาบาดแผลจากการสูญเสียความชุ่มชื้น สามารถพบผลิตภัณฑ์วัสดุปิดบาดแผลในกลุ่มนี้ได้ทั่วไปตามท้องตลาด วัสดุปิดแผลชนิดใหม่มักสังเคราะห์จากพอลิเมอร์ มีทั้งผลิตภัณฑ์ที่ช่วยปกป้องบาดแผลเท่านั้น เช่น วัสดุปิดแผลแบบตาข่าย และผลิตภัณฑ์ที่ช่วยปกป้องและฟื้นฟูบาดแผลได้ เช่น फिल्म โฟม ไฮโดรเจล และ ไฮโดรคอลลอยด์ วัสดุปิดแผลกลุ่มนี้ทำหน้าที่ช่วยป้องกันการปนเปื้อนหรือการติดเชื้อจากแบคทีเรีย (Degreef, 1998; Hunt *et al.*, 2000; Rivera and Spencer, 2007; Strecker-McGraw *et al.*, 2007)

1. แผ่นฟิล์มปิดแผลชนิดกึ่งซึมผ่านได้ (Semi-permeable film dressings)

ลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มโปร่งใส ก๊าซสามารถซึมผ่านได้ รวมถึงออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ทั้งยังสามารถกำจัดน้ำตาออกจากแผลโดยการย่อยด้วยเอนไซม์จากสารคัดหลั่ง และป้องกันการติดเชื้อจากแบคทีเรียได้ (Moshakis *et al.*, 1984) เริ่มแรกผลิตจากไนลอนซึ่งไม่เหมาะกับบาดแผลที่มีสารคัดหลั่งมาก แต่มีลักษณะที่ยืดหยุ่นสูง สามารถใช้ได้กับหลายบริเวณบนร่างกาย และไม่จำเป็นต้องมีตัวแปะทับแผ่นฟิล์มชนิดนี้ สามารถสังเกตลักษณะของบาดแผลได้โดยไม่ต้องเปิดวัสดุปิดแผลออก ลักษณะของฟิล์มปิดแผลชนิดนี้จึงเหมาะกับบาดแผลตื้น และแผลถลอก เช่น Opsite™, Tegaderm™ และ Bioocclusive™ (Dhivya *et al.*, 2015)

## 2. แผ่นโฟมปิดแผลชนิดกึ่งซึมผ่านได้ (Semi-permeable foam dressings)

วัสดุปิดแผลชนิดโฟมมีด้านที่เป็นไฮโดรโฟบิก และ ไฮโดรฟิลิก ด้านที่เป็นไฮโดรโฟบิกจะไม่ให้ของเหลวซึมผ่านแต่สามารถแลกเปลี่ยนก๊าซและไอน้ำได้ เป็นวัสดุสังเคราะห์ประเภทพอลิเมอร์ เช่น ซิลิโคน เป็นวัสดุปิดบาดแผลที่สามารถดูดซับของเหลวและสารคัดหลั่งจากแผลได้มาก เหมาะกับบาดแผลที่เกิดจากหลอดเลือดดำบกพร่อง (leg ulcers) และบาดแผลที่มีสารคัดหลั่งจำนวนมาก แต่ไม่เหมาะกับบาดแผลที่แห้ง และไม่มีสารคัดหลั่ง เช่น Lyofoam™, Allevyn™ และ Tielle™ (Morgan, 2002; Marcia and Castro, 2002)

## 3. ไฮโดรเจล (Hydrogels dressings)

ไฮโดรเจลเป็นวัสดุที่ไม่ละลายน้ำ ผลิตจากพอลิเมอร์เช่น เมทิลเมทา-อคริเลต และพอลิไวนิล ไพโรลิดีน วัสดุปิดแผลประเภทไฮโดรเจลมีปริมาณน้ำอยู่ร้อยละ 70-90 ช่วยรักษาความชุ่มชื้นให้กับบาดแผลที่มีเนื้อตาย ทำให้เนื้อตายอ่อนตัวลงและหลุดได้ง่ายขึ้น ช่วยลดความร้อนจากการอักเสบของบาดแผลได้ ลักษณะของไฮโดรเจลทำให้เปลี่ยนวัสดุปิดบาดแผลได้ง่ายขึ้น ลดอาการบาดเจ็บของบาดแผลได้ เหมาะกับแผลเรื้อรัง แผลกดทับ แผลที่มีเนื้อตาย และแผลไฟไหม้ ไฮโดรเจลจะต้องไม่ทำปฏิกิริยากับเนื้อเยื่อและไม่ระคายเคืองต่อบาดแผล ข้อเสียคือทำให้เกิดการสะสมของสารคัดหลั่งและแบคทีเรียทำให้บาดแผลมีกลิ่นเหม็น เช่น Intrasisite™, Nu-gel™ และ Aquaform™ (Dhivya *et al.*, 2015; Martin *et al.*, 2002)

## 4. ไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloid dressings)

วัสดุปิดแผลจากไฮโดรคอลลอยด์เป็นหนึ่งในกลุ่มของวัสดุปิดแผลที่นิยมใช้ ประกอบไปด้วยสองชั้น คือ ชั้นของคอลลอยด์และชั้นที่ไม่ให้น้ำซึมผ่านได้ วัสดุปิดแผลในกลุ่มนี้ผลิตจากการรวมกันของสารที่ทำให้เกิดเจล (Carboxymethylcellulose, gelatin และ pectin) กับวัสดุอื่น เช่น อัลลาสตอเมอร์ ลักษณะของไฮโดรคอลลอยด์คือให้ไอน้ำซึมผ่านได้ แต่ไม่ให้เซลล์แบคทีเรียผ่าน และมีคุณสมบัติในการดูดซับของเหลวสูง เช่น Granuflex™, Comfeel™ และ Tegisorb™ (Boateng *et al.*, 2008; Thomas and Loveless., 1997)

## 5. วัสดุปิดแผลอัลจินेट (Alginate dressings)

อัลจินेटสามารถผลิตได้จากสาหร่ายทะเล แผ่นปิดแผลชนิดนี้มีลักษณะแบบเจล สามารถดูดซับน้ำได้มาก ใช้ในการห้ามเลือด เหมาะกับบาดแผลที่มีสารคัดหลั่งมาก และนำมาใช้ร่วมกับสารชนิดต่างๆ หรือยาเพื่อช่วยในการสมานแผล ไม่เหมาะกับแผลแห้ง แผลไฟไหม้ และบริเวณที่สัมผัสกับกระดูก เช่น Sorbsan™, Kaltostat™, Algisite™ (Boateng *et al.*, 2008)

## 6. วัสดุปิดแผลชนิดมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive wound dressings)

วัสดุปิดแผลในกลุ่มนี้ผลิตจากวัสดุทางชีวภาพที่มีความสามารถในการรักษาแผลได้ คุณสมบัติของวัสดุปิดแผลชนิดนี้คือมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ สามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติ และไม่มีความเป็นพิษ ผลิตได้จากเยื่อธรรมชาติหรือเยื่อสังเคราะห์ (Barlett, 1981) เช่น คอลลาเจน กรดไฮยาลูโรนิก ไคโตซาน อัลจินेट และอีลาสติน พอลิเมอร์จำพวกนี้สามารถใช้เพียงชนิดเดียวหรือใช้ในลักษณะของพอลิเมอร์ผสม ขึ้นอยู่กับลักษณะของบาดแผล (Dhivya *et al.*, 2015) โดยที่คอลลาเจนเป็นโครงสร้างหลักของโปรตีน มีบทบาทในการรักษาแผล เนื่องจากคอลลาเจนเกี่ยวข้องกับการสร้างเนื้อเยื่อไฟโบรบลาสต์ สามารถใช้ในการเร่งการสร้างเซลล์เยื่อบุผนัง

เซลล์ ส่วนโคโคซานช่วยส่งเสริมให้เกิดการก่อตัวของเนื้อเยื่อ เป็นต้น (Mian *et al.*, 1992; Ueno *et al.*, 2001) ในบางกรณีมีการผสมสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ลงไปเพื่อเพิ่มคุณสมบัติในการรักษาแผล เช่น การใช้อนุภาคของเงิน ไอออน หรือนาโนคริสตัลไลน์ พบอย่างกว้างขวางในการนำมาเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์โดยใช้ร่วมกับวัสดุปิดบาดแผล (Jones *et al.*, 2006)

### 2.3.1.3 ผิวหนังเทียม

ผิวหนังเทียม ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 ชนิดบนผิวหนังเทียม คือ ชั้นที่ 1 เป็นผิวหนังเทียมที่ประกอบด้วย เคราตินไฮโดรเจน และไฟโบรบลาสต์ ชั้นที่ 2 เป็นชั้นผิวหนังเทียมที่มีไฟโบรบลาสต์เท่านั้น กลไกสำคัญของผิวหนังเทียมคือกระตุ้นการสร้างเนื้อเยื่อผิวหนัง ผิวหนังเทียมจะสามารถปลดปล่อย Growth factors และ ไฮโดรโคเนส เหมาะกับบาดแผลที่รักษายาก เช่น แผลจากโรคเบาหวาน ซึ่งยากต่อการนำผิวหนังของคนไข้มาใช้ทดแทน เช่น Alloderm™, Integra™ และ Laserskin™ (Dhivya *et al.*, 2015)

### 2.3.1.4 วัสดุปิดแผลชนิดเสริมด้วยยา

วัสดุปิดแผลที่มีส่วนผสมของยามีบทบาทในการรักษาแผลทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยสามารถทำความสะอาดหรือกำจัดเนื้อตายออกจากบาดแผลได้ ทั้งยังมีความสามารถในการป้องกันการติดเชื้อ และช่วยสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาใหม่ กระบวนการซ่อมแซมเนื้อเยื่อปกติในร่างกายถูกควบคุมโดยกิจกรรมของเซลล์ที่เกิดจาก Growth factor ภายในร่างกาย จึงมีการประยุกต์ใช้ประโยชน์จาก Growth factor มาใช้ร่วมกับวัสดุปิดบาดแผลเพื่อช่วยเร่งการฟื้นคืนของเนื้อเยื่อ สารประกอบที่นิยมใช้คือ สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์, Growth factor และ เอนไซม์ วัสดุปิดแผลในกลุ่มนี้ที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า คือ Cutisorb™ (Dhivya *et al.*, 2015)

### 2.3.1.5 วัสดุปิดแผลคอมโพสิต (Composite dressing)

วัสดุปิดแผลคอมโพสิตมีความหลากหลายและเหมาะกับบาดแผลขนาดเล็กและบาดแผลที่กว้าง วัสดุปิดแผลในกลุ่มนี้ผลิตจากการผสมวัสดุหรือประกอบด้วยชั้นของวัสดุหลายชั้นแตกต่างกันออกไป ทำให้วัสดุปิดแผลมีประโยชน์ในหลายด้าน โดยส่วนใหญ่วัสดุปิดแผลคอมโพสิตจะประกอบด้วย 3 ชั้น คือ ชั้นนอกสุดป้องกันการติดเชื้อสู่บาดแผล ชั้นตรงกลางมักประกอบด้วยวัสดุที่สามารถดูดซับได้ รักษาความชุ่มชื้นให้กับบาดแผลได้ และชั้นที่ติดกับบาดแผลมักใช้วัสดุที่ไม่ยึดติดกับบาดแผลหรือเนื้อเยื่อ (Dhivya *et al.*, 2015)

## 2.3.2 คุณสมบัติเบื้องต้นของวัสดุปิดแผล

คุณสมบัติเบื้องต้นของวัสดุปิดแผล คือ สามารถรักษาบาดแผลได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้คุณสมบัติในเรื่องการรักษาแผล ยังคำนึงถึงลักษณะของแผ่นปิดแผลที่ออกแบบให้มีลักษณะที่ดีขึ้น เร่งการสมานแผล และลดอาการเจ็บปวดบริเวณบาดแผลได้ ปัจจุบันวัสดุปิดแผล (Wound dressing) ได้มีการพัฒนาอยู่ตลอดเวลา ตั้งแต่รูปแบบของวัสดุ และการรักษาความชุ่มชื้นให้กับผิวหนังรอบๆ บาดแผล

การเลือกใช้วัสดุปิดแผล ขึ้นกับลักษณะการใช้งาน ระยะเวลา ปริมาณแผ่นปิดแผล ความต้องการในการเปลี่ยนวัสดุปิดแผล ความสามารถในการดูดซับสารคัดหลั่ง การซึมของสารคัดหลั่ง และ

ความยากง่ายในการเปลี่ยนแผ่นปิดแผล ซึ่งในปี 2007 the World Union of Wound Healing Societies (WUWHS) หรือ สมาพันธ์โลกเกี่ยวกับการฟื้นฟูของบาดแผล กำหนดคุณลักษณะของแผ่นปิดแผลในอุดมคติที่มีลักษณะเหมาะสมดังนี้

1. ปราศจากสารพิษ หรือ สารสกัดที่ก่อให้เกิดอาการระคายเคือง
2. ไม่ปลดปล่อยอนุภาค หรือ เส้นใยที่ไม่สามารถย่อยสลายได้สู่บาดแผล
3. ต้องสามารถเป็นตัวกั้นการติดเชื้อแบคทีเรียได้ และดูดซับสารคัดหลั่งได้
4. แผ่นปิดแผลชนิดที่มีกาวในตัวต้องมีประสิทธิภาพในการกั้นน้ำเข้าแผล แต่สามารถเปลี่ยนได้ง่ายโดยไม่ก่อให้เกิดบาดแผลหรือผิวหนังลอก
5. รักษาแผลและบริเวณโดยรอบแผลให้อยู่ในสภาวะที่ชุ่มชื้น (รักษาแผลกดทับ)
6. สามารถรักษาแผลได้ในเวลาที่นาน ไม่ต้องเปลี่ยนวัสดุปิดแผลบ่อย
7. ต้องสามารถปกป้องผิวหนังบริเวณเนื้อเยื่อที่บอบบางจากการระคายเคืองเนื่องจากสารคัดหลั่งและความชื้นส่วนเกิน
8. แผ่นปิดแผลต้องสร้างความระคายเคืองให้กับบริเวณบาดแผลน้อยที่สุด และสามารถลอกจากบาดแผลได้ง่าย
9. สามารถรักษาแผลได้ที่อุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสม

นอกจากลักษณะดังกล่าวแล้ว ความต้องการขั้นทุติยภูมิอาจจะมีการปรับปรุงลักษณะของแผ่นปิดแผลให้มีความจำเพาะมากขึ้น เช่น มีกิจกรรมต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ มีคุณสมบัติในการดูดซับกลิ่น มีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีโอไลติกในแผลเรื้อรังได้ สามารถห้ามเลือดได้ และสามารถกำจัดเนื้อตายได้ เป็นต้น (Thomas, 2008)

### 2.3.3 คุณสมบัติของวัสดุปิดแผลจากเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

พอลิเมอร์จำพวกคาร์โบไฮเดรต เช่น เซลลูโลส มักใช้ในรูปของไฮโดรเจล ซึ่งมีโครงสร้างเส้นใยแบบสามมิติ (3D) สามารถอยู่ภายในสภาวะที่เป็นของเหลว และดูดซับของเหลวโดยไม่ละลาย โดยทั่วไปเซลลูโลสที่ใช้จากพืชจะพบองค์ประกอบหรือสารที่ไม่บริสุทธิ์ปะปน ในขณะที่เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นผลิตภัณฑ์เซลลูโลสบริสุทธิ์โดยผ่านกระบวนการหมักในสภาวะนิ่ง หรือสภาวะเขย่า โดยใช้เชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* (Bielecki *et al.*, 2002)

เซลลูโลสจากแบคทีเรียถูกนำมาใช้เป็นวัสดุปิดแผล (Wound dressing) ตั้งแต่ปี 1980 เนื่องจากลักษณะและคุณสมบัติของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ตรงตามลักษณะของวัสดุปิดแผลในอุดมคติ และสามารถรักษาบาดแผลได้หลายชนิด รวมถึงบาดแผลที่รักษายาก โดยผู้ผลิตวัสดุปิดแผลจำพวกเซลลูโลสจากแบคทีเรียมักแนะนำการใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียแบบชั่วคราว สำหรับรักษาบาดแผล รวมถึงแผลกดทับ ผิวหนังที่ฉีกขาด ใช้ในการห้ามเลือด ใช้กับบาดแผลจากเบาหวาน และแผลไฟไหม้ระดับที่ 2 ซึ่งข้อได้เปรียบที่เด่นชัดของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย คือ ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุกับเนื้อเยื่อผิวหนัง และเซลลูโลสจากแบคทีเรียไม่สามารถย่อยได้ในระบบร่างกายมนุษย์ นอกจากนี้เส้นใยเซลลูโลสหรือผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเซลลูโลสจะไม่ถูกย่อยและไม่ปลดปล่อยองค์ประกอบของวัสดุเข้าสู่บาดแผล (Mendes *et al.*, 2009) เมื่อเซลลูโลสถูกนำมาใช้ร่วมกับของเหลวในร่างกาย เช่น เลือด โอกาสในการเกิดลิ่มเลือดมาเกาะในหลอดเลือดน้อยลง (Low

thrombogenicity) (Fink *et al.*, 2010) ลักษณะเด่นของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่สามารถดูดซับของเหลวได้มากและรักษาความชุ่มชื้นของเนื้อเยื่อได้ดี จึงมีประสิทธิภาพในการรักษาบาดแผลเรื้อรัง

เซลลูโลสจากแบคทีเรียไม่ได้มีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ แต่สามารถพัฒนาแผ่นปิดแผลเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้มีคุณสมบัติต้านจุลินทรีย์ และสามารถใช้งานได้โดยตรง เช่น เตรียมแผ่นเซลลูโลสแช่ลงในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท และทำแห้งแผ่นเมมเบรนด้วยวิธีพรีซดรายด์ (Maneerung, 2008) นอกจากนี้ยังมีการใช้ร่วมกับ คลอโรเฮกซิดีน กลูโคเนต (Chlorohexidine gluconate) เบนซัลโคเนียม (Benzalkonium) พอลิเฮกซะเมทิลีน ไบแก้วไนด์ ไฮโดรคอลลอยด์ (PHMB) เป็นต้น ซึ่งลักษณะของวัสดุปิดแผลจากเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียสามารถปรับแต่งได้ให้ตรงตามการใช้งานของผู้ป่วย

### 2.3.3.1 การใช้วัสดุปิดแผลเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับบาดแผล

วัสดุปิดแผลเซลลูโลสจากแบคทีเรียมีความหลากหลายในการนำมาประยุกต์ใช้ และมีคุณสมบัติในการเร่งการรักษาบาดแผลที่มีลักษณะต่างๆ ได้อย่างดี เช่น

#### 1. บาดแผลไฟไหม้ (Burns)

บาดแผลที่จัดว่าเป็นแผลไฟไหม้ คือบาดแผลที่เป็นผลมาจากอุณหภูมิสูง หรือแผลที่ไหม้จากสารเคมี การเกิดบาดแผลไฟไหม้ระดับ 3 มักส่งผลถึงหนังกำพร้าและหนังแท้ รวมถึงเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง ซึ่งจำเป็นต้องใช้การปลูกถ่ายผิวหนังในการซ่อมแซมบาดแผล จุดประสงค์ที่สำคัญที่สุดในการรักษาแผลไฟไหม้ คือบรรเทาอาการเจ็บปวด ป้องกันการเน่าเปื่อยของบาดแผล ป้องกันการสูญเสียของของเหลวในร่างกาย และป้องกันการติดเชื้อ

การรักษาโดยใช้แผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย สามารถใช้งานได้โดยไม่ต้องจำกัดระดับของบาดแผล หรือขนาดของบาดแผล (Bielecki *et al.*, 2002) ช่วยดูดซับความร้อนจากบาดแผล ทำให้ลดอาการเจ็บปวด และรักษาความชุ่มชื้นบริเวณรอบๆ ปากบาดแผล ดังรูปที่ 2.10 (A) แสดงบาดแผลไฟไหม้ระดับ 2 ที่ใช้แผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียรักษาบาดแผลที่แขนข้างขวา หลังจากใช้แผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย 2 วัน แผ่นเซลลูโลสจะอยู่ในรูปแผ่นฟิล์มแห้ง ดังรูปที่ 2.10 (B) ในขณะที่แขนข้างซ้ายใช้การรักษาด้วยเทคนิคธรรมดา แผ่นฟิล์มเซลลูโลสสามารถแปะบาดแผลได้มากกว่า 24 ชั่วโมงจนถึง 5 วัน ดังรูปที่ 2.10 (C) ใช้แผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียในการรักษา โดยแปะแผ่นเซลลูโลสไว้นาน 4 วัน จะช่วยลอกหนังตายและสารคัดหลั่งออก ทำให้เนื้อเยื่อบาดแผลสะอาด และมีการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาใหม่ ส่วนแขนข้างซ้ายยังมีส่วนของเนื้อตายอยู่บนบาดแผล ทำให้การรักษาช้ากว่า ภายหลัง 3 อาทิตย์หลังจากรักษา แขนข้างขวาที่ทำการรักษาด้วยเซลลูโลสจากแบคทีเรีย บาดแผลสมานตัวกันอย่างสมบูรณ์ ในขณะที่การรักษาแบบเทคนิคธรรมดา ผิวหนังเพิ่งสร้าง Granulation tissues ขึ้นมา ดังรูปที่ 2.10 (D) (Czaja *et al.*, 2007)



รูปที่ 2.10 บาดแผลไฟไหม้ระดับ 2 (A) บาดแผลไฟไหม้ระดับ 2 โดยใช้แผ่นเซลล์โลสจากแบคทีเรียในการรักษา (B) ลักษณะของวัสดุปิดแผลหลังจาก 2 วัน (C) ลักษณะของบาดแผลหลังจาก 4 วัน (D) บาดแผลหลังจากการรักษา 3 อาทิตย์

ที่มา: Czaja *et al.*, (2007)

## 2. ใช้ในการผ่าตัดไส้เลื่อน (Hernia)

ไส้เลื่อน คือ ภาวะที่ลำไส้เคลื่อนตัวออกจากตำแหน่งเดิมที่ผนังช่องท้อง ต้องอาศัยการผ่าตัดที่ผนังช่องท้องเพื่อรักษาไส้เลื่อน การรักษาที่ให้ผลดีคือการใช้โครงเลี้ยงเซลล์แบบตาข่าย ดังรูปที่ 2.11 (mesh scaffold) (Melman *et al.*, 2011) ส่วนมากเป็นวัสดุประเภท พอลิพรอพิลีน และพอลิเอสเทอร์ คอมโพสิตที่เป็นตาข่ายสังเคราะห์เคลือบด้วยเมมเบรนป้องกันการยึดติดกับลำไส้ หรือวัสดุชีวภาพ จากการศึกษาโดยผ่านสัตว์ทดลอง ใช้เมมเบรนเซลล์โลสจากแบคทีเรียร่วมกับพอลิพรอพิลีน ทำหน้าที่เป็นโครงสำหรับเลี้ยงเซลล์ทางชีวภาพ สามารถป้องกันภาวะแทรกซ้อนหลังการผ่าตัดได้ (Kotodziejczyk *et al.*, 2010) โครงเลี้ยงเซลล์จากเซลล์โลส ไม่ทำให้เกิดการกระตุ้นการอักเสบ หรือ ทำให้เนื้อตาย แต่จะกระตุ้นให้เกิดการสร้างเส้นเลือดขึ้นใหม่ และเร่งการฟื้นตัวของเนื้อเยื่อ



รูปที่ 2.11 เซลล์โลสจากแบคทีเรียในรูปของตาข่าย  
ที่มา: Gama *et al.*, (2013); Gama *et al.*, (2016)

### 3. แผลที่เกิดจากภาวะหลอดเลือดดำบกพร่อง (Venous leg ulcers)

แผลที่มีสาเหตุมาจากพยาธิสภาพของหลอดเลือดดำ ส่วนใหญ่มักเกิดจากภาวะหลอดเลือดดำบกพร่องเรื้อรัง มีชื่อเรียกอื่นๆ เช่น varicose ulcer หรือ static ulcer มักจะเกิดขึ้นรอบๆตาตุ่มด้านในเป็นส่วนใหญ่ บางรายอาจพบที่ตาตุ่มด้านนอก หรือเป็นแผลรอบๆตาตุ่มทั้ง 2 ด้าน ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีความดันในหลอดเลือดดำสูงที่สุด แผลที่เกิดขึ้นมักเกิดขึ้นเอง อาจเกิดจากอุบัติเหตุเล็กน้อย หรือถูกแมลงกัดแล้วเกาทำให้เกิดแผล แผลจะลุกลามขยายใหญ่ขึ้น แผลอาจหายได้เองแต่ใช้เวลานานกว่าปกติ ผิวหนังรอบบาดแผลจะมีสีคล้ำขยายวงกว้างออกไปเรื่อยๆ มีของเหลวไหลออกมาจากบาดแผล แผลและ มีกลิ่นไม่พึงประสงค์ ร่วมกับอาการคันรอบบาดแผล การรักษาแผลชนิดนี้นิยมใช้ hydrocolloids, hydrogels และ transparent films ช่วยดูดซับสารคัดหลั่ง และลดการเกิดเนื้อตาย (ณรงชัย, 2013) ดังรูปที่ 2.12 การรักษาผู้ป่วยที่เป็นภาวะหลอดเลือดดำบกพร่อง โดยใช้ Photodynamic therapy ร่วมกับแผ่นเซลล์โลส และทำการเปลี่ยนแผ่นเซลล์โลสทุก 3 วัน



รูปที่ 2.12 การรักษาแผลที่เกิดจากภาวะหลอดเลือดดำบกพร่อง  
ที่มา: Coelho *et al.*, (2017)

### 4. แผลถลอก หรือการฉีกขาดของผิวหนัง (Skin Tears)

แผลถลอก หรือการฉีกขาดของผิวหนัง เป็นผลมาจากการฉีกขาดของผิวหนังชั้นหนังแท้ และหนังกำพร้า (Solway *et al.*, 2010) พบมากในผู้สูงอายุ การรักษาบาดแผลเรื้อรังชนิดนี้นิยมใช้วัสดุที่ไม่ยึดติดแน่นกับบาดแผลเกินไป เพื่อลดความเจ็บปวดขณะที่เปลี่ยนวัสดุปิดแผล

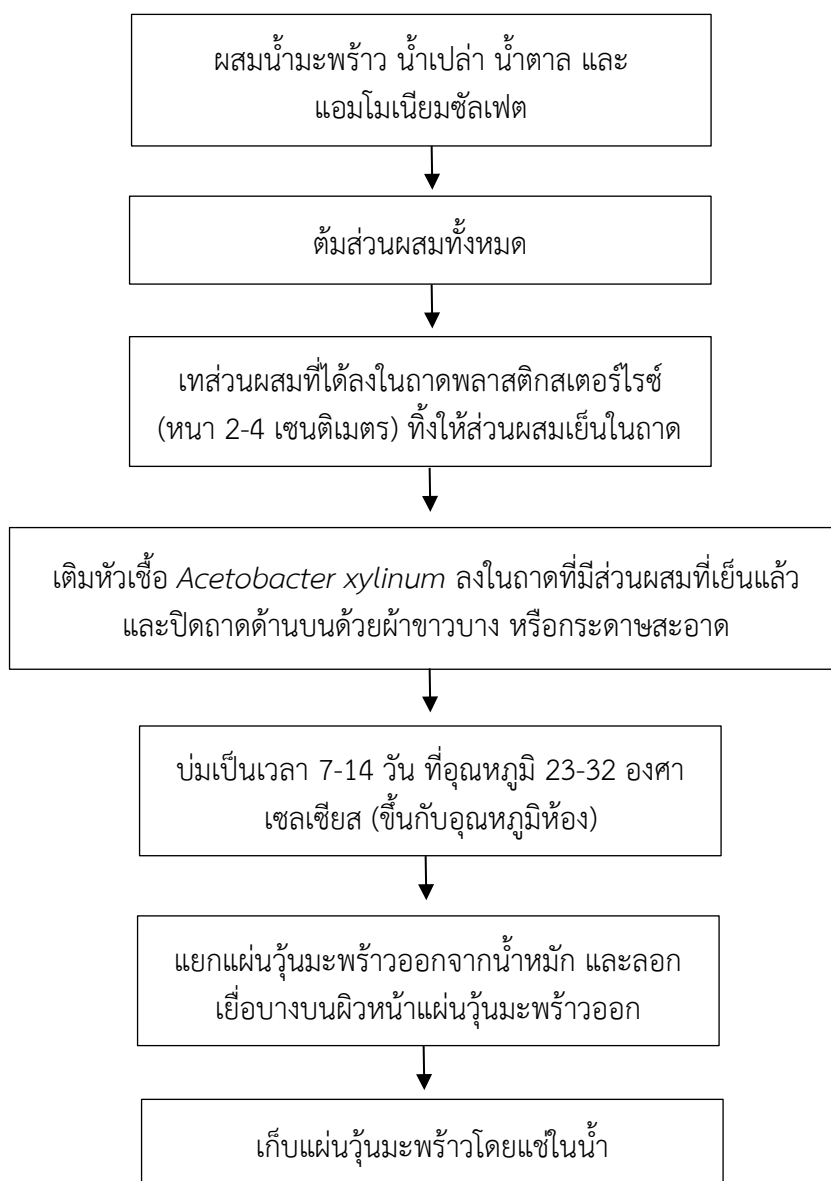
## 2.4 การใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆของเซลล์โลสจากแบคทีเรีย

คุณลักษณะที่โดดเด่นของเซลล์โลสจากแบคทีเรียที่แตกต่างจากพืช คือความละเอียดของเส้นใย และไม่มีการปนเปื้อนของเฮมิเซลล์โลสและลิกนินอันเนื่องจากการย่อยไม่หมด เซลล์โลสจากแบคทีเรียสามารถขึ้นรูปได้ตามต้องการโดยขึ้นกับสภาวะการเพาะเลี้ยงในภาชนะรูปทรงต่างๆ แต่มีข้อเสียสำหรับนำมาใช้เชิงพาณิชย์ เนื่องจากกระบวนการผลิตมีราคาสูง และได้ผลผลิตที่น้อย

### 2.4.1 ทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร

เซลล์โลสจากแบคทีเรียมีความสำคัญในด้านอุตสาหกรรมอาหารเป็นส่วนใหญ่ โดยผลิตภัณฑ์อาหารชนิดแรกๆที่ออกมาในรูปของเซลล์โลส คือ วุ้นมะพร้าว หรือ Nata de coco เกิดจากกระบวนการหมักโดยใช้น้ำมะพร้าวที่เป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหารประเภทอื่นเป็นอาหารให้กับเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Acetic acid bacteria คือ *Acetobacter aceti* subsp. *xylinum*. วุ้นมะพร้าวเป็นอาหารที่ให้แคลอรีต่ำ และมีเส้นใยสูง วุ้นมะพร้าวมีการผลิตอย่างแพร่หลายในแถบ

เอเชีย โดยประเทศที่เป็นแหล่งผลิตอันดับต้นๆ คือ ประเทศฟิลิปปินส์ (Gallardo-de Jesus *et al.*, 1973; Sanchez, 2008) กระบวนการผลิตวุ้นมะพร้าวแสดงดังรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.13 แผนผังการผลิตวุ้นมะพร้าวเบื้องต้น  
ที่มา: Gama *et al.*, (2013)

นอกจากวุ้นมะพร้าวที่ได้จากการผลิตโดยใช้น้ำมะพร้าว น้ำกะทิ หรือส่วนประกอบจากมะพร้าวแล้ว ยังมีการผลิตโดยใช้น้ำสับปะรด ซึ่งจะใช้ชื่อว่า Nata de pina ถ้าใช้เวย์จากการผลิตเต้าหู้ จะใช้ชื่อว่า Nata de soya คุณสมบัติของเซลล์ูโลสจากแบคทีเรียหรือวุ้นมะพร้าวยังนำมาใช้ปรับปรุงความหนืดของผลิตภัณฑ์ ใช้เป็นส่วนผสมในขนมหวาน สลัด ไอศกรีม และน้ำผลไม้ โดยวุ้นมะพร้าวจะช่วยให้รสสัมผัสของอาหารดีขึ้น (Khan *et al.*, 2007)

### 2.4.2 ทางด้านอุตสาหกรรมกระดาษ

เซลลูโลสจากแบคทีเรียประกอบไปด้วยกลุ่มของเส้นใยไมโครไฟบริลที่มีขนาดเล็ก เมื่อนำมาผสมกับเยื่อกระดาษทำให้มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น เซลลูโลสที่นำมาใช้พบทั้งการผลิตจากสภาวะนิ่งและจากสภาวะเขย่า (Kuila and Sharma, 2018) บริษัท Ajinomoto Co. และ Mitsubishi Paper Mills ประเทศญี่ปุ่น มีการผลิตผลิตภัณฑ์กระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลส ซึ่งการย่อยสลายได้ของเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นคุณสมบัติที่ดี และใช้เป็นส่วนผสมของฉนวนกันความร้อน (Phillips and Williams, 2009) มีการพัฒนาโดยนำเส้นใยชนิดอื่น ๆ มาผสมกับเซลลูโลสจากแบคทีเรีย เช่น ไฟเบอร์-กลาส ฟีนอลิกเรซิน และ คาร์บอนไฟเบอร์ เซลลูโลสจากแบคทีเรียจึงนับว่าเป็นตัวช่วยให้วัสดุสามารถขึ้นรูปได้ตามต้องการ

### 2.4.3 ทางด้านชีวการแพทย์

เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นวัสดุที่อ่อนนุ่มประสงค์มาก ซึ่งสามารถนำมาใช้ได้อย่างกว้างขวางในทางการแพทย์ ตั้งแต่ใช้เป็นวัสดุปิดแผลทั่วไป ไปจนถึงโครงสร้างสำหรับเลี้ยงเซลล์ด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ บริษัท Johnson & Johnson เริ่มใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียในเชิงพาณิชย์ในปี 1980 เพื่อรักษาแผลพุพอง บริษัท BioFill Produtos Bioetecnologicos ประเทศบราซิล พัฒนาวัสดุปิดแผลจากเซลลูโลสจากแบคทีเรีย ใช้สำหรับรักษาบาดแผลไฟไหม้ แผลหนอง และใช้เป็นผิวหนังเทียมชั่วคราว ใช้เวลาในการหมักเพื่อผลิตแผ่นเซลลูโลส 2 วัน วัสดุปิดแผลจากเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียมีลักษณะที่ดีกว่าผ้าก๊อซ เนื่องจากความแข็งแรงเชิงกลสูงกว่าในสภาวะเปียก มีรูพรุนสำหรับแลกเปลี่ยนก๊าซและของเหลว และมีความระคายเคืองต่อผิวหนังต่ำ ในขณะที่บริษัท Gengiflex ผลิตผลิตภัณฑ์รักษาโรคปริทันต์ ใช้เวลาในการหมักเพื่อผลิตแผ่นเซลลูโลส 8 วัน และบริษัท Xylos ประเทศสหรัฐอเมริกา ผลิตผลิตภัณฑ์รักษาบาดแผลในตระกูล XCells ประกอบไปด้วย Xcells cellulose wound dressing และ Xcells antimicrobial wound dressing เป็นผลิตภัณฑ์ที่จดทะเบียนเครื่องหมายการค้าในปี 2013 ผลิตภัณฑ์จากเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียเหล่านี้แตกต่างกันในขั้นตอนการผลิต ระยะเวลาในการบวกรวมหมัก ความเข้มข้นของสبسเตรท ผิวหน้า ปริมาตร และลักษณะของถังหมัก เป็นต้น (Phillips and Williams, 2009)

### 2.4.4 ทางด้านเครื่องสำอาง

นอกจากเซลลูโลสจากแบคทีเรียจะมีลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์แล้วยังนับว่าเป็น GRAS (Generally recognized as safe) คือ ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการรับรองโดยองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) ว่ามีความปลอดภัย สามารถเติมลงในอาหาร ยา และเครื่องสำอางได้ คุณสมบัติของเซลลูโลสจากแบคทีเรียช่วยทำให้เครื่องสำอางมีลักษณะที่คงตัวมากขึ้น และใช้เป็นส่วนผสมในเล็บปลอม เป็นต้น (Gama *et al.*, 2016)

## 2.5 ไคโตซาน

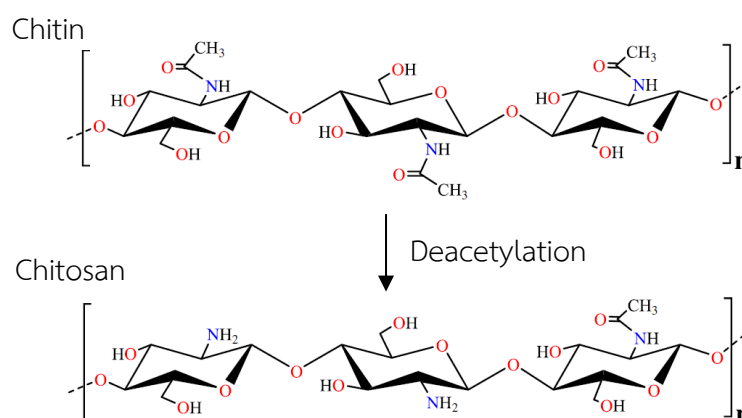
ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ทางชีวภาพที่พบมากเป็นอันดับสอง รองจากเซลลูโลส โดยไคตินถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อปี 1811 โดย Henri Braconnot พบว่าในเห็ดมีไคตินที่ไม่สามารถละลายในกรดซัลฟิวริกได้ ไคตินมาจากคำว่า Chiton หรือ ไคตอน ในภาษากรีก แปลว่าเปลือก และในปี 1859 ไคโตซานถูกพบครั้งแรกโดย Rouget จากการขจัดหุ้มอะซิติกของไคตินในธรรมชาติ (Shahidi *et al.*,

1999; Raafat and Sahl, 2009) ไคโตซานพบในองค์ประกอบของโครงสร้างของสิ่งมีชีวิต โดยพบมากในเปลือกของกุ้ง และกระดองปู ในปี 1990 ไคโตซานเริ่มมีบทบาททางด้านเภสัชกรรมและทางการแพทย์ โดยทั่วไปนิยมนำมาผลิตวัสดุปิดแผล วิศวกรรมเนื้อเยื่อ และระบบนำส่งยา เนื่องจากอนุพันธ์ของไคโตซานไม่มีความเป็นพิษ ผลิตจากธรรมชาติ ย่อยสลายได้ทางธรรมชาติ และมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพสูง (Bravo-Osuma *et al.*, 2007) ในทางคลินิกมีการใช้ไคโตซานร่วมกับวัสดุอื่นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของวัสดุปิดแผลหรือวัสดุทางชีวภาพ การปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุอาจทำได้โดยผสมไคโตซานกับอนุพันธ์ชนิดอื่นๆ ซึ่งอาจจะออกมาในรูปแบบของ เจล เมมเบรน นาโนไฟเบอร์ เม็ดบีตส์ ไมโครพาทิเคิล และโครงเลี้ยงเซลล์ (Anithaa *et al.*, 2014) นอกจากนี้ยังพบในเชิงอุตสาหกรรม เช่น ผลิตเป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์ เป็นต้น (Dunnhaupt *et al.*, 2012)

### 2.5.1 คุณสมบัติของไคติน และไคโตซาน

ไคตินมีชื่อทางเคมีว่า poly- $\beta$ -(1,4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucose เป็นสารอินทรีย์ที่สกัดได้จาก เปลือกกุ้ง กระดองปู แกนปลาหมึก แมลงที่มีเปลือกหุ้ม ผึ้งของสาหร่าย เห็ด รา และยีสต์ รวมถึงสัตว์ประเภทที่มีข้อปล้อง ไคตินเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเล็กๆ คือ N-Acetyl glucosamine ต่อกันเป็นสายยาว โดยโครงสร้างของไคตินจะคล้ายกับเซลลูโลส แต่ต่างกันตรงคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และเนื่องจากไคตินเป็นสารพอลิเมอร์สายยาวที่ไม่มีประจุ จึงไม่สามารถละลายในน้ำหรือสารละลายทั่วไปได้ (วรารุณี, 2546; Khoushab and Yamabhai, 2010) ดังนั้นการนำมาใช้งานจึงค่อนข้างจำกัด จึงมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไคตินให้ละลายได้ง่ายขึ้น โดยการดึงเอาหมู่อะซิติลออก จะเกิดเป็นโครงสร้างของไคโตซานขึ้น

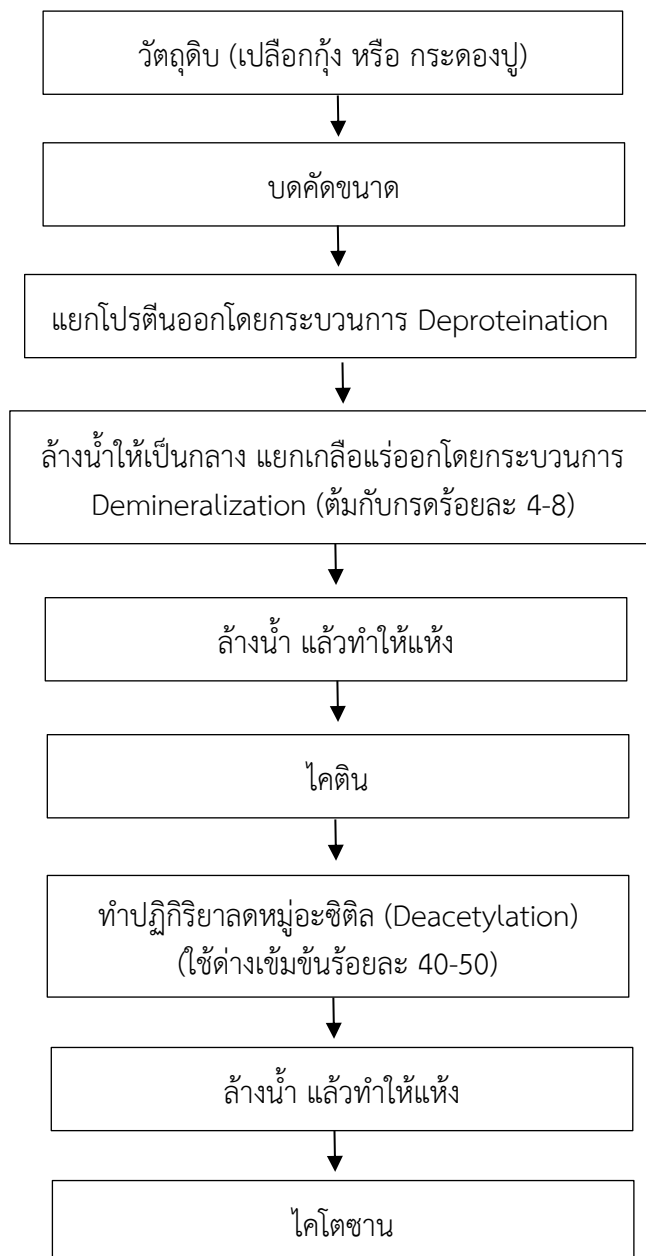
ไคโตซานมีชื่อทางเคมีว่า poly- $\beta$ -(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose เป็นอนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากการกำจัดหมู่อะซิติล (Acetylation) ของไคตินออก เกิดการเปลี่ยนแปลงบริเวณหมู่ฟังก์ชันที่มีธาตุไนโตรเจน ทำให้โครงสร้างของไคตินที่เป็น N-Acetyl glucosamine กลายเป็น Glucosamine (-NHCOCH<sub>3</sub> เปลี่ยนไปเป็น NH<sub>2</sub>) ทำให้สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุบวก มีความสามารถในการละลายในกรดอินทรีย์ได้ เช่น กรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดฟอร์มิก เป็นต้น (วรารุณี, 2546)



รูปที่ 2.14 โครงสร้างของไคติน และไคโตซาน  
ที่มา: Zarayneh *et al.*, (2018)

### 2.5.2 กระบวนการผลิตไคตินและไคโตซาน

กรรมวิธีการผลิตไคตินและไคโตซานส่วนใหญ่มาจากการใช้ของเหลือทิ้งในอุตสาหกรรมอาหารทะเล เช่น เปลือกกุ้ง หัวกุ้ง และกระดองปู เป็นต้น การผลิตไคตินและไคโตซานประกอบด้วยขั้นตอนสำคัญดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 ขั้นตอนการเตรียมไคตินและไคโตซาน  
ที่มา: จิราพร และอรุณี (2555)

### 2.5.2.1 กระบวนการกำจัดโปรตีน (Deproteination)

นำวัตถุดิบ เช่น เปลือกกุ้ง กระจดองปู มาทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 1-10 อุณหภูมิประมาณ 65-100 องศาเซลเซียส เวลาประมาณ 1.5-6 ชั่วโมง ในกระบวนการนี้โปรตีนส่วนใหญ่จะถูกกำจัดออกไปพร้อมกับไขมันบางส่วน รวมถึงรงควัตถุบางชนิดมีโอกาสถูกกำจัดออกไปด้วย โดยการเลือกใช้สภาวะในการสกัดโปรตีนให้เหมาะสมขึ้นกับประเภทของวัตถุดิบที่นำมาใช้ (No and Meyers, 1997)

### 2.5.2.2 กระบวนการกำจัดเกลือแร่ (Deminerlization)

นำวัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนแล้ว มาทำปฏิกิริยากับสารละลายกรด ส่วนใหญ่นิยมใช้กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ทำให้เกลือแร่ส่วนใหญ่ ได้แก่ หินปูน ถูกเปลี่ยนเป็นเกลือที่ละลายน้ำ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ รวมถึงรงควัตถุและโปรตีนตกค้างที่สามารถละลายได้ในสารละลายกรดจะถูกกำจัดออกได้ในขั้นตอนนี้เช่นกัน ซึ่งภายหลังจากการกำจัดเกลือแร่ออก วัสดุที่ได้คือ ไคติน (จิราพร และอรุณี, 2555)

### 2.5.2.3 กระบวนการกำจัดหรือลดหมู่อะซิติล (Deacetylation)

กระบวนการนี้เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ใช้ในการกำจัดหรือลดหมู่อะซิติลบนโมเลกุลของไคติน เพื่อให้เกิดเป็นไคโตซาน ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นของหมู่เอมิโนบนโมเลกุลของไคติน โดยที่หมู่เอมิโนนี้มีความสามารถในการรับโปรตอนจากสารละลาย ช่วยให้ละลายได้ดีขึ้น เพราะมีสมบัติเป็นประจุบวก ส่วนใหญ่เมื่อปริมาณของหมู่อะซิติลถูกกำจัดไปมากกว่าร้อยละ 60 ไคโตซานจะมีคุณสมบัติในการละลายในกรดอินทรีย์ได้หลายชนิด ในขั้นตอนนี้ทำปฏิกิริยากับสารละลายต่างเข้มข้น นิยมใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40-50 ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (ภควรรณ, 2552; จิราพร และอรุณี, 2555)

หลังจากกระบวนการผลิต ไคโตซานที่ได้จะมีส่วนผสมของน้ำตาล N-Acetyl-D-Glucosamine และ Glucosamine อยู่ในสายพอลิเมอร์เดียวกัน การเกิดไคโตซานนั้นขึ้นกับปริมาณของการเกิดปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิติล (Deacetylation) ซึ่งวัดจากค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติล (Degree of Deacetylation) การทำปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิติลคิดเป็นหน่วยร้อยละ (Percentage of Degree of Deacetylation, %DD) กล่าวคือ ถ้า %DD เกินกว่า 50% ขึ้นไปแล้วสามารถใช้พอลิเมอร์นั้นทำให้เกิดอนุพันธ์ที่ละลายในกรดอินทรีย์ได้ (สุริดา, 2552) ไคโตซานไม่สามารถละลายในน้ำ สารละลายต่างเจือจาง สารละลายต่างเข้มข้น แอลกอฮอล์ และตัวทำละลายอินทรีย์ แต่สามารถละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรด (สุวบุญ และคณะ, 2544)

## 2.5.3 การใช้ประโยชน์จากไคโตซานในด้านต่างๆ

### 2.5.3.1 ทางด้านชีวการแพทย์

#### 1. วิศวกรรมเนื้อเยื่อ

ไคตินและไคโตซานประสบความสำเร็จในการนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อเพื่อช่วยทดแทนเนื้อเยื่อและช่วยซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่จำเพาะเจาะจง ด้านหลอดเลือดเทียม เส้นประสาท และยังสามารถนำมาใช้เป็นโครงสำหรับเลี้ยงเซลล์ (Madihally and Matthew,

1999) เนื่องจากมีการกระจายตัวของรูพรุนและมีขนาดของรูพรุนสม่ำเสมอ สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ โดยอัตราการย่อยสลายของไคโตซานสัมพันธ์กับการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาใหม่ ไม่มีพิษต่อเซลล์ เข้ากันได้ทางชีวภาพมากกว่าวัสดุสังเคราะห์ และช่วยในการสมานแผลได้ดี (Jayakumar, 2010)

## 2. วัสดุปิดแผล

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์อีกชนิดหนึ่งที่เหมาะสำหรับนำมาใช้ในการรักษาบาดแผล เนื่องจากมีความสามารถในการกระตุ้นการเกิดเม็ดเลือดแดง เร่งการฟื้นฟูเนื้อเยื่อ และไคโตซานมีศักยภาพเหมาะสำหรับการใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในวงกว้าง ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ รา และไวรัส (Ahmed and kram, 2016) และการนำไคโตซานมาใช้ร่วมกับเจลาตินเพื่อใช้ในการรักษาแผลผ่าตัด โดยเติมพลาสติกไซเซอร์ เช่น กลีเซอรอล หรือซอร์บิทอล วัสดุปิดแผลที่ขึ้นรูปแล้วมีคุณสมบัติในการยึดติดกับชั้นไขมันใต้ผิวหนังได้ดี ซึ่งประสบความสำเร็จในการนำมาใช้ร่วมกับแผลผ่าตัด (Sparker and Murray, 1986)

## 3. ระบบนำส่งยา

ชูชาติ และทิฆัมพร (2538) พัฒนาระบบนำส่งยาจากไคโตซานในรูปของแข็งที่มีอนุภาคสม่ำเสมอ เพื่อศึกษาการปลดปล่อยของตัวยา พบว่าไคโตซานมีคุณสมบัติในการกักเก็บยาและปลดปล่อยยาได้อย่างต่อเนื่อง ในขณะเดียวกัน มีการพัฒนาระบบนำส่งยารูปแบบอนุภาคของไคโตซาน สำหรับนำส่งวัคซีนไข้สมองอักเสบทางปากและจมูก จากเดิมอาศัยวิธีการฉีดยาใต้ผิวหนังเท่านั้น และมีการนำไคโตซานมาประยุกต์ใช้เพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของวัคซีนจากสภาวะต่างๆ เช่น กรด ต่าง และเอนไซม์ (เนติ, 2549)

### 2.5.3.2 ทางด้านเส้นใยและสิ่งทอ

ไคตินและไคโตซานนำมาใช้เป็นสารตกแต่งสิ่งทอ และใช้เป็นสารเคลือบบนเส้นใยผ้า เพื่อป้องกันจุลินทรีย์ที่มีความว่องไวและสร้างพันธะกับเส้นใยผ้า ใช้ผลิตเป็นเส้นใยและเส้นด้าย ไคตินและไคโตซาน สามารถนำไปใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ใช้เป็นส่วนประกอบของผ้าอเนก-วูฟเวน (Nonwoven) ผ้าปิดแผล และไหมละลาย เป็นต้น ขั้นตอนการขึ้นรูปของเส้นใยไคโตซานคือ ใช้วิธีการปั่นสารละลายไคโตซานผ่านหัวฉีดที่มีขนาดเล็กลงในสารละลายต่าง อาจผลิตโดยใช้ไคโตซานโดยตรง หรือใช้วิธีการปั่นเส้นใยร่วมกับพอลิเมอร์ชนิดอื่น (จิราพร และอรุณี, 2555; สุธิดา, 2552)

### 2.5.3.3 ทางด้านอาหาร

เนื่องจากคุณสมบัติของไคโตซานที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ จึงนำไคโตซานมาใช้ประโยชน์ในด้านการถนอมอาหาร ไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่เอซิติลสูงๆ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ นำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มเพื่อห่อหุ้มถนอมอาหาร ซึ่งสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น เช่นการเก็บรักษาเนื้อปลา เนื้อหมู ผักสด เป็นต้น (Tsai *et al.*, 2002; จิราพร และอรุณี, 2555)

### 2.5.3.4 ทางด้านเครื่องสำอาง

ไคโตซานเป็นสารประเภทที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ประจุบวกของไคโตซานไวต่อการจับกับโปรตีนและไขมันที่อยู่บนผิวหนัง และเส้นผม และลักษณะของไคโตซานที่เป็นฟิล์มบางๆจะช่วยดูด

ซับความชื้นและไขมัน จึงสามารถคงความชุ่มชื้นและความยืดหยุ่นให้กับผิวหนังได้ ทั้งยังช่วยยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ลดการระคายเคืองของผิวหนัง (Dunn *et al.*, 1997)

### 2.5.3.5 ทางด้านการบำบัดน้ำ

ไคโตซานใช้เป็นสารช่วยตกตะกอนในระบบบำบัดน้ำเสียในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากไคโตซานมีประจุบวก สามารถดักจับไขมัน และโลหะหนัก เช่น สารหนู แคดเมียม โปรท เป็นต้น และช่วยลดความขุ่นของน้ำ ทำให้สารแขวนลอยจับตัวกันตกตะกอนลงก้นบ่อ ซึ่งช่วยให้ค่า BOD และ COD ลดลงได้ (จิราพร และอรุณี, 2555)

## 2.6 มังคุด

### 2.6.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์

มังคุดนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และพม่า เนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีรสชาติขวนรับประทาน จึงมีการตั้งสมญานามว่าเป็นราชินีแห่งไม้ผล (Queen of fruits)

ชื่อสามัญ	Mangosteen
Order	Malpighiales
Family	Guttiferae
Genus	<i>Garcinia</i>
ชื่อทางวิทยาศาสตร์	<i>Garcinia mangostana</i> Linn.



รูปที่ 2.16 ผลมังคุด

ที่มา: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Purple\\_mangosteen.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Purple_mangosteen.jpg) สืบค้นเมื่อวันที่ 26 สิงหาคม 2561

### 2.6.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มังคุดเป็นผลไม้ยืนต้นที่ไม่มีการผลัดใบ ลำต้นมีขนาดสูงได้ถึง 6-25 เมตร เป็นพืชโตช้า ผลมีน้ำหนักเฉลี่ย 75-100 กรัม ผลที่ยังอ่อนอยู่เมื่อถูกเสียดสีจะมียางไหลออกมาที่ผิวเปลือก หรือเมื่อเปลือกได้รับความเสียหายจะหลั่งสารสีเหลืองออกมาทำหน้าที่ปกป้องการติดเชื้อจากแบคทีเรียรวมถึงทำหน้าที่เป็นสารไล่แมลง (Shibata *et al.*, 2013) ผลประกอบด้วยสองส่วนคือ ผลมังคุดสีม่วงเข้มและผลสีขาวด้านใน ส่วนของเนื้อสีขาวแบ่งออกเป็น 5-7 กลีบ มีลักษณะเนื้อฉ่ำน้ำ มีความเป็นกรดเล็กน้อยและมีรสหวาน เปลือกมีขนาดหนา ดอกมังคุดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ เกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย

อยู่ในดอกเดียวกัน ก้านเกสรตัวผู้ไม่ได้ยาวออกมาเหมือนไม้ผลทั่วไป แต่เกสรอยู่ภายในดอกเดียวกัน และเกสรตัวผู้เป็นหมัน การเจริญของผลจึงเกิดจากเนื้อเยื่อไม่ได้เกิดจากการผสมเกสร ทำให้ไม่มีโอกาสที่เกิดการกลายพันธุ์ มังคุดจึงมีเพียงสายพันธุ์เดียวเท่านั้น คุณภาพของมังคุดที่แตกต่างกันเกิดจากการดูแลรักษาและสภาพแวดล้อม ผลมังคุดอุดมไปด้วยวิตามิน คาร์โบไฮเดรต และแร่ธาตุ โดยเฉพาะแคลเซียมและฟอสฟอรัส (กลุ่มเกษตรกรสัญจร, 2532; กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2547; Jung *et al.*, 2006)

มังคุดที่ปลูกกันอยู่ในปัจจุบันมีอยู่เพียงพันธุ์พื้นเมือง เนื่องจากมังคุดเป็นไม้ผลชนิดเดียวที่ไม่มีอาการกลายพันธุ์ จึงยังคงสภาพพันธุ์เดิมเอาไว้ได้มาจนถึงปัจจุบัน จากการศึกษา พบว่าพันธุ์ของมังคุดยังสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 พวก คือ มังคุดเมืองนนท์ และ มังคุดปักชำใต้ ความแตกต่างของมังคุดทั้ง 2 ชนิด เกิดจากหลายสาเหตุ โดยเฉพาะสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน เช่น ลักษณะดิน ความสมบูรณ์ของดิน ปริมาณของน้ำ อุณหภูมิ และความชื้น อาจเป็นตัวชักนำที่ทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงขึ้นได้ในมังคุดที่ปลูกในแหล่งที่แตกต่างกัน (กลุ่มเกษตรกรสัญจร, 2532)

ผลมังคุดเมื่อเข้าระยะผลแก่จะมีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านการเจริญเติบโต และสีผิวของผลอยู่ตลอดเวลา จนกระทั่งถึงระยะผลสุก การเปลี่ยนแปลงของผลมังคุดในระยะดังกล่าวสามารถแบ่งออกได้เป็น 6 ระยะ โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงทางด้านสีผิวของผลได้ดังนี้



รูปที่ 2.17 การจำแนกระยะของผลมังคุดออกเป็น 6 ระยะตามความเข้มของสีม่วงแดงของเปลือกผล ที่มา: พรรณี และคณะ (2554)

#### ระดับสีที่ 1

ผลมีสีเหลืองอ่อนอมเขียว มีจุดชมพูกระจุกกระจายอยู่ในบางส่วนของผิวเปลือก ยางภายในเปลือกยังมีอยู่ในระดับรุนแรง เนื้อและเปลือกยังไม่สามารถแยกออกจากกันได้ ผลที่เก็บเกี่ยวในระยะนี้ ถึงแม้จะเปลี่ยนสีไปเป็นระดับที่ 6 แต่ผลที่ได้จะมีรสชาติที่ไม่ดีเช่นกัน

#### ระดับสีที่ 2

ผลมีสีเหลืองอ่อน มีสีชมพูกระจุกกระจายไปทั่วทั้งผล ยางภายในเปลือกยังมีอยู่ในระดับปานกลาง การแยกตัวระหว่างเนื้อและเปลือกทำได้ยากถึงปานกลาง เป็นระยะอ่อนที่สุดสำหรับการเก็บเกี่ยวเพื่อให้ได้ผลที่มีคุณภาพ

#### ระดับสีที่ 3

ผลมีสีชมพูสม่ำเสมอ ประสีชมพูเริ่มขยายเข้ามารวมกัน ไม่แบ่งแยกกันอย่างชัดเจนเหมือนในระดับสีที่ 2 ยางภายในเปลือกยังคงมีอยู่น้อย การแยกตัวระหว่างเนื้อและเปลือกปานกลาง เป็นระยะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บเกี่ยวผลเพื่อส่งออกต่างประเทศ

## ระดับสีที่ 4

ผลมีสีแดงหรือสีน้ำตาลอมแดง บางครั้งมีแต้มสีม่วง ภายภายในเปลือกมีน้อยมากจนถึงไม่มีเลย การแยกตัวระหว่างเนื้อและเปลือกดีมาก เหมาะสำหรับเก็บเกี่ยวเพื่อส่งออกต่างประเทศ เป็นระยะที่เกือบจะรับประทานได้

## ระดับสีที่ 5

ผลมีสีม่วงแดง ภายภายในเปลือกไม่มียางเหลืออยู่ เนื้อและเปลือกสามารถแยกออกจากกันได้ง่าย เป็นระยะที่รับประทานได้

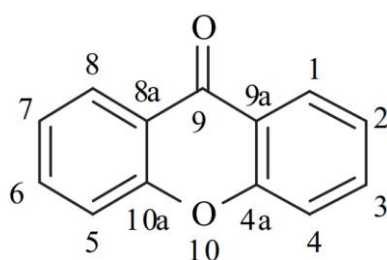
## ระดับสีที่ 6

ผลมีสีม่วง หรือสีม่วงเข้มจนถึงดำ ซึ่งบางครั้งพบว่ามีสีม่วงปนอยู่เล็กน้อย ภายภายในเปลือกไม่มียางเหลืออยู่ เนื้อและเปลือกสามารถแยกออกจากกันได้ง่าย เป็นระยะที่เหมาะสมแก่การรับประทาน (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2532)

### 2.6.3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในเปลือกมังคุด

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในเปลือกมังคุดมี xanthenes, terpenes, anthocyanins, tannins และ phenols แต่ที่พบมากคือสารประกอบในกลุ่มฟลูโอฟีนอลิก เช่น xanthenes และ tannins ซึ่งเป็นสารที่ให้ความฝาด แซนโทนเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่โดดเด่นมากที่สุดในกลุ่มของฟลูโอฟีนอลิก เปลือกมังคุดยังประกอบไปด้วยสารแซนโทนมากกว่าผลไม้ชนิดอื่น (Tiwari *et al.*, 2013) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากเปลือกมังคุดส่วนใหญ่เป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างเป็นอนุพันธ์ของแซนโทน เช่น alpha-mangostin, beta-mangostin, gamma-mangostin และ gartanin โดยสารที่พบมากและมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีคือ alpha-mangostin (Shan, 2010)

แซนโทนมาจากภาษากรีก คือ xanthos ที่แปลว่าสีเหลือง มีสูตรโมเลกุลคือ  $C_{13}H_8O_2$  เป็นสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary metabolites) มีโครงสร้างทางเคมีที่ประกอบไปด้วย Tricyclic aromatic หรือ วงอะโรมาติก 2 วงที่เชื่อมตรงกลางด้วยหมู่คาร์บอนิลและออกซิเจนอะตอม โครงสร้างของแซนโทนที่เป็นวงแหวนคาร์บอน 6 อะตอม มีพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนอะตอมหลายพันธะทำให้เป็นสารประกอบที่มีความเสถียร (Kuate, 2013) แซนโทนมีโครงสร้างใกล้เคียงกับสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์และการใช้เทคนิคการแยกสารเหมือนกัน ซึ่งฟลาโวนอยด์พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในขณะที่แซนโทนพบในสิ่งมีชีวิตบางชนิด เช่น พืชชั้นสูง ไคเคน และรา เป็นต้น (Negi *et al.*, 2013) จากการคัดเลือกส่วนต่างๆของมังคุด เช่น เปลือกมังคุด ผลมังคุด เปลือกลำต้น และใบ พบแซนโทนอย่างน้อย 60 ชนิด ซึ่งพบแซนโทน 50 ชนิดในเปลือกมังคุด มีปริมาณมากกว่าในเนื้อมังคุด



รูปที่ 2.18 โครงสร้างของแซนโทน  
ที่มา: Pinto *et al.*, (2005)

### 2.6.3.1 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

อัลฟาแมงโกสตินถูกพบว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพสูง สามารถลด copper/peroxyl radicals ที่ชักจูงให้เกิดการออกซิเดชันได้ (mahabusarakam *et al.*, 2000) ในส่วนของน้ำคั้นเนื้อมังคุดนั้นมีสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือสารกลุ่มแคททีซิน ฟลาโวนอยด์ และกรดฟีนอลิกต่างๆ เช่น กรดเบนโซอิก กรดซินนามิก และอนุพันธ์ต่างๆเป็นจำนวนมาก แต่น้อยกว่าปริมาณที่พบในเปลือก (รัชนี้ และคณะ., 2551) ถึงแม้ว่ามีการวิจัยเรื่องฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของเนื้อมังคุด แต่ฤทธิ์ไม่เท่ากับส่วนของเปลือก จึงทำให้ผู้พัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพผสมส่วนของเปลือกมังคุดลงไป โดยที่เปลือกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือสารกลุ่มแซนโทน ได้แก่ อัลฟา-แมงโกสติน และสารอนุพันธ์ของแซนโทนชนิดอื่นๆ (Fan and Su, 1997; Zadernowski *et al.*, 2009) โดยกลไกการทำงานมีทั้งดักจับอนุมูลอิสระของอนุมูลว่องไวปฏิกิริยาออกซิเจนและไนโตรเจน และจับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (เบญจมาศ, 2559)

### 2.6.3.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งอาการอักเสบและอาการแพ้

ฤทธิ์ต้านการแพ้โดยสารแกมมาแมงโกสติน และอัลฟาแมงโกสติน สามารถต้านฮีสตามีนและเซโรโทนิน ซึ่งร่างกายหลั่งออกมาจากแมสต์เซลล์ และเซลล์เม็ดเลือดขาวเมื่อได้รับสิ่งแปลกปลอม ทำให้เกิดอาการแพ้ต่างๆ ซึ่งช่วยเสริมสุขภาพในผู้ป่วยโรคภูมิแพ้ ทำให้มีอาการแพ้น้อยลง และมีฤทธิ์เสริมภูมิคุ้มกัน (Jung *et al.*, 2006; Moongkarndi *et al.*, 2004) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยผ่านกระบวนการยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase 1 (COX-1) และ cyclooxygenase 2 (COX-2) ยับยั้ง cAMP phosphodiesterase ยับยั้งการสังเคราะห์ไนตริกออกไซด์ และพรอสตาแกลนดิน (จริงแท้, 2557; Chen *et al.*, 2008; Tewtrakul *et al.*, 2009)

### 2.6.3.3 ฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์

สารสกัดแซนโทนจากมังคุด โดยเฉพาะอัลฟาแมงโกสตินและแกมมาแมงโกสตินมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดี ทั้งแบคทีเรีย รา และไวรัส (Mérillon and Ramawat, 2018) จากการรายงานของ Sundaram *et al.*, (1983) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารอัลฟาแมงโกสตินที่เป็นสารออกฤทธิ์หลักในกลุ่มแซนโทนต่อแบคทีเรียและรา ซึ่งออกฤทธิ์ต่อจุลินทรีย์ เช่น *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella sp.*, *Escherichia coli*, *Epidermophyton floccosum*, *Alternaria solani*, *Staphylococcus aureus*, *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp.*, และ *Fusarium roseum* และมีฤทธิ์ยับยั้ง MRSA และ Enterococci ที่ดื้อยาปฏิชีวนะ vancomycin (VRE)

### 2.6.3.4 ฤทธิ์ในการยับยั้งมะเร็ง

แซนโทนมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งหลายชนิด จากการศึกษาของ Suksamrarn *et al.*, (2006) สารออกฤทธิ์แซนโทนมีฤทธิ์ในการยับยั้งมะเร็งเต้านม (BC-1) มะเร็งในช่องปาก (KB) และมะเร็งปอด (NCI-H187) สารในกลุ่มแซนโทนที่มีปริมาณสารออกฤทธิ์มากที่สุดคือ อัลฟาแมงโกสติน มีค่า IC50 0.92 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามด้วย การ์ซิโนนบี และ แกมมาแมงโกสติน ตามลำดับ ซึ่งงานวิจัยของ Aisha *et al.*, (2012) ยืนยันว่าสารในกลุ่มแซนโทนแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

สูง สามารถยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง และยับยั้งการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งโดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งในส่วนของมะเร็งลำไส้ (HCT 116) เช่นกัน

## 2.6.4 การใช้ประโยชน์ของมังคุดเชิงสุขภาพ

### 2.6.4.1 การใช้ประโยชน์ทางยา

มีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเนื่องจากเปลือกมังคุดเป็นวัสดุเหลือใช้ที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก พบว่ามีโอกาสสูงในการพัฒนาเป็นยารักษาแผล เพราะเปลือกมังคุดมีสารออกฤทธิ์กลุ่มแซนโทน (Council of Scientific & Industrial Research, 1956) ซึ่งสารเหล่านี้สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด นอกจากนี้ยังสมานแผลได้ดี ด้วยประโยชน์ข้างต้นจึงมีผู้พัฒนาครีมรักษาแผลที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดเพื่อรักษาบาดแผลเบาหวาน ประโยชน์ทางยาของเปลือกมังคุดยังสามารถนำมาใช้รักษาอาการท้องเสีย เนื่องจากมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคท้องเสีย เช่น *Vibrio*, *Shigella*, *E. coli* และ *Salmonella* (จรรยา และสมเกียรติ, 2532) และพัฒนาจนมีการนำสารสกัดมาผลิตในรูปของแกรนูลเพื่อใช้รักษาอาการท้องร่วง (Ingkatorn et al., 2009) และอนุพันธ์ของสารแซนโทนที่มีคุณสมบัติหลักในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ลดการอักเสบของผิวหนัง และการสร้างเซลล์ผิวหนัง และยังพบงานวิจัยที่พัฒนาแผ่นปิดผิวหนังเพื่อเพิ่มคุณสมบัติของสารสกัดจากเปลือกมังคุด จิรา และคณะ (2016) ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด โดยนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว คือ *Propionibacterium acnes* มาใช้ทดสอบกับอาสาสมัคร โดยใช้ร่วมกับแผ่นปิดผิวหนังที่ทำจากแผ่นยางพาราโปรตีนต่ำ และติดตามผลการศึกษา พบว่ามีประสิทธิภาพในการรักษาสิวอักเสบได้ดีกว่า และค่าความแดงผิวหนังของสิวลดลงมากกว่าการใช้แผ่นปิดผิวหนังที่ทำจากไฮโดรคอลลอยด์ และไม่พบผลข้างเคียงใดๆ นอกจากนี้มาศึกษาในห้องปฏิบัติการแล้ว ยังพัฒนาไปจนถึงการนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า เช่น Germguard Acne Patch และ AcneQ เป็นต้น

### 2.6.4.2 การใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง

จากคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ภายในเปลือกมังคุดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ จึงนำมาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางเพื่อป้องกันการเกิดฝ้า กระ และป้องกันการเสื่อมของเซลล์ผิวหนัง รวมถึงผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ยาย้อมผม แชมพูจัดรังแค ครีมกันแดด และเจลแต้มสิว เป็นต้น (จิ่งแท้, 2557; สุมนา และคณะ, 2553)

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วิสุตดา และคณะ (2558) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากผลไม้ 3 ชนิด คือ เปลือกส้มโอ เปลือกมังคุด และเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบ ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค เพื่อผลิตเจลล้างมือ โดยสกัดสารด้วยตัวทำละลายคือ เฮกเซน ไตคลอโรมีเทน เอทานอลร้อยละ 95 และเหล้าขาวดีกรี 40 พบว่าเมื่อสกัดสารด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด เปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ให้ผลผลิตของสารสกัดหยาบมากที่สุด จากนั้นนำสารสกัดทั้งหมดมาทดสอบกับเชื้อก่อโรค *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Salmonella Typhimurium* มีค่า MIC และ MBC มีค่าอยู่ระหว่าง 4.88-1,250 และ 4.88-2,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Pothitirat and Gritsanapan (2008) ศึกษาปริมาณรวมของสารแอมงโกสทินในเปลือกมังคุด โดยวิเคราะห์ปริมาณของสารอัลฟาแอมงโกสทินในเปลือกมังคุดแห้ง และในสารสกัดหยาบจาก เอทานอล ด้วยวิธี UV Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร ปริมาณสาร อัลฟาแอมงโกสทินในเปลือกมังคุดแห้งจากตัวอย่างเปลือกมังคุดทั้ง 13 แหล่ง อยู่ระหว่างร้อยละ 8.51-11.50 (w/w) ในขณะที่สารสกัดหยาบพบในปริมาณร้อยละ 30.19-45.61 (w/w) จากการศึกษา พบว่าการวัดปริมาณสารประกอบแซนโทนด้วยวิธี UV Spectrophotometer เป็นวิธีที่ง่าย และ สะดวก เหมาะสำหรันำมาใช้เป็นวิธีในการควบคุมคุณภาพของเปลือกมังคุดและปริมาณสารสกัดของ เปลือกมังคุด

Palakawong *et al.*, (2010) ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญ ของจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดจากส่วนต่างๆของมังคุด ใช้วิธีการสกัดสารด้วยเอทานอลร้อยละ 50 เป็น เวลา 7 วัน แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ หรือ IC50 ของเปลือกมังคุด ใบ และเปลือกไม้ วัดโดย วิธี DPPH คือ 5.94, 9.44 และ 6.46 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และศึกษาค่า MIC ของสาร สกัดต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*L. monocytogenes* และ *S. aureus*) อยู่ในช่วง 0.025-0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC อยู่ระหว่าง 0.05-0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ค่า MIC และค่า MBC ของสารสกัดต่อแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli* และ *Salmonella sp.*) คือ 3.13 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Kim *et al.*, (2011) ศึกษาวิธีการเตรียมแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับโคโตซานเพื่อพัฒนา ให้มีศักยภาพในการนำมาใช้ทางชีวการแพทย์ โดยศึกษาการแช่แผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผลิตจาก เชื้อ *Gluconacetobacter xylinum* BRC-5 ลงในสารละลายโคโตซานร้อยละ 1 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เมื่อวิเคราะห์ผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) โครงสร้างของเส้นใยมีการเชื่อมต่อกันค่อนข้างดี ปริมาณผลึกลดลงจากร้อยละ 82 เหลือร้อยละ 61 และมีความเสถียรต่ออุณหภูมิสูงขึ้น จาก 263°C เป็น 296°C และศึกษาความเข้ากันได้ของวัสดุกับเซลล์ พบว่าเซลล์มีการยึดเกาะกันมากขึ้น

Aisha *et al.*, (2013) ศึกษาปริมาณแซนโทนที่มีอยู่ในเปลือกมังคุด ด้วยวิธี UV Spectrophotometer ซึ่งสารออกฤทธิ์แซนโทนที่พบในเปลือกมังคุดมีประโยชน์ทางยา เช่น ยับยั้ง มะเร็ง ยับยั้งอาการอักเสบ และยับยั้งแบคทีเรีย เป็นต้น จากการศึกษารายงานว่า แซนโทนที่สกัดด้วย เอทานอลร้อยละ 75 มีปริมาณแซนโทน ร้อยละ 82 (w/w) ซึ่งมากกว่าการสกัดด้วยเมทานอล ปีโตรเลียมอีเธอร์ คลอโรฟอร์ม และเอธิลอะซิเตท

Lin *et al.*, (2013) ศึกษาการนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ร่วมกับโคโตซานเพื่อใช้เป็น วัสดุปิดแผล โดยนำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาแช่ลงในสารละลายโคโตซานร้อยละ 0.6 แล้วทำ แห้งแบบแช่เยือกแข็ง เมื่อวิเคราะห์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รูปทรงของ เซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารละลายโคโตซานมีรูปทรงเล็กกว่าเซลลูโลสธรรมดา เมมเบรนเซลลูโลสทั้ง 2 ชนิดสามารถรักษาความชุ่มชื้นได้ดี และไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929)

และอนุภาคของโคโตซานมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*

Kingkaew *et al.*, (2014) ศึกษาผลของน้ำหนักรวมของโคโตซานที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เมื่อนำมาใช้ร่วมกับแผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรีย โดยแช่แผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียลงในสารละลายโคโตซาน ซึ่งการปลดปล่อยโคโตซานออกจากแผ่นเซลลูโลสขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน และพีเอชของสารละลาย และพบว่าโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้สูงที่สุด แต่ไม่ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ในขณะเดียวกันพบว่าโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ได้ดีกว่า เมื่อวิเคราะห์สมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส และแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับโคโตซานพบว่า การเติมโคโตซานจะลดความแข็งแรงของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสลง ส่งผลให้อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ และออกซิเจนลดลงเช่นกัน

Taokaew *et al.*, (2014) ศึกษาลักษณะของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรีย และคุณสมบัติในการยับยั้งมะเร็งร่วมกับการใช้สารสกัดจากเปลือกมังคุด แผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.1 และ 1 (v/v) มีปริมาณฟีนอลิก 4.72-275.91 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตร และมีปริมาณสารอัลฟาแมงโกสทิน 2.06-248.20 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตร แผ่นที่มีสารสกัดมีศักยภาพในการดูดซับน้ำลดลง และศึกษาความสามารถในการปลดปล่อยสารสกัดออกจากแผ่นเซลลูโลสด้วยวิธี Franz diffusion cells พบว่าปริมาณสารที่ปลดปล่อยออกมาขึ้นกับความเข้มข้นเริ่มต้น ระยะเวลาในการแช่แผ่นลงในบัฟเฟอร์ และพีเอชของบัฟเฟอร์ พบว่ามีการปลดปล่อยสารฟีนอลิกร้อยละ 59-62 และปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่า ร้อยละ 95 ที่ถูกดูดซับไว้ที่หนังหมู และเมื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ แผ่นเซลลูโลสที่มีสารสกัดทั้ง 3 ความเข้มข้นมีผลกระทบต่อผลลดของเซลล์มะเร็ง B16 และ MCF-7

Yoswathana and Eshtiaghi (2015) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุด โดยเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารแบบหมักและการใช้ชอกเล็ทด้วยตัวทำละลายชนิดเดียวกัน โดยกระบวนการสกัดสารแบบหมักด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ให้ปริมาณแซนโทนน้อยกว่าการสกัดสารด้วยชอกเล็ทเล็กน้อย ในขณะเดียวกันการเพิ่มระยะเวลาการหมักจาก 0.5 1 และ 2 ชั่วโมง ให้ผลผลิตของแซนโทน 28.13 29.83 และ 31.55 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตแซนโทนที่ได้จากวิธีการสกัดด้วยชอกเล็ทที่ระยะเวลา 0.5 1 และ 2 ชั่วโมง คือ 31.26 35.04 และ 41.41 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เนื่องจากการใช้อุณหภูมิเข้ามาเกี่ยวข้องทำให้ประสิทธิภาพของการสกัดสารดีขึ้น

Shao *et al.*, (2016) ศึกษาการควบคุมและการปลดปล่อยยาปฏิชีวนะเตตราไซคลินไฮโดรคลอไรด์โดยใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียแช่ลงในสารละลายยาเตตราไซคลินไฮโดรคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร เซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถปลดปล่อยยาออกมายับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis*

ATCC 9372 and *Candida albicans* CMCC(F) 98001 และไม่ยับยั้งการเจริญของเซลล์ไลน์ HEK293

Panawes *et al.*, (2017) ศึกษาความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยใช้ร่วมกับอัลจินต-ก๊อช โดยแหล่งในสารละลายสารสกัดเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.02 และ 0.06 (w/w) นำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disk diffusion โดยใช้เป็นแผ่นอัลจินต-ก๊อชที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุดแทนการใช้ดิสก์ยา พบว่ามีความสามารถในการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA) และ *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 ได้ในระดับปานกลาง ในขณะที่ Vancomycin-resistant enterococci ATCC 51299 (VRE) และ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 สารสกัดจากเปลือกมังคุดไม่สามารถยับยั้งการเจริญได้ และศึกษาอัตราการปลดปล่อยสารสกัดออกจากแผ่นปิดแผล พบว่าหลังจาก 84 ชั่วโมง แผ่นปิดแผลที่แช่ใน Phosphate buffer pH 7.4 ปลดปล่อยสารสกัดออกมาร้อยละ 82-99.5 ในขณะที่แผ่นปิดแผลใน Acetate buffer pH 5.5 ปลดปล่อยสารได้เพียงร้อยละ 50-55

Phoung *et al.*, (2017) ศึกษาฤทธิ์ของสารอัลฟาแมงโกสตินที่สกัดจากมังคุดเพื่อยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* 3 สายพันธุ์ คือ MRSA 252, MSSA 15981 และ NCTC 6571 มีค่า MIC ในช่วง 4.6-9.2 ไมโครโมลต่อลิตร ซึ่งสายพันธุ์ MSSA มีความไวต่อสารสกัดจากเปลือกมังคุดมากกว่าสายพันธุ์ MRSA ในขณะที่ค่า MBC มีค่าสูงกว่า MIC 2 เท่า และศึกษาการยับยั้งการผลิตไบโอฟิล์ม สารสกัดที่ความเข้มข้น 48 ไมโครโมลต่อลิตร สามารถยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มได้มากกว่าร้อยละ 81 สำหรับสายพันธุ์ NCTC 6571 และยับยั้งได้มากกว่าร้อยละ 93.5 สำหรับสายพันธุ์ MSSA 15981 ในขณะที่เดียวกันสายพันธุ์ MRSA 252 ไวต่อสารสกัดน้อยที่สุด สามารถยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มได้เพียงร้อยละ 40

Piasecka-Zelga *et al.*, (2018) ศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุปิดแผลแบบตาข่ายจากแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ปรับปรุงคุณสมบัติโดยใช้ไคโตซาน เพื่อใช้ในการฟื้นฟูในการรักษาแผลผ่าตัดไส้เลื่อน ซึ่งจะอาศัยโครงตาข่ายมาปิดบาดแผลให้ร่างกายสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาห่อหุ้มตาข่ายจนบาดแผลสมานกัน โครงตาข่ายที่ทำจากเซลลูโลสจากแบคทีเรีย-ไคโตซานช่วยในการดูดซึมได้ดีและลดการติดเชื้อได้ดีกว่า ในงานวิจัยนี้ทดลองปลูกโครงตาข่ายเซลลูโลสจากแบคทีเรีย-ไคโตซานลงในหนูทดลองภายหลังจาก 1 และ 3 เดือน พบว่าร่างกายตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมน้อย บาดแผลมีความแข็งแรงและขอบของบาดแผลมีการเชื่อมต่อกันในเกณฑ์ที่ค่อนข้างสูง และไม่พบอาการแพ้หรือระคายเคือง ซึ่งน่าจะมีความเสี่ยงของอาการแพ้ต่ำเมื่อนำมาใช้กับร่างกายมนุษย์

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

##### 3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

*Acetobacter xylinum* TISTR 976 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัย  
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

*Bacillus cereus* DMST 5040

*Bacillus subtilis* TISTR 1248

*Micrococcus luteus* ATCC 9431

*Salmonella* Typhimurium TISTR 1469

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27859

*Serratia marcescens* TISTR 1354

*Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883

*Escherichia coli* ATCC 25922

##### 3.1.2 วัตถุดิบ

3.1.2.1 เปลือกมังคุด (ตลาดคลองเตย เขตคลองเตย กรุงเทพมหานคร)

3.1.2.2 น้ำมะพร้าวแก่ (ตลาดลานบุญ เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร)

##### 3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (ภาคผนวก ก)

3.1.3.1 อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

3.1.3.2 อาหารสูตร Hestrin and Schramm (HS)

3.1.3.3 อาหารสูตร Glucose-Yeast extract-Calcium carbonate Agar (GYC)

3.1.3.4 อาหารสูตรสำเร็จ Nutrient Agar (NA)

3.1.3.5 อาหารสูตรสำเร็จ Mueller-Hinton Broth (MHB)

##### 3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.4.1 กรดซิตริก (Ajax FineChem, Australia)

3.1.4.2 กรดอะซิติกเข้มข้น (CARLO ERBA Reagents, France)

3.1.4.3 กลีเซอรอล (Ajax FineChem, Australia)

3.1.4.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Ajax FineChem, Australia)

3.1.4.5 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (VWR International, USA)

3.1.4.6 น้ำกลั่น

3.1.4.7 น้ำตาลกลูโคส

- 3.1.4.8 น้ำตาลทรายขาว (วังขนาย, ประเทศไทย)
- 3.1.4.9 เปปโติน (Sisco Research Laboratories, India)
- 3.1.4.10 ผงวุ้น
- 3.1.4.11 ยีสต์สกัด (yeast extract) (JT Group, Japan)
- 3.1.4.12 เอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 95 (Extra natural alcohol) (องค์การสุรา กรมสรรพสามิต, ประเทศไทย)
- 3.1.4.13 แอมโมเนียมซัลเฟต (Ajax FineChem, Australia)
- 3.1.4.14 ไคโตซาน (Chitosan, CS,  $M_w$  270,000 Daltons เกรตวิเคราะห์, Eland Corporation LTD, ประเทศไทย)
- 3.1.4.15 แคลเซียมคาร์บอเนต (Sisco Research Laboratories, India)
- 3.1.4.16 สารมาตรฐานแซนโทน 97% (Sigma-Aldrich, USA)
- 3.1.4.17 รีชาซูรินชนิด Tablet (VWR International, USA)
- 3.1.4.18 Phosphate buffer pH 7.4 ชนิดสำเร็จ (Vivantis Technologies, Malaysia)
- 3.1.4.19 แคลเซียมคลอไรด์ (Sigma-Aldrich, USA)
- 3.1.4.20 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Fisher Scientific, USA)
- 3.1.4.21 โซเดียมคลอไรด์ (Sisco Research Laboratories, India)
- 3.1.4.22 ซิลิกาเจล
- 3.1.4.23 โปแทสเซียมโบรไมด์
- 3.1.4.24 ยาปฏิชีวนะ Clindamycin (ฟาร์ม่าไลน์, ประเทศไทย)
- 3.1.4.25 ยาปฏิชีวนะ Gentamicin (Sisco Research Laboratories, India)

### 3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.1.5.1 หม้อนึ่งอัตโนมัติ (Autoclave) (TOMY, ES-315, Japan)
- 3.1.5.2 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Mettler, IN 110, Germany)
- 3.1.5.3 ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow) (Astec Microflow, ABS 1200, UK)
- 3.1.5.4 ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส (SANYO, Japan)
- 3.1.5.5 ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส (Thermo Scientific, FORMA 900 Series, USA)
- 3.1.5.6 ตู้บ่มเชื้อ 30 องศาเซลเซียส (Incubator) (Mettler, INB 500, Germany)
- 3.1.5.7 ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส (Incubator) (Mettler, INB 500, Germany)
- 3.1.5.8 เครื่อง Ultrasonic sonicator (Crest, USA)
- 3.1.5.9 เครื่องชั่งน้ำหนักสี่ตำแหน่ง (Balance) (Sartorius, BSA 224S-CW, Germany)
- 3.1.5.10 เครื่อง UV-Spectrophotometer (Shimadzu, UV-1800, Japan)
- 3.1.5.11 เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (BINDER, Germany)

- 3.1.5.12 เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) (Heidolph, Germany)
- 3.1.5.13 เครื่อง Fourier transform infrared spectrometer (FTIR) (Shimadzu, IRTracer-100, Japan)
- 3.1.5.14 เครื่อง Materials testing machine (Lloyd instruments, LR 5K, USA)
- 3.1.5.15 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (shaker incubator) (Hasuc, China)
- 3.1.5.16 เครื่องวัดไมโครมิเตอร์ (Micrometer)
- 3.1.5.17 เครื่องวัดความชื้น (Hygrometer)
- 3.1.5.18 ดิจิตอลเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (Mitutoyo, Japan)
- 3.1.5.19 ปีกเกอร์ ขนาด 500 และ 1,000 มิลลิลิตร (Duran, Germany)
- 3.1.5.20 ไมโครปิเปตขนาด 10-100 ไมโครลิตร (Eppendorf, Germany)
- 3.1.5.21 ไมโครปิเปตขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร (Thermo Scientific, USA)
- 3.1.5.22 โถดูดความชื้น (Desiccators)
- 3.1.5.23 หลอดทดลอง (Test tube) (Pyrex, USA)
- 3.1.5.24 หลอดพลาสติกทนความเย็นสูง (Cryo-tube)
- 3.1.5.25 ขวดแก้วเล็ก (Vial)
- 3.1.5.26 พาสเจอร์ปีเปต (Pasture pipette) (HBG Henneberg-Sander GmbH, Germany)
- 3.1.5.27 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และเบอร์ 4 ขนาด 90 มิลลิเมตร (GE healthcare, UK)
- 3.1.5.28 กระดาษกรองเซลลูโลสอะซิเตทรูปวงขนาด 0.2 ไมครอน (Sartorius Stedim Biotech, Germany)
- 3.1.5.29 ลวดเขี่ยเชื้อ (Loop)
- 3.1.5.30 ปากคีบ (Forceps)
- 3.1.5.31 คิวเวตควอท (Starna Scientific, UK)
- 3.1.5.32 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร (Duran, Germany)
- 3.1.5.33 ขวดดูแรนขนาด 500 มิลลิลิตร (Duran, Germany)
- 3.1.5.34 กระจบอแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร (Favorit, Malaysia)
- 3.1.5.35 กระดาษ Whatman เกรด AA Disk ขนาด 6 มิลลิเมตร (GE healthcare, UK)
- 3.1.5.36 แผงแก้วคนสาร
- 3.1.5.37 จานเพาะเชื้อ (Petri dish) ขนาด 90 มิลลิเมตร
- 3.1.5.38 ตะแกรงร่อน (Sieve) (Endecotts, UK)
- 3.1.5.39 pH indicator strips (Macherey-Nagel, Germany)
- 3.1.5.40 ที่เจาะกระดาษขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (KW-triO, Taiwan)
- 3.1.5.41 ชุดกรองสุญญากาศ (Vacuum filter) (Pyrex, USA)
- 3.1.5.42 แก้วพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางปากแก้ว 3.35 เซนติเมตร

## 3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

### 3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุด (ดัดแปลงจากจารวี และสุบงกช, 2012)

เปลือกมังคุดที่มีระดับสีของเปลือกอยู่ที่ระดับ 5-6 ซึ่งมีเปลือกเป็นสีม่วงแดงจนถึงม่วงเข้ม แยกเฉพาะเปลือกมังคุดมาล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบด นำผงเปลือกมังคุดมากรองผ่านตะแกรงขนาด 300 ไมครอน ซึ่งผงเปลือกมังคุดจำนวน 100 กรัม เติมเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท นำไปแช่ที่อุณหภูมิห้องด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน นำสารละลายสารสกัดเปลือกมังคุดมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 เส้นผ่านศูนย์กลาง 90.0 มิลลิเมตร เพื่อแยกผงเปลือกมังคุดออก ทำการสกัดซ้ำอีกครั้งด้วยวิธีการเดิม เก็บสารสกัดทั้ง 2 ครั้งที่ได้มารวมกัน นำสารสกัดไประเหยให้เข้มข้นด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส ระเหยตัวทำละลายที่เหลือในสารสกัดหยาบโดยนำไปวางในโถดูดความชื้น (Desiccator) จากนั้นชั่งน้ำหนักคำนวณหาผลได้ของสารสกัดเปลือกมังคุด (% yield) ดังสูตร และเก็บสารสกัดที่ได้ไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

$$(1) \text{ ผลได้ของสารสกัดต่อผงเปลือกมังคุดแห้ง (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดหยาบ}}{\text{น้ำหนักของเปลือกมังคุดแห้ง}} \times 100$$

หาปริมาณสารออกฤทธิ์แซนโทนต่อสารสกัดหยาบ โดยนำสารสกัดหยาบละลายในเอทานอลร้อยละ 95 จากนั้นนำสารละลายวัดที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานแซนโทน

$$(2) \text{ สารออกฤทธิ์แซนโทนต่อสารสกัดหยาบ (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของแซนโทน}}{\text{น้ำหนักของสารสกัดหยาบ}} \times 100$$

$$(3) \text{ สารออกฤทธิ์แซนโทนต่อผงเปลือกมังคุดแห้ง (ร้อยละ)} = \frac{(2) \times (1)}{100}$$

### 3.2.2 การทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disk diffusion method (Cavalieri *et al.*, 2005)

#### 3.2.2.1 การเตรียมสารละลายเชื้อ

เตรียมเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 1248, *Micrococcus luteus* ATCC 9431, *Salmonella* Typhimurium TISTR 1469, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27859, *Serratia marcescens* TISTR 1354, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 และ *Escherichia coli* ATCC 25922 เเพาะเลี้ยงบนอาหาร Nutrient Agar (NA) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อโคโลนีเดี่ยวของเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญแล้วจากอาหาร ใส่ลงใน Normal saline ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปรับความขุ่นให้เท่ากับ McFarland เบอร์ 0.5 ซึ่งมีปริมาณเซลล์  $1.5 \times 10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ใช้ไม้ปั่นสำลีที่ปราศจากเชื้อขูดสารละลายแบคทีเรียนำไป

ป้ายให้หัวอาหารแข็ง Mueller-Hinton Agar (MHA) สำหรับนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion

### 3.2.2.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disk diffusion

หาบริเวณยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) ของสารสกัดเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.195-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลายสารสกัดจากเปลือกมังคุด โดยเจือจางให้ได้ความเข้มข้นลดลง 2 เท่า (2-fold serial dilution) ใช้เปเปอร์ดิสก์ปราศจากเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร และทำการปิเปตสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นดิสก์ รอให้แผ่นดิสก์แห้ง แล้วนำแต่ละแผ่นดิสก์วางบนอาหารแข็งสูตร Mueller-Hinton Agar (MHA) ที่มีเชื้อที่ต้องการทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียที่เกิดบนอาหารแข็งในหน่วยมิลลิเมตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative control) และใช้ยา clindamycin (ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) สำหรับแบคทีเรียแกรมบวก และยา gentamicin (ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) สำหรับแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งใช้เป็นตัวยามาตรฐานในการเปรียบเทียบการทดลอง

### 3.2.3 การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum inhibitory concentration, MIC) โดยวิธี Colorimetric broth microdilution (ดัดแปลงจาก Cavalieri *et al.*, 2005)

#### 3.2.3.1 การเตรียมสารละลายเชื้อ

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์เช่นเดียวกับหัวข้อ 3.2.2.1 โดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร Nutrient Agar (NA) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อโคโลนีเดี่ยวของเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญแล้วจากอาหาร ใส่ลงใน Normal saline ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 แล้วปรับความขุ่นให้เท่ากับ McFarland เบอร์ 0.5 จากนั้นเจือจางด้วยอาหาร Mueller-Hinton Broth (MHB) 1:200 จะมีปริมาณเซลล์  $7.5 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

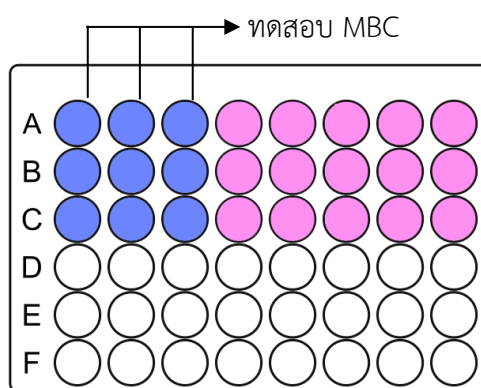
#### 3.2.3.2 การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

เตรียมสารสกัดเปลือกมังคุดโดยละลายด้วย Dimethyl sulphoxide (DMSO) ให้มีความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยอาหาร Mueller-Hinton Broth (MHB) ให้ได้ความเข้มข้นลดลง 2 เท่า (2-fold serial dilution) เติมสารสกัดเปลือกมังคุดใส่ลงในจานเพาะเชื้อ 96 หลุม (96 well plate) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นเติมเชื้อลงหลุมละ 50 ไมโครลิตร ความเข้มข้นสุดท้ายในแต่ละหลุมเท่ากับ 0.001-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หลุม Positive control ประกอบด้วยอาหาร MHB และเชื้อที่ทดสอบ และหลุม Negative control ประกอบด้วยอาหาร MHB เท่านั้น หลุมควบคุมที่มียาปฏิชีวนะ ใส่ยาปฏิชีวนะ gentamicin และ clindamycin ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและเชื้อที่ทดสอบ โดยปริมาตรรวมสุดท้ายในแต่ละหลุมคือ 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อบ่มครบตามเวลาที่กำหนด จึงเติมสารละลายริซาซูริน ปริมาตร 10 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (Sarker *et al.*, 2007) และสังเกตการเปลี่ยนแปลง ถ้าริซาซูรินเปลี่ยนสี

จากสีฟ้าเป็นสีชมพู แสดงว่าเชื้อสามารถเจริญได้ โดยค่า MIC คือความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้

### 3.2.4 การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Minimum bactericidal concentration, MBC) (Amer *et al.*, 2015)

เลือกหลุมที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงเชื้อจากการศึกษา MIC มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร Mueller-Hinton Agar (MHA) โดยเชื้อจากหลุมทดสอบที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียลงบนอาหาร Mueller-Hinton Agar (MHA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยาบที่ไม่พบการเจริญของเชื้อบนจานอาหารคือค่า Minimum bactericidal concentration (MBC) ถ้าความเข้มข้นใดที่แบคทีเรียยังสามารถเจริญได้ แสดงว่าความเข้มข้นนั้นไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ เพียงแต่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เท่านั้น



รูปที่ 3.1 ตัวอย่างจานหลุมเพาะเชื้อที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายริซาซูริน

### 3.2.5 การผลิตแผ่นเซลล์ลูโลสจากกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 (จุฑามาศ, 2554)

#### 3.2.5.1 การเตรียมหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976

นำเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ที่ได้รับการอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เก็บรักษาในอาหารมาตรฐาน Hestrin-Shramm (HS) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มาเชียบนอาหารแข็งสูตร Glucose-Yeast extract-Calcium carbonate Agar (GYC) บ่มนาน 3 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นำเชื้อ 2 ลูบ ถ่ายใส่อาหารสูตร น้ำมะพร้าวซึ่งประกอบด้วย น้ำตาลทรายร้อยละ 5.0 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) กรดอะซิติกร้อยละ 1.0 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปรับปริมาตรด้วยน้ำมะพร้าว แก้วให้อาหารมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร และฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำอาหารที่เดิมเชื้อแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จะได้หัวเชื้อมาใช้ในการหมัก

### 3.2.5.2 การหมักแผ่นเซลลูโลส

ใช้อาหารสูตรน้ำมะพร้าวแบ่งใส่พลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 45 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อ 5 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 โดยปริมาตร) บ่มที่สภาวะนิ่งที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน

### 3.2.5.3 การทำให้แผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์

นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมัก มาล้างด้วยน้ำหลายๆครั้ง เพื่อเป็นการกำจัดอาหารเลี้ยงเชื้อออกจากผิวหน้าแผ่นเซลลูโลส นำไปอัดรีดน้ำออกจากแผ่นเซลลูโลสด้วยเครื่องอัดรีดน้ำ จากนั้นนำไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้แผ่นเซลลูโลสมีสภาวะเป็นกลาง นำแผ่นเซลลูโลสมาต้มในน้ำเดือด 30 นาที เป็นการกำจัดเอาโซเดียมไฮดรอกไซด์ออกจากแผ่นเซลลูโลส นำแผ่นเซลลูโลสล้างน้ำจนแผ่นเซลลูโลสมีพีเอชเป็นกลาง สามารถวัดได้โดยใช้ pH indicator strips จากนั้นฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที จะได้แผ่นเซลลูโลสปราศจากเชื้อ

### 3.2.6 การเตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด (ดัดแปลงจาก จุฑามาศ, 2554)

เลือกความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกมังคุดที่เท่ากับค่า MBC และค่าที่มากกว่าค่า MBC ขึ้นมา 5 ระดับ โดยเจือจางด้วยเอทานอลร้อยละ 95 จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์ที่ผ่านการอัดรีดน้ำและฆ่าเชื้อแล้วแช่ลงในสารสกัดแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ (Vacuum oven) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความดัน 0 InchHg เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เก็บแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดในที่แห้งและหลีกเลี่ยงแสง

### 3.2.7 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธี Disk diffusion method (Cavalieri *et al.*, 2005)

#### 3.2.7.1 การเตรียมสารละลายเชื้อ

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่สารสกัดจากเปลือกมังคุดสามารถฆ่าได้จากวิธี MBC โดยเตรียมสารละลายเชื้อเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.2.2.1 และใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อชุบสารละลายแบคทีเรียนำไปป้ายให้ทั่วอาหารแข็ง Mueller-Hinton Agar (MHA) สำหรับนำไปทดสอบ Disk diffusion

#### 3.2.7.2 การทดสอบความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ตัดแผ่นฟิล์มเซลลูโลสแห้งที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆจากการเตรียมในหัวข้อ 3.2.6 ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร นำแต่ละแผ่นฟิล์มวางบนอาหารแข็ง Mueller-Hinton Agar (MHA) ที่มีเชื้อที่ต้องการทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใช้แผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ไม่มีสารสกัดเป็นชุดควบคุม วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียที่เกิดบนอาหารแข็งในหน่วยมิลลิเมตร

### 3.2.8 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) ของแผ่นฟิล์มเซลล์โลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด

#### 3.2.8.1 การเตรียมเซลล์ไลน์ L929

เตรียมเซลล์ไลน์ L929 ในอาหาร Dulbecco's modified Eagle's Medium (DMEM) เสริมด้วย FBS ร้อยละ 10 โดยเฉพาะเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 25 ตารางเซนติเมตร

#### 3.2.8.2 การเตรียมสารสกัดจากแผ่นเซลล์โลส

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 0.01 กรัม ใส่ในขวดแก้วที่ปราศจากเชื้อเพื่อเตรียมเป็น Stock จากนั้นหมักตัวอย่างในอาหาร DMEM + FBS ร้อยละ 5 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (ขึ้นอยู่กับน้ำหนักของตัวอย่าง) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาบ่ม กรองตัวอย่างด้วยแผ่นกรอง 0.22 ไมครอน จะได้สารตัวอย่างสำหรับการทดสอบ

#### 3.2.8.3 การทดสอบความเป็นพิษ

ปลูกเซลล์ L929 ลงในงานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม (96-well plate) ให้มีจำนวนเซลล์เท่ากับ  $1 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำงานเพาะเลี้ยงที่ปลูกเซลล์แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด ดูดอาหารเก่าออกแล้วเติมสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม (แต่ละความเข้มข้นทดสอบ 3 ซ้ำ) จากนั้นนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง เมื่อบ่มเซลล์ครบ 20 ชั่วโมง ดูดสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงไป หลุมที่ต้องการทดสอบหลุมละ 10 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นดูดสารละลาย MTT ทิ้ง แล้วเติมสารละลาย 100% DMSO : 10% SDS (อัตราส่วน 9 : 1) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรเพื่อละลายผลึกฟอรัมาซาน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ตั้งโปรแกรมเขย่า 5 นาทีก่อนวัด OD ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 570 นาโนเมตร

คำนวณหาความเป็นพิษต่อเซลล์ (% Cytotoxicity)

$$\% \text{ Cytotoxicity} = \left[ \frac{A-B}{A} \right] \times 100$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม (หลุมที่มีเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง)

B = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์ในสารสกัดแต่ละความเข้มข้น

โดยค่า A และ B จะต้องลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของ Blank (หลุมที่เติมสารละลาย 100% DMSO : 10% SDS) ก่อนนำไปคำนวณดังสมการข้างต้น

ทดสอบที่ศูนย์บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### 3.2.9 การเตรียมแผ่นฟิล์มเซลล์ชนิดต่างๆร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด

เลือกความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกมังคุดที่ใช้ร่วมกับแผ่นเซลล์โลสที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ และมีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่าร้อยละ 30 ตามมาตรฐานสากล ISO 10993-5: 2009 Biological evaluation of medical devices -- Part 5: Tests for *in vitro* cytotoxicity มา

ใช้ร่วมกับแผ่นฟิล์มเซลลูโลส โดยเปรียบเทียบวิธีการเตรียมแผ่นฟิล์มร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด 6 วิธี ดังนี้

วิธีที่ 1 นำแผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์ที่ผ่านการอัดรีดน้ำ และฆ่าเชื้อแล้ว แช่ลงในสารสกัด ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาทำแห้ง ด้วยเครื่องทำแห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เก็บแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดในที่ แห้งและหลีกเลี่ยงแสง (ดัดแปลงจากจุฑามาศ, 2554)

วิธีที่ 2 นำแผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์ที่ผ่านการอัดรีดน้ำ แช่ลงในสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสแช่ลงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างน้ำเพื่อกำจัดโซเดียมไฮดรอกไซด์ออกจาก แผ่นและฆ่าเชื้อ จากนั้นแช่แผ่นเซลลูโลสลงในสารสกัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็น เวลา 24 ชั่วโมง นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เก็บแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดในที่แห้งและหลีกเลี่ยงแสง (ดัดแปลงจาก Urbina *et al.*, 2018; Ma *et al.*, 2017)

วิธีที่ 3 นำแผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์ที่ผ่านการอัดรีดน้ำแล้ว แช่ลงในสารละลายโคโตซาน ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำแห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ ล้างน้ำเพื่อกำจัด กรดอะซิติกออกจากแผ่นและฆ่าเชื้อ จากนั้นแช่แผ่นเซลลูโลสลงในสารสกัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้ทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งภายใต้สภาวะ สุญญากาศ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เก็บแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดในที่แห้งและหลีกเลี่ยงแสง (ดัดแปลงจาก Urbina *et al.*, 2018; Kingkaew *et al.*, 2014)

วิธีที่ 4 นำแผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์ที่ผ่านการอัดรีดน้ำและทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้ง ภายใต้สภาวะสุญญากาศแล้ว แช่แผ่นเซลลูโลสลงในสารสกัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้ทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เก็บแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดในที่แห้งและหลีกเลี่ยงแสง

วิธีที่ 5 นำแผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์ที่ผ่านการอัดรีดน้ำและทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้ง ภายใต้สภาวะสุญญากาศแล้ว แช่แผ่นเซลลูโลสแห้งลงในสารละลายโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสแช่ลงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น ร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างน้ำเพื่อกำจัดโซเดียมไฮดรอกไซด์ออกจากแผ่นและฆ่าเชื้อ แช่แผ่น เซลลูโลสลงในสารสกัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำแผ่นเซลลูโลสที่ ได้มาทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เก็บแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มี สารสกัดในที่แห้งและหลีกเลี่ยงแสง (ดัดแปลงจาก Urbina *et al.*, 2018; Ma *et al.*, 2018)

วิธีที่ 6 นำแผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์ที่ผ่านการอัดรีดน้ำและทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้ง ภายใต้สภาวะสุญญากาศแล้ว แช่แผ่นเซลลูโลสแห้งลงในสารละลายโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำแห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ ล้างน้ำเพื่อกำจัดกรดอะซิติกออกจาก แผ่นและฆ่าเชื้อ แช่แผ่นเซลลูโลสลงในสารสกัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เก็บแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดในที่แห้งและหลีกเลี่ยงแสง (ดัดแปลงจาก Urbina *et al.*, 2018; Kingkaew *et al.*, 2014) แผ่นเซลลูโลสควบคุมทำการเตรียมโดยวิธีเดียวกัน แต่ไม่ใช้ร่วมกับสารสกัด เปลือกมังคุด

### 3.2.10 ศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากแผ่นเซลลูโลส (ดัดแปลงจาก Panawes *et al.*, 2017)

#### 3.2.10.1 ศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทั้งหมด

นำแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดที่เตรียมได้ทั้ง 6 วิธี จากหัวข้อ 3.2.9 ตัดให้มีขนาด 40 x 40 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น แช่ในเอทานอลร้อยละ 95 ในสถานะเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายยัดที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานแซนโทน

#### 3.2.10.2 ศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ของแผ่นเซลลูโลสในแต่ละช่วงเวลา

ตัดแผ่นฟิล์มเซลลูโลสทั้ง 6 ชนิด ให้มีขนาด 40 x 40 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น แช่ในสารละลาย Phosphate buffer pH 7.4 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสถานะเขย่าที่ 50 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างที่ 0.25 0.5 0.75 1 1.5 2 3 4 5 6 7 8 24 32 48 56 72 80 96 104 และ 120 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำมาวัดปริมาณสารสำคัญที่ปลดปล่อยออกมาคือแซนโทน และเติมสารละลาย Phosphate buffer ลงไปพลาสติกเท่ากับปริมาณที่ดูดออกมา วัดโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานแซนโทน และคัดเลือกชนิดของแผ่นเซลลูโลสที่มีความแตกต่างทางสถิติในช่วงการปลดปล่อยสารอย่างรวดเร็ว และการปลดปล่อยสารชั่วโมงที่ 120 มาใช้ในการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อในหัวข้อ 3.2.10.3

#### 3.2.10.3 ศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ของแผ่นเซลลูโลสด้วยวิธี Disk diffusion

เปรียบเทียบการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์เพื่อศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่คัดเลือกได้จากหัวข้อ 3.2.10.2 โดยนำมาตัดให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วนำแผ่นเซลลูโลสตัวอย่างที่เตรียมไว้วางบนอาหารแข็งสูตร Mueller-Hinton Agar (MHA) ที่มีเชื้อที่ต้องการทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียที่เกิดบนอาหารแข็งในหน่วยมิลลิเมตร

จากการศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากแผ่นเซลลูโลส ในแต่ละช่วงเวลาและ ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นฟิล์ม คัดเลือกแผ่นเซลลูโลสที่สามารถปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ได้และสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ จากหัวข้อที่ 3.2.10.2 มาใช้ในการศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติเชิงกล

### 3.2.11 ศึกษาสมบัติทางกายภาพของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส

#### 3.2.11.1 วิเคราะห์ลักษณะพื้นฐานของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope)

นำแผ่นแห้งเซลลูโลสที่คัดเลือกได้มาวิเคราะห์โครงสร้างลักษณะพื้นฐานด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เพื่อศึกษาลักษณะพื้นผิว โดยเปรียบเทียบระหว่างแผ่นฟิล์มแต่ละชนิด ตัดแผ่นตัวอย่างให้มีขนาด 10 x 10 มิลลิเมตร วางแผ่นตัวอย่างลงบนแท่นวางสำหรับเคลือบทองคำ (sputter coater) เพื่อทำการเคลือบแผ่นตัวอย่างด้วยทองคำ ในกรณีศึกษาภาพตัดขวาง นำตัวอย่างหักในไนโตรเจนเหลว จากนั้นนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และ

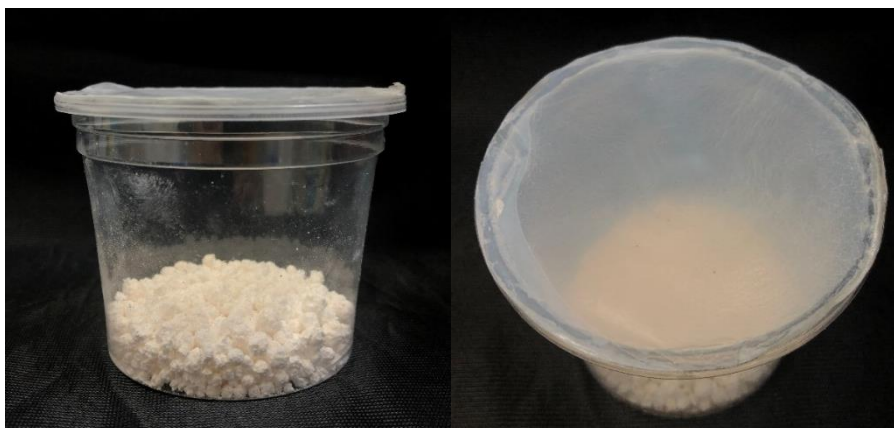
บันทึกภาพ ทดสอบที่ศูนย์บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### 3.2.11.2 วิเคราะห์เอกลักษณ์ของแผ่นฟิล์มร่วมกับสารสกัดด้วยเครื่อง FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy)

วิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของสารประกอบอินทรีย์ของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่คัดเลือกได้ จากการดูดกลืนแสงในช่วงอินฟราเรด เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของแผ่นตัวอย่าง โดยตัดแผ่นแห้งเซลลูโลส ขนาด  $20.0 \times 20.0$  ตารางมิลลิเมตร วางแผ่นแห้งเซลลูโลสบนแท่นวางวัตถุสำหรับตรวจสอบ ยิงลำแสงอินฟราเรดช่วง (wave number)  $700 - 4000$  เซนติเมตร<sup>-1</sup> ทดสอบด้วยเครื่อง Fourier transform infrared spectroscopy บันทึกกราฟค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง ในกรณีที่สารตัวอย่างอยู่ในรูปของแข็งหรืออนุภาคที่ไม่สามารถเตรียมให้เป็นแผ่นฟิล์มได้ นำตัวอย่างไปบดผสมกับ KBr แล้วนำไปใส่ในบ่าอัดให้เป็นแผ่นวงกลมใส และนำไปวิเคราะห์ที่อินฟราเรดช่วง  $700 - 4000$  เซนติเมตร<sup>-1</sup> เช่นเดียวกัน

### 3.2.11.3 วิเคราะห์อัตราการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส

ศึกษาอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่คัดเลือกได้ โดยวัดอัตราการซึมผ่านของไอน้ำผ่านแผ่นเซลลูโลสในหน่วยพื้นที่ต่อหน่วยเวลา (กรัมต่อตารางเมตร·วัน,  $g/m^2 \cdot day$ ) โดยใช้วิธีการทดสอบตามมาตรฐาน ASTM E 96-95 Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials โดยนำแคลเซียมคลอไรด์มาอบที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเก็บแคลเซียมคลอไรด์ที่อบแล้วไว้ในเดซิเคเตอร์ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 0 นำแคลเซียมคลอไรด์ที่ผ่านการอบแห้งแล้วบรรจุลงในแก้วทดสอบประมาณ 10 กรัม นำฟิล์มที่ต้องการทดสอบคลุมบนปากแก้วที่มีรัศมี 3.35 เซนติเมตร โดยไม่ให้มีรอยร้าว ดังรูปที่ 3.2 ทำการปรับสภาพเดซิเคเตอร์ให้มีความชื้นร้อยละ 75 โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัวตั้งไว้ในเดซิเคเตอร์ จากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ในเดซิเคเตอร์ที่ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และบันทึกการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง นำผลที่ได้มาพล็อตกราฟหาค่าความชันของน้ำหนักของตัวอย่างที่เปลี่ยนแปลงไปต่อเวลา (กรัมต่อวัน)



รูปที่ 3.2 แก้วตัวอย่างทดสอบการซึมผ่านของไอน้ำ

### ค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (Water vapor transmission rate, WVTR)

$$\text{WVTR (g/m}^2\cdot\text{day)} = \frac{G/T}{A}$$

โดยที่ G = น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง (กรัม)

T = เวลา (วัน)

G/T = อัตราการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักต่อเวลา หรือ ความชันของกราฟ

A = พื้นที่ผิวของตัวอย่าง (ตารางเมตร)

### ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ (Water vapor permeability, WVP)

$$\text{WVP (g}\cdot\text{m/Pa}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^2) = \frac{\text{WVTR} \times L}{\Delta P} = \frac{\text{WVTR} \times L}{S(R_1 - R_2)}$$

โดยที่ S = ค่าความดันไอน้ำอิ่มตัวที่อุณหภูมิในเดซิเคเตอร์ (Pa) ที่ 30 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 4245.50

R<sub>1</sub> = ค่าความชื้นสัมพัทธ์ที่ 75% = 0.75

R<sub>2</sub> = ค่าความชื้นสัมพัทธ์ที่ 0% = 0

L = ความหนาเฉลี่ยของแผ่นฟิล์ม (เมตร)

#### 3.2.11.4 ศึกษาอัตราการดูดซับน้ำของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส (Juncu *et al.*, 2016)

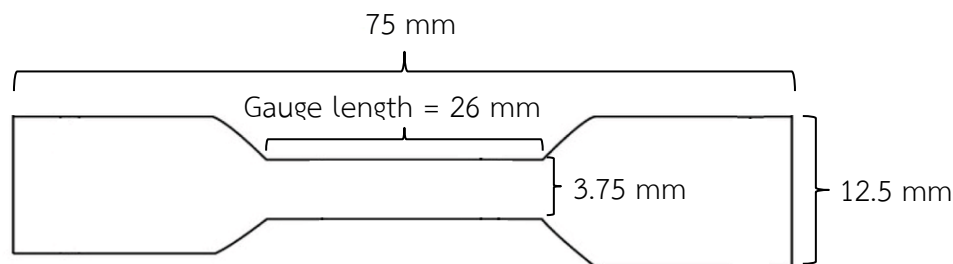
ศึกษาอัตราการดูดซับน้ำของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่คัดเลือกได้ โดยตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 20.00 x 20.00 มิลลิเมตร ชั่งน้ำหนัก บันทึกให้เป็นน้ำหนักแผ่นแห้ง จากนั้นจุ่มแผ่นแห้งลงใน Phosphate buffer พีเอช 7.4 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 0.08 0.17 0.33 0.67 1 1.5 2 4 8 16 24 40 และ 48 ชั่วโมง นำแผ่นฟิล์มซับน้ำส่วนเกินออกจากผิวหน้าด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 และนำไปชั่งน้ำหนักจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักเป็นน้ำหนักแผ่นเปียก ในแต่ละช่วงเวลาที่ใช้ในสารละลาย Phosphate buffer นำน้ำหนักที่บันทึกได้มาคำนวณอัตราการดูดซับน้ำของแผ่นฟิล์ม ดังสมการ

$$\text{อัตราการดูดซับน้ำของแผ่นฟิล์ม} = \frac{\text{น้ำหนักของแผ่นฟิล์มเปียก (กรัม)} - \text{น้ำหนักของแผ่นฟิล์มแห้ง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของแผ่นฟิล์มแห้ง (กรัม)}}$$

#### 3.2.12 ศึกษาสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส

ศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่เลือกได้ โดยศึกษาค่าความแข็งแรงดึง (Tensile strength) ค่ามอดูลัสของยัง (Young's Modulus) และค่าการยืด ณ จุดขาด (Elongation at break) ด้วยเครื่อง Materials testing machine ทดสอบ ณ อุณหภูมิห้อง ตามมาตรฐาน ASTM D882 ในการทดสอบใช้ Load cell ขนาด 100 นิวตัน ตั้งค่า Preload 0.5 นิวตัน อัตราเร็วในการดึงตัวอย่างเท่ากับ 50 มิลลิเมตรต่อนาที โดยเตรียมตัวอย่างทดสอบในรูปของดัมเบลล์ ดังรูปที่ 3.2 ความยาวระยะจับชิ้นงาน (Gauge length) 26 มิลลิเมตร ทดสอบที่สภาวะความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 100 เตรียมโดยใช้น้ำกลั่นใส่ในบีกเกอร์ตั้งในเดซิเคเตอร์ที่มีแผ่นฟิล์มตัวอย่าง เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อน

นำมาทดสอบ ทำการทดสอบชุดละ 10 แผ่น และเลือกค่าที่ใกล้เคียงกันจำนวน 7 ค่า ไปวิเคราะห์ทางสถิติ



รูปที่ 3.3 ตัวอย่างชิ้นงานรูปดัมเบลล์

### ค่าความแข็งแรงดึง (Tensile strength)

$$\text{ค่าความแข็งแรงดึง (นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร)} = \frac{F}{A}$$

โดยที่ F = แรงดึงสูงสุดก่อนชิ้นงานเกิดการแตกหัก (นิวตัน)

A = พื้นที่หน้าตัดเริ่มต้นของชิ้นงานที่จะทดสอบ (ตารางมิลลิเมตร)

$$A = W \times T$$

W = ความกว้างของชิ้นงานที่ใช้ทดสอบ

T = ความหนาของชิ้นงานที่ใช้ทดสอบ

### ค่ามอดูลัสของยัง (Young's modulus)

$$\text{ค่ามอดูลัสของยัง (นิวตันต่อตารางมิลลิเมตร)} = \frac{\text{ความเค้น}}{\text{ความเครียด}}$$

### ร้อยละการยืด ณ จุดขาด (%Elongation at break)

$$\text{ร้อยละการยืด ณ จุดขาด} = \frac{(L_1 - L_0)}{L_0} \times 100$$

โดยที่ L<sub>1</sub> = ระยะห่างระหว่างหัวจับชิ้นงานหลังทำการดึงชิ้นงาน ณ จุดขาด

L<sub>0</sub> = ระยะห่างระหว่างหัวจับชิ้นงานก่อนดึงชิ้นงาน (Gauge length)

#### 3.2.13 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยมีชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ โดยนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 ผลของการสกัดสารจากเปลือกมังคุดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95

จากการสกัดสารจากเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 โดยใช้วิธีการสกัดสารซ้ำ 2 ครั้ง และเก็บสารละลายที่ได้ทั้ง 2 รอบมารวมกัน รวมระยะเวลาในการสกัดสารทั้งหมด 14 วัน ค่าผลผลิตของสารสกัดหยาบที่สกัดเย็นด้วยเอทานอลร้อยละ 95 คิดเป็นร้อยละ  $21.69 \pm 0.96$  และมีปริมาณสารออกฤทธิ์แทนนินร้อยละ  $12.21 \pm 0.54$  ของน้ำหนักแห้งเปลือกมังคุด หรือคิดเป็นร้อยละ  $56.30 \pm 0.01$  ของน้ำหนักสารสกัดหยาบ ดังตารางที่ 4.1 สารสกัดที่ได้มีลักษณะขุ่นหนืด มีสีน้ำตาลแดงเข้ม สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yoswathana and Eshlaghi (2015) การสกัดสารจากเปลือกมังคุดแบบการสกัดเย็นโดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย เป็นเวลา 30 นาที สามารถสกัดแทนนินจากผลเปลือกมังคุดได้ร้อยละ 2.81 เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการหมักเป็น 2 ชั่วโมง ปริมาณแทนนินที่สกัดได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 3.16 เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Taokaew *et al.*, (2018) ที่ใช้วิธีการสกัดสารจากเปลือกมังคุดด้วยวิธีสกัดเย็น โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 ในสถานะเขย่านาน 3 วัน ให้ผลผลิตของสารสกัดหยาบคิดเป็นร้อยละ  $8.8 \pm 1.5$  ของน้ำหนักแห้งเปลือกมังคุด ซึ่งการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดสารมีผลทำให้สกัดสารออกฤทธิ์ได้มากขึ้น ในขณะที่เดียวกันการสกัดด้วยน้ำในสถานะที่ใช้ความร้อนถึง 180 องศาเซลเซียส และให้ความดันร่วมด้วย เป็นเวลา 150 นาที ให้ผลผลิตของแทนนินร้อยละ 3.4 ของน้ำหนักแห้งของเปลือกมังคุด (Machmudah *et al.*, 2014) ส่วนสารอนุพันธ์ของแทนนินที่พบมากคือสารอัลฟาแมงโกสติน จากการรายงานของ Satong-aun *et al.*, (2011) ที่ใช้วิธีการสกัดเย็นโดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 ที่อุณหภูมิห้อง และสถานะเขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 วัน มีปริมาณสารอัลฟาแมงโกสตินร้อยละ  $40.32 \pm 0.24$  ของสารสกัดหยาบ สำหรับการสกัดสารด้วยวิธีสกัดเย็นสามารถใช้ตัวทำละลายได้หลายชนิดขึ้นกับความเหมาะสมในการใช้งาน จากงานวิจัยของ Pothitirat *et al.*, (2010) สกัดสารจากเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทานอล และน้ำ ซึ่งไดคลอโรมีเทนสามารถสกัดสารสำคัญออกมามากที่สุด รองลงมาคือเอทานอล เฮกเซน และน้ำ ถึงแม้ว่าไดคลอโรมีเทนจะมีศักยภาพในการสกัดสารสำคัญออกมาได้มาก แต่ความเป็นพิษของตัวทำละลาย จึงนิยมใช้เอทานอลซึ่งมีความเป็นพิษต่ำ และมีราคาถูก ในทางเภสัชภัณฑ์

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารสกัดหยาบและสารออกฤทธิ์แทนนินที่สกัดเย็นด้วยเอทานอลร้อยละ 95

สารสกัดจากเปลือกมังคุด	ปริมาณ (ร้อยละ)
ผลได้ของสารสกัดหยาบ (สารสกัดหยาบ/ผงเปลือกมังคุด)	$21.69 \pm 0.96$
ผลได้ของสารออกฤทธิ์แทนนิน (แทนนิน/สารสกัดหยาบ)	$56.30 \pm 0.01$
ผลได้ของสารออกฤทธิ์แทนนิน (แทนนิน/ผงเปลือกมังคุด)	$12.21 \pm 0.54$

## 4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion method

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเบื้องต้น โดยเลือกทดสอบกับแบคทีเรียทั้งหมด 10 สายพันธุ์ดังนี้ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 1248, *Micrococcus luteus* ATCC 9431, *Salmonella Typhimurium* TISTR 1469, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27859, *Serratia marcescens* TISTR 1354, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 และ *Escherichia coli* ATCC 25922 ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่มักพบในบาดแผลบนชั้นผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน รวมถึงบาดแผลไฟไหม้ที่มีลักษณะของบาดแผลเอื้อต่อการติดเชื้อ และแบคทีเรียบางชนิดที่เป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อ รวมทั้งยังเป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยอยู่แล้วบนผิวหนัง (Eades *et al.*, 2017; Agnihotri *et al.*, 2004; Alharbi *et al.*, 2014)

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียเบื้องต้นด้วยวิธี Disk diffusion โดยใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.563, 0.781, 0.391 และ 0.195 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร แล้ววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่สารสกัดยับยั้งได้ภายหลังจากบ่มครบ 24 ชั่วโมง โดยวัดรวมขนาดของแผ่นดิสก์ 6 มิลลิเมตร แสดงผลดังตารางที่ 4.2 และ 4.3 และรูปที่ 4.1 และ 4.2 พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ดี คือ *Micrococcus luteus* ATCC 9431, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 1248, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มีบริเวณยับยั้งสูงสุดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร เท่ากับ  $10.49 \pm 0.28$ ,  $10.51 \pm 0.14$ ,  $8.00 \pm 0.58$ ,  $10.59 \pm 0.11$  และ  $11.29 \pm 0.50$  มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับความเข้มข้นอื่นๆ และไม่แสดงฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในช่วงความเข้มข้น 0.195-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร ซึ่งความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจะลดลงตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัด สอดคล้องกับงานวิจัยของพรเทพ (2554) สารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่ทดสอบได้ รวมถึงเชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ MRSA ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ดื้อยาปฏิชีวนะ แต่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบที่ความเข้มข้นของสารสกัด 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร เช่น *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Klebsiella pneumoniae* นอกจากนี้สารออกฤทธิ์ในกลุ่มแซนโทนยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ต้าน methicillin (Phoung *et al.*, 2017) เช่นเดียวกับ Lim *et al.*, (2013) ที่ศึกษาฤทธิ์ของแอนติออกซิแดนซ์และฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* แต่ไม่ยับยั้ง *Escherichia coli* อีกทั้งปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์ของเปลือกมังคุดมีมากกว่าเนื้อมังคุด และเฉลี่ยถึง 27 และ 8.6 เท่า ตามลำดับ นอกจากนี้เชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ที่สารสกัดเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งได้แล้ว สารสกัดจากมังคุดยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดสิว คือ *P. acnes* แต่ไม่ยับยั้ง *E. coli* และ *C. albicans* (ณัฐวุฒิ, 2553) และจากการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัด พบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีความ

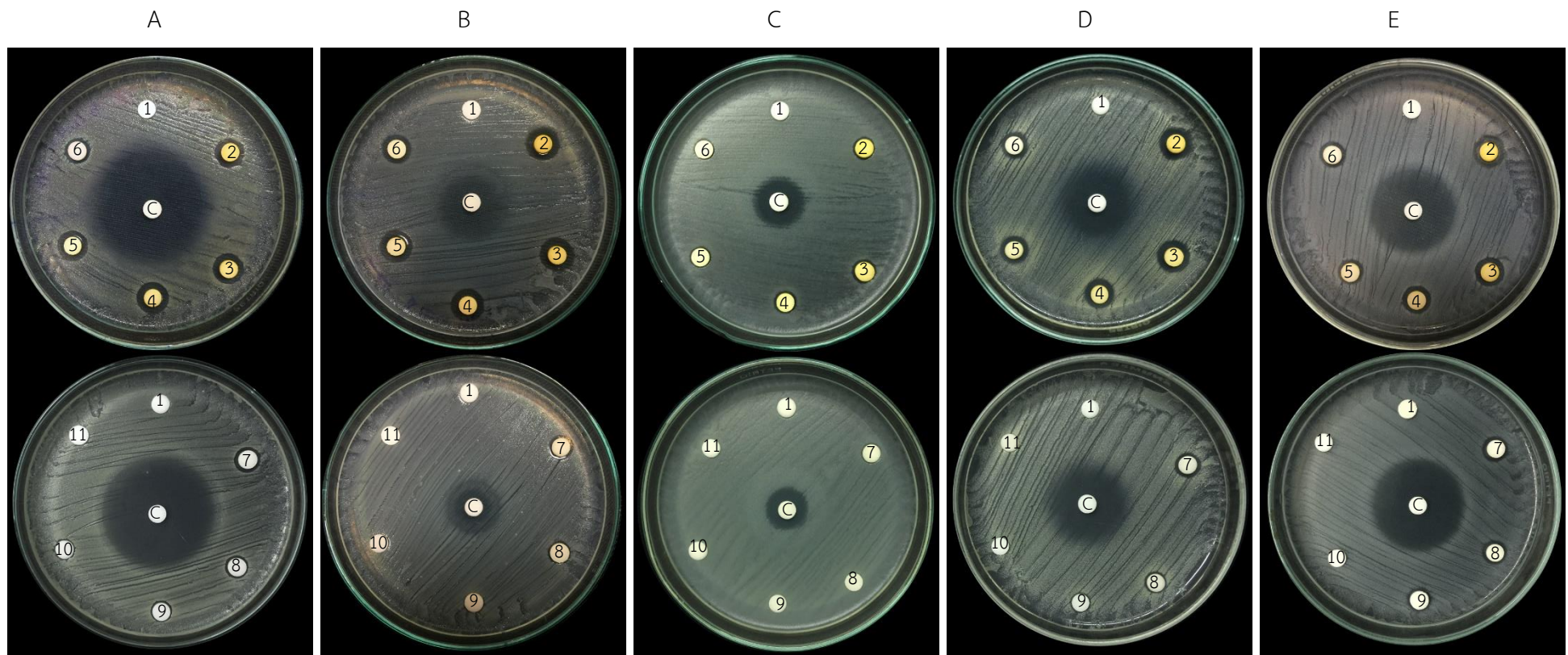
ซับซ้อนมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก มีชั้นของเปปติโดไกลแคนบางกว่าในแบคทีเรียแกรมบวก ถัดจากชั้นเปปติโดไกลแคนของแบคทีเรียแกรมลบจะมีเยื่อหุ้มชั้นนอก (Outer membrane) ซึ่งไม่พบในแบคทีเรียแกรมบวก โดยจะเชื่อมกับชั้นเปปติโดไกลแคนด้วย Braun's lipoprotein ทำให้ชั้นเปปติโดไกลแคนมีความแข็งแรง ชั้น Outer membrane นี้ยังมีโปรตีนที่มีบทบาทในการควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร ทำให้แบคทีเรียแกรมลบมีความสามารถต้านยาปฏิชีวนะ หรือป้องกันสารจากภายนอกเซลล์เข้ามาในเซลล์ได้ (Nazzaro *et al.*, 2013)

ตารางที่ 4.2 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกด้วยวิธี Disk diffusion โดยใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.195-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Clear zone) มิลลิเมตร ± SD.				
	<i>M. luteus</i> ATCC 9431	<i>B. cereus</i> DMST 5040	<i>B. subtilis</i> TISTR 1248	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228
100	10.49±0.28 <sup>b</sup>	10.51±0.14 <sup>b</sup>	8.00±0.58 <sup>b</sup>	10.59±0.11 <sup>b</sup>	11.29±0.50 <sup>b</sup>
50	10.35±0.25 <sup>b</sup>	10.35±0.25 <sup>bc</sup>	7.80±0.17 <sup>bc</sup>	10.28±0.42 <sup>b</sup>	10.49±0.19 <sup>c</sup>
25	10.26±0.13 <sup>b</sup>	10.20±0.14 <sup>c</sup>	7.74±0.46 <sup>bc</sup>	10.28±0.64 <sup>b</sup>	9.73±0.24 <sup>d</sup>
12.5	9.21±0.11 <sup>c</sup>	10.18±0.12 <sup>c</sup>	7.44±0.50 <sup>bcd</sup>	9.79±0.10 <sup>c</sup>	9.34±0.14 <sup>d</sup>
6.250	8.85±0.06 <sup>d</sup>	9.76±0.22 <sup>d</sup>	7.22±0.37 <sup>cd</sup>	8.82±0.28 <sup>d</sup>	8.28±0.21 <sup>e</sup>
3.125	8.41±0.23 <sup>e</sup>	8.16±0.37 <sup>e</sup>	6.97±0.45 <sup>d</sup>	8.22±0.22 <sup>e</sup>	8.01±0.62 <sup>e</sup>
1.563	8.15±0.07 <sup>e</sup>	7.31±0.16 <sup>f</sup>	6.00±0.00 <sup>e</sup>	7.30±0.17 <sup>f</sup>	7.95±0.42 <sup>e</sup>
0.781	7.37±0.08 <sup>f</sup>	6.00±0.00 <sup>g</sup>	6.00±0.00 <sup>e</sup>	6.67±0.13 <sup>g</sup>	7.33±0.65 <sup>f</sup>
0.391	6.56±0.30 <sup>g</sup>	6.00±0.00 <sup>g</sup>	6.00±0.00 <sup>e</sup>	6.00±0.00 <sup>h</sup>	6.00±0.00 <sup>g</sup>
0.195	6.00±0.00 <sup>h</sup>	6.00±0.00 <sup>g</sup>	6.00±0.00 <sup>e</sup>	6.00±0.00 <sup>h</sup>	6.00±0.00 <sup>g</sup>
เอทานอลร้อยละ 95	6.00±0.00 <sup>h</sup>	6.00±0.00 <sup>g</sup>	6.00±0.00 <sup>e</sup>	6.00±0.00 <sup>h</sup>	6.00±0.00 <sup>g</sup>
Clindamycin 0.05 mg/mL	33.00±0.43 <sup>a</sup>	15.64±0.09 <sup>a</sup>	14.69±0.40 <sup>a</sup>	25.28±0.30 <sup>a</sup>	28.51±0.19 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : แผ่นดิสก์มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6.00 มิลลิเมตร

พิจารณาในแถวแนวตั้ง อักขรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)



รูปที่ 4.1 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด (A) *Micrococcus luteus* ATCC 9431 (B) *Bacillus cereus* DMST 5040 (C) *Bacillus subtilis* TISTR 1248 (D) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (E) *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

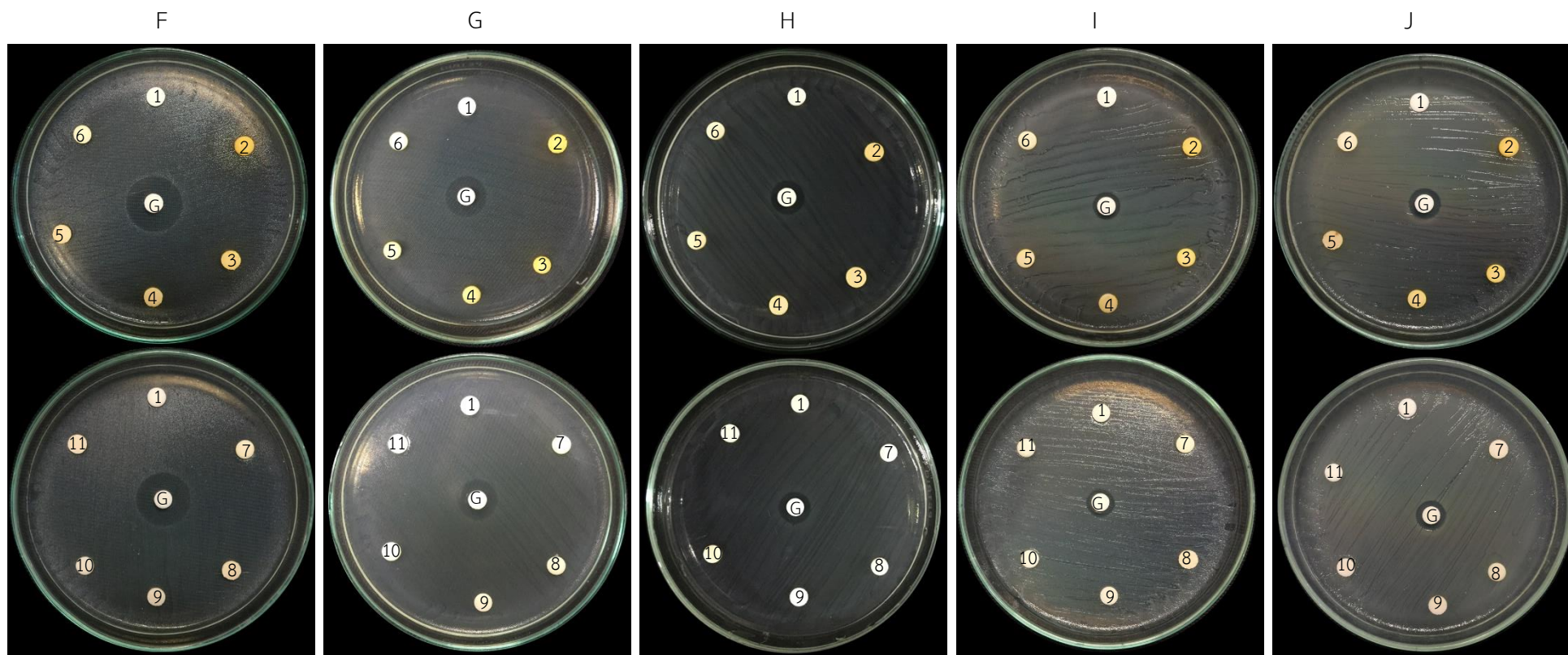
หมายเหตุ : 1 = เอทานอลร้อยละ 95, 2 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 100 mg/mL, 3 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 50 mg/mL 4 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 25 mg/mL, 5 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 12.5 mg/mL, 6 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 6.250 mg/mL, 7 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 3.125 mg/mL, 8 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.563 mg/mL, 9 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.781 mg/mL, 10 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.391 mg/mL, 11 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.195 mg/mL และ C = Clindamycin ความเข้มข้น 0.05 mg/mL

ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบด้วยวิธี Disk diffusion โดยใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.195-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Clear zone) มิลลิเมตร ± SD.				
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. Typhimurium</i> TISTR 1469	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27859	<i>S. marcescens</i> TISTR 1354	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883
100	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>
50	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>
25	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>
12.5	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>
6.250	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>
3.125	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>
1.563	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>
0.781	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>
0.391	6.00±0.30 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>
0.195	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>
เอทานอลร้อยละ 95	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>	6.00±0.00 <sup>b</sup>
Gentamicin 0.05 mg/mL	20.50±0.48 <sup>a</sup>	14.21±0.19 <sup>a</sup>	10.35±0.13 <sup>a</sup>	11.26±0.14 <sup>a</sup>	12.57±0.30 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : แผ่นดิสก์มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6.00 มิลลิเมตร

พิจารณาในแถวแนวตั้ง อักขรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )



รูปที่ 4.2 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด (F) *E. coli* ATCC 25922 (G) *S. Typhimurium* TISTR 1469 (H) *P. aeruginosa* ATCC 27859 (I) *S. marcescens* TISTR 1354 (J) *K. pneumoniae* ATCC 13883

หมายเหตุ : 1 = เอทานอลร้อยละ 95, 2 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 100 mg/mL, 3 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 50 mg/mL 4 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 25 mg/mL, 5 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 12.5 มิว mg/mL, 6 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 6.250 mg/mL, 7 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 3.125 mg/mL, 8 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.563 mg/mL, 9 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.781 mg/mL, 10 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.391 mg/mL, 11 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.195 mg/mL และ G = Gentamicin ความเข้มข้น 0.05 mg/mL

#### 4.3 ผลการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) โดยวิธี Colorimetric broth microdilution

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี disk diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบ จึงนำมาทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Colorimetric broth microdilution ที่มีสารละลาย Resazurin เป็นอินดิเคเตอร์ ใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.250, 3.125, 1.563, 0.781, 0.391, 0.195, 0.098, 0.049, 0.024, 0.012, 0.006, 0.003, 0.002 และ 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการทดลองแสดงผลดังตารางที่ 4.4 สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 5 ชนิดที่นำมาทดสอบ แต่ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับการทดสอบโดยใช้วิธี Disk diffusion ในหัวข้อ 4.2 จุฑามาศ (2554) รายงานว่าการใช้สารสกัดเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ แต่ความเข้มข้นของสารสกัดเมื่อใช้ร่วมกับแผ่นเซลลูโลสและมีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ในระดับที่ยอมรับได้ คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรลงไป ดังนั้นในการใช้สารสกัดที่มีความเข้มข้นสูงจึงต้องคำนึงถึงระดับความเป็นพิษต่อเซลล์ร่วมด้วย จากการทดลองนี้ค่า MIC หรือความเข้มข้นต่ำสุดที่ 0.049 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 9431 และ *Bacillus cereus* DMST 5040 ความเข้มข้น 0.098 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้ง *Bacillus subtilis* TISTR 1248 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และความเข้มข้น 0.195 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้ง *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pothitirat *et al.*, (2009; 2010) เมื่อนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 มาทดสอบหาค่า MIC ต่อ *P. acnes* และ *S. epidermidis* พบว่ามีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.007-0.015 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับ Koh *et al.*, (2013) สารสกัดจากมังคุดสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกคือ *S. aureus* และ *B. cereus* มีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.00078-0.0125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และงานวิจัยของ Priya *et al.*, (2010) แสดงค่า MIC ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* *Micrococcus luteus* และ *Staphylococcus albus* คือ 0.2 0.05 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในการอ่านผล MIC ด้วยวิธี Colorimetric broth microdilution จะสังเกตการมีชีวิตของเซลล์ เนื่องจาก Resazurin จะเปลี่ยนสีเมื่อถูกรีดิวซ์ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ ซึ่งเซลล์ที่ยังมีชีวิตจะมีเอนไซม์ Dehydrogenase โดย Resazurin จะรับอิเล็กตรอนจาก NADH แล้วเปลี่ยนเป็น Resorufin ซึ่งจะมีสีชมพู (Elshikh *et al.*, 2016)

ตารางที่ 4.4 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ โดยใช้วิธี Colorimetric broth microdilution

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	MIC									
	<i>M. luteus</i> ATCC 9431	<i>B. cereus</i> DMST 5040	<i>B. subtilis</i> TISTR 1248	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. Typhimurium</i> TISTR 1469	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27859	<i>S. marcescens</i> TISTR 1354	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883
100	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
50	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
25	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
12.5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
6.250	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
3.125	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
1.563	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
0.781	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
0.391	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
0.195	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
0.098	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
0.049	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
0.024	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.012	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

ตารางที่ 4.4 (ต่อ) ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ โดยใช้วิธี Colorimetric broth microdilution

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	MIC									
	<i>M. luteus</i> ATCC 9431	<i>B. cereus</i> DMST 5040	<i>B. subtilis</i> TISTR 1248	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. Typhimurium</i> TISTR 1469	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27859	<i>S. marcescens</i> TISTR 1354	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883
0.006	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.003	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.002	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Positive control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Negative control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clindamycin 0.05 mg/mL	-	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND	ND
Gentamicin 0.05 mg/mL	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : + = มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย  
- = ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

Positive control = มีเชื้อแบคทีเรียในหลุมทดสอบ  
Negative control = ไม่มีเชื้อแบคทีเรียในหลุมทดสอบ

ND = ไม่ได้ทดสอบ

#### 4.4 ผลการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ (MBC)

จากการทดสอบหาค่า MBC นำหุ้มน้ำที่ไม่พบการเจริญของเชื้อในขั้นตอน MIC หรือหุ้มน้ำที่ไม่มีการเปลี่ยนสีของ Resazurin (หัวข้อที่ 4.3) มาเพาะเชื้อบนอาหาร MHA ด้วยเทคนิค Streak plate และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่นำมาใช้ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นบนอาหาร บันทึกลงให้เป็นค่า MBC พบว่าเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 9431, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 1248, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มีค่า MBC เท่ากับ 0.391 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 4.5 ซึ่งคือค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 เมื่อนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบได้ และแบคทีเรียแกรมลบไม่ปรากฏค่า MBC เนื่องจากความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ตามการวิเคราะห์ในหัวข้อ MIC (หัวข้อที่ 4.3) จากการศึกษาของ นุศวัต และสมใจ (2010) เพื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Propionibacterium acnes* ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดเข้มข้น และใบบัวบก ค่า MBC ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดน้อยกว่าเข้มข้น และใบบัวบก เปลือกมังคุดจึงแสดงศักยภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Palakawong *et al.*, (2010) รายงานความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากส่วนต่างๆของมังคุดคือเปลือกผล ใบ และเปลือกไม้ ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งมีความไวต่อเปลือกผล และเปลือกไม้ของมังคุดมากกว่าส่วนของสารสกัดจากใบ แต่ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ

ตารางที่ 4.5 แสดงผลของการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ต่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.049-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	MBC				
	<i>M. luteus</i> ATCC 9431	<i>B. cereus</i> DMST 5040	<i>B. subtilis</i> TISTR 1248	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228
100	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-
12.5	-	-	-	-	-
6.250	-	-	-	-	-
3.125	-	-	-	-	-
1.563	-	-	-	-	-

ตารางที่ 4.5 (ต่อ) แสดงผลของการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ต่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.049-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้น ของสารสกัด (mg/mL)	MBC				
	<i>M. luteus</i> ATCC 9431	<i>B. cereus</i> DMST 5040	<i>B. subtilis</i> TISTR 1248	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228
0.781	-	-	-	-	-
0.391	-	-	-	-	-
0.195	+	+	+	+	+
0.098	+	+	+	+	+
0.049	+	+	+	+	+
Positive control	+	+	+	+	+
Negative control	-	-	-	-	-
Clindamycin 0.05 mg/mL	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : + = มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

- = ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

Positive control = มีเชื้อแบคทีเรียในหลุมทดสอบ

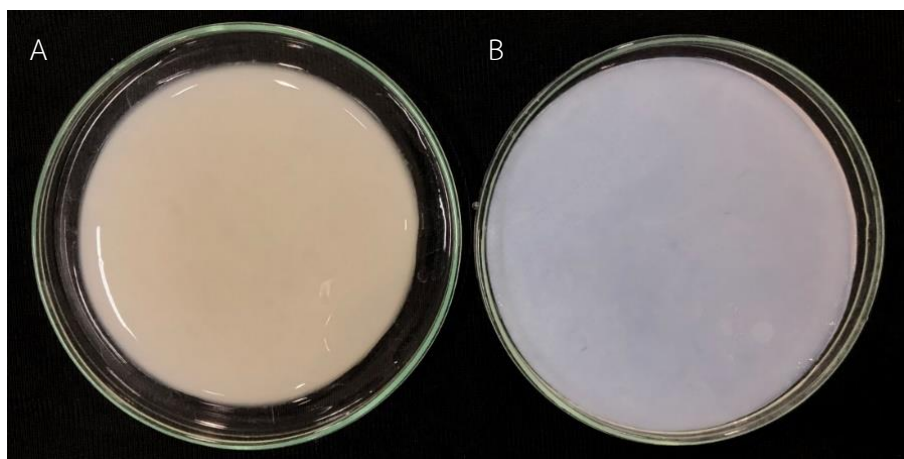
Negative control = ไม่มีเชื้อแบคทีเรียในหลุมทดสอบ

#### 4.5 การเตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด

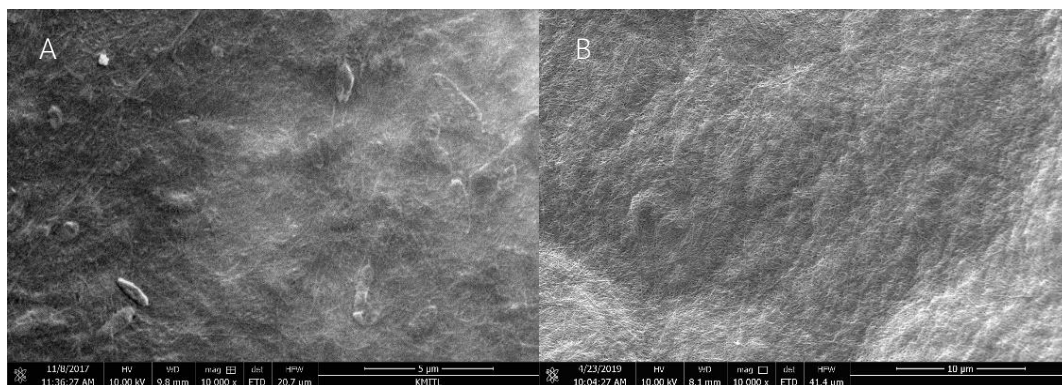
หมักแผ่นเซลลูโลสด้วยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ในสภาวะนิ่ง เมื่อครบ 5 วัน แผ่นเซลลูโลสจะมีลักษณะดังรูปที่ 4.3 (A) มีลักษณะเป็นวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 90 มิลลิเมตร วัดความหนาเฉลี่ยของแผ่นเซลลูโลสแบบเปียกโดยใช้ไมโครมิเตอร์วัด 10 จุด โดยทดสอบ 3 ซ้ำ แผ่นเซลลูโลสมีความหนาเฉลี่ย  $4.67 \pm 0.20$  มิลลิเมตร แผ่นเซลลูโลสที่ได้จะมีความยืดหยุ่นค่อนข้างมาก มีความอ้วนน้ำสูง มีสีค่อนข้างเหลืองเล็กน้อย เนื่องจากสีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในกระบวนการหมัก และมีกลิ่นของกรดอะซิติกจากกระบวนการหมักของเชื้อ จากนั้นเก็บแผ่นเซลลูโลสมาล้างน้ำ และรีดน้ำเพื่อกำจัดน้ำในแผ่นเซลลูโลสออก นำเซลลูโลสที่รีดน้ำแล้วแช่ลงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อกำจัดเซลล์แบคทีเรียและล้างโซเดียมไฮดรอกไซด์ออกด้วยการต้มในน้ำกลั่นเป็นเวลา 30 นาที เป็นขั้นตอนของการทำให้แผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์ ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสที่บริสุทธิ์แล้วจะมีสีขาว แผ่นเรียบ ดังรูปที่ 4.3 (B) แผ่นเซลลูโลสต้องไม่มีกลิ่นของกรดอะซิติกหลงเหลืออยู่ในแผ่น และเมื่อวัดความเป็นกรด-เบสของแผ่นเซลลูโลสจะต้องมีพีเอชเป็นกลาง

จากการศึกษาลักษณะพื้นฐานระหว่างแผ่นแห้งเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์และแผ่นแห้งเซลลูโลสที่ไม่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ ดังรูปที่ 4.4 (A) ปรากฏเซลล์ของแบคทีเรีย

แทรกอยู่ระหว่างเส้นใยเซลลูโลส โดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* จะสร้างเส้นใยออกมาผ่านรูพรุนที่ผนังเซลล์มากกว่า 100 รูพรุนตามยาว ขนานไปกับเซลล์ เส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นเส้นใยละเอียดสานกันเป็นโครงสร้างแบบตาข่าย (Aschner and Hestrin, 1946; Ross *et al.*, 1991) เซลลูโลสจากแบคทีเรียจะเรียงตัวกันเป็นร่างแหของเส้นใยละเอียด มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย 0.1 ไมโครเมตร เล็กกว่าเส้นใยของไม้ 100 เท่า (Toda *et al.*, 1997) เมื่อนำเซลลูโลสที่ผลิตได้ไปผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากแผ่นเซลลูโลสได้ ดังรูปที่ 4.4 (B) เช่นเดียวกับ Subtaweelin *et al.*, (2018) นำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปต้มและล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆรอบจนกระทั่งพีเอชเป็นกลาง เมื่อนำแผ่นแห้งเซลลูโลสไปดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนไม่พบลักษณะของเซลล์แบคทีเรียอยู่ในแผ่นเซลลูโลส สอดคล้องกับงานวิจัยของ O'Neill *et al.*, (2015) และ Alberto *et al.*, (2019) ที่นำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาทำให้บริสุทธิ์โดยการแช่แผ่นเซลลูโลสในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และล้างด้วยน้ำจืดพีเอชเป็นกลาง นอกจากการใช้วิธีดังกล่าวข้างต้น จุฑามาศ (2554) ศึกษาวิธีการเตรียมแผ่นเซลลูโลสให้บริสุทธิ์คือ การต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และการต้มในโซเดียมไฮดรอกไซด์จากนั้นฟอกด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ รวมถึงวิธีการแช่แผ่นเซลลูโลสในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งการแช่แผ่นเซลลูโลสในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นวิธีนิยมใช้ ทำให้แผ่นเซลลูโลสมีลักษณะทางกายภาพที่ดีที่สุดและสามารถกำจัดเซลล์แบคทีเรียได้ จากงานวิจัยของ Vingataramin and Frost (2015) ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสมในการใช้แตกผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งความเข้มข้น 0.2-0.25 M สามารถใช้แตกผนังเซลล์ได้ทั้งแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียแกรมบวก รวมถึงยีสต์ ซึ่งสารละลายต่างมีประสิทธิภาพในการแยกชั้นเปปติโดไกลแคนจากผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (Kovalenko and Levin, 2012)

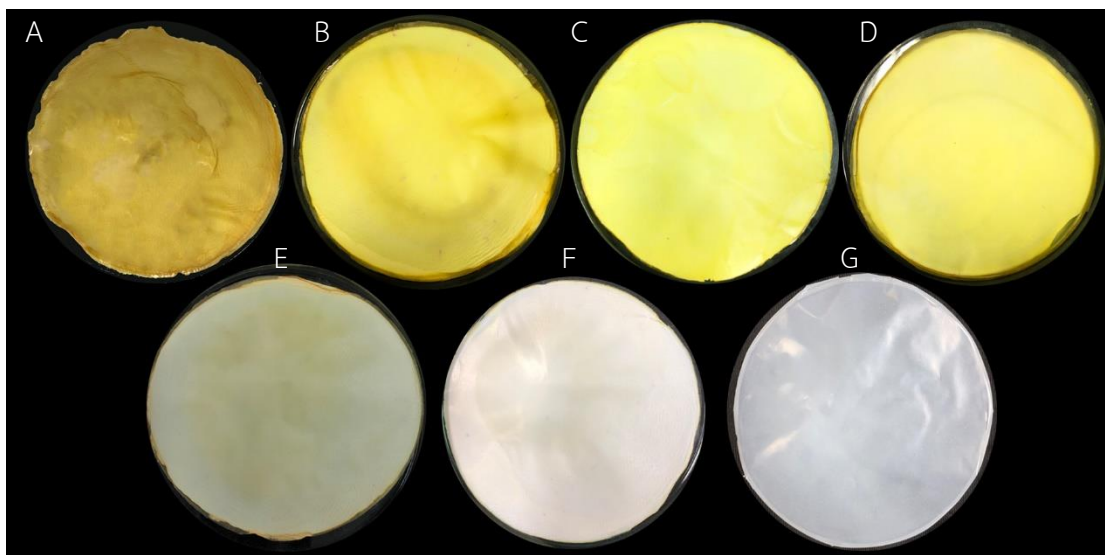


รูปที่ 4.3 (A) ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสก่อนทำให้บริสุทธิ์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และ (B) แผ่นเซลลูโลสที่กำจัดเซลล์แบคทีเรียด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1



**รูปที่ 4.4** ลักษณะสัณฐานของแผ่นเซลลูโลสแห่งที่ได้จากการผลิตโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope : SEM) ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า (A) แผ่นเซลลูโลสที่ไม่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ (B) แผ่นเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1

จากการทดสอบหาค่า MBC (หัวข้อ 4.4) เลือกความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกมังคุดที่เท่ากับค่า MBC และมากกว่าค่า MBC ขึ้นมา 5 ระดับ คือความเข้มข้น 0.391 0.781 1.563 3.125 6.250 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางสารสกัดให้มีความเข้มข้นข้างต้นด้วยเอทานอลร้อยละ 95 เพื่อใช้ร่วมกับแผ่นฟิล์มเซลลูโลส นำแผ่นเซลลูโลสที่กำจัดเซลล์แบคทีเรีย และฆ่าเชื้อแล้ว แช่สารสกัดเปลือกมังคุดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดในแต่ละความเข้มข้นแสดงดังรูปที่ 4.5 แผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดที่มีความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4.5 A) แผ่นเซลลูโลสมีสีเหลืองเข้มกว่าแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับความเข้มข้นอื่น บริเวณขอบแผ่นเซลลูโลสย่นและงอเล็กน้อย และมีสีไม่สม่ำเสมอตลอดทั้งแผ่น เมื่อลดความเข้มข้นของสารสกัดลง 2 เท่า คือความเข้มข้น 6.250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4.5 B) ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสมีสีเหลืองสม่ำเสมอมากขึ้น แต่ยังมีบริเวณที่มีสีเข้มไม่เท่ากัน ในขณะเดียวกันเมื่อลดความเข้มข้นลงให้มีความเข้มข้น 3.125 และ 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4.5 C และ D) ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสมีสีที่ค่อนข้างสม่ำเสมอตลอดทั้งแผ่น และเมื่อลดความเข้มข้นลงเหลือ 0.781 และ 0.391 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4.5 E และ F) แผ่นเซลลูโลสมีสีจางตามลำดับ เช่นเดียวกับ จุฬามาศ (2554) เมื่อนำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 12.50-0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แผ่นฟิล์มเซลลูโลสหลังจากทำแห้งด้วยวิธี Freeze-dried มีสีของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสไม่สม่ำเสมอเมื่อใช้ความเข้มข้นสูง เนื่องจากการละลายของสารสกัดที่ไม่สมบูรณ์ อนุภาคของสารสกัดที่มีความเข้มข้นสูงจึงมีมากกว่า ทำให้การกระจายตัวสารสกัดลดลงเมื่อเทียบกับการใช้สารสกัดที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า



รูปที่ 4.5 แผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น (A) 12.50 (B) 6.250 (C) 3.125 (D) 1.563 (E) 0.781 (F) 0.391 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ (G) แผ่นเซลลูโลสควบคุม

#### 4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธี Disk diffusion method

ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียโดยตัดแผ่นฟิล์มเซลลูโลสแห่งที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดทั้ง 6 ความเข้มข้น คือ 0.391 0.781 1.563 3.125 6.250 และ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร นำแต่ละแผ่นดิสก์วางบนอาหารแข็ง MHA ที่มีเชื้อที่ต้องการทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดังรูปที่ 4.6 และแสดงผลดังตารางที่ 4.6 เมื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสแห่ง แผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ไม่มีสารสกัดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียจึงไม่ปรากฏบริเวณยับยั้งรอบๆ เมื่อใช้แผ่นดิสก์เซลลูโลสที่มีสารสกัดจะปรากฏบริเวณยับยั้งรอบแผ่นดิสก์ เนื่องจากแผ่นดิสก์เซลลูโลสไม่มีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย แต่มีความสามารถในการดูดซับและปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ที่บรรจุอยู่ภายในออกสู่ภายนอกได้ (Gama *et al.*, 2013) แผ่นฟิล์มเซลลูโลสแห่งที่ความเข้มข้นของสารสกัด 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแสดงบริเวณยับยั้งเชื้อต่อแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 5 ชนิด คือ *Micrococcus luteus* ATCC 9431, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 1248, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 เท่ากับ  $12.12 \pm 0.67$   $10.80 \pm 0.27$   $9.85 \pm 0.44$   $11.65 \pm 0.79$  และ  $12.80 \pm 0.39$  มิลลิเมตร ตามลำดับ และความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเท่ากับค่า MBC สามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 9431, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ได้ ในขณะที่ *Bacillus subtilis* TISTR 1248 ต้องใช้แผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีความเข้มข้นของสารสกัด 0.781 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการยับยั้งการเจริญสอดคล้องกับงานวิจัยของ ณัฐวุฒิ (2553) เมื่อนำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอล แผ่นเซลลูโลสสามารถปลดปล่อยสารสกัดออกมายับยั้งการ

เจริญของเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *P. acnes* โดยปรากฏบริเวณใสโดยรอบแผ่นเซลลูโลส แต่ไม่ยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *C. albicans* ในขณะเดียวกันมีการรายงานถึงการนำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้เป็นวัสดุปิดแผล เช่น Tetracycline hydrochloride, Silver sulfadiazine, Ceftriaxone และ Silver nanoparticles ซึ่งแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถควบคุมและปลดปล่อยสารได้ค่อนข้างดี (Shao *et al.*, 2015; Shao *et al.*, 2016; Volova *et al.*, 2018; Lazarini *et al.*, 2016) จากนั้นคัดเลือกแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดที่มีความเข้มข้นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 5 ชนิดไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 โดยความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ทั้ง 5 ชนิดคือแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.781-12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

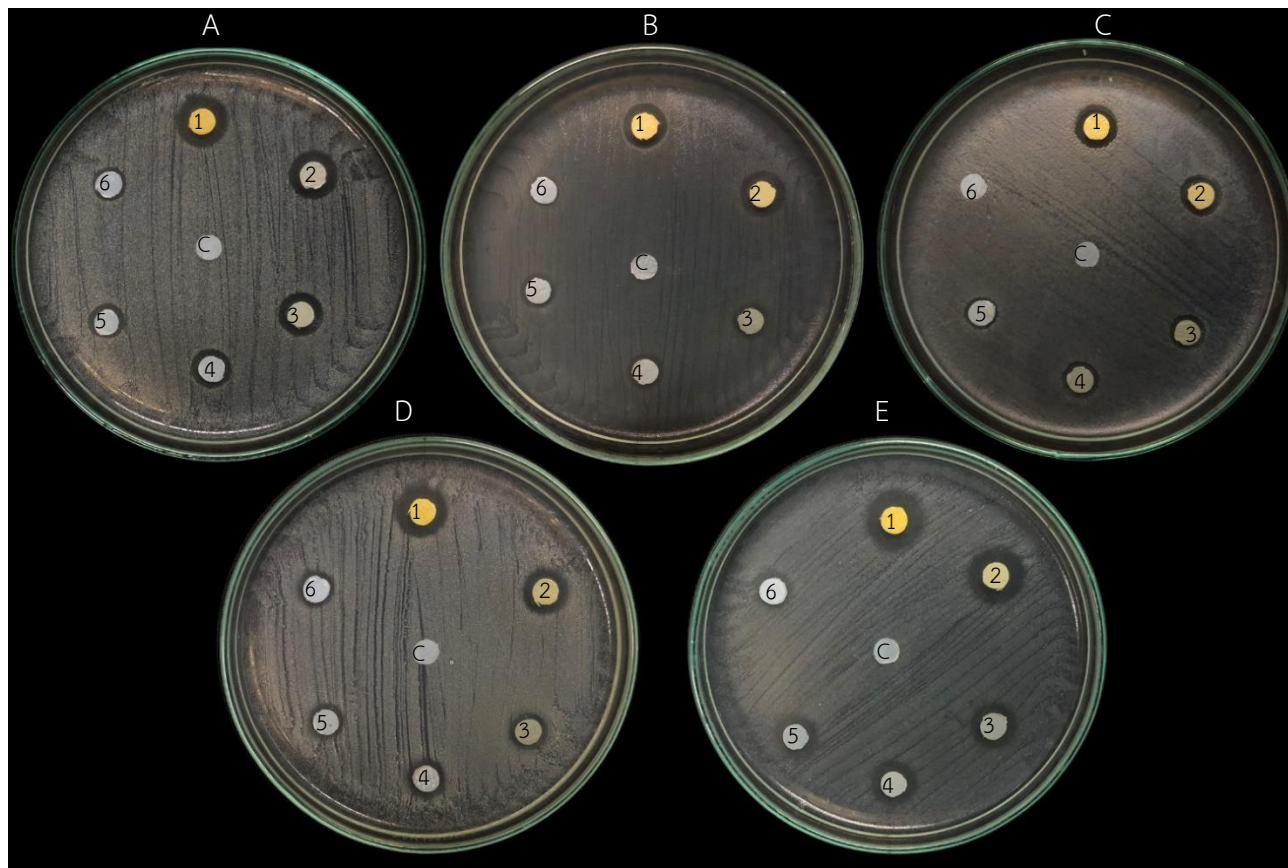
**ตารางที่ 4.6** แสดงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.391 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรถึง 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่นำมาใช้ร่วมกับเซลลูโลสจากแบคทีเรียและมีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/mL)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Clear zone) มิลลิเมตร $\pm$ SD.				
	<i>M. luteus</i> ATCC 9431	<i>B. cereus</i> DMST 5040	<i>B. subtilis</i> TISTR 1248	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228
12.50	12.12 $\pm$ 0.67 <sup>a</sup>	10.80 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	9.85 $\pm$ 0.44 <sup>a</sup>	11.65 $\pm$ 0.79 <sup>a</sup>	12.80 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>
6.250	11.20 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>	10.18 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>	9.51 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	10.77 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>	11.79 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>
3.125	10.23 $\pm$ 0.39 <sup>c</sup>	9.10 $\pm$ 0.92 <sup>b</sup>	8.61 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>	9.63 $\pm$ 0.71 <sup>c</sup>	10.81 $\pm$ 0.72 <sup>c</sup>
1.563	10.11 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	8.88 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>	8.08 $\pm$ 0.42 <sup>b</sup>	9.46 $\pm$ 0.21 <sup>cd</sup>	10.47 $\pm$ 0.23 <sup>cd</sup>
0.781	9.47 $\pm$ 0.41 <sup>d</sup>	7.73 $\pm$ 0.48 <sup>c</sup>	7.34 $\pm$ 0.32 <sup>c</sup>	8.70 $\pm$ 0.48 <sup>de</sup>	9.73 $\pm$ 0.51 <sup>d</sup>
0.391	8.40 $\pm$ 0.08 <sup>e</sup>	6.81 $\pm$ 0.18 <sup>d</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>	7.92 $\pm$ 0.24 <sup>e</sup>	8.85 $\pm$ 0.61 <sup>e</sup>
Control	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>f</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>d</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>f</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>f</sup>

หมายเหตุ : แผ่นดิสก์มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6.00 มิลลิเมตร

Control คือ แผ่นเซลลูโลสที่ไม่มีสารสกัดเปลือกมังคุด

พิจารณาในแถวแนวนอน อักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )



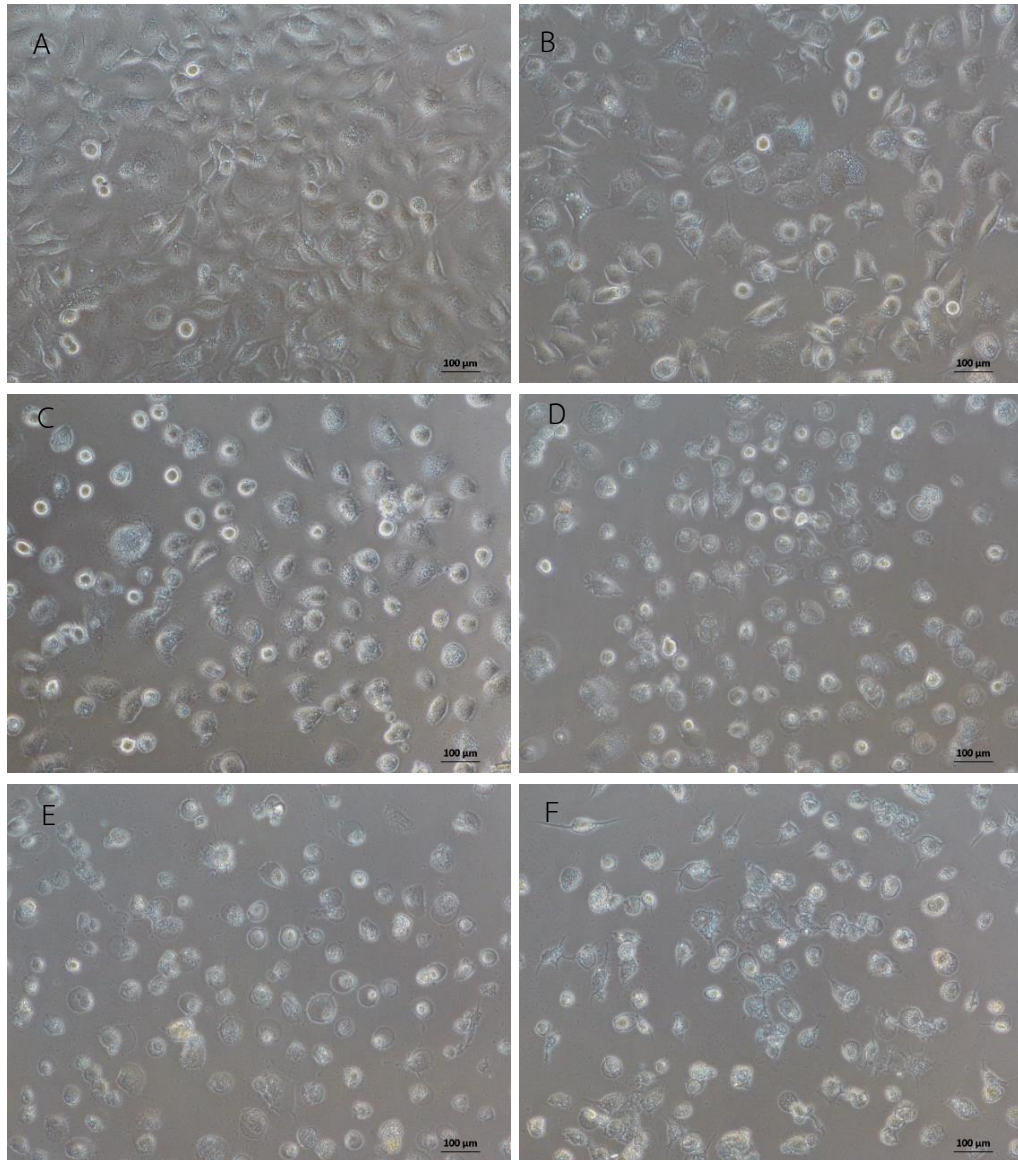
รูปที่ 4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยวิธี Disk diffusion method (A) *Micrococcus luteus* ATCC 9431 (B) *Bacillus cereus* DMST 5040 (C) *Bacillus subtilis* TISTR 1248 (D) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (E) *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228  
 หมายถึง : 1 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 12.5 mg/mL, 2 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 6.250 mg/mL, 3 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 3.125 mg/mL, 4 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.563 mg/mL, 5 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.781 mg/mL, 6 = สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.391 mg/mL และ C = แผ่นเซลลูโลสที่ไม่มีสารสกัด

#### 4.7 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด

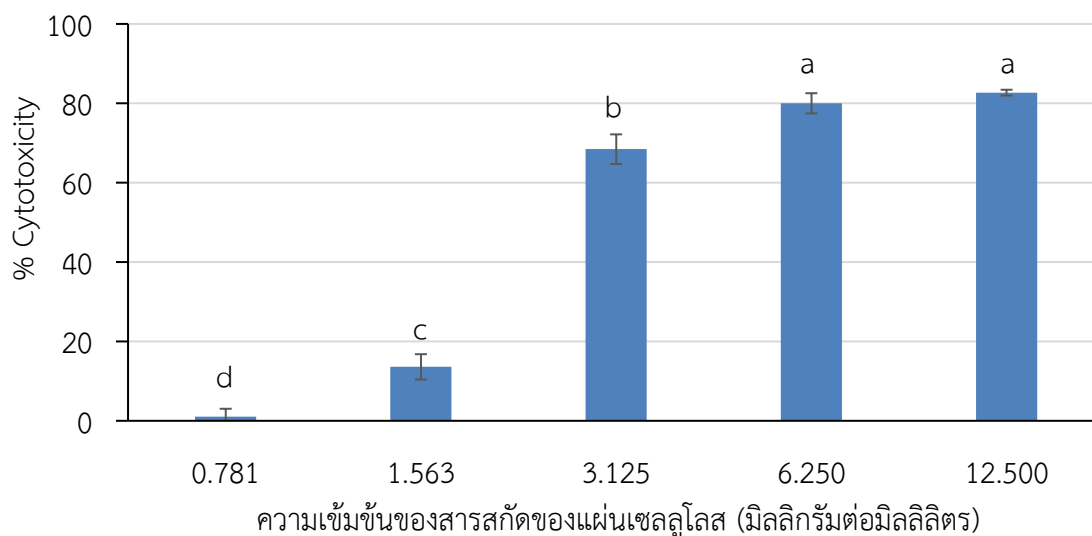
นำแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดและมีความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทุกชนิดในการทดลอง (หัวข้อ 4.6) มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มาจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน หรือเนื้อเยื่อที่เป็นโครงสร้างร่างกาย เป็นเซลล์ที่ยึดเกาะกับพื้นผิว มีรูปร่างบางยาวคล้ายกระสวย (Spindle shaped) (กัลยาณี และ นวลอนงค์, 2550) โดยหมักแผ่นตัวอย่างที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุดในอาหาร DMEM เพื่อสกัดสารออกจากแผ่นและนำมาใช้ทดสอบกับเซลล์ แผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.781 1.563 3.125 6.250 และ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) เท่ากับ  $1.00 \pm 0.73$   $13.60 \pm 2.54$   $68.45 \pm 3.74$   $80.01 \pm 3.19$  และ  $82.69 \pm 2.03$  ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 4.8 และเมื่อศึกษาลักษณะของเซลล์ไลน์ L929 ดังรูปที่ 4.7 (A) เซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนูที่มีสภาพสมบูรณ์จะมีรูปร่างเรียวยาวคล้ายกระสวย เมื่อบ่มเซลล์กับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.781 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 4.7 (B) เซลล์บางส่วนจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเล็กน้อย แต่ยังยึดเกาะกับพื้นผิวอยู่ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดในแผ่นเซลลูโลสเป็น 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 4.7 (C) เซลล์ไฟโบรบลาสต์บางส่วนจะเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นทรงกลมจากเดิมที่มีรูปร่างเป็นกระสวย และมีบางส่วนหลุดออกจากพื้นผิวที่ยึดเกาะ ที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 4.7 (D) เซลล์เปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นทรงกลมเกือบทั้งหมด ยังมีส่วนน้อยที่มีรูปร่างเป็นกระสวย เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 6.25 และ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 4.7 (E-F) เซลล์เปลี่ยนรูปร่าง และหลุดออกจากพื้นผิวที่ยึดเกาะเกือบทั้งหมด จากผลการทดลองเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดในแผ่นเซลลูโลสมากขึ้นจะพบถุงน้ำ (blebs) หรือเห็นวงใสรอบเซลล์ชัดเจน เกิดขึ้นกับกลไก Apoptosis ในเซลล์ เซลล์จะเกิดพองตัวหดตัวของโครมาติน และนิวเคลียสเกิดการแตกตัว เป็นกระบวนการกำจัดเซลล์ที่มีความผิดปกติ เซลล์ที่ติดเชื้อ หรือเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อรอบๆ (Wickman *et al.*, 2012)

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ยึดตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) ที่กำหนดขึ้นโดยรับกับ ISO 10993-5: 2009 Biological evaluation of medical devices -- Part 5: Tests for *in vitro* cytotoxicity กำหนดวิธีทดสอบเพื่อประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม กำหนดว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดลดลงร้อยละ 50 (ลดลง 2 เท่า) ต้องมีความเป็นพิษต่อเซลล์อย่างน้อยเท่ากับหรือน้อยกว่าสารสกัดร้อยละ 100 และถ้าความมีชีวิตรอดของเซลล์น้อยกว่าร้อยละ 70 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม นับว่าสารสกัดหรือวัสดุนั้นมีความเป็นพิษต่อเซลล์ จากการทดสอบด้วยวิธี MTT แผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ใช้ร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 12.50 6.250 และ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์หนูเกินกว่าที่มาตรฐาน ISO 10993-5: 2009 กำหนด จึงเลือกแผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นของสารสกัด 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่แสดงควมมีชีวิตรอดของเซลล์ร้อยละ 86.4 มาใช้ศึกษา ร่วมกับแผ่นเซลลูโลสชนิดต่างๆ ทั้งยังมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 9431, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 1248, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 สอดคล้องกับการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 ของพอลิพรอพิลีนที่เคลือบด้วยสารสกัดจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.01 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้ง 3 ความเข้มข้นที่ใช้ศึกษาไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู

(L929) (Ekabutr *et al.*, 2018) และ Boonmak *et al.*, (2018) เตรียมพอลิไวนิลอะซิเตทที่ผสมสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นร้อยละ 1 2 และ 3 เมื่อทดสอบกับเซลล์ไลน์ L929 เซลล์สามารถเจริญได้มากกว่าร้อยละ 80 ซึ่งนับว่าสารสกัดเปลือกมังคุดไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ L929



รูปที่ 4.7 ลักษณะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู (L929) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยทดสอบกับแผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น (B-F) 0.781 1.563 3.125 6.25 และ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ (A) เซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนูที่เป็นชุดควบคุม



**รูปที่ 4.8** ความเป็นพิษของสารสกัดจากเปลือกมังคุดเมื่อใช้ร่วมกับแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียต่อเซลล์ไฟโพรบลาสต์หนู (L929)

#### 4.8 การเตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลสชนิดต่างๆร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด

จากการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโพรบลาสต์ของหนู (L929) (หัวข้อ 4.7) เลือกแผ่นเซลลูโลสที่มีความเข้มข้นของสารสกัด 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมาใช้ในหัวข้อการศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากแผ่นเซลลูโลส โดยใช้วิธีการเตรียมแผ่นเซลลูโลสทั้งหมด 6 แบบ แบ่งเป็นแผ่นเซลลูโลสแบบเปียก (Never-dried state) และแบบแห้ง (Dry state) ดังนี้

วิธีที่ 1 แผ่นเซลลูโลสแบบเปียกที่แช่สารสกัด (BC-1)

วิธีที่ 2 แผ่นเซลลูโลสแบบเปียกที่แช่สารละลายไคโตซานและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนแช่สารสกัด (BC-2)

วิธีที่ 3 แผ่นเซลลูโลสแบบเปียกที่แช่สารละลายไคโตซานและทำแห้งในสภาวะสุญญากาศก่อนแช่สารสกัด (BC-3)

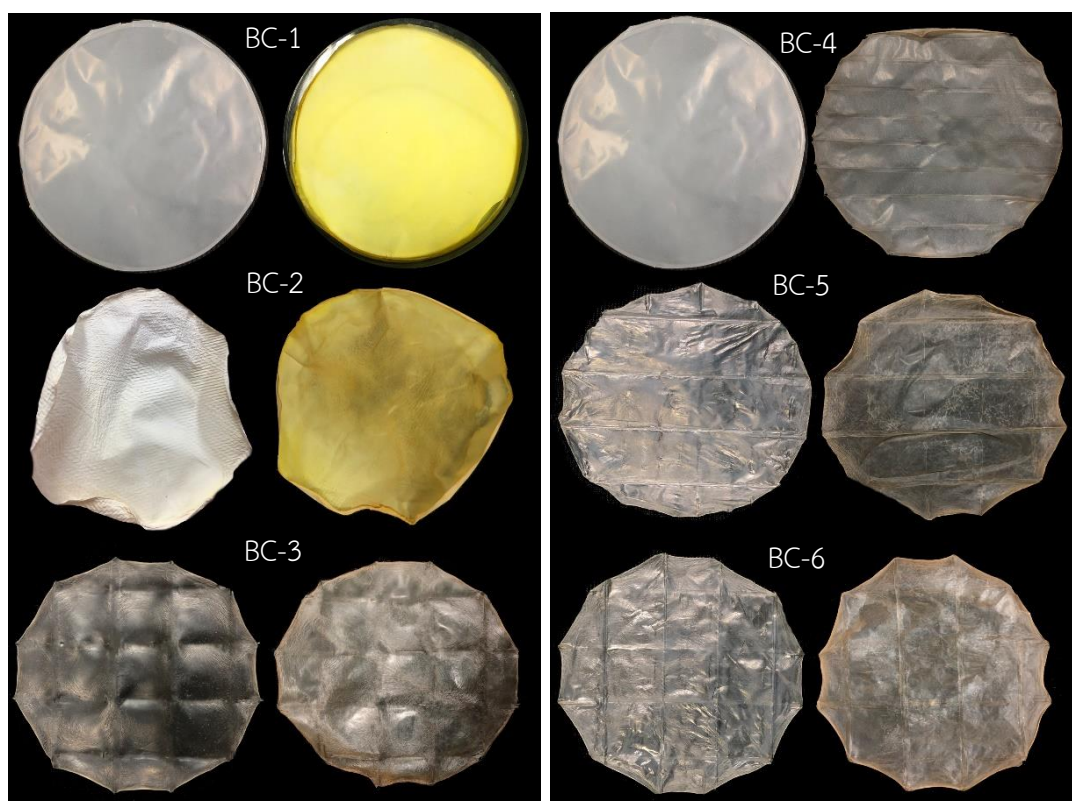
วิธีที่ 4 แผ่นเซลลูโลสแบบแห้งที่แช่สารสกัด (BC-4)

วิธีที่ 5 แผ่นเซลลูโลสแบบแห้งที่แช่สารละลายไคโตซานและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนแช่สารสกัด (BC-5)

วิธีที่ 6 แผ่นเซลลูโลสแบบแห้งที่แช่สารละลายไคโตซานและทำแห้งในสภาวะสุญญากาศก่อนแช่สารสกัด (BC-6)

จากนั้นนำทั้ง 6 แบบไปแช่ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และทำแห้งแบบสุญญากาศ ดังรูปที่ 4.9 (BC-1) แผ่นเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการทำแห้งมีสีขาว แผ่นเรียบ เมื่อนำแผ่นเซลลูโลสแบบเปียกมาแช่สารสกัดเปลือกมังคุดและทำแห้งในสภาวะสุญญากาศ มีลักษณะแผ่นเรียบ สีของสารสกัดค่อนข้างสม่ำเสมอตลอดทั้งแผ่น (BC-2) แผ่นเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการแช่ในสารละลายไคโตซานและนำไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แผ่นมีลักษณะไม่เรียบ บริเวณขอบย่นและหดงอ เมื่อใช้ร่วมกับสารสกัด สีของแผ่นเซลลูโลสมีสีเหลืองของ

สารสกัดตลอดทั้งแผ่น มีบางบริเวณที่ความเข้มข้นของสีต่างกัน (BC-3) แผ่นเซลลูโลสแบบเปียกที่นำมาแช่ในสารละลายโคโตซานจากนั้นนำไปทำแห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ แผ่นแห้งจะมีลักษณะเปราะง่าย เมื่อใช้ร่วมกับสารสกัดจะสังเกตเห็นว่าแผ่นเซลลูโลสมีสีเข้มขึ้น เมื่อศึกษาลักษณะของแผ่นเซลลูโลสแบบแห้ง (BC-4) แผ่นเซลลูโลสที่ทำแห้งจะมีลักษณะเรียบ เมื่อนำไปใช้ร่วมกับสารสกัดจะมีสีเข้มขึ้น และมีความเปราะ (BC-5 และ BC-6) แผ่นเซลลูโลสที่ทำแห้งและนำไปแช่ในสารละลายโคโตซาน มีลักษณะไม่เรียบตลอดทั้งแผ่น มีความเปราะง่าย เมื่อแผ่นเซลลูโลสทั้ง 2 แบบนำมาใช้ร่วมกับสารสกัดจะสังเกตเห็นสีของแผ่นที่เข้มขึ้น ลักษณะแผ่นเซลลูโลสค่อนข้างกรอบ และมีลักษณะโปร่งใส



รูปที่ 4.9 ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดและโคโตซาน ทั้ง 6 แบบ (BC-1 ถึง BC-6)

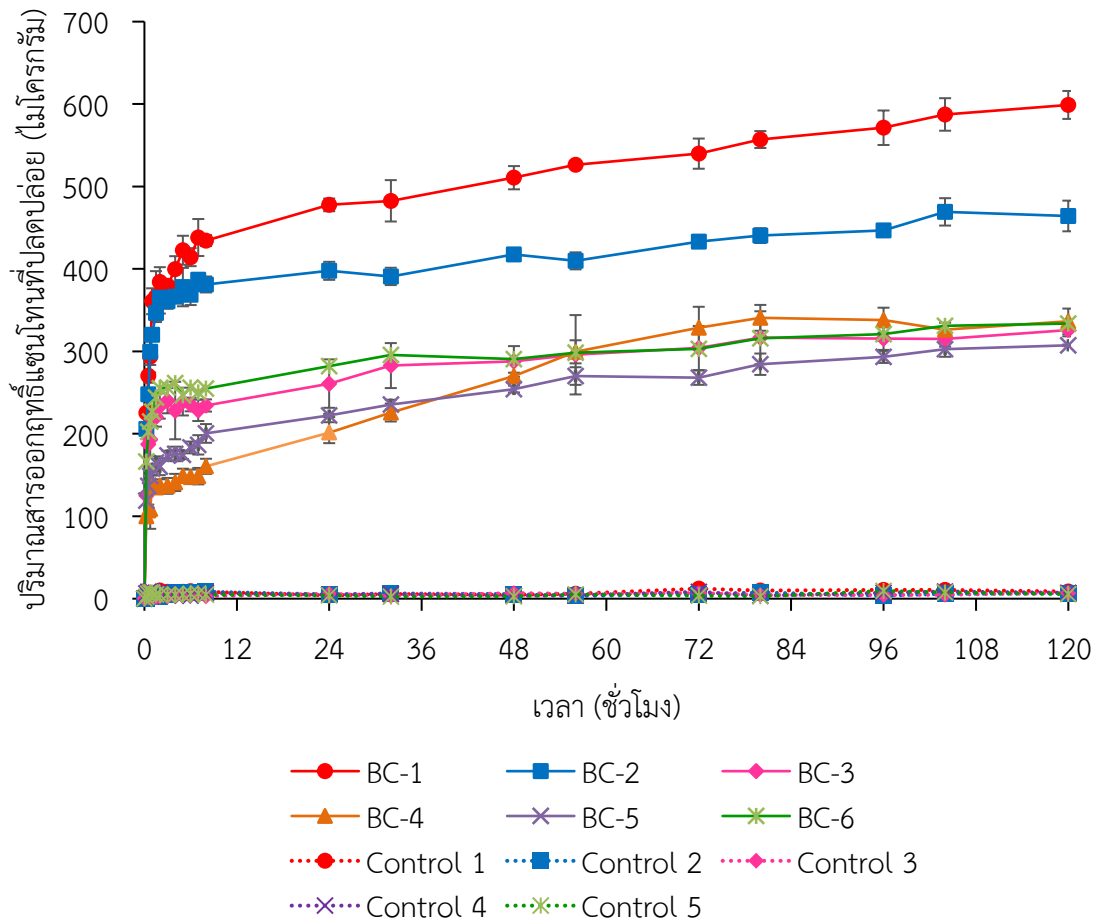
#### 4.9 ผลการศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากแผ่นเซลลูโลส

นำแผ่นเซลลูโลสทั้ง 6 แบบ จากหัวข้อที่ 4.8 มาศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ของสารสกัดเปลือกมังคุดคือแซนโทน โดยตัดแผ่นเซลลูโลสให้มีขนาด 40 x 40 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่นใส่ลงในพลาสติกที่มีสารละลาย PBS pH 7.4 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ควบคุมสภาวะเขย่า 50 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส วัดปริมาณแซนโทนที่ปลดปล่อยเป็นเวลา 120 ชั่วโมง แผ่นเซลลูโลส BC-1 BC-2 BC-3 BC-4 BC-5 และ BC-6 มีปริมาณสารออกฤทธิ์แซนโทนเริ่มต้นในแผ่นเซลลูโลสเท่ากับ 3,034.85 2,759.21 386.03 444.30 436.16 และ 339.33 ไมโครกรัม ตามลำดับ

ผลของการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์แสดงดังรูปที่ 4.10 โดยแผ่นเซลลูโลส BC-1 ถึง BC-6 สามารถปลดปล่อยสารอย่างรวดเร็วภายใน 8 ชั่วโมงแรก สำหรับแผ่นเซลลูโลส BC-1 ภายหลังจาก

การปลดปล่อยสารอย่างรวดเร็วใน 8 ชั่วโมงแรก แผ่นเซลล์โลสสามารถปลดปล่อยสารออกฤทธิ์เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลา 120 ชั่วโมง และแผ่นเซลล์โลส BC-2 ถึง BC-6 สามารถปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ได้อย่างช้าๆภายหลังจาก 8 ชั่วโมง จากนั้นจะยังคงปลดปล่อยเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และเริ่มคงที่ในชั่วโมงที่ 104 เมื่อวัดปริมาณแซนโทนที่ปลดปล่อยออกมาของแผ่นเซลล์โลส BC-1 BC-2 BC-3 BC-4 BC-5 และ BC-6 สามารถปลดปล่อยสารออกฤทธิ์อย่างรวดเร็วในช่วง 8 ชั่วโมงแรก คือ  $434.46 \pm 6.64$   $381.17 \pm 9.70$   $234.39 \pm 7.37$   $160.57 \pm 9.18$   $200.47 \pm 11.34$  และ  $254.84 \pm 27.66$  ไมโครกรัม ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 14.32 13.81 60.72 36.14 45.96 และ 75.10 ของสารออกฤทธิ์ภายในแผ่น ตามลำดับ ปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่ปลดปล่อยออกมามากของแผ่นเซลล์โลส BC-3 ถึง BC-6 แสดงถึงการดูดซับสารสกัดไว้ที่ผิวหน้าของแผ่นเซลล์โลสมากกว่ากักเก็บไว้ในแผ่น และมีปริมาณสารออกฤทธิ์น้อยเมื่อเทียบกับแผ่นเซลล์โลส BC-1 และ BC-2 ในขณะที่ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ปลดปล่อยในเวลา 120 ชั่วโมง คือ  $598.95 \pm 16.95$   $464.26 \pm 18.62$   $325.87 \pm 7.61$   $336.36 \pm 15.57$   $307.38 \pm 1.01$  และ  $333.78 \pm 8.70$  ไมโครกรัม ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติในชั่วโมงที่ 8 และ 120 พบว่าการปลดปล่อยสารของ BC-1 และ BC-2 มีปริมาณสารออกฤทธิ์มากที่สุดและรองลงมาตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นเซลล์โลสชนิดอื่น จึงเลือกแผ่นเซลล์โลส BC-1 และ BC-2 มาใช้ในการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ ลักษณะทางกายภาพ และสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลล์โลส

จากการรายงานของ Allison (2008) กล่าวว่า ปัญหาหลักของระบบนำส่งยาคือไม่สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาในช่วงแรกได้ (Initial burst release) ซึ่งในความเป็นจริงการควบคุมการปลดปล่อยยาขึ้นกับความต้องการใช้งานเป็นหลัก บางกรณีการปลดปล่อยยาออกมามากในช่วงแรกส่งผลต่อความเป็นพิษต่อเซลล์ หรือในกรณีที่ต้องการรับยาในปริมาณที่ส่งผลให้การรักษาเป็นไปอย่างรวดเร็ว Burst release จึงเหมาะแก่การนำมาใช้งาน ซึ่งระบบนำส่งยาที่ย่อยสลายได้จะมีกลไกในการปลดปล่อยสารหรืออนุภาคอย่างรวดเร็วในช่วงต้น (Burst release) เนื่องจากการละลายหรือแพร่ของของตัวยาที่เคลือบอยู่บนพื้นผิวทำให้มีการปลดปล่อยอย่างรวดเร็วในช่วงแรก กลไกที่ 2 คือกลไกการสลายตัวของวัสดุที่นำมาใช้งาน แบ่งออกเป็น การสลายตัวโดยรวม (Bulk erosion) เกิดจากการซึมผ่านของน้ำเข้าไปในวัสดุ แล้วทำให้ความแข็งแรงลดลง อันเนื่องมาจากการขาดของสายโซ่โพลิเมอร์ตามมาด้วยการซึมออกของสารที่อยู่ภายในวัสดุ และการสลายตัวบริเวณพื้นผิว (Surface erosion) เกิดจากการสลายตัวบริเวณพื้นผิวของวัสดุที่สัมผัสน้ำ เนื่องจากน้ำไม่สามารถซึมผ่านเข้าได้ (จินตมัย, 2546; Rothstein *et al.*, 2009) วิธีการลดการปลดปล่อยสารอย่างรวดเร็วในช่วงแรกของพอลิเมอร์คือการพัฒนาตัวยาหรือพอลิเมอร์ให้สามารถกักเก็บยาภายในพอลิเมอร์มากกว่าอยู่ที่พื้นผิว ซึ่งทำให้มีแนวโน้มในการลด Burst release ลง (Puppi and Chiellini, 2018) จากการทดลองพบว่าการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์แบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือปลดปล่อยสารอย่างรวดเร็วในช่วงแรก เป็นผลมาจากสารสกัดเปลือกมังคุดที่เคลือบอยู่ที่บริเวณพื้นผิวของแผ่นเซลล์โลสแพร่ออกมาก่อน และช่วงที่สองคือเมื่อสารละลาย PBS ซึมผ่านเข้าไปในแผ่นเซลล์โลส โดยลักษณะสัณฐานของแผ่นเซลล์โลสจากแบคทีเรียสามารถดูดซับน้ำได้ สารสกัดที่ถูกกักเก็บไว้ภายในจึงค่อยๆถูกปลดปล่อยออกมาโดยอาศัยการแพร่ผ่านอนุภาคที่บวมน้ำ แต่สมบัติทางกายภาพของแผ่นเซลล์โลสยังคงไม่เปลี่ยนแปลง



**รูปที่ 4.10** การปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ฮอร์โมนจากแผ่นเซลลูโลสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง BC-1 แผ่นเซลลูโลสแบบเปียกที่แช่สารสกัด, BC-2 แผ่นเซลลูโลสแบบเปียกที่แช่สารละลายไคโตซานและสารละลายไซเตียมไฮดรอกไซด์ก่อนแช่สารสกัด, BC-3 แผ่นเซลลูโลสแบบเปียกที่แช่สารละลายไคโตซานและทำแห้งในสภาวะสุญญากาศก่อนแช่สารสกัด, BC-4 แผ่นเซลลูโลสแบบแห้งที่แช่สารสกัด, BC-5 แผ่นเซลลูโลสแบบแห้งที่แช่สารละลายไคโตซานและสารละลายไซเตียมไฮดรอกไซด์ก่อนแช่สารสกัด, BC-6 แผ่นเซลลูโลสแบบแห้งที่แช่สารละลายไคโตซานและทำแห้งในสภาวะสุญญากาศก่อนแช่สารสกัด, Control 1 แผ่นเซลลูโลสแห้ง, Control 2 แผ่นเซลลูโลสแบบเปียกที่แช่สารละลายไคโตซานและสารละลายไซเตียมไฮดรอกไซด์, Control 3 แผ่นเซลลูโลสแบบเปียกที่แช่สารละลายไคโตซานและทำแห้งในสภาวะสุญญากาศ, Control 4 แผ่นเซลลูโลสแบบแห้งที่แช่สารละลายไคโตซานและสารละลายไซเตียมไฮดรอกไซด์ และ Control 5 แผ่นเซลลูโลสแบบแห้งที่แช่สารละลายไคโตซานและทำแห้งในสภาวะสุญญากาศ

#### 4.10 ผลการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disk diffusion ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด และแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด

ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเทียบกับการใช้แผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับไคโตซานที่มีสารสกัด เมื่อบ่มครบ 24 ชั่วโมง ผลแสดงดังตารางที่ 4.7 แผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 หรือแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 9431, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 1248, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มีบริเวณยับยั้งรอบๆแผ่นดิสก์เซลลูโลส BC-1 คือ  $9.72 \pm 0.14$   $8.98 \pm 0.13$   $8.58 \pm 0.19$   $9.41 \pm 0.13$  และ  $10.46 \pm 0.36$  มิลลิเมตร ตามลำดับ แสดงบริเวณยับยั้งกว้างกว่าแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-2 ซึ่งเป็นแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับไคโตซานและมีสารสกัดเปลือกมังคุด ในขณะที่แผ่นฟิล์มควบคุมทั้ง 2 ชนิด คือ แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม และแผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม ไม่แสดงบริเวณยับยั้งรอบๆแผ่นดิสก์บนอาหารแข็ง MHA ดังรูปที่ 4.11 แต่แผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุมสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่สัมผัสแผ่นฟิล์มโดยตรงได้ ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสในรัศมีใต้แผ่นฟิล์มเท่านั้น ในขณะที่ความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 BC-2 และแผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม ไม่แสดงบริเวณยับยั้งรอบแผ่นดิสก์ แต่แผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุมแสดงบริเวณใสด้านล่างของแผ่นฟิล์มเช่นเดียวกับการยับยั้งในแบคทีเรียแกรมบวก (ไม่ได้แสดงข้อมูล) สอดคล้องกับ Konwar *et al.*, (2016) ไคโตซานฟิล์มไม่แสดงบริเวณยับยั้งรอบแผ่นฟิล์ม แต่แสดงบริเวณยับยั้งเฉพาะบริเวณที่สัมผัสกับแผ่นฟิล์ม เนื่องจากประจุบวกของหมู่อะมิโนเกาะกับประจุลบบนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของสารต่างๆลดลง และ Lin *et al.*, (2013) ที่ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ใช้ร่วมกับไคโตซาน ผู้วิจัยพบว่าไคโตซานบนแผ่นเซลลูโลสสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ เนื่องจากการเคลือบไคโตซานไว้บนแผ่นทำให้ไคโตซานบางส่วนมีโอกาสแพร่ออกมายับยั้งได้มากกว่า ซึ่งจีร์ณ (2554) ศึกษาถึงความสามารถในการปลดปล่อยไคโตซานออกจากแผ่นเซลลูโลส เมื่อใช้บัฟเฟอร์พีเอช 1.2 5.5 และ 7.4 พบว่าสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 ไม่สามารถละลายไคโตซานภายในแผ่นเซลลูโลสออกมาได้ สอดคล้องกับอาหาร MHA ที่ใช้ทดสอบ Disk diffusion โดยรักษาค่าพีเอชของอาหารที่  $7.4 \pm 0.2$  รวมถึงความเป็นผลึกของไคโตซานที่อยู่ภายในแผ่นเซลลูโลส เนื่องจากสารละลายไคโตซานซึ่งละลายอยู่ในสารละลายกรดเกิดการแลกเปลี่ยนโปรตอนระหว่างสารละลายต่างหรือไฮโดรเจนไอออนจาก  $\text{NH}_3^+$  เป็น  $\text{NH}_2$  ทำให้สารละลายไคโตซานที่ถูกดูดซับอยู่ในแผ่นเซลลูโลสมีลักษณะของไฮโดรเจล เกิดการตกตะกอนหรือเป็นผลึกในแผ่นเซลลูโลส (Enache, 2018) ทำให้ไคโตซานที่อยู่ภายในแผ่นเซลลูโลสซึมผ่านออกมาจากแผ่นเซลลูโลสยาก ความสามารถในการยับยั้งของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีไคโตซานร่วมด้วยจึงขึ้นกับปริมาณสารสกัดภายในแผ่นเซลลูโลส สอดคล้องกับการศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ (หัวข้อ 4.9) การนำไคโตซานมาใช้ร่วมกับแผ่นเซลลูโลสทำให้กักเก็บสารสกัดได้น้อยกว่าจึงทำให้การปลดปล่อยสารออกมายับยั้งเชื้อแบคทีเรียน้อยกว่าตามลำดับ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Ye *et al.*, (2019) ศึกษาศักยภาพของวัสดุคอมโพสิตระหว่างเจลาตินกับเซลลูโลสจากแบคทีเรียในการเป็นวัสดุปิดแผลจากธรรมชาติผสมกับเพนนิซิลิน ความสามารถในการปลดปล่อยยาและความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียลดหลั่นกันตามปริมาณของยาที่อยู่ภายในแผ่นเซลลูโลส เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบระหว่างแผ่นเซลลูโลส BC-1

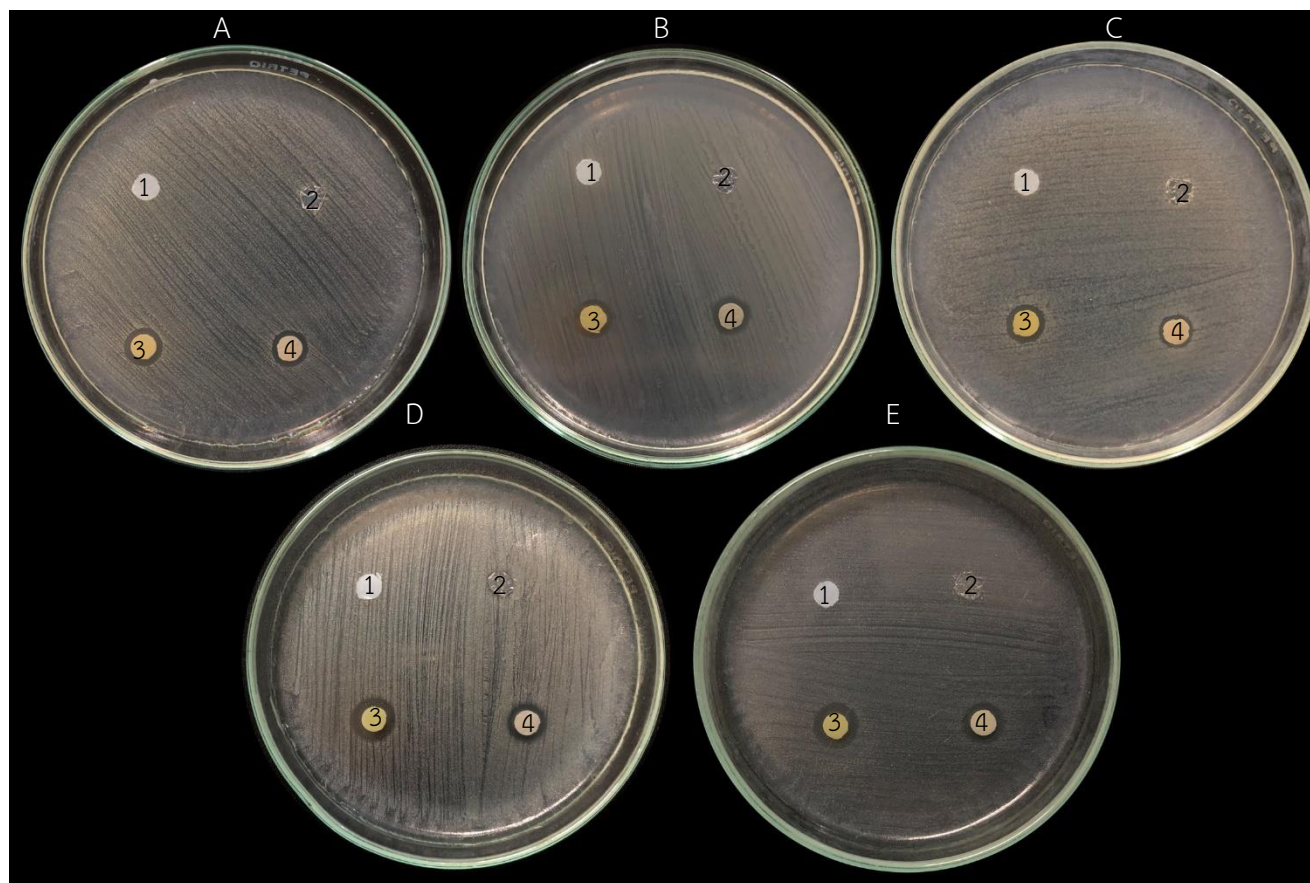
และ BC-2 พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด

**ตารางที่ 4.7** แสดงการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด และแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด

ชนิดของแผ่นฟิล์ม	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Clear zone) มิลลิเมตร $\pm$ SD.				
	<i>M. luteus</i> ATCC 9431	<i>B. cereus</i> DMST 5040	<i>B. subtilis</i> TISTR 1248	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228
BC-1	9.72 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	8.98 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	8.58 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	9.41 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	10.46 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>
BC-2	8.81 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	8.80 $\pm$ 0.46 <sup>b</sup>	7.86 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	8.47 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	9.34 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>
แผ่นฟิล์มไคโตซาน ควบคุม	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>
แผ่นฟิล์มเซลลูโลส ควบคุม	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>

หมายเหตุ : แผ่นดิสก์มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6.00 มิลลิเมตร

พิจารณาในแถวแนวนอน อักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

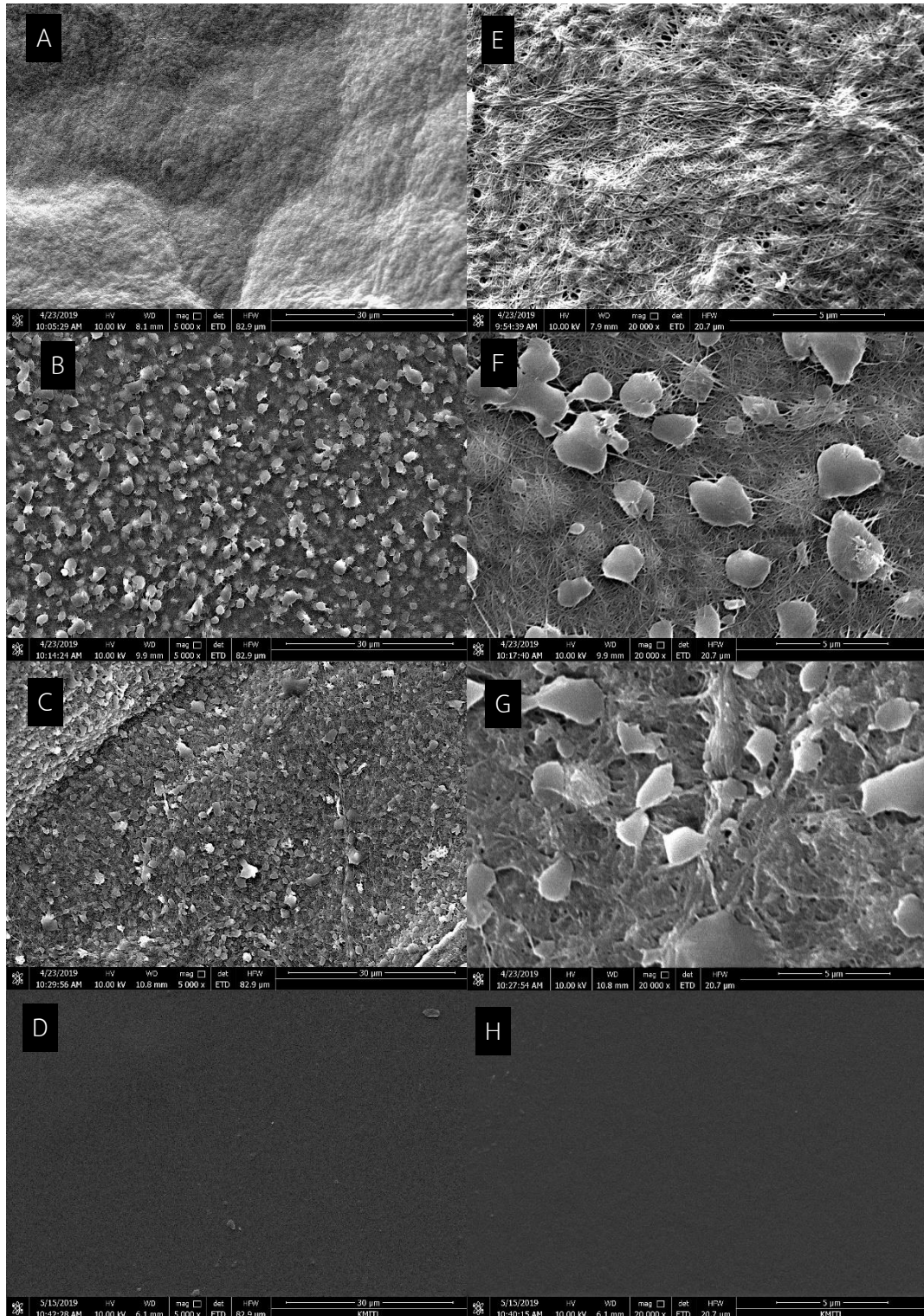


รูปที่ 4.11 แสดงการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส และแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด  
 (A) *Micrococcus luteus* ATCC 9431 (B) *Bacillus cereus* DMST 5040 (C) *Bacillus subtilis* TISTR 1248 (D) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ  
 (E) *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228  
 หมายเหตุ : 1 = แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม, 2 = แผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม, 3 = BC-1, แผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.563 mg/mL และ  
 4 = BC-2, แผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับไคโตซานและสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.563 mg/mL

#### 4.11 ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส

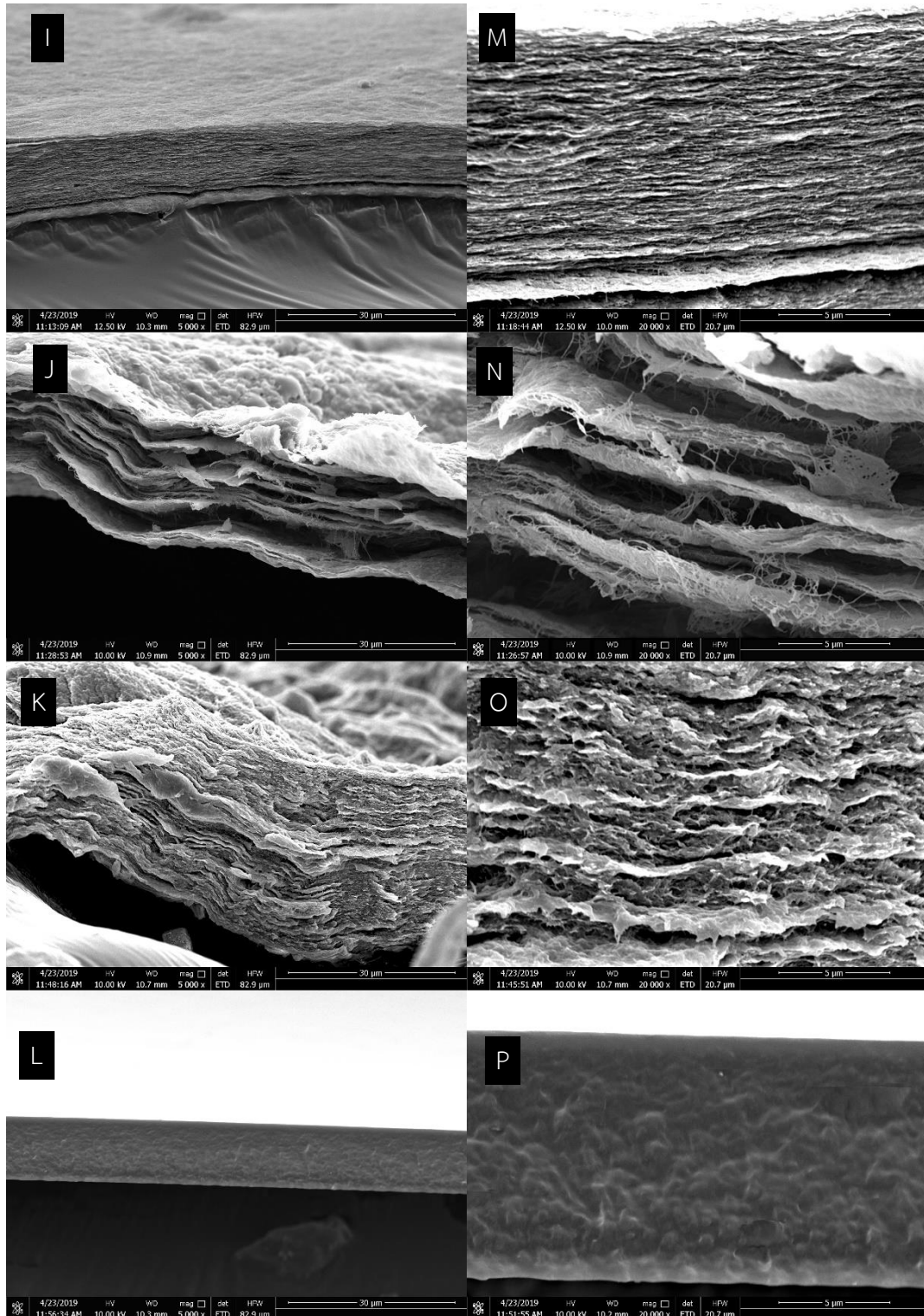
##### 4.11.1 ผลการวิเคราะห์ลักษณะพื้นฐานของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope)

ศึกษาลักษณะพื้นฐานของแผ่นแห้งเซลลูโลสชนิดต่างๆด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) โดยศึกษาลักษณะพื้นผิวของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุมที่ผ่านการทำให้แห้งแบบสุญญากาศดังรูปที่ 4.12 (A) และ (E) เส้นใยมีการสานกันเป็นร่างแหอย่างหนาแน่น และสังเกตเห็นการเรียงตัวของเส้นใยชัดเจน ลักษณะของรูพรุนในแผ่นเซลลูโลสค่อนข้างน้อย เนื่องจากกระบวนการทำให้แห้งแบบสุญญากาศ จากการรายงานของ Zhang *et al.*, (2011) เส้นใยเซลลูโลสที่ทำแห้งด้วย Freeze-dried มีความพองตัวมากกว่า และมีรูพรุนมากกว่าการทำให้แห้งด้วย Vacuum-oven ในขณะที่แผ่นเซลลูโลส BC-1 หรือแผ่นเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการแช่สารสกัดเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และทำให้แห้งด้วยเครื่องทำให้แห้งสุญญากาศ ดังรูปที่ 4.12 (B) และ (F) พบอนุภาคของสารสกัดที่มีลักษณะค่อนข้างกลมแทรกอยู่ระหว่างเส้นใยเซลลูโลสและบริเวณพื้นผิวของเซลลูโลส ซึ่งทำให้ช่องว่างและรูพรุนระหว่างเส้นใยลดน้อยลง แผ่นเซลลูโลส BC-2 หรือแผ่นเซลลูโลสที่ผ่านการใช้ร่วมกับสารละลายโคโคซานและแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนนำมาใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด ดังรูปที่ 4.12 (C) และ (G) เส้นใยเซลลูโลสยังคงแสดงลักษณะของเส้นใยที่สานกันเป็นร่างแหแต่มีความหนาเพิ่มขึ้น และมีอนุภาคของสารสกัดอยู่ที่พื้นผิวของเส้นใย จากคุณสมบัติของเซลลูโลสที่สามารถดูดซับของเหลวได้ดี จึงสามารถดูดซับสารละลายโคโคซานได้ดีเช่นกัน และเมื่อนำแผ่นเซลลูโลสที่ดูดซับสารละลายโคโคซานทำปฏิกิริยากับสารละลายต่าง จะเกิดการแลกเปลี่ยนโปรตอน จึงเกิดเป็นผลึกของโคโคซานเกาะทั้งในเส้นใยและบนพื้นผิว จากงานวิจัยของ Watthanaphanit *et al.*, (2010) ได้เตรียมโคโคซานวิสเกอร์เพื่อใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ พบว่าโคโคซานวิสเกอร์พบอยู่ 2 รูปแบบ คือเป็นเดี่ยวๆ มีรูปร่างคล้ายเข็มหรือรูปท่อน เกิดจากกระบวนการ Deacetylation ของโคติน ในสถานะที่มีความเป็นด่างสูงและใช้ความร้อนสูง อีกรูปแบบหนึ่งคือการรวมตัวกันคล้ายเส้นใย หรือจับกลุ่มรวมกันเป็นสารแขวนลอยคล้ายเจล เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างโคโคซานกับสารละลายต่างหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ การที่ผิวหน้าและเส้นใยของเซลลูโลสถูกเคลือบด้วยโคโคซานทำให้เส้นใยหนาขึ้น ผิวหน้าของเซลลูโลสจึงมีรูพรุนน้อยลง ขนาดของรูพรุนเล็กกว่าแผ่นเซลลูโลสควบคุมและแผ่นเซลลูโลส BC-1 เช่นเดียวกับงานวิจัยของจิรัณ (2554); Ul-Islam *et al.*, (2011) และ Liu *et al.*, (2019) และแผ่นฟิล์มโคโคซานควบคุม ดังรูปที่ 4.12 (D) และ (H) มีลักษณะเรียบ เป็นเนื้อเดียวกัน รวมกันเป็นแผ่น ไม่มีรอยแตกหรือรูพรุน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kaya *et al.*, (2018); Rahman *et al.*, (2018); Shankar *et al.*, (2018) และ Lee *et al.*, (2018)



รูปที่ 4.12 เปรียบเทียบลักษณะพื้นผิวของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม แผ่นฟิล์ม BC-1 แผ่นฟิล์ม BC-2 และแผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม ที่กำลังขยาย 5,000 เท่า ดังรูป (A) (B) (C) และ (D) ตามลำดับ และที่กำลังขยาย 20,000 เท่า ดังรูป (E) (F) (G) และ (H) ตามลำดับ

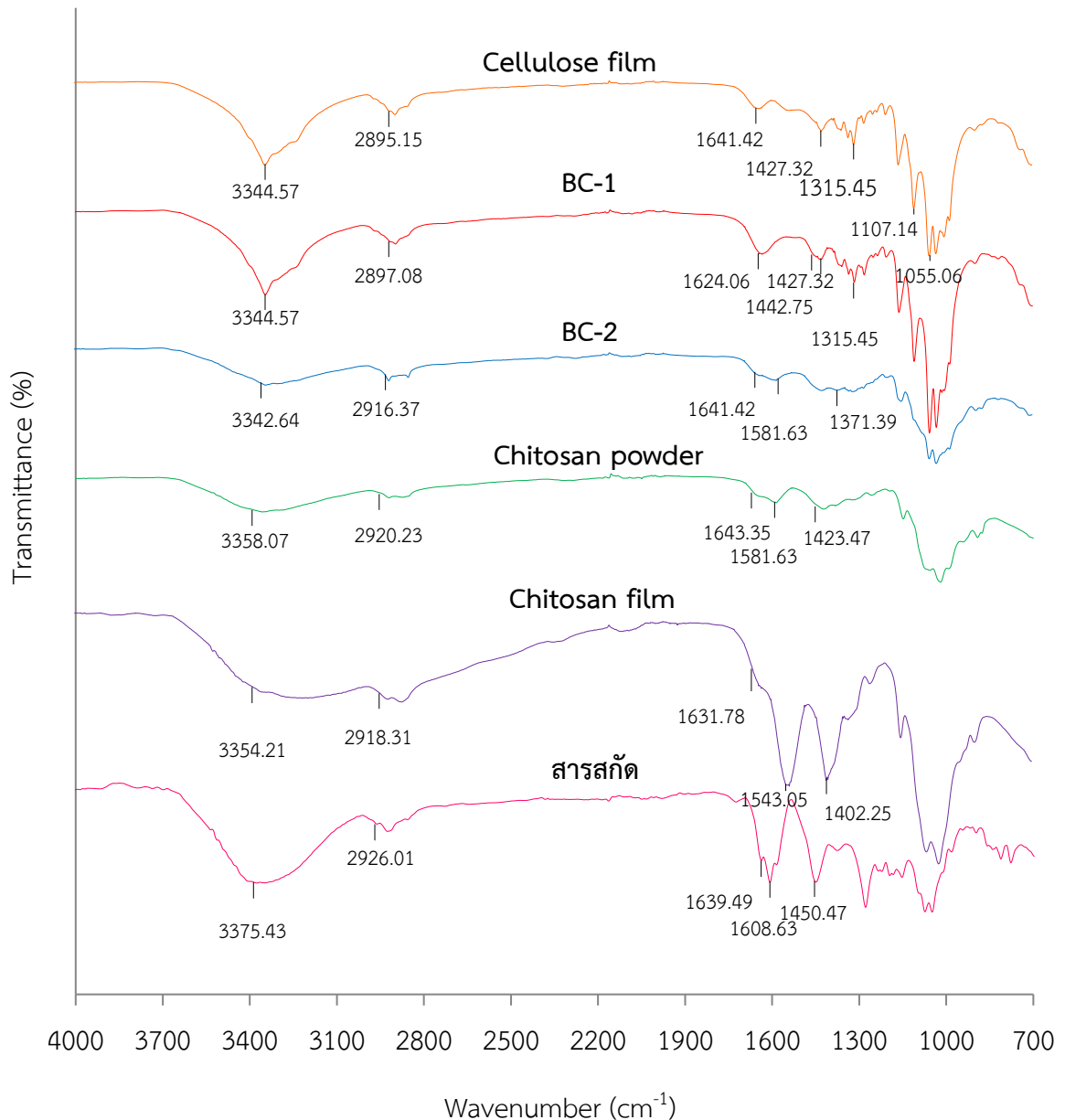
ศึกษาลักษณะสัญญาณของแผ่นแห้งเซลลูโลสโดยศึกษาลักษณะของภาพตัดขวาง ดังรูปที่ 4.13 (I) และ (M) แผ่นเซลลูโลสควบคุมมีลักษณะเรียงตัวกันเป็นชั้น และมีความแน่นของแผ่นเซลลูโลสที่ซ้อนทับกัน ซึ่งการทำแห้งแผ่นเซลลูโลสด้วยวิธีการทำแห้งด้วยสุญญากาศ เป็นการทำให้แห้งอย่างรวดเร็ว น้ำภายในแผ่นเซลลูโลสถูกดึงออกอย่างรวดเร็ว ทำให้ช่องว่าง หรือรูพรุนระหว่างเส้นใยเล็กกล่ง เส้นใยเรียงตัวชิดกันมากขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang *et al.*, (2011) ภาพตัดขวางของแผ่นเซลลูโลสที่ทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งสุญญากาศมีลักษณะของเส้นใยที่จับตัวกันแน่น ชั้นระหว่างเซลลูโลสจัดเรียงตัวชิดกันและหนาแน่น การทำแห้งด้วยวิธีนี้เป็นการทำแห้งอย่างรวดเร็ว และส่งผลต่อรูพรุนภายในโครงสร้าง ข้อดีของวิธีนี้คือสะดวก ใช้เวลาไม่นาน ต่างจากการทำแห้งด้วย Freeze-dried ที่เป็นการรักษาโครงสร้างของวัสดุให้คงรูปภายใต้การทำให้แข็งในสภาวะเยือกแข็งและระเหิดน้ำแข็งเป็นไอทันที ทำให้โครงสร้างความเป็นรูพรุนของเซลลูโลสคงอยู่ และแผ่นเซลลูโลสมีความหนาแน่นมากกว่าการทำแห้งแบบสุญญากาศ แผ่นเซลลูโลส BC-1 หรือแผ่นเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการแซ่สารสกัดเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งสุญญากาศ ดังรูปที่ 4.13 (J) และ (N) แสดงภาพตัดขวางของแผ่นเซลลูโลส เห็นการจัดเรียงตัวระหว่างชั้นของแผ่นเซลลูโลสมีลักษณะของช่องว่าง เนื่องจากคุณสมบัติการดูดซับน้ำของแผ่นเซลลูโลส ทำให้สายโซ่ของเซลลูโลสคลายตัว โครงสร้างของเซลลูโลสจึงขยายตัวขึ้นเมื่อมีการดูดซับสารสกัด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Subtaweasin *et al.*, (2018) นำเซลลูโลสจากแบคทีเรียหลังจากทำให้บริสุทธิ์มาแช่ลงในสารสกัดจากขมิ้นที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดที่มีความเข้มข้นสูง จะมีโพรงระหว่างชั้นเซลลูโลสมาก ในขณะที่แผ่นเซลลูโลส BC-2 หรือแผ่นเซลลูโลสที่ผ่านการใช้ร่วมกับสารละลายโคโคซานและแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนนำมาใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด ดังรูปที่ 4.13 (K) และ (O) ภาพตัดขวางของแผ่นเซลลูโลสแสดงลักษณะของชั้นเซลลูโลสที่มีโคโคซานแทรกอยู่ระหว่างชั้น เนื่องจากการดูดซับโคโคซานเข้าไปในรูพรุนของเซลลูโลสและเคลือบบนเส้นใย เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Urbina *et al.*, (2018) เซลลูโลสจากแบคทีเรียสูญเสียรูพรุนภายในโครงสร้างไปจากการดูดซับโคโคซาน เส้นใยมีความหนาแน่นมากขึ้นและซับซ้อนมากขึ้น และแผ่นฟิล์มโคโคซานควบคุมแสดงดังรูปที่ 4.13 (L) และ (P) มีความแน่นของโมเลกุลของโคโคซานที่เชื่อมกันเป็นแผ่นเรียบ ไม่มีรูพรุน และไม่พบการสานกันเป็นเส้นใยเช่นเดียวกับเซลลูโลส สอดคล้องกับ Priyadarshia *et al.*, (2018) Liu *et al.*, (2019) และ Shankar *et al.*, (2018)



รูปที่ 4.13 เปรียบเทียบลักษณะภาพตัดขวางของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุมน้ำ แผ่นฟิล์ม BC-1 แผ่นฟิล์ม BC-2 และแผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุมน้ำ ที่กำลังขยาย 5,000 เท่า ดังรูป (I) (J) (K) และ (L) ตามลำดับ และที่กำลังขยาย 20,000 เท่า ดังรูป (M) (N) (O) และ (P) ตามลำดับ

#### 4.11.2 ผลการวิเคราะห์เอกลักษณ์ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยเครื่อง FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy)

วิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของแผ่นเซลลูโลสแห่งที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด แผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับไคโตซานและสารสกัดเปลือกมังคุด แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม และแผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม โดยใช้เทคนิค ATR เพื่อศึกษาพื้นผิวของวัตถุที่มีลักษณะทึบแสง วิเคราะห์ที่การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดช่วงเลขคลื่น 700-4000  $\text{cm}^{-1}$  เปรียบเทียบกันในแต่ละตัวอย่าง ซึ่งหมู่ฟังก์ชันของสารแต่ละชนิดมีความสามารถในการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดต่างกัน แสดงผลดังรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดในช่วงเลขคลื่น 700-4000  $\text{cm}^{-1}$  วิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR-ATR โดยเปรียบเทียบระหว่างแผ่นเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด และแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับไคโตซานและสารสกัดเปลือกมังคุด

จากสเปกตรัมของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียควบคุม แสดงพิกที่มีลักษณะของ OH stretching ที่เลขคลื่น  $3344.57\text{ cm}^{-1}$  พิกของ C-H stretching ที่เลขคลื่น  $2895.15\text{ cm}^{-1}$  (Oliveira *et al.*, 2015; Su *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2017) เลขคลื่นที่  $1641.42\text{ cm}^{-1}$  แสดงหมู่คาร์บอนิลของเซลลูโลส (Jia *et al.*, 2017) และเลขคลื่นที่  $1107.14\text{ cm}^{-1}$  แสดงพิกของ C-O-C stretching เมื่อวิเคราะห์สเปกตรัมของ BC-1 แสดงสเปกตรัมของแผ่นเซลลูโลสที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด แสดงพิกของหมู่ไฮดรอกซิล (O-H) ของสารสกัดเปลือกมังคุดอยู่บริเวณเลขคลื่นที่  $3375.43\text{ cm}^{-1}$  ซ้อนทับกับพิกไฮดรอกซิลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส ซึ่งแสดงพิกที่มีลักษณะร่วมกัน สารสกัดเปลือกมังคุดจะแสดงพิกของหมู่คาร์บอนิล (C=O stretching) ที่เลขคลื่น  $1639.48\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงเอกลักษณ์ของสารออกฤทธิ์แซนโทนของสารสกัดเปลือกมังคุด (Sriyanti *et al.*, 2018) และพิกของ C=C stretching ของวงอะโรมาติก แสดงที่เลขคลื่น  $1608.68\text{ cm}^{-1}$  และ  $1450.47\text{ cm}^{-1}$  (Machmudah *et al.*, 2014) เมื่อสารสกัดอยู่บนเส้นใยเซลลูโลส พิกแสดงเอกลักษณ์ของหมู่คาร์บอนิล และวงอะโรมาติกเคลื่อนไปอยู่ที่ตำแหน่ง  $1624.06\text{ cm}^{-1}$  และ  $1442.75\text{ cm}^{-1}$  ตามลำดับ และสเปกตรัมของแผ่นเซลลูโลส BC-2 แสดงสเปกตรัมของแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับโคโตซานและสารสกัดเปลือกมังคุด โดยแสดงเอกลักษณ์ของโคโตซาน ที่เลขคลื่นระหว่าง  $3000\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$  แสดงพิกที่ซ้อนทับกันของ OH และ NH stretching ที่เลขคลื่นที่  $1641.42\text{ cm}^{-1}$  และ  $1581.63\text{ cm}^{-1}$  แสดงพิกของ C=O stretching และ NH bending ตามลำดับ (Batista *et al.*, 2011; Choo *et al.*, 2016) พิกที่แสดงเอกลักษณ์ของสารสกัดไม่สามารถสังเกตเห็นชัดเจนในแผ่น BC-2 เนื่องจากเกิดการซ้อนทับกันของพิกสารสกัดกับพิกเซลลูโลสและโคโตซาน และปริมาณของสารสกัดบนแผ่นเซลลูโลส BC-2 คิดเป็น 2.72% ซึ่งมีปริมาณน้อยจึงทำให้เห็นพิกไม่ชัดเจน ในขณะที่ปริมาณของสารสกัดบนแผ่นเซลลูโลส BC-1 คิดเป็น 7.93% จึงศึกษาเอกลักษณ์ของเซลลูโลส BC-2 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และสังเกตสีของสารสกัดบนแผ่นเซลลูโลสร่วมด้วย

#### 4.11.3 ผลการวิเคราะห์อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ

จากการวิเคราะห์หาอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นเซลลูโลส โดยวัดอัตราการซึมผ่านของไอน้ำในหน่วยพื้นที่ต่อหน่วยเวลา (กรัมต่อตารางเมตร·วัน,  $\text{g/m}^2\cdot\text{day}$ ) โดยใช้วิธีการทดสอบตามมาตรฐาน ASTM E 96-95 Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials ใช้ตัวอย่างแผ่นฟิล์มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.7 เซนติเมตร ทดสอบที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 โดยค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำเป็นค่าความชื้นของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อหนึ่งหน่วยเวลาตลอดทั้งพื้นที่ผิวของแผ่นฟิล์มที่ทดสอบ พื้นที่ผิวของตัวอย่างแผ่นฟิล์มมีขนาดเท่ากันคือ 0.0035 ตารางเมตร แสดงผลการทดสอบดังตารางที่ 4.8 แผ่นฟิล์มโคโตซานควบคุม แสดงอัตราการซึมผ่านของไอน้ำมากที่สุด คือ  $183.74\pm 8.92\text{ g/m}^2\cdot\text{day}$  รองลงมาคือแผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม คือ  $161.84\pm 14.23\text{ g/m}^2\cdot\text{day}$  ในขณะเดียวกันแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 และ BC-2 เป็นแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด และแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีการใช้โคโตซานร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด มีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ  $152.68\pm 5.61$  และ  $115.51\pm 12.53\text{ g/m}^2\cdot\text{day}$  ตามลำดับ เนื่องจากการทำปฏิกิริยาระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของเซลลูโลส เมื่อนำโคโตซานมาใช้ร่วมกับแผ่นเซลลูโลส โคโตซานจะเกาะกับเซลลูโลสโดยสร้างพันธะไฮโดรเจน ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสมีความหนาขึ้น จึงทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำลดลง และทั้งโคโตซานและเซลลูโลสมีคุณสมบัติที่ชอบน้ำ จึงชักนำให้เกิดการซึมซับไอน้ำ ทำให้เกิดการซึมผ่านของไอน้ำได้ (Kouchak *et*

*al.*, 2015; Yang *et al.*, 2018; Romainor *et al.*, 2014) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Kingkaew *et al.*, (2014) นำแผ่นเซลล์โลสจากแบคทีเรียมาใช้ร่วมกับโคโตซานด้วยวิธีการแช่แผ่นเซลล์โลสลงในสารละลายโคโตซานและทำแท่งที่อุณหภูมิห้อง อัตราการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นเซลล์โลสที่ใช้ร่วมกับโคโตซานน้อยกว่าแผ่นเซลล์โลสควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ที่พบว่าอัตราการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นเซลล์โลส BC-2 น้อยกว่าแผ่นเซลล์โลส BC-1 ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงถึงการป้องกันการสูญเสียน้ำของบาดแผล เนื่องจากอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของวัสดุปิดแผลมีผลต่ออัตราการสูญเสียน้ำของบาดแผล โดยชั้นผิวหนังในสภาวะปกติมีอัตราการสูญเสียน้ำคือ  $204 \pm 12 \text{ g/m}^2 \cdot \text{day}$  สำหรับบาดแผลทั่วไปคือ  $279 \pm 26 \text{ g/m}^2 \cdot \text{day}$  และบาดแผลไฟไหม้ระดับเริ่มต้นคือ  $5138 \pm 202 \text{ g/m}^2 \cdot \text{day}$  (Ruiz-Cardona *et al.*, 1996) วัสดุปิดแผลสามารถแบ่งได้ตามระดับการซึมผ่านของไอน้ำ แผ่นเซลล์โลส BC-1 และ BC-2 จัดอยู่ในวัสดุปิดแผลที่มีระดับการซึมผ่านของไอน้ำต่ำ หรือเรียกว่า Occlusive dressing ช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำออกจากบาดแผล ในกรณีที่บาดแผลมีขนาดใหญ่ หรือบาดแผลลึก วัสดุปิดแผลในกลุ่มนี้จะช่วยรักษาให้เนื้อเยื่อคงความชื้น ซึ่งส่งผลให้ร่างกายสร้างเยื่อผิวได้เร็วกว่าร้อยละ 40 และคิดเป็นร้อยละ 81 ของผู้ป่วยที่ตอบสนองได้ดีต่อการใช้วัสดุปิดแผลกลุ่มนี้ (Szycher 1991; Helfman *et al.*, 1994)

**ตารางที่ 4.8** ค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ และความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มเซลล์โลส ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75

ชนิดของแผ่นฟิล์ม	ความหนา (ไมโครเมตร)	อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ ( $\text{g/m}^2 \cdot \text{day}$ )	ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ $\times 10^{-11}$ ( $\text{g} \cdot \text{m} / \text{Pa} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^2$ )
BC-1	$25.33 \pm 0.58^b$	$152.68 \pm 5.61^b$	$1.41 \pm 0.08^b$
BC-2	$114.67 \pm 12.06^a$	$115.51 \pm 12.53^c$	$4.85 \pm 1.01^a$
แผ่นฟิล์มเซลล์โลสควบคุม	$21.67 \pm 2.08^b$	$161.84 \pm 14.23^b$	$1.27 \pm 0.09^b$
แผ่นฟิล์มโคโตซานควบคุม	$19.33 \pm 2.52^b$	$183.74 \pm 8.92^a$	$1.29 \pm 0.11^b$

หมายเหตุ : พิจารณาในแถวแนวดิ่ง อักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

จากผลการทดลอง อัตราการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นเซลล์โลส BC-1 และ BC-2 ใกล้เคียงกับวัสดุปิดแผลทางการค้า เช่น DuoDERM<sup>®</sup> CGF<sup>™</sup> Tegaserb<sup>®</sup> และ Granuflex E<sup>®</sup> Extra Thin (Wu *et al.*, 1995) ดังตารางที่ 4.9 แต่มีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำน้อยกว่าเซลล์โลสจากแบคทีเรียในงานวิจัยที่อ้างอิง ดังตารางที่ 4.10 ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลมีทั้งความหนาของตัวอย่าง วิธีการทำแท่ง และลักษณะของเส้นใย เป็นต้น วัสดุปิดแผลมีทั้งชนิดที่ให้ไอน้ำซึมผ่านได้มาก ซึ่งช่วยให้แผลแห้ง ลดการสะสมของสารคัดหลั่ง แต่ในบาดแผลขนาดใหญ่ผู้ป่วยสามารถสูญเสียน้ำทางบาดแผลและมีอาการช็อคได้ ส่วนวัสดุปิดแผลชนิดที่ให้ไอน้ำซึมผ่านได้น้อยจะช่วยให้บาดแผลมีความชุ่มชื้นตลอดเวลา แต่ในขณะเดียวกันการสะสมของสารคัดหลั่งอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อได้ (มาลินี, 2539; Akiyode and Boateng, 2018) เมื่อพิจารณาตามคุณสมบัติของวัสดุปิดแผลในด้านการซึมผ่านไอน้ำ สรุปได้ว่า

ไม่มีวัสดุชนิดใดที่เหมาะสมกับการรักษาบาดแผลในทุกประเภท ดังนั้นการเลือกใช้วัสดุปิดแผลจึงต้องเลือกตามความเหมาะสมของบาดแผล ระดับความรุนแรง และระยะเวลาในการฟื้นตัว เป็นต้น (จิรารัตน์, 2556) และค่าความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์ม จะพิจารณาที่ความหนาของแผ่นฟิล์มและค่าความแตกต่างของความดันไอน้ำที่แพร่ผ่าน ในกรณีที่ใช้ค่าความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำเปรียบเทียบคุณสมบัติในการแพร่ผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์มต่างชนิดกัน แผ่นฟิล์มจะต้องมีความหนาเท่ากัน จากตารางที่ 4.8 แผ่นฟิล์ม BC-1 BC-2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม และแผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม มีค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำเท่ากับ  $1.41 \pm 0.08$   $4.85 \pm 1.01$   $1.27 \pm 0.09$  และ  $1.29 \pm 0.11 \times 10^{-11}$   $\text{g}\cdot\text{m}/\text{Pa}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^2$  ตามลำดับ

ตารางที่ 4.9 เปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของวัสดุปิดแผลทางการค้า

ชนิด	ชื่อทางการค้า	บริษัทผู้ผลิต	ความหนา (มิลลิเมตร)	อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ ( $\text{g}/\text{m}^2\cdot\text{day}$ )
Hydrocolloid	Biofilm <sup>®</sup>	CliniMed Ltd	$1.79 \pm 0.09$	$2892 \pm 337$
	Comfeel K <sup>®</sup>	Coloplast A/S	$1.27 \pm 0.11$	$308 \pm 16$
	Dermiflex <sup>®</sup>	Johnson & Johnson	$2.41 \pm 0.05$	$90 \pm 10$
	Duoderm <sup>®</sup>	ConvaTec Ltd	$1.93 \pm 0.10$	$886 \pm 60$
	Duoderm <sup>®</sup> CGF™	ConvaTec Ltd	$2.27 \pm 0.08$	$120 \pm 19$
	Granuflex E <sup>®</sup>	ConvaTec Ltd	$0.50 \pm 0.05$	$205 \pm 10$
	Extra Thin			
	IntraSite <sup>®</sup>	Smith & Nephew	$1.29 \pm 0.08$	$354 \pm 42$
	Methoderm <sup>®</sup>	ConvaTec Ltd	$2.92 \pm 0.20$	$823 \pm 45$
	Restore Cx <sup>®</sup>	Hollister Inc	$1.19 \pm 0.08$	$482 \pm 69$
Tegasorb <sup>®</sup>	ConvaTec Ltd	$2.10 \pm 0.15$	$136 \pm 15$	
Hydrogel	Geliper <sup>®</sup>	Geistlich Ltd	$1.13 \pm 0.19$	$9009 \pm 319$
	Vigilion <sup>®</sup>	Bard	$1.13 \pm 0.17$	$9360 \pm 34$
Film	Bioclusive <sup>®</sup>	Johnson & Johnson	$0.07 \pm 0.01$	$394 \pm 12$
	Op-Site	Smith & Nephew	0.06	426

ที่มา: Wu *et al.*, (1995); Ruiz-Cardona *et al.*, (1996)

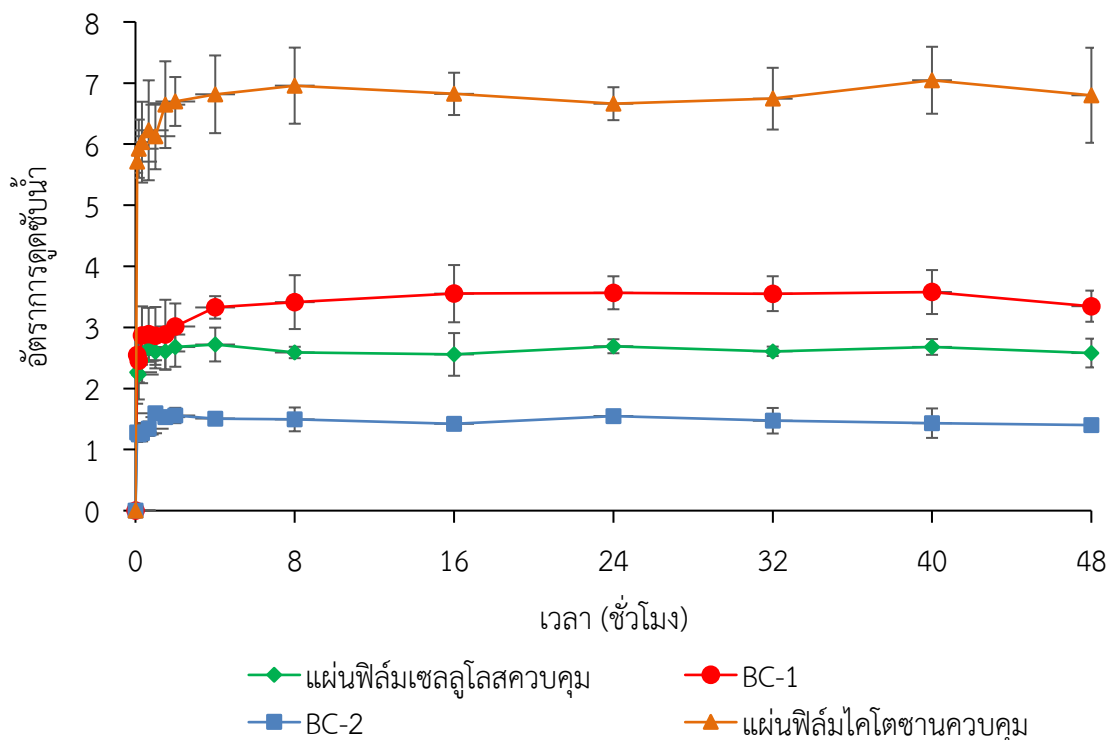
ตารางที่ 4.10 เปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

ชนิดของแผ่นเซลลูโลส	วิธีการทำแห้ง	ความหนา (มิลลิเมตร)	อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ ( $\text{g/m}^2\cdot\text{day}$ )	ที่มา
แผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย	Freeze-dried	0.1-0.15	1503	Lin <i>et al.</i> , (2013)
	Freeze-dried	0.198	762	จุฑามาศ (2554)
	Freeze-dried	0.120	1469	จิรารัตน์ (2556)
	Air-dried	0.02	597.3	Subtaweessin <i>et al.</i> , (2018)
	Air-dried	0.071	1049	Kingkaew <i>et al.</i> , (2014)
	Air-dried	0.040	838.5	Taokaew <i>et al.</i> , (2014)
แผ่นเซลลูโลสแซ่สารสกัด	Freeze-dried	0.244	798	จุฑามาศ (2554)
	Air-dried	0.059	434.5	Taokaew <i>et al.</i> , (2014)
	Air-dried	0.02	481.6-506.2	Subtaweessin <i>et al.</i> , (2018)
แผ่นเซลลูโลสแซ่โคโคซาน	Freeze-dried	0.1-0.15	1460	Lin <i>et al.</i> , (2013)
	Air-dried	0.081	529-830	Kingkaew <i>et al.</i> , (2014)

#### 4.11.4 ผลการวิเคราะห์อัตราการดูดซับน้ำของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส

ศึกษาอัตราการดูดซับน้ำของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสโดยตัดแผ่นฟิล์มทุกชนิดให้มีขนาด 20 x 20 มิลลิเมตร ซึ่งน้ำหนักแห้งของแผ่นฟิล์ม นำแผ่นฟิล์มแช่ลงในสารละลาย Phosphate buffer pH 7.4 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลาต่างๆ จากนั้นบันทึกน้ำหนักของแผ่นเปียกมาคำนวณหาอัตราการดูดซับน้ำ ดังรูปที่ 4.15 เมื่อแช่แผ่นตัวอย่างทุกชนิดลงในสารละลาย Phosphate buffer pH 7.4 ในระยะเวลา 5 นาทีแรก พบว่าแผ่นฟิล์มทุกชนิดมีอัตราการดูดซับน้ำได้อย่างรวดเร็วในช่วงแรก และยังสามารถดูดซับน้ำได้ในอัตราที่ช้าลง เมื่อครบเวลา 48 ชั่วโมง แผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 BC-2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม และแผ่นฟิล์มโคโคซานควบคุม มีอัตราการดูดซับน้ำเป็น  $3.35 \pm 0.26$   $1.40 \pm 0.10$   $2.58 \pm 0.24$  และ  $6.80 \pm 0.78$  เท่าตามลำดับ แผ่นฟิล์มโคโคซานควบคุมแสดงความสามารถในการดูดซับน้ำสูงที่สุดเนื่องจากความเป็น Hydrophilic สูง และลักษณะของแผ่นฟิล์มเป็นเนื้อเดียวกันทั้งแผ่นทำให้แผ่นฟิล์มโคโคซานสามารถดูดซับน้ำได้สม่ำเสมอตลอดทั้งแผ่น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างแผ่นฟิล์ม BC-1 และแผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุมมีลักษณะในการดูดซับน้ำคล้ายกัน โดยจะดูดซับน้ำได้อย่างรวดเร็วตั้งแต่ 5 นาทีแรก จากนั้นจะสามารถดูดซับน้ำได้ในอัตราที่น้อยลงและเริ่มอิ่มตัวในชั่วโมงที่ 4 จากลักษณะเฉพาะตัวของเซลลูโลสที่มีความเป็น Hydrophilic ทำให้สามารถดูดซับน้ำได้ โดยแผ่นเซลลูโลส BC-1 ที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดสามารถดูดซับน้ำได้ดีกว่าเนื่องจากสารออกฤทธิ์ในเปลือกมังคุดมีทั้งสารที่เป็นทั้ง Hydrophobic และ Hydrophilic สารสกัดจะถูกกักเก็บไว้ในแผ่นเซลลูโลส และทำแห้งด้วยวิธีสุญญากาศ แผ่นเซลลูโลสที่มีสารสกัดจะมีชั้นของเส้นใยสานกันหลวมกว่าแผ่นเซลลูโลสควบคุม สังเกตได้จากลักษณะภาพตัดขวางของแผ่นฟิล์มเมื่อสารสกัดส่วนที่ละลายน้ำได้หลุดออกจากแผ่นเซลลูโลสจะเพิ่มพื้นที่ในการจับกันของพันธะไฮโดรเจนของเซลลูโลสกับน้ำ สอดคล้องกับงานวิจัยของณัฐภูมิ (2553) แสดงผลของแผ่นเซลลูโลส

แห่งที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดพบว่า มีอัตราการดูดซับน้ำมากขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ และ จิรารัตน์ (2556) นำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ร่วมกับซิงค์ออกไซด์เพื่อพัฒนาเป็นฟิล์มปิดแผล แผ่นฟิล์มเซลลูโลสแห่งที่มีซิงค์ออกไซด์มีความสามารถในการดูดซับน้ำได้มากกว่าแผ่นฟิล์มเซลลูโลส ควบคุม ในขณะที่เดียวกัน การใช้พอลิเมอร์ชนิดอื่นร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดให้ผลของอัตราการดูดซับน้ำเช่นเดียวกัน จากงานวิจัยของ Chuyasinuan *et al.*, (2018) เตรียม PAN fiber ที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆ และทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งสุญญากาศ PAN fiber ที่มีปริมาณสารสกัดมากจะสามารถดูดซับน้ำได้มากขึ้น เนื่องจากสารละลายบัฟเฟอร์สามารถละลาย โมเลกุลของสารสกัดออกจากผิวหน้าของตัวอย่าง จากนั้นจะถูกแทนที่ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ และแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-2 เป็นแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารละลายโคโตซานก่อนนำมาใช้กับสารสกัดเปลือกมังคุด มีอัตราการดูดซับน้ำได้อย่างรวดเร็วตั้งแต่ 5 นาทีแรกเช่นเดียวกับตัวอย่างข้างต้น จากนั้นจะสามารถดูดซับน้ำต่อในอัตราที่ช้าลงจนถึงนาที่ที่ 60 และเริ่มอิ่มตัวจนกระทั่งคงที่ เป็นผลมาจากการสร้างพันธะระหว่างพอลิเมอร์สองชนิด ทำให้ขัดขวางการแพร่ผ่านของน้ำเข้ามาในโมเลกุลของเซลลูโลส เนื่องจากการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างโคโตซานกับเซลลูโลส ลดความเป็นผลึกและลดการดูดซับน้ำลง แผ่นเซลลูโลส BC-2 จึงมีความสามารถในการดูดซับน้ำต่ำ (Salleh *et al.*, 2009; Franco *et al.*, 2017)



รูปที่ 4.15 เปรียบเทียบอัตราการดูดซับน้ำของแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด และแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับโคโตซานและสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร

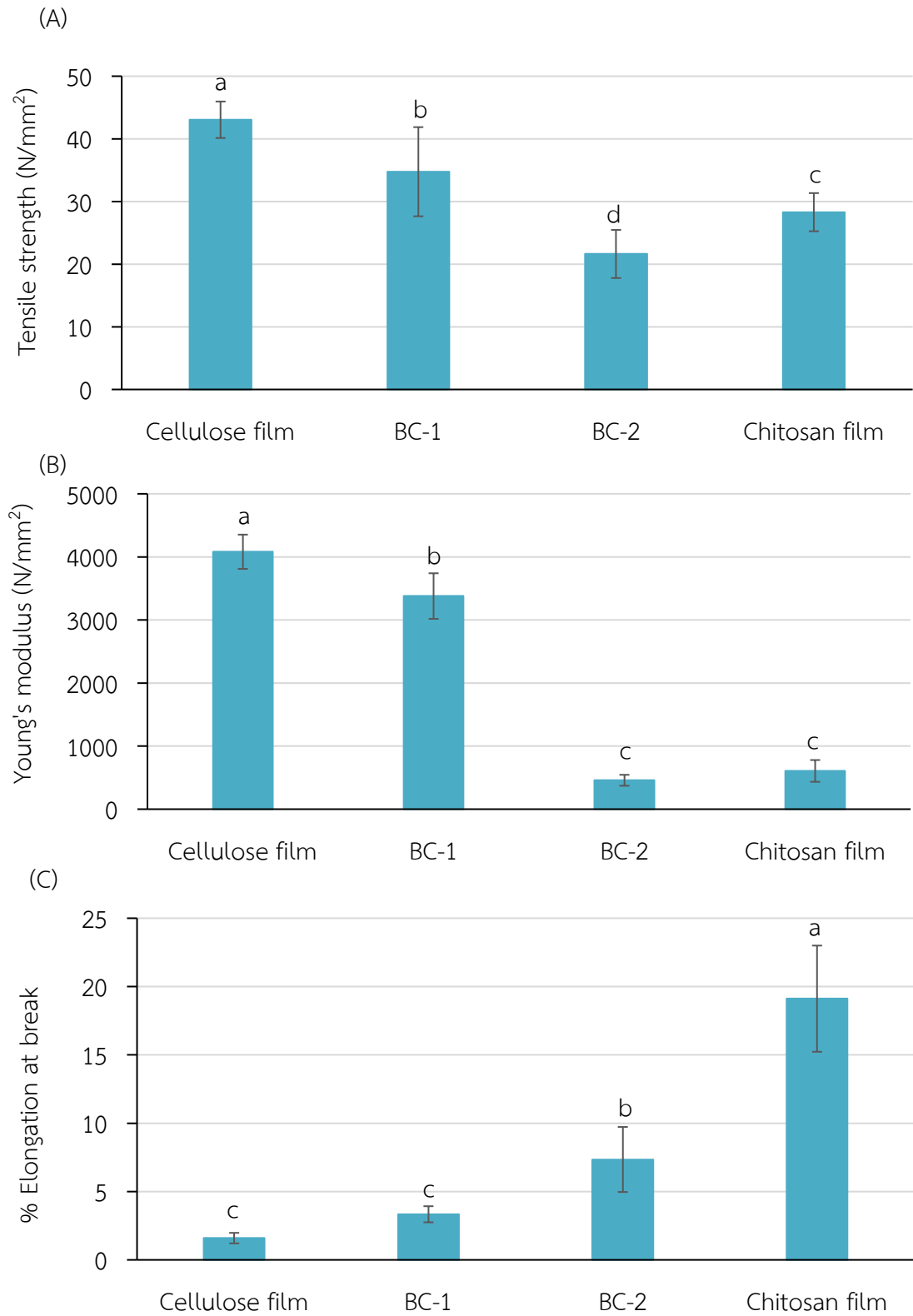
#### 4.12 ผลการศึกษาสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส

วิเคราะห์สมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส โดยศึกษาค่าความแข็งแรงดึง (Tensile strength) ค่ามอดูลัสของยัง (Young's modulus) และร้อยละการยืด ณ จุดขาด (% Elongation at break) แสดงผลดังรูปที่ 4.16 จากการวิเคราะห์ค่าความแข็งแรงดึง และค่ามอดูลัสของยัง ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกความเค้นแรงดึงสูงสุดที่วัสดุสามารถรับแรงกระทำได้ และบ่งบอกความแข็งแรงเกร็งของวัสดุตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 4.16 (A) และ (B) ผลที่ได้มีความแปรผันตรงกัน เมื่อค่าความแข็งแรงดึงลดลงค่ามอดูลัสของยังจะลดลงเช่นกัน โดยแผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม มีค่าความแข็งแรงดึง เท่ากับ  $43.05 \pm 2.91$  N/mm<sup>2</sup> ค่ามอดูลัสของยังเท่ากับ  $4081.04 \pm 271.90$  N/mm<sup>2</sup> ซึ่งสูงกว่าแผ่นฟิล์ม BC-1 BC-2 และแผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 Zhang *et al.*, (2011) กล่าวว่า วิธีการทำแห้งแผ่นเซลลูโลสมีผลต่อสมบัติเชิงกลของเซลลูโลส พบว่าเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่นำมาทำแห้งแบบสุญญากาศจะทนต่อแรงดึงสูงสุดมากกว่าการทำแห้งด้วย Freeze dried และการทำแห้งแบบสุญญากาศทำให้เส้นใยเซลลูโลสอัดกันแน่นและลักษณะของแผ่นบาง โดยแผ่นเซลลูโลส BC-1 เป็นแผ่นเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด มีค่าความแข็งแรงดึงและค่ามอดูลัสของยัง เท่ากับ  $34.75 \pm 7.11$  N/mm<sup>2</sup> และ  $3374.90 \pm 271.90$  N/mm<sup>2</sup> ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าแผ่นเซลลูโลส BC-2 ที่มีไคโตซานและสารสกัดเปลือกมังคุด มีค่าความแข็งแรงดึงและค่ามอดูลัสของยัง เท่ากับ  $21.63 \pm 3.84$  N/mm<sup>2</sup> และ  $458.12 \pm 86.95$  N/mm<sup>2</sup> ตามลำดับ และแผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุมมีค่าความแข็งแรงดึงและค่ามอดูลัสของยังเท่ากับ  $28.30 \pm 3.05$  N/mm<sup>2</sup> และ  $606.53 \pm 172.77$  N/mm<sup>2</sup> ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Barud *et al.*, (2011) และ Karina *et al.*, (2012) ทำการเติมพลาสติกไซเซออร์ลงบนแผ่นเซลลูโลสที่ความเข้มข้นต่างๆ แสดงค่าความแข็งแรงดึงและค่ามอดูลัสของยังลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของพลาสติกไซเซออร์ แต่ค่าร้อยละการยืด ณ จุดขาดจะเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการเติมสารเคอร์คูมินลงบนแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย ส่งผลให้ค่าความแข็งแรงดึงลดลง (Subtaweessin *et al.*, 2018) โดยเริ่มต้นแล้วเซลลูโลสจะมีค่าความแข็งแรงดึงค่อนข้างสูงเนื่องจากการชิดกันของสายโซ่เซลลูโลส ทำให้พันธะไฮโดรเจนแข็งแรงมาก เมื่อมีอนุภาคภายนอกเข้ามาแทรกระหว่างเส้นใยจึงทำให้ความแข็งแรงของเส้นใยลดลง (Przybysz *et al.*, 2016) จากการวิเคราะห์พบว่า การเติมไคโตซานลงในโครงสร้างของเซลลูโลสมีผลให้สมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์ม BC-2 ลดลง สันนิษฐานว่าแรงที่กระทำเพื่อให้แผ่นฟิล์มขาดออกจากกันจะทำลายเส้นใยโดยตรง และการขาดของแผ่นฟิล์มจะขาดจากส่วนที่อ่อนแอที่สุด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเซลลูโลสและไคโตซาน เส้นใยของเซลลูโลสมีความแข็งแรงมากกว่าไคโตซาน ทำให้มีค่าความแข็งแรงดึงสูงกว่า และยังพบว่า การเพิ่มปริมาณไคโตซานในแผ่นฟิล์มเซลลูโลสส่งผลให้ค่าความแข็งแรงดึงลดลง (ทิพวัลย์, 2543) ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการต้านทานแรงดึงสูงสุดก่อนตัวอย่างฉีกขาด และความแข็งแรงเกร็งของตัวอย่าง แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม จึงมีการต้านทานแรงดึงและค่ามอดูลัสของยังสูงที่สุด รองลงมาคือแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 แผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม และแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-2 ตามลำดับ

และจากการวิเคราะห์ค่าร้อยละการยืด ณ จุดขาด แสดงผลของค่าร้อยละการยืดตัวของวัสดุจนกระทั่งเกิดการฉีกขาด ดังรูปที่ 4.16 (C) พบว่าแผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุมมีค่าร้อยละการยืด ณ จุดขาดต่ำกว่าแผ่นฟิล์มชนิดอื่น เมื่อวิเคราะห์ค่าร้อยละการยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม มีค่าร้อยละการยืด ณ จุดขาด  $1.59 \pm 0.38$  เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติไม่มีความแตกต่างกันอย่างมี

นัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับแผ่นเซลล์โลส BC-1 ที่มีค่าร้อยละการยึด ณ จุดขาดเท่ากับ  $3.34 \pm 0.59$  ในขณะที่ค่าร้อยละการยึด ณ จุดขาดของแผ่นเซลล์โลส BC-2 เท่ากับ  $7.35 \pm 2.38$  และแผ่นฟิล์มโคโตะซานควบคุมมีค่าร้อยละการยึด ณ จุดขาดสูงสุดที่สุด คือ  $19.11 \pm 3.89$  จากผลการทดลองแสดงถึงความยืดหยุ่นของแผ่นเซลล์โลสที่มีการเติมสารสกัดและโคโตะซาน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yang *et al.*, (2018) เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของโคโตะซานต่อเซลล์โลสจากแบคทีเรียเพื่อผลิตเป็นแผ่นฟิล์มยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ค่ามอดูลัสของยังและค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มลดลงตามลำดับ ในขณะที่ค่าร้อยละการยึด ณ จุดขาดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเชื่อมกันระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของเซลล์โลสกับหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่เอมีนของโคโตะซาน จึงทำให้ความแข็งแรงของเซลล์โลสลดลง ในขณะที่เดียวกันก็ช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับแผ่นฟิล์ม และเมื่อเพิ่มปริมาณของโคโตะซานมากขึ้นจนถึงระดับหนึ่ง ค่าร้อยละการยึด ณ จุดขาด จะไม่สัมพันธ์กับปริมาณโคโตะซานที่เติมลงไป เนื่องจากการผสมพอลิเมอร์ทั้งสองชนิดไม่เป็นเนื้อเดียวกัน จึงเกิดการแยกเฟสของส่วนผสมในแผ่นฟิล์ม (Fu *et al.*, 2017) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ วลัยกร (2552) และ Xu *et al.*, (2018) แผ่นฟิล์มโคโตะซานที่ไม่ได้ปรับปรุงคุณลักษณะ จะมีค่าความต้านทานแรงดึงและค่ามอดูลัสของยังต่ำ ส่วนค่าร้อยละการยึด ณ จุดขาดสูงกว่าแผ่นฟิล์มชนิดอื่น

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างแผ่นฟิล์มเซลล์โลส BC-1 และ BC-2 แผ่นฟิล์มเซลล์โลส BC-1 จะมีความแข็งแรงมากกว่าแผ่นฟิล์มเซลล์โลส BC-2 ในด้านการต้านทานแรงดึง สามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงเมื่อมีแรงภายนอกมากกระทำได้มาก และเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ยากกว่า แต่แผ่นฟิล์ม BC-2 มีความยืดหยุ่นของแผ่นฟิล์มมากกว่าแผ่นฟิล์ม BC-1 แสดงถึงความสามารถในการยืดตัวสูง เมื่อนำทั้ง 3 ค่ามาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบระหว่าง BC-1 และ BC-2 พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.16 เปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด และแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับไคโตซานและสารสกัดเปลือกมังคุด

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

การสกัดสารจากเปลือกมังคุดและนำมาใช้ร่วมกับแผ่นฟิล์มเซลลูโลสเพื่อศึกษาความสามารถในการยับยั้งและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อและการอักเสบบนผิวหนัง เลือกเฉพาะเปลือกมังคุดสดที่มีระดับสีของเปลือกอยู่ที่ระดับ 5-6 ซึ่งมีเปลือกเป็นสีม่วงแดงจนถึงม่วงเข้ม มาสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยวิธีการสกัดเย็นโดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 ในสภาวะเขย่าเป็นเวลา 7 วันโดยทำซ้ำ 2 รอบ ผลผลิตของสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด ตัดเป็นร้อยละ  $21.69 \pm 0.96$  และมีปริมาณสารออกฤทธิ์แซนโทนร้อยละ  $12.21 \pm 0.54$  ของน้ำหนักแห้งเปลือกมังคุด หรือคิดเป็นร้อยละ  $56.30 \pm 0.01$  ของน้ำหนักสารสกัดหยาบ เมื่อนำสารสกัดหยาบที่ได้มาระเหยแห้ง และทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นโดยใช้วิธี Disk diffusion ที่ความเข้มข้น 0.391-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Micrococcus luteus* ATCC 9431, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 1248, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 แต่ไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ เมื่อทดสอบฤทธิ์ของการยับยั้งเชื้อเบื้องต้นพบว่าแบคทีเรียแกรมบวกไวต่อสารสกัดจากเปลือกมังคุดมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ จึงนำสารสกัดมาทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ (MBC) โดยค่า MIC หรือความเข้มข้นต่ำสุดที่ 0.049 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 9431 และ *Bacillus cereus* DMST 5040 ความเข้มข้น 0.098 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้ง *Bacillus subtilis* TISTR 1248 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และความเข้มข้น 0.195 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้ง *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ได้ และค่า MBC ของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทุกสายพันธุ์คือ 0.391 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อทราบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเปลือกมังคุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทุกชนิดที่ทดสอบได้ ซึ่งคือ 0.391 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดที่มีความเข้มข้นเท่ากับค่า MBC และความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นมาอีก 5 ระดับ คือ 0.391 0.781 1.563 3.125 6.250 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมาใช้ร่วมกับแผ่นเซลลูโลส เพื่อเพิ่มศักยภาพของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรีย แผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.781-12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบทั้ง 5 ชนิด จึงนำมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์หนู (L929) พบว่าแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ใช้ร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 12.50 6.250 และ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีความเป็นพิษต่อเซลล์เกินกว่าที่มาตรฐาน ISO 10993-5: 2009 กำหนด และความเข้มข้น 1.563 และ 0.781 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ จึงเลือกแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นของสารสกัด 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาใช้ศึกษาร่วมกับแผ่นเซลลูโลสชนิดต่างๆต่อไป ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารสกัดที่สูงที่สุดเมื่อนำมาใช้กับแผ่นเซลลูโลสแล้วไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์หนู หรือเซลล์ไลน์ L929 และมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบ

เตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลสในรูปแบบต่างๆ ใช้สารสกัดเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการแช่แผ่นเซลลูโลส และศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์แซนโทนออกจากแผ่นเซลลูโลส แผ่นเซลลูโลสแบบเปียกที่แช่สารสกัดเปลือกมังคุดและทำแห้งในสภาวะสุญญากาศ (BC-1) และแผ่นเซลลูโลสแบบเปียกที่แช่สารละลายโคโตซานและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 ก่อนนำมาแช่สารสกัดเปลือกมังคุดและทำแห้งในสภาวะสุญญากาศ (BC-2) เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ ในช่วงเวลาที่ 8 ที่มีการปลดปล่อยอย่างรวดเร็ว และช่วงเวลาที่ 120 พบว่าการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ของ BC-1 และ BC-2 มีปริมาณสารออกฤทธิ์มากที่สุดและรองลงมาตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นฟิล์มเซลลูโลสชนิดอื่น จึงเลือกแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 และ BC-2 มาใช้ในการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion แผ่นเซลลูโลส BC-1 และ BC-2 ที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 9431, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Bacillus subtilis* TISTR 1248, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ซึ่งแผ่นดิสก์เซลลูโลส BC-1 แสดงบริเวณยับยั้งกว้างกว่าแผ่นดิสก์เซลลูโลส BC-2

เมื่อวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานของแผ่นเซลลูโลสทั้งสองชนิด แผ่นเซลลูโลส BC-1 และ BC-2 แสดงลักษณะของเส้นใยที่สานกันเป็นร่างแหและมีลักษณะของสารสกัดที่อยู่บนพื้นผิวของเส้นใย และลักษณะของโคโตซานที่เกาะกับเส้นใยของเซลลูโลส BC-2 ทำให้ขนาดของรูพรุนของแผ่นเซลลูโลสน้อยลง และเมื่อวิเคราะห์เอกลักษณ์ของแผ่นเซลลูโลสด้วย FTIR แผ่นเซลลูโลส BC-1 จะแสดงเอกลักษณ์ของสารสกัดเปลือกมังคุดบนสเปกตรัมของเซลลูโลส และ BC-2 ที่มีโคโตซาน จะพบพีกของโคโตซานบนสเปกตรัมของเซลลูโลสด้วย ส่วนความสามารถในการดูดซับน้ำและการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นเซลลูโลส BC-1 และ BC-2 มีความสอดคล้องกัน คือแผ่นเซลลูโลส BC-1 ที่ใช้ร่วมกับสารสกัด แสดงค่าของการดูดซับน้ำและการซึมผ่านของไอน้ำมากกว่าแผ่นเซลลูโลส BC-2 ที่มีโคโตซานและสารสกัด ซึ่งสมบัติเชิงกลของแผ่นเซลลูโลส BC-1 ยังแสดงค่าความแข็งแรงดึง และค่ามอดูลัสของยังมากกว่าในแผ่นเซลลูโลส BC-2 ในขณะที่แผ่นเซลลูโลส BC-2 จะแสดงค่าร้อยละการยืดฉีก จุดขาดมากกว่าในแผ่นเซลลูโลส BC-1 เนื่องจากโคโตซานที่แทรกตัวอยู่ในเส้นใย

จากการศึกษาคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ความเป็นพิษต่อเซลล์ ความสามารถในการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ ลักษณะทางกายภาพ และลักษณะเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส พบว่าแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 มีความสามารถในการกักเก็บสารสกัดและยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกสูง ความเข้มข้นของสารสกัดที่อยู่ในแผ่นเซลลูโลสไม่เป็นพิษต่อการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสต์หนู มีสมบัติทางกายภาพที่ดี และจากสมบัติเชิงกลจะเห็นได้ว่าแผ่นฟิล์ม BC-1 มีความแข็งแรงของแผ่นฟิล์มสูง ในขณะที่แผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-2 ที่มีโคโตซานแทรกอยู่ภายใน ส่งผลให้แผ่นฟิล์มมีความยืดหยุ่นสูงกว่าแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 ดังนั้น แผ่นฟิล์มเซลลูโลสทั้ง 2 ชนิดจึงสามารถใช้เป็นแนวทางในการผลิตเป็นแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่เหมาะสมสำหรับการรักษาบาดแผลได้ ซึ่งต้องพิจารณาถึงชนิดของบาดแผลและความเหมาะสมในการนำไปใช้งาน

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 สารสกัดจากเปลือกมังคุดในรูปแบบของสกัดหยาบมีองค์ประกอบของสารอินทรีย์ที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด แต่ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อที่โดดเด่นคืออนุพันธ์ของแซนโทน การนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดมาผ่านกระบวนการแยกสารสกัดให้บริสุทธิ์ และนำส่วนของสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์โดดเด่นมาใช้ร่วมกับแผ่นเซลล์โลสเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และอาจลดความเป็นพิษต่อเซลล์ได้

5.2.2 จากการศึกษาพบว่าแผ่นฟิล์มเซลล์โลสมีการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์อย่างรวดเร็วในช่วงแรก และหลังจากนั้นสามารถปลดปล่อยสารได้อย่างช้าๆ ในการศึกษาเพื่อพัฒนาขั้นตอนการปลดปล่อยสาร อาจนำแผ่นเซลล์โลสจากแบคทีเรียมาเก็บสารสกัดให้อยู่ภายในแผ่นเซลล์โลสและควบคุมการปลดปล่อยสารโดยใช้โคโตซานภายหลังกระบวนการกักเก็บสารและฆ่าเชื้อด้วยการฉายรังสี เพื่อให้แผ่นเซลล์โลสปลดปล่อยสารได้สม่ำเสมอตลอดระยะเวลาการใช้งาน

5.2.3 ทำการทดสอบการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากแผ่นเซลล์โลสผ่านผิวหนังด้วยวิธี Franz diffusion cell และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์เพิ่มเติม เพื่อให้ได้ผลที่ใกล้เคียงกับสภาพผิวหนังมนุษย์มากขึ้น

5.2.4 เพื่อลดความไม่เข้ากันของพอลิเมอร์ทั้งสองชนิด นำเซลล์โลสมาบั่นให้อยู่ในรูปของเยื่อเซลล์โลสจากนั้นผสมกับโคโตซานและใช้พลาสติกไซเซออร์ เพื่อให้แผ่นเซลล์โลสมีลักษณะยืดหยุ่นมากขึ้น

5.2.5 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแผ่นเซลล์โลสโดยใช้ระยะเวลาสั้นลง แต่ยังคงได้ความหนาในระดับที่เหมาะสมสำหรับนำมาทำแผ่นฟิล์มเซลล์โลส

## เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547. **มังคุด**. กรุงเทพมหานคร : กรมวิชาการเกษตร.
- กลุ่มเกษตรสัญจร. 2532. **มังคุด**. ศูนย์ผลิตตำราเกษตรเพื่อชนบท.
- กัลยาณี จิรศรีพงศ์พันธ์ และนวนลอนงค์ จิระกาญจนากิจ. 2550. **ความรู้พื้นฐานการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์** : Basic knowledge in animal cell culture. นครปฐม : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- จริงแท้ ศิริพานิช. 2557. **มังคุด : นวัตกรรมจากงานวิจัย**. กรุงเทพมหานคร : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).
- จรรยา สิ้นเดิมสุข และสมเกียรติ ตีกิจเสริมพงศ์. 2532. “ฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียของสารสกัดเปลือกมังคุดต่อกลุ่มแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงและกลุ่มแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้.” *วารสารกรมการแพทย์*. 14(6) : 451-456.
- จารวี สุขประเสริฐ และสุบงกช ทรัพย์แดง. 2012. “การศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัดสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรีย.” *Bulletin of Applied Sciences*. 1(1) : 99-109.
- จินตมัย สุวรรณประทีป. 2546. “พลาสติกสังเคราะห์ย่อยสลายได้กับงานทางการแพทย์.” *วัสดุและอุปกรณ์ทางการแพทย์*. 60-63.
- จิรา คุณากรวงศ์ เทพ เฉลิมชัย พรอนงค์ อร่ามวิทย์ สุวีรากร โอภาสวงศ์ และมนตรี อุดมเพทายกุล. 2016. “ประสิทธิภาพและความปลอดภัยของแผ่นปิดผิวหนังที่พัฒนาจากแผ่นยางโปรตีนต่ำซึ่งประกอบด้วยสารสกัดจากเปลือกมังคุดและรากต้นก้ามปู” *Journal of Medicine and Health Sciences*. 23(3.) : 40-49.
- จิราพร โรจน์ทินกร และอรุณี คงดี. 2555. “การเตรียมอนุภาคนาโนโคโคซานสมุนไพรรักษาแผลเย็บแผล.” รายงานการวิจัย, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- จิรารัตน์ จิตรานุกัณฑ์กุล. 2556. “การศึกษาสมบัติของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับซิงค์ออกไซด์เพื่อเตรียมเป็นวัสดุปิดแผล.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จีรณ กิ่งแก้ว. 2554. “การพัฒนาฟิล์มแบคทีเรียเซลลูโลสนาโนคอมพอสิตสำหรับการประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์.” วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- จุฬามาศ สวนแก้ว. 2554. “การเตรียมและสมบัติของวัสดุปิดแผลจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ชูชาติ ศรีจันทร์อารี และทิฆัมพร สุริยะนิมิตรชัย. 2538. “การพัฒนาระบบนำส่งยา chitosan-gel microsphere.” *ปริญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล*.
- ณรงชัย ว่องกลกิจศิลป์. 2013. “Vascular Ulcer.” *Srinagarind Medical Journal*. 28(4) : 47-54.

- ณัฐวุฒิ นุ่นแก้ว. 2553. “สมบัติของฟิล์มแบคทีเรียเซลลูโลสจากการสังเคราะห์โดย *Acetobacter xylinum* ที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุด.” วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ทิพวัลย์ วัชรอาภาณุกร. 2543. “การผลิตฟิล์ม และสมบัติทางกายภาพของฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรีย-โคโตแซน.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นุศวดี พจนานุกิจ และสมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม. 2010. “เปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุดเข้มข้นและใบบัวบก.” *Naresuan University Journal*. 18(1) : 1-9.
- เนติ วรรณุช. 2549. “ระบบนำส่งยาในรูปแบบอนุภาคของโคโตซาน สำหรับการนำส่งวัคซีนไข้สมองอักเสบ เจ อี ทางปากและจมูก.” รายงานการวิจัย คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- เบญจมาศ ไชยลาภ. 2559. “ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มแซนโทนโดยวิธีทางเคมีไฟฟ้า.” รายงานการวิจัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์.
- พรเทพ เต็มรังสี. 2554. “ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อที่แยกจากแผลติดเชื้อ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- พรรณี ชื่นนคร พรชัย ไพบูลย์ และสุนทรี ยิ่งชวัลย์. 2554. **อัตราไหลของน้ำกับการเกิดอาการเนื้อแก้วและยางไหลของผลมังคุด.** กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร.
- ภควรรณ ปานช้อยงาม. 2552. “ประสิทธิภาพของโคโตซานปิดจากเปลือกสัตว์ทะเลในการดูดซับกลิ่นแอมโมเนียและฟอร์มาลดีไฮด์.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มาลินี ประสิทธิ์ศิลป์. 2539. “ผิวหนังเทียม.” *วัสดุและอุปกรณ์ทางการแพทย์*. 21-27.
- รัชณี คงคาอุยฉาย ริญ เจริญศิริ และพงศ์ธร สังข์เผือก. 2551. **รายงานการวิจัยเรื่อง คุณค่าโภชนาการของผลไม้ไทยเพื่อสุขภาพและมูลค่าเพิ่ม.** สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- รวารุณี พุทธิให้. 2546. “การเตรียมและศึกษาคุณลักษณะของเยื่อบางโคโตซานและเยื่อประกอบโพลีเอเทอร์ซัลโฟน/โคโตซานเพื่อทำให้เป็นเยื่อกรองระดับอัลตรา.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- วัลย์กร นิตยพัฒน์. 2552. “การใช้มอนต์มอริลโลไนต์ดัดแปรและฝังถ่ายไมไฟดัดแปรเป็นสารตัวเติมในฟิล์มโคโตซาน.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวัสดุศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วิสุตา คุ่มวงษา ลลิตา ไพบูลย์ และปิยาภรณ์ สุภักด์ดำรงกุล. 2558. “ประสิทธิภาพของเจลล้างมือผสมสารสกัดจากเปลือกผลไม้ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค.” *วารสารวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียว*. 1(2) : 66-81.
- สถาบันโรคผิวหนัง. 2559. **สถิติโรคผู้ป่วยนอก (โรคใหม่) ที่พบตามลำดับความชุก 10 อันดับเปรียบเทียบ 3 ปี (2557-2559) ของสถาบันโรคผิวหนัง.**  
[Online]. Available : [http://inderm.go.th/news/view\\_pan.php?id\\_viewp=37](http://inderm.go.th/news/view_pan.php?id_viewp=37)
- สุธิดา คงทอง. 2552. “โคติน-โคโตซาน.” *วารสารวิชาการอุตสาหกรรมศึกษา*. 3(1) : 1-7.

- สุมนา จินดาพงษ์ สุมาลี ปานทอง อินทิช ศักดิ์ภักดิเจริญ และอรุณพร อิฐรัตน์. 2553. “การพัฒนาเจลแต้มสีจากสารสกัดเปลือกมังคุดและตำรับเบญจโลกวิเชียร.” *วารสารการแพทย์แผนไทย และการแพทย์ทางเลือก*. 8(2) : 29.
- สุวบุญ จิระชาญชัย รั้งรอง ยกสำน และโกสุม สมัครรัตน์. 2544. สมบัติทางเคมีและกายภาพของไคตินไคโตซาน. เอกสารประกอบการบรรยายประชุมเชิงปฏิบัติการไคตินและไคโตซานจากวัตถุดิบธรรมชาติสู่การประยุกต์ใช้. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Aamer, A.A., Absul-Hafeez, M.M., and Sayed, S.M. 2015. “Minimum inhibitory and bactericidal concentrations (MIC & MBC) of honey and bee propolis against multidrug resistant (MDR) *Staphylococcus Sp.* Isolated from bovine clinical mastitis.” *Global Journal of Science Frontier Research*. 15(2) : 20-28.
- Agnihotri, N., Gupta, V., and Joshi, R.M. 2004. “Aerobic bacterial isolates from burn wound infections and their antibiograms—a five-year study.” *Burns*. 30 : 241-243.
- Ahmed, S., and Ikram, S. 2016. “Chitosan based scaffolds and their applications in wound healing.” *Achievements in the life sciences*. 10(1) : 27-37.
- Aisha, A.F.A., Abu-Salah, K.M., Ismail, Z., and Majid, A.M.S.A. 2013. “Determination of total xanthenes in *Garcinia mangostana* fruit rind extracts by ultraviolet (UV) spectrophotometry.” *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(1) : 29-35.
- Aisha, A.F.A., Abu-Salah, K.M., Ismail, Z., and Majid, A.M.S.A. 2012. “In vitro and in vivo anti-colon cancer effects of *Garcinia mangostana* xanthenes extract.” *BMC Complement Altern Med*. 12 : 104-113.
- Ajayan, P.M., Schadler, L.S., and Braun, P.V. 2003. **Nanocomposite Science and Technology Nanocomposite Science and Technology**. Weinheim, Germany : Wiley-VCH.
- Akiyode, O., and Boateng, J. 2018. “Composite biopolymer-based wafer dressings loaded with microbial biosurfactants for potential application in chronic wounds.” *Polymers*. 10(8) : 1-22.
- Alberto, E.L., de Ocampo, A.N., Depasupil, C.G., Ligaray, M., Eusebio, R.C., Orbecido, A., Beltran, A., and Patacsil, L. 2019. “Acetylation of Nata de coco (bacterial cellulose) and membrane formation.” *MATEC Web of Conferences*. 268 : 1-6.
- Alharbi, S.A., and Zayed M.E. 2014. “Antibacterial susceptibility of bacteria isolated from burns and wounds of cancer patients.” *Journal of Saudi Chemical Society*. 18 : 3-11.
- Ali, A., and Ahmed, S. 2018. “A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery.” *International Journal of Biological Macromolecules*. 109 : 273-286.
- Allison, S.D. 2008. “Analysis of initial burst in PLGA microparticles.” *Expert Opin. Drug Deliv*. 5(6) : 615-628.

- Andjani, D., Sriyanti, I., Fauzi, A., Edikresnha, D., Munir, M.M., Rachmawati, H., and Khairurrijal, K. 2017. "Rotary forcespun polyvinylpyrrolidone (PVP) fibers as a mangosteen pericarp extracts carrier." *Engineering Physics International Conference*. 170 : 14-18.
- Anithaa, A., Sowmyaa, S., Sudheesh Kumar, P.T., Deepthi, S., Chennazhi, K.P., Ehrlichb, H., Tsurkanc, M., and Jayakumar, R. 2014. "Chitin and chitosan in selected biomedical applications." *Prog. Polym. Sci.* 39 : 1644-1667.
- Artuğ, G., and Hapke, J. 2006. "Characterization of nanofiltration membranes by their morphology, charge and filtration performance parameters." *Desalination*. 200(1-3) : 178-180.
- Aschner, M., and Hestrin, S. 1946. "Fibrillar structure of cellulose of bacterial and animal origin." *Nature*. 157 : 659.
- Barlett, R.H. 1981. "Skin substitutes." *J Trauma*. 21 : S731.
- Barud, H.S., Regiani, T., Marques, R.F.C., Lustri, W.R., Messaddeq, Y., and Ribeiro, S.J.L. 2011. "antimicrobial bacterial cellulose-silver nanoparticles composite membranes." *Journal of Nanomaterials*. 1-8.
- Batista, A.C.L., Villanueva, E.R., Amorim R.V.S., Tavares, M.T. and Campos-Takaki, G. M. 2011. "Chromium (VI) ion adsorption features of chitosan film and its chitosan/zeolite conjugate 13x film." *Molecules*. 16(5) 3569-3579.
- Belton, P.S., Tanner, S.F., Cartier, N., and Chanzy, H. 1989. "High-resolution solid-state <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy of tunicin, an animal cellulose." *Macromolecules*. 22 : 1615-1617.
- Benziman, M., Haigler, C.H., Brown, R.M.Jr., White, A.R., and Cooper, K.M. 1980. "Cellulose biogenesis: polymerization and crystallization are coupled processes in *Acetobacter xylinum*." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 77 : 6678-6682.
- Bielecki, S., Krystynowicz, A., Turkiewicz, M., and Kalinowska, H. 2002. "Bacterial cellulose." *Biopolymers*. 5 : 37-90.
- Boateng, J.S., Matthews, K.H., Stevens, H.N.E., and Eccleston, G.M. 2008. "Wound healing dressings and drug delivery systems: A review." *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 97 : 2892-923.
- Boonmak, N., Niyompanich, J., Chuysinuan, P., Niamlang, P., Ekrabutr, P., Supaphol, P. 2018. "Preparation of mangosteen extract-loaded poly(vinyl acetate) for use as an antibacterial spray-on dressing." *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 46 : 322-329.

- Bravo-Osuna, I., Vauthier, C., Farabollini, A., Palmieri, G.F., and Ponchel, G. 2007. "Mucoadhesion mechanism of chitosan and thiolated chitosan-poly (isobutyl cyanoacrylate) core-shell nanoparticles." *Biomaterials*. 28 : 2233-2243.
- Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T., and Garrity, G.M. 2005. **Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume two**. New York : Springer.
- Brown, R.M.Jr. 1996. "The biosynthesis of cellulose." *Journal of Macromolecular Science, Pure and Applied Chemistry*. (33) : 1345-1373.
- Brown, R.M.Jr., Willison, J.H.M., and Richardson, C.L. 1976. "Cellulose biosynthesis in *Acetobacter xylinum*: I. Visualization of the site of synthesis and direct measurement of the *in vivo* process." *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 73 : 4565-4569.
- Cannon, R.E., and Anderson, S.M. 1991. "Biogenesis of bacterial cellulose." *Critical Reviews in Microbiology*. 17 : 435-447.
- Cardona, L.R., Sanzgir, Y.D., Benedett, L.M., Stella, V.J. and Topp, E.M. 1996. "Application of benzyl hyaluronate membranes as potential wound dressings: evaluation of water vapour and gas permeabilities." *Biomaterials*. 18 : 1639-1643.
- Cavaliere, S.J., Harbeck, R.J., McCarter, Y.S., Ortez, J.H., Rankin, I.D., Sautter, R.L., Sharp, S.E., and Spiegel, C.A. 2005. **Manual of antimicrobial susceptibility testing**. United State : American Society for Microbiology.
- Chen, L.G., Yang, L.L., and Wang, C.C. 2008. "Anti-inflammatory activity of mangostins from *Garcinia mangostana*." *Food Chem Toxicol*. 46(2) : 688-693.
- Chaverri, J.P., Rodriguez, N.C., Ibarra, M.O., and Rojas, J.M.P. 2008. "Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*)." *Food and Chemical Toxicology*. 46 : 3227-3239.
- Choo, K., Ching, Y.C., C.H, Chuah., Julai, S., and Liou, N.S. 2016. "Preparation and characterization of polyvinyl alcohol-chitosan composite films reinforced with cellulose nanofiber." *Materials*. 9(8) : 1-16.
- Chuysinuan, P., Techasakul, S., Suksamrarn, S., Wetprasit, N., Hongmanee, P., and Supaphol, P. 2018. "Preparation and characterization of electrospun polyacrylonitrile fiber mats containing *Garcinia mangostana*" *Polym. Bull*. 75 : 1311-1327.
- Coelho, V.H.M., Alvares, L.D., Carbinatto, F.M., de Aquino Junior, A.E., Angarita, D.P.R. and Bagnato, V.S. 2017. "Photodynamic Therapy, Laser Therapy and Cellulose Membrane for the Healing of Venous Ulcers: Results of a Pilot Study." *Journal of Nursing and Care*. 6(2) : 1-4.

- Collins, M.N., and Birkinshaw, C. 2013. "Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering—A review." *Carbohydrate Polymers*. 92 : 1262-1279.
- Cousins, S.K., and Brown, R.M.Jr. 1995. "Cellulose I microfibril assembly: computational molecular mechanics energy analysis favours bonding by van der Waals forces as the initial step in crystallization." *Polymer*. 36 : 3885-3888.
- Czaja, W., Krystynowicz, A., Kawecki, M., Wysota, K., Sakiel, S., Wróblewski, P., Glik, J., Nowak, M., and Bielecki, S. 2007. "Biomedical applications of microbial cellulose in burn wound recovery." 307-321. In Brown, R.M.Jr. and Saxena, I.M. **Cellulose: Molecular and Structural Biology**. New York : Springer.
- Dalynn biologicals. 2002. **McFARLAND STANDARD**.  
[Online]. Available :[http://www.dalynn.com/dyn/ck\\_assets/files/tech/TM53.pdf](http://www.dalynn.com/dyn/ck_assets/files/tech/TM53.pdf)
- de Souza, C.F., Lucyszyn, N., Woehl, M.A., Riegel-Vidotti, I.C., Borsali, R., and Sierakowski, M.R. 2013. "Property evaluations of dry-cast reconstituted bacterial cellulose/tamarind xyloglucan biocomposites." *Carbohydrate Polymers*. 93 : 144-153.
- de Souza Lima, M.M., and Borsali, R. 2004. "Rodlike cellulose microcrystals: Structure, properties and applications." *Macromolecular Rapid Communications*. 25 : 771-787.
- Degreef, H.J. 1998. "How to heal a wound fast." *Dermatologic Clinics*. 16 : 365-75.
- Dhivya, S., Padma, V.V., and Santhini, E. 2015. "Wound dressings - a review." *Biomedicine*. 5(4) : 24-28.
- Dufresne, A. 2002. **Nanocellulose**. Berlin, Germany : De Gruyter.
- Dunn, Q., Li, E.T., Grandmaison, E.W., and Goosen, M.F.A. 1997. **Applications and properties of chitosan. Application chitin and chitosan**. Pennsylvania : Technomic Publishing.
- Dunnhaupt, S., Barthelmes, J., Rahmat, D., Leithner, K., Thurner, C.C., Friedl, H., and Bernkop-Schnurch, A. 2012. "S-Protected thiolated chitosan for oral delivery of hydrophilic macromolecules: evaluation of permeation enhancing and efflux pump inhibitory properties." *Mol. Pharm*. 9 : 1331-1341.
- Eades, C., Hughes, S., Heard, K., and Moore, L.S.P. 2017. "Antimicrobial therapies for Gram-positive infections." *The Pharmaceutical Journal*. 9 : 1-23.
- Ekabutr, P., Chuysinuan, P., Suksamrarn, S., Sukhumsirichart, W., Hongmanee, P., and Supaphol, P. 2018. "Development of antituberculosis melt-blown polypropylene filters coated with mangosteen extracts for medical face mask applications." *Polymer Bulletin*. 76(4) : 1985-2004.

- Elshikh, M., Ahmed, S., Funston, S., Dunlop, P., McGaw, M., Marchant, R. and Banat, I.M. 2016. "Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants." *Biotechnol Lett.* 38(6) : 1015-1019.
- Enache, A.A. 2018. "Mathematical modelling of the chitosan fiber formation by wet-spinning." Ph.D. dissertation, University of Lyon.
- Fan, C.T., and Su, J.D. 1997. "Antioxidative mechanism of isolated components from methanol extract of fruit hulls of *Garcinia mangostana* L." *Journal of the Chinese Agricultural Chemical Society.* 35(5) : 540-551.
- Fink, H., Faxalv, L., Molnar, G.F., Drotz, K., Risberg, B., and Lindahl, T.L. 2010. "Real-time measurements of coagulation on bacterial cellulose and conventional vascular graft materials." *Acta Biomaterialia.* 6 : 1125-1130.
- Forge, A., and Preston, R.H. 1977. "An electron microscope examination of *Acetobacter xylinum* showing the ultrastructure of cells and the association cellulose microfibrils." *Annals of Botany.* 41 : 437-446.
- Franco, P.B., de Almeida, L.A., Marques, R.F.C., da Silva, M.A., and Campos, M.G.N. 2017. "Chitosan Associated with the Extract of Unripe Banana Peel for Potential Wound Dressing Application." *International Journal of Polymer Science.* 1-8.
- French, A.D., Miller, D.P., and Aabloo, A. 1993. "Miniature crystal models of cellulose polymorphs and other carbohydrates." *International Journal of Biological Macromolecules.* 15 : 30-36.
- Gallardo-de Jesus, E., Andrews, R.M., and Magno, E.T. 1973. "Study on the isolation and screening of microorganisms for production of diverse-textured nata." *Philippine Journal of Science.* 100(1) : 41-52.
- Gama, M., Dourado, F., and Bielecki, S. 2016. **Bacterial nanoCellulose from biotechnology to bio-conomy.** New York : Elsevier.
- Gama, M., Gatenholm, P., and Klemm, D. 2013. **Bacterial nanocellulose, A sophisticated multifunctional material.** Florida, United States: CRC Press.
- Gatenholm, P., and Klemm, D. 2010. "Bacterial nanocellulose as a renewable material for biomedical applications." *MRS Bull.* 35 : 208-213.
- Guggenheim, M., Zbinden, R., Handschin, A.E., Gohritz, A., Altintas, M.A., and Giovanoli, P. 2009. "Changes in bacterial isolates from burn wounds and their antibiograms: A 20-year study (1986-2005)." *BURNS.* 35 : 553-560.
- Guillamet, C.V., and Kollef, M.H. 2014. "Treatment of gram - positive infections in critically ill patients." *BMC Infectious Diseases.* 14 : 1-8.

- Helfman, T., Ovington, L., and Falanga, V. 1994. "Occlusive dressings and wound healing." *Clinics in Dermatology*. 12 : 121-127.
- Hestrin, S., and Schramm, M. 1954. "Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose." *Biochemical Journal*. 58 : 345-352.
- Hunt, T.K., Hopf, H., and Hussain Z. 2000. "Physiology of wound healing." *Advances in Skin & Wound Care*. 13 : 6-11.
- Kouchak, M. Handali, S., and Boroujeni, B.N. 2015. "Evaluation of the mechanical properties and drug permeability of chitosan/eudragit RL composite film." *Osong Public Health Res Perspect*. 5(1) : 14-16.
- Iguchi, M., Yamanaka, S., and Budhiono, A. 2000. "Review. bacterial cellulose - A masterpiece of nature's arts." *Journal of Materials Science*. 35 : 261-270.
- Ingkawatwong, S., Worachotekamjorn, K., Sura, P., Jongsook, P., Phrompool, R., and Wattanapiromsakul, C. 2009. "Formulation of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) peel extract granules for the treatment of diarrhea." *Planta Med*. 75(9) : 35.
- Jayakumar, R., Prabakaran, M., Sudheesh Kumar, P.T., Nair, S.V., and Tamura, H. 2011. "Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications." *Biotechnology Advances*. 29 : 322-337.
- Jayakumar, R., Menon, D., Manzoor, K., Nair, S.V., and Tamura, H. 2010. "Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials—A short review." *Carbohydrate Polymers*. 82(2) : 227-232.
- Jia, Y., Wang, X., Huo, M., Zhai, X., Li, F., and Zhong, C. 2017. "Preparation and characterization of a novel bacterial cellulose/chitosan bio-hydrogel." *Nanomaterials and Nanotechnology*. (7) 1-8.
- Jonas, R., and Farah, L.F. 1998. "Production and application of microbial cellulose." *Polymer Degradation and Stability*. 59 : 101-106.
- Jones, V., Grey, J.E., and Harding K.G. 2006. "Wound dressings." *ABC of wound healing*. 332 : 777-780.
- Juncu, G., Stoica-Guzun, A., Stroescu, M., Isopencu, G., and Jinga, S.I. 2016. "Drug release kinetics from carboxymethylcellulose-bacterial cellulose composite films." *International Journal of Pharmaceutics*. 510 : 485-492.
- Jung, H.A., Su, B.N., Keller, W.J., Mehta, R.G., and Kinghorn, A.D. 2006. "Antioxidant xanthenes from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen)." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(6) : 2077-2082.

- Karina, M., Indrarti, L., Yudianti, R., Indriyati, and Syampurwadi, A. 2012. "Alteration of bacterial cellulose properties by diacetylglycerol." *Procedia Chemistry*. 268-274.
- Kaya, M., Khadem, S., Cakmak, Y.S., Mujtaba, M., Ilk, S., Akyuz, L., Salaberria, A.M., Labidi, J., Abdulqadir, A.H. and Deligoz, E. 2018. "Antioxidative and antimicrobial edible chitosan films blended with stem, leaf and seed extracts of *Pistacia terebinthus* for active food packaging." *RSC Adv.* 8 : 3941-3950.
- Keshk, S.M. 2014. "Bacterial cellulose production and its industrial applications." *Bioprocessing & Biotechniques*. 4(2) : 1-10.
- Khalid, A., Khan, R., Ul-Islam, M., Khan, T., and Wahid, F. 2017. "Bacterial cellulose-zinc oxide nanocomposites as a novel dressingsystem for burn wounds." *Carbohydrate Polymers*. 164 : 214-221.
- Khan, T., Park, J.K., and Kwon, J.H. 2007. "Functional biopolymers produced by biochemical technology considering applications in food engineering." *Korean Journal of Chemical Engineering*. 24(5) : 816-826.
- Khoushab, F., and Yamabhai, M. 2010. "Chitin research revisited." *Marine Drugs*. 8 : 1988-2012.
- Kim, J., Cai, Z., Lee, H.S., Choi, G.S., Lee, D.H., and Jo, C. 2011. "Preparation and characterization of a bacterial cellulose/Chitosan composite for potential biomedical application." *Journal of Polymer Research*. 18 : 739-744.
- Kingkaew, J., Kirdponpattara, S., Sanchavanakit, N., Pavasant, P., and Phisalaphong, M. 2014. "Effect of molecular weight of chitosan on antimicrobial properties and tissue compatibility of chitosan-impregnated bacterial cellulose films." *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 19 : 534-544.
- Klemm, D., Kramer, F., Moritz, S., Lindström, T., Ankerfors, M., Gray, D., and Dorris, A. 2011. "Nanocelluloses: a new family of nature-based materials." *Angewandte Chemie International Edition in English*. 50(24) : 5438-5466.
- Koh, J.J., Qiu, S., Zou, H., Lakshminarayanan, R., Li, J., Zhou, X., Tang, C., Saraswathi, P., Verma, C., Tan, D.T.H., Tan, A.L., Liu, S., and Beuerman, R.W. 2013. "Rapid bactericidal action of alpha-mangostin against MRSA as an outcome of membrane targeting." *Biochimica et Biophysica Acta*. 1828 : 834-844.
- Kołodziejczyk, M., Krystynowicz, A., Kalinowska, H., Pankiewicz, T., Pasięka, Z., Grobelski, B., Kowalska, K., Lawniczak, P., and Bielecki, S. 2010. "The application of microbial cellulose in reconstructive surgery." *Mil. Pharm. Med.* 3 : 62-65.

- Konwar, A., Kalita, S., Kotoky, J., and Chowdhury, D. 2016. "Chitosan–Iron Oxide Coated Graphene Oxide Nanocomposite Hydrogel: A Robust and Soft Antimicrobial Biofilm" *ACS Applied Materials & Interfaces*. 8 : 20625-20634.
- Kovalenko, V., Levin, A.E. **Rapid peptidoglycan-based assay for detection of bacterial contamination**. U.S patent no. EP2486142A2. 15 August 2012.
- Kuete, V. 2013. **Medicinal Plant Research in Africa: Pharmacology and Chemistry**. New York : Elsevier.
- Kuila, A., and Sharma, V. 2018. **Principles and Applications of Fermentation Technology**. Massachusetts, United states : Scrivener Publishing.
- Kwak, M.H., Kim, J.E., Go, J., Koh, E.K., Song, S.H., Son, H.J., Kim, H.S., Yun, Y.H., Jung, Y.J., and Hwang, D.Y. 2015. "Bacterial cellulose membrane produced by *Acetobacter* sp. A10 for burn wound dressing applications." *Carbohydrate Polymers*. 122 : 387-398.
- Lazarini, S.C., de Aquino, R., Amaral, A.C., Corbi, F.C.A., Corbi, P.P., Barud, H.S. and Lustri, W.R. 2016. "Characterization of bilayer bacterial cellulose membranes with different fiber densities: a promising system for controlled release of the antibiotic ceftriaxone." *Cellulose*. 23 : 737-748.
- Lee, M.H., Kim, S.Y., and Park, H.Y. 2018. "Effect of halloysite nanoclay on the physical, mechanical, and antioxidant properties of chitosan films incorporated with clove essential oil." *Food Hydrocolloids*. 84 : 58-67.
- Lim, Y.S. Lee, S.S.H., and Tan, B.C. 2013. "Antioxidant capacity and antibacterial activity of different parts of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) extracts." *Fruits*. 68 : 483-489.
- Lin, W.C., Lien, C.C., Yeh, H.J., Yu, C.M., and Hsu, S.H. 2013. "Bacterial cellulose and bacterial cellulose-chitosan membranes for wound dressing applications." *Carbohydrate Polymers*. 94 : 603-611.
- Liu, F., Chang, W., Chen, M., Xu, F., Ma, J., and Zhong, F. 2019. "Tailoring physicochemical properties of chitosan films and their protective effects on meat by varying drying temperature." *Carbohydrate Polymers*. 212 : 150-159.
- Ma, Y., Xin, L., Tan, H., Fan, M., Li, J., Jia, Y., Ling, Z., Chen, Y., and Hu, X. 2017. "Chitosan membrane dressings toughened by glycerol to load antibacterial drugs for wound healing." *Materials Science & Engineering C*. 81 : 522-531.
- Machmudah, S., Shiddiqi, Q.Y.A., Kharisma, A.D., Widiyastuti, Wahyudiono, Kanda, H., Winardi, S. and Goto, M. 2014. "Subcritical Water Extraction of Xanthone from Mangosteen (*Garcinia Mangostana* Linn) Pericarp" *J Adv Chem Eng*. 5(1) : 1-6.
- Madhally, S.V., and Matthew, H.W. 1999. "Porous chitosan scaffolds for tissue engineering." *Biomaterials*. 20(12) : 1133-42.

- Mahabusarakam, W., Proudfoot, J., Taylor, W., and Croft, K. 2000. "Inhibition of lipoprotein oxidation by prenylated xanthenes derived from mangostin." *Free Radical Research*. 33 : 643-659.
- Maneerung, T., Tokura, S., and Rujiravanit, R. 2008. "Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing." *Carbohydrate Polymers*. 72 : 43-51.
- Marcia, R.E.S., and Castro, M.C.R. 2002. "New dressings, including tissue engineered living skin." *Clinics in Dermatology*. 20 : 715-23.
- Martin, L., Wilson, C.G., Koosha, F., Tetley, L., Gray, A.I., Senel, S., and Ucheğbu, I.F. 2002. "The release of model macromolecules may be controlled by the hydrophobicity of palmitoyl glycol chitosan hydrogels." *Journal of Controlled Release*. 80 : 87-100.
- Mérillon, J.M., and Ramawat, K.G. 2018. **Bioactive Molecules in Food**. New York : Springer International Publishing.
- Melman, L., Jenkins, E.D., Hamilton, N.A., Bender, L.C., Brodt, M.D., Deeken, C.R., Greco, S.C., Frisella, M.M., and Matthews, B.D. 2011. "Early biocompatibility of crosslinked and non-crosslinked biologic meshes in a porcine model of ventral hernia repair." *Hernia*. 15 : 157-164.
- Mendes, P.N., Rahal, S.C., Pereira, O.C.M.Jr., Fabris, V.E., Lenharo, S.L.R., de Lima-Neto, J.F., and da Cruz Landim-Alvarenga, F. 2009. "In vivo and in vitro evaluation of an *Acetobacter xylinum* synthesized microbial cellulose membrane intended for guided tissue repair." *Acta Veterinaria Scandinavica*. 51(1) : 12.
- Mian, M., Beghe, F., and Mian, E. 1992. "Collagen as a pharmacological approach in wound healing." *International Journal of Tissue Reactions*. 14 : 1-9.
- Mikkelsen, D., Flanagan, B.M., Dykes, G.A., and Gidley, M. J. 2009. "Influence of different carbon sources on bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* strain ATCC 53524." *Journal of Applied Microbiology*. 107 : 576-583.
- Moongkarndi, P., Kosem, N., Kaslungka, S., Luanratana, O., Pongpan, N., and Neungton, N. 2004. "Antiproliferation, antioxidation and induction of apoptosis by *Garcinia mangostana* (mangosteen) on SKBR3 human breast cancer cell line." *Journal of Ethnopharmacology*. 90(1) : 161-6.
- Morgan, D.A. 2002. "Wounds- What should a dressing formulary include?." *Hospital Pharmacist*. 9 : 261-266.
- Morton, J.F. 1987. **Fruits of Warm Climates**. New york : Creative Resource Systems.

- Moshakis V., Fordyce M.J., Griffiths J.D., and McKinna J.A. 1984. "Tegaderm versus gauze dressing in breast surgery." *The British journal of clinical practice*. 38 : 149-52.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, F., Coppola, R., and De Feo, V. 2013. "Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria." *Pharmaceuticals*. 6 : 1451-1474.
- Negi, J.S., Bisht, V.K., Singh, P., Rawat, M.S.M., and Joshi, G.P. 2013. "Naturally occurring xanthenes: chemistry and biology." *Journal of Applied Chemistry*. 1-9.
- No, H.K., and Meyers, S.P. 1997. **Chitin Handbook**. Oxford : Pergamon Press.
- Oliveira, B.H.G., Silva, R.R., Silva Barud, H., Tercjak, H., Gutierrez, J., Lustri, W.R., Oliveira Junior, O.B., and Ribeiro, S.J.L. 2016. "A multipurpose natural and renewable polymer in medical applications: Bacterial cellulose." *Carbohydrate Polymers*. 153 : 406-420.
- Oliveira, R.L., Vieira, J.G., Barud, H.S., Assunção, R.M.N., Filho, G.R., Ribeiro, S.J.L., and Messadeq, Y. 2015. "Synthesis and characterization of methylcellulose produced from bacterial cellulose under heterogeneous condition." *J. Braz. Chem. Soc.* 26(9) : 1861-1870.
- O'Neill, H., Shah, R., Evans, B.R., He, J., Pingali, S.V., Chundawat, S.P.S., Jones, A.S., Langan, P., Davison, B.H., and Urban, V. 2015. **Methods in Enzymology**. Cambridge : Academic Press.
- Orozco, F.G., and Failla, M.L. 2013. "Biological activities and bioavailability of mangosteen xanthenes: A critical review of the current evidence." *Nutrients*. 5 : 3163-3183.
- Palakawong, C., Sophanodora, P., Pisuchpen, S., and Phongpaichit, S. 2010. "Antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) parts and some essential oils." *International Food Research Journal*. 17 : 583-589.
- Panawes, S., Ekabutr, P., Niamlang, P., Pavasant, P. Chuyinuan, P. and Supaphol, P. 2017. "Antimicrobial mangosteen extract infused alginate-coated gauze wound dressing." *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 41 : 182-190.
- Phillips, G.O., and Williams, P.A. 2009. **Handbook of hydrocolloids Second edition**. Cambridge, United Kingdom : Woodhead Publishing Limited.
- Phisalaphong, M., and Jatupaiboon N. 2008. "Biosynthesis and characterization of bacteria cellulose-chitosan film." *Carbohydrate Polymers*. 74 : 482-488.
- Phuong, N.T.M., Quang, N.V., Mai, T.T., Anh, N.V., Kuhakarn, C., Reutrakul, V., and Bolhuis, A. 2017. "Antibiofilm activity of a-mangostin extracted from *Garcinia*

- mangostana L. against *Staphylococcus aureus*.” *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 10(12) : 1154-160.
- Piasecka-Zelga, J., Zelga, P., Szulc, J., Wietecha, J., and Ciechanska, D. 2018. “An in vivo biocompatibility study of surgical meshes made from bacterial cellulose modified with chitosan.” *International Journal of Biological Macromolecules*. 116 : 1119-1127.
- Pothitirat, W., and Gritsanapan, W. 2008. “Quantitative analysis of total mangostins in *Garcinia mangostana* fruit rind.” *Journal of Health Research*. 22(4) : 161-166.
- Pothitirat, W., Chomnawang, M.T., Gritsanapan, W. 2010. “Anti-acne-inducing bacterial activity of mangosteen fruit rind extracts.” *Med Princ Pract*. 19 : 281-286.
- Pothitirat, W., Chomnawang, M.T., Supabphol, R., and Gritsanapan, W. 2009. “Comparison of bioactive compounds content, free radical scavenging and anti-acne inducing bacteria activities of extracts from the mangosteen fruit rind at two stages of maturity.” *Fitoterapia*. 442-447.
- Priya, V.V., Jainu, M., Mohan, S., Saraswathi, P., and Chandra Sada, G.V.S. 2010. “Antimicrobial activity of pericarp extract of *Garcinia Mangostana* Linn.” *International Journal of Pharma Sciences and Research*. 1(8) : 278-281.
- Priyadarshia, R., Sauraja, Kumar, B., Deebea, F., Kulshreshtha, A., and Negia, Y.S. 2018. “Chitosan films incorporated with apricot (*Prunus armeniaca*) kernel essential oil as active food packaging material” *Food Hydrocolloids*. 85 : 158-166.
- Przybysz, P., Dubowik, M., Kucner, M.A., Przybysz, K., and Buzala, K.P. 2016. “Contribution of Hydrogen Bonds to Paper Strength Properties.” *PLOS ONE*. 1-10.
- Raad, I., Alrahwan, A., and Rolston, K. 1998. “*Staphylococcus epidermidis*: Emerging resistance and need for alternative agents.” *Clinical Infectious Diseases*. 26 : 1182-1187.
- Retegi, A., Gabilondo, N., Peña, C., Zuluaga, R., Castro, C., Gañan, P., de la Caba, K., and Mondragon, I. 2010. “Bacterial cellulose films with controlled microstructure-mechanical property relationships.” *Cellulose*. 17(3) : 661-669.
- Rinaudo, M. 2006. “Chitin and chitosan: Properties and applications.” *Progress in Polymer Science*. 31 : 603-632.
- Rivera, A.E., and Spencer J.M. 2007. “Clinical aspects of full-thickness wound healing.” *Clinics in Dermatology*. 25 : 39-48.
- Raafat, D., and Sahl, H. 2009. “Chitosan and its antimicrobial potential - a critical literature survey.” *Microb. Biotechnol*. 2 : 186-201.

- Rahman, P.M., Mujeeb, V.M.A., Muraleedharan, K., and Thomas, S.K. 2018. "Chitosan/nano ZnO composite films: enhanced mechanical, antimicrobial and dielectric properties." *Arabian Journal of Chemistry*. 11 : 120-127.
- Romainor, A.N.B., Chin, S.F., Pang, S.C., and Bilung, L.M. 2014. "preparation and characterization of chitosan nanoparticles-doped cellulose films with antimicrobial property." *Journal of Nanomaterials*. 1-10.
- Ross, P., Mayer, R., and Benziman, M. 1991. "Cellulose biosynthesis and function in bacteria." *Microbiological Reviews*. 55 : 35-58.
- Ross, P., Mayer, R., Weinhouse, H., Amikam, D., Huggirat, Y., Benziman, M., de Vroom, E., Fidder, A., de Paus, P., Sliedregt, L.A., van der Marel, G.A., and van Boom, J.H. 1990. "The cyclic diguanylic acid regulatory system of cellulose synthesis in *Acetobacter xylinus*." *Journal of Biological Chemistry*. 265 : 18933-18943.
- Rothstein, S.N., Federspiel, W.J., and Little, S.R. 2009. "A unified mathematical model for the prediction of controlled release from surface and bulk eroding polymer matrices." *Biomaterials*. 30(8) 1657-1664.
- Salleh, E., Muhamad, I.I., and Khairuddin, N. 2009. "structural characterization and physical properties of antimicrobial (AM) starch-based films." *World Academy of Science, Engineering and Technology*. 55 : 432-440.
- Sanchez, P.C. 2008. **Philippine fermented foods : principles and technology**. Diliman, Quezon City, Philippines : University of the Philippines Press.
- Sandermann, W. 1973. "Die "wahren" Dimensionen im Makromolekularen Bereich." *Holz Roh-Werkst*. 31 : 11.
- Sarker, A.D., Nahar, L., and Kumarasamy, Y. 2007. "Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals." *Method*. 42 : 321-324.
- Satong-aun, W., Assawarachan, R., and Noomhorm, A. 2011. "The Influence of Drying Temperature and Extraction Methods on  $\alpha$ -Mangostin in Mangosteen Pericarp." *Journal of Food Science and Engineering* 1. 85-92.
- Shahidi, F., Arachchi, J.K.V., and Jeon, Y.J. 1999. "Food applications of chitin and chitosans." *Trends in Food Science & Technology*. 10 : 37-51.
- Shan, Y., and Zhang, W. 2010. "Preparative separation of major xanthones from mangosteen pericarp using high-performance centrifugal partition chromatography." *Journal of Separation Science*. 33(9) : 1274-1278.
- Shankar, S., and Rhim, J.W. 2018. "Preparation of sulfur nanoparticle-incorporated antimicrobial chitosan films." *Food Hydrocolloids*. 82 : 116-123.

- Shao, W., Liu, H., Liu, X., Wang, S., Wu, J., Zhang, R., Min, H., and Huang, M. 2015. "Development of silver sulfadiazine loaded bacterial cellulose/sodium alginate composite films with enhanced antibacterial property." *Carbohydrate Polymers*. 132 : 351-358.
- Shao, W., Liu, H., Wang, S., Wu, J., Huang, M., Min, H., and Liu, X. 2016. "Controlled release and antibacterial activity of tetracycline hydrochloride-loaded bacterial cellulose composite membranes." *Carbohydrate Polymers*. 145 : 114-120.
- Shibata, M., Matoba, Y., Tosa, H., and Iinuma, M. 2013. "Effects of mangosteen pericarp extracts against mammary cancer." *Alternative and Integrative Medicine*. 2(8) : 2-8.
- Singh, O., Panesar, P.S., and Chopra, H.K. 2017. "Isolation and characterization of cellulose producing bacterial isolate from rotten grapes." *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 14(1) : 373-380.
- Solway, D.R., Consalter, M. and Levinson, D.J. 2010. "Microbial cellulose wound dressing in the treatment of skin tears in the frail elderly." *Wounds*. 22 : 17-19.
- Sparkes, B.G., and Murray, D.G. **Chitosan based wound dressing materials**. U.S patent no. 4572906. 25 February 1986.
- Sriyanti, I., Edikresnha, D., Rahma, A., Munir, M.M., Rachmawati, H., and Khairurrijal, K. 2018. "Mangosteen pericarp extract embedded in electrospun PVP nanofiber mats: physicochemical properties and release mechanism of  $\alpha$ -mangostin." *Int J Nanomedicine*. 13 : 4927-4941.
- Strecker-McGraw, M.K., Jones, T.R., and Baer D.G . 2007. "Soft tissue wounds and principles of healing." *Emergency Medicine Clinics of North America*. 25 : 1-22.
- Su, J., Raghuvanshi, V.S., Raverty, W., Garvey, C.J., Holden, P.J., Gillon, M., Holt, S.A., Tabor, R., Batchlor, W., and Garnier, G. 2016 "Smooth deuterated cellulose films for the visualisation of adsorbed bio-macromolecules." *a nature research journal*. 1-11.
- Subtaweesin, C., Woraharn, W., Taokaew, S., Chiaoprakobkij, N., Sereemasun, A. and Phisalaphong, M. 2018. "Characteristics of curcumin-loaded bacterial cellulose films and anticancer properties against malignant melanoma skin cancer cells." *Applied sciences*. 1-15.
- Suksamrarn, S., Komutiban, O., Ratananukul, P., Chimnoi, N., Lartpornmatulee, N., and Suksamrarn, A. 2006. "Cytotoxic prenylated xanthenes from the young fruit of *Garcinia mangostana*." *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 54(3) : 301-305.

- Sundaram, B.M., Gopalakrishnan, C., Subramanian, S., Shankaranarayanan, D., and Kameswaran, L. 1983. "Antimicrobial activities of *Garcinia mangostana*. *Planta Med.* 48 : 59-60.
- Szycher, M. 1991. **High Performance Biomaterials: A Complete Guide to Medical and Pharmaceutical Applications.** Lancaster, United states : Tachmonic Publishing.
- Taokaew, S., Nunkaewa, N., Siripongb, P., and Phisalaphonga, M. 2014 "Characteristics and anticancer properties of bacterial cellulose films containing ethanolic extract of mangosteen peel." *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition.* 25(9) : 907-922.
- Taokaew, S., Piyaviriyakul, S., Siripong, P., and Phisalaphong, M. 2018. "Aqueous and ethanolic extracts of mangosteen peels as natural antimicrobial/anticancer materials against pathogenic microbes and B16F10 murine melanoma." *Chiang Mai J. Sci.* 45(3) 1345-1358.
- Tewtrakul, S., Wattanapiromsakul, C., and Mahabusarakam, W. 2009. "Effects of compounds from *Garcinia mangostana* on inflammatory mediators in RAW264.7 macrophage cells." *J Ethnopharmacol.* 121 (3) : 379-82.
- Thomas, S. 2008. **The role of dressings in the treatment of moisture-related skin damage.**  
[Online]. Available : <http://www.worldwidewounds.com/2008/march/Thomas/Maceration-and-the-role-of-dressings.html>
- Thomas, S., and Loveless, P.A. 1997. "A comparative study of twelve hydrocolloid dressings." *World Wide Wounds.* 1 : 1-12.
- Tiwari, B.K., Brunton, N.P., and Brennan, C.S. 2013. **Handbook of Plant Food Phytochemicals: Sources, Stability and Extraction.** New Jersey, United States : Wiley-Blackwell.
- Puppi, D., and Chiellini, F. 2018. **Core-Shell Nanostructures for Drug Delivery and Theranostics.** Cambridge, United Kingdom : Woodhead Publishing.
- Toda, K., Asakura, T., Fukaya, M., Entani, E., and Kawamura, Y. 1997. "Cellulose production by acetic acid-resistant *Acetobacter xylinum*." *Journal of Fermentation and Bioengineering.* 84(3) : 228-231.
- Troughton, J.A., Millar, G., Smyth, E.T.M., Doherty, L., and McMullan, R. 2011. "Ciprofloxacin use and susceptibility of gram-negative organisms to quinolone and non-quinolone antibiotics." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 66 : 2152-2158.
- Trovatti, E., Freire, C.S.R., Pinto, P.C., Almeida, I.F., Costa, P., Silvestre, A.J.D., Neto, C.P., and Rosado, C. 2012. "Bacterial cellulose membranes applied in topical and

- transdermal delivery of lidocaine hydrochloride and ibuprofen: In vitro diffusion studies.” *International Journal of Pharmaceutics*. 435 : 83-87.
- Tsai, G.J., Su, W.H., Chen, H.C., and Pan, C.L. 2002. “Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation.” *Fisheries Science*. 68(1) : 170-177.
- Ueno, H., Mori, T., and Fujinaga, T. 2001. “Topical formulations and wound healing applications of chitosan.” *Advanced Drug Delivery Reviews*. 52 : 105-15.
- Ul-Islam, M., Shah, N., and Park, J.K. 2011. “Effect of chitosan penetration on physico-chemical and mechanical properties of bacterial cellulose.” *Korean Journal of Chemical Engineering*. 28(8) : 1736-1743.
- Urbina, L., Guarestia, O., Requies, J., Gabilondo, N., Eceiza, A., Corcuera, M.A., and Retegia, A. 2018. “Design of reusable novel membranes based on bacterial cellulose and chitosan for the filtration of copper in wastewaters.” *Carbohydrate Polymers*. 193 : 362-372.
- Vingataramin, L. and Frost, E.H. 2015. “A single protocol for extraction of gDNA from bacteria and yeast.” *BioTechniques*. 58 : 120-125.
- Volova, T.G., Shumilova, A.A., Shidlovskiy, I.P., Nikolaeva, E.D., Sukovaty, A.G., Vasiliev, A.D., and Shishatskaya, E.I. 2018. “Antibacterial properties of films of cellulose composites with silver nanoparticles and antibiotics.” *Polymer Testing*. 65 : 54-68.
- Wang, X., Xie, Y., Ge, H., Chen, L., Wang, J., Zhang, S., Guo, Y., Lia, Z., and Feng, X. 2018. “Physical properties and antioxidant capacity of chitosan /epigallocatechin-3-gallate films reinforced with nano-bacterial cellulose.” *Carbohydrate Polymers*. 179 : 207-220.
- Wattanaphanit, A., Supaphol, P., Tamura, H., Tokura, S., and Rujiravanit, R. 2010. “Wet-spun alginate/chitosan whiskers nanocomposite fibers: Preparation, characterization and release characteristic of the whiskers.” *Carbohydrate Polymers*. 79 : 738-746.
- Wickman, G., Julian, L. and Olson, M.F. 2012. “How apoptotic cells aid in the removal of their own cold dead bodies.” *Cell Death and Differentiation*. 19 : 735-742.
- Williams, S., and Cannon, R. 1989. “Alternative environmental roles for cellulose produced by *Acetobacter xylinum*.” *Applied and Environmental Microbiology*. 55 : 2448-2452.
- Wu, P., Fisher, A.C., Foo, P.P., Queen, D., and Gaylor, J.D.S. 1995. “In Vitro assessment of water vapour transmission of synthetic wound dressings.” *Biomaterials*. 16(3) : 171-175.

- Wuestenberg, T. 2015. **Cellulose and Cellulose Derivatives in the Food Industry: Fundamentals and Applications.** Weinheim, Germany : Wiley-VCH.
- Xie, H., Chen, X., Shen, X., He, Y., Chen, W., Luo, Q., Ge, W., Yuan, W., Tang, X., Hou, D., Jiang, D., Wang, Q., Liu, Y., Liu, Q., and Li, K. 2017. "Preparation of chitosan-collagen-alginate composite dressing and its promoting effects on wound healing." *International Journal of Biological Macromolecules*. 107 : 93-104.
- Xu, Y., Willis, S., Jordan, K., and Sismour, E. 2018. "Chitosan nanocomposite films incorporating cellulose nanocrystals and grape pomace extracts." *Packaging Technology and Science*. 1-8.
- Yamanaka, S., Ishihara, M., and Sugiyama, J. 2000. "Structural modification of bacterial cellulose." *Cellulose*. 7 : 213-225.
- Yang, J., Kwon, G.J., Hwang, K. and Kim, D.Y. 2018. "Cellulose–Chitosan Antibacterial Composite Films Prepared from LiBr Solution." *Polymers*. 10(10) : 1-7.
- Ye, S., Jiang, L., Su, C., Zhu, Z., Wen, Y., and Shao, W. 2019. "Development of gelatin/bacterial cellulose composite sponges as potential natural wound dressings." *International Journal of Biological Macromolecules*. 133 : 148-155.
- Yoshinaga, F., Tonouchi, N., and Watanabe, K. 1997. "Research progress in production of bacterial cellulose by aeration and agitation culture and its application as a new industrial material." *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 61(2) : 219-224.
- Yoshino, T., Asakura, T., and Toda, K. 1996. "Cellulose production by *Acetobacter pasteurianus* on silicone membrane." *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 81 : 32-36.
- Yoswathana, N., and Eshtiaghi, M.N. 2015. "Optimization of subcritical ethanol extraction for xanthone from mangosteen pericarp." *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 6(2) : 115-119.
- Zaar, K. 1977. "The biogenesis of cellulose by *Acetobacter Xylinum*." *European Journal of Cell Biology*. 16 : 1-15.
- Zaar, K. 1979. "Visualisation of pores (export sites) correlated with cellulose production in the envelope of the gram-negative bacterium." *Acetobacter xylinum. Journal of Cell Biology*. 80 : 773-777.
- Zadernowski, R., Czaplicki, S., and Naczek, M. 2009. "Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*)." *Food Chemistry*. 112(3) : 685-689.
- Zarayneh, S., Sepahi, A.A., Jonoobi, M., and Rasouli, H. 2018. "Comparative antibacterial effects of cellulose nanofiber, chitosan nanofiber, chitosan/cellulose combination and chitosan alone against bacterial

contamination of Iranian banknotes.” *International Journal of Biological Macromolecules*. 118 : 1045-1054.

Zhang, C., Wang, L., Zhao, J., and Zhu, P. 2011. “Effect of drying methods on structure and mechanical properties of bacterial cellulose films.” *Advanced Materials Research*. 239-242 : 2667-2670.

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

### สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### 1. อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าว	100	มิลลิลิตร
น้ำตาลทราย	ร้อยละ 5.0	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
แอมโมเนียมซัลเฟต	ร้อยละ 0.1	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
กรดอะซิติก	ร้อยละ 1.0	(ปริมาตรต่อปริมาตร)

ใช้น้ำมะพร้าวจากมะพร้าวแก่ โดยกรองน้ำมะพร้าวด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นเติมสารต่าง ๆ ตามสูตร เติมหาอาหารเลี้ยงเชื้อลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ปิดจุกสำลีและนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงเท่าอุณหภูมิห้องจึงเติมเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976

#### 2. อาหารสูตร Mueller-Hinton Broth (Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd.)

น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
Beef infusion	ร้อยละ 30	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
Acid hydrolysate of casein	ร้อยละ 1.75	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
Starch	ร้อยละ 0.15	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
pH	7.4	

ชั่งอาหารสูตรสำเร็จแล้วปรับปริมาตรของอาหารตามความต้องการใช้งาน นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### 3. อาหารสูตร Mueller-Hinton Agar (Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd.)

น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
Beef infusion	ร้อยละ 30	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
Acid hydrolysate of casein	ร้อยละ 1.75	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
Starch	ร้อยละ 0.15	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
วุ้น	ร้อยละ 1.5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
pH	7.4	

ชั่งอาหารสูตรสำเร็จแล้วเติมผงวุ้นร้อยละ 1.5 ลงไปในอาหาร นำไปให้ความร้อนจนวุ้นละลาย อาหารที่ได้จะมีสีใส ไม่เห็นผงวุ้น จึงนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### 4. อาหารสูตร Nutrient Agar (Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd.)

น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
เปปโตเน	ร้อยละ 0.5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
สารสกัดเนื้อ	ร้อยละ 0.3	(น้ำหนักต่อปริมาตร)

วุ้น	ร้อยละ 1.5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
pH	6.9	

ซังอาหารสูตรสำเร็จแล้วเติมผงวุ้นร้อยละ 1.5 ลงไปในอาหาร นำไปให้ความร้อนจนวุ้นละลาย อาหารที่ได้จะมีสีใส ไม่เห็นผงวุ้น จึงนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### 5. อาหารสูตร Glucose-Yeast extract-Calcium carbonate Agar (GYC)

น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
กลูโคส	ร้อยละ 5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
ยีสต์สกัด	ร้อยละ 1	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
แคลเซียมคาร์บอเนต	ร้อยละ 2	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
วุ้น	ร้อยละ 2	(น้ำหนักต่อปริมาตร)

ซังสารอาหารตามสูตรอาหาร GYC แล้วเติมวุ้นลงไปร้อยละ 2 แล้วนำไปให้ความร้อนเพื่อให้วุ้นละลาย อาหารที่ได้จะมีลักษณะใส ไม่มีผงวุ้นปนอยู่ คนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้ว แล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เทลงจานเพาะเชื้อ ขณะที่อาหารมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อจาน โดยประมาณ

#### 6. อาหารสูตร Hestrin-Schramm medium (HS medium)

น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
กลูโคส	ร้อยละ 2	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
ยีสต์สกัด	ร้อยละ 0.5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
เปปโตน	ร้อยละ 0.5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	ร้อยละ 0.27	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
กรดซิตริก	ร้อยละ 0.12	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
กลีเซอรอล	ร้อยละ 20	(ปริมาตรต่อปริมาตร)

ใช้เป็นอาหารสำหรับเก็บเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ผสมอาหารตามสูตร แล้วอุ่นอาหารเลี้ยงเชื้อจนอาหารละลายเป็นสีเดียวกัน จากนั้นปิเปตใส่ Cryotube 800 ไมโครลิตร แล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

## ภาคผนวก ข

### การเตรียมสารละลายแซนโทนมาตรฐาน

การวิเคราะห์กราฟมาตรฐานแซนโทนโดยใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

สารเคมี

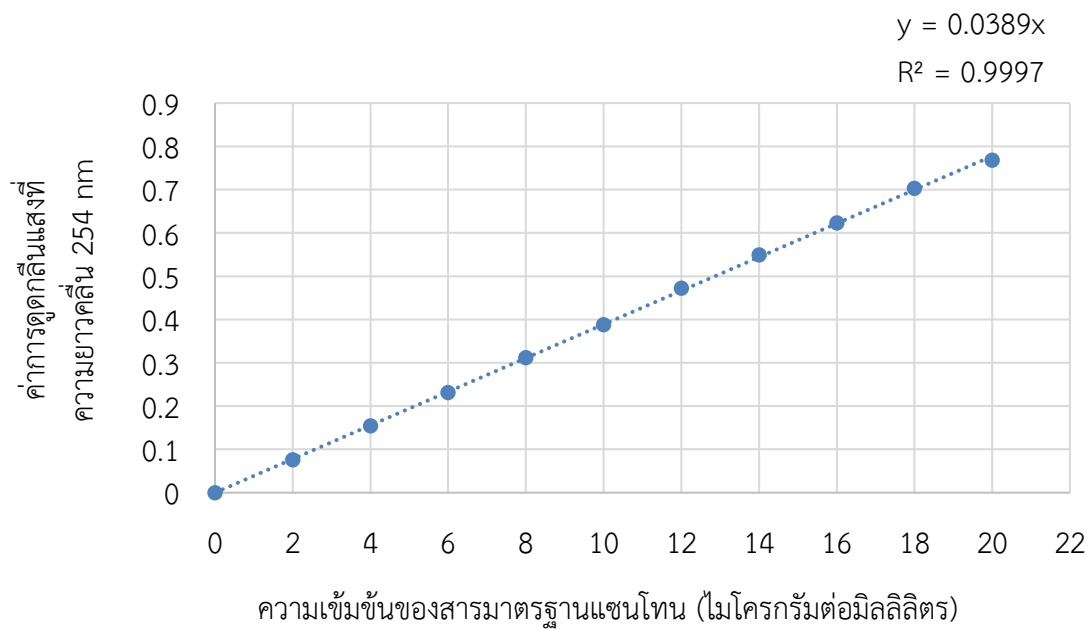
1. เอทานอลร้อยละ 95
2. สารมาตรฐานแซนโทน 97%, Sigma-Aldrich

วิธีการเตรียมสารแซนโทนมาตรฐาน

ชั่งสารมาตรฐานแซนโทน 0.02 กรัม ละลายในเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรให้ได้สารละลาย 10 มิลลิลิตร ภายใต้การกวนด้วยอุณหภูมิตั้งที่ 50 องศาเซลเซียส จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จะมีความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดูดสารละลายมา 300 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ให้สารละลายมีปริมาตร 30 มิลลิลิตร จะมีความเข้มข้นของสารละลายเป็น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เติมอัตราส่วนสารละลายแซนโทน : เอทานอลร้อยละ 95 ดังตาราง วัดปริมาณแซนโทนโดยใช้ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

ตารางที่ ข-1 แสดงอัตราส่วนของสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0-20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตรสารมาตรฐาน (มิลลิลิตร)	ปริมาตรของเอทานอลร้อยละ 95 (มิลลิลิตร)
0	0	5.0
2	0.5	4.5
4	1.0	4.0
6	1.5	3.5
8	2.0	3.0
10	2.5	2.5
12	3.0	2.0
14	3.5	1.5
16	4.0	1.0
18	4.5	0.5
20	5.0	0



รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานของแซนโทน

## ภาคผนวก ค

### การเตรียมสารละลาย McFarland standard

สารละลาย McFarland standard ใช้ในการเปรียบเทียบความขุ่นมาตรฐานของเชื้อแบคทีเรีย สำหรับใช้ในการทดสอบความไวของเชื้อ

#### สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. แบเรียมคลอไรด์

#### วิธีการเตรียมสารละลาย McFarland standard

1. ดูดกรดซัลฟูริกเข้มข้นมา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในปิกเกอร์แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร
2. ชั่งแบเรียมคลอไรด์ 1 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร
3. นำสารละลายกรดซัลฟูริก ร้อยละ 1 และสารละลายแบเรียมคลอไรด์ ร้อยละ 1 มาผสมกันในอัตราส่วนดังตาราง
4. เก็บใส่หลอดฝาเกลียว ไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ ค-1 แสดงอัตราส่วนของสารละลาย McFarland standard เบอร์ 0.5-10

หมายเลขของสารละลาย McFarland standard	1% BaCl <sub>2</sub>	1% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	ปริมาณเชื้อ Bacterial/mL
0.5	0.05	9.95	1.5 × 10 <sup>8</sup>
1.0	0.10	9.90	3.0 × 10 <sup>8</sup>
2.0	0.20	9.80	6.0 × 10 <sup>8</sup>
3.0	0.3	9.70	9.0 × 10 <sup>8</sup>
4.0	0.4	9.60	1.2 × 10 <sup>9</sup>
5.0	0.5	9.50	1.5 × 10 <sup>9</sup>
6.0	0.6	9.40	1.8 × 10 <sup>9</sup>
7.0	0.7	9.30	2.1 × 10 <sup>9</sup>
8.0	0.8	9.20	2.4 × 10 <sup>9</sup>
9.0	0.9	9.10	2.7 × 10 <sup>9</sup>
10.0	1.0	9.00	3.0 × 10 <sup>9</sup>

ที่มา: Dalynn biologicals (2002)

## ภาคผนวก ง

### การวิเคราะห์ทางเคมี

#### 1. การวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้โดยวิธีรีซาซูริน (Resazurin Test)

1. เตรียมรีซาซูรินโดยนำเม็ดรีซาซูริน (VWR Chemical BDH product 33088) จำนวน 1 เม็ด (น้ำหนักประมาณ 240 - 260 มิลลิกรัม) ละลายในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 50 มิลลิลิตร บรรจุในขวดสีชา เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้งาน
2. กรองสารละลายรีซาซูรินด้วยกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอน โดยอัตราส่วนสารละลายรีซาซูรินต่อตัวอย่างทดสอบเป็น 1 ต่อ 10 โดยหยดสารละลายรีซาซูริน 10 ไมโครลิตรในหลุมของ Well plate ที่มีสารละลายตัวอย่างที่ทดสอบ 100 ไมโครลิตร
3. บ่มสารละลายรีซาซูรินเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บันทึกการเปลี่ยนสีของสารรีซาซูรินจากสีฟ้า เป็นสีชมพู

#### 2. การเตรียมสารละลายโคโตซาน

##### สารเคมี

1. โคโตซาน  $M_w$  270,000 Daltons
2. กรดอะซิติกเข้มข้น
3. น้ำกลั่น

##### วิธีการเตรียมสารละลายโคโตซาน

1. เตรียมกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) โดยดูกรดอะซิติกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายโคโตซานโดยใช้อัตราส่วนโคโตซานร้อยละ 1 ในสารละลายกรดอะซิติก ร้อยละ 1 ในสภาวะที่มีการกวนอย่างสม่ำเสมอ นำไปโซนิเคตเพื่อไล่ฟองอากาศออกจากสารละลายโคโตซานก่อนเก็บใส่ขวดปิดฝาไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

#### 3. การเตรียมแผ่นฟิล์มโคโตซาน

##### สารเคมี

1. โคโตซาน  $M_w$  270,000 Daltons
2. กรดอะซิติกเข้มข้น
3. น้ำกลั่น

##### วิธีการเตรียมแผ่นฟิล์มโคโตซาน

1. เตรียมกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) โดยดูกรดอะซิติกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

2. ใช้โคโตซานเตรียมให้เป็นสารละลายโดยใช้อัตราส่วนโคโตซานร้อยละ 1 ในสารละลายกรดอะซิติกร้อยละ 1 ในสภาวะที่มีการกวนอย่างสม่ำเสมอ นำไปโซนิเคตเพื่อไล่ฟองอากาศออกจากสารละลายโคโตซานก่อนเก็บใส่ขวดปิดฝาไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
3. ค่อยๆเทสารละลายโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ลงบนเพลทพลาสติกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 90 มิลลิเมตร
4. นำสารละลายโคโตซานที่เตรียมขึ้นรูป เข้าตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าแผ่นฟิล์มจะร้อนออกจากเพลทพลาสติกได้

#### 4. การเตรียมสารละลาย Phosphate buffer

ชั่ง Phosphate buffer saline 99.8 กรัม ละลายในน้ำ 1 ลิตร จะได้ Stock Phosphate buffer saline pH 7.4 ความเข้มข้น 10X เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 1X ก่อนใช้งาน

**ภาคผนวก จ**  
**การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

ตารางที่ จ-1 ปริมาณสารสกัดหยาบและสารออกฤทธิ์แซนโทนที่สกัดเย็นด้วยเอทานอลร้อยละ 95

สาร	ปริมาณสารสกัดจากเปลือกมังคุด (ร้อยละ)			ค่าเฉลี่ย	SD
สารสกัดหยาบ/ผงเปลือกมังคุด	20.71	22.63	21.72	21.69	0.96
แซนโทน/ผงเปลือกมังคุด	11.66	12.74	12.23	12.21	0.54
แซนโทน/สารสกัดหยาบ	56.30	56.30	56.31	56.30	0.01

ตารางที่ จ-2 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกโดยใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.195-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

*M. luteus*

.	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
0.05 Clindamycin	3	32.9967	.42618	.24606	31.9380	34.0554	32.59	33.44
100	3	10.4867	.27538	.15899	9.8026	11.1707	10.17	10.67
50	3	10.3467	.25166	.14530	9.7215	10.9718	10.08	10.58
25	3	10.2633	.12662	.07311	9.9488	10.5779	10.15	10.40
12.5	3	9.2067	.10693	.06173	8.9410	9.4723	9.09	9.30
6.25	3	8.8533	.06429	.03712	8.6936	9.0130	8.78	8.90
3.12	3	8.4067	.23029	.13296	7.8346	8.9787	8.17	8.63
1.56	3	8.1533	.07234	.04177	7.9736	8.3330	8.07	8.20
0.78	3	7.3667	.07767	.04485	7.1737	7.5596	7.28	7.43
0.39	3	6.5633	.30551	.17638	5.8044	7.3222	6.23	6.83
0.19	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	36	10.3869	7.08996	1.18166	7.9880	12.7858	6.00	33.44

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1758.344	11	159.849	3760.917	.000
Within Groups	1.020	24	.043		
Total	1759.364	35			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0.19	3	6.0000							
ethanol 95%	3	6.0000							
0.39	3		6.5633						
0.78	3			7.3667					
1.56	3				8.1533				
3.12	3				8.4067				
6.25	3					8.8533			
12.5	3						9.2067		
25	3							10.2633	
50	3							10.3467	
100	3							10.4867	
0.05	3								32.9967
Clindamycin									
Sig.		1.000	1.000	1.000	.145	1.000	1.000	.222	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*B. cereus*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
0.05 Clindamycin	3	15.6467	.09074	.05239	15.4213	15.8721	15.58	15.75
100	3	10.5133	.13650	.07881	10.1742	10.8524	10.42	10.67
50	3	10.3500	.24576	.14189	9.7395	10.9605	10.07	10.53
25	3	10.2033	.14012	.08090	9.8553	10.5514	10.06	10.34
12.5	3	10.1833	.11930	.06888	9.8870	10.4797	10.05	10.28
6.25	3	9.7567	.21548	.12441	9.2214	10.2920	9.55	9.98
3.12	3	8.1600	.36756	.21221	7.2469	9.0731	7.86	8.57
1.56	3	7.3100	.15716	.09074	6.9196	7.7004	7.17	7.48
0.78	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
0.39	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
0.19	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	36	8.8436	2.79589	.46598	7.8976	9.7896	6.00	15.75

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	272.940	11	24.813	909.538	.000
Within Groups	.655	24	.027		
Total	273.594	35			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
0.78	3	6.0000						
0.39	3	6.0000						
0.19	3	6.0000						
ethanol 95%	3	6.0000						
1.56	3		7.3100					
3.12	3			8.1600				
6.25	3				9.7567			
12.5	3					10.1833		
25	3					10.2033		
50	3					10.3500	10.3500	
100	3						10.5133	
0.05	3							15.6467
Clindamycin								
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.255	.238	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*B. subtilis*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
0.05 Clindamycin	3	14.6867	.39552	.22835	13.7041	15.6692	14.28	15.07
100	3	7.9967	.58184	.33592	6.5513	9.4420	7.39	8.55
50	3	7.8000	.17349	.10017	7.3690	8.2310	7.65	7.99
25	3	7.7367	.45764	.26422	6.5998	8.8735	7.31	8.22
12.5	3	7.4367	.50501	.29157	6.1822	8.6912	6.86	7.80
6.25	3	7.2167	.37072	.21404	6.2957	8.1376	6.80	7.51
3.12	3	6.9733	.44658	.25783	5.8640	8.0827	6.55	7.44
1.56	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
0.78	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
0.39	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
0.19	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	36	7.4872	2.35193	.39199	6.6914	8.2830	6.00	15.07

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	190.952	11	17.359	157.050	.000
Within Groups	2.653	24	.111		
Total	193.605	35			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1.56	3	6.0000				
0.78	3	6.0000				
0.39	3	6.0000				
0.19	3	6.0000				
ethanol 95%	3	6.0000				
3.12	3		6.9733			
6.25	3		7.2167	7.2167		
12.5	3		7.4367	7.4367	7.4367	
25	3			7.7367	7.7367	
50	3			7.8000	7.8000	
100	3				7.9967	
0.05	3					14.6867
Clindamycin						
Sig.		1.000	.119	.059	.069	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*S. aureus*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
0.05 Clindamycin	3	25.2833	.30105	.17381	24.5355	26.0312	25.04	25.62
100	3	10.5867	.11504	.06642	10.3009	10.8724	10.47	10.70
50	3	10.2833	.42454	.24511	9.2287	11.3379	9.92	10.75
25	3	10.2833	.63736	.36798	8.7000	11.8666	9.68	10.95
12.5	3	9.7867	.10408	.06009	9.5281	10.0452	9.67	9.87
6.25	3	8.8167	.27970	.16149	8.1218	9.5115	8.50	9.03
3.12	3	8.2167	.21825	.12601	7.6745	8.7588	7.98	8.41
1.56	3	7.3033	.16773	.09684	6.8867	7.7200	7.11	7.41
0.78	3	6.6700	.13454	.07767	6.3358	7.0042	6.52	6.78
0.39	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
0.19	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	36	9.6025	5.10259	.85043	7.8760	11.3290	6.00	25.62

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	909.528	11	82.684	1136.207	.000
Within Groups	1.747	24	.073		
Total	911.274	35			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0.39	3	6.0000							
0.19	3	6.0000							
ethanol 95%	3	6.0000							
0.78	3		6.6700						
1.56	3			7.3033					
3.12	3				8.2167				
6.25	3					8.8167			
12.5	3						9.7867		
50	3							10.2833	
25	3							10.2833	
100	3							10.5867	
0.05	3								25.2833
Clindamycin	3								
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.205	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*S. epidermidis*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
0.05 Clindamycin	3	28.5067	.18771	.10837	28.0404	28.9730	28.29	28.62
100	3	11.2900	.50210	.28989	10.0427	12.5373	10.73	11.70
50	3	10.4867	.19296	.11141	10.0073	10.9660	10.27	10.64
25	3	9.7300	.23516	.13577	9.1458	10.3142	9.49	9.96
12.5	3	9.3367	.14189	.08192	8.9842	9.6891	9.21	9.49
6.25	3	8.2767	.20984	.12115	7.7554	8.7979	8.04	8.44
3.12	3	8.0067	.62172	.35895	6.4622	9.5511	7.36	8.60
1.56	3	7.9467	.41669	.24058	6.9115	8.9818	7.51	8.34
0.78	3	7.3333	.64933	.37489	5.7203	8.9464	6.59	7.79
0.39	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
0.19	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	36	9.9094	5.94282	.99047	7.8987	11.9202	6.00	28.62

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1233.248	11	112.113	943.562	.000
Within Groups	2.852	24	.119		
Total	1236.100	35			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
0.39	3	6.0000						
0.19	3	6.0000						
ethanol 95%	3	6.0000						
0.78	3		7.3333					
1.56	3			7.9467				
3.12	3			8.0067				
6.25	3			8.2767				
12.5	3				9.3367			
25	3				9.7300			
50	3					10.4867		
100	3						11.2900	
0.05	3							28.5067
Clindamycin								
Sig.		1.000	1.000	.279	.175	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-3 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบโดยใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.195-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

*E. coli*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
0.05 Clindamycin	3	20.5033	.42618	.27823	19.3062	21.7005	20.14	21.05
100	3	6.0000	.27538	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.25166	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
25	3	6.0000	.12662	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
12.5	3	6.0000	.10693	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
6.25	3	6.0000	.06429	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
3.12	3	6.0000	.23029	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	36	7.8129	7.08996	1.00057	5.7431	9.8827	6.00	21.05

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	552.160	7	78.880	2717.267	.000
Within Groups	.464	16	.029		
Total	552.624	23			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
100	3	6.0000	
50	3	6.0000	
25	3	6.0000	
12.5	3	6.0000	
6.25	3	6.0000	
3.12	3	6.0000	
ethanol 95%	3	6.0000	
0.05 Gentamicin	3		20.5033
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## S. Typhimurium

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
0.05 Clindamycin	3	14.2100	.18682	.10786	13.7459	14.6741	14.01	14.38
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
6.25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
3.12	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	36	7.0263	2.77415	.56627	5.8548	8.1977	6.00	14.38

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	176.936	7	25.277	5794.049	.000
Within Groups	.070	16	.004		
Total	177.006	23			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
100	3	6.0000	
50	3	6.0000	
25	3	6.0000	
12.5	3	6.0000	
6.25	3	6.0000	
3.12	3	6.0000	
ethanol 95%	3	6.0000	
0.05 Gentamicin	3		14.2100
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*P. aeruginosa*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
0.05 Clindamycin	3	10.3467	.13051	.07535	10.0225	10.6709	10.21	10.47
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
6.25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
3.12	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	36	6.5433	1.46895	.29985	5.9231	7.1636	6.00	10.47

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	49.595	7	7.085	3327.624	.000
Within Groups	.034	16	.002		
Total	49.630	23			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
100	3	6.0000	
50	3	6.0000	
25	3	6.0000	
12.5	3	6.0000	
6.25	3	6.0000	
3.12	3	6.0000	
ethanol 95%	3	6.0000	
0.05 Gentamicin	3		10.3467
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*S. marcescens*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
0.05 Clindamycin	3	11.2600	.14422	.08327	10.9017	11.6183	11.14	11.42
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
6.25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
3.12	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	36	6.6575	1.77750	.36283	5.9069	7.4081	6.00	11.42

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	72.627	7	10.375	3990.519	.000
Within Groups	.042	16	.003		
Total	72.669	23			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
100	3	6.0000	
50	3	6.0000	
25	3	6.0000	
12.5	3	6.0000	
6.25	3	6.0000	
3.12	3	6.0000	
ethanol 95%	3	6.0000	
0.05 Gentamicin	3		11.2600
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*K. pneumoniae*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
0.05 Clindamycin	3	12.5733	.29738	.17169	11.8346	13.3121	12.30	12.89
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
6.25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
3.12	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	36	6.8217	2.22241	.45365	5.8832	7.7601	6.00	12.89

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	113.423	7	16.203	1465.806	.000
Within Groups	.177	16	.011		
Total	113.600	23			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
100	3	6.0000	
50	3	6.0000	
25	3	6.0000	
12.5	3	6.0000	
6.25	3	6.0000	
3.12	3	6.0000	
ethanol 95%	3	6.0000	
0.05 Gentamicin	3		12.5733
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-4 แสดงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 0.391 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรถึง 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่นำมาใช้ร่วมกับเซลล์โลสจากแบคทีเรียและมี ผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

*M. luteus*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
12.5	3	12.1233	.67159	.38774	10.4550	13.7917	11.48	12.82
6.25	3	11.2033	.36116	.20851	10.3062	12.1005	10.86	11.58
3.125	3	10.2333	.39374	.22733	9.2552	11.2114	9.78	10.49
1.562	3	10.1133	.05033	.02906	9.9883	10.2384	10.06	10.16
0.781	3	9.4667	.40501	.23383	8.4606	10.4728	9.03	9.83
0.39	3	8.4033	.08327	.04807	8.1965	8.6102	8.31	8.47
Total	21	9.6490	1.92102	.41920	8.7746	10.5235	6.00	12.82

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	71.986	6	11.998	92.290	.000
Within Groups	1.820	14	.130		
Total	73.806	20			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Control	3	6.0000					
0.39	3		8.4033				
0.781	3			9.4667			
1.562	3				10.1133		
3.125	3				10.2333		
6.25	3					11.2033	
12.5	3						12.1233
Sig.		1.000	1.000	1.000	.690	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*B. cereus*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
12.5	3	10.7967	.27319	.15773	10.1180	11.4753	10.57	11.10
6.25	3	10.1767	.33005	.19055	9.3568	10.9966	9.85	10.51
3.125	3	9.1033	.92219	.53243	6.8125	11.3942	8.08	9.87
1.562	3	8.8833	.53295	.30770	7.5594	10.2072	8.28	9.29
0.781	3	7.7267	.48429	.27960	6.5236	8.9297	7.38	8.28
0.39	3	6.8067	.18230	.10525	6.3538	7.2595	6.61	6.97
Total	21	8.4990	1.70453	.37196	7.7232	9.2749	6.00	11.10

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54.937	6	9.156	40.417	.000
Within Groups	3.172	14	.227		
Total	58.108	20			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Control	3	6.0000			
0.39	3	6.8067			
0.781	3		7.7267		
1.562	3			8.8833	
3.125	3			9.1033	
6.25	3				10.1767
12.5	3				10.7967
Sig.		.057	1.000	.580	.133

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*B. subtilis*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
12.5	3	9.8500	.43509	.25120	8.7692	10.9308	9.42	10.29
6.25	3	9.5100	.33511	.19348	8.6775	10.3425	9.17	9.84
3.125	3	8.6100	.35511	.20502	7.7279	9.4921	8.26	8.97
1.562	3	8.0800	.41725	.24090	7.0435	9.1165	7.69	8.52
0.781	3	7.3367	.31533	.18206	6.5533	8.1200	7.03	7.66
0.39	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	21	7.9124	1.49674	.32662	7.2311	8.5937	6.00	10.29

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	43.402	6	7.234	72.210	.000
Within Groups	1.402	14	.100		
Total	44.805	20			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Control	3	6.0000			
0.39	3	6.0000			
0.781	3		7.3367		
1.562	3			8.0800	
3.125	3			8.6100	
6.25	3				9.5100
12.5	3				9.8500
Sig.		1.000	1.000	.059	.209

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*S. aureus*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
12.5	3	11.6500	.78810	.45501	9.6923	13.6077	10.74	12.11
6.25	3	10.7667	.34990	.20202	9.8975	11.6359	10.49	11.16
3.125	3	9.6267	.70614	.40769	7.8725	11.3808	9.17	10.44
1.562	3	9.4633	.21221	.12252	8.9362	9.9905	9.22	9.61
0.781	3	8.7033	.47899	.27655	7.5135	9.8932	8.18	9.12
0.39	3	7.9233	.24111	.13920	7.3244	8.5223	7.67	8.15
Total	21	9.1619	1.81099	.39519	8.3376	9.9863	6.00	12.11

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62.444	6	10.407	46.262	.000
Within Groups	3.150	14	.225		
Total	65.594	20			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Control	3	6.0000					
0.39	3		7.9233				
0.781	3		8.7033	8.7033			
1.562	3			9.4633	9.4633		
3.125	3				9.6267		
6.25	3					10.7667	
12.5	3						11.6500
Sig.		1.000	.064	.070	.680	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*S. epidermidis*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
12.5	3	12.8000	.39281	.22679	11.8242	13.7758	12.37	13.14
6.25	3	11.7933	.44049	.25432	10.6991	12.8876	11.45	12.29
3.125	3	10.8100	.71840	.41477	9.0254	12.5946	10.00	11.37
1.562	3	10.4733	.22723	.13119	9.9089	11.0378	10.23	10.68
0.781	3	9.7267	.51472	.29717	8.4480	11.0053	9.40	10.32
0.39	3	8.8533	.61232	.35352	7.3323	10.3744	8.16	9.32
Total	21	10.0652	2.13307	.46547	9.0943	11.0362	6.00	13.14

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	87.888	6	14.648	65.900	.000
Within Groups	3.112	14	.222		
Total	91.000	20			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Control	3	6.0000					
0.39	3		8.8533				
0.781	3			9.7267			
1.562	3			10.4733	10.4733		
3.125	3				10.8100		
6.25	3					11.7933	
12.5	3						12.8000
Sig.		1.000	1.000	.073	.397	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-5 ความเป็นพิษของสารสกัดจากเปลือกมังคุดเมื่อใช้ร่วมกับแผ่นเซลล์โลสจากแบคทีเรียต่อเซลล์ไฟโพรบลาสท์หนู (L929)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
12.5	3	82.6907	2.0263	1.1699	77.6571	87.7243	80.55	84.58
6.25	3	80.0057	3.1904	1.8420	72.0804	87.9310	77.64	83.63
3.125	3	68.4457	3.7357	2.1568	59.1657	77.7257	64.22	71.31
1.563	3	13.5947	2.5397	1.4663	7.2856	19.9037	10.84	15.85
0.781	3	1.0007	.7274	.4199	-.8062	2.8075	.500	1.835
Total	15	49.1475	36.0220	9.3008	29.1992	69.0958	.500	84.57

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18095.734	4	4523.933	642.257	.000
Within Groups	70.438	10	7.044		
Total	18166.172	14			

Duncan<sup>a</sup>

Conc.	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0.781	3	1.00067			
1.563	3		13.59467		
3.125	3			68.44567	
6.25	3				80.00567
12.5	3				82.69067
Sig.		1.000	1.000	1.000	.244

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-6 การปลดปล่อยสารออกฤทธิ์แซนโทนจากแผ่นเซลลูโลสเป็นเวลา 8 ชั่วโมง

8 ชั่วโมง

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
BC-1	3	434.4650	6.63736	3.83208	417.9769	450.9532	429.92	442.08
BC-2	3	381.1667	9.70389	5.60254	357.0609	405.2725	370.95	390.26
BC-3	3	234.3900	7.36774	4.25377	216.0875	252.6925	225.89	238.95
BC-4	3	160.5667	9.17500	5.29719	137.7747	183.3586	151.39	169.74
BC-5	3	200.4700	11.34219	6.54841	172.2944	228.6456	187.53	208.69
BC-6	3	254.8433	27.66370	15.97165	186.1229	323.5638	223.06	273.50
control 1	3	8.1767	3.16427	1.82689	.3162	16.0372	6.30	11.83
control 2	3	8.4767	2.57071	1.48420	2.0907	14.8627	6.25	11.29
control 3	3	2.7000	.59775	.34511	1.2151	4.1849	2.01	3.06
control 4	3	6.8100	1.77279	1.02352	2.4061	11.2139	5.37	8.79
control 5	3	4.9633	2.40479	1.38841	-1.0105	10.9372	3.55	7.74
Total	33	154.2753	155.85651	27.13114	99.0110	209.5396	2.01	442.08

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	774927.044	10	77492.704	712.419	.000
Within Groups	2393.028	22	108.774		
Total	777320.072	32			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
control 3	3	2.7000						
control 5	3	4.9633						
control 4	3	6.8100						
control 1	3	8.1767						
control 2	3	8.4767						
BC-4	3		160.5667					
BC-5	3			200.4700				
BC-3	3				234.3900			
BC-6	3					254.8433		
BC-2	3						381.1667	
BC-1	3							434.4650
Sig.		.550	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-7 การปลดปล่อยสารออกฤทธิ์แซนโทนจากแผ่นเซลลูโลสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

120 ชั่วโมง

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
BC-1	3	598.9546	16.95014	9.78617	556.8481	641.0611	579.74	611.80
BC-2	3	464.2567	18.62301	10.75200	417.9945	510.5188	442.80	476.22
BC-3	3	325.8700	7.61049	4.39392	306.9645	344.7755	317.43	332.21
BC-4	3	336.3582	15.56797	8.98817	297.6852	375.0312	320.95	352.08
BC-5	3	307.3767	1.00878	.58242	304.8707	309.8826	306.30	308.30
BC-6	3	333.7767	8.70479	5.02571	312.1528	355.4006	324.91	342.31
Control 1	3	8.8267	1.21763	.70300	5.8019	11.8514	8.05	10.23
Control 2	3	6.5800	.43966	.25384	5.4878	7.6722	6.09	6.94
Control 3	3	6.9300	1.31560	.75956	3.6619	10.1981	5.55	8.17
Control 4	3	7.6200	1.42503	.82274	4.0800	11.1600	6.20	9.05
Control 5	3	5.5933	.64632	.37315	3.9878	7.1989	4.88	6.14
Total	33	218.3766	211.21546	36.76789	143.4829	293.2704	4.88	611.80

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1425548.951	10	142554.895	1541.814	.000
Within Groups	2034.103	22	92.459		
Total	1427583.054	32			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control 5	3	5.5933				
Control 2	3	6.5800				
Control 3	3	6.9300				
Control 4	3	7.6200				
Control 1	3	8.8267				
BC-5	3		307.3767			
BC-3	3			325.8700		
BC-6	3			333.7767		
BC-4	3			336.3582		
BC-2	3				464.2567	
BC-1	3					598.9546
Sig.		.716	1.000	.220	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-8 แสดงการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion ของแผ่นเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด และแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับไคโตซานที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด

*M. luteus*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
BC 1	3	9.7233	.14189	.08192	9.3709	10.0758	9.57	9.85
BC 2	3	8.8067	.04933	.02848	8.6841	8.9292	8.75	8.84
Cellulose film	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Chitosan film	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	12	7.6325	1.73955	.50216	6.5272	8.7378	6.00	9.85

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33.241	3	11.080	1964.023	.000
Within Groups	.045	8	.006		
Total	33.286	11			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Cellulose film	3	6.0000		
Chitosan film	3	6.0000		
BC 2	3		8.8067	
BC 1	3			9.7233
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*B. cereus*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
BC 1	3	8.9767	.12897	.07446	8.6563	9.2970	8.87	9.12
BC 2	3	8.8000	.04583	.02646	8.6862	8.9138	8.75	8.84
Cellulose film	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Chitosan film	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	12	7.4442	1.51092	.43617	6.4842	8.4042	6.00	9.12

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	25.074	3	8.358	1784.642	.000
Within Groups	.037	8	.005		
Total	25.112	11			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Cellulose film	3	6.0000		
Chitosan film	3	6.0000		
BC 2	3		8.8000	
BC 1	3			8.9767
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*B. subtilis*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
BC 1	3	8.5833	.18771	.10837	8.1170	9.0496	8.38	8.75
BC 2	3	7.8567	.01528	.00882	7.8187	7.8946	7.84	7.87
Cellulose film	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Chitosan film	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	12	7.1100	1.19271	.34431	6.3522	7.8678	6.00	8.75

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15.577	3	5.192	585.612	.000
Within Groups	.071	8	.009		
Total	15.648	11			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Cellulose film	3	6.0000		
Chitosan film	3	6.0000		
BC 2	3		7.8567	
BC 1	3			8.5833
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*S. aureus*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
BC 1	3	9.4133	.12897	.07446	9.0930	9.7337	9.27	9.52
BC 2	3	8.4733	.03215	.01856	8.3935	8.5532	8.45	8.51
Cellulose film	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Chitosan film	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	12	7.4717	1.57683	.45519	6.4698	8.4735	6.00	9.52

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27.315	3	9.105	2061.512	.000
Within Groups	.035	8	.004		
Total	27.350	11			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Cellulose film	3	6.0000		
Chitosan film	3	6.0000		
BC 2	3		8.4733	
BC 1	3			9.4133
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*S. epidermidis*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
BC 1	3	10.4633	.35921	.20739	9.5710	11.3557	10.05	10.70
BC 2	3	9.3400	.16371	.09452	8.9333	9.7467	9.16	9.48
Cellulose film	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Chitosan film	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	12	7.9508	2.08618	.60223	6.6253	9.2763	6.00	10.70

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47.562	3	15.854	406.946	.000
Within Groups	.312	8	.039		
Total	47.873	11			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Cellulose film	3	6.0000		
Chitosan film	3	6.0000		
BC 2	3		9.3400	
BC 1	3			10.4633
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-9 ศึกษาสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 BC-2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม และ แผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม

Tensile strength								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
BC-1	7	34.7530	7.1136	2.6887	28.1740	41.3320	25.86	47.82
BC-2	7	21.6254	3.8390	1.4510	18.0749	25.1759	14.81	24.71
Cellulose film	7	43.0461	2.9143	1.1015	40.3509	45.7414	38.68	47.01
Chitosan film	7	28.2951	3.0468	1.1516	25.4774	31.1129	24.18	33.55
Total	28	31.9299	9.1393	1.7272	28.3861	35.4738	14.81	47.82

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1756.540	3	585.513	28.178	.000
Within Groups	498.702	24	20.779		
Total	2255.242	27			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
BC-2	7	21.6254			
Chitosan film	7		28.2951		
BC-1	7			34.7530	
Cellulose film	7				43.0461
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

Young's modulus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
BC-1	7	3378.9000	361.2074	136.5236	3044.8389	3712.9611	2823.30	3805.00
BC-2	7	458.1257	86.9472	32.8629	377.7130	538.5384	361.25	601.35
Cellulose film	7	4081.0429	271.9021	102.7693	3829.5754	4332.5103	3672.10	4423.00
Chitosan film	7	606.5271	172.7652	65.2991	446.7460	766.3083	402.19	787.88
Total	28	2131.1489	1664.7543	314.6090	1485.6246	2776.6733	361.25	4423.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	73377131.338	3	24459043.779	404.601	.000
Within Groups	1450854.623	24	60452.276		
Total	74827985.961	27			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
BC-2	7	458.1257	3378.9000	4081.0429
Chitosan film	7	606.5271		
BC-1	7			
Cellulose film	7			
Sig.		.270	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

% Elongation at break

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
BC-1	7	3.3367	.58883	.22256	2.7922	3.8813	2.50	3.94
BC-2	7	7.3458	2.37941	.89933	5.1453	9.5464	3.95	9.73
Cellulose film	7	1.5924	.38447	.14531	1.2368	1.9480	1.05	1.98
Chitosan film	7	19.1127	3.88519	1.46846	15.5195	22.7059	13.82	24.46
Total	28	7.8469	7.28752	1.37721	5.0211	10.6727	1.05	24.46

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1306.408	3	435.469	81.968	.000
Within Groups	127.505	24	5.313		
Total	1433.913	27			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Cellulose film	7	1.5924		
BC-1	7	3.3367		
BC-2	7		7.3458	
Chitosan film	7			19.1127
Sig.		.170	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

ตารางที่ จ-10 อัตราการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 BC-2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม และแผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
					Cellulose film	3		
Chitosan film	3	183.74007	8.922205	5.151238	161.57608	205.90405	176.646	193.757
BC-1	3	152.67667	5.606302	3.236800	138.74984	166.60349	148.297	158.995
BC-2	3	115.51268	12.532717	7.235768	84.37968	146.64567	101.703	126.163
Total	12	153.44300	27.343943	7.893516	136.06949	170.81652	101.703	193.757

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7283.287	3	2427.762	20.633	.000
Within Groups	941.316	8	117.664		
Total	8224.603	11			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
BC-2	3	115.51268		
BC-1	3		152.67667	
Cellulose film	3		161.84260	
Chitosan film	3			183.74007
Sig.		1.000	.331	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-11 ความหนาของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 BC-2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม และแผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม

Thickness								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Cellulose film	3	21.66667	2.081666	1.201850	16.49552	26.83781	20.000	24.000
Chitosan film	3	19.33333	2.516611	1.452966	13.08172	25.58494	17.000	22.000
BC-1	3	25.33333	.577350	.333333	23.89912	26.76755	25.000	26.000
BC-2	3	114.66667	12.055428	6.960204	84.71932	144.61401	102.000	126.000
Total	12	45.25000	42.257060	12.198562	18.40115	72.09885	17.000	126.000

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19329.583	3	6443.194	164.858	.000
Within Groups	312.667	8	39.083		
Total	19642.250	11			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Chitosan film	3	19.33333	
Cellulose film	3	21.66667	
BC-1	3	25.33333	
BC-2	3		114.66667
Sig.		.292	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-12 ความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส BC-1 BC-2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสควบคุม และแผ่นฟิล์มไคโตซานควบคุม

WVP

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
					Cellulose film	3		
Chitosan film	3	1.2862E-11	1.124E-12	6.49E-13	1.01E-11	1.57E-11	1.2E-11	1.41E-11
BC-1	3	1.4067E-11	8.38E-13	4.84E-13	1.20E-11	1.61E-11	1.35E-11	1.5E-11
BC-2	3	4.8513E-11	1.0136E-11	5.852E-12	2.33E-11	7.37E-11	3.77E-11	5.78E-11
Total	12	2.2035E-11	1.6566E-11	4.782E-12	1.15E-11	3.26E-11	1.17E-11	5.78E-11

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	3	.000	35.456	.000
Within Groups	.000	8	.000		
Total	.000	11			

Duncan<sup>a</sup>

Types	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Cellulose film	3	1.2699E-11	
Chitosan film	3	1.2862E-11	
BC-1	3	1.4067E-11	
BC-2	3		4.8513E-11
Sig.		.762	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาว พรภัสสร มวลสูงเนิน
วัน เดือน ปีเกิด	28 มิถุนายน 2536
ที่อยู่ปัจจุบัน	470 หมู่บ้านเคหะนคร 2 ซอยลาดกระบัง 36 แยก 18 แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
ประวัติการศึกษา	(2558) วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม เกรดเฉลี่ย 3.16 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงานทางวิชาการ	Pronpatsorn Moonsungnoen, Pathavuth Monvisade and Duangjai Ochaikul. 2018. "Enhanced Wound Dressing from Bacterial Cellulose by Incorporating Mangosteen Crude Extract ( <i>Garcinia mangostana</i> Linn.)." 982-992. in <b>The 30th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference</b> . Bangkok.