

การเตรียมวัสดุปิดแผลจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลโคโตซาน/โซเดียมอัลจิเนต
บรรจุอนุภาคซิลเวอร์นาโน

PREPARATION OF WOUND DRESSING FROM
HYDROXYETHYLACRYL CHITOSAN/SODIUM ALGINATE
CONTAINING SILVER NANOPARTICLES

มาริสา ว่องกิตติสิน

MARISA WONGKITTISIN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีพอลิเมอร์
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2562

KMITL-2019-SC-M-014-020

การเตรียมวัสดุปิดแผลจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลโคโตซาน/โซเดียมอัลจิเนต
บรรจุอนุภาคซิลเวอร์นาโน

PREPARATION OF WOUND DRESSING FROM
HYDROXYETHYLACRYL CHITOSAN/SODIUM ALGINATE
CONTAINING SILVER NANOPARTICLES

มาริสา ว่องกิตติสิน
MARISA WONGKITTISIN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีพอลิเมอร์
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2562

KMITL-2019-SC-M-014-020

PREPARATION OF WOUND DRESSING FROM
HYDROXYETHYLACRYL CHITOSAN/SODIUM ALGINATE
CONTAINING SILVER NANOPARTICLES

MARISA WONGKITTISIN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN POLYMER TECHNOLOGY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2019

KMITL-2019-SC-M-014-020

COPYRIGHT 2019

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเตรียมวัสดุปิดแผลจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาไมด์/ไฮโดรเจลคอมโพสิตบรรจุอนุภาคซิลเวอร์นาโน
นักศึกษา	นางสาวมารีศา ว่องกิตติสิน
รหัสประจำตัว	59605036
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีพอลิเมอร์
พ.ศ.	2562
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.ภัทราวุธ มนต์วิเศษ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการเตรียมวัสดุปิดแผลจากฟิล์มไฮโดรเจลระหว่างไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาไมด์-โคโตซาน (HC) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของโคโตซานที่สามารถละลายน้ำได้ กับไฮโดรเจลคอมโพสิต (SA) และใช้แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ความเข้มข้น 0.2, 0.3 และ 0.5 M เป็นสารเชื่อมโยง โดยมีอัตราส่วนระหว่าง HC:SA เท่ากับ 25:75, 50:50 และ 75:25 โดยน้ำหนัก แล้วบรรจุอนุภาคซิลเวอร์นาโนโดยใช้ปฏิกิริยารีดักชันของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO_3) ความเข้มข้น 0.5, 1, 5 และ 10 mM กับไฮโดรเจนโบโรไฮไดรด์ (NaBH_4) จากผลการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์มไฮโดรเจลด้วยเทคนิคจาก FTIR และ SEM-EDS แสดงให้เห็นถึงความเป็นเนื้อเดียวกันของ HC/SA และมีการกระจายตัวของแคลเซียมไอออนทั่วทั้งฟิล์ม ผลจากเทคนิค XRD และ XRF แสดงให้เห็นว่าฟิล์มมี AgNPs อยู่ในโครงสร้าง การศึกษาพฤติกรรมการบวมตัว (Swelling behavior) ในน้ำกลั่นและสารละลาย Phosphate buffer solution (PBS) ที่ 37 °C พบว่า ฟิล์มทุกสูตรสามารถคงตัวอยู่ได้ดีในน้ำกลั่นเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชม. แต่จะสลายตัวในสารละลาย PBS โดยฟิล์ม HC/SA มีค่าความแข็งแรงดึงและการดึงยืดของฟิล์มสูงสุดที่ประมาณ 7 MPa และ 60 % ตามลำดับ จากผลการทดสอบสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค Agar well diffusion พบว่าฟิล์ม HC/SA ที่มีการบรรจุ AgNPs สามารถต้านทานเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ เมื่อนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค MTT assay พบว่าฟิล์มทุกสูตรไม่มีความเป็นพิษ การศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยยาเบื้องต้นโดยใช้ พาราเซตามอลเป็นยาต้นแบบพบว่าฟิล์มเกือบทุกสูตรสามารถปลดปล่อยยาพาราเซตามอลออกมาได้ทั้งหมด 100 % ภายในเวลา 3-7 วันและมีรูปแบบการปลดปล่อยยาเป็นแบบเชิงเส้น โดยฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2Ag0.5 และ HC25SA75Ca0.3Ag0.5 เป็นสูตรที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้งานเป็นวัสดุปิดแผล

คำสำคัญ : ไฮโดรเจลคอมโพสิต แผ่นปิดแผล อนุภาคซิลเวอร์นาโน ไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาไมด์-โคโตซาน ไฮโดรเจล

Thesis Title	Preparation of wound dressing from hydroxyethylacryl chitosan / sodium alginate containing silver nanoparticles
Student	Miss Marisa Wongkittisin
Student ID	59605036
Degree	Master of Science
Program	Polymer Technology
Year	2019
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Pathavuth Monvisade

Abstract

This study aimed to prepare wound dressing from natural hydrogel blend between hydroxyethylacryl chitosan (HC) and sodium alginate (SA). The HC/SA films were prepared by solution casting technique in a proportion of HC:SA of 25:75, 50:50 and 75:25 w/w with further crosslinked by 0.2, 0.3 and 0.5 M calcium chloride. Silver nanoparticles (AgNPs) were induced into the crosslinked films by soaking the film in silver nitrate solution at 0.5, 1, 5 and 10 mM with later reduced by sodium borohydride. It was found that HC and SA were compatible for all blend compositions and the distribution patterns of calcium ions were well-dispersed within the hydrogel films examined by FT-IR and SEM-EDS, respectively. The AgNPs in the film was confirmed by XRD and XRF. The swelling behavior in distilled water and phosphate buffer solution (PBS) at 37 °C showed that all films were stable in distilled water over 24 hours but dissolved in PBS. The HC/SA films have the highest tensile strength and elongation at break of 7 MPa and 60%, respectively. The AgNPs contained HC/SA films evidenced antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli*. Cell viability of the film was also measured using MTT assay. The results showed that all of the films were not cytotoxic for Vero cells. The paracetamol was used as a model drug. The release profiles of paracetamol were studied in PBS at 37 °C. Almost the films showed linearity of slow drug release profiles of paracetamol during 3-7 days depending on the formula. The comprehensive results suggest the film formula HC25SA75Ca0.2Ag0.5 and HC25SA75Ca0.3Ag0.5 suitable potentials as a wound dressing.

Keywords : Sodium alginate, Wound dressing, Silver nanoparticle, Hydroxyethylacryl chitosan, Hydrogel

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ภัทราวุธ มนต์วิเศษ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำเกี่ยวกับความรู้ อบรมให้ทำงานอย่างมีระเบียบรอบคอบ พร้อมทั้งให้ความช่วยเหลือและ ตรวจทานการดำเนินงานวิจัยนี้ ทำให้การจัดทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุภารัตน์ รักชลธิ์ และ ผศ.ดร.ธนิดา ตระกูลสุจริตโชค อาจารย์ คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจทานและเสนอแนะข้อคิดเห็น เพื่อแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์นี้ให้มีความถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้โอกาสมอบทุนอุดหนุนการศึกษาให้ตลอด 2 ปี

ขอขอบพระคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่มอบทุนเสนอ ผลงานวิจัยให้ ทำให้มีโอกาสนำงานวิจัยนี้ไปเผยแพร่แก่ผู้อื่น และได้รับประสบการณ์กับความรู้เพิ่ม มากขึ้น

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ของศูนย์เครื่องมือฯ และเจ้าหน้าที่ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบัน เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการ ใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์งานต่าง ๆ จนวิทยานิพนธ์นี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ครอบครัว และพี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำ เป็นกำลังใจ และช่วยเหลือ ให้คำปรึกษาในการดำเนินงานวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ประโยชน์และความรู้อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขอมอบแต่ ครอบครัว ผู้มี พระคุณ และคณาจารย์ทุกท่าน หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้ศึกษาขอน้อมรับและขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

นางสาวมารีตา ว่องกิตติสิน

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ไฮโดรเจล (Hydrogel).....	4
2.1.1 ประเภทของไฮโดรเจล.....	4
2.1.1.1 ประเภทของไฮโดรเจลแบ่งตามวิธีการเชื่อมโยง.....	4
2.1.1.2 ประเภทของไฮโดรเจลแบ่งตามแหล่งที่มาของพอลิเมอร์.....	4
2.1.1.3 ประเภทของไฮโดรเจลแบ่งตามชนิดของประจุ.....	5
2.1.1.4 ประเภทของไฮโดรเจลแบ่งตามการตอบสนองต่อสิ่งเร้าจากภายนอก.....	6
2.1.1.5 ประเภทของไฮโดรเจลแบ่งตามความสามารถในการย่อยสลาย.....	7
2.1.1.6 ประเภทของไฮโดรเจลแบ่งตามลักษณะทางกายภาพ.....	7
2.1.2 การเตรียมไฮโดรเจล.....	7
2.1.2.1 Chemical or irreversible hydrogels.....	7
2.1.2.2 Physical or reversible hydrogels.....	10
2.1.2.3 Interpenetrating polymer networks (IPNs).....	14
2.1.3 การบวมตัวและปัจจัยที่ส่งผลต่อการบวมตัวของไฮโดรเจล.....	16
2.1.4 การนำไปใช้งาน.....	18
2.1.4.1 Hydrogel dressing.....	18
2.2 Chitin-Chitosan.....	19
2.2.1 Properties of chitosan.....	21
2.2.2 Gelation.....	23
2.2.3 Water-soluble chitosan.....	24
2.2.4 การใช้ประโยชน์จากไคตินและไคโตซาน.....	25
2.3 อัลจีเนต (Alginate).....	26
2.3.1 Properties of alginate.....	27

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3.2 Gelation.....	28
2.4 ซิลเวอร์.....	29
2.4.1 สมบัติของซิลเวอร์.....	29
2.4.2 ซิลเวอร์นาโน.....	29
2.4.3 การผลิตซิลเวอร์นาโน.....	30
2.4.4 กระบวนการในการฆ่าเชื้อของซิลเวอร์นาโน.....	30
2.5 การปลดปล่อยยา (Controlled release, CR).....	31
2.5.1 Membrane controlled device.....	31
2.5.2 Matrix device.....	32
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	32
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย.....	36
3.1 สารเคมี.....	36
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	36
3.3 ขั้นตอนการเตรียมสารละลาย.....	37
3.3.1 สารละลายแคลเซียมคลอไรด์	37
3.3.2 สารละลายซิลเวอร์ไนเตรด.....	37
3.3.3 สารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ 10 mM.....	37
3.3.4 สารละลาย Simulated intestinal fluid (PBS, pH 7.4).....	37
3.4 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มไฮโดรเจล.....	38
3.4.1 การสังเคราะห์ไฮดรอกซีเอทิลเอคิลโคโตซาน (HC).....	38
3.4.2 การเตรียมฟิล์ม HC/SA.....	38
3.4.3 การเตรียมฟิล์ม HC/SA ที่เชื่อมโยงด้วย แคลเซียมคลอไรด์.....	38
3.4.4 การเตรียมฟิล์ม HC/SA ที่มีซิลเวอร์เป็นองค์ประกอบ.....	38
3.5 การตรวจวิเคราะห์.....	39
3.5.1 การทดสอบหาปริมาณของแข็งคงเหลือ.....	40
3.5.2 การทดสอบหาปริมาณน้ำคงอยู่.....	40
3.5.3 การทดสอบพฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มในสภาวะต่าง ๆ.....	40
3.5.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์มไฮโดรเจล.....	40
3.5.4.1 Scanning Electron Microscopy (SEM).....	40
3.5.4.2 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR).....	41
3.5.4.3 X-Ray Diffractometer (XRD).....	41
3.5.4.4 X-Ray Fluorescence Spectrometer (XRF).....	41
3.5.5 การทดสอบสมบัติเชิงกล.....	41
3.5.6 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย.....	42
3.5.7 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค MTT assay.....	42

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5.8 การศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยตัวยาเบื้องต้นของฟิล์มไฮโดรเจล.....	43
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	46
4.1 การเตรียมฟิล์มจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาตโคโตะซานและโซเดียมอัลจิเนต.....	46
4.1.1 ผลของอัตราส่วนระหว่างไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาตโคโตะซานกับโซเดียมอัลจิเนต	47
4.1.1.1 การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์ม.....	47
4.1.1.2 พฤติกรรมการบวมตัวและค่าของแข็งคงเหลือของฟิล์ม.....	51
4.1.2 ผลของการเชื่อมโยงทางประจุด้วยแคลเซียมไอออนที่ความเข้มข้นต่างกัน....	53
4.1.2.1 การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์ม.....	53
4.1.2.2 พฤติกรรมการบวมตัวและค่าของแข็งคงเหลือของฟิล์ม.....	55
4.1.3 ผลของการเติม AgNO ₃ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในฟิล์ม.....	56
4.1.3.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์ม.....	56
4.1.3.2 สมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์.....	59
4.1.3.3 สมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม.....	59
4.1.4 การบรรจุ AgNPs ในฟิล์มที่เชื่อมโยงด้วยแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น ต่างกัน.....	60
4.1.4.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์ม.....	60
4.1.4.2 พฤติกรรมการบวมตัวและค่าของแข็งคงเหลือของฟิล์ม.....	62
4.2 สมบัติเชิงกลของฟิล์ม.....	63
4.3 สมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย.....	65
4.4 สมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์.....	65
4.5 พฤติกรรมปลดปล่อยยาเบื้องต้นของฟิล์มไฮโดรเจล.....	66
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	71
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	71
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	72
เอกสารอ้างอิง.....	73
ภาคผนวก.....	85
ภาคผนวก ก.....	86
ภาคผนวก ข.....	90
ภาคผนวก ค.....	92
ภาคผนวก ง.....	93
ภาคผนวก จ.....	95
ภาคผนวก ฉ.....	97
ภาคผนวก ช.....	103
ภาคผนวก ซ.....	104
ประวัติผู้เขียน.....	107

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างของพอลิเมอร์แต่ละชนิดที่ใช้ในการเตรียมไฮโดรเจล.....	5
2.2 ตัวอย่างไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อสิ่งเร้า.....	7
2.3 ตัวอย่างของสารเชื่อมโยงที่สัมพันธ์กับหมู่ฟังก์ชันของพอลิเมอร์.....	8
2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรของโครงสร้างกับสมบัติ.....	21
3.1 องค์ประกอบของฟิล์มไฮโดรเจลระหว่างไฮดรอกซีเอทิลเอคิลโคโคซาน (HC) กับโซเดียมอัลจิเนต (SA) ที่เชื่อมโยงด้วยแคลเซียมคลอไรด์ และ อนุภาคซิลเวอร์นาโน.....	39
4.1 ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำคงอยู่และค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งคงเหลือในน้ำกลั่นที่ 24 ชม. ของฟิล์ม HC/SA.....	52
4.2 ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำคงอยู่และค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งคงเหลือในน้ำกลั่นที่ 24 ชม. ของฟิล์มสูตร HC25SA75 ที่เชื่อมโยงด้วย CaCl ₂ ความเข้มข้นต่างกัน.....	56
4.3 เปอร์เซ็นต์องค์ประกอบของธาตุหรือสารประกอบของฟิล์ม.....	57
4.4 ผลการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย <i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i> ของฟิล์มไฮโดรเจล.....	60
4.5 ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำคงอยู่และค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งคงเหลือในน้ำกลั่นที่ 24 ชม. ของฟิล์มที่บรรจุ AgNPs ที่เชื่อมโยงด้วยแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	63
4.6 ผลการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย <i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i> ของฟิล์มไฮโดรเจล.....	65
4.7 เวลาที่ใช้ในการปลดปล่อยยาครบ 100% ของฟิล์มไฮโดรเจล.....	68
ข 1 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การบวมตัวในน้ำกลั่น 37 °C ของฟิล์มที่ไม่บรรจุ AgNPs.....	90
ข 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การบวมตัวในน้ำกลั่น 37 °C ของฟิล์มที่บรรจุ AgNPs.....	91
ค 1 ค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งคงเหลือในน้ำกลั่น 37 °C ของฟิล์มสูตรต่าง ๆ.....	92
ค 2 ค่าเปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำคงอยู่ในน้ำกลั่น 37 °C ของฟิล์มสูตรต่าง ๆ.....	92
ง 1 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การบวมตัวในสารละลาย PBS 37 °C ของฟิล์มที่ไม่บรรจุ AgNPs.....	93
ง 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การบวมตัวในสารละลาย PBS 37 °C ของฟิล์มที่บรรจุ AgNPs.....	94
จ 1 ความแข็งแรงดึง ณ จุดขาดของฟิล์มไฮโดรเจล.....	95
จ 2 เปอร์เซ็นต์การดึงยืด ณ จุดขาดของฟิล์มไฮโดรเจล.....	95
จ 3 ยังมอดูลัสของฟิล์มไฮโดรเจล.....	96
ฉ 1 ความสามารถในการต้านทานเชื้อ <i>E. coli</i> ของฟิล์มสูตรต่าง ๆ.....	97
ฉ 2 ความสามารถในการต้านทานเชื้อ <i>S. aureus</i> ของฟิล์มสูตรต่าง ๆ.....	100
ช 1 ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ของฟิล์มแต่ละสูตร.....	103
ช 1 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยพาราเซตามอลของแผ่นเซลล์ูโลสอะซิเตท (M) และฟิล์มสูตรที่ยังไม่เชื่อมโยง+M.....	104
ช 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยพาราเซตามอลของฟิล์มสูตรที่เชื่อมโยงที่ไม่บรรจุ AgNPs +M.....	105
ช 3 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยพาราเซตามอลของฟิล์มสูตรที่เชื่อมโยงที่บรรจุ AgNPs+M.....	106

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 การแบ่งตามชนิดของประจุไฟฟ้า.....	6
2.2 การบวมตัวของตอบสนองต่อสิ่งเร้าของไฮโดรเจล.....	6
2.3 การสร้างโครงข่ายไฮโดรเจลจากการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลด้วยพันธะไฮโดรเจนใน CMC ที่ pH ต่ำ.....	10
2.4 (a) การเชื่อมโยงทางกายภาพที่เกิดจากอันตรกิริยาระหว่างประจุ, (b) การเกิดไฮโดรเจลโดยใช้พอลิอิเล็กโทรไลต์และสารเชื่อมโยงไอออนิก และ (c) การเกิดไฮโดรเจลโดยใช้พอลิอิเล็กโทรไลต์ที่มีประจุตรงข้ามกัน.....	11
2.5 การเกิด Chelation ในสารประกอบเชิงซ้อนของ copper-poly(4-vinyl pyridine).....	12
2.6 การเกิดเจลเนื่องจากการรวมตัวเป็นเกลียวขณะที่สารละลายร้อนเย็นตัวลงของ kappa Carrageenan.....	13
2.7 โครงสร้างของโคพอลิเมอร์กราฟต์โคโตซานที่เกิดเป็นเจลกึ่งแข็งที่อุณหภูมิของร่างกายและเป็นของเหลวที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง.....	13
2.8 ภาพแสดงตัวอย่างของ semi-IPNs และ IPNs.....	14
2.9 ภาพแสดงตัวอย่างการสร้าง semi-IPNs และ IPNs.....	15
2.10 ภาพการขยายตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ในขณะที่ไฮโดรเจลเกิดการบวม.....	16
2.11 อันตรกิริยาของโมเลกุลน้ำในโครงสร้างไฮโดรเจล.....	18
2.12 เปรียบเทียบโครงสร้างโมเลกุลของ chitin, chitosan และ cellulose.....	20
2.13 ภาพแสดงตัวอย่างสมบัติการละลายของโคโตซาน.....	22
2.14 โครงสร้างของอัลจินเตชนิดต่างๆ.....	27
2.15 การเกิดเจลของอัลจินเตด้วย multivalent cations ทำให้เกิดเป็นโครงสร้างของเจลที่มีลักษณะคล้ายกล่องไข่ (Egg box).....	28
2.16 การทำงานของซิลเวอร์นาโนในการฆ่าเชื้อ.....	31
2.17 ลักษณะการปลดปล่อยยา.....	31
3.1 ชิ้นงานตัวอย่างรูปดัมป์เบลล์.....	41
3.2 ภาพถ่ายแสดงชิ้นงาน (a) ชิ้นงานที่ปิดทับด้วยฟิล์มไฮโดรเจล และ (b) ชิ้นงานที่ปิดทับด้วยฟิล์มไฮโดรเจลและแผ่นเซลลูโลสอะซิเตท.....	44
4.1 ¹ H-NMR สเปกตร้าของ CS และ HC.....	46
4.2 โครงสร้างของ (a) โคโตซาน และ (b) ไฮดรอกซีเอทิลอะคริลโคโตซาน.....	46
4.3 FTIR สเปกตร้า (a) ฟิล์มที่ไม่เชื่อมโยง และ (b) ฟิล์มที่เชื่อมโยงด้วย CaCl ₂ 0.5 M.....	48
4.4 ภาพถ่ายพื้นผิวด้วย SEM (a) HC25SA75Ca0.5, (b) HC50SA50Ca0.5 และ (c) HC75SA25Ca0.5.....	49
4.5 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 (a) ภาพตัดขวางของฟิล์ม, (b) ภาพแสดงการกระจายตัวของธาตุแคลเซียม และ (c) สเปกตรัมแสดงปริมาณธาตุที่พบทั้งหมดภายในฟิล์ม.....	50

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.6 พฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์ม HC/SA ที่อุณหภูมิ 37 °c ใน (a) น้ำกลั่น (b) สารละลาย PBS.....	51
4.7 โครงสร้างร่างแหของฟิล์ม HC/SA ที่เชื่อมโยงด้วยแคลเซียมไอออน.....	52
4.8 FTIR สเปกตรัมของฟิล์มสูตร HC25SA75 ที่เชื่อมโยงด้วย CaCl ₂ ความเข้มข้นต่างกัน.....	53
4.9 ภาพถ่ายพื้นผิวด้วย SEM (a) HC25SA75Ca0.2 และ (b) HC25SA75Ca0.5.....	53
4.10 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2 (a) ภาพตัดขวางของฟิล์ม, (b) ภาพแสดงการกระจายตัวของธาตุแคลเซียม และ (c) สเปกตรัมแสดงปริมาณธาตุที่พบทั้งหมดภายในฟิล์ม.....	54
4.11 พฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มสูตร HC25SA75 ที่เชื่อมโยงด้วย CaCl ₂ ความเข้มข้นต่างกันที่อุณหภูมิ 37 °c ใน (a) น้ำกลั่น (b) สารละลาย PBS.....	55
4.12 ภาพถ่ายแสดงลักษณะของฟิล์ม (a) HC25SA75Ca0.5, (b) HC25SA75Ca0.5Ag0.5, (c) HC25SA75Ca0.5Ag1, (d) HC25SA75Ca0.5Ag5 และ (e) HC25SA75Ca0.5Ag10.....	56
4.13 XRD pattern.....	57
4.14 ภาพแสดงการสังเคราะห์ AgNPs ภายในโครงข่ายของไฮโดรเจล.....	58
4.15 ภาพถ่ายพื้นผิว SEM ของฟิล์ม (a) HC25SA75Ca0.5, (b) HC25SA75Ca0.5Ag0.5, (c) HC25SA75Ca0.5Ag1, (d) HC25SA75Ca0.5Ag5 และ (e) HC25SA75Ca0.5Ag10.....	58
4.16 ค่า %cell viability ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 ที่ความเข้มข้น AgNO ₃ ต่างกัน.....	59
4.17 FTIR สเปกตรัมของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca ที่บรรจุ AgNPs.....	60
4.18 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.3Ag0.5 (a) ภาพตัดขวางของฟิล์ม, (b) ภาพแสดงการกระจายตัวของธาตุแคลเซียม, (c) ภาพแสดงการกระจายตัวของธาตุซิลเวอร์ และ (d) สเปกตรัมแสดงปริมาณธาตุที่พบทั้งหมดภายในฟิล์ม.....	61
4.19 พฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มที่อุณหภูมิ 37 °C ใน (a) น้ำกลั่น (b) สารละลาย PBS.....	62
4.20 สมบัติเชิงกลของฟิล์ม HC/SA ในอัตราส่วนที่ต่างกัน (a) Tensile strength , (b) %Elongation at break และ (c) young modulus.....	64
4.21 สมบัติเชิงกลของฟิล์มสูตร HC25SA75 ที่เชื่อมโยงด้วยความเข้มข้น CaCl ₂ ต่างกันที่มีการบรรจุหรือไม่บรรจุ AgNPs (a) Tensile strength , (b) %Elongation at break และ (c) young Modulus.....	64
4.22 ค่า %cell viability ของฟิล์มไฮโดรเจล.....	66
4.23 กราฟมาตรฐานของพาราเซตามอลในสารละลาย PBS.....	66
4.24 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยพาราเซตามอลในสารละลาย PBS โดยใช้ (a) แผ่นเซลลูโลสอะซิเตท 0.2 μm (M), (b) ฟิล์ม HC/SA อัตราส่วนต่างกัน+M, (c) ฟิล์ม HC/SA อัตราส่วนต่างกันที่เชื่อมโยงด้วย CaCl ₂ 0.5 M+M, (d) ฟิล์มสูตร HC25SA75 เชื่อมโยงด้วย CaCl ₂ ความเข้มข้นต่างกัน+M และ (e) ฟิล์มสูตร HC25SA75 เชื่อมโยงด้วย CaCl ₂ ความเข้มข้นต่างกันที่ใส่ AgNPs+M.....	69
4.25 ภาพแสดงการเกิดอันตรกิริยาระหว่างพาราเซตามอลกับซิลเวอร์ไอออน.....	70

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
ก 1 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC75SA25Ca0.5.....	86
ก 2 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC50SA50Ca0.5.....	86
ก 3 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5.....	87
ก 4 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.3.....	87
ก 5 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2.....	88
ก 6 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag0.5.....	88
ก 7 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.3Ag0.5.....	89
ก 8 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2Ag0.5.....	89
ฉ 1 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ <i>E. Coli</i> ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag0.5.....	97
ฉ 2 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ <i>E. Coli</i> ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag1.....	98
ฉ 3 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ <i>E. Coli</i> ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag5.....	98
ฉ 4 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ <i>E. Coli</i> ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag10.....	98
ฉ 5 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ <i>E. Coli</i> ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2Ag0.5.....	99
ฉ 6 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ <i>E. Coli</i> ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.3Ag0.5.....	99
ฉ 7 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ <i>S. aureus</i> ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag0.5.....	100
ฉ 8 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ <i>S. aureus</i> ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag1.....	101
ฉ 9 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ <i>S. aureus</i> ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag5.....	101
ฉ 10 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ <i>S. aureus</i> ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag10.....	101
ฉ 11 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ <i>S. aureus</i> ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2Ag0.5.....	102
ฉ 12 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ <i>S. aureus</i> ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.3Ag0.5.....	102

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อและสัญลักษณ์

ความหมาย

HC	Hydroxyethylacryl chitosan
SA	Sodium alginate
AgNPs	Silver nanoparticle
PBS	Phosphate buffer solution
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
XRD	X-Ray Diffractometer
XRF	X-Ray Fluorescence Spectrometer
SEM	Scanning Electron Microscopy
EDS	Energy dispersive X-ray spectrometer
IPNs	Interpenetrating polymer networks

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย *

การปฐมพยาบาลเพื่อห้ามเลือดเป็นสิ่งจำเป็นในการรักษาบาดแผล โดยวิธีการห้ามเลือดที่ผู้คนส่วนใหญ่ทราบกันคือ การกดแผล การกดเส้นเลือดแดงเหนือแผล การใช้สายรัด เป็นต้น การใช้แผ่นปิดแผล (Wound dressing) ห้ามเลือดเป็นเทคโนโลยีการห้ามเลือดแบบหนึ่งที่ยอมรับในปัจจุบัน [1] โดยแผ่นปิดแผลทั่วไปมีหน้าที่ดูดซับเลือดและน้ำเหลืองจากบาดแผล ถ้าหากบาดแผลนั้นมีเลือดหรือน้ำเหลืองไหลออกมามาก อาจจำเป็นต้องเปลี่ยนแผ่นปิดแผลบ่อยครั้ง ทำให้มีโอกาสติดเชื้อจึงต้องมีการใส่ยาฆ่าเชื้อเพิ่ม นอกจากนี้วัสดุปิดแผลอาจติดแน่นกับแผล ส่งผลให้เจ็บเวลาดึงออกและเกิดอาการอักเสบของเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผล [2]

การรักษาบาดแผลโดยทั่วไปอาจมีการใส่ยาควบคุมไปกับการปิดแผลทำให้การใส่ยาแต่ละครั้งต้องเปลี่ยนผ้าปิดแผลใหม่ทุกครั้ง จึงมีการเตรียมฟิล์มที่ควบคุมการปลดปล่อยยาได้ (Control release) เพื่อยืดระยะเวลาในการเปลี่ยนวัสดุปิดแผล โดยออกแบบให้มีการปลดปล่อยยาด้วยปริมาณที่คงที่อย่างสม่ำเสมอ วัสดุประเภทหนึ่งที่ยอมรับนำมาใช้งานเป็นแผ่นปิดแผลและควบคุมการปลดปล่อยคือ ไฮโดรเจล เนื่องจากมีสมบัติที่ดีในการดูดซับของเหลวจึงสามารถดูดซับยาเก็บไว้แล้วปลดปล่อยยาออกมาในปริมาณที่ต้องการได้ นอกจากนี้ ด้วยสภาพของวัสดุไฮโดรเจลที่อุ้มน้ำไว้ในทำให้วัสดุนี้ ซึ่งช่วยลดการระคายเคืองของเนื้อเยื่อเมื่อมีการลอกวัสดุปิดแผลออกจากบาดแผล

ไฮโดรเจลเป็นโครงข่ายพอลิเมอร์ที่อยู่ในรูปของเจลที่บวมตัวและสามารถกักเก็บน้ำไว้ในโครงสร้างได้มาก แต่ไม่ละลายน้ำ [3] จึงมีการนำไฮโดรเจลมาประยุกต์ใช้ในการทำเป็นแผ่นปิดแผลและการใช้เป็นวัสดุนำส่งยา (Drug delivery) เช่น จากงานวิจัยของ Mehrdad Kokabic และคณะ [4] ที่ทำแผ่นปิดแผลจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ผสมเคลย์, งานวิจัยของ F.Yoshii และคณะ [5] ที่ทำแผ่นปิดแผลจากพอลิเอทิลีนออกไซด์ (PEO) ผสมกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) เป็นต้น อย่างไรก็ตามไฮโดรเจลเหล่านี้ใช้สารตั้งต้นที่มาจากปิโตรเลียม ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่ใช้แล้วหมดไปและส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม การใช้ไฮโดรเจลจากแหล่งธรรมชาติจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งโดยพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติมีสมบัติการย่อยสลายตัวเองได้ ไม่เป็นพิษต่อร่างกายและสิ่งแวดล้อม เช่น งานวิจัยของ I. Liakosa และคณะ [6] ที่เตรียมฟิล์มควบคุมการปลดปล่อยยาจากไซโตเดียมอัลจินต, งานวิจัยของ R. Pereira และคณะ [7] ที่เตรียมฟิล์มไฮโดรเจลจากอัลจินตเพื่อใช้เป็นวัสดุปิดแผล, งานวิจัยของ Azad AK และคณะ [8] ที่เตรียมแผ่นปิดแผลจากไคโตซาน, งานวิจัยของ Sung-Ching Chen และคณะ [9] ที่เตรียมไฮโดรเจลควบคุมการปลดปล่อยยาจากไคโตซานผสมอัลจินต เป็นต้น

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ประจุบวกที่ได้จากเปลือกกุ้ง, ปู สามารถช่วยทำให้เลือดแข็งตัว, ด้านเชื้อแบคทีเรีย, ย่อยสลายทางชีวภาพ, ไม่เป็นพิษและเข้ากับเนื้อเยื่อร่างกายได้ดี [10-11] แต่ขั้นตอนการเตรียมสารละลายไคโตซานต้องใช้กรด อาจเกิดการตกค้างซึ่งเป็นพิษต่อร่างกาย [12] จึงมีงานวิจัยพัฒนาไคโตซานโดยการดัดแปรหมู่ฟังก์ชันเพื่อให้สามารถละลายน้ำได้ เช่น ไฮดรอกซีเอทิลอะคริลไคโตซาน (Hydroxyethylacryl chitosan, HC) [13], คาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน (Carboxymethyl

chitosan, CMC) [14] เป็นต้น อย่างไรก็ตามข้อจำกัดคือความแข็งแรงของฟิล์มในขณะที่บวมตัวลดลงจึงต้องมีการเชื่อมโยงสายโซ่เพื่อเพิ่มความแข็งแรง [15] โดยสารเชื่อมโยงที่นิยมและมีประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยากับไคโตซาน ได้แก่ กลูตาราลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) [16], ไกลออกซอล (Glyoxal) [17] แต่สารเชื่อมโยงเหล่านี้มีความเป็นพิษต่อร่างกาย [18] ดังนั้นการใช้พอลิเมอร์ที่มีประจุลบผสมกับไคโตซานซึ่งมีประจุบวก เพื่อให้เกิดการเชื่อมโยงทางประจุจึงเป็นวิธีการหนึ่งในการพัฒนาไฮโดรเจล เช่น การนำโซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate, SA) ที่เป็นพอลิเมอร์ประจุลบที่ได้จากสารสกัดสาหร่ายสีน้ำตาล ไม่เป็นพิษ สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้และเข้ากับร่างกายได้ดีมาใช้ผสมกับไฮดรอกซีเอทิลอะคริลไคโตซาน ซึ่งอัลจิเนตสามารถเกิดการเชื่อมโยงเป็นโครงสร้างตาข่าย 3 มิติกับไคโตซานได้และยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการเชื่อมโยงโดยการใช้ไอออนประจุบวกชนิดไดวาเลนต์ เช่น Ca^{2+} ซึ่งไม่เป็นพิษต่อร่างกาย เช่น งานวิจัยของพิชญา ตรีเนตร ซึ่งเตรียมแคปซูลควบคุมการปลดปล่อยยาจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลไคโตซานกับโซเดียมอัลจิเนต [19]

นอกจากนี้ในการรักษาบาดแผลต้องมีการป้องกันไม่ให้บาดแผลติดเชื้อจากเชื้อโรคและแบคทีเรียต่าง ๆ แม้ว่าวัสดุปิดแผลไคโตซานมีสมบัติการต้านทานเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านทานการติดเชื้อ จึงมีงานวิจัยที่เติมสารที่ต้านทานต่อเชื้อจุลินทรีย์ เช่น โลหะซิลเวอร์ โดยซิลเวอร์สามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรียได้ดีและไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ซึ่งมีการวิจัยหลายงานนำมาใช้ เช่น งานวิจัยของ Shekhar Agnihotri และคณะ [15] ที่เตรียมแผ่นปิดแผลจากไคโตซานผสมกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) โดยมีซิลเวอร์นาโนคอมโพสิตเป็นองค์ประกอบ, งานวิจัยของ Jayachandran Venkatesana และคณะ [20] ที่เตรียมแผ่นปิดแผลจากไคโตซานผสมอัลจิเนตที่มีซิลเวอร์นาโนคอมโพสิตเป็นองค์ประกอบ เป็นต้น

งานวิจัยนี้เป็นการเตรียมฟิล์มจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลไคโตซานและโซเดียมอัลจิเนตที่มีซิลเวอร์เป็นส่วนประกอบเพื่อทำเป็นวัสดุปิดแผลและนำส่งยา โดยไฮดรอกซีเอทิลอะคริลไคโตซานและโซเดียมอัลจิเนตสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ ไม่เป็นพิษและเข้ากับร่างกายได้ดี ซึ่งไฮดรอกซีเอทิลอะคริลไคโตซานช่วยทำให้เลือดแข็งตัวและต้านเชื้อแบคทีเรีย ส่วนโซเดียมอัลจิเนตช่วยทำให้สามารถเชื่อมโยงทางประจุกับแคลเซียมไอออนที่ไม่เป็นพิษกับร่างกายเพิ่มความแข็งแรงในขณะที่บวมตัวให้แก่ฟิล์ม และมีการใส่อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เป็นสารยับยั้งแบคทีเรียเพื่อเพิ่มความสามารถในการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย โดยงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์และซิลเวอร์ไนเตรท ที่มีผลต่อพฤติกรรมการบวมตัว, การปลดปล่อยยาและการต้านทานเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มไฮโดรเจล

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อพัฒนาวัสดุปิดแผลจากฟิล์มไฮโดรเจลจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลไคโตซานและโซเดียมอัลจิเนตที่บรรจุอนุภาคซิลเวอร์นาโน
2. ศึกษาพฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มไฮโดรเจลโดยศึกษาปัจจัยต่าง ๆ เช่น อัตราส่วนระหว่างไฮดรอกซีเอทิลอะคริลไคโตซานกับโซเดียมอัลจิเนต และความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์
3. ศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยยา, สมบัติเชิงกล, สมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรียและสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์ของฟิล์มไฮโดรเจล ที่ปัจจัยต่าง ๆ เช่น ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์และซิลเวอร์ไนเตรท

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. เตรียมฟิล์มไฮโดรเจลจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาไมด์โคโตนและโซเดียมอัลจิเนตที่เชื่อมโยงทางประจุด้วยแคลเซียมไอออนโดยศึกษาอัตราส่วนของไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาไมด์โคโตนต่อโซเดียมอัลจิเนตเท่ากับ 75:25, 50:50 และ 25:75 โดยน้ำหนัก
2. เตรียมฟิล์มไฮโดรเจลที่มีการแช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.2, 0.3 และ 0.5 M และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5 และ 10 mM
3. ตรวจสอบคุณสมบัติของฟิล์มไฮโดรเจลด้วยเทคนิค XRD, XRF, FTIR และ SEM
4. ศึกษาพฤติกรรมบวมตัวที่ 37°C ในน้ำกลั่นและสารละลาย Phosphate buffer solution (PBS), สมบัติเชิงกล, สมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย, สมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์และพฤติกรรมการปลดปล่อยยาเบื้องต้นของฟิล์มไฮโดรเจล

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถเตรียมฟิล์มไฮโดรเจลจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาไมด์โคโตนและโซเดียมอัลจิเนตที่บรรจุอนุภาคซิลเวอร์นาโน
2. ฟิล์มที่ได้มีสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรีย และมีความสามารถในการปลดปล่อยยา สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นแผ่นปิดแผล หรือวัสดุนำส่งยาได้
3. ทราบถึงปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการบวมตัวและการปลดปล่อยยาของฟิล์มไฮโดรเจลที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนเป็นส่วนประกอบ

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไฮโดรเจล (Hydrogel)

ไฮโดรเจลเป็นพอลิเมอร์ประเภทไฮโดรฟิลิก (Hydrophilic) ที่สามารถดูดซับน้ำไว้ได้ โดยไม่เกิดการละลายในน้ำ เนื่องจากมีโครงสร้างเป็นตาข่าย 3 มิติ [18] การใช้ประโยชน์จากไฮโดรเจลได้รับความสนใจอย่างมากในหลายปีที่ผ่านมา เนื่องจากสามารถประยุกต์ใช้กับงานได้หลากหลายด้าน เช่น

- ด้านสุขอนามัย เช่น ผลิตเป็นผ้าอ้อมสำเร็จรูปและผ้าอนามัย
- ด้านการแพทย์ เช่น ผลิตคอนแทคเลนส์ แผ่นปิดแผล และวัสดุนำส่งยา (Drug delivery)
- ด้านการเกษตร นำมาประยุกต์เป็นวัสดุอุ้มน้ำหรือใช้ทำปุ๋ยที่ควบคุมการปลดปล่อยได้

2.1.1 ประเภทของไฮโดรเจล

การจำแนกประเภทของไฮโดรเจลมีเกณฑ์ที่ใช้ในการแบ่งอยู่หลายชนิด โดยปกติเกณฑ์ที่ใช้ในการแบ่งประเภทของไฮโดรเจลมี 6 เกณฑ์ ดังนี้

2.1.1.1 ประเภทของไฮโดรเจลแบ่งตามวิธีการเชื่อมโยง [21]

ไฮโดรเจลสามารถแบ่งตามวิธีการเชื่อมโยงออกเป็น 2 ชนิด คือ ไฮโดรเจลที่มีการเชื่อมโยงทางเคมี (Chemical crosslink) และไฮโดรเจลที่มีการเชื่อมโยงทางกายภาพ (Physical crosslink) การเชื่อมโยงทางเคมีเป็นการเชื่อมโยงแบบถาวร ในขณะที่การเชื่อมโยงทางกายภาพเป็นการเชื่อมโยงแบบชั่วคราวที่เกิดจากสายโซ่พอลิเมอร์เกี่ยวพันกันหรือมีอันตรกิริยาทางกายภาพขึ้นระหว่างสายโซ่ เช่น แรงระหว่างประจุ (Ionic interactions), พันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bonds) หรือ แรงดึงดูดระหว่างกันของโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic interactions) โดยทั่วไปไฮโดรเจลที่เชื่อมโยงทางเคมี มีชื่อเรียกว่า irreversible hydrogels เนื่องจากไฮโดรเจลชนิดนี้ไม่สามารถกลับไปละลายได้อีก ในขณะที่ไฮโดรเจลที่เชื่อมโยงทางกายภาพ มีชื่อเรียกว่า reversible hydrogels เนื่องจากไฮโดรเจลชนิดนี้สามารถกลับไปละลายได้เมื่อมีการเปลี่ยนอุณหภูมิ, ตัวทำละลายหรือค่าความเป็นกรด-เบส

2.1.1.2 ประเภทของไฮโดรเจลแบ่งตามแหล่งที่มาของพอลิเมอร์ [22]

ไฮโดรเจลสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิดตามแหล่งที่มา คือ ไฮโดรเจลธรรมชาติ (Natural), ไฮโดรเจลสังเคราะห์ (Synthetic) และไฮโดรเจลกึ่งสังเคราะห์ (Semi-synthetic)

ไฮโดรเจลสังเคราะห์ส่วนใหญ่มาจากการสังเคราะห์ด้วยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันของ vinyl-activated monomers ไฮโดรเจลสังเคราะห์ถูกนำไปใช้อย่างกว้างขวางเพราะมีโครงสร้างทางเคมีที่แน่นอนและสามารถออกแบบขนาดของมวลโมเลกุลได้ แต่ไฮโดรเจลสังเคราะห์หลายชนิดไม่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ และอาจก่อให้เกิดการอักเสบและเป็นพิษจากสารเคมีตกค้าง ไฮโดรเจลธรรมชาติเตรียมได้จากพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติที่มาจากแหล่งต่าง ๆ เช่น คอลลาเจนที่ได้จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ไคตินและไคโตซานได้มาจากเปลือกกุ้งเปลือกปู เป็นต้น โดยทั่วไปพอลิเมอร์จากธรรมชาติมีความสามารถในการเข้ากับสารชีวภาพได้ดี, สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้และเป็นสารชีวโมเลกุลที่สนับสนุนการทำงานของเซลล์ แต่พอลิเมอร์จากธรรมชาติมีสมบัติ

เชิงกลที่ไม่ดีพอและอาจมีเชื้อโรคปนมาทำให้มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ตารางที่ 2.1 แสดงตัวอย่างแต่ละประเภทของพอลิเมอร์ที่ใช้ในการเตรียมไฮโดรเจล

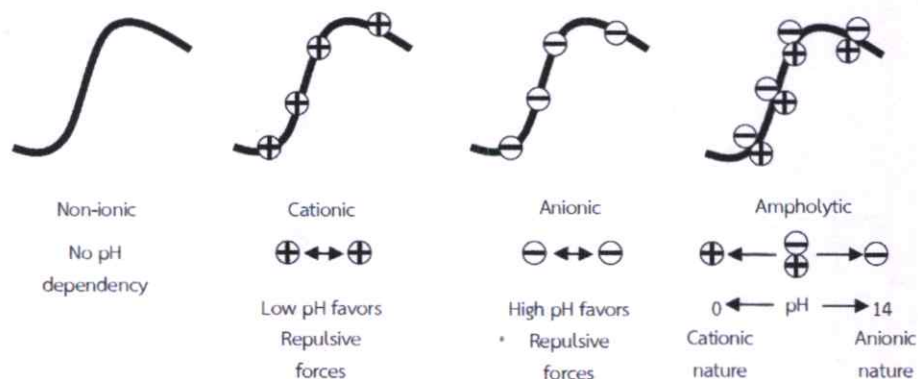
ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างของพอลิเมอร์แต่ละชนิดที่ใช้ในการเตรียมไฮโดรเจล

Polymer category	Examples	Reference
Synthetic polymer	Poly(vinyl alcohol)	[23]
	Poly(<i>N</i> -isopropyl acrylamide)	[24]
	Poly(ethylene glycol)	[25]
Natural polymer	Chitosan	[26]
	Alginate	[27]
	Cellulose	[28]
Semi-synthetic polymer	Poly(vinyl alcohol)/alginate	[29]
	Poly(2-hydroxyethyl methylacrylate)/dextrin	[30]
	Polyester/alginate	[31]

2.1.1.3 ประเภทของไฮโดรเจลแบ่งตามชนิดของประจุ [32]

ไฮโดรเจลสามารถแบ่งโดยพิจารณาประจุบนโครงสร้างออกเป็น 2 ประเภท คือ ไฮโดรเจลแบบที่ไม่มีประจุ (Non-ionic) กับไฮโดรเจลแบบที่มีประจุ (Ionic) ได้แก่ ประจุบวก (Cationic), ประจุลบ (Anionic) และแบบที่มีทั้งประจุบวกและลบ (Ampholytic)

จากรูปที่ 2.1 ไฮโดรเจลแบบ non-ionic เช่น เดกซ์แทรน (Dextran) และอะกาโรส (Agarose) ซึ่งมีการบวมตัวในตัวยางที่เป็นน้ำเนื่องจากสามารถเกิดอันตรกิริยาระหว่างน้ำกับพอลิเมอร์ได้ ในขณะที่การบวมตัวของไฮโดรเจลแบบ ionic ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายตัวยาง ไฮโดรเจลประจุบวก เช่น โคลิตซาน มีการบวมตัวอย่างมากในสารละลายกรด เนื่องจากหมู่แทนที่ของไฮโดรเจลประจุบวกแตกตัวที่ค่าพีเอชต่ำและไม่แตกตัวในสภาวะที่เป็นกลางและค่าพีเอชสูง ในขณะที่ไฮโดรเจลประจุลบ เช่น อัลจิเนตและแซนแทนกัม มีการบวมตัวอย่างมากในสารละลายที่เป็นกลางจนถึงเบส เนื่องจากหมู่แทนที่ของไฮโดรเจลประจุลบไม่แตกตัวที่ค่าพีเอชต่ำและที่ค่าพีเอชประมาณค่า pK_a ของโครงข่ายพอลิเมอร์ ส่วนไฮโดรเจลแบบ ampholytic เช่น เจลาตินและคาร์บอกซีเมทิลโคลิตซาน ซึ่งมีสภาพเป็นไฮโดรเจลประจุบวกที่ค่าพีเอชต่ำและมีสภาพเป็นไฮโดรเจลประจุลบที่ค่าพีเอชสูง โดยค่าพีเอชของตัวยางแสดงถึงจุดที่เมื่ออัตราส่วนของประจุบวกและประจุลบของไฮโดรเจลรวมกันเป็นศูนย์ เรียกว่า จุดไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric point : IP) โดยจุดไอโซอิเล็กทริกใช้ในการวิเคราะห์ค่าที่ต่ำที่สุดของการขยายตัวของสายโซ่ในสารละลาย

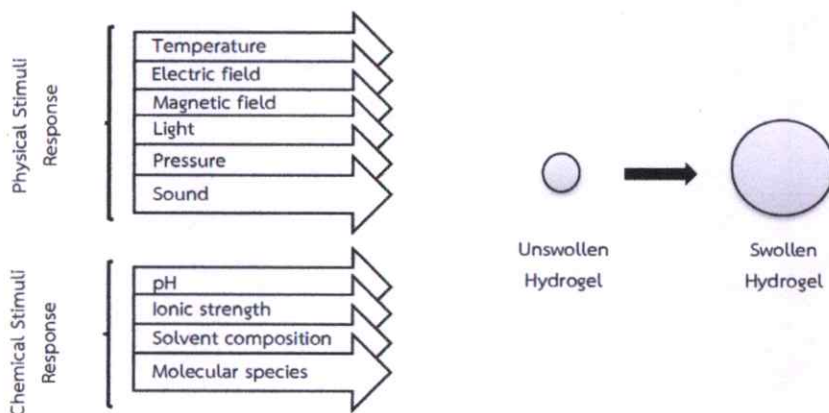


รูปที่ 2.1 การแบ่งตามชนิดของประจุไฟฟ้า [32]

2.1.1.4 ประเภทของไฮโดรเจลแบ่งตามการตอบสนองต่อสิ่งเร้าจากภายนอก

ไฮโดรเจลสามารถตอบสนองต่อสิ่งเร้าได้อย่างรวดเร็วด้วยการหดหรือขยายตัวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงแวดล้อมภายนอก ซึ่งเรียกไฮโดรเจลชนิดนี้ว่า smart hydrogel

สิ่งเร้าทางกายภาพประกอบด้วย อุณหภูมิ, สนามไฟฟ้าหรือสนามแม่เหล็ก, แสง, ความดันและเสียง ในขณะที่สิ่งเร้าทางเคมีประกอบด้วยค่าความเป็นกรด-เบส, องค์ประกอบของสารละลาย, ความแข็งแรงของประจุและชนิดของโมเลกุล (รูปที่ 2.2)



รูปที่ 2.2 การบวมตัวตอบสนองต่อสิ่งเร้าของไฮโดรเจล [33]

ตัวอย่างเช่น ไฮโดรเจลจาก poly(N-isopropyl acrylamide) เป็นไฮโดรเจลที่ไวต่ออุณหภูมิ ซึ่งสามารถสลับเฟสที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) กับไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) ได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าค่าอุณหภูมิวิกฤตของสารละลาย (LCST) ที่ประมาณ 32 °C โดยสายโซ่พอลิเมอร์มีการเปลี่ยนแปลงจากการบวมตัว (Hydrophilic state) ไปสู่การพังทลาย (Hydrophobic state) [24] และตัวอย่างอื่น เช่น ไฮโดรเจลที่ไวต่อแสงยูวี ซึ่งสามารถสังเคราะห์ได้จาก bis(4-dimethylamino) phenylmethyl leucocyanide โดยไฮโดรเจลนี้บวมตัวในสภาวะที่มีแสงยูวีแต่หดตัวเมื่อเอาแสงยูวีออก ที่มีการบวมตัวเกิดขึ้นเพราะมีการเพิ่มขึ้นของความดันออสโมติก (Osmotic pressure) ภายในไฮโดรเจล เนื่องจากการเกิดไอออนของไซยาไนด์ขึ้นเมื่อเจอแสงยูวี [34] ส่วนตัวอย่างของไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อสิ่งเร้าตัวอื่นแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อสิ่งเร้า

Stimuli	Hydrogel	Reference
Temperature	- Poly(<i>N</i> -isopropyl acrylamide)/carboxymethyl chitosan	[35]
	- Kappa-carrageenan	[36]
	- poly(ethylene glycol) grafted chitosan	[37]
pH	- <i>N</i> -succinyl chitosan grafted polyacrylamide	[38]
	- Sodium alginate grafted polyglycidyl methacrylate	[39]
Electric field	- Kappa-carrageenan/carboxymethyl chitosan/nano-Fe ₃ O ₄	[40]
	- Poly(vinyl alcohol)/hydroxyapatite/Fe ₂ O ₃	[41]
Light	- β -cyclodextrin-grafted alginate/ diazobenzenemodified Poly(ethylene glycol)	[42]

2.1.1.5 ประเภทของไฮโดรเจลแบ่งตามความสามารถในการย่อยสลาย [43]

ไฮโดรเจลสามารถแบ่งตามความสามารถในการย่อยสลายได้เป็น 2 ประเภท คือ ไฮโดรเจลแบบทนทาน (Durable) และไฮโดรเจลแบบย่อยสลายได้ (Biodegradable) โดยขึ้นอยู่กับเสถียรภาพของไฮโดรเจลภายใต้สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ ไฮโดรเจลแบบย่อยสลายได้มีการนำมาประยุกต์ใช้เป็นพาหะสำหรับควบคุมการนำส่งสารหรือวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue engineering) ในระบบการนำส่งยา อัตราการสลายตัวของไฮโดรเจลสามารถใช้กำหนดปริมาณการปลดปล่อยยาและผลของเภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetics) ที่ส่งผลต่อเซลล์และเนื้อเยื่อโดยรอบ สำหรับการนำไปประยุกต์ใช้เป็นวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ข้อดีของการใช้ไฮโดรเจล คือ มีโครงร่าง (Scaffolding) ที่สามารถย่อยสลายได้ช่วยกระตุ้นการขยายตัวของเซลล์ (Cell infiltration) และการเติบโตของเนื้อเยื่อ เป็นที่เชื่อกันโดยทั่วไปว่าอัตราการย่อยสลายของโครงร่างเนื้อเยื่อต้องตรงกับอัตราของกระบวนการทำงานต่าง ๆ ของเซลล์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการฟื้นฟูเนื้อเยื่อ

2.1.1.6 ประเภทของไฮโดรเจลแบ่งตามลักษณะทางกายภาพ

ไฮโดรเจลมีลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกันหลายรูปแบบ รวมทั้งแบบที่เป็นฟิล์ม [27], เส้นใย [44], อนุภาคไมโคร [45], อนุภาคนาโน [46], โครงร่าง [47] และของเหลว [48] ลักษณะทางกายภาพของไฮโดรเจลขึ้นอยู่กับเทคนิคของพอลิเมอร์เซชันในกระบวนการเตรียม

2.1.2 การเตรียมไฮโดรเจล

2.1.2.1 Chemical or irreversible hydrogels

การเชื่อมโยงทางเคมีเป็นวิธีในการสร้างโครงข่าย irreversible hydrogels โดยใช้พันธะโควาเลนต์ระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ ซึ่งพันธะโควาเลนต์มีความแข็งแรง ส่งผลให้สมบัติเชิงกลมีเสถียรภาพที่ดี โดยส่วนต่อจากนี้อธิบายถึงวิธีการต่าง ๆ ในการเตรียม irreversible hydrogels

- Small molecule crosslinker [21]

สารโมเลกุลเล็กที่มีหมู่ฟังก์ชันที่ปลายทั้ง 2 ด้านหลายโมเลกุลถูกนำมาใช้เตรียมไฮโดรเจล โดยทำการเชื่อมโยงกับพอลิเมอร์ไฮโดรฟิลิก ซึ่งพอลิเมอร์ไฮโดรฟิลิกควรมีหมู่ฟังก์ชันที่เหมาะสมสามารถทำปฏิกิริยากับสารเชื่อมโยง (Crosslinking agent) ได้ ตัวอย่างของสารเชื่อมโยงที่สัมพันธ์กับหมู่ฟังก์ชันของพอลิเมอร์แสดงในตารางที่ 2.3 ซึ่งข้อเสียหลักของวิธีนี้คือสารเชื่อมโยงหลายชนิดที่พบค่อนข้างมีความเป็นพิษ เพื่อป้องกันไม่ไห้สารเชื่อมโยงที่ยังไม่ได้ทำปฏิกิริยาตกค้างอยู่และเข้าไปในร่างกายจึงต้องทำให้ไฮโดรเจลสังเคราะห์บริสุทธิ์ก่อนนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างของสารเชื่อมโยงที่สัมพันธ์กับหมู่ฟังก์ชันของพอลิเมอร์ [21]

Crosslinking agent	Type of polymer
- Dialdehyde compound	- Polymer with amino and hydroxyl group
- Amine compound	- Halogen-type polymer, carboxylic polymer ester, isocyanate, epoxy base and polymer with methylol base
- Aziridine compound	- Polymer with carboxyl base
- Di or polymethylol phenolic resin	- Polymer with nitril base, mercapto base and carboxyl base
- Halogen compound	- Polymer with amine, diene
- Di or polyisocyanate compound	- Polymer with active hydrogen like -OH, -SH, -NH ₂ and -COOH
- Alcohol like diol, polyol, bisphenol	- Polymer and cellulose chlorosulfonate base and isocyanate base
- Diepoxy compound	- Polymer with carboxyl base, hydroxide base, mercapto base and chlorosulfonate base

- Polymer-polymer crosslinking

เพื่อกำจัดการใช้สารเชื่อมโยงในระหว่างการเกิดเจล (Gelation) จึงมีการพัฒนาไปใช้สายโซ่ pre-functionalized polymer ทำปฏิกิริยากับหมู่ฟังก์ชัน ตัวอย่างเช่น ไฮโดรเจลจาก N-succinylated chitosan และ aldehyde-terminated hyaluronic acid ซึ่งสามารถสังเคราะห์ได้จากการเชื่อมโยงผ่านปฏิกิริยา Schiff's base [49] นอกจากนี้ไฮโดรเจลไคโตซานยังใช้ประโยชน์จากปฏิกิริยา Michael addition เพื่อสร้างการเชื่อมโยงระหว่างพอลิเมอร์กับพอลิเมอร์ กลุ่มอะมิโนในไคโตซานสามารถทำปฏิกิริยากับกลุ่มไวนิลของพอลิเมอร์อื่น ๆ ได้ [50] วิธีนี้ได้รับความนิยมในการเตรียมไฮโดรเจล เนื่องจากมีการเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วและสามารถสร้างพันธะได้หลายรูปแบบ แม้ว่าการเชื่อมโยงระหว่างพอลิเมอร์กับพอลิเมอร์มีประโยชน์หลายประการแต่มีข้อเสียคือ มีกระบวนการเตรียมการและการทำให้บริสุทธิ์หลายขั้นตอน

- Photo-crosslinking

เช่นเดียวกันกับการเชื่อมโยงระหว่างพอลิเมอร์กับพอลิเมอร์ นักวิจัยได้พัฒนาพอลิเมอร์ที่สามารถเตรียมเป็นไฮโดรเจลโดยใช้หมู่ฟังก์ชันที่ไวต่อแสง โดยการเพิ่มส่วนของหมู่ฟังก์ชันจากโมเลกุลที่ไวต่อแสงลงในพอลิเมอร์จึงสามารถก่อให้เกิดการเชื่อมโยงระหว่างกันได้โดยการฉายรังสีด้วยแสงยูวี ตัวอย่างเช่น ไฮโดรเจลโคโคโตซานที่เชื่อมโยงด้วยแสงที่พัฒนาโดย K. Ono และคณะ [51] โดยเตรียมไฮโดรเจลโคโคโตซานที่ไวต่อแสงได้ด้วยการต่อหมู่อะไซด์ (Azide groups) ลงบนพอลิเมอร์ หลังจากการฉายรังสียูวีหมู่อะไซด์ถูกเปลี่ยนเป็นกลุ่มไนเตริน (Nitrene group) ทำปฏิกิริยาเชื่อมโยงบกกลุ่มอะมิโนอิสระของโคโคโตซานทำให้เกิดเป็นเจลภายใน 60 วินาที อีกตัวอย่างหนึ่งคือ ไฮโดรเจลจาก alginate methacrylated oxidized กับ poly(ethylene glycol) (OMA/PEG) ที่เชื่อมโยงด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ต [52] โดยมีการต่อหมู่ฟังก์ชันของกลุ่มแอลดีไฮด์ลงบนอัลจินัตด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันเพื่อทำให้สามารถเกิดปฏิกิริยากับกลุ่มอะมิโนของ PEG ส่วนกรด alginic มีการเติมด้วย 2-aminoethylmethacrylate (AEMA) โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาประเภท carbodiimide เพื่อช่วยในการเชื่อมโยงทางแสงของกลุ่ม methacrylate ด้วยแสงยูวี

- Free-radical polymerization crosslinking [22]

การทำ Free-radical polymerization crosslinking เป็นวิธีที่นิยมใช้เพื่อเตรียมไฮโดรเจล จากพอลิเมอร์ประเภท acrylates และ vinyl lactams นอกจากนี้ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการเตรียมไฮโดรเจลด้วยพอลิเมอร์จากธรรมชาติ ซึ่งหมู่ฟังก์ชันบนแกนหลักของพอลิเมอร์หรือปลายสายโซ่ของพอลิเมอร์จากธรรมชาติทำหน้าที่เป็นหมู่ฟังก์ชันที่สามารถเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันอย่างรุนแรงได้ การเตรียมไฮโดรเจลโดยวิธีนี้เกี่ยวข้องกับวิธี Free-radical polymerization ทั่วไปซึ่งรวมถึงขั้นการริเริ่ม (Initiation), การขยายสายโซ่ (Propagation), การโอนย้ายโซ่ (Chain transfer) และการสิ้นสุดสายโซ่ (Termination) ในขั้นตอนการริเริ่มเกิดได้จากหลากหลายรูปแบบ เช่น ความร้อน, แสง, ตัวเร่งปฏิกิริยาอัลตราไวโอเล็ตและรีดอกซ์ ซึ่งสามารถใช้ในการสร้างอนุภาคนิวเคลียสได้ เมื่อนิวเคลียสทำปฏิกิริยากับมอนอเมอร์เปลี่ยนให้อยู่ในรูปแบบที่เป็น active monomers หลังจากนั้น active monomers ทำปฏิกิริยากับมอนอเมอร์ตัวอื่น ๆ ต่อในขั้นตอนการขยายสายโซ่ ผลของสายโซ่อนุภาคนิวเคลียสที่ยาวขึ้นเกิดการสิ้นสุดสายโซ่ด้วยการโอนย้ายสายโซ่หรือการรวมตัวกันของสายโซ่อนุภาคนิวเคลียส 2 เส้นเข้าด้วยกัน ตัวอย่างเช่น ไฮโดรเจลจาก sorbitanmethacrylate (SMA) ซึ่งถูกสังเคราะห์โดยมี SMA เป็นมอนอเมอร์, α, α' -azobis(isobutyronitrile) เป็นตัวริเริ่มโดยใช้ความร้อน และ ethylene glycol dimethacrylate เป็นสารเชื่อมโยง [53] อีกตัวอย่างหนึ่งคือ ไฮโดรเจลจาก sodium 2-acrylamido-2-methyl propanesulfonate (Na-AMPS) ซึ่งเตรียมโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยารีดอกซ์เป็นตัวริเริ่มผ่านการทำปฏิกิริยาพอลิเมอไรซ์ด้วยกลไกอนุภาคนิวเคลียส ในสารละลายน้ำที่อุณหภูมิห้อง มีโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate) เป็นตัวริเริ่มของอนุภาคนิวเคลียสและโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (Potassium metabisulfite) และเฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous sulfate) เป็นตัวริเริ่มร่วมถูกเติมเข้าไปในสารละลาย Na-AMPS เพื่อให้เกิดเป็นไฮโดรเจล [54]

- Irradiation crosslinking [22]

ไฮโดรเจลสามารถเตรียมได้ด้วยเทคนิคการฉายรังสีไอออไนซ์ (Ionizing radiation techniques) วิธีการนี้สามารถใช้กับพอลิเมอร์ทั้งแบบสังเคราะห์และแบบธรรมชาติ รังสีไอออไนซ์เป็นรังสีที่มีพลังงานเพียงพอสำหรับการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของไอออนทั้งในอากาศหรือน้ำ

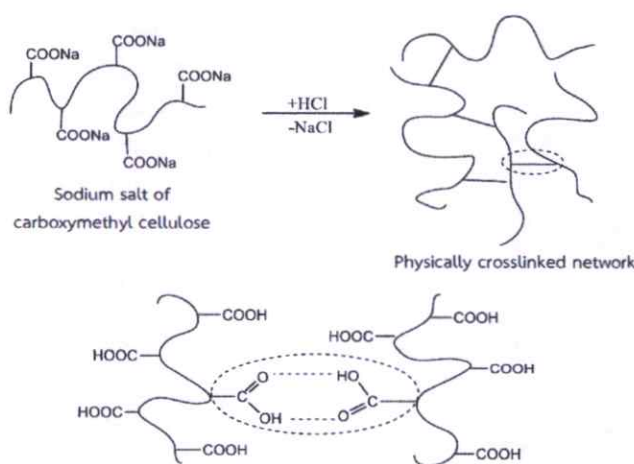
ประเภทของการฉายรังสีมีทั้งการฉายรังสีของลำแสงอิเล็กตรอนและรังสีแกมมา ในระหว่างการฉายรังสีจะมีการสร้าง reactive sites ขึ้นจำนวนมากตามแนวแกนหลักของพอลิเมอร์เมื่ออนุมูลอิสระเหล่านี้มารวมกันทำให้เกิดการเชื่อมโยงขึ้น ตัวอย่างของพอลิเมอร์ที่เชื่อมโยงด้วยวิธีการฉายรังสีคือ ไฮโดรเจลจาก poly(vinyl alcohol)/carboxymethylate chitosan/honey [55] และ gelatin/carboxymethyl chitosan [56] การเชื่อมโยงด้วยการฉายรังสีมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากไม่มีการใช้สารเคมีเป็นสารเติมแต่งหรือตัวเร่งปฏิกิริยา อย่างไรก็ตามการใช้วิธีฉายรังสีไม่แนะนำให้ใช้เตรียมไฮโดรเจลจากพอลิเมอร์บางชนิดที่สามารถย่อยสลายได้ภายใต้สภาวะการฉายรังสีไอออน [57]

2.1.2.2 Physical or reversible hydrogels

ไฮโดรเจลสามารถเกิดขึ้นผ่านอันตรกิริยาทางกายภาพ โดยไฮโดรเจลที่ได้จากเทคนิคนี้มักถูกเตรียมภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง การเกิดเจลไม่จำเป็นต้องใช้โมเลกุลของตัวเชื่อมโยงโควาเลนต์ที่เป็นพิษ มีการนำไฮโดรเจลชนิดนี้ไปประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายแต่มีข้อจำกัด เนื่องจากมีความแข็งแรงเชิงกลที่ไม่ดีและการสลายตัวที่ไม่สามารถควบคุมได้ ส่วนต่อไปนี้อธิบายถึงความแตกต่างของวิธีการเตรียม reversible hydrogels

- Crosslinking by hydrogen bonding

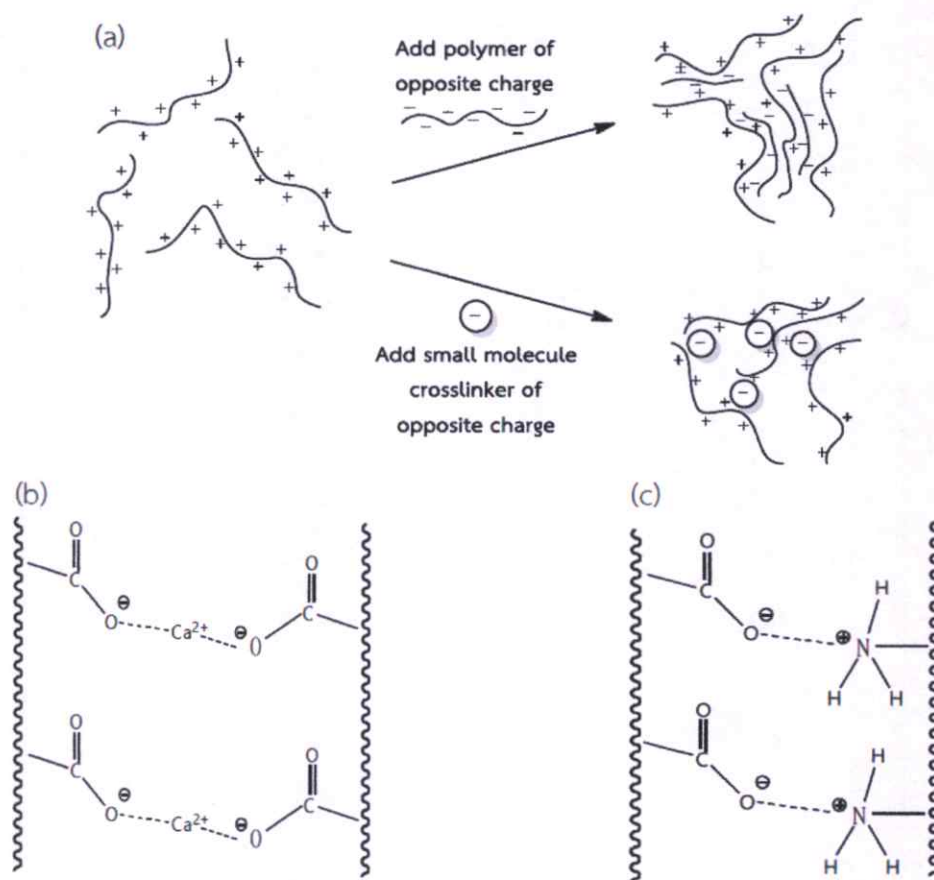
ไฮโดรเจลสามารถเกิดขึ้นได้จากการเกิดพันธะไฮโดรเจนของสายโซ่พอลิเมอร์ เช่น โครจข่ายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) สามารถเตรียมได้โดยใช้ CMC ลงในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 M [58] กลไกนี้เกี่ยวข้องกับการแทนที่โซเดียมใน CMC ด้วยไฮโดรเจนในสารละลายกรด เพื่อสนับสนุนให้เกิดพันธะไฮโดรเจน (รูปที่ 2.3) ทำให้ความสามารถในการละลายของ CMC ในน้ำลดลงและส่งผลกระทบต่อความยืดหยุ่นของไฮโดรเจล อีกตัวอย่างหนึ่งคือ พันธะไฮโดรเจนเชิงซ้อนของ poly(acrylic acid) และ poly(N-vinylpyrrolidone) [59] สารประกอบเชิงซ้อนนี้ได้รับผลกระทบจากหลายปัจจัย เช่น อัตราส่วนโมลของพอลิเมอร์แต่ละชนิด, อุณหภูมิของสารละลาย, ความเข้มข้นของพอลิเมอร์, ชนิดของตัวทำละลายและโครงสร้างของพอลิเมอร์



รูปที่ 2.3 การสร้างโครงข่ายไฮโดรเจลจากการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลด้วยพันธะไฮโดรเจนใน CMC ที่ pH ต่ำ [58]

- Crosslinking via ionic bonding

การผสมสารละลายพอลิอิเล็กโทรไลต์ (Polyelectrolyte) สองประเภทที่มีประจุตรงข้ามกันนำไปสู่การเกิดไฮโดรเจลจากสารประกอบเชิงซ้อนพอลิอิเล็กโทรไลต์ (รูป 2.4a) ไฮโดรเจลที่เกิดขึ้นจากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอิเล็กโทรไลต์ไม่ละลายในน้ำและความเสถียรของพันธะอิเล็กโทรไลต์ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-เบสของระบบ [60] เพื่อเตรียมโครงข่ายพอลิเมอร์ที่เชื่อมโยงด้วยพันธะไอออนิก พอลิเมอร์ไอออนิก (เช่น โซเดียมอัลจิเนตและไคโตซาน) และแคตไอออนไอออน (หรือที่เรียกว่าสารเชื่อมโยงไอออน เช่น แคลเซียมคลอไรด์) ที่มีประจุตรงข้ามจะถูกแยกออกไปในตัวทำละลายหลังจากนั้นจะเกิดอันตรกิริยาระหว่างประจุขึ้น (รูป 2.4b) ตัวอย่างเช่น แคลเซียม-อัลจิเนต [61] และไตรพอลิฟอสเฟต-ไคโตซาน [62] นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารประกอบเชิงซ้อนพอลิอิเล็กโทรไลต์ระหว่างพอลิเมอร์ 2 ชนิดที่มีประจุตรงข้ามกันได้ (รูป 2.4c) ตัวอย่างเช่น ไคโตซาน-แซนแทน [63], โซเดียมอัลจิเนต-ไคโตซาน [64] และไคโตซาน-เพคติน [65]

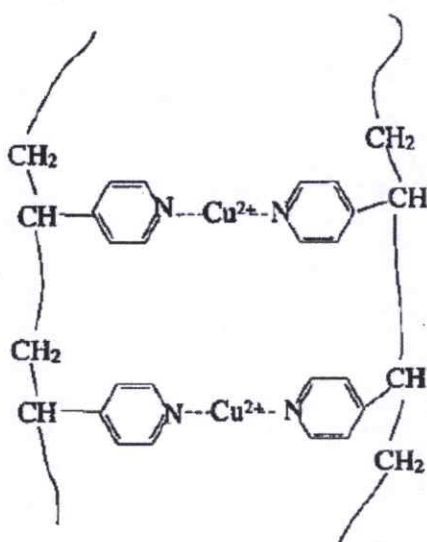


รูปที่ 2.4 (a) การเชื่อมโยงทางกายภาพที่เกิดจากอันตรกิริยาระหว่างประจุ, (b) การเกิดไฮโดรเจลโดยใช้พอลิอิเล็กโทรไลต์และสารเชื่อมโยงไอออนิก และ (c) การเกิดไฮโดรเจลโดยใช้พอลิอิเล็กโทรไลต์ที่มีประจุตรงข้ามกัน [60]

- Crosslinking by coordination bonding

เป็นวิธีการเตรียมไฮโดรเจลด้วยการยึดเกาะระหว่างประจุบวกของโลหะกับหมู่ฟังก์ชันบนสายโซ่พอลิเมอร์ เช่น กรดคาร์บอกซิลิกหรือหมู่อะมิโน [21] ซึ่งสามารถใช้ไอออนโลหะได้

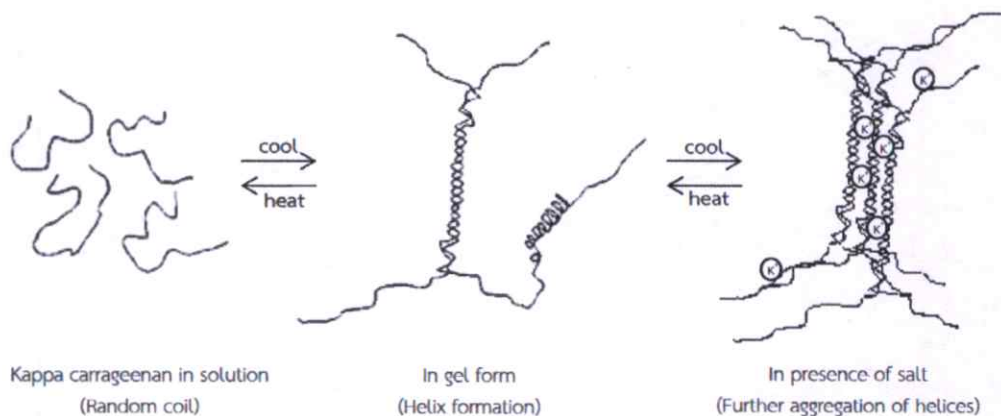
หลากหลายชนิดในการเตรียมไฮโดรเจล เช่น Ag^+ [66], Cu^{2+} [67], Zn^{2+} [68] และ Fe^{3+} [69] พันธะนี้มีความแข็งแรงมากกว่าพันธะที่พบระหว่างพอลิอิเล็กโทรไลต์และสารเชื่อมโยงไอออนิก [11] นอกจากนี้พันธะโคออดิเนตจะเกิดขึ้นผ่านโมเลกุลของ hydrating water มากกว่าการยึดเกาะโดยตรงระหว่างไอออนโลหะและคีเลต โดยมีความสัมพันธ์ระหว่างรัศมีของไฮเดรตไอออน (Hydrating ions) และความแข็งแรงของพันธะ ซึ่งรัศมีของ hydration ที่มีขนาดเล็กทำให้เกิดเป็นเจลง่ายขึ้น เนื่องจากมีอันตรกิริยาระหว่างประจุเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การเกิดเจลยังขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์, ความเข้มข้นและชนิดของสารละลายที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาเชื่อมโยงและความเข้มข้นของเกลือ



รูปที่ 2.5 การเกิด Chelation ในสารประกอบเชิงซ้อนของ copper-poly(4-vinyl pyridine) [21]

- Crosslinking caused by helix formation

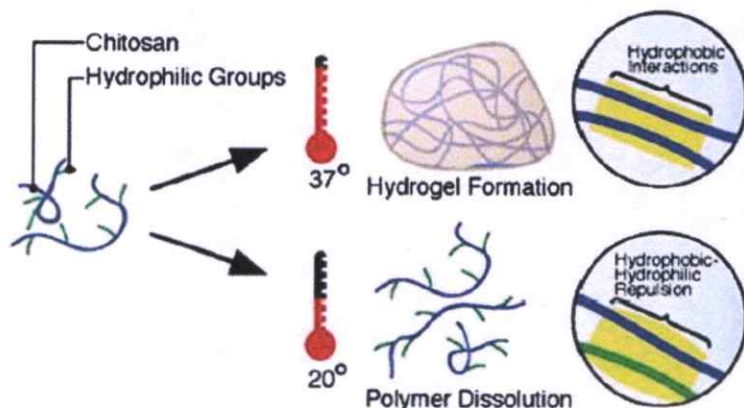
ไฮโดรเจลของอะการ์ (มาจาก agarose และ agaropectin), เจลาตินและคาร์ราจีแนน สามารถเกิดขึ้นได้ด้วยการสร้างเกลียว (Helix) [21] โดยเจลเกิดจากการถูกความร้อนชักนำให้เกิดการเปลี่ยนสถานะจากสารละลายกลายเป็นเจล ตัวอย่างเช่น kappa carrageenan ในน้ำที่อุณหภูมิมากกว่า $70^{\circ}C$ สายโซ่พอลิเมอร์จะอยู่รวมกันในรูปแบบสุ่ม (Random coil) เมื่อทำให้สารละลาย kappa carrageenan เย็นตัวลงถึงอุณหภูมิหนึ่งสายโซ่พอลิเมอร์เกิดการรวมตัวกลายเป็นเกลียวคู่แทน เมื่อมีโพแทสเซียมไอออนปนอยู่เกลียวคู่ของ kappa carrageenan เกิดการรวมเข้าด้วยกันเป็นหน่วยใหญ่ที่เรียกว่า helices aggregates โดยโพแทสเซียมสามารถทำหน้าที่เป็นกาวยึดภายในโครงสร้างโมเลกุลเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตกับอะตอม sulfate esters และอะตอม anhydro-oxygen ของ kappa carrageenan (รูป 2.6) [70]



รูปที่ 2.6 การเกิดเจลเนื่องจากการรวมตัวเป็นเกลียวขณะที่สารละลายร้อนเย็นตัวลงของ kappa carrageenan [70]

- Crosslinking by hydrophobic bonding

ไฮโดรเจลสามารถก่อตัวได้ผ่านการรวมกลุ่มกันของส่วนที่ไม่ชอบน้ำของระบบพอลิเมอร์ เช่น โคพอลิเมอร์แบบบล็อก, โคพอลิเมอร์แบบกราฟต์และพอลิเมอร์ผสม โดย microphase /microdomain ซึ่งมีการแยกโครงสร้างกันอยู่ โดเมนที่ไม่ชอบน้ำในโครงสร้างเหล่านี้มีลักษณะเป็นกลุ่มเชื่อมโยงกัน พอลิเมอร์เหล่านี้รวมกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำเข้าด้วยกันกลายเป็นส่วนของไฮโดรโฟบิกกระจายตัวอยู่ภายในส่วนของไฮโดรฟิลิกที่ดูดซับน้ำ ตัวอย่างของไฮโดรเจลกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำ คือ ไฮโดรเจลจาก poly(ethylene glycol) grafted chitosan โดยโคพอลิเมอร์กราฟต์ของโคโดซานและพอลิเอทิลีนไกลคอลถูกสังเคราะห์ด้วยการกราฟต์ monohydroxy poly(ethylene glycol) ลงบนโครงสร้างหลักของโคโดซานโดยใช้ปฏิกิริยา Schiff base และ sodium cyanoborohydride [71] มีรายงานว่าโคพอลิเมอร์นี้สามารถเปลี่ยนรูปแบบตามอุณหภูมิได้ จากสารละลายที่สามารถฉีดได้ที่อุณหภูมิห้องเปลี่ยนเป็นเจลที่อุณหภูมิของร่างกาย (รูปที่ 2.7) เนื่องจากในสภาวะที่อุณหภูมิต่ำ พันธะไฮโดรเจนระหว่าง poly(ethylene glycol) และโมเลกุลของน้ำจะส่งผลกับโครงสร้างของพอลิเมอร์มากกว่าทำให้สามารถไหลได้ แต่ในสภาวะที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะเกิดปฏิกิริยาระหว่างกลุ่มพอลิเมอร์ที่ไม่ชอบน้ำกับสารโซ่พอลิเมอร์ส่งผลให้เกิดเป็นเจลขึ้น



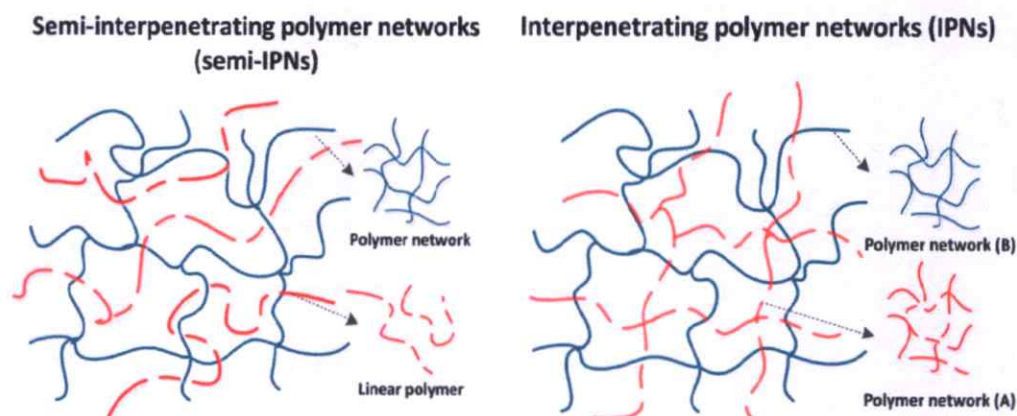
รูปที่ 2.7 โครงสร้างของโคพอลิเมอร์กราฟต์โคโดซานที่เกิดเป็นเจลกึ่งแข็งที่อุณหภูมิของร่างกายและเป็นของเหลวที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง [11]

- Crosslinking by freeze-thawing

ไฮโดรเจลสามารถเตรียมได้โดยใช้วิธีการ freeze-thaw โดยกลไกการเกิดเจลเกี่ยวข้องกับกา่ก่อตัวของ microcrystals ในโครงสร้างเนื่องจากการทำ freeze-thawing ตัวอย่างของเจลประเภทนี้ คือ ไฮโดรเจลจาก poly(vinyl alcohol) [72]

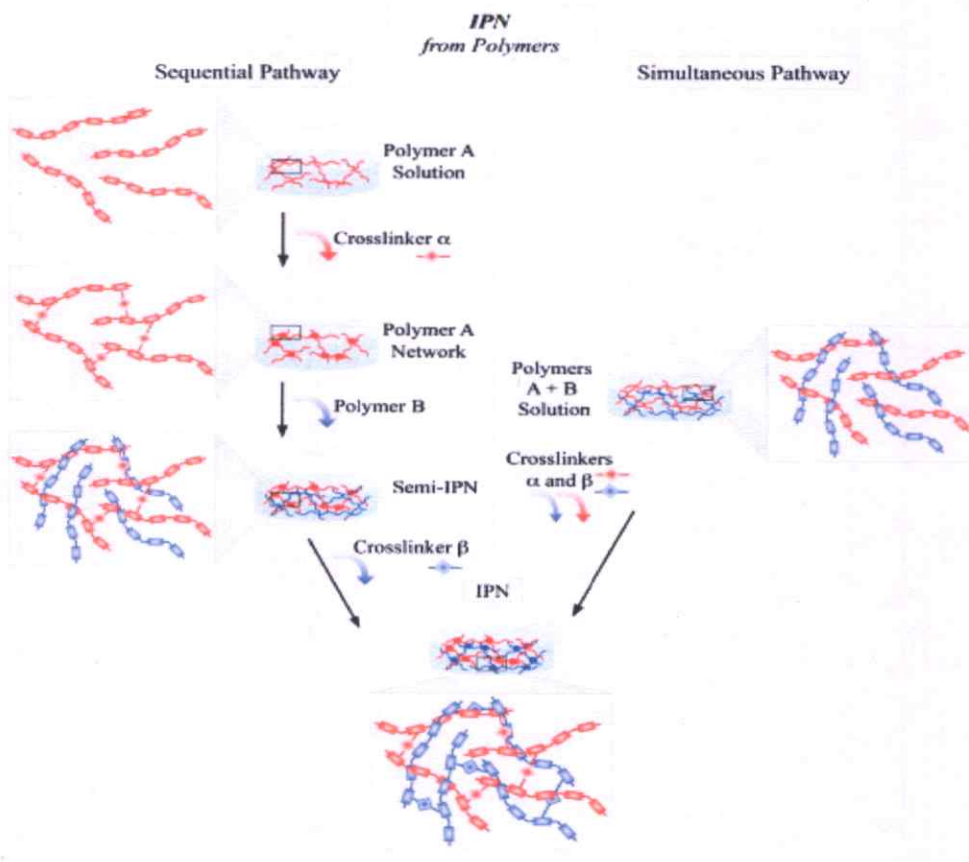
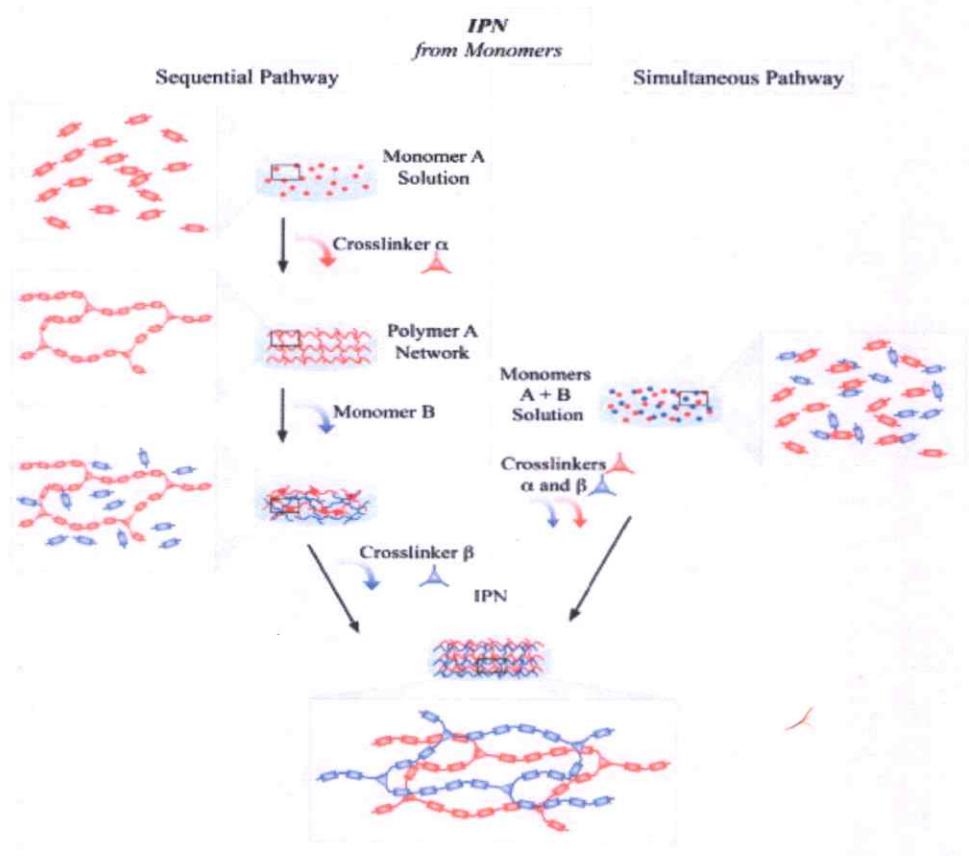
2.1.2.3 Interpenetrating polymer networks (IPNs)

ประสิทธิภาพของไฮโดรเจลสามารถเพิ่มขึ้นได้ด้วยเทคนิค interpenetrating polymer networks (IPNs) โดย IUPAC ให้คำจำกัดความของ IPNs คือ พอลิเมอร์ที่ประกอบไปด้วยโครงข่ายสองโครงข่ายหรือมากกว่าซึ่งมีการซ้อนทับกันอย่างน้อยหนึ่งในระดับโมเลกุล แต่ไม่เกิดพันธะโควาเลนต์ต่อกันและไม่สามารถแยกออกจากกันได้เว้นแต่มีการแตกออกของพันธะเคมี [73] หากมีการเชื่อมโยงกันเพียงโครงข่ายเดียวจะเรียกว่า semi-IPNs ซึ่ง IUPAC ให้คำจำกัดความของ semi-IPNs คือ พอลิเมอร์ที่ประกอบไปด้วยโครงข่ายหนึ่งโครงข่ายหรือมากกว่ากับพอลิเมอร์เส้นตรงหรือกึ่งหนึ่งชนิดหรือมากกว่าโดยมีการแทรกซึมในระดับโมเลกุลของโครงข่ายอย่างน้อยหนึ่งโครงข่ายด้วยบางส่วนของโมเลกุลพอลิเมอร์เส้นตรงหรือกึ่ง [73] ภาพประกอบของ semi-IPNs และ IPNs แสดงในรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 ภาพแสดงตัวอย่างของ semi-IPNs และ IPNs [74]

ขั้นตอนที่ใช้บ่อยที่สุดในการสร้าง IPNs คือ การเตรียมสารตั้งต้นซึ่งสารตัวทำปฏิกิริยา (มอนอเมอร์หรือพอลิเมอร์) ถูกผสมในสารละลายก่อนทำการเชื่อมขวางตามที่แสดงในรูป 2.9 ในกรณีของ IPNs การเกิดของสองโครงข่ายสามารถเกิดขึ้นได้พร้อมกันหรือเกิดตามลำดับกัน ในกรณีของตัวที่เกิดขึ้นพร้อมกันปฏิกิริยาที่นำไปสู่สองโครงข่ายต้องเกิดแบบตั้งฉากกันเพราะอาจเกิดการทำให้ปฏิกิริยาข้ามโครงข่ายกัน (เช่น การเกิดโคพอลิเมอร์) ขึ้นได้ ส่วนขั้นตอนอื่นจะขึ้นอยู่กับลำดับการสร้างโครงข่ายของ semi-IPNs ประการแรกคือการเตรียมโครงข่ายพอลิเมอร์และต่อมามอนอเมอร์หรือพอลิเมอร์ตัวที่สองถูกโหลดเข้าสู่โครงข่ายที่บวมตัวอยู่จึงเป็นการนำไปสู่ semi-IPNs เมื่อพอลิเมอร์ที่ใส่ลงไปถูกเชื่อมโยงเพื่อสร้างโครงข่ายที่สอง semi-IPNs จะถูกแปลงเป็น IPNs [75]



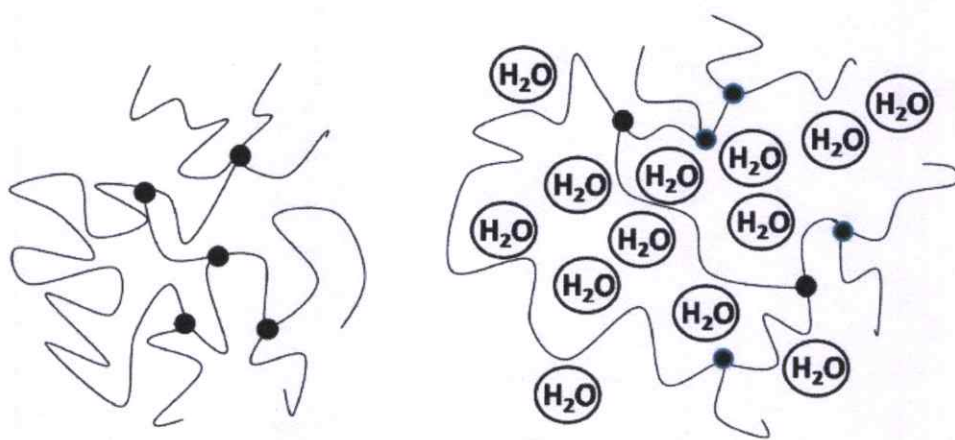
รูปที่ 2.9 ภาพแสดงตัวอย่างการสร้าง semi-IPNs และ IPNs [75]

ข้อดีของ IPNs คือ เป็นการนำสมบัติที่ดีของพอลิเมอร์แต่ละส่วนประกอบของ IPNs มารวมกัน นำไปสู่ระบบใหม่ที่มีสมบัติที่ดีขึ้นซึ่งแตกต่างจากสมบัติของพอลิเมอร์แต่ละตัว นอกจากนี้ยังพบว่ามีเสริมกันของสมบัติในระบบต่าง ๆ [76-77] โดยสามารถใช้การรวมกันและการเสริมกันของสมบัติเพื่อปรับเปลี่ยนและปรับแต่งลักษณะของวัสดุที่เกิดขึ้นเพื่อตอบสนองต่อความต้องการเฉพาะได้

ตัวอย่างของไฮโดรเจล IPNs คือไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อค่าพีเอชจาก silk sericin/poly(methacrylic acid) [78] และไฮโดรเจล IPNs ระดับไมโครจาก cyclodextrin/carbopol [79] ส่วนตัวอย่างของไฮโดรเจล semi-IPNs คือ ไฮโดรเจล semi-IPNs ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิและค่าพีเอชจาก carboxymethyl chitosan/poly(N-isopropyl acrylamide) [80] และไฮโดรเจล semi-IPNs ที่ตอบสนองต่อความร้อนจาก poly(N-isopropyl acrylamide-co-vinyl pyrrolidone)/chitosan [81]

2.1.3 การบวมตัวและปัจจัยที่ส่งผลต่อการบวมตัวของไฮโดรเจล [82]

สมบัติเฉพาะของไฮโดรเจล คือสามารถบวมตัวแต่ไม่ละลายในน้ำ เนื่องจากไฮโดรเจลมีทั้งส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำประกอบอยู่ด้วยกัน เมื่อนำไฮโดรเจลไปแช่ในน้ำโมเลกุลของน้ำสามารถแพร่ผ่านเข้าไปแทรกอยู่ภายในบริเวณที่ว่างหรือรูพรุนภายในโครงสร้างสามมิติของไฮโดรเจลได้ เนื่องจากมีแรงดันออสโมติก (Osmotic pressure) เกิดขึ้น โมเลกุลของน้ำบางส่วนเกิดอันตรกิริยากับสายโซ่พอลิเมอร์แล้วผลักให้สายโซ่พอลิเมอร์เกิดการขยายตัวหรือเกิดการบวมตัวออก ซึ่งเป็นการเปลี่ยนโครงสร้างของไฮโดรเจลให้เกิดสมดุลใหม่ ไฮโดรเจลเมื่อบวมตัวเต็มที่แยกหลุดออกจากกันเนื่องจากโครงสร้างภายในไฮโดรเจลประกอบด้วยพอลิเมอร์ที่มีความยาวจำกัดและมีการยึดกันด้วยพันธะโควาเลนต์ โดยมีสารเชื่อมโยง (Crosslinker) เป็นตัวช่วยยึดสายโซ่พอลิเมอร์เข้าไว้ด้วยกัน การขยายตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ในขณะที่ไฮโดรเจลเกิดการบวมตัวแสดงดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 ภาพการขยายตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ในขณะที่ไฮโดรเจลเกิดการบวม [82]

ปัจจัยที่มีผลต่อการบวมตัวของไฮโดรเจลมีดังนี้คือ [82]

1.) แรงดันออสโมติก เนื่องจากปริมาณน้ำที่อยู่ภายในและภายนอกของไฮโดรเจลมีไม่เท่ากัน ทำให้แรงดันออสโมติกเกิดความแตกต่างกัน ดังนั้นน้ำจากภายนอกจึงมีการแพร่เข้าไปภายในช่องว่างหรือรูพรุนของไฮโดรเจลนั้น ถ้ามีแรงดันออสโมติกที่แตกต่างกันมากน้ำสามารถเคลื่อนที่เข้าไปภายในไฮโดรเจลได้มากขึ้น

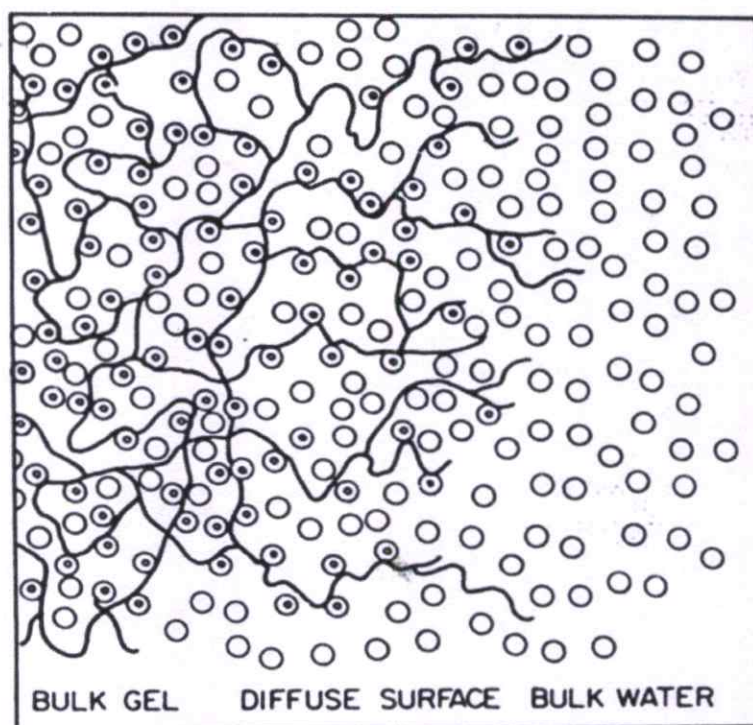
2.) แรงกระทำระหว่างไฮโดรเจลกับโมเลกุลของน้ำ ถ้าพอลิเมอร์นั้นมีโครงสร้างทางเคมีที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับน้ำได้มาก เช่น สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนหรือแรงดึงดูดระหว่างขั้วได้ ทำให้สามารถเหนี่ยวนำให้โมเลกุลของน้ำแพร่เข้าสู่ไฮโดรเจลได้มาก

3.) ช่องว่างระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ ถ้าไฮโดรเจลมีรูพรุนหรือช่องว่างระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์อยู่มาก น้ำสามารถแพร่เข้าไปได้มาก

4.) ความยืดหยุ่นของสายโซ่พอลิเมอร์ ถ้าสายโซ่พอลิเมอร์มีความยืดหยุ่นที่ดีทำให้แรงต้าน (Resistance force) ของการแพร่โมเลกุลน้ำเพื่อเข้าสู่สมดุลใหม่มีค่าลดลง ส่งผลให้โมเลกุลของน้ำแพร่ผ่านเข้าสู่ไฮโดรเจลได้มาก

5.) ความหนาแน่นของการเชื่อมโยงระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ ถ้ามีความหนาแน่นของการเชื่อมโยงมาก ส่งผลให้แรงต้านทานในการขยายตัวของไฮโดรเจลมีค่าเพิ่มขึ้น ทำให้สามารถบวมตัวได้ลดลง ซึ่งโมเลกุลของน้ำที่อยู่ภายในไฮโดรเจลมีอยู่ 2 ลักษณะใหญ่ ๆ คือโมเลกุลของน้ำที่ไม่มีการเกิดอันตรกิริยากับสายโซ่พอลิเมอร์ เรียกว่า “โมเลกุลน้ำอิสระ” (Free water) โดยสามารถเคลื่อนที่ได้ง่ายอย่างอิสระ มีการระเหยได้ง่าย แต่ส่งผลต่อสมบัติของไฮโดรเจลไม่มากนัก และโมเลกุลน้ำที่เกิดพันธะกับสายโซ่ (Bound water) ซึ่งเกิดการเคลื่อนที่ภายในโครงสร้างของไฮโดรเจลได้ยากกว่าและต้องมีการใช้ความร้อนปริมาณหนึ่งในการระเหยโมเลกุลของน้ำลักษณะนี้ออก (รูปที่ 2.11) นอกจากนี้เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในไฮโดรเจล (Water content, WC) สามารถคำนวณหาได้จากสมการ (2.1) [82]

$$\% \text{ ปริมาณน้ำที่เป็นองค์ประกอบ} = \frac{(\text{น้ำหนักพอลิเมอร์ที่ดูดซับน้ำ} - \text{น้ำหนักพอลิเมอร์ที่แห้ง})}{\text{น้ำหนักพอลิเมอร์ที่ดูดซับน้ำ}} \times 100 \quad (2.1)$$



- ~ คือ สายโซ่พอลิเมอร์
- คือ น้ำโมเลกุลอิสระ
- ⊙ คือ โมเลกุลน้ำที่เกิดพันธะกับสายโซ่พอลิเมอร์

รูปที่ 2.11 อันตรกิริยาของโมเลกุลน้ำในโครงสร้างไฮโดรเจล [82]

2.1.4 การนำไปใช้งาน

ไฮโดรเจลสามารถดูดซับน้ำและไอออนได้ โดยที่สมบัติเชิงกลและรูปร่างไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งสมบัติดังกล่าวมีความคล้ายกันกับอวัยวะบางส่วนในร่างกายคน เช่น เอ็น, ลำไส้เล็กและกล้ามเนื้อ เป็นต้น และไฮโดรเจลยังมีสมบัติที่สามารถเข้ากันได้กับสารชีวภาพ เช่น เนื้อเยื่อ, น้ำเหลืองและเลือด เป็นต้น จึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ทำวัสดุตกแต่งบาดแผลจากไฟไหม้ เลนส์สัมผัส จนถึงใช้เคลือบวัสดุที่ต้องมีการนำมาสัมผัสกับร่างกาย เช่น การใช้เคลือบอวัยวะเทียมที่ใช้ในร่างกาย เป็นต้น

2.1.4.1 Hydrogel dressing

ผลที่มีสาเหตุจากอุบัติเหตุไฟไหม้หรือน้ำร้อนลวกนั้น มีความเสี่ยงสูงมากในการการสูญเสียเนื้อเยื่อจากการติดเชื้อโรคจากสิ่งแวดล้อม โดยปกติการรักษาพยาบาลแผลไฟไหม้ธรรมดาตลอดจนถึงแผลฉกรรจ์ ทำได้โดยวิธีการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อหรือการทำศัลยกรรมแต่งผิวหนัง เพื่อช่วยรักษาการสูญเสียผิวหนังและเร่งการรักษาบาดแผลให้เร็วยิ่งขึ้น ซึ่งแผ่นผิวหนังที่ใช้ อาจเป็นผิวหนังที่มีความสมบูรณ์หรือผิวหนังที่มาจากกาเพาะเลี้ยงจากห้องปฏิบัติการ แต่เนื่องจากวิธีดังกล่าวมีข้อเสีย ดังนั้นผิวหนังเทียมจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สำคัญที่สามารถช่วยแก้ปัญหาได้ โดย Hydrogel dressing เป็นวัสดุที่นิยมนำมาใช้เป็นผิวหนังเทียมปิดรักษาบาดแผลมากที่สุด ซึ่งวัสดุตกแต่งบาดแผลหรือหนังเทียมที่ใช้สามารถแบ่งกลุ่มได้ดังนี้

- กลุ่มธรรมดา (Conventional) เช่น ผ้าพันแผลที่อ้อมตัวด้วยขี้ผึ้งหรือน้ำมันซีลีโคนและผ้าก๊อซ (Guaze) เป็นต้น

- กลุ่มชีวภาพ (Biological) เช่น ผีหนังสัตว์, ผีหนังจากศพ, คอลลาเจนและฟองน้ำ เป็นต้น

- กลุ่มสังเคราะห์ (Synthesis) วัสดุที่ได้จากพอลิเมอร์สังเคราะห์

วัสดุตกแต่งแผลมีการใช้แบบครั้งต่อครั้ง ซึ่งความถี่ของการเปลี่ยนแต่ละครั้งขึ้นอยู่กับสมบัติของตัววัสดุ เช่น สมบัติการซัดถู หรืออาจขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาต่อต้านสิ่งแปลกปลอมที่ผ่านเข้ามาของร่างกาย

สมบัติของวัสดุตกแต่งบาดแผล มีดังนี้

- สามารถดูดซับของเหลวออกจากร่างกายอย่างมีประสิทธิภาพ
- ยอมให้ก๊าซออกซิเจนแพร่ผ่านเข้าไปถึงผิวหนังของบาดแผลได้
- สามารถดูแลสุขภาพผิวได้
- มีความเสถียรทนทาน หาได้ง่ายและราคาถูก
- ปราศจากเชื้อโรค
- มีความโปร่งใส, ความยืดหยุ่นและความแข็งแรงเชิงกลสูง
- สามารถควบคุมปริมาณการปล่อยยาได้
- ใช้งาน สะดวก และเก็บรักษาได้ง่าย

นอกจากนี้วัสดุตกแต่งบาดแผลยังต้องมีสมบัติสำคัญเพิ่มเติม เช่น

- ความสามารถในการควบคุมความชื้นของบาดแผล วัสดุตกแต่งบาดแผลควรมีสมบัติควบคุมความชื้นของแผลให้เหมาะสม โดยต้องไม่เปียกชุ่มด้วยน้ำเหลืองที่ออกจากแผลเกินไปหรือไม่ปล่อยให้แผลแห้งจนกลายเป็นสะเก็ด เนื่องจากแผลที่เปียกชุ่มมากเกินไปเป็นสภาวะที่เหมาะสมจะทำให้จุลชีพมีการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ แต่ถ้าแผลแห้งมากจนเกิดสะเก็ดจะทำให้ไปขัดขวางการเคลื่อนที่ของเซลล์ผิวหนังที่จะเคลื่อนที่มาสวมแผลโดยกลไกธรรมชาติ ดังนั้นวัสดุที่นำมาใช้ปิดแผลจะต้องสามารถดูดซับของเหลวได้ในอัตราเดียวกับการผลิตของเหลวจากแผล และสามารถให้อิออนน้ำระเหยผ่านออกมาจากบริเวณปากแผลได้ ซึ่งเป็นการรักษาระดับความชื้นของแผลไว้ได้

- ความสามารถในการยึดติดกับแผล วัสดุควรยึดเกาะและแนบสนิทไปกับแผลได้ แต่ไม่แน่นเกินไปจนไปทำลายเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นใหม่บริเวณปากแผลเมื่อลอกวัสดุตกแต่งบาดแผลออก

2.2 Chitin-Chitosan

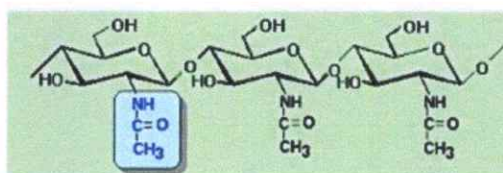
ไคติน (chitin) เป็นพอลิเมอร์สายโซ่ยาวที่มีน้ำตาลประกอบเป็นหน่วยย่อย คือ N-acetyl-D-glucosamine ที่เรียงต่อกัน ซึ่งเป็นส่วนประกอบในโครงสร้างของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น เปลือกของแมลง, เปลือกกุ้ง หอย ปู, ผนังเซลล์ของสาหร่าย ยีสต์ และเห็ดราที่มีการพบไคตินเป็นองค์ประกอบอยู่เช่นกัน ไคตินมีโครงสร้างคล้ายกับเซลลูโลสแต่แตกต่างกันตรงโมเลกุลของเซลลูโลสมีหมู่ -OH ที่ตำแหน่ง C2 แต่ในโมเลกุลของไคตินจะเป็นหมู่ acetylamino แทน ดังรูปที่ 2.12 โดยไคตินที่ได้จากแต่ละแหล่งจะมีโครงสร้างและสมบัติแตกต่างกันแบ่งตามลักษณะการเรียงตัวของพอลิเมอร์ได้เป็น 3 ประเภท คือ

1. แบบอัลฟา มีการเรียงตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ในลักษณะสวนทางกัน มีความแข็งแรงสูง ได้แก่ ไคตินจากเปลือกกุ้ง และกระดองปู

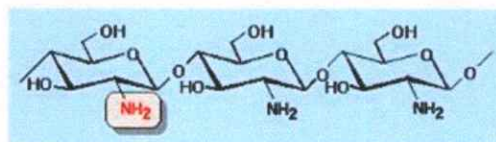
2. แบบเบตา มีการเรียงตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ในทิศทางเดียวกัน จึงมีการจับกันที่ไม่ค่อยแข็งแรงมีความไวต่อปฏิกิริยาเคมีมากกว่าแบบอัลฟา ได้แก่ ไคตินจากแกนปลาหมึก

3. แบบแกมมา มีการเรียงตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ในลักษณะที่ไม่แน่นอน (แบบสวนทางกันสลับกับแบบทิศทางเดียวกัน) มีความแข็งแรงรองลงมาจากแบบอัลฟา ได้แก่ ไคตินจากเห็ด รา และพืชชั้นต่ำ

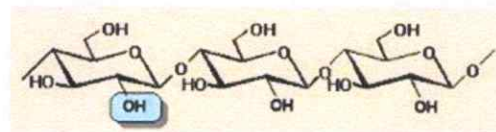
ส่วนไคโตซาน คือ อนุพันธ์ของไคตินที่ตัดหมู่ acetyl ของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine ออกเรียกว่า deacetylation ซึ่งเป็นการเปลี่ยนน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine ให้เป็น glucosamine ที่ไม่เสถียร (Unstable) โดยมีความเป็นขั้วสูง (Strong positive polarity) จึงทำให้ไคโตซานมีสมบัติที่พร้อมจะทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว, มีสมบัติที่สามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์ที่มีความเข้มข้น 1-3% โดยทั่วไปไคโตซานที่ได้จะมีส่วนประกอบของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine และ glucosamine อยู่ภายในสายโซ่พอลิเมอร์เดียวกัน ซึ่งระดับการกำจัดหมู่ acetyl (หรือเปอร์เซ็นต์การเกิด deacetylation) นี้ส่งผลต่อสมบัติและการทำงานของไคโตซาน นอกจากนี้ น้ำหนักโมเลกุลก็ส่งผลต่อความหนืด เช่น ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะมีสายโซ่พอลิเมอร์ที่ยาวทำให้สารละลายมีความหนืดมากกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เป็นต้น ดังนั้นการนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์จะต้องพิจารณาทั้งเปอร์เซ็นต์การเกิด deacetylation (%DD) และน้ำหนักโมเลกุล [83]



Chitin



Chiosan



Cellulose

รูปที่ 2.12 เปรียบเทียบโครงสร้างโมเลกุลของ chitin, chitosan และ cellulose [84]

2.2.1 Properties of chitosan

สมบัติต่าง ๆ (เช่น ความสามารถในการละลาย, การตกผลึก, ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ, ความหนืดและความสามารถในการเข้ากันได้กับสารชีวภาพ) และสมบัติทางชีวภาพ (เช่น mucoadhesion, analgesic, สารต้านจุลชีพ, การเพิ่มประสิทธิภาพการซึมผ่านของสาร, สารต้านอนุมูลอิสระและการไหลของโลหิต) ของไคโตซานนั้นขึ้นอยู่กับ %DD และน้ำหนักโมเลกุล (ตาราง 2.4)

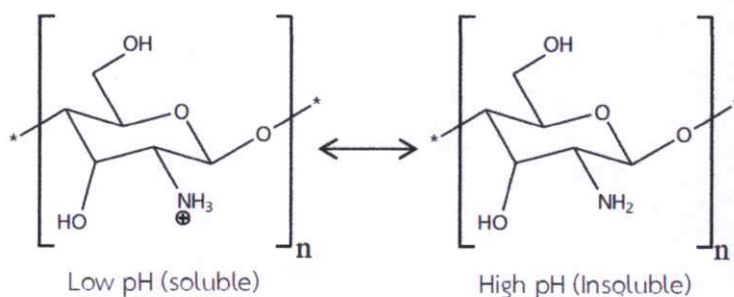
ตารางที่ 2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรของโครงสร้างกับสมบัติ [85]

Property	Structural characteristics ^a
- Solubility	↑ %DD
- Crystallinity	↓ %DD
- Biodegradability	↓ %DD, ↓ Molecular weight
- Viscosity	↑ %DD
- Biocompatibility	↑ %DD
<u>Biological</u>	
- Mucoadhesion	↑ %DD, ↑ Molecular weight
- Analgesic	↑ %DD
- Antimicrobial	↑ %DD, ↑ Molecular weight
- Permeation enhancing effect	↑ %DD
- Antioxidant	↑ %DD, ↓ Molecular weight
- Hemostatic	↑ %DD

^a ↑ แปรผันตรงกับสมบัติ, ↓ แปรผกผันกับสมบัติ

- Solubility [85]

แม้ว่าไคตินไม่ละลายในสารละลายอินทรีย์ส่วนใหญ่ แต่ไคโตซานสามารถละลายได้ง่ายในสารละลายกรดเจือจางที่มีค่าพีเอชต่ำกว่า 6.0 เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยา quaternization ของหมู่อะมิโนทำให้มีค่า pKa เป็น 6.3 เมื่อมีค่าพีเอชต่ำกลุ่มอะมิโนเหล่านี้จะเกิดการ protonate กลายเป็นสารประจุบวกทำให้ไคโตซานเป็น cationic polyelectrolyte ที่ละลายน้ำได้ ในทางตรงกันข้ามเมื่อค่าพีเอชเพิ่มสูงกว่า 6 กลุ่มอะมิโนของไคโตซานจะเกิดการ deprotonated ทำให้ไคโตซานไม่สามารถละลายน้ำได้ การเปลี่ยนแปลงของการละลายน้ำกับไม่ละลายน้ำขึ้นอยู่กับค่า pKa ที่ค่าพีเอชประมาณ 6 ถึง 6.5 ความสามารถในการละลายของไคโตซานเกี่ยวข้องกับ %DD เนื่องจากค่า pKa ขึ้นอยู่กับระดับของ N-acetylation [86] นอกเหนือจาก %DD แล้วน้ำหนักโมเลกุลยังเป็นตัวแปรสำคัญที่มีผลต่อความสามารถในการละลาย [87-88]



รูปที่ 2.13 ภาพแสดงตัวอย่างสมบัติการละลายของไคโตซาน [85]

- Biodegradability [89]

ไคโตซานสามารถย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ proteases หลายชนิดซึ่งส่วนใหญ่เป็น lysozyme [85, 90] การย่อยสลายทางชีวภาพของไคโตซานทำให้เกิด oligosaccharides ที่ไม่เป็นที่มีความยาวแตกต่างกัน โดย oligosaccharides เหล่านี้สามารถรวมอยู่ในกระบวนการเผาผลาญอาหารหรือจะถูกขับออกไปก็ได้ [91] ซึ่งอัตราการสลายตัวของไคโตซานมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุลและ %DD [92] กลุ่มไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยย่อยสลายไปเป็น oligosaccharides ได้เร็วกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า ความสัมพันธ์ระหว่างการย่อยสลายทางชีวภาพของไคโตซานกับ %DD สามารถอธิบายได้ด้วยลักษณะกิ่งผลึก ความเป็นผลึกสูงสุดสำหรับ %DD เท่ากับ 0 และ 100% (chitin และ deacetylated chitosan ตามลำดับ) และลดลงสำหรับ %DD ที่อยู่ระหว่างกลาง เมื่อ %DD ของไคโตซานลดลง (ใกล้เคียงกับ 60%) ความเป็นผลึกจะลดลงทำให้อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การกระจายตัวของหมู่ acetyl ที่เหลือตามสายโซ่ไคโตซานยังส่งผลต่อความเป็นผลึกและอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพ

- Biocompatibility [93]

ไคโตซานมีการใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารและได้รับการอนุมัติจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (FDA) เพื่อใช้ในการทำแผ่นปิดแผล [94] ไคโตซานยังได้รับการส่งเสริมให้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่ทางการแพทย์ (เป็นสารยึดเกาะไขมันในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก) นอกจากนี้ยังได้รับการศึกษาในด้านชีวการแพทย์และพบว่ามีความเข้ากันได้กับสารชีวภาพสูง

- Biological property [95]

การปรากฏตัวของกลุ่มอะมิโนที่อยู่ตามสายโซ่ไคโตซานทำให้สามารถอธิบายสมบัติของไคโตซานได้ดีที่สุด ความสามารถในการยึดเกาะกับเยื่อภายในร่างกาย (Mucoadhesion) ของไคโตซานสามารถอธิบายได้จากการมีประจุลบของ sialic acid ตกค้างอยู่ภายใน mucin (เป็น glycoprotein ที่ประกอบเป็นเมือก) ซึ่งสามารถเกิดอันตรกิริยากับประจุบวกของไคโตซานที่เกิดขึ้นในสภาวะที่เป็นกรด การเกิด mucoadhesion นี้แปรผันโดยตรงกับ %DD ของไคโตซาน ถ้ามีการเพิ่ม %DD จะทำให้จำนวนของประจุบวกมีค่าเพิ่มขึ้นซึ่งจะนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของสมบัติ mucoadhesive [96]

สมบัติการห้ามเลือดของไคโตซาน (Hemostatic) เกี่ยวข้องกับประจุบวกบนโครงสร้างของไคโตซาน โดยประจุบวกของไคโตซานสามารถเกิดอันตรกิริยากับประจุลบบนเซลล์เม็ดเลือดแดงได้ นอกจากนี้ไคตินยังมีประสิทธิภาพในการห้ามเลือดต่ำกว่าไคโตซาน [97-98]

สมบัติการช่วยเพิ่มการซึมผ่านของโคโคซานสามารถอธิบายได้ด้วยการมีประจุบวกของโคโคซานซึ่งสามารถเกิดอันตรกิริยากับประจุลบของเยื่อหุ้มเซลล์บางส่วนนำไปสู่การปรับโครงสร้างและทำให้โปรตีนบริเวณนั้นที่มีการเชื่อมโยงที่แน่นหนาคลายตัวออกจากกัน เช่นเดียวกับสมบัติ mucoadhesion ถ้า %DD ของโคโคซานเพิ่มขึ้นความสามารถในการซึมผ่านจะเพิ่มขึ้น [99]

กรณีของฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของโคโคซานนั้นมีความซับซ้อนมากขึ้นเล็กน้อยในการอธิบาย โดยมีสองกลไกหลักที่เสนอเพื่ออธิบายพฤติกรรมการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของโคโคซานในกลไกแรกอธิบายถึงการที่โคโคซานมีประจุบวกอยู่ภายในโครงสร้างที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับกลุ่มประจุลบที่ผิวเซลล์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของเซลล์ ซึ่งเป็นการป้องกันไม่ให้สารที่จำเป็นเข้าสู่เซลล์และเป็นการนำไปสู่การรั่วไหลของสารหลักออกจากเซลล์ ส่วนกลไกที่สองเกี่ยวข้องกับความสามารถในการยึดเกาะของโคโคซานกับ DNA ของเซลล์ซึ่งจะนำไปสู่การยับยั้งการสังเคราะห์ RNA ของจุลินทรีย์ [100-101]

การมีพฤติกรรมแบบ polycationic ของโคโคซานช่วยในการอธิบายถึงความสามารถในการบรรเทาอาการปวด (analgesic effects) ของโคโคซาน กลุ่มอะมิโนของโคโคซานสามารถ protonated เมื่อเจอกับไอออนโปรตอนที่ปล่อยออกมาในบริเวณที่เกิดการอักเสบซึ่งส่งผลให้เกิดการบรรเทาอาการปวด [102]

เมื่อพิจารณาสมบัติทั้งหมดดังกล่าวจึงไม่น่าแปลกใจที่โคโคซานมีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการใช้งานทางชีวการแพทย์ต่าง ๆ และระบบการจัดส่งยา

2.2.2 Gelation

ไฮโดรเจลจากโคโคซานสามารถเตรียมได้หลากหลายรูปแบบที่แตกต่างกัน ทั้งเจลเหลว, ผง, เม็ด, ฟิล์ม, แคปซูล, ไมโครสเฟีย, อนุภาคไมโคร, ฟองน้ำ, เส้นใยนาโน, เส้นใยสิ่งทอและทำคอมโพสิตกับสารอนินทรีย์ เป็นต้น วิธีการหลักในการเตรียมไฮโดรเจลโคโคซาน คือ การเชื่อมโยงด้วยพันธะโควาเลนต์และสารเชื่อมโยงที่พบว่ามีใช้ในการเตรียมไฮโดรเจลโคโคซานที่เชื่อมต่อด้วยพันธะโควาเลนต์มากที่สุด คือ dialdehydes เช่น glyoxal และ glutaraldehyde [103-104] ซึ่งสารเหล่านี้เกิดปฏิกิริยาได้ดีกับโคโคซาน โดยหมู่แอลดีไฮด์จะสร้างพันธะโควาเลนต์เป็น imine กับหมู่อะมิโนของโคโคซาน เนื่องจากมีการเกิด resonance กับพันธะคู่ของเอทิลีนที่อยู่ติดกันผ่านทางปฏิกิริยาของ Schiff [105] Dialdehydes ช่วยทำให้เกิดปฏิกิริยาโดยตรงในสารละลายตัวกลางภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรงและไม่มีการเติมสารเติมแต่ง เช่น สารลดทอน (Reducers) เป็นต้น อย่างไรก็ตามข้อเสียหลักของ dialdehydes คือ มีความเป็นพิษ ตัวอย่างเช่น glutaraldehyde และ glyoxal เป็นที่รู้กันว่า เป็นสารทำลายระบบประสาทและทำให้เกิดการกลายพันธุ์ตามลำดับ [106-107] ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีตัวเชื่อมโยงโควาเลนต์ใหม่สำหรับโคโคซาน โดยมีการพยายามใช้ genipin เป็นตัวเชื่อมโยงสำหรับโคโคซาน ซึ่ง genipin เป็นสารที่ได้จากธรรมชาติมักใช้ในยาสมุนไพรและเป็นสีย้อมอาหาร [108] ความสามารถในการเข้ากับสารชีวภาพของ genipin ในร่างกายมนุษย์ยังไม่ได้รับการตรวจสอบ แต่ก็ไม่ได้เป็นสารที่มีพิษต่อเซลล์ในหลอดทดลองและมีการแสดงให้เห็นว่ามีความสามารถในการเข้ากันได้กับสารชีวภาพหลังจากฉีดเข้าหนู [108-109] อย่างไรก็ตาม genepin มีราคาแพง

เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารเชื่อมโยงที่เป็นพิษจึงมีการวิจัยจำนวนมากที่ใช้ระบบเชื่อมโยงด้วยแสง [110-111] และระบบเชื่อมโยงด้วยรังสี [112-113] อย่างไรก็ตามไฮโดรเจลที่ได้จากวิธีนี้จะไม่มีความว่องไวต่อค่าพีเอชและไม่สามารถใช้เป็นยาควบคุมการปลดปล่อยได้อย่างมีประสิทธิภาพ การเตรียมไฮโดรเจลโดยการเชื่อมโยงด้วยพันธะไอออนิกที่ผันกลับได้จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะเอาชนะข้อ

จำกัดเหล่านี้ โมเลกุลของประจุลบขนาดเล็กเช่น ซัลเฟต, ซิเตรท และ ฟอสเฟตสามารถเกิดอันตรกิริยากับหมู่อะมิโนของไคโตซานที่มีประจุบวกได้ [62, 114] และควรเลือกโมเลกุลของประจุลบที่มีความหนาแน่นประจุสูงมาใช้เพื่อให้แน่ใจว่ามีการเกิดอันตรกิริยาไอออนิกที่แข็งแรงขึ้น นอกจากนี้ ประจุไอออนิกที่มีรัศมีประจุขนาดเล็กอาจส่งผลให้ความต้านทานไฟฟ้าในการแพร่กระจายสารในพอลิเมอร์เมทริกซ์มีค่าลดลงและเกิดพันธะจากไฟฟ้าสถิตได้เร็วขึ้นเมื่อเทียบกับอนุภาคขนาดใหญ่

นอกจากนี้หมู่อะมิโนและไฮดรอกซิลของไคโตซานสามารถสร้างพันธะร่วมกับไอออนของโลหะต่าง ๆ ได้ เช่น Ag^+ [66], Cu^{2+} [67], Zn^{2+} [68] และ Fe^{3+} [69] เป็นต้น โดยพันธะชนิดนี้มีความแข็งแรงกว่าการเกิดอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิตที่เกิดจากโมเลกุลประจุลบที่ใช้เป็นสารเชื่อมโยง [11] ชนิดของไอออนโลหะมีความสำคัญมากในกลไกการเกิดปฏิกิริยา ความสัมพันธ์ของไคโตซานกับไอออนโลหะต่าง ๆ มีลำดับดังนี้ $Cu^{2+} \gg Hg^{2+} > Zn^{2+} > Cd^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} \sim Ca^{2+}$, $Eu^{3+} > Nd^{3+} > Cr^{3+} \sim Pr^{3+}$ [115].

นอกจากนี้โมเลกุลที่มีประจุลบขนาดใหญ่อย่าง polyanions ที่ได้จากทั้งธรรมชาติและสารสังเคราะห์ยังสามารถสร้างเจลกับไคโตซานได้ โดยโครงข่ายเชิงซ้อนพอลิอิเล็กโทรไลต์ของไคโตซานสามารถเตรียมได้กับ DNA, พอลิแซคคาไรด์ที่มีประจุลบ (เช่น alginate, glucosamineglycans, chondroitin sulfate, hyaluronic acid, heparin, carboxymethyl cellulose, pectin, dextran sulfate, และ xanthan เป็นต้น), โปรตีน (เช่น gelatin, albumin, fibroin, keratin, และ collagen เป็นต้น) และ พอลิเมอร์ประจุลบที่ได้จากการสังเคราะห์ (เช่น polyacrylic acid) ความเสถียรของสารเชิงซ้อนพอลิอิเล็กโทรไลต์เหล่านี้ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของประจุ, ตัวทำละลาย, ความแรงของไอออนิก, ค่าความเป็นกรด-เบสและอุณหภูมิ [85]

2.2.3 Water-soluble chitosan

แม้ว่าไคโตซานจะมีลักษณะพิเศษที่ดี เช่น มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพที่ดีและความเป็นพิษต่ำ แต่ไคโตซานไม่ละลายที่ pH 7.4 ซึ่งเป็นค่า pH ของสารภายในร่างกายจึงเป็นข้อจำกัดสำคัญในการปลดปล่อยยาเข้าสู่ร่างกาย นอกจากนี้กรดอะซิติกหรือกรดอื่น ๆ ที่ใช้สำหรับเตรียมสารละลายไคโตซานจะทำให้เกิดปัญหาในการเป็นพิษต่อผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้าย [12] เพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายของไคโตซานจึงมีการพยายามทำให้ไคโตซานสามารถละลายน้ำได้หลายวิธี

การมีน้ำหนักโมเลกุลสูงมีส่วนทำให้ความสามารถในการละลายของไคโตซานในน้ำต่ำ ดังนั้นจึงมีการปรับปรุงความสามารถในการละลายน้ำของไคโตซานด้วยการลดน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งการเตรียมไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลต่ำทำได้โดยการใช้อินไซม์มาไฮโดรไลซิส [116-117] และการใช้ hydrogen peroxide (H_2O_2) มาไฮโดรไลซิส [118-119]

นอกจากนี้การทำปฏิกิริยาของหมู่อะมิโนในสายโซ่ไคโตซานกับสารกลุ่ม hydrophilic ช่วยปรับปรุงความสามารถในการละลายน้ำของไคโตซาน มีการศึกษาการปรับเปลี่ยนไคโตซานด้วยปฏิกิริยาหลายชนิดในช่วงหลายปีที่ผ่านมา ตัวอย่างเช่น ปฏิกิริยา alkylation [120], ปฏิกิริยา carboxymethylation [121] และปฏิกิริยา quaternarization [122]

โดยเฉพาะปฏิกิริยา Michael addition [13,123] ซึ่งเป็นหนึ่งในวิธีที่ได้รับการยอมรับในการปรับเปลี่ยนไคโตซานเนื่องจากเป็นกระบวนการปรับเปลี่ยนสารเคมีที่ไม่รุนแรงต่อสิ่งแวดล้อม เช่น การสังเคราะห์ไฮดรอกซีเอทิลอะคริลไคโตซาน (Hydroxyethylacryl chitosan, HC) [13] ซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างไคโตซานกับไฮดรอกซีเอทิลอะครีเลต โดย HC ที่สังเคราะห์ได้มีความสามารถในการละลายที่ดีเยี่ยมในน้ำกลั่น แต่เสถียรภาพทางความร้อนของ HC มีค่าต่ำกว่าไคโตซาน สามารถ

สลายตัวได้ดีในไลโซไซม์ (Lysozyme) โดยการสลายตัวของ HC ขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุล และสมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรียของ HC มีค่าต่ำกว่าโคโตซาน ซึ่งเหมาะสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้งานทางด้านชีวการแพทย์ นอกจากนี้ HC ยังสามารถใช้เป็นพอลิเมอร์ผสมร่วมกับสารตัวอื่นได้ เช่น โขเดียมอัลจินेट [138]

2.2.4 การใช้ประโยชน์จากโคตินและโคโตซาน [83]

โคติน-โคโตซานสามารถใช้เป็นตัวสร้างตะกอนและตัวตกตะกอน โดยตัวสร้างตะกอนทำการกระตุ้นให้เศษของเสียที่แขวนลอยในน้ำมีการรวมกันเป็นกลุ่มก้อนใหญ่ขึ้น จนกระทั่งใหญ่มากพอเกิดเป็นตะกอนตกลงมา ส่วนตัวตกตะกอนมีการทำงานคล้าย ๆ กัน คือจับกับสารแขวนลอยในน้ำแล้วเกิดเป็นตะกอนตกลงมา โคโตซานทำหน้าที่ทั้งสองแบบได้ดีเนื่องจากมีหมู่อะมิโนที่สามารถแตกตัวให้ประจุบวกอยู่ในสายโซ่ ทำให้สารประจุลบ เช่น สีย้อม, โปรตีน, กรดไขมันอิสระและคอเลสเตอรอล (ในร่างกาย) เป็นต้น เข้ามาจับกับประจุบวกของโคโตซาน ส่วนโลหะหนักที่เป็นประจุบวกจะจับกับอิเล็กตรอนจากไนโตรเจนที่หมู่อะมิโนของโคโตซานทำให้เกิดเป็นพันธะเคมีที่เรียกว่า “พันธะเชิงซ้อน” ขึ้นมา นอกจากนี้มีการทดลองพบว่าหมู่อะมิโนในโคโตซานสามารถจับกับโลหะหนักในน้ำได้ดีกว่าหมู่อะซิทธิลของโคติน

โคโตซานสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ดังนี้

- อุตสาหกรรมอาหาร

โคโตซานมีสมบัติต้านจุลินทรีย์และเชื้อราบางชนิดได้ โดยมีกลไก คือโคโตซานมีประจุบวกที่สามารถจับกับเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ที่มีประจุลบได้ ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนและสารอื่นภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้เซลล์ตาย มีหลายประเทศที่ขึ้นทะเบียนโคตินและโคโตซานให้เป็นสารที่ใช้เติมในอาหารได้ โดยนำไปใช้เป็นสารให้ความข้นหนืด สารช่วยรักษากลิ่น รส และสารกักตุน ใช้เป็นสารเคลือบผิว ผลไม้ และอาหาร เพื่อรักษาความสดหรือผลิตเป็นฟิล์มสำหรับบรรจุอาหารที่รับประทานได้ (Edible film)

- อุตสาหกรรมกำจัดของเสีย

โดยปกติน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหารจะมีสารแขวนลอยอยู่สูง โคโตซานที่มีประจุบวกสามารถจับกับโปรตีนและไขมันได้ดี ซึ่งโปรตีนที่ได้สามารถนำมาแยกไปใช้ทำเป็นอาหารสัตว์ต่อไป นอกจากนี้โคโตซานยังสามารถดูดซับไอออนของโลหะหนักและจับสี (Dye) เพื่อช่วยในการบำบัดน้ำเสีย

- อาหารเสริม

โคโตซานสามารถช่วยลดคอเลสเตอรอลและไขมันในเส้นเลือด โดยโคโตซานจับกับคอเลสเตอรอล ทำให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมไปใช้หรือดูดซึมได้น้อยลงและในร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยโคตินและโคโตซานได้ จึงถูกขับออกมาพร้อมกับอุจจาระพร้อมกับที่มีคอเลสเตอรอลและไขมันส่วนเกินตามออกมาด้วย แต่โคโตซานก็สามารถจับวิตามินที่ละลายได้ดีในไขมันได้ (วิตามิน A, D, E, และ K) จึงอาจทำให้เกิดการขาดวิตามินเหล่านี้ได้ นอกจากนี้ทางการแพทย์มีการนำ N-acetyl-D-glucosamine ไปใช้รักษาโรคข้อเสื่อม โดยอธิบายว่าข้อเสื่อมเกิดจากการสึกกร่อนของเนื้อเยื่ออ่อนที่เคลือบอยู่บริเวณระหว่างข้อกระดูก ซึ่ง glucosamine เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ proteoglycan และเมทริกซ์ของกระดูกอ่อน จึงช่วยทำให้เยื่อหุ้มกระดูกอ่อนหนาขึ้น

- อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

โคโคซานถูกนำไปใช้ในเครื่องสำอางสำหรับผิวแห้งและเส้นผม เนื่องจากโคโคซานมีประจุบวกทำให้สามารถจับกับประจุลบของผิวแห้งและเส้นผมได้ดี จึงถูกนำไปใส่ในเครื่องสำอางที่มีส่วนประกอบของกรดผลไม้ธรรมชาติที่เรียกว่า กรดแอลฟาไฮดรอกซี (Alpha hydroxyl acid; AHA) โดยกรดพวกนี้ช่วยกระตุ้นให้เซลล์ผิวแห้งเก่าหลุดลอกเพื่อสร้างเซลล์ผิวใหม่ทำให้ผิวดูอ่อนเยาว์ขึ้น ส่วนในการบำรุงเส้นผม โคโคซานก่อตัวเป็นฟิล์มเคลือบเส้นผมไว้ทำให้เส้นผมคงสภาพนุ่มสลวยไม่แห้งเสียง่าย

- ทางการแพทย์

โคโคซานและโคโคซานได้รับความนิยมอย่างมากในทางการแพทย์และเภสัชภัณฑ์ มีการวิจัยพบว่าโคโคซานและโคโคซานมีสมบัติที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Antimicrobial activity) เป็นสารแอนตี้ออกซิแดนซ์ (Antioxidant activity) และมีสมบัติเป็นสารก่อฟิล์ม (Film forming agent) สามารถนำมาเตรียมเป็นแผ่นฟิล์มที่มีลักษณะบางใส นำมาปิดรักษาบาดแผลผ่าตัด, ไฟไหม้และน้ำร้อนลวก ทั้งยังช่วยป้องกันการติดเชื้อของแผลและกระตุ้นให้เกิดการผลิตและสร้างเซลล์ใหม่ ซึ่งมีสมบัติที่พิเศษกว่าแผ่นปิดแผลทั่วไป หรือใช้ผลิตหนังเทียม, ผลิตยาลดไขมันในเลือด, ใช้เคลือบยาเม็ดแคปซูล, ใช้เป็นสารตัวกลางที่ปลดปล่อยยาออกมาอย่างช้า ๆ, ควบคุมคอเลสเตอรอล, ยับยั้งการเกิดมะเร็ง, ต้านไวรัสและทำคอนแทคเลนส์ เป็นต้น

- อุตสาหกรรมการเกษตร

เนื่องจากโคโคซานมีสมบัติที่เป็นสารก่อฟิล์มได้เจลาไธ ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น จึงสามารถนำมาฉีดพ่นเคลือบผิวเพื่อรักษาอายุของผลผลิตทางการเกษตร และมีสมบัติยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียบางชนิดที่ก่อโรคแก่พืชได้

2.3 อัลจินิก (Alginate)

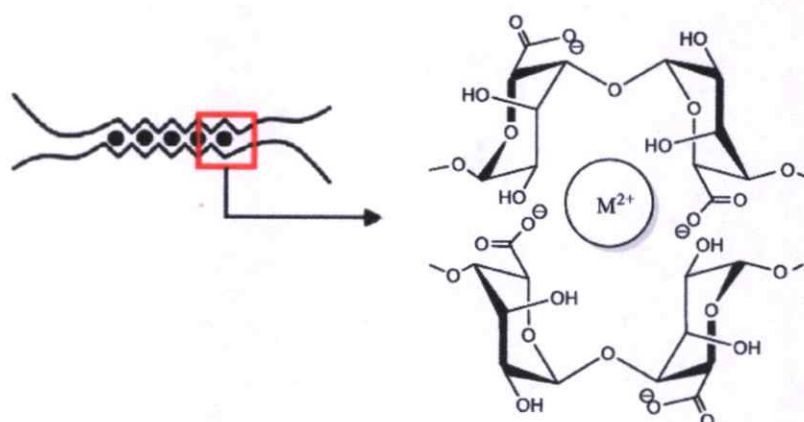
อัลจินิกหรืออัลจินเป็นสารสกัดที่ได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล (Phaeophyceae) ในการผลิตอัลจินิกในอุตสาหกรรมมีสาหร่ายทะเลที่ใช้ ได้แก่ *Macrocystis pyrifera* มีอัลจินิกอยู่ประมาณ 14-19 %, *Laminaria cloustoni* และ *Laminaria digitata* มีอัลจินิกประมาณ 15-40 % ซึ่งปริมาณที่พบขึ้นกับชนิดของสาหร่าย ฤดูกาล และแหล่งที่สาหร่ายเจริญเติบโต สาหร่ายเหล่านี้พบได้ทั่ว ๆ ไป ประเทศที่มีการผลิตอัลจินิกมาก คือ อังกฤษ ฝรั่งเศส สเปน นอร์เวย์ แคนาดา ญี่ปุ่นและอเมริกา

อัลจินิกเป็น unbranched binary copolymer ของ 1,4-D-manuronic acid (M) และ L-guluronic acid (G) ภายในโมเลกุลประกอบด้วย homopolymeric regions ของ G และ M ที่เรียกว่า G- และ M-blocks ตามลำดับโดยมีบางส่วนของโมเลกุลเป็น MG-blocks ดังรูปที่ 2.14 โดยสัดส่วนของ copolymer และโครงสร้างเหล่านี้เป็นตัวกำหนดสมบัติของอัลจินิก เช่น ถ้าพอลิเมอร์มีปริมาณของ G อยู่สูงมีสมบัติเป็นเจลที่แข็งเมื่อมีไอออนประจุบวก (polyvalent metal cation) อยู่ในโครงสร้าง แต่ถ้าพอลิเมอร์มีปริมาณของ M อยู่สูงมีแนวโน้มเกิดเจลที่อ่อนนุ่ม และยังมีสภาวะในการเกิดเจลที่กว้างกว่า อัลจินิกที่ผลิตจำหน่ายทางการค้ามีหลายอนุพันธ์จึงมีสมบัติการละลายน้ำที่ต่างกัน เช่น อนุพันธ์ของเกลือ Ca^{2+} , K^+ , Na^+ , NH_4^+ และยังผลิตในรูปของ propylene glycol alginate ซึ่งได้จากการเกิดปฏิกิริยาของ alginic acid กับ propylene oxide ในสภาวะภายใต้ความดัน อนุพันธ์เหล่านี้สามารถละลายได้ทั้งในน้ำร้อนและเย็น ความหนืดของสารละลายอัลจินิกที่ได้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ, ความเข้มข้น, น้ำหนักโมเลกุลและการมีโลหะประจุบวก [83]

และยา (FDA) สำหรับการใช้งานทางการแพทย์ต่าง ๆ (เช่น การขึ้นรูปเจลสำหรับวัสดุการพิมพ์ทันตกรรมและวัสดุปิดบาดแผล)

2.3.2 Gelation

ไฮโดรเจลจากอัลจินเตสามารถเตรียมได้โดยการเชื่อมโยงทางเคมีหรือทางกายภาพของสายโซ่พอลิเมอร์ สมบัติของไฮโดรเจลจากอัลจินเตขึ้นกับชนิดของการเชื่อมโยง, ความหนาแน่นของการเชื่อมโยงและน้ำหนักโมเลกุลกับองค์ประกอบของอัลจินเต วิธีที่ใช้กันทั่วไปในการเตรียมไฮโดรเจลจากอัลจินเต คือ ใช้การเชื่อมโยงด้วย multivalent cations วิธีนี้สามารถเกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง ทำให้เหมาะสำหรับการกักเก็บสารที่มีความไว การเกิดเจลของอัลจินเตเกิดขึ้นจากการแลกเปลี่ยนไอออนโซเดียมจากหน่วย guluronic acid กับ multivalent cations ทำให้มีการซ้อนกันของบล็อก G เกิดเป็นโครงสร้างของเจลที่มีลักษณะคล้ายกล่องไข่ (Egg box) (รูป 2.15) [130] ซึ่งแต่ละสายโซ่สามารถเชื่อมโยงกับโซ่อื่น ๆ อีกมากมายนำไปสู่การก่อตัวของโครงข่ายสามมิติ โดยทั่วไปแล้ว cation divalent (เช่น Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} และ Zn^{2+}) เป็นสารเชื่อมโยงที่เหมาะสมกว่า monovalent cations กับ Mg^{2+} [131]



รูปที่ 2.15 การเกิดเจลของอัลจินเตด้วย multivalent cations ทำให้เกิดเป็นโครงสร้างของเจลที่มีลักษณะคล้ายกล่องไข่ (Egg box) [130]

การเกิดเจลของสารละลายอัลจินเตด้วย multivalent cations สามารถทำได้ 2 วิธีนั่นคือการเกิดเจลภายนอก (External gelation) และการเกิดเจลภายใน (Internal gelation) [130] สำหรับวิธี external gelation สารละลายอัลจินเตมักถูกหยดลงในสารละลายที่มีประจุบวกอยู่ เช่น สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยไอออนบวกแพร่จากสารละลายภายนอกเข้าสู่ภายในของหยด อัลจินเตและเกิดเป็นอัลจินเตไฮโดรเจลขึ้น วิธีนี้เรียกว่า วิธีการแพร่ (Diffusion method) สำหรับวิธี internal gelation สารละลายอัลจินเตมีการผสมกับเกลือของแคลเซียมที่ไม่ละลายน้ำ (เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต) ก่อนแล้วแคลเซียมไอออนถูกปล่อยออกมาจากภายในของสารอัลจินเตโดยการลดค่า pH ของระบบหรือเพิ่มความสามารถในการละลายของแหล่งแคลเซียมทำให้เกิดอัลจินเตไฮโดรเจลขึ้น

นอกจากนี้เมื่อค่าพีเอชของสารละลายอัลจินตลดต่ำกว่าค่า pKa เกิดเป็นเจลของ alginic acid แทน โดยเจลชนิดนี้มีเสถียรภาพก็ต่อเมื่อเกิดโครงข่ายการเชื่อมโยงไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุล โดยทั่วไปใช้สองวิธีในการผลิตเจลของ alginic acid [132] สำหรับวิธีแรกเป็นการนำสารกลุ่มแลคโตนมาใช้เป็นตัวไฮโดรไลซิส sodium alginate อย่างช้า ๆ ตัวอย่างเช่น การเติม glucono delta lactone (GDL) ลงในสารละลาย sodium alginate และสำหรับวิธีที่สองเป็นการเปลี่ยนเจลของ calcium alginate ไปเป็นเจลของ alginic acid โดยใช้การแลกเปลี่ยนโปรตอน

2.4 ซิลเวอร์

ซิลเวอร์เป็นธาตุโลหะที่มีสัญลักษณ์ทางเคมี คือ Ag (มาจากคำว่า Argentum ในภาษาละติน) มีเลขอะตอมเท่ากับ 47 จัดอยู่ในธาตุโลหะทรานซิชันที่มีลักษณะนุ่ม ขาว และเป็นมันวาว มีสมบัติการนำไฟฟ้าและความร้อนที่ดีกว่าธาตุอื่น เป็นโลหะที่มีราคาแพง ใช้ในการทำเหรียญ, เครื่องประดับและเครื่องใช้ในบ้าน ทุกวันนี้ธาตุซิลเวอร์ถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของกระจก, เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในปฏิกิริยาเคมี, ใช้ในการต่อวงจรไฟฟ้าและเป็นตัวนำไฟฟ้า ส่วนสารประกอบซิลเวอร์ถูกใช้ในฟิล์มถ่ายรูปและสารละลายซิลเวอร์ในเทรตเจืองหรือสารประกอบซิลเวอร์มีการนำไปใช้เป็นสารยับยั้งเชื้อโรค ในขณะที่ยาต้านเชื้อโรคจำนวนมากที่ใช้ซิลเวอร์ถูกแทนที่ด้วยยาปฏิชีวนะ

2.4.1 สมบัติของซิลเวอร์

มีการนำซิลเวอร์มาใช้ตั้งแต่ยุคอาณาจักรกรีกโบราณโดยนำมาทำเป็นภาชนะในการเก็บน้ำ เพื่อให้ปราศจากเชื้อโรคและป้องกันการเกิดโรคภัยไข้เจ็บ ในทวีปยุโรปเริ่มมีการใช้งานซิลเวอร์มาตั้งแต่อดีตโดยมีการนำเหรียญเงินใส่ลงไปในถังนมเพื่อให้เก็บรักษาได้นานขึ้น ต่อมาจึงมีการศึกษาวิจัยพบว่าซิลเวอร์สามารถฆ่าเชื้อโรคที่เป็นต้นเหตุของการเจ็บป่วยได้มากกว่า 650 ชนิด เช่น

- *Salmonella typhimurium* สาเหตุของโรคไข้ไทฟอยด์
- *Escherichia coli* สาเหตุของโรคท้องร่วงในเด็กเล็ก
- *Pseudomonas aeruginosa* สาเหตุของการติดเชื้อในกระแสเลือด
- *Staphylococcus aureus* สาเหตุของโรคผิวหนังต่าง ๆ

2.4.2 ซิลเวอร์นาโน

ซิลเวอร์นาโน คือ ธาตุซิลเวอร์ที่ทำให้มีขนาดเล็กมากในระดับนาโนเมตรเพื่อที่จะเพิ่มพื้นที่ผิวที่สัมผัสกับเชื้อโรค และด้วยขนาดที่เล็กมากทำให้เมื่อใช้ธาตุซิลเวอร์ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถครอบคลุมพื้นที่และเพิ่มโอกาสในการสัมผัสกับเชื้อโรคได้มากขึ้น ซึ่งประโยชน์ของซิลเวอร์นาโนมีดังนี้

- สามารถฆ่าเชื้อโรคได้
- เป็นตัวนำไฟฟ้าและความร้อนที่ดี
- ทนทานต่อการกัดกร่อนของกรดอินทรีย์

มีงานวิจัยที่ใช้ซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) กับแบคทีเรียแกรมบวก *S.aureus* [133] และแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* [133] พบว่าซิลเวอร์ไอออนมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตและสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ นอกจากนี้ผลจากการทดลองพบว่าซิลเวอร์ไอออนมีการกระจายตัวอยู่ตามผนังเซลล์และแทรกเข้าไปภายในเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้เกิดการรวมตัวแบบควบแน่น (Condensation) ของดีเอ็นเอภายในเซลล์ จึงคาดได้ว่ากลไกในการฆ่าแบคทีเรียของซิลเวอร์ไอออนคือ ซิลเวอร์ไอออนจับกับโปรตีนที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียตรงหมู่ thiol ($-SH$) เนื่องจากซิลเวอร์

ไอออนมีความเป็นเบสอ่อนจึงสามารถจับกับกรดอ่อน เช่น กำมะถัน (S) และฟอสฟอรัส (P) ได้ดี ทำให้โปรตีนเกิดการแปลงสภาพ (Denature) ส่งผลให้การควบคุมขนส่งสารเข้าและออกจากเซลล์เกิดความผิดปกติ ซิลเวอร์ไอออนจึงแทรกเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ โดยซิลเวอร์ไอออนที่แทรกเข้าไปภายในเซลล์ทำให้ดีเอ็นเอภายในเซลล์ซึ่งมีฟอสฟอรัสประกอบอยู่เป็นจำนวนมากเกิดการรวมตัวและสูญเสียความสามารถในการเพิ่มจำนวน (Replication) ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้และซิลเวอร์ไอออนที่แทรกเข้าไปภายในเซลล์ยังสามารถจับกับโปรตีนที่สำคัญอื่น ๆ ได้อีก เช่น โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการหายใจระดับเซลล์ เป็นต้น เมื่อโปรตีนเหล่านั้นไม่สามารถทำงานตามปกติได้ส่งผลให้แบคทีเรียตาย นอกจากนี้การขนส่งสารเข้าและออกเซลล์ที่ผิดปกติทำให้เซลล์เกิดการแตกตัว แบคทีเรียจึงตายในที่สุด กลไกการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของซิลเวอร์ไอออนมีประสิทธิภาพสูงกับแบคทีเรียแกรมลบมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีชั้นของ Peptidoglycan ที่บางกว่าของแบคทีเรียแกรมบวก

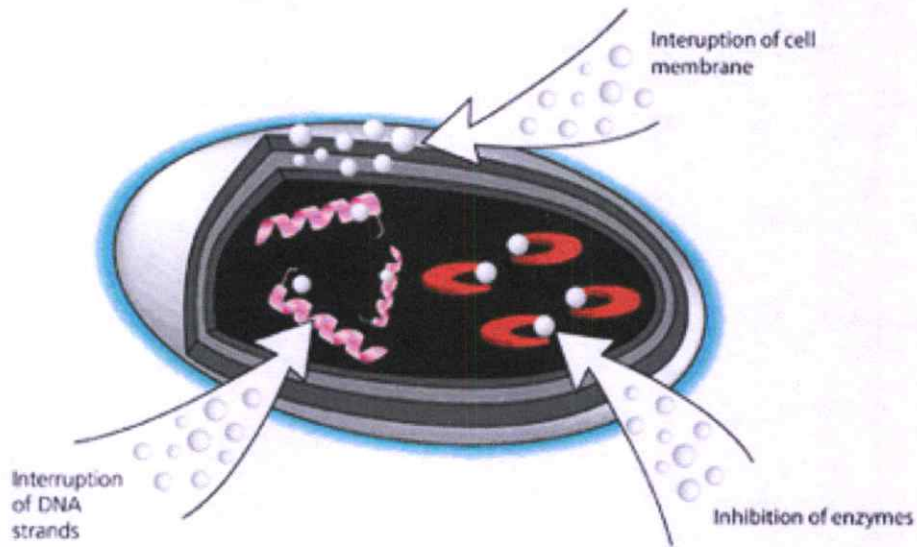
2.4.3 การผลิตซิลเวอร์นาโน

การผลิตซิลเวอร์นาโนด้วยวิธีการทางเคมีทำได้หลายวิธี ซึ่งส่วนใหญ่นิยมใช้ปฏิกิริยารีดักชันของเกลือซิลเวอร์ เช่น การรีดิวซ์ซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) ด้วยโซเดียมโบโรไฮไดรด์ ($NaBH_4$) เกิดเป็นอนุภาคของซิลเวอร์นาโน ที่เป็นคอลลอยด์สีเหลืองใส และทำการวัด UV Spectrophotometry ดู absorption spectrum เพื่อยืนยันการเกิดซิลเวอร์นาโนโดยมี absorption band ที่ช่วงความยาวคลื่นประมาณ 400 นาโนเมตร [134] คอลลอยด์ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนสามารถคงตัวอยู่ได้เพียงช่วงหนึ่งจึงต้องทำการเติมสารช่วยเพิ่มความคงตัวของคอลลอยด์ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคซิลเวอร์นาโนทำให้คอลลอยด์มีความคงตัวมากขึ้น โดยสารเพิ่มเสถียรภาพที่นิยมใช้คือ พอลิไวนิลไพโรลิโดน, Bovine serum albumin, โซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ [134]

2.4.4 กระบวนการในการฆ่าเชื้อของซิลเวอร์นาโน [135]

กลไกหลัก 3 อย่างที่ทำให้อนุภาคนาโนของซิลเวอร์สามารถต่อต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดี คือ

1. อนุภาคนาโนของซิลเวอร์ในช่วง 1 – 10 nm จะไปจับที่ผิวหน้าของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียและรบกวนการทำงานระดับเซลล์ของแบคทีเรีย เช่น การขนส่งสารเข้า-ออกจากเซลล์และการหายใจ
2. อนุภาคนาโนของซิลเวอร์แทรกเข้าไปภายในเซลล์แบคทีเรียและรบกวนการทำงานในระดับโมเลกุล โดยสามารถจับกับสารที่มีกำมะถันหรือฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบได้ เช่น ดีเอ็นเอ
3. อนุภาคนาโนของซิลเวอร์เกิดการสลายตัวและปล่อยซิลเวอร์ไอออนออกมา เนื่องจากอนุภาคนาโนของซิลเวอร์มีขนาดเล็กและจำนวนมาก ทำให้ซิลเวอร์ไอออนที่ปล่อยออกมามีความเข้มข้นสูงสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้อย่างรวดเร็ว



รูปที่ 2.16 การทำงานของซิลเวอร์นาโนในการฆ่าเชื้อ [19]

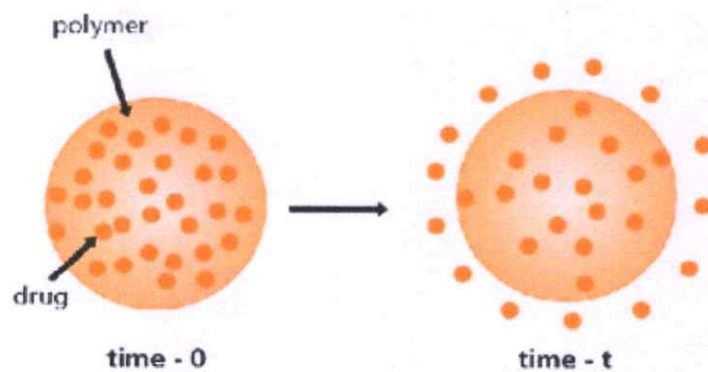
2.5 การปลดปล่อยยา (Controlled release, CR) [136]

เป็นการออกแบบการปลดปล่อยยาให้มีอัตราคงที่ และมีความเข้มข้นของยาที่ไม่เปลี่ยนแปลงตามเวลาเมื่อมีการดูดซับสาร การควบคุมการปลดปล่อย (CR) มีหลายรูปแบบ แต่ทั้งหมดเรียกรวมว่า Modified release โดยแบ่งออกเป็น 2 แบบดังนี้

2.5.1 Membrane controlled device

ยาทั้งหมดหรือบางส่วนถูกเก็บไว้อยู่ภายในส่วนกักเก็บยา (Drug reservoir) และมีการเคลือบหรือห่อหุ้มที่บริเวณผิวหน้าด้วยพอลิเมอร์ ซึ่งทำหน้าที่ช่วยในการควบคุมการปลดปล่อยยาออกสู่ภายนอก แบ่งออกเป็น

1. Membrane diffusion โดยจะใช้พอลิเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำแต่สามารถบวมตัวได้ ทำให้มีรูพรุนเกิดขึ้น เพื่อให้ยาแพร่ผ่านรูพรุนของพอลิเมอร์



รูปที่ 2.17 ลักษณะการปลดปล่อยยา [136]

2. Membrane dissolution เป็นการปลดปล่อยยาออกมาด้วยการละลายอย่างช้าๆ ทำให้ยาสามารถออกฤทธิ์ได้ยาวนานขึ้น ทำได้โดยการนำสารที่ละลายเข้าไปเคลือบอนุภาคยา เมื่อผิวที่เคลือบ

ไว้ละลายหมด ตัวยาจึงถูกปลดปล่อยออกมา ซึ่งการควบคุมอัตราเร็วในการละลายของยาขึ้นอยู่กับความหนาและความเร็วในการละลายของสารที่ใช้เคลือบ

2.5.2 Matrix device

ตัวยาคจะกระจายตัวอยู่ภายในเนื้อพอลิเมอร์ แบ่งเป็น

1. Matrix diffusion ตัวยามีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมออยู่ภายในส่วนกักเก็บยา (Drug reservoir) ที่เป็นพอลิเมอร์

2. Matrix dissolution มีการผสมพอลิเมอร์ที่ละลายได้เข้าเป็นส่วนประกอบในเม็ดยา เพื่อให้เม็ดยาละลายได้ช้าลง ส่งผลให้ตัวยาละลายออกมาอย่างช้า ๆ พร้อมกับการกร่อนหรือการละลายของพอลิเมอร์

3. Osmosis device เป็นการปลดปล่อยยาโดยอาศัยความดันออสโมซิสมาใช้เป็นแรงดันในการนำส่งยา โดยมีเยื่อเลือกผ่านและปริมาณตัวยากับเกลือต่าง ๆ ในระบบเป็นตัวควบคุมความดันออสโมซิส ซึ่งอัตราการปลดปล่อยขึ้นอยู่กับค่าสัมประสิทธิ์การซึมผ่าน, ความหนาของเมมเบรน, ขนาดของรูเปิดและความต่างของแรงดันออสโมติกทั้งในและนอกเม็ดยา

4. Compression coated tablet เป็นเม็ดยาที่อัดเป็นชั้น 2-3 ชั้น โดยให้ชั้นที่มียาที่ต้องการปลดปล่อยอยู่ตรงกลาง ส่วนชั้นบนกับล่างเป็นพอลิเมอร์ เพื่อควบคุมการปลดปล่อย

5. Rupturable pulsatile release tablet เป็นการปลดปล่อยยาให้ออกมาตามช่วงเวลาที่ต้องการ ซึ่งประกอบไปด้วย ชั้นที่แตกออก (Rupturable layer), ชั้นที่บวม (Swelling layer) และตัวยา (Drug core) ในปัจจุบันมีการนำระบบนี้มาใช้ นำส่งยาสู่ลำไส้ใหญ่ (Colon specific drug delivery system) ซึ่งช่วยในการปลดปล่อยยาเฉพาะตรงช่วงที่ร่างกายต้องการ และลดการเกิดผลข้างเคียงจากยาได้

6. Floating tablet เป็นยาที่ลอยได้ในกระเพาะอาหาร เนื่องจากมีความหนาแน่นน้อยกว่า Gastric fluid จึงสามารถออกฤทธิ์ได้นาน

7. Ion exchange resin ใช้เฉพาะกับตัวยามีประจุ โดยใช้พอลิเมอร์ที่มีประจุตรงกันข้ามกับตัวยาคจับตัวยาคไว้ เมื่อยาอยู่ในกระเพาะอาหารเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างยากับไอออนในกระเพาะอาหาร เช่น H^+ , Cl^- เป็นต้น ทำให้พอลิเมอร์ปลดปล่อยยาออกมา แต่ยาต้องเดินทางผ่านพอลิเมอร์เมทริกซ์ทำให้ปลดปล่อยยาออกมาได้ช้าลง

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยของ R. Pereira และคณะ (2013) [7] พัฒนาฟิล์มจากอัลจินเตผสมว่านหางจระเข้ โดยใช้แคลเซียมคลอไรด์เป็นสารเชื่อมโยงเพื่อใช้เป็นวัสดุปิดแผล โดยใช้อัตราส่วนของ อัลจินเต : ว่านหางจระเข้ ดังนี้ 95:5, 85:15 และ 75:25 v/v พบว่าความใสของฟิล์มแปรผันตรงกับอัตราส่วนของว่านหางจระเข้และมีเสถียรภาพทางความร้อนที่ดี นอกจากนี้จากการทดสอบการบวมตัวในน้ำกลั่นพบว่าฟิล์มไม่ละลายในน้ำกลั่นหลังจากผ่านไป 24 ชม. และพฤติกรรมการบวมตัวเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนของว่านหางจระเข้

งานวิจัยของ Ye Ma และคณะ (2017) [137] เตรียมวัสดุปิดแผลจากโคโตซานโดยใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ ได้ฟิล์มที่มีความยืดหยุ่นและใส โดยมีกลไกการเชื่อมโยงกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างโคโตซานกับกลีเซอรอล จากการทดสอบพบว่าปริมาณกลีเซอรอลมีผลต่อสมบัติของ

ฟิล์มไคโตซาน เมื่อมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณกลีเซอรอลทำให้ค่าการดึงยึดของฟิล์ม, อัตราการบวม, การซึมผ่านของไอน้ำและความสามารถในการเปียกของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น และการทดสอบการสลายตัวด้วยเอนไซม์ในหลอดทดลองพบว่าไคโตซานมีความเสถียรในระยะยาวโดยไม่คำนึงถึงปริมาณกลีเซอรอลและเพื่อเพิ่มสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียจึงใส่ tetracycline hydrochloride (TH) และ silver sulfadiazine (AgSD) ซึ่งเป็นตัวแทนของโมเดลยาที่ละลายในน้ำและไม่ละลายน้ำลงในฟิล์มพบว่าผลของการควบคุมการปลดปล่อยยาและการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มบ่งบอกว่าสามารถนำฟิล์มไปพัฒนาเพื่อใช้ทำเป็นวัสดุปิดแผลที่ป้องกันการติดเชื้อในอนาคตได้

งานวิจัยของ Sung-Ching Chen และคณะ (2004) [9] เตรียมไฮโดรเจลควบคุมการปลดปล่อยยาที่ว่องไวต่อค่า pH จากคาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน (N,O-carboxymethyl chitosan, NOCC) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไคโตซานที่ละลายน้ำได้กับอัลจินตโดยใช้ genipin เป็นสารเชื่อมโยง จากการทดสอบพฤติกรรมบวมตัวและการปลดปล่อยยาในสารละลายจำลองกระเพาะอาหาร (pH 1.2) และลำไส้เล็ก (pH 7.4) โดยใช้โปรตีน bovine serum albumin (BSA) เป็นยาต้นแบบ พบว่าที่ pH 1.2 มีการบวมตัวที่ต่ำเนื่องจากการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่าง NOCC กับอัลจินต ส่วนที่ pH 7.4 หมู่คาร์บอกซิลิกของไฮโดรเจลมีการแตกตัวเป็นไอออนทำให้ไฮโดรเจลมีการบวมตัวอย่างมากเนื่องจากการผลักกันของแรงไฟฟ้าสถิตระหว่างกลุ่มไอออนของกรด นอกจากนี้ผลจากการปลดปล่อยยา BSA พบว่าที่ pH 1.2 มีการปลดปล่อยออกมาในปริมาณที่ต่ำ (20%) ในขณะที่ pH 7.4 มีการปลดปล่อยออกมาในปริมาณมาก (80%) จึงเหมาะที่จะนำไปใช้ในการจัดส่งยาโปรตีนเฉพาะที่ในลำไส้เล็ก

งานวิจัยของ G. Ma และคณะ (2008) [13] ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ N-alkylated chitosan ด้วยปฏิกิริยา Michael addition ระหว่างไคโตซานกับไฮดรอกซีเอทิลอะคริเลต โดยโครงสร้างทางเคมีและสมบัติเชิงกลของอนุพันธ์ไคโตซานสามารถตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ได้ด้วยเทคนิค FT-IR, $^1\text{H-NMR}$, XRD และ DSC ผลจาก $^1\text{H-NMR}$ ระบุว่ามีความคล้ายคลึงกับ 0.12-0.18 ซึ่งอนุพันธ์ไคโตซานสามารถละลายได้ดีในน้ำกลั่น ผลจากการวิเคราะห์ XRD พบว่าอนุพันธ์ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์อสัณฐาน ผลจาก DSC แสดงให้เห็นว่าเสถียรภาพทางความร้อนของอนุพันธ์ไคโตซานมีค่าต่ำกว่าไคโตซานที่ยังไม่ตัดแปรร อนุพันธ์ไคโตซานสามารถย่อยสลายด้วยเอนไซม์ได้และอัตราการสลายตัวเริ่มต้นของอนุพันธ์ไคโตซานขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุล

งานวิจัยของ Pitchaya Treenate และคณะ (2014) [138] เตรียมฟิล์มจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลไคโตซาน (HC) กับโซเดียมอัลจินต (SA) โดยใช้แคลเซียมคลอไรด์เป็นสารเชื่อมโยงในอัตราส่วนของ HC:SA ดังนี้ 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 โดยน้ำหนัก จากการตรวจวัดด้วยเทคนิค SEM-EDS พบว่าแคลเซียมไอออนมีการกระจายตัวที่ดีภายในไฮโดรเจลฟิล์มซึ่งแสดงว่าเกิดการเชื่อมโยงที่สม่ำเสมอ จากการศึกษาพฤติกรรมบวมตัวในสารละลายต่าง ๆ ที่ 37°C ได้แก่ น้ำกลั่น, สารละลายจำลองของของเหลวในกระเพาะอาหาร (SGF, pH 1.2) และสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (PBS, pH 7.4) พบว่าฟิล์มมีเสถียรภาพในน้ำกลั่นเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของส่วน SA หรือมีการเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ และฟิล์มสามารถคงตัวได้ในสารละลาย SGF แต่เสถียรภาพในสารละลาย PBS ในการทดสอบสมบัติเชิงกล โดยทดสอบในขณะที่ฟิล์มดูความชื้นเต็มที่ ค่าความแข็งแรงดึงและการดึงยึดของฟิล์มมีค่าเท่ากับ 12.1 MPa และ 162% ตามลำดับซึ่งมีค่ามากพอที่จะสามารถเคลื่อนไหวตามผิวหนังได้ และจากผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค MTT assay พบว่าฟิล์มไม่มีความเป็นพิษ จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ทำแผ่นปิดแผลได้

งานวิจัยของพิชญดา ตรีเนตร (2017) [18] เตรียมแคปซูลควบคุมการปลดปล่อยยาที่ว่องไวต่อค่าพีเอชจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาไมด์ (HC) กับโซเดียมอัลจิเนต (SA) ที่เชื่อมโยงด้วยไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ ได้แก่ แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}), ซิงค์ไอออน (Zn^{2+}) และคอปเปอร์ (II) ไอออน (Cu^{2+}) และใช้คาร์ราจีแนนกับกลีเซอรอลเป็นสารที่ทำให้เกิดเจลและพลาสติกไซเซอร์ตามลำดับ โดยใช้อัตราส่วนของ HC:SA ดังนี้ 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 โดยน้ำหนัก จากการทดสอบการบวมตัวในสารละลายต่าง ๆ ที่ 37°C ได้แก่ น้ำกลั่น, สารละลายจำลองของของเหลวในกระเพาะอาหาร (SGF), สารละลายจำลองของของเหลวในลำไส้เล็ก (SIF) และ สารละลายจำลองของของเหลวในระบบทางเดินอาหาร (SGF ตามด้วย SIF) พบว่าไฮดรเจลระหว่าง HC กับ SA มีเสถียรภาพในน้ำกลั่นและสารละลาย SGF แต่สลายตัวในสารละลาย SIF นอกจากนี้จากการศึกษาพฤติกรรมของการปลดปล่อยยาในสภาวะจำลองระบบทางเดินอาหาร โดยใช้พาราเซตามอลเป็นยาต้นแบบ โดยวิเคราะห์ปริมาณพาราเซตามอลที่ถูกปลดปล่อยออกมาด้วยเทคนิค UV-Vis ที่ความยาวคลื่น 242 nm พบว่าแคปซูลสูตร HC50SA50 ที่มีการเชื่อมโยงด้วยแคลเซียมไอออนมีพฤติกรรมการปลดปล่อยยาแบบเชิงเส้นตรงและยาเกือบทั้งหมดเกิดการปลดปล่อยในสารละลาย SIF

งานวิจัยของ K.C. Song และคณะ (2009) [134] ศึกษาปฏิกิริยารีดักชันของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO_3) กับโซเดียมโบโรไฮไดรด์ (NaBH_4) ที่มีโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต (SDS) เป็นสารเพิ่มเสถียรภาพ โดยได้อนุภาคซิลเวอร์นาโนอยู่ในสถานะคอลลอยด์ สามารถตรวจสอบขนาดของอนุภาคนาโนด้วยเทคนิค UV-Vis และ TEM ผลจาก TEM พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมโบโรไฮไดรด์ อนุภาคนาโนมีการกระจายตัวที่มากขึ้น และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเตรตเริ่มต้นจะทำให้ได้อนุภาคซิลเวอร์นาโนมากขึ้นโดยตรวจสอบได้จากพีกใน UV-Vis ที่ช่วงความยาวคลื่นเท่ากับ 400 nm ซึ่งจะได้พีกที่สูงและแหลมมากขึ้น นอกจากนี้ผลของความเข้มข้นของโซเดียมโบโรไฮไดรด์เปลี่ยนแปลงตามอัตราส่วนระหว่าง $\text{NaBH}_4 : \text{AgNO}_3$ ที่อัตราส่วนต่ำพบว่ามีค่าความเข้มข้นของอนุภาคซิลเวอร์นาโนน้อยลง ในขณะที่อัตราส่วนมากกว่า 2 จะพบอนุภาคซิลเวอร์นาโนเพิ่มขึ้น และมีการกระจายตัวที่ดี ส่วนผลของความเข้มข้นของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต (SDS) มีผลมาจาก Steric effect โดยยิ่งอัตราส่วนมากยิ่งมีการกระจายที่มาก

งานวิจัยของภูษิต จันทาวุฒิ และคณะ (2554) [139] สังเคราะห์ไฮดรเจลจากโซเดียมอัลจิเนตกับกัวร์กัมโดยใช้สารละลายโซเดียมเทรสบอเรตเป็นสารเชื่อมโยง และบรรจุอนุภาคซิลเวอร์นาโนเพื่อเพิ่มสมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเตรียมได้โดยการเติมซิลเวอร์ไนเตรตในรูปสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเข้าไปในไฮดรเจล แล้วทำการเปลี่ยนให้เป็นอนุภาคซิลเวอร์นาโน โดยใช้ปฏิกิริยารีดักชันกับโซเดียมโบโรไฮไดรด์ จากผลการทดสอบการฆ่าเชื้อโดยวิธี Agar well diffusion ด้วย *Escherichia coli* และ *Bacillus subtilis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ พบว่าสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ชนิด *Bacillus subtilis* ได้ดีกว่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิด *Escherichia coli* จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRD พบว่าไฮดรเจลทุกสูตรมีซิลเวอร์และซิลเวอร์ออกไซด์อยู่ในโครงสร้าง จากการหาปริมาณซิลเวอร์ด้วยเทคนิค XRF พบว่ามีปริมาณซิลเวอร์อยู่ในช่วง 12 ถึง 45 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และผลจากเทคนิค TGA พบการสลายตัวของอัลจิเนตและกัวร์กัมที่อุณหภูมิช่วง $220\text{--}245^{\circ}\text{C}$, ที่ช่วงอุณหภูมิ $380\text{--}400^{\circ}\text{C}$ มีการสลายตัวของโซเดียมคาร์บอเนตและที่อุณหภูมิ 700°C มีสารเหลืออยู่ซึ่งเป็นองค์ประกอบของโลหะหรือออกไซด์ของโลหะ

งานวิจัยของ Shekhar Agnihotri และคณะ (2012) [19] เตรียมฟิล์มจากไคโตซานกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) โดยใช้กลูตารอลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมโยงเพื่อบรรจุอนุภาคซิลเวอร์นาโน (AgNPs) สำหรับการใช้งานต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยเตรียมฟิล์มด้วยวิธีการทำ freeze-thaw ซ้ำหลายครั้งแล้วแช่ในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเข้มข้น 10 mM นาน 24 ชม. จากนั้นนำมาแช่ในสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ 10 mM นาน 30 นาที จะได้ฟิล์มที่บรรจุ AgNPs จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค HR-TEM พบว่า มีการกระจายตัวของ AgNPs ภายในฟิล์มอย่างสม่ำเสมอโดยไม่ต้องใส่สารเพิ่มเสถียรภาพ โดยมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 13 nm มีการกระจายขนาดตั้งแต่ 8-21 nm และจากการศึกษาการบวมพบว่าปริมาณสารเชื่อมโยงและซิลเวอร์ที่เพิ่มขึ้นภายในฟิล์มช่วยเพิ่มปริมาณรูพรุนและการเกี่ยวพันของสายโซ่ไฮโดรเจลตามลำดับ นอกจากนี้ฟิล์มที่บรรจุ AgNPs มีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ดี โดยพบว่าการลดลงของจุลินทรีย์ (*Escherichia coli*) อย่างมากภายในเวลา 12 ชม. ในขณะที่ผลดังกล่าวไม่เกิดขึ้นกับฟิล์มที่ไม่บรรจุ AgNPs

จากงานวิจัยที่ผ่านมา มีการนำอนุพันธ์ของไคโตซานที่สามารถละลายน้ำได้และอัลจินตมาใช้ในการทำวัสดุปิดแผลและนำส่งยา นอกจากนี้มีการใช้อนุภาคซิลเวอร์นาโนในการต้านเชื้อแบคทีเรียซึ่งเตรียมได้จากสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตกับโซเดียมโบโรไฮไดรด์ ในงานวิจัยนี้จึงเป็นการเตรียมฟิล์มจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาไมด์ไคโตซาน (HC) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไคโตซานที่ละลายน้ำได้กับโซเดียมอัลจินต (SA) โดยมีแคลเซียมคลอไรด์เป็นสารเชื่อมโยงและบรรจุอนุภาคซิลเวอร์นาโน (AgNPs) เพื่อเพิ่มความสามารถในการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย โดยมีการศึกษาพฤติกรรมบวมตัวและการปลดปล่อยยาของฟิล์ม สำหรับทำเป็นวัสดุปิดแผลและนำส่งยา

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมี

1. ไคโตซาน (Chitosan, CS, M_w 270,000 Daltons) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Eland Co., Ltd
2. โซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate, SA; M_w 1,296,172 Daltons) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Acros Organics Co.,Ltd.
3. ไฮดรอกซีเอทิลอะคริเลต (Hydroxyethylacrylate, HEA) เกรดการค้า บริษัท Thai Mitsui Specialty Chemicals Co.,Ltd.
4. กรดอะซิติก (Acetic acid, CH_3COOH) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba Reagents จำกัด
5. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Laboratory Reagents & Fine Chemicals
6. อะซิโตน (Acetone, CH_3COCH_3) เกรดการค้า ยี่ห้อ Zen Point
7. แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต (Calcium Chloride dihydrate, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Merck Millipore Ltd.
8. ซิลเวอร์ไนเตรต (Silver nitrate, $AgNO_3$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Fisher Chemical จำกัด
9. โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (Sodium Borohydride, $NaBH_4$) เกรดวิเคราะห์ ยี่ห้อ Laboratory Chemical
10. ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (Phosphate buffered saline, PBS) บริษัท VR bioscience Co.,Ltd.
11. น้ำกลั่น
12. พาราเซตามอล

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องแก้ว
2. จานเพาะเชื้อ
3. เครื่องปั่นกวนแม่เหล็กพร้อมให้ความร้อน ยี่ห้อ IKA รุ่น HS-7
4. เครื่องซั่งน้ำหนักอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Denver Instrument รุ่น SI-234
5. ตู้อบ ยี่ห้อ Memmert รุ่น UN55
6. ไมโครมิเตอร์ บริษัท Mitutoyo Europe GmbH จำกัด รุ่น PK-0505SUE
7. โต๊ะปรับระดับ
8. เครื่องวัดระดับน้ำ
9. อ่างควบคุมอุณหภูมิ บริษัท Thermo Fisher Scientific Co., Ltd., รุ่น Isotemp

10. แท่งแม่เหล็กคนสาร
11. ผ้าสกีน
12. Desiccator
13. Nylon 66 membrane (รูขนาด 0.45 μm) บริษัท Science Integration Co., Ltd.
14. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) บริษัท LEO Electron Microscopy Ltd., รุ่น LEO1455VP
15. เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) บริษัท shimadzu scientific instruments incorporated จำกัด รุ่น IRTracer-100
16. เครื่อง X-Ray Diffractometer (XRD) บริษัท Bruker BioSpin International AG จำกัด รุ่น D8 Advance
17. เครื่อง X-Ray Fluorescence Spectrometer (XRF) บริษัท Bruker BioSpin International AG จำกัด รุ่น SRS 3400
18. เครื่องทดสอบเนกประสงค์ บริษัท Lloyd Instruments Ltd., รุ่น LR5K
19. เครื่อง UV-Vis spectrophotometer บริษัท BECTHAI Bangkok Equipment & Chemical Co., Ltd., รุ่น Model Genesys los UV-Vis
20. Cellulose acetate filter (รูขนาด 0.2 μm) ยี่ห้อ Sartorius stedim biotech

3.3 ขั้นตอนการเตรียมสารละลาย

3.3.1 สารละลายแคลเซียมคลอไรด์

- 1.) ชั่งแคลเซียมคลอไรด์ 14.70, 22.05 และ 36.75 กรัม
- 2.) ละลายในน้ำกลั่นใส่ลงในขวดวัดปริมาตร 500 มิลลิลิตรและปรับปริมาตร
- 3.) ได้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.2, 0.3 และ 0.5 mM ตามลำดับ

3.3.2 สารละลายซิลเวอร์ไนเทรต

- 1.) ชั่งซิลเวอร์ไนเทรต 0.0085, 0.017, 0.085 และ 0.17 กรัม
- 2.) ละลายในน้ำกลั่นใส่ลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตรและปรับปริมาตร
- 3.) ได้สารละลายซิลเวอร์ไนเทรตเข้มข้น 0.5, 1, 5 และ 10 mM ตามลำดับ

3.3.3 สารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ 10 mM

- 1.) ชั่งโซเดียมโบโรไฮไดรด์ 0.038 กรัม
- 2.) ละลายในน้ำกลั่นใส่ลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตรและปรับปริมาตร (เตรียมสารละลายใหม่ทุกครั้ง)

3.3.4 สารละลาย Simulated intestinal fluid (PBS, pH 7.4)

- 1.) ละลายเม็ดฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน 1 เม็ดในน้ำกลั่น ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร 1000 มิลลิลิตรและปรับปริมาตร

3.4 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มไฮโดรเจล

3.4.1 การสังเคราะห์ไฮดรอกซีเอทิลเอคิลโคโตซาน (HC)

- 1.) ชั่งโคโตซาน 1 กรัม ใส่ในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 1 %w/v 100 มิลลิลิตร
- 2.) ใส่ไฮดรอกซีเอทิลอะคริเลต 4 กรัมในสารละลายโคโตซาน
- 3.) ปั่นกวนสารละลายที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- 4.) เมื่อครบ 48 ชั่วโมง ปรับให้สารละลายมีค่าพีเอชเท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 %w/v แล้วกรองสารละลายผ่านผ้าสกรีน
- 5.) นำสารละลายมาตกตะกอนในอะซิโตน และล้างตะกอนที่ได้ด้วยอะซิโตนที่มากเกินไปจนพอ
- 6.) อบตะกอนที่ได้ในตู้อบอุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 7 วัน

3.4.2 การเตรียมฟิล์ม HC/SA

- 1.) ละลาย HC ด้วยน้ำกลั่นภายใต้สภาวะปั่นกวนที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 7 วัน
- 2.) นำสารละลายมาผ่านตัวกรองไนลอน 6,6 ขนาดรู 0.45 ไมโครเมตร
- 3.) เมื่อสารละลายเย็นตัวลงมาที่อุณหภูมิห้อง ใส่โซเดียมอัลจิเนต (SA) ในสารละลาย HC ตามอัตราส่วน HC:SA เป็น 75:25, 50:50 และ 25:75 โดยหนักและปั่นกวนที่อุณหภูมิ 70 °C เป็น เวลา 12 ชั่วโมง
- 4.) เทสารละลายลงในจานเพาะเชื้อ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4.3 การเตรียมฟิล์ม HC/SA ที่เชื่อมโยงด้วยแคลเซียมคลอไรด์

- 1.) นำฟิล์ม HC/SA ที่ได้จากข้อ 3.4.2 มาตัดรูปทรงเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 1x1 นิ้ว²
- 2.) นำไปแช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2, 0.3 หรือ 0.5 M ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที
- 3.) นำมาล้างในน้ำกลั่นอย่างน้อย 5 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที โดยทดสอบน้ำที่ล้างด้วยการหยดซิลเวอร์ไนเทรต จนไม่มีตะกอนสีขาวของซิลเวอร์คลอไรด์เกิดขึ้น
- 4.) นำฟิล์มไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 1 คืน

3.4.4 การเตรียมฟิล์ม HC/SA ที่มีซิลเวอร์เป็นองค์ประกอบ

- 1.) นำฟิล์มที่เชื่อมโยงด้วยแคลเซียมคลอไรด์จากข้อ 3.4.3 มาแช่ในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเข้มข้น 0.5, 1, 5 และ 10 mM ปริมาตร 15 มิลลิลิตร แล้วพ่นก๊าซไนโตรเจนปิดฝา และทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 2.) นำฟิล์มขึ้นมาล้างน้ำกลั่น 2 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที แล้วใช้ทิชชูซับ
- 3.) นำฟิล์มมาแช่โซเดียมโบโรไฮไดรด์ 10 mM ปริมาตร 15 มิลลิลิตร แล้วพ่นก๊าซไนโตรเจนปิดฝาและทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที
- 4.) นำฟิล์มขึ้นมาล้างน้ำกลั่น 2 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที แล้วใช้ทิชชูซับ
- 5.) นำฟิล์มไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

ตัวอย่างสัญลักษณ์ของสูตรฟิล์มไฮโดรเจลต่าง ๆ แสดงดังนี้

-HC75SA25Ca0.5 คือ ไฮดรอกซีเอทิลเอคิลโคโตซาน 0.75 กรัม ต่อโซเดียมอัลจิเนต 0.25 กรัม เชื่อมโยงแบบจุ่มโดยใช้แคลเซียมคลอไรด์ 0.5 M

-HC25SA75Ca0.5Ag5 คือ ไฮดรอกซีเอทิลเอคิลโคโตซาน 0.25 กรัม ต่อโซเดียมอัลจินต 0.75 กรัม เชื่อมโยงแบบจุ่มโดยใช้แคลเซียมคลอไรด์ 0.5 M และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรด 5 mM สำหรับไฮโดรเจลสูตรอื่น ๆ ใช้สัญลักษณ์ในลักษณะเดียวกัน

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบของฟิล์มไฮโดรเจลระหว่างไฮดรอกซีเอทิลเอคิลโคโตซาน (HC) กับ โซเดียมอัลจินต (SA) ที่เชื่อมโยงด้วยแคลเซียมคลอไรด์ และ อนุภาคซิลเวอร์นาโน

สูตร	องค์ประกอบ (g)		ความเข้มข้น CaCl ₂ (M)	ความเข้มข้น AgNO ₃ (mM)	
	HC	SA			
HC75SA25	0.75	0.25	-	-	
HC50SA50	0.50	0.50			
HC25SA75	0.25	0.75			
HC75SA25Ca0.5	0.75	0.25	0.5	-	
HC50SA50Ca0.5	0.50	0.50			
HC25SA75Ca0.5	0.25	0.75			
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	0.25	0.75			0.5
HC25SA75Ca0.5Ag1	0.25	0.75			1
HC25SA75Ca0.5Ag5	0.25	0.75			5
HC25SA75Ca0.5Ag10	0.25	0.75			10
HC25SA75Ca0.3	0.25	0.75	0.3	-	
HC25SA75Ca0.3Ag0.5	0.25	0.75		0.5	
HC25SA75Ca0.2	0.25	0.75	0.2	-	
HC25SA75Ca0.2Ag0.5	0.25	0.75		0.5	

3.5 การตรวจวิเคราะห์

3.5.1 การทดสอบหาปริมาณของแข็งที่เหลือ

- 1.) ตัดฟิล์มไฮโดรเจลที่มีความหนา 105 ± 5 ไมครอน เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 1×1 นิ้ว²
- 2.) ชั่งน้ำหนักฟิล์มไฮโดรเจล (เทคนิค 4 ตำแหน่ง)
- 3.) แช่ฟิล์มไฮโดรเจลในน้ำกลั่นหรือสารละลายต่าง ๆ ดังนี้
 - น้ำกลั่นอุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
 - สารละลาย PBS อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 4.) นำฟิล์มไฮโดรเจลไปอบจนแห้งและชั่งน้ำหนัก
- 5.) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของแข็งที่เหลือโดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของแข็งที่เหลือ (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของฟิล์มไฮโดรเจลที่อบแห้ง} \times 100}{\text{น้ำหนักของฟิล์มไฮโดรเจลเริ่มต้น}} \quad (3.1)$$

6.) แต่ละสูตรทำซ้ำ 3 ซ้ำงาน

3.5.2 การทดสอบหาปริมาณน้ำคงอยู่

- 1.) ตัดฟิล์มไฮโดรเจลที่มีความหนา 105 ± 5 ไมครอน เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 1×1 นิ้ว²
- 2.) ชั่งน้ำหนักฟิล์มไฮโดรเจล (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
- 3.) แช่ฟิล์มไฮโดรเจลในน้ำกลั่นหรือสารละลายต่าง ๆ ดังนี้
 - น้ำกลั่นอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
 - สารละลาย PBS อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 4.) นำฟิล์มไฮโดรเจลมาซับและชั่งน้ำหนัก
- 5.) นำฟิล์มไฮโดรเจลไปอบจนแห้งและชั่งน้ำหนัก
- 6.) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำคงอยู่ภายในฟิล์ม โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำคงอยู่ (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของฟิล์มไฮโดรเจลหลังแช่} \times 100}{\text{น้ำหนักของฟิล์มไฮโดรเจลที่อบแห้ง}} \quad (3.2)$$

7.) แต่ละสูตรทำซ้ำ 3 ซ้ำงาน

3.5.3 การทดสอบพฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มในสภาวะต่าง ๆ

- 1.) ตัดฟิล์มไฮโดรเจลที่มีความหนา 105 ± 5 ไมครอน เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 1×1 นิ้ว²
- 2.) ชั่งน้ำหนักฟิล์มไฮโดรเจล (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
- 3.) แช่ฟิล์มไฮโดรเจลลงในน้ำกลั่นหรือสารละลายต่างๆ ดังนี้
 - น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37°C
 - สารละลาย PBS 50 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37°C
- 4.) นำขึ้นมาซับน้ำก่อนนำไปชั่งน้ำหนักที่เวลาทุก 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480 และ 1,440 นาที โดยคำนวณหาการบวมตัวจากสมการที่ 3.3

$$\text{เปอร์เซ็นต์การบวมตัว (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักของฟิล์มไฮโดรเจลหลังแช่} - \text{น้ำหนักของฟิล์มไฮโดรเจลเริ่มต้น}) \times 100}{\text{น้ำหนักของฟิล์มไฮโดรเจลเริ่มต้น}} \quad (3.3)$$

5.) แต่ละสูตรทำซ้ำ 3 ซ้ำงาน

3.5.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์มไฮโดรเจล

3.5.4.1 Scanning Electron Microscopy (SEM)

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฟิล์มสามารถตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่บริเวณพื้นผิว โดยนำไปเคลือบด้วยทองคำ และส่วนตัดขวางของฟิล์ม โดยหักฟิล์มไฮโดรเจลภายใต้ไนโตรเจนเหลวก่อนนำไปเคลือบด้วยทองคำ รูปแบบการกระจายตัวของไอออนโลหะบนฟิล์มสามารถวัดโดยการวิเคราะห์ Energy dispersive X-ray spectrometer (EDS)

3.5.4.2 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

นำฟิล์มไฮโดรเจลไปทดสอบด้วยเทคนิค FT-IR ด้วยโหมด ATR ที่ช่วง 700-4,000 cm^{-1} และมีค่า resolution เท่ากับ 4.0 cm^{-1} เพื่อตรวจหาองค์ประกอบของสารในโครงสร้าง

3.5.4.3 X-Ray Diffractometer (XRD)

นำฟิล์มไฮโดรเจลไปทดสอบด้วยเครื่อง XRD โดยสแกนที่ช่วง 2θ เท่ากับ 5 ถึง 80 เพื่อยืนยันชนิดของซิลเวอร์ในโครงสร้าง

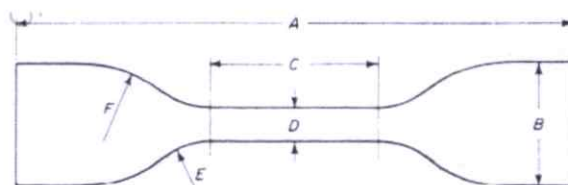
3.5.4.4 X-Ray Fluorescence Spectrometer (XRF)

นำฟิล์มไฮโดรเจลไปทดสอบด้วยเครื่อง XRF โหมดวิเคราะห์ธาตุเพื่อบอกปริมาณของซิลเวอร์ในโครงสร้าง

3.5.5 การทดสอบสมบัติเชิงกล

ทดสอบสมบัติเชิงกลของฟิล์มที่ผ่านการแช่น้ำกลั่นทิ้งไว้ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาทดสอบ ด้วยเครื่องทดสอบอเนกประสงค์ตามมาตรฐาน ISO 2005 ที่มีสภาวะในการวิเคราะห์ ดังนี้

ลักษณะชิ้นงาน	: รูปดัมป์เบลล์ ประเภท 2 (ดังรูปที่ 3.1)
อัตราเร็วในการดึง	: 50 mm/min
Load cell	: 100 N
Gauge length	: 25 mm
Width	: 4 mm
จำนวนชิ้นงาน	: 5 ชิ้นงาน



Dimension	Type 1	Type 2	Type 3	Type 4
A Overall length (minimum)	115	75	50	35
B Width of ends	25.0 ± 1.0	12.5 ± 1.0	8.5 ± 0.5	6.0 ± 0.5
C Length of narrow portion	33.0 ± 2.0	25.0 ± 1.0	16.0 ± 1.0	12.0 ± 0.5
D Width of narrow portion	6.0 ± 0.4	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1	2.0 ± 0.1
E Transition radius outside	14.0 ± 1.0	8.0 ± 0.5	7.5 ± 0.5	3.0 ± 0.1
F Transition radius inside	25.0 ± 2.0	12.5 ± 1.0	10.0 ± 0.5	3.0 ± 0.1

รูปที่ 3.1 ชิ้นงานตัวอย่างรูปดัมป์เบลล์

ค่าความแข็งแรงดึง ณ จุดขาด ค่ามอดุลัส และร้อยละการดึงยืด ณ จุดขาด สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 3.4, 3.5 และ 3.6 ตามลำดับ

$$\text{- ความแข็งแรงดึง ณ จุดขาด (Tensile strength at break)} = \frac{F}{A} \quad (3.4)$$

$$\text{- ยั่งมอดุลัส (Young's modulus)} = \frac{\Delta \text{ stress at 1-2\% strain}}{\Delta \text{ strain at 1-2\%}} \quad (3.5)$$

หมายเหตุ ค่ายังมอดูลัสคำนวณจากค่าความชันเริ่มต้น (ที่ 1 และ 2% การดัดงัด)

$$\text{- ร้อยละการดัดงัด ณ จุดขาด (\%Elongation at break)} = \frac{l - l_0}{l_0} \times 100 \quad (3.6)$$

เมื่อ F = แรงดัดงัดขึ้นงาน ณ จุดขาด
 A = พื้นที่หน้าตัดของชิ้นงานตัวอย่าง (mm²)
 l = ระยะห่างระหว่างหัวจับชิ้นงานหลังทำการดัดงัดขึ้นงานตัวอย่าง ณ จุดขาด
 l₀ = ระยะห่างระหว่างหัวจับชิ้นงานก่อนดัดงัดขึ้นงาน (Gauge length)
 เท่ากับ 25 mm

3.5.6 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

โดยใช้เทคนิค agar well diffusion

- 1.) เตรียมฟิล์มขนาด 1x1 เซนติเมตร²
- 2.) เตรียมแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ 2 ชนิด คือ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 โดยเลี้ยงบนอาหาร Muller Hinton agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 3.) เตรียมสารละลายแบคทีเรียแต่ละชนิดในสารละลาย 0.85% NaCl ให้ได้ความขุ่นเทียบเท่ากับ McFarland No. 0.5 (1x10⁸ CFU/ml)
- 4.) ป้ายเชื้อ (Swab) ลงบนอาหาร Muller Hinton agar โดยใช้ไม้พันสำลี (Cotton swab)
- 5.) วางแผ่นฟิล์มลงบนผิวอาหาร
- 6.) บ่มจานอาหารที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง
- 7.) ตรวจสอบผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone)

3.5.7 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค MTT assay

- 1.) เตรียมเซลล์ไลน์ Vero ในอาหาร DMEM เสริมด้วย 10% FBS โดยเฉพาะเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 25 ตารางเซนติเมตร
- 2.) เตรียม Stock สารตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ โดยกรองด้วยแผ่นกรองที่มีช่องผ่านขนาด 0.2 ไมโครเมตร และใส่ขวดแก้วที่ปลอดเชื้อ หุ้มขวดแก้วด้วยแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium foil) เพื่อป้องกันแสง
- 3.) เตรียมสารตัวอย่างความเข้มข้นสูงสุด 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (กรณีฟิล์มละลายหมด) ในสารละลาย PBS
- 4.) ปลูกเซลล์ไลน์ Vero จำนวน 5x10⁴ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ลงในงานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม (96-well plate) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำงานเพาะเลี้ยงที่ปลูกเซลล์แล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เซลล์จะเจริญเติบโตบริเวณก้นหลุม
- 5.) นำงานเพาะเลี้ยงเซลล์ออกจากตู้บ่ม ดูดอาหารออกจากหลุมให้หมด แล้วเติมสารตัวอย่างความเข้มข้นที่กำหนด (กลุ่มควบคุมเป็นเซลล์ปกติ ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหาร DMEM) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

- 6.) เมื่อบ่มเซลล์ในสารตัวอย่างครบ 24 ชั่วโมง ดูดสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงไปในแต่ละหลุมที่ทดสอบ ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สารละลาย MTT จะเข้าไปในไมโทคอนเดรียของเซลล์ที่มีชีวิต และถูกรีดิวซ์ให้อยู่ในรูปของผลึกฟอร์มazan ซึ่งเป็นผลึกสีม่วงไม่ละลายน้ำ
- 7.) จากนั้นดูดสารละลาย MTT ทิ้ง แล้วเติมสารละลาย DMSO:10% SDS อัตราส่วน 9:1 ปริมาตร 150 ไมโครลิตรต่อหลุม เพื่อละลายผลึกฟอร์มazan จะได้สารละลายสีม่วง
- 8.) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครโตรีเตอร์ เพลท รีดเดอร์ ที่ความยาวคลื่นของแผ่นกรองแสงเท่ากับ 570 นาโนเมตร
- 9.) กำหนดค่า %Cytotoxicity ของแต่ละความเข้มข้นดังนี้

$$\%Cytotoxicity = [(A-B) / A] \times 100$$
 เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม (หลุมที่มีเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง)
 B = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์ในสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น
- 10.) ถ้า %Cytotoxicity มีค่าต่ำกว่า 50% หมายความว่าฟิล์มตัวอย่างไม่เป็นพิษต่อเซลล์
 ถ้า %Cytotoxicity มีค่าสูงเกิน 50% หมายความว่าฟิล์มตัวอย่างมีความเป็นพิษต่อเซลล์ [146]

3.5.8 การศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยตัวยาเบื้องต้นของฟิล์มไฮโดรเจล

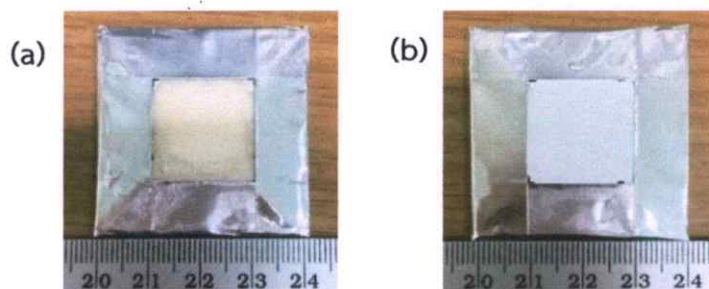
- การเตรียมกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

- 1.) เตรียมสารละลายพาราเซตามอลในสารละลาย PBS ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0, 1.2 และ 1.5 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ
- 2.) นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 242 นาโนเมตร
- 3.) พล็อตกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอลและปริมาณของพาราเซตามอล โดยแกน X คือ ปริมาณพาราเซตามอล และแกน Y คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล

- การตรวจวิเคราะห์ปริมาณพาราเซตามอลที่ถูกปลดปล่อยจากฟิล์มไฮโดรเจล

- 1.) ชั่งผงพาราเซตามอลประมาณ 150 มิลลิกรัม
- 2.) ใช้ฟิล์มไฮโดรเจลปิดทับผงยาไว้ที่แผ่นพลาสติกขนาด 4x4 เซนติเมตร² ผนึกด้วยเทปกาวอะลูมิเนียมทั้งสองด้านให้เหลือช่องว่างด้านในขนาด 2x2 เซนติเมตร² (รูปที่ 3.2 a)
- 3.) ใช้แผ่นเซลล์ูโลสอะซิเตทที่มีขนาดรูพรุน 0.2 µm ปิดทับบนฟิล์มอีกชั้นผนึกด้วยเทปกาวอะลูมิเนียมทั้งสองด้านให้เหลือช่องว่างด้านในขนาด 2x2 เซนติเมตร² (รูปที่ 3.2 b)
- 4.) นำแผ่นฟิล์มไปแช่ในสารละลาย PBS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 °C โดยให้ด้านแผ่นเซลล์ูโลสอะซิเตทสัมผัสกับสารละลาย PBS และให้แรงเขย่าเล็กน้อย
- 5.) เก็บสารละลายตัวอย่างที่ 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480 และ 1440 นาที ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรตามปริมาณของยาพาราเซตามอลที่ถูกปล่อยออกมา ถ้าพาราเซตามอลยังปลดปล่อยออกมาไม่หมดให้เก็บต่อทุก 8 ชม. และ 24 ชม. สลับกันจนมีค่าปริมาณการปลดปล่อยครบ 100% หรือคงที่ภายในเวลา 8 วัน
- 6.) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 242 นาโนเมตร ด้วยเทคนิค UV-Vis spectrophotometry

7.) นำค่าการดูดกลืนแสงของพาราเซตามอลที่ปลดปล่อยจากฟิล์มไฮโดรเจลมาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของยาที่ปลดปล่อยออกมา



รูปที่ 3.2 ภาพถ่ายแสดงชิ้นงาน (a) ชิ้นงานที่ปิดทับด้วยฟิล์มไฮโดรเจล และ (b) ชิ้นงานที่ปิดทับด้วยฟิล์มไฮโดรเจลและแผ่นเซลลูโลสอะซิเตท

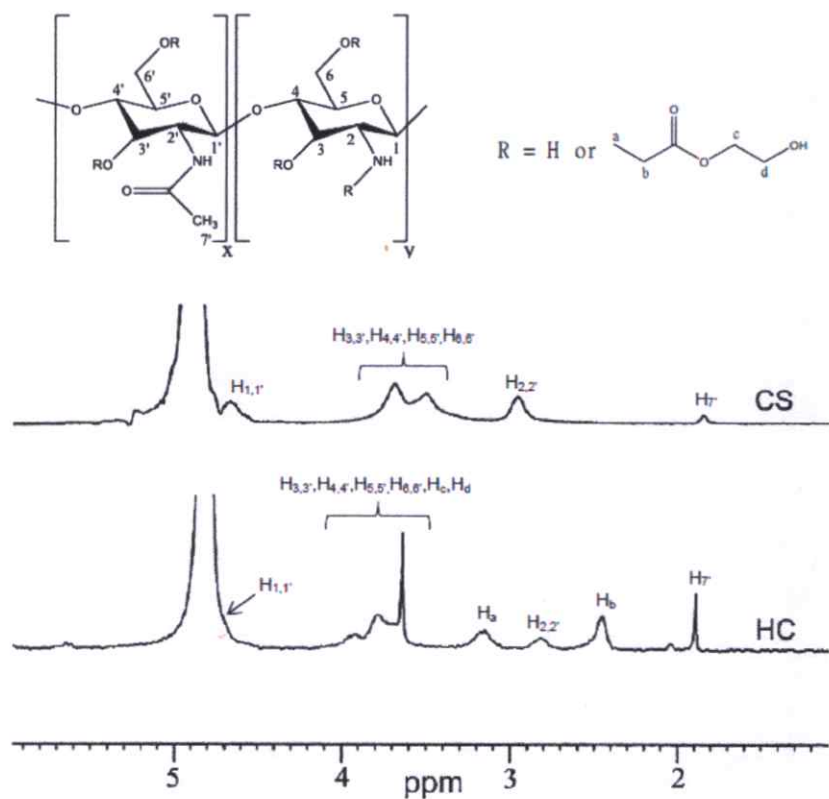
บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

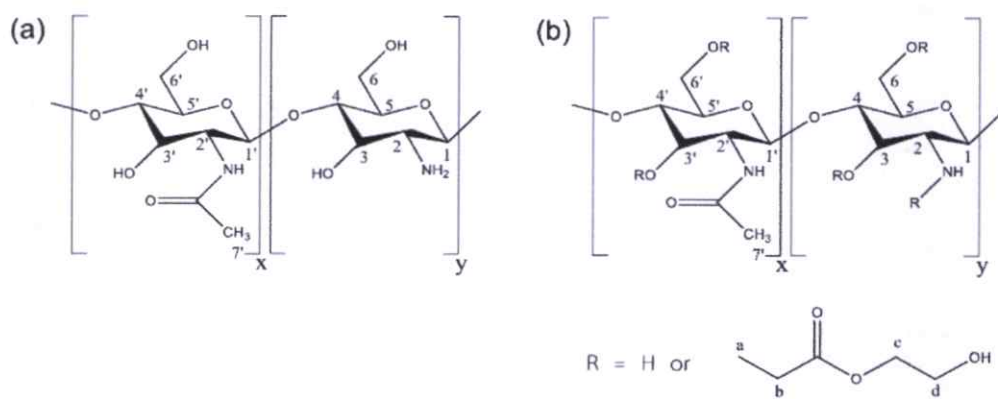
งานวิจัยนี้ศึกษาการเตรียมวัสดุปิดแผลควบคุมการปลดปล่อยยาจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาต-โคโตนานและโซเดียมอัลจิเนต โดยใช้อัตราส่วนของไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาตโคโตนานต่อโซเดียมอัลจิเนตเป็น 25:75, 50:50 และ 75:25 โดยน้ำหนัก แล้วทำการเชื่อมโยงทางประจุแบบจุ่มด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.2, 0.3 และ 0.5 M จากนั้นนำไปบรรจุอนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.5, 1, 5 และ 10 mM แล้วทำการเปลี่ยนให้เป็นอนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยปฏิกิริยารีดักชันกับโซเดียมโบโรไฮไดรด์ วัสดุปิดแผลที่เตรียมได้นำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค FTIR, SEM-EDS, XRD และ XRF จากนั้นศึกษาพฤติกรรมการบวมตัวในน้ำกลั่นและสารละลาย Phosphate buffer solution (PBS, pH 7.4) ที่ 37 °C, ค่าของแข็งคงเหลือหลังจากการบวมตัวในน้ำกลั่นและสารละลาย PBS ที่เวลา 24 ชั่วโมง, สมบัติเชิงกล, สมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย, สมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์ของฟิล์มไฮโดรเจล และพฤติกรรมการปลดปล่อยยาเบื้องต้นของฟิล์มไฮโดรเจลโดยใช้พาราเซตามอลเป็นยาต้นแบบ

4.1 การเตรียมฟิล์มจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาตโคโตนานและโซเดียมอัลจิเนต

ไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาตโคโตนาน (HC) สังเคราะห์จากโคโตนานกับไฮดรอกซีเอทิลอะคริเลตผ่านปฏิกิริยา Michael addition จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ แสดงดังรูปที่ 4.1 พบว่า HC มีโครงสร้างดังรูปที่ 4.2 และค่าองศาการแทนที่ (Degree of substitution ; DS) เท่ากับ 1.22-1.7 [19] โดย HC เป็นพอลิเมอร์ประจุบวกทำให้สามารถเชื่อมโยงบางส่วนกับพอลิเมอร์ประจุลบ อย่างโซเดียมอัลจิเนต (SA) ได้ จึงนำมาผสมกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของฟิล์ม โดยใช้อัตราส่วนของ HC:SA เท่ากับ 25:75, 50:50 และ 75:25 โดยน้ำหนัก แต่ยังไม่ให้ความแข็งแรงของฟิล์มได้ไม่เพียงพอ [19] จึงนำเทคนิค semi-IPNs มาใช้ซึ่งเป็นการนำพอลิเมอร์ 2 ชนิดมาผสมกันแล้วทำให้เกิดการเชื่อมโยงที่พอลิเมอร์เพียงชนิดเดียว ดังนั้นในงานนี้จึงเลือก SA เป็นตัวที่ถูกเชื่อมโยงเพียงชนิดเดียว เนื่องจาก SA สามารถเกิดการเชื่อมโยงกับไอออนประจุบวกชนิดไดวาเลนต์ เช่น แคลเซียมไอออน ซึ่งเป็นสารที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย เกิดเป็นโครงสร้างของเจลที่มีลักษณะคล้ายกล่องไข่ (Egg box) ได้ (รูป 2.15) [130] ในขณะที่โคโตนานมีความสามารถในการจับกับโลหะอัลคาไลน์เอิร์ธ เช่น Ca^{2+} ที่ต่ำ เนื่องจากธาตุโลหะอัลคาไลน์เอิร์ธไม่มีการจัดเรียงอิเล็กตรอนใน d และ f ออร์บิทัล ต่างจากโลหะทรานซิชัน [140] จึงไม่เกิดการเชื่อมโยงกับแคลเซียมไอออน



รูปที่ 4.1 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของ CS และ HC [19]



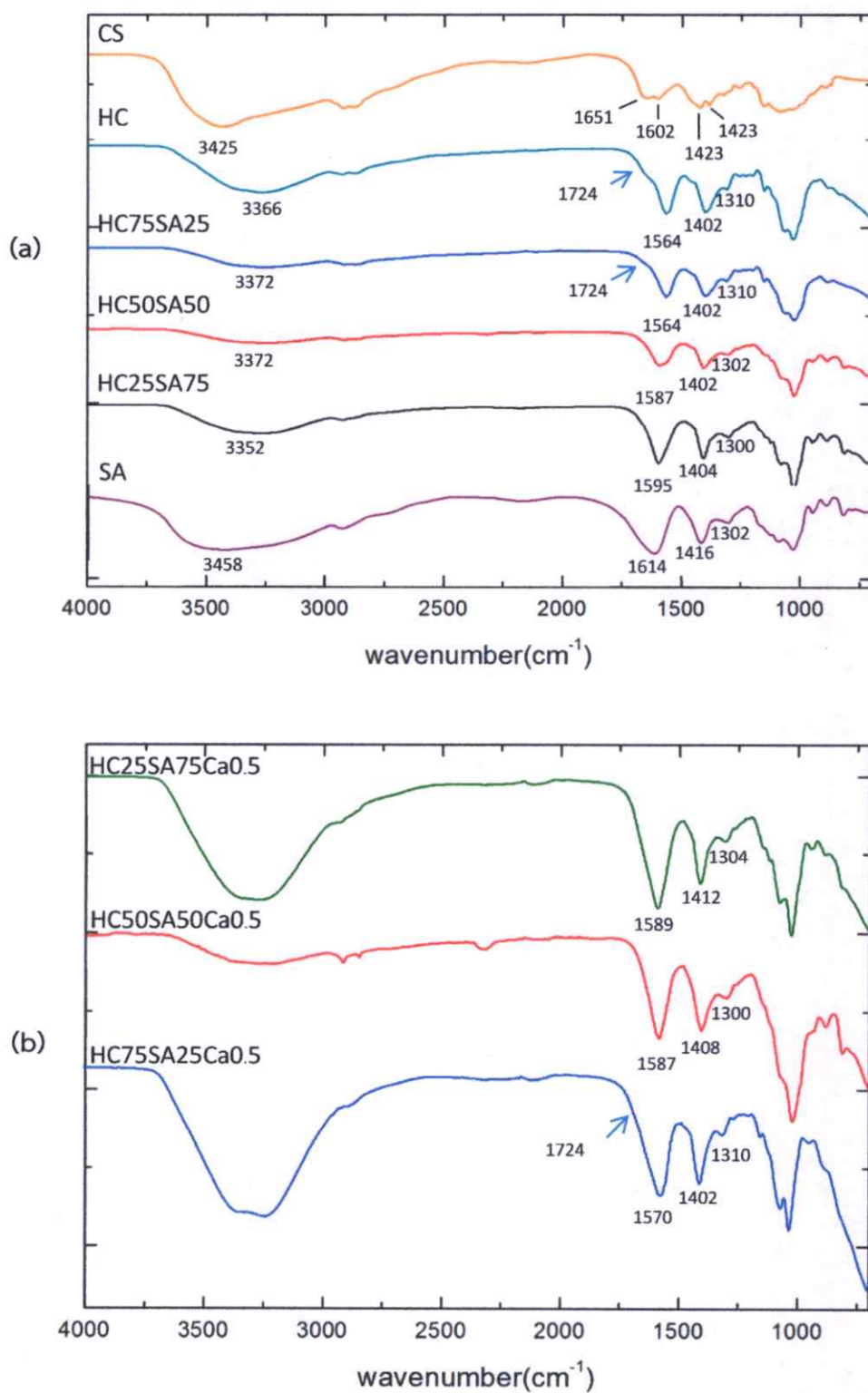
รูปที่ 4.2 โครงสร้างของ (a) ไคโตซาน และ (b) ไฮดรอกซีเอทิลอะคริลไคโตซาน

4.1.1 ผลของอัตราส่วนระหว่างไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาตโคโตนกับโซเดียมอัลจิเนต

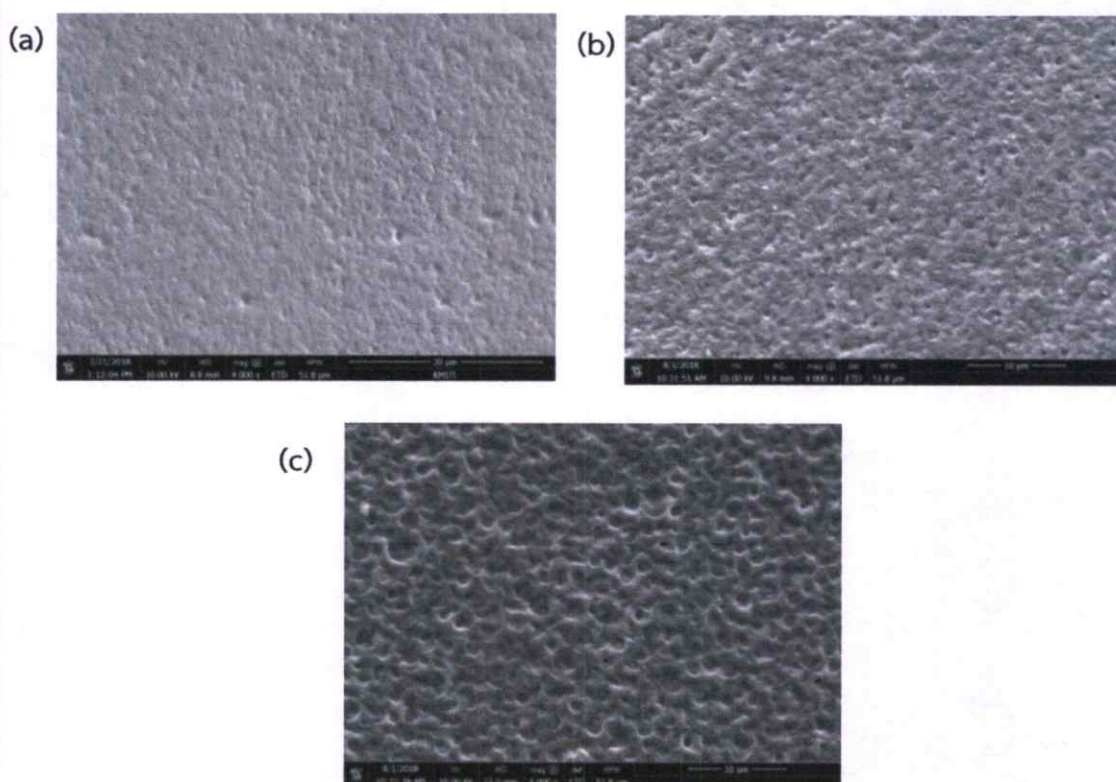
4.1.1.1 การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์ม

ฟิล์ม HC/SA ที่อัตราส่วน 25:75, 50:50 และ 75:25 โดยน้ำหนักทั้งแบบไม่เชื่อมโยงและเชื่อมโยงด้วยแคลเซียมไอออน นำมาตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์โดยใช้เทคนิค FT-IR แสดงดังรูปที่ 4.3 จากรูปที่ 4.3 (a) พบว่า FTIR สเปกตรัมของฟิล์ม HC พบปรากฏพิกที่สำคัญที่ 3366 cm^{-1} เป็นการสั่นของ N-H และ O-H stretching ในโมเลกุลของ HC ส่วนไหล่พิกที่ขึ้นประมาณ 1724 cm^{-1} เป็นการสั่นของ C=O stretching ของหมู่ไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาตใน HC และพิกที่ 1564 , 1402 และ 1310 cm^{-1} เป็นการสั่นของ -COO^- asymmetric stretching, -COO^- symmetric stretching และ N-H bending ตามลำดับ [138] ซึ่งมีพิกที่ต่างจาก FTIR สเปกตรัมของโคโตนาน (CS) แสดงให้เห็นว่า CS เกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็น HC ส่วน FTIR สเปกตรัมของ SA พบพิกขึ้นที่ 3458 , 1614 , 1416 และ 1302 cm^{-1} ซึ่งเป็นการสั่นของ O-H stretching, -COO^- asymmetric stretching, -COO^- symmetric stretching และ C-O stretching ตามลำดับ [141] สำหรับ FTIR สเปกตรัมของฟิล์ม HC/SA สูตร HC25SA75 พบพิกขึ้นที่ 3352 , 1595 , 1404 และ 1300 cm^{-1} ฟิล์มสูตร HC50SA50 พบพิกขึ้นที่ 3372 , 1587 , 1402 และ 1302 cm^{-1} ส่วนฟิล์มสูตร HC75SA25 พบพิกขึ้นที่ 3372 , 1724 , 1564 , 1402 และ 1310 cm^{-1} โดยพบว่าพิกที่ปรากฏเป็นพิกที่เกิดจากการเลื่อนของพิก HC และ SA ซึ่งเป็นค่าที่ได้จากการรวมกันของ O-H stretching, -COO^- asymmetric stretching, -COO^- symmetric stretching และ N-H bending กับ C-O stretching ของ HC กับ SA ตามลำดับ นอกจากนี้สูตร HC75SA25 พบพิกของ C=O stretching ของหมู่ไฮดรอกซีเอทิลอะคริลาตใน HC เนื่องจากมีปริมาณของ HC ที่สูงกว่า ซึ่งผลเหล่านี้แสดงถึงความเข้ากันได้ระดับโมเลกุลที่ีระหว่าง SA และ HC

FTIR สเปกตรัมของฟิล์ม HC/SA ที่มีการเชื่อมโยงด้วย CaCl_2 0.5 M ในรูปที่ 4.3 (b) พบว่าพิกการสั่นของ -COO^- symmetric stretching ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 และ HC50SA50Ca0.5 มีการเลื่อนจากที่ 1404 และ 1402 cm^{-1} ไปยังค่า wavenumber ที่สูงขึ้นที่ 1412 และ 1408 cm^{-1} ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงพันธะไอออนิกของหมู่คาร์บอกซิเลต (-COO^-) ของ SA จาก Na^+ ไปเป็น Ca^{2+} [141] ส่วนฟิล์มสูตร HC75SA25Ca0.5 ไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงของพิก เนื่องจากมีปริมาณของ SA ที่น้อย

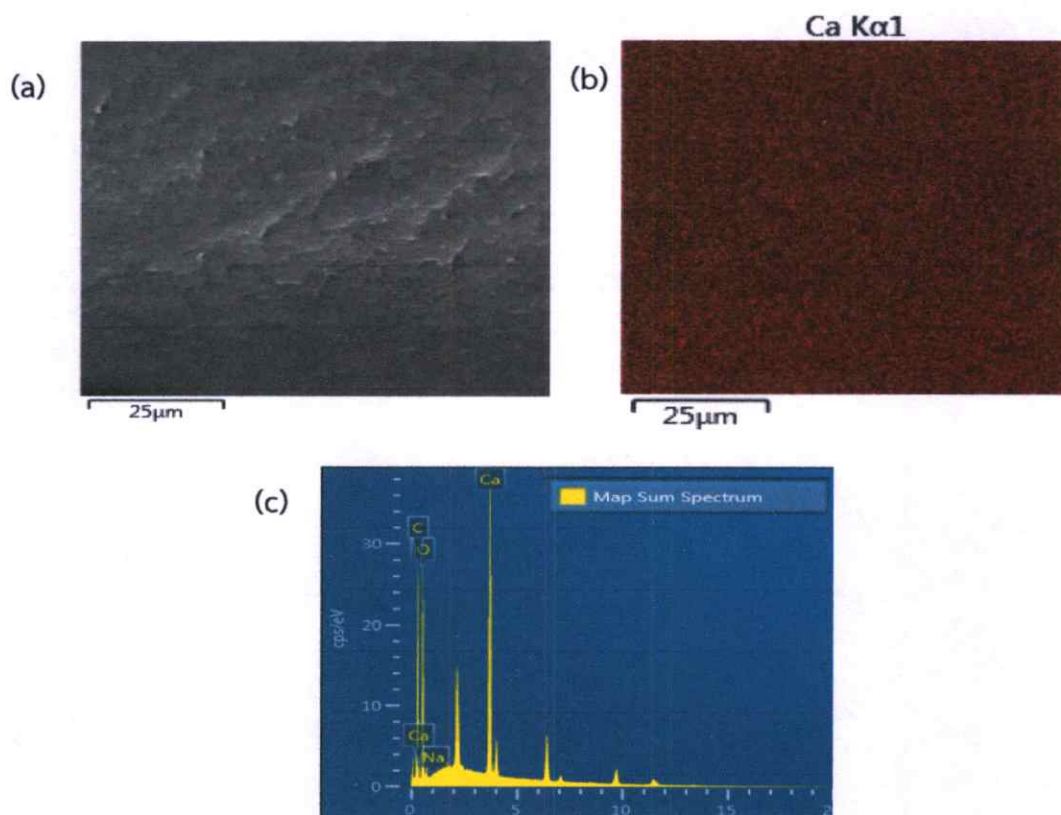


รูปที่ 4.3 FTIR สเปกตร้า (a) फिल्मที่ไม่เชื่อมโยง และ (b) फिल्मที่เชื่อมโยงด้วย CaCl_2 0.5 M



รูปที่ 4.4 ภาพถ่ายพื้นผิวด้วย SEM (a) HC25SA75Ca0.5, (b) HC50SA50Ca0.5 และ (c) HC75SA25Ca0.5

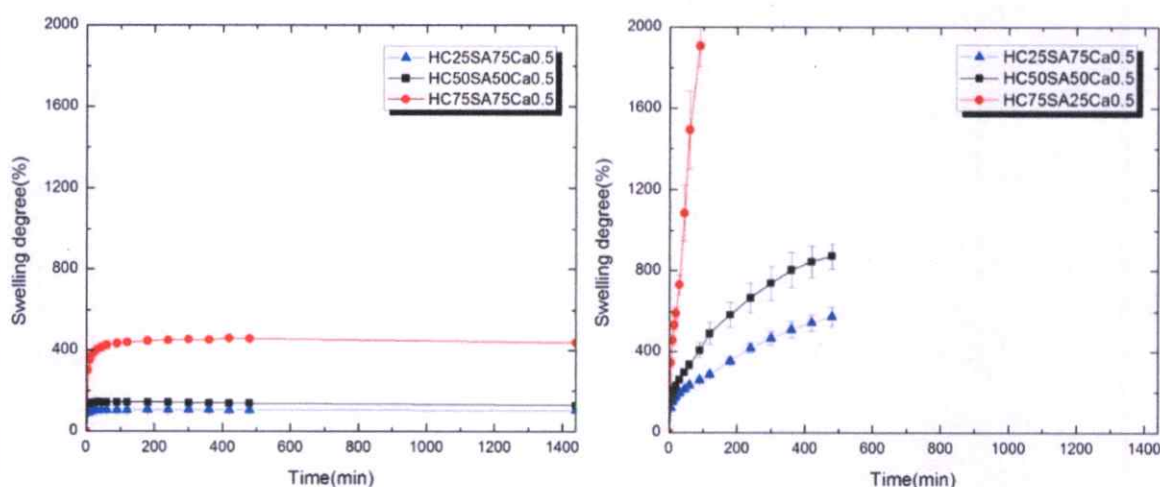
เมื่อตรวจสอบสัณฐานวิทยาของฟิล์มด้วยภาพถ่าย SEM พื้นผิวของฟิล์มแสดงดังรูปที่ 4.4 พบว่าบริเวณพื้นผิวของฟิล์มสูตร HC75SA25Ca0.5 ซึ่งเป็นสูตรที่มีปริมาณ HC มากที่สุด มีความขรุขระมากกว่าสูตร HC50SA50Ca0.5 และ HC25SA75Ca0.5 ซึ่งมีปริมาณ HC น้อยลงตามลำดับเนื่องจาก HC ไม่เกิดการเชื่อมโยงกับแคลเซียมไอออน ดังนั้นสูตรที่มีปริมาณ HC มากจึงมีปริมาณไอออนของแคลเซียมอิสระจำนวนมากและเกิดเป็นผลึกของแคลเซียมคลอไรด์เกาะอยู่ที่บริเวณพื้นผิว เมื่อฟิล์มผ่านกระบวนการล้างด้วยน้ำกลั่นทำให้ผลึกหลุดออกทำให้พื้นผิวมีลักษณะเป็นหลุมตามปริมาณของแคลเซียมไอออนที่ไม่เกิดการเชื่อมโยง



รูปที่ 4.5 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 (a) ภาพตัดขวางของฟิล์ม, (b) ภาพแสดงการกระจายตัวของธาตุแคลเซียม และ (c) สเปกตรัมแสดงปริมาณธาตุที่พบทั้งหมดภายในฟิล์ม

จากรูปที่ 4.5 เป็นภาพถ่าย SEM ภาพตัดขวางจากขอบบนถึงขอบล่างของฟิล์มพบว่า HC/SA มีความเข้ากันได้ดีเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลของ FTIR และ จากเทคนิค EDS พบว่ามีพีคของธาตุแคลเซียมปรากฏอยู่ในฟิล์มและมีการกระจายตัวของแคลเซียมไอออนอยู่ทั่วทั้งชิ้นงาน (ลักษณะของจุดสีแดงแทนปริมาณของธาตุแคลเซียมซึ่งกระจายอยู่ทั่วทั้งชิ้นงาน) แสดงถึงความมีประสิทธิภาพในการเชื่อมโยงด้วยไอออนของแคลเซียมด้วยวิธีแบบจุ่ม โดยภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC75SA25Ca0.5 และ สูตร HC50SA50Ca0.5 ให้ผลที่ใกล้เคียงกันแสดงในภาคผนวก ก รูปที่ ก 1 และ ก 2 ตามลำดับ

4.1.1.2 พฤติกรรมการบวมตัวและค่าของแข็งคงเหลือของฟิล์ม



รูปที่ 4.6 พฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์ม HC/SA ที่อุณหภูมิ 37 °C ใน (a) น้ำกลั่น (b) สารละลาย PBS

พฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มทั้ง 3 สูตรในน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 37 °C แสดงดังรูปที่ 4.6 (a) พบว่าฟิล์มสูตร HC75SA25Ca0.5 มีค่าเปอร์เซ็นต์การบวมตัวสูงที่สุดอยู่ที่ประมาณ 450 % ส่วนสูตร HC50SA50Ca0.5 และ HC25SA75Ca0.5 มีค่าเปอร์เซ็นต์การบวมตัวประมาณ 140 % และ 100 % ตามลำดับ โดยฟิล์มทุกสูตรมีค่าการบวมตัวที่คงที่ตั้งแต่ที่เวลา 30 นาทีและสามารถคงสภาพอยู่ในน้ำกลั่นตลอดระยะเวลาการทดสอบที่ 24 ชม. ค่าของแข็งคงเหลือและปริมาณน้ำคงอยู่ภายในฟิล์มเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง แสดงในตารางที่ 4.1 พบว่า ฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 มีค่าของแข็งคงเหลืออยู่ประมาณ 99% และมีปริมาณน้ำคงอยู่ภายในฟิล์มประมาณ 210% ในขณะที่ฟิล์มสูตร HC50SA50Ca0.5 มีปริมาณของแข็งคงเหลืออยู่ 85% มีปริมาณน้ำคงอยู่ภายในฟิล์มประมาณ 270% และสูตร HC75SA25Ca0.5 มีปริมาณของแข็งคงเหลืออยู่ 60% มีปริมาณน้ำคงอยู่ภายในฟิล์มประมาณ 900% โดยค่าการบวมตัวและปริมาณน้ำคงอยู่ภายในฟิล์ม มีค่าแปรผกผันกับปริมาณของแข็งคงเหลือ เนื่องจากผลของปริมาณการเชื่อมโยงในฟิล์มแต่ละสูตรที่ไม่เท่ากัน โดยฟิล์มที่มีปริมาณ SA มากกว่าสามารถเชื่อมโยงด้วยแคลเซียมไอออนได้หนาแน่นกว่า ($HC25SA75Ca0.5 > HC50SA50Ca0.5 > HC75SA25Ca0.5$) ทำให้โมเลกุลของน้ำแทรกตัวเข้าไปอยู่ในช่องว่างระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์และเกิดการบวมตัวของฟิล์มที่ไม่เท่ากัน โดยความสามารถในการต้านทานน้ำของฟิล์มทั้ง 3 สูตรเรียงลำดับได้ดังนี้ $HC25SA75Ca0.5 > HC50SA50Ca0.5 > HC75SA25Ca0.5$

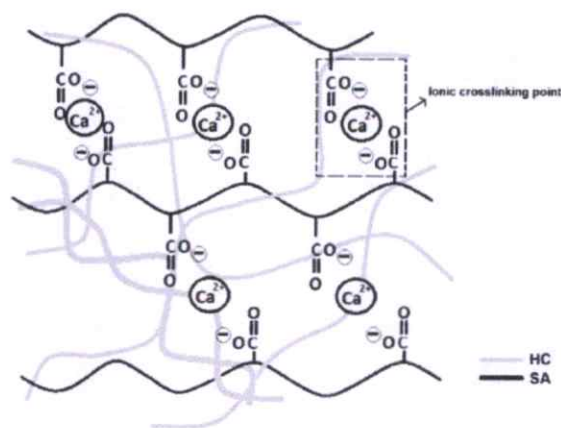
จากผลการบวมตัวและค่าของแข็งคงเหลือแสดงให้เห็นว่าฟิล์มสูตร HC75SA25Ca0.5 มีปริมาณการเชื่อมโยงด้วยแคลเซียมไอออนที่ต่ำกว่าฟิล์มสูตรอื่นและเกิดการละลายออกของส่วน HC ภายในฟิล์ม (ค่าของแข็งคงเหลือที่ลดลง) ซึ่งสอดคล้องกับผลของภาพถ่าย SEM บริเวณพื้นผิวของฟิล์มที่แสดงให้เห็นว่ามีปริมาณแคลเซียมไอออนอิสระที่ไม่เกิดการเชื่อมโยงอยู่มากตามปริมาณ HC ในสูตรฟิล์ม ดังนั้นโครงสร้างของ HC/SA ในฟิล์มจึงคาดว่ามีลักษณะเป็นโครงสร้างแบบ semi-IPNs โดย SA เป็นพอลิเมอร์ส่วนที่มีการเชื่อมโยงด้วยแคลเซียมไอออนและ HC

เป็นพอลิเมอร์ที่ไม่เกิดการเชื่อมโยงสอดประสานอยู่ในพอลิเมอร์ SA โดยโครงสร้าง semi-IPNs ของฟิล์ม HC/SA แสดงดังรูปที่ 4.7

พฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มในสารละลาย PBS ที่อุณหภูมิ 37 °C จากรูปที่ 4.6 (b) พบว่าฟิล์มสูตร HC75SA25Ca0.5 มีเปอร์เซ็นต์การบวมตัวที่เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ อย่างรวดเร็วและเสียสภาพเมื่อเวลาผ่านไป 90 นาที ส่วนฟิล์มสูตร HC50SA50Ca0.5 และ HC25SA75Ca0.5 มีเปอร์เซ็นต์การบวมตัวที่เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เช่นกัน แต่ใช้เวลาในการเสียสภาพนานกว่า โดยเกิดการเสียสภาพเมื่อเวลาผ่านไป 8 ชม. ทำให้ไม่สามารถหาค่าของแข็งคงเหลือและปริมาณน้ำคงอยู่ในสารละลาย PBS เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชม. ของฟิล์มทั้ง 3 สูตรได้ โดยฟิล์มทุกสูตรมีเปอร์เซ็นต์การบวมตัวที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับการบวมตัวในน้ำกลั่น เนื่องจากในสารละลาย PBS มีไอออนประจุลบ เช่น ฟอสเฟส (PO_4^{3-}) ที่มีความสามารถในการจับกับประจุบวกของแคลเซียมไอออนที่สูงกว่า SA จึงเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างฟิล์มกับสารละลาย ทำให้เกิดการหลุดออกของอันตรกิริยาระหว่างหมู่คาร์บอกซิเลตของ SA กับ แคลเซียมไอออน [142] เมื่อเวลาผ่านไปแคลเซียมไอออนที่เป็นตัวเชื่อมโยงหลุดออกไปเพิ่มขึ้น SA จึงเริ่มละลายทำให้ฟิล์มไม่สามารถคงสภาพอยู่ได้ ซึ่งแสดงว่าฟิล์มทุกสูตรสามารถสลายตัวได้ในสารละลาย PBS

ตารางที่ 4.1 ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำคงอยู่และค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งคงเหลือในน้ำกลั่นที่ 24 ชม. ของฟิล์ม HC/SA

Sample	Water content (%)	Gel content (%)
HC25SA75Ca0.5	206	99.2
HC50SA50Ca0.5	268	85.4
HC75SA25Ca0.5	906	59.5

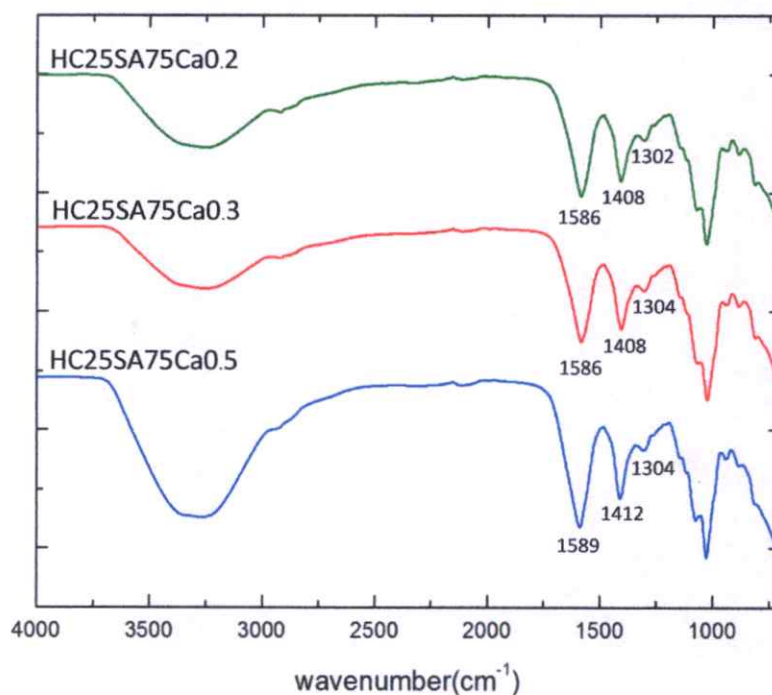


รูปที่ 4.7 โครงสร้างร่างแหของฟิล์ม HC/SA ที่เชื่อมโยงด้วยแคลเซียมไอออน [19]

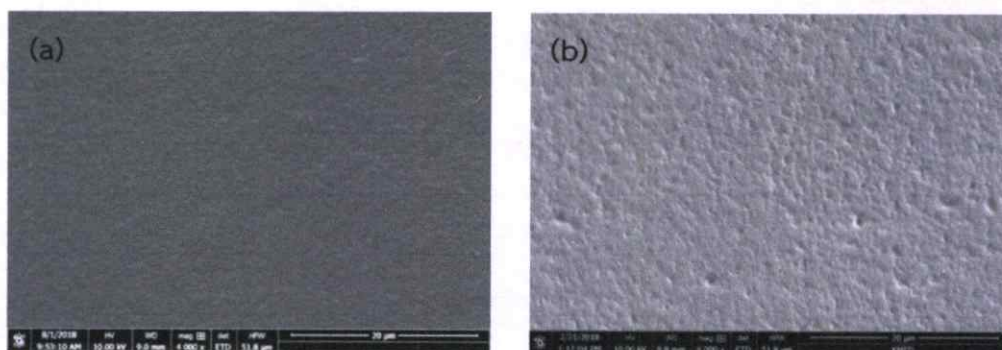
4.1.2 ผลของการเชื่อมโยงทางประจุด้วยแคลเซียมไอออนที่ความเข้มข้นต่างกัน

4.1.2.1 การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์ม

จากผลของค่าปริมาณของแข็งที่เหลือของฟิล์ม HC/SA ที่อัตราส่วน 25:75, 50:50 และ 75:25 โดยน้ำหนัก ที่เชื่อมโยงด้วย CaCl_2 0.5 M พบว่าฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 มีปริมาณค่าของแข็งที่เหลือที่มากที่สุด จึงนำมาศึกษาผลของความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ โดยลดความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ที่ใช้ในการจุ่มฟิล์มเป็น 0.2 และ 0.3 M แล้วนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค FTIR จากรูปที่ 4.8 แสดง FTIR สเปกตรัม ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2, HC25SA75Ca0.3 และ HC25SA75Ca0.5 พบว่าที่พีคประมาณ 1590 และ 1410 cm^{-1} เป็นพีคการสั่นของ $-\text{COO}^-$ stretching ซึ่งมีค่าที่ไม่แตกต่างกันทั้ง 3 สูตร

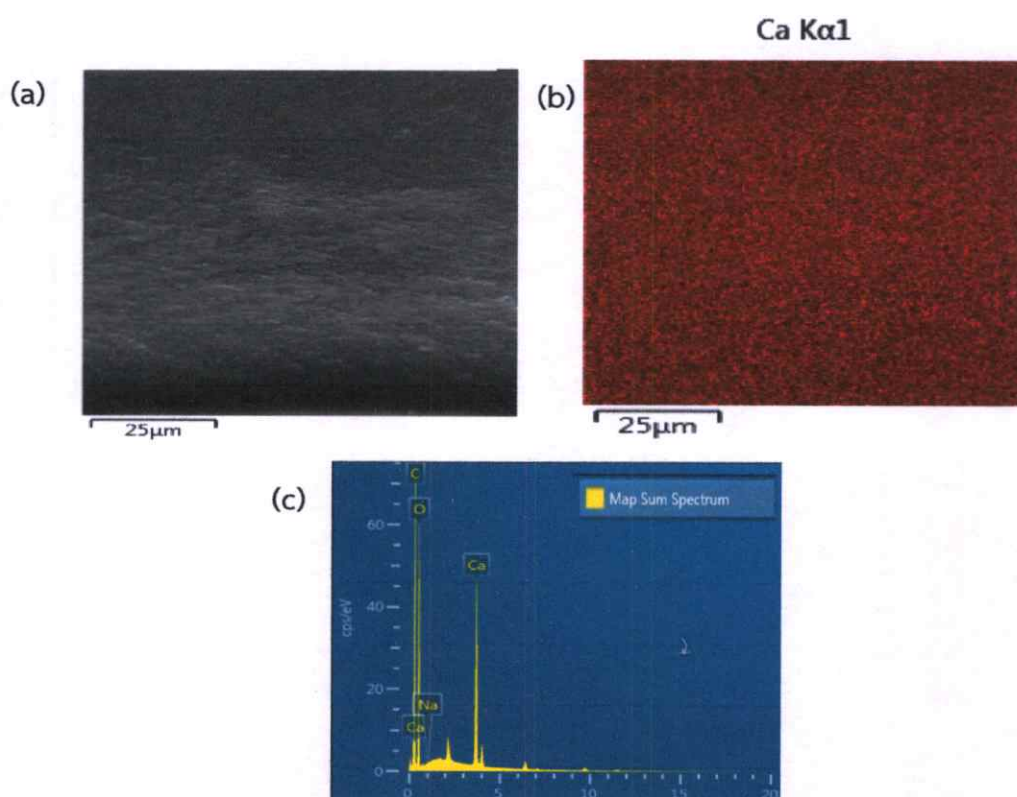


รูปที่ 4.8 FTIR สเปกตรัมของฟิล์มสูตร HC25SA75 ที่เชื่อมโยงด้วย CaCl_2 ความเข้มข้นต่างกัน



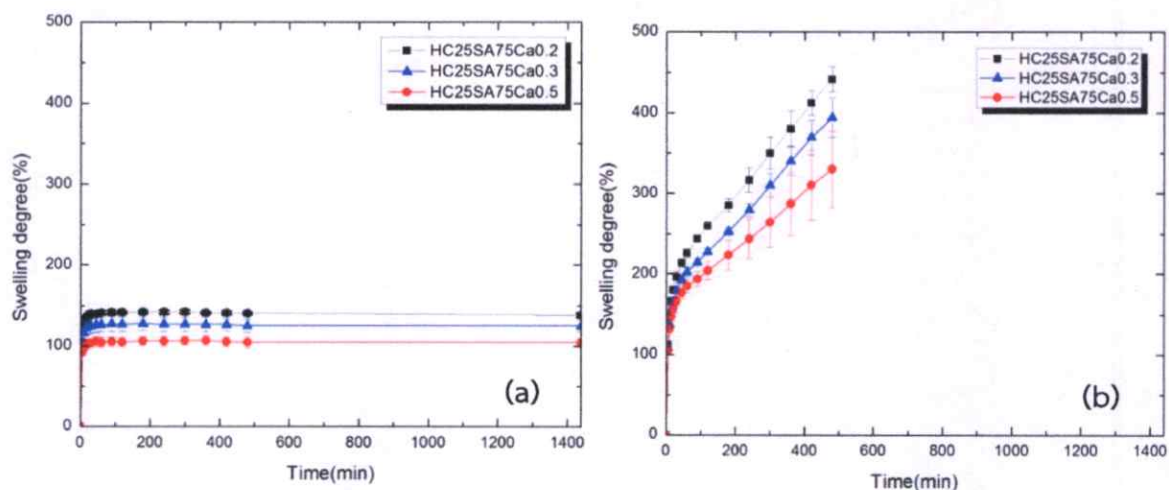
รูปที่ 4.9 ภาพถ่ายพื้นผิวด้วย SEM (a) HC25SA75Ca0.2 และ (b) HC25SA75Ca0.5

จากการตรวจสอบสัณฐานวิทยาของฟิล์มดังรูปที่ 4.9 ซึ่งแสดงภาพถ่าย SEM ที่บริเวณพื้นผิวของฟิล์มสูตร HC25SA75 ที่ความเข้มข้นของ CaCl_2 ต่างกันพบว่า ฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2 มีพื้นผิวที่เรียบกว่าฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 เนื่องจากความเข้มข้นของ CaCl_2 ที่ต่ำกว่าจึงมีปริมาณของแคลเซียมไอออนอิสระที่ไม่เกิดการเชื่อมโยงน้อยกว่า จึงทำให้เกิดการจับกันเป็นผลึกแคลเซียมเกาะอยู่บนพื้นผิวลดลง เมื่อนำฟิล์มไปล้างน้ำจึงเหลือเป็นร่องรอยการหลุดออกของผลึกแคลเซียมลดลง และจากรูปที่ 4.10 เป็นภาพถ่าย SEM ภาพตัดขวางจากขอบบนถึงขอบล่างของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2 โดยใช้เทคนิค EDS พบว่าฟิล์มมีฟิสิกของธาตุแคลเซียมปรากฏอยู่และมีการกระจายตัวของแคลเซียมไอออนอยู่ทั่วทั้งชิ้นงาน ซึ่งให้ผลที่คล้ายกันกับฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 และ HC25SA75Ca0.3 โดยแสดงในภาคผนวก ก รูปที่ ก 3 และ ก 4 ตามลำดับ แสดงถึงควมมีประสิทธิภาพในการเชื่อมโยงด้วยแคลเซียมไอออนด้วยวิธีแบบจุ่มที่ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ต่างกัน (0.2-0.5 M)



รูปที่ 4.10 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2 (a) ภาพตัดขวางของฟิล์ม, (b) ภาพแสดงการกระจายตัวของธาตุแคลเซียม และ (c) สเปกตรัมแสดงปริมาณธาตุที่พบทั้งหมดภายในฟิล์ม

4.1.2.2 พฤติกรรมการบวมตัวและค่าของแข็งคงเหลือของฟิล์ม



รูปที่ 4.11 พฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มสูตร HC25SA75 ที่เชื่อมโยงด้วย CaCl_2 ความเข้มข้นต่างกันที่อุณหภูมิ 37°C ใน (a) น้ำกลั่น (b) สารละลาย PBS

พฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มในน้ำกลั่นที่ 37°C แสดงดังรูปที่ 4.11 (a) พบว่าฟิล์มทั้ง 3 สูตรมีค่าเปอร์เซ็นต์การบวมตัวสูงสุดไม่แตกต่างกันมากนัก โดยฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2 มีค่าเปอร์เซ็นต์การบวมตัวสูงสุดอยู่ที่ประมาณ 140% ส่วนสูตร HC25SA75Ca0.3 และ HC25SA75Ca0.5 มีค่าเปอร์เซ็นต์การบวมตัวสูงสุดอยู่ที่ประมาณ 125% และ 100% ตามลำดับ โดยทุกสูตรมีค่าการบวมตัวที่คงที่จนถึง 24 ชั่วโมง และจากตารางที่ 4.2 พบว่า ฟิล์มทั้ง 3 สูตร มีค่าของแข็งคงเหลือที่เวลา 24 ชั่วโมงใกล้เคียงกันประมาณ 99% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าฟิล์มทั้ง 3 สูตรสามารถคงสภาพอยู่ได้ในน้ำกลั่นโดยไม่เกิดการละลายออกของสารภายในฟิล์ม จากค่าปริมาณน้ำคงอยู่ภายในฟิล์มที่เวลา 24 ชั่วโมงของสูตร HC25SA75Ca0.2 มีค่าประมาณ 240% สูตร HC25SA75Ca0.3 มีค่าประมาณ 230% และสูตร HC25SA75Ca0.5 มีค่าประมาณ 210% ซึ่งไม่แตกต่างกันมากนักสอดคล้องกับค่าการบวมตัว ส่วนพฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มในสารละลาย PBS ที่อุณหภูมิ 37°C จากรูปที่ 4.11 (b) พบว่าฟิล์มทั้ง 3 สูตร มีเปอร์เซ็นต์การบวมตัวที่เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ โดยมีค่าการบวมตัวที่เพิ่มขึ้นมากกว่าในน้ำกลั่น และเกิดการเสถียรภาพเมื่อเวลาผ่านไป 8 ชม. ทำให้ไม่สามารถหาค่าของแข็งคงเหลือและปริมาณน้ำคงอยู่ในสารละลาย PBS เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชม. ของฟิล์มทุกสูตรได้ แสดงว่าฟิล์มทุกสูตรสามารถละลายตัวได้ในสารละลาย PBS ดังนั้นการลดความเข้มข้นของ CaCl_2 ลงช่วยทำให้ฟิล์มสามารถกักเก็บน้ำไว้ในโครงสร้างได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากผลของปริมาณการเชื่อมโยงในฟิล์มที่ลดลง

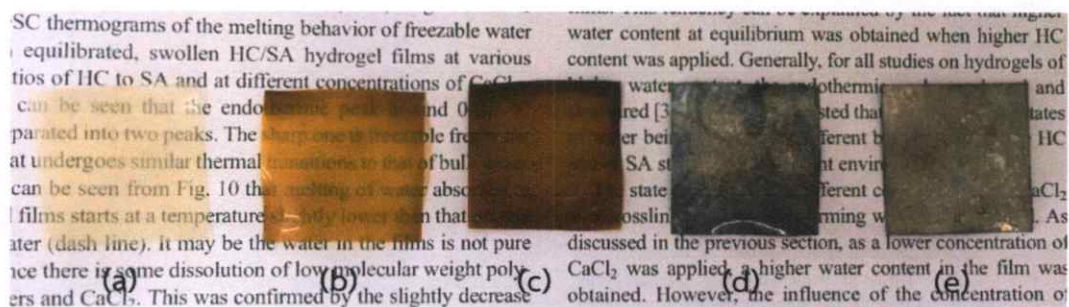
ตารางที่ 4.2 ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำคงอยู่และค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งคงเหลือในน้ำกลั่นที่ 24 ชม. ของฟิล์มสูตร HC25SA75 ที่เชื่อมโยงด้วย CaCl_2 ความเข้มข้นต่างกัน

Sample	Water content (%)	Gel content (%)
HC25SA75Ca0.2	242	98.6
HC25SA75Ca0.3	229	98.3
HC25SA75Ca0.5	206	99.2

4.1.3 ผลของการเติม AgNO_3 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในฟิล์ม

4.1.3.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์ม

นำฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 ซึ่งมีปริมาณค่าของแข็งคงเหลือที่มากที่สุด มาศึกษาผลของการเติม AgNO_3 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยนำฟิล์มไปแช่ในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรด (AgNO_3) ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5 และ 10 mM จากนั้นนำฟิล์มไปทำปฏิกิริยารีดักชันกับโซเดียมโบโรไฮไดรด์เพื่อให้ได้ฟิล์มที่บรรจุอนุภาคซิลเวอร์นาโน (AgNPs) โดยภาพถ่ายของฟิล์มที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.12 ซึ่งพบว่าสีของฟิล์มเปลี่ยนไปตามความเข้มข้นของ AgNO_3 โดยฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag0.5 (รูป a) มีลักษณะโปร่งแสงมีสีน้ำตาลอมเหลือง และ ฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag1 (รูป b) มีลักษณะโปร่งแสงน้อยลงและมีสีน้ำตาลเข้ม โดยสีโทนเหลืองกึ่งน้ำตาลเป็นลักษณะสีของ AgNPs [143] ในขณะที่ฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag5 และ HC25SA75Ca0.5Ag10 เป็นฟิล์มทึบแสงสีเงิน เนื่องจากมีปริมาณของซิลเวอร์ไอออนที่มากเกินไปเกิดปฏิกิริยารีดักชันจึงเกิดเป็นอนุภาคซิลเวอร์เกาะกลุ่มกันอยู่บริเวณพื้นผิวทำให้ฟิล์มทึบแสง

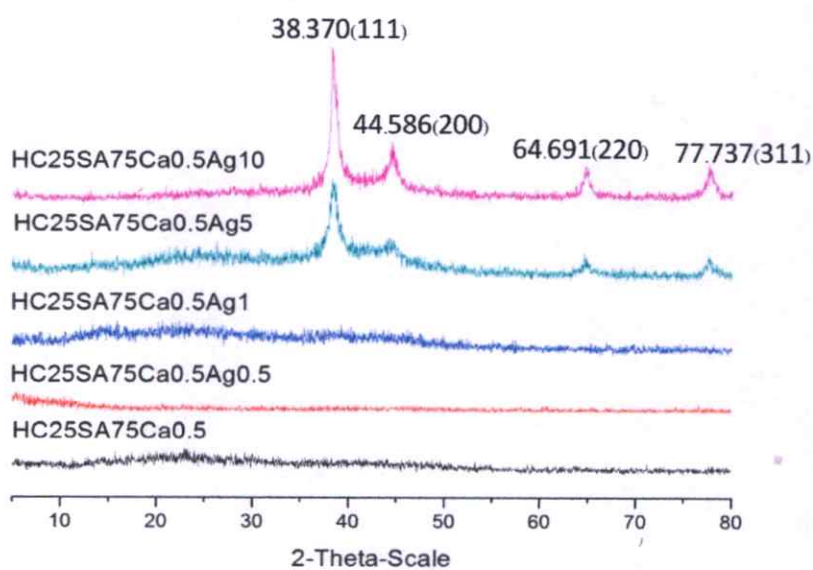


รูปที่ 4.12 ภาพถ่ายแสดงลักษณะของฟิล์ม (a) HC25SA75Ca0.5, (b) HC25SA75Ca0.5Ag0.5, (c) HC25SA75Ca0.5Ag1, (d) HC25SA75Ca0.5Ag5 และ (e) HC25SA75Ca0.5Ag10

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์องค์ประกอบของธาตุหรือสารประกอบของฟิล์ม

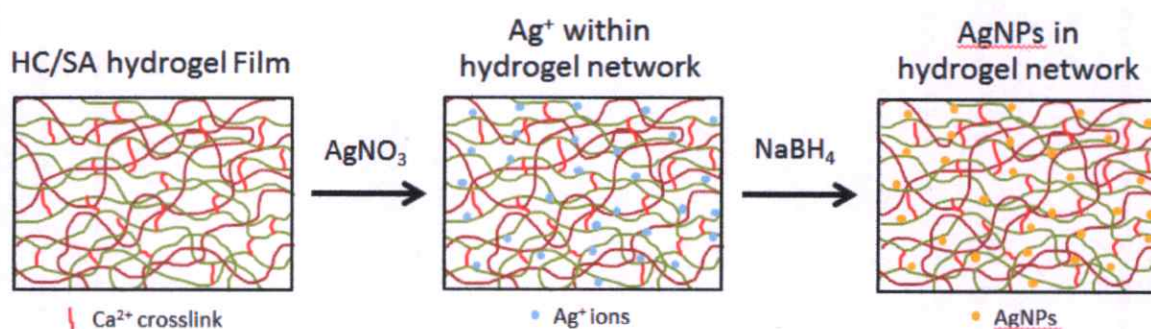
sample	Chemical elements presence (%)			
	Ag	CaO	Na ₂ O	Cl
HC25SA75Ca0.5	-	99.8	-	0.16
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	0.59	95.5	3.81	-
HC25SA75Ca0.5Ag1	1.48	93.9	4.09	0.21
HC25SA75Ca0.5Ag5	10.2	85.5	3.47	0.57
HC25SA75Ca0.5Ag10	19.7	76.8	2.21	0.84

จากการหาองค์ประกอบทางเคมีของฟิล์มด้วยเทคนิค XRF แสดงผลดังตารางที่ 4.3 พบว่าฟิล์มทั้ง 5 สูตรมีแคลเซียมไอออนเป็นองค์ประกอบอยู่เนื่องจากเป็นสารเชื่อมโยงในฟิล์มทุกสูตร ส่วนธาตุซิลเวอร์ไม่สามารถตรวจพบได้ในฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 เนื่องจากไม่ได้มีการนำมาใช้กับฟิล์มสูตรนี้ ในขณะที่ธาตุซิลเวอร์สามารถตรวจพบได้ในฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag0.5, HC25SA75Ca0.5Ag1, HC25SA75Ca0.5Ag5 และ HC25SA75Ca0.5Ag10 ที่ค่าเปอร์เซ็นต์ของธาตุที่ปรากฏประมาณ 0.6%, 1.5%, 10% และ 20% ตามลำดับ โดยปริมาณของธาตุซิลเวอร์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ AgNO₃ ที่ใช้ในฟิล์ม แต่เนื่องจากเทคนิคนี้สามารถตรวจวัดธาตุองค์ประกอบได้เฉพาะธาตุที่มี AMU มากกว่า 22 ซึ่งหมายความว่าธาตุองค์ประกอบเช่น C, O หรือ H ไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยเทคนิคนี้ [144] ดังนั้นเปอร์เซ็นต์ของธาตุที่พบในฟิล์มจึงไม่ใช่ค่าที่แท้จริง แต่สามารถใช้ข้อมูลในเชิงเปรียบเทียบได้

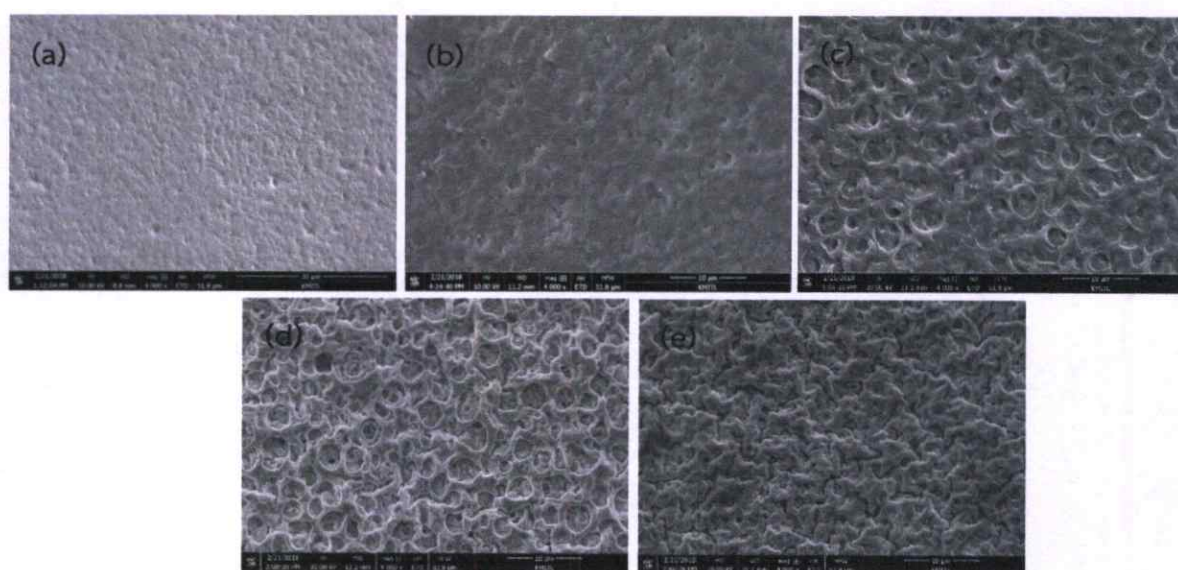


รูปที่ 4.13 XRD pattern

เพื่อยืนยันว่าซิลเวอร์ที่ปรากฏอยู่ภายในฟิล์มเป็น AgNPs จึงใช้เทคนิค XRD .ในการตรวจวัด โดยแสดงผลดังรูปที่ 4.13 พบว่าฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag10 และ HC25SA75Ca0.5Ag5 มีพีคขึ้นที่ 2θ เท่ากับ 38.370(111), 44.586(200), 64.691(220), และ 77.737(311). ซึ่งเป็นพีคของผลึกของ AgNPs [3] จึงบอกได้ว่าซิลเวอร์ไอออนมีการเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของอนุภาคซิลเวอร์นาโน โดยสูตร HC25SA75Ca0.5Ag10 มี intensity ของพีคสูงกว่าสูตร HC25SA75Ca0.5Ag5 เนื่องจากมีปริมาณของ AgNPs ที่สูงกว่า ในขณะที่สูตร HC25SA75Ca0.5Ag1 และ HC25SA75Ca0.5Ag0.5 ไม่พบพีคขึ้นที่บริเวณใดเลยเนื่องจากมีปริมาณของ AgNPs ที่น้อยจึงไม่สามารถตรวจวัดได้ เมื่อพิจารณาผลการพิสูจน์ด้วยเทคนิค XRD และ XRF ร่วมกันจึงสรุปว่าฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag0.5, HC25SA75Ca0.5Ag1, HC25SA75Ca0.5Ag5 และ HC25SA75Ca0.5Ag10 มี AgNPs ภายในโครงสร้าง แบบจำลองกระบวนการบรรจุ AgNPs ในฟิล์มแสดงดังรูปที่ 4.14



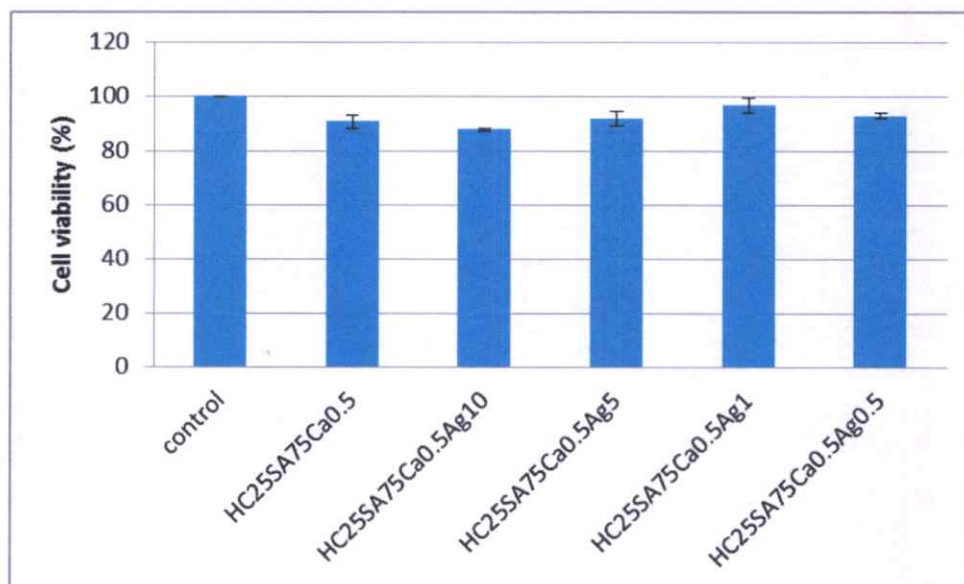
รูปที่ 4.14 ภาพแสดงการสังเคราะห์ AgNPs ภายในโครงข่ายของไฮโดรเจล



รูปที่ 4.15 ภาพถ่ายพื้นผิว SEM ของฟิล์ม (a) HC25SA75Ca0.5, (b) HC25SA75Ca0.5Ag0.5, (c) HC25SA75Ca0.5Ag1, (d) HC25SA75Ca0.5Ag5 และ (e) HC25SA75Ca0.5Ag10

เมื่อตรวจวัดสัณฐานวิทยาของฟิล์มด้วยเทคนิค SEM ดังรูปที่ 4.15 ซึ่งเป็นภาพถ่ายบริเวณพื้นผิวของฟิล์มพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ AgNO_3 ทำให้มีปริมาณผลึกของซิลเวอร์ที่เกาะอยู่บนพื้นผิวเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการตรวจวัดด้วย XRD และ XRF

4.1.3.2 สมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์



รูปที่ 4.16 ค่า %cell viability ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 ที่ความเข้มข้น AgNO_3 ต่างกัน

เมื่อนำฟิล์มมาทดสอบสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยเทคนิค MTT assay โดยใช้เซลล์ไลน์ Vero เป็นตัวทดสอบ ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.16 โดยพบว่า ฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5, HC25SA75Ca0.5Ag10, HC25SA75Ca0.5Ag5, HC25SA75Ca0.5Ag1 และ HC25SA75Ca0.5Ag0.5 มีเปอร์เซ็นต์ของเซลล์ที่รอดชีวิตอยู่ที่ประมาณ 90%, 88%, 92%, 97% และ 93% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์ของเซลล์ที่รอดชีวิตมากกว่า 50% [146] แสดงว่าฟิล์มทุกสูตรไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ของมนุษย์

4.1.3.3 สมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม

ศึกษาสมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม โดยใช้เทคนิค Agar well diffusion กับเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบและ *S. aureus* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวก แสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 ไม่แสดงฤทธิ์ต้านทานเชื้อแบคทีเรียกับเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ในขณะที่ฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag10, HC25SA75Ca0.5Ag5, HC25SA75Ca0.5Ag1 และ HC25SA75Ca0.5Ag0.5 สามารถต้านทานเชื้อได้ทั้ง 2 ชนิดโดยมีขนาดเคลียร์โซนของเชื้อ *E. coli* ประมาณ 13, 12, 13 และ 14 mm ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *S. aureus* มีขนาดเคลียร์โซนประมาณ 15, 17, 15 และ 15 mm ตามลำดับ ซึ่งค่าเคลียร์โซนของทั้ง 2 เชื้อที่ได้ในแต่ละสูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นที่ความเข้มข้นของ AgNO_3 ที่แตกต่างกันในช่วงที่ใช้ทดสอบไม่ส่งผลกับสมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย

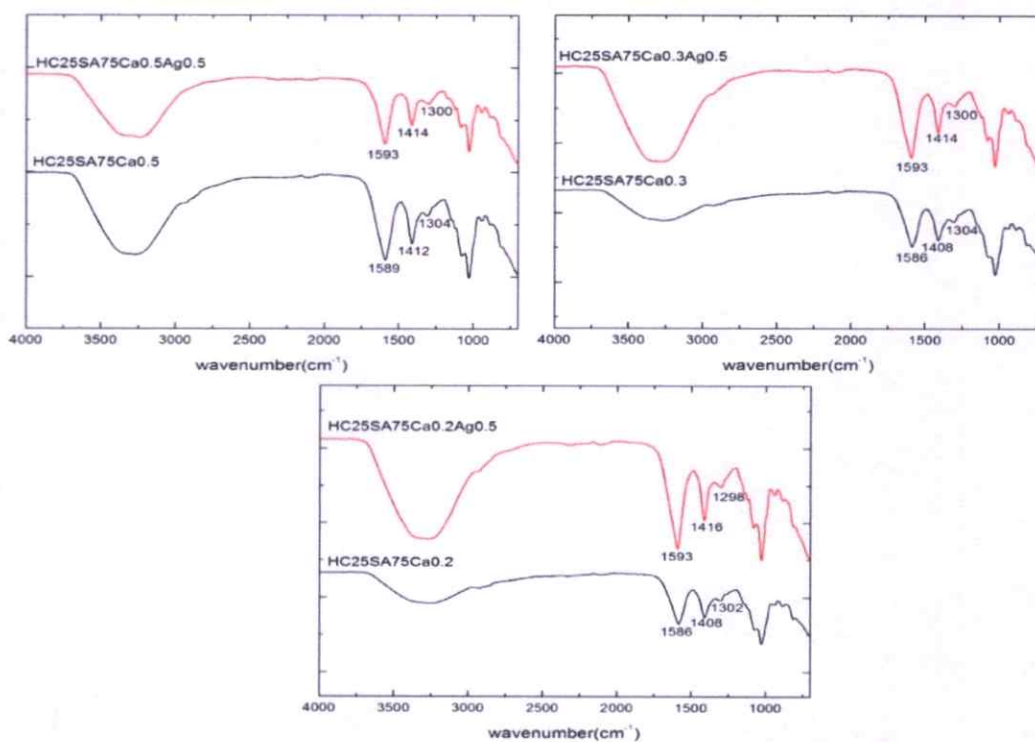
จากผลของสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์และการต้านทานเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มสูตรต่าง ๆ จึงเลือกฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag0.5 ซึ่งใช้ความเข้มข้นของ AgNO_3 ที่ 0.5 mM ไปทำการศึกษาคือ

ตารางที่ 4.4 ผลการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ของฟิล์มไฮโดรเจล

Sample	Zone diameter (mm)		Activity
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	
HC25SA75Ca0.5	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	13±2	14.5±2.4	active
HC25SA75Ca0.5Ag1	12±0.45	16.5±1.63	active
HC25SA75Ca0.5Ag5	13.4±1	15.3±1.7	active
HC25SA75Ca0.5Ag10	13.6±1.37	15.1±0.17	active

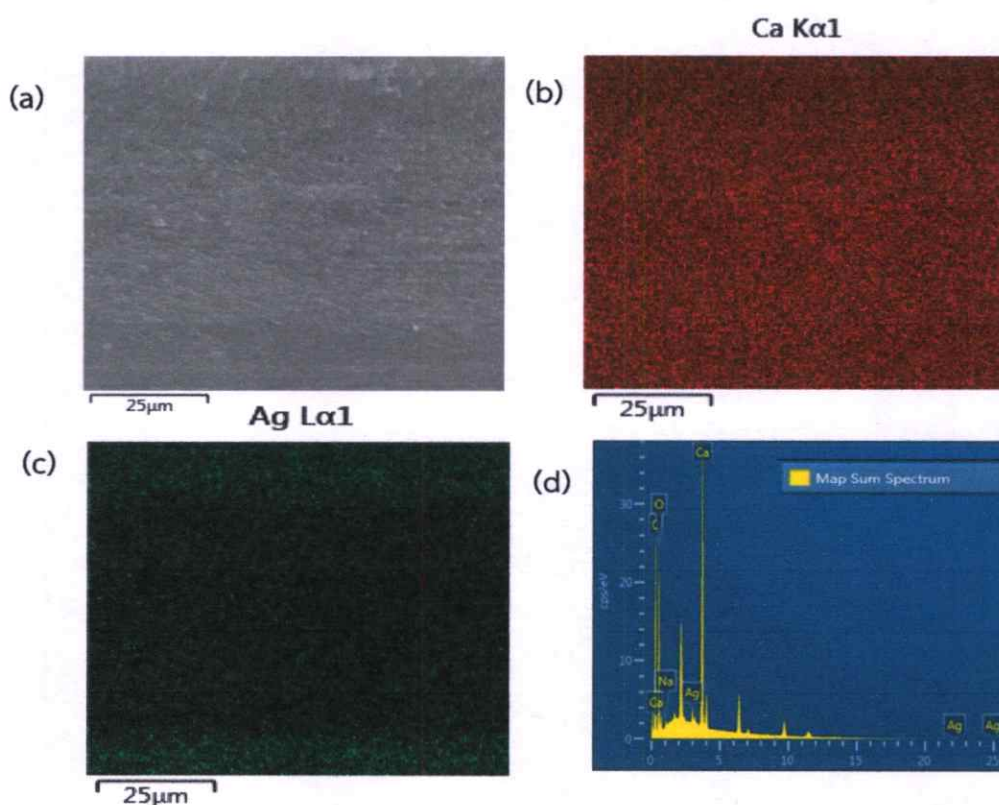
4.1.4 การบรรจุ AgNPs ในฟิล์มที่เชื่อมโยงด้วยแคลเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นต่างกัน

4.1.4.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์ม



รูปที่ 4.17 FTIR สเปกตรัมของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca ที่บรรจุ AgNPs

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของ AgNO_3 พบว่าที่ความเข้มข้น 0.5 mM เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดจึงนำมาศึกษากับฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2 และ HC25SA75Ca0.3 เนื่องจากฟิล์มทั้ง 2 สูตรมีค่าของแข็งคงเหลือที่ใกล้เคียงกับสูตร HC25SA75Ca0.5 ผลการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์มด้วยเทคนิค FTIR แสดงดังรูปที่ 4.17 ซึ่งแสดงสเปกตรัมของ FTIR เปรียบเทียบระหว่างฟิล์มสูตรที่เชื่อมโยงด้วย CaCl_2 ที่ใส่ AgNPs กับฟิล์มสูตรที่เชื่อมโยงด้วย CaCl_2 พบว่าที่พีคการสั่นของ -COO^- asymmetric stretching และ -COO^- symmetric stretching ของฟิล์มสูตร $\text{HC25SA75Ca0.5Ag0.5}$, $\text{HC25SA75Ca0.3Ag0.5}$ และ $\text{HC25SA75Ca0.2Ag0.5}$ ที่ 1593 cm^{-1} และ $1414\text{-}1416\text{ cm}^{-1}$ ตามลำดับ เลื่อนไปที่ค่า wave number ที่เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับที่พีคการสั่นของ -COO^- asymmetric stretching และ -COO^- symmetric stretching ในฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 , HC25SA75Ca0.3 และ HC25SA75Ca0.2 เนื่องจากหมู่คาร์บอกซิเลตของ SA สามารถจับกับซิลเวอร์ไอออนซึ่งผลที่ได้แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงพันธะไอออนิกของหมู่คาร์บอกซิเลตของ SA จาก Ca^{2+} ไปเป็น Ag^+ บางส่วน [145]

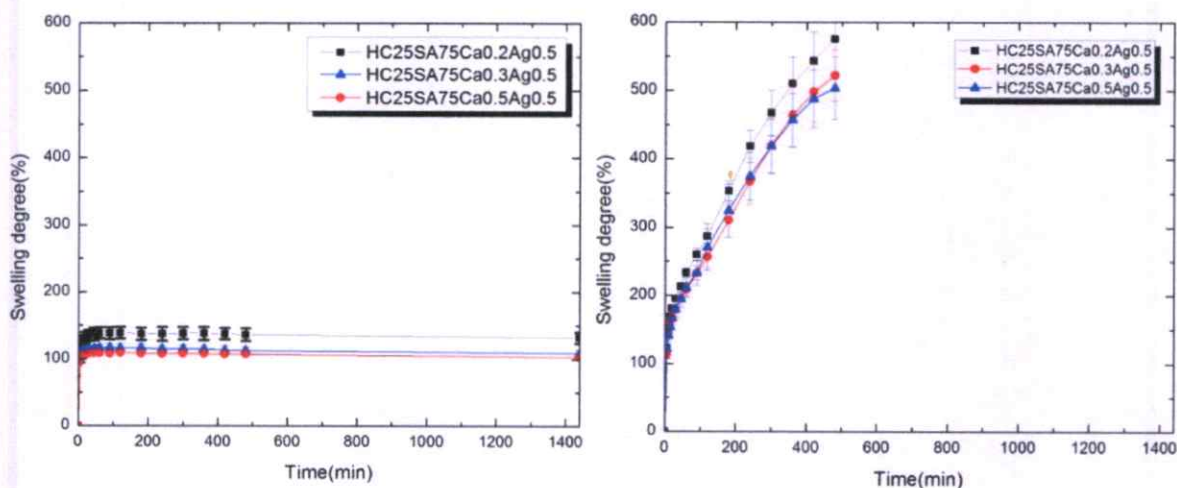


รูปที่ 4.18 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร $\text{HC25SA75Ca0.3Ag0.5}$ (a) ภาพตัดขวางของฟิล์ม, (b) ภาพแสดงการกระจายตัวของธาตุแคลเซียม, (c) ภาพแสดงการกระจายตัวของธาตุซิลเวอร์ และ (d) สเปกตรัมแสดงปริมาณธาตุที่พบทั้งหมดภายในฟิล์ม

จากการตรวจวัดสัดส่วนวิทยาของฟิล์มด้วยเทคนิค SEM-EDS ซึ่งเป็นภาพตัดขวางของฟิล์มจากขอบบนถึงขอบล่างของฟิล์มสูตร $\text{HC25SA75Ca0.3Ag0.5}$ (รูปที่ 4.18) พบว่าฟิล์มมีพีคของธาตุแคลเซียมและซิลเวอร์ปรากฏอยู่ในส่วนของแคลเซียมพบว่าการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมออยู่ทั่วทั้งฟิล์ม ในขณะที่ซิลเวอร์มีการกระจายตัวทั่วทั้งฟิล์มแต่ปริมาณซิลเวอร์ที่บริเวณขอบของฟิล์มมีมากกว่าที่บริเวณอื่นเนื่องจากฟิล์มมีการเชื่อมโยงด้วยแคลเซียมมาก่อนที่นำมาแช่ในซิลเวอร์ทำให้

ซิลเวอร์แพร์เข้าไปในฟิล์มได้ยากจึงรวมกันอยู่ที่บริเวณผิวในสัดส่วนที่มากกว่าบริเวณเนื้อในของฟิล์ม ซึ่งมีผลที่คล้ายกันกับฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag0.5 และ HC25SA75Ca0.2Ag0.5 โดยแสดงในภาคผนวก ก รูปที่ ก 6 และ ก 8 ตามลำดับ

4.1.4.2 พฤติกรรมการบวมตัวและค่าของแข็งคงเหลือของฟิล์ม



รูปที่ 4.19 พฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มที่อุณหภูมิ 37 °C ใน (a) น้ำกลั่น (b) สารละลาย PBS

พฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชม. แสดงดังรูปที่ 4.19 (a) พบว่าฟิล์มที่มีการบรรจุ AgNPs มีค่าการบวมตัวที่น้อยกว่าฟิล์มที่ยังไม่บรรจุ AgNPs ในสูตรที่ใช้ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์เท่ากันอยู่เล็กน้อยและมีปริมาณของค่าของแข็งคงเหลือและปริมาณน้ำค้างอยู่ภายในฟิล์มที่เวลา 24 ชม. ใกล้เคียงกันโดยมีค่าอยู่ในช่วง 120%, 97% และ 220% ตามลำดับ เนื่องจาก AgNPs มีการอยู่รวมกันบริเวณพื้นผิวของฟิล์มมากกว่าส่วนที่แพร่เข้าไปอยู่ภายในบริเวณตรงกลางฟิล์ม (จากผลของ SEM-EDS ในรูปที่ 4.17) ทำให้น้ำแทรกตัวเข้าไปในฟิล์มได้ยากขึ้น ในขณะที่พฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์มในสารละลาย PBS ที่อุณหภูมิ 37 °C. แสดงดังรูปที่ 4.19 (b) พบว่าฟิล์มที่มีการบรรจุ AgNPs มีค่าการบวมตัวที่มากกว่าฟิล์มที่ยังไม่บรรจุ AgNPs ในสูตรที่ใช้ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์เท่ากัน และฟิล์มเกิดการสลายตัวก่อนครบ 24 ชม. โดยเสียสภาพเมื่อเวลาผ่านไป 8 ชั่วโมง เช่นเดียวกับกับกรณีที่ไม่ได้บรรจุ AgNPs โดยการบวมตัวที่เพิ่มขึ้นอาจเกิดจากในขั้นตอนที่แช่ AgNO_3 มีการแลกเปลี่ยนประจุบางส่วนระหว่าง Ca^{2+} และ Ag^+ และเมื่อเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของ Ag^+ ด้วยโซเดียมโบโรไฮไดรด์เพื่อทำให้ Ag^+ กลายเป็น AgNPs จึงทำให้จุดเชื่อมโยงบางส่วนหลุดออก ทำให้โครงสร้างของฟิล์มมีการเชื่อมโยงที่ลดลง การบวมตัวจึงเพิ่มขึ้นโดยสามารถสังเกตเห็นได้ชัดในสารละลาย PBS มากกว่าในน้ำกลั่น

ตารางที่ 4.5 ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำคงอยู่และค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งคงเหลือในน้ำกลั่นที่ 24 ชม. ของฟิล์มที่บรรจุ AgNPs ที่เชื่อมโยงด้วยแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างกัน

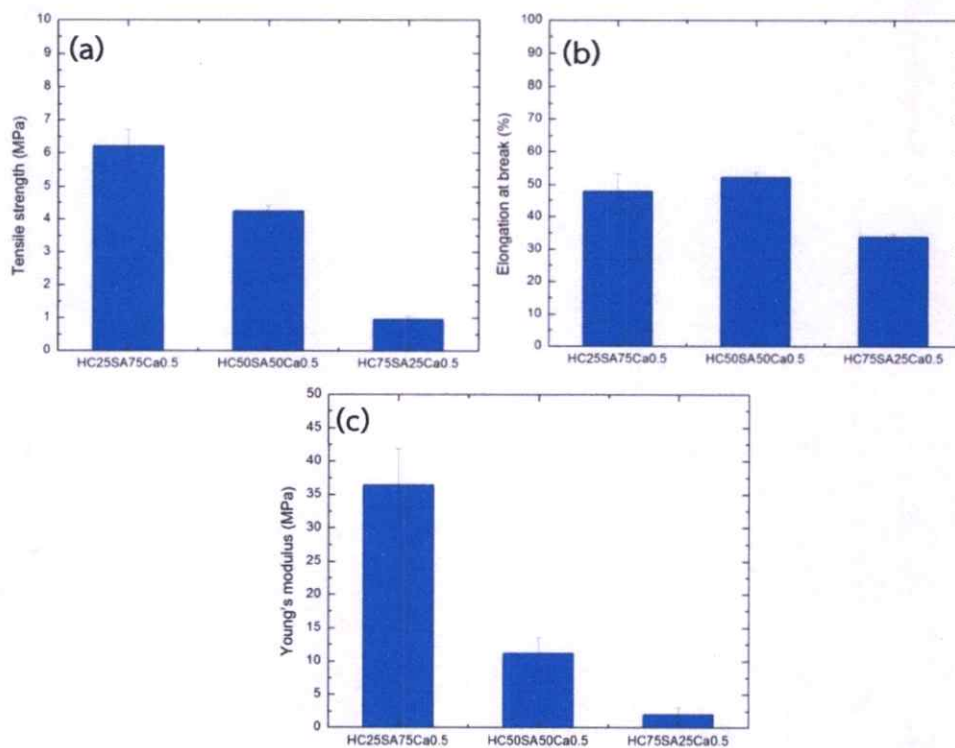
Sample	Water content (%)	Gel content (%)
HC25SA75Ca0.2Ag0.5	237	97.8
HC25SA75Ca0.3Ag0.5	215	97.3
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	209	97.3

4.2 สมบัติเชิงกลของฟิล์ม

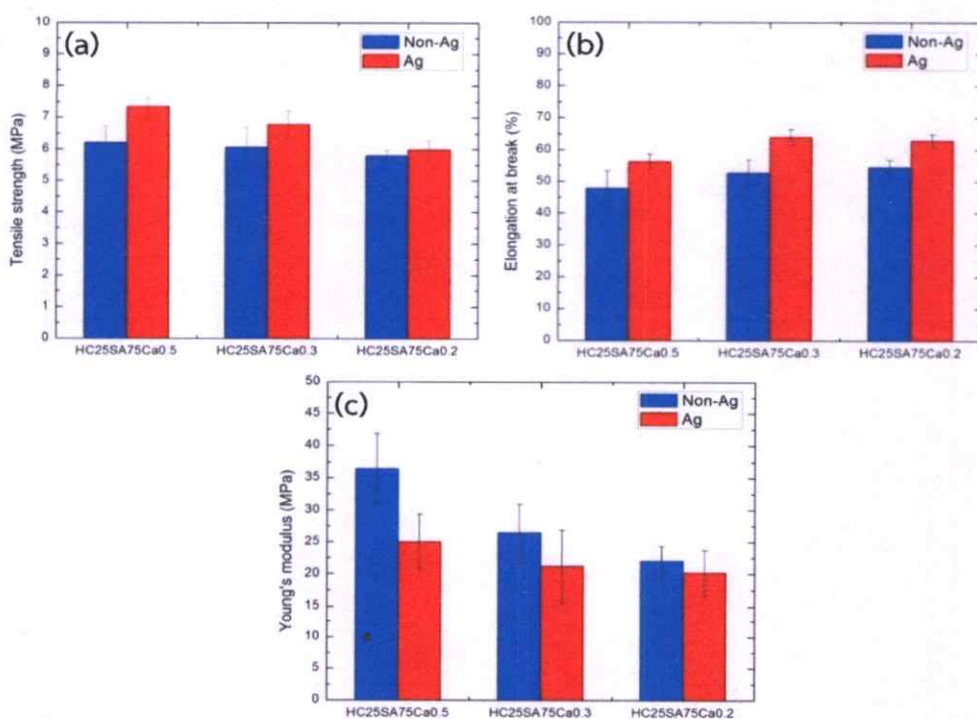
นำฟิล์มที่เตรียมได้มาทดสอบสมบัติเชิงกลของฟิล์มในสภาวะที่อิมมัวด้วยน้ำอย่างสมบูรณ์ จากรูปที่ 4.20 แสดงสมบัติเชิงกลของ ฟิล์ม HC/SA ที่อัตราส่วนต่างกัน โดยฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 มีค่าความแข็งแรงดึง ณ จุดขาดของฟิล์มสูงที่สุดประมาณ 6 MPa ในขณะที่ฟิล์มสูตร HC50SA50Ca0.5 และ HC75SA25Ca0.5 มีค่าความแข็งแรงดึง ณ จุดขาดของฟิล์มประมาณ 4 และ 1 MPa ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไปในทางเดียวกับค่า Young's modulus ซึ่งมีค่าเท่ากับ 36, 11 และ 2 MPa ตามลำดับ ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์การดึงยืด ณ จุดขาดของฟิล์มสูตร HC50SA50Ca0.5 และ HC25SA75Ca0.5 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญแต่สูตร HC75SA25Ca0.5 มีค่าที่ต่ำที่สุด เนื่องจากการเชื่อมโยงที่น้อยเกิดการฉีกขาดง่ายเมื่อมีแรงกระทำ จากสมบัติเชิงกลแสดงให้เห็นว่าฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 ซึ่งมีการเชื่อมโยงที่มากที่สุดทำให้ฟิล์มมีความแข็งแรงมากที่สุด

ส่วนสมบัติเชิงกลของฟิล์มสูตร HC25SA75 ที่เชื่อมโยงด้วยความเข้มข้น CaCl_2 ต่างกัน (0.2, 0.3 และ 0.5 M) ที่มีการบรรจุและไม่บรรจุ AgNPs แสดงดังรูปที่ 4.21 พบว่าค่าความแข็งแรงดึง ณ จุดขาดของฟิล์มสูตรที่ไม่บรรจุ AgNPs มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าต่ำกว่าฟิล์มสูตรที่บรรจุ AgNPs ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์การดึงยืด ณ จุดขาดของฟิล์มสูตรที่มีการบรรจุ AgNPs มีค่าสูงกว่า ในขณะที่ค่า Young's modulus ของฟิล์มสูตรที่บรรจุ AgNPs มีค่าต่ำกว่า แสดงว่าการบรรจุ AgNPs ทำให้ฟิล์มนิ่มและมีความยืดหยุ่นที่เพิ่มมากขึ้นและต้านทานต่อการขาดได้เพิ่มขึ้น แต่มีค่าการต้านทานต่อการเสียรูป (ค่า Young's modulus) ต่ำลง เนื่องจากการลดลงของความหนาแน่นการเชื่อมโยง เมื่อมีการแลกเปลี่ยนไอออนของ Ca^{2+} และ Ag^+ ดังที่กล่าวมาในหัวข้อ 4.1.4.2 ซึ่งสอดคล้องกับพฤติกรรมการบวมตัวของฟิล์ม โดยผลจะเห็นได้ชัดกว่าในฟิล์มสูตรที่ใช้ความเข้มข้น CaCl_2 สูงกว่า

จากค่าความแข็งแรงดึง ณ จุดขาดและค่าเปอร์เซ็นต์การดึงยืด ณ จุดขาดพบว่าฟิล์มเกือบทุกสูตรเหมาะที่จะนำไปใช้เป็นวัสดุปิดแผลเนื่องจากมีค่าความแข็งแรงดึง ณ จุดขาดอยู่ในช่วงประมาณ 2.5-16 MPa [147] ซึ่งเป็นค่าความแข็งแรงดึง ณ จุดขาดที่เหมาะสมสำหรับใช้กับผิวหนัง และมีค่าเปอร์เซ็นต์การดึงยืด ณ จุดขาดใกล้เคียงกับ 70% [148] ซึ่งเป็นค่าเปอร์เซ็นต์การดึงยืด ณ จุดขาดที่เหมาะสมกับการขยับตามผิวหนังในบริเวณที่มีการเคลื่อนไหว



รูปที่ 4.20 สมบัติเชิงกลของฟิล์ม HC/SA ในอัตราส่วนที่ต่างกัน (a) Tensile strength, (b) %Elongation at break และ (c) young's modulus



รูปที่ 4.21 สมบัติเชิงกลของฟิล์มสูตร HC25SA75 ที่เชื่อมโยงด้วยความเข้มข้น CaCl₂ ต่างกันที่มีการบรรจุหรือไม่บรรจุ AgNPs (a) Tensile strength , (b) %Elongation at break และ (c) young's modulus

4.3 สมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย

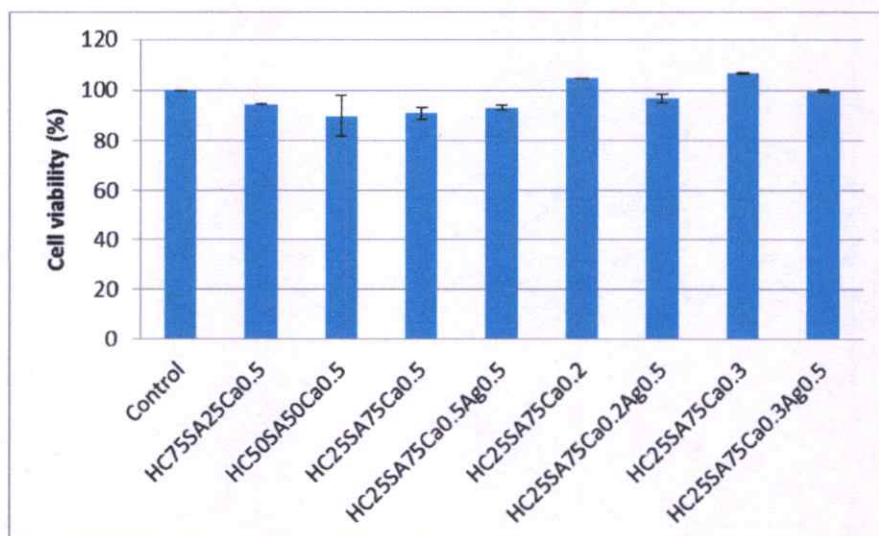
จากผลการทดสอบสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียของฟิล์มกับเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบและ *S. aureus* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวก โดยใช้เทคนิค Agar well diffusion แสดงดังตารางที่ 4.6 พบว่าฟิล์มสูตรที่ไม่มีการบรรจุ AgNPs ทั้งหมดไม่สามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดได้ ในขณะที่ฟิล์มสูตรที่มีการบรรจุ AgNPs สามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 2 ชนิด โดยสามารถต้านทานเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าเชื้อ *E. coli* เนื่องจากผนังเซลล์ของเชื้อ *S. aureus* เป็นผนังเซลล์ชั้นเดียวที่มีความเป็นรูพรุนสูงทำให้สารโมเลกุลอื่นจากภายนอกเข้าสู่เซลล์ได้ง่าย ต่างกับผนังเซลล์ของเชื้อ *E. coli* ที่มีโครงสร้างเป็น 2 ชั้นทำให้ทำหน้าที่ป้องกันสารโมเลกุลอื่นจากภายนอกเข้าสู่เซลล์ได้ดีกว่า [149]

ตารางที่ 4.6 ผลการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ของฟิล์มไฮโดรเจล

Sample	Zone diameter (mm)		Activity
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	
HC75SA25Ca0.5	0	0	Inactive
HC50SA50Ca0.5	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.5	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	13±2	14.5±2.4	active
HC25SA75Ca0.2	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.2Ag0.5	13.6±0.15	17.5±0.5	active
HC25SA75Ca0.3	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.3Ag0.5	15.1±0.61	18.7±0.35	active

4.4 สมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์

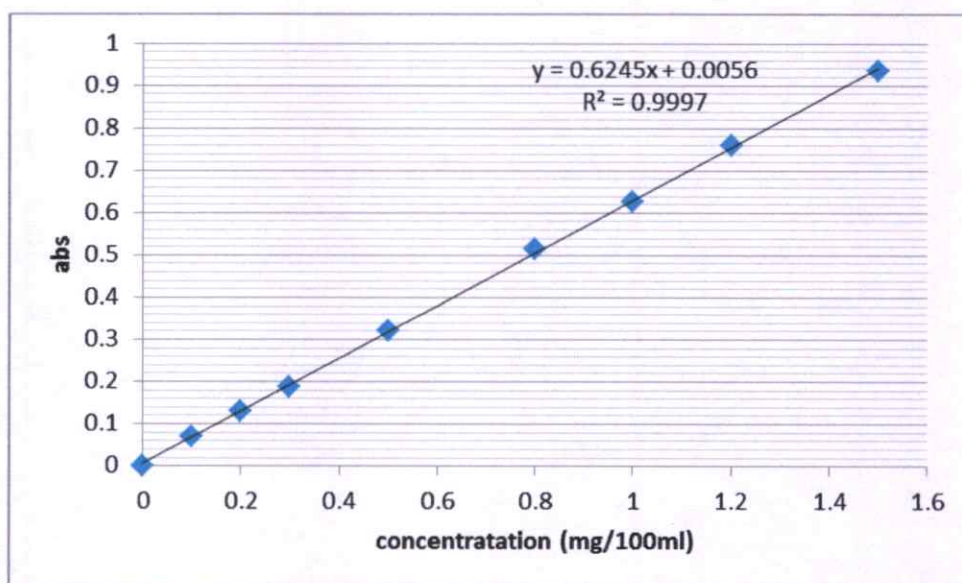
ผลการทดสอบสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยเทคนิค MTT assay โดยใช้เซลล์ไลน์ Vero เป็นตัวทดสอบ แสดงรูปที่ 4.22 พบว่าฟิล์มทุกตัวมีค่าเปอร์เซ็นต์ของเซลล์ที่รอดชีวิตอยู่มากกว่า 50% ทุกสูตร แสดงว่าฟิล์มทุกสูตรไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ของมนุษย์ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุปิดแผลได้



รูปที่ 4.22 ค่า %cell viability ของฟิล์มไฮโดรเจล

4.5 พฤติกรรมการปลดปล่อยยาเบื้องต้นของฟิล์มไฮโดรเจล

พฤติกรรมการปลดปล่อยยาเบื้องต้นของฟิล์มไฮโดรเจลศึกษาในสารละลาย PBS ซึ่งเป็นสารจำลองสภาวะของเหลวในร่างกายที่อุณหภูมิ 37 °C โดยให้แรงเขย่าเล็กน้อย และใช้แผ่นเซลลูโลสอะซิเตทขนาดรูพรุน 0.2 μm จำลองแทนผิวหนัง โดยใช้พาราเซตามอลเป็นยาต้นแบบ เทียบปริมาณพาราเซตามอลที่ปลดปล่อยออกมากับกราฟมาตรฐานของพาราเซตามอลในสารละลาย PBS (รูปที่ 4.23)



รูปที่ 4.23 กราฟมาตรฐานของพาราเซตามอลในสารละลาย PBS

ตัวอย่างการหาเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยพาราเซตามอลของฟิล์มไฮโดรเจลในสารละลาย PBS

ตัวอย่างที่ 1 จากฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 ซ้ำที่ 1 มีพาราเซตามอลบรรจุลงในชิ้นงานทั้งหมด 151 mg นำไปปลดปล่อยในสารละลาย PBS 100 ml ที่เวลาครบ 24 ชม. เปิดสารละลายมา 0.2 ml แล้วเจือจางเป็น 10 ml ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.299 โดยผลทั้งหมดแสดงที่ภาคผนวก ข จากกราฟมาตรฐานพาราเซตามอลในสารละลาย PBS

ที่ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.299 สามารถหาความเข้มข้นของพาราเซตามอลได้เท่ากับ 0.47 mg/100ml ดังนั้นมีปริมาณพาราเซตามอลอยู่จริงเท่ากับ $0.47 \times \frac{10}{0.2} = 23.52 \text{ mg/100ml}$

ดังนั้นในสารละลายที่มีพาราเซตามอล 151 mg/100ml มีค่าการปลดปล่อย เป็น 100%

ถ้าในสารละลายที่มีพาราเซตามอล 23.52 mg/100ml มีค่าการปลดปล่อย เป็น 15.57%

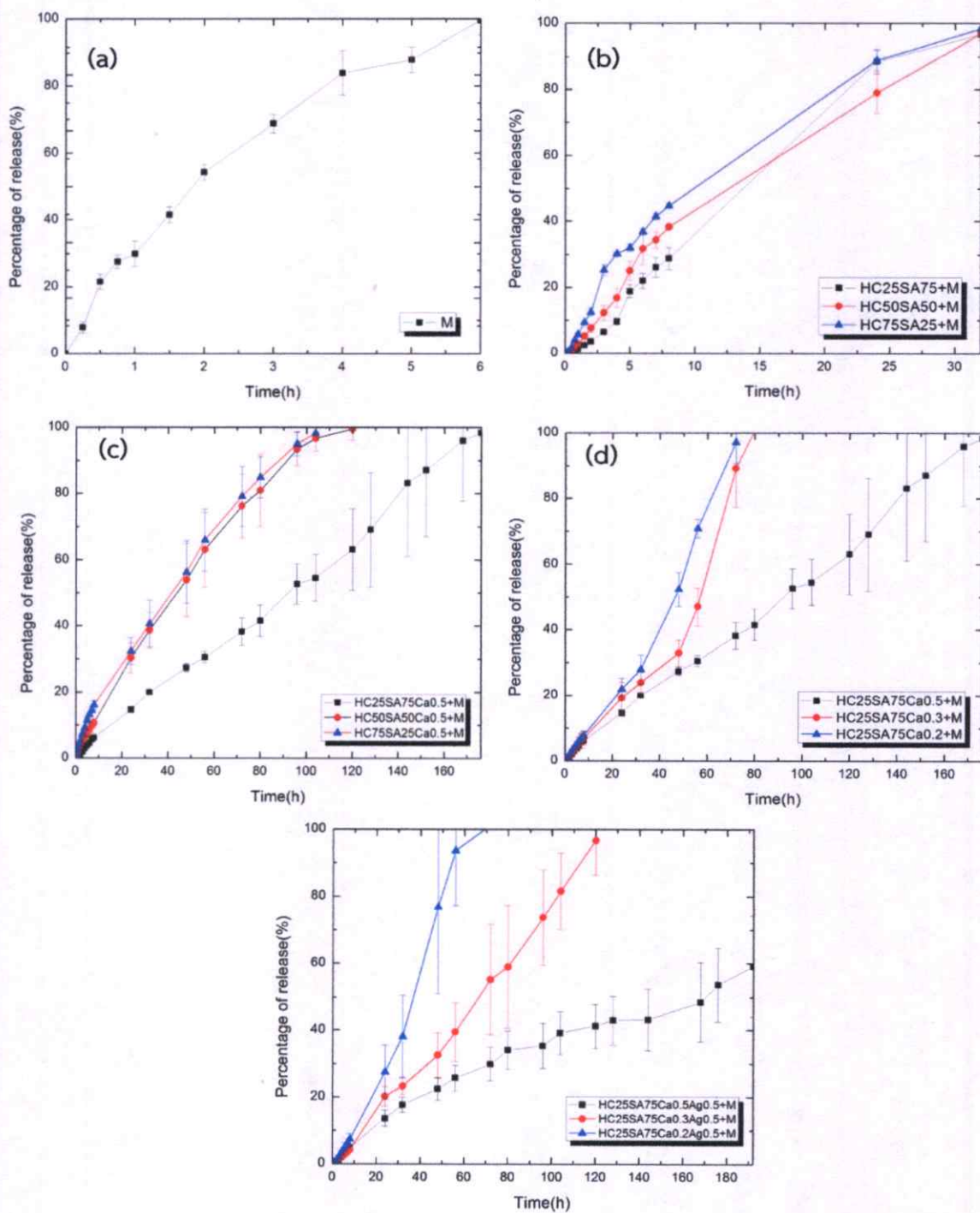
สำหรับค่าเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยของฟิล์มสูตรอื่นๆ ใช้การคำนวณในลักษณะเดียวกัน โดยปรับเปลี่ยนปริมาณการเจือจางตามความเข้มข้นของพาราเซตามอล ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.24 โดยฟิล์มเกือบทุกสูตรสามารถปลดปล่อยพาราเซตามอลออกมาได้ทั้งหมด 100% และมีรูปแบบการปลดปล่อยยาแบบเชิงเส้น ซึ่งแสดงว่าฟิล์มส่วนใหญ่มีการปลดปล่อยยาด้วยอัตราที่คงที่ ซึ่งระยะเวลาในการปลดปล่อยยาทั้งหมด 100% ของฟิล์มแต่ละสูตรแสดงดังตารางที่ 4.7 จากผลการปลดปล่อยพาราเซตามอลของแผ่นเซลล์ลูโลสอะซิเตทในรูปที่ 4.24 (a) พบว่าสามารถปลดปล่อยพาราเซตามอลได้ทั้งหมด 100% เมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง จากรูปที่ 4.24 (b) ใช้ฟิล์มสูตร HC25SA75, HC50SA50 และ HC75SA25 ร่วมกับแผ่นเซลล์ลูโลสอะซิเตทในการปลดปล่อยพาราเซตามอลพบว่ามีการชะลอการปลดปล่อยจากที่ปลดปล่อยทั้งหมด 100% ภายใน 6 ชั่วโมงเพิ่มเป็นประมาณ 1 วันซึ่งทั้ง 3 สูตรให้ผลที่ใกล้เคียงกัน เมื่อเพิ่มการเชื่อมโยงด้วยแคลเซียมคลอไรด์ 0.5 M กับฟิล์มทั้ง 3 สูตรผลแสดงดังรูปที่ 4.24 (c) พบว่าการเชื่อมโยงสามารถชะลอการปลดปล่อยให้ช้าลงได้โดยสูตร HC75SA25Ca0.5 และ สูตร HC50SA50Ca0.5 สามารถปลดปล่อยยาได้ทั้งหมด 100% ภายในเวลาประมาณ 4 วัน ซึ่งสูตร HC50SA50Ca0.5 ให้ผลการปลดปล่อยที่ช้ากว่าสูตร HC75SA25Ca0.5 เล็กน้อย ส่วนสูตร HC25SA75Ca0.5 สามารถชะลอการปลดปล่อยยาด้านที่สูดอยู่ที่เวลาประมาณ 7 วัน เนื่องจากแคลเซียมคลอไรด์สามารถเชื่อมโยงได้เพียงกับส่วนของ SA ทำให้สูตร HC25SA75Ca0.5 มีการเชื่อมโยงที่มากที่สุด ฟิล์มมีการบวมตัวที่ต่ำทำให้ยาแพร่ออกไปได้ช้า เมื่อนำสูตร HC25SA75Ca0.5 มาลดความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ลง ผลแสดงในรูปที่ 4.24 (d) พบว่าฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2 และ HC25SA75Ca0.3 ปลดปล่อยยาทั้งหมดภายในเวลาประมาณ 3 วัน โดยสูตร HC25SA75Ca0.3 มีผลการปลดปล่อยที่ช้ากว่าสูตร HC25SA75Ca0.2 เล็กน้อย เนื่องจากฟิล์มมีการเชื่อมโยงที่ลดลงตามความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์จึงทำให้ฟิล์มทั้ง 2 สูตรเกิดการสลายตัวในสารละลาย PBS ได้รวดเร็วกว่าเมื่อเทียบกับฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5 ดังนั้นจึงนำฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2, HC25SA75Ca0.3 และ HC25SA75Ca0.5 มาบรรจุ AgNPs ที่ความเข้มข้น AgNO_3 0.5 mM แสดงดังรูปที่ 4.24 (e) พบว่าฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2Ag0.5, และ HC25SA75Ca0.3Ag0.5 มีเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาอยู่ที่ 100% ที่เวลา 3 วันและ 5 วันตามลำดับ ส่วนฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag0.5 มีเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยยาอยู่ที่ 60% เมื่อเวลาผ่านไป 8 วัน ผลจากการเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ยังไม่มีการบรรจุ AgNPs (ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์เท่ากัน) แสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการบรรจุ AgNPs ทำให้ฟิล์มมีการปลดปล่อยยาที่ช้าลง เนื่องจาก AgNPs

สามารถแตกตัวปล่อยไอออนอิสระของซิลเวอร์ออกมา [151] ซึ่งซิลเวอร์ไอออนสามารถเกิดการเชื่อมโยงกับหมู่ COO^- ของ SA และสามารถเกิดโคออดิเนชันกับอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของไนโตรเจนอะตอมในโครงสร้างโคโตซานทำให้เกิดการเชื่อมโยงที่เพิ่มขึ้นบางจุดภายในฟิล์ม นอกจากนี้ซิลเวอร์ไอออนสามารถเกิดแรงยึดเหนี่ยวกับไพออิเล็กทรอนิกส์ของวงอะโรมาติกและเกิดโคออดิเนชันกับอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของไนโตรเจนอะตอมในโครงสร้างของพาราเซตามอล ทำให้พาราเซตามอลละลายออกไปได้ช้าลง ซึ่งการเกิดอันตรกิริยาระหว่างพาราเซตามอลกับซิลเวอร์ไอออน แสดงดังรูปที่ 4.25

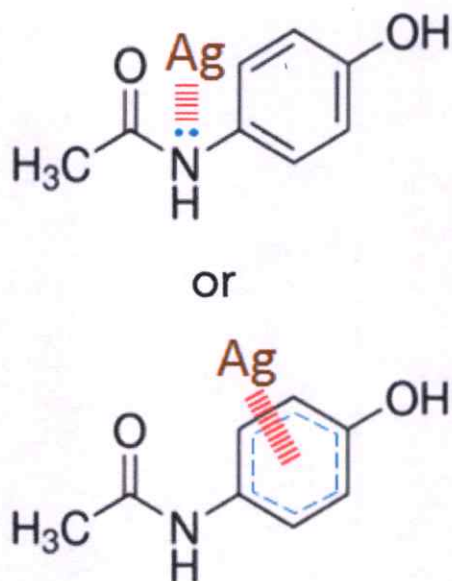
จากการศึกษาพฤติกรรมกรรมการปลดปล่อยยาพบว่าฟิล์มทุกสูตรที่มีการเชื่อมโยง มีประสิทธิภาพในการนำไปใช้เป็นวัสดุปิดแผลที่สามารถช่วยควบคุมการปลดปล่อยยาได้ดี เนื่องจากมีรูปแบบการปลดปล่อยยาแบบเชิงเส้น สามารถปลดปล่อยพาราเซตามอลได้ 100% ภายใน 3-7 วัน และเมื่อพิจารณาถึงสมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม พบว่าฟิล์มสูตร $\text{HC25SA75Ca0.2Ag0.5}$ และ $\text{HC25SA75Ca0.3Ag0.5}$ เป็นฟิล์มที่เหมาะสมที่สุดในการนำไปใช้เป็นวัสดุปิดแผล

ตารางที่ 4.7 เวลาที่ใช้ในการปลดปล่อยยาครบ 100% ของฟิล์มไฮโดรเจล

sample	Time
M	6 ชั่วโมง
HC75SA25+M	1 วัน
HC50SA50+M	1 วัน
HC25SA75+M	1 วัน
HC75SA25Ca0.5+M	4 วัน
HC50SA50Ca0.5+M	4 วัน
HC25SA75Ca0.5+M	7 วัน
HC25SA75Ca0.5Ag0.5+M	> 8 วัน
HC25SA75Ca0.2+M	3 วัน
HC25SA75Ca0.2Ag0.5+M	3 วัน
HC25SA75Ca0.3+M	3 วัน
HC25SA75Ca0.3Ag0.5+M	5 วัน



รูปที่ 4.24 เปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยพาราเซตามอลในสารละลาย PBS โดยใช้ (a) แผ่นเจลลูโลส อะซิเตท 0.2 μm (M), (b) ฟิล์ม HC/SA อัตราส่วนต่างกัน+M, (c) ฟิล์ม HC/SA อัตราส่วนต่างกันในที่เชื่อมโยงด้วย CaCl_2 0.5 M+M, (d) ฟิล์มสูตร HC25SA75 เชื่อมโยงด้วย CaCl_2 ความเข้มข้นต่างกัน+M และ (e) ฟิล์มสูตร HC25SA75 เชื่อมโยงด้วย CaCl_2 ความเข้มข้นต่างกันที่บรรจุ AgNPs+M



รูปที่ 4.25 ภาพแสดงการเกิดอันตรกิริยาระหว่างพาราเซตามอลกับซิลเวอร์ไอออน

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการเตรียมวัสดุปิดแผลควบคุมการปลดปล่อยยาจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริเลต-โตะซานและโซเดียมอัลจิเนต แล้วเชื่อมโยงทางประจุแบบจุ่มโดยใช้แคลเซียมคลอไรด์ จากนั้นนำไปบรรจุอนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยการจุ่มในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท แล้วทำการเปลี่ยนให้เป็นอนุภาคซิลเวอร์นาโน ด้วยปฏิกิริยารีดักชันกับโซเดียมโบโรไฮไดรด์ วัสดุปิดแผลที่เตรียมได้นำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค FTIR, SEM-EDS, XRD และ XRF จากนั้นศึกษาพฤติกรรมกรรมการบวมตัวในน้ำกลั่นและสารละลาย Phosphate buffer solution (PBS, pH 7.4) ที่ 37 °C, ค่าของแข็งคงเหลือหลังการบวมตัวในน้ำกลั่นและสารละลาย PBS ที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง, สมบัติเชิงกล, สมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย, สมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์ของฟิล์มไฮโดรเจล และพฤติกรรมกรรมการปลดปล่อยยาเบื้องต้นของฟิล์มไฮโดรเจลโดยใช้พาราเซตามอลเป็นยาต้นแบบ ได้ผลการทดลองดังนี้

- การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของฟิล์ม

นำฟิล์ม HC/SA ไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค FTIR พบว่า HC กับ SA สามารถรวมเป็นเนื้อเดียวกันได้ดี เมื่อนำฟิล์ม HC/SA มาเชื่อมโยงแบบจุ่มโดยใช้แคลเซียมคลอไรด์ จากเทคนิค FTIR พบว่า เกิดการเชื่อมโยงระหว่างแคลเซียมไอออนกับส่วนของ SA และจากเทคนิค SEM-EDS พบว่า แคลเซียมไอออนมีการกระจายตัวภายในฟิล์มได้ดี เมื่อบรรจุ AgNPs ลงในฟิล์ม พบว่าจากผลของเทคนิค XRD และ XRF แสดงให้เห็นว่า มี AgNPs ภายในโครงสร้าง

- พฤติกรรมการบวมตัวและค่าของแข็งคงเหลือของฟิล์ม

พฤติกรรมกรรมการบวมตัวในน้ำกลั่นที่ 37 °C พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การบวมตัวลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณ SA และความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ โดยค่าการบวมตัวและปริมาณน้ำค้างอยู่ภายในฟิล์ม มีค่าแปรผกผันกับปริมาณของแข็งคงเหลือ การบรรจุ AgNPs ทำให้ฟิล์มบวมตัวในน้ำกลั่นได้ลดลง ซึ่งฟิล์มทุกสูตรสามารถคงสภาพอยู่ได้ในน้ำกลั่นตลอดระยะเวลาการทดสอบที่ 24 ชม.

พฤติกรรมกรรมการบวมตัวในสารละลาย PBS ที่ 37 °C พบว่าฟิล์มทุกสูตรมีเปอร์เซ็นต์การบวมตัวที่เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ โดยสูตร HC75SA25Ca0.5 เสื่อมสภาพเมื่อเวลาผ่านไป 90 นาที ส่วนฟิล์มสูตรที่เหลือเกิดการเสื่อมสภาพเมื่อเวลาผ่านไป 8 ชม ซึ่งค่าเปอร์เซ็นต์การบวมตัวลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณ SA และความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ ในขณะที่การบรรจุ AgNPs ส่งผลให้เกิดการบวมตัวที่เพิ่มขึ้นในสารละลาย PBS

จากผลการบวมตัวและค่าของแข็งคงเหลือแสดงให้เห็นว่าฟิล์มทุกสูตรมีความสามารถในการต้านทานน้ำ และเสถียรภาพในสารละลาย PBS

- สมบัติเชิงกลของฟิล์ม

นำฟิล์มที่เตรียมได้มาทดสอบสมบัติเชิงกลของฟิล์มในสภาวะที่อิมมิดด้วยน้ำอย่างสมบูรณ์ พบว่าค่าความแข็งแรงดึง ณ จุดขาดของฟิล์มและค่า Young's Modulus มีค่าสูงขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณ SA ส่วนการบรรจุ AgNPs ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การดึงยืด ณ จุดขาดของฟิล์มมีค่าสูงขึ้น ในขณะที่ค่า Young's Modulus มีค่าลดลง ดังนั้นการบรรจุ AgNPs ทำให้ฟิล์มนิ่มและมีความยืดหยุ่นที่เพิ่มมากขึ้น

จากค่าความแข็งแรงดึง ณ จุดขาดและค่าเปอร์เซ็นต์การดึงยืด ณ จุดขาดพบว่าฟิล์มเกือบทุกสูตรเหมาะที่จะนำไปใช้เป็นวัสดุปิดแผล

- สมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์

เมื่อนำฟิล์มมาทดสอบสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยเทคนิค MTT assay โดยใช้เซลล์ไลน์ Vero เป็นตัวทดสอบ พบว่าฟิล์มทุกสูตรไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ของมนุษย์

- สมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม

ศึกษาสมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม โดยใช้เทคนิค Agar well diffusion กับเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* พบว่าฟิล์มสูตรที่ไม่บรรจุ AgNPs ไม่แสดงฤทธิ์ต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ในขณะที่ฟิล์มสูตรที่บรรจุ AgNPs สามารถต้านทานเชื้อได้ทั้ง 2 ชนิด

- พฤติกรรมการปลดปล่อยยาเบื้องต้นของฟิล์มไฮโดรเจล

ศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยยาเบื้องต้นของฟิล์มไฮโดรเจลในสารละลาย PBS 37 °C โดยใช้แผ่นเซลลูโลสอะซิเตทขนาดรูพรุน 0.2 μm จำลองแทนผิวหนัง และใช้พาราเซตามอลเป็นยาต้นแบบ พบว่าฟิล์มเกือบทุกสูตรสามารถปลดปล่อยพาราเซตามอลออกมาได้ทั้งหมด 100% และมีรูปแบบการปลดปล่อยยาแบบเชิงเส้น โดยเมื่อเพิ่มปริมาณของ SA ,ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์และการบรรจุ AgNPs ทำให้ฟิล์มมีการปลดปล่อยยาที่ช้าลง

ซึ่งฟิล์มสูตรสูตรที่มีการเชื่อมโยงทุกสูตรมีประสิทธิภาพในการนำไปใช้เป็นวัสดุปิดแผลที่สามารถช่วยควบคุมการปลดปล่อยยาได้ดี แต่เมื่อพิจารณาถึงสมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม ทำให้ฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2Ag0.5 และ HC25SA75Ca0.3Ag0.5 เป็นฟิล์มที่เหมาะสมที่สุดในการนำไปใช้เป็นวัสดุปิดแผล

5.2 ข้อเสนอแนะ

- เพิ่มการเชื่อมโยงทางประจุเป็นแบบ 2 ระบบเพื่อช่วยเสริมการเชื่อมโยงที่ส่วนของ HC
- นำฟิล์มไปศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยยากับยาตัวอื่น

เอกสารอ้างอิง

- [1] ปิยนันท์ อึ้งทรงธรรม. 2554. แผ่นปิดแผล. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://nutrition.anamai.moph.go.th>.
- [2] ภก.ทศพล เลิศวัฒน์ชัย. 2560. แผ่นปิดแผล. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://health.hajjai.com/3895/>.
- [3] Nguyen, N.T. and Liu, J.H. 2014. "A green method for in situ synthesis of poly (vinyl alcohol)/chitosan hydrogel thin films with entrapped silver nanoparticles." *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers.* 45 : 2827–2833.
- [4] Kokabi, M. Sirousazar, M. and Hassan, Z.M. 2007. "PVA–clay nanocomposite hydrogels for wound dressing." *European Polymer Journal.* 43 : 773–781.
- [5] Yoshii, F. Zhanshan, Y. Isobe, K. Shinozaki, K. and Makuuchi, K. 1999. "Electron beam crosslinked PEO and PEO/PVA hydrogels for wound dressing." *Radiation Physics and Chemistry.* 55 : 133-138.
- [6] Liakos, I. Rizzello, L. Bayer, I.S. Pompa, P.P. Cingolani, R. and Athanassiou, A. 2013. "Controlled antiseptic release by alginate polymer films and beads." *Carbohydrate Polymers.* 92 : 176-183.
- [7] Pereira, R. Carvalho, A. Vaz, D.C. Gil, M.H. Mendes, A. and Bartolo, P. 2013. "Development of novel alginate based hydrogel films for wound healing applications." *International Journal of Biological Macromolecules.* 52 : 221-230.
- [8] Azad, A.K. Sermsintham, N. Chandkrachang, S. and Stevens, W.F. 2004. "Chitosan membrane as a wound-healing dressing: characterization and clinical application." *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 69 : 216–222.
- [9] Chen, S.C. Wu, Y.C. Mi, F.L. Lin, Y.H. Yu, L.C. and Sung, H.W. 2004. "A novel pH-sensitive hydrogel composed of *N,O*-carboxymethyl chitosan and alginate cross-linked by genipin for protein drug delivery." *Journal of Controlled Release.* 96 : 285-300.
- [10] Luo, Y. and Wang, Q. 2014. "Recent development of chitosan-based poly-electrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery." *International Journal of Biological Macromolecules.* 64 : 353-367.
- [11] Bhattarai, N. Gunn, J. and Zhang, M. 2010. "Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery." *Advanced Drug Delivery Reviews.* 62 : 83-99.
- [12] Zhou, Y. Yang, D. Gao, X. Chen, X. Xu, Q. Lu, F. and Nie, J. 2009. "Semi-interpenetrating polymer network hydrogels based on water-soluble *N*-carboxyl-ethyl chitosan and photopolymerized poly (2-hydroxyethyl methacrylate)." *Carbohydrate Polymers.* 75 : 293-298.

- [13] Ma, G. Yang, D. Zhou, Y. Xiao, M. Kennedy, J.F. and Nie, J. 2008. "Preparation and characterization of water-soluble *N*-alkylated chitosan." *Carbohydrate Polymers*. 74 : 121-126.
- [14] Liu, Z. Jiao, Y. and Zhang, Z. 2007. "Calcium-carboxymethyl chitosan hydrogel beads for protein drug delivery system." *Journal of Applied Polymer Science*. 103 : 3164–3168.
- [15] Agnihotri, S. Mukherji, S. and Mukherji, S. 2012. "Antimicrobial chitosan–PVA hydrogel as a nanoreactor and immobilizing matrix for silver nanoparticles." *Appl Nanosci*. 2 : 179–188.
- [16] Chen, S. Wu, G. and Zeng, H. 2005. "Preparation of high antimicrobial activity thiourea chitosan–AgC complex." *Carbohydrate Polymers*. 60 : 33–38.
- [17] Heris, H.K. Latifi, N. Vali, H. Li, N. and Mongeau, L. 2015. "Investigation of chitosan-glycol/glyoxal as an injectable biomaterial for vocal fold tissue engineering." *Procedia Engineering*. 110 : 143-150.
- [18] Prashanth, K.V.H. and Tharanathan, R.N. 2006. "Crosslinked chitosan—preparation and characterization." *Carbohydrate Research*. 341 : 169–173.
- [19] พิษญา ตรีเนตร. 2560. "การพัฒนาไฮโดรเจลที่ว่องไวต่อพีเอชจากไฮดรอกซีเอทิลอะคริลโคโโตซาน/โซเดียมอัลจินตสำหรับการนำส่งยาเฉพาะที่." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [20] Venkatesan, J. Lee, J.Y. Kang, D.S. Anil, S. Kim, S.K. Shim, M.S. and Kim, D.G. 2017. "Antimicrobial and anticancer activities of porous chitosan-alginate biosynthesized silver nanoparticles." *International Journal of Biological Macromolecules*. 98 : 515-525.
- [21] Osada, Y. and Kajiwara, K. 2001. **Gels Handbook Volume 1 : The Fundamentals**. California : Academic Press.
- [22] Künzler, J.F. 2003. **Hydrogel**. In: **Encyclopedia of Polymer Science and Technology**. New York : John Wiley and Sons.
- [23] Duflot, A.V. Kitaeva, N.K. and Duflot, V.R. 2015. "Radiation-chemical preparation of poly(vinyl alcohol) hydrogels." *Radiation Physics and Chemistry*. 107 : 1-6.
- [24] Ermatchkov, V. Ninni, L. and urer. 2010. "Thermodynamics of phase equilibrium for systems containing *N*-isopropyl acrylamide hydrogels." *Fluid Phase Equilibria*. 296 : 140-148.
- [25] Amer, L.D. Holtzinger, A. Keller, G. Mahoney, M.J. and Bryant, S.J. 2015. "Enzymatically degradable poly(ethylene glycol) hydrogels for the 3D culture and release of human embryonic stem cell derived pancreatic precursor cell aggregates." *Acta Biomaterialia*. 22 : 103-110.

- [26] Jin, R. Teixeira, L.S.M. Dijkstra, P.J. Karperien, M. Blitterswijk, Zhong, C.A.V. Z.Y. and Feijen, J. 2009. "Injectable chitosan-based hydrogels for cartilage tissue engineering." *Biomaterials*. 30 : 2544-2551.
- [27] Pereira, R. Carvalho, A. Vaz, D.C. Gil, M.H. Mendes, A. and Bártoloa, P. 2013. "Development of novel alginate based hydrogel films for wound healing applications." *International Journal of Biological Macromolecules*. 52 : 221-230.
- [28] Zhang, X. Wang, Y. Lu, C. and Zhang, W. 2014. "Cellulose hydrogels prepared from micron-sized bamboo cellulose fibers." *Carbohydrate Polymers*. 114 : 166-169.
- [29] Kamoun, E.A. Kenawy, E.R.S. Tamer, T.M. El-Meligy, M.A. and Eldin, M.S.M. 2015. "Poly(vinyl alcohol)-alginate physically crosslinked hydrogel membranes for wound dressing applications: Characterization and bio-evaluation." *Arabian Journal of Chemistry*. 8 : 38-47.
- [30] Das, D. and Pal, S. 2015. "Dextrin/poly(HEMA): pH responsive porous hydrogel for controlled release of ciprofloxacin." *International Journal of Biological Macromolecules*. 72 : 171-178.
- [31] Thankam, F.G. and Muthu, J. 2015. "Alginate-polyester comacromer based hydrogels as physiochemically and biologically favorable entities for cardiac tissue engineering." *Journal of Colloid and Interface Science*. 457 : 52-61.
- [32] Ottenbrite, R.M. Park, K. and Okano, T. 2010. **Biomedical Applications of Hydrogels Handbook**. New York : Springer.
- [33] Ahmed, E.M. 2015. "Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review." *Journal of Advanced Research*. 6 : 105-121.
- [34] Roshan, N. and Rahul, M. 2013. "Photosensitive hydrogels for advanced drug delivery." *IJPI International Journal of pharmaceutical innovations*. 3 : 11-16.
- [35] Zhang, L. Wang, L. Guo, B. and Ma, P.X. 2014. "Cytocompatible injectable carboxymethyl chitosan/*N*-isopropylacrylamide hydrogels for localized drug delivery." *Carbohydrate Polymers*. 103 : 110-118.
- [36] Kim, Y. Iwatsuki, R. Kikuta, K. Morita, Y. Miyazaki, T. and Ohtsuki, C. 2011. "Thermoreversible behavior of *K*-carrageenan and its apatite-forming ability in simulated body fluid." *Materials Science and Engineering*. 31 : 1472-1476.
- [37] Bhattarai, N. Matsen, F.A. and Zhang, M. 2005. "PEG-grafted chitosan as an injectable thermoreversible hydrogel." *Macromolecular Bioscience*. 5 : 107-111.
- [38] Mukhopadhyay, P. Sarkar, K. Bhattacharya, S. Bhattacharyya, A. Mishra, R. and Kundua, P.P. 2014. "pH sensitive *N*-succinyl chitosan grafted polyacrylamide hydrogel for oral insulin delivery." *Carbohydrate Polymers*. 112 : 627-637.

- [39] El-Ghaffar, M.A.A. Hashem, M.S. El-Awady, M.K. and Rabie, A.M. 2012. "pH-sensitive sodium alginate hydrogels for riboflavin controlled release." *Carbohydrate Polymers*. 89 : 667-675.
- [40] Mahdavinia, G.R. Etemadi, H. and Soleymani, F. 2015. "Magnetic/pH-responsive beads based on carboxymethyl chitosan and *K*-carrageenan and controlled drug release." *Carbohydrate Polymers*. 128 : 112-121.
- [41] Hou, R. Nie, L. Du, G. Xiong, X. and Fu, J. 2015. "Natural polysaccharides promote chondrocyte adhesion and proliferation on magnetic nanoparticle /PVA composite hydrogels." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 132 : 146-154.
- [42] Chiang, C.Y. and Chu, C.C. 2015. "Synthesis of photoresponsive hybrid alginate hydrogel with photo-controlled release behavior" *Carbohydrate Polymers*. 119 : 18-25.
- [43] Wong, J.Y. and Bronzino, J.D. 2007. **Biomaterials**. New York : CRC Press.
- [44] Fan, L. Du, Y. Zhang, B. Yang, J. Zhou, J. and Kennedy, J.F. 2006. "Preparation and properties of alginate/carboxymethyl chitosan blend fibers." *Carbohydrate Polymers*. 65 : 447-452.
- [45] Möbus, K. Siepmann, J. and Bodmeier, R. 2012. "Zinc-alginate microparticles for controlled pulmonary delivery of proteins prepared by spray-drying." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 81 : 121-130.
- [46] Azevedo, M.A. Bourbon, A.I. Vicente, A.A. and Cerqueira, M.A. 2014. "Alginate/chitosan nanoparticles for encapsulation and controlled release of vitamin B2." *International Journal of Biological Macromolecules*. 71 : 141-146.
- [47] Li, Z. Ramay, H.R. Hauch, K.D. Xiao, D. and Zhang, M. 2005. "Chitosan-alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering." *Biomaterials*. 26 : 3919-3928.
- [48] Bidarra, S.J. Barrias, C.C. and Granja, P.L. 2014. "Injectable alginate hydrogels for cell delivery in tissue engineering." *Acta Biomaterialia*. 10 : 1646-1662.
- [49] Tan, H. Chu, C.R. Payne, K.A. and Marra, K.G. 2009. "Injectable in situ forming biodegradable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for cartilage tissue engineering." *Biomaterials*. 30 : 2499-2506.
- [50] Metters, A. and Hubbell, J. 2005. "Network formation and degradation behavior of hydrogels formed by Michael-type addition reactions." *Biomacromolecules*. 6 : 290-301.
- [51] Ono, K. Saito, Y. Yura, H. Ishikawa, K. Kurita, A. Akaike, T. and Ishihara, M. 2000. "Photocrosslinkable chitosan as a biological adhesive." *Journal of Biomedical Materials Research*. 49 : 289-295.
- [52] Jeon, O. Samorezov, J.E. and Alsberg, E. 2014. "Single and dual crosslinked oxidized methacrylated alginate/PEG hydrogels for bioadhesive applications." *Acta Biomaterialia*. 10 : 47-55.

- [53] Jeong, G.T. Lee, K.M. Yang, H.S. Park, S.H. Park, J.H. Sunwoo, C. Ryu, H.W. Kim, D. Lee, W.T. Kim, H.S. Cha, W.S. and Park, D.H. 2007. "Synthesis of poly (sorbitan methacrylate) hydrogel by free-radical polymerization." *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 137-140(1-12) : 935-946.
- [54] Witthayaprapakorn, Somsunan, C. R. and Molloy, R. 2011. "Preparation of hydrogels by redox initiation via free radical polymerisation for biomedical use as wound dressings." *The Journal of Industrial Technology*. 7 : 57-63.
- [55] Afshari, M.J. Sheikh, N. and Afarideh, H. 2015. "PVA/CM-chitosan/honey hydrogels prepared by using the combined technique of irradiation followed by freeze-thawing." *Radiation Physics and Chemistry*. 113 : 28-35.
- [56] Yang, C. Xu, L. Zhou, Y. Zhang, X. Huang, X. Wang, M. Han, Y. Zhai, M. Wei, S. and Li, J. 2010. "A green fabrication approach of gelatin/CM-chitosan hybrid hydrogel for wound healing." *Carbohydrate Polymers*. 82 : 1297-1305.
- [57] Ulanski, P. and Rosiak, J.M. 1999. "The use of radiation technique in the synthesis of polymeric nanogels." *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 151 : 356-360.
- [58] Machiko, T. Haruyo, A. Naotsugu, N. Toshiaki, Y. Takamitsu, K. Shoji, T. and Masao, T. 2007. "Preparation and properties of CMC gel." *Transactions of the Materials Research Society of Japan*. 32 : 713-716.
- [59] Jin, S. Liu, M. Zhang, F. Chen, S. and Niu, A. 2006. "Synthesis and characterization of pH-sensitivity semi-IPN hydrogel based on hydrogen bond between poly(*N*-vinylpyrrolidone) and poly(acrylic acid)." *Polymer*. 47 : 1526-1532.
- [60] Deligkaris, K. Tadele, T.S. Olthuis, W. and Berg, A.V.D. 2010. "Hydrogel based devices for biomedical applications." *Sensors and Actuators B*. 147 : 765-774.
- [61] Zhao, K. Zhang, X. Wei, J. Li, J. Zhou, X. Liu, D. Liu, Z. and Li, J. 2015. "Calcium alginate hydrogel filtration membrane with excellent anti-fouling property and controlled separation performance." *Journal of Membrane Science*. 492 : 536-546.
- [62] Shen, E.C. Wang, C. Fu, E. Chiang, C.Y. Chen, T.T. and Nieh, S. 2008. "Tetracycline release from tripolyphosphate-chitosan cross-linked sponge: a preliminary in vitro study." *Journal of Periodontal Research*. 43 : 642-648.
- [63] Soysal, S.A. Kofinas, P. and Lo, Y.M. 2009. "Effect of complexation conditions on xanthan-chitosan polyelectrolyte complex gels." *Food Hydrocolloids*. 23 : 202-209.
- [64] Saether, H.V. Holme, H.K. Maurstad, G. Smidsro, O. and Stokke, B.T. 2008. "Polyelectrolyte complex formation using alginate and chitosan." *Carbohydrate Polymers*. 74 : 813-821.

- [65] Kaur, A. and Kaur, G. 2012. "Mucoadhesive buccal patches based on inter-polymer complexes of chitosan-pectin for delivery of carvedilol." *Saudi Pharmaceutical Journal*. 20 : 21-27.
- [66] Chen, S. Wu, G. and Zeng, H. 2005. "Preparation of high antimicrobial activity thiourea chitosan-Ag⁺ complex." *Carbohydrate Polymers*. 60 : 33-38.
- [67] Modrzejewska, Z. Dorabialska, M. Zarzycki, R. and Wojtasz-Pajak, A. 2009. "The mechanism of sorption of Ag⁺ ions on chitosan microgranules: IR and NMR studies." *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives*. 14 : 49-64.
- [68] Wang, X. Du, Y. and Liu, H. 2004. "Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan-Zn complex." *Carbohydrate Polymers*. 56 : 21-26.
- [69] Bhatia, S.C. and Ravi, N. 2000. "A magnetic study of an Fe-chitosan complex and its relevance to other biomolecules." *Biomacromolecules*. 1 : 413-417.
- [70] Funami, T. Hiroe, M. Noda, S. Asai, I. Ikeda, S. and Nishinari, K. 2007. "Influence of molecular structure imaged with atomic force microscopy on the rheological behavior of carrageenan aqueous systems in the presence or absence of cations." *Food Hydrocolloids*. 21 : 617-629.
- [71] Bhattarai, N. Ramay, H.R. Gunn, J. Matsen, F.A. and Zhang, M.Q. 2005. "PEG-grafted chitosan as an injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release." *Journal of Controlled Release*. 103 : 609-624.
- [72] Kenawy, E.R. El-Newehy, M.H. and Al-Deyab, S.S. 2010. "Controlled release of atenolol from freeze/thawed poly(vinyl alcohol) hydrogel." *Journal of Saudi Chemical Society*. 14 : 237-240.
- [73] Jenkins, A.D. Kratochvil, P. Stepto, R.F.T. and Suter, U.W. 1996. "Glossary of basic terms in polymer science." *Pure and Applied Chemistry*. 68 : 2287-2311.
- [74] Ye, Y.S. Rick, J. and Hwang, B.J. 2012. "Water soluble polymers as proton exchange membranes for fuel cells." *Polymers*. 4 : 913-963.
- [75] Matricardi, P. Meo, C.D. Coviello, T. Hennink, W.E. and Alhaique, F. 2013. "Interpenetrating Polymer Networks polysaccharide hydrogels for drug delivery and tissue engineering." *Advanced Drug Delivery Reviews*. 65 : 1172-1187.
- [76] Brigham, M.D. Bick, A. Lo, E. Bendali, A. Burdick, J.A. and Khademhosseini, A. 2009. "Mechanically robust and bioadhesive collagen and photocrosslinkable hyaluronic acid semi-interpenetrating networks." *Tissue Engineering Part A*. 15 : 1645-1653.
- [77] Weng, L. Gouldstone, A. Wu, Y. and Chen, W. 2008. "Mechanically strong double network photo cross linked hydrogels from *N, N*-dimethylacrylamide and glycidyl methacrylated hyaluronan." *Biomaterials*. 29 : 2153-2163.

- [78] Wu, W. and Wang, D.S. 2010. "A fast pH-responsive IPN hydrogel: Synthesis and controlled drug delivery." *Reactive & Functional Polymers*. 70 : 684-691.
- [79] Rodriguez-Tenreiro, C. Diez-Bueno, L. Concheiro, A. Torres-Labandeira, J.J. and Alvarez-Lorenzo, C. 2007. "Cyclodextrin/carbopol micro-scale interpenetrating networks (ms-IPNs) for drug delivery." *Journal of Controlled Release*. 123 : 56-66.
- [80] Guo, B.L. and Gao, Q.Y. 2007. "Preparation and properties of a pH/temperature responsive carboxymethyl chitosan/poly (N-isopropylacrylamide) semi-IPN hydrogel for oral delivery of drugs." *Carbohydrate Research*. 342 : 2416-2422.
- [81] Li, G. Guo, L. Chang, X. and Yang, M. 2012. "Thermo-sensitive chitosan based semi-IPN hydrogels for high loading and sustained release of anionic drugs." *International Journal of Biological Macromolecules*. 50 : 899-904.
- [82] Ratner, B. D. 1981. "Biomedical Application of Hydrogel; Review and Critical Appraisal. In D. F. Williams." *Biocompatibility of Clinical Implant Material*. 2 : 145-152.
- [83] กัทธาวุธ มนต์วิเศษ. 2553. เอกสารการสอนวิชา ไบโอฟอลิเมอร์. สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [84] ดุษฎี อุตภาพ. 2555. **Carbohydrate Technology**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/Chap4/Chap4_intro.htm.
- [85] Dash, M. Chiellini, F. Ottenbrite, R.M. and Chiellini, E. 2011. "Chitosan-A versatile semisynthetic polymer in biomedical applications." *Progress in Polymer Science*. 36 : 981-1014.
- [86] Cho, Y.W. Jang, J. Park, C.R. and Ko, S.W. 2000. "Preparation and solubility in acid and water of partially deacetylated chitins." *Biomacromolecules*. 1 : 609-614.
- [87] Schiffman, J.D. and Schauer, C.L. 2007. "Cross-linking chitosan nanofibers." *Biomacromolecules*. 8 : 594-601.
- [88] Chatelet, C. Damour, O. and Domard, A. 2001. "Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films." *Biomaterials*. 22 : 261-268.
- [89] Cursaru, B. Stănescu, P.O. and Teodorescu, M. 2010. "The states of water in hydrogels synthesized from diepoxy-terminated poly(ethylene glycol)s and aliphatic polyamines." *UPB Scientific Bulletin, Series B*. 72 : 99-114.
- [90] Aranaz, I. Mengibar, Harris, M.R. Paños, I. Miralles, B. Acosta, N. Galed, G. and Heras, Á. 2009. "Functional characterization of chitin and chitosan." *Current Chemical Biology*. 3 : 203-230.

- [91] Pangburn, S.H. Trescony, P.V. and Heller, J. 1982. "Lysozyme degradation of partially deacetylated chitin, its films and hydrogels." *Biomaterials*. 3 : 105-108.
- [92] Zhang, H. and Neau, S.H. 2001. "In vitro degradation of chitosan by a commercial enzyme preparation: effect of molecular weight and degree of deacetylation." *Biomaterials*. 22 : 1653-1658.
- [93] Malafaya, P.B. Silva, G.A. and Reis, R.L. 2007. "Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications." *Advanced Drug Delivery Reviews*. 59 : 207-233.
- [94] Wedmore, I. McManus, J.G. Pusateri, A.E. and Holcomb, J.B. 2006. "A special report on the chitosan-based hemostatic dressing: experience in current combat operations." *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 60 : 655-658.
- [95] Croisier, F. and Jérôme, C. 2013. "Chitosan-based biomaterials for tissue engineering." *European Polymer Journal*. 49 : 780-792.
- [96] He, P. Davis, S.S. and Illum, L. 1998. "In vitro evaluation of the mucoadhesive properties of chitosan microspheres." *International Journal of Pharmaceutics*. 166 : 75-88.
- [97] Park, P.J. Je, J.Y. Jung, W.K. Ahn, C.B. and Kim, S.K. 2004. "Anticoagulant activity of heterochitosans and their oligosaccharide sulfates." *European Food Research and Technolog*. 219 : 529-533.
- [98] Rao, S.B. and Sharma, C.P. 1997. "Use of chitosan as a biomaterial: studies on its safety and hemostatic potential." *Journal of Biomedical Materials Research*. 34 : 21-28.
- [99] Smith, J. Wood, E. and Dornish, M. 2004. "Effect of chitosan on epithelial cell tight junctions." *Pharmaceutical Research*. 21 : 43-49.
- [100] Sudarshan, N.R. Hoover, D.G. and Knorr, D. 1992. "Antibacterial action of chitosan." *Food Biotechnology*. 6 : 257-272.
- [101] Chung, Y.C. and Chen, C.Y. 2008. "Antibacterial characteristics and activity of acid-soluble chitosan." *Bioresource Technology*. 99 : 2806-2814.
- [102] Okamoto, Y. Kawakami, K. Miyatake, K. Morimoto, M. Shigemasa, Y. and Minami, S. 2002. "Analgesic effects of chitin and chitosan." *Carbohydrate Polymers*. 49 : 249-252.
- [103] Yanga, Q. Doub, F. Lianga, B. and Shen, Q. 2005. "Investigations of the effects of glyoxal cross-linking on the structure and properties of chitosan fiber." *Carbohydrate Polymers*. 61 : 393-398.
- [104] Gupta, K.C. and Jabrail, F.H. 2006. "Glutaraldehyde and glyoxal cross-linked chitosan microspheres for controlled delivery of centchroman." *Carbohydrate Research*. 341 : 744-756.

- [105] Monteiro, O.A.C. and Airoidi, C. 1999. "Some studies of crosslinking chitosan glutaraldehyde interaction in a homogeneous system." *International Journal of Biological Macromolecules*. 26 : 119-128.
- [106] Beauchamp, R.O. Clair, M.B. St Fennell, T.R. Clarke, D.O. and Morgan, K.T. 1992. "A critical review of the toxicology of glutaraldehyde." *Critical Reviews in Toxicology*. 22 : 143-174.
- [107] Kamiya, N.M. Kamiya, H. Kaji, H. and Kasai, H. 1997. "Mutational specificity of glyoxal, a product of DNA oxidation, in the lacI gene of wild-type Escherichia coli W3110." *Mutation Research*. 377 : 255-262.
- [108] Mi, F.L. Tan, Y.C. Liang, H.F. and Sung, H.W. 2002. "In vivo biocompatibility and degradability of a novel injectable-chitosan-based implant." *Biomaterials*. 23 : 181-191.
- [109] Sung, H.W. Huang, R.N. Huang, L.L. and Tsai, C.C. 1999. "In vitro evaluation of cytotoxicity of a naturally occurring cross-linking reagent for biological tissue fixation." *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 10 : 63-78.
- [110] Gao, X. Zhou, Y. Ma, G. Shi, S. Yang, D. Lu, F. and Nie, J. 2010. "A water-soluble photocrosslinkable chitosan derivative prepared by Michael-addition reaction as a precursor for injectable hydrogel." *Carbohydrate Polymers*. 79 : 507-512.
- [111] Yi, Y. Xu, S. Sun, H. Chang, D. Yin, Y. Zheng, H. Xu, H. and Lou, Y. 2011. "Gelation of photocrosslinkable carboxymethyl chitosan and its application in controlled release of pesticide." *Carbohydrate Polymer*. 86 : 1007-1013.
- [112] Yang, X. Yang, K. Wu, S. Chen, X. Yu, F. Li, J. Ma, M. and Zhu, Z. 2010. "Cytotoxicity and wound healing properties of PVA/ws-chitosan/glycerol hydrogels made by irradiation followed by freeze-thawing." *Radiation Physics and Chemistry*. 79 : 606-611.
- [113] Yang, X. Zhu, Z. Liu, Q. Chen, X. and Ma, M. 2008. "Effects of PVA, agar contents, and irradiation doses on properties of PVA/ws-chitosan/glycerol hydrogels made by γ -irradiation followed by freeze-thawing." *Radiation Physics and Chemistry*. 77 : 954-960.
- [114] Brack, H.P. Tirmizi, S.A. and Risen, W.M. 1997. "Aspectroscopic and viscometric study of the metal ion-induced gelation of the biopolymer chitosan." *Polymer*. 38 : 2351-2362.
- [115] Rinaudo, M. 2006. "Chitin and chitosan: Properties and applications." *Progress in Polymer Science*. 31 : 603-632.
- [116] Qin, C. Du, Y. Xiao, L. Li, Z. and Gao, X. 2002. "Enzymic preparation of water-soluble chitosan and their antitumor activity." *International Journal of Biological Macromolecules*. 31 : 111-117.

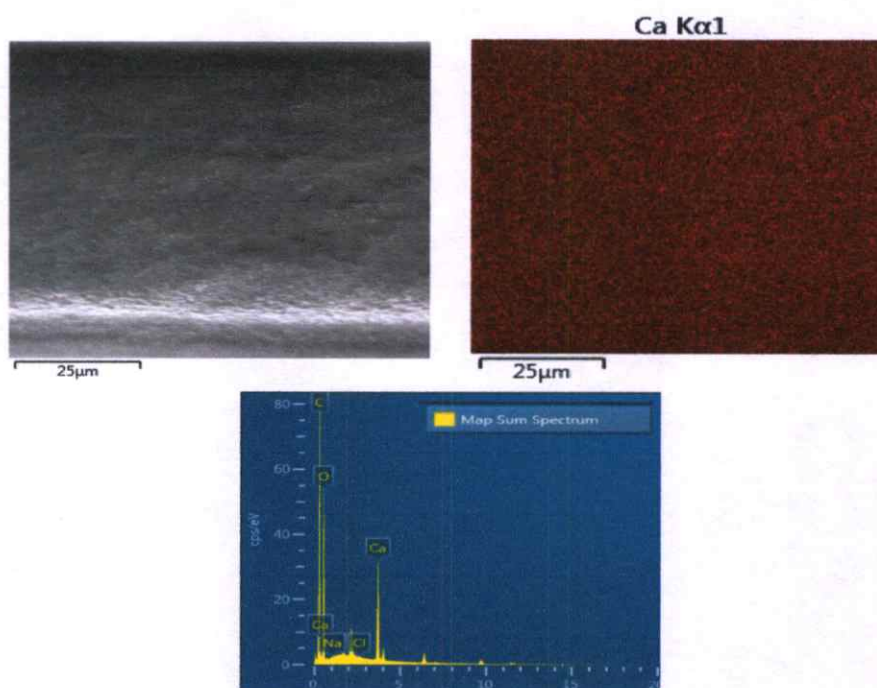
- [117] Lia, J. Du, Y. Yang, J. Feng, T. Li, A. and Chen, P. 2005. "Preparation and characterisation of low molecular weight chitosan and chito-oligomers by a commercial enzyme." *Polymer Degradation and Stability*. 87 : 441-448.
- [118] Xia, Z. Wu, S. and Chen, J. 2013. "Preparation of water soluble chitosan by hydrolysis using hydrogen peroxide." *International Journal of Biological Macromolecules*. 59 : 242-245.
- [119] Du, Y. Zhao, Y. Dai, S. and Yang, B. 2009. "Preparation of water-soluble chitosan from shrimp shell and its antibacterial activity." *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10 : 103-107.
- [120] Kang, H. Cai, Y. Deng, J. Zhang, H. Tang, Y. and Liu, P. 2006. "Synthesis and aqueous solution behavior of phosphonate-functionalized chitosans." *European Polymer Journal*. 42 : 2678-2685.
- [121] El-Sherbiny, I.M. 2009. "Synthesis, characterization and metal uptake capacity of a new carboxymethyl chitosan derivative." *European Polymer Journal*. 45 : 199-210.
- [122] Vallapa, N. Wiarachai, O. Thongchul, N. Pand, J. Tangpasuthadol, V. Kiatkamjornwong, S. and Hoven, V.P. 2011. "Enhancing antibacterial activity of chitosan surface by heterogeneous quaternization." *Carbohydrate Polymers*. 83 : 868-875.
- [123] Jiang, M. Wang, K. Kennedy, J.F. Nie, J. Yu, Q. and Ma, G. 2010. "Preparation and characterization of water-soluble chitosan derivative by Michael addition reaction." *International Journal of Biological Macromolecules*. 47 : 696-699.
- [124] Phillips, G.O. and Williams, P.A. 2000. **Handbook of hydrocolloids**. New York : CRC Press.
- [125] Steinbüchel, A. and Marchessault, R.H. 2005. **Biopolymers for Medical and Pharmaceutical Applications: Humic Substances, Polyisoprenoids, Polyesters, and Polysaccharides Volume 1**. New York : John Wiley and Sons.
- [126] Pawar, S.N. and Edgar, K.J. 2012. "Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications." *Biomaterials*. 33 : 3279-3305.
- [127] Reis, R.L. Neves, N.M. Mano, J.F. Gomes, M.E. Marques, A.P. and Azevedo, H.S. 2008. **Natural-Based Polymers for Biomedical Applications**. New York : CRC Press.
- [128] Stephen, A.M. Phillips, G.O. and Williams, P.A. 2006. **Food Polysaccharides and Their Applications**. New York : CRC Press.
- [129] George, M. and Abraham, T.E. 2006. "Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan-a review." *Journal of Controlled Release*. 114 : 1-14.

- [130] Paques, J.P. Linden, E.V.D. Rijn, C.J.M.V. and Sagis, L.M.C. 2014. "Preparation methods of alginate nanoparticles." *Advances in Colloid and Interface Science*. 209 : 163-171.
- [131] Goh, C.H. Heng, P.W.S. and Chan, L.W. 2012. "Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications." *Carbohydrate Polymers*. 88 : 1-12.
- [132] Draget, K.I. Braek, G.S. and Smidsrod, O. 1994. "Alginic acid gels: the effect of alginate chemical composition and molecular weight." *Carbohydrate Polymers*. 25 : 31-38.
- [133] Feng, Q.L. Wu, J. Chen, G.Q. Cui, F.Z. Kim, T.N. and Kim, J.O. 2000. "A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus." *J Biomed Mater Res*. 52 : 662-668.
- [134] Song, K.C. Lee, S.M. Park, T.S. and Lee, B.S. 2009. "Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method." *Korean Journal Chemical Engineering*. 26 : 153-155.
- [135] Maria, L.C.D.S. Santos, A.L.C. Oliveira, P.C. Barud, H.S. Messaddeq, Y. and Ribeiro, S.J.L. 2009. "Synthesis and characterization of silver nanoparticles impregnated into bacterial cellulose." *Materials Letters*. 63 : 797-799.
- [136] ณรงค์ สารีสุต. 2535. การผลิตยาออกฤทธิ์เนิ่นและนำส่งยาแบบต่าง ๆ. กรุงเทพฯ : ไทยมิตรการพิมพ์.
- [137] Ma, Y. Xin, L. Tan, H. Fan, M. Li, J. Jia, Y. Ling, Z. Chen, Y. and Hu, X. 2017. "Chitosan membrane dressings toughened by glycerol to load antibacterial drugs for wound healing." *Materials Science and Engineering: C*. 81 : 522-531.
- [138] Treenate, P. Monvisade, P. and Yamaguchi, M. 2014. "Development of hydroxyethylacryl chitosan/alginate hydrogel films for biomedical application." *J Polym Res*. 21 : 601.
- [139] ภูษิต จันทาวุฒิ, ชาญวิทย์ ลิ้มไพบูลย์ และ ปิยะธิดา ทะสิตะพงษ์. 2554. "การศึกษาสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียของไฮโดรเจลจากอัลจินตและกัวร์กัมปรับปรุงด้วยซิลเวอร์." โครงการพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [140] Nie, J. Wang, Z. and Hu, Q. 2016. "Chitosan hydrogel structure modulated by metal ions." *Scientific Reports*. 6 : 1-8.
- [141] Hua, S. Ma, H. Li, X. Yang, H. and Wang, A. 2010. "pH-sensitive sodium alginate/poly(vinyl alcohol) hydrogel beads prepared by combined Ca^{2+} crosslinking and freeze-thawing cycles for controlled release of diclofenac sodium." *International Journal of Biological Macromolecules*. 46 : 517-523.

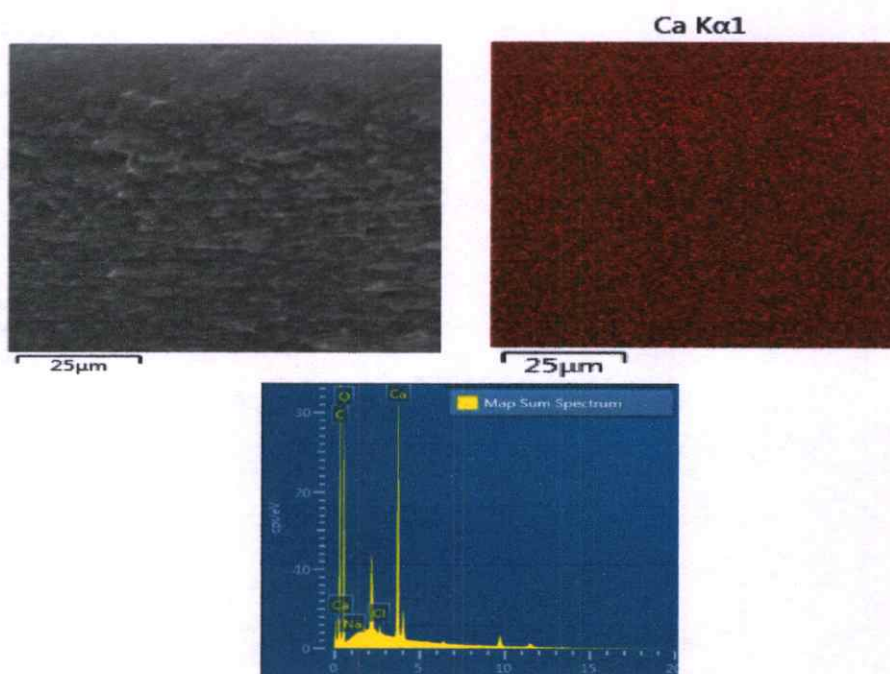
- [142] Liu, L.S. Liu, S.Q. Ng, S.Y. Froix, M. Ohno, T. and Heller, J. 1997. "Controlled release of interleukin-2 for tumour immunotherapy using alginate/chitosan porous microspheres." *Journal of Controlled Release*. 43 : 65-74.
- [143] Lopez-Carballo, G. Higuera, L. Gavara, R. and Hernandez-Munoz, P. 2013. "Silver Ions Release from Antibacterial Chitosan Films Containing in Situ Generated Silver Nanoparticles." *J. Agric. Food Chem.* 61 : 260-267.
- [144] Henriquez, C.M.G. Guerra, G.D.C.P. Vallejos, M.A.S. Fuente, S.D.R.D.L. Flores, M.T.U. and Jimenez, L.M.R. 2014. "In situ silver nanoparticle formation embedded into a photopolymerized hydrogel with biocide properties." *Journal of Nanostructure in Chemistry*. 4 : 119-132 .
- [145] Sharma, S. Sanpui, P. Chattopadhyay, A. and Ghosh, S.S. 2012. "Fabrication of antibacterial silver nanoparticle—sodium alginate—chitosan composite films." *RSC Adv.* 2 : 5837-5843
- [146] Geran, R.I. Greenberg, N.H. Macdonald, M.M. Shumacher, A.M. and Abbott, B.J. 1972. "Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems." *Cancer Chemotherapy Reports, Part III*. 3 : 1-103.
- [147] Wang, L. Khor, E. Wee, A. and Lim, L.Y. 2002. "Chitosan-alginate PEC membrane as a wound dressing: assessment of incisional wound healing." *J Biomed Mater Res.* 63 : 610-618
- [148] Hansen, B. and Jemec, G.B. 2002. "The mechanical properties of skin in osteogenesis imperfecta." *Arch Dermatol.* 138 : 909-911.
- [149] Kim, S.K. 2010. **Chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivatives: Biological activities and applications.** New York : CRC Press.
- [150] Franci, G.A. Falanga, A. Galdiero, S. Palomba, L. Rai, M. Morelli, G. and Galdiero, M. 2015. "Silver Nanoparticles as Potential Antibacterial Agents." *Molecule* 20 : 8856-8874.

ภาคผนวก ก

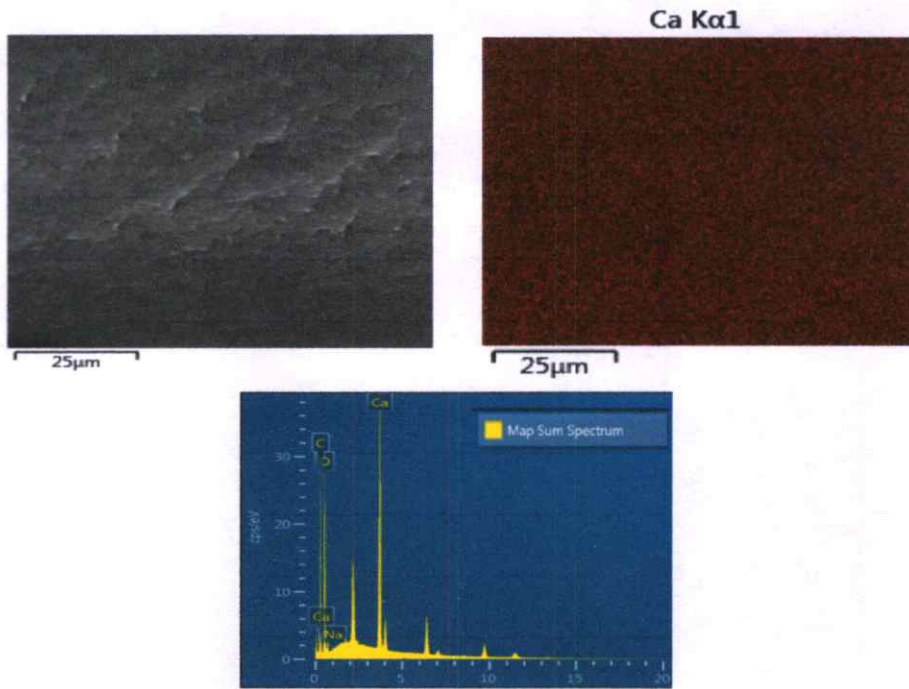
ภาพตัดขวางของฟิล์มจากเทคนิค SEM-EDS



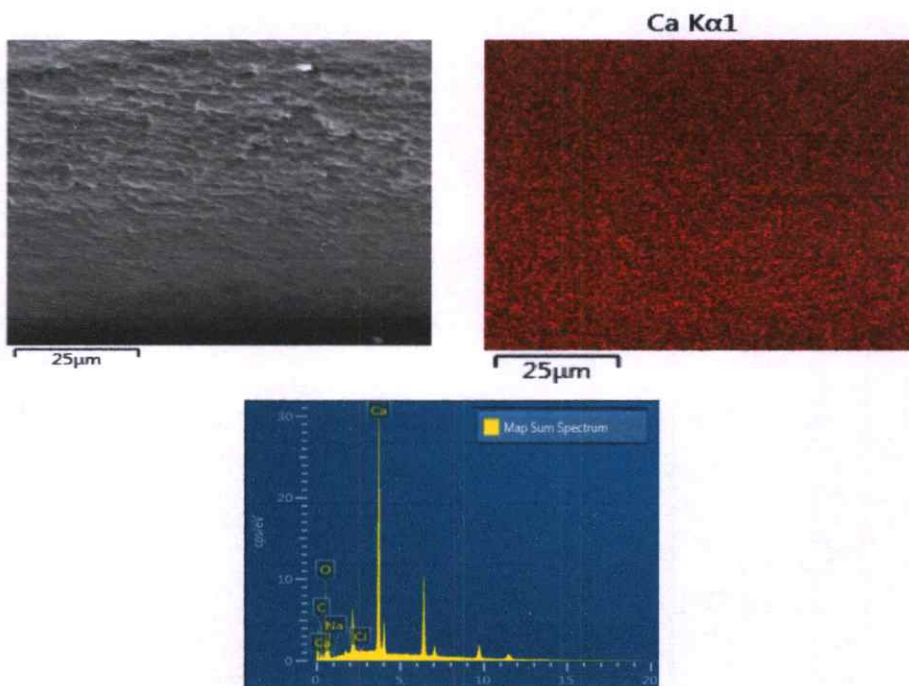
รูปที่ ก 1 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC75SA25Ca0.5



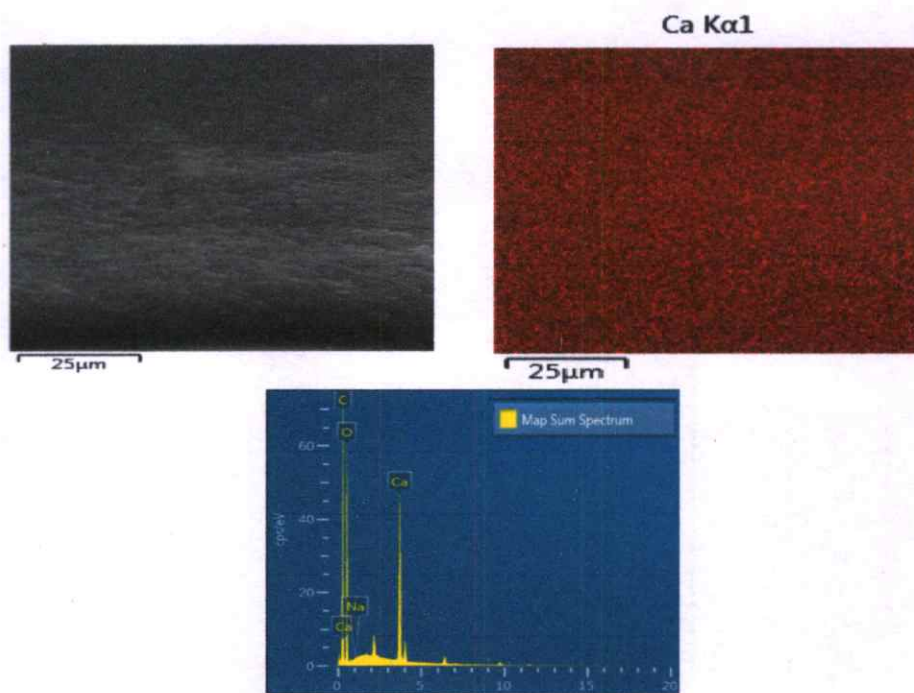
รูปที่ ก 2 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC50SA50Ca0.5



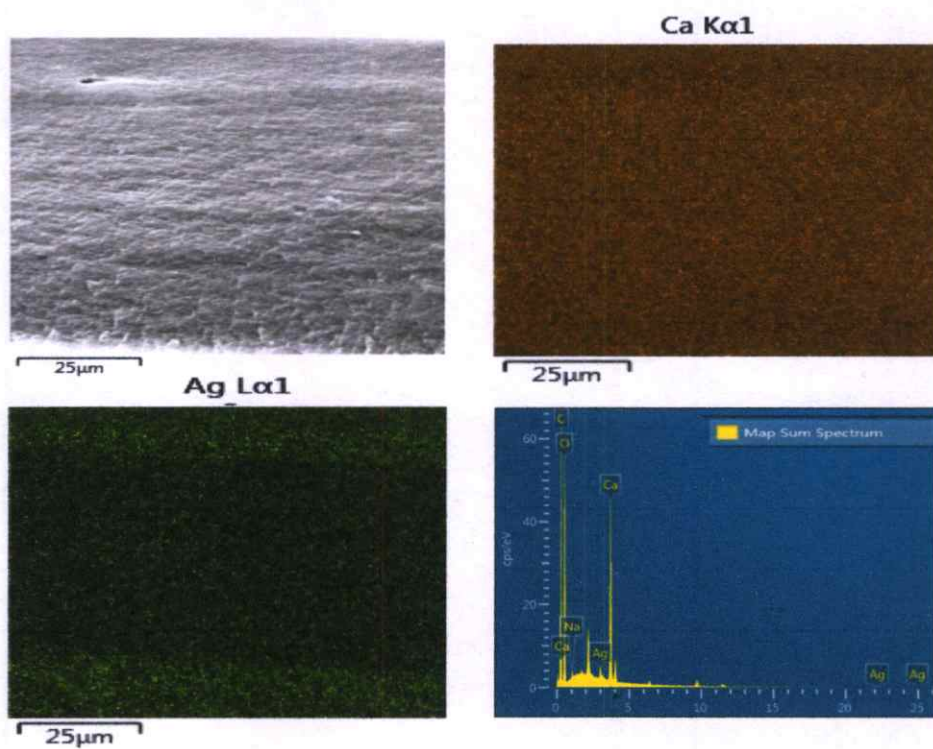
รูปที่ ก 3 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5



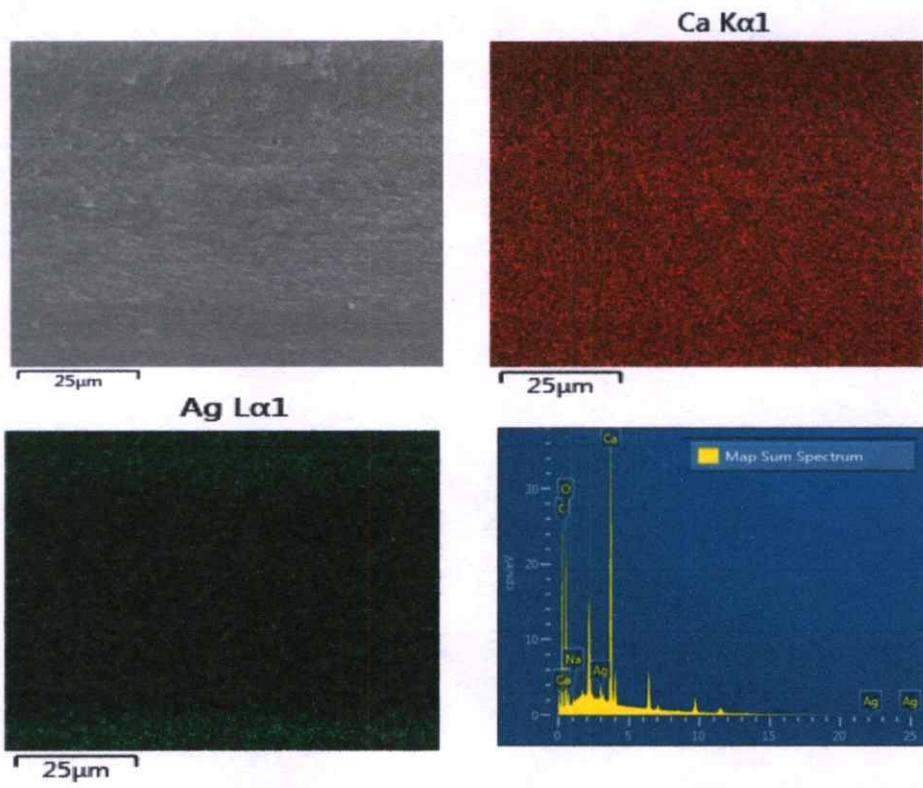
รูปที่ ก 4 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.3



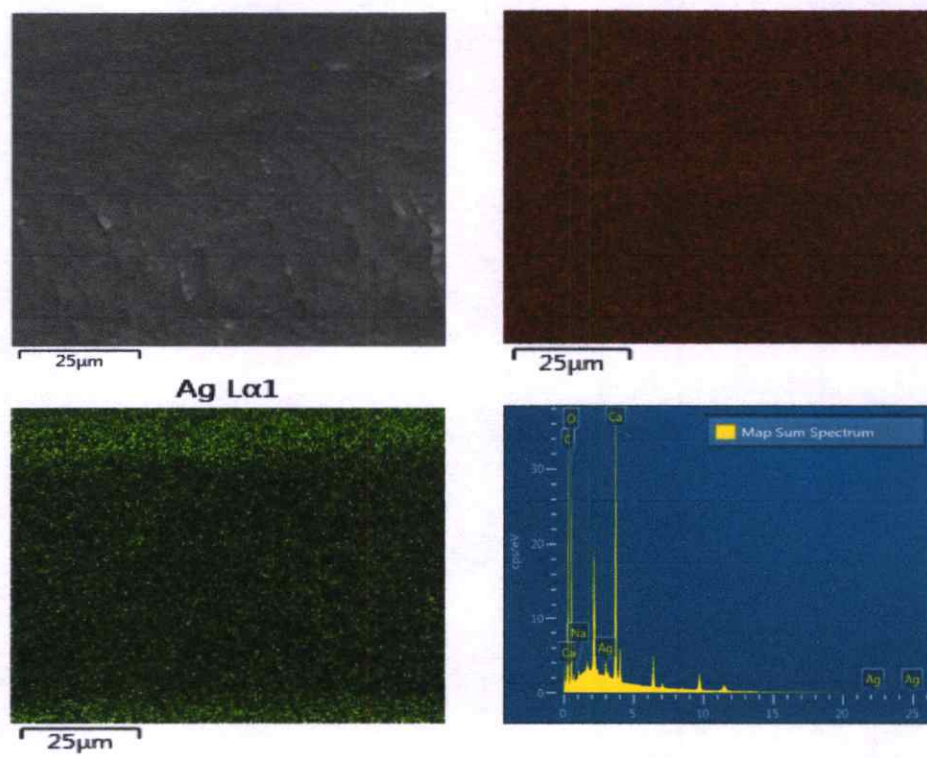
รูปที่ ก 5 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2



รูปที่ ก 6 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag0.5



รูปที่ ก 7 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.3Ag0.5



รูปที่ ก 8 ภาพตัดขวางจากเทคนิค SEM-EDS ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2Ag0.5

ภาคผนวก ข

ค่าการบวมตัวของฟิล์มสูตรต่าง ๆ ในน้ำกลั่น 37 °C

ตารางที่ ข 1 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การบวมตัวในน้ำกลั่น 37 °C ของฟิล์มที่ไม่บรรจุ AgNPs

เวลา (min)	% swelling				
	HC75SA25 Ca0.5	HC50SA50 Ca0.5	HC25SA75 Ca0.5	HC25SA75 Ca0.3	HC25SA75 Ca0.2
0	0	0	0	0	0
5	300.8 ± 11.6	130.2 ± 4.8	91.9 ± 3.5	100.7 ± 9.1	104.7 ± 2.4
10	349.8 ± 27.2	138.5 ± 3.5	97.1 ± 4.9	115.6 ± 8.7	124.2 ± 2.2
15	372.7 ± 17.4	138.9 ± 3.4	100.0 ± 5.5	121.6 ± 8.5	131.9 ± 2.7
20	384.0 ± 21.6	140.3 ± 2.8	102.1 ± 5.2	123.0 ± 8.7	136.1 ± 1.5
30	400.5 ± 22.4	144.6 ± 2.2	103.7 ± 5.4	124.4 ± 9.0	139.9 ± 2.7
45	415.1 ± 21.2	143.9 ± 4.0	105.5 ± 6.0	126.1 ± 9.0	139.6 ± 2.9
60	424.9 ± 20.7	143.7 ± 2.6	104.3 ± 5.9	126.5 ± 9.1	141.3 ± 2.0
90	434.0 ± 21.9	143.9 ± 2.5	105.1 ± 5.6	127.4 ± 9.4	141.4 ± 2.1
120	439.6 ± 17.2	143.1 ± 3.7	104.7 ± 5.4	126.9 ± 9.5	141.6 ± 1.5
180	447.0 ± 15.1	143.6 ± 2.3	106.1 ± 5.1	127.7 ± 8.4	141.8 ± 1.7
240	450.3 ± 13.0	143.3 ± 3.0	105.9 ± 6.1	126.9 ± 8.6	141.9 ± 2.2
300	453.8 ± 10.6	141.7 ± 3.4	106.6 ± 4.9	126.9 ± 8.7	142.1 ± 2.1
360	451.9 ± 8.0	139.6 ± 1.9	106.6 ± 5.5	126.7 ± 9.1	141.0 ± 1.2
420	459.8 ± 5.2	139.5 ± 1.5	105.3 ± 5.6	126.5 ± 7.8	140.9 ± 1.7
480	457.1 ± 6.0	138.7 ± 2.2	104.4 ± 6.9	125.1 ± 7.9	140.6 ± 1.4
1440	438.1 ± 2.5	129.0 ± 4.0	104.3 ± 5.4	125.1 ± 7.5	138.4 ± 2.4

ตารางที่ ข 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การบวมตัวในน้ำกลั่น 37 °C ของฟิล์มที่บรรจุ AgNPs

เวลา (min)	% swelling		
	HC25SA75Ca0.5Ag0.5	HC25SA75Ca0.3Ag0.5	HC25SA75Ca0.2Ag0.5
0	0	0	0
5	95.9 ± 0.1	98.4 ± 3.2	100.7 ± 5.9
10	103.9 ± 1.5	109.9 ± 3.8	119.5 ± 6.2
15	105.1 ± 1.3	112.4 ± 4.1	128.0 ± 7.6
20	105.8 ± 1.2	113.6 ± 4.9	132.0 ± 8.1
30	108.0 ± 1.7	114.9 ± 4.7	134.9 ± 8.2
45	108.9 ± 1.7	115.8 ± 4.2	137.0 ± 9.1
60	109.0 ± 1.0	116.3 ± 4.6	138.3 ± 8.3
90	108.5 ± 1.8	117.1 ± 5.2	138.1 ± 8.9
120	109.2 ± 1.5	116.2 ± 5.4	139.2 ± 8.8
180	108.1 ± 1.3	116.2 ± 5.6	137.3 ± 9.0
240	107.8 ± 1.4	115.0 ± 4.9	137.4 ± 10.5
300	108.3 ± 1.3	115.2 ± 5.7	138.5 ± 9.0
360	107.9 ± 1.2	114.5 ± 5.2	138.1 ± 9.6
420	107.1 ± 0.9	113.4 ± 6.2	137.8 ± 8.6
480	107.2 ± 0.7	112.9 ± 4.8	136.5 ± 9.5
1440	103.0 ± 0.5	109.0 ± 4.8	132.2 ± 8.3

ภาคผนวก ค

ค่าของแข็งคงเหลือและค่าปริมาณน้ำคงอยู่ของฟิล์มสูตรต่าง ๆ
ในน้ำกลั่น 37 °C ที่เวลา 24 ชม.

ตารางที่ ค 1 ค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งคงเหลือในน้ำกลั่น 37 °C ของฟิล์มสูตรต่าง ๆ

สูตร	% solid remain				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD
HC75SA25Ca0.5	56.7	58.8	63.0	59.5	3.2
HC50SA50Ca0.5	86.2	85.2	84.9	85.4	0.7
HC25SA75Ca0.5	99.0	99.1	99.4	99.2	0.2
HC25SA75Ca0.3	98.8	97.4	98.7	98.3	0.8
HC25SA75Ca0.2	98.3	98.9	98.5	98.6	0.3
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	96.8	96.7	98.4	97.3	0.9
HC25SA75Ca0.3Ag0.5	97.8	97.0	96.9	97.2	0.5
HC25SA75Ca0.2Ag0.5	97.9	97.9	97.5	97.8	0.2

ตารางที่ ค 2 ค่าเปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำคงอยู่ในน้ำกลั่น 37 °C ของฟิล์มสูตรต่าง ๆ

สูตร	% water content				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD
HC75SA25Ca0.5	946.6	913.9	858.7	906.4	44.4
HC50SA50Ca0.5	268.3	271.6	264.2	268.0	3.7
HC25SA75Ca0.5	210.4	199.9	207.7	206.0	5.5
HC25SA75Ca0.3	234.0	222.5	230.2	228.9	5.9
HC25SA75Ca0.2	243.6	242.6	239.3	241.8	2.3
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	210.2	209.4	206.6	208.7	1.9
HC25SA75Ca0.3Ag0.5	217.3	209.8	217.6	214.9	4.4
HC25SA75Ca0.2Ag0.5	227.4	241.6	243.3	237.4	8.8

ภาคผนวก ง

ค่าการบวมตัวของฟิล์มสูตรต่าง ๆ ในสารละลาย PBS 37 °C

ตารางที่ ง 1 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การบวมตัวในสารละลาย PBS 37 °C ของฟิล์มที่ไม่บรรจุ AgNPs

เวลา (min)	% swelling				
	HC75SA25 Ca0.5	HC50SA50 Ca0.5	HC25SA75 Ca0.5	HC25SA75 Ca0.3	HC25SA75 Ca0.2
0	0	0	0	0	0
5	344.5 ± 20.9	154.0 ± 6.1	105.0 ± 4.4	108.1 ± 1.8	112.3 ± 4.6
10	456.5 ± 23.7	188.9 ± 5.8	132.2 ± 4.6	137.8 ± 3.2	147.1 ± 1.1
15	530.2 ± 22.1	213.8 ± 5.5	147.2 ± 4.8	155.9 ± 4.1	166.7 ± 3.2
20	590.5 ± 27.8	230.7 ± 5.8	157.2 ± 5.7	165.3 ± 5.2	180.4 ± 4.7
30	729.6 ± 48.8	260.0 ± 9.3	166.7 ± 5.6	179.5 ± 4.1	196.2 ± 7.2
45	1084.7 ± 139.8	296.6 ± 13.6	176.7 ± 6.9	193.2 ± 4.6	213.4 ± 5.8
60	1493.4 ± 191.6	333.9 ± 23.2	185.0 ± 8.5	202.5 ± 5.8	225.9 ± 5.5
90	1905.8 ± 103.3	408.0 ± 37.0	193.6 ± 8.9	214.6 ± 4.4	243.9 ± 2.8
120	NA	491.6 ± 54.3	203.9 ± 11.4	227.9 ± 3.8	259.7 ± 1.3
180	NA	584.5 ± 62.6	223.7 ± 18.8	252.6 ± 3.9	285.3 ± 8.6
240	NA	667.7 ± 72.2	243.7 ± 24.5	279.3 ± 8.1	316.6 ± 15.3
300	NA	738.8 ± 84.8	264.3 ± 31.0	310.0 ± 14.8	349.6 ± 20.1
360	NA	804.3 ± 87.8	287.3 ± 39.4	340.1 ± 18.0	380.4 ± 22.6
420	NA	845.5 ± 78.8	310.3 ± 43.4	369.6 ± 21.3	412.5 ± 15.2
480	NA	872.7 ± 62.0	330.2 ± 47.2	394.4 ± 24.2	441.5 ± 15.3

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การบวมตัวในสารละลาย PBS 37 °C ของฟิล์มที่บรรจุ AgNPs

เวลา (min)	% swelling		
	HC25SA75Ca0.5Ag0.5	HC25SA75Ca0.3Ag0.5	HC25SA75Ca0.2Ag0.5
0	0	0	0
5	121.4 ± 14.1	112.6 ± 5.4	123.0 ± 2.4
10	141.0 ± 9.6	142.8 ± 3.9	150.9 ± 3.8
15	153.9 ± 8.1	159.0 ± 4.9	168.3 ± 3.3
20	165.7 ± 9.9	166.8 ± 4.8	180.5 ± 2.3
30	179.6 ± 11.8	179.9 ± 6.3	194.7 ± 2.4
45	194.2 ± 12.1	194.9 ± 8.4	213.1 ± 4.9
60	211.0 ± 14.6	208.3 ± 9.1	233.1 ± 6.4
90	232.6 ± 18.4	232.2 ± 10.6	259.8 ± 9.1
120	270.4 ± 34.2	256.6 ± 16.0	287.1 ± 10.3
180	324.6 ± 39.0	310.1 ± 24.5	353.3 ± 14.9
240	374.7 ± 35.3	367.2 ± 33.2	418.5 ± 23.6
300	418.8 ± 39.2	419.2 ± 40.8	467.3 ± 33.4
360	457.1 ± 39.3	463.7 ± 46.1	510.1 ± 39.7
420	488.3 ± 42.0	498.0 ± 43.8	543.6 ± 41.1
480	503.6 ± 45.3	521.9 ± 37.1	574.8 ± 48.7

ภาคผนวก จ

การทดสอบสมบัติเชิงกล

ตารางที่ จ 1 ความแข็งแรงดึง ณ จุดขาดของฟิล์มไฮโดรเจล

สูตร	ความแข็งแรงดึง ณ จุดขาด (MPa) / ชั้นที่					ค่าเฉลี่ย	SD
	1	2	3	4	5		
HC75SA25Ca0.5	1.0	1.0	0.9	1.0	0.9	1.0	0.1
HC50SA50Ca0.5	4.2	4.0	4.4	4.2	4.4	4.2	0.2
HC25SA75Ca0.5	5.7	5.7	6.7	6.3	6.7	6.2	0.5
HC25SA75Ca0.3	6.8	6.6	5.2	5.8	5.9	6.1	0.6
HC25SA75Ca0.2	5.7	5.7	6.1	5.9	5.6	5.8	0.2
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	7.3	7.1	7.2	7.8	7.3	7.3	0.3
HC25SA75Ca0.3Ag0.5	7.1	6.7	6.6	7.2	6.2	6.8	0.4
HC25SA75Ca0.2Ag0.5	5.7	6.3	5.9	6.3	5.7	6.0	0.3

ตารางที่ จ 2 เปอร์เซ็นต์การดึงยืด ณ จุดขาดของฟิล์มไฮโดรเจล

สูตร	การดึงยืด ณ จุดขาด (%) / ชั้นที่					ค่าเฉลี่ย	SD
	1	2	3	4	5		
HC75SA25Ca0.5	33.6	33.2	34.3	35.4	32.9	33.9	1.0
HC50SA50Ca0.5	51.4	52.8	50.6	51.6	54.3	52.1	1.4
HC25SA75Ca0.5	42.2	44.9	51.4	45.1	55.4	47.8	5.4
HC25SA75Ca0.3	54.2	59.1	50.0	48.7	50.8	52.6	4.2
HC25SA75Ca0.2	57.3	53.2	54.2	55.9	51.3	54.4	2.3
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	57.6	56.5	57.4	57.5	52.1	56.2	2.3
HC25SA75Ca0.3Ag0.5	65.2	67.1	61.0	64.5	62.0	64.0	2.5
HC25SA75Ca0.2Ag0.5	61.3	64.5	61.2	65.5	61.9	62.9	2.0

ตารางที่ จ 3 ยั้งมอดุ้สของฟิล์มไฮโดรเจล

สูตร	การดึ้งยึ้ด ณ จุดขาด (%) / ชั้นที่					ค่าเฉลี่ย	SD
	1	2	3	4	5		
HC75SA25Ca0.5	3	1	3	1	2	2	1
HC50SA50Ca0.5	13	10	11	8	14	11.2	2.4
HC25SA75Ca0.5	44	35	40	32	31	36.4	5.5
HC25SA75Ca0.3	27	23	32	29	21	26.4	4.4
HC25SA75Ca0.2	23	24	22	18	23	22	2.3
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	26	21	29	20	29	25	4.3
HC25SA75Ca0.3Ag0.5	19	13	24	22	28	21.2	5.6
HC25SA75Ca0.2Ag0.5	15	22	23	23	18	20.2	3.6

ภาคผนวก ฉ

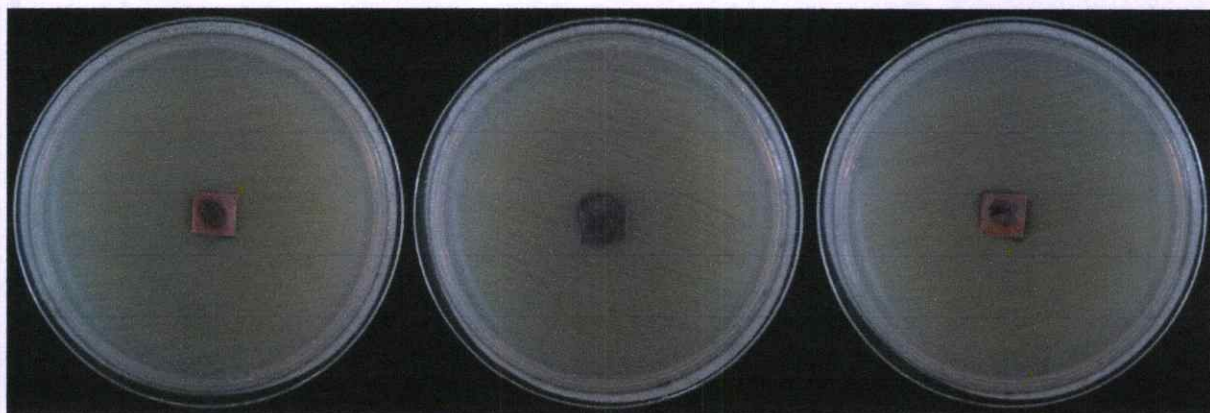
สมบัติการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ ฉ 1 ความสามารถในการต้านทานเชื้อ *E. coli* ของฟิล์มสูตรต่าง ๆ

สูตร	Zone diameter (mm)			ค่าเฉลี่ย	SD	Activity
	ชั้นที่ 1	ชั้นที่ 2	ชั้นที่ 3			
HC75SA25Ca0.5	0	0	0	0	0	Inactive
HC50SA50Ca0.5	0	0	0	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.5	0	0	0	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.3	0	0	0	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.2	0	0	0	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.5Ag10	15.1	13.4	12.4	13.6	1.4	active
HC25SA75Ca0.5Ag5	13.8	14.2	12.3	13.4	1.0	active
HC25SA75Ca0.5Ag1	12	11.5	12.4	12.0	0.5	active
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	15.3	11.7	12	13.0	2.0	active
HC25SA75Ca0.3Ag0.5	14.8	15.8	14.7	15.1	0.6	active
HC25SA75Ca0.2Ag0.5	13.7	13.6	13.4	13.6	0.2	active



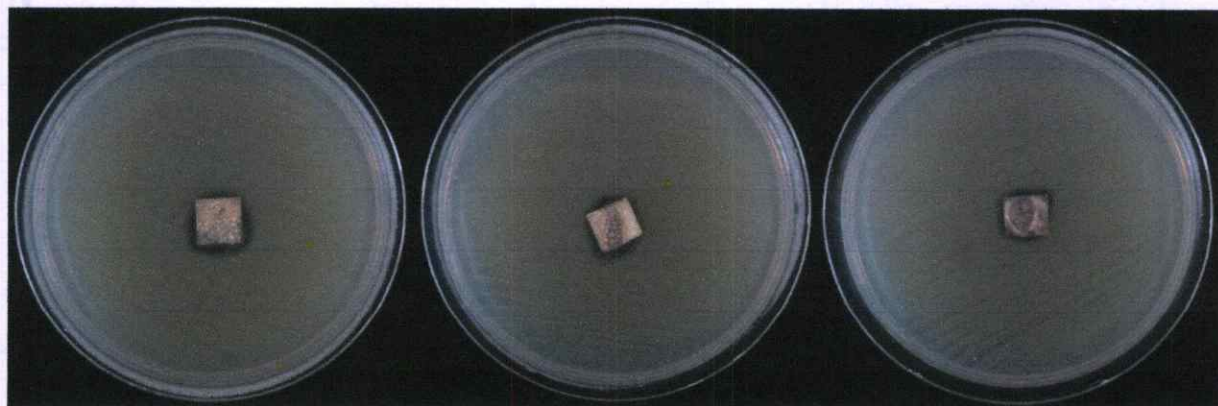
รูปที่ ฉ 1 ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ *E. Coli* ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag0.5



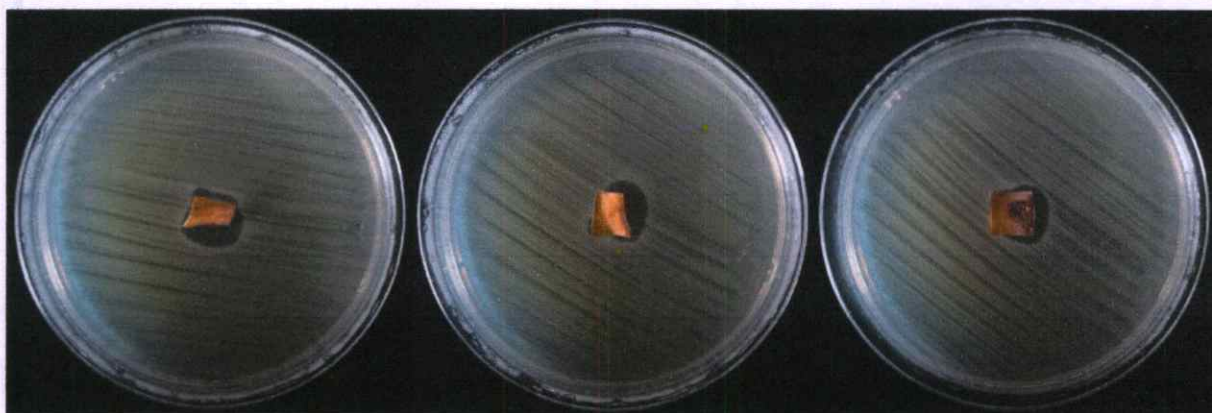
รูปที่ ๒ ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ *E. Coli* ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag1



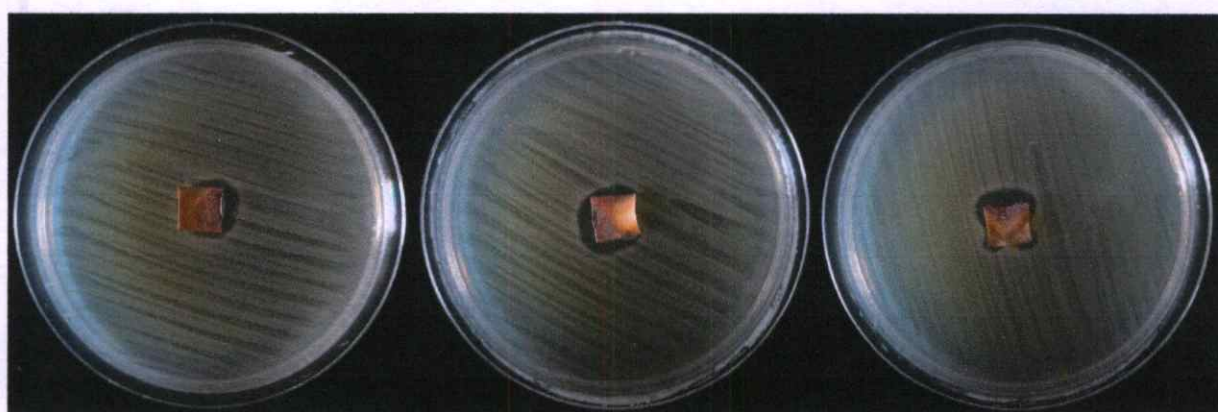
รูปที่ ๓ ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ *E. Coli* ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag5



รูปที่ ๔ ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ *E. Coli* ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag10



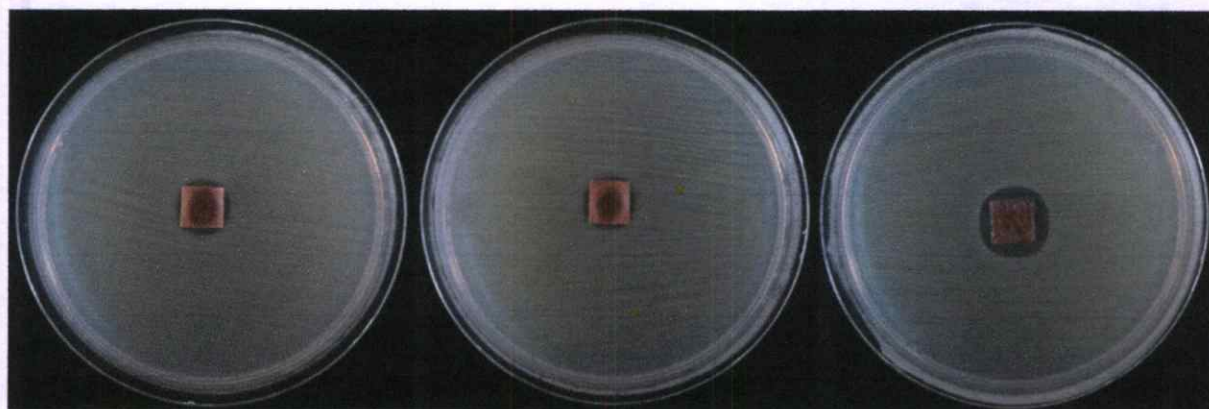
รูปที่ ๕ ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ *E. Coli* ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2Ag0.5



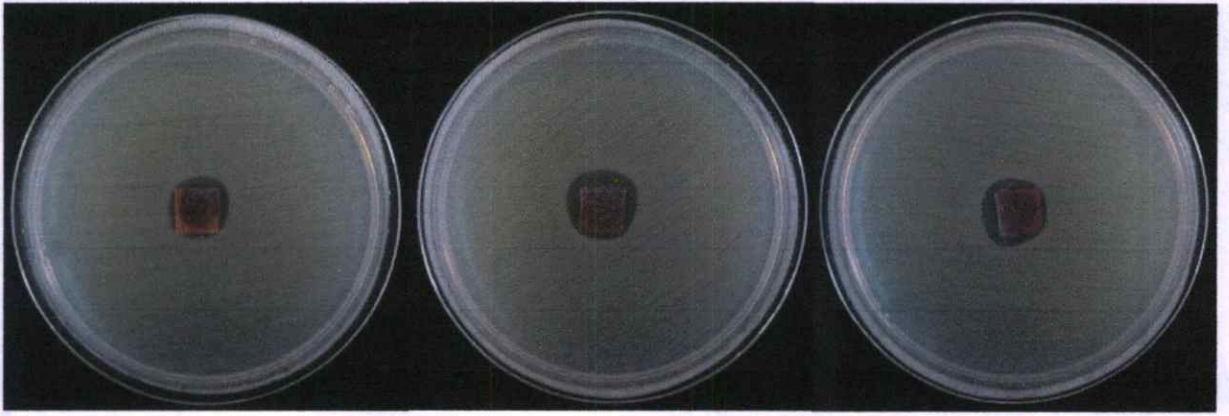
รูปที่ ๖ ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ *E. Coli* ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.3Ag0.5

ตารางที่ ๑๒ ความสามารถในการต้านทานเชื้อ *S. aureus* ของฟิล์มสูตรต่าง ๆ

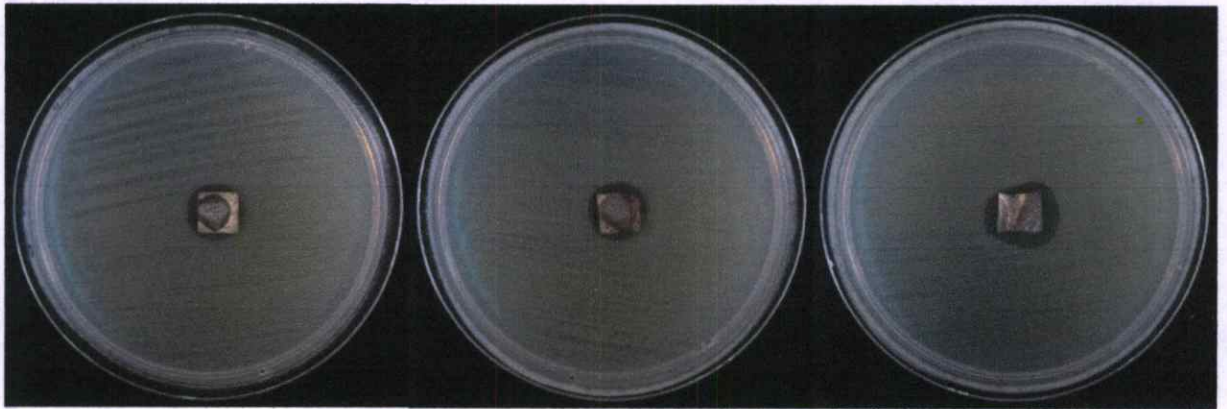
สูตร	Zone diameter (mm)			ค่าเฉลี่ย	SD	Activity
	ชั้นที่ 1	ชั้นที่ 2	ชั้นที่ 3			
HC75SA25Ca0.5	0	0	0	0	0	Inactive
HC50SA50Ca0.5	0	0	0	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.5	0	0	0	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.3	0	0	0	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.2	0	0	0	0	0	Inactive
HC25SA75Ca0.5Ag10	15.2	14.9	15.2	15.1	0.2	active
HC25SA75Ca0.5Ag5	14	14.6	17.2	15.3	1.7	active
HC25SA75Ca0.5Ag1	15.1	18.3	16.2	16.5	1.6	active
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	13.1	13.2	17.3	14.5	2.4	active
HC25SA75Ca0.3Ag0.5	18.9	18.3	18.9	18.7	0.3	active
HC25SA75Ca0.2Ag0.5	17.1	14.1	17.8	17.5	0.5	active



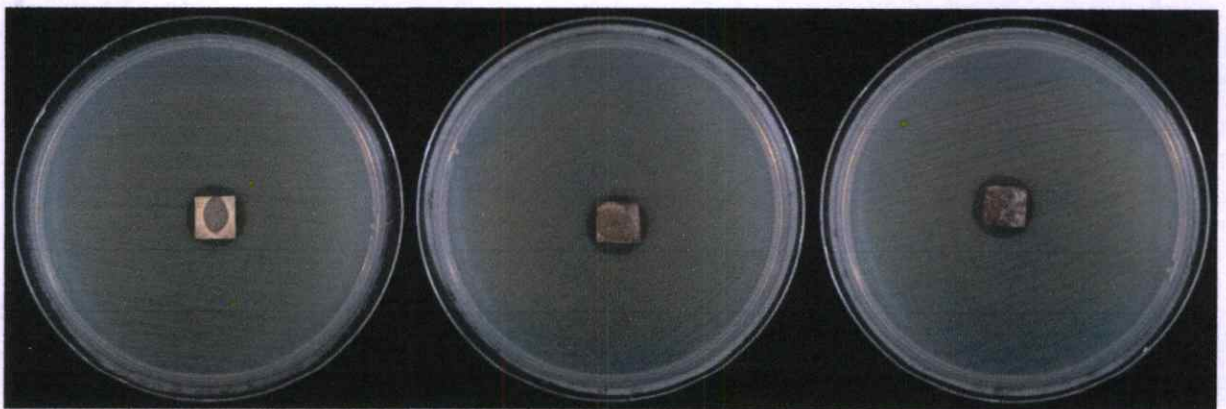
รูปที่ ๑๗ ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ *S. aureus* ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.5Ag0.5



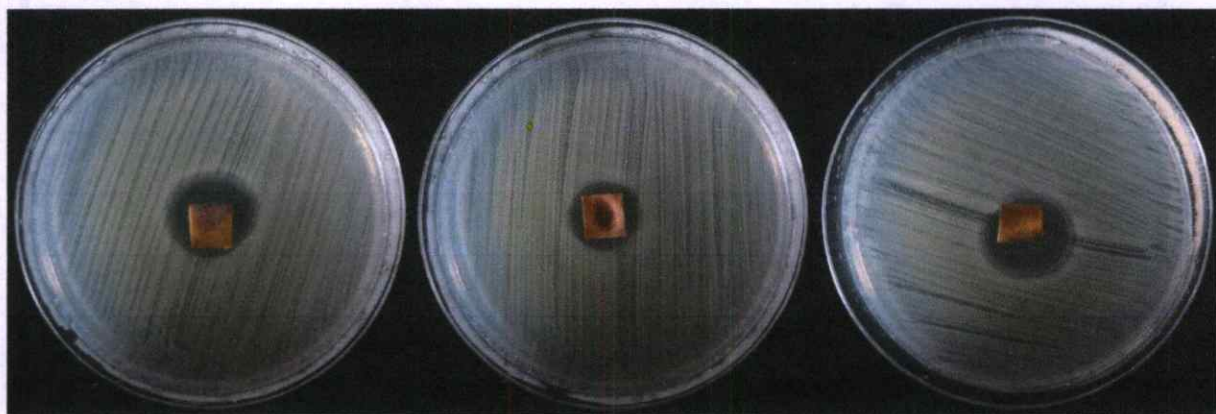
รูปที่ ๘ ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ *S. aureus* ของฟิล์มสูตรHC25SA75Ca0.5Ag1



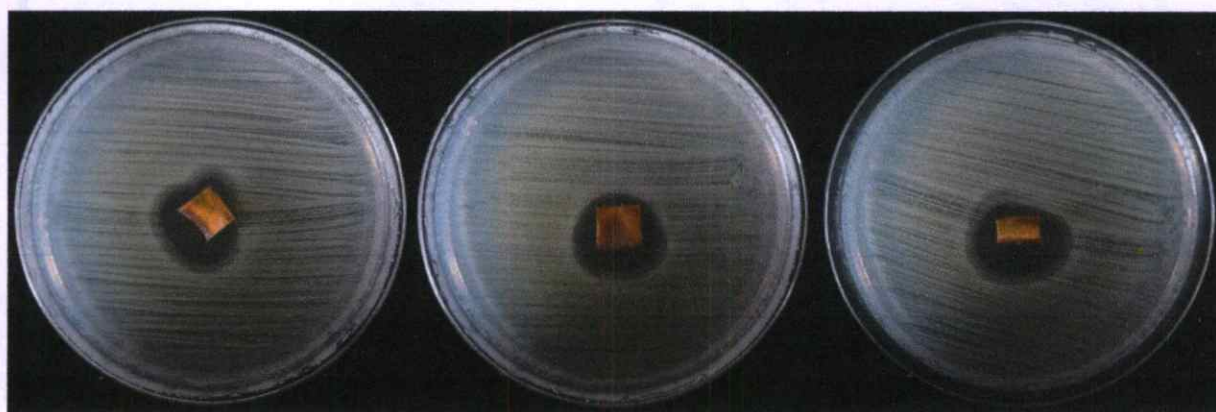
รูปที่ ๙ ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ *S. aureus* ของฟิล์มสูตรHC25SA75Ca0.5Ag5



รูปที่ ๑๐ ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ *S. aureus* ของฟิล์มสูตรHC25SA75Ca0.5Ag10



รูปที่ ๑๑ ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ *S. aureus* ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.2Ag0.5



รูปที่ ๑๒ ภาพแสดงการต้านทานเชื้อ *S. aureus* ของฟิล์มสูตร HC25SA75Ca0.3Ag0.5

ภาคผนวก ข

การทดสอบสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์

ตารางที่ ข 1 ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ของฟิล์มแต่ละสูตร

สูตร	% cell viability	
	ค่าเฉลี่ย	SD
control	100.0	0.0
HC75SA25Ca0.5	94.4	0.0
HC50SA50Ca0.5	89.7	8.2
HC25SA75Ca0.5	91.0	2.4
HC25SA75Ca0.3	106.7	0.2
HC25SA75Ca0.2	104.6	0.1
HC25SA75Ca0.5Ag10	88.1	0.6
HC25SA75Ca0.5Ag5	91.9	2.7
HC25SA75Ca0.5Ag1	96.8	2.6
HC25SA75Ca0.5Ag0.5	93.2	1.1
HC25SA75Ca0.3Ag0.5	99.7	0.4
HC25SA75Ca0.2Ag0.5	96.7	1.5

ภาคผนวก ข

การทดสอบสมบัติการปลดปล่อยยาของฟิล์ม

ตารางที่ ข 1 เปรี่เซ็นต์การปลดปล่อยพาราเซตามอลของแผ่นเซลลูโลสอะซิเตท (M) และฟิล์มสูตรที่ยังไม่เชื่อมโยง+M

เวลา (h)	% การปลดปล่อย			
	M	HC75SA25+M	HC50SA50+M	HC25SA75+M
0	0	0	0	0
0.25	7.8 ± 1.7	0.4 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.2
0.5	21.5 ± 2.3	1.7 ± 0.2	0.7 ± 0.0	0.6 ± 0.3
0.75	27.5 ± 2.0	3.9 ± 0.3	1.6 ± 0.1	1.0 ± 0.1
1	29.9 ± 3.8	5.7 ± 0.6	2.8 ± 0.3	1.3 ± 0.2
1.5	41.5 ± 2.4	9.3 ± 0.5	5.2 ± 0.7	2.4 ± 0.0
2	54.3 ± 2.3	12.5 ± 1.1	7.5 ± 0.9	3.6 ± 0.4
3	68.7 ± 2.8	25.3 ± 1.7	12.3 ± 1.6	6.4 ± 0.2
4	83.9 ± 6.7	30.2 ± 0.5	16.6 ± 2.0	9.7 ± 0.9
5	87.9 ± 3.8	32.1 ± 1.2	25.2 ± 2.0	18.9 ± 2.0
6	99.6 ± 4.4	36.9 ± 0.8	31.8 ± 3.5	22.0 ± 2.2
7	-	41.5 ± 0.9	34.1 ± 1.8	26.1 ± 3.0
8	-	44.7 ± 0.8	38.2 ± 0.5	28.8 ± 3.3
24	-	88.9 ± 3.1	77.8 ± 4.8	88.5 ± 3.8
32	-	98.3 ± 1.6	96.7 ± 1.1	96.7 ± 1.9

ตารางที่ ๒ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยพาราเซตามอลของฟิล์มสูตรที่เชื่อมโยงที่ไม่บรรจุ AgNPs+M

เวลา (h)	% การปลดปล่อย				
	HC25SA75 Ca0.5+M	HC50SA50 Ca0.5+M	HC25SA75 Ca0.5+M	HC25SA75 Ca0.3+M	HC25SA75 Ca0.2+M
0	0	0	0	0	0
0.25	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.2	0.0 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.3
0.5	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.1 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.2
0.75	1.7 ± 0.1	1.2 ± 0.3	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.2
1	2.7 ± 0.2	1.9 ± 0.6	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1
1.5	4.0 ± 0.2	2.9 ± 0.5	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.3	1.3 ± 0.1
2	5.2 ± 0.3	3.7 ± 0.8	1.1 ± 0.1	1.3 ± 0.3	1.9 ± 0.2
3	7.2 ± 0.3	5.1 ± 1.1	2.0 ± 0.1	2.4 ± 0.9	3.0 ± 0.4
4	9.1 ± 0.7	6.3 ± 0.7	2.9 ± 0.2	3.4 ± 1.1	4.0 ± 0.5
5	11.4 ± 0.8	7.4 ± 0.7	3.8 ± 0.1	4.3 ± 1.5	5.1 ± 0.8
6	13.1 ± 0.4	8.6 ± 1.1	4.5 ± 0.1	5.3 ± 1.7	6.1 ± 1.0
7	14.5 ± 0.8	9.6 ± 2.2	5.6 ± 0.3	6.1 ± 2.2	7.1 ± 1.1
8	16.1 ± 1.3	10.6 ± 1.3	6.2 ± 0.3	6.9 ± 2.0	7.7 ± 1.3
24	32.3 ± 4.1	30.3 ± 4.5	14.7 ± 0.9	19.2 ± 4.8	21.9 ± 3.3
32	40.6 ± 7.1	38.6 ± 5.5	20.0 ± 0.5	23.9 ± 3.1	27.9 ± 4.4
48	56.2 ± 9.5	53.9 ± 11.0	27.4 ± 1.3	32.9 ± 4.0	52.3 ± 5.1
56	65.9 ± 9.4	63.0 ± 11.3	30.5 ± 1.7	47.0 ± 5.8	70.8 ± 2.8
72	79.1 ± 9.1	76.2 ± 9.7	38.2 ± 4.1	89.2 ± 11.8	97.2 ± 6.4
80	84.8 ± 6.2	80.9 ± 10.9	41.5 ± 4.8	101.8 ± 3.8	-
96	95.0 ± 3.6	93.4 ± 5.0	52.6 ± 6.1	-	-
104	98.2 ± 1.7	96.6 ± 3.9	54.5 ± 7.1	-	-
120	-	-	63.1 ± 12.3	-	-
128	-	-	69.1 ± 17.3	-	-
144	-	-	83.2 ± 22.1	-	-
152	-	-	87.1 ± 20.2	-	-
168	-	-	96.0 ± 18.2	-	-
176	-	-	98.3 ± 9.7	-	-

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยพาราเซตามอลของฟิล์มสูตรที่เชื่อมโยงที่บรรจุ AgNPs+M

เวลา (h)	% การปลดปล่อย		
	HC25SA75Ca0.5Ag0.5 +M	HC25SA75Ca0.3Ag0.5 +M	HC25SA75Ca0.2Ag0.5 +M
0	0	0.0	0.0
0.25	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.2
0.5	0.0 ± 0.1	0.2 ± 0.2	0.3 ± 0.2
0.75	0.0 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1
1	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.3
1.5	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.6 ± 0.1
2	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.1	1.1 ± 0.4
3	1.1 ± 0.1	1.4 ± 0.1	2.0 ± 0.5
4	1.9 ± 0.4	1.8 ± 0.4	3.2 ± 0.7
5	3.1 ± 1.2	2.4 ± 0.1	4.2 ± 0.6
6	3.5 ± 0.5	2.9 ± 0.4	5.2 ± 1.1
7	4.1 ± 0.6	3.5 ± 0.2	6.2 ± 1.3
8	4.8 ± 0.6	4.2 ± 0.4	7.4 ± 1.6
24	13.6 ± 2.5	20.2 ± 2.9	27.4 ± 8.1
32	17.7 ± 2.2	23.2 ± 2.5	38.1 ± 12.4
48	22.4 ± 3.2	32.5 ± 6.7	76.7 ± 25.7
56	25.7 ± 3.9	39.4 ± 8.7	93.6 ± 16.4
72	29.9 ± 5.1	55.1 ± 16.5	101.2 ± 10.1
80	34.1 ± 5.7	58.9 ± 18.3	-
96	35.4 ± 6.7	73.6 ± 14.1	-
104	39.2 ± 6.4	81.5 ± 11.4	-
120	41.3 ± 6.7	96.6 ± 10.2	-
128	43.0 ± 7.3	-	-
144	43.2 ± 9.2	-	-
168	48.5 ± 11.9	-	-
176	53.6 ± 11.1	-	-
192	59.1 ± 15.1	-	-

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวมารีศา ว่องกิตติสิน
วัน เดือน ปีเกิด	30 กันยายน พ.ศ. 2536
ที่อยู่ปัจจุบัน	12 ซอย สุขุมวิท 95 แขวง บางจาก เขต พระโขนง กรุงเทพมหานคร 10260
ประวัติการศึกษา	ปี 2558 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม เกรดเฉลี่ย 3.43 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนอุดหนุนการศึกษา
ผลงานทางวิชาการ	1. ประพันธ์ ปารีชาตวุฒิกุล, มารีศา ว่องกิตติสิน และ เมธวี เมธาวนิช. 2558. “การศึกษาพฤติกรรมการปลดปล่อยโพแทสเซียมไนเตรตของเม็ดปิดจากอัลจินต.” โครงการพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 2. M. Wongkittisin and P. Monvisade. 2018. “Control release and biological properties of AgNPs loaded hydroxyethylacryl chitosansodium alginate film for potential wound dressing.” ITICHe 2018. : 170-178.