

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 คุณสมบัติของแผ่นเซลลูโลสที่ผลิตจากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976

เซลลูโลสที่ผลิตจากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 โดยใช้อาหารสูตรน้ำมะพร้าว จะเกิดขึ้นในบริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ แสดงดังภาพ 4.1 (a) ลักษณะเซลลูโลสที่ได้มีสีเหลืองนวล โดยด้านบนของแผ่นจะมีสีขาวขุ่น รวมทั้งมีความเรียบเนียนและเนื้อแน่น ด้านล่างของแผ่นมีเยื่อบางใสอยู่เป็นชั้น จึงทำให้ทางด้านล่างของแผ่นเซลลูโลสที่ได้มีลักษณะ อ่อนนุ่ม และมีสีเหลืองอ่อนเหมือนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังภาพที่ 4.1(b) ทั้งนี้เนื่องจากเซลลูโลสด้านบนเป็นเซลลูโลสที่มีอายุมากกว่าเซลลูโลสที่อยู่ด้านล่าง เซลลูโลสชั้นใหม่จะเกิดทางด้านล่างถัดจากชั้นเก่าที่บริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้แผ่นเซลลูโลสหนาขึ้น (Iguchi และคณะ. 2000) โดยมีลักษณะคล้ายเนื้อเยื่อ 3 ชั้น ที่มีลักษณะต่างกันคือ ชั้นบนหรือชั้นผิวหน้าเป็นชั้นที่มีอายุมากที่สุด เส้นใยเรียงตัวอัดแน่นมากที่สุด ชั้นถัดลงมาเป็นชั้นกลาง ซึ่งมีความหนาแน่นของเส้นใยรองลงมา และชั้นสุดท้ายซึ่งเป็นชั้นล่างที่เส้นใยยังไม่อัดตัวแน่น เป็นชั้นที่มีอายุน้อยที่สุด



ภาพที่ 4.1 ลักษณะแผ่นเซลลูโลส (a) ลักษณะการเกิดเซลลูโลส โดยเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในพลาสติกอาหารหมักเป็นเวลา 5 วัน (b) ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสที่ผลิตได้

4.2 ผลการศึกษาการเตรียมแผ่นเซลลูโลสให้บริสุทธิ์

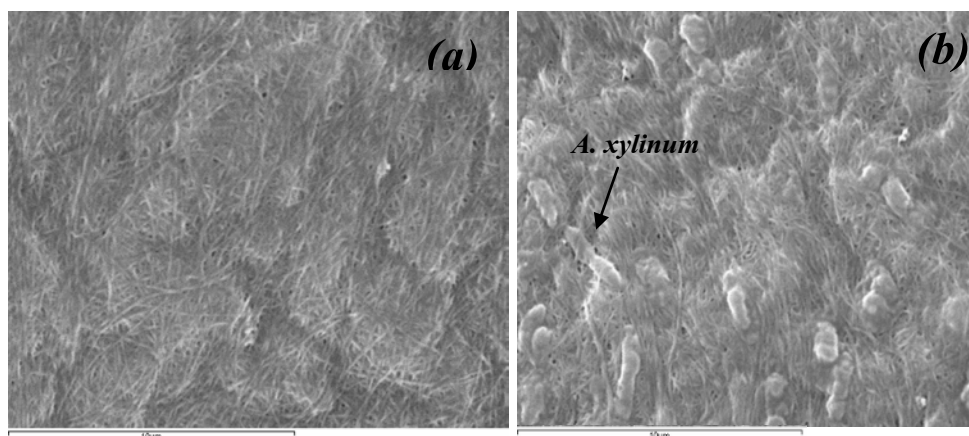
เนื่องจากแผ่นเซลลูโลสที่ได้มีสิ่งเจือปนจากอาหารเลี้ยงเชื้อ และมีเซลล์ของ *A. xylinum* TISTR 976 แทรกอยู่ภายในแผ่น ดังรูป 4.2 (b) ดังนั้นจึงต้องเตรียมแผ่นเซลลูโลสให้บริสุทธิ์ โดยศึกษาการเตรียม 3 วิธี วิธีที่หนึ่งคือ การต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ วิธีที่สองคือ การต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และการฟอกสี และวิธีสุดท้ายคือ การแช่แผ่นเซลลูโลสในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ลักษณะแผ่นเซลลูโลสหลังจากกระบวนการเตรียม ซึ่งได้เป็นแผ่นเปื่อย และลักษณะแผ่นเซลลูโลสหลังจากกระบวนการทำแห้งโดยวิธีการ freeze dry ซึ่งจะได้เป็น

แผ่นแห้ง แสดงดังตารางที่ 4.1 ซึ่งพบว่าการเตรียมแผ่นเซลลูโลส ด้วยวิธีที่หนึ่ง แผ่นเปียกมีสีน้ำตาล เมื่อแผ่นอยู่ในลักษณะแห้ง มีสีคล้ำมากขึ้น เมื่อใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ร้อยละ 0.5 เพื่อฟอกสีแผ่นเซลลูโลส (วิธีที่สอง) แผ่นเปียกมีสีขาวใส แผ่นเซลลูโลสแห้งมีความไม่สม่ำเสมอของพื้นผิว บางตำแหน่งมีลักษณะโป่งพอง อาจเนื่องมาจากสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สามารถแตกตัวเป็นหมู่ไฮดรอกซิลอิสระ (hydroxyl radical) โดยเข้าไปทำลายพันธะ β (-1-4) glycosidic ภายในเส้นใยเซลลูโลส (Guay และคณะ. 2002) ทำให้เส้นใยเซลลูโลสสั้นลง และส่งผลให้มีการพองบวมในบางส่วนของแผ่นเซลลูโลส ส่วนวิธีที่สาม คือการแช่แผ่นเซลลูโลสในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิห้อง แล้วต้มในน้ำกลั่นให้เดือดเป็นระยะเวลา 30 นาที เป็นวิธีที่ทำให้ได้แผ่นเซลลูโลสที่มีสีขาวนวล ไม่คล้ำ สภาพแผ่นแห้งมีสีครีม พื้นผิวของแผ่นมีความสม่ำเสมอ เมื่อนำแผ่นเซลลูโลสแห้งที่ได้จากวิธีที่สามไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าวิธีดังกล่าวสามารถกำจัดเซลล์แบคทีเรีย *A. xylinum* TISTR 976 และสิ่งเจือปนต่างๆออกจากแผ่นเซลลูโลสได้ แสดงผลดังภาพที่ 4.2 (a) ซึ่งไม่พบเซลล์แบคทีเรีย *A. xylinum* TISTR 976 แทรกกระหว่างเส้นใย แตกต่างจาก แผ่นเซลลูโลสที่ไม่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งพบเซลล์แบคทีเรียแทรกอยู่ภายในแผ่น ดังภาพที่ 4.2 (b)

ตารางที่ 4.1 ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการทำแผ่นเซลลูโลสให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการทำให้บริสุทธิ์	ลักษณะแผ่นเซลลูโลส	
	แผ่นเปียก	แผ่นแห้ง
วิธีที่ 1	สีน้ำตาลคล้ำ	สีเทา แผ่นย่นสม่ำเสมอทั้งแผ่น
วิธีที่ 2	สีขาวใส	สีขาว แผ่นย่นไม่สม่ำเสมอ บางตำแหน่งแผ่นบวมพอง
วิธีที่ 3	สีเหลืองนวล	สีครีม แผ่นย่นสม่ำเสมอทั้งแผ่น

จากการตรวจสอบลักษณะสัณฐานของแผ่นแห้งเซลลูโลสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ดังภาพที่ 4.2 ซึ่งเป็นภาพบริเวณผิวหน้าของแผ่นเซลลูโลส สังเกตได้ว่าประกอบด้วยเส้นใยยาวหลายเส้นเกี่ยวพันกันเป็นตาข่าย ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญของวัสดุโครงสร้างระดับไมโครเมตร ซึ่งเป็นการเพิ่มพื้นที่ในการอุ้มน้ำของแผ่นเซลลูโลส แผ่นเซลลูโลสนี้มีอัตราส่วนระหว่างความยาวของเส้นใยต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่สูงมาก เนื่องจากเส้นใยเซลลูโลสมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยต่ำกว่า 100 นาโนเมตร อัตราส่วนดังกล่าวมีผลต่อคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นเซลลูโลส เช่น ค่าความยืดหยุ่น และค่าความแข็งแรงดึง และมีพื้นที่ผิวมากมาย ทำให้สามารถดูดซับน้ำได้เป็นจำนวนมาก (แผ่นเปียกมีน้ำหนักมากกว่าแผ่นแห้งถึง 200 เท่า) ทำให้แผ่นเซลลูโลสมีคุณสมบัติการยืดหยุ่นที่ดี และแผ่นเปียกมีความแข็งแรงสูง (Czaja และคณะ. 2006)



ภาพที่ 4.2 แผ่นเซลลูโลสแห่งที่ได้จากการผลิตโดยเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope : SEM) (a) แผ่นเซลลูโลสที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์โดยแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (วิธีที่ 3) ซึ่งสามารถกำจัดเซลล์แบคทีเรียได้ (b) แผ่นเซลลูโลสที่ไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์จะพบเซลล์ *A. xylinum* TISTR 976 แทรกอยู่ภายในแผ่น

ดังนั้นจึงคัดเลือกวิธีการเตรียมแผ่นเซลลูโลสให้บริสุทธิ์ วิธีที่สาม คือการแช่แผ่นเซลลูโลสในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสไปต้มในน้ำสะอาดเป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างแผ่นเซลลูโลสด้วยน้ำสะอาดจำนวนหลายครั้ง จนแผ่นเซลลูโลสมีค่า pH เป็นกลาง ซึ่งหลังจากขั้นตอนดังกล่าวเซลลูโลสที่ได้จะยังคงมีน้ำเป็นส่วนประกอบเป็นปริมาณมาก จึงต้องมีการกำจัดน้ำออกเพื่อต้องการให้แผ่นเซลลูโลสสามารถดูดซับสารละลายของสารสกัดเข้าไปแทนที่ โดยสามารถจัดน้ำออกจากแผ่นด้วยเครื่องรีดน้ำ ซึ่งเป็นการกดทับลงบนแผ่นด้วยน้ำหนักประมาณ 3 ตัน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของแผ่นเซลลูโลสกลายเป็นแผ่นบาง สี ยังคงมีน้ำอยู่ภายในแผ่นเล็กน้อยแต่ไม่ซึมออกมา ความหนาเฉลี่ยของแผ่นเซลลูโลสหลังจากการอัดรีดน้ำ เท่ากับ 0.65 มิลลิเมตร แสดงดังภาพที่ 4.3 นำแผ่นเซลลูโลสบรรจุในถุงพลาสติก ทำให้ปลอดเชื้อโดยฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บแผ่นเซลลูโลสไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาใช้ร่วมกับสารสกัดจากพืชที่คัดเลือกได้ต่อไป



ภาพที่ 4.3 ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ โดยแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 จากนั้นต้มในน้ำกลั่น 30 นาที รีดน้ำออกด้วยเครื่องอัดรีดน้ำ จะได้แผ่นเซลลูโลสที่มีความหนาเฉลี่ย เท่ากับ 0.65 มิลลิเมตร สำหรับนำมาใช้ร่วมกับสารสกัดจากพืชที่คัดเลือกได้

4.3 ผลการสกัดสารจากไพล

เมื่อนำเหง้าไพลแห้งมาสกัดโดยผ่านขั้นตอนการสกัดเย็นด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ แล้วนำสารสกัดหยาบมาชั่งน้ำหนัก พบว่าร้อยละของสารสกัดหยาบที่ได้มีค่าตั้งแต่ ร้อยละ 1.67 ถึง ร้อยละ 6.55 โดยสารสกัดหยาบไพลในชั้นของตัวทำละลายเฮกเซน มีลักษณะเป็นของเหลวใส สีเหลืองเข้ม ส่วนสารสกัดหยาบไพลในชั้นของตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท มีลักษณะเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม มีเกล็ดของแข็งเล็กน้อย และสารสกัดหยาบไพลในชั้นของตัวทำละลายเมทานอล มีลักษณะหนืดมากกว่าส่วนอื่นๆ มีสีน้ำตาลดำและเป็นส่วนที่ได้ปริมาณสารสกัดหยาบมากกว่าสารสกัดหยาบไพลในตัวทำละลายเฮกเซนและเอธิลอะซิเตท แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ลักษณะของสารสกัดหยาบไพล และร้อยละของสารที่สกัดได้น้ำหนักแห้งของพืช

ชนิดของพืช	ชนิดตัวทำละลาย	สีของสารสกัด	ลักษณะ	ร้อยละของสารสกัดหยาบ
ไพล	เฮกเซน	สีเหลืองเข้ม	เหลวใส	2.82
	เอธิลอะซิเตท	สีน้ำตาลเข้ม	เหลวหนืดมีเกล็ด	1.67
	เมทานอล	สีน้ำตาลดำ	เหลวหนืด	6.55

4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดจากไพลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Disc diffusion

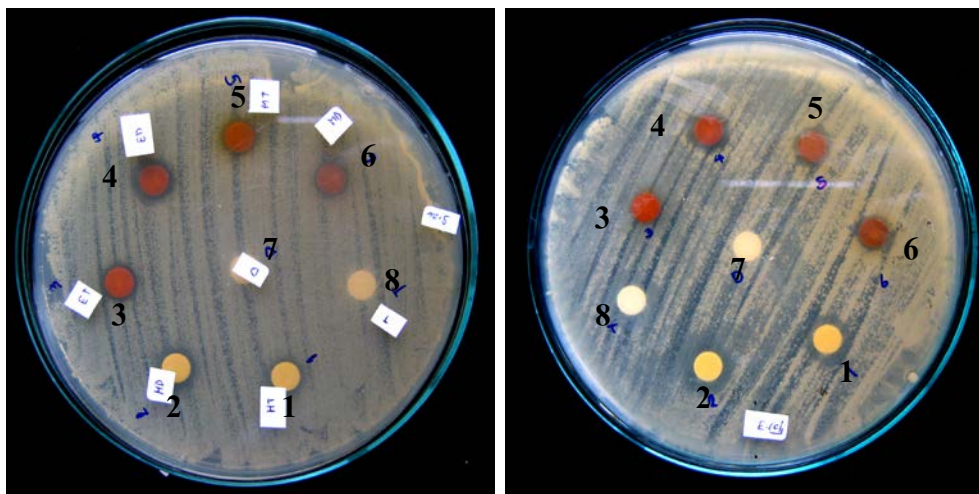
จากการทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบไพล ที่สกัดได้จากชั้นของตัวทำละลายเฮกเซน เอธิลอะซิเตท และเมทานอล เปรียบเทียบตัวทำละลายในการเจือจางสารสกัดหยาบด้วย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 และทวิน 80 ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยวิธี disc diffusion ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเบื้องต้น ใช้ความเข้มข้นสารสกัด 500.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบกับเชื้อ *E. coli* TISTR 887 และ *S. aureus* TISTR 118 วัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้น หลังการบ่ม 24 ชั่วโมง แสดงผลดังตารางที่ 4.3 สารสกัดหยาบไพลที่สกัดได้จากชั้นตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท เจือจางด้วย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 มีผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากไพลที่สกัดได้จากตัวทำละลายชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 เท่ากับ 10.35 ± 0.21 มิลลิเมตร นอกจากนี้สารสกัดหยาบไพลที่สกัดได้จากชั้นตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* TISTR 887 ได้เท่ากับ 10.62 ± 0.54 มิลลิเมตร แต่ไม่มีค่าความแตกต่างทางสถิติกับสารสกัดจากไพลที่สกัดได้จากตัวทำละลายเฮกเซนที่เจือจางด้วย DMSO และทวิน 80 ซึ่งมีบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 10.04 ± 0.21 และ 10.19 ± 0.19 ตามลำดับ แต่บริเวณการยับยั้งนั้นไม่ได้เป็นวงใสชัดเจน ยังคงมีเชื้อเจริญได้แต่จำนวนน้อย อาจเนื่องมาจากสารละลายในส่วนนี้มีลักษณะเป็นน้ำมัน จึงแพร่ออกมายังวงได้ไม่ดี

ส่งผลให้บริเวณการยับยั้งมีลักษณะดังกล่าว ผลการทดสอบแสดงดังภาพที่ 4.4 จูติรัตน์ วิวงศ์ศักดิ์ และ วิไลลักษณ์ ตันตะโยธิน (2552) รายงานว่า สารสกัดจากส่วนเฮกเซน ซึ่งเป็นส่วนของน้ำมันหอมระเหย มีฤทธิ์ในการยับยั้งการอักเสบได้ แต่ลักษณะไม่เหมาะสมต่อการนำมาใช้เป็นยาทาภายนอกโดยตรง เนื่องจากปัญหาด้านการซึมเข้าสู่ผิวหนังจึงมักนำไปพัฒนาในรูปของเจลไฟล จากผลการทดสอบ พบว่าสารสกัดไฟลที่สกัดได้จากตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 และ *E. coli* TISTR 887 ได้ดี จึงคัดเลือกมาใช้ในการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 4.3 เส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากไฟลในชั้นของตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ชนิดพืช:สารละลาย เจือจาง	ชนิดตัวทำละลาย สกัด	เส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งแบคทีเรีย (มิลลิเมตร $\pm$ SD.)	
		<i>S. aureus</i> TISTR 118	<i>E. coli</i> TISTR 887
ไฟล:DMSO ร้อยละ 10	เฮกเซน	9.77 $\pm$ 0.26 ^b	10.04 $\pm$ 0.21 ^a
	เอธิลอะซิเตท	10.35 $\pm$ 0.21 ^a	10.62 $\pm$ 0.54 ^a
	เมทานอล	8.24 $\pm$ 0.12 ^d	8.79 $\pm$ 0.35 ^b
ไฟล:ทวิน 80 ร้อยละ 10	เฮกเซน	8.81 $\pm$ 0.29 ^c	10.19 $\pm$ 0.19 ^a
	เอธิลอะซิเตท	8.49 $\pm$ 0.35 ^{cd}	6.73 $\pm$ 0.40 ^c
	เมทานอล	8.75 $\pm$ 0.25 ^c	9.12 $\pm$ 0.20 ^b

หมายเหตุ : แผ่นดิสก์มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร ใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 500.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เท่ากับความเข้มข้นสารสกัด 10.0 มิลลิกรัมต่อแผ่นดิสก์) อักษรเหมือนกันในแถวแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



ภาพที่ 4.4 แสดงผลการยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบไพลจากตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ต่างๆ โดยวิธี disc diffusion (a) ทดสอบกับ *S. aureus* TISTR 118 และ (b) *E. coli* TISTR 887 ใช้ปริมาณของสารสกัด 10 มิลลิกรัมต่อแผ่นดิสก์

1. สารสกัดหยาบไพลจากชั้นตัวทำละลายเฮกเซนเจือจางด้วย ทวิน 80 ร้อยละ 10
2. สารสกัดหยาบไพลจากชั้นตัวทำละลายเฮกเซนเจือจางด้วย DMSO ร้อยละ 10
3. สารสกัดหยาบไพลจากชั้นตัวทำละลายเอธิลอะซิเตทเจือจางด้วยทวิน 80 ร้อยละ 10
4. สารสกัดหยาบไพลจากชั้นตัวทำละลายเอธิลอะซิเตทเจือจางด้วย DMSO ร้อยละ 10
5. สารสกัดหยาบไพลจากชั้นตัวทำละลายเมทานอลเจือจางด้วย ทวิน 80 ร้อยละ 10
6. สารสกัดหยาบไพลจากชั้นตัวทำละลายเมทานอลเจือจางด้วย DMSO ร้อยละ 10
7. DMSO ร้อยละ 10
8. ทวิน 80 ร้อยละ 10

4.5 ผลการการสกัดสารจากเปลือกมังคุด

นำเปลือกมังคุดแห้งมาสกัดโดยผ่านขั้นตอนการสกัดเย็น ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เมื่อนำมาชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบต่อน้ำหนักแห้งของพืชที่ใช้ พบว่าร้อยละของสารสกัดหยาบมีค่าตั้งแต่ ร้อยละ 0.14 ถึงร้อยละ 14.23 โดยสารสกัดหยาบในชั้นของตัวทำละลายเฮกเซน มีลักษณะเหลวหนืดสีเหลืองเข้ม มีปริมาณน้อยที่สุด เนื่องจากสารสกัดที่ได้จากส่วนนี้มักเป็นน้ำมันหอมระเหย ซึ่งในเปลือกมังคุดมีน้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนประกอบในปริมาณที่ต่ำ สารสกัดหยาบในส่วนของเอธิลอะซิเตท มีลักษณะเหลวหนืดและมีสีน้ำตาลเข้ม เป็นส่วนที่สกัดได้ปริมาณมากที่สุด ส่วนสารสกัดในส่วนของตัวทำละลายเมทานอล มีลักษณะเหลวหนืดข้นสีน้ำตาลแดงเข้ม ลักษณะของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดที่สกัดได้จากชนิดตัวทำละลายต่างๆ แสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ลักษณะของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด และร้อยละของสารที่สกัดได้น้ำหนักแห้งของพืช

ชนิดของพืช	ชนิดตัวทำละลาย	สีของสารสกัด	ลักษณะ	ร้อยละของสารสกัดหยาบ
เปลือกมังคุด	เฮกเซน	สีเหลืองเข้ม	เหลวหนืดใส	0.14
	เอทิลอะซิเตท	สีน้ำตาลเข้ม	เหลวหนืด	14.23
	เมทานอล	สีน้ำตาลแดงเข้ม	เหลวหนืดข้น	10.55

4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Disc diffusion

จากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจากชั้นตัวทำละลายเมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 และ *E. coli* TISTR 887 ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจากชั้นตัวทำละลายเฮกเซนและเอทิลอะซิเตท อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจากชั้นตัวทำละลายเมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* TISTR 118 ได้ดีกว่า *E. coli* TISTR 887 โดยพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นสารสกัด 500.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งเชื้อเท่ากับ 14.88 ± 1.66 และ 10.44 ± 1.57 มิลลิเมตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.5 ซึ่งการที่สารสกัดเปลือกมังคุดจากชั้นตัวทำละลายเมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ได้ดีกว่า *E. coli* TISTR 887 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีชั้นไขมัน โพรตีน และ lipopolysaccharides (LPS) ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยป้องกันอันตรายที่จะเกิดขึ้นกับเซลล์ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งไม่มีสารเหล่านี้ (Feng และคณะ. 2000) สอดคล้องกับงานวิจัยของ อุดมลักษณ์ สุขอิตตะ และคณะ (2549)., Leong และ Shui. (2002) ซึ่งรายงานว่าสารสกัดเปลือกมังคุดจากเมทานอล เป็นสารประเภทแซนโทน (Xanthone) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดจากเมทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการอักเสบ (Balasubramanian และ Rajagopalan 1988., Saralamp 1996., Harbone และคณะ. 1999) และต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี (Yu และคณะ. 2007., Jung และคณะ. 2006)

ตารางที่ 4.5 เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้งแบคทีเรีย ของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจากชั้นของตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ชนิดของพืช	ตัวทำละลาย	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้ง (มิลลิเมตร $\pm$ SD.)	
		<i>S. aureus</i> TISTR 118	<i>E. coli</i> TISTR 887
เปลือกมังคุดแห้ง	เฮกเซน	8.28 $\pm$ 1.18 ^b	7.24 $\pm$ 1.10 ^b
	เอธิลอะซิเตท	7.73 $\pm$ 0.89 ^c	7.10 $\pm$ 0.60 ^b
	เมทานอล	14.88 $\pm$ 1.66 ^a	10.44 $\pm$ 1.57 ^a

หมายเหตุ : แผ่นดิสก์มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร ใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 500.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เท่ากับ ความเข้มข้นสารสกัด 10.0 มิลลิกรัมต่อแผ่นดิสก์) อักษรเหมือนกันในแถวแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากไพลและเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี disc diffusion จึงได้คัดเลือกสารสกัดเปลือกมังคุดที่สกัดจากตัวทำละลายเมทานอล และสารสกัดจากไพลที่สกัดจากตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท มาศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย เพื่อใช้เป็นสารยับยั้งเชื้อร่วมกับแผ่นเซลล์ูโลส

4.7 ผลการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดไพลและเปลือกมังคุด โดยหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ด้วยวิธี Broth dilution

ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 และ *E. coli* TISTR 887 ของสารสกัดหยาบไพลจากตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท และสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอล ซึ่งสารสกัดจากพืชเหล่านี้มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *S. aureus* TISTR 118 และ *E. coli* TISTR 887 ได้สูงสุด นำสารสกัดเหล่านี้มาหาค่า MIC โดยวิธี broth dilution ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 และ *E. coli* TISTR 887 ใช้สารสกัดความเข้มข้น 200.00 100.00 50.00 25.00 12.50 6.25 3.13 และ 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบไพลจากตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท และสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* TISTR 118 และ *E. coli* TISTR 887 เท่ากัน คือ 6.25 และ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ แสดงดังในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 และ *E. coli* TISTR 887 ของสารสกัดหยาบไพลจากตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท และสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอล ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี Broth dilution

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)	ผลการยับยั้งเชื้อ			
	สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจาก ตัวทำละลายเมทานอล		สารสกัดหยาบไพลจากตัวทำ ละลายเอธิลอะซิเตท	
	<i>E. coli</i> TISTR	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i> TISTR	<i>S. aureus</i>
	887	TISTR 118	887	TISTR 118
200.00	-	-	-	-
100.00	-	-	-	-
50.00	-	-	-	-
25.00	-	-	-	-
12.50	-	-	-	-
6.25	+	-	+	-
3.13	+	+	+	+
0.00	+	+	+	+

หมายเหตุ + หมายถึง มีการเจริญของแบคทีเรีย

- หมายถึง ไม่มีการเจริญของแบคทีเรีย

4.8 ผลการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดไพลและเปลือกมังคุดโดยวิธี Disc diffusion

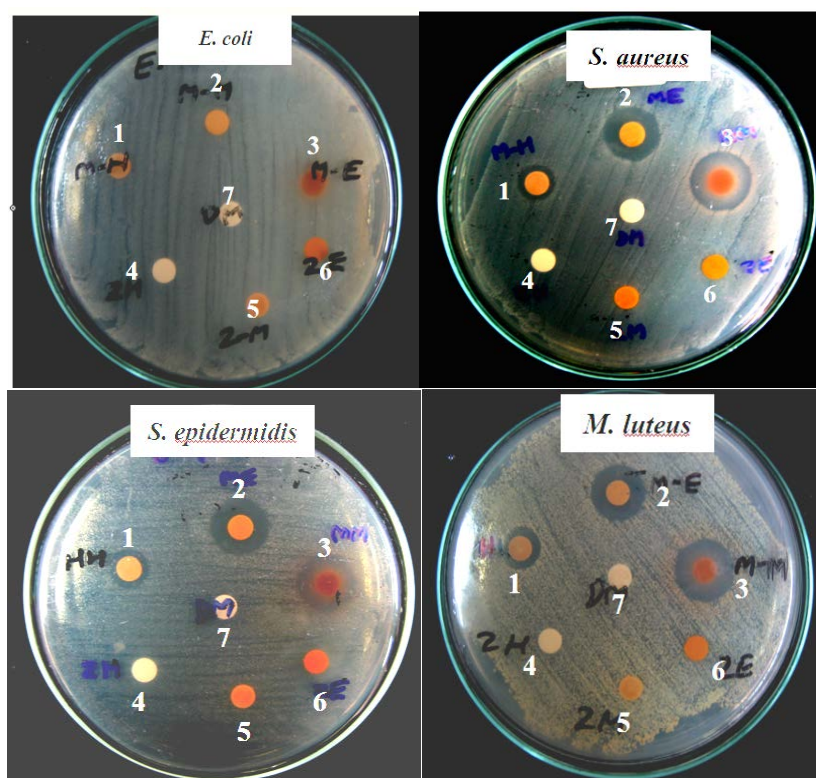
เปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ของสารสกัดหยาบไพลจากตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท และสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอล ใช้สารสกัด ความเข้มข้น 50.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำสารสกัดจากส่วนที่สกัดได้จากตัวทำละลายอื่นๆ ที่สกัดได้ในระดับความเข้มข้นเท่ากัน มาเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เจือจางสารสกัดด้วย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 ทดสอบกับเชื้อ *E. coli* TISTR 887 *S. aureus* TISTR 118 *S. epidermidis* TISTR 518 และ *Micrococcus luteus* TISTR 884 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดไพลและเปลือกมังคุดจากตัวทำละลาย 3 ชนิด

ชนิดพืช	ชนิดตัวทำละลาย	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (มิลลิเมตร $\pm$ SD.)			
		<i>S. aureus</i> TISTR 118	<i>S. epidermidis</i> TISTR 518	<i>M. luteus</i> TISTR 884	<i>E. coli</i> TISTR 887
เปลือกมังคุด	เฮกเซน	9.70 $\pm$ 0.46 ^c	10.42 $\pm$ 0.80 ^c	10.33 $\pm$ 0.34 ^c	6.00
	เอธิลอะซิเตท	14.19 $\pm$ 0.36 ^b	13.73 $\pm$ 0.39 ^b	13.90 $\pm$ 0.36 ^b	6.00
	เมทานอล	15.29 $\pm$ 0.42 ^a	15.13 $\pm$ 0.48 ^a	14.79 $\pm$ 0.68 ^a	6.00
ไพล	เฮกเซน	6.00 ^d	6.00 ^d	6.00 ^d	6.00
	เอธิลอะซิเตท	6.00 ^d	6.00 ^d	6.00 ^d	6.00
	เมทานอล	6.00 ^d	6.00 ^d	6.00 ^d	6.00

หมายเหตุ : แผ่นดิสก์มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร ใช้ปริมาณของสารสกัด 4.0 มิลลิกรัมต่อแผ่นดิสก์ อักษรเหมือนกันในแถวแนวนั้นแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 *S. epidermidis* TISTR 518 และ *M. luteus* TISTR 884 ได้สูงกว่าสารสกัดจากส่วนอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้ง เท่ากับ 15.29 $\pm$ 0.42 15.13 $\pm$ 0.48 และ 14.79 $\pm$ 0.68 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ไม่แสดงการยับยั้งการเจริญเชื้อ *E. coli* TISTR 887 สารสกัดหยาบไพลจากตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท ไม่แสดงการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ เช่นเดียวกับสารสกัดหยาบไพลจากตัวทำละลายเฮกเซน และเมทานอล ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย แสดงดังภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากไพลและเปลือกมังคุด ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อแผ่นดิสก์

- 1 สารสกัดเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเฮกเซน
- 2 สารสกัดเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท
- 3 สารสกัดเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอล
- 4 สารสกัดไพลจากตัวทำละลายเฮกเซน
- 5 สารสกัดไพลจากตัวทำละลายเมทานอล
- 6 สารสกัดไพลจากตัวทำละลายเอธิลอะซิเตท
- 7 DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 (ชุดควบคุม)

จากผลการทดสอบโดยวิธี disc diffusion พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด 50.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเปลือกมังคุดจากเมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 *S. epidermidis* TISTR 518 และ *M. luteus* TISTR 884 ได้ จึงคัดเลือกสารสกัดเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอล มาศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) ด้วยวิธี broth dilution โดยลดความเข้มข้น จาก 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น 25.00 12.50 6.25 3.13 1.56 0.78 0.39 0.195 0.097 และ 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดสอบ แสดงดังตารางที่ 4.8 สารสกัดเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอลมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR 887 *S. aureus* TISTR 118 *S. epidermidis* TISTR 518 และ *M. luteus* TISTR 884 เท่ากับ 3.13 0.195 0.195 และ 0.195 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของสารสกัดที่ความเข้มข้นสูงกว่าค่า MIC คือ 12.5 6.25 3.13 1.56 0.78 0.39 และความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับค่า MIC คือ 0.195 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาใช้ร่วมกับแผ่นเชลลูโลส

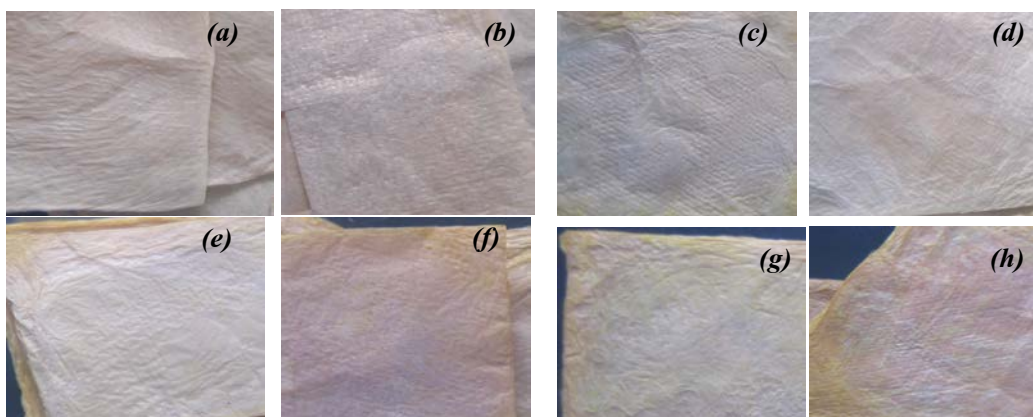
ตารางที่ 4.8 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดแห้งที่สกัดจากเมทานอล

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)	ผลการยับยั้งเชื้อ			
	<i>E. coli</i> TISTR 887	<i>S. aureus</i> TISTR 118	<i>S. epidermidis</i> TISTR 518	<i>M. luteus</i> TISTR 884
25.000	-	-	-	-
12.500	-	-	-	-
6.250	-	-	-	-
3.125	-	-	-	-
1.560	+	-	-	-
0.780	+	-	-	-
0.390	+	-	-	-
0.195	+	-	-	-
0.097	+	+	+	+
0	+	+	+	+

หมายเหตุ + หมายถึง มีการเจริญของแบคทีเรีย
- หมายถึง ไม่มีการเจริญของแบคทีเรีย

4.9 ผลการเตรียมแผ่นเชลลูโลสร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด

การเตรียมแผ่นเชลลูโลสร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด โดยทำให้เชลลูโลสอิ่มตัวด้วยสารสกัด ด้วยการจุ่มแผ่นเชลลูโลสที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงในสารสกัดเปลือกมังคุดที่สกัดจากเมทานอล ความเข้มข้น 12.50 6.25 3.13 1.56 0.78 0.39 และ 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่นออก และซับน้ำส่วนเกินด้วยกระดาษซับ whatman นำแผ่นเชลลูโลสที่ได้ไปทำแห้งโดยวิธี freeze dry แผ่นแห้งเชลลูโลสที่ได้ มีลักษณะเย็น และเหนียว แผ่นเชลลูโลสจุ่มใน DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ซึ่งเป็นชุดควบคุม มีสีขาวนวล แสดงดังภาพที่ 4.6 (a) แผ่นเชลลูโลสจุ่มในสารสกัดเปลือกมังคุดจะมีสีเหลือง และมีความไม่สม่ำเสมอของสีเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น แสดงดังภาพที่ 4.6 (b-h) เนื่องจากเมื่อใช้สารสกัดความเข้มข้นสูงจะเกิดการละลายที่ไม่สมบูรณ์ อนุภาคของสารสกัดในสารละลายจึงมีขนาดใหญ่กว่าอนุภาคของสารสกัดในสารละลายที่มีความเข้มข้นสารสกัดต่ำกว่า ความสม่ำเสมอของการกระจายตัวของอนุภาคสารสกัดจึงลดลงเมื่อสารละลายมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น

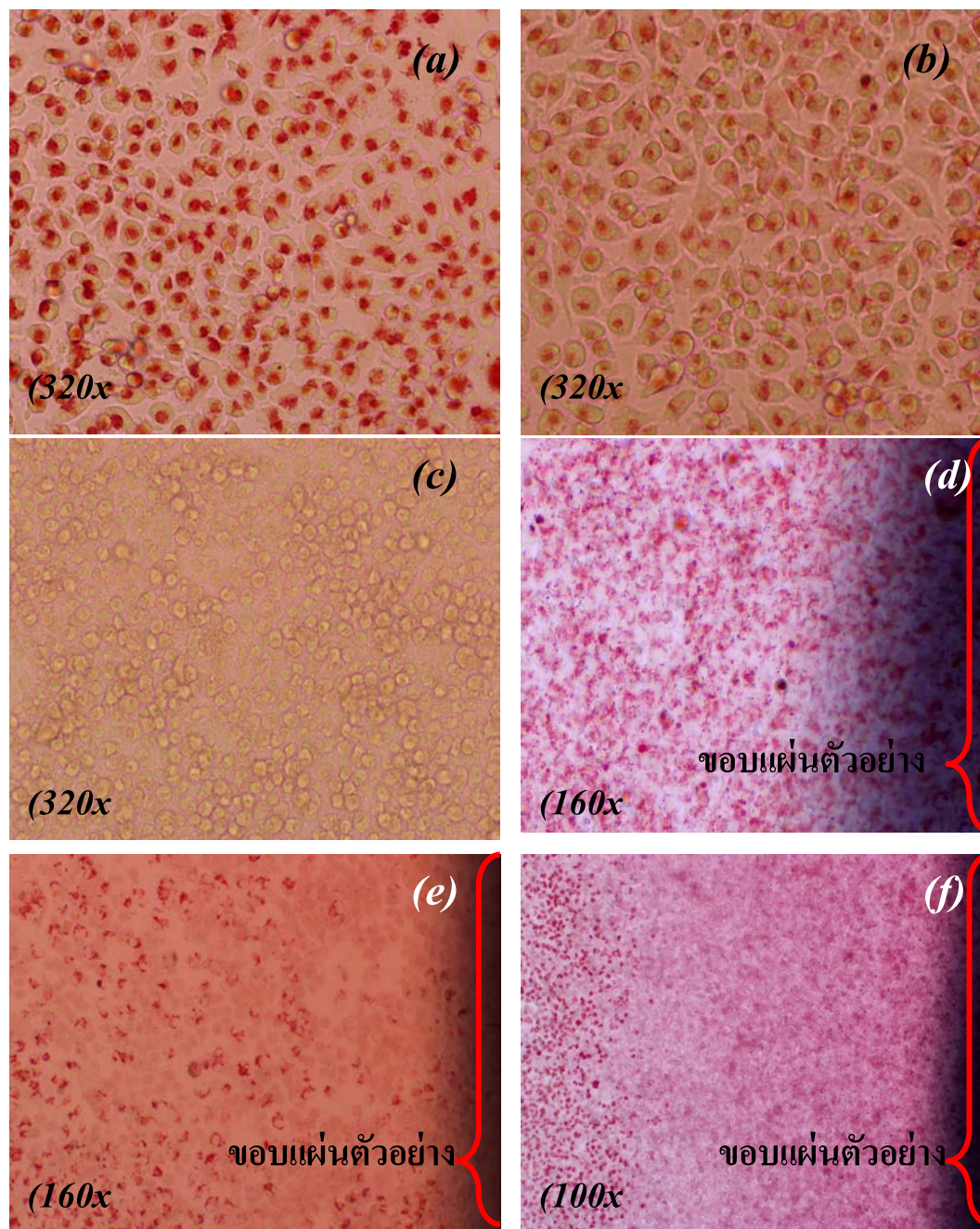


ภาพที่ 4.6 ลักษณะแผ่นเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดภายหลังการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง (a) แผ่นเซลล์โลสจุ่มใน DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 เป็นชุดควบคุม (b) แผ่นเซลล์โลสจุ่มในสารสกัดเปลือกมังคุด 0.19 มก./มล (c) 0.39 มก./มล (d) 0.78 มก./มล (e) 1.56 มก./มล (f) 3.13 มก./มล (g) 6.25 มก./มล และ (h) 12.5 มก./มล

4.10 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของแผ่นเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด

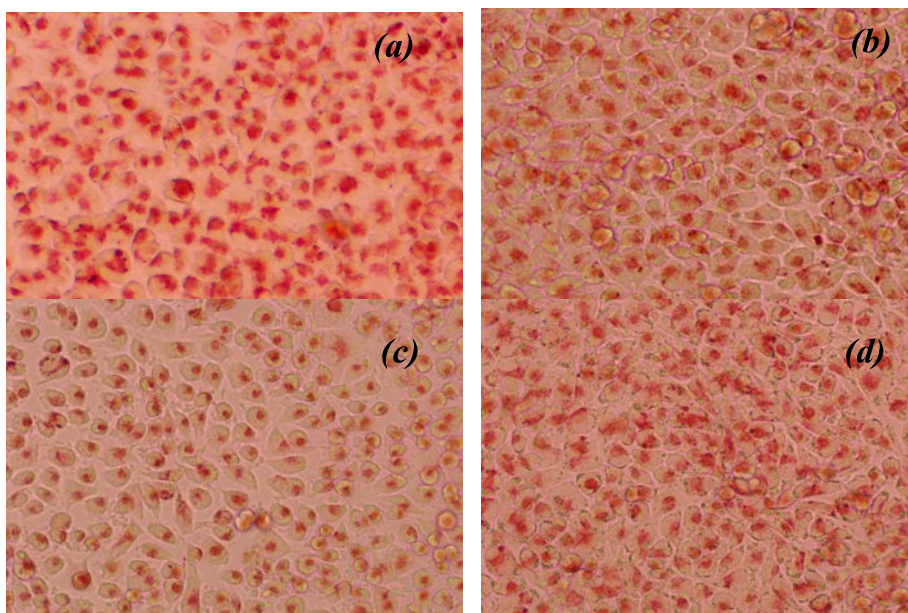
ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 ซึ่งเป็นเซลล์ fibroblast ของหนู โดยวิธี Agar Diffusion ความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น เท่ากับ 6.0×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ของสารละลายอาหาร โดยสังเกตการเจริญของเซลล์ L929 บริเวณใต้แผ่นวัสดุ และบริเวณรัศมีโดยรอบแผ่นวัสดุ บนจานเพาะเซลล์ จากการทดสอบพบว่าแผ่นเซลล์โลสที่จุ่มใน DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 ทั้งบริเวณใต้แผ่นวัสดุและรอบแผ่นวัสดุ ซึ่งเซลล์มีชีวิตจะติดสีแดงของนิวทริลเรด รวมทั้งเซลล์มีรูปร่างปกติ แสดงดังภาพที่ 4.7 (a) เช่นเดียวกับเซลล์ที่ทดสอบด้วยแผ่น high-density polyethylene (HDPE) (negative control) ภาพที่ 4.7 (b) ส่วนลักษณะของเซลล์ที่ตายนั้นจะไม่ติดสีของนิวทริลเรด แสดงดังภาพที่ 4.7 (c) ซึ่งเป็นเซลล์ในจานเพาะเซลล์ที่วางด้วยแผ่น natural rubber containing carbon black (positive control) ส่วนแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดที่สกัดจากตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น ตั้งแต่ 1.56 3.13 6.25 และ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นั้นทำให้เซลล์ fibroblast ได้รับความเสียหายเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น โดยเซลล์ L929 บริเวณใต้แผ่นวัสดุทั้ง 4 ระดับความเข้มข้นนั้นตายทั้งหมด บริเวณโดยรอบแผ่นเซลล์โลสที่ใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เซลล์ยังมีชีวิตอยู่ แต่ลักษณะเซลล์มีรูปร่างไม่ปกติ แสดงดังภาพที่ 4.7 (d) มีความเป็นพิษระดับ 1 เซลล์ L929 ในจานเพาะที่อยู่บริเวณรอบแผ่นเซลล์โลสที่ใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นั้นมีรัศมีของเซลล์ตายเฉลี่ยกว้างเท่ากับ 1 มิลลิเมตร ลักษณะเซลล์ที่อยู่รอบแผ่นวัสดุรัศมีกว้างมากกว่า 1 มิลลิเมตร ยังมีชีวิตแต่ลักษณะเซลล์ไม่สมบูรณ์ แสดงดังภาพที่ 4.7 (e) มีความเป็นพิษระดับ 2 ส่วนเซลล์ L929 ที่อยู่ในตำแหน่งใต้แผ่นเซลล์โลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีรัศมีของเซลล์ที่ได้รับความเสียหาย เฉลี่ยเท่ากับ 3.76 มิลลิเมตร แสดงดังภาพที่ 4.7 (f) มีความเป็นพิษระดับ 2 ลักษณะของเซลล์ L929 ที่อยู่นอกรัศมีดังกล่าวมีลักษณะปกติ แสดงดังภาพที่ 4.8 (a) ส่วนแผ่นเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัด ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เซลล์ L929 ใต้แผ่นและรัศมีรอบแผ่นตายบริเวณกว้างกว่า 5.0 มิลลิเมตร มีความเป็นพิษระดับ 4 แผ่นเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เซลล์ L929 มีการเจริญได้ปกติ และมีลักษณะรูปร่างสมบูรณ์ ทั้งบริเวณใต้แผ่นวัสดุและบริเวณรอบนอกแผ่นวัสดุ แสดงในภาพที่ 4.8 ระดับความเป็นพิษแสดงดังตารางที่ 4.9



ภาพที่ 4.7 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์เฟสคอนทราสต์แสดงลักษณะของเซลล์ L929 ในจานเพาะเซลล์ที่ทดสอบด้วยแผ่นวัสดุชนิดต่างๆ (a) เซลล์ที่ทดสอบด้วยแผ่นเซลล์โลสที่จุ่ม DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 (ชุดควบคุม) (b) เซลล์ที่ทดสอบด้วยแผ่น PE (negative control) (c) เซลล์ที่ทดสอบด้วยแผ่น rubber (positive control) (d) เซลล์ที่ทดสอบด้วยแผ่นเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.56 มก./

มล. (e) เซลล์ที่ทดสอบด้วยแผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 3.13 มก./มล. (f) เซลล์ที่ทดสอบด้วยแผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 6.25 มก./มล.



ภาพที่ 4.8 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์เฟสคอนทราสต์แสดงลักษณะของเซลล์ L929 ในจานเพาะเซลล์ ที่ทดสอบด้วยแผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดจากเปลือกมังคุด (a) เซลล์บริเวณรอบนอกขอบแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดความเข้มข้น 6.25 มก./มล. (160x) และลักษณะเซลล์บริเวณใต้แผ่นเซลลูโลสที่ใช้ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด (b) ความเข้มข้น 0.78 มก./มล. (320x) (c) 0.39 มก./มล. (320x) และ (d) 0.19 มก./มล. (320x)

ระดับความเป็นพิษพิจารณาจากการตายของเซลล์ ตามมาตรฐานตามเภสัชตำรับของประเทศสหรัฐอเมริกา และทะเบียนยาหลักแห่งชาติแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (USP-NF) แสดงไว้ในตารางที่ 3.1 ซึ่งผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 ของแผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดจากเปลือกมังคุดระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยพิจารณาตามระดับความรุนแรงแสดงดังตารางที่ 4.9

แผ่นแห้งเซลลูโลสจุ่มสารสกัดความเข้มข้น 12.5 มก/มล	4
แผ่นแห้งเซลลูโลสจุ่มสารสกัดความเข้มข้น 6.25 มก/มล	2
แผ่นแห้งเซลลูโลสจุ่มสารสกัดความเข้มข้น 3.13 มก/มล	2
แผ่นแห้งเซลลูโลสจุ่มสารสกัดความเข้มข้น 1.56 มก/มล	1
แผ่นแห้งเซลลูโลสจุ่มสารสกัดความเข้มข้น 0.78 มก/มล	0
แผ่นแห้งเซลลูโลสจุ่มสารสกัดความเข้มข้น 0.39 มก/มล	0
แผ่นแห้งเซลลูโลสจุ่มสารสกัดความเข้มข้น 0.19 มก/มล	0
แผ่นแห้งเซลลูโลสจุ่มสารละลาย DMSO ร้อยละ 0.02 (control)	0
แผ่น HDPE (negative control)	0
แผ่น natural rubber containing carbon black (positive control)	4

ตารางที่ 4.9 ระดับปฏิกิริยาระหว่างแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดจากเมทานอล

และชุดควบคุมกับเซลล์สัตว์ทดสอบ L929 พิจารณาตาม USP23-NF 18. Copyright 1994. The US Pharmacopcal Convention, Inc. Permission Granted

หมายเหตุ ระดับ 0 คือ ไม่มีปฏิกิริยา (None) ต่อการเจริญของเซลล์ L929

ระดับ 1 คือ มีปฏิกิริยาเล็กน้อย (Slight) ต่อการเจริญของเซลล์ L929

ระดับ 2 คือ มีปฏิกิริยาอ่อน (Mild) ต่อการเจริญของเซลล์ L929

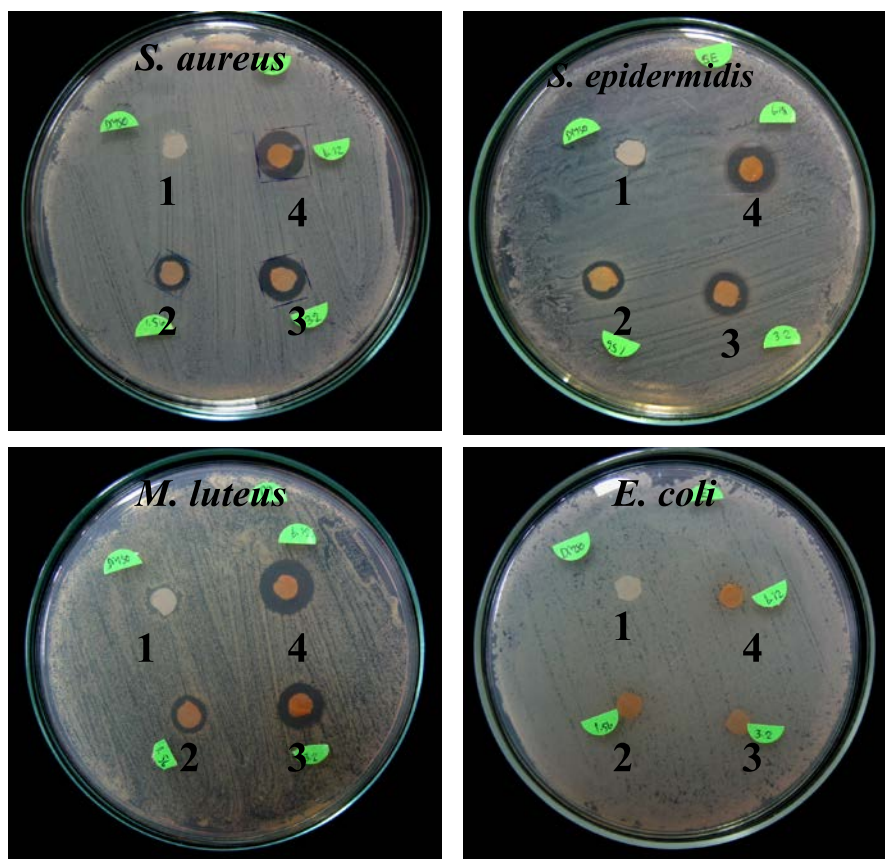
ระดับ 3 คือ มีปฏิกิริยาปานกลาง (Moderate) ต่อการเจริญของเซลล์ L929

ระดับ 4 คือ มีปฏิกิริยารุนแรง (Severe) ต่อการเจริญของเซลล์ L929

4.11 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด

ทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดบนอาหารแข็ง MHA โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 6.25 3.13 และ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งจากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 พบว่ามีความเป็นพิษระดับ 2 2 และ 1 ตามลำดับ ซึ่งถือว่ามีความเป็นพิษในระดับต่ำ ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่าแผ่นเซลลูโลสจุ่มในสารสกัดเปลือกมังคุด ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 *S. epidermidis* TISTR 518 และ *M. luteus* TISTR 884 ได้ แสดงดังภาพที่ 4.9 บริเวณเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้ง แสดงดังตารางที่ 4.10 แผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดที่สกัดจากชั้นตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้สูงกว่าแผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด ความเข้มข้น 1.56 และ 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 *S. epidermidis* TISTR 518 และ *M. luteus* TISTR 884 เท่ากับ 12.16 ± 0.28 $11.94 \pm$

0.04 และ 12.98 ± 1.32 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ไม่แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* TISTR 887 ขณะที่แผ่นเซลลูโลสจุ่มใน DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ซึ่งเป็นชุดควบคุมไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ



ภาพที่ 4.9 ผลการยับยั้งจุลินทรีย์ของแผ่นแห้งเซลลูโลส (1) จุ่ม DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 (ชุดควบคุม) (2) จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 1.56 มก./มล. (3) จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 3.13 มก./มล. และ (4) จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 6.25 มก./มล. แผ่นเซลลูโลสแห้งมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร

ตารางที่ 4.10 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้งเชื้อของแผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือก

มั่งคุดที่สกัดจากตัวทำละลายเมทานอล

หมายเหตุ: ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นเชลลูโลสเท่ากับ 6.0 มิลลิเมตร อักษรเหมือนกันใน

จุลินทรีย์	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งแบคทีเรียของแผ่น เชลลูโลส ที่จุ่มสารสกัด 3 ระดับความเข้มข้น (มิลลิเมตร±SD.)		
	6.25 มก./มล.	3.13 มก./มล.	1.56 มก./มล.
<i>S.aureus</i> TISTR 118	12.16 ± 0.28 ^a	10.03 ± 0.86 ^b	8.87 ± 0.68 ^c
<i>S.epidermidis</i> TISTR 518	11.94 ± 0.04 ^a	9.84 ± 0.91 ^b	8.55 ± 0.76 ^c
<i>M. luteus</i> TISTR 884	12.98 ± 1.32 ^a	11.1 ± 0.76 ^b	9.47 ± 0.72 ^c
<i>E. coli</i> TISTR 887	6.00 ± 0.00 ^a	6.00 ± 0.00 ^a	6.00 ± 0.00 ^a

แถวแนวนอนเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.12 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อของแผ่นเชลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดโดยวิธี broth dilution

ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว โดยนำแผ่นแห้งเชลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 6.25 3.13 และ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และแผ่นที่ไม่จุ่มสารสกัด (จุ่ม DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 0.02) โดยตัดเป็นแผ่นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 6.0 มิลลิเมตร จำนวน 1 แผ่น ใส่ในอาหารเหลว ซึ่งมีเซลล์แขวนลอยหนาแน่น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100.0 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการยับยั้งเชื้อโดยวัดความขุ่นที่เพิ่มขึ้นในเวลา 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบจำนวนแบคทีเรียกับชุดควบคุมได้แก่หลอดสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียที่ไม่เติมสารยับยั้งใดๆ ซึ่งมีการเจริญของแบคทีเรีย เท่ากับร้อยละ 100 ผลการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย แสดงดังตารางที่ 4.11 แผ่นแห้งเชลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดจากเมทานอลความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้สูงกว่าแผ่นแห้งเชลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด ความเข้มข้น 3.13 และ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สอดคล้องกับการทดสอบในอาหารแข็ง แต่การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว พบว่าแผ่นแห้งเชลลูโลสที่จุ่มสารสกัดแสดงผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR 887 ได้ โดยมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 *M. luteus* TISTR 884 *S. epidermidis* TISTR 518 และ *E. coli* TISTR 887 ได้ดีตามลำดับ

ตารางที่ 4.11 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด หลังบ่มในสารแขวนลอยเซลล์ 24 ชั่วโมง

หลอดทดลอง	การเจริญของแบคทีเรีย (ร้อยละ)			
	<i>E. coli</i> TISTR 887	<i>S. aureus</i> TISTR 118	<i>S. epidermidis</i> TISTR 518	<i>M. luteus</i> TISTR 884
ไม่เติมสารใดๆ (ชุดควบคุม)	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a
จุ่ม DMSO ร้อยละ 0.02	102.28 ^a	105.24 ^a	95.76 ^{ab}	104.83 ^a
จุ่มสารสกัด 1.56 มก/มล.	102.87 ^a	77.14 ^b	78.88 ^{bc}	67.00 ^b
จุ่มสารสกัด 3.13 มก/มล.	81.84 ^b	74.32 ^b	64.75 ^{cd}	55.44 ^b
จุ่มสารสกัด 6.25 มก/มล.	72.60 ^b	36.01 ^c	50.15 ^d	38.53 ^c

หมายเหตุ อักษรเหมือนกันในแถวแนวนึงเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

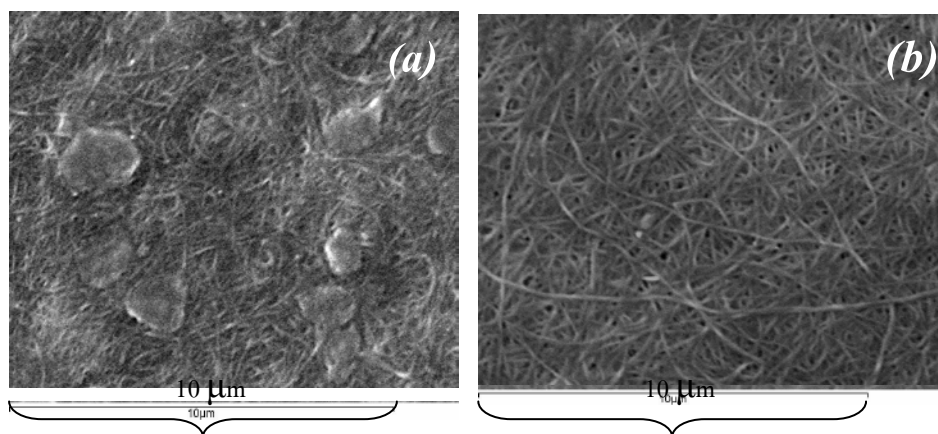
การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อในอาหารเหลว จะพบว่าแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* TISTR 887 ได้ ในขณะที่การทดสอบด้วยอาหารแข็งโดยวิธี disc diffusion แผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด ไม่แสดงผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR 887 เนื่องจากการทดสอบในอาหารเหลว สารสกัดภายในแผ่นได้ถูกละลายออกมาสู่อาหารเหลว และสัมผัสกับเซลล์แบคทีเรียได้โดยตรง จึงทำให้มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อได้สูงกว่าการทดสอบในอาหารแข็ง การทดสอบในอาหารแข็งนั้น สารสกัดภายในแผ่นสัมผัสกับเซลล์โดยผ่านการแพร่ผ่านอาหารแข็ง ซึ่งสารสกัดอาจมีอัตราการแพร่ที่ไม่เพียงพอต่อการยับยั้งเชื้อได้ ซึ่งผลการทดสอบสอดคล้องกับค่า MIC ของเชื้อ *E. coli* TISTR 887 ที่ต้องใช้ค่าความเข้มข้นของสารสกัด ในปริมาณที่สูงกว่า MIC ของเชื้อทดสอบชนิดอื่นๆ

จากผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และพิจารณาพร้อมกับผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ จึงคัดเลือกแผ่นเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดจากเมทานอล ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป เนื่องจากสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้สูงสุด และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ในระดับต่ำ สามารถยอมรับให้ใช้ได้แผ่นวัสดุปิดแผล

4.13 ผลการศึกษาลักษณะพื้นฐานของแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด

ศึกษาลักษณะพื้นฐานของแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 5000 เท่า แสดงดังภาพที่ 4.10 (a) พบว่าเส้นใยเซลล์โลสของแผ่นเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดมีการสานทับกัน พบอนุภาคของสารสกัดแทรกอยู่ภายในระหว่างเส้นใย ซึ่งทำให้เกิดขนาดของ

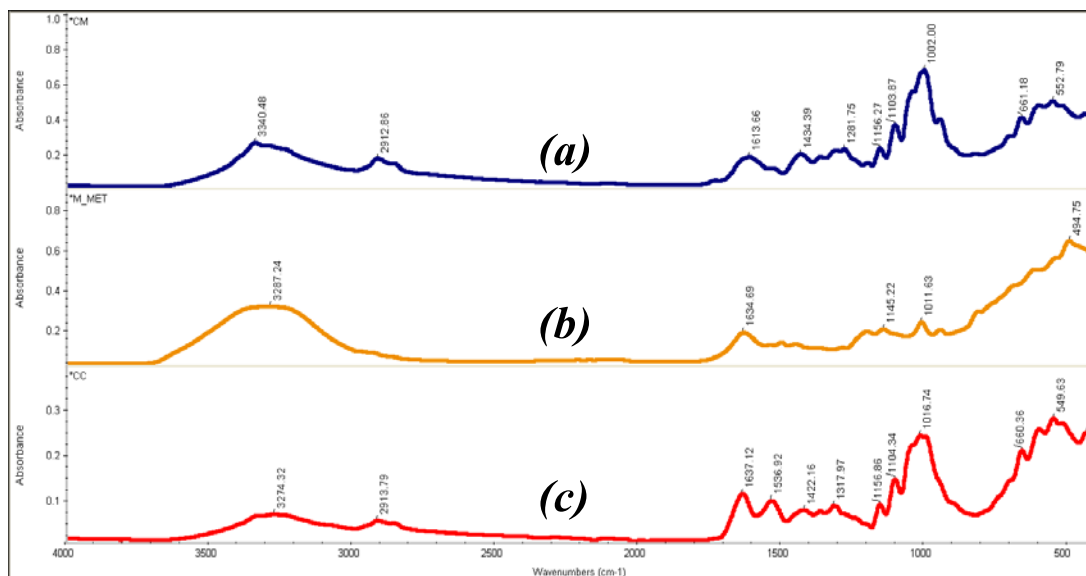
ช่องว่างที่ไม่สม่ำเสมอ และขรุขระ เปรียบเทียบกับแผ่นเซลลูโลสที่ไม่ได้จุ่มสารสกัด ภาพที่ 4.14 (b) ซึ่งประกอบด้วยเส้นใยสานทับกัน และมีช่องว่างระหว่างเส้นใยที่สม่ำเสมอมากกว่า Honglin และคณะ (2008) ทำการวิจัยโดยเติมคอลลาเจนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเซลลูโลส ได้เป็นแผ่นคอมโพสิต (composite) ของเซลลูโลสกับคอลลาเจน ทำให้แผ่นเซลลูโลสมีความพรุน และขรุขระมากกว่าแผ่นเซลลูโลสปกติ ซึ่งส่งผลต่อค่าดูดซับของเหลวและการซึมผ่านของออกซิเจนให้สูงขึ้น ช่วยให้การสมานแผลเกิดขึ้นได้ดี (Palsson และ Bhatia. 2004)



ภาพที่ 4.10 ลักษณะพื้นฐานของแผ่นเซลลูโลสแห้งจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด
(a) แผ่นเซลลูโลสจุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอลความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (b) แผ่นเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัด

4.14 ผลการศึกษาเอกลักษณ์ของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

จากการใช้เทคนิค FTIR ในการวิเคราะห์เอกลักษณ์การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอล เปรียบเทียบกับเอกลักษณ์การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัด และเอกลักษณ์การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารสกัดเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอล โดยใช้แสงอินฟราเรดช่วงเลขคลื่น 400 ถึง 4,000 cm^{-1} แสดงผลดังภาพที่ 4.11 การดูดกลืนแสงของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัด เกิดจุดยอด (peak) ที่มีลักษณะร่วมกัน ระหว่างกราฟค่าการดูดกลืนแสงของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัด กับกราฟค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด เนื่องจากอนุภาคของสารสกัด ได้แทรกอยู่ภายในแผ่นเซลลูโลส สอดคล้องกับลักษณะที่ศึกษาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งพบอนุภาคของสารสกัดแทรกอยู่ระหว่างเส้นใยของเซลลูโลส

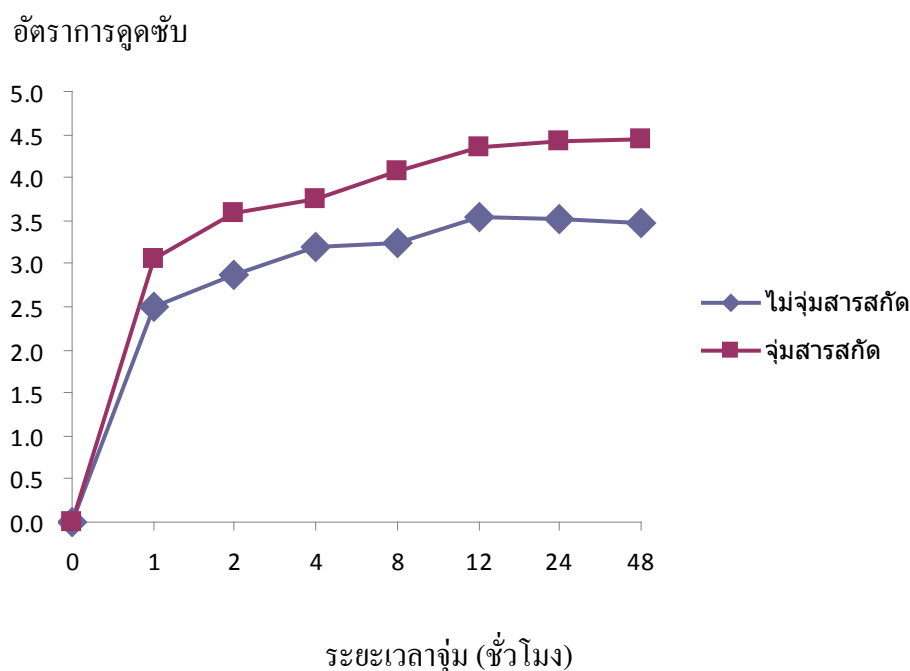


ภาพที่ 4.11 การดูดกลืนแสงของแผ่นเซลลูโลสและสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดจากตัวทำละลายเมทานอล วิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR ช่วงเลขคลื่น 400-4000 cm^{-1} (a) แผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอล (b) สารสกัดเปลือกมังคุดจากตัวทำละลายเมทานอล (c) แผ่นเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัด

4.15 ผลการศึกษาอัตราการดูดซับน้ำของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด

จากการศึกษาอัตราการดูดซับน้ำ โดยนำแผ่นแห้งเซลลูโลสมาจุ่มในน้ำปราศจากไอออนที่อุณหภูมิห้อง แล้วบันทึกน้ำหนักของแผ่นเซลลูโลส กระทั่งน้ำหนักคงที่ พบว่าเมื่อแช่แผ่นแห้งเซลลูโลสในน้ำ ในระยะเวลา 1 ชั่วโมง แผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัด และแผ่นแห้งเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัด มีการดูดซับน้ำได้อย่างรวดเร็ว โดยมีค่าอัตราการดูดซับน้ำเฉลี่ยเท่ากับ 3.06 และ 2.49 เท่าของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ อัตราการดูดซับน้ำค่อนข้างคงที่ เมื่อระยะเวลาการจุ่มหลังจาก 24 ชั่วโมง เป็นต้นไป กราฟอัตราการดูดซับน้ำของแผ่นเซลลูโลสแห้ง แสดงดังภาพที่ 4.12 โดยแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัด และแผ่นแห้งเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัดมีค่าอัตราการดูดซับน้ำสูงสุดเท่ากับ 4.44 และ 3.54 เท่าของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัด มีค่าอัตราการดูดซับน้ำที่สูงกว่าแผ่นแห้งเซลลูโลสที่ไม่ได้จุ่มสารสกัด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก แผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดนั้น ระหว่างเส้นใยภายในแผ่น มีอนุภาคของสารสกัดเข้าไปแทรกอยู่ และกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ซึ่งเป็นวิธีที่คงสภาพของแผ่นไว้ได้ เมื่อแช่แผ่นแห้งเซลลูโลสในน้ำ อนุภาคของสารสกัดจะถูกละลายด้วยน้ำ และหลุดออกมาจากแผ่นเซลลูโลส ทำให้เกิดช่องว่างภายในแผ่นเซลลูโลส น้ำจึงเข้าไปแทนที่ แผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดจึงสามารถดูดซับน้ำไว้ได้มากกว่าแผ่นที่ไม่จุ่มสารสกัดซึ่งมีเส้นใยที่เรียงตัวแน่นสม่ำเสมอทั้งแผ่น และจากการทดสอบความสามารถในการดูดซับน้ำของแผ่นเซลลูโลส จะเห็นได้ว่าแผ่นเซลลูโลสที่เตรียมได้ในลักษณะแห้งนี้ สามารถดูดซับน้ำได้อย่างรวดเร็ว ภายในระยะเวลาที่จุ่มแผ่นแห้งเซลลูโลสในน้ำกลั่น 1 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยในช่วงระยะ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงอิ่มตัว ลักษณะดังกล่าวอาจส่งผลให้แผ่นปิดแผลสามารถดูดซับของเหลวบริเวณ

บาดแผลได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งคุณสมบัติการดูดซับน้ำนี้ เป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยให้บาดแผลสามารถฟื้นตัวได้ดีขึ้น (Waring และ Parsons. 2001., Walker และคณะ. 2003)



ภาพที่ 4.12 กราฟอัตราการดูดซับน้ำของแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดและแผ่นแห้งเซลล์โลสที่ไม่จุ่มสารสกัด

4.16 ผลการศึกษาอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด

จากการทดสอบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดเปรียบเทียบกับอัตราการซึมผ่านของไอน้ำกับแผ่นแห้งเซลล์โลสที่ไม่จุ่มสารสกัด โดยตัดแผ่นแห้งเซลล์โลส ให้มีขนาด 15×15 ตารางเซนติเมตร โดยใช้วิธี ISO 151061 : 2003 (E) Plastic-Film and Sheeting – Determination of Water Vapor Transmission Rate Part I : Humidity Detection sensor method เครื่องมือที่ใช้ทดสอบคือ Water vapor permeation tester ; Lyssy L80-4000 ณ อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ ร้อยละ 90 พบว่าแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดมีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำสูงกว่าแผ่นแห้งเซลล์โลสที่ไม่จุ่มสารสกัด โดยแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัด มีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ เท่ากับ 798 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน และแผ่นแห้งเซลล์โลสที่ไม่จุ่มสารสกัดมีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ เท่ากับ 762 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน แสดงผลดังตารางที่ 4.12 ซึ่งค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของวัสดุปิดแผล เป็นปัจจัยสำคัญที่ใช้ในการพิจารณาความเหมาะสมต่อชนิด และความรุนแรงของบาดแผล โดยผิวหนังปกติ จะมีค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ ประมาณ 204 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน (Lamke และคณะ. 1977) เมื่อผิวหนังได้รับความเสียหาย อัตราการซึมผ่านของไอน้ำอาจมากถึง 5138 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน (Queen และคณะ. 1987) แผ่นปิดแผลในอุดมคติ ควรมีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ ในช่วง 2000-2500 กรัม

ต่อตารางเมตรต่อวัน ซึ่งหมายความว่ามีความสัมพันธ์การเป็นเยื่อเลือกผ่าน ในการยอมให้มีการซึมผ่านของไอน้ำเข้าออกได้อย่างเหมาะสม โดยหากมีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำสูงมาก สามารถทำให้บาดแผลเกิดการสูญเสียน้ำ หรือหากมีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำต่ำจะทำให้แผลมีความชื้นสูง ส่งผลให้เกิดการติดเชื้อได้ง่าย เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลจากงานวิจัยของ Wu และคณะ. (1995) ซึ่งแสดงอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของวัสดุปิดแผลทางการค้าบางชนิด ดังตารางที่ 4.13 พบว่าแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด มีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ สูงกว่า Bioclusive™ Dermiflex™ และ Ultec™ และมีการป้องกันการสูญเสียน้ำได้ดีกว่า Duoderm™ และ Bioflim™

4.17 ผลการศึกษาอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด

จากการทดสอบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนโดยวิธี ASTM D 3985-02 Oxygen Gas Transmission Rate Through Plastic Film and Sheeting Using a Coulometric Sensor เครื่องที่ใช้ทดสอบคือ Oxygen permeation tester ; Illinois 8000 ณ อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ ร้อยละ 0 โดยตัดแผ่นแห้งเซลลูโลสให้มีขนาด 15×15 ตารางเซนติเมตร เปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดกับแผ่นแห้งเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัด พบว่าแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัด มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน เท่ากับ 7,097 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ส่วนแผ่นแห้งเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัด มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน เท่ากับ 4,957 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน แสดงผลดังตารางที่ 4.12 ซึ่งแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัด มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนสูงกว่าแผ่นแห้งเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการมีอนุภาคของสารสกัดขนาดต่างๆ เข้าไปแทรกอยู่ระหว่างเส้นใยเซลลูโลส มีผลต่อขนาดของช่องว่างภายในแผ่นให้มีขนาดกว้างขึ้น สอดคล้องกับผลการทดสอบค่าการดูดซับน้ำ และการซึมผ่านของไอน้ำ ของแผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัด นั้นมีค่าสูงกว่าแผ่นเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัด ค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนมีผลต่อค่าความเป็นกรดต่างของของเหลวบริเวณบาดแผล และการงอกใหม่ของเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผล ซึ่งแผ่นวัสดุปิดแผลควรมีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนได้ดี เพื่อสนับสนุนให้บาดแผลมีการฟื้นตัวได้ดีขึ้น (Dubey และคณะ. 2002., Ciechanska. 2004.) เนื่องจากหากบริเวณบาดแผลมีปริมาณออกซิเจนต่ำ คาร์บอนไดออกไซด์สูง จะมีผลให้ค่า pH ของของเหลวบริเวณบาดแผลลดลง ทำให้เกิดการหมักโดยจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการก๊าซออกซิเจนในการเจริญ และทำให้การสมานบาดแผลเกิดขึ้นช้าลง (Fwu และคณะ. 2002)

ตารางที่ 4.12 ผลอัตราการซึมผ่านไอน้ำและออกซิเจนของแผ่นเซลล์โลส

แผ่นเซลล์โลส	อัตราการซึมผ่านไอน้ำ (กรัม/ตารางเมตร/วัน)	อัตราการซึมผ่านออกซิเจน (ลูกบาศก์เซนติเมตร/ตารางเมตร/ วัน)
ไม่จุ่มสารสกัด	762	4,957
จุ่มสารสกัด	798	7,097

ตารางที่ 4.13 อัตราการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นวัสดุปิดแผลทางการค้าชนิดต่างๆ

ชนิดแผ่นปิด แผล	ชื่อทางการค้า	บริษัทผู้ผลิต	อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน)
ฟิล์ม	Bioclusive	Johnson & Johnson	394
ไฮโดรคอลลอยด์	Dermiflex	Johnson & Johnson	90
	Duoderm	ConvaTec Ltd	886
	Ultec	Sherwood Med	534
	Bioflim	CliniMed Ltd	2892

ที่มา: Wu และคณะ. (1995)

ความหนาของแผ่นเซลล์โลส ความหนาแน่นของเส้นใย การเรียงตัวของเส้นใย และความเป็นรูพรุน มีบทบาทสำคัญต่อค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ และอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของแผ่นวัสดุ แผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัด มีความหนาเฉลี่ย 244.44 ± 41.26 ไมครอน และแผ่นแห้งเซลล์โลสที่ไม่จุ่มสารสกัด มีความหนาเฉลี่ย 198.00 ± 42.37 ไมครอน แผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดมีความหนามากกว่าแผ่นแห้งเซลล์โลสที่ไม่จุ่มสารสกัด เนื่องจากแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดมีความขรุขระ และลักษณะโป่งพองของเส้นใย จากการที่อนุภาคของสารสกัดเข้าไปแทรกอยู่ภายในมากกว่าแผ่นเซลล์โลสที่ไม่ได้จุ่มสารสกัด ซึ่งเส้นใยมีการเรียงตัวชิดกันปกติ จึงทำให้แผ่นเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัด มีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ และออกซิเจนสูงกว่าแผ่นเซลล์โลสที่ไม่จุ่มสารสกัดนั่นเอง

4.18 ผลการศึกษาค่าคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุด

นำแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่มสารสกัดเปลือกมังคุดมาวัดค่าความแข็งแรงดึง (Tensile Strength) ค่ามอดูลัสของยัง (Young's Modulus) และค่าการยืด ณ จุดขาด (Elongation at break) เปรียบเทียบกับแผ่นที่ไม่จุ่มสารสกัด แสดงผลดังตารางที่ 4.14 จากผลการทดสอบ พบว่าแผ่นแห้งเซลล์โลสที่ไม่จุ่มสารสกัด มีค่าความแข็งแรงดึง ค่ามอดูลัสของยัง สูงกว่าแผ่นแห้งเซลล์โลสที่จุ่ม

สารสกัดความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่ค่าการยืด ณ จุดขาด มีค่าไม่แตกต่างกัน การที่สารสกัดเข้าไปแทรกอยู่ภายในแผ่นเซลลูโลสมีผลต่อลักษณะทางกายภาพของแผ่นเซลลูโลส ทำให้มีค่าความแข็งแรงลดลง สอดคล้องกับผลการทดสอบอัตราการดูดซับน้ำ และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจน ของแผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัด ซึ่งจะมีค่าสูงกว่าแผ่นเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัด ที่มีการเรียงตัวของเส้นใยเป็นระเบียบและหนาแน่นมากกว่า จึงแสดงผลค่าความแข็งแรงดึง และค่ามอดูลัสของยังที่สูงกว่า

เมื่อแผ่นแห้งเซลลูโลสมีการดูดซับน้ำ คุณสมบัติเชิงกลของแผ่นเซลลูโลสมีการเปลี่ยนแปลงไป โดยมีค่าความแข็งแรงดึง และค่ามอดูลัสของยังลดลง แต่มีค่าการยืด ณ จุดขาด เพิ่มขึ้นมากกว่าแผ่นเซลลูโลสแห้งอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยแผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดมีค่าการยืด ณ จุดขาด สูงกว่าแผ่นที่ไม่จุ่มสารสกัด อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สอดคล้องกับผลของการทดสอบอัตราการดูดซับน้ำ และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจน ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัด การเรียงตัวของเส้นใยมีลักษณะพองขึ้นสังเกตจากค่าความหนาของแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัด ซึ่งมีค่ามากกว่าแผ่นแห้งเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัด นั่นคือเส้นใยมีการพองตัวออกจากกัน เนื่องจากอนุภาคของสารสกัดเข้าไปแทรกอยู่ภายในทำให้มีลักษณะเป็นโพรง มากกว่าแผ่นเซลลูโลสที่ไม่จุ่มสารสกัด เมื่อนำแผ่นแห้งเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัด มาดูดซับน้ำอนุภาคของสารสกัดถูกละลายออกมา อนุภาคน้ำจึงเข้าไปแทนที่ แผ่นเซลลูโลสที่จุ่มสารสกัดจึงมีอัตราการดูดซับน้ำได้สูงกว่า ความสามารถในการดูดซับน้ำของแผ่นเซลลูโลสส่งผลให้มีค่าความยืดยืดหยุ่นเพิ่มสูงขึ้น (Czaja และคณะ. 2006)

ตารางที่ 4.14 ค่าคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นแห้งเซลลูโลสและแผ่นแห้งเซลลูโลสภายหลังจากการแช่น้ำเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

แผ่นเซลลูโลส		ความแข็งแรงดึง (N/mm ²)	ค่ามอดูลัสของ ยัง (N/mm ²)	ค่าการยืด ณ จุดขาด
แผ่นแห้ง	จุ่มสารสกัด	13.33 ± 1.95 ^b	272.59 ± 57.45 ^b	2.89 ± 0.63 ^c
	ไม่จุ่มสารสกัด	16.05 ± 3.33 ^a	341.90 ± 81.38 ^a	2.39 ± 0.25 ^c
แผ่นแห้ง แช่น้ำ	จุ่มสารสกัด	8.06 ± 0.95 ^c	26.53 ± 3.54 ^c	10.82 ± 1.92 ^a
	ไม่จุ่มสารสกัด	5.31 ± 0.30 ^d	40.95 ± 5.65 ^c	9.47 ± 0.62 ^b

หมายเหตุ อักษรเหมือนกันในแถวแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95