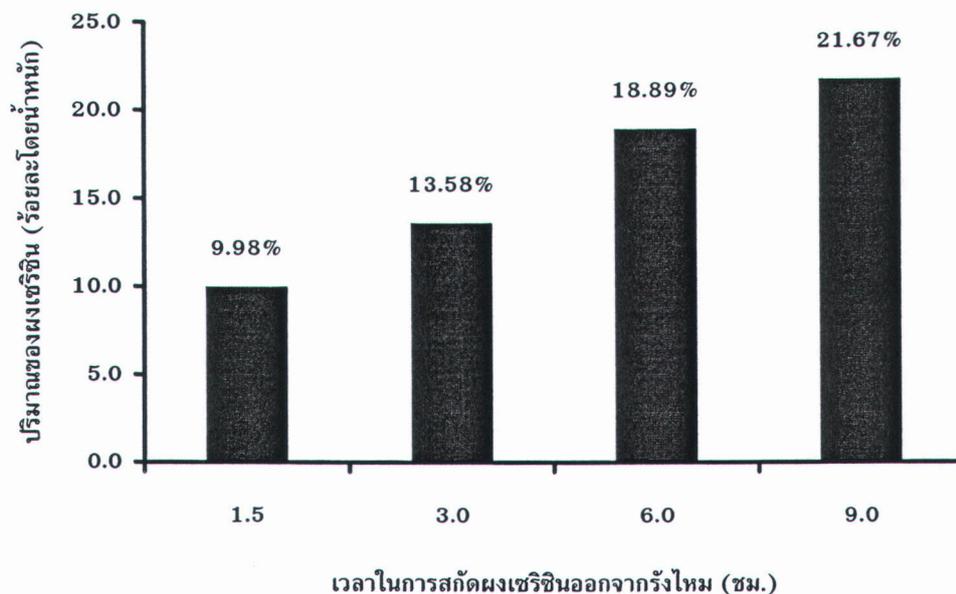


4. ผลการทดลอง

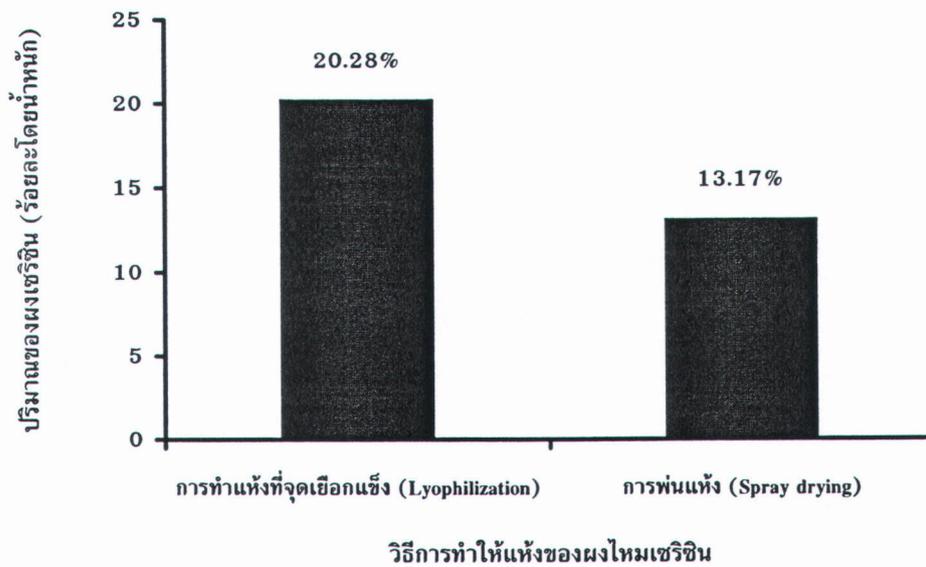
1) น้ำหนักผงไหมเซรีซินที่สกัดได้ด้วยวิธีต่าง (% Yields)

ผงไหมเซรีซินจากการสกัดรังไหมด้วยต่างแล้วทำให้แห้งที่จุดเยือกแข็งคิดเป็นร้อยละ 12.13 โดยน้ำหนัก ส่วนการสกัดด้วยน้ำร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 1.5, 3.0, 6.0 และ 9.0 แล้วทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งที่จุดเยือกแข็งคิดเป็นร้อยละ 9.98, 13.58, 18.89 และ 21.67 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ปริมาณของผงเซรีซินที่สกัดได้โดยวิธีการต้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1.5, 3.0, 6.0 และ 9.0 ชั่วโมง

และเมื่อเปรียบเทียบเทคนิคการทำให้แห้งด้วยวิธีทำให้แห้งที่จุดเยือกแข็ง (Lyophilization) และวิธีพ่นแห้ง (Spray drying) พบว่าเทคนิคทำให้แห้งด้วยวิธีทำให้แห้งที่จุดเยือกแข็งให้ปริมาณผงเซรีซินคิดเป็นร้อยละ 20.28 โดยน้ำหนัก ส่วนเทคนิคทำให้แห้งด้วยวิธีพ่นแห้งให้ปริมาณผงไหมเซรีซินคิดเป็นร้อยละ 13.17 โดยน้ำหนัก ดังแสดงในภาพที่ 2

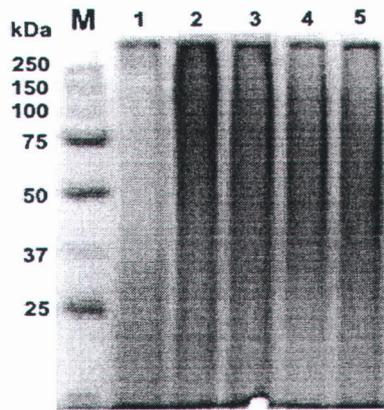


ภาพที่ 2 ปริมาณของผงเซริซินที่สกัดได้โดยวิธีการต้มด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 9.0 ชั่วโมง ทำให้แห้งด้วยวิธีทำแห้งที่จุดเยือกแข็ง (Lyophilization) และวิธีพ่นแห้ง (Spray drying)

ในการทดลองต่อไปจะใช้ผงเซริซินที่สกัดได้จากการต้มด้วยน้ำร้อนนาน 9 ชั่วโมง ทำให้แห้งด้วยวิธีทำแห้งที่จุดเยือกแข็ง เนื่องจากผงเซริซินที่สกัดได้ด้วยวิธีดังกล่าว ให้ปริมาณผงเซริซินมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยวิธีอื่น

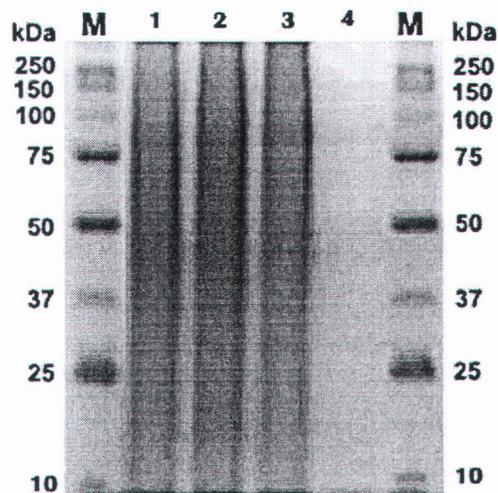
2) หน้าหนักมวลโมเลกุลของเซริซินที่สกัดได้โดยใช้ SDS-PAGE

มวลโมเลกุลของผงเซริซินที่สกัดได้จากการต้มด้วยด่าง (0.5%w/v Na_2CO_3) พบขนาดมวลโมเลกุลต่ำกว่า 37 kDa มวลโมเลกุลของผงเซริซินที่สกัดได้จากการต้มด้วยน้ำร้อน พบขนาดมวลโมเลกุลอยู่ระหว่าง 37 kDa ถึง 250 kDa ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 มวลโมเลกุลของผงไหมเซรีซินที่สกัดได้จากวิธีการต้มด้วยสารละลายต่าง (0.5% Na_2CO_3) (Lane 1) และต้มด้วยน้ำร้อนที่เวลา 1.5(Lane 2), 3.0(Lane 3), 6.0(Lane 4) และ 9.0 (Lane 5) ชั่วโมง ตรวจสอบขนาดมวลโมเลกุลโดยวิธี SDS-PAGE (12% Acrylamide Gel)

ส่วนวิธีการทำให้แห้งที่ต่างกันคือ ทำให้แห้งด้วยวิธีทำแห้งที่จุดเยือกแข็งและทำให้แห้งด้วยวิธีพ่นแห้ง พบว่าขนาดมวลโมเลกุลไม่ต่างกันคือ อยู่ในช่วง 37 kDa ถึง 100 kDa ดังภาพที่ 4 ซึ่งใกล้เคียงกับผงเซรีซินที่ได้จากการค้า (บริษัท จุลไหมไทย) ที่มีขนาดมวลโมเลกุลอยู่ในช่วง 37 kDa ถึง 100 kDa เช่นกัน ส่วนมวลโมเลกุลของไฮโดรไลซ์เซรีซินที่ได้จากการค้า (บริษัท จุลไหมไทย) ไม่พบแถบใดๆ บน SDS-PAGE gel คาดว่าอาจจะมีขนาดมวลโมเลกุลต่ำกว่า 10 kDa ดังภาพที่ 4



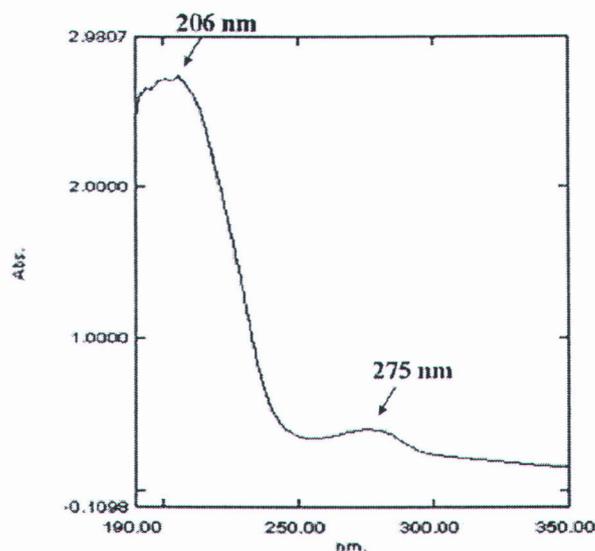
ภาพที่ 4 มวลโมเลกุลของผงเซรีซินที่ได้จากการสกัดโดยการต้มด้วยน้ำร้อนแล้วทำให้แห้งด้วยวิธีทำแห้งที่จุดเยือกแข็ง (Lyophilization) (Lane 1) หรือทำให้แห้งด้วยวิธีพ่นแห้ง (Spray drying) (Lane 2), มวลโมเลกุลของผงเซรีซินที่ได้จากการค้า (บริษัท จุลไหมไทย) (Lane 3) และมวลโมเลกุลของไฮโดรไลซ์เซรีซินที่ได้จากการค้า (บริษัท จุลไหมไทย) (Lane 4) ตรวจสอบมวลโมเลกุลโดยวิธี SDS-PAGE (12% Acrylamide Gel)

3) การหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford Protein assay (Microtiter plate, Bio-Rad)

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่มีอยู่จริงในผงไหมเซริซินที่สกัดโดยการต้มด้วยต่าง (0.5% Na_2CO_3) มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 15.14 โดยน้ำหนัก (%w/w) การต้มรังไหมด้วยน้ำร้อนที่เวลา 1.5, 3.0, 6.0 และ 9.0 ชั่วโมง ทำให้แห้งด้วยวิธีทำแห้งที่จุดเยือกแข็ง พบปริมาณโปรตีนอยู่จริงในผงเซริซินร้อยละ 2.91, 3.65, 3.80 และ 4.22 โดยน้ำหนัก (%w/w) ตามลำดับ และผงเซริซินที่สกัดโดยการต้มด้วยน้ำร้อน 9.0 ชั่วโมง และทำให้แห้งด้วยวิธีพ่นแห้ง พบว่ามีปริมาณโปรตีนอยู่จริงร้อยละ 5.66 โดยน้ำหนัก (%w/w)

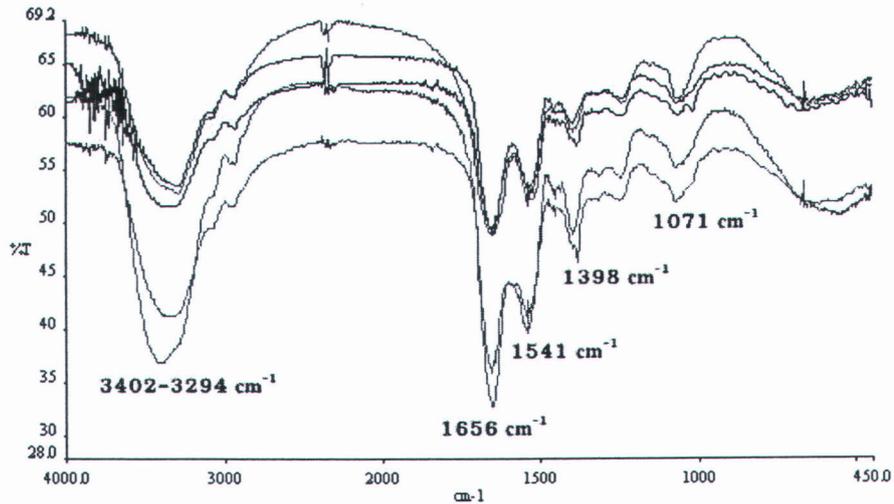
4) ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของผงไหมเซริซิน

การวัดการดูดกลืนแสง UV ของผงไหมเซริซินที่สกัดได้จากรังไหมโดยวิธีการสกัดด้วยต่าง และน้ำร้อน และผงเซริซินจากบริษัท จุลไหมไทย โดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrophotometer พบว่าเมื่อทำการสแกนหาความยาวคลื่นสูงสุดของผงไหมเซริซินที่สกัดได้ในช่วง 190 – 350 นาโนเมตร พบค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดที่ตำแหน่ง 206 และ 275 นาโนเมตร ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 UV spectrum ของผงเซริซินที่สกัดได้จากรังไหมพันธุ์ UB1xUB5 ด้วยวิธีต่างๆและผงเซริซินจากบริษัท จุลไหมไทย

การวัดการดูดกลืนแสงด้วย IR spectroscopy ของผงไหมเซริซินที่สกัดได้จากวิธีต่างๆ พบว่า IR spectrum ของเซริซิน จะมีพีคอยู่ในช่วงที่ $3402\text{-}3294\text{ cm}^{-1}$ และพบพีคที่ 1656 cm^{-1} , 1541 cm^{-1} , 1398 cm^{-1} และ 1071 cm^{-1} (ภาพที่ 17) และ IR spectrum ของเซริซินที่สกัดได้จากการต้มน้ำร้อนที่เวลา 1.5, 3.0, 6.0 และ 9.0 ชั่วโมง จะมีพีคขึ้นที่ตำแหน่งใกล้เคียงกันคือ 3292 cm^{-1} , 1652 cm^{-1} , 1525 cm^{-1} , 1401 cm^{-1} และ 1071 cm^{-1} (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 IR spectrum ของผงเชริซินที่สกัดได้จากรังไหมพันธุ์ UB1xUB5 โดยวิธีการต้มด้วย
ต่าง (---), ต้มด้วยน้ำร้อนทำให้แห้งด้วยวิธีทำแห้งที่จุดเยือกแข็ง(Lyophilization) (---)
และวิธีพ่นแห้ง (Spray drying) (---), ผงเชริซินที่ได้จากบริษัทจุลไหมไทย (---) และผง
ไฮโดรไลซ์เชริซิน จากบริษัท จุลไหมไทย (---)

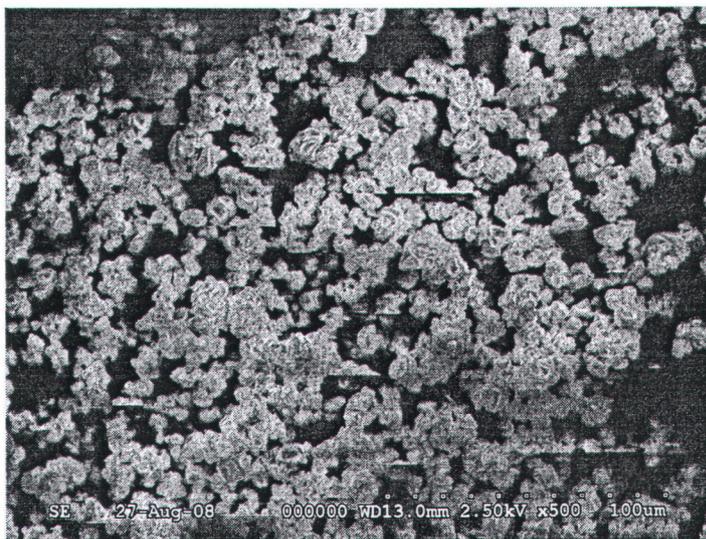
จากการนำผงเชริซินที่ได้จากการสกัดและการทำแห้งด้วยวิธีต่างๆ ไปตรวจด้วยกล้อง SEM
พบว่าวิธีการทำแห้งทำให้ได้ผงไหมที่มีลักษณะต่างกัน การทำแห้งจุดเยือกแข็ง ทำให้ได้ผงไหมมี
ลักษณะเป็นก้อนที่มีรูปร่างและขนาดต่างๆ กันไป ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 ภาพจากกล้อง SEM ของเชริซินที่สกัดจากรังไหมพันธุ์ UB1xUB5 โดยวิธีการต้มด้วย
ด่าง (0.5% Na_2CO_3) และทำให้แห้งด้วยวิธีทำแห้งจุดเยือกแข็ง

ส่วนผงเซริซินที่ทำแห้งโดยวิธีพ่นแห้ง มีลักษณะค่อนข้างเป็นทรงกลม สม่ำเสมอขนาดใกล้เคียงกันและ เกาะกันเป็นกลุ่ม ดังภาพที่ 8

เมื่อพิจารณาผงเซริซินที่ได้จากบริษัท จุลไหมไทย ก็มีลักษณะเป็นทรงกลม หลายขนาดทั้งใหญ่และเล็กแตกต่างกันไปและพบว่าส่วนมีขนาดใหญ่กว่าผงเซริซินที่เตรียมได้จากห้องปฏิบัติการ ซึ่งแสดงว่าน่าจะมีการทำแห้งด้วยวิธีพ่นแห้ง



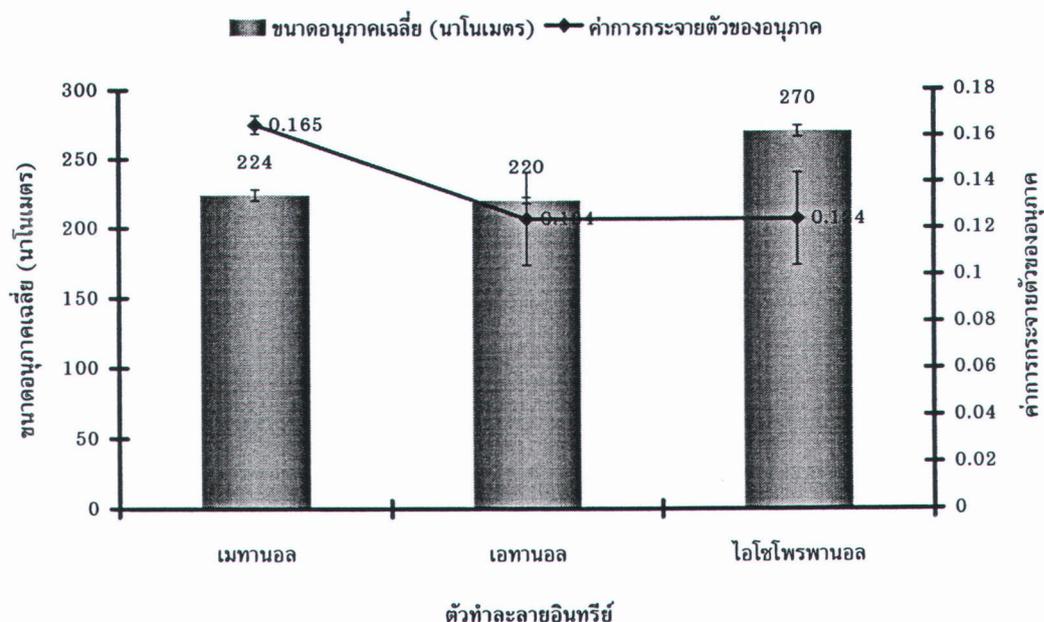
ภาพที่ 8 ภาพจากกล้อง SEM ของเซริซินที่สกัดได้จากรังไหมพันธุ์ UB1xUB5 โดยวิธีการต้มด้วยน้ำร้อนและทำให้แห้งด้วยวิธีพ่นแห้ง

5) การเตรียมอนุภาคนาโนจากผงไหมเซริซิน

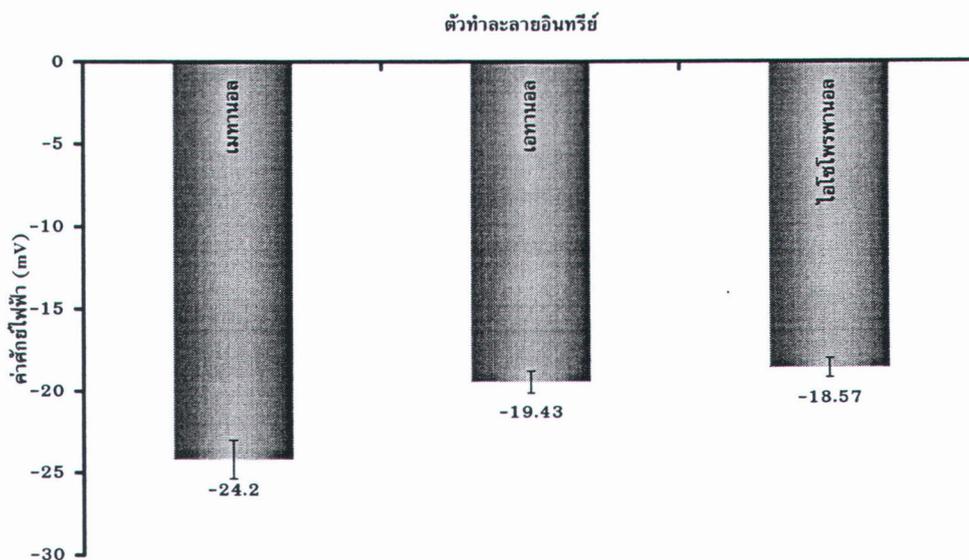
การศึกษาตัวทำละลายช่วยที่เหมาะสมในการเตรียมอนุภาคนาโนเซริซิน ดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 9 และศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเซริซินได้แสดงในภาพที่ 10

ตารางที่ 1 ขนาด ค่าการกระจายตัวและศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงตัวทำละลายอินทรีย์

Solvent (10%v/v)	Span 60 (%w/v)	Sericin (%w/v)	Size (nm) (n=3)	PI (n=3)	Zeta Potential (mV) (n=3)
Methanol	0.05	0.1	224.00±4.36	0.165±0.005	-24.2±1.18
Ethanol	0.05	0.1	220.00±1.73	0.124±0.023	-19.43±0.67
Isopropanol	0.05	0.1	270.33±3.79	0.124±0.020	-18.57±0.59



ภาพที่ 9 ขนาดและค่าการกระจายตัวของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงชนิดตัวทำละลายช่วย ได้แก่ เมทานอล เอทานอล และไอโซโพรพานอล เข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร ผงเซริซินเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปั่นด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง ที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที



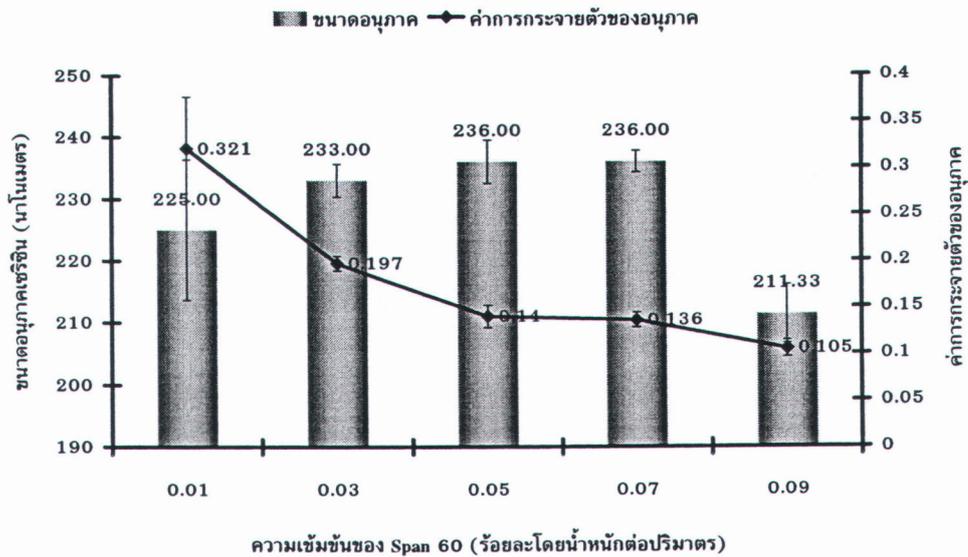
ภาพที่ 10 ค่าศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงชนิดตัวทำละลายช่วย ได้แก่ เมทานอล เอทานอล และไอโซโพรพานอล เข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร ผงเซริซินเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปั่นด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง ที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

จากผลการทดลองข้างต้นทำให้ทราบว่า สภาวะที่ทำให้อนุภาคของเซริซินมีขนาดเล็กที่สุดเมื่อเปลี่ยนแปลงชนิดตัวทำละลายอินทรีย์และลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคแคบสุดคือ เอทานอล เข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร สารลดแรงตึงผิว (Span 60) เข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผงเซริซินเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปั่นด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง ที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ซึ่งให้ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของเซริซินเท่ากับ 220.00 ± 1.73 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวเท่ากับ 0.124 ± 0.02 และศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเซริซินมีประจุเป็นลบ และค่าศักย์ไฟฟ้าที่ผิวของอนุภาคเท่ากับ -19.43 ± 0.67 จากผลการทดลองนี้จะเลือกเอทานอลเป็นตัวแทนของตัวทำละลายอินทรีย์นำมาเป็นตัวช่วยทำละลายสารลดแรงตึงผิว Span 60 จะสามารถละลายได้ดีในเอทานอล และเนื่องจากเอทานอลมีผลทำให้ขนาดอนุภาคเซริซินเฉลี่ยมีขนาดเล็กและค่าการกระจายตัวของอนุภาคเซริซินที่แคบหรือมีการกระจายตัวค่อนข้างสม่ำเสมอเมื่อเปรียบเทียบกับเมทานอลและ ไอโซโพรพานอล

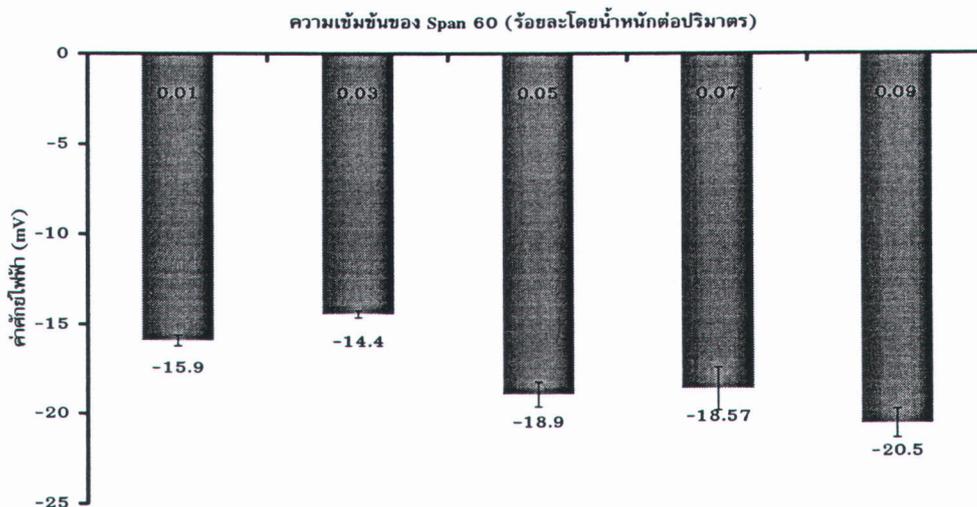
การศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (Span 60) ได้แสดงในตารางที่ 2 และ ภาพที่ 11 ส่วนศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเซริซินแสดงในภาพที่ 12

ตารางที่ 2 ขนาด ค่าการกระจายตัวและศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ Span 60

Ethanol (%v/v)	Span 60 (%w/v)	Sericin (%w/v)	Size (nm) (n=3)	PI (n=3)	Zeta Potential (mV) (n=3)
10	0.01	0.1	225.00 ± 11.36	0.321 ± 0.056	-15.90 ± 0.26
10	0.03	0.1	233.00 ± 2.65	0.197 ± 0.008	-14.40 ± 0.17
10	0.05	0.1	236.00 ± 3.46	0.140 ± 0.012	-18.90 ± 0.72
10	0.07	0.1	236.00 ± 1.73	0.136 ± 0.008	-18.57 ± 1.19
10	0.09	0.1	211.33 ± 4.73	0.105 ± 0.009	-20.50 ± 0.82



ภาพที่ 11 ขนาดและค่าการกระจายตัวของอนุภาคเซริซิมได้จากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (Span 60) คือร้อยละ 0.01, 0.03, 0.05, 0.07 และ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้ตัวทำละลายช่วยคือเอทานอล เข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร ผงเซริซิมเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และใช้เครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง โดยปั่นที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที



ภาพที่ 12 ค่าศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซิมที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (Span 60) คือร้อยละ 0.01, 0.03, 0.05, 0.07 และ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้ตัวทำละลายช่วยคือเอทานอล เข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร ผงเซริซิมเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และใช้เครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง โดยปั่นที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที



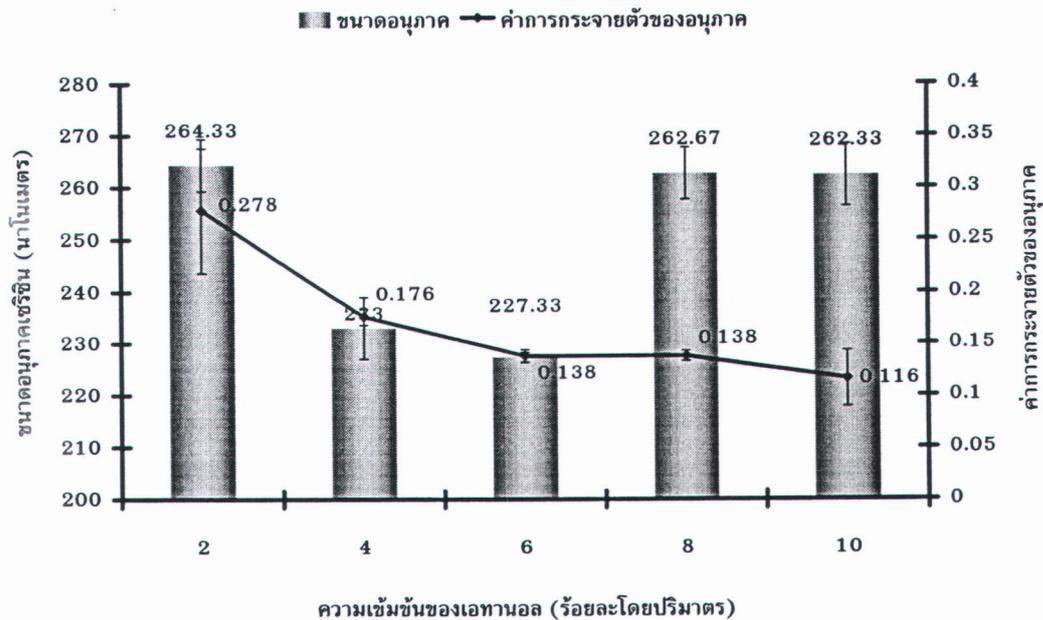
จากผลการทดลองข้างต้นทำให้ทราบว่า สภาวะที่ทำให้อนุภาคของเซริซินมีขนาดเล็กที่สุดเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (Span 60) และลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคแคบสุดคือ สารลดแรงตึงผิว (Span 60) เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร ผงเซริซินเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปั่นด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง ที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ซึ่งให้ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของเซริซินเท่ากับ 211.33 ± 4.73 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวเท่ากับ 0.136 ± 0.008 และพบศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเซริซินมีประจุเป็นลบ และค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้เท่ากับ -20.5 ± 0.8

จากผลการทดลองนี้จะเลือกสารลดแรงตึงผิว Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อนำไปเป็นตัวแทนในการทดลองผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอทานอลเนื่องจาก Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีผลทำให้ขนาดอนุภาคเซริซินมีขนาดเล็กและค่าการกระจายตัวของอนุภาคเซริซินที่แคบ เมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิว ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

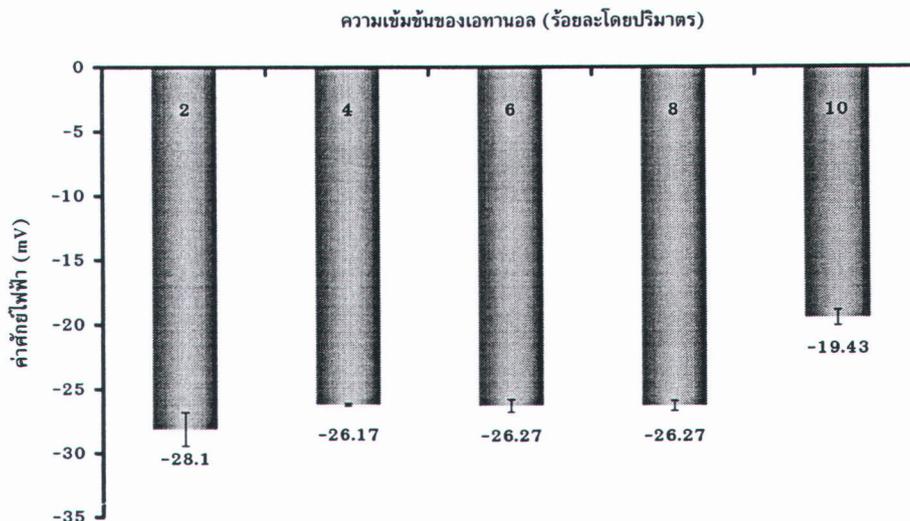
การหาผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของตัวทำละลายช่วยคือเอทานอลได้แสดงดังตารางที่ 3 และภาพที่ 13 ส่วนศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเซริซินได้แสดงดัง ภาพที่ 14

ตารางที่ 3 ขนาด ค่าการกระจายตัวและศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอทานอล

Ethanol (%v/v)	Span 60 (%w/v)	Sericin (%w/v)	Size (nm) (n=3)	PI (n=3)	Zeta Potential (mV) (n=3)
2	0.09	0.1	264.33 ± 5.03	0.278 ± 0.062	-28.10 ± 1.30
4	0.09	0.1	233.00 ± 6.08	0.176 ± 0.008	-26.17 ± 0.12
6	0.09	0.1	227.33 ± 1.15	0.138 ± 0.006	-22.30 ± 0.52
8	0.09	0.1	262.67 ± 4.51	0.138 ± 0.005	-26.27 ± 0.35
10	0.09	0.1	262.33 ± 6.35	0.116 ± 0.027	-19.43 ± 0.59



ภาพที่ 13 ขนาดและค่าการกระจายตัวของอนุภาคเซริซินเตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอทานอล คือร้อยละ 2, 4, 6, 8 และ 10 โดยปริมาตร ใช้ Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผงเซริซินเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และใช้เครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง ที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที



ภาพที่ 14 ค่าศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินเตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอทานอล คือร้อยละ 2, 4, 6, 8 และ 10 โดยปริมาตร ใช้ Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผงเซริซินเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และใช้เครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง โดยปั่นที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

จากผลการทดลองข้างต้นทำให้ทราบว่า สภาวะที่ทำให้อนุภาคของเซริซินมีขนาดเล็กที่สุดเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอทานอล และลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคแคบที่สุดคือ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร Span 60 ร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผงเซริซินเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปั่นด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง ที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ซึ่งให้ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของเซริซินเท่ากับ 227.33 ± 1 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวเท่ากับ 0.138 ± 0.006 และศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเซริซินมีประจุเป็นลบ และค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้เท่ากับ -26.27 ± 0.50

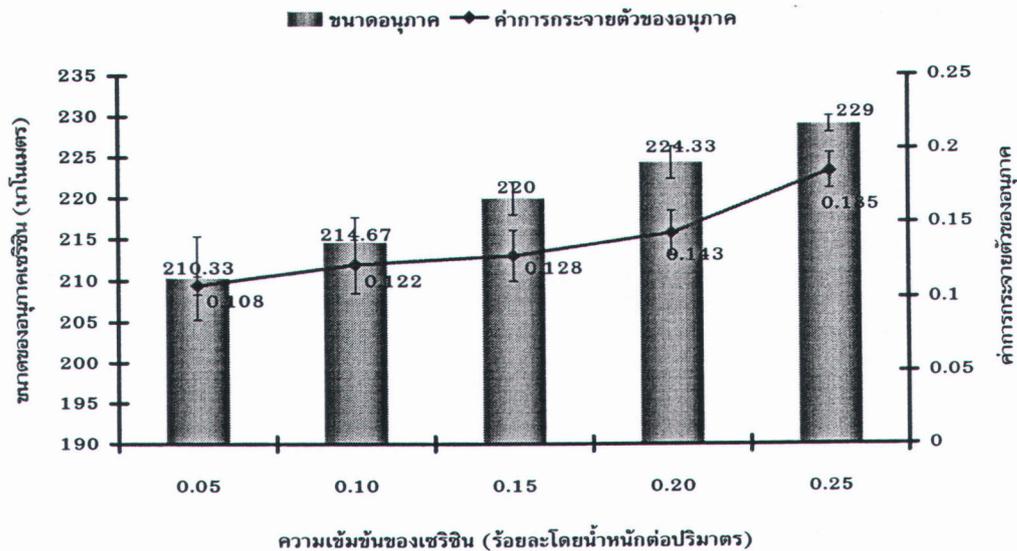
จากผลการทดลองนี้จะเลือกความเข้มข้นของเอทานอล ร้อยละ 6 โดยปริมาตรเพื่อนำไปเป็นตัวแทนในการทดลองผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเซริซิน เนื่องจากเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร มีผลทำให้ขนาดอนุภาคเซริซินมีขนาดเล็กและค่าการกระจายตัวของอนุภาคเซริซินที่แคบ เมื่อเปรียบเทียบกับเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเซริซินในการเตรียมอนุภาคนาโนเซริซินได้แสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 15 ส่วนศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเซริซินได้แสดงดังภาพที่ 16

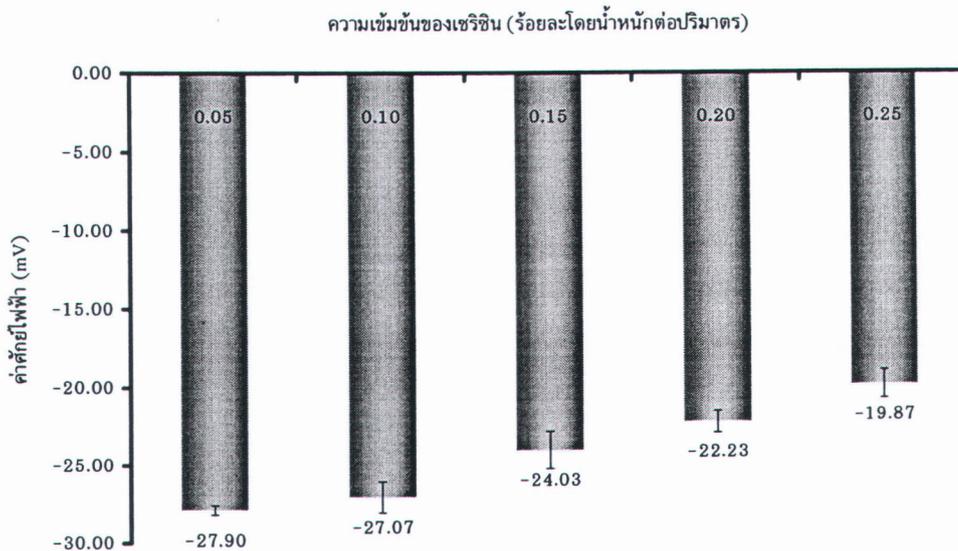
ตารางที่ 4 ขนาด ค่าการกระจายตัวและศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเซริซิน

Ethanol (%v/v)	Span 60 (%w/v)	Sericin (%w/v)	Size (nm) (n=3)	PI (n=3)	Zeta Potential (mV) (n=3)
6	0.09	0.05	210.33 ± 4.51	0.108 ± 0.006	-27.90 ± 0.35
6	0.09	0.10	214.67 ± 3.21	0.122 ± 0.020	-27.07 ± 1.03
6	0.09	0.15	220.00 ± 2.00	0.128 ± 0.017	-24.03 ± 1.17
6	0.09	0.20	224.33 ± 1.53	0.143 ± 0.015	-22.23 ± 0.68
6	0.09	0.25	229.00 ± 1.00	0.185 ± 0.012	-19.87 ± 0.91





ภาพที่ 15 ขนาดและค่าการกระจายตัวของอนุภาคเซริซินเตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเซริซิน คือร้อยละ 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร และใช้เครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง โดยปั่นที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที



ภาพที่ 16 ค่าศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินเตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเซริซิน คือร้อยละ 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร และใช้เครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง โดยปั่นที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

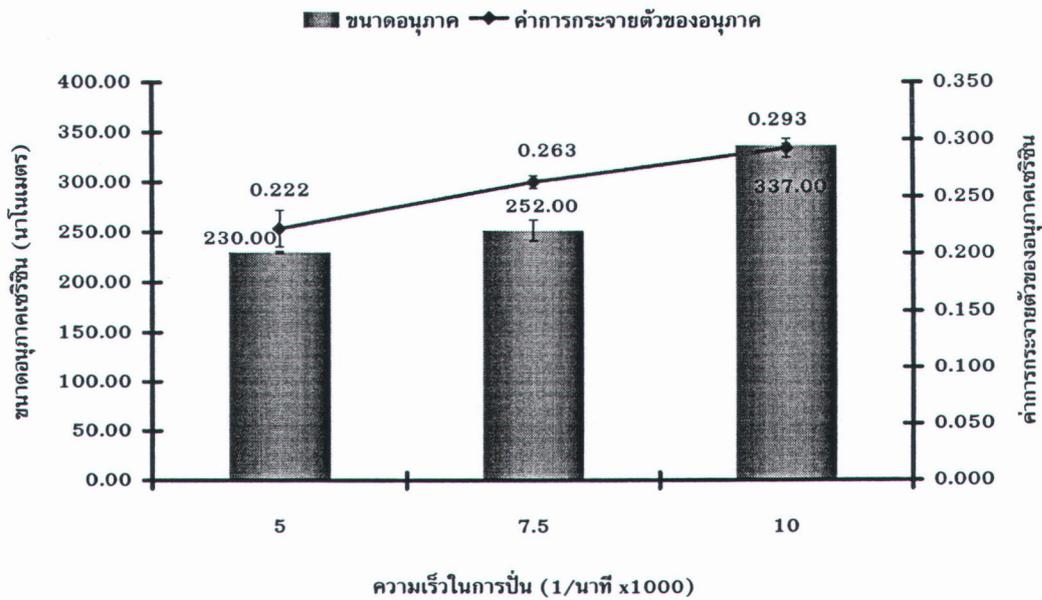
จากผลการทดลองข้างต้นทำให้ทราบว่า สภาวะที่ทำให้อนุภาคของเซริซินมีขนาดเล็กที่สุดเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเซริซิน และลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคแคบสุดคือเซริซินเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Span 60 ร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ความเข้มข้นของเอทานอล ร้อยละ 6 โดยปริมาตร และปั่นด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง ที่ระดับความเร็ว 5000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ซึ่งให้ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของเซริซินเท่ากับ 210.33 ± 5 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวเท่ากับ 0.108 ± 0.006 ศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาค เซริซินมีประจุเป็นลบ และค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้เท่ากับ -27.90 ± 0.35

ต่อไปจะเป็นการหาสภาวะของการเตรียมอนุภาคนาโนเซริซินด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง โดยการเปลี่ยนแปลงความเร็วและเวลาที่ใช้ในการปั่น ว่ามีผลต่อการลดขนาดอนุภาคเซริซินได้หรือไม่ ดังนั้นจากผลการทดลองนี้จะเลือกความเข้มข้นของเซริซินที่สูงที่สุดจากการทดลองที่ผ่านมา คือ ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อนำมาทดลองหาผลของการเปลี่ยนแปลงความเร็วและเวลาในการปั่นสารตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง เนื่องจากเซริซินเข้มข้นร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีผลทำให้ขนาดอนุภาคเซริซินมีขนาดใหญ่ ลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคเซริซินกว้างหรือมีขนาดอนุภาคไม่ค่อนข้างสม่ำเสมอและมีความเสถียรน้อยเมื่อพิจารณาจากประจุของศักย์ไฟฟ้าเป็นลบน้อยลง เมื่อเปรียบเทียบกับเซริซินที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งต้องการพิสูจน์ว่าที่ระดับความเข้มข้นเซริซินสูง วิธีการนี้จะสามารถเตรียมให้ได้ขนาดอนุภาคเป็นนาโนได้หรือไม่

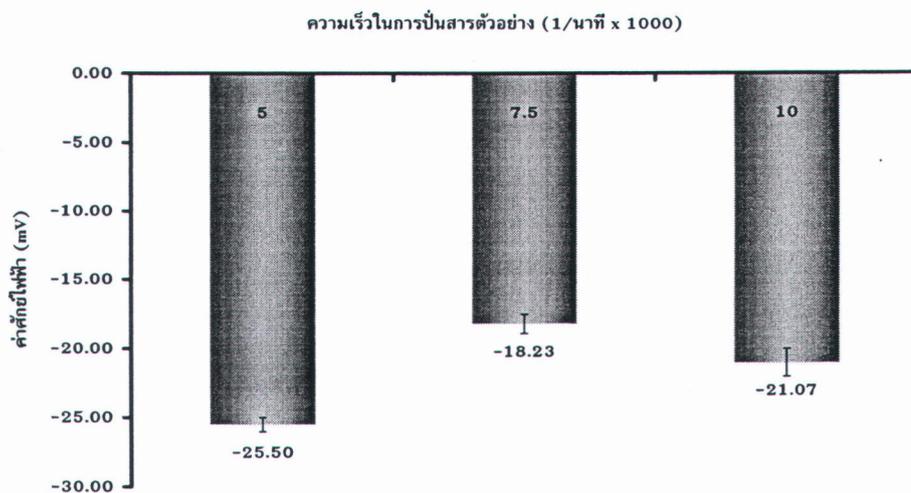
ผลศึกษาวิธีการเตรียมอนุภาคนาโนด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง ได้แสดงดังตารางที่ 5 และ ภาพที่ 17 และ 18

ตารางที่ 5 ขนาด ค่าการกระจายตัวและศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงความเร็วของการปั่นสารตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง

Speed (rpm)	Time (min)	Size (nm) (n=3)	PI (n=3)	Zeta Potential (mV) (n=3)
5000	5	230.00 ± 1.00	0.222 ± 0.016	-25.50 ± 0.46
7500	5	252.00 ± 10.54	0.263 ± 0.006	-18.23 ± 1.01
10000	5	337.00 ± 2.00	0.293 ± 0.008	-21.07 ± 0.74



ภาพที่ 17 ขนาดและค่าการกระจายตัวของอนุภาคเซริซินเตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงระดับความเร็วในการปั่นสารตัวอย่าง คือ 5000, 7500 และ 10,000 รอบต่อนาที ใช้เวลาในการปั่น 5 นาที และสภาวะที่ใช้คือความเข้มข้นของเซริซิน คือร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร



ภาพที่ 18 ค่าศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงระดับความเร็วในการปั่นสารตัวอย่าง คือ 5000, 7500 และ 10,000 รอบต่อนาที ใช้เวลาในการปั่น 5 นาที และสภาวะที่ใช้คือความเข้มข้นของเซริซิน คือร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอทานอล เข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร

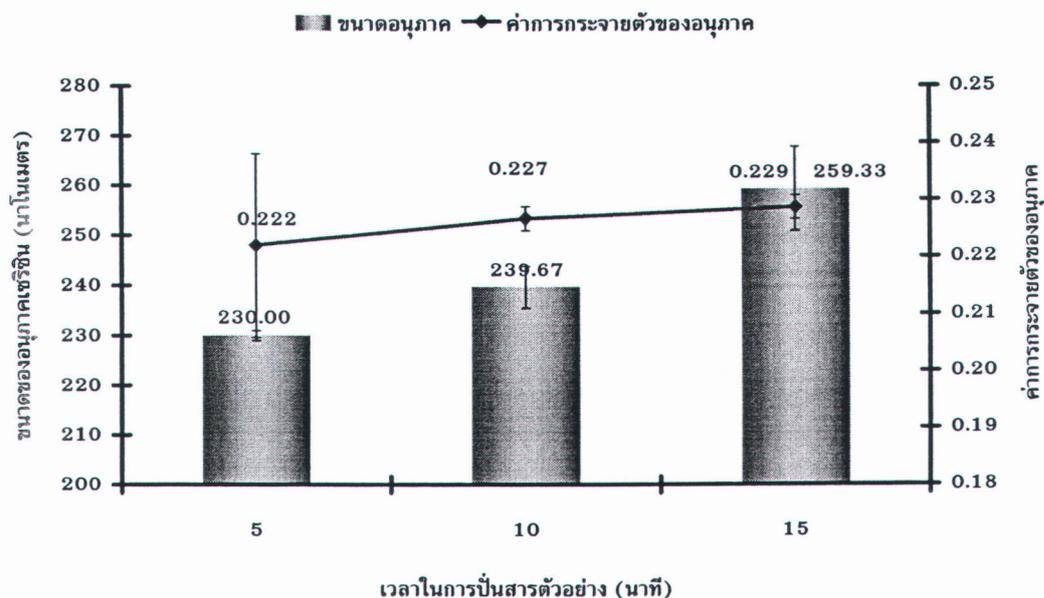
จากผลการทดลองข้างต้นทำให้ทราบว่า สภาวะที่ทำให้อนุภาคของเซริซินมีขนาดเล็กที่สุดเมื่อเปลี่ยนแปลงระดับความเร็วในการปั่นสารตัวอย่าง และลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคแคบสุดคือ ความเร็วในการปั่นที่ระดับความเร็ว 5000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง พบขนาดอนุภาคเฉลี่ยของเซริซินเท่ากับ 230.00 ± 1.00 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวเท่ากับ 0.222 ± 0.016 ศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเซริซินมีประจุเป็นลบ และค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้เท่ากับ -25.5 ± 0.46

ต่อไปจะเลือกความเร็วในการปั่นสารตัวอย่างที่ระดับความเร็ว 5000 รอบต่อนาที ด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง เพื่อนำไปเป็นตัวแทนในการทดลองศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงเวลาในการปั่นสารตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง เนื่องจากความเร็วในการปั่นสารตัวอย่างที่ระดับความเร็ว 5000 รอบต่อนาที มีผลทำให้ขนาดอนุภาคเซริซินมีขนาดเล็กและค่าการกระจายตัวของอนุภาค เซริซินที่แคบหรือมีการกระจายตัวของอนุภาคค่อนข้างสม่ำเสมอ เมื่อเปรียบเทียบกับความเร็วในการปั่นสารที่ระดับอื่นๆ

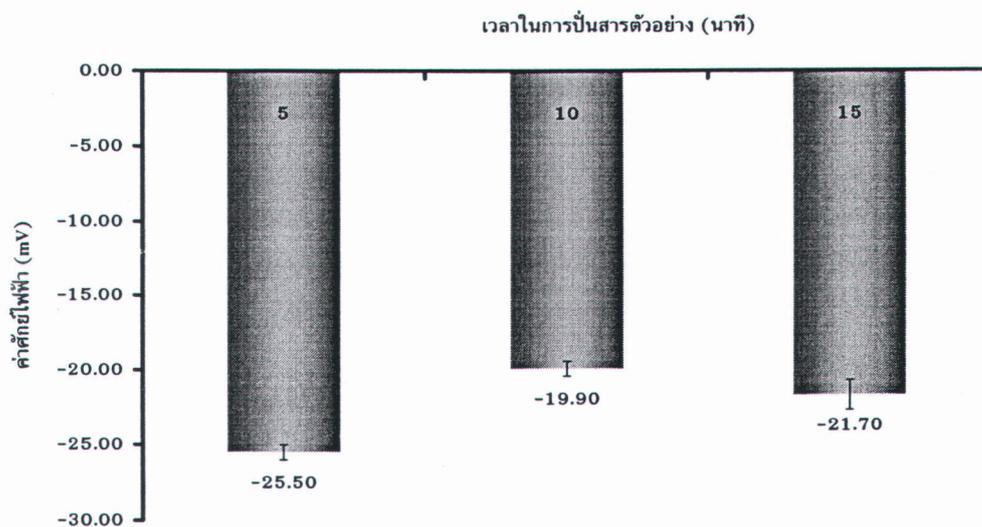
การทดลองหาผลของการเปลี่ยนแปลงเวลาในการปั่นสารตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง สำหรับการเตรียมอนุภาคนาโนเซริซิน ได้แสดงในตารางที่ 6 และ ภาพที่ 19 และ 20

ตารางที่ 6 ขนาด ค่าการกระจายตัวและศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงเวลาในการปั่นสารตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง

Speed (rpm)	Time (min)	Size (nm) (n=3)	PI (n=3)	Zeta Potential (mV) (n=3)
5000	5	230.00 ± 1.00	0.222 ± 0.016	-25.5 ± 0.46
5000	10	239.67 ± 4.16	0.227 ± 0.002	-19.9 ± 0.53
5000	15	259.33 ± 8.50	0.229 ± 0.002	-21.7 ± 0.98



ภาพที่ 19 ขนาดและค่าการกระจายตัวของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงเวลาในการปั่นสารตัวอย่าง 5, 10 และ 15 นาที ที่ระดับความเร็ว 5000 รอบต่อนาที และสภาวะที่ใช้คือความเข้มข้นของเซริซิน คือร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร



ภาพที่ 20 ค่าศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงเวลาในการปั่นสารตัวอย่าง 5, 10 และ 15 นาที ที่ระดับความเร็ว 5000 รอบต่อนาที และสภาวะที่ใช้คือความเข้มข้นของเซริซิน คือร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร

จากผลการทดลองข้างต้นทำให้ทราบว่า สภาวะที่ทำให้อนุภาคของเซริซินมีขนาดเล็กที่สุดเมื่อเปลี่ยนแปลงเวลาในการปั่นสารตัวอย่าง และลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคแคบที่สุดคือ เวลาในการ

บั่นสารตัวอย่าง 5 นาที ที่ระดับความเร็ว 5000 รอบต่อนาที ด้วยเครื่องบั่นของเหลวความเร็วสูง ซึ่งให้ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของเซริซินเท่ากับ 230.00 ± 1.00 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวเท่ากับ 0.222 ± 0.016 ศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเซริซินมีประจุเป็นลบ และค่าศักย์ไฟฟ้าเท่ากับ -25.5 ± 0.5

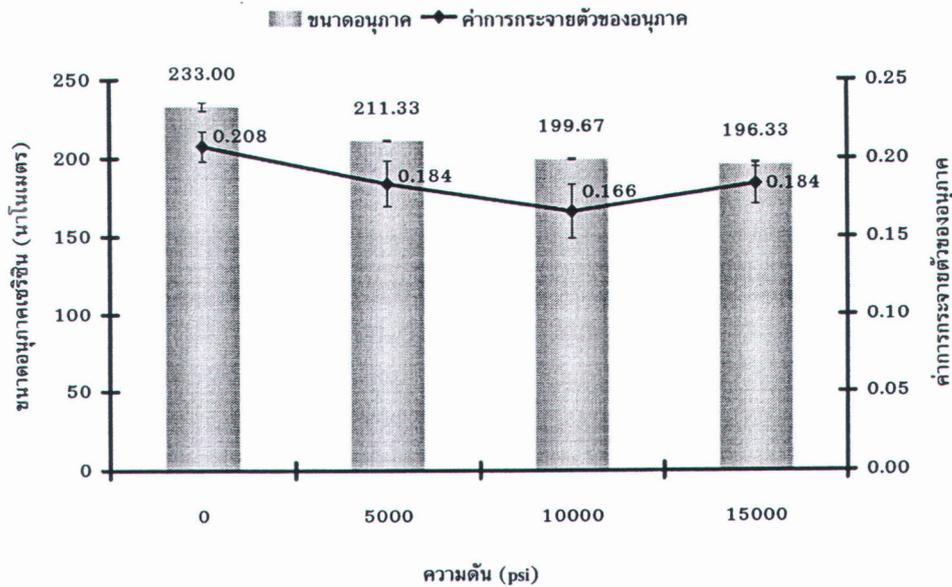
ดังนั้นสรุปได้ว่าสภาวะที่จะนำไปเตรียมอนุภาคนาโนเซริซินเพื่อให้ได้ขนาดอนุภาคที่เล็กและมีการกระจายตัวที่แคบ ด้วยเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูงคือ เซริซินเข้มข้นร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร เวลาในการบั่นสารตัวอย่าง 5 นาที ที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที

การเตรียมอนุภาคนาโนเซริซินด้วยเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง เพื่อให้ได้ขนาดอนุภาคที่เล็กและมีการกระจายตัวที่แคบ สภาวะที่ใช้ในการเตรียมคือ เซริซินเข้มข้นร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร นำสารละลายผสมมาบั่นด้วยเครื่องบั่นของเหลวความเร็วสูง ใช้เวลาในการบั่นสารตัวอย่าง 5 นาที ที่ระดับความเร็ว 5000 รอบต่อนาที และนำสารละลายผสมผ่านเข้าเครื่อง เครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง เพื่อศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงความดันและจำนวนรอบในการนำพาสารตัวอย่างผ่านเข้าเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง

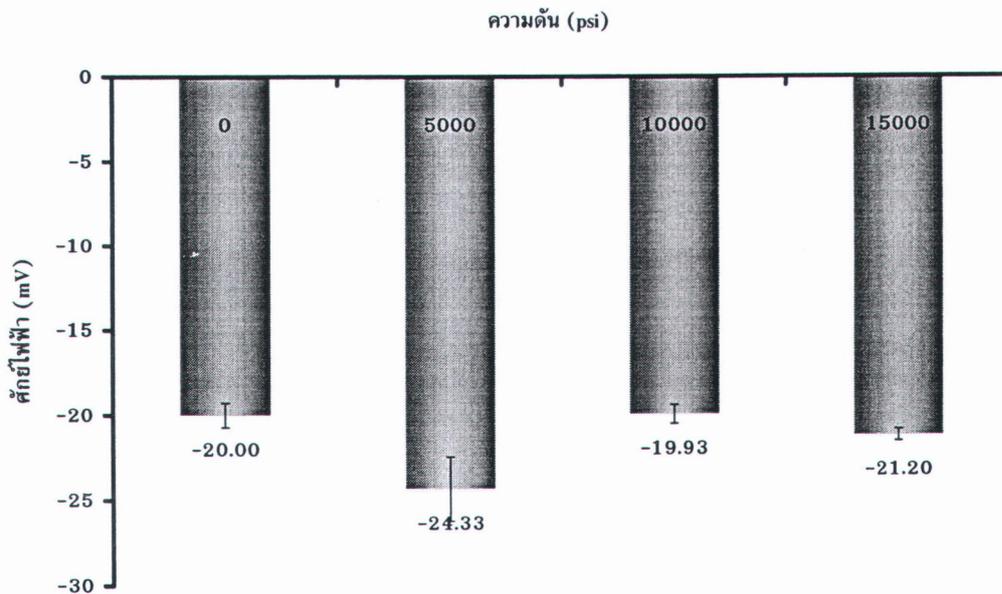
ผลการทดลองหาผลของการเปลี่ยนแปลงความดันของเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง เมื่อทำการเตรียมอนุภาคนาโนเซริซิน ได้แสดงในตารางที่ 7 และ ภาพที่ 21 และ 22

ตารางที่ 7 ขนาด ค่าการกระจายตัวและศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงความดันของเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง

Pressure (psi)	Cycles	Size (n=3) (nm)	PI (n=3)	Zeta Potential (mV) (n=3)
0	0	233.00 ± 2.65	0.208 ± 0.010	-20.00 ± 0.72
5000	5	211.33 ± 0.58	0.184 ± 0.015	-24.33 ± 1.89
10000	5	199.67 ± 0.58	0.166 ± 0.017	-19.93 ± 0.55
15000	5	196.33 ± 1.53	0.184 ± 0.013	-21.20 ± 0.35



ภาพที่ 21 ขนาดและค่าการกระจายตัวของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงความดันของเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง คือ 0, 5000, 10,000 และ 15,000 psi โดยนำสารตัวอย่างผ่านเข้าเครื่องจำนวน 5 รอบ



ภาพที่ 22 ค่าศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงความดันของเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง คือ 0, 5,000, 10,000 และ 15,000 psi โดยนำสารตัวอย่างผ่านเข้าเครื่องจำนวน 5 รอบ

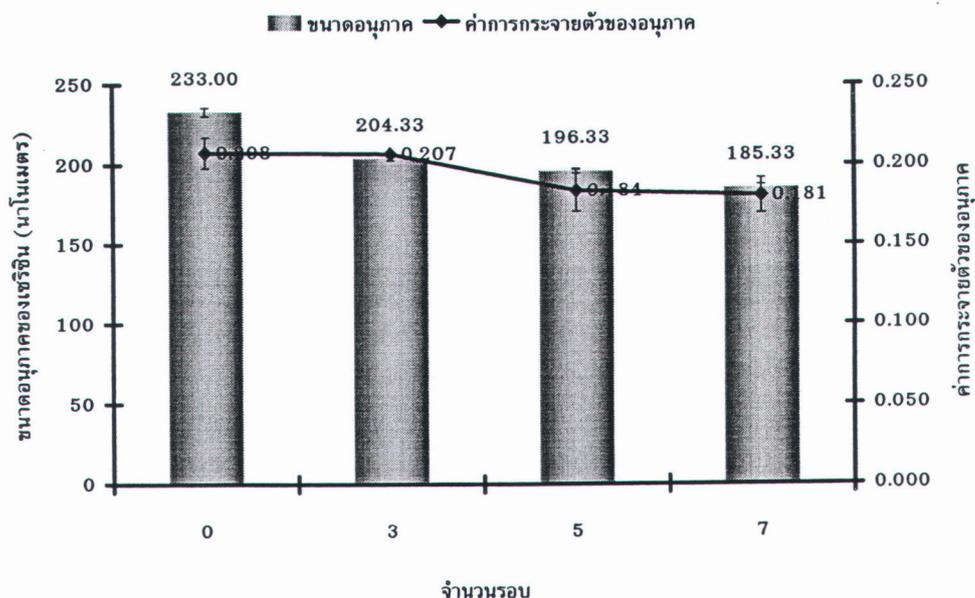
จากผลการทดลองข้างต้นทำให้ทราบว่า สภาวะที่ทำให้อนุภาคของเซริซินมีขนาดเล็กที่สุดเมื่อเปลี่ยนแปลงความดันของเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง และลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคแคบสุดคือ ระดับความดันเท่ากับ 15,000 psi ของเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง และนำสารตัวอย่างผ่านเข้า

เครื่องจำนวน 5 รอบ พบขนาดอนุภาคเฉลี่ยของเซริซินเท่ากับ 196.33 ± 1.53 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวเท่ากับ 0.184 ± 0.013 ศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเซริซินมีประจุเป็นลบ และค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้เท่ากับ -21.20 ± 0.35 จากผลการทดลองนี้จะเลือกที่ระดับความดัน 15,000 psi ของเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง เพื่อนำไปเป็นตัวแทนในการทดลองหาผลของการเปลี่ยนแปลงจำนวนรอบในการพาสารตัวอย่างผ่านเข้าเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง เนื่องจากที่ระดับความดัน 15,000 psi มีผลทำให้ขนาดอนุภาคเซริซินเฉลี่ยที่มีขนาดเล็กที่สุดและมีการกระจายตัวของอนุภาคเซริซินที่แคบ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ระดับความดันอื่นๆ

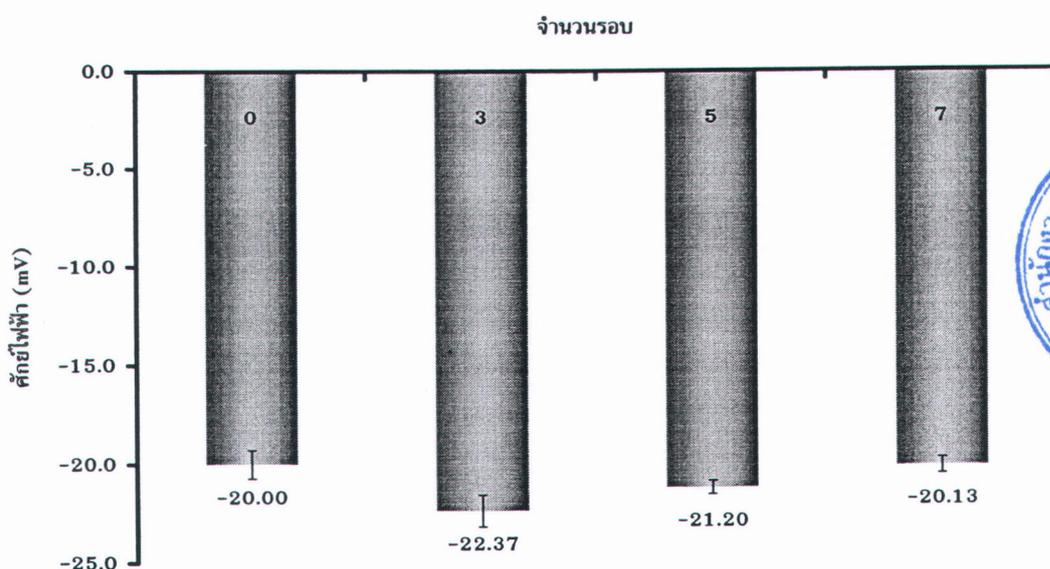
ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนรอบในการนำสารตัวอย่างผ่านเข้าเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง ได้แสดงในตารางที่ 8 และ ภาพที่ 24 และ 25

ตารางที่ 8 ขนาด ค่าการกระจายตัวและศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงจำนวนรอบในการพาสารเข้าเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง

Pressure (psi)	Cycles	Size (nm) (n=3)	PI (n=3)	Zeta Potential (mV) (n=3)
0	0	233.00 ± 2.65	0.208 ± 0.010	-20.00 ± 0.72
15000	3	204.33 ± 1.53	0.207 ± 0.002	-22.37 ± 0.81
15000	5	196.33 ± 1.53	0.184 ± 0.013	-21.20 ± 0.35
15000	7	185.33 ± 2.08	0.181 ± 0.011	-20.13 ± 0.40



ภาพที่ 23 ขนาดและค่าการกระจายตัวของอนุภาคเซรีซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงจำนวนรอบในการนำสารตัวอย่างผ่านเข้าเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง คือ 0, 3, 5 และ 7 รอบ ความดันของเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง เท่ากับ 15,000 psi



ภาพที่ 24 ค่าศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซรีซินที่เตรียมได้จากการเปลี่ยนแปลงจำนวนรอบในการนำสารตัวอย่างผ่านเข้าเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง คือ 0, 3, 5 และ 7 รอบ ความดันของเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง เท่ากับ 15,000 psi

จากผลการทดลองข้างต้นทำให้ทราบว่า สภาวะที่ทำให้อนุภาคของเซรีซินมีขนาดเล็กที่สุดเมื่อเปลี่ยนแปลงจำนวนรอบในการนำสารตัวอย่างผ่านเข้าเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง และลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคแคบสุดคือ การนำพาสารตัวอย่างผ่านเข้าเครื่องจำนวน 7 รอบ



ระดับความดันเท่ากับ 15,000 psi ของเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง และให้ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของ เซริซินเท่ากับ 185.33 ± 2.08 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวเท่ากับ 0.181 ± 0.011 ศักย์ไฟฟ้าที่พื้นผิวของอนุภาคเซริซินมีประจุเป็นลบ และค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้เท่ากับ -20.13 ± 0.40

ผลการเปรียบเทียบการเตรียมได้จากห้องปฏิบัติการ คือผงเซริซินจากรังใหม่ที่เตรียมด้วยการต้มด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ทำให้แห้งด้วยวิธีทำแห้งที่จุดเยือกแข็ง และทำแห้งด้วยการพ่นแห้ง กับผงเซริซินที่ได้จากการค้า จากบริษัท จุลใหม่ไทย โดยเตรียมอนุภาคนาโนด้วยวิธีซัสเพนชันโดยใช้เครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง สภาวะที่ใช้ในการเตรียมคือ เซริซินเข้มข้นร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร Span 60 เข้มข้นร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 6 โดยปริมาตร แล้วนำสารละลายผสมมาปั่นด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง ใช้เวลาในการปั่นสารตัวอย่าง 5 นาที ที่ระดับความเร็ว 5000 รอบต่อนาที ผลการทดลองที่ได้ แสดงในตารางที่ 9 และ 10 ตามลำดับ

ตารางที่ 9 ขนาดอนุภาคเฉลี่ย ค่าการกระจายตัวและศักย์ไฟฟ้าของอนุภาคเซริซินที่เตรียมได้จากห้องปฏิบัติการและทางการค้า ด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง

ตัวอย่าง ผงเซริซิน	วิธีทำแห้ง	ขนาดอนุภาค เฉลี่ย (nm) (n=3)	ค่า การกระจายตัว (PI) (n=3)	ศักย์ไฟฟ้า (mV) (n=3)
ต้มด้วยน้ำร้อน 9.0 ชม.	Lyophilization	233.00 ± 2.65	0.208 ± 0.010	-20.00 ± 0.72
ต้มด้วยน้ำร้อน 9.0 ชม.	Spray drying	282.67 ± 0.58	0.345 ± 0.010	-16.10 ± 1.42
ผงเซริซิน จากบริษัทจุลใหม่ไทย		235.33 ± 3.79	0.156 ± 0.033	-20.13 ± 1.27

เมื่อทำการลดขนาดอนุภาคเซริซินจากตัวอย่างผงเซริซินต่าง ๆ ด้วยเครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูงแล้ว หลังจากนั้นนำสารตัวอย่างมาลดขนาดด้วยเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูง โดยสภาวะที่ใช้คือความดันและจำนวนรอบในการพาสารตัวอย่างผ่านเข้าเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูงเท่ากับ 10000 psi จำนวน 5 รอบ การนำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในการทดลองครั้งนี้เนื่องมาจาก ความดันของเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูงที่ระดับ 10000 psi และนำสารเข้าเครื่องจำนวน 5 รอบ มีความเหมาะสมกับการลดขนาดสารตัวอย่าง เพราะถ้าใช้ความดันของเครื่องบดผสมภายใต้แรงดันสูงที่มากขึ้นจะทำให้สารตัวอย่างมีความร้อนสูง ความร้อนดังกล่าวอาจมีผลต่อสารตัวอย่างได้ และเมื่อเปรียบเทียบขนาดอนุภาคเซริซินแล้วมีขนาดอนุภาคใกล้เคียงกัน ซึ่งผลการทดลองพบดังตารางที่ 10