

การพัฒนาวัสดุปิดแผลด้วยเซลลูโลสจากแบคทีเรียเสริมด้วย Silver Nano ที่ได้จากการสังเคราะห์
โดยใช้เปลือกมังคุดเป็นตัวรีดิวซ์เพื่อยับยั้งเชื้อ *S.aureus*

Development of Wound Dressings Using Bacterial Cellulose reinforced with
Silver Nano Synthesized by Using Mangosteen Peel as Reducing Agent to
Inhibit *S.aureus*

นริศรินทร์ อาริยะ ปภาวรินทร์ นาคนรินทร์ พลอยไพลิน ฅนอม

ชญัญญิตา วิจิตร¹

¹โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาราชวิทยาลัย เชียงราย อำเภอเมืองเชียงราย จังหวัดเชียงราย 57000

*E-mail: pr_pccshr@pcccr.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตและพัฒนาวัสดุปิดแผลที่สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ โดยอาศัยเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* ที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในคอมบูชะซึ่งการหมักคอมบูชะ ดำเนินการโดยใช้ข้าวฮางหลง 20 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร เติมน้ำตาล 50 กรัม ต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ปล่อยให้เย็น จากนั้นเติมหัวเชื้อคอมบูชะ 500 มิลลิลิตร และหมักจนเกิดแผ่นเซลลูโลสบนผิวหน้าและเพิ่มประสิทธิภาพของวัสดุ ปิดแผล โดยการเสริมอนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์จากการสกัดสารจากเปลือกมังคุด โดยนำเปลือกมังคุดแห้ง 2.5 กรัม ผสมน้ำ 20 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นปล่อยให้เย็นและผสมกับสารละลาย ซิลเวอร์ไนเตรตในอัตราส่วน 40:50 มิลลิลิตร กวนด้วยเม็กเนติกบาร์เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และจากการตรวจสอบลักษณะ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อของอนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ได้ พบว่า เกิดปรากฏการณ์ Surface Plasmon Resonance (SPR) ในช่วงความยาวคลื่น 370-500 นาโนเมตรยืนยันการมีองค์ประกอบของโลหะเงินในอนุภาค และผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* พบว่า อนุภาคเงินนาโน ที่สังเคราะห์จากสารสกัดเปลือกมังคุด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดี แสดงให้เห็นว่าสามารถผลิต วัสดุปิดแผลด้วย เส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติได้ และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย อย่างเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้

คำสำคัญ: อนุภาคเงินนาโน ; วัสดุปิดแผล ; เส้นใยเซลลูโลส

บทนำ

บาดแผลเป็นการสูญเสียความสมบูรณ์ของ ผิวหนังหรือเนื้อเยื่อ ซึ่งหากไม่ได้รับการดูแลอย่าง เหมาะสมอาจเกิดการติดเชื้อและทำให้การสมานแผล ล่าช้า วัสดุปิดแผลจึงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการ ปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ รักษาความชุ่มชื้นของแผล และส่งเสริมการฟื้นฟูเนื้อเยื่อ อย่างไรก็ตาม วัสดุปิด แผลส่วนใหญ่ในปัจจุบันผลิตจากพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่

ย่อยสลายได้ยาก ส่งผลให้เกิดขยะทางการแพทย์และ ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย เป็นวัสดุชีวภาพที่มี ความบริสุทธิ์สูง อุ่นน้ำได้ดี มีความแข็งแรง ยืดหยุ่น และย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ จึงมีศักยภาพในการ พัฒนาเป็นวัสดุปิดแผลชีวภาพ อย่างไรก็ตาม เซลลูโลส จากแบคทีเรียยังมีข้อจำกัดด้านการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

จึงจำเป็นต้องเพิ่มคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยอนุภาคเงินนาโนเป็นวัสดุที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคที่พบได้บ่อยในบาดแผล การสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยสารสกัดเปลือกมังคุดซึ่งประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เป็นแนวทางที่ช่วยลดการใช้สารเคมีอันตราย เพิ่มมูลค่าให้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

จากแนวคิดดังกล่าว ผู้จัดทำจึงพัฒนาวัสดุปิดแผลจากเซลล์ของแบคทีเรียเสริมด้วยอนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์จากสารสกัดเปลือกมังคุด เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และคุณสมบัติทางกายภาพของวัสดุปิดแผลที่พัฒนาขึ้น โดยการศึกษาครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง ซึ่งดำเนินการตรวจสอบการเกิดอนุภาคเงินนาโนด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ศึกษาสมบัติทางกายภาพของแผ่นวัสดุปิดแผลด้วยเครื่อง Texture Analyzer และประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Disc Diffusion จากนั้นวิเคราะห์ผลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ย และนำเสนอข้อมูลในรูปแบบตารางและกราฟ เพื่อประเมินประสิทธิภาพของวัสดุปิดแผลที่พัฒนาขึ้น

วิธีการดำเนินงาน

2.1 การทำวัสดุปิดแผลจากคอมบูชะ

ใช้ผงชาอู่หลง 20 กรัมต่อน้ำ 1.9 ลิตรและใช้น้ำตาล 190 กรัมผสมกับคอมบูชะ 240 มิลลิตร ใส่ SCOBY ขนาด 6.5 x 6.5 เซนติเมตรลงไปใต้น้ำหมัก แล้วหมักทิ้งไว้ 7 วันโดยควบคุมสภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 25-30 °C แยกแผ่น BC ออกจากคอมบูชะล้างและทำให้บริสุทธิ์โดยล้างด้วยน้ำกลั่น แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง แล้วแช่ในน้ำกลั่นเพื่อรักษาความชุ่มชื้น

2.2 การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน

2.2.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุด

นำเปลือกมังคุดแห้ง 20 กรัมมาผสมกับน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตรในบีกเกอร์และนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วกรองสารสกัดผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 เพื่อที่จะนำสารสกัดที่ได้จากการกรองไปใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน

2.2.2 การสังเคราะห์ซิลเวอร์นาโนจากสารสกัดเปลือกมังคุด

นำสารสกัดที่ได้จากเปลือกมังคุด ปริมาณ 200 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO₃) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 95 มิลลิลิตร จากนั้นกวนสารด้วยเม็กเนติกบาร์เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

2.3 วิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของซิลเวอร์นาโน

นำสารสกัดซิลเวอร์นาโนมาผสมกับน้ำกลั่นในปริมาตร 1:10 แล้วนำสารละลายมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 370-500 นาโนเมตรเพื่อตรวจสอบความเป็นอนุภาคซิลเวอร์นาโน

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของซิลเวอร์นาโน

2.4.1 การเตรียมกล้าเชื้อ

Staphylococcus aureus

ทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *S.aureus* บนจานเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็ง Nutrient agar (NA) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นำไปทำเป็นเซลล์แขวนลอย (bacterial suspension) ในนอร์มัลซาลีน (NaCl) 0.85% ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยปรับความขุ่นของเซลล์แขวนลอยให้เท่ากับ McFarland Standard เบอร์ 0.5 (ประมาณ 1.5×10⁸ CFU/ml)

2.4.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อ

S. aureus ด้วยวิธี Disc diffusion

ใช้สำลีก้อนที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุ่มในเซลล์แขวนลอยของ เชื้อ *S. aureus* ที่เตรียมไว้แล้วนำมาป้ายลงบนผิวหน้าของอาหารแข็ง NA ปลอยให้แห้งเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่นกระดาษกรองขนาด 6 มิลลิเมตร มาวางลงบนผิวหน้าของอาหารแข็ง NA แล้วนำสารสกัด silver nano และยาปฏิชีวนะมาตรฐาน ปริมาตร 10 ไมโครลิตรหยดลงบนแผ่นกระดาษกรองที่วางไว้โดยทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำในแต่ละตัวอย่าง จากนั้นบ่มในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนำไปหมักสารสกัดจะค่อย ๆ ซึมออกจากแผ่นกระดาษกรองเป็นรัศมีโดยรอบจากที่ที่ความเข้มข้นสูงไปยังที่ที่ความเข้มข้นต่ำ สารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จะยับยั้งการเจริญของเชื้อและพบ วงใสบริเวณรอบแผ่นกระดาษกรอง จากนั้นตรวจผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Clear zone) หน่วยเป็นมิลลิเมตร หากวัดได้ขนาด น้อยกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตร จะถือว่าไม่เกิดพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเนื่องจากมีขนาดของวงใส น้อยกว่าหรือเท่ากับขนาดแผ่นกระดาษกรอง

- กลุ่มควบคุมเชิงลบ: อาหารเลี้ยงเชื้อเปล่า
- กลุ่มควบคุมเชิงบวก: ยาปฏิชีวนะมาตรฐาน
- กลุ่มควบคุม Vehicle: สารสกัดจากเปลือกมังคุด

2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุปิด

ผลจากแบคทีเรีย

ศึกษาความแข็ง,ความเค้น,ความเครียดและค่ามอดูลัสของยังโดยใช้เครื่อง texture analyzer, TX. TA plus โดยใช้หัววัดสแตนเลสทรงกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ที่มีผิวหน้าแบนเรียบโดยมีพื้นที่สัมผัส 3.14 ตารางมิลลิเมตรความเร็วในการเคลื่อนที่ของหัววัดเท่ากับ 1 มิลลิเมตรต่อวินาทีและระยะทางในการกดตัวอย่าง 2 เซนติเมตร

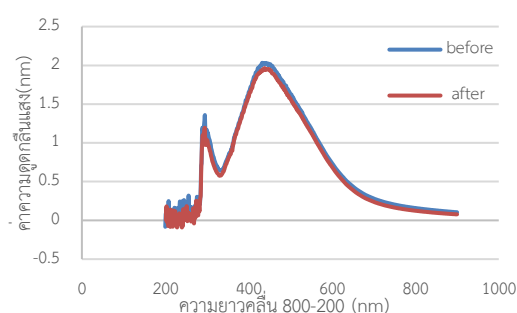
2.6 การเตรียมแผ่นแบคทีเรียเซลล์ลูโลสดูดซับซิลเวอร์นาโน

นำแผ่น BC ที่บริสุทธิ์แล้วไปแช่ในสารละลาย AgNO₃ ที่เตรียมไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ Ag⁺ ions ซึมเข้าไปในโครงสร้างของ BC จากนั้นนำแผ่น BC ที่ดูดซับ Ag⁺ ions แล้วล้างแผ่น BC ที่ได้ด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง เพื่อกำจัดสารเคมีที่ตกค้างออกไป นำแผ่นเจลที่ได้มาตัดเป็นขนาด 5x5 เซนติเมตร จากนั้นนำมาเก็บในภาชนะที่มีฝาปิด โดยแช่ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อคงสภาพความชุ่มชื้น

ผลและอภิปรายผล

3.1 ผลการวัดค่าความดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้จากเปลือกมังคุด

จากการทดสอบจากการวัดค่าความดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโน ด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 800-200 นาโนเมตร พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 25,30 g/ml สามารถใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนได้ โดยอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ได้จากสารพิษเคมีในเปลือกมังคุดเกิดปรากฏการณ์ surface plasmon resonance (SPR) ที่ความยาวคลื่นในช่วง 370 - 500 นาโนเมตร เมื่อทดสอบด้วย UV-Vis spectroscopy ผลที่ได้เป็นผลึกของโลหะเงินที่มีลักษณะโครงสร้างผลึกเป็นแบบ face-centered cubic (fcc) จึงเป็นการสนับสนุนว่าภายในอนุภาคนั้นมีโลหะเงินเป็นองค์ประกอบ ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 กราฟค่าความดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 800-200 นาโนเมตร

3.2 ผลการทดสอบความสามารถในการ

ยับยั้งเชื้อ *S.aureus*

จากการทดสอบการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของอนุภาคเงินนาโน (AgNPs) ที่สังเคราะห์จากสารสกัดเปลือกมังคุด โดยเปรียบเทียบกับขนาดวงยับยั้งเชื้อกับสารสกัดเปลือกมังคุดและเอทานอลที่ใช้เป็นตัวควบคุม เพื่อประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และคำนวณค่าเฉลี่ยของขนาดขนาดวงยับยั้ง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1

กลุ่มทดลอง	ปริมาณ/ความเข้มข้น	ค่าเฉลี่ยของขนาดขนาดวงยับยั้ง
เอทานอล	95% v/v	8
สารสกัดเปลือกมังคุด	99% v/v	2
AgNPs	99% v/v	11

หมายเหตุ: หากวัดได้ขนาด ≤ 6 มิลลิเมตร จะถือว่าไม่เกิดพื้นที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ 1 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S.aureus*

3.3 ผลการวิเคราะห์ความเค้นความเครียด

และค่ามอดูลัสของยัง

จากการทดสอบสมบัติเชิงกลของแผ่นไบโอเซลลูโลสเพื่อศึกษาผลของความหนาของแผ่นวัสดุต่อค่าความเค้น ความเครียด และค่ามอดูลัส ซึ่งเป็นพารามิเตอร์สำคัญในการประเมินความเหมาะสมของวัสดุสำหรับการประยุกต์ใช้เป็นวัสดุปลูกแผล โดยผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 2

ความหนาของแผ่น BC	ความเค้น	ความเครียด	ค่ามอดูลัส
2.5 มิลลิเมตร	0.3-0.5	2.0	0.08
3.5 มิลลิเมตร	0.4-0.7	2.5	0.10
5 มิลลิเมตร	0.6-1.0	3.0	0.12

หมายเหตุ: แผ่น BC หมายถึง แผ่น Biocellulose

ตารางที่ 2 ค่าความเค้น, ความเครียด และค่ามอดูลัสของยัง

สรุปผล

จากการศึกษาพบว่า สารพิษเคมีในเปลือกมังคุดสามารถใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนได้ โดยอนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ได้จากสารพิษเคมีในเปลือกมังคุดเกิดปรากฏการณ์ surface plasmon resonance (SPR) ที่ความยาวคลื่นในช่วง 370 - 500 นาโนเมตร เมื่อทดสอบด้วย UV-Vis spectroscopy ผลที่ได้เป็นผลึกของโลหะเงินที่มีลักษณะโครงสร้างผลึกเป็นแบบ face-centered cubic (fcc) จึงเป็นการสนับสนุนว่าภายในอนุภาคนั้นมีโลหะเงินเป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้ อนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ได้จากเปลือกมังคุดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิทยาศาสตร์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความรู้ ความเอาใจใส่ และความอนุเคราะห์อย่างดียิ่งจากคณะครูและผู้ที่เกี่ยวข้องหลายท่าน ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ คุณครูชัยญ์นิตตา วิจิตร คุณครูที่ปรึกษาโครงการเป็นอย่างสูงที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ แนวคิด และแนวทางในการศึกษาค้นคว้าอย่างเป็นระบบ ตลอดจนช่วยตรวจสอบ แก้ไขข้อบกพร่อง และให้คำชี้แนะที่เป็นประโยชน์ในทุกขั้นตอนของการจัดทำโครงการด้วยความเอาใจใส่และเสียสละเวลาอย่างยิ่ง จนทำให้โครงการเล่มนี้มีความถูกต้อง สมบูรณ์ และบรรลุวัตถุประสงค์ที่ตั้ง นอกจากนี้ ผู้จัดทำขอขอบพระคุณคณะครู บุคลากรทางการศึกษา และผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือสนับสนุนทรัพยากร อุปกรณ์ และคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ รวมถึงให้กำลังใจแก่ผู้จัดทำเสมอมา



เอกสารอ้างอิง

กุลนันท์ ปืดพรหม, ชุติมา อันชนะ,
จันทร์ทิมา พงษ์พานิช และ สุรศักดิ์ ละลอกน้ำ.
(2555). การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย
Acetobacter xylinum TISTR 086 โดยใช้ผลผลิต
ทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน. วารสารหน่วยวิจัย
วิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการ
เรียนรู้, 3(2), 118-124.

วรลณี ไกรนรา, สุณิษา คงทอง และ อุมพร
จิ้มมากทอง. (2563). รายงานการวิจัย: การสังเคราะห์
อนุภาคซิลเวอร์นาโนจากสารสกัดบัวบก และฤทธิ์ต้าน
แบคทีเรียไวรัสโอโรโรในกุ้ง. คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.

วีรพล ปฐวินทรานนท์ และ อำภา จิมีไธสง.
(ม.ป.ป.). การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีนาโนซิลเวอร์จาก
ธรรมชาติในผลิตภัณฑ์ผ้าเช็ดทำความสะอาด. สำนัก
วิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้า
หลวง.

Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., &
Ikram, S. (2016). A review on plants extract
mediated synthesis of silver nanoparticles for
antimicrobial applications. *Journal of
Advanced Research*, 7(1), 17–28.

Iravani, S., Korbekandi, H.,
Mirmohammadi, S. V., & Zolfaghari, B. (2014).
Synthesis of silver nanoparticles: Chemical,
physical and biological methods. *Research in
Pharmaceutical Sciences*, 9(6), 385–406.

Jozala, A. F., de Lencastre-Novaes,
L. C., Lopes, A. M., de Carvalho-Santos, F.,
Ventura, S. P. M., Pessoa, A., Gradigo, M., &
Gerenutti, M. (2016). Bacterial cellulose
production and application: A 10-year
overview. *Applied Microbiology and
Biotechnology*, 100(6), 2063–2072.

Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009).
Silver nanoparticles as a new generation of
antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27(1),
76–83.