

การเตรียมเซลลูโลสแคปซูลหุ้มกรดแกลลิก
สำหรับประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง

PREPARATION OF CELLULOSE-BASED CAPSULE
ENCAPSULATING GALLIC ACID FOR
COSMETIC APPLICATION

วิชชุดา ตั้งทรงเจริญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ปีการศึกษา 2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

การเตรียมเซลล์โอสแคปซูลหุ้มกรดแกดอลิก
สำหรับประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง

วิชชุดา ตั้งทรงเจริญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเตรียมเซลลูโลสแคปซูลหุ้มกรดแกลลิกสำหรับประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง
ชื่อ-นามสกุล	นางสาววิษุตา ตั้งทรงเจริญ
สาขาวิชา	เคมีประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์, Ph.D.
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์พัชรา ปัญญามูลวงษา, Ph.D.
ปีการศึกษา	2561

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการเตรียมเซลลูโลสแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในสารสกัดจากถั่วเหลือง ด้วยการสังเคราะห์แบบแขวนลอยและมินิอิมัลชันในระบบน้ำในน้ำมัน สำหรับประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง โดยใช้คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (ซีเอ็มซี) เป็นเปลือก

เพื่อการกักเก็บที่มีประสิทธิภาพสูง ขั้นตอนแรกจะปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของซีเอ็มซีให้มีพันธะคู่ ด้วย 3-(ไตรเมทอกซีไซลิล)โพรพิล เมทาคริเลต (เอ็มพีเอส) ซึ่งเป็นสารคู่ควบไซเลนที่อัตราส่วนต่าง ๆ ของซีเอ็มซีต่อเอ็มพีเอส โดยทดสอบด้วย FT-IR และ ¹H-NMR ซึ่งยืนยันการเปลี่ยนหมู่ของซีเอ็มซีได้สำเร็จ โดยเลือกอัตราส่วนร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก เพื่อสังเคราะห์ในขั้นต่อไป เนื่องจากมีความสามารถในการละลายน้ำสูง จากนั้น นำซีเอ็มซีที่เปลี่ยนหมู่ (เอ็มซีเอ็มซี) กราฟท์กับเมทาคริลิกแอซิด (เอ็มเอเอ) ผ่านพันธะ C=C จากเอ็มพีเอสได้เปลือกพอลิเมอร์ร่างแหของเอ็มซีเอ็มซี กราฟท์พีเอ็มเอเอ ที่เข้ากันได้ทางชีวภาพ โดยศึกษาอัตราส่วนระหว่างเอ็มซีเอ็มซีกับเอ็มเอเอ พบว่าทุกสภาวะได้ไมโครแคปซูลทรงกลมที่มีความเสถียรและมีประสิทธิภาพการหุ้มสูง (ร้อยละ 59-78) โดยที่อัตราส่วนร้อยละ 33:67 โดยน้ำหนัก ได้ไมโครแคปซูลที่มีความเสถียรสูงและมีประสิทธิภาพการกักเก็บสูงสุด (ร้อยละ 78) นำสภาวะที่เหมาะสมนี้ไปเตรียมนาโนแคปซูลด้วยการสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน โดยศึกษาอัตราส่วนอิมัลจิฟิเคชันที่เหมาะสมในการเตรียมหยดน้ำมัน พบว่าการอัตราส่วนที่ร้อยละ 40 อิมัลจิฟิเคชัน ได้นาโนแคปซูลทรงกลมความเสถียรสูง และมีปริมาณกรดแกลลิกที่กักเก็บ (ร้อยละ 37) และประสิทธิภาพการกักเก็บ (ร้อยละ 73) สูงที่สุด การศึกษาการปลดปล่อยกรดแกลลิกทั้งไมโครและนาโนแคปซูล พบว่าปลดปล่อยได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนั้น การศึกษาความเป็นพิษด้วย MTT assay ที่ความเข้มข้นแคปซูลต่าง ๆ พบว่าไม่มีความเป็นพิษของไมโครแคปซูล นาโนแคปซูล และอนุภาคเอ็มซีเอ็มซี-กราฟท์-พีเอ็มเอเอในช่วง 0.0001-0.01 0.0001-0.1 และ 0.0001-1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ดังนั้น สามารถเตรียมทั้งไมโครและนาโนแคปซูลของกราฟท์โคพอลิเมอร์เอ็มซีเอ็มซีกับพีเอ็มเอเอที่มีความเสถียรทางคอลลอยด์ มีการกักเก็บกรดแกดอลิก และประสิทธิภาพการกักเก็บที่สูงได้ ซึ่งเหมาะกับการประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางในความเข้มข้นที่เหมาะสมและต้องการการปลดปล่อยที่เร็วและไม่เป็นพิษ

คำสำคัญ: การับอกซีเมทิลเซลลูโลส พอลิเมทาคริลิก แอซิด กรดแกดอลิก การสังเคราะห์แบบแขวนลอย การสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน



Thesis Title	Preparation of Cellulose-based Capsules Encapsulating Gallic Acid for Cosmetic Application
Name – Surname	Miss Wichsuda Tangsongcharoen
Program	Applied chemistry
Thesis Advisor	Assistant Professor Preeyaporn Chaiyasat, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Assistant Professor Patchara Punyamoonwongsa, Ph.D.
Academic Year	2018

ABSTRACT

This research focuses on the preparation of cellulose capsules encapsulating gallic acid (GA), an important component in Bambara groundnut extracts, by water in oil suspension and miniemulsion polymerizations for cosmetic application using carboxymethyl cellulose (CMC) as a shell.

For high encapsulation performance, CMC was firstly modified to introduce double bond with 3-(trimethoxysilyl)propyl methacrylate (MPS) as a silane coupling agent named modified-CMC (m-CMC) at various ratios of CMC:MPS. The FTIR and ¹H-NMR results confirmed the successful modification of CMC. The ratio of 75:25 (%w/w) was selected for further polymerization because of its high water solubility. Afterward, the m-CMC was subsequently graft copolymerized with methacrylic acid (MAA) monomer along with the C=C bonds from MPS and formed CMC-graft-polymethacrylic acid (m-CMC-g-PMAA) as a biocompatible polymer network shell. Various ratios of m-CMC:MAA were investigated. High stable spherical shape of m-CMC-g-PMAA microcapsules with high %encapsulation (59-78%) were found at all ratios. At the m-CMC:MAA ratio of 33:67 (%w/w), high stable microcapsules with the highest %encapsulation (78%) were obtained. The optimum condition of suspension polymerization was used for the preparation of nanocapsules via miniemulsion polymerization. The appropriate percentage of amplitude for oil droplet generation was studied. The ultrasonication at 40% amplitude presented spherical shape nanocapsules with high colloidal stability and the highest loading (37%) and %encapsulation (73%). The rapid controlled-release of GA were found in both m-CMC-g-PMAA micro- and nanocapsules. Moreover, the cytotoxicity testing through MTT assay with various capsule concentrations showed

the non-cytotoxic characteristics of m-CMC-g-PMAA microcapsules, nanocapsules and particles in a range of 0.0001-0.01, 0.0001-0.1 and 0.0001-1 mg/ml.

Therefore, both of the m-CMC-g-PMAA micro- and nanocapsules encapsulated GA were successfully prepared with high colloidal stability, high loading and encapsulation efficiency. It is appropriate to apply in cosmetic application at appropriate concentration with satisfactory required rapid release and non-cytotoxic characteristic.

Keyword: Carboxymethyl cellulose, Polymethacrylic acid, Gallic acid, Microsuspension polymerization, Miniemulsion polymerization



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความสำเร็จอย่างสูงจาก ผศ.ดร. ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร. พัทธา ปัญญามูลวงษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร. วราวุธ สะโถมแสง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ผศ.ดร. สิงห์โต สกุลเขมฤทัย กรรมการสอบ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำตลอดจนให้ความช่วยเหลือแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์ ผศ.ดร.อมร ไชยสัตย์ และ ผศ.ดร. พัทธา ปัญญามูลวงษา ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำข้อคิดเห็นต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาในการศึกษาอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณห้องปฏิบัติการพอลิเมอร์คอลลอยด์ ภาควิชาเคมีและคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ เครื่องมือ สารเคมีและอุปกรณ์ต่าง ๆ ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวที่ให้อำนาจใจและให้การสนับสนุนเสมอมา ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุก ๆ ท่าน ที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทางในการทำวิจัยจนกระทั่งมีวันนี้ และขอบคุณเพื่อน ๆ กลุ่มพอลิเมอร์คอลลอยด์ทุกคนที่ช่วยเป็นกำลังใจจนประสบผลสำเร็จตามที่ได้คาดหวังไว้

วิษุตา ตั้งทรงเจริญ



สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	(3)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	(5)
กิตติกรรมประกาศ.....	(7)
สารบัญ.....	(8)
สารบัญตาราง.....	(12)
สารบัญภาพ.....	(14)
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของวิทยานิพนธ์.....	4
1.4 กรอบแนวความคิดของวิทยานิพนธ์.....	4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	6
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	7
2.1 สารประกอบพีนอลิก.....	7
2.2 พอลิเมอร์ชีวภาพ.....	8
2.3 สารคู่ควบไซเลน.....	10
2.4 เทคนิคการเอนแคปซูเลชัน.....	12
2.4.1 การเอนแคปซูเลชันโดยวิธีทางกายภาพ.....	13
2.4.1.1 เทคนิคการพ่นแบบแห้ง.....	13
2.4.1.2 เทคนิคการพ่นแบบเย็น.....	14
2.4.1.3 การอัดขึ้นรูป.....	14
2.4.1.4 การระเหยตัวทำละลาย.....	15
2.4.1.5 การเคลือบด้วยเทคนิคฟลูอิดไดส์เบด.....	17
2.4.2 การเอนแคปซูเลชันโดยวิธีทางเคมี.....	17
2.4.2.1 การโคอะเซอร์เวชัน.....	17
2.4.2.2 การสังเคราะห์ด้วยกลไกการแยกวัฏภาคภายใน.....	18
2.4.2.3 การสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่รอยต่อระหว่างผิว.....	19

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 เทคนิคการสังเคราะห์พอลิเมอร์.....	21
2.5.1 การสังเคราะห์ระบบเนื้อเดียวหรือแบบเอกพันธ์.....	21
2.5.2 การสังเคราะห์ระบบเนื้อผสมหรือแบบวิวิธพันธ์.....	21
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	24
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	27
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	27
3.1.1 สารเคมี.....	27
3.1.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้.....	30
3.2 แผนผังของงานวิจัย.....	32
3.3 การทดลอง.....	33
3.3.1 การศึกษาสภาวะเบื้องต้นในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บ กรดแกลลิก.....	33
3.3.1.1 ชนิดของชั้นน้ำมัน.....	33
3.3.1.2 ชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิว.....	34
3.3.2 การศึกษาการเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีพันธะคู่โดยใช้ สารคู่ควบไซเลน.....	35
3.3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บ กรดแกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย.....	36
1) ชนิดของตัวริเริ่มปฏิกิริยา.....	37
2) อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลน.....	38
3) ผลของพีเอชของสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส.....	40
4) อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรด เมทาคริลิก.....	41
3.3.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลกักเก็บ กรดแกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิมัลชัน.....	41
3.3.5 การศึกษาลักษณะเฉพาะของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก.....	42

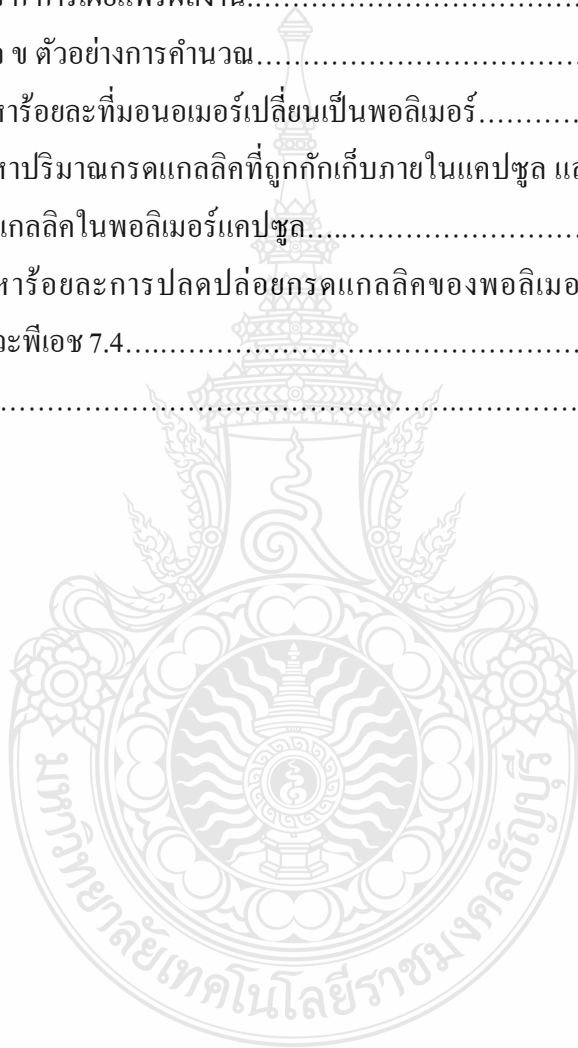
สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3.5.1 การหาร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์.....	42
3.3.5.2 ลักษณะรูปร่างของพอลิเมอร์แคปซูล.....	44
3.3.5.3 ขนาดของพอลิเมอร์แคปซูล.....	44
3.3.5.4 ปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูล และประสิทธิภาพ ในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูล.....	44
3.3.5.5 การศึกษาการดูดซับน้ำของโคพอลิเมอร์ และแคปซูล.....	46
3.3.5.6 การศึกษาการปลดปล่อยกรดแกลลิกของพอลิเมอร์แคปซูล.....	46
3.3.5.7 การทดสอบความเป็นพิษในเซลล์เพาะเลี้ยง.....	47
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	49
4.1 การศึกษาสถานะเบื้องต้นในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก....	49
4.1.1 ชนิดของชั้นน้ำมัน.....	49
4.1.2 ชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิว.....	50
4.2 การเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสให้มีพันธะคู่โดยใช้สารคู่ควบไซเลน.....	53
4.3 สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลหุ้มกรดแกลลิกด้วย กระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย.....	58
1) ชนิดของตัวริเริ่มปฏิกิริยา.....	58
2) อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลน.....	59
3) ผลของพีเอชของสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส.....	66
4) อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยน หมู่ต่อกรด เมทาคริลิก.....	68
4.4 สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลหุ้มกรดแกลลิกด้วยกระบวนการ สังเคราะห์แบบมินิมัลชัน.....	73
4.5 การศึกษาการปลดปล่อยกรดแกลลิกของพอลิเมอร์แคปซูล.....	76
4.6 การทดสอบความเป็นพิษในเซลล์เพาะเลี้ยง.....	77
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	79

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บรรณานุกรม.....	81
ภาคผนวก.....	95
ภาคผนวก ก การเผยแพร่ผลงาน.....	96
ภาคผนวก ข ตัวอย่างการคำนวณ.....	128
การหาร้อยละที่มอดโมเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์.....	129
การหาปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูล และประสิทธิภาพการกักเก็บ	
กรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูล.....	132
การหาร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิกของพอลิเมอร์แคปซูลที่เวลาต่าง ๆ ใน	
สภาวะพีเอช 7.4.....	137
ประวัติผู้เขียน.....	143



สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1	การจำแนกชนิดของพอลิเมอร์ชีวภาพ.....	9
ตารางที่ 3.1	สารเคมีที่ใช้.....	27
ตารางที่ 3.2	เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้.....	30
ตารางที่ 3.3	สถานะในการเตรียมไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดและ ปริมาณต่าง ๆ ^a	34
ตารางที่ 3.4	สถานะในการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของเซลลูโลสโดยการทำปฏิกิริยากับสารคู่ควบไซเลน	36
ตารางที่ 3.5	สถานะในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกด้วยกระบวนการ สังเคราะห์แบบแขวนลอยโดยใช้คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ที่อัตราส่วน ระหว่างเซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลนต่าง ๆ.....	38
ตารางที่ 3.6	สถานะในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลโดยใช้ตัวทำละลายผสมต่าง ๆ.....	39
ตารางที่ 3.7	สถานะในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่อัตราส่วนต่าง ๆ ของคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิก.....	40
ตารางที่ 3.8	สถานะในการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกด้วยกระบวนการ สังเคราะห์แบบมินิมัลชัน ที่ร้อยละแอมพลิจูดต่าง ๆ.....	42
ตารางที่ 4.1	ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการหุ้มกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูล ที่ อัตราส่วนที่ระหว่างเซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลน.....	62
ตารางที่ 4.2	ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูล ที่ใช้ ตัวทำละลายผสมต่าง ๆ.....	66
ตารางที่ 4.3	ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูล ที่สถานะที่ทำการศึกษาการปรับเปลี่ยนค่าพีเอช ของสารละลายเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยน หมู่.....	67
ตารางที่ 4.4	ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูล ที่ อัตราส่วนต่าง ๆ ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิก.....	69
ตารางที่ 4.5	การทดสอบการดูดซับน้ำของโคพอลิเมอร์และเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วย สารคู่ควบไซเลน.....	72

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4.6 ร้อยละการเปลี่ยนมอนอเมอร์เป็นพอลิเมอร์ ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บที่สภาวะต่าง ๆ.....	74
ตารางที่ 4.7 ร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิกของพอลิเมอร์แคปซูลที่เวลาต่าง ๆ.....	76
ตารางภาคผนวกที่ 1 สภาวะที่ใช้ในการเตรียมเซลล์ูโลสแคปซูลหุ้มกรดแกลลิก.....	129
ตารางภาคผนวกที่ 2 พื้นที่พีคของสารต่าง ๆ จาก GC chromatogram.....	129
ตารางภาคผนวกที่ 3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานในตัวทำละลาย 1, 4- ไดออกเซน วัดจากค่าดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\max}$ 270.01 นาโนเมตร...	132
ตารางภาคผนวกที่ 4 ความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 7.4 วัดจากค่าดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\max}$ 260.26 นาโนเมตร....	137



สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1.1	ถั่วหรั่งหรือ Bambarra Ground nut ชื่อวิทยาศาสตร์ <i>Voandzeia subterranean</i>	1
ภาพที่ 1.2	โครงสร้างของสารประกอบพีนอลิกโดยทั่วไป.....	2
ภาพที่ 1.3	ลักษณะของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกดอลิก.....	5
ภาพที่ 1.4	แผนภาพกลไกการเตรียมหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสผ่านการจับระหว่าง เซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลน.....	6
ภาพที่ 2.1	โครงสร้างของกรดแกดอลิก.....	7
ภาพที่ 2.2	โครงสร้างเซลลูโลส พอลิเมอร์สายตรงเชื่อมกันระหว่าง β -1,4-linked D-glucose.....	10
ภาพที่ 2.3	โครงสร้างเซลลูโลส: โครงสร้างเซลลูโลสสายตรงทั่วไป (a) และโครงสร้างเซลลูโลสที่ ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ภายในสายโซ่ ที่หมู่ 'R' (b)	10
ภาพที่ 2.4	กลไกการเกิดปฏิกิริยาการควบแน่นระหว่างสารคู่ควบไซเลนและสับสเตอร์ด.....	11
ภาพที่ 2.5	ลักษณะแคปซูลแคปซูลที่มีสารแกนกลางหนึ่งแกน (mononuclear type) (a) และ หลายแกน (polynuclear type) (b)	12
ภาพที่ 2.6	การเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการปั่นแบบแห้ง.....	13
ภาพที่ 2.7	การเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการอัดขึ้นรูป.....	14
ภาพที่ 2.8	การเตรียมอนุภาคที่มีช่องว่างผ่านการเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการระเหย ตัวทำละลาย.....	15
ภาพที่ 2.9	การเตรียมพอลิแลคติกแอซิดไมโครแคปซูลกักเก็บวิตามินอี ด้วยเทคนิคการระเหย ตัวทำละลาย.....	16
ภาพที่ 2.10	การเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคฟลูอิดไดส์เบด: การพ่นสารเคลือบจากล่างขึ้นบน (bottom spray or Wurster coating) (a) และการพ่นสารเคลือบจากบนลงล่าง (top-down spray) (b)	16
ภาพที่ 2.11	กลไกการเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการตกตะกอนด้วยสารเคมีแบบเชิงซ้อน.....	18
ภาพที่ 2.12	การสังเคราะห์พอลิไคไวนิลเบนซีนไมโครแคปซูลหุ้มออกตะเดเคนด้วยกระบวนการ การสังเคราะห์แบบแขวนลอย.....	19
ภาพที่ 2.13	การสังเคราะห์ไมโครแคปซูล ด้วยกระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่รอยต่อระหว่างผิว โดย การสังเคราะห์แบบอินซิทู.....	20

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 2.14 กลไกการเกิดอนุภาคแบบเอกพันธ์.....	22
ภาพที่ 2.15 กลไกการเกิดอนุภาคแบบเกิดภายในหยด.....	22
ภาพที่ 2.16 กลไกการเกิดอนุภาคแบบไมเซลล์าร์.....	24
ภาพที่ 2.17 โครงสร้างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส โซเดียมซอลท์.....	26
ภาพที่ 3.1 โครงสร้างทางเคมีของสเปน 80 (a) และไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต (b)	34
ภาพที่ 3.2 แผนภาพแสดงการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสโดยการทำปฏิกิริยากับ สารคู่ควบไซเลน.....	35
ภาพที่ 3.3 แผนภาพการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกในระบบน้ำในน้ำมันด้วย กระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย.....	37
ภาพที่ 3.4 โครงสร้างทางเคมีของโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (a) วีเอ-057 (b) และเบนโซอิลเปอร์ ออกไซด์ (c)	37
ภาพที่ 3.5 แผนภาพการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกในระบบน้ำในน้ำมัน ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิมัลชัน.....	41
ภาพที่ 3.6 การเปลี่ยนโครงสร้างของเอ็มทีทีเป็นฟล็อกฟอร์มาชัน หลังจากการเกาะเซลล์ที่มีชีวิต และตกผลึก.....	48
ภาพที่ 4.1 ผลการทดสอบการละลายของกรดแกลลิกในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความมีขั้วต่างกัน 5 ชนิด: โทลูอิน (a) เอทิลอะซิเตท (b) ไดคลอโรมีเทน (c) อะซิโตน (d) และ 1,4-ไดออก เซน (e)	50
ภาพที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน (a - c) และ Optical micrograph ของหยดสารละลาย อินทรีย์ (a' - c') ที่เตรียมในระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมัน โดยใช้ สเปน-80 เป็นสารลดแรง ดึงผิวที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 (a และ a'), 2 (b และ b') และ 3 (c และ c') โดย น้ำหนัก.....	51
ภาพที่ 4.3 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน (a - c) และ Optical micrograph ของหยดสารละลาย อินทรีย์ (a' - c') ที่เตรียมด้วยระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมัน โดยใช้ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต เป็นสารลดแรงดึงผิวที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 (a และ a'), 2 (b และ b') และ 3 (c และ c') โดยน้ำหนัก.....	52

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 4.4	การป้องกันการรวมตัวกันของหยดน้ำโดยใช้ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต	52
ภาพที่ 4.5	กลไกการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสโดยการทำปฏิกิริยากับสารคู่ควบไซเลน (a) กระบวนการไฮโดรไลซิสและการควบแน่นด้วยตัวเองของเอ็มพีเอส ในสถานะกรดที่ pH 4 และ (b) การเกิดปฏิกิริยาทางเคมีด้วยความร้อนระหว่างเอ็มพีเอสและคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส.....	54
ภาพที่ 4.6	ฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด สเปกตรัมของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (a) เอ็มพีเอส (b) และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลน ที่อัตราส่วนต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก): 50:50 (c) 67:33 (d) และ 75:25 (e).....	56
ภาพที่ 4.7	โปรตรอน-นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกตรัมของเอ็มพีเอส (a) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (b) และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลน ที่อัตราส่วนต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก): 50:50 (c) 67:33 (d) และ 75:25 (e).....	57
ภาพที่ 4.8	ผลการทดสอบการละลายของตัวรีเริ่มปฏิกิริยาชนิดต่าง ๆ ในตัวทำละลายผสมในวัฏภาคน้ำ: โปแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (a) เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ (b) และวีเอ-057 (c).....	59
ภาพที่ 4.9	Optical micrographs ของหยดมอนอเมอร์ (a - c) และพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (a' - c') ที่อัตราส่วนระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลนต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก): 50:50 (a และ a') 67:33 (b และ b') และ 75:25 (c และ c')...	61
ภาพที่ 4.10	ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน (a - c) ที่เตรียมด้วยระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมัน ที่อัตราส่วน ระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลนต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก): 50:50 (a) 67:33 (b) และ 75:25 (c).....	62
ภาพที่ 4.11	สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ 1, 4- ไดออกเซน (a) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลน (b) สารละลายกรดแกลลิกมาตรฐาน (c) และพอลิเมอร์แคปซูล (d).....	63
ภาพที่ 4.12	SEM micrographs ของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกที่อัตราส่วนระหว่างเซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลนต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก): 50:50 (a) 67:33 (b) และ 75:25 (c)	63

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ 4.13	Optical micrographs ของหยดมอนอเมอร์ (a และ b) และพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (a' และ b') ที่ใช้ตัวทำละลายผสมต่าง ๆ: Acetone:DI water:THF (a และ a') และ 1, 4-dioxane:DI water (b และ b')	65
ภาพที่ 4.14	SEM micrographs ของพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกที่ใช้ตัวทำละลายผสมต่าง ๆ: Acetone:DI water:THF (a) และ 1, 4-dioxane:DI water (b)	65
ภาพที่ 4.15	Optical micrographs ของหยดมอนอเมอร์ (a และ b) และพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (a' และ b') โดยสารละลายเซลล์โลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ที่ค่าพีเอชต่าง ๆ: ค่าพีเอช 4 (a และ a') และค่าพีเอช 9 (b และ b')	67
ภาพที่ 4.16	Optical micrographs ของหยดมอนอเมอร์ (a - d) และพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (a' - d') ที่อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลล์โลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิกต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก): 75:25 (a และ a') 67:33 (b และ b') 50:50 (c และ c') และ 33:67 (d และ d').....	69
ภาพที่ 4.17	SEM micrographs ของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกก่อน (a และ b) และหลังบด (a' และ b') ที่อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลล์โลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิกต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก): 50:50 (a และ a') และ 33:67 (b และ b')	70
ภาพที่ 4.18	ฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด สเปกตรัมของคาร์บอกซีเมทิลเซลล์โลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลน ที่อัตราส่วนระหว่างร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก (a) กรดเมทาคริลิก (b) และคาร์บอกซีเมทิลเซลล์โลส-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิก แอซิด อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลล์โลสต่อกรดเมทาคริลิกที่ร้อยละ 33:67 โดยน้ำหนัก (c).....	71
ภาพที่ 4.19	Optical micrographs ของหยดมอนอเมอร์ (a - c) และพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (a' - c') ที่เตรียมด้วยการสังเคราะห์แบบมินิมัลชัน โดยการปั่นเตรียมหยดที่ร้อยละแอมพลิจูด (%amplitude) ต่าง ๆ; 20 (a และ a') 40 (b และ b') และ 60 (c และ c').....	73
ภาพที่ 4.20	กราฟแสดงขนาดและการกระจายตัวของแคปซูล ที่ร้อยละแอมพลิจูด 20 (a และ a') 40 (b และ b') และ 60 (c และ c').....	75

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ 4.21 ร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์เมื่อสัมผัสสารทดสอบ ด้วยวิธีทดสอบ MTT assay ที่เวลา 24 ชั่วโมง ของอนุภาคคาร์บอนซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่กราฟท์-พอลิเมทาคริลิกแอซิด (a) ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (b) และนาโนแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (c).....	77
ภาพภาคผนวกที่ 1 แผนภาพการเตรียมสารละลายเพื่อคำนวณปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูล และประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูล.....	133
ภาพภาคผนวกที่ 2 แผนภาพการเตรียมสารละลายเพื่อคำนวณร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิกของพอลิเมอร์ไมโครแคปซูล.....	137



บทที่ 1

บทนำ

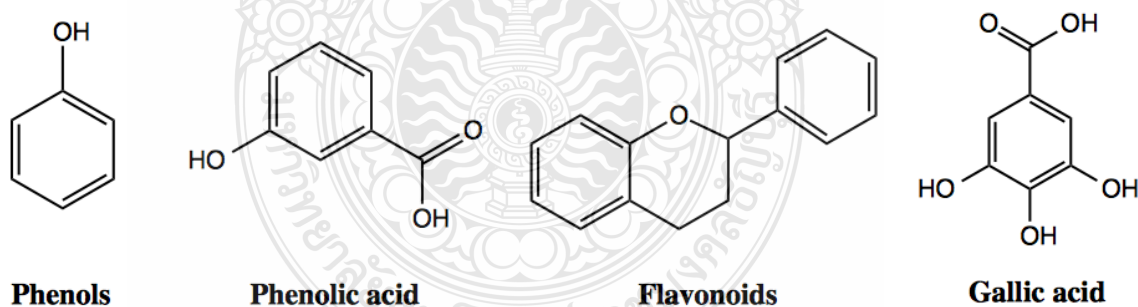
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์บำรุงผิวมีการเติบโตสูงมากอย่างต่อเนื่อง เทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีหลากหลายรูปแบบ รวมทั้งมีวิวัฒนาการที่ก้าวหน้าตลอดเวลา [2, 3] ประเด็นที่กำลังได้รับความสนใจและเป็นที่ยอมรับในปัจจุบัน คือ การใช้วัตถุดิบที่ได้จากธรรมชาติในการผลิตเครื่องสำอาง โดยเฉพาะในประเทศไทยที่มีพืชสมุนไพรและวัตถุดิบธรรมชาติจำนวนมาก เนื่องจากนี้สารสกัดที่ได้จากธรรมชาติมีสรรพคุณที่โดดเด่นหลายประการและมีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยในการผลิตจะพยายามลดการใช้สารสังเคราะห์ที่นำมาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง เพราะส่วนผสมที่ได้จากการสังเคราะห์ส่วนหนึ่งมีราคาแพง บางชนิดต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้มีต้นทุนที่สูง งานวิจัยนี้จึงมีความสนใจนำสารสกัดจากพืชและสมุนไพรในธรรมชาติที่มีภายในประเทศ มาใช้เป็นส่วนผสมที่สามารถออกฤทธิ์และฟื้นฟูบำรุงผิวในเครื่องสำอาง และพัฒนาต่อยอดในเชิงพาณิชย์ ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายที่สนับสนุนการใช้ผลิตภัณฑ์จากภูมิปัญญาไทย ผลักดันเพื่อเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศ กระตุ้นการสร้างรายได้แก่เกษตรกรที่เพาะปลูก และเพื่อลดต้นทุนการผลิตอีกด้วย [1, 3-5]



ภาพที่ 1.1 ถั่วหรั่งหรือ Bambarra Ground nut ชื่อวิทยาศาสตร์ *Voandzeia subterranean* [6]

ถั่วหรั่ง หรือ Bambara Ground nut ชื่อวิทยาศาสตร์ *Voandzeia subterranean* (ภาพที่ 1.1) เป็นพืชล้มลุกตระกูลถั่วมีมากทางภาคใต้ของไทย มีถิ่นกำเนิดแถบทวีปแอฟริกาและเกาะมาดากัสการ์ มีการนำเข้ามาในภาคใต้ของไทยในช่วงปี พ.ศ. 2474 มีชื่อที่ใช้เรียกแตกต่างกันไป เช่น กาแลโป ถั่วโพธิ์ ถั่วโอบ ถั่วป่นหอย ถั่วเม็ดเดียว สามารถนำมาปรุงอาหารได้ทั้งคาวและหวาน [7] โดยงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้มีการศึกษาองค์ประกอบโดยประมาณ (Proximate composition) โดยทำการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและฟลาโวไซม์เป็นโปรตีนไฮโดรไลเสต (Protein hydrolysate) โดยถั่วหรั่งจะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูง และมีสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) และแทนนิน (Tannin) [8] ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ที่ดี มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) ที่มีส่วนกระตุ้นการสร้างเม็ดสีเมลานิน และยับยั้งการสังเคราะห์เมลานิน ช่วยลดความหมองคล้ำแก่ผิว ช่วยลดริ้วรอยด้วยการป้องกันการทำลายดีเอ็นเอในระดับเซลล์ เนื้อเยื่อและคอลลาเจนในชั้นผิว [4] ดังนั้น สารสกัดจากถั่วหรั่งนี้จึงมีศักยภาพที่จะนำมาพัฒนาและใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์บำรุงความงามและเครื่องสำอางที่ปลอดภัยได้ [9] ซึ่งจากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมายังไม่มียานวิจัยหรือรายงานวิชาการที่ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactivity) ของสารสกัดจากถั่วหรั่งสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านเครื่องสำอางมาก่อน และยังต้องได้รับการพัฒนาวิธีการสกัด การกักเก็บ การประยุกต์ใช้ในรูปแบบต่าง ๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของสารสกัด [10]



ภาพที่ 1.2 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกโดยทั่วไป

สารประกอบฟีนอลิก คือ สารสำคัญที่ได้จากการสกัดถั่วหรั่ง ซึ่งจะพบในส่วนช่องว่างภายในเซลล์ (Cell vacuole) ของพืชผักและผลไม้ สารประกอบฟีนอลิกนั้นมีหลายชนิด ซึ่งโดยทั่วไปเป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซีน (Benzene ring; C_6H_6) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group; OH group) ซึ่งเป็นส่วนมีขั้ว (ภาพที่ 1.2) มีประสิทธิภาพทั้งในด้านชีวปริมาณออกฤทธิ์ (Bioavailability) [11, 12]

และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารนั้นขึ้นกับความเสถียรทางการเก็บรักษา (Storage stability) เพื่อลดปัญหานี้แนวทางหนึ่งที่มีประสิทธิภาพ คือ การนำสารสกัดมาทำการกักเก็บหรือการหุ้ม (Encapsulation) ด้วยพอลิเมอร์ [13, 14] ซึ่งจะอยู่ในรูปของพอลิเมอร์แคปซูล (Polymer capsule) ในงานวิจัยก่อนหน้านี้มีการศึกษาการเตรียมอนุภาคทั้งในระดับนาโนเมตรและไมโครเมตร ซึ่งสามารถกักเก็บสารสำคัญได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยที่เปลือกที่ใช้กักเก็บนั้นมีทั้งที่เป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ หรือพอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer) เช่น คาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน น้ำตาล โปรตีน เป็นต้น [15] และพอลิเมอร์สังเคราะห์ (Synthetic polymer) เช่น พอลิเมทิลเมทาคริเลต (Poly(methyl methacrylate); PMMA) [16] พอลิสไตรีน (Polystyrene; PS) พอลิไดเมทิลซิลอกเซน (Poly(dimethyl siloxane)) [3] สำหรับการใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางได้มีการพัฒนาการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลทั้งในระดับไมโครเมตรและนาโนเมตรให้มีประสิทธิภาพสูงในการกักเก็บสารสำคัญได้ ซึ่งการที่มีขนาดเล็กจะเพิ่มประสิทธิภาพการขนส่งสารไปยังบริเวณเป้าหมายได้ดีและสามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้ภายในในสภาวะที่กำหนด ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสำคัญ เพิ่มเสถียรภาพทางการเก็บรักษา ทำให้เก็บได้นานยิ่งขึ้น ป้องกันการเสื่อมสภาพของสารสำคัญจากการเกิดปฏิกิริยาของสารสำคัญกับสภาวะภายนอก เช่น แสง ความร้อน อากาศ น้ำ และออกซิเจน จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) [17-19] โดยสารจะถูกปลดปล่อยในอัตราเร็วและปริมาณที่เหมาะสม ยืดระยะเวลาการออกฤทธิ์ ลดความเสี่ยงในการใช้สารสำคัญ และลดข้อเสียจากการประยุกต์ใช้สารสกัดที่ได้จากสมุนไพรโดยตรง เช่น การเกิดอาการแพ้ การเกิดการระคายเคือง หรือกลิ่นฉุนของสารสกัดบางชนิด [20-22] โดยเปลือกแคปซูลที่ใช้ต้องไม่เป็นพิษ และมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility)

ในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลที่มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสกัดจากถั่วเหลืองโดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของถั่วเหลืองเป็นสารแม่แบบเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ทางด้านเครื่องสำอางและสารบำรุงผิว โดยใช้เซลลูโลสซึ่งเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพและสามารถย่อยสลายได้เองทางชีวภาพ (Biodegradable) เป็นเปลือกกักเก็บกรดแกลลิกไว้ภายใน

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก

1.2.2 เพื่อทดสอบสมบัติของแคปซูลที่เตรียมได้ และศึกษาการปลดปล่อยกรดแกลลิกจากแคปซูลสำหรับประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางบำรุงผิว

1.3 ขอบเขตของวิทยานิพนธ์

1.3.1 ศึกษาการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลที่กักเก็บกรดแกลลิกด้วยเซลลูโลสในระบบน้ำในน้ำมัน (Water in oil) ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย (Suspension polymerization) และมินิอิมัลชัน (Miniemulsion polymerization)

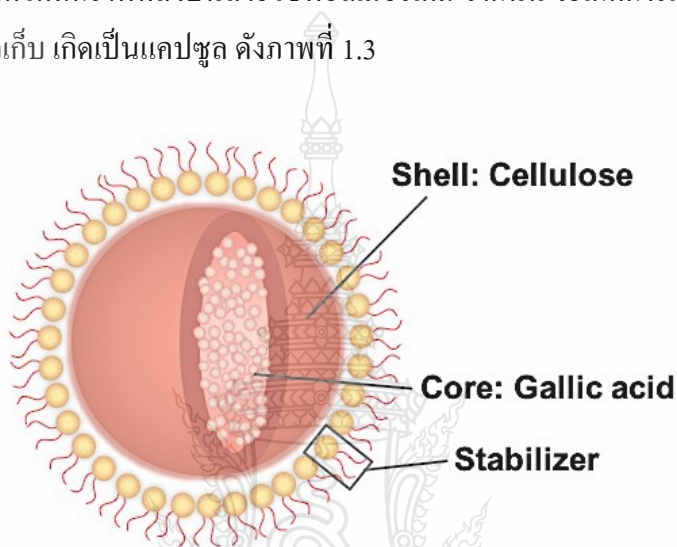
1.3.2 ศึกษาสมบัติต่างๆของแคปซูลที่เตรียมได้ เช่น ลักษณะและรูปร่างด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Optical microscope; OM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) โครงสร้างและองค์ประกอบของสารด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Fourier transforms infrared spectrophotometer; FTIR) และโปรตรอน-นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (^1H -nuclear magnetic resonance spectrophotometer; ^1H -NMR) ประสิทธิภาพในการกักเก็บของแคปซูลด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer; UV-Vis) ขนาดและการกระจายตัวของแคปซูลด้วยเครื่องวัดการกระเจิงแสง (Dynamic light scattering; DLS) การปลดปล่อยกรดแกลลิก ด้วยเครื่องทรานสเดอร์มอล ดิฟฟิวชัน เซลล์ซิสเต็ม (Transdermal diffusion cell system) และทดสอบความเป็นพิษของแคปซูลที่เตรียมได้ด้วยเทคนิค MTT assay

1.4 กรอบแนวความคิดของวิทยานิพนธ์

การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลที่กักเก็บกรดแกลลิก ในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้พอลิเมอร์จากธรรมชาติที่ไม่เป็นพิษ (Non-toxic) มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพเป็นเปลือก คือ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Carboxymethyl cellulose; CMC) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน หรือพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ซึ่งสามารถย่อยสลายได้เองทางชีวภาพ [23-26] เซลลูโลสที่เลือกใช้นั้นหาได้ง่าย มีราคาถูก และปลอดภัยในการใช้ในด้านเครื่องสำอาง นำมากักเก็บกรดแกลลิก ซึ่งเป็นหนึ่งในองค์ประกอบหลักของสารสกัดจากถั่วเหลือง เป็นสารกลุ่มฟีนอลและเป็นสารที่มีขี้ [7, 11, 21, 26] ที่สามารถละลายน้ำได้ โดยสามารถเตรียมแคปซูลได้หลายเทคนิค เทคนิคหนึ่งที่เป็นที่นิยม คือ การเตรียมแคปซูลโดยอาศัยกลไกการแยกวัฏภาคภายใน (Internal phase separation) ผ่านกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอยและมินิอิมัลชัน ทำให้ได้แคปซูลขนาดระดับไมโครเมตรและนาโนเมตรตามลำดับ

โดยหลักการของเทคนิคที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้คือ นำพอลิเมอร์และโมโนเมอร์ที่ใช้เป็นเปลือก ตัวริเริ่มปฏิกิริยา (Initiator) และสารที่ต้องการกักเก็บมาละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสมให้

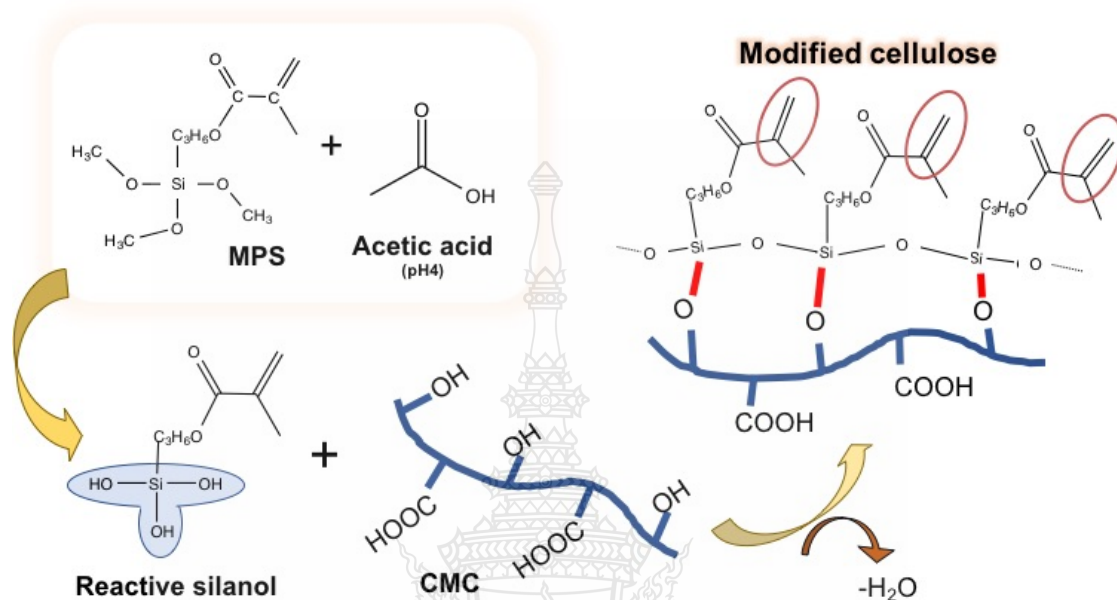
เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งในงานวิจัยนี้จะใช้น้ำซึ่งสามารถละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและกรดแกลลิกได้ดีเป็นตัวทำละลาย จากนั้น เทผสมลงในชั้นน้ำมันซึ่งใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำที่มีสารลดแรงตึงผิวละลายอยู่ เมื่อทำการปั่นด้วยแรงเหวี่ยงสูงจะได้หยดของสารละลายพอลิเมอร์/มอนอเมอร์ที่กระจายตัวในชั้นน้ำมัน เรียกว่า อิมัลชันน้ำในน้ำมัน จากนั้น ให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม ภายในหยดสารละลายพอลิเมอร์/มอนอเมอร์จะเกิดการพอลิเมอไรเซชันเกิดเป็นสายโซ่พอลิเมอร์ชนิดใหม่กราฟที่ลงบนสายโซ่พอลิเมอร์เดิม จากนั้น จะเกิดการแยกชั้นของพอลิเมอร์กับสารที่ต้องการกักเก็บ เกิดเป็นแคปซูล ดังภาพที่ 1.3



ภาพที่ 1.3 ลักษณะของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก

ในการศึกษาการเตรียมแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขนลอยและมินิอิมัลชัน ใช้คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักของเปลือก โดยในขั้นแรกจะต้องทำการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันบนสายโซ่เซลลูโลสให้มีพันธะคู่ (Double bond) ที่จะสามารถเกิดปฏิกิริยาต่อสายโซ่กับมอนอเมอร์ผ่านกลไกอนุมูลอิสระ (Free radical polymerization) โดยในงานวิจัยนี้เลือกใช้การทำปฏิกิริยากับสารคู่ควบไซเลน (Silane coupling agent) คือ 3-(ไตรเมทอกซีไซลิล)โพรพิล เมทาคริเลต (3-(trimethoxysilyl)propyl methacrylate; MPS) [17-19] ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิล (Silanol group; Si-O group) ที่เกิดจากการไฮโดรไลซิสกับสารละลายกรดอะซิติก เกิดพันธะกับหมู่ไฮดรอกซิล ของเซลลูโลส ในขณะที่ส่วนปลายจะมีพันธะคู่ที่สามารถเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันต่อได้ (ดังภาพที่ 1.4) จากนั้น จะทำการสังเคราะห์กับมอนอเมอร์ที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพและมีความสามารถในการละลายน้ำ คือ กรดเมทาคริลิก (Methacrylic acid; MAA) เพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้เปลือกแคปซูล และเพิ่มประสิทธิภาพในการกักเก็บสาร โดยในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษา

ผลของชนิดของชั้นน้ำมัน ชนิดของตัวทำละลาย ปริมาณและอัตราส่วนระหว่างมอนอเมอร์ และอัตราส่วนของพอลิเมอร์และกรดแกดอลิก สำหรับการเตรียมแคปซูลขนาดไมโครเมตรด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย



ภาพที่ 1.4 แผนภาพกลไกการเตรียมหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสผ่านการจับระหว่างเซลลูโลสและสารกึ่งควบไซเลน

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมไมโครแคปซูลก็เก็บกรดแกดอลิกแล้ว จะนำมาเป็นสภาวะตั้งต้นในการเตรียมนาโนแคปซูลด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิมัลชัน โดยทำการศึกษาอัตราเร็วในการปั่นเตรียมหยดสารละลายพอลิเมอร์ จากนั้น ศึกษาการปลดปล่อยสารสกัดในสภาวะจำลอง และทดสอบความเป็นพิษของแคปซูลที่เตรียมได้ต่อไป

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกดอลิก ในระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมัน

1.5.2 ได้พอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกดอลิกสำหรับนำไปผสมในเครื่องสำอางบำรุงผิว

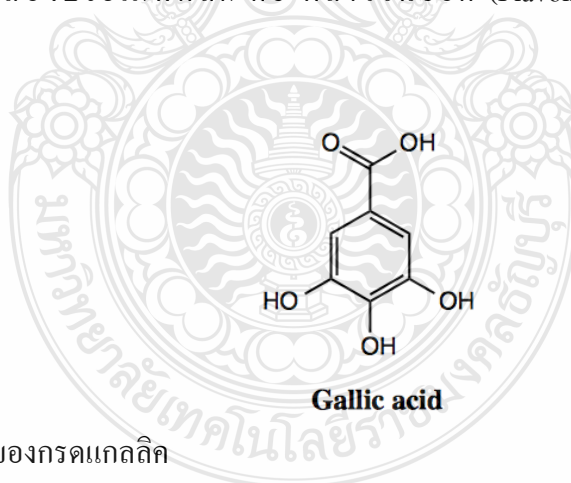


บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก เป็นหนึ่งในองค์ประกอบหลักของพืชและผลไม้หลายชนิด [3, 9, 27, 28] และยังพบมากในชา กาแฟ และไวน์ [22] ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีหน้าที่ปกป้องส่วนประกอบภายในเซลล์จากการเสื่อมสลายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidative damage) [9, 11] ซึ่งจะมีส่วนในการทำลายส่วนประกอบภายในเซลล์ ดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน ซึ่งเป็นสาเหตุหลักให้เกิดโรคมะเร็ง (Cancers) โรคหัวใจ (cardiovascular diseases) และโรคกระดูกพรุน (Osteoporosis) ที่สำคัญสารต้านอนุมูลอิสระมีฤทธิ์ในการลดการสร้างเม็ดสีเมลานิน ชะลอการเกิดริ้วรอยและชะลอวัย (Anti-aging) [7, 11, 12, 22, 26, 29, 30] ความสามารถและหน้าที่หลักของสารประกอบฟีนอลิก คือ การจับอนุมูลอิสระ โดยพอลิฟีนอลิกที่มีหมู่แคทีคอล (Catechol) คือ มิววแหวนอะโรมาติกกับหมู่ไฮดรอกซิลสองหมู่ จะมีประสิทธิภาพในการจับอนุมูลอิสระมากกว่าหมู่ฟีนอลทั่วไปที่เป็นวงแหวนอะโรมาติกกับหมู่ไฮดรอกซิลหนึ่งหมู่ [7, 22, 30, 31] สารประกอบฟีนอลิกมีด้วยกันหลายชนิด แบ่งออกเป็นสองประเภทหลัก คือ ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และฟีนอลิกแอซิด (Phenolic acids) [22]



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของกรดแกลลิก

กรดแกลลิก (3,4,5-trihydroxybenzoic acid) (ภาพที่ 2.1) คือ สารประกอบฟีนอลิกชนิดฟีนอลิกแอซิดที่พบได้มากในถั่วหรั่ง เป็นพืชที่ยังไม่มีการปลูกมากนักในประเทศไทย แต่ข้อดีคือทนต่อความแห้งแล้งได้สูง ทนต่อสภาพฝน และทนต่อวัชพืชและโรคต่าง ๆ [32] ซึ่งถั่วหรั่งจะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูง และมีสารประกอบฟีนอลิกและแทนนิน [8] มีส่วนกระตุ้นการสร้างเม็ดสีเมลานินและยับยั้งการสังเคราะห์เมลานิน ช่วยลดความหมองคล้ำแก่ผิว ช่วยลดริ้วรอย

ด้วยการป้องกันการทำลายดีเอ็นเอในระดับเซลล์ เนื้อเยื่อและคอลลาเจนในชั้นผิว [4] จึงเป็นสารที่มีศักยภาพที่จะนำมาพัฒนาและใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์บำรุงความงามและเครื่องสำอางที่ปลอดภัย [9] โดยกรดแกลลิกนั้นเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ คือ 170.12 กรัมต่อโมล สามารถละลายได้ในน้ำ แม้ว่าจะมีพันธะที่อึดตัวภายในโครงสร้าง ซึ่งทำให้ไวต่อแสง ความร้อน ค่าพีเอช และน้ำ ซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพ [14]

2.2 พอลิเมอร์ชีวภาพ

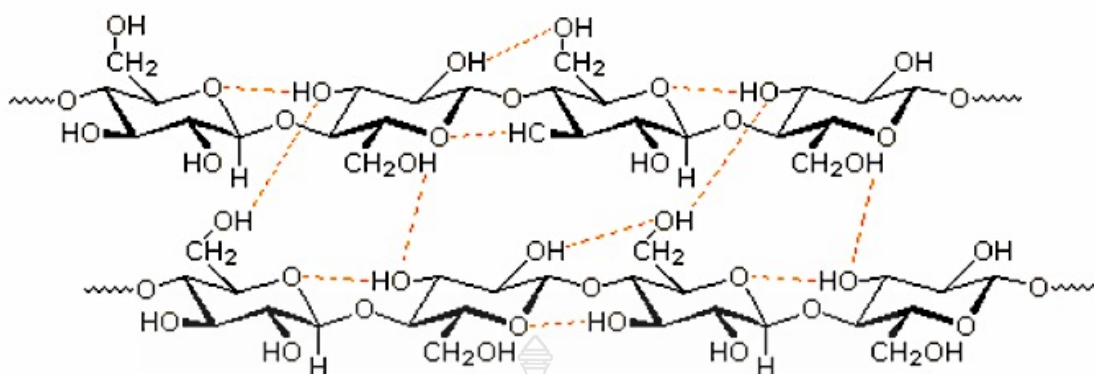
พอลิเมอร์ชีวภาพ คือ พอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติหรือสิ่งมีชีวิต [33] โดยทั่วไปพอลิเมอร์ชีวภาพเป็นวัสดุที่มีอย่างยั่งยืน (Sustainable material) และเป็นวัสดุที่สร้างขึ้นใหม่ได้ (Renewable material) [34] สามารถสร้างได้จากแหล่งกำเนิดหลายชนิด เช่น จากจุลินทรีย์ (Microbial system) สกัดจากพืช (Extracted from plants) หรือการสังเคราะห์จากระบบทางชีวภาพ (Synthesized from biological system) [35-37] ข้อดีของพอลิเมอร์ชนิดนี้ คือ ส่วนใหญ่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ และมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพจึงนิยมนำมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ ด้านอาหาร และสารเติมแต่งอาหาร ด้านผลิตภัณฑ์บำรุงผิวและเครื่องสำอาง เสื้อผ้า และวัสดุดูดซับ [35, 36] ซึ่งพอลิเมอร์ดังกล่าวแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ พอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีน (Protein) พอลิเอสเทอร์ (Polyesters) และพอลิเมอร์ชนิดพิเศษ (Specialty polymers) [36] ดังตารางที่ 2.1

พอลิแซ็กคาไรด์ เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่พบทั้งจากพืชและสัตว์ ซึ่งมีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบหลัก พอลิแซ็กคาไรด์จะมีสัดส่วนร้อยละ 75 ของพอลิเมอร์ชีวภาพทั้งหมด [33, 38] ตัวอย่างพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบในพืช เช่น แป้ง ประกอบไปด้วยอะไมโลสและอะไมโลเพกทิน เซลลูโลสมีปริมาณถึงร้อยละ 40 ของพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด พบได้ในแหล่งธรรมชาติทั่วไปในโลก และพบส่วนใหญ่ในพืช มักอยู่ร่วมกับพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดอื่น เช่น เฮมิเซลลูโลส เพกทิน น้ำ แวกซ์ โปรตีน ลิกลิน ต่าง ๆ บุก สาหร่าย (สกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล) คาราจีแนน (สกัดจากสาหร่ายแดง) ส่วนพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบในสัตว์ เช่น ไคติน ไคโตซาน ซึ่งทั้งสองชนิดนี้เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีปริมาณมากรองจากเซลลูโลส และพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบในราและแบคทีเรีย เช่น พลูกลาน แชนแทนกัม เด็กแทรน [35-38] เป็นต้น

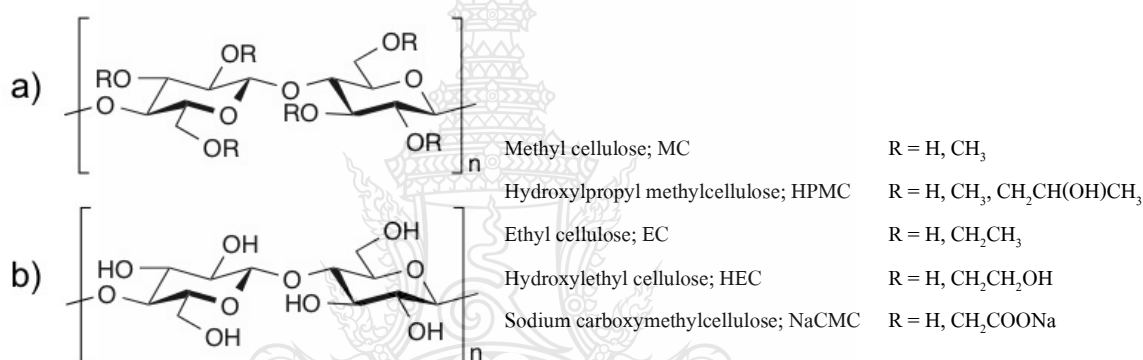
ตารางที่ 2.1 การจำแนกชนิดของพอลิเมอร์ชีวภาพ [35]

ประเภท	ตัวอย่างพอลิเมอร์ชีวภาพ
พอลิแซ็กคาไรด์	พืชและสาหร่าย แป้ง (อะไมโลส และอะไมโลเพกทิน) เซลลูโลส เพกติน บุก สาหร่าย คาราจีแนน <u>สิ่งมีชีวิต</u> ไฮยาลูรอนิกแอซิด พูลาเลน เอวซีแนน <u>แบคทีเรีย</u> ไคติน ไคโตซาน แชนแทน ลิแวน พอลิกลาแลคโตชาไมด์ เด็กเทรน
โปรตีน	ถั่วเหลือง เซอีน คาเซอีน ไหม พอลิอะมิโนแอซิด อีลาสติน คอลลาเจน/เจลาติน พอลิไลซีน
พอลิเอสเทอร์	พอลิไฮดรอกซีลออกซาโนเอต พอลิแลคติกแอซิด พอลิมาลิกแอซิด
พอลิเมอร์ชนิดพิเศษ	เซลลูลิก ลิกนิน ขางธรรมชาติ

เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่พบมากในธรรมชาติ เป็นส่วนประกอบสำคัญของพืช และเส้นใยธรรมชาติ เช่น ฝ้าย ลินิน มีบางชนิดที่ได้จากแบคทีเรีย จุลินทรีย์ หรือทำการสังเคราะห์ขึ้นมา เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ที่มีพลังงานการยึดเกาะภายใน (Internal cohesive energy) และมีปริมาณหมู่ไฮดรอกซิลมาก มีการจัดเรียงตัวที่เป็นระเบียบสูง (High crystallinity) [39, 40] ราคาถูก เป็นวัสดุที่เหมาะสมสำหรับใช้ทั้งภายในและภายนอกร่างกาย ซึ่งจะมีความแข็งแรงทนทานมาก เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพจากผลพลอยได้ทางผลิตภัณฑ์ด้านการเกษตร (Agriculture wastes) อยู่ในส่วนของผนังเซลล์ของพืช ร่วมกับลิกนินและเฮมิเซลลูโลส เซลลูโลสเป็นโฮโมเซลลูโลสสายโซ่ตรงและมีน้ำหนักโมเลกุลสูง [39-42] มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 2.2 เซลลูโลสมีการนำมาพัฒนาปรับเปลี่ยนและแทนที่ของหมู่ฟังก์ชันอื่น ๆ ทำให้มีคุณสมบัติที่แตกต่างไปจากเดิม มีประสิทธิภาพดีขึ้น สามารถใช้งานได้หลากหลายมากยิ่งขึ้นและมีความเสถียรมากขึ้น [19, 39, 43] โครงสร้างเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ภายในสายโซ่ดังแสดงในภาพที่ 2.3 โดยชนิดหนึ่งที่เป็นที่นิยม คือ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส หรืออีกชื่อ คือ เซลลูโลสกัม เป็นพอลิเมอร์มีขี้ว สายโซ่ตรงและยาว มีความสามารถในการละลายน้ำ ซึ่งเซลลูโลสทั่วไปไม่สามารถละลายได้ เป็นที่นิยมนำมาประยุกต์ทั้งในอุตสาหกรรมผ้า กระดาษ กาว อาหาร เครื่องสำอาง และยา ในงานวิจัยนี้จึงสนใจนำคาร์บอกซีเซลลูโลสมาใช้เป็นเปลือกกักเก็บสารสำคัญในการเตรียมแคปซูล



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างเซลลูโลส พอลิเมอร์สายตรงเชื่อมกันระหว่าง β -1,4-linked D-glucose [33]



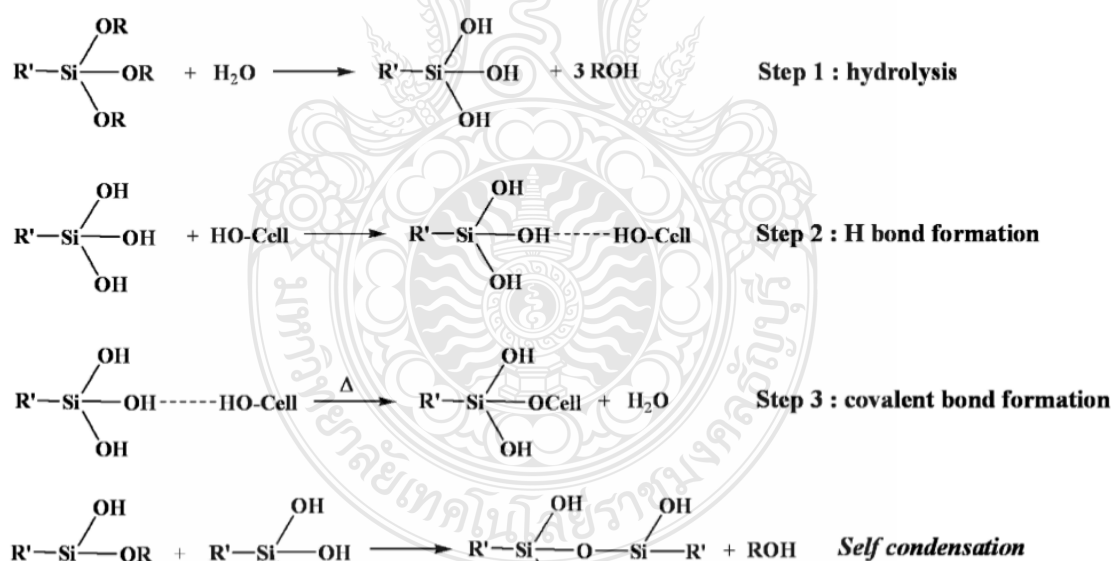
ภาพที่ 2.3 โครงสร้างเซลลูโลส: โครงสร้างเซลลูโลสสายตรงทั่วไป (a) และโครงสร้างเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ภายในสายโซ่ ที่หมู่ 'R' (b) [39]

2.3 สารคู่ควบไซเลน

สารคู่ควบไซเลน คือ สารผสมที่มีโครงสร้างโมเลกุลทั่วไปเป็น $R'-Si-(OR)_3$ ที่มีหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ ซึ่งประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นสารอินทรีย์ (R') และหมู่ออกซิอัลคิล (Oxyalkyl group; OR) [44] มีการนำมาใช้งานในหลายหน้าที่ เช่น การปรับเปลี่ยนประสิทธิภาพวัสดุ การยึดติด ทำหน้าที่เป็นสารคู่ควบ การเสริมความแข็งแรงแก่พอลิเมอร์ด้วยการเติมสารอนินทรีย์ (Inorganic filler reinforced polymer) และการเติมด้วยแร่ธาตุ (Mineral filled polymer composites) [45] ซึ่งสารคู่ควบไซเลนนั้นจะช่วยส่งเสริมการเกาะติดระหว่างพื้นผิว (Interfacial adhesion promoters) ระหว่างสารแต่ละชนิด ปรับปรุงความสามารถในการเข้ากันได้ของสาร (Compatibility) หรือการโคพอลิเมอร์ไรเซชัน (Copolymerization) กับสารอินทรีย์อื่น ๆ โดยเกิดผ่านปฏิกิริยาการควบแน่น (Condensation reaction)

ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของทั้งสารคู่ควบและสับสเตรต (Substrate) [17, 18, 45] เพิ่มความหนาแน่นของการเชื่อมร่างแห (Crosslinking density) เพื่อเพิ่มความแข็งแรง เพิ่มการต้านทานตัวทำละลาย กรด และเบส [44, 46, 47]

โดยทั่วไปการปรับสภาพต่อพื้นผิว (Surface treatment) จะเริ่มจากการเตรียมสารคู่ควบไซเลน ที่ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 0.5-2 โดยน้ำหนักในตัวทำละลาย (น้ำหรือแอลกอฮอล์) เพื่อละลายสารคู่ควบไซเลนในระบบ และควบคุมปริมาณการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารคู่ควบและสับสเตรต ซึ่งตัวทำละลายนั้นจะก่อให้เกิดการสลายพันธะด้วยน้ำ (Hydrolysis) ของไซเลน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันเป็น $R'-Si(OH)_3$ ทำให้เกิดการเกาะติดบนสับสเตรตที่มีหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมาก (OH-rich substrates) ด้วยปฏิกิริยาการควบแน่น เกิดเป็นพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) และสะพานไซลอกเซน (Siloxane bridges) โดยทั้งปฏิกิริยาการสลายพันธะด้วยน้ำ และปฏิกิริยาการควบแน่น จะเกิดระหว่างโครงสร้างส่วนของสารอินทรีย์ของสารคู่ควบไซเลนและตัวกลาง กลไกการเกิดปฏิกิริยาการควบแน่นระหว่างสารคู่ควบและสับสเตรต [48, 49] แสดงดังภาพที่ 2.4



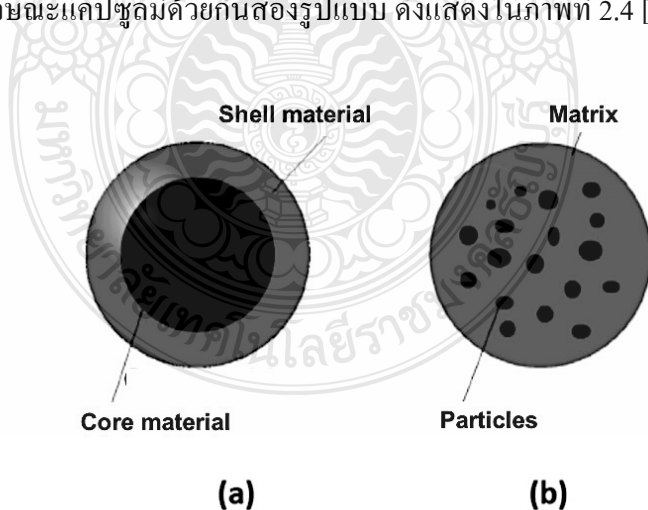
ภาพที่ 2.4 กลไกการเกิดปฏิกิริยาการควบแน่นระหว่างสารคู่ควบไซเลนและสับสเตรต [50]

โดยการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันด้วยสารคู่ควบไซเลนบนสายโซ่หลักของพอลิเมอร์ชนิดต่าง ๆ เช่นเซลลูโลสนั้นสามารถทำได้ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพ และเพิ่มโอกาสในการ

พอลิเมอร์หรือการกราฟต์กับมอนอเมอร์ และสารชนิดอื่น ๆ ได้มากขึ้น ผ่านการสังเคราะห์แบบอนุมูลอิสระ ทำให้พอลิเมอร์ชนิดนั้น ๆ มีประสิทธิภาพ เช่น การยึดเกาะ การกักเก็บสารสกัดต่าง ๆ หรือการเคลือบผิวได้ดียิ่งขึ้น [17, 19, 45-48, 51-53]

2.4 เทคนิคการเอนแคปซูเลชัน

การเอนแคปซูเลชัน คือ กระบวนการกักเก็บสารสำคัญ สารที่ออกฤทธิ์ (Active agent) หรือสารที่ต้องการกักเก็บ เป็นแกนกลาง (core) [13] ไว้ภายในสารอีกชนิดหนึ่งซึ่งทำหน้าที่เป็นเปลือก (Shell material) เช่น พอลิเมอร์ ประโยชน์ของการกักเก็บนี้ คือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาโดยตรงระหว่างสารแกนกลางและสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น อากาศ มลภาวะ แสงแดด เป็นต้น [13, 15, 21] และเพื่อพัฒนาระบบการนำส่งสารออกฤทธิ์ (Bioactive molecules) [26] เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ และเซลล์ที่มีชีวิต เช่น แบคทีเรียที่อาศัยในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ (Probiotics) หรือควบคุมการปลดปล่อย (Controlled release) สารออกฤทธิ์ไปสู่เป้าหมาย การเลือกวัสดุเพื่อใช้สำหรับการกักเก็บนั้นขึ้นอยู่กับสารที่ต้องการกักเก็บ ประสิทธิภาพในการปลดปล่อยสารผ่านเปลือกที่กักเก็บ ความเข้มข้นของสารที่กักเก็บ และการนำไปประยุกต์ใช้งานด้านต่าง ๆ สำหรับเทคนิคการเอนแคปซูเลชันแบ่งออกเป็นสองวิธีหลัก ๆ คือ การเอนแคปซูเลชันโดยวิธีทางกายภาพ (Physical method) และวิธีทางเคมี (Chemical method) การเลือกเทคนิคการเอนแคปซูเลชันจะขึ้นกับสมบัติของสารแกนกลาง และการนำไปประยุกต์ใช้ [15, 21, 54, 55] ซึ่งแคปซูลจะมีขนาดระหว่างนาโนเมตรถึงไมโครเมตร โดยลักษณะแคปซูลมีด้วยกันสองรูปแบบ ดังแสดงในภาพที่ 2.4 [56]



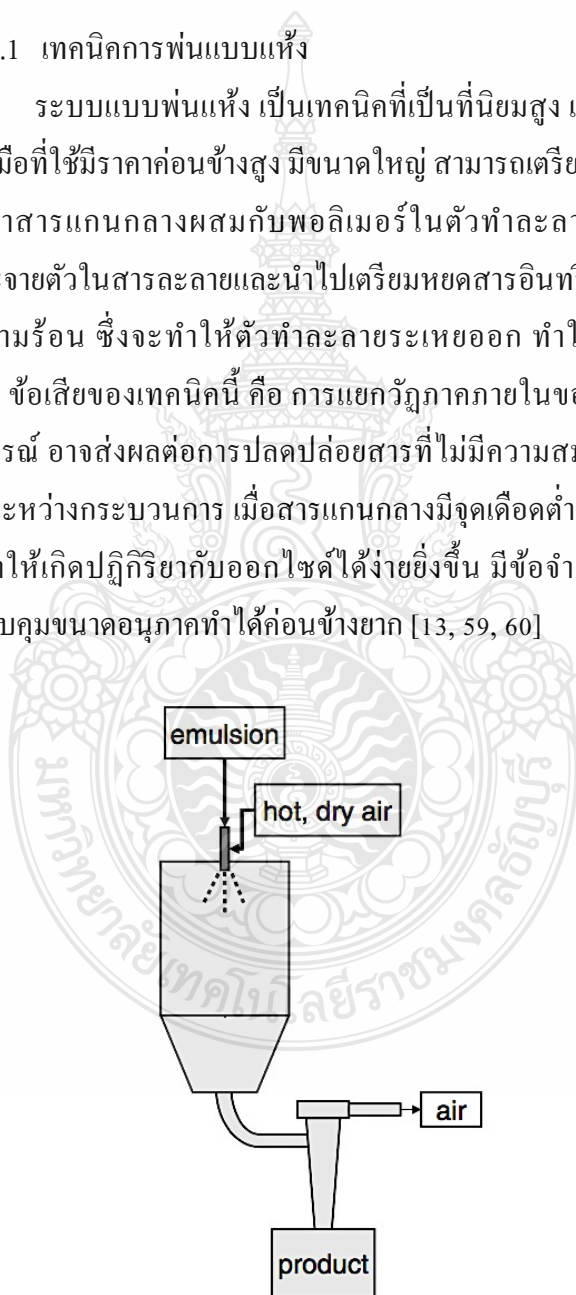
ภาพที่ 2.5 ลักษณะแคปซูลแคปซูลที่มีสารแกนกลางหนึ่งแกน (Mononuclear type) (a) และหลาย แกน (Polynuclear type) (b) [56]

2.4.1 การเอนแคปซูเลชันโดยวิธีทางกายภาพ

การเอนแคปซูเลชันโดยวิธีทางกายภาพ เป็นวิธีที่นิยมเตรียมในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากกระบวนการที่ไม่ซับซ้อน เช่น เทคนิคการพ่นแบบแห้ง (Spray drying) เทคนิคการพ่นแบบเย็น (Spray cooling/ chilling) การอัดขึ้นรูป (Extrusion) การระเหยตัวทำละลาย (Solvent evaporation) และการเคลือบด้วยเทคนิคฟลูอิดไดส์เบด (Fluidized bed)

2.4.1.1 เทคนิคการพ่นแบบแห้ง

ระบบแบบพ่นแห้ง เป็นเทคนิคที่เป็นที่นิยมสูง เนื่องจากมีกระบวนการการใช้งานที่ง่าย แต่เครื่องมือที่ใช้มีราคาค่อนข้างสูง มีขนาดใหญ่ สามารถเตรียมแคปซูลได้ภายในขั้นตอนเดียว [55, 57] โดยนำสารแกนกลางผสมกับพอลิเมอร์ในตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมเป็นเนื้อเดียวกัน นำมากระจายตัวในสารละลายและนำไปเตรียมหยดสารอินทรีย์ โดยนำไปพ่นในระบบที่มีความดันต่ำด้วยความร้อน ซึ่งจะทำให้ตัวทำละลายระเหยออก ทำให้ได้อนุภาคแคปซูล [58] ดังแสดงในภาพที่ 2.5 ข้อเสียของเทคนิคนี้ คือ การแยกวัฏภาคภายในของสารที่ต้องการกักเก็บกับเปลือกมักเกิดไม่สมบูรณ์ อาจส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยสารที่ไม่มีความสม่ำเสมอ และสารแกนกลางอาจเกิดการระเหยได้ระหว่างกระบวนการ เมื่อสารแกนกลางมีจุดเดือดต่ำ ระเหยง่าย และอาจเกาะติดพื้นผิวของแคปซูลทำให้เกิดปฏิกิริยากับออกไซด์ได้ง่ายยิ่งขึ้น มีข้อจำกัดของวัสดุที่นำมาใช้เป็นเปลือกหุ้ม และการควบคุมขนาดอนุภาคทำได้ค่อนข้างยาก [13, 59, 60]



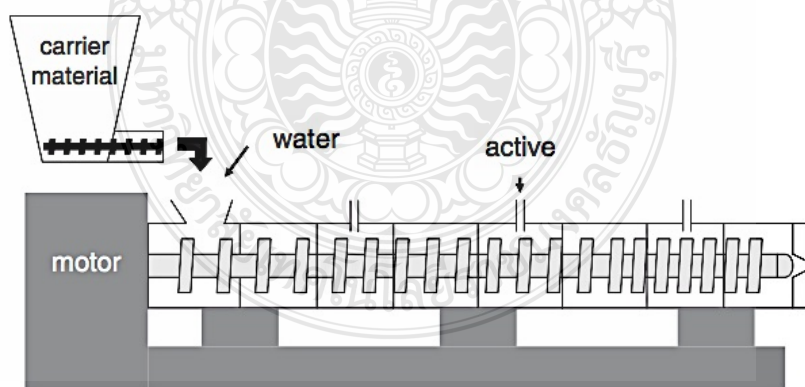
ภาพที่ 2.6 การเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการพ่นแบบแห้ง [58]

2.4.1.2 เทคนิคการพ่นแบบเย็น

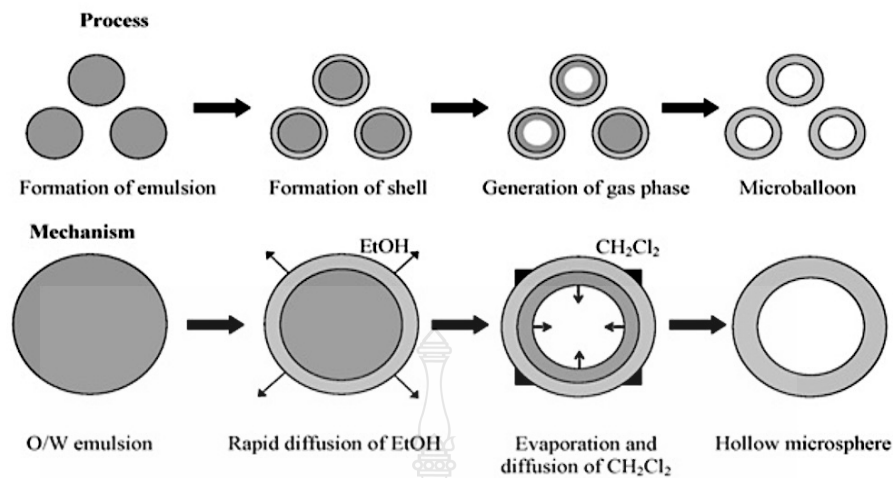
ระบบแบบพ่นเย็น เป็นเทคนิคการเตรียมแคปซูลที่มีกระบวนการและเครื่องมือที่มีราคาแพง หลักการของเทคนิคนี้คล้ายกับเทคนิคการพ่นแบบแห้ง แตกต่างกันที่การพ่นเย็นจะใช้น้ำเย็นทำให้พอลิเมอร์ในรูปสารละลายกลายเป็นเปลือกและกักเก็บสารแกนกลางโดยที่ไม่มีการระเหยน้ำออก ได้แคปซูลในรูปผง เทคนิคการพ่นแบบเย็นมักใช้ในระบบการกักเก็บสารแกนกลางที่เป็นน้ำมันหอมระเหย น้ำมันพืชต่าง ๆ หรือสารออกฤทธิ์ที่ละลายได้ในน้ำ และมีจุดหลอมเหลวในช่วง 34-42 องศาเซลเซียส ระบบซึ่งอยู่ในความเย็นจึงทำให้สารภายในเกิดการแข็งตัว (Solidification) [13, 58] ข้อดีของเทคนิคนี้ คือ สารแกนกลางไม่ถูกทำลายในระหว่างกระบวนการเตรียม [13, 58-60]

2.4.1.3 การอัดขึ้นรูป

การอัดขึ้นรูป เป็นเทคนิคที่ใช้กักเก็บสารที่ระเหยได้ง่าย และเครื่องปรุงรสอาหาร เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชัน เทคนิคการอัดขึ้นรูปนี้มีวิธีการที่ง่าย เป็นการอัดด้วยสกรูภายใต้ความดันสูง ซึ่งเปลือกที่ได้จะมีลักษณะบางหรือมีรูพรุนในระหว่างหรือสิ้นสุดกระบวนการเตรียม โดยส่วนมากเทคนิคนี้ยังนิยมใช้เพียงในระดับห้องปฏิบัติการ [13, 21, 59] เริ่มโดยการหลอมเหลววัสดุที่เป็นเปลือก จากนั้น ทำการกระจายสารแกนกลาง อัดขึ้นรูปด้วยสกรูที่อยู่ภายในบาร์เรล และทำให้แคปซูลเย็นตัวลง โดยขนาดของแคปซูล คือ 200 – 2000 ไมโครเมตร [58] ดังแสดงในภาพที่ 2.7



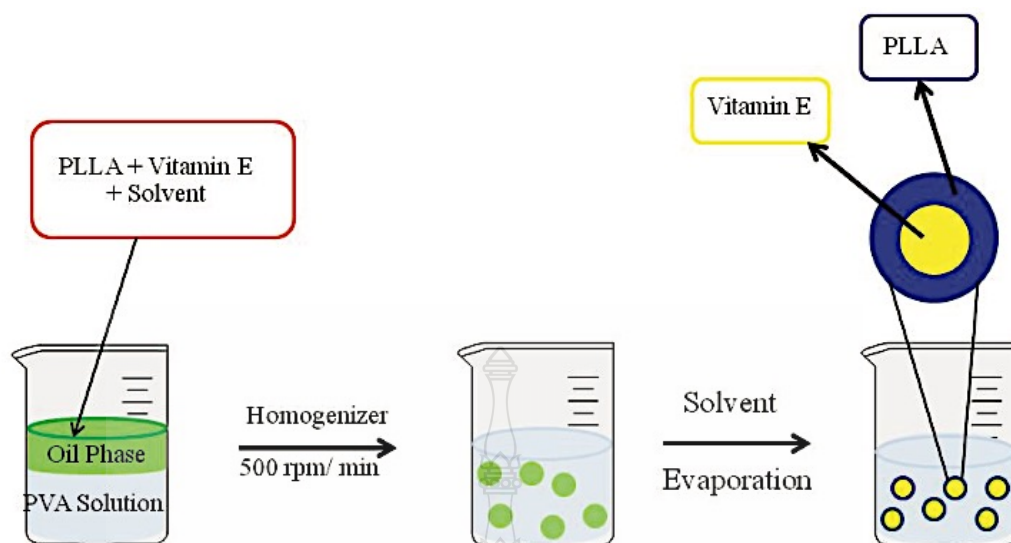
ภาพที่ 2.7 การเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการอัดขึ้นรูป [58]



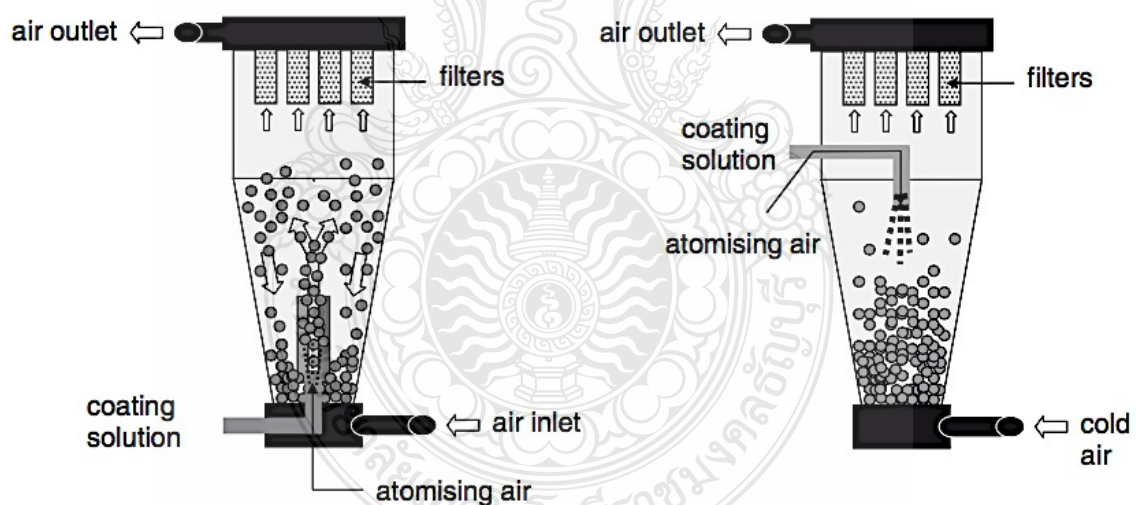
ภาพที่ 2.8 การเตรียมอนุภาคที่มีช่องว่างผ่านการเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย [61]

2.4.1.4 การระเหยตัวทำละลาย

การระเหยตัวทำละลาย เป็นเทคนิคที่มีกระบวนการที่ค่อนข้างง่าย เครื่องมือที่ใช้ราคาไม่สูง เริ่มจากการละลายพอลิเมอร์ซึ่งส่วนใหญ่จะละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ได้เป็นสารละลายพอลิเมอร์ผสมกับสารที่ต้องการกักเก็บ (วัฏภาคน้ำมัน) ทำการปั่นเตรียมหยดเพื่อกระจายวัฏภาคน้ำมันในวัฏภาคต่อเนื่อง (วัฏภาคน้ำ) โดยเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมจะเกิดเป็นหยดสารอินทรีย์ จากนั้น ทำการกำจัดตัวทำละลายจากหยด จะทำให้หยดแข็งตัวกลายเป็นแคปซูลที่แข็ง ซึ่งกระบวนการถ่ายโอนมวล (Mass transfer) ของสารภายในหยดไปวัฏภาครอบ ๆ หยด มีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อฐานวิชา โครงสร้างและการแข็งตัวของแคปซูล เทคนิคการระเหยตัวทำละลายนี้ จะต้องเลือกพอลิเมอร์ให้มีค่าการละลายน้ำหรือความชอบน้ำ (Hydrophilicity) มากกว่าสารแกนกลาง เช่น การเตรียมอนุภาคที่มีช่องว่าง (Hollow microsphere) ดังแสดงในภาพที่ 2.8 [61] และการเตรียมพอลิแลคติกแอซิด ไมโครแคปซูลกักเก็บวิตามินอี ดังภาพที่ 2.9 [62]



ภาพที่ 2.9 การเตรียมพอลิแลคติกแอซิดไมโครแคปซูลกักเก็บวิตามินอี ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย [63]



ภาพที่ 2.10 การเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคฟลูอิดไดส์เบด: การพ่นสารเคลือบจากล่างขึ้นบน (Bottom spray or Wurster coating) (a) และ การพ่นสารเคลือบจากบนลงล่าง (Top-down spray) (b) [58]

2.4.1.5 การเคลือบด้วยเทคนิคฟลูอิดไดส์เบด

เทคนิคฟลูอิดไดส์เบด เป็นเทคนิคการเคลือบสารหุ้มลงบนผิวนอกของสารแกนกลางภายในเครื่องที่มีอุณหภูมิที่จำเพาะในการเกิดการกระจายของผงอนุภาค สารเคลือบหรือสารห่อหุ้มในรูปสารละลายที่มีความหนืดที่เหมาะสมในการทำเป็นละออง (Atomizing) จะเกิดการดูดซับที่สารแกนกลาง จากนั้น น้ำในสารเคลือบจะถูกระเหยออกและกลายเป็นเปลือกกักเก็บสารแกนกลาง ซึ่งกระบวนการนี้ต้องคำนึงถึงทั้งชนิดของวัสดุที่จะนำมาทำเป็นสารเคลือบต้องละลายได้ในน้ำ อัตราเร็วของการพ่น ปริมาณน้ำในสารละลาย การไหลเวียนของอากาศและความชื้นภายในเครื่อง และอุณหภูมิที่ให้แก่สารเคลือบ โดยเทคนิคนี้สามารถแบ่งออกเป็นสองวิธี ดังภาพที่ 2.10 ซึ่งมีความแตกต่างกันในด้านทิศทางของสารเคลือบที่พ่นภายในเครื่อง

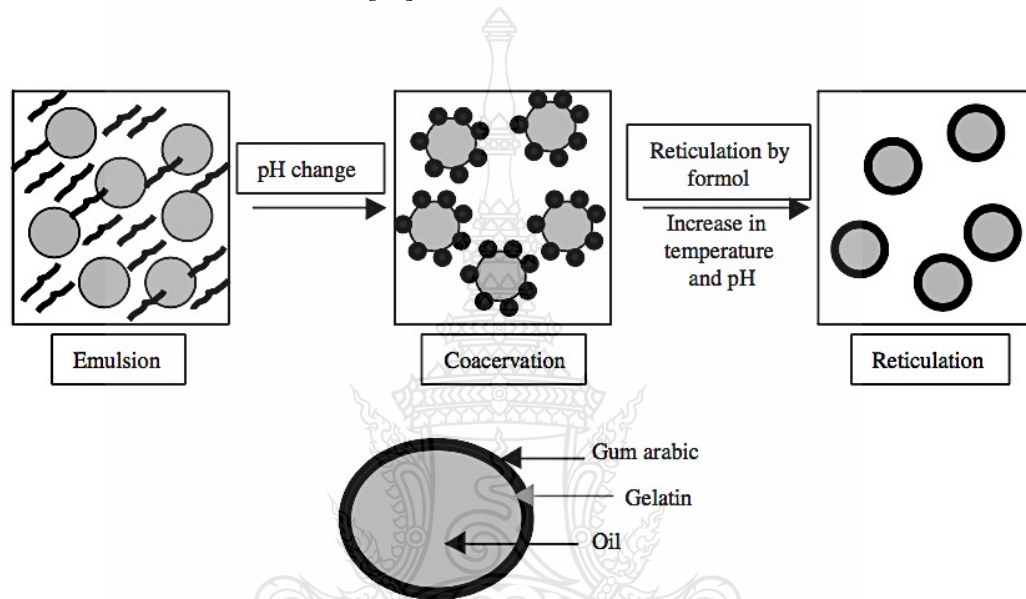
2.4.2 การเอนแคปซูเลชันโดยวิธีทางเคมี

การเอนแคปซูเลชันโดยวิธีทางเคมี เป็นกระบวนการที่มีด้วยกันหลายวิธี ขึ้นกับชนิดของสารแกนกลางและสารที่ใช้เป็นเปลือกกักเก็บ เช่น

2.4.2.1 การโคอะเซอร์เวชัน

การตกตะกอนด้วยสารเคมี (Coacervation) เป็นเทคนิคการเตรียมแคปซูลวิธีแรก ๆ ที่เริ่มใช้ ประกอบด้วยสองวัฏภาค คือ สารละลายอินทรีย์ หรือวัฏภาคต่อเนื่อง และอนุภาคคอลลอยด์ หรือวัฏภาคกระจาย (สารแกนกลางและพอลิเมอร์) ผ่านกลไกการแยกวัฏภาค (Phase separation mechanism) โดยที่อนุภาคคอลลอยด์ไม่ละลายในวัฏภาคต่อเนื่อง [21, 58, 59] การเตรียมด้วยเทคนิคการตกตะกอนด้วยสารเคมีนี้แบ่งออกเป็นสองวิธี วิธีแรก คือ การโคอะเซอร์เวชันแบบง่าย (Simple coacervation) โดยในระบบมีพอลิเมอร์เพียงชนิดเดียวละลายในตัวทำละลายอินทรีย์เป็นเนื้อเดียวกันและมีสารแกนกลางกระจายตัวอยู่ เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาวะภายในระบบ เช่น การเติมเกลือไอออนิกเพื่อให้เกิดการแยกด้วยไฟฟ้า การเพิ่มหรือลดอุณหภูมิในระบบ จะทำให้เกิดการรวมตัวกันของพอลิเมอร์และสารแกนกลางจนค่าการละลายของพอลิเมอร์ลดลงเกิดการตกตะกอนแยกจากสารละลายอินทรีย์ [15, 21, 58, 64] และวิธีที่สอง คือ การโคอะเซอร์เวชันแบบเชิงซ้อน (Complex coacervation) มีกระบวนการเกิดแคปซูลโดยอาศัยการปั่นให้เกิดเป็นอิมัลชันที่วัฏภาคกระจายกระจายในวัฏภาคต่อเนื่อง โดยมีสารลดแรงตึงผิวในระบบด้วย จากนั้น พอลิเมอร์ในระบบที่มีตั้งแต่สองชนิดขึ้นไปในวัฏภาคอินทรีย์เกิดการเปลี่ยนแปลงประจุด้วยพีเอช ความแรงของไอออนหรือแรงดึงดูดระหว่างประจุบวกและลบของพอลิเมอร์ตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป และเกิดการจัดเรียงตัวเป็นเปลือกแคปซูลกักเก็บสารแกนกลาง [21, 58, 59, 65] ดังภาพที่ 2.11

โดยเทคนิคการโคอะเซอร์เวชันประกอบด้วยสามขั้นตอน ขั้นตอนแรก คือ ขั้นตอนการเกิดหยดสารอินทรีย์ โดยสารแกนกลางกระจายในพอลิเมอร์ ขั้นตอนที่สอง เป็นการแยกวัฏภาคเกิดเปลือกพอลิเมอร์กักเก็บสารแกนกลาง และขั้นตอนสุดท้าย เป็นกระบวนการ ทำให้เปลือกหุ้มแข็งตัวหรือแข็งแรงมากขึ้น เช่น การใช้อุณหภูมิ หรือการเกิดโครงร่างแห โดยการเกิดเปลือกหุ้มนั้นจะอาศัยแรงดึงดูดระหว่างผิวระหว่างพอลิเมอร์และสารแกนกลาง สามารถแยกแคลชูตออก และล้างด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม [58]

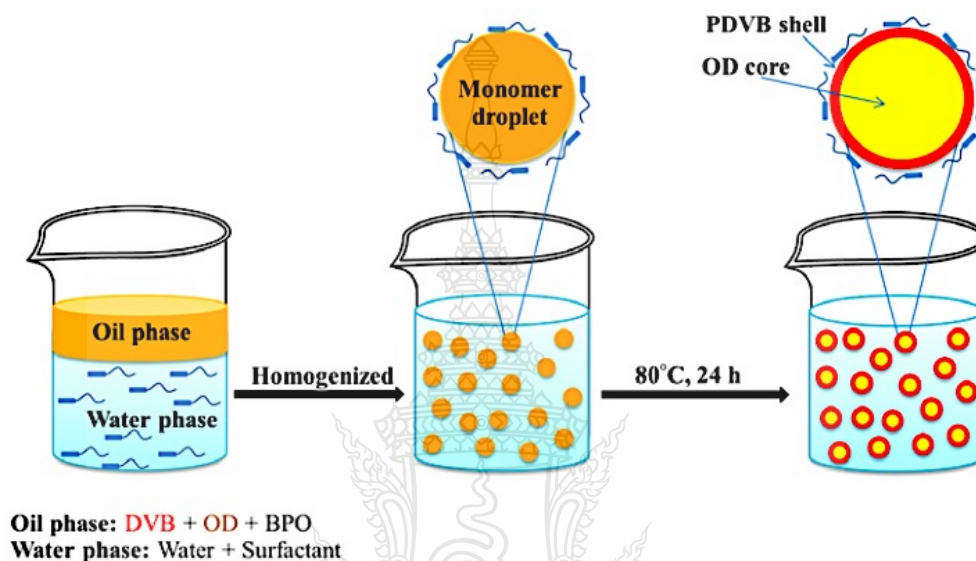


ภาพที่ 2.11 กลไกการเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการตกตะกอนด้วยสารเคมีแบบเชิงซ้อน [57]

2.4.2.2 การสังเคราะห์ด้วยกลไกการแยกวัฏภาคภายใน

การสังเคราะห์ด้วยกลไกการแยกวัฏภาคภายใน เป็นการสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยสองวัฏภาค คือ วัฏภาคอินทรีย์หรือวัฏภาคกระจาย ซึ่งจะประกอบไปด้วยมอนอเมอร์ตัวริเริ่มปฏิกิริยาและสารแกนกลางที่ต้องการกักเก็บ ซึ่งละลายเป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน ทำการกระจายตัวด้วยแรงเฉือนในวัฏภาคที่สอง คือ วัฏภาคน้ำหรือวัฏภาคต่อเนื่อง โดยมีสารลดแรงตึงผิวซึ่งจะช่วยเพิ่มความเสถียรของสารที่กระจาย โดยจะล้อมรอบหดยมอนอเมอร์ไม่ให้เกิดการรวมตัวกัน ซึ่งการที่ใช้น้ำเป็นวัฏภาคต่อเนื่องนั้นเป็นการลดปริมาณสารอินทรีย์ในระบบ จึงทำให้การสังเคราะห์นี้มีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น จากนั้น จะเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันภายในหดยมอนอเมอร์และต่อสายโซ่กลายเป็นพอลิเมอร์ ซึ่งสายโซ่ที่ยาวมากขึ้น ทำให้ความเข้ากันได้ (Miscibility) ระหว่างพอลิเมอร์และสารแกนกลางลดลงจนถึงค่าความขาววิกฤต (Critical chain

length) ทำให้พอลิเมอร์ไม่สามารถละลายเข้ากันได้กับสารแกนกลางจึงเกิดการแยกวัฏภาคภายในหยดสารอินทรีย์ และพอลิเมอร์จะเคลื่อนตัวมาด้านนอกเพื่อสร้างตัวเป็นเปลือกกักเก็บสารแกนกลางไว้ภายใน ซึ่งต้องคำนึงถึงค่าแรงตึงระหว่างผิว (Interfacial tension) ระหว่างพอลิเมอร์กับน้ำ และสารแกนกลางกับน้ำ [66-68] กระบวนการสังเคราะห์ที่นิยมใช้ คือ กระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย [69] ดังภาพที่ 2.12 และแบบมินิอิมัลชัน [70]

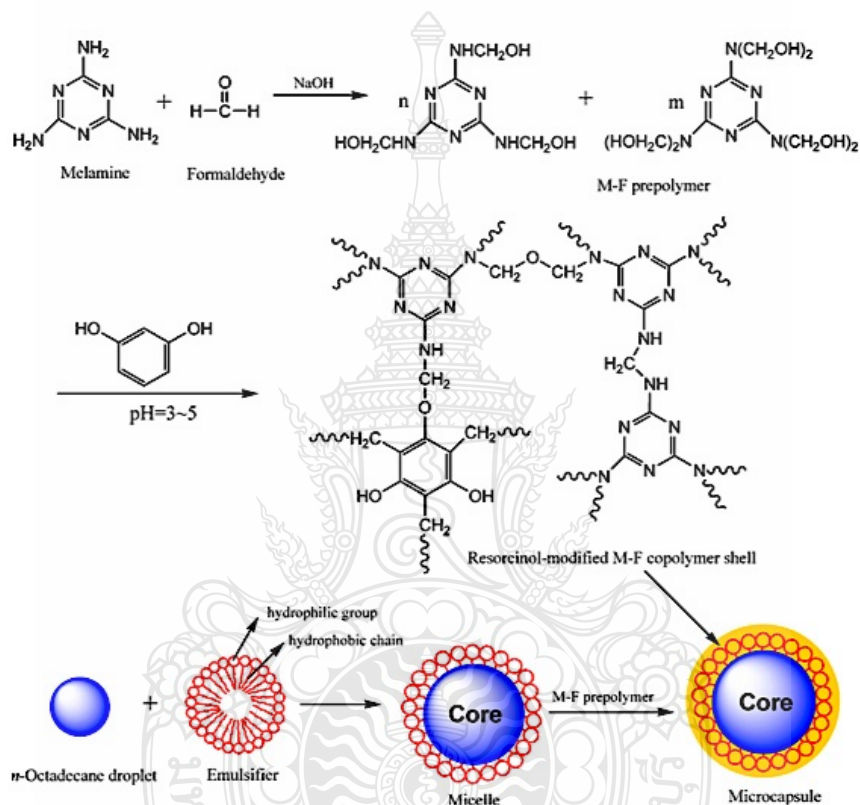


ภาพที่ 2.12 การสังเคราะห์พอลิไดไวนิลเบนซีนไมโครแคปซูลกักเก็บออกตะเดเคนด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย [69]

2.4.2.3 การสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่รอยต่อระหว่างผิว

การสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่รอยต่อระหว่างผิว (Interfacial polymerization) เป็นการสังเคราะห์ที่ไม่เกิดการแยกวัฏภาค ประกอบด้วยสองเทคนิค คือ การสังเคราะห์แบบอินซิทู (In situ polymerization) และการสังเคราะห์แบบควบแน่น โดยการสังเคราะห์แบบอินซิทูจะแบ่งออกเป็นสองขั้นตอน ขั้นแรก คือ การสังเคราะห์พอลิเมอร์ตั้งต้น (Prepolymer) ที่จะใช้เป็นวัสดุกักเก็บ และขั้นที่สอง คือ การเตรียมหยดของสารแกนกลางที่ต้องการกักเก็บกระจายในน้ำที่มีสารลดแรงตึงผิวล้อมรอบ เมื่อนำทั้งสองส่วนผสมกัน พอลิเมอร์จะถูกดึงดูมาเกาะที่ผิวของหยดสารแกนกลาง และทำการปรับสภาวะให้เหมาะสมเพื่อให้เกิดพันธะระหว่างเปลือกพอลิเมอร์และหยดสารแกนกลาง [63, 71] ดังภาพที่ 2.13 ส่วนการสังเคราะห์แบบควบแน่น จะมีวิธีการสังเคราะห์ที่ไม่มีการแยกขั้นตอนเหมือนการสังเคราะห์วิธีแรก หลักการสำคัญในการสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้จะใช้

มอนอเมอร์สองชนิด มีทั้งมอนอเมอร์ที่ชอบน้ำ (Hydrophilicity monomer) ละลายร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยาในวัฏภาคต่อเนื่องและมอนอเมอร์ที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity monomer) ละลายรวมเป็นเนื้อเดียวกันกับสารแกนกลางเป็นชั้นวัฏภาคอินทรีย์ นำทั้งสองส่วนรวมกันปั่นเตรียมหยดวัฏภาคอินทรีย์แล้วทำการสังเคราะห์จะเกิดการสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่รอยต่อที่ผิวของหยดระหว่างมอนอเมอร์ทั้งสอง เกิดเป็นเปลือกกักเก็บสารแกนกลางไว้ภายใน [63, 72]



ภาพที่ 2.13 การสังเคราะห์ไมโครแคปซูล ด้วยกระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่รอยต่อระหว่างผิว โดยการสังเคราะห์แบบอินซิทู [71]

2.5 เทคนิคการสังเคราะห์พอลิเมอร์

เทคนิคการสังเคราะห์พอลิเมอร์ (Polymerization technique) โดยทั่วไปแบ่งออกเป็นสองระบบใหญ่ ๆ คือ การสังเคราะห์ระบบเนื้อเดียวหรือแบบเอกพันธ์ (Homogeneous system) และการสังเคราะห์ระบบเนื้อผสมหรือแบบวิวิธพันธ์ (Heterogeneous system)

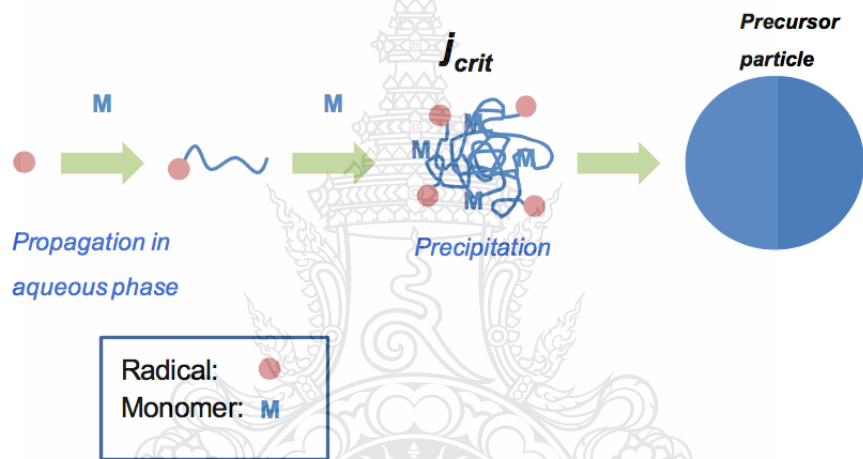
2.5.1 การสังเคราะห์ระบบเนื้อเดียวหรือแบบเอกพันธ์

การสังเคราะห์ด้วยระบบนี้ ทั้งก่อนและหลังการสังเคราะห์ในระบบจะเป็นเนื้อเดียวกัน สามารถแบ่งออกเป็นสองเทคนิค คือ การสังเคราะห์แบบกะ (Bulk polymerization) และการสังเคราะห์แบบสารละลาย (Solution polymerization) ความต่างของทั้งสองเทคนิคนี้ คือ ในการสังเคราะห์แบบกะจะไม่มีตัวทำละลายในระบบ จะมีเพียงแค่มอนอเมอร์และตัวริเริ่มปฏิกิริยาเท่านั้น ทำให้พอลิเมอร์ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง ไม่มีการเจือปนของตัวทำละลาย แต่ด้วยคุณสมบัติของพอลิเมอร์เมื่อเกิดการต่อสายโซ่ยาวขึ้น จะทำให้ความหนืดเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย การเคลื่อนที่ของสายโซ่ลดลง เกิดการสิ้นสุดปฏิกิริยา (Termination step) ลดต่ำลง ไม่มีตัวทำละลายช่วยในการถ่ายเทความร้อน ระบบจะเกิดความร้อนสูง เกิดเป็น “ปรากฏการณ์เจล (Gel effect หรือ Autoacceleration)” เพื่อลดจุดบกพร่องของเทคนิคนี้ จึงมีการเติมตัวทำละลายในการสังเคราะห์แบบสารละลาย เพื่อช่วยในเรื่องการถ่ายเทความร้อนระหว่างการเกิดการต่อสายโซ่ และช่วยลดความหนืดภายในระบบ แต่ข้อเสีย คือ พอลิเมอร์ที่ได้จะมีความบริสุทธิ์ที่ต่ำ เนื่องจากการปนเปื้อนของตัวทำละลาย จึงจำเป็นต้องผ่านกระบวนการทำให้พอลิเมอร์บริสุทธิ์ก่อนนำไปใช้งาน [73]

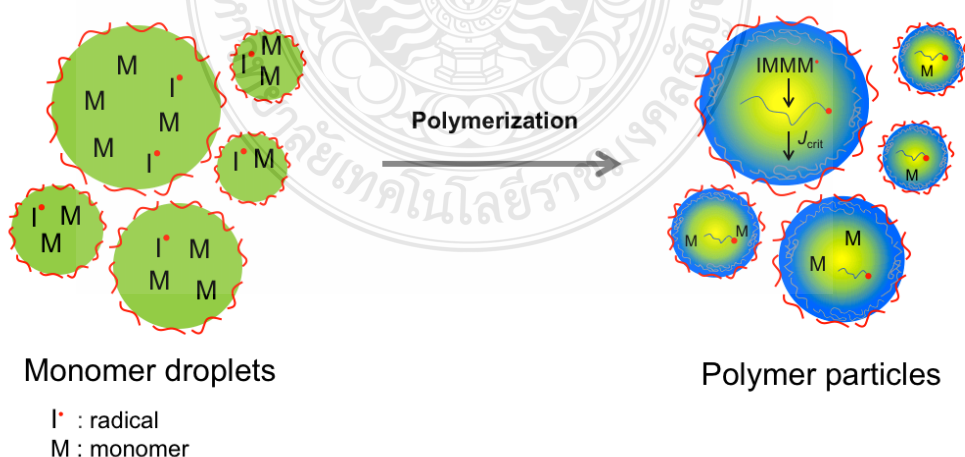
2.5.2 การสังเคราะห์ระบบเนื้อผสมหรือแบบวิวิธพันธ์

การสังเคราะห์ระบบนี้ ก่อนการสังเคราะห์ในระบบจะเป็นเนื้อเดียวกันหรือเนื้อผสมก็ได้ แต่หลังการสังเคราะห์จะได้สารเนื้อผสมอนุภาคพอลิเมอร์กระจายตัวในวัฏภาคต่อเนื่องเป็นระบบที่นิยมในระดับอุตสาหกรรม เพราะได้พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง มีการถ่ายเทความร้อนที่ดี เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถนำพอลิเมอร์ที่ได้ไปใช้โดยตรง ประกอบด้วยหลายเทคนิค เช่น การสังเคราะห์แบบตกตะกอน (Precipitation polymerization) การสังเคราะห์แบบกระจาย (Dispersion polymerization) การสังเคราะห์แบบแขวนลอย การสังเคราะห์แบบมินิมัลชัน และการสังเคราะห์แบบอิมัลชัน (Emulsion polymerization) ซึ่งจะเกิดผ่านกลไกการเกิดอนุภาค (Particle formation) ต่างกัน 3 แบบ คือ กลไกการเกิดอนุภาคแบบเนื้อเดียว (Homogeneous nucleation) แบบเกิดภายในหยด (Droplet nucleation) และแบบไมเซลล์าร์ (Micellar nucleation)

กลไกการเกิดอนุภาคแบบเนื้อเดียว เป็นกลไกที่เกิดในการสังเคราะห์แบบตกตะกอน และการสังเคราะห์แบบกระจาย ต่างกันที่การใช้สารลดแรงตึงผิว โดยแบบตกตะกอนจะไม่มี การใช้สารลดแรงตึงผิว ในระบบมีเพียงมอนอเมอร์ละลายในวัฏภาคต่อเนื่องร่วมกับตัวริเริ่มปฏิกิริยา เมื่อเกิดปฏิกิริยาจะเกิดการต่อสายโซ่พอลิเมอร์ต่อเนื่อง จนไม่สามารถละลายในตัวกลางได้ ที่ความยาววิกฤต (J_{crit}) จะเกิดการรวมตัวกันของสายโซ่พอลิเมอร์เกิดเป็นอนุภาคโดยหันส่วนที่ชอบ ตัวกลางออกด้านนอก ส่วนที่ไม่ชอบตัวกลางเข้าด้านในและเกิดการตกตะกอน สำหรับการสังเคราะห์แบบกระจายมีกลไกเหมือนกันแต่จะใช้สารลดแรงตึงผิวมาหุ้มที่ผิวอนุภาคทำให้มีความเสถียรมากกว่า ป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาค จึงทำให้อนุภาคที่ได้มีขนาดเล็กกว่าแบบตกตะกอน [73] ดังภาพที่ 2.14



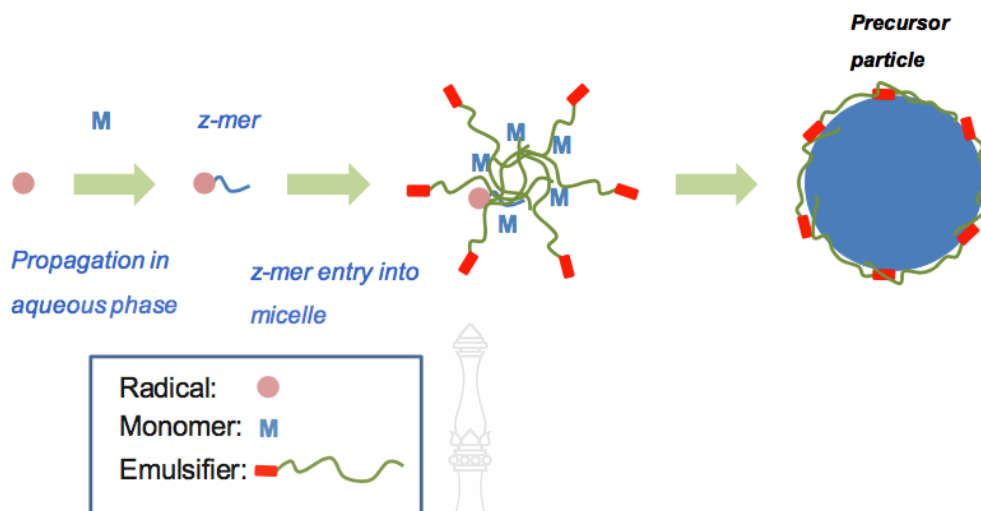
ภาพที่ 2.14 กลไกการเกิดอนุภาคแบบเอกพันธ์ [73]



ภาพที่ 2.15 กลไกการเกิดอนุภาคแบบเกิดภายในหยด

กลไกการเกิดอนุภาคแบบเกิดภายในหยด เป็นกลไกที่เกิดในการสังเคราะห์แบบแขวนลอย และการสังเคราะห์แบบมินิมัลชัน โดยขั้นแรก คือ การเตรียมวัฏภาคกระจายประกอบด้วยมอนอเมอร์และตัวริเริ่มปฏิกิริยา และวัฏภาคต่อเนื่อง คือ ตัวกลางที่มีสารลดแรงตึงผิว เช่น น้ำ จากนั้น ทำการปั่นด้วยแรงเฉือนสูง เพื่อให้ได้หยดมอนอเมอร์กระจายในตัวกลาง โดยการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชันจะเกิดภายในหยด ดังภาพที่ 2.15 ซึ่งในการสังเคราะห์ทั้งสองระบบนี้ มีความแตกต่างกันที่ขนาดของอนุภาคที่ได้ การสังเคราะห์แบบแขวนลอยอนุภาคมีขนาดระดับไมโครเมตร และแบบมินิมัลชันมีขนาดระดับนาโนเมตร เนื่องจาก ในระบบการสังเคราะห์แบบมินิมัลชัน มีการใช้แรงเฉือนที่สูงกว่าเพื่อทำให้เกิดหยดมอนอเมอร์ ซึ่งการที่มีขนาดที่เล็กลงมากนั้นส่งผลต่อพื้นที่ผิวที่สูงขึ้นมาก สารลดแรงตึงผิวเพียงอย่างเดียวไม่สามารถรักษาความเสถียรของหยดได้เพียงพอ จึงต้องทำการเติมสารป้องกันการรวมตัวร่วม (Costabilizer) ลงไปด้วย

กลไกการเกิดอนุภาคแบบไมเซลล์าร์ เกิดขึ้นในการสังเคราะห์แบบอิมัลชัน จะเกิดจากการเติมสารลดแรงตึงผิวให้ที่ความเข้มข้นสูงกว่าค่าความเข้มข้นวิกฤต (Critical micelle concentration; CMC) ซึ่งสารลดแรงตึงผิวส่วนหนึ่งไม่สามารถละลายได้ในวัฏภาคต่อเนื่อง คือ น้ำ จึงรวมตัวกันหันส่วนที่ชอบน้ำออกด้านนอก และส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าด้านในเป็นไมเซลล์ (Micelles) จำนวนมาก ซึ่งในระบบมีการเติมมอนอเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้บางส่วนตามค่าการละลายน้ำ (Water solubility) และตัวริเริ่มปฏิกิริยาที่ละลายอยู่ในน้ำเมื่อให้ความร้อนแก่ระบบ จะเริ่มการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชันในชั้นน้ำ เมื่อสายโซ่พอลิเมอร์ยาวจนถึงจุดที่ความมีขั้วลดลง (Z-mer) จะเคลื่อนเข้าไปในไมเซลล์ และเกิดพอลิเมอร์ไรเซชันอยู่ภายในต่อไป โดยหยดมอนอเมอร์จะทำหน้าที่เป็นแหล่งจ่ายมอนอเมอร์ (Monomer supply) ดังภาพที่ 2.16 ซึ่งในการสังเคราะห์ระบบนี้ถ้าไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวหรือความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวต่ำกว่าจุด CMC จะเกิดอนุภาคแบบเนื้อเดียว

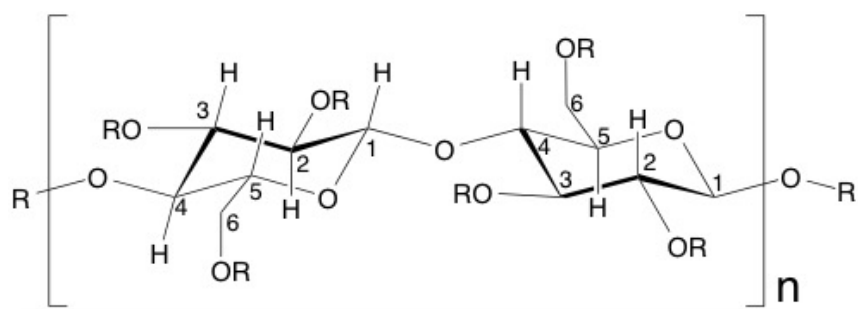


ภาพที่ 2.16 กลไกการเกิดอนุภาคแบบไมเซลล์าร์ [73]

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลที่มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารต้านอนุมูลอิสระประเภทสารพอลิฟีนอลเป็นที่นิยมในอุตสาหกรรม เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระนั้นพบมากในผักและผลไม้ต่าง ๆ [11, 29, 74] มีประโยชน์หลากหลาย เช่น ด้านอาหารเสริมทางโภชนาการ (Functional foods) ทางโภชนเภสัชหรือการใช้อาหารเป็นยา (Nutraceutical) และอุตสาหกรรมด้านยา (Pharmaceutical industries) ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพ [21, 75] ซึ่งความสามารถในการออกฤทธิ์ของสารพอลิฟีนอลขึ้นอยู่กับความเสถียรในการเก็บรักษา การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารเมื่อนำมาใช้โดยตรงนั้นจะมีประสิทธิภาพลดลง เพื่อการเก็บรักษาสารสำคัญไม่ให้ลดประสิทธิภาพลง สามารถเก็บสารได้นานยิ่งขึ้น มีอัตราการปลดปล่อยที่คงที่ จึงมีการใช้เทคโนโลยีในการกักเก็บหรือห่อหุ้มสารสำคัญ เช่น การดกตะกอนด้วยสารเคมี เทคนิคการพ่นแบบแห้ง เทคนิคการพ่นแบบเย็น การกักเก็บในรูปแบบอิมัลชัน เป็นต้น [21] การกักเก็บสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น กรดแกลลิก ซึ่งสกัดจากกากผลเชอร์รี่รสเปรี้ยว (Sour cherry pomace) หรือผลไม้จำพวกเบอร์รี่ [11, 74, 76] สำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านอาหารและยาต้องมีความปลอดภัยสูงจึงใช้วัสดุจากธรรมชาติเป็นหลัก จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่าทั้งพอลิเมอร์ชีวภาพโดยเฉพาะประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น ไฮโดรคัลลิกทิน สารผสมระหว่างสาหร่ายและไคโตซาน [77] มอนโทเดรีกทิน และกัมแอราบิค หรือพอลิเมอร์สังเคราะห์บางชนิด [65, 74, 78] ได้รับความนิยมในการใช้กักเก็บสารสำคัญต่าง ๆ ซึ่งมอนโทเดรีกทิน และกัมแอราบิคนั้นได้รับความนิยมสูงในการนำมาใช้กักเก็บกรดแกลลิก โดยมักใช้ควบคู่กัน โดยใช้

เทคนิคการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยการเตรียมสารละลายของวัสดุที่เป็นเปลือกป่นรวมกับสารละลายของกรดเกลติกในอัตราส่วนที่เหมาะสมให้อยู่ในรูปสารแขวนลอยด้วยแรงเหวี่ยงสูง และทำให้แห้งด้วยความเย็นที่อุณหภูมิติดลบ จะได้ขนาดของแคปซูลในระดับไมโครเมตร แต่ยังไม่พบการเตรียมแคปซูลดังกล่าวในระดับนาโนเมตร โดยขนาดของแคปซูลในระดับนาโนเมตรนั้นจะเพิ่มประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ได้ดียิ่งขึ้น และด้วยขนาดที่เล็กมากทำให้สามารถซึมผ่านเส้นเลือดฝอยขนาดเล็ก และผ่านเข้าสู่เซลล์และช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อ เพื่อไปสู่อวัยวะที่ต้องการได้ [79] ด้วยคุณสมบัติของกรดเกลติกที่เลือกเป็นสารแกนกลางในระบบนี้ มีคุณสมบัติที่ละลายน้ำได้ค่อนข้างสูง [7, 11] ส่งผลต่อการเลือกชนิดของพอลิเมอร์ชีวภาพ จะต้องใช้พอลิเมอร์ที่มีความชอบน้ำเป็นเปลือก เพื่อให้เกิดการแยกวัฏภาคที่ดี และมีประสิทธิภาพการกักเก็บที่สูง โดยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีการประยุกต์ใช้มากในผลิตภัณฑ์ทางด้านอาหารและยาอุตสาหกรรมเภสัชกรรม การทำไฮโดรเจล (Hydrogel) [80] เพื่อกักเก็บน้ำ (Water retention) [40, 81] ด้วยคุณสมบัติของเซลลูโลสชนิดนี้ที่เป็นพอลิอิเล็กโทรไลต์ (Polyelectrolyte) เนื่องจากมีเกลือโซเดียมอยู่ในโครงสร้าง ดังภาพที่ 2.17 [40] จึงเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีประสิทธิภาพ ตอบสนองต่อค่าพีเอช และมีความสามารถในการขยายตัวหรือบวมตัวได้ดี (Swelling capability) [40, 43, 80] เมื่อทำการเชื่อมโยงร่างแหภายในโครงสร้างโดยใช้สารเชื่อมร่างแห เช่น ไดไวนิลซัลโฟน (Divinyl sulfone) [82] กรดซิตริก (Citric acid) [83] กรดฟูมาลิก (Fumaric acid) [43] อีพิคลอโรไฮดริน (Epichlorohydrin) [84] หรืออัลดีไฮด์ (Aldehydes) [85] จะมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นยังสามารถทำการปรับเปลี่ยนหมู่ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสด้วยสารคู่ควบไซเลน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการโคพอลิเมอร์ เชื่อมกับมอนอเมอร์ชนิดอื่น ผ่านกลไกอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ คาร์บอกซีเมทิล-เซลลูโลส ยังมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ความเป็นพิษต่อร่างกายต่ำ ทำให้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านระบบการนำส่งยา (Drug delivery system) และควบคุมการปลดปล่อย [39, 80] และเครื่องสำอางได้



NaCMC: $R=H; CH_2COO\cdot Na^+$

ภาพที่ 2.17 โครงสร้างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส โซเดียมซอลท์ [40]

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลที่มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสกัดจากถั่วเหลืองในระดับไมโครและนาโนเมตร โดยเลือกกรดแกลลิกเป็นสารแม่แบบของสารสกัดเพื่อใช้เป็นสารแกนกลางในระบบ และใช้เซลลูโลสซึ่งเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติ ที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพและสามารถย่อยสลายได้เองในธรรมชาติ คือ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เป็นเปลือกกักเก็บกรดแกลลิกไว้ภายใน โดยจากการสืบค้นข้อมูลพบว่ายังไม่มี การนำเซลลูโลสชนิดนี้ มาประยุกต์ใช้เพื่อเตรียมแคปซูลกักเก็บสารต้านอนุมูลอิสระดังกล่าว ซึ่งคาดว่าแคปซูลที่ได้จะมีประสิทธิภาพการกักเก็บที่ดี และสามารถปลดปล่อยสารที่ถูกกักเก็บได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถผลิตเพื่อต่อยอดทางด้านอุตสาหกรรมและในเชิงพาณิชย์ทางด้านเครื่องสำอางและสารบำรุงผิว และน่าจะสามารถนำไปพัฒนาและไปประยุกต์ใช้ในงานวิจัยอื่น ๆ ได้

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้

สารเคมี	เกรด	ยี่ห้อ
1. คาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส (Mw 90,000 g/mole) (Carboxymethyl cellulose; CMC) (DS = 0.7)	Analytical grade	Acros organics
2. กรดแกลลิก (Gallic acid; GA)	Purity 98%	Acros organics
3. กรดเมทาคริลิก (Methacrylic acid; MAA)	Purity 99%	Sigma-Aldrich
4. 3-(ไตรเมทอกซีไซลิล)โพรพิล เมทาคริเลต (3-(Trimethoxysilyl)propyl methacrylate; MPS)	Purity 98%	Aldrich
5. โทลูอีน (Toluene)	Analytical reagent	RCI Labscan
6. กรดอะซิติกบริสุทธิ์ (Gracial acetic acid)	Analytical reagent	RCI Labscan
7. ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต (PEG-30 Dipolyhydroxystearate; DPHS)	-	Croda
8. ซอร์บิแทน มอนอโอเลอเทอ (Sorbitan monooleate; Span-80)	Analytical reagent	-

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

สารเคมี	เกรด	ยี่ห้อ
9. เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ (Benzoyl peroxide; BPO)	Analytical reagent	Aldrich
10. 2, 2'-อะโซบิส [N-(2-คาร์บอกซีเอทิล)-2- เมทิลโพรพินามิดีน]ไฮเดรต (2, 2'-Azobis[N-(2- carboxyethyl)-2- methylpropionamidine]hydrate; VA-057)	-	Wako Pure Chemical
11. โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate; KPS)	Analytical reagent	Acros organics
12. โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulphate; SDS)	Analytical reagent	Ajax Finechem
13. เมทิลเมทาคริเลต (Methyl methacrylate; MMA)	Reagent Plus 99%	Sigma-Aldich
14. ไตรเมทิลลอลโพรเพน ไตรเมทาคริเลต (Trimethylolpropane trimethacrylate; TRIM)	Technical grade	Sigma-Aldich
15. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide; KOH)	Analytical reagent	Ajax Finechem
16. 1, 4-ไดออกเซน (1, 4-Dioxane)	Analytical reagent	RCI Labscan
17. เอทานอล (Ethanol)	Analytical reagent	RCI Labscan
18. ไดเมทิลฟอร์มามิด (Dimethylformamide; DMF)	Analytical reagent	RCI Labscan

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

สารเคมี	เกรด	ยี่ห้อ
19. ไคลอโรโรมีเทน (Dichloromethane; DCM)	Analytical reagent	RCI Labscan
20. อะซิโตน (Acetone)	Analytical reagent	RCI Labscan
21. เอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate; EtAc)	Analytical reagent	RCI Labscan
22. ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide; DMSO)	Purity≥99%	Merck
23. เททระไฮโดรฟูแรน (Tetrahydrofuran; THF)	Analytical reagent	RCI Labscan
24. โซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (Sodium hydrogen ortho phosphate; NaH_2PO_4)	Analytical reagent	Ajax Finechem
25. ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (Disodium hydrogen ortho phosphate; Na_2HPO_4)	Analytical reagent	Ajax Finechem
26. (3-(4, 5-ไดเมทิลไทอะซอล-2-อิล)-2, 5-ไดฟีนิล) เททระโซเลียม โบรไมด์ (3-(4, 5-Dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-Diphenyltetrazolium Bromide; MTT)	-	Invitrogen™
27. อาหารเลี้ยงเชื้อ (Dulbecco's Modified Eagle Medium; DMEM)	-	Gibco™
28. แก๊สไนโตรเจน (Nitrogen gas; N_2)	Purity, 99.99%	Praxair

3.1.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์

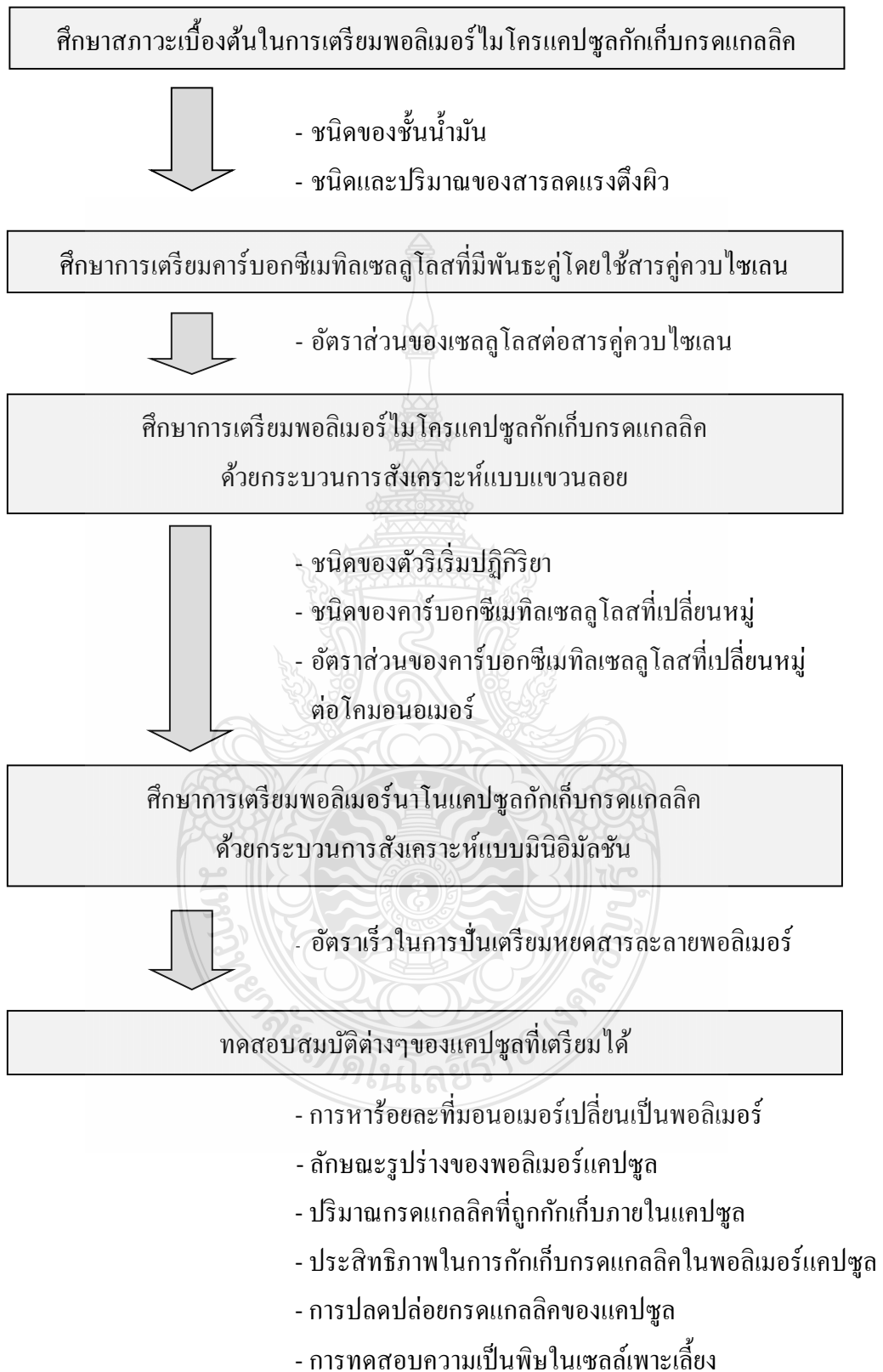
ตารางที่ 3.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้

เครื่องมือ และอุปกรณ์	รุ่น	ยี่ห้อ
1. เครื่องยูวีวิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrophotometer)	LAMBDA 35	Perkin Elmer
2. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Optical microscope; OM)	SK-100EB & SK-100ET	Seek
3. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM)	JSM 6510	JEOL
4. เครื่องวัดขนาดอนุภาค (Dynamic light scattering; DLS)	Delsa nano C	Beckman
5. เครื่องปั่นสารด้วยแรงเฉือน (Homogenizer)	T25	IKA
6. เครื่องกวนแม่เหล็กแบบใช้ความร้อน (Hotplate stirrer)	C-MAG HS7	IKA
7. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)	SPINNETTE	IEC
8. อัลตราโซนิเคเตอร์ (Ultrasonicator)	Vibra cell	Sonic & Materials
9. เครื่องเทอร์โมกราวิเมตริกอะนาไลเซอร์ (Thermogravimetric analyzer; TGA)	TGA 4000	Perkin Elmer
10. เครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริมิเตอร์ (Differential scanning calorimeter; DSC)	DSC 4000	Perkin Elmer

ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

เครื่องมือ และอุปกรณ์	รุ่น	ยี่ห้อ
11. ตู้อบสูญญากาศ (Vacuum oven)	DZF-6051	DZF
12. เครื่องโปรตรอน-นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Proton-Nuclear Magnetic Resonance spectrophotometer; $^1\text{H-NMR}$)	300 Ultra Shield	Bruker
13. เครื่องฟูริเยร์ทรานส์ฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Fourier Transform Infrared spectrophotometer; FTIR)	Nicolet iS5	Thermo Scientific
14. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (Gas chromatograph; GC)	Varian Star 3400	Agilent
15. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow Cabinet)	1300 SERIES A2	Thermo Scientific
16. ตู้เพาะเลี้ยงเชื้อ (Incubator)	BIND_6017	Binder
17. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Absorption spectrophotometer)	GloMax [®] -Multi Detection System	Promega

3.2 แผนผังของงานวิจัย



3.3 การทดลอง

3.3.1 การศึกษาสภาวะเบื้องต้นในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเบื้องต้นในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก จะทำการเตรียมหยดสารละลายอินทรีย์แบบดั้งเดิมโดยการปั่นเตรียมหยดด้วยไฮโมจิโนเซอร์ ด้วยอัตราการปั่นที่เหมาะสม จะทำให้สารละลายอินทรีย์ของวัฏภาคน้ำกระจายเป็นหยดสารละลายอินทรีย์ในวัฏภาคน้ำมัน ซึ่งมีขนาดระดับไมโครเมตร และจะถูกหุ้มด้วยสารลดแรงตึงผิวทำให้ไม่เกิดการรวมตัวกันของหยด ซึ่งระบบจะประกอบไปด้วยวัฏภาคกระจายและวัฏภาคต่อเนื่อง ดังนี้

- วัฏภาคกระจาย หรือวัฏภาคน้ำ คือ สารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและกรดแกลลิกในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ละลายน้ำ (water-soluble solvent)
- วัฏภาคต่อเนื่อง หรือวัฏภาคน้ำมัน คือ ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่ละลายกรดแกลลิก และสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ป้องกันการรวมตัวกันของหยด

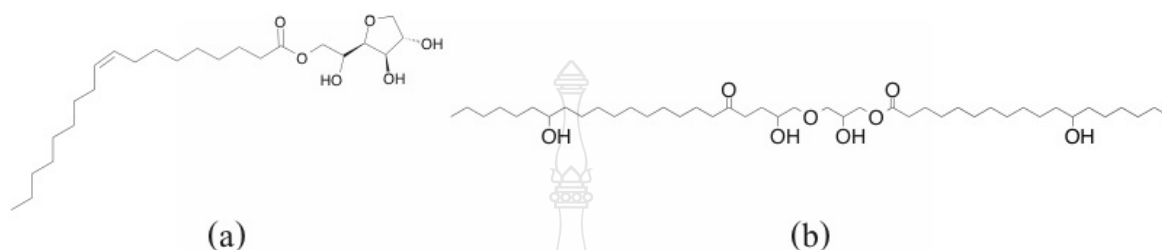
โดยในเบื้องต้นได้ทำการศึกษายปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้

3.3.1.1 ชนิดของชั้นน้ำมัน

ในการเลือกชนิดของชั้นน้ำมันหรือวัฏภาคต่อเนื่องที่เหมาะสมจะพิจารณาจากความสามารถในการละลายของกรดแกลลิกในชั้นน้ำมันนั้น ซึ่งชั้นน้ำมัน คือ ตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำ เนื่องจากกรดแกลลิกเป็นโมเลกุลมีขั้ว มีความสามารถในการละลายน้ำได้ จึงต้องเลือกตัวทำละลายที่ไม่สามารถละลายกรดแกลลิกได้ และเห็นการแยกชั้นระหว่างวัฏภาคน้ำและน้ำมันอย่างชัดเจน ซึ่งตัวทำละลายที่เลือกศึกษามีความมีขั้วต่าง ๆ กัน คือ โทลูอิน เอทิลอะซิเตท ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และ 1, 4- ไดออกเซน โดยจะพิจารณาจากความสามารถในการเข้ากันได้ของกรดแกลลิก และตัวทำละลายแต่ละชนิด และพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมจากความเสถียรของหยดสารละลายพอลิเมอร์

3.3.1.2 ชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิว

สารลดแรงตึงผิวจะมีผลต่อความเสถียรทางคอลลอยด์ของหยดสารละลายอินทรีย์ จึงจะทำการศึกษาการใช้สารลดแรงตึงผิวที่นิยมใช้ทั่วไป 2 ชนิด คือ สเปน 80 และ ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต (โครงสร้างดังภาพที่ 3.1) ที่ปริมาณร้อยละ 1 - 3 โดยน้ำหนัก ดังสถานะในตารางที่ 3.3



ภาพที่ 3.1 โครงสร้างทางเคมีของสเปน 80 (a) และ ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต (b)

ตารางที่ 3.3 สถานะในการเตรียมไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกแลคติกที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดและปริมาณต่าง ๆ ^a

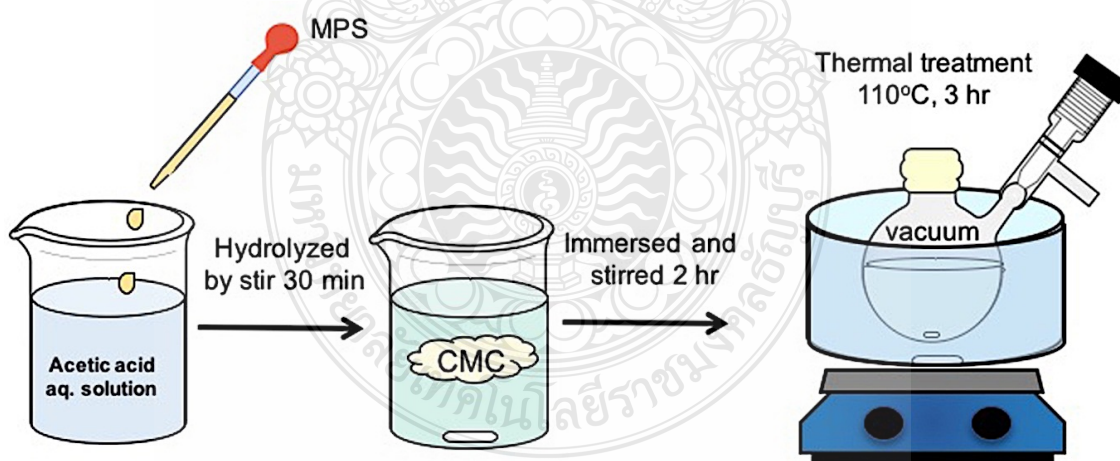
Chemical		Span-80 (wt%)			DPHS (wt%)		
		1	2	3	1	2	3
Dispersed phase (water)	CMC solution (g) ^b	2.500	2.500	2.500	2.500	2.500	2.500
	GA (g)	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125
Continuous phase (oil)	Toluene (g)	22.500	22.500	22.500	22.500	22.500	22.500
	Surfactant (g)	0.250	0.500	0.750	0.250	0.500	0.750

หมายเหตุ: ^a อัตราเร็วในการปั่น 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

^b สารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสในน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (สถานะเบส พีเอช 8)

3.3.2 การศึกษาการเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีพันธะคู่โดยใช้สารคู่ควบไซเลน

ในขั้นตอนนี้เริ่มจากการเตรียมไฮโดรไลซิสสารคู่ควบไซเลน ซึ่งเลือกใช้ 3-(ไทรเมทอกซีไซลิล)โพรพิล เมทาคริเลต หรือเอ็มพีเอส เพื่อเปลี่ยนหมู่ในโมเลกุลของสารคู่ควบไซเลนจากหมู่เมทอกซี (Methoxy group; $-OCH_3$ group) เป็นหมู่ซิลานอล (Silanol group; $Si-OH$ group) เริ่มจากการละลายเอ็มพีเอสในสารละลายกรดอะซิติกที่พีเอช 4 ทำการปั่นเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จนได้เป็นสารละลายใส จากนั้นเติมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเพื่อปั่นและละลายเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะได้สารละลายใสเนื้อเดียวกัน เติมตัวยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา (สารละลายไฮโดรควิโนนความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก) จากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง แผนภาพการเตรียมหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสโดยการทำปฏิกิริยากับสารคู่ควบไซเลน แสดงในภาพที่ 3.2 โดยศึกษาอัตราส่วนระหว่างเซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลนที่ 50:50 67:33 และ 75:25 ดังตารางที่ 3.4 หลังจากทำการปรับเปลี่ยนหมู่ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสแล้วนำไปใช้ในการสังเคราะห์ด้วยกระบวนการแขวนลอยต่อไป และนำบางส่วนทำให้บริสุทธิ์ (Purification) เพื่อกำจัดสารคู่ควบไซเลนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออก โดยล้างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่แล้ว (Modified-CMC; m-CMC) ด้วยเอทานอล [18] และทำการตกผลึกซ้ำ (Recrystallization) ก่อนนำไปทดสอบด้วยเทคนิค FTIR และ ^1H-NMR



ภาพที่ 3.2 แผนภาพแสดงการเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีพันธะคู่โดยการทำปฏิกิริยากับสารคู่ควบไซเลน

ตารางที่ 3.4 สภาวะในการเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีพันธะคู่โดยการทำปฏิกิริยากับสารคู่ควบไซเลน

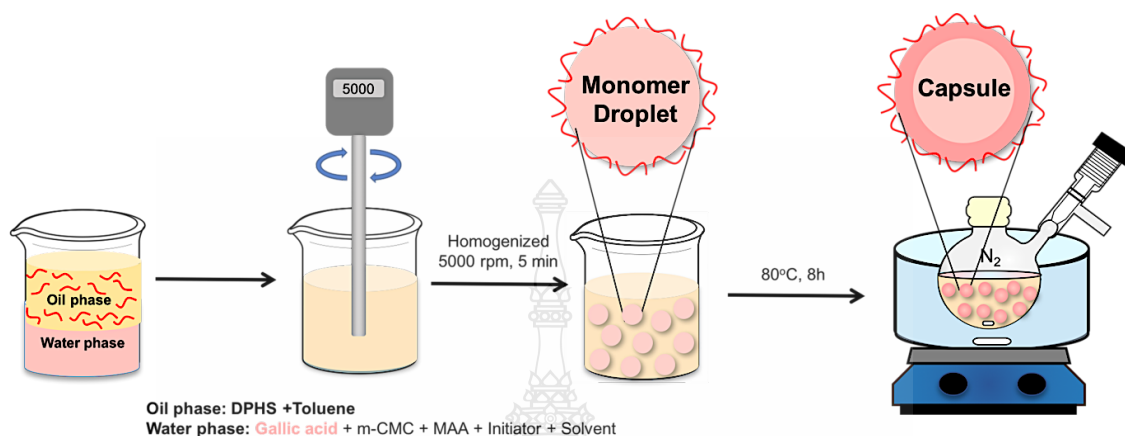
Chemical	CMC:MPS		
	50:50	67:33	75:25
CMC (g)	2.00	2.70	3.00
MPS (g)	2.00	1.30	1.00
Acetic acid aqueous solution ^a (g)	100.00	100.00	100.00

หมายเหตุ ^a สารละลายกรดอะซิติก พีเอช 4

3.3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย

ในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอยในงานวิจัยส่วนนี้จะทำการกราฟท์ (Graft) พอลิเมอร์ชนิดอื่นลงบนสายโซ่ของเซลลูโลส โดยเลือกใช้กรดเมทาคริลิก ซึ่งเป็นมอนอเมอร์ที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ กราฟท์ลงบนสายโซ่ของเซลลูโลสที่ทำให้มีพันธะคู่ ผ่านกลไกการสังเคราะห์แบบอนุมูลอิสระสำหรับเป็นเปลือกแคปซูล และใช้กรดแกลลิกเป็นสารแม่แบบของสารสกัดจากถั่วเหลือง เนื่องจากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้ดี ในขณะที่กรดแกลลิกสามารถละลายน้ำได้บางส่วน (12 กรัมในน้ำ 100 มิลลิลิตร) [86] จึงเลือกทำการเตรียมหดยดสารละลายพอลิเมอร์ในระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมัน โดยเริ่มจากการเตรียมสารละลายวัฏภาคกระจาย หรือวัฏภาคน้ำ โดยการละลายกรดแกลลิกด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม จะได้สารละลายใสของกรดแกลลิก จากนั้นนำมาผสมกับสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ให้เป็นเนื้อเดียวกัน ในขณะเดียวกันทำการผสมกรดเมทาคริลิกกับตัวริเริ่มปฏิกิริยาให้เป็นเนื้อเดียวกัน ผสมทั้งสองส่วนนี้จะได้สารละลายเนื้อเดียว เทลงในสารละลายของโทลูอินและสารลดแรงตึงผิวซึ่งเป็นชั้นน้ำมัน ปั่นด้วยแรงเหวี่ยงด้วยอัตราเร็วที่เหมาะสมจะได้ อิมัลชันน้ำในน้ำมัน ทำการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม จะได้พอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก โดยใช้สภาวะดังตารางที่ 3.5 วิธีการเตรียมไมโครแคปซูล แสดงใน

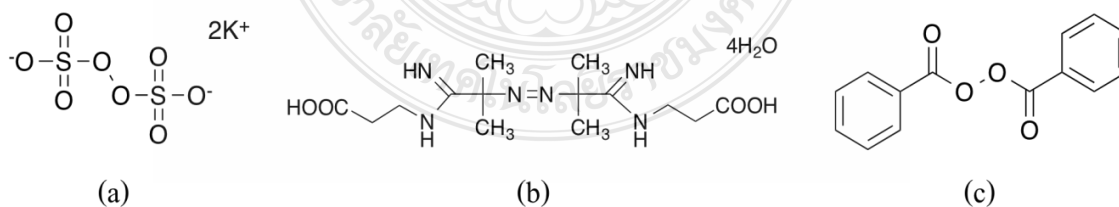
ภาพที่ 3.3 โดยจะศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดแคปซูล ความเสถียรทางคอลลอยด์และประสิทธิภาพการกักเก็บสาร ดังนี้



ภาพที่ 3.3 แผนภาพการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกในระบบน้ำในน้ำมัน ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย

1) ชนิดของตัวริเริ่มปฏิกิริยา

ในการเลือกชนิดตัวริเริ่มปฏิกิริยาในชั้นน้ำหรือวัฏภาคกระจายที่เหมาะสมจะพิจารณาจากความสามารถในการละลายของตัวริเริ่มปฏิกิริยา ในตัวทำละลายของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่และกรดแกลลิก และอุณหภูมิของการเกิดปฏิกิริยา 3 ชนิด โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาศักยภาพของตัวริเริ่มปฏิกิริยา 3 ชนิดคือ โฟแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต 2, 2'-อะโซบิส [N-(2-คาร์บอกซีเอทิล)-2-เมทิลโพรพิลนัมดิน]ไฮเดรต (วีเอ-057) และเบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ โครงสร้างดังภาพที่ 3.4



ภาพที่ 3.4 โครงสร้างทางเคมีของโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (a) วีเอ-057 (b) และเบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ (c)

2) อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเซลลูโลสและสารก่อกวนไขเลน

ในขั้นตอนนี้ จะทำการเลือกคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ที่เหมาะสมที่เตรียมได้จากขั้นตอนที่ 3.3.2 ซึ่งใช้อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อสารก่อกวนไขเลนต่าง ๆ ซึ่งจะมีผลต่อปริมาณของพันธะคู่บนสายโซ่เซลลูโลสและความสามารถในการละลาย โดยใช้อัตราส่วนมอนอเมอร์ต่อกรดแกดอลิกที่ร้อยละ 50:50 โดยน้ำหนัก และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิกที่ร้อยละ 50:50 โดยน้ำหนัก โดยใช้อุณหภูมิในการสังเคราะห์ที่ 80 องศาเซลเซียส 8 ชั่วโมง โดยใช้สภาวะดังตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 สภาวะในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกดอลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอยโดยใช้คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ที่อัตราส่วนระหว่างเซลลูโลสและสารก่อกวนไขเลนต่าง ๆ

Phase	Chemical	
Dispersed phase (water)	m-CMC ^a (g)	0.625
	MAA (g)	0.625
	GA (g)	1.250
	VA-057 ^b (g)	0.050
	Mixture solvent ^c (g)	5.000
Continuous phase (oil)	Toluene (g)	22.500
	DPHS (g)	0.750

หมายเหตุ ^a สารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ด้วยสารก่อกวนไขเลน ที่อัตราส่วน (ร้อยละโดยน้ำหนัก) 50:50 67:33 และ 75:25

^b ตัวริเริ่มปฏิกิริยา ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยน้ำหนักของมอนอเมอร์

^c ตัวทำละลายผสม: Acetone:DI water:THF ที่อัตราส่วน 2:2:1

เนื่องจากปริมาณตัวทำละลายเริ่มต้นของวัฏภาคกระจายมีปริมาณค่อนข้างมาก ซึ่งเริ่มแรกตัวทำละลายผสมที่เลือกใช้นั้น คือ ตัวทำละลายผสมระหว่าง Acetone:DI water:THF ที่อัตราส่วน 2:2:1 ซึ่งอัตราส่วนโดยรวมระหว่างพอลิเมอร์ ต่อตัวทำละลายผสม ต่อกรดแกลลิก (กรัม) คือ 1:5:1 เมื่อทำการระเหยตัวทำละลายภายในระบบหรือการทำให้แคปซูลแห้ง แคปซูลนั้นจะมีลักษณะอ่อนนุ่ม (Soft) เนื่องจากมีตัวทำละลายอยู่ภายในแคปซูลปริมาณมาก อาจเกิดการจัดเรียงตัวใหม่และเกาะตัวกัน อาจมีผลต่อลักษณะของแคปซูลและประสิทธิภาพการกักเก็บกรดแกลลิก จึงทำการศึกษาผลของชนิดและปริมาณตัวทำละลายเพิ่มเติม โดยเปลี่ยนตัวทำละลายในวัฏภาคกระจายเป็น 1, 4-dioxane:DI water ที่อัตราส่วน 2:1 และอัตราส่วนโดยรวมระหว่าง พอลิเมอร์ ต่อตัวทำละลายผสม ต่อกรดแกลลิก (กรัม) คือ 1:3:1 ดังสภาวะตามตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 สภาวะในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลโดยใช้ตัวทำละลายผสมต่าง ๆ

Phase	Chemical	1	2
Dispersed phase (water)	m-CMC (g)	0.625	0.625
	MAA (g)	0.625	0.625
	GA (g)	1.250	1.250
	VA-057 ^a (g)	0.050	0.050
	Mixture solvent ^b (g)	5.000	3.000
Continuous phase (oil)	Toluene (g)	22.500	22.500
	DPHS (g)	0.750	0.750

หมายเหตุ ^a ตัวริเริ่มปฏิกิริยา ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยน้ำหนักของมอนอเมอร์

^b ตัวทำละลายผสม:

สภาวะที่ 1: Acetone:DI water:THF ที่อัตราส่วน 2:2:1

สภาวะที่ 2: 1,4-dioxane:DI water ที่อัตราส่วน 2:1

3) ผลของพีเอชของสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาผลของค่าพีเอชของสารละลายเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ที่สภาวะกรด (พีเอช 4) และเบส (พีเอช 9) ซึ่งคาดว่าจะมีผลทำให้การแตกตัวของหมู่คาร์บอกซิลิกบนสายโซ่เซลลูโลสเพิ่มขึ้นทำให้เซลลูโลสละลายเข้ากันได้กับสารอื่น ๆ ในวัฏภาคเดียวกันได้ดียิ่งขึ้น โดยเลือกใช้เซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ที่อัตราส่วนร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก อัตราส่วนระหว่างเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิกที่ร้อยละ 50:50 โดยน้ำหนักและอัตราส่วนระหว่างพอลิเมอร์ต่อกรดแกลลิกที่ร้อยละ 50:50 โดยน้ำหนักตัวทำละลายเป็น 1, 4-dioxane:DI water ที่อัตราส่วน 2:1

ตารางที่ 3.7 สภาวะในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่อัตราส่วนต่าง ๆ ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิก

Phase	Chemical	m-CMC:MAA			
		75:25	67:33	50:50	33:67
Dispersed phase (water)	m-CMC (g)	0.937	0.834	0.625	0.417
	MAA (g)	0.313	0.417	0.625	0.834
	GA (g)	1.250	1.250	1.250	1.250
	VA-057 ^a (g)	0.025	0.033	0.050	0.067
	Mixture solvent ^b (g)	3.000	3.000	3.000	3.000
Continuous phase (oil)	Toluene (g)	22.500	22.500	22.500	22.500
	DPHS (g)	0.750	0.750	0.750	0.750

หมายเหตุ ^a ตัวริเริ่มปฏิกิริยา ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยน้ำหนักของมอนอเมอร์

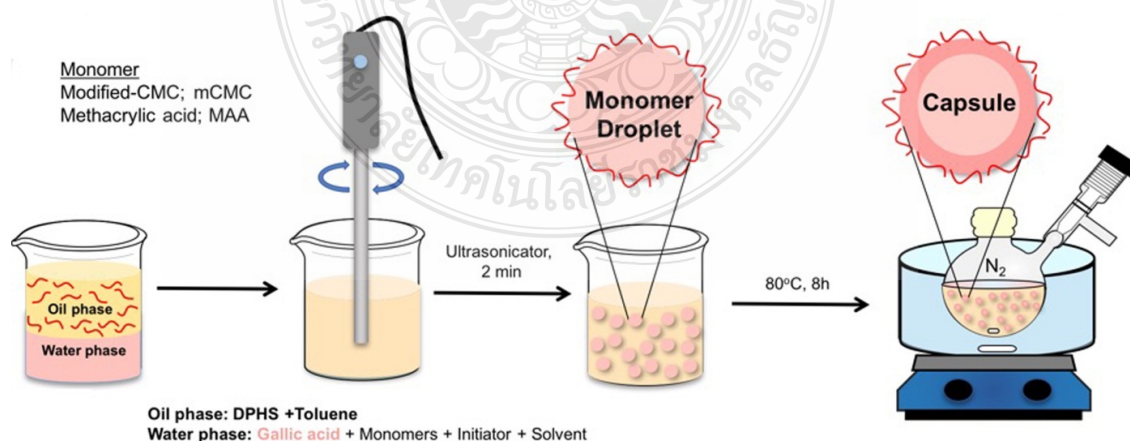
^b ตัวทำละลายผสม: 1,4-dioxane:DI water ที่อัตราส่วน 2:1

4) อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิก

ในการกราฟท์กรดเมทาคริลิกลงบนสายโซ่ของเซลลูโลส เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการกักเก็บกรดแกลลิก จะทำการศึกษาอัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิกที่เหมาะสม ดังสถานะในตารางที่ 3.7

3.3.4 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน

จากการศึกษาการเตรียมไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย ในขั้นตอนที่ 3.3.3 จะนำสถานะที่เหมาะสมที่ได้มาใช้ในการศึกษาการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน โดยเตรียมหยดสารละลายพอลิเมอร์ในระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมันด้วยอัลตราโซนิกเซน ขั้นตอนแรก คือ การเตรียมสารละลายวัฏภาคกระจาย หรือวัฏภาคน้ำ เริ่มจากเตรียมสารละลายกรดแกลลิกผสมกับสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ ในขณะเดียวกันเตรียมสารละลายกรดเมทาคริลิกกับตัวริเริ่มปฏิกิริยาให้เป็นเนื้อเดียวกัน ผสมทั้งสองส่วนนี้ เทลงในชั้นน้ำมันที่ประกอบไปด้วยโทลูอินและสารลดแรงตึงผิว ปั่นเตรียมหยดสารละลายด้วยอัลตราโซนิกเคเตอร์ จะได้อิมัลชันน้ำในน้ำมัน ทำการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จะได้พอลิเมอร์นาโนแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก โดยใช้สถานะดังตารางที่ 3.8 และวิธีการเตรียมนาโนแคปซูล ดังแสดงในภาพที่ 3.5 โดยในขั้นตอนนี้ จะทำการศึกษาผลของอัตราเร็วในการปั่นเตรียมหยดสารละลายที่ร้อยละแอมพลิจูด (%amplitude) ต่าง ๆ ที่มีผลต่อขนาดของนาโนแคปซูลที่ได้



ภาพที่ 3.5 แผนภาพการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกในระบบน้ำในน้ำมันด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน

ตารางที่ 3.8 สภาวะในการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์ แบบมินิมัลชัน ที่ร้อยละแอมพลิจูดต่าง ๆ ^a

Phase	Chemical	
Dispersed phase (water)	m-CMC (g)	0.417
	MAA (g)	0.834
	GA (g)	1.250
	VA-057 ^b (g)	0.067
	Mixture solvent ^c (g)	3.000
Continuous phase (oil)	Toluene (g)	22.500
	DPHS (g)	0.750

หมายเหตุ ^a แอมพลิจูดในการปั่นเตรียมหยดที่ร้อยละ 20 40 และ 60 เป็นเวลา 2 นาที ณ อุณหภูมิห้อง

^b ตัวริเริ่มปฏิกิริยา ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยน้ำหนักของมอนอเมอร์

^c ตัวทำละลายผสม: 1,4-dioxane:DI water ที่อัตราส่วน 2:1

3.3.5 การศึกษาลักษณะเฉพาะของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก

เมื่อทำการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกได้แล้ว จะทำการศึกษาสมบัติต่าง ๆ ดังนี้

3.3.5.1 การหาละเอียดที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์

ทำการหาละเอียดที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์ในตัวอย่างพอลิเมอร์แคปซูล ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ โดยใช้อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน ที่ 30 มิลลิลิตร/นาที อากาศอัด (Air zero) ที่ 300 มิลลิลิตร/นาที และแก๊สไฮโดรเจน ที่ 30 มิลลิลิตร/นาที ด้วยเครื่องตรวจวัด (Detector) ชนิด TCD คอลัมน์ MEGA-WAX Plus 260 องศาเซลเซียส และอัตราการให้ความร้อนที่ 10 องศาเซลเซียส/นาที โดยเริ่มจากการเตรียมสารตัวอย่างปริมาณ 200 ไมโครลิตร หรือที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักละลายในเอทานอลที่ประกอบด้วยไดเมทิลฟอร์มาไมด์

ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เป็นสารมาตรฐานภายใน (internal standard) จากนั้นทำการฉีดเข้าเครื่อง ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของมอนอเมอร์ที่เหลือ ($C_{MAA,S}$) โดยคำนวณจากสมการที่ (1) โดยนำพื้นที่พีคของกรดเมทาคริลิกมอนอเมอร์ เทียบกับไดเมทิลฟอร์มาไมด์ซึ่งได้จาก GC chromatogram และคำนวณร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์ จากสมการที่ (2)

ความเข้มข้นของมอนอเมอร์ที่เหลือ ($C_{MAA,S}$)

$$C_{MAA,S} = \left(\frac{C_{MAA,ini} \times Area_{DMF,ini} \times Area_{MAA,S}}{C_{DMF,ini} \times Area_{MAA,ini} \times Area_{DMF,S}} \right) \times C_{DMF,S} \quad (1)$$

ร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์ (%conversion)

$$\%Conversion (MAA) = \left(\frac{C_{MAA,ini} - \left(\frac{C_{MAA,S}}{10,000} \right)}{C_{MAA,ini}} \right) \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ $Area_{DMF,ini}$ และ $Area_{DMF,S}$ คือ พื้นที่พีคของไดเมทิลฟอร์มาไมด์

$Area_{MAA,S}$ คือ พื้นที่พีคของกรดเมทาคริลิกเหลือในระบบพอลิเมอไรเซชัน (ได้จาก GC chromatogram)

$C_{DMF,ini}$ และ $C_{DMF,S}$ คือ ความเข้มข้นมาตรฐานของไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

$Area_{MAA,ini}$ คือ พื้นที่พีคของกรดเมทาคริลิกก่อนพอลิเมอไรเซชัน (ได้จาก GC chromatogram)

$C_{MAA,ini}$ คือ ความเข้มข้นของกรดเมทาคริลิกก่อนพอลิเมอไรเซชัน (ร้อยละโดยน้ำหนักจาก

สภาวะการเตรียมไมโครแคปซูลตามตาราง 3.5 - 3.8

3.3.5.2 ลักษณะรูปร่างของพอลิเมอร์แคปซูล

ศึกษาลักษณะรูปร่างของพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยการหยดตัวอย่างในรูปอิมัลชันลงบนแผ่นสไลด์แล้วปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ วิเคราะห์ด้วยกำลังขยายที่เหมาะสม เพื่อศึกษาลักษณะและรูปร่างของหยดมอนอเมอร์ (ก่อนพอลิเมอร์ไรเซชัน) และพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ซึ่งอาศัยหลักการให้แสงส่องผ่านตัวอย่างและศึกษาพื้นผิวของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยการทดสอบลักษณะรูปร่าง และลักษณะพื้นผิวของตัวอย่างแคปซูล โดยนำตัวอย่างแคปซูลที่แห้งกระจายบนแท่นวางตัวอย่าง (Stub) จากนั้นจะเคลือบด้วยทองคำ การทดสอบนี้อาศัยการยิงอิเล็กตรอนลงบนพื้นผิวของตัวอย่างที่เคลือบด้วยทองคำ เพื่อเพิ่มคุณสมบัติในการถ่ายภาพอิเล็กตรอนบนพื้นผิวตัวอย่างและสะท้อนกลับเข้าสู่ตัวตรวจจับและประเมินผลออกเป็นรูปภาพ ซึ่งการวิเคราะห์ทำได้โดยการเลือกใช้กำลังขยายที่เหมาะสม สำหรับการศึกษาลักษณะรูปร่างของพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ทำโดยการหยดตัวอย่างในรูปอิมัลชันลงบนแผ่นสไลด์แล้วปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ วิเคราะห์ด้วยกำลังขยายที่เหมาะสม เพื่อศึกษาลักษณะรูปร่าง และลักษณะภายในหยดมอนอเมอร์ (ก่อนพอลิเมอร์ไรเซชัน) และไมโครแคปซูลที่เตรียมได้ซึ่งจะอาศัยหลักการให้แสงส่องผ่านตัวอย่าง

3.3.5.3 ขนาดของพอลิเมอร์แคปซูล

การศึกษขนาดของพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ จะใช้เทคนิคการกระเจิงของแสง ด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาค (dynamic light scattering; DLS) วิเคราะห์โดยนำตัวอย่างในรูปอิมัลชันเติมลงในเซลล์วัดตัวอย่าง (Cuvette) และทำการวัดค่าความเข้มของตัวอย่างให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม จากนั้นจะได้การกระจายตัวของขนาดพอลิเมอร์แคปซูลทั้งแบบปริมาตร และจำนวน (Volume distribution; D_v และ Number distribution; D_n)

3.3.5.4 ปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูล และประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูล

การศึกษาปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูลด้วย จะใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรสโคปี (UV-Visible spectroscopy) โดยการเตรียมสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่างกัน คือ 2 4 6 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งทำการสแกนหาค่าความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ในช่วง 200 - 500 นาโนเมตร พบว่า λ_{max} ของกรดแกลลิกที่ 270 นาโนเมตร โดยไม่ซ้อนทับกับองค์ประกอบอื่น ๆ ในระบบ

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บจะทำการชั่งพอลิเมอร์แคปซูลที่ล้างและทำให้แห้งที่น้ำหนัก 20 มิลลิกรัม (W_{caps}) ละลายใน 1, 4- ไดออกเซน โดยปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร [87] จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกในสารละลายแต่ละตัวอย่างที่ λ_{max} 270 นาโนเมตร เพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูล (C_{GA}) โดยเทียบกับสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2 4 6 และ 8 มิลลิกรัม/ลิตร และทำการแปลงเป็นน้ำหนักของกรดแกลลิกแห้ง (W_{GA}) ด้วยสมการที่ (3) จากนั้นจะคำนวณร้อยละการบรรจุตามการทดลอง ($\%LD_{exp}$) ตามทฤษฎี ($\%LD_{th}$) และประสิทธิภาพในการกักเก็บ ($\%EE$) โดยใช้สมการ (4) (5) และ (6) ตามลำดับ

$$W_{GA,exp} = \left(\frac{C_{GA}}{1000} \right) \times V_s \quad (3)$$

$$\%LD_{exp} = \left(\frac{W_{GA,exp}}{W_{caps}} \right) \times 100 \quad (4)$$

$$\%LD_{th} = \left(\frac{W_{GA,rep}}{W_{GA,rep} + \left(\frac{W_m (\%conversion)}{100} \right) + W_{m-CMC}} \right) \times 100 \quad (5)$$

$$\%EE = \left(\frac{\%LD_{exp}}{\%LD_{th}} \right) \times 100 \quad (6)$$

เมื่อ C_{GA} คือ ความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บ (มิลลิกรัม/ลิตร) ในตัวทำละลาย 1, 4- ไดออกเซน (V_s ; มิลลิลิตร)

$W_{GA,exp}$ คือ น้ำหนักของกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บ (มิลลิกรัม) ภายในแคปซูลแห้งก่อนทำการละลาย (W_{cap} ; มิลลิกรัม)

$W_{GA,rep}$ W_m และ W_{m-CMC} คือ น้ำหนักของกรดแกลลิก มอนอเมอร์ และคาร์บอนซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ตามลำดับ จากสภาวะการเตรียมไมโครแคปซูลตามตาราง 3.5 - 3.8

3.3.5.5 การศึกษาการดูดซับน้ำของโคพอลิเมอร์

การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลก็เกิดกรดแกลลิก ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย พันธะคู่ที่ได้หลังจากการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันด้วยสารกลุ่มควาไฮเลนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส จะเกิดการกราฟต์กับสายโซ่ของพอลิเมทาคริลิก แอซิด (PMAA) เป็นเปลือกไมโครแคปซูลคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิก แอซิด (m-CMC-g-PMAA microcapsule shell) ซึ่งน่าจะอยู่ในรูปแบบโครงสร้างสามมิติ (Three dimensional network) ผ่านพันธะไฮโดรเจน [88-92] โดยทั้งคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส และพอลิเมทาคริลิก แอซิด เป็นพอลิเมอร์ที่มีความชอบน้ำ อาจมีสมบัติเป็นไฮโดรเจล ซึ่งจะมีคุณสมบัติในการอุมน้ำ ดังนั้นจึงทำการทดสอบการดูดซับน้ำ (Water absorption) ของโคพอลิเมอร์ เทียบกับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารกลุ่มควาไฮเลน ที่อัตราส่วน 75:25 ก่อนการกราฟท์โดยทำการทดลองการดูดซับน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และคำนวณร้อยละการดูดซับน้ำ (%Swelling; P_s) โดยเทียบน้ำหนักก่อนและหลังการดูดซับน้ำ ดังสมการที่ (7)

$$\%Swelling (P_s) = \frac{W_s - W_i}{W_i} \times 100 \quad (7)$$

เมื่อ W_i และ W_s คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนและหลังการทดสอบการดูดซับน้ำ (กรัม)

3.3.5.6 การศึกษาการปลดปล่อยกรดแกลลิกของพอลิเมอร์แคปซูล

ทำการทดสอบการปลดปล่อยกรดแกลลิกของพอลิเมอร์ไมโครและนาโนแคปซูล ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิปกติภายในร่างกาย โดยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ใช้ทดสอบมีค่าพีเอช 7.4 และ 5.5 ซึ่งเป็นค่าพีเอชที่มีความเหมาะสมสำหรับผิวหนัง [93-95] โดยทำการซังพอลิเมอร์แคปซูลที่ทำให้แห้งน้ำหนัก 10 มิลลิกรัม แะในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ 20 มิลลิลิตร โดยศึกษาที่เวลา 0 0.5 1 2 6 และ 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกที่ปลดปล่อยจากพอลิเมอร์แคปซูลและที่เหลือภายในพอลิเมอร์แคปซูล ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ความเข้มข้นของกรดแกลลิกในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (มิลลิกรัม/ลิตร) วัดจากค่าดูดกลืนแสงที่ λ_{max} 260 - 270 นาโนเมตร เพื่อศึกษาการปลดปล่อยกรดแกลลิกในแคปซูลโดยเทียบกับสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 5 10 15 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร โดยคำนวณร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิกของพอลิเมอร์แคปซูล โดยเทียบน้ำหนักก่อนและหลังการปลดปล่อย ดังสมการที่ (8) จากนั้น จะศึกษาปริมาณ

กรดแกลลิกที่เหลือในแคปซูล ซึ่งแยกแคปซูลด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที ละลายใน 1, 4- ไดออกเซน โดยปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร และวัดค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกที่ $\lambda_{\max}$ 270 นาโนเมตร โดยเทียบกับสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.1 0.3 0.5 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัม/ลิตร

$$\% \text{GA release} = \left(\frac{W_{\text{GA,rel}}}{W_{\text{GA,cap}}} \right) \times 100 \quad (8)$$

เมื่อ $W_{\text{GA,rel}}$ และ $W_{\text{GA,cap}}$ คือ ปริมาณของกรดแกลลิกที่ถูกปลดปล่อยลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และปริมาณของกรดแกลลิกในแคปซูล (มิลลิกรัม)

3.3.5.7 การทดสอบความเป็นพิษในเซลล์เพาะเลี้ยง

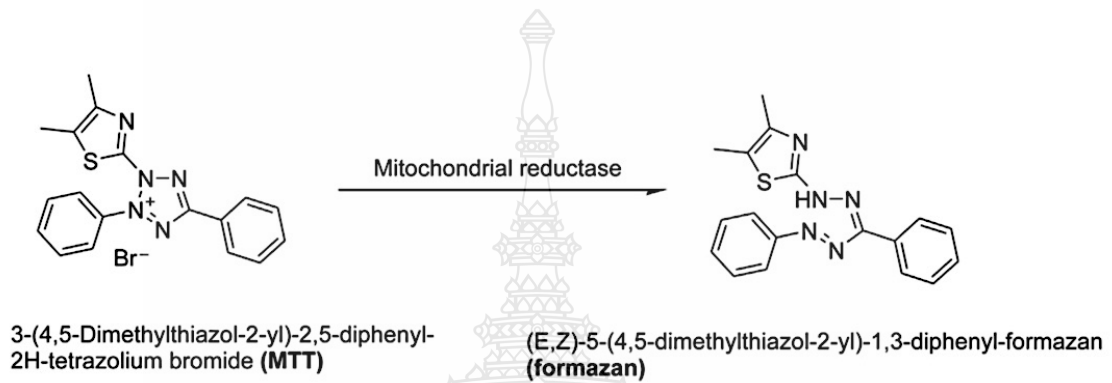
นำแคปซูลที่เตรียมได้ละลายด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity screening) โดยทำการศึกษาในหลอดทดลอง (*In Vitro*) ด้วยวิธี MTT assay [96, 97] เริ่มจากการเตรียมเซลล์ผิวหนังเทียม (Fibroblast cell) ที่ทำการเติมเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin) เพื่อเริ่มวงจรชีวิตใหม่แก่เซลล์ตัวอย่าง และให้เซลล์หลุดออกจากภาชนะที่เลี้ยงไว้ เติมน้ำเลี้ยงเชื้อ จากนั้น นำเซลล์ที่เตรียมไว้ใส่ลงในแต่ละหลุมของ 96 well plate โดยจะทำการปรับปริมาตรสารละลายของเซลล์ให้เท่ากับ 180 ไมโครลิตร ด้วยอาหารดีเอ็มอีเอ็ม ที่มี 10% heat-inactivated FBS 1% Pen-Strep Solution จากนั้น ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะอากาศที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมน้ำเลี้ยงของแคปซูลตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทำการเจือจางแล้ว คือ 1 0.1 0.01 0.001 และ 0.0001 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในปริมาตร 20 ไมโครลิตร บ่มต่ออีก 24 ชั่วโมง ทำการหาความเป็นพิษของตัวอย่างต่อเซลล์ โดยใช้สารละลายเอ็มทีที ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมนลงในแต่ละหลุม นำไปบ่มต่อในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้น นำฟลิคฟอร์มาซาน (Formazan) โครงสร้างดังภาพที่ 3.6 ซึ่งเกิดจากเอ็มทีที ซึ่งเป็นสีย้อมสังเคราะห์ประเภทเตตระโซเลียม (Tetrazolium dye) ไปเกาะที่เซลล์ที่รอดชีวิต (Metabolically active cell) และตกเป็นฟลิคฟอร์มาซานมีสีม่วงน้ำเงิน ละลายด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยปริมาณฟลิคที่ได้นั้นแปรผันตรงกับปริมาณเซลล์ที่รอดชีวิต [98-100] และนำผลที่ได้มาคำนวณ (% viability) ดังสมการที่ (9)

$$\% \text{Viability} = \left(\frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right) \times 100 \quad (9)$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม

(ตัวควบคุม คือ ไคเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้น ร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก)



ภาพที่ 3.6 การเปลี่ยนโครงสร้างของเอ็มทีทีเป็นฟลิคฟอร์มazan หลังจากการเกาะเซลล์ที่มีชีวิต และตกผลึก [98-100]

บทที่ 4

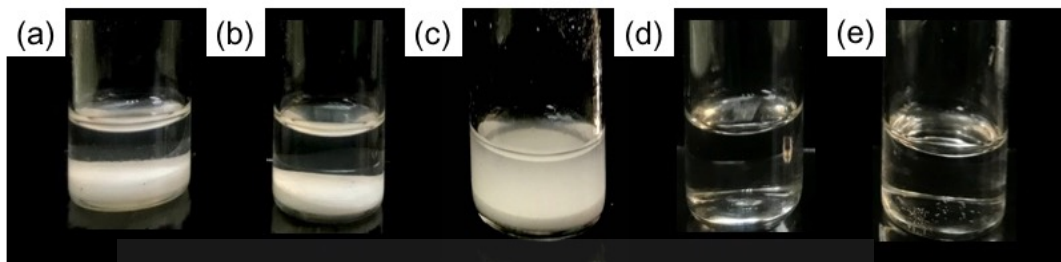
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การศึกษาสถานะเบื้องต้นในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก

การศึกษาการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอยในระบบน้ำในน้ำมัน โดยใช้คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นเปลือกกักเก็บกรดแกลลิกจะประกอบด้วยสองวัฏภาคคือ วัฏภาคกระจาย (ชั้นน้ำ) และวัฏภาคต่อเนื่อง (ชั้นน้ำมัน) เริ่มจากการปั่นเตรียมหยดด้วยโฮโมจิไนเซอร์ จะได้หยดชั้นน้ำในชั้นน้ำมันขนาดไมโครเมตรที่มีสารลดแรงตึงผิวล้อมรอบแต่ละหยดทำให้ไม่เกิดการรวมตัวกัน ก่อนทำการสังเคราะห์ผ่านกลไกการพอลิเมอไรเซชันแบบอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดเปลือกไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกไว้ภายใน โดยได้ทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ เบื้องต้นในการเตรียมไมโครแคปซูล ดังนี้

4.1.1 ชนิดของชั้นน้ำมัน

โดยทั่วไป ในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลในระบบน้ำในน้ำมัน สารที่ต้องการกักเก็บจะต้องไม่ละลายในชั้นน้ำมัน จึงจะได้แคปซูลที่มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสูง ดังนั้น ชนิดของชั้นน้ำมันหรือวัฏภาคต่อเนื่องที่เหมาะสม จะพิจารณาจากความสามารถในการละลายของกรดแกลลิกในชั้นน้ำมันนั้น ซึ่งชั้นน้ำมันที่ใช้ คือ ตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำ เนื่องจากกรดแกลลิกสามารถละลายน้ำได้ โดยจะต้องเห็นการแยกชั้นระหว่างวัฏภาคน้ำและน้ำมันอย่างชัดเจน ซึ่งตัวทำละลายที่เลือกศึกษามีความมีขั้วต่าง ๆ กัน คือ โทลูอิน เอทิลอะซิเตท ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน และ 1,4-ไดออกเซน จากการทดสอบการละลายของกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ซึ่งเป็นสถานะเดียวกันปริมาณเทียบกับสถานะที่จะทำการสังเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป ได้ผลการทดลอง ดังแสดงในภาพที่ 4.1

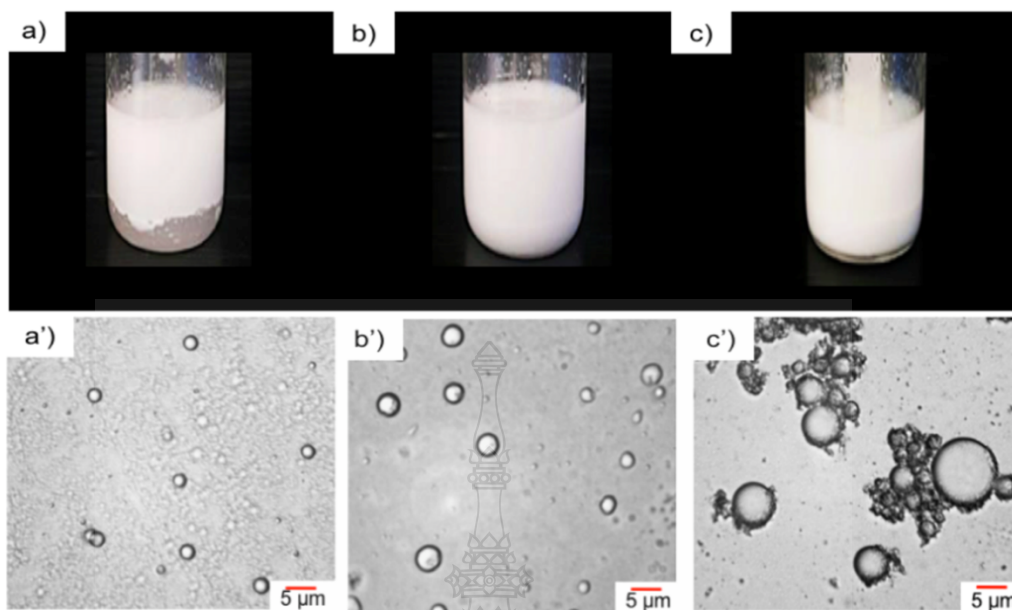


ภาพที่ 4.1 ผลการทดสอบการละลายของกรดแกดลิกในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความมีขั้วต่างกัน 5 ชนิด: โทลูอิน (a) เอทิลอะซิเตท (b) ไดคลอโรมีเทน (c) อะซิโตน (d) และ 1,4-ไดออกเซน (e)

จากภาพที่ 4.1 จะพบว่าตัวทำละลายอินทรีย์ คือ อะซิโตน (ภาพที่ 4.1 (d)) และ 1,4-ไดออกเซน (ภาพที่ 4.1 (e)) สามารถละลายกรดแกดลิกได้ดี ได้สารละลายใส ในขณะที่ ไดคลอโรมีเทน (ภาพที่ 4.1 (c)) สามารถละลายกรดแกดลิกได้บางส่วน มีลักษณะขาวขุ่น ส่วนการใช้ โทลูอิน (ภาพที่ 4.1 (a)) และเอทิลอะซิเตท (ภาพที่ 4.1 (b)) ไม่สามารถละลายกรดแกดลิกในตัวทำละลายทั้งสองได้ เนื่องจากตัวทำละลายทั้งสองนั้นมีความมีขั้วค่อนข้างต่ำ ซึ่งยืนยันได้ว่า กรดแกดลิกมีประสิทธิภาพในการละลายได้ดีในสารอินทรีย์ที่มีขั้ว แต่เมื่อความมีขั้วลดลง ความสามารถในการละลายจึงลดลงด้วย โดยเมื่อพิจารณาจากความสามารถในการละลายกรดแกดลิก และจุดเดือดของตัวทำละลาย โทลูอินมีจุดเดือดสูงกว่าเอทิลอะซิเตท เหมาะสำหรับการสังเคราะห์ที่ อุณหภูมิสูง ดังนั้น จึงเลือกใช้โทลูอินเป็นวัฏภาคต่อเนื่องในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูล

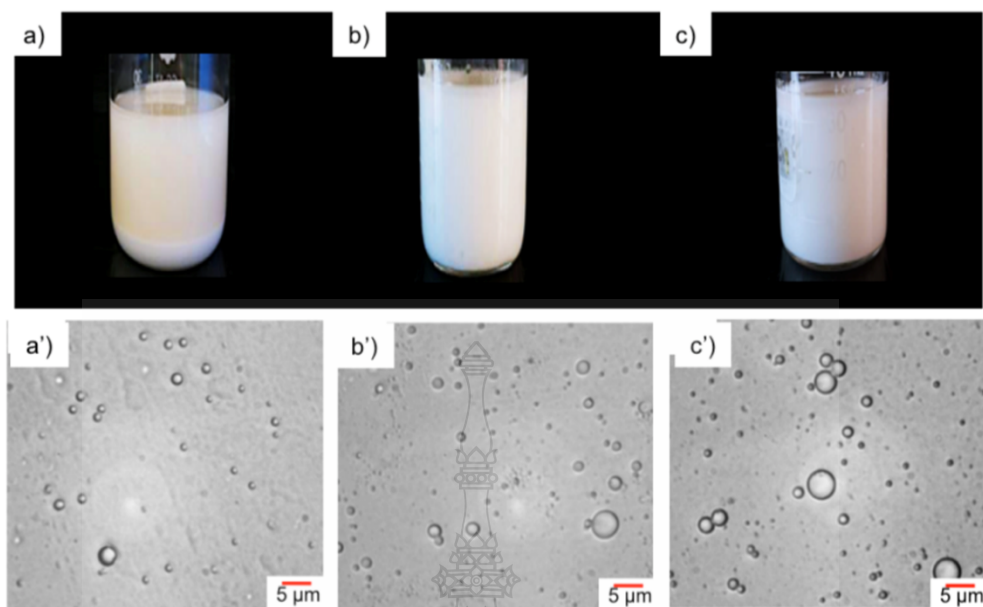
4.1.2 ชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิว

สารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิดจะมีผลต่อความเสถียรทางคอลลอยด์ของพอลิเมอร์แคปซูล ต่างกัน ขึ้นกับสัดส่วนระหว่างส่วนที่ชอบน้ำกับส่วนที่ชอบน้ำมัน (Hydrophile-Lipophile Balance; HLB value) ของสารลดแรงตึงผิว ซึ่งในงานวิจัยนี้เป็นการเตรียมด้วยระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมัน ค่า HLB ที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวควรมีค่าต่ำ เพื่อให้สารลดแรงตึงผิวสามารถละลายในตัวทำละลายไม่มีขั้วซึ่งเป็นวัฏภาคต่อเนื่องได้ โดยได้ทำการศึกษาการใช้สารลดแรงตึงผิวที่นิยมใช้ทั่วไป 2 ชนิด คือ สเปน-80 (HLB value: 4.3) [101] และไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต (HLB value: 5-6) [102] ที่ปริมาณร้อยละ 1 - 3 โดยน้ำหนัก

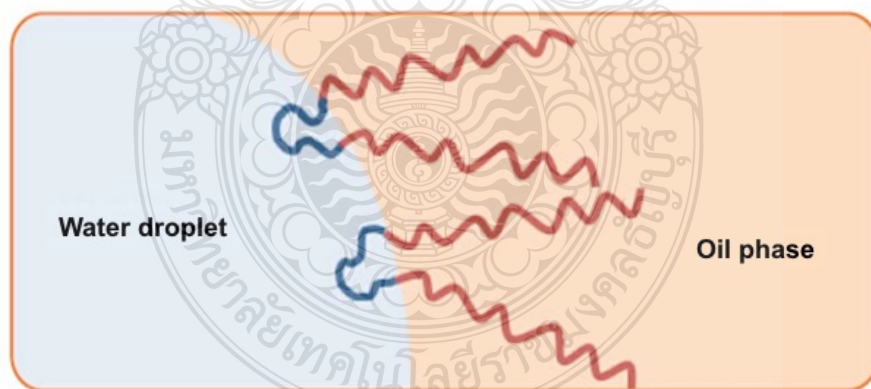


ภาพที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน (a - c) และ Optical micrograph ของหยดสารละลายอินทรีย์ (a' - c') ที่เตรียมในระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมัน โดยใช้ สเปน-80 เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 (a และ a'), 2 (b และ b') และ 3 (c และ c') โดยน้ำหนัก

จากภาพที่ 4.2 (a - c) ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันในกรณีของการใช้ สเปน-80 เป็นสารลดแรงตึงผิว ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 - 3 โดยน้ำหนัก พบว่าอิมัลชันทั้งสามสถานะ จะมีลักษณะขาวขุ่นเหมือนน้ำมันในช่วงแรก แต่เมื่อทิ้งไว้ระยะหนึ่ง หยดของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีกรดแกดอลิก จะเกิดการรวมตัวกันและลอยแยกชั้นออกมาจากชั้นน้ำมัน ซึ่งเห็นได้ชัดที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 2 และ 3 โดยน้ำหนัก การรวมตัวกันของหยदन้ำมันจะพบน้อยลง แต่ก็ยังพบการรวมตัวกันที่ประมาณร้อยละ 50 โดยในส่วนที่ไม่แยกชั้นเมื่อนำไปตรวจวัดด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง จะเห็นได้ว่าหยดสารละลายอินทรีย์มีลักษณะเป็นทรงกลมทั้งสามความเข้มข้นดังรูปที่ 4.2 (a' - c') แต่เนื่องจากการใช้สารลดแรงตึงผิวร้อยละ 3 โดยน้ำหนักในกรณีการเตรียมอิมัลชันถือว่าเป็นปริมาณที่ค่อนข้างสูง ซึ่งยังเกิดการรวมตัวกันของหยดสารละลายอินทรีย์ จึงไม่ได้ทำการปรับปรุงความเสถียรทางคอลลอยด์ของหยดสารละลายอินทรีย์ด้วยการเพิ่มปริมาณของ สเปน-80 ที่สูงมากกว่านี้ได้



ภาพที่ 4.3 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน (a - c) และ Optical micrograph ของหยดสารละลายอินทรีย์ (a' - c') ที่เตรียมด้วยระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมัน โดยใช้ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 (a และ a'), 2 (b และ b') และ 3 (c และ c') โดยน้ำหนัก



ภาพที่ 4.4 การป้องกันการรวมตัวกันของหยดน้ำโดยใช้ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต

ในกรณีของการใช้ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต อิมัลชันที่ได้มีลักษณะขาวขุ่นเป็นน้ำมันทั้งสามความเข้มข้น (ร้อยละ 1 2 และ 3 โดยน้ำหนัก) ดังภาพที่ 4.3 (a - c) พบว่ามีการแยกชั้นน้อยมากเมื่อเทียบกับการใช้ สแปน-80 เป็นสารลดแรงตึงผิวในระบบ และไม่พบการแยกชั้นเมื่อใช้

ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต ที่ร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก แสดงว่าที่สภาวะดังกล่าวไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต มีปริมาณเพียงพอต่อการป้องกันการรวมตัวของหยดสารละลายอินทรีย์ นอกจากนี้หยดสารละลายอินทรีย์ที่เตรียมได้จะมีลักษณะเป็นทรงกลมดังรูปที่ 4.3 (a' - c') เช่นเดียวกับการใช้ สเปน-80 แต่จะมีขนาดเล็กกว่าและไม่มีการเกาะตัวกัน ซึ่งการที่ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรตมีประสิทธิภาพสูงกว่า สเปน-80 ในการป้องกันการรวมตัวของหยดสารอินทรีย์และแคลเซียม อาจเนื่องมาจากไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรตมีโครงสร้างแตกต่างจากสารลดแรงตึงผิวทั่วไปที่มีส่วนปลายทั้งสองของสายโซ่มีสภาพขั้วต่างกัน โดยไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรตจะมีส่วนที่มีขั้วอยู่ตรงกลางและปลายสายโซ่ทั้งสองข้างเป็นชนิดไม่มีขั้ว ดังนั้นเมื่อทำหน้าที่เป็นสารลดแรงตึงผิวที่บริเวณผิวของหยดวัฏภาคกระจาย จะหันส่วนที่มีขั้วเข้าภายในหยด และส่วนที่ไม่มีขั้วทั้งสองส่วนหรือสองแขนจะยื่นออกมาที่ชั้นของน้ำมัน (ดังภาพที่ 4.4) ซึ่งจะมีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันการรวมตัวของหยดมอนอเมอร์ ส่งผลให้หยดมอนอเมอร์มีความเสถียรทางคอลลอยด์สูง ดังนั้น ในการศึกษาชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิว จึงเลือกใช้ ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรตที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อไป

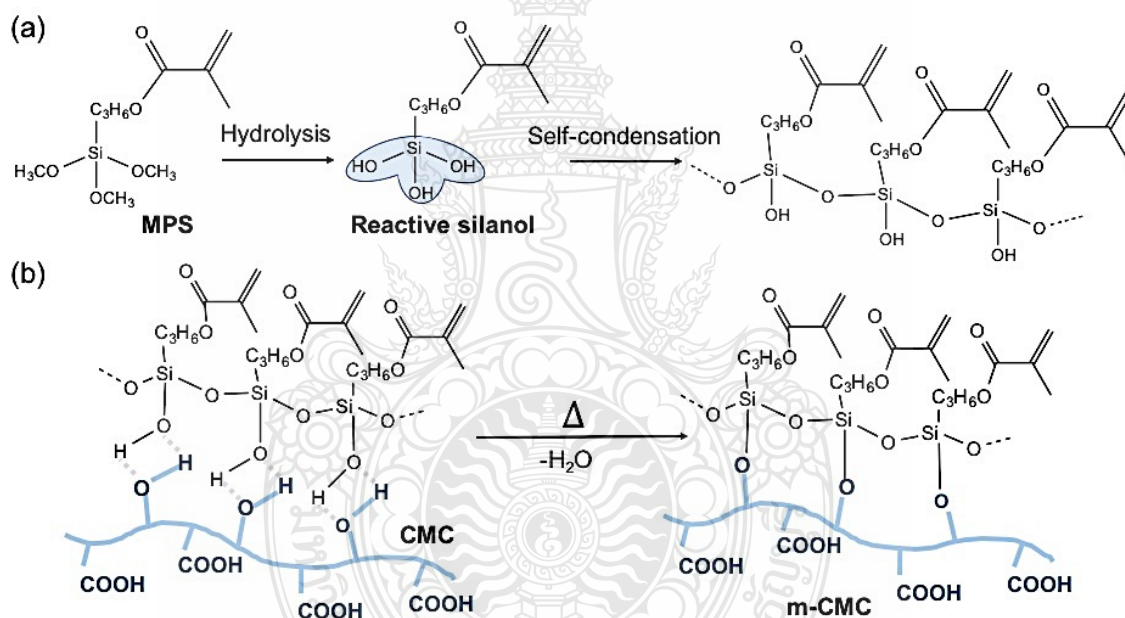
จากการศึกษาสภาวะเบื้องต้นในการเตรียมไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก พบว่า สภาวะที่เหมาะสมของวัฏภาคต่อเนื่องประกอบไปด้วย ชนิดของชั้นน้ำมันที่เลือกใช้ คือ โทลูอิน และ สารลดแรงตึงผิว คือ ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรตที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก ซึ่งจะใช้เป็นสภาวะสำหรับการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลในขั้นตอนต่อไป

4.2 การเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสให้มีพันธะคู่โดยใช้สารคู่ควบไซเลน

สำหรับการเตรียมโคพอลิเมอร์แคปซูลด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอยและมินิมัลชัน โดยใช้กลไกการสังเคราะห์แบบอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยาจะเกิดผ่านพันธะคู่ของมอนอเมอร์ ดังนั้น การที่จะกราฟท์มอนอเมอร์อีกชนิดหนึ่งลงบนสายโซ่ของเซลลูโลสที่ไม่มีพันธะคู่ นั้นจะต้องทำการเพิ่มพันธะคู่ลงไปในโมเลกุลของเซลลูโลสก่อน ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสให้มีพันธะคู่โดยใช้สารคู่ควบไซเลน ในสภาวะสารละลายกรดอะซิติก (พีเอช 4) และเกิดปฏิกิริยาเคมีผ่านการให้ความร้อน ซึ่งคาดว่ากราฟท์มอนอเมอร์ชนิดอื่นลงบนสายโซ่ของเซลลูโลส โดยใช้กรดเมทาคริลิกซึ่งมีความชอบน้ำสูง เพื่อให้เซลลูโลสทำหน้าที่เป็นเปลือกภายนอกแคปซูล จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกักเก็บกรดแกลลิกได้มากขึ้น

โดยการปรับเปลี่ยนหมู่เซลลูโลสด้วยสารคู่ควบไซเลนนั้น เริ่มจากการไฮโดรไลซิสเอ็มพีเอส เพื่อเปลี่ยนหมู่เมทอกซิลเป็นหมู่ไฮดรอกซิล ภายใต้อุณหภูมิที่ค่าพีเอช 4 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที [48, 103] หมู่ไฮดรอกซิลที่ได้นั้นจะทำการควบแน่นกันเองระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล เกิดเป็นพันธะ

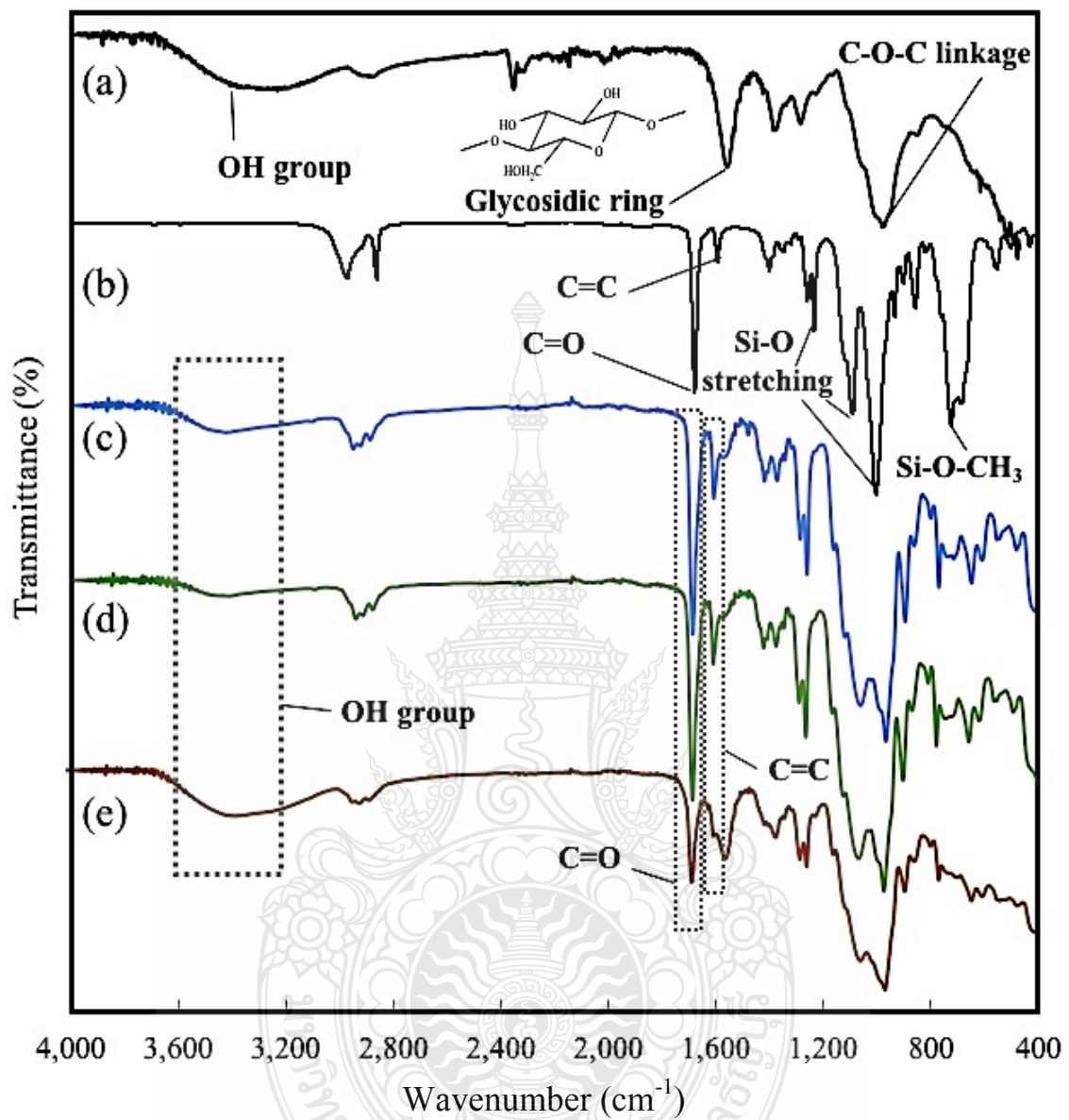
-O-Si-O- ซึ่งเมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค FTIR จะพบพีคที่ $1,070 \text{ เซนติเมตร}^{-1}$ [104, 105] โดยการทำให้ปฏิกิริยาภายใต้สภาวะกรคนั้นจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับของพันธะ -O-Si-O- และทำให้เกิดการเชื่อมโยงสายโซ่ในรูปแบบสองแขนของซิลอกเซน (Bidimensional siloxane network) [18, 48, 103] จากนั้น เมื่อเติมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสลงไป การเกิดปฏิกิริยาเคมีของเอ็มพีเอสและคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจะเกิดขึ้นเมื่อทำการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส [46] ดังภาพที่ 4.5 เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา เซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่จะมีพันธะคู่ (Alkene bond; C=C) จากสารคู่ควบไซเลน ซึ่งจะสามารถทำการกราฟที่ต่อกับกรดเมทาคริลิกมอนอเมอร์ในขั้นตอนต่อไปได้ โดยในงานนี้ได้ทำการศึกษาที่อัตราส่วนที่เหมาะสมของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อเอ็มพีเอส คือ 50:50 67:33 และ 75:25 (ร้อยละโดยน้ำหนัก)



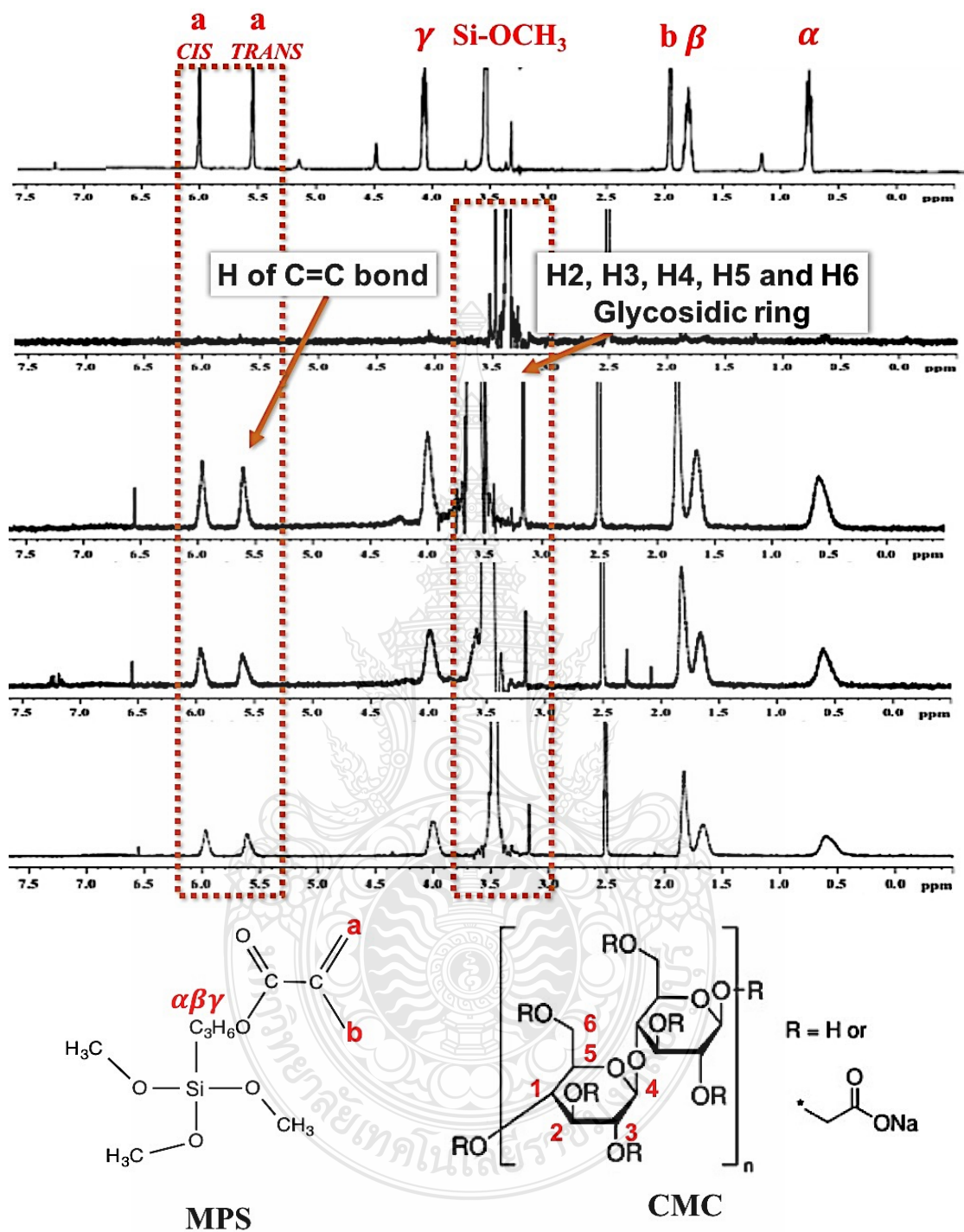
ภาพที่ 4.5 กลไกการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสโดยการทำให้ปฏิกิริยากับสารคู่ควบไซเลน (a) กระบวนการไฮโดรไลซิสและการควบแน่นด้วยตัวเองของเอ็มพีเอสในสภาวะกรดที่ พีเอช 4 และ (b) การเกิดปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างเอ็มพีเอสและคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส [17, 18, 48, 103]

จากภาพที่ 4.6 แสดงฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกตรัมของสารเปรียบเทียบระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสตั้งต้น เอ็มพีเอส และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลนที่อัตราส่วนต่าง ๆ เพื่อยืนยันการเปลี่ยนหมู่ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสด้วยสารคู่ควบไซเลน พบว่าคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (ภาพที่ 4.6 (a)) และเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่แล้ว (ภาพที่ 4.6 (c-d)) มีพีคที่ความยาวคลื่น 3,400 - 3,000 cm^{-1} และ 1,577 และ 1,007 cm^{-1} ซึ่งเป็นของหมู่ไฮดรอกซิล วงแหวนไกลโคซิดิก (Glycosidic group) และพันธะอีเทอร์ (Ether linkage; C-O-C linkage) บนสายโซ่หลักของเซลลูโลส ตามลำดับ [47, 104-108] ในขณะที่พบพีคหลักของสารคู่ควบไซเลน (ภาพที่ 4.6 (b)) ที่ความยาวคลื่น 1,070 - 1,160 cm^{-1} และ 1,070 cm^{-1} ซึ่งเป็นพันธะแบบยืดระหว่างซิลิกาและออกซิเจน (Si-O stretching) [47, 105, 107-109] ที่ความยาวคลื่น 935 cm^{-1} ของพันธะแบบยืดระหว่างซิลิกาและเมทอกซิล (Si-O-CH₃ stretching) [45, 110] และที่ความยาวคลื่น 1,714 และ 1,630 cm^{-1} ของหมู่คาร์บอนิล (Carbonyl group; C=O) และพันธะคู่ตามลำดับ [104-107] ที่ความยาวคลื่น 1,104 cm^{-1} ของพันธะระหว่างซิลิกา-ออกซิเจน-คาร์บอน (-Si-O-C-) [18, 105, 109] และที่ 1,156 cm^{-1} คือ พันธะระหว่างออกซิเจน-ซิลิกา-ออกซิเจน (-O-Si-O-) [45, 105, 107] ในสเปกตรัมของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ทั้งสามสถานะ (ภาพที่ 4.6 (c - d)) จึงสามารถยืนยันได้ว่าคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสทั้งสามสถานะนั้น สามารถทำปฏิกิริยากับสารคู่ควบไซเลนได้สำเร็จ

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาโครงสร้างทางเคมีจากโปรตรอน-นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกตรัม ดังภาพที่ 4.7 สอดคล้องกับผลของเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด โดยพบว่าสเปกตรัมของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลนทั้งสามอัตราส่วน (ภาพที่ 4.7 (c - d)) ค่อนข้างใกล้เคียงกัน โดยเมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณกับเอ็มพีเอส (ภาพที่ 4.7 (a)) จะพบพีคที่ตำแหน่ง δ 5.5 (a) และ δ 6.0 (a) พีพีเอ็ม คือ ตำแหน่งไฮโดรเจนของพันธะคู่จากหมู่ข้างเคียงเมทาครีเลทบนเอ็มพีเอส [45, 111, 112] ทั้งสองตำแหน่งนี้ในเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลนในทั้งสามอัตราส่วน และพีคที่ตำแหน่ง 3.0 - 3.7 พีพีเอ็ม ซึ่งเป็นไฮโดรเจนของวงแหวนไกลโคซิดิกบนสายโซ่หลักของเซลลูโลส (ภาพที่ 4.7 (b)) โดยไม่พบพีคตำแหน่งอื่น ๆ ของไฮโดรเจนของหมู่ไฮดรอกซิลบนสายโซ่หลักของเซลลูโลส ซึ่งผลที่ได้ก็นั้นสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้า [23, 113-115] ซึ่งแสดงว่าคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสนั้นสามารถทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลนได้จริง ผลจากทั้งสองเทคนิค สามารถทำการปรับเปลี่ยนเซลลูโลสเพื่อเพิ่มพันธะคู่ได้สำเร็จ และยังคงเหลือพันธะคู่ที่จะสามารถทำการพอลิเมอร์ไรเซชันกับมอนอเมอร์ในขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 4.6 ฟลูออโรพอร์อินฟราเรด สเปกตรัมของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (a) เอ็มพีเอส (b) และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลน ที่อัตราส่วนต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก): 50:50 (c) 67:33 (d) และ 75:25 (e)



ภาพที่ 4.7 โปรตรอน-นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกตรัมของเอ็มพีเอส (a) [111] คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (b) และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลนที่อัตราส่วนต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก): 50:50 (c) 67:33 (d) และ 75:25 (e)

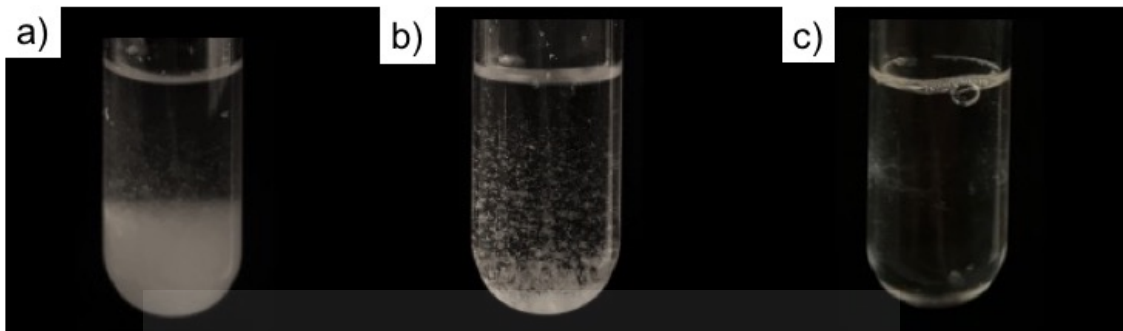
4.3 สถานะที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย

ในการเตรียมเซลล์โลสไมโครแคปซูลด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย จะทำการกราฟท์มอนอเมอร์ คือ กรดเมทาคริลิกลงบนสายโซ่ของเซลล์โลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่แล้ว โดยการเตรียมในระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมัน เริ่มจากการเตรียมสารละลายวัฏภาคกระจาย หรือวัฏภาคน้ำ ซึ่งประกอบไปด้วยการกรดแกลลิก คาร์บอกซิเมทิลเซลล์โลส กรดเมทาคริลิกและตัวริเริ่มปฏิกิริยาละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสมเป็นเนื้อเดียวกัน เติลงในสารละลายไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักในโทลูอิน ปั่นด้วยแรงเหวี่ยงด้วยอัตราเร็ว 5000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาทีจะได้อิมัลชันน้ำในน้ำมัน ทำการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จะได้พอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก

โดยได้ทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ เพื่อหาสถานะที่เหมาะสมดังนี้

1) ชนิดของตัวริเริ่มปฏิกิริยา

โดยทั่วไปในการเตรียมอนุภาคหรือแคปซูลทั้งกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย และแบบมินิอิมัลชัน จำเป็นจะต้องละลายสารในแต่ละวัฏภาคเป็นเนื้อเดียวกันอย่างสมบูรณ์ ดังนั้น ชนิดตัวริเริ่มปฏิกิริยาที่เหมาะสมนั้นจะพิจารณาจากความสามารถในการละลายของตัวริเริ่มปฏิกิริยากับองค์ประกอบอื่น ๆ ในวัฏภาคเดียวกัน คือ เซลล์โลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ กรดแกลลิก และตัวทำละลาย โดยในการศึกษานี้เลือกใช้เซลล์โลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ที่อัตราส่วนร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีปริมาณสารคู่ควบไฮโดรเจนน้อยที่สุด สามารถละลายเป็นเนื้อเดียวได้ง่ายในตัวทำละลายที่ใช้ โดยได้ทำการศึกษาตัวเร่งปฏิกิริยาที่สามารถละลายในน้ำได้ 3 ชนิด คือ โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ และวีเอ-057



ภาพที่ 4.8 ผลการทดสอบการละลายของตัวริเริ่มปฏิกิริยาชนิดต่าง ๆ ในตัวทำละลายผสมใน วิทยุภาคน้ำ: โปแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (a) เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ (b) และวีเอ-057 (c)

จากภาพที่ 4.8 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าตัวริเริ่มปฏิกิริยาทั้งสามชนิดมีความสามารถในการละลายเข้ากันได้ในระบบแตกต่างกัน เมื่อใช้โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตและเบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยา (ภาพที่ 4.8 (a) และ (b)) พบว่าปริมาณตัวริเริ่มปฏิกิริยาแทบทั้งหมดไม่สามารถละลายเข้ากันกับสารอื่น ๆ ในวิทยุภาคเดียวกันได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงไม่ได้ทำการสังเคราะห์ ต่อ ในขณะที่ วีเอ-057 (ภาพที่ 4.8 (c)) พบว่าสามารถละลายเข้ากันได้ดีเป็นเนื้อเดียวกัน จึงเลือกใช้ วีเอ-057 เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ต่อไป

2) อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเซลลูโลสและสารควบแน่นไซเลน

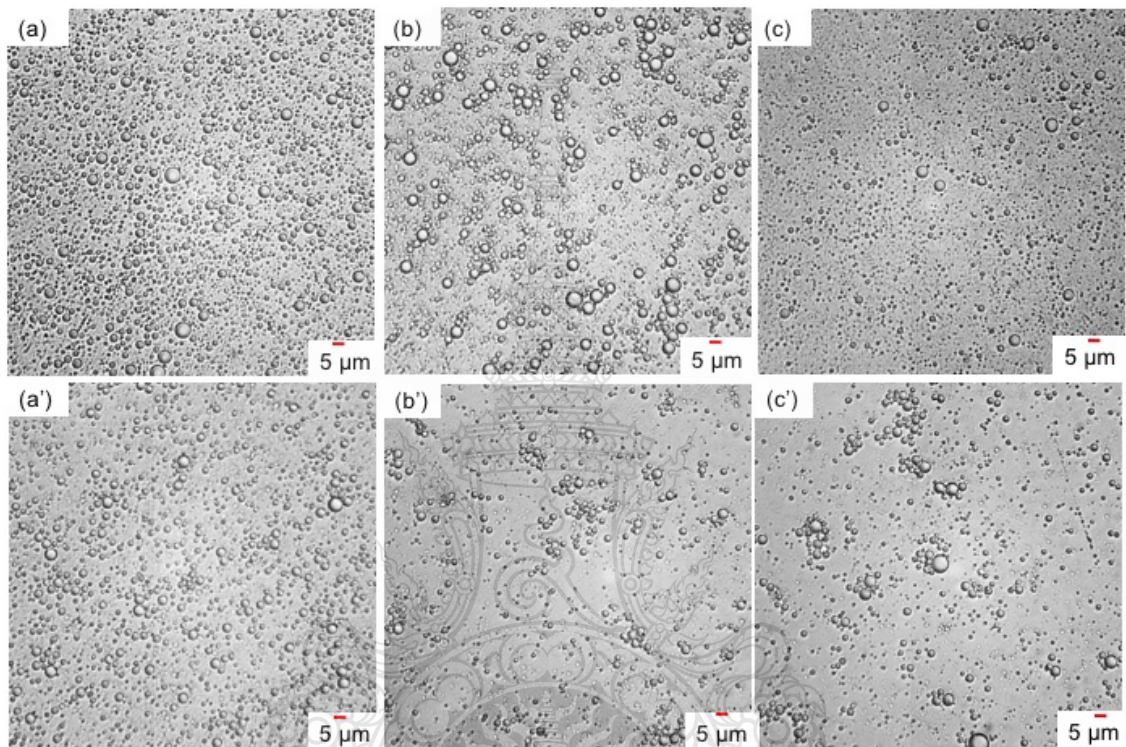
เนื่องจากการทดสอบโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด และโปรตรอน-นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโคปี ผลการทดลองที่ได้ สามารถยืนยันการปรับเปลี่ยนหมู่ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสด้วยสารควบแน่นไซเลนได้ ซึ่งปริมาณของพันธะคู่ที่ต้องใช้ในการกราฟท์โคพอลิเมอร์เชชันต่อกับมอนอเมอร์ (กรดเมทาคริลิก) นั้นใกล้เคียงกัน จึงได้นำคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ทั้งสามอัตราส่วนมาใช้ในการศึกษาการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก โดยใช้อัตราส่วนระหว่างพอลิเมอร์และกรดแกลลิกที่ร้อยละ 50:50 โดยน้ำหนัก ได้ผลการทดลอง ดังภาพที่ 4.9

จากภาพที่ 4.9 พบว่าหยดมอนอเมอร์ก่อนการสังเคราะห์ (ภาพที่ 4.9 (a – c)) มีลักษณะเป็นทรงกลม (Spherical shape) มีขนาดอยู่ในระดับไมโครเมตร มีการกระจายตัวของขนาดหยดค่อนข้างกว้าง ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของการเตรียมหยดด้วยโฮโมจีไนเซอร์ และหลังจากการสังเคราะห์แคปซูลที่ได้ยังคงมีลักษณะเป็นทรงกลม มีความเสถียรทางคอลลอยด์ (Colloidal stability) ไม่เกิดการจับตัวกันเป็นก้อนขนาดใหญ่ ดังภาพที่ 4.10 (a - c) ที่แสดงลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน

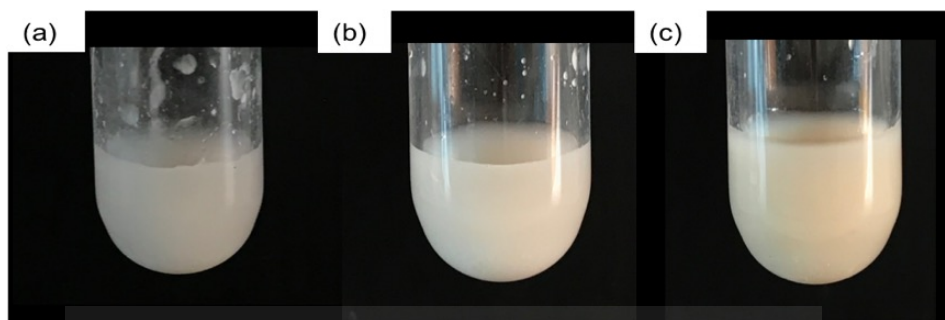
ที่อัตราส่วนระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและสารก่อกวนไขเลนต่าง ๆ โดยเมื่อพิจารณาจากการละลายและความเข้ากันได้ และการละลายร่วมกับสารอื่น ๆ ในวัฏภาคเดียวกัน (วัฏภาคน้ำ) พบว่าที่สภาวะที่มีปริมาณสารก่อกวนไขเลนมาก จะละลายเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้ยาก ซึ่งคาดว่าเกิดจากการที่มีปริมาณสารก่อกวนไขเลนมากขึ้น ทำให้ความไม่ชอบน้ำ (Hydrophobicity) ของเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งโดยทั่วไปการเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์ หรือพอลิเมอร์แคปซูลด้วยเทคนิคการสังเคราะห์แบบแขวนลอยและมินิอิมัลชัน ทั้งในระบบน้ำในน้ำมัน และน้ำมันในน้ำ วัฏภาคกระจายจะต้องละลายเข้ากันเป็นเนื้อเดียวได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่โดยใช้อัตราส่วนระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและสารก่อกวนไขเลนร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก น่าจะเหมาะสำหรับการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลในขั้นต่อไป และเมื่อพิจารณาร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูลร่วมด้วย ดังผลการทดลองในตารางที่ 4.1 พบว่าทั้งสามสภาวะมีค่าใกล้เคียงกันโดยที่อัตราส่วนระหว่างเซลลูโลสและสารก่อกวนไขเลนที่ร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก นั้นมีร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกสูงกว่าที่สภาวะอื่นเล็กน้อย ดังนั้น จึงเลือกที่อัตราส่วนดังกล่าวเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการนำไปเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลต่อไป

จากภาพที่ 4.9 พบว่าหยดนมเมอร์ก่อนการสังเคราะห์ (ภาพที่ 4.9 (a – c)) มีลักษณะเป็นทรงกลม (Spherical shape) มีขนาดอยู่ในระดับไมโครเมตร มีการกระจายตัวของขนาดหยดค่อนข้างกว้าง ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของการเตรียมหยดด้วยโฮโมจีไนเซอร์ และหลังจากการสังเคราะห์แคปซูลที่ได้ยังคงมีลักษณะเป็นทรงกลม มีความเสถียรทางคอลลอยด์ (Colloidal stability) ไม่เกิดการจับตัวกันเป็นก้อนขนาดใหญ่ ดังภาพที่ 4.10 (a - c) ที่แสดงลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่อัตราส่วนระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและสารก่อกวนไขเลนต่าง ๆ โดยเมื่อพิจารณาจากการละลายและความเข้ากันได้ และการละลายร่วมกับสารอื่น ๆ ในวัฏภาคเดียวกัน (วัฏภาคน้ำ) พบว่าที่สภาวะที่มีปริมาณสารก่อกวนไขเลนมาก จะละลายเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้ยาก ซึ่งคาดว่าเกิดจากการที่มีปริมาณสารก่อกวนไขเลนมากขึ้น ทำให้ความไม่ชอบน้ำ (Hydrophobicity) ของเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งโดยทั่วไปการเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์ หรือพอลิเมอร์แคปซูลด้วยเทคนิคการสังเคราะห์แบบแขวนลอยและมินิอิมัลชัน ทั้งในระบบน้ำในน้ำมัน และน้ำมันในน้ำ วัฏภาคกระจายจะต้องละลายเข้ากันเป็นเนื้อเดียวได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่โดยใช้อัตราส่วนระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและสารก่อกวนไขเลนร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก น่าจะเหมาะสำหรับการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลในขั้นต่อไป และเมื่อพิจารณาร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูลร่วมด้วย ดังผลการทดลอง

ในตารางที่ 4.1 พบว่าทั้งสามสภาวะมีค่าใกล้เคียงกันโดยที่อัตราส่วนระหว่างเซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลนที่ร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก นั้นมีร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกสูงกว่าที่สภาวะอื่นเล็กน้อย ดังนั้น จึงเลือกที่อัตราส่วนดังกล่าวเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการนำไปเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลต่อไป



ภาพที่ 4.9 Optical micrographs ของหยคมอนอเมอร์ (a - c) และพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (a' - c') ที่อัตราส่วนระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลนต่าง ๆ (ร้อยละ โดยน้ำหนัก): 50:50 (a และ a') 67:33 (b และ b') และ 75:25 (c และ c')



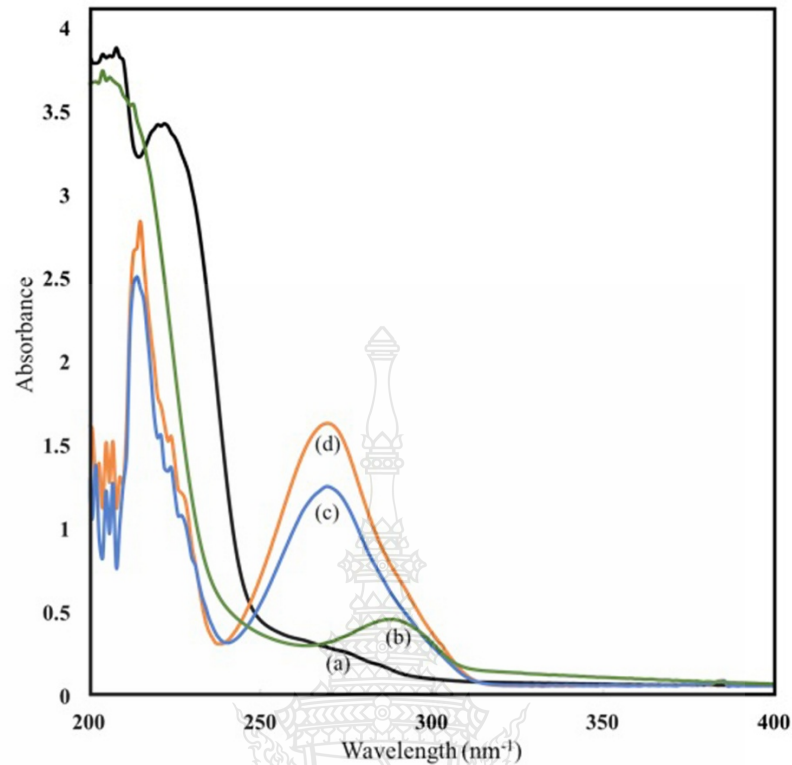
ภาพที่ 4.10 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน (a - c) ที่เตรียมด้วยระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมัน ที่อัตราส่วน ระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและสารคู่ควบไขมันต่าง ๆ (ร้อยละโดย น้ำหนัก): 50:50 (a) 67:33 (b) และ 75:25 (c)

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกภายในแคปซูล โดยคำนวณหาร้อยละการบรรจุและ ประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโคปี จากสเปกตรัม ดังภาพที่ 4.11 พบว่ากรดแกลลิกมีค่าความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ที่ 270 นาโนเมตร ซึ่งเมื่อเทียบกับสเปกตรัม ของตัวทำละลาย คือ 1,4- ไดออกเซน (ภาพที่ 4.11 (a)) เซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ด้วย สารคู่ควบไขมัน (ภาพที่ 4.11 (b)) และพอลิเมอร์แคปซูลที่กักเก็บกรดแกลลิก (ภาพที่ 4.11 (d)) ไม่ทับซ้อนกับสเปกตรัมอื่น ๆ และความยาวคลื่นสูงสุดนี้พบที่สเปกตรัมของทั้งสารละลาย กรดแกลลิกมาตรฐาน (ภาพที่ 4.11 (c)) และพอลิเมอร์แคปซูลที่กักเก็บกรดแกลลิก เป็นการยืนยันว่ามี กรดแกลลิกถูกกักเก็บอยู่ภายในแคปซูล

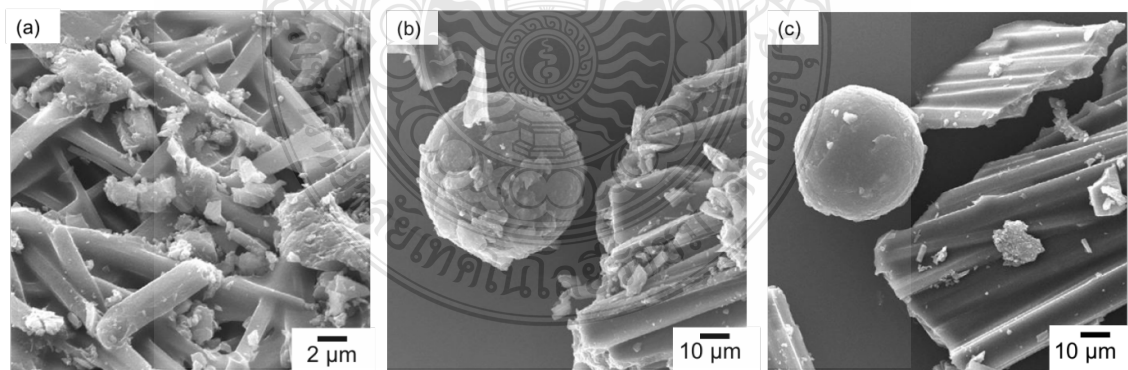
ตารางที่ 4.1 ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในไมโครพอลิเมอร์แคปซูล เมื่อใช้คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ที่อัตราส่วนต่าง ๆ ระหว่างเซลลูโลสและ สารคู่ควบไขมัน

CMC:MPS (w/w%)	%Loading ^a		%Encapsulation ^a
	Experimental ^a	Theoretical	
50:50	37 ± 0.53	50	68 ± 1.00
67:33	36 ± 0.58	53	68 ± 1.10
75:25	37 ± 1.64	52	71 ± 3.19

^a n = 3



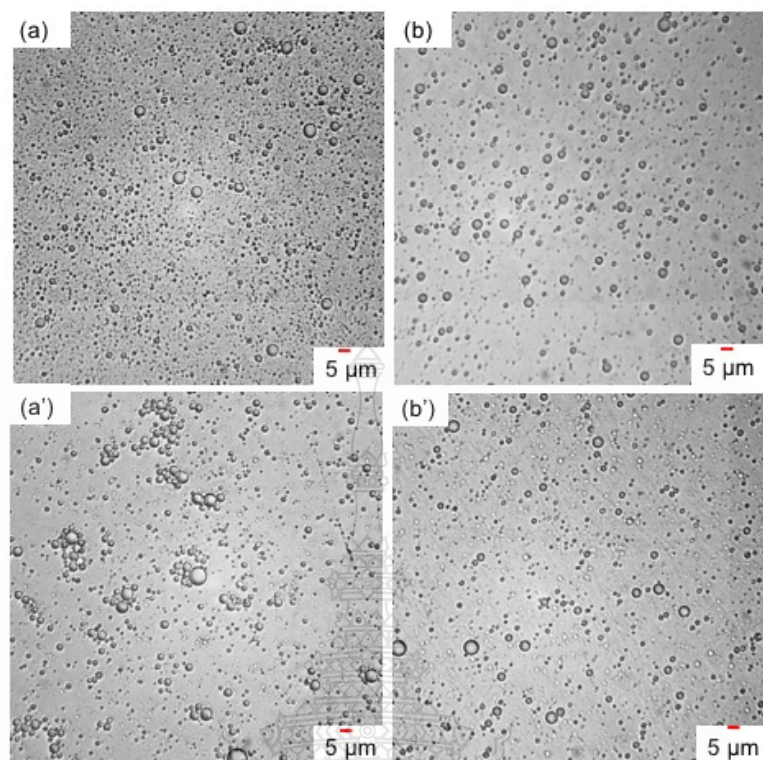
ภาพที่ 4.11 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ 1,4- ไดออกเซน (a) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลน (b) สารละลายกรดแกดอลิกมาตรฐาน (c) และพอลิเมอร์แคปซูล (d)



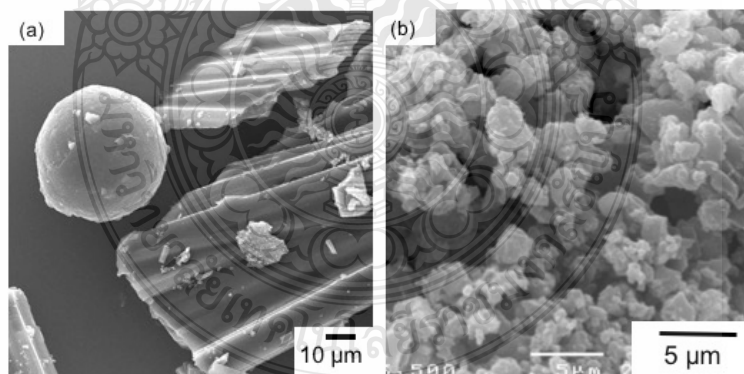
ภาพที่ 4.12 SEM micrographs ของพอลิเมอร์แคปซูลที่เก็บกรดแกดอลิกที่อัตราส่วนระหว่างเซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลนต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก): 50:50 (a) 67:33 (b) และ 75:25 (c)

ถึงแม้ว่าแคปซูลที่เตรียมได้จะมีความเสถียรทางคอลลอยด์ที่ดี เมื่ออยู่ในสถานะอิมัลชัน แต่เมื่อทำให้แห้งและทำการตรวจสอบลักษณะแคปซูลทั้งสามสถานะด้วย SEM พบว่าส่วนใหญ่จะพบตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นแท่งและแทบ ไม่พบพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่เป็นทรงกลม ดังภาพที่ 4.12 คาดว่าแคปซูลนั้นไม่สามารถคงรูปทรงกลมได้หลังทำการระเหยโทลูอินและทำให้แห้ง ส่วนใหญ่ที่พบคือ ผลึกของกรดแกลลิก และผลึกของเซลลูโลส ส่วนหนึ่งคาดว่าเนื่องจากปริมาณตัวทำละลายผสมในวัฏภาคน้ำมีปริมาณค่อนข้างมาก โดยในการสังเคราะห์ใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง Acetone:DI water:THF ที่อัตราส่วน 3:2:1 อัตราส่วนโดยรวมระหว่าง Polymer:solvents in water phase:GA (กรัม) คือ 1:5:1 ซึ่งพบว่ามีปริมาณตัวละลายในชั้นน้ำมากเกินไป ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการละลายกรดแกลลิกเป็นหลัก ทำให้แคปซูลที่ได้มีความอ่อนนุ่ม และเกิดการรวมตัวกันได้ง่าย ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยเปลี่ยนตัวทำละลายในวัฏภาคน้ำเป็น 1, 4-dioxane:DI water ที่อัตราส่วน 2:1 ซึ่งจะลดอัตราส่วนโดยรวมระหว่าง Polymer:solvents in water phase:GA (กรัม) เป็น 1:3:1 ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4.13 และจากตารางที่ 4.2 พบว่าร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลนั้นไม่ต่างจากเดิม และเมื่อตรวจสอบลักษณะแคปซูลทั้งสองสถานะด้วย SEM (ภาพที่ 4.14) พบว่าพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่เปลี่ยนตัวทำละลายในวัฏภาคน้ำเป็น 1, 4-dioxane:DI water นั้นมีลักษณะแท่งลดน้อยลง และมีลักษณะทรงกลมมากขึ้น แต่ก็ยังมีการเกาะตัวกันเป็นก้อน





ภาพที่ 4.13 Optical micrographs ของพอลิเมอรรีไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (a และ b) และพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (a' และ b') ที่ใช้ตัวทำละลายผสมต่าง ๆ: Acetone:DI water:THF (a และ a') และ 1, 4-dioxane:DI water (b และ b')



ภาพที่ 4.14 SEM micrographs ของพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกที่ใช้ตัวทำละลายผสมต่าง ๆ: Acetone:DI water:THF (a) และ 1, 4-dioxane:DI water (b)

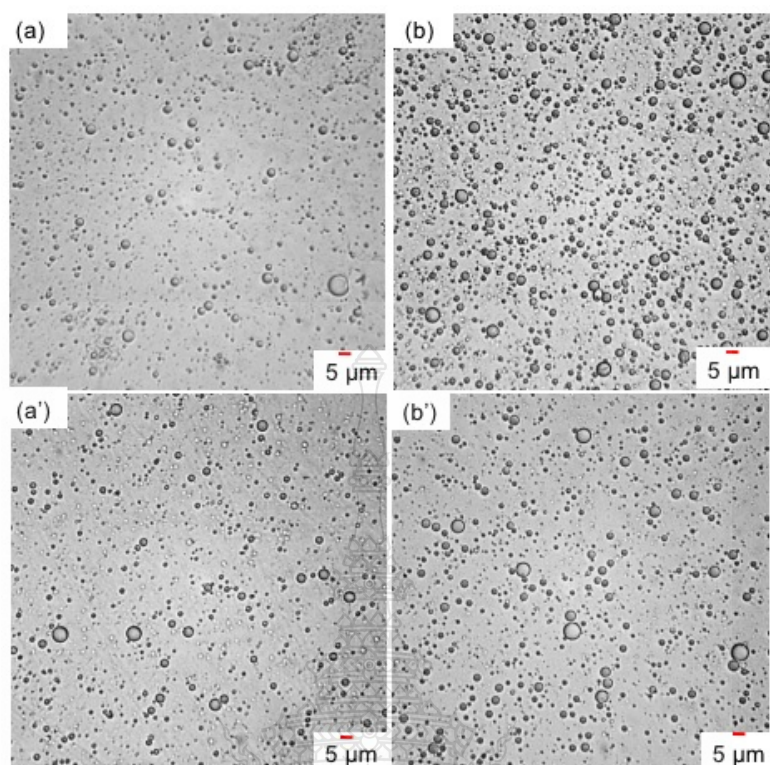
ตารางที่ 4.2 ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูล ที่ใช้ตัวทำละลายผสมต่าง ๆ

Condition	%Loading		%Encapsulation ^a
	Experimental ^a	Theoretical	
Acetone:DI water:THF	37 ± 1.65	53	71 ± 3.19
1, 4-dioxane:DI water	37 ± 0.57	51	72 ± 1.12

^a n = 3

3) ผลของพีเอชของสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาผลของค่าพีเอชของสารละลายเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลนต่อลักษณะแคปซูลและประสิทธิภาพการกักเก็บ โดยศึกษาที่พีเอชจาก 4 และ 9 โดยใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งคาดว่าเมื่อเพิ่มพีเอชเป็นเบสจะมีผลทำให้หมู่คาร์บอกซีลิกบนสายโซ่เซลลูโลสมีการแตกตัวเพิ่มขึ้น ทำให้เซลลูโลสเข้ากันได้กับสารอื่น ๆ ในวัฏภาคเดียวกันได้ดียิ่งขึ้น และอาจมีส่วนช่วยในเรื่องประสิทธิภาพการกักเก็บมากขึ้น โดยเลือกใช้เซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ที่อัตราส่วนร้อยละ 50:50 โดยน้ำหนัก อัตราส่วนระหว่างเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคลิลิกที่ร้อยละ 50:50 โดยน้ำหนัก และอัตราส่วนระหว่างพอลิเมอร์ต่อกรดแกลลิกที่ร้อยละ 50:50 โดยน้ำหนัก ตามผลการทดลองก่อนหน้านี้ ซึ่งได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4.15 พบว่าทั้งสองสภาวะนั้นได้หยคมอนอเมอร์ก่อนทำการสังเคราะห์ (ภาพที่ 4.15 (a และ b)) และพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกในลักษณะทรงกลม (ภาพที่ 4.15 (a' และ b')) ซึ่งมีความเสถียรทางคอลลอยด์ที่ใกล้เคียงกัน และจากตารางที่ 4.3 พบว่าสภาวะที่ปรับเปลี่ยนค่าพีเอชของสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่เป็น 9 มีผลให้ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูลสูงขึ้นที่ร้อยละ 39 และ 75 ตามลำดับ คาดว่าเกิดจากสภาวะที่เป็นเบสของสารละลายเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลนทำให้มีความชอบน้ำเพิ่มขึ้นส่งผลต่อความเข้ากันได้ ในวัฏภาคเดียวกันมากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงเลือกสภาวะดังกล่าวในการศึกษาขั้นต่อไป



ภาพที่ 4.15 Optical micrographs ของหยดมอนอเมอร์ (a และ b) และพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (a' และ b') โดยสารละลายเซลลูโลสที่ทำกรปรับเปลี่ยนหมู่ที่ค่าพีเอชต่าง ๆ: ค่าพีเอช 4 (a และ a') และค่าพีเอช 9 (b และ b')

ตารางที่ 4.3 ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูลที่สภาวะที่ทำการศึกษการปรับเปลี่ยนค่าพีเอช ของสารละลายเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่

pH	%Loading		%Encapsulation ^a
	Experimental ^a	Theoretical	
4	37 ± 0.57	51	71 ± 1.12
9	39 ± 0.35	51	75 ± 0.68

^a n = 3

4) อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิก

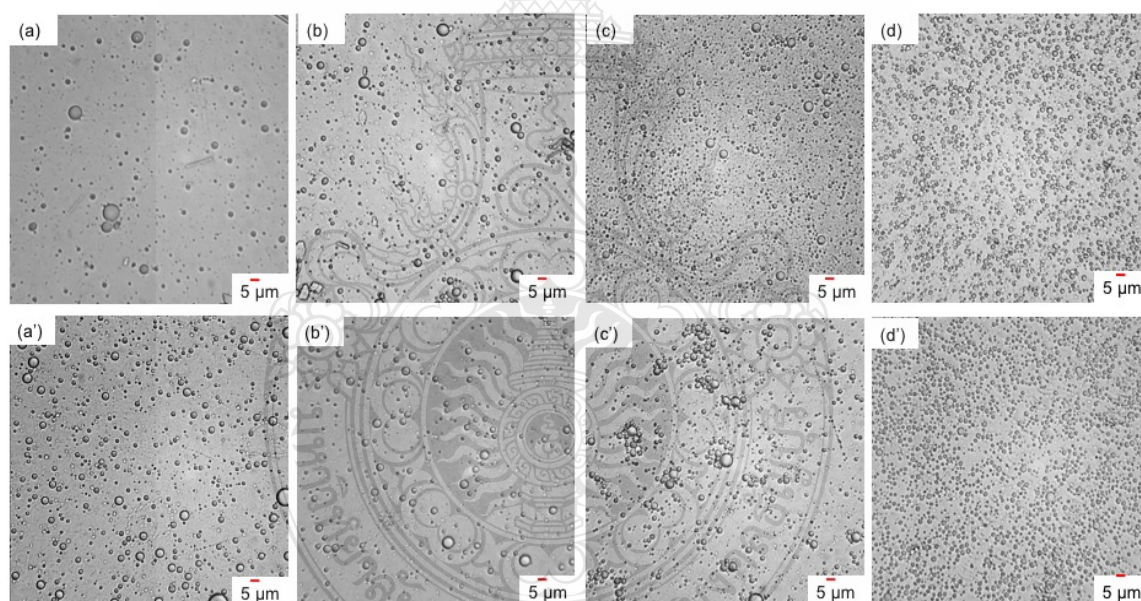
ในขั้นตอนนี้ได้ทำการศึกษาผลของอัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิกที่มีต่อประสิทธิภาพการกักเก็บกรดแลคติกและการเกิดแคปซูล

จาก optical micrographs ดังภาพที่ 4.16 พบว่าทุกสภาวะหยดมอนอเมอร์ (ภาพที่ 4.16 (a - d)) และพอลิเมอร์ไมโครแคปซูล (ภาพที่ 4.16 (a' - d')) ที่ได้มีลักษณะเป็นทรงกลม ความเสถียรทางคอลลอยด์สูง โดยที่ขนาดและการกระจายตัวของพอลิเมอร์แคปซูลมีแนวโน้มลดลงเมื่อมีปริมาณกรดเมทาคริลิกเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์ หรือพอลิเมอร์แคปซูลในระบบน้ำในน้ำมันด้วยการสังเคราะห์ทั้งแบบแขวนลอย และแบบมินิมัลชัน โดยทั่วไปนั้นจะไม่มีเสถียรทางเทอร์โมไดนามิก (Thermodynamic unstable) จะทำให้เกิดการแพร่ของมอนอเมอร์จากหยดขนาดเล็กไปยังหยดขนาดใหญ่ ทำให้หยดพอลิเมอร์ในระหว่างการสังเคราะห์รวมตัวกันจากหยดขนาดเล็กกลายเป็นหยดขนาดใหญ่ เรียกว่า ‘Oswald ripening’ [116, 117] ซึ่งจะทำให้หยดมอนอเมอร์มีความเสถียรมากขึ้น โดยทั่วไปการแก้ปัญหานี้ทำได้โดยการเพิ่มสารที่มีความชอบน้ำ เช่น กลีเซอรีน หรือโคพอลิเมอร์ เพื่อเพิ่มความชอบน้ำให้แก่หยดอนุภาคน้ำที่กระจายตัว ดังนั้น ในงานวิจัยนี้ การเติมกรดเมทาคริลิกที่มีความเข้มข้น และความชอบน้ำสูง จะช่วยลดโอกาสการเกิด Oswald ripening ดังที่กล่าวไปก่อนหน้านี้ จึงทำให้ขนาดพอลิเมอร์แคปซูลของโคพอลิเมอร์ระหว่างเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลนกราฟต์กับกรดเมทาคริลิก (m-CMC-g-PMAA copolymer) มีขนาดเล็กลง เมื่อมีปริมาณกรดเมทาคริลิกเพิ่มมากขึ้น และเมื่อพิจารณาพร้อมกับร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแลคติกในพอลิเมอร์แคปซูล ดังแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแลคติกนั้นมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีปริมาณกรดเมทาคริลิกเพิ่มขึ้น จากคุณสมบัติความชอบน้ำของกรดเมทาคริลิก มีส่วนช่วยเพิ่มความชอบน้ำและความเข้ากันได้กับน้ำมากขึ้นด้วย และสามารถเกิดเป็นเปลือกกักเก็บพอลิเมอร์ในลักษณะของโครงร่างสามมิติ (3D network shell) ผ่านพันธะไฮโดรเจน [88-91] ทำให้พอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่ได้มีร้อยละและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแลคติกสูงตามไปด้วย

ตารางที่ 4.4 ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูลที่อัตราส่วนต่าง ๆ ของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิก

m-CMC:MAA	%Loading		%Encapsulation ^a
	Experimental ^a	Theoretical	
75:25	31 ± 4.01	53	60 ± 7.64
67:33	31 ± 1.43	54	59 ± 2.66
50:50	39 ± 0.35	51	75 ± 0.68
33:67	43 ± 1.57	55	78 ± 2.87

^a n = 3

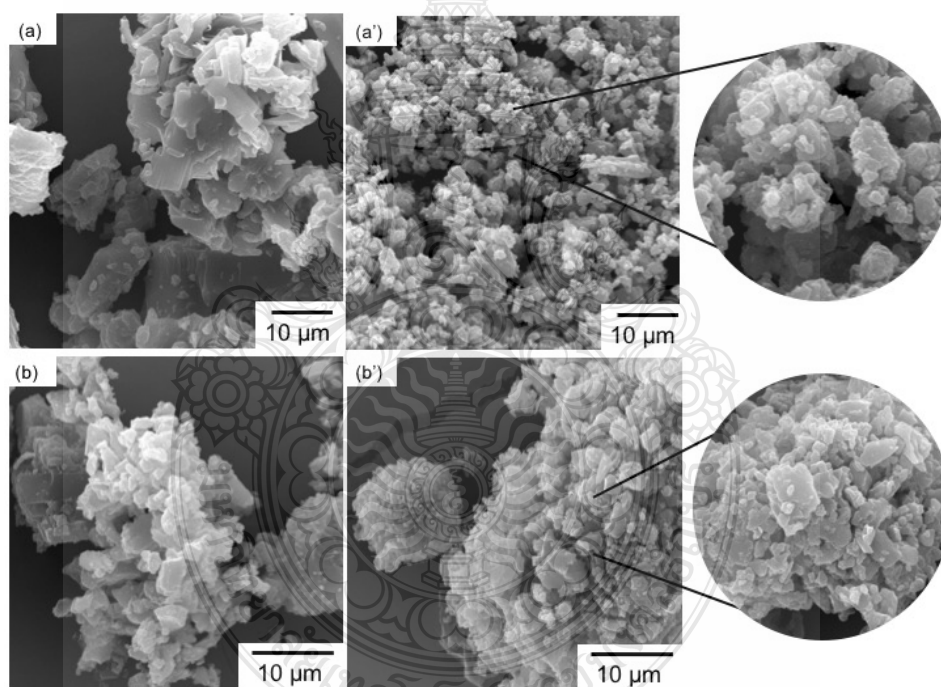


ภาพที่ 4.16 Optical micrographs ของหยดมอนอเมอร์ (a - d) และพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (a' - d') ที่อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิกต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก): 75:25 (a และ a') 67:33 (b และ b') 50:50 (c และ c') และ 33:67 (d และ d')

โดยสามารถสรุปได้ว่ากรดเมทาคริลิกที่เพิ่มลงไปในระบบนั้นช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งในการศึกษานี้ได้เลือกอัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิล

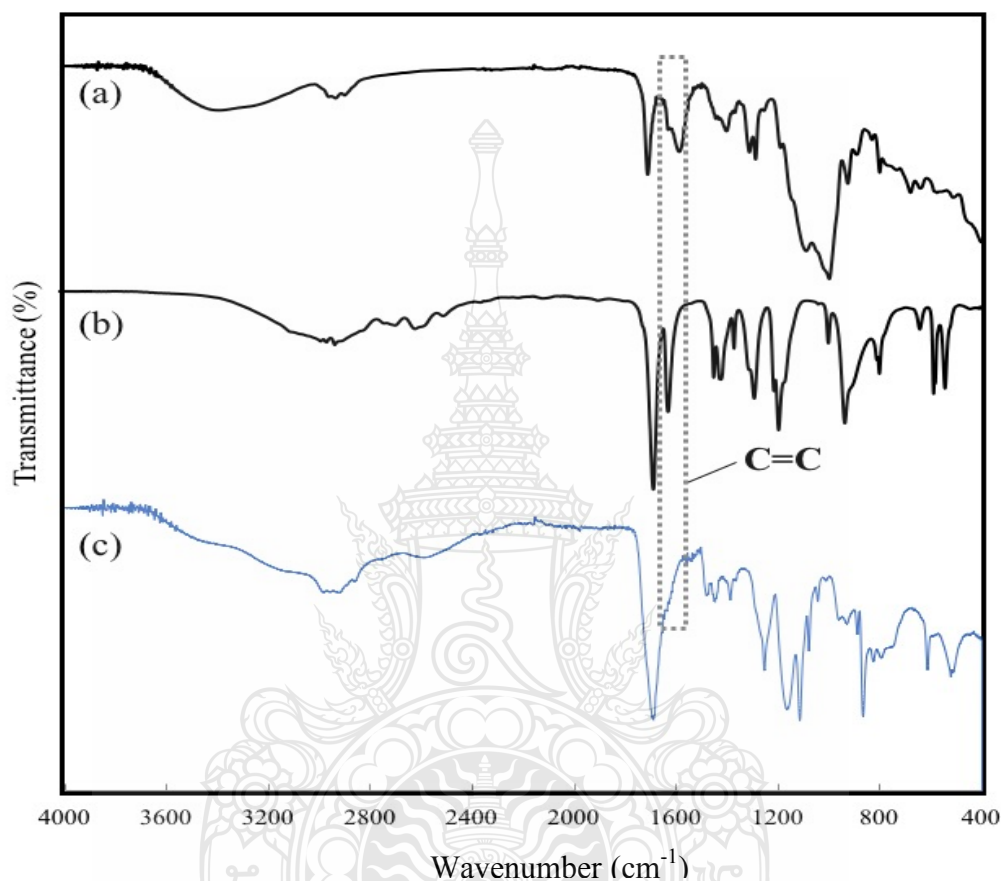
เซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิกที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูล คือ ที่อัตราส่วน 33:67 ซึ่งมีร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกที่ 43 และ 78 ตามลำดับ เพื่อทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

จากภาพที่ 4.18 การศึกษาพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ได้ทำการเลือกพอลิเมอร์แคปซูลที่สภาวะร้อยละ 50:50 (ภาพที่ 4.17 (a และ a')) และ 33:67 (ภาพที่ 4.17 (b และ b')) โดยน้ำหนัก ซึ่งร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูลที่ได้ค่อนข้างสูง พบว่าลักษณะของแคปซูลที่ทำให้แห้งก่อน และหลังบด ไม่เป็นทรงกลมมีการจับกันเป็นก้อนไม่กระจายตัว โดยที่ลักษณะผลึกที่พบในการทดลองก่อนหน้านี้้นลดน้อยลง อย่างไรก็ตาม พอลิเมอร์ไมโครแคปซูลนั้นสามารถคงสภาพรูปทรงกลมได้ดีขึ้นกว่าการทดลองก่อนหน้านี้



ภาพที่ 4.17 SEM micrographs ของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกก่อน (a และ b) และหลังบด (a' และ b') ที่อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิกต่าง ๆ (ร้อยละโดยน้ำหนัก): 50:50 (a และ a') และ 33:67 (b และ b')

เมื่อทำการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรด สามารถยืนยันการเกิดกราฟท์โคพอลิเมอร์เชนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่กับกรดเมทาคริลิก



ภาพที่ 4.18 ฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรด สเปกตรัมของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลน ที่อัตราส่วนระหว่างร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก (a) กรดเมทาคริลิก (b) และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิก แอซิด อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อกรดเมทาคริลิกที่ร้อยละ 33:67 โดยน้ำหนัก (c)

คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลน มีหมู่ข้างเคียงเป็นพันธะคู่ที่จะสามารถเกิดการโคพอลิเมอร์เชนกับกรดเมทาคริลิกด้วยกลไกการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบอนุมูลอิสระ (โดยที่เปลือกพอลิเมอร์แคปซูลสร้างเป็นรูปแบบของโครงร่างสามมิติผ่านพันธะโควาเลนต์ และพันธะไฮโดรเจน [88-91]) จากภาพที่ 4.18 เปรียบเทียบสเปกตรัมของคาร์บอกซีเมทิล-

เซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลน (ภาพที่ 4.18 (a)) กรดเมทาคริลิก (ภาพที่ 4.18 (b)) และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่หลังการโคพอลิเมอร์เซชันกับกรดเมทาคริลิก (ภาพที่ 4.18 (c)) พบว่าสเปกตรัมของ C=C ที่ความยาวคลื่น $1,630 \text{ เซนติเมตร}^{-1}$ มีความเข้มของสเปกตรัมลดลงอย่างมาก ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่เกิดการโคพอลิเมอร์เซชันกับกรดเมทาคริลิกได้จริง

จากการทดลองที่พบว่า แคปซูลที่ทำให้แห้งจะเกิดการจับตัวเป็นก้อนได้ง่าย ซึ่งสันนิษฐานว่าน่าจะเกิดจากการที่เปลือกแคปซูลของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสกราฟท์เมทาคริลิกแอซิดเกิดการเชื่อมโยงร่างแหสามมิติ ทำให้มีสมบัติคล้ายกับไฮโดรเจล จึงมีความนุ่ม ทำให้เกิดการจับตัวกันของแคปซูลได้ง่าย จึงได้ทำการทดสอบการดูดซับน้ำของเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลนกราฟต์กับเมทาคริลิกแอซิด โคพอลิเมอร์ที่เปรียบเทียบกับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลนที่อัตราส่วน 75:25 ดังตารางที่ 4.5

จากตารางที่ 4.5 พบว่าการดูดซับน้ำของโคพอลิเมอร์ในน้ำสถานะเป็นกลาง ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาหนึ่งคืน ซึ่งเทียบน้ำหนักระหว่างก่อนและหลังทำการทดสอบการดูดซับน้ำของโคพอลิเมอร์นั้นสูงถึงร้อยละ 92 ซึ่งสูงกว่าคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลนที่มีการดูดซับน้ำร้อยละ 14 จึงคาดว่าโคพอลิเมอร์ดังกล่าวสามารถสร้างตัวเป็นลักษณะของร่างแหสามมิติและมีสมบัติเป็นไฮโดรเจล

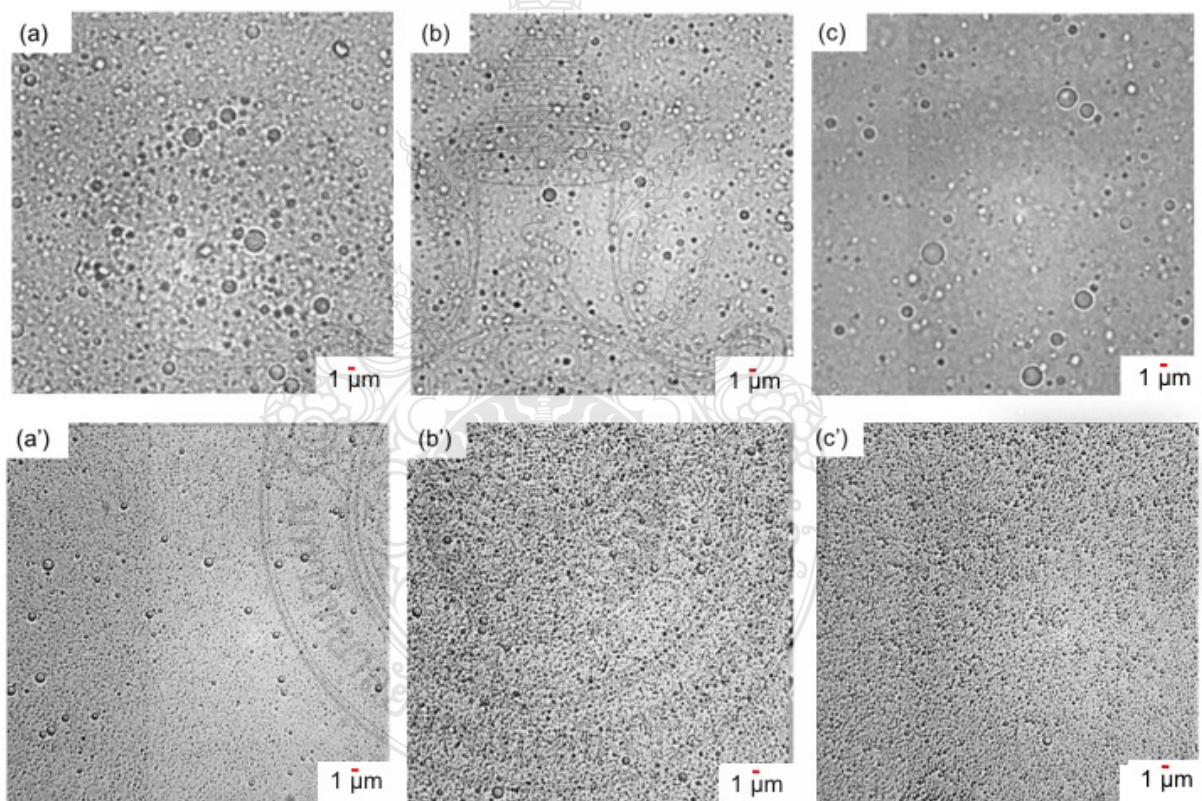
ตารางที่ 4.5 การทดสอบการดูดซับน้ำของโคพอลิเมอร์และเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลน

	Sample (g)	Swell sample (g)	Swelling (P_s ; g) ^a
m-CMC-g-PMAA	0.0627 ± 0.004	0.1201 ± 0.006	92 ± 7.065
m-CMC	0.0589 ± 0.002	0.0669 ± 0.001	14 ± 3.071

^a n = 3

4.4 สภาพที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน

จากการทดลองการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอยข้างต้น ได้สภาพที่เหมาะสม คือใช้ วิเอ-057 เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก อัตราส่วนคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ที่อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อเอ็มพีเอสร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก และอัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิกที่ร้อยละ 33:67 โดยน้ำหนัก จึงได้นำมาใช้ในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลในขนาดระดับนาโนเมตรด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน ซึ่งได้ผลทดลองดังภาพที่ 4.19



ภาพที่ 4.19 Optical micrographs ของหยดมอนอเมอร์ (a - c) และพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก (a' - c') ที่เตรียมด้วยการสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน โดยการปั่นเตรียมหยดที่ร้อยละแอมพลิจูด (%amplitude) ต่าง ๆ; 20 (a และ a') 40 (b และ b') และ 60 (c และ c')

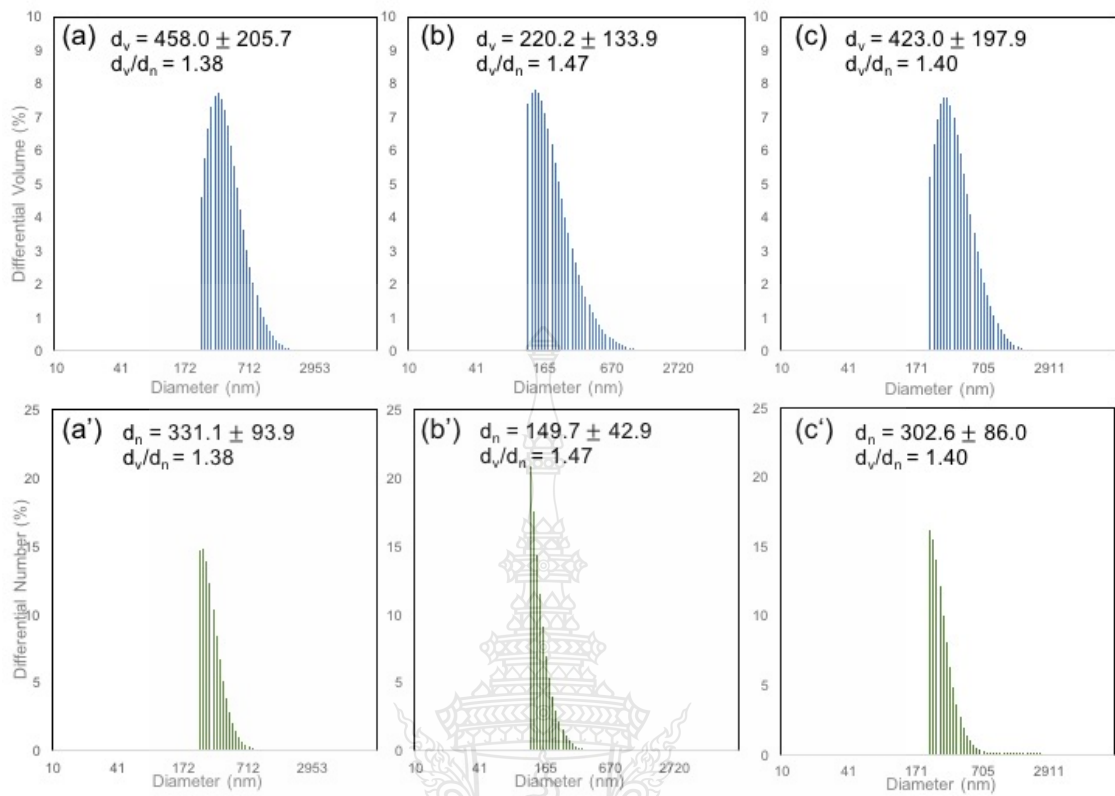
เมื่อพิจารณาจาก optical micrograph ดังภาพที่ 4.19 ของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บกรดแกแลคติกที่เตรียมได้ พบว่าหยาบมอโนเมอร์ก่อนและพอลิเมอร์แคปซูลหลังการสังเคราะห์ มีลักษณะเป็นทรงกลม ไม่จับตัวกัน โดยร้อยละที่มอโนเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์ค่อนข้างสูง อยู่ในช่วงร้อยละ 88 - 92 และร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บ คือ ร้อยละ 36 - 37 และ 68 - 73 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.6 ใกล้เคียงกับไมโครแคปซูลที่เตรียมได้ข้างต้น

เมื่อพิจารณาจากขนาดของแคปซูล พบว่า เมื่อใช้อัตราเร็วในการปั่นด้วยอัลตราโซนิเคเตอร์เพิ่มขึ้น จากร้อยละ 20 เป็น 40 แอมพลิจูด ขนาดของแคปซูลลดลง เนื่องจากขนาดของแรงเฉือนที่เพิ่มขึ้นดังภาพที่ 4.20 (a, a', b และ b') แต่เมื่อเพิ่มอัตราการปั่นเป็นร้อยละ 60 แอมพลิจูด ขนาดของแคปซูลกลับเพิ่มขึ้น ซึ่งคาดว่าเกิดจากแคปซูลมีขนาดเล็กลงเนื่องจากแรงเฉือนที่สูงขึ้น ทำให้พอลิเมอร์แคปซูลที่ได้ไม่เสถียร เกิดการรวมตัวกันบางส่วน ทำให้มีขนาดเพิ่มขึ้น [118, 119] ดังภาพที่ 4.21 (c และ c') อย่างไรก็ตาม แคปซูลที่ได้ในทั้งสามสภาวะนั้นมีขนาดในระดับนาโนเมตรทั้งหมด

ดังนั้น เมื่อพิจารณาขนาดของพอลิเมอร์แคปซูล ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บกรดแกแลคติกในพอลิเมอร์แคปซูล จึงได้เลือกการบอกรีเมทิลเซลลูโลส-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิกแอซิด นาโนแคปซูลที่เตรียมโดยใช้อัลตราโซนิเคเตอร์ ร้อยละแอมพลิจูดที่ 40 เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยกรดแกแลคติกในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 4.6 ร้อยละการเปลี่ยนมอโนเมอร์เป็นพอลิเมอร์ ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บที่สภาวะต่าง ๆ

Stirring rate (Amplitude; %)	Conversion (%)	Loading (%)		Encapsulation (%)
		Experimental	Theoretical	
20	92	37 ± 1.45	52	72 ± 2.82
40	91	37 ± 0.52	52	73 ± 1.01
60	88	36 ± 0.81	53	68 ± 1.52



ภาพที่ 4.20 กราฟแสดงขนาดและการกระจายตัวของแคปซูล ที่ร้อยละแอมพลิจูด 20 (a และ a')
40 (b และ b') และ 60 (c และ c')

4.5 การศึกษาการปลดปล่อยกรดแกดลิกของพอลิเมอร์แคปซูล

เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำแคปซูลที่ได้ไปใช้งานในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง จึงได้ทำการศึกษาการปลดปล่อยกรดแกดลิกของพอลิเมอร์ไมโครแคปซูล โดยเลือกใช้พอลิเมอร์แคปซูลในสถานะที่เหมาะสมทั้งไมโครและนาโนแคปซูล ทำการทดลองในสภาวะจำลองภายนอกสิ่งมีชีวิต (*in vitro*) ในตัวกลางฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่สภาวะพีเอช 7.4 และ 5.5 ซึ่งเป็นสภาวะพีเอชที่เหมาะสมสำหรับผิวหนัง [93-95, 120] และควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ร้อยละการปลดปล่อยกรดแกดลิกของพอลิเมอร์แคปซูลที่เวลาต่าง ๆ

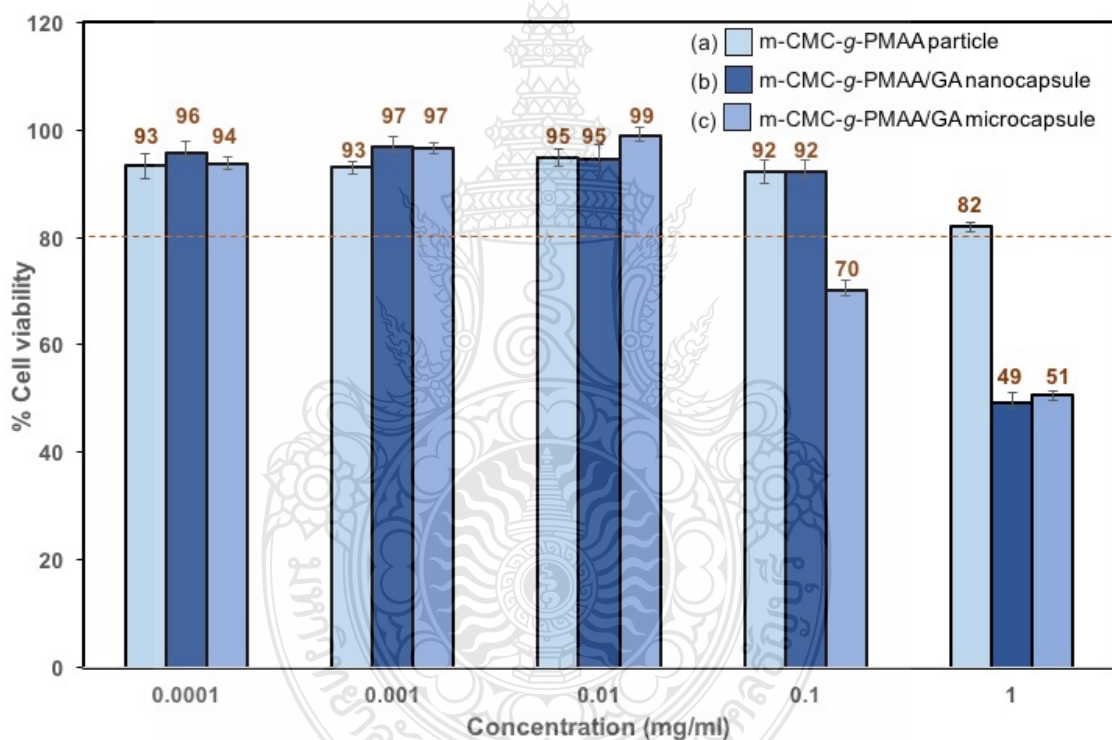
Times (h)	GA release (%) ^a		
	Microcapsules		Nanocapsules
	pH 7.4	pH 5.5	pH 7.4
0	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00
0.5	68 ± 1.43	58 ± 1.89	73 ± 1.03
1	72 ± 1.86	67 ± 1.90	76 ± 0.95
2	77 ± 2.50	74 ± 2.37	85 ± 1.22
6	82 ± 1.95	80 ± 3.25	94 ± 1.16
24	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00

^a n=3

จากการศึกษาการปลดปล่อยกรดแกดลิกที่เวลาต่าง ๆ ดังข้อมูลในตารางที่ 4.7 พบว่าพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่ช่วง 30 นาทีแรกในสภาวะพีเอช 7.4 และ 5.5 มีปริมาณกรดแกดลิกที่ถูกปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็วที่ร้อยละ 66 และ 58 ตามลำดับ โดยที่ในพอลิเมอร์นาโนแคปซูลนั้นที่ช่วง 30 นาทีแรกในสภาวะพีเอช 7.4 มีปริมาณกรดแกดลิกที่ถูกปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็วกว่าพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่ร้อยละ 73 และในทั้งสามสภาวะนั้นการปลดปล่อยจะเริ่มช้าลงจนหมดที่ 24 ชั่วโมง จึงสามารถสรุปได้ว่าพอลิเมอร์แคปซูลที่ได้มีประสิทธิภาพในการปลดปล่อยกรดแกดลิกได้อย่างรวดเร็ว และเนื่องจากเปลือกพอลิเมอร์แคปซูลที่เป็นคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสนั้นเป็นพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อค่าพีเอช สามารถแตกตัวได้มากขึ้นในสภาวะเบส จึงส่งผลให้กรดแกดลิกถูกปลดปล่อยได้มากกว่าที่สภาวะกรด และขนาดของแคปซูลที่เล็กลง ส่งผลให้การปลดปล่อยรวดเร็วขึ้นเนื่องจากพื้นที่ผิวมากขึ้น การปลดปล่อยจึงรวดเร็วขึ้น

4.6 การทดสอบความเป็นพิษในเซลล์เพาะเลี้ยง

ในการนำแคปซูลที่เตรียมได้ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ความเข้ากันได้ทางชีวภาพเป็นประเด็นสำคัญที่ต้องพิจารณา ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการทดสอบความเป็นพิษของแคปซูลที่เตรียมได้ต่อเซลล์ผิวหนัง โดยใช้พอลิเมอร์ไมโครและนาโนแคปซูล ที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วนคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อเมทาคริลิกแอซิดมอนอเมอร์ร้อยละ 33:67 โดยน้ำหนัก ซึ่งทำการศึกษาที่ 5 ความเข้มข้นของแคปซูล โดยใช้ไดเมทิลซัลโฟไซด์เป็นตัวทำละลาย และใช้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักเป็นสถานะควบคุม หรือกลุ่มควบคุม เปรียบเทียบกับอนุภาคโคพอลิเมอร์ที่ไม่มีกรดแกดอลิก



ภาพที่ 4.21 ร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์เมื่อสัมผัสสารทดสอบ ด้วยวิธีทดสอบ MTT assay ที่เวลา 24 ชั่วโมง ของอนุภาคคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิกแอซิด (a) ไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกดอลิก (b) และนาโนแคปซูลกักเก็บกรดแกดอลิก (c)

จากผลการทดลอง พบว่าในกรณีของไมโครแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังที่ความเข้มข้นน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งแสดงโดยร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 80 แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไมโครแคปซูลเป็น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าร้อยละการมีชีวิตรอดลดลงเหลือเพียงประมาณร้อยละ 50 เท่านั้น ในกรณีของนาโนแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยแสดงการมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ต่ำกว่าร้อยละ 80 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้สัมผัสกับสารทดสอบใด ๆ ดังแสดงในภาพที่ 4.21 ในขณะที่อนุภาคนาร์บอกลีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิกแอซิด ที่ไม่กักเก็บกรดแกลลิกนั้นไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์แม้ใช้ความเข้มข้นสูงถึง 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งแสดงว่าการมีกรดแกลลิกในปริมาณที่สูงจะแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง เนื่องจากความเป็นกรดของกรดแกลลิก ดังนั้นสามารถนำพอลิเมอร์แคปซูลไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้ โดยควบคุมให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง



บทที่ 5

สรุปผลการวิเคราะห์และข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาการเตรียมเซลลูโลสไมโครและนาโนแคปซูลกักเก็บกรดแกลลิก ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในสารสกัดจากถั่วเหลือง ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอยและแบบมินิมัลชันในระบบน้ำในน้ำมันสำหรับประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง โดยใช้คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักของเปลือก และกรดแกลลิกเป็นแกน เพื่อให้การกักเก็บมีประสิทธิภาพสูง ในขั้นตอนแรกได้ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสให้มีพันธะคู่ที่สามารถเกิดการพอลิเมอไรเซชันกับมอนอเมอร์อื่นได้ ด้วยเอมีนพีเอสซึ่งเป็นสารคู่ควบไซเลนผ่านกระบวนการไซเลนในเซชันในสถานะกรด ที่ค่าพีเอช 4 และอุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส โดยศึกษาอัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อเอมีนพีเอสที่ร้อยละ 50:50 67:33 และ 75:25 โดยน้ำหนัก ได้เป็นคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ จากผลการทดสอบด้วยเทคนิค FT-IR และ ¹H-NMR ยืนยันว่าคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสสามารถเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันให้มีพันธะคู่ได้สำเร็จ และปริมาณพันธะคู่ต่างกันเพียงเล็กน้อย โดยได้เลือกใช้อัตราส่วนร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก สำหรับการสังเคราะห์ในขั้นต่อไปเนื่องจากมีความสามารถในการละลายน้ำสูง ซึ่งเป็นผลมาจากการใช้สารคู่ควบไซเลนที่มีความไม่ชอบน้ำสูงในปริมาณน้อยที่สุด จากนั้น นำคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่นี้มาทำการกราฟท์กับเมทาคริลิกแอซิดมอนอเมอร์ผ่านพันธะคู่จากเอมีนพีเอสด้วยกลไกการสังเคราะห์แบบอนุมูลอิสระ จะได้เป็นเปลือกพอลิเมอร์ร่างแหที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่กราฟท์พอลิเมทาคริลิก แอซิด และพบว่าที่อัตราส่วนคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อกรดเมทาคริลิกร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก มีประสิทธิภาพการกักเก็บสูง (ร้อยละ 71) แต่เนื่องจากปริมาณตัวทำละลายเริ่มต้นของวัฏภาคกระจายมีปริมาณมาก ซึ่งใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง Acetone:DI water:THF ที่อัตราส่วน 3:2:1 คิดเป็นอัตราส่วนโดยรวมระหว่างพอลิเมอร์ ต่อตัวทำละลายผสม ต่อกรดแกลลิก (กรัม) คือ 1:5:1 จึงได้ศึกษาชนิดและปริมาณของตัวทำละลายผสมและพบว่าการใช้ 1, 4- dioxane:DI water ที่อัตราส่วน 2:1 และอัตราส่วนโดยรวมระหว่าง พอลิเมอร์ ต่อตัวทำละลายผสม ต่อกรดแกลลิก (กรัม) คือ 1:3:1 สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการกักเก็บได้เล็กน้อย (ร้อยละ 72) โดยปรับค่าพีเอชของสารละลายเซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็น 9 พบว่ามีประสิทธิภาพการกักเก็บสูงขึ้น (ร้อยละ 77) จากนั้น ศึกษาอัตราส่วนระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่กับเมทาคริลิกแอซิดที่ร้อยละ 75:25 67:33 50:50 และ 33:67 โดยน้ำหนัก พบว่าในทุกสถานะได้

ไมโครแคปซูลทรงกลมที่มีความเสถียรทางคอลลอยด์สูง มีประสิทธิภาพการกักเก็บสูง (ร้อยละ 59 - 78) โดยที่อัตราส่วน 33:67 ร้อยละโดยน้ำหนัก มีประสิทธิภาพการกักเก็บสูงที่สุด จึงเลือกสภาวะนี้เป็นสภาวะที่เหมาะสมไปใช้ในการเตรียมนาโนแคปซูลด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิมัลชัน โดยทำการศึกษาร้อยละแอมพลิจูดที่ 20 40 และ 60 ในการปั่นเตรียมหยดน้ำมัน ซึ่งจะพบว่าการอัตราโซนิกที่ร้อยละ 40 แอมพลิจูด ได้นำไมโครแคปซูลทรงกลมที่มีความเสถียรทางคอลลอยด์สูง และมีปริมาณกรดแกลลิกที่กักเก็บ (ร้อยละ 37) และประสิทธิภาพการกักเก็บ (ร้อยละ 73) สูงที่สุด จากนั้นทำการศึกษาการปลดปล่อยกรดแกลลิกทั้งในไมโครและนาโนแคปซูล พบว่าสามารถปลดปล่อยได้อย่างรวดเร็ว โดยนอกจากนั้นได้ทำการศึกษาความเป็นพิษด้วย MTT assay โดยใช้ความเข้มข้นแคปซูลที่ 0.0001 0.001 0.01 0.1 และ 1 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าไม่มีความเป็นพิษของไมโครแคปซูล นาโนแคปซูลและอนุภาครับบอซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิกแอซิดในช่วง 0.0001 - 0.01 0.0001 - 0.1 และ 0.0001 - 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในผลิตเครื่องสำอาง

ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า สามารถเตรียมทั้งไมโครและนาโนแคปซูลของกราฟท์โคพอลิเมอร์ของ คาร์บอซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควาไซเลนกับพอลิเมทาคริลิกแอซิดที่มีความเสถียรทางคอลลอยด์ สามารถคงรูปได้หลังจากการระเหยตัวทำละลาย มีการกักเก็บกรดแกลลิก และประสิทธิภาพการกักเก็บที่สูงได้ ซึ่งเหมาะกับการนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางที่ต้องการการปลดปล่อยที่เร็วและไม่เป็นพิษ



บรรณานุกรม

- [1] A. D. Susheel Kalia, 2 Bibin Mathew Cherian, 3 B. S. Kaith, 4 Luc Ave'rous, 5 James Njuguna, 6 and Elias Nassiopoulos, "Cellulose-Based Bio- and Nanocomposites: A Review," *International Journal of Polymer Science*, vol. 2011, pp. 1-36, 2011.
- [2] M. Hosokawa, "Application 21 - Develop of functional skincare cosmetics using biodegradable PLGA nanospheres A2," in *Nanoparticle Technology Handbook*, K. Nogi, M. Naito, and T. Yokoyama, Eds., ed Amsterdam: Elsevier, 2008, pp. 501-506.
- [3] T. G. Singh and N. Sharma, "Chapter 7 - Nanobiomaterials in cosmetics: current status and future prospects A2 - Grumezescu, Alexandru Mihai," in *Nanobiomaterials in Galenic Formulations and Cosmetics*, ed: William Andrew Publishing, 2016, pp. 149-174.
- [4] R. Costa and L. Santos, "Delivery systems for cosmetics - From manufacturing to the skin of natural antioxidants," *Powder Technology*, vol. 322, pp. 402-416, 2017/12/01/ 2017.
- [5] M. E. Park and J. H. Zippin, "Allergic Contact Dermatitis to Cosmetics," *Dermatologic Clinics*, vol. 32, pp. 1-11, 2014/01/01/ 2014.
- [6] A. G. P. Mongomake' Kone', Yaya Toure', "Bambara Groundnut [Vigna subterranea (L.) Verdc. (Fabaceae)] Usage in Human Health," *Nuts & Seeds in Health and Disease Prevention.*, pp. 189-196, 2011.
- [7] Y. Y. Murevanhema and V. A. Jideani, "Potential of Bambara Groundnut (Vigna subterranea (L.) Verdc) Milk as a Probiotic Beverage—A Review," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 53, pp. 954-967, 2013/01/01 2013.
- [8] K. Thammarat, Leena, N., Punnanee, S. and Soottawat, B., "Functional and Antioxidative properties of Bambara groundnut (Voandzeia subterranea) protein hydrolysates," *International Food Research Journal* vol. 22, pp. 1584-1595, 2015.
- [9] V. K. Rajan and K. Muraleedharan, "A computational investigation on the structure, global parameters and antioxidant capacity of a polyphenol, Gallic acid," *Food Chemistry*, vol. 220, pp. 93-99, 2017/04/01/ 2017.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [10] K. Thammarat, Leena, N., Punnanee, S. and Soottawat, B., "Chemical Composition, Functional and Antioxidative Properties of Protein Hydrolysate from Bambara Groundnut (*Voandzeia subterranea*)," *International Food Research Journal*, pp. 1584-1595, 2015.
- [11] Q. Wang, K. Zhou, Y. Ning, and G. Zhao, "Effect of the structure of gallic acid and its derivatives on their interaction with plant ferritin," *Food Chemistry*, vol. 213, pp. 260-267, 2016/12/15/ 2016.
- [12] Y. P. Neo, S. Swift, S. Ray, M. Gizdavic-Nikolaidis, J. Jin, and C. O. Perera, "Evaluation of gallic acid loaded zein sub-micron electrospun fibre mats as novel active packaging materials," *Food Chemistry*, vol. 141, pp. 3192-3200, 2013/12/01/ 2013.
- [13] V. Nedovic, A. Kalusevic, V. Manojlovic, S. Levic, and B. Bugarski, "An overview of encapsulation technologies for food applications," *Procedia Food Science*, vol. 1, pp. 1806-1815, 2011/01/01/ 2011.
- [14] L. Rui, M. Xie, B. Hu, L. Zhou, D. Yin, and X. Zeng, "A comparative study on chitosan/gelatin composite films with conjugated or incorporated gallic acid," *Carbohydrate Polymers*, vol. 173, pp. 473-481, 2017/10/01/ 2017.
- [15] S. Gouin, "Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 15, pp. 330-347, 2004/07/01/ 2004.
- [16] H. T. a. K. Hara, "Development of functional skincare cosmetics using biodegradable PLGA nanospheres," *Nanoparticle Technology Handbook*, pp. 501-506, 2012.
- [17] H. Koga, T. Kitaoka, and A. Isogai, "Chemically-Modified Cellulose Paper as a Microstructured Catalytic Reactor," *Molecules*, vol. 20, pp. 1496-1508, 2015.
- [18] H. Koga, T. Kitaoka, and A. Isogai, "In situ modification of cellulose paper with amino groups for catalytic applications," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 21, pp. 9356-9361, 2011.
- [19] H. Koga, T. Kitaoka, and A. Isogai, "Paper-immobilized enzyme as a green microstructured catalyst," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 22, pp. 11591-11597, 2012.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [20] P. Chaayasat, M. Z. Islam, and A. Chaayasat, "Preparation of poly(divinylbenzene) microencapsulated octadecane by microsuspension polymerization: oil droplets generated by phase inversion emulsification," *RSC Advances*, vol. 3, pp. 10202-10207, 2013.
- [21] Z. Fang and B. Bhandari, "Encapsulation of polyphenols – a review," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 21, pp. 510-523, 2010/10/01/ 2010.
- [22] A. Scalbert, C. Manach, C. Morand, C. Rémésy, and L. Jiménez, "Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 45, pp. 287-306, 2005/06/01 2005.
- [23] M. C. Rivera, A. C. Pinheiro, A. I. Bourbon, M. A. Cerqueira, and A. A. Vicente, "Hollow chitosan/alginate nanocapsules for bioactive compound delivery," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 79, pp. 95-102, 2015/08/01/ 2015.
- [24] P. Lertsutthiwong, P. Rojsitthisak, and U. Nimmannit, "Preparation of turmeric oil-loaded chitosan-alginate biopolymeric nanocapsules," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 29, pp. 856-860, 2009/04/30/ 2009.
- [25] J. Lamarra, L. Giannuzzi, S. Rivero, and A. Pinotti, "Assembly of chitosan support matrix with gallic acid-functionalized nanoparticles," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 79, pp. 848-859, 2017/10/01/ 2017.
- [26] J. Li, S. Y. Kim, X. Chen, and H. J. Park, "Calcium-alginate beads loaded with gallic acid: Preparation and characterization," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 68, pp. 667-673, 2016/05/01/ 2016.
- [27] M. Koné, A. G. Paice, and Y. Touré, "Chapter 22 - Bambara Groundnut [*Vigna subterranea* (L.) Verdc. (Fabaceae)] Usage in Human Health A2 - Preedy, Victor R," in *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, R. R. Watson and V. B. Patel, Eds., ed San Diego: Academic Press, 2011, pp. 189-196.
- [28] S. M. Mpotokwane, E. Gaditlhatlhelwe, A. Sebaka, and V. A. Jideani, "Physical properties of bambara groundnuts from Botswana," *Journal of Food Engineering*, vol. 89, pp. 93-98, 2008/11/01/ 2008.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [29] A. de Cristo Soares Alves, R. M. Mainardes, and N. M. Khalil, "Nanoencapsulation of gallic acid and evaluation of its cytotoxicity and antioxidant activity," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 60, pp. 126-134, 2016/03/01/ 2016.
- [30] I. C. A. a. P. C. Hollman, "Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies," *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 81(suppl), pp. 317S-25S, 2005.
- [31] B. S. a. A. M. Benoy Brata Bhowmik, "Preparation and in vitro characterization of slow release testosterone nanocapsules in alginates," *Acta Pharm*, vol. 56, pp. 417-429, 2006.
- [32] S. T. Collinson, K. P. Sibuga, A. J. P. Tarimo, and S. N. Azam-Ali, "INFLUENCE OF SOWING DATE ON THE GROWTH AND YIELD OF BAMBARA GROUNDNUT LANDRACES IN TANZANIA," *Experimental Agriculture*, vol. 36, pp. 1-13, 2000.
- [33] A. n. J. V. M. Florentina Adriana Cziple, "Biopolymers Versus Synthetic Polymers," *Anul XV*, vol. 1, pp. 125-132, 2008.
- [34] N. A. Pattanashetti, G. B. Heggannavar, and M. Y. Kariduraganavar, "Smart Biopolymers and their Biomedical Applications," *Procedia Manufacturing*, vol. 12, pp. 263-279, 2017/01/01/ 2017.
- [35] R. Rebelo, M. Fernandes, and R. Figueiro, "Biopolymers in Medical Implants: A Brief Review," *Procedia Engineering*, vol. 200, pp. 236-243, 2017/01/01/ 2017.
- [36] N. O. Çamlıbel, "Usage Of Biopolymers In Medical Applications," *Pamukkale University*, 2004.
- [37] F. Schué, "Biopolymers from renewable resources. Edited by D L Kaplan Springer-Verlag, Heidelberg, 1998. pp 417, Price DM278.00 ISBN 3-540-63567-X," *Polymer International*, vol. 49, pp. 472-473, 2000.
- [38] C. S. Richard A Gross, "Biopolymers from Polysaccharides and Agroproteins," *American Chemical Society*, vol. 786 2001.
- [39] C. D. a. M. M. Alessandro Sannino, "Biodegradable Cellulose-based Hydrogels: Design and Applications," *Materials*, vol. 2, pp. 353-373, 2009.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [40] S. Gorgieva and V. Kokol, "Synthesis and application of new temperature-responsive hydrogels based on carboxymethyl and hydroxyethyl cellulose derivatives for the functional finishing of cotton knitwear," *Carbohydrate Polymers*, vol. 85, pp. 664-673, 2011/06/01/ 2011.
- [41] T. Lu, M. Jiang, Z. Jiang, D. Hui, Z. Wang, and Z. Zhou, "Effect of surface modification of bamboo cellulose fibers on mechanical properties of cellulose/epoxy composites," *Composites Part B: Engineering*, vol. 51, pp. 28-34, 2013/08/01/ 2013.
- [42] S. Mansouri, R. Khiari, F. Bettaieb, A. A. El-Gendy, and F. Mhenni, "Synthesis and Characterization of Carboxymethyl Cellulose from Tunisian Vine Stem: Study of Water Absorption and Retention Capacities," *Journal of Polymers and the Environment*, vol. 23, pp. 190-198, 2015/06/01 2015.
- [43] M. Dilaver and K. Yurdakoc, "Fumaric acid cross-linked carboxymethylcellulose/poly(vinyl alcohol) hydrogels," *Polymer Bulletin*, vol. 73, pp. 2661-2675, 2016/10/01 2016.
- [44] L. Shin-Etsu Chemical Co., "Silane Coupling Agents," *Combination of Organic and Inorganic Materials*, pp. 1-27, 2017.
- [45] Y. Xie, C. A. S. Hill, Z. Xiao, H. Militz, and C. Mai, "Silane coupling agents used for natural fiber/polymer composites: A review," *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, vol. 41, pp. 806-819, 2010/07/01/ 2010.
- [46] M. Abdelmouleh, S. Boufi, A. ben Salah, M. N. Belgacem, and A. Gandini, "Interaction of Silane Coupling Agents with Cellulose," *Langmuir*, vol. 18, pp. 3203-3208, 2002/04/01 2002.
- [47] R. K. G. Manju Kumari Thakura, Vijay Kumar Thakurc, "Surface modification of cellulose using silane coupling agent," *Carbohydrate Polymers*, vol. 111, pp. 849-855, 2104.
- [48] M.-C. Brochier Salon, M. Abdelmouleh, S. Boufi, M. N. Belgacem, and A. Gandini, "Silane adsorption onto cellulose fibers: Hydrolysis and condensation reactions," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 289, pp. 249-261, 2005/09/01/ 2005.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [49] M.-C. Brochier Salon and M. N. Belgacem, "Competition between hydrolysis and condensation reactions of trialkoxysilanes, as a function of the amount of water and the nature of the organic group," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 366, pp. 147-154, 2010/08/20/ 2010.
- [50] M.-C. B. Salon, G. Gerbaud, M. Abdelmouleh, C. Bruzzese, S. Boufi, and M. N. Belgacem, "Studies of interactions between silane coupling agents and cellulose fibers with liquid and solid-state NMR," *Magnetic Resonance in Chemistry*, vol. 45, pp. 473-483, 2007/06/01 2007.
- [51] A. M. Dupraz, J. R. de Wijn, S. A. v d Meer, and K. de Groot, "Characterization of silane-treated hydroxyapatite powders for use as filler in biodegradable composites," *J Biomed Mater Res*, vol. 30, pp. 231-8, Feb 1996.
- [52] M. Abdmouleh, S. Boufi, N. Belgacem, A. Dufresne, and A. Gandini, *Modification of cellulose fibers with functionalized silanes: Effect of the fiber treatment on the mechanical performances of cellulose-thermoset composites* vol. 98, 2005.
- [53] J. J and E. Leniak, *Modification of Thermoplastics with Reactive Silanes and Siloxanes*: InTech, 2012.
- [54] K. Sultana, G. Godward, N. Reynolds, R. Arumugaswamy, P. Peiris, and K. Kailasapathy, "Encapsulation of probiotic bacteria with alginate–starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt," *International Journal of Food Microbiology*, vol. 62, pp. 47-55, 2000/12/05/ 2000.
- [55] I. M. Martins, M. F. Barreiro, M. Coelho, and A. E. Rodrigues, "Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications," *Chemical Engineering Journal*, vol. 245, pp. 191-200, 2014/06/01/ 2014.
- [56] M. Vinceković, M. Viskić, S. Jurić, J. Giacometti, D. Bursać Kovačević, P. Putnik, *et al.*, "Innovative technologies for encapsulation of Mediterranean plants extracts," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 69, pp. 1-12, 2017/11/01/ 2017.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [57] A. Madene, M. Jacquot, J. Scher, and S. Desobry, "Flavour encapsulation and controlled release – a review," *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 41, pp. 1-21, 2006.
- [58] V. A. N. E. Nicolaas Jan Zuidam, "Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing," in *Springer Science+Business Media*, ed, 2013.
- [59] S. K. I. A. C. N. M. B. F. Gibbs, "Encapsulation in the food industry: a review," *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol. 50, pp. 213-224, 1999/01/01 1999.
- [60] C. Ye and H. Chi, "A review of recent progress in drug and protein encapsulation: Approaches, applications and challenges," *Materials Science and Engineering: C*, 2017/10/04/ 2017.
- [61] S. K. Ritesh Kumar, Amrish Chandra, Pawan Kumar Gautam, Vijay Kumar Sharma, "Microballoons: An Advance Avenue for Gastroretentive Drug Delivery System- A Review," *UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences (UKJPB)*, vol. 4, pp. 29-40, 2016.
- [62] P. Chaiyasat, A. Chaiyasat, P. Teeka, S. Noppalit, and U. Srinorachun, "Preparation of Poly(l-Lactic Acid) Microencapsulated Vitamin E," *Energy Procedia*, vol. 34, pp. 656-663, 2013/01/01/ 2013.
- [63] A. C. Preeyaporn Chaiyasat, Waraporn Boontung, Supaporn Promdsorn, Sutanya Thipsit, "Preparation and Characterization of Poly(divinylbenzene) Microcapsules Containing Octadecane," *Materials Sciences and Application*, vol. 2, pp. 1007-1013, 2011.
- [64] R. Dubey, "Microencapsulation Technology and Applications," *2009*, vol. 59, p. 14, 2009-01-01 2009.
- [65] P. Laine, P. Kylli, M. Heinonen, and K. Jouppila, "Storage Stability of Microencapsulated Cloudberry (*Rubus chamaemorus*) Phenolics," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, pp. 11251-11261, 2008/12/10 2008.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [66] M. Okubo, Y. Konishi, and H. Minami, "Production of hollow particles by suspension polymerization of divinylbenzene with nonsolvent," in *Aqueous Polymer Dispersions*, K. Tauer, Ed., ed Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2004, pp. 54-59.
- [67] M. Okubo, Y. Konishi, and H. Minami, "Production of hollow polymer particles by suspension polymerization," *Colloid and Polymer Science*, vol. 276, pp. 638-642, 1998/08/01 1998.
- [68] S. Namwong, S. Noppalit, M. Okubo, S. Moonmungmee, P. Chaiyasat, and A. Chaiyasat, "Latent Heat Enhancement of Paraffin Wax in Poly(divinylbenzene-co-methyl methacrylate) Microcapsule," *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, vol. 54, pp. 779-785, 2015/06/01 2015.
- [69] S. M. Sililuk Namwong , Amorn Chaiyasat and Preeyaporn Chaiyasat, "Influence of surfactant on morphology of polydivinylbenzene microcapsule encapsulated octadecane," *Science and Technology RMUTT Journal*, vol. 4, pp. 33-44, 2014.
- [70] Y. Kitayama, M. Yorizane, H. Minami, and M. Okubo, "Preparation of block copolymer particles by two-step, reversible chain transfer catalyzed polymerization (RTCP) with nitrogen catalyst in miniemulsion systems," *Polymer Chemistry*, vol. 3, pp. 1394-1398, 2012.
- [71] H. Zhang and X. Wang, "Fabrication and performances of microencapsulated phase change materials based on n-octadecane core and resorcinol-modified melamine-formaldehyde shell," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 332, pp. 129-138, 2009/01/15/ 2009.
- [72] S. M. W. Boontung, A. Chaiyasat and P. Chaiyasat, "Preparation of Poly(l-lactic acid) Capsule Encapsulating Fertilizer," *Advanced Materials Research*, vol. 506, pp. 303-306, 2012.
- [73] A. Chaiyasat, "Role of Emulsi er in Emulsion Polymerization," *Burapha Sci.*, vol. 18, pp. 240-248, 2013.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [74] A. Luca, B. Cilek, V. Hasirci, S. Sahin, and G. Sumnu, "Effect of Degritting of Phenolic Extract from Sour Cherry Pomace on Encapsulation Efficiency—Production of Nano-suspension," *Food and Bioprocess Technology*, vol. 6, pp. 2494-2502, 2013/09/01 2013.
- [75] A. Munin and F. Edwards-Lévy, "Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review," *Pharmaceutics*, vol. 3, pp. 793-829, 11/04
- [76] C. D. Di Mattia, G. Sacchetti, D. Mastrocola, and P. Pittia, "Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions," *Food Research International*, vol. 42, pp. 1163-1170, 2009/10/01/ 2009.
- [77] B. Sarmento, A. Ribeiro, F. Veiga, P. Sampaio, R. Neufeld, and D. Ferreira, "Alginate/Chitosan Nanoparticles are Effective for Oral Insulin Delivery," *Pharmaceutical Research*, vol. 24, pp. 2198-2206, 2007/12/01 2007.
- [78] B. Cilek, A. Luca, V. Hasirci, S. Sahin, and G. Sumnu, "Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio," *European Food Research and Technology*, vol. 235, pp. 587-596, 2012/10/01 2012.
- [79] T. Jung, W. Kamm, A. Breitenbach, E. Kaiserling, J. X. Xiao, and T. Kissel, "Biodegradable nanoparticles for oral delivery of peptides: is there a role for polymers to affect mucosal uptake?," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 50, pp. 147-160, 2000/07/03/ 2000.
- [80] J. W. Karolína BORŮVKOVÁ, Michaela JAKUBIČKOVÁ, "Preparation and properties of microporous structures based on CMC," *Nanocon*, vol. 10, pp. 23-25, 2012.
- [81] S. Butun, F. G. Ince, H. Erdugan, and N. Sahiner, "One-step fabrication of biocompatible carboxymethyl cellulose polymeric particles for drug delivery systems," *Carbohydrate Polymers*, vol. 86, pp. 636-643, 2011/08/15/ 2011.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [82] A. Sannino, M. Madaghiele, F. Conversano, G. Mele, A. Maffezzoli, P. A. Netti, et al., "Cellulose Derivative—Hyaluronic Acid-Based Microporous Hydrogels Cross-Linked through Divinyl Sulfone (DVS) To Modulate Equilibrium Sorption Capacity and Network Stability," *Biomacromolecules*, vol. 5, pp. 92-96, 2004/01/01 2004.
- [83] R. D. S. Christian Demitri, Francesca Scalera, Alessandro Sannino, Giuseppe Vasapollo, Alfonso Maffezzoli, Luigi Ambrosio, Luigi Nicolais, "Novel superabsorbent cellulose-based hydrogels crosslinked with citric acid," *Applied Polymer Science*, vol. 110, pp. 2453-2460, 2008.
- [84] C. Chang, M. He, J. Zhou, and L. Zhang, "Swelling Behaviors of pH- and Salt-Responsive Cellulose-Based Hydrogels," *Macromolecules*, vol. 44, pp. 1642-1648, 2011/03/22 2011.
- [85] K. Madhusudana Rao, B. Mallikarjuna, K. S. V. Krishna Rao, M. N. Prabhakar, K. Chowdoji Rao, and M. C. S. Subha, "Preparation and characterization of pH sensitive poly(vinyl alcohol)/sodium carboxymethyl cellulose IPN microspheres for in vitro release studies of an anti-cancer drug," *Polymer Bulletin*, vol. 68, pp. 1905-1919, 2012/04/01 2012.
- [86] A. Daneshfar, H. S. Ghaziaskar, and N. Homayoun, "Solubility of Gallic Acid in Methanol, Ethanol, Water, and Ethyl Acetate," *Journal of Chemical & Engineering Data*, vol. 53, pp. 776-778, 2008/03/01 2008.
- [87] V. Kozlovskaya, E. Kharlampieva, M. L. Mansfield, and S. A. Sukhishvili, "Poly(methacrylic acid) Hydrogel Films and Capsules: Response to pH and Ionic Strength, and Encapsulation of Macromolecules," *Chemistry of Materials*, vol. 18, pp. 328-336, 2006/01/01 2006.
- [88] D. N. Robinson and N. A. Peppas, "Preparation and Characterization of pH-Responsive Poly(methacrylic acid-g-ethylene glycol) Nanospheres," *Macromolecules*, vol. 35, pp. 3668-3674, 2002/04/01 2002.
- [89] N. DAS, "PREPARATION METHODS AND PROPERTIES OF HYDROGEL: A REVIEW," *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 5, pp. 112-117, 2013.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [90] M. U. Minhas, M. Ahmad, L. Ali, and M. Sohail, "Synthesis of chemically cross-linked polyvinyl alcohol-co-poly (methacrylic acid) hydrogels by copolymerization; a potential graft-polymeric carrier for oral delivery of 5-fluorouracil," *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 21, p. 44, 2013/05/30 2013.
- [91] S. Chauhan, "Acrylic acid and methacrylic acid based hydrogels-A review," *Pelagia Research Library*, vol. 6, pp. 61-72, 2015.
- [92] V. Singh, S. Joshi, and T. Malviya, "Carboxymethyl cellulose-rosin gum hybrid nanoparticles: An efficient drug carrier," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 112, pp. 390-398, 2018/06/01/ 2018.
- [93] S. M. Ali and G. Yosipovitch, "Skin pH: from basic science to basic skin care," *Acta Derm Venereol*, vol. 93, pp. 261-7, May 2013.
- [94] D. Dorniani, M. Z. B. Hussein, A. U. Kura, S. Fakurazi, A. H. Shaari, and Z. Ahmad, "Preparation of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles coated with gallic acid for drug delivery," *International journal of nanomedicine*, vol. 7, pp. 5745-5756, 2012.
- [95] O. M. Medvedeva, V. S. Kurakina, S. G. Dmitrienko, T. I. Tikhomirova, and O. A. Shpigun, "Separation and Determination of Phenolcarboxylic Acids by Capillary Zone Electrophoresis with Dynamic Preconcentration on Hypercrosslinked Polystyrene," *Journal of Analytical Chemistry*, vol. 59, pp. 669-676, 2004/07/01 2004.
- [96] R. Scherließ, "The MTT assay as tool to evaluate and compare excipient toxicity in vitro on respiratory epithelial cells," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 411, pp. 98-105, 2011/06/15/ 2011.
- [97] A. Sundaramurthy and A. K. Sundramoorthy, "Polyelectrolyte capsules preloaded with interconnected alginate matrix: An effective capsule system for encapsulation and release of macromolecules," *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017/10/24/ 2017.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [98] V. Kuete, O. Karaosmanoğlu, and H. Sivas, "Chapter 10 - Anticancer Activities of African Medicinal Spices and Vegetables," in *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*, V. Kuete, Ed., ed: Academic Press, 2017, pp. 271-297.
- [99] P. A. Ramires, A. Romito, F. Cosentino, and E. Milella, "The influence of titania/hydroxyapatite composite coatings on in vitro osteoblasts behaviour," *Biomaterials*, vol. 22, pp. 1467-1474, 2001/06/15/ 2001.
- [100] I. K. Ashutosh Bahuguna¹, Vivek K. Bajpai² and Sun Chul Kang, "MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug," *Bangladesh J Pharmacol*, vol. 12, pp. 115-118, 2017.
- [101] R. Dinarvand, S. H. Moghadam, A. Sheikhi, and F. Atyabi, "Effect of surfactant HLB and different formulation variables on the properties of poly-D,L-lactide microspheres of naltrexone prepared by double emulsion technique," *Journal of Microencapsulation*, vol. 22, pp. 139-151, 2005/03/01 2005.
- [102] T. H. Hassan, H. Metz, and K. Mäder, "Novel semisolid SNEDDS based on PEG-30-dipolyhydroxystearate: Development and characterization," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 477, pp. 506-518, 2014/12/30/ 2014.
- [103] M.-C. Brochier Salon and M. N. Belgacem, "Hydrolysis-Condensation Kinetics of Different Silane Coupling Agents," *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, vol. 186, pp. 240-254, 2011/01/31 2011.
- [104] K. S. Chun and S. Husseinsyah, "Agrowaste-based composites from cocoa pod husk and polypropylene: Effect of filler content and chemical treatment," *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, vol. 29, pp. 1332-1351, 2016/10/01 2014.
- [105] S. Ragunathan, H. Ismail, and K. Hussin, "Comparison of processing and mechanical properties of polypropylene/recycled acrylonitrile butadiene rubber/rice husk powder composites modified with silane and acetic anhydride compound," *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, vol. 27, pp. 1651-1666, 2014/12/01 2013.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [106] Y. B. Tee, R. A. Talib, K. Abdan, N. L. Chin, R. K. Basha, and K. F. M. Yunus, "Effect of Aminosilane Concentrations on the Properties of Poly(Lactic Acid)/Kenaf-Derived Cellulose Composites," *Polymers and Polymer Composites*, vol. 25, pp. 63-76, 2017/01/01 2017.
- [107] F. Kurayama, S. Suzuki, T. Oyamada, T. Furusawa, M. Sato, and N. Suzuki, "Facile method for preparing organic/inorganic hybrid capsules using amino-functional silane coupling agent in aqueous media," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 349, pp. 70-76, 2010/09/01/ 2010.
- [108] C.-B. Wu, G. Wu, X. Yang, Y.-J. Liu, C.-X. Gao, Q.-H. Ji, *et al.*, "Preparation of Mannitol@Silica core-shell capsules via an interfacial polymerization process from water-in-oil emulsion," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 457, pp. 487-494, 2014/09/05/ 2014.
- [109] M. Sabzi, S. M. Mirabedini, J. Zohuriaan-Mehr, and M. Atai, "Surface modification of TiO₂ nano-particles with silane coupling agent and investigation of its effect on the properties of polyurethane composite coating," *Progress in Organic Coatings*, vol. 65, pp. 222-228, 2009/06/01/ 2009.
- [110] M. Abdelmouleh, S. Boufi, M. N. Belgacem, A. P. Duarte, A. Ben Salah, and A. Gandini, "Modification of cellulosic fibres with functionalised silanes: development of surface properties," *International Journal of Adhesion and Adhesives*, vol. 24, pp. 43-54, 2004/02/01/ 2004.
- [111] M. Xiong, K. Zhang, and Y. Chen, "ATRP of 3-(triethoxysilyl)propyl methacrylate and preparation of "stable" gelable block copolymers," *European Polymer Journal*, vol. 44, pp. 3835-3841, 2008/11/01/ 2008.
- [112] S. Wang, G. Li, J. J. Chiao, Z. Jeffrey Wang, and Y. Yvonne Duan, *Silsesquioxane-Urethane Type of Hybrid Material Synthesized by Modified Sol-Gel Process* vol. 39, 2015.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [113] Y. Guo, Q. Liu, H. Chen, X. Wang, Z. Shen, X. Shu, et al., "Direct grafting modification of pulp in ionic liquids and self-assembly behavior of the graft copolymers," *Cellulose*, vol. 20, pp. 873-884, 2013/04/01 2013.
- [114] D. Hatanaka, Y. Takemoto, K. Yamamoto, and J.-i. Kadokawa, "Hierarchically Self-Assembled Nanofiber Films from Amylose-Grafted Carboxymethyl Cellulose," *Fibers*, vol. 2, pp. 34-44, 2014.
- [115] D. M. d. Santos, A. d. L. Bukzem, D. P. R. Ascheri, R. Signini, and G. L. B. d. Aquino, "Microwave-assisted carboxymethylation of cellulose extracted from brewer's spent grain," *Carbohydrate Polymers*, vol. 131, pp. 125-133, 2015/10/20/ 2015.
- [116] A. Kabalnov, "Ostwald Ripening and Related Phenomena," *Journal of Dispersion Science and Technology*, vol. 22, pp. 1-12, 2001/02/04 2001.
- [117] A. Baldan, "Review Progress in Ostwald ripening theories and their applications to nickel-base superalloys Part I: Ostwald ripening theories," *Journal of Materials Science*, vol. 37, pp. 2171-2202, 2002/06/01 2002.
- [118] P. Seah Goh, N. Mei Han, Y. M. Choo, A. Nasrulhaq Boyce, and C. H. Chuah, *Production of tocals nanoemulsion by ultrasonication* vol. 28, 2016.
- [119] J. Carpenter and V. K. Saharan, "Ultrasonic assisted formation and stability of mustard oil in water nanoemulsion: Effect of process parameters and their optimization," *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 35, pp. 422-430, 2017/03/01/ 2017.
- [120] C. Ingrao and V. Siracusa, "Quality- and sustainability-related issues associated with biopolymers for food packaging applications: a comprehensive review A2," in *Biodegradable and Biocompatible Polymer Composites*, ed: Woodhead Publishing, 2018, pp. 401-418.

ภาคผนวก



ภาคผนวก ก
การเผยแพร่ผลงาน



High performance biocompatible cellulose-based microcapsules encapsulating gallic acid prepared by inverse microemulsion polymerization

Wichsuda Tangsongcharoen,^a Patchara Punyamoonwongsa^b and Preeyaporn Chaiyasat^{a,c*}

Abstract

In this study, the preparation of biocompatible cellulose-based microcapsules encapsulating gallic acid (GA), an important antioxidant of Bambara groundnut extracts, by water-in-oil inverse microemulsion polymerization was studied. GA and carboxymethyl cellulose (CMC) were selected as core and shell materials, respectively. For high encapsulation efficiency, CMC was firstly modified (modified-CMC (m-CMC)) with 3-(trimethoxysilyl)propyl methacrylate (MPS) as a silane coupling agent. It was subsequently polymerized with methacrylic acid (MAA) monomer through a radical route, forming a PMAA grafted m-CMC (m-CMC-g-PMAA) biocompatible polymer shell. Using CMC:MPS in a ratio of 75:25 (w/w %), highly water-soluble m-CMC containing a C=C bond for further radical polymerization was obtained. After inverse microemulsion polymerization at various ratios of m-CMC:MAA, highly stable spherical m-CMC-g-PMAA microcapsules encapsulating GA were formed in all ratios. It was observed that the encapsulation efficiency increased with increase in MAA content. m-CMC:MAA in a ratio of 33:67 (w/w%) presented the highest encapsulation efficiency which may due to the increase of hydrophilicity of the aqueous phase. It also presented rapid release and non-cytotoxic characteristics, suited for use in cosmetic products.

© 2018 Society of Chemical Industry

Keywords: gallic acid; carboxymethyl cellulose; inverse microemulsion polymerization; microcapsule

INTRODUCTION

Plant phenolic compounds can be divided into two groups: flavonoids and phenolic acids. They are known as natural antioxidants to prevent oxidative damage in the body and thereafter reduce the risk of cancer, cardiovascular diseases and osteoporosis. These natural antioxidants showed ability to decrease the development of melanin, anti-aging and free-radical scavenging properties.^{1–3}

Gallic acid (3,4,5-trihydroxybenzoic acid) (GA) found in Bambara groundnut is one of the most outstanding plant phenolic compounds. This plant species (*Vigna subterranea* (L.)) is known in Thai as 'Thua Rang'. It is one of Thailand's annually domesticated crops mainly cultivated in the south of Thailand.^{4,5} Due to its excellent bioactivity, GA has been used as an active ingredient in cosmetic products. It is a low molecular weight and water-soluble compound.^{6–9} Although it presents many advantages, there are unsaturated bonds in the structure, which make it susceptible to light, heat, pH and water.^{10–13} To resolve this issue, the encapsulation of GA within microcapsules has been proposed for enhancing the shelf-life and stability of GA including bioactivity and bioavailability.^{10,13–15} GA has been encapsulated with various kinds of materials such as maltodextrin and gum arabic by the freeze drying technique.^{14,16,17} Although the GA shelf-life and its availability were likely to be preserved, the percentages of GA encapsulation efficiency (EE) were reported to

be relatively low (20%–30%). Furthermore, the encapsulated particles appeared as non-spherically shaped microcapsules. The preparation of alginate capsules by the electrospray technique also resulted in a low percentage of loading (LD $\approx$ 7–12).⁶ Poly(lactic acid-co-glycolic acid) (PLGA) capsules prepared by solvent evaporation in the oil-in-water system have been reported with only 22% EE.⁷ The exploration of new techniques to improve the GA EE whilst preserving its bioavailability is therefore a necessary step for the advanced use of GA active compound.

Microencapsulation is defined as a technique of encapsulating solids, liquids or gaseous materials. Since the active compounds are usually enveloped within the inner core of polymeric shells,

* Correspondence to: P. Chaiyasat, Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani, Thailand. E-mail: p.chaiyasat@mail.rmutt.ac.th

^a Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani, Thailand

^b School of Science, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, Thailand

^c Advanced Materials Design and Development (AMDD) Research Unit, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani, Thailand

their bioavailability was proved to be protected from the surrounding conditions. The technique allows controlled release of an active ingredient under desired conditions.^{8,18,19} It could also help to extend the product shelf-life and long-term stability.^{7,8,16,18–20} Microsuspension polymerization is a highly efficient method for the preparation of microcapsules encapsulating various kinds of core substance. The successful encapsulation of octadecane,^{21–25} hexadecane,^{26–29} rubitherm^{27,30,31} and methyl anthanilate³² with various polymers by microsuspension polymerization using an internal phase separation mechanism has been reported with high EE and colloidal stability.^{29,31,33–35}

Among all available sources of materials, capsule shells made of biopolymers have increasingly gained a lot of research interest because of their biodegradability, biocompatibility and environmental friendly character.^{36–41} These polymers can be obtained from plants and living microorganisms. They are widely used in the biomedical, packaging, cosmetic, fabric and agricultural industries.^{41–44} One of the most abundant biopolymers is polysaccharide cellulose.^{43,45,46} A number of cellulose derivatives have been commercialized for specific applications. Carboxymethyl cellulose (CMC) is a well-known water-soluble and pH-sensitive cellulose derivative.^{36,44,46–50} It has been used as a drug delivery system and superabsorbent hydrogel.^{36,46,50–53} The interior morphology of CMC-based vesicles is tunable by alteration of the crosslinker, such as divinyl sulfone,⁵¹ citric acid,^{52,53} fumaric acid⁵⁴ and radiation crosslinking.⁵⁰ CMC has also been used as a shell to encapsulate silver nitrate^{44,48} conjugated with linoleic acid via the coacervation technique,⁵⁵ as well as to prepare layered double hydroxide drug nanohybrids⁴⁷ and CMC-resin gum hybrid nanoparticles through the nanoprecipitation method.⁵⁶ However, there is no report on the preparation of CMC-based microcapsules by inverse microsuspension polymerization.

Therefore, in this study, the preparation of biocompatible CMC-based microcapsules encapsulating GA by water-in-oil (W/O) inverse microsuspension polymerization was studied. Modified-CMC (m-CMC) with 3-(trimethoxysilyl) propyl methacrylate (MPS) as a silane coupling agent^{57–65} was subsequently polymerized with methacrylic acid (MAA) through a radical route, forming a PMAA grafted m-CMC (m-CMC-g-PMAA) biocompatible polymer shell. The impact of MPS addition and the alteration of the MAA weight ratio were also evaluated based on the formation of microcapsules, colloidal stability and EE of the GA active compound.

EXPERIMENTAL

Materials

CMC with a molecular weight of 90 000 g mol^{−1} (analytical grade; Acros Organics, Morris Plains New Jersey, USA) and MAA (99%; Sigma-Aldrich, St. Louis Missouri, USA) were used as the materials for the formation of the microcapsule shell. GA (purity 80%; Acros Organics) was used as received as the microcapsule core. MPS (purity 98%; Sigma-Aldrich) as a silane coupling agent was used for the preparation of m-CMC. The 2,2'-azobis(N-(2-carboxyethyl)-2-methylpropionamide) tetrahydrate (VA-057; Wako Chem, Osaka, Japan) was used as a water-soluble initiator in the inverse microsuspension polymerization. Glacial acetic acid (RCI Labscan, Bangkok, Thailand), dichloromethane (RCI Labscan), ethanol (RCI Labscan), dimethylformamide (DMF) (RCI Labscan), 1,4-dioxane (RCI Labscan), toluene (RCI Labscan) and dimethyl sulfoxide (DMSO) (RCI Labscan) were used as solvents as received. Dipolyhydroxystearate

Table 1. Feed composition for the preparation of m-CMC with a silane coupling agent by the silanization process at various weight ratios of CMC and MPS

Reagents	CMC:MPS		
	50:50	67:33	75:25
CMC (g)	2.00	2.70	3.00
MPS (g)	2.00	1.30	1.00
Acetic acid aqueous solution ^a (g)	100.00	100.00	100.00

^a Acetic acid aqueous solution pH 4.

(DPHS) (Croda, Bangkok, Thailand) was used as a surfactant. Sodium hydrogen orthophosphate (NaH₂PO₄) (Ajax Finechem, Bangkok, Thailand) and disodium hydrogen orthophosphate (Na₂HPO₄) (Ajax Finechem) were used for the preparation of phosphate buffer solution (PBS). Standard Dulbecco's modified Eagle's medium (Sigma-Aldrich) supplemented with 10% fetal bovine serum (Sigma-Aldrich) was used for cell culture. 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (Sigma-Aldrich) was used for cytotoxicity testing.

CMC modification and characterization

MPS silane coupling agent was first dissolved in aqueous acetic acid solution (pH 4) with constant stirring for 30 min to hydrolyse its methoxy to silanol groups.^{57,65} After that, appropriate amounts of CMC were added into the solution according to the feed composition listed in Table 1. The mixture was continuously stirred for 2 h to obtain a homogeneous solution, followed by heating at 110 °C for 3 h.^{57,60,66} The resultant m-CMC was then purified with dichloromethane to eliminate the remaining MPS. The chemical structure of m-CMC was confirmed by the Fourier transform infrared (FTIR) and ¹H NMR techniques.

Preparation of m-CMC-g-PMAA microcapsules

The m-CMC-g-PMAA biocompatible microcapsules encapsulating GA were prepared in a W/O emulsion system with various weight ratios of m-CMC and MAA monomer (75:25, 67:33, 50:50 and 33:67) under the conditions listed in Table 2. Initially, m-CMC

Table 2. Feed composition for the preparation of m-CMC-g-PMAA/GA microcapsules by inverse microsuspension polymerization of droplets generated by a homogenizer at various weight ratios of m-CMC and MAA

Phase	Reagents	m-CMC:MAA			
		75:25	67:33	50:50	33:67
Water	m-CMC (g)	0.938	0.834	0.625	0.417
	MAA (g)	0.313	0.417	0.625	0.834
	GA (g)	1.250	1.250	1.250	1.250
	VA-057 (8 wt% of monomer) (g)	0.025	0.033	0.050	0.067
	Mixed solvent ^a	3.000	3.000	3.000	3.000
Oil	Toluene (g)	22.500	22.500	22.500	22.500
	DPHS (3 wt% of overall solution) (g)	0.750	0.750	0.750	0.750

^a Mixed solvent: 1,4-dioxane and deionized water at a ratio of 2:1.

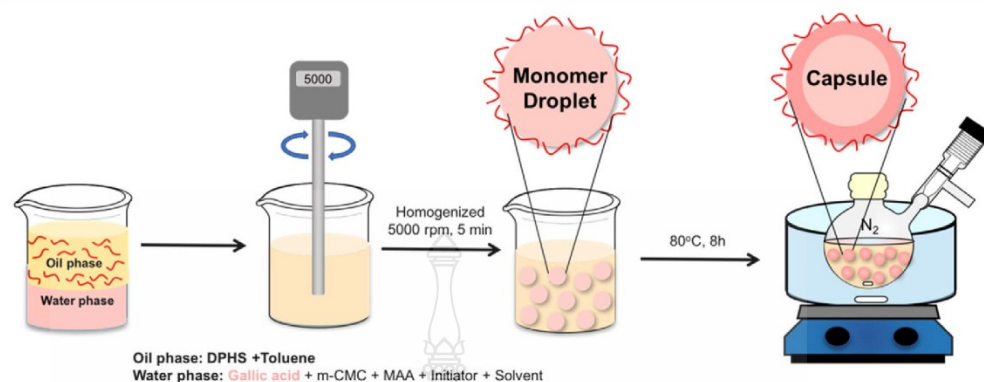


Figure 1. Schematic diagram for the preparation of m-CMC-g-PMAA/GA microcapsules by inverse microemulsion polymerization in a W/O system.

solution was mixed with MAA, VA-057 and GA solutions using dioxane–water as a mixed solvent. It was dispersed in an oil phase of toluene containing DPHS as a stabilizer. It was then homogenized at 5000 rpm for 5 min to form a suspension of monomer droplets. After that, the suspension was transferred into a round-bottomed Schlenk flask and closed off with a silicone rubber septum before being degassed using several N_2 /vacuum cycles and finally N_2 . It was placed in an oil bath at 80 °C to start the polymerization, as shown in the schematic diagram in Fig. 1.

Characterization of biocompatible CMC-based microcapsules

Structural analysis of m-CMC

The structural modification of CMC was confirmed by using an FTIR spectrophotometer (Nicolet iS5, Thermo Scientific, USA) and 1H NMR spectrophotometer (300 Ultra Shield, Bruker, USA) using deuterated DMSO as a solvent.

Percentage of conversion

A gas chromatograph (Varian Star 3400 CX FID; Agilent, USA) equipped with a flame ionization detector, using N_2 and H_2 flow rates of 30 mL min $^{-1}$, air zero at 300 mL min $^{-1}$ and a heating rate of 10 °C min $^{-1}$, was employed to examine the MAA conversion. 200 μ L of sample suspension (ca 10 wt%) was dissolved in 5 g of ethanol containing DMF as an internal standard (100 mg kg $^{-1}$), prior to injection in the instrument. The remaining monomer concentration ($C_{MAA,S}$, mg kg $^{-1}$) was calculated using

$$C_{MAA,S} = \left(\frac{C_{R,std}}{A_{R,std}} \times A_{R,S} \right) \times C_{DMF} \quad (1)$$

where $C_{R,std}$, C_{DMF} and $C_{MAA,S}$ are the concentration ratio of standard MAA to DMF, the DMF concentration (mg kg $^{-1}$) and the remaining MAA concentration (mg kg $^{-1}$) in the polymerization system, respectively. $A_{R,std}$ and $A_{R,S}$ are the peak area ratios in the gas chromatograms, corresponding to the ratios of standard MAA to DMF and the remaining MAA to DMF, respectively. The peak areas of MAA monomer remaining in the polymerization and the DMF internal standard were obtained from the gas chromatograms. Thereafter, the percentage of MAA

conversion (wt%) was calculated based on $C_{MAA,S}$ (mg kg $^{-1}$) using

$$\% \text{conversion (MAA)} = \left(\frac{C_{MAA,ini} - C_{MAA,S}/10\,000}{C_{MAA,ini}} \right) \times 100 \quad (2)$$

$C_{MAA,ini}$ is the concentration (wt%) of MAA before polymerization from the initial feed composition.

Morphology of microcapsules

The morphologies of the monomer droplets and the GA-encapsulating microcapsules were observed by using an optical microscope (OM:SK-100EB and SK-100 ET, Seek Inter Corporation Ltd, Thailand). A drop of monomer droplet or microcapsule suspension was placed on the glass slide with a cover glass before observation at the appropriate magnification.

Amount of GA in the microcapsules

The GA encapsulation was quantified by using a UV–visible spectrophotometer (Lambda 35; Perkin Elmer, USA). Before measurement, unencapsulated GA located at the microcapsule surface was washed with acidic aqueous solution (pH 2) and dried at room temperature. The dried microcapsules (20 mg, W_{caps}) were dissolved with 1,4-dioxane and adjusted to a final volume of 25 mL (V_s). Thereafter, the obtained solution was measured at λ_{max} ca 260–270 nm. The dried weight of GA ($W_{GA,exp}$) was examined by using

$$W_{GA,exp} = \left(\frac{C_{GA}}{1000} \right) \times V_s \quad (3)$$

where C_{GA} is the concentration (mg L $^{-1}$) of encapsulated GA in dioxane solution (V_s , mL) and $W_{GA,exp}$ is the weight (mg) of encapsulated GA in the dried capsule (W_{caps} , mg) before being dissolved in dioxane. For this, the concentrations (mg L $^{-1}$) of encapsulated GA (C_{GA}) in the solutions were extrapolated from the GA standard calibration curve (2, 4, 6 and 8 mg L $^{-1}$). The quantities of GA in terms of the experimental (LD $_{exp}$) and theoretical (LD $_{th}$) percentages of loading, as well as the percentages of EE, were examined using Eqns (4), (5) and (6), respectively.

$$LD_{exp} = \left(\frac{W_{GA,exp}}{W_{caps}} \right) \times 100 \quad (4)$$

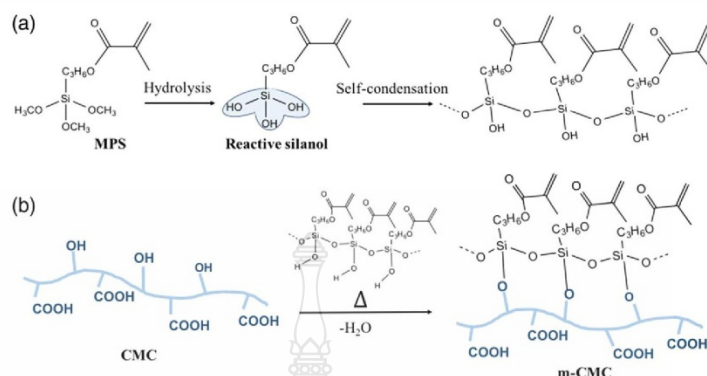


Figure 2. Possible mechanism for the modification of CMC with a silane coupling agent: (a) hydrolysis and self-condensation of MPS at pH 4 and (b) chemical reaction between MPS and CMC.

$$LD_{th} = \left[\frac{W_{GA,rep}}{W_{GA,rep} + (W_m (\%conversion) / 100) + W_{m-CMC}} \right] \times 100 \quad (5)$$

$$EE = \left(\frac{LD_{exp}}{LD_{th}} \right) \times 100 \quad (6)$$

$W_{GA,rep}$, W_m and W_{m-CMC} are the weights of GA, monomer and m-CMC in the feed compositions (Table 2), respectively.

560–570 nm.^{70–72} The cell viability compared with 100% viability of untreated cells was calculated using

$$\% \text{ cell viability} = \left(\frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right) \times 100 \quad (7)$$

where A_{sample} and A_{control} are the absorbance of microcapsule-treated cells and untreated cells, respectively.

Controlled release study

The *in vitro* release study of encapsulated GA was performed at 37 °C in PBS medium. The dried microcapsules (20 mg) were immersed in 20 mL PBS release medium (0.2 mol L⁻¹) maintained at pH ca 5.5 and 37 °C and resemble face skin.^{67–69} At time intervals of 0, 0.5, 1, 2, 6 and 24 h, the release medium was withdrawn and subjected to UV–visible spectrophotometer at λ_{max} ca 260–270 nm. The concentration (mg L⁻¹) of encapsulated GA in the solution was obtained from the measured absorbance compared with the standard calibration curve of GA standard solution at 5, 10, 15 and 20 mg L⁻¹. To determine the quantities of GA remaining in the microcapsule, the suspension was centrifuged and redissolved in 1,4-dioxane (25 mL) prior to measurement. The absorbance was compared with the standard calibration curve of GA solution (2, 4, 6 and 8 mg L⁻¹).

Cytotoxicity test

The cytotoxicity test of m-CMC-*g*-PMAA microcapsules encapsulating GA was studied with human dermal fibroblasts by the MTT colorimetric assay to investigate cell viability. Initially, 1×10^4 fibroblast cells were seeded into each well of 96-well plates. The cell culture was adjusted to 180 μ L of Dulbecco's modified Eagle's medium (containing 10% fetal bovine serum) and incubated at 37 °C under a 5% CO₂ atmosphere for about 24 h. After that, 20 μ L of microcapsule solution at concentrations of 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 and 1 mg mL⁻¹ was added and continuously incubated for 24 h. 100 μ L of MTT solution (5 mg mL⁻¹) was added and incubated at 37 °C for 6 h. After incubation, the MTT solution was removed and 100 μ L of DMSO was added to dissolve the violet crystal. Finally, the absorbance of the solution was measured at λ_{max} ca

RESULTS AND DISCUSSION

Characterization of m-CMC

To polymerize CMC with another monomer via free-radical polymerization, CMC must be modified with a reagent containing a double bond. Therefore, in this work, the modification of CMC with MPS as a silane coupling agent was selected as a possible mechanism (Fig. 2). It would improve the EE and loading of GA in the microcapsules. First, MPS was hydrolysed to form reactive silanol groups under acidic conditions at ambient temperature.^{59,64} The silanol groups subsequently underwent self-condensation to form –O–Si–O– as confirmed by the appearance of the FTIR characteristic peak at 1070 cm⁻¹ (Fig. 3).^{73,74} The acidic conditions were meant to prevent reversible hydrolysis of the –O–Si–O– linkage and to ensure the formation of a bidimensional siloxane network.^{59,64,66} Chemical reaction between MPS and CMC was achieved with a thermal treatment at 110 °C,⁶⁰ yielding m-CMC with terminal C=C side groups ready for polymerization with MAA in the next step. In this step, various CMC:MPS ratios (50:50, 67:33 and 75:25 w/w %) were investigated. The increase in MPS content was expected to form a larger content of a pendant group (–C=C–). As expected, all CMC-containing samples displayed the IR characteristic peaks corresponding to the hydroxyl group (3400–3000 cm⁻¹), glycosidic ring (1577 cm⁻¹) and ether linkage (1007 cm⁻¹) of the cellulose backbone (Fig. 3). The MPS characteristic peaks appearing at 1070–1160 cm⁻¹ (Si–O stretching), 935 cm⁻¹ (Si–O–CH₃ stretching), 1714 cm⁻¹ (C=O) and 1630 cm⁻¹ (C=C) were clearly observed in all m-CMC samples, suggesting a successful incorporation of MPS moieties within the CMC structure. As the MPS content was increased, the IR peak intensity of the C=C linkage slightly increased. However, this in turn lowered the m-CMC solubility in the dispersed phase. The

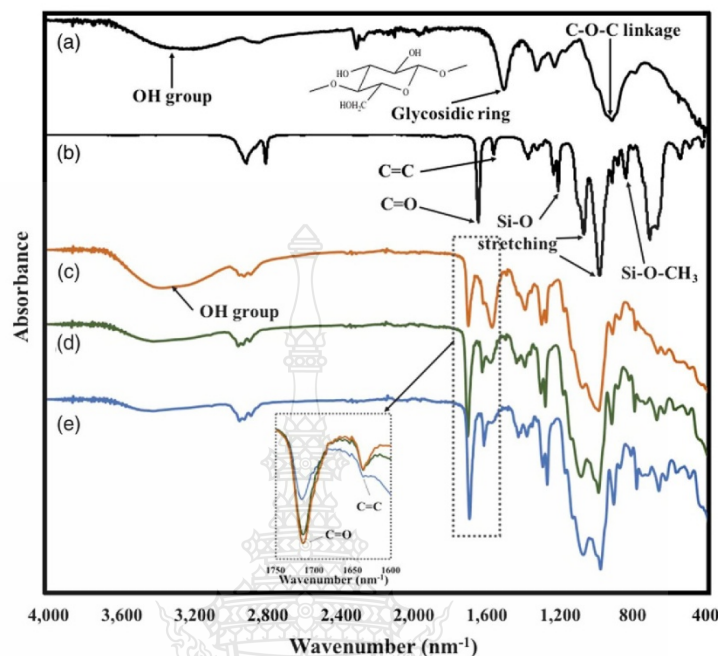


Figure 3. FTIR spectra of CMC (curve (a)), MPS (curve (b)) and m-CMC at various ratios of CMC:MPS (w/w %): 50:50 (curve (c)), 67:33 (curve (d)) and 75:25 (curve (e)).

reason for this could be the increased hydrophobic proportion of CMC after silanization with MPS. The preparation of polymer particles/capsules by both normal and inverse microemulsion including the mini-emulsion polymerization technique generally requires homogeneity of each phase (disperse and continuous phases). It was therefore logical to choose the reaction system with the least amount of MPS, such as 75:25 CMC:MPS, for the subsequent preparation of microcapsules.

In addition to the FTIR technique, ^1H NMR was also used to characterize the obtained m-CMC. The spectra of m-CMC at various CMC:MPS ratios are shown in Fig. 4. The patterns of proton signals for all three m-CMC samples are quite similar. The modified samples show a proton signal at a chemical shift (δ) of 3.0–3.7 ppm, attributed to the glycosidic ring of the CMC backbone (Fig. 4(b)). Characteristic MPS signals (Fig. 4(a)) at chemical shifts of 5.5 ppm (a) and 6.0 ppm (a), corresponding to C=C protons in the methacrylate side chains, are observed in all m-CMC samples (Figs 4(c)–4(e)). The results indicate that the CMC structure was successfully modified by MPS. Both FTIR and ^1H NMR data confirm the presence of the C=C functional group after silanization to further polymerize with MAA.

Preparation of biocompatible CMC-based microcapsules encapsulating GA

The GA-encapsulating CMC-based microcapsules were prepared by inverse microemulsion polymerization. For this, monomer droplets, consisting of m-CMC, MAA and VA-057 initiator dissolved in the dioxane–water solvent mixture, were thoroughly dispersed

in the toluene–DPHS continuous phase. Due to the reactive C=C moieties along the m-CMC side chains, the material underwent radical polymerization with MAA, obtaining biocompatible grafted m-CMC products (m-CMC-g-PMAA). When the grafted PMAA chains were formed, the m-CMC-g-PMAA microcapsule shell was formed with a three-dimensional (3D) network by both covalent crosslinking and hydrogen bonding.^{75–78} High monomer conversions (*ca* 80%) were obtained for all ratios of m-CMC:MAA (w/w %). Based on the 3D crosslinked shell, the spherical microcapsules obtained in all conditions maintained their shapes and sizes (Figs 5(a')–5(d')) similar to those (Figs 5(a)–(d)) of monomer droplets. Interestingly, the particle sizes and their distribution were found to decrease with increasing MAA content. In general, the preparation of microspheres/capsules by inverse microemulsion polymerization is thermodynamically unstable, similar to that by mini-emulsion polymerization in the W/O system. The diffusion of hydrophilic monomers in an aqueous phase from small size into large size droplets during polymerization, called Oswald ripening,^{79,80} results in an increased particle size. To solve this problem, highly hydrophilic substances, such as salts or comonomers, are added to increase the hydrophilicity in the aqueous droplet. Therefore, in this work, the increased hydrophilicity of an aqueous droplet by the addition of highly polar MAA monomer reduces the Oswald ripening effect, as mentioned above. Thus, the m-CMC-g-PMAA microcapsule size slightly decreased with increasing MAA content. In addition, the milky suspensions obtained without any coagulation represent high colloidal stability even when kept over 3 months.⁴¹

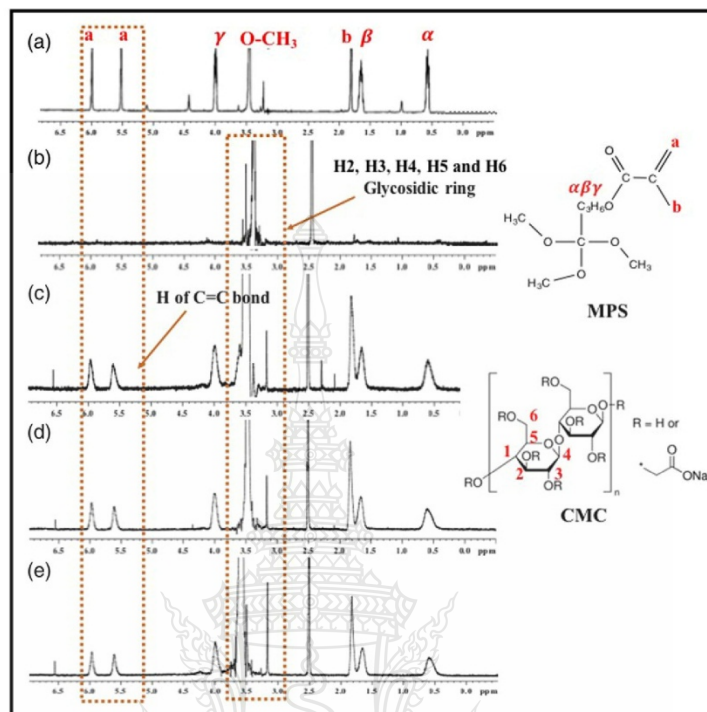


Figure 4. ^1H NMR spectra of MPS (a), CMC (b) and m-CMC at various ratios of CMC:MPS (w/w %): 50:50 (c), 67:33 (d) and 75:25 (e).

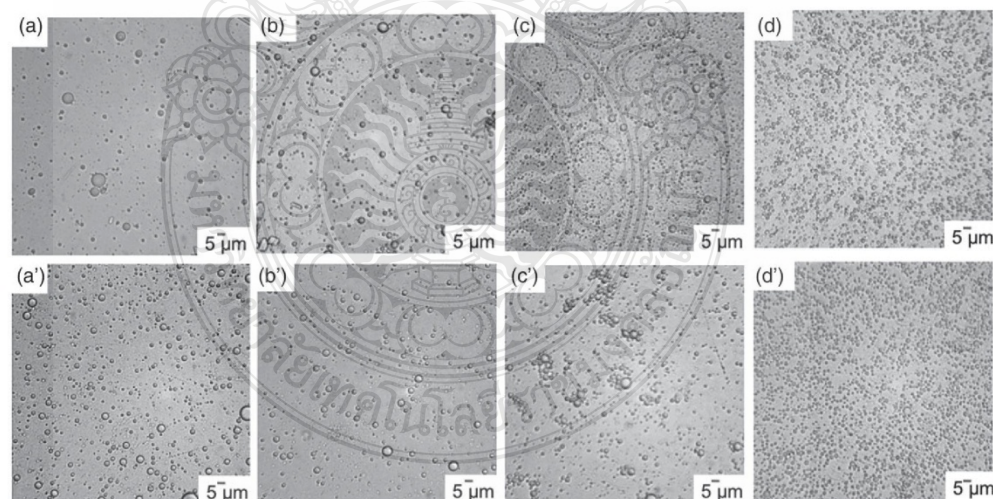


Figure 5. Optical micrographs of m-CMC/MAA/GA droplets (a)–(d) and m-CMC-g-PMAA microcapsules encapsulating GA with various ratios of m-CMC:MAA (w/w%): 75:25 (a'), 67:33 (b'), 50:50 (c') and 33:67 (d').

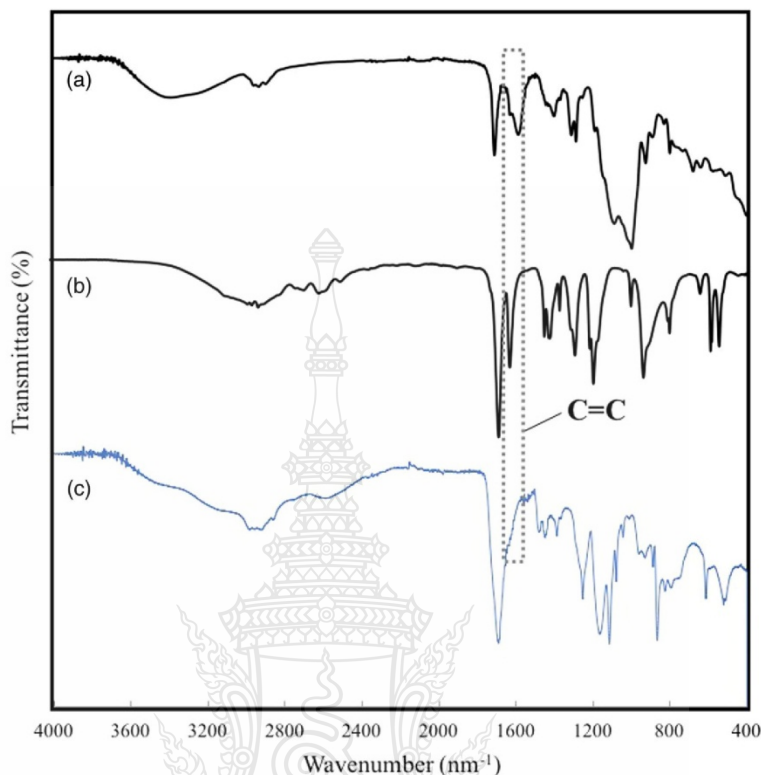


Figure 6. FTIR spectra of m-CMC (curve (a)), MAA monomer (curve (b)) and m-CMC-g-PMAA copolymer (curve (c)).

To confirm the successful copolymerization of m-CMC with MAA, the FTIR spectra of m-CMC both before and after inverse microemulsion polymerization were analysed (Fig. 6). The m-CMC-g-PMAA sample clearly displayed the IR characteristic peaks of both the m-CMC (Fig. 6, curve (a)) and MAA (Fig. 6, curve (b)) components. However, the IR absorption peak of the C=C group at 1630 cm^{-1} disappeared (Fig. 6, curve (c)), indicating that m-CMC was successfully polymerized with MAA via a radical route.

To examine the amount of GA encapsulated within the microcapsules, the unencapsulated GA proportion was removed from the microcapsule surface by washing with acidic aqueous solution (pH 2). At acidic pH values, the carboxyl groups within the polymer matrices were believed to be protonated, thus facilitating non-polar intermolecular attractive forces with the GA active compound. As such, the entrapped GA seemed to be maintained inside the microcapsules. Consequently, the dried microcapsules were redissolved in dioxane before measurement with a UV-visible spectrophotometer. The UV-visible spectrum of the GA-encapsulating microcapsules was compared with those of the original m-CMC, GA and dioxane as shown in Fig. 7. It is clearly seen that the maximum absorbance (λ_{max}) of standard GA (Fig. 7, curve (c)) appeared at $\approx 260\text{--}270\text{ nm}$. The peak was not overlapped by any peaks of dioxane (Fig. 7, curve (a)) or m-CMC (Fig. 7,

curve (b)). This peak at $\approx 260\text{--}270\text{ nm}$ was clearly detected in the case of m-CMC-g-PMAA (Fig. 7, curve (d)), indicating that GA was successfully encapsulated within the microcapsules. To assess the amount of encapsulated GA, the absorbance at $\approx 260\text{--}270\text{ nm}$ of the microcapsule solution was compared with the calibration plot of GA standard solutions. The weight of GA encapsulated in the dried microcapsules can then be calculated using Eqn (3). By using this value, LD_{exp} and EE could later be approximated by using Eqns (4) and (6), respectively. All results are shown in Table 3. All m-CMC-g-PMAA samples exhibited LD_{exp} of around 30–38 wt%. The EE values of the microcapsules for ratios of m-CMC:MAA (w/w %) of 75:25, 67:33, 50:50 and 33:67 were approximately 60%, 64%, 65% and 75%, respectively. It can be seen that the EE of GA increased with increasing MAA content. This may due to the increased hydrophilicity in the aqueous phase mixture as well as the formation of the 3D network shell. Because of the highly stable spherically shaped microcapsules with the highest EE, GA-encapsulating m-CMC-g-PMAA biocompatible microcapsules at an m-CMC:MAA weight ratio of 33:67 were considered as a promising candidate for cosmetic applications.

Controlled release study

The release performance of the encapsulated GA within the m-CMC-g-PMAA biocompatible microcapsules at a weight

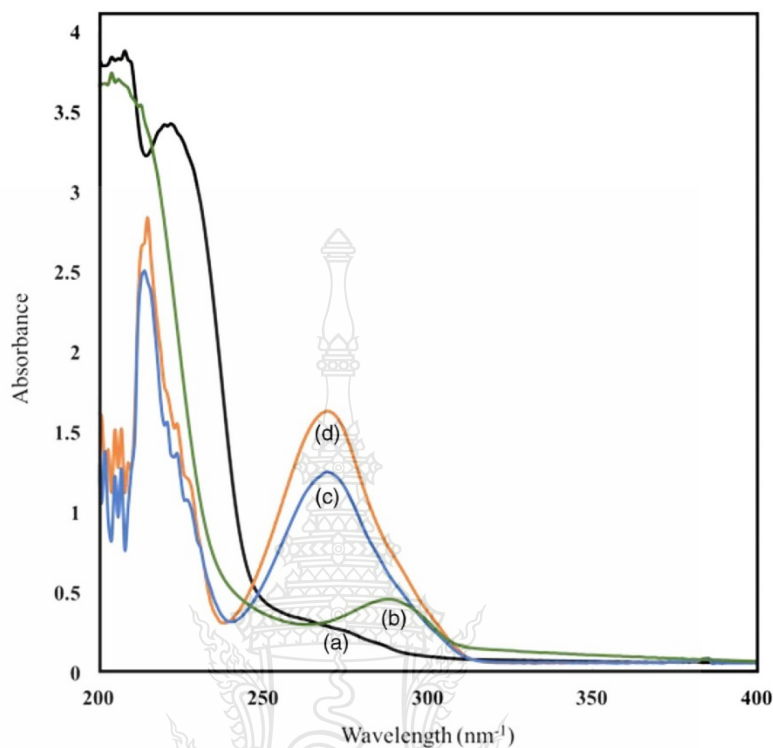


Figure 7. UV-visible spectra of dioxane (curve (a)), m-CMC (curve (b)), GA standard (curve (c)) and m-CMC-g-PMAA microcapsule solution in dioxane (curve (d)).

Table 3. The LD and EE of GA in m-CMC-g-PMAA biocompatible microcapsules prepared at various ratios of m-CMC:MAA

Condition	Loading (%)		Encapsulation (%)
	Experimental	Theoretical	
m-CMC:MAA			
75:25	30.15	52.53	60.31
67:33	31.99	53.74	63.99
50:50	32.31	51.51	64.62
33:67	37.67	54.73	75.33

ratio of 33:67 (m-CMC:MAA) was investigated by *in vitro* testing. The *in vitro* release profile of the GA model compound in PBS at pH 5.5, mimicking the balanced pH of face skin, is shown in Fig. 8.⁶⁹ In the first 30 min, approximately 67% of GA was released from the microcapsules. Afterwards, GA was continuously released at a slower rate until exhausted at 24 h. Therefore, the microcapsules would be potentially used in cosmetics for fast release action to the skin.

Cytotoxicity test

The MTT assay is a reliable method for cell metabolic activity assessment. It involves enzymatic conversion of yellow MTT into

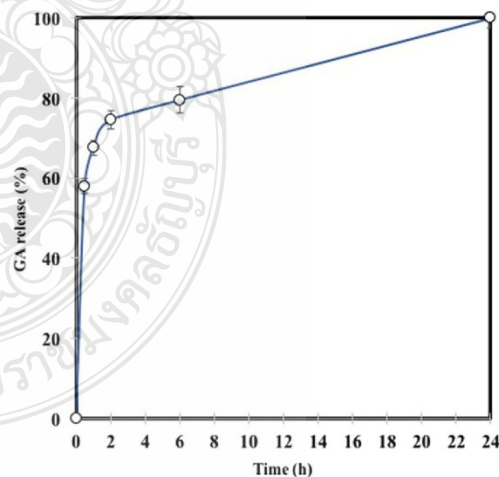


Figure 8. *In vitro* release of the GA encapsulated within m-CMC-g-PMAA microcapsules in PBS of pH 5.5.

purple insoluble formazan crystal. The intensity of the formed purple formazan solution in DMSO is directly related to the number of cells, thus indicating the cell viability.⁸¹ The percentage cell growth of the microcapsule-treated cells was compared to untreated cells (100% viability). The percentages of treated cell viability were in the range 96–103. An increase in microcapsule concentration (from 0.0001 to 1 mg mL⁻¹) did not affect cell viability. The results exhibited biocompatibility with negligible cytotoxicity of m-CMC-*g*-PMAA microcapsules encapsulating GA on human dermal fibroblasts.

CONCLUSIONS

The m-CMC-*g*-PMAA biocompatible microcapsules encapsulating GA were successfully prepared by inverse microemulsion polymerization. Upon silanization, the incorporation of the C=C bond into the m-CMC structure allowed it to polymerize with MAA monomer via the free-radical route to form a microcapsule shell. The spherical m-CMC-*g*-PMAA microcapsules formed at all weight ratios of m-CMC:MAA were impressively stable. However, it was found that the EE of GA increased with increasing MAA content. The reason for this may be the increased hydrophilicity in the aqueous phase mixture and the formation of a 3D network throughout the microcapsule shell. The microcapsules encapsulating GA at an m-CMC:MAA weight ratio of 33:67 showed the highest EE with rapid release and non-cytotoxic characteristics, suited for use in cosmetic products where quick release to the skin is required.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was partly supported by the Agricultural Research Development Agency (ARDA) (CRP5905021000).

CONFLICTS OF INTEREST

There are no conflicts of interest to declare.

REFERENCES

- Di Mattia CD, Sacchetti G, Mastrocola D and Pittia P, *Food Res Int* **42**:1163–1170 (2009).
- Wang Q, Zhou K, Ning Y and Zhao G, *Food Chem* **213**:260–267 (2016).
- Arts IC and Hollman PC, *Am J Clin Nutr* **81**:317S–325S (2005).
- Koné M, Paice AG and Touré Y, *Nuts & Seeds in Health and Disease Prevention*. San Diego, CA, Academic Press, pp. 189–196 (2011).
- Koné M, Paice AG and Touré Y, Chapter 22 - Bambara Groundnut (*Vigna subterranea* (L.) Verdc. (Fabaceae)) Usage in Human Health, in *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, ed. by Preedy VR, Watson RR and Patel VB. San Diego, CA, Academic Press, pp. 189–196 (2011).
- Li J, Kim SY, Chen X and Park HJ, *LWT Food Sci Technol* **68**:667–673 (2016).
- de Cristo Soares Alves A, Mainardes RM and Khalil NM, *Mater Sci Eng C* **60**:126–134 (2016).
- Santos IS, Ponte BM, Boonme P, Silva AM and Souto EB, *Biotechnol Adv* **31**:514–523 (2013).
- Gomes A, Costa ALR, de Assis Perrechil F and da Cunha RL, *J Food Eng* **168**:205–214 (2016).
- Rajan VK and Muraliedharan K, *Food Chem* **220**:93–99 (2017).
- Kermasha S, Alli I, Mulligan CN and Gibbs BF, *Int J Food Sci Nutr* **50**:213–224 (1999).
- Zuidam NJ and Heinrich E, Encapsulation of Aroma, in *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*, ed. by Zuidam NJ and Nedovic V. Springer, New York, NY, pp. 127–160 (2010).
- Munin A and Edwards-Lévy F, *Pharmaceutics* **3**:793–829 (2011).
- Luca A, Cilek B, Hasirci V, Sahin S and Sumnu G, *Food Bioprocess Technol* **6**:2494–2502 (2013).
- Fang Z and Bhandari B, *Trends Food Sci Technol* **21**:510–523 (2010).
- Cilek B, Luca A, Hasirci V, Sahin S and Sumnu G, *Eur Food Res Technol* **235**:587–596 (2012).
- Laine P, Kylli P, Heinonen M and Jouppila K, *J Agric Food Chem* **56**:11251–11261 (2008).
- Dubey R, *Def Sci J* **59**:14 (2009).
- Gouin S, *Trends Food Sci Technol* **15**:330–347 (2004).
- Martins IM, Barreiro MF, Coelho M and Rodrigues AE, *Chem Eng J* **245**:191–200 (2014).
- Namwong S, Islam MZ, Noppalit S, Tangboriboonrat P, Chaiyasat P and Chaiyasat A, *J Macromol Sci A* **53**:11–17 (2016).
- Sililuk Namwong SM, Chaiyasat A and Chaiyasat P, *Sci Tech RMUTT J* **4**:33–44 (2014).
- Supatimusro D, Promdsorn S, Thipsit S, Boontung W, Chaiyasat P and Chaiyasat A, *Polym-Plast Technol Eng* **51**:1167–1172 (2012).
- Preeyaporn Chaiyasat AC, *Mater Sci Appl* **2**:1007–1013 (2011).
- Chaiyasat P, Islam MZ and Chaiyasat A, *RSC Adv* **3**:10202–10207 (2013).
- Chaiyasat P, Ogino Y, Suzuki T and Okubo M, *Colloid Polym Sci* **286**:753–759 (2008).
- Chaiyasat P, Ogino Y, Suzuki T, Minami H and Okubo M, *Colloid Polym Sci* **286**:217–223 (2008).
- Hata Y, Suzuki T, Minami H and Okubo M, *Colloid Polym Sci* **286**:1561–1567 (2008).
- Okubo M, Konishi Y and Minami H, Production of hollow particles by suspension polymerization of divinylbenzene with nonsolvent, in *Aqueous Polymer Dispersions*, ed. by Tauer K. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 54–59 (2004).
- Chaiyasat P, Noppalit S, Okubo M and Chaiyasat A, *Phys Chem Chem Phys* **17**:1053–1059 (2015).
- Namwong S, Noppalit S, Okubo M, Moonmungee S, Chaiyasat P and Chaiyasat A, *Polym-Plast Technol Eng* **54**:779–785 (2015).
- Pansuwan J, Chaiyasat P and Chaiyasat A, *Sci Technol RMUTT J* **5**:32–42 (2015).
- Boontung SMW, Chaiyasat A and Chaiyasat P, *Adv Mater Res* **506**:303–306 (2012).
- Chaiyasat P, Chaiyasat A, Teeka P, Noppalit S and Srinorachun U, *Energy Procedia* **34**:656–663 (2013).
- Okubo M, Konishi Y and Minami H, *Colloid Polym Sci* **276**:638–642 (1998).
- Sannino A, Demitri C and Madaghiele M, *Materials (Basel)* **2**:353–373 (2009).
- Jung T, Kamm W, Breitenbach A, Kaiserling E, Xiao JX and Kissel T, *Eur J Pharm Biopharm* **50**:147–160 (2000).
- Gross RA, *Biopolymers from Polysaccharides and Agroproteins*, Vol. **786**. American Chemical Society, Washington, DC (2001).
- Schue F, *Polym Int* **49**:472–473 (2000).
- Rebello R, Fernandes M and Figueiro R, *Procedia Eng* **200**:236–243 (2017).
- Velez Marques AJ and Cziple FA, *Anul XV* **1**:125–132 (2008).
- Hosokawa M, Application 21 - Development of Functional Skincare Cosmetics Using Biodegradable PLGA Nanospheres, in *Nanoparticle Technology Handbook*, ed. by Nogi K, Naito M and Yokoyama T. Elsevier, Amsterdam, pp. 501–506 (2008).
- Çamlıbel NO, *Usage of Biopolymers in Medical Applications*. Pamukkale University, Denizli, Turkey (2004).
- Abdel-Halim ES, Alanazi HH and Al-Deyab SS, *Int J Biol Macromol* **75**:467–473 (2015).
- Pattanashetti NA, Heggannavar GB and Kariduraganavar MY, *Procedia Manufacturing* **12**:263–279 (2017).
- Abou-Youssef H, Adel A, El-Gendy AA and Nada AM, *Nat Sci* **8**:244–256 (2010).
- Barkhordari S and Yadollahi M, *Appl Clay Sci* **121**:122:77–85 (2016).
- Hebeish AA, El-Rafie MH, Abdel-Mohdy FA, Abdel-Halim ES and Emam HE, *Carbohydr Polym* **82**:933–941 (2010).
- Madhusudana Rao K, Mallikarjuna B, Krishna Rao KSV, Prabhakar MN, Chowdhoji Rao K and Subha MCS, *Polym Bull* **68**:1905–1919 (2012).
- Fekete T, Borsa J, Takács E and Wojnárovits L, *Chem Cent J* **11**:46 (2017).
- Sannino A, Madaghiele M, Conversano F, Mele G, Maffezzoli A, Netti PA et al., *Biomacromolecules* **5**:92–96 (2004).
- Christian Demitri RDS, Scalera F, Sannino A, Vasapollo G, Maffezzoli A, Ambrosio L et al., *Appl Polym Sci* **110**:2453–2460 (2008).
- Gorgieva S and Kokol V, *Carbohydr Polym* **85**:664–673 (2011).
- Dilaver M and Yurdakoc K, *Polym Bull* **73**:2661–2675 (2016).
- Duhoanimana E, Yu J, Mukeshimana O, Habinshuti I, Karangwa E, Xu X et al., *Food Hydrocoll* **80**:149–159 (2018).
- Lu T, Jiang M, Jiang Z, Hui D, Wang Z and Zhou Z, *Compos Part B* **51**:28–34 (2013).

- 57 Koga H, Kitaoka T and Isogai A, *Molecules* **20**:1495–1508 (2015).
- 58 Kargarzadeh H, Abdullah I and Sheltami RM, *Sains Malays* **44**:801–810 (2015).
- 59 Brochier Salon M-C and Belgacem MN, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem* **186**:240–254 (2011).
- 60 Abdelmouleh M, Boufi S, Ben Salah A, Belgacem MN and Gandini A, *Langmuir* **18**:3203–3208 (2002).
- 61 Brochier Salon M-C, Bayle P-A, Abdelmouleh M, Boufi S and Belgacem MN, *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* **312**:83–91 (2008).
- 62 Abdelmouleh M, Boufi S, Belgacem N, Dufresne A and Gandini A, *J Appl Polym Sci* **98**:83–91 (2005).
- 63 Jerzy J and Leniak E, *Modification of Thermoplastics with Reactive Silanes and Siloxanes*, in *Thermoplastic Elastomers*, ed. by Jerzy JC and Elzbieta L. InTech, London, pp. 155–192 (2012).
- 64 Brochier Salon M-C, Abdelmouleh M, Boufi S, Belgacem MN and Gandini A, *J Colloid Interface Sci* **289**:249–261 (2005).
- 65 Manju Kumari Thakura RKG and Thakur VK, *Carbohydr Polym* **111**:849–855 (2014).
- 66 Koga H, Kitaoka T and Isogai A, *J Mater Chem* **21**:9356–9361 (2011).
- 67 Dorniani D, Hussein MZB, Kura AU, Fakurazi S, Shaari AH and Ahmad Z, *Int J Nanomedicine* **7**:5745–5756 (2012).
- 68 Medvedeva OM, Kurakina VS, Dmitrienko SG, Tikhomirova TI and Shpigun OA, *J Anal Chem* **59**:669–676 (2004).
- 69 Ali SM and Yosipovitch G, *Acta Derm Venereol* **93**:261–267 (2013).
- 70 Korawinwich Boonpisuttinant US, Ruksiriwanich W and Winitchai S, *Asian J Appl Sci* **02**:405–413 (2014).
- 71 Ramires PA, Romito A, Cosentino F and Milella E, *Biomaterials* **22**:1467–1474 (2001).
- 72 Scherließ R, *Int J Pharm* **411**:98–105 (2011).
- 73 Chun KS and Hussein S, *J Thermoplast Compos Mater* **29**:1332–1351 (2014).
- 74 Ragunathan S, Ismail H and Hussin K, *J Thermoplast Compos Mater* **27**:1651–1666 (2013).
- 75 Robinson DN and Peppas NA, *Macromolecules* **35**:3668–3674 (2002).
- 76 Das N, *Int J Pharm Pharm Sci* **5**:112–117 (2013).
- 77 Chauhan S, *Acrylic acid and methacrylic acid based hydrogels-a review*. Pelagia Research Library. 6:61–72 (2015).
- 78 Minhas MU, Ahmad M, Ali L and Sohail M, *DARU J Pharm Sci* **21**:44 (2013).
- 79 Kabalnov A, *J Dispers Sci Technol* **22**:1–12 (2001).
- 80 Baldan A, *J Mater Sci* **37**:2171–2202 (2002).
- 81 Ashutosh Bahuguna IK, Bajpai VK and Kang SC, *Bangladesh J Pharmacol* **12**:115–118 (2017).





การเตรียมเซลลูโลส-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิก แอซิด นาโนแคปซูลหุ้มกรดแกลลิกสำหรับประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง

Preparation of cellulose-graft-polymethacrylic acid nanocapsule encapsulating gallic acid for cosmetic application

วิชสุดา ตั้งทรงเจริญ¹ พัชรา ปัญญามูลงษา² อมร ไชยสัตย์^{1,3} และ ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์^{1,3*}

Wichsuda Tangsongcharoen¹, Patchara Punyamoonwongsa², Amorn Chaiyasat^{1,3} and Preeyaporn Chaiyasat^{1,3*}

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี

²สาขาวิชาเคมีประยุกต์ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อ.เมือง จ.เชียงราย

³หน่วยวิจัยออกแบบและพัฒนาวัสดุขั้นสูง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี

¹Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Thanyaburi, Pathumthani 12110, THAILAND

²Applied Chemistry, School of Science, Mae Fah Luang University, Muang, Chiang Rai, 57100, THAILAND

³Advanced Materials Design and Development (AMDD) Research Unit, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathumthani 12110, THAILAND

*Corresponding Author E-mail: p_chaiyasat@mail.rmutt.ac.th

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article history:	In this research, the preparation of cellulose nanocapsules
Received 24 November 2018	encapsulating gallic acid (GA), an important component in Bambara
Accept 17 December 2018	groundnut extracts, by water in oil miniemulsion polymerization
Online 20 December 2018	was studied using carboxymethyl cellulose (CMC) as a shell.
Keywords:	Initially, CMC was modified with 3-(trimethoxysilyl)propyl
carboxymethyl cellulose,	methacrylate (MPS) as a silane coupling agent at a ratio of
polymethacrylic acid,	CMC:MPS of 75:25 (%w/w). The FT-IR results confirmed the

gallic acid, miniemulsion polymerization successful modification of CMC. The C=C bonds from silane coupling agent were observed in m-CMC spectrum which were further polymerized with methacrylic acid (MAA) monomer to form 3D-network CMC-graft-polymethacrylic acid shell. Various ratios of m-CMC:MAA and stirring rate for monomer droplet preparation were investigated. It was found that the optimum condition was a m-CMC:MAA at 33:67 and 40% amplitude, respectively. The obtained nanocapsules presented high colloidal stability, spherical shape and nano-sized with high loading and encapsulation efficiency at 24 and 73%, respectively.

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ ได้ทำการศึกษาการเตรียมเซลลูโลส นาโนแคปซูลหุ้มกรดแกลลิก ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญ ในสารสกัดจากถั่วเหลืองด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบ มินิอิมัลชันในระบบน้ำในน้ำมัน โดยใช้คาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลสเป็นเปลือก เริ่มต้นได้ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ ฟังก์ชันของเซลลูโลสให้มีพันธะคู่ ด้วย 3-(ไตรเมทอกซิล ไชลิล)โพรพิล เมทาคริเลท ซึ่งเป็นสารคู่คววไซเลน ที่ อัตราส่วนคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส: 3-(ไตรเมทอกซิล ไชลิล)โพรพิล เมทาคริเลท ร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก จากผลการทดสอบด้วยเทคนิค FT-IR ยืนยันการเปลี่ยน หมู่ฟังก์ชัน โดยพบ C=C ของสารคู่คววไซเลนใน สเปกตรัมของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ ซึ่งจะ เกิดการพอลิเมอไรเซชันต่อกับกรดเมทาคริลิกเพื่อให้เกิด เปลือกที่เป็นโครงร่างแหสามมิติของคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิก แอซิด จากการศึกษา อัตราส่วนระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อกรด เมทาคริลิก และอัตราเร็วในการปั่นเตรียมหุ้ด มอนอเมอร์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ อัตราส่วน ร้อยละ 33:67 โดยน้ำหนัก และอัตราการปั่นที่ร้อยละ แอมพลิจูด 40 ตามลำดับ โดยนาโนแคปซูลที่เตรียมได้นั้น มีความเสถียรทางคอลลอยด์ที่ดี เป็นทรงกลม และมี ขนาดในระดับนาโนเมตร มีร้อยละการบรรจุและ

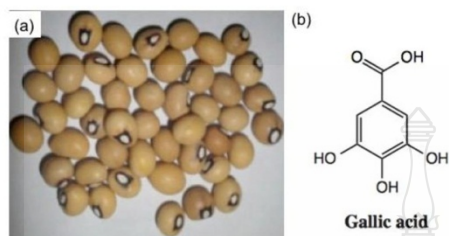
ประสิทธิภาพการกักเก็บที่สูงที่ร้อยละ 24 และ 73 ตามลำดับ

คำสำคัญ: คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส พอลิเมทาคริลิก แอซิด กรดแกลลิก การสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน

บทนำ

ถั่วเหลือง หรือ Bambara groundnut (*Voandzeia subterranea*) ดังรูปที่ 1 (a) [1] เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปแอฟริกา บริเวณหมู่เกาะมาดากัสการ์ ต่อมาได้แพร่กระจายพันธุ์ออกไปยังทวีปอเมริกาใต้และ ทวีปเอเชีย โดยผ่านเข้ามาทางประเทศฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย และเข้าสู่ประเทศมาเลเซียและชายแดนทาง ภาคใต้ของประเทศไทย มีชื่อเรียกตามท้องถิ่น ได้แก่ กาแจโป ถั่วไพร ถั่วป็นหยี และถั่วเม็ดเดียว เป็นต้น เมล็ด ของถั่วเหลืองเมื่อนำมาต้มให้สุกจะมีรสหวาน นำมา ประกอบอาหารได้ทั้งคาวและหวาน [1, 2] จากงานวิจัย ก่อนหน้านี้พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการสกัด ถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์มีสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ในปริมาณที่สูง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี และยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์อีกด้วย [3-5] ดังนั้น ถั่วเหลือง จึงมีศักยภาพในการพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ได้ แต่ขณะนี้ยังไม่มีรายงานวิชาการที่เกี่ยวข้องกับ

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องในการนำไปใช้เป็นเครื่องสำอางมาก่อน [6]



รูปที่ 1 (a) ถั่วหรั่ง หรือ Bambara groundnut (*Voandzeia subterranea*) [7] และ (b) โครงสร้างกรดแกลลิก

กรดแกลลิก (gallic acid: 3, 4, 5-trihydroxybenzoic acid; GA) เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในถั่วหรั่งโดยมีปริมาณอยู่ที่ 1.03 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัม [8-10] เป็นสารชนิดมีขั้ว มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ละลายได้ในน้ำ [11-13] สามารถสกัดได้โดยใช้ตัวทำละลายชนิดมีขั้ว เช่น เอทานอล เมทานอล อีเธอร์ หรือน้ำ อย่างไรก็ตาม พบว่าสารกลุ่มนี้จะมีประสิทธิภาพทางด้านกรอกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactivity) และด้านชีวปริมาณออกฤทธิ์ (bioavailability) ลดลงหากนำไปใช้โดยตรง เพื่อแก้ปัญหาเหล่านี้ การหุ้มหรือการกักเก็บ (encapsulation) สารในพอลิเมอร์ ที่เรียกว่า อนุภาคพอลิเมอร์ (polymer particle) หรือพอลิเมอร์แคปซูล (polymer capsule) ทั้งขนาดในระดับไมโครเมตร และนาโนเมตรเป็นแนวทางที่ได้รับความนิยม การกักเก็บสารสำคัญในอนุภาคขนาดเล็กจะทำให้สามารถนำสารสำคัญที่กักเก็บอยู่ไปยังบริเวณเป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาของสารสำคัญกับสภาวะภายนอก เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) เนื่องจากสารสำคัญบางชนิดอาจมีความไวต่อความร้อน แสง อากาศ น้ำ หรือออกซิเจน ซึ่งจะช่วยป้องกันไม่ให้คุณสมบัติของสารเปลี่ยนไป [13, 14] นอกจากนี้ ยังลดอาการระคายเคือง การแพ้ และลดกลิ่นฉุนของสารบาง

ชนิดได้ซึ่งเป็นข้อเสียของการใช้สารเหล่านั้นโดยตรง ซึ่งปัจจุบันได้มีการนำไมโครและนาโนแคปซูลไปประยุกต์ใช้ในทางยาและเครื่องสำอางที่ใช้ทางผิวหนังอย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตาม การกักเก็บสารชนิดมีขั้วให้มีประสิทธิภาพการกักเก็บที่สูงทำได้ค่อนข้างยาก โดยเฉพาะการเตรียมอนุภาคนาโนในระบบที่มีน้ำเป็นวัฏภาคต่อเนื่อง เนื่องจากสารที่มีขั้วจะสามารถละลายออกมาในชั้นน้ำได้ทำให้ประสิทธิภาพการกักเก็บลดลง จึงสูญเสียสารสำคัญส่วนหนึ่งในระหว่างการเตรียม นอกจากนี้ อนุภาคนาโนซึ่งมีขนาดเล็กมากจะเกิดการจับตัวเป็นก้อนได้ง่าย จึงจะต้องเลือกเทคนิคและสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียม และศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น อัตราส่วนระหว่างพอลิเมอร์และสารสำคัญ รวมทั้งชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิว เพื่อให้ได้นาโนแคปซูลที่มีศักยภาพในการนำไปใช้งานในเครื่องสำอางในรูปแบบต่าง ๆ จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่ามีการศึกษาการกักเก็บกรดแกลลิกโดยใช้วัสดุและเทคนิคต่าง ๆ เช่น การเตรียมแคปซูลด้วยมอลโทเดกทิน (maltodextrin) และกัมมอราบิก (gum arabic) ด้วยการแช่แข็ง (freeze-dry) [15-17] การเตรียมแคปซูลโดยใช้อัลจิเนท (alginate) เป็นเปลือก ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสเปรย์ (electrospray) [11] การใช้พอลิ(แลคติกแอซิด-โค-ไกลโคลิก แอซิด) (poly(lactic acid-co-glycolic acid); PLGA) ด้วยการระเหยตัวทำละลาย (solvent evaporation) [11] เป็นเปลือกในการเตรียมแคปซูลหุ้มกรดแกลลิก เป็นต้น เทคนิคนาโนเอนแคปซูล (nanoencapsulation) เป็นเทคนิคที่ใช้หุ้มสารทั้งในรูปแบบของแข็ง ของเหลวและแก๊ส ซึ่งสามารถใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญในอัตราและสภาวะที่เหมาะสมได้ [18-20] โดยการสังเคราะห์แบบมินิเอมัลชัน (mini-emulsion polymerization) เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการเตรียมนาโนแคปซูลเพื่อกักเก็บสารสำคัญหลายชนิด เช่น อนุภาคไขมัน (lipid carrier) [21] สารหอม [22] อนุภาคนาโนแม่เหล็ก [23] เป็นต้น

ซึ่งสามารถเตรียมนาโนแคปซูลที่มีประสิทธิภาพในการกักเก็บและมีความเสถียรทางคอลลอยด์สูง [21-23]

พอลิเมอร์ชีวภาพ (biopolymer) เป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติหรือสิ่งมีชีวิต [24-26] เป็นวัสดุที่มีความยั่งยืน (sustainable material) และสามารถสร้างขึ้นใหม่ได้ (renewable material) [27, 28] พอลิเมอร์ชีวภาพชนิดหนึ่งที่มีความนิยมนำมาใช้ คือ คาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส (carboxymethyl cellulose; CMC) เนื่องจากเป็นวัสดุที่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ (biodegradable) ไม่เป็นพิษ (non-toxic) และมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ระบบการนำส่งยา (drug delivery system) [27, 28] ซูเปอร์แอบซอร์เบนท์ไฮโดรเจล (superabsorbent hydrogel) [29-32] และเป็นเปลือกแคปซูลหุ้มสารต่าง ๆ เช่น ซิลเวอร์ ไนเตรต [33, 34] และกรดลิโนเลอิก [35] เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบการเตรียมเซลลูโลสนาโนแคปซูลด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิมัลชันในระบบน้ำในน้ำมัน

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์นาโนแคปซูลที่เตรียมโดยการสังเคราะห์แบบมินิมัลชันในระบบน้ำในน้ำมัน โดยใช้คาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลสที่ทำการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันด้วย 3-(ไตรเมทอกซีไซลิล)โพรพิล เมทาคริเลต [36-41] โคพอลิเมอร์เซชันกับกรดเมทาคริลิก ซึ่งมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพเป็นเปลือก [28, 34] โดยทำการศึกษาผลของอัตราส่วนคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิก และอัตราเร็วในการปั่นเตรียมหอยดม่อนเมอร์ เพื่อให้ได้พอลิเมอร์นาโนแคปซูลที่มีเปลือกที่แข็งแรง มีความเสถียรทางคอลลอยด์ และมีประสิทธิภาพการกักเก็บที่สูง ซึ่งจะมีประสิทธิภาพในการใช้สำหรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ต้องการการปลดปล่อยสารในอัตราที่เร็ว เช่น แผ่นมาสก์หน้า และแผ่นเจลชนิดต่าง ๆ

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมี

คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose; CMC, Acros organics, Analytical grade) น้ำหนักโมเลกุล 90,000 กรัมต่อโมล และกรดเมทาคริลิก (methacrylic acid; MAA, Sigma-Aldrich; purity 99%) เป็นมอนอเมอร์สำหรับเตรียมเปลือกนาโนแคปซูล กรดแกลลิก (gallic acid; GA, Acros organics; purity 80%); เป็นต้นแบบสารสกัดจากถั่วเหลือง 3-(ไตรเมทอกซีไซลิล)โพรพิล เมทาคริเลต (3-(trimethoxysilyl)propyl methacrylate; MPS, Aldrich; purity 98%); ใช้เป็นสารคู่ควบไซเลน เพื่อทำการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ตัวรีเอเจนต์ที่เลือกใช้ คือ 2, 2'-อะโซบิส [N-(2-คาร์บอกซีเอทิล)-2-เมทิลโพรพิลามิไดน์]ไฮเดรต (2, 2'-azobis[N-(2-carboxyethyl)-2-methylpropionamidine] tetrahydrate; VA-057; Wako chem) เป็นตัวรีเอเจนต์ที่สามารถละลายได้ในน้ำ สำหรับใช้ในระบบน้ำในน้ำมัน กรดอะซิติก (acetic acid; RCI Labscan) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane; DCM, RCI Labscan) เอทานอล (ethanol; RCI Labscan) ไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (dimethylformamide; DMF; RCI Labscan) 1, 4-ไดออกเซน (1, 4-dioxane; RCI Labscan) และโทลูอีน (toluene; RCI Labscan) ใช้เป็นตัวทำละลาย และสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ คือ ไดพอลิไฮดรอกซีสเตียเรต (dipolyhydroxystearate; DPHS; Croda)

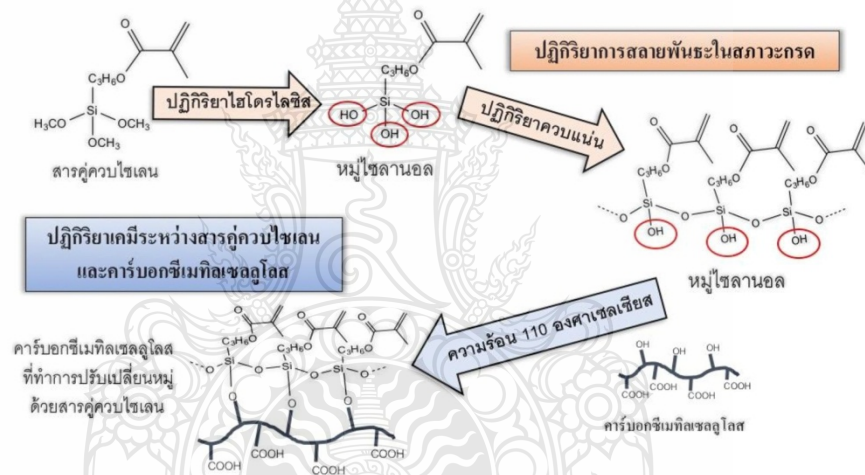
วิธีการทดลอง

1. การเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสให้มีพันธะคู่

การเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสให้มีพันธะคู่โดยใช้สารคู่ควบไซเลน [36-38, 40, 42] เริ่มจากการละลาย 3-(ไตรเมทอกซีไซลิล)โพรพิล เมทาคริเลต ในสารละลายกรดอะซิติกที่พีเอช 4 [36, 43, 44] ทำการปั่น

เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จนได้สารละลายใส ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการสลายพันธะด้วยน้ำ (hydrolysis) ในสภาวะกรด เพื่อเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลของสารคู่ควบไซเลนจากหมู่เมทอกซี (methoxy group; OCH_3 group) เป็นหมู่ไฮลันอล (silanol group; Si-OH group) จากนั้นเติมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเพื่อทำการละลายเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะได้สารละลายใสเนื้อเดียวกัน ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง กลไกการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส แสดงดังรูปที่ 2 โดยใช้อัตราส่วนระหว่างเซลลูโลสและสารคู่ควบไซเลนที่ร้อยละ 75:25 โดย

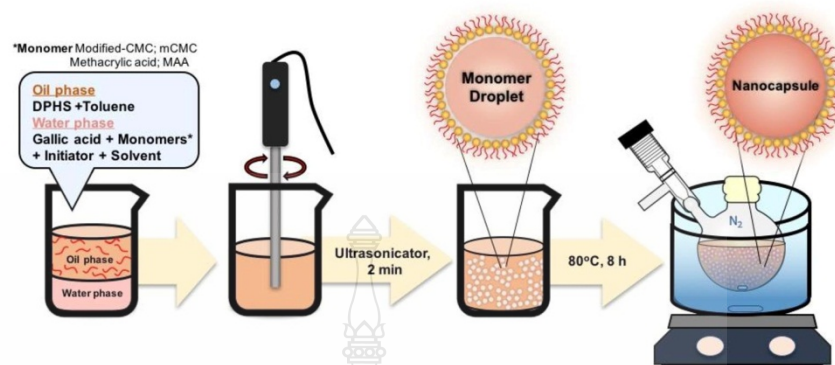
น้ำหนัก ดังตารางที่ 1 จากนั้น ทำให้บริสุทธิ์ (purification) เพื่อกำจัดสารคู่ควบไซเลนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกด้วยไดคลอโรมีเทน โดยสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ได้จะนำไปใช้ในการสังเคราะห์แบบมินิมัลชันต่อไป และจะนำสารละลายคาร์บอกซีเซลลูโลสที่ได้ส่วนหนึ่งไปทำการตกผลึกซ้ำ (recrystallization) และทำให้แห้ง ก่อนนำไปทดสอบด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี (Fourier Transform-Infrared Spectroscopy; FTIR; Nicolet iS5, Thermo Scientific, USA)



รูปที่ 2 กลไกการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสโดยการทำปฏิกิริยากับสารคู่ควบไซเลน

ตารางที่ 1 สภาวะในการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของเซลลูโลสโดยการทำปฏิกิริยากับสารคู่ควบไซเลน

Ingredients	Amount (g)
CMC	3.0
MPS	1.0
Acetic acid aqueous solution (pH 4) ^a	100.0



รูปที่ 3 แผนภาพการเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิก แอซิด นาโนแคปซูลหุ้มกรดแกลลิกในระบบน้ำในน้ำมันด้วย กระบวนการสังเคราะห์แบบมินิมัลชัน

ตารางที่ 2 สภาวะในการเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิก แอซิด นาโนแคปซูลหุ้มกรดแกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิมัลชัน โดยการปั่นเตรียมหยดมอนอเมอร์ที่ร้อยละแอมพลิจูดต่างๆ^a

phase	Ingredients	m-CMC:MAA	
		50:50	33:67
Dispersed phase (water)	m-CMC (g)	0.625	0.437
	MAA (g)	0.625	0.834
	GA (g)	1.250	1.250
	VA-057 ^b (g)	0.050	0.067
	Mix solvent ^c (g)	3.000	3.000
Continuous phase (oil)	Toluene (g)	22.500	22.500
	DPHS (g)	0.750	0.750

หมายเหตุ ^a อัตราเร็วในการปั่นเตรียมหยดมอนอเมอร์ ที่ร้อยละ 20 40 และ 60 แอมพลิจูด

เป็นเวลา 2 นาที ณ อุณหภูมิห้อง

^b ตัวเริ่มปฏิกิริยา ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยน้ำหนักของมอนอเมอร์

^c ตัวทำละลายผสม คือ 1, 4-ไดออกเซน:น้ำ ที่อัตราส่วน 2:1

2. การเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลหุ้มกรด
แกลลิกด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิมัลชัน

เมื่อทำการเตรียมหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซีเมทิล
เซลลูโลสที่มีพันธะคู่ที่ปลายสายโซ่และทำให้บริสุทธิ์
เรียบร้อยแล้ว จะนำเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันนี้มาใช้

ในกระบวนการเตรียมแคปซูล โดยใช้กรดเมทาคริลิก ซึ่งเป็นมอนอเมอร์ที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกราฟที่ลงบนสายโซ่ของเซลลูโลสเพื่อให้เกิดเป็นเปลือกแคปซูล โดยนำคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันและกรดเมทาคริลิกละลายในตัวทำละลายผสม (1, 4-ไดออกเซน: น้ำ) ผสมกับกรดแกลลิกและตัวริเริ่มปฏิกิริยาให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้น เกล็นในชั้นน้ำมันที่มีสารลดแรงตึงผิว ทำการปั่นเตรียมหดยมอนอเมอร์ด้วยอัลตราโซนิกเตออร์ (ultrasonicator) โดยจะศึกษาการเตรียมหดยที่ร้อยละแอมพลิจูด (%amplitude) ต่าง ๆ คือ 20 40 และ 60 ดังสถานะในตารางที่ 2 จากนั้น เทอมีลชันที่ได้ลงในขวดกันกลม ปิดด้วยจุกยาง ทำให้อยู่ในระบบสุญญากาศ ด้วยการใช้ปั๊มดูดสลับกับการเป่าแก๊สไนโตรเจนประมาณ 5 รอบ โดยรอบสุดท้าย คือ แก๊สไนโตรเจน ก่อนแช่ลงในอ่างน้ำมันซิลิโคน ทำการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็วในการปั่น 500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 8 ชั่วโมง แผนภาพการเตรียมแคปซูลแสดงดังรูปที่ 3

3. การศึกษาลักษณะเฉพาะของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลหุ้มกรดแกลลิก

เมื่อทำการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลหุ้มกรดแกลลิกได้แล้ว จะทำการศึกษาสมบัติต่าง ๆ ดังนี้

3.1 การหาร้อยละการเปลี่ยนจากมอนอเมอร์เป็นพอลิเมอร์ (% conversion)

ทำการหาร้อยละการเปลี่ยนจากมอนอเมอร์เป็นพอลิเมอร์ ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography; GC; Varian Star 3400 CX FID; Agilent, USA) โดยใช้อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจนและแก๊สไฮโดรเจนที่ 30 มิลลิลิตรต่อนาที และอากาศที่ 300 มิลลิลิตรต่อนาที ด้วยอัตราเร็วในการเพิ่มอุณหภูมิที่ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที เริ่มด้วยการนำตัวอย่าง 200 ไมโครลิตร (ประมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก) มาละลายใน 5 กรัมของสารละลายเอทานอลที่

มีไดเมทิลฟอมาไมด์เป็นสารมาตรฐานภายใน (Internal standard) (ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) จากนั้น ทำการวิเคราะห์ โดยความเข้มข้นของมอนอเมอร์ที่เหลือ (C_{MAA, S}; มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) คำนวณตามสมการที่ (1) จากนั้น นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์ ดังสมการที่ (2) และทำการเปลี่ยนหน่วยของความเข้มข้นของมอนอเมอร์ที่เหลือจากมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก

$$C_{MAA, S} = \left(\frac{C_{R, std}}{A_{R, std}} \times A_{R, S} \right) \times C_{DMF} \quad (1)$$

$$\% \text{conversion (MAA)} = \left(\frac{C_{MAA, ini} - \left(\frac{C_{MAA, S}}{10,000} \right)}{C_{MAA, ini}} \right) \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ C_{MAA, S} คือ ความเข้มข้นของกรดเมทาคริลิกที่เหลือหลังจากการพอลิเมอร์ไรเซชัน

C_{R, std} คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดเมทาคริลิก

C_{DMF} คือ ความเข้มข้นของไดเมทิลฟอมาไมด์ (mg/kg)

A_{R, std} คือ พื้นที่พีคของกรดเมทาคริลิกมาตรฐาน (ได้จาก GC chromatogram) ต่อกรดเมทาคริลิก

A_{R, S} คือ พื้นที่พีคของกรดเมทาคริลิกในสารละลายตัวอย่าง (ได้จาก GC chromatogram) ที่เหลือหลังจากการพอลิเมอร์ไรเซชัน

C_{MAA, ini} คือ ความเข้มข้นของกรดเมทาคริลิกก่อนการพอลิเมอร์ไรเซชัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)

3.2 ลักษณะรูปร่างและการกระจายตัวของพอลิเมอร์นาโนแคปซูล

ศึกษาลักษณะรูปร่างและการกระจายตัวของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลที่เตรียมได้ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Optical microscope; OM: SK-

100EB & SK-100 ET, Seek Inter Corporation Ltd., Thailand) โดยทำการหยดตัวอย่างลงบนกระจกสไลด์ ปิดด้วยแผ่นปิด (cover glass) แล้วตรวจสอบด้วยกำลังขยาย 1000 เท่า

3.3 การวัดขนาดของพอลิเมอร์แคปซูล

วัดขนาดของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลที่เตรียมได้ ด้วยเทคนิคการกระเจิงแสง (Dynamic light scattering; DLS: Delsa Nano-C Beckman Coulter, USA) โดยใช้มุมหักเห 165 องศา ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บในแคปซูล

ในการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูล นอกจากจะพิจารณาลักษณะทางกายภาพ คือ รูปร่าง และการกระจายตัวของพอลิเมอร์แคปซูลแล้ว จะต้องทำการศึกษาปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูลด้วย ซึ่งจะใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี (UV-Visible spectroscopy: Lambda a 35: Perkin Elmer, USA) เริ่มด้วยการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 2 4 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการสแกนหาความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ในช่วง 200-500 นาโนเมตร พบว่ากรดแกลลิกมี λ_{max} ที่ ~260-270 นาโนเมตร โดยไม่ซ้อนทับกับองค์ประกอบอื่น ๆ ในระบบ จึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณที่ความยาวคลื่นนี้ โดยก่อนจะนำแคปซูลมาทำการวิเคราะห์จะทำการล้างแคปซูลเพื่อกำจัดกรดแกลลิกที่บริเวณผิว ด้วยสารละลายกรดอะซิติก (pH 2) และทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นจึงพอลิเมอร์นาโนแคปซูลที่แห้งประมาณ 20 มิลลิกรัม (W_{caps}) ทำการละลายใน 1, 4-ไดออกเซน และปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร [45] วัดค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกในสารละลายแต่ละตัวอย่างที่ λ_{max} ~260-270 นาโนเมตร เพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณกรด

แกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูล (C_{GA}) โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก และทำการเปลี่ยนเป็นน้ำหนักของกรดแกลลิกแห้ง (W_{GA}) โดยใช้สมการที่ (3) จากนั้น คำนวณเปอร์เซ็นต์การบรรจุตามการทดลอง (%LD_{exp}) และตามทฤษฎี (%LD_{th}) และประสิทธิภาพในการหุ้ม (%EE) จากสมการ (4) (Susheel Kalia) และ (Susheel Kalia) [46] ตามลำดับ

$$W_{GA,exp} = \left(\frac{C_{GA}}{W_{caps}} \right) \times 100 \quad (3)$$

$$\%LD_{exp} = \left(\frac{C_{GA}}{1000} \right) \times V_s \quad (4)$$

$$\%LD_{th} = \left(\frac{W_{GA,rep}}{W_{GA,rep} + \left(\frac{W_m (\%conversion)}{100} \right) + W_{m-CMC}} \right)$$

$$\%EE = \left(\frac{\%LD_{exp}}{\%LD_{th}} \right) \times 100$$

เมื่อ C_{GA} คือ ความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในตัวทำละลายไดออกเซน (V_s ; มิลลิลิตร)

$W_{GA,exp}$ คือ น้ำหนักของกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บ (มิลลิกรัม) ภายในแคปซูลแห้งก่อนทำการละลาย (W_{cap})

$W_{GA,rep}$ W_m และ W_{m-CMC} คือ น้ำหนักของกรดแกลลิก มอนอเมอร์ และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันตามลำดับ จากสถานะการเตรียมนาโนแคปซูลตามตารางที่ 2

4. การศึกษาการปลดปล่อย

การศึกษาการปลดปล่อยกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในนาโนแคปซูล โดยทดลองในสภาวะจำลองภายนอกสิ่งมีชีวิต (*in vitro*) ในตัวกลางฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เริ่มด้วยการเตรียมนาโนแคปซูลที่ทำให้แห้ง (20 มิลลิกรัม) แช่ในฟอสเฟต

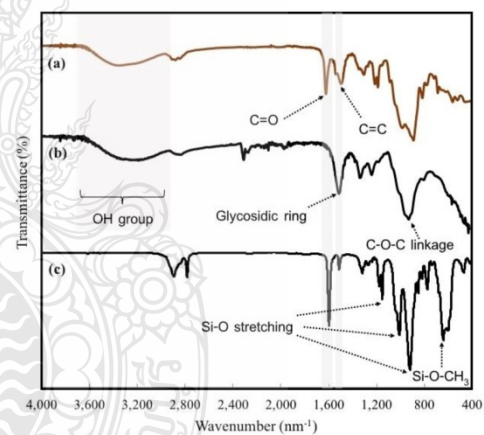
บัพเฟอร์ 20 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์) ที่พีเอช 7.4 และควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส [26, 47, 48] ทำการศึกษาที่เวลา 0 0.5 1 2 6 และ 24 ชั่วโมง ซึ่ง จะทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกที่ปลดปล่อยออก จากนาโนแคปซูลด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโคปีที่ $\lambda_{\max} \sim 260-270$ นาโนเมตร โดยคำนวณหาความเข้มข้น ของกรดแกลลิกที่ถูกปลดปล่อยในสารละลาย (มิลลิกรัม ต่อลิตร) เทียบกับสายละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ ความเข้มข้น 5 10 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ จะทำการวิเคราะห์ปริมาณของกรดแกลลิกที่ เหลือในนาโนแคปซูล โดยเริ่มจากการปั่นเหวี่ยงที่ ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที และนำแคปซูลที่ตกนอนกัน ละลายใน 1, 4-ไดออกเซน ปริมาณ 25 มิลลิลิตร เทียบ กับสายละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 2 4 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร

ผลการศึกษา

1. การเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสให้มี พันธะคู่

ในขั้นตอนการเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสให้ มีพันธะคู่โดยใช้สารคู่ควบไซเลน จะเริ่มจากการ ไฮโดรไลซิสสารคู่ควบไซเลน คือ 3-(ไตรเมทอกซีซิลิล) โพรพิล เมทาคริเลต ให้เป็นหมู่ไฮดรอกซิล เพื่อให้สามารถ เกิดการไฮโดรไลซิสต่อกับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เพื่อให้มีพันธะคู่จากหมู่ฟังก์ชันของเมทาคริเลทปลายสาย ไซของสารคู่ควบไซเลนลงบนสายไซของคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส โดยใช้สภาวะในการเตรียมหมู่ฟังก์ชันของ เซลลูโลสจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ จากนั้น ทำให้บริสุทธิ์ โดยการตกผลึกในไดคลอโรมีเทน เมื่อทำให้แห้งและนำไป ทดสอบด้วยเทคนิค FTIR พบว่า เมื่อเปรียบเทียบฟูเรียร์ ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกตรัม ของคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วยสารคู่ควบไซเลน (รูปที่ 4 (a)) กับสเปกตรัมของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

(รูปที่ 4 (b)) และ 3-(ไตรเมทอกซีซิลิล)โพรพิล เมทาคริเลต (รูปที่ 4 (c)) จะพบพีคที่ตำแหน่งประมาณ $3400-3000 \text{ cm}^{-1}$ ของหมู่ไฮดรอกซิลของเซลลูโลส (O-H) และพีคที่ตำแหน่ง 1578 และ 1007 cm^{-1} ของ วงแหวนไกลโคซิดิกและหมู่คีโตนบนสายไซของคาร์บอกซี เมทิลเซลลูโลส ในขณะที่เซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ ฟังก์ชัน นอกจากพบพีคดังกล่าวแล้ว ยังพบพีคที่ตำแหน่ง 1160 1129 และ 1070 ซึ่งเป็นพีคของ Si-O พีคที่ ตำแหน่ง 935 1714 และ 1633 cm^{-1} เป็นพันธะระหว่าง Si-O-CH₃ หมู่คาร์บอนิล (C=O) และพันธะคู่อัลคีน (C=C) ตามลำดับ เพิ่มเติม จึงยืนยันได้ว่าสามารถเปลี่ยนหมู่ ฟังก์ชันของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสด้วยสารคู่ควบไซเลน ได้ ซึ่งมีพันธะคู่สำหรับเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์เชนกับ กรดเมทาคริลิกในขั้นตอนต่อไปได้

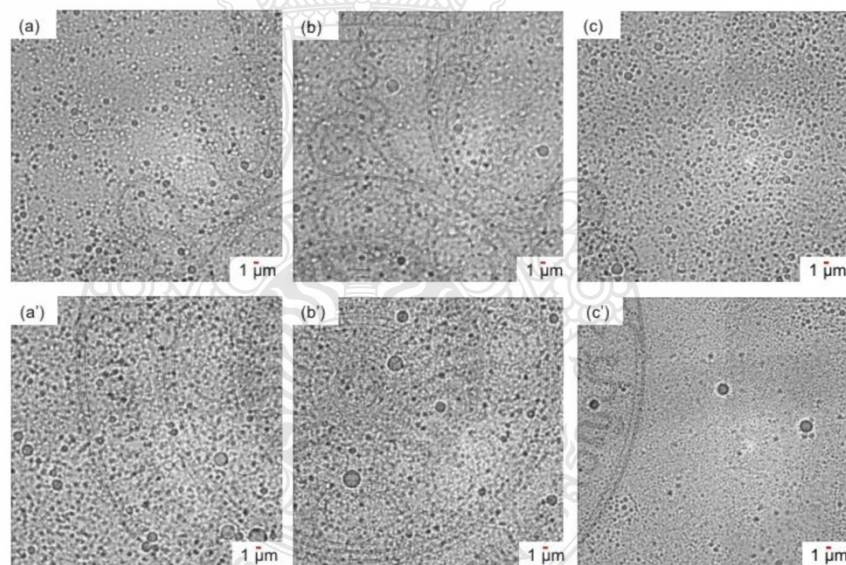


รูปที่ 4 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด สเปกตรัมของ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ด้วย สารคู่ควบไซเลน (a) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (b) และ 3-(ไตรเมทอกซีซิลิล)โพรพิล เมทาคริเลต (c)

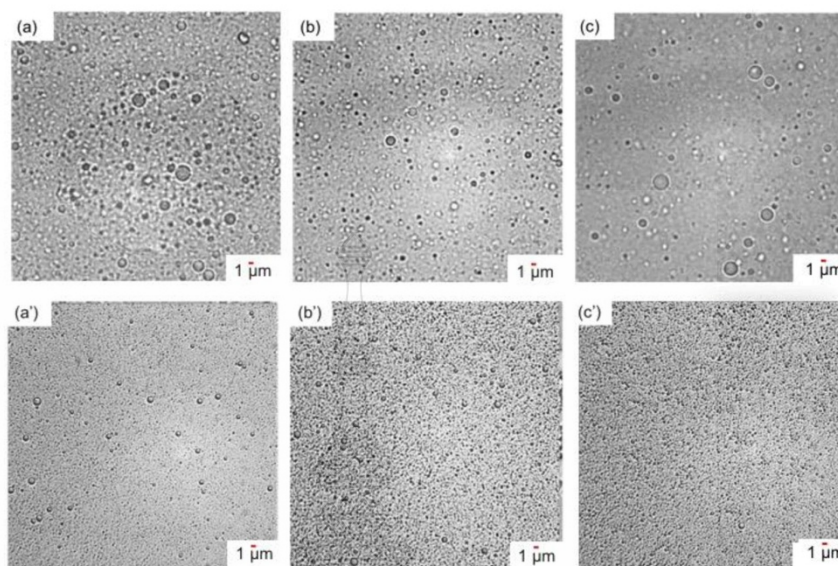
2. การเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลหุ้มกรดแกลลิกด้วย กระบวนการสังเคราะห์แบบมินิมัลชัน

จากนั้น ทำการศึกษาการเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิกแอซิด นาโนแคปซูลในระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมันด้วยการสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน โดยใช้คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีพันธะคู่ที่ปลายสายโซ่ พอลิเมอร์เชื่อมร่วมกับกรดเมทาคริลิก ซึ่ง จะเกิดการกราฟท์สายโซ่ของพอลิเมทาคริลิกแอซิดลงบนสายโซ่ของเซลลูโลส เพื่อให้เกิดเป็นเปลือกแคปซูล โดยใช้โทลูอีน และไดฟอสโฟโรออกซิลสเตียเรตที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก เป็นตัวทำตัวต่อเนื่องและสารลดแรงตึงผิว ตามลำดับ ดังงานวิจัยก่อนหน้านี้ โดย ทำการศึกษาการเตรียมที่หยดร้อยละ 20 40 และ 60 แอมพลิจูดของเครื่องอัลตราโซนิกเคเตอร์ เมื่อพิจารณาจาก optical micrograph ของพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มกรดแกกลิกที่เตรียมได้ที่อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิล

เซลลูโลสต่อกรดเมทาคริลิกที่ร้อยละ 50:50 และ 33:67 โดยน้ำหนัก ดังรูปที่ 5 และ 6 ตามลำดับ พบว่า หยดมอนอเมอร์ก่อนและพอลิเมอร์แคปซูลหลังการสังเคราะห์ มีลักษณะเป็นทรงกลม ทั้งสองอัตราส่วน โดยเมื่อพิจารณาจากอัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อกรดเมทาคริลิกที่ 50:50 พบว่า มีร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บกรดแกกลิกของแคปซูลอยู่ในช่วงร้อยละ 19-25 และ 57-71 ตามลำดับ ดังตารางที่ 3 โดยที่ร้อยละแอมพลิจูด 20 มีประสิทธิภาพการกักเก็บและการบรรจุสูงที่สุด คือ ร้อยละ 71 และ 25 ตามลำดับ แต่ร้อยละการเปลี่ยนจากมอนอเมอร์เป็นพอลิเมอร์ไม่สูงมากนัก สำหรับแคปซูลที่อัตราส่วนคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อกรดเมทาคริลิกเป็น 33:67 นั้น มีร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์ค่อนข้างสูง



รูปที่ 5 Optical micrograph ของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลหุ้มกรดแกกลิก ก่อน (a-c) และหลัง (a'-c') การสังเคราะห์ในระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมันด้วยการสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน โดยใช้อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อกรดเมทาคริลิกที่ 50:50 โดยการปั่นเตรียมหยดที่ร้อยละแอมพลิจูด (%amplitude) 20 (a, a') 40 (b, b') และ 60 (c, c')



รูปที่ 6 Optical micrograph ของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลที่มกรดแกลลิกก่อน (a-c) และหลัง (a'-c') การสังเคราะห์ในระบบอิมัลชันน้ำในน้ำมันด้วยการสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน โดยใช้อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อกรดเมทาคริลิกที่ 33:67 โดยการป้อนเตรียมหดยที่ร้อยละแอมพลิจูด (%amplitude) 20 (a, a') 40 (b, b') และ 60 (c, c')

ตารางที่ 3 ร้อยละการเปลี่ยนมอนอเมอร์เป็นพอลิเมอร์ (%conversion) ร้อยละการบรรจุ (%loading) และประสิทธิภาพการกักเก็บ (%encapsulation) ที่สภาวะต่าง ๆ

m-CMC:MAA (%w/w)	Stirring rate (Amplitude; %)	Conversion (%)	Loading (%)		Encapsulation (%)
			Experimental	Theoretical	
50:50	20	72.40	25.36	55.05	70.73
	40	91.73	21.66	51.40	63.33
	60	95.44	18.71	50.75	57.43
33:67	20	92.37	24.36	50.13	72.42
	40	90.65	24.66	52.18	73.32
	60	88.04	21.04	53.04	67.92

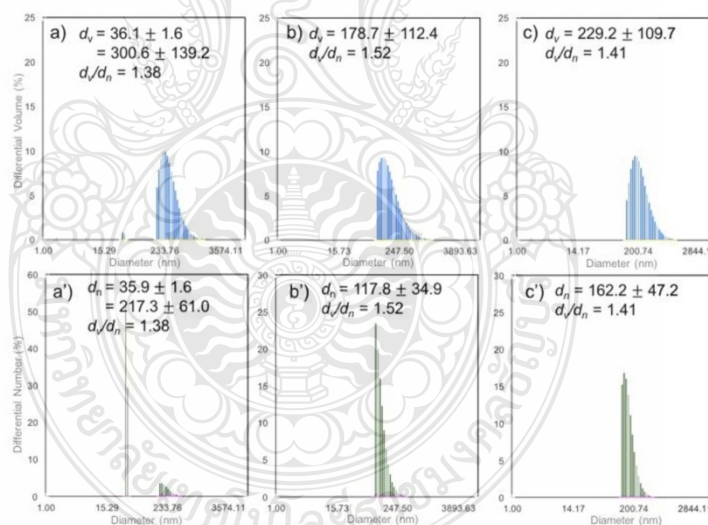
ในขณะที่ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บมีค่าสูงกว่าที่อัตราส่วน 50:50 โดยอยู่ในช่วงร้อยละ 21-25 และ 68-73 ตามลำดับ ซึ่งน่าจะเนื่องจากการเพิ่มปริมาณกรดเมทาคริลิก ทำให้เกิดโครงร่างแห

ระหว่างคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสกับสายโซ่ของพอลิเมทาคริลิกเพิ่มขึ้นผ่านพันธะโควาเลนต์และพันธะไฮโดรเจน จึงมีประสิทธิภาพในการบรรจุและการกักเก็บเพิ่มขึ้น แต่เมื่อพิจารณาจากขนาดของแคปซูลที่อัตราส่วน

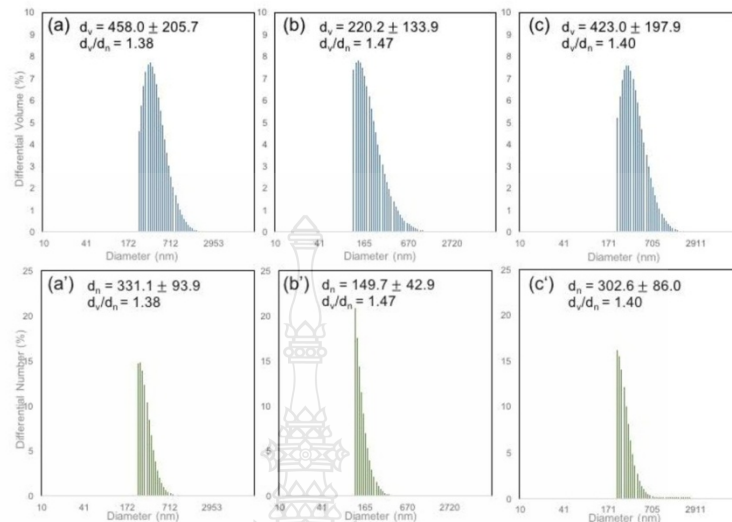
ต่าง ๆ พบว่า เมื่อใช้อัตราเร็วในการปั่นเพิ่มขึ้น จาก ร้อยละ 20 เป็น 40 แอมพลิจูด ขนาดของแคปซูลลดลง ทั้งสองอัตราส่วน ดังรูปที่ 7 (a, a', b และ b') และ รูปที่ 8 (a, a', b และ b') แต่เมื่อเพิ่มอัตราการปั่นเป็น ร้อยละ 60 แอมพลิจูด ขนาดของแคปซูลกลับเพิ่มขึ้น ทั้ง สองอัตราส่วน ซึ่งน่าจะเกิดจากแคปซูลมีขนาดเล็กลงและ ไม่เสถียร จึงเกิดการรวมตัวกันบางส่วน ทำให้มีขนาด เพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 7 และ 8 (c และ c') อย่างไรก็ตาม แคปซูลที่ได้มีขนาดในระดับนาโนเมตรทุกสภาวะ

ดังนั้น เมื่อพิจารณาทั้งขนาด ร้อยละการบรรจุ และประสิทธิภาพการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์ แคปซูล จึงได้เลือกคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิก แอซิด นาโนแคปซูลที่อัตราส่วนของ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อกรดเมทาคริลิกที่ 33:67 ที่ ร้อยละแอมพลิจูด 40 เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการศึกษา การควบคุมการปลดปล่อยกรดแกลลิกในขั้นตอนต่อไป

เมื่อทำการศึกษาการปลดปล่อยกรดแกลลิกที่ถูก กักเก็บภายในนาโนแคปซูลที่อัตราส่วนของคาร์บอกซี เมทิลเซลลูโลสต่อกรดเมทาคริลิกที่ 33:67 และร้อยละ แอมพลิจูด 40 โดยทำการทดลองในสภาวะจำลอง ภายนอกสิ่งมีชีวิต ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 7.4 พบว่าในช่วง 30 นาทีแรก มีปริมาณกรดแกลลิกที่ ถูกกักเก็บถูกปลดปล่อยออกจากนาโนแคปซูลที่ประมาณ ร้อยละ 66 หลังจากนั้น มีการปลดปล่อยกรดแกลลิก อย่างต่อเนื่องด้วยอัตราเร็วที่ช้าลงจนหมดที่เวลา 24 ชั่วโมง ดังรูปที่ 9 ดังนั้น นาโนแคปซูลที่เตรียมได้ สามารถควบคุมการปลดปล่อยกรดแกลลิกได้ ซึ่งนาโน แคปซูลที่เตรียมได้จะมีประสิทธิภาพในการใช้สำหรับ ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ต้องการการปลดปล่อยสารใน อัตราที่เร็ว เช่น แผ่นมาสก์หน้า และแผ่นเจลชนิดต่าง ๆ



รูปที่ 7 กราฟแสดงขนาดและการกระจายตัวของแคปซูลที่อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อกรดเมทาคริลิกที่ 50:50 ที่ร้อยละแอมพลิจูด 20 (a, a') 40 (b, b') และ 60 (c, c')



รูปที่ 8 กราฟแสดงขนาดและการกระจายตัวของแคปซูลที่อัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อกรดเมทาคริลิกที่ 33:67 ที่ร้อยละแอมพลิจูด 20 (a, a') 40 (b, b') และ 60 (c, c')

สรุปผล

จากการศึกษาการเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส-กราฟท์-พอลิเมทาคริลิก แอซิด นาโนแคปซูลหุ้มกรดกลลิก ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบมินิมัลชันในระบบน้ำในน้ำมัน โดยใช้คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ทำการเปลี่ยนหมู่ให้มีพันธะคู่ที่ปลายสายโซ่ด้วยสารคู่ควาไซเลน ที่อัตราส่วนร้อยละ 75:25 โดยน้ำหนัก นำมาพอลิเมอไรเซชันร่วมกับกรดเมทาคริลิก กราฟท์ลงบนสายโซ่ของเซลลูโลส เพื่อให้เกิดเป็นแคปซูลในขนาดระดับนาโนเมตร โดยใช้อัตราส่วนน้ำหนักของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เปลี่ยนหมู่ต่อกรดเมทาคริลิกที่ร้อยละ 50:50 และ 33:67 พบว่า ได้แคปซูลทรงกลมทั้งสองอัตราส่วน และเมื่อใช้อัตราเร็วในการปั่นที่ร้อยละ 20 40 และ 60 แอมพลิจูด ขนาดแคปซูลที่ได้อยู่ในระดับนาโนเมตรทุกสภาวะ แต่เมื่อพิจารณาจากทั้งขนาดร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บกรดกลลิกพบว่าที่สภาวะที่เหมาะสม คือ ที่อัตราส่วน 33:67 และร้อยละแอมพลิจูด 40 สามารถเตรียมแคปซูลมีขนาด

ประมาณ 220 นาโนเมตร ร้อยละการบรรจุ 25 โดยน้ำหนัก และประสิทธิภาพการกักเก็บกรดกลลิกที่ร้อยละ 73 แคปซูลที่ได้มีประสิทธิภาพในการควบคุมการปลดปล่อย ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำนาโนแคปซูลที่ได้ประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ต้องการการปลดปล่อยที่เร็วได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนบางส่วนจากทุนวิจัยประจำปี 2559 (No. CRP5905021000) ของสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) และขอขอบคุณหน่วยวิจัยออกแบบและพัฒนาวัสดุขั้นสูง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรีที่เอื้อเฟื้อสถานที่และให้คำแนะนำในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- [1] A. G. P. Mongomake, Kone, Yaya Toure. (2011). Bambara Groundnut [Vigna

- subterranea (L.) Verdc. (Fabaceae)] Usage in Human Health. **Nuts & Seeds in Health and Disease Prevention**, 189-196.
- [2] Y. Y. Murevanhema and V. A. Jideani. (2013). Potential of Bambara Groundnut (*Vigna subterranea* (L.) Verdc) Milk as a Probiotic Beverage—A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, **53** (9), 954-967.
- [3] V. K. Rajan and K. Muraleedharan. (2017). A computational investigation on the structure, global parameters and antioxidant capacity of a polyphenol, Gallic acid. **Food Chemistry**, **220**, 93-99.
- [4] R. Costa and L. Santos. (2017). Delivery systems for cosmetics - From manufacturing to the skin of natural antioxidants. **Powder Technology**, **322**, 402-416.
- [5] K. Thammarat, Leena, N., Punnanee, S. and Soottawat, B., (2015). Functional and Antioxidative properties of Bambara groundnut (*Voandzeia subterranea*) protein hydrolysates. **International Food Research Journal**, **22** (4), 1584-1595.
- [6] K. Thammarat, Leena, N., Punnanee, S. and Soottawat, B., (2015). Chemical Composition, Functional and Antioxidative Properties of Protein Hydrolysate from Bambara Groundnut (*Voandzeia subterranea*). **International Food Research Journal**, **22** (4), 1584-1595.
- [7] O. M. Ogundele and M. N. Emmambux. (2018). Effect of infrared heating of pre-soaked whole and dehulled bambara groundnut (*Vigna subterranea*) seeds on their cooking characteristics and microstructure. **LWT**, **97**, 581-587.
- [8] A. E. Unigwe, E. Doria, P. Adebola, A. S. Gerrano, and M. Pillay. (2018). Anti-nutrient analysis of 30 Bambara groundnut (*Vigna subterranea*) accessions in South Africa. **Journal of Crop Improvement**, **32** (2), 208-224.
- [9] S.O SALAWU. (2016). COMPARATIVE STUDY OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF METHANOLIC EXTRACT AND SIMULATED GASTROINTESTINAL ENZYME DIGEST OF BAMBARA NUT (*Vigna subterranean*). **FUTA Journal of Research in Sciences**, **1**, 107-120.
- [10] T. Harris, V. Jideani, and M. Le Roes-Hill. (2018). Flavonoids and tannin composition of Bambara groundnut (*Vigna subterranea*) of Mpumalanga, South Africa. **Heliyon**, **4** (9), e00833.
- [11] J. Li, S. Y. Kim, X. Chen, and H. J. Park. (2016). Calcium-alginate beads loaded with gallic acid: Preparation and characterization. **LWT - Food Science and Technology**, **68**, 667-673.

- [12] A. de Cristo Soares Alves, R. M. Mainardes, and N. M. Khalil. (2016). Nanoencapsulation of gallic acid and evaluation of its cytotoxicity and antioxidant activity. **Materials Science and Engineering: C**, 60, 126-134.
- [13] A. Gomes, A. L. R. Costa, F. de Assis Perrechil, and R. L. da Cunha. (2016). Role of the phases composition on the incorporation of gallic acid in O/W and W/O emulsions. **Journal of Food Engineering**, 168, 205-214.
- [14] P. Chaiyasat, M. Z. Islam, and A. Chaiyasat. (2013). Preparation of poly(divinylbenzene) microencapsulated octadecane by microsuspension polymerization: oil droplets generated by phase inversion emulsification. **RSC Advances**, 3, (26), 10202-10207.
- [15] A. Luca, B. Cilek, V. Hasirci, S. Sahin, and G. Sumnu. (2013). Effect of Degritting of Phenolic Extract from Sour Cherry Pomace on Encapsulation Efficiency—Production of Nano-suspension. **Food and Bioprocess Technology**, 6 (9), 2494-2502.
- [16] B. Cilek, A. Luca, V. Hasirci, S. Sahin, and G. Sumnu. (2012). Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio. **European Food Research and Technology**, 235 (4), 587-596.
- [17] P. Laine, P. Kylli, M. Heinonen, and K. Jouppila. (2008). Storage Stability of Microencapsulated Cloudberry (*Rubus chamaemorus*) Phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56 (23), 11251-11261.
- [18] R. Dubey. (2009). "Microencapsulation Technology and Applications," 2009, Microencapsulation technology, microcapsule, release mechanisms, pharmaceuticals, polymers, stabilizers, emulsion, 59 (1), 14.
- [19] S. Gouin. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology**, 15 (7), 330-347.
- [20] I. S. Santos, B. M. Ponte, P. Boonme, A. M. Silva, and E. B. Souto. (2013). Nanoencapsulation of polyphenols for protective effect against colon-rectal cancer. **Biotechnology Advances**, 31 (5), 514-523.
- [21] F. Pinto, D. P. C. de Barros, and L. P. Fonseca. (2018). Design of multifunctional nanostructured lipid carriers enriched with α -tocopherol using vegetable oils. **Industrial Crops and Products**, 118, 149-159.

- [22] S. Serieye, F. Méducin, A. Tidu, and S. Guillot. (2018). Incorporation of aromas in nanostructured monolinolein-based miniemulsions: A structural investigation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, **555**, 802-808.
- [23] P. E. Feuser et al.. (2015). Simultaneous encapsulation of magnetic nanoparticles and zinc phthalocyanine in poly(methyl methacrylate) nanoparticles by miniemulsion polymerization and in vitro studies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, **135**, 357-364.
- [24] F. Schué. (2000). Biopolymers from renewable resources. Edited by D L Kaplan Springer-Verlag, Heidelberg, 1998. **Polymer International**, **49** (5), 472-473.
- [25] A. n. J. V. M. Florentina Adriana Cziple. (2008). Biopolymers Versus Synthetic Polymers. **Anul XV**, **1**, 125-132.
- [26] S. M. Ali and G. Yosipovitch. (2013). Skin pH: from basic science to basic skin care. (in eng), **Acta Derm Venereol**, **93** (3), 261-269(9).
- [27] S. Barkhordari and M. Yadollahi. (2016). Carboxymethyl cellulose capsulated layered double hydroxides/drug nanohybrids for Cephalexin oral delivery. **Applied Clay Science**, **121-122**, 77-85.
- [28] S. Butun, F. G. Ince, H. Erdugan, and N. Sahiner. (2011). One-step fabrication of biocompatible carboxymethyl cellulose polymeric particles for drug delivery systems. **Carbohydrate Polymers**, **86** (2), 636-643.
- [29] C. D. a. M. M. Alessandro Sannino. (2009). Biodegradable Cellulose-based Hydrogels: Design and Applications. **Materials**, **2**, 353-373.
- [30] H. A.-Y., A. M. Adel, A.A. El-Gendy and A.M. Nada. (2010). Carboxymethylated Cellulose Hydrogel; Sorption Behavior and Characterization. **Nature and Science**, **8**, (8), 244-256.
- [31] A. Sannino et al.. (2004). Cellulose Derivative-Hyaluronic Acid-Based Microporous Hydrogels Cross-Linked through Divinyl Sulfone (DVS) To Modulate Equilibrium Sorption Capacity and Network Stability. **Biomacromolecules**, **5** (1), 92-96.
- [32] C. Demitri, F. Scalera, M. Madaghiele, A. Sannino, and A. Maffezzoli. (2013). Potential of Cellulose-Based Superabsorbent Hydrogels as Water Reservoir in Agriculture. **International Journal of Polymer Science**, **2013**, 6.
- [33] A. A. Hebeish, M. H. El-Rafie, F. A. Abdel-Mohdy, E. S. Abdel-Halim, and H. E. Emam. (2010). Carboxymethyl cellulose for green

- synthesis and stabilization of silver nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, **82** (3), 933-941.
- [34] E. S. Abdel-Halim, H. H. Alanazi, and S. S. Al-Deyab. (2015). Utilization of hydroxypropyl carboxymethyl cellulose in synthesis of silver nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, **75**, 467-473.
- [35] E. Duhoranimana et al., (2018). Thermodynamic characterization of Gelatin–Sodium carboxymethyl cellulose complex coacervation encapsulating Conjugated Linoleic Acid (CLA). **Food Hydrocolloids**, **80**, 149-159.
- [36] H. Koga, T. Kitaoka, and A. Isogai. (2015). Chemically-Modified Cellulose Paper as a Microstructured Catalytic Reactor. **Molecules**, **20** (1), 1495-1508.
- [37] H. Koga, T. Kitaoka, and A. Isogai. (2011). In situ modification of cellulose paper with amino groups for catalytic applications. **Journal of Materials Chemistry**, **21** (25), 9356-9361.
- [38] M. Abdelmouleh, S. Boufi, A. ben Salah, M. N. Belgacem, and A. Gandini. (2002). Interaction of Silane Coupling Agents with Cellulose. **Langmuir**, **18** (8), 3203-3208.
- [39] M. Abdmouleh, S. Boufi, N. Belgacem, A. Dufresne, and A. Gandini. (2005). Modification of cellulose fibers with functionalized silanes: Effect of the fiber treatment on the mechanical performances of cellulose-thermoset composites. **Journal of Applied Polymer Science**, **98** (3), 974-984.
- [40] M.-C. Brochier Salon, M. Abdelmouleh, S. Boufi, M. N. Belgacem, and A. Gandini. (2005). Silane adsorption onto cellulose fibers: Hydrolysis and condensation reactions. **Journal of Colloid and Interface Science**, **289** (1), 249-261.
- [41] R. K. G. Manju Kumari Thakura, Vijay Kumar Thakurc. (2014). Surface modification of cellulose using silane coupling agent. **Carbohydrate Polymers**, **111**, 849-855.
- [42] M.-C. Brochier Salon and M. N. Belgacem. (2011). Hydrolysis-Condensation Kinetics of Different Silane Coupling Agents. **Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements**, **186** (2), 240-254.
- [43] H. Koga, T. Kitaoka, and A. Isogai. (2012). Paper-immobilized enzyme as a green microstructured catalyst. **Journal of Materials Chemistry**, **22** (23), 11591-11597.
- [44] Y. Xie, C. A. S. Hill, Z. Xiao, H. Miltz, and C. Mai. (2010). Silane coupling agents used for natural fiber/polymer composites: A

review. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, **41** (7), 806-819.

- [45] V. Kozlovskaya, E. Kharlampieva, M. L. Mansfield, and S. A. Sukhishvili. (2006). Poly(methacrylic acid) Hydrogel Films and Capsules: Response to pH and Ionic Strength, and Encapsulation of Macromolecules. **Chemistry of Materials**, **18** (2), 328-336.

- [46] A. D. Susheel Kalia, Bibin Mathew Cherian, B. S. Kaith, Luc Ave'rous, James Njuguna, and Elias Nassiopoulous. Cellulose-Based Bio- and Nanocomposites: A Review. **International Journal of Polymer Science**, **2011**, 1-36.

- [47] D. Dorniani, M. Z. B. Hussein, A. U. Kura, S. Fakurazi, A. H. Shaari, and Z. Ahmad. (2012). Preparation of Fe_3O_4 magnetic nanoparticles coated with gallic acid for drug delivery. **International journal of nanomedicine**, **7**, 5745-5756.

- [48] O. M. Medvedeva, V. S. Kurakina, S. G. Dmitrienko, T. I. Tikhomirova, and O. A. Shpigun. (2004). Separation and Determination of Phenolcarboxylic Acids by Capillary Zone Electrophoresis with Dynamic Preconcentration on Hypercrosslinked Polystyrene. **Journal of Analytical Chemistry**, **59** (7), 669-676.



CHEMISTRY TOWARD A SUSTAINABLE FUTURE

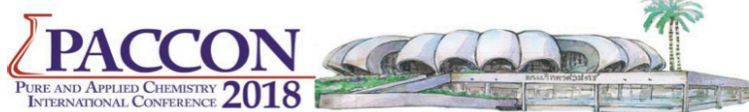
Abstract and Highlight

February 7-9, 2018

The 60th Anniversary of His Majesty the King's Accession
to the Throne International Convention Center,
Hat Yai, Songkhla, Thailand



PACCON
PURE AND APPLIED CHEMISTRY
INTERNATIONAL CONFERENCE **2018**



Preparation of cellulose-based microcapsules encapsulating gallic acid for applying in cosmetic

Wichsuda Tangsongcharoen¹, Patchara Punyamoonwongsa², Amorn Chaiyasat^{1,3},
Preeyaporn Chaiyasat^{1,3*}

¹Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology,

Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Klong 6, Thanyaburi, Pathumthani 12110, Thailand

²School of Science, Mae Fah Luang University, Chaing Rai 57100, Thailand

³Advanced Materials Design and Development (AMDD) Research Unit, Faculty of Science and Technology,

Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Klong 6, Thanyaburi,

Pathumthani 12110, Thailand

*E-mail: p_chaiyasat@mail.rmutt.ac.th

Abstract: In this study, the preparation of cellulose-based microcapsules encapsulating gallic acid (GA) by suspension polymerization in oil-in-water (o/w) emulsion system is studied. The GA, an important ingredient of Bambara groundnut extract, and carboxymethyl cellulose (CMC) were selected as a core and shell materials, respectively. For high encapsulation efficiency, CMC was firstly modified with 3-(trimethoxysilyl) propyl methacrylate (MPS) as silane coupling agent. The characteristic IR absorbance peaks of modified CMC at 802, 1150, 1640 and 1720 cm^{-1} corresponding to Si-C, Si-O-Si, C=C and C=O stretching, respectively, were observed. It was then polymerized with ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) and methylmethacrylate (MMA) monomers by miniemulsion polymerization. The influences of pH of modified CMC solution and co-stabilizer on the formation of microcapsules were investigated. It was found that at acidic (pH4) condition, the coagulation of microcapsules was clearly observed. When the pH was increased to 7 and 10, the coagulation was reduced. However, small amount of the coagulated microcapsules was still observed. The addition of polyvinyl alcohol as co-stabilizer was effectively decreased the coagulation leading to the formation of stable spherical microcapsules.

Keywords: Gallic acid; Carboxymethyl cellulose; Suspension polymerization; Microcapsule



Rajamangala University of Technology Thanyaburi

Preparation of cellulose-based microcapsules encapsulating gallic acid for applying in cosmetic

Wichsuda Tangsongcharoen¹, Patchara Punyamoonwongsa², Amorn Chaiyasat^{1,3} and Preeyaporn Chaiyasat^{1,3}*

¹Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Klong 6, Thanyaburi, Pathumthani 12110 Thailand

²School of Science, Mae Fah Luang University, Chaing Rai, 57100, Thailand

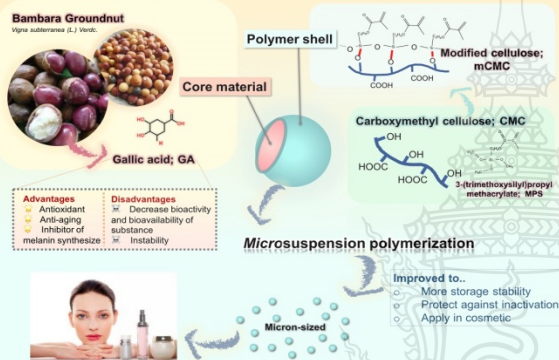
³Advanced Materials Design and Development (AMDD) Research Unit, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Klong 6, Thanyaburi, Pathumthani 12110, Thailand

*e-mail: p_chaiyasat@mail.mutt.ac.th

Abstract

In this study, the preparation of cellulose-based capsules encapsulating gallic acid by suspension polymerization in oil-in-water (o/w) emulsion system is studied. The gallic acid (GA), an important ingredient of Bambara groundnut extract, and carboxymethyl cellulose (CMC) were selected as a core and shell materials, respectively. For high encapsulation efficiency, CMC was firstly modified with 3-(trimethoxysilyl) propyl methacrylate (MPS) as a silane coupling agent. The characteristic IR absorbance peaks of modified CMC at 830, 1070, 1600 and 1700 cm^{-1} corresponding to Si-C, Si-O-Si, C=C and C=O stretching, respectively, were observed. It was then polymerized with methacrylic acid (MAA) monomers by micro-suspension polymerization. The influences of ratio of CMC:MPS (1:1, 2:1 and 3:1) on the formation of microcapsules were investigated. It was formed that at 1:1 condition, the coagulation of microcapsules was clearly observed. When the ratio was increased, the coagulation was reduced. However, small amount of the coagulated microcapsules was still observed. The percent encapsulation and loading were not seem different.

Introduction



Experimental

Modification CMC with 3-(trimethoxysilyl) propyl methacrylate (MPS) as a silane coupling agent via silanization

Table 1 Reagent amounts for modification of cellulose (mCMC)^a

Ingredients	Ratio of CMC:MPS	1:1	2:1	3:1
MPS (g)		2.00	2.7	1.00
CMC (g)		2.00	1.30	3.00
Acetic acid aqueous solution ^b (g)		100	100	100

^a110°C, 3 hr
^bAcetic acid aqueous solution pH=4
^cConcentration of hydroquinone 1 wt%

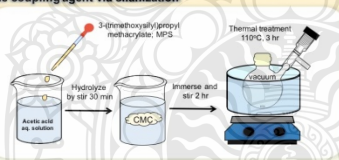


Fig. 1 Schematic for the modification of CMC with a silane coupling agent technique

Table 2 Reagent amounts for the preparation of capsules with various ratio of modified-CMC:MAA^a

Phase	Ingredients	
Water	mCMC ^b (g)	0.625
	MMA (g)	0.625
	GA (g)	1.250
	VA-657 (but. % of monomer) (g)	0.100
Oil	Toluene (g)	22.500
	DPHS (g)	0.750

^a110°C, 24 hr
^bModified cellulose in ratio of CMC:MPS (1:1, 2:1 and 3:1)
^cConcentration of hydroquinone 0.01 wt%, phenylmercaptan used as an inhibitor

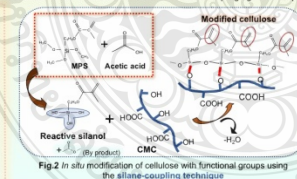


Fig. 2 In situ modification of cellulose with functional groups using the silane-coupling technique

Preparation of the capsule encapsulating gallic acid with suspension polymerization

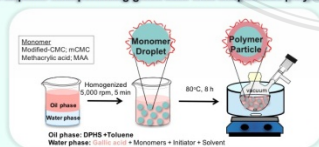


Fig. 3 Schematic for the preparation of cellulose-based gallic acid microcapsules by suspension polymerization with oil-in-water system

Results and Discussions

Modification CMC with 3-(trimethoxysilyl) propyl methacrylate (MPS) as a silane coupling agent via silanization

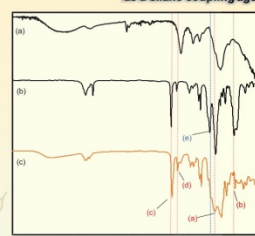


Fig. 4 Chemical structure with FTIR spectroscopy: (a) CMC, (b) MPS and (c) modified CMC

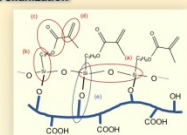


Fig. 5 Structure of modified CMC via silanization

Table 3 FTIR theoretical analysis results of modified-CMC

Wave number (cm^{-1})	
(a) 1070	Si-O-Si stretching
(b) 830	Si-CH ₃ stretching
(c) 1700	C=O bonding
(d) 1600	C=C bonding
(e) 1150	Si-O-cellulose

Preparation of the capsule encapsulating gallic acid with suspension polymerization

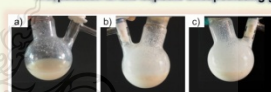


Fig. 6 Photos of cellulose microcapsules encapsulating gallic acid after synthesized 24 hr at various ratio of CMC:MPS: (a) 1:1, (b) 2:1 and (c) 3:1

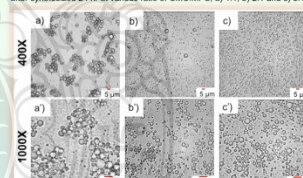


Fig. 7 Optical micrographs of cellulose microcapsules encapsulating gallic acid in magnification 400X (a, b, c) and 1000X (d, e, f) at various ratio of CMC:MPS: (a, a') 1:1, (b, b') 2:1 and (c, c') 3:1

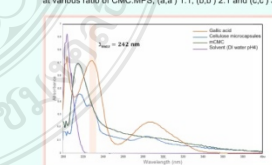


Fig. 9 UV spectra of cellulose microcapsules encapsulating gallic acid, gallic acid, mCMC and solvent

Table 4. The results of percentage of loading and encapsulation of various ratio of CMC:MPS microcapsules

CMC:MPS	Loading (%)	Encapsulation (%)
1:1	21.17	42.34
2:1	28.31	56.62
3:1	22.86	45.73

Conclusions

- Achieved to modify CMC with MPS (silane coupling agent)
- Achieved to prepare cellulose microcapsules encapsulated GA by micro-suspension polymerization with w/o system
- Ratio of CMC:MPS affected to coalescence of microcapsules

References

- V. Nedovic, A. Kalenic, V. Mangovic, S. Levic, and B. Bugarski, "An Overview Of Encapsulation Technologies For Food Applications," *Procedia Food Science*, Vol. 1, Pp. 1809-1815.
- P. Chaiyasat, S. Noppit, M. Okubo, and A. Chaiyasat, "Do Encapsulated Heat Storage Materials Really Retain Their Original Thermal Properties?" *Physical Chemistry Chemical Physics*, Vol. 17, Pp. 1053-1059.
- A. De Cristo Soares Alves, R. M. Manares, and N. M. Khalil, "Nanocapsulation Of Gallic Acid And Evaluation Of Its Cytotoxicity And Antioxidant Activity," *Materials Science And Engineering: C*, Vol. 60, Pp. 126-134.

ภาคผนวก ข
ตัวอย่างการคำนวณ



1. การหาร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์

โดยเตรียมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักละลายในเอทานอลที่ประกอบด้วยไดเมทิลฟอร์มาไมด์ ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะได้ความเข้มข้นของมอนอเมอร์ที่เหลือ ($C_{MAA,S}$) โดยคำนวณจากสมการที่ (1) โดยนำพื้นที่พีคของกรดเมทาคริลิกมอนอเมอร์ เทียบกับไดเมทิลฟอร์มาไมด์ซึ่งได้จาก GC chromatogram และคำนวณร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์ จากสมการที่ (2) ตัวอย่างพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่ใช้ สภาวะดังตารางภาคผนวกที่ 1 และพื้นที่พีคของสารมาตรฐานและตัวอย่าง ดังตารางภาคผนวกที่ 2

โดยตัวอย่างพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่ใช้นั้นใช้ในรูปสารแขวนลอยเป็นปริมาณ 200 ไมโครลิตร คิดเป็นปริมาณกรดเมทาคริลิกเริ่มต้น 6.672×10^{-3} กรัม ในเอทานอล 2 กรัม ประกอบไปด้วยไดเมทิลฟอร์มาไมด์ 0.2 มิลลิกรัม คิดเป็นความเข้มข้นกรดเมทาคริลิกเริ่มต้น 3,336 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ตารางภาคผนวกที่ 1 สภาวะที่ใช้ในการเตรียมเซลล์ูโลสแคปซูลหุ้มกรดแลคติก

m-CMC : MAA : GA	MAA (g)	GA (g)
16.50 : 33.50 : 50.00	0.834	1.25

“ อัตราส่วนพอลิเมอร์ที่ใช้คือ m-CMC:MAA ที่ร้อยละ 33:67

โดยน้ำหนัก m-CMC และ MAA ที่ 0.417 และ 0.834 กรัม ตามลำดับ ดังตารางที่ 3.7

ตารางภาคผนวกที่ 2 พื้นที่พีคของสารต่าง ๆ จาก GC chromatogram

		Retention time (min)	Peak area
Sample	DMF 100 ppm	11.809	1,317,907
at 0 h	MAA 3336 ppm	17.222	10,118,900
Sample	DMF 100 ppm	11.793	1,379,379
at 8 h	MAA	16.483	2,458,533

ความเข้มข้นของมอนอเมอร์ที่เหลือ ($C_{MAA,S}$)

$$\frac{C_{MAA,ini}/C_{DMF,ini}}{Area_{MAA,ini}/Area_{DMF,ini}} = \frac{C_{MAA,S}/C_{DMF,S}}{Area_{MAA,S}/Area_{DMF,S}}$$

$$C_{MAA,S} = \left(\frac{C_{MAA,ini} \times Area_{DMF,ini} \times Area_{MAA,S}}{C_{DMF,ini} \times Area_{MAA,ini} \times Area_{DMF,S}} \right) \times C_{DMF,S} \quad (1)$$

เมื่อ

$C_{MAA,ini}$ คือ ความเข้มข้นของกรดเมทาคริลิกก่อนพอลิเมอไรเซชัน ซึ่งในสถานะดังกล่าวได้ทำการเตรียมเป็นปริมาตรทั้งหมด 25 กรัม จะมีปริมาณกรดเมทาคริลิก ซึ่งเป็นมอนอเมอร์ภายในระบบ 0.834 กรัม คิดเป็นความเข้มข้น 3,336 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

$Area_{DMF,ini}$ คือ พื้นที่พีคของไดเมทิลฟอร์มาไมด์ ดังตารางภาคผนวกที่ 2 เท่ากับ 1,317,907

$Area_{MAA,S}$ คือ พื้นที่พีคของกรดเมทาคริลิกเหลือในระบบพอลิเมอไรเซชัน (ได้จาก GC chromatogram) ดังตารางภาคผนวกที่ 2 เท่ากับ 2,458,533

$C_{DMF,ini}$ และ $C_{DMF,S}$ คือ ความเข้มข้นมาตรฐานของไดเมทิลฟอร์มาไมด์เท่ากับ 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

$Area_{MAA,ini}$ คือ พื้นที่พีคของกรดเมทาคริลิกก่อนพอลิเมอไรเซชัน (ได้จาก GC chromatogram) ดังตารางภาคผนวกที่ 2 เท่ากับ 10,118,900

$Area_{DMF,S}$ คือ พื้นที่พีคของไดเมทิลฟอร์มาไมด์ ดังตารางภาคผนวกที่ 2 เท่ากับ 1,379,379

ดังนั้น สามารถหาความเข้มข้นของกรดเมทาคริลิกที่เหลือจากการพอลิเมอไรเซชัน ($C_{MAA,S}$) ได้ดังนี้

$$C_{MAA,S} = \left(\frac{3336 \text{ ppm} \times 1,317,907 \times 2,458,533}{100 \text{ ppm} \times 10,118,900 \times 1,379,379} \right) \times 100 \text{ ppm}$$

$$= 774.41 \text{ มิลลิกรัม/กิโลกรัม}$$

ร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์ (%conversion) โดยความเข้มข้นของ
กรดเมทาคริลิกก่อนพอลิเมอไรเซชัน

$$\% \text{Conversion (MAA)} = \left(\frac{C_{\text{MAA,ini}} - \left(\frac{C_{\text{MAA,S}}}{10,000} \right)}{C_{\text{MAA,ini}}} \right) \times 100 \quad (2)$$

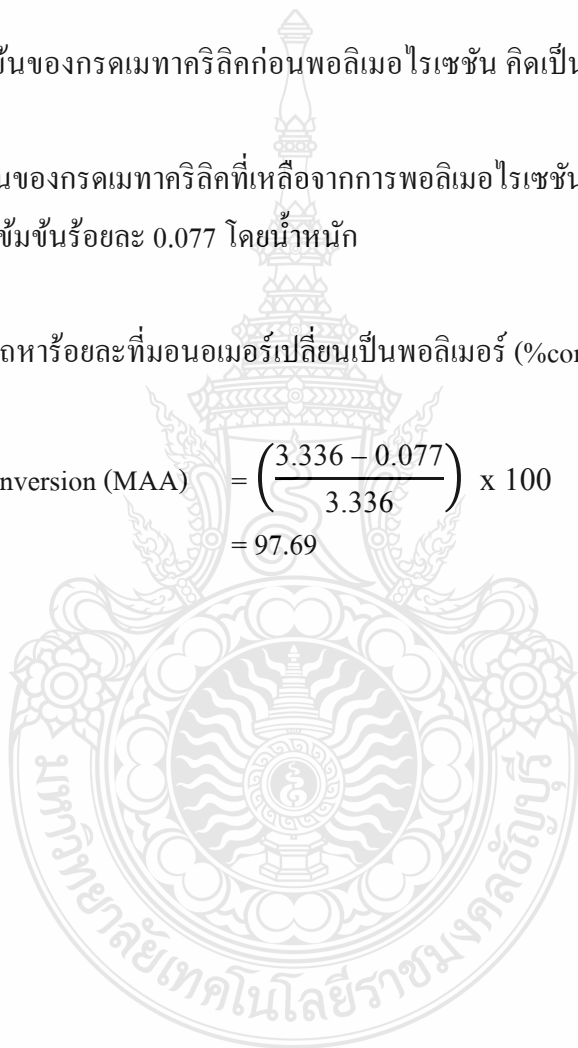
เมื่อ

$C_{\text{MAA,ini}}$ คือ ความเข้มข้นของกรดเมทาคริลิกก่อนพอลิเมอไรเซชัน คิดเป็นความเข้มข้นร้อยละ 3.336
โดยน้ำหนัก

$C_{\text{MAA,S}}$ คือ ความเข้มข้นของกรดเมทาคริลิกที่เหลือจากการพอลิเมอไรเซชัน 774.41 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
คิดเป็นความเข้มข้นร้อยละ 0.077 โดยน้ำหนัก

ดังนั้น สามารถหาร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์ (%conversion) ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \% \text{Conversion (MAA)} &= \left(\frac{3.336 - 0.077}{3.336} \right) \times 100 \\ &= 97.69 \end{aligned}$$

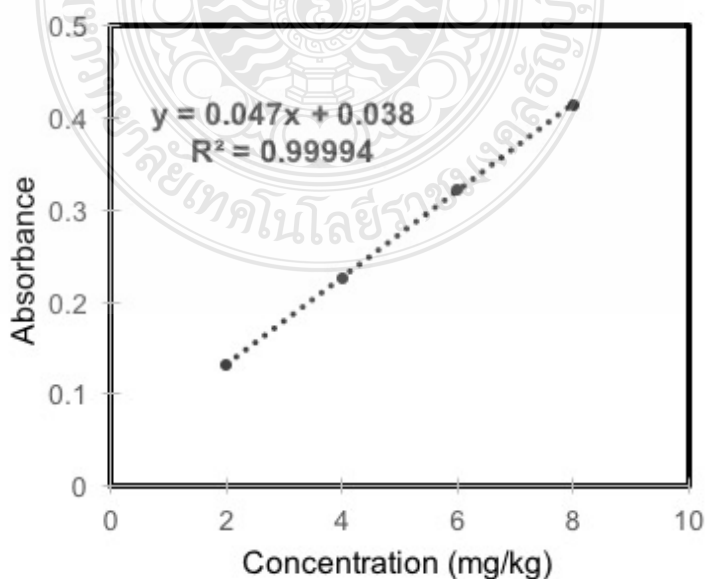


2. การหาปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูล และประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูล

ปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูลด้วย จะใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรสโคปี (UV-Visible spectroscopy) โดยเตรียมสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่างกัน คือ 2 4 6 8 และ 10 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งทำการสแกนหาค่าความยาวคลื่นสูงสุดที่ 270.01 นาโนเมตร โดยไม่ซ้อนทับกับองค์ประกอบอื่น ๆ ในระบบ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานในตัวทำละลาย 1, 4- ไดออกเซน สภาวะดังตารางภาคผนวกที่ 3

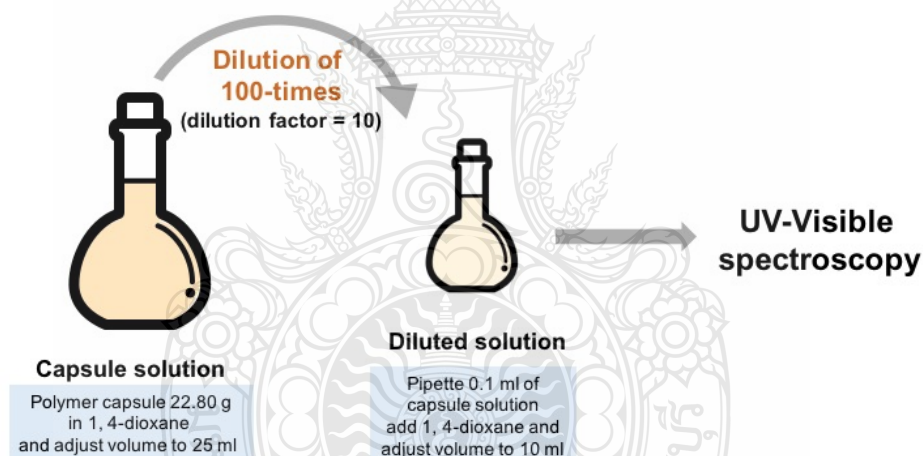
ตารางภาคผนวกที่ 3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานในตัวทำละลาย 1, 4- ไดออกเซน วัดจากค่าดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\max}$ 270.01 นาโนเมตร

Concentration of GA (mg/L)	Abs
2	0.13262
4	0.22494
6	0.32112
8	0.41418



**คำนวณ ปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูล และประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิก
ในพอลิเมอร์แคปซูล**

เริ่มจากการชั่งพอลิเมอร์แคปซูลที่ล้างและทำให้แห้ง (W_{caps}) ที่น้ำหนัก 22.80 มิลลิกรัม ละลายใน 1, 4- ไดออกเซน โดยปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร (V_s) เป็นสารละลายตัวอย่างเริ่มต้น จากนั้นเจือจางด้วยการปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับ 1, 4- ไดออกเซน 10 มิลลิลิตร (dilution factor = 10) วิธีการเตรียมดังภาพภาคผนวกที่ 1 จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกับสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐาน ได้ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) 0.19469 แล้วนำไปแทนในสมการเส้นตรงของสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานเพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูล C_{GA} (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)



ภาพภาคผนวกที่ 1 แผนภาพการเตรียมสารละลายเพื่อคำนวณปริมาณกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายใน
แคปซูล และประสิทธิภาพในการกักเก็บกรดแกลลิกในพอลิเมอร์แคปซูล

หาความเข้มข้นของกรดแกลลิกในสารละลายเจือจาง

จากสมการ $y = 0.047x + 0.038$

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างเจือจาง คือ 0.19469

แทนค่าเมื่อ $y = 0.19469$

$$\begin{aligned} 0.19469 &= 0.047x + 0.038 \\ (0.19469 - 0.038) \\ x &= \frac{}{0.047} \\ &= 3.334 \text{ มิลลิกรัม/กิโลกรัม} \end{aligned}$$

จากความเข้มข้นของกรดแกลลิกหลังจากเจือจาง (3.334 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ที่ได้ สามารถหาความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูลก่อนเจือจาง (C_{GA}) ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} C_{GA} &= 3.334 \times 100 \\ &= 333.40 \text{ มิลลิกรัม/กิโลกรัม} \end{aligned}$$

จากความเข้มข้นของกรดแกลลิกก่อนการเจือจางสามารถหาน้ำหนักกรดแกลลิก (W_{GA}) ดังสมการที่ (3)

$$W_{GA,exp} \text{ (mg)} = \left(\frac{C_{GA}}{1000} \right) \times V_s \quad (3)$$

เมื่อ

V_s คือ ปริมาตรของสารละลายก่อนการเจือจางเท่ากับ 25 มิลลิลิตร

ดังนั้น สามารถหาน้ำหนักกรดแกลลิกแห้ง (W_{GA}) ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} W_{GA,exp} &= \frac{333.40}{1000} \times 25 \\ &= 8.335 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

แสดงว่า

สารละลายตัวอย่างก่อนเจือจางมีกรดแกลลิกความเข้มข้น และน้ำหนักกรดแกลลิกแห้ง คือ 333.40 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 8.335 มิลลิกรัม ตามลำดับ

สำหรับร้อยละการบรรจุตามการทดลอง (%LD_{exp}) และร้อยละการบรรจุตามทฤษฎี (%LD_{th}) โดยจะใช้ร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์ที่ได้ในสภาวะนี้ (ร้อยละ 97.69) นำมาคำนวณ และ ประสิทธิภาพในการกักเก็บ (%EE) โดยใช้สมการ (4) (5) และ (6) ตามลำดับ

$$\%LD_{exp} = \left(\frac{W_{GA,exp}}{W_{caps}} \right) \times 100 \quad (4)$$

$$\%LD_{th} = \left(\frac{W_{GA,rep}}{W_{GA,rep} + \left(\frac{W_m (\%conversion)}{100} \right) + W_{m-CMC}} \right) \times 100 \quad (5)$$

$$\%EE = \left(\frac{\%LD_{exp}}{\%LD_{th}} \right) \times 100 \quad (6)$$

เมื่อ

$W_{GA,exp}$ คือ น้ำหนักกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บภายในแคปซูลแห้งเท่ากับ 8.335 มิลลิกรัม

W_{caps} คือ พอลิเมอร์แคปซูลที่ล้างและทำให้แห้งที่น้ำหนัก 22.80 มิลลิกรัม

$W_{GA,rep}$ W_m และ W_{m-CMC} คือ น้ำหนักของกรดแกลลิก กรดเมทาคริลิก และเซลลูโลสที่ทำกรเปลี่ยน หมู่จากสภาวะการเตรียมไมโครแคปซูลเท่ากับ 1.25 0.834 และ 0.417 กรัม ตามลำดับ

%conversion คือ ร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์ที่ได้ในสภาวะนี้เท่ากับ ร้อยละ 97.69

ดังนั้น สามารถหาร้อยละการบรรจุตามการทดลอง (%LD_{exp}) ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \%LD_{exp} &= \left(\frac{8.335}{22.80} \right) \times 100 \\ &= 36.56 \end{aligned}$$

และสามารถหาร้อยละการบรรจุตามทฤษฎี (%LD_{th}) ได้ดังนี้

$$\begin{aligned}\%LD_{th} &= \left(\frac{1.25}{1.25 + \left(\frac{0.834 \times 97.69}{100} \right) + 0.417} \right) \times 100 \\ &= 50.37\end{aligned}$$

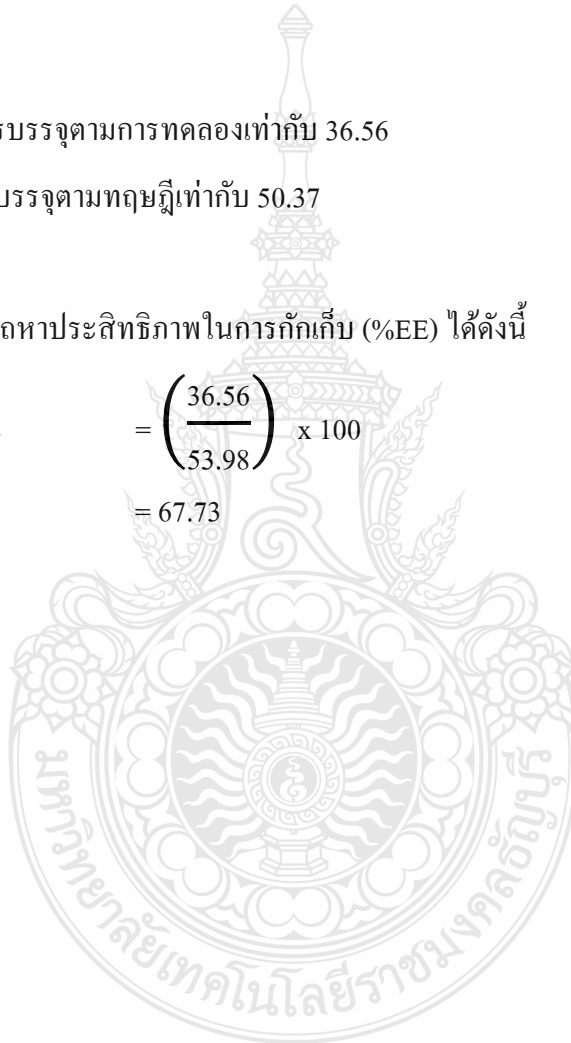
เมื่อ

%LD_{exp} คือ ร้อยละการบรรจุตามการทดลองเท่ากับ 36.56

%LD_{th} คือ ร้อยละการบรรจุตามทฤษฎีเท่ากับ 50.37

ดังนั้น สามารถหาประสิทธิภาพในการกักเก็บ (%EE) ได้ดังนี้

$$\begin{aligned}\%EE &= \left(\frac{36.56}{53.98} \right) \times 100 \\ &= 67.73\end{aligned}$$



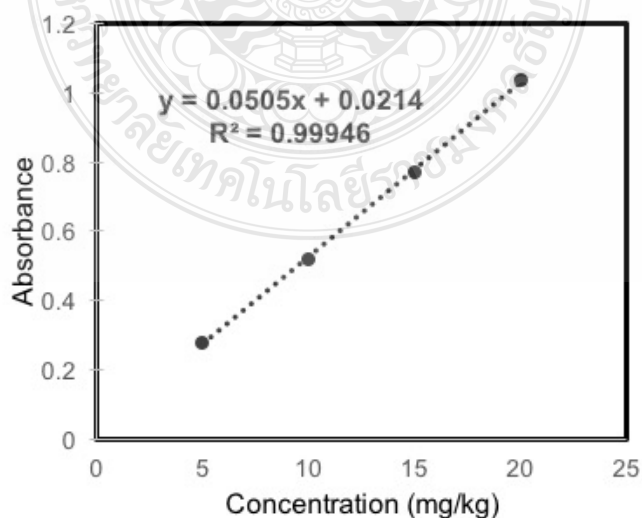
3. การหาค่าร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิกของพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่เวลาต่าง ๆ ในสถานะ

พีเอช 7.4

การหาค่าร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิกของแคปซูล โดยทำการชั่งพอลิเมอร์แคปซูลที่ทำให้แห้งน้ำหนัก 10 มิลลิกรัม แช่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 7.4 ที่เวลา 0 0.5 1 2 6 และ 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกที่ปลดปล่อยจากพอลิเมอร์แคปซูล ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ความเข้มข้นของกรดแกลลิกในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 7.4 (มิลลิกรัม/ลิตร) วัดจากค่าดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\max}$ 260 - 270 นาโนเมตร เพื่อศึกษาการปลดปล่อยกรดแกลลิกในแคปซูลโดยเทียบกับสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 5 10 15 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร โดยไม่ช้อนทับกับองค์ประกอบอื่น ๆ ในระบบ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 7.4 สภาวะดังตารางภาคผนวกที่ 4

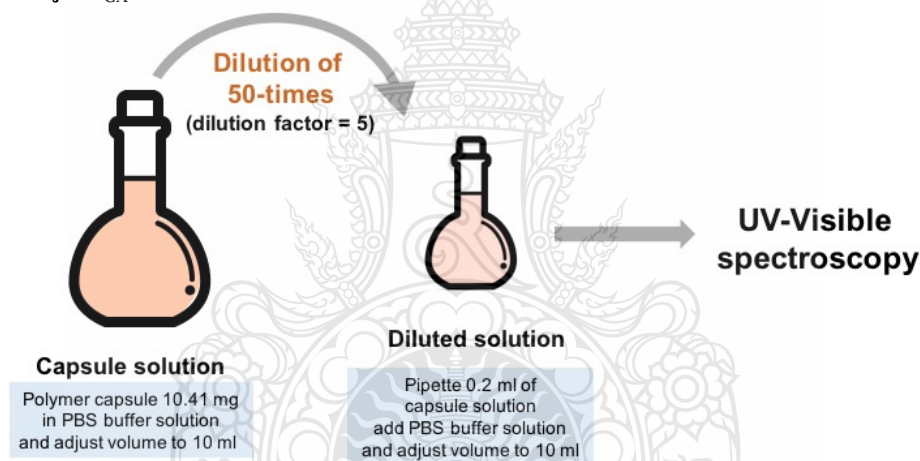
ตารางภาคผนวกที่ 4 ความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 7.4 วัดจากค่าดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\max}$ 260.26 นาโนเมตร

Concentration of GA (mg/L)	Abs
5	0.27958
10	0.52150
15	0.77037
20	1.03790



คำนวณ ร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิกของพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่เวลา 0.5 ชั่วโมง (30 นาที)
ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 7.4

เริ่มจากการชั่งพอลิเมอร์แคปซูลที่ล้างและทำให้แห้ง (W_{caps}) ที่น้ำหนัก 10.41 มิลลิกรัม
แช่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 7.4 ที่ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (V_L) ซึ่งเป็นความเข้มข้นของ
สารละลายตัวอย่างเริ่มต้น ($C_{GA,ini}$) จากนั้นเจือจางด้วยการปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร
เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 7.4 ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร (dilution factor = 5)
วิธีการเตรียมดังภาพภาคผนวกที่ 2 จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกับ
สารละลายกรดแกลลิกมาตรฐาน ได้ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) 0.33310 แล้วนำไปแทนในสมการ
เส้นตรงของสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานเพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่ถูกกักเก็บ
ภายในแคปซูล C_{GA} (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)



ภาพภาคผนวกที่ 2 แผนภาพการเตรียมสารละลายเพื่อคำนวณร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิกของ
พอลิเมอร์ไมโครแคปซูล

หาความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่ถูกปลดปล่อยหลังจากเจือจาง

จากสมการ $y = 0.0505x + 0.0214$

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างเจือจาง คือ 0.33310

แทนค่าเมื่อ $y = 0.33310$

$$0.33310 = 0.0505x + 0.0214$$

$$x = \frac{(0.33310 - 0.0214)}{0.0505}$$

$$= 6.172 \text{ มิลลิกรัม/กิโลกรัม}$$

ความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่ถูกปลดปล่อย ค่าที่ได้ นั่นคือความเข้มข้นของกรดแกลลิกหลังจากเจือจาง ดังนั้น สามารถหาคำนวณหาความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่ถูกปลดปล่อยจากแคปซูล (C_{GA}) ก่อนเจือจาง ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} C_{GA,exp} &= 6.172 \times 50 \\ &= 308.60 \text{ มิลลิกรัม/กิโลกรัม} \end{aligned}$$

และทำการแปลงเป็นน้ำหนักกรดแกลลิก ($W_{GA,rel}$) ที่ถูกปลดปล่อย ดังสมการที่ (3)

$$W_{GA,rel} = \left(\frac{C_{GA}}{1000} \right) \times V_s \quad (3)$$

เมื่อ

V_s คือ ปริมาณสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 7.4 เท่ากับ 10 มิลลิลิตร

ดังนั้น สามารถหาน้ำหนักกรดแกลลิกแห้ง ($W_{GA,exp}$) ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} W_{GA,rel} \text{ (mg)} &= \frac{308.60}{1000} \times 10 \\ &= 3.09 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

จากนั้นแปลงเป็นร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิก (%GA release) โดยเทียบกับปริมาณกรดแกลลิกก่อนการปลดปล่อย ดังสมการที่ (8)

$$\%GA \text{ release} = \left(\frac{W_{GA,rel}}{W_{GA,cap}} \right) \times 100 \quad (8)$$

เมื่อ

$W_{GA,rel}$ คือ ปริมาณของกรดแกลลิกที่ถูกปลดปล่อยลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (มิลลิกรัม) เท่ากับ 3.09 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

$W_{GA,cap}$ คือ ปริมาณของกรดแกลลิกในแคปซูล (มิลลิกรัม) ซึ่งในสภาวะดังกล่าวมีร้อยละการบรรจุตามการทดลอง (%LD_{exp}) เท่ากับร้อยละ 43.55 โดยพอลิเมอร์แคปซูลแห้งที่น้ำหนัก 10.41 มิลลิกรัม จะมีปริมาณกรดแกลลิกเท่ากับ $10.41 \times 0.4355 = 4.533$ มิลลิกรัม

ดังนั้น สามารถหารร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิก (%GA release) ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \%GA \text{ release} &= \left(\frac{3.09}{4.53} \right) \times 100 \\ &= 68.21 \end{aligned}$$

แสดงว่า

ร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิก คือ 68.21 ตามลำดับ

หลังจากทำการทดสอบการปลดปล่อยกรดแกลลิกจากพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่เวลา 30 นาที ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 7.4 ซึ่งมีปริมาณปลดปล่อยกรดแกลลิกที่ร้อยละ 68.07 จากนั้นจะศึกษาปริมาณกรดแกลลิกที่เหลือในแคปซูล โดยแคปซูลที่ปั่นแยกด้วยเครื่องเหวี่ยง จากนั้นละลายใน 1, 4- ไดออกเซน และปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร และวัดค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกที่ λ_{max} 270 นาโนเมตร โดยเทียบกับสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.1 0.3 0.5 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัม/ลิตร โดยไม่ซ้อนทับกับองค์ประกอบอื่น ๆ ในระบบค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานในตัวทำละลาย 1, 4- ไดออกเซน สภาวะดังตารางภาคผนวกที่ 4

คำนวณ ปริมาณกรดแกลลิกที่เหลือในพอลิเมอร์โครแคปซูลที่เวลา 30 นาที

เริ่มจากปั่นแยกแคปซูลจากสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงอบแคปซูลให้แห้ง จากนั้นนำมาละลายใน 1, 4- ไดออกเซน และปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร (V_s) จากนั้นจะเจือจางด้วยการปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร ผสมกับ 1, 4- ไดออกเซน และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร (dilution factor = 5) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกับสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐาน ได้ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) 0.0923 แล้วนำไปแทนในสมการเส้นตรงของสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐานเพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่เหลือภายในแคปซูล $C_{GA,res}$ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

หาความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่เหลือในแคปซูลหลังจากเจือจาง

จากสมการ $y = 0.0587x + 0.0227$

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างเจือจาง คือ 0.0923

แทนค่าเมื่อ $y = 0.0923$

$$0.0923 = 0.0587x + 0.0227$$

$$(0.0923 - 0.0227)$$

$$x = \frac{\quad}{0.0587}$$

$$= 1.1857 \text{ มิลลิกรัม/กิโลกรัม}$$

ค่าที่ได้ นั่นคือความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่เหลือในแคปซูลหลังจากเจือจาง ดังนั้นสามารถหาคำนวนหาความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่เหลือภายในแคปซูล ($C_{GA,res}$) ก่อนเจือจาง ได้ดังนี้

$$C_{GA,res} = 1.19 \times 50$$

$$= 59.50 \text{ มิลลิกรัม/ลิตร}$$

จากนั้นทำการแปลงเป็นน้ำหนักกรดแกลลิกแห้ง (W_{GA}) ดังสมการที่ (3)

$$W_{GA,res} \text{ (mg)} = \left(\frac{C_{GA,res}}{1000} \right) \times V_s \quad (3)$$

เมื่อ

V_s คือ ปริมาณตัวทำละลาย 1, 4- ไดออกเซนเท่ากับ 25 มิลลิลิตร

ดังนั้น สามารถหาน้ำหนักกรดแกลลิกที่เหลือในแคปซูล ($W_{GA,res}$) ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} W_{GA,res} &= \frac{59.50}{1000} \times 25 \\ &= 1.49 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

จากนั้นแปลงเป็นร้อยละกรดแกลลิกที่เหลือ (%GA residue) โดยเทียบกับปริมาณกรดแกลลิกก่อนการเจือจาง ด้วยสมการ (10)

$$\%GA \text{ residue} = \left(\frac{W_{GA,res}}{W_{GA,ini}} \right) \times 100 \quad (10)$$

เมื่อ

$W_{GA,res}$ คือ ปริมาณของกรดแกลลิกที่เหลือภายในแคปซูล ($C_{GA,res}$) ก่อนเจือจางเท่ากับ 1.49 มิลลิกรัม

$W_{GA,ini}$ คือ ปริมาณของกรดแกลลิกก่อนการปลดปล่อย (มิลลิกรัม) ซึ่งในสภาวะดังกล่าวมีร้อยละการบรรจุตามการทดลอง (%LD_{exp}) เท่ากับร้อยละ 43.55 โดยพอลิเมอร์แคปซูลแห้งที่น้ำหนัก 10.41 มิลลิกรัม จะมีปริมาณกรดแกลลิกเท่ากับ $10.41 \times 0.4355 = 4.533$ มิลลิกรัม

ดังนั้น สามารถหาร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิก (%GA release) ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \%GA \text{ residue} &= \left(\frac{1.49}{4.53} \right) \times 100 \\ &= 32.89 \end{aligned}$$

แสดงว่า

ความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่เหลือ เป็นน้ำหนักกรดแกลลิกแห้ง และร้อยละกรดแกลลิกที่เหลือ คือ 1.49 มิลลิกรัม และร้อยละ 32.89 ตามลำดับ

โดยการหาร้อยละการปลดปล่อยกรดแกลลิกของแคปซูลในทั้งสองสภาวะพีเอชและทุกเวลาที่ศึกษามีวิธีการคำนวณดังตัวอย่างดังกล่าว

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – สกุล	นางสาววิชสุดา ตั้งทรงเจริญ
วัน เดือน ปีเกิด	11 ธันวาคม 2536
ที่อยู่	25 หมู่บ้านเคหะธานี 3 ถ.นวมินทร์ ซ.นวมินทร์ 74 แขวง 3-5 เขตคันนายาว แขวงรามอินทรา จ.กรุงเทพมหานคร 10230
การศึกษา	ปริญญาตรี สาขาวิชาเคมีประยุกต์ แขนงวิชาเคมีพอลิเมอร์ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
เบอร์โทรศัพท์	084-667-7577
อีเมล	wichsuda.joy@gmail.com

