

การสังเคราะห์พอลิไวนิลแอลกอฮอล์/ไคโตซานไฮโดรเจลคอมโพสิตที่ประกอบด้วยยาปฏิชีวนะ และอนุภาคเงินระดับนาโนด้วยวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

Green Synthesis of Polyvinyl Alcohol/Chitosan Composite Hydrogels Incorporated Loaded Antibiotic Silver Nanoparticles

ณัฐวิวัฒน์ ศรีขาว (Natwat Srikhao)* ขวัญฤทัย บุญเชื้อ (Khwanruethai Boonsue)**

ธัญชา อุดลสุธานนท์ (Thanatcha Adulsuthanon)** ดร.พรนภา เกษมศิริ (Dr.Pornnapa Kasemsiri)^{1***}

(Received: October 5, 2022; Revised: December 8, 2022; Accepted: December 13, 2022)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อพัฒนาไฮโดรเจลจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) และไคโตซาน (CS) โดยพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อดัชนีการบวมน้ำสูงสุดเท่ากับ 2.5:2.5 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำอัตราส่วนดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ร่วมกับอนุภาคเงินระดับนาโน (AgNPs) ที่สังเคราะห์ด้วยสารสกัดจากกากกาแฟ (Ex-SCG) จากผลการทดลองพบว่าเกิด AgNPs เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO_3) ตั้งแต่ 20-100 มิลลิโมลาร์ ไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตที่มี AgNO_3 50 มิลลิโมลาร์ (H-AgNPs-50) แสดงค่าร้อยละดัชนีการบวมน้ำสูงสุดที่ 237.7 และมีค่าความเค้นอัด 10.07 ± 4 เมก้าปาสกาล นอกจากนี้ การมีอยู่ของ AgNPs ในไฮโดรเจลช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านเชื้อร่วมกับยาปฏิชีวนะ Ceftriaxone sodium โดย H-AgNPs-50 แสดงการต้านเชื้อ *E. coli* และ *S. Aureus* เพิ่มขึ้นร้อยละ 6.05 และ 19.12 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับ H-AgNPs-0 ด้วยคุณสมบัติดังกล่าว H-AgNPs-50 อาจมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาใช้เป็นแผ่นปิดแผลและวัสดุนำส่งยาได้

ABSTRACT

The aim of this research was to develop hydrogel composites from polyvinyl alcohol (PVA) and chitosan (CS). The optimal ratio of PVA/CS was found at 2.5:2.5 by weight which had the highest percentage of swelling index. The optimal ratio was then used for the fabrication of hydrogel with green synthesized silver nanoparticles (AgNPs) by using extracted spent coffee grounds (Ex-SCG). The results showed that AgNPs increased with a concentration of silver nitrate (AgNO_3) from 20 to 100 mM. The hydrogel nanocomposite containing 50 mM of AgNO_3 (H-AgNPs-50) showed the highest percentage of swelling index of 237.7 and compressive stress of 10.07 ± 4 MPa. In addition, the presence of AgNPs in hydrogels containing antibiotic i.e. ceftriaxone sodium could enhance antibacterial activity. The H-AgNPs-50 showed an increase in the inhibition zone of *E. coli* and *S. aureus*, by 6.05% and 19.12%, respectively when compared to H-AgNPs-0. Based on the results, H-AgNPs-50 could have a potential to be a wound dressing and drug carrier.

คำสำคัญ: แผ่นปิดแผล การนำส่งยา ไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิต

Keywords: Wound dressing, Drug delivery, Nanocomposite hydrogels

¹Corresponding author: pornkas@kku.ac.th

*นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

**บัณฑิต หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

***รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

แผ่นปิดแผลมีหน้าที่ป้องกันแผลจากการติดเชื้อและเร่งกระบวนการรักษาแผล คุณสมบัติของแผ่นปิดแผลที่เป็นที่ต้องการคือสามารถรักษาความชื้นบริเวณแผลเพื่อเร่งการรักษาแผลได้ และสามารถดูดซับสารคัดหลั่งที่ออกมาจากบาดแผล กระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ ไม่มีความเป็นพิษ สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ [1] ง่ายต่อการลอกออกและไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อบาดแผล [2] ไฮโดรเจลเป็นวัสดุปิดแผลชนิดหนึ่งที่มีโครงสร้างที่เป็นรูพรุนช่วยให้สามารถดูดซับสารคัดหลั่งจากแผลได้ รักษาความชื้นได้ [3] ไม่ยึดติดแผล และสามารถนำส่งยาได้ [4] โดยทั่วไปพอลิเมอร์จากธรรมชาติ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์มักนิยมนำมาใช้ในการเตรียมวัสดุปิดแผล ยกตัวอย่างเช่น แป้ง เซลลูโลส แอลจินต และ ไคโตซาน (CS) [3, 5] ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากปฏิกิริยาดีอะเซทิเลชัน [5] มีสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย รวมทั้งสมบัติแมคโครฟาจ (Macrophage) ที่ช่วยให้แผลหายเร็ว [6] แต่มีข้อเสียคือมีความเปราะสูง เพื่อแก้ปัญหา CS จึงนิยมนำไปผสมผสานกับ PVA ซึ่งเป็นหนึ่งในพอลิเมอร์สังเคราะห์ ที่มีสมบัติเชิงกลสูง มีความชอบน้ำ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ จึงนิยมนำไปใช้ในทางการแพทย์ [7] Zhuang และคณะ [7] ได้เตรียม PVA/CS ที่อัตราส่วนต่างๆ พบว่าการเติม PVA ในฟิล์ม CS ช่วยปรับปรุงคุณสมบัติเชิงกล เนื่องจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่าง CS และ PVA การเตรียมชิ้นงานไฮโดรเจล PVA/CS ด้วยวิธีแช่แข็งละลาย (Freeze-thawing) เป็นที่นิยมประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ เนื่องจากสามารถเชื่อมขวางทางกายภาพโดยไม่ต้องเติมสารเชื่อมขวางเพิ่ม จึงไม่เป็นพิษ ไม่ก่อมะเร็ง และความเข้ากันได้ทางชีวภาพที่ดี [2] Sung และคณะ [8] ได้เตรียมไฮโดรเจลจาก PVA/CS ด้วยวิธีแช่แข็งละลาย สำหรับประยุกต์ใช้ในงานแผ่นปิดแผล พบว่าการเพิ่มปริมาณร้อยละของ CS ตั้งแต่ร้อยละ 0.2-1 ส่งผลให้พื้นผิวของไฮโดรเจลมีขนาดรูพรุนใหญ่ขึ้นและมีค่าร้อยละอัตราส่วนการบวมน้ำเพิ่มมากขึ้นร้อยละ 10 - 110 เนื่องจากการเชื่อมขวางของไฮโดรเจลลดลง ส่งผลให้สามารถกักเก็บน้ำได้มากขึ้น แต่คุณสมบัติเชิงกลลดลง [8] Massarelli และคณะ [4] ได้สังเคราะห์ไฮโดรเจล PVA/CS ด้วยวิธีแช่แข็งละลาย ร่วมกับการโหลดยาต้านเชื้อเข้าไป พบว่าไฮโดรเจลสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ อย่างไรก็ตามยังขาดการทดสอบการต้านแบคทีเรียแกรมลบ

ไฮโดรเจล PVA/CS ที่ประกอบด้วยวัสดุนาโนกำลังเป็นที่น่าสนใจ เนื่องจากมีคุณสมบัติเสริมความแข็งแรง ในพอลิเมอร์ AgNPs เป็นหนึ่งในวัสดุระดับนาโนที่มีคุณสมบัติที่โดดเด่นคือ สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียและมีความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมต่ำ [9] การสังเคราะห์ AgNPs สามารถสังเคราะห์ได้ด้วยวิธีทางเคมีและทางชีวภาพ เพื่อที่จะเลี่ยงการใช้สารรีดิวซ์ทางเคมีที่มีความอันตรายและมีราคาสูง การใช้สารรีดิวซ์ทางธรรมชาติจึงมีความน่าสนใจมากกว่า เนื่องจากเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม รวดเร็ว มีขั้นตอนการสังเคราะห์ที่ง่ายในขั้นตอนเดียว [6, 9] สารสกัดจากพืชหลายชนิด เช่น น้ำมันออริกาโน [9] ผลบัวบก [10] ผลไม้ไซซีเจียมคูมินิ [11] ประสบความสำเร็จในการนำมาใช้เป็นสารรีดิวซ์ทางธรรมชาติเพื่อสังเคราะห์ AgNPs Kumar และคณะ [6] ได้สังเคราะห์ AgNPs จากสารสกัดจากใบ *Ocimum sanctum* จากนั้นจึงนำสารแขวนลอย AgNPs ที่ปริมาณต่างๆไปเติมลงในไฮโดรเจล PVA/CS ด้วยวิธีการเตรียมไฮโดรเจลแบบแช่แข็งละลาย พบว่าการเติม AgNPs ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ช่วยเพิ่มค่ามอดูลัสของยังร้อยละ 40.55 เมื่อเทียบกับไฮโดรเจล PVA/CS แนวโน้มในปัจจุบันมีใช้สารรีดิวซ์ทางธรรมชาติจากของเสียทางอุตสาหกรรม เช่น ทางการเกษตร [12] เครื่องดื่ม [13] มาใช้ในการสังเคราะห์ AgNPs มากขึ้น Taesuwan และคณะ [14] สังเคราะห์ไฮโดรเจลร่วมกับ AgNPs จากสารสกัดจากใบอ้อย พบว่าค่าความต้านทานแรงดึงของไฮโดรเจลคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC/PVA) เพิ่มขึ้น ร้อยละ 88.91 เมื่อเทียบกับชิ้นงาน

ที่ไม่ได้เติม AgNPs เนื่องจากฤทธิ์การเสริมแรงของวัสดุนาโน นอกจากคุณสมบัติเชิงกล การมีอยู่ของ AgNPs ยังช่วยเพิ่มคุณสมบัติในการบวมน้ำเนื่องจากทำให้ไฮโดรเจลเกิดการขยายตัว เพิ่มรูพรุนและทำให้เกิดช่องว่างในโครงสร้างไฮโดรเจล [15] Ounkaew และคณะ [13] ได้ริเริ่มการสังเคราะห์ AgNPs จากสารสกัดจากกากชาเขียว (Ex-SGT) โดยสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในสารสกัดซึ่งทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ AgNPs ที่สังเคราะห์ได้สามารถนำไปต้านเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง *E.coli* และ *S. aureus* นอกจากนี้ กากกาแฟ (SCG) เป็นหนึ่งในของเสียทางอุตสาหกรรมที่มีส่วนประกอบฟีนอลิกอยู่มาก [16] Trongchuen และคณะ [17] สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกจาก SCG โดยใช้อัตราส่วนการสกัดของแข็งต่อน้ำ 1:10 ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ในเวลา 5 นาที จากงานวิจัยที่ผ่านมาการนำของเสียจากอุตสาหกรรมมาใช้ในการสังเคราะห์ AgNPs แบบหนึ่งหม้อ (One-pot synthesis) ร่วมกับการสังเคราะห์ไฮโดรเจล PVA/CS แบบแข็งละลายยังมีค่อนข้างจำกัด ดังนั้นการสังเคราะห์ AgNPs โดยใช้ Ex-SCG มีส่วนช่วยส่งเสริมการต้านเชื้อ ช่วยเพิ่มค่าการบวมน้ำ เสริมแรงให้กับไฮโดรเจล รวมถึงช่วยจัดการของเสียจากอุตสาหกรรมกาแฟ

งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาอัตราส่วนโดยน้ำหนักของไฮโดรเจล PVA/CS เพื่อหาอัตราส่วนที่มีค่าดัชนีการบวมน้ำสูงสุด และนำอัตราส่วนดังกล่าวมาสังเคราะห์ AgNPs แบบหนึ่งหม้อด้วยวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยใช้ Ex-SCG และศึกษาอิทธิพลของการมีอยู่ของ AgNPs ร่วมกับการไหลดยาปฏิชีวนะ Ceftriaxone sodium ต่อประสิทธิภาพในการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *เอสเชอริเชีย โคไล (E. Coli)* และ *สแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (S. Aureus)* รวมถึงค่าดัชนีการบวมน้ำ และสมบัติทางกล

วิธีการวิจัย

1. วัสดุอุปกรณ์

CS จากเปลือกกุ้งที่มีความหนืดต่ำ (Sigma-Aldrich, Singapore) PVA (LOBA CHEMIE PVT.LTD., India) กรดอะซิติก (RCI Labscan, Thailand) น้ำกลั่น (Diluted water) SCG (ร้านกาแฟคาเฟ่เดอร์ฟอเรส สาขามหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย) $AgNO_3$ (RCI Labscan, Thailand) และยา Ceftriaxone sodium (Shijiazhuang Ouyi Pharmaceutical Co., Ltd., China)

2. การเตรียมวัตถุดิบและชิ้นงาน

2.1 การเตรียม SCG

นำ SCG ไปอบที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปร่อนด้วยตะแกรงขนาด 60 เมช จากนั้นเตรียม SCG (60 เมช) ผสมในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วน 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปกรองและแยกส่วนที่เป็นน้ำสกัดเก็บไว้เพื่อสังเคราะห์ AgNPs

2.2 การเตรียมไฮโดรเจล

เตรียมสารละลาย CS ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยมวลต่อปริมาตร โดยใช้กรดซิตริกความเข้มข้น ร้อยละ 1 โดยปริมาตร โดยใช้น้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลาย โดยใช้เวลาปั่นกวนให้เข้ากัน 2 ชั่วโมง และเตรียมสารละลาย PVA ร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ที่ 90 องศาเซลเซียส และกวนให้ละลาย 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นผสม PVA ต่อ CS ในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก ดังนี้ 4:1, 3.5:1.5, 3:2, 2.5:2.5 และกวนให้เข้ากันเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเทสารผสมลงแม่พิมพ์สี่เหลี่ยมขนาด

8 x 8 เซนติเมตร สูง 5.08 เซนติเมตร และนำไปแช่แข็งและละลายที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22 ชั่วโมง และเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยทำซ้ำในขั้นตอนนี้จนครบ 3 รอบ ก่อนนำไปทำให้แห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงได้ชิ้นงานไฮโดรเจล (Hydrogel) ที่มีลักษณะเป็นทรงสี่เหลี่ยมขนาด 8 x 8 เซนติเมตร² สูง 3 เซนติเมตร

2.3 การเตรียมนาโนคอมโพสิตไฮโดรเจล

เตรียมสารละลาย CS ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยมวลต่อปริมาตร โดยใช้กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น ร้อยละ 1 โดยปริมาตร โดยใช้ Ex-SCG เป็นตัวทำละลาย ปั่นกวนให้เข้ากัน 2 ชั่วโมง และเตรียมสารละลาย PVA ร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ที่ 90 องศาเซลเซียส และกวนให้ละลาย 2 ชั่วโมง จากนั้นผสม PVA ต่อ CS ในอัตราส่วน 2.5:2.5 โดยน้ำหนัก (สูตรที่ดีที่สุด) กวนให้เข้ากันเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และเติมสารละลาย AgNO₃ ที่มีความเข้มข้นต่างกัน ดังนี้ 0 20 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเทสารผสมลงแม่พิมพ์สี่เหลี่ยม ขนาด 8 x 8 เซนติเมตร สูง 5.08 เซนติเมตร และนำไปแช่แข็งและละลายที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22 ชั่วโมง และเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยทำซ้ำในขั้นตอนนี้จนครบ 3 รอบ ก่อนนำไปทำให้แห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงได้ชิ้นงานไฮโดรเจลด้านนาโนคอมโพสิตที่มีลักษณะเป็นทรงสี่เหลี่ยมขนาด 8 x 8 เซนติเมตร² สูง 3 เซนติเมตร โดยใช้คำย่อแทนดังนี้ H-AgNPs-0, H-AgNPs-20, H-AgNPs-50, H-AgNPs-100 สำหรับชิ้นงานไฮโดรเจลที่เตรียมจาก Ex-SCG และมีการเติม AgNO₃ ที่ความเข้มข้น 0 20 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ

3. การวิเคราะห์คุณสมบัติของนาโนคอมโพสิตไฮโดรเจล

3.1 การดูดซับน้ำและดัชนีการบวม (Swelling index)

ตัดไฮโดรเจลตัดเป็นทรงกระบอก โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร และนำไปชั่งน้ำหนักแห้ง (W_d) จากนั้นนำตัวอย่างไปบวมในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน (PBS) ที่ pH 7.4 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาชั่งน้ำหนัก (W_s) โดยสามารถคำนวณหาดัชนีร้อยละการบวมได้จาก สมการที่ 1

$$\text{ดัชนีร้อยละการบวม} = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (1)$$

3.2 ลักษณะพื้นผิว

ศึกษาลักษณะพื้นผิวภาพตัดขวางของไฮโดรเจลและนาโนคอมโพสิตไฮโดรเจลจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM; Hitachi Miniscope model TM-3000) ที่กำลังขยาย 100 เท่า โดยตัวอย่างทั้งหมดถูกเคลือบด้วยทองคำโดยใช้เครื่องไอออนสปัตเตอร์

3.3 การตรวจสอบคุณลักษณะของ AgNPs ที่สังเคราะห์ได้

ศึกษาคุณลักษณะของ AgNPs ที่สังเคราะห์ได้ โดยใช้ Ex-SCG เป็นสารรีดิวซ์ ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer (Agilent 8453) ในช่วงความยาวคลื่น 380-520 นาโนเมตร และศึกษาลักษณะโครงสร้างผลึกของ AgNPs ด้วยเครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคชันมิเตอร์ (XRD; PANalytical, EMPYREAN) ที่ติดตั้งแหล่งกำเนิดรังสี Cu Ka (ความยาวคลื่น $\lambda = 1.542 \text{ \AA}$) ซึ่งทำงานที่อัตราการสแกน 0.01° ที่ 40 กิโลโวลต์ และ 30 30 มิลลิแอมป์ มุม 2 เซต้า 20-60 องศา

3.4 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันของนาโนคอมโพสิตไฮโดรเจล

การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิต ทำการศึกษาโดยใช้เทคนิค Attenuated total reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR; TENSOR 27, Bruker) ในช่วงตำแหน่งความยาวคลื่นคลื่น 4000 - 500 เซนติเมตร⁻¹ โดยมีการสแกน 64 ครั้ง ที่ความละเอียด 2 เซนติเมตร⁻¹

3.5 การต้านเชื้อของไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิต

ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตถูกตรวจสอบโดยใช้วิธีการแพร่ในอาหารวุ้นแข็ง (Agar-diffusion method) ด้วยเชื้อ *E. coli*; ATCC25922 และเชื้อ *S. Aureus*; ATCC25923 โดยตัดชิ้นงานเป็นทรงจตุรัสขนาด 10 มิลลิเมตร x 10 มิลลิเมตร โดยวางลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่ผ่านการเตรียมแบบสวอบเพลท (Swab plate-technique) ด้วยเชื้อความเข้มข้นเท่ากับ McFarland standard # 0.5 (มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 1×10^8 CFU/มิลลิตร) และนำไปบ่มที่สภาวะ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง วัดขนาดของบริเวณที่ใส (Clear zone) เปรียบเทียบขนาดกับชิ้นงานขนาด 10 มิลลิเมตร

3.6 การทดสอบสมบัติการเชิงกล

การทดสอบสมบัติเชิงกล เพื่อหาค่าความแข็งแรงของไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิต ตามมาตรฐาน ASTM D3574 โดยใช้เครื่อง Universal Testing Machine (Instron, United States) ความเร็วในการเคลื่อนที่ของคานทดสอบ (Crosshead-speed) 5 มิลลิเมตรต่อนาที โดยการขึ้นชิ้นงานจะใช้หลอดแก้วขนาดพื้นที่หน้าตัด 20 มิลลิเมตร ยาว 100 มิลลิเมตร แทนแม่พิมพ์สี่เหลี่ยม ขนาด 8 x 8 เซนติเมตร สูง 5.08 เซนติเมตร และตัดเพื่อให้ได้ขนาดของชิ้นงานเป็นทรงกระบอกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร

ผลการวิจัย

1. สมบัติการดูดซับน้ำและดัชนีการบวมของไฮโดรเจล

สมบัติการดูดซับน้ำเป็นสมบัติที่สำคัญของไฮโดรเจล โดยสามารถพิจารณาจากค่าดัชนีการบวมน้ำของชิ้นงาน ค่าดัชนีการบวมน้ำที่มากแสดงถึงศักยภาพของไฮโดรเจลที่อาจนำไปประยุกต์ใช้เป็นแผ่นปิดแผล ด้วยสมบัตินี้ช่วยให้ไฮโดรเจลสามารถดูดซับสารคัดหลั่งจากบาดแผลได้ รวมทั้งความสามารถในการกักเก็บยาได้มากขึ้น ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงเริ่มจากหาอัตราส่วนของ PVA/CS ต่อค่าดัชนีการบวมน้ำของไฮโดรเจล แสดงดังภาพที่ 1 พบว่าดัชนีการบวมน้ำของไฮโดรเจลอยู่ในช่วงร้อยละ 198.5 ถึงร้อยละ 267.7 โดยเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนของ CS ที่มากขึ้น เนื่องจากคุณสมบัติของ CS ที่ประกอบด้วยหมู่ที่ชอบน้ำเช่น หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) และหมู่เอมีน [18] จากผลการทดลองพบว่าอัตราส่วนของ PVA/CS ที่ให้ค่าดัชนีการบวมน้ำสูงสุดคือ 2.5:2.5 ดังนั้นอัตราส่วนนี้จึงเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการนำไปศึกษาการสังเคราะห์ไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตต่อไป

2. ลักษณะของ AgNPs ที่สังเคราะห์ด้วย Ex-SCG

การสังเคราะห์ AgNPs สามารถตรวจสอบได้โดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrophotometer แสดงดังภาพที่ 2ก มีรายงานการพบค่าการดูดกลืนแสงของ AgNPs อยู่ในช่วง 425-440 นาโนเมตร [14] ในงานวิจัยนี้พบว่าการดูดกลืนแสงของ AgNPs ในช่วง 430-434 นาโนเมตร เนื่องจากการมีอยู่ของสารประกอบฟีนอลิกในสารรีดิคซ์ที่ได้จากธรรมชาติสามารถ

ก่อให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันของ Ag^+ เป็น Ag^0 [12] การเพิ่มความเข้มข้นของ $AgNO_3$ ตั้งแต่ 20 มิลลิโมลาร์ ถึง 100 มิลลิโมลาร์ ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงขึ้นในช่วง 430-434 นาโนเมตร แสดงให้เห็นถึงการเกิด AgNPs เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีสารตั้งต้น ($AgNO_3$) ในการเกิด AgNPs มากขึ้น [14] โดยลักษณะโครงสร้างของ AgNPs ที่สังเคราะห์ได้สามารถตรวจสอบได้จากรูปแบบของ XRD ที่แสดงดังรูปที่ 2ข โดยพบว่าไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตมีรูปแบบของ XRD ที่ตำแหน่ง 38° และ 44° สอดคล้องกับระนาบ (111) และ (200) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า AgNPs ที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะโครงสร้างผลึกแบบเอเฟซซีซี (Face-Centered Cubic: F.C.C) [13] จากผลการทดลองพบว่าที่ตำแหน่ง 38° และ 44° ค่าความเข้มของรูปแบบ XRD เพิ่มมากขึ้น ตั้งแต่สูตร H-AgNPs-20 ถึง สูตร H-AgNPs-100 แสดงถึงการมีผลึกของ AgNPs เพิ่มมากขึ้น [9] ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบจากเครื่อง UV-Vis spectrophotometer และเป็นประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้เป็นสารต้านเชื้อในไฮโดรเจล

3. หมู่ฟังก์ชันของไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิต

ATR-FTIR สเปกตรัมของไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตแสดงดังภาพที่ 3ก พิกัดตำแหน่งคลื่น 3270 cm^{-1} แสดงถึงหมู่ฟังก์ชันของไฮดรอกซิล (O-H stretching) ซึ่งเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของ CS PVA และ Ex-SCG และ N-H stretching ของ CS [19] ที่ตำแหน่งคลื่น 2913 cm^{-1} แสดงหมู่ฟังก์ชัน C-H stretching ซึ่งเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของ CS และ PVA ที่ตำแหน่งคลื่น 1650 cm^{-1} แสดงถึงพันธะ C=O stretching ซึ่งเป็นพันธะของหมู่คาร์บอนิลที่ปรากฏอยู่ในโครงสร้างของสารสกัดจากกากกาแฟ และแสดงพันธะเอไมด์ I เป็นองค์ประกอบของ CS ที่ตำแหน่งคลื่น 1420 cm^{-1} แสดงถึงพันธะ C-H₂ stretching bending ซึ่งเป็นพันธะที่แสดงถึงเอไมด์ II [19] นอกจากนี้ที่ตำแหน่งคลื่น 1317 cm^{-1} พบกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งแสดงถึงพันธะที่เกิดขึ้นจากคาร์โบไฮเดรตภายในสารสกัดจากกากกาแฟ จากผลการทดลองพบว่าเกิดการเลื่อนของพิกัดที่ตำแหน่ง 837 cm^{-1} ไป 841 cm^{-1} ในช่วงสเปกตรัมของสารสกัด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Dhand และคณะ [20] ที่สังเคราะห์ AgNPs ด้วย Ex-SCG โดยพบว่าการเลื่อนตำแหน่งของพิกัดที่ตำแหน่ง $800\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ ของสารกลุ่มฟีนอลิก แสดงถึงการที่สารประกอบฟีนอลิกเกิดปฏิกิริยารีดักชันในการเปลี่ยน Ag^+ เป็น Ag^0

4. การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของไฮโดรเจล

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E.coli* (แกรมลบ) และแบคทีเรียชนิด *S.aureus* (แกรมบวก) ของไฮโดรเจลและไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตร่วมกับการดูดซับยา Ceftriaxone sodium โดยการต้านเชื้อแบคทีเรียของระบบ PVA/CS นาโนคอมโพสิตไฮโดรเจลนี้เกี่ยวข้องกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีอยู่ใน Ex-SCG และการปลดปล่อยของ Ag^+ จาก AgNPs ร่วมกับยาปฏิชีวนะ Ceftriaxone sodium เพื่อศึกษาปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างยาปฏิชีวนะ Ex-SCG และ AgNPs ภายในโครงสร้างไฮโดรเจล แสดงดังภาพที่ 4 พบว่าไฮโดรเจลที่มีการดูดซับยา Ceftriaxone sodium มีสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งเชื้อ *E.coli* และ *S.aureus* เนื่องจากยา Ceftriaxone sodium เป็นหนึ่งในยาปฏิชีวนะที่นิยมนำมาใช้รักษาการติดเชื้อจากแบคทีเรีย [21] ในขณะที่สูตร H-AgNPs-0 แสดงการต้านเชื้อมากกว่าไฮโดรเจล เนื่องจากการมีอยู่ของ Ex-SCG ที่มีสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ [22] และที่น่าสนใจคือสูตรที่มี AgNPs โดยแสดงการต้านเชื้อเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของ $AgNO_3$ ตั้งแต่ 20 มิลลิโมลาร์ จนถึง 100 มิลลิโมลาร์ โดยที่ 100 มิลลิโมลาร์แสดงพื้นที่การต้านเชื้อทั้ง 2 ชนิดสูงสุด เนื่องจากเกิด AgNPs มากที่สุด ซึ่งยืนยันจากผล UV-Vis spectrophotometer และ XRD โดยพบพื้นที่การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียขนาด 28.49 มิลลิเมตร และ 35.70 มิลลิเมตร สำหรับเชื้อ *E.coli* และ *S.aureus* ตามลำดับ กลไกการต้านเชื้อของ Ex-SCG มาจากส่วนประกอบที่ชื่อว่ากรดคาเฟอิกและกรดคลอโรจีนิก โดยกรดคาเฟอิกสามารถยับยั้งการเอนไซม์ RNA polymerase ของแบคทีเรีย และกรดคลอโรจีนิกช่วยเพิ่มการซึมผ่านของผนังเซลล์

ชั้นนอกและพลาสมาซึ่งก่อให้เกิดการรั่วของโมเลกุลของไฮโดรพลาสซึม [23] สำหรับกลไกในการต้านแบคทีเรียของ AgNPs ยังไม่เป็นที่แน่ชัดเนื่องจากปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการต้านเชื้อของ AgNPs มีหลายปัจจัย เช่น ขนาด รูปร่าง ความเสถียร รวมถึงปริมาณของ AgNPs [9] การปลดปล่อยของ Ag^+ จาก AgNPs สามารถทำลายโปรตีนและ DNA ของแบคทีเรีย รวมทั้งการเกิดอนุมูลอิสระของออกซิเจน (ROS) ที่สามารถรบกวนการซึมผ่านของผนังเซลล์และกระตุ้นให้เกิดการรั่วของโปรตีนและองค์ประกอบภายในเซลล์อื่นๆ [15] นอกจากนี้มีงานวิจัยเสนอทฤษฎีของกลไกในการต้านเชื้อแบคทีเรียของ AgNPs โดยให้เหตุผลว่า AgNPs สามารถยึดติดกับโปรตีนที่มีหมู่กำมะถันตกค้างอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย เป็นสาเหตุให้การซึมผ่านสารต่างๆที่เข้าออกเซลล์หยุดชะงัก [9] รวมทั้งเกิดความไม่เสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย และนำไปสู่การบกพร่องของอะดีโนซีนภายในเซลล์ไตรฟอสเฟต (ATP) และส่งผลให้เซลล์ตายในที่สุด [6] โดยทั่วไป AgNPs สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ แต่อย่างไรก็ตามในรายงานส่วนมากพบว่า AgNPs สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่า [24] เนื่องจากชั้นเพปทิโดไลแคนของแกรมลบบางกว่าของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ทำให้ AgNPs สามารถทะลุผ่านเข้าไป [9] ในงานวิจัยนี้พบว่าไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่า Sondi และคณะ [25] รายงานว่าประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบของ AgNPs ขึ้นกับปริมาณของ AgNPs และหลุมผนังเซลล์ (Pits) ของแบคทีเรีย โดยที่การสะสมของ AgNPs ในหลุมผนังเซลล์บนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย จะไปขัดขวางการซึมผ่านของเซลล์ ส่งผลให้เซลล์ตาย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของ Srikhao และคณะ [9] และ Gholamali และคณะ [26] จากผลการศึกษาการต้านเชื้อแบคทีเรีย แสดงให้เห็นว่าการใช้ Ex-SCG และ AgNPs ร่วมกับยา Ceftriaxone sodium เป็นทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาแผ่นปิดแผล ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียเพิ่มขึ้นตามการเกิด AgNPs ที่มากขึ้น ในสูตร H-AgNPs-20 ถึง H-AgNPs-100

5. สมบัติการดูดซับน้ำและดัชนีการบวมของไฮโดรเจลและไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิต

เมื่อพิจารณาค่าดัชนีการบวมน้ำของไฮโดรเจล PVA/CS ที่อัตราส่วน 2.5:2.5 โดยน้ำหนักนั้น พบว่ามีค่าเท่ากับร้อยละ 267.7 และค่าลดลงมาที่ร้อยละ 91.8 (H-AgNPs-0) เมื่อเมื่อใช้ Ex-SCG เป็นตัวทำละลายแทนน้ำปราศจากไอออนในการเตรียมไฮโดรเจล เนื่องจากพลาไวโนยด์ซึ่งเป็นส่วนประกอบใน Ex-SCG [27] มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีกว่าในสารละลายที่เป็นน้ำ โดยค่าดัชนีการบวมน้ำของไฮโดรเจลขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น สารเติมแต่ง การเชื่อมขวางของเครือข่ายพอลิเมอร์ และความเข้มข้นของพอลิเมอร์เชื่อมขวาง [28] นอกจากนี้ได้มีการศึกษาอิทธิพลของปริมาณ AgNPs ในไฮโดรเจลต่อร้อยละดัชนีการบวมน้ำ แสดงดังภาพที่ 5ก พบว่าการมีอยู่ของ AgNPs ช่วยให้ไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตมีค่าดัชนีการบวมน้ำมากกว่า H-AgNPs-0 เนื่องจากการมีอยู่ของ AgNPs ซึ่งมีขนาดและรูปร่าง สามารถก่อให้เกิดรูพรุนและพื้นที่ว่างเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้สามารถดูดซับน้ำได้มากขึ้น [29] จากผลการทดลองพบว่าค่าร้อยละดัชนีการบวมน้ำของไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตเพิ่มขึ้นในสูตร H-AgNPs-20 ถึงสูตร H-AgNPs-50 และลดลงในสูตร H-AgNPs-100 โดยสูตร H-AgNPs-50 แสดงค่าร้อยละดัชนีการบวมน้ำสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Yadollahi และคณะ [29] ที่ได้ทำการศึกษาสมบัติของไฮโดรเจลที่เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้น 50 100 และ 150 มิลลิโมลาร์ ในไฮโดรเจลที่มีพื้นมาจากไคโตซาน โดยพบว่าไฮโดรเจลที่เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ มีสมบัติในการดูดซับน้ำสูงที่สุด โดยที่ค่าดัชนีการบวมน้ำลดลงเมื่อ ความเข้มข้นของ $AgNO_3$ เพิ่มขึ้น เนื่องจาก AgNPs ที่เกิดขึ้นเข้าไปขัดขวางการขยายตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ เนื่องจากแรงกระทำระหว่างกลุ่ม (-OH) และกลุ่มเอมีนของ AgNPs และโครงข่ายไฮโดรเจล จากผลของ SEM แสดงดังภาพที่ 5ข เปิดเผยให้เห็นว่าไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิต H-AgNPs-20 และ H-AgNPs-50 มีลักษณะโครงสร้างเซลล์แบบเปิด และมีช่องว่างขนาดใหญ่กว่า H-AgNPs-0 ซึ่ง

สอดคล้องกับค่าดัชนีการบวมน้ำที่มากกว่าเนื่องจากน้ำสามารถเข้าไปอยู่ในช่องว่างได้ อย่างไรก็ตามไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิต H-AgNPs-100 มีลักษณะโครงสร้างเป็นมีเซลล์ปิดขนาดใหญ่ซึ่งส่งผลให้โมเลกุลของน้ำแทรกตัวเข้าสู่โครงสร้างของไฮโดรเจลได้ยากกว่าโครงสร้างเซลล์แบบเปิด จึงส่งผลให้ค่าการดูดซับน้ำลดลง อาจเป็นไปได้ว่าเกิดจากอันตรกิริยาที่แข็งแกร่งระหว่างโมเลกุล PVA/CS และ AgNPs ที่ป้องกันไม่ให้โมเลกุล PVA เคลื่อนที่และละลายลงไปในน้ำ ส่งผลให้เกิดการเชื่อมขวาง โดยปกติโครงสร้างขนาดรูพรุนของไฮโดรเจลสามารถเพิ่มด้วยการเพิ่มจำนวนรอบของการแช่แข็งและละลาย [30] แต่จำนวนรอบของการแช่แข็งและละลายในงานนี้คงที่ ดังนั้นผลลัพธ์นี้แสดงให้เห็นว่า AgNPs มีบทบาทในการสร้างรูปแบบของรูพรุน Yadollahi และคณะ [29] พบว่าเม็ดบิโธไฮโดรเจลที่มีพื้นมาจากโคโตซานมีพื้นผิวที่แน่นและเรียบมากขึ้นเมื่อมีปริมาณของ AgNPs เพิ่มขึ้น นี่อาจเป็นเพราะปฏิสัมพันธ์ระหว่างโคโตซานกับ AgNPs ซึ่งอาจทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมขวางระหว่างโมเลกุล เมื่อเปรียบเทียบค่าดัชนีการบวมน้ำของงานวิจัยที่ผ่านมาของกลุ่มไฮโดรเจลที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นแผ่นปิดแผลที่มีพื้นมาจาก PVA/CS พบว่าอยู่ในช่วงร้อยละ 70-180 [29, 31-32] ในขณะที่งานวิจัยนี้มีค่าดัชนีการบวมน้ำอยู่ที่ร้อยละ 91.8-237.7 โดย H-AgNPs-50 ให้ค่าสูงสุดที่ร้อยละ 237.7 แสดงให้เห็นว่าไฮโดรเจลที่ได้นี้มีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นแผ่นปิดแผลได้

6. การทดสอบสมบัติเชิงกลของไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิต

เนื่องด้วยไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตสูตร H-AgNPs-50 ให้ค่าดัชนีการบวมน้ำมากที่สุด ซึ่งมีประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้เป็นแผ่นปิดแผล ในด้านการดูดซับสารคัดหลั่งจากแผล รวมถึงการกักเก็บยาปฏิชีวนะเพื่อใช้ในการรักษาแผลทางผู้วิจัยจึงนำสูตร H-AgNPs-50 ไปศึกษาค่าของความแข็งแรงซึ่งเป็นหนึ่งในสมบัติที่สำคัญมาก เพื่อที่จะสามารถประเมินว่าชิ้นงานมีความแข็งแรงเหมาะสมที่จะนำไปใช้งานหรือไม่ จากผลการทดลองพบว่าสูตร H-AgNPs-50 มีความเค้นสูงสุดเท่ากับ 10.07 ± 4 เมกะปาสคาล ซึ่งเพิ่มขึ้นร้อยละ 47.2 เมื่อเทียบกับไฮโดรเจล (Neat hydrogel) เนื่องจากคุณสมบัติการเสริมแรงของ AgNPs [9] ในงานวิจัยที่สังเคราะห์แผ่นปิดแผลที่มีพื้นมาจาก CS ที่ผ่านมา พบว่ามีค่าความเค้นอยู่ในช่วง 0.013 ถึง 9.3 เมกะปาสคาล [33-35] สำหรับงานแผ่นปิดแผลไฮโดรเจลคอมโพสิตที่มีพื้นมาจาก PVA/CS พบว่ามีค่าความเค้นอยู่ในช่วง 0.09-19.95 เมกะปาสคาล [4, 36, 37] ดังนั้นไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตสูตร H-AgNPs-50 ที่มีค่าความเค้น 10.07 ± 4 เมกะปาสคาล ซึ่งอยู่ในช่วงดังกล่าวจึงมีความแข็งแรงที่จะนำไปพัฒนาต่อเพื่อประยุกต์ใช้เป็นแผ่นปิดแผลได้

สรุปผลการวิจัย

อัตราส่วนโดยน้ำหนักของ PVA/CS ที่เหมาะสมที่สุดคือ 2.5:2.5 โดยพิจารณาจากค่าดัชนีการบวมน้ำ จากนั้นนำอัตราส่วนนี้ไปพัฒนาร่วมกับการสังเคราะห์ AgNPs ด้วย Ex-SCG เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย การบวมน้ำและความแข็งแรง ผล UV-Vis spectrophotometer และ XRD สามารถยืนยันการเกิด AgNPs โดยพบว่า มีลักษณะโครงสร้างแบบ FCC การเพิ่มความเข้มข้นของ $AgNO_3$ จาก 20 มิลลิโมลาร์ ถึง 100 มิลลิโมลาร์ส่งผลให้เกิด AgNPs เพิ่มมากขึ้น จากผลการศึกษาการต้านเชื้อแบคทีเรียของไฮโดรเจลและไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตที่มีการโหลดยา Ceftriaxone sodium พบว่าการมีอยู่ของ AgNPs ในไฮโดรเจลช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง *E. coli* และ *S. Aureus* มากกว่าทั้งไฮโดรเจลที่มีส่วนประกอบของ Ex-SCG และไฮโดรเจล ตามลำดับ ไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตสูตร H-AgNPs-50 ได้รับเลือกให้เป็นสูตรที่เหมาะสมเนื่องจากแสดงค่าร้อยละการบวมน้ำสูงสุดที่ 237.7 โดยจากผล SEM เปิดเผยว่า H-AgNPs-50 มีลักษณะเซลล์แบบ

เปิดรวมทั้งมีรูพรุนและมีพื้นที่ว่างในเซลล์มากที่สุด นอกจากนี้ H-AgNPs-50 ยังแสดงพื้นที่การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. Aureus* เพิ่มขึ้นจากไฮโดรเจลถึง ร้อยละ 6.05 และ 19.12 ตามลำดับ ในขณะที่ความเค้นเพิ่มขึ้นร้อยละ 47.2 เมื่อเทียบกับไฮโดรเจล ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวจึงสรุปได้ว่า H-AgNPs-50 มีศักยภาพในการนำไปประยุกต์และพัฒนาใช้เป็นแผ่นปิดแผลได้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.): NRCT5-RGJ63003-049 และฝ่ายวิจัยและบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

1. Koosha M, Aalipour H, Shirazi MJS, Jebali A, Chi H, Hamed S, et al. Physically crosslinked chitosan/pva hydrogels containing honey and allantoin with long-term biocompatibility for skin wound repair: An in vitro and in vivo study. *J Funct Biomater*. 2021; 12(4).
2. Suflet DM, Popescu I, Pelin IM, Ichim DL, Daraba OM, Constantin M, et al. Dual cross-linked chitosan/pva hydrogels containing silver nanoparticles with antimicrobial properties. *Pharmaceutics*. 2021; 13(9): 1–18.
3. Shamloo A, Aghababaie Z, Afjoul H, Jami M, Bidgoli MR, Vossoughi M, et al. Fabrication and evaluation of chitosan/gelatin/PVA hydrogel incorporating honey for wound healing applications: An in vitro, in vivo study. *Int J Pharm*. 2021; 59: 120068. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120068>
4. Massarelli E, Silva D, Pimenta AFR, Fernandes AI, Mata JLG, Armês H, et al. Polyvinyl alcohol/chitosan wound dressings loaded with antiseptics. *Int J Pharm*. 2021; 593: 120110.
5. Lima T, Passos MF. Skin wounds, the healing process, and hydrogel-based wound dressings: a short review. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2021; 32(14): 1910–1925 Available from: <https://doi.org/10.1080/09205063.2021.1946461>
6. Kumar A, Behl T, Chadha S. Synthesis of physically crosslinked PVA/Chitosan loaded silver nanoparticles hydrogels with tunable mechanical properties and antibacterial effects. *Int J Biol Macromol*. 2020; 149: 1262–1274. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.048>
7. Zhuang PY, Li YL, Fan L, Lin J, Hu QL. Modification of chitosan membrane with poly(vinyl alcohol) and biocompatibility evaluation. *Int J Biol Macromol*. 2012; 50(3): 658–663. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.01.026>
8. Sung JH, Hwang M-R, Kim JO, Lee JH, Kim Y Il, Kim JH, et al. Gel characterisation and in vivo evaluation of minocycline-loaded wound dressing with enhanced wound healing using polyvinyl alcohol and chitosan. *Int J Pharm*. 2010; 392(1): 232–240. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517310001985>

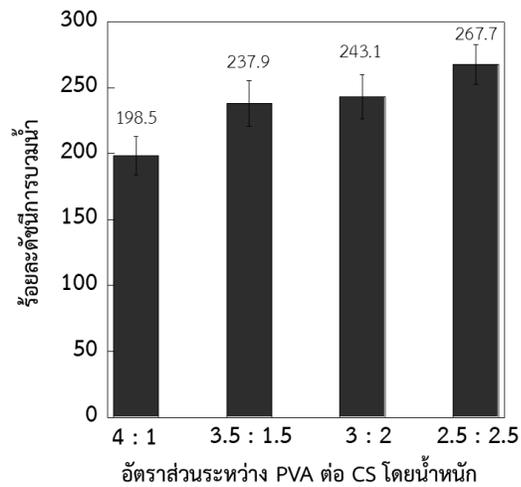
9. Srikhao N, Kasemsiri P, Ounkaew A, Lorwanishpaisarn N, Okhawilai M, Pongsa U, et al. Bioactive Nanocomposite Film Based on Cassava Starch/Polyvinyl Alcohol Containing Green Synthesized Silver Nanoparticles. *J Polym Environ.* 2021; 29(2): 672–684. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10924-020-01909-2>
10. Batool S, Hussain Z, Niazi MBK, Liaqat U, Afzal M. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and evaluation of physical and antimicrobial properties of Ag/PVA/starch nanocomposites hydrogel membranes for wound dressing application. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2019; 52: 403–414. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.05.016>
11. Chakravarty A, Ahmad I, Singh P, Ud Din Sheikh M, Aalam G, Sagadevan S, et al. Green synthesis of silver nanoparticles using fruits extracts of *Syzygium cumini* and their bioactivity. *Chem Phys Lett.* 2022; 795: 139493. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009261422001609>
12. Srikhao N, Kasemsiri P, Lorwanishpaisarn N, Okhawilai M. Green synthesis of silver nanoparticles using sugarcane leaves extract for colorimetric detection of ammonia and hydrogen peroxide. *Res Chem Intermed.* 2021; 47(3): 1269–1283. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11164-020-04354-x>
13. Ounkaew A, Kasemsiri P, Srichiangsa N, Hiziroglu S, Maraphum K, Posom J, et al. Green synthesis of nanosilver coating on paper for ripening delay of fruits under visible light. *J Environ Chem Eng.* 2021; 9(2): 105094. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105094>
14. Taesuwan I, Ounkaew A, Okhawilai M, Hiziroglu S, Jarernboon W, Chindaprasirt P, et al. Smart conductive nanocomposite hydrogel containing green synthesized nanosilver for use in an eco-friendly strain sensor. *Cellulose.* 2021; 29: 273–286.
15. Ounkaew A, Kasemsiri P, Jetsrisuparb K, Uyama H, Hsu YI, Boonmars T, et al. Synthesis of nanocomposite hydrogel based carboxymethyl starch/polyvinyl alcohol/nanosilver for biomedical materials. *Carbohydr Polym.* 2020; 248: 116767.
16. Panzella L, Cerruti P, Aprea P, Paolillo R, Pellegrino G, Moccia F, et al. Silver nanoparticles on hydrolyzed spent coffee grounds (HSCG) for green antibacterial devices. *J Clean Prod.* 2020; 268: 122352. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122352>
17. Trongchuen K, Ounkaew A, Kasemsiri P, Hiziroglu S, Mongkoltharuk W, Wannasutta R, et al. Bioactive Starch Foam Composite Enriched With Natural Antioxidants from Spent Coffee Ground and Essential Oil. *Starch/Staerke.* 2018; 70(7–8): 1–9.
18. Li CP, Weng MC, Huang SL. Preparation and characterization of pH sensitive chitosan/3-glycidyloxypropyl trimethoxysilane (GPTMS) hydrogels by Sol-Gel method. *Polymers (Basel).* 2020; 12(6): 1326.



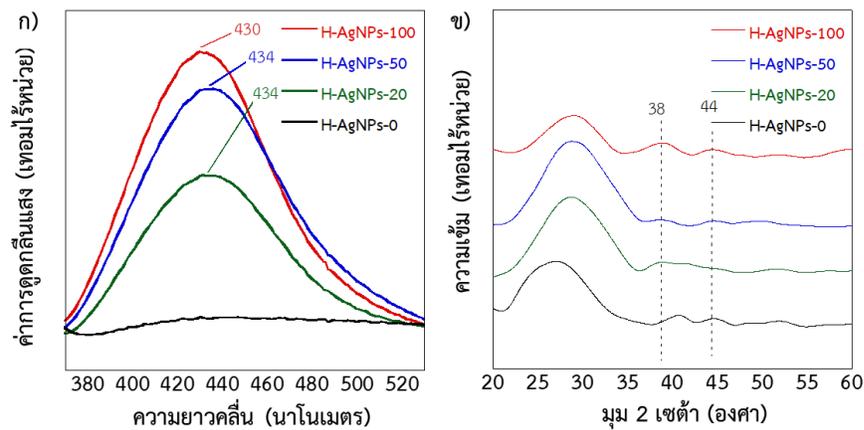
19. Ardila N, Daigle F, Heuzey MC, Aji A. Antibacterial activity of neat chitosan powder and flakes. *Molecules*. 2017; 22(1): 1–19.
20. Dhand V, Soumya L, Bharadwaj S, Chakra S, Bhatt D, Sreedhar B. Green synthesis of silver nanoparticles using *Coffea arabica* seed extract and its antibacterial activity. *Mater Sci Eng C*. 2016;58:36–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.018>
21. Ebrahimi S, Farhadian N, Karimi M, Ebrahimi M. Enhanced bactericidal effect of ceftriaxone drug encapsulated in nanostructured lipid carrier against gram-negative *Escherichia coli* bacteria: Drug formulation, optimization, and cell culture study. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2020; 9(1): 1–12.
22. Rochin-Medina JJ, Ramirez K, Rangel-Peraza JG, Bustos-Terrones YA. Increase of content and bioactivity of total phenolic compounds from spent coffee grounds through solid state fermentation by *Bacillus clausii*. *J Food Sci Technol*. 2018; 55(3): 915–923.
23. Ounkaew A, Kasemsiri P, Kamwilaisak K, Saengprachatanarug K, Mongkolthananaruk W, Souvanh M, et al. Polyvinyl Alcohol (PVA)/Starch Bioactive Packaging Film Enriched with Antioxidants from Spent Coffee Ground and Citric Acid. *J Polym Environ*. 2018; 26(9): 3762–3772. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10924-018-1254-z>
24. Liao C, Li Y, Tjong SC. Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(2).
25. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci*. 2004; 275(1): 177–182.
26. Gholamali I, Asnaashariifahani M, Alipour E. Silver Nanoparticles Incorporated in pH-Sensitive Nanocomposite Hydrogels Based on Carboxymethyl Chitosan-Poly (Vinyl Alcohol) for Use in a Drug Delivery System. *Regen Eng Transl Med*. 2019; 6: 138-153.
27. Badr AN, El-attar MM, Ali HS, Elkhadragy MF, Yehia HM, Farouk A. Spent Coffee Grounds Valorization as Bioactive Phenolic Source Acquired Antifungal, Anti-Mycotoxigenic, and Anti-Cytotoxic Activities. *Toxins*. 2022; 14(2): 1–14.
28. Kim J, Lee CM. Wound healing potential of a polyvinyl alcohol-blended pectin hydrogel containing *Hippophae rhamnoides* L. extract in a rat model. *Int J Biol Macromol*. 2017; 99: 586–593. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.014>
29. Yadollahi M, Farhoudian S, Namazi H. One-pot synthesis of antibacterial chitosan/silver bio-nanocomposite hydrogel beads as drug delivery systems. *Int J Biol Macromol*. 2015; 79: 37–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.04.032>
30. Khorasani MT, Joorabloo A, Moghaddam A, Shamsi H, MansooriMoghadam Z. Incorporation of ZnO nanoparticles into heparinised polyvinyl alcohol/chitosan hydrogels for wound dressing application. *Int J Biol Macromol*. 2018; 114: 1203–1215. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.010>



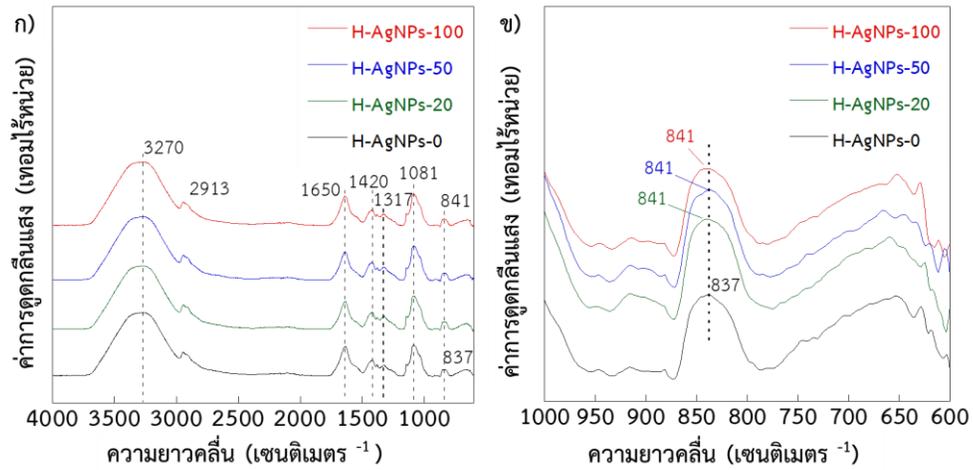
31. Kalantari K, Mostafavi E, Saleh B, Soltantabar P, Webster TJ. Chitosan/PVA hydrogels incorporated with green synthesized cerium oxide nanoparticles for wound healing applications. *Eur Polym J.* 2020; 134: 109853. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109853>
32. Zhang Y, Jiang M, Zhang Y, Cao Q, Wang X, Han Y, et al. Novel lignin–chitosan–PVA composite hydrogel for wound dressing. *Mater Sci Eng C.* 2019; 104: 110002. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110002>
33. Wang Y, Liu S, Yu W. Functionalized Graphene Oxide-Reinforced Chitosan Hydrogel as Biomimetic Dressing for Wound Healing. *Macromol Biosci.* 2021; 21(4): 1–10.
34. Yang J, Chen Y, Zhao L, Feng Z, Peng K, Wei A, et al. Preparation of a chitosan/carboxymethyl chitosan/AgNPs polyelectrolyte composite physical hydrogel with self-healing ability, antibacterial properties, and good biosafety simultaneously, and its application as a wound dressing. *Compos Part B Eng.* 2020; 197: 108139. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2020.108139>
35. Luo C, Zhao Y, Sun X, Hu B. Developing high strength, antiseptic and swelling-resistant polyvinyl alcohol/chitosan hydrogels for tissue engineering material. *Mater Lett.* 2020; 280: 128499. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2020.128499>
36. Nie L, Deng Y, Li P, Hou R, Shavandi A, Yang S. Hydroxyethyl Chitosan-Reinforced Polyvinyl Alcohol/Biphasic Calcium Phosphate Hydrogels for Bone Regeneration. *ACS Omega.* 2020; 5(19): 10948–57.
37. Xiang X, Chen G, Chen K, Jiang X, Hou L. Facile preparation and characterization of super tough chitosan/poly(vinyl alcohol) hydrogel with low temperature resistance and anti-swelling property. *Int J Biol Macromol.* 2020; 142: 574–582. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.132>



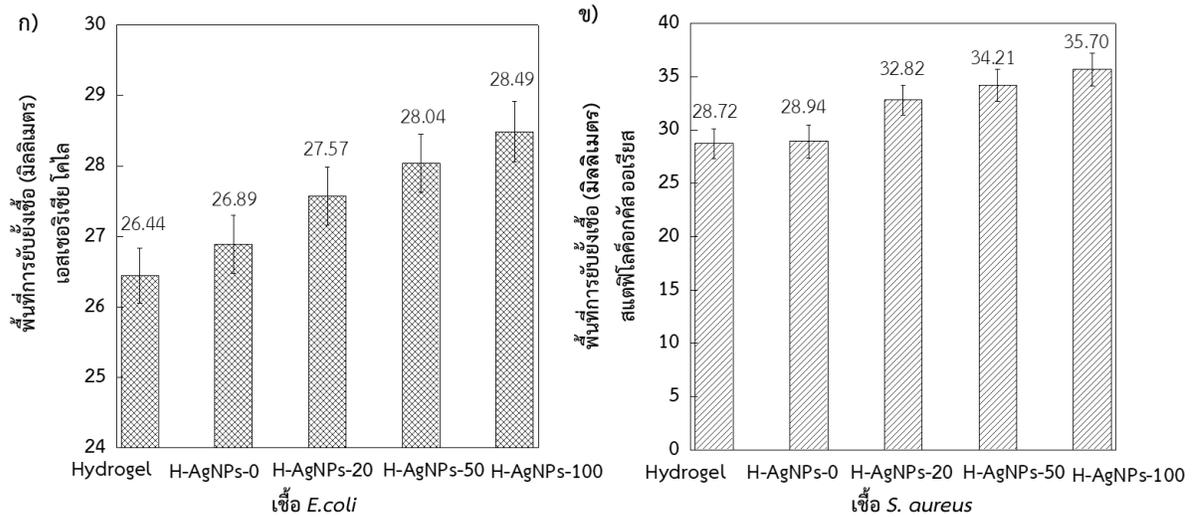
ภาพที่ 1 ร้อยดัชนีการบวมน้ำของไฮโดรเจลที่อัตราส่วนต่างกันของ PVA/CS ต่างกัน



ภาพที่ 2 ก) ค่าการดูดกลืนแสงของ AgNPs และ ข) ลักษณะ XRD ของไฮโดรเจลดนาโน คอมโพสิตที่ความเข้มข้นของ AgNO_3 ต่างกัน

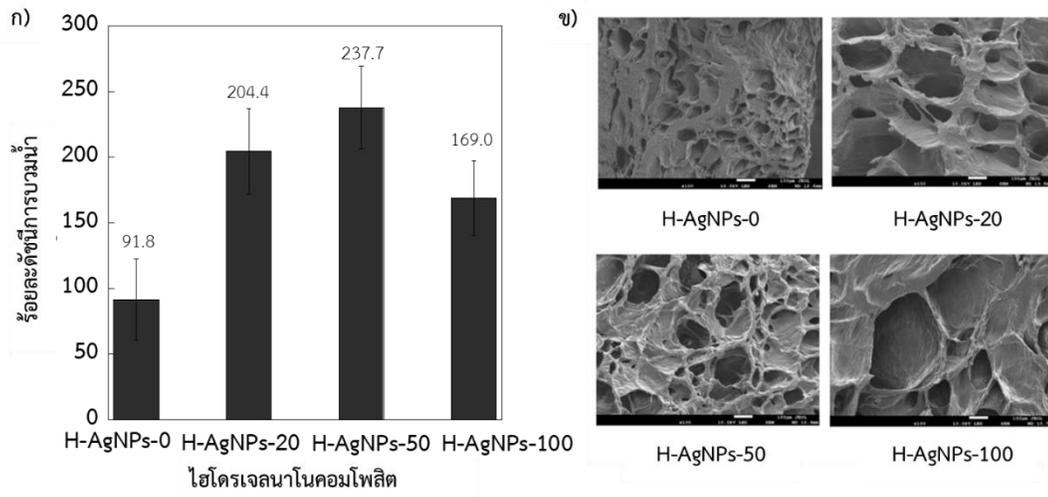


ภาพที่ 3 ATR-FTIR ของไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตที่มีความเข้มข้นของ AgNO_3 ต่างกัน



ภาพที่ 4 ผลของไฮโดรเจลและไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิตที่มี AgNPs แตกต่างกันต่อพื้นที่การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ก) *E.coli* และ ข) *S. aureus*



ภาพที่ 5 ก) ร้อยละการดูดซับน้ำของไฮโดรเจลที่มี Ex-SCG และมีปริมาณ AgNPs ต่างกัน และ ข) ภาพถ่ายด้วย SEM ของไฮโดรเจลนาโนคอมโพสิต