

รหัสโครงการ 177632
สัญญาเลขที่ 58/2558



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง
“การพัฒนาไบโอ-นาโนคอมโพสิตไฮโดรเจลของ
คาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลสสำหรับใช้งานด้านชีวการแพทย์”

ธนิดา ตระกูลสุจริตโชค
และ
ปรีญา นุพาสันต์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

กันยายน 2559

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยงบประมาณเงินรายได้จาก เงินอุดหนุน
จากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) พ.ศ. 2558 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการ
การวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 58/2558

บทสรุปผู้บริหาร (Executive Summary)

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.ธนิดา ตระกูลสุจริตโชค ได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัยจากมหาวิทยาลัยบูรพา ประเภทงบประมาณเงินรายได้ จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) มหาวิทยาลัยบูรพา โครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนาไบโอ-นาโนคอมโพสิตไฮโดรเจลของคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลสสำหรับใช้งานด้านชีวการแพทย์”

“Development of carboxymethyl cellulose based bio-nanocomposite hydrogels for biomedical applications”

รหัสโครงการ 177632 (สัญญาเลขที่ 58/2558)

ได้รับงบประมาณทั้งสิ้น 880,000 บาท (ห้าแสนแปดหมื่นบาทถ้วน)

ระยะเวลาดำเนินงาน 1 ปี (ระหว่างวันที่ 1 ต.ค. 2557-30 ก.ย. 2558)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการเตรียม และวิเคราะห์สมบัติของไบโอคอมโพสิตพอลิเมอร์ระหว่างโซเดียมคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส, พอลิเอทิลีน ไกลคอล และอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (NaCMC/PEG/ZnO) ที่มีปริมาณขององค์ประกอบทั้งสามต่างกัน โดยเตรียมสารละลายพอลิเมอร์ชีวภาพโซเดียมคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส (NaCMC) และทำปฏิกิริยาเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลด้วยเอพิคลอโรไฮดริน ในขณะที่มีพอลิเอทิลีน ไกลคอล และนาโนซิงค์ออกไซด์ร่วมอยู่ด้วย ไฮโดรเจลที่เตรียมได้ถูกนำไปขึ้นรูปเป็นนาโนคอมโพสิต และนำตัวอย่างที่ได้มาศึกษาการบวมตัวในสารละลาย วิเคราะห์องค์ประกอบธาตุด้วยเทคนิคเอนเนอร์จิสเปกโตรสโกปีเอกซ์เรย์ สเปกโตรสโกปี (EDX) วิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) และทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus* และ *E. coli* ด้วยเทคนิค clear zone และ standard viable plate count พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสูงขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ในคอมโพสิต และมีความเป็นไปได้ในการนำไบโอคอมโพสิตไปประยุกต์ใช้งานต่อไป

Output/ Outcome

ผลผลิตที่ได้ คือ นาโนคอมโพสิตไฮโดรเจลของไบโอพอลิเมอร์สำหรับนำไปศึกษา พัฒนา และประยุกต์ใช้เป็นวัสดุทางชีวการแพทย์ต่อไป

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการเตรียม และวิเคราะห์สมบัติของไบโอคอมโพสิตพอลิเมอร์ระหว่าง โซเดียมคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส, พอลิเอทิลีน ไกลคอล และอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (NaCMC/PEG/ZnO) ที่มีปริมาณขององค์ประกอบทั้งสามต่างกัน โดยเตรียมสารละลายพอลิเมอร์ชีวภาพโซเดียมคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส (NaCMC) และทำปฏิกิริยาเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลด้วยเอพิคลอโรไฮดริน ในขณะที่มีพอลิเอทิลีน ไกลคอล และนาโนซิงค์ออกไซด์ร่วมอยู่ด้วย นำตัวอย่างไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตมาศึกษาการบวมตัวในสารละลาย วิเคราะห์องค์ประกอบธาตุด้วยเทคนิคเอนเนอร์จิสเปกโทรสโกปี สเปกโตรสโกปี (EDX) วิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) และทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus* และ *E. coli* ด้วยเทคนิค clear zone และ standard viable plate count พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสูงขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ในคอมโพสิต และมีความเป็นไปได้ในการนำไบโอคอมโพสิตไปประยุกต์ใช้งานต่อไป

ABSTRACT

Synthesis and characteristics of bio-composite between sodium carboxymethyl cellulose, polyethylene glycol and nano-ZnO (NaCMC/PEG/ZnO) were investigated. The films of NaCMC/PEG/ZnO were prepared under different composition ratios. NaCMC powder was first dissolved in an aqueous solution and crosslinked with epichlorohydrin in the presence of polyethylene glycol and nano-ZnO. The gel-like solution was casted to obtain a bio-nano composite. The resulted samples were characterized by swelling study, Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-Ray spectroscopy (EDX). Anti-microbial property of the nano-composites against *S. aureus* and *E. coli* was tested by clear zone and standard viable plate count techniques. The results indicated that these composites showed an anti-microbial activity and the activity was enhanced by increasing the nano-ZnO composition in the composite system.

สารบัญเรื่อง

		หน้า
บทที่	กิตติกรรมประกาศ	2
	บทสรุปผู้บริหาร	3
	บทคัดย่อ	4
	Abstract	5
	สารบัญเรื่อง	6
	สารบัญตาราง	8
	สารบัญรูป	9
1	บทนำ	
	1.1 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	12
	1.2 ขอบเขตของงานวิจัย	12
	1.3 ทฤษฎี และแนวความคิดของงานวิจัย	13
	1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	19
2	วิธีดำเนินการวิจัย	
	2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	20
	2.2 สารเคมี	20
	2.3 วิธีการทดลอง	20
	2.4 การทดสอบสมบัติของพอลิเมอร์ผสม	21
	2.5 การทดสอบการต้านทานแบคทีเรีย (antibacterial property)	22
	2.6 การทดสอบการสลายตัวด้วยความร้อน	24
3	ผลการวิจัยและอภิปราย	
	3.1 พอลิเมอร์ผสม NaCMC/PEG	25
	3.1.1 การเตรียมพอลิเมอร์ผสมที่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลด้วยเอพิคลอโรไฮดริน (ECH)	25
	3.1.2 การวิเคราะห์สมบัติของพอลิเมอร์ผสม (NaCMC/PEG/ECH)	26
	3.2 นาโนคอมโพสิต (NaCMC/PEG-ECH-ZnO)	
	3.2.1 การบวมตัวในตัวทำละลาย (swelling ratio)	30
	3.2.2 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	31
	3.2.3 วิเคราะห์ลักษณะผิวหน้าของนาโนคอมโพสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	33

	หน้า
3.2.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุด้วยรังสีเอ็กซ์	34
3.2.5 การทดสอบการต้านทานแบคทีเรีย	37
3.5.6 การทดสอบเสถียรภาพทางความร้อน	41
4 สรุปผลการวิจัย	
4.1 พอลิเมอร์ผสม NaCMC/PEG	45
4.2 นาโนคอมโพสิต NaCMC/PEG-ECH-ZnO	45
4.3 ข้อเสนอแนะ	45
รายงานการเงิน	46
บรรณานุกรม	47
ประวัตินักวิจัยและคณะ	50

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียมพอลิเมอร์ผสมและนาโนคอมโพสิต	21
2.2	องค์ประกอบของอาหารรุ้นชนิด Mueller Hinton Agar	22
2.3	องค์ประกอบของอาหารรุ้นชนิด Plate Count Agar	23
3.1	หมู่ฟังก์ชันที่พบใน FT-IR สเปกตรัมของโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ยังไม่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล	28
3.2	หมู่ฟังก์ชันที่พบใน FT-IR สเปกตรัมของพอลิเมอร์พอลิเอทิลีน ไกลคอลที่ไม่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล	29
3.3	หมู่ฟังก์ชันที่พบใน FT-IR สเปกตรัมของ NaCMC9/PEG1-110-Z3	32
3.4	การต้านทานแบคทีเรียด้วยเทคนิค clear zone	39
3.5	การต้านทานแบคทีเรียด้วยเทคนิค standard viable plate count	41

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	โครงสร้างเคมีของคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส glutaraldehyde	13
1.2	การเกิดโครงสร้างแบบร่างแหของไฮโดรเจลจากพันธะไฮโดรเจน ระหว่างโมเลกุลในสภาวะกรด	14
1.3	การเกิดโครงสร้างแบบร่างแหของไฮโดรเจลโดยใช้สารเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลกลุ่มอัลดีไฮด์	14
1.4	การเตรียมพอลิเมอร์โครงสร้างร่างแหแบบอินเทอร์เพนิเทรทิงพอลิเมอร์เน็ตเวิร์ค (IPNs) แบบ Semi- และ Full IPNs	15
1.5	ลักษณะของ ZnO NPs ที่เตรียมจากสารตั้งต้นต่างกัน thiourea	16
1.6	ขั้นตอนการเตรียมนาโนคอมโพสิตระหว่าง O-carboxymethyl chitosan และนาโนซิงค์ออกไซด์	16
1.7	ผลทดสอบสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม HTCC/CMC ด้วยเทคนิค clear zone	17
1.8	ผลการยับยั้งเชื้อ <i>E.coli</i> (a) ฟิล์มแคลเซียม แอลจิเนท, (b) ฟิล์มแคลเซียม แอลจิเนท ที่มีองค์ประกอบของนาโนซิงค์ออกไซด์ ZNLCaA(25)	18
1.9	การเตรียมเส้นใยเซลลูโลสที่มี Ag-loading SiO ₂ nano antibacterial โดยใช้ KH-550; H ₂ N(CH ₂) ₃ Si(OC ₂ H ₅) ₃	19
3.1	ปฏิกิริยาการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลของโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสด้วยเอพิคลอโรไฮดริน	25
3.2	ปฏิกิริยาระหว่างพอลิเอทิลีน ไกลคอลและเอพิคลอโรไฮดริน	25
3.3	ร้อยละการบวมตัวของไฮโดรเจล NaCMC9/PEG1 ในน้ำ	26
3.4	ร้อยละการบวมตัวของไฮโดรเจล NaCMC9/PEG1 ในโซเดียมคลอไรด์	27
3.5	FT-IR สเปกตรัมของโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ยังไม่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล	27
3.6	FT-IR สเปกตรัมของพอลิเอทิลีน ไกลคอลที่ยังไม่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล	28
3.7	ภาพถ่าย SEM ที่ผิวหน้าของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110 ที่กำลังขยาย (ก) 50 เท่า, (ข) 1,000 เท่า และ (ค) 10,000 เท่า	30
3.8	การบวมตัวของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC/PEG1-110-Z3 ในตัวทำละลายน้ำ, โซเดียมคลอไรด์และเอทานอล	31

รูปที่	หน้า
3.9 FT-IR สเปกตรัมของ NaCMC9/PEG1-110-Z3	31
3.10 ภาพถ่าย SEM ของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC9/PEG1-110-Z1 ที่กำลังขยาย (ก) 50 เท่า, (ข) 1,000 เท่า และ (ค) 10,000 เท่า	32
3.11 ภาพถ่าย SEM ของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC9/PEG1-110-Z3 ที่กำลังขยาย (ก) 50 เท่า, (ข) 1,000 เท่า และ (ค) 10,000 เท่า	33
3.12 ภาพถ่าย SEM ของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC9/PEG1-110-Z5 ที่กำลังขยาย (ก) 50 เท่า, (ข) 1,000 เท่า และ (ค) 10,000 เท่า	34
3.13 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z1 (ก) วิเคราะห์ทั้งบริเวณผิวหน้า และ (ข) วิเคราะห์ในกรอบสี่เหลี่ยม	35
3.14 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z3 (ก) วิเคราะห์ทั้งบริเวณผิวหน้า และ(ข) วิเคราะห์ในกรอบสี่เหลี่ยม	36
3.15 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z5 (ก) วิเคราะห์ทั้งบริเวณผิวหน้า และ(ข) วิเคราะห์ในกรอบสี่เหลี่ยม	37
3.16 ปฏิกริยายับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยซิงค์ออกไซด์	38
3.17 ปฏิกริยายับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยซิงค์ออกไซด์	38
3.18 กลไกยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยซิงค์ออกไซด์	38
3.19 Clear-zone การยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i>	39
3.20 Clear-zone การยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i>	40
3.21 ผลการต้านทานแบคทีเรียด้วยเทคนิค standard viable plate count	41
3.22 FT-IR สเปกตรัมของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC9/PEG1-110-Z3 ก่อนและหลังเร่งการสลายตัวด้วยความร้อน (150°C) ที่เวลาต่างๆกัน	42
3.23 การบวมตัวของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC/PEG1-110-Z3 ก่อนและหลังเร่งการเสื่อมสภาพเป็นเวลา 40 ชั่วโมง ในตัวทำละลายน้ำและโซเดียมคลอไรด์	44

บทที่ 1

บทนำ

ไฮโดรเจล (hydrogel) เป็นระบบพอลิเมอร์ที่มีลักษณะชอบน้ำ (hydrophilic) ที่มีการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลแบบสามมิติ (three-dimensional network polymers) ตัวอย่างของพอลิเมอร์ที่ถูกนำมาเตรียมและศึกษาในรูปของไฮโดรเจล ได้แก่ พอลิอะคริเลท (acrylate polymer), พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol), อัลจินตพอลิเมอร์ หรือโคพอลิเมอร์อื่นซึ่งในโครงสร้างมีหมู่ฟังก์ชันลักษณะชอบน้ำ เช่น ไฮดรอกซิล (hydroxyl, -OH), คาร์บอกซิล (carboxy, -COOH) เป็นต้น ไฮโดรเจลมีสมบัติการบวมตัวและดูดซับน้ำรวมถึงสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวกลางได้ดีมาก เมื่ออยู่ในสภาพบวมตัวไฮโดรเจลมีลักษณะนิ่ม อ่อนตัว ยืดหยุ่นคล้ายยาง มีการนำพอลิเมอร์ไฮโดรเจลมาใช้เป็นวัสดุการแพทย์หลายชนิด เช่น วัสดุปิดแผล (wound dressing) โดยเฉพาะแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก เนื่องจากไฮโดรเจลมีความชุ่มชื้นสูง ช่วยดูดซับเลือดและของเหลวที่ไหลจากแผลได้ดี เนื้อเจลไม่ปิดกั้นการแพร่ผ่านของออกซิเจน ช่วยให้ร่างกายสร้างเนื้อเยื่อใหม่ได้ดีกว่าการใช้วัสดุชนิดอื่น เจลมีลักษณะใสทำให้สังเกตลักษณะของแผลได้ นอกจากนี้ยังมีสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ป้องกันบาดแผลจากเชื้อโรคและสิ่งอื่นๆ ที่อาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อแผล นอกจากนี้ยังใช้ในระบบนำส่งและควบคุมการปลดปล่อยยา (controlled drug delivery system) เพราะสามารถควบคุมอัตราการปล่อยยาช้าๆ และคงที่ในปริมาณที่เหมาะสมต่อการรักษา, ช่วยนำส่งยาโดยไม่เกิดการปลดปล่อยหรือการทำลายตัวยาก่อนจะไปถึงอวัยวะเป้าหมายในร่างกาย พอลิเมอร์ไฮโดรเจลหลายชนิดมีสมบัติเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย (biocompatibility) สามารถย่อยสลายโดยกลไกทางชีวภาพ (biodegradable) และผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายไม่เป็นพิษต่อระบบอวัยวะ นอกจากนี้ยังมีการนำไฮโดรเจลมาใช้งานเป็นวัสดุชนิดอื่น ๆ เช่น คอนแทคเลนส์ที่ให้ความสบายต่อดวงตา ลดการระคายเคือง ใช้แทนซิลิโคนในการศัลยกรรมตกแต่ง ใช้เป็นองค์ประกอบของผ้าอ้อมสำเร็จรูป การสร้างกล้ามเนื้อเทียม เป็นต้น (Travan, 2016; Yue, 2016; Chen, 2013; Samandari, 2012; Lia, 2012; Zhou, 2012)

คาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส (carboxymethyl cellulose, CMC) หรือ โซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (sodium carboxymethylcellulose) เป็นพอลิเมอร์ไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloid) ชนิดชอบน้ำ (hydrophilic) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลส (เซลลูโลสผลิตได้จากสารตั้งต้นที่เป็นวัสดุทางการเกษตร เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช ซึ่งมีมากมายในธรรมชาติและสามารถปลูกขึ้นใหม่เพื่อทดแทนได้) โดยทำให้เกิดปฏิกิริยาการแทนที่โครงสร้างเดิมของเซลลูโลสด้วยหมู่เมทิล และหมู่คาร์บอกซีเมทิล จัดอยู่ในกลุ่มพอลิเมอร์ชีวภาพที่ไม่เป็นพิษ สามารถย่อยสลายได้ มีองค์ประกอบของหมู่ฟังก์ชันที่สามารถตัด แปลงด้วยปฏิกิริยาเคมีและเกิดปฏิกิริยาการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลได้หลายรูปแบบ จึงถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ อย่างแพร่หลาย เช่น อาหาร, เกษษกรรม และวัสดุทางการแพทย์

แพทย์ เป็นต้น (Hu, 2016; Jebel, 2016; Yadollahi, 2015; Chen, 2012; Shafei, 2011; Shuhua, 2011)

ซิงค์ออกไซด์ (ZnO) ขนาดอนุภาคระดับนาโนเมตร หรือ นาโนซิงค์ออกไซด์เป็นโลหะออกไซด์ที่ได้รับ ความสนใจศึกษาทั้งในด้านกระบวนการผลิต รวมถึงการใช้งานในรูปของวัสดุนาโน (nano-materials) ซิงค์ออกไซด์มีลักษณะเป็นอนุภาคละเอียดสีขาว ความบริสุทธิ์สูง ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย มีสมบัติยับยั้ง แบคทีเรีย (anti-bacterial) โดยการทำลายและป้องกันไม่ให้เกิดการแบ่งเซลล์ของแบคทีเรีย เป็นหนึ่งใน สารที่สำคัญที่ใช้ในยาต้านแบคทีเรีย และยังสามารถป้องกันรังสี UV-A และ UV-B ตัวอย่างการใช้ นาโนซิงค์ออกไซด์ ได้แก่ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาดูดซับแสง, เซลล์แสงอาทิตย์, อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ และ อุปกรณ์ตรวจจับ (sensors) เนื่องจากมีสมบัติด้านการดูดซับแสงดี ใช้เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์ กลุ่มเครื่องสำอางโดยเฉพาะในโลชั่นกันแดด เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการป้องกันรังสียูวีได้ดี ใช้เพื่อ การบำบัดมลพิษในสิ่งแวดล้อม และยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในวัสดุการแพทย์ (Pandimurugan, 2016; Jebel, 2016; Yadollahi, 2015; Chu, 2013)

1.1) วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เตรียมไปโอ-นาโนคอมโพสิตไฮโดรเจลของคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส/พอลิ(เอทิลีน ไกลคอล)
- 2) วิเคราะห์สมบัติทางเคมี, สมบัติทางกายภาพ, สมบัติทางความร้อน และสมบัติด้านการเจริญของ เชื้อจุลินทรีย์ของไปโอ-นาโนคอมโพสิตไฮโดรเจล

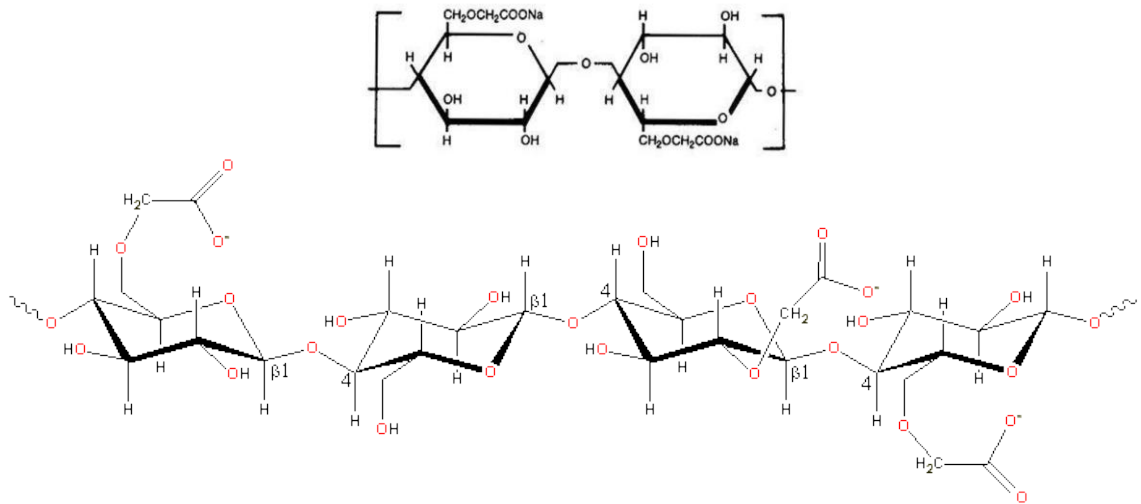
1.2) ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) สังเคราะห์ไปโอ-นาโนคอมโพสิตไฮโดรเจลระหว่างคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส (CMC) และพอลิ (เอทิลีน ไกลคอล) (PEG) โดยใช้เทคนิคการเตรียมพอลิเมอร์ผสมแบบอินเทอร์เพนิเทรทิงพอลิ เมอร์เน็ทเวิร์ค (IPNs)
- 2) ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ในการสังเคราะห์ที่มีต่อสมบัติของไปโอ-นาโนคอมโพสิต
- 3) วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของไฮโดรเจลพอลิเมอร์ที่เตรียมขึ้น ด้วยเทคนิค
 - FT-IR (Fourier transform infrared spectroscopy)
 - SEM (scanning electron microscopy)
 - TEM (transmission electron microscopy)
 - EDX (energy Dispersive X-Ray Spectrometry)
 - การบวมตัวในตัวทำละลาย เช่น น้ำ, น้ำเกลือ, สารละลายปีเพอร์ เป็นต้น
- 4) วิเคราะห์ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของไฮโดรเจลพอลิเมอร์ที่เตรียมขึ้น และศึกษาปัจจัย ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

1.3) ทฤษฎี และแนวความคิดของงานวิจัย

1) คาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส (carboxymethyl cellulose: CMC)

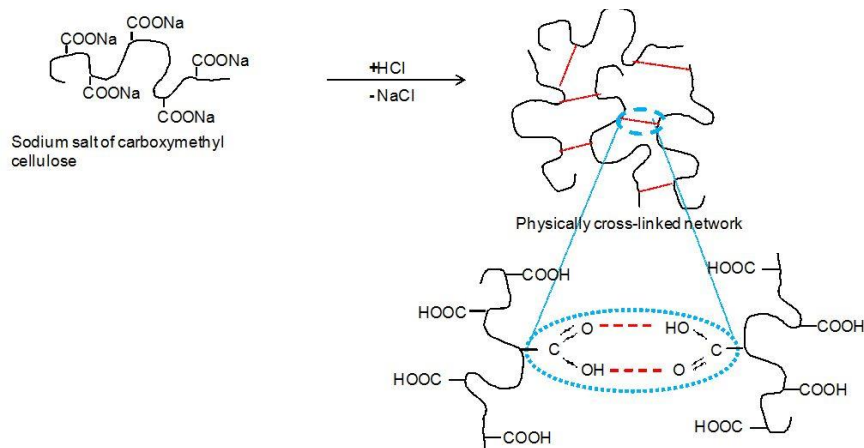
หรือเซลลูโลส กัม (cellulose gum) เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่เป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลสในรูปอีเทอร์ ผลิตได้จากปฏิกิริยาของโซเดียมมอโนคลอโรแอซีเตตกับแอลคาไลเซลลูโลสได้เป็นโซเดียมคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส มีหมู่คาร์บอกซีเมทิล ($-\text{CH}_2\text{-COOH}$) ต่อกับสายโซ่หลัก (backbone) ของเซลลูโลส ดังรูปที่ 1.1



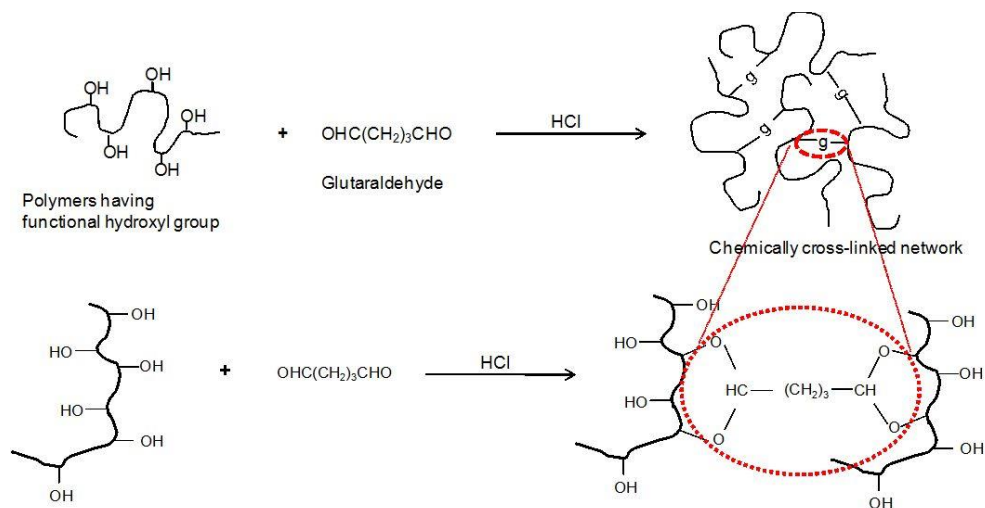
รูปที่ 1.1 โครงสร้างเคมีของคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส

ลักษณะทางกายภาพของ CMC คือ สีขาว ไม่มีกลิ่น ไม่มีรส ไม่เป็นอันตราย ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม มีสมบัติเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ (biocompatible) จึงถูกนำไปใช้งานหลายด้าน เช่น วัสดุชีวการแพทย์, ระบบควบคุมการปลดปล่อยยา, สารเคลือบแคปซูลยา ในอุตสาหกรรมอาหารใช้เป็นสารเพิ่มความข้น (thickener), สารช่วยยึดจับ (binding agent), สารช่วยในการแขวนลอยของระบบอิมัลชันในไอศกรีม และ เคลือบผลไม้ เป็นต้น ในกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่อาหารนำไปใช้เป็นส่วนผสมในยาสีฟัน, ผงซักฟอก, สีสูตรน้ำ และอุตสาหกรรมกระดาษ เป็นต้น

CMC ไฮโดรเจลในระบบเควียสสามารถเตรียมโดยปฏิกิริยาการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลในสภาวะกรดด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุล (รูปที่ 1.2) หรือ พันธะโควาเลนต์จากการใช้สารเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล เช่น กลูตารัลดีไฮด์ (รูปที่ 1.3)



รูปที่ 1.2 การเกิดโครงสร้างแบบร่างแหของไฮโดรเจลจากพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุล ในสถานะกรด (Syed, 2011)

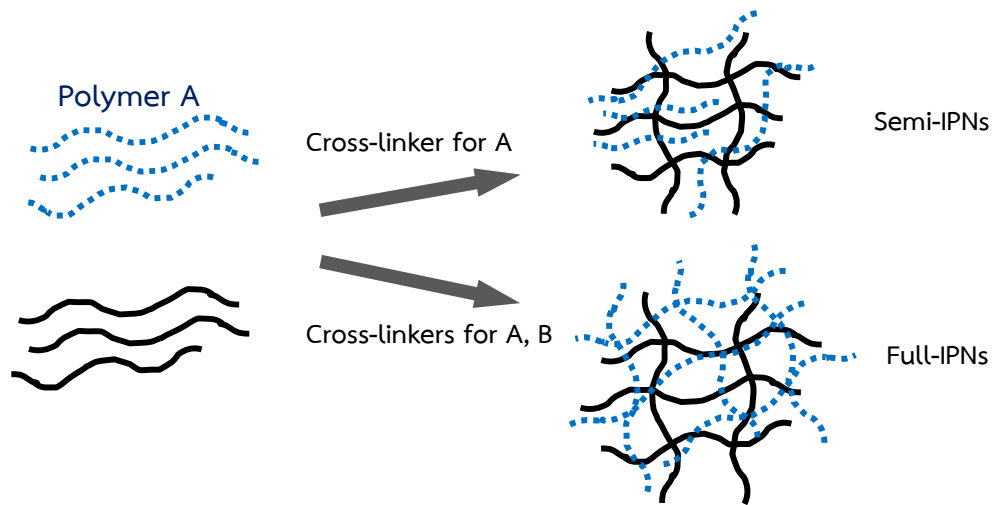


รูปที่ 1.3 การเกิดโครงสร้างแบบร่างแหของไฮโดรเจลโดยใช้สารเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล กลุ่มอัลดีไฮด์ (Ahmed, 2013; Syed, 2011)

2) พอลิเมอร์ผสมแบบอินเทอร์เพเนตริงพอลิเมอร์เน็ตเวิร์ค (interpenetrating polymer networks: IPNs)

พอลิเมอร์ผสมนี้เตรียมจากโฮโมพอลิเมอร์ (homopolymer) สองชนิดหรือมากกว่า โดยอย่างน้อยหนึ่งในโฮโมพอลิเมอร์เหล่านี้ถูกสังเคราะห์จากมอนอเมอร์ตั้งต้น หรือ เกิดปฏิกิริยาเชื่อมโยง (crosslink) สายโซ่พอลิเมอร์ชนิดแรกในขณะที่ถูกแวดล้อมด้วยโฮโมพอลิเมอร์ที่เหลือ ปฏิกิริยาการเตรียมพอลิเมอร์ผสมแบบ IPNs มีอยู่ด้วยกันหลายวิธี วิธีที่จะใช้เตรียมไฮโดรเจลของพอลิเมอร์ผสมในงานวิจัยนี้คือ full IPNs ซึ่งโฮโมพอลิเมอร์ทั้งสองชนิด (CMC และ PEG) จะถูกทำให้เกิดการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลโดยปฏิกิริยาของหมู่ฟังก์ชันในโครงสร้างเคมีของพอลิเมอร์และสารเชื่อมโยง

ระหว่างโมเลกุล เพื่อให้ได้ไฮโดรเจลที่คงรูปเมื่อนำไปใช้งาน (Ma, 2010) ขั้นตอนการสังเคราะห์แสดงในรูปของแผนภาพเพื่อให้ง่ายต่อการเข้าใจดังรูปที่ 1.4

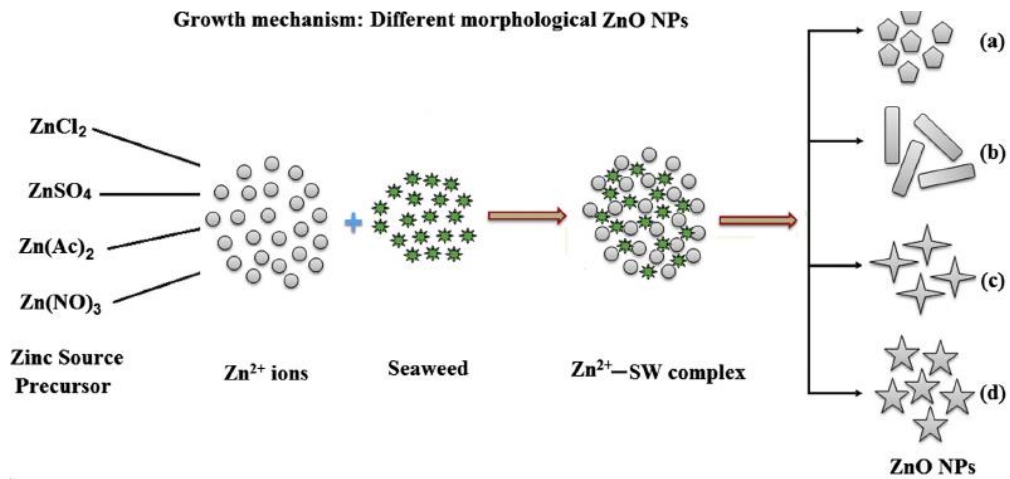


รูปที่ 1.4 การเตรียมพอลิเมอร์โครงสร้างร่างแหแบบอินเทอร์เพนิเทรทิงพอลิเมอร์เน็ตเวิร์ค (IPNs) แบบ Semi- และ Full-IPNs

IPNs มีสมบัติที่แตกต่างจากพอลิเมอร์ผสม (polymer blend) ทั่วไป คือ ไม่ละลายในตัวทำละลาย แต่สามารถบวมตัว (swell) ในตัวทำละลายที่เหมาะสมบางชนิด มีความแข็งแรงมากกว่าพอลิเมอร์ผสมทั่วไปที่เตรียมโดยเทคนิค melt blending เนื่องจากสามารถเตรียมให้มีโครงสร้างแบบร่างแห (crosslink) ทำให้การผสมเข้ากันระหว่างเฟสของคูโฮโมพอลิเมอร์ดีกว่า (Huang, 2013)

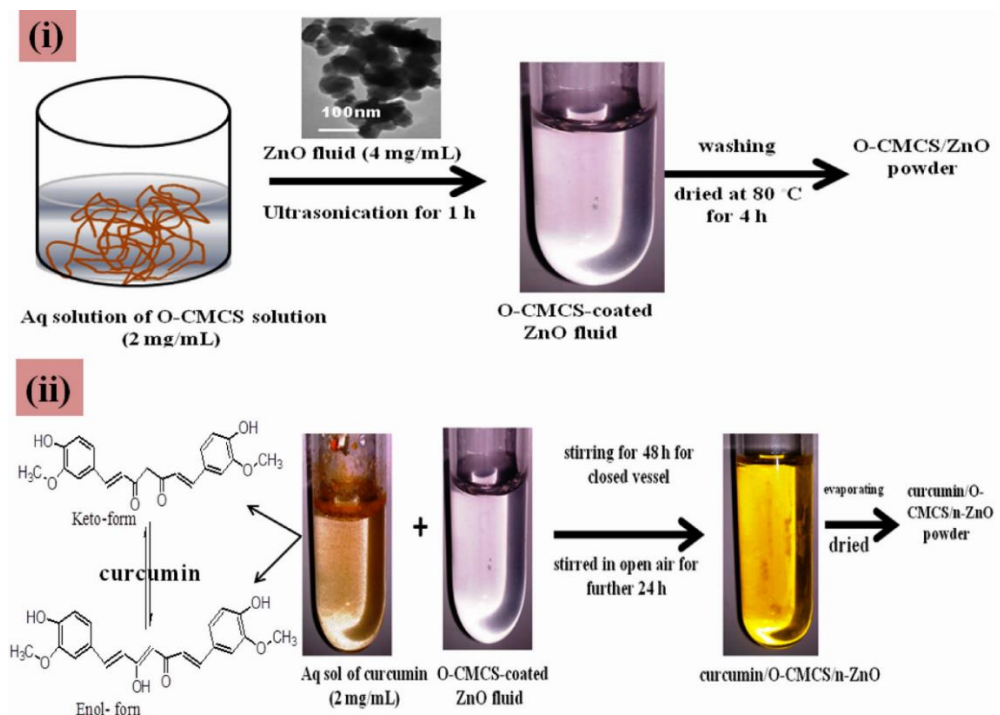
3) การทบทวนวรรณกรรม / สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

Pandimurugan และ Thambidurai (2016) ได้สังเคราะห์ seaweed-capped ZnO nanoparticles (ZnO NPs) โดยใช้ precursors ต่างๆ ได้แก่ zinc chloride, zinc acetate, zinc sulphate และ zinc nitrate และศึกษาอิทธิพลของสัณฐานวิทยาของ ZnO NPs ที่ส่งผลต่อสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียพบว่าอนุภาคนาโนที่เตรียมขึ้นมีเป็น hexagonal zinc oxides รูปร่างต่างกัน คือ crystals, rods, plates and star (รูปที่ 1.5) ผลทดสอบการต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่ดีของ ZnO NPs ในการต้านการเจริญของเชื้อโดยเฉพาะตัวอย่างที่เตรียมจาก zinc nitrate



รูปที่ 1.5 ลักษณะของ ZnO NPs ที่เตรียมจากสารตั้งต้นต่างกัน

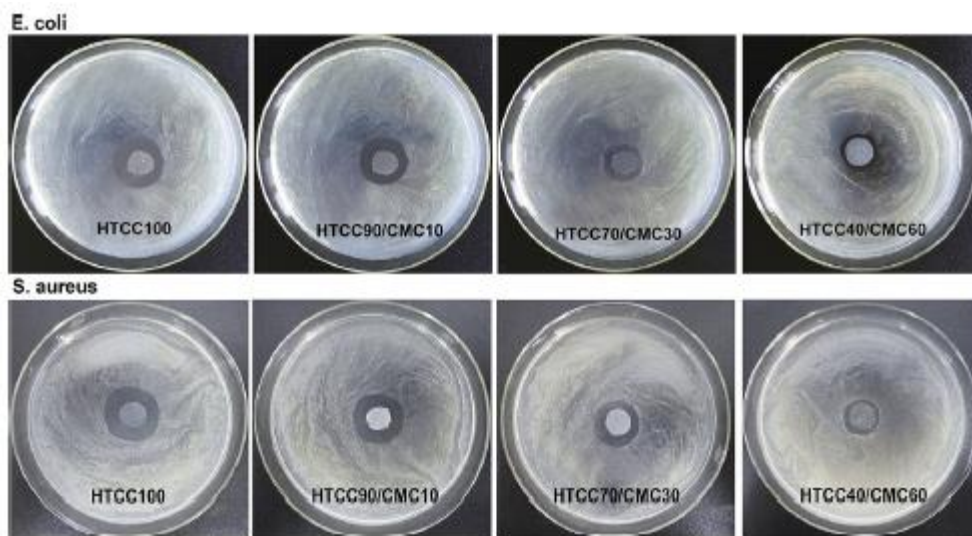
Upadhyaya และคณะวิจัย (2015) ได้เตรียมนาโนคอมโพสิตระหว่าง O-carboxymethyl chitosan และนาโนซิงค์ออกไซด์โดยเทคนิค ex-situ grafting (รูปที่ 1.6) เพื่อใช้เป็นระบบนำส่ง curcumin สำหรับต้านมะเร็ง จากนั้นวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FT-IR, XRD, SEM, TEM และ TGA/DTA พบว่านาโนคอมโพสิตมีศักยภาพนำไปพัฒนา ประยุกต์ใช้งานเป็นนาโนเมทริกซ์สำหรับยาต้านมะเร็งได้



รูปที่ 1.6 ขั้นตอนการเตรียมนาโนคอมโพสิตระหว่าง O-carboxymethyl chitosan และนาโนซิงค์ออกไซด์

Hu และคณะ (2016) ได้เตรียมฟิล์มพอลิเมอร์ผสมระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) และอนุพันธ์ของไฮโดรเจน (HTCC) เพื่อนำมาเคลือบและถนอมอาหาร และศึกษาสมบัติของฟิล์มด้วย

FTIR, XRD, SEM, TGA รวมถึงสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรีย ผลการศึกษาพบว่าพอลิเมอร์ทั้งสองมีลักษณะผสมเข้ากันได้บางส่วน (partly miscible) เนื่องจากมีแรงยึดเหนี่ยวของพันธะไฮโดรเจน การผสม CMC มีผลให้เพิ่มสมบัติความทนต่อแรงดึง ทนต่อการละลายน้ำ และเสถียรภาพทางความร้อนดีขึ้น แต่ก็ทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจน การผ่านของแสง และสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวก (*Staphylococcus aureus*) และแกรมลบ (*Escherichia coli*) ลดลง (รูปที่ 1.6) นอกจากนี้ยังพบว่ากล้วยที่เคลือบด้วยฟิล์ม HTCC/CMC มีอายุการเก็บรักษานานขึ้น คณะวิจัยได้สรุปว่าสามารถนำฟิล์ม HTCC/CMC ไปใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ได้



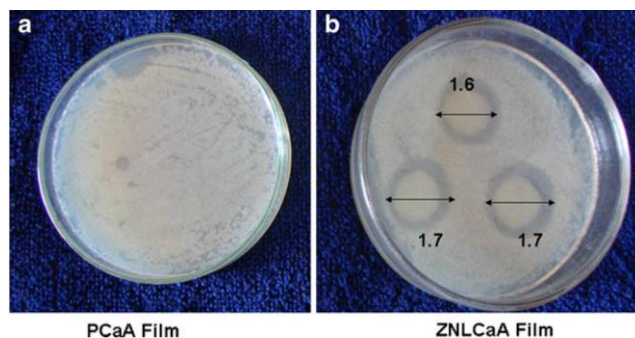
รูปที่ 1.7 ผลทดสอบสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียของฟิล์ม HTCC/CMC ด้วยเทคนิค clear zone

Hebeish และคณะวิจัย (2013) ได้พัฒนาไฮโดรเจลที่ผ่านการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลโดยใช้คาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลสจากวิธีการเตรียม 2 วิธี วิธีแรกเตรียม CMC ไฮโดรเจลขึ้นก่อนและแช่ในสารละลายซิลเวอร์ ไนเตรท จากนั้นนำออกมาแช่ในสารละลายโซเดียมซิติเรทเพื่อเปลี่ยนซิลเวอร์ไนเตรทให้เป็นนาโน-ซิลเวอร์โดยปฏิกิริยารีดักชัน วิธีที่สองทำปฏิกิริยาแบบชั้นเดียวระหว่าง CMC และ อีพิคลอโรไฮดริน (epichlorohydrin) ในสารละลายผสมสถานะเบสระหว่างซิลเวอร์ไนเตรท/ไตรโซเดียมซิติเรท เพื่อเปลี่ยนซิลเวอร์ไนเตรทเป็นนาโน-ซิลเวอร์โดยปฏิกิริยารีดักชัน และได้นาโนซิลเวอร์บรรจุอยู่ใน CMC ไฮโดรเจล เมื่อนำไฮโดรเจลไปวิเคราะห์สมบัติพบว่านาโนซิลเวอร์ไฮโดรเจลแสดงสมบัติต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*, *B. subtilis*) และแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*, *P. aeruginosa*) และมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาใช้งานทางการแพทย์ต่อไป

Raafi และคณะวิจัย (2012) ศึกษากระบวนการไฮโดรเจลพอลิเมอร์ผสมระหว่างพอลิเมอร์จากธรรมชาติและพอลิเมอร์สังเคราะห์ของ carboxymethyl cellulose (CMC) และ polyvinyl-pyrrolidone (PVP) หรือ ไฮโดรเจล CMC/PVP เพื่อใช้เป็น superabsorbent ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ในงานวิจัยได้ใช้

รังสีแกมมาในการริเริ่มและเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล ศึกษาอิทธิพลขององค์ประกอบไฮโดรเจล, ปริมาณรังสีที่ถูกดูดกลืนบนเจลและอัตราการบวมตัวของเจล พบว่าความสามารถในการเกิดเจลนั้นขึ้นอยู่กับสัดส่วนของ PVP และปริมาณในการฉายรังสีแกมมา ในขณะที่อัตราการบวมตัวจะลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณการฉายรังสี โดยสามารถยืนยันโครงสร้างและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไฮโดรเจล CMC/PVP ด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy technique (FTIR) และ scanning electron microscope (SEM) จากนั้นศึกษาความสามารถในการกักเก็บน้ำและการปลดปล่อยยูเรียของไฮโดรเจล CMC/PVP พบว่าปริมาณของยูเรียที่ปลดปล่อยออกจากไฮโดรเจล CMC/PVP เพิ่มขึ้นเมื่อมีเปอร์เซ็นต์ของยูเรียในไฮโดรเจลมากขึ้น และไฮโดรเจลสามารถเก็บความชื้นได้ดีขึ้นเมื่อองค์ประกอบของ PVP มากขึ้น จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าไฮโดรเจล CMC/PVP สามารถนำมาใช้เป็นวัสดุที่มีความสามารถในการกักเก็บน้ำและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เพื่อนำมาใช้ในงานทางด้านเกษตร เช่น ในดินทราย เนื่องจากสามารถควบคุมปริมาณน้ำและสามารถกักเก็บแหล่งอาหารไว้ในดินได้

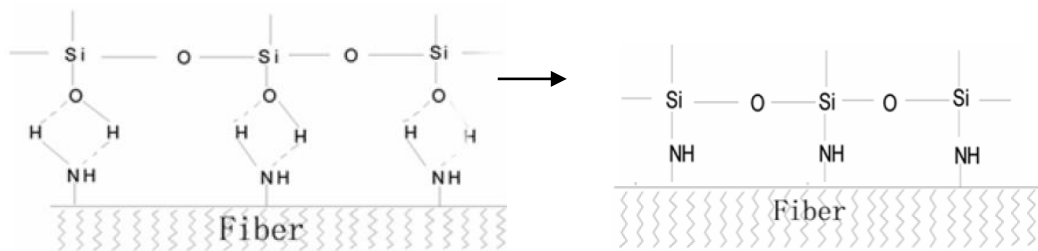
Bajpai, Chand และ Chaurasia (2012) ได้เตรียมฟิล์มพอลิเมอร์ชีวภาพจากแคลเซียม แอล-จินเนทที่มีองค์ประกอบของนาโนซิงค์ออกไซด์ (nano zinc oxide-loaded calcium alginate; ZNLCaA) ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย การเตรียมตัวอย่างประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือสังเคราะห์นาโนซิงค์ออกไซด์จากปฏิกิริยาระหว่าง NaOH และ $ZnCl_2$ ที่อุณหภูมิ $60^{\circ}C$ ขั้นที่สองเตรียมฟิล์ม ZNLCaA จากสารผสมโซเดียม แอลจินเนท/นาโนซิงค์ออกไซด์/ $CaCl_2$ /กลีเซอรอล นำไปเทลงแม่แบบและให้ความร้อนที่ $50^{\circ}C$, 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างแช่ในสารละลาย $CaCl_2$ เป็นเวลา 1 นาทีเพื่อให้เกิดการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล, ล้างด้วยน้ำ และให้ความร้อน $40^{\circ}C$ จนแห้ง



รูปที่ 1.8 ผลการยับยั้งเชื้อ *E.coli* (a) ฟิล์มแคลเซียม แอลจินเนท, (b) ฟิล์มแคลเซียม แอลจินเนทที่มีองค์ประกอบของนาโนซิงค์ออกไซด์ ZNLCaA(25)

เมื่อศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี zone inhibition พบว่าเกิดการตายของเชื้อแบคทีเรีย (*E.coli*) เป็นวง (zone of inhibition) รอบชิ้นตัวอย่างที่มีองค์ประกอบของนาโนซิงค์ออกไซด์ ZNLCaA(25) ซึ่งมีอัตราส่วนนาโนซิงค์ออกไซด์ 25 mg ต่อ 1 g แคลเซียม แอลจินเนท (รูปที่ 1.8)

Shuhua และคณะวิจัย (2011) ได้เตรียมและศึกษาเส้นใยเซลลูโลสที่กราฟต์ด้วยอะคริลาไมด์และมีองค์ประกอบของ Ag-loaded nano-SiO₂ โดยทำให้เกิดแรงยึดเหนี่ยวระหว่างพอลิเมอร์เมตริกซ์และ nano-SiO₂ โดยใช้ silane coupling agent [KH-550: H₂N(CH₂)₃Si(OC₂H₅)₃] (รูปที่ 1.9) จากนั้นเกิดปฏิกิริยาระหว่างหมู่อะมิโนของพอลิเมอร์เมตริกซ์และหมู่ไฮดรอกซิลของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* พบว่าตัวอย่างเส้นใยเซลลูโลสที่มีความเข้มข้นของอนุภาคนาโนซิลเวอร์ 0.034% แสดงอัตราการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เท่ากับ 98 และ 97% ตามลำดับ



รูปที่ 1.9 การเตรียมเส้นใยเซลลูโลสที่มี Ag-loading SiO₂ nano antibacterial โดยใช้ KH-550; H₂N(CH₂)₃Si(OC₂H₅)₃

1.4) ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ด้านวิชาการ: เผยแพร่ความรู้จากงานวิจัยโดยตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ หรือนำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมเพื่อเป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป
- 2) หน่วยงานที่ใช้ประโยชน์จากผลการวิจัย: นักวิจัย นิสิตระดับปริญญาตรีและบัณฑิตศึกษาบุคลากรของหน่วยงานวิจัย และหน่วยงานที่พัฒนาด้านกับวัสดุการแพทย์

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) รุ่น FT-IR PERKIN ELMER system 2000
2. เครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) รุ่น LOE 1450 VP
3. เครื่องให้ความร้อนและปั่นกวน (hot plate and mechanical stirrer) รุ่น IKA C-MAG HS7
4. เครื่องโซนิคเทท (sonicator)

2.2 สารเคมี

1. โซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส, sodium carboxymethyl cellulose (NaCMC) เกรด วิเคราะห์ (medium molecular weight) บริษัท Fluka
2. พอลิเอทิลีน ไกลคอล, polyethylene glycol (PEG) เกรดวิเคราะห์ (MW 20,000) บริษัท Fluka
3. ซิงค์ออกไซด์ขนาดอนุภาคระดับนาโน, nano zinc oxide (nano-ZnO) บริษัท Nano materials Technology co.,LTD
4. เอพิคลอโรไฮดริน, epichlorohydrin (ECH) เกรดวิเคราะห์ บริษัท MERCK
5. โซเดียมไฮดรอกไซด์, sodium hydroxide (NaOH) บริษัท RANKEN
6. โซเดียมคลอไรด์, sodium chloride (NaCl) บริษัท J.T.Baker

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 การเตรียมพอลิเมอร์ผสมระหว่างโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและพอลิเอทิลีน ไกลคอล (NaCMC/PEG)

1. ชั่ง NaCMC และ PEG โดยให้น้ำหนักรวมของพอลิเมอร์คงที่ 2 กรัม นำไปละลายด้วย 1% NaOH ปริมาตร 50 mL ปั่นกวนที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้พอลิเมอร์ทั้งสองชนิดละลาย เป็นเนื้อเดียวกัน
2. เติม ECH ดังตารางที่ 2.1 ลงในสารละลายผสมระหว่าง NaCMC และ PEG ปั่นกวนจนกระทั่ง สารละลายเป็นเนื้อเดียวกันที่อุณหภูมิห้อง
3. เทสารละลายผสมที่ได้ลงบนแม่พิมพ์และนำไปอบที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเพิ่ม อุณหภูมิเป็น 130 °C เป็นเวลา 3.5 ชั่วโมง

2.3.2 การเตรียมนาโนคอมโพสิตระหว่างโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส, พอลิเอทิลีน ไกลคอล และซิงค์ออกไซด์ (NaCMC/PEG/ZnO)

1. ชั่ง NaCMC และ PEG โดยให้น้ำหนักของพอลิเมอร์คงที่ 2 กรัม นำไปละลายด้วย 1% NaOH ปริมาตร 50 mL ปั่นกวนที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้พอลิเมอร์ทั้งสองชนิดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
2. เติม ZnO 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับพอลิเมอร์ทั้ง 2 ชนิด จากนั้นปั่นกวนเป็นเวลา 15 นาที สลับกับนำไปโซนิเคท 15 นาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และควบคุมอุณหภูมิของอ่างโซนิเคทที่อุณหภูมิห้อง
3. เติม ECH 10, 30, 60 และ 110 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับพอลิเมอร์ทั้ง 2 ชนิดลงในสารผสมที่ได้ จากนั้นนำไปปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
4. เทสารละลายผสมที่ได้ลงบนแม่พิมพ์และนำไปอบที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 130 °C เป็นเวลา 3.5 ชั่วโมง

ตารางที่ 2.1 ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียมพอลิเมอร์ผสมและนาโนคอมโพสิต

ชื่อตัวอย่าง	Sodium carboxymethyl cellulose (wt%)	Polyethylene glycol (wt%)	ECH* (wt%)	ZnO* (wt%)
NaCMC-10	100	-	12	-
NaCMC-110	100	-	130	-
NaCMC9/PEG1-10	90	10	12	-
NaCMC9/PEG1-30	90	10	35.5	-
NaCMC9/PEG1-60	90	10	71	-
NaCMC9/PEG1-110	90	10	130	-
NaCMC9/PEG1-110-Z1	90	10	130	1
NaCMC9/PEG1-110-Z3	90	10	130	3
NaCMC9/PEG1-110-Z5	90	10	130	5

* เปอร์เซ็นต์คิดเทียบกับน้ำหนักรวมของไฮโดรพอลิเมอร์ทั้ง 2 ชนิด

2.4 การทดสอบสมบัติของพอลิเมอร์ผสม

2.4.1 การบวมตัวในตัวทำละลาย (swelling ratio)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 0.50 กรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียด นำตัวอย่างแช่ในน้ำและ NaCl ปริมาตร 50 mL ที่อุณหภูมิห้อง จับเวลาและนำตัวอย่างออกจากตัวทำละลายมาวางบนตะแกรง โดยชั่งน้ำหนักทุกๆ 3 นาที ทั้งหมด 10 ครั้ง คำนวณร้อยละการบวมตัวดังสมการ ต่อไปนี้

$$\% \text{ swelling ratio} = [(M_2 - M_1) / M_1] \times 100$$

เมื่อ M_1 = น้ำหนักของตัวอย่างก่อนการบวมตัวในตัวทำละลาย (g)

M_2 = น้ำหนักของตัวอย่างหลังการบวมตัวในตัวทำละลายที่เวลาต่างๆ (g)

2.4.2 เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR)

นำตัวอย่างไปบดผสมกับ KBr ให้ละเอียด นำไปวิเคราะห์ที่ wave number 400-4000 cm^{-1}

2.4.3 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)

นำตัวอย่างติดลงบน stub และเคลือบด้วยทอง นำไปวิเคราะห์ลักษณะผิวหน้าของตัวอย่าง

2.5 การทดสอบการต้านทานแบคทีเรีย (antibacterial property)

2.5.1. สมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค clear zone

1. นำแผ่นกระดาษ (paper disk) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร มาจุ่มในสารละลายพอลิเมอร์ตัวอย่างตามองค์ประกอบในตารางที่ 2.1 เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
2. นำดิสก์ตัวอย่างมาจุ่มในสารละลายพอลิเมอร์ครั้งที่สองเป็นเวลา 15 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 130 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิเป็น 80°C อบเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
3. ปิเปตสารแขวนลอยแบคทีเรียชนิด *E. coli* หรือ *S. aureus* ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ที่เตรียมจากแบคทีเรียในระยะ log phase ความเข้มข้นเท่ากับสารละลาย Macfarland No. 0.5 (ปริมาณเชื้อ 1.5×10^8 CFU/mL) เกลี่ยลงบนจานอาหาร Mueller Hinton Agar (องค์ประกอบของ Mueller Hinton Agar แสดงดังตารางที่ 2.2) ให้ทั่ว
4. วางแผ่นดิสก์ตัวอย่างลงบนจานอาหารนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ ซึ่งมีลักษณะเป็นวงใส (วัดรวมแผ่นดิสก์ด้วย)

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบของอาหารวุ้นชนิด Mueller Hinton Agar

สารเคมี	ปริมาณ (กรัม)
Beef Extract	2
Acid hydrolysate of casein	17.5
Starch	1.5
Agar	17
pH 7.3±0.1 ที่อุณหภูมิ 25 °C	

2.5.2 สมบัติการต้านทานแบคทีเรียด้วยเทคนิค standard viable plate count

1. ทดสอบการรอดชีวิตของแบคทีเรีย *E. coli* หรือ *S. aureus* เมื่อสัมผัสกับพอลิเมอร์ขนาด 10 x 10 มม. โดยหยดสารแขวนลอยแบคทีเรียในระยะ log phase ที่มีความเข้มข้นเท่ากับสารละลาย Macfarland standard No. 0.5
 2. นำตัวอย่างพอลิเมอร์ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารแขวนลอยแบคทีเรีย *E. coli* หรือ *S. aureus* ปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
 3. การนับโคโลนีด้วยวิธีนี้ จำนวนโคโลนีที่เจริญบนจานอาหารมีความสำคัญ คือ ต้องมีจำนวนไม่มากหรือน้อยเกินไป โดยทั่วไปจะนับเฉพาะจานอาหารที่มีจำนวนเซลล์ระหว่าง 25-250 เซลล์เท่านั้น จึงต้องนำตัวอย่างมาเจือจางเป็นลำดับ ด้วยวิธี serial dilution
 4. วิธี serial dilution คือ เจือจางตัวอย่าง เชื้อเริ่มต้นโดยทั่วไปทำเป็นลำดับๆ ละ 10 เท่า
 5. ปิเปิดตัวอย่างในหลอดทดลองมา 0.1 mL เติม 0.85% NaCl ปริมาตร 1,980 ไมโครลิตร ลงไปเพื่อเจือจางในอัตราส่วน 1:100 และเขย่าให้เข้ากันจะได้ระดับความเจือจาง 10^{-2}
 6. ปิเปิดตัวอย่างที่เจือจาง 1 mL ใส่ลงบนจานอาหารวุ้น plate count agar ใช้แท่งแก้วปลอดเชื้อเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้าของจานอาหาร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับโคโลนี (colony) โดยใช้แว่นขยายและนำมาหาค่าเฉลี่ย ค่าที่ได้มีหน่วยเป็น colony forming unit (CFU)
5. คำนวนโคโลนี Colony Forming Unit (CFU)

$$\text{CFU/mL} = \frac{[(X_1 + X_2)/2] \times 10}{10^n}$$

เมื่อ X_1 = จำนวนโคโลนีครั้งที่ 1

X_2 = จำนวนโคโลนีครั้งที่ 2

10^n = ความเข้มข้นของแบคทีเรียที่เจือจาง

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบของอาหารวุ้นชนิด Plate Count Agar

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (%w/v)
Peptone	0.5
Yeast extract	0.25
Glucose	0.1
Agar	1.5

pH 7 ที่อุณหภูมิ 25 °C

2.6 การทดสอบการสลายตัวด้วยความร้อน

2.6.1 อิทธิพลของความร้อนที่มีผลต่อการโครงสร้างของนาโนคอมโพสิต

นำตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z3 มาอบที่อุณหภูมิ 150 °C และนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FT-IR ทุกๆ 6 ชั่วโมง ใช้เวลาทดสอบ 30 ชั่วโมง

2.6.2 อิทธิพลของความร้อนที่มีผลต่อการบวมตัวของนาโนคอมโพสิต

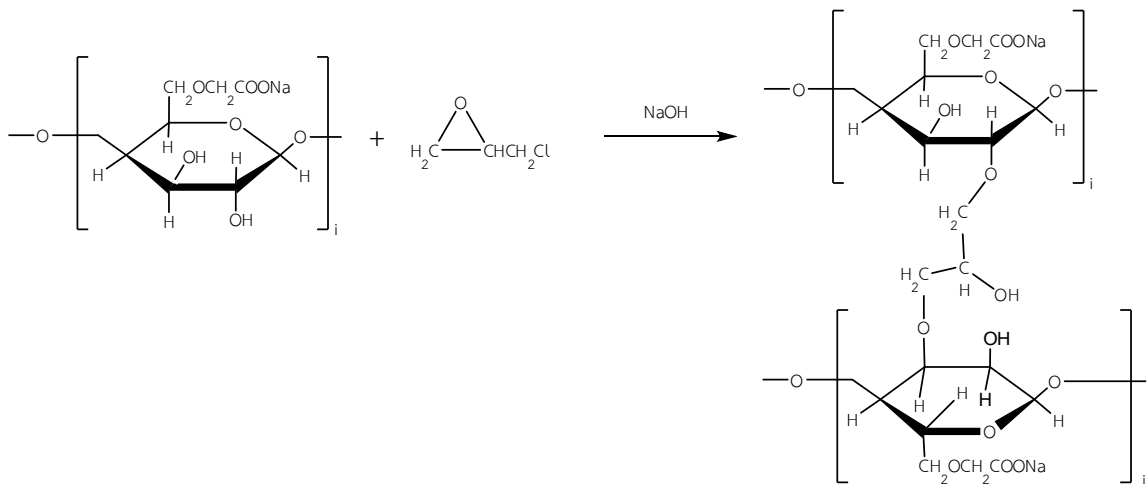
นำตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z3 มาอบที่อุณหภูมิ 150°C เป็นเวลา 40 ชั่วโมง และนำไปทดสอบการบวมตัวในตัวทำละลาย (swelling ratio)

ผลการวิจัยและอภิปราย

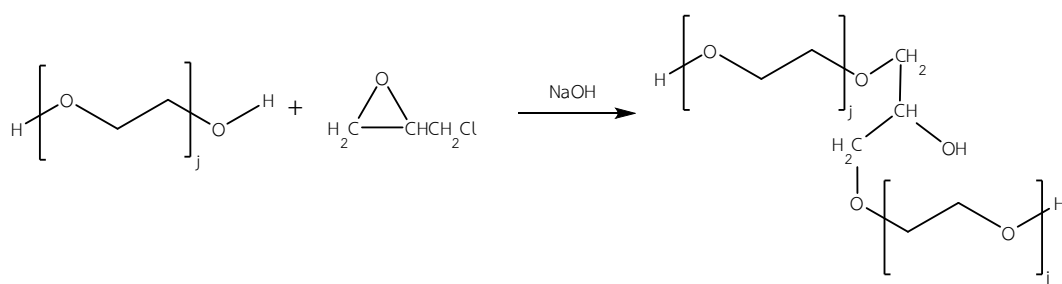
3.1 พอลิเมอร์ผสม NaCMC/PEG

3.1.1 การเตรียมพอลิเมอร์ผสมที่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลด้วยเอพิกลอโรไฮดริน (ECH)

ปฏิกิริยาการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลเกิดขึ้นผ่านหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ของ NaCMC และ PEG ดังรูปที่ 3.1 และ 3.2



รูปที่ 3.1 ปฏิกิริยาการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลของโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสด้วยเอพิกลอโรไฮดริน (Hebeish และคณะ 2013)

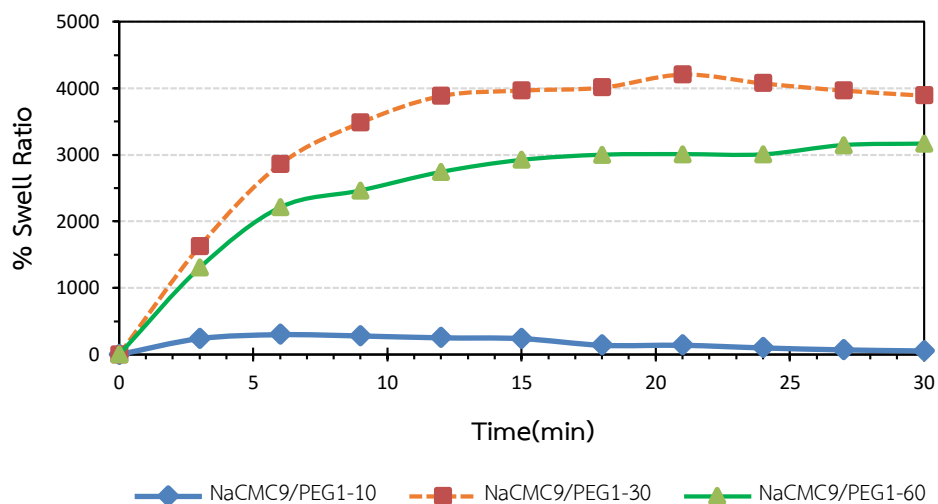


รูปที่ 3.2 ปฏิกิริยาระหว่างพอลิเอทิลีน ไกลคอลและเอพิกลอโรไฮดริน

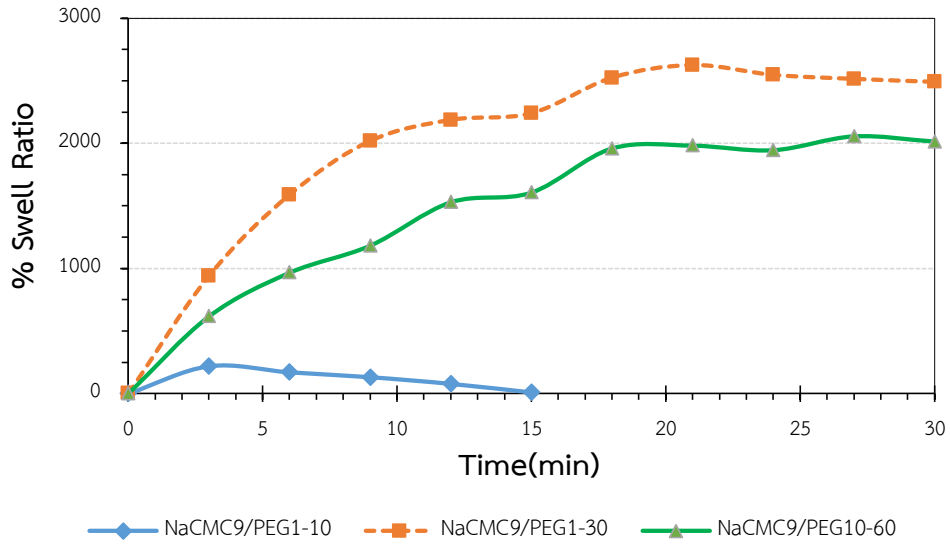
3.1.2 การวิเคราะห์สมบัติของพอลิเมอร์ผสม (NaCMC/PEG/ECH)

1. การบวมตัวของพอลิเมอร์ผสม

จากการศึกษาการบวมตัวของพอลิเมอร์ผสม 3 ชนิดคือ NaCMC9/PEG1-10, NaCMC9/PEG1-30 และ NaCMC9/PEG1-60 ในน้ำกลั่นและสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ได้ผลการศึกษาดังรูปที่ 3.3 และ 3.4 พบว่าพอลิเมอร์ผสมชนิด NaCMC9/PEG1-30 มีการบวมตัวได้ดีที่สุด ส่วน NaCMC9/PEG1-10 มีความหนาแน่นของการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลน้อยกว่าจึงทำให้การบวมตัวมีค่าต่ำ เนื่องจากสายโซ่โมเลกุลของพอลิเมอร์เกิดการเชื่อมโยงไม่หนาแน่น ทำให้พอลิเมอร์ผสมละลายไปกับตัวทำละลาย ส่วนพอลิเมอร์ผสมชนิด NaCMC9/PEG1-60 ซึ่งเตรียมโดยใช้สารเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลปริมาณมากเพียงพอทำให้ได้พอลิเมอร์ที่มีลักษณะโครงสร้างร่างแหหนาแน่นความสามารถในการดูดซับตัวทำละลายลดลง ค่าการบวมตัวที่ได้จึงต่ำ เมื่อนำตัวอย่างไปทดสอบการบวมตัวในน้ำหมู่ฟังก์ชัน COO^- ในโครงสร้างหลักของ NaCMC ซึ่งมีสภาพประจุลบจะเกิดการผลักกัน ทำให้สายโซ่โมเลกุลอยู่ห่างกัน โมเลกุลของน้ำจึงแทรกเข้าระหว่างโครงสร้างร่างแหได้ดีทำให้ค่าร้อยละการบวมตัวสูง แต่เมื่ออยู่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ COO^- สามารถเกิดแรงยึดเหนี่ยวกับ Na^+ ไอออน ทำให้การผลักกันของหมู่ฟังก์ชัน COO^- ลดลง สายโซ่โมเลกุลขยับเข้าใกล้กันมากขึ้น การบวมตัวในตัวทำละลายจึงลดลง



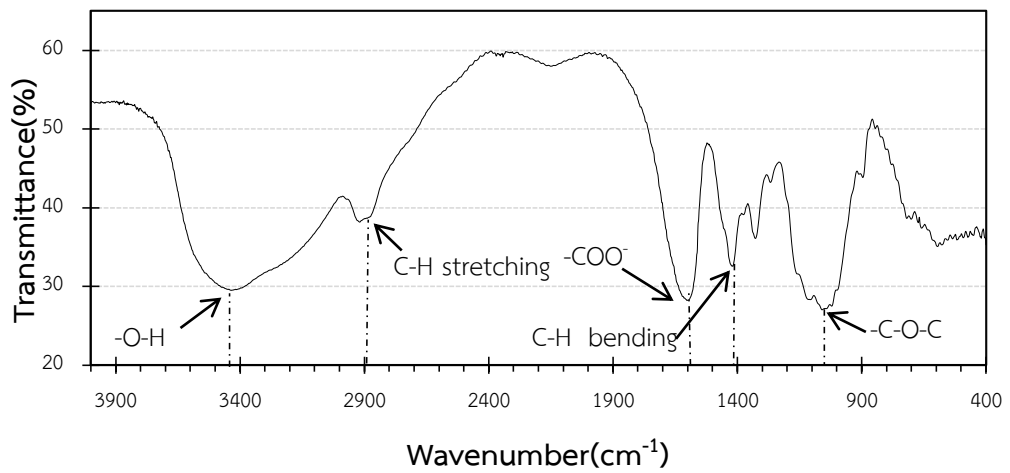
รูปที่ 3.3 ร้อยละการบวมตัวของไฮโดรเจล NaCMC9/PEG1 ในน้ำ



รูปที่ 3.4 ร้อยละการบวมตัวของไฮโดรเจล NaCMC9/PEG1 ในโซเดียมคลอไรด์

2. การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR Spectroscopy)

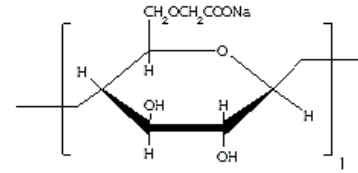
- โซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ยังไม่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล



รูปที่ 3.5 FT-IR สเปกตรัมของโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ยังไม่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล

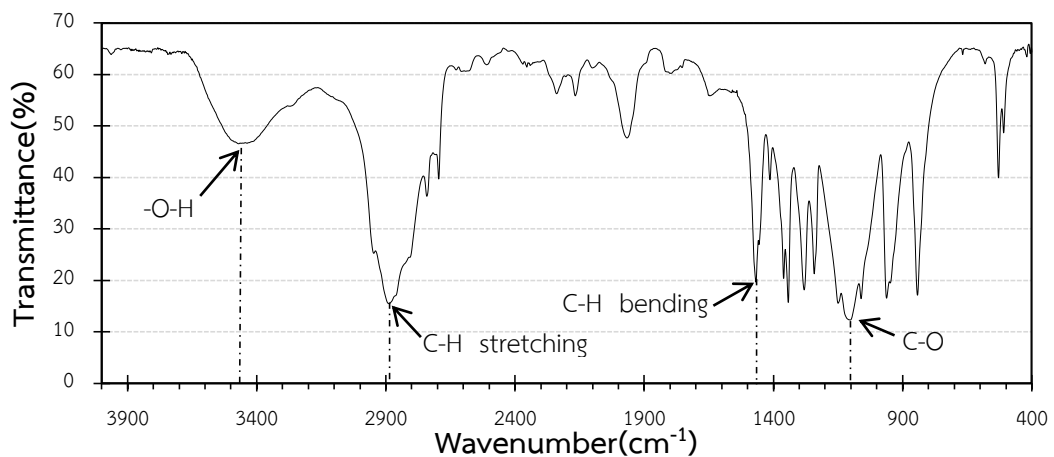
ตารางที่ 3.1 หมู่ฟังก์ชันที่พบใน FT-IR สเปกตรัมของโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ยังไม่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล

เลขคลื่น (cm ⁻¹)	หมู่ฟังก์ชัน
3450	-O-H stretching
2900	-C-H stretching
1600	-COO ⁻ stretching
1430	-C-H bending
1080	-C-O-C stretching



จากรูปที่ 3.5 FT-IR สเปกตรัมของ NaCMC พบว่าที่ 3450 cm⁻¹ ปรากฏพีก -OH stretching, 2900 cm⁻¹ ปรากฏพีก -CH stretching, 1600 cm⁻¹ ปรากฏพีก -COO group, 1430 cm⁻¹ ปรากฏพีก -CH bending และ 1080 cm⁻¹ ปรากฏพีก -C-O-C stretching ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างเคมีของหน่วยที่ซ้ำๆกัน (repeating unit) ของโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

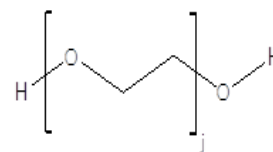
• พอลิเอทิลีน ไกลคอลที่ไม่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล



รูปที่ 3.6 FT-IR สเปกตรัมของพอลิเอทิลีน ไกลคอลที่ยังไม่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล

ตารางที่ 3.2 หมู่ฟังก์ชันที่พบใน FT-IR สเปกตรัมของพอลิเมอร์พอลิเอทิลีน ไกลคอลที่ไม่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล

เลขคลื่น (cm ⁻¹)	หมู่ฟังก์ชัน
3479	-O-H stretching
2898	-C-H stretching
1474	-C-H bending
1100	-C-O stretching



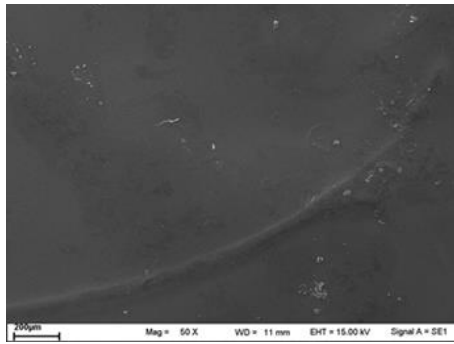
จากรูปที่ 3.6 FT-IR สเปกตรัมของ PEG พบว่า 3479 cm⁻¹ ปรากฏพีค -OH stretching, 2898 cm⁻¹ ปรากฏพีค -CH stretching, 1474 cm⁻¹ ปรากฏพีค -CH bending และ 1100 cm⁻¹ ปรากฏพีค C-O-C stretching ซ้อนทับกับพีค -C-O stretching ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของพอลิเมอร์

3. วิเคราะห์ลักษณะผิวหน้าของพอลิเมอร์ผสมด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM)

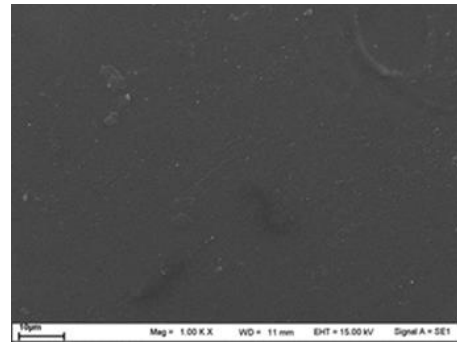
ศึกษาลักษณะผิวหน้าของตัวอย่างพอลิเมอร์ชนิด NaCMC9/PEG1-110 ที่เตรียมโดยการ cast-film พบว่าที่กำลังขยายต่าง ๆ พบว่าตัวอย่างมีลักษณะผิวหน้าค่อนข้างเรียบ (รูปที่ 3.7) ไม่พบการแยกเฟสระหว่างคู่พอลิเมอร์

3.2 นาโนคอมโพสิต (NaCMC/PEG-ECH-ZnO)

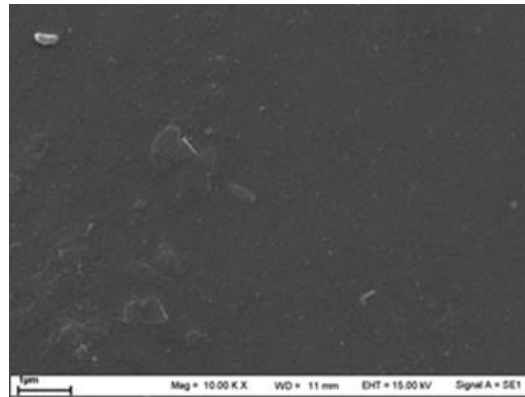
ศึกษาสมบัติของนาโนคอมโพสิตที่มีองค์ประกอบของอนุภาคนาโน ZnO ปริมาณต่างๆ โดยวิเคราะห์การบวมตัวในตัวทำละลาย (swelling ratio), วิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR Spectroscopy), กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) และศึกษาประสิทธิภาพในการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย



(ก)



(ข)

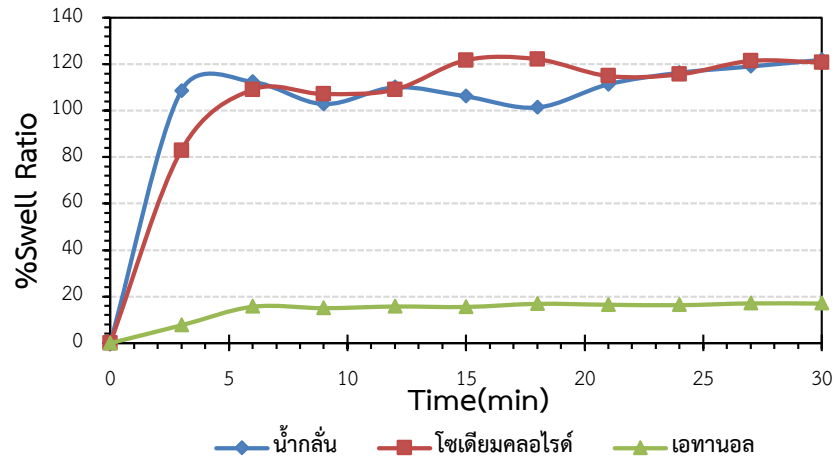


(ค)

รูปที่ 3.7 ภาพถ่าย SEM ที่ผิวหน้าของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110 ที่กำลังขยาย (ก) 50 เท่า, (ข) 1,000 เท่า และ (ค) 10,000 เท่า

3.2.1 การบวมตัวในตัวทำละลาย (swelling ratio)

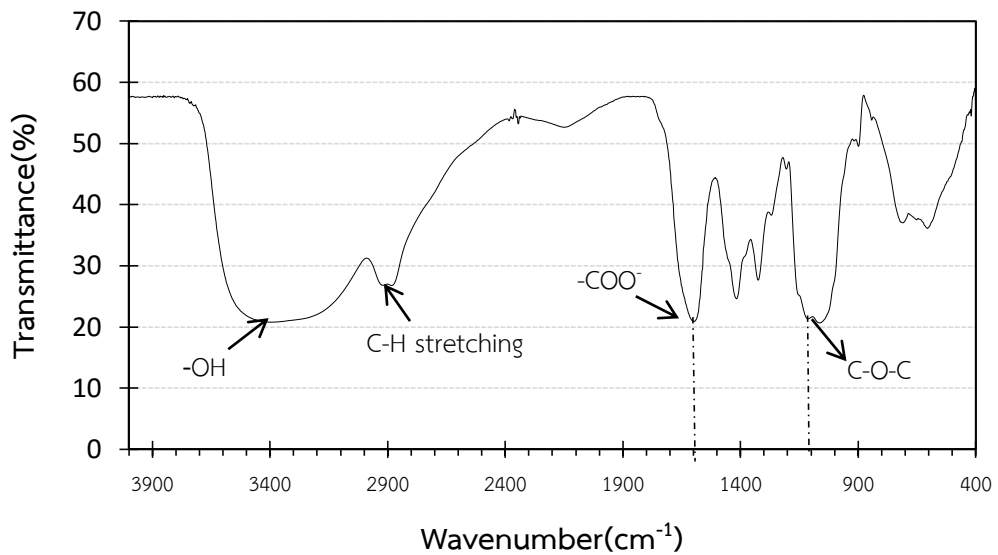
ศึกษาการบวมตัวของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z3 ในตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำกลั่น, โซเดียมคลอไรด์และเอทานอลได้ผลแสดงดังรูปที่ 3.8 พบว่าตัวอย่างสามารถบวมตัวในน้ำกลั่นและโซเดียมคลอไรด์ได้ใกล้เคียงกันแต่บวมตัวได้ในเอทานอลน้อย เนื่องจากสมบัติของไฮโมพอลิเมอร์ทั้ง NaCMC และ PEG ซึ่งมีลักษณะชอบน้ำ (hydrophilic)



รูปที่ 3.8 การบวมตัวของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC/PEG1-110-Z3 ในตัวทำละลายน้ำ, โซเดียมคลอไรด์และเอทานอล

3.2.2 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR Spectroscopy)

FT-IR สเปกตรัมของพอลิเมอร์ผสมระหว่างโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส, พอลิเอทิลีน ไกลคอลที่เชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลด้วยเอพิคลอไฮดริน และ 3% ซิงค์ออกไซด์ (NaCMC9/PEG1-110-Z3) แสดงดังรูปที่ 3.9

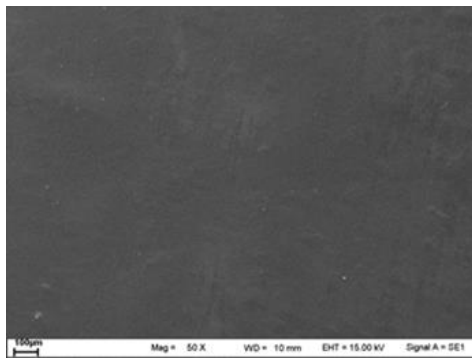


รูปที่ 3.9 FT-IR สเปกตรัมของ NaCMC9/PEG1-110-Z3

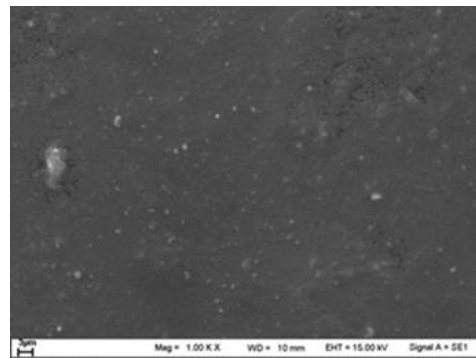
ตารางที่ 3.3 หมู่ฟังก์ชันที่พบใน FT-IR สเปกตรัมของ NaCMC9/PEG1-110-Z3

เลขคลื่น (cm ⁻¹)	หมู่ฟังก์ชัน
3400	-O-H stretching
2900	-C-H stretching
1600	-COO ⁻ stretching
1430	-C-H bending
1098	C-O-C stretching

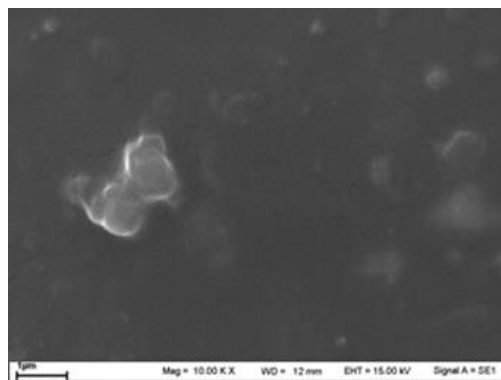
จากรูปที่ 3.9 FT-IR สเปกตรัมของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z3 พบว่าที่เลขคลื่น 3400 cm⁻¹ ปรากฏพีค -OH stretching, 2900 cm⁻¹ ปรากฏพีค -CH stretching, 1600 cm⁻¹ ปรากฏพีค -COO stretching, 1430 cm⁻¹ ปรากฏพีค -CH bending และ 1098 cm⁻¹ ปรากฏพีค -C-O-C stretching ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่อยู่ในโครงสร้างของ NaCMC และ PEG



(ก)



(ข)

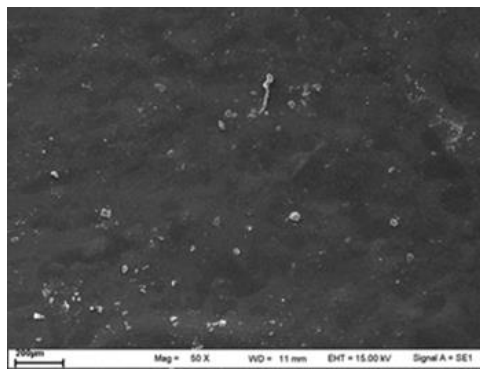


(ค)

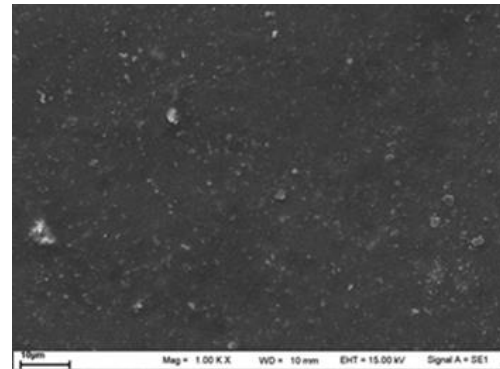
รูปที่ 3.10 ภาพถ่าย SEM ของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC9/PEG1-110-Z1 ที่กำลังขยาย (ก) 50 เท่า, (ข) 1,000 เท่า และ (ค) 10,000 เท่า

3.2.3 วิเคราะห์ลักษณะผิวหน้าของนาโนคอมโพสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM)

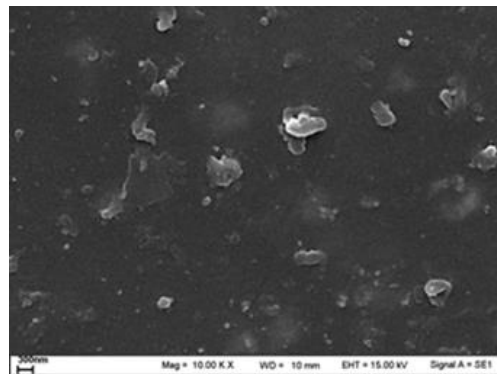
ศึกษาลักษณะผิวหน้าของตัวอย่างพอลิเมอร์นาโนคอมโพสิตที่มีองค์ประกอบของนาโนซิงค์ออกไซด์ ปริมาณต่างกัน 3 ชนิด คือ NaCMC9/PEG1-110-Z1, NaCMC9/PEG1-110-Z3 และ NaCMC9/PEG1-110-Z5 ได้ผลการวิเคราะห์ดังรูปที่ 3.10-3.12 ตามลำดับ พบว่าผิวหน้าของคอมโพสิตมีอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายทั่วไปโดยกระจายตัวค่อนข้างดี ไม่พบการเกาะกันเป็นก้อน (agglomerate) สังเกตเห็นได้ชัดจากภาพถ่าย SEM ที่กำลังขยายสูง



(ก)

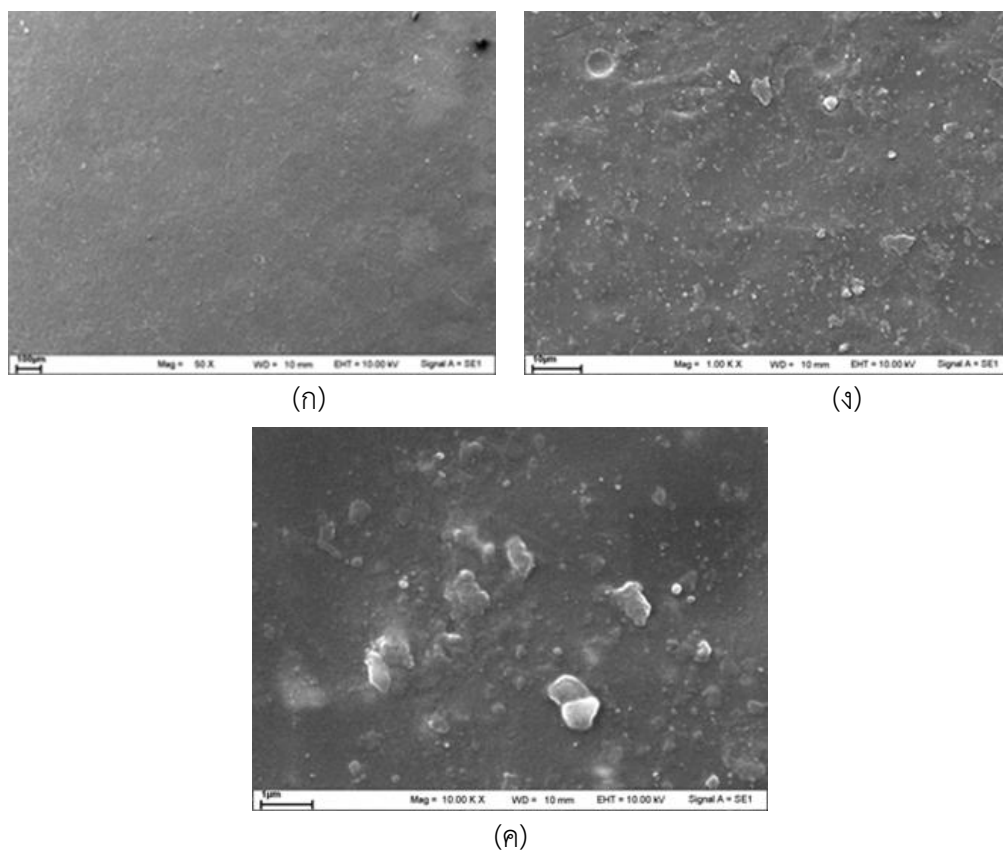


(ข)



(ค)

รูปที่ 3.11 ภาพถ่าย SEM ของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC9/PEG1-110-Z3 ที่กำลังขยาย (ก) 50 เท่า, (ข) 1,000 เท่า และ (ค) 10,000 เท่า

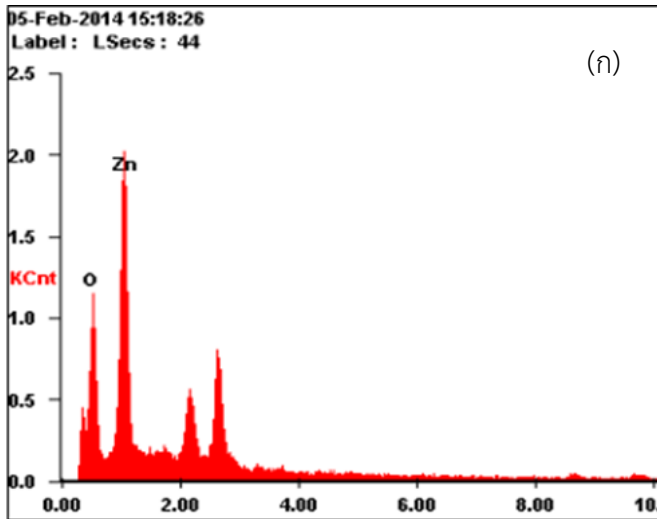


รูปที่ 3.12 ภาพถ่าย SEM ของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC9/PEG1-110-Z5 ที่กำลังขยาย (ก) 50 เท่า, (ข) 1,000 เท่า และ (ค) 10,000 เท่า

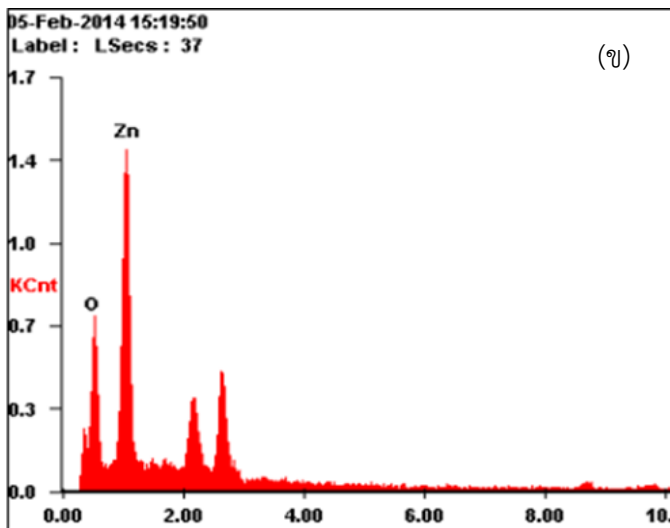
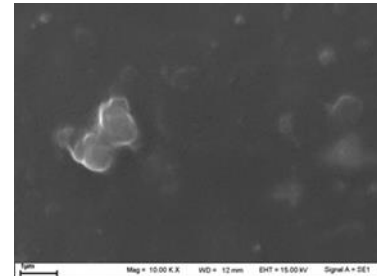
3.2.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุด้วยรังสีเอ็กซ์ (Energy-dispersive X-ray spectroscopy; EDX)

รูปที่ 3.13 แสดงผลการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z1 บริเวณผิวหน้า (ภาพ ก) และบริเวณพื้นที่ในสี่เหลี่ยม (ภาพ ข) พบว่ามีองค์ประกอบของซิงค์ออกไซด์เท่ากับ 15.45 At% และ 35.66 At% ตามลำดับ ซึ่งมีองค์ประกอบใกล้เคียงกัน ยืนยันได้ว่าอนุภาคที่พบกระจายที่ผิวของตัวอย่างคืออนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์

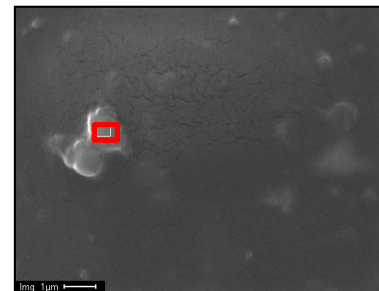
รูปที่ 3.14 แสดงผลการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z3 บริเวณผิวหน้า (ภาพ ก) และบริเวณพื้นที่ในสี่เหลี่ยม (ภาพ ข) พบว่ามีองค์ประกอบของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ เท่ากับ 18.58 At% และ 24.30 At% ตามลำดับ



Element	Wt%	At%
O	57.25	84.55
Zn	42.75	15.45

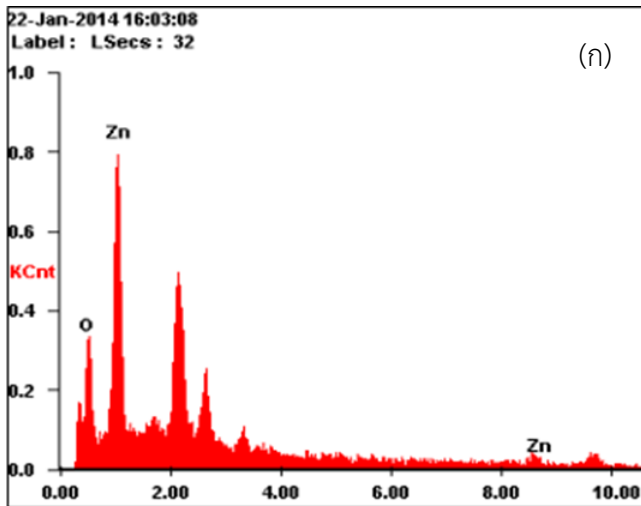


Element	Wt%	At%
O	30.63	64.34
Zn	69.37	35.66

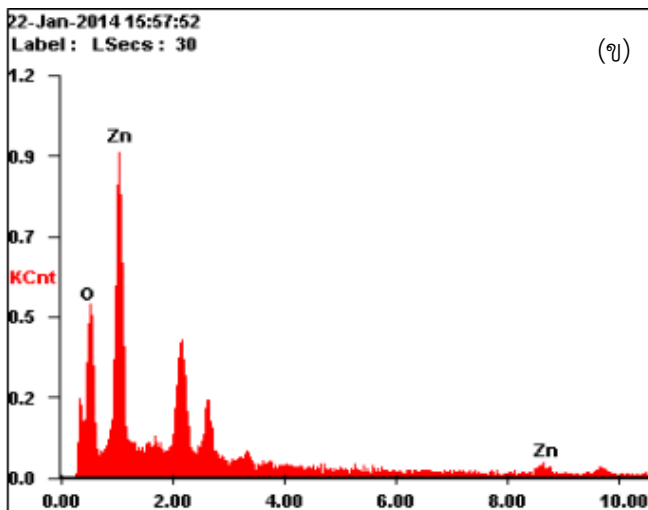
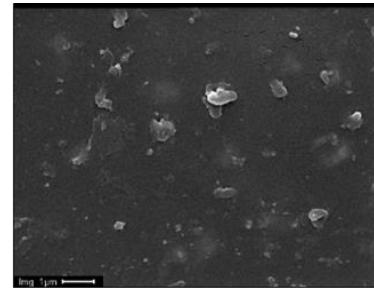


รูปที่ 3.13 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z1

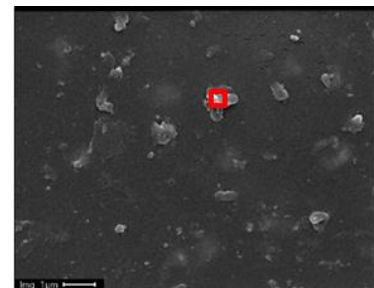
(ก) วิเคราะห์ทั้งบริเวณผิวหน้า และ (ข) วิเคราะห์ในกรอบสี่เหลี่ยม



Element	Wt%	At%
O	51.75	81.42
Zn	48.25	18.58

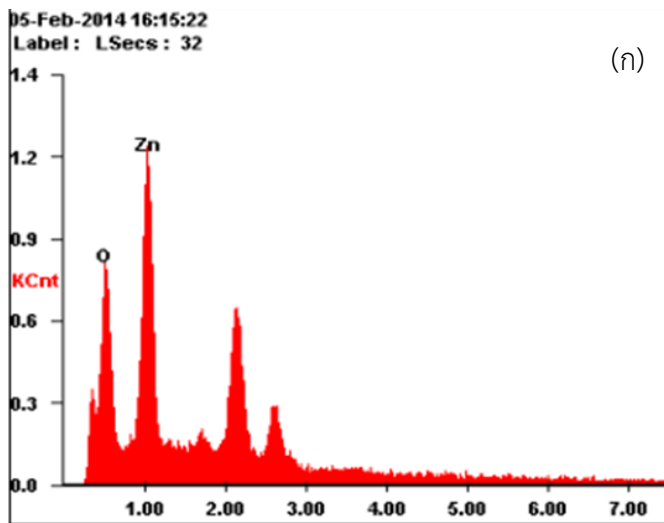


Element	Wt%	At%
O	43.26	75.70
Zn	56.74	24.30

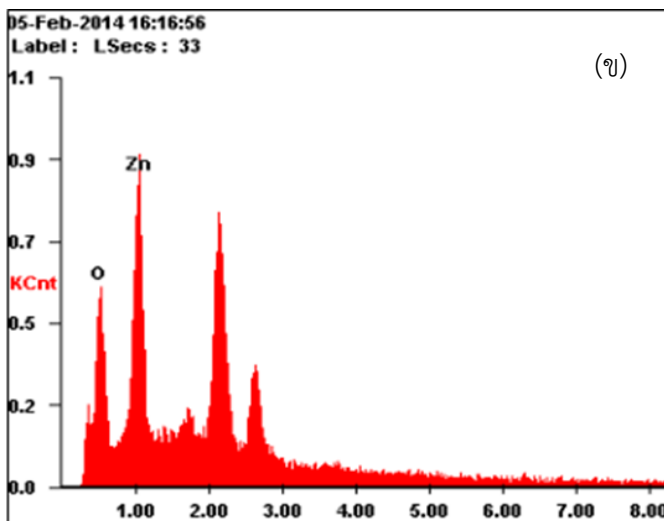
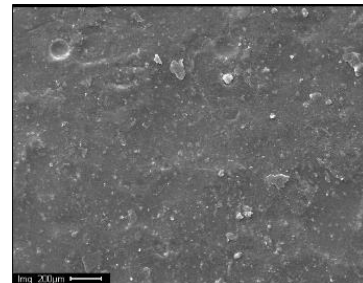


รูปที่ 3.14 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z3
(ก) วิเคราะห์ทั้งบริเวณผิวหน้า และ(ข) วิเคราะห์ในกรอบสี่เหลี่ยม

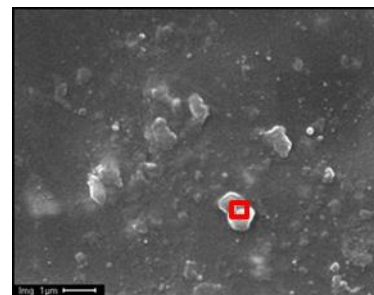
จากรูปที่ 3.15 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-Z5 บริเวณผิวหน้า (ภาพ ก) และบริเวณพื้นที่ในสี่เหลี่ยม (ภาพ ข) พบว่ามีองค์ประกอบของอนุภาคนาโนซิงค์ ออกไซด์เท่ากับ 21.76 At% และ 34.83 At% ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของ ZnO ที่ผิวหน้าของตัวอย่างทั้งสามแสดงให้เห็นถึงปริมาณอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่เพิ่มในตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-Z1, NaCMC9/PEG1-Z3 และ NaCMC9/PEG1-Z5 ตามลำดับ



Element	Wt%	At%
O	46.81	78.26
Zn	53.19	21.76



Element	Wt%	At%
O	31.41	65.17
Zn	68.59	34.83

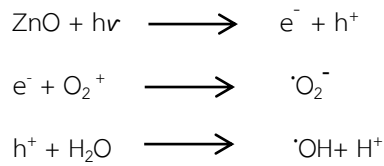


รูปที่ 3.15 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z5
(ก) วิเคราะห์ทั้งบริเวณผิวหน้า และ(ข) วิเคราะห์ในกรอบสี่เหลี่ยม

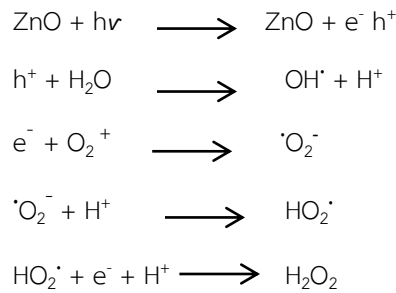
3.2.5 การทดสอบการต้านทานแบคทีเรีย (antibacterial property)

1. กลไกการยับยั้งแบคทีเรีย

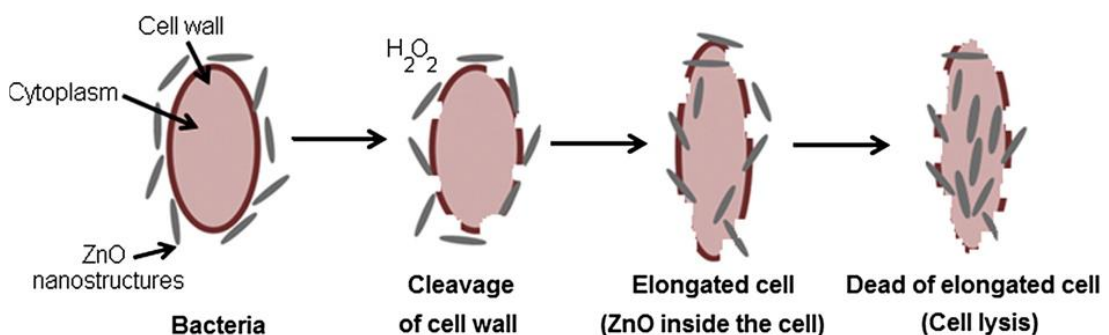
มีงานวิจัยที่ได้เสนอกลไกการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ไว้หลายลักษณะ เช่น Liu (2012), Li (2010) และ Li (2009) เสนอว่าเกิดจากการแตกตัวของ ZnO ให้เรดิคัลของ $\cdot\text{O}_2^-$ และ $\cdot\text{OH}$ ทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ สารบนผนังเซลล์ของแบคทีเรียส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์ (รูปที่ 3.16) นอกจากนี้ยังมีกลไกที่เสนอโดย Dutta และคณะ (2012) และ Ekhammathat และคณะ (2014) ซึ่งแสดงโดยปฏิกิริยาในรูปที่ 3.17 และการทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ในรูปที่ 3.18 ตามลำดับ



รูปที่ 3.16 ปฏิกริยาที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยซิงค์ออกไซด์ (Dutta และคณะ, 2012)



รูปที่ 3.17 ปฏิกริยาที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยซิงค์ออกไซด์ (Eklhammathat และคณะ, 2014)



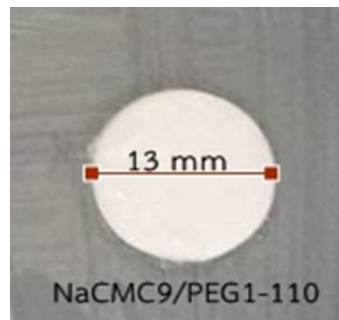
รูปที่ 3.18 กลไกที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยซิงค์ออกไซด์ (Eklhammathat และคณะ, 2014)

2. ทดสอบการต้านทานแบคทีเรียที่ทดสอบด้วยเทคนิค clear zone

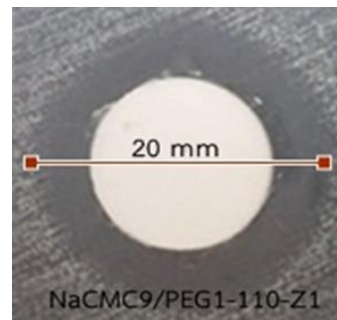
ศึกษาการต้านทานเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค clear zone ได้ผลแสดงดังตารางที่ 3.4 พบว่าตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110 ซึ่งไม่มีองค์ประกอบของนาโนซิงค์ออกไซด์ไม่ทำให้เกิด clear zone ของแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ *E. coli* และ *S. aureus* แต่เมื่อผสมอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ลงไปเพียง 1% พบว่าเกิด clear zone กับแบคทีเรียเฉพาะชนิด *S. aureus* ดังรูปที่ 3.19 เมื่อเพิ่มปริมาณอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์พบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus* เกิด clear zone เพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* พบว่าตัวอย่างที่ผสมอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ 5% เกิด clear zone เพียงตัวอย่างเดียวและเกิด clear zone เพียงเล็กน้อยดังรูปที่ 3.20 (ภาพ ง)

ตารางที่ 3.4 การต้านทานแบคทีเรียด้วยเทคนิค clear zone

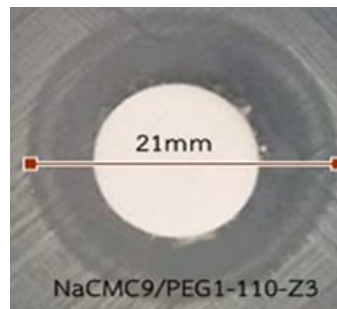
ตัวอย่างพอลิเมอร์	Clear-zone	
	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. aureus</i> (mm)
NaCMC9/PEG1-110	-	-
NaCMC9/PEG1-110-Z1	-	20
NaCMC9/PEG1-110-Z3	-	21
NaCMC9/PEG1-110-Z5	14	22



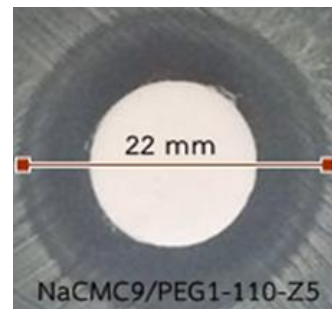
(ก)



(ข)

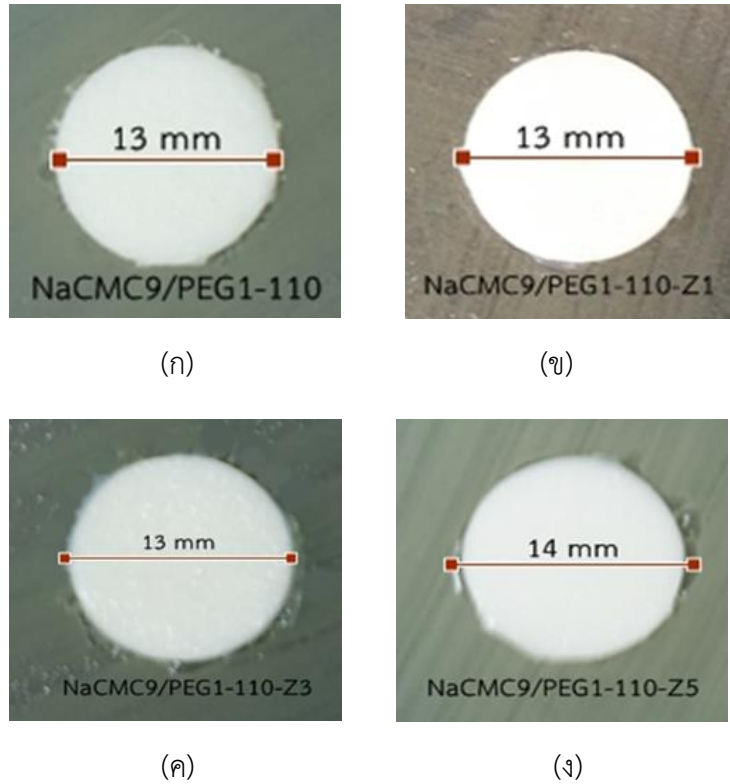


(ค)



(ง)

รูปที่ 3.19 Clear-zone การยับยั้งเชื้อ *S. aureus*



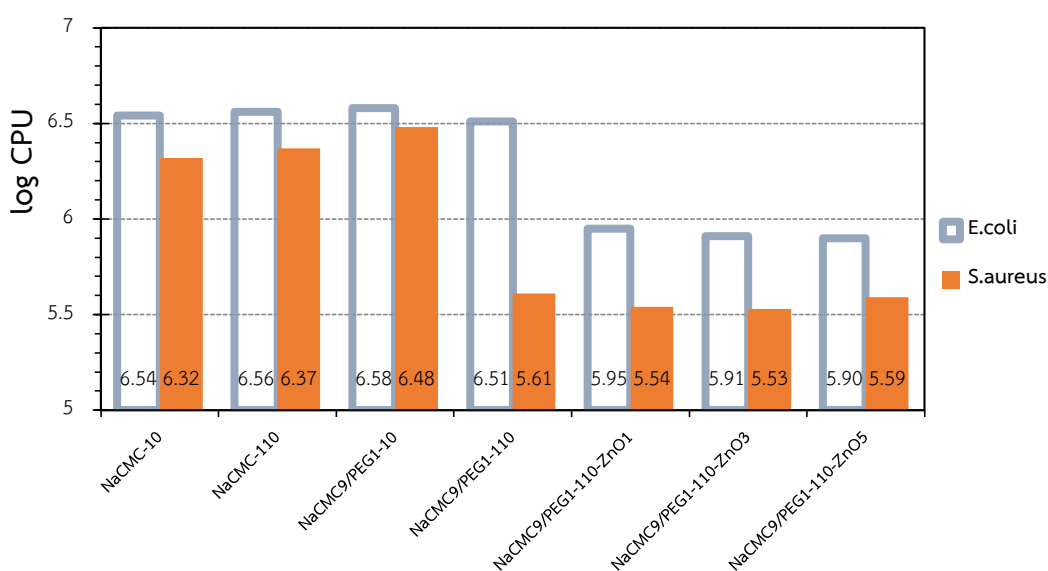
รูปที่ 3.20 Clear-zone การยับยั้งเชื้อ *E. coli*

3. ทดสอบการต้านทานแบคทีเรียด้วยเทคนิค standard viable plate count

รูปที่ 3.21 และตารางที่ 3.5 แสดงผลจากการศึกษาการต้านทานเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค standard viable plate count โดยใช้แบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *E. coli* และ *S. aureus* พบว่า ตัวอย่างที่ไม่ผสมนาโนซิงค์ออกไซด์มีปริมาณการเจริญของแบคทีเรียใกล้เคียงกันแต่นาโนคอมโพสิตทุกตัวอย่างแสดงผลการยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดอย่างชัดเจนจากปริมาณแบคทีเรียที่น้อยกว่า โดยมีผลยับยั้ง *S. aureus* ได้มากกว่า *E. coli* เนื่องจากแบคทีเรียชนิด *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่มีผนังเซลล์ 2 ชั้น จึงทำให้ทนทานต่อกลไกการยับยั้งเชื้อโดยนาโนซิงค์ออกไซด์

ตารางที่ 3.5 การต้านทานแบคทีเรียด้วยเทคนิค standard viable plate count

ตัวอย่างพอลิเมอร์	standard viable plate count	
	<i>E. coli</i> (log CFU)	<i>S. aureus</i> (log CFU)
NaCMC10-10	6.54	6.32
NaCMC10-110	6.56	6.37
NaCMC9/PEG1-10	6.58	6.48
NaCMC9/PEG1-110	6.51	5.61
NaCMC9/PEG1-110-Z1	5.95	5.54
NaCMC9/PEG1-110-Z3	5.91	5.53
NaCMC9/PEG1-110-Z5	5.90	5.59

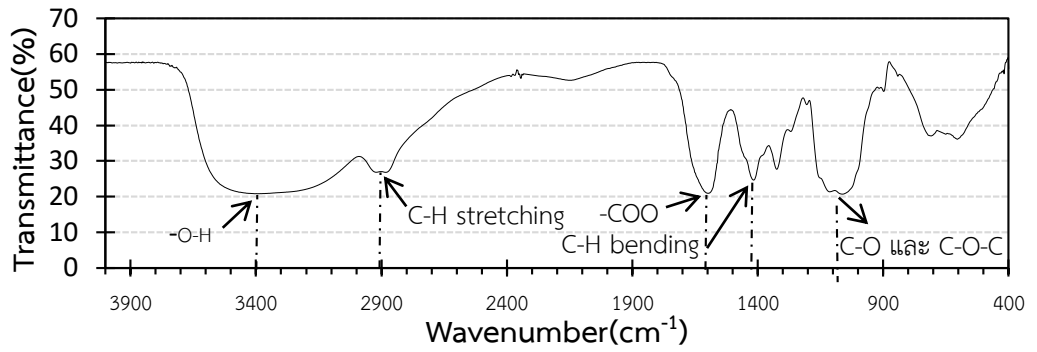


รูปที่ 3.21 ผลการต้านทานแบคทีเรียด้วยเทคนิค standard viable plate count

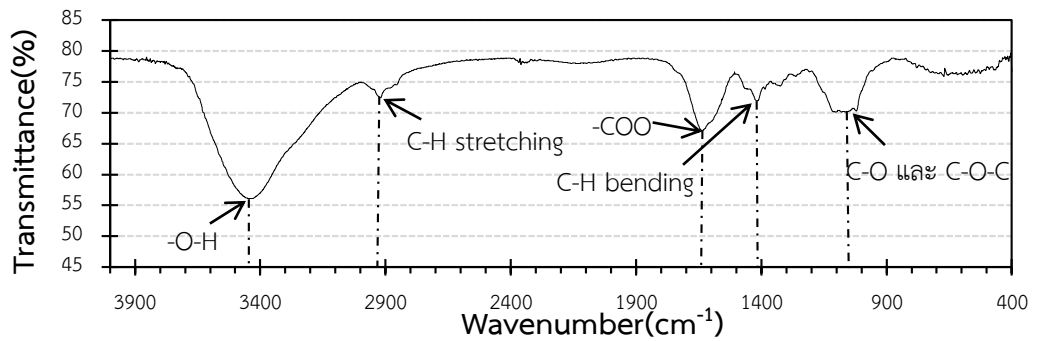
3.2.6 การทดสอบเสถียรภาพทางความร้อน

เพื่อเป็นการทดสอบความเป็นไปได้ในการนำพอลิเมอร์ผสมไปใช้งานด้านวัสดุชีวการแพทย์ (biomedical) ซึ่งอาจต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนจึงนำตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z3 มาเร่งให้เกิดการสลายตัวด้วยความร้อน (thermal ageing) ที่อุณหภูมิ 150 °C และนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FT-IR ทุกๆ 6 ชั่วโมง ใช้เวลาทดสอบรวม 30 ชั่วโมง และ นำตัวอย่างมาทดสอบการบวมตัวในตัวทำละลายโซเดียมคลอไรด์และน้ำ ได้ผลวิเคราะห์ดังนี้

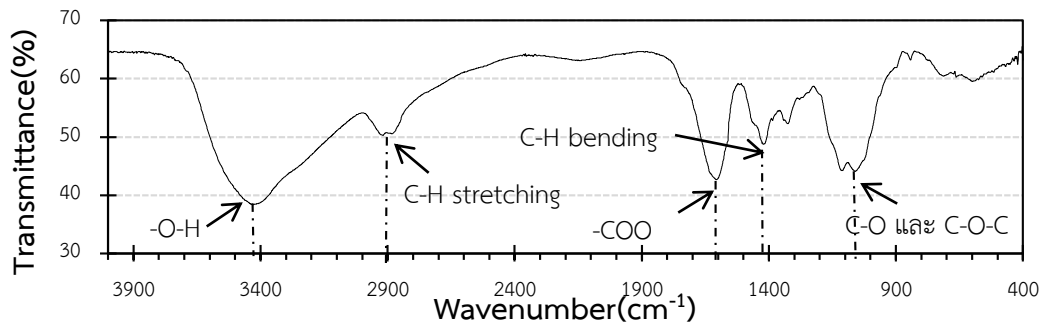
- การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR Spectroscopy)



(ก) ก่อนเร่งการสลายตัวด้วยความร้อน

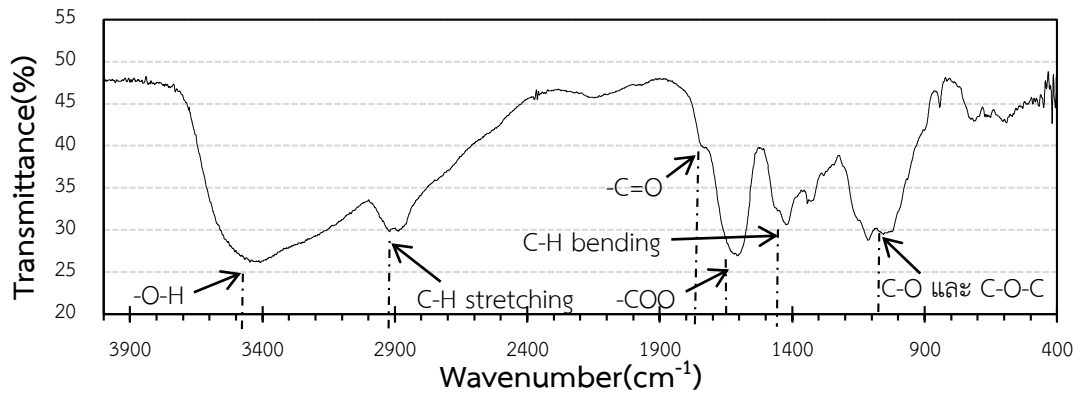


(ข) เร่งการสลายตัวด้วยความร้อน 6 ชั่วโมง

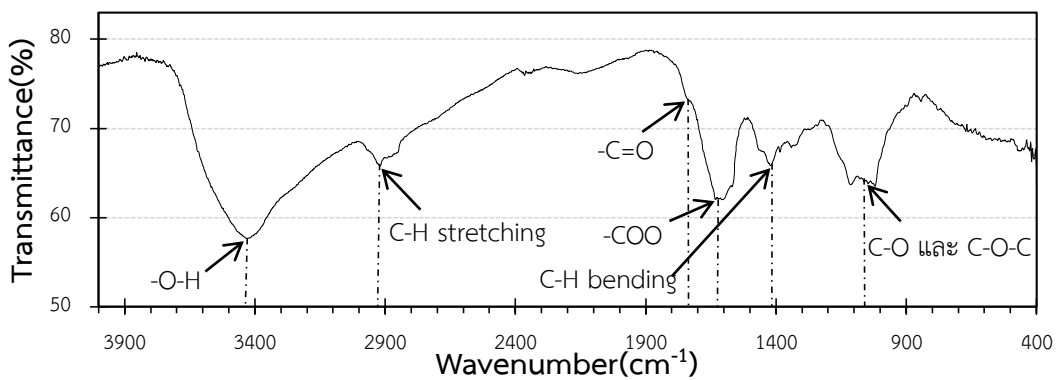


(ค) เร่งการสลายตัวด้วยความร้อน 12 ชั่วโมง

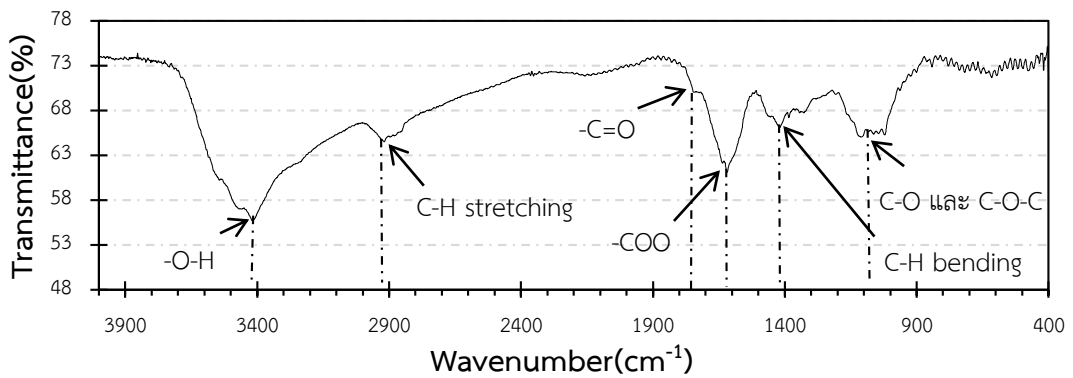
รูปที่ 3.22 FT-IR สเปกตรัมของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC9/PEG1-110-Z3 ก่อนและหลัง เร่งการสลายตัวด้วยความร้อน (150°C) ที่เวลาต่างๆกัน



(ง) เร่งการสลายตัวด้วยความร้อน 18 ชั่วโมง



(จ) เร่งการสลายตัวด้วยความร้อน 24 ชั่วโมง



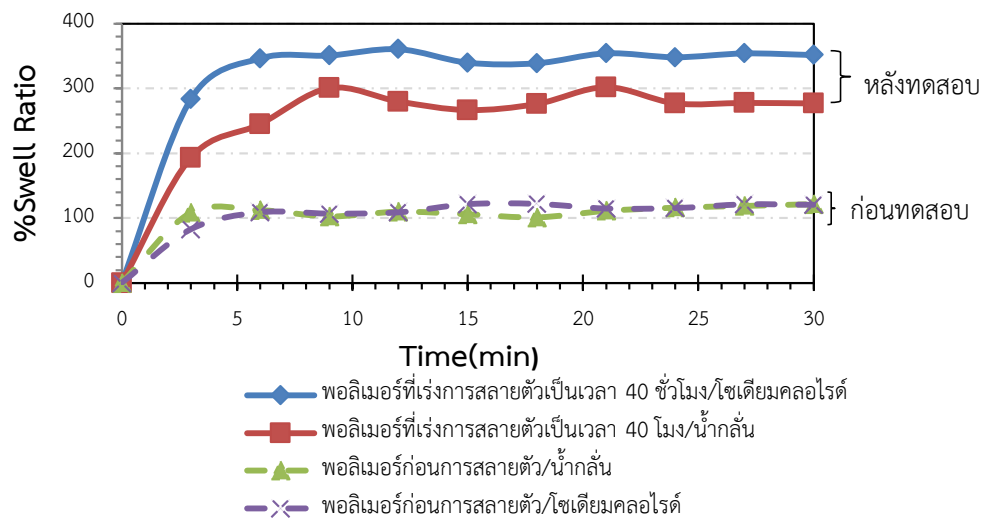
(ฉ) เร่งการสลายตัวด้วยความร้อน 30 ชั่วโมง

รูปที่ 3.22 (ต่อ) FT-IR สเปกตรัมของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC9/PEG1-110-Z3 ก่อนและหลังเร่งการสลายตัวด้วยความร้อน (150°C) ที่เวลาต่างกัน

จากรูปที่ 3.22 FT-IR สเปกตรัมของตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-110-Z3 ที่เร่งการสลายตัวด้วยความร้อนเป็นเวลา 30 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างเริ่มต้นพบว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสเปกตรัมคือ เกิดพีคเล็กที่เลขคลื่นประมาณ 1740 cm^{-1} เห็นได้ชัดขึ้นเมื่อเร่งการสลายตัวเป็น

เวลานาน ซึ่งน่าจะเกิดจาก C=O stretching ของหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซิลิกและอัลดีไฮด์จาก thermal degradation ในสถานะที่มีออกซิเจนอยู่ด้วย จากเอกสารงานวิจัยพบว่า NaCMC เกิดการสลายตัวด้วยความร้อนโดยเริ่มจากการขาดของพันธะ C-O ในโครงสร้างเคมีตามด้วยปฏิกิริยา decarboxylation (Chen และคณะ, 2013) สำหรับกลไกการสลายตัวด้วยความร้อนของ PEG ได้ถูกศึกษาโดย (Finocechio และคณะ, 2014) และรายงานว่า PEG สลายตัวโดยเกิดปฏิกิริยา oxidation และ cracking ทำให้เกิดการขาดของสายโซ่โมเลกุลเมื่อเร่งการสลายตัวด้วยอุณหภูมิสูงกว่า 500 ในช่วงเวลาสั้นๆ พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของ FTIR สเปกตรัมเกิดพีค C=O stretching (1747 cm^{-1}) ของอัลดีไฮด์ ร่วมกับ C-O stretching ของเอทานอล (1060 cm^{-1}) และเมทานอล (1035 cm^{-1})

- การบวมตัวในตัวทำละลาย (swelling ratio) หลังเร่งการเสื่อมสภาพด้วยความร้อน



รูปที่ 3.23 การบวมตัวของตัวอย่างพอลิเมอร์ NaCMC/PEG1-110-Z3 ก่อนและหลังเร่งการเสื่อมสภาพเป็นเวลา 40 ชั่วโมง ในตัวทำละลายน้ำและโซเดียมคลอไรด์

จากรูปที่ 3.23 นำนาโนคอมโพสิต NaCMC/PEG1-110-Z3 เร่งให้เกิดการเสื่อมสภาพด้วยความร้อนเป็นเวลา 40 ชั่วโมง และทดสอบการบวมโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่นและโซเดียมคลอไรด์ พบว่าหลังจากเร่งการสลายตัวแล้วตัวอย่างเกิดการบวมตัวได้มากขึ้นทั้งในสารละลายโซเดียมคลอไรด์และน้ำ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเกิดการขาดของโครงสร้างแบบร่างแห จึงเกิดการซึมผ่านของตัวทำละลายในโครงสร้างพอลิเมอร์ผสมได้มากขึ้น

4.1 พอลิเมอร์ผสม NaCMC/PEG

สามารถเตรียมตัวอย่างพอลิเมอร์ผสม NaCMC/PEG ที่มีเอพิคลอโรไฮดรินเป็นสารเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลโดยเทคนิค cast-film พบว่า ตัวอย่าง NaCMC9/PEG1-30 มีค่าการบวมตัวสูงสุดในน้ำและสารละลายโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 4,000% และ 2,500% ตามลำดับ

4.2 นาโนคอมโพสิต NaCMC/PEG-ECH-ZnO

ตัวอย่างนาโนคอมโพสิตที่มีองค์ประกอบของนาโนซิงค์ออกไซด์ 1, 3 และ 5% ถูกนำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *S. aureus* (แกรมบวก) และ *E. coli* (แกรมลบ) โดยเทคนิค clear zone และ standard viable plate count พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณนาโนซิงค์ออกไซด์ และแสดงการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าหลังจากทดสอบ thermal ageing ที่ 150°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมงเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโมเลกุลจากปฏิกิริยา thermal oxidation ของพอลิเมอร์ทั้งสอง ผลการศึกษาพบว่านาโนคอมโพสิตของพอลิเมอร์ผสมชีวภาพมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาใช้งานด้านชีวการแพทย์ต่อไป

4.3 ข้อเสนอแนะ

เตรียมนาโนคอมโพสิตที่มีองค์ประกอบของอนุภาคนาโนชนิดอื่นๆ และทดสอบสมบัติทางกายภาพสมบัติเชิงกล และประสิทธิภาพการต้านทานเชื้อแบคทีเรียต่อไป

รายงานสรุปการเงิน
เลขที่โครงการระบบบริหารงานวิจัย 2558A10802389 สัญญาเลขที่ 58/2558
โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ “การพัฒนาไบโอ-นาโนคอมโพสิตไฮโดรเจลของคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลสสำหรับใช้
งานด้านชีวการแพทย์”

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย ผศ.ดร.ธนิดา ตระกูลสุจริตโชค
รายงานช่วงวันที่ 1 ต.ค. 2557 ถึงวันที่ 30 ก.ย. 2558
ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ (หลังจากหักค่าธรรมเนียมอุดหนุนสถาบันแล้ว)

งวดที่ 1 (50%)	396,000 บาท	เมื่อวันที่ 6 ม.ค.2558
งวดที่ 2 (40%)	316,800 บาท	เมื่อวันที่ 30 ส.ค.2558
งวดที่ 3 (10%)	79,200 บาท	-
รวม	792,000 บาท	

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงิน คงเหลือ/เกิน
1. งบบุคลากร	96,000	96,000	-
2. งบดำเนินงาน			
2.1 ค่าใช้สอย	135,000	135,000	-
2.2 ค่าวัสดุ	441,000	441,000	-
2.3 ค่าตอบแทน	120,000	120,000	-
3. ค่าธรรมเนียมอุดหนุนสถาบัน	88,000	88,000	-
รวม	880,000	880,000	-

(.....)

ผศ.ดร.ธนิดา ตระกูลสุจริตโชค
หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

บรรณานุกรม

- Ahmed, N., Noura, M., Al-mehbad, Y. (2013), "Novel terephthaloyl thiourea cross-linked chitosan hydrogels as antibacterial and antifungal agents", *International Journal of Biological Macromolecules*, 57, 111–117.
- Bajpai, S.K., Chand, N., Chaurasia, V. (2012) "Nano zinc oxide-loaded calcium alginate films with potential antibacterial properties", *Food and Bioprocess Technology*, 5, 1871-1881.
- Chen, H., Guo, L., Li, G., Zhang, T. (2012) "Synthesis of thermo-sensitive CS-g-PNIPAM/ CMC complex nanoparticles for controlled release of 5-FU", *International Journal of Biological Macromolecules*, 51, 1109– 1115.
- Chen, C., Chen, X.Y., Xie, D.H. (2013), Synthesis of nitrogen doped porous carbons from sodium carboxymethyl cellulose and the capacitive performance, *Acta Phys-Chim. Sin*, 29, 102-110.
- Chu, L.C., Zhou, Z.W., Duan, X.F., Tang, L.L. (2013), A study of zinc oxide whisker/nano-ZnO composite antimicrobials, *Materials Review*, 17, 84-95.
- Dutta, R.K., Nenavathu, B.P., Gangishetty, M.K., Reddy, A.V.R. (2012), Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 94, 143–150.
- Ekthammathat, N., Thongtem, S., Thongtema, T., Phuruangrat, A. (2014), Characterization and antibacterial activity of nanostructured ZnO thin films synthesized through a hydrothermal method, *Powder Technology*, 254, 199-205.
- Finocchio, E., Cristiani, C., Cristiani, C., Stampino, P.G., Zampori, L. (2014), Thermal evolution of PEG-based and BRIJ-based hybridorgano-inorganic materials. FT-IR studies, *Vibrational Spectroscopy*, 71, 47-56.
- Hebeish, A., Hashem, M.M., Hady, A.E., Sharaf, S. (2013), Development of CMC hydrogels loaded with silver nano-particles for medical applications, *Carbohydrate Polymers*, 92, 407-413.
- Hu, D., Wang, H., Wang, L. (2016), "Physical properties and antibacterial activity of quaternized chitosan/carboxymethyl cellulose blend films", *LWT - Food Science and Technology*, 65, 398-405.
- Huang, D.J., Kang, Y.R., Wang, A.Q., Wang, W.B. (2013), "One-step in situ fabrication of a granular semi-IPN hydrogel based on chitosan and gelatin for fast and

- efficient adsorption of Cu^{2+} ion”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 106, 51–59.
- Jebel, F.S., Almasi, H. (2016) “Morphological, physical, antimicrobial and release properties of ZnO nanoparticles-loaded bacterial cellulose films”, *Carbohydrate Polymers*, 149, 8-19.
- Lai, J.Y., Hsieh, A.C. (2012) “A gelatin-g-poly(N-isopropylacrylamide) biodegradable in situ gelling delivery system for the intracameral administration of pilocarpine”, *Biomaterials*, 33, 2372-2387.
- Li, J.H., Honga, R.Y., Li, M.Y., Li, H.Z., Zhengd, Y., Ding, J. (2009), Effects of ZnO nanoparticles on the mechanical and antibacterial properties of polyurethane coatings, *Progress in Organic Coatings*, 64, 504-509.
- Li, L.H., Deng, J.C., Deng, H.R., Liu, Z.L., Li, X.L. (2010), Preparation, characterization and antimicrobial activities of chitosan/Ag/ZnO blend films, *Chemical Engineering Journal*, 160, 378-382.
- Liu, Y., Kim H.I. (2012), Characterization and antibacterial properties of genipin-crosslinked chitosan/poly(ethylene glycol)/ZnO/Ag nanocomposites, *Carbohydrate Polymers*, 89, 111-116.
- Pandimurugan, R., Thambidurai, S. (2016), “Novel seaweed capped ZnO nanoparticles for effective dye photodegradation and antibacterial activity”, *Advanced Powder Technology*, 27(4), 1062-1072.
- Raafat, A.I., Magda, M.E., El-Arnaouty, M.B. (2012) “Radiation synthesis of super-absorbent CMC based hydrogels for agriculture applications”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 283, 71–76.
- Samandari, S.S., Gazi, M., Yilmaz, E. (2012) “UV-induced synthesis of chitosan-g-polyacrylamide semi-IPN superabsorbent hydrogels”, *Polymer Bulletin*, 68, 1623-1639.
- Shafei, A.E., Okeil, A.A. (2011), ZnO/carboxymethyl chitosan bionano-composite to impart antibacterial and UV protection for cotton fabric, *Carbohydrate Polymers*, 83, 920-925.
- Shuhua, W., Runlin, N., Husheng, J., Liqiao, W., Xuguang, D.L., Bungshe, X., (2011) “Preparation of cellulose fibres with antibacterial Ag-loading nano- SiO_2 ”, *Bulletin of Materials Science*, 34(4), 629–634.

- Syed, K.H., Al-Assaf, S., Phillips, G.O. (2011) "Progress in Molecular and Environmental Bioengineering-From Analysis and Modeling to Technology Applications", InTech Press, Croatia.
- Travan A., Scognamiglio, F., Borgogna, M., Marsich, E., Donati, I., Tarusha, L., Grassi, M., Paoletti, S. (2016) "Hyaluronan delivery by polymer demixing in polysaccharide-based hydrogels and membranes for biomedical applications", *Carbohydrate Polymers*, 150, 408-418.
- Upadhyayaa, L., Singh, J., Agarwal, V., Pandey, A.C., Verma, S.P., Das P., Tewari, R.P. (2015), "Efficient water soluble nanostructured ZnO grafted O-carboxy methyl chitosan/curcumin-nanocomposite for cancer therapy, *Process Biochemistry*, 50, 678–688.
- Yadollahi, M., Gholamali, I., Namazi, H., Aghazadeh M. (2015) "Synthesis and characterization of antibacterial carboxymethyl cellulose/ZnO nanocomposite hydrogels", *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 136-141.
- Yue, Y., Han, J., Han, G., French, A.D., Qi, Y., Wu, D. (2016) "Cellulose nanofibers reinforced sodium alginate-polyvinyl alcohol hydrogels: Core-shell structure formation and property characterization", *Carbohydrate Polymers*, 147, 155-164.
- Zhou, L., Shang, C., Liu, Z, Huang, G., Adesina, A.A. (2012) "Selective adsorption of uranium(VI) from aqueous solutions using the ion-imprinted magnetic chitosan resins", *Journal of Colloid and Interface Science*, 366, 165–172.

ประวัติคณะผู้วิจัย

1) หัวหน้าโครงการ

1.1) ชื่อ-สกุล นาง ธนิดา ตระกูลสุจริตโชค (Mrs. Thanida Trakulsujaritchook)

1.2) หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

ที่อยู่ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ถนนลงหาด
ต.แสนสุข อ.เมือง ชลบุรี 20131

E-mail thanida@buu.ac.th

1.3) ประวัติการศึกษา

สถาบัน	สาขา	ปริญญา	ปีการศึกษา
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง	เคมีอุตสาหกรรม	วท.บ.	2531-2534
จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย	วิทยาศาสตร์พอลิเมอร์	วท.ม.	2535-2538
Loughborough University, UK	Polymer Science	Ph.D.	2540-2543

2) ผู้ร่วมงานวิจัย

2.1) ชื่อ-สกุล นางปรียา ปะบุญเรือง (Mrs.Pariya Pabunruang)

2.2) หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

ที่อยู่ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
ถนนลงหาดบางแสน ต.แสนสุข อ.เมือง
จ.ชลบุรี 20131

E-mail pariya@buu.ac.th

2.3) ประวัติการศึกษา

สถาบัน	สาขา	ปริญญา
มหาวิทยาลัยบูรพา	วิทยาศาสตร์ (จุลชีววิทยา)	วท.บ.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	วิทยาศาสตร์ (จุลชีววิทยา)	วท.ม.