



## การพัฒนาไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียและเพกตินหรืออัลจิเนตเป็นองค์ประกอบเพื่อการประยุกต์ใช้เป็นวัสดุปิดแผล

บารมี ขนบดีเฉลิมรุ่ง, แทนพงศ์ ชัยวาฤทธิ์, เพ็ญศักดิ์ จันทราวุธ\*

ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่

\* ติดต่อผู้พิมพ์: pensak.amuamu@gmail.com, pensak.j@cmu.ac.th

### บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (BC) เป็นองค์ประกอบ เพื่อประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรม เซลลูโลสจากแบคทีเรียความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยมวลต่อปริมาตรผสมกับอัลจิเนต (A) หรือเพกติน (P) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ในอัตราส่วน 3:7, 4:6 และ 5:5 โดยน้ำหนัก จากนั้นสารผสมถูกเทลงแม่พิมพ์ และเชื่อมขวางโดยใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยมวลต่อปริมาตร เพื่อให้เกิดไฮโดรเจล และนำไปทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ประสิทธิภาพการดูดซับของเหลว การพองตัว ความสามารถในการกักเก็บของเหลว และความคงทน จะถูกประเมินผล จากผลการทดลองพบว่า 3 ส่วนของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยมวลต่อปริมาตร ผสมกับ 7 ส่วน ของ A หรือ P ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ( $BC_2A_{0.5-1}$ ) และ 5 ( $BC_2P_{5-1}$ ) โดยมวลต่อปริมาตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ  $BC_2P_{5-1}$  แสดงให้เห็นผิวหน้าที่เรียบ แตกต่างจาก  $BC_2A_{0.5-1}$  ที่มีขุยบริเวณผิวหน้า ความหนาและขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของ  $BC_2A_{0.5-1}$  มีค่าน้อยกว่า  $BC_2P_{5-1}$  เนื่องจากโครงสร้างของ  $BC_2A_{0.5-1}$  เกิดการหดตัวระหว่างการเชื่อมขวางด้วยสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยมวลต่อปริมาตร แต่ความแข็งแรงของ  $BC_2A_{0.5-1}$  มีค่ามากกว่า  $BC_2P_{5-1}$  ในขณะที่รูปภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ประสิทธิภาพในการดูดซับของเหลว การพองตัว ความสามารถในการกักเก็บของเหลว และความคงทนของตัวรับ  $BC_2A_{0.5-1}$  ไม่สามารถประเมินผลได้ เนื่องจากโครงสร้างเกิดการแตกหักหลังจากแช่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ชาโลนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพในการดูดซับของเหลวและการพองตัวของ  $BC_2P_{5-1}$  มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและเข้าสู่จุดสมดุลเมื่อเวลาผ่านไป 8 ชั่วโมง และความสามารถในการกักเก็บของเหลวมีแนวโน้มลดลงและคงที่หลังจากผ่านไป 10 ชั่วโมง นอกจากนี้ ความคงทนของ  $BC_2P_{5-1}$  มีค่าเท่ากับร้อยละ  $30.85 \pm 0.50$  โดยสรุป  $BC_2P_{5-1}$  แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติต่าง ๆ ที่ดีกว่า  $BC_2A_{0.5-1}$  ดังนั้น  $BC_2P_{5-1}$  สามารถที่จะพัฒนาเป็นวัสดุปิดแผลต้นแบบต่อไป

**คำสำคัญ:** เซลลูโลสจากแบคทีเรีย, ไฮโดรเจล, การเชื่อมขวาง, อัลจิเนต, เพกติน

รับต้นฉบับ: 1 มิถุนายน 2565; แก้ไข: 29 มิถุนายน 2565; ตอรับตีพิมพ์: 1 กรกฎาคม 2565

# DEVELOPMENT OF HYDROGEL CONTAINING BACTERIAL CELLULOSE AND PECTIN OR ALGINATE FOR WOUND DRESSING APPLICATIONS

Baramee Chanabodeechalermrung, Tanpong Chaiwarit, Pensak Jantrawut\*

Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Chiang Mai

\* Corresponding author: pensak.amuamu@gmail.com, pensakj@cmu.ac.th

## ABSTRACT

This study aimed to develop hydrogel containing bacterial cellulose (BC) for pharmaceutical applications. 2 %w/v BC was mixed with alginate (A) or pectin (P) at different concentrations with weight ratios of 3:7, 4:6 and 5:5. After that, the blend was fabricated by casting onto a mold and cross-linking with a 3 %w/v of calcium chloride solution to form a hydrogel, followed by a freeze-drying process. The morphological characterization, fluid uptake ability, swelling degree, water retention property and integrity value were evaluated. Our results show that 3-part of 2 %w/v BC mixed with 7-part of A or P at the concentrations 0.5 (BC<sub>2</sub>A<sub>0.5</sub>-1) and 5 %w/v (BC<sub>2</sub>P<sub>5</sub>-1) were the optimized concentration. The morphological characterization of BC<sub>2</sub>P<sub>5</sub>-1 showed a smooth surface, unlike BC<sub>2</sub>A<sub>0.5</sub>-1, which offered a fluff surface. The thickness and diameter of BC<sub>2</sub>A<sub>0.5</sub>-1 were lower than BC<sub>2</sub>P<sub>5</sub>-1 due to structural shrunk when cross-linking with 3 %w/v CaCl<sub>2</sub> solution, but the hardness of BC<sub>2</sub>A<sub>0.5</sub>-1 was higher than BC<sub>2</sub>P<sub>5</sub>-1, while scanning electron microscope images showed no significant difference. Fluid uptake ability, swelling degree, water retention property and integrity value of BC<sub>2</sub>A<sub>0.5</sub>-1 cannot be evaluated because its structure was segregated after being soaked in phosphate buffer saline for 24 h. However, the fluid uptake ability and swelling degree of BC<sub>2</sub>P<sub>5</sub>-1 trended to increase and reached the equilibrium point after 8 h, and the water retention property trended to decrease and was constant after 10 h. Integrity value of BC<sub>2</sub>P<sub>5</sub>-1 was 30.85±0.50 %. In conclusion, the BC<sub>2</sub>P<sub>5</sub>-1 showed better properties than BC<sub>2</sub>A<sub>0.5</sub>-1. Thus BC<sub>2</sub>P<sub>5</sub>-1 can be further developed as a prototype wound dressing.

Keywords: bacterial cellulose, hydrogel, cross-linking, alginate, pectin

Received: 1 June 2022; Revised: 29 June 2022; Accepted: 1 July 2022

## บทนำ

เซลลูโลสเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของสิ่งมีชีวิตหลายชนิดโดยเฉพาะพืช นอกจากนี้ยังพบได้ในสาหร่าย รา และแบคทีเรีย เซลลูโลสยังเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในอุตสาหกรรมหลายประเภท ไม่ว่าจะเป็นอุตสาหกรรมสิ่งทอ กระดาษ อาหารและยา<sup>1,2</sup> โครงสร้างของเซลลูโลสเกิดจากน้ำตาลกลูโคสหลายโมเลกุลเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบตา 1,4-กลูโคซิดิก ( $\beta$ -1,4-glucosidic bond) กลายเป็นพอลิเมอร์สายยาว<sup>3</sup> ซึ่งคุณสมบัติของเซลลูโลสถูกกำหนดโดยปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุล (intermolecular interaction) เช่น การเกิดพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ความยาวของสายพอลิเมอร์และการกระจายตัวของหมู่ฟังก์ชันบนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวตลอดความยาวของพอลิเมอร์<sup>2</sup> เซลลูโลสเป็นสารที่ปราศจากรสและกลิ่น ไม่ละลายทั้งในน้ำร้อนและน้ำเย็น<sup>3,4</sup> ในปัจจุบันมีการนำเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (bacterial cellulose) มาใช้มากยิ่งขึ้น<sup>5</sup> แม้ว่าเซลลูโลสจากแบคทีเรียจะมีสูตรโมเลกุลที่เหมือนกับเซลลูโลสจากพืช แต่สิ่งที่เป็เอกลักษณ์ของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย คือโครงสร้างโครงข่ายสามมิติ (3-dimensional porous network structure) ที่มีความซับซ้อน ทำให้สามารถอุ้มน้ำได้ในปริมาณสูง<sup>6</sup> มีความบริสุทธิ์สูง แตกต่างจากเซลลูโลสจากพืชที่มีการปนเปื้อนของสารลิกนิน เพกติน หรือสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนอื่นจากขั้นตอนการสกัด ทำให้ต้องมีกระบวนการทำบริสุทธิ์ก่อนนำเซลลูโลสจากพืชมาใช้<sup>7</sup> นอกจากนี้ เซลลูโลสจากแบคทีเรียยังมีความเสถียรสูง และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม<sup>5,6</sup> ในทางการแพทย์และเภสัชกรรม พบว่า การนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเยื่อบุผิว และเพิ่มการยึดเกาะระหว่างเซลล์ ทำให้เซลล์มาติดกันและส่งผลทำให้บาดแผลหายเร็วยิ่งขึ้น มีความเป็นพิษที่ต่ำสามารถดูดซับเลือดและของเหลวได้ และไม่ยึดเกาะกับเนื้อเยื่อ<sup>8</sup> โครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลสจากแบคทีเรียขึ้นอยู่กับสภาวะและสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ใช้ มัก

เลือกใช้สายพันธุ์ที่สามารถผลิตเซลลูโลสได้ในปริมาณมาก เช่น แบคทีเรียสปีชีส์แอซิโตแบคเตอร์ (*Acetobacter* spp.) โดยเฉพาะ *Acetobacter Xylinum* เนื่องจากเซลลูโลสที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง และสามารถอุ้มน้ำได้มาก<sup>9</sup>

ไฮโดรเจล (hydrogel) เป็นโครงร่างตาข่ายที่เชื่อมกันแบบสามมิติของพอลิเมอร์ที่ละลายในน้ำได้ แต่สามารถคงรูปร่างอยู่ได้โดยไม่ละลายน้ำ ซึ่งมีความหลากหลายขององค์ประกอบทางเคมีและสมบัติทางกายภาพ การเชื่อมต่อนของพอลิเมอร์ภายในเครือข่ายไฮโดรเจลอาจเกิดผ่านพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) ซึ่งเป็นการเชื่อมขวาง (crosslink) ที่แข็งแรง หรืออันตรกิริยาที่อ่อนกว่าพันธะโควาเลนต์ เช่น อันตรกิริยาระหว่างประจุ (charge interaction) และพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ไฮโดรเจลสามารถเตรียมได้ 2 วิธี วิธีแรกคือการเชื่อมขวางทางกายภาพ วิธีการนี้เป็นการเชื่อมโยงของมอนอเมอร์ภายในสายโซ่พอลิเมอร์ อาศัยการเพิ่มอุณหภูมิ เพิ่มแรงกระทำ เพื่อให้เกิดการเชื่อมต่อนของสายโซ่พอลิเมอร์ เช่น การเชื่อมขวางผ่านการเกิดอันตรกิริยาไอออน หรือพันธะไอออนิก (crosslink by ionic interaction) หรือการเชื่อมขวางผ่านการเกิดพันธะไฮโดรเจน โดยวิธีนี้มีความปลอดภัยและต้นทุนในการผลิตต่ำ เนื่องจากไม่ต้องเติมสารเชื่อมขวาง (crosslinking agent) เพื่อเป็นตัวกลางในการเกิดไฮโดรเจล วิธีที่ 2 การเชื่อมขวางทางเคมี วิธีการนี้เป็นการเชื่อมโยงของมอนอเมอร์ภายในสายโซ่พอลิเมอร์โดยเติมสารเชื่อมขวาง (crosslinking agent) เป็นตัวกลางและอาศัยการเกิดปฏิกิริยาเคมี เพื่อให้เกิดการเชื่อมต่อนของสายโซ่พอลิเมอร์ เช่น การเชื่อมขวางผ่านการเกิดปฏิกิริยาแรดิคอล พอลิเมอไรเซชัน (crosslinking by radical polymerization) หรือการเชื่อมขวางผ่านการเกิดพันธะโควาเลนต์ของหมู่ฟังก์ชัน (crosslinking by chemical reaction of complementary groups) โดยวิธีนี้จะได้โครงร่างตาข่ายของพอลิเมอร์ที่คงทน มีความเสถียรไม่สามารถเปลี่ยนกลับไปมาได้ แต่สารเชื่อมขวางบางชนิดมีพิษ และมีต้นทุนสูง<sup>10</sup> เมื่อเกิดการเชื่อมขวาง

โมเลกุลเกิดการรวมตัวและขัดตัว ทำให้โครงสร้างเกิดเป็นรูพรุนขนาดเล็กจำนวนมาก ทำให้ไฮโดรเจลมีคุณสมบัติที่สามารถดูดซับและกักเก็บสารได้ในปริมาณมาก โดยสามารถคงรูปร่างอยู่ได้และไม่ละลายในน้ำ<sup>11</sup> สามารถย่อยสลายได้ มีความเข้ากันได้กับร่างกาย<sup>12</sup> สามารถใช้ได้ทั้งทางช่องปาก ตา จมูก ช่องคลอดและทวารหนัก<sup>13</sup>

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ามีการศึกษาของเกี่ยวกับการนำเซลล์จากแบคทีเรียมาผสมกับอัลจินต โดยการศึกษาของ Phisalaphong และคณะ ในปี ค.ศ. 2007 มีขั้นตอนการเตรียมเซลล์จากแบคทีเรียก่อนนำไปผสมกับสารละลายอัลจินตความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยมวลต่อปริมาตร ที่ซับซ้อนใช้เวลาาน ใช้อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเซลล์จากแบคทีเรียต่ออัลจินตที่ 100/0, 80/20, 60/40, 40/60, 20/80 และ 0/100 และปั่นผสมสารผสม 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปเชื่อมขวางด้วยสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ตามด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก แล้วล้างด้วยน้ำที่ปราศจากไอออนจนได้ pH เท่ากับ 7 โดยศึกษานี้ต้องการผลิตเยื่อเมมเบรนโดยใช้เซลล์จากแบคทีเรีย<sup>14</sup> ซึ่งขั้นตอนดังกล่าวใช้เวลาค่อนข้างมาก และยังมีงานวิจัยของ Sulaeva และคณะในปี ค.ศ. 2020 ที่นำแผ่นเซลล์จากแบคทีเรียที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาปั่นในสารละลายอัลจินตที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1 โดยมวลต่อปริมาตร 24 ชั่วโมง เพื่อให้อัลจินตแทรกเข้าไปในโครงสร้างของเซลล์จากแบคทีเรีย ก่อนนำไปเชื่อมขวางด้วยสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เพื่อใช้เป็นวัสดุปิดแผล<sup>15</sup> นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Li และคณะในปี ค.ศ. 2021 ที่เติมสารละลายอัลจินตที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1 โดยมวลต่อปริมาตร ไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเพาะ 10 วัน เพื่อให้แบคทีเรียสร้างเซลล์ออกมาผสมกับอัลจินต เกิดเป็นไฮโดรเจลเพื่อใช้ในการขนส่งโปรตีน<sup>16</sup> นอกจากนี้ในการทบทวนวรรณกรรมพบว่า

ไม่มีงานวิจัยที่นำเซลล์จากแบคทีเรียไปผสมกับเพกติน เพื่อใช้เป็นวัสดุปิดแผลแต่มีงานวิจัยของ Chen และคณะ ในปี ค.ศ. 2021 ที่นำเซลล์มาผสมกับเพกตินโดยใช้เทคนิคการเชื่อมขวางทางเคมี เพื่อใช้ในการห้ามเลือด โดยใช้เซลล์ 0.5 กรัม ละลายในของเหลวไอออนิก (1-allyl-3-methylimidazolium chloride) 10 กรัม หลังจากนั้นเติมเพกติน 0.1 หรือ 0.2 กรัม เพื่อให้เกิดไฮโดรเจล<sup>17</sup> นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Lopez และคณะ ในปี ค.ศ. 2017 เตรียมไฮโดรเจลโดยเติมเพกตินและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ลงไปในการเลี้ยงเชื้อ บ่มเพาะ 96 ชั่วโมง เพื่อให้แบคทีเรียสร้างเซลล์ออกมาผสมกับเพกติน ได้เป็นไฮโดรเจล<sup>18</sup>

ในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ไฮโดรเจลเป็นระบบนำส่งยา (drug delivery system) ทางเภสัชกรรม เนื่องจากโครงสร้างที่เป็นรูพรุน อีกทั้งยังสามารถกักเก็บและป้องกันไม่ให้สารชนิดต่าง ๆ ที่กักเก็บในไฮโดรเจลถูกทำลาย และส่งผลต่อลักษณะของการปลดปล่อยตัวยานอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการรักษาเนื้อตาย เนื่องจากไฮโดรเจลสามารถควบคุมความชื้นให้เหมาะสม จึงสามารถกระตุ้นกระบวนการสมานแผลให้เกิดเร็วขึ้นได้<sup>19,20</sup> และไม่สร้างความเจ็บปวดขณะนำไฮโดรเจลออกจากบาดแผล<sup>21</sup> จากคุณสมบัติที่ได้กล่าวมาข้างต้น จึงทำให้ไฮโดรเจลถูกนำไปประยุกต์ใช้งานในหลายด้าน เช่น ระบบนำส่งยาหรือโปรตีน ด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ใช้เป็นวัสดุปิดแผลและตกแต่งบาดแผล และด้านชีวการแพทย์<sup>12</sup> เนื่องจากการงานวิจัยก่อนหน้านี้มีวิธีการเตรียมที่ซับซ้อนและใช้ระยะเวลาในการเตรียมนาน นอกจากนี้ยังไม่มีงานวิจัยที่นำเซลล์จากแบคทีเรียมาผสมกับเพกตินเพื่อใช้เป็นวัสดุปิดแผล งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาตำรับไฮโดรเจลที่มีเซลล์จากแบคทีเรียผสมกับเพกตินหรืออัลจินตเป็นองค์ประกอบ เพื่อนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นวัสดุปิดแผลที่ใช้ในทางการแพทย์และเภสัชกรรมต่อไป

## วิธีการศึกษา

### วัสดุและสารเคมี

แคลเซียมคลอไรด์ เกร็ดวิเคราะห์ (AR-1235) จากบริษัท RCI Labscan Ltd. ประเทศไทย เพกตินที่มีเมทอกซีต่ำ (low methoxy pectin; ค่าเอสเทอร์ฟิเคชันร้อยละ 29) ยี่ห้อ UNIPECTINE™ จากบริษัท Cargill ประเทศฝรั่งเศส (น้ำหนักโมเลกุล~180 kDa) โซเดียมอัลจิเนต จากบริษัท Qingdao Bright Moon Seaweed Group Co., Ltd. ประเทศจีน (น้ำหนักโมเลกุล~167 kDa) พอลิเอทิลีนไกลคอล 1500 จากบริษัท Tinnakorn Chemical and Supply Co., Ltd. ประเทศไทย

### เซลลูโลสจากแบคทีเรียที่เลือกใช้

เลือกใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรีย ที่ได้จากแบคทีเรียชนิด *Acetobacter xylinum* จากบริษัท Cellulose Lab™ ในใบรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ (Certificate of Analysis; COA) ระบุลักษณะเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นผงสีขาว เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (scanning transmission electron microscope; STEM) (Hitachi S-4800 FE-SEM, Tokyo, Japan) ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า เห็นลักษณะเป็นเส้นใยที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 50-100 นาโนเมตร และมีความยาวมากกว่า 20 ไมโครเมตร

### การเตรียมไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบ

นำเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (BC) มากระจายตัวในพอลิเอทิลีนไกลคอลความเข้มข้นร้อยละ 40 โดยมวลต่อปริมาตร ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยมวลต่อปริมาตร หลังจากนั้นนำมาผสมกับสารละลายอัลจิเนต (A) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.5 และ 3 โดยมวลต่อปริมาตร หรือเพกติน (P) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3, 5 และ 7 โดยมวลต่อปริมาตร ในอัตราส่วน 3:7, 4:6 และ 5:5 โดยน้ำหนัก (ตารางที่ 1) หลังจากนั้นเทใส่พิมพ์ และเติมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยมวลต่อปริมาตร เพื่อให้เกิดการเชื่อมขวาง ทั้งนี้เป็นระยะเวลา 2

ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการเชื่อมขวางที่สมบูรณ์ หลังจากนั้นล้างสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ส่วนเกินออกด้วยน้ำกลั่น แล้วนำมารับไฮโดรเจลที่ได้ไปทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง (freeze drying) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปศึกษาสมบัติอื่นต่อไป

### การศึกษาสมบัติทางกายภาพของไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบ

- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบ โดยสังเกตลักษณะผิวสัมผัสและความเรียบเนียนด้วยตาเปล่า และใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) (JEOL JCM-7000 NeoScope™ Benchtop, Tokyo, Japan) ที่กำลังขยาย 100 เท่า

- ศึกษาความหนาและเส้นผ่านศูนย์กลางของไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบโดยใช้เครื่องมือไมโครมิเตอร์ (3203-25A, Insize Co, Ltd., Suzhou, China) และศึกษาความแข็ง ความเค้น (strain) ความเครียด (stress) และค่ามอดูลัสของยัง (Young's modulus) โดยใช้เครื่อง texture analyzer, TX. TA plus (Stable Micro Systems, Surrey, UK) โดยใช้หัววัดสแตนเลสทรงกระบอก (cylindrical stainless probe) เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ที่มีผิวหน้าแบนเรียบ (plane flat-faced surface) โดยมีพื้นที่สัมผัส 3.14 ตารางมิลลิเมตร ความเร็วในการเคลื่อนที่ของหัววัดเท่ากับ 1 มิลลิเมตรต่อวินาที และระยะทางในการกดตัวอย่าง 2 เซนติเมตร

- ศึกษาประสิทธิภาพของการดูดซับของเหลว (fluid uptake ability) ของไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบ โดยนำไฮโดรเจลขนาด 1.5 x 1.5 x 1 ตารางเซนติเมตร ใส่ลงในขวดแก้ว ที่บรรจุ phosphate buffer saline (PBS) ที่มีค่าความเป็นกรดต่าง (pH) เท่ากับ 7.4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดแก้วให้สนิท เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไฮโดรเจลออกมาแช่ PBS ส่วนเกินออกด้วยกระดาษกรอง และ

ซึ่งน้ำหนักที่เวลาต่าง ๆ เช่น 1, 2, 4, 8, 16 และ 24 ชั่วโมง คำนวณค่าร้อยละปริมาณของเหลว ณ จุดสมดุล (% equilibrium fluid content; EFC) ดังสมการด้านล่าง และพลอตกราฟระหว่างค่าปริมาณของเหลว ณ จุดสมดุล กับเวลาที่ผ่านไป

ร้อยละปริมาณของเหลว ณ จุดสมดุล =  $(W_s - W_d)/W_s \times 100$

เมื่อ  $W_s$  คือ น้ำหนักไฮโดรเจลที่พองขึ้นที่เวลาต่าง ๆ และ  $W_d$  คือ น้ำหนักไฮโดรเจลก่อนเริ่มการทดลอง

- ศึกษาความสามารถในการกักเก็บของเหลว (water retention property) ของไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบ โดยนำไฮโดรเจลขนาด  $1.5 \times 1.5 \times 1$  ตารางเซนติเมตร ใส่ลงไปในขวดแก้ว ที่บรรจุสารละลาย PBS ที่มีค่า pH เท่ากับ 7.4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดแก้วให้สนิท เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไฮโดรเจลออกมาซับ PBS ส่วนเกินออกด้วยกระดาษกรอง แล้วนำไปวางในภาชนะที่ไม่ปิดฝาที่อุณหภูมิห้องและชั่งน้ำหนักที่เวลา 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 24 ชั่วโมง โดยคำนวณค่าปริมาณของเหลวที่ถูกกักเก็บดังสมการด้านล่าง และพลอตกราฟระหว่างค่าปริมาณของเหลวที่ถูกกักเก็บกับเวลาที่ผ่านไป

ร้อยละปริมาณของเหลวที่ถูกกักเก็บ =  $(W_{wet} - W_{dry})/W_{dry} \times 100$

เมื่อ  $W_{wet}$  คือ น้ำหนักไฮโดรเจลตอนเปียก ณ เวลาต่าง ๆ และ  $W_{dry}$  คือ น้ำหนักไฮโดรเจลหลังแช่ PBS 24 ชั่วโมง

- ศึกษาการพองตัวของไฮโดรเจลโดยวัดจากร้อยละการพองตัว (%swelling degree; %SD) ทำได้โดยนำไฮโดรเจลขนาด  $1.5 \times 1.5 \times 1$  ตารางเซนติเมตร ใส่ลงไปในขวดแก้วที่บรรจุสารละลาย PBS ที่มีค่า pH เท่ากับ 7.4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดแก้วให้สนิท แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไฮโดรเจลออกมาซับ PBS ส่วนเกินออกด้วยกระดาษกรอง และชั่งน้ำหนัก คำนวณค่าร้อยละ MSD ดังสมการ

ร้อยละการพองตัว =  $W_s/W_i \times 100$

เมื่อ  $W_s$  คือ น้ำหนักไฮโดรเจลที่พองตัว ณ เวลาต่าง ๆ และ  $W_i$  คือ น้ำหนักไฮโดรเจลก่อนเริ่มการทดลอง

- ศึกษาค่าความคงทน (integrity value) ของไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบ โดยนำไฮโดรเจลขนาด  $1.5 \times 1.5 \times 1$  ตารางเซนติเมตร ใส่ลงไปในขวดรูปชมพู่ขนาด 180 มิลลิลิตร ซึ่งภายในบรรจุสารละลาย PBS ที่มีค่า pH เท่ากับ 7.4 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ปิดปากภาชนะให้สนิทและเขย่าด้วยความเร็ว 50 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไฮโดรเจลออกมาวางในภาตโลหะและทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบมีพัดลม ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนกระทั่งแห้ง นำมาชั่งน้ำหนัก และนำมาคำนวณค่าความคงทนดังสมการ

ร้อยละความคงทน =  $W_f/W_i \times 100$

เมื่อ  $W_i$  คือ น้ำหนักไฮโดรเจลก่อนเริ่มทดสอบ และ  $W_f$  คือ น้ำหนักของไฮโดรเจลหลังการทำให้แห้ง

### การแสดงผลและสถิติที่ใช้

ผลการทดลองจะแสดงในรูปค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยมีค่านัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p$ -value < 0.05) และในการวิเคราะห์ผลทางสถิติจะใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS software version 17.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA)

### ผลการศึกษาและอภิปรายผลการศึกษา

#### การเตรียมไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบ

ในการทดลองนี้ทางผู้วิจัยได้เลือกใช้อัลจินตและเพกตินเป็นพอลิเมอร์เสริมเซลลูโลสจากแบคทีเรีย เนื่องจากพอลิเมอร์ทั้งสองตัวนี้มีหมู่คาร์บอกซิล ( $-\text{COO}^-$ ) ที่สามารถเกิดพันธะไอออนิกระหว่างประจุกับแคลเซียมไอออนได้ สามารถหาได้ง่าย และมีความปลอดภัย โดยหลังจากการทดลองผสมเซลลูโลสจากแบคทีเรียกับอัลจินต

หรือเพกติน ในความเข้มข้นที่ต่างกันที่อัตราส่วน 3:7, 4:6 และ 5:5 พบว่าตำรับที่ได้ไฮโดรเจลที่สมบูรณ์ คือมีผิวหน้าเรียบ และสามารถขึ้นรูปเป็นไฮโดรเจลที่แข็งแรงได้ ใช้เซลล์ลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับอัลจิเนตหรือเพกตินที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 5 โดยมวลต่อปริมาตรตามลำดับ ที่อัตราส่วน 3:7 ( $BC_2A_{0.5-1}$  และ  $BC_2P_{5-1}$ ) (รูปที่ 1) สำหรับตำรับที่ใช้เซลล์ลูโลสจากแบคทีเรียผสมอัลจิเนตที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวลต่อปริมาตร ที่อัตราส่วน 4:6 หรือ 5:5 พบว่า ไฮโดรเจลที่ได้เกิดการแตกหลังจากเทลงแม่พิมพ์ ส่วนตำรับที่ใช้อัลจิเนต

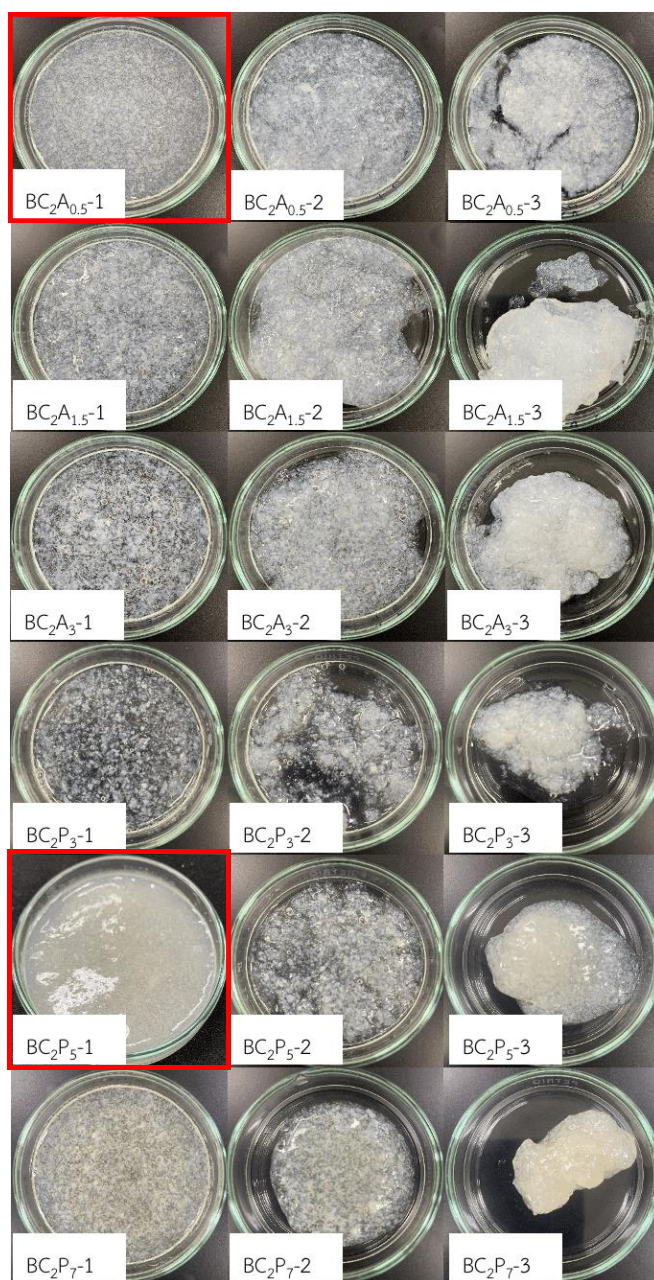
ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 3 โดยมวลต่อปริมาตร ที่อัตราส่วน 3:7 สามารถเทลงแม่พิมพ์ได้แต่หลังจากเทสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ลงไปพบว่าไฮโดรเจลเกิดการหดตัวและพองตัวขึ้นตรงกลางของไฮโดรเจล เกิดไฮโดรเจลที่มีรูปร่างไม่สวยงาม อาจเนื่องมาจากการใช้อัลจิเนตในปริมาณมาก ซึ่งอัลจิเนตเป็นสารที่เกิดการพองตัวได้ดีและสามารถดูดน้ำเข้าหาตัวได้มาก<sup>22</sup> ส่วนตำรับที่ใช้อัลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 3 โดยมวลต่อปริมาตร ที่อัตราส่วน 4:6 และ 5:5 พบว่าหลังจากผสมกับเซลล์ลูโลส

ตารางที่ 1 องค์ประกอบในตำรับไฮโดรเจล

| ตำรับ           | อัตราส่วนความเข้มข้นของพอลิเมอร์ (ร้อยละโดยน้ำหนัก) |                                                |     |   |                                              |   |   |
|-----------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----|---|----------------------------------------------|---|---|
|                 | BC                                                  | สารละลายอัลจิเนต (A)<br>ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร |     |   | สารละลายเพกติน (P)<br>ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร |   |   |
|                 |                                                     | 0.5                                            | 1.5 | 3 | 3                                            | 5 | 7 |
| $BC_2A_{0.5-1}$ | 3                                                   | 7                                              | -   | - | -                                            | - | - |
| $BC_2A_{0.5-2}$ | 4                                                   | 6                                              | -   | - | -                                            | - | - |
| $BC_2A_{0.5-3}$ | 5                                                   | 5                                              | -   | - | -                                            | - | - |
| $BC_2A_{1.5-1}$ | 3                                                   | -                                              | 7   | - | -                                            | - | - |
| $BC_2A_{1.5-2}$ | 4                                                   | -                                              | 6   | - | -                                            | - | - |
| $BC_2A_{1.5-3}$ | 5                                                   | -                                              | 5   | - | -                                            | - | - |
| $BC_2A_{3-1}$   | 3                                                   | -                                              | -   | 7 | -                                            | - | - |
| $BC_2A_{3-2}$   | 4                                                   | -                                              | -   | 6 | -                                            | - | - |
| $BC_2A_{3-3}$   | 5                                                   | -                                              | -   | 5 | -                                            | - | - |
| $BC_2P_{3-1}$   | 3                                                   | -                                              | -   | - | 7                                            | - | - |
| $BC_2P_{3-2}$   | 4                                                   | -                                              | -   | - | 6                                            | - | - |
| $BC_2P_{3-3}$   | 5                                                   | -                                              | -   | - | 5                                            | - | - |
| $BC_2P_{5-1}$   | 3                                                   | -                                              | -   | - | -                                            | 7 | - |
| $BC_2P_{5-2}$   | 4                                                   | -                                              | -   | - | -                                            | 6 | - |
| $BC_2P_{5-3}$   | 5                                                   | -                                              | -   | - | -                                            | 5 | - |
| $BC_2P_{7-1}$   | 3                                                   | -                                              | -   | - | -                                            | - | 7 |
| $BC_2P_{7-2}$   | 4                                                   | -                                              | -   | - | -                                            | - | 6 |
| $BC_2P_{7-3}$   | 5                                                   | -                                              | -   | - | -                                            | - | 5 |

จากแบคทีเรียทุกตัวไม่สามารถแทงแม่พิมพ์ได้ เนื่องจากเกิดเจลหนืดขึ้นหลังจากผสม โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Li และคณะในปี ค.ศ. 2021 ที่ไม่แนะนำให้ใช้อัลจิเนตที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวลต่อปริมาตรขึ้นไป เนื่องจากตัวรับจะเกิดความไม่สม่ำเสมอของเซลล์จากแบคทีเรียและอัลจิเนต<sup>16</sup> สำหรับตัวรับที่มีเพกตินเป็นองค์ประกอบพบว่า ที่ทุกความเข้มข้นในอัตราส่วน 4:6 ทุกตัวรับสามารถแทงแม่พิมพ์ได้แต่มีลักษณะเป็นก้อนเจลที่

ผิวหน้าไม่เรียบ สำหรับอัตราส่วน 5:5 ในทุกความเข้มข้นตัวรับเกิดเป็นเจลหนืด ไม่สามารถแทงแม่พิมพ์ได้ สำหรับอัตราส่วน 3:7 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยมวลต่อปริมาตร พบว่าสารผสมสามารถแทงแม่พิมพ์ได้ แต่มีลักษณะผิวหน้าที่ไม่เรียบ ส่วนที่ความเข้มข้นร้อยละ 7 โดยมวลต่อปริมาตร สารผสมสามารถแทงแม่พิมพ์ได้และหลังจากเชื่อมขวางด้วยสารละลายแคลเซียมคลอไรด์พบว่าไฮโดรเจลที่ได้มีผิวเรียบ แต่สีของไฮโดรเจลที่ได้มีสี



รูปที่ 1 ลักษณะของไฮโดรเจลแต่ละตัวรับ (กรอบสีแดงแสดงตัวรับไฮโดรเจลที่คัดเลือก)



เหลืองเข้มมากขึ้นไปเนื่องจากสีเหลืองของเพกติน ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จะเลือกใช้อัลจินตและเพกติน ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ตามลำดับ ในอัตราส่วน 3:7 เพื่อใช้เตรียมไฮโดรเจลและ ทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง และทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ต่อไป หลังจากพิจารณาลักษณะทางกายภาพของไฮโดรเจล ด้วยตาเปล่าก่อนการทำให้แห้ง พบว่าในตำรับ  $BC_2A_{0.5}-1$  และ  $BC_2P_5-1$  มีลักษณะผิวหน้าเรียบ แต่ตำรับ  $BC_2A_{0.5}-1$  มีสีใสมากกว่าตำรับ  $BC_2P_5-1$  ซึ่งมีสีเหลืองเนื่องจากสีเหลืองอ่อนตามธรรมชาติของเพกติน หลังจากทำให้แห้งพบว่า ตำรับ  $BC_2A_{0.5}-1$  ผิวหน้ามีลักษณะของขุยเกิดขึ้น แต่ใน ตำรับ  $BC_2P_5-1$  มีผิวหน้าที่เรียบไม่มีขุย และหลังจากนำทั้งสองตำรับไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าทั้งสองตำรับแสดงให้เห็นถึงรูพรุนภายในตำรับ ที่ไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของ chen และคณะในปี ค.ศ. 2021 ที่ใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียและเพกตินในการผลิตไฮโดรเจล<sup>17</sup>

#### ความหนา เส้นผ่านศูนย์กลาง ความแข็ง ความเค้น ความเครียด และค่ามอดูลัสของยัง ของไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบหลังจากทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง

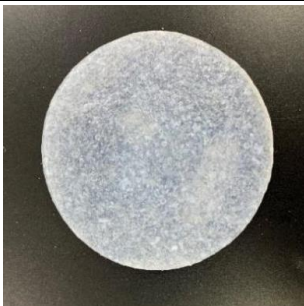
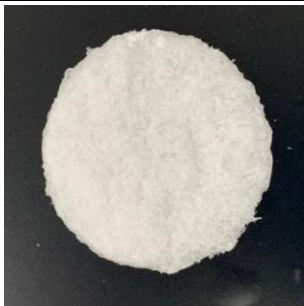
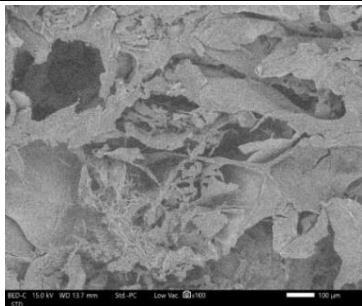
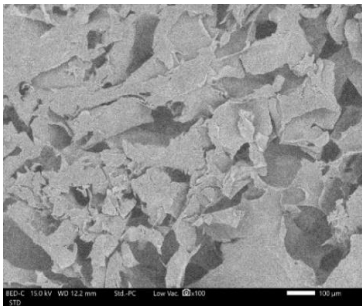
ความหนาและเส้นผ่านศูนย์กลางของไฮโดรเจล ทั้ง 2 ตำรับ มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังจากทำให้แห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง โดย  $BC_2A_{0.5}-1$  และ  $BC_2P_5-1$  มีความหนาที่  $3.49 \pm 0.12$  และ  $4.72 \pm 0.10$  มิลลิเมตร ตามลำดับ และมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ  $31.05 \pm 0.37$  และ  $47.40 \pm 0.69$  มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งความหนาและเส้นผ่านศูนย์กลางที่ต่างกัน เกิดขึ้นหลังจากทดสอบการละลายแคลเซียมคลอไรด์ลงไป พบว่าไฮโดรเจลที่มีอัลจินตเกิดการหดตัวขึ้นแตกต่างจากไฮโดรเจลที่มีเพกตินที่สามารถคงรูปตามขนาดของแม่พิมพ์ได้ ซึ่งอาจเนื่องมาจากอัลจินตมีหมู่คาร์บอกซิล ( $-COOH$ ) มากจึงสามารถจับกับแคลเซียมไอออนได้มาก ประกอบกับมีหมู่ไฮดรอกซี ( $-OH$ ) มากจึงสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน

(hydrogen bond) ภายในโมเลกุลได้มากเช่นกัน<sup>22,23</sup> นอกจากนี้ไฮโดรเจลที่มีอัลจินตเป็นองค์ประกอบมีความแข็งแรงที่มากกว่าไฮโดรเจลที่มีเพกตินเป็นองค์ประกอบ ส่งผลทำให้  $BC_2A_{0.5}-1$  มีค่าความเค้น และมอดูลัสของยังมากกว่า  $BC_2P_5-1$  อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากค่าทั้ง 2 นี้เกี่ยวข้องกับแรงในการกดไฮโดรเจล ซึ่งเป็นผลมาจากการหดตัวของไฮโดรเจลที่มีอัลจินตเป็นองค์ประกอบ ทำให้โครงสร้างภายในเกิดการจับตัวกันแน่นขึ้น<sup>22</sup> แต่ค่าความเครียดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4)

#### ประสิทธิภาพการดูดซับของเหลว

ปริมาณของเหลว ณ จุดสมดุลของทั้งสองตำรับมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในตอนแรก แต่เมื่อเวลาผ่านไป 4 ชั่วโมงพบว่า ตำรับ  $BC_2A_{0.5}-1$  เกิดการแตกของไฮโดรเจลขึ้นทำให้ไม่สามารถวัดค่าของเหลว ณ จุดสมดุลหลังจากเวลาผ่านไป 4 ชั่วโมงได้ โดยค่าปริมาณของเหลว ณ จุดสมดุล ที่เวลา 2 ถึง 4 ชั่วโมงมีค่าประมาณร้อยละ 80 นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Sulaeva และคณะในปี ค.ศ. 2020 ที่นำเซลลูโลสจากแบคทีเรียแผ่นมาปั่นในสารละลายอัลจินต โดยพบว่ามีปริมาณของเหลว ณ จุดสมดุลหลังจากแช่ใน PBS 16 ชั่วโมง ประมาณร้อยละ 90 ซึ่งไฮโดรเจลที่ได้ไม่เกิดการแตกตัวเนื่องจากใช้เซลลูโลสแผ่นที่มีโครงสร้างร่างแหเชื่อมต่อกันทั้งแผ่น และให้อัลจินตแทรกเข้าไปในช่องว่างของเซลลูโลส<sup>15</sup> ในการศึกษาครั้งนี้  $BC_2P_5-1$  สามารถคงรูปอยู่ได้ตลอดเวลาการทดลอง ดังที่แสดงในรูปที่ 2 (1) โดยปริมาณการดูดซับของของเหลวเริ่มคงที่ประมาณร้อยละ 75 เมื่อเวลาผ่านไป 8 ชั่วโมง ทั้งนี้ไม่พบงานวิจัยที่ศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับของเหลวของไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียและเพกตินเป็นองค์ประกอบในการใช้เป็นวัสดุปิดแผล จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ตำรับ  $BC_2A_{0.5}-1$  แม้ว่าใน 4 ชั่วโมงแรกจะมีการดูดซับของเหลวได้มากกว่า แต่หลังจากเวลาผ่านไป ไฮโดรเจลเกิดการแตกตัวแตกต่างจาก  $BC_2P_5-1$  ที่สามารถคงรูปอยู่ได้ตลอดการทดลองที่ 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 ตำรับไฮโดรเจลที่คัดเลือก ( $BC_2A_{0.5}-1$  และ  $BC_2P_5-1$ ) ก่อนและหลังการทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง และภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 100 เท่า

| ตำรับ           | ไฮโดรเจลก่อนทำให้แห้ง                                                              | ไฮโดรเจลหลังทำให้แห้ง                                                               | SEM                                                                                  |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| $BC_2A_{0.5}-1$ |   |   |   |
| $BC_2P_5-1$     |  |  |  |

ตารางที่ 3 ความหนา เส้นผ่านศูนย์กลาง และ เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างก่อนและหลังทำให้แห้งของตำรับ  $BC_2A_{0.5}-1$  และ  $BC_2P_5-1$

| ตำรับ           | ความหนา (มิลลิเมตร)   |                       |                       | เส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร) |                        |                                 |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------------|------------------------|---------------------------------|
|                 | ก่อนทำให้แห้ง         | หลังทำให้แห้ง         | ร้อยละส่วนต่างความหนา | ก่อนทำให้แห้ง                 | หลังทำให้แห้ง          | ร้อยละส่วนต่างเส้นผ่านศูนย์กลาง |
| $BC_2A_{0.5}-1$ | $3.55 \pm 0.05^{a,c}$ | $3.49 \pm 0.12^{a,c}$ | 1.60                  | $33.09 \pm 0.54^{a,c}$        | $31.05 \pm 0.37^{a,c}$ | 6.17                            |
| $BC_2P_5-1$     | $4.77 \pm 0.12^{b,d}$ | $4.72 \pm 0.10^{b,d}$ | 0.98                  | $49.15 \pm 0.21^{b,d}$        | $47.40 \pm 0.69^{b,d}$ | 3.56                            |

หมายเหตุ ค่าที่ตามหลังด้วย a และ b ในแนวตั้ง c และ d ในแนวนอน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 4 ความแข็ง ความเค้น ความเครียด และค่ามอดูลัสของยังของตำรับ  $BC_2A_{0.5}-1$  และ  $BC_2P_5-1$

| ตำรับ           | ความแข็ง<br>(นิวตัน) | ความเค้น<br>(นิวตัน/ตารางมิลลิเมตร) | ความเครียด        | ค่ามอดูลัสของยัง<br>(นิวตัน/ตารางมิลลิเมตร) |
|-----------------|----------------------|-------------------------------------|-------------------|---------------------------------------------|
| $BC_2A_{0.5}-1$ | $10.33 \pm 0.93^a$   | $3.29 \pm 0.30^a$                   | $0.34 \pm 0.14^a$ | $10.98 \pm 4.49^a$                          |
| $BC_2P_5-1$     | $5.45 \pm 0.25^b$    | $1.74 \pm 0.08^b$                   | $0.27 \pm 0.01^a$ | $6.34 \pm 0.13^b$                           |

หมายเหตุ ค่าที่ตามหลังด้วย a และ b ในแนวตั้ง c และ d ในแนวนอน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

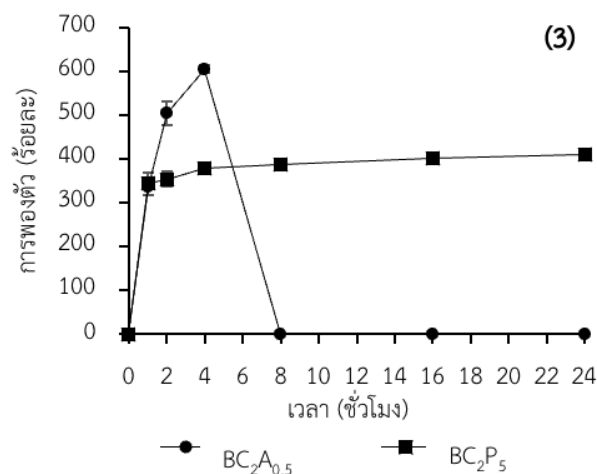
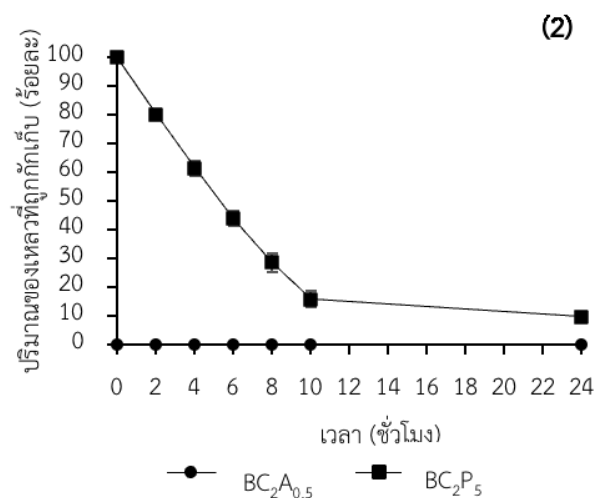
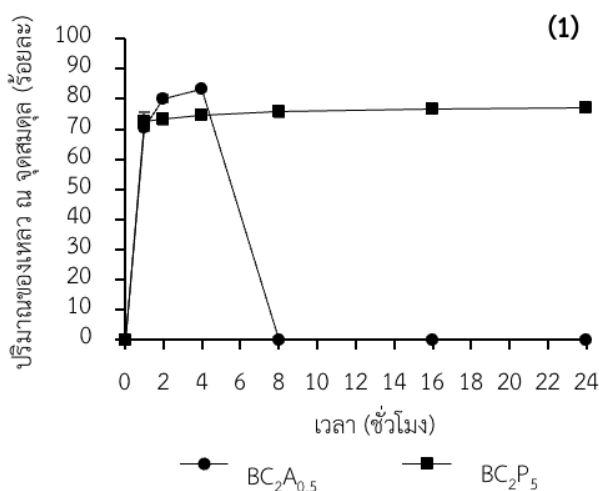
### ความสามารถในการกักเก็บของเหลว

การทดสอบความสามารถในการกักเก็บของเหลว โดยดูจากร้อยละปริมาณของเหลวที่ถูกกักเก็บของตัวรับ  $BC_2P_5-1$  มีแนวโน้มลดลงเนื่องจากการระเหยของของเหลวออกไป และเริ่มมีค่าคงที่ประมาณร้อยละ 10 หลังจากเวลาผ่านไป 10 ชั่วโมง ดังที่แสดงในรูปที่ 2 (2) แสดงให้เห็นว่าหากบริเวณบาดแผลแห้ง ไฮโดรเจลยังสามารถกักเก็บปริมาณของเหลวและให้ความเย็นแก่บาดแผลได้ประมาณ 10 ชั่วโมง สำหรับตัวรับ  $BC_2A_{0.5}-1$  ไม่สามารถวัดค่าได้เนื่องจากไฮโดรเจลเกิดการแตกกระจาย

เป็นชิ้นเล็ก ๆ หลังจากแช่ใน PBS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ไม่สามารถชั่งน้ำหนักของไฮโดรเจลเริ่มต้นเพื่อใช้ในการคำนวณค่าปริมาณของเหลวที่ถูกกักเก็บ ทั้งนี้ยังไม่พบงานวิจัยที่ทดสอบความสามารถในการกักเก็บของเหลวของไฮโดรเจลที่ใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียกับอัลจินตหรือเพกตินเพื่อใช้เป็นวัสดุปิดแผล

### การพองตัวของไฮโดรเจล

ค่าการพองตัวของทั้ง 2 ตัวรับ มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในช่วงแรก แต่พบว่าหลังจากแช่  $BC_2A_{0.5}-1$  ใน PBS



**รูปที่ 2** ความสัมพันธ์ร้อยละระหว่างปริมาณของเหลว ณ จุดสมดุลกับเวลา (1) ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละปริมาณของเหลวที่ถูกกักเก็บกับเวลา (2) และความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการพองตัวกับเวลา (3) ของตำรับ  $BC_2A_{0.5}-1$  และ  $BC_2P_5-1$  ตามลำดับ

พบว่า  $BC_2A_{0.5}-1$  เกิดการแตกเป็นชิ้นเล็ก ๆ หลังจากเวลาผ่านไป 4 ชั่วโมง ทำให้ไม่สามารถคำนวณค่าการพองตัวที่เวลาหลังจาก 4 ชั่วโมงได้ แม้ว่าในช่วง 4 ชั่วโมงแรก  $BC_2A_{0.5}-1$  มีค่าร้อยละการพองตัวสูงกว่า  $BC_2P_5-1$  อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 2-4 ชั่วโมง รูปที่ 2 (3) โดยมีค่าการพองตัวสูงประมาณร้อยละ 600 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Li และคณะในปี ค.ศ. 2021 ที่ร้อยละ 613 โดยใช้ความเข้มข้นของอัลจินตร้อยละ 0.75 โดยมวลต่อปริมาตร และตำรับไม่เกิดการแตกตัวหลังจากแช่ใน PBS 16 ชั่วโมง เนื่องจาก Li เตรียมไฮโดรเจลโดยให้แบคทีเรียสร้างเซลล์ูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัลจินตเป็นระยะเวลา 10 วัน<sup>16</sup> แต่อย่างไรก็ตาม  $BC_2P_5-1$  ไม่เกิดการแตกเป็นชิ้นเล็ก ๆ และค่าการพองตัวมีแนวโน้มคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 8 ชั่วโมง โดยสามารถพองตัวเพื่อดูซับของเหลวได้ประมาณ 4 เท่าของน้ำหนัก ทั้งนี้ไม่พบงานวิจัยอื่นที่ศึกษาการพองตัวของไฮโดรเจลที่มีเซลล์ูโลสจากแบคทีเรียและเพกตินเป็นองค์ประกอบ ในการใช้เป็นวัสดุปิดแผล

### ความคงทน

จากการทดสอบค่าความคงทนของไฮโดรเจลเพื่อดูความสามารถในการคงรูปของไฮโดรเจลขณะใช้งานพบว่าตำรับ  $BC_2A_{0.5}-1$  เกิดการแตกตัวเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขึ้นหลังจากแช่ PBS ไว้ 24 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าหากนำมาใช้จริง เช่น การนำไปพัฒนาเป็นวัสดุปิดแผลระหว่างที่ดูดซับของเหลวจากบาดแผล ไฮโดรเจลจะเกิดการแตกตัวไม่เหมาะสมในการนำมาใช้งาน ซึ่งการแตกของไฮโดรเจลที่มีอัลจินตนี้อาจเกิดจากกระบวนการออกซิเดชันของอัลจินตที่เปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซีให้กลายเป็นหมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde) ทำให้พันธะระหว่างคาร์บอนในหน่วยยูโรเนต (uronate residue) เกิดการสลายตัว และเกิดการเปลี่ยนแปลงการจัดเรียงตัวของโมเลกุล ส่งผลให้เวลาที่ไฮโดรเจลแช่น้ำเกิดการแตกออก ได้ง่ายขึ้น<sup>24,25</sup> แต่

งานวิจัยของ Sulaeva และคณะในปี ค.ศ. 2020 แสดงให้เห็นว่าไฮโดรเจลจากเซลล์ูโลสจากแบคทีเรียและอัลจินตมีความคงทนประมาณร้อยละ 95 เนื่องจากวิธีการเตรียมไฮโดรเจลที่แตกต่างกัน โดยให้แบคทีเรียสร้างเซลล์ูโลสในสารละลายอัลจินตก่อนนำมาเชื่อมขวางด้วยสารละลายแคลเซียมคลอไรด์<sup>15</sup> อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้  $BC_2P_5-1$  สามารถคงรูปอยู่ได้ โดยมีค่าความคงทนอยู่ที่ร้อยละ  $30.85 \pm 0.50$  ค่าที่ค่อนข้างน้อยอาจเนื่องมาจากการละลายของพอลิเอทิลีน ไกลคอล 1500 ซึ่งมีปริมาณมากที่สุดในการตำรับประมาณ 1.2 กรัม จากน้ำหนักแผ่นไฮโดรเจลประมาณ 1.6 กรัม ดังนั้นในการศึกษานี้  $BC_2P_5-1$  มีร้อยละความคงทนมากกว่า  $BC_2A_{0.5}-1$  จึงเหมาะสมแก่การนำไปพัฒนาเพื่อใช้เป็นวัสดุปิดแผลในทางเภสัชกรรมต่อไป หากต้องการเตรียมไฮโดรเจลโดยใช้วิธีการวิจัยของการศึกษานี้

### ผลของปริมาณเซลล์ูโลสจากแบคทีเรียต่อคุณสมบัติของไฮโดรเจล

ปริมาณของเซลล์ูโลสจากแบคทีเรียในตำรับที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลต่อความสามารถในการกักเก็บของเหลวของไฮโดรเจลที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากคุณสมบัติการอุ้มน้ำของเซลล์ูโลสจากแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังส่งผลให้ความแข็งแรงของไฮโดรเจลเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากโครงสร้างสามมิติที่สานกันเป็นร่างแห สามารถเพิ่มความแข็งแรงของไฮโดรเจลที่ได้ แต่ในขั้นตอนการเตรียมอาจได้ไฮโดรเจลผิวหน้าที่ไม่เรียบเนื่องจากเซลล์ูโลสจากแบคทีเรียดูดน้ำเข้าหาตัว จึงอาจเกิดลักษณะของเจลขึ้น โดยปริมาณของเซลล์ูโลสจากแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้น ไม่ได้มีผลต่อฤทธิ์ฆ่าเชื้อในการปิดแผล แต่อาจจะส่งผลต่อการป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเข้าไปยังบริเวณบาดแผล เนื่องจากโครงสร้างที่สานกันมีรูพรุนขนาดเล็กจำนวนมาก ซึ่งเชื้อแบคทีเรียไม่สามารถผ่านรูพรุนนี้ได้<sup>26</sup>

## สรุปผลการศึกษา

จากการพัฒนาตำรับไฮโดรเจลที่ใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับอัลจิเนตหรือเพกติน พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 3:7 และความเข้มข้นของอัลจิเนตและเพกตินที่เหมาะสมคือความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ตามลำดับ ในการเตรียมตำรับ หลังจากเทสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ลงไป พบว่าตำรับ  $BC_2A_{0.5}-1$  เกิดการหดตัว เนื่องจากหมู่คาร์บอกซิลของอัลจิเนตเกิดการจับกับแคลเซียมไอออนได้ในปริมาณมาก แตกต่างจากตำรับ  $BC_2P_5-1$  ที่ไม่เกิดการหดตัว จากการศึกษาสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่าไฮโดรเจลทั้งสองตำรับมีรูพรุนไม่แตกต่างกัน ในการทดสอบสมบัติของไฮโดรเจล พบว่าตำรับ  $BC_2A_{0.5}-1$  ไม่สามารถหาค่าร้อยละปริมาณของเหลว ณ จุดสมดุล และร้อยละการพองตัวหลังจากผ่านไป 4 ชั่วโมงได้ รวมไปถึงค่าความสามารถในการกักเก็บของเหลว และค่าความคงทนได้ เนื่องจากไฮโดรเจลเกิดการแตกออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ ซึ่งอาจเนื่องมาจากกระบวนการออกซิเดชันของหมู่ไฮดรอกซีภายในโมเลกุลของอัลจิเนตโดยเปลี่ยนเป็นหมู่แอลดีไฮด์ แตกต่างจากตำรับ  $BC_2P_5-1$  ที่มีแนวโน้มของค่าร้อยละปริมาณของเหลว ณ จุดสมดุล และการพองตัวที่เพิ่มมากขึ้นและคงที่เมื่อผ่านไป 8 ชั่วโมง และไม่เกิดการแตกเป็นชิ้นเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ค่าความสามารถในการกักเก็บของเหลวก็มีแนวโน้มลดลงและเริ่มคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 10 ชั่วโมง และมีความคงทนอยู่ที่ร้อยละ  $30.85 \pm 0.50$  เนื่องจากการละลายของพอลิเอทิลีน ไกลคอล 1500 ในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าตำรับ  $BC_2P_5-1$  ที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียและมีเพกตินเป็นองค์ประกอบเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นต้นแบบในการพัฒนาไฮโดรเจลที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรีย เนื่องจากมีวิธีการผลิตไม่ยุ่งยาก ซับซ้อน สามารถผลิตได้เร็ว และมีคุณสมบัติที่ดีของไฮโดรเจลซึ่งสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สวดุบัติผล เพื่อการประยุกต์ใช้ทางเภสัชกรรม โดยจะมีการเติมสารต้านเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากไฮโดรเจลที่ได้ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ

แบคทีเรีย เพียงแต่ป้องกันไม่ให้แบคทีเรียเข้าไปบริเวณบาดแผล หรือเติมสารกระตุ้นให้เกิดกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อ เพื่อให้แผลหายเร็ว ซึ่งจะเป็นการเพิ่มคุณภาพชีวิตให้ผู้ป่วยต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## เอกสารอ้างอิง

- Endler A, Schneider R, Kesten C, Lampugnani ER, Persson S. The Cellulose synthase companion proteins act non-redundantly with cellulose synthase interacting1/POM2 and cellulose synthase 6. *Plant Signal Behav.* 2016;11(4):e1135281.
- Klemm D, Heublein B, Fink HP, Bohn A. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angew Chem Int Ed.* 2005;44(22):3358–93.
- Ross P, Mayer R, Benziman M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiol Rev.* 1991;55(1):35–58.
- Wasilewska K, Winnicka K. Ethylcellulose-a pharmaceutical excipient with multidirectional application in drug dosage forms development. *Materials.* 2019;12(20):3386.
- Gorgieva S, Trček J. Bacterial cellulose: production, modification and perspectives in biomedical applications. *Nanomaterials.* 2019;9(10):1352.
- Hu W, Chen S, Yang J, Li Z, Wang H. Functionalized bacterial cellulose derivatives and nanocomposites. *Carbohydr Polym.* 2014;101:1043–60.
- Sannino A, Demitri C, Madaghiale M. Biodegradable cellulose-based hydrogels: design and applications. *Materials.* 2009;2(2):353–73.
- Swingler S, Gupta A, Gibson H, Kowalczyk M, Heaselgrave W, Radecka I. Recent advances and applications of bacterial cellulose in biomedicine. *Polymers.* 2021;13(3):412.
- Mohamad N, Loh E, Fauzi MB, Ng MH, Mohd AM. In Vivo evaluation of bacterial cellulose/ acrylic acid wound dressing hydrogel containing keratinocytes and fibroblasts for burn wounds. *Drug Deliv Transl Res.* 2019;9(2):444–52.
- Hennink WE, van Nostrum CF. Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002;54(1):13–36.

11. Bhattarai N, Gunn J, Zhang M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010;62(1):83–99.
12. Hoare TR, Kohane DS. Hydrogels in drug delivery: progress and challenges. *Polymer.* 2008;49(8):1993–2007
13. Vlaia L, Coneac G, Olariu I, Vlaia V, Lupuleasa D. Cellulose-derivatives- based hydrogels as vehicles for dermal and transdermal drug delivery. *IntechOpen.* 2016;2(2):64–70.
14. Phisalaphong M, Suwanmajo T, Tammarate P. Synthesis and characterization of bacterial cellulose/alginate blend membranes. *J Appl Polym Sci.* 2008;107:3419-24.
15. Sulaeva I, Hettegger H, Bergen A, Rohrer C, Kostić MM, Konnerth J, Rosenau T, Potthast A. Fabrication of bacterial cellulose- based wound dressings with improved performance by impregnation with alginate. *Mater Sci Eng C.* 2020;110:110619.
16. Li J, Fenglun Z, Liwei Z, Jianxin J. An In-situ fabrication of bamboo bacterial cellulose/ sodium alginate nanocomposite hydrogels as carrier materials for controlled protein drug delivery. *Int J Biol Macromol.* 2021;170:459-68.
17. Chen W, Yuan S, Shen J, Chen Y, Xiao Y. A Composite hydrogel based on pectin/ cellulose via chemical cross-linking for hemorrhage. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021;8:627351.
18. Lopez SP, Martinez SM, Bonilla MR, Wang D, Gilbert EP, Stokes JR, Gidley MJ. Cellulose- pectin composite hydrogels: intermolecular interactions and material properties depend on order of assembly. *Carbohydr Polym.* 2017;162:71–81.
19. Fan F, Saha S, Hanjaya-Putra D. Biomimetic hydrogels to promote wound healing. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021;9:718377.
20. Jones V, Grey JE, Harding KG. Wound dressings. *BMJ.* 2006;332(7544):777-80.
21. Brumberg V, Astrelina T, Malivanova T, Samoilov A. Modern wound dressings: hydrogel dressings. *Biomedicines.* 2021;9(9):1235.
22. Kuo CK, Ma PX. Maintaining dimensions and mechanical properties of ionically crosslinked alginate hydrogel scaffolds in vitro. *J Biomed Mater Res A.* 2008;84(4):899-907.
23. Salisu A, Sanagi MM, Abu NA, Wan IWA, Karim KJ. Removal of lead ions from aqueous solutions using sodium alginate-graft-poly(methyl methacrylate) beads. *Desalination Water Treat.* 2016;57(33):1-9.
24. Gao C, Liu M, Chen J, Zhang X. Preparation and controlled degradation of oxidized sodium alginate hydrogel. *Polym Degrad Stab.* 2009;94:1405-10.
25. Wang H, Chen X, Wen Y, Li D, Sun X, Liu Z, Yan H, Lin Q. A Study on the correlation between the oxidation degree of oxidized sodium alginate on its degradability and gelation. *Polymers.* 2022;14(9):1679.
26. Mohite BV, Koli SH, Patil SV. Bacterial cellulose- based hydrogels: synthesis, properties, and applications. *Polym Polym Compos A Ref Ser.* 2019:1255–76.