



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง การเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรโดยใช้วิธีการอิมัลชัน

Preparation of Micro-Porous Fibroin Membrane by Emulsion Method

โดย ปิยรัตน์ มุลศิริ

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

2558

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง การเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรโดยใช้วิธีการอิมัลชัน

Preparation of Micro-Porous Fibroin Membrane by Emulsion Method

ผู้วิจัย

ผศ. ดร.ปิยรัตน์ มุลศรี

สังกัด

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปี พ.ศ. 2558

ประกาศคุณูปการ

การวิจัยเรื่อง การเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรโดยใช้วิธีการอิมัลชันนี้ โดยได้รับทุนอุดหนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2558 โดยผู้วิจัยใคร่จะขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนาที่ได้อำนวยความสะดวกในการดำเนินการวิจัย ตลอดจนคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่ได้เอื้อเฟื้ออุปกรณ์เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์และสถานที่ในการดำเนินงานวิจัย และอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยนี้จนการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยนี้จะมีประโยชน์ต่องานในด้านต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง อาทิเช่น ด้านการแพทย์ ด้านการใช้ประโยชน์จากวัสดุชีวภาพในงานต่างที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนทางด้านอุตสาหกรรมและผู้ที่เกี่ยวข้องที่สนใจทั่วไปที่จะนำเอาข้อมูลและผลการวิจัยนี้ไปใช้ประโยชน์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยรัตน์ มุลศรี

2558

หัวข้อการวิจัย: การเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรโดยใช้วิธีการอิมัลชัน
 ประเภทการวิจัย: การวิจัยประยุกต์ (เคมี)
 ชื่อผู้วิจัย: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยรัตน์ มุลศรี
 คณะ: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
 มหาวิทยาลัย: มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
 ปีงบประมาณ: 2558

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้วิธีการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตร โดยใช้วิธีการอิมัลชันที่พัฒนาขึ้น และเพื่อศึกษาสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรที่เตรียมได้ โดยในการวิจัยนี้ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วนหลัก ๆ คือ การศึกษาการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยเทคนิคทางไมโครอิมัลชัน และการศึกษาสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรนโดยใช้สารละลายคอลลอยด์ของเอทิลอะซิเตตในวัฏภาคตัวกลางที่เป็นน้ำและมีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) เป็นสารก่ออิมัลชัน และทำการเตรียมให้มีอัตราส่วน (ω) ของ[oil]/[SDS] ในช่วง 10-50 ซึ่งการทำให้ไฟโบรอินเมมเบรนเสถียรทำโดยใช้ 95% เอทานอล และ 4% PEGDE (พอลิเอทิลีนไกลคอลไดโกลซิไดโอเทอร์) โดยได้ศึกษาวิธีการทำแห้งแบบการอบด้วยลมร้อนและการทำแห้งเมมเบรนที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อเปรียบเทียบกันด้วย จากผลการศึกษาพบว่า สารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ใช้ระยะเวลาในการเกิดเจลเร็วกว่าสารละลายไฟโบรอินในการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนทั่วไป การเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยวิธีการอิมัลชันโดยใช้ ω เท่ากับ 30 มีความเหมาะสมในการใช้เตรียมไฟโบรอินเมมเบรนมากที่สุด โดยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็งจะทำให้เมมเบรนที่ได้มีสภาพความพรุนระดับไมโครเมตรมากที่สุด การเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยวิธีการอิมัลชันที่ทำให้เมมเบรนมีความเสถียรโดยใช้สาร PEGDE เป็นสารเชื่อมไขว้ จะทำให้มีการละลายน้ำของเมมเบรนน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับไฟโบรอินเมมเบรนที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วยเอทานอล และไฟโบรอินเมมเบรนที่ไม่ผ่านการทำให้เสถียรตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินเมมเบรนจากแบบแบบ Silk I (random coil and α -helix) ไปเป็นแบบ Silk II (β -sheet plate) นอกจากนี้ยังพบว่าการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยวิธีการอิมัลชันที่ใช้ PEGDE เป็นสารเชื่อมไขว้ จะทำให้ได้เมมเบรนที่มีความอ่อนนุ่มและมีความยืดหยุ่นได้มากกว่าวิธีอื่น ๆ

Type of research: Preparation of Micro-Porous Fibroin Membrane by Emulsion Method
 Type of research: Applied research (Chemistry)
 Researcher: Assistance Professor Dr. Piya-ut Moonsri
 Faculty: Science and Technology
 University: Phetchabun Rajabhat University
 Year: 2015

Abstract

This research aims to provide a method for preparing micro-porous fibroin membrane by using emulsion method developed. And to study the properties of the micro-porous fibroin membrane prepared. The research is divided into two major parts: the preparation of fibroin membrane prepared by the microemulsion method and characterization of fibroin membrane. By using a colloidal solution of ethyl acetate in medium phase of water and using sodium dodecyl sulfate (SDS) as an emulsifier. The preparation carried out by using the fraction (ω) of [oil]/[SDS] in the range of 10-50. Stabilization of the prepared fibroin membrane used the 95% ethanol and the 4% PEGDE (polyethylene glycol diglycidyl ether) by studying the drying method of oven drying compare with freeze-drying the fibroin membrane which were washed with distilled water. From the results, it found that the fibroin colloid solution takes time to gel quicker than fibroin solution in preparation fibroin membrane compared with the general method. Preparation of fibroin membrane emulsion method using $\omega = 30$ are suitable for use in preparing the fibroin membrane as possible. By the way, the freeze-drying make a membrane that has a porous micro level as possible. Preparation of fibroin membrane by emulsion technique provided stability of the membrane by chemical cross-linking agent is PEGDE. The PEGDE stabilized membrane have dissolved the membrane minimal compared through the fibroin membrane which the stabilized with ethanol and the fibroin membrane without stabilization, respectively. This is because of the formation of the secondary structure of fibroin membrane from a Silk I (random coil and α -helix) to a Silk II (β -sheet plate). In addition, it found that the fibroin membrane by emulsion method with PEGDE as crosslinking agent made the fibroin membrane soft and flexible more than the others methods.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
ประกาศคุณูปการ	๖
บทคัดย่อภาษาไทย	๗
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	๘
สารบัญ	๙
สารบัญตาราง	๙
สารบัญรูป	๙
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.5 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย	2
1.6 สถานที่ดำเนินการวิจัย	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 เส้นไหมและปูไหม	3
2.3 ไฟโบรอิน	5
2.3 ไฟโบรอินเมมเบรน	9
2.4 วิธีการตรวจสอบสมบัติของไฟโบรอิน	10
2.5 ไมโครอิมัลชัน	14
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	20
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	23
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี	23
3.2 การเตรียมวัสดุไหมและสารละลายไฟโบรอิน	25
3.3 การเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตร	26
3.4 การศึกษาการเกิดเป็นสภาพเจลของสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์	28
3.5 การทดสอบสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรน	28

เรื่อง	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	32
4.1 การศึกษาการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรน โดยเทคนิคทางไมโครอิมัลชัน	32
4.2 การทดสอบสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรน	36
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	45
บรรณานุกรม	49
ภาคผนวก	51

สารบัญตาราง

ลำดับ	หน้า
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบกรดอะมิโนในสารไฟโบรอินเปรียบเทียบกับเซรีซิน	6
ตารางที่ 2.2 แสดงช่วงความถี่ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของพีคของพวกเอไมด์ทุติยภูมิต่าง ๆ	12
ตารางที่ 2.3 ประเภทของไมโครอิมัลชันระหว่างน้ำกับน้ำมัน	14
ตารางที่ 2.4 ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวประเภทต่าง ๆ	17
ตารางที่ 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	23
ตารางที่ 3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	24
ตารางที่ 4.1 ความหนืดของสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ที่เวลาต่าง ๆ	32
ตารางที่ 4.2 การเกิดเมมเบรนและลักษณะทางกายภาพของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้ด้วยวิธีการต่าง ๆ	34
ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การละลายของผงไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้ซึ่งผ่านการทำแห้งโดย oven drying	36
ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การละลายของผงไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้ซึ่งผ่านการทำแห้งโดย freezed drying	36
ตารางที่ 4.5 สมบัติเชิงกลของไฟโบรอินเมมเบรนชนิดต่างๆ ที่เตรียมได้	43

สารบัญรูป

ลำดับ	หน้า
รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเส้นไหมดิบ	4
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของเส้นไหมสองเส้น เมื่อทำการลอกเอาผิวไหมออก	4
รูปที่ 2.3 แสดงโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิ Silk I และ Silk II ที่พบในไฟโบรอิน	8
รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะรูปแบบต่าง ๆ ที่มีการนำสารไฟโบรอินไปใช้ประโยชน์	9
รูปที่ 4.1 ค่าความหนืด (Pa.s) ของสารละลายไฟโบรอิน (SF) สารละลายไฟโบรอินผสมกับ 4% PEGDE (SF-PEGDE) สารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ที่มี ω เท่ากับ 30 (SFC (30)) และสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ที่มี ω เท่ากับ 10-50 และผสมกับ 4% PEGDE (SFC(10)+PEGDE, SFC(10)+PEGDE, SFC(20)+PEGDE, SFC(30)+PEGDE, SFC(40)+PEGDE และ SFC(50)+PEGDE ตามลำดับ)	33
รูปที่ 4.2 ลักษณะของไฟโบรอินเมมเบรนประเภทต่าง ๆ ที่เตรียมได้ (A) SF membrane (B) SFC membrane (C) SFC+EtOH membrane และ (D) SFC+4%PEGDE membrane	35
รูปที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การละลายน้ำของไฟโบรอินเมมเบรนชนิดต่าง ๆ ที่พีเอช 7 ที่ผ่านการทำแห้งแบบ oven drying	37
รูปที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การละลายน้ำของไฟโบรอินเมมเบรนชนิดต่าง ๆ ที่พีเอช 7 ที่ผ่านการทำแห้งแบบ freeze drying	37
รูปที่ 4.5 ลักษณะพื้นฐานวิทยาของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีการต่าง ๆ จากการตรวจสอบด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด	39
รูปที่ 4.6 โครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินเมมเบรน (SF) ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยวิธีการทางคอลลอยด์ (SFC) ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยวิธีการทางคอลลอยด์ผ่านการทำให้เสถียรด้วย EtOH (SFC-95%EtOH) ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยวิธีการทางคอลลอยด์ผ่านการทำให้เสถียรด้วย 4%PEGDE (SFC-4%PEGDE)	41
รูปที่ 4.7 โครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยวิธีคอลลอยด์ (SFC) ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 40°C 60°C 80°C และ 100°C นาน 3 ชั่วโมง	42

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

องค์ประกอบที่สำคัญของเส้นไหม (silk fiber) ประกอบด้วย 2 ส่วนที่สำคัญ ได้แก่ ส่วนของเส้นใยโปรตีนไฟโบรอิน (fibroin protein filament) ที่ถูกล้อมรอบและยึดเหนี่ยวกันด้วย โปรตีนเซรีซิน (sericin protein) ซึ่งเป็นโปรตีนทำหน้าที่คล้ายกาว (gum like protein) เพื่อยึดเส้นใยไฟโบรอินไว้ด้วยกัน ดังนั้นการแยกเส้นใยไฟโบรอินออกจากสารเซรีซินนั้นจึงทำโดยกระบวนการที่เรียกว่า การลอกกาวไหม (silk degumming process) โดยการต้มเส้นไหมหรือรังไหมในน้ำร้อนหรือการต้มด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต โดยทั่วไปเส้นไหมจะมีสัดส่วนของเส้นใยไฟโบรอินประมาณ 75 % คือน้ำหนักเส้นไหม และมีโปรตีนเซรีซินประมาณ 25 % คือน้ำหนักเส้นไหม ดังนั้นเส้นใยไฟโบรอินจึงถือว่าเป็นองค์ประกอบหลักที่มีอยู่ในเส้นไหม

การใช้ประโยชน์จากเส้นไหมไฟโบรอินนั้นส่วนใหญ่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในการเป็นเส้นใยเพื่อผลิตเสื้อผ้าและเครื่องนุ่งห่ม ในด้านอื่น ๆ ไฟโบรอินได้ถูกนำมาใช้เป็นวัสดุชีวภาพทางการแพทย์ด้วย เช่น นำมาใช้เป็นไหมเย็บบาดแผล เนื่องจากคุณสมบัติในการต้านทานเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อโรคต่างๆ ซึ่งเป็นคุณสมบัติขององค์ประกอบทางเคมีที่อยู่ในเส้นใยไฟโบรอินที่ถือว่าเป็นคุณสมบัติเฉพาะที่พบในเส้นไหม ในขณะที่เส้นใยจากธรรมชาติอื่น ๆ ไม่มี นอกจากนี้แล้วไฟโบรอินก็ยังถูกนำมาประยุกต์ใช้ในหลาย ๆ ด้านเช่น ทางด้านอาหาร เครื่องสำอาง ทางทางการแพทย์และเภสัช เป็นต้น โดยการใช้ประโยชน์ก็ได้หลายลักษณะและมีรูปแบบต่าง ๆ เช่น ฟิล์ม เมมเบรน อนุภาคนาโน ไมโครและนาโน เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากสมบัติที่ดีของไฟโบรอิน เช่น สามารถเข้ากันได้ดีกับสิ่งมีชีวิต ไม่มีความเป็นพิษ ต้านทานแบคทีเรียและเชื้อรา ออกซิเจนแพร่ผ่านได้ดีในฟิล์มไฟโบรอิน และมีสมบัติเชิงกลที่ดี เป็นต้น โดยไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนในระดับไมโครเมตรนิยมนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เช่น ใช้เป็นวัสดุเพาะกระดูก การเลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อ และใช้เป็นวัสดุถ่ายยา เป็นต้น ซึ่งการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีความพรุนโดยวิธีอิมัลชันเป็นวิธีใหม่ที่ต้องการพัฒนาขึ้นเพื่อนำไปใช้ในการเตรียมเมมเบรนที่มีความพรุนที่มีความเสถียรและนำไปใช้งานด้านต่าง ๆ ได้

ดังนั้นในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการพัฒนาการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรโดยวิธีการอิมัลชัน เพื่อให้สามารถใช้เป็นวัสดุสำหรับการเพาะกระดูกหรือเนื้อเยื่อ ใช้เป็นวัสดุถ่ายยา หรือใช้สำหรับการตรึงเอนไซม์ ที่สามารถนำไปใช้ในกระบวนการทางอาหารและใช้เป็นวัสดุในการตรวจวัดสารทางชีวภาพต่อไปได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อให้ได้วิธีการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตร โดยใช้วิธีการอิมัลชันที่พัฒนาขึ้น
2. เพื่อศึกษาสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรที่เตรียมได้

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้องค์ความรู้ใหม่ด้านการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุนระดับไมโครเมตร โดยใช้เทคนิควิธีทางอิมัลชัน
2. ทราบสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้และมีแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์
3. สามารถนำเศษไหม (ปุ๋ยไหม) ที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการผลิตเส้นไหมมาใช้ประโยชน์
4. จากองค์ความรู้ดังกล่าวสามารถเผยแพร่ในวารสารหรือจดอนุสิทธิบัตรทางกรรมวิธีได้

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1. จะใช้วัสดุปุ๋ยไหมที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตเส้นไหมเป็นสารตั้งต้น
2. ใช้วิธีการอิมัลชันแบบ oil in water (O/W emulsion) โดยใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นตัวก่ออิมัลชัน
3. ทำการศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติเชิงกลของเมมเบรนที่เตรียมได้
4. การทำเมมเบรนให้เสถียรจะทำโดยการใช้อัลกอฮอล์และการใช้สารเชื่อมไขว้

1.5 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

ตั้งแต่เดือน 1 ตุลาคม 2557 – 30 กันยายน 2558

1.6 สถานที่ดำเนินการวิจัย

ห้องปฏิบัติการทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

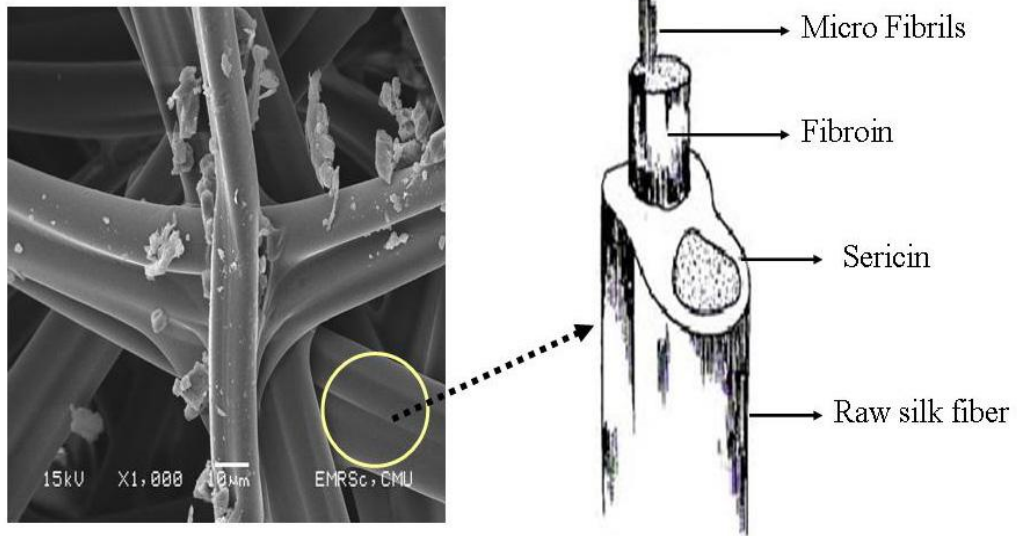
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เส้นไหมและปุยไหม

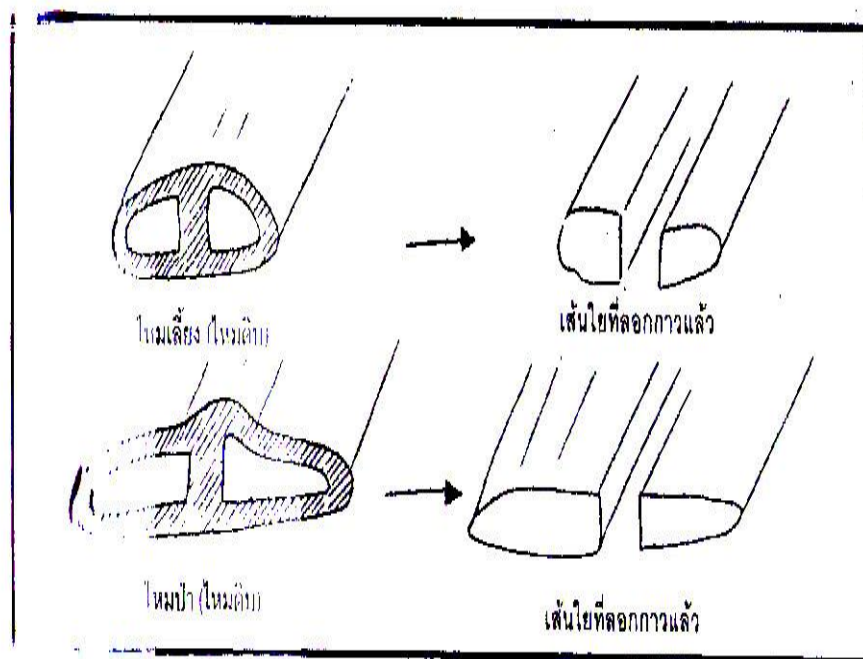
หนอนไหม *บอมบิกมอริ* (*Bombyx mori* silkworm) เป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถผลิตเส้นไหม (Silk fibers) ซึ่งเป็นโปรตีนธรรมชาติประกอบด้วยสารโปรตีนหลักสองชนิดคือโปรตีนไฟโบรอิน (Fibroin protein) และโปรตีนเซรีซิน (Sericin protein) โดยทั่วไปเส้นไหมจะมีองค์ประกอบของโปรตีนเซรีซินอยู่ประมาณ 25-30 % โดยน้ำหนักของไหม ในขณะที่โปรตีนเส้นใยไฟโบรอินจะมีอยู่ประมาณ 70-75 % โดยน้ำหนักของไหม (Freddi และคณะ, 2003) องค์ประกอบของโปรตีนเซรีซินในเส้นไหมเป็นโปรตีนประเภทที่สามารถละลายน้ำหรือในตัวทำละลายที่มีขี้ผึ้งได้ซึ่งทำหน้าที่ยึดเกาะเส้นใยไฟโบรอิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำจัดเป็นสารพอลิเมอร์ธรรมชาติ (Biopolymer) ให้อยู่ด้วยกัน จึงทำให้เส้นไหมมีความแข็งแรง เหนียว และทนทานต่อสารอินทรีย์ได้ดี นอกจากนี้ยังช่วยในการยึดเกาะเส้นไหมที่หนอนไหมพ่นออกมาเหล่านั้นให้มีการพันกันรอบๆ ตัวของหนอนไหมเองให้อยู่ด้วยกันเป็นรังไหมห่อหุ้มหนอนไหมในช่วงชีวิตของการเป็นดักแด้ดัง **รูปที่ 2.1** ซึ่งแสดงโครงสร้างของเส้นไหมที่ประกอบไปด้วยเส้นใยไฟโบรอินที่ถูกยึดติดกันด้วยโปรตีนเซรีซิน ในกระบวนการของการสาวไหมโปรตีนเซรีซินส่วนใหญ่เกือบทั้งหมดมักจะถูกกำจัดออกไปในช่วงของการต้มรังไหมเพื่อทำการสาวไหมทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนเซรีซินเป็นโปรตีนประเภทที่สามารถละลายน้ำได้ เนื่องจากกรดอะมิโนส่วนใหญ่ที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนเซรีซินเป็นกรดอะมิโนชนิดที่ละลายน้ำได้ สารเซรีซินจึงถูกกำจัดออกไปจากเส้นไหมได้ง่ายโดยการต้ม ซึ่งน้ำที่ใช้ต้มเส้นไหมนี้เรียกว่าน้ำลอกกาไหม ทั้งนี้เนื่องจากน้ำดังกล่าวมีโปรตีนเซรีซินที่ทำหน้าที่คล้ายกาวยึดเหนี่ยวเส้นใยโปรตีนไฟโบรอินภายในเส้นไหม โดยลักษณะของเส้นไหมก่อนการลอกกาไหมและภายหลังการลอกกาไหมแสดงได้ดัง **รูปที่ 2.2** และเส้นไหมที่ผ่านการต้มลอกกาเซรีซินแล้วจะเรียกว่า degumming silk filament ซึ่งอาจถือได้ว่าเป็นเส้นใยไฟโบรอินนั่นเอง

ในกระบวนการผลิตเส้นไหมโดยทั่วไปแล้วจะส่วนของเส้นไหมขนาดเล็ก ๆ เป็นขุยๆ อยู่บริเวณรอบๆ รังไหม ซึ่งก่อนจะมีการนำไปต้มเพื่อลอกกาไหมจะต้องมีการดึงเอาส่วนนี้ออกไปก่อน โดยเส้นไหมขนาดเล็ก ๆ เหล่านี้จะเรียกรวมกันว่าปุยไหม (Silk Floss) ซึ่งเป็นวัสดุที่เหลือทิ้งของกระบวนการทั้งนี้เนื่องจากในขั้นตอนการเตรียมรังไหม (silk cocoon) เพื่อจะนำเข้าไปสู่กระบวนการสาวไหม (Silk reeling process) การดึงเอาส่วนที่เป็นเส้นใยเล็ก ๆ รอบรังไหมออกก่อนนี้จะทำให้ได้รังไหมมีความสะอาดและดึงเป็นเส้นได้ง่าย ดังนั้นปุยไหมก็คือเส้นไหมที่มีขนาดเล็ก ๆ เล็ก ๆ ซึ่งยังคงมีองค์ประกอบของโปรตีนสำคัญ 2 ชนิดคือส่วนที่เป็นไฟโบรอิน และเซรีซิน นั่นเอง



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเส้นไหมดิบ

ที่มา : อภิชาติ, 2547 หน้า 24



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของเส้นไหมสองเส้น เมื่อทำการลอกเอาทากไหมออก

ที่มา : อภิชาติ, 2547 หน้า 24

2.2 ไฟโบรอิน

ไฟโบรอิน (Fibroin) คือโปรตีนเส้นใยซึ่งประกอบด้วยสายโซ่ยาวของกรดอะมิโนที่มากกว่า 18 ชนิดมาต่อเรียงกันเป็นโมเลกุลสายโซ่ยาว โดยส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโนประเภทที่ไม่มีขั้ว และมีการจัดเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ ดังนั้นจึงทำให้ไฟโบรอินเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในเส้นไหมที่ไม่ละลายน้ำ ทำให้เส้นไหมมีความคงทน แข็งแรง และมีความยืดหยุ่นดี เป็นต้น เส้นใยไฟโบรอินที่ได้จากการกำจัดสารเคมีออกไปแล้ว เป็นวัสดุประเภทโปรตีนโมเลกุลใหญ่ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโน ชนิดที่ไม่มีขั้ว อาทิเช่น ไกลซีน (Gly) อะลานีน (Ala) แต่ก็มีกรดอะมิโนชนิดที่มีขั้วอยู่บ้าง เช่น เซรีน (Ser) ไทโรซีน (Try) และแอสพาติก (Asp) เป็นต้น จากองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารไฟโบรอิน ที่ส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโนชนิดไม่มีขั้วนี้ จึงทำให้เกิดการจัดเรียงตัวของโมเลกุลเหล่านั้น ทำให้มีลักษณะคล้ายกับสารพอลิเมอร์ทั่วไป ดังนั้นไฟโบรอินโดยทั่วไปจึงอยู่ในสภาพเป็นเส้นใยพอลิเมอร์ธรรมชาติ ที่มีสมบัติที่ไม่ละลายน้ำ และมีความแข็งแรงทนทานสูง สำหรับการประยุกต์ใช้ประโยชน์ของสารไฟโบรอินนั้น นับว่ามีคุณสมบัติประโยชน์มากมายหลายประการ ทั้งในอุตสาหกรรมทอผ้า อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง อีกทั้งองค์ประกอบทางเคมีที่พบในสารไฟโบรอินนี้เอง ทำให้มีการนำสารไฟโบรอินมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตวัสดุทางชีวภาพ เพื่อใช้ในการทางแพทย์ ทางด้านเกษตรกรรม และเครื่องมือตรวจวัดสารทางชีวภาพ (Biosensors) เป็นต้น โดยทั่วไปการเตรียมสารไฟโบรอินทำได้โดยการละลายเส้นใยไฟโบรอินให้อยู่ในรูปสารละลายไฟโบรอิน โดยสารละลายเกลือเข้มข้นเช่น ลิเทียมโบรไมด์ (LiBr) หรือสารละลายผสมของแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂) เอทานอล (ethanol) และน้ำ เป็นต้น จากนั้นจึงกำจัดตัวทำละลายเกลือเหล่านั้นออกไป ทำให้สารละลายไฟโบรอินมีความบริสุทธิ์ขึ้น โดยวิธีการไดอะไลซิส (dialysis) ซึ่งสารละลายไฟโบรอินนี้สามารถนำไปใช้ในการเตรียมวัสดุทางชีวภาพที่มีประโยชน์ได้อย่างมากทั้งในรูปของผงไฟโบรอิน เส้นใยไฟโบรอินระดับนาโน แผ่นฟิล์มบางไฟโบรอิน และไฟโบรอินเมมเบรน เป็นต้น (ปิยรัตน์ มุลศรี, 2550)

2.2.1 องค์ประกอบกรดอะมิโนในสารไฟโบรอิน

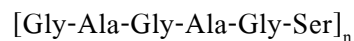
ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นว่าโปรตีนไฟโบรอินประกอบด้วยกรดอะมิโนต่างๆ มากกว่า 18 ชนิด โดยส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโนประเภทที่ไม่มีขั้ว (non polar amino acids) เช่น ไกลซีน (Glycine) และอะลานีน (Alanine) เป็นต้น นอกจากนั้นก็ยังประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดที่มีขั้ว (polar amino acids) อีกบางส่วนเช่น เซรีน (Serine) ไทโรซีน (Tyrosine) และกรดแอสพาติก (Aspartic acid) เป็นต้น โดยมีกรดอะมิโนประเภทที่ไม่มีขั้วเป็นองค์ประกอบมากกว่า 70 % โดยน้ำหนัก เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนเซรีนที่มีอยู่ในเส้นไหมอีกส่วนหนึ่งจะเป็นโปรตีนที่ส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดอะมิโนประเภทที่มีขั้วเช่น เซรีน (Serine) แอสพาติก แอซิด (Aspartic acid) และ ไทโรซีน (Tyrosine) เป็นต้น ดังนั้นจึงทำให้โปรตีนเซรีนสามารถเกิดการละลายน้ำได้ก็เนื่องจากมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีขั้วเหล่านั้นนั่นเอง (ปิยรัตน์ มุลศรี, 2550)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบกรดอะมิโนในสารไฟโบรอินเปรียบเทียบกับเซรีซิน

กรดอะมิโน	ปริมาณของกรดอะมิโนแต่ละชนิด (% โมล)	
	ไฟโบรอิน	เซรีซิน
Asp	2.39	20.55
Thr	1.31	7.96
Ser	12.32	25.28
Glu	1.24	7.90
Pro	0.70	0.00
Gly	43.53	10.51
Ala	27.95	3.97
Cys	0.10	0.72
Val	2.25	3.79
Ile	0.62	0.88
Leu	0.51	1.36
Tyr	4.96	4.47
Phe	0.70	0.91
Lys	0.46	4.68
His	0.24	1.75
Arg	0.63	5.26

ที่มา : Wu และคณะ (2007) หน้า 1259

ในตารางที่ 2.1 แสดงกรดอะมิโนแอซิกที่พบในสารไฟโบรอินเปรียบเทียบกับที่พบในเซรีซิน แสดงให้เห็นว่าสารไฟโบรอินประกอบด้วย กรดอะมิโน ไกลซีนอยู่เป็นปริมาณมากที่สุดประมาณ 43.53% และรองลงมาได้แก่อะลานีน 27.95 % ของกรดอะมิโนแอซิกทั้งหมด 18 ชนิด ไกลซีนและอะลานีนเป็นกรดอะมิโนที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยและไม่มีสภาพขั้วในโมเลกุล ดังนั้นจึงทำให้มีลักษณะคล้ายกับโมเลกุลพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยมอนอเมอร์มาจัดเรียงตัวกันในสายโซ่โมเลกุล โดยจากการศึกษาของ Yamada และคณะ (2002) แสดงการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนในสายโซ่โมเลกุลของไฟโบรอินใน 1 หน่วยยูนิต เป็นดังนี้คือ

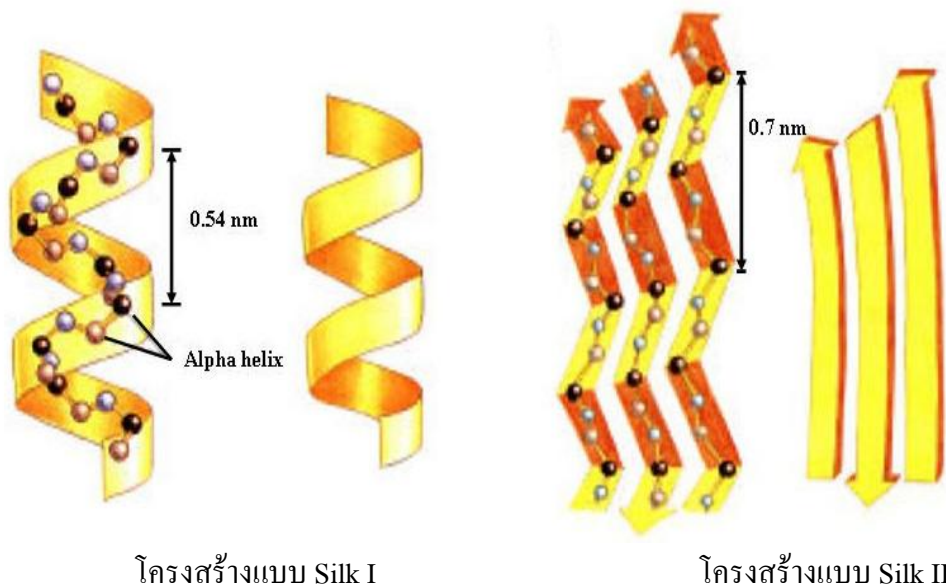


โดยมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยอยู่ในช่วงประมาณ 25-350 kDa ดังนั้นสายโซ่โมเลกุลของไฟโบรอินที่จัดเรียงตัวในเส้นไหมจึงทำให้เส้นไหมเป็นวัสดุพอลิเมอร์จากธรรมชาตินั่นเอง และมีความทนต่อแรงดึงที่ดี มีความยืดหยุ่นสูง มีการทิ้งตัวของเส้นใยได้ดี และมีความทนต่อความร้อน เป็นต้น โดยนอกเหนือจากการนำไปใช้เส้นใยทอผ้า จากองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในไฟโบรอินเหล่านี้เอง จึงทำให้สามารถนำไฟโบรอินไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ ได้อย่างมากมาย

2.2.2 โครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิของไฟโบรอิน

การรวมตัวกันของกรดอะมิโนหลายชนิดมาต่อกันเป็นสายโซ่ และเกิดแรงดึงดูดกันเกิดขึ้นภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุล ทำให้การจัดเรียงตัวกันของโมเลกุลของเซรีซินมีโครงสร้างทุติยภูมิ (Secondary structure) ได้เหมือนกันกับโปรตีนทั่วไป โดยโครงสร้างทุติยภูมิที่พบของโปรตีนไฟโบรอินมี 2 แบบ คือ Silk I (random coil and α -helical conformation) และ Silk II (antiparallel β -sheet conformation) (Chen และคณะ, 2001) ดังรูปที่ 2.3 ซึ่งโดยทั่วไปแล้วโครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินที่พบในเส้นไหมส่วนใหญ่เป็นแบบ Silk II หรือแบบ เบต้าชีท (β -sheet) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่เกิดจากการจัดเรียงตัวกันของโมเลกุลส่วนใหญ่ที่มีความเป็นระเบียบสูง จากแรงดึงดูดของส่วนที่มีขั้วในโมเลกุล โปรตีนดังกล่าว ดังนั้นจึงทำให้เส้นไหมมีความทนทานต่อแรงดึงสูง และไม่ละลายน้ำ มีความคงตัวสูง เป็นต้น ในขณะที่สารละลายไฟโบรอินซึ่งอาจได้มาจากทั้งในส่วนของต่อมน้ำลายของหนอนไหม หรือการทำให้เป็นสารละลายด้วยตัวทำละลายบางชนิด โมเลกุลของไฟโบรอินจะมีโครงสร้างทุติยภูมิเป็นแบบ Silk I จากนั้นหากทำการเตรียมวัสดุไฟโบรอินขึ้นจากสารละลายไฟโบรอินนี้ เช่น เมมเบรน ฟิล์ม หรือเส้นใย เป็นต้น ก็มักจะมีโครงสร้างเป็นแบบ Silk I ด้วยเสมอ แต่โครงสร้างดังกล่าวทำให้วัสดุที่เตรียมได้ไม่เสถียร สามารถละลายน้ำได้ง่าย ดังนั้นจะนิยมทำให้วัสดุที่เตรียมได้เหล่านั้นให้มีโครงสร้างเป็นแบบ Silk II โดยการนำไปจุ่มในสารละลายเอทานอลเข้มข้นในช่วงระยะเวลาหนึ่งจะทำให้การละลายของวัสดุไฟโบรอินนั้นลดลง หรือการใช้อุณหภูมิสำหรับการเตรียมวัสดุไฟโบรอินโดยการใช้

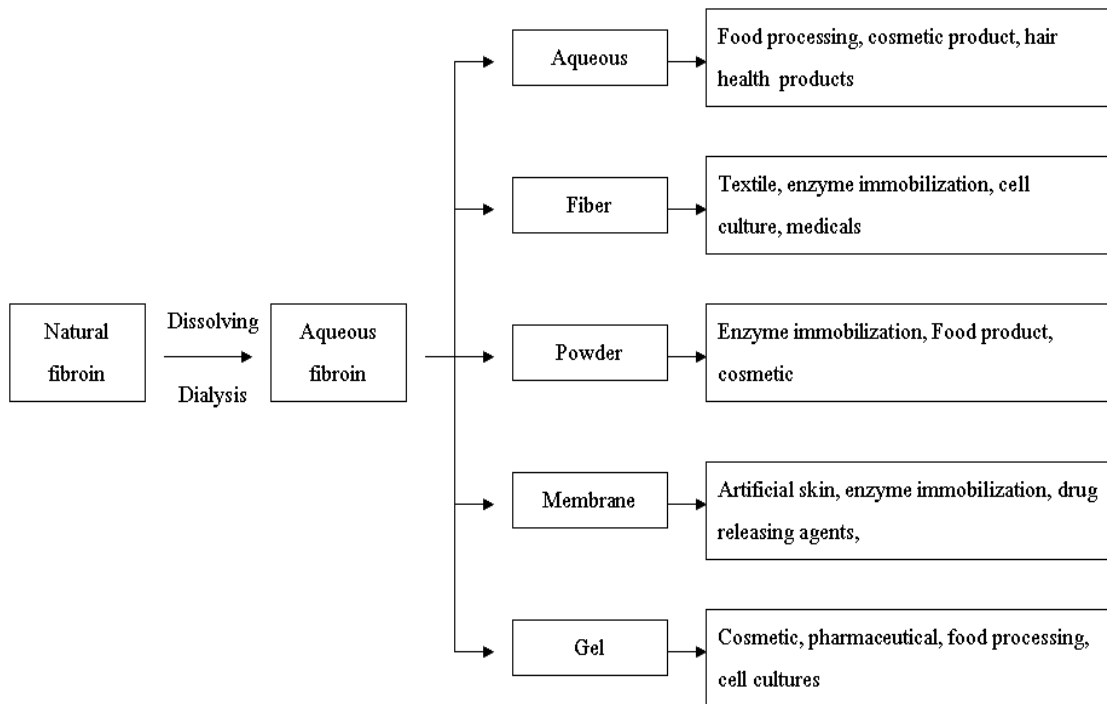
อุณหภูมิที่สูงกว่า 80°C ก็จะทำให้วัสดุไฟโบรอินที่เตรียมได้มีโครงสร้างเป็นแบบ Silk II ได้นอกจากนั้นการเติมสารเชื่อมไขว้ลงไปในช่วงการเตรียมวัสดุไฟโบรอินก็ช่วยทำให้การละลายน้ำของวัสดุที่เตรียมได้ลดลง และมีความคงทน ดีขึ้น สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้มากขึ้น



รูปที่ 2.3 แสดงโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิ Silk I และ Silk II ที่พบในไฟโบรอิน

2.2.3 การใช้ประโยชน์ของไฟโบรอิน

เส้นไหมนอกจากการนำมาใช้เป็นเส้นใยในอุตสาหกรรมการทอผ้าทอผ้าแล้ว ในปัจจุบันเส้นไหมที่มีการทำให้เป็นเส้นใยไฟโบรอินที่มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น ก็สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ ได้อีกมากมาย อาทิเช่น ในด้านของอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และนำการนำไปผลิตเป็นวัสดุทางชีวภาพเพื่อใช้ประโยชน์ในทางด้านเภสัช ทางด้านการแพทย์ และการใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องมือตรวจวัดสารทางชีวภาพ (Biosensors) เป็นต้น ทั้งนี้ก็เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีอยู่ในสารไฟโบรอินนั่นเองตัวอย่างของ วัสดุทางชีวภาพที่ผลิตจากไฟโบรอินที่มีการนำไปใช้ประโยชน์ อาทิเช่น การเตรียมเป็นเมมเบรนและฟิล์ม เพื่อใช้เป็นไฮโดรเจลสำหรับปิดบาดแผล การผลิตเป็นวัสดุในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเซลล์และกระดูก การนำไปผลิตเป็นหลอดเลือดเทียม คอนแทกเลนส์ การใช้เป็นวัสดุสำหรับตรึงเอนไซม์ และวัสดุควบคุมการจ่ายยาในสิ่งมีชีวิตเป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากสมบัติที่เป็นข้อดีของไฟโบรอินที่เหนือกว่าวัสดุจากธรรมชาติอื่น ๆ เช่น ไม่เป็นพิษ มีความเข้ากันได้ดีกับสิ่งมีชีวิต แก๊สแพร่ผ่านได้ง่าย มีความต้านทานเชื้อแบคทีเรียและจุลินทรีย์ และเตรียมเป็นวัสดุทางชีวภาพต่าง ๆ ได้ง่าย เป็นต้น สารละลายไฟโบรอินสามารถนำไปใช้ในการเตรียมวัสดุทางชีวภาพที่มีประโยชน์ได้อย่างมากมาย ทั้งในรูปแบบของผงไฟโบรอิน เส้นใยไฟโบรอินระดับนาโน แผ่นฟิล์มบางไฟโบรอิน และไฟโบรอินเมมเบรน เป็นต้น



รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะรูปแบบต่าง ๆ ที่มีการนำสารไฟโบรอินไปใช้ประโยชน์

2.3 ไฟโบรอินเมมเบรน

ไฟโบรอินเมมเบรนนี้สามารถเตรียมได้โดยการนำรังไหม เศษไหม หรือวัสดุปูไหม ซึ่งเป็นวัสดุที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตเส้นไหมจากโรงงานอุตสาหกรรม มาใช้เป็นวัสดุตั้งต้นเพื่อเตรียมสารละลายไฟโบรอิน โดยเมื่อมีการทำให้สะอาดและกำจัดกาวยาไหมหรือสารเคมีอื่นออกไปแล้ว จะนำมาทำให้เป็นสารละลายโดยใช้ตัวทำละลายเกลือเข้มข้น เช่น สารละลายเกลือผสมระหว่างแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) น้ำ (H_2O) และเอทานอล ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) หรือใช้สารละลายลิเทียมโบรไมด์ (LiBr) เป็นต้น จากนั้นจึงนำสารละลายไฟโบรอินที่ได้มาทำการกำจัดเกลือและสารเจือปนเพื่อให้ได้สารละลายไฟโบรอินที่มีความบริสุทธิ์ขึ้น ซึ่งนิยมทำโดยใช้วิธีการไดอะไลซิส ก็จะให้ได้สารละลายไฟโบรอินที่มีความบริสุทธิ์สูงขึ้น และสามารถเก็บรักษาไว้ใช้ประโยชน์ต่อไปได้ทั้งการแช่เยือกแข็ง หรือการทำให้เป็นผงผ่านวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freezed drying) สำหรับไฟโบรอินเมมเบรนนั้นมักทำการเตรียมโดยการอบสารละลายไฟโบรอินให้แห้งบนจากพอลิสไตรีน หรือการทำแห้งแบบเยือกแข็งเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรน จากนั้นจึงทำให้เสถียรโดยการแช่ในสารละลายแอลกอฮอล์ หรือการดัดแปรโดยใช้สารเชื่อมไขว้เพื่อทำให้เมมเบรนมีความเสถียรและมีสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้น เป็นต้น

ดังนั้นการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนและไฟโบรอินฟิล์ม จึงสามารถทำได้และมีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ฟิล์มหรือเมมเบรนที่เตรียมได้สามารถนำไปใช้เป็นผิวหนังเทียมสำหรับผู้ป่วย วัสดุชีวภาพสำหรับเลี้ยงเซลล์ คอนแทกเลนส์ วัสดุควบคุมการจ่ายยาในสิ่งมีชีวิต และวัสดุที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และอุปกรณ์ตรวจวัดสารทางชีวภาพ เป็นต้น

2.4 วิธีการตรวจสอบสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรน

ไฟโบรอินเป็นสารที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิดมากเชื่อมต่อกันเป็น โมเลกุลสายยาว จึงทำให้มีลักษณะเป็นสารพอลิเมอร์ทางธรรมชาติ ดังนั้นโมเลกุลของไฟโบรอินจึงสามารถเกิดการจัดเรียงตัวได้แตกต่างกันไปตามวิธีการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนเหล่านั้น ซึ่งส่งผลทำให้วัสดุไฟโบรอินมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไป โดยคุณสมบัติที่สำคัญและนิยมตรวจวัดกันเพื่อนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ เช่น สมบัติการละลาย ลักษณะพื้นฐานวิทยา โครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิ และสมบัติเชิงกล เป็นต้น ในหัวข้อนี้จะขอยกกล่าวถึงเฉพาะสมบัติที่สำคัญเกี่ยวข้องกับการศึกษาดังนี้ (ปิยรัตน์ มุลศรี, 2550)

2.4.1 ความสามารถในการละลาย (Solubility Property)

ในการศึกษาสมบัติการละลายของไฟโบรอินนิยมทำการศึกษาโดยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี (UV-Visible Spectrophotometry) ทั้งนี้เนื่องจากการศึกษาการดูดกลืนแสงยูวีของโมเลกุลโปรตีนสามารถเกิดขึ้นได้ในช่วงความยาวคลื่น 170-220 nm สำหรับกลุ่มเปปไทด์ และในช่วงของความยาวคลื่นใกล้เคียงกับ 280 nm สำหรับหมู่แขนงของกรดอะมิโนที่มีส่วนประกอบเป็นวงอยู่ด้วย (aromatic amino acid side-chain) ดังนั้นในการตรวจวัดความเข้มข้นของโปรตีนนั้น จึงสามารถทำได้โดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่นใกล้เคียงกับ 280 nm

ในกรณีของโปรตีนไฟโบรอิน การละลายของไฟโบรอินเมมเบรนสามารถหาได้จากการละลายออกไปของไฟโบรอินจากเมมเบรนนั้นที่เป็นฟังก์ชันกับเวลา วิธีการศึกษาการดูดกลืนแสงยูวีนี้ใช้กันอย่างแพร่หลายในการประมาณการความเข้มข้นของโปรตีนไฟโบรอิน ทั้งนี้เนื่องจากวิธีการนี้มีข้อดีหลายประการดังนี้คือ 1) เป็นวิธีที่สามารถบอกได้โดยตรงจากสารตัวอย่างโดยไม่ต้องใช้สารเคมีอื่น 2) เป็นวิธีการที่ทำได้อย่างรวดเร็วโดยไม่ต้องใช้ระยะเวลานาน และ 3) มีความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของโปรตีนกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย โดยปกติแล้วโปรตีนจะเกิดการดูดกลืนแสงยูวีได้ที่ความยาวคลื่น 280 และ 200 nm ซึ่งสเปกโตรสโกปีของการดูดกลืนแสงนี้จะเกี่ยวข้องกับการดูดกลืนโฟตรอนโดยอิเล็กตรอน โดยโฟตรอนที่มีพลังงานสูงจะมีความยาวคลื่นสั้น ดังนั้นอิเล็กตรอนซึ่งถูกกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 280 nm จึงมีการดูดกลืนพลังงานที่น้อยกว่าที่ความยาวคลื่น 200 nm ปริมาณของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 nm นี้จะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ อาทิเช่น ในโปรตีนที่มีกรดอะมิโนที่มีวงเบนซีนเป็นส่วนประกอบ เช่น ฟีนีลอะลานีน (Phenylalanine) ทริปโตเฟน (Tryptophan) ฮิสติดีน (Histidine) และไทโรซีน (Tyrosine) ซึ่งหากโปรตีนนั้นมีกรดอะมิโนเหล่านี้อยู่น้อยก็จะมีผลทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นนี้น้อยตามไปด้วย นอกจากนี้โครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิ หรือโครงสร้างโปรตีนตติยภูมิ ก็มีส่วนต่อการดูดกลืนแสงด้วย ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดแรงดึงดูดระหว่างกรดอะมิโนที่แตกต่างกันทำให้ส่งผลต่อสถานะที่อิเล็กตรอนถูกกระตุ้นด้วย เป็นต้น

Li และคณะ (2003) ได้ดัดแปลงสมการของเบียร์ (Beer's law equation) เพื่อใช้ในการหาการละลายของโปรตีนไฟโบรอินฟิล์ม โดยใช้การวัดค่าการดูดกลืนแสงยูวีของสารละลายตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 278 nm แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของการละลาย ดังสมการ

$$D = \frac{K \times V \times A}{G} \times 100$$

เมื่อ	D	คือ	ค่าการละลาย (%)
	K	คือ	ค่าคงที่การละลายของไฟโบรอินจากการทดลอง
	A	คือ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 278 nm
	V	คือ	ปริมาตรของสารละลาย (ml)
	G	คือ	น้ำหนักเริ่มต้นของสารตัวอย่าง (mg)

2.4.2 โครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิ (Secondary Protein Structure)

โครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิของไฟโบรอินนั้นมีความสำคัญอย่างมากต่อสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรน เช่น การละลาย สมบัติเชิงความร้อน และสมบัติเชิงกล เป็นต้น การศึกษาโครงสร้างของไฟโบรอินเมมเบรนนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีฟูเรียทรานสฟอร์มสเปกโตรสโกปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR) และวิธีเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟกชัน (X-ray diffraction, XRD) เป็นต้น โดยส่วนใหญ่แล้ววิธี FT-IR เป็นวิธีการที่ได้สะดวกและทำได้ง่ายกว่าวิธีของ XRD โดยวิธี FT-IR สามารถใช้ในการบอกลักษณะของโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิของไฟโบรอินเมมเบรนได้อย่างดีได้เช่นกัน ซึ่งจะขอกล่าวเฉพาะหลักการของ FT-IR เท่านั้น

โดยหลักการของ FT-IR นั้นสเปกตรัมของสารตัวอย่างที่เกิดขึ้น จะเกิดเนื่องจากการที่โมเลกุลของสารดูดกลืนแสงในช่วงของอินฟราเรด (IR) แล้วทำให้โมเลกุลนั้นถูกกระตุ้น (Excite) เป็นโมเลกุลที่มีพลังงานสูงกว่าอยู่ที่สภาวะพื้น โดยพลังงานเปลี่ยนแปลงจะทำให้เกิดการสั่น (Vibration) และการหมุน (Rotation) ของพันธะในโมเลกุลได้ ซึ่งอินฟราเรดสเปกตรัมของสารพอลิเพปไทด์และโปรตีนจะแสดงพิกที่สัมพันธ์กับหมู่ฟังก์ชันนัลกรุปต่าง ๆ ของ CONH และนอกจากนั้นยังสัมพันธ์กับลักษณะโครงสร้างที่มีการจัดเรียงตัวกันอยู่ของสายโซ่พอลิเพปไทด์นั้นด้วย โดยทั่วไปแล้วในการบอกตำแหน่งพิกของสารพอลิเพปไทด์และโปรตีนนิยมบอกในชื่อของ พิกเอไมด์ I (Amide I) ถึง เอไมด์ VII (Amide VII) เอไมด์ II (Amide II) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.2 ซึ่งจะปรากฏขึ้นในช่วงความถี่ที่แตกต่างกัน โดยพิกเอไมด์ต่าง ๆ เหล่านี้ก็จะสัมพันธ์ถึงการสั่นหรือการหมุนของหมู่ฟังก์ชันนัลกรุปต่าง ๆ และการจัดเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลของโปรตีนด้วย

จากอินฟราเรดสเปกตรัมของไฟโบรอินที่เกิดขึ้นจากการนำไฟโบรอินเมมเบรนเหล่านั้นไปทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง FT-IR โดยส่วนใหญ่แล้วนิยมใช้ในการบอกถึงลักษณะโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิ

ของวัสดุไฟโบรอินนั้นว่าเป็นแบบใด โดยลักษณะของโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิที่พบจะแสดงถึงสภาพความเป็นออสัณฐานหรือสภาพความเป็นผลึกของวัสดุไฟโบรอินนั้น สำหรับไฟโบร-อินที่มีสภาพความเป็นออสัณฐานซึ่งจะเรียกโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิของไฟโบรอินแบบนี้ว่าโครงสร้างแบบ Silk I (random coil และ α -helix) ซึ่งจะแสดงตำแหน่งพีกที่ประมาณ 1652 cm^{-1} (amide I, C=O stretching) ที่ 1542 cm^{-1} (amide II, N-H bending vibration) และที่ 1242 cm^{-1} (amide III, C-N stretching) ตามลำดับ ในขณะที่ถ้าไฟโบรอินที่โมเลกุลมีการจัดเรียงตัวกันดีจะมีสภาพความเป็นผลึกสูง ซึ่งจะเรียกโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิของไฟโบรอินแบบนี้ว่าโครงสร้างแบบ Silk II (β -sheet) ซึ่งจะแสดงตำแหน่งพีกที่ประมาณ 1627 cm^{-1} (amide I, C=O stretching) ที่ 1522 cm^{-1} (amide II, N-H bending vibration) และที่ 1234 cm^{-1} (amide III, C-N stretching) ตามลำดับ (Chen และคณะ, 2001)

ตารางที่ 2.2 แสดงช่วงความถี่ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของพีกของพวกเอไมด์ทุติยภูมิต่าง ๆ

Amide Types	Frequency range (cm^{-1})	
	In-plane modes	Out-of-plane modes
Amide A	~ 3300	-
Amide B	~ 3100	-
Amide I	1597-1672	-
Amide II	1480-1575	-
Amide III	1229-1301	-
Amide IV	625-767	-
Amide V	-	640-800
Amide VI	-	537-606
Amide VII	-	~ 200

2.4.3 สัณฐานวิทยาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

การศึกษาสัณฐานวิทยาของพื้นผิววัสดุชิ้นงานในระดับไมโคร-นาโนเมตร ในปัจจุบันจะนิยมใช้เทคนิคการโฟกัสลำอิเล็กตรอนกราดลงบนชิ้นงานสัญญาณที่เกิดขึ้นจากอันตรกิริยาระหว่างอิเล็กตรอนที่ตกกระทบกับผิวชิ้นงานจะถูกถ่ายทอดผ่าน ระบบตรวจวัดอิเล็กตรอนิกส์ปรากฏบนจอภาพคล้ายกับที่เห็นทางจอโทรทัศน์ กล้องจุลทรรศน์ที่ทำงานในลักษณะนี้ เรียกว่า “กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)” สัญญาณที่ใช้ในการสร้างภาพมีหลายชนิด เช่น อิเล็กตรอนทุติยภูมิ (Secondary electron) อิเล็กตรอนกระเจิงกลับ (backscattered electron) หรือ รังสีเอ็กซ์ (X-ray) เป็นต้น ทำให้เทคนิคสามารถใช้ในการศึกษา สัณฐานวิทยาของชิ้นงาน สภาพผิวของชิ้นงาน จุดบกพร่องบริเวณใกล้ผิวชิ้นงาน และหากมีตัวตรวจรังสีเอ็กซ์ลักษณะเฉพาะ (characteristics X-ray) ก็สามารถวิเคราะห์สารประกอบเคมีในระดับจุลภาควิเคราะห์ได้

2.4.4 สมบัติเชิงกลของพอลิเมอร์ (Mechanical Property of Polymer)

สมบัติเชิงกลของพอลิเมอร์ที่นิยมทดสอบเพื่อบอกถึงคุณลักษณะเชิงกลของพอลิเมอร์ที่สำคัญได้แก่ ความทนต่อแรงดึง (Tensile strength) ของพอลิเมอร์ สามารถทดสอบจากลักษณะการยืดออกของตัวอย่างเมื่อได้รับแรงดึงจากภายนอก โดยอาศัยทอม 2 ทอมที่สัมพันธ์กัน คือ ความเค้น (stress : σ) และความเครียด (strain : ϵ) ความเค้น คือ แรงที่ใช้ ในการดึงหรือยืดตัวอย่าง ต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่หน้าตัด ส่วนความเครียด (ϵ) คือ อัตราส่วนระหว่างความยาวที่เปลี่ยนไปของตัวอย่างเมื่อได้รับแรงดึงต่อความยาวเริ่มต้น ดังนี้

$$\text{ความเค้น} = \frac{\text{แรง (F)}}{\text{พื้นที่หน้าตัด (A)}}$$

$$\text{ความเครียด} = \frac{\text{ความยาวที่เปลี่ยนไป}}{\text{ความยาวเดิม}} = \frac{\Delta L}{L}$$

$$\text{โมดูลัส (Modulus)} = \frac{\text{ความเค้น}}{\text{ความเครียด}} = \frac{\sigma}{\epsilon}$$

นอกจากความเค้นและความเครียด แล้วยังมีทอมที่แสดงสมบัติเชิงกลประเภทอื่นของพอลิเมอร์อีก เช่น modulus หรือ stiffness ซึ่งแสดงโดยค่าอัตราส่วนระหว่างความเค้นและความเครียด (หรือความชันในช่วงแรกของเส้นกราฟ) และ toughness ซึ่งแสดงความต้านทานต่อการขาด

2.5 ไมโครอิมัลชัน

ไมโครอิมัลชัน (microemulsion) เป็นอิมัลชันของของเหลวที่มีขนาดเล็กตั้งแต่ 10-200 นาโนเมตร กระจายตัวอยู่ในตัวกลางที่ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (immiscible liquid) เนื่องจากความแตกต่างกันมากของแรงดึงดูดของของเหลวทั้งสอง หยดเล็ก ๆ ที่กระจายตัวอยู่นั้นเรียกว่า วัฏภาคภายใน (inner phase) หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าวัฏภาคตัวกระจาย (dispersed phase) ส่วนของเหลวที่เป็นตัวกลางนั้นเรียกว่าวัฏภาคภายนอก (external phase) หรือวัฏภาคตัวกลาง (medium phase) ไมโครอิมัลชันมีลักษณะโปร่งใส เนื่องจากอนุภาคของวัฏภาคภายในมีขนาดเล็กมากประมาณหนึ่งในสี่ของความยาวคลื่นแสงวิสิเบิล (visible light) จึงไม่หักเหหรือกระจายแสงเมื่อแสงทะลุผ่านทำให้มองเห็นโปร่งใส และสามารถคงตัวอยู่ได้ในตัวกลางโดยอาศัยสารลดแรงดึงดูดผิว (surface active agent หรือเรียกว่า surfactant) การที่ไมโครอิมัลชันเกิดขึ้นได้ในระบบเนื่องมาจากสารลดแรงดึงดูดผิวที่เติมลงไปจะไปลดแรงดึงดูดผิวระหว่างของเหลวทั้งสอง ชนิดทำให้ระบบมีแรงดึงดูดระหว่างผิว (interfacial tension, γ) เกิดขึ้นระหว่างของของเหลวตัวกลางและหยดของเหลว

2.5.1 การแบ่งชนิดของไมโครอิมัลชัน

โดยทั่วไปแล้วไมโครอิมัลชันระหว่างน้ำกับน้ำมันสามารถจำแนกประเภทของ ไมโครอิมัลชัน ได้ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ประเภทของไมโครอิมัลชันระหว่างน้ำกับน้ำมัน

ชนิดของวัฏภาค	ประเภทของไมโครอิมัลชัน		
	O/W	W/O	W/O/W
วัฏภาคกระจาย	หยदनํ้ามัน	หยदनํ้า	หยदनํ้ามันที่กระจายตัวอยู่ในนํ้าและในหยदनํ้ามันก็มีหยदनํ้าเล็ก ๆ กระจายอยู่อีกต่อหนึ่ง
วัฏภาคตัวกลาง	นํ้า	นํ้ามัน	

2.5.2 กลไกการเกิดไมโครอิมัลชัน

โดยทั่วไปของเหลวทุกชนิดจะมีแรงดึงดูดที่บริเวณผิว เมื่อนำของเหลวสองชนิดที่ไม่สามารถละลายซึ่งกันและกันได้มาเขย่าจะเกิดการรวมเป็นเนื้อเดียวกัน ของเหลวที่ได้เรียกว่าอิมัลชัน (emulsion) จากหลักการทางเทอร์โมไดนามิกส์อธิบายว่า การเขย่าเป็นการเพิ่มพลังงานอิสระที่พื้นผิว (surface free energy) ของเหลวจึงรวมตัวเข้ากันได้ชั่วขณะหนึ่งแต่สภาวะที่เกิดขึ้นไม่คงสภาพ ระบบจะพยายามลดพื้นที่ผิวให้มีค่าน้อยที่สุด โดยเกิดการรวมตัวกันให้มีขนาดใหญ่ขึ้นและเกิดการแยกชั้น ของเหลวชนิดใดที่มีความถ่วงจำเพาะหรือความหนาแน่นต่ำก็จะลอยอยู่ด้านบน ส่วนของเหลวที่มีความถ่วงจำเพาะหรือความหนาแน่นสูงกว่าก็จะแยกตัวอยู่ด้านล่าง

หากมีการเติมของเหลวชนิดหนึ่งปริมาณน้อย ๆ ลงไปยังของเหลวตัวกลางอีกชนิดหนึ่ง โดยของเหลวทั้งสองชนิดนี้ไม่ละลายกันและกัน ภายในของเหลวตัวกลางมีสารลดแรงดึงดูดผิวที่มีความเข้มข้นต่ำ เมื่อทำการเขย่าให้ผสมกัน ของเหลวที่มีปริมาณน้อยเท่านั้นจะแตกตัวเป็นหยดเล็ก ๆ กระจาย

ตัวอยู่ในของเหลวตัวกลาง และจะคงตัวอยู่ในตัวกลางได้นาน เนื่องจากโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะเข้าไปเกาะเป็นฟิล์มล้อมรอบอนุภาคของเหลว (protective coating) เป็นผลให้อนุภาคของเหลวสามารถแทรกอยู่ในตัวกลางได้นาน ทำให้ระบบประกอบด้วยสองวัฏภาค คือ วัฏภาคของหยดของเหลวขนาดเล็ก ๆ ที่กระจายตัวและวัฏภาคของของเหลวตัวกลางรวมเรียกว่า ไมโครอิมัลชัน ซึ่งการเกิดไมโครอิมัลชันสามารถสรุปได้ว่าต้องอาศัยกระบวนการ 2 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนแรก เป็นการทำให้ของเหลวชนิดหนึ่งที่มีปริมาณน้อย ๆ แยกตัวเป็นหยดเล็ก ๆ ที่เรียกว่าวัฏภาคภายใน กระจายตัวในของเหลวอีกชนิดหนึ่งจัดเป็นวัฏภาคภายนอกโดยอาศัยการให้พลังงาน ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปของความร้อน การคนหรือการเขย่าแรง ๆ การสั่นสะทอนโดยคลื่นเสียง เป็นต้น

ขั้นตอนที่สอง เป็นการทำให้หยดเล็ก ๆ กระจายตัวอยู่ในของเหลววัฏภาคภายนอกนั้นคงตัวอยู่ได้นาน ซึ่งทำได้โดยอาศัยสารลดแรงตึงผิวทำหน้าที่ลดแรงตึงระหว่างผิวของ ๆ เหลวที่ส่งออเพื่อลดพลังงานอิสระของพื้นผิว ทำให้โอกาสที่หยดของของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายในซึ่งกระจายตัวอยู่นั้นรวมตัวกันได้น้อยลง เป็นการเพิ่มความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ นอกจากนั้นการทำให้เกิดฟิล์มที่แข็งแรงและยืดหยุ่นได้รอบ ๆ หยดของของเหลวก็เป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่ช่วยทำให้หยดของของเหลวคงตัวอยู่ได้ โดยที่ลักษณะของการเรียงตัวของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิวจะแตกต่างกันไปแล้วแต่วิธีและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการเตรียมไมโครอิมัลชัน การเกิดฟิล์มรอบหยดไมโครอิมัลชันแบบ O/W อาจเนื่องมาจากการเรียงตัวเป็นฟิล์มโมเลกุลเดี่ยว (monomolecular films) โดยมักจะเกิดจากการใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นอิมัลซิฟายเออร์ (emulsifier) หรือแบบฟิล์มหลายโมเลกุล (multimolecular film) ซึ่งเกิดจากการใช้สารลดแรงตึงผิวที่ชอบน้ำ (hydrophilic surfactant) เป็นอิมัลซิฟายเออร์ หรือมีแบบฟิล์มอนุภาคแข็ง (solid particle film) ซึ่งเกิดจากการดูดซับของแข็งเล็กละเอียดบางชนิดที่ผิวของวัฏภาคทั้งสอง

นอกจากนั้นการเกิดฟิล์มรอบหยดน้ำมันยังอาจเกิดจากชั้นซ้อนของประจุ (electrical double layer) ของกลุ่มที่มีประจุ (electrically charged groups) ที่อยู่รอบ ๆ ผิวของหยดวัฏภาคภายในที่เกิดจากการแตกตัวเมื่อละลายน้ำของสารลดแรงตึงผิว ซึ่งสามารถอธิบายกลไกของไมโครอิมัลชันชนิด O/W ได้ดี ดังตัวอย่างแสดงในรูปที่ 3 ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เกิดจากไอออนเหล่านี้จะดึงดูดและผลักกันทำให้หยดน้ำมันไม่มีโอกาสเข้าใกล้กันและไม่สามารถเกิดการรวมตัวกันได้

2.5.3 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความคงตัวของไมโครอิมัลชัน

2.5.3.1 อิทธิพลจากสารลดแรงตึงผิว โดยสารลดแรงตึงผิวเป็นสารที่เติมลงไปในระบบอิมัลชันเพื่อช่วยให้อิมัลชันมีสภาพความคงตัวมากขึ้น โดยเป็นสารที่มีโครงสร้างของโมเลกุลแบบแอมฟิพาติก (amphipatic structure) ซึ่งในแต่ละโมเลกุลจะประกอบด้วยสองส่วน โดยส่วนแรกจะเป็นหมู่ที่มีแรงดึงดูดน้อยกับตัวทำละลายหรือเป็นหมู่ที่ไม่ชอบตัวทำละลาย (lyophobic group) ในกรณีที่มีตัวทำละลายเป็นน้ำจะเรียกชื่อหมู่เหล่านี้ว่า เป็นหมู่ที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic group) โดยหมู่ที่ไม่ชอบน้ำนี้ส่วนใหญ่จะเป็นหมู่ของพวกไฮโดรคาร์บอนสายยาว ซึ่งอาจเป็นแบบสายโซ่ตรงหรือเป็นแบบกิ่งก็ได้ สำหรับส่วนที่สองของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิวจะเป็นหมู่ที่เกิดแรงดึงดูดกับตัวทำละลายได้ดีหรือเรียกว่าเป็นหมู่ที่ชอบตัวทำละลาย (lyophilic group) สำหรับระบบที่ตัวทำละลายเป็นน้ำจะเรียกชื่อหมู่เหล่านี้ว่า หมู่ที่ชอบน้ำ (hydrophilic group) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นหมู่ไอออน (ionic group) หรือหมู่ที่มีสภาพขั้วสูง (highly polar group) โดยไอออนเหล่านี้จะมีค่าแอฟฟินิตี (affinity) สูงมากกับน้ำทำให้เกิดแรงดึงดูดไฟฟ้าสถิตย (electrostatic attractive force) กับ โมเลกุลของน้ำเป็นแบบไอออน-ไดโพล (ion-dipole) ทำให้ดึงส่วนที่เป็นสายโซ่ไฮโดรคาร์บอนเข้ามาอยู่ในสารละลายได้ สารลดแรงตึงผิวมีหลายชนิดโดยจะมีโครงสร้างทางเคมีของส่วนที่ไม่ชอบตัวทำละลายและส่วนที่ชอบตัวทำละลายในโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวนั้นแตกต่างกัน ดังนั้นในการเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวเหล่านี้จึงขึ้นอยู่กับธรรมชาติตัวทำละลายและสภาวะที่ใช้ การแบ่งประเภทของสารลดแรงตึงผิวโดยทั่วไปจะแบ่งตามสภาพเป็นสารลดแรงตึงผิวเมื่อเกิดการละลายในน้ำ เป็นดังนี้

ก) สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ (anionic surfactant) สารลดแรงตึงผิวชนิดนี้เมื่อแตกตัวในน้ำส่วนที่ไม่ชอบน้ำในโมเลกุลของสารจะแสดงประจุลบและมักจะละลายน้ำได้

ข) สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวก (cationic surfactant) สารลดแรงตึงผิวชนิดนี้เมื่อแตกตัวในน้ำให้ประจุบวก โดยส่วนที่มีประจุบวกของโมเลกุลของสารแสดงอำนาจเป็นสารลดแรงตึงผิว

ค) สารลดแรงตึงผิวชนิดแอมโฟเทอริก (amphoteric surfactant) สารลดแรงตึงผิวชนิดนี้ในสูตรโครงสร้างมีทั้งหมู่ฟังก์ชันกรด (acidic) และหมู่ฟังก์ชันเบส (basic) เมื่อละลายในน้ำจะแตกตัวให้ประจุบวกหรือประจุลบขึ้นกับสภาวะของความเป็นกรด-เบส สารละลาย ซึ่งหากสารละลายมีพีเอชสูงจะเป็นสารลดแรงตึงผิวแบบประจุลบ แต่หากมีพีเอชต่ำจะเป็นสารลดแรงตึงผิวแบบประจุบวก ดังนั้นโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวชนิดนี้จึงขึ้นกับสภาวะความเป็นกรด-เบสของระบบด้วย

ง) สารลดแรงตึงผิวชนิดนอนไอออนิก (nonionic surfactant) สารลดแรงตึงผิวชนิดนี้เมื่อละลายน้ำจะไม่แสดงประจุ โดยโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวชนิดนี้จะประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำและส่วนที่ไม่ชอบน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน ทำให้มีอำนาจในการละลายน้ำต่างกันและจะถูกกำหนดด้วยค่า HLB (hydrophilic lipophilic balance) ซึ่งจะใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ต่างกัน และจะถูกกำหนดด้วยค่า HLB (hydrophilic lipophilic balance) ซึ่งจะใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการละลายน้ำของสาร ถ้ามีค่า HLB ต่ำ จะ

ละลายน้ำได้น้อยแต่ละลายได้ดีในน้ำมัน ในทางตรงข้ามหากมี HLB สูง แสดงว่าสามารถละลายได้ดีในน้ำขณะที่ละลายได้น้อยในน้ำมัน ซึ่งตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวชนิดต่าง ๆ แสดงได้ในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวประเภทต่าง ๆ

ประเภท	ชื่อ	สูตร โมเลกุล
ไอออนลบ	Soap	RCOO^-Na^+ , $\text{R} = \text{C}_{11-23}$
	Alkyl sulfates	$\text{RSO}_4^-\text{Na}^+$, $\text{R} = \text{C}_{12-18}$
	Alkylbenzene sulfonate	$\text{RC}_6\text{H}_4\text{SO}_3^-\text{Na}^+$, $\text{R} = \text{C}_{10-13}$
	Ethoxylated alkyl sulfates	$\text{RO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OSO}_3^-\text{Na}^+$, $\text{R} = \text{C}_{12-18}$
ไอออนบวก	Quaternary ammonium chloride	$\text{RN}(\text{CH}_3)_3^+\text{Cl}^-$, $\text{R} = \text{C}_{10-12}$
	Amidoamines	$\text{RCONH}(\text{CH}_2)_n\text{NR}_1\text{R}_2$, $\text{R}_1\text{R}_2 = \text{C}_{1-2}$
	Alkylamine hydrochloride	RNH^+Cl^- , $\text{R} = \text{C}_{12-18}$
แอมโฟเทอริก	Alkylamino acid	$\text{R}^+\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$
	Sulfobetaine	$\text{RN}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-$
นอนไอออนิก	Polyoxyethylenated alkylphenol	$\text{RC}_6\text{H}_4(\text{OC}_2\text{H}_4)_x\text{OH}$, $\text{R} = \text{C}_{8-20}$
	Alkylphenolpolyethylene glycol ether	$\text{RC}_6\text{H}_4\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$, $\text{R} = \text{C}_{8-12}$

สมบัติที่สำคัญของสารลดแรงตึงผิว คือ การฟอร์มเป็นไมเซลล์ (micellization) ที่เกิดขึ้นเนื่องจากสารลดแรงตึงผิวจัดเรียงตัวเองโดยการหันเอาส่วนที่ชอบน้ำเข้าหาน้ำและหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำออกจากน้ำ (หันไปยังสารที่ไม่มีขั้วหรือมีสมบัติแบบ hydrophobic) และละลายกันและกันเกิดเป็นโครงสร้างใหม่เรียกว่าไมเซลล์ (micelle)

สารลดแรงตึงผิวที่ละลายอยู่ในน้ำจะมีพฤติกรรมต่าง ๆ ที่ขึ้นอยู่กับช่วงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวนั้น เมื่อสารลดแรงตึงผิวความเข้มข้นต่ำ ๆ การฟอร์มเป็นไมเซลล์ยังไม่เกิดขึ้นเนื่องจากโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวมีจำนวนน้อย เมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้นจำนวนโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวในสารละลายจะเพิ่มขึ้นด้วยและทำให้โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวมีโอกาสที่จะเคลื่อนที่เข้าใกล้กันได้มากขึ้นด้วย เมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในสารละลายเพิ่มขึ้นจนมีปริมาณเพียงพอต่อการเกิดเป็นไมเซลล์ ส่วนที่มีขั้วของสารลดแรงตึงผิวแต่ละโมเลกุลก็จะมีการผลักกัน ขณะที่ส่วนที่ไม่มีขั้วในแต่ละโมเลกุลจะเกิดแรงดึงดูดกันมากขึ้นทำให้มาอยู่ใกล้กันด้วยแรงไคโพลและ

เกิดการละลายซึ่งกันและกันได้ ทำให้เกิดการฟอร์มเป็นไมเซลล์ขึ้น ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่ทำให้เกิดเหตุการณ์นี้เกิดขึ้นเรียกว่า ความเข้มข้นวิกฤติของไมเซลล์ (critical micelle concentration, CMC) เมื่อสารละลายมีไมเซลล์เกิดขึ้นจะทำให้สมบัติของสารละลายเปลี่ยนไป เช่น แรงตึงผิว ค่าการนำไฟฟ้า และความหนาแน่น เป็นต้น

การเตรียมไมโครอิมัลชันจะต้องเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวให้เหมาะสมโดยคำนึงถึงสมบัติและปริมาณที่ต้องใช้เพื่อให้ไมโครอิมัลชันคงสภาพอยู่ได้นาน สำหรับไมโครอิมัลชันชนิด O/W (oil in water emulsion) ฟิล์มที่อยู่รอบ ๆ หยดน้ำมันเกิดจากไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชนิดที่มีประจุไฟฟ้า ดังนั้นปริมาณของจำนวนโมเลกุลที่มีประจุต้องมากพอที่จะทำให้เกิดการผลักกันได้ระหว่างไมโครอิมัลชันแต่ละอนุภาค และส่วนที่ไม่ชอบน้ำของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิวก็ต้องจับกันด้วยแรงที่มากพอเพื่อทำให้ฟิล์มมีความแข็งแรง โดยหากส่วนที่ไม่ชอบน้ำเป็นแบบสายโซ่ตรง (saturated straight chain) ก็จะทำให้ฟิล์มที่ได้แข็งแรงและไมโครอิมัลชันมีความคงตัวดี และนอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวควรจะละลายได้ทั้งส่วนของน้ำและน้ำมันอย่างสมดุลกันด้วย สำหรับไมโครอิมัลชันชนิด W/O (water in oil microemulsion) ฟิล์มที่เกิดรอบ ๆ หยดน้ำมันไม่จำเป็นต้องมีประจุไฟฟ้า แต่สารลดแรงตึงผิวจะต้องสามารถลดแรงตึงผิวระหว่างน้ำและน้ำมันได้ดี และต้องละลายได้ดีในน้ำมันจึงจะทำให้ไมโครอิมัลชันคงสภาพอยู่ได้ดี เป็นต้น

2.5.3.2 อิทธิพลจากอุณหภูมิ โดยอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลต่อความคงตัวของอนุภาคไมโครอิมัลชัน เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นแรงตึงผิวระหว่างของ ๆ เหลวทั้งสองชนิดจะเปลี่ยนไป อีกทั้งจะมีความดันไอเพิ่มสูงขึ้นด้วยทำให้โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวสามารถหลุดออกไปจากหยดไมโครอิมัลชันไปอยู่ที่ผิวของสารละลายได้ ทำให้หยดอิมัลชันขนาดเล็กเหล่านั้นเกิดการรวมตัวกันเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้นได้

2.5.3.3 อิทธิพลของอิเล็กโทรไลต์ สารอิเล็กโทรไลต์จะมีอิทธิพลอย่างมากสำหรับหยดไมโครอิมัลชันชนิดที่มีประจุ ซึ่งการกระจายตัวของหยดอิมัลชันเหล่านั้นเกิดขึ้นได้เนื่องจากการผลักกันของประจุที่เหมือนกัน ดังนั้นเมื่อเติมสารอิเล็กโทรไลต์ลงไประหว่างการเตรียมไมโครอิมัลชันจะทำให้อิมัลชันที่เกิดขึ้นมีความคงตัวลดลง โดยอิเล็กโทรไลต์จะไปลดแรงไฟฟ้ากีดกันระหว่างหยดเล็ก ๆ เหล่านั้น สมบัติของสารลดแรงตึงผิวที่เกาะเป็นฟิล์มล้อมรอบหยดน้ำมันนั้นจึงเปลี่ยนไป ทำให้หยดน้ำมันเหล่านั้นเกิดการรวมกลุ่มกันได้ง่าย มีความคงตัวลดลงและเกิดการแยกชั้นได้ และหากปริมาณของสารอิเล็กโทรไลต์มาก อาจทำให้เกิดการตกตะกอนของสารลดแรงตึงผิวบางชนิดได้มากขึ้นด้วย

2.5.3.4 อิทธิพลเนื่องจากวิธีการเตรียม การเตรียมไมโครอิมัลชันโดยการเขย่าเป็นระยะ ๆ จะทำให้เกิดไมโครอิมัลชันได้ดีและมีสภาพความคงตัวที่ดีกว่าการเตรียมโดยการเขย่าติดต่อกันอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากวัฏภาคภายในหรือวัฏภาคของหยดของเหลวที่กระจายตัวอยู่แตกตัวเป็นอนุภาคหยดเล็ก ๆ โดยไม่รบกวนวัฏภาคภายนอก อีกทั้งขณะที่หยุดพักจะทำให้มีเวลาที่หยดน้ำมันจะเกิดการดูดซับโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวเข้าไปอยู่ที่ผิวของหยดน้ำมันได้มากขึ้น นอกจากนี้ระยะเวลาในการเขย่า

สำหรับเตรียมไมโครอิมัลชันจะต้องนานพอที่จะทำให้สารลดแรงตึงผิวที่อยู่ในวัฏภาคทั้งสองอยู่ในสภาพสมดุล จึงทำให้ไมโครอิมัลชันที่เตรียมได้มีความคงตัวมากขึ้น

2.5.3.5 อิทธิพลของขนาดหยดไมโครอิมัลชัน ขนาดของหยดไมโครอิมัลชันที่เตรียมได้เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่ออัตราการรวมตัวกันของหยดของเหลว โดยการกระจายขนาดของหยดไมโครอิมัลชัน ตามหลักทางเทอร์โมไดนามิกส์ไมโครอิมัลชันที่มีขนาดเล็ก ๆ จะมีความคงตัวที่ดี เนื่องจากอนุภาคของหยดของเหลวที่มีขนาดใหญ่จะมีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรน้อยกว่าหยดไมโครอิมัลชันที่มีขนาดเล็กกว่า และนอกจากนี้ไมโครอิมัลชันที่มีการกระจายขนาดของหยดของ ๆ เลวน้อย จะมีความเสถียรมากกว่าไมโครอิมัลชันที่มีการกระจายตัวของขนาดของหยดของเหลวกว้าง ซึ่งจากการศึกษาของ Casado และคณะ (1994) พบว่าขนาดของหยดไมโครอิมัลชันภายในสารลดแรงตึงผิวจะแปรผันโดยตรงกับอัตราส่วนโดยโมลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว ดังสมการ

$$R_M = 2S_M\alpha_s\omega$$

เมื่อ R_M = รัศมีของหยดไมโครอิมัลชัน
 S_M = ปริมาตรของน้ำมันในหยดอนุภาค
 α_s = อัตราส่วนของจำนวนโมเลกุลของ SDS ต่อพื้นที่ผิวทั้งหมดของหยดตัวทำละลายอินทรีย์
 ω = อัตราส่วนของความเข้มข้นของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว

ดังนั้นเมื่อหยดของเหลวใหญ่ขึ้นก็จะมีจำนวนโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวมาเกาะมากขึ้นด้วย แต่จากการศึกษาพบว่าที่อัตราส่วน ω หนึ่ง ๆ ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวขึ้นอีกก็ไม่ได้มีผลต่อขนาดของหยดของ ๆ เลว โดยมีขนาดหยดใกล้เคียงกันกละมีจำนวนโมเลกุลของลดแรงตึงผิวมาเกาะใกล้เคียงกันด้วย

2.5.3.6 อิทธิพลของ pH โดยการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของสารละลายจะมีผลต่อความคงตัวของไมโครอิมัลชันโดยเฉพาะอย่างยิ่งมีผลต่อสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุ ในการเตรียมไมโครอิมัลชัน กรณีที่ทำการเตรียมอิมัลชันโดยเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ pH ของสารละลายจะมีผลไม่มากนัก โดยการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไอออนลบสภาพของการลดแรงตึงผิวจะเกิดเนื่องจากไอออนลบของสารลดแรงตึงผิวนี้นี้จะทำหน้าที่ได้ดีในช่วง pH สูง ๆ ส่วนสารลดแรงตึงผิวชนิดไอออนบวกจะทำหน้าที่ได้ดีเมื่ออยู่ในสารละลายที่มี pH ต่ำ ๆ ดังนั้นการเลือกสภาพ pH ของสารละลายจึงมีผลต่อการเตรียมไมโครอิมัลชัน โดยการเปลี่ยนแปลง pH หรือการเตรียมไมโครอิมัลชันในสภาพที่มี pH ที่ไม่เหมาะสมจะทำให้ขนาดของหยดและความหนืดของอิมัลชันเปลี่ยนไปซึ่งมีผลทำให้ความคงตัวของไมโครอิมัลชันเปลี่ยนไปด้วย

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จิตชัย และพิลาณี (2549) ได้ศึกษากระบวนการผลิตผงไหมชนิดละลายน้ำจากไหมพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ 1 โดยการละลายในสารละลายผสมของแมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) น้ำและเอทานอล ที่อุณหภูมิ $100\text{ }^{\circ}C$ จากนั้นนำสารละลายไหมที่ได้ไปทำการไดอะไลซิสในน้ำกลั่น เป็นเวลา 2 วัน เพื่อขจัดไอออนของเกลือ และนำสารละลายไหมที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ $8,000\text{ rpm}$ เป็นเวลา 15 นาที เพื่อขจัดสิ่งเจือปนอื่นออก จากนั้นจึงนำสารละลายไหมบริสุทธิ์ไปทำให้แห้งโดยการแช่แข็งสุญญากาศและบดให้ละเอียด จะได้ผงไหมชนิดละลายได้ในน้ำสีเหลืองนวล จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี พบว่าผงไหมจากห้องปฏิบัติการมีลักษณะปรากฏและรูปแบบของกรดอะมิโนทั้งหมดใกล้เคียงกับผงไหมทางการค้า อย่างไรก็ตามผงไหมจากห้องปฏิบัติการมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่สูงกว่าในขณะที่ มีปริมาณความชื้นและเถ้าต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับผงไหมทางการค้าและมีขนาดโมเลกุลประมาณ 40 kDa ซึ่งมีคุณสมบัติในการดูดซับและเก็บรักษาความชื้น จึงเหมาะสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง

ปิยรัตน์ มุลศรี (2549) ได้ปรับปรุงกรรมวิธีการเตรียมผงไฟโบรอินจากเศษไหม ที่มีความสามารถในการละลายน้ำดี มีความบริสุทธิ์สูง และสามารถนำไปใช้งานได้อย่างสะดวก โดยใช้สารละลายผสมระหว่างแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) น้ำ และเอทานอล ในอัตราส่วนที่เหมาะสม การทำละลายเศษไหมที่สภาวะที่เหมาะสมนั้นใช้เวลาสั้น และทำได้ง่าย ภายหลังการกำจัดเกลือด้วยวิธีการไดอะไลซิสแล้วสารละลายไฟโบรอินที่ได้มีความคงตัวดีสามารถนำไปใช้ในการเตรียมวัสดุทางชีวภาพได้ สำหรับผงไฟโบรอินที่เตรียมได้โดยกรรมวิธีการเตรียมผงไฟโบรอินจากเศษไหมนี้ ทำโดยการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง โดยจากการศึกษาสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่า มีลักษณะเป็นแผ่นขนาดไมโครเมตร (ประมาณ $200\text{ }\mu m$)

ปิยรัตน์ มุลศรี และคณะ (2550) ได้ทำการศึกษาการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนและการทำให้เสถียรด้วยการดัดแปรเมมเบรนด้วยพอลิเอทิลีนไกลคอลไดโกลซิไดวียเทอร์ (PEGDE) ทำโดยการดัดแปรสารละลายไฟโบรอินด้วย PEGDE ในสัดส่วนต่าง ๆ จากนั้นจึงทำให้แห้งด้วยการอบที่อุณหภูมิ $60\text{ }^{\circ}C$ จนเกิดเป็นเมมเบรน และภายหลังจากการล้าง PEGDE ที่เหลืออยู่ให้ออกไปด้วยการแช่ในน้ำกลั่นแล้วทำเมมเบรนให้แห้งโดยการทำให้แห้งแบบเยือกแข็งอีกครั้งหนึ่ง จากผลการศึกษาสมบัติของเมมเบรนดัดแปรที่เตรียมได้พบว่าเมมเบรนดัดแปรที่เตรียมได้มีสภาพความเป็นรูพรุนเกิดขึ้น และมีโครงสร้างเปลี่ยนจากแบบ α -helix ไปเป็นแบบ β -sheet ที่เปอร์เซ็นต์ของ PEGDE ที่เติมลงไปมากกว่า 4% โดยไฟโบรอินเมมเบรนดัดแปรที่เตรียมได้มีการละลายน้ำน้อยกว่า 2% ในสารละลายที่มีพีเอช 4-10 เมมเบรนที่ได้มีการดูดซึมน้ำเพิ่มขึ้นในเมมเบรนดัดแปรที่มีเปอร์เซ็นต์ของ PEGDE จนถึง 4% นอกจากนั้นยังพบว่าไฟโบรอินเมมเบรนที่ดัดแปรด้วย PEGDE มีสมบัติเชิงกลที่ดีกว่าไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยผ่านการแช่ด้วยสารละลายเมทานอล

Altman และคณะ (2003) ได้รายงานถึงการใช้ไหม (Silk) เป็นวัสดุทางชีวภาพว่า ในเส้นไหมซึ่งประกอบด้วยเส้นใยไฟโบรอินเป็นองค์ประกอบหลัก เมื่อทำการกำจัดสารเซรีซิน (กาวไหม) ออกไปแล้วสามารถนำไปใช้ในการผลิตเป็นวัสดุทางชีวภาพที่สามารถเข้ากันได้กับสิ่งมีชีวิตได้ดี ซึ่งรวมถึงการเข้ากันได้กับมนุษย์ด้วย โดยสามารถใช้เป็นวัสดุทางชีวภาพได้ดีพอ ๆ กับวัสดุทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น พอลิแลคติก แอซิด และ คอลลาเจน เป็นต้น ซึ่งไหมไฟโบรอินนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านวัสดุชีวภาพได้หลายลักษณะเช่น การนำไปใช้เป็นวัสดุเพาะกระดูก หรือใช้เป็นวัสดุในการเพาะเลี้ยงเซลล์หรือเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ เป็นต้น

Li และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาถึงโครงสร้างและสมบัติของไฮโดรเจลที่เตรียมจากการดัดแปรไฟโบรอินด้วยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ไฟโบรอินแบบมีรูพรุนที่ได้จากที่ดัดแปรด้วยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในสัดส่วนต่าง ๆ ถูกเตรียมขึ้นโดยการทำให้สารละลายไฟโบรอินด้วยการทำให้แบบเยือกแข็งและการทำให้แห้งโดยการใช้อากาศ จากนั้นจึงทำการศึกษาโครงสร้างของไฟโบรอินฟิล์มและสมบัติเชิงกล โดยจากการศึกษาพบว่าไฮโดรเจลของไฟโบรอินเมมเบรนที่ทำให้แห้งด้วยอากาศจะมีความเป็นผลึกและมีความแข็งแรงมากกว่าไฟโบรอินดัดแปรที่ทำให้แห้งโดยการทำให้แบบเยือกแข็ง โดยไฟโบรอินไฮโดรเจลที่ผ่านการทำให้แบบเยือกแข็งจะมีความพรุนมากซึ่งเหมาะต่อการนำไปใช้เป็นวัสดุเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยโครงสร้างของไฟโบรอินไฮโดรเจลสามารถปรับเปลี่ยนได้จากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่แข็งและจำนวนครั้งของการแช่แข็งทิ้งไว้ก่อนการทำให้แห้งเป็นไฮโดรเจล

Qiang Lv และคณะ (2004) ได้ศึกษาการเตรียมไฟโบรอินฟิล์มชนิดที่ไม่ละลายน้ำโดยการไม่ใช้สารละลายเมทานอลในการทำให้ฟิล์มเกิดความเสถียร โดยได้พบว่าการเตรียมไฟโบรอินฟิล์มจากการอบให้แห้งที่อุณหภูมิสูงกว่า 60°C จะทำให้ฟิล์มนั้นมีโครงสร้างเป็นแบบ β -sheet เกิดขึ้นและส่งผลต่อสมบัติเชิงกลของไฟโบรอินฟิล์ม โดยพบว่าค่าความทนต่อแรงดึง (tensile strength) และการยืดจนกระทั่งขาด (breaking elongation) ของฟิล์มที่เตรียมที่ 70°C มีค่าเท่ากับ 29.8 MPa และ 59.6% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าไฟโบรอินฟิล์มที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายเอทานอลอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้ยังพบว่าการทำให้แห้งโดยการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงถึง 60°C จะทำให้ฟิล์มมีความทนต่อการเกิดการละลายน้ำได้ดีที่สุด

Tsukada และคณะ (1994) ได้ศึกษาโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงไปของไฟโบรอินเมมเบรนที่เกิดขึ้นเนื่องจากการแช่ในสารละลายเมทานอล ของการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่ใช้สารละลายไฟโบรอินที่นำมาจากต่อมน้ำลายของหนอนไหมและสารละลายไฟโบรอินที่เตรียมขึ้น โดยจะทำการทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25°C จนได้ไฟโบรอินเมมเบรนเกิดขึ้นมา ซึ่งพบว่าไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้จากสารละลายทั้งสองชนิดมีองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติทางกายภาพต่างกันเล็กน้อย เมื่อนำเมมเบรนที่เตรียมจากสารละลายทั้งสองชนิดแช่ทิ้งไว้ในสารละลายเมทานอลด้วยเวลาเพียง 2 นาที พบว่าเมมเบรนจะมีเปอร์เซ็นต์ความเป็นผลึกเพิ่มขึ้นจากก่อนการแช่ในสารละลายเมทานอล และเมมเบรนมีโครงสร้างเปลี่ยนจากแบบ α -helix ไปเป็นแบบ β -sheet ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ทำให้เมมเบรนมีความ

เสถียร นอกจากนั้นยังพบว่าไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมจากสาร ละลายทั้งสองชนิดมีความคงทนต่อความร้อนเพิ่มขึ้นหลังจากผ่านการแช่ทิ้งไว้ในสารละลายเมทานอลด้วย

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้วิธีการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตร โดยใช้วิธีการอิมัลชันที่พัฒนาขึ้น และเพื่อศึกษาสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรที่เตรียมได้ โดยเครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี การเตรียมวัสดุใหม่และสารละลาย และวิธีการดำเนินการวิจัยตามวัตถุประสงค์ เป็นดังนี้

3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง แสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์	รุ่น	บริษัทผู้ผลิต
อ่างน้ำร้อนและเครื่องเขย่า (Water & Shaker bath)	WB22	Memmert, Germany
เครื่องให้ความร้อนและหมุนเวียน (Hotplate & Stirrer)	4658	Cole-Parmer, USA
เตาอบ (Hot air oven)	UM500	Memmert, Germany
เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง(Freeze dryers)	Flexi-Dry™ MP	FTS System, USA
ยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS spectrophotometer)	UV-1700	Simadzu, Japan
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)	JSM-6335F	JEOL, Japan
ฟลูเรียทรานสฟอร์มอินฟราเรด สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FT-IR)	Tensor 27	Bruker, Germany
เครื่องทดสอบแรงดึง(Tensile strength tester)	LRX	Loyd, UK
ตู้เย็น(Refrigerator)	GR-S32 KT	Toshiba, Japan
เครื่องวัดความหนืด(Viscosity meter)	RI:2:M-H	Shannon, Ireland

3.1.2 สารเคมี

ในการวิจัยนี้ สารเคมีที่ใช้ในการทดลองแสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี	สูตรเคมี	MW (g/mol)	เกรด	บริษัทผู้ผลิต
โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate)	Na_2CO_3	109.99	lab	Sigma, USA
แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต (Calcium chloride dihydrate)	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	147.01	AR	Fluka, Switzerland
เอทานอล (Ethanol)	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	46.07	AR	Fisher, USA
โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate, SDS)	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$	288.38	Lab	Fluka, Switzerland
เอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate)	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	88.11	AR	Fisher, USA
กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid)	H_2SO_4	98.08	AR	Merck, Germany
กรดไฮโดรคลอริก 37% (v/v) (Hydrochloric acid)	HCl	36.46	AR	Merck, Germany
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)	NaOH	40.00	Lab	Carlo Erba, Italy
พอลิเอทิลีนไกลคอลไดไกลิดิอีเทอร์ (Polyethyleneglycoldiglycidylether)	$\text{C}_{24}\text{H}_{46}\text{O}_{12}$	526.00	AR	Sigma- Aldrich, USA
น้ำกลั่นปราศจากไอออน (Deionized water)	H_2O	18.0	Lab	-

3.2 การเตรียมวัสดุใหม่และสารละลายไฟโบรอิน

3.2.1 การเตรียมวัสดุใหม่

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้ปุยไหมซึ่งเป็นวัสดุที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตเส้นไหมของบริษัท จุลไหมไทย จำกัด จังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งได้มาจากการดึงเส้นใยไหมที่มีลักษณะเป็นขุรอบรังไหม ออกมาจากรังไหมก่อนการนำไปเข้าสู่กระบวนการสาวไหม การเตรียมวัสดุปุยไหมทำโดยการคัดแยกสิ่งสกปรกที่ติดอยู่ในปุยไหมออกก่อน จากนั้นนำไปต้มในสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 0.05 % ที่อุณหภูมิประมาณ 100°C นาน 30 นาที เพื่อกำจัดสารเซรีซิน (กาวไหม) จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่น และนำไปต้มในสารละลาย Na_2CO_3 ที่ความเข้มข้นและที่สภาวะเดียวกันอีก 2 ครั้ง ภายหลังการล้างด้วยน้ำกลั่นจะได้เส้นใยไฟโบรอินที่บริสุทธิ์ขึ้น

3.2.2 การเตรียมสารละลายไฟโบรอิน

ซึ่งเส้นใยไฟโบรอินที่ผ่านการลอกกาวแล้วหนัก 10 g นำไปละลายในสารละลายผสมระหว่าง $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O} : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (อัตราส่วน 1 : 8 : 2) ปริมาตร 100 ml ที่อุณหภูมิประมาณ $100 \pm 10^\circ\text{C}$ นาน 3 ชั่วโมง หลังจากการทิ้งไว้ให้สารละลายเย็นแล้วทำการกรองสารละลายไฟโบรอินเพื่อคัดแยกเอาสิ่งสกปรกออก แล้วนำไปกำจัดตัวทำละลายเกลือออกไปโดยการทำโคเอไลซิสด้วยน้ำกลั่นนาน 3 วัน จะได้สารละลายไฟโบรอินที่มีความเข้มข้นประมาณ 3% w/v โดยสารละลายไฟโบรอินนี้สามารถเก็บไว้ใช้ได้นานโดยการแช่แข็งไว้ในตู้เย็น

3.2.3 การเตรียมสารละลายที่สำคัญ

3.2.3.1 สารละลาย 0.05% Na_2CO_3

ซึ่ง Na_2CO_3 0.5 g ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายลงไขววดปริมาตรขนาด 1000 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.3.2 สารละลายเอทานอลความเข้มข้น 95%

ตวงสารละลายเอทานอลเข้มข้น 99 % มา 960 ml ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 1000 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.3.3 สารละลาย 1.0 M HCl

สารละลาย 1.0 M HCl เตรียมโดยปีเปตกรด 37% (v/v) HCl ปริมาตร 8.20 ml เติมน้ำกลั่น ถ่ายลงในขวดปริมาตรขนาด 100 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.3.4 สารละลาย 2.0 M NaOH

ชั่ง NaOH 20 g ละลายในน้ำกลั่น 200 ml ถ่ายลงในขวดปริมาตรขนาด 250 ml จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.3.5 สารละลาย 20% PEGDE

ปิเปต PEGDE เข้มข้นปริมาตร 20 ml เติมน้ำกลั่นปริมาตร 80 ml ในบีกเกอร์ขนาด 100 ml จากนั้นทำการกวนสารละลายผสมให้เข้ากัน แล้วเทลงในขวดปริมาตรขนาด 100 ml แล้วทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.3.6 สารละลายผสมระหว่างแคลเซียมคลอไรด์ : น้ำ : เอทานอล (อัตราส่วน 1:8:2)

เทเอทานอลเข้มข้นปริมาตร 92 ml ลงไปในบีกเกอร์ขนาด 500 ml ซึ่งบรรจุน้ำกลั่นอยู่ปริมาตร 144 ml โดยกวนสารละลายผสมอย่างสม่ำเสมอ จากนั้นชั่งแคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรตหนัก 147 g และนำไปละลายในสารละลายผสมดังกล่าวจนหมด แล้วทำการกวนให้เข้ากัน

3.2.3.7 สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตความเข้มข้น 0.05 M

ชั่งโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) หนัก 7.2357 g เทลงไปในบีกเกอร์ขนาด 500 ml ซึ่งบรรจุน้ำกลั่นอยู่ปริมาตร 400 ml ใช้แท่งแก้วกวนสารละลายผสมอย่างสม่ำเสมอ จากนั้นเทลงในขวดปริมาตรขนาด 500 ml แล้วทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.3.8 สารละลายไมโครอิมัลชัน (O/W) อัตราส่วน (O) เท่ากับ 5, 10, 20, 30, 40

ปิเปตเอทิลอะซิเตตลงไป 2.21 ml, 4.41 ml, 6.63 ml, 8.84 ml และ 11.04 ml ลงไปในขวดรูปชมพู่ แต่ละขวดจำนวน 5 ขวดตามลำดับ จากนั้นปิเปตสารละลาย SDS ที่มีความเข้มข้น 0.05 M ปริมาตรเท่ากับ 50 ml เติมน้ำกลั่นลงในขวดรูปชมพู่ที่มีเอทิลอะซิเตตแต่ละขวด จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ตั้งอุณหภูมิการเขย่าที่ 15 °C ความเร็วในการเขย่า 200 rpm และทำการเขย่านาน 10 นาที จะได้สารละลายคอลลอยด์ที่มี O เท่ากับ 10, 20, 30 และ 40 ตามลำดับ

3.3 การเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตร

3.3.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยวิธีการอิมัลชัน

การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยวิธีการอิมัลชันหรือวิธีการทางคอลลอยด์นั้นทำโดยการนำสารละลายคอลลอยด์แบบน้ำมันในน้ำ (oil in water) ของสารเอทิลอะซิเตตคอลลอยด์ในน้ำที่ใช้สารลดแรงตึงผิว SDS เป็นตัวที่ทำให้เกิดอิมัลชัน การหาสภาวะที่เหมาะสมนี้จึงเป็นการหาอัตราส่วนของการผสมระหว่างสารละลายไฟโบรอินกับสัดส่วนของการผสมกับสารละลายคอลลอยด์ที่มี O อยู่ในช่วง 10-50 และทำการเปรียบเทียบกับ การเตรียมไฟ

โพรอินเมมเบรนแบบปกติ (O เท่ากับ 0) แล้วพิจารณาว่าในการเตรียมแต่ละสภาวะจะทำให้เกิดเป็นเมมเบรนได้ดีเพียงใด และลักษณะที่เกิดขึ้นเป็นอย่างไร สามารถเตรียมเป็นแผ่นดึงออกจากภาชนะได้หรือไม่ เพื่อนำสภาวะที่เหมาะสมนี้ไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป โดยวิธีการเตรียมโพรอินเมมเบรนด้วยวิธีการทางคอลลอยด์ มีดังนี้

1. นำสารละลายโพรอินปริมาตร 10 ml ใส่ลงไปในช่วงบิกเกอร์ขนาดเล็กที่มีปริมาตรประมาณ 50 ml จำนวน 4 ใบ จากนั้นเติมสารละลายคอลลอยด์ที่มี O เท่ากับ 10, 20, 30, 40 และ 50 ลงไปในบิกเกอร์แต่ละใบตามลำดับ แล้วนำไปกวนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนสารแบบแมคนติก นานประมาณ 5 นาที จากนั้นเทสารละลายผสมที่ได้ลงไปลงในจานพอลิสไตรีนขนาด 6 cm x 9 cm x 1 cm แต่ละใบ แล้วตั้งที่ไว้ให้เปลี่ยนสภาพเป็นแผ่นโพรอินเมมเบรนที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 1 คืน สำหรับการเตรียมโพรอินเมมเบรนโดยวิธีการปกติก็ทำเช่นเดียวกันกับที่กล่าวมา แต่จะไม่มีการเติมสารละลายคอลลอยด์ลงไปในการเตรียมโพรอิน

2. เมื่อครบกำหนดเวลาแล้ว ค่อย ๆ ดึงโพรอินเมมเบรนออกจากจานพอลิสไตรีนแล้วทำการใช้มีดคัดเตอร์ตัดโพรอินเมมเบรนให้มีขนาดตามต้องการในการนำไปศึกษา

3. นำโพรอินเมมเบรนตัดแปรที่แห้งแล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติกขนาดเล็กแล้วนำไปเก็บไว้ในเดสลิเคเตอร์เพื่อควบคุมความชื้น จนกว่าจะนำไปใช้งานต่อไป

3.3.2 การเตรียมโพรอินเมมเบรนที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วยวิธีเอทานอลหมักเข้มข้น

1. นำโพรอินเมมเบรนที่เตรียมได้ในข้อ 3.3.1 ไปแช่ในสารละลายเอทานอลเข้มข้น 95% นาน 15 นาที จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย แล้วทำให้แห้งโดยวิธีการอบด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C และวิธีการทำให้แห้งโดยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

2. นำโพรอินเมมเบรนที่แห้งแล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติกขนาดเล็กแล้วนำไปเก็บไว้ใน เดสลิเคเตอร์เพื่อควบคุมความชื้น จนกว่าจะนำไปใช้งานต่อไป

3.3.3 การเตรียมโพรอินเมมเบรนที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วย PEGDE

การเตรียมโพรอินเมมเบรนโดยวิธีการนี้จะเป็นการทำให้โพรอินเมมเบรนมีความเสถียรด้วยการตัดแปรด้วยสารเชื่อมไขว้ พอลิเอทิลีนไกลคอลไดโกลซิควิเอเซอร์ (พีอีจีดีอี) หรือ PEGDE โดยการผสมลงไปในการละลายโพรอินขณะที่ทำการเตรียมเป็นเมมเบรนเลย ซึ่งมีวิธีการทำเช่นเดียวกันกับการเตรียมโพรอินเมมเบรนตามวิธีที่ 3.3.1 เพียงแต่ในการละลายแต่ละชุดทำการเปิดสารละลาย PEGDE ที่มีความเข้มข้น 20% v ลงไปในสารละลายแต่ละชุดเพื่อให้มีความเข้มข้นของ PEGDE เท่ากับ 4% v ในสารละลายโพรอินแต่ละชุด และใช้วิธีการทำให้แห้งโดยวิธีการอบด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C และวิธีการทำให้แห้งโดยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

3.4 การศึกษาการเกิดเป็นสภาพเจลของสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์

โดยทั่วไปแล้วการเกิดเป็นเมมเบรนของไฟโบรอินมักจะเกิดผ่านกระบวนการเจลเลชัน (gelation) ซึ่งสารละลายไฟโบรอินเมื่อทิ้งไว้จนถึงสภาวะหนึ่งจะมีการฟอร์มตัวกันเป็นเจล จากนั้นจะเกิดการระเหยน้ำออกไปจนกระทั่งกลายเป็นไฟโบรอินเมมเบรน ดังนั้นสภาวะการเกิดเจลของสารละลายไฟโบรอินเมมเบรนจึงมีความสำคัญที่ต้องทำการศึกษา โดยทำการทดลองดังนี้

1. นำสารละลายไฟโบรอินปริมาตร 20 ml ใส่ลงไปในช่วงบิกเกอร์ขนาดเล็กที่มีปริมาตรประมาณ 50 ml เติมสารละลายคอลลอยด์ที่มี Ω เท่ากับ 30 ลงไปในบิกเกอร์ จำนวน 5 ml ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน
2. นำสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ที่ได้ไปวัดค่าความหนืดของสารละลายที่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลาโดยใช้เครื่องมือวัดความหนืด (Viscosity meter) บันทึกผล และสังเกตเวลาที่เกิดเจล
3. ทำเช่นเดียวกันกับข้อ 1 และข้อ 2 แต่เปลี่ยนมาใช้สารละลายคอลลอยด์ที่มี Ω เท่ากับ 10, 20, 30, 40 และ 50 ตามลำดับ ที่มีการเติมสารเชื่อมไขว้ 4%PEGDE ลงไปในสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์
4. นำสารละลายไฟโบรอิน และสารละลายไฟโบรอินที่มีสารเชื่อมไขว้ 4%PEGDE ไปวัดค่าความหนืดของสารละลายตามข้อ 2 เพื่อทำการเปรียบเทียบการเกิดเจลของสารละลาย

3.5 การทดสอบสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรน

3.5.1 การทดสอบการละลายของไฟโบรอินเมมเบรน

การศึกษาการละลายของไฟโบรอินเมมเบรนนี้ ใช้วิธีการศึกษาความสามารถในการละลายของโปรตีนใหม่ตามวิธีของ Li และคณะ (2003) ซึ่งทำโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไฟโบรอินที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 276 nm โดยทำได้ดังนี้คือ

3.5.1.1 การหาค่าคงที่การละลายของผงไฟโบรอิน

- 1) ชั่งผงไฟโบรอินชนิดที่ละลายน้ำได้ หนัก 100 mg จากนั้นละลายด้วยสารละลาย 0.05 M HCl แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 10 ml ในช่วงปริมาตร สารละลายที่เตรียมได้กำหนดให้มีความเข้มข้น 10 mg/ml
- 2) นำสารละลายที่ได้ในข้อ 1) มาเจือจางด้วย 0.05 M HCl ให้มีความเข้มข้นเป็น 1, 2, 3 และ 4 mg/ml ตามลำดับ
- 3) นำสารละลายไฟโบรอินที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 276 nm ที่ใช้ในการตรวจวัดการดูดกลืนแสงของไฟโบรอิน
- 4) คำนวณหาค่าคงที่ของการละลายของผงไฟโบรอินจากกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายไฟโบรอิน

3.5.1.2 การหาค่าการละลายของไฟโบรอินเมมเบรน

- 1) ตัดไฟโบรอินเมมเบรนตัวอย่าง เป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 1 cm^2 จากนั้นชั่งไฟโบรอินเมมเบรนที่ได้หนักอย่างละ 50 mg ใสลงไปในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 ml
- 2) จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 ml ลงไปในแต่ละขวด แล้วนำไปแช่ด้วยเครื่องแช่ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 3) กรองสารละลายที่ได้ด้วยถ้วยชินเตอร์กลาส จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 276 nm สำหรับการตรวจวัดสารละลายไฟโบรอิน
- 4) นำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การละลายของผงไฟโบรอิน

$$D = \left[\frac{K.V.A}{G} \right] \times 100$$

เมื่อ

D = เปอร์เซ็นต์การละลายของไฟโบรอินเมมเบรน

K = ค่าคงที่ของการละลายของไฟโบรอิน

A = ค่าการดูดกลืนแสงของไฟโบรอินที่ความยาวคลื่น 276 nm

V = ปริมาตรของสารละลาย (ml)

G = น้ำหนักเริ่มต้นของสารตัวอย่างไฟโบรอินเมมเบรน (mg)

3.5.2 การศึกษาสัณฐานวิทยาของไฟโบรอินเมมเบรนด้วย SEM

การวิเคราะห์สัณฐานวิทยา (Morphology) ของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้ ทำโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) ซึ่งขั้นตอนจะทำการให้นำเอาอิเล็กตรอนได้โดยการนำไปเคลือบด้วยทอง (gold sputting) ก่อน และการวิเคราะห์ของเครื่องมือจะดำเนินการที่ความต่างศักย์ 15 keV โดยดำเนินการดังกล่าวนี้ได้จัดทำที่ ศูนย์วิจัยและบริการจุลทรรศน์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และหน่วยบริการในด้านการตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่าง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.5.3 การศึกษาโครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินเมมเบรนด้วยเทคนิค FT-IR

การวิเคราะห์เพื่อหาโครงสร้างของไฟโบรอินเมมเบรน (Conformation of fibroin membrane) ชนิดต่าง ๆ ที่เตรียมได้ ทำโดยใช้เครื่องฟลูเรียทรานสฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Fourier transform infrared spectrophotometer, FT-IR)

3.5.4 การศึกษาสมบัติเชิงความร้อนของไฟโบรอินเมมเบรน

การศึกษานี้ทำโดยการวิเคราะห์เพื่อหาโครงสร้างของไฟโบรอินเมมเบรน (Conformation of fibroin membrane) ชนิดต่าง ๆ ที่เตรียมได้และผ่านการอบที่อุณหภูมิ 40°C 60°C 80°C และ 100°C ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของเมมเบรน โดยใช้เครื่องฟลูเรียทรานสฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Fourier transform infrared spectrophotometer, FT-IR)

3.5.5 การศึกษาสมบัติเชิงกลของไฟโบรอินเมมเบรน

การศึกษสมบัติเชิงกลของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้ทำโดยการวัดค่าความทนต่อแรงดึงยึด (tensile strength) ความสามารถในการยืด (%Elongation) และค่าโมดูลัสของยัง (Young's modulus) โดยใช้เครื่อง Tensile strength tester (Universal tester, model LRX, Lloyd instrument, UK) ณ ภาควิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทที่ 4

ผลการวิจัย

ได้ทำการศึกษาการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรโดยใช้วิธีการอิมัลชัน ซึ่งจากการศึกษาโดยใช้สารละลายไฟโบรอินที่เตรียมได้จากการทำละลายปุยไหมด้วยสารละลายผสมของเกลือ $\text{CaCl}_2 : \text{H}_2\text{O} : \text{EtOH}$ (ในอัตราส่วน 1:8:2 โดยโมล) และผ่านการทำการไดอะไลซิสเพื่อให้สารละลายและไฟโบรอินที่เตรียมได้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น สารละลายอิมัลชันที่ใช้ในการเตรียมเมมเบรนได้จากการเตรียมสารละลายของเอทิลอะซิเตตในตัวกลางที่เป็นน้ำโดยใช้สารโคเดซิลเอทเธอร์ซัลเฟต (Sodium dodecyl ether sulphate, SDS) เป็นสารลดแรงตึงผิว และใช้สารเชื่อมไขว้พอลิเอทิลีนไกลคอล ไดโกลซิคว์ อีเธอร์ “พีอีจีดีอี” (PEGDE) และสารละลายเอทานอล เป็นตัวทำไฟโบรอินเมมเบรนมีความเสถียร โดยไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้ถูกนำไปศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมี ผลที่ได้จากการศึกษาในแต่ละขั้นตอนเป็นดังนี้

4.1 การศึกษาการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยเทคนิคทางไมโครอิมัลชัน

จากการศึกษาการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยใช้เทคนิคทางไมโครอิมัลชัน โดยการใช้สารอิมัลชันซึ่งเป็นสารละลายคอลลอยด์ชนิด oil in water (O/W) ซึ่งวัฏภาคของน้ำมันใช้เป็นเอทิลอะซิเตต (ethyl acetate) และใช้ SDS เป็นสารลดแรงตึงผิวในการฟอร์มไมโครอิมัลชัน โดยได้ศึกษาถึงอิทธิพลของอัตราส่วนความเข้มข้นเอทิลอะซิเตตต่อ SDS (ω) จำนวน 5 อัตราส่วนคือ ω เท่ากับ 10 20 30 40 และ 50 ตามลำดับ ในการเกิดกระบวนการเจลเลชัน (gelation) ของสารละลายไฟโบรอิน ที่อุณหภูมิห้อง และศึกษาถึงการเกิดเป็นเมมเบรนและลักษณะทางกายภาพของไฟโบรอินเมมเบรนที่ได้ ในการทดลองนี้ได้ใช้ PEGDE เป็นสารเชื่อมไขว้เพื่อให้เกิดไฟโบรอินเมมเบรนที่มีความเสถียร โดยเปรียบเทียบกับทำให้ไฟโบรอินเมมเบรนให้เสถียรด้วยการแช่ในสารละลายเอทานอล ผลที่ได้จากการศึกษามีดังนี้

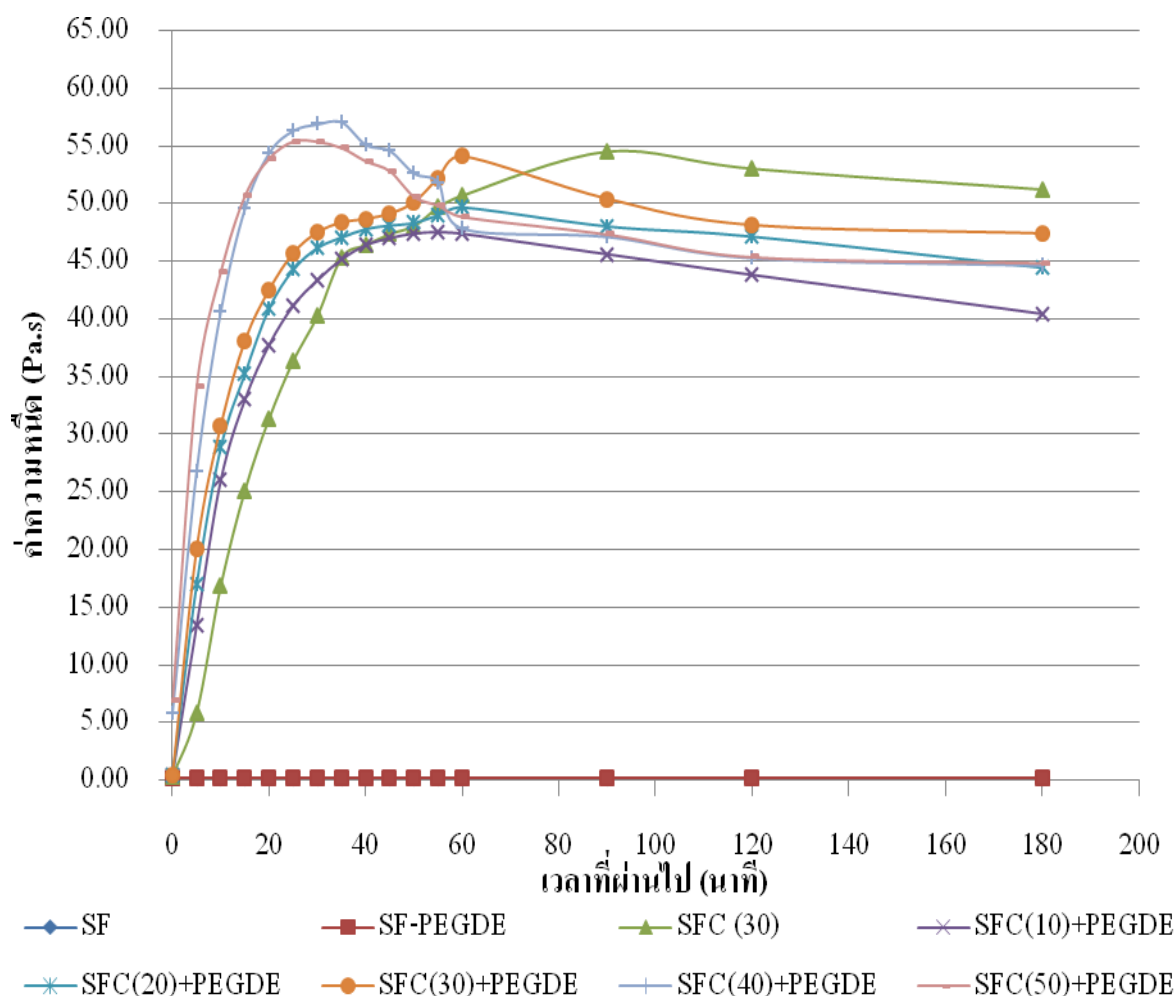
4.1.1 การเกิดเจลเลชันของไฟโบรอินคอลลอยด์

ได้ทำการศึกษาการเกิดเจลเลชันของสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ซึ่งเตรียมโดยการใช้ไฟโบรอินผสมกับสารอิมัลชันชนิด O/W ของเอทิลอะซิเตตต่อ SDS ที่คือ ω เท่ากับ 10 20 30 40 และ 50 และการใช้ PEGDE เป็นสารเชื่อมไขว้โดยมีความเข้มข้นเท่ากับ 4 % (w/v) ซึ่งเป็นการเพิ่มความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีความเสถียร (Moonsri และคณะ, 2008) การศึกษาการเกิดเจลเลชันทำโดยการวัดความหนืดของสารละลายโดยใช้เครื่องวัดความหนืดของสารละลาย เมื่อเวลาผ่านไปของทั้งสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ทั้งที่เติม PEGDE และไม่เติม โดยผลที่ได้เป็นดังนี้

ตารางที่ 4.1 ความหนืดของสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ ที่เวลาต่าง ๆ

เวลาที่ผ่านไป (นาท)	ค่าความหนืดที่วัดได้ (Pa.s)							
	สารละลาย ไฟโบรอิน	สารละลาย ไฟโบรอิน + 4%PEGDE	สารละลาย ไฟโบรอิน คอลลอยด์ ($\omega=30$)	สารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ + 4% PEGDE				
				$\omega=10$	$\omega=20$	$\omega=30$	$\omega=40$	$\omega=50$
0	0.21	0.22	0.28	0.45	0.39	0.42	5.88	7.00
5	0.21	0.22	5.81	13.46	16.96	20.07	26.86	34.13
10	0.21	0.22	16.86	26.05	28.86	30.76	40.72	44.12
15	0.21	0.22	25.13	33.01	35.27	38.12	49.63	50.71
20	0.21	0.22	31.37	37.77	40.94	42.53	54.44	53.94
25	0.21	0.22	36.36	41.16	44.30	45.72	56.36	55.42
30	0.21	0.22	40.28	43.37	46.18	47.51	56.92	55.40
35	0.21	0.22	45.31	45.18	47.09	48.36	57.10	54.86
40	0.21	0.22	46.40	46.40	47.82	48.67	55.15	53.71
45	0.21	0.22	47.37	47.00	48.13	49.13	54.61	52.84
50	0.21	0.22	48.05	47.40	48.35	50.14	52.66	50.62
55	0.21	0.22	49.68	47.52	49.03	52.22	51.87	49.86
60	0.21	0.22	50.71	47.38	49.70	54.10	47.87	48.88
90	0.21	0.22	54.51	45.60	48.06	50.41	47.16	47.36
120	0.21	0.22	53.03	43.82	47.16	48.14	45.31	45.39
180	0.21	0.22	51.22	40.44	44.47	47.40	44.67	44.86

จากผลที่ได้พบว่าสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ทุกชนิด ใช้ระยะเวลาในการเกิดเป็นสภาพเจลที่เวลาน้อยกว่า 1 ชั่วโมง มีความหนืดสูงสุดอยู่ในช่วง 47-57 Pa.s ในขณะที่สารละลายไฟโบรอิน (SF) และสารละลายไฟโบรอิน + 4%PEGDE (SF-PEGDE) มีความหนืดเท่ากับ 0.21 Pa.s และ 0.22 Pa.s ตามลำดับตลอดช่วงเวลาในการศึกษา ดังนั้นจึงบอกได้ว่าการเกิดเจลของสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์เกิดได้เร็วกว่าสารละลายไฟโบรอินและ SF-PEGDE มาก และการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนด้วยวิธีทางคอลลอยด์จะทำให้เกิดเป็นเมมเบรนด้วยระยะเวลาที่เร็วกว่าวิธีการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยวิธีการทั่วไปอย่างมาก



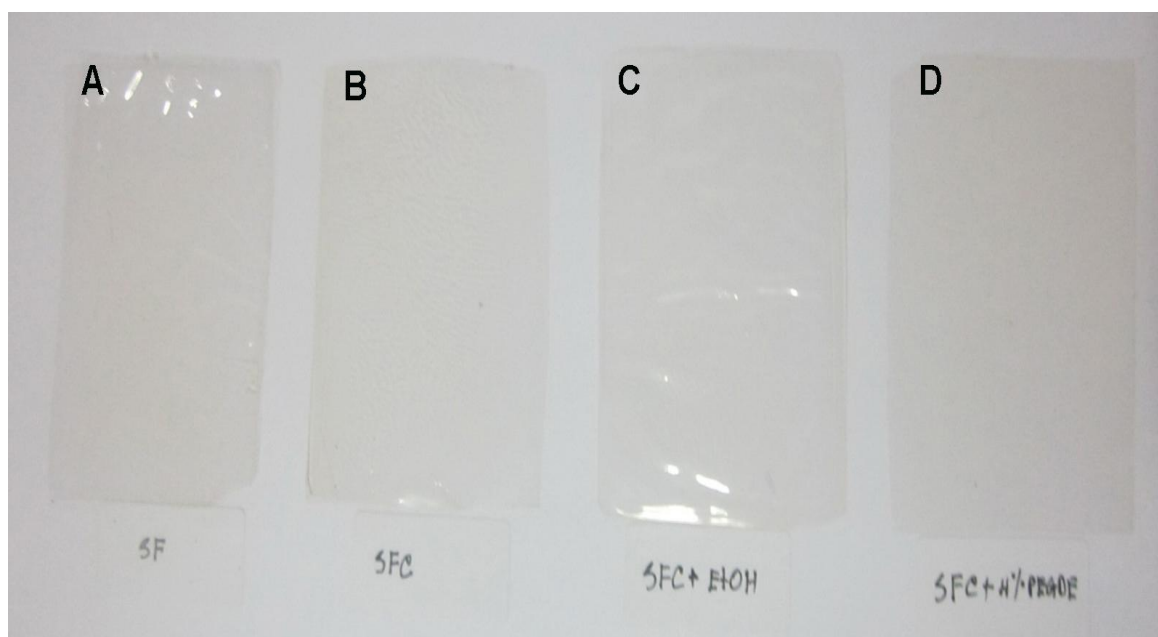
รูปที่ 4.1 ค่าความหนืด (Pa.s) ของสารละลายไฟโบรอิน (SF) สารละลายไฟโบรอินผสมกับ 4% PEGDE (SF-PEGDE) สารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ที่มี ω เท่ากับ 30 (SFC (30)) และสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ที่มี ω เท่ากับ 10-50 และผสมกับ 4% PEGDE (SFC(10)+PEGDE, SFC(10)+PEGDE, SFC(20)+PEGDE, SFC(30)+PEGDE, SFC(40)+PEGDE และ SFC(50)+PEGDE ตามลำดับ)

4.1.2 ผลการศึกษาการฟอร์มตัวเป็นไฟโบรอินเมมเบรนโดยใช้วิธีการทางอิมัลชัน

จากการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยใช้วิธีทางอิมัลชัน ซึ่งใช้อิมัลชันแบบ O/W มีวิธีกาของน้ำมันเป็นเอทิลอะซิเตตและใช้ SDS เป็นสารก่ออิมัลชัน เมื่อผสมสารอิมัลชันลงในสารละลายไฟโบรอิน จะได้สารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ จากการศึกษาผลของการเติมสารเชื่อมโยง PEDGE ในการเตรียมเมมเบรนเพื่อให้เมมเบรนมีความเสถียรคงตัวขึ้น เปรียบเทียบกับการเตรียมที่ไม่ใช้ PEGDE (ซึ่งจะนำเมมเบรนที่ได้ไปทำให้มีความคงตัวโดยการใส่สารละลายเอทานอลต่อไป) ผลของการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่ได้จากทั้งสองแบบมีลักษณะการเกิดเมมเบรนและลักษณะทางกายภาพแสดงได้ดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 การเกิดเมมเบรนและลักษณะทางกายภาพของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีการต่าง ๆ

วิธีการเตรียมเมมเบรน	ลักษณะของการเกิดเมมเบรน	ลักษณะทางกายภาพ
จากสารละลายไฟโบรอิน	เกิดเป็นเมมเบรนและดึงออกได้	สีเหลืองใส แข็งเปราะ ขาดง่าย
ไฟโบรอินคอลลอยด์ ($\Omega = 10$)	เกิดเป็นเมมเบรนและดึงออกได้	ดึงออกได้
ไฟโบรอินคอลลอยด์ ($\Omega = 20$)	เกิดเป็นเมมเบรนและดึงออกได้	ดึงออกได้
ไฟโบรอินคอลลอยด์ ($\Omega = 30$)	เกิดเป็นเมมเบรนและดึงออกได้	ดึงออกได้
ไฟโบรอินคอลลอยด์ ($\Omega = 40$)	เกิดเป็นเมมเบรนและดึงออกได้	ดึงออกได้
ไฟโบรอินคอลลอยด์ ($\Omega = 50$)	เกิดเป็นเมมเบรนและดึงออกได้	ดึงออกได้
ไฟโบรอินคอลลอยด์ ($\Omega = 10$) + 4%PEGDE	เกิดเป็นเมมเบรนและดึงออกได้	ดึงออกได้
ไฟโบรอินคอลลอยด์ ($\Omega = 20$) + 4%PEGDE	เกิดเป็นเมมเบรนและดึงออกได้	ดึงออกได้
ไฟโบรอินคอลลอยด์ ($\Omega = 30$) + 4%PEGDE	เกิดเป็นเมมเบรนและดึงออกได้	ดึงออกได้
ไฟโบรอินคอลลอยด์ ($\Omega = 40$) + 4%PEGDE	เกิดเป็นเมมเบรนและดึงออกได้	ดึงออกได้ยาก
ไฟโบรอินคอลลอยด์ ($\Omega = 50$) + 4%PEGDE	เกิดเป็นเมมเบรนและดึงออกได้	ดึงออกได้ยาก



รูปที่ 4.2 ลักษณะของไฟโบรอินเมมเบรนประเภทต่าง ๆ ที่เตรียมได้ (A) SF membrane (B) SFC membrane (C) SFC+EtOH membrane และ (D) SFC+4%PEGDE membrane

จากการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนชนิดต่าง ๆ โดยการใช้สารละลายปริมาตร 10 ml และเตรียมในถาดพอลิสไตรีนขนาด 6 x 9 cm เมื่อตั้งสารละลายไฟโบรอินทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องพบว่า สารใช้สารละลายไฟโบรอินจะใช้เวลาในการเกิดเจลประมาณ 12 ชั่วโมง และเกิดเป็นเมมเบรนนานประมาณ 24 ชั่วโมง (จากการตรวจวัดน้ำหนักที่คงที่ของเมมเบรน) สำหรับไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมจากสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์จะใช้เวลานานในการเกิดเจลประมาณ 1 ชั่วโมง และเกิดเป็นเมมเบรนประมาณ 20 ชั่วโมง และสำหรับการใช้สารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ + 4%PEGDE ใช้เวลานานในการเกิดเจลประมาณ 1 ชั่วโมง และเกิดเป็นเมมเบรนประมาณ 16 ชั่วโมง ลักษณะเบื้องต้นของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้พบว่าสามารถเกิดเป็นเมมเบรนได้ดี แต่มีเพียงการใช้สารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ที่มี $\omega > 40$ ของทั้งการใช้และไม่ใช้ PEGDE จะเกิดการเกาะติดแน่นระหว่างเมมเบรนกับภาชนะทำให้การดึงเมมเบรนออกจากภาชนะทำได้ค่อนข้างยากและมีการฉีกขาดได้ง่าย ลักษณะของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้ พบว่ามีลักษณะโปร่งแสง มีออกค่อนข้างเหลืองดังแสดงได้ดังรูปที่ 4.2 โดยเมมเบรนชนิดต่าง ๆ ที่เตรียมได้มีความแข็งและความอ่อนของแผ่นเมมเบรนที่แตกต่างกันไป โดยพบว่าไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้จากสารละลายไฟโบรอินเพียงอย่างเดียวมีความแข็งของเมมเบรนสูงที่สุด (สังเกตด้วยการสัมผัส) เมื่อเปรียบเทียบกับไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยใช้สารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ (ที่มี ω ต่าง ๆ) และที่เตรียมโดยใช้สารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ผสมกับ 4% PEGDE ซึ่งลักษณะของเมมเบรนที่เตรียมได้มีความอ่อนนุ่มและมีสภาพยืดหยุ่นสูงกว่า มีความหนาโดยเฉลี่ยของเมมเบรนที่เตรียมได้ประมาณ 0.081 mm

4.2 การทดสอบสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรน

4.2.1 การทดสอบการละลาย

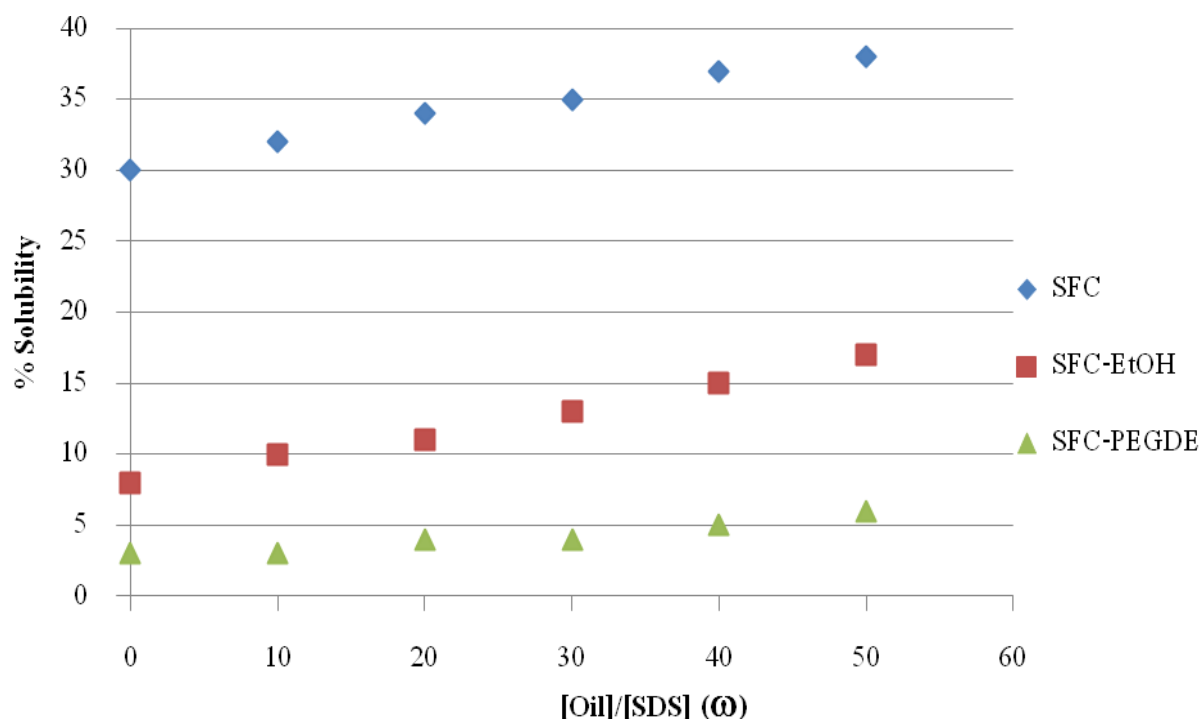
จากการศึกษาการละลายของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยวิธีการอิมัลชันที่ผ่านการทำให้เสถียร (มีสภาพคงตัว) โดยการใช้สารเชื่อมไขว้ PEGDE และการให้สารละลายเมทานอล เปรียบเทียบกับไฟโบรอินเมมเบรนที่ถูกปล่อยทิ้งไว้ให้กลายเป็นเมมเบรนโดยไม่ผ่านการทำให้เมมเบรนเสถียร ซึ่งไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้เมื่อแช่ทิ้งไว้ในน้ำกลั่นนาน 5 นาที จากนั้นนำมาทำให้แห้งผ่านการอบด้วยลมร้อน (oven drying) และผ่านการทำแยกโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freezed drying) เมื่อนำมาทดสอบการละลายในน้ำที่พีเอช 7 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไฟโบรอินที่ความยาวคลื่น 276 nm ตามวิธีของ Li และ คณะ (2003) ซึ่งผลที่ได้แสดงได้ดังตารางที่ 4.3-4.4 และรูปที่ 4.3 - 4.4

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การละลายของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้ซึ่งผ่านทำแห้ง โดย oven drying

อัตราส่วน [Oil]/[SDS] ของคอลลอยด์ที่ใช้ (ω)	เปอร์เซ็นต์การละลายของเมมเบรนชนิดต่าง ๆ ที่พีเอช 7		
	SFC	SFC+95% EtOH	SFC+4%PEGDE
0	30	8	3
10	32	10	3
20	34	11	4
30	35	13	4
40	37	15	5
50	38	17	6

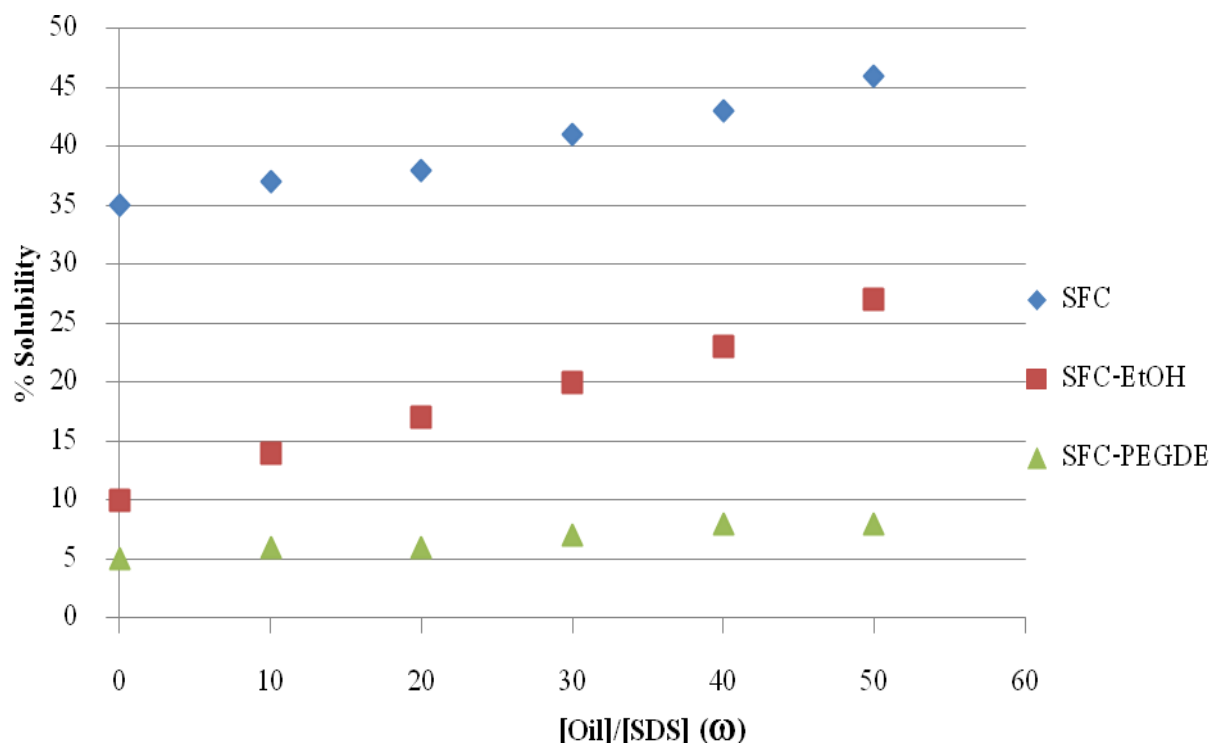
ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การละลายของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้ซึ่งผ่านทำแห้ง โดย Freezed drying

อัตราส่วน [Oil]/[SDS] ของคอลลอยด์ที่ใช้ (ω)	เปอร์เซ็นต์การละลายของเมมเบรนชนิดต่าง ๆ ที่พีเอช 7		
	SFC	SFC+95% EtOH	SFC+4%PEGDE
0	35	10	5
10	37	14	6
20	38	17	6
30	41	20	7
40	43	23	8
50	46	27	8



รูปที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การละลายน้ำของไฟโบรอินเมมเบรนชนิดต่าง ๆ ที่พีเอช 7 ที่ผ่านการทำแห้งแบบ

Oven drying



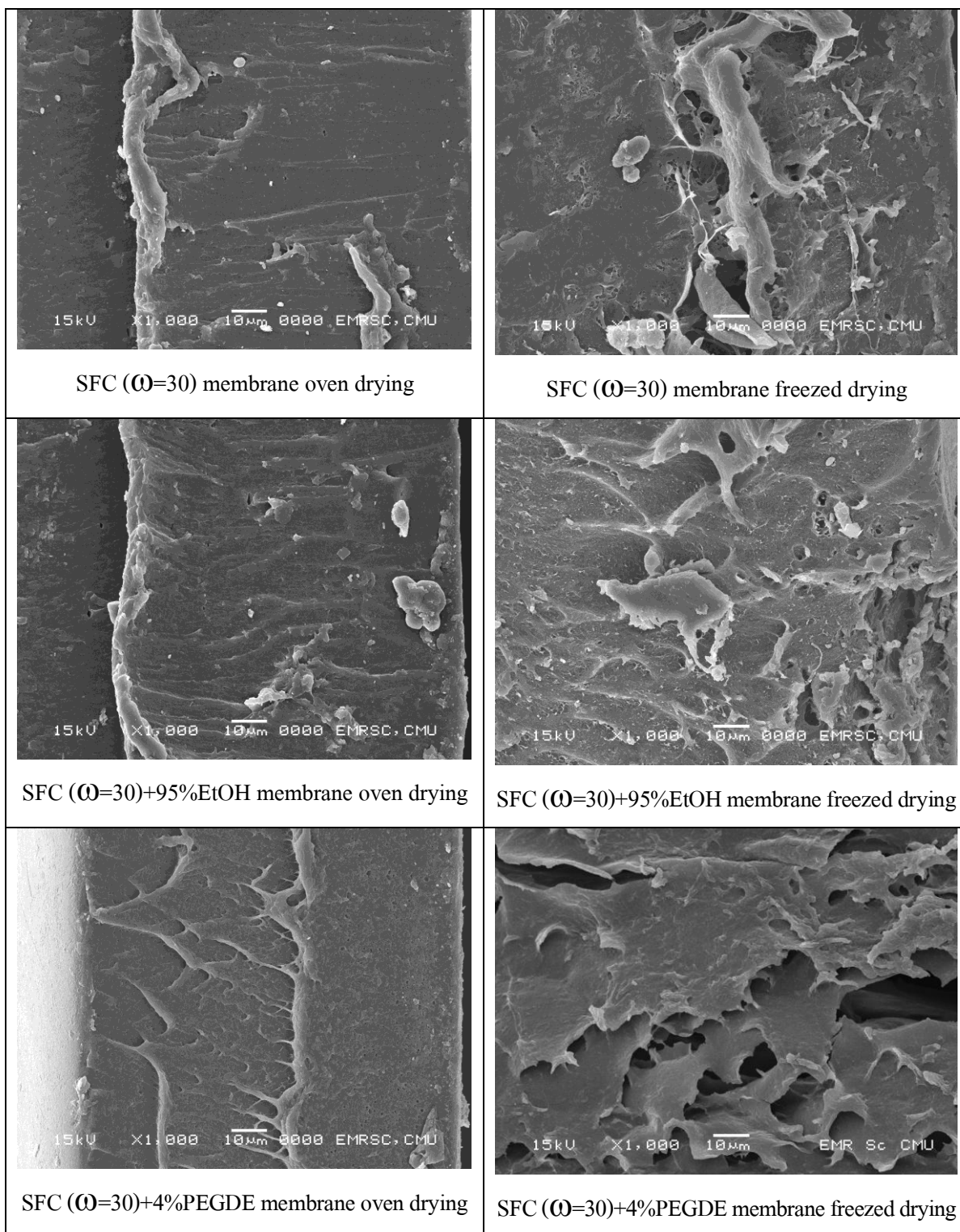
รูปที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การละลายน้ำของไฟโบรอินเมมเบรนชนิดต่าง ๆ ที่พีเอช 7 ที่ผ่านการทำแห้งแบบ

Freezed drying

จากการศึกษาการละลายของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยวิธีคอลลอยด์ (SFC) ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีคอลลอยด์และทำให้เสถียรด้วย 95% (SFC-EtOH) และไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยวิธีคอลลอยด์และทำให้เสถียรด้วย 4% PEGDE (SFC-PEGDE) ที่มีอัตราส่วน [Oil]/[SDS] ของสารละลายคอลลอยด์ที่ใช้ (ω) ในช่วง 0-50 ของเมมเบรนที่ผ่านการทำให้แห้งโดยวิธีการอบด้วยลมร้อนและวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยทำการศึกษาการละลายในตัวกลางที่เป็นน้ำกลั่นมี pH 7 ซึ่งค่าการละลายของเมมเบรนชนิดต่างๆ ตรวจสอบได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 276 nm ของสารละลายที่ใช้ในการแช่เมมเบรนชนิดต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 24 hrs ที่อุณหภูมิห้อง จากการเปลี่ยนค่าการดูดกลืนแสงและคำนวณเปลี่ยนเป็นค่าการละลายของไฟโบรอินเมมเบรน ผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และ 4.4 ซึ่งพบว่าเปอร์เซ็นต์การละลายของ SFC มีค่าสูงกว่า SFC-EtOH และ SFC-PEGDE ของทั้งการทำให้แห้งโดยวิธีการอบด้วยลมร้อนและวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วน ω จะทำให้การละลายของเมมเบรน SFC และ SFC-EtOH เพิ่มมากขึ้น ยกเว้นเมมเบรนของ SFC-PEGDE ที่มีค่าการละลายที่ต่ำกว่าและมีค่าที่ใกล้เคียงกันไม่แตกต่างกันมากนัก สำหรับการละลายของเมมเบรนที่ผ่านการทำให้แห้งโดยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็งของทั้ง SFC และ SFC-EtOH มีค่าสูงกว่าเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีการทำแห้งแบบอบด้วยลมร้อน ยกเว้นเมมเบรน SFC-PEGDE มีค่าการละลายที่น้อยกว่าทั้งแบบการทำให้แห้งแบบอบด้วยลมร้อนและการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง ถึงแม้ว่าจะเปลี่ยนแปลง ω เป็นค่าต่าง ๆ แสดงให้เห็นว่าเมมเบรน SFC-PEGDE มีความเสถียรของเมมเบรนต่อการละลายนี้มากกว่าเมมเบรน SFC-EtOH และเมมเบรน SFC ตามลำดับ

4.2.2 การศึกษาสัณฐานวิทยาของไฟโบรอินเมมเบรนด้วย SEM

ลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) ของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยใช้วิธีการอิมัลชัน ซึ่งได้แก่ ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ที่มี ω เท่ากับ 30 ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วยสารละลายเอทานอล 95% และไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วย 4%PEGDE ทั้งการทำให้แห้งแบบ oven drying และแบบ freeze drying โดยการใช้อิเลกตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) ณ ศูนย์วิจัยและบริการจุลทรรศน์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งก่อนการตรวจวัดเพื่อให้พื้นผิวของชิ้นงานสามารถนำอิเล็กตรอนได้จึงทำการการเตรียมชิ้นงานก่อนโดยการนำไปเคลือบด้วยทอง (gold sputting) แล้วจึงทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือดังกล่าวที่ความต่างศักย์ 15 keV ผลที่ได้จากการศึกษาแสดงได้ดังรูปที่ 4.5 ดังนี้คือ



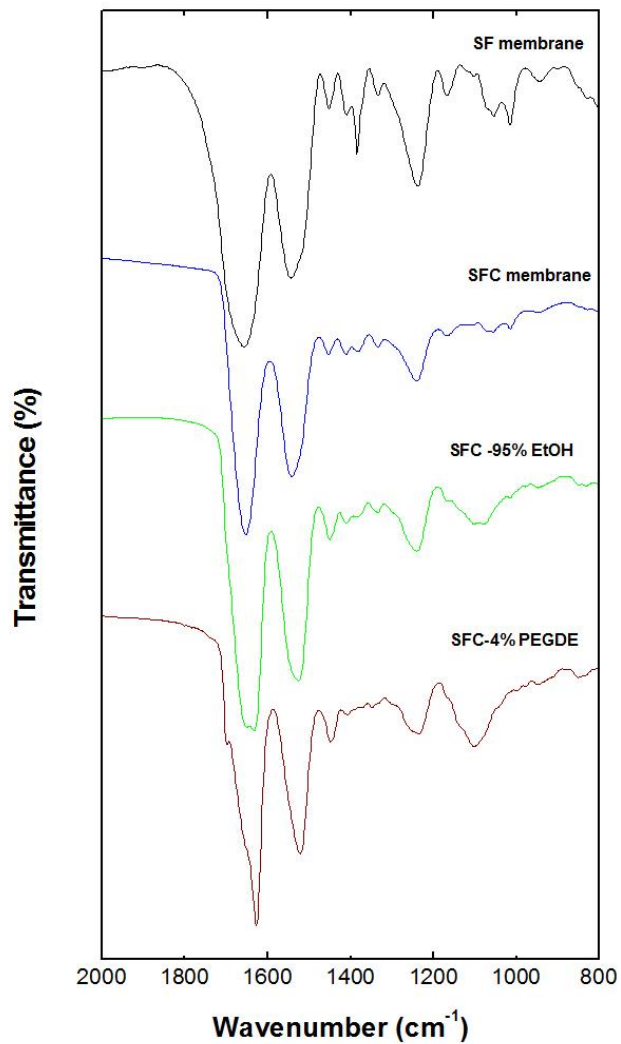
รูปที่ 4.5 ลักษณะพื้นฐานวิทยาของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีการต่าง ๆ จากการตรวจสอบด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด

จากฐานวิทยาระดับไมโครเมตรของพื้นผิวไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีการต่าง ๆ แสดงให้เห็นว่า ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วยสารละลายเอทานอล 95% และไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วย 4%PEGDE โดยผ่านการทำแห้งแบบ oven drying จะมีลักษณะรูพรุนเล็กน้อย เมื่อเทียบกับ ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วยสารละลายเอทานอล 95% และไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วย 4%PEGDE โดยผ่านการทำแห้งแบบ freeze drying ที่มีสภาพความพรุนในเมมเบรนมากกว่า ซึ่งลักษณะความพรุนระดับไมโครเมตรนี้จะช่วยทำให้เมมเบรนมีการแพร่ผ่านของออกซิเจนและของเหลวได้ดี

4.2.3 การศึกษาโครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินเมมเบรนด้วยเทคนิค FTIR

จากการศึกษาโครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีการทางอิมัลชันซึ่งผ่านการทำให้แห้งโดยใช้วิธีการ oven drying ที่อุณหภูมิ 60 °C ของทั้งไฟโบรอินเมมเบรนที่ผ่านการทำให้เสถียรโดยใช้ 4% PEGDE (SFC-4%PEGDE) และการแช่ใน 95% EtOH (SFC-95%EtOH) เปรียบเทียบกับไฟโบรอินเมมเบรนที่ไม่ผ่านการทำให้เสถียร (SF และ SFC) โดยใช้เครื่องฟลูเรียนทรานสฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Fourier Transform Infrared Spectrophotometer, FT-IR) ในการวิเคราะห์หาลักษณะโครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินเมมเบรนชนิดต่าง ๆ ที่เตรียมได้ ผลที่ได้แสดงได้ดังรูปที่ 4.6

จากรูปที่ รูปที่ 4.6 จะเห็นได้ว่าเส้นสเปกตรัมของเมมเบรน SF และ SFC ที่เตรียมได้แสดงพีกที่ตำแหน่งเลขคลื่น (wave number) เท่ากับ 1658 cm^{-1} , 1540 cm^{-1} และ 1240 cm^{-1} ซึ่งเป็นตำแหน่งพีกของหมู่ amide I, amide II และ amide III ตามลำดับ ของโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิแบบ Silk I (random coil and α -helix) ซึ่งเป็นโครงสร้างของไฟโบรอินที่พบได้ในสารละลายไฟโบรอิน (Chen และ คณะ, 2001) แสดงว่าการที่ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้สามารถละลายน้ำได้บ้างซึ่งจะทำให้ไฟโบรอินเมมเบรนไม่มีความเสถียร ขณะที่ไฟโบรอินเมมเบรนที่ผ่านการทำให้คงสภาพด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้น 95% และ 4%PEGDE แสดงตำแหน่งของพีกคล้ายกันที่ตำแหน่งเลขคลื่นประมาณ 1627 cm^{-1} , 1522 cm^{-1} และ 1234 cm^{-1} ของหมู่ amide I, amide II และ amide III ตามลำดับ ซึ่งจะแสดงถึงโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิแบบ Silk II (β -sheet plate) และลักษณะของโครงสร้างแบบนี้จะทำให้ไฟโบรอินเมมเบรนมีความคงสภาพสูงและละลายน้ำได้น้อย (Um และคณะ, 2003) นอกจากนั้นสำหรับไฟโบรอินเมมเบรนดัดแปรด้วยฟิอิจิไดอิลยังแสดงตำแหน่งพีกที่เลขคลื่น 1100 cm^{-1} และ 949 cm^{-1} ที่แสดงถึงการเกิดการเชื่อมโยงของฟิอิจิไดอิลในไฟโบรอินเมทริกซ์ด้วย

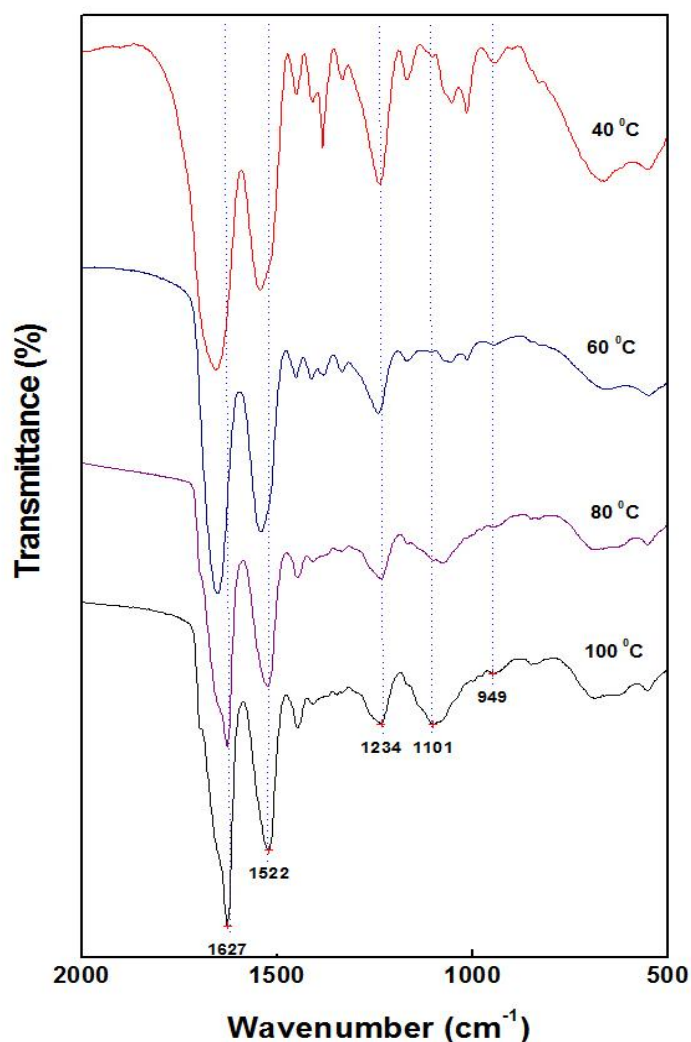


รูปที่ 4.6 โครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินเมมเบรน (SF) ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยวิธีการทางคอลลอยด์ (SFC) ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยวิธีการทางคอลลอยด์ผ่านการทำให้เสถียรด้วย EtOH (SFC-95%EtOH) ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยวิธีการทางคอลลอยด์ผ่านการทำให้เสถียรด้วย 4%PEGDE (SFC-4%PEGDE)

จากการศึกษาของ Lee และคณะ (2003) ที่รายงานเกี่ยวกับอิทธิพลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อสัณฐานวิทยาและโครงสร้างของไฟโบรอิน พบว่าตัวทำละลายอินทรีย์ส่วนใหญ่ เช่น เมทานอล เอทานอล และอะซิโตน จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของไฟโบรอิน ทั้งนี้เนื่องจากไฟโบรอินซึ่งมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นพวกราคะมิโนชนิดที่ไม่มีขั้ว เช่น โกลซีน อะลานีน เป็นต้น การใช้ตัวทำละลายแอลกอฮอล์หรือความร้อน มักจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจาก Silk I ไปเป็น Silk II ซึ่งจะมีผลต่อสมบัติการละลาย ความแข็ง ความเปราะ และอื่น ๆ เป็นต้น และการใช้ 4%PEGDE เป็นสารเชื่อมไขว้ในการเตรียมเมมเบรนจะทำให้โครงสร้างกลายเป็นแบบร่างแหทำให้มีความเสถียร แต่มีคุณสมบัติที่อ่อนนุ่ม ยืดหยุ่น ไม่แข็งเปราะ และทนต่อแรงดึงได้ดี

4.2.4 การศึกษาสมบัติทางความร้อนของไฟโบรอินเมมเบรน

การศึกษาสมบัติทางความร้อนของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีทางคอลลอยด์ ซึ่งได้ศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของเมมเบรน โดยใช้เทคนิค FTIR เนื่องจากเมื่อไฟโบรอินเมมเบรนได้รับความร้อนที่มากพอจะเกิดการเปลี่ยนแปลงจากโครงสร้างทุติยภูมิแบบแรน คอแมคอยล์ (random coil structure) ไปเป็นแบบเบต้าชีท (Beta sheet structure) ซึ่งตำแหน่งของพีกที่ปรากฏของไฟโบรอินเมมเบรนที่ตรวจวัดได้สามารถนำมาใช้ในการบอกถึงสมบัติทางความร้อนของ ไฟโบรอินเมมเบรนที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้ โดยการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยใช้เทคนิคอิมัลชันซึ่งไม่ได้ผ่านการทำให้เสถียรและผ่านการอบด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 40°C 60°C 80°C และ 100°C นาน 3 ชั่วโมง ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 โครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยวิธีคอลลอยด์ (SFC) ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 40°C 60°C 80°C และ 100°C นาน 3 ชั่วโมง

จากรูปที่ รูปที่ 4.7 จะเห็นได้ว่าเส้นสเปกตรัมของเมมเบรน SFC ที่เตรียมได้และผ่านการอบที่อุณหภูมิ 40 °C และ 60 °C แสดงพีกที่ตำแหน่งเลขคลื่น (wave number) เท่ากับ 1658 cm⁻¹, 1540 cm⁻¹ และ 1240 cm⁻¹ ซึ่งเป็นตำแหน่งพีกของหมู่ amide I, amide II และ amide III ตามลำดับ ของโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิแบบ Silk I (random coil and α -helix) ซึ่งเป็นโครงสร้างของไฟโบรอินที่พบได้ในสารละลายไฟโบรอิน (Chen และ คณะ, 2001) ขณะที่เมมเบรน SFC ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 80 °C และ 100 °C แสดงตำแหน่งของพีกคล้ายกันที่ตำแหน่งเลขคลื่นประมาณ 1627 cm⁻¹, 1522 cm⁻¹ และ 1234 cm⁻¹ ของหมู่ amide I, amide II และ amide III ตามลำดับ ซึ่งจะแสดงถึงโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิแบบ Silk II (β -sheet plate) แสดงให้ทราบว่าความร้อนที่เมมเบรนได้รับการอบทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 80 °C และ 100 °C นาน 3 ชั่วโมง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของเมมเบรนจากโครงสร้างแบบ Silk I ไปเป็นแบบโครงสร้างแบบ Silk II ซึ่งการที่โครงสร้างทุติยภูมิของเมมเบรนเปลี่ยนเป็นแบบ Silk II นี้ ถึงแม้จะทำให้เมมเบรนมีความเสถียรมากขึ้น แต่ก็ทำให้เมมเบรนที่เตรียมได้มีความแข็งแรง และ มีการแตกหักของแผ่นเมมเบรนไฟโบรอินที่เตรียมได้

4.2.5 การศึกษาสมบัติเชิงกลของไฟโบรอินเมมเบรน

จากการศึกษาสมบัติเชิงกลของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยการวัดค่าความทนต่อแรงดึงยืด (tensile strength) ซึ่งได้ศึกษาโดยการตรวจวัดโดยเครื่อง Tensile strength tester (Universal tester, model LRX, Lloyd instrument, UK) ของไฟโบรอินเมมเบรน (SF) ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีคอลลอยด์ที่มี ω เท่ากับ 30 (SFC) และไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีคอลลอยด์ที่มี ω เท่ากับ 30 ทั้งที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วยการแช่ทิ้งไว้ใน 95%EtOH (SFC-EtOH) และผ่านการทำให้เสถียรด้วย 4%PEGDE (SFC-PEGDE) โดยไฟโบรอินเมมเบรนทั้งหมดถูกทำให้แห้งโดยใช้ oven drying ที่อุณหภูมิ 60 °C ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 สมบัติเชิงกลของไฟโบรอินเมมเบรนชนิดต่าง ๆ ที่เตรียมได้

สมบัติเชิงกลของเมมเบรน	ประเภทของเมมเบรน			
	SF	SFC	SFC-EtOH	SFC-PEGDE
Tensile strength (MPa)	55.4±2.8	56.0±1.8	64.7±3.5	32.8±4.2
Elongation (%)	2.8±1.4	4.8±1.6	3.7±1.1	22.8±1.8
Young's modulus (MPa)	2156.4±58.6	1687.3±78.5	2277.8±55.2	1134.2±65.4

จากการศึกษาสมบัติเชิงกลที่ได้พบว่า ความทนต่อแรงดึง (Tensile strength) ของเมมเบรน SFC-EtOH มีค่ามากกว่าเมมเบรน SFC เมมเบรน SF และเมมเบรน SFC-PEGDE ตามลำดับ ขณะที่ความสามารถในการยืด (percent elongation) ของเมมเบรน SFC-PEGDE มีค่ามากกว่า เมมเบรน SFC เมมเบรน SFC-EtOH และเมมเบรน SF ตามลำดับ ส่วนโมดูลัสของยัง (Young's modulus) ของเมมเบรน SFC-EtOH มีค่ามากที่สุด รองลงมาคือ เมมเบรน SF เมมเบรน SFC และเมมเบรน SFC-PEGDE ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเมมเบรน SFC-EtOH เมมเบรน SF และเมมเบรน SFC ที่เตรียมได้มีความทนต่อแรงดึงสูง มีค่าโมดูลัสของยังสูงกว่าเมมเบรน SFC-PEGDE แต่ทั้งนี้เมมเบรน SFC-PEGDE ที่เตรียมได้มีความสามารถในการยืดหยุ่นและการโค้งงอได้มากกว่าเมมเบรน SFC เมมเบรน SFC-EtOH และเมมเบรน SF

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้วิธีการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรโดยใช้วิธีการอิมัลชันที่พัฒนาขึ้น และเพื่อศึกษาสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรนที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรที่เตรียมได้ โดยในการวิจัยนี้ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วนหลัก ๆ คือ การศึกษาการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยเทคนิคทางไมโครอิมัลชัน และการศึกษาสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรน โดยผลการศึกษาที่ได้ในแต่ละส่วน สรุปได้ดังนี้

ในการศึกษาการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยเทคนิคทางไมโครอิมัลชัน ประกอบด้วย การศึกษาการเกิดเจลเลชันของสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ และการศึกษาการฟอร์มตัวเป็นไฟโบรอินเมมเบรนโดยใช้วิธีการอิมัลชัน ซึ่งผลการทดลองที่ได้พบว่า การเกิดเป็นสภาพเจลของสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ทุกชนิด ใช้ระยะเวลาในการเกิดเป็นสภาพเจลที่เวลาน้อยกว่า 1 ชั่วโมง มีความหนืดสูงสุดอยู่ในช่วง 47-57 Pa.s ในขณะที่สารละลายไฟโบรอิน (SF) และสารละลายไฟโบรอิน + 4%PEGDE (SF-PEGDE) มีความหนืดเท่ากับ 0.21 Pa.s และ 0.22 Pa.s ตามลำดับ ตลอดช่วงเวลาในการศึกษา ดังนั้นการเกิดเจลของสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์เกิดได้เร็วกว่าสารละลายไฟโบรอินและ SF-PEGDE อย่าง มาก ซึ่งคาดว่าจะส่งผลต่อการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนด้วยวิธีทางคอลลอยด์ทำให้เกิดเป็นเมมเบรนด้วยระยะเวลาที่เร็วกว่าวิธีการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยวิธีการทั่วไป สำหรับการศึกษาการฟอร์มตัวเป็นเมมเบรน จากการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนโดยใช้วิธีทางอิมัลชัน มีวัฏภาคของน้ำมันเป็นเอทิลอะซิเตตและใช้ SDS เป็นสารก่ออิมัลชัน จากผลการศึกษาการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรน โดยใช้สารละลายปริมาตร 10 ml ในถาดพอลิสไตรีนขนาด 6 x 9 cm ที่อุณหภูมิห้องพบว่า สารใช้สารละลายไฟโบรอินใช้เวลาในการเกิดเจลประมาณ 12 ชั่วโมง และเกิดเป็นเมมเบรนประมาณ 24 ชั่วโมง ส่วนสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ใช้เวลาในการเกิดเจลประมาณ 1 ชั่วโมง และเกิดเป็นเมมเบรน ประมาณ 20 ชั่วโมง และสารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ + 4%PEGDE ใช้เวลานานในการเกิดเจลประมาณ 1 ชั่วโมง และเกิดเป็นเมมเบรนประมาณ 16 ชั่วโมง ลักษณะเบื้องต้นของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้พบว่าสามารถเกิดเป็นเมมเบรนได้ดี แต่มีเพียงการใช้สารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ที่มี $\omega > 40$ ของทั้งการใช้และไม่ใช้ PEGDE จะเกิดการเกาะติดแน่นระหว่างเมมเบรนกับ ภาชนะ ทำให้การดึงเมมเบรนออกจากภาชนะทำได้ค่อนข้างยากและมีการฉีกขาดได้ง่าย โดยลักษณะของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้ พบว่ามีลักษณะโปร่งแสง มีออกค่อนข้างเหลือง ซึ่งไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้จากสารละลายไฟโบรอินเพียงอย่างเดียวมีความแข็งที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยใช้สารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ และที่เตรียมโดยใช้สารละลายไฟโบรอินคอลลอยด์ผสมกับ 4% PEGDE ที่เมมเบรนมีความอ่อนนุ่มและมีสภาพยืดหยุ่นสูงกว่า มีความหนาเฉลี่ยของเมมเบรนประมาณ 0.081 mm

สำหรับการศึกษาสมบัติของไฟโบรอินเมมเบรนทำโดยการศึกษา การละลายของไฟโบรอินเมมเบรน การศึกษาสัณฐานวิทยาของไฟโบรอินเมมเบรนด้วยเทคนิค SEM การศึกษาโครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินเมมเบรนด้วยเทคนิค FTIR การศึกษาสมบัติทางความร้อนของไฟโบรอินเมมเบรน และการศึกษาสมบัติเชิงกลของไฟโบรอินเมมเบรน ผลที่ได้พบว่า การละลายของไฟโบรอินเมมเบรนในน้ำกลั่นที่มี pH 7 ซึ่งเตรียมโดยวิธีคอลลอยด์ (SFC) ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีคอลลอยด์และทำให้เสถียรด้วย 95% (SFC-EtOH) และไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมโดยวิธีคอลลอยด์และทำให้เสถียรด้วย 4% PEGDE (SFC-PEGDE) ที่มีอัตราส่วน [Oil]/[SDS] ของสารละลายคอลลอยด์ที่ใช้ (ω) ในช่วง 0-50 ที่ผ่านการทำให้แห้งโดยวิธีการอบด้วยลมร้อนและวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง พบว่าเปอร์เซ็นต์การละลายของ SFC มีค่าสูงกว่า SFC-EtOH และ SFC-PEGDE ของทั้งการทำให้แห้งโดยวิธีการอบด้วยลมร้อนและวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วน ω จะทำให้การละลายของเมมเบรน SFC และ SFC-EtOH เพิ่มขึ้น ยกเว้นเมมเบรนของ SFC-PEGDE ที่มีค่าการละลายที่ต่ำกว่าและมีค่าที่ใกล้เคียงกันไม่แตกต่างกันมากนัก ส่วนการละลายของเมมเบรนที่ผ่านการทำให้แห้งโดยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็งของทั้ง SFC และ SFC-EtOH มีค่าสูงกว่าเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีการทำแห้งแบบอบด้วยลมร้อน ยกเว้นเมมเบรน SFC-PEGDE มีค่าการละลายที่น้อยกว่าของทั้งการทำให้แห้งทุกวิธีถึงแม้จะเปลี่ยนแปลง ω ต่าง ๆ แสดงให้เห็นว่าเมมเบรน SFC-PEGDE มีความเสถียรของเมมเบรนต่อการละลายน้ำมากกว่าเมมเบรน SFC-EtOH และเมมเบรน SFC

สัณฐานวิทยาของไฟโบรอินเมมเบรนศึกษาโดยใช้เทคนิค SEM แสดงให้เห็นว่า พื้นผิวของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีการต่าง ๆ ทั้งไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วยสารละลายเอทานอล 95% และไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วย 4%PEGDE โดยผ่านการทำให้แห้งแบบ oven drying จะมีลักษณะรูพรุนระดับไมโครเมตรเล็กน้อย เมื่อเทียบกับ ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ สำหรับการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนด้วยวิธีทางคอลลอยด์ที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วยสารละลายเอทานอล 95% และไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมด้วยวิธีทางคอลลอยด์ที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วย 4%PEGDE ซึ่งใช้วิธีการทำให้แห้งแบบ freeze drying จะทำให้เมมเบรนที่ได้มีสภาพความพรุนที่มีขนาดระดับไมโครเมตรภายในเมมเบรนมากกว่า ซึ่งความพรุนระดับไมโครเมตรที่มีอยู่จำนวนมากนี้จะสามารถทำให้เมมเบรนมีการแพร่ผ่านของออกซิเจนและของเหลวได้ดี

ในการศึกษาโครงสร้างทุติยภูมิของไฟโบรอินเมมเบรนด้วยเทคนิค FTIR และศึกษาสมบัติทางความร้อนของไฟโบรอินเมมเบรนโดยใช้เทคนิค FTIR นี้พบว่า สเปกตรัมของเมมเบรน SF และ SFC ที่เตรียมได้แสดงพีกที่ตำแหน่งเลขคลื่นเท่ากับ 1658 cm^{-1} , 1540 cm^{-1} และ 1240 cm^{-1} ซึ่งเป็นตำแหน่งพีกของหมู่ amide I, amide II และ amide III ตามลำดับ ของโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิแบบ Silk I (random coil and α -helix) ซึ่งเป็นโครงสร้างของไฟโบรอินที่พบได้ในสารละลายไฟโบรอิน ขณะที่ไฟโบรอินเมมเบรนที่ผ่านการทำให้คงสภาพด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้น 95% และ 4%PEGDE แสดงตำแหน่งของพีกคล้ายกันที่

ตำแหน่งเลขคลื่นประมาณ 1627 cm^{-1} , 1522 cm^{-1} และ 1234 cm^{-1} ของหมู่ amide I, amide II และ amide III ตามลำดับ ซึ่งจะแสดงถึงโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิแบบ Silk II (β -sheet plate) นอกจากนี้สำหรับไฟโบรอินเมมเบรนดัดแปรด้วยฟิอิจิดีอียังแสดงตำแหน่งฟีกที่เลขคลื่น 1100 cm^{-1} และ 949 cm^{-1} ที่แสดงถึงการเกิดการเชื่อมไขว้ของฟิอิจิดีอียในไฟโบรอินเมทริกซ์ด้วย เนื่องจากไฟโบรอินซึ่งมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นพวกกรดอะมิโนชนิดที่ไม่มีขั้ว เช่น ไกลซีน อะลานีน เป็นต้น ดังนั้นการใช้ 95% EtOH เป็นสารที่ใช้แช่ไฟโบรอินเมมเบรนเพื่อให้เมมเบรนที่ได้มีความเสถียรจึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจาก Silk I ไปเป็น Silk II ซึ่งจะทำให้เมมเบรนที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วย 95% EtOH มีการละลายน้ำที่ลดลง มีความแข็งเพิ่มขึ้น รวมถึงมีความเปราะเพิ่มขึ้น เป็นต้น ส่วนการใช้ 4% PEGDE เป็นสารเชื่อมไขว้ในการเตรียมเมมเบรนจะทำให้โครงสร้างกลายเป็นแบบร่างแหทำให้มีความเสถียรของเมมเบรนมากขึ้น มีสมบัติการละลายน้ำลดลง มีแต่มีคุณสมบัติที่อ่อนนุ่มและมีสภาพยืดหยุ่นเพิ่มมากขึ้น

การทดลองนำไฟโบรอินเมมเบรน SFC ที่เตรียมได้ไปผ่านการอบที่อุณหภูมิ $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ และ $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ทำให้ผลการตรวจสอบโครงสร้างทุติยภูมิของเมมเบรนแสดงฟีกที่ตำแหน่งเลขคลื่น เท่ากับ 1658 cm^{-1} , 1540 cm^{-1} และ 1240 cm^{-1} ซึ่งเป็นตำแหน่งฟีกของหมู่ amide I, amide II และ amide III ตามลำดับ ของโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิแบบ Silk I ซึ่งเป็นโครงสร้างของไฟโบรอินที่พบได้ในสารละลายไฟโบรอิน ขณะที่เมมเบรน SFC ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ และ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ แสดงตำแหน่งของฟีกคล้ายกันที่ตำแหน่งเลขคลื่นประมาณ 1627 cm^{-1} , 1522 cm^{-1} และ 1234 cm^{-1} ของหมู่ amide I, amide II และ amide III ตามลำดับ ซึ่งจะแสดงถึงโครงสร้างโปรตีนทุติยภูมิแบบ Silk II แสดงให้เห็นว่าความร้อนที่เมมเบรนได้รับจากการอบทั้งว้ที่อุณหภูมิ $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ และ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ นาน 3 ชั่วโมง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิของเมมเบรนจากโครงสร้างแบบ Silk I ไปเป็นแบบโครงสร้างแบบ Silk II ซึ่งการที่โครงสร้างทุติยภูมิของเมมเบรนเปลี่ยนเป็นแบบ Silk II ได้

จากการศึกษาสมบัติเชิงกลของไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยการวัดค่าความทนต่อแรงดึงยึด (tensile strength) ซึ่งได้ศึกษาโดยการตรวจวัดโดยเครื่อง Tensile strength tester ของไฟโบรอินเมมเบรน (SF) ไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีคอลลอยด์ที่มี Ω เท่ากับ 30 (SFC) และไฟโบรอินเมมเบรนที่เตรียมได้โดยวิธีคอลลอยด์ที่มี Ω เท่ากับ 30 ทั้งที่ผ่านการทำให้เสถียรด้วยการแช่ทิ้งไว้ใน 95% EtOH (SFC-EtOH) และผ่านการทำให้เสถียรด้วย 4% PEGDE (SFC-PEGDE) โดยไฟโบรอินเมมเบรนทั้งหมดถูกทำให้แห้งโดยใช้ oven drying ที่อุณหภูมิ $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ พบว่า ความทนต่อแรงดึง ของเมมเบรน SFC-EtOH มีค่ามากกว่าเมมเบรน SFC เมมเบรน SF และเมมเบรน SFC-PEGDE ตามลำดับ ขณะที่ความสามารถในการยืด (percent elongation) ของเมมเบรน SFC-PEGDE มีค่ามากกว่า เมมเบรน SFC เมมเบรน SFC-EtOH และเมมเบรน SF ตามลำดับ ส่วน โมดูลัสของยัง (Young's modulus) ซึ่งสามารถใช้ออกถึงความแข็งแรงของไฟโบรอินเมมเบรนได้พบว่า ค่าโมดูลัสของยังของเมมเบรน SFC-EtOH มีค่ามากที่สุด รองลงมาคือ เมมเบรน SF เมมเบรน SFC และเมมเบรน SFC-PEGDE ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเมมเบรน SFC-EtOH เมมเบรน SF และเมม

เบรณ SFC ที่เตรียมได้มีความทนต่อแรงดึงสูง มีค่าโมดูลัสของยังสูงกว่าเมมเบรณ SFC-PEGDE แต่ทั้งนี้เมมเบรณ SFC-PEGDE ที่เตรียมได้มีความสามารถในการยืดหยุ่นและการโค้งงอได้มากกว่าเมมเบรณ SFC เมมเบรณ SFC-EtOH และเมมเบรณ SF

ดังนั้นจากการศึกษาวิธีการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรณที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรโดยใช้วิธีการอิมัลชันที่พัฒนาขึ้นนี้จึงสามารถใช้ในการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรณที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตรที่มีทำได้สะดวกและรวดเร็วกว่าวิธีการเตรียมโดยทั่วไป การเตรียมโดยผ่านวิธีการทำให้แห้งด้วยวิธีการแบบเยือกแข็งจะทำให้เมมเบรณที่ได้มีสภาพความพรุนสูง และการใช้ 4% PEGDE เป็นสารเชื่อมโยงไว้ในการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรณนี้จะทำให้เมมเบรณที่ได้มีการละลายนํ้าน้อย มีความทนต่อแรงดึง และมีความยืดหยุ่นสูง ซึ่งสามารถนำเทคนิคการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรณโดยวิธีอิมัลชันนี้ไปใช้ประยุกต์สำหรับการเตรียมไฟโบรอินเมมเบรณเพื่อใช้ในการทางการแพทย์หรือในงานที่ใช้ประโยชน์จากวัสดุชีวภาพต่อไปได้

บรรณานุกรม

- จิตชัย ปัญญาสุวรรณค์ และพิลาณี ไวถนอมสัจย์. 2549. การผลิตผงไหมชนิดละลายได้ในน้ำจากไหมหม่อนพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ1. รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: 274-281.
- ปิยรัตน์ มุลศรี. 2549. อนุสิทธิบัตรเรื่องกรรมวิธีการสกัดสารไฟโบรอินจากเศษไหม. กรมทรัพย์สินทางปัญญา ประเทศไทย. เลขที่ 2931.
- ปิยรัตน์ มุลศรี. (2551). การเตรียมผงไฟโบรอินชนิดไม่ละลายน้ำระดับไมโครเมตร-นาโนเมตรจากปุ๋ยไหม. เพชรบูรณ์ : มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.
- ปิยรัตน์ มุลศรี. (2552). การเตรียมไฟโบรอินเมมเบรนและการดัดแปรเพื่อใช้เป็นวัสดุตรงเอ็นไซม์. เพชรบูรณ์ : มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.
- รัชณี ขัดสีไส. 2548. การวิจัยและพัฒนาเพื่อประโยชน์จากโปรตีนไหม. ศูนย์นวัตกรรมไหม มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. มหาสารคาม.
- แม่น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. (2534). หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชวนพิมพ์.
- สมหญิง ชูประยูร. 2546. ไหม: ราชนิแห่งเส้นใย. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- สถาบันวิจัยหม่อนไหมแห่งชาติเฉลิมพระเกียรติฯ กรมวิชาการเกษตร. 2548. การผลิตผงไหม. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. [Online]. Available from: <http://www.moac.go.th/builder/mu/index.php?page=415&clicksub=415&sub=442> [9 ตุลาคม 2555]
- Chen, X., Shao, Z., Marinkovic, N. S., Miller, L. M., Zhou, P., Chance. 2001. Conformation transition kinetics of regenerated *Bombyx mori* silk fibroin membrane monitored by time-resolved FTIR spectroscopy. *Biophys. Cheml.* 89: 25-34.
- Cho, K.Y., Moon, J.Y., Lee, Y. W., Lee, K. G., Yeo, J.H., Kweon, H.Y., Kim, K.H., Cho, C.S. 2003. Preparation of self-assembled silk sericin nanoparticles. *Int. J. Biol. Macromol.* 32: 36-42.
- Freddi, G., Mossotti, R. and Innocenti, R. 2003. Degumming of silk fabric with several protease. *J. Biotechnol.* 106: 101-112.
- Kwang, Y. C., Jae, Y. M., Yong, W. L., Kwang, G. L., Joo, H. Y., Hae, Y. K., et al, 2003. Preparation of self assembled silk sericin nanoparticles. *Int. J. Biol. Macromol.* 32: 36-42.

- Lee, K. G., Kweon, H. Y., Yeo, J. H., Soon, O. W., Lee, Y. W., Cho, C. S., Kim, K.H., and Park, Y.H. 2003. Effect of methyl alcohol on the morphology and conformational characteristics of silk sericin. *Int. J. Biol. Macromol.* 33: 75-80.
- Li, M., Tao, W., Lu, S. and Kuga, S. 2003. Compliant film of regenerated *Antheraea pernyi* silk fibroin by chemical crosslinking. *Int. J. Biol. Macromol.* 32: 159-163.
- Li, Y., Yuen, W.M., Hu, J.Y., Cheng, Y.F. 2005. Analysis of the structural characteristics of nanoscale silk particle. *J. Appl. Polym. Sci.* 100: 268-274.
- Moonsri, P., Wataneski, S., Wataneski, R., Niamsup, H., Deming, R.L. 2008. Fibroin membrane preparation and stabilization by polyethylene glycol diglycidyl ether. *J. Appl. Polym. Sci.* 108: 1402-1406.
- Renee, R. A., and Joan, M. 1993. Basic Biochemistry Methods. 2nd ed. New York. Wiley liss:426-432.
- Um, I.C., Kweon, H. Y., Kwang, G. L., and Park, Y. H. 2003. The role of formic acid in solubility and crystallization of silk protein polymer. *Int. J. Biol. Macromol.* 33: 203-213.
- Wu, J.-H., Wang, Z., Xu, S.-Y. 2007. Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater. *Food. Chem.* 103: 1255-1262.
- Xia, Y.Y. 2007. Synthesis of selenium Nanoparticle in the presence of silk fibroin. *Mater. Lett.* 61: 4321-4324.
- Yeo, J.-H., Lee, K.-G. Lee, Y.-W., Kim, S. Y. 2003. Simple preparation and characteristics of silk fibroin microsphere. *Europ. Polym. J.* 39: 1195-1199.
- Zhou, Y. *et al.* 2001. Preparation a novel core-shell nanostructured gold colloid-silk fibroin bioconjugate by the protein *in situ* redox technique at room temperature. *Chem. Commun* : 2518.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก



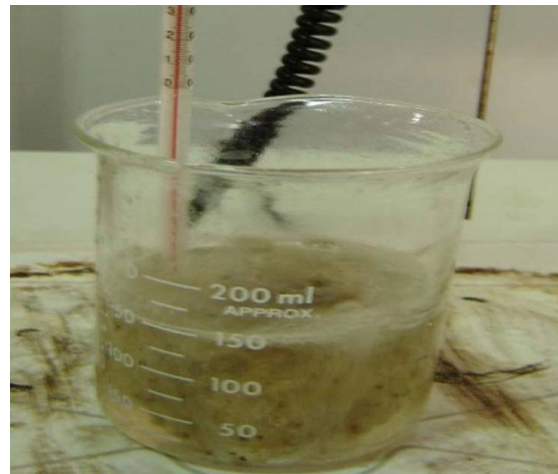
ลักษณะทางกายภาพของปุยไหม



การลอกการปุยไหม (การกำจัดเซรีซิน)



วัสดุปุยไหมที่ผ่านการกำจัดเซรีซินแล้ว



การทำละลายไฟโบรอินในตัวทำละลายเกลือผสม



การทำไอโซลัสสารละลายไฟโบรอิน



สารละลายไฟโบรอินบริสุทธิ์ที่ใช้เตรียมเมมเบรน

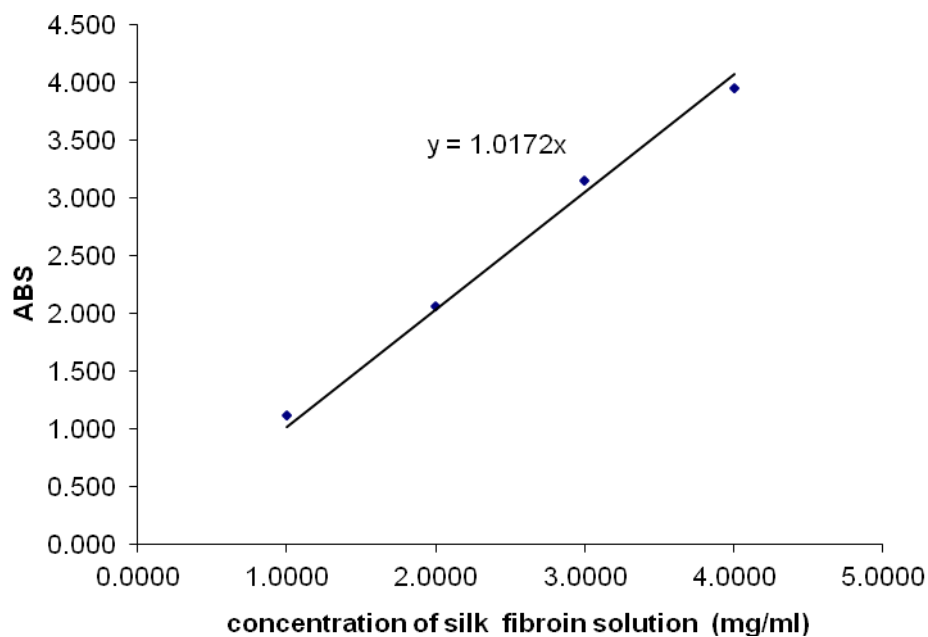
รูป ผ1. แสดงภาพตัวอย่างของวัสดุปุยไหม การลอกการและการเตรียมสารละลายไฟโบรอิน

ภาคผนวก ข

การหาค่าการละลายของไฟโบรอินเมมเบรน

1. การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายไฟโบรอิน (จากผงไฟโบรอินชนิดที่ละลายน้ำได้)

ความเข้มข้นของสารละลายไฟโบรอิน (mg/ml)	ค่าการดูดกลืน ของสารละลายไฟโบร อิน ที่ความยาวคลื่น 276 nm
1.0	1.123
2.0	2.067
3.0	3.148
4.0	3.954



จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 276 nm กับความเข้มข้นของสารละลายไฟโบรอินพบว่าค่าความชันของกราฟที่ได้มีค่าเท่ากับ 1.0172 ซึ่งจากสมการกฎของเบียร์ $A = a \cdot b \cdot C$ (เมื่อ a = absorbability constant, $b = 1$ cm และ C = ความเข้มข้น หน่วย mg/mL) ดังนั้น a จึงมีค่าเท่ากับ 1.0172 ด้วย ซึ่งค่าคงที่การละลายของไฟโบรอินนี้จะหาได้จาก $1/\text{ค่าความชัน}$ ดังนั้นค่าคงที่การละลายที่ใช้ในการคำนวณค่าการละลายของไฟโบรอินจะมีค่าเท่ากับ $0.983 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1} \text{ Abs}^{-1}$

2. การหาค่าเปอร์เซ็นต์การละลายของไฟโบรอินเมมเบรน

ตัวอย่างการคำนวณ

สูตรที่ใช้ในการคำนวณ $D = (K.V.A \times 100)/G$

โดยที่ D = เปอร์เซ็นต์การละลาย

K = ค่าคงที่การละลายที่ได้จากการทดลองมีค่าเท่ากับ $0.983 \text{ mg.ml}^{-1} \text{ Abs}^{-1}$

A = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 276 nm

V = ปริมาตรของสารละลาย (ml)

G = น้ำหนักของสารตัวอย่างเริ่มต้น (mg)

ไฟโบรอินเมมเบรนหนัก 50 mg ละลายในตัวทำละลาย 10 ml ที่ความยาวคลื่น 276 nm วัดการดูดกลืนแสงได้ 1.526 ดังนั้นเมื่อแทนค่าต่าง ๆ ลงในสูตรการคำนวณจะได้ค่าเปอร์เซ็นต์การละลายของผงไฟโบรอินเท่ากับ 30 %

ประวัติผู้วิจัย

- ชื่อ: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยรัตน์ มุลศรี
- คุณวุฒิ: วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี) คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เคมี) คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ตำแหน่ง: อาจารย์ระดับ 8
- สถานที่ติดต่อ: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์