



โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง  
Development of nanofiber patches encapsulating probiotic bacteria via  
electrospinning process

โดย

นสภ. ศุภชัย	ธนกิจวานิชเจริญ	60210097
นสภ. พิษณุ	ชาติกิจอนันต์	60210131
นสภ. ชัยคุปต์	สระภูมิ	60210184

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2564

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง

Development of nanofiber patches encapsulating probiotic bacteria via  
electrospinning process

โดย

นสภ. ศุภชัย	ธนกิจวานิชเจริญ	60210097
นสภ. พิษณุ	ชาติกิจอนันต์	60210131
นสภ. ชัยคุปต์	สระภูมิ	60210184

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2564

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

## คำนำ

ปัจจุบันโพรไบโอติกแบคทีเรียใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์สุขภาพและเครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย สามารถกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทำให้ป้องกันโรคที่เกิดจากการอักเสบในระบบทางเดินอาหารและผิวหนัง คณะผู้วิจัยจึงตัดสินใจนำโพรไบโอติกแบคทีเรียใส่ลงในเส้นใยนาโนที่ผลิตมาจากพอลิเมอร์เพื่อพัฒนาเป็น แผ่นแปะใช้ในทางเครื่องสำอางต่อไปโดยเส้นใยที่ผลิตมาจากพอลิเมอร์สามารถนำมาประยุกต์ใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในเครื่องสำอางอาหาร ยาและวิศวกรรม พอลิเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางควรเป็นพอลิเมอร์ที่เข้ากันได้และไม่ทิ้งสารพิษตกค้างจากการผลิต โดยพอลิเมอร์ที่สามารถนำมาผลิตเป็นเส้นใยมีหลากหลายชนิด คณะผู้วิจัยเล็งเห็นว่าพอลิเมอร์พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ มีประสิทธิภาพในการยึดเกาะดี คุณสมบัติทางกายภาพและทางกลที่ดี โดยคณะผู้วิจัยได้ทำการผสมเจลาตินเข้าไปในการผลิตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของเส้นใยในด้านกายภาพเพื่อให้เส้นใยมีความแข็งแรงมากขึ้น โดยเลือกวิธีอิเล็กโตรสปินนิงเพราะว่าเป็นกระบวนการที่ง่าย ไม่ซับซ้อนและมีราคาถูก และสามารถผลิตเส้นใยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดนาโนหรือไมโครเมตรได้

โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรียที่เตรียมโดยวิธีอิเล็กโตรสปินนิง ศึกษาความสามารถในการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติก หลังการทำเส้นใยอิเล็กโตรสปินนิง และศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรียโดยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง

คณะผู้วิจัย

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2564

เรื่อง การพัฒนาแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย

โดยกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ป็นนิง

ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. นสภ. ศุภชัย ธนกิจวานิชเจริญ รหัส 60210097

2. นสภ. พิชญะ ชาทิกจอนันต์ รหัส 60210131

3. นสภ. ชัยคุปต์ สระภูมิ รหัส 60210184

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

ภก.ผศ.ดร.ณัฐฉัญ เจริญศรีวิไลวัฒน์

## บทคัดย่อ

ความสนใจในโพรไบโอติกเพิ่มขึ้นในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาเนื่องจากแนวโน้มที่ใส่ใจสุขภาพของคนที่เพิ่มมากขึ้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการสร้างและพัฒนาแผ่นแปะเส้นใยนาโนด้วยวิธีการอิเล็กทรอนิกส์ป็นนิง โดยใช้ *Lactobacillus plantarum* (LP) และ *Lactobacillus acidophilus* (LA) ห่อหุ้มด้วยสารละลายพอลิเมอร์พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่ผสมกับเจลาตินในอัตราส่วนที่เหมาะสมและสร้างเป็นเส้นใยนาโนด้วยกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ป็นนิง เพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพและเคมีของแผ่นแปะเส้นใยนาโน ด้วยเครื่อง กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM), ฟลูออโรสโคปอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FTIR) และพาวเดอร์เอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรคชัน (PXRD) คุณสมบัติต่างๆของโพรไบโอติก ไม่ว่าจะเป็น การศึกษาความอยู่รอด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของโพรไบโอติก ทำการศึกษาด้วยวิธีการ plate count method, DPPH assay และ clear zone study ผลการทดสอบบ่งบอกว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นแปะเส้นใยนาโนมีค่าอยู่ในช่วง 165.03 – 236.33 นาโนเมตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลดลงเพื่อมีปริมาณของเจลาตินในสูตรเพิ่มมากขึ้น กราฟลักษณะ FTIR spectra และ PXRD pattern ของแผ่นแปะเส้นใยนาโนแสดงลักษณะเป็นโครงสร้างอสัณฐาน ความอยู่รอดของโพรไบโอติกในเส้นใยนาโนผสมเจลาตินนั้นเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเส้นใยนาโนของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เดี่ยว ลักษณะจลนศาสตร์การปลดปล่อยของ LP และ LA มีลักษณะเป็น Korsmeyer-peppas release model and Higuchi release model ผลของการยับยั้งเชื้อนั้นแสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติกทั้งสองตัว ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งต่อเชื้อ *Cutibacterium acnes* แต่อย่างไรก็ตามโพรไบโอติกทั้งสองยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) ของ LP และ LA เท่ากับ  $0.88 \pm 0.23$  และ  $1.21 \pm 0.14$

มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระนั้นเป็นฤทธิ์ที่มีความสำคัญในทาง  
เครื่องสำอาง เนื่องจากฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเป็นพื้นฐานที่จะนำไปพัฒนาเพื่อให้ผลทางการปกป้อง  
และดูแลผิวพรรณ

Senior Project Academic Year 2021

: Development of nanofiber patches encapsulating probiotic bacteria via electrospinning process

By

1.Mr. Supachai            Tanakitvanicharoen    ID 60210097

2.Mr. Pichaya            Chartkitanan            ID 60210131

3.Mr. Chaiyachup        Sarapoom                ID 60210184

Adivisor:

Assist. Prof. Dr. Natthan Charernsriwilaiwat

## ABSTRACT

The interest in probiotic bacteria has grown in recent years due to the health-conscious trend. This research aimed to create and develop probiotic bacteria encapsulated electrospun nanofiber patches. *Lactobacillus plantarum* (LP) and *Lactobacillus acidophilus* (LA) was encapsulated in the polyvinyl alcohol (PVA) solution blended with gelatin at an appropriate ratio. It is then fabricated into nanofibers by the electrospinning method. The physical and chemical properties of these nanofibers were studied by scanning electron microscope (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and powder X-ray diffractometer (PXRD). The probiotic bacteria's properties including viability (%), antioxidant and antibacterial properties were studied by plate count method, DPPH assay, and clear zone study. As a result, the diameter of nanofiber patches was 165.03 – 236.33 nm, The diameter slightly decreased when the amount gelatin increased. The FTIR spectra and PXRD pattern of nanofiber patches showed an amorphous state. The viability (%) of probiotic bacteria in gelatin-blended nanofibers was increased compared with bare PVA nanofibers. The kinetic release of probiotics were Korsmeyer-peppas release model and Higuchi release model. The result of antibacterial property showed that neither probiotic strain had inhibitory properties against *Cutibacterium acnes*. However, both probiotic strains were effective at reducing antioxidant properties. IC<sub>50</sub> of LP and LA

nanofiber patches was  $0.88 \pm 0.23$  and  $1.21 \pm 0.14$  mg/ml. This finding might be beneficial for cosmetic development since antioxidant properties are the base of various highly demanded qualities in skincare products.

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ผก.ผศ.ดร.ณัฐฉัญ เจริญศรีวิไลวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยที่กรุณาให้คำปรึกษาตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของอาจารย์และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ ขอขอบคุณบุคลากรคณะเภสัชศาสตร์ และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยทุก ๆ ด้านและขอขอบพระคุณที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย ผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์อยู่ไม่น้อย จึงขอมอบส่วนดีทั้งหมดนี้ให้แก่เหล่าคณาจารย์ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาจนทำให้ผลงานวิจัยเป็นผลประโยชน์ต่อผู้ที่เกี่ยวข้องและสุดท้ายขอขอบพระคุณบิดามารดาและครอบครัวที่คอยสนับสนุนและให้กำลังใจในการศึกษาเล่าเรียนและการทำวิจัยเสมอมา

คณะผู้วิจัย



## สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ข
บทคัดย่อ	ค
ABSTRACT	จ
กิตติกรรมประกาศ	ช
สารบัญรูปภาพ	ฎ
สารบัญตาราง	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.    ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
2.    วัตถุประสงค์	3
3.    ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	4
1.    โพรไบโอติกแบคทีเรีย	4
2.    นาโนเทคโนโลยี	10
3.    การศึกษาความอยู่รอดของแบคทีเรียในเส้นใยนาโน	25
4.    หลักการใช้เครื่องมือวิเคราะห์	29
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	31
1.    การศึกษาทบทวนวรรณกรรม	31
2.    สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	31
3.    อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย	31
4.    เชื้อที่ใช้ในการทดลอง	32
5.    การเพาะเลี้ยงโพรไบติกแบคทีเรีย	32
6.    การเพาะเลี้ยง <i>Cutibacterium acnes</i>	33

7.	การหากราฟมาตรฐานของความเข้มข้นโพรไบโอติกแบคทีเรียเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร	33
8.	ขั้นตอนการเตรียมแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย	33
9.	การทดสอบคุณลักษณะของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย	35
10.	การวิเคราะห์ข้อมูล	40
บทที่ 4 ผลการวิจัย		41
1.	ผลการศึกษาความเป็นไปได้เบื้องต้นของความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินและอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารละลายผสมเจลาตินและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์	41
2.	ผลการศึกษาคุณสมบัติของแผ่นเส้นใยนาโนพอลิไวนิลแอลกอฮอล์:เจลาติน อัตราส่วน 3.5:1.5 ที่ผสมทรีฮาโลสและโพรไบโอติกแบคทีเรีย	43
3.	ผลการศึกษาหมู่โครงสร้างของผงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์:เจลาติน แผ่นเส้นใยนาโนพอลิไวนิลแอลกอฮอล์:เจลาตินที่ผสมทรีฮาโลส และแผ่นเส้นใยนาโนพอลิไวนิลแอลกอฮอล์:เจลาตินที่ผสมทรีฮาโลสและโพรไบโอติกแบคทีเรียด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FTIR)	45
4.	ผลการทดสอบรูปแบบโครงสร้างผลึกของเส้นใยด้วยเครื่อง Powder X-ray Diffraction (PXRD)	48
5.	ผลการศึกษาความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย	49
6.	ผลการศึกษาการปลดปล่อยโพรไบโอติกแบคทีเรียออกจากแผ่นแปะเส้นใยนาโน	50
7.	ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ <i>Cutibacterium acne</i> ของโพรไบโอติก	52
8.	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติก	52
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ		53
1.	การศึกษาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและลักษณะทางกายภาพของเส้นใยนาโนจากสารละลายพอลิเมอร์สูตรต่าง ๆ	53
2.	การศึกษาหมู่โครงสร้างของผงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ผงเจลาติน เส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่ผสมกับเจลาตินด้วยเครื่อง FTIR	53

3. การศึกษาคุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างด้วย Powder X-ray Diffraction (PXRD)	54
4. การศึกษาความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียในสารละลายผสมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และเจลาตินในอัตราส่วน 3.5:1.5 เทียบกับสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์หลังจากผ่าน กระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง	54
5. การศึกษาการปลดปล่อยโพรไบโอติกแบคทีเรียออกจากแผ่นแปะเส้นใยนาโน	54
6. การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ <i>C. acne</i> ของโพรไบโอติกและแผ่นแปะเส้นใยนาโน	54
7. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติก	55
ภาคผนวก	57
เอกสารอ้างอิง	77

## สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 1 รูปถ่ายลักษณะทางกายภาพของเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 10 % w/w และเจลาตินความเข้มข้น 2.5 % w/w อัตราส่วน 3.5:1.5 (PVA:Gelatin)	43
รูปที่ 2 ภาพถ่ายลักษณะแผ่น, ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 7,500 เท่า) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยนาโนจากสารละลายพอลิเมอร์ที่แตกต่างกัน (A) PVA/T, (B) PVA/G/T, (C) PVA/T/LP, (D) PVA/T/LA, (E) PVA/G/T/LP, (F) PVA/G/T/LA	44
รูปที่ 3 FTIR สเปกตรัมของผงเจลาติน	45
รูปที่ 4 FTIR สเปกตรัมของผงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์	46
รูปที่ 5 FTIR สเปกตรัมของผงทรีฮาโลส	46
รูปที่ 6 FTIR สเปกตรัมของสารทั้งสามชนิดในสูตรโครงสร้างเส้นใยนาโนสูตรต่าง ๆ	47
รูปที่ 7 PXRD pattern ของ ผงเจลาติน, ผงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และ แผ่นเส้นใยนาโน PVA/G	48
รูปที่ 8 PXRD pattern ของ แผ่นเส้นใยนาโน PVA/G, PVA/G, PVA/G/T, PVA/G/T/LP และ PVA/G/T/LA	49
รูปที่ 9 การสะสมของเชื้อ <i>L. plantarum</i> ที่ปลดปล่อยออกมาจากเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสมกับเจลาติน	50
รูปที่ 10 การสะสมของเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ที่ปลดปล่อยออกมาจากเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสมกับเจลาติน	51
รูปที่ 11 กราฟมาตรฐานของความเข้มข้นโพรไบโอติกแบคทีเรียเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร ของ <i>L. plantarum</i>	57
รูปที่ 12 กราฟมาตรฐานของความเข้มข้นโพรไบโอติกแบคทีเรียเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร ของ <i>L. acidophilus</i>	57
รูปที่ 13 แสดงการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเหนือตะกอน <i>L. plantarum</i> สารละลายเหนือตะกอน <i>L. plantarum</i> ที่ผสมกับ <i>C. acne</i> และ <i>C. acne</i> ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	73
รูปที่ 14 แสดงการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเหนือตะกอน <i>L. acidophilus</i> สารละลายเหนือตะกอน <i>L. acidophilus</i> ที่ผสมกับ <i>C. acne</i> และ <i>C. acne</i> ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	73
รูปที่ 15 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเหนือตะกอน <i>L. plantarum</i> ที่ได้จากแผ่นแปะเส้นใยนาโนขนาดต่างๆที่ผสมกับ <i>C. acne</i> เทียบกับ <i>C. acne</i>	74

รูปที่ 16 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเนื้อตะกอน <i>L. acidophilus</i> ที่ได้จากแผ่นแปะเส้นใยนาโนขนาดต่างๆที่ผสมกับ <i>C. acne</i> เทียบกับ <i>C. acne</i>	74
รูปที่ 17 รูปถ่ายแสดงโซนใสของเชื้อ (A) <i>L. plantarum</i> , (B) <i>L. acidophilus</i>	75
รูปที่ 18 แสดงกราฟร้อยละการยับยั้ง DPPH ต่อความเข้มข้นของเชื้อ <i>L. plantarum</i>	75
รูปที่ 19 แสดงกราฟร้อยละการยับยั้ง DPPH ต่อความเข้มข้นของเชื้อ <i>L. acidophilus</i>	75
รูปที่ 20 แสดงกราฟร้อยละการยับยั้ง DPPH ต่อความเข้มข้นของ ascorbic acid	75
รูปที่ 21 ผลการตรวจสอบการลอกเลียนวรรณกรรมทางวิชาการ	76

## สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	ประโยชน์ของโพรไบโอติกแบคทีเรีย	4
ตารางที่ 2	โพรไบโอติกแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	5
ตารางที่ 3	โพรไบโอติกแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ	7
ตารางที่ 4	วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย	8
ตารางที่ 5	ตัวอย่างการนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้	10
ตารางที่ 6	วิธีการผลิตเส้นใยนาโนและการนำไปใช้	12
ตารางที่ 7	พอลิเมอร์ที่ถูกนำมาใช้ในการสร้างเส้นใยนาโน	14
ตารางที่ 8	พอลิเมอร์ที่นำมาใช้ในการแพทย์ในด้านต่าง ๆ	15
ตารางที่ 9	คุณสมบัติของเจลาติน	18
ตารางที่ 10	คุณสมบัติของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์	19
ตารางที่ 11	พอลิเมอร์เจลาตินและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่ถูกนำไปใช้การทำอิเล็กโทรสปินนิง	20
ตารางที่ 12	โพรไบโอติกแบคทีเรียที่ผลิตด้วยกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง	23
ตารางที่ 13	สูตรตำรับแผ่นแปะเส้นใยนาโน	34
ตารางที่ 14	รูปถ่ายของแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	41
ตารางที่ 15	รูปถ่ายของเส้นใย PVA/G ในอัตราส่วนต่าง ๆ	42
ตารางที่ 16	สูตรตำรับแผ่นแปะเส้นใยนาโน	43
ตารางที่ 17	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยและลักษณะของเส้นใยนาโน	45
ตารางที่ 18	ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียหลังทำอิเล็กโทรสปินนิงของสารละลายพอลิเมอร์	49
ตารางที่ 19	จลนศาสตร์ของการปลดปล่อยโพรไบโอติกแบคทีเรียจากแผ่นแปะเส้นใยนาโนในช่วงเวลาต่าง ๆ	51
ตารางที่ 20	ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ <i>Cutibacterium acne</i>	52
ตารางที่ 21	ค่ายับยั้งได้ครึ่งหนึ่ง (IC <sub>50</sub> )	52
ตารางที่ 22	ตารางนิยามคำย่อ	58

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โพรไบโอติกแบคทีเรียถูกใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์สุขภาพและเครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทำให้ป้องกันโรคที่เกิดจากการอักเสบในระบบทางเดินอาหารและผิวหนัง เช่น ลำไส้อักเสบเรื้อรัง โครห์น (Crohn's disease) สิว และผื่นภูมิแพ้ผิวหนัง (1) นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มความหลากหลายของจุลินทรีย์ประจำถิ่น (normal flora) และยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคในร่างกาย โดยมีหลักการ คือ เชื้อจะผลิตและหลั่งสารเมแทบอลิซึมที่ต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ กรดแลคติก แบคทีริโอซิน (bacteriocins) เอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ (exopolysaccharide) และเอนไซม์ (enzyme) (2) ตัวอย่างโพรไบโอติกแบคทีเรียกลุ่มที่มีการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ได้แก่ *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacillus* spp. โดยกลุ่มที่ได้รับความสนใจและถูกนำไปใช้ในการศึกษาค่อนข้างมาก คือ กลุ่มแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria : LAB) เช่น *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius* และ *Lactobacillus reuteri* จากการศึกษาของ Kober และคณะ (2015) พบว่าเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* สามารถยับยั้งกระบวนการอักเสบ (3) และจากการศึกษาของ Jungtae และคณะ (2021) พบว่าเชื้อ *L. plantarum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Cutibacterium acne* ได้ (4)

อิเล็กโตรสปินนิง (electrospinning) เป็นกระบวนการสร้างเส้นใยนาโนที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ทั้งในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อาหาร ยา และวิศวกรรม เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ไม่ซับซ้อนและมีราคาถูก เริ่มต้นจากการเตรียมพอลิเมอร์ให้อยู่ในรูปของเหลว จากนั้นให้ความต่างศักย์เพื่อสะสมประจุไฟฟ้าให้พอลิเมอร์ ทำให้พอลิเมอร์ลอยอยู่ภายใต้สนามไฟฟ้า และไปเกาะบนวัสดุรองรับ เส้นใยที่ได้จะมีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 3 นาโนเมตร ถึง 10 ไมโครเมตร (5) ส่งผลให้มีอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง น้ำหนักเบา เพิ่มความจุของสารสำคัญได้มากขึ้น กักเก็บความชุ่มชื้นได้ดี และเพิ่มการซึมผ่านของออกซิเจนเข้าสู่ผิว (6) มีการศึกษาที่นำพอลิเมอร์ต่างๆ มาสร้างเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรียโดยใช้กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง เช่น พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol), ไคโตซาน (chitosan), เซลลูโลสอะซิเตต (cellulose acetate), พอลิไวนิลไพร์โรลิโดน (polyvinylpyrrolidone) และโซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) อย่างไรก็ตามพอลิเมอร์

ข้างต้นยังมีข้อจำกัดด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัย (7) งานวิจัยของ Wei และคณะ (2021) ทำการศึกษาการสร้างเส้นใยห่อหุ้มเชื้อโพรไบโอติกจากสารละลายผสมระหว่าง พอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเส้นไหมกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ พบว่าเส้นใยจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เดียวนั้นจะสร้างเส้นใยสำเร็จน้อยและเส้นใยมีขนาดเล็กเกินกว่าจะรวบรวมเส้นใยได้ (8) และงานวิจัยของ Xie และคณะ (2021) ใช้เซลลูโลสอะซิเตดและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์สร้างเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยเซลลูโลสอะซิเตดนั้นเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำจึงทำให้ต้องใช้อะซิโตนในการละลาย ซึ่งอาจเกิดสารพิษตกค้างในเส้นใย (9) (10) เป็นต้น เจลาติน (Gelatin) เป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติมีคุณสมบัติยึดเกาะพื้นผิวได้ดี สามารถเตรียมเป็นเส้นใยได้ และสามารถช่วยเพิ่มการอยู่รอดของแบคทีเรีย จากการศึกษาของ Hawkins และคณะ (2016) พบว่าเจลาตินสามารถเพิ่มการอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียในกลุ่ม Lactic acid bacteria ได้ถึงร้อยละ 12 (11) จากการศึกษาของ Yang และคณะ (2010) ทำการผสมเจลาตินกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในอัตราส่วนที่เหมาะสมพบว่าทำให้ได้เส้นใยที่ยืดหยุ่นมากขึ้น เพิ่มความคงตัวของเส้นใยและยังสามารถลดความเป็นพิษจากส่วนผสมที่ใช้ในการผลิตเส้นใยได้อีกด้วย (12) อย่างไรก็ตามเจลาตินและเจลาตินผสมที่เตรียมเป็นเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงยังมีการศึกษาน้อย คณะผู้วิจัยจึงพัฒนาแผ่นแปะเส้นใยนาโน ห่อหุ้มโพรไบโอติก แบคทีเรียที่เตรียม โดยวิธีอิเล็กโตรสปินนิงและศึกษาความสามารถในการ อยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติก หลังการทำเส้นใยอิเล็กโตรสปินนิง ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี ของแผ่นแปะเส้นใยนาโน ห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง ได้แก่ศึกษา สัณฐานวิทยาของเส้นใยด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) ศึกษาคุณสมบัติทางเคมี ด้วยฟูเรียร์ ทรานสฟอร์ม อินฟราเรด (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) ศึกษาคุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกด้วยพาวเดอร์เอกซ์เรย์ดิฟแฟรคโตมิเตอร์ (Powder X-ray diffractometer, PXRD) ศึกษาความอยู่รอดของโพรไบโอติกโดยใช้วิธี standard plate count วิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay และศึกษาความคงตัวของโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยเส้นใยนาโนในสภาวะต่าง ๆ



2. วัตถุประสงค์
  - 2.1. เพื่อพัฒนาแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ทรานสพินนิง
  - 2.2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ทรานสพินนิง
  - 2.3. เพื่อศึกษาความสามารถในการอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acne* ของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ทรานสพินนิง
  - 2.4. เพื่อศึกษาความคงตัวของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ทรานสพินนิง
3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ
  - 3.1. ได้แผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ทรานสพินนิง เส้นผ่านศูนย์กลาง 200-500 นาโนเมตร และสามารถลอกแผ่นออกได้โดยไม่ขาดออกจากกัน
  - 3.2. ทราบถึงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ทรานสพินนิง
  - 3.3. ทราบถึงความสามารถในการอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acne* ของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรียโดยกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ทรานสพินนิง
  - 3.4. ทราบถึงความคงตัวของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ทรานสพินนิง

## บทที่ 2

### วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

#### 1. โพรไบโอติกแบคทีเรีย

##### 1.1. โพรไบโอติกแบคทีเรีย

จุลินทรีย์มีชีวิตที่มีประโยชน์ต่อร่างกายเมื่อรับประทานหรือทาบนผิวหนัง สามารถพบได้ในอาหารหมักดอง อาหารที่ผลิตมาจากนม อาหารเสริมและเครื่องสำอาง โพรไบโอติกแบคทีเรียที่มีการศึกษาเป็นอย่างมากที่สุดคือ กลุ่มแลคติกเอซิดแบคทีเรียและไบฟิโดแบคทีเรีย (13)

##### 1.2. ประโยชน์ของโพรไบโอติกแบคทีเรีย

แบคทีเรียสามารถพบได้ทั่วไปบนร่างกาย เช่น ทางเดินอาหาร ผิวหนัง ถ้าหากแบคทีเรียในร่างกายไม่สมดุลอาจทำให้เกิดความผิดปกติ การได้รับโพรไบโอติกแบคทีเรียจะช่วยเพิ่มความสมดุลของแบคทีเรียในร่างกาย ควบคุมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคและควบคุมการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ด้วยคุณสมบัติที่กล่าวมาข้างต้นทำให้โพรไบโอติกแบคทีเรียสามารถป้องกันโรคที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน และป้องกันโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียได้ (14) ประโยชน์อื่น ๆ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ประโยชน์ของโพรไบโอติกแบคทีเรีย

ลำดับ	โพรไบโอติกแบคทีเรีย	ประโยชน์ของโพรไบโอติกแบคทีเรีย	อ้างอิง
1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	(15)
2	<i>Lactobacillus plantarum</i>	มีฤทธิ์รักษาบาดแผล	(16)
3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ	(17)

##### 1.3. โพรไบโอติกแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยกลไกการยับยั้ง มาจากการสร้างสารเมแทบอลิท์ทุติยภูมิ การจำกัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอื่น ๆ และการเพิ่มการตอบสนองของภูมิคุ้มกันของร่างกายโดยการศึกษาศักยภาพการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 โพรไบโอติกแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ลำดับ ที่	โพรไบโอติกแบคทีเรีย	วิธีการทดลอง	ผลการทดลอง	อ้างอิง
1	Lactic acid bacteria ( <i>L. acidophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> ) with or without plant extract	Agar well diffusion method	Zone of inhibition <i>Cutibacterium acne</i> สูงสุด คือ <i>L. acidophilus</i> 12.3 mm	(18)
2	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Agar well diffusion method	Zone of inhibition <i>E. coli</i> คือ 21 – 30 mm	(19)
3	Dried cell-free supernatant <i>Lactobacillus plantarum</i>	Disc diffusion method	Zone of inhibition <i>Cutibacterium acne</i> มากกว่า 15 mm	(20)
4	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Agar well diffusion method	Zone of inhibition 10.3±1.15, 9.3±0.6, 10.7±0.6 mm <i>P. aeruginosa</i> , <i>CL1</i> , <i>S. aureus</i> ตามลำดับ	(21)
5	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Agar overlay method	Zone of inhibition 32, 14, 18.50 mm <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermis</i> , <i>B. subtilis</i> ตามลำดับ	(22)
6.	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Agar well diffusion method	Zone of inhibition <i>E. coli</i> , <i>salmonella sp.</i> , <i>S. aureus</i> 8 –	(23)

			25, 13 – 40, 6 – 24 mm respectively	
7	cell-free supernatant <i>Lactobacillus plantarum</i>	Agar well diffusion method	Zone of inhibition <i>S. aureus</i> คือ 13 mm	(24)
8	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Agar well diffusion method	Zone of inhibition <i>S. aureus</i> คือ 15 mm	(25)

#### 1.4. โพรไบโอติกแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ

ปัจจุบันมีการนำเชื้อโพรไบโอติกแบคทีเรียมาใช้ในทางการแพทย์หรือเครื่องสำอางต่าง ๆ อย่างแพร่หลาย เนื่องจากโพรไบโอติกแบคทีเรียมีคุณสมบัติที่ดีต่อร่างกาย หนึ่งในนั้นคือมีคุณสมบัติยับยั้งการอักเสบที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียต่าง ๆ จากการศึกษาของ Gueniche และคณะ พบว่าเชื้อ *L. paracasei* สามารถยับยั้งการอักเสบของผิวหนังและช่วยเร่งการฟื้นตัวของผิวหนัง (26) และจากการศึกษาของ Jessica Brandi และคณะ พบว่า *L. plantarum* เพิ่มการสร้าง Keratinocyte มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อในกลุ่ม Lactic acid bacteria ตัวอื่น (16) และยังมีการศึกษาอื่น ๆ เกี่ยวกับฤทธิ์การยับยั้งการอักเสบดังตารางที่ 3 *L. paracasei* สามารถยับยั้งการอักเสบของผิวหนังและช่วยเร่งการฟื้นตัวของผิวหนัง (26) และจากการศึกษาของ Jessica Brandi และคณะ พบว่า *L. plantarum* เพิ่มการสร้าง Keratinocyte มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อในกลุ่ม Lactic acid bacteria ตัวอื่น (16) และยังมีการศึกษาอื่น ๆ ที่เกี่ยวกับฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 โพรไบโอติกแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ

ลำดับ ที่	โพรไบโอติกแบคทีเรีย	ฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ	อ้างอิง
1	<i>Lactobacillus casei</i>	เพิ่ม interleukin 10 (IL-10) และ Transforming Growth Factor Beta (TGF- $\beta$ )	(27)
2	<i>Lactobacillus crispatus</i>	เพิ่ม interleukin 10 (IL-10) และ Transforming Growth Factor Beta (TGF- $\beta$ )	(28)
3	<i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Saccharomyces boulardii</i>	เพิ่ม interleukin 10 (IL-10)	(29)
4	<i>Enterococcus durans</i>	เพิ่ม interleukin 10 (IL-10), Regulatory T cell (Treg) และลด interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ), interleukin 6 (IL-6), interleukin 17A (IL-17A), Interferon Gamma (IFN- $\gamma$ )	(30)
5	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	เพิ่ม interleukin 10 (IL-10) และ อัตราส่วน Interferon Alpha (IFN- $\alpha$ )	(31)
6	<i>Lactobacillus fermentum</i>	เพิ่ม interleukin 10 (IL-10) และลด interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ), interleukin 6 (IL-6), interleukin 12 (IL-12), Tumor necrosis factor Alpha (TNF- $\alpha$ ), Interferon Gamma (IFN- $\gamma$ ) รวมถึงยับยั้ง NF- $\kappa$ Bp65, COX-2	(32)
7	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	ลด interleukin 17 (IL-17), interleukin 23 (IL-23), Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF- $\beta$ 1) และ Tumor necrosis factor Alpha (TNF- $\alpha$ )	(33)

8	<i>Lactobacillus plantarum</i>	ลด interleukin 6 (IL-6), Tumor necrosis factor Alpha (TNF- $\alpha$ ), NOS and COX-2	(34)
---	--------------------------------	--	------

#### 1.5. วิธีการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย

วิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเป็นการทดสอบเพื่อใช้ประเมินประสิทธิภาพของสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อชนิดต่าง ๆ ที่กำลังเป็นที่สนใจในกลุ่มงานวิจัยและพัฒนาสารต้านเชื้อแบคทีเรียจากแหล่งต่าง ๆ โดยวิธีการทดสอบและประเมินฤทธิ์ต้านจุลชีพมีหลากหลายวิธี เช่น disk-diffusion, well diffusion, agar dilution และวิธีอื่น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

ลำดับที่	วิธีทดสอบ	หลักการ	อ้างอิง
1	Agar disk-diffusion method	นำเชื้อมาตรฐานใส่ในจานที่มีวุ้น จากนั้นใช้แผ่นกระดาษกรองที่ผสมเชื้อที่ต้องการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวางบนวุ้น ดู zone inhibition	(35)
2	Antimicrobial gradient method (E-test)	นำแถบ E-test ที่ชุบด้วยสารที่ออกฤทธิ์ต้านจุลชีพวางลงบนจานที่มีเชื้อที่ต้องการทดสอบและนำไปบ่ม มักใช้ดูค่า MIC	(36)
3	Agar well diffusion method	คล้ายวิธี disk-diffusion method ทำการเจาะรู 6-8 มิลลิเมตรบนจานที่มีวุ้น ที่มีเชื้อที่ต้องการทดสอบ จากนั้นนำสารที่ใช้ดูฤทธิ์ต้านจุลชีพความเข้มข้นต่าง ๆ ใส่ลงในหลุม 20-100 ไมโครลิตร และบ่มเพื่อดู zone inhibition	(35)
4	Agar plug diffusion method	ใช้ทดสอบฤทธิ์การเป็น antagonism ระหว่างเชื้อจุลชีพ โดยการเลี้ยงเชื้อชนิดแรกบนจานที่มีวุ้นเมื่อเชื้อชนิดแรกโตและหลังสารแพร่ในวุ้นแล้ว จึงตัดส่วนวุ้นไปใส่ในจาน ที่เลี้ยงเชื้ออีกชนิด เพื่อดู zone inhibition	(35)

5	Cross streak method	เป็นการ streak เชื้อบนจาน 4 ด้านโดยใช้เส้นที่ streak ครั้งก่อนหน้ามา streak ด้านต่อไป และใส่สารที่ต้องการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อลงบนจานทั้ง 4 ด้านเพื่อดู zone inhibition	(37)
6	Agar diffusion with TLC	การแพร่กระจายของสารต้านจุลชีพจากโครมาโตแกรม (PC หรือ TLC) ไปยังจานที่มีวุ้น ที่มีเชื้อดู zone inhibition	(38)
7	Direct bioautography	นำแผ่น TLC ที่จุ่มลงในสารแขวนลอยจุลินทรีย์ไปบ่มและพ่นเกลือ tetrazolium และ p-lodonitrotetrazolium violet เป็นรีเอเจนต์และบ่มอีกทีเพื่อดู zone inhibition	(35, 38)
8	Agar overlay bioassay	นำแผ่น TLC ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว จากนั้นทำให้แห้งและนำไปบ่ม และใส่ tetrazolium dye เป็นรีเอเจนต์ เพื่อดู zone inhibition	(35, 38)
9	Agar dilution method	นำสารทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อความเข้มข้นต่างๆ ใส่ลงใน medium และทำการเจือจาง 2 ครั้ง จากนั้นนำไปใส่จานที่มีวุ้น ที่มีเชื้อและดูจานที่มีการยับยั้งเชื้อ เพื่อหาค่า MIC	(35)
10	ATP bioluminescence assay	เป็นการวัด ATP ของสิ่งมีชีวิต โดยการใช้ D-luciferin เมื่อผ่าน ATP จะถูก luciferase เปลี่ยนเป็น oxyluciferin ที่เรืองแสงได้ และนำไปวัดปริมาณแสงด้วย luminometer และนำไปเทียบกับปริมาณเชื้อ	(35)
11	Flow cytofluorometric method	ใช้การวิเคราะห์ความเข้มของแสงสีเขียวฟลูออเรสเซนต์ที่ลดลงของเซลล์ที่ย้อมด้วย DiOC5 ซึ่งเป็นสีย้อมประจุบวกที่ไวต่อเนื้อเยื่อ เพื่อดูปริมาณเชื้อที่เหลือหลังได้รับสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ	(39)

## 2. นาโนเทคโนโลยี

จากคำนิยามของศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ (NANOTEC) นาโนเทคโนโลยี หมายถึงเทคโนโลยี ประยุกต์ซึ่งเกี่ยวข้องกับการจัดการ การสร้าง การสังเคราะห์วัสดุหรืออุปกรณ์ในระดับของอะตอม โมเลกุลหรือชิ้นส่วนที่มีขนาดเล็กในช่วงประมาณ 1 – 100 นาโนเมตร โดยเป็นขนาดที่เราไม่สามารถ มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์พิเศษที่มีกำลังขยายสูงมากในการมองเห็น เช่น กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน หรือกล้องจุลทรรศน์ชนิดใหม่ ๆ ที่ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อใช้ในการศึกษาและวิจัย ทางด้านนาโนเทคโนโลยีโดยเฉพาะ ซึ่งขนาดที่เล็กจะส่งผลให้วัสดุหรืออุปกรณ์ต่าง ๆ มีหน้าที่ใหม่ และคุณสมบัติที่พิเศษขึ้นทั้งทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ทำให้มีประโยชน์ต่อผู้ใช้สอยและเพิ่มมูลค่า ทางเศรษฐกิจได้ ในปัจจุบันการใช้นาโนเทคโนโลยีนั้นถูกนำมาใช้ในการเพิ่มการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติกเพื่อนำไปใช้ในทางสุขภาพต่อไป ไม่ว่าจะเป็นการเพิ่มการดูดซึมของเชื้อที่ระบบทางเดินอาหาร ของมนุษย์ ใช้ในการนำส่งเชื้อเข้าไปในระบบร่างกายตามที่ต้องการเพื่อประสิทธิภาพของการรักษาให้ ดียิ่งขึ้น โดยตัวอย่างการนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้มีดังตามตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ตัวอย่างการนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้

ลำดับที่	นาโนเทคโนโลยี	คุณสมบัติ	ตัวอย่าง	อ้างอิง
1	Edible coating	สามารถเพิ่มอายุในการเก็บรักษาอาหารให้ยาวนานได้มากขึ้น	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Gelatin-based edible coatings containing cellulose nanocrystal</li> <li>- Chitosan/nanosilica coatings</li> <li>- Chitosan film with nano-SiO<sub>2</sub></li> <li>- Alginate/lysozyme nanolaminate coatings</li> </ul>	(40), (41), (42), (43)
2	Hydrogels	ทำให้บรรจุใส่แคปซูลได้ง่าย ป้องกันยาจาก	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Protein hydrogels</li> </ul>	(44)



		สิ่งแวดล้อมภายนอกและนำส่งยาไปยังไปยังบริเวณที่เหมาะสมได้		
3	Polymeric micelles	เพิ่มการละลายของสารที่ไม่ละลายน้ำและลดความเป็นพิษลง	<ul style="list-style-type: none"> <li>- PEO-b-PCL [poly(ethylene glycol)block-poly(caprolactone)] polymeric micelles</li> <li>- Methoxy poly(ethylene glycol)palmitate polymeric micelles</li> </ul>	(45), (46)
4	Nanoemulsions	เพิ่มความคงตัวของหยดอิมัลชันลดการตกตะกอนและการรวมตัวตามแรงโน้มถ่วง เพิ่มใสของอิมัลชันและเพิ่มการดูดซึมของยาได้	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Beta-carotene-based nanoemulsion</li> </ul>	(47), (48)
5	Liposomes	สามารถทำให้นำส่งยาที่เป็นทั้งสารที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำได้	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cationic lipid incorporated liposomes modified with an acid-labile polymer</li> </ul>	(49)

			hyper-branched poly(glycidol) (HPG)	
6	Inorganic NPs	ทำให้ได้เปลือกที่ห่อหุ้มสารที่แข็งแรงและทำให้ควบคุมการออกฤทธิ์ของยาได้	- Mesoporous silica nanoparticle	(50)

## 2.1. นาโนเทคโนโลยีและวิธีการผลิตเส้นใยนาโน

เส้นใยขนาดเล็กมีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 10-100 นาโนเมตร มีลักษณะเด่นคือ อัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่สูง มีน้ำหนักเบา ความยืดหยุ่นสูง และมีขนาดรูพรุนที่เล็กจึงส่งผลให้มีคุณสมบัติพิเศษต่าง ๆ เช่น สมบัติเชิงกล สมบัติทางไฟฟ้าหรือสมบัติทางชีวภาพ จึงทำให้เป็นตัวเลือกที่ดีสำหรับการใช้งานที่หลากหลาย เช่น วิศวกรรมเนื้อเยื่อ การทำแผลหรือเครื่องสำอาง (51) (52) งานวิจัยของ Kenry และคณะ พบว่าการผลิตเส้นใยนาโนมีหลากหลายวิธี ได้แก่ CO<sub>2</sub> laser supersonic drawing, Solution blow spinning, Plasma-induced synthesis, Centrifugal jet spinning, Electrohydrodynamic direct writing (53) และการศึกษาอื่น ๆ แสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 วิธีการผลิตเส้นใยนาโนและการนำไปใช้

ลำดับ	วิธีการผลิต	การนำไปใช้	อ้างอิง
1	CO <sub>2</sub> laser supersonic drawing	การสังเคราะห์เส้นใยนาโนไนลอน-66 ที่มีจุดหลอมเหลวสูงใกล้เคียงกับจุดหลอมเหลวที่สมดุลโดยใช้ CO <sub>2</sub> laser supersonic drawing	(54)
2	CO <sub>2</sub> laser supersonic drawing	เตรียมนาโนไฟเบอร์โพลี(เอทิลีน-2,6-แนพทาเลต) (PEN) โดยวิธี CO <sub>2</sub> laser supersonic drawing (CLSD)	(55)
3	Plasma-induced synthesis	การเตรียมเส้นใยคิวปริกออกไซด์ (CuO nanofiber) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 15 ถึง 25 นาโนเมตรในน้ำ	(56)

4	Solution blow spinning	การเตรียมเส้นใยพอลิแลคติกโคไกลโกลิกแอซิด (PLGA) โดยวิธี Solution blow spinning	(57)
5	Centrifugal jet spinning	การผสมผสานระหว่างโพลีเมอร์และตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เช่น พอลิไวนิลไพร์โรลิโดน (PVP) – น้ำ, PVP-เอทานอล, PVP-ไดคลอโรมีเทน (PVP-DCM) และ PLLA-DCM	(58)
6	Centrifugal jet spinning	การเตรียมซิลิกาไมโครและนาโนไฟเบอร์	(59)
7	Electrohydrodynamic direct writing	การทำฟิล์มลึกลับโคพอลิเมอร์สามมิติจากการพิมพ์อิเล็กโตรไฮโดรไดนามิกเจ็ท	(60)

## 2.2. อิเล็กโตรสปินนิง

อิเล็กโตรสปินนิงเป็นเส้นใยขนาดเล็กมีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 10-100 นาโนเมตร มีลักษณะเด่นคือ อัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่สูง มีน้ำหนักเบา ความยืดหยุ่นสูง และมีขนาดรูพรุนที่เล็กจึงส่งผลให้มีคุณสมบัติพิเศษต่าง ๆ เช่น สมบัติเชิงกล สมบัติทางไฟฟ้าหรือสมบัติทางชีวภาพ จึงทำให้เป็นตัวเลือกที่ดีสำหรับการใช้งานที่หลากหลาย เช่น วิศวกรรมเนื้อเยื่อ การทำแผลหรือเครื่องสำอาง (51) (52) โดยอิเล็กโตรสปินนิงเป็นวิธีการสร้างเส้นใยที่ง่าย และได้เส้นที่มีคุณภาพระดับนาโนนิยมนำมาทำแผ่นแปะเพื่อใช้ในการรักษาต่างๆโดยหลักการคือเมื่อให้สนาม ไฟฟ้าเข้าไปในสารละลายพอลิเมอร์หยดของสารละลายจะเปลี่ยนรูปเป็นกรวยเทย์เลอร์ และเมื่อ สนามไฟฟ้าเอาชนะแรงตึงผิวของหยดสารละลายได้ จะเกิดการพ่นเส้นใยนาโนออกมาจากปลายเข็มเกิดการระเหยของตัวทำละลาย และจะเคลื่อนที่ไปเกาะบนวัสดุรองรับ โดยในปัจจุบันมีการนำพอลิเมอร์หลายชนิด มาผ่านกระบวนการเพื่อสร้างเส้นใยนาโน เช่น พอลิคาโพรแลกโตน (polycaprolactone), พอลิเอธิลีนไกลคอล (polyethylene glycol), กรดพอลิแลคติก (polylactic acid) เป็นต้น (5) ซึ่งนอกจากนี้ยังมีพอลิเมอร์อีกมากที่ถูกนำมาใช้ในการสร้างเส้นใยนาโนเพื่อใช้ในการแพทย์ต่างๆ ดังตัวอย่างในตารางที่ 7 และ 8

ตารางที่ 7 พอลิเมอร์ที่ถูกนำมาใช้ในการสร้างเส้นใยนาโน

ลำดับที่	พอลิเมอร์	ตัวยา	การรักษา	อ้างอิง
1	Albumin	Albendazole	Ovarian cancer treatment	(61)
2	Biodegradable diblock copolymer of poly(sebacic acid) and poly (ethylene glycol) (PSA-PEG)	-	Gene delivery at mucosal surfaces (cervicovaginal)	(62)
3	Polyvinylpyrrolidone/cellulose acetate butyrate binary blend	Acyclovir	Antiretroviral	(63)
4	Poly(lactide-co-glycolide) (PLG)	Rifampin, isoniazid, and pyrazinamide	Tuberculosis (TB) treatment	(64)
5	Poly( $\epsilon$ -caprolactone) and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin	Indomethacin	Topical application (anti-inflammatory)	(65)
6	Poloxamer F68	Albendazole sulfoxide	Cystic echinococcosis treatment	(66)
7	Chitosan	Tramadol HCl	Depression treatment	(66)
8	Poly(alkyl cyanoacrylate)	Antibacterial, steroids, anti-inflammatory agents	Ocular delivery (glaucoma treatment)	(67)

ตารางที่ 8 พอลิเมอร์ที่นำมาใช้ในการแพทย์ในด้านต่าง ๆ

ลำดับที่	พอลิเมอร์	การใช้งานทางคลินิก	อ้างอิง
1	Calcium phosphate	Anticancer drug delivery	(68)
2		Photodynamic therapy	(69)
3		Bone disease and bone repair	(70)
4		Gene delivery	(71)
5	Tricalcium phosphate	Bone implant and replacement	(72)
6		Tissue engineering	(73)
7	Hydroxyapatite (HAP)	Dentistry and orthopedics	(74)
8	Silicon-substituted HAP	Bone-repairing devices; drug delivery systems	(75)
9	Calcium sulfate	Orthopedics and dentistry	(76)
10	Bioactive glasses (BG)	Bone tissue engineering	(77)
11	Calcium carbonate	Anticancer agent	(78)
12		Gene delivery	(79)
13	Silica nanoparticles	Anticancer drug delivery/diagnostic imaging	(80)
14		Gene delivery	(79)
15	Titania-based ceramics	Cancer therapeutics	(81)
16	Zirconia ceramics	Drug delivery, dentistry	(82)

### 2.2.1. หลักการของอิเล็กโทรสปินนิง

อิเล็กโทรสปินนิงเป็นเทคนิคการสร้างเส้นใยที่มีความจำเพาะ โดยการใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าเพื่อทำการสร้างเส้นใยนาโนขึ้นมาจากสารละลายพอลิเมอร์ โดยเส้นใยที่ได้นั้นจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 3 นาโนเมตร ถึง 10 นาโนเมตร และมีพื้นที่ผิวมากกว่าการสร้างเส้นใยทั่วไป โดยจะทำงานอยู่ภายใต้ปัจจัยต่างๆที่กำหนด โดยพอลิเมอร์ที่อยู่ในรูขนาดเล็กของปลายเข็ม จะถูกทำให้เกิดประจุไฟฟ้าที่พื้นผิวโดยสนามแม่เหล็กไฟฟ้าแรงสูง ซึ่งประจุที่เกิดขึ้นจะมีขั้วเหมือนกันจริงทำให้เกิดการผลักรัน ซึ่งถ้ามีมากพอถึงจุดหนึ่ง จะสามารถเอาชนะแรงตึงผิวของสารละลายพอลิเมอร์ได้และจะถูกฉีดออกมาและเปลี่ยนเป็นเส้นใย โดยการระเหยตัวทำละลาย หรือการ

ถ่ายเทความร้อนให้กับสิ่งแวดล้อม ซึ่งวิธีการผลิตเส้นใยนาโนในแต่ละบริษัทนั้นมักเก็บเป็นความลับจึงทำให้มีความแตกต่างกันในการผลิต โดยพอลิเมอร์ที่ถูกนำมาใช้ในการผลิตเส้นใยนาโน มีหลากหลาย เช่น พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol), ไคโตซาน (chitosan), เซลลูโลสอะซีเตต (cellulose acetate), พอลิไวนิลไพร์โรลิโดน (polyvinylpyrrolidone) และโซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) อย่างไรก็ตามพอลิเมอร์ข้างต้นยังมีข้อจำกัดด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัย

#### 2.2.2. ปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำอิเล็กโทรสปินนิง (83)

1. ปัจจัยของกระบวนการ ได้แก่ สนามไฟฟ้า, ระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับวัสดุรองรับ, อัตราการไหลและเส้นผ่านศูนย์กลางของปลายเข็ม
2. ปัจจัยของสารละลาย ได้แก่ ตัวทำละลาย, ความเข้มข้นของพอลิเมอร์, ความหนืด และการนำไฟฟ้าของสารละลาย
3. ปัจจัยของสภาวะแวดล้อม ได้แก่ ความชื้น และ อุณหภูมิ

#### 2.2.3. ส่วนประกอบของเครื่องอิเล็กโทรสปินนิง

1. กระจกฉีดยาที่บรรจุสาร (Pump and Syringe) ใช้สำหรับบรรจุสารละลายที่จะนำมาใช้อิเล็กโทรสปินนิง
2. เข็มฉีดยา (needle gauge) หัวเข็มฉีดยามีหลากหลายขนาดให้เลือกตามความเหมาะสม
3. พาวเวอร์ซัพพลาย (Power Supply) เป็นแหล่งกำเนิดไฟฟ้าเพื่อให้สามารถทำการอิเล็กโทรสปินนิงออกมาเป็นเส้นใย
4. ตัวเก็บสาร (Collector) มีลักษณะ เป็นกระดานฉิวราบ หรือเป็นแกนหมุนใช้เก็บตัวอย่างเส้นใยที่ผ่านการทำอิเล็กโทรสปินนิงแล้ว

#### 2.2.4. อิเล็กโทรสปินนิงของเจลาตินและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

##### 1. เจลาติน

เจลาตินเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่สามารถเตรียมได้จากการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ของคอลลาเจนซึ่งเป็นสารโมเลกุลใหญ่ ได้มาจากผิวหนังและกระดูกของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เจลาตินได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในวิศวกรรมเนื้อเยื่อ เนื่องจากมีความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ ส่งเสริมการยึดเกาะและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ คุณสมบัติที่สำคัญของเจลาตินคือ

สามารถก่อเจลภายใต้สภาวะที่เป็นน้ำได้ดี เหมาะกับการทำอิเล็กโทรสปินนิ่ง ซึ่งเป็นเทคนิคที่ง่าย ราคาประหยัด ที่ใช้ในการสร้างเส้นใยนาโนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็กได้อย่างต่อเนื่อง (84) จากรายงานของ Hawkins และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาการอยู่รอดของเชื้อในกลุ่ม Lactic acid bacteria ในแหล่งอาหารที่อุดมไปด้วยเจลาติน ผลลัพธ์ที่ได้คือเชื้อนั้นสามารถเพิ่มการอยู่รอดได้ถึงร้อยละ 12 (11)

จากการศึกษาของ Yang และคณะ (2010) ทำการผสมเจลาตินกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในอัตราส่วนที่เหมาะสมพบว่าทำให้ได้เส้นใยที่ยืดหยุ่นมากขึ้น เพิ่มความคงตัวของเส้นใยและยังสามารถลดความเป็นพิษจากส่วนผสมที่ใช้ในการผลิตเส้นใยได้อีกด้วย (12)

การศึกษาของ Nguyen และคณะ (2010) ทำการศึกษาการสร้างเส้นใยโดยผสมเจลาตินเข้ากับกลูตาโรลดีไฮด์ในอัตราส่วนที่เหมาะสมเพื่อโครงสร้างของเส้นใยที่ได้ ผลคือการเติมกลูตาโรลดีไฮด์ในปริมาณเล็กน้อยจะช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเส้นใยนาโนจากเจลาตินได้ (85)

การศึกษาของ Huang และคณะ (2016) ทำการผสมเจลาตินกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในอัตราส่วนที่เหมาะสมเพื่อนำมาสร้างเป็นเส้นใยเพื่อนำไปศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบบลาส ผลที่ได้คือเซลล์ที่เจริญเติบโตบนเส้นใยที่ผสมกันระหว่างพอลิเมอร์ทั้งสองทำให้เพิ่มการพื้นที่ในการเจริญของเซลล์ไฟโบบลาสมากกว่าบนพอลิเมอร์ที่เป็นแค่เจลาตินเพียงอย่างเดียว (86)

การศึกษาของ Kotatha (2018) ทำการศึกษาการสร้างเส้นใยนาโนด้วยเจลาติน โดยการใช้ตัวทำละลายที่ไม่ใช้น้ำมาทำการเตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการทำตัวเก็บประจุผลคือการใช้ตัวทำละลายที่ไม่ใช้น้ำนั้นทำให้การเตรียมเส้นใยนั้นมีความปลอดภัยมากขึ้นในการนำมาใช้เตรียมตัวเก็บประจุ (84)

จากการศึกษาของ Hawkins และคณะ (2016) พบว่าเจลาตินสามารถเพิ่มการอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียในกลุ่ม Lactic acid bacteria ได้ถึงร้อยละ 12 (11)

ตารางที่ 9 คุณสมบัติของเจลาติน

หัวข้อ	รายละเอียด
ลักษณะทางกายภาพ	ผงละเอียดสีขาว เหลือง
รูปแบบโมเลกุล	$C_{100}H_{151}N_{31}O_{39}$
อุณหภูมิของการเปลี่ยนสถานะ คล้ายแก้ว	52.6 – 57.9 °C
ความหนาแน่น	1.3 – 1.4 g/cm <sup>3</sup>
จุดหลอมเหลว	31.7–34.2 °C
ความทนแรงดึง	107 ± 25 KPa
ความสามารถในการละลาย	ละลายได้ดีในน้ำร้อน, glycerol, acetic acid
การสลายตัวด้วยความร้อน	340 °C

## 2. พอลิไวนิลแอลกอฮอล์

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์โมเลกุลใหญ่ชนิดหนึ่ง มีลักษณะเป็นโมกุลอสัณฐานที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น สิ่งทอ หรือการทำบรรจุภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ย่อยสลายได้ย่อยสลายต่างชีวภาพละลายน้ำได้ดี ไม่ละลายในไขมันเนื่องจากมีกลุ่มไฮดรอกซิลจำนวนมากติดอยู่ที่โซ่ปลายสาย (87) เนื่องจากมีคุณสมบัติที่ชอบน้ำสูง มีประสิทธิภาพในการยึดเกาะดี คุณสมบัติทางกายภาพและทางกลที่ดี ย่อยสลายทางชีวภาพอย่างสมบูรณ์ รวมไปถึงยังทนต่อแรงกระแทก การฉีกขาดและสารเคมีได้ดี มีความยืดหยุ่นสูง อีกทั้งยังสามารถจัดออกได้ง่ายเมื่อใช้ความร้อนโดยที่ไม่ทำให้เกิดสารพิษจากการสลายตัวของสารอีกด้วย เมื่อนำมาสร้างเส้นใยนาโนจะทำให้ได้เส้นใยที่คุณภาพสูง จึงทำให้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวาง ทั้งในการนำส่งยา เป็นวัสดุในการกรอง หรือวัสดุยึดเกาะทางการแพทย์ (88) และการศึกษาอื่น ๆ แสดงดังตารางที่ 2

งานวิจัยของ Wei และคณะ (2021) ทำการศึกษาการสร้างเส้นใยทอหุ้มเชื้อโพรไบโอติกจากสารละลายผสมระหว่าง พอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเส้นไหมกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ พบว่าเส้นใยจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เดียวนั้นจะสร้างเส้นใยสำเร็จน้อยและเส้นใยมีขนาดเล็กเกินกว่าจะรวบรวมเส้นใยได้ (8)

งานวิจัยของ Xie และคณะ (2021) ใช้เซลลูโลสอะซิเตดและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์สร้างเส้นใยนาโนทอหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย โดยเซลลูโลสอะซิเตด



นั่นเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำจึงทำให้ต้องใช้อะซิโตนในการละลาย ซึ่งอาจเกิดสารพิษตกค้างในเส้นใย (9), (10)

จากการศึกษาของ Yang และคณะ (2010) ทำการผสมเจลาตินกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในอัตราส่วนที่เหมาะสมพบว่าทำให้ได้เส้นใยที่ยืดหยุ่นมากขึ้น เพิ่มความคงตัวของเส้นใยและยังสามารถลดความเป็นพิษจากส่วนผสมที่ใช้ในการผลิตเส้นใยได้อีกด้วย (12)

ตารางที่ 10 คุณสมบัติของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

หัวข้อ	รายละเอียด
ลักษณะทางกายภาพ	เป็นผงละเอียดสีขาว
น้ำหนักโมเลกุล	20,000 to 400,000 g/mol
รูปแบบโมเลกุล	$(C_2H_4O)_n$
จุดหลอมเหลว	230°C for fully hydrolyzed 180°C –190°C for partially hydrolyzed
จุดเดือด	2288°C
อุณหภูมิของการเปลี่ยนสถานะ คล้ายแก้ว	75°C –85°C
ความหนาแน่น	1.19–1.31 g/cm <sup>3</sup>
ความสามารถในการละลาย	Soluble in water. Insoluble in aliphatic and aromatic hydrocarbons, oils, ketones, and esters

ตารางที่ 11 พอลิเมอร์เจลาตินและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่ถูกลำดับไปใช้ในการทำอิเล็กทรอนิกส์สปินนิ่ง

ลำดับ	พอลิเมอร์	สารละลาย	ความเข้มข้น	การนำไปใช้	อ้างอิง
1	PVA (Polyvinyl Alcohol degree of hydrolysis 88) + Gelatin type A (300 bloom)	Water	PVA = 8 wt% Gelatin = 8 wt%	Improve biocompatibility and controllability	(12)
2	Gelatin (from porcine skin, type A)	Trifluoroacetic acid (TFA, CF <sub>3</sub> COOH, 99.0%)	15 wt%	Biocompatibility, Biodegradability, and bioactivity	(85)
3	10% w/v of poly(vinyl alcohol) (PVA) (Mw: 70,000–80,000, First Chemistry) and 10% w/v of gelatin (G1890, Sigma)	Deionized water	PVA = 10% w/v Gelatin = 10% w/v	Fibroblasts growing on gelatin incorporated PVA nanofibers	(89)
4	polyvinyl alcohol (PVA, MW = 186000) + gelatin (GEL,	Deionized water	8% w/v the mass ratios of gelatin and PVA in each 10 mL shell mixture were	Shell core, Biocompatibility Evaluation	(86)

	Sigma, Type A)		0.6 g: 0.2 g (Group A), 0.4 g : 0.4 g (Group B), and 0.2 g : 0.6 g (Group C)		
5	Silk fibroin (SF), polyvinyl alcohol (PVA, retained molecular weight: 1750 ± 50 Da)	Deionized water	6%(w/w) SF and 8% PVA mixed	Enhanced stability and functionality	(8)
6	Gelatin from Bovine Skin Type B Powder (Sigma-Aldrich)	70/30 vol.% acetic acid/double distilled water	30% (w/v)	Enhanced biocompatibility	(90)
7	Gelatin powder and glacial acetic acid were purchased from the Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd (China)	Glacial acetic acid	14% (w/v)	Wound dressing materials	(91)

8	Gelatin (JS200, Mw= 100,000, bovine skin type B, Lot No. 120705M)	Deionized water	25 wt%	Nonaqueous Electrolyte in Electric Double-Layer Capacitor	(84)
9	Gelatin	Water	-	Prevented from further growth and agglomeration	(92)
10	Gelatin protein (GE) is a fish gelatin type B (80–120 g Bloom) + Poly (vinyl alcohol) (PVA, Mw = 130 000 g mol <sup>-1</sup> ; hydrolysis 86.7%–88.7%)	Water	PVA and GE were prepared increasing the polymer concentration (named as 2.5 wt%, 5.0 wt%, 7.5 wt% and 10 wt%) and mixed PVA/GE systems were also prepared varying the PVA-GE ratio (10/0 wt%, 7.5/2.5 wt%, 5.0/5.0 wt%, 2.5/7.5 wt% and 0/10 wt%)	Tissue Engineering	(93)

2.3. เส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรียโดยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง งานวิจัยของ Škrlec K และคณะ พบว่าการทำเส้นใยห่อหุ้ม *L. plantarum* ด้วยวิธีอิเล็กโตรสปินนิง ช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของโพรไบโอติก (94) อีกทั้งการศึกษาของ Ebrahimnezhad และคณะ พบว่าการใช้กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงทำเส้นใยนาโนห่อหุ้ม *L. acidophilus* ช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิต ของเชื้อทั้งในสภาวะกรด และด่าง (95) และการศึกษาของ Hirsch E และคณะ พบว่าการใช้กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงในการสร้างเส้นใยนาโนห่อหุ้ม *L. paracasei* ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวทำให้ละลายในช่องปากมากขึ้นและเร็วขึ้น (96) และ การศึกษาอื่น ๆ แสดงดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 โพรไบโอติกแบคทีเรียที่ผลิตด้วยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง

ลำดับ	Probiotic	การทดลอง	ผลการทดลอง และการนำไปใช้	อ้างอิง
1	<i>Lactobacillus paracasei</i>	เส้นใยนาโนอิเล็กโตรสปิน ละลายในปากด้วยวิธี High speed electrospinning	เพิ่มพื้นที่ผิว, เพิ่ม การละลายในช่อง ปาก	(96)
2	<i>Lactobacillus plantarum</i>	เส้นใยนาโนอิเล็กโตรสปินไป ยังลำไส้ด้วยวิธี Coaxial electrospinning	เพิ่มอัตราการรอด ชีวิตของโพรไบโอ ดิก	(97)
3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	เส้นใยนาโนอิเล็กโตรสปิน ห่อหุ้มโพรไบโอติกเพื่อการ รักษาภาวะช่องคลอดอักเสบ จากเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีอิเล็ก โทรสปินนิง	เพิ่มอัตราการรอด ชีวิตของโพรไบโอ ดิก	(98)
4	<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	เส้นใยนาโนอิเล็กโตรสปิน ห่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยวิธีอิ เล็กโตรสปินนิง	เพิ่มอัตราการรอด ชีวิตของโพรไบโอ ดิก, ยืดอายุให้ นานขึ้น และเพิ่ม ความคงทนจาก ความร้อน	(99)

5	<i>Lactobacillus fermentum</i>	เส้นใยนาโนอิเล็กทรอนิกส์ ห่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยวิธีอิเล็กทรอนิกส์ โพรสปีนนิ่ง	เพิ่มอัตราการรอด ชีวิตของโพรไบโอ ติก	(100)
6	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	เส้นใยนาโนอิเล็กทรอนิกส์ ห่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยวิธีอิเล็กทรอนิกส์ โพรสปีนนิ่ง	เพิ่มอัตราการรอด ชีวิตของเชื้อใน สภาวะกรดและ สภาวะต่าง	(101)
7	<i>Lactobacillus plantarum</i>	เส้นใยนาโนอิเล็กทรอนิกส์ ห่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยวิธีอิเล็กทรอนิกส์ โพรสปีนนิ่ง	เพิ่มอัตราการรอด ชีวิตของโพรไบโอ ติก, เพิ่มความ ทนทาน	(94)
8	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>ssp. bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactococcus lactis ssp. cremoris</i>	เส้นใยนาโนอิเล็กทรอนิกส์ ห่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยวิธีอิเล็กทรอนิกส์ โพรสปีนนิ่ง	เพิ่มอัตราการรอด ชีวิตของโพรไบโอ ติกในการนำส่ง, Vaginal delivery	(102)
9	<i>Lactobacillus plantarum</i>	เส้นใยนาโนอิเล็กทรอนิกส์เป็น โครงร่างให้ Biofilm probiotic ด้วยวิธีอิเล็กทรอนิกส์ โพรสปีนนิ่ง	เพิ่มอัตราการรอด ชีวิตของ biofilm <i>L. plantarum</i> , ยืดอายุการเก็บ	(103)

			รักษา, ระยะเวลา การหมักสั้นลง	
10	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	เส้นใยนาโนอิเล็กทรอนิกส์เป็น โครงร่างให้โพรไบโอติกด้วย วิธีอิเล็กทรอนิกส์	ยืดอายุการเก็บ รักษา	(104)

### 3. การศึกษาความอยู่รอดของแบคทีเรียในเส้นใยนาโน

จากการศึกษาเกี่ยวกับประโยชน์ที่ได้รับจากโพรไบโอติกแบคทีเรียพบว่าปริมาณของโพรไบโอติกแบคทีเรียมีผลต่อการออกฤทธิ์ดังนั้นการศึกษาความอยู่รอดของโพรไบโอติกภายในเส้นใยนาโนนั้นจึงเป็นเรื่องที่ต้องได้รับความสนใจ การศึกษาความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียสามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้

#### 3.1. Culture-dependent technique

เป็นวิธีการศึกษาความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียที่ขึ้นอยู่กับการเพาะเลี้ยงเชื้อ การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียนั้นเป็นวิธีที่การศึกษาที่คุ้มค่าและมีประสิทธิภาพ แต่การเพาะเลี้ยงไม่ขึ้นไม่อาจจะสรุปได้ว่าตัวอย่างที่นำมาทดสอบนั้นไม่มีแบคทีเรียอยู่ เป็นเพราะการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียได้รับผลจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เหมาะสม สภาวะการบ่มไม่เหมาะสม สภาวะบางอย่างที่ทำให้แบคทีเรียเข้าสู่การบาดเจ็บหรือเข้าสู่สภาวะ Viable but non-culturable (VBNC) แบคทีเรียมีการเจริญเติบโตช้า แบคทีเรียไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ หรือผู้ทำการทดลองไม่สามารถสังเกตเห็นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ เป็นต้น นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเพื่อศึกษาความอยู่รอดของแบคทีเรีย แบคทีเรียบางสปีชีส์ใช้เวลานานและไม่สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อที่เจริญเติบโตนั้นเป็นสปีชีส์ใด ดังนั้นการศึกษาความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียนั้นจึงเป็นการทดสอบแบบลองผิดลองถูก

#### 3.2. Culture-independent techniques

เป็นวิธีการศึกษาความอยู่รอดโดยไม่ขึ้นกับการเพาะเลี้ยงเชื้อ ศึกษาโดยอาศัยคุณลักษณะของแบคทีเรียที่ยังมีชีวิตอยู่ เช่น ติดตาม Enzyme activity, พลังงานของที่เกิดขึ้นในแบคทีเรีย, ความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นต้น สามารถแบ่งวิธีการศึกษาออกได้ดังนี้

### 3.2.1. Membrane integrity using nucleic acid dye

ความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ถือเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ ที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลาย โดยใช้หลักการแบคทีเรียที่ยังมีชีวิตอยู่เยื่อหุ้มเซลล์จะมีความหนาแน่น ไม่ยอมให้สารที่มีขั้วสูงผ่านได้และแบคทีเรียที่ใกล้เสียสภาพหรือเสียชีวิตไปแล้วเยื่อหุ้มเซลล์จะไม่แข็งแรงและแน่นเหมือนเดิม ทำให้สารที่มีขั้วสูงสามารถผ่านเข้าเซลล์ได้ ซึ่งใช้หลักการการย้อมสีเซลล์ โดยสีที่ใช้ในการศึกษาจะแบ่งเป็น 2 แบบดังนี้ สีที่สามารถผ่านเข้าเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่และเซลล์ที่เสียสภาพไปแล้วและสีที่สามารถผ่านเข้าเซลล์ที่เสียสภาพแล้วเท่านั้น ตัวอย่างการศึกษาที่นำการย้อมสีที่ใช้หลักการของความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ใช้เทคนิคการย้อมสีสองครั้ง โดยครั้งแรกย้อมสี SYOT 9 เป็นสีที่สามารถผ่านเข้าเซลล์ที่มีชีวิตอยู่และเซลล์ที่เสียสภาพ สีที่เข้าไปในเซลล์จะย้อมติดที่ DNA หลังจากนั้นย้อมสีครั้งที่สองโดยใช้สี PI (Red fluorescent dye) สีนี้สามารถผ่านเข้าได้เฉพาะเซลล์ที่เสียสภาพแล้วเท่านั้น โดยการย้อมสีครั้งที่สองสี PI จะเข้าไปแทนที่สี SYOT 9 เนื่องจากสี PI มีความชอบจับ DNA มากกว่าสี SYOT 9 ทำให้เซลล์แบคทีเรียที่อยู่รอดติดสี SYOT 9 และเซลล์แบคทีเรียที่เสียสภาพจะย้อมติดสี PI เท่านั้น

### 3.2.2. Membrane potential

ความต่างศักย์ระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเป็นคุณสมบัติพื้นฐานของเซลล์ที่มีชีวิต เพื่อดำรงซึ่งการขนส่งสารระหว่างเซลล์แบบใช้พลังงาน (Active transport) ในสภาวะที่เกิดการแตกออกของเยื่อหุ้มเซลล์ ไอออนต่าง ๆ จะเคลื่อนที่ผ่านเซลล์ได้อย่างอิสระส่งผลทำให้ความต่างศักย์ของเยื่อหุ้มเซลล์ลดลงกลายเป็นศูนย์ ดังนั้นในการศึกษาความอยู่รอดจึงใช้สีที่มีคุณสมบัติชอบไขมันและมีประจุเป็นบวก (Cationic) เนื่องจากถ้าเป็นเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่สีที่มีคุณสมบัตินี้ดังกล่าวจะไม่สามารถผ่านเข้าเซลล์ได้ และในการศึกษาอาจใช้ร่วมกับ Flow cytometry ได้

### 3.2.3. Esterase substrate

เซลล์แบคทีเรียที่ยังมีชีวิตอยู่จะมีการทำงานของเอนไซม์ Esterase สามารถสลายสารประกอบกลุ่มเอสเทอร์ได้ ดังนั้นจึงใช้หลักการนี้การศึกษาความอยู่รอดของแบคทีเรีย โดยใส่สารตั้งต้นเอนไซม์ Esterase เข้าใน ซึ่งสารดังกล่าวสามารถแพร่ผ่านผนังเซลล์ได้อย่างอิสระ เนื่องจากเป็นสารที่ไม่มีประจุ และสารดังกล่าวเมื่อแพร่ผ่านเข้าเซลล์ที่มีชีวิตสำเร็จจะถูกตัดพันธะเอสเทอร์ทำให้ให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่สามารถ



เรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ นอกจากนั้นการศึกษาความอยู่รอดของแบคทีเรียด้วยวิธีนี้ สารทดสอบตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ได้ถึง 2 ตัวบ่งชี้ คือ กิจกรรมของเอนไซม์และความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ ตัวอย่างสีที่ใช้ในการศึกษาเช่น Calcein AM, Fluorescein เป็นต้น

#### 3.2.4. Viability PCR

Polymerase chain reaction (PCR) สามารถตรวจสอบ วัดปริมาณแบคทีเรีย รวดเร็ว และมีความไวสูงมาก แต่ไม่สามารถระบุได้ว่าแบคทีเรียที่วัดปริมาณออกมานั้นยังมีชีวิตอยู่หรือเสียหายไปแล้วทำให้การอ่านผลอาจจะเกินความเป็นจริงได้ ดังนั้นการศึกษาความอยู่รอดโดยใช้วิธี PCR จะต้องใช้ร่วมกับการย้อมสี DNA โดยจะใช้สีที่สามารถเคลื่อนที่ผ่านได้เฉพาะเซลล์ที่เสียหายไปแล้ว และมีคุณสมบัติเป็น Intercalating agent เนื่องจากสีดังกล่าวจะไปแทรกอยู่ระหว่างช่องว่างระหว่างสายเกลียว DNA ทำให้ DNA ดังกล่าวไม่สามารถถูกเพิ่มจำนวนจากกระบวนการ PCR ได้ จึงสามารถคัดเลือกเซลล์ที่เสียหายออกไปก่อนการเพิ่มจำนวน PCR ได้ ตัวอย่างสีที่ใช้ เช่น Propidium monoazide

#### 3.2.5. RNA-based method

Nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) เป็นวิธีการเพิ่มปริมาณกรดนิวคลีอิกแบบยั้งยืนด้วยตัวเองแบบต่อเนื่อง โดยใช้ mRNA เป้าหมาย เอนไซม์ Avian myeloblastosis virus (AMV) reverse transcriptase, RNaseH และ T7 RNA polymerase ในการจำลองกระบวนการและใช้ 2 Primers ในการไปต่อเติมกับ RNA เป้าหมาย ถูกนำมาใช้ในการศึกษาความอยู่รอดของ Mycobacterial species ในการศึกษาความไวต่อยาต้านเชื้อแบคทีเรีย

#### 3.2.6. Molecular viability test (MVT)

การศึกษาความอยู่รอดของแบคทีเรียโดยใช้ pre-rRNA ถึงแม้ว่ามีการรายงานจะพบว่า rRNA มีมากถึง 90% เนื่องจาก rRNA พบในเซลล์ที่เสียหายแล้วด้วย ซึ่งวิธีนี้เป็นทางเลือกที่ใช้แทนวิธีการศึกษาด้วย mRNA เนื่องจาก mRNA มีค่าครึ่งชีวิตที่สั้นมาก

### 3.2.7. Cellular and metabolic properties

Adenosine Triphosphate (ATP) คือ พลังงานที่ถูกผลิตและถูกใช้งานภายในสิ่งมีชีวิตทุกเซลล์ และเมื่อเซลล์เสียภาพการผลิต ATP จะหยุดทันที ดังนั้นจึงเป็นตัวบ่งชี้การมีชีวิตของเซลล์แบคทีเรียได้ดีมาก ความเข้มข้นของ ATP จะขึ้นอยู่กับเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอด การวัดปริมาณ ATP โดยใช้สาร Luciferin-luciferase ซึ่งสารจะทำปฏิกิริยากับ ATP และปล่อยสารเรืองแสงออกมา ความเข้มแสงที่ได้จะสัมพันธ์กับปริมาณของ ATP

### 3.2.8. Tetrazolium salt to detect respiration

เอนไซม์ dehydrogenase เป็นเอนไซม์ที่พบในระบบการนำส่งอิเล็กตรอน (electron transportation system) ใช้ในการวัดการทำงานของหายใจระดับเซลล์ โดยการใช้เกลือ Tetrazolium เมื่อสารดังกล่าวเข้าเซลล์ถ้าเซลล์ยังมีอยู่รอด จะถูกรีดิวซ์โดยเอนไซม์ dehydrogenase เป็น formazan และใช้เทคนิคการวัดสีที่เกิดขึ้น

### 3.2.9. Resazurin

Resazurin เป็นตัวบ่งชี้ปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน เมื่อผ่านปฏิกิริยารีดักชันจะเปลี่ยนสีม่วงเป็นสีฟ้า วัดความอยู่รอดผ่าน Cellular Oxidoreductase

### 3.2.10. Direct viable count (DVC)

การนับจำนวนเซลล์โดยตรงถูกนำมาใช้ในการศึกษาจำนวนแบคทีเรียในน้ำทะเล โดยใส่ Nalidixic acid เพื่อยับยั้งการสังเคราะห์ DNA และสารสกัดจากยีสต์เพื่อเลี้ยงเซลล์ให้มีขนาดใหญ่หรือยาวขึ้น หลังจากนั้นบ่มตามเวลาที่กำหนด หลังจากบ่มเสร็จสามารถนับจำนวนเซลล์ได้จากการส่องกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ ข้อเสียของวิธีนี้คือ อาจจะทำให้แบคทีเรียที่อยู่เฉยๆตายได้โดยใช้ยาปฏิชีวนะหลายตัวในการฆ่าเชื้อ และเซลล์บางตัวอาจจะไม่ขยายขนาดส่งผลให้การแปลผลผิดพลาดได้

### 3.2.11. Heat flow

กิจกรรมทางเคมีกายภาพที่เกิดขึ้นในจุลินทรีย์มักจะมีการส่งต่อความร้อนเกิดขึ้นได้ ดังนั้นการไหลของความร้อนจึงเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพความอยู่รอดของเซลล์แบคทีเรียได้ ในการศึกษาความอยู่รอดจะใช้เครื่องมือในการวัดการไหลของ

ความร้อน คือ Isothermal microcalorimetry โดยหลักการ การทำงานของเครื่องวัดความร้อนที่ไหลผ่านท่อที่บรรจุตัวอย่างที่ต้องการศึกษา

### 3.2.12. Stable isotope probing

สารพันธุกรรมเป็นส่วนประกอบสำคัญของสิ่งมีชีวิต หลักการศึกษาคความอยู่รอดโดยการใส่สารกัมมันตภาพรังสี เช่น  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{H}_2\text{O}$  เป็นต้น ถ้าหากเซลล์ตัวอย่างยังมีชีวิตรอดอยู่ เซลล์จะนำแร่ธาตุดังกล่าวไปใช้ในการสร้างสารพันธุกรรม และตรวจสอบปริมาณสารกัมมันตภาพรังสีที่อยู่ในสารพันธุกรรม

## 4. หลักการใช้เครื่องมือวิเคราะห์

### 4.1. ฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FTIR)

ใช้เพื่อหาหมู่ฟังก์ชันของสารประกอบอินทรีย์ สามารถวิเคราะห์ได้ในช่วงเลขคลื่น  $4,000-400\text{ cm}^{-1}$  โดยเป็นเทคนิคที่กระตุ้นสารด้วยพลังงานแสง เมื่อแสงอินฟราเรดที่มีความยาวคลื่นต่าง ๆ ผ่านเข้าสู่สารอินทรีย์ พันธะเคมีในโมเลกุลของสารจะดูดกลืนพลังงานความยาวคลื่นค่าหนึ่ง ข้อมูลนี้จะถูกประเมินผลโดยใช้สมการเชิงอนุพันธ์ที่เรียกว่า ฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม (Fourier Transform) ซึ่งจะคำนวณพลังงานของแต่ละความยาวคลื่นและแปรผลออกมาเป็นสเปกตรัมเรียกว่า “interferogram” ซึ่งสารแต่ละหมู่ฟังก์ชันจะมีการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกัน จึงสามารถนำสเปกตรัมมาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเพื่อทำการพิสูจน์และบ่งชี้ชนิดของสารตัวอย่างได้ ที่นำมาวิเคราะห์สามารถเป็นได้ทั้ง 3 สถานะ ของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซ โดยวิธีหลักที่นิยม คือ การบดเข้ากับโพแทสเซียมโบรไมด์สำหรับตัวอย่างที่เป็นของแข็ง (105) ในการประยุกต์ใช้กับเส้นใยนาโนสามารถทำได้โดยดูว่าเส้นใยที่ได้จากกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์ป็นิ่งมีการเปลี่ยนแปลงหมู่โครงสร้างหรือไม่ หรือแสดงหมู่ที่สำคัญใ้ไขการยืนยันว่าสารที่ใช้ในการผลิตเส้นใยนาโนยังคงอยู่

### 4.2. พาวเดอร์เอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรคชั่น (PXRD)

เป็นเทคนิคที่นำรังสีเอ็กซ์มาใช้ในการวิเคราะห์ โดยหลักการ คือ การให้รังสีเอ็กซ์ที่ทราบความยาวคลื่นไปตกกระทบบนสารตัวอย่าง ทำให้เกิดการเลี้ยวเบนของแสงที่แตกต่างออกไปตามโครงสร้างทางผลึก จึงสามารถนำมาใช้การระบุสาร ที่มีโครงร่างเป็นผลึกได้ รวมถึงสามารถใช้แยกสารชนิดเดียวกันที่มีรูปแบบผลึกที่หลากหลายหรือที่เรียกว่า พหุสัณฐาน หรือมีรูปแบบเกล็ดที่แตกต่างกันได้ และสามารถแยกสารที่มีรูปแบบเป็นผลึกออกจากสารที่มี

รูปแบบออสซิลโลแกรมได้อีกด้วย (106) ในการประยุกต์ใช้กับเส้นใยนาโนสามารถทำได้โดยดูว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงผลึกของสารที่ใช้ในการผลิตเส้นใยนาโน

#### 4.3. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM ; scanning electron microscope)

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ลำแสงอนุภาคอิเล็กตรอนแทนแสงธรรมดา เนื่องจากความยาวคลื่นของลำแสงอิเล็กตรอนสั้นกว่าความยาวคลื่นของแสงธรรมดาถึง 100,000 เท่า จึงทำให้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนมีกำลังขยายถึง 500,000 เท่า มีประสิทธิภาพการแจกแจงรายละเอียดเหนือกว่ากล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดาอย่างมาก แบ่งเป็น 2 ประเภท กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดจะมีกำลังขยายไม่สูงเท่ากล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน สามารถแสดงภาพถ่ายออกมาเป็นรูปแบบสามมิติได้ และไม่จำเป็นต้องทำให้ตัวอย่างมีขนาดบางเท่ากับกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดจึงถูกนำมาใช้ศึกษาสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของตัวอย่าง เช่น การศึกษาลักษณะพื้นผิวและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยนาโน เป็นต้น โดยการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดจะประกอบไปด้วยแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนเพื่อป้อนให้กับระบบ โดยอิเล็กตรอนที่ให้กำเนิดมาจะถูกกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า จากนั้นกลุ่มอิเล็กตรอนจะผ่านเลนส์รวบรวมรังสี (condenser lens) เพื่อทำให้กลุ่มอิเล็กตรอนรวมกันเป็นลำแสงอิเล็กตรอน ซึ่งสามารถปรับขนาดให้เล็กใหญ่ได้ตามต้องการ โดยขนาดของลำแสงอิเล็กตรอนจะขึ้นกับภาพที่ต้องการ ถ้าต้องการภาพที่มีความคมชัดให้ปรับแสงอิเล็กตรอนให้เล็ก หลังจากนั้นลำอิเล็กตรอนจะถูกปรับระยะโฟกัสโดยเลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) ลงบนผิวงานที่ต้องการศึกษา หลังจากนั้นลำอิเล็กตรอนถูกกราดลงบนตัวอย่างจะทำให้เกิดอิเล็กตรอนทุติยภูมิ (secondary electron) ซึ่งสัญญาณจะอิเล็กตรอนทุติยภูมิจะถูกบันทึกและแปลงเป็นสัญญาณภาพอิเล็กตรอนิกส์ และถูกนำไปสร้างเป็นภาพบนจอโทรทัศน์ต่อไป (107) ในการประยุกต์ใช้กับเส้นใยนาโนสามารถทำได้โดยดูเส้นผ่านศูนย์กลางและลักษณะพื้นผิวของเส้นใยนาโน

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาทบทวนวรรณกรรม
  - 1.1. ศึกษาเกี่ยวกับลักษณะและคุณสมบัติเส้นใยนาโน เทคโนโลยีนาโนและเทคนิคในการทำเส้นใยนาโน
  - 1.2. ศึกษาเทคนิคการทำอิเล็กโทรสปินนิงและตัวแปรสำคัญพร้อมกับหลักการทำงานของเครื่องทำอิเล็กโทรสปินนิง
  - 1.3. ศึกษาคุณสมบัติของโพรไบโอติกแบคทีเรีย
  - 1.4. ศึกษาคุณสมบัติของสารที่นำมาทดลอง (พอลิเมออร์และทรีฮาโลส)
  - 1.5. ศึกษาวิธีการตรวจคุณลักษณะของแผ่นแปะเส้นใยนาโนพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเจลาตินห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย
2. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง
  - 2.1. Gelatin
  - 2.2. Polyvinyl alcohol (PVA)
  - 2.3. Trehalose
  - 2.4. Lactobacilli de Man Rugosa Sharpe Broth (Difco)
  - 2.5. Brain Heart Infusion Broth (HIMEDIA)
  - 2.6. Agar Powder
  - 2.7. Phosphate Buffered saline (PBS)
  - 2.8. Deionized Water
  - 2.9. Ethanol
  - 2.10. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazylc (DPPH) Powder
  - 2.11. Ascorbic Acid Powder
  - 2.12. Glycerol
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย
  - 3.1. Micropipette
  - 3.2. Beaker ขนาด 20, 50, 100, 250, 400 และ 1000 มิลลิลิตร

- 3.3. Microcentrifuge tube
  - 3.4. Centrifuge tube
  - 3.5. Pipette tips
  - 3.6. Plastic Petri dishes
  - 3.7. Plastic rack
  - 3.8. Pump and Syringe
  - 3.9. Needle gauge
  - 3.10. Stainless steel hollow rod
  - 3.11. ตู้ปั๊มเพาะเชื้อ Memmert
  - 3.12. เครื่องปั่นเหวี่ยง Sorvall legend X1R
  - 3.13. เครื่อง Microplate reader ยี่ห้อ BMG Labtech
  - 3.14. เครื่อง Shaking incubator ยี่ห้อ Hercuvan
  - 3.15. เครื่อง FTIR รุ่น Nicolet 6700 FT-IR
  - 3.16. เครื่อง Powder X-ray diffraction ยี่ห้อ PANalytical
4. เชื้อที่ใช้ในการทดลอง
    - 4.1. *Cutibacterium acnes*
    - 4.2. *Lactobacillus plantarum*
    - 4.3. *Lactobacillus acidophilus*
  5. การเพาะเลี้ยงโพรไบติกแบคทีเรีย
    - 5.1. นำเชื้อ *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus acidophilus* จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย มาผสมกับอาหารเหลวที่เหมาะสม ปริมาณ 5 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน
    - 5.2. ตูตสารละลายเชื้อที่ได้ปริมาณ 50 ไมโครลิตรใส่ในงานเพาะเชื้อที่มีอาหารร่วนที่เหมาะสม
    - 5.3. กระจายสารละลายเชื้อให้ทั่วงานเพาะเชื้อ
    - 5.4. นำงานเพาะเชื้อไปปั๊มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* เลี้ยงในสภาวะไร้ออกซิเจน)
    - 5.5. นำสารละลายเชื้อที่เหลือผสมกับ 20% กลีเซอรอล อัตราส่วน 1:10
    - 5.6. นำสารละลายผสมไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และแช่เย็นที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

6. การเพาะเลี้ยง *Cutibacterium acnes*
  - 6.1. นำ Gelatin disc *Cutibacterium acnes* จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 4-5 disc ละลายในอาหารเหลวที่เหมาะสมปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร
  - 6.2. ดูดอาหารเหลวปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารวุ้นที่เหมาะสม
  - 6.3. กระจายสารละลายเชื้อให้ทั่วจานเพาะเชื้อ
  - 6.4. นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน
7. การหากราฟมาตรฐานของความเข้มข้นโพรโปไอติกแบคทีเรียเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร
  - 7.1. เตรียมสารละลายโพรโปไอติกแบคทีเรียแต่ละตัว 3 เข้มข้น โดยดูสารละลายโพรโปไอติกจาก Stock solution จำนวน 250, 500 และ 1,000 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวจนครบ 1 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader
  - 7.2. นำสารละลายทั้ง 3 หลอดมาเจือจาง 10 เท่า 3 ครั้ง (10 เท่า, 100 เท่า, 1,000 เท่า) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว
  - 7.3. นำสารละลายที่เจือจางแล้วทั้ง 3 หลอดของทั้ง 3 ความเข้มข้น 50 ไมโครลิตร กระจายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง
  - 7.4. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
  - 7.5. นับเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มี 30-300 โคโลนี
  - 7.6. คำนวณกราฟมาตรฐานของความเข้มข้นโพรโปไอติกแบคทีเรียเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร
8. ขั้นตอนการเตรียมแผ่นแปะเส้นใยนาโนท่อหุ้มโพรโปไอติกแบคทีเรีย
  - 8.1. การหาความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน, พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารละลายพอลิเมอร์ โดยใช้เครื่องอิเล็กทรอนิกส์ปิปปิง
    - 8.1.1. เตรียมเจลาตินในน้ำปราศจากไอออน ให้ได้ความเข้มข้นคือ 2.5% w/w คนให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
    - 8.1.2. เตรียมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในน้ำปราศจากไอออน ให้ได้ความเข้มข้นคือ 10% w/w คนให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

8.1.3. นำสารละลายเจลาตินแต่ละความเข้มข้นและสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์มาผสมกันในอัตราส่วนต่าง ๆ (Gelatin:PVA) ดังนี้ 0:5, 0.5:4.5, 1:4, 1.5:3.5, 2:3, 2.5:2.5, 3:2, 3.5:1.5, 4:1, 4.5:0.5 และ 5:0

8.1.4. นำสารละลายทั้ง 11 ชุดจากข้อที่ 3 มาใส่กระบอกฉีดยาขนาด 5 มิลลิลิตร และใช้หัวเข็มเบอร์ 20 อัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตร/ชั่วโมง ความต่างศักย์ 15 kV ระยะห่าง 10 เซนติเมตร ตัวรับแบบ static โดยใช้ความเข้มข้นละ 2 ชั่วโมง

8.2. การใส่โพรไบโอติกแบคทีเรียลงในสารละลายพอลิเมอร์ผสม

8.2.1. นำอัตราส่วนพอลิเมอร์ที่เหมาะสมจากข้อที่ 3.4.1 คือ 1.5:3.5 (Gelatin:PVA) ผสมทรีฮาโลสและโพรไบโอติกแบคทีเรีย (*L. plantarum* 58.2 CFU/mg, *L. acidophilus* 51 CFU/mg) 50 ไมโครลิตร

8.2.2. คนให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

ตารางที่ 13 สูตรตำรับแผ่นแปะเส้นใยนาโน

Formulation	Amount				
	PVA (g)	Gelatin (g)	Trehalose (g)	LP (CFU/mg)	LA (CFU/mg)
PVA/T	10	-	0.4	-	-
PVA/G/T	7	3	0.4	-	-
PVA/G/T/LP	7	3	0.4	58.2	-
PVA/G/T/LA	7	3	0.4	-	51

8.3. การเตรียมแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรียด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

8.3.1. นำสารละลายทั้งจากข้อ 3.4.2 มาใส่กระบอกฉีดยาขนาด 5 มิลลิลิตร

8.3.2. ใช้หัวเข็มเบอร์ 20 อัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตร/ชั่วโมง ความต่างศักย์ 15 kV ระยะห่าง 10 เซนติเมตร ตัวรับแบบ static collector โดยใช้ความเข้มข้นละ 12 ชั่วโมง



9. การทดสอบคุณลักษณะของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย
  - 9.1. การทดสอบสัณฐานวิทยาของเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope: SEM) เพื่อวัดขนาดรูปร่างของเส้นใยนาโน
    - 9.1.1. ตัดตัวอย่างให้ได้ขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร
    - 9.1.2. ตัดตัวอย่างลงบน stub
    - 9.1.3. นำตัวอย่างเคลือบด้วยทองคำด้วยเครื่อง Sputter coat (Polaron Range รุ่น Sputter coater 7620)
    - 9.1.4. นำตัวอย่างไปส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (รุ่น LEO 1450VP) ด้วยกำลังขยาย 7,500 เท่า
    - 9.1.5. นำรูปจากกล้อง SEM มาวิเคราะห์เส้นผ่านศูนย์กลางด้วยโปรแกรม JMicroVision 1.3.4
  - 9.2. Infrared Spectroscopy เปรียบเทียบระหว่างผงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ผงเจลาติน ผงทรีฮาโลส เส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสมกับเชื้อทั้งสองชนิดที่ผ่านการอิเล็กโทรสปินนิง และเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสมกับเจลาตินและเชื้อทั้งสองชนิดที่ผ่านการอิเล็กโทรสปินนิง
    - 9.2.1. นำผงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเจลาติน มาทำการบดลดขนาดให้เล็กลงเพื่อเตรียมทำเป็นตัวอย่างในการทดสอบ
    - 9.2.2. นำแผ่นเส้นใยที่มีมาลอกออกจากแผ่นให้ปิดพอดีกับจุดวางตัวอย่างเพื่อเตรียมทำเป็นตัวอย่างในการทดสอบตามลำดับ
    - 9.2.3. เริ่มทำการวัดตัวอย่างที่เตรียมโดยนำไปเข้าเครื่อง Fourier transform infrared spectroscopy รุ่น Nicolet 6700 FT-IR และใช้ความยาวคลื่น 400 cm<sup>-1</sup> ถึง 4000 cm<sup>-1</sup> โดยวัด background ตามขั้นตอนของเครื่อง ก่อนทำการวัดตัวอย่างทุกครั้ง
  - 9.3. ศึกษาารูปแบบโครงสร้างผลึกของเส้นใยด้วยเครื่อง powder X-Ray diffraction (PXRD)
    - 9.3.1. เตรียมผงเจลาติน, ผงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์, ผงทรีฮาโลส และแผ่นพอลิเมอร์ที่ได้จากการทำอิเล็กโทรสปินนิงตามแต่ละตัวอย่าง
    - 9.3.2. นำมาอัดในช่องกลางของที่ยึดสารตัวอย่าง ให้ผิวหน้าด้านบนเรียบ
    - 9.3.3. ตั้งค่าเครื่อง 4 theta ต่อ 1 นาที โดยเริ่มที่ 5 theta ถึง 45 theta
    - 9.3.4. นำเข้าเครื่อง PXRD เพื่อนำไปวิเคราะห์หาความเป็นผลึก

- 9.3.5. นำข้อมูลที่ได้ออกมาทำกราฟระหว่าง intensity กับ 2 theta และเปรียบเทียบความแตกต่างของเส้นใยแต่ละตัวอย่าง
- 9.4. การศึกษาความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียในเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรีย
- 9.4.1. ชั่งแผ่นแปะเส้นใยนาโน 20 มิลลิกรัม และสารละลายพอลิเมอร์ก่อนทำอิเล็กโทรสปินนิง 250 มิลลิกรัม
- 9.4.2. ละลายแผ่นแปะเส้นใยนาโนใน PBS ปริมาณ 1 มิลลิลิตร และเติม PBS ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายพอลิเมอร์
- 9.4.3. เจือจาง 10 เท่าจำนวน 3 ครั้ง โดยใช้ PBS
- 9.4.4. ตูตสารละลาย 50 ไมโครลิตร ของแต่หลอดกระจายลงบน MRS agar และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- 9.4.5. นับเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มี 30-300 โคโลนี
- 9.4.6. คำนวณปริมาณเชื้อกลับให้เป็น CFU/mg
- 9.4.7. คำนวณปริมาณการอยู่รอดโดยใช้สูตรดังสมการที่ 1

$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอิเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg)}} \times 100 \text{ --- สมการที่ 1}$$

- 9.5. การศึกษาการปลดปล่อยโพรไบโอติกแบคทีเรียจากเส้นใยนาโน
- 9.5.1. ชั่งแผ่นแปะเส้นใยนาโน 20 มิลลิกรัม
- 9.5.2. ใส่แผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกลงในสารละลาย PBS pH 7.4 ปริมาณ 10 มิลลิลิตร
- 9.5.3. เขย่าโดย shaking incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 50 รอบต่อนาที
- 9.5.4. สุ่มตัวอย่างสารละลาย 1 มิลลิลิตร ในช่วงเวลา 0, 5, 10, 20, 30, 60, 90 และ 120 นาที โดยหลังสุ่มทุกครั้งให้เติมสารละลาย PBS ลงไป 1 มิลลิลิตร
- 9.5.5. นำตัวอย่างแต่ละช่วงเวลามาทำการเจือจางลง 10 เท่าด้วย PBS จำนวน 1 ครั้ง
- 9.5.6. ตูตสารละลายเจือจาง 50 ไมโครลิตร ของแต่ละช่วงเวลาหยดลงอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 1 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้
- 9.5.7. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง

- 9.5.8. นำไปวัดการดูดกลืนแสงและคำนวณจำนวนโคโลนีโดยใช้กราฟค่ามาตรฐาน เป็น CFU/ml
- 9.6. การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* ของโพรไบโอติก แบคทีเรียด้วยวิธี MIC assay
- 9.6.1. นำอาหารเหลวที่มีเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ปริมาณเชื้อ  $0.2 \times 10^6$  CFU/mL ใส่ลงใน Microcentrifuge tube หลอดละ 1 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด และ *Lactobacillus acidophilus* ปริมาณเชื้อ  $0.2 \times 10^6$  CFU/mL ใส่ลงใน Centrifuge tube หลอด 5 มิลลิลิตร
- 9.6.2. นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 13000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที
- 9.6.3. เก็บสารละลายเหนือตะกอนของทั้งสองเชื้อใส่ลงใน Centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย PBS ลงไป 1 mL/Eppendorf
- 9.6.4. นำสารละลายเหนือตะกอนแต่ละหลอดมาเจือจางเป็น 5 ความเข้มข้น (เจือจาง 5 เท่า) ได้แก่  $2 \times 10^6$  CFU,  $0.4 \times 10^6$  CFU,  $0.08 \times 10^6$  CFU,  $0.016 \times 10^6$  CFU และ  $0.0032 \times 10^6$  CFU ใส่ลงใน Eppendorf tubes หลอดละ 1 มิลลิลิตร
- 9.6.5. ใส่สารละลายเหนือตะกอนของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* และเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* แต่ละความเข้มข้นลงใน 96 well plate ปริมาณหลุมละ 100 ไมโครลิตร
- 9.6.6. ใส่อาหารเหลวที่มีเชื้อ *Cutibacterium acnes* ลงใน 96 well plate ลงหลุมในข้อที่ 3.8.4.-3.8.5. ปริมาณหลุมละ 100 ไมโครลิตร
- 9.6.7. นำ 96 well plate ไปปัมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร
- 9.7. การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* ของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติก
- 9.7.1. ชั่งแผ่นแปะที่มีเชื้อ *Lactobacillus plantarum* และแผ่นแปะที่มีเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ปริมาณอย่างละ 5 มิลลิกรัม, 10 มิลลิกรัม, 20 มิลลิกรัม, 40 มิลลิกรัม และ 60 มิลลิกรัม ใส่ใน Centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร
- 9.7.2. เติมหาอาหารเหลว MRS ลงใน Centrifuge tube หลอดละ 5 มิลลิลิตร
- 9.7.3. นำไปปัมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

- 9.7.4. นำอาหารเหลวที่มีเชื้อจากแต่ละหลอดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงและคำนวณจำนวนโคโลนีโดยใช้กราฟค่ามาตรฐานเป็น CFU/mL
- 9.7.5. นำอาหารเหลวที่มีเชื้อแต่ละหลอดจากข้อ 3.9.4. ไปปั่นด้วยเครื่อง Centrifuge ด้วยแรง 13000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที
- 9.7.6. เก็บสารละลายเหนือตะกอนแต่ละหลอดใน Centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม PBS ปริมาณหลอดละ 5 มิลลิลิตร
- 9.7.7. ใส่สารละลายเหนือตะกอนที่ได้จากข้อ 3.9.6. ลงใน 96 well plate ปริมาณหลุมละ 100 ไมโครลิตร
- 9.7.8. ใส่อาหารเหลวที่มีเชื้อ *Cutibacterium acnes* ลงใน 96 well plate ลงหลุมในข้อที่ 3.9.7. ปริมาณหลุมละ 100 ไมโครลิตร
- 9.7.9. นำ 96 well plate ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร
- 9.8. การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Cutibacterium acnes* ของโพรไบโอติกแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion method
- 9.8.1. เตรียมอาหารเหลว BHI ที่มีเชื้อ *Cutibacterium acnes*
- 9.8.2. ใส่อาหารเหลวที่ได้ลงในจานเพาะเชื้อที่มีวุ้น BHI 50 ไมโครลิตร เกลี่ยให้ทั่ว
- 9.8.3. วางกระบอกสแตนเลสลงบนหน้าอาหารวุ้น
- 9.8.4. เตรียมอาหารเหลว MRS ที่มีเชื้อโพรไบโอติกแบคทีเรีย
- 9.8.5. นำอาหารเหลวที่มีโพรไบโอติกแบคทีเรียใส่ลงในหลุมตรงกลางกระบอกสแตนเลสปริมาณ 50 ไมโครลิตร
- 9.8.6. นำจานเพาะเชื้อไปบ่มในสภาวะไร้อากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- 9.9. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแผ่นแปะเส้นในนาโนท่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยวิธี 2,2 - diphenyl -1- picrylhydrazyl (DPPH) radical assay โดยเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid (108)
- 9.9.1. เตรียมตัวอย่าง
1. นำสารละลายเชื้อ 10 มิลลิลิตร ใส่ใน Centrifuge tubes 15 มิลลิลิตร

2. นำไปปั่นด้วยเครื่อง Centrifuge ด้วยแรง 13000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที
3. เก็บสารละลายใส่ใส่ลงใน Centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย PBS ลงไป 10 มิลลิลิตร

#### 9.9.2. การทดสอบและการแปรผล

1. เตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม โดยชั่ง 7.89 มิลลิกรัม ละลายด้วยสารละลายเอทานอล 100 มิลลิลิตร (เก็บให้พ้นแสงและแช่ไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส)
2. เตรียมสารละลายเปรียบเทียบกับ (ascorbic acid) ให้มีความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ ethanol เป็นตัวทำละลาย เช่น 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร, 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร, 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร, 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
3. นำสารละลายตัวอย่างไปหยดลง 96 well plate ความเข้มข้นละ 6 หลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร
  - 3 หลุมแรกจะเติม สารละลาย DPPH หลุมละ 100 ไมโครลิตร (A1)
  - 3 หลุมถัดมาจะเติม สารละลายเอทานอล หลุมละ 100 ไมโครลิตร (A2)
  - จากนั้นให้เตรียมเป็นหลุมควบคุม 3 หลุม/1 plate โดยเติม DPPH กับ Ethanol หลุมละ 100 ไมโครลิตร (A3)
4. ผสมให้เข้าและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 nm ด้วยเครื่องวัด microplate reader
6. คำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งตามสูตรคำนวณด้านล่าง
 
$$\text{ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยโพโรโตกแบคทีเรีย} = \left( \frac{(A3) - (A1 - A2)}{(A3)} \right) \times 100$$
7. นำค่าที่คำนวณได้และความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า IC<sub>50</sub>

IC<sub>50</sub> คือ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ทำให้ค่าของ radical scavenging activity ลดลงร้อยละ 50 คำนวณจากกราฟร้อยละการยับยั้งและความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง

- 9.10. การศึกษาความคงตัวของแผ่นแปะเส้นใยนาโนท่อหุ้มโพรไบโอติกแบคทีเรียในสภาวะต่าง ๆ
- 9.10.1. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของแผ่นแปะ 20 มิลลิกรัม
  - 9.10.2. เก็บในขวดแก้วที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้อง
  - 9.10.3. เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 3, 6, 12 เดือน โดยตัดแผ่นแปะออกมา
  - 9.10.4. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของแผ่นแปะที่นำออกมา
  - 9.10.5. นำแผ่นแปะที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนมาละลายด้วย PBS ปริมาณ 1 ml
  - 9.10.6. เจือจาง 10 เท่า จำนวน 3 ครั้ง
  - 9.10.7. คูดสารละลายของแต่ละชุดปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งและกระจาย
  - 9.10.8. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง
  - 9.10.9. นับโคโลนีและคำนวณเป็นหน่วย CFU/mg

10. การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองทั้งหมดจะทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในหัวข้อ 3.5-3.10 ใช้สถิติ One-way ANOVA ด้วยโปรแกรม SPSS Version 23 ที่ค่า  $p$ -value ( $<0.05$ )

## บทที่ 4



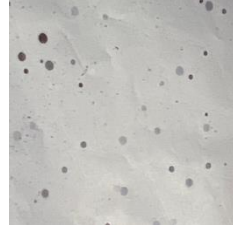
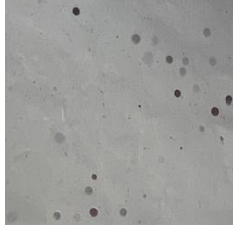
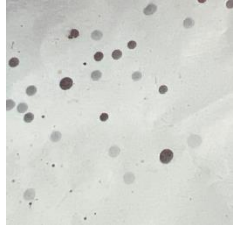







### ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาความเป็นไปได้เบื้องต้นของความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินและอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารละลายผสมเจลาตินและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

ตารางที่ 14 รูปถ่ายของแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารละลายเจลาติน (% w/w)	
2.5 %	5 %
	

ตารางที่ 15 รูปถ่ายของเส้นใย PVA/G ในอัตราส่วนต่าง ๆ

อัตราส่วนของสารละลายผสม PVA:Gelatin		
0:5	0.5:4.5	1:4
		
1.5:3.5	2:3	2.5:2.5
		
3:2	3.5:1.5	4:1
		
4.5:0.5	5:0	
		

จากการทดลองหาความเข้มข้นของเจลาติน และอัตราส่วนระหว่างพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเจลาตินที่เหมาะสม ในการสร้างเส้นใยนาโนผ่านกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง พบว่าเส้นใยนาโนที่ได้จากเจลาตินความเข้มข้น 2.5 % w/w มีลักษณะเป็นเส้น พอลิเมอร์อุตันเข็มและหยดเจลาตินบนแผ่นตัวรับน้อยกว่า ความเข้มข้น 5 % w/w เนื่องจากเมื่อเจลาตินมีความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้นทำให้ความหนืดเพิ่มมากขึ้นและแข็งตัวเร็วขึ้นในอุณหภูมิห้อง จึงพิจารณาเลือกเจลาตินความเข้มข้น 2.5 % w/w มาทำการหาอัตราส่วนที่เหมาะสม ในการทดลองหาอัตราส่วนที่เหมาะสม พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วน



ของเจลาตินจะลดความยืดหยุ่นของเส้นใยและทำให้ลอกออกยากมากขึ้น จึงเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 3.5:1.5 (พอลิไวนิลแอลกอฮอล์:เจลาติน) เนื่องจากเป็นปริมาณเจลาตินมากที่สุดที่ทำให้เส้นใยยังสามารถลอกออกมาเป็นแผ่นแปะได้ โดยมีลักษณะดังรูปที่ 1

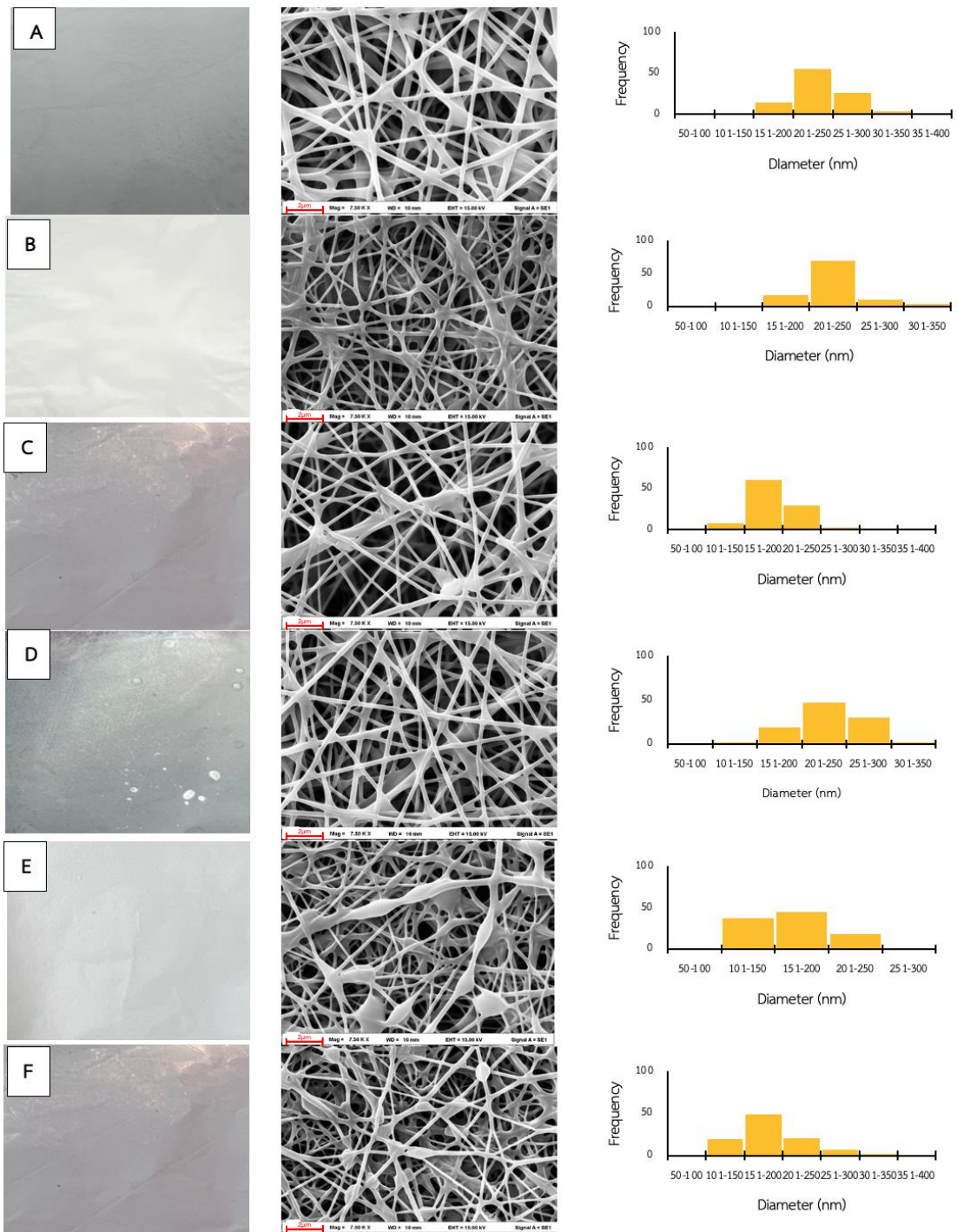


รูปที่ 1 รูปถ่ายลักษณะทางกายภาพของเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 10 % w/w และเจลาตินความเข้มข้น 2.5 % w/w อัตราส่วน 3.5:1.5 (PVA:Gelatin)

2. ผลการศึกษาคุณสมบัติของแผ่นเส้นใยนาโนพอลิไวนิลแอลกอฮอล์:เจลาติน อัตราส่วน 3.5:1.5 ที่ผสมทรีฮาโลสและโพรไบโอติกแบคทีเรีย

ตารางที่ 16 สูตรตำรับแผ่นแปะเส้นใยนาโน

Formulation	Amount				
	PVA (g)	Gelatin (g)	Trehalose (g)	LP (CFU/mg)	LA (CFU/mg)
PVA/T	10	-	0.4	-	-
PVA/G/T	7	3	0.4	-	-
PVA/G/T/LP	7	3	0.4	58.2	-
PVA/G/T/LA	7	3	0.4	-	51

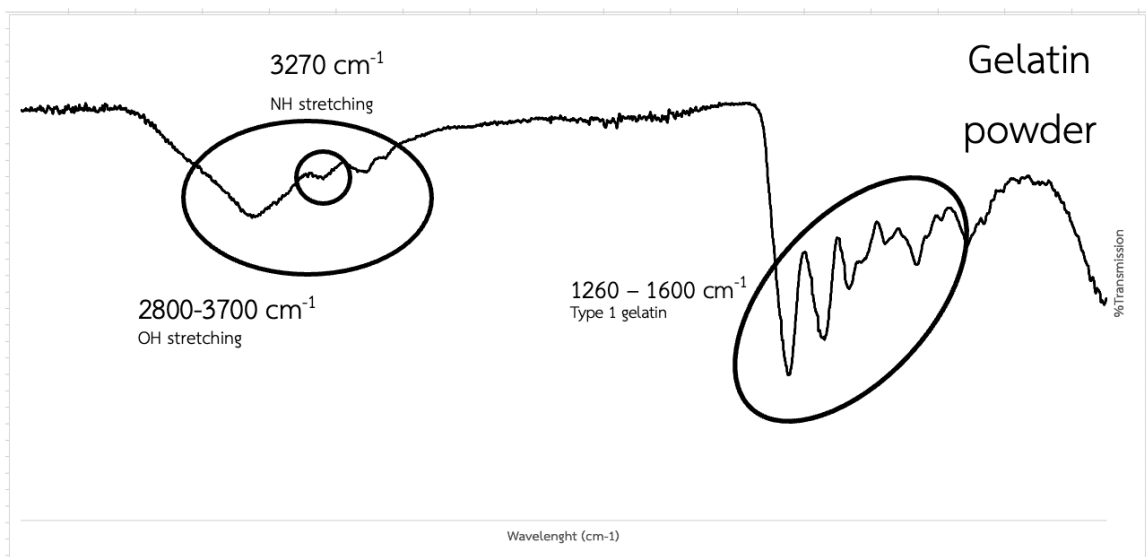


รูปที่ 2 ภาพถ่ายลักษณะแผ่น, ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 7,500 เท่า) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยนาโนจากสารละลายพอลิเมอร์ที่แตกต่างกัน (A) PVA/T, (B) PVA/G/T, (C) PVA/T/LP, (D) PVA/T/LA, (E) PVA/G/T/LP, (F) PVA/G/T/LA

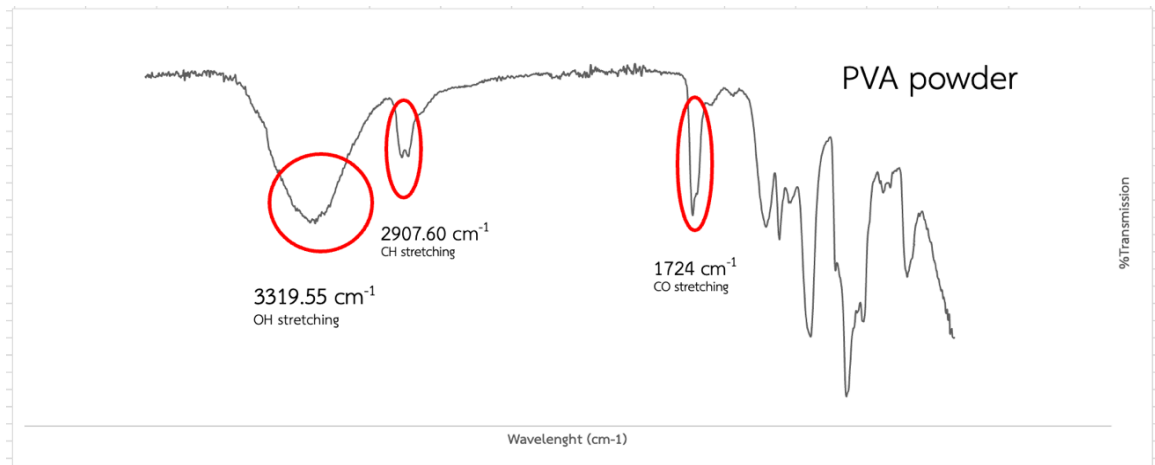
ตารางที่ 17 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยและลักษณะของเส้นใยนาโน

ตัวอย่าง	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย (nm)	ลักษณะเส้นใย
PVA/T	$236.33 \pm 36.48$	เส้นใยสีขาว มีลักษณะฟู มีความยืดหยุ่นสูง ลอกออกได้ง่าย
PVA/G/T	$165.03 \pm 30.16$	เส้นใยสีขาว มีลักษณะฟู เรียบ และมีความยืดหยุ่น
PVA/T/LP	$188.93 \pm 28.26$	เส้นใยสีขาว มีลักษณะฟู มีความยืดหยุ่นสูง ลอกออกได้ง่าย
PVA/T/LA	$231.03 \pm 38.08$	เส้นใยสีขาว มีลักษณะฟู มีความยืดหยุ่น ลอกออกได้ง่าย
PVA/G/T/LP	$164.13 \pm 33.88$	เส้นใยมีสีขาว มีลักษณะฟู ยืดหยุ่นปานกลาง ลอกออกได้ยาก
PVA/G/T/LA	$182.59 \pm 45.32$	เส้นใยมีสีขาว มีลักษณะฟู ความยืดหยุ่นต่ำ ลอกออกได้ยาก

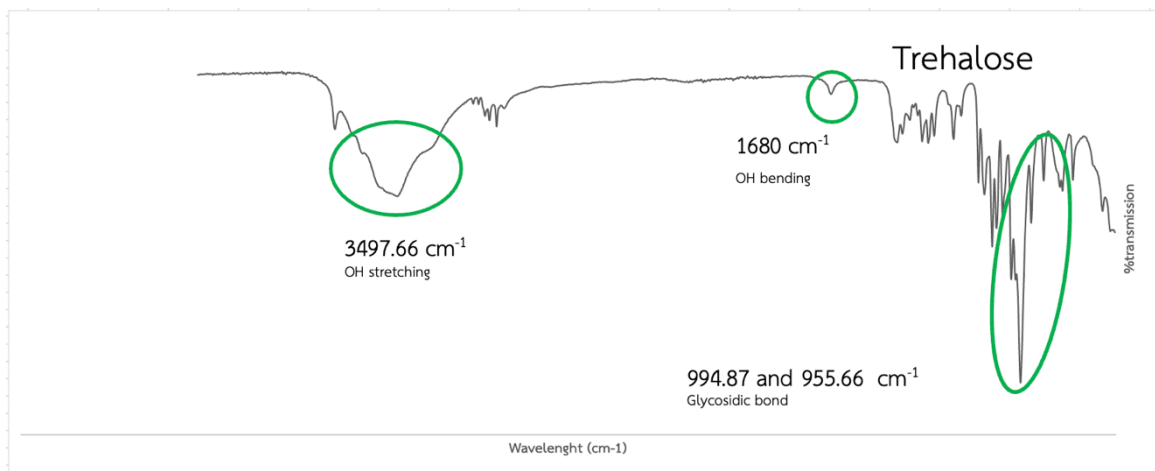
3. ผลการศึกษาหุ้โครงสร้างของผงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์:เจลาติน แผ่นเส้นใยนาโนพอลิไวนิลแอลกอฮอล์:เจลาตินที่ผสมทรีฮาโลส และแผ่นเส้นใยนาโนพอลิไวนิลแอลกอฮอล์:เจลาตินที่ผสมทรีฮาโลสและโพรไบโอติกแบคทีเรียด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FTIR)



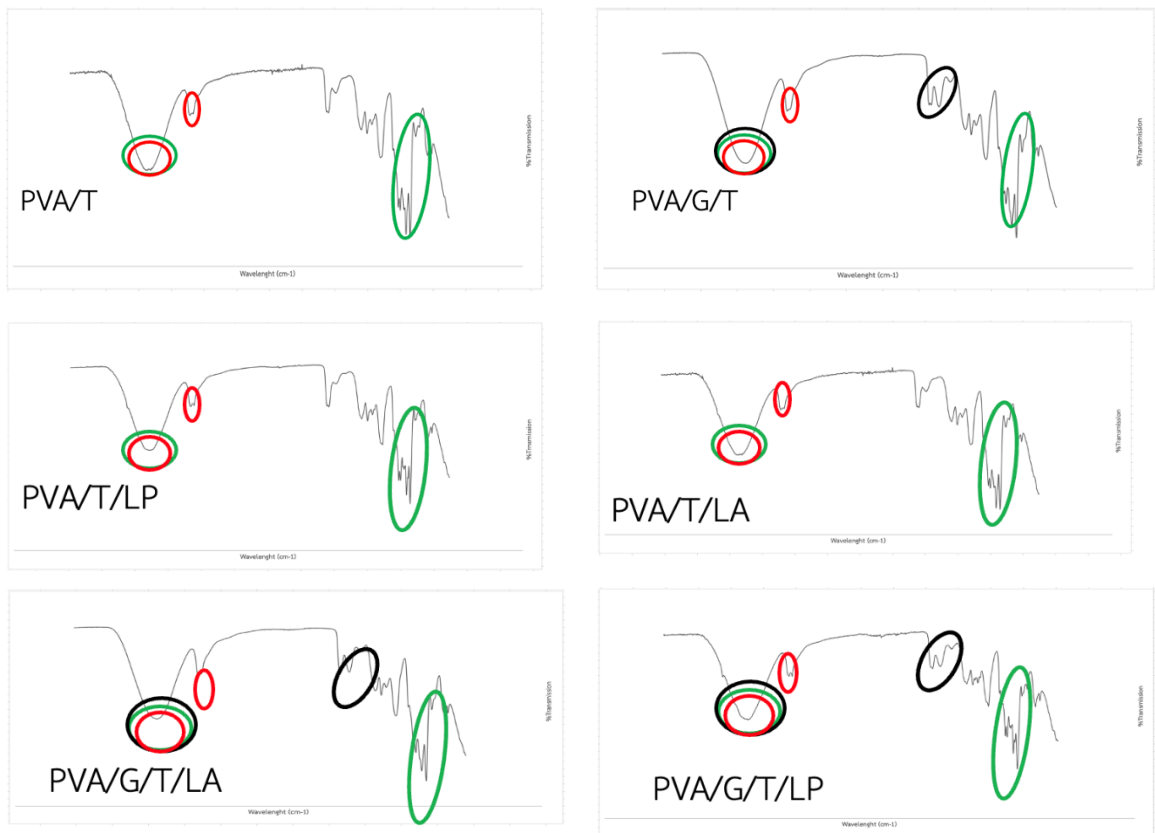
รูปที่ 3 FTIR สเปกตรัมของผงเจลาติน



รูปที่ 4 FTIR สเปกตรัมของผงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

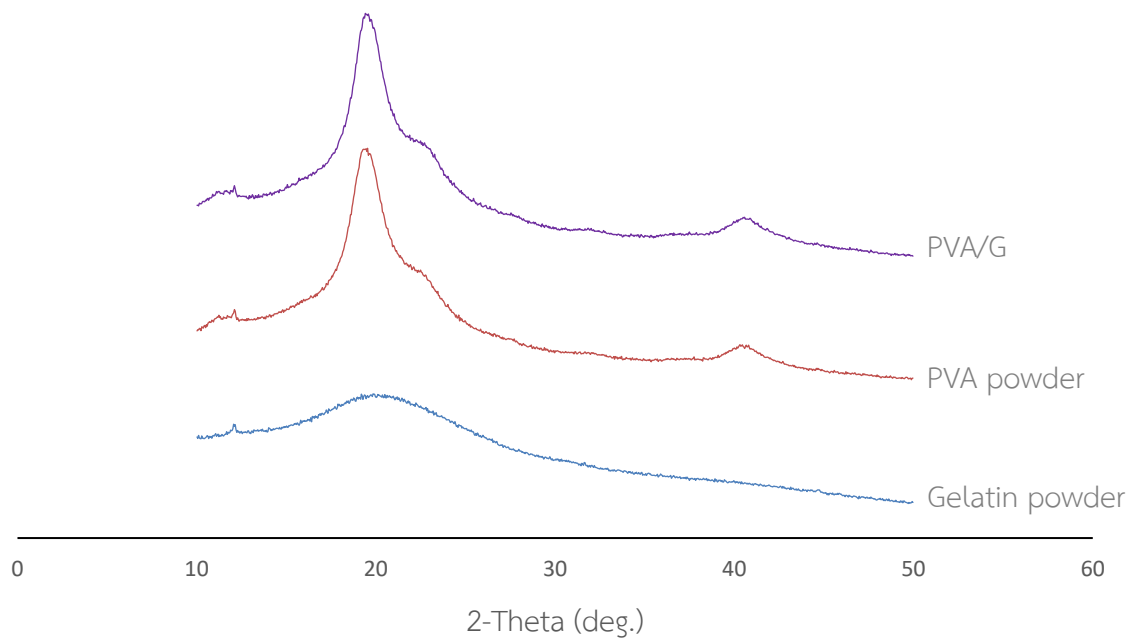


รูปที่ 5 FTIR สเปกตรัมของผงทรีฮาโลส

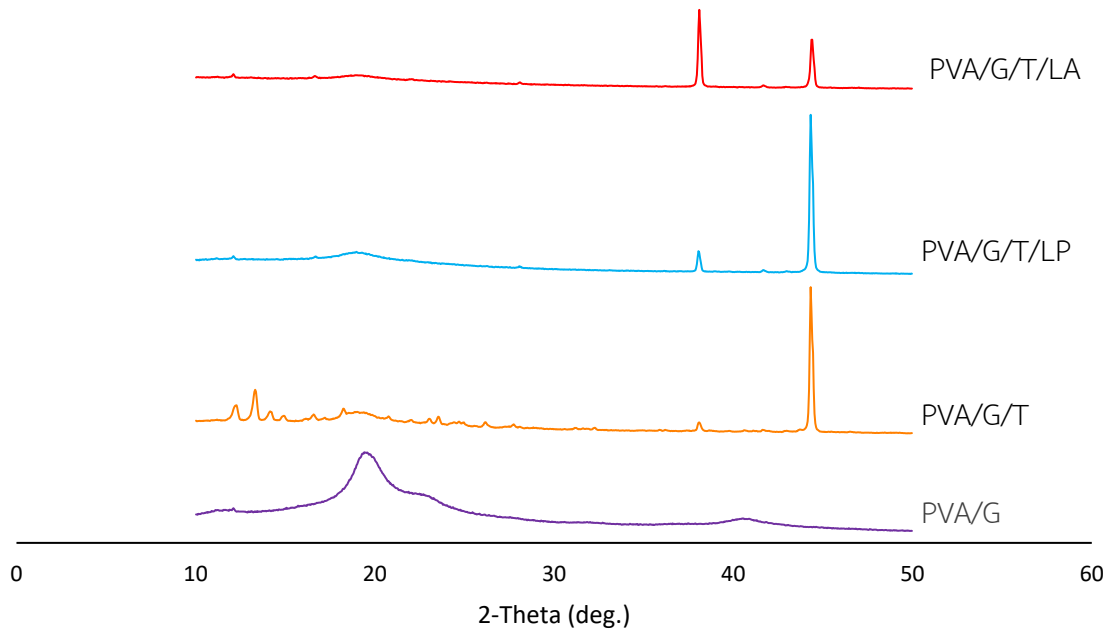


รูปที่ 6 FTIR สเปกตรัมของสารทั้งสามชนิดในสูตรโครงสร้างเส้นใยนาโนสูตรต่าง ๆ

4. ผลการทดสอบรูปแบบโครงสร้างผลึกของเส้นใยด้วยเครื่อง Powder X-ray Diffraction (PXRD)



รูปที่ 7 PXRD pattern ของ ผงเจลาติน, ผงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และ แผ่นเส้นใยนาโน PVA/G



รูปที่ 8 PXR D pattern ของ แผ่นเส้นใยนาโน PVA/G, PVA/G, PVA/G/T, PVA/G/T/LP และ PVA/G/T/LA

5. ผลการศึกษาความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย

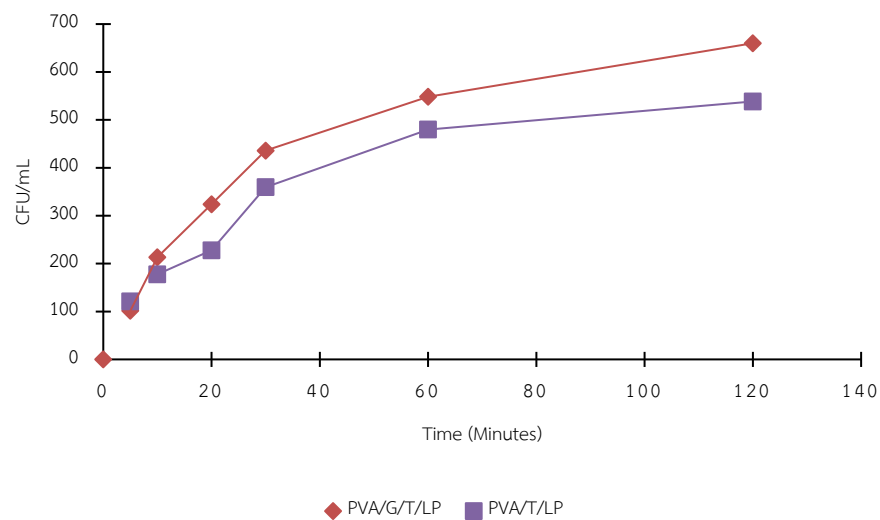
ตารางที่ 18 ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียหลังทำอิเล็กโทรสปินนิงของสารละลายพอลิเมอร์

ตัวอย่างแผ่นเส้นใยนาโน	ร้อยละความอยู่รอด
PVA/G/LP	$217.50 \pm 14.59$
PVA/LP	$37.80 \pm 2.68$
PVA/G/LA	$552.09 \pm 279.08$
PVA/LA	$201.13 \pm 67.98$

จากการศึกษาความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่มีเจลาตินผสมอยู่เปรียบเทียบกับแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่ไม่มีเจลาตินผสมอยู่ พบว่าแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่มีเจลาตินผสมอยู่มีร้อยละความอยู่รอดของ *L. plantarum* และ *L. acidophilus* เท่ากับ  $217.50 \pm 14.59$ ,  $37.80 \pm 2.68$  ตามลำดับ ในส่วนของร้อยละความอยู่รอดของ *L. plantarum* และ *L. acidophilus* ของแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่ไม่มีเจลาตินผสมเท่ากับ  $37.80 \pm 2.68$ ,  $201.13 \pm 67.98$

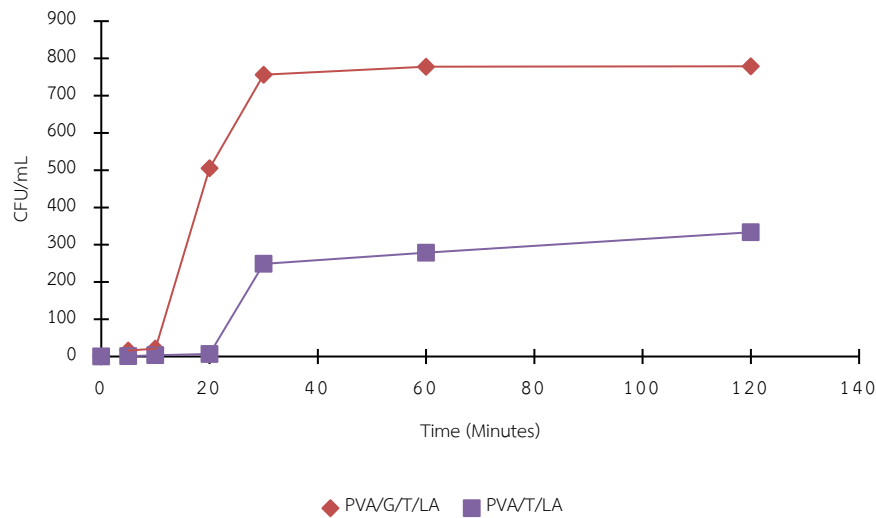
ตามลำดับ จากร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียในแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่ผสมเจลาตินลงไปพบว่ามีความอยู่รอดมากกว่าแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่ไม่มีเจลาตินผสมอยู่อย่างมีนัยสำคัญ ( $p$ -value = 0.027 *L. plantarum*,  $p$ -value = 0.018 *L. acidophilus*) แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเพิ่มความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของเจลาติน เนื่องจากเจลาตินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งซึ่งอุดมไปด้วยแร่ธาตุที่จำเป็นในการอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย ได้แก่ C, H, O, และ N ซึ่งผลการศึกษาเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับการศึกษาของ EditHirsch และคณะ ที่พบว่าใส่โพรไบโอติกจากพืชลงไปในการละลายพอลิเมอร์จะสามารถเพิ่มร้อยละความอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติกหลังจากผ่านกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์โทรสปินนิ่งได้

#### 6. ผลการศึกษาการปลดปล่อยโพรไบโอติกแบคทีเรียออกจากแผ่นแปะเส้นใยนาโน



รูปที่ 9 การสะสมของเชื้อ *L. plantarum* ที่ปลดปล่อยออกมาจากเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสมกับเจลาติน





รูปที่ 10 การสะสมของเชื้อ *L. acidophilus* ที่ปลดปล่อยออกมาจากเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสมกับเจลาติน

ตารางที่ 19 จลนศาสตร์ของการปลดปล่อยโพรไบโอติกแบคทีเรียจากแผ่นแปะเส้นใยนาโนในช่วงเวลาต่าง ๆ

ตัวอย่าง	Curve fitting constant ( $R^2$ )			
	Zero order	First order	Higuchi	Peppas (n)
PVA/T/LP	0.7946	0.7119	0.9601	0.9663 (0.49)
PVA/G/T/LP	0.881	0.6147	0.9599	0.9408 (0.57)
PVA/T/LA	0.743	0.5776	0.7845	0.857 (2.12)
PVA/G/T/LA	0.5658	0.4037	0.7409	0.9958 (0.27)

จากการพิจารณากราฟการปลดปล่อยโพรไบโอติกออกจากเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติก พบว่าแผ่นแปะที่มีการผสมเจลาตินและไม่ผสมเจลาตินมีการปลดปล่อยไม่แตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาจลนศาสตร์การปลดปล่อยจากค่า  $R^2$  พบว่าแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่มาจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียวของเชื้อ *L. plantarum* มีรูปแบบการปลดปล่อยเป็นแบบ Korsmeyer-peppas release model จากแผ่นแปะที่มีการผสมเจลาตินของเชื้อ *L. plantarum* มีค่าเท่ากับ 0.9599 มีรูปแบบการปลดปล่อยแบบ Higuchi model จากแผ่นแปะที่ไม่ได้ผสมเจลาตินของเชื้อ *L. acidophilus* มีค่าเท่ากับ 0.857 มีรูปแบบการปลดปล่อยเป็นแบบ Korsmeyer-peppas release model และจากแผ่นแปะที่มีการผสมเจลาตินของเชื้อ *L. acidophilus* มีค่าเท่ากับ 0.9958 มีรูปแบบการปลดปล่อย

เป็นแบบ Korsmeyer-peppas release model และการปลดปล่อยของ *L. acidophilus* มีระยะเวลาล่าช้าของการปลดปล่อยอยู่ที่ 10 – 20 นาที

7. ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acne* ของโพรไบโอติก  
ตารางที่ 20 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acne*

ตัวอย่าง	ผลการศึกษา
สารละลายเนื้อตะกอนของ <i>L. plantarum</i> จากสารละลายโพรไบโอติก	ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ
สารละลายเนื้อตะกอนของ <i>L. acidophilus</i> จากสารละลายโพรไบโอติก	ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ
สารละลายเนื้อตะกอนของ <i>L. plantarum</i> จากแผ่นแปะเส้นใยนาโน	ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ
สารละลายเนื้อตะกอนของ <i>L. acidophilus</i> จากแผ่นแปะเส้นใยนาโน	ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ
การดูโซเนสของเชื้อ <i>L. plantarum</i> และ <i>L. acidophilus</i>	ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ

8. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแผ่นแปะเส้นใยนาโนต่อหุ้มโพรไบโอติก  
ตารางที่ 21 ค่ายับยั้งได้ครึ่งหนึ่ง (IC<sub>50</sub>)

Samples	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
PVA/G/T/LP	0.88 ± 0.23
PVA/G/T/LA	1.21 ± 0.14
Ascorbic acid	0.00563 ± 0.0025

## บทที่ 5

### สรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและลักษณะทางกายภาพของเส้นใยนาโนจากสารละลายพอลิเมอร์สูตรต่าง ๆ

จากการศึกษาผลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยนาโนและลักษณะทางกายภาพ พบว่าการใส่เจลาตินในอัตราส่วนต่อพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่ 1.5:3.5 ส่งผลทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยนาโนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p$ -value < 0.05) เป็นผลมาจากสารละลายเจลาตินมีค่าความนำไฟฟ้าสูงถึง 1153.6  $\mu\text{s}/\text{cm}$  (8% w/w) ซึ่งพอลิไวนิลแอลกอฮอล์มีค่าความนำไฟฟ้าอยู่ที่ 336.5  $\mu\text{s}/\text{cm}$  (8% w/w) (12) การมีค่าความนำไฟฟ้าสูงนั้นแสดงถึงความสามารถในการจุไฟฟ้ามากขึ้น ทำให้เส้นใยนาโนที่มีเจลาตินผสมอยู่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่เล็กกว่าเส้นใยนาโนที่ไม่มีการผสมเจลาติน ในส่วนของการผสมโพรไบโอติกแบคทีเรียและทรีฮาโลสลงไปในการละลายพอลิเมอร์ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยนาโนอย่างไม่มีนัยสำคัญ

2. การศึกษาหมู่โครงสร้างของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ พงเจลาติน เส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ และเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่ผสมกับเจลาตินด้วยเครื่อง FTIR

จากรูปที่ 10 แสดงกราฟลักษณะหมู่โครงสร้างของพงเจลาติน พบสเปกตรัมของ OH stretching เป็นช่วงกว้างตั้งแต่เลขคลื่น 2800 – 3700  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นหมู่ไฮดรอกซี พบหมู่ NH stretching ที่เลขคลื่น 3270  $\text{cm}^{-1}$  พบหมู่ CH ของโปรตีนซึ่งอยู่ในเลขคลื่น 2936  $\text{cm}^{-1}$  และ 2875  $\text{cm}^{-1}$  พบหมู่ CO stretching ที่เลขคลื่น 1637  $\text{cm}^{-1}$  โดยเลขคลื่น 1260 – 1600  $\text{cm}^{-1}$  นั้นเป็นช่วงของความยาวคลื่นที่จะแสดงลักษณะของ Type 1 gelatin (109) รูปที่ 11 กราฟแสดงลักษณะหมู่โครงสร้างของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์พบสเปกตรัมของ OH stretching เป็นค่าเลขคลื่นที่ 3319.55  $\text{cm}^{-1}$  พบ CH stretching ที่ค่าเลขคลื่นที่ 2907.60  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นหมู่อัลคิล พบพันธะคู่และพันธะเดี่ยวของ CO stretching ซึ่งเป็นหมู่อะซิเตท (110) (111) และจากรูปที่ 12 แสดงกราฟลักษณะหมู่โครงสร้างของทรีฮาโลสพบ โดยพบ OH stretching ที่ค่าเลขคลื่น 3497.66  $\text{cm}^{-1}$  พบ OH bending ที่ค่าเลขคลื่น 1680  $\text{cm}^{-1}$  และพบ Glycosidic bond ที่ค่าเลขคลื่น 994.87 และ 955.66  $\text{cm}^{-1}$  (112) แสดงให้เห็นว่าการทำอิเล็กโทรสปินนั้นไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสาร เมื่อเปรียบเทียบหมู่โครงสร้างกับเส้นใยที่ผ่านการทำ อิเล็กโทรสปินในสูตรพอลิเมอร์ต่างๆ ดังรูปที่ 13 จะแสดงให้เห็นว่าหมู่โครงสร้างของเส้นใยที่ได้ออกมานั้นยังคงความเป็นสารเดิมไว้อยู่ได้ถึงแม้จะผ่านความร้อนจากการทำอิเล็กโทรสปินก็ตาม

3. การศึกษาคุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างด้วย Powder X-ray Diffraction (PXRD)

จากการศึกษาคุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างด้วยเครื่อง Powder X-ray Diffraction (PXRD) พบว่า PVA powder, Gelatin powder, PVA/G มีโครงสร้างเป็น amorphous ส่วน Trehalose powder มีโครงสร้างเป็น crystalline และ PVA/G/T, PVA/G/T/LP, PVA/G/T/LA มีโครงสร้างเป็น Semi-crystalline

4. การศึกษาความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียในสารละลายผสมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเจลาตินในอัตราส่วน 3.5:1.5 เทียบกับสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์หลังจากผ่านกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์สปินนิ่ง

จากการทดลอง พบว่าร้อยละความอยู่รอดของ *L. plantarum* ในสารละลายผสมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และเจลาตินในอัตราส่วน 3.5:1.5 มีค่าร้อยละความอยู่รอดมากกว่าในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เพียงตัวเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p$ -value = 0.027,  $p$ -value = 0.018) *L. plantarum* และ *L. acidophilus* ตามลำดับ

5. การศึกษาการปลดปล่อยโพรไบโอติกแบคทีเรียออกจากแผ่นแปะเส้นใยนาโน

จากการทดลองและนำมาคำนวณเป็นปริมาณของเชื้อโพรไบโอติกสะสมที่ออกมาจากเส้นใยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ผสมเจลาตินและเส้นใยที่ได้มาจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียวเพื่อดูการปลดปล่อย ปรากฏว่าเส้นใยพอลิเมอร์ที่มีการผสมเจลาตินและไม่ได้ผสมเจลาตินของ *L. plantarum* และ *L. acidophilus* ไม่มีความแตกต่างกัน และมีจลนศาสตร์การปลดปล่อยคือ การปลดปล่อยจลนศาสตร์แบบ Korsmeyer-peppas release model

6. การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acne* ของโพรไบโอติกและแผ่นแปะเส้นใยนาโน

จากการทดลองฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acne* ของโพรไบโอติก โดยการนำสารละลายเนื้อตะกอนจากโพรไบโอติกความเข้มข้นต่างๆและจากแผ่นแปะเส้นใยนาโนโพรไบโอติกที่มีน้ำหนักต่างกันมาผสมกับอาหารเหลวที่มีเชื้อ *C. acne* จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่า จากกราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายเนื้อตะกอนของ *L. plantarum* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. acne* (รูปที่ 19) การใช้สารละลายเนื้อตะกอนที่ได้จากเชื้อความเข้มข้น  $2 \times 10^6$ ,  $0.4 \times 10^6$ ,  $0.08 \times 10^6$ ,  $0.016 \times 10^6$  และ  $0.0032 \times 10^6$  CFU ได้ค่าการดูดกลืนแสง 1.241, 1.050, 0.851, 0.853 และ 0.794 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการใช้สารละลายเนื้อตะกอนความเข้มข้นมาก ผสมกับ *C. acne* ทำให้พบปริมาณเชื้อที่มากขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้สารละลายเนื้อตะกอนความเข้มข้นน้อย ส่วนกราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับความเข้มข้นของสารละลาย

เนื้อตะกอนของ *L. acidophilus* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. acne* (รูปที่ 20) ในความเข้มข้นข้างต้น ได้ค่าการดูดกลืนแสง 1.108, 0.961, 0.859, 0.879 และ 0.888 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการใช้ สารละลายเนื้อตะกอนความเข้มข้นมากทำให้พบปริมาณเชื้อที่มากขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้สารละลายเนื้อตะกอนความเข้มข้นน้อย ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกัน โดยผลที่ได้อาจมีสาเหตุมาจากการที่สารละลายเนื้อตะกอนที่เตรียมได้ยังมีเชื้อโพรไบโอติกหลงเหลืออยู่ เมื่อผสมกับเชื้อ *C. acne* จึงพบปริมาณเชื้อที่สูงขึ้น เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อ *C. acne* ที่ไม่ได้มีการผสมสารละลายเนื้อตะกอน

จากการทดลองฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acne* ของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติกโดยการนำแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่มีโพรไบโอติกน้ำหนักต่างๆ มาละลายในอาหารเหลวและปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บสารละลายเนื้อตะกอนและนำไปผสมกับอาหารเหลวที่มีเชื้อ *C. acne* พบว่าจากกราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับน้ำหนักแผ่นแปะเส้นใยนาโน ของ *L. plantarum* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. acne* (รูปที่ 21) การใช้สารละลายเนื้อตะกอนที่ได้จากแผ่นแปะเส้นใยนาโนขนาด 5, 10, 20, 40 และ 60 มิลลิกรัม ได้ค่าการดูดกลืนแสง 1.568, 1.517, 1.395, 1.371 และ 1.280 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการใช้สารละลายเนื้อตะกอน จากแผ่นแปะที่มีน้ำหนักมาก ผสมกับ *C. acne* ทำให้พบปริมาณเชื้อที่น้อยลงเมื่อเทียบกับการใช้สารละลายเนื้อตะกอนจากแผ่นแปะที่มีน้ำหนักน้อย แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณเชื้อที่พบในสารละลายเนื้อตะกอนที่ผสมกับ *C. acne* ยังมีปริมาณมากกว่าที่พบจากอาหารเหลวที่มีเชื้อ *C. acne* เพียงอย่างเดียว โดยสาเหตุอาจมาจากการที่สารละลายเนื้อตะกอนที่เตรียมได้ยังมีเชื้อโพรไบโอติกหลงเหลืออยู่ ส่วนกราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับน้ำหนักแผ่นแปะเส้นใยนาโน ของ *L. acidophilus* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. acne* (รูปที่ 22) การใช้สารละลายเนื้อตะกอนที่ได้จากแผ่นแปะเส้นใยนาโนขนาด 5, 10, 20, 40 และ 60 มิลลิกรัม ได้ค่าการดูดกลืนแสง 1.546, 1.405, 1.375, 1.284 และ 1.171 ตามลำดับ ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกันกับที่กล่าวข้างต้น

จากการทดลองฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acne* ของเชื้อโพรไบโอติกด้วยวิธี Agar well diffusion method พบว่า ทั้ง *L. plantarum* และ *L. acidophilus* ไม่พบโซนใส (รูปที่ 23) จึงสรุปได้ว่า เชื้อโพรไบโอติกทั้งสองไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. acne*

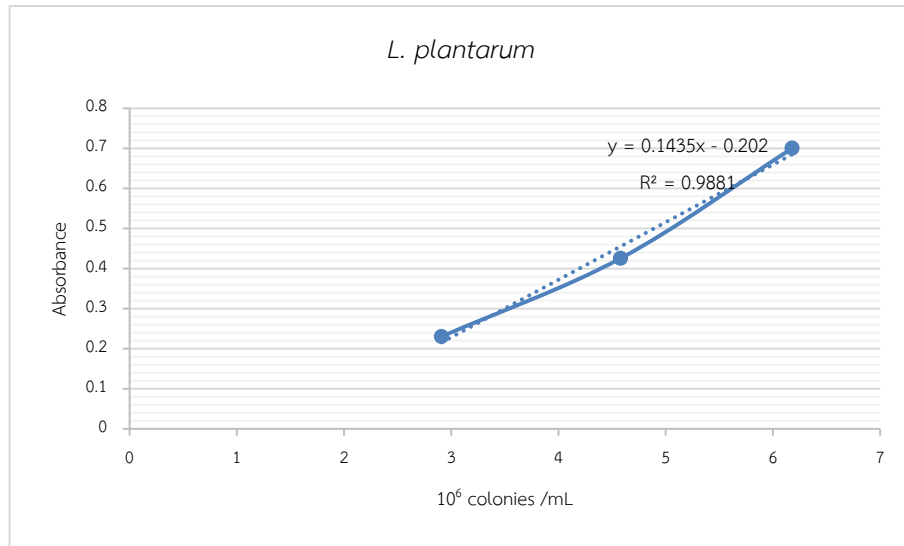
#### 7. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแผ่นแปะเส้นใยนาโนห่อหุ้มโพรไบโอติก

จากการทดลอง พบว่า โพรไบโอติกทั้งสองชนิดคือ *L. plantarum* และ *L. acidophilus* ไล่ลงไปบนเส้นใยพอลิเมอร์นั้นสามารถที่จะทำให้สารละลาย DPPH นั้นเปลี่ยนสีจากสีม่วงเข้มกลายเป็นสี

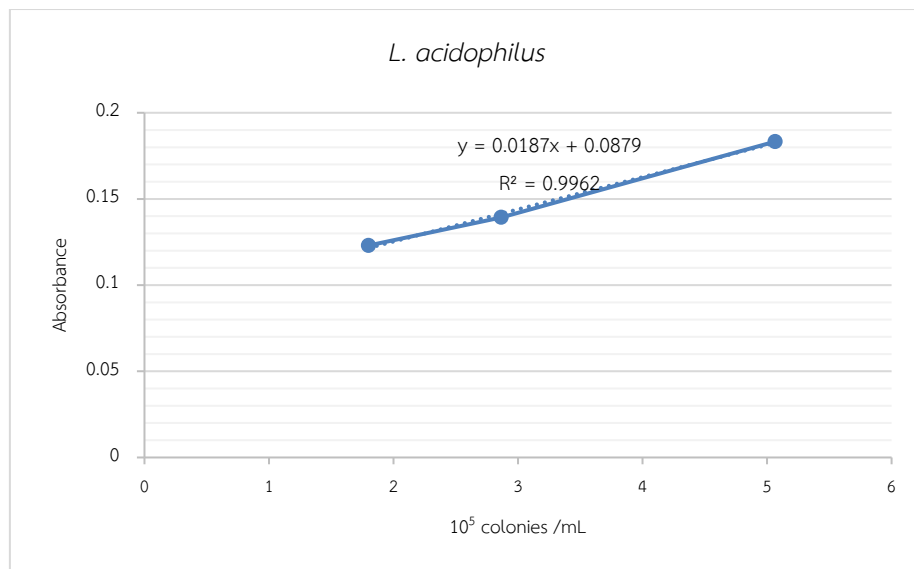
เหลืองอ่อนได้ทั้งสองชนิด (113) โดยค่าร้อยละการยับยั้งของ *L. plantarum* นั้นอยู่ที่ 76.99 และค่าร้อยละการยับยั้งของ *L. acidophilus* 76.41 ตามลำดับ ซึ่ง *L. plantarum* นั้นมีค่าสูงกว่า *L. acidophilus* เมื่อคำนวณค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งได้ครึ่งหนึ่ง ( $IC_{50}$ ) ออกมาผลที่ได้คือค่าของ *L. plantarum* และ *L. acidophilus* นั้นมีค่าเท่ากับ  $0.88 \pm 0.23$  และ  $1.21 \pm 0.14$  ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำค่าไปเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานคือ ascorbic acid แล้วผลที่ได้คือ โพรไบโอติกทั้งสองชนิดนั้นมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยมีความต่างกับ ascorbic acid อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า  $p$ -value เท่ากับ 0.012 ซึ่งในการทดลองนั้นได้มีการใช้สารน้ำใสที่ได้จากการนำเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหล่านั้นไปปั่นเหวี่ยงก่อนจึงนำมาทำการทดลอง จึงคาดว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นคือ การกลุ่มของ Lactic acid ตามงานวิจัยก่อนหน้าที่มีการศึกษามาก่อน (114)

## ภาคผนวก

1. กราฟมาตรฐานของความเข้มข้นโพรไบโอติกแบคทีเรียเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร



- รูปที่ 11 กราฟมาตรฐานของความเข้มข้นโพรไบโอติกแบคทีเรียเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร ของ *L. plantarum*



- รูปที่ 12 กราฟมาตรฐานของความเข้มข้นโพรไบโอติกแบคทีเรียเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร ของ *L. acidophilus*

## 2. ตารางนิยามคำย่อ

ตารางที่ 22 ตารางนิยามคำย่อ

	ตัวย่อ
เส้นไยนาโน PVA 10 % w/w และ Trehalose 4 % w/w	PVA/T
เส้นไยนาโน PVA:Gelatin 3.5:1.5 และ Trehalose 4 % w/w	PVA/G/T
เส้นไยนาโน PVA 10 % w/w LP และ Trehalose 4 % w/w	PVA/T/LP
เส้นไยนาโน PVA 10 % w/w LA และ Trehalose 4 % w/w	PVA/T/LA
เส้นไยนาโน PVA:Gelatin 3.5:1.5 /LP และ Trehalose 4 % w/w	PVA/G/T/LP
เส้นไยนาโน PVA:Gelatin 3.5:1.5 /LA และ Trehalose 4 % w/w	PVA/G/T/LA

## 3. การคำนวณร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย

การคำนวณความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย *L. plantarum* จากแผ่นเพาะเส้นไยนาโนที่มีเจลาติน

- จำนวนปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดก่อนทำอิเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg) ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ 250 มิลลิกรัม

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 100 เท่า ตัวอย่างที่ 1 มีโคโลนีเท่ากับ 227 โคโลนี เทียบกลับจาก 50  $\mu$ L เป็น 1000  $\mu$ L

$$\frac{227 \times 1,000}{50} = 4,540 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100

$$4,540 \times 100 = 454,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{454,000 \times 1}{250} = 1,816 \text{ CFU/mg}$$

- จำนวนปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg)



นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 100 เท่า ตัวอย่างที่ 1 มีโคโลนีเท่ากับ 42 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu$ L เป็น 1000  $\mu$ L

$$\frac{42 \times 1000}{50} = 840 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100

$$840 \times 100 = 84,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{84,000 \times 1}{20} = 4,200 \text{ CFU/mg}$$

- นำค่าที่คำนวณได้ในสมการที่ 1 เพื่อหาร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของตัวอย่างที่ 1

$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอิเล็คโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอิเล็คโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}} \times 100 \text{ --- สมการที่ 1}$$

$$\frac{4,200}{1,816} \times 100 = 231.28 \%$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดก่อนทำอิเล็คโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg) ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ 250 มิลลิกรัม

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 100 เท่า ตัวอย่างที่ 2 มีโคโลนีเท่ากับ 272 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu$ L เป็น 1000  $\mu$ L

$$\frac{272 \times 1,000}{50} = 5,440 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100

$$5,440 \times 100 = 544,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{544,000 \times 1}{250} = 2,176 \text{ CFU/mg}$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg)

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 100 เท่า ตัวอย่างที่ 2 มีโคโลนีเท่ากับ 44 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu\text{L}$  เป็น 1000  $\mu\text{L}$

$$\frac{44 \times 1000}{50} = 880 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100

$$880 \times 100 = 88,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{88,000 \times 1}{20} = 4,400 \text{ CFU/mg}$$

- นำค่าที่คำนวณได้ในสมการที่ 1 เพื่อหาร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของตัวอย่างที่ 2

$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอิเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg)}} \times 100 \text{ --- สมการที่ 1}$$

$$\frac{4,400}{2,176} \times 100 = 202.20 \%$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดก่อนทำอิเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg) ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ 250 มิลลิกรัม

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 100 เท่า ตัวอย่างที่ 3 มีโคโลนีเท่ากับ 234 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu\text{L}$  เป็น 1000  $\mu\text{L}$

$$\frac{234 \times 1,000}{50} = 4,680 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100

$$4,680 \times 100 = 468,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{468,000 \times 1}{250} = 1,872 \text{ CFU/mg}$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดหลังทำอเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 100 เท่า ตัวอย่างที่ 3 มีโคโลนีเท่ากับ 41 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu$ L เป็น 1000  $\mu$ L

$$\frac{41 \times 1000}{50} = 820 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100

$$820 \times 100 = 82,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{82,000 \times 1}{20} = 4,100 \text{ CFU/mg}$$

- นำค่าที่คำนวณได้ในสมการที่ 1 เพื่อหาร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของตัวอย่างที่ 3

$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}} \times 100 \text{ --- สมการที่ 1}$$

$$\frac{4,100}{1,872} \times 100 = 219.02 \%$$

นำค่าร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่มีเจลาติน (*L. plantarum*) มาหาค่าเฉลี่ย

$$\frac{231.28 + 202.20 + 219.02}{3} = 217.50 \%$$

การคำนวณความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย *L. plantarum* จากแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่ไม่มีเจลาติน

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดก่อนทำอิเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg) ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ 250 มิลลิกรัม

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 1,000 เท่า ตัวอย่างที่ 1 มีโคโลนีเท่ากับ 32 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu$ L เป็น 1000  $\mu$ L

$$\frac{32 \times 1000}{50} = 640 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 1000

$$640 \times 1000 = 640,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{640,000 \times 1}{250} = 2,560 \text{ CFU/mg}$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg)

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 10 เท่า ได้ค่าเฉลี่ยโคโลนีเท่ากับ 97 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu$ L เป็น 1000  $\mu$ L

$$\frac{97 \times 1,000}{50} = 1,940 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100

$$1,940 \times 10 = 19,400 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{19,400 \times 1}{20} = 970 \text{ CFU/mg}$$

- นำค่าที่คำนวณได้ในสมการที่ 1 เพื่อหาร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของตัวอย่างที่ 1

$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอิเล็คโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอิเล็คโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}} \times 100 \text{ --- สมการที่ 1}$$

$$\frac{970}{2,560} \times 100 = 37.89 \%$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดก่อนทำอิเล็คโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg) ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ 250 มิลลิกรัม

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 1000 เท่า ตัวอย่างที่ 2 มีโคโลนีเท่ากับ 34 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu\text{L}$  เป็น 1000  $\mu\text{L}$

$$\frac{34 \times 1,000}{50} = 680 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 1,000

$$680 \times 1,000 = 680,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{680,000 \times 1}{250} = 2,720 \text{ CFU/mg}$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดหลังทำอิเล็คโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 10 เท่า ตัวอย่างที่ 2 มีโคโลนีเท่ากับ 110 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu\text{L}$  เป็น 1000  $\mu\text{L}$

$$\frac{110 \times 1000}{50} = 2,200 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 10

$$2,200 \times 10 = 22,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{22,000 \times 1}{20} = 1,100 \text{ CFU/mg}$$

- นำค่าที่คำนวณได้ในสมการที่ 1 เพื่อหาร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของตัวอย่างที่ 2

$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}} \times 100 \text{ --- สมการที่ 1}$$

$$\frac{1,100}{2,720} \times 100 = 40.44 \%$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดก่อนทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg) ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ 250 มิลลิกรัม

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 1000 เท่า ตัวอย่างที่ 3 มีโคโลนีเท่ากับ 36 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu\text{L}$  เป็น 1000  $\mu\text{L}$

$$\frac{36 \times 1,000}{50} = 720 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 1,000

$$720 \times 1,000 = 720,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{720,000 \times 1}{250} = 2,880 \text{ CFU/mg}$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 10 เท่า ตัวอย่างที่ 3 มีโคโลนีเท่ากับ 101 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu\text{L}$  เป็น 1000  $\mu\text{L}$

$$\frac{101 \times 1000}{50} = 2,020 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 10

$$2,020 \times 10 = 20,200 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{20,200 \times 1}{20} = 1,010 \text{ CFU/mg}$$

- นำค่าที่คำนวณได้ใส่ในสมการที่ 1 เพื่อหาร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของตัวอย่างที่ 3

$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}} \times 100 \text{ --- สมการที่ 1}$$

$$\frac{1,010}{2,880} \times 100 = 35.07 \%$$

นำค่าร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่ไม่มีเจลาติน (*L. plantarum*) มาหาค่าเฉลี่ย

$$\frac{37.89 + 40.44 + 35.07}{3} = 37.80 \%$$

การคำนวณความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย *L. acidophilus* จากแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่มีเจลาติน

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดก่อนทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg) ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ 250 มิลลิกรัม

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 1000 เท่า ตัวอย่างที่ 1 มีโคโลนีเท่ากับ 46 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu$ L เป็น 1000  $\mu$ L

$$\frac{46 \times 1000}{50} = 920 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 1,000

$$920 \times 1,000 = 920,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{920,000 \times 1}{250} = 3,680 \text{ CFU/mg}$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดหลังทำอิเล็คโทรสปินนิง (CFU/mg)

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 100 เท่า ตัวอย่างที่ 1 มีโคโลนีเท่ากับ 123 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu\text{L}$  เป็น 1000  $\mu\text{L}$

$$\frac{123 \times 1000}{50} = 2,460 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100 เท่า

$$2,460 \times 100 = 246,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{246,000 \times 1}{20} = 12,300 \text{ CFU/mg}$$

- นำค่าที่คำนวณได้ใส่ในสมการที่ 1 เพื่อหาร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของตัวอย่างที่ 1

$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอิเล็คโทรสปินนิง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอิเล็คโทรสปินนิง (CFU/mg)}} \times 100 \text{ --- สมการที่ 1}$$

$$\frac{12,300}{3680} \times 100 = 334.24 \%$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดก่อนทำอิเล็คโทรสปินนิง (CFU/mg) ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ 250 มิลลิกรัม

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 1000 เท่า ตัวอย่างที่ 2 มีโคโลนีเท่ากับ 42 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu\text{L}$  เป็น 1000  $\mu\text{L}$



$$\frac{42 \times 1000}{50} = 840 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 1,000

$$840 \times 1,000 = 840,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{840,000 \times 1}{250} = 3,360 \text{ CFU/mg}$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดหลังทำอเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg)

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 100 เท่า ตัวอย่างที่ 2 มีโคโลนีเท่ากับ 153 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu$ L เป็น 1000  $\mu$ L

$$\frac{153 \times 1000}{50} = 3,060 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100 เท่า

$$3,060 \times 100 = 306,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{306,000 \times 1}{20} = 15,300 \text{ CFU/mg}$$

- นำค่าที่คำนวณได้ใส่ในสมการที่ 1 เพื่อหาร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของตัวอย่างที่ 2

$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอเล็กโทรสปินนิง (CFU/mg)}} \times 100 \text{ --- สมการที่ 1}$$

$$\frac{15,300}{3,360} \times 100 = 455.36 \%$$

- จำนวนปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดก่อนทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg) ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ 250 มิลลิกรัม

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 1000 เท่า ตัวอย่างที่ 3 มีโคโลนีเท่ากับ 30 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu$ L เป็น 1000  $\mu$ L

$$\frac{30 \times 1000}{50} = 600 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 1,000

$$600 \times 1,000 = 600,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{600,000 \times 1}{250} = 2,400 \text{ CFU/mg}$$

- จำนวนปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 100 เท่า ตัวอย่างที่ 3 มีโคโลนีเท่ากับ 208 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu$ L เป็น 1000  $\mu$ L

$$\frac{208 \times 1000}{50} = 4,160 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100 เท่า

$$4,160 \times 100 = 416,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{416,000 \times 1}{20} = 20,800 \text{ CFU/mg}$$

- นำค่าที่คำนวณได้ในสมการที่ 1 เพื่อหาร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของตัวอย่างที่ 3

$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}} \times 100 \quad \text{สมการที่ 1}$$

$$\frac{20,800}{2,400} \times 100 = 866.67 \%$$

นำค่าร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่ไม่มีเจลาติน (*L. acidophilus*) มาหาค่าเฉลี่ย

$$\frac{334.24 + 455.36 + 866.67}{3} = 552.09 \%$$

การคำนวณความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย *L. acidophilus* จากแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่ไม่มีเจลาติน

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดก่อนทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg) ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ 250 มิลลิกรัม

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 1,000 เท่า ตัวอย่างที่ 1 มีโคโลนีเท่ากับ 55 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu\text{L}$  เป็น 1000  $\mu\text{L}$

$$\frac{55 \times 1000}{50} = 1,100 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 1,000 เท่า

$$1,100 \times 1000 = 1,100,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{1,100,000 \times 1}{250} = 4,400 \text{ CFU/mg}$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 100 เท่า ตัวอย่างที่ 1 มีโคโลนีเท่ากับ 72 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu\text{L}$  เป็น 1000  $\mu\text{L}$

$$\frac{72 \times 1000}{50} = 1,440 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100 เท่า

$$1,440 \times 100 = 144,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{144,000 \times 1}{20} = 7,200 \text{ CFU/mg}$$

- นำค่าที่คำนวณได้ใส่ในสมการที่ 1 เพื่อหาร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของตัวอย่างที่ 1

$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}} \times 100 \text{ --- สมการที่ 1}$$

$$\frac{7,200}{4,400} \times 100 = 163.64 \%$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดก่อนทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg) ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ 250 มิลลิกรัม

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 1,000 เท่า ตัวอย่างที่ 2 มีโคโลนีเท่ากับ 64 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu\text{L}$  เป็น 1000  $\mu\text{L}$

$$\frac{64 \times 1000}{50} = 1,280 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 1,000 เท่า

$$1,280 \times 1000 = 1,280,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{1,280,000 \times 1}{250} = 5,120 \text{ CFU/mg}$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 100 เท่า ตัวอย่างที่ 2 มีโคโลนีเท่ากับ 82 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu$ L เป็น 1000  $\mu$ L

$$\frac{82 \times 1000}{50} = 1,640 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100 เท่า

$$1,640 \times 100 = 164,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{164,000 \times 1}{20} = 8,200 \text{ CFU/mg}$$

- นำค่าที่คำนวณได้ในสมการที่ 1 เพื่อหาร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของตัวอย่างที่ 2

$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}} \times 100 \text{ --- สมการที่ 1}$$

$$\frac{8,200}{5,120} \times 100 = 160.16 \%$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดก่อนทำอิเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg) ซึ่งสารละลายพอลิเมอร์ 250 มิลลิกรัม

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 1,000 เท่า ตัวอย่างที่ 3 มีโคโลนีเท่ากับ 38 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu$ L เป็น 1000  $\mu$ L

$$\frac{38 \times 1000}{50} = 760 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 1,000 เท่า

$$760 \times 1000 = 760,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{760,000 \times 1}{250} = 3,040 \text{ CFU/mg}$$

- คำนวณปริมาณโพรไบโอติกที่อยู่รอดหลังทำอเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)

นับจำนวนโคโลนีจาก plate ที่มีการเจือจาง 100 เท่า ตัวอย่างที่ 3 มีโคโลนีเท่ากับ 85 โคโลนีเทียบกลับจาก 50  $\mu\text{L}$  เป็น 1000  $\mu\text{L}$

$$\frac{85 \times 1000}{50} = 1,700 \text{ Colonies}$$

คูณ dilution factor 100 เท่า

$$1,700 \times 100 = 170,000 \text{ Colonies}$$

คำนวณกลับเป็นหน่วย CFU/mg

$$\frac{170,000 \times 1}{20} = 8,500 \text{ CFU/mg}$$

- นำค่าที่คำนวณได้ในสมการที่ 1 เพื่อหาร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของตัวอย่างที่ 3

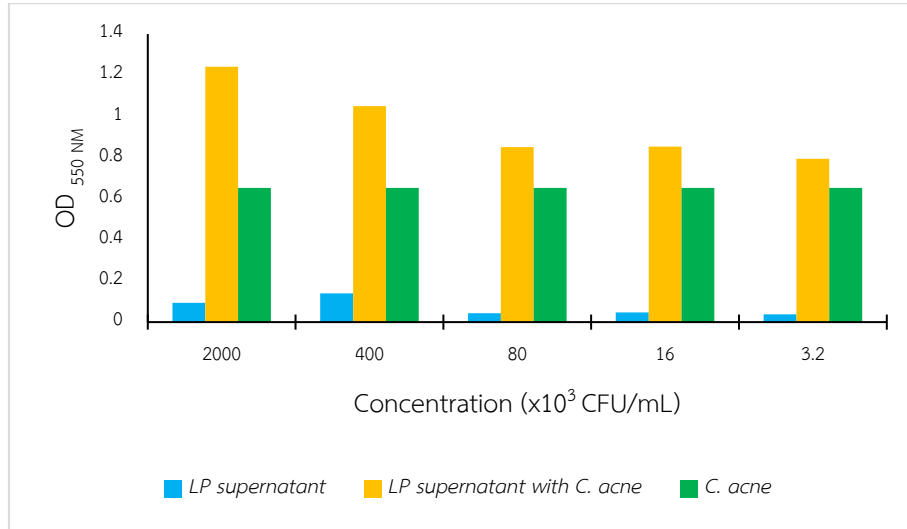
$$\text{ร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรีย} = \frac{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียที่อยู่รอดหลังทำอเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}}{\text{ปริมาณโพรไบโอติกแบคทีเรียก่อนทำอเล็กโทรสปีนนิ่ง (CFU/mg)}} \times 100 \text{ --- สมการที่ 1}$$

$$\frac{8,500}{3,040} \times 100 = 279.60 \%$$

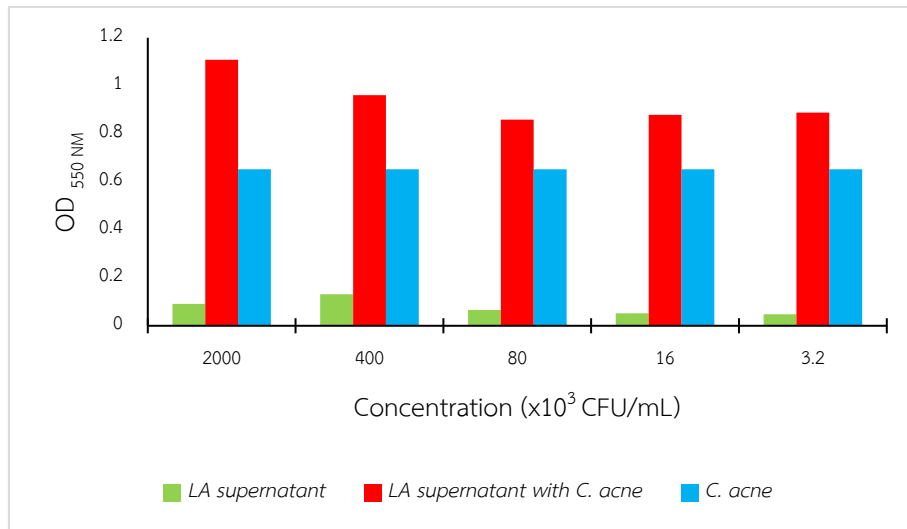
นำค่าร้อยละความอยู่รอดของโพรไบโอติกแบคทีเรียของแผ่นแปะเส้นใยนาโนที่ไม่มีเจลาติน (*L. acidophilus*) มาหาค่าเฉลี่ย

$$\frac{163.64 + 160.16 + 279.60}{3} = 201.13 \%$$

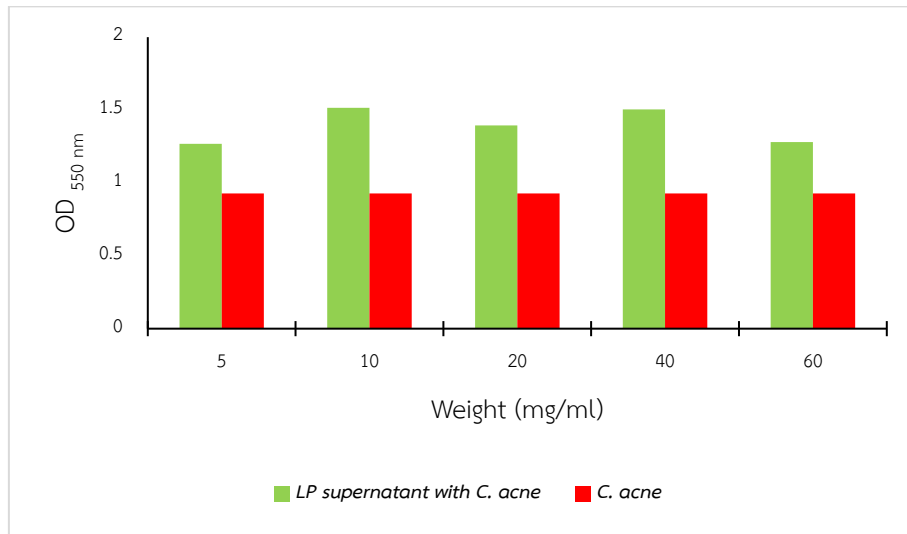
4. กราฟแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Cutibacterium acne* ของโปรไบโอติก



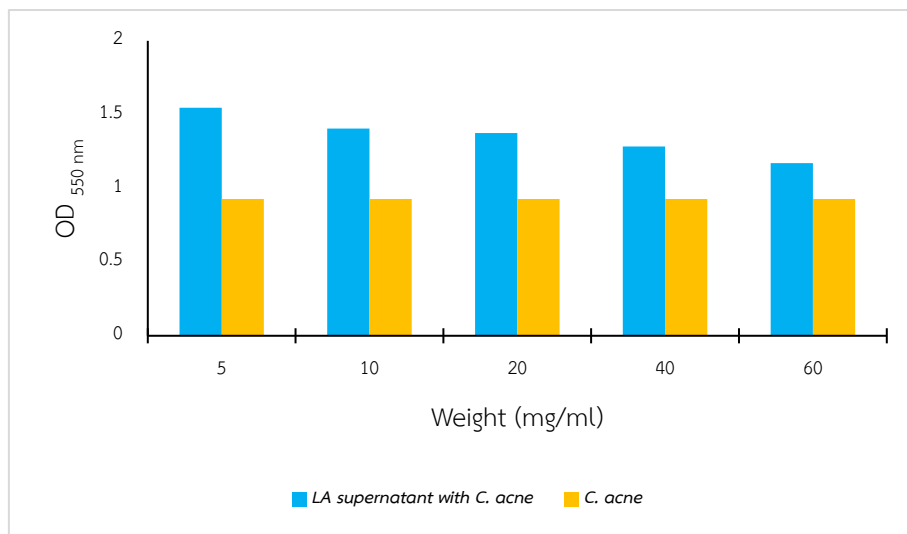
รูปที่ 13 แสดงการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเห็ดก่อน *L. plantarum* สารละลายเห็ดก่อน *L. plantarum* ที่ผสมกับ *C. acne* และ *C. acne* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



รูปที่ 14 แสดงการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเห็ดก่อน *L. acidophilus* สารละลายเห็ดก่อน *L. acidophilus* ที่ผสมกับ *C. acne* และ *C. acne* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

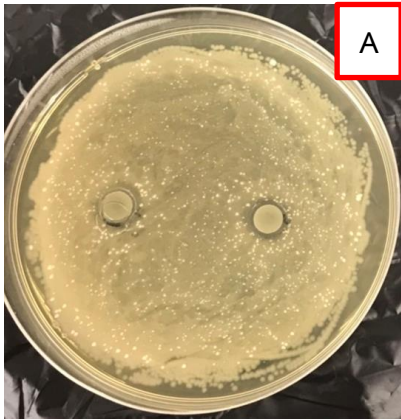


รูปที่ 15 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเห็ดตะกอน *L. plantarum* ที่ได้จากแผ่นแปะเส้นใยนาโนขนาดต่างๆที่ผสมกับ *C. acne* เทียบกับ *C. acne*

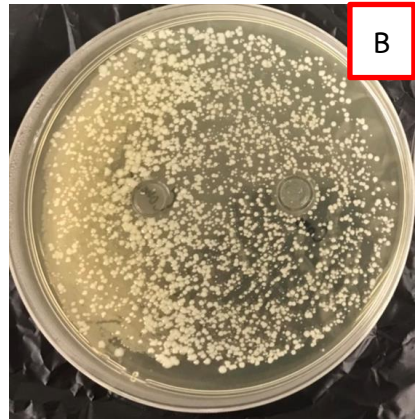


รูปที่ 16 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเห็ดตะกอน *L. acidophilus* ที่ได้จากแผ่นแปะเส้นใยนาโนขนาดต่างๆที่ผสมกับ *C. acne* เทียบกับ *C. acne*





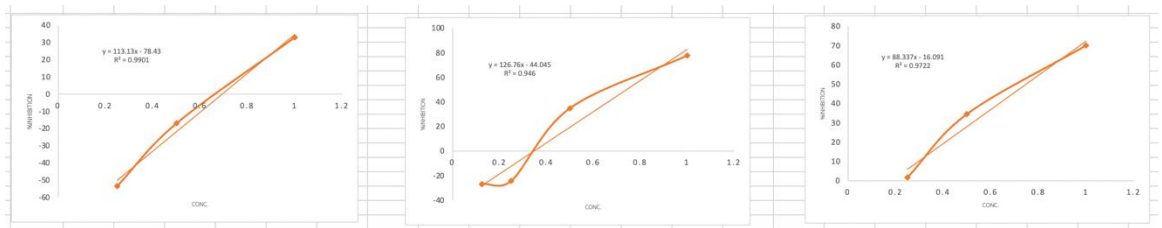
A



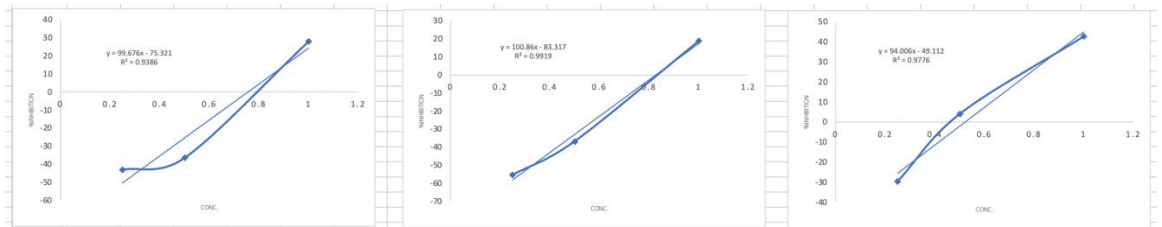
B

รูปที่ 17 รูปถ่ายแสดงโซนใสของเชื้อ (A) *L. plantarum*, (B) *L. acidophilus*

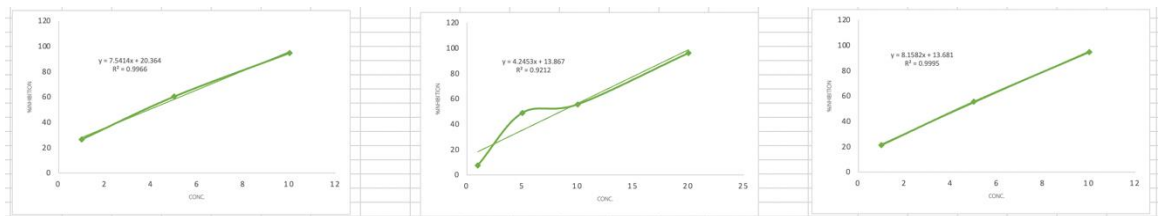
5. กราฟแสดงผลการต้านอนุมูลอิสระ



รูปที่ 18 แสดงกราฟร้อยละการยับยั้ง DPPH ต่อความเข้มข้นของเชื้อ *L. plantarum*



รูปที่ 19 แสดงกราฟร้อยละการยับยั้ง DPPH ต่อความเข้มข้นของเชื้อ *L. acidophilus*



รูปที่ 20 แสดงกราฟร้อยละการยับยั้ง DPPH ต่อความเข้มข้นของ ascorbic acid

## Plagiarism Checking Report

Created on Apr 19, 2022 at 14:12 PM

### Submission Information

ID	SUBMISSION DATE	SUBMITTED BY	ORGANIZATION	FILENAME	STATUS	SIMILARITY INDEX
2512207	Apr 19, 2022 at 14:12 PM	60210097@go.buu.ac.th	มหาวิทยาลัยบูรพา	โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์Final.pdf	Completed	0.28 %

### Match Overview

NO.	TITLE	AUTHOR(S)	SOURCE	SIMILARITY INDEX
1	THE ADMINISTRATORS 'LEADERSHIP IN COLLEGE OF MUSIC\\\\\\, MAHIDOL UNIVERSITY,ภาวะผู้นำของผู้บริหาร ในวิทยาลัยดุริยางคศิลป์ มหาวิทยาลัยมหิดล	นางณัฐธามิตา ทัพปรีชา	มหาวิทยาลัยศิลปากร	0.16 %
2	ประสิทธิภาพของสารเสริมอาหารโปรไบโอติกและอีเอ็มต่อการเจริญเติบโต ของปลาหมอไทย,Effective of Supplementation Probiotic and Effective Microorganisms (EM) on Growth Performance of Climbing Perch (Anabas testudineus)	หัตถพร เครือศรี	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี	0.12 %

รูปที่ 21 ผลการตรวจสอบการลอกเลียนวรรณกรรมทางวิชาการ

## เอกสารอ้างอิง

1. Cinque B, Torre C, Melchiorre E, Marchesani G, Zoccali G, Palumbo P, et al. Use of Probiotics for Dermal Applications. 212011. p. 221-41.
2. Silva DR, Sardi JdCO, Pitangui NdS, Roque SM, Silva ACBd, Rosalen PL. Probiotics as an alternative antimicrobial therapy: Current reality and future directions. *Journal of Functional Foods*. 2020;73:104080.
3. Kober MM, Bowe WP. The effect of probiotics on immune regulation, acne, and photoaging. *International journal of women's dermatology*. 2015;1(2):85-9.
4. Jungtae N, Su-Young K, Jung Ok L, Yu-jin K, Esther L, Minjung C, et al. *Research Square*. 2021.
5. Rafael Contreras-Cáceres LC, Gloria Perazzoli, Amelia Díaz, Juan Manuel López-Romero, Consolación Melguizo and Jose Prados. *Electrospun Nanofibers: Recent Applications in Drug Delivery and Cancer Therapy. Nanomaterials 2019*. 2019.
6. Fulya Yilmaz GCaGT. *Nanofibers in Cosmetics*. 2016.
7. Zhang LDaH. *Recent Advances in Probiotics Encapsulation by Electrospinning. ES Food & Agroforestry*. 2020.
8. Lanlan Wei DZ, Xuejun Kang *Electrospinning as a novel strategy for the encapsulation of living probiotics in polyvinyl alcohol/silk fibroin. Innovative Food Science & Emerging Technologies 2021*.
9. Emine Merve Çanga FCD. *Improved digestive stability of probiotics encapsulated within poly(vinyl alcohol)/cellulose acetate hybrid fibers. Carbohydrate Polymers*. 2021.
10. Castillo-Ortega M, Nájera-Luna A, Rodríguez-Félix DE, Encinas C, Rodríguez-Félix F, Romero J, et al. *Preparation, characterization and release of amoxicillin from cellulose acetate and poly(vinyl pyrrolidone) coaxial electrospun fibrous membranes. Materials Science and Engineering: C*. 2011;31:1772-8.
11. Jordan Hawkins RN, Paul Durham. *Inclusion of Chicken Broth AAC1 as a Dietary Supplement Modulates the Gut Microbiome: Results of Next-Generation DNA Sequencing. The Experimental Biology 2016*. 2016:854.3.

12. Chao Yang XW, Yinghui Zhao, Ling Xu, Shicheng Wei. Nanofibrous Scaffold Prepared by Electrospinning of Poly(vinyl alcohol)/Gelatin Aqueous Solutions. *Journal of Applied Polymer Science*. 2011:3048.
13. Nih.gov.
15. Chooruk A, Piwat S, Teanpaisan R. Antioxidant activity of various oral *Lactobacillus* strains. *J Appl Microbiol*. 2017;123(1):271-9.
16. Brandi J, Cheri S, Manfredi M, Di Carlo C, Vita Vanella V, Federici F, et al. Exploring the wound healing, anti-inflammatory, anti-pathogenic and proteomic effects of lactic acid bacteria on keratinocytes. *Sci Rep*. 2020;10(1):11572.
17. Amdekar S, Roy P, Singh V, Kumar A, Singh R, Sharma P. Anti-inflammatory activity of *Lactobacillus* on carrageenan-induced paw edema in male wistar rats. *International journal of inflammation*. 2012;2012:752015.
18. Kim J, Kim H, Jeon S, Jo J, Kim Y, Kim H. Synergistic Antibacterial Effects of Probiotic Lactic Acid Bacteria with *Curcuma longa* Rhizome Extract as Synbiotic against *Cutibacterium acnes*. *Applied Sciences*. 2020;10(24):8955.
19. Wang L, Zhang H, Rehman MU, Mehmood K, Jiang X, Iqbal M, et al. Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* isolated from Tibetan yaks. *Microbial Pathogenesis*. 2018;115:293-8.
20. Cha H, Kim SK, Kook M, Yi TH. *Lactobacillus paraplantarum* THG-G10 as a potential anti-acne agent with anti-bacterial and anti-inflammatory activities. *Anaerobe*. 2020;64:102243.
21. Layus BI, Gerez CL, Rodriguez AV. Antibacterial Activity of *Lactobacillus plantarum* CRL 759 Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Arabian Journal for Science and Engineering*. 2020;45(6):4503-10.
22. Aween MM, Hassan Z, Muhialdin BJ, Eljamel YA, Al-Mabrok AS, Lani MN. Antibacterial activity of *Lactobacillus acidophilus* strains isolated from honey marketed in Malaysia against selected multiple antibiotic resistant (MAR) Gram-positive bacteria. *J Food Sci*. 2012;77(7):M364-71.

23. Trabelsi I, Ayadi D, Bejar W, Bejar S, Chouayekh H, Ben Salah R. Effects of *Lactobacillus plantarum* immobilization in alginate coated with chitosan and gelatin on antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014;64:84-9.
24. Okechukwu E, Dike-Ndudim J, Ndubueze C, Iwuji-Aguzie C. Antibacterial activity of *Lactobacillus* species isolated from raw goat milk against *Staphylococcus aureus*. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*. 2021;6:065-72.
25. Li S, Huang R, Shah NP, Tao X, Xiong Y, Wei H. Antioxidant and antibacterial activities of exopolysaccharides from *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 and *Lactobacillus plantarum* R315. *Journal of Dairy Science*. 2014;97(12):7334-43.
26. Gueniche A, Benyacoub J, Philippe D, Bastien P, Kusy N, Breton L, et al. *Lactobacillus paracasei* CNCM I-2116 (ST11) inhibits substance P-induced skin inflammation and accelerates skin barrier function recovery in vitro. 2010;20(6):731-7.
27. Thakur BK, Saha P, Banik G, Saha DR, Grover S, Batish VK, et al. Live and heat-killed probiotic *Lactobacillus casei* Lbs2 protects from experimental colitis through Toll-like receptor 2-dependent induction of T-regulatory response. *International Immunopharmacology*. 2016;36:39-50.
28. Eslami S, Hadjati J, Motevaseli E, Mirzaei R, Farashi Bonab S, Ansari-pour B, et al. *Lactobacillus crispatus* strain SJ-3C-US induces human dendritic cells (DCs) maturation and confers an anti-inflammatory phenotype to DCs. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2016;124(8):697-710.
29. Smith IM, Baker A, Christensen JE, Boekhout T, Frøkiær H, Arneborg N, et al. *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces boulardii* Induce Distinct Levels of Dendritic Cell Cytokine Secretion and Significantly Different T Cell Responses In Vitro. *PloS one*. 2016;11(11):e0167410.
30. Kanda T, Nishida A, Ohno M, Imaeda H, Shimada T, Inatomi O, et al. *Enterococcus durans* TN-3 Induces Regulatory T Cells and Suppresses the Development of Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Experimental Colitis. *PloS one*. 2016;11(7):e0159705.

31. Dogi C, García G, De Moreno de LeBlanc A, Greco C, Cavaglieri L. *Lactobacillus rhamnosus* RC007 intended for feed additive: immune-stimulatory properties and ameliorating effects on TNBS-induced colitis. *Beneficial microbes*. 2016;7(4):539-47.
32. Zhou X, Liu H, Zhang J, Mu J, Zalan Z, Hegyi F, et al. Protective effect of *Lactobacillus fermentum* CQPC04 on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice is associated with modulation of the nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway. *Journal of dairy science*. 2019;102(11):9570-85.
33. Chen L, Zou Y, Peng J, Lu F, Yin Y, Li F, et al. *Lactobacillus acidophilus* suppresses colitis-associated activation of the IL-23/Th17 axis. *Journal of immunology research*. 2015;2015:909514.
34. Choi SH, Lee SH, Kim MG, Lee HJ, Kim GB. *Lactobacillus plantarum* CAU1055 ameliorates inflammation in lipopolysaccharide-induced RAW264.7 cells and a dextran sulfate sodium-induced colitis animal model. *Journal of dairy science*. 2019;102(8):6718-25.
35. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016;6(2):71-9.
36. Marroki A, Bousmaha-Marroki L. Antibiotic Resistance Diagnostic Methods for Pathogenic Bacteria. Reference Module in Biomedical Sciences: Elsevier; 2021.
37. Lertcanawanichakul M, Sawangnop S. A Comparison of Two Methods Used for Measuring the Antagonistic Activity of Bacillus Species. *Walailak Journal of Science and Technology*. 2008;5:161-71.
38. Wang M, Zhang Y, Wang R, Wang Z, Yang B, Kuang H. An Evolving Technology That Integrates Classical Methods with Continuous Technological Developments: Thin-Layer Chromatography Bioautography. *Molecules*. 2021;26(15).
39. Peyron F, Favel A, Guiraud-Dauriac H, El Mzibri M, Chastin C, Dumenil G, et al. Evaluation of a flow cytometric method for rapid determination of amphotericin B susceptibility of yeast isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1997;41(7):1537-40.
40. Fakhouri F CA, Mariano M, Yamashita F, Mei L, Soldi V et al. . Effect of a gelatin-based edible coating containing cellulose nanocrystals (CNC) on the quality and

nutrient retention of fresh strawberries during storage. *Materials Science and Engineering* 2014.

41. Shi S WW, Liu L, Wu S, Wei Y, Li W. . Effect of chitosan/nano-silica coating on the physicochemical characteristics of longan fruit under ambient temperature. *Journal of Food Engineering*. 2013;118(1):125-31.

42. Yu Y. Jujube preservation using chitosan film with nano-silicon dioxide. *Journal of Food Engineering*. 2012;113(3):408-14.

43. de S. Medeiros B SM, Pinheiro A, Bourbon A, Cerqueira M, Vicente A et al. . Physical Characterisation of an Alginate/Lysozyme Nano-Laminate Coating and Its Evaluation on 'Coalho' Cheese Shelf Life. *Food and Bioprocess Technology*. 2013;7(4).

44. Qiu Y PK. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2012;64:49-60.

45. Ma Z HA, Molavi O, Lavasanifar A, Lai R, Samuel J. . Micelles of poly(ethylene oxide)-b-poly( $\epsilon$ -caprolactone) as vehicles for the solubilization, stabilization, and controlled delivery of curcumin. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2008;86A(2):300-10.

46. Sahu A BU, Kasoju N, Goswami P. . Synthesis of novel biodegradable and self-assembling methoxy poly(ethylene glycol)-palmitate nanocarrier for curcumin delivery to cancer cells. *Acta Biomaterialia*. 2008;4(6):1752-61.

47. Kong M CX, Kweon D, Park H. Investigations on skin permeation of hyaluronic acid based nanoemulsion as transdermal carrier. *Carbohydrate Polymers*. 2011;86(2):837-43.

48. Yuan Y GY, Zhao J, Mao L. Characterization and stability evaluation of  $\beta$ -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions. *Food Research International*. 2008;41(1):61-8.

49. Yoshizaki Y YE, Sakaguchi N, Koiwai K, Harada A, Kono K. . Potentiation of pH-sensitive polymer-modified liposomes with cationic lipid inclusion as antigen delivery carriers for cancer immunotherapy. *Biomaterials*. 2014;35(28):8186-96.

50. Tang F LL, Chen D. . ChemInform Abstract: Mesoporous Silica Nanoparticles: Synthesis, Biocompatibility and Drug Delivery. *ChemInform*. 2012;43(20).

51. SAHO PKPAB. Synthesis and Applications of Electrospun Nanofibers. Nanotechnology. 2013;1.
52. Patan Adam Khan\* KS, Sreekanth Nama, P. Suresh, B. Brahmaiah. NANOFIBERS - A NEW TREND IN NANO DRUG DELIVERY SYSTEMS. International Journal of Pharmaceutical Research & Analysis. 2013;3:47-55.
53. Kenry, Lim CT. Nanofiber technology: current status and emerging developments. Progress in Polymer Science. 2017;70:1-17.
54. Hasegawa T, Mikuni T. Higher-Order Structural Analysis of Nylon-66 Nanofibers Prepared by Carbon Dioxide Laser Supersonic Drawing and Exhibiting Near-Equilibrium Melting Temperature. Journal of Applied Polymer Science. 2014;131.
55. Suzuki A, Oshiro Y. Preparation of poly(ethylene-2,6-naphthalate) nanofibers by CO<sub>2</sub> laser supersonic drawing. Polymer Journal. 2021;53(5):593-601.
56. Hu X, Zhang X, Shen X, Li H, Takai O, Saito N. Plasma-Induced Synthesis of CuO Nanofibers and ZnO Nanoflowers in Water. Plasma Chemistry and Plasma Processing. 2014;34(5):1129-39.
57. Behrens AM, Casey BJ, Sikorski MJ, Wu KL, Tutak W, Sandler AD, et al. In Situ Deposition of PLGA Nanofibers via Solution Blow Spinning. ACS Macro Letters. 2014;3(3):249-54.
58. Ren L, Ozisik R, Kotha SP, Underhill PT. Highly Efficient Fabrication of Polymer Nanofiber Assembly by Centrifugal Jet Spinning: Process and Characterization. Macromolecules. 2015;48(8):2593-602.
59. Ren L, Ozisik R, Kotha SP. Rapid and efficient fabrication of multilevel structured silica micro-/nanofibers by centrifugal jet spinning. Journal of colloid and interface science. 2014;425:136-42.
60. Onses MS, Song C, Williamson L, Sutanto E, Ferreira PM, Alleyne AG, et al. Hierarchical patterns of three-dimensional block-copolymer films formed by electrohydrodynamic jet printing and self-assembly. Nat Nanotechnol. 2013;8(9):667-75.



61. Noorani L SM, Liang R, Pourgholami M, Morris D. . Albumin nanoparticles increase the anticancer efficacy of albendazole in ovarian cancer xenograft model. *Journal of Nanobiotechnology*. 2015;13(1).
62. Tang B DM, Lai S, Wang Y, Suk J, Yang M et al. . Biodegradable polymer nanoparticles that rapidly penetrate the human mucus barrier. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.106(46):19268-73.
63. Naik D RJ. Amorphous polymeric binary blend pH-responsive nanoparticles for dissolution enhancement of antiviral drug. . *Journal of Saudi Chemical Society*. 2016;20:S168-S77.
64. Gelperina S KK, Iseman M, Heifets L. . The Potential Advantages of Nanoparticle Drug Delivery Systems in Chemotherapy of Tuberculosis. . *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2005;172(12):1487-90.
65. Elmowafy M SA, Abdelaziz A, Shalaby K, Salama A, Raslan M et al. . Polymeric nanoparticles based topical gel of poorly soluble drug: Formulation, ex-vivo and in vivo evaluation. . *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 2017;6(2):184-91.
66. Ahmadnia S MM, Mohammadi-Samani S, Oryan A. . In vivo evaluation of the efficacy of albendazole sulfoxide and albendazole sulfoxide loaded solid lipid nanoparticles against hydatid cyst. . *Experimental Parasitology*. 2013;135(2):314-9.
67. Jawahar N MS. Polymeric nanoparticles for drug delivery and targeting: A comprehensive review. *International Journal of Health & Allied Sciences*. 2012;1(4):217.
68. Paul W SC. Ceramic Drug Delivery: A Perspective. *Journal of Biomaterials Applications*. 2003;17(4):253-64.
69. Seong D KY. Enhanced photodynamic therapy efficacy of methylene blue-loaded calcium phosphate nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2015;146:34-43.
70. Rawat P MK, Gupta S, kalam A, Vohora D, Ahmad F et al. . Design and Development of Bioceramic Based Functionalized PLGA Nanoparticles of Risedronate for Bone Targeting: In-vitro Characterization and Pharmacodynamic Evaluation. *Pharmaceutical Research*. 2015;32(10):3149-58.

71. Samim M. Calcium Phosphate Nanoparticles a novel non- viral gene delivery system for genetic transformation of tobacco. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014;6:605-9.
72. Wong L TB, Miao X. Functionally graded tricalcium phosphate/fluoroapatite composites. *Materials Science and Engineering: C*. 2002;20(1-2):111-5.
73. Sánchez-Salcedo S NA, Vallet-Regí M. . Hydroxyapatite/ $\beta$ -tricalcium phosphate/agarose macroporous scaffolds for bone tissue engineering. *Chemical Engineering Journal*. 2008;137(1):62-71.
74. Mendelson B JS, Lavoipierre A, Huggins R. . The Fate of Porous Hydroxyapatite Granules Used in Facial Skeletal Augmentation. *Aesthetic Plastic Surgery*. 2010;34(4):455-61.
75. Vallet-Regí M BF. Silica Materials for Medical Applications. *The Open Biomedical Engineering Journal*. 2008;2(1):1-9.
76. Thomas M PD. Calcium sulfate: Properties and clinical applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2009;88B(2):597-610.
77. Hum J BA. Bioactive glasses as carriers for bioactive molecules and therapeutic drugs: a review. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2012;23(10):2317-33.
78. Wu J WC, Zhuo R, Cheng S. Multi-drug delivery system based on alginate/calcium carbonate hybrid nanoparticles for combination chemotherapy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014;123:498-505.
79. Lin J WC, Zhao Y, Wang G. . Mesoporous silica nanoparticles with controlled loading of cationic dendrimer for gene delivery. *Materials Research Express*. 2014;1(3).
80. Chen Y HX, Luo Y, Chang Y, Hsieh Y, Hsu H. . Non-metallic nanomaterials in cancer theranostics: a review of silica- and carbon-based drug delivery systems. *Science and Technology of Advanced Materials*. 2013;14(4).
81. Zhang H CB. Daunorubicin -TiO<sub>2</sub> Nanocomposites As 'smart' pH-Responsive Drug Delivery System,. *Blood*. 2011;118(21):3479-.

82. Wang C WJ, Zhuo R, Cheng S. . Protamine sulfate–calcium carbonate–plasmid DNA ternary nanoparticles for efficient gene delivery. *Molecular BioSystems*. 2014;10(3):672.
83. Adnan Haider SH, Inn-Kyu Kang. A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arabian Journal of Chemistry*. 2015:1165-88.
84. Ditpon Kotatha MH, Mayuko Ogino, Satoshi Uchida, Masashi Ishikawa, Tetsuya Furuike, and Hiroshi Tamura. Preparation and Characterization of Electrospun Gelatin Nanofibers for Use as Nonaqueous Electrolyte in Electric Double-Layer Capacitor. *Hindawi Journal of Nanotechnology*. 2019;2019.
85. Thi-Hiep Nguyen B-TL. Fabrication and characterization of cross-linked gelatin electro-spun nano-fibers. *J Biomedical Science and Engineering*, 2010. 2010:1117-24.
86. Min-Xian Ma QL, Chuan Ye, Brian Grottkau, Bing Guo, and Yu-Feng Song. Preparation of P3HB4HB/(Gelatin + PVA) Composite Scaffolds by Coaxial Electrospinning and Its Biocompatibility Evaluation. *Hindawi BioMed Research International*. 2017;2017.
87. Klingenberg SLBaEH. Using Poly (Vinyl Alcohol) as a binder',. *Am Ceram Soc Bull*. 1998;77(6):71-5.
88. Huang y-PRaC-C. Electrospinning PVA Solution-Rheology and Morphology Analyses. *Fibers and Polymers*. 2012;13.
89. Chen-Yu Huang K-HHZ-H. Comparison of cell behavior on pva/pva-gelatin electrospun nanofibers with random and aligned configuration. *Scientific Reports*. 2016.
90. Slaughter ZGaG. Cross-linked electrospun gelatin nanofibers for cell-based assays. 2018.
91. Heyu Li MW, Gareth R. Williams, Junzi Wu, Xiaozhu Sun, Yao Lv and Li-Min Zhu. Electrospun gelatin nanofibers loaded with vitamins A and E as antibacterial wound dressing materials. *The Royal Society of Chemistry* 2016:50267–77.
92. Park LJAWH. Preparation and Characterization of Gelatin Nanofibers Containing Silver Nanoparticles *International Journal of Molecular Sciences* 2014.

93. V Perez-Puyana MJ-R, A Romero and A Guerrero. Development of PVA/gelatin nanofibrous scaffolds for Tissue Engineering via electrospinning. © 2018 IOP Publishing Ltd. 2018.
94. Škrlec K, Zupančič Š, Prpar Mihevc S, Kocbek P, Kristl J, Berlec A. Development of electrospun nanofibers that enable high loading and long-term viability of probiotics. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2019;136:108-19.
95. Ebrahimnezhad P, Khavarpour M, Khalili S. Survival of *Lactobacillus Acidophilus* as Probiotic Bacteria using Chitosan Nanoparticles. *International Journal of Engineering*. 2017;30(4):456-63.
96. Hirsch E, Pantea E, Vass P, Domján J, Molnár M, Suhajda Á, et al. Probiotic bacteria stabilized in orally dissolving nanofibers prepared by high-speed electrospinning. *Food and Bioproducts Processing*. 2021;128:84-94.
97. Yu H, Liu W, Li D, Liu C, Feng Z, Jiang B. Targeting Delivery System for *Lactobacillus Plantarum* Based on Functionalized Electrospun Nanofibers. *Polymers*. 2020;12(7):1565.
98. Nagy ZK, Wagner I, Suhajda A, Tobak T, Harasztos AH, Vigh T, et al. Nanofibrous solid dosage form of living bacteria prepared by electrospinning. *Express Polymer Letters*. 2014;8(5):352-61.
99. Feng K, Zhai MY, Zhang Y, Linhardt RJ, Zong MH, Li L, et al. Improved Viability and Thermal Stability of the Probiotics Encapsulated in a Novel Electrospun Fiber Mat. *J Agric Food Chem*. 2018;66(41):10890-7.
100. Duman D, Karadag A. Inulin added electrospun composite nanofibres by electrospinning for the encapsulation of probiotics: characterisation and assessment of viability during storage and simulated gastrointestinal digestion. *International Journal of Food Science & Technology*. 2020;56(2):927-35.
101. Survival of *Lactobacillus Acidophilus* as Probiotic Bacteria using Chitosan Nanoparticles. *International Journal of Engineering*. 2017;30(4).
102. Zupančič Š, Škrlec K, Kocbek P, Kristl J, Berlec A. Effects of Electrospinning on the Viability of Ten Species of Lactic Acid Bacteria in Poly(Ethylene Oxide) Nanofibers. *Pharmaceutics*. 2019;11(9):483.

103. Hu MX, Li JN, Guo Q, Zhu YQ, Niu HM. Probiotics Biofilm-Integrated Electrospun Nanofiber Membranes: A New Starter Culture for Fermented Milk Production. *J Agric Food Chem.* 2019;67(11):3198-208.
104. Ceylan Z, Meral R, Karakaş CY, Dertli E, Yilmaz MT. A novel strategy for probiotic bacteria: Ensuring microbial stability of fish fillets using characterized probiotic bacteria-loaded nanofibers. *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* 2018;48:212-8.
105. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ศนเออทแ. คู่มือการใช้เครื่องมือ Fourier transform infrared spectrophotometer 2021 [cited 2021 29 dec].
106. Scrivens G, Ticehurst M, Swanson JT. Chapter 7 - Strategies for Improving the Reliability of Accelerated Predictive Stability (APS) Studies. In: Qiu F, Scrivens G, editors. *Accelerated Predictive Stability.* Boston: Academic Press; 2018. p. 175-206.
107. นาโนเทคโนโลยี เทคโนโลยีการสร้างระดับนาโน [cited 2022 21 Jan].