



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ คุณสมบัติด้านจุลชีพ, ลักษณะทางกายภาพ
และพฤติกรรมหย่อนหินดีของอะคริลิกเรซิน
ที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เตรียมด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้
สารสกัดน้ำของกระชายเหลืองเป็นตัวรีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออน
เพื่อการประยุกต์ใช้ในงานฐานฟันเทียม

โดย นางสาวปัญจพร วงศ์วิทยากุล

มิถุนายน 2563

สัญญาเลขที่ TRG5780140

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ คุณสมบัติด้านจุลชีพ, ลักษณะทางกายภาพ
และพฤติกรรมหยุ่นเหน็ดของอะคริลิกเรซิน
ที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เตรียมด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้
สารสกัดน้ำของกระชายเหลืองเป็นตัวรีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออน
เพื่อการประยุกต์ใช้ในงานฐานพื้นเทียม

ผู้วิจัย นางสาวปัญจพร วงวิทยากุล
สังกัด คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย
สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : TRG5780140

ชื่อโครงการ : คุณสมบัติต้านจุลชีพ, ลักษณะทางกายภาพ และพฤติกรรมหย่อนหนืดของอะคริลิเกรซินที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เตรียมด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้สารสกัดน้ำของกระชายเหลืองเป็นตัวรีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออน เพื่อการประยุกต์ใช้ในงานฐานพื้นเทียม

ชื่อนักวิจัย : ปัญจพร วงศ์วิทยากุล คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

E-mail Address : panjap_w@hotmail.com, panja_w@staff.tu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

อนุภาคซิลเวอร์นาโนถูกสังเคราะห์ขึ้นด้วยวิธีการทางชีวภาพโดยใช้สารสกัดน้ำของโบทาเนนเบิร์กเกียโรทุนดา (*Boesenbergia rotunda*) หรือกระชายเหลืองเป็นตัวรีดิวซ์ (reducing agent) และสารที่ทำให้คงตัว (stabilizer) เครื่องอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Ultraviolet-Visible spectrophotometer) ถูกใช้เพื่อตรวจสอบการเกิดอนุภาคซิลเวอร์นาโน รูปร่างและขนาดของอนุภาคซิลเวอร์นาโนถูกตรวจสอบโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM) คุณสมบัติต้านจุลชีพของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ถูกตรวจสอบโดยใช้เชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*) จากนั้นนำอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ไปผสมกับวัสดุฐานพื้นเทียมเรซินอะคริลิกที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ (ได้แก่ ความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.025, 0.050, 0.075 และ 0.100 โดยน้ำหนัก) ทดสอบฤทธิ์การต้านจุลชีพของเรซินอะคริลิกที่เติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ด้วยวิธี disc diffusion method และ spread plate method และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของเหงือกมนุษย์ด้วยวิธี MTT Cytotoxicity Assay ความแข็งระดับจุลภาคถูกทดสอบด้วย Vickers hardness และทดสอบความทนแรงดัดแบบดัดงอสามจุดด้วยเครื่อง Universal tensile tester พื้นผิวที่แตกหักของชิ้นงานตัวอย่างเรซินอะคริลิกถูกสำรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) พฤติกรรมหย่อนหนืดถูกศึกษาด้วยการทดสอบเชิงพลวัต (Dynamic mechanical analysis, DMA) และผลของปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโนและจำนวนรอบของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็นเป็นจังหวะต่อความ

เสถียรทางความร้อนของวัสดุฐานพื้นเทียมเรซินอะคริลิกถูกวัดด้วยเทคนิควิเคราะห์ความเสถียรของวัสดุเมื่อได้รับความร้อนโดยการวัดน้ำหนักของวัสดุที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละช่วงอุณหภูมิด้วยเครื่องชั่งที่มีความไวสูง (Thermogravimetric analysis, TGA)

อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้เป็นทรงกลมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 นาโนเมตรและมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ วัสดุฐานพื้นเทียมอะคริลิกเรซินที่มีการเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ร้อยละ 0.075 ขึ้นไป มีแนวโน้มในการป้องกันการเกิดเชื้อราแคนดิดา อัลบิแคนส์ บนบนพื้นผิวได้ และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของเหงือกมนุษย์ การเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนในเรซินอะคริลิกไม่ส่งผลต่อความแข็งแรงระดับจุลภาค และความทนแรงดัด แต่ส่งผลต่อพฤติกรรมหย่อนหด จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อน พบว่า อนุภาคซิลเวอร์นาโนชะลอการสลายตัวทางความร้อนของฐานพื้นเทียมเรซินอะคริลิกได้ และจำนวนรอบของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็นเป็นจังหวะไม่ส่งผลต่อความเสถียรทางความร้อนของเรซินอะคริลิกที่เติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้

วัสดุฐานพื้นปลอมเรซินอะคริลิกที่เติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้สามารถถูกพัฒนาขึ้นเพื่อให้มีคุณสมบัติต้านจุลชีพ คุณสมบัติทางกายภาพของฐานพื้นปลอมไม่ได้ลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโน

คำคำหลัก : อนุภาคซิลเวอร์นาโน, กระชายเหลือง, ฐานพื้นเทียม, เรซินอะคริลิก

Abstract

Project Code: TRG5780140

Project Title: Antimicrobial properties, physical characteristics and viscoelastic behavior of acrylic resin incorporated with silver- nanoparticles synthesized from the aqueous extract of *Boesenbergia rotunda* (Fingerroot) for denture bases

Investigator: Panjaporn Wongwitthayakool, Faculty of Dentistry, Thammasat University

E-mail Address: panjap_w@hotmail.com, panja_w@staff.tu.ac.th

Project Period: 2 years

Silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized by biological synthesis using aqueous extracts of *Boesenbergia rotunda* or fingerroot as reducing agent and stabilizer. Ultraviolet-Visible spectrophotometer was utilized to monitor the formation of AgNPs. AgNP shape and size were examined by Transmission electron microscope (TEM). The antifungal activity of synthesized AgNPs was investigated using *Candida albicans*. The synthesized AgNP were mixed with acrylic resin denture base with different concentrations (i.e. 0, 0.025, 0.050, 0.075 and 0.100 wt%). Antimicrobial activity of acrylic resins filled with AgNP was tested using disc diffusion method and spread plate method. MTT Cytotoxicity Assay of AgNP filled acrylic resin was examined with Human gingival fibroblast (HGF). Vickers microhardness and three point bending flexural strength of denture base were tested using Universal tensile tester. The fracture surface was observed with Scanning electron microscope. Viscoelastic behavior was studied using Dynamic mechanical analysis (DMA). Effect of AgNP concentrations and thermocycling cycles on thermal stability of acrylic resin denture base were measured with Thermogravimetric analysis, TGA).

The silver nanoparticles, were synthesized, silver nanoparticles were spherical shape with diameter range from 20-40 nm with inhibitory activity of *C. albicans* growth.

Acrylic resin denture base material filled with synthesized AgNP concentration of 0.075 wt% tended to prevent *C. albicans* adhesion on surface, and was noncytotoxicity on human gingival fibroblast. The incorporation of AgNP into acrylic resin did not impact on microhardness and flexural strength, but affected viscoelastic behavior. It was found from thermal property analysis that AgNP retarded thermal degradation of acrylic resin denture base. Thermocycling cycles did not affect thermal stability of acrylic resin filled with synthesized AgNP.

The acrylic resin denture base material filled with synthesized AgNP could be developed for antimicrobial properties. Physical properties of filled acrylic resin denture base were not diminished with the increase in AgNP contents.

Keywords : Silver nanoparticle, Fingerroot, Denture base, Acrylic resin

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัย โครงการ “คุณสมบัติด้านจุลชีพ, ลักษณะทางกายภาพและพฤติกรรมหย่อนหนืดของอะคริลิกเรซินที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เตรียมด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้สารสกัดน้ำของกระชายเหลืองเป็นตัวรีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออน เพื่อการประยุกต์ใช้ในงานฐานพันเทียม” สำเร็จได้ เนื่องจากบุคคลหลายท่านได้กรุณาช่วยเหลือให้ข้อมูลข้อเสนอแนะ คำปรึกษา แนะนำความคิดเห็น และกำลังใจ

ผู้เขียนขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์ของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือประสานงานการติดต่อเป็นอย่างดีด้วยอัธยาศัยไมตรีที่อบอุ่นเป็นกันเอง

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่ได้สนับสนุนทุนสนับสนุนการวิจัยทุนส่งเสริมนักวิจัยรุ่นใหม่ ประจำปี 2557 ทำให้งานวิจัยนี้สามารถดำเนินการสำเร็จได้ตามวัตถุประสงค์

ท้ายสุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และขอขอบคุณพี่และน้องที่ได้ช่วยส่งเสริมสนับสนุนกระตุ้นเตือน และเป็นกำลังใจตลอดมาให้ผู้เขียนจัดทำรายงานการวิจัย

ปัญญาพร วงศ์วิทยากุล

มิถุนายน 2563

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 สมมติฐาน	3
1.4 ขอบเขต	4
1.5 คำนิยามศัพท์เฉพาะ	4
1.6 ประโยชน์ที่ได้รับ	4
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 โรคปากอักเสบเหตุฟันเทียม (Denture stomatitis, Denture sore mouth, Chronic atrophic candidiasis)	5
2.2 อนุภาคซิลเวอร์นาโน (Silver nanoparticle)	7
2.3 กระชายเหลือง (Fingerroot)	7
2.4 ผลของอนุภาคซิลเวอร์นาโนต่อสมบัติทางกายภาพของวัสดุฐานฟันเทียมอะคริลิกเรซิน	9
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	11
3.1 การเตรียมสารสกัดน้ำของกระชายเหลือง	11
3.2 การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน	11
3.3 การตรวจสอบลักษณะของอนุภาคซิลเวอร์นาโน	11
3.4 การตรวจสอบผลการยับยั้งการเจริญของ <i>Candida albicans</i>	12
3.5 การเตรียมชิ้นงาน	12
3.6 การประเมินคุณสมบัติด้านจุลชีพ	13
3.7 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์	13
3.8 การทดสอบความแข็งระดับจุลภาค (Microhardness test)	14

3.10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)	14
3.11 พฤติกรรมหยุ่นหนืด (Viscoelastic behavior)	14
3.12 คุณสมบัติทางความร้อน (Thermal properties)	15
3.13 การทดสอบทางสถิติ	15
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	16
4.1 การตรวจสอบลักษณะของอนุภาคซิลเวอร์นาโน	16
4.2 การตรวจสอบผลการยับยั้งการเจริญของ <i>Candida albicans</i>	18
4.3 การประเมินคุณสมบัติต้านจุลชีพ	18
4.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์	19
4.5 การทดสอบความแข็งระดับจุลภาค (Microhardness test)	20
4.6 ความทนแรงดัด (Flexural strength)	21
4.7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)	22
4.8 พฤติกรรมหยุ่นหนืด (Viscoelastic behavior)	23
4.9 คุณสมบัติทางความร้อน (Thermal properties)	26
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	28
บรรณานุกรม	29

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดกระชายเหลือง (Inhibitory activities exhibited B. rotunda extracts)	8
ตารางที่ 4.1 ความสามารถของอนุภาคซิลเวอร์นาโนในการยับยั้งการเจริญของ <i>C. albicans</i>	18

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 4.1 UV-Vis absorption spectrum ของ สารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโน	16
รูปที่ 4.2 TEM ของ สารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้	17
รูปที่ 4.3 FTIR spectrum ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้	17
รูปที่ 4.4 จำนวนโคโรนินของ <i>C. albicans</i> ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ [* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)] (mean $\pm$ SD; n=5)	19
รูปที่ 4.5 ร้อยละเซลล์รอดชีวิต (cell viability) ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ	20
รูปที่ 4.6 Vickers Hardness ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ	21
รูปที่ 4.7 Flexural strength ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ	21
รูปที่ 4.8 ภาพถ่าย SEM พื้นผิวที่แตกหักของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	22
รูปที่ 4.9 พฤติกรรมหยุนหนีจากการทดสอบเชิงพลวัตเทียบกับความถี่ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก); (ก) มอดุลัสสะสม (ข) มอดุลัสสูญเสีย และ (ค) ปัจจัยในการกระจายพลังงาน	24
รูปที่ 4.10 พฤติกรรมหยุนหนีจากการทดสอบเชิงพลวัตเทียบกับอุณหภูมิของชิ้นงานตัวอย่างที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก); (ก) มอดุลัสสะสม (ข) มอดุลัสสูญเสีย และ (ค) ปัจจัยในการกระจายพลังงาน	25
รูปที่ 4.11 อุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้ว (glass transition temperature, Tg) ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	26

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ฐานฟันเทียมเป็นอุปกรณ์ที่สร้างขึ้นมาเพื่อรองรับฟันเทียม ซึ่งส่วนใหญ่ประดิษฐ์จากพอลิเมทิลเมทาคริลเลต (PMMA) หรือเรียกกันทั่วไปว่า เรซินอะคริลิก เนื่องจากมีขั้นตอนในการทำง่าย อะคริลิกเรซินมีความสวยงาม สามารถทำสีได้เหมือนเหงือก มีความแข็งแรงสูง อมน้ำน้อย มีติงที่ ชัดเป็นเงา และราคาไม่แพง (1) แม้ว่าเรซินอะคริลิกจะไม่ใช่เป็นพิษและมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ (Biocompatibility) โดยไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองหรือการอักเสบของเนื้อเยื่อ แต่เรซินอะคริลิกมีรูพรุนและมีความหยาบของผิววัสดุซึ่งก่อให้เกิดการสะสมของแบคทีเรียหรือเชื้อจุลินทรีย์ได้

ไบโอฟิล์ม (Biofilms) ในช่องปากเกิดจากคราบจุลินทรีย์จำนวนมาก เช่น แคนดิดาอัลบิแคนส์ (*Candida albicans*) ที่จับกลุ่มกันและยึดเกาะที่บริเวณฟัน ขอบเหงือกและใต้เหงือก ซึ่งมีรายงานว่า *C. albicans* สามารถรวมตัวกันกับแบคทีเรียที่อยู่ในช่องปากทำให้แบคทีเรียยึดเกาะบนเนื้อเยื่อในช่องปาก (Oral mucosa) และฟันได้ (2-4) ซึ่งโดยปกติฟันเทียมสามารถทำความสะอาดได้โดยการล้างและแปรงซึ่งบางครั้งอาจใช้น้ำยาฆ่าเชื้อด้วยเพื่อป้องกันและกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่สะสมอยู่บนฟันเทียมและฐานฟันเทียม อย่างไรก็ตามผู้ป่วยที่ใส่ฟันเทียมมักเป็นผู้สูงอายุทำให้มีข้อจำกัดในการทำทำความสะอาดฟันเทียมที่ไม่ดีพอ จึงส่งผลให้เกิดการอักเสบและติดเชื้อของเนื้อเยื่อในช่องปากตามมา เนื่องจากการที่ *C. albicans* สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้นได้เป็นจำนวนมากบนฐานวัสดุอะคริลิก (5, 6) จึงทำให้ *C. albicans* เป็นต้นเหตุสำคัญของการเกิดโรคเยื่อปากอักเสบเหตุฟันเทียม (Denture stomatitis)

ในงานทันตกรรมมีการนำโลหะหลายชนิดมาใช้ประโยชน์ ซึ่งในแง่ของการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบว่าซิลเวอร์ไอออนมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียสูงที่สุดในกลุ่มโลหะ (7) ปัจจุบันนี้มีการนำโลหะเงินโดยเฉพาะในรูปของอนุภาคซิลเวอร์นาโน (AgNPs) มาใส่ในวัสดุต่างๆมากขึ้นเพื่อเพิ่มต่อต้านการสะสมของเชื้อราและแบคทีเรีย เนื่องจากการนำธาตุเงินมาแปรรูปให้มีขนาดเล็กมากในระดับนาโนเมตร เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวที่จะสัมผัสกับเชื้อโรค และด้วยขนาดที่เล็กมาทำให้ใช้ธาตุเงินเพียงเล็กน้อยก็สามารถครอบคลุมพื้นที่และเพิ่มโอกาสในการสัมผัสกับเชื้อโรคได้มาก

ขึ้น โดยอนุภาคของซิลเวอร์นาโนจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของเอนไซม์ที่จำเป็นของเชื้อจุลินทรีย์ แบคทีเรีย และไวรัส ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวจะทำลายผนังเซลล์ของเชื้อโรคส่งผลให้ DNA ของทั้งจุลินทรีย์ แบคทีเรีย และไวรัส หยุดทำงานและตายในที่สุด (8) มีรายงานว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนจะทำปฏิกิริยากับสารโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของทั้งจุลินทรีย์ แบคทีเรีย และไวรัสเท่านั้น โดยไม่ทำอันตรายกับเซลล์ของสัตว์ หรือมนุษย์แต่อย่างใด (9) ซึ่งวิธีสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนมีหลายวิธี ได้แก่ วิธีทางเคมี (Chemical reduction) วิธีการฉายรังสีเอกซ์ (X-ray irradiation) วิธีการใช้กรดและการให้ความร้อน (Refluxing and heating methods) และวิธีทางชีวภาพ (Bioreduction) (10-12)

วิธีทางชีวภาพเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้สำหรับสังเคราะห์โลหะนาโน (13) การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนโดยวิธีทางชีวภาพจะทำให้อนุภาคนาโนมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีต้นทุนในการผลิตต่ำ นักวิจัยหลายคน (14-18) ได้ใช้สารชีวโมเลกุลที่พบในพืชไปลดขนาดของซิลเวอร์ไอออนในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO_3) ให้เป็นอนุภาคซิลเวอร์นาโน โดยอาศัยหลักการที่ว่าในช่วงไกลโคไลซิส (Glycolysis) พืชจะผลิต nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) จำนวนมาก ซึ่งเป็น reducing agent สามารถให้ electron แก่ซิลเวอร์ไอออนได้ (19) นอกจากนี้แล้วในพืชยังมีสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) ได้แก่ Terpenoids, Flavones, Ketones, Aldehydes Amides และ Carboxylic acids เป็นต้น ซึ่ง Flavones, Organic acids และ Quinones สามารถละลายน้ำได้และสามารถรีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออนได้ทันที (8) การสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้นอกจากจะได้อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อแล้ว อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ได้ยังไม่เป็นพิษต่อเซลล์อีกด้วย และการที่อนุภาคซิลเวอร์นาโนมีฤทธิ์ต้านจุลชีพอย่างมีประสิทธิภาพจึงเหมาะสำหรับการใช้งานทางการแพทย์ต่างๆ

กระชายเหลือง (Finger root) หรือคนส่วนใหญ่เรียกว่ากระชาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ เซนเบอร์เกียโรทุนดา (*Boesenbergia rotunda*) เป็นสมุนไพรที่พบกันอย่างแพร่หลายในประเทศแถบเอเชีย จัดอยู่ในวงศ์ขิง (*Zingiberaceae*) ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกันกับ ขิง ขมิ้น และข่า เป็นที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมในอาหารและการเตรียมยาสมุนไพร มีรายงานว่า กระชายสามารถยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มที่เกิดจากเชื้อโรคในช่องปากและการเจริญเติบโตของ *C. albicans* ได้ (20) งานวิจัยนี้นำสารสกัดน้ำของกระชายไปลดขนาดอนุภาคของซิลเวอร์ไอออนในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตให้เป็นซิลเวอร์นาโน จากนั้นทำการแยกอนุภาคซิลเวอร์นาโนออกจากสารละลายด้วยวิธีการทำให้แห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง (Freeze Dry) และนำไปผสมลงในอะคริลิเกรซิน เนื่องจากสารพฤกษเคมีในสารสกัดน้ำของกระชาย เช่น Flavone มีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพ จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพของซิลเวอร์นาโนที่อยู่ในอะคริลิเกรซินด้วย

อย่างไรก็ตามฐานฟันเทียมที่เตรียมได้ควรมีสมบัติเชิงกลที่ดี คือ มีความทนแรงดัด (Flexural strength) นอกจากนี้แล้วพฤติกรรมหยุ่นหนืด (Viscoelastic behavior) เช่น โมดูลัสสะสม (Storage modulus) ปัจจัยการกระจายตัวพลังงาน (Damping factor) และอุณหภูมิเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature, T_g) ก็มีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับคุณสมบัติเชิงกลของฐานฟันเทียม เนื่องจากขณะใช้งานในช่องปากฐานฟันเทียมจะได้รับความร้อนที่เปลี่ยนแปลงไปตลอดเวลาจากการกลืนของเหลวร้อนและเย็น ซึ่งอาจทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของฐานฟันเทียมได้ (21) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีการตรวจสอบคุณสมบัติเชิงกลและพฤติกรรมหยุ่นหนืดของเรซินอะคริลิกที่เตรียมได้ร่วมกับการศึกษาความเสถียรทางความร้อน (thermal stability)

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อเตรียมอนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้สารสกัดน้ำของกระชายเหลืองเป็นตัวรีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออนที่อยู่ในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต

1.2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. albicans* ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เตรียมด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้สารสกัดน้ำของกระชายเหลืองเป็นตัวรีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออนในอะคริลิกเรซินเปรียบเทียบกับอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่วางขายในท้องตลาดที่มีมาตรฐานสำหรับใช้ในทางการแพทย์

1.2.3 เพื่อประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เตรียมด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้สารสกัดน้ำของกระชายเหลืองเป็นตัวรีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออน

1.2.4 เพื่อตรวจสอบผลกระทบของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เตรียมด้วยวิธีทางชีวภาพโดยใช้สารสกัดน้ำของกระชายเหลืองเป็นตัวรีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออนต่อสมบัติทางกายภาพของเรซินอะคริลิก ได้แก่ สมบัติเชิงกล สมบัติหยุ่นหนืด และสมบัติทางความร้อน

1.3 สมมติฐาน

1.3.1 สามารถนำสารสกัดน้ำของกระชายเหลืองมาใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน

1.3.2 การยับยั้งการเจริญของจุลชีพของซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้นไม่แตกต่างจากอนุภาคนาโนทางการค้าจากบริษัทผู้ผลิต

1.3.3 คุณสมบัติเชิงกลของชิ้นงานเรซินอะคริลิกที่ผสมซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้น ไม่มีความแตกต่างจากชิ้นงานเรซินอะคริลิกที่ไม่ได้ผสม

1.3.4 ชิ้นงานเรซินอะคริลิกที่ผสมซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้นมีคุณสมบัติต้านจุลชีพ

1.3.5 การเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ลงในเรซินอะคริลิกไม่เป็นพิษต่อเซลล์

1.4 ขอบเขต

1.4.1 สังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน แล้วตรวจสอบผลการยับยั้งเชื้อ *C. albicans*

1.4.2 ผลิตชิ้นงานอะคริลิกเรซินที่ผสมซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้น แล้วทำการทดสอบคุณสมบัติการต้านจุลชีพ และศึกษาความเป็นพิษของซิลเวอร์นาโนที่มีต่อเซลล์เหงือกของมนุษย์

1.4.3 ผลิตชิ้นงานเรซินอะคริลิกที่ผสมซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้น แล้วทดสอบสมบัติทางกายภาพของเรซินอะคริลิก ได้แก่ สมบัติเชิงกล สมบัติหยุ่นหด และสมบัติทางความร้อน

1.5 คำนิยามศัพท์เฉพาะ

1.5.1 อนุภาคซิลเวอร์นาโน (Silver nanoparticle) คือ เทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้าง วัสดุเงิน ที่ถูกทำให้มีขนาดเล็กมากในระดับนาโนเมตร เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิว ที่จะสัมผัสกับเชื้อโรค และด้วยขนาดที่เล็กมาก ทำให้ใช้ธาตุเงินเพียงเล็กน้อย ก็สามารถครอบคลุมพื้นที่ และเพิ่มโอกาสในการสัมผัสกับเชื้อโรคได้มากขึ้น

1.5.2 วัสดุฐานฟันเทียมอะคริลิกเรซิน (Acrylic resin denture base material) คือ วัสดุที่สร้างขึ้นมาเพื่อรองรับฟันเทียมซึ่งประดิษฐ์จากพอลิเมทิลเมทาคริเลต (polymethylmethacrylate, PMMA) เรียกกันทั่วไปว่าอะคริลิกเรซิน

1.6 ประโยชน์ที่ได้รับ

1.6.1 สามารถสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยวิธีทางชีวภาพซึ่งมีราคาถูกและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

1.6.2 สามารถนำซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ ไปใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพได้

1.6.3 สามารถผลิตชิ้นงานเรซินอะคริลิกผสมซิลเวอร์นาโน ที่มีคุณสมบัติการต้านจุลชีพโดยไม่ทำให้คุณสมบัติทางกายภาพเปลี่ยนแปลง อีกทั้งไม่เป็นพิษต่อเซลล์เหงือกของมนุษย์ด้วย

บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคปากอักเสบเหตุฟันเทียม (Denture stomatitis, Denture sore mouth, Chronic atrophic candidiasis)

โรคปากอักเสบเหตุฟันเทียม เป็นภาวะที่มีการอักเสบเรื้อรังบริเวณเนื้อเยื่อที่รองรับฐานฟันเทียมชนิดถอดได้ อาการแสดงของโรคมีหลายระดับ ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักไม่แสดงอาการเจ็บ แต่อาจตรวจพบเนื้อเยื่อช่องปากอักเสบ บวมแดง มีเลือดออกบริเวณที่ฐานฟันเทียมกดทับ ผู้ป่วยบางรายอาจรู้สึกเจ็บ มีกลิ่นปาก ปากแห้ง และการรับรสชาติอาหารเปลี่ยน (22-24) โรคปากอักเสบเหตุฟันเทียมเกิดจากปัจจัยหลายอย่างร่วมกัน สาเหตุสำคัญคือฟันเทียมหลวมส่งผลให้เนื้อเยื่อได้รับบาดเจ็บ ร่วมกับการติดเชื้อรา โดยเฉพาะสายพันธุ์แคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*) โดยส่วนมากมักพบเชื้อรา *C. albicans* บริเวณด้านที่ติดเนื้อเยื่อของฟันเทียมมากกว่าเนื้อเยื่อบริเวณเพดานปาก การรักษานอกจากจะรักษาความสะอาด จึงควรพยายามกำจัดเชื้อราจากฟันเทียม หรือป้องกันการเกาะติดของเชื้อราที่ฐานฟันเทียม

เชื้อรา *C. albicans* จัดเป็นเชื้อราคล้ายยีสต์ (yeast-like fungi) คือ พบเชื้อยีสต์เซลล์รูปร่างกลม สามารถสร้างทั้งสาหร่ายแท้ (True hyphae) และสาหร่ายเทียม (Pseudo hyphae) ยีสต์เซลล์เจริญแบ่งตัวด้วยการแตกหน่อ (Budding) แบบโฮโลบลาสติก (Holoblastic) ได้เป็นเซลล์ยีสต์ที่มีรูปร่างมนรีขนาดเล็กประมาณ 3-5 ไมครอน (Blastoconidia) ซึ่งเติบโตได้ดีในอาหารที่มี pH ค่อนไปทางกรด เชื้อรา *C. albicans* เป็นเชื้อประจำถิ่นหรืออาศัยเป็นปกติในร่างกายมนุษย์โดยไม่ทำให้เกิดโรค (Normal flora) พบได้ทั่วไปในร่างกาย เช่น บริเวณผิวหนัง ช่องปาก ทางเดินอาหาร ช่องคลอด ทางเดินปัสสาวะ และนอกจากจะพบในร่างกายแล้วยังสามารถพบได้ในสิ่งแวดล้อม เช่น ในน้ำ ในดิน ในอากาศ หรือในสิ่งของต่าง ๆ ที่มีการปนเปื้อน ผู้ที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ คือ ผู้ที่มีภูมิคุ้มกันของร่างกายต่ำ ได้แก่ ผู้ป่วยมะเร็ง เบาหวาน โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผู้ป่วยที่ได้รับยาปฏิชีวนะนาน ๆ และการได้รับสเตียรอยด์ โดยเชื้อราแคนดิดา ทำให้เกิดโรคได้ทั้งแบบเฉพาะที่ และทางระบบ (Superficial and systemic disease) (25)

โรคปากอักเสบเหตุฟันเทียมเริ่มต้นจากการเกาะติดของเชื้อรา *C. albicans* ที่บริเวณเนื้อเยื่อใต้ฐานฟันเทียม โดยการเกาะยึดของจุลินทรีย์ (Microorganisms) ต่อพื้นผิวของฐานฟันเทียม เริ่มจากการยึดติด (Adhesion) ตามด้วยการเกิดการเกาะกลุ่ม (Colonization) และเกิด

เป็น โครงสร้างไบโอฟิล์มที่สมบูรณ์ (Mature biofilm) ดังนั้น สิ่งสำคัญในการควบคุมการเกิดปากอักเสบเหตุฟันเทียม คือ การควบคุมการเกาะติดของเชื้อในระยะเริ่มต้น บริเวณฐานฟันเทียมที่สัมผัสกับเนื้อเยื่อช่องปาก (26) การรักษาอ่อนช้าจะซับซ้อน เนื่องจากมีสาเหตุหลายปัจจัยร่วมกัน จึงรักษาตามสาเหตุ ดังนี้

1. แนะนำการทำความสะอาดฟันเทียม และดูแลสุขภาพช่องปากอย่างถูกต้องเหมาะสม แนะนำให้ถอดฟันเทียมออกเวลานอน
2. การใช้ยาฆ่าเชื้อ (Disinfectant agents) เช่นการใช้ 0.2% คลอร์เฮกซิดีน กลูโคเนต (Chlorhexidine gluconate) วันละ 3-4 ครั้ง เพื่อลดการเกิดคราบจุลินทรีย์
3. หากปุ่มเนื้อเยื่อเกินมีขนาดใหญ่มาก รักษาด้วยวิธีศัลยกรรมตัดออก
4. แก้ไขฟันเทียมที่หลวม หรือกดเนื้อเยื่อที่เป็นสาเหตุให้เนื้อเยื่ออักเสบ หรือพิจารณาทำฟันเทียมชุดใหม่
5. แนะนำการรับประทานอาหารที่เหมาะสม ได้แก่ ลดปริมาณอาหารคาร์โบไฮเดรต ดื่มน้ำให้เพียงพอ
6. การใช้ยาด้านเชื้อรา (Antifungal drugs) เช่น ไนสแตติน (Nystati) แอมโฟเทอริซิน บี (Amphotericin B) ไมโคนาโซล (Miconazole) ฟลูโคนาโซล (Fluconazole) กลั้วปาก ครั้งละ 3 มิลลิกรัม นาน 3-5 นาที วันละ 3-4 ครั้ง หากยาด้านเชื้อราเฉพาะที่ไม่ได้ผล หรือในผู้ป่วยที่ภูมิคุ้มกันต่ำ จะให้การรักษาพร้อมกับยาด้านเชื้อราในระบบ (Systemic antifungal drugs) (27) ซึ่งเป็นยาด้านเชื้อราในกลุ่มของเอโซล (Azole) เป็นยาสังเคราะห์ที่มีความสำคัญในการรักษาการติดเชื้อราในระบบ (Systemic fungal infection) ยาในกลุ่มนี้มีทั้งในรูปแบบ ยารับประทาน ยาฉีด และยาทาภายนอก

ปัจจุบันมีการเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนลงไปในฐานฟันเทียมเรซินอะคริลิก เพื่อให้ฐานฟันเทียมมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ และป้องกันการเกิดไบโอฟิล์ม (28) จากการศึกษาของ Kim และคณะ (29) พบว่าผลึกซิลเวอร์นาโนมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา (Antifungal activity) โดยไปทำลายผนังเซลล์และยับยั้งการแบ่งตัวของเชื้อรา และจากการศึกษาของ Hwang และคณะ (30) พบว่าผลึกซิลเวอร์นาโนมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา *C. albicans* โดยเพิ่มไฮดรอกซิล แรดิคัล (Hydroxyl radical) ทำให้เกิดการตายของเซลล์แบบอะพอพโทติก (Apoptotic cell death) ผลการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อราของ Nam และคณะ (31) พบว่า ความเข้มข้นของปริมาณซิลเวอร์ไอออนที่น้อยที่สุด (Minimal inhibitory concentration, MIC) ที่สามารถยับยั้งเชื้อราแคนดิดาได้ดีคือ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และการศึกษาของ Monterio และคณะ (32) พบว่า ฐานฟันเทียมที่ผสมอนุภาคซิลเวอร์นาโนร้อยละ 5 โดยปริมาตรทำให้เกิดโซนใส (Inhibition zone) ของเชื้อราแคนดิดา (จากความเข้มข้นร้อยละ 0.05, 0.5 และ 5 โดยปริมาตร)

2.2 อนุภาคซิลเวอร์นาโน (Silver nanoparticle)

นาโนเทคโนโลยี เป็นเทคโนโลยี เกี่ยวกับสารขนาดเล็ก ตั้งแต่ 1-100 นาโนเมตร โดยอนุภาคที่ถูกจัดเรียงโครงสร้างใหม่จะทำให้สารมีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีดีขึ้น การผลิตสารระดับนาโนทำได้หลายวิธี โดยการผลิตจากบนลงล่าง (top-down nanofabrication) คือการสร้างผลึกซิลเวอร์นาโนด้วยการลดขนาดของโลหะเริ่มต้น ด้วยวิธีการต่าง ๆ ทั้งทางกายภาพและทางเคมี แต่วิธีนี้จะทำให้โครงสร้างบริเวณพื้นผิวไม่สมบูรณ์ ทำให้เกิดข้อจำกัดในการนำไปใช้ เนื่องจากคุณสมบัติของผลึกนาโนขึ้นอยู่กับโครงสร้างที่บริเวณพื้นผิวเป็นหลัก ส่วนวิธีการจากล่างขึ้นบน (Bottom-up nanofabrication) ผลึกนาโนจะถูกสร้างขึ้นจากส่วนที่เล็กก่อน เช่น โดยการรวมกลุ่มอะตอม เป็นโมเลกุล และเป็นอนุภาค เช่นการรีดักชันเกลือของโลหะในตัวกลางที่เหมาะสม โดยการใช้สารละลายต่าง ๆ เป็นตัวรีดิวซ์ เช่น โบโรไฮไดรด์ (Borohydride) ซิเตรท (Citrate) แอสคอร์เบท (Ascorbate) เป็นต้น ระบบการสังเคราะห์จะเริ่มจากปฏิกิริยารีดักชัน ทำให้ซิลเวอร์ไอออน (Ag^+) กลายเป็นซิลเวอร์อะตอม (Ag^0) ซึ่งจะเกิดการตกตะกอนกลายเป็นกลุ่มผลึก เมื่อผลึกนี้มีขนาดเล็กกว่าความยาวคลื่นของแสงที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ทำให้มองเห็นสารละลายเป็นสีเหลือง ด้วยวิธีการนี้จะสามารถสร้างแบบของผลึกที่ต้องการได้ จึงมีคุณสมบัติทางเคมี และทางชีวภาพที่แน่นอน (8, 13, 33, 34) นอกจากนี้ ยังสามารถแบ่งวิธีการสังเคราะห์ซิลเวอร์นาโน ได้เป็น 3 วิธี คือ การสังเคราะห์ทางกายภาพ การสังเคราะห์ทางเคมี และการสังเคราะห์ทางชีวภาพ โดยส่วนใหญ่นิยมสังเคราะห์ด้วยวิธีทางกายภาพและวิธีทางเคมี เนื่องจากเป็นวิธีที่ใช้เวลาน้อย ได้ผลผลิตจำนวนมาก แต่ปัญหาของการสังเคราะห์ด้วยสองวิธีนี้คือ มีค่าใช้จ่ายสูง เกี่ยวข้องกับสารเคมีที่เป็นอันตราย และส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม จึงมีการศึกษาถึงวิธีการสังเคราะห์ผลึกซิลเวอร์นาโนที่มีราคาถูกลง (35) และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ในขณะที่ยังคงมีคุณสมบัติที่ดีของซิลเวอร์นาโน คือ กระบวนการสังเคราะห์ซิลเวอร์นาโนทางชีวภาพ (18) หรือเรียกว่า การสังเคราะห์สีเขียว (Green synthesis) ซึ่งสามารถใช้สารจาก 3 ประเภทคือ แบคทีเรีย พืช และสารจากพืช โดยเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดักชัน และออกซิเดชันจากเอนไซม์ของแบคทีเรีย หรือจากสารสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) และสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ที่มีอยู่ในพืช ซึ่งมีคุณสมบัติในการรีดิวซ์ (13, 34) นอกจากนี้แล้ว นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (Nicotinamide adenine dinucleotide; NAD) ในสภาวะรีดิวซ์ (NADH) ระหว่างการเกิดปฏิกิริยาไกลโคไลซิส (Glycolysis) ของพืช เป็นตัวให้อิเล็กตรอนกับ Ag^+ ได้ (36)

2.3 กระชายเหลือง (Fingerroot)

กระชายเหลือง หรือ โบเซนเบอร์เกียโรทุนดา (*Boesenbergia rotunda*) จัดเป็นไม้ล้มลุก มีรากอวบเป็นรูปทรงกระบอก ปลายเรียว มีความยาวประมาณ 4-10 เซนติเมตร และกว้างประมาณ 1-2 เซนติเมตร ผิวมีสีน้ำตาลอ่อน ส่วนเนื้อในมีสีเหลืองและมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มักใช้

ในการประกอบอาหาร และใช้เป็นยาสมุนไพร กระชายเหลืองมีคุณสมบัติหลายประการ Eng-Chong และคณะ (20) ได้สรุปฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดกระชายเหลืองไว้ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดกระชายเหลือง (Inhibitory activities exhibited *B. rotunda* extracts)(20)

Inhibition	Sources	References
(1) Toxicity test	Rhizomes	Saraithong et al. [40] Charoensin et al. [41]
(2) Antimicrobial activities		
(A) Anti- <i>Helicobacter pylori</i> activity	Rhizomes	Bhamarapravati et al. [42]
(B) Pathogenic and spoilage bacteria inhibition activities	Rhizomes	Mahady et al. [43] Pattaratanawadee et al. [44]
(C) Antiamoebic activity for HIV patients	Rhizomes	Rukayadi et al. [45] Sawangjaroen et al. [46]
(3) Antiparasitic activity		
Antigiardial activity	Rhizomes	Sawangjaroen et al. [47]
(4) Oral infections		
(A) Inhibition of biofilm formation by oral pathogens	Rhizomes	Limswan and Voravuthikunchai [48] Yanti et al., [49]
(B) Antiperiodontitis activity of <i>B. rotunda</i> extract		Yanti et al., [49, 50]
(C) Inhibition of <i>Candida albicans</i>	Dried plant	Cheeptham and Towers [51] Taweechaisupapong et al. [52]
(D) Anticariogenic	Rhizomes	Hwang et al. [53, 54]
(E) <i>Candida</i> adhesion inhibitor	Rhizomes	Sroisiri and Boonyanit, [55]
(F) Antihalitosis	Rhizomes	Hwang et al., (patented) [56]
(5) Inhibition of biofilm formation by intestinal pathogens	Rhizomes	Rukayadi et al., [57]
(6) Antioxidant activities		
(A) Inhibition of lipid peroxidation in brain	Rhizomes	Shindo et al., [29]
(B) Inhibition of oxidative damages by <i>tert</i> -butylhydroperoxide (<i>t</i> -BHP)	Rhizomes	Sohn et al., [58]
(7) Antiulcer effect	Rhizomes	Abdelwahab et al., [59]
(8) Obesity treatment	Rhizomes	Kim et al., [60]
(9) Antimutagenic effect	Rhizomes	Trakoontivakorn et al., [23]
(10) Antitumour necrosis factor alpha (anti-TNF- α)	Rhizomes	Morikawa et al., [35]
(11) Anticancer/antitumour		
(A) Breast cancer and colon cancer prevention	Roots and rhizomes	Kirana et al., [61] Zaeoung et al., [28] Kirana et al., [62] Ling et al., [63]
(B) Inhibition of prostate cancers	Rhizomes	Yun et al., [64]
(C) Antilung cancer	Rhizomes	Cheah et al., [65]
(D) Antileukemia	Rhizomes	Sukari et al., [34]

การศึกษาของ รศ.ทพญ.ดร.สร้อยศิริ ทวีบุรณ และ รศ.ทพ.ดร.บุญนิตย์ ทวีบุรณ (37) พบว่าการยับยั้งการเกาะติดของเชื้อราบนฐานฟันเทียมที่เคลือบด้วยน้ำกระชายมีผลขึ้นกับขนาดของปริมาณ (Dose-dependent) ซึ่งผลการยับยั้งการเกาะติดของเชื้อรามากที่สุดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

การเติมสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ลงในฐานพื้นเทียมเรซินอะคริลิก จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพของฐานพื้นเทียมได้ Casemiro และคณะ (38) ได้ทำการทดสอบโดยการเติมซิลเวอร์ซิงค์ซีโอไลต์ (Silver zinc zeolite) ลงในอะคริลิกเรซินเพื่อคุณสมบัติในการต้านเชื้อราและสมบัติเชิงกล โดยทดสอบการโค้งงอแบบสามจุด (Three-point bending) เพื่อหาความทนแรงดัด (Flexural strength) โดยผลการทดลองพบว่าการเพิ่มปริมาณของซิลเวอร์ซิงค์ซีโอไลต์ ทำให้ค่าความทนแรงดัดลดลงเมื่อเพิ่มมากกว่าร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนัก ในอะคริลิกชนิดบ่มด้วยความร้อน และลดลงเมื่อเพิ่มมากกว่าร้อยละ 5 โดยน้ำหนักในชนิดบ่มด้วยไมโครเวฟ ส่วนความทนแรงกระแทกพบว่าทั้งสองชนิดลดลงเมื่อเพิ่มซิลเวอร์ซิงค์ซีโอไลต์มากกว่าร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก

2.4 ผลของอนุภาคซิลเวอร์นาโนต่อสมบัติทางกายภาพของวัสดุฐานพื้นเทียมอะคริลิกเรซิน

Sodagar และคณะ (39) ได้ทำการทดลองได้ศึกษาถึงผลของปริมาณของอนุภาคซิลเวอร์นาโนต่อค่าความทนแรงดัดของอะคริลิกชนิดบ่มเอง (self-cure polymethylmethacrylate) สองชนิดได้แก่ Selecta Plus และ Rapid Repair โดยผสมอนุภาคซิลเวอร์นาโนลงในมอนอเมอร์เข้มข้นร้อยละ 0.05 และ 0.2 ผลการทดลองพบว่า Rapid repair ที่ไม่มีองค์ประกอบของอนุภาคซิลเวอร์นาโนมีค่าความทนแรงดัดมากกว่าอะคริลิกชนิดบ่มเองที่มีองค์ประกอบของอนุภาคซิลเวอร์นาโนร้อยละ 0.2 และ 0.05 ตามลำดับ ซึ่งต่างจาก Selecta Plus ที่พบว่าอะคริลิกชนิดบ่มเองที่มีองค์ประกอบของอนุภาคซิลเวอร์นาโนร้อยละ 0.05 มีค่าความทนแรงดัดมากกว่าที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนผสมอยู่ร้อยละ 0.2 และที่ไม่ผสมตามลำดับ

Ghaffari และคณะ (40) ได้ทดสอบความทนแรงอัด (Compressive strength) ความทนแรงดึง (Tensile strength) ของเรซินอะคริลิกที่เติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และ 2 พบว่า เรซินอะคริลิกที่เติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนมีความทนแรงอัดสูงกว่าที่ไม่เติม และการเพิ่มปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโนไม่ส่งผลต่อความทนแรงอัด และความทนแรงดึงของเรซินอะคริลิกไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเพิ่มปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโนร้อยละ 0.2 แต่ความทนแรงอัดลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโนร้อยละ 2

Alla และคณะ (41) รายงานว่า การเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2 และ 5 โดยน้ำหนัก ลดความทนแรงดัดของฐานพื้นเทียมชนิดบ่มด้วยความร้อนได้ และความทนแรงดัดลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโนลงในเรซินอะคริลิก

ฐานพื้นเทียมเรซินอะคริลิกเป็นวัสดุหุนหนืด (Viscoelastic materials) ที่ได้รับความถี่และอุณหภูมิตลอดช่วงเวลาที่เกิดการบิดเบี้ยว Shimoyama และคณะ (42) ได้ศึกษาสมบัติหุนหนืดเชิงพลวัต (Dynamic viscoelastic properties) ของฐานพื้นเทียมชนิดบ่มด้วยความร้อน โดยตรวจสอบในสภาวะที่คล้ายกับสถานการณ์ทางคลินิกที่เกิดขึ้นจริง จากการศึกษา Mahross

และคณะ (43) ที่มีการเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนลงในเรซินอะคริลิก ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 5 โดยปริมาตร พบว่า การเพิ่มปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโนร้อยละ 5 ทำให้ โมดูลัสสะสม (Storage modulus) และปัจจัยการกระจายตัวพลังงาน (Damping factor) ของเรซินอะคริลิกมีค่าสูงที่สุด และได้สรุปไว้ด้วยว่าการเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนลงในฐานฟันเทียมสามารถปรับปรุงสมบัติหย่นเหน็ดของเรซินอะคริลิกได้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดน้ำของกระชายเหลือง

นำกระชายเหลืองสด 20 กรัม มาล้างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ต้มกระชาย 20 กรัมใน น้ำ กลั่น 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส บนเครื่องกวนสารแบบให้ความร้อน เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองกระชายเหลืองออกจากสารละลายด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.1) แล้วนำไปเก็บไว้ในเครื่องทำความเย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.2 การสังเคราะห์อนุภาคซิลเวอร์นาโน

นำสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (AgNO_3 , Sigma-Aldrich, ประเทศสหรัฐอเมริกา) ความเข้มข้น 0.02 M ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมกับสารสกัดน้ำกระชายเหลือง ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตรในขวดปริมาตร นำสารละลายผสมไปให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจาก สารละลายใสไม่มีสีกลายเป็นสารละลายสีน้ำตาลแดง สีของสารละลายที่เข้มข้นแสดงถึงการเกิดของอนุภาคซิลเวอร์นาโน(AgNP) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) เพื่อให้อนุภาคซิลเวอร์นาโนตกตะกอน ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น นำตะกอนอนุภาคนาโนมาละลายในสารสกัดน้ำของกระชายเหลือง

3.3 การตรวจสอบลักษณะของอนุภาคซิลเวอร์นาโน

นำสารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เตรียมโดยวิธีดังแสดงในข้อ 3.2 มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Ultraviolet-Visible spectrophotometer) ในช่วงความยาวคลื่น 300-800 นาโนเมตร เพื่อศึกษาการเกิดอนุภาคซิลเวอร์นาโน เปรียบเทียบกับสารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางการค้า

ตรวจสอบรูปร่างและขนาดของอนุภาคซิลเวอร์นาโนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM) ที่ค่าศักย์ไฟฟ้า 200 กิโลโวลต์ โดย

ก่อนการวิเคราะห์ให้นำสารละลายซิลเวอร์นาโนไป Sonicate เป็นเวลา 5 นาที หยดสารละลายซิลเวอร์นาโนลงบนตะแกรงทองแดงที่เคลือบคาร์บอน (Carbon coated copper grid) นำไประเหยน้ำออกด้วยวิธี Vacuum dry ก่อนทำการถ่ายภาพ TEM

นำผงอนุภาคซิลเวอร์นาโนมาตรวจสอบหาโครงสร้างของสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนและสารพฤษเคมีที่มีในสารสกัดน้ำของกระชายเหลือง ด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR), Bruker/INVENIO-R) บันทึกสเปกตรัมในช่วง 400-4000 1/เซนติเมตร

3.4 การตรวจสอบผลการยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans*

เพาะเชื้อ *Candida albicans* ATCC10231 (American Type Culture Collection) บน Sabouraud dextrose agar (SDA, Difco, USA) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปเตรียมใน Normal saline solution ให้ได้ความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland No. 0.5 จากนั้นเจือจาง 1:100 ใน Sabouraud dextrose broth ให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อ 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร

นำสารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนในที่สังเคราะห์ได้ และสารละลายอนุภาคนาโนทางการค้าจาก Sigma-Aldrich และจากศูนย์นวัตกรรมนาโนเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวน 100 ไมโครลิตร มาใส่ลงในไมโครเพลท (96 well-plate) จากนั้นเติมเชื้อที่เตรียมไว้จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงไป บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศา เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง นำเชื้อรา จำนวน 20 ไมโครลิตร ไปเพาะบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศา เป็นเวลา 48 ชั่วโมง อ่านผลความสามารถในการยับยั้งของเชื้อเป็นค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) บันทึกผล

3.5 การเตรียมชิ้นงาน

นำสารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เตรียมได้มาระเหิดน้ำออกด้วยวิธี Freeze-drying จะได้ผงอนุภาคซิลเวอร์นาโน นำมาผสมกับผงพอลิเมทิลเมทาคริเลตโดยใช้เทคนิคการผสมแบบแห้ง (Dry blending) ให้มีความเข้มข้นอนุภาคซิลเวอร์นาโนร้อยละ 0 (ควบคุม), 0.025, 0.050, 0.075 และ 0.100 โดยน้ำหนัก ซึ่งงานวิจัยนี้ใช้พอลิเมทิลเมทาคริลิกชนิดบ่มตัวด้วยความร้อน (Triplex, Ivovlar vivadent Inc.) ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปผสมกับมอนอเมอร์เมทิลเมทาคริเลตในอัตราส่วน 23 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร และบรรจุลงในเบ้าหล่อโลหะ อัดอะคริลิกภายใต้เครื่องอัดไฮดรอลิกแรงดัน 3 เมกะปาสคาล ทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมง เพื่อให้มอนอเมอร์ส่วนเกิน

ระเหยออกก่อนนำไปบ่มด้วยความร้อน ทำการบ่มเรซินอะคริลิกในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.6 การประเมินคุณสมบัติด้านจุลชีพ

เตรียมชิ้นงานตัวอย่างเรซินอะคริลิกแต่ละความเข้มข้นของอนุภาคซิลเวอร์นาโน ความยาวด้านละ 10.0 มิลลิเมตร หน้า 2.0 มิลลิเมตร จำนวนชิ้นงานตัวอย่างแต่ละกลุ่มทดสอบ คือ 5 ชิ้น ($n=5$) นำไปแช่ไว้ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ก่อนการทดสอบเพื่อกำจัดมอโนเมอร์ส่วนเกิน จากนั้นนำชิ้นงานตัวอย่างไปล้างทำความสะอาดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก 1 ชั่วโมง และนำไปอบฆ่าเชื้อ

3.6.1. ทดสอบฤทธิ์การต้านจุลชีพด้วยวิธี disc diffusion method

นำชิ้นงานตัวอย่าง วางลงบน Sabouraud dextrose agar (SDA, Difco, USA) ที่เพาะเชื้อ *C. albicans* (ATCC10231) ไว้ และนำไปบ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาพชื้น หลังจากนั้นวัด inhibition zone

3.6.2 ทดสอบฤทธิ์การต้านจุลชีพด้วยวิธี spread plate method

นำชิ้นงานตัวอย่าง วางลงบนภาชนะหลุมเลี้ยงเชื้อ เติมน้ำลายเทียมจำนวน 10 ไมโครลิตร และสารละลายเชื้อ *C. albicans* (ATCC10231) ที่เตรียมไว้ จำนวน 100 ไมโครลิตร (1.5×10^8 CFU/ml) ลงในแต่ละหลุม นำไปวางในตู้บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที เพื่อให้เชื้อเจริญเติบโตบนชิ้นงานตัวอย่าง เมื่อครบเวลาแล้วใส่ Sabouraud dextrose broth จำนวน 1 มิลลิตร ลงในแต่ละหลุม และนำไปบ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาพชื้น หลังจากนั้นนำสารละลายเชื้อในแต่ละหลุมมาเจือจางและนำไปตรวจสอบปริมาณเชื้อด้วยวิธี spread plate method

3.7 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

นำชิ้นงานตัวอย่างอะคริลิกเรซินที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ผ่านการทำให้ปลอดเชื้อแล้ว จำนวน 5 ชิ้น มาทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT Cytotoxicity Assay โดยนำเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของเหงือกมนุษย์ (Human gingival fibroblast, HGF) (5×10^4 cells/well) ลงในไมโครเพลท บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสที่สภาวะ 5% CO₂ และ 95% ความชื้นสัมพัทธ์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เซลล์เกิดการสร้างขึ้น Monolayer วางชิ้นงานตัวอย่างลงไปทำการบ่มต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำชิ้นงานตัวอย่างออก ดูความอยู่รอดของเซลล์ด้วย MTT โดยเติมสารละลายเจือจาง MTT เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรใน PBS ลงไปในเซลล์และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสที่สภาวะ 5% CO₂ และ 95% ความชื้นสัมพัทธ์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารละลาย MTT ออก แล้วเติม dimethyl sulfoxide (DMSO) ลงไปละลาย

เซลล์ นำสารละลายเซลล์ จำนวน 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในไมโครเพลท (96 well-plate) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร คำนวณหาร้อยละความอยู่รอด (% viability)

3.8 การทดสอบความแข็งระดับจุลภาค (Microhardness test)

ทดสอบด้วย Microhardness tester (Future-Tech: FM-800) โดยการใช้ Vickers diamond indentation ซึ่งเป็นหัวกดเพชรพีระมิดฐานสี่เหลี่ยมจตุรัส ด้วยแรงกด 300 กรัม เป็นเวลา 15 วินาที วัดความยาวของเส้นทแยงมุมรอยกด คำนวณค่าความแข็งระดับจุลภาคในหน่วย Vickers hardness numbers (kg/mm^2)

3.9 ความทนแรงดัด (Flexural strength)

นำชิ้นงานตัวอย่างเรซินอะคริลิก จำนวน 10 ชิ้น ไปทดสอบ Three point bending โดยใช้เครื่อง Universal testing machine (Instron 4464) ที่ความเร็วการกด 5 มิลลิเมตร/นาที ด้วยแรง 500 กิโลกรัมแรง โดยเตรียมชิ้นงานตัวอย่างตามมาตรฐาน ISO 178:2003

3.10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

ตรวจสอบพื้นผิวที่แตกหักของชิ้นงานตัวอย่างเรซินอะคริลิกด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM: JEOL JCM-600)

3.11 พฤติกรรมหยุ่นหนืด (Viscoelastic behavior)

วิเคราะห์พฤติกรรมหยุ่นหนืดของเรซินอะคริลิกด้วยการทดสอบเชิงพลวัต (Dynamic mechanical analysis, DMA) โดยจำลองสภาวะที่คล้ายกับการใช้งานจริง ด้วยเครื่อง Dynamic Mechanical Analyzer (GABO EPLEXOR QC100) ในโหมดการดึง (Tension mode) เตรียมชิ้นงานขนาด $10 \times 50 \times 0.5 \text{ mm}^3$ มาทดสอบเพื่อศึกษาสมบัติหยุ่นหนืด ได้แก่ โมดูลัสสะสม (Storage modulus, G'), โมดูลัสสูญเสีย (Loss modulus, G'') และปัจจัยในการกระจายพลังงาน (Damping factor, $\tan \delta$) เทียบกับการเปลี่ยนแปลงของค่าความถี่ในช่วง 0.5 ถึง 100 เฮิรตซ์ (Hz) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และระยะความเครียดพลวัต (Dynamic strain) ร้อยละ 0.5 และความเครียดที่อยู่นิ่ง (Static strain) ร้อยละ 1 และศึกษาสมบัติหยุ่นหนืดเทียบกับการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในช่วง 20 ถึง 180 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเพิ่มความร้อน 2 องศาเซลเซียสต่อนาที ที่ความถี่ 5 เฮิรตซ์ (Hz) และระยะความเครียดพลวัต (Dynamic strain) ร้อยละ 0.01 และความเครียดที่อยู่นิ่ง (Static strain) ร้อยละ 0.1

3.12 คุณสมบัติทางความร้อน (Thermal properties)

ทดสอบผลของเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็นเป็นจังหวะต่อความเสถียรทางความร้อน (Thermal stability) ของเรซินอะคริลิก โดยนำชิ้นงานตัวอย่างผ่านเครื่องเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็นเป็นจังหวะ (Thermocycling, MERLTM: TC301) ด้วยรอบของการให้ความร้อน 1250 2500 5000 และ 10000 รอบ ที่อุณหภูมิ 5 และ 55 องศาเซลเซียส และใช้เทคนิควิเคราะห์ความเสถียรของวัสดุเมื่อได้รับความร้อนโดยการวัดน้ำหนักของวัสดุที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละช่วงอุณหภูมิด้วยเครื่องชั่งที่มีความไวสูง (Thermogravimetric analysis, TGA) เพื่อประเมินความเสถียรทางความร้อน ของเรซินอะคริลิก โดยใช้เครื่อง Thermogravimetric analyzer (NETZSCH: model TG 209 F1 Libra) ที่อุณหภูมิ 25-600 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเพิ่มความร้อน 20 องศาเซลเซียสต่อนาที ภายใต้สภาวะก๊าซไนโตรเจน

3.13 การทดสอบทางสถิติ

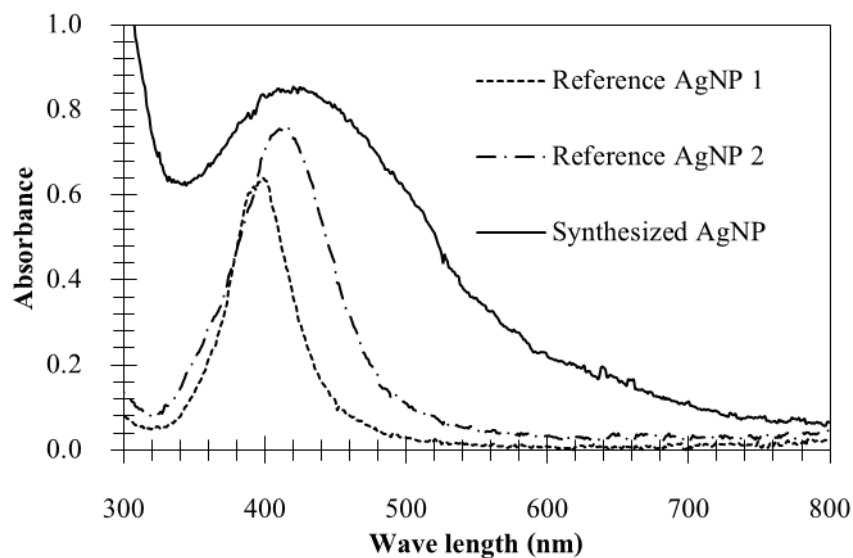
วิเคราะห์ผลโดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยภายหลังการวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธีของทูกีย์ (Tukey's post-hoc tests) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ p-value น้อยกว่า 0.05

บทที่ 4

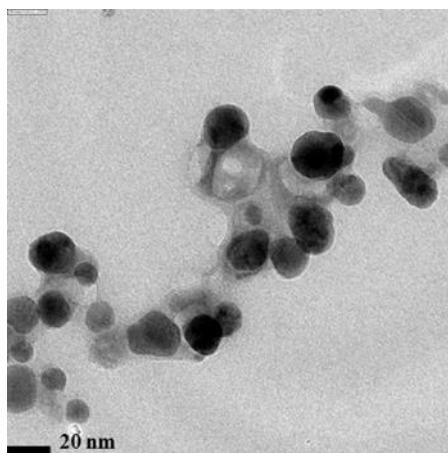
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การตรวจสอบลักษณะของอนุภาคซิลเวอร์นาโน

การเกิดอนุภาคซิลเวอร์นาโน (silver nanoparticle, AgNP) สามารถสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสารละลายใสไม่มีสีเปลี่ยนเป็นสารละลายสีน้ำตาลแดง และจาก plasmon absorption ใน UV-Vis spectrum ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ในการศึกษาได้วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางการค้าที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 20-40 นาโนเมตร จากจาก Sigma-Aldrich และจากศูนย์นวัตกรรมนาโนเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเป็นตัวอย่างอ้างอิง 1 และ 2 (Reference AgNP 1 และ 2) ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่า Surface Plasmon Resonance (SPR) ของสารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ (Synthesized AgNP) ได้มีค่าอยู่ในช่วง 410-420 นาโนเมตร ซึ่งเหมือนกับตัวอย่างอ้างอิง แสดงว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้มีขนาด 20-40 นาโนเมตร แต่ SPR peak ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้มีความกว้างมากกว่าตัวอย่างอ้างอิง บ่งบอกว่าขนาดอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้มีการกระจายตัวหลายค่า อย่างไรก็ตาม SPR band ก็เกิดขึ้นเพียงแถบเดียว จาก Mie theory (13) การที่ SPR เกิดขึ้นเพียงแถบเดียว แสดงว่าอนุภาคนาโนมีทรงกลม ซึ่งสอดคล้องกับภาพถ่าย TEM ดังแสดงในรูปที่ 4.2 ที่เห็นอนุภาคเป็นทรงกลมที่มีการกระจายตัว

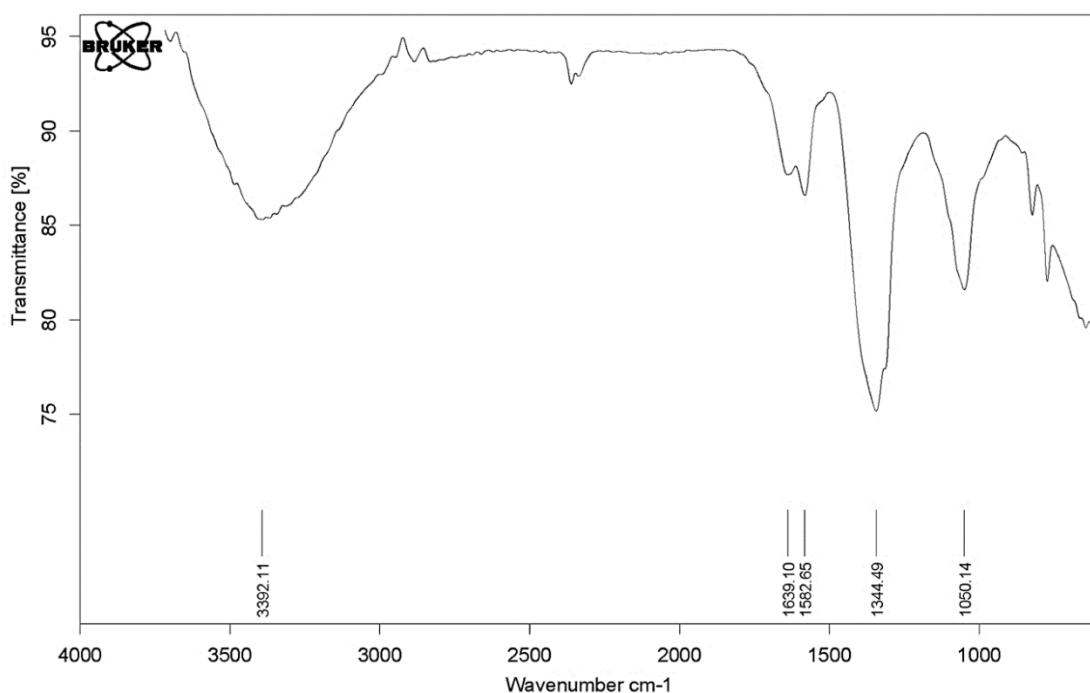


รูปที่ 4.1 UV-Vis absorption spectrum ของ สารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโน



รูปที่ 4.2 TEM ของ สารละลายอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้

รูปที่ 4.3 แสดงสเปกตรัมจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Fourier transform Infrared Spectroscopy) จะเห็นได้ว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้แสดงพีกขนาดใหญ่ที่ตำแหน่ง 3392.11 cm^{-1} ซึ่งเกิดจาก NH stretching ของ amide ขณะที่พีกที่ 1639.10 cm^{-1} เป็น C=O stretching ในพันธะเปปไทด์ จึงเป็นไปได้ว่าพีกที่ 1582.65 และ 1344.49 cm^{-1} มาจาก CN stretching หรือ NH bending ของโปรตีนในสารสกัดกระชายเหลือง สำหรับพีกที่ 1050.14 cm^{-1} อาจเป็น ether linkages ของสารพฤษเคมีที่มีอยู่ในสารสกัด



รูปที่ 4.3 FTIR spectrum ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้

จึงสรุปได้ว่า อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้น มีรูปร่างเป็นทรงกลม เส้นผ่านศูนย์กลางยาว 20-40 นาโนเมตร และแต่ละอนุภาคมีการกระจายตัวโดยไม่ยึดติดกัน เนื่องจากในสารสกัดกระชายเหลืองมี organic compounds เช่นโพรตีน ฟีนอล (phenols) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และเทอร์ปีนอยด์ (terpenoids) เป็นองค์ประกอบอยู่ ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้อนุภาคซิลเวอร์นาโนมีเสถียรภาพและป้องกันการเกาะกลุ่มกันของอนุภาคซิลเวอร์นาโนได้ (13, 34, 44) และการที่อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้มีขนาดเล็กจึงส่งผลให้มีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพได้ดีด้วย ดังแสดงผลในลำดับต่อไป

4.2 การตรวจสอบผลการยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans*

ความสามารถในการยับยั้งของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่า ค่า MIC ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ต่อ *C. albicans* มีความเข้มข้น 11.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าน้อยกว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางการค้าจาก Sigma-Aldrich และจากศูนย์นวัตกรรมนาโนเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นั่นแสดงว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้มีประสิทธิภาพและประสิทธิผลในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* เนื่องจากอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้มีขนาดเล็ก และไม่เกาะกลุ่มกัน จึงมีพื้นที่ผิวมาก ทำให้มีความสามารถมากในการทำลายผนังเซลล์ของจุลชีพได้ดี (45)

ตารางที่ 4.1 ความสามารถของอนุภาคซิลเวอร์นาโนในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans*

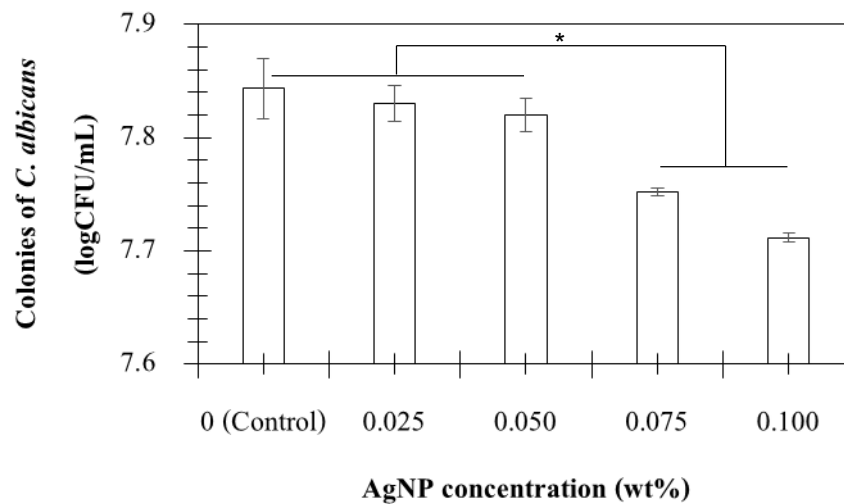
Samples	MIC (µg/ml)
Reference AgNPs from Sigma-Aldrich	>20 or ND
Reference AgNPs from Center of Innovative Nanotechnology, Chulalongkorn University, Thailand	> 80 or ND
Synthesized AgNPs	11.1

ND: not determine

4.3 การประเมินคุณสมบัติต้านจุลชีพ

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านจุลชีพด้วย disc diffusion method พบว่า ไม่เกิด inhibition zone ของชิ้นงานตัวอย่าง นั่นแสดงว่าไม่เกิดการแพร่ของอนุภาคซิลเวอร์นาโนออกมาจากวัสดุฐานพื้นเทียมเรซินอะคริลิก แต่เมื่อนับจำนวนโคโรเนียของ *C. albicans* พบว่า จำนวนโคโรเนียของ *C. albicans* ของชิ้นงานตัวอย่างมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$) เมื่อมีอนุภาคซิลเวอร์นาโนผสมอยู่ร้อยละ 0.075 โดยการเพิ่มปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโนเป็นร้อยละ

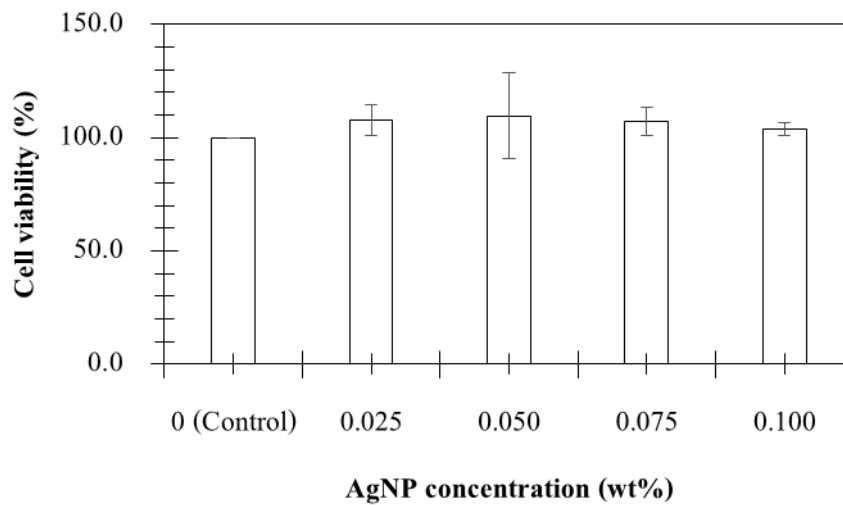
0.100 ไม่ส่งผลต่อการลดจำนวนโคโรนีของ *C. albicans* ดังแสดงในรูปที่ 4.4 จึงกล่าวได้ว่า การเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนร้อยละ 0.075 ขึ้นไป ป้องกันการเกิด *C. albicans* บนวัสดุฐานฟันเทียมเรซินอะคริลิกได้



รูปที่ 4.4 จำนวนโคโรนีของ *C. albicans* ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ [* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)] (mean $\pm$ SD; $n=5$)

4.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

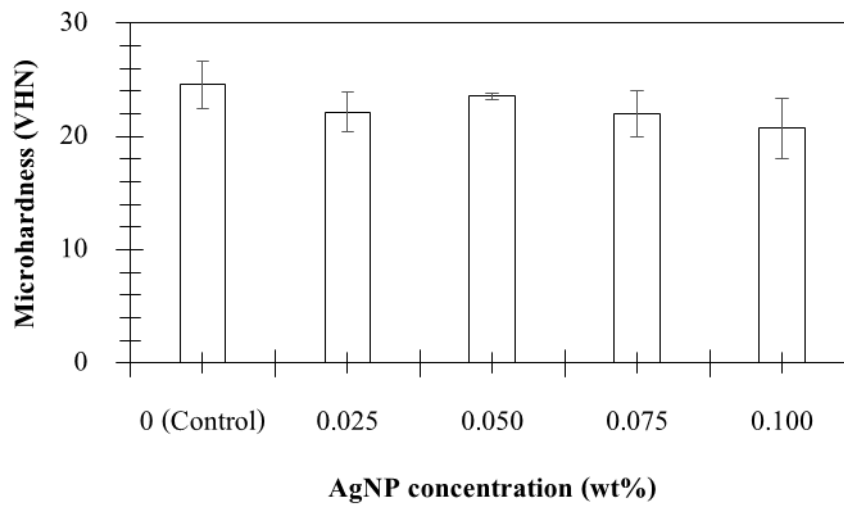
จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT Cytotoxicity Assay ดังแสดงในรูปที่ 4.5 พบว่า เซลล์ไฟโบรบลาสต์ของเหงือกมนุษย์ (Human gingival fibroblast, HGF) ที่สัมผัสชิ้นงานตัวอย่างที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนความเข้มข้นต่าง ๆ มีร้อยละเซลล์รอดชีวิต (cell viability) ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม นั่นแสดงว่า การเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ลงไปในวัสดุฐานฟันเทียมเรซินอะคริลิกไม่เป็นพิษต่อเซลล์ และมีความเข้ากันได้กับเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของเหงือกมนุษย์



รูปที่ 4.5 ร้อยละเซลล์รอดชีวิต (cell viability) ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ

4.5 การทดสอบความแข็งระดับจุลภาค (Microhardness test)

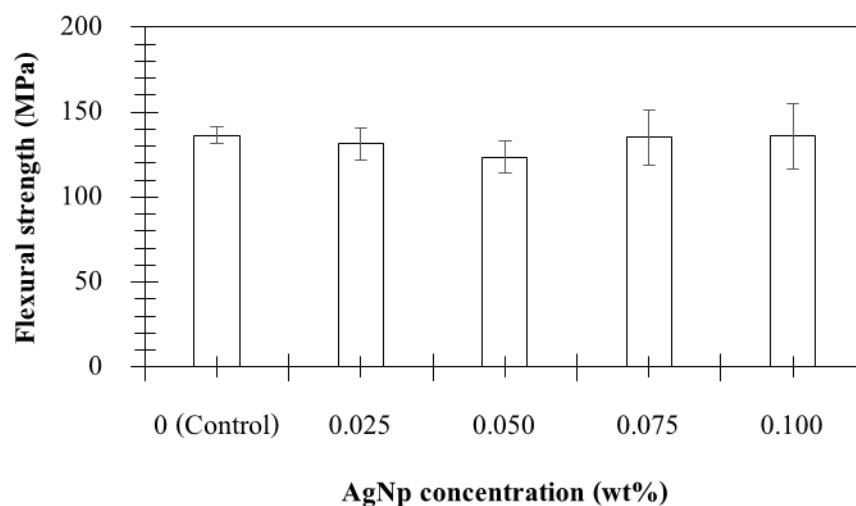
จากรูปที่ 4.6 จะเห็นได้ว่า ความแข็งระดับจุลภาคของวัสดุฐานฟันเทียมเรซินอะคริลิกไม่เปลี่ยนแปลงกับการเพิ่มปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโน เนื่องจากปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่เติมลงไปมีปริมาณน้อยมาก คือ ไม่เกินร้อยละ 0.100 โดยน้ำหนัก จึงไม่สามารถเพิ่มความแข็งของชิ้นงานตัวอย่างได้ และการที่อนุภาคซิลเวอร์นาโนมีขนาดเล็กและมีพื้นที่ผิวมาก มีการกระจายตัวดี ไม่เกิดการรวมตัวเป็นกลุ่มดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น จึงทำให้ไม่ไปลดความแข็งของชิ้นงานตัวอย่างได้ การใช้อนุภาคซิลเวอร์นาโนปริมาณต่ำจะไม่ทำให้สมบัติเชิงกลของวัสดุลดลงได้ (46)



รูปที่ 4.6 Vickers Hardness ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ

4.6 ความทนแรงดัด (Flexural strength)

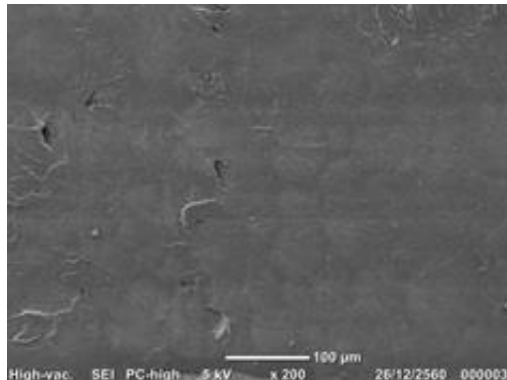
ในการศึกษานี้ได้ทำการทดสอบความทนแรงดัด เพื่อเป็นการศึกษาสมบัติเชิงกลของชิ้นงานตัวอย่าง จากรูปที่ 4.7 จะเห็นได้ชัดเจนว่า ชิ้นงานตัวอย่างที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ มีค่าความทนแรงดัด ไม่แตกต่างกัน การที่อนุภาคซิลเวอร์นาโนเปลี่ยนแปลงค่าความทนแรงดัด ของวัสดุฐานฟันเทียมเรซินอะคริลิกได้นั้น จะขึ้นอยู่กับปริมาณที่ใช้ (41)



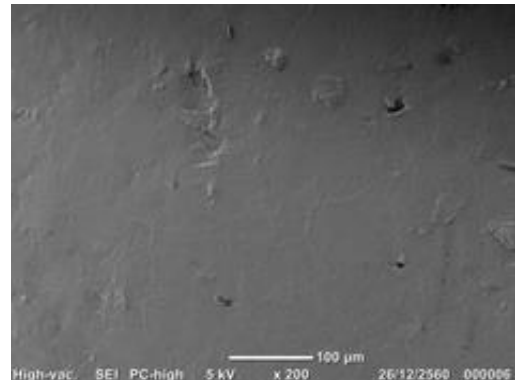
รูปที่ 4.7 Flexural strength ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ

4.7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)

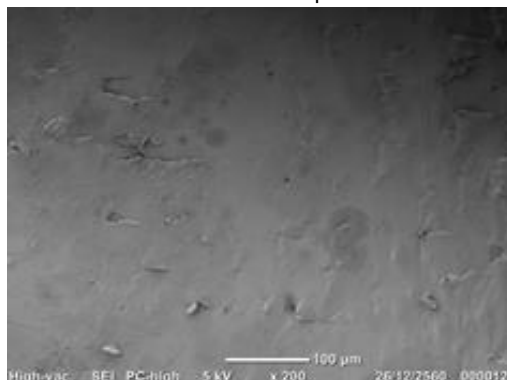
ภาพถ่าย SEM (รูปที่ 4.8) พื้นผิวที่แตกหักของชิ้นงานตัวอย่างที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงให้เห็นว่า ชิ้นงานทั้งหมดมีพื้นผิวเรียบ ซึ่งเป็นลักษณะของวัสดุที่เปราะ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบความแข็งแรงระดับจุลภาคและความทนแรงดัด วัสดุฐานพื้นเทียมเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่มีความแข็งแรงระดับจุลภาคและความทนแรงดัดเท่ากันก็จะมีพื้นผิวที่แตกหักเรียบเหมือน ๆ กัน



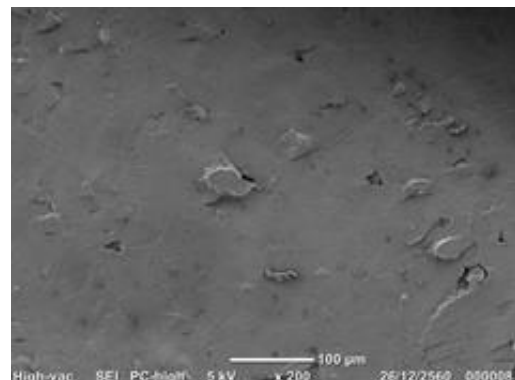
0 (ควบคุม)



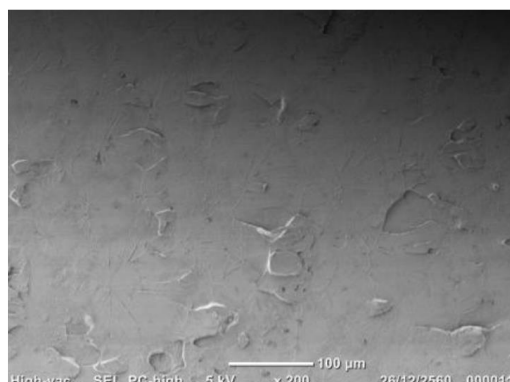
0.025



0.050



0.075



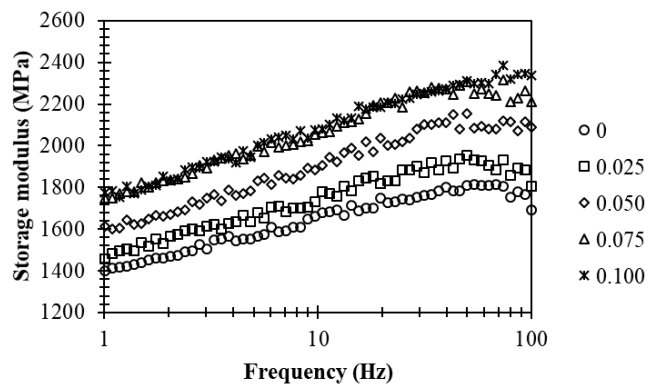
0.100

รูปที่ 4.8 ภาพถ่าย SEM พื้นผิวที่แตกหักของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)

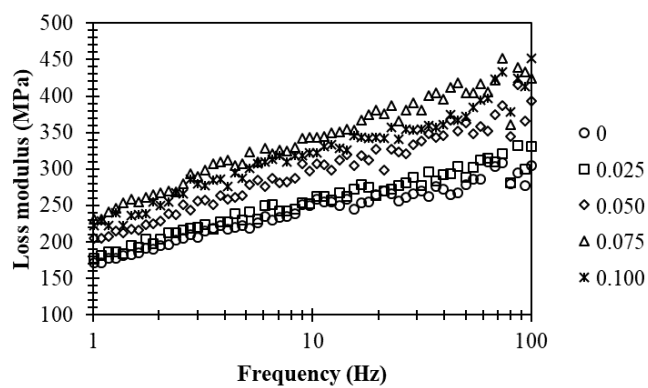
4.8 พฤติกรรมหยุ่นหนืด (Viscoelastic behavior)

รูปที่ 4.9 แสดงมอดุลัสสะสม (storage modulus, G'), มอดุลัสสูญเสีย (loss modulus, G'') และปัจจัยในการกระจายพลังงาน (damping factor, $\tan\delta$) ที่ขึ้นอยู่กับความถี่ของเรซินอะคริลิกที่เติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนความเข้มข้นต่าง ๆ จะเห็นได้ว่า มอดุลัสสูญเสีย มอดุลัสสะสม และปัจจัยในการกระจายพลังงานขึ้นอยู่กับความถี่ ซึ่งเป็นการตอบสนองหยุ่นหนืด (viscoelastic response) ของเรซินอะคริลิก มอดุลัสสูญเสียและมอดุลัสสะสมเพิ่มขึ้นกับการเพิ่มความถี่ เนื่องจากไม่มีเวลาเพียงพอให้สายโซ่พอลิเมอร์ของเรซินอะคริลิกเกิด molecular relaxation ที่ความถี่สูง ยิ่งไปกว่านั้น จะเห็นได้ว่า มอดุลัสสะสมของเรซินอะคริลิกที่เติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนสูงกว่ามอดุลัสสูญเสียตลอดช่วงความถี่ที่ทดสอบ ซึ่งแสดงความเป็นอีลาสติกของเรซินอะคริลิก นอกจากนี้แล้วยังสังเกตเห็นได้อีกว่า มอดุลัสสะสมและมอดุลัสสูญเสียของเรซินอะคริลิกเพิ่มขึ้นกับการเพิ่มปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโน ซึ่งสามารถอธิบายได้ด้วยผลของการเสริมแรง (reinforcing effect) โดยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างอนุภาคซิลเวอร์นาโนและเรซินอะคริลิก (AgNP-PMMA interaction) (47) และเป็นที่น่าสังเกตว่า ค่าปัจจัยในการกระจายพลังงานมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยที่ความถี่สูง ซึ่งเป็นการตอบสนองของวัสดุที่มีความเป็นอีลาสติกสูงนั่นเอง

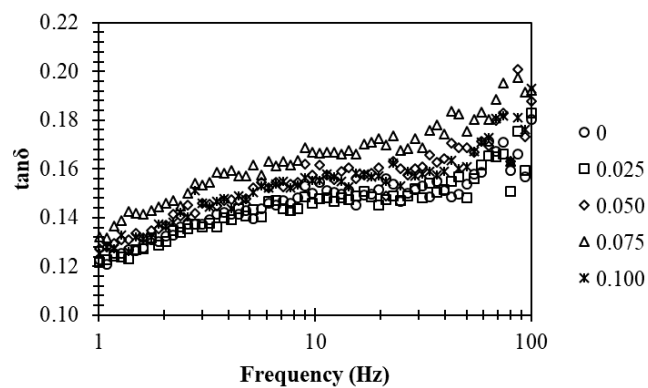
สมบัติเชิงพลวัตที่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิถูกแสดงในรูปที่ 4.10 ซึ่งสามารถใช้ตรวจสอบอุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้ว (glass transition temperature, T_g) ของเรซินอะคริลิกได้ โดยอุณหภูมิที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่ามอดุลัสอย่างมากหรืออุณหภูมิที่ปัจจัยในการกระจายพลังงานสูงที่สุด คือ อุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้ว ซึ่งผลของปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโนต่ออุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้วของเรซินอะคริลิกถูกแสดงในรูปที่ 4.11 จะเห็นได้ว่าเรซินอะคริลิกที่เติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนมีค่าอุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้วสูงกว่าเรซินอะคริลิกที่ไม่ได้เติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนเล็กน้อย และอุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้วเพิ่มขึ้นกับการเพิ่มปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโน ซึ่งสามารถอธิบายได้จากการเกิดอันตรกิริยาระหว่างพอลิเมอร์และสารตัวเติม (polymer-filler interaction) โดยการเกิดพันธะระหว่างอนุภาคซิลเวอร์นาโนและหมู่คาร์บอนิลบนเรซินอะคริลิก (48) อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้วของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนอยู่ร้อยละ 0.1 มีค่าลดลงเล็กน้อย เมื่อความเข้มข้นของอนุภาคซิลเวอร์นาโนสูงขึ้นจะทำให้อนุภาคเกิดการเกาะกัน (agglomeration) จึงทำให้อุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้วลดลงได้ (49) และเมื่อพิจารณาความสูงของพีค $\tan\delta$ จะเห็นได้ว่าไม่เปลี่ยนแปลงกับการเพิ่มปริมาณอนุภาคซิลเวอร์นาโน แสดงว่าไม่มีผลของ dilution effect ปริมาณของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่มีจำนวนน้อยไม่ส่งผลต่อทอูลัสหรือความแข็งของฐานพินเทียมเรซินอะคริลิก



(ก)

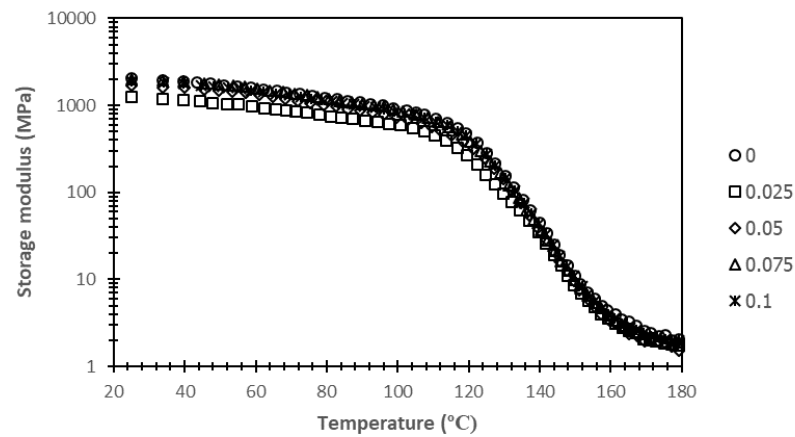


(ข)

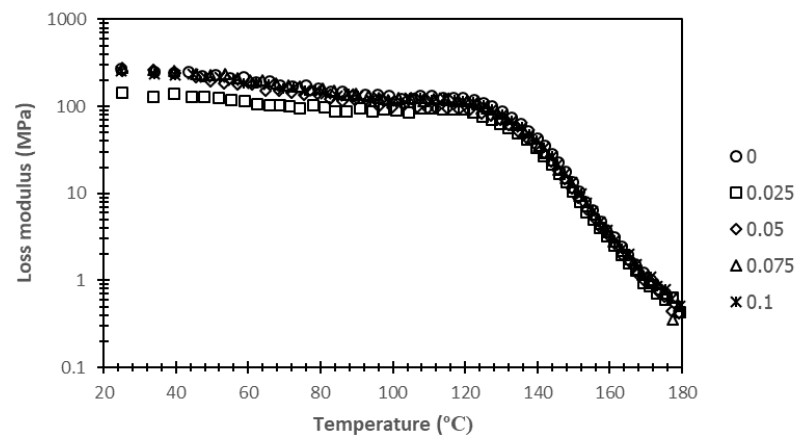


(ค)

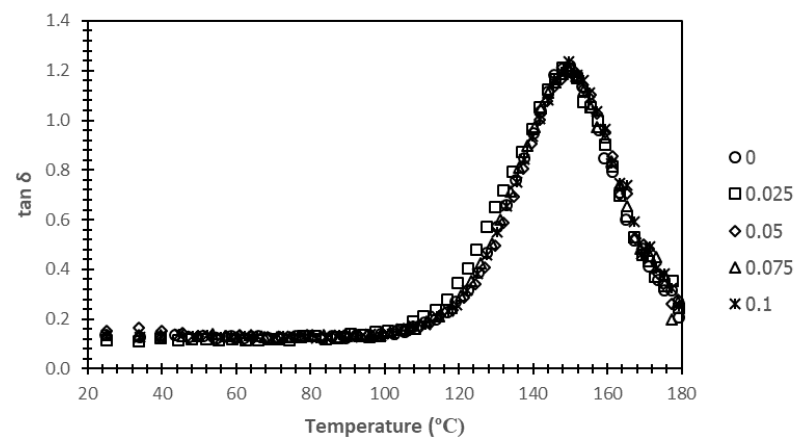
รูปที่ 4.9 พฤติกรรมหยุ่นหนืดจากการทดสอบเชิงพลวัตเทียบกับความถี่ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก); (ก) โมดูลัสสะสม (ข) โมดูลัสสูญเสีย และ (ค) ปัจจัยในการกระจายพลังงาน



(ก)

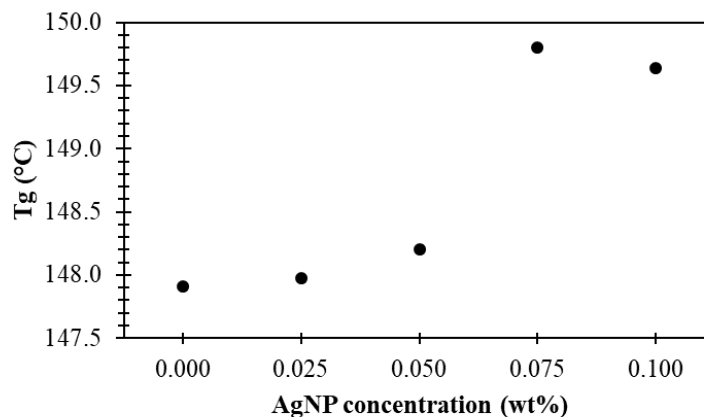


(ข)



(ค)

รูปที่ 4.10 พฤติกรรมพูนเหนียวจากการทดสอบเชิงพลวัตเทียบกับอุณหภูมิของซีเมนต์ตัวอย่างที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก); (ก) มอดุลัสสะสม (ข) มอดุลัสสูญเสีย และ (ค) ปัจจัยในการกระจายพลังงาน

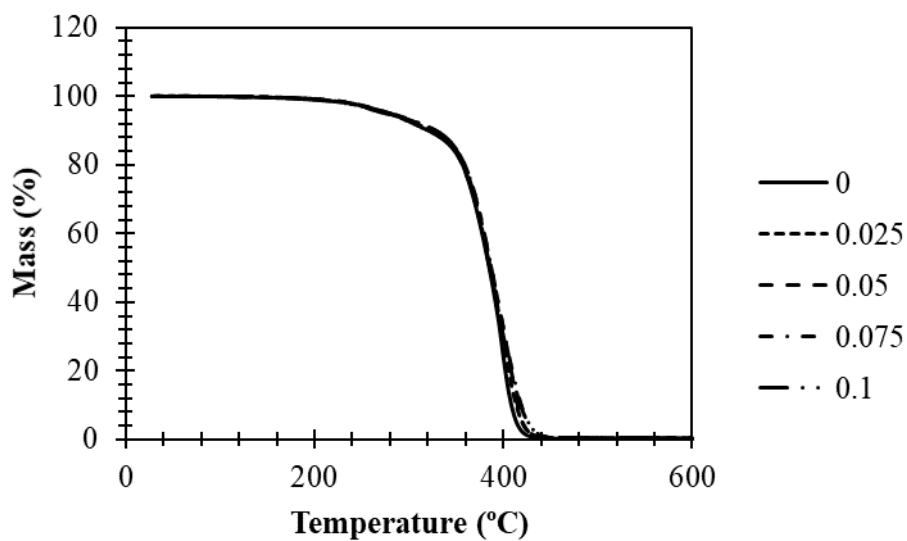


รูปที่ 4.11 อุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้ว (glass transition temperature, T_g) ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)

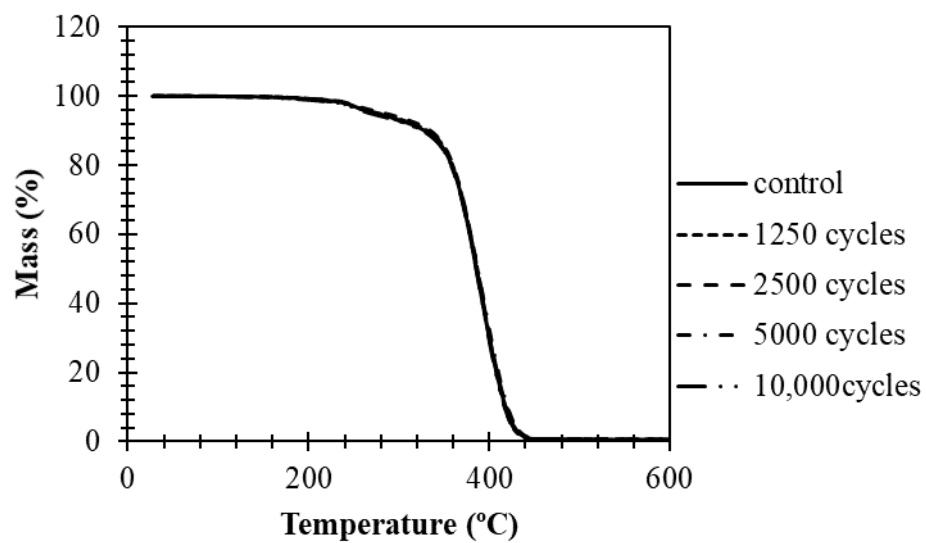
4.9 คุณสมบัติทางความร้อน (Thermal properties)

รูปที่ 4.12 แสดงผลวิเคราะห์ความเสถียรของเรซินอะคริลิกเมื่อได้รับความร้อนโดยการวัดน้ำหนักของวัสดุที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละช่วงอุณหภูมิด้วยเครื่องชั่งที่มีความไวสูง (Thermogravimetric analysis, TGA) จะเห็นได้ว่า ที่อุณหภูมิประมาณ 400 องศาเซลเซียส เรซินอะคริลิกเกิดการสลายตัว และเมื่อมีการเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนลงในเรซินอะคริลิกทำให้อุณหภูมิที่ใช้ในการสลายตัวสูงขึ้น นั่นแสดงว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนสามารถปรับปรุงความเสถียรทางความร้อนของฐานพียมเรซินอะคริลิกได้อย่างมีประสิทธิภาพ การเพิ่มความเสถียรทางความร้อนของเรซินอะคริลิกที่เติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนเป็นผลมาจากอันตรกิริยาระหว่างอนุภาคซิลเวอร์นาโนและเรซินอะคริลิกดังที่ได้กล่าวมาแล้วก่อนหน้านี้

ในระหว่างการรับประทานอาหารหรือดื่มเครื่องดื่ม ฐานพียมจะได้รับความร้อนและความเย็น ดังนั้นการนำเรซินอะคริลิกไปผ่านเครื่องเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็นเป็นจังหวะ (Thermocycling) จึงเป็นการจำลองสถานการณ์ที่เกิดขึ้น โดยการเพิ่มจำนวนรอบในการทำ thermocycling นั้นเป็นกระบวนการเร่งการใช้งานวัสดุฐานพียมเรซินอะคริลิก จากรูปที่ 4.13 จะเห็นได้ว่า อุณหภูมิที่ทำให้เรซินอะคริลิกเกิดการสลายตัวไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเพิ่มจำนวนรอบ thermocycling กล่าวได้ว่า การเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนลงในฐานพียมเรซินอะคริลิกไม่ส่งผลกระทบต่อความเสถียรทางความร้อนในระหว่างการใช้งาน



รูปที่ 4.12 TGA ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)



รูปที่ 4.13 TGA ของเรซินอะคริลิกที่มีอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก ที่ผ่านเครื่องเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร้อนเย็นเป็นจังหวะจำนวนรอบต่าง ๆ

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในเตรียมอนุภาคซิลเวอร์นาโน อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้มีขนาด 20-40 นาโนเมตร ไม่เกาะกลุ่มกัน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* โดยมีค่า MIC 11.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* สูงกว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนทางการค้าจาก Sigma-Aldrich และจากศูนย์นวัตกรรมนาโนเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากการประเมินคุณสมบัติด้านจุลชีพ พบว่า วัสดุฐานพ่นเทียมเรซินอะคริลิกที่มีการเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนร้อยละ 0.075 ขึ้นไป มีแนวโน้มในการป้องกันการเกิด *C. albicans* บนวัสดุฐานพ่นเทียมเรซินอะคริลิกได้ และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของเหงือกมนุษย์ การที่อนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้มีขนาดเล็กและมีพื้นที่ผิวมาก มีการกระจายตัวดี ไม่เกิดการรวมตัว จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *C. albicans* ได้ แม้ใช้ในปริมาณน้อย การเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ จึงไม่ส่งผลต่อสมบัติเชิงกล ได้แก่ ความแข็งแรงระดับจุลภาค และความทนแรงดัดของวัสดุฐานพ่นเทียมเรซินอะคริลิก แรงอัตรากิริยาระหว่างอนุภาคซิลเวอร์นาโนและเรซินอะคริลิกเป็นสาเหตุของสมบัติหย่อนหืด นอกจากนี้แล้ว การเติมอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์ได้ยังสามารถปรับปรุงความเสถียรทางความร้อนของฐานพ่นเทียมเรซินอะคริลิกและไม่เกิดการเสื่อมสภาพขณะใช้งาน

บรรณานุกรม

1. Anusavice K, Shen C, Rawls HR. Phillips' Science of Dental Materials. 12th ed. Saunders: Elsevier; 2012.
2. Jenkinson HF, Lala HC, Shepherd MG. Coaggregation of *Streptococcus sanguis* and other streptococci with *Candida albicans*. Infection and Immunity. 1990;58(5):1429-36.
3. Grimaudo NJ, Nesbitt WE, Clark WB. Coaggregation of *Candida albicans* oral *Actinomyces* species. Oral Microbiology and Immunology. 1996;11(1):59-61.
4. Charone S, Portela MB, das Chagas MS, de Araújo Soares RM, de Araújo Castro GFB. Biofilm of *Candida albicans* from oral cavity of an HIV-infected child: challenge on enamel microhardness. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology. 2013;115(4):500-4.
5. Oliveira Paranhos HF, Silva-Lovato CH, De Souza RF, Cruz PC, De Freitas-Pontes KM, Watanabe E, et al. Effect of three methods for cleaning dentures on biofilms formed in vitro on acrylic resin. Journal of Prosthodontics. 2009;18(5):427-31.
6. Pusateri CR, Monaco EA, Edgerton M. Sensitivity of *Candida albicans* biofilm cells grown on denture acrylic to antifungal proteins and chlorhexidine. Archives of Oral Biology. 2009;54(6):588-94.
7. Kawahara K, Tsuruda K, Morishita M, Uchida M. Antibacterial effect of silver-zeolite on oral bacteria under anaerobic conditions. Dental Materials. 2000;16(6):452-5.
8. Prabhu S, Poulose E. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. International Nano Letters. 2012;2(1):32.
9. Jeong SH, Yeo SY, Yi SC. The effect of filler particle size on the antibacterial properties of compounded polymer/silver fibers. Journal of Materials Science. 2005;40(20):5407-11.
10. Huang H, Yuan Q, Yang X. Preparation and characterization of metal–chitosan nanocomposites. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2004;39(1–2):31-7.

11. Hong KH. Preparation and properties of electrospun poly(vinyl alcohol)/silver fiber web as wound dressings. *Polymer Engineering & Science*. 2007;47(1):43-9.
12. Murugadoss A, Chattopadhyay A. A 'green' chitosan-silver nanoparticle composite as a heterogeneous as well as micro-heterogeneous catalyst. *Nanotechnology*. 2008;19 1:015603.
13. Ramteke C, Chakrabarti T, Sarangi BK, Pandey R- A. Synthesis of Silver Nanoparticles from the Aqueous Extract of Leaves of *Ocimum sanctum* for Enhanced Antibacterial Activity. *Journal of Chemistry*. 2013;2013:7.
14. Gardea-Torresdey JL, Gomez E, Peralta-Videa JR, Parsons JG, Troiani H, Jose-Yacamán M. Alfalfa sprouts: A natural source for the synthesis of silver nanoparticles. *Langmuir*. 2003;19(4):1357-61.
15. Shankar SS, Rai A, Ahmad A, Sastry M. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2004;275(2):496-502.
16. Ankamwar B, Damle C, Ahmad A, Sastry M. Biosynthesis of gold and silver nanoparticles using *Emblica Officinalis* fruit extract, their phase transfer and transmetallation in an organic solution. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2005;5(10):1665-71.
17. Chandran S, Chaudhary M, Pasricha R, Ahmad A, Sastry M. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract. *Biotechnol Prog*. 2006;22:577 - 83.
18. Parashar V, Parashar R, Sharma B, Pandey AC. Parthenium leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles: A novel approach towards weed utilization. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2009;4(1):45-50.
19. Acosta-Torres LS, Barceló-Santana FH, Álvarez-Gayosso CA, Reyes-Gasga J. Synthesis and characterization of poly(methyl methacrylate) polymerized by microwave energy or conventional water bath. *Journal of Applied Polymer Science*. 2008;109(6):3953-60.
20. Eng-Chong T, Yean-Kee L, Chin-Fei C, Choon-Han H, Sher-Ming W, Li-Ping CT, et al. *Boesenbergia rotunda*: From ethnomedicine to drug discovery. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012;2012:25.

21. Silva CdS, Machado AL, Chaves CdAL, Pavarina AC, Vergani CE. Effect of thermal cycling on denture base and autopolymerizing relined resins. *Journal of Applied Oral Science*. 2013;21(3):219-24.
22. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *Journal of prosthodontics : official journal of the American College of Prosthodontists*. 2011;20(4):251-60.
23. Bhat V, Sharma SM, Shetty V, Shastry CS, Rao V, Shenoy S, et al. Prevalence of candida associated denture stomatitis (CADS) and speciation of candida among complete denture wearers of south west coastal region of Karnataka. *NUJHS*. 2013;3:ISSN 2249-7110.
24. Arendorf TM, Walker DM. Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil*. 1987;14(3):217-27.
25. Mayer FL, Wilson D, Hube B. Candida albicans pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013;4(2):119-28.
26. Herman K, Nelis Hp. Biofilm formation by nosocomial Candida albicans isolates and their genotypic characterisation by SSCP. 2010.; 2010.
27. Pfaller MA, Grant C, Morthland V, Rhine-Chalberg J. Comparative evaluation of alternative methods for broth dilution susceptibility testing of fluconazole against Candida albicans. *J Clin Microbiol*. 1994;32(2):506-9.
28. Li Z, Sun J, Lan J, Qi Q. Effect of a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles on Candida albicans adhesion and biofilm formation. *Gerodontology*. 2016;33(2):209-16.
29. Kim K-J, Sung WS, Suh BK, Moon S-K, Choi J-S, Kim JG, et al. Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on Candida albicans. *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*. 2009;22(2):235-42.
30. Hwang I-s, Lee J, Hwang JH, Kim K-J, Lee DG. Silver nanoparticles induce apoptotic cell death in Candida albicans through the increase of hydroxyl radicals. *The FEBS Journal*. 2012;279(7):1327-38.
31. Nam KY, Lee CH, Lee CJ. Antifungal and physical characteristics of modified denture base acrylic incorporated with silver nanoparticles. *Gerodontology*. 2012;29(2):e413-9.

32. Monteiro DR, Gorup LF, Takamiya AS, de Camargo ER, Filho AC, Barbosa DB. Silver distribution and release from an antimicrobial denture base resin containing silver colloidal nanoparticles. *Journal of prosthodontics : official journal of the American College of Prosthodontists*. 2012;21(1):7-15.
33. Tc P, Mathew L, Chandrasekaran N, Raichur A, Mukherjee A. *Biomimetic Synthesis of Nanoparticles: Science, Technology & Applicability, Biomimetics, Learning*. 2010.
34. Rupiasih NN, Aher A, Gosavi S, Vidyasagar P. *Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Latex Extract of Thevetia Peruviana: A Novel Approach Towards Poisonous Plant Utilization*2016.
35. Govindaraju K, Tamilselvan S, Kiruthiga V, Singaravelu G. Biogenic silver nanoparticles by *Solanum torvum* and their promising antimicrobial activity. *Journal of Biopesticides*. 2010;3(1 SPEC.ISSUE):394-9.
36. Acosta-Torres LS, Mendieta I, Nuñez-Anita RE, Cajero-Juárez M, Castaño VM. Cytocompatible antifungal acrylic resin containing silver nanoparticles for dentures. *International Journal of Nanomedicine*. 2012;7:4777-86.
37. Sroisiri T, Boonyanit T. Inhibition of candida adhesion to denture acrylic by *Boesenbergia pandurata*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2010;3(4):272-5.
38. Casemiro LA, Martins CHG, Pires-De-Souza FDCP, Panzeri H. Antimicrobial and mechanical properties of acrylic resins with incorporated silver-zinc zeolite - Part I. *Gerodontology*. 2008;25(3):187-94.
39. Sodagar A, Kassaei MZ, Akhavan A, Javadi N, Arab S, Kharazifard MJ. Effect of silver nano particles on flexural strength of acrylic resins. *Journal of Prosthodontic Research*. 2012;56(2):120-4.
40. Ghaffari T, Hamedirad F, Ezzati B. In Vitro Comparison of Compressive and Tensile Strengths of Acrylic Resins Reinforced by Silver Nanoparticles at 2% and 0.2% Concentrations. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*. 2014;8(4):204-9.
41. Alla RK, Raghavendra Swamy KN, Vyas R, Konakanchi A, Guduri V, Gadde P. Influence of silver nanoparticles incorporation on flexural strength of heat-cure acrylic denture base resin materials. *Annual Research and Review in Biology*. 2017;17(4).

42. Shimoyama K, Uchida T, Nagao M, Shirasaki Y. Dynamic viscoelastic properties of models composed of posterior denture teeth and denture base resin. *Journal of medical and dental sciences*. 1998;45(2):117-21.
43. Mahross HZ, Baroudi K. Effect of silver nanoparticles incorporation on viscoelastic properties of acrylic resin denture base material. *European Journal of Dentistry*. 2015;9(2):207-12.
44. Gurunathan S. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial effects against *Escherichia fergusonii* and *Streptococcus mutans*. *Arabian Journal of Chemistry*. 2014.
45. Wady AF, Machado AL, Foggi CC, Zamperini CA, Zucolotto V, Moffa EB, et al. Effect of a Silver Nanoparticles Solution on *Staphylococcus aureus* and *Candida* spp. *Journal of Nanomaterials*. 2014;2014:7.
46. Correa JM, Mori M, Sanches HL, da Cruz AD, Poiate E, Jr., Poiate IA. Silver nanoparticles in dental biomaterials. *Int J Biomater*. 2015;2015:485275.
47. Kassaei MZ, Mohammadkhani M, Akhavan A, Mohammadi R. In situ formation of silver nanoparticles in PMMA via reduction of silver ions by butylated hydroxytoluene. *Structural Chemistry*. 2011;22(1):11-5.
48. Singho ND, Johan MR, Lah NAC. Temperature-dependent properties of silver-poly(methylmethacrylate) nanocomposites synthesized by in-situ technique. *Nanoscale Research Letters*. 2014;9(1):42.
49. Qiao R, Deng H, Putz KW, Brinson LC. Effect of particle agglomeration and interphase on the glass transition temperature of polymer nanocomposites. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. 2011;49(10):740-8.