รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

“ การเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่มีอนุภาคเงินนาโน ”

(Preparation of Hydrogel Film with Silver Nano-Particles)

โดย

สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะผู้วิจัย

นางสาวกนกวรรณ แสงเกียรติยุทธ	หัวหน้าโครงการ
นางสาวปราณี รัตนวลีดิโรจน์	ผู้ร่วมวิจัย
นายธนิต สิงหบุญพงศ์	ผู้ร่วมวิจัย

เมษายน 2553

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาฯ ที่ให้การสนับสนุนการดำเนินงานวิจัยและให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ ตลอดระยะเวลาการดำเนินโครงการ ขอขอบคุณ คุณสุทธิรัตน์ ลิศนันท์ ที่เป็นกำลังสำคัญที่ทำให้การดำเนินโครงการสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของผง ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ และห้องปฏิบัติการจุลทรรศน์อิเลคตรอน ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาฯ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ และให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ต่อการวิเคราะห์ข้อมูล

ขอขอบคุณ คณะผู้ประเมินผลงานวิจัยของสถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ ที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะและคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนางานวิจัย ขอขอบคุณบุคลากรของสถาบันวิจัยโลหะและวัสดุทุกท่านที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และเนื่องจากการโครงการวิจัย “การเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่มีอนุภาคเงินนาโน” ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยทั้งหมดจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล ประจำปีงบประมาณ 2552 คณะผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณอย่างสูงมา ณ ที่นี้ด้วย

คณะผู้วิจัย

เมษายน 2553

บทคัดย่อ

รายงานวิจัยฉบับนี้ครอบคลุมเนื้อหาการวิจัยในปีที่ 1 ของโครงการ “การเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่มีอนุภาคเงินนาโน” ซึ่งเป็นโครงการวิจัยต่อเนื่อง 2 ปี ที่มีเป้าหมายของโครงการในการเตรียมไฮโดรเจลที่มีสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์สำหรับการนำไปพัฒนาสู่การใช้งานด้านแผ่นปิดแผล สำหรับการดำเนินงานในโครงการปีที่ 1 จะมุ่งเน้นทำการศึกษาในกระบวนการเตรียมไฮโดรเจลจากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) และการเตรียมอนุภาคเงินนาโน

ในกระบวนการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลนั้น CMC จะทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันกับกรดซิทริกซึ่งทำหน้าที่เป็นสารเชื่อมโยง ส่งผลให้เกิดโครงสร้างตาข่ายขึ้นภายในโมเลกุล CMC ในการทดลองนี้ได้ทำการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลด้วยวิธีการเทแบบ และทำการศึกษาปัจจัยที่สำคัญต่างๆ ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลของ CMC ความเข้มข้นของสารเชื่อมโยง และภาวะในการอบผนึก ซึ่งพบว่า ภาวะในการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่ให้สมบัติทั้งด้านการดูดซับน้ำ การละลายน้ำ และสมบัติเชิงกลที่เหมาะสม คือ การเตรียมโดยใช้ CMC น้ำหนักโมเลกุล 250,000 ความเข้มข้น 2% ร่วมกับกรดซิทริกความเข้มข้น 5% (โดยน้ำหนักของ CMC) และทำการอบผนึกที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วินาที ทั้งนี้เมื่อนำไปทำการทดสอบความปลอดภัยในเบื้องต้นพบว่า แผ่นฟิล์มดังกล่าวมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์ที่ใช้ในการทดสอบ

สำหรับการเตรียมอนุภาคเงิน ใช้วิธีการเตรียมด้วยกระบวนการทางเคมี โดยใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเป็นสารตั้งต้น และใช้พอลิเอทิลีนไกลคอล (PEG) เป็นสารรีดิวซ์ โดยได้ทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยในด้านระยะเวลาการทำปฏิกิริยาและความเข้มข้นของพอลิไวนิลไพโรลิโดน (PVP) ผลจากการวิเคราะห์สารละลายคอลลอยด์ของอนุภาคเงินที่เตรียมได้ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปคโทรสโกปี พบว่า มี plasmon band ปรากฏที่บริเวณความยาวคลื่นประมาณ 420 นาโนเมตร ซึ่งเป็นการยืนยันว่ามีอนุภาคเงินอยู่ในสารละลาย โดยเมื่อทำการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่า อนุภาคเงินดังกล่าวมีขนาดอยู่ในช่วงไม่เกิน 100 นาโนเมตร ทั้งนี้ผลจากการทดสอบได้แสดงให้เห็นว่า สารละลายอนุภาคเงินที่เตรียมได้เป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

สำหรับกระบวนการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่มีอนุภาคเงิน และการปรับปรุงสมบัติของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลนั้น ผู้วิจัยจะดำเนินการในโครงการปีที่ 2 ต่อไป

Abstract

The first year report of the two years project on "Preparation of Hydrogel Film with Silver Nano-Particles" aims at preparation of antimicrobial hydrogel as a substitute for wound dressing. The report focuses on the preparative steps of carboxymethylcellulose (CMC) hydrogels and silver nanoparticles.

In CMC hydrogels preparation process using citric acid as crosslinking agent, CMC was subjected to an esterification reaction to produce network structure of hydrogel. The hydrogel films were cast from aqueous polymer solutions and several factors such as molecular weight of CMC, concentration of crosslinking agent and curing condition were studied. It was found that using 2% of 250,000 MW CMC, 5% citric acid (on weight of CMC) and curing at 160°C for 120 seconds; the hydrogel film composed the compromise properties between water absorption, water solubility and mechanical properties. The *in vitro* cytotoxicity test revealed that CMC hydrogel had a good biocompatibility.

Silver nanoparticles were synthesized by reduction of silver nitrate with polyethyleneglycol (PEG) as reducing agent. Effects of duration of the reaction and quantities of stabilizer, polyvinylpyrrolidone (PVP), were investigated. UV-Vis spectrum for colloidal silver solutions contained a strong plasmon band near 420 nm, which confirmed silver nanoparticles in the aqueous phase. The information of silver particles was also provided by electron microscopy technique. The results showed that diameter size of silver particles was less than 100 nm. Antimicrobial studies indicated that these nanoparticles were very active as antimicrobial agents.

Preparation procedures of using silver nanoparticles in CMC hydrogel and improvement of hydrogel film properties will be studied further in the second year of this research.

สารบัญเรื่อง

หน้า

กิตติกรรมประกาศ.....i
บทคัดย่อ.....ii
Abstract.....iii
สารบัญเรื่อง.....iv
สารบัญตาราง.....v
สารบัญรูป.....vi
บทที่ 1 บทนำ.....1
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย.....5
- สารเคมี.....5
- วิธีการทดลอง.....5
- การวิเคราะห์ทดสอบ.....7
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง.....12
- ผลการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล.....12
- ผลการเตรียมอนุภาคเงิน.....30
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง.....40
บรรณานุกรม.....41
ประวัติคณะผู้วิจัย.....44

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 ค่าการดูดซับน้ำและค่าการละลายน้ำของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่เตรียมโดยใช้ CMC น้ำหนักโมเลกุลต่างๆ……17
ตารางที่ 3.2 จำนวนเซลล์ Human skin fibroblast ที่มีชีวิตภายหลังการเพาะเลี้ยงกับสารสกัดจากตัวอย่างเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง……..……30
ตารางที่ 3.3 ผลการวัดขนาดอนุภาคของสารละลายด้วยเครื่อง Zetasizer……....37
ตารางที่ 3.4 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของอนุภาคเงินความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งได้จากการเตรียมโดยใช้ PVP ปริมาณความเข้มข้น 1.6 และ3.2%.....38

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1.1 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสและคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส……..……..……..2
รูปที่ 2.1 ขั้นตอนการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล……...……..……6
รูปที่ 2.2 เครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาค Zetasizer Nano…….……..10
รูปที่ 3.1 ค่าความหนืดของสารละลาย CMC น้ำหนักโมเลกุลต่างๆ ที่ความเข้มข้น 2%.....12
รูปที่ 3.2 ค่าความหนืดของสารละลาย 2% CMC (น้ำหนักโมลกุล 250,000) เมื่อนำมาผสมร่วมกับ กรดซิทริกที่ความเข้มข้นต่างๆ.....13
รูปที่ 3.3 ลักษณะแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่เตรียมได้ขณะแห้งและหลังจากตัดแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล ขนาด 2 x 2 เซนติเมตรไปแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (b)……...14
รูปที่ 3.4 FT-IR สเปคตรัมของแผ่นฟิล์ม CMC ที่เตรียมโดยใช้ crosslinking agent ที่ระดับความ เข้มข้นต่างๆ.....……..…15
รูปที่ 3.5 ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างโมเลกุล CMC และกรดซิทริก และโครงสร้างตาข่าย ของโมเลกุลไฮโดรเจล CMC …….....……..16
รูปที่ 3.6 ค่าการละลายน้ำและค่าการดูดซับน้ำของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่เตรียมโดยใช้ ปริมาณความเข้มข้นกรดซิทริกที่ระดับต่างๆ ก่อนอบผนึก และหลังการอบผนึกที่ อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วินาที……...……...…..18
รูปที่ 3.7 ค่าการดูดซับน้ำและค่าการละลายน้ำของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่เตรียมโดยใช้ กรดซิทริกความเข้มข้น 5% และ7% หลังการอบผนึกที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ……..…….21
รูปที่ 3.8 ค่าความแข็งแรงต่อแรงดึงและเปอร์เซ็นต์การยืดตัวของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่ใช้กรดซิทริกความเข้มข้น 5% เป็น crosslinking agent……..……23
รูปที่ 3.9 ค่าความแข็งแรงต่อแรงดึงและเปอร์เซ็นต์การยืดตัวของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่ใช้กรดซิทริกความเข้มข้น 7% เป็น crosslinking agent……..25
รูปที่ 3.10 เปอร์เซ็นต์การดูดซับน้ำและเปอร์เซ็นต์การละลายของแผ่นฟิล์มในระบบที่มี PEG ในระดับต่างๆ ที่เวลาในการดูดซับน้ำ 10 วินาที และ 24 ชั่วโมง……..26
รูปที่ 3.11 ค่าความแข็งแรงต่อแรงดึงและเปอร์เซ็นต์การยืดตัวของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC-PEG……28

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 3.12 ลักษณะแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC และ CMC ผสม PEG ขนาด 2 x 2 เซนติเมตร ที่เตรียมขึ้น โดยใช้กรดซิทริกความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของ CMC และอบผนึกที่160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วินาที ที่ภาวะก่อนและหลังการแช่น้ำเป็นเวลา 10 วินาที และ 24 ชั่วโมง……..….29

รูปที่ 3.13 ตัวอย่างสารละลายที่มีอนุภาคเงินที่ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 5, 20, และ 60 นาที และที่ปริมาณ PVP ความเข้มข้น 0, 1.6 และ 3.2 % (0, 0.4 และ 0.8 กรัม ตามลำดับ) ……31

รูปที่ 3.14 สเปคตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต และสารละลายที่มีอนุภาคเงิน ซึ่งได้จากการทำปฏิกิริยาที่ระยะเวลา 5, 20 และ 60 นาที…….33

รูปที่ 3.15 สเปคตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีอนุภาคเงินในระบบที่ไม่ได้เติม PEG และเติม PVP ปริมาณความเข้มข้น 0, 1.6 และ 3.2% (0, 0.4 และ 0.8 กรัม ตามลำดับ)……..……34

รูปที่ 3.16 ตัวอย่างภาพถ่ายลักษณะอนุภาคเงินจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดในระบบที่ไม่มีสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (blank) และในระบบที่มีสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต ที่ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 5, 20 และ 60 นาที…….35

รูปที่ 3.17 ตัวอย่างภาพถ่ายลักษณะอนุภาคเงินจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องผ่าน……..36

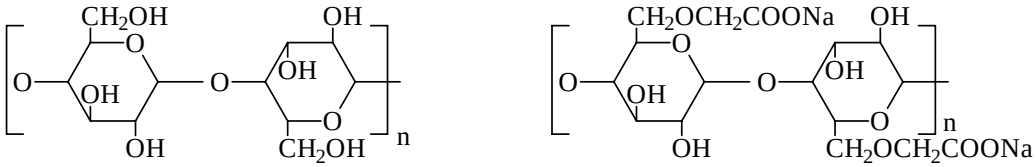
บทที่ 1
บทนำ

วัสดุที่ใช้สำหรับปิดแผล เช่น ผ้าก๊อซ (gauze) หรือ ผ้าพันแผล ซึ่งการนำมาใช้กับผู้ป่วยที่มีบาดแผลเป็นบริเวณกว้าง เช่น แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ยังคงมีข้อเสียอยู่ที่การสร้างความเจ็บปวดทรมานแก่ผู้ป่วยในขั้นตอนการลอกผ้าก๊อซออกจากบาดแผล เพื่อทำความสะอาดบาดแผลในแต่ละวัน ดังนั้นเพื่อเป็นการลดปัญหาดังกล่าวและเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา จึงมีการพัฒนาด้านวัสดุปิดแผลกันมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพัฒนาแผ่นไฮโดรเจล ซึ่งเป็นวัสดุพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นโครงข่ายร่างแห (network) มีลักษณะยืดหยุ่นคล้ายเนื้อเยื่อธรรมชาติ และมีความสามารถในการดูดซับน้ำได้ดี เมื่อนำมาใช้เป็นวัสดุปิดบาดแผล (wound dressing) จึงสามารถช่วยลดความเจ็บปวดของผู้ป่วย และลดการทำลายเซลล์เนื้อเยื่อที่กำลังสร้างขึ้นใหม่ขณะที่ลอกแผ่นดังกล่าวออกจากบาดแผล

ไฮโดรเจลนั้นมีทั้งประเภทที่เป็นพอลิเมอร์จากสารสังเคราะห์ เช่น พอลิเมธาคริเลท (polymethacrylate) พอลิอะคริลาไมด์ (polyacrylamide) หรืออาจเป็นพอลิเมอร์จากวัสดุธรรมชาติ เช่น ไคโตซาน (chitosan) และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethylcellulose, CMC) (Chen และ Zhao, 2000, Zhou และคณะ, 1996, Qu และคณะ, 2000) โดยการเตรียมไฮโดรเจลสามารถทำได้หลายวิธีด้วยกัน เช่น การทำปฏิกิริยาเชื่อมโยงพันธะ (crosslink) ด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารเชื่อมโยงพันธะ (crosslinking agent) เช่น ไดไวนิลซัลโฟน (divinylsulphone) (Anbergen และ Oppermann., 1990) หรือการทำปฏิกิริยาเชื่อมโยงพันธะด้วยวิธีการฉายรังสี (Wach และคณะ, 2003, Liu และคณะ, 2005) เป็นต้น

คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) เป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลสในประเภทไอออนิกอีเธอร์ (ionic ether) ที่มีความสำคัญและถูกนำไปประยุกต์ใช้งานมากที่สุดตัวหนึ่ง เนื่องจากมีสมบัติในการละลายน้ำได้ดี ให้สารละลายที่มีลักษณะหนืดข้น จึงถูกนำไปใช้งานทั้งทางด้านเภสัชกรรม อาหาร เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมอื่นๆ อีกหลายประเภท

โครงสร้างทางเคมีของ CMC ประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซีเมทิล ($-CH_2COOH$) แทนที่อะตอมไฮโดรเจน (H) ของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ณ ตำแหน่ง C-2, C-3 และ C-6 ของหน่วยแอนไฮโดรกลูโคส (anhydroglucose unit) ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งหรือหลายตำแหน่ง (รูปที่ 1) โดยความสามารถในการละลายน้ำของ CMC จะขึ้นอยู่กับค่าระดับขั้นในการแทนที่ของหมู่คาร์บอกซีเมทิลในโครงสร้างโมเลกุลของ CMC (degree of substitution, D.S.) ซึ่งปกติมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 3.0



ก ข

รูปที่ 1.1 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส (ก) และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (ข)

ด้วยสมบัติของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ที่สามารถเข้ากันได้กับเซลล์ของสิ่งมีชีวิต (biocompatibility) ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradability) มีความปลอดภัย และราคาถูก จึงเป็นสารที่ได้รับความสนใจนำมาศึกษาในการเตรียมไฮโดรเจล เพื่อใช้เป็นวัสดุดูดซับ และวัสดุควบคุมการปลดปล่อยความชื้นหรือสารเคมี รวมถึงวัสดุทางการแพทย์ เช่น ใช้เป็นแผ่นปิดแผลไฟไหม้ ซึ่งพบว่าสามารถรักษาบาดแผลได้ดี มีความแข็งแรงและมีประสิทธิภาพสูงในการดูดซับของเหลวจากบาดแผล (Vloemans และคณะ, 2001)

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัสดุปิดแผลที่ทำจากพอลิเมอร์และมีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ เช่น แผ่นไฮโดรไฟเบอร์ (hydrofibre) ที่มีชื่อทางการค้าว่า AQUACEL® (Vloemans และคณะ, 2001) ซึ่งผลิตขึ้นจากโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีระดับขั้นของคาร์บอกซีเมทิเลชัน (degree of carboxymethylation) ต่ำ พบว่าสามารถนำมาใช้กับบาดแผลไฟไหม้ได้ดี และมีประสิทธิภาพสูงในการดูดซับของเหลวจากบาดแผล

นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาแผ่นปิดแผลไฮโดรเจลที่มีสมบัติในการช่วยลดการติดเชื้อของบาดแผลโดยการใช้ส่วนผสมของสารออกฤทธิ์ที่มีสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งสารที่ให้ประสิทธิภาพสูงและได้รับความสนใจในการศึกษามากที่สุดชนิดหนึ่งก็คือ อนุภาคเงินนาโน (silver nanoparticles)

ทั้งนี้โลหะเงิน เป็นวัสดุที่มีสมบัติเฉพาะตัวที่โดดเด่นอยู่หลายด้าน ทั้งด้านการนำไฟฟ้า การนำความร้อน อีกทั้งยังมีความต้านทานต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน เมื่อถูกนำมาเตรียมให้อยู่ในรูปอนุภาคที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณพื้นที่ผิวจึงเป็นประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้งานทั้งในด้านอิเล็กทรอนิกส์ ตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) อุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ (biosensors) เป็นต้น (Vaškelis และคณะ, 2005, Zhu และคณะ, 2009)

วิธีการเตรียมอนุภาคเงินให้มีขนาดเล็กในระดับนาโนสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีทางเคมี วิธีทางไฟฟ้าเคมี วิธีใช้รังสี เป็นต้น (Starowicz และคณะ, 2006, Chou และ Ren, 2000, Henglein, 2001) ทั้งนี้การเตรียมด้วยวิธีทางเคมีเป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมเนื่องจากสามารถเตรียมอนุภาคเงินขนาดนาโนที่กระจายตัวในสารละลายได้ดี และทำได้ง่าย ซึ่งหลักการของวิธีนี้คือ การทำปฏิกิริยารีดักชันไอออนโลหะที่อยู่ใน

สารละลาย โดยใช้สารรีดิวซ์ เช่น กรดแอสคอบิก (ascorbic acid) ไฮดราซีน (hydrazine) โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (sodium borohydride) เป็นต้น (Sondi และคณะ, 2003, Zielinska และคณะ, 2009) ทั้งนี้พอลิเอทิลีนไกลคอล (polyethylene glycol) ซึ่งเป็นสารประเภทพอลิเมอร์เป็นสารอีกชนิดหนึ่งที่นิยมนำมาใช้เป็นสารรีดิวซ์ อีกทั้งยังเป็นสารที่มีการใช้งานอย่างกว้างขวางในทางการแพทย์และเภสัชกรรม นอกจากนี้ยังมีการใช้สารพอลิเมอร์บางชนิดเพื่อทำหน้าที่เป็นตัวช่วยป้องกันการเกาะรวมตัวกันของอนุภาค เช่น พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinylalcohol: PVA) พอลิไวนิลไพโรลิโดน (polyvinylpyrrolidone: PVP) เป็นต้น (Zielinska และคณะ, 2009)

โดยในงานวิจัยของ Popa และคณะ (2007) ซึ่งเตรียมอนุภาคเงินนาโนด้วยวิธีใช้พอลิเอทิลีนไกลคอลเป็นตัวทำละลายและสารรีดิวซ์ และใช้ซิลเวอร์ไนเตรตเป็นสารตั้งต้น พบว่า การทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สามารถเตรียมอนุภาคเงินลักษณะกลมที่มีขนาดอยู่ในช่วง 15-30 นาโนเมตร ในขณะที่การเพิ่มอุณหภูมิมากกว่า 90 องศาเซลเซียสมีผลทำให้อนุภาคมีรูปร่างและขนาดต่างๆ ทั้งรูปทรงกลมขนาดเล็กและรูปสามเหลี่ยม รูปห้าเหลี่ยม ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น

ในการนำไปประยุกต์ใช้งานนั้นนอกจากสมบัติที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว อนุภาคเงินนาโนยังเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น *S.aureus*, *E.coli*, *V.cholera*, *P. aeruginosa*, *S. typhus* ฯลฯ (Cho และคณะ, 2005, Sondi และ Salopek-Sondi, 2004, Morones และคณะ, 2005) ทั้งนี้ Feng และคณะ (2000) ได้นำเสนอกลไกการยับยั้งเชื้อ *E.coli* และ *S.aureus* ไว้ว่า ซิลเวอร์ไอออนมีผลทำให้ DNA ของเซลล์ดังกล่าวสูญเสียความสามารถในการแบ่งตัว (replicate) ในขณะที่สารโปรตีนถูกยับยั้งการทำงาน

Cho และคณะ (2005) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของอนุภาคเงิน และแพลทินัมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 10 และ 3 นาโนเมตร ตามลำดับ ที่ได้จากการเตรียมโดยใช้สาร stabilizer ชนิดต่างๆ พบว่า อนุภาคเงินสามารถยับยั้งเชื้อ *S.aureus* และ *E.coli* ได้ดี โดยปริมาณต่ำสุดที่สามารถให้ผลในการยับยั้งได้คือ 5 และ 10 ppm ตามลำดับ ในขณะที่อนุภาคแพลทินัมนั้นไม่แสดงสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ด้วยประสิทธิภาพดังกล่าว อนุภาคเงินนาโนจึงถูกนำมาใช้ในการพัฒนาวัสดุเพื่อจุดประสงค์ในการเพิ่มสุขอนามัยและลดปัญหาการติดเชื้อ เช่น การใช้งานทางด้านสิ่งทอ เพื่อลดกลิ่นอับชื้นจากแบคทีเรียที่สะสมอยู่บนผืนผ้า (Yeo และคณะ, 2003) รวมถึงการนำมาใช้พัฒนาวัสดุทางการแพทย์ เช่น ใช้ผสมในซีเมนต์กระดูก (Alt และคณะ, 2004) หรือสายท่อ (catheter) ที่ใส่เข้าไปในร่างกายเพื่อนำของเหลวออกมา (Samuel และ Guggenbichler, 2004) เป็นต้น

สำหรับกรณีของการพัฒนาวัสดุปิดแผลได้มีการนำอนุภาคเงินมาใช้เช่นเดียวกัน ซึ่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีการจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ได้แก่ แผ่นปิดแผลที่มีชื่อทางการค้าว่า Acticoat® ซึ่งประกอบด้วย

Absorbent core ของ rayon-polyester และ Nanocrystalline silver จากการทดสอบพบว่า แผ่นปิดแผลดังกล่าวมีผลในการทำลายเชื้อ MRSA ได้ตั้งแต่ระยะเวลา 30 นาทีที่สัมผัสเชื้อ (Dunn และคณะ, 2004)

สำหรับประเทศไทย งานวิจัยทางด้านการพัฒนาแผ่นไฮโดรเจลที่มีอนุภาคเงินเพื่อใช้เป็นแผ่นปิดแผลยังมีอยู่น้อยมาก อีกทั้งวัสดุปิดแผลชนิดที่มีโลหะเงินสำหรับใช้กับผู้ป่วยแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ตามโรงพยาบาลต่างๆ นั้นล้วนแล้วแต่เป็นผลิตภัณฑ์นำเข้าที่มีราคาสูงมาก ดังนั้นเพื่อนำไปสู่การลดการพึ่งพาเทคโนโลยีดังกล่าวจากต่างประเทศ และเป็นการเสริมสร้างคุณภาพชีวิตให้แก่ผู้ป่วย อีกทั้งยังเป็นการต่อยอดจากผลการดำเนินโครงการวิจัย “การพัฒนาสิ่งทอป้องกันแบคทีเรียด้วยเทคโนโลยีนาโนซิลเวอร์” ของสถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาฯ ที่สามารถเตรียมสิ่งทอให้มีอนุภาคเงินขนาดนาโนอยู่บนเส้นใย และให้ประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Saengkiettiyut และคณะ, 2008) จึงทำให้ทีมวิจัยมีจุดมุ่งหมายในการพัฒนางานวิจัยไปสู่วัสดุที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานในทางการแพทย์ เพื่อช่วยลดปัญหาการติดเชื้อในกลุ่มผู้ป่วยที่มีแผลอักเสบ โดยเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก โดยการผสมผสานเทคโนโลยีของอนุภาคเงินนาโนเข้ากับวัสดุแผ่นปิดแผลที่อยู่ในรูปไฮโดรเจล แทนวัสดุสิ่งทอหรือผ้าก๊อซที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน เพื่อให้ได้แผ่นปิดแผลที่มีประสิทธิภาพในการดูดซับของเหลวจากบาดแผลผู้ป่วย ในขณะที่มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอยู่ภายในตัววัสดุเอง ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการติดเชื้อของผู้ป่วย และช่วยลดความเจ็บปวดของผู้ป่วยขณะลอกแผ่นปิดแผลออกจากบาดแผล

โดยการศึกษาวิจัยในปีที่ 1 จะครอบคลุมในส่วนของการศึกษาทดลองเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลจากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส โดยใช้กระบวนการทางเคมีในการทำปฏิกิริยาสร้างพันธะเชื่อมโยง เนื่องจากในงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า กรดพอลิคาร์บอกซิลิก (polycarboxylic acid) สามารถใช้เป็นสารเชื่อมโยงพันธะสำหรับเซลลูโลสได้ โดยหมู่คาร์บอกซิลิก (-COOH) ของกรดจะทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (esterification) กับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ของเซลลูโลสเกิดเป็นพันธะเอสเทอร์ขึ้น (Welch และ Andrews, 1989) ดังนั้นสำหรับกรณีของCMCซึ่งเป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลส ผู้วิจัยจึงคาดว่า หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่มีอยู่ในโมเลกุลน่าจะสามารถทำปฏิกิริยากับกรดพอลิคาร์บอกซิลิกเกิดการเชื่อมโยงพันธะเอสเทอร์ขึ้นภายในโมเลกุลได้ในลักษณะเดียวกัน ซึ่งเมื่อเกิดการเชื่อมโยงพันธะในลักษณะเป็นโครงข่ายร่างแหขึ้นในโมเลกุลจะทำให้ได้แผ่นฟิล์มที่มีสมบัติไม่ละลายน้ำ ในขณะสามารถดูดซับน้ำไว้ได้ภายในโมเลกุล

นอกจากนี้ยังทำการศึกษาวิธีการเตรียมอนุภาคเงินด้วยวิธีทางเคมีในระบบที่ใช้พอลิเอทิลีนไกลคอลเป็นสารรีดิวซ์ ร่วมกับ stabilizer เพื่อให้ได้สารละลายของอนุภาคเงินที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นจะนำสารละลายดังกล่าวไปใช้ร่วมกับขั้นตอนการเตรียม CMC ไฮโดรเจล เพื่อเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่มีสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นแผนงานที่จะดำเนินการในโครงการวิจัย ปีที่ 2 ต่อไป

บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

1. สารเคมี

- คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Carboxymethylcellulose, Sodium salt : CMC) Analytical grade ผลิตโดยบริษัท Sigma Aldrich มีน้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight : MW) ขนาด 90,000, 250,000 และ 700,000 ดาลตัน
- กรดซิทริก (citric acid) Analytical grade ผลิตโดยบริษัท Ajax Finechem Pty.
- พอลิเอทิลีนไกลคอล (Polyethylene glycol : PEG) Analytical grade ผลิตโดยบริษัท Fluka น้ำหนักโมเลกุล 4,000 ดาลตัน
- พอลิไวนิลไพโรลิโดน (Polyvinylpyrrolidone K30 : PVP) Analytical grade ผลิตโดย Fluka น้ำหนักโมเลกุล 40,000 ดาลตัน
- ซิลเวอร์ไนเตรต (Silver nitrate : $AgNO_3$) Analytical grade ผลิตโดยบริษัท BDH

2. วิธีการทดลอง

2.1 การเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล

2.1.1 <u>การเตรียมสารละลายสำหรับการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล</u>

กรณีไฮโดรเจล CMC

- เตรียมสารละลาย CMC ความเข้มข้น 2% (w/w) น้ำหนัก 300 กรัม กวนด้วยเครื่อง mechanical stirrer จนกระทั่งได้สารละลายใสเป็นเนื้อเดียวกัน

- เติมสารเชื่อมโยงพันธะ (crosslinking agent) ซึ่งการทดลองนี้คือ กรดซิทริกลงในสารละลาย CMC ข้างต้น โดยเติมในปริมาณความเข้มข้นคิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ CMC ที่อยู่ในสารละลายนั้น จากนั้นทำการกวนจนกระทั่งกรดซิทริกละลายหมด

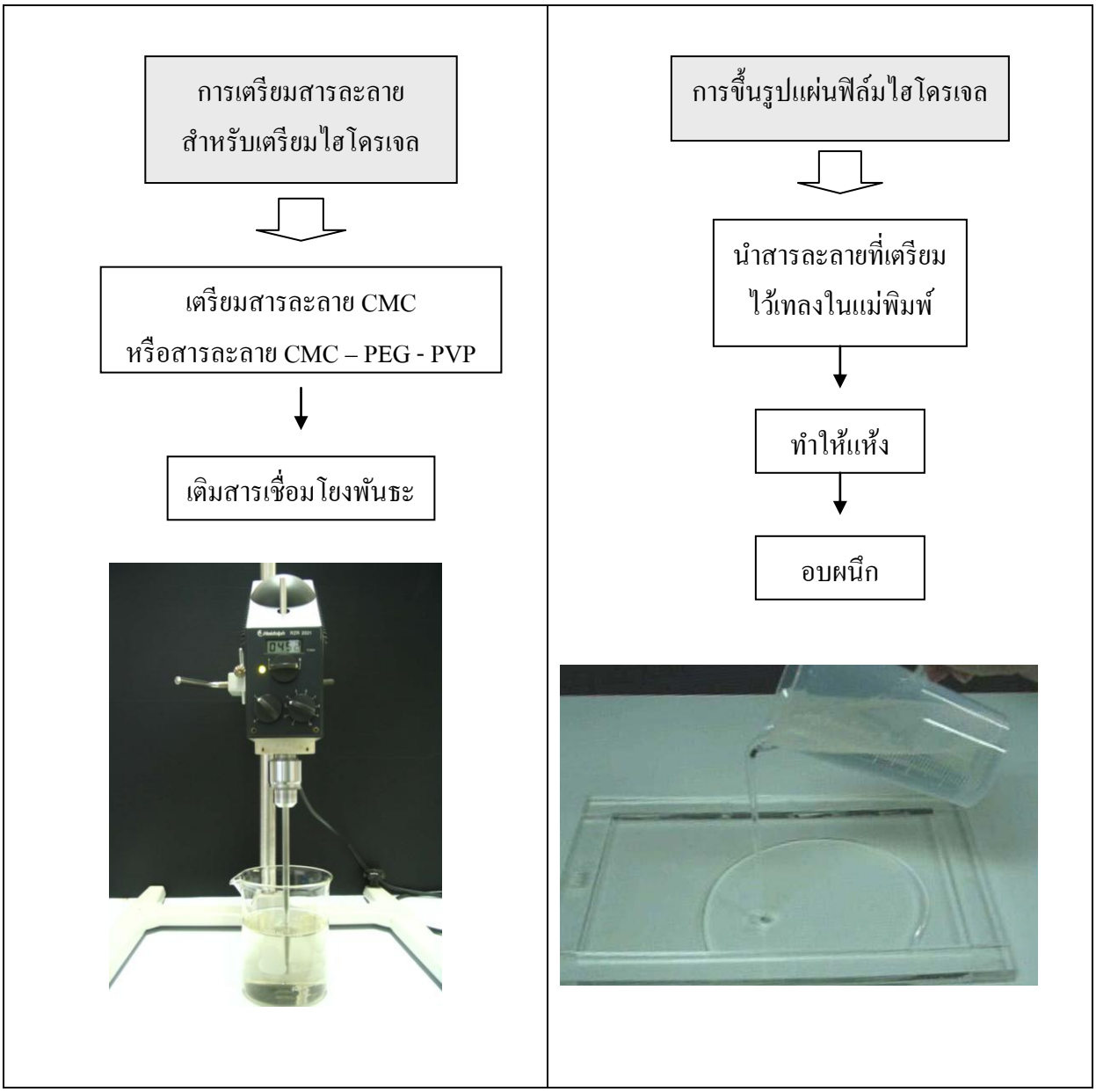
กรณีไฮโดรเจล CMC – PEG - PVP

- เตรียมสารละลายน้ำหนัก 300 กรัม ที่ประกอบด้วย CMC ความเข้มข้น 2% (w/w) และมีพอลิเอทิลีนไกลคอล (PEG) และพอลิไพโรลิโดน (PVP) ในปริมาณตามที่กำหนด กวนด้วยเครื่อง mechanical stirrer จนกระทั่งได้สารละลายใสเป็นเนื้อเดียวกัน

- เติมกรดซิทริกลงในสารละลาย CMC ข้างต้น โดยเติมในปริมาณความเข้มข้นคิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ CMC ที่อยู่ในสารละลายนั้น จากนั้นทำการกวนจนกระทั่งกรดซิทริกละลายหมด

2.1.2 <u>การขึ้นรูปแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล</u>

- ทำการขึ้นรูปด้วยวิธีการเทแบบ (casting) โดยเทสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 2.1.1 ลงในแม่พิมพ์อะคริลิก ขนาด 25 x 25 เซนติเมตร แล้วตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งได้แผ่นฟิล์มแห้งสนิท
- นำแผ่นฟิล์มไปอบผนึก ที่อุณหภูมิและเวลาตามที่กำหนด



รูปที่ 2.1 ขั้นตอนการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล

2.2 การเตรียมอนุภาคเงิน

2.2.1 เตรียมอนุภาคเงินด้วยวิธีทางเคมี โดยชั่ง PEG น้ำหนัก 4 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่น 10 กรัมให้ความร้อนแก่สารละลายจนมีอุณหภูมิ 80 °C โดยมีการปั่นกวนสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็กอัตราเร็ว 200 รอบ/นาที ตลอดระยะเวลาการเตรียมสาร

2.2.2 ชั่ง PVP น้ำหนัก 0.4 หรือ 0.8 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 กรัม แล้วคนให้ PVP ละลายจนหมด

2.2.3 ชั่ง 1% $AgNO_3$ น้ำหนัก10 กรัม แล้วค่อยๆ หยดลงในสารละลาย PEG (ในข้อ 2.2.1) โดยใช้เวลาประมาณ 30 วินาที

2.2.4 เมื่อเวลาผ่านไป 30 วินาที (หลังจากหยดสารละลายข้อ 2.2.3) เติมสารละลาย PVP (ในข้อ 2.2.2) ลงในสารละลายผสมข้อ 2.2.3 โดยทิ้งให้สารละลายทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 5 , 20 และ 60 นาที ตามลำดับ

2.2.5 เมื่อครบเวลาการทำปฏิกิริยา ทำให้สารละลายผสมเย็นตัวในทันที โดยการแช่บีกเกอร์ในอ่างน้ำที่อุณหภูมิห้อง

2.2.6 เติมน้ำกลั่นเพื่อให้สารละลายมีน้ำหนักรวมเท่ากับ 25 กรัม

<u>หมายเหตุ</u> PVP ปริมาณ 0.4 และ 0.8 กรัม ที่มีอยู่ในสารละลายผสมของระบบคิดเป็นความเข้มข้น 1.6% และ 3.2 % โดยน้ำหนักของสารละลายรวม

3. การวิเคราะห์ทดสอบ

3.1 การทดสอบแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล

3.1.1 <u>การทดสอบค่าความหนืดของสารละลาย CMC</u>

การทดสอบค่าความหนืดของสารละลาย CMC ทำได้โดยอาศัยเครื่องวัดความหนืด ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่อาศัยหลักการของการวัดค่าทอร์กที่ใช้ในการหมุนเข็ม (spindle) ที่จุ่มอยู่ในตัวอย่างของเหลว โดยค่าที่วัดได้มีหน่วยเป็นเซนติพอยส์ (cP)

เครื่องมือที่ใช้ : Brookfield Viscometer รุ่น LV-DVII+

<u>วิธีการทดสอบ</u>

1. เตรียมสารละลาย CMC ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร
2. วัดค่าความหนืดที่อุณหภูมิห้อง โดยเลือกใช้เข็ม (spindle) และความเร็วรอบให้เหมาะกับสารละลาย โดยทำการวัดจำนวน 3 ซ้ำ

3.1.2 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลด้วยฟูริเออร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (Fourier Transform Infrared spectrometer : FT-IR)

เครื่องมือที่ใช้ : FT-IR ยี่ห้อ Perkin – Elmer รุ่น Spectrum One

วิธีการทดสอบ

ทำการวัดอินฟราเรดสเปกตรัม ใน ATR (Attenuated Total Reflectance) mode โดยตัวอย่างแผ่นฟิล์มจะถูกนำไปวางบน ZnSe flat plate จากนั้นทำการวิเคราะห์ในช่วงความยาวคลื่น 4000 – 650 cm^{-1} โดยใช้ scan เท่ากับ 16 และ resolution เท่ากับ 4.0 cm^{-1}

3.1.3 การทดสอบค่าการดูดซับน้ำ

วิธีการทดสอบ

ตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 4 x 4 เซนติเมตร นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแผ่นฟิล์ม จากนั้นนำแผ่นฟิล์มจุ่มแช่ในบีกเกอร์ที่บรรจุน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่กำหนด (10 วินาที และ 24 ชั่วโมง) เมื่อครบกำหนดเวลา นำแผ่นฟิล์มขึ้นจากน้ำกลั่น ซับน้ำส่วนเกินออก แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก และคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การดูดซับน้ำ ทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การดูดซับน้ำ} = \frac{(\text{น้ำหนักหลังแช่น้ำ} - \text{น้ำหนักก่อนแช่น้ำ}) \times 100}{\text{น้ำหนักก่อนแช่น้ำ}}$$

3.1.4 การทดสอบค่าการละลายน้ำ

วิธีการทดสอบ

ตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 4 x 4 เซนติเมตร นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแผ่นฟิล์ม จากนั้นนำแผ่นฟิล์มจุ่มแช่ในบีกเกอร์ที่บรรจุน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำแผ่นฟิล์มขึ้นจากน้ำกลั่น แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแผ่นฟิล์มหลังอบ และคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การละลายน้ำ ทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การละลายน้ำ} = \frac{(\text{น้ำหนักแห้งก่อนแช่น้ำ} - \text{น้ำหนักแห้งหลังแช่น้ำ}) \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งก่อนแช่น้ำ}}$$

3.1.5 การทดสอบสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มด้านความแข็งแรงและการยืดตัว (Tensile strength และ Elongation) โดยใช้วิธีตามมาตรฐาน ASTM D882-02

เครื่องมือที่ใช้ : เครื่อง Instron universal tester รุ่น 5583

การเตรียมชิ้นทดสอบ

- ตัดชิ้นงานเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 120 x 10 มิลลิเมตร จำนวนตัวอย่างละ 10 ชิ้นงาน (สำหรับใช้ทดสอบชิ้นงานชนิดแห้ง 5 ชิ้นงาน และหลังการดูดซับน้ำ 5 ชิ้นงาน)

หมายเหตุ การทดสอบชิ้นงานชนิดที่ผ่านการดูดซับน้ำ ทำได้โดยนำชิ้นงานแช่น้ำ 10 วินาที แล้วนำขึ้นซับน้ำส่วนเกินออก จากนั้นผึ่งชิ้นงานไว้ 15 นาที แล้วจึงทำการทดสอบ

- วัดความหนาของแผ่นฟิล์มก่อนการทดสอบ

วิธีการทดสอบ

- ใช้ระยะ gauge length 50 มิลลิเมตร อัตราเร็วในการดึงยืด 10 มิลลิเมตรต่อนาที (สำหรับชิ้นงานแบบแห้ง) และ 50 มิลลิเมตรต่อนาที (สำหรับชิ้นงานที่ผ่านการดูดซับน้ำ)
- บันทึกค่า Tensile strength at Max.Load (MPa) และ % Elongation at break ทำการทดสอบตัวอย่างละ 5 ซ้ำ

3.1.6 การทดสอบความเป็นพิษของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลต่อเซลล์ ATCC CRL 2708 passage 13 ด้วยเทคนิค MTT assay โดยวิธี Test on extraction

วิธีเตรียมตัวอย่างทดสอบ

ตัดตัวอย่างทดสอบ (แผ่นฟิล์มไฮโดรเจล) ให้เป็นแผ่นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร จากนั้นทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ในการทดสอบนี้จะใช้ Thermanox ® Coverslips lot 582781 เป็นตัวอย่างควบคุม (Control)

วิธีการทดสอบ

1. ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ ATCC CRL 2708 passage 13 (human skin fibroblasts) ใน 96-well plate ที่ความเข้มข้น 8000 เซลล์ต่อหลุม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
2. นำตัวอย่างทดสอบมาแช่ในสารละลายอาหาร Dulbecco's Modified Eagle's medium – serum free (DMEM) ที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร (Extraction ratio: 6 cm^2/ml) ในหลอดทดสอบ นำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. จากนั้นนำสารละลาย DMEM ที่ได้จากการแช่ตัวอย่างทดสอบปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม มาสัมผัสกับเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4. เมื่อครบเวลาดังกล่าวทำการวัดปริมาณเซลล์มีชีวิต โดยใช้สาร 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) ทำปฏิกิริยากับไมโตรคอนเดรียเอนไซม์ และนำไปวัดความเข้มของสี (MTT formazan) ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader โดย MTT เป็นสีย้อมที่สามารถย้อมติดเซลล์ที่มีชีวิต โดยความเข้มของสีจะแปรผันตรงตามจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสีย้อมเปรียบเทียบกับหลุมควบคุมเพื่อคำนวณร้อยละการอยู่รอดของเซลล์ (% cell viability)
5. ทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำในแต่ละตัวอย่าง

3.2 การวิเคราะห์ทดสอบอนุภาคเงิน

3.2.1 <u>การวิเคราะห์การดูดกลืนแสง UV-Visible</u>

เครื่องมือที่ใช้คือ UV-Vis Spectrophotometer ยี่ห้อ Analytikjena รุ่น Specord S100 โดยนำสารละลายตัวอย่างใส่ใน Cuvett ปริมาตร 4 มิลลิลิตร จากนั้นทำการวิเคราะห์ในช่วงความยาวคลื่น 200 – 750 nm โดยใช้ Integration time เท่ากับ 53 ms และ Accumulation เท่ากับ 10

3.2.2 <u>การวิเคราะห์การกระจายขนาดอนุภาค</u>

เครื่องมือที่ใช้คือ Zetasizer Nano ยี่ห้อ Malvern รุ่น Nano ZS โดยใช้เทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic light scattering) ตัวอย่างสารละลายปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะถูกบรรจุลง Cuvett จากนั้นเครื่องจะทำการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคซ้ำเป็นจำนวน 5 ครั้ง

รูปที่ 2.2 เครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาค Zetasizer Nano

3.2.3 ตรวจสอบลักษณะอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM)

นำสารละลายที่ต้องการตรวจสอบลักษณะของอนุภาค หยดลงบนแผ่นกระจก แล้วทำการฉาบผิวตัวอย่างด้วยทอง เพื่อตรวจสอบลักษณะของอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด สำหรับการตรวจสอบขนาดของอนุภาคเงินทำโดย นำสารละลายที่มีอนุภาคเงินหยดลงบน Cu grid แล้วทำการตรวจสอบขนาดอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

3.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลายที่มีอนุภาคเงิน โดยมีขั้นตอนและวิธีการทดสอบ ดังนี้

1. เลี้ยงเชื้อ *S.aureus* ในอาหาร Nutrient Slant ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง
2. ล้างเซลล์ *S.aureus* ด้วย 0.85% NaCl และเจือจางให้เชื้อมีจำนวน 10^6 CFU/ml (colony forming unit) โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density) ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร
3. นำเชื้อ *S.aureus* 10^6 CFU/ml 500 ml ใส่ในอาหาร Nutrient broth 50 ml บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml บ่มเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าสาร 200 รอบ/นาที ที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
4. ดูดเชื้อ *S.aureus* 1 มิลลิลิตร ทำ serial dilution ด้วย 0.85% NaCl เลือก dilution ที่เหมาะสม ทำ spread plate method บนจานอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง
5. นับจำนวนเชื้อ (30-300 CFU)
6. ใส่สารละลายที่มีอนุภาคเงินใน Nutrient broth 50 มิลลิลิตร ใส่เชื้อ 10^6 CFU/ml 500 µl ทำเช่นเดียวกับในข้อ 3-5
7. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การลดลงของจุลินทรีย์จากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การลดลงของจุลินทรีย์} = 100 (B-A) / B$$

โดยที่ A = จำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นและนับได้ในชุดที่ 2 (t = 24 hr)

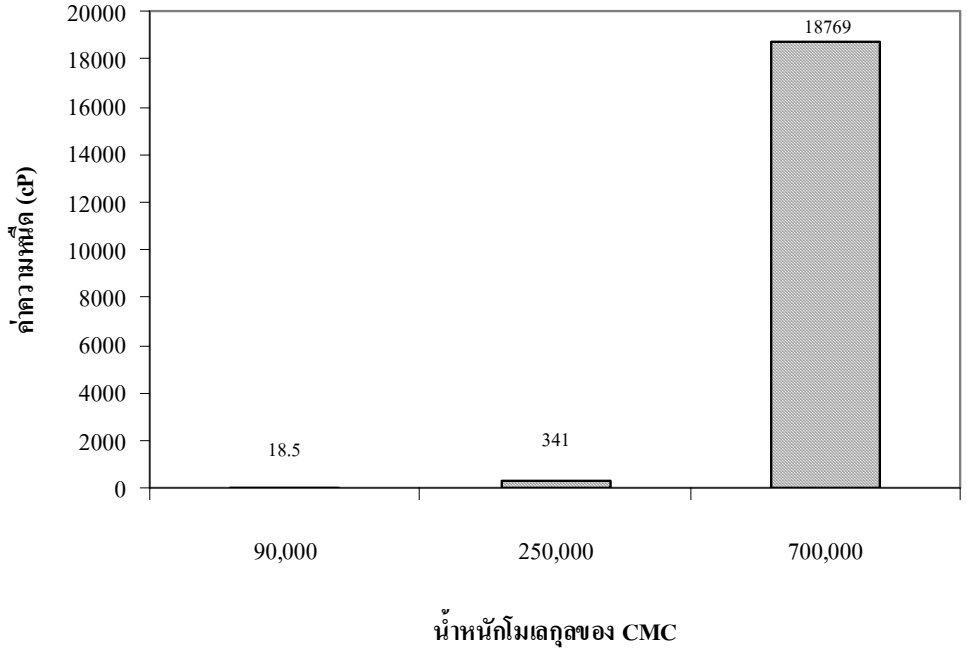
B = จำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นและนับได้ในชุดที่ 1 (t = 0)

บทที่ 3
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

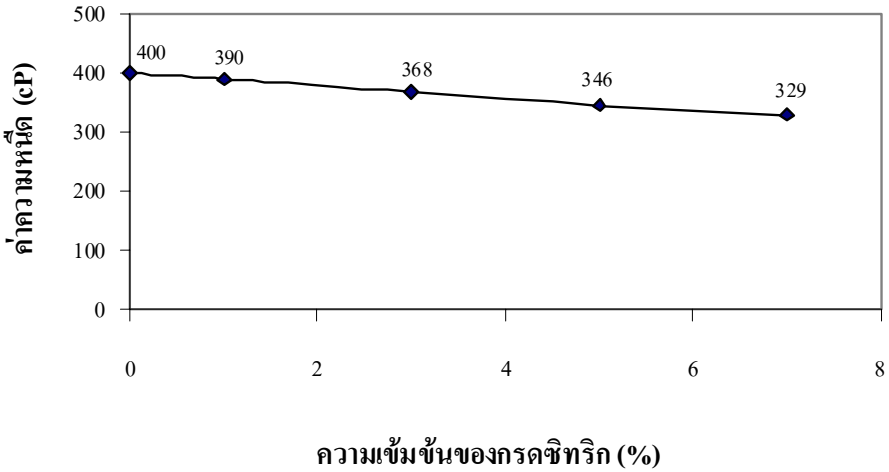
3.1 ผลการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล

3.1.1 สารละลายสำหรับเตรียมไฮโดรเจลและลักษณะแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่เตรียมได้

คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ใช้เป็นสารเคมีหลักสำหรับเตรียมไฮโดรเจลในการทดลองนี้ เมื่อนำมาละลายน้ำจะได้สารละลายใส สีเหลืองอ่อน มีลักษณะหนืดข้น ซึ่งให้ค่าความหนืดที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามน้ำหนักโมเลกุลและความเข้มข้นที่ใช้ แสดงในรูปที่ 3.1 โดยหลังจากที่เติม crosslinking agent คือกรดซิทริก แล้วสารละลาย CMC จะมีความหนืดลดลงตามความเข้มข้นของกรดซิทริก ดังแสดงในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.1 ค่าความหนืดของสารละลาย CMC น้ำหนักโมเลกุลต่างๆ ที่ความเข้มข้น 2%



รูปที่ 3.2 ค่าความหนืดของสารละลาย 2% CMC (น้ำหนักโมลกุล 250,000) เมื่อนำมาผสมร่วมกับกรดซิทริกที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากการทดลองเตรียมสารละลายพบว่า CMC น้ำหนักโมเลกุล 700,000 เมื่อนำมาเตรียมสารละลายความเข้มข้น 2% จะได้สารละลายที่มีลักษณะหนืดข้นมาก ทำให้เทลงแบบพิมพ์ได้ไม่สม่ำเสมอ แผ่นฟิล์มเกิดฟองอากาศได้ง่าย ส่วนสารละลายที่เตรียมโดยการใช้ CMC น้ำหนักโมเลกุล 90,000 และ 250,000 นั้นสามารถเทแบบได้ง่าย สารละลายมีการไหลตัวไปทั่วแม่พิมพ์ได้ดีจึงได้ผิวเรียบสม่ำเสมอ และแผ่นฟิล์มไม่มีฟองอากาศ ทั้งนี้การเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลโดยใช้ CMC น้ำหนักโมเลกุล 250,000 ผสมกับกรดซิทริกที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของ CMC และอบผนึกที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วินาที พบว่า แผ่นฟิล์มขณะแห้งมีลักษณะใส สีเหลืองอ่อน สามารถพับงอได้ (รูปที่ 3.3 a) และเมื่อนำไปแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่า แผ่นฟิล์มมีการขยายตัวและมีความหนาเพิ่มขึ้นจากเดิม สามารถดูดซับน้ำได้ดี มีความชุ่มชื้นและอ่อนนิ่ม (รูปที่ 3.3 b)

(a) (b)

รูปที่ 3.3 ลักษณะแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่เตรียมได้ ขณะแห้ง (a) และหลังจากตัดแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลขนาด 2 x 2 เซนติเมตร ไปแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (b)

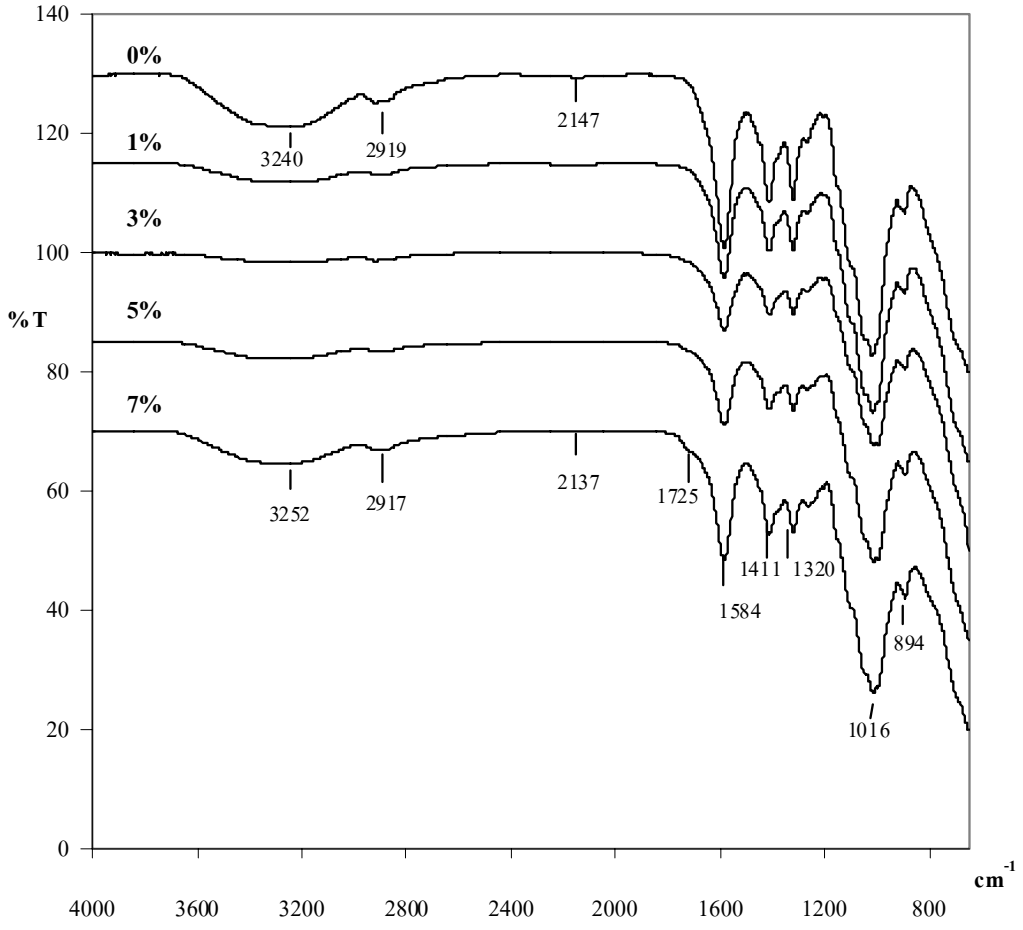
3.1.2 ผลการตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีด้วย FT-IR

จากสมบัติที่เปลี่ยนไปของซีเอ็มซีเป็นสิ่งที่คาดการณ์ได้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในระดับโครงสร้างโมเลกุลของสาร ดังนั้นเพื่อเป็นการพิสูจน์ยืนยันถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีดังกล่าว จึงได้ทำการตรวจสอบโดยอาศัยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FT-IR เพื่อตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลของสาร โดยนำแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่เตรียมโดยใช้ CMC ที่ผ่านการ crosslink ด้วยกรดซิทริก และทำการอบผนึกที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วินาที ไปทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR และเปรียบเทียบสเปคตรัมกับแผ่นฟิล์ม CMC ที่ไม่ผ่านการ crosslink ดังแสดงในรูปที่ 3.4 พบว่า สเปคตรัม FT-IR ของแผ่นฟิล์ม CMC และแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC มีลักษณะคล้ายคลึงกัน โดยประกอบด้วยตำแหน่งพีก (peak) ที่สำคัญซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของโครงสร้างโมเลกุล CMC ได้แก่ พีกลักษณะกว้าง ที่ตำแหน่ง 3240 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึง O-H stretching ของหมู่ hydroxyl พีกที่ตำแหน่ง 2919 cm^{-1} ที่แสดงถึง C-H stretching พีกที่ตำแหน่ง 1584 และ 1411cm^{-1} ซึ่งแสดงถึง stretching แบบ symmetric และ asymmetric ของหมู่ carboxylate ตามลำดับ (Pourjavadi และคณะ, 2004) และพีกที่ตำแหน่ง 1016 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึง C-O stretching band ของหมู่ carboxymethyl และ glycosidic linkage ของโมเลกุล CMC (Abou Taleb และคณะ, 2009)

ในกรณีของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC มีพีกที่สำคัญซึ่งไม่ปรากฏในกรณีของ CMC ที่ไม่ได้เติม crosslinking agent คือ พีกที่ตำแหน่ง 1725 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึง C=O stretching ของหมู่ ester carbonyl (Lin และคณะ, 2005) ในโมเลกุลของไฮโดรเจล CMC โดยจะเห็นได้ว่าพีกที่ตำแหน่งนี้มีความสูงเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกรดซิทริก ซึ่งเป็นการยืนยันว่า ภายในโครงสร้างโมเลกุลของไฮโดรเจล CMC ที่เตรียมขึ้น

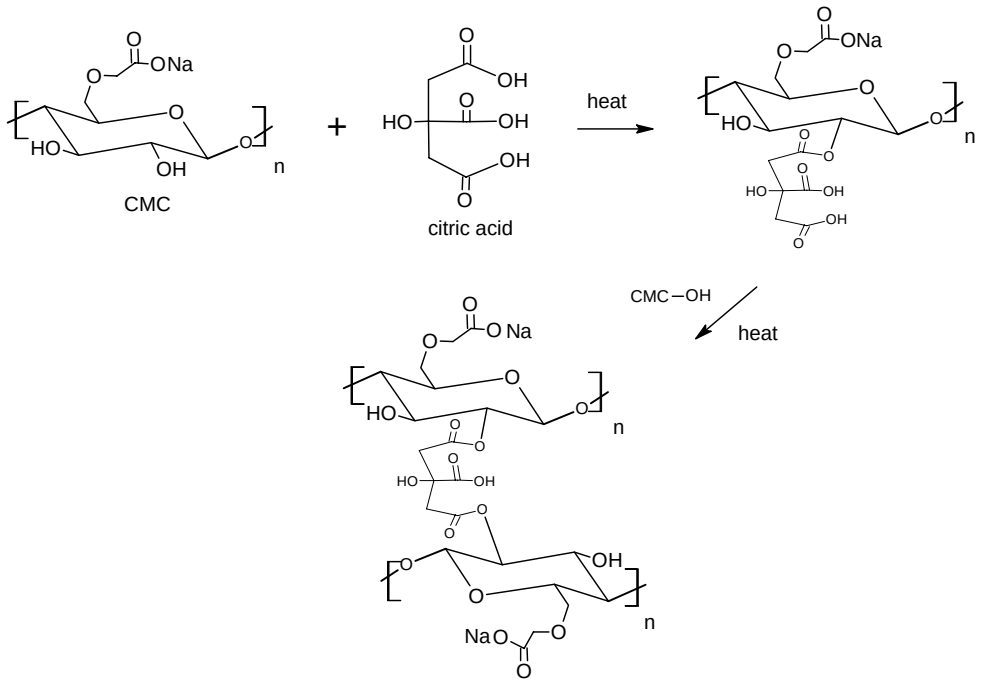
ในการทดลองมีพันธะเอสเทอร์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (esterification) ระหว่าง CMC กับกรดซิทริกที่ใช้เป็น crosslinking agent

จึงสามารถอธิบายกลไกของปฏิกิริยาการเตรียมไฮโดรเจล CMC ในการทดลองนี้ได้ว่า หมู่คาร์บอกซิลิกของกรดซิทริกจะเข้าทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันกับหมู่ไฮดรอกซิลของโมเลกุล CMC ทำให้สายโซ่โมเลกุล CMC เกิดการเชื่อมโยงเข้าด้วยกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ (covalent bond) โดยมีกรดซิทริกทำหน้าที่เป็นสะพานเชื่อม (รูปที่ 3.5 a) จนกระทั่งเกิดเป็นลักษณะของโครงสร้างตาข่ายขึ้นภายในโมเลกุลของ CMC (รูปที่ 3.5 b)

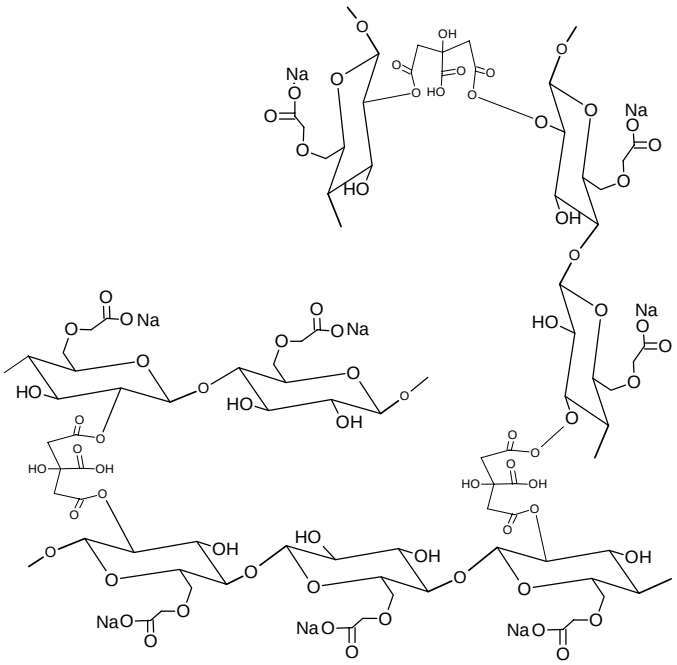


รูปที่ 3.4 FT-IR สเปคตรัมของแผ่นฟิล์ม CMC ที่เตรียมโดยใช้ crosslinking agent ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

(a)



(b)



รูปที่ 3.5 ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันระหว่างโมเลกุล CMC และกรดซิทริก (a) และโครงสร้างตาข่ายของโมเลกุลไฮโดรเจล CMC (b)

3.1.3 สมบัติของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่เตรียมได้

3.1.3.1 ค่าการดูดซับน้ำและการละลายน้ำ

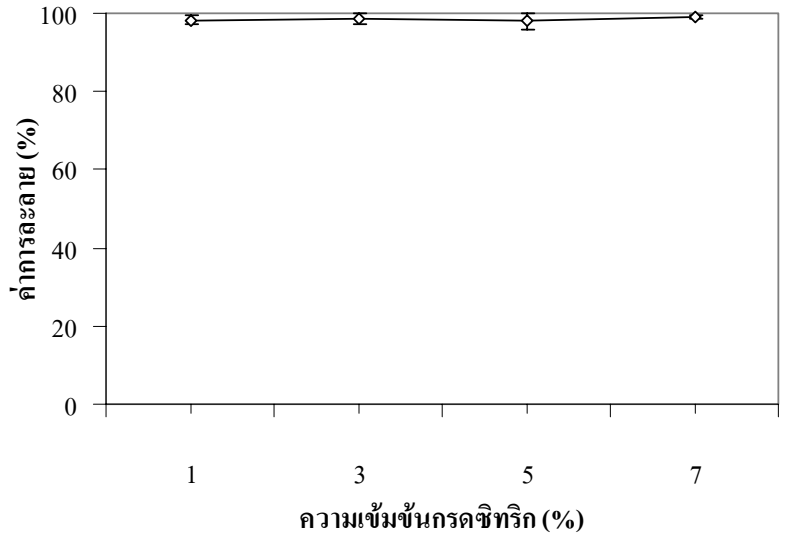
เนื่องจาก CMC ที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์มีคุณลักษณะที่แตกต่างกันออกไปโดยเฉพาะน้ำหนักโมเลกุลซึ่งมีผลโดยตรงต่อค่าความหนืด ในการทดลองนี้จึงได้ศึกษา CMC ที่มีน้ำหนักโมเลกุลระดับต่างๆ ได้แก่ 90,000 250,000 และ 700,000 เพื่อเลือกใช้น้ำหนักโมเลกุลที่เหมาะสมสำหรับนำมาเตรียมไฮโดรเจล

ตารางที่ 3.1 ค่าการดูดซับน้ำและค่าการละลายน้ำของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่เตรียมโดยใช้ CMC น้ำหนักโมเลกุลต่างๆ

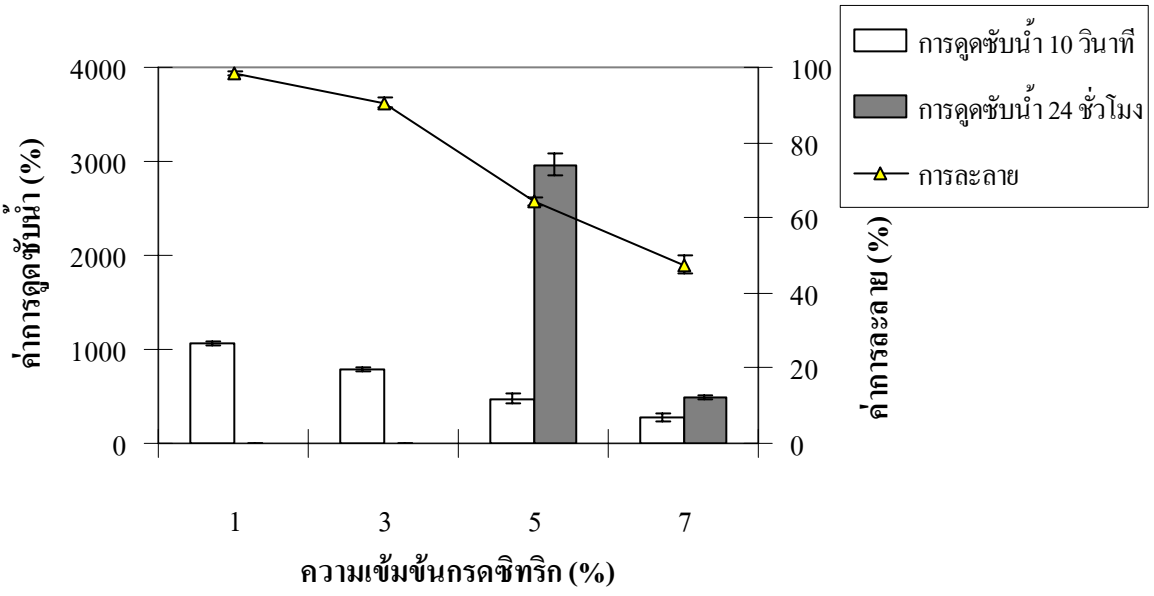
น้ำหนักโมเลกุลของ CMC	ค่าการดูดซับน้ำ (%)		ค่าการละลาย (%)
	10 วินาที	24 ชั่วโมง	
90,000	ละลายน้ำ	ละลายน้ำ	95.43 ± 0.62
250,000	643 ± 22.28	ละลายน้ำ	86.31 ± 1.26
700,000	474 ± 49.42	6,570 ± 410	42.27 ± 1.87

จากการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลโดยใช้สารละลาย CMC น้ำหนักโมเลกุลต่างๆ ที่ความเข้มข้น 2% ร่วมกับกรดซิทริก ความเข้มข้น 5% และอบผนึกแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วินาที (ตารางที่ 3.1) พบว่า CMC น้ำหนักโมเลกุล 90,000 ไม่สามารถนำมาใช้เตรียมไฮโดรเจลได้ เนื่องจากแม้จะเติม crosslinking agent และผ่านการอบผนึกแล้วแผ่นฟิล์ม CMC ยังคงมีสมบัติละลายน้ำได้ดีเช่นเดิม ส่วนแผ่นฟิล์มที่ได้จากการใช้ CMC น้ำหนักโมเลกุล 700,000 นั้นแม้ว่าจะละลายน้ำได้ต่ำและดูดซับน้ำได้ดี แต่แผ่นฟิล์มยังคงมีลักษณะเปราะ แตกหักได้ง่าย ในขณะที่ CMC น้ำหนักโมเลกุล 250,000 นั้น สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ง่าย เนื่องจากมีการไหลตัวได้ดี และแสดงสมบัติในการดูดซับน้ำได้ดี ถึงแม้ว่าจะมีค่าการละลายสูงก็ตาม การศึกษาวิจัยในที่นี้จึงเลือก CMC น้ำหนักโมเลกุล 250,000 สำหรับศึกษาการปรับภาวะในการเตรียมเพื่อให้ได้แผ่นฟิล์มที่มีสมบัติที่ดีขึ้นต่อไป

(a)



(b)



รูปที่ 3.6 ค่าการละลายน้ำและค่าการดูดซับน้ำของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่เตรียมโดยใช้ปริมาณความเข้มข้นกรดซิทริกที่ระดับต่างๆ ก่อนอบผนึก (a) และหลังการอบผนึกที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วินาที

เมื่อนำ CMC น้ำหนักโมเลกุล 250,000 มาเตรียมไฮโดรเจลโดยศึกษาปริมาณการเติม crosslinking agent คือ กรดซิทริก ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยอบผนึกที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส 90 วินาที (รูปที่ 3.6 b) พบว่า แผ่นฟิล์มที่ไม่ได้เติมสาร crosslinking agent จะละลายน้ำได้ในทันที (100%) สำหรับแผ่นฟิล์มที่เติมสาร crosslinking agent ในปริมาณ 1 – 7% โดยน้ำหนักของ CMC นั้น พบว่า เมื่อแช่น้ำทิ้งไว้เป็นเวลา 10 วินาที แผ่นฟิล์มจะสามารถดูดซับน้ำไว้ได้ 270 – 1,070% โดยการใช้ crosslinking agent ปริมาณสูงขึ้นจะมีผลทำให้แผ่นฟิล์มละลายน้ำได้น้อยลงและดูดซับน้ำได้น้อยลง และหลังจากแช่น้ำทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า แผ่นฟิล์มที่มี crosslinking agent ในปริมาณตั้งแต่ 3% ลงไป จะละลายน้ำได้มากกว่า 90% ในขณะที่การใช้ในปริมาณ 5% และ 7% นั้นแผ่นฟิล์มสามารถดูดซับน้ำได้เพิ่มขึ้นเป็น 3,000 และ 500% โดยมีค่าการละลาย เท่ากับ 64 และ 48% ตามลำดับ

จากผลการทดลองเรื่องระดับความเข้มข้นของ crosslinking agent จะเห็นว่า การเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่ทุกระดับความเข้มข้นของกรดซิทริกนั้น หากไม่ผ่านการอบผนึก (รูปที่ 3.6 a) จะมีผลทำให้แผ่นฟิล์มละลายน้ำได้มากกว่า 98% หลังจากแช่น้ำทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดังนั้น การอบผนึกจึงเป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญ โดยความร้อนจากการอบผนึกเป็นปัจจัยที่เร่งให้เกิดการทำปฏิกิริยาระหว่าง CMC และ crosslinking agent และเกิดพันธะเชื่อมโยงขึ้นภายโมเลกุล

จากการศึกษาอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการอบผนึก โดยศึกษาการอบแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ 160 และ 170 องศาเซลเซียส และใช้ระยะเวลาการอบผนึก 90, 120 และ 150 วินาที พบว่า แผ่นฟิล์มมีสมบัติการดูดซับน้ำและละลายน้ำได้น้อยลงเมื่อใช้อุณหภูมิในการอบผนึกสูงขึ้นและใช้ระยะเวลาในการอบนานขึ้น ในกราฟรูปที่ 3.7 จะเห็นว่าในกรณีของแผ่นฟิล์มที่เตรียมขึ้นโดยใช้กรดซิทริกความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของ CMC นั้น พบว่า การอบผนึกที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้แผ่นฟิล์มมีการละลายน้ำต่ำ แต่ก็มีผลทำให้ค่าการดูดซับน้ำลดต่ำลงมาด้วยเช่นกัน โดยการอบด้วยระยะเวลา 90 วินาที นั้นให้ค่าการดูดซับน้ำหลังการแช่เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพียง 400% สำหรับการอบผนึกที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วินาที นั้นให้ค่าการดูดซับน้ำหลังการแช่เป็นเวลา 10 วินาที และ 24 ชั่วโมง สูงที่สุดถึง 470% และ 2,580% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามแผ่นฟิล์มยังคงมีการละลายน้ำสูงถึง 57%

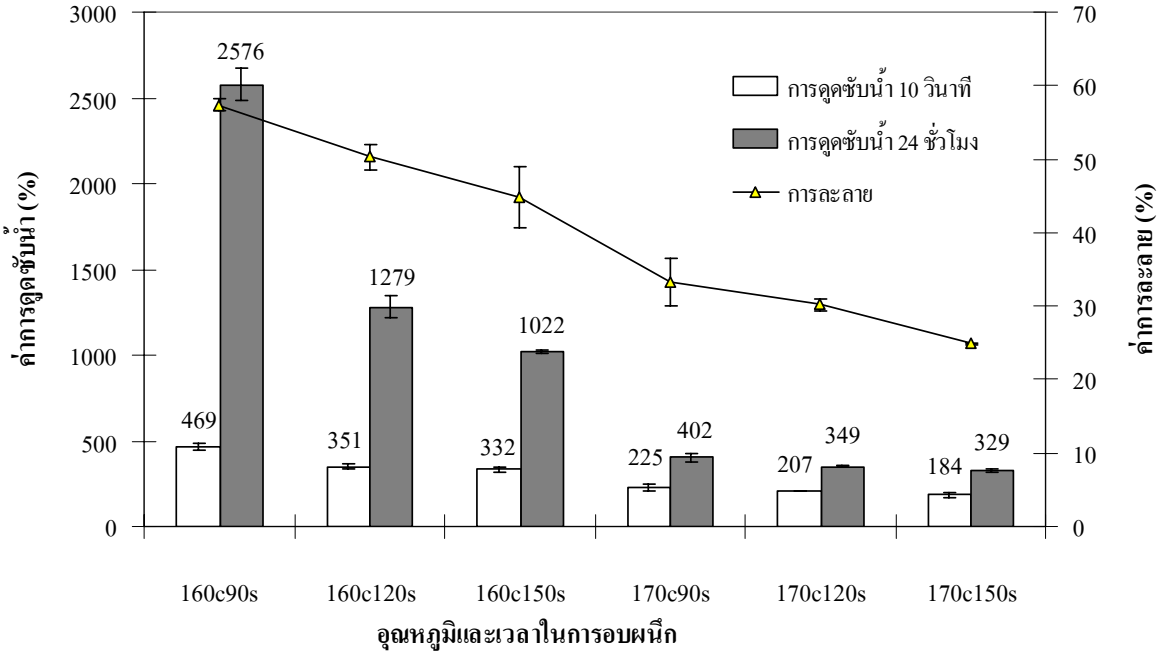
จากการทดลองพบว่า ในกรณีของแผ่นฟิล์มที่เตรียมขึ้นโดยใช้กรดซิทริกความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของ CMC นั้น ภาวะในการอบผนึกที่ทำให้แผ่นฟิล์มมีสมบัติดูดซับน้ำได้ดีที่สุดในขณะที่มีค่าการละลายไม่เกิน 50% คือที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วินาที ซึ่งให้ค่าการดูดซับน้ำหลังการแช่เป็นเวลา 10 วินาที และ 24 ชั่วโมง อยู่ที่ 350% และ 1,280% ตามลำดับ

สำหรับกรณีของแผ่นฟิล์มที่เตรียมขึ้นโดยใช้กรดซิทริกความเข้มข้น 7% โดยน้ำหนักของ CMC นั้น พบว่า เกือบทุกภาวะการอบผนึกที่ทำการศึกษา แผ่นฟิล์มมีสมบัติการละลายน้ำต่ำกว่า 50% อย่างไรก็ตาม พบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้มีค่าการดูดซับน้ำต่ำมาก คือมี ค่าการดูดซับน้ำหลังการแช่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อยู่ในช่วง 170 – 440% นอกจากนี้แผ่นฟิล์มหลังการแช่น้ำยังมีลักษณะผิวหยาบ ไม่อ่อนนิ่ม

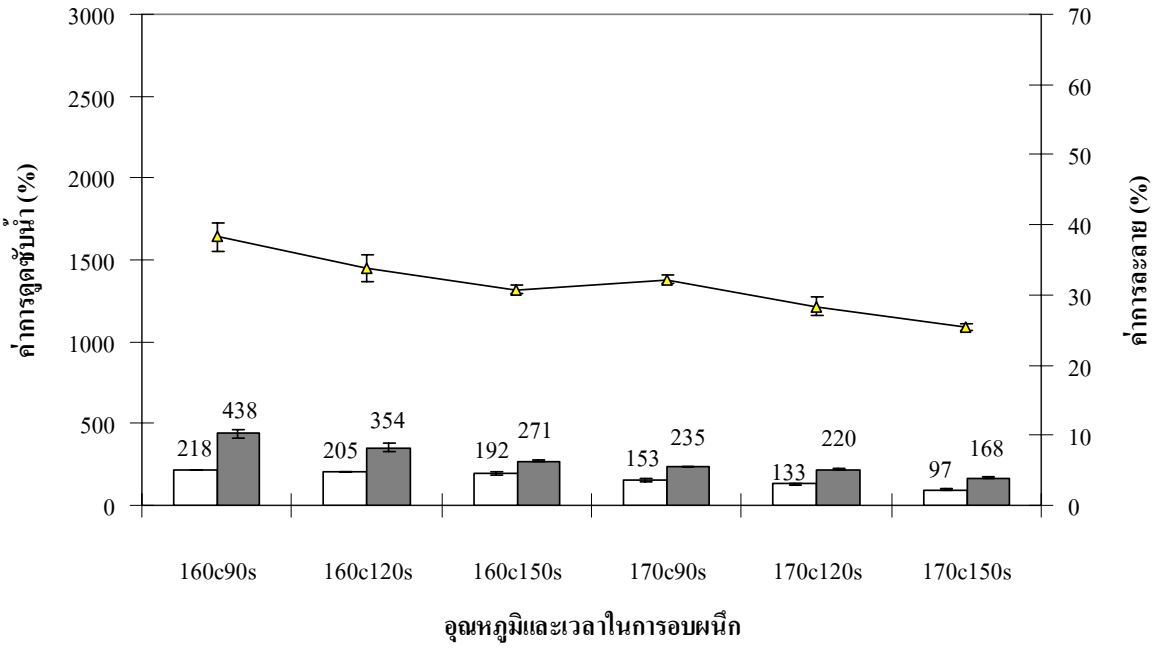
จากผลการทดสอบสมบัติการดูดซับน้ำและการละลายน้ำของแผ่นฟิล์ม เป็นสิ่งที่ยืนยันให้เห็นว่า กรดซิทริกสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลพอลิเมอร์ของ CMC ได้โดยทำให้เกิดพันธะเชื่อมโยงขึ้นภายในโมเลกุล CMC ซึ่งส่งผลให้ CMC มีสมบัติเปลี่ยนไปจากเดิม คือ มีความสามารถในการละลายน้ำได้น้อยลงอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) (hydrophilic group) นั้นส่วนหนึ่งต้องถูกใช้ไปในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน ในขณะที่หมู่โซเดียมคาร์บอกซีเมทิล ($-CH_2COONa$) และหมู่ไฮดรอกซิลที่เหลืออยู่ยังคงทำให้โมเลกุล CMC มีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) และน้ำที่ดูดซับเข้ามานั้นได้ถูกกักเก็บไว้ภายในโครงสร้างโมเลกุลที่มีลักษณะเป็นโครงข่ายร่างแห ส่งผลให้แผ่นฟิล์มพอลิเมอร์เกิดการขยายและบวมตัว (swell) ขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

ปริมาณ crosslinking agent และภาวะในการอบผนึกเป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องควบคุมให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม เนื่องจากการใช้ crosslinking agent ในปริมาณที่น้อยจนเกินไป และการอบผนึกที่อุณหภูมิต่ำหรือระยะเวลาสั้นจนเกินไปจะทำให้มีปริมาณพันธะเชื่อมโยงเกิดขึ้นน้อยและมีโครงสร้างที่ไม่แข็งแรง แผ่นฟิล์มจะดูดซับน้ำไว้ได้ระยะเวลาหนึ่ง จากนั้นจะละลายน้ำไปในที่สุด แต่หากปฏิกิริยาการเชื่อมโยง (crosslinking reaction) เกิดขึ้นมากจนเกินไปแผ่นฟิล์มจะมีความสามารถในการดูดซับน้ำได้น้อยทำให้สูญเสียสมบัติของไฮโดรเจล

(a)



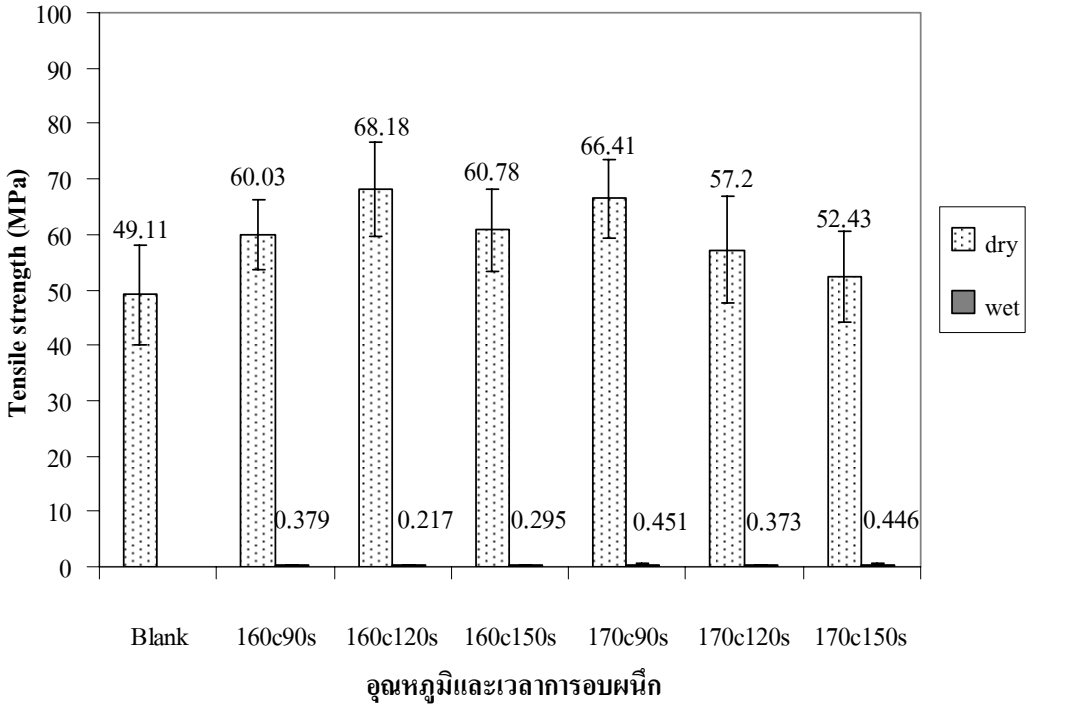
(b)

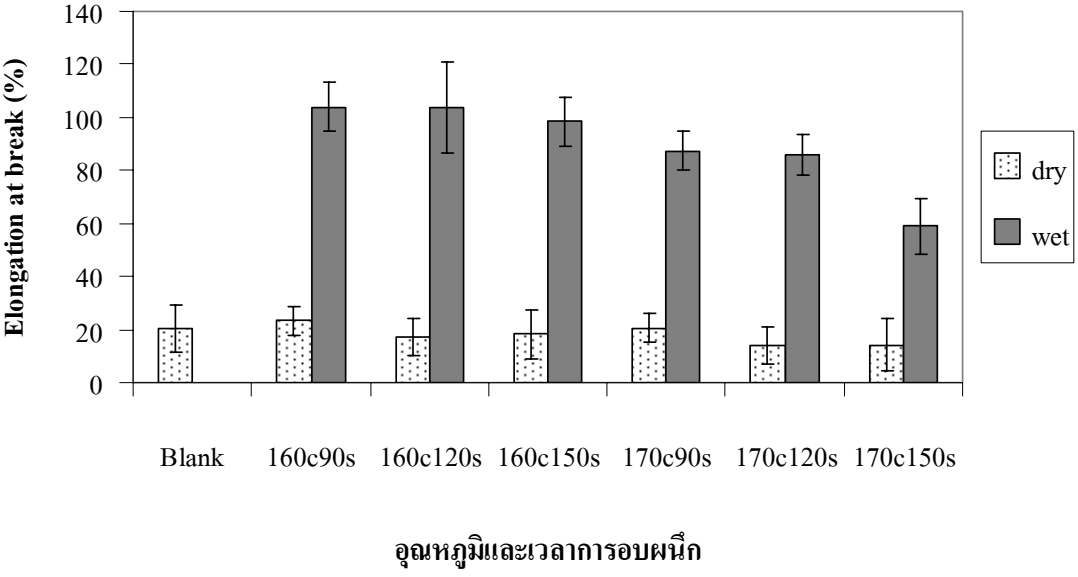


รูปที่ 3.7 ค่าการดูดซับน้ำและค่าการละลายน้ำของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่เตรียมโดยใช้กรดซิทริกความเข้มข้น 5% (a) และ7% (b) หลังการอบผนึกที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

3.1.3.2 สมบัติเชิงกล

จากการทดสอบค่าความแข็งแรงต่อแรงดึง (Tensile strength) และค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัว ณ จุดขาด (% Elongation at break) ของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่เตรียมได้จากการทดลองเปรียบเทียบกับกรณีของ CMC ที่ไม่ได้เติมสาร crosslinking (ซึ่งทำการทดสอบได้เฉพาะกรณีแผ่นฟิล์มขณะแห้ง เนื่องจากแผ่นฟิล์มเกิดการละลายน้ำได้ทันที) พบว่า แผ่นฟิล์มขณะแห้งทุกภาวะการอบผนึกมีความแข็งแรงสูงขึ้นกว่าแผ่นฟิล์ม CMC ที่ไม่ได้เติมสาร crosslinking agent โดยกรณีที่ใช้กรดซิทริกความเข้มข้น 5% ดังแสดงในกราฟรูปที่ 3.8 พบว่า การอบผนึกที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วินาที ให้ความแข็งแรงของแผ่นฟิล์มขณะแห้งสูงที่สุดคือมีค่าอยู่ที่ 68 MPa โดยการอบผนึกที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียสนั้นมีแนวโน้มให้ความแข็งแรงของแผ่นฟิล์มหลังการแช่น้ำสูงขึ้นกว่าที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวนั้นพบว่า แผ่นฟิล์มขณะแห้งมีค่าดังกล่าวใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วง 17 – 23% ยกเว้นการอบผนึกที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 และ 150 วินาที ที่พบว่า แผ่นฟิล์มมีความเปราะมากขึ้น สำหรับผลการทดสอบแผ่นฟิล์มหลังการแช่น้ำพบว่า การอบผนึกที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียสให้แผ่นฟิล์มที่มีค่าการยืดตัวสูงคืออยู่ในช่วง 98 – 104% ซึ่งสูงกว่าแผ่นฟิล์มขณะแห้งประมาณ 4-5 เท่า ส่วนการอบผนึกที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียสจะให้แผ่นฟิล์มที่มีค่าการยืดตัวต่ำกว่า คืออยู่ในช่วง 58 – 87%

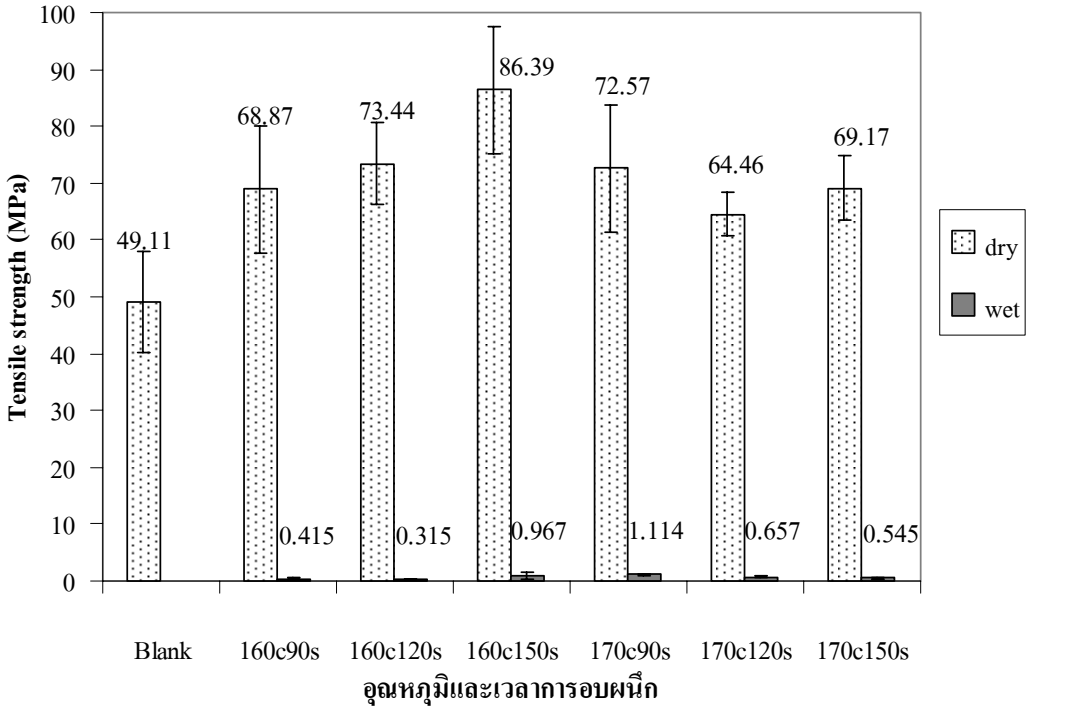


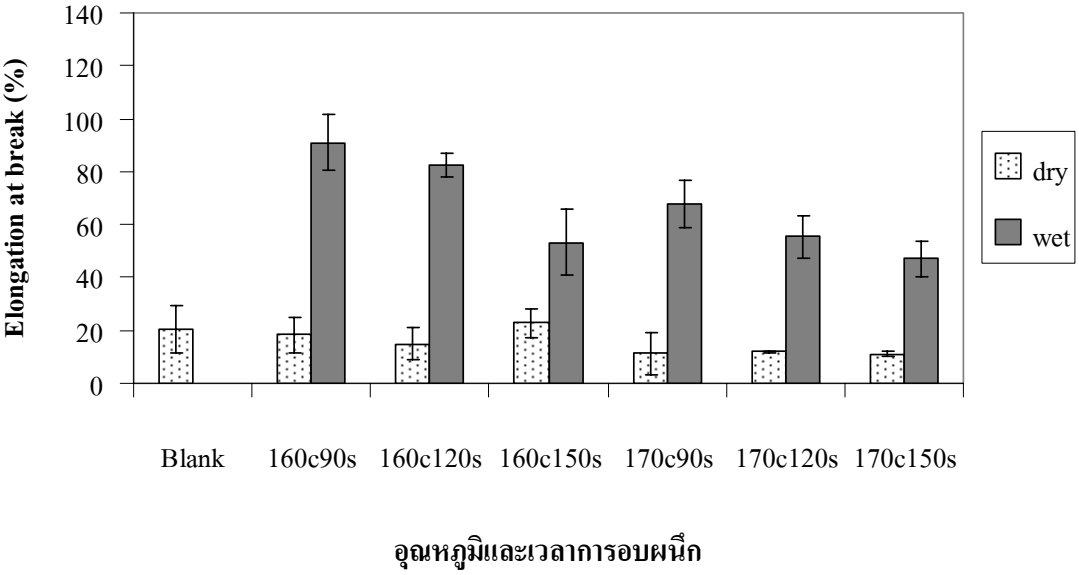


รูปที่ 3.8 ค่าความแข็งแรงต่อแรงดึงและเปอร์เซ็นต์การยืดตัวของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่ใช้กรดซิทริก ความเข้มข้น 5% เป็น crosslinking agent

สำหรับกรณีที่ใช้กรดซิทริกความเข้มข้น 7% จากกราฟรูปที่ 3.9 พบว่า แผ่นฟิล์มขณะแห้งและขณะเปียกมีความแข็งแรงสูงกว่าการใช้กรดซิทริก 5% คือ มีค่าอยู่ในช่วง 64 – 86 MPa และ 0.3 – 1.1 MPa ตามลำดับ โดยการอบผนึกที่ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 150 วินาที เป็นภาวะที่ให้ความแข็งแรงของแผ่นฟิล์มขณะแห้งสูงที่สุด และการอบผนึกที่ 170 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วินาที เป็นภาวะที่ให้ความแข็งแรงของแผ่นฟิล์มหลังแช่น้ำสูงที่สุด อย่างไรก็ตาม จากค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวได้แสดงให้เห็นว่า การใช้กรดซิทริกความเข้มข้น 7% มีแนวโน้มให้แผ่นฟิล์มหลังการอบผนึกที่มีความยืดตัวต่ำกว่าที่ความเข้มข้น 5% โดยแผ่นฟิล์มขณะแห้งที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 120 และ 150 วินาที นั้นมีความเปราะมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด สำหรับภาวะการอบผนึกที่ทำให้แผ่นฟิล์มมีค่าการยืดตัวหลังแช่น้ำสูงที่สุดโดยมีค่าอยู่ที่ 91% คือ การอบที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส 90 วินาที โดยแผ่นฟิล์มจะมีการยืดตัวได้น้อยลงเมื่อใช้เวลาการอบผนึกนานขึ้น

จากผลการทดสอบสมบัติเชิงกลข้างต้นแสดงให้เห็นว่า เมื่อโครงสร้างโมเลกุลของ CMC เริ่มมีพันธะเชื่อมโยงเกิดขึ้นจะมีผลทำให้ค่าความแข็งแรงต่อแรงดึงของแผ่นฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นในขณะที่มีการยืดตัว ณ จุดขาดลดลง ทั้งนี้เนื่องจากพันธะเอสเทอร์ที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุลนั้นเป็นพันธะโคเวเลนต์ซึ่งมีผลให้โมเลกุล CMC ยึดเหนี่ยวกันไว้ได้อย่างแข็งแรงมากขึ้น แผ่นฟิล์มจึงมีความเหนียว (stiffness) มากขึ้น อย่างไรก็ตาม หากใช้อุณหภูมิและเวลาในการอบผนึกสูงและนานเกินไปจะทำให้มีความหนาแน่นของพันธะเชื่อมโยง (crosslink density) อยู่ในโครงสร้างโมเลกุลมากจนเกินไปซึ่งจะส่งผลทำให้แผ่นฟิล์มมีความเปราะ และเกิดการแตกหักได้ง่าย ในกรณีการทดสอบแผ่นฟิล์มหลังแช่น้ำจะเห็นได้ว่า ค่าความแข็งแรงต่อแรงดึงมีค่าต่ำมากเมื่อเทียบกับแผ่นฟิล์มขณะแห้ง ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อแผ่นฟิล์มมีการดูดซับน้ำไว้ น้ำจะเข้าไปแทรกตัวอยู่ระหว่างสายโซ่ ทำให้โครงสร้างขยายตัวออกจากกันโดยเกาะเกี่ยวกันแบบหลวมๆ และเกิดการแตกหักของพันธะได้ง่ายเมื่อมีแรงมากระทำ



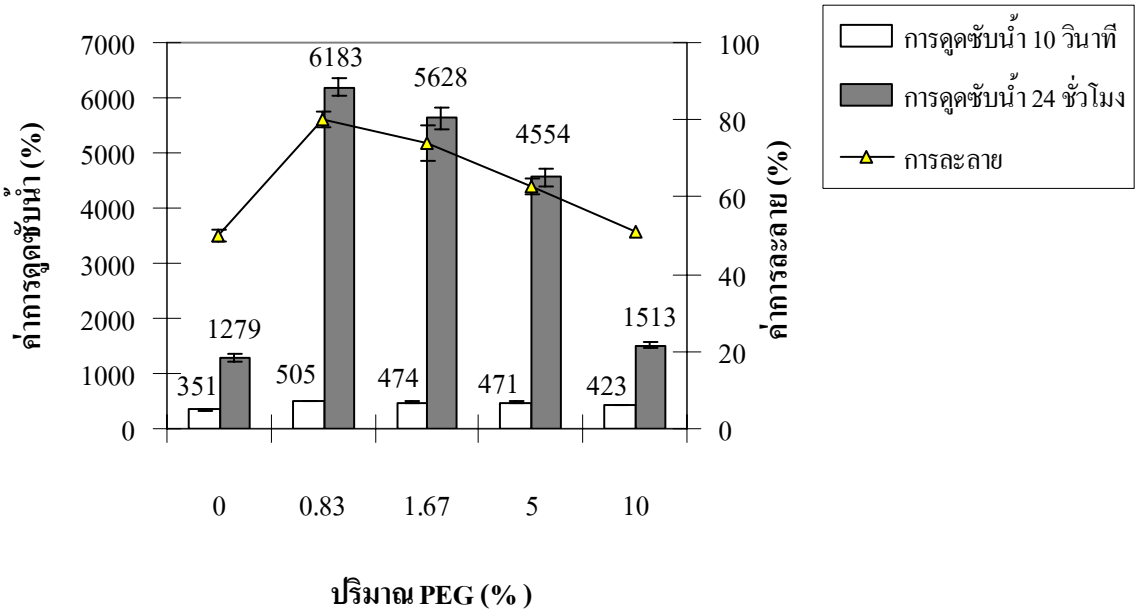


รูปที่ 3.9 ค่าความแข็งแรงต่อแรงดึงและเปอร์เซ็นต์การยืดตัวของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่ใช้กรดซิทริก ความเข้มข้น 7% เป็น crosslinking agent

3.1.4 <u>อิทธิพลของปริมาณพอลิเอทิลีนไกลคอลและพอลิไวนิลไพโรลิโดนต่อสมบัติของแผ่นฟิล์ม</u>

เนื่องจากในการทดลองเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลในขั้นตอนต่อไปซึ่งจะดำเนินการในโครงการปีที่ 2 นั้น เป็นการพัฒนาให้แผ่นฟิล์มดังกล่าวมีสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการใช้อนุภาคเงินเป็นสารเติมแต่ง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาทดลองการเตรียมแผ่นฟิล์มในภาวะที่มีสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนการเตรียมอนุภาคเงินเป็นองค์ประกอบร่วมด้วย ซึ่งได้แก่ พอลิเอทิลีนไกลคอล (PEG) และพอลิไวนิลไพโรลิโดน (PVP) และศึกษาสมบัติของแผ่นฟิล์มดังกล่าวในเบื้องต้น เพื่อรองรับการทดลองในขั้นตอนต่อไป

ในการศึกษาทดลองการเตรียมแผ่นฟิล์มดังกล่าวทำได้โดยใช้สารละลาย CMC น้ำหนักโมเลกุล 250,000 ความเข้มข้น 2% ร่วมกับ PVP ความเข้มข้น 1% และ PEG ความเข้มข้น 0.83 - 10% (เป็น % โดยน้ำหนักของ CMC) และใช้กรดซิทริกความเข้มข้น 5% จากนั้นทำการอบผนึกที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วินาที



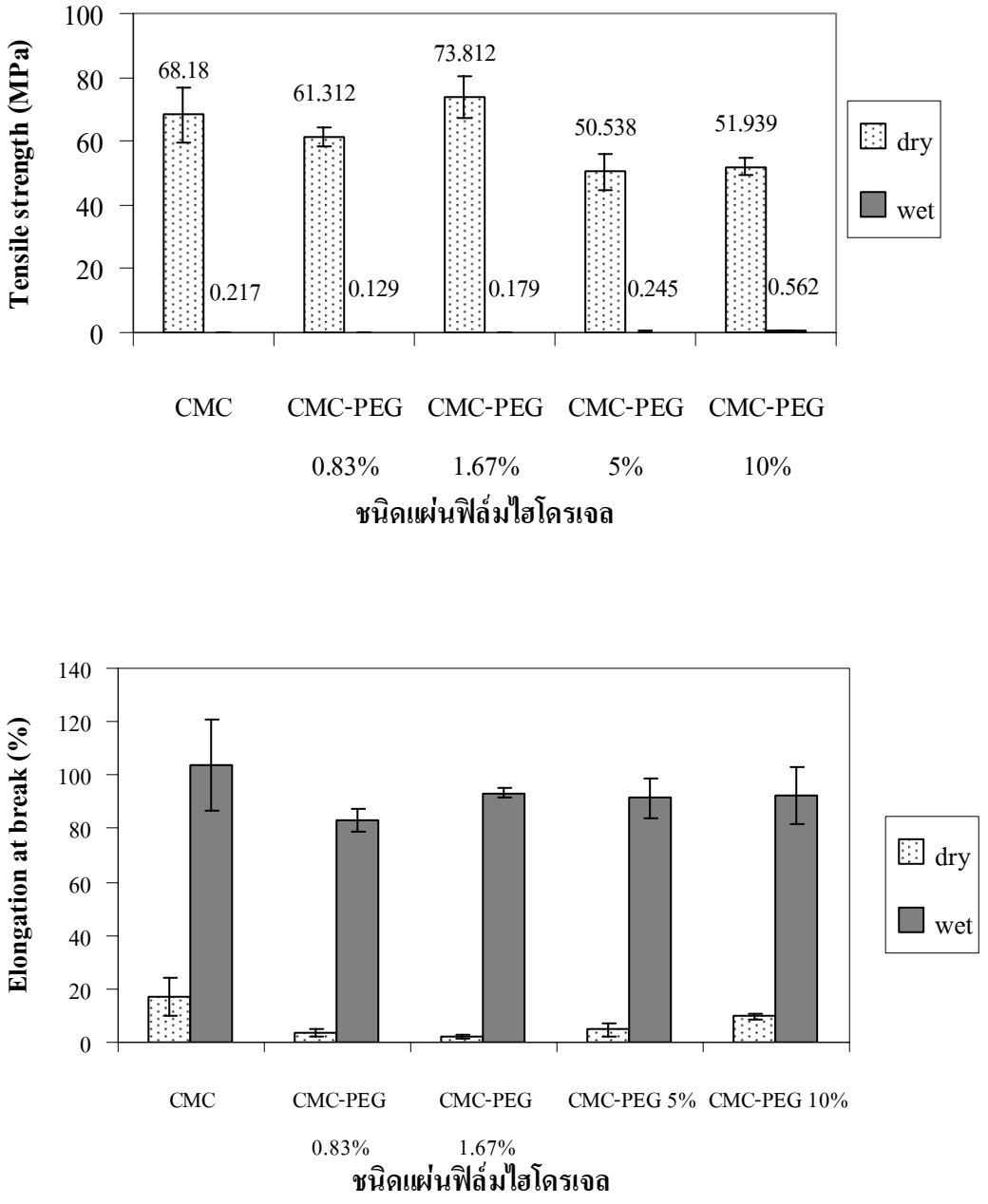
รูปที่ 3.10 เปอร์เซ็นต์การดูดซับน้ำและเปอร์เซ็นต์การละลายของแผ่นฟิล์มในระบบที่มี PEG ในระดับต่างๆ ที่เวลาในการดูดซับน้ำ 10 วินาที และ 24 ชั่วโมง

จากผลการทดลองดังแสดงในกราฟรูปที่ 3.10 พบว่า การใช้ปริมาณ PEG ที่ระดับความเข้มข้น 10% นั้นแผ่นฟิล์มมีสมบัติการดูดซับน้ำและการละลายใกล้เคียงกับแผ่นฟิล์มที่ไม่ได้เติม PEG และ PVP แต่การใช้ PEG ในปริมาณที่ต่ำที่สุดคือ 0.83% นั้นแผ่นฟิล์มกลับมีค่าการละลายสูงถึง 80% โดยมีค่าการดูดซับน้ำหลัง

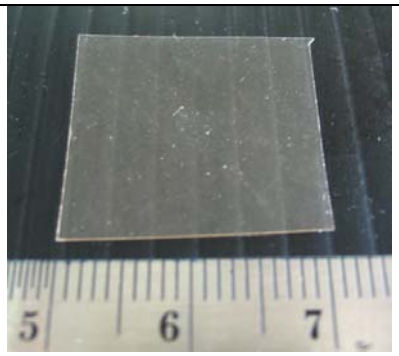
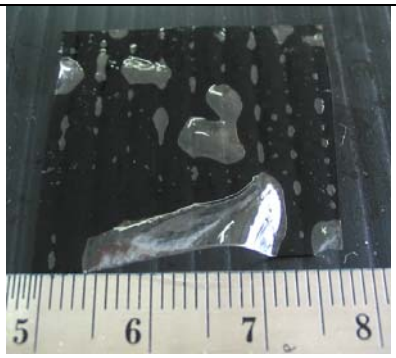
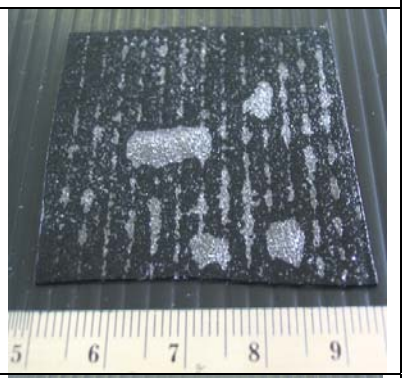
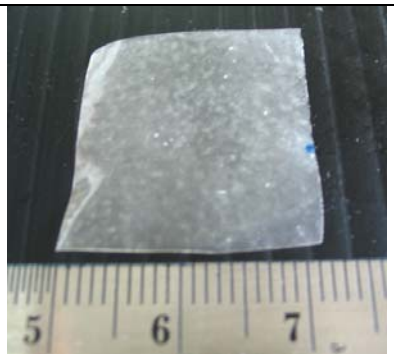
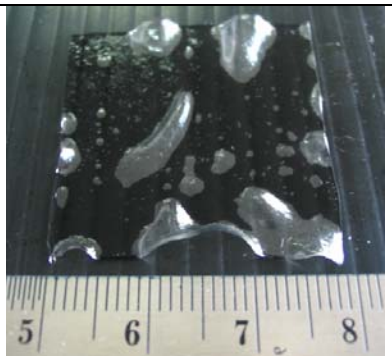
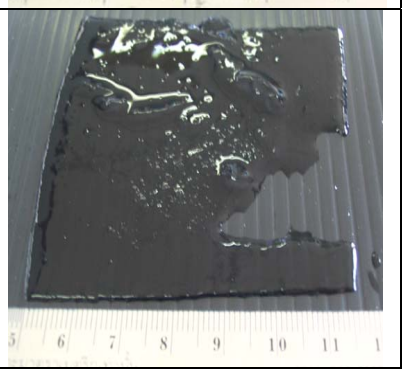
แช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพิ่มขึ้นจากเดิมถึง 5 เท่า ทั้งนี้ ผลการทดลองดังกล่าวสามารถอธิบายได้ว่า การดูดซับน้ำและการละลายที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อใช้ PEG ในปริมาณต่ำนั้นน่าจะเป็นผลมาจากการมี PVP ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีสมบัติละลายน้ำได้ดีแทรกตัวอยู่ในโครงสร้างแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล แต่สำหรับ PEG ที่เติมเข้าไปในแผ่นฟิล์มนั้น แม้ว่าจะเป็นพอลิเมอร์ที่มีสมบัติละลายน้ำได้ดี แต่เนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลของ PEG มีหมู่ไฮดรอกซิลจึงสามารถทำปฏิกิริยาเชื่อมโยงกับกรดซิทริกได้เช่นเดียวกับ CMC ดังนั้นเมื่อเติม PEG ในปริมาณที่สูงขึ้นจึงส่งผลให้ภายในแผ่นฟิล์มมีพันธะเชื่อมโยงที่หนาแน่นขึ้น ซึ่งทำให้แผ่นฟิล์มไฮโดรเจลมีสมบัติการดูดซับน้ำและละลายน้ำได้ลดน้อยลงตามลำดับ

สำหรับผลการทดสอบสมบัติเชิงกล พบว่า การเติม PEG และ PVP ในแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC มีผลทำให้แผ่นฟิล์มขณะแห้งมีค่าความแข็งแรงต่อแรงดึงและเปอร์เซ็นต์การยืดตัวลดลง แต่หลังจากที่แผ่นฟิล์มผ่านการแช่น้ำเป็นเวลา 10 วินาที พบว่า การเพิ่มปริมาณ PEG จนถึงระดับ 5 และ 10% มีผลทำให้แผ่นฟิล์มมีค่าความแข็งแรงต่อแรงดึงสูงกว่าชนิดที่ไม่ได้เติมโดยเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาณ PEG สำหรับค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวของแผ่นฟิล์มขณะเปียกพบว่า มีค่าต่ำกว่าแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่ไม่ได้เติม PEG และ PVP ประมาณ 10 – 20% (รูปที่ 3.11)

จากผลการทดลองจะเห็นว่า การเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลโดยใช้ PEG ผสมร่วมกับ CMC ที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 10% แม้จะมีข้อดีในเรื่องสมบัติการดูดซับน้ำที่เพิ่มสูงขึ้นกว่าชนิดที่ไม่ได้เติม PEG แต่ยังมีสมบัติที่ต้องปรับปรุงเพิ่มเติมโดยเฉพาะเรื่องสมบัติการละลาย และค่าความแข็งแรงหลังแช่น้ำ เนื่องจากแผ่นฟิล์มหลังการแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ยังคงมีลักษณะอ่อนนิ่มมาก และขาดได้ง่าย ดังแสดงในรูปที่ 3.12 ดังนั้นในการทดลองการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่มีอนุภาคเงินในขั้นตอนต่อไปในโครงการปีที่ 2 คณะผู้วิจัยจะทำการศึกษาในรายละเอียดเพื่อพัฒนาสมบัติของแผ่นฟิล์มต่อไป



รูปที่ 3.11 ค่าความแข็งแรงต่อแรงดึงและเปอร์เซ็นต์การยืดตัวของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC-PEG

	ก่อนแช่น้ำ	หลังแช่น้ำ 10 วินาที	หลังแช่น้ำ 24 ชั่วโมง
(a)			
(b)			

รูปที่ 3.12 ลักษณะแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC (a) และ CMC ผสม PEG (b) ขนาด 2 x 2 เซนติเมตร ที่เตรียมขึ้นโดยใช้กรดซิทริกความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของ CMC และอบผนึกที่ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วินาที ที่ภาวะก่อนและหลังการแช่น้ำเป็นเวลา 10 วินาที และ 24 ชั่วโมง

3.1.5 <u>ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล</u>

เนื่องจากการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลในงานวิจัยนี้มีเป้าหมายของการพัฒนาที่มุ่งสู่การนำไปใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ในรูปของวัสดุปิดแผล ดังนั้นเพื่อเป็นการทดสอบความปลอดภัยของแผ่นฟิล์มในเบื้องต้นโดยอาศัยวิธีการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ Human skin fibroblasts ATCC CRL 2708 passage 13 ด้วยเทคนิค MTT assay โดยวิธี Test on extraction ซึ่งแผ่นฟิล์มที่นำไปทดสอบนั้นเตรียมโดยใช้สารละลาย CMC น้ำหนักโมเลกุล 250,000 ความเข้มข้น 2% ร่วมกับกรดซิทริกความเข้มข้น 5% ทำการอบผนึกที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วินาที

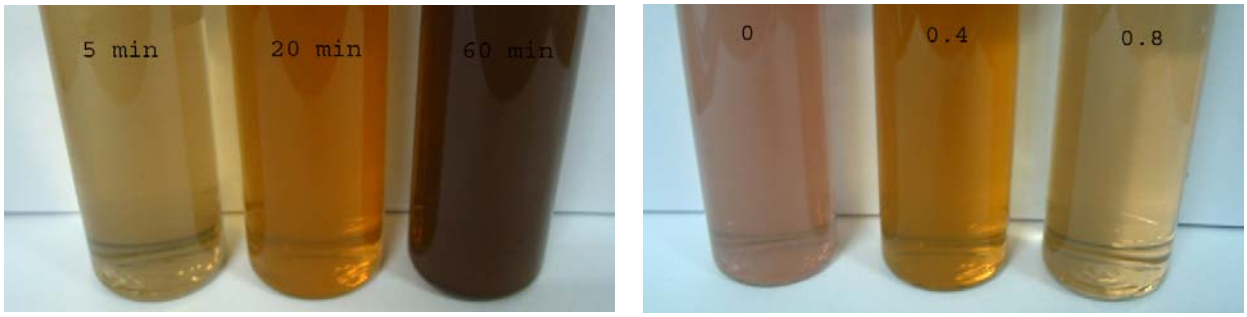
จากการทดสอบโดยใช้สาร MTT และวัดสีที่เกิดขึ้นผลการทดสอบเพื่อวัดปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตหลังการเพาะเลี้ยงกับสารสกัดจากแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ประมาณร้อยละ 90 (ตารางที่ 3.2) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า แผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่เตรียมขึ้นในการทดลองนี้มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) กับเซลล์ที่ทำการทดสอบภายในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) ได้ค่อนข้างดี

ตารางที่ 3.2 จำนวนเซลล์ Human skin fibroblast ที่มีชีวิตภายหลังการเพาะเลี้ยงกับสารสกัดจากตัวอย่างเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

	ตัวอย่างควบคุม	แผ่นฟิล์มไฮโดรเจล
% Viability	100%	88.57%

3.2 ผลการเตรียมอนุภาคเงิน

ในขั้นตอนการเตรียมอนุภาคเงินด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเป็นสารตั้งต้นและใช้ PEG เป็นสารรีดิวซ์ ในระบบที่ควบคุมอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และมีการปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กด้วยอัตราเร็ว 200 รอบ/นาที พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที สารละลายผสมมีสีเหลืองใส และเมื่อเวลาผ่านไป 20 นาที สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูและเริ่มมีตะกอนสีเทาดำเกิดขึ้น โดยในกรณีของระบบที่มีการเติมสาร PVP พบว่า สีของสารละลายผสมมีความคงตัว และไม่มีตะกอนเกิดขึ้น โดยปริมาณ PVP ที่ระดับความเข้มข้น 3.2% สารละลายมีสีเหลืองใสกว่าที่ระดับความเข้มข้น1.6% (รูปที่ 3.13 a) นอกจากนี้ยังพบว่า ระยะเวลาการทำปฏิกิริยามีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาของสารละลาย โดยที่ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 60 นาที สารละลายมีสีน้ำตาลแดงเข้มกว่าระยะเวลาการทำปฏิกิริยาที่ 20 และ 5 นาที ตามลำดับ (รูปที่ 3.13 b)



a b

รูปที่ 3.13 ตัวอย่างสารละลายที่มีอนุภาคเงินที่ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 5, 20, และ 60 นาที (a) และที่ปริมาณ PVP ความเข้มข้น 0, 1.6 และ 3.2 % (0, 0.4 และ 0.8 กรัม ตามลำดับ) (b)

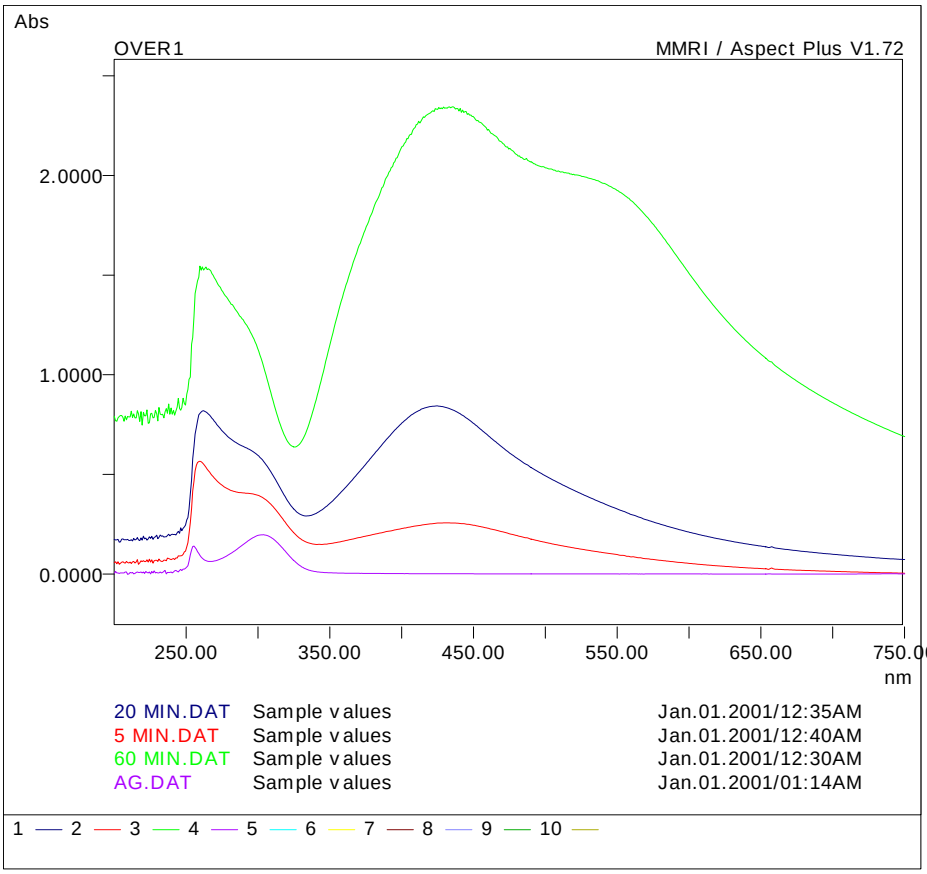
3.2.1 ผลการวิเคราะห์การดูดกลืนแสงด้วย UV-VIS Spectroscopy

จากการตรวจสอบด้วยยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (รูปที่ 3.14) พบว่า สารละลายซิลเวอร์ไนเตรตมีสเปกตรัมการดูดกลืนแสง 2 ตำแหน่ง คือที่ 255 และ 303 นาโนเมตร ซึ่งเป็นตำแหน่งสเปคตรัมที่เป็นลักษณะเฉพาะของซิลเวอร์ไอออน (Wang และคณะ 2005) หลังจากที่มีการผสมสารรีดิวซ์คือ PEG และเติม PVP ความเข้มข้น 1.6% พบว่า เมื่อเวลาในการทำปฏิกิริยาผ่านไป 5 นาที จะพบสเปกตรัมการดูดกลืนแสงปรากฏขึ้นเพิ่มเติมที่ความยาวคลื่นในช่วงประมาณ 430 นาโนเมตร ซึ่งเป็นตำแหน่ง surface plasmon band ของอนุภาคเงิน จึงเป็นสิ่งที่ยืนยันได้ว่ามีอนุภาคเงินเกิดขึ้นจากการที่ซิลเวอร์ไอออนถูกรีดิวซ์โดย PEG ดังสมการที่ 1 ซึ่งเสนอโดย Luo และคณะ (2005)

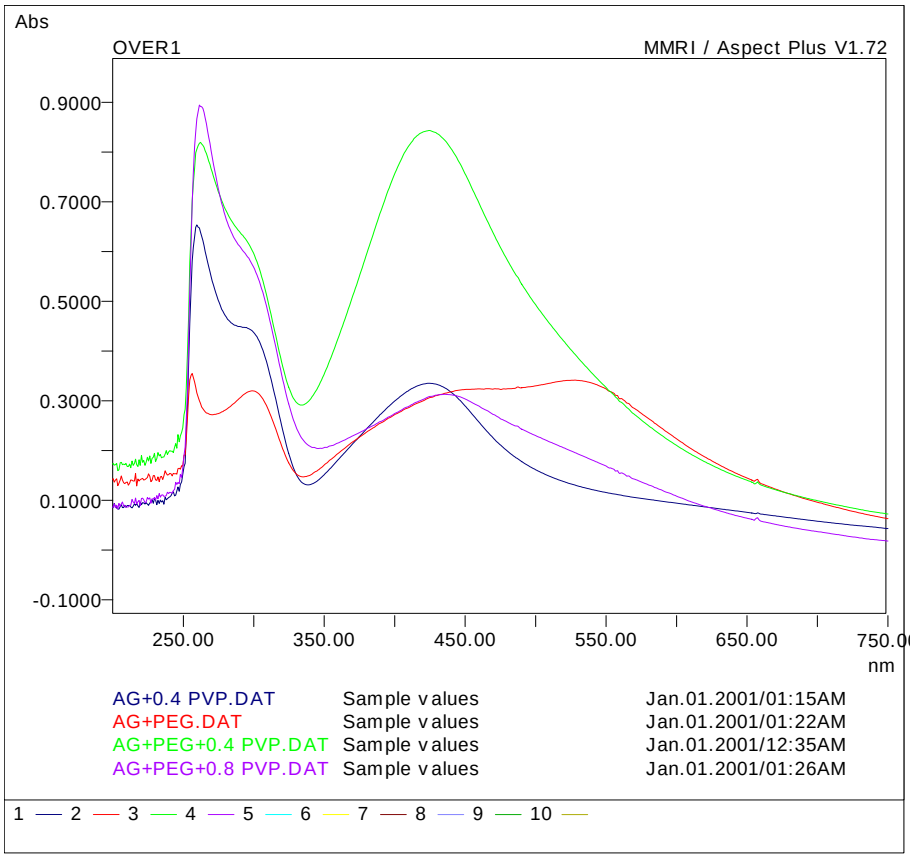
------- (1)

ทั้งนี้การปรากฏสเปกตรัมที่บริเวณดังกล่าวในลักษณะแถบกว้างนั้นเป็นลักษณะเฉพาะของอนุภาคเงินที่มีขนาดเล็กมาก (Krylova และคณะ 2005) เมื่อใช้ระยะเวลาการทำปฏิกิริยานานขึ้นจะเห็นได้ว่าแถบสเปกตรัมที่บริเวณดังกล่าวจะมีความเข้มสูงขึ้น โดยเมื่อใช้เวลาการทำปฏิกิริยานานขึ้นเป็น 60 นาทีจะเห็นพีกการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งตำแหน่งคือที่ประมาณ 520 นาโนเมตร ซึ่งลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงดังกล่าวบ่งชี้ให้เห็นว่า เมื่อใช้เวลาในการทำปฏิกิริยานานขึ้นอนุภาคเงินที่เตรียมได้จะมีขนาดใหญ่มากขึ้นและมีรูปร่างที่ไม่เป็นทรงกลม (non-spherical geometry) (Popa และคณะ, 2007)

ในรูปที่ 3.15 เป็นสเปกตรัมที่แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของปริมาณความเข้มข้นของ stabilizer คือ PVP ที่ใช้ร่วมในปฏิกิริยา ซึ่งพบว่า ในสารละลายที่ไม่ได้เติม PVP นั้นจะมีการดูดกลืนแสงเป็นแถบกว้าง โดยมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ประมาณ 450 และ 527 ซึ่งเป็นบ่งชี้ให้เห็นว่าอนุภาคเงินที่เตรียมได้มีขนาดใหญ่ แต่เมื่อมีการเติมสาร PVP ลงไปด้วยปริมาณความเข้มข้น 1.6% พบว่า แถบการดูดกลืนแสงจะมีลักษณะแคบลงและมีความเข้มสูงอย่างเห็นได้ชัดที่ความยาวคลื่น 424 นาโนเมตร ซึ่งบ่งชี้ว่า มีอนุภาคเงินขนาดเล็กเกิดขึ้นเป็นจำนวนมากและมีการกระจายขนาดอยู่ในช่วงแคบ ในขณะที่เมื่อเติม PVP ปริมาณสูงขึ้นเป็น 3.2% จะพบว่า สเปกตรัมการดูดกลืนแสงนั้นกลายเป็นแถบกว้างที่ 435 นาโนเมตร ในลักษณะที่คล้ายกับกรณีการทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 5 นาที ที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ซึ่งแสดงว่าอนุภาคเงินที่เกิดขึ้นในสารละลายดังกล่าวมีขนาดเล็กมาก จึงแสดงให้เห็นว่า PVP นั้นมีบทบาทในการทำหน้าที่เป็นสารช่วยกระจายตัว โดยที่โมเลกุลของ PVP จะเข้าไปปกคลุมอนุภาคเงินและช่วยยับยั้งการเกาะรวมเป็นกลุ่มก้อนที่จะมีผลทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น (Wang และคณะ, 2005) นอกจากนี้ ในกรณีที่มีการเติม PVP แต่ไม่ได้เติม PEG ยังพบว่า เกิดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอนุภาคเงินขึ้นด้วยเช่นกันที่ 424 นาโนเมตร แต่มีความเข้มของพีกต่ำกว่ากรณีที่เติม PEG แสดงให้เห็นว่า PVP มีสมบัติในการรีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออนได้ด้วยเช่นกันซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Slistan-Grijalva และคณะ (2008)



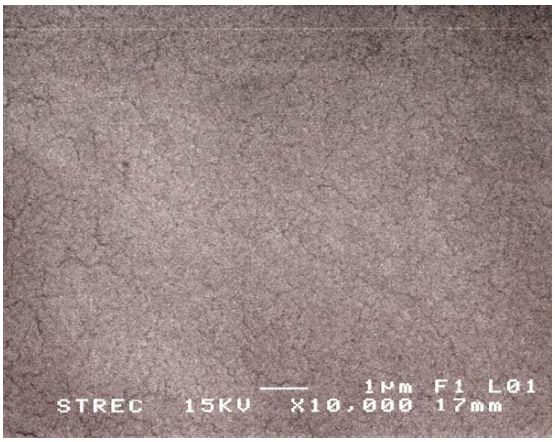
รูปที่ 3.14 สเปคตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต และสารละลายที่มีอนุภาคเงินซึ่งได้จากการทำปฏิกิริยาที่ระยะเวลา 5, 20 และ 60 นาที



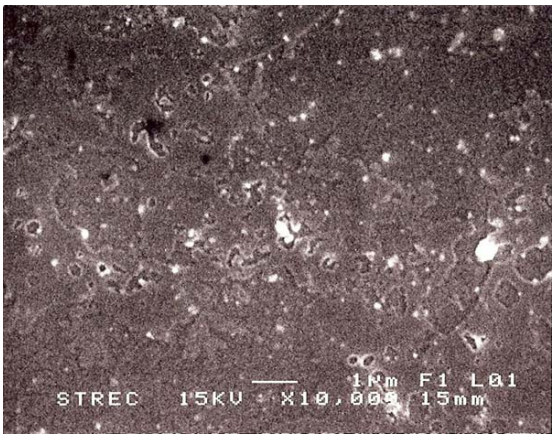
รูปที่ 3.15 สเปคตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีอนุภาคเงินในระบบที่ไม่ได้เติม PEG และเติม PVP ปริมาณความเข้มข้น 0, 1.6 และ 3.2% (0, 0.4 และ 0.8 กรัม ตามลำดับ)

3.2.2 <u>ผลการตรวจสอบลักษณะของอนุภาคเงินด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด</u>

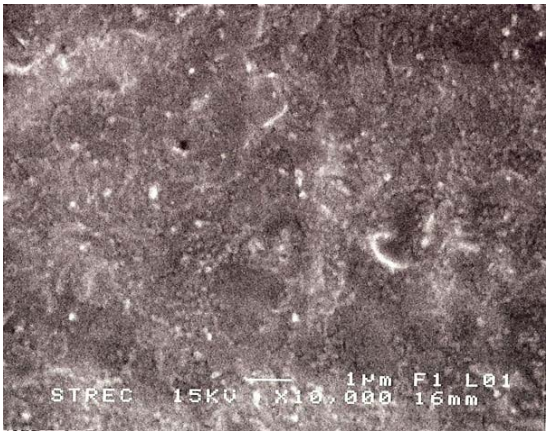
จากการตรวจสอบลักษณะการกระจายตัวของอนุภาคเงินที่ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 5 , 20 และ 60 นาที ในระบบสารละลายผสมซิลเวอร์ไนเตรตและ PEG และเติม PVP ปริมาณความเข้มข้น 1.6 % พบว่า ในระบบที่มีเฉพาะสารละลายผสม PEG และ PVP พื้นผิวของตัวอย่างจะเรียบ และไม่มีอนุภาคเงินปรากฏขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 3.16 a) แต่เมื่อมีการผสมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตลงไปในระบบ พบว่า มีอนุภาคเงินเกิดขึ้นบนพื้นผิว และกระจายตัวอยู่ทั่วไป โดยที่ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 5 และ 20 นาที อนุภาคเงินกระจายอยู่ทั่วไปโดยมีขนาดประมาณ 100 นาโนเมตร ในขณะที่ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 60 นาที จะให้อนุภาคขนาดใหญ่กว่า โดยตรวจพบว่ามีอนุภาคขนาดประมาณ 1 ไมครอนเกิดขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 3.16 d)



a) Blank



b) 5 นาที



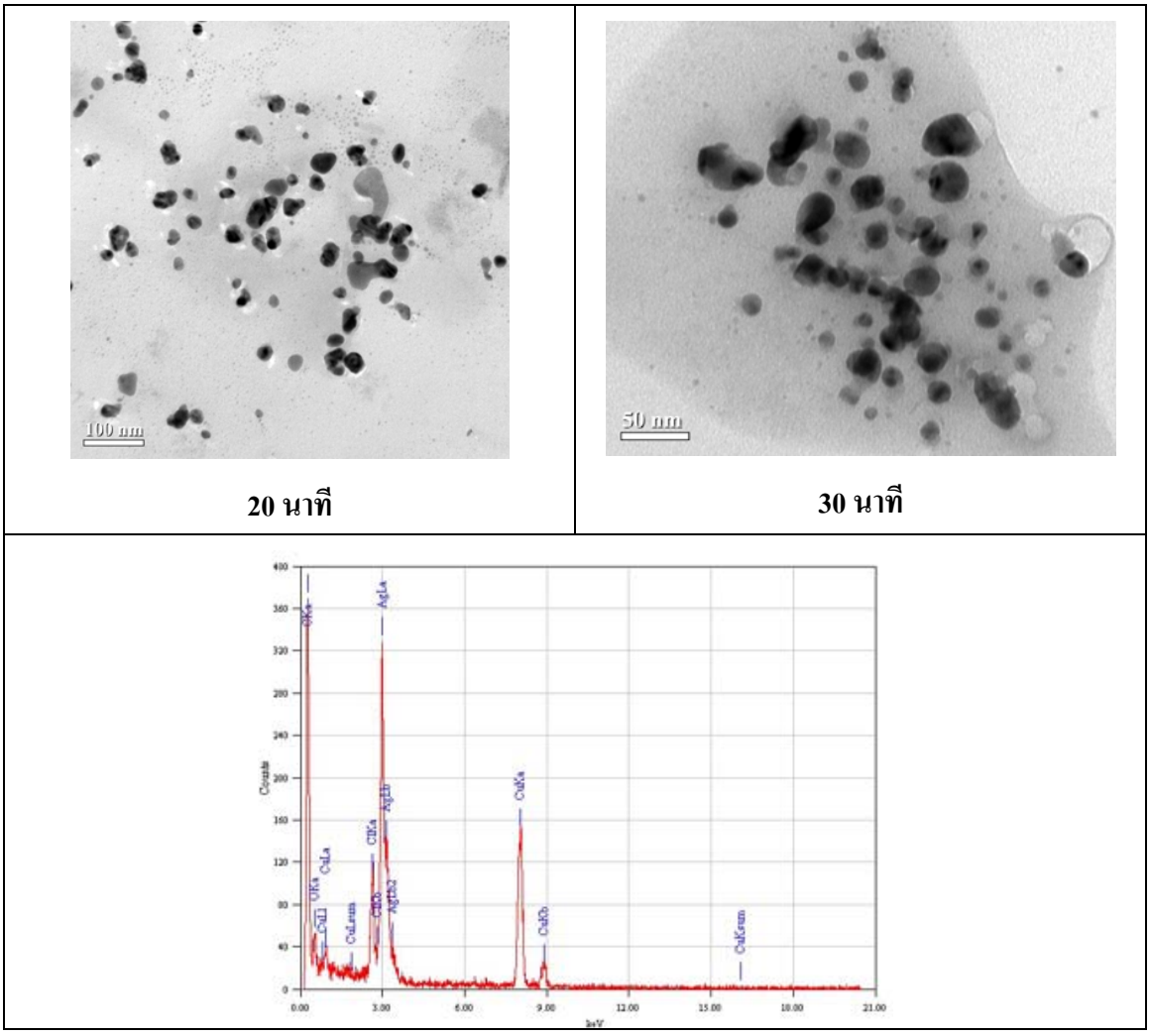
c) 20 นาที

d) 60 นาที

รูปที่ 3.16 ตัวอย่างภาพถ่ายลักษณะอนุภาคเงินจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดในระบบที่ไม่มีสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (blank) และในระบบที่มีสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 5, 20 และ 60 นาที

3.2.3 ผลการตรวจสอบลักษณะของอนุภาคเงินด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องผ่าน

จากการตรวจสอบขนาดอนุภาคเงินในระบบสารละลายผสมซิลเวอร์ไนเตรตและ PEG ที่มีการเติม PVP ปริมาณความเข้มข้น 1.6% โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องผ่าน ดังแสดงในรูปที่ 3.17 พบว่า การทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 5 นาที นั้นยังไม่สามารถตรวจพบอนุภาคเงินในสารละลายได้ แต่สำหรับสารละลายที่ทำปฏิกิริยาเป็นเวลาตั้งแต่ 20 นาทีเป็นต้นไปนั้น สามารถตรวจพบอนุภาคที่มีรูปร่างต่างๆ ทั้งชนิดค่อนข้างกลม และชนิดหลายเหลี่ยม โดยมีขนาดอยู่ในช่วงต่ำกว่า 10 นาโนเมตร จนถึง 50 นาโนเมตร ซึ่งเมื่อทำการตรวจสอบด้วย EDS แล้วพบว่า มีพีกของ Ag ปรากฏขึ้น ซึ่งเป็นการยืนยันว่า อนุภาคดังกล่าวคืออนุภาคเงิน



รูปที่ 3.17 ตัวอย่างภาพถ่ายลักษณะอนุภาคเงินจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องผ่าน

3.2.4 ผลการตรวจสอบการกระจายตัวของอนุภาค

เมื่อตรวจสอบขนาดและการกระจายตัวของอนุภาคด้วยวิธีการวัดอัตราการเปลี่ยนแปลงของการกระเจิงแสง แบบพลวัต (Dynamic light scattering) ด้วยเครื่อง Zetasizer ในระบบที่มีสารละลายผสมซิลเวอร์ไนเตรตและ PEG ที่มีการเติม PVP ปริมาณความเข้มข้น 1.6 และ 3.2% พบว่า ในระบบที่มีการเติม PVP 3.2% มีแนวโน้มว่า อนุภาคที่เกิดขึ้นในสารละลายมีขนาดเล็กกว่าในระบบที่มีการเติม PVP 1.6% (ตารางที่ 3.3) อย่างไรก็ตาม ผลจากการวัดสารละลายแต่ละชนิดด้วยเครื่อง Zetasizer จำนวน 5 ครั้ง พบว่า ให้ค่าที่ไม่สม่ำเสมอ โดยค่าที่วัดได้ในครั้งที่ 1 จะให้ค่าขนาดอนุภาคสูงที่สุดจากนั้นค่าจะลดลงอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งมีค่าใกล้เคียงกันในการวัดครั้งที่ 4 และ 5 นอกจากนี้ยังพบว่า ในสารละลาย Blank ซึ่งหมายถึงสารละลายที่มีเฉพาะ PEG และ PVP โดยไม่มีซิลเวอร์ไอออนนั้นยังให้ผลการวัดที่แสดงว่ามีอนุภาคขนาดใหญ่อยู่ในสารละลาย ดังนั้นโมเลกุลพอลิเมอร์ของ PEG หรือ PVP ที่อยู่ในสารละลายจึงมีผลกระทบที่ทำให้การวัดขนาดอนุภาคเงินขาดความน่าเชื่อถือ ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในรายละเอียดของโครงการปีที่ 2 ต่อไป โดยงานวิจัยในปีที่ 1 นี้ พบว่า ผลการวัดขนาดจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องผ่านมีความน่าเชื่อถือมากกว่า เนื่องจากสามารถมองเห็นขนาดและลักษณะของอนุภาคได้ชัดเจน อย่างไรก็ตามวิธีการเตรียมตัวอย่างค่อนข้างมีความยุ่งยากซับซ้อนเนื่องจากอนุภาคดังกล่าวผสมอยู่ในพอลิเมอร์ จึงเป็นข้อจำกัดที่ต้องระมัดระวังเพื่อไม่ให้เกิดผลกระทบต่อประสิทธิภาพการทำงานของเครื่องมือ

ตารางที่ 3.3 ผลการวัดขนาดอนุภาคของสารละลายด้วยเครื่อง Zetasizer

ชื่อตัวอย่าง	ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา (นาที)	ขนาดอนุภาค (ครั้งที่)					ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (nm)
		1	2	3	4	5	
Blank		463.9	485.8	112	159.8	93.36	262.97
PVP 1.6%	10	284.1	210.7	87.97	70.54	61.58	142.98
	20	83.39	61.83	60.1	58.91	57.2	64.29
	60	248.6	133.5	76.81	63.28	61.23	116.68
PVP 3.2%	20	66.6	48.46	47.87	43.42	43.71	50.01

3.2.5 <u>ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์</u>

จากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลายที่มีอนุภาคเงิน ในระบบที่มีสารละลายผสมซิลเวอร์ไนเตรตและ PEG ร่วมกับ PVP ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 20 นาที ที่ระดับความเข้มข้น 25 , 50 และ 100 ppm พบว่า สารละลายที่ได้จากระบบที่มีการเติม PVP ในปริมาณความเข้มข้น 1.6 และ 3.2% นั้นให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* ในระดับสูงและไม่มีความแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3.4 โดยประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* นั้นเริ่มลดลงจาก 100% เป็น 99.99% เมื่อใช้ระดับความเข้มข้นของอนุภาคเงินที่ 25 ppm

ตารางที่ 3.4 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของอนุภาคเงินความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งได้จากการเตรียมโดยใช้ PVP ปริมาณความเข้มข้น 1.6 และ3.2%

ตัวอย่างทดสอบ	ภาพถ่ายจานเพาะเชื้อที่ 24 ชั่วโมง	จำนวนโคโลนีของ *S.aureus* ที่ 24 ชั่วโมง (CFU/ml)	การลดลงของเชื้อจุลินทรีย์ (%)
Blank		1.5×10^8	-
PVP 1.6% , 25 ppm		$<1.0 \times 10^2$	99.99
PVP 1.6%, 50 ppm		0	100
PVP 1.6%, 100 ppm		0	100

ตารางที่ 3.4 (ต่อ) ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของอนุภาคเงินความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งได้จากการเตรียมโดยใช้ PVP ปริมาณความเข้มข้น 1.6 และ3.2%

ตัวอย่างทดสอบ	ภาพถ่ายจานเพาะเชื้อ ที่ 24 ชั่วโมง	จำนวนโคโลนีของ *S.aureus* ที่ 24 ชั่วโมง (CFU/ml)	การลดลงของเชื้อจุลินทรีย์ (%)
PVP 3.2%, 25 ppm		$<1.0 \times 10^2$	99.99
PVP 3.2%, 50 ppm		0	100
PVP 3.2%, 100 ppm		0	100

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

1. การเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC โดยใช้กรดซิทริกเป็นสารเชื่อมโยงโมเลกุล จะเกิดปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน ส่งผลให้ซีเอ็มซีซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ดีเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติกลายเป็นไฮโดรเจลที่มีความสามารถในการดูดซับและเก็บกักน้ำจำนวนมากไว้ภายในโมเลกุล

2. ภาวะในการเตรียมแผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ที่ให้สมบัติที่เหมาะสมสำหรับการทดลองนี้คือ การเตรียมโดยใช้ CMC น้ำหนักโมเลกุล 250,000 ความเข้มข้น 2% ร่วมกับกรดซิทริกความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักของ CMC และทำการอบผนึกที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วินาที แผ่นฟิล์มหลังการแช่น้ำเป็นเวลา 10 วินาที สามารถดูดซับน้ำ ได้ 350% มีความแข็งแรงต่อแรงดึงเท่ากับ 0.22 MPa และมีค่าการยืดตัวเท่ากับ 104% ทั้งนี้ผลการทดสอบความปลอดภัยต่อการใช้งานในเบื้องต้นพบว่า แผ่นฟิล์มไฮโดรเจล CMC ดังกล่าวมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพค่อนข้างดีกับเซลล์ที่ใช้ในการทดสอบ

3. แผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่มีการผสม PEG ที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 10% มีสมบัติการดูดซับน้ำสูงขึ้นกว่าชนิดที่ไม่ได้เติม PEG แต่ยังจำเป็นต้องมีการปรับปรุงสมบัติเพิ่มเติมโดยเฉพาะด้านการละลาย และความแข็งแรงของแผ่นฟิล์มภายหลังการแช่น้ำ

4. การเตรียมอนุภาคเงินด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเป็นสารตั้งต้น ใช้ PEG เป็นสารรีดิวซ์ และเติม PVP เพื่อเป็น stabilizer พบว่า การใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยานานขึ้นมีแนวโน้มทำให้สารละลายอนุภาคเงินมีสีเข้มขึ้น ซึ่งแสดงถึงอนุภาคเงินที่มีขนาดใหญ่ขึ้น นอกจากนี้การใช้ PVP ร่วมในปฏิกิริยาในปริมาณที่สูงขึ้นยังมีแนวโน้มทำให้อนุภาคเงินที่เตรียมได้มีขนาดเล็กลง

5. การเตรียมอนุภาคเงินที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยใช้ซิลเวอร์ไนเตรตผสมร่วมกับ PEG และเติม PVP ความเข้มข้น 1.6% โดยใช้เวลาการทำปฏิกิริยา 20 นาที เป็นภาวะที่ทำให้อนุภาคเงินมีความเข้มข้นสูง โดยมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงไม่เกิน 100 นาโนเมตร ซึ่งสารละลายอนุภาคเงินดังกล่าวที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* ได้สูงถึง 99.99 %

ข้อเสนอแนะ

การทดสอบความเป็นพิษในเบื้องต้นของแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่มีอนุภาคเงินในโครงการปีที่ 2 อาจพิจารณาใช้วิธี MTT assay ใน mouse cells L929 และศึกษาความเป็นพิษที่ระยะเวลาต่างๆ แทนวิธีเดิม เนื่องจากวิธีดังกล่าวเซลล์จะมีความว่องไวต่อระดับความเป็นพิษและให้รายละเอียดได้ดีกว่า

บรรณานุกรม

1. Abou Taleb, M.F., Abd El-Mohdy, H.L., and Abd El-Rehim, H.A. Radiation preparation of PVA/CMC copolymers and their application in removal of dyes. Journal of Hazardous Materials 168 (2009): 68-75.
2. Alt, V., Bechert, T., Steinrucke, P., Wagener, M., Seidel, P., Dingeldein, E., Domann, E. and Schnettler, R. An *in vitro* assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. Biomaterials **25** (2004):4383-4391.
3. Anbergen, U. and Oppermann, W. Elasticity and swelling behaviour of chemically crosslinked cellulose ethers in aqueous systems. Polymer 31 (1990): 1854-1858.
4. Chen, J. and Zhao, Y. Relationship between water absorbency and reaction conditions in aqueous solution polymerization of polyacrylate superabsorbents. Journal of Applied Polymer Science 75 (2000): 808-814.
5. Cho, K.H., Park, J.E., Osaka, T. and Park, S.G. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. Electrochimica Acta **51** (2005): 956-960.
6. Chou, K.S., and Ren, C.Y. Synthesis of nanosized silver particles by chemical reduction method. Materials Chemistry and Physics 64 (2000): 241-246.
7. Dunn, K., and Edwards-Jones, V. The role of Acticoat™ with nanocrystalline silver in the management of burns. Burns 30 (2004): 51-59.
8. Feng, Q.L., Wu, J., Chen, G.Q., Cui, F.Z., Kim, T.N. and Kim, J.O. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Journal of Biomedical Materials Research 52 (2000): 662-668.
9. Henglein, A. Reduction of $Ag(CN)_2^-$ on silver and platinum colloidal nanoparticles. Langmuir 17 (2001): 2329-2333.
10. Krylova, G., Eremenko, A., Smirnova, N., Eustis, S. Structure and spectra of photochemically obtained nanosized silver particles in presence of modified porous silica. International Journal of Photoenergy 7(2005): 193-198.
11. Lin, O.H., Kumar, R.N., Rozman, H.D., and Mohd. Noor, M.A. Grafting of sodium carboxymethylcellulose (CMC) with glycidyl methacrylate and development of UV curable

coatings from CMC-g-GMA induced by cationic photoinitiators. Carbohydrate Polymers 59(2005): 57-69.

12. Liu, P., Peng, J., Li, J., and Wu, J. Radiation crosslinking of CMC-Na at low dose and its application as substitute for hydrogel. Radiation Physics and Chemistry 72 (2005): 635-638.
13. Luo, C., Zhang, Y., Zeng, X., Zeng, Y., and Wang, Y. The role of poly(ethylene glycol) in the formation of silver nanoparticles. Journal of Colloid and Interface Science 288 (2005): 444-448.
14. Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramírez, J.T., and Yacaman, M.J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology **16** (2005): 2346-2353.
15. Popa, M., Pradell, T., Crespo, D., and Calderón-Moreno, J.M. Stable silver colloidal dispersions using short chain polyethylene glycol. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 303 (2007): 184-190.
16. Pourjavadi, A., Harzandi, A.M., and Hosseinzadeh, H. Modified carrageenan 3. Synthesis of a novel polysaccharide-based superabsorbent hydrogel via graft copolymerization of acrylic acid onto kappa-carrageenan in air. European Polymer Journal 20 (2004): 1363-1370.
17. Qu, X., Wirsén, A., and Albertsson, A.C. Novel pH-sensitive chitosan hydrogels: swelling behavior and states of water. Polymer 41 (2000): 4589-4598.
18. Saengkiettiyut, K., Rattanawaleedirojn, P., and Sangsuk, S. A study on antimicrobial efficacy of nano silver containing textile. CMU. J. Nat. Sci. Special Issue on Nanotechnology **7(1)** (2008): 33-36.
19. Samuel, U. and Guggenbichler, J.P. Prevention of catheter-related infections: the potential of a new nano-silver impregnated catheter. International Journal of Antimicrobial Agents **23** (2004): 75-78.
20. Slistan-Grijalva, A., Herrera-Urbina, R., Rivas-Silva, J.F., Avalos-Borja, M., Castillon-Barraza, F.F., and Posada-Amarillas, A. Synthesis of silver nanoparticles in polyvinylpyrrolidone (PVP) paste, and their optical properties in a film and in ethylene glycol. Materials Research Bulletin 43 (2008): 90-96.
21. Sondi, I., Goia, D.V., and Matijević, E. Preparation of highly concentrated stable dispersions of uniform silver nanoparticles. Journal of Colloid and Interface Science 260 (2003): 75-81.

22. Sondi, I. and Salopek-Sondi, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E.coli* as a model for Gram-negative bacteria. Journal of Colloid and Interface Science **275** (2004): 177-182.

23. Starowicz, M., Stypula, B., and Banaś, J. Electrochemical synthesis of silver nanoparticles. Electrochemistry Communications 8 (2006): 227-230.

24. Vaškelis, A., Aldona Jagminienė, A., Tamašauskaitė–Tamašiūnaitė, L., and Juškėnas, R. Silver nanostructured catalyst for modification of dielectrics surface. Electrochimica Acta 50 (2005): 4586-4591.

25. Vloemans, A.F.P.M., Soesman, A.M., Kreis, R.W., and Middelkoop, E. A newly developed hydrofibre dressing, in the treatment of partial-thickness burns. Burns 27 (2001): 167-173.

26. Wach, R.A., Mitomo, H., Nagasawa, N., and Yoshii, F. Radiation crosslinking of carboxymethylcellulose of various degree of substitution at high concentration in aqueous solutions of natural pH. Radiation Physics and Chemistry 68 (2003): 771-779.

27. Wang, H., Qiao, X., Chen, J., Wang, X., and Ding, S. Mechanisms of PVP in the preparation of silver nanoparticles. Materials Chemistry and Physics 94 (2005): 449-453.

28. Welch, C.M. and Andrews, B.A.K. Ester crosslinks: A route to high performance nonformaldehyde finishing of cotton. Textile Chemist and Colorist 21 (1989): 13-17.

29. Yeo, S.Y., Lee, H.J. and Jeong, S.H. Preparation of nanocomposite fibers for permanent antibacterial effect. Journal of Materials Science **38** (2003): 2143-2147.

30. Zhou, W.J., Yao, K.J., and Kurth, M.J. Synthesis and swelling properties of the copolymer of acrylamide with anionic monomers. Journal of Applied Polymer Science 62 (1996): 911-915.

31. Zhu, S., Du, C., and Fu, Y. Fabrication and characterization of rhombic silver nanoparticles for biosensing. Optical Materials 31(2009): 769-774.

32. Zielinska, A., Skwarek, E., Zaleska, A., Gazda, M., and Hupka, J. Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size. Procedia Chemistry 1 (2009): 1560-1566.

ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวกนกวรรณ แสงเกียรติยุทธ

(ภาษาอังกฤษ) Miss Kanokwan Saengkiettiyut

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 6099 00004 81 6

ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิจัย (ชำนาญการ) ระดับ 8

หน่วยงานและสถานที่ที่ติดต่อได้

สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ซอยจุฬาลงกรณ์ 12 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่
เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทร. 0-2218-4233, 0-2218-4209 โทรสาร 0-2611-7586
e-mail : kanokwan.s@chula.ac.th

ประวัติการศึกษา

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	วิทยาศาสตรบัณฑิต	วัสดุศาสตร์	พ.ศ. 2538
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต	วิศวกรรมโลหการ	พ.ศ. 2542

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

- การกัดกร่อนและการป้องกันการกัดกร่อนของโลหะ และวิธีการตรวจวิเคราะห์ความต้านทานการกัดกร่อนด้วยเทคนิคทางไฟฟ้าเคมี และเครื่องทดสอบการกัดกร่อนแบบละอองเกลือ
- การเตรียมอนุภาคเงินระดับนาโน

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอก

<u>ผลงานวิจัย</u>

พ.ศ. 2548 “การเตรียมผ้าให้มีสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยอนุภาคเงินระยะที่ 1 และ ระยะที่ 2” แหล่งทุน สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาฯ (นักวิจัยร่วมโครงการ)

พ.ศ. 2549 “การพัฒนาผ้าถักป้องกันแบคทีเรียด้วยนวัตกรรมนาโนซิลเวอร์” แหล่งทุน สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ ร่วมกับ บริษัทยูไนเต็ด เท็กซ์ไทล์มิลส์ จำกัด (นักวิจัยร่วมโครงการ)

พ.ศ. 2550 “ผลของการเตรียมผิวต่อความต้านทานการกัดกร่อนของเหล็กกล้าไร้สนิม” แหล่งทุน งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2549 (หัวหน้าโครงการ)

พ.ศ. 2551 “การพัฒนากระบวนการชุบสังกะสีแบบจุ่มร้อนปราศจากการใช้ฟลักซ์ด้วยวัสดุเคลือบโลหะโครงสร้างนาโน” แหล่งทุน สถาบันเหล็กและเหล็กกล้าแห่งประเทศไทย (นักวิจัยร่วมโครงการ)

พ.ศ. 2551 “การเตรียมผ้าพันแผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยอนุภาคเงิน” แหล่งทุน สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาฯ (นักวิจัยร่วมโครงการ)

พ.ศ. 2552 “การพัฒนากระบวนการชุบสังกะสีแบบจุ่มร้อนปราศจากการใช้ฟลักซ์ด้วยวัสดุเคลือบโลหะโครงสร้างนาโน ปีที่ 2” แหล่งทุน สถาบันเหล็กและเหล็กกล้าแห่งประเทศไทย (นักวิจัยร่วมโครงการ)

<u>ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่</u>

- **Kanokwan Saengkiettiyut** , Sutthirat Lisnunt and Goboon Logthongkum, “Effects of Sodium Phosphate and Sodium Sulphate on Corrosion Resistance of AISI 316L Stainless Steel in 3.5 wt% Sodium Chloride Solution” <u>Journal of Metals, Materials and Minerals</u>, 14(1)(2004): 33-38.
- **Kanokwan Saengkiettiyut,** Pranee Rattanawaleedirojn and Supin Sangsuk. A Study on Antimicrobial Efficacy of Nano Silver Containing Textile. <u>CMU. J. Nat. Sci. Special Issue on Nanotechnology</u> 7(1) (2008): 33-36.
- Pranee Rattanawaleedirojn, **Kanokwan Saengkiettiyut** and Supin Sangsuk. Antibacterial Efficacy of Nano Silver Finished Fabric on *Staphylococcus aureus* and Preliminary Test on Its Safety. <u>CMU. J. Nat. Sci. Special Issue on Nanotechnology</u> 7(1**)** **(**2008): 75-79.
- Y. Boonyongmaneerat, **K. Saengkiettiyut**, S. Saenapitak, and S. Sangsuk, “Effects of WC addition on structure and hardness of electrodeposited Ni-W,” <u>Surface &Coatings Technology</u> 203(2009): 3590-4.
- Y. Boonyongmaneerat, S. Saenapitak, and **K. Saengkiettiyut**, “Reverse pulse electrodeposition of Zn-Ni alloys from a chloride bath,” <u>Journal of Alloys and Compounds</u> 487(2009): 479-482.

ผลงานวิจัยที่นำเสนอในที่ประชุมวิชาการ

- **Kanokwan Saengkiettiyut**, Sutthirat Lisnunt and Weera Chukrachan, "A corrosion inhibition study of stainless steel by chromate or phosphate in sodium chloride solution", 3rd Thailand Materials Science and Technology Conference, August 2004, Thailand.
- **Kanokwan Saengkiettiyut** , Pranee Rattanawaleedirojn and Adisak Thueploy "Effect of nitric acid treatment on pitting corrosion resistance of stainless steel" The 1st Thailand Metallurgy Conference, October 15-16,2007, Thailand.
- **Kanokwan Saengkiettiyut**, Charttanong Angkaprasert, Pranee Rattanawaleedirojn, Sawalee Saenapitak, Adisak Thueploy,Jumpot Wanichsampan, Sutthirat Lisnunt, Nutthita Chuankrerkkul, Yuttanant Boonyongmaneerat. "Corrosion Resistance of Hot-Dip Galvanized Steels in Saline and Swine Urine Environments" The 2nd Thailand Metallurgy Conference, October ,2008, Thailand.
- Yuttanant Boonyongmaneerat, **Kanokwan Saengkiettiyut** Charttanong Angkaprasert, Pranee Rattanawaleedirojn, Nutthita Chuankrerkkul, Jumpot Wanichsampan, Sawalee Saenapitak, Adisak Thueploy, , Run Sa-nguan-moo. "Effects of Surface Pretreatment in Hot-Dip Galvanizing Process" The 2nd Thailand Metallurgy Conference, October ,2008, Thailand.
- **Kanokwan Saengkiettiyut** , Pranee Rattanawaleedirojn, Adisak Thueploy and Weera Chukrachan. "Effects of surface finishing methods on corrosion resistance of aluminium alloy" Third International Conference Processing Materials for Properties, August 11, 2009, Thailand.

2. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวปราณี รัตนวลีดิโรจน์

(ภาษาอังกฤษ) Miss Pranee Rattanawaleedirojn

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 4099 00505 89 2

ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิจัย (ชำนาญการ) ระดับ 8

หน่วยงานและสถานที่ที่ติดต่อได้

สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ซอยจุฬาลงกรณ์ 12 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่
เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทร. 0-2218-4221, 0-2218-4209 โทรสาร 0-2611-7586
e-mail : pranee.r@chula.ac.th

ประวัติการศึกษา

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	วิทยาศาสตรบัณฑิต	เคมี	พ.ศ. 2536
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	วิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ	พ.ศ. 2539

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

- การตกแต่งสำเร็จสิ่งทอ
- การสังเคราะห์พอลิเมอร์จากวัสดุธรรมชาติ

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอก

ผลงานวิจัย

พ.ศ. 2548 “การเตรียมผ้าให้มีสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยอนุภาคเงินระยะที่ 1 และ ระยะที่ 2” แหล่งทุน สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาฯ (หัวหน้าโครงการ)

พ.ศ. 2549 “การพัฒนาผ้าถักที่มีสมบัติป้องกันแบคทีเรียด้วยนวัตกรรมนาโนซิลเวอร์” แหล่งทุน สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ ร่วมกับ บริษัท ยูไนเต็ดเท็กซ์ไทล์มิลส์ จำกัด (หัวหน้าโครงการ)

พ.ศ. 2549 “ผลของการเตรียมผิวต่อความต้านทานการกัดกร่อนของเหล็กกล้าไร้สนิม” แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (นักวิจัยร่วมโครงการ)

พ.ศ. 2551 “การพัฒนากระบวนการชุบสังกะสีแบบจุ่มร้อนปราศจากการใช้ฟลักซ์ด้วยวัสดุเคลือบโลหะโครงสร้างนาโน” แหล่งทุน สถาบันเหล็กและเหล็กกล้าแห่งประเทศไทย (นักวิจัยร่วมโครงการ)

พ.ศ. 2551 “การเตรียมผ้าพันแผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยอนุภาคเงิน” แหล่งทุน สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาฯ (หัวหน้าโครงการ)

พ.ศ. 2552 “การพัฒนากระบวนการชุบสังกะสีแบบจุ่มร้อนปราศจากการใช้ฟลักซ์ (ปีที่ 2)” แหล่งทุน สถาบันเหล็กและเหล็กกล้าแห่งประเทศไทย (นักวิจัยร่วมโครงการ)

<u>ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่</u>

- **ปราณี รัตนวลีดิโรจน์**. บทบาทของไคติน-ไคโตซานในงานวิจัยสิ่งทอ. Colourway. 2547. ปีที่ 9 ฉบับที่ 50 หน้า 43-45.
- **Rattanawaleedirojn, P.**, Saengkiettiyut, K., and Sangsuk, S. (2008). Antibacterial Efficacy of Nano Silver Finished Fabric and Preliminary Test on Its Safety. *CMU. J. Nat. Sci. Special Issue on Nanotechnology* **7(1)**, pp. 75-79.
- Saengkiettiyut, K., **Rattanawaleedirojn, P.**, and Sangsuk, S. (2008). A Study on Antimicrobial Efficacy of Nano Silver Containing Textile. *CMU. J. Nat. Sci. Special Issue on Nanotechnology* **7(1)**, pp. 33-36.

<u>ผลงานวิจัยที่นำเสนอในที่ประชุมวิชาการ</u>

- **Rattanawaleedirojn, P.**, Siraleartmukul, K., Lisnunt, S., and Srikulkit, K. Utilization of citric acid and chitosan as finishing agent for cotton fabric. <u>28th Congress on Science and Technology of Thailand</u>, Oct. 24-26, p.642. Thailand, 2002.
- Kanokwan Saengkiettiyut, Charttanong Angkaprasert, **Pranee Rattanawaleedirojn**, Sawalee Saenapitak, Adisak Thueploy,Jumpot Wanichsampan, Sutthirat Lisnunt, Nutthita Chuankrerkkul, Yuttanant Boonyongmaneerat. “Corrosion

Resistance of Hot-Dip Galvanized Steels in Saline and Swine Urine Environments" The 2nd Thailand Metallurgy Conference, October, 2008, Thailand.

- Yuttanant Boonyongmaneerat, Kanokwan Saengkiettiyut Charttanong Angkaprasert, **Pranee Rattanawaleedirojn**, Nutthita Chuankrerkkul, Jumpot Wanichsampan, Sawalee Saenapitak, Adisak Thueploy, , Run Sa-nguan-moo. "Effects of Surface Pretreatment in Hot-Dip Galvanizing Process" The 2nd Thailand Metallurgy Conference, October ,2008, Thailand.
- Kanokwan Saengkiettiyut , **Pranee Rattanawaleedirojn**, Adisak Thueploy and Weera Chukrachan. "Effects of surface finishing methods on corrosion resistance of aluminium alloy" Third International Conference Processing Materials for Properties, August 11, 2009, Thailand.

3. ชื่อ (ภาษาไทย) นายธนิต สิงหบุญพงศ์

(ภาษาอังกฤษ) Mr.Thanit Singhaboonpong

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 1002 00159 20 1

ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์

หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาฯ
ถนนพญาไท แขวงวังใหม่
เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทร. 0-2218-5097 โทรสาร 0-2252-7576

ประวัติการศึกษา

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ	ก.ศบ.	เคมี	2522

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

เทคนิคเบื้องต้นทางจุลชีววิทยาและวิธีทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์