

การเตรียมแผ่นฟิล์มเส้นใยพอลิคาโพรแลคโตนผสมสารสกัดมะหาด
โดยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย

THE PREPARATION OF POLYCAPROLACTONE FIBERS FILM
CONTAINING *ARTOCARPUS LAKOOCHA* EXTRACT BY
ELECTROSPINNING TECHNIQUE FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITIES

เรืองวุฒิ ชูติมา¹ และ กฤษ สุจริตตั้งธรรม^{2*}

Ruangwut Chutima¹ and Krit Sutjarittangtham^{2*}

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

²สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

¹Biotechnology Program, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Pibulsongkram University

²Physics Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University

* corresponding author e-mail: sut_krit@yahoo.com

(Received: 24 March 2021; Revised: 30 April 2021; Accepted: 3 May 2021)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการเตรียมเส้นใยพอลิคาโพรแลคโตนผสมสารสกัดมะหาดด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการขึ้นรูปเส้นใย และทำการตรวจสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย จากการทดลอง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการขึ้นรูปเส้นใยพอลิคาโพรแลคโตนคือ สารละลายความเข้มข้นร้อยละ 16 โดยมวลต่อปริมาตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเข็มโลหะเท่ากับ 0.8 มิลลิเมตร ระยะห่างระหว่างปลายเข็มถึงแผ่นรองรับเท่ากับ 20 เซนติเมตร และใช้สนามไฟฟ้าเท่ากับ 90 กิโลโวลต์ต่อเมตร ผลการสกัดสารสกัดมะหาด พบว่า สารสกัดที่ได้คิดเป็นร้อยละ 5.3 (%yield) โดยมวล ผลการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียมีค่าเท่ากับ 3.12–6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นจึงนำสารสกัดที่ได้มาผสมกับสารละลายพอลิเมอร์เพื่อทำการขึ้นรูปเป็นเส้นใย พบว่าเมื่อทำการเพิ่มปริมาณของสารสกัดลงในสารละลายพอลิเมอร์จะส่งผลให้สารละลายที่ได้มีความหนืดเพิ่มมากขึ้น สำหรับฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของเส้นใยพอลิคาโพรแลคโตนผสมสารสกัดมะหาดทดสอบโดยใช้วิธีการแพร่กับแบคทีเรียชนิด *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) และ *Escherichia coli* (*E. coli*) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงบริเวณยับยั้งแบคทีเรียของเส้นใยพอลิคาโพรแลคโตนผสมสารสกัดมะหาดที่ความเข้มข้นร้อยละ 8.0 โดยมวลต่อปริมาตร มีค่าเท่ากับ 12.0 ± 0.05 มิลลิเมตร 9.2 ± 0.10 มิลลิเมตร และไม่ออกฤทธิ์ยับยั้ง *E. coli* ตามลำดับ ซึ่งจากคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มเส้นใย

พอลิคาโพรแลคโตนที่ได้จากเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงและคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดมะหาด จึงส่งผลให้แผ่นฟิล์มเส้นใยที่ได้น่าจะสามารถพัฒนาต่อเพื่อนำมาประยุกต์ใช้เป็นแผ่นปิดแผลที่มีฤทธิ์ในการป้องกันการติดเชื้อได้

คำสำคัญ: อิเล็กโตรสปินนิง เส้นใยนาโน สารสกัดมะหาด การยับยั้งแบคทีเรีย

Abstract

This research, the polycaprolactone fibers containing *A. lakoocha* extract were prepared by electrospinning technique. The optimum condition for fibers formation was investigated and tested for the antibacterial activity. The results showed that the optimum condition of polycaprolactone fibers was 16 w/v% of polycaprolactone solution. The electrospinning conditions were as follows; the diameter of metallic needle was 0.8 mm, the distance between the needle tips to the collector was 20 cm and the electric field was 90 kV/m. The results of the *A. lakoocha* extraction were found that, the %yield of 5.3 by weight. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of *A. lakoocha* crude extract was in the range of 3.12–6.25 mg/ml. After preparation of polycaprolactone fibers with the *A. lakoocha* extract, the viscosity of the polymer solution was increased with increasing the concentration of the *A. lakoocha* extract. For the antibacterial tests by disc diffusion method, the polycaprolactone fiber with the *A. lakoocha* extract were tested against *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*). The antibacterial activity of polycaprolactone fiber with the *A. lakoocha* extract at 8.0 w/v% indicated that the inhibition zone was 12.0 ± 0.05 mm and 9.2 ± 0.10 mm against *B. subtilis* and *S. aureus*, and the inhibition zone was not found after testing with *E. coli*. Respectively. From the properties of the polycaprolactone fiber film prepared by the electrospinning technique and the antibacterial properties of the *A. lakoocha* extract, the fibrous film could be developed to use as a wound dressing for prevent infection in wound.

Keywords: Electrospinning, Nanofiber, *A. lakoocha* extract, Antibacterial activity

บทนำ

อิเล็กโตรสปินนิง (Electrospinning) เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับการขึ้นรูปเส้นใย โดยเส้นใยที่ได้จะมีขนาดเล็กมากอยู่ในระดับนาโนเมตร (10^{-9} เมตร) ถึง ไมโครเมตร (10^{-6} เมตร) จึงส่งผลให้เส้นใยที่ได้มีอัตราส่วนระหว่างพื้นผิวต่อปริมาตร (Surface-to-volume ratio) ที่สูง นอกจากนี้เส้นใยที่ได้จะเกิดการทับถมกันทำให้เกิดเป็นแผ่นฟิล์มที่เรียกว่าแผ่นฟิล์มเส้นใย จะทำให้ได้แผ่นฟิล์มเส้นใยที่มีขนาดของรูพรุนที่เล็กส่งผลให้มีสมบัติพิเศษต่างๆ จึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้งานได้หลายด้าน เช่น ตัวกรอง (Filtration) ใช้ทางด้านการแพทย์ (Biomedical) ใช้ทางด้านเภสัชกรรม (Pharmaceutical) อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ทางแสง (Optical electronics) เทคโนโลยีชีวภาพ (Biotechnology) และวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue engineering) เป็นต้น (Bhardwaj & Kundu, 2010; Jia, Zhou & Zhang, 2011)

เนื่องจากคุณสมบัติพิเศษต่างๆ ของเส้นใยนาโนที่ได้จากเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง ซึ่งมีความเหมาะสมสำหรับประยุกต์ทางด้านการแพทย์และเภสัชกรรม ดังนั้นการประดิษฐ์เส้นใยนาโนด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงจึงเป็นที่สนใจอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ใช้เครื่องมือง่าย จัดเตรียมง่าย ไม่ยุ่งยาก และไม่ซับซ้อน (Lee et al., 2009) อิเล็กโตรสปินนิงเป็นเทคนิคที่อาศัยศักย์ไฟฟ้าสูง (High voltage) ในการเหนี่ยวนำสารละลายพอลิเมอร์หรือพอลิเมอร์หลอมเหลวโดยอาศัยแรงทางไฟฟ้าสถิต (Electrostatic force) ทำให้สารละลายพอลิเมอร์หรือพอลิเมอร์หลอมเหลวยืดออกเป็นเส้นใยที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร (10^{-9} m) จนไปได้ถึงระดับไมโครเมตร (10^{-6} m) และไปรวมกันอยู่ที่ฝั่งตรงข้ามบนวัสดุรองรับ ได้เส้นใยที่เกิดการทับถมกันแบบไม่เกิดการถกทอนเป็นแผ่นฟิล์มอยู่บนวัสดุรองรับ (Dalton et al., 2007; Gaumer et al., 2009; Li & Xia, 2004) เส้นใยที่เตรียมได้นี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางด้านการแพทย์ เภสัชกรรมหรือทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Agarwal, Wendorff & Greiner, 2008; Kenawy et al., 2009; Prabhakaran et al., 2009; Yoshimoto et al., 2003) เป็นต้น โดยพอลิเมอร์ที่ใช้จะเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer) ซึ่งมีคุณสมบัติที่สามารถย่อยสลายได้ ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมและร่างกายของสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ยังเข้ากับร่างกายมนุษย์ได้อีกด้วย ตัวอย่างของพอลิเมอร์ที่นิยมใช้ในการขึ้นรูปด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง ได้แก่ พอลิแลคติกแอซิด (PLA) พอลิคาโปรแลคโตน (PCL) พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) และพอลิไกลโคลิกแอซิด (PGA) เป็นต้น (Huang et al., 2004) แผ่นฟิล์มเส้นใยนาโนที่ได้จากเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงเป็นแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้เป็นแผ่นปิดแผล เนื่องจากเส้นใยที่มีขนาดเล็กทำให้มีพื้นผิวสัมผัสที่สูงส่งผลให้การปลดปล่อยตัวยา หรือสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในเส้นใยออกสู่ผิวได้ดี มีปริมาณของรูพรุนสูงทำให้อากาศสามารถถ่ายเทได้ดี สามารถป้องกันการสูญเสียความชื้นของแผลจึงส่งผลให้เกิดการรักษาได้ดียิ่งขึ้น

นอกจากแผ่นปิดแผลที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมแล้ว ในบางครั้งอาจพบปัญหาจากการติดเชื้อ เนื่องจากการได้รับจุลชีพจากภายนอกทำให้เกิดการติดเชื้อแทรกซ้อนส่งผลให้ยากต่อการดูแลรักษาบาดแผล โดยทั่วไปการรักษาจะใช้ครีม หรือซีฟิงที่ผสมยาปฏิชีวนะในการรักษา แต่พบว่าครีมหรือซีฟิงอาจจะส่งผลทำให้แผลเกิดการบวม (Swelling) หรือบางครั้งอาจเกิดอาการแพ้ (Allergic) จนทำให้เกิดการอักเสบในที่สุด ส่วนยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) เมื่อมีการใช้อย่างต่อเนื่อง อาจทำให้เชื้อโรค หรือจุลชีพก่อโรคเกิดการดื้อยาได้ หรือแม้แต่การใช้ยาฆ่าเชื้อ (Antiseptic) ก็อาจทำให้เกิดการระคายเคืองและเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) ดังนั้นการหันมาใช้สารจากธรรมชาติจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ เนื่องจากมีความเสี่ยงต่อการเกิดอาการแพ้ได้น้อยแล้ว ยังสามารถช่วยในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ จึงมีการนำสารที่ได้จากธรรมชาติมาผ่านกระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์สำคัญเพื่อให้ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลชีพก่อโรค ตัวอย่างของสารสกัดจากธรรมชาติ ได้แก่ สารสกัดจากตะไคร้ (Lemongrass) ใบบัวบก (Centella asiatica) สารสกัดจากพรอพอลิส (Propolis) และสารสกัดจากมะหาด (Artocarpus lacucha) สารสกัดเหล่านี้มีคุณสมบัติในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระ (Anti-oxidant) (Potkonjak et al., 2012) มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย (Anti-bacterial) (Jagtap & Bapat, 2010; Santos et al., 2002) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา (Anti-fungal) (Alves de Castro et al., 2013) มีฤทธิ์ต่อต้านไวรัส (Anti-viral) (Bankova et al., 2014) เป็นต้น

มะหาด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า “Artocarpus lacucha Roxb.” ชื่อวงศ์ “MORACEAE” มะหาด เป็นพืชที่มีสรรพคุณทางยา และมีผู้นำมาใช้ประโยชน์มากมาย เช่น จากตำรายาไทยระบุว่า ถ้านำแก่นมะหาดที่มีอายุ 5 ปีขึ้นไป มาสับแล้วนำไปต้มเคี่ยวกับน้ำจนเกิดฟอง จากนั้นช้อนฟองที่ได้แล้วทำให้แห้ง จะได้ผงสีขาวนวลจับกันเป็นก้อน นำไปย่างไฟให้เหลืองแล้วนำมาบดเป็นผง เรียกว่า “ผงปวดหาด” เมื่อนำมาชงกับน้ำเย็นรับประทานเป็นยาขับพยาธิตัวตืด และพยาธิไส้เดือน หรือใช้ละลายน้ำทาแก้คัน นอกจากนั้นแก่นยังมีสรรพคุณในการแก้ท้องอืดท้องเฟ้อ แก้กษัย แก้เส้นเอ็นพิการ แก้เบื่ออาหาร ขับโลหิต ละลายเลือด ขับปัสสาวะ เป็นต้น (สุดารัตน์, 2553) จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีผู้ศึกษาส่วนต่างๆ ของมะหาด เช่น ผล เมล็ด ราก และแก่น เป็นต้น (Jagtap & Bapat, 2010; Singhatong, Leelarungrayub & Chaiyasut, 2010) เพื่อหาสาระสำคัญที่สามารถออกฤทธิ์สำหรับใช้ประโยชน์ในด้านการแพทย์ และเภสัชกรรม พบว่า มะหาดมีสาระสำคัญที่มีประโยชน์หลายชนิด เช่น 2,4,3',5' tetrahydroxystilbene (oxyresveratrol) Phenolic compound Hydrogen peroxide Phenol Flavonoids และ Tannin โดยสารดังกล่าวมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) (Maneechai et al., 2015; Singhatong, Leelarungrayub & Chaiyasut, 2010) และนอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากมะหาดยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย (Antibacterial) และไวรัส (Antivirus) ได้อีกด้วย (Jagtap & Bapat, 2010)

เนื่องจากคุณสมบัติที่ดีของแผ่นฟิล์มเส้นใยนาโน และสารสกัดจากธรรมชาติที่สามารถยับยั้งจุลชีพก่อโรคได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการนำสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติมาผสมกับวัสดุพอลิเมอร์ทางชีวภาพ แล้วประดิษฐ์เป็นแผ่นฟิล์มเส้นใยนาโนที่มีคุณสมบัติในการป้องกันสิ่งแวดล้อมช่วยในการรักษาความชื้นของแผล มีรูพรุนที่สามารถให้อากาศผ่านเข้าออกเพื่อให้เกิดการถ่ายเทอากาศได้ดี และยัง能够帮助ในการยับยั้งจุลชีพก่อโรคได้อีกด้วย โดยงานวิจัยนี้นอกจากจะเป็นการประดิษฐ์วัสดุที่ใช้ประโยชน์ในด้านการแพทย์แล้วยังเป็นการส่งเสริมให้เห็นถึงความสำคัญและประโยชน์ของการนำพืชที่มีอยู่ในท้องถิ่นหรือพืชสมุนไพรมาทำการประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มคุณค่า และราคาให้กับพืชในท้องถิ่นอีกด้วย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์จากมะหาด

นำผงมะหาดที่ได้จากการบดในส่วนของแก่นมะหาดมาทำการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำผงมาทำการแช่ในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร ที่อัตราส่วนของผงมะหาดต่อสารละลายเท่ากับ 1 : 10 โดยมวลต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง (Kaewkod, Tragoolpua & Tragoolpua, 2016) จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 จะได้สารละลายสีน้ำตาล นำสารละลายที่สกัดได้มาทำการระเหยตัวทำละลายออกจากสารสกัดโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน (Rotary Evaporator; BUCHI Labortechnik AG, R-3 HB, Switzerland) จะได้สารสกัดที่มีลักษณะเป็นผงเพื่อนำมาใช้ทดสอบต่อไป

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration; MIC) ถ่ายเชื้อแบคทีเรียลงอาหารเหลว (Mueller Hinton broth; MHB) ในหลอดทดลองแล้วทำการเพาะเลี้ยง โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการเจือจางเชื้อให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 McFarland ก่อนนำมาใช้ทดสอบ จากนั้นนำสารสกัดหยาบจากแก่นมะหาดที่ทำการละลายด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) โดยมีความเข้มข้นเท่ากับร้อยละ 50 มาเจือจางด้วยอาหารเหลวให้มีความเข้มข้นแบบลำดับสอง (Two-fold serial dilution) โดยมีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 50 และเจือจางลงทีละครึ่ง ตามลำดับ ในการทดลองใช้อาหารเพาะเชื้อกับแบคทีเรียเป็นชุดควบคุมที่ให้ผลบวก และชุดควบคุมที่ให้ผลเป็นลบ คือ อาหารเหลวผสมกับสารละลายของสารสกัดมะหาด แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจผลการหาค่า MIC โดยสังเกตหลอดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ทดสอบนี้เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

2. การเตรียมแผ่นฟิล์มเส้นใยนาโนพอลิคาโพรแลคโตนผสมสารสกัดมะหาด

ขั้นตอนนี้จะแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ การหาความเข้มข้นของสารละลายพอลิคาโพรแลคโตนที่เหมาะสม และการนำความเข้มข้นที่เหมาะสมมาทำการผสมกับสารสกัดมะหาด โดยเริ่มจากการเตรียมสารละลายพอลิคาโพรแลคโตนในกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 95 ที่ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ร้อยละ 15 16 และ 17 โดยมวลต่อปริมาตร ตามลำดับ ทำการละลายพอลิคาโพรแลคโตนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 ชั่วโมง เมื่อพอลิเมอร์ละลายจนหมดแล้วจึงนำสารละลายที่เตรียมได้มาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง โดยกำหนดสภาวะสำหรับกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง ดังนี้ ใช้กระบอกฉีดยาที่ติดกับเข็มโลหะขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.8 มิลลิเมตร และใช้อลูมิเนียมฟอยล์เป็นวัสดุรองรับเส้นใย การจัดอุปกรณ์ในงานวิจัยนี้ใช้ระยะห่างระหว่างปลายเข็มจนถึงวัสดุรองรับเท่ากับ 20 เซนติเมตร ใช้สนามไฟฟ้าเท่ากับ 90 กิโลโวลต์/เมตร โดยที่ปลายเข็มจะต่อเข้ากับขั้วบวกของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าศักย์สูง และที่วัสดุรองรับจะต่อเข้ากราวด์ของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าศักย์สูง ทำการสปินที่อุณหภูมิห้องโดยใช้ปริมาตรของสารละลายเท่ากับ 15 มิลลิลิตร จะได้แผ่นฟิล์มเส้นใยเพื่อนำมาทำการศึกษาลักษณะเฉพาะและขนาดของเส้นใยโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM, JEOL, 5410LV, Japan)

การเตรียมแผ่นฟิล์มเส้นใยนาโนพอลิคาโพรแลคโตนผสมสารสกัดมะหาด ในงานวิจัยนี้เลือกใช้สารละลายพอลิคาโพรแลคโตนที่ความเข้มข้นร้อยละ 16 โดยมวลต่อปริมาตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองนี้ และใช้ความเข้มข้นของสารสกัดมะหาดต่อสารละลายพอลิเมอร์ที่ร้อยละ 0.0 2.0 4.0 6.0 8.0 และ 10.0 โดยมวลต่อปริมาตรของสารละลาย ตามลำดับ ในการเตรียมสารละลายต้องเริ่มจากการละลายสารสกัดมะหาดในตัวทำละลายกรดอะซิติก (Acetic acid) ความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร เป็นเวลา 30 นาที จนสารสกัดมะหาดละลายจนหมด จากนั้นจึงทำการเติมพอลิคาโพรแลคโตนลงไปแล้วทำการละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 ชั่วโมง จะได้สารละลายพอลิคาโพรแลคโตนผสมสารสกัดมะหาด แล้วจึงนำสารละลายที่เตรียมได้มาทำสปินขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มเส้นใยโดยมีเงื่อนไขการสปินดังข้างต้น จะได้แผ่นฟิล์มเส้นใยเพื่อนำมาทำการศึกษาลักษณะเฉพาะและขนาดของเส้นใยโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

3. การตรวจสอบลักษณะโครงสร้างทางจุลภาคของเส้นใยด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ทำการศึกษาโครงสร้างทางจุลภาคของเส้นใยด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เตรียมชิ้นงานทดสอบโดยการตัดชิ้นงานขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตร แล้วนำชิ้นงานที่ตัดได้ไปติดบนแท่งทองเหลือง (Stup) ด้วยเทปคาร์บอน โดยจัดผิวหน้าของชิ้นงานวางตัวอยู่ในแนวที่เหมาะสม

กับการตรวจสอบ จากนั้นทำการเคลือบผิวของชิ้นงานด้วยทอง โดยใช้เทคนิค Sputtering เป็นเวลานาน 1 นาที ก่อนที่จะนำไปตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เพื่อทำการศึกษาลักษณะโครงสร้างจุลภาคของพื้นผิว

4. การทดสอบตัวอย่างด้วยฟูเรียร์ทรานฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโทรสโกปี (FT-IR analysis)

การตรวจสอบลักษณะของหมู่ฟังก์ชันของเส้นใยพอลิเมอร์จะใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานฟอร์ม อินฟราเรด ซึ่งใช้เครื่องรุ่น Nicolet 6700 FT-IR Thermo Electron Scientific Instrument LLC (USA) ซึ่งเครื่องรุ่นดังกล่าวสามารถวัดชิ้นงานเพื่อนำมาทดสอบได้โดยไม่ต้องใช้ KBr และในการทดลองนี้จะสแกนสารตัวอย่างในช่วง 500 ถึง 4,000 cm^{-1}

5. การศึกษามลของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Antimicrobial activities)

ในการศึกษาผลของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแผ่นฟิล์มเส้นใยจะใช้แบคทีเรียทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) และ *Escherichia coli* (*E. coli*) โดยใช้วิธี Disc diffusion method ซึ่งขั้นตอนดังต่อไปนี้

5.1 ถ้ายเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ซึ่งประกอบด้วย *S. aureus* *B. subtilis* และ *E. coli* ลงในอาหารเหลว MHB ที่เตรียมไว้ในหลอดทดลอง แล้วนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5.2 หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเชื้อแบคทีเรียมาทำการเจือจางให้ได้ตามมาตรฐานที่ 0.5 McFarland

5.3 ใช้ไม้พันสำลี (Swab) จุ่มลงในอาหารเหลวที่มีแบคทีเรียสำหรับทดสอบมาป้ายลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร MHA โดย 1 จานต่อ 1 การทดสอบ เกลี่ยเชื้อให้ทั่ว ทิ้งไว้ 10 นาที ให้ผิวอาหารแห้ง

5.4 เจาะแผ่นฟิล์มโพลีเมอร์ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6 mm จากนั้นนำแผ่นฟิล์มโพลีเมอร์ไปฆ่าเชื้อโดยใช้รังสี UV เป็นเวลาด้านละ 30 นาที แล้วนำมาวางบนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการลงเชื้อแบคทีเรียแล้ว โดยใช้ 0.5% Gentamycin เป็นตัวควบคุมบวกและใช้แผ่นกระดาษเปล่า (Disc) เป็นตัวควบคุมลบ นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5.5 สังเกตผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของโพลีเมอร์จากการเกิดบริเวณยับยั้ง (Clear zone) รอบโพลีเมอร์ที่วางไว้ ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้น

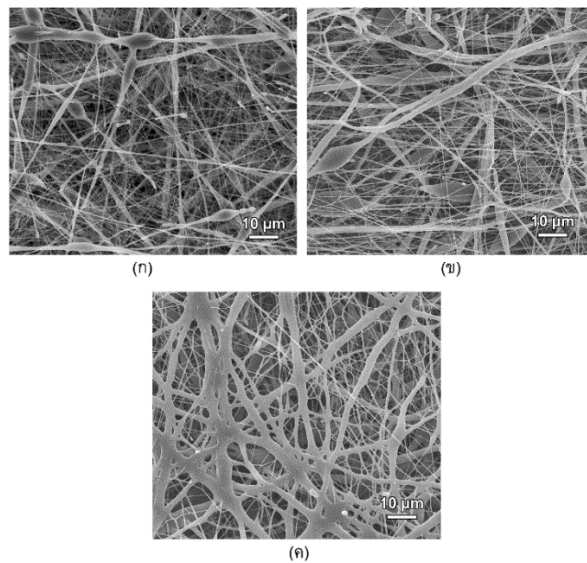
ผลการวิจัย

ในการทดลองนี้ได้ทำการสกัดสารสกัดหยาบจากมะหาด โดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร เป็นตัวทำละลาย โดยนำผงมะหาดที่ได้ทำการอบจนแห้งสนิทแล้วมาทำการแช่ในสารละลายเอทานอลที่อัตราส่วนของผงมะหาดต่อสารละลายเท่ากับ 1 : 10 โดยมวลต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า ได้สารสกัดที่เทียบเท่ากับผงมะหาดตั้งต้นคิดเป็นร้อยละ 5.3 (%yield) โดยมวล จากนั้นจึงนำสารสกัดที่ได้มาทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค เพื่อทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยทดสอบกับแบคทีเรียสองชนิด ได้แก่ *E. coli* และ *S. aureus* ในหลอดทดลอง ในการทดสอบใช้ความขุ่นของแบคทีเรียในอาหารเหลวเท่ากับ 0.5 McFarland และใช้การทดสอบด้วยวิธีความเข้มข้นแบบลำดับสอง พบว่า ผลของความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 3.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

1. ผลการตรวจสอบลักษณะโครงสร้างจุลภาคของเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตน

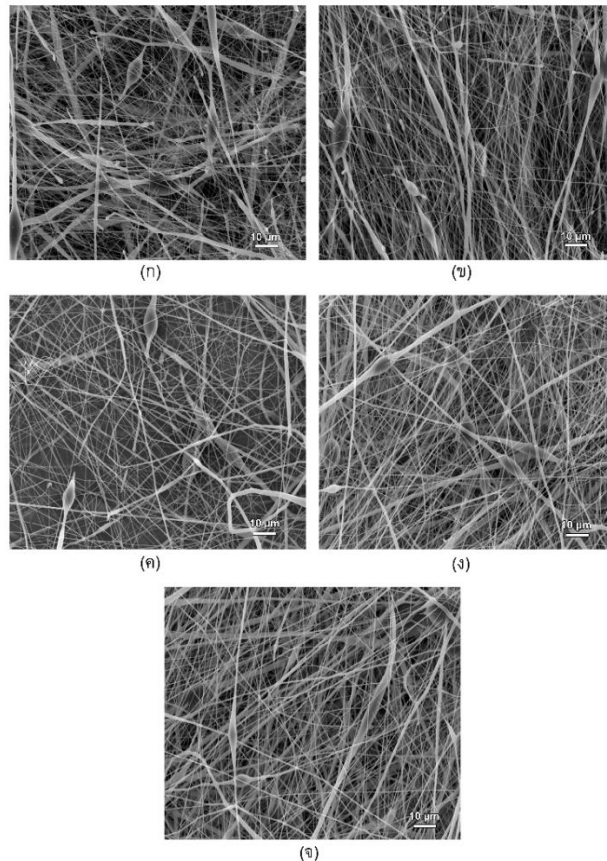
ผสมสารสกัดมะหาด

จากการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับขึ้นรูปเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตน โดยได้ทำการขึ้นรูปสารละลายที่ความเข้มข้นร้อยละ 15.0 16.0 และ 17.0 โดยมวลต่อปริมาตรตามลำดับ เมื่อทำการตรวจสอบลักษณะโครงสร้างจุลภาคของเส้นใยด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดจะพบว่า ที่ความเข้มข้นของสารละลายพอลิคาโปรแลคโตนเท่ากับร้อยละ 16.0 โดยมวลต่อปริมาตร จะมีลักษณะที่เป็นเส้นใยที่เหมาะสมมากที่สุด ดังภาพที่ 1 เนื่องจากเส้นใยที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นต่อเนื่อง และจากการหาขนาดของเส้นใยจะพบว่า ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเฉลี่ยที่ความเข้มข้นร้อยละ 15.0 16.0 และ 17.0 โดยมวลต่อปริมาตร มีค่าประมาณ 0.43 ± 0.25 0.95 ± 0.75 และ 1.94 ± 0.95 ไมโครเมตร ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ลักษณะโครงสร้างทางจุลภาคของแผ่นฟิล์มเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่ความเข้มข้นร้อยละ (ก) 15.0 (ข) 16.0 และ (ค) 17.0 โดยมวลต่อปริมาตร ตามลำดับ

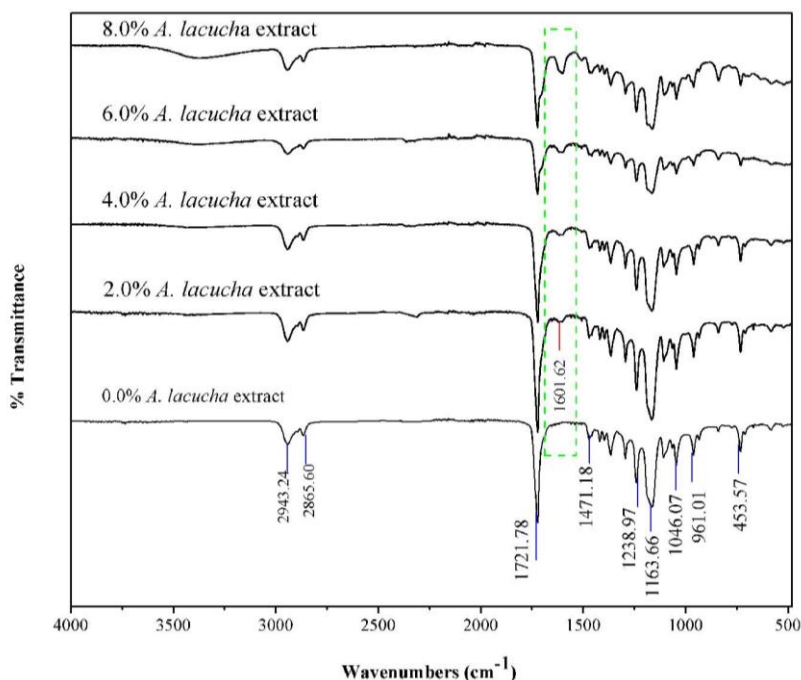
จากการเตรียมแผ่นฟิล์มเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนผสมสารสกัดมะหาด โดยใช้สารละลายพอลิคาโปรแลคโตนความเข้มข้นร้อยละ 16.0 โดยมวลต่อปริมาตร ผสมกับสารสกัดมะหาดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.0 2.0 4.0 6.0 8.0 และ 10.0 โดยมวลต่อปริมาตร ตามลำดับพบว่า ในการผสมสารละลายระหว่างพอลิเมอร์กับสารสกัดมะหาดจะต้องทำการละลายสารสกัดมะหาดให้ละลายในตัวทำละลายทั้งหมดก่อนแล้วจึงทำการเติมพอลิเมอร์ลงไปแล้วจึงทำการละลายพอลิเมอร์ ถ้าทำการละลายพอลิเมอร์ก่อนจะส่งผลให้สารสกัดมะหาดจับตัวกันเป็นก้อน จากการสังเกตพบว่า สารสกัดมะหาดส่งผลให้ความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์สูงขึ้น ดังนั้น ที่ความเข้มข้นของสารสกัดมะหาดที่ร้อยละ 10.0 โดยมวลต่อปริมาตร จึงไม่สามารถทำการสปินได้ และจากการศึกษาลักษณะทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดได้ผล ดังภาพที่ 2 จะพบว่า ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเฉลี่ยมีค่าอยู่ในช่วง 0.40 – 1.5 ไมโครเมตร



ภาพที่ 2 ภาพถ่ายจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนผสมสารสกัดมะหาดที่ความเข้มข้นร้อยละ (ก) 0.0 (ข) 2.0 (ค) 4.0 (ง) 6.0 และ (จ) 8.0 โดยมวลต่อปริมาตร ตามลำดับ

2. ผลการตรวจสอบฟูเรียรทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกตรัม (FT-IR) ของเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนผสมสารสกัดมะหาด

ฟูเรียรทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกตรัมของเส้นใยนาโนฟิล์มพอลิคาโปรแลคโตนผสมสารสกัดมะหาด ดังภาพที่ 3 โดยลักษณะของกราฟสเปกตรัมการดูดกลืนรังสีของตัวอย่างจะสามารถแสดงให้เห็นถึงลักษณะของหมู่ฟังก์ชันของพอลิคาโปรแลคโตน และสามารถบอกถึงการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันเมื่อทำการเติมสารสกัดของมะหาด ซึ่งจะทำให้สามารถทราบถึงอิทธิพลของสารสกัดที่เติมลงไปในพอลิเมอร์ต่อโครงสร้างหรือปฏิกิริยาที่อาจเกิดขึ้นกับพอลิเมอร์ได้



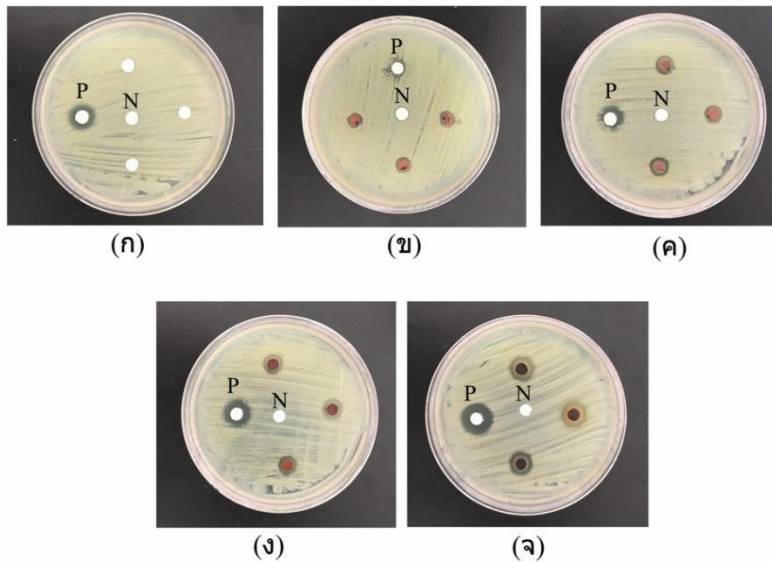
ภาพที่ 3 FT-IR สเปกตรัมของเส้นใยพอลิแลคโตอินผสมสารสกัดมะหาด

ซึ่งจากการศึกษากราฟสเปกตรัม พบว่ากราฟแสดงการดูดกลืนรังสีที่ 2943.24 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึงการยืดตัวแบบไม่สมมาตรของ CH_2 และ 2865.60 cm^{-1} เป็นแบบสมมาตรของ CH_2 (Ghasemi-Mobarakeh et al., 2010) ที่การดูดกลืนที่เลขคลื่นเท่ากับ 1721.78 cm^{-1} แสดงถึงส่วนที่เป็นผลึกของ C=O (Carbonyl) (Han, Branford-White & Zhu, 2010; Wang et al., 2002) การดูดกลืนรังสีที่ 12923.59 cm^{-1} แสดงถึงส่วนที่เป็นผลึกของพอลิแลคโตอิน ซึ่งเป็น C-C และ C-O ที่ตำแหน่งเลขคลื่นเท่ากับ 1238.97 cm^{-1} บอกถึงการยืดแบบไม่สมมาตรของ COC (Wang et al., 2002) และเมื่อพิจารณาจากรูปจะพบว่าเมื่อปริมาณของสารสกัดมะหาดเพิ่มขึ้นจะสังเกตเห็นได้ว่ามีสเปกตรัมของตำแหน่ง 1601.2 cm^{-1} เกิดขึ้น เมื่อเพิ่มปริมาณของสารสกัดมะหาดจะเห็นพีดดังกล่าวสูงขึ้นตามปริมาณที่เพิ่มขึ้นด้วย

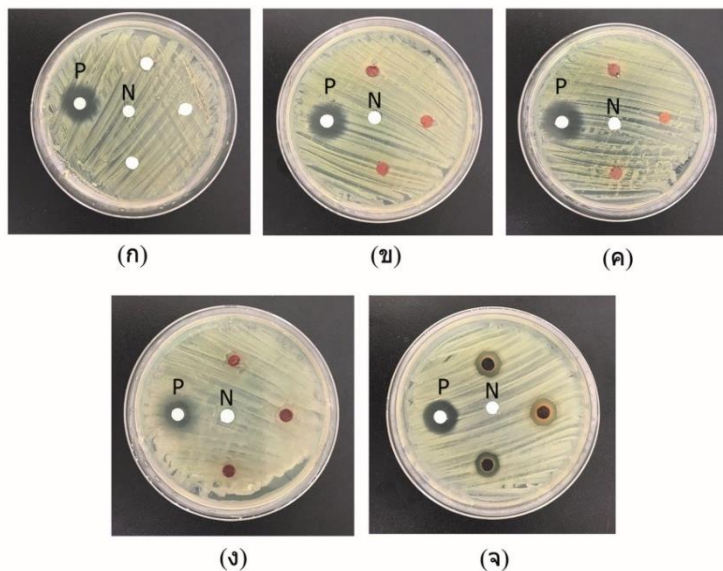
3. ผลการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของเส้นใยพอลิแลคโตอินผสมสารสกัดมะหาด

การวิจัยนี้เป็นการนำสารสกัดมะหาดมาทำการผสมกับสารละลายพอลิแลคโตอิน โดยทำการผสมสารสกัดมะหาดลงในสารละลายพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.0 2.0 4.0 6.0 8.0 และ 10.0 ตามลำดับ ลงในสารละลายพอลิเมอร์แล้วทำการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มเส้นใย โดยใช้เทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง จากนั้นจึงนำแผ่นฟิล์มดังกล่าวมาทำการทดสอบการออกฤทธิ์

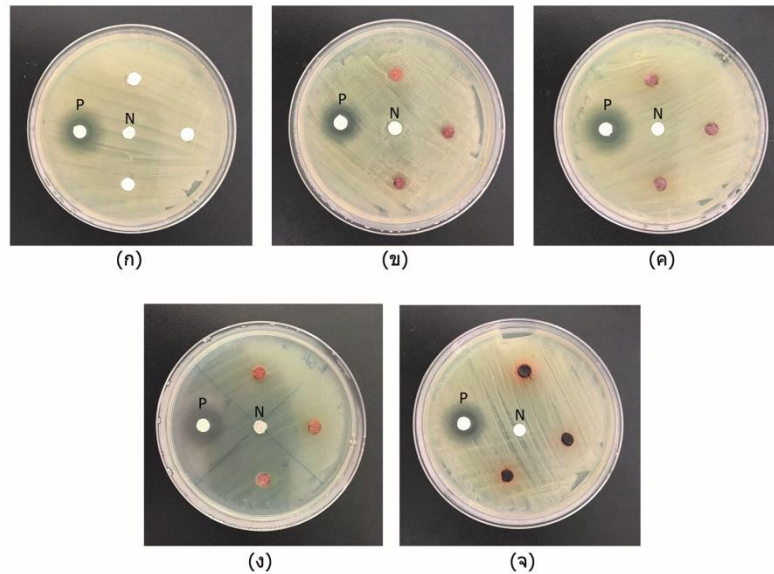
ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคโดยใช้วิธีการแพร่ (Disc diffusion method) ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4 – 6 และขนาดของบริเวณยับยั้งแบคทีเรีย ดังตารางที่ 1



ภาพที่ 4 ผลของการยับยั้ง *B. subtilis* ของเส้นใยพอลิคาโพรแลคโตนที่มีปริมาณของสารสกัดมะหาดแตกต่างกัน เมื่อ (ก) 0.0% (ข) 2.0% (ค) 4.0% (ง) 6.0% (จ) 8.0% โดยที่ P คือ Positive control และ N คือ Negative control



ภาพที่ 5 ผลของการยับยั้ง *S. aureus* ของเส้นใยพอลิคาโพรแลคโตนที่มีปริมาณของสารสกัดมะหาดแตกต่างกัน เมื่อ (ก) 0.0% (ข) 2.0% (ค) 4.0% (ง) 6.0% (จ) 8.0% โดยที่ P คือ Positive control และ N คือ Negative control



ภาพที่ 6 ผลของการยับยั้ง *E. coli* ของเส้นใยพอลิคาโปรแลคโตนที่มีปริมาณของสารสกัดมะหาดแตกต่างกัน เมื่อ (ก) 0.0% (ข) 2.0% (ค) 4.0% (ง) 6.0% (จ) 8.0% โดยที่ P คือ Positive control และ N คือ Negative control

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคโดยใช้วิธีการแพร่

ปริมาณสารสกัด (%)	บริเวณยับยั้ง (mm)		
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Positive control	12.2±0.16	14.8±0.08	12.2±0.08
0.0	0.0	0.0	0.0
2.0	7.7±0.03	0.0	0.0
4.0	8.7±0.03	0.0	0.0
6.0	9.8±0.03	0.0	0.0
8.0	12.0±0.05	9.2±0.10	0.0

อภิปรายผล

จากการสกัดสารสกัดมะหาด แล้วนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบ เพื่อหาผลของความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งแบคทีเรียสองชนิด ได้แก่ *E. coli* และ *S. aureus* ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 3.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากการศึกษารายงานการวิจัย พบว่า

ในสารสกัดมะหาดมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและเชื้อรา ได้แก่ Resveratrol (คณางค์, นิคม และยุภาพร, 2562) และนอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่ม 2-arylbenzofurans, prenylated flavones (อรพิน และคณะ, 2017) เป็นต้น สำหรับการออกฤทธิ์ต่อการยับยั้ง *E. coli* จะใช้ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดมากกว่าการออกฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ซึ่งสามารถอธิบายได้จากความแตกต่างของแบคทีเรียทั้งสองชนิด เนื่องจาก *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) ซึ่งจะมี ความซับซ้อนของผนังเซลล์มากกว่า *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) นอกจากนี้ ในแบคทีเรียแกรมลบยังมีฟอสโฟลิพิด (Phospholipid) และลิพโพลีแซ็กคาไรด์ (Lipopolysaccharide) ซึ่งอาจจะ ส่งผลให้สารสกัดซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรียได้ยากกว่า (Kaewkod, Tragoolpua & Tragoolpua, 2016)

จากการศึกษาผลของการขึ้นรูปเส้นใยพอลิคาโพรแลคโตนพบว่า เมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์จะส่งผลให้ขนาดและปริมาณของเม็ดลูกบิด (Bead) ลดลง แต่เมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ขึ้นไปจนถึงร้อยละ 17.0 โดยมวลต่อปริมาตร จะได้เส้นใยที่มีลักษณะใหญ่และเชื่อมต่อกันซึ่งเป็นผลจากปัจจัยทางด้านความเข้มข้น (Essalhi & Khayet, 2014) เมื่อนำสารละลายพอลิคาโพรแลคโตนที่ความเข้มข้นร้อยละ 16.0 โดยมวลต่อปริมาตร มาทำการเติมสารสกัดมะหาด พบว่า สารละลายมีความหนืดเพิ่มขึ้น เมื่อทำการขึ้นรูปเส้นใย พบว่าขนาดของเส้นใยโดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของสารสกัดที่ปริมาตรร้อยละ 0.0–8.0 โดยมวลต่อปริมาตร ไม่ส่งผลต่อขนาดเส้นใย แต่ถ้าเพิ่มปริมาตรของสารสกัดมะหาดที่ร้อยละ 10.0 โดยมวลต่อปริมาตร จะส่งผลให้ไม่สามารถทำการขึ้นรูปเส้นใยพอลิเมอร์ได้ เนื่องจากเกิดการอุดตันที่บริเวณเข็มโลหะ

จากการศึกษากราฟสเปกตรัมของ FT-IR พบว่า การดูดกลืนรังสีที่ 2943.24 cm^{-1} แสดงถึงการยืดตัวแบบไม่สมมาตรของ CH_2 และ 2865.60 cm^{-1} เป็นแบบสมมาตรของ CH_2 (Ghasemi-Mobarakeh et al., 2010) ที่การดูดกลืนที่ 1721.78 cm^{-1} แสดงถึงส่วนที่เป็นผลึกของ C=O (Carbonyl) (Han, Branford-White & Zhu, 2010; Wang, Cheung & Mi, 2002) การดูดกลืนที่ 12923.59 cm^{-1} แสดงถึงส่วนที่เป็นผลึกของพอลิคาโพรแลคโตน ซึ่งเป็น C-C และ C-O ที่ตำแหน่งเลขคลื่นเท่ากับ 1238.97 cm^{-1} บอกถึงการยืดแบบไม่สมมาตรของ COC (Wang, Cheung, & Mi, 2002) และการดูดกลืนสเปกตรัมที่ตำแหน่ง 1601.2 cm^{-1} จะแสดงถึงวงของอะโรมาติกริง (Aromatic ring) (อรพิน และคณะ, 2017) ที่มาจากสารสกัดมะหาด

ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มเส้นใยพอลิคาโพรแลคโตนผสมสารสกัด พบว่า สามารถยับยั้ง *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้ ซึ่งสารสำคัญในการออกฤทธิ์น่าจะมาจาก Resveratrol (คณางค์, นิคม และยุภาพร, 2562) และสารในกลุ่ม 2-arylbenzofurans, prenylated flavones (อรพิน และคณะ, 2017) และสำหรับ *E. coli* พบว่า ไม่เกิดการยับยั้ง เนื่องจาก

เมื่อทำการผสมสารสกัดลงในสารละลาย พอลิเมอร์แล้วทำการสปินเป็นเส้นใยจะส่งผลให้สารสกัดมะหาดอยู่ภายในเส้นใยพอลิเมอร์ เมื่อทำการทดสอบสารสกัดต้องสามารถละลายในอาหารเลี้ยงแบคทีเรียเพื่อที่จะเกิดการแพร่ออกมาได้ แต่น่าจะเป็นผลมาจากพอลิคาโพรแลคโตนไม่ละลายในน้ำ และหุ้มสารสกัดไว้ภายในทำให้สารสกัดแพร่ออกมาได้ไม่เพียงพอต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งจึงส่งผลให้ไม่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง *E. coli* ได้ ดังนั้นในการวิจัยครั้งต่อไปอาจจะทำการศึกษาการขึ้นรูปเส้นใยพอลิเมอร์ชนิดอื่นๆ ที่มีความสามารถในการปลดปล่อยสารสกัดมะหาดได้ดียิ่งขึ้น และทำการศึกษาผลของความเป็นพิษต่อเซลล์ (Toxicity) เพื่อตรวจสอบผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นหากมีการพัฒนางานวิจัยดังกล่าวจนสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการแพทย์ต่อไป

สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองพบว่า ผลการสกัดสารสกัดจากมะหาดได้สารสกัดเทียบกับผงมะหาดตั้งต้นคิดเป็นร้อยละ 5.3 (%yield) โดยมวล ในการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยทดสอบกับแบคทีเรียสองชนิดได้แก่ *E. coli* และ *S. aureus* พบว่าผลของความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 3.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดมะหาด มาผสมกับสารละลายพอลิคาโพรแลคโตนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.0 2.0 4.0 6.0 8.0 และ 10.0 โดยมวลต่อปริมาตรตามลำดับ พบว่า สารสกัดมะหาดส่งผลให้ความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์สูงขึ้น จึงทำให้สามารถขึ้นรูปเส้นใยได้ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.0–8.0 ส่วนที่ความเข้มข้นของสารสกัดมะหาดที่ร้อยละ 10.0 โดยมวลต่อปริมาตรไม่สามารถทำการสปินได้ จากการศึกษากราฟспекตรัมของ FT-IR พบว่า การดูดกลืนสเปกตรัมที่ตำแหน่ง 1601.2 cm^{-1} ที่แสดงถึงวงค์ของอะโรมาติกริงที่มาจากสารสกัดมะหาดซึ่งแสดงให้เห็นว่าในการผสมสารสกัดมะหาดกับสารละลายพอลิเมอร์ไม่เกิดการทำปฏิกิริยากัน เนื่องจากไม่มีพีคการดูดกลืนที่แสดงถึงหมู่ฟังก์ชันใหม่ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยา ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มเส้นใยพอลิคาโพรแลคโตนผสมสารสกัด พบว่า สามารถยับยั้ง *B. subtilis* และ *S. aureus* แต่ไม่เกิดการยับยั้ง *E. coli* เนื่องจากปริมาณสารสกัดที่แพร่ออกจากเส้นใยพอลิเมอร์อาจมีปริมาณไม่เพียงพอ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาฟิสิกส์ และสาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือในการศึกษาวิจัยจนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏ

พิบูลสงคราม ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยจนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- คณางค์ รัตนานิคม, นิคม ศรีกะชา, และยุภาพร ชันนาเลา. (2562).ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ของสารสกัดมะหาด. *วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก*, 17(1), 54–62.
- สุธารัตน์ หอมหวล. (2553). ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. สืบค้นเมื่อ 23 มีนาคม 2559, จาก <http://www.phargarden.com/main.php>.
- อรพิน โกมุติบาล, กัลยาภรณ์ จันตรี, ชัยลดา เกตุแก้ว, และจณิสตา ใจสมุทร. (2561). ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว (*Propionibacterium acnes*) ของสารทรานส์-ออกซิเรสเวอรอทรอล และเรสเวอรอทรอลจากแก่นมะหาด. *Advanced Science*, 17, 99–113.
- Agarwal, S., Wendorff, J.H., & Greiner, A. (2008). Use of electrospinning technique for biomedical applications. *Polymer*, 49, 5603–5621.
- Alves de Castro, P., Bom, V.L.P., Brown, N.A., Couto de Almeida, R.S., Ramalho, L.N.Z., Savoldi, M., Goldman, M.H.S., Berretta, A.A., & Goldman G.H. (2013). Identification of the cell targets important for propolis-induced cell death in *Candida albicans*. *Fungal Genetics and Biology*, 60, 74–86.
- Bankova, V., Galabov, A.S., Antonova, D., Vilhelmova, N., & Di Perri, B. (2014). Chemical composition of Propolis Extract ACF® and activity against herpes simplex virus. *Phytomedicine*, 21, 1432–1438.
- Bhardwaj N., Kundu S.C. (2010). Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*, 28, 325–347.
- Dalton, P.D., Grafahrend, D., Klinkhammer, K., Klee, D., & Moller, M. (2007). Electrospinning of polymer melts: Phenomenological observations. *Polymer*, 48, 6823–6833.
- Essalhi, M., & Khayet, M. (2014). Self-sustained webs of polyvinylidene fluoride electrospun nano-fibers: effects of polymer concentration and desalination by direct contact membrane distillation. *Journal of Membrane Science*, 454, 133–143.
- Gaumer, J., Prasad, A., Lee, D., & Lannutti, J. (2009). Structure–function relationships and source-to-ground distance in electrospun polycaprolactone. *Acta Biomaterialia*, 5, 1552–1561.
- Ghasemi–Mobarakeh, L., Prabhakaran, M.P., Morshed, M., Nasr–Esfahani, M.H., & Ramakrishna, S. (2010). Bio-functionalized PCL nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering. *Materials Science and Engineering C*, 30, 1129–1136.
- Han, J., Branford–White, C.J., & Zhu, L.M. (2010). Preparation of poly(ε-caprolactone)/poly(trimethylene carbonate) blend nanofibers by electrospinning. *Carbohydrate Polymers*, 79, 214–218.

- Huang, Z.M., Zhang, Y.Z., Ramakrishnan, S., & Lim, C.T. (2004). Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers. **Polymer**, **45**, 5361–5368.
- Jagtap, B., & Bapat, V.A. (2010). Artocarpus: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, **129**, 142–166.
- Jia B., Zhou J., & Zhang L. (2011). Electrospun nano-fiber mats containing cationic cellulose derivatives and poly (vinyl alcohol) with antibacterial activity. **Carbohydrate Research**, **346**, 1337–1341.
- Kaewkod, T., Tragoolpua, K., & Tragoolpua, Y. (2016). Encapsulation of *artocarpus lacucha* Roxb. extract in alginate chitosan nanoparticles for inhibition of *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* and Bacteria causing skin diseases. **Chiang Mai Journal of Science**, **43**(5), 946–958.
- Kenawy, E.R., Abdel-Hay, F.I., El-Newehy, M.H., & Wnek, G.E. (2009). Processing of polymer nanofibers through electrospinning as drug delivery systems. **Materials Chemistry and Physics**, **113**, 296–302.
- Lee, K.Y., Jeong, L., Kang, Y.O., Lee, S.J., & Park, W.H. (2009). Electrospinning of polysaccharides for regenerative medicine. **Advanced Drug Delivery Review**, **61**, 1020–1032.
- Li, D., & Xia, Y. (2004). Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel. **Advance Materials**, **16**, 1151–1169.
- Maneechai S., De-Eknamkul W., Umehara K., Noguchi H., & Likhitwitayawuid K. (2012). Flavonoid and stilbenoid production in callus cultures of *Artocarpus lakoocha*. **Phytochemistry**, **81**, 42–49.
- Potkonjak, N.I., Dragan, V.S., Novakovic, M.M., Gorjanovic, S.Z., Pezo, L.L., & Suznjec, D.Z. (2012). Antioxidant activity of propolis extracts from Serbia: A polarographic approach. **Food and Chemical Toxicology**, **50**, 3614–3618.
- Prabhakaran, M.P., Venugopal, J., & Ramakrishna, S. (2009). Electrospun nanostructure scaffolds for bone tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, **5**, 2884–2893.
- Santos, F.A., Bastos, E.M.A., Uzeda, M., Carvalho, M.A.R., Farias, L.M., Moreira, E.S.A., & Braga, F.C. (2002). Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. **Journal of Ethnopharmacology**, **80**, 1–7.
- Singhatong S., Leelarungrayub D., & Chaiyasut C. (2010). Antioxidant and toxicity activities of Artocarpus lakoocha Roxb. Heartwood extract. **Journal of Medicinal Plants Research**, **4**(10), 947–953.
- Wang, J., Cheung, M.K., & Mi, Y. (2002). Miscibility and morphology in crystalline/amorphous blends of poly(caprolactone)/poly(4-vinylphenol) as studied by DSC, FTIR, and ¹³C solid state NMR. **Polymer**, **43**, 1357–1364.
- Yoshimoto, H., Shin, Y.M., Terai, H., & Vacanti, J.P. (2003). A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. **Biomaterials**, **24**, 2077–2082.