

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและฤทธิ์ต้านจุลชีพของเส้นใยนาโนจากสารผสมไคโตแซน-เซลลูโลส อะซิเตท-เจลาตินเสริมน้ำมันกระชายโดยวิธีปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต

จรรยาพร สมทรัพย์^{1*} และ รชา เทพชร²

¹โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี, กาญจนบุรี

²สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, ปทุมธานี

*jaruayporn12@gmail.com

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและฤทธิ์ต้านจุลชีพของเส้นใยนาโนไคโตแซน-เซลลูโลส อะซิเตท-เจลาตินเสริมน้ำมันกระชาย โดยวิธีการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต ใช้แรงดันไฟฟ้า 23 กิโลโวลต์ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อ ชั่วโมง และระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับแผ่นรองรับ 10 เซนติเมตร เส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชายร้อยละ 0.0, 0.1, 0.75, 3.0, 5.0 และ 10.0 โดยปริมาตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 152 ± 41 , 94 ± 34 , 113 ± 43 , 210 ± 67 , 225 ± 56 , 214 ± 90 และ 277 ± 144 นาโนเมตร ตามลำดับ เมื่อเติมน้ำมันกระชายร้อยละ 3.0 ถึง 10.0 โดยปริมาตร ส่งผลให้เส้นใยมีขนาดใหญ่ขึ้น นอกจากนี้ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมันกระชายร้อยละ 5.0 และ 10.0 จะได้เส้นใยที่มีจุดเชื่อมและขนาดไม่สม่ำเสมอ การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* โดยวิธี dynamic shake test ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าแผ่นเส้นใยนาโน CS-CA-Gel เสริมน้ำมันกระชายสามารถปลดปล่อยสารสำคัญทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการชะลอการเจริญของแบคทีเรีย ดังนั้นแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชายมีศักยภาพสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานในด้านต่าง ๆ ได้ เช่น แผ่นปิดแผล บรรจุภัณฑ์อาหารแอคทีฟ และตัวนำส่งยา เป็นต้น

คำสำคัญ: เส้นใยนาโน การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต น้ำมันกระชาย ฤทธิ์ต้านจุลชีพ



Morphology and antimicrobial activity of nanofibers chitosan-cellulose acetate - gelatin blend incorporated with lesser galangal oil by electrospinning

Jaruayporn Somsap^{1*} and Racha Tepsorn²

¹The Demonstration school of Kanchanaburi Rajabhat University, Kanchanaburi Rajabhat University

²Department of Food Science and Technology, Thammasat University

*jaruayporn12@gmail.com

Abstract

The objective of this research was to determine the morphology and antimicrobial activity of chitosan-cellulose acetate-gelatin blend electrospun nanofibers incorporated with lesser galangal oil by electrospinning. The conditions of applied voltage at 23 kV, flow rate at 0.7 ml/h and collector distance of 10 cm were performed. The average diameters of nanofibers incorporated with lesser galangal oil at 0.0, 0.1, 0.75, 3.0, 5.0 and 10.0%(v/v) were 152±41, 94±34, 113±43, 210 ±67, 225±56, 214±90, and 277±144 nm respectively. When adding the concentration of lesser galangal oil from 3.0 to 10.0 %(v/v), the result showed that fiber diameter increased. In addition, larger fibers with junction and non-uniform nanofibers were obtained at the concentration of lesser galangal oil of 5.0 and 10.0 %(v/v). Antimicrobial activity was investigated by dynamic shake test at different time periods by using *Pseudomonas aeruginosa*. The result demonstrated that the electrospun CS-CA-Gel nanofiber mats incorporated with lesser galangal oil could release bioactive reagent that effectively retarded the growth of bacteria. Therefore, the nanofibers which were fortified with lesser galangal oil have potential to be applied in various fields such as wound healing, active food packaging, drug delivery and others.

Keywords: nanofiber, electrospinning, lesser galanga oil, antimicrobial activity

1. บทนำ

เส้นใยนาโน เป็นวัสดุนาโนชนิดหนึ่งที่มีโครงสร้างเป็นเส้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ไม่กี่นาโนเมตรจนถึงไมโครเมตร มีลักษณะเด่น เช่น น้ำหนักเบา รูพรุนสูง อัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง มีความยืดหยุ่นและสมบัติทางกลที่ดี [1-3] ทำให้มีการนำแผ่นเส้นใยนาโนมาประยุกต์ใช้ในงานหลากหลาย เช่น วิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue Engineering) แผ่นปิดแผล ตัวนำส่งยา แผ่นกรองอากาศ เครื่องสำอาง ตัวตรวจจับชีวภาพ (biosensor) และบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active food packaging) [4-5] เป็นต้น การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต หรืออิเล็กโตรสปินนิง (electrospinning) เป็นกระบวนการที่ได้รับความนิยมเนื่องจากมีความสะดวกในการผลิตใช้อุปกรณ์ไม่ซับซ้อน มีความยืดหยุ่นในการเลือกใช้วัตถุดิบตั้งต้น [6] อุปกรณ์พื้นฐานของกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก คือ แหล่งกำเนิดศักย์ไฟฟ้าแรงสูง (high voltage power supply) หลอดบรรจุสารละลายที่ปลายติดกับเข็ม (syringe with needle) และแผ่นรองรับเส้นใย (collector) โดยหลักการของกระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิตอาศัยแรงทางไฟฟ้าที่เกิดจากศักย์ไฟฟ้าแรงสูง ส่งผลให้สารละลายพอลิเมอร์ที่ปลายเข็มยืดออกเป็นรูปทรงกรวย (Taylor cone) เนื่องจากแรงดึงทางประจุ เมื่อสนามไฟฟ้าที่มีค่ามากกว่าแรงดึงผิวของสารละลายพอลิเมอร์ จะเกิดแรงขับเคลื่อนให้สารละลายพอลิเมอร์พุ่งออกมาเป็นสายตกลงสู่แผ่นรองรับที่มีประจุตรงข้ามและในระหว่างการเคลื่อนที่ลงสู่แผ่นรองรับ จะเกิดการระเหยของตัวทำละลายทำให้ได้เส้นใยขนาดเล็ก [7-10] เส้นใยที่ได้จากกระบวนการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต เรียกว่า อิเล็กโตรสปิน (electrospun) [9-13] ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยนาโนขึ้นอยู่กับพารามิเตอร์ด้านคุณสมบัติ

ของสารละลาย (ความเข้มข้น ความหนืด แรงตึงผิว ชนิดของตัวทำละลาย และค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย) พารามิเตอร์ด้านกระบวนการ (แรงดันไฟฟ้า อัตราการไหล ระยะห่างระหว่างปลายเข็มและแผ่นรองรับเส้นใย) และพารามิเตอร์ด้านสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ [12-16] ปัจจุบันนักวิจัยได้มีความพยายามพัฒนาแผ่นเส้นใยนาโนให้มีคุณสมบัติพิเศษ เช่น มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) สามารถย่อยสลายทางชีวภาพ (biodegradability) เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม มีความเป็นพิษต่ำ ปลอดภัย และมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวพบได้ในสารสกัดจากธรรมชาติ งานวิจัยนี้เลือกใช้ไคโตแซน เซลลูโลสอะซิเตทและเจลาติน เนื่องจากเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่สามารถขึ้นรูปเป็นเส้นใยนาโนได้เมื่อมีความเข้มข้น และใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม [7,10,14] ไคโตแซนเป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ซึ่งมีหมู่อะมิโนแทนที่หมู่ไฮดรอกซิลตรงตำแหน่ง C2 เป็นอนุพันธ์ของไคตินที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซิเตท (deacetylation) ของไคตินในสารละลายต่างเข้มข้น พบมากในสัตว์กลุ่มครัสเตเชียน (crustaceans) และแมลง สามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์ [17-19] เจลาตินเป็นโปรตีนที่ได้มาจากคอลลาเจนซึ่งเป็นโปรตีนธรรมชาติที่มีอยู่ในกระดูก หนังสัตว์ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของสัตว์ แม้จะสามารถละลายในน้ำได้ดี แต่ไม่สามารถพอร์มเป็นเส้นใยนาโนได้เมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย [15, 20-21] แต่สามารถขึ้นรูปเป็นเส้นใยได้เมื่อใช้กรดอะซิติกเป็นตัวทำละลาย [21-22] สำหรับเซลลูโลสอะซิเตทเป็นสารประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลส สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายประเภทกรดอินทรีย์ มีความคงตัวต่อความร้อนสูง สามารถขึ้นรูปเป็นเส้นใยเมื่อใช้กรดอะซิติกเป็นตัวทำละลาย [23-24] แผ่นเส้นใยนาโนที่มีสมบัติต้านจุลชีพ ได้รับความสนใจเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านจุลชีพได้ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้หลากหลาย เช่น แผ่นเส้นใยนาโนเคลือบอาหาร (food coating) บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ แผ่นปิดแผล เป็นต้น [25] น้ำมันกระชายเป็นน้ำมันหอมระเหยชนิดหนึ่งสกัดจากกระชาย (lesser galangal) ซึ่งเป็นพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) กระชายเป็นเครื่องเทศที่พบมากในทวีปเอเชีย สามารถนำมารับประทานสดหรือเป็นส่วนประกอบของอาหาร อุดมด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ลดการอักเสบและมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ [26] วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อที่จะผลิตเส้นใยนาโนจากพอลิเมอร์ธรรมชาติเสริมน้ำมันหอมระเหยกระชายโดยวิธีการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต ซึ่งเป็นการพัฒนาและปรับปรุงวัสดุนาโนให้มีประสิทธิภาพต้านจุลชีพ และมีความปลอดภัยสำหรับประยุกต์ใช้ในงานต่าง ๆ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 วัสดุ

ผงไคโตแซนจากเปลือกกุ้ง (degree deacetylation 95.04%) และเจลาติน (250 bloom) ซื้อมาจากบริษัทไทยฟูด แอนด์ เคมิคอล จำกัด (ประเทศไทย) เซลลูโลสอะซิเตท จากบริษัทซิงมา-อัลดริช (ประเทศสหรัฐอเมริกา) กรดอะซิติกกลาเซีย จากบริษัท QRec (ประเทศนิวซีแลนด์) น้ำมันหอมระเหยกระชาย (lesser galangal oil) จากบริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด (ประเทศไทย) จุลินทรีย์ทดสอบ จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (ประเทศไทย) จำนวน 1 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC 27853 อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB), Tryptic Soy Agar (TSA), และ Peptone water ยี่ห้อ Difco (ประเทศสหรัฐอเมริกา) อุปกรณ์สำหรับกระบวนการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต ประกอบด้วยเครื่องกำเนิดไฟฟ้าแรงสูง บริษัท Gamma High Voltage Research (ประเทศสหรัฐอเมริกา) เครื่องจ่ายสารละลาย (Syringe pump) บริษัท New Era NE-300 (ประเทศสหรัฐอเมริกา) เข็มฉีดโลหะปลายทู่ ขนาด 18 เกจ กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope) รุ่น JSM-7800F บริษัท JEOL จำกัด (ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.2 การเตรียมเส้นใยนาโนจากสารละลายพอลิเมอร์ผสมเสริมน้ำมันกระชาย

เตรียมสารละลายพอลิเมอร์ ตามวิธีการของ Somsap et al. (2018) [10] ดังนี้เตรียมสารละลายไคโตแซน (CS) เซลลูโลสอะซิเตท (CA) และเจลาติน (Gel) เข้มข้นร้อยละ 5, 18 และ 30 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ โดยสารละลายแต่ละชนิดเตรียมแยกกัน ในกรดอะซิติกเข้มข้น ร้อยละ 80 โดยปริมาตร กวนสารละลายอย่างต่อเนื่องภายใต้อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งละลายอย่างสมบูรณ์ จากนั้นนำสารละลายแต่ละชนิด (CS:CA:Gel) ผสมกันในอัตราส่วน 4:1:5 จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายร้อยละ 18.8 โดยน้ำหนัก ใส่ น้ำมันกระชายลงในสารละลายพอลิเมอร์ผสม ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.0, 0.1, 0.75, 1.5, 3.0, 5.0 และ 10.0 โดยปริมาตร ผสมกันจนเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำสารละลายพอลิเมอร์ที่ผสมน้ำมันกระชายบรรจุลงในหลอดฉีดยาพลาสติก



ขนาด 10 มิลลิลิตร ที่ปลายติดกับเข็มโลหะปลายทู่ขนาด 18 เกจ เชื่อมต่อปลายเข็มโลหะด้วยประจุกวจากแหล่งกำเนิดไฟฟ้าแรงสูง และประจุกบกับแผ่นอะลูมิเนียมรองรับเส้นใย ควบคุมอัตราการไหลของสารละลายด้วยเครื่องจ่ายสารละลาย อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตร/ชั่วโมง ระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับแผ่นรองรับเส้นใย 10 เซนติเมตร ใช้แรงดันไฟฟ้าที่ระดับ 23 กิโลโวลต์ ดำเนินการภายใต้อุณหภูมิห้อง แผ่นเส้นใยที่ได้ ทิ้งไว้ให้แห้ง 1 คืนเพื่อให้ตัวทำละลายที่ตกค้างระเหยออกไป

2.3 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ตัดแผ่นตัวอย่างเส้นใยให้มีขนาดประมาณ 1 X 1 เซนติเมตร ตีบนแท่นติดตัวอย่าง ฉาบแผ่นตัวอย่างด้วยทองคำเพื่อให้นำไฟฟ้า จากนั้นส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด ที่กำลังขยาย 10,000 – 30,000 เท่า สุ่มวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย 50 จุด หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ข้อมูลการวิจัยด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

2.4 การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพ

เลี้ยงเชื้อ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ในอาหารเหลว TSB เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางเชื้อเป็นลำดับส่วนด้วยสารละลายเปปโตน เข้มข้นร้อยละ 0.1% โดยมวลต่อปริมาตร จนมีระดับเจือจาง $4 \log_{10}$ โคโลนี/มิลลิลิตร (CFU/ml) จากนั้นถ่ายเชื้อจลินทรีย์แขวนลอย จำนวน 5 มล. ลงในพลาสติกอาหารเหลว TSB ปริมาตร 45 มล. จะได้จลินทรีย์ทดสอบที่มีความเข้มข้นเชื้อระหว่าง 2-3 \log_{10} CFU/ml ตัดแผ่นเส้นใยเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 2 X 2 เซนติเมตร นำไปผ่านการกำจัดเชื้อบนพื้นผิวเส้นใยด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ต นาน 2 ชั่วโมง (ด้านละ 1 ชั่วโมง) จากนั้นนำแผ่นเส้นใยใส่ในพลาสติกที่มีจลินทรีย์แขวนลอย เขย่าพลาสติกด้วยความเร็ว 200 rpm เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 60, 120, 240, 480, 720 และ 1,440 นาที เมื่อครบเวลา ปิดเตาเชื้อ 0.1 มล. เจือจางเป็นลำดับส่วนจากนั้นไปเจือจางจลินทรีย์แขวนลอยลงในอาหารรูนแข็ง TSA เกลี่ยเชื้อให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏ กำหนดให้พลาสติกจลินทรีย์แขวนลอยที่ไม่มีแผ่นเส้นใยเป็นชุดควบคุม วิเคราะห์ผลโดยการเปรียบเทียบปริมาณเชื้อที่สัมผัสกับแผ่นเส้นใยเสริมน้ำมันกระชายที่ระยะเวลาต่าง ๆ กับชุดควบคุม [28-30] คำนวณร้อยละการลดลงของจลินทรีย์ โดยใช้สมการ (1)

$$\text{Reduction of bacteria (\%)} = (B-A)/B \times 100 \quad (1)$$

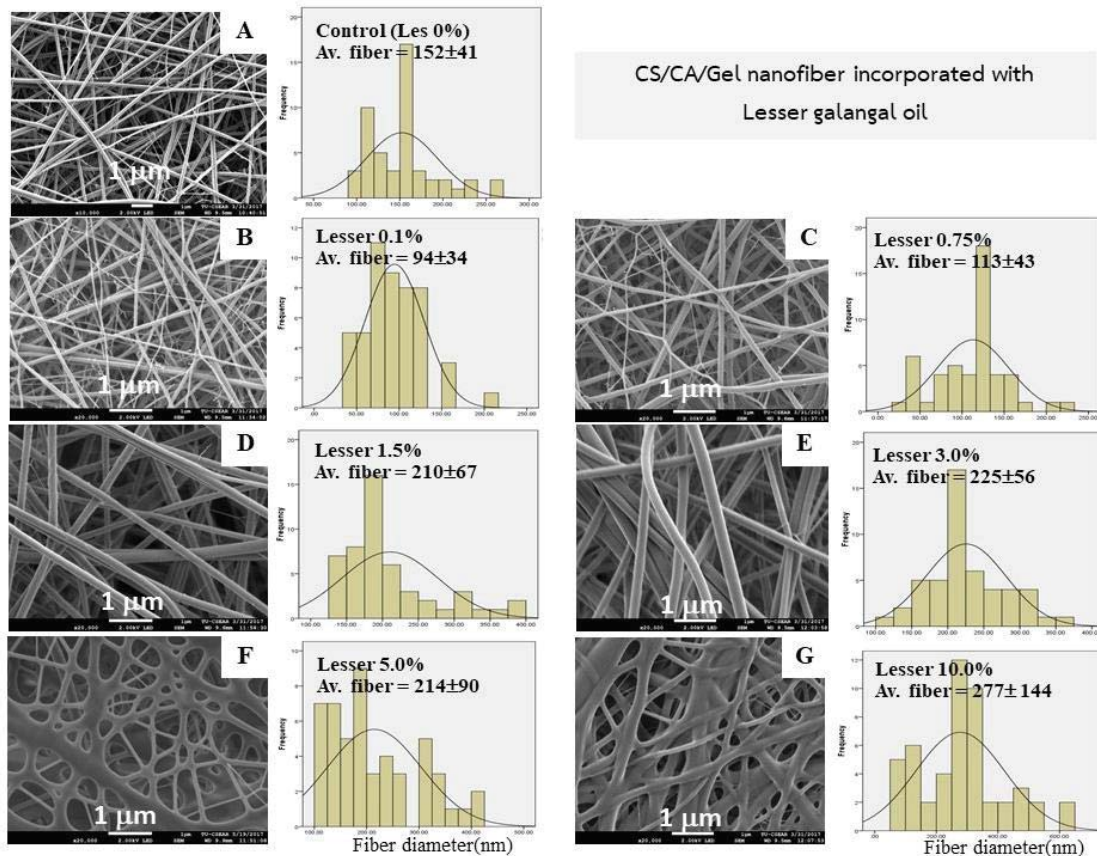
เมื่อ A หมายถึง จำนวนเชื้อจลินทรีย์ที่อยู่รอดหลังสัมผัสแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชาย, B หมายถึง จำนวนเชื้อจลินทรีย์ที่เจริญโดยไม่สัมผัสแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชาย (ชุดควบคุม) ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชาย

สารละลายพอลิเมอร์ผสม CS/CA/Gel ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 18.8 โดยมวล เสริมน้ำมันกระชายลงไปร้อยละ 0, 0.1, 0.75, 1.5, 3.0, 5.0 และ 10.0 ผลิตเส้นใยโดยวิธีปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต ใช้แรงดันไฟฟ้า 23 กิโลโวลต์ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตร/ชั่วโมง ระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับแผ่นรองรับเส้นใย 10 เซนติเมตร พบว่าเส้นใยที่ได้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย ($n=50$) 152 ± 41 , 94 ± 34 , 113 ± 43 , 210 ± 67 , 225 ± 56 , 214 ± 90 และ 277 ± 144 นาโนเมตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 1 เส้นใยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กลงเมื่อเติมน้ำมันกระชายลงไปร้อยละ 0.1 และ 0.75 โดยปริมาตร ดังภาพที่ 1(B) และ (C) ในขณะที่เส้นใยมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเติมน้ำมันกระชายลงไปมากขึ้น เส้นใยมีลักษณะเรียบ ขนาดสม่ำเสมอ และมีความต่อเนื่องเมื่อเติมน้ำมันกระชายลงไปร้อยละ 0, 0.1, 0.75, 1.5 และ 3.0 โดยปริมาตร อย่างไรก็ตามเมื่อเติมน้ำมันกระชายลงไปร้อยละ 5.0 และ 10.0 โดยปริมาตร จะเกิดจุดเชื่อมระหว่างเส้นใย ขนาดเส้นใยไม่สม่ำเสมอ ดังภาพที่ 1 (F) และ (G) ซึ่งปัจจัยภายในที่ส่งผลให้เส้นใยมีขนาดใหญ่คือตัวทำละลายระเหยออกไปได้ช้า เมื่อเส้นใยตกลงบนแผ่นรองรับเส้นใยและซ้อนทับจึงมีโอกาสเกิดการรวมตัวเป็นจุดเชื่อม [8,9,14] แม้ว่าทุกตัวอย่างของแผ่นเส้นใยเสริมน้ำมันกระชายมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ยแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากชุดควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันกระชาย อย่างไรก็ตาม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ยเมื่อเติมน้ำมันกระชายลงไปร้อยละ 1.5, 3.0, และ 5.0 โดยปริมาตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในขณะที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ยของเส้นใยเมื่อเติมน้ำมันกระชายลงไปร้อยละ 10.0 โดยปริมาตร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากทุกตัวอย่าง



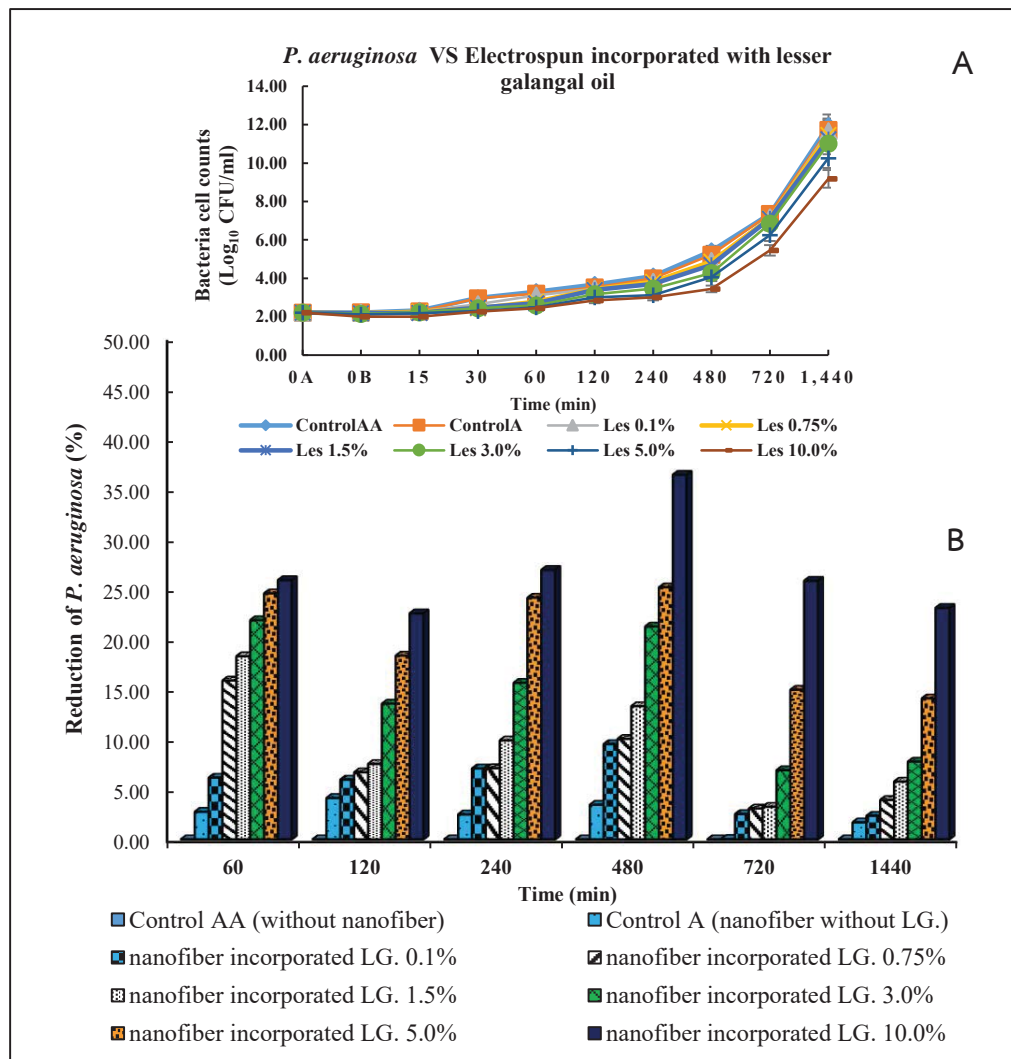
ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชายที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (A) ชุดควบคุม (0.0%) (B) 0.1 % (C) 0.75% (D) 1.5% (E) 3.0% (F) 5.0% และ (G) 10.0%(v/v) กำลังขยาย: 10,000x (A), 20,000x (B-G).

3.2ฤทธิ์ต้านจุลชีพของแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชาย

ทดสอบฤทธิ์การต้านจุลชีพด้วยวิธี dynamic shake test โดยใช้แบคทีเรียแกรมลบ *P. aeruginosa* เป็นจุลินทรีย์ทดสอบ ภาพที่ 2 แสดงผลการเจริญและการลดลงของเชื้อแบคทีเรียหลังสัมผัสแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชายที่ระยะเวลาต่าง ๆ กำหนดให้ control AA ซึ่งไม่มีแผ่นเส้นใยนาโน เป็นชุดควบคุมการเจริญของแบคทีเรียและ control A ซึ่งมีแผ่นเส้นใยนาโนที่ไม่ได้เสริมน้ำมันกระชาย เป็นชุดควบคุมสำหรับเปรียบเทียบกับแผ่นเส้นใยนาโนที่เสริมน้ำมันกระชายระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ระยะเวลา 0_A เป็นเวลาเริ่มต้น โดยแบคทีเรียเริ่มต้นประมาณ 2 ถึง 3 Log₁₀ CFU/ml ที่ระยะเวลา 0_B ปริมาณแบคทีเรียหลังจากสัมผัสแผ่นเส้นใยนาโน นาน 15 วินาที ภาพที่ 2A ปริมาณเชื้อ *P. aeruginosa* เริ่มต้น 2.21 Log₁₀ CFU/ml ที่ระยะเวลา 60 นาที, ชุด control AA และ control A เชื้อ *P. aeruginosa* เพิ่มปริมาณเป็น 3.30 และ 3.21 Log₁₀ CFU/ml ตามลำดับ ในขณะที่การเจริญของ *P. aeruginosa* เมื่อสัมผัสกับแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชาย ร้อยละ 0.1, 0.75, 1.5, 3.0, 5.0 และ 10.0 โดยปริมาตร เท่ากับ 3.10, 2.78, 2.70, 2.58, 2.49 และ 2.45 Log₁₀ CFU/ml ตามลำดับ ที่ ระยะเวลา 1,440 นาที



ชุด control AA เชื้อ *P. aeruginosa* เพิ่มจำนวนเป็น 11.93 Log₁₀ CFU/ml และในชุด control A เชื้อแบคทีเรียเพิ่มจำนวนเป็น 11.73 Log₁₀ CFU/ml การเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* เมื่อสัมผัสแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชายร้อยละ 0.1, 0.75, 1.5, 3.0, 5.0 และ 10.0 โดยปริมาตร เท่ากับ 11.65, 11.46, 11.25, 11.01, 10.26 และ 9.18 Log₁₀ CFU/ml ตามลำดับ เมื่อพิจารณาอัตราการลดลง ดังภาพที่ 2B จะเห็นได้ว่า เมื่อปริมาณน้ำมันกระชายเพิ่มขึ้นส่งผลให้อัตราการลดลงมากขึ้น ซึ่งหมายความว่าเชื้อแบคทีเรียมีอัตราการเจริญลดลง ที่ระยะเวลา 1,440 นาที อัตราการลดลงของเชื้อ *P. aeruginosa* คือ ร้อยละ 1.69, 2.34, 3.93, 5.76, 7.74, 14.0 และ 23.01 เมื่อสัมผัสแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชายร้อยละ 0.0 (control A), 0.1, 0.75, 1.5, 3.0, 5.0 และ 10.0 โดยปริมาตร ตามลำดับ จะเห็นได้แผ่นเส้นใยนาโนที่เสริมน้ำมันกระชายเข้มข้นร้อยละ 10.0 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีที่สุด



ภาพที่ 2 การเจริญและลดลงของเชื้อ *P. aeruginosa* เมื่อสัมผัสแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชายที่ระยะเวลาต่าง ๆ

แม้ว่าแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชายจะไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ทั้งหมด แต่สามารถยับยั้งและชะลอการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย Oonmetta-aree et al. (2006) [31] รายงานว่าน้ำมันกระชายสามารถฆ่าแบคทีเรียได้เนื่องจากส่งผล

ให้เซลล์แตก โดยได้ศึกษาในเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกพบว่าทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) แตกส่งผลให้เซลล์แบคทีเรียสูญเสียความสามารถในการเป็นเยื่อเลือกผ่าน ทำให้สารภายในเซลล์ไหลออก เช่น กรดนิวคลีอิกซึ่งเป็นสารพันธุกรรม สารแม่แทบอไลซ์ ไอออน เป็นต้น เช่นเดียวกับน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น เช่น ยูจีนอล สามารถฆ่าแบคทีเรียได้โดยทำให้เซลล์แตก เนื่องจากเซลล์แบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบจะไวต่อสมบัติไฮโดรโฟบิกของน้ำมันหอมระเหย ส่งผลให้น้ำมันหอมระเหยสามารถแทรกซึมชั้นไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) ของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เซลล์แตก สูญเสียความสามารถในการเป็นเยื่อเลือกผ่านและตายในที่สุด [32-35]

4. บทสรุป

การผลิตแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชาย โดยการเติมน้ำมันกระชายร้อยละ 0.0, 0.1, 0.75, 1.5, 3.0, 5.0 และ 10.0 โดยปริมาตร ลงไปผสมกับสารละลายพอลิเมอร์ไคโตแซน-เซลลูโลสอะซิเตท-เจลาติน เส้นใยที่ได้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 152 ± 41 , 94 ± 34 , 113 ± 43 , 210 ± 67 , 225 ± 56 , 214 ± 90 และ 277 ± 144 นาโนเมตร ตามลำดับ เมื่อปริมาณน้ำมันกระชายเพิ่มขึ้นส่งผลให้เส้นใยนาโนมีขนาดใหญ่ขึ้น ไม่สม่ำเสมอ และเกิดจุดเชื่อม เมื่อทดสอบฤทธิ์การต้านจุลชีพ พบว่าแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชาย มีประสิทธิภาพในการชะลอการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ ดังนั้นสามารถนำแผ่นเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันกระชายไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุต้านจุลชีพสำหรับงานด้านต่าง ๆ เช่น แผ่นปิดแผล ตัวนำส่งยา และบรรจุภัณฑ์อาหารแอกทิฟ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- [1] Kriegel, C., Kit, K.M., McClements, D.J. and Weiss, J. (2009). Nanofibers as carrier systems for antimicrobial microemulsions. Part I: Fabrication and characterization. *Langmuir*, 25, 1154-1161.
- [2] Bhardwaj, N. and Kundu, S.C. (2010). Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*, 28, 325-347.
- [3] Zargham, S., Bazgir, S., Tavakoli, A., Rashidi, A.S. and Damerchely, R. (2012). The effect of flow rate on morphology and deposition area of electrospun nylon 6 nanofiber. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 7(4), 42- 49.
- [4] Zong, X., Kim, K., Fang, D., and Ran, S. (2002). Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer*, 43(16), 4403-4412.
- [5] Okutan, N., Terzi, P. and Altay, F. (2014). Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. *Food Hydrocolloids*, 39, 19-26.
- [6] กอบศักดิ์ กาญจนางค์กุล. (2556). การผลิตเส้นใยนาโนจากวัสดุชีวภาพด้วยเทคนิคการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต. *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม*, 8(1), 1-11.
- [7] รชา เทพขร และจรรยาพร สมทรัพย์. (2561). ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยนาโนบริโกลด์ได้จากสารละลายผสมไคโตแซน-เซลลูโลสอะซิเตท-เจลาติน เสริมน้ำมันหอมระเหยยูจีนอล โดยวิธีปั่นและปั่น-พันด้วยไฟฟ้าสถิต. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 26(7), 1130-1140.
- [8] Bajji, A., Mai, Y.W., Wong, S.C., Abtahi, M. and Chen, P. (2010). Electrospinning of polymer nanofibers: Effects on oriented morphology, structures and tensile properties. *Composites Science and Technology*, 70, 703-718.
- [9] Rogina, A. (2014). Electrospinning process: Versatile preparation method for biodegradable and natural polymers and biocomposite systems applied in tissue engineering and drug delivery. *Applied Surface Science*, 296, 221-230.



- [10] Somsap, J., Kanjanapongkul, K. and Tepsorn, R. (2018). Effect of parameters on the morphology and fibre diameters of edible electrospun chitosan-cellulose acetate-gelatin hybrid nanofibers. **MATEC Web Conference** 192:03038 DOI: <https://doi.org/10.1051/mateconf/201819203038>
- [11] Taylor, G. I. (1964). Disintegration of water drops in an electric field. **Proceedings of the Royal Society A**, 280, 383–397.
- [12] Frenot, A. and Chronakis, I.S. (2003). Polymer nanofibers assembled by electrospinning. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, 8, 64–75.
- [13] Pelipenko, J., Kristl, J., Jankovic, B., Baumgartner, S. and Kocbek, P. (2013). The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers. **International Journal of Pharmaceutics**, 456, 125- 134.
- [14] Li, Z. and Wang, C. (2013). Effects of working parameters on electrospinning. Chpt. 2 in One-Dimensional Nanostructures: Electrospinning Technique and Unique Nanofibers. **Springer Briefs in Materials**. pp.15-28.
- [15] Oraby, M.A., Waley, A.I., El-Dewany, A.I., Saad, E.A. and Abd El-Hady, B.M. (2013). Electrospun gelatin nanofibers: Effect of gelatin concentration on morphology and fiber diameters. **Journal of Applied Sciences Research**, 9, 534-540.
- [16] Rosic, R., Pelipenko, J., Kocbek, P., Baumgartner, S., Bester-Rogac, M. and Kristl, J. (2012). The role of rheology of polymer solutions in predicting nanofiber formation by electrospinning. **European Polymer Journal**, 48, 1374-1384.
- [17] Hwang, J.K. and Shin, H.H. (2000). Rheological properties of chitosan solutions. **Korea Australia Rheology Journal**, 12, 175-179.
- [18] El-hefian, E.A. and Yahaya, A.H. (2010). Rheological study of chitosan and its blends: An overview. **Maejo International Journal of Science and Technology**, 4, 210-220.
- [19] Elsabee, M.Z., Naguib, H.F., and Morsi, R.E. (2012). Chitosan based nanofibers, review. **Materials Science and Engineering C.**, 32, 1711-1726.
- [20] Huang, Z.-M., Zhang, Y.Z., Ramakrishna, S. and Lim, C.T. (2004). Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers. **Polymer**, 45, 5361–5368.
- [21] Songchotikunpan, P., Tattiyakul, J. and Supaphol, P. (2008). Extraction and electro spinning of gelatin from fish skin. **International Journal of Biological Macromolecules**, 42, 247-255.
- [22] Chocktaweessap, N., Arayanarakul, K., Aht-ong, D., Meechaisue, C. and Supaphol, P. (2007). Electrospun gelatin fibers: effect of solvent system on morphology and fiber diameters. **Polymer Journal**, 39, 622-631.
- [23] Sultana, N. and Zainal, A. (2015). Cellulose acetate electrospun nanofibrous membrane: fabrication, characterization, drug loading and antibacterial properties. **Bulletin of Materials Science**, 39, 337-343.
- [24] Omollo, E., Zhang, C., Igadwa, Mwasiagi, J.I., and Ncube, S. (2014). Electrospinning cellulose acetate nanofibers and a study of their possible use in high-efficiency filtration. **Journal of Industrial Textiles**, 0, 1-14.
- [25] Wen, P., Zhu, D.H., Wu, H., Zong, M.H., Jing, Y.R. and Han, S.Y. (2016). Encapsulation of cinnamon essential oil in electrospun nanofibrous film for active food packaging. **Food Control**, 59, 366-376.



- [26] Zhou, Y.Q. and Zhang, Q.W. (2018) A Review of the Botany, Phytochemical, and Pharmacological Properties of Galangal. **Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes**, 351-396
- [28] ASTM E2149- 01, (2004). Standard Test Method for Determining the Antimicrobial Activity of Immobilized Antimicrobial Agents under Dynamic Contact Conditions. American Society for Testing and Materials.
- [29] Rieger, K. A. and Schiffman, J. D. (2014). Electrospinning an essential oil: Cinnamaldehyde enhances the antimicrobial efficacy of chitosan/ poly (ethylene oxide) nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, 113, 561-568
- [30] Somsap, J., Kanjanapongkul, K., Chancharoonpong, C., Supapvanich, S. and Tepsorn, R. (2019). Antimicrobial activity of edible electrospun chitosan/ cellulose acetate/ gelatin hybrid nanofiber mats incorporating eugenol. **Current Applied Science and Technology**, 19, 235-247.
- [31] Onnmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P. and Eumkeb, G. (2006). Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. **LWT**, 39, 1214–1220
- [32] Devi, K. P., Nisha, S. A., Sakthivel, R. and Pandian, S. K. (2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. **Journal of Ethnopharmacology**, 130, 107-115.
- [33] Bennis, S., Chami, F., Chami, N., Rhayour, K., Tantaoui-Elaraki, A. and Remmal, A. (2004). Eugenol induces damage of bacterial and fungal envelope. **Moroccan Journal of Biology**, 1, 33-39.
- [34] Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. **International Journal of Food Microbiology**, 94, 223-253.
- [35] Marchese, A., Barbieri, R., Coppo, E., Orhan, I. E., Daglia, M., Nabavi, S. F., Izadi, M., Abdollahi, M., Nabavi, S. M. and Ajami, M. (2017). Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. **Critical Reviews in Microbiology**, 43(6), 668-689.