

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยนาโนบริโภาคได้ จากสารผสมไคโตแซน-เซลลูโลสอะซิเตท-เจลาติน เสริมน้ำมันหอมระเหยยูจีนอล โดยวิธีปั่น และปั่น-พ่นด้วยไฟฟ้าสถิต Morphology of Edible Nanofibers Based Chitosan-Cellulose Acetate-Gelatin Blend Fortified with Eugenol by Electrospinning and Electrospinning-Spraying Techniques

รชา เทพสร* และจรรยาพร สมทรัพย์

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Racha Tepsorn* and Jaruyaporn Somsap

Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology,
Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยนาโนบริโภาคได้จากสารละลายผสมไคโตแซน-เซลลูโลสอะซิเตท-เจลาติน เสริมน้ำมันหอมระเหยยูจีนอล โดยวิธีปั่นและปั่น-พ่นด้วยไฟฟ้าสถิต สำหรับการผลิตเส้นใยเสริมยูจีนอลแบบปั่นด้วยไฟฟ้าสถิตเตรียมได้โดยผสมยูจีนอลร้อยละ 0, 1.5 และ 3.0 กับสารละลายพอลิเมอร์ไคโตแซน-เซลลูโลสอะซิเตท-เจลาติน เส้นใยที่ได้มีเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 152.32 ± 41.47 , 232.63 ± 104.97 และ 246.05 ± 84.36 นาโนเมตร ตามลำดับ พบว่าเมื่อปริมาณยูจีนอลเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เส้นใยมีขนาดใหญ่ขึ้น นอกจากนี้เส้นใยที่ไม่มีการเติมยูจีนอลมีลักษณะเรียบและสม่ำเสมอ ในขณะที่เส้นใยที่เสริมยูจีนอลร้อยละ 1.5 และ 3.0 มีจุดเชื่อมเกิดขึ้นและขนาดไม่สม่ำเสมอ สำหรับการเสริมยูจีนอลโดยการปั่น-พ่นด้วยไฟฟ้าสถิตพบว่าแผ่นเส้นใยที่ผ่านการปั่น-พ่นยูจีนอลมีลักษณะไม่เรียบเนื่องจากมีอนุภาคขนาดเล็กของยูจีนอลกระจายทั่วไปบนเส้นใย โดยขนาดของอนุภาคยูจีนอลมีเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 225.96 ± 171.14 นาโนเมตร เมื่อเสริมยูจีนอลร้อยละ 1.5 และมีขนาดลดลงเป็น 156.90 ± 134.42 นาโนเมตร เมื่อพ่นด้วยยูจีนอลร้อยละ 3.0 อย่างไรก็ตาม ควรมีการทดสอบสมบัติของแผ่นเส้นใยเสริมยูจีนอลเพิ่มเติมในด้านการปลดปล่อยสารสำคัญ สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์และสมบัติทางกายภาพก่อนนำไปประยุกต์ใช้งานในด้านต่าง ๆ ได้แก่ แผ่นปิดแผล แผ่นโครงเลี้ยงเซลล์ ตัวนำส่งยา และบรรจุภัณฑ์อาหาร เป็นต้น

คำสำคัญ : การปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต; การพ่นด้วยไฟฟ้าสถิต; เส้นใยนาโน; ยูจีนอล

*ผู้รับผิดชอบบทความ : rtepsorn@tu.ac.th

Abstract

The objective of this research was to investigate the morphology of edible electrospun chitosan-cellulose acetate-gelatin blended nanofibers fortified with eugenol by electrospinning and electrospinning-spraying technique. For the preparation of fortified eugenol electrospun nanofiber mats, eugenol (0, 1.5 and 3.0 %) was incorporated into chitosan-cellulose acetate- gelatin solutions which were successfully electrospun into mats with average fiber diameters 152.32 ± 41.47 , 232.63 ± 104.97 and 246.05 ± 84.36 nm respectively. The fiber diameters increased by increasing the concentration of eugenol. In addition, the smooth and continuous uniform nanofibers were obtained without eugenol formulated while larger fiber diameter with junction was obtained at the concentration of eugenol of 1.5 and 3.0 %. For the fortification of eugenol by electrospraying, electrospun nanofiber mats were rough due to the eugenol droplet attached on the surface of chitosan-cellulose acetate-gelatin nanofibers when incorporated at 1.5 and 3.0 %. Spraying with the eugenol at 1.5 % showed the average droplet diameters of 225.96 ± 171.14 nm and the average droplet diameters decreased to 156.90 ± 134.42 nm when the concentration of eugenol in sprayed solution was increased to 3.0 %. However, the releasing profile, the antimicrobial activity and physical properties of electrospun nanofiber mats should be further investigated before various application such as wound dressing, tissue scaffolding, drug delivery and food packaging.

Keywords: electrospinning; electrospraying; nanofibers; eugenol

1. บทนำ

ความก้าวหน้าทางนาโนเทคโนโลยีในปัจจุบันพัฒนาอย่างรวดเร็ว ทำให้มีการนำนาโนเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้งานหลายด้าน เพื่อตอบสนองความต้องการของมนุษย์ ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร สุขภาพ การแพทย์ เครื่องสำอาง วิศวกรรม วิทยาศาสตร์สิ่งทอ และการทหาร เป็นต้น [1] นาโนเทคโนโลยีเป็นการพัฒนาวัสดุที่มีโครงสร้างขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร โดยรูปแบบผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่เกิดจากนาโนเทคโนโลยี เช่น นาโนอิมัลชัน (nanoemulsions) นาโนพาร์ติเคิล (nanoparticles) ลิโปโซม (liposomes) และเส้นใยนาโน (nanofibers) ฯลฯ [1,2] เทคนิคการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospinning) และการพ่นละอองด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospraying) เป็นเทคโนโลยีที่มีประสิทธิ-

ภาพสำหรับผลิตเส้นใยหรืออนุภาค (droplet) ที่มีขนาดระดับไมโครเมตรถึงนาโนเมตร [3] กระบวนการดังกล่าวนี้มีจุดเด่น คือ มีความยืดหยุ่นต่อการเลือกใช้วัตถุดิบตั้งต้น สามารถควบคุมลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยหรืออนุภาคและปรับขนาดได้ง่าย และอุปกรณ์ไม่ซับซ้อน [4] อุปกรณ์พื้นฐานของกระบวนการปั่นเส้นใยและการพ่นละอองด้วยไฟฟ้าสถิตประกอบด้วย 4 ส่วนหลัก คือ แหล่งกำเนิดไฟฟ้าศักย์สูง (high voltage power supply) หลอดบรรจุสารละลายที่ปลายติดกับเข็ม (syringe with needle) เครื่องจ่ายสารละลาย (syringe pump) และแผ่นรองรับเส้นใย (collector) [3,5] หลักการของกระบวนการปั่นและพ่นละอองด้วยไฟฟ้าสถิตอาศัยแรงทางไฟฟ้าที่เกิดจากไฟฟ้าศักย์สูง โดยในกระบวนการปั่นด้วยไฟฟ้า

สวิตช์ แรงทางไฟฟ้าจะส่งผลให้สารละลายพอลิเมอร์ที่ละลายเชื่อมยึดออกเป็นรูปร่างทรงกรวย เมื่อสนามไฟฟ้าที่ให้มีความมากกว่าแรงตึงผิวของสารละลายพอลิเมอร์ จะเกิดแรงขับเคลื่อนให้สารละลายพอลิเมอร์พุ่งออกมาเป็นสายตกลงสู่แผ่นรองรับที่มีประจุตรงข้าม ในระหว่างการเคลื่อนที่ลงสู่แผ่นรองรับ จะเกิดการเหวี่ยงของลำพอลิเมอร์อย่างไม่มีเสถียรภาพ เนื่องจากเกิดแรงผลักกันระหว่างประจุ ส่งผลให้ลำพอลิเมอร์เกิดการยืดออก และเกิดการระเหยของตัวทำละลายทำให้ได้เส้นใยที่มีขนาดเล็กและแห้งติดอยู่ที่แผ่นรองรับแบบไม่ถักทอ (nonwoven) [6-8] ในขณะที่กระบวนการปั่นละอองด้วยไฟฟ้าสวิตช์ สารละลายพอลิเมอร์จะถูกพ่นออกมาเป็นอนุภาคนาโนขนาดเล็กและเคลื่อนที่ลงสู่แผ่นรองรับ โดยความแตกต่างระหว่างทั้งสองกระบวนการนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ เมื่อสารละลายมีความเข้มข้นสูง จะเกิดการฟอร์มตัวเป็นกรวยเทเลอร์ และเกิดการยืดออก ถ้าสารละลายพอลิเมอร์มีความเข้มข้นต่ำ จะเกิดการฟอร์มตัวเป็นอนุภาค เนื่องจากสารละลายมีความหนืดต่ำและแรงตึงผิวสูง [3,9] เส้นใยนาโนที่ได้จากกระบวนการปั่นด้วยไฟฟ้าสวิตช์ (electrospun nanofiber) มีสมบัติพิเศษ คือ มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง น้ำหนักเบา มีความยืดหยุ่น และรูพรุนสูง ทำให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในหลายด้าน เช่น แผ่นกรองนาโน แผ่นปิดแผล แผ่นโครงเลี้ยงเซลล์ (tissue scaffolding) ตัวนำส่งยา (drug delivery) และบรรจุภัณฑ์อาหาร ฯลฯ [3,5,10,11] พอลิเมอร์ที่นำมาผลิตเป็นเส้นใยนาโนสามารถใช้ได้ทั้งพอลิเมอร์สังเคราะห์และพอลิเมอร์ธรรมชาติ อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันพอลิเมอร์ธรรมชาติเป็นที่นิยมใช้มากขึ้นด้วยสมบัติที่ย่อยสลายได้ในร่างกาย เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และมีความเป็นพิษต่ำ สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเส้นใยนาโนบริโภคได้และการเสริมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร

เข้าไปในเส้นใยนาโน มีการศึกษาในเรื่องดังกล่าวมาน้อยมาก งานวิจัยนี้เลือกใช้พอลิเมอร์ธรรมชาติ 3 ชนิดผสมกัน ได้แก่ ไคโตแซน เซลลูโลสอะซิเตท และเจลาติน ซึ่งพอลิเมอร์ดังกล่าวสามารถบริโภคได้และย่อยสลายได้ในร่างกาย จึงนำมาใช้ในงานการอุตสาหกรรมอาหารอย่างแพร่หลาย รวมถึงการประยุกต์ใช้ในงานด้านอื่น ได้แก่ ชีวภาพการแพทย์ เครื่องสำอาง สิ่งทอ เป็นต้น

ไคโตแซน (chitosan) เป็นอนุพันธ์ของไคตินที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซิเตทของไคติน (deacetylation) ในสารละลายด่างเข้มข้น ซึ่งไคโตแซนที่ได้มีชื่อทางเคมีว่า poly [β -(1-4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose] มีสมบัติที่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์เกือบทั้งหมดและน้ำที่มีค่า pH เป็นกลาง แต่สามารถละลายได้ในกรดอ่อน มีการนำไคโตแซนไปใช้ประโยชน์หลากหลายด้านเนื่องจากไคโตแซนสามารถเข้ากับเนื้อเยื่อ (biocompatibility) ย่อยสลายทางชีวภาพได้ (biodegrade ability) และมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial activity) เป็นต้น [12,13,14] เจลาติน (gelatin) เป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติซึ่งเป็นโปรตีนที่สกัดได้จากคอลลาเจน มีราคาถูก สามารถละลายได้ในน้ำร้อน ไม่ละลายในน้ำเย็น และละลายได้ในกรดอะซิติก (acetic acid) [4,15,16] ส่วนเซลลูโลสและอนุพันธ์ เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีการหมุนเวียนและใช้มากที่สุด โดยมีการประยุกต์ใช้ในหลายด้านเนื่องจากมีความเสถียรต่ออุณหภูมิ ทนสารเคมี และย่อยสลายทางชีวภาพได้ เซลลูโลสอะซิเตทเป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลสที่มีความสำคัญ มีความสามารถละลายในกรดอะซิติกได้ [17,18] มีหลายงานวิจัยที่ประสบความสำเร็จในการผลิตเส้นใยนาโนโดยใช้พอลิเมอร์แบบเดี่ยวจากไคโตแซน เซลลูโลสอะซิเตท และเจลาติน เช่น Geng และคณะ (2005) ผลิตเส้นใยนาโนจากไคโตแซนโดยใช้กรดอะซิติกเป็นตัวทำละลาย พบว่าเส้นใยนาโน มีลักษณะเรียบ สม่ำเสมอ และมีเส้นผ่าน

ศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 130 นาโนเมตร เมื่อเตรียมสารละลายโคโตแซนเข้มข้นร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก และใช้กรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 90 เป็นตัวละลาย นอกจากนี้พบว่าควรใช้กรดอะซิติกที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 30 หากต่ำกว่าจะไม่สามารถเกิดเส้นใยได้ในขณะที่เมื่อใช้กรดอะซิติกสูงกว่าร้อยละ 90 พบว่าโคโตแซนไม่สามารถละลายอย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ Choktaweessap และคณะ (2007) ได้ผลิตเส้นใยนาโนจากเจลาตินเข้มข้นร้อยละ 15-29 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งใช้กรดอะซิติกเป็นตัวทำละลาย พบว่าเส้นใยที่ได้มีลักษณะเรียบ สม่ำเสมอ และไม่มีบวม (bead) เมื่อสารละลายเจลาตินมีระดับความเข้มข้นร้อยละ 21-29 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยเส้นใยนาโนมีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 214-839 นาโนเมตร นอกจากนี้พบว่าเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เส้นใยจะมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วน Han และคณะ (2007) ได้แสดงให้เห็นว่าเซลลูโลสอะซิเตทสามารถผลิตเป็นเส้นใยนาโนที่มีลักษณะเรียบและสม่ำเสมอเมื่อสารละลายเซลลูโลสอะซิเตทมีความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 17 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและใช้กรดอะซิติกเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 70 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นตัวทำละลาย สำหรับสารละลายผสมสองชนิดระหว่างโคโตแซนและเจลาติน โคโตแซนและเซลลูโลสอะซิเตท เจลาตินและเซลลูโลสอะซิเตท สามารถนำมาผลิตเป็นเส้นใยนาโนโดยกระบวนการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิตได้ดี [17,19-21]. อย่างไรก็ตาม การใช้พอลิเมอร์มากกว่าสองชนิดที่มีสมบัติเฉพาะตัว เช่น เพิ่มความเหนียวหรือลดความสามารถการละลายน้ำ สามารถใช้ในการปรับปรุงสมบัติของแผ่นเส้นใยนาโนให้ดีขึ้นได้ สำหรับยูจินอลเป็นน้ำหอมระเหยที่มีสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เป็นองค์ประกอบหลัก สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) โดยสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้กว้างขวาง (broad

spectrum) เช่น ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ฟังไจ และไวรัส [22-24] อีกทั้งยังไม่พบรายงานการวิจัยการผลิตเส้นใยนาโนจากสารละลายผสมสามชนิด (โคโตแซน-เซลลูโลสอะซิเตท-เจลาติน) ที่เสริมยูจินอล โดยวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยนาโนบริโคที่ได้ซึ่งได้จากพอลิเมอร์ผสมระหว่างโคโตแซน เซลลูโลสอะซิเตท และเจลาตินเสริมยูจินอล โดยวิธีปั่นและปั่น-พ่นด้วยไฟฟ้าสถิต หากประสบความสำเร็จจะถือได้ว่าเป็นกระบวนการการพัฒนาและปรับปรุงวัสดุนาโน (nano material) ให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น สำหรับการประยุกต์ในงานต่าง ๆ เช่น ผลิตบรรจุภัณฑ์อาหารที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมสารละลายพอลิเมอร์ผสม

พอลิเมอร์ที่ใช้ในการวิจัยนี้ประกอบด้วยโคโตแซนจากเปลือกกุ้งและเจลาติน (250 bloom) จากบริษัทไทยฟูด แอนด์ เคมิคอล จำกัด (ประเทศไทย) เซลลูโลสอะซิเตทจาก Aldrich (ประเทศสหรัฐอเมริกา) เตรียมสารละลายแต่ละชนิดแยกกัน โดยเตรียมโคโตแซน (degree of deacetylation 95.04 %) เข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เซลลูโลสอะซิเตทเข้มข้นร้อยละ 18 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเจลาตินเข้มข้นร้อยละ 30 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำพอลิเมอร์แต่ละชนิดละลายด้วยกรดอะซิติกร้อยละ 80 โดยปริมาตรต่อปริมาตร กวนจนละลายสมบูรณ์ จากนั้นนำสารละลายโคโตแซน เซลลูโลสอะซิเตท และเจลาตินมาผสมกันในอัตราส่วน 4:1:5 โดยน้ำหนักตามลำดับ กวนให้เป็นเนื้อเดียวกันจะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายพอลิเมอร์ผสมร้อยละ 18.8 โดยน้ำหนัก เติมยูจินอลลงในสารละลายผสม ให้มีความ

เข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 3.0 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และกวนจนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำเข้าสู่กระบวนการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospinning process) ในส่วนของการเตรียมยูจีนอลสำหรับพ่นเตรียมได้โดยการเตรียมสารละลาย soy protein isolate เข้มข้นร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แล้วละลายด้วยกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 80 โดยปริมาตรต่อปริมาตร กวนจนละลายสมบูรณ์ เติมยูจีนอลลงไปให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 3.0 โดยน้ำหนักตามลำดับ

2.2 กระบวนการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต

นำสารละลายผสมไคโตแซน-เซลลูโลสอะซิเตท-เจลาตินที่มีน้ำมันยูจีนอลผสมอยู่ร้อยละ 1.5 และ 3.0 โดยน้ำหนัก มาบรรจุในกระบอกฉีดยาพลาสติกขนาด 10 มิลลิลิตร ที่มีเข็มฉีดยาทุกขนาด 18 เกจติดอยู่ จากนั้นนำไปวางลงในเครื่อง syringe pump (New Era NE-300, USA) โดยปรับอัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง แรงดันไฟฟ้า 23 กิโลโวลต์ ระยะห่างระหว่างปลายเข็มและแผ่นรองรับเส้นใย 10 เซนติเมตร

2.3 กระบวนการปั่น-พ่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต

วิธีการเตรียมเส้นใยนาโนเสริมน้ำมันยูจีนอลแบบปั่น-พ่นด้วยไฟฟ้าสถิต ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก คือ (1) ผลิตเส้นใยนาโนโดยการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospinning) และ (2) พ่นด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospraying) ลงบนแผ่นเส้นใย รายละเอียดมีดังนี้ นำสารละลายผสมไคโตแซน-เซลลูโลสอะซิเตท-เจลาตินเข้าสู่กระบวนการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิตโดยใช้สภาวะเดียวกันกับข้อ 2.2 ใช้เวลาปั่น 90 นาที จากนั้นนำสารละลาย soy protein isolate เข้มข้นร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่มียูจีนอลผสมอยู่ร้อยละ 1.5 และ 3.0 โดยน้ำหนัก บรรจุในกระบอกฉีดยาพลาสติกขนาด 10 มิลลิลิตร ที่มีเข็มฉีดยาทุกขนาด 18 เกจ

ติดอยู่ที่ปลายเข็ม โดยปรับอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง แรงดันไฟฟ้า 25 กิโลโวลต์ และระยะห่างระหว่างปลายเข็มและแผ่นรองรับเส้นใย 25 เซนติเมตร พ่นนาน 30 นาที การเตรียมแผ่นเส้นใยนาโน ดำเนินการภายใต้อุณหภูมิห้อง โดยตัวอย่างแผ่นเส้นใยจะทิ้งไว้ให้แห้ง 1 คืน เพื่อให้ตัวทำละลายที่ตกค้างระเหยออกไป

2.4 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง

นำแผ่นตัวอย่างที่ได้ ทิ้งไว้ให้แห้ง 1 คืน เพื่อให้ตัวทำละลายที่ตกค้างระเหยออกไป จากนั้นตัดแผ่นตัวอย่างให้มีขนาดประมาณ 1×1 เซนติเมตร และนำไปติดบนแท่นติดตัวอย่าง จากนั้นฉาบเคลือบด้วยทองเพื่อให้น้ำไฟฟ้า ก่อนที่จะตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยนาโนด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) (SEM JSM-7800F, JEOL, MA, USA) ที่กำลังขยาย 10,000-30,000 เท่า วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยโดยสุ่ม 50 จุดของภาพ หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ข้อมูลการวิจัยด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

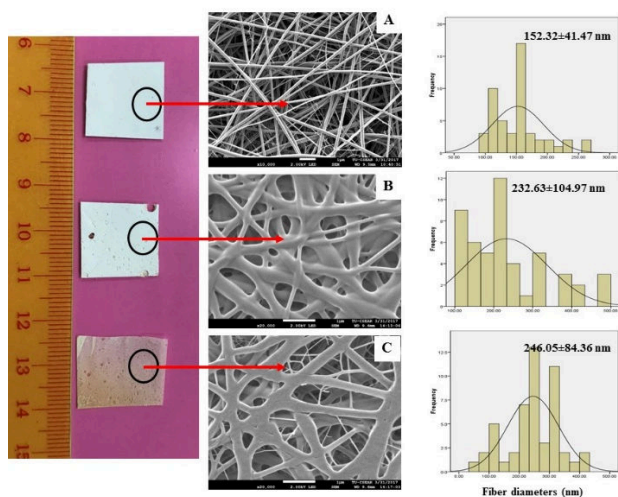
3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยนาโนเสริมยูจีนอลแบบปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต

การใช้สารละลายพอลิเมอร์ผสม (ไคโตแซน-เซลลูโลสอะซิเตท-เจลาติน) ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 18.8 โดยน้ำหนัก และเติมยูจีนอลลงไปร้อยละ 0, 1.5 และ 3.0 โดยน้ำหนัก ผลิตเส้นใยโดยใช้แรงดันไฟฟ้า 23 กิโลโวลต์ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อ

ข้าวโม่ และระยะห่างระหว่างปลายเข็มและแผ่นรองรับ 10 เซนติเมตร พบว่าได้เส้นใยที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 152.32 ± 41.47 , 232.63 ± 104.97 และ 246.05 ± 84.36 นาโนเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 1) จะเห็นได้ว่าเมื่อมีปริมาณยูจินอลเพิ่มขึ้น เส้นใยที่ได้จะมีขนาดใหญ่ขึ้น โดยเส้นใยที่ไม่มีการเติมยูจินอลมีลักษณะเรียบและสม่ำเสมอ ในขณะที่เส้นใยที่เสริมยูจินอลเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 3.0 โดยน้ำหนัก มีจุดเชื่อม (junction) เกิดขึ้นและมีขนาดไม่สม่ำเสมอ โดยการเติมยูจินอลโดยตรงลงในสารละลายส่งผลให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคน้ำมันภายหลังผ่านกระบวนการการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต เนื่องจากความไม่เสถียรของน้ำมัน ด้วยเหตุนี้จึงสังเกตเห็นจุดเชื่อมระหว่างเส้นใยและเป็น

ปัจจัยที่ทำให้เส้นใยมีขนาดใหญ่ขึ้น และตัวทำละลายระเหยออกไปได้ช้า เมื่อเส้นใยตกลงบนฉากรับและซ้อนทับกันจะมีโอกาสเกิดการรวมตัวกันเป็นจุดเชื่อม นอกจากนี้กระบวนการปั่นด้วยไฟฟ้าสถิตสามารถควบคุมขนาดของเส้นใยได้โดยควบคุมพารามิเตอร์ด้านกระบวนการ เช่น แรงดันไฟฟ้าที่ใช้ อัตราการไหล และระยะห่างระหว่างปลายเข็ม ส่งผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางด้วยเช่นกัน โดยเส้นใยจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กลงเมื่อเพิ่มแรงดันไฟฟ้าและระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับแผ่นรองรับ ในขณะที่เส้นใยจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้น [5,9,25,26]



รูปที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง และการกระจายตัวของขนาดเส้นใยที่เสริมยูจินอลร้อยละ 0.0 (A), 1.5 (B) และ 3.0 (C) โดยน้ำหนัก ที่ระดับแรงดันไฟฟ้า 23 กิโลโวลต์ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง และระยะห่างระหว่างปลายเข็มและแผ่นรองรับ 10 เซนติเมตร [กำลังขยาย : 10,000x (A), 20,000x (B,C)]

อย่างไรก็ตาม เส้นใยที่เสริมยูจินอลร้อยละ 1.5 และ 3.0 โดยน้ำหนัก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในทางกลับกัน Rieger และ Schiffman (2014) ได้เตรียมเส้นใยนาโนจากพอลิเมอร์ผสมระหว่างไคโตแซนและพอลิเอทิลีนออกไซด์ ในอัตราส่วน 1 : 1 และเสริมซินนามัลดีไฮด์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5 และ 5.0 พบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยมีขนาดเล็กลง คือ 55 ± 8 ,

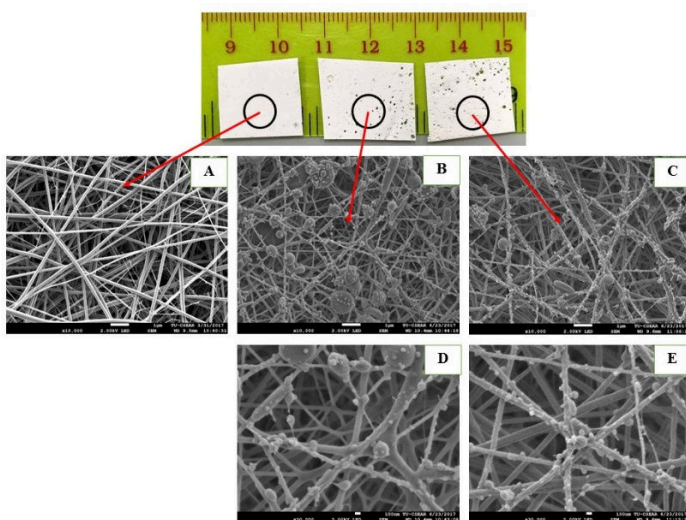
52 ± 9 และ 38 ± 9 นาโนเมตร ตามลำดับ

3.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยนาโนเสริมยูจินอลแบบปั่นด้วยไฟฟ้าสถิต

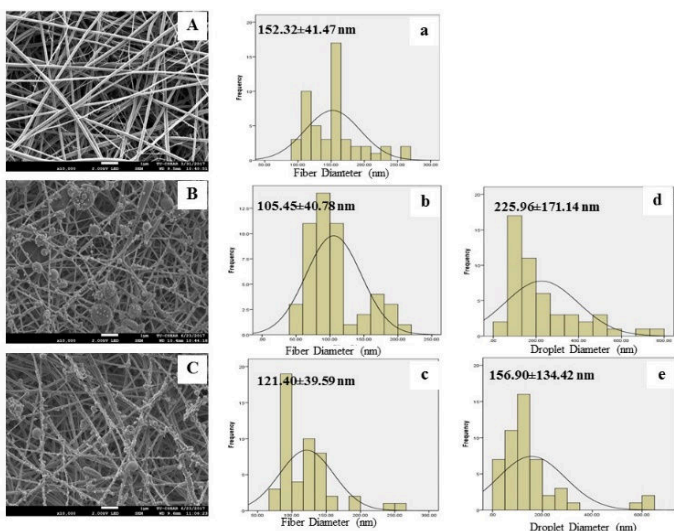
การตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด พบว่าแผ่นเส้นใยที่ไม่พ่นยูจินอลมีลักษณะเรียบและสม่ำเสมอ (รูป 2A) ในขณะที่แผ่นเส้นใยที่ผ่านการพ่นยูจินอลทุกความเข้มข้น มีลักษณะไม่เรียบ

เนื่องจากมีอนุภาคขนาดเล็กของยูจีนอล กระจายอยู่ในโครงสร้างของ soy protein isolate ดังรูป 2B และ 2C สอดคล้องกับผลการทดลองของ Vitchuli และคณะ (2011) [27] ซึ่งผลิตเส้นใยนาโนจากสารละลายไนลอน 6 (Nylon 6) เสริมซึ่งคือออกไซด์ (ZnO) โดยเทคนิคการปั่นและพ่นด้วยไฟฟ้าสถิต พบว่ามีอนุภาคของซิงค์ออกไซด์เกาะติด (attached) บนผิวหน้าและกระจายทั่วแผ่นเส้นใย สำหรับเส้นผ่านศูนย์กลางโดย

เฉลี่ยของเส้นใยที่ไม่ผ่านการพ่นยูจีนอล (ชุดควบคุม) และผ่านการพ่นยูจีนอลร้อยละ 1.5 และ 3.0 โดยน้ำหนัก มีขนาด 152.32 ± 41.47 , 105.45 ± 40.78 และ 121.40 ± 39.59 นาโนเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 3) จะเห็นว่าเส้นใยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กลงเมื่อเสริมยูจีนอลอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในขณะที่เส้นใยเสริมยูจีนอลร้อยละ 1.5 และ 3.0 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยนาโนแบบปั่น-พ่นด้วยไฟฟ้าสถิตเสริมยูจีนอลร้อยละ 0 (A), 1.5 (B,D) และ 3.0 (C,E) โดย น้ำหนัก [กำลังขยาย : 10,000x (A,B,C), 30,000x (D,E)]



รูปที่ 3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย (a,b,c) และขนาดอนุภาคยูจีนอลผสม soy protein isolate (d,e) ที่กระจายบนแผ่นเส้นใยนาโนแบบปั่น-พ่นด้วยไฟฟ้าสถิตเสริมยูจีนอลร้อยละ 0 (A), 1.5 (B) และ 3.0 (C) โดย น้ำหนัก (กำลังขยาย 10,000x)

เมื่อพิจารณาเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ยของอนุภาคยูจีนอลผสม soy protein isolate ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.5 พบว่ามีขนาด 225.96 ± 171.14 นาโนเมตร และมีขนาดลดลงเป็น 156.90 ± 134.42 นาโนเมตร เมื่อความเข้มข้นของยูจีนอลเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 3.0 อาจเนื่องมาจากยูจีนอลที่ระดับร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักในสารละลาย soy protein isolate มีความหนืดสูงกว่า จึงส่งผลให้ได้ขนาดอนุภาคใหญ่กว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3.0 อย่างไรก็ตาม พบว่าอนุภาคยูจีนอลผสม soy protein isolate มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่สม่ำเสมอ โดยที่ระดับความเข้มข้นของยูจีนอลร้อยละ 1.5 และ 3.0 มีขนาด $46.67-761.90$ และ $47.61-642.86$ นาโนเมตร ตามลำดับ

4. สรุป

การผลิตเส้นใยนาโนเสริมยูจีนอลโดยการเติมยูจีนอลร้อยละ 0, 1.5 และ 3.0 ลงไปผสมกับกับสารละลายพอลิเมอร์ไคโตแซน-เซลลูโลสอะซิเตท-เจลาตินเส้นใยที่ได้มีเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 152.32 ± 41.47 , 232.63 ± 104.97 และ 246.05 ± 84.36 นาโนเมตร ตามลำดับ เห็นได้ว่าเมื่อปริมาณยูจีนอลเพิ่มขึ้นเส้นใยมีขนาดใหญ่ขึ้น นอกจากนี้เส้นใยที่ไม่เติมยูจีนอลมีลักษณะเรียบและสม่ำเสมอ ในขณะที่เส้นใยที่เสริมยูจีนอลร้อยละ 1.5 และ 3.0 โดยน้ำหนัก มีจุดเชื่อมเกิดขึ้นและขนาดไม่สม่ำเสมอ สำหรับการเสริมยูจีนอลแบบพ่นด้วยไฟฟ้าสถิต ซึ่งเตรียมโดยผลิตเส้นใยนาโนจากพอลิเมอร์ผสมระหว่างไคโตแซน-เซลลูโลสอะซิเตท-เจลาติน ก่อนจากนั้นจึงพ่นละอองของยูจีนอลลงไปบนผิวหน้าของแผ่นเส้นใย พบว่าแผ่นเส้นใยที่ผ่านการพ่นน้ำมันยูจีนอลด้วยไฟฟ้าสถิตมีลักษณะไม่เรียบเนื่องจากมีอนุภาคขนาดเล็กของสารละลาย soy protein isolate ที่มียูจีนอลผสมอยู่ร้อยละ 1.5 และ

3.0 โดยน้ำหนัก กระจายอยู่บนเส้นใย โดยเส้นใยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ยเท่ากับ 152.32 ± 41.47 , 105.45 ± 40.78 และ 121.40 ± 39.59 นาโนเมตร เมื่อไม่พ่นและพ่นยูจีนอลร้อยละ 1.5 และ 3.0 ตามลำดับ และสังเกตได้ว่าขนาดของอนุภาคยูจีนอลมีเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 225.96 ± 171.14 นาโนเมตร เมื่อยูจีนอลร้อยละ 1.5 และมีขนาดลดลงเป็น 156.90 ± 134.42 นาโนเมตร เมื่อความเข้มข้นของยูจีนอลเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 3.0 อย่างไรก็ตาม ควรมีการทดสอบสมบัติของแผ่นเส้นใยเสริมน้ำมันยูจีนอลเพิ่มเติมในด้านการปลดปล่อยสารสำคัญ สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ และสมบัติทางกายภาพ ก่อนนำไปประยุกต์ใช้งาน

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2559 และขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยขั้นสูง มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่เอื้ออำนวยความสะดวก scanning electron microscope

6. รายการอ้างอิง

- [1] Sozer, N. and Kokini, J.L., 2009, Nanotechnology and its applications in the food sector, *Tren. Biotechnol.* 27: 82-89.
- [2] Blanco-Padilla, A., Soto, K.M., Iturriaga, M. H. and Mendoza, S., 2014, Food antimicrobials nanocarriers *Sci. World J.* 2014: 1-11.
- [3] Bhushani, J.A. and Anandharakrishnan, C., 2014, Electrospinning and electrospraying techniques: Potential food based

- applications, *Tren. Food Sci. Technol.* 38: 21-33.
- [4] Oraby, M. A. , Waley, A. I. , El-Dewany, A. I. , Saad, E. A. and Abd El-Hady, B. M. , 2013, Electrospun gelatin nanofibers: Effect of gelatin concentration on morphology and fiber diameters, *J. Appl. Sci. Res.* 9: 534-540.
- [5] Rogina, A. , 2014, Electrospinning process: Versatile preparation method for biodegradable and natural polymers and biocomposite systems applied in tissue engineering and drug delivery, *Appl. Surf. Sci.* 296: 221-230.
- [6] Erdem, R. , Usta, I. , Akalin, M. , Atak, O. ,Yukse, M. and Pars, A. , 2014, The impact of solvent type and mixing ratios of solvents on the properties of polyurethane based electrospun nanofibers, *Appl. Surf. Sci.* 334: 227-230.
- [7] Lacroix, M. R. and Pellerin, C. , 2013, Molecular orientation in electrospun fibers: From mats to single fibers, *Macromolecules* 46: 9473-9493.
- [8] Zargham, S. , Bazgir, S. , Tavakoli, A. , Rashidi, A. S. and Damerchely, R. , 2012, The effect of flow rate on morphology and deposition area of electrospun nylon 6 nanofiber, *J. Eng. Fiber. Fabr.* 7: 42-49.
- [9] Li, Z. and Wang, C. , 2013, Effects of Working Parameters on Electrospinning, pp. 15-28, Chpt. 2 in *One-Dimensional Nanostructures:ElectrospinningTechnique and Unique Nanofibers*, Springer Briefs in Materials.
- [10] Santos, C., Silva, C.J., Büttel, Z., Guimarães, R., Pereira, S.B., Tamagnini, P. and Zille, A., 2014, Preparation and characterization of polysaccharide/PVA blend nanofibrous membranes by electrospinning method, *Carbohydr. Polym.* 99: 584-592.
- [11] Sener, A.G., Altay, A.S. and Altay, F., 2011, Effect of voltage on morphology of electrospun nanofibers, pp. I-324 - I-328, 7th International Conference on Electrical and Electronics Engineering (ELECO), Bursa.
- [12] Rieger, K. A. and Schiffman, J. D. , 2014, Electrospinning an essential oil: Cinnamaldehyde enhances the antimicrobial efficacy of chitosan/poly (ethylene oxide) nanofibers, *Carbohydr. Polym.* 113: 561-568.
- [13] Venkatesan, J., Kim, S.W. and Wong, T.W., 2015, Chitosan and its application as tissue engineering scaffolds, pp. 133-147, In *Nanotechnology Applications for Tissue Engineering*, Elsevier, Inc.
- [14] Geng, X., Kwon, O.H. and Jang, J., 2005, Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution, *Biomaterials* 26: 5427-5432.
- [15] Huang, Z.M., Zhang, Y.Z., Ramakrishna, S. and Lim, C.T., 2004, Electrospinning and mechanical characterization of gelatin

- nanofibers, Polymer 45: 5361-5368.
- [16] Choktaweasap, N., Arayanarakul, K., Ahtong, D., Meechaisue, C. and Supaphol, P., 2007, Electrospun gelatin fibers: Effect of solvent system on morphology and fiber diameters, Polym. J. 39: 622-631.
- [17] Khalili, S., Khorasani, S.N., Saadatkish, N. and Khoshakhlagh, K., 2016, Chracterization of gelatin/cellulose acetate nanofibrous scaffolds: Prediction and optimization by response surface methodology and artificial neural networks, Polym. Sci. 58: 399-408.
- [18] Fischer, S., Thummler, K., Volkert, B., Hettrich, K., Schmidt, I. and Fischer, K., 2008, Properties and applications of cellulose acetate, Macromol. Symp. 262: 89-96.
- [19] Dhandayuthapani, B., Krishnan, U.M. and Sethuraman, S., 2010, Fabrication and characterization of chitosan-gelatin blend nanofibers for skin tissue engineering, J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. 94B: 264-272.
- [20] Haider, S., Al-Masry, W.A., Bukhari, N. and Javid, M., 2010, Preparation of the chitosan containing nanofibers by electrospinning chitosan-gelatin complexes, Polym. Eng. Sci. 50: 1887-1893.
- [21] Vatankhah, E., Prabhakaran, M.P., Jin, G., Mobarakeh, L.G. and Ramakrishna, S., 2014, Development of nanofibrous cellulose acetate/gelatin skin substitutes for variety wound treatment applications, J. Biomater. Appl. 28: 909-921.
- [22] Ali, S. M., Khan, A. A., Ahmed, I., Musaddiq, M., Ahmed, K. S., Polasa, H., Rao, L.V., Habibullah, C.M., Sechi, L.A. and Ahmed, N., 2005. Antimicrobial activities of eugenol and cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*, Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 4: 20.
- [23] Devi, K.P., Nisha, S.A., Sakthivel, R. and Pandian, S.K., 2010. Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane, J. Ethnopharmacol. 130: 107-115.
- [24] Marchese, A., Barbieri, R., Coppo, E., Orhan, I.E., Daglia, M., Nabavi, S.F., Izadi, M., Abdollahi, M., Nabavi, S.M. and Ajami, M., 2017. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint, J. Crit. Rev. Microbiol. 43: 668-689.
- [25] Yuan, X., Zhang, Y., Dong, C. and Sheng, J., 2004, Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning, Polym. Int. 53: 1704-1710.
- [26] Baji, A., Mai, Y. W., Wong, S. C., Abtahi, M. and Chen, P., 2010, Electrospinning of polymer nanofibers: Effects on oriented morphology, structures and tensile properties, Comp. Sci. Technol. 70: 703-718.

- [27] Vitichuli, N., Shi, Q., Nowak, J., Kay, K., Caldwell, J.M., Breidt, F., Bourham, M., McCold, M. and Zhang, X., 2011, Multifunctional ZnO/Nylon 6 nanofiber mats by an electrospinning-electrospraying hybrid process for use in protective applications, Sci. Technol. Adv. Mater. 12: 1-7.