



โครงการ  
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การเตรียมแผ่นอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์จากคอนจูเกตของพอลิแล็กติกแอซิด-ไคโตซาน

Preparation of electrospun fiber mats from PLA-chitosan conjugates

ชื่อนิสิต นางสาวเปรมสุภา เหลือพงศ์

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2559

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเตรียมแผ่นอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์จากคอนจูเกตของพอลิแล็กติกแอซิด-ไคโทซาน

Preparation of electrospun fiber mats from PLA-chitosan conjugates

โดย

นางสาวเปรมสุภา เหลือพงศ์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2559

โครงการ การเตรียมแผ่นอิเล็กทรอนิกส์ปั่นไฟเบอร์จากคอนกรีตของพอลิแล็กติกแอซิด-  
ไคโทซาน

โดย นางสาวเปรมสุภา เหลือพงศ์

ได้รับการอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ โฮვნ่น)  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ตั้งพสุธาตล)  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่.....เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2560

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ

ดีมาก

ดี

พอใช้

ชื่อโครงการ การเตรียมแผ่นอิเล็กโทรสปีนไฟเบอร์จากคอนจูเกตของพอลิแล็กติกแอซิด-ไคโทซาน

ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวเปรมสุภา เหลือพงศ์ เลขประจำตัว 5633104023

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ตั้งพสุธาตล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2559

### บทคัดย่อ

พอลิแล็กติกแอซิด (PLA) เป็นพอลิเมอร์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของพอลิเอสเทอร์ ที่ถูกนำไปใช้ในทางการแพทย์ วิธีหนึ่งในการปรับปรุงฤทธิ์ทางชีวภาพ คือการเคลือบผิวเส้นใยด้วยไฮดรอกซีแอปาทิต ( $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ ) ซึ่งเป็นผลึกแคลเซียมที่พบในกระดูก งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการเร่งการจับตัวของแคลเซียมฟอสเฟตบนแผ่นอิเล็กโทรสปีนไฟเบอร์ของ PLA ทางการค้า (มวลโมเลกุล 60,000 ดาลตัน) ขั้นตอนแรกสังเคราะห์ PLAdiCOOH ซึ่งเป็น PLA มวลโมเลกุลต่ำที่ปลายสองข้างของสายโซ่มีหมู่คาร์บอกซิลิกแอซิด แล้วนำมาผสมกับ PLA ทางการค้าในอัตราส่วนต่างๆ หลังจากนั้นจึงนำพอลิเมอร์ผสม PLA/PLAdiCOOH มาขึ้นรูปเป็นเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง และนำไคโทซานมายึดติดกับไฟเบอร์โดยใช้ และไมใช้ 1-เอทิล-3-(3-ไดเมทิลเอมิโนโพรพิล) คาร์โบไดอิมด์ (EDC) พบว่า การติดไคโทซานบนไฟเบอร์ด้วยพันธะแอมิด และการเคลือบนั้นให้ผลลัพธ์ที่ไม่แตกต่างกัน ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดพบว่า เมื่อมีไคโทซานแล้วพื้นผิวของเส้นใยมีลักษณะหยาบขึ้น และลดลง การทดสอบการชักนำให้เกิดแคลเซียมบนพื้นผิวของเส้นใยและวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES พบว่า เมื่อใช้เวลาในการแช่เส้นใยนานถึง 7 วัน ปริมาณแคลเซียมไอออนถูกดูดซับโดยเส้นใยมากขึ้นไปด้วย แต่ไม่พบผลึกเกลือแคลเซียมฟอสเฟตบนแผ่นเส้นใย

คำสำคัญ: พอลิแล็กติกแอซิด, ไคโทซาน, อิเล็กโทรสปีนไฟเบอร์

Project Title                   Preparation of electrospun fiber mats from PLA-chitosan conjugates  
Student Name                 Miss Paemsupa Loapong       Student ID 5633104023  
Advisor Name                 Assistant Professor Dr. Varawut Tangpasuthadol  
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2016

### Abstract

Poly(lactic acid) is a polyester that has been utilized in medical applications. One method to improve bioactivity was reportedly coat the polymer fibers with hydroxyapatite ( $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ ), a type of calcium phosphate crystal found in bones. In this work, enhancing calcium phosphate mineralization on electrospun nanofiber mat of a commercialized PLA ( $\bar{M}_n$  60,000 Da) was studied. First, PLAdiCOOH which was a low molecular weight PLA having carboxylic groups on both chain ends was synthesized. Then various ratios of PLAdiCOOH were blended with the commercialized PLA and, subsequently, fabricated into non-woven fiber mats using electrospinning technique. In the next step, chitosan was introduced onto the fiber mats by using or not using 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC). Both methods, in fact, offered similar results. From scanning electron microscope images, the presence of chitosan caused the fiber surface to be more rough and shrunken. The test of inducing calcium on the fiber surfaces by ICP-OES analysis showed that calcium ion adsorption by the fiber mat increased when the buffer soaking time increased to 7 days. No calcium phosphate crystal was, however, found on the fiber mats.

Keywords: Poly(lactic acid), Chitosan, Electrospun Fiber

## กิตติกรรมประกาศ

การทำโครงการวิจัยนี้ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ตั้งพสุธาตล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา ถ่ายทอดประสบการณ์ต่างๆ รวมทั้งให้ความอนุเคราะห์สถานที่ห้องปฏิบัติการ พร้อมทั้งเครื่องมือและสารเคมีในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ โฮเวณ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าให้เกียรติเป็นกรรมการในโครงการวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนกรุณาให้คำแนะนำ และตรวจสอบการแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ของฝ่ายวิชาการจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และภาควิชาเคมีที่ได้ให้ความสนับสนุน และทุนอุดหนุนในโครงการวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณความช่วยเหลือจากเพื่อนๆ ในภาควิชาเคมีทุกคน รวมไปถึงพี่ๆนิสิตปริญญาโท และปริญญาเอกในกลุ่มวิจัยที่ได้ให้ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคต่างๆ ในการใช้ และดูแลรักษาเครื่องมือ รวมไปถึงคำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญตารางประกอบ	ช
สารบัญรูปประกอบ	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการนำเสนอผลงาน	1
1.2 ทฤษฎีที่สำคัญและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	7
1.4 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย	7
1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย	8
<b>บทที่ 2 วิธีการทดลอง</b>	
2.1 สารเคมี	9
2.2 เครื่องมือ	9
2.3 วิธีการทดลอง	10
<b>บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง</b>	
3.1 การสังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์ของPLAdiCOOH	13
3.2 การเตรียมและพิสูจน์เอกลักษณ์ของอิเล็กโทรสปันไฟเบอร์	16
3.3 การยัดติดโคโตะซานบนแผ่นอิเล็กโทรสปันไฟเบอร์ที่เตรียมได้	18
3.4 ทดสอบการชักนำให้เกิดแคลเซียมฟอสเฟต ของแผ่นอิเล็กโทรสปันไฟเบอร์	24
<b>บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง</b>	29
เอกสารอ้างอิง	30
ประวัติผู้ทำวิจัย	31

## สารบัญตารางประกอบ

	หน้า
ตารางที่ 1.1 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต	5
ตารางที่ 3.1 แสดงรูปจากการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆหลังการ grafting และ coating ด้วยไคโตซาน	20
ตารางที่ 3.2 แสดงค่า diameter ของอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์	22
ตารางที่ 3.3 แสดงค่าการดูดซับของแคลเซียมไอออนบนพื้นผิวอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆหลังจากการgraftingด้วยไคโตซาน	25
ตารางที่ 3.4 แสดงค่าการดูดซับของแคลเซียมไอออนบนพื้นผิวอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆหลังจากการcoatingด้วยไคโตซาน	26
ตารางที่ 3.5 แสดงค่าการดูดซับของแคลเซียมไอออนบนพื้นผิวอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆ	27



## สารบัญรูปประกอบ

	หน้า
รูปที่ 1.1 โครงสร้างพอลิแล็กติกไดคาร์บอกซิลิก	2
รูปที่ 1.2 แสดงการสังเคราะห์พอลิแล็กติก	3
รูปที่ 1.3 โครงสร้างของไคโตซาน	4
รูปที่ 1.4 แผนผังการติดตั้งของเครื่อง Electrospinning และพารามิเตอร์	5
รูปที่ 1.5 แสดงผลการเกิดปฏิกิริยาระหว่างพอลิแล็กติกแอซิดกับไคโตซาน โดยใช้ 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC)	6
รูปที่ 2.1 การสังเคราะห์ PLA-diCOOH จากพอลิแล็กติกแอซิด	10
รูปที่ 2.2 แผนผังการติดตั้งของเครื่อง Electrospinning และพารามิเตอร์	11
รูปที่ 3.1 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ PLAdiCOOH	13
รูปที่ 3.2 <sup>1</sup> H NMR สเปกตรัม ของ PLAdiCOOH	15
รูปที่ 3.3 โครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์ด้วย GPC	16
รูปที่ 3.4 อิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆ	17
รูปที่ 3.5 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH อัตราส่วนโดยน้ำหนัก	18
รูปที่ 3.6 แสดง IR Spectrum ของอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์	23

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและเหตุจูงใจในการนำเสนอโครงการ

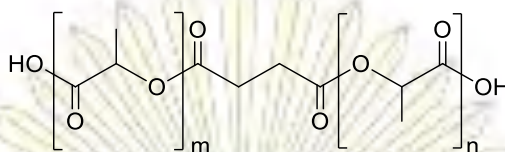
ปัจจุบันการศึกษาด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อได้รับความสนใจเป็นอย่างมากเกี่ยวกับเทคโนโลยีการสร้างวัสดุระดับนาโน [1] เส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ คือเส้นใยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในระดับนาโนเมตร มีน้ำหนักเบา และมีรูพรุนอยู่บนพื้นผิวจำนวนมากทำให้มีการส่งผ่านของเหลวหรือก๊าซได้ดี เส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ที่สังเคราะห์จากพอลิแล็กติกแอซิด มีสมบัติความแข็งแรง ดังนั้นจึงมีการนำมาประยุกต์ใช้ในการแพทย์ [2,3]

พอลิแล็กติกแอซิดเป็นพอลิเอสเทอร์ ที่สามารถย่อยสลายเองได้ในธรรมชาติที่ได้มาจากปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันของแล็กติกแอซิด [1] ได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในงานบรรจุภัณฑ์ ฟิล์มด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ และใช้เป็นวัสดุชีวการแพทย์ [2,3] เนื่องจากคุณสมบัติย่อยสลายได้ง่าย อย่างไรก็ตามพอลิแล็กติกแอซิดมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่ำเนื่องจากความไม่ชอบน้ำ การเคลือบผิวเส้นใยพอลิเอสเทอร์ด้วยไฮดรอกซีแอปพาไทต์ ( $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ ) เป็นการปรับปรุงฤทธิ์ทางชีวภาพโดยไม่เปลี่ยนคุณสมบัติของเส้นใย ดังนั้นจึงมีแนวคิดในการใช้โคโทซานเพื่อเป็นตัวเร่งในการจับกันของแคลเซียมฟอสเฟตบนเส้นใยพอลิแล็กติกแอซิด [4]

โคโทซาน คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีหมู่อะมิโน ( $-\text{NH}_2$ ) ที่สามารถมีประจุบวก รวมทั้งสามารถสร้างพันธะที่หมู่อะมิโนนี้ได้หลากหลายแบบ ที่ผลิตมาจากโคตินด้วยกระบวนการ deacetylation โดยกำจัดหมู่แอซิดิลออก สายโซ่พอลิเมอร์มีแรงระหว่างพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล และหมู่อะมิโน จึงทำให้โคโทซานไม่ละลายในสารอินทรีย์แต่ละลายในสารละลายกรด โคโทซานไม่เป็นพิษย่อยสลายได้ง่ายและมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย [5]

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จากพอลิแล็กติกแอซิดที่ผสมกับพอลิแล็กติกไคคาร์บอกซิลิก (รูปที่ 1.1) ซึ่งสังเคราะห์มาจากกรดแล็กติกกับกรดซัคซินิกเพื่อให้ปลายสายของพอลิเมอร์มีหมู่คาร์บอกซิลิกที่ปลายสายทั้งสองข้าง [6] เพื่อให้เกิดการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์โดยผ่านหมู่คาร์บอกซิลิกของพอลิแล็กติกแอซิดกับหมู่อะมิโนของโคโทซานกลายเป็นพันธะเอไมด์ เพื่อประยุกต์ใช้ประโยชน์ของโคโทซานร่วมกับพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ในธรรมชาติ คือ

พอลิแล็กติกแอซิด และศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเร่งการเกาะตัวของแคลเซียมฟอสเฟตบนผิวของแผ่นไฟเบอร์ที่อัตราส่วนต่างๆกัน



รูปที่ 1.1 โครงสร้างพอลิแล็กติกไดคาร์บอกซิลิก

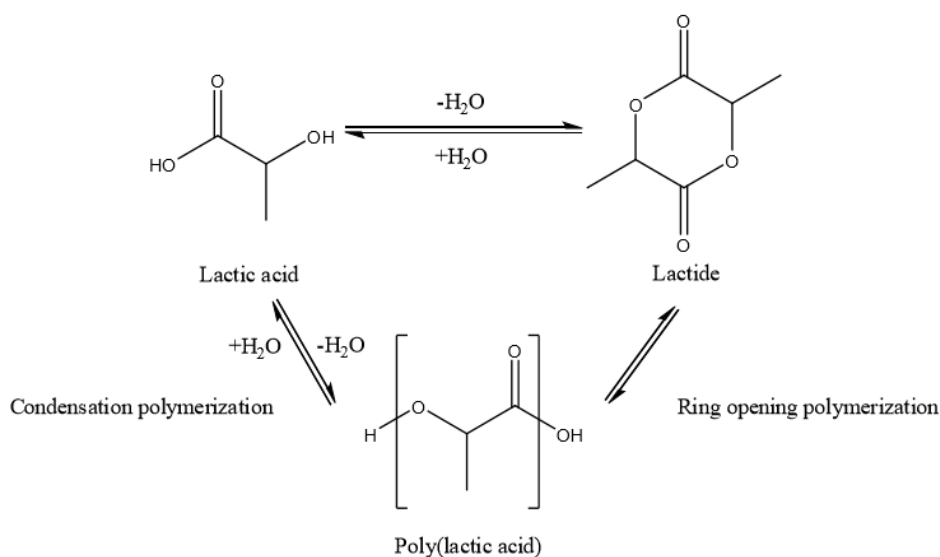
## 1.2 ทฤษฎีที่สำคัญและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 1.2.1 พอลิแล็กติกแอซิด

พอลิแล็กติกแอซิด (Poly(lactic acid), PLA) เป็นพอลิเอสเตอร์ที่มีสายโซ่ตรง (Aliphatic polyester) สามารถย่อยสลายเองได้ในธรรมชาติ สังเคราะห์มาจากปฏิกิริยา พอลิเมอร์ไรเซชันของแล็กติกแอซิด ซึ่งผลิตได้มาจากการหมักของแป้งหรือน้ำตาล [7]

พอลิแล็กติกแอซิดสามารถสังเคราะห์ได้ 2 วิธีคือปฏิกิริยาการควบแน่น (Condensation Polymerizations) หรือสังเคราะห์ผ่านการเกิดแล็กไทด์ (Lactide formation) และในเชิงพาณิชย์สังเคราะห์โดยการเปิดวง (Ring-opening Polymerization) ของแล็กไทด์ (รูปที่ 1.2)

สมบัติทางกายภาพของพอลิแล็กติกแอซิด มีความถ่วงจำเพาะประมาณ 1.25 พอลิเมอร์ที่ไม่ผ่านการดึงยึด (Unoriented PLA) มีความเปราะมากแต่มีการคงรูป และมีความแข็งแรงสูง ทนต่อแรงกระแทก และการยึดที่จุกแตกหักมีค่าต่ำกว่าพอลิเมอร์ชนิดอื่นๆ [8]



รูปที่ 1.2 แสดงการสังเคราะห์พอลิแล็กติก

### 1.2.2 ไคโทซาน [9,10]

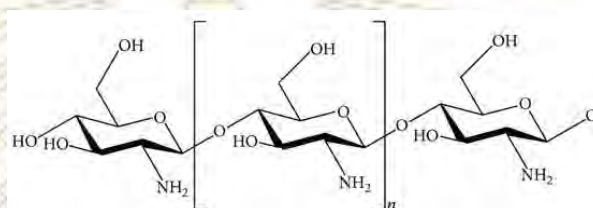
ไคโทซาน(Chitosan) เป็นอนุพันธ์ของไคติน ที่ได้จากการดึงเอาหมู่อะซิทิล (Acetyl group) ของไคตินออกไปด้วยปฏิกิริยา Deacetylation ทำให้โครงสร้างของไคตินที่เป็น N-Acetyl Glucosamine กลายเป็น Glucosamine ซึ่งเป็นโครงสร้างที่พร้อมที่จะทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และมีสมบัติละลายได้ในกรดอ่อน ในอุตสาหกรรมจะสกัดจากเปลือกกุ้ง ปู และปลาหมึก โดยผลิตอยู่ในรูปผงไคโทซาน

ไคโทซานที่ได้จะมีส่วนผสมของน้ำตาล N-Acetyl-DGlucosamine และ Glucosamine อยู่ในสายพอลิเมอร์เดียวกัน ซึ่งเปอร์เซ็นต์การเกิด Deacetylation นั้นมีผลต่อสมบัติและการทำงานของไคโทซาน นอกจากนี้ น้ำหนักโมเลกุลของไคโทซานบอกถึง ความยาวของสายไคโทซาน ซึ่งมีผลต่อความหนืด

ไคโทซานสามารถละลายได้ในสารละลายหลายชนิด ได้แก่ สารละลายกรดอินทรีย์เจือจาง เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพิโนอิก กรดแลกติก กรดไพรูวิก กรดมาลิก กรดทาทาริก และกรดซิตริก นอกจากนี้ยังสามารถละลายได้ในสารละลายกรดไนตริก กรดไฮโปคลอริก กรดไฮโดรคลอริกเจือจาง และละลายได้เล็กน้อยในกรดฟอสฟอริก แต่ไม่ละลายในกรดซัลฟิวริก ไคโทซานไม่ละลายน้ำแต่จะ

ละลายในรูปของเกลือของกรดหลายชนิดยกเว้นเกลือซัลเฟตและเกลือซัลไฟต์ ไคโทซานไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ทั่วไป แต่จะละลายในสารละลายพอลิออลมีสภาพเป็นกรด

ไคโทซาน เป็นไบโอพอลิเมอร์ธรรมชาติอย่างหนึ่งซึ่งมีองค์ประกอบสำคัญในรูปของ D-Glucosamine เป็นสารธรรมชาติที่มีลักษณะโดดเด่นเฉพาะตัว คือ เป็นวัสดุชีวภาพ (Biomaterials) ย่อยสลายตามธรรมชาติมีความปลอดภัยในการนำมาใช้กับมนุษย์ไม่เกิดผลเสียและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ไม่เกิดการแพ้ ไม่ไวไฟ และไม่เป็นพิษ (Non – Phytotoxic)



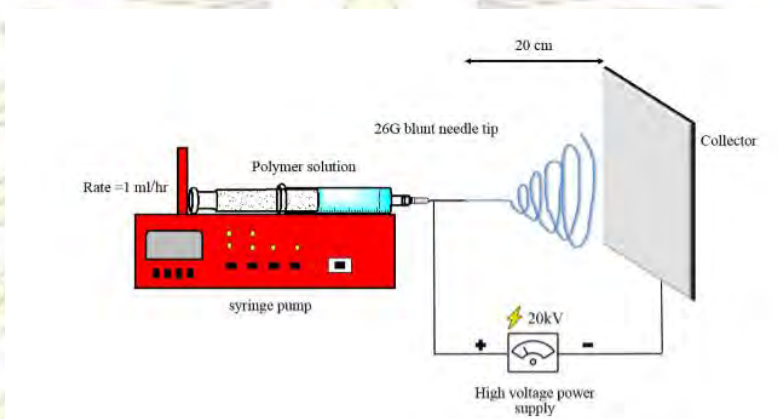
รูปที่ 1.3 โครงสร้างของไคโทซาน

### 1.2.3 เทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต (Electrospinning) [11]

กระบวนการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต เป็นวิธีการผลิตเส้นใยระดับนาโนที่ได้รับความนิยมและใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เส้นใยที่ผลิตได้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 2 นาโนเมตรถึงหลายไมโครเมตร โดยอาศัยแรงทางไฟฟ้าที่เกิดจากศักย์ไฟฟ้ากำลังสูง ส่งผลให้เส้นใยมีรูพรุนขนาดเล็กอยู่เป็นจำนวนมาก ส่งผลให้เส้นใยระดับนาโนถูกนำไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย เช่น ใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ เป็นต้น

กระบวนการของเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต คือเมื่อให้สนามไฟฟ้าที่มีความต่างศักย์สูงแก่สารละลายพอลิเมอร์ สารเหล่านี้จะเริ่มหลอมเหลวจนเป็นหยดติดที่ปลายเข็มโลหะซึ่งติดอยู่กับหลอดบรรจุสารละลาย จากที่มีลักษณะเป็นครึ่งวงกลมจะเกิดการเปลี่ยนรูปร่างเป็นทรงกรวยที่เรียกว่า Taylor cone เป็นผลเนื่องมาจากความต่างศักย์ที่ให้แก่ระบบเกิดเป็นสนามไฟฟ้าคลุมปลายเป็นโลหะ ส่งผลให้สารละลายมีประจุเกิดขึ้น ทำให้เกิดแรงผลักทางไฟฟ้าสถิต (Electrostatic repulsion) เกิดขึ้นในทิศตรงข้ามกับแรงตึงผิวของสารละลาย โดยแรงผลักทางไฟฟ้าสถิตที่เกิดขึ้นนี้จะมีค่ามากกว่าแรงตึงผิว หากสนามไฟฟ้าในระบบมีค่ามากพอ และเมื่อสนามไฟฟ้าในระบบมีค่ามากขึ้นจนกระทั่งถึงค่าวิกฤตค่าหนึ่ง จะเกิดแรงดันทำให้สารละลายพุ่งออกไปเป็นลำไปยังวัสดุรองรับ โดย

ในช่วงแรกลำของสารละลายจะเคลื่อนที่เป็นแนวเส้นตรง และถูกทำให้เกิดการบิดโค้งที่ไม่มีเสถียรภาพ (Blending instability) ขึ้นเนื่องจากการเหนี่ยวนำให้เกิดประจุที่ผิวของสารละลาย และสนามไฟฟ้าภายนอกที่เกิดจากความต่างศักย์ระหว่างปลายเข็ม ถึงวัสดุรองรับที่เป็นตัวนำทั้งสอง ส่งผลให้เกิดลำของประจุขึ้นก่อนให้เกิดแรงที่ไม่สมดุล (Unbalance force) ทำให้ลำสารละลายที่ยืดออกเกิดเป็นลำสารละลายที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กลงถึงระดับนาโนเมตร อีกทั้งทำให้เกิดการระเหยของตัวทำละลายอีกด้วย



รูปที่ 1.4 แผนผังการติดตั้งของเครื่อง Electrospinning และพารามิเตอร์ [6]

ตารางที่ 1.1 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต [11]

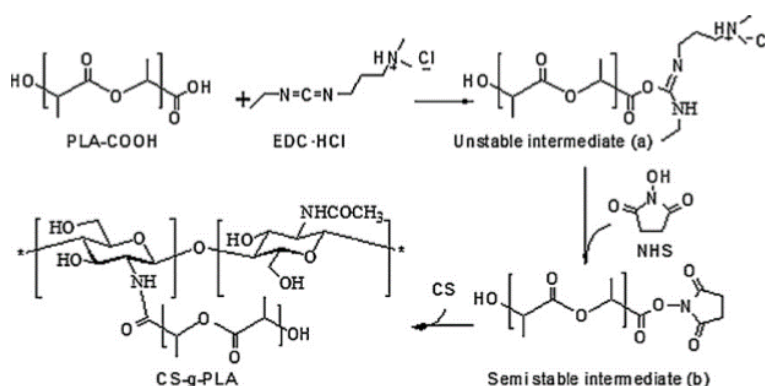
ปัจจัย	ผลต่อพื้นฐานวิทยาของเส้นใย
การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย (ความหนืด)	ขนาดของเส้นใยจะเพิ่มขึ้น
น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์	พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะเกิดเป็นเส้นใยได้ง่าย และเกิดเม็ดปม (bead) ได้ยากกว่าพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ
การเพิ่มสภาพการนำไฟฟ้าของสารละลาย	ขนาดของเส้นใยจะลดลง
การเพิ่มความต่างศักย์ไฟฟ้า	ขนาดของเส้นใยจะลดลง
การเพิ่มอัตราการไหลของสารละลาย	ขนาดของเส้นใยจะเพิ่มขึ้น และเกิดเม็ดปม (bead) บนเส้นใย
การเพิ่มระยะห่างระหว่างปลายเข็มโลหะกับวัสดุรองรับ	เส้นใยมีขนาดเล็กลง

สภาพการนำไฟฟ้า เป็นหนึ่งปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อขนาดและลักษณะของอิเล็กโทรสปีนไฟเบอร์ สภาพการนำไฟฟ้าสามารถเพิ่มได้โดยเติมสายละลายที่มีขั้วสูงลงไป [12,13] เช่น เมทานอล เอทานอล ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ โดเมทิลพอมาไมด์ หรือเติมเกลือหรือ อิเล็กโทรไลต์ที่สามารถแตกตัวเป็นประจุอิสระได้ในสารละลายพอลิเมอร์ การเพิ่มสภาพการนำไฟฟ้าของสารละลายจะมีส่วนช่วยให้สารละลายยึดตัวออกได้ดีขึ้น และช่วยลดเม็ดปมที่เกิดขึ้นบนเส้นใยได้ อย่างไรก็ตามสารที่เติมเพื่อเพิ่มสภาพการนำไฟฟ้าของสารละลายอาจทำให้สารละลายมีความหนืดเพิ่มขึ้น ดังนั้นแม้สภาพการนำไฟฟ้าของสารละลายเพิ่มขึ้น ก็ไม่สามารถช่วยให้เส้นใยมีขนาดเล็กกลงได้

จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่า พอลิแล็กติกแอซิด สามารถสลายตัวได้เองตามธรรมชาติโดยอาศัยการสลายตัวด้วยน้ำ ผ่านการสลายพันธะเอสเทอร์ โดยการละลายของพอลิแล็กติกแอซิด ขึ้นอยู่กับสัดส่วนของหน่วยที่เป็นองค์ประกอบ และระดับความเป็นผลึกในสายโซ่พอลิเมอร์ พอลิแล็กติกแอซิด ไม่ละลายน้ำ แอลกอฮอล์ รวมไปถึงสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ไม่มีหมู่แทนที่ [14]

ความไม่ชอบน้ำของพอลิแล็กติกแอซิดทำให้มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่ำ การเคลือบผิวของเส้นใยด้วย ไคโทซานสามารถเพิ่มประสิทธิภาพให้แก่เส้นใยได้ [4]

จากงานวิจัยของ Jing Li และคณะ ได้นำรีเอเจนต์คู่ควบ 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) มาสร้างพันธะเอไมด์ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลิกของพอลิแล็กติกแอซิดซึ่งเป็นตำแหน่งที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับหมู่อะมิโนของไคโทซานโดยสารตั้งต้นทั้งสองอยู่ในรูปแบบของสารละลาย [15]



รูปที่ 1.5 แสดงการเกิดปฏิกิริยาระหว่างพอลิแล็กติกแอซิดกับไคโทซาน โดยใช้ 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) และ N-Hydroxysuccinimide (NHS) [15]

ธิดารัตน์ วิจิตต์สกุล ศึกษาการดูดซับของแคลเซียมไอออนบนพื้นผิวของโคโทซาน โดยทำการแช่ฟิล์มโคโทซานในสารละลายแคลเซียมที่ pH 5.49 พบว่าปริมาณแคลเซียมที่ดูดซับได้จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเวลามากขึ้นเรื่อยๆ และจะคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 80 นาที [16]

จากงานวิจัยที่ผ่านมาของ Chi-Chang Lin และคณะพบว่าผลการเร่งการเกาะตัวของแคลเซียมฟอสเฟตโดยการใช้โคโทซานเคลือบกับเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์ของพอลิแล็กติกแอซิด ด้วยวิธีการแช่เส้นใยลงในสารละลายโคโทซาน โดยเปลี่ยนโคโทซานหลากหลายความเข้มข้น ซึ่งงานวิจัยนี้ได้จำลองสารละลายที่อยู่ในร่างกายมนุษย์ (simulated body fluid หรือ SBF) และเพิ่มความเข้มข้นเป็น 10 เท่าจากความเข้มข้นของ SBF ในร่างกายจริง ที่ pH เท่ากับ 6.3 และการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมฟอสเฟตจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามความเข้มข้นของโคโทซานที่เพิ่มขึ้น [1]

### 1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อเร่งการเกาะตัวของแคลเซียมในรูปของแคลเซียมฟอสเฟต บนผิวของแผ่นไฟเบอร์ที่ย่อยสลายได้ ซึ่งทำจากพอลิเอสเทอร์คือ พอลิแล็กติกแอซิด โดยใช้โคโทซานเป็นสารช่วยเร่งการมาเกาะของแคลเซียมไอออน

### 1.4 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

1. ค้นคว้าและศึกษาบทความ งานวิจัย และเอกสารต่างๆ เพื่อรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับงานวิจัยรวมไปถึงจัดเตรียมสารเคมีและอุปกรณ์การทดลอง

2. สังเคราะห์พอลิแล็กติกไดคาร์บอกซิลิกที่มีหมู่คาร์บอกซิลิกที่ปลายทั้งสองข้างจากปฏิกิริยา Condensation Polymerization ของพอลิแล็กติกแอซิดและ ซักซินิกแอซิด โดยใช้  $\text{SnCl}_2$  และ  $p\text{TSA}$  เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

3. พิสูจน์เอกลักษณ์ วิเคราะห์โครงสร้าง และศึกษาสมบัติทางกายภาพของพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้

3.1 หาน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ด้วยวิธี GPC และ  $^1\text{H NMR}$

3.2 คำนวณร้อยละการแทนที่ของประจุบวกบนสายของพอลิเมอร์ (%DS) จาก  $^1\text{H NMR}$

3.3 คำนวณ %recovery



4. เตรียมแผ่นอิเล็กโทรสปีนไฟเบอร์ จากพอลิเมอร์ PLA-diCOOH ด้วยเทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้า

4.1 เตรียมเส้นใยอิเล็กโทรสปีนจาก PLA/PLAdiCOOH 5 อัตราส่วนตามน้ำหนัก คือ 100:0, 100:10, 100:30, 100:50, และ 100:70 โดยใช้  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  ในอัตราส่วน 3:1 เป็นตัวทำละลายแก่พอลิเมอร์

4.2 พิสูจน์เอกลักษณ์ของแผ่นอิเล็กโทรสปีนไฟเบอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM)

5. ยึดติดโคโทซานบนแผ่นอิเล็กโทรสปีนไฟเบอร์ที่เตรียมได้ โดยชักนำให้หมู่อะมิโนของโคโทซาน ทำปฏิกิริยากอนเดนเซชันกับหมู่คาร์บอกซิลิกของ PLA-diCOOH โดยการใช้สารคู่ควบประเภทคาร์โบไดอิมด์

6. พิสูจน์เอกลักษณ์ของแผ่นอิเล็กโทรสปีนไฟเบอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดและเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโคปี

7. ทดสอบการชักนำให้เกิดแคลเซียมฟอสเฟต ของแผ่นอิเล็กโทรสปีนไฟเบอร์ที่เตรียมได้

8. หาปริมาณแคลเซียมที่คงเหลือในสารละลายด้วยเทคนิค ICP-OES

9. วิเคราะห์และวิจารณ์ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมด สรุปผลการทดลองและจัดทำรายงานรูปเล่ม

### 1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

ได้พัฒนาวิธีการซึ่งนำไปสู่การเร่งการเกาะตัวของแคลเซียมในรูปของแคลเซียมฟอสเฟต บนผิวของแผ่นไฟเบอร์ที่ย่อยสลายได้ โดยใช้โคโทซานเป็นสารช่วยเร่งการมาเกาะของแคลเซียมไอออน

## บทที่ 2

### การทดลอง

#### 2.1 สารเคมี

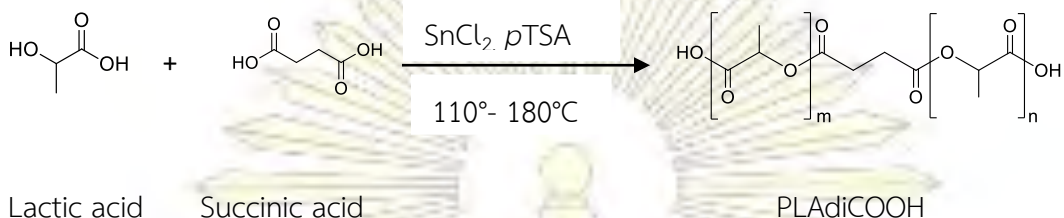
1. L-Lactic acid solution (LLA, 88 wt%) from Carlo Erba Reagent, France
2. Tin (II) chloride dihydrate ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), Succinic acid (SA), para-toluene sulfonic acid (*p*-TSA), from Sigma-Aldrich, USA
3. Methanol (MeOH), ethanol (EtOH), chloroform-d from Merck, Germany
4. Chloroform from RCI Labscan Limited, Thailand
5. Commercial PLLA,  $\bar{M}_n$  60,000 Da (Ingeo™ 4043D) from NatureWorks LLC
6. Chitosan,  $\bar{M}_n$  45,000 Da from Seafresh Chitosan (Lab) Co., Ltd, Thailand
7. 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) from TCI Co., Ltd, China
8. N-Hydroxysuccinimide (NHS) from Merck, Germany

#### 2.2 เครื่องมือ

1. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR)
2. Gel Permeation Chromatography (GPC)
3. Attenuated total reflectance infrared spectroscopy (ATR- IR)
4. Scanning Electron Microscope (SEM)
5. Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-OES)

## 2.3 วิธีกรทดลอง

### 2.3.1. การสังเคราะห์ PLAdiCOOH



#### รูปที่ 2.1 การสังเคราะห์ PLA-diCOOH จากพอลิแล็กติกแอซิด

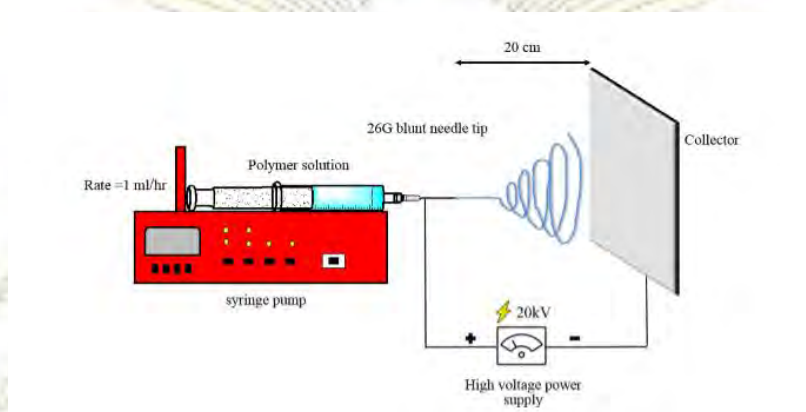
สังเคราะห์ PLAdiCOOH ด้วยวิธี condensation polymerization โดยใช้  $\text{SnCl}_2$  และ  $p\text{TSA}$  เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

นำสารละลาย L-Lactic acid 88% โดยมวลต่อปริมาตร 10.0 กรัม และซิง succinic acid 4 % โดยโมลของ L-Lactic acid) ใส่ลงไปในขวดก้นกลมชนิดสามคอขนาด 50 mL พร้อมกับตั้งชุดกลั่นให้อยู่บน magnetic stirrer เติมตัวเร่งปฏิกิริยา para-toluene sulfonic acid ( $p\text{TSA}$ ) โดยใส่เพียงครึ่งหนึ่งก่อนในช่วงแรก ปรับให้อุณหภูมิของเครื่องมือโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ ให้อยู่ที่  $110^\circ\text{C}$  และค่อยๆ ลดความดันลง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อกำจัดน้ำออก ขั้นตอนนี้เรียกว่า Dehydration เพิ่มอุณหภูมิเป็น  $140^\circ\text{C}$  และค่อยๆ ลดความดันลง เป็นเวลา 70 นาที เพิ่มอุณหภูมิเป็น  $160^\circ\text{C}$  และค่อยๆ ลดความดันลงเป็นเวลา 2 ชั่วโมงสุดท้ายปฏิกิริยา Polymerization เกิดขึ้นโดยการเติม  $\text{SnCl}_2$  (0.4 % ของ L-Lactic acid) และ  $p\text{TSA}$  ที่เหลือ เพิ่มอุณหภูมิเป็น  $180^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พร้อมทั้งค่อยๆ ลดความดันลง หยุดให้ความร้อนเพื่อให้ผลิตภัณฑ์เย็นลงถึงอุณหภูมิห้องละลายด้วย chloroform เป็นเวลา 1 คืน ตกตะกอนด้วย ethanol เย็น เพื่อให้สารบริสุทธิ์มากขึ้น จากนั้นนำตะกอนที่ได้ไปกรองสุญญากาศ ทำผลิตภัณฑ์ให้แห้งภายใต้สุญญากาศ [6] จะได้ผงคล้ายแป้งสีขาว พิสูจน์เอกลักษณ์ของผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคเอ็นเอ็มอาร์สเปกโทรสโกปี รวมทั้งคำนวณน้ำหนักโมเลกุล และร้อยละของผลได้จากผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ออกมาได้

### 2.3.2. การเตรียมอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์

เตรียมอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์จาก PLAทางการค้า มาผสมกับ PLAdiCOOH ที่สังเคราะห์ได้ ที่มีอัตราส่วนตามน้ำหนักของ PLA:PLAdiCOOH 100:0, 100:10, 100:30, 100:50, และ 100:70 โดย

ใช้  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  ในอัตราส่วน 3:1 เป็นตัวทำละลาย ใส่สารละลายพอลิเมอร์ 2 มิลลิลิตรลงในเข็มฉีดยาขนาด 5 มิลลิลิตร ใช้เข็มขนาด 26G ในการฉีดยา ปิดเข็มฉีดยาลงบน syringe pump ควบคุมอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง โดยใช้ความต่างศักย์ 20 kV ระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับแผ่นรับเท่ากับ 20 เซนติเมตร แผ่นรับเส้นใยทำจากแผ่นอลูมิเนียมขนาด 11x11 เซนติเมตร ดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 แผนผังการติดตั้งของเครื่อง Electrospinning และพารามิเตอร์ [6]

### 2.3.3. การยึดติดโคโทซานบนแผ่นอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ที่เตรียมได้

นำโคโทซานมาละลายในสารละลายกรดแอสซิดิก เข้มข้น 0.2% โดยปริมาตร เป็นเวลา 4 วัน ตกตะกอนด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ เพื่อให้สารบริสุทธิ์ยิ่งขึ้น กรองด้วยผ้าขาวบาง และนำไปทำให้แห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง ตัดแผ่นอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ PLA/PLAdiCOOH ให้เป็นแผ่นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.2 เซนติเมตร ชั่งน้ำหนักสารที่ได้ ชั่ง EDC และ NHS ในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก PLA/PLAdiCOOH : EDC : NHS เท่ากับ 1 : 1.5 : 3 ชั่งโคโทซานมา 30 เท่าของจำนวนโมลของหมู่คาร์บอกซิลิก (-COOH) ใน PLA/PLAdiCOOH เพื่อให้มีปริมาณโคโทซานมากเกินไปที่จะทำปฏิกิริยาในลักษณะวิวิธพันธุ์ (heterogeneous) ระหว่างเส้นใย PLA และสารละลายโคโทซาน จากนั้นละลายโคโทซาน, EDC และ NHS ในสารละลายกรดแอสซิดิก เข้มข้น 0.2% โดยปริมาตร แช่แผ่นอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ PLA/PLAdiCOOH ลงในสารละลายที่เตรียมได้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างแผ่นอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ PLA/PLAdiCOOH ด้วยน้ำกลั่น และเอทานอล ทำให้แห้งภายใต้สูญญากาศ เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด และเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี ทำซ้ำตามวิธีข้างต้น แต่ไม่เติมสาร EDC และ NHS

#### 2.3.4. ทดสอบการชักนำให้เกิดแคลเซียมฟอสเฟต ของแผ่นอิเล็กทรอนิกส์โทรสปันไฟเบอร์

เตรียมสารละลาย Simulated body fluid (SBF) โดยชั่ง NaCl 8.035 กรัม, KCl 0.225 กรัม, CaCl<sub>2</sub> 0.292 กรัม, MgCl<sub>2</sub> 0.311 กรัม และ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.231 กรัม ละลายในน้ำ Milli Q และปรับให้มีค่า pH ประมาณ 6.3 [17] แช่แผ่นอิเล็กทรอนิกส์โทรสปันไฟเบอร์ ลงในสารละลาย SBF ที่เตรียมได้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3, 5, และ 7 วัน ล้างแผ่นอิเล็กทรอนิกส์โทรสปันไฟเบอร์ด้วยน้ำ Milli Q และทำให้แห้งด้วยเครื่องทำให้แห้งสุญญากาศตลอดคืน หาปริมาณแคลเซียมที่คงเหลือในสารละลายด้วยเทคนิค ICP-OES



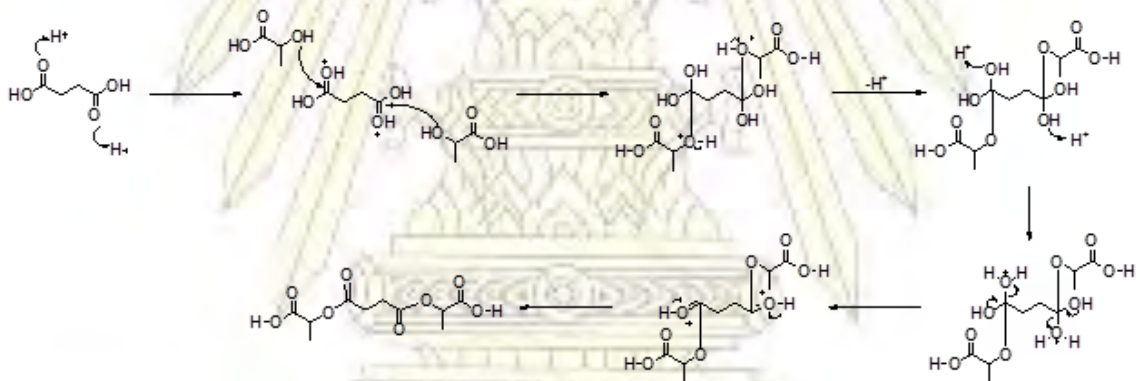
### บทที่ 3

#### ผลการทดลอง และวิเคราะห์ผลการทดลอง

#### 3.1 การสังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์ของ PLAdiCOOH

พอลิแล็กติกแอซิด ที่มีปลายเป็นหมู่คาร์บอกซิลิกทั้งสองด้าน สามารถสังเคราะห์ได้จากการใช้กรดแล็กติก และกรดซัคซินิกเป็นสารตั้งต้น และใช้  $\text{SnCl}_2$  และ  $p\text{TSA}$  เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยปฏิกิริยาจะเกิดในช่วงอุณหภูมิ 110 °C ถึง 180 °C มีสองขั้นตอน คือ dehydration และ polymerization จากผลการทดลองสามารถคำนวณร้อยละของผลได้จากการสังเคราะห์ PLAdiCOOH โดยนำน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้เทียบกับน้ำหนักของสารตั้งต้น ดังสมการ

$$\% \text{ yield} = \left[ \frac{\text{weight of dried PLAdiCOOH powder}}{(\text{mole of succinic acid} \times 84.09 \text{ g}) \times (\text{mole of L-lactic acid} \times 72.05 \text{ g})} \right] \times 100 \quad \text{สมการที่ (1)}$$



รูปที่ 3.1 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ PLAdiCOOH [6]

ขั้นตอนการเกิดของ PLAdiCOOH เกิดจากโมเลกุลของกรดซัคซินิกทำหน้าที่เป็นโมเลกุลตั้งต้น ในการทำให้สายโซ่ของพอลิเมอร์มีความยาวเพิ่มขึ้นจากการต่อกันของโมเลกุลของกรดแล็กติก ซึ่งผลที่ตามมาทำให้ได้สายของพอลิเมอร์ที่มีปลายทั้งสองด้านมีหมู่คาร์บอกซิลิกอยู่ โดยพันธะเอสเทอร์จะ

เกิดขึ้นทางด้านปลายทั้งสองด้านของโมเลกุลของกรดซัคซินิก จากการเกิดปฏิกิริยาของหมู่ไฮดรอกซิลของกรดแล็กติก ซึ่งในขณะเดียวกันโมเลกุลของกรดแล็กติกสามารถทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันกันเองทำให้ได้สายของพอลิเมอร์ที่มีความยาวเพิ่มขึ้น จากนั้นจะมาทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของกรดซัคซินิกเริ่มต้นโดยใช้หมู่ไฮดรอกซิลทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอกซิลของกรดซัคซินิกทางด้านปลายทั้งสองด้านตามที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น จึงทำให้ปลายสายของพอลิเมอร์มีหมู่คาร์บอกซิลิกอยู่ทั้งสองด้านสุดท้ายจะได้ผลิตภัณฑ์ออกมาเป็น PLAdiCOOH ซึ่งสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยใช้เทคนิค  $^1\text{H NMR}$

มวลโมเลกุลของ PLAdiCOOH คำนวณได้จาก เทคนิค  $^1\text{H NMR}$  โดยสัญญาณที่ 2.8 ppm คือ methylene protons ( $-\text{CH}_2-$ ) (c) ของกรดซัคซินิกใน PLAdiCOOH, สัญญาณฟีกของ methine protons ( $-\text{CH}-$ ) (a) และ methyl protons (b) จากหน่วยของกรดแล็กติกในสายโซ่ของพอลิเมอร์ที่ตำแหน่ง 5.2 และ 1.5 ppm ตามลำดับ มวลโมเลกุลของ PLAdiCOOH ที่คำนวณจากเทคนิค  $^1\text{H NMR}$  ด้วยสมการที่ 2 เท่ากับ 4,079 Da และเมื่อวิเคราะห์ด้วย GPC ได้มวลโมเลกุลของ PLAdiCOOH อยู่ที่ 6,854 Da, PDI=1.16 มวลโมเลกุลที่ได้จากทั้ง 2 เทคนิคมีค่าที่แตกต่างกันอาจเนื่องมาจากพบสัญญาณอ่อนในตำแหน่งที่ 4.2 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของ methine proton (d) ที่ติดอยู่ทางด้านปลายใกล้กับหมู่ไฮดรอกซิลของ PLA ที่ไม่ได้เกิดปฏิกิริยากับกรดซัคซินิก โดยฟีกดังกล่าวเป็นฟีกที่ไม่พึงประสงค์เนื่องจากแสดงถึงความไม่สมบูรณ์ของการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง ปลายหมู่คาร์บอกซิลิกของกรดซัคซินิก และปลายหมู่ไฮดรอกซิลของกรดแล็กติก เพราะฟีกที่เล็กลงไปทำให้เมื่อคำนวณมวลโมเลกุลของสารโดยเทคนิค  $^1\text{H NMR}$  ยากแก่การอินทิเกรตจึงอาจเกิดความคลาดเคลื่อนได้ ซึ่งจะพบฟีกนี้ในกรณีที่ใส่จำนวนโมลของกรดซัคซินิกลงไปปริมาณน้อย ทำให้โมเลกุลของกรดซัคซินิกไม่เพียงพอที่จะไปทำปฏิกิริยากับ PLA จึงทำให้มี PLA ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับกรดซัคซินิกหลงเหลืออยู่ จึงส่งผลให้ปรากฏฟีก ดังกล่าวออกมา โดย PLA ปกติที่ไม่ได้เกิดปฏิกิริยา คำนวณจากสมการที่ 3 มีค่าเท่ากับ 1.96 %

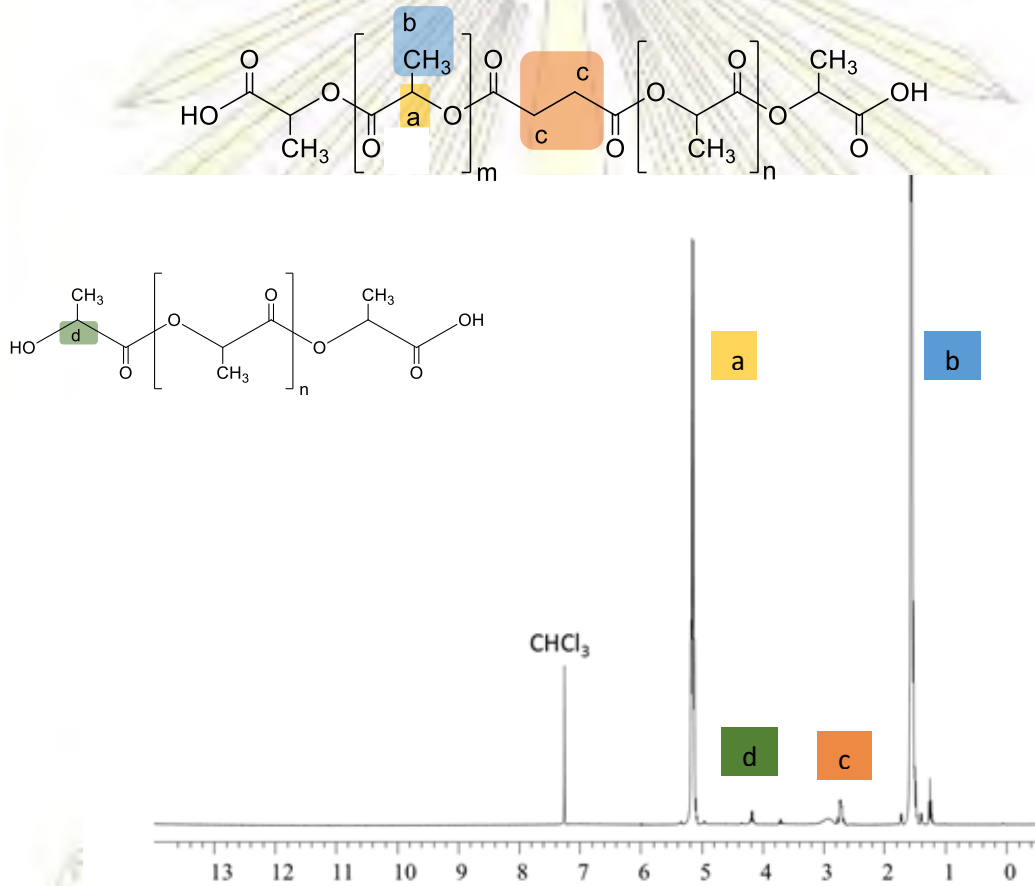
$$\bar{M}_n = \left[ \left( \frac{a}{d+(c/4)} \right) \times 72 \right] + 262 \quad \text{สมการที่ (2)}$$

เมื่อ a, c และ d เป็นสัญญาณของ methine proton ของกรดซัคซินิก, methylene proton จากหน่วยของกรดแล็กติกในสายโซ่ของพอลิเมอร์ที่เป็น PLAdiCOOH และ methine proton ของสาย

พอลิเมอร์ PLA ที่ไม่ได้ไป ทำปฏิกิริยากับกรดซัคซินิกตามลำดับ (รูปที่ 3.2) ส่วน 262 g/mol คือ น้ำหนักของโมเลกุลรวมระหว่างกรดซัคซินิกและกรดแล็กติกบนสายของพอลิเมอร์โดยมาจากหน่วยของกรดซัคซินิก (84 g/mol) และหน่วยของกรดแล็กติกที่อยู่ทางตรง ปลายทั้งสองด้านของสายโซ่ (178 g/mol) ที่ประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิลนั่นเอง

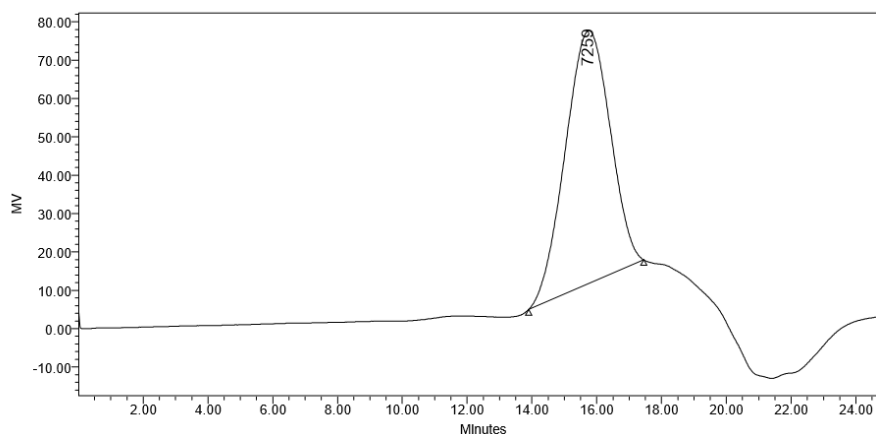
$$\% \text{ Normal PLA chain} = \left[ \frac{d}{d+(c/4)} \right] \times 100 \quad \text{สมการที่ (3)}$$

เมื่อ d คือ methane proton ของสายโซ่ PLA ปกติ และ d+(c/4) คือ จำนวนทั้งหมดของสายโซ่ PLA ปกติ และ สาย PLAdiCOOH



รูปที่ 3.2 <sup>1</sup>H NMR สเปกตรัม ของ PLAdiCOOH ใน CDCl<sub>3</sub>





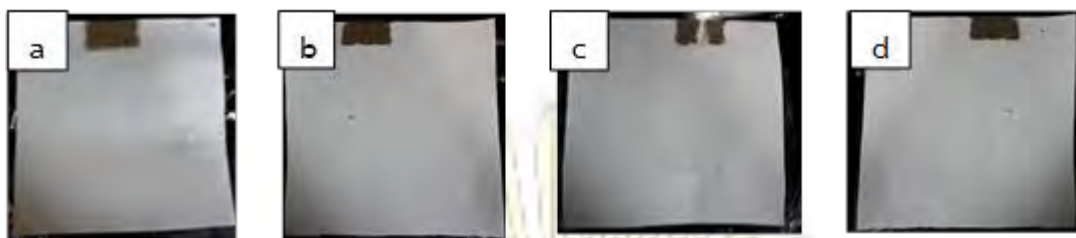
Mn	Mw	MP	Mz	MZ+1	PDI
6859	8001	7259	9285	10648	1.16

รูปที่ 3.3 โครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์ด้วย GPC ละลายด้วย THF

### 3.2 การเตรียมและพิสูจน์เอกลักษณ์ของอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์

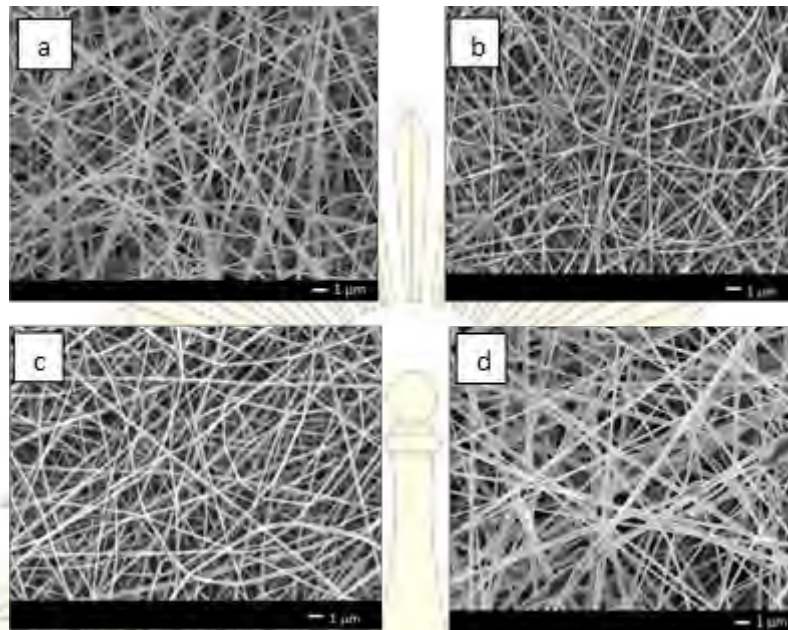
#### 3.2.1 ลักษณะของอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์

เทคนิค Electrospinning เป็นเทคนิคที่ถูกใช้อย่างกว้างขวางเพื่อสร้างเส้นใยระดับนาโนเมตร ในงานวิจัยนี้ได้มีการเตรียมเส้นใยอิเล็กโทรสปินจาก PLAdiCOOH ผสมกับพอลิแล็กติกแอซิดทางการค้า (มวลโมเลกุลสูง) ที่มีอัตราส่วนตามน้ำหนักของ PLA:PLAdiCOOH คือ 100:10, 100:30, 100:50, และ 100:70 โดยใช้  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  ในอัตราส่วน 3:1 เป็นตัวทำละลาย ซึ่งการเติม MeOH ลงไปเป็นการเพิ่มการนำไฟฟ้าให้แก่สารละลายพอลิเมอร์ และ MeOH สามารถระเหยออกมาได้ง่ายจากอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ อิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ที่ได้มีลักษณะที่บางมากและมีสีขาว (รูปที่ 3.4)



รูปที่ 3.4 อิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆ (a) 100:10, (b) 100:30, (c) 100:50 และ (d) 100:70

เมื่อนำอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ที่ได้ไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) พบว่าเส้นใยมีลักษณะเรียบ และมีเม็ดปมเล็กน้อย (รูปที่ 3.5) อาจเกิดจากการให้ความต่างศักย์ที่มากเกินไป เนื่องจากเมื่อความต่างศักย์สูงจะให้เส้นใยที่มีขนาดเล็กแต่ก็จะมีเม็ดปมเกิดขึ้นมาด้วย หรืออาจเกิดจากปริมาณสารละลายที่ปลายเข็มโลหะมีปริมาณมากทำให้ตัวทำละลายมีระยะเวลาในการระเหยออกจากเส้นใยไม่เพียงพอ จึงทำให้เส้นใยเกิดการรวมตัวเข้าด้วยกัน เมื่อเวลาที่ทำ Electrospinning จึงควรเช็กลูกของเส้นใยที่ปลายเข็มโลหะออกเป็นระยะ คาดว่าเมื่อเปลี่ยนอัตราส่วนระหว่าง PLA/PLAdiCOOH มีแนวโน้มว่าความหนืดจะลดลงเมื่อเติม PLAdiCOOH เพราะเป็นสารโมเลกุลเล็ก จะทำให้การไหลของ PLA ซึ่งเป็นสารโมเลกุลใหญ่ไหลง่ายขึ้น เนื่องจาก PLAdiCOOH จะแทรกอยู่ในโมเลกุลของ PLA แต่งานวิจัยนี้ไม่ได้ทำการวัดในส่วนนี้



**รูปที่ 3.5** ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH อัตราส่วนโดยน้ำหนัก เท่ากับ (a) 100:10, (b) 100:30, (c) 100:50, และ (d) 100:70 (กำลังขยาย 5000x, scale bar = 1 ไมโครเมตร)

### 3.3 การยึดติดโคโชนบนแผ่นอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ที่เตรียมได้

Primary amino group ( $-NH_2$ ) ของโคโชนจะถูก protonated รับโปรตอน ( $H^+$ ) มาจากกรดจึงอยู่ในรูปของไอออน  $-NH_3^+$  ทำให้โคโชนสามารถละลายได้ในสารละลายกรด

การ grafting โคโชนลงบนพื้นผิวของอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ PLA/PLAdiCOOH เป็นการสร้างพันธะเอไมด์ระหว่าง carboxyl group ของ PLA/PLAdiCOOH กับ amino group ของโคโชน โดยใช้รีเอเจนต์คู่ควบ 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) เป็นตัวช่วยในการสร้างพันธะ

โดยคำนวณปริมาณโคโชนที่ใช้ (g) ได้จากสมการที่ 4 ดังนี้

$$M = [M_{NH_2} + (100-b/b)M_{NHCOCH_3}]a.....$$

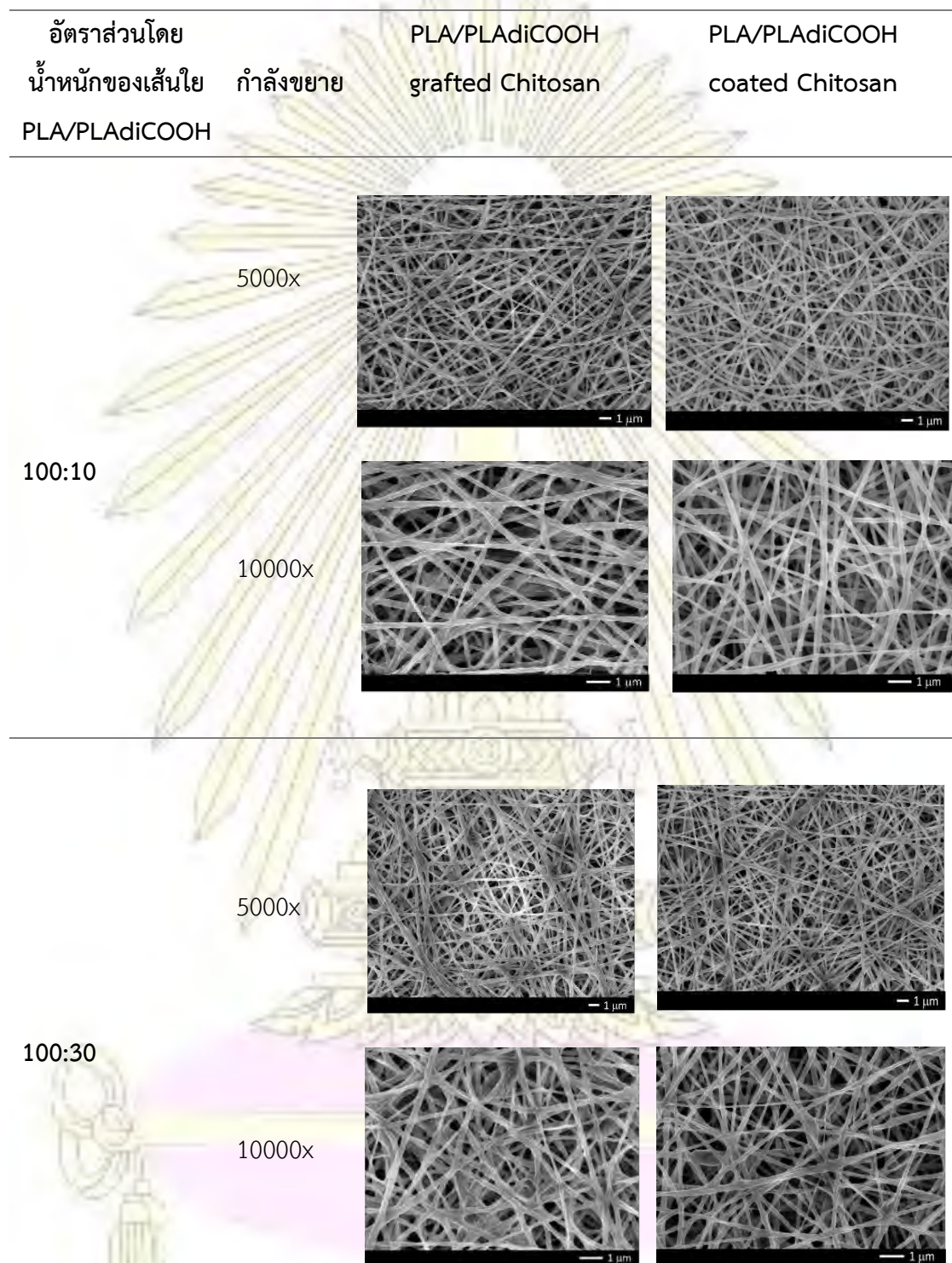
สมการที่ (4)

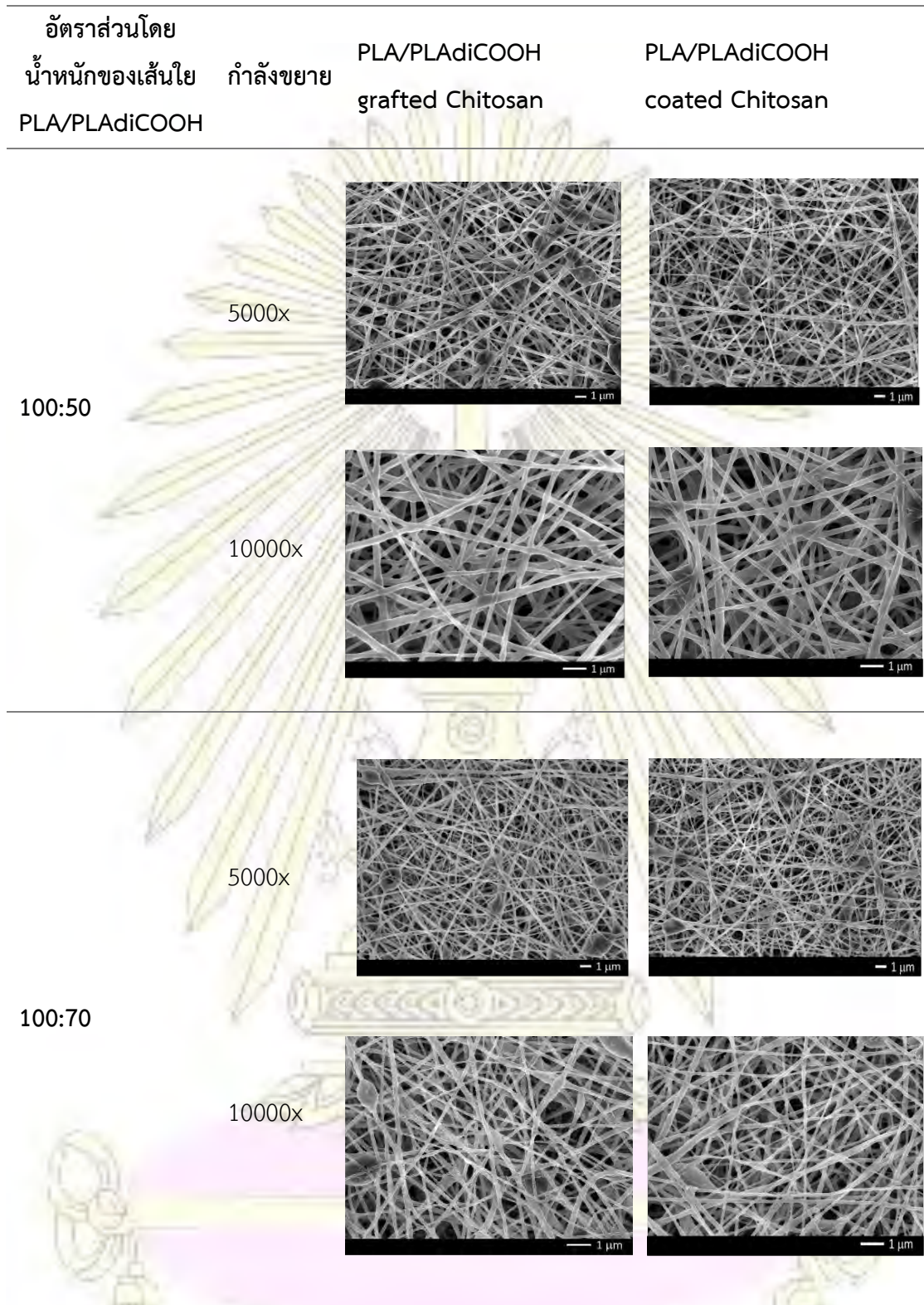
โดย M	=	น้ำหนัก (g) ของไคโทซานที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา
$M_{\text{NH}_2}$	=	น้ำหนักโมเลกุลของหน่วยย่อย glucosamine = 162
$M_{\text{NHCOCH}_3}$	=	น้ำหนักโมเลกุลของหน่วยย่อย <i>N</i> -acetyl glucosamine = 204
a	=	จำนวนโมลของ repeat unit แบบ glucosamine ทั้งหมดในระบบ
b	=	%deacetylation ของไคโทซาน (งานวิจัยนี้ใช้ไคโทซานที่มี %deacetylation = 92 )

ซึ่งจำนวนโมล a ที่ใช้ ได้กำหนดไว้เท่ากับ 30 เท่าของจำนวนโมลของหมู่คาร์บอกซิลิก (-COOH) ใน PLA/PLAdiCOOH เพื่อให้มีปริมาณไคโทซานมากเกินไปที่จะทำปฏิกิริยาในลักษณะวิวิธพันธุ์ (heterogeneous) ระหว่างเส้นใย PLA และสารละลายไคโทซาน

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆ ก่อนและหลังจากการ grafting และ coating ด้วยไคโทซาน ดังที่แสดงในตารางที่ 3.1 พบว่าอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH มีพื้นผิวที่เรียบกว่าเมื่อเทียบกับที่ถูกกราฟท์ (graft) โดยใช้ EDC/NHS เพื่อสร้างพันธะเอไมด์ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลิกของ PLA/PLAdiCOOH กับหมู่เอมิโนของไคโทซาน และที่เคลือบด้วยไคโทซาน พื้นผิวของอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์จะมีลักษณะหยาบขึ้นเนื่องจากพื้นผิวของเส้นใยมีไคโทซานเคลือบอยู่ และขนาดของเส้นใยก่อนและหลังที่ยึดติดด้วยไคโทซานไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ตามค่า diameter ที่แสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 เอสอีเอ็มไมโครกราฟของ อิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆหลังการ grafting และ coating ด้วยไคโตซาน

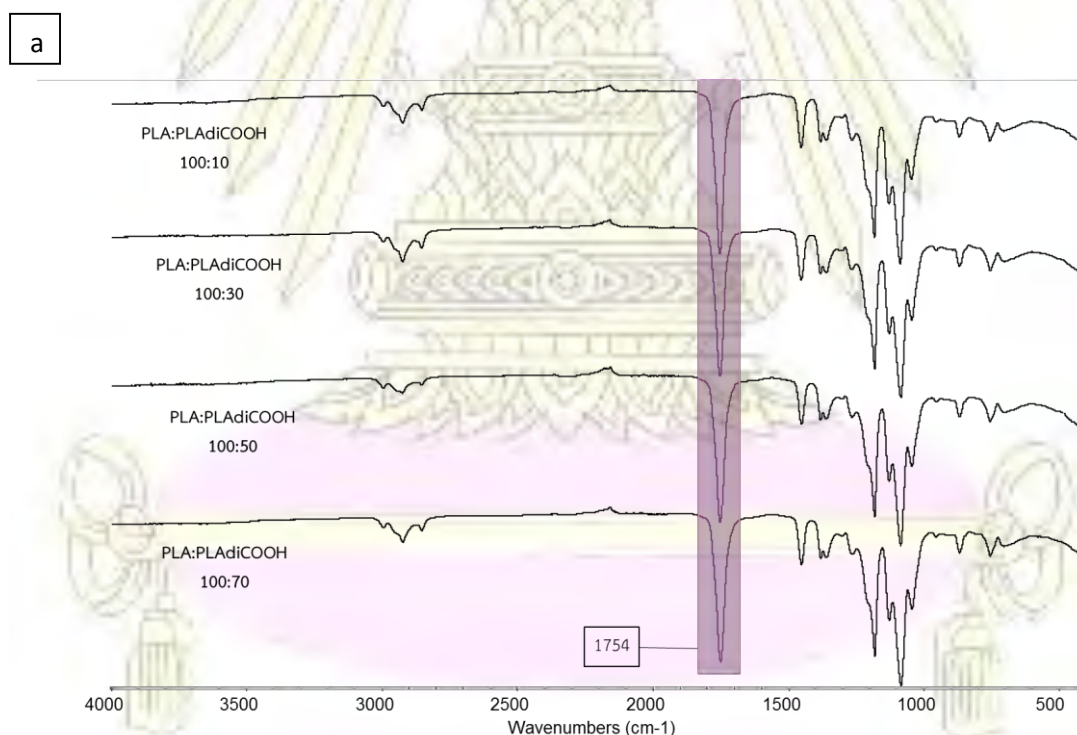


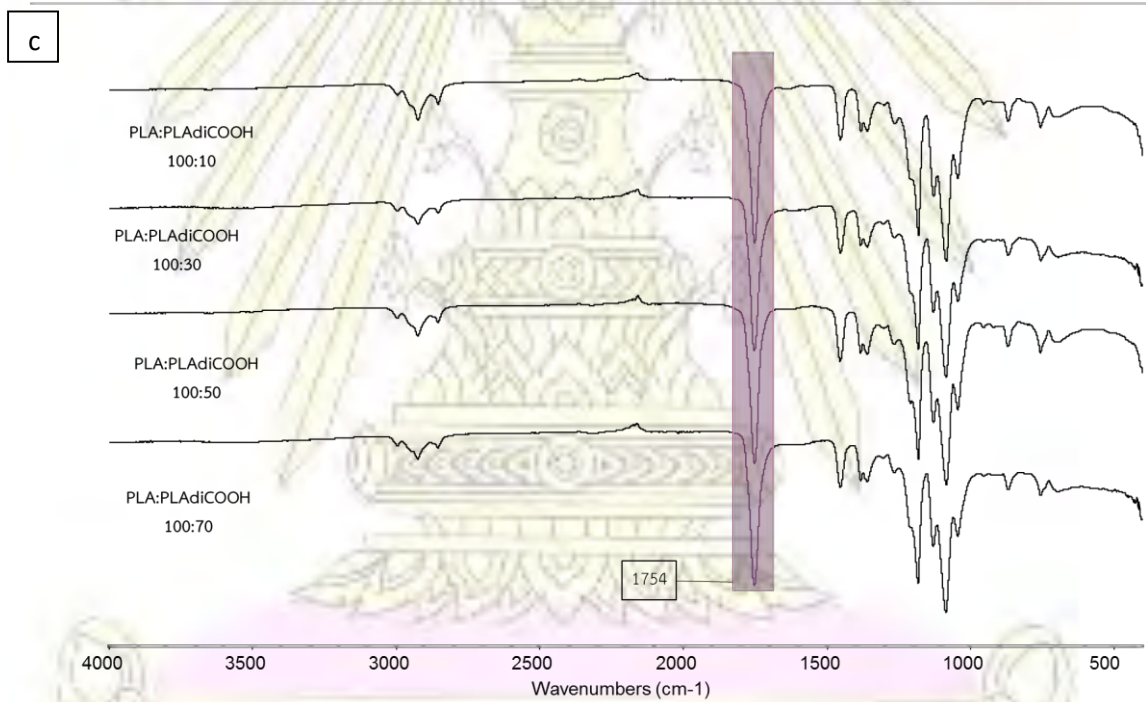
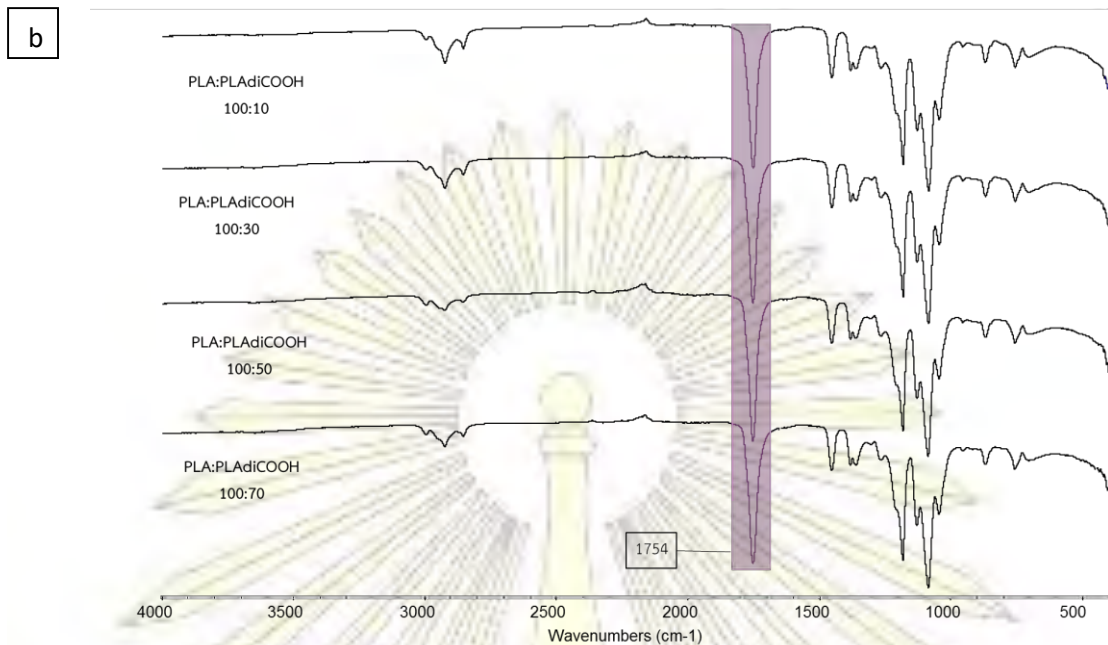


ตารางที่ 3.2 แสดงค่า diameter ของอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์

อัตราส่วน	PLA:PLAdiCOOH ( $\mu\text{m}$ )	PLA:PLAdiCOOH grafted Chitosan (EDC) ( $\mu\text{m}$ )	PLA:PLAdiCOOH coated chitosan ( $\mu\text{m}$ )
100:10	0.26 $\pm$ 0.01	0.25 $\pm$ 0.11	0.24 $\pm$ 0.06
100:30	0.25 $\pm$ 0.04	0.25 $\pm$ 0.04	0.24 $\pm$ 0.02
100:50	0.27 $\pm$ 0.007	0.24 $\pm$ 0.04	0.26 $\pm$ 0.04
100:70	0.25 $\pm$ 0.04	0.23 $\pm$ 0.03	0.24 $\pm$ 0.003

จากรูปที่ 3.6 (a) แสดง IR spectrum ของอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆ พบพีกที่ 2980-2850  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นพีก C—H stretch ของ methyl และ methane, 1754  $\text{cm}^{-1}$  เป็นพีกของ ester group (C=O stretch) ของ PLA/PLAdiCOOH และหลังจากการ grafting (b) และ coating (c) ด้วยไคโทซานแล้ว กลับไม่พบพีกของพันธะเอไมด์ (ที่ 1651 และ 1577  $\text{cm}^{-1}$ ) อย่างชัดเจน คาดว่า ปริมาณไคโทซานที่อยู่บนเส้นใยมีน้อยมาก





**รูปที่ 3.6** แสดง IR spectrum ของ (a) อิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆ, (b) อิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆ coating ด้วยไคโทซาน และ (c) อิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆ grafting ด้วยไคโทซาน



### 3.4 ทดสอบการชักนำให้เกิดแคลเซียมฟอสเฟต ของแผ่นอิเล็กทรอนิกส์สปันไฟเบอร์

จากการศึกษาการดูดซับแคลเซียมไอออนบนพื้นผิวเส้นใยพอลิเมอร์ ตารางที่ 3.3 และ 3.4 แสดงผลของแคลเซียมไอออนที่ถูกดูดซับบนแผ่นอิเล็กทรอนิกส์สปันไฟเบอร์ PLA/PLA-diCOOH ที่ทำการ grafting และ coating กับไคโทซาน บนแผ่นวงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.2 เซนติเมตร โดยแผ่นอิเล็กทรอนิกส์สปันไฟเบอร์ถูกแช่ลงใน simulated body fluid หรือ SBF ซึ่งเป็นสารละลายที่จำลองของเหลวที่อยู่ในร่างกายมนุษย์ มี pH เท่ากับ 6.3 และปริมาณแคลเซียมเริ่มต้นเข้มข้น  $2.01 \text{ mmol/dm}^3$  ที่เลือกค่า pH เท่านี้เนื่องจาก ถ้าสารละลายมีความเป็นเบสจะเป็นการเพิ่มไฮดรอกไซด์ (-OH) ทำให้แคลเซียมไอออนตกตะกอนได้ ทำให้ไม่สามารถวัดได้ว่าแคลเซียมไอออนที่ถูกดูดซับบนพื้นผิวพอลิเมอร์มาจากสารละลายแคลเซียมที่นำมาแช่จริงหรือไม่ อาจจะเป็นตะกอนแคลเซียมมาเกาะบนพื้นผิวตั้งแต่เริ่มแช่ทำให้ค่าที่ได้ไม่น่าเชื่อถือ ในงานวิจัยนี้ใช้วิธีการทดสอบทางอ้อมในการวัดปริมาณแคลเซียมไอออนโดยใช้เทคนิค ICP-OES ตรวจวัดสารละลายแคลเซียมไอออนที่เตรียมไว้ก่อนและหลังแช่อิเล็กทรอนิกส์สปันไฟเบอร์ ซึ่งมีสมมติฐานว่าปริมาณแคลเซียมไอออนที่พื้นผิวพอลิเมอร์ดูด



ตารางที่ 3.3 แสดงค่าการดูดซับของแคลเซียมไอออนบนพื้นผิวอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆหลังจากการ grafting ด้วยไคโตซาน

เวลา (วัน)	PLA/PLAdiCOOH grafted Chitosan	ความเข้มข้นของ $Ca^{2+}$ ที่เหลืออยู่ (mM)	% การดูดซับ
3	100:10	1.86	7.24
	100:30	1.89	5.97
	100:50	1.94	3.73
	100:70	1.86	7.26
5	100:10	1.08	46.16
	100:30	0.90	55.11
	100:50	1.09	45.55
	100:70	1.01	49.70
7	100:10	0.93	53.48
	100:30	0.75	62.64
	100:50	0.90	55.26
	100:70	1.11	44.62

ตารางที่ 3.4 แสดงค่าการดูดซับของแคลเซียมไอออนบนพื้นผิวอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆหลังจากการ coating ด้วยไคโทซาน

เวลา (วัน)	PLA/PLAdiCOOH coated Chitosan	ความเข้มข้นของ $Ca^{2+}$ ที่เหลืออยู่ (mM)	% การดูดซับ
3	100:10	1.72	14.46
	100:30	1.67	17.08
	100:50	1.79	11.05
	100:70	1.84	8.73
5	100:10	1.80	10.56
	100:30	1.47	27.00
	100:50	0.98	51.20
	100:70	1.22	39.56
7	100:10	1.30	35.36
	100:30	1.08	46.16
	100:50	1.46	27.28
	100:70	0.94	53.05

ตารางที่ 3.5 แสดงค่าการดูดซับของแคลเซียมไอออนบนพื้นผิวอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ที่อัตราส่วนต่างๆ

เวลา (วัน)	PLA/PLAdiCOOH	ความเข้มข้นของ $\text{Ca}^{2+}$ ที่เหลืออยู่ (mM)	% การดูดซับ
3	100:10	1.99	0.60
	100:30	1.73	14.02
	100:50	1.88	6.42
	100:70	2.00	0.50
5	100:10	1.53	23.88
	100:30	1.58	21.42
	100:50	1.49	25.67
	100:70	1.79	11.12
7	100:10	2.01	0.00
	100:30	1.60	20.52
	100:50	1.30	35.52
	100:70	1.43	29.03

%การดูดซับของแคลเซียมไอออนบนพื้นผิวของพอลิเมอร์ คำนวณได้จาก

$$\% \text{ Adsorption of } \text{Ca}^{2+} = \left[ \frac{C - C'}{C} \right] \times 100 \quad \text{สมการที่ (5)}$$

โดย

C = ความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  เริ่มต้น (mM)

C' = ความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  สุดท้าย (mM)

ตัวอย่างแสดงการคำนวณ %การดูดซับปริมาณ  $\text{Ca}^{2+}$

แคลเซียมไอออนบนพื้นผิวอิเล็กทรอนิกส์โพรสปีนไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH หลังจากการ grafting ด้วยไคโทซาน ในอัตราส่วน 100:10 เป็นเวลา 3 วัน

$$\% \text{ การดูดซับ} = \left[ \frac{2.01 - 1.68}{2.01} \right] \times 100 = 7.24 \%$$

จากค่า % การดูดซับ ที่คำนวณได้พบว่าการลดลงของปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในสารละลาย หลังแช่แผ่นอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ PLA/PLAdiCOOH ทั้งgrafting และcoating กับไคโทซานสามารถดูดซับแคลเซียมได้ดีขึ้น เมื่อเทียบกับแผ่นอิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ที่ไม่มีไคโทซานยึดติดอยู่

จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของการดูดซับแคลเซียมไฮดรอกไซด์บนพื้นผิว อิเล็กโทรสปินไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH หลังการ grafting และcoating ด้วยไคโทซาน ว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของ PLAdiCOOH จะทำให้ไคโทซานมายึดเกาะบนเส้นใย และสามารถเร่งการจับตัวของแคลเซียมไฮดรอกไซด์บนพื้นผิวเส้นใยได้มากยิ่งขึ้น และสาเหตุที่ผลการทดลองที่ได้มีความคลาดเคลื่อน อาจเกิดจากในขั้นตอนอิเล็กโทรสปินนิ่ง คือความหนาแน่นของเส้นใยในแต่ละตำแหน่งของแผ่นวัสดุรองรับอาจไม่เท่ากัน ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนได้

## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

พอลิแล็กติกไดคาร์บอกซิลิก (PLAdiCOOH) คือพอลิเมอร์ที่มีหมู่คาร์บอกซิลิกที่ปลายสายทั้งสองข้าง ซึ่งสังเคราะห์มาจากกรดแล็กติกและกรดซัคซินิก โดยใช้  $\text{SnCl}_2$  และ *p*TSA เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การเตรียมเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์จาก PLAdiCOOH ผสมกับพอลิแล็กติกแอซิดทางการค้า (มวลโมเลกุลสูง) ที่มีอัตราส่วนตามน้ำหนักของ PLA:PLAdiCOOH 100:10, 100:30, 100:50, และ 100:70 โดยใช้  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  ในอัตราส่วน 3:1 เป็นตัวทำละลาย เส้นใยที่ได้มีสีขาว และมีลักษณะบางมาก เมื่อนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดพบว่าเส้นใยมีลักษณะเรียบและเกิดเม็ดปมเล็กน้อย การยึดติดโคโธซานบนแผ่นอิเล็กทรอนิกส์ไฟเบอร์ของ PLA/PLAdiCOOH ในการทดลองนี้เมื่อใช้รีเอเจนต์คู่ควบ 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) สำหรับยึดติดโคโธซาน พบว่า ไม่พบฟีกของพันธะเอไมด์ อย่างชัดเจน คาดว่า ปริมาณโคโธซานที่อยู่บนเส้นใยมีน้อยมาก โดยวิเคราะห์ด้วย FT-IR และเมื่อไม่ใช้สาร EDC พบว่า โคโธซานสามารถถูกเคลือบลงบนเส้นใยได้ ขนาดของเส้นใยที่ได้ก่อนและหลังยึดติดด้วยโคโธซานไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ การทดสอบการชักนำให้เกิดแคลเซียมฟอสเฟตบนพื้นผิวของแผ่นอิเล็กทรอนิกส์ไฟเบอร์ที่เตรียมได้ โดยใช้เทคนิค ICP-OES ตรวจวัดปริมาณแคลเซียมไอออนที่หายไปจากสารละลาย SBF ซึ่งเป็นสารละลายที่จำลองของเหลวในร่างกายมนุษย์ พบว่าโคโธซานสามารถเร่งการดูดซับแคลเซียมได้ดีขึ้น และเมื่อปริมาณแคลเซียมที่ถูกดูดซับจะมากขึ้นเมื่อแช่ในเวลาที่ยาวนานขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

- [1] Chi, C. L.; Shu, J. F.; Yu, C. L.; I, K. Y.; Yesong, G. Chitosan-coated Electrospun PLA Fibers for Rapid Mineralization of Calcium Phosphate. *Int. J. Biol. Macromolec.* **2014**, *68*, 39-47.
- [2] Schaub, N. J.; Britton, T.; Rajachar, R.; Gillbert, R. J. Engineered Nanotopography on Electrospan PLLA Microfibers Modifies Raw 264.7 Cell Response. *Appl. Mater. Interfaces.* **2013**, *5*, 10173-10184.
- [3] Bhattarai, S. R.; Bhattarai N.; Viswanathamurthi, P.; Ho K. Y.; Pyoung H. H.; Hak Y. K. Hydrophilic Nanofibrous Structure of Polylactide; Fabrication and Cell Affinity. *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* **2006**, *78A*, 247-257.
- [4] Salehi, M.; Bastami, F. Characterization of Wet-electrospun Poly( $\epsilon$ -caprolactone)/Poly(L-lactic) Acid with Calcium Phosphates Coated with Chitosan for Bone Engineering. *Regeneration, Reconstruction & Restoration.* **2016**, *1(2)*, 69-74.
- [5] Venkatesan, V.; Se, K. K. Chitosan Composites for Bone Tissue Engineering-An Overview. *Mar. Drugs.* **2010**, *8*, 2252-2266.
- [6] Kaewprasertsri, W. Positively Charged Poly(lactic acid) Fiber Mat and Biological Response. Master's Thesis, Petrochemistry and Polymer Science, Faculty of Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, 2015.
- [7] Groot, W.; Van, K. J.; Sliekersl, O.; De, V. S. Production and Purification of Lactic Acid and Lactide in Poly(Lactic Acid). *John Wiley & Sons, Inc.* **2010**, 1-18.
- [8] อมรรัตน์ เลิศวรสิริกุล. พอลิแลกติกแอซิด : พอลิเอสเทอร์ จากทรัพยากรที่สร้างทดแทนใหม่ได้. *วิศวกรรมสารมก.* 2554, 99-110.
- [9] Shigehiro, H. Chitin and Chitosan as Novel Biotechnology Materials. *Poly int.* **1999**, *48*, 732-734.
- [10] Feredon, S.; Janak, V. A.; You, J. J. Food applications of chitin and chitosans. *Trends Food Sci Tech.* **1999**, *10*, 37-51.

- [11] Tantithumrongwut, A. Preparation and properties of electrospun chitosan/poly(lactic acid) nanofiber for potential application as wound dressing. Master's Thesis, Polymer Science and Engineering, Faculty of Engineering, Silpakorn University, 2012.
- [12] Gentsch, R.; Pippig, F.; Schmidt, S.; Cernoch, P.; Polleux, J.; Börner, H.G. Single-Step Electrospinning to Bioactive Polymer Nanofibers. *Macromolecules*. **2011**, *44*(3), 453-461.
- [13] Agarwal, S., Greiner, A., and Wendorff, J.H. Functional Materials by Electrospinning of Polymers. *Prog. Polym. Sci.* **2013**, *38*(6), 963-991.
- [14] Mattana, G.; Briand, D.; Marette, A.; Quintero, A.; Rooij, N. F. Poly(lactic Acid) as a Biodegradable Material for All-Solution-Processed Organic Devices. *Org Electron*. **2015**, *17*, 77-86.
- [15] Jing, L.; Ming, K.; Xiao, J. C.; Qi, F. D.; Xuan, Z.; Ya, N. W.; Xi, G. C. Preparation of biocompatible chitosan grafted poly(lactic acid) nanoparticle. *Int. J. Biol. Macromolec.* **2012**, *51*, 221-227.
- [16] Vijithuttagune, T. Preparation and Characterization of Blends of Chitosan and Tyrosine-derived Polycarbonate. Master's Thesis, Petrochemistry and Polymer Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, 2002.
- [17] Tadashi, K.; Hiroaki, T. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials*. **2006**, *27*, 2907-2915.



## ประวัติผู้วิจัย

นางสาวเปรมสุภา เหลือพงศ์ เกิดเมื่อวันที่ 3 เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2537 ที่จังหวัดยะลา สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมตอนปลายจากโรงเรียนจุฬารามราชวิทยาลัย สตูล จังหวัดสตูล เมื่อปีการศึกษา 2555 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2556 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 289 ถนนเวฬุวัน ตำบลสะเตง อำเภอเมือง จังหวัดยะลา รหัสไปรษณีย์ 95000 อีเมล paemsupa@gmail.com

