

การกักเก็บสารสกัดสมุนไพรด้วยพอลิแลคติก แอซิด  
โดยใช้เทคนิคการระเหยตัวทำละลาย

ENCAPSULATION OF THE EXTRACTED HERBS WITH  
POLY(L-LACTIC ACID) BY SOLVENT EVAPORATION TECHNIQUE

จิณาภา แสงสี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีนวัตกรรม

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ปีการศึกษา 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

การกักเก็บสารสกัดสมุนไพรด้วยพอลิแอลแลคติก แอซิด  
โดยใช้เทคนิคการระเหยตัวทำละลาย



จินภา แสงสี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีนวัตกรรม  
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี  
ปีการศึกษา 2562  
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

|                      |   |
|----------------------|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์    | การกักเก็บสารสกัดสมุนไพรด้วยพอลิแลคติก แอซิด โดยใช้เทคนิคการระเหยตัวทำละลาย<br>Encapsulation of The Extracted Herbs with Poly(L-Lactic Acid) by Solvent Evaporation Technique |
| ชื่อ - นามสกุล       | นางสาวจิณาภา แสงสี  |
| สาขาวิชา             | เคมีนวัตกรรมการ   |
| อาจารย์ที่ปรึกษา     | ผู้ช่วยศาสตราจารย์อมร ไชยสัตย์, Ph.D.   |
| อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์, Ph.D.   |
| ปีการศึกษา           | 2562  |

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(ดร. วรายุทธ สะโงมแสง, Ph.D.)

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ฉัตรชัย พลเขียว, D.Eng.)

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์, Ph.D.)

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อมร ไชยสัตย์, Ph.D.)

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อนุมัติ  
วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิพัทธ์ จงสวัสดิ์, ประ.ด.)

วันที่ 17 เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2562

|                      |  |
|----------------------|--|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์    | การกักเก็บสารสกัดสมุนไพรด้วยพอลิแอลแลคติก แอซิด โดยใช้เทคนิคการระเหยตัวทำละลาย |
| ชื่อ - นามสกุล       | นางสาวจิณาภา แสงสี   |
| สาขาวิชา             | เคมีนวัตกรรม   |
| อาจารย์ที่ปรึกษา     | ผู้ช่วยศาสตราจารย์อมร ไชยสัตย์, Ph.D.  |
| อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์, Ph.D.                                    |
| ปีการศึกษา           | 2562   |

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการเตรียมไมโครและนาโนแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิด (พีแอลแอลเอ) ที่กักเก็บสารสกัดสมุนไพร (เอชอี) โดยที่จะใช้ เคอซิทิน เคอคูมิน และลิโนลิก แอซิดเป็นสารสกัดสมุนไพรต้นแบบที่มีสภาพขั้วแตกต่างกัน พอลิเมอร์แคปซูลจะเตรียมด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำมันในน้ำอิมัลชัน

ในการผลิตหดยด้วยเทคนิคโฮโมจิไนเซชัน จะทำให้ได้ไมโครแคปซูลทรงกลมและมีการกระจายตัวของขนาดที่กว้าง นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง พีแอลแอลเอ:เอชอี ซึ่งพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 2:1 ที่ทำให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บ (%อีอี) ของเอชอีทั้งหมด (64-82%) ในไมโครแคปซูลมีค่าค่อนข้างสูง ในการเตรียมนาโนแคปซูล น้ำมันในน้ำอิมัลชันจะถูกเตรียมด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชัน ขนาดของแคปซูลที่เตรียมได้ประมาณ ขนาด 169-685 นาโนเมตร ซึ่งมีการกระจายตัวของขนาดที่แคบ (PDI: 0.22-0.30) โดย %อีอี (67-83%) ของเอชอีที่ถูกกักเก็บมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้ในไมโครแคปซูล ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าขนาดของอนุภาคและสภาพขั้วของเอชอีไม่มีผลต่อ %อีอี นอกจากนี้แคปซูลที่เตรียมได้จะมีความเสถียรทางคอลลอยด์สูง ไม่เป็นพิษและมีการกักเก็บเอชอีได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยจะค่อยๆปลดปล่อยเอชอี และปลดปล่อยได้ 28% ภายใน 21 วัน

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า ได้ประสบผลสำเร็จในการเตรียมอนุภาคไมโครและนาโนแคปซูลของพีแอลแอลเอ/เอชอี ที่มีความเสถียรและ %อีอี สูง โดยใช้การระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำมันในน้ำอิมัลชัน เนื่องจากแคปซูลมีลักษณะที่ไม่มีพิษและมีการควบคุมการปลดปล่อยเอชอีได้ดี ไมโครและนาโนแคปซูลที่เตรียมได้จึงเหมาะสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

**คำสำคัญ:** ไมโครแคปซูล นาโนแคปซูล การกักเก็บ การระเหยตัวทำละลาย

|                          |  |
|--------------------------|--|
| <b>Thesis Title</b>      | Encapsulation of the Extracted Herbs with Poly(L-Lactic Acid) by Solvent Evaporation Technique |
| <b>Name - Surname</b>    | Miss Jinapa Sangsee  |
| <b>Program</b>           | Innovative Chemistry   |
| <b>Thesis Advisor</b>    | Assistant Professor Amorn Chaiyasat, Ph.D.   |
| <b>Thesis Co-advisor</b> | Assistant Professor Preeyaporn Chaiyasat, Ph.D.  |
| <b>Academic Year</b>     | 2019   |

## ABSTRACT

This research aims to prepare poly (l-lactic acid) (PLLA) micro- and nanocapsule encapsulated herb extracts (HE) where quercetin, curcumin, and linoleic acid are used as the HE models having different polarity. The polymer capsules were prepared by the solvent evaporation technique in oil in water (O/W) emulsion.

Using the homogenization technique for oil droplet generation, spherical microcapsules with broad particle size distribution (PSD) were obtained. In addition, various ratios of PLLA:HE were studied. It was found that at 2:1 of PLLA:HE ratio was the optimal condition where percent encapsulation efficiencies (%EE) of all HEs (64-82%) in microcapsule were quite high. To prepare a nanocapsule, an o/w emulsion was generated by ultrasonication. The capsule size was about 169-685 nm with a narrow particle size distribution (PDI: 0.22-0.30). The %EE (67-83%) of all encapsulated HEs were similar to those in the microcapsule. The results indicated that both particle size and polarity of HE did not affect on the %EE. In addition, the obtained capsule showed high colloidal stability with non-cytotoxic characteristics and effectively encapsulated HEs which released gradually HEs and reached 28 wt% by 21 days.

From these results, it can be concluded that high stable PLLA/HE micro and nanocapsule particles with high %EE were successfully produced using solvent evaporation in O/W emulsion system. Because of non-cytotoxic characteristics and a good controlled-release HEs, the obtained micro, and nanocapsule suited for use in cosmetic products.

**Keywords:** microcapsule, nanocapsule, encapsulation, solvent evaporation technique

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความเมตตากรุณาอย่างสูงจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมร ไชยสัตย์ ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์ ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร. วรายุทธ สะโคมแสง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ฉัตรชัย พลเชื้อว กรรมการสอบ ที่กรุณาให้คำแนะนำและคำปรึกษาตลอดจนให้ความช่วยเหลือแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมร ไชยสัตย์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์ ที่ให้คำปรึกษาตลอดระยะเวลาในการศึกษา และขอขอบพระคุณห้องปฏิบัติการพอลิเมอร์ คอลลอยด์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือเรื่องสารเคมี อุปกรณ์ต่าง ๆ รวมทั้งการวิเคราะห์ตัวอย่าง และอำนวยความสะดวกในการทำการทดลอง ทำให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ช่วยประสิทธิประสาทวิชาความรู้ ให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางในการทำวิจัย จนผู้วิจัยสามารถนำเอาหลักการมาประยุกต์ใช้ในการวิจัยครั้งนี้และชี้แนวทางในการทำวิจัย

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้กำลังใจเสมอมา

จิณาภา แสงสี

## สารบัญ

|  | หน้า |
|--|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย.....   | (3)  |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....  | (4)  |
| กิตติกรรมประกาศ.....   | (5)  |
| สารบัญ.....  | (6)  |
| สารบัญตาราง.....   | (8)  |
| สารบัญภาพ.....   | (9)  |
| บทที่ 1 บทนำ.....  | 12   |
| 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....                                   | 12   |
| 1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย.....  | 13   |
| 1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....   | 13   |
| 1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....                                    | 13   |
| 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....                                   | 15   |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....                           | 16   |
| 2.1 สารสกัดจากธรรมชาติ.....  | 16   |
| 2.2 พอลิแลคติก แอซิด.....  | 27   |
| 2.3 การเอนแคปซูลชัน.....   | 30   |
| 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....                                       | 37   |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....                                      | 39   |
| 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....   | 39   |
| 3.2 แผนผังของงานวิจัย.....   | 43   |
| บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย.....                                     | 53   |
| 4.1 การเตรียมพอลิแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสกัดสมุนไพร..... | 53   |
| 4.2 การศึกษาความคงตัวของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลที่เตรียมได้.....         | 68   |
| 4.3 การศึกษาความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยของสารสำคัญ.....         | 69   |
| 4.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธี MTT.....       | 70   |
| บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....  | 72   |
| 5.1 สรุปผลการทดลอง.....  | 72   |
| 5.2 ข้อเสนอแนะ.....  | 73   |
| บรรณานุกรม.....  | 74   |

## สารบัญ (ต่อ)

|  | หน้า |
|--|------|
| ภาคผนวก.....   | 81   |
| ภาคผนวก ก ศึกษาองค์ประกอบของพอลิเมอร์แคปซูล.....                     | 82   |
| ภาคผนวก ข ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณสารสกัดสมุนไพรในแคปซูล.....        | 84   |
| ภาคผนวก ค การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธี MTT..... | 88   |
| ภาคผนวก ง ผลงานผลงานตีพิมพ์เผยแพร่ (โปสเตอร์).....                   | 90   |
| ภาคผนวก จ ผลงานผลงานตีพิมพ์เผยแพร่ (วารสาร).....                     | 94   |
| ประวัติผู้เขียน.....   | 100  |





## สารบัญตาราง

|   | หน้า |
|---|------|
| ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบระหว่างข้อดีของสารสกัดจากธรรมชาติและข้อเสียของสารปรุงแต่ง....   | 17   |
| ตารางที่ 2.2 แสดงการจำแนกฟลาโวนอยด์ตามโครงสร้าง.....  | 18   |
| ตารางที่ 3.1 แสดงสภาวะในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลหุ้มสารสำคัญ<br>ในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ2 ที่อัตราส่วนต่าง .....           | 45   |
| ตารางที่ 3.2 แสดงสภาวะในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลหุ้มสารสำคัญ<br>ในระบบน้ำมันในน้ำ ที่อัตราส่วนต่าง ๆ.....                | 46   |
| ตารางที่ 3.3 แสดงสภาวะที่ใช้ในการเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดนาโนแคปซูล<br>สำหรับกักเก็บสารสำคัญ ด้วยวิธีอัลตราโซนิเคชัน .....   | 47   |
| ตารางที่ 3.4 แสดงสภาวะที่ใช้ในการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลหุ้มสารสำคัญ<br>ด้วยการระเหยตัวทำละลายa ด้วยวิธีการแบบวิภูภาค.....  | 49   |
| ตารางที่ 4.1 ประสิทธิภาพการกักเก็บและประสิทธิภาพการบรรจุสารสกัดสมุนไพร<br>ในพอลิเมอร์ไมโคร แคปซูล.....                        | 60   |
| ตารางที่ 4.2 ขนาดอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร<br>ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชัน ในระบบน้ำมันในน้ำ..... | 64   |
| ตารางที่ 4.3 ขนาดอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร<br>ด้วยเทคนิคการกลบวิภูภาค ในระบบน้ำมันในน้ำ.....   | 67   |
| ตารางที่ 4.4 ประสิทธิภาพการกักเก็บและการบรรจุสารสกัดสมุนไพรในพอลิเมอร์<br>นาโนแคปซูล.....                                     | 68   |
| ตารางที่ 4.5 ความคงตัวของขนาดอนุภาคพอลิเมอร์นาโนแคปซูลที่อุณหภูมิต่างๆ.....   | 69   |

## สารบัญภาพ

หน้า

|             |   |    |
|-------------|---|----|
| ภาพที่ 2.1  | โครงสร้างและรูปแบบทั่วไปของฟลาโวนอยด์ ในอาหาร .....   | 17 |
| ภาพที่ 2.2  | แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของเคออสิทิน.....   | 18 |
| ภาพที่ 2.3  | สูตรโครงสร้างเคอร์ควิมิน.....   | 19 |
| ภาพที่ 2.4  | กลไกการต้านอนุมูลอิสระของเคอร์ควิมิน.....   | 23 |
| ภาพที่ 2.5  | แสดงโครงสร้างของกรดลิวโนลิก, ซิส-9, ทราน-11 และ ทราน-10, ซิส-12<br>กรดคอนจูเกตลิวโนลิก.....   | 25 |
| ภาพที่ 2.6  | แสดงไฮโดรจีนชั้นของกรดลิวโนลิก.....   | 26 |
| ภาพที่ 2.7  | สูตรโครงสร้างของพอลิแลคติกแอซิด.....  | 28 |
| ภาพที่ 2.8  | ขั้นตอนการสังเคราะห์พอลิแอลแลคติกแอซิด วิธีการควบคุมโดยตรง<br>(ก) การเกิดแลคไทด์ (ข) และการพอลิเมอร์ไรเซชันแบบเปิดวง (ค).....   | 28 |
| ภาพที่ 2.9  | แสดงลักษณะของพอลิเมอร์แคปซูล.....   | 30 |
| ภาพที่ 2.10 | แสดงลักษณะของพอลิเมอร์แคปซูลหลายแกน.....  | 30 |
| ภาพที่ 2.11 | แสดงลักษณะของพอลิเมอร์แคปซูลแบบเมทริกซ์ เอนแคปซูลชั้น<br>ที่มีการเคลือบผิว 2 ชั้น.....  | 31 |
| ภาพที่ 2.12 | แสดงขั้นตอนและวิธีการต่างๆในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูล.....   | 32 |
| ภาพที่ 2.13 | การเอนแคปซูลชั้นด้วยเทคนิคการพ่นแห้ง.....   | 33 |
| ภาพที่ 2.14 | การเคลือบผิวโดยใช้เทคนิคฟลูอิดไดซ์เบด.....  | 33 |
| ภาพที่ 2.15 | การเอนแคปซูลชั้นด้วยอนุชิพพอลิเมอร์ไรเซชัน.....   | 34 |
| ภาพที่ 2.16 | แสดงลักษณะของอิมัลชันรูปแบบต่างๆ.....   | 35 |
| ภาพที่ 2.17 | แสดงการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มวิตามินอีด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย<br>ด้วยการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบดั้งเดิม.....  | 36 |
| ภาพที่ 2.18 | แสดงการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มวิตามินอีด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย<br>ด้วยการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบกลับวัฏภาค.....  | 37 |
| ภาพที่ 3.1  | ไดอะแกรมการเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครแคปซูลหุ้มสารสำคัญในระบบ<br>อิมัลชัน ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายโดยวิธีการเตรียมหยดสารอินทรีย์<br>โดยใช้แรงเฉือนสูง.....            | 44 |
| ภาพที่ 3.2  | ไดอะแกรมการเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครแคปซูลหุ้มสารสำคัญในระบบ<br>อิมัลชันน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายโดยวิธีการเตรียมหยด<br>สารอินทรีย์โดยใช้แรงเฉือนสูง..... | 46 |

## สารบัญภาพ (ต่อ)

|  | หน้า |
|--|------|
| ภาพที่ 3.3 ไดอะแกรมการเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลหุ้มสารสำคัญในระบบ<br>อิมัลชัน ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายโดยวิธีการเตรียมหยด<br>สารอินทรีย์ด้วยอัลตราโซนิเคชัน.....                             | 47   |
| ภาพที่ 3.4 ไดอะแกรมการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลหุ้มสารสำคัญในระบบอิมัลชัน<br>ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายโดยวิธีการเตรียมหยดสารอินทรีย์<br>แบบกลับวัฏภาค.....  | 48   |
| ภาพที่ 4.1 อิมัลชันของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร (HE) ในระบบน้ำมันในน้ำ<br>ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย.....   | 54   |
| ภาพที่ 4.2 Optical micrograph ของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร (HE)<br>ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย.....  | 55   |
| ภาพที่ 4.3 อิมัลชันของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร (HE) ในระบบน้ำมันในน้ำ<br>ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย.....   | 58   |
| ภาพที่ 4.4 Optical micrograph ของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร (HE)<br>ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย.....  | 59   |
| ภาพที่ 4.5 SEM micrograph ของพอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครแคปซูลกักเก็บสารสกัด<br>สมุนไพรที่เตรียมได้ ในระบบน้ำมันในน้ำ ที่อัตราส่วนของ PLLA:HE ที่ 2:1.....  | 61   |
| ภาพที่ 4.6 อิมัลชันก่อน (a-c) และหลัง (a'-c') ระเหยตัวทำละลายของพอลิเมอร์นาโนแคปซูล<br>กักเก็บสารสกัดสมุนไพร ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชัน.....  | 62   |
| ภาพที่ 4.7 Optical micrograph ของหยด (a-c) และพอลิเมอร์แคปซูล (a'-c') กักเก็บ<br>สารสกัดสมุนไพร ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชัน ที่<br>ใช้อัตราส่วนของ PLLA:HE: ที่ 2:1.....                   | 63   |
| ภาพที่ 4.8 อิมัลชันก่อน (a-c) และหลัง (a'-c') ระเหยตัวทำละลายของพอลิเมอร์นาโนแคปซูล<br>กักเก็บสารสกัดสมุนไพร ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอิมัลชันแบบ<br>กลับวัฏภาคที่ใช้อัตราส่วนของ PLLA:HE: ที่ 2:1..... | 65   |
| ภาพที่ 4.9 Optical micrograph ของหยด (a-c) และพอลิเมอร์แคปซูล (a'-c') กักเก็บ<br>สารสกัดสมุนไพร ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอิมัลชันแบบกลับวัฏภาค<br>ที่ใช้อัตราส่วนของ PLLA:HE: ที่ 2:1.....              | 66   |
| ภาพที่ 4.10 อิมัลชันก่อน (a) และหลัง (a') ระเหยตัวทำละลายของพอลิเมอร์นาโนแคปซูล<br>กักเก็บสารสกัดสมุนไพรจริง ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชัน<br>ที่ใช้อัตราส่วนของ PLLA:HE: ที่ 2:1.....       | 67   |

## สารบัญภาพ (ต่อ)

|  | หน้า |
|--|------|
| ภาพที่ 4.11 Optical micrograph ของหยด (a) และพอลิเมอร์แคปซูล (a') กักเก็บสารสกัด<br>สมุนไพรจริง ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชัน ที่ใช้อัตรา<br>ส่วนของ PLLA:HE: ที่ 2:1..... | 67   |
| ภาพที่ 4.12 กราฟแสดงการลดลงของสารสกัดสมุนไพรในพอลิแอลแลคติก แอซิกนาโนแคปซูล<br>ที่เตรียมด้วยวิธีอัลตราโซนิเคชัน.....   | 70   |
| ภาพที่ 4.13 ร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์เมื่อสัมผัสสารทดสอบ.....   | 71   |



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันสารสกัดจากธรรมชาติหรือสมุนไพรกำลังได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากมีผลข้างเคียงน้อยมาก ในขณะที่ยาแผนปัจจุบันเป็นผลิตภัณฑ์ทางเคมีที่มีผลข้างเคียงค่อนข้างสูงนั้น นอกจากกระแสความนิยมผลิตภัณฑ์ที่อิงธรรมชาติแล้ว ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้เกิดการขยายตัวของผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารสกัดจากธรรมชาติ คือ ธุรกิจที่เกี่ยวกับสารสกัดจากธรรมชาติและยาสมุนไพรไทย ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ซึ่งตลาดผลิตภัณฑ์สารสกัดจากธรรมชาติและสมุนไพรที่สำคัญ ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมอาหารเสริมสุขภาพ อุตสาหกรรมน้ำมันหอมระเหย และอุตสาหกรรมยา ซึ่งในปัจจุบันนี้บริษัทผู้ผลิตต่าง ๆ ให้ความสนใจวัตถุดิบประเภทสารสกัดจากธรรมชาติและสมุนไพรมากขึ้น ซึ่งหากสามารถนำสารสำคัญที่อยู่ในสารสกัดจากธรรมชาติและสมุนไพรมาใช้โดยตรงน่าจะเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ให้สูงขึ้นและเพิ่มผลพลอยได้ให้มากขึ้นได้ อย่างไรก็ตามพบว่าสารสำคัญจะมีประสิทธิภาพทางการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactivity) และด้านชีวปริมาณออกฤทธิ์ (Bioavailability) ลดลงหากนำไปใช้โดยตรง ซึ่งปัญหานี้สามารถแก้ไขได้ด้วยการหุ้มหรือการกักเก็บ (Encapsulation) สารเหล่านี้ในวัสดุที่เหมาะสม ซึ่งการหุ้มสารเหล่านี้ด้วยพอลิเมอร์เป็นวิธีหนึ่งที่ยิมนอกจากจะช่วยคงประสิทธิภาพการออกฤทธิ์แล้ว การหุ้มสารด้วยพอลิเมอร์ ยังป้องกันการเกิดปฏิกิริยากับสภาวะภายนอก เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) เนื่องจากสารบางตัวอาจมีความไวต่อความร้อน แสง อากาศ น้ำ หรือออกซิเจน ซึ่งจะช่วยป้องกันไม่ให้คุณสมบัติของสารเปลี่ยนไป สามารถเก็บได้นานขึ้น มีการปลดปล่อยสารในปริมาณที่เหมาะสม ลดความเสี่ยงในการใช้สาร และช่วยควบคุมการปลดปล่อยสารในอัตราที่ต้องการได้ นอกจากนี้ยังลดอาการระคายเคืองการแพ้ให้กับผิวหนังได้

โดยสารสำคัญที่สกัดได้จากธรรมชาติหรือสมุนไพรนั้นมีสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญแตกต่างกันไป ซึ่งจำเป็นต้องเลือกวิธีในการกักเก็บ เปลือก และสภาวะอื่น ๆ ให้เหมาะสม ดังนั้นการกักเก็บสารด้วยเทคนิคต่าง ๆ ให้มีประสิทธิภาพสูงสุด ยังคงเป็นสิ่งที่น่าสนใจศึกษาของนักวิจัย เนื่องจากประสิทธิภาพในการหุ้มขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ทั้งปริมาณและชนิดของสารลดแรงตึงผิว ปริมาณของสารที่ต้องการกักเก็บ สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารที่ต้องการกักเก็บ รวมทั้งสภาวะของระบบ นอกจากนี้บางกระบวนการไม่สามารถพัฒนาไปถึงระดับอุตสาหกรรมได้ จึงสนใจพัฒนาการเตรียมไมโครและนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญจากธรรมชาติที่มีสมบัติทางเคมีแตกต่างกัน โดยจะมุ่งเน้นศึกษาเทคนิคการกักเก็บที่เหมาะสมสำหรับสารสกัดจากธรรมชาติที่มีสภาพขั้ว (Polarity) แตกต่างกันด้วยเทคนิคที่ง่าย สะดวก และพอลิเมอร์แคปซูลที่ได้มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสูง มีโอกาสที่สามารถพัฒนาการผลิตในเชิงอุตสาหกรรมได้

โดยทั่วไปพอลิเมอร์ที่นำมาใช้เป็นเปลือกแคปซูลสำหรับกักเก็บสารสำคัญไม่สามารถย่อยสลายเองได้ตามธรรมชาติหรือใช้เวลาในการย่อยสลายนาน มีความเป็นพิษสูง ซึ่งต่างจากพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายเองได้ทางชีวภาพที่สามารถสังเคราะห์ได้จากวัสดุธรรมชาติ จึงไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม

รวมทั้งไม่มีผลกระทบต่อร่างกาย โดยพอลิแลคติก แอซิด (Poly(l-lactic) acid) เป็นหนึ่งในพอลิเมอร์ที่ได้รับความนิยม ดังจะเห็นได้จากการนำพอลิเมอร์ชนิดนี้ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์หลายชนิด รวมทั้งการนำมาใช้เป็นเปลือกแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญต่าง ๆ เช่น ไมโครแคปซูลหุ้มวิตามินอี และไมโครแคปซูลหุ้มปุ๋ยยูเรีย

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจพัฒนาการเตรียมพอลิแลคติก แอซิดไมโครและนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญที่มีในสารสกัดจากธรรมชาติที่มีสภาพขั้วแตกต่างกัน โดยเลือกใช้เคอซิทิน เคอคูมิน และลิโนลิก แอซิดเป็นสารต้นแบบของสารที่มีขั้วน้อย มีขั้วปานกลาง และมีขั้วมากตามลำดับ เพื่อใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสารสกัดจากธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพสูงด้วยพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ และมีโอกาสในการต่อยอดและเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ได้

## 1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิแลคติก แอซิดแคปซูลกักเก็บสารสำคัญในสารสกัดจากธรรมชาติ

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของสภาพขั้วของสารสำคัญในสารสกัดจากธรรมชาติต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บของแคปซูล

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาการเตรียมพอลิแลคติก แอซิดไมโครและนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญจากธรรมชาติที่มีสภาพขั้วแตกต่างกันด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายทั้งในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ และน้ำมันในน้ำอิมัลชัน โดยจะทำการเตรียมหยดสารอินทรีย์ด้วยแรงเฉือนสูง และแบบอิมัลชันกลับวิฏภาค ตามลำดับ

1.3.2 ศึกษาสมบัติต่างๆ ของพอลิแลคติก แอซิดไมโครและนาโนแคปซูลที่เตรียมได้ เช่น ศึกษาลักษณะรูปร่างและพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Optical microscope; OM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) ศึกษาขนาดและการกระจายตัวของพอลิแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลที่เตรียมได้ด้วยเทคนิคการวัดการกระเจิงแสง (Dynamic light scattering; DLS) ศึกษาองค์ประกอบของพอลิแลคติก แอซิดแคปซูลและประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญและสารสกัดจากธรรมชาติด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography; GC) และเครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrophotometer)

1.3.3 ศึกษาการปลดปล่อยสารสกัดสารสำคัญในพอลิเมอร์แคปซูล ความคงตัว และทดสอบความเป็นพิษของของพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ในเซลล์เพาะเลี้ยง

## 1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

เทคนิคการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญมีอยู่หลายเทคนิค เทคนิคหนึ่งที่ได้รับ ความนิยมคือ เทคนิคการระเหยตัวทำละลาย (Solvent evaporation) ในขณะที่มีเทคนิคในการเตรียม หยดสารอินทรีย์ที่จะศึกษาอยู่ด้วยกันสองวิธีคือ เทคนิคการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบดั้งเดิม

(Conventional emulsification method) และแบบกลับวัฏภาค (Phase inversion emulsification method) วิธีแรกเป็นการนำพอลิเมอร์และสารสำคัญมาละลายเป็นเนื้อเดียวกันในตัวทำละลายที่เหมาะสม จากนั้นเติมลงในชั้นสารละลายของสารลดแรงตึงผิว ทำการปั่นเตรียมหยดโดยใช้แรงเฉือนสูงที่ใช้โฮโมจีไนเซอร์ (Homogenizer) หรืออัลตราโซนิกเคชัน (Ultrasonication) จะได้อิมัลชันของหยดสารอินทรีย์ที่กระจายตัวอยู่ในชั้นน้ำ เมื่อระเหยตัวทำละลายออกพอลิเมอร์จะเคลื่อนที่มาเป็นเปลือก (Shell) หุ้มสารสำคัญอยู่ภายในแกนกลาง (Core) ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่เตรียมง่าย สะดวก สำหรับการเตรียมในห้องปฏิบัติการ แต่อาจจะมีค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากต้องใช้พลังงานสูงในการเตรียมหยดสารละลายพอลิเมอร์ ส่วนวิธีที่สองเป็นเทคนิคการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบกลับวัฏภาค ซึ่งเป็นการเตรียมหยดพอลิเมอร์โดยไม่ต้องใช้แรงเฉือนสูง วิธีการนี้สามารถลดการกระจายตัวของอนุภาคให้แคบลงได้ โดยนำพอลิเมอร์ สารสำคัญและสารลดแรงตึงผิวละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม จากนั้นนำไปปั่นเตรียมหยดด้วยใบพัด ในขณะที่ปั่นค่อยๆเติมสารละลายของสารลดแรงตึงผิวอีกชนิดหนึ่งหรือวัฏภาคต่อเนื่องด้วยอัตราการหยดที่คงที่ลงใช้ชั้นของสารอินทรีย์ ในช่วงแรกจะได้อิมัลชันของหยดน้ำที่กระจายตัวอยู่ในชั้นของสารอินทรีย์ (Water in oil; W/O) และเมื่อปริมาณของชั้นน้ำมากกว่าชั้นสารอินทรีย์จะเกิดการกลับวัฏภาคได้อิมัลชันของหยดสารอินทรีย์ที่กระจายตัวอยู่ในชั้นน้ำ (Oil in water; O/W) เมื่อนำไประเหยตัวทำละลายออกจะได้พอลิเมอร์แคปซูลที่มีขนาดเล็กลง ขนาดของอนุภาคมีการกระจายตัวที่แคบ เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวที่ละลายอยู่ในชั้นของสารอินทรีย์ทำให้สารลดแรงตึงผิวใช้เวลาน้อยกว่าในการเคลื่อนที่มาอยู่ที่ผิวเมื่อเทียบกับการละลายสารลดแรงตึงผิวในชั้นน้ำ และการที่ค่อยๆเติมวัฏภาคต่อเนื่องลงในชั้นสารอินทรีย์จะทำให้สารลดแรงตึงผิวมีเวลามากพอในการจัดเรียงตัวให้เป็นระเบียบที่รอยต่อระหว่างผิว ซึ่งเทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่ง่าย ไม่ซับซ้อนยุ่งยากไม่ต้องใช้เครื่องมือเฉพาะ จึงมีต้นทุนต่ำ แต่จำเป็นต้องควบคุมสภาวะให้เหมาะสม โดยเฉพาะอัตราการเติมวัฏภาคต่อเนื่อง ซึ่งจะมีผลโดยตรงต่อการกระจายตัวของหยด และอาจรวมถึงประสิทธิภาพในการกักเก็บสาร ซึ่งทั้งหมดนี้อาจส่งผลต่อการขยายสเกลในการผลิต โดยทั่วไปพอลิเมอร์ที่จะนำมาเป็นเปลือกหุ้มสารสำคัญนั้นจะต้องมีความชอบน้ำ (Hydrophilicity) มากกว่าสารสำคัญ เพื่อให้เกิดการแยกวัฏภาคที่สมบูรณ์ ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เลือกพอลิแอลแลคติก แอซิด มาเป็นเปลือกในการกักเก็บสารสำคัญ เนื่องจากเป็นพอลิเมอร์ที่มีสภาพขั้วสูงและย่อยสลายได้เองทางชีวภาพ ซึ่งน่าจะเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ อย่างไรก็ตามสารสำคัญในสารสกัดจากธรรมชาติส่วนมากจะมีความขั้วที่ค่อนข้างสูง ทำให้การกักเก็บสารเหล่านี้ให้มีประสิทธิภาพสูงยังจำเป็นต้องมีการศึกษาและวิจัยกันต่อไป

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาผลของสภาพขั้วของสารสำคัญต่อประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม เมื่อใช้พอลิแอลแลคติก แอซิดเป็นเปลือกในการเตรียมไมโครและนาโนแคปซูล ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ และน้ำมันในน้ำอิมัลชัน และเทคนิคการเตรียมหยดสารอินทรีย์โดยใช้แรงเฉือนสูง และแบบกลับวัฏภาค ตามลำดับ เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้ทางด้านอุตสาหกรรม

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครและนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายที่ใช้เทคนิคการเตรียมหยดสารอินทรีย์ในรูปแบบต่าง ๆ

1.5.2 ได้พอลิเมอร์แคปซูลที่มีประสิทธิภาพในกักเก็บสารสำคัญสูงและมีความเป็นไปได้ในการพัฒนาวิธีการเตรียมในระดับอุตสาหกรรม





## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 สารสกัดจากธรรมชาติ

**การสกัดสาร** คือ กระบวนการแยกสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ออกจากวัสดุหรือสารที่เป็นของแข็งหรือของเหลว โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งสามารถละลายสารออกฤทธิ์ที่ต้องการออกมาได้ [1] สารออกฤทธิ์สามารถสกัดได้จากทั้งในพืชสมุนไพร ผลไม้ และสัตว์ มีสรรพคุณในด้านการรักษาโรค เครื่องสำอาง และทางการเกษตร เป็นต้น ซึ่งข้อดีของสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติเปรียบเทียบกับข้อเสียของสารปรุงแต่งแสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบระหว่างข้อดีของสารสกัดธรรมชาติและข้อเสียของสารเคมีปรุงแต่ง [1]

| ข้อดีของสารสกัดธรรมชาติ                             | ข้อเสียของสารปรุงแต่ง        |
|---|------------------------------|
| 1. ไม่มีสารเคมี                                     | 1. เป็นพิษต่อร่างกายได้      |
| 2. ได้รับประโยชน์จากสารสกัดเต็มๆ                    | 2. สารพิษตกค้างสะสมในร่างกาย |
| 3. มีความรู้สึกในแง่ดีต่อการรับประทาน               | 3. มีอาการแพ้                |
| 4. ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่าง ๆ                   | 4. ราคาค่อนข้างแพง           |
| 5. ลดสารพิษในธรรมชาติ                               | 5. อาจไม่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ   |
| 6. ทดแทนสารเคมีสำหรับเครื่องสำอางหรือสารปรุงแต่งได้ |                              |
| 7. เป็นอนุรักษ์ภูมิปัญญาไทยตั้งแต่ดั้งเดิม          |                              |

สารประกอบทางเคมีในธรรมชาติ แบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1) สารปฐมภูมิ (Primary metabolites) เป็นสารประกอบสามารถพบทั่วไปในพืช เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthesis) เช่น คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) โปรตีน (Protein) ไขมัน (Lipids) เกลืออนินทรีย์ (Inorganic salt) และเม็ดสี (Pigments) เป็นต้น

2) สารทุติยภูมิหรือสารธรรมชาติ (Secondary metabolites หรือ Natural products) เป็นสารประกอบที่มีลักษณะพิเศษ พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด อาจเกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ ทางชีวภาพ (Biosynthesis) โดยมีเอนไซม์ (Enzyme) เข้าร่วม สารประกอบกลุ่มนี้ ได้แก่ แอลคาลอยด์ (Alkaloids) แอนทราควิโนน (Anthraquinones) และน้ำมันหอมระเหย (Essential oils) เป็นต้น

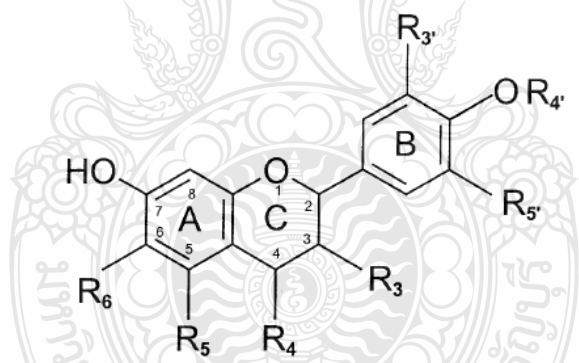
ส่วนใหญ่สารธรรมชาติที่ออกฤทธิ์ทางด้านเภสัชวิทยาและประโยชน์ทางด้านเครื่องสำอาง แต่จากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารกลุ่มปฐมภูมิบางตัวก็สามารถแสดงฤทธิ์ทางด้านเภสัชวิทยาและประโยชน์ทางด้านเครื่องสำอางได้เช่นกัน ซึ่งสามารถจำแนกสารที่พบตามธรรมชาติเหล่านี้ตาม

โครงสร้างทางเคมีได้เป็น 7 กลุ่ม ดังนี้ แอลคาลอยด์ (Alkaloids) คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrates) แทนนิน (Tannins) กลัยโคไซด์ (Glycosides) ไขมัน (Fats and Fixed oils) น้ำมันหอมระเหย (Volatile oils, Essential oil) เรซิน และบาลซัม (Resins and Balsams)

### 2.1.1 เควอซีทิน (Quercetin)

เควอซีทิน (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone) เป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มสารพฤกษเคมีจำพวก ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) สามารถพบได้ทั้งในพืชและผลิตภัณฑ์จากพืชหลายชนิด ทั้งที่เป็นอาหารและพืชสมุนไพร พบมากใน ไวน์แดง ผักใบเขียว มันฝรั่ง ชาเขียว น้ำองุ่น แอปเปิ้ล กาแฟ ชาดำ และหัวหอม เป็นต้น ได้มีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์อย่างกว้างขวาง พบว่ามีผลต่อการต้านมะเร็ง การต้านการอักเสบ ผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน ต้านไวรัส ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา กำจัดสารอนุมูลอิสระ ลดระดับไขมันในเลือด มีผลต่อระบบไหลเวียนโลหิต รักษาแผลในกระเพาะอาหาร ขยายหลอดเลือด ปกป้องหัวใจ ป้องกันการรวมกลุ่มของเกล็ดเลือด และบำรุงตับ เป็นต้น [2, 3]

ฟลาโวนอยด์เป็นสารพฤกษเคมีกลุ่มพอลิฟีนอล (Polyphenol) ที่มีโครงสร้างหลักเป็น 2-phenoyl benzopyran ประกอบไปด้วยคาร์บอน 15 อะตอม เรียงเป็นระบบ C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> โดยมีวงแหวนเบนซีน 2 วง จับกันด้วยคาร์บอน 3 อะตอม และยังจำแนกตามโครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์ออกเป็นกลุ่มย่อยได้ 6 กลุ่ม Flavanones Flavonols Flavones Anthocyanins Isoflavonoids และ Flavans [4] แสดงดังตารางที่ 2.2

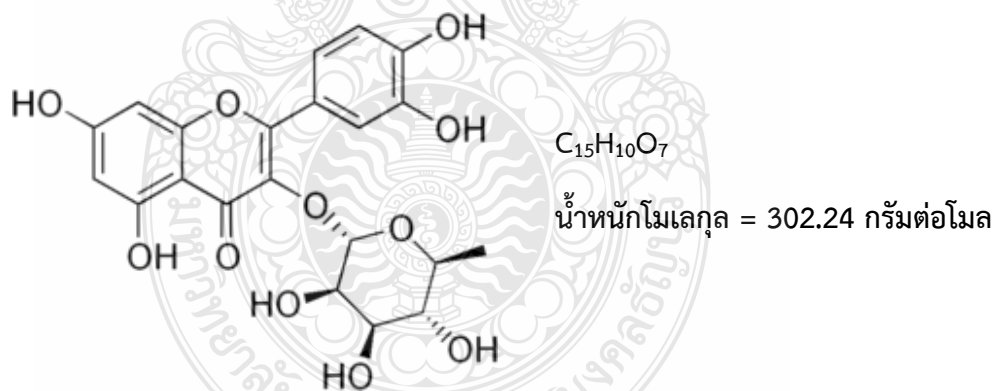


ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทั่วไปของฟลาโวนอยด์ ในอาหาร [5]

โดยทั่วไปร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสร้างสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ขึ้นเองได้ [6] เนื่องจากมีสารประกอบที่มีโครงสร้างจัดอยู่ในกลุ่มนี้กว่า 8,000 ชนิด ทำให้มีการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและคุณสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกัน [7] ซึ่งฟลาโวนอยด์ที่ร่างกายได้รับต่อวัน จะถูกไฮโดรไลสโดยน้ำย่อย น้ำย่อย และแบคทีเรียในทางเดินอาหารแล้วจะถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กในรูปของ Active aglycone [6]

ตารางที่ 2.2 แสดงการจำแนกฟลาโวนอยด์ตามโครงสร้าง [5]

| กลุ่มย่อย     | สี                 | ตัวอย่าง   | หมายเหตุ  |
|---------------|--------------------|--|---|
| Anthocyanins  | น้ำเงิน แดง ม่วง   | Cyanidin Peonidin<br>Delphinidin   | พบในดอกไม้ ผลไม้  |
| Flavans       | ไม่มีสี            | Catechin Epicatechin<br>Luteoferyl Procyanidin<br>Theaflavin                           | พบในผลไม้ ถั่ว ชา                                       |
| Flavanones    | ไม่มีสี-เหลืองอ่อน | Hesperidin<br>Neohesperidin Naringin<br>Naringenin                                     | พบในพืชตระกูลส้ม  |
| Flavones      | เหลืองอ่อน         | Apigenin Diosmetin<br>Luteolin Neodiosmin<br>Nobiletin Sinensetin<br>Tangeretin Tricin | - พบในผัก ผลไม้ พืชสมุนไพร<br>- tricetin พบในปีกผีเสื้อ |
| Flavonols     | เหลืองอ่อน         | Isorhamnetin Kaemferol<br>Myricetin Quercetin  | - พบในพืช ผัก ผลไม้<br>- Quercetin พบมากที่สุด          |
| Isoflavonoids | ไม่มีสี            | Daidzein Genistein   | พบในพืชตระกูลถั่ว                                       |



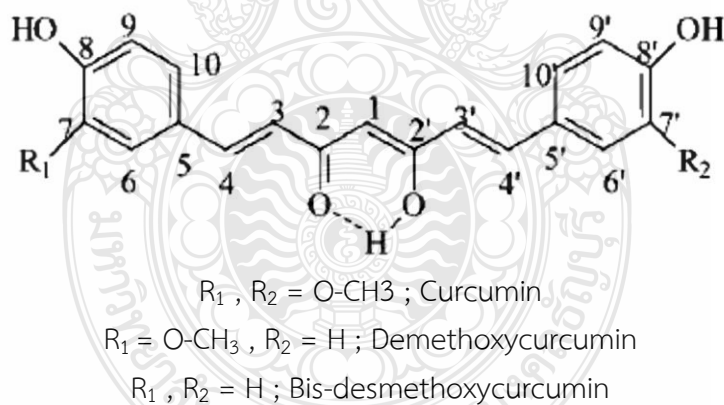
ภาพที่ 2.2 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของเคอควิทิน [8]

เคอควิทินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยลดระดับกลูโคสในเลือด เพิ่มปริมาณอินซูลิน และป้องกันโรคหลอดเลือดและหัวใจ ด้วยการอักเสบ โดยลดสารฮีสตามัน ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของโรคภูมิแพ้ เพิ่มประสิทธิภาพของปอด และลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับการหายใจ เช่น หอบหืด และหลอดลมอักเสบ นอกจากนี้ สารเคอควิทินยังมีส่วนในการลดระดับคอเลสเตอรอล บรรเทากล้ามเนื้อหัวใจวาย และหลอดเลือดสมองตีบ ทำให้ระดับความดันของเลือดลดต่ำลง ทั้งยังช่วยลดการ

เป็นมะเร็งในระบบทางเดินอาหาร โดยการทำให้เซลล์มะเร็งฝ่อ เพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของวิตามินซี และช่วยป้องกันไบโอฟลาโวนอยด์อื่น ที่เกิดจากการทำลายของสารอนุมูลอิสระ [8]

### 2.1.2 เคอร์คิวมิน (Curcumin)

สารเคอร์คิวมินหรือเคอร์คิวมินอยด์ (Curcuminoid) เป็นสารสีเหลืองในกลุ่มของสารประกอบฟีนอล (Phenolics compound) [9] เคอร์คิวมินเป็นสารที่นิยมใช้เป็นสีผสมอาหาร [10] พบในพืชที่กินได้เกือบทุกชนิดโดยเฉพาะพืชกลุ่มรากที่มีเหง้าวงศ์ *Zingiberaceae* [11] ได้แก่ ขิง ข่า กระชาย ไพล โดยเฉพาะขมิ้นชัน (Turmeric) ชื่อทางวิทยาศาสตร์ของขมิ้นชันคือ *Curcuma longa* L. ขมิ้นชันเป็นที่รู้จักของคนไทยเป็นอย่างดีเพราะใช้เหง้าเป็นเครื่องเทศใส่ในอาหารและสารให้สี เช่น เหลืองของมัสดาร์ต สีเหลืองของผงกะหรี่ หรือสีของแกงเผ็ดหลายชนิดก็ได้จากสีของขมิ้นชัน เช่นเดียวกัน [9] Ciamician และ Silber ได้เสนอสูตรโมเลกุลของเคอร์คิวมิน คือ  $C_{21}H_{20}O_6$  และองค์ประกอบของสารให้สีนี้คือ ไดเฟอรูโลอีลมีเทน (Diferuloyl methane) [12] โดยสารสกัดที่มีสี (Pigment extract) ที่สกัดได้จากขมิ้นชันประกอบด้วยสารประกอบ 3 ชนิดคือ เคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (Demethoxy curcumin) และ บิส-เดสมิทอกซีเคอร์คิวมิน (Bis-desmethoxy curcumin) เรียกสารประกอบที่ให้สีทั้งสามชนิดว่าเคอร์คิวมินอยด์ [13] โดยสูตรโครงสร้างของเคอร์คิวมินประกอบไปด้วยหมู่เออร์โทเมทอกซีเลเต็ด ฟีนอล (Orthomethoxylated phenols) 2 หมู่ เชื่อมกันด้วยเบต้า-ไดคีโตน  $\beta$ -diketone [14] ดังแสดงในภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 สูตรโครงสร้างเคอร์คิวมิน [15]

สารประกอบเคอร์คิวมินจะไวต่อความเป็นกรดต่าง โดยจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาลแดงเมื่ออยู่ในสภาวะเป็นด่าง และเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดงเมื่ออยู่ในสภาวะเป็นกรด [10] มีจุดหลอมเหลวอยู่ที่อุณหภูมิประมาณ 176-177 องศาเซลเซียส สารประกอบเคอร์คิวมินมีความสามารถในการละลายในน้ำได้น้อยแต่จะละลายได้ดีใน เอทานอล เมทานอล คลอโรฟอร์ม และกรดอะซิติก [16] อะซีโตนและไดเอทิลอีเธอร์ สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นสูงสุดที่ 429 นาโนเมตร [10]

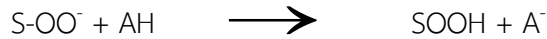
2.1.2.1 การดูดซึม เคอร์คิวมินเป็นสารประกอบที่ละลายน้ำได้น้อย การรับประทานเข้าไปโดยตรงอาจไม่ได้ผล เนื่องจากมีการดูดซึมได้น้อย ซึ่งจากการทดลองให้สารประกอบเคอร์คิวมินที่ใส่ในสารกัมมันตภาพรังสี พบว่า มีส่วนของสารกัมมันตภาพรังสีเข้าสู่กระแสโลหิตและอวัยวะต่างๆ แต่ไม่พบสารเคอร์คิวมินในรูปเดี่ยวๆ แสดงว่าเคอร์คิวมินอาจถูกเปลี่ยนแปลงเป็นรูปอื่นตอนที่ดูดซึมบริเวณลำไส้ [9]

2.1.2.2 การกระจายตัวในเลือดและระดับความเป็นพิษ สารเคอร์คิวมินสามารถพบได้ในระบบไหลเวียนโลหิต แต่จะพบในปริมาณที่ต่ำมาก จากการทดลองเมื่อรับประทานเคอร์คิวมินที่ปริมาณ 400 มิลลิกรัม พบว่าเมื่อนำมาวัดความเข้มข้นของสี (Colorimetry) ไม่สามารถตรวจพบได้ในหัวใจ แต่พบในเลือดที่ปริมาณต่ำมาก (น้อยกว่า 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม) ส่วนในไตและตับพบเพียง 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม เท่านั้น [17]

2.1.2.3 การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเคอร์คิวมินในปัจจุบันมีการใช้สารสกัดขมิ้นชันในรูปของเคอร์คิวมินอยด์มาใช้สำหรับการรักษาโรคต่างๆ ซึ่งสรรพคุณทางเภสัชวิทยาของเคอร์คิวมินอยด์นั้น ช่วยในการรักษาแผลในกระเพาะอาหาร ฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และลดการอักเสบในร่างกาย [9] สามารถใช้ในการลดและต้านการเกิดเซลล์มะเร็งได้ [16]

1) การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของเคอร์คิวมิน เคอร์คิวมินมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน โดยมีหมู่ฟีนอลิก ไฮดรอกซิล (Phenolic OH) และเมทิลีน (Methylene CH<sub>2</sub>) ที่ติดอยู่กับเบต้า-ไดคีโตน มีบทบาทสำคัญในการกำจัดอนุมูลอิสระ (Scavenging activity) [18, 19] ซึ่งกลไกในการต้านอนุมูลอิสระของเคอร์คิวมินดังแสดงดังภาพที่ 2.4 โดยขั้นแรกเคอร์คิวมินจะรับอนุมูลอิสระที่บริเวณหมู่ฟีนอลิก (Phenolic) แล้วเปลี่ยนเป็นเคอร์คิวมินแรดิคัล (Curcumin radical) ที่ไม่เสถียร อิเล็กตรอนที่ไม่เข้าคู่สามารถเคลื่อนย้ายไปยังตำแหน่งที่เหมาะสมได้ โครงสร้างรูปที่ II และ III จะถูกเปลี่ยนเป็นรูปที่เสถียรกว่า โดยเคอร์คิวมินแรดิคัลจะรวมตัวกับเคอร์คิวมินแรดิคัลอีกโมเลกุลหนึ่งที่หมู่ไฮดรอกซิล เกิดเป็นโครงสร้างวงแหวนเรียกว่าเคอร์คิวมินไดเมอร์ (Curcumindimer) แต่ในสถานะที่มีออกซิเจนสารเคอร์คิวมินเมื่อจับกับอนุมูลอิสระแล้วจะเปลี่ยนเป็นเคอร์คิวมินแรดิคัล ที่ไม่เสถียรจะเกิดการออกซิไดซ์ที่หมู่เบนซิลิก (Benzylic) และคีโตน (Ketone) ได้อนุพันธ์ที่ 4 และ 5 คือวานิลลิน (Vanillin) และกรดเฟอร์ูลิก (Ferulic acid) โครงสร้างรูปที่ VIII และ IX ตามลำดับ กลไกการต้านออกซิเดชันของเคอร์คิวมินในร่างกายนั้นยังไม่เป็นที่เข้าใจชัดเจน แต่โดยหลักการแล้วกระบวนการต้านอนุมูลอิสระ (Chain breaking) ของสารในสารประกอบฟีนอลแบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ [14]

(1) Radical trapping stage



(2) Radical termination stage



โดยที่

S คือ สารตั้งต้นที่ทำให้เกิดออกซิเดชัน (Oxidation substrate)

AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

A คือ แอนติออกซิแดนท์แรดิคัล (Antioxidant radical)

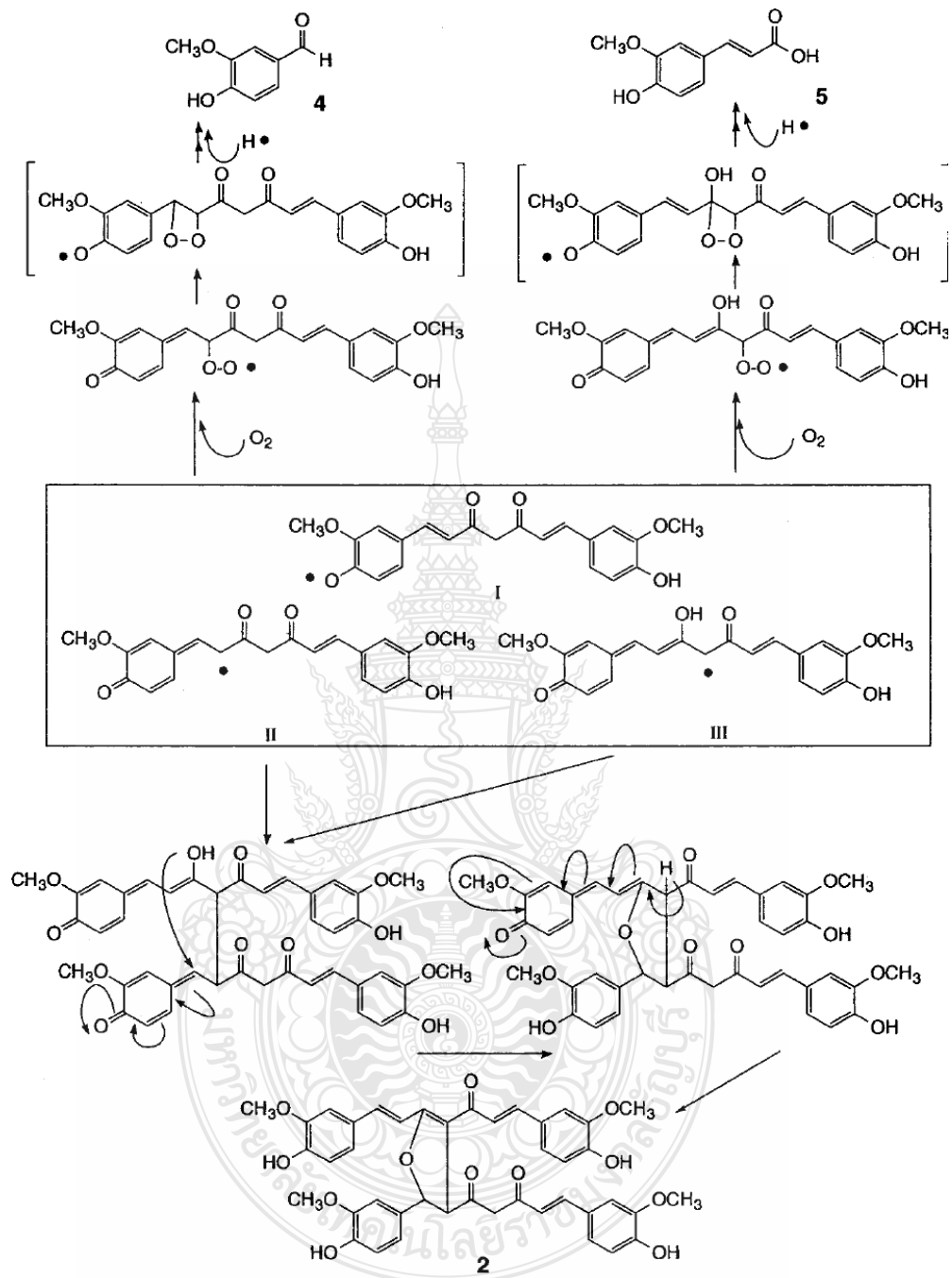
X คือ ชนิดของอนุมูลอิสระ (Radical species)

ในตอนขั้นแรกเป็นการจับกันของสารที่เป็นอนุมูลอิสระ (S) กับสารต้านอนุมูลอิสระ (AH) ที่ส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลที่มี Unsaturated aromatic ring โดยมีหมู่ไฮดรอกซิล หรือเอมีน (amine) เป็นแหล่งให้ไฮโดรเจน ขั้นตอนนี้เป็นขั้นที่ปฏิกิริยาผันกลับได้ ได้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีลักษณะเป็นอนุมูลอิสระ (A<sup>•</sup>) ส่วนในขั้นตอนสุดท้ายเป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้แต่จะได้อนุมูลที่มีความเสถียรไม่ทำให้เกิดการขยายผลของการสร้างอนุมูลอิสระอีกต่อไป กระบวนการต้านอนุมูลอิสระในร่างกายมักจะเกิดควบคู่กับปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารชีวโมเลกุลต่างๆ เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว (Polyunsaturated fatty acid) ได้อนุมูลอิสระของกรดไขมันซึ่งกลไกต้านการออกซิเดชันของกรดไขมันของเคอร์คิวมินจะเกิดในขั้นที่สอง (Radical termination stage) โดยเคอร์คิวมินในรูปอิสระจะรวมตัวกับอนุมูลอิสระของกรดไขมันได้เป็นสารประกอบที่มีความเสถียรไม่ทำให้เกิดการขยายผลของกระบวนการ lipid peroxidation [20] ความสามารถของเคอร์คิวมินในการป้องกันการถูกทำลายของเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ [21] รายงานว่าเคอร์คิวมินมีความสามารถในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระจากกระบวนการออกซิเดชันของไขมันได้มากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่นๆ ที่ได้จากสมุนไพร และการใช้เคอร์คิวมินอยด์จะมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้เคอร์คิวมินและบิส-เดสเมทอกซีเคอร์คิวมิน

2) การศึกษาฤทธิ์ต่อการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ขมิ้นชันเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการรักษาโรคท้องเสียได้ ซึ่งเชื้อที่มักทำให้เกิดอาการท้องเสียเป็นเชื้อที่มักติดต่ออย่างเพนิซิลลิน (Penicillin) อยู่เสมอ จากการศึกษาของ อัมพวันและสุมาลี (2543) พบว่าสารละลายเคอร์คิวมินในอะซิโตนที่ระดับความเข้มข้น 0.25 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ทำให้มีอาการท้องเสียได้เกือบทุกสายพันธุ์ แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ [22] การใช้ขมิ้นชันที่มีระดับของเคอร์คิวมินอยด์ 1.8-5.4 เปอร์เซ็นต์ รักษาอุจจาระร่วงช่วงอายุ 8-10 วัน พบว่าอุจจาระที่ได้รับขมิ้นชันที่ระดับ 1000 มิลลิกรัม/โด้ส/วัน มีแนวโน้มหายเร็วกว่าการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะโคลิสติน (Colistin) อาจเนื่องจากสารเคอร์คิวมินในขมิ้นชันมีสมบัติลดการอักเสบของลำไส้ ช่วยเคลือบแผลในกระเพาะอาหาร และกระตุ้นการกินได้ [23]

3) การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ สารเคอร์คิวมินและอนุพันธ์สามารถลดการอักเสบได้ดี การอักเสบถูกกระตุ้นโดยภูมิคุ้มกันของร่างกายเพื่อตอบสนองต่อเนื้อเยื่อที่เสียหาย โดยเคอร์คิวมินจะไปยับยั้งการสร้างเอนไซม์ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารที่ก่อให้เกิดการอักเสบที่ได้จากกรดอะราคิโดนิก (Arachidonic acid) และมีฤทธิ์ต้านฮิสตามีนในระยะแรกของการอักเสบ [9] สารเคอร์คิวมินมีฤทธิ์ในการลดการอักเสบแบบเฉียบพลันได้ดีกว่าแบบเรื้อรัง [24] เคอร์คิวมินในรูปแบบของโซเดียมเคอร์คิวมินเนท (Sodium curcumin) และเตตราไฮโดรเคอร์คิวมิน (Tetra-hydro curcumin) มีความสามารถลดอาการอักเสบได้ดีกว่าเคอร์คิวมิน โดยไม่ก่อให้เกิดผลข้างเคียงใดๆ เนื่องจากโซเดียมเคอร์คิวมินเนทและเตตราไฮโดรเคอร์คิวมินมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีกว่าเคอร์คิวมิน [25]





ภาพที่ 2.4 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของเคอร์คิวมิน [19]

### 2.1.3 กรดลิโนเลอิก (Linoleic acid)

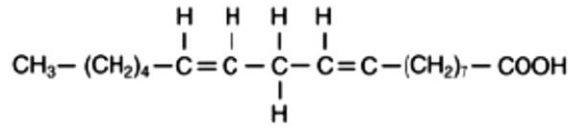
2.1.3.1 กรดไขมัน (Fatty acids) สามารถจำแนกตามสมบัติของสายไฮโดรคาร์บอนเป็น 2 ชนิด คือ กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acids) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acids) กรดไขมันอิ่มตัว หมายถึง กรดไขมันที่สายไฮโดรคาร์บอนเป็นแอลเคน (Alkane) ซึ่ง



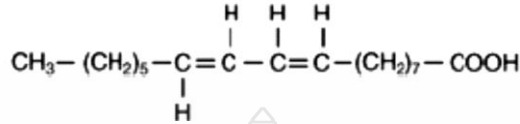
ประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอนและไฮโดรเจนที่เชื่อมกันด้วยพันธะเดี่ยวทั้งหมด และกรดไขมันไม่อิ่มตัวหมายถึงกรดไขมันที่สายไฮโดรคาร์บอนเป็นแอลคีน (Alkene) ซึ่งมีอะตอมคาร์บอนบางอะตอมเชื่อมกันด้วยพันธะคู่ สามารถแบ่งแยกย่อยได้อีกคือ กรดไขมันที่มี 1 พันธะคู่ (Monounsaturated fatty acids) และกรดไขมันที่มีมากกว่า 1 พันธะคู่ (Polyunsaturated fatty acids) และสารพวกไอโคซานอยด์ (Eicosanoid) คือ กรดไขมันที่มีมากกว่า 1 พันธะคู่และมีคาร์บอน 20 อะตอมนอกจากนี้เรายังแยกกรดไขมันโดยอาศัยคุณค่าทางโภชนาการเป็น 2 ชนิด คือ กรดไขมันที่ไม่จำเป็นต่อร่างกาย (Non-essential fatty acids) คือกรดไขมันที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ได้เองได้แก่ กรดไขมันอิ่มตัว เช่น กรดปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) กรดสเตียริก (Stearic acid, C18:0) ส่วนกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย (Essential fatty acids) คือ กรดไขมันที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้ต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น สำหรับมนุษย์กรดไขมันที่จำเป็นคือ กรดลิโนเลอิก (Linoleic acid, C:18:2), กรดลิโนเลนิก (linolenic acid, C18:3), กรดอะแรชีดิก (Arachidonic acid, C20:4) จะเห็นว่าโมเลกุลของกรดไขมันดังกล่าวจะมีพันธะคู่ระหว่าง C9 ถึงปลาย CH3 ซึ่งถ้ามีพันธะคู่ในช่วงนี้ร่างกายไม่สามารถสร้างได้ [26]

2.1.3.2 สารกลุ่มกรดลิโนเลอิก (Conjugated linoleic acid; CLA) กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่ง ถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ.1987 โดย Michael Pariza และคณะ แห่งมหาวิทยาลัย Wisconsin- Madison ซึ่งสกัดได้จากเนื้อโค กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกเป็นกลุ่มไอโซเมอร์ของกรดไขมันลิโนเลอิกซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็น ความแตกต่างในกลุ่มของกรดลิโนเลอิกจะขึ้นอยู่กับชนิดและการจัดตำแหน่งของพันธะ ซึ่งโดยปกติกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนจะมีตำแหน่งของพันธะคู่อยู่ห่างกันมากกว่าหนึ่งคาร์บอนอะตอมที่มีพันธะเดี่ยว (-C=C-C-C=C-) ซึ่งเป็น Unconjugated แต่เมื่อพันธะคู่อยู่ห่างกันหนึ่งคาร์บอนอะตอมที่มีพันธะเดี่ยว (-C=C-C=C-) จะเรียกคอนจูเกต [27]

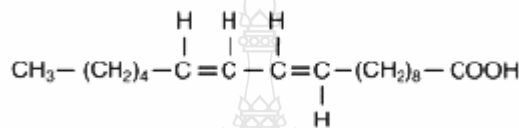
กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกเป็นกลุ่มไอโซเมอร์ของกรดไขมันลิโนเลอิกมีทั้งหมด 16 ไอโซเมอร์ [28] แต่ที่พบมากที่สุดมีเพียง 2 ไอโซเมอร์ คือ ซิส-9, ทราน-11-ออกเตเดคาไดโนอิกแอซิด (Cis-9, Trans-11- Octadecadienoic acid) และทราน-10,ซิส-12-ออกเตเดคาไดโนอิกแอซิด (Trans-10, Cis-12- octadecadienoic acid) ซึ่งพบมากในธรรมชาติ และจากรายงานของ Ha และคณะพบว่า เมื่อให้อาหารที่ประกอบด้วยกรดคอนจูเกตลิโนเลอิก จำนวน 9 ไอโซเมอร์แก่หนูทดลอง จะพบเพียงซิส-9, ทราน-11-ออกเตเดคาไดโนอิกแอซิดเท่านั้นที่เป็นองค์ประกอบของฟอสโฟลิพิด (Phospholipids) ในเนื้อเยื่อหุ้มเซลล์ [29] ซึ่งตรงกับรายงานของ Dhiman และคณะที่พบว่า ซิส-9, ทราน-11-ออกเตเดคาไดโนอิกแอซิดสามารถสังเคราะห์ได้ในธรรมชาติ [30] โดยจุลินทรีย์ประเภท *Butyrivibrio fibrisolvens* ที่อาศัยอยู่ในกระเพาะหมัก จึงเป็นผลให้พบได้มากกว่า ทราน-10,ซิส-12-ออกเตเดคาไดโนอิกแอซิด [31]



Cis 9, 12 (Linoleic acid)



Cis 9, Tran 11 CLA



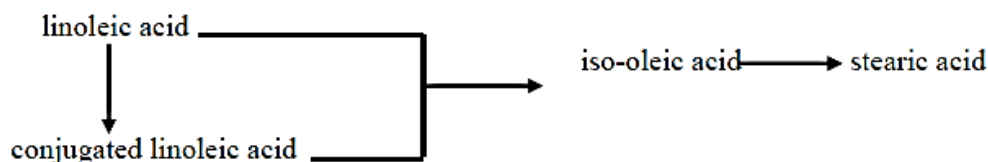
Tran 10, Cis 12 CLA

ภาพที่ 2.5 แสดงโครงสร้างของกรดลิโนเลอิก,ซิส-9, ทราน-11 และ ทราน-10, ซิส-12 กรดคอนจูเกตลิโนเลอิก [32]

2.1.3.3 แหล่งของกรดคอนจูเกตลิโนเลอิก โดยปกติกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกจะมีอยู่ในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Ruminant) เช่น ในน้ำมันโคซึ่งพบว่าในน้ำมันโคจะมีกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกอยู่ในช่วง 2.9-11.3 มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน โดยอยู่ในรูป ซิส-9, ทราน-11-ออกตะเตคาไดโนอิกแอซิดถึง 73-93% ของ คอนจูเกตลิโนเลอิกทั้งหมด ส่วนในไขมันวัว จะมีคอนจูเกตลิโนเลอิกอยู่ในช่วง 3.1-8.5 มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน โดยที่อยู่ในรูป ซิส-9, ทราน-11-ออกตะเตคาไดโนอิกแอซิดถึง 57-85% ของคอนจูเกตลิโนเลอิกทั้งหมด [30] ทั้งนี้การที่มีกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง เนื่องจากในสัตว์เคี้ยวเอื้องมีจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก อาทิเช่น *Butyrivibrio fibrisolvens* ที่สามารถสังเคราะห์ คอนจูเกตลิโนเลอิกได้ ส่วนในสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง (Non-ruminant) ไม่สามารถสังเคราะห์ได้เอง จึงต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น [33]

2.1.3.4 การสังเคราะห์กรดคอนจูเกตลิโนเลอิก ในการสังเคราะห์กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกต้องอาศัยกระบวนการไฮโดรจีเนชัน (Hydrogenation) คือเป็นกระบวนการที่เติมหมู่ไฮโดรเจนอะตอมเข้าไปในโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัวทำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวเปลี่ยนเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว ซึ่งจะทำให้ไขมันนั้นมีจุดหลอมเหลวสูงขึ้น เป็นการเติมไฮโดรเจนอะตอมเข้าไปที่พันธะคู่ของคาร์บอนอะตอม จะทำให้เกิดไขมันอิ่มตัวและเมื่อเราจัดไฮโดรเจนอะตอมออกมาก็จะทำให้เกิดพันธะคู่อีกครั้ง [27] และจากรายงานของ Ha และคณะ ได้รายงานว่า ปริมาณกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นประมาณ 5 เท่า ในระหว่างการปรุงอาหารพวกเนื้อโคและเพิ่มขึ้น 2-3 เท่าในการทำเนยจากนม [29] ถึงแม้ว่าปริมาณของกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกจะเพิ่มขึ้นในระหว่างการปรุงอาหาร แต่กลไกการเปลี่ยนกรดลิโนเลอิกไปเป็นกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกในระหว่างการปรุงอาหารนั้นยังไม่สามารถอธิบายได้ชัดเจน ทั้งนี้หากอุณหภูมิสูงขึ้นจนถึงจุดเดือดของไขมันแล้วจะสามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชันได้ โดย

สามารถทำให้กรดลิโนเลอิกเปลี่ยนเป็นกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกได้ก่อนที่จะเปลี่ยนไปเป็นไอโซโอเลอิกแอซิด (Iso-oleic acid) และสเตียริกแอซิด (Stearic acid) ตามลำดับ[34] ดังแสดงในภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 แสดงไฮโดรจีเนชันของกรดลิโนเลอิก [34]

จากรูปดังกล่าว จะเห็นได้ว่าการสังเคราะห์กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกจะต้องใช้กรดไขมันลิโนเลอิกเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ ดังนั้นถ้าเราต้องการสังเคราะห์กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกให้มีปริมาณสูงเราจะต้องใช้วัตถุดิบที่มีกรดไขมันที่มีสารตั้งต้นในปริมาณสูงเช่นกัน ซึ่งในอาหารสัตว์หลายชนิดมีปริมาณไขมันและโครงสร้างของกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) ที่แตกต่างกัน [35]

2.1.3.5 คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ Ha และคณะพบว่ากรดคอนจูเกตลิโนเลอิกมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าวิตามินอีหรือแอลฟา-โทโคฟีรอล ( $\alpha$ -tocopherol) และมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับบิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน (Butylated hydroxytoluene; BHT) โดยที่กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกเข้าไปเป็นองค์ประกอบของพอลิฟอสโฟลิพิดในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ [29]

2.1.3.6 คุณสมบัติในการเป็นสารต้านมะเร็ง (Anticarcinogen) ซึ่งจากรายงานของ Ip และคณะพบว่ากรดคอนจูเกตลิโนเลอิกเป็นสารต้านมะเร็งชนิดเดียวที่ได้จากสัตว์ และเป็นกรดไขมันที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านมะเร็งเช่นเดียวกับน้ำมันปลา แต่ต้องใช้น้ำมันปลาเป็นปริมาณมาก (> 10 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร) จึงจะแสดงผล ในขณะที่กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 100 เท่า (0.1 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร) สามารถยับยั้งการพัฒนาเซลล์มะเร็งในเต้านมหนูได้ [36] ซึ่งนอกจากกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกจะสามารถยับยั้งการพัฒนาเซลล์มะเร็ง กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกยังสามารถป้องกันการเกิดโรคมะเร็งได้ แต่กลไกในการป้องกันนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด Sugano และคณะได้รายงานว่าการกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกจะไปลดความเข้มข้นของ prostaglandin E 2 และ leukotriene 4 ในซีรัมและม้ามของหนู ซึ่ง prostaglandin E2 มีผลกระตุ้นการเกิดมะเร็งเต้านมเพราะสามารถกระตุ้นและยับยั้งปัจจัยที่ควบคุมการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ epithelium cell ของเต้านมได้ ส่งผลให้กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกยับยั้งการพัฒนาของเซลล์มะเร็งเต้านมได้ [37]

2.1.3.7 สนับสนุนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน Cook และคณะพบว่ากรดคอนจูเกตลิโนเลอิกสามารถป้องกันการสลายกล้ามเนื้อโครงร่างจากการกระตุ้นของภูมิคุ้มกัน ซึ่งจากการทำงานของ ไซโตไคน์ (Cytokine) จะมีผลต่อการสังเคราะห์และสลายกล้ามเนื้อโครงร่าง โดยเฉพาะการเพิ่มขึ้นของ IL-1 (Interleukine-1) จะทำให้การสลายกล้ามเนื้อโครงร่างลดลง และการเพิ่มขึ้นของ IL-1 ยังมีความสัมพันธ์กับการลดลงของ prostaglandin E 2 (PGE 2) ซึ่งกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกมีผลในการไปลดการสร้างกรดอะราคิโดนิก (Arachidonic acid) ที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ PGE 2 [38]

สอดคล้องกับ Watson และคณะ (2005) ทดลองในหนูแก่ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันจะลดลงกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกมีผลในการไปเพิ่ม Th1 cytokine ทำให้มีผลในการควบคุมสมดุลของระบบภูมิคุ้มกันและเป็นการป้องกันการเกิดโรคหัวใจและโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด (Atherosclerosis) [39]

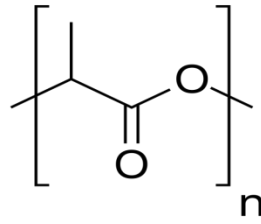
2.1.3.8 ป้องกันการเกิดเส้นเลือดแข็งตัวและตีบตัน (Antiatherogenic) Lee และคณะได้รายงานว่าการให้ 0.5 เปอร์เซ็นต์กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกในหนูเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 11 วันจะมีผลทำให้ระดับ Low Density Lipoprotein cholesterol (LDL-cholesterol) และ Triglycerides ในเลือดลดลง ซึ่งเป็นการป้องกันการเกิดเส้นเลือดแข็งตัวและตีบตัน [40] และด้วยคุณสมบัติของกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัว (Atherosclerosis) เพราะโรคนี้เกิดจากการที่ระดับของ LDL-cholesterol สูงขึ้น และเกิดจากมี Oxidative modification บนอนุของ LDL-cholesterol ที่เพิ่มขึ้น และไปสัมผัสกับอนุมูลอิสระต่างๆที่มีอยู่ในเลือด ทำให้ออกซิเดชันของ Oxidized LDL เปลี่ยนแปลงทำให้ LDL-receptor จำไม่ได้ ในขณะที่ Macrophage receptor ไม่สามารถรับรู้การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวได้ จึงรับ Oxidized LDL เพิ่มขึ้นและเก็บเข้าเซลล์ได้อย่างไม่จำกัด พบได้ในส่วนที่หนาตัวขึ้นของหลอดเลือดในรายที่มีหลอดเลือดแข็งซึ่งมีผลทำให้หลอดเลือดตีบลงจนเกิดอันตรายได้ ดังนั้นด้วยคุณสมบัติของกรดคอนจูเกตลิโนเลอิกที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจึงสามารถป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัวได้ [33]

2.1.3.9 ผลต่อการเจริญเติบโตของกล้ามเนื้อและการลดไขมันสะสม Javadi และคณะได้สรุปว่ากรดคอนจูเกตลิโนเลอิกจะไปทำให้เซลล์ไขมัน (adipose tissue) มีการสังเคราะห์กรดไขมันลดลง เพิ่มการทำงานของกรอกซิโดซของกรดไขมันและเพิ่มการทำงานของ carnitine เมื่อตรวจหา fatty acid synthase และ acetyl-CoA carboxylase จะพบว่ามีปริมาณลดลง แต่ในตับ (hepatic tissue) กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกจะไปทำให้มีการสะสมของลิพิดมากขึ้น เพราะมีการสังเคราะห์ของกรดไขมันมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการทดลองที่บอกว่า กรดคอนจูเกตลิโนเลอิกมีผลต่อฮอร์โมนจากต่อมไทรอยด์และเพิ่มระดับ insulin ในร่างกาย ซึ่งทำให้ anabolic rate ของการสังเคราะห์โปรตีนเพิ่มขึ้น [41]

## 2.2 พอลิแลคติก แอซิด (Polylactic acid)

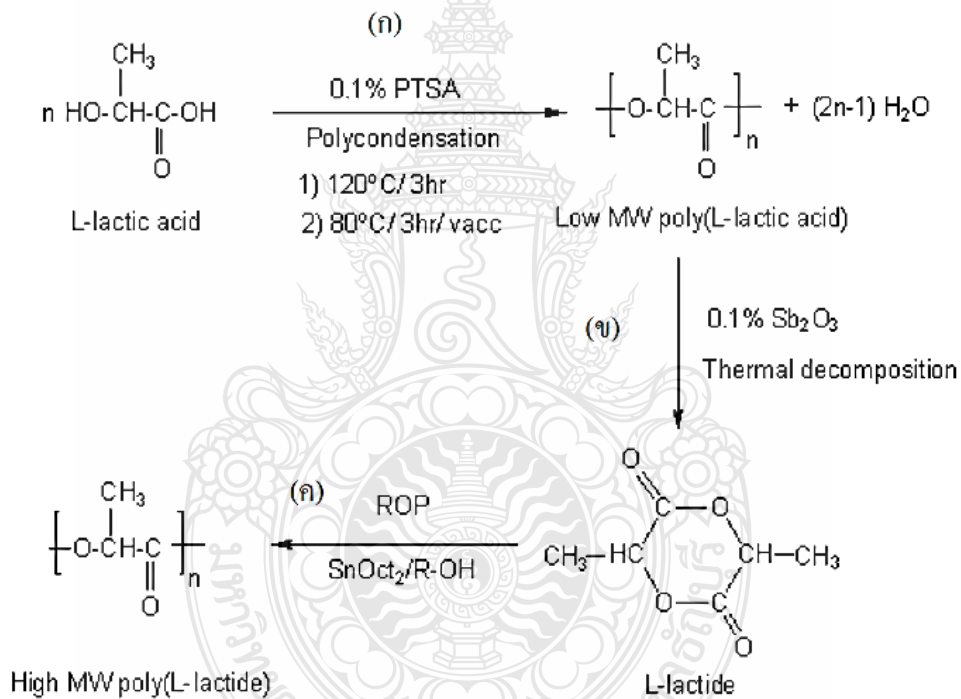
พอลิแลคติก แอซิด เป็นพอลิเมอร์ที่ค้นพบตั้งแต่ปี ค.ศ. 1932 โดย Wallace Carothers ซึ่งได้ทำการผลิตพอลิแลคติก แอซิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ โดยให้ความร้อนกับกรดแลคติกภายใต้สภาวะสุญญากาศและได้จดสิทธิบัตรในปี ค.ศ. 1954 ในนามของบริษัท Dupont ในปัจจุบันมีการพัฒนากระบวนการหมักกลูโคสให้กลายเป็นกรดแลคติก (Lactic acid) อย่างง่ายขึ้น ซึ่งมีต้นทุนในการผลิตที่ต่ำทำให้พอลิแลคติก แอซิดเป็นพอลิเมอร์ที่มีความน่าสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ และวัสดุต่างๆ เพื่อทดแทนพอลิเมอร์ที่ไม่สามารถย่อยสลายเองได้ตามธรรมชาติที่ใช้กันในปัจจุบัน [21]

พอลิแลคติก แอซิดเป็นเทอร์โมพลาสติกในกลุ่มของพอลิเอสเทอร์ที่สามารถย่อยสลายเองได้ตามธรรมชาติที่มีความต้านแรงดึงที่สูง และยังสามารถนำกลับมาขึ้นรูปใหม่ โดยในอุตสาหกรรมนิยมนำมาใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ ทางด้านการแพทย์ใช้เป็นวัสดุนำส่งยา และใช้ประโยชน์ทางการเกษตร [41] พอลิแลคติก แอซิดมีสูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.7 สูตรโครงสร้างของพอลิแลคติกแอซิด [42]

กรดแลคติกที่เป็นผลิตภัณฑ์ตั้งต้นในการสังเคราะห์พอลิแลคติกแอซิดที่ผลิตได้จากกระบวนการหมักแป้ง ก่อนทำการกลั่นได้กรดแลคติก 2 โมเลกุล แล้วเปลี่ยนเป็นแลคไทด์ (Lactide) โดยพอลิแลคติกแอซิดสามารถสังเคราะห์ด้วยการเปิดวง (Ring-opening Polymerization) ของแลคไทด์ [43] ดังภาพที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 ขั้นตอนการสังเคราะห์พอลิแลคติกแอซิด วิธีการควบแน่นโดยตรง (ก) การเกิดแลคไทด์ (ข) และการพอลิเมอไรเซชันแบบเปิดวง (ค) [44]

เนื่องจากมีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและเป็นพอลิเมอร์ที่เข้ากันได้ทางชีวภาพทำให้พอลิแลคติกแอซิดสามารถใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหารได้ ซึ่งสัมผัสกับอาหารได้โดยตรง โดยไม่ปล่อยสารปนเปื้อนลงสู่อาหาร นอกจากนี้สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ในรูปของการรีไซเคิล [21] พอลิแลคติกแอซิดสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพันธะเอสเทอร์ สามารถย่อยสลายได้ทั้งระบบที่มีเอนไซม์และไม่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา [45] อัตราการย่อยสลายจะขึ้นอยู่กับมวลโมเลกุล ขนาดและรูปร่างของวัสดุ โครงสร้างผลึก อุณหภูมิในการไฮโดรไลซิส และอัตราส่วนของไฮ

โซเมอร์ [46] ปกติระยะเวลาเวลาในการย่อยสลายพอลิแลคติกแอซิดจะใช้เวลาประมาณ 6 เดือนถึง 2 ปี เปรียบเทียบกับพลาสติกที่ใช้ในปัจจุบันที่ต้องใช้เวลาถึง 500-1000 ปี [43] เป็นเทอร์โมพลาสติกกึ่งผลึกหรือไม่ก็เป็นอสัณฐาน ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของโมเลกุลสามมิติ (Stereochemistry) มีอุณหภูมิคล้ายแก้ว (Glasstransition Temperature,  $T_g$ ) 50 – 60 องศาเซลเซียส และจุดหลอมเหลว (Melting Temperature,  $T_m$ ) 130 – 230 องศาเซลเซียส ขึ้นอยู่กับโครงสร้างและลักษณะของการใช้งาน ในกระบวนการผลิตจึงต้องใช้อุณหภูมิประมาณ 185-190 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิไม่เหมาะสมจะทำให้เกิดการเสียดสภาพอันเนื่องมาจากอุณหภูมิที่สูงเกินไป [47] พอลิแลคติก แอซิดสามารถละลายได้ใน ไคคลอโรฟอร์ม เททราไฮโดรฟูแรน เบนซีน เดทราไฮโดรฟูแรน เป็นต้น พอลิแลคติก แอซิดที่มีความเป็นผลึกสูงจะละลายได้ช้ากว่า แบบอสัณฐาน มีน้ำหนักเบา ยืดหยุ่นดี ทนความร้อน ไม่มีกลิ่น สามารถย่อยสลายได้ภายใน 4-5 สัปดาห์ ภายใต้สภาวะการให้ความร้อน ความชื้น และมีจุลินทรีย์ โดยจะสลายกลายเป็น น้ำ และคาร์บอนไดออกไซด์

พอลิแลคติก แอซิดสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน ด้านการแพทย์ เช่น วิศวกรรมเนื้อเยื่อ ไหมเย็บแผล อุปกรณ์สำหรับยึดกระดูก และการปลดปล่อยตัวยา ด้านการเกษตร เช่น ใช้เป็นภาชนะปลูกพืช วัสดุห่อหุ้มและปลดปล่อยยาฆ่าแมลง ยาฆ่าวัชพืชหรือปุ๋ยตามเวลาที่กำหนด ด้านบรรจุภัณฑ์ บรรจุภัณฑ์ที่ใช้แล้วทิ้ง เช่น ภาชนะบรรจุ อาหาร ขวดน้ำ ถุงพลาสติก กล่องโฟม และฟิล์มสำหรับหีบห่อ ด้านเส้นใย เช่น ผลิตภัณฑ์ทอผ้าฝ้าย ผ้าอ้อม สำเร็จรูป เสื้อผ้าเครื่องนุ่งห่ม และเส้นใยสำหรับบรรจุในเครื่องนอน ด้านยานยนต์ เช่น ใช้ทำอุปกรณ์ลดแรงกระแทก (Bumpers) แผ่นรองพื้น และอุปกรณ์ตกแต่งภายใน ด้านอิเล็กทรอนิกส์ และการสื่อสาร เช่น ใช้ทำชิ้นส่วนประกอบในโทรศัพท์เคลื่อนที่ ชิ้นส่วนประกอบในคอมพิวเตอร์ แผ่นซีดี และด้าน อื่น ๆ ใช้ทำอุปกรณ์เครื่องเขียน บัตรพลาสติก ผลิตภัณฑ์ใช้ในบ้านเรือน สารเคลือบกระดาษ สาร ยึดติด ท่อพลาสติกชั่วคราว เป็นต้น [48]

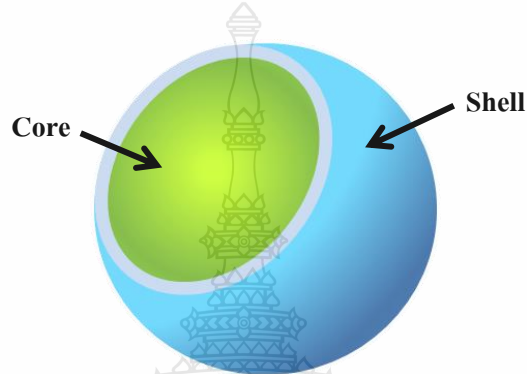
การสลายตัวของพอลิแลคติก แอซิด เกิดจากการขาดของสายโซ่หลักหรือสายโซ่ด้านข้างของโมเลกุล ในธรรมชาติการสลายตัวเกิดจากการถูกกระตุ้นด้วยความร้อน ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส หรือกิจกรรมทางชีวภาพต่างๆ เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชัน เอนไซม์ แสง (Photolysis) และรังสี (Radiolysis) เนื่องจากการสลายตัวเกิดขึ้นได้ทั้งจากกระบวนการทางชีวภาพและกายภาพ กลไกการสลายตัวจึงมักเกี่ยวข้องไปกับการสลายตัวจากสิ่งแวดล้อม โดยการสลายตัวของพอลิแลคติก แอซิดขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ หลายประการ เช่น ระดับความเป็นผลึก น้ำหนักโมเลกุล อุณหภูมิ ความบริสุทธิ์ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความเข้มข้นของเกลือ ปริมาณออกซิเจน หรือปริมาณอาหารสำหรับจุลินทรีย์ ดังนั้น ในการทดสอบการสลายตัวของพอลิแลคติก แอซิด จึงต้องพิจารณาปัจจัยต่างๆ ประกอบด้วย นอกจากนี้การสลายตัวยังขึ้นอยู่กับลักษณะเฉพาะทางกายภาพ และเคมี เช่น อัตราการแพร่ สัณฐาน ความเป็นรูพรุน และความแข็งแรงทางกล เป็นต้น โดยพอลิแลคติก แอซิด จะสลายตัวให้คาร์บอนไดออกไซด์ออกมา และน้ำ ที่อยู่ในสภาวะการหมัก ภายใน 90 วัน และการที่พอลิแลคติก แอซิดถูกไฮโดรไลซิสในน้ำร้อนหรือไอน้ำทำให้แลคติก แอซิด ซึ่งเป็นมอนอเมอร์สามารถนำกลับไปใช้สังเคราะห์พอลิเมอร์ขึ้นใหม่ได้



## 2.3 การเอนแคปซูลเลชัน (Encapsulation)

การเอนแคปซูลเลชันเทคนิคถูกพัฒนาขึ้นในปี ค.ศ. 1950 จากงานวิจัยในอุตสาหกรรมอาหารพิมพ์ [49] ซึ่งในปัจจุบันได้รับความนิยมและยอมรับในด้านเภสัชกรรม ทางเคมี ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง อุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมอาหารพิมพ์ [50]

การเอนแคปซูลเลชันเป็นเทคนิคที่ใช้วัสดุมาล้อมรอบ กักเก็บ ห่อหุ้ม หรือยึดจับสารองค์ประกอบที่ต้องการเก็บรักษาเอาไว้ มีส่วนประกอบที่สำคัญอยู่ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นเปลือก (Shell) และส่วนที่ต้องการหุ้มหรือแกนกลาง (Core) ดังภาพที่ 2.9

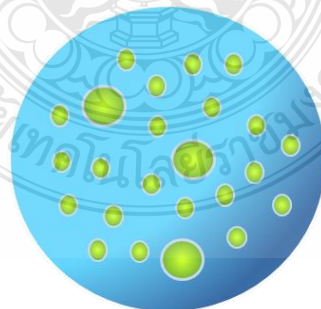


ภาพที่ 2.9 แสดงลักษณะของพอลิเมอร์แคปซูล

2.3.1 ชนิดของพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ด้วยเทคนิคการเอนแคปซูลเลชัน [51]

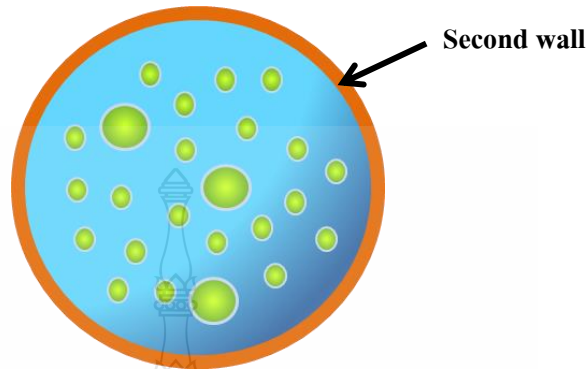
2.3.1.1 พอลิเมอร์แคปซูลแบบแกนเดี่ยว (Single core) เป็นรูปแบบของพอลิเมอร์แคปซูลที่มีการแยกวิภาคกันอย่างสมบูรณ์ระหว่างพอลิเมอร์แคปซูลและสารที่ต้องการกักเก็บ แกนของพอลิเมอร์แคปซูลที่ได้จึงมีแกนเดี่ยว แสดงดังภาพที่ 2.9

2.3.1.2 พอลิเมอร์แคปซูลแบบหลายแกน (Multi-core) หรือเมทริกซ์ เอนแคปซูลเลชัน (Matrix encapsulation) เป็นรูปแบบพอลิเมอร์แคปซูลที่มีการแยกวิภาคกันไม่สมบูรณ์ระหว่างพอลิเมอร์กับสารที่ต้องการกักเก็บ แสดงดังภาพที่ 2.10



ภาพที่ 2.10 แสดงลักษณะของพอลิเมอร์แคปซูลหลายแกน

2.3.1.2 พอลิเมอร์แคปซูลที่มีผนังหลายชั้น (Multi-wall) เป็นรูปแบบพอลิเมอร์แคปซูลที่มีเปลือก 2 ชั้น ทำให้สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารในสภาวะที่ต้องการได้ แสดงดังภาพที่ 2.11



ภาพที่ 2.11 แสดงลักษณะของพอลิเมอร์แคปซูลแบบเมทริกซ์ เอนแคปซูลชั้นที่มีการเคลือบผิว 2 ชั้น

### 2.3.2 เทคนิคการเอนแคปซูลชั้น

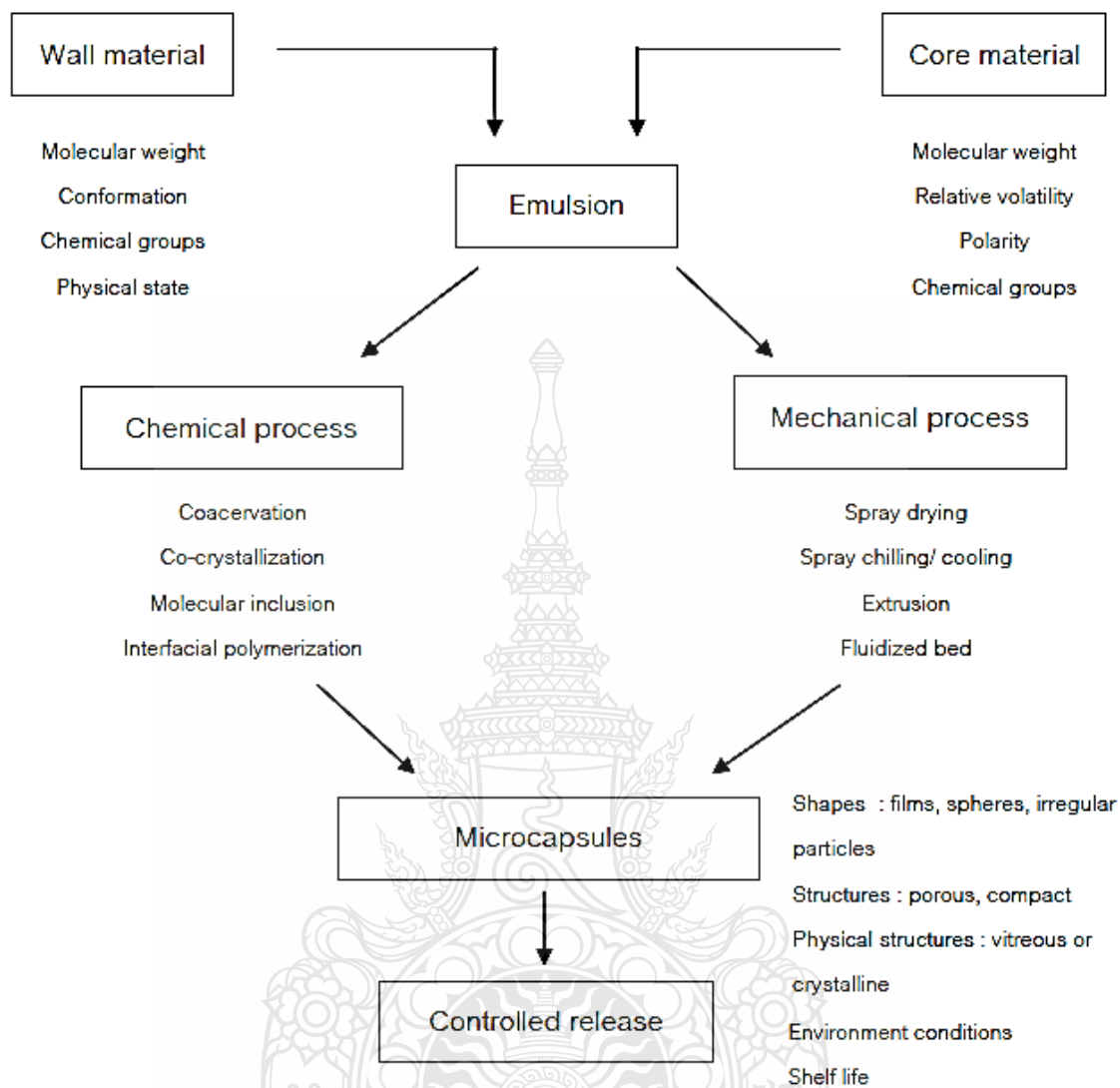
เทคนิคการเอนแคปซูลชั้น สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ การเอนแคปซูลชั้นวิธีทางกายภาพ (Physical process หรือ Mechanical process) และวิธีการทางเคมี (Chemical process) แสดงดังภาพที่ 2.12 [52, 53] ซึ่งการเลือกเทคนิคในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลขึ้นอยู่กับสารแกนกลาง พอลิเมอร์ที่เป็นเปลือก และการนำไปประยุกต์ใช้งาน

2.3.2.1 การเอนแคปซูลชั้นโดยวิธีทางกายภาพ ได้แก่ ทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying) ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) เทคนิคฟลูอิดไดซ์เบด (Fluidized bed coating) สเปรย์ชิลลิ่ง (Spray chilling) ฟลูอิดไดซ์เบด (Fluidised bed) และเอ็กซ์ทรูชัน (Extrusion) เป็นต้น [52]

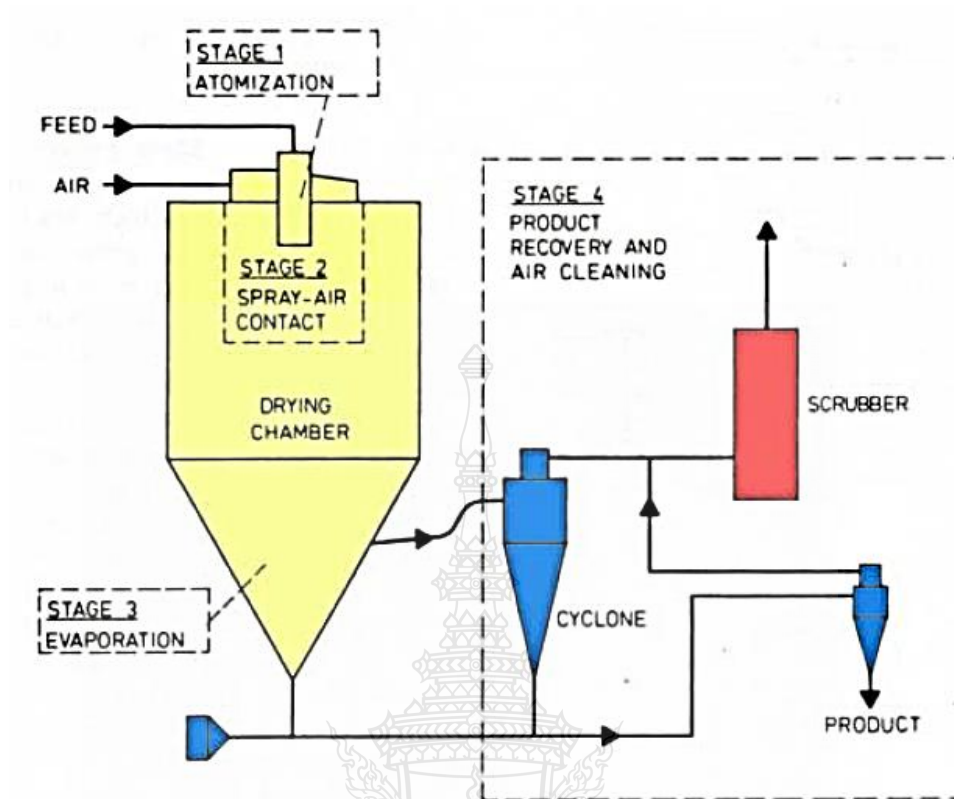
1) การทำแห้งแบบพ่นฝอย เป็นวิธีทำแห้งที่ใช้ความร้อนในการกำจัดน้ำหรือตัวทำละลายออก เริ่มต้นผสมพอลิเมอร์และสารแกนกลางให้เป็นเนื้อเดียวกันภายใต้แรงเฉือนสูง จากนั้นจะถูกป้อนเข้าสู่เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย ก่อนถูกฉีดพ่นเป็นละอองฝอย (Droplet) ให้สัมผัสกับลมร้อนที่มีอุณหภูมิสูงมาก ซึ่งทำให้ความชื้นหรือตัวทำละลายถูกระเหยออกไปอย่างรวดเร็ว และได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นพอลิเมอร์แคปซูล แต่เทคนิคนี้มีข้อจำกัดคือต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาสูงและมีขั้นตอนในการเตรียมที่ค่อนข้างยุ่งยาก ซึ่งตัวอย่างของกระบวนการแสดงดังภาพที่ 2.24

2) การเคลือบโดยใช้เทคนิคฟลูอิดไดซ์เบด เป็นเทคนิคการเคลือบผิวอนุภาคของแข็ง โดยในการทำแห้ง (Dehydration) ที่ใช้ลมร้อนเป่าผ่านชั้นของอนุภาคทำให้อนุภาคลอยตัวเป็นอิสระ เกิดการคลุกเคล้าและสัมผัสกับลมร้อนอย่างสม่ำเสมอ มีอัตราการถ่ายเทความร้อนและมวลสูง สามารถ ลดความชื้นและระเหยตัวทำละลายของอนุภาคได้อย่างรวดเร็ว โดยสามารถควบคุมความหนาของผิวเคลือบได้จากระยะเวลาที่อนุภาคลอยตัวเป็นอิสระ ได้พอลิเมอร์แคปซูลขนาดประมาณ 5-500 ไมโครเมตร

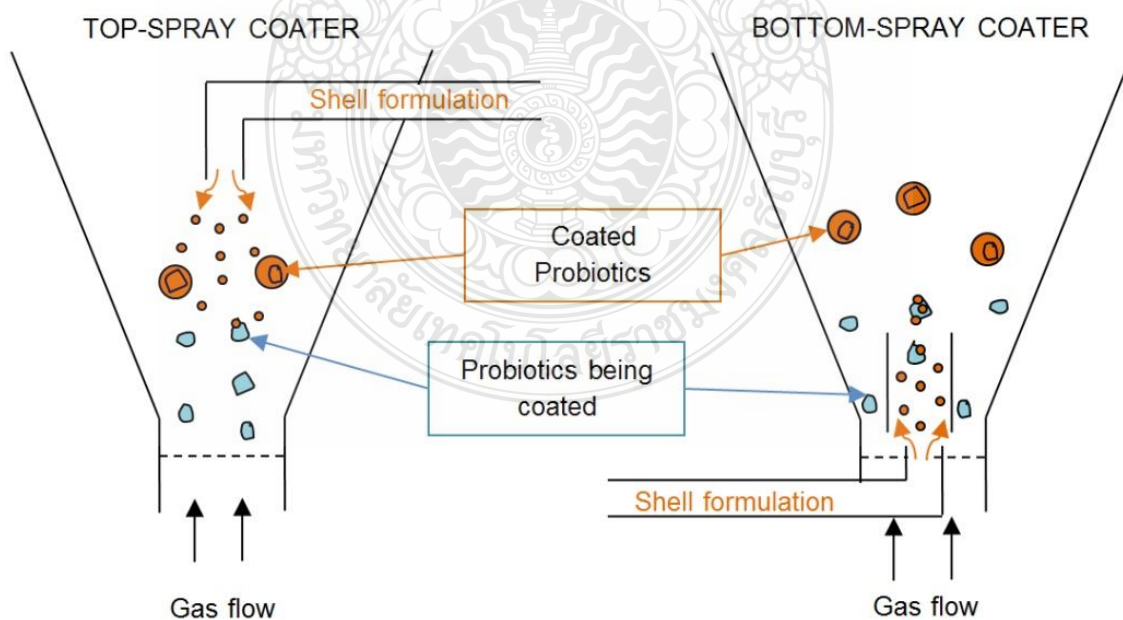




ภาพที่ 2.12 แสดงขั้นตอนและวิธีการต่างๆในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูล [52]



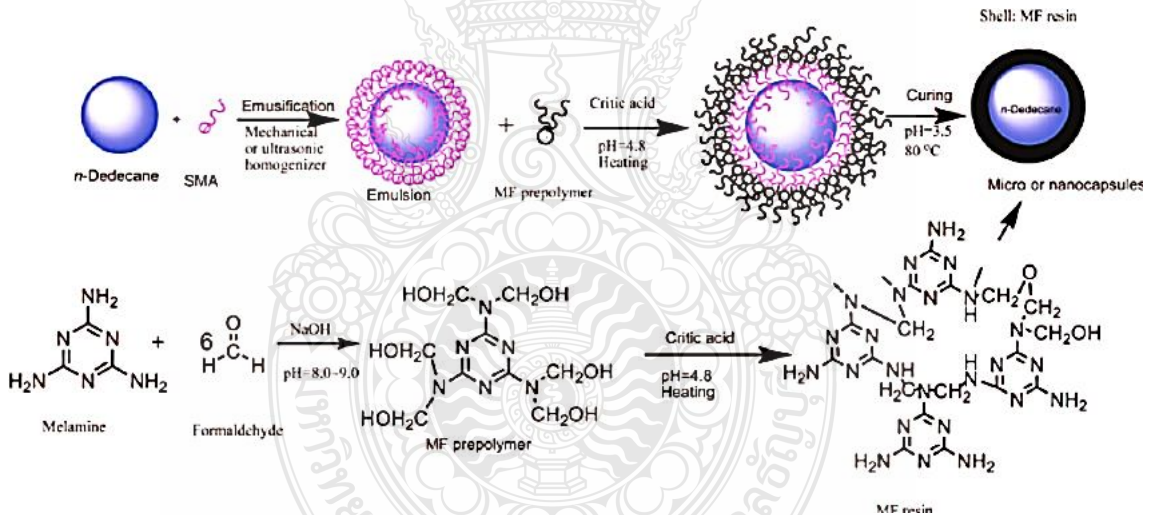
ภาพที่ 2.13 การเอนแคปซูลเซลล์ด้วยเทคนิคการพ่นแห้ง [54]



ภาพที่ 2.14 การเคลือบผิวโดยใช้เทคนิคฟลูอิดไดซ์เบด [55]

2.3.2.2 การเอนแคปซูลชันด้วยวิธีทางเคมี ได้แก่ การพอลิเมอร์ไรเซชันระหว่างรอยต่อที่ผิว (Interfacial polymerization) โคอะเซอร์เวชัน (Coacervation) การสังเคราะห์จากมอนอเมอร์ (Monomer polymerization) โดยใช้กลไกการแยกตัวภาคภายใน การสังเคราะห์พอลิเมอร์ในระบบกระจาย (Polymerization in dispersed system) และเทคนิคอิมัลชันหรือการระเหยตัวทำละลาย (Emulsion หรือ Solvent evaporation) เป็นต้น

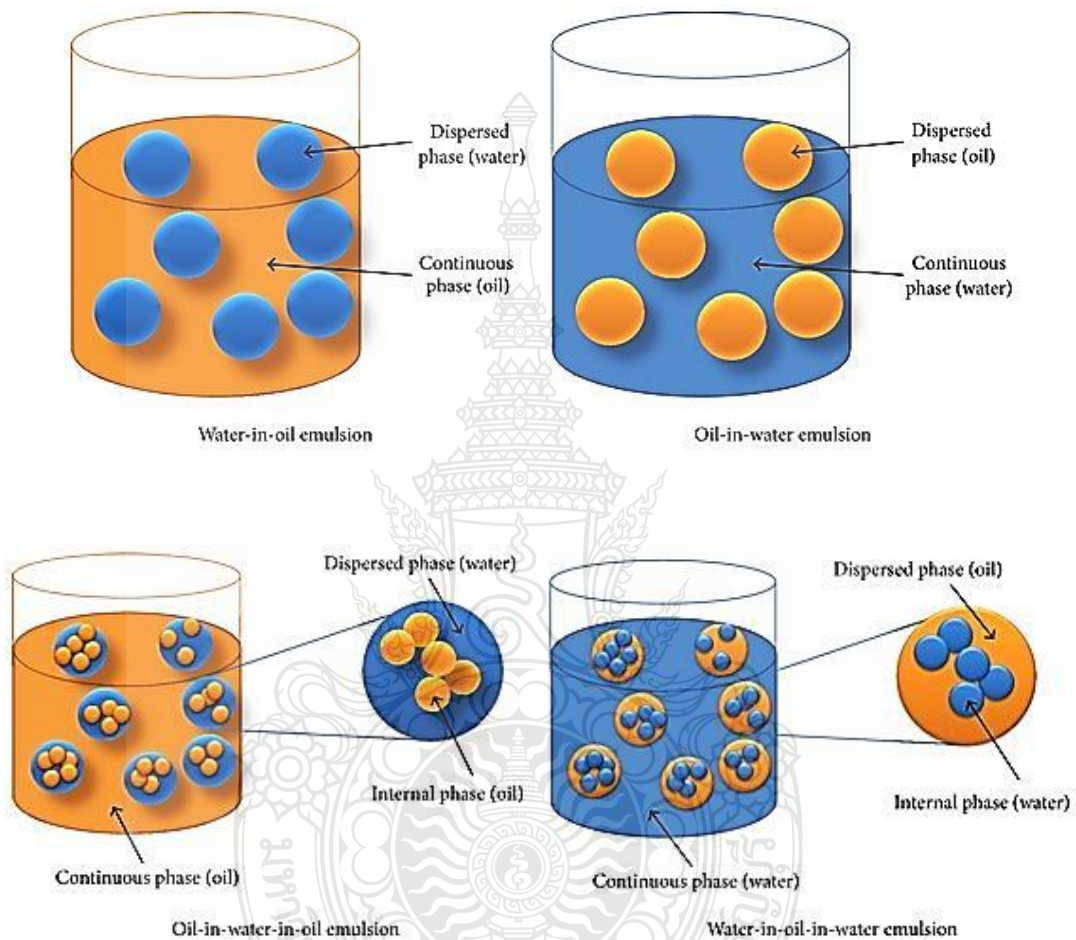
1) การพอลิเมอร์ไรเซชันระหว่างรอยต่อที่ผิว แบ่งเป็น 2 เทคนิคคือ แบบอินซิทูพอลิเมอร์ไรเซชัน (In situ polymerization) และแบบควบแน่นพอลิเมอร์ไรเซชัน (Condensation polymerization) ซึ่งทั้ง 2 เทคนิคมีหลักการที่แตกต่างกันคือ การเตรียมแคปซูลแบบควบแน่นพอลิเมอร์ไรเซชันประกอบด้วยมอนอเมอร์ที่มีความไม่ชอบน้ำละลายกับสารแกนกลาง ทำให้เป็นหยดที่อยู่ในระบบกระจาย จะเริ่มเกิดการพอลิเมอร์ไรเซชันที่รอยต่อผิวของมอนอเมอร์เมื่อเติมมอนอเมอร์ที่มีความชอบน้ำกับตัวริเริ่มปฏิกิริยาลงในระบบ [56] ส่วนการเตรียมแคปซูลแบบอินซิทูพอลิเมอร์ไรเซชันจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกจะทำการสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่ใช้เป็นเปลือกในการหุ้มสารแกนกลาง และส่วนที่สองจะทำการเตรียมสารแกนกลางให้เป็นหยดอยู่ในระบบกระจาย จากนั้นนำทั้ง 2 ส่วนมาทำการผสมและปรับสภาพที่เหมาะสมโดยอาศัยความแตกต่างระหว่างประจุทั้งสองส่วน ดังภาพที่ 2.15



ภาพที่ 2.15 การเอนแคปซูลชันด้วยเทคนิคอินซิทูพอลิเมอร์ไรเซชัน [57]

2) การเตรียมแคปซูลด้วยการระเหยตัวทำละลายในระบบอิมัลชัน เป็นเทคนิคที่ง่าย ใช้เครื่องมือที่มีราคาไม่สูงมาก เหมาะแก่การนำไปประยุกต์ใช้งานในอุตสาหกรรมขนาดเล็ก ๆ ได้ อิมัลชันประกอบด้วยส่วนของน้ำมันกับน้ำที่ไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (Immiscible liquids) ซึ่งจะกระจายตัวอยู่ในรูปแบบของอนุภาค (ภาพที่ 4) ในอาหารส่วนใหญ่จะมีขนาดอนุภาคระหว่าง 0.1–100 ไมครอน [58, 59] อิมัลชันยังแบ่งกลุ่มได้โดยใช้ชั้นน้ำมันและชั้นน้ำเป็นเกณฑ์ คือ ระบบที่ประกอบด้วยหยดน้ำมันกระจายตัวอยู่ในชั้นน้ำ เรียกระบบอิมัลชันนี้ว่า อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (Oil in Water, O/W) และในทางตรงกันข้าม ระบบที่ประกอบด้วยหยดน้ำกระจายตัวอยู่ในชั้นน้ำมัน เรียกระบบอิมัลชันนี้ว่าอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (Water in Oil, W/O) นอกจากนี้ยังมีระบบอิมัลชันเชิงซ้อน ซึ่ง

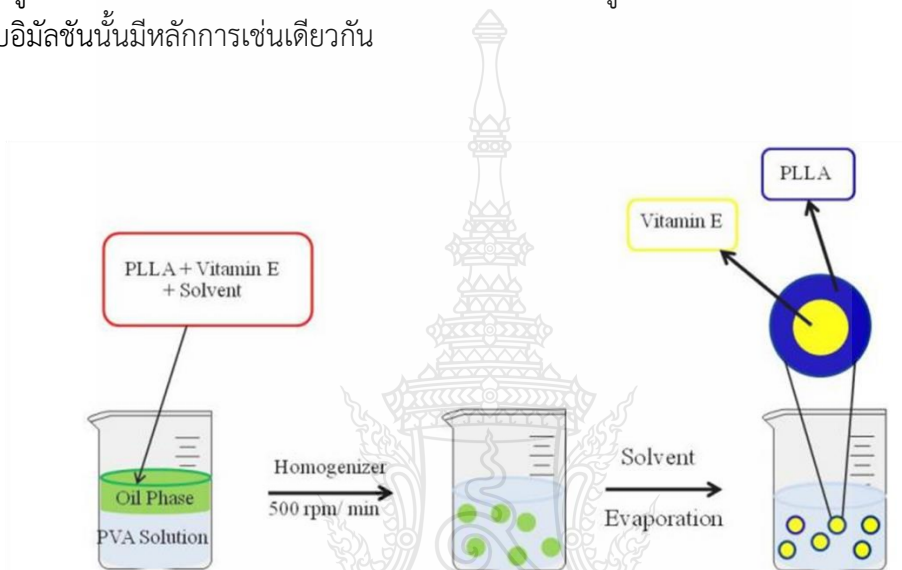
แบ่งเป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำในน้ำมัน (Oil in Water in Oil,  $O_1/W/2$ ) และอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันในน้ำ (Water in Oil in Water,  $W/O/W$ ) [60, 61] ซึ่งลักษณะของอิมัลชันรูปแบบต่างๆ แสดงดังภาพที่ 2.16



ภาพที่ 2.16 แสดงลักษณะของอิมัลชันรูปแบบต่างๆ [62]

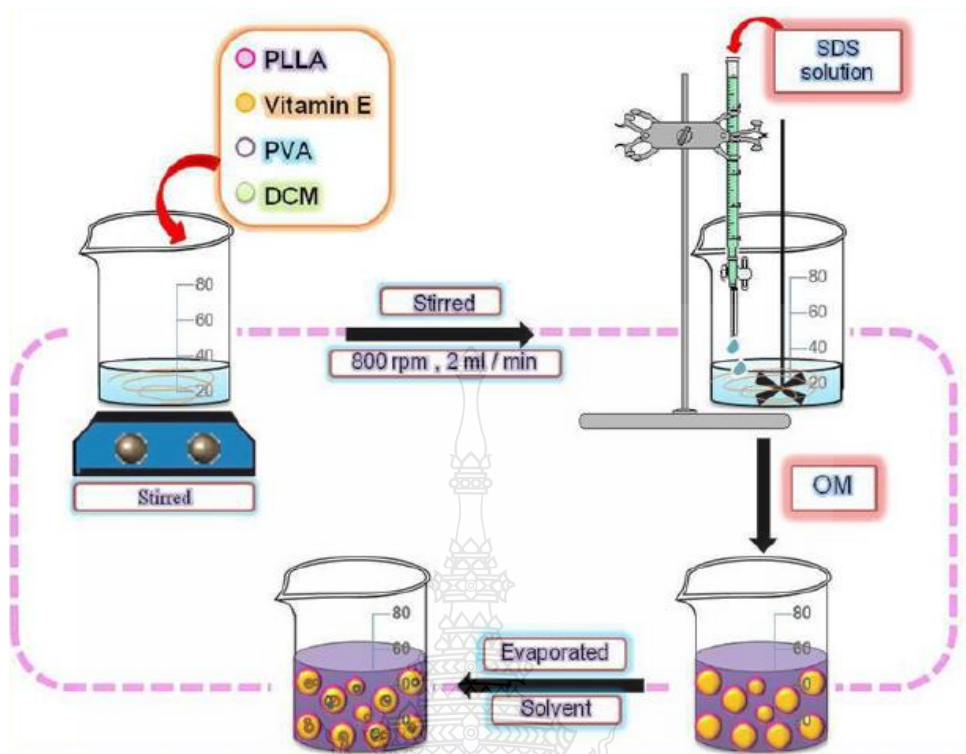
ซึ่งการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลประกอบด้วยวิธีการเตรียมหยดสารอินทรีย์ 2 แบบ คือการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบดั้งเดิม และการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบกลับวัฏภาค เช่น การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลที่กักเก็บวิตามินอี ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย ที่ใช้เทคนิคการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบดั้งเดิม [63] ดังภาพที่ 2.17 เริ่มต้นนำพอลิแอลแลคติกแอซิดและวิตามินอี ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันในตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมแล้วนำไปผสมกับสารละลายของสารลดแรงตึงผิว จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์เป็นเวลา 5 นาที จะได้อิมัลชันของสารละลายอินทรีย์ที่ประกอบด้วย พอลิแอลแลคติกแอซิด/วิตามินอี/ตัวทำละลายที่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปประเหยตัวทำละลายออกจะได้พอลิเมอร์แคปซูล ที่มีพอลิแอลแลคติกแอซิดเป็นเปลือกหุ้มวิตามินอี

โดยที่พอลิแอลแลคติกแอซิดมีความชอบน้ำมากกว่าวิตามินอี จึงเคลื่อนที่มาเป็นเปลือกหุ้มวิตามินอีอยู่ภายใน ซึ่งเทคนิคนี้ จะต้องเลือกพอลิเมอร์ที่มีความชอบน้ำมากกว่าสารแกนกลาง พอลิเมอร์แคปซูลที่ได้จะมีขนาดอยู่ในระดับไมโครเมตรและมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่กว้าง หากต้องการให้พอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้มีขนาดของอนุภาคที่เล็กลงและมีการกระจายตัวที่แคบสามารถใช้เทคนิคการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบกลับวัฏภาคในการเตรียมหยดสารอินทรีย์ควบคู่กับเทคนิคการระเหยตัวทำละลายได้ ดังภาพที่ 2.18 ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกในการเตรียมแคปซูล แต่จะมีประสิทธิภาพการหุ้มไม่สูงมากนัก โดยหลักการในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลทั้งแบบน้ำมันในน้ำ และน้ำในน้ำมันในระบบอิมัลชันนั้นมีหลักการเช่นเดียวกัน



ภาพที่ 2.17 แสดงการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มวิตามินอีด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย ด้วยการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบดั้งเดิม [63]





ภาพที่ 2.18 แสดงการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มวิตามินอีด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย ด้วยการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบกลับวัฏภาค [64]

สำหรับหลักการในการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อน คือ การใช้กระบวนการเตรียมอิมัลชันสองขั้นตอน (Two-step emulsification) โดยใช้อิมัลซิไฟเออร์ 2 ชนิดด้วยกัน ชนิดแรกเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่มีความชอบน้ำมัน (Lipophilic emulsifier) ที่มีค่า HLB (Hydrophilic lipophilic balance) ต่ำ ใช้ในขั้นตอนการสร้างอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (Water-in-oil, W/O) และชนิดที่สองเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่มีความชอบน้ำ (Hydrophilic emulsifier) ที่มีค่า HLB สูง ใช้ในขั้นตอนการสร้างอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (Oil-in-water, O/W) อิมัลชันที่เตรียมได้จากการใช้แรงเฉือนที่สูงด้วยวิธีอัลตราโซนิก (Ultrasonification) หรือการโฮโมจีไนเซชัน (Homogenization) ในขั้นที่สองในการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อนนั้นจะใช้แรงเฉือนที่น้อยกว่าเพื่อป้องกันการแตก (Rupture) ของอนุภาคอิมัลชัน [61, 65]

## 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากงานวิจัยที่ผ่านมาการเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายเป็นที่นิยมในการนำมาเก็บสารสำคัญเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านอุตสาหกรรมต่าง ๆ มากมาย เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ง่าย ต้นทุนในการผลิตต่ำ โดยพอลิเมอร์ที่นำมาใช้เป็นเปลือกนั้นมีให้เลือกใช้มากมายตามความเหมาะสม แต่ที่นิยมใช้กันในปัจจุบันจะเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม คือ พอลิแอลแลคติก แอซิด การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มปุ๋ยยูเรีย [56] ใน

ระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ โดยใช้พอลิเมอร์ชีวภาพเป็นเปลือกหุ้มปุ๋ยยูเรียที่มีความชอบน้ำมากกว่าน้ำมัน พบว่าพอลิเมอร์มีน้ำหนักโมเลกุลสูงทำให้ปุ๋ยยูเรียเกิดการปลดปล่อยช้า ในทางตรงกันข้ามน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ต่ำการปลดปล่อยปุ๋ยยูเรียจะเพิ่มขึ้น มีการศึกษาการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มวิตามินอีในระบบน้ำมันในน้ำ [63] โดยใช้พอลิแอลแลคติก แอซิดเป็นเปลือก พบว่าปริมาณวิตามินอีที่อยู่ในพอลิเมอร์แคปซูลมีปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณเริ่มต้น ซึ่งการเตรียมอิมัลชันที่มีความเสถียรทางคอลลอยด์นั้นมีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงคือ สารลดแรงตึงผิวหรืออิมัลซิฟายเออร์ Tetty Kemala และคณะ ได้ศึกษาการเตรียมไมโครสเฟียร์ในระบบอิมัลชันของน้ำมันในน้ำโดยใช้เทคนิคการระเหยตัวทำละลาย พบว่าเมื่อศึกษาปริมาณของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่เป็นสารลดแรงตึงผิวสามารถเตรียมไมโครสเฟียร์ที่มีขนาดที่สม่ำเสมอได้ [66] Sanjeep K. Sahoo และคณะได้ศึกษาเกี่ยวกับการใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เป็นอิมัลซิฟายเออร์ในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลที่มีอนุภาคขนาดนาโนของพอลิแลคไทด์และพอลิ (D,L-แลคไทด์-โค-ไกลโคไลด์) (PLGA) [67] ซึ่งวิธีการนี้สามารถเตรียมอิมัลชันได้หลายระบบขึ้นอยู่กับสารแกนกลางว่าละลายได้ดีในน้ำมันหรือน้ำ ถ้าสารแกนกลางชอบละลายในน้ำมันจะนิยมเตรียมให้อยู่ในระบบน้ำมันในน้ำ ส่วนสารแกนกลางที่ชอบละลายในน้ำจะนิยมเตรียมในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ แต่เทคนิคนี้จะมีการสูญเสียสารแกนกลางไปบางส่วนในระหว่างขั้นตอนการทดลอง จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพในการหุ้มลดน้อยลง

จากงานวิจัยข้างต้นจะเห็นว่ามีประสิทธิภาพในการหุ้มสารสำคัญที่ต่ำ และพอลิแอลแลคติกแอซิดมีความจำเพาะกับสภาพขี้ของสารสำคัญ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะพัฒนาวิธีการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครและนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญที่มีสภาพขี้แตกต่างกันให้มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสูง เพื่อสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางอุตสาหกรรมได้



## บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน

### 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

#### 3.1.1 สารเคมี

| สารเคมี   | เกรด               | ยี่ห้อ                              |
|---|--------------------|-------------------------------------|
| 1. พอลิแลคติกแอซิด แอซิด<br>(Poly(l-lactic) acid; PLLA)                                     | Commercial Grade   | B.C. Polymers Marketing Co.,<br>Ltd |
| 2. พอลิไวนิลแอลกอฮอล์<br>(Polyvinyl alcohol; PVA)   | Analytical reagent | Sigma-Aldrich                       |
| 3. เควอซิทิน<br>(Quercetin)   | Analytical reagent | Sigma-Aldrich                       |
| 4. กรดลิโนเลอิก<br>(Linoleic acid)  | Analytical reagent | Sigma-Aldrich                       |
| 5. เคอคูมิน<br>(Curcumin)   | Commercial Grade   | Sigma-Aldrich                       |
| 6. ไดคลอโรมีเทน<br>(Dichloromethane; DCM)   | Analytical reagent | RCI Lab Scan                        |
| 7. ไดเมทิลฟอร์มามาร์ไมด์<br>(Dimethylformamide; DMF)  | Analytical reagent | RCI Lab Scan                        |
| 8. เอทิล แอลกอฮอล์<br>(Ethyl alcohol; EtOH)   | Analytical reagent | RCI Lab Scan                        |
| 9. โซเดียมฟอสเฟตไดเบสิก<br>(Sodium phosphate dibasic;<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) | Analytical reagent | Sigma-Aldrich                       |



### 3.1.1 สารเคมี (ต่อ)

| สารเคมี   | เกรด               | ยี่ห้อ        |
|---|--------------------|---------------|
| 10. โมโนโซเดียม ฟอสเฟต<br>(Monosodium phosphate;<br>NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )      | Analytical reagent | Sigma-Aldrich |
| 11. สเปน 80<br>(Sorbitan monooleate;<br>Span <sup>®</sup> 80)                               | Lab grade          | Fluka         |
| 12. โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต<br>(Sodium dodecyl sulphate;<br>SDS)                               | Analytical reagent | Sigma-Aldrich |
| 13. ดีเอ็มเอ็ม<br>(Dulbecco's Modified Eagle<br>Medium; DMEM)                               | Cell Culture       | Gibco         |
| 14. เอฟบีเอส<br>(Fetal Bovine Serum; FBS)   | Cell Culture       | Millipore     |
| 15. เพนนิซิลลิน สเตร็ปโตมัยซิน<br>(Penicillin Streptomycin;<br>Pen-strep)                   | Cell Culture       | Gibco         |
| 16. ทริปซิน-อีดีทีเอ<br>(0.25% Trypsin-EDTA)  | Cell Culture       | Gibco         |
| 17. เอ็มทีที<br>(MTT; (3-(4,5-Dimethylthiazol-<br>2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium<br>Bromide) | Cell Culture       | Thermofisher  |

### 3.1.1 สารเคมี (ต่อ)

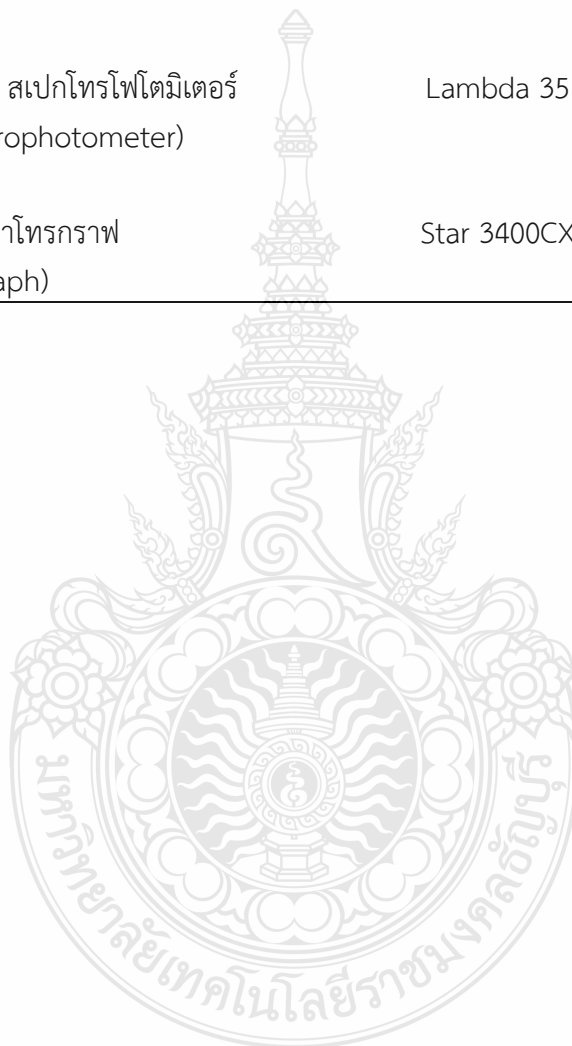
| สารเคมี   | เกรด               | ยี่ห้อ        |
|---|--------------------|---------------|
| 18. ซัคซิเนตดีไฮโดรจีเนส<br>(Succinate dehydrogenase)         | Analytical reagent | Sigma-Aldrich |
| 19. โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต<br>(Sodium dodecyl sulphate;<br>SDS) | Analytical reagent | Sigma-Aldrich |

### 3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

| เครื่องมือและอุปกรณ์  | รุ่น                        | ยี่ห้อ      |
|---|-----------------------------|-------------|
| 1. เครื่องกวนผสมแบบมีใบพัด<br>(Overhead Stirrer)                              | RW 20 digital               | IKA         |
| 2. เครื่องกวนแม่เหล็กแบบใช้ความร้อน<br>(Hotplate stirrer)                     | C-MAG HS7                   | IKA         |
| 3. เครื่องโฮโมจีไนเซอร์<br>(Homogenizer)                                      | T25 digital<br>ULTRA-TURRAX | IKA         |
| 4. เครื่องอัลตราโซนิก<br>(Ultrasonic)   | VCX130PB                    | Vibra-Cell™ |
| 5. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด<br>(Scanning electron microscopy; SEM) | JSM-6510                    | JEOL        |
| 6. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบใช้แสง<br>(Optical microscope; OM)              | SK-100EB &<br>SK-100ET      | Seek        |
| 7. เครื่องวัดขนาดอนุภาคด้วยการกระเจิงแสง<br>(Dynamic light scattering; DLS)   | Delsa nano C                | Beckman     |

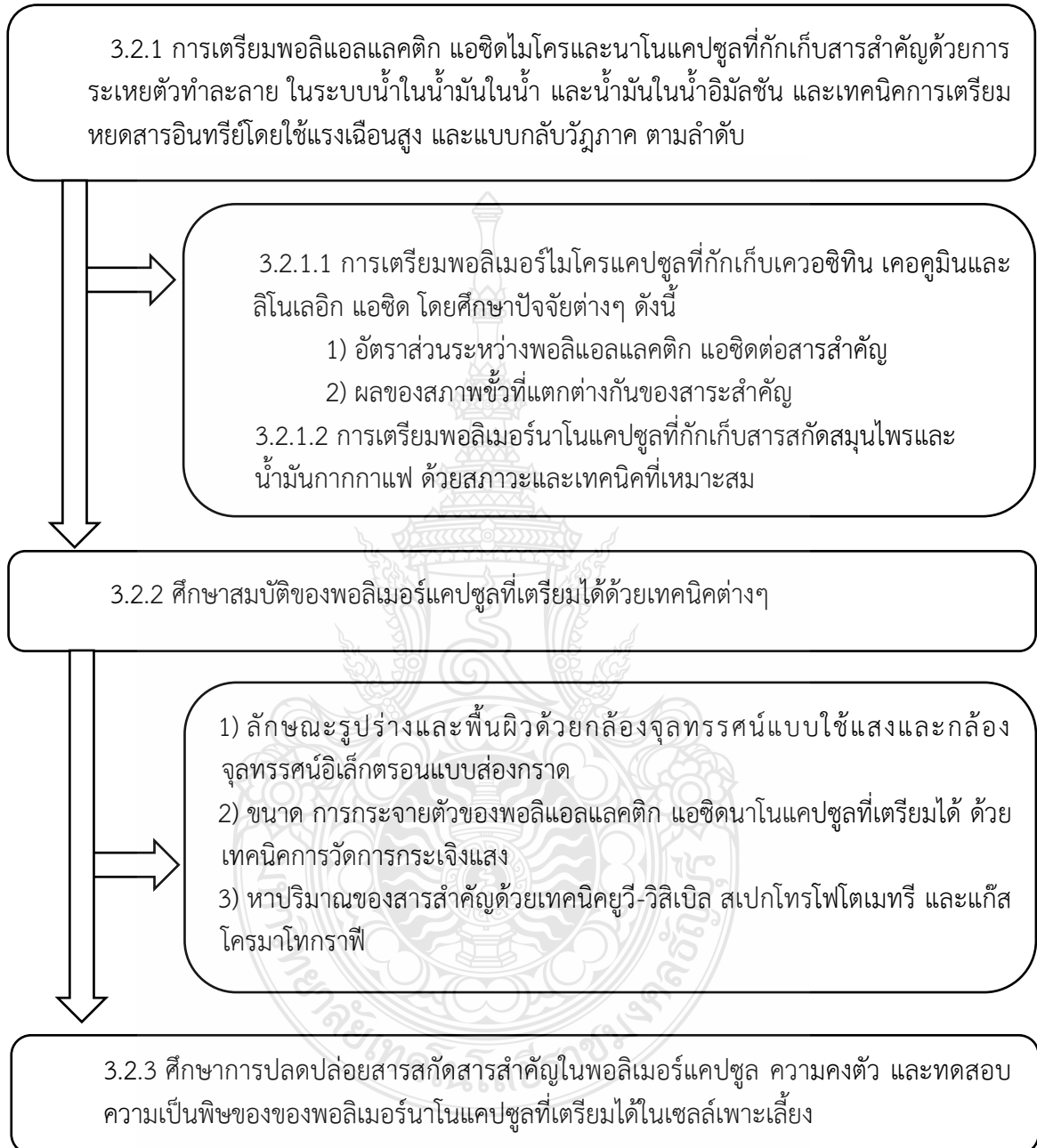
### 3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ (ต่อ)

| เครื่องมือและอุปกรณ์  | รุ่น        | ยี่ห้อ       |
|---|-------------|--------------|
| 8. เครื่องเทอร์โมกราวิเมตริก อะนาไลเซอร์<br>(Thermogravimetric analyzer; TGA) | TGA 4000    | Perkin Elmer |
| 9. ตู้อบสุญญากาศ<br>(Vacumn oven)   | DZE-6051    | DZE          |
| 10. เครื่องยูวีวิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์<br>(UV-Visible spectrophotometer)  | Lambda 35   | Perkin Elmer |
| 11. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี<br>(Gas Chromatograph)                            | Star 3400CX | Varian       |



### 3.2 แผนผังของงานวิจัย

แผนผังแสดงภาพรวมของวิธีการดำเนินงานวิจัยดังนี้

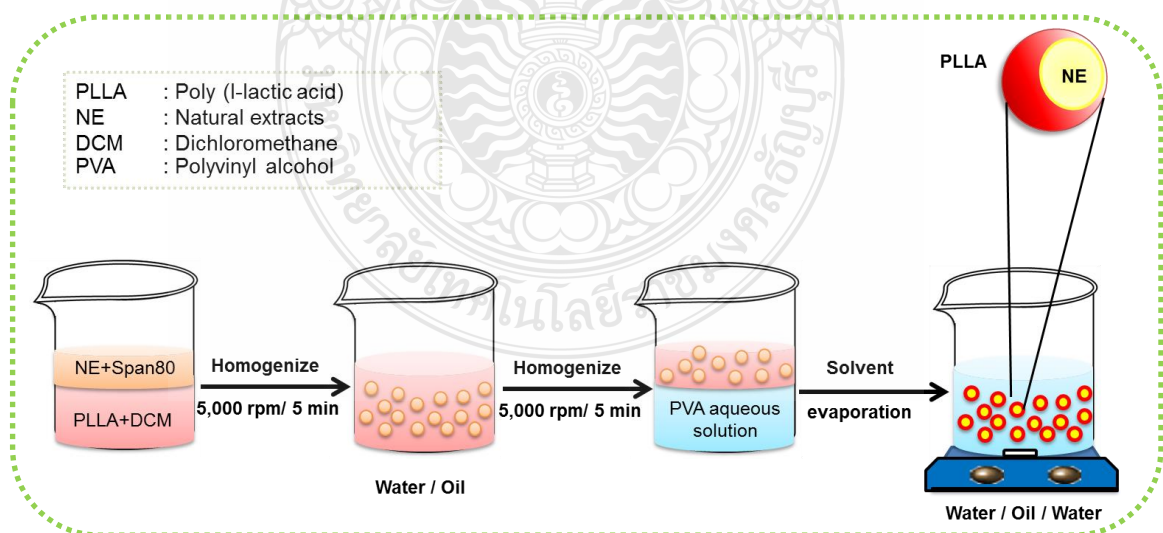


### 3.2.1 การเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครและนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญด้วยการระเหยตัวทำละลาย

ศึกษาการเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครและนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญที่มีสภาพขั้วแตกต่างกัน 3 ชนิด คือ เคอซิทิน เคอคูมิน และลิโนเลอิก แอซิด ที่เป็นตัวแทนของสารสกัดจากธรรมชาติที่มีสภาพขั้วแตกต่างกัน ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ และ น้ำมันในน้ำอิมัลชัน ในการเตรียมหยดสารอินทรีย์โดยใช้แรงเฉือนสูง และการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบกลับวัฏภาค

#### 3.2.1.1 การเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญ ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย

การเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญ ในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ ที่มีการเตรียมหยดสารอินทรีย์โดยใช้แรงเฉือนสูง ทำการผสมสารละลายของสารสำคัญในตัวทำละลายอินทรีย์กับสารลดแรงตึงผิวที่มี Hydrophilic lipophilic balance (HLB) ต่ำ เช่น Span80 เข้าด้วยกัน ทำการผสมด้วยเครื่องผสมสารละลายจะได้ชั้นของน้ำ<sub>1</sub> ผสมสารละลายของพอลิแอลแลคติก แอซิดในไดคลอโรโรมีเทนกับเข้าด้วยกัน ทำการผสมด้วยเครื่องผสมสารละลายจะได้ชั้นของน้ำมัน จากนั้นผสมชั้นของน้ำ<sub>1</sub> กับชั้นน้ำมันเข้าด้วยกัน แล้วทำการปั่นด้วยอัตราการปั่น 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จะได้อิมัลชันของหยดน้ำในน้ำมัน ซึ่งมีหยดของน้ำ<sub>1</sub>กระจายตัวอยู่ในชั้นน้ำมัน จากนั้นนำอิมัลชันน้ำในน้ำมันผสมกับชั้นของสารละลายของสารลดแรงตึงผิวหรือชั้นน้ำ<sub>2</sub> แล้วทำการปั่นด้วยอัตราการปั่น 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จะได้อิมัลชันของหยดน้ำในน้ำมันในน้ำ สุดท้ายทำการปั่นจนอย่างช้าๆ เพื่อระเหยไดคลอโรโรมีเทนจะได้พอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครแคปซูลหุ้มสารสำคัญ ขั้นตอนการเตรียมและส่วนผสมต่างๆ แสดงดังภาพที่ 3.1 และตารางที่ 3.1 ตามลำดับ



ภาพที่ 3.1 ไตอะแกรมการเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครแคปซูลหุ้มสารสำคัญในระบบอิมัลชัน ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายโดยวิธีการเตรียมหยดสารอินทรีย์โดยใช้แรงเฉือนสูง

โดยในขั้นตอนการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลหุ้มสารสำคัญ ในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำนี้ได้ ทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผล ดังนี้

1) การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของพอลิแอลแลคติก แอซิดต่อสารสำคัญ

ในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของพอลิแอลแลคติก แอซิดต่อสารสำคัญที่มีผลต่อการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูล ที่อัตราส่วนต่างกัน เพื่อให้เกิดเป็นแคปซูลที่สมบูรณ์และสามารถบรรจุสารสำคัญได้มากที่สุด ดังตารางที่ 3.1

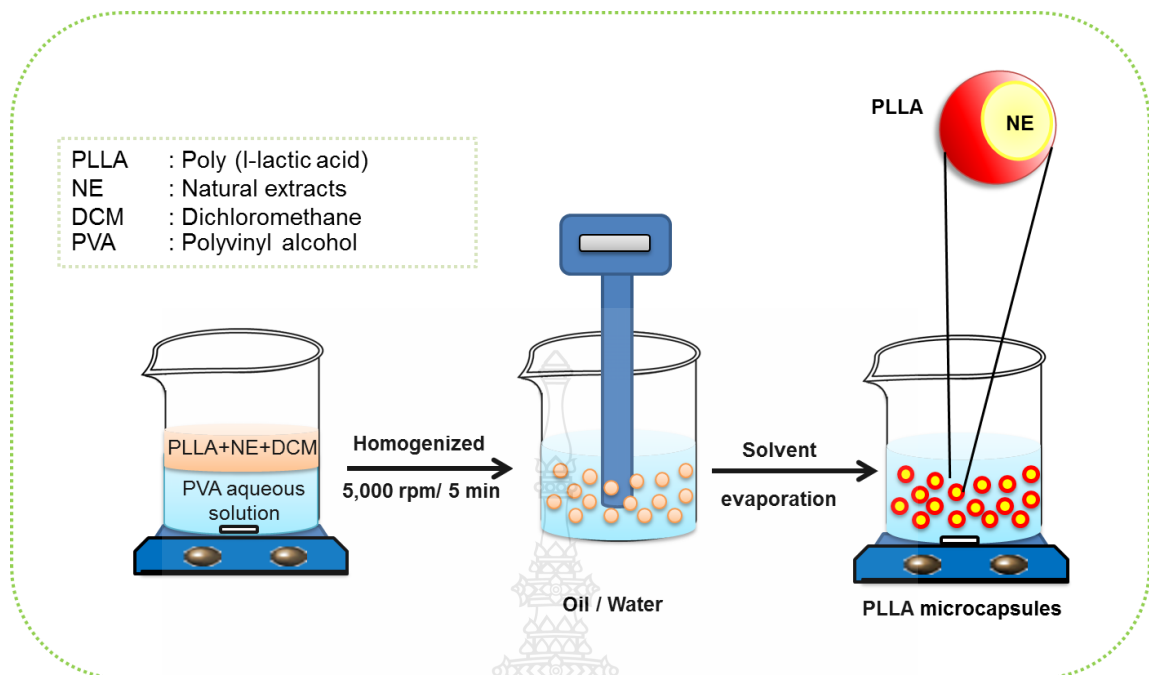
**ตารางที่ 3.1** แสดงสถานะในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลหุ้มสารสำคัญ ในระบบน้ำ<sub>1</sub>ในน้ำมันในน้ำ<sub>2</sub> ที่อัตราส่วนต่าง ๆ

| Phase | Ingredient                            | PLLA : Herbal extracts |       |       |
|-------|---------------------------------------|------------------------|-------|-------|
|       |                                       | 1 : 1                  | 2 : 1 | 3 : 1 |
| W     | Herbal extracts <sup>a</sup> (g)      | 1.25                   | 0.83  | 0.625 |
|       | Span 80 (g)                           | 2.00                   | 2.00  | 2.00  |
| O     | PLLA (g)                              | 1.25                   | 1.66  | 1.875 |
|       | DCM (g)                               | 10.00                  | 10.00 | 10.00 |
| W     | PVA aqueous solution <sup>b</sup> (g) | 22.50                  | 22.50 | 22.50 |

**หมายเหตุ** <sup>a</sup> เควอซิทิน เคอคูมิน และกรดลินโนเลอิก

<sup>b</sup> สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในน้ำ ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

การเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำมันในน้ำ ที่มีการเตรียมหยดสารอินทรีย์โดยใช้แรงเฉือนสูง ทำการผสมสารละลายของพอลิแอลแลคติก แอซิดและสารสำคัญในไดคลอโรมีเทนเข้าด้วยกัน โดยใช้เครื่องผสมสารละลายจะได้ชั้นของน้ำมัน จากนั้นผสมชั้นของน้ำมันกับชั้นของสารละลายลดแรงตึงผิวเข้าด้วยกัน แล้วทำการปั่นด้วยอัตราการปั่น 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จะได้อิมัลชันของหยดน้ำมันในน้ำ ซึ่งมีหยดของน้ำมันกระจายตัวอยู่ในชั้นน้ำที่เป็นวัฏภาคต่อเนื่อง สุดท้ายทำการปั่นจนอย่างช้าๆ เพื่อระเหยตัวทำละลายจะได้พอลิแอลแลคติก แอซิดไมโคร-แคปซูลหุ้มสารสำคัญ ขั้นตอนการเตรียมและส่วนผสมต่างๆ แสดงดังภาพที่ 3.2 และตารางที่ 3.2 ตามลำดับ



ภาพที่ 3.2 ไตอะแกรมการเตรียมพอลิแลคติก แอซิดไมโครแคปซูลหุ้มสารสำคัญในระบบอิมัลชันน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายโดยวิธีการเตรียมหยดสารอินทรีย์โดยใช้แรงเฉือนสูง

ตารางที่ 3.2 แสดงสถานะในการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลหุ้มสารสำคัญ ในระบบน้ำมันในน้ำที่อัตราส่วนต่าง ๆ

| Phase | Ingredient                            | PLLA : Herbal extracts |       |       |
|-------|---------------------------------------|------------------------|-------|-------|
|       |                                       | 1 : 1                  | 2 : 1 | 3 : 1 |
| O     | PLLA (g)                              | 1.25                   | 1.66  | 1.875 |
|       | Herbal extracts <sup>a</sup> (g)      | 1.25                   | 0.83  | 0.625 |
|       | DCM (g)                               | 10.00                  | 10.00 | 10.00 |
| W     | PVA aqueous solution <sup>b</sup> (g) | 22.50                  | 22.50 | 22.50 |

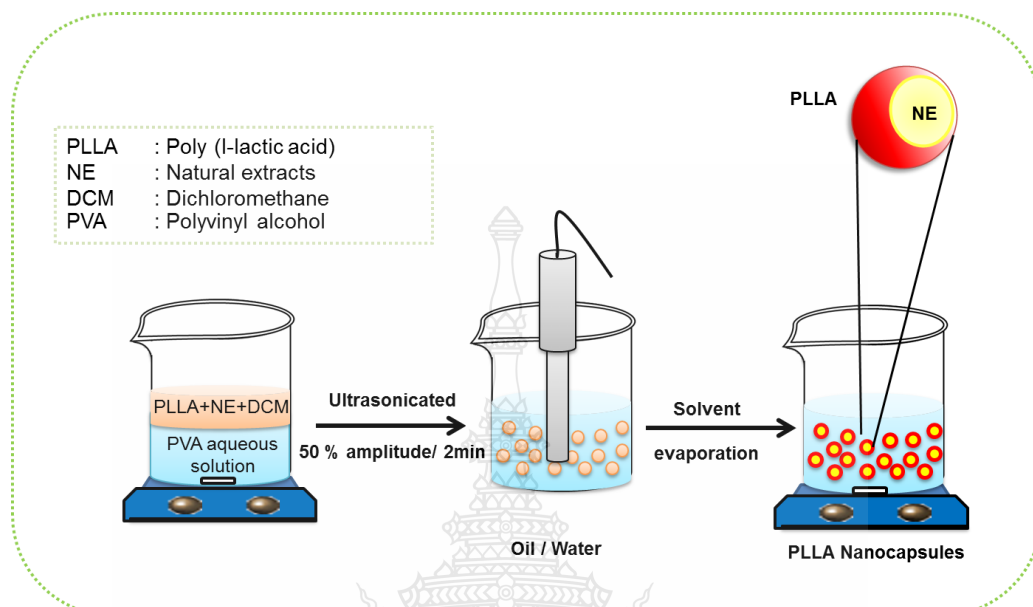
หมายเหตุ<sup>a</sup> เควอซีทิน เคอคูมิน และกรดลิโนเลอิก

<sup>b</sup> สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในน้ำ ที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

3.2.1.2 การเตรียมพอลิแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำมันในน้ำ

การเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบดั้งเดิมเตรียมขึ้นน้ำมันโดยการละลายพอลิแลคติก แอซิดและสารสำคัญด้วยไตรคลอโรมีเทนจากนั้นผสมชั้นของน้ำมันกับชั้นน้ำที่มีสารลดแรงตึงผิวละลายอยู่เข้าด้วยกัน แล้วทำการปั่นด้วยคลื่นอัลตราโซนิคที่ 50 เปอร์เซ็นต์แอมพลิจูด เป็นเวลา 2 นาที จะได้อิมัลชันของหยดน้ำมันในน้ำ ซึ่งมีหยดของน้ำมันกระจายตัวอยู่ในชั้นน้ำที่เป็นวัฏภาคต่อเนื่อง

สุดท้ายทำการปั่นจนอย่างช้าๆ เพื่อระเหยตัวทำละลายจะได้พอลิแลคติกแอซิดนาโนแคปซูลหุ้มสารสำคัญ ขั้นตอนการเตรียมและส่วนผสมต่างๆ แสดงดังภาพที่ 3.3 และตารางที่ 3.3 ตามลำดับ



ภาพที่ 3.3 ไตอะแกรมการเตรียมพอลิแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลหุ้มสารสำคัญในระบบอิมัลชัน ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายโดยวิธีการเตรียมหยดสารอินทรีย์ด้วยอัลตราโซนิเคชัน

ตารางที่ 3.3 แสดงสภาวะที่ใช้ในการเตรียมพอลิแลคติก แอซิดนาโนแคปซูล<sup>a</sup> สำหรับกักเก็บสารสำคัญ ด้วยวิธีอัลตราโซนิเคชัน

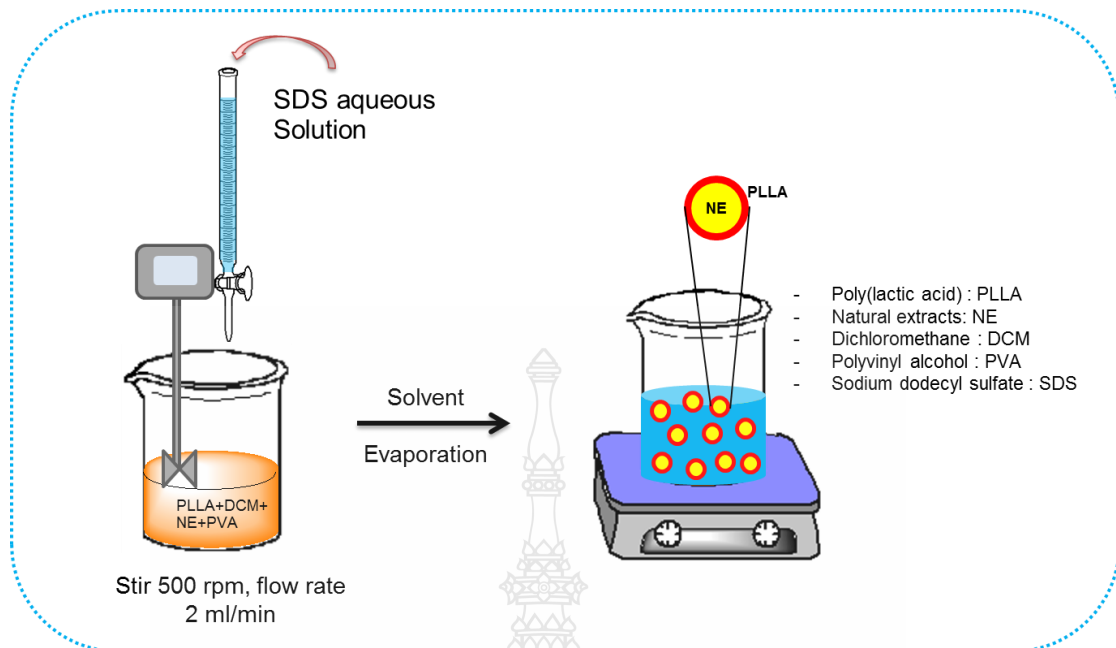
| Phase | Ingredient                            | PLLA : Herbal extracts (2 : 1) |
|-------|---------------------------------------|--------------------------------|
| O     | PLLA (g)                              | 1.66                           |
|       | Herbal extracts <sup>b</sup> (g)      | 0.83                           |
|       | DCM (g)                               | 10.00                          |
| W     | PVA aqueous solution <sup>c</sup> (g) | 22.50                          |

หมายเหตุ<sup>a</sup> Sonicate 50 % แอมพลิจูด 2 นาที

<sup>b</sup> เควอซิทีน เคอคูมิน กรดลิโนเลอิก สารสกัดสมุนไพร และน้ำมันกากาโอเฟอีนทรี

<sup>c</sup> สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในน้ำ ที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก





ภาพที่ 3.4 ไดอะแกรมการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลหุ้มสารสำคัญในระบบอิมัลชัน ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายโดยวิธีการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบกลับวัฏภาค

การเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสำคัญด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำมันในน้ำ ที่มีการเตรียมหยดสารอินทรีย์แบบกลับวัฏภาค ละลายพอลิแอลแลคติก แอซิด และสารสำคัญในอัตราส่วนที่เหมาะสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยไดคลอโรมีเทน แล้วเติมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ลงไป ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันจะได้ชั้นของสารอินทรีย์ จากนั้น ค่อยๆหยดสารละลายของสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมลงไป ในชั้นของสารอินทรีย์ และปั่นด้วยใบพัดตลอดระยะเวลาของการหยดสารละลายของสารลดแรงตึงผิว จะได้หยดสารละลายอินทรีย์หรือหยดสารละลายพอลิเมอร์ที่ประกอบไปด้วยพอลิแอลแลคติก แอซิด/สารสำคัญ/พอลิไวนิลแอลกอฮอล์/ไดคลอโรมีเทน ที่มีขนาดเล็กกระจายตัวอยู่ในชั้นวัฏภาคต่อเนื่อง คือ สารละลายของสารลดแรงตึงผิว เมื่อระเหยตัวทำละลายออกโดยการปั่นเบาๆจะเกิดเป็นพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มสารสำคัญอยู่ภายใน ขั้นตอนการเตรียมและส่วนผสมต่างๆ แสดงดังภาพที่ 3.4 และตารางที่ 3.4 ตามลำดับ

**ตารางที่ 3.4** แสดงสถานะที่ใช้ในการเตรียมพอลิเมอร์นาโนแคปซูลหุ้มสารสำคัญ ด้วยการระเหยตัวทำละลาย<sup>a</sup> ด้วยวิธีการแบบวัฏภาค

| Phase | Ingredient                            | PLLA : Herbal extracts (2 : 1) |
|-------|---------------------------------------|--------------------------------|
| O     | PLLA (g)                              | 1.66                           |
|       | Herbal extracts <sup>b</sup> (g)      | 0.83                           |
|       | PVA (g)                               | 1.50                           |
|       | DCM (g)                               | 10.00                          |
| W     | SDS aqueous solution <sup>c</sup> (g) | 22.50                          |

หมายเหตุ <sup>a</sup> 500 รอบต่อนาที

<sup>b</sup> เควอซิทิน เคอคูมิน กรดลิโนเลอิก สารสกัดสมุนไพรมะขาม และน้ำมันกากาโอแพนทรีรี่

<sup>c</sup> อัตราเร็วในการหยด 2 มิลลิลิตรต่อนาที ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

### 3.2.2 ศึกษาสมบัติของพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ด้วยเทคนิคต่างๆ

#### 1) การศึกษาสัณฐานวิทยาของพอลิเมอร์แคปซูล

ลักษณะและรูปร่างของหยดสารละลายพอลิเมอร์ก่อนระเหยตัวทำละลาย และพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลหลังระเหยตัวทำละลาย สามารถตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยทำการหยดอิมัลชันตัวอย่าง ความเข้มข้นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ลงบนกระจกสไลด์ 1-2 หยด ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์แล้วตรวจวัด ในขณะที่ลักษณะพื้นผิวภายนอกของพอลิเมอร์แคปซูลสามารถตรวจสอบได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด โดยหยดอิมัลชันตัวอย่างเข้มข้นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ลงใน nickel SEM stub แล้วทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้องด้วยตู้อบสุญญากาศ ก่อนเคลือบด้วยทอง และทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยกำลังขยายที่เหมาะสม

#### 2) การล้างพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้

ก่อนการนำพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ไปศึกษาปริมาณสารสำคัญและสมบัติต่างๆ จะต้องทำการล้างพอลิเมอร์แคปซูลเพื่อกำจัดสารสำคัญและองค์ประกอบอื่นๆ ที่ไม่ถูกกักเก็บในพอลิเมอร์แคปซูล ซึ่งจะเกาะอยู่บนผิวของอนุภาค ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้น้ำกลั่นเป็นสารในการล้างพอลิเมอร์แคปซูล เนื่องจากไม่ละลายพอลิแอลแลคติก แอซิดที่เป็นเปลือกของพอลิเมอร์แคปซูล โดยในขั้นตอนการล้างพอลิเมอร์แคปซูล เริ่มต้นนำอิมัลชันที่ได้จากการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูล ไปอบเพื่อให้ได้อนุภาคที่เป็นผงแห้ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาทำการล้างอนุภาคพอลิเมอร์แคปซูลด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วนของพอลิเมอร์ต่อน้ำกลั่นที่ 1:200 ปั่นที่ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที นำผงพอลิเมอร์แคปซูลที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะได้ผงแคปซูลแห้งสำหรับการทดสอบสมบัติในขั้นตอนต่อไป

#### 3) การหาปริมาณของสารสำคัญในพอลิเมอร์แคปซูล

การหาปริมาณของสารสำคัญในพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้สามารถทำได้ 2 วิธี คือ วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์และเทคนิคการแยกด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ก่อนทำการหาปริมาณสารสำคัญก็กักเก็บในแคปซูล ในขั้นแรกจะนำอิมัลชันที่ได้ไปปั่น

เหวี่ยงด้วยความเร็วสูง แล้วแยกชั้นแคปซูลและชั้นน้ำออกมาเพื่อทำการวิเคราะห์ นำแคปซูลไปล้างและทำให้แห้งด้วยตู้อบสุญญากาศ ในกรณีการวัดค่าการดูดกลืนแสงจะทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของสารสำคัญที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และเตรียมตัวอย่างโดยชั่งพอลิเมอร์แคปซูลแห้งที่เตรียมได้ ประมาณ 0.1 กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน เติมไดคลอโรมีเทนจนได้ปริมาตรของสารละลายเป็น 25 กรัม จากนั้นนำสารละลายมาตรฐานของสารสำคัญที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และสารละลายตัวอย่างมาทำการสแกนหาความยาวคลื่นสูงสุด ( $\lambda_{max}$ ) ในช่วง 200-600 นาโนเมตร เพื่อหาค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนของสารสำคัญที่ไม่ซ้อนทับกับองค์ประกอบอื่น ๆ จากนั้น ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสำคัญมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และวัดค่าการดูดกลืนของสารละลายตัวอย่าง เพื่อคำนวณหาปริมาณสารสำคัญที่อยู่ภายในแคปซูล และหาปริมาณสารสำคัญที่เหลืออยู่ในชั้นน้ำด้วยวิธีเดียวกัน

ในกรณีของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟจะใช้ Flame Ionization Detector (FID) เป็นตัวตรวจวัด และคอลัมน์ในการวิเคราะห์คือ MEGA-WAX plus column (ความยาว 30 เมตร, เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร, ความหนาของสารเคลือบ 1.00 ไมโครเมตร) split ratio เท่ากับ 1/15 โดยจะละลายตัวอย่างแคปซูลที่แห้ง 0.2 กรัม ในไดเมทิลฟอร์มาร์ไมด์ 5 มิลลิลิตร ก่อนฉีดสารตัวอย่างปริมาตร 1 ไมโครลิตร อุณหภูมิของ injection port และ FID detector เท่ากับ 250 องศาเซลเซียส ตั้งโปรแกรมอุณหภูมิเริ่มต้นของ oven ที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 วินาที จากนั้นเพิ่มเป็น 200 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที เวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมดเท่ากับ 9 นาที ใช้ฮีเลียมเป็นก๊าซพาที่อัตราการไหล 1.25 มิลลิลิตร/นาที การหาปริมาณสารสำคัญจะดูพื้นที่ใต้พีคของสารสำคัญเทียบกับสารมาตรฐาน

#### การคำนวณ

- 1) ปริมาณสารสำคัญในแคปซูล ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมตรี

ปริมาณสารสำคัญในพอลิเมอร์แคปซูลจากการทดลอง 0.1 กรัม

$$W_{HE; Capsule(Ext.)} (mg) = \frac{[HE] \times 25 \text{ ml}}{1000} \dots\dots\dots(1)$$

- 2) ปริมาณสารสำคัญในพอลิเมอร์แคปซูลด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

$$W_{HE; Capsule(Ext.)} (mg) = \frac{[HE] \times 5 \text{ ml}}{1000} \dots\dots\dots(2)$$

ปริมาณสารสำคัญในพอลิเมอร์แคปซูลตามทฤษฎี 0.1 กรัม

$$W_{HE; Capsule(Recipe.)} (g) = \frac{W_{HE; Recipe.} (mg) \times 0.1g}{(PLLA(g) + HE(g))} \dots\dots\dots(3)$$

เปอร์เซ็นต์การบรรจุ

$$\% L_E = \frac{W_{HE; Capsule(ext.)} (mg)}{0.1(g) \times 10^3} \times 100 \quad \dots\dots\dots(4)$$

$$\% L_{th} = \frac{W_{HE; Capsule(Recipe)} (mg)}{0.1(g) \times 10^3} \times 100 \quad \dots\dots\dots(5)$$

ประสิทธิภาพในการหุ้มสารสำคัญ

$$\% EE = \frac{\%Loading_{HE; Ext.} (mg)}{\%Loading_{HE; Recipe.} (mg)} \times 100 \quad \dots\dots\dots(6)$$

|       |                            |   |
|-------|----------------------------|---|
| เมื่อ | [HE]                       | คือ ความเข้มข้นของสารสำคัญที่ได้จากการเทียบกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร) |
|       | $W_{HE; Capsule(ext.)}$    | คือ น้ำหนักของสารสำคัญในแคปซูลที่ได้จากการทดลอง (มิลลิกรัม)               |
|       | $W_{HE; Recipe}$           | คือ น้ำหนักของสารสำคัญทางทฤษฎีที่อัตราส่วนต่าง ๆ (มิลลิกรัม)              |
|       | $W_{HE; Capsule(Recipe.)}$ | คือ น้ำหนักของสารสำคัญที่อยู่ในแคปซูล (มิลลิกรัม)                         |
|       | $L_E$                      | คือ เปอร์เซ็นต์การบรรจุของสารจากการทดลอง                                  |
|       | $L_{th}$                   | คือ เปอร์เซ็นต์การบรรจุของสารจากทฤษฎี                                     |

3.3.7 การศึกษาความคงตัวของพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ นำอิมัลชันของพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้เก็บที่อุณหภูมิ 5 และ 37 องศาเซลเซียส ทุก ๆ 48 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 รอบ โดยจะทำการวัดขนาดของพอลิเมอร์แคปซูลทั้งก่อนและหลังการเก็บตัวอย่าง

3.3.8 การศึกษาความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยของสารสำคัญในพอลิเมอร์แคปซูล โดยนำผงแคปซูลที่แห้งปริมาณ 0.01 กรัม แช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปวัดปริมาณสารสำคัญที่ปลดปล่อยออกมาในชั้นน้ำ ที่เวลาต่างๆ นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์และเทคนิคการแยกด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

3.3.9 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธี MTT เซลล์ผิวหนังมนุษย์ (Human Dermal Fibroblasts) ซื้อมาจาก บริษัท ATCC ประเทศสหรัฐอเมริกา นำมาทำการศึกษาผลของตัวอย่าง ด้วยวิธี MTT มีขั้นตอนดังนี้ [68]

1) ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ในจานเพาะเลี้ยงขนาด 75 cm ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ (10% DMEM) ซึ่งประกอบด้วย Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), 10 เปอร์เซ็นต์ fetal bovine serum (FBS) และยาปฏิชีวนะ 100 ยูนิตต่อไมโครลิตร penicillin+ 100 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร streptomycin ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ และทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุกๆ 2-3 วัน เมื่อเซลล์เจริญเต็มจานเพาะเลี้ยง (ประมาณ 70-80 เปอร์เซ็นต์) ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์เพื่อนำไปทดสอบความเป็น

พืษ โดยทำการล้างเซลล์ 1 ครั้งด้วย PBS จากนั้นเติม 2 มิลลิลิตร ของ 0.25 เปอร์เซ็นต์ Trypsin-EDTA แล้วบ่ม 5 นาทีที่ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลาหยุดการทำงานของ เอนไซม์ Trypsin โดยการเติม 8 มิลลิลิตร ของ 10 เปอร์เซ็นต์ DMEM แล้วเก็บอาหารและทำไปปั่น เหยียงที่ 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที

2) จากนั้นทำการแบ่งเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ให้มีความเข้มข้น  $1 \times 10^4$  เซลล์ต่อหลุม ใน งานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 96 หลุม ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ 10 เปอร์เซ็นต์ DMEM นำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยง เซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสที่มีปริมาตรคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้น เติมสารทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยให้มีความเข้มข้นสุดท้ายคือ 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 และ 1 mg/ml ตามลำดับ โดยมีกลุ่มควบคุมคือ ตัวทำละลายของสารทดสอบ แล้วบ่มไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสที่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง และล้างด้วย 1X PBS, pH 7.4 จำนวน 1 ครั้ง แล้วเติมสารละลาย (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide; MTT) ที่มีความเข้มข้น 0.05 mg/ml จำนวน 100 ไมโครลิตร แล้ว นำไปบ่มไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งวิธี MTT ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการทดสอบการมี

$$\% \text{ Cell viability} = \frac{A_{560} \text{ Sample}}{A_{560} \text{ Control}} \times 100$$

ชีวิตรอดของเซลล์ (Cell viability) โดยการวัดความสามารถการทำงานของเอนไซม์ succinate dehydrogenases ในไมโทคอนเดรียของเซลล์ที่มีชีวิต ที่จะสามารถรีดิวซ์ Tetrazolium salt (MTT) ที่มีสีเหลือง ให้เป็นผลึก Formazan ที่มีสีม่วง ซึ่งปริมาณของผลึก Formazan ที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์ โดยตรงกับจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิตรอด จากนั้นเมื่อครบ 6 ชั่วโมง ทำการดูดสารละลายทิ้ง แล้วละลาย ผลึก Formazan ด้วย 100 ไมโครลิตร ของ DMSO เขย่าให้เข้ากันประมาณ 15 นาที จากนั้นทำการ วิเคราะห์ความเข้มของสารละลาย Formazan โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นา โนเมตร และทำการคำนวณค่าร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ของสารทดสอบ ดังสมการด้านล่าง โดย เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังในกลุ่มควบคุม

โดยที่  $A_{560} \text{ Sample}$  = ค่าการดูดกลืนแสงของ สารทดสอบ

$A_{560} \text{ Control}$  = ค่าการดูดกลืนแสงของ กลุ่มควบคุม

## บทที่ 4

### ผลการดำเนินงานวิจัย

#### 4.1 การเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสกัดสมุนไพร

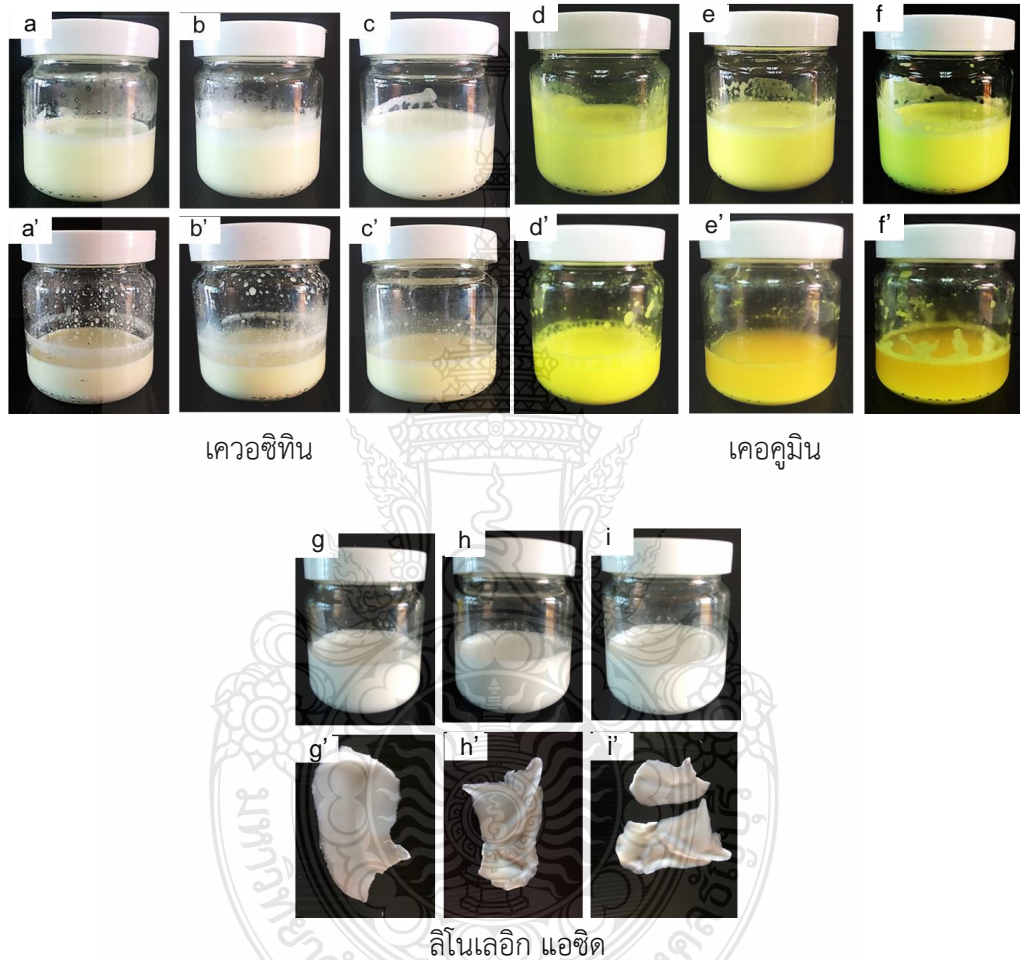
การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลในงานวิจัยนี้จะศึกษาการเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสกัดสมุนไพรที่มีสภาพขั้วแตกต่างกัน โดยเลือกใช้ควอซิทิน เคอคูมิน และลิโนเลอิก แอซิด เป็นสารแม่แบบของสารสกัดจากธรรมชาติ ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ และ น้ำมันในน้ำอิมัลชัน ซึ่งในการเตรียมหยดสารอินทรีย์จะใช้ทั้งแรงเฉือนสูง และการเตรียมหยดสารแบบกลับวัฏภาค โดยในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลระดับไมโครเมตรและระดับนาโนเมตรจะมีความแตกต่างกันในขั้นตอนการเตรียมพอลิเมอร์

##### 4.1.1 การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลระดับไมโครเมตร

การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลในระดับไมโครเมตรนี้ ทำการเตรียมพอลิเมอร์ในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ และน้ำมันในน้ำ โดยใช้แรงเฉือนสูงด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ซึ่งมีการศึกษาอัตราส่วนของพอลิแอลแลคติก แอซิดต่อสารสำคัญ

(1) การเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครแคปซูลที่กักเก็บสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ ที่มีกรเตรียมหยดสารอินทรีย์โดยใช้แรงเฉือนสูง โดยเริ่มต้นสารสกัดสมุนไพรต้นแบบ (ควอซิทิน เคอคูมิน และลิโนเลอิก แอซิด) และสารลดแรงตึงผิวที่มี HLB ต่ำ (Span80) จะละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ได้ชั้นของน้ำ<sub>1</sub> ในขณะที่ชั้นของสารอินทรีย์หรือน้ำมัน คือ พอลิแอลแลคติก แอซิดที่ละลายในไดคลอโรโรมีเทน เมื่อนำชั้นของน้ำ<sub>1</sub>กระจายตัวในชั้นน้ำมัน โดยใช้แรงเฉือนสูงที่ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จะได้อิมัลชันของหยดน้ำ<sub>1</sub>กระจายตัวอยู่ในชั้นน้ำมัน โดย Span80 จะดูดซับอยู่ที่ผิวของหยดน้ำ<sub>1</sub> (สารละลายของสารสกัดสมุนไพรต้นแบบ) ทำหน้าที่ป้องกันการรวมตัวของหยดน้ำ<sub>1</sub> เมื่อนำอิมัลชันน้ำ<sub>1</sub>ในน้ำมันผสมกระจายตัวลงในชั้นน้ำ<sub>2</sub> (สารละลายของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) ด้วยการบินที่อัตราการปั่น 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จะได้อิมัลชันของน้ำ<sub>1</sub>ในน้ำมันในน้ำ<sub>2</sub> ที่มีความเสถียรทางคอลลอยด์สูง โดยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้หยดของน้ำ<sub>1</sub>ในน้ำมันอิมัลชันรวมตัวกัน โดยพบว่าการใช้สารสกัดสมุนไพรต้นแบบทั้งสามชนิด น้ำ<sub>1</sub>ในน้ำมันในน้ำ<sub>2</sub>อิมัลชันมีความเสถียรไม่มีการเกาะกันทุกอัตราส่วนของพอลิแอลแลคติก แอซิดต่อสารสกัดสมุนไพรต้นแบบ ดังภาพที่ 4.1 (a-i) อย่างไรก็ตามหลังจากการระเหยตัวทำละลายมีการเกาะตัวกันของอนุภาคเกิดขึ้น โดยจะพบว่ามีตะกอนขนาดใหญ่ตกตะกอนอยู่ด้านล่างของอิมัลชัน โดยความเข้มข้นที่มากขึ้นของสารสกัดสมุนไพรจะทำให้ความเสถียรของอิมัลชัน (หลังจากการระเหยตัวทำละลาย) ลดลง โดยในกรณีของลิโนเลอิก แอซิด (ภาพที่ 4.1 g-'i') จะมีปริมาณตะกอนมากที่สุด อาจเนื่องมาจากปริมาณของ Span80 ในชั้นของน้ำมันมีปริมาณค่อนข้างสูงใกล้เคียงกับปริมาณรวมของสารสกัดสมุนไพรและพอลิแอลแลคติก แอซิด ในระหว่างการระเหยตัวทำละลายออก

สายโซ่ของ Span80 สามารถประกอบตัวเองเกิดเป็นไมเซลล์กัณฑ์วัญภาค [69] และสามารถดูดน้ำออก จากชั้นน้ำ<sup>2</sup>หรือวัญภาคต่อเนื่อง ทำให้เปลือกของแคปซูลนุ่ม และเกาะตัวกันได้ง่าย นอกจากนี้การที่มี Span80 มากเกินไป โมเลกุลของ Span80 อาจเคลื่อนที่มาที่ผิวของแคปซูล ทำให้ลดประสิทธิภาพ ของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ อิมัลชันจึงเสียสภาพได้ง่าย ปรากฏการณ์นี้จะเกิดเช่นเดียวกับ Span80 เมื่อโมเลกุลของสารสกัดสมุนไพรต้นแบบมีขี้้วมากขึ้น เช่นในกรณีของลิโนเลอิก แอซิด

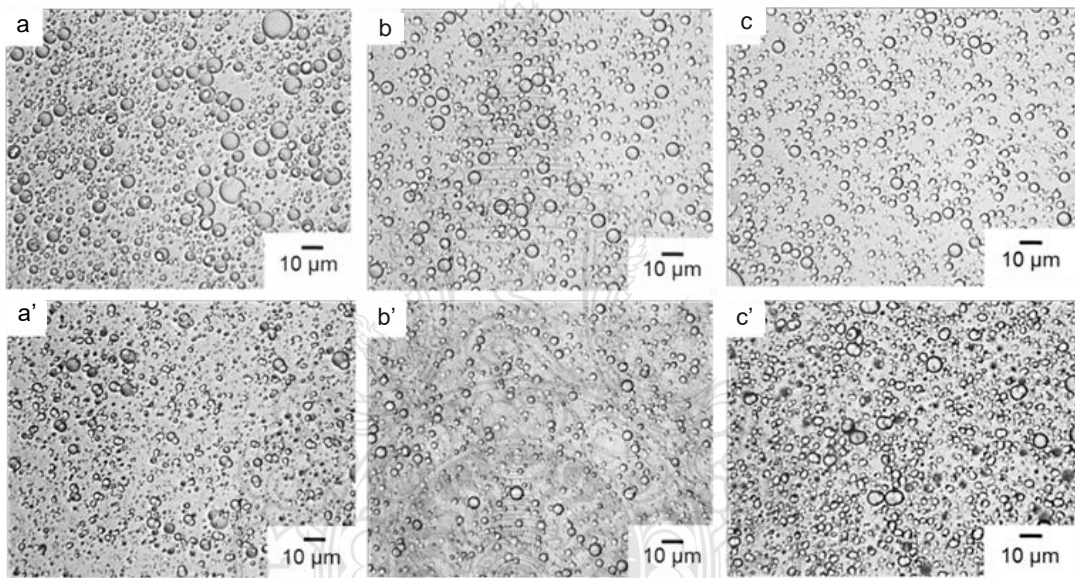


ภาพที่ 4.1 อิมัลชันของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร (HE) ในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ ด้วย เทคนิคการระเหยตัวทำละลาย ของเควอซีทิน (a-c และ a'-c') เคอคูมิน (d-f และ d'-f') และลิโนเลอิก แอซิด (g-i และ g'-i') ที่อัตราส่วนต่างๆ ของ PLLA:HE: 1:1 (a และ a', d และ d' และ g และ g') 2:1 (b และ b', e และ e' และ h และ h') และ 3:1 (c และ c', f และ f' และ i และ i')

จากภาพที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงของน้ำ<sup>1</sup>ในน้ำมันในน้ำ<sup>2</sup>อิมัลชัน หยดน้ำ<sup>1</sup> ในน้ำมันอิมัลชันจะมีความเสถียรสูงไม่มีการเกาะตัวกัน (ภาพที่ 4.2 a-i) ในขณะที่หลังจากการระเหยตัว ทำละลายออก และนำมาเฉพาะส่วนที่ไม่เกาะกันมาถ่ายภาพ (ภาพที่ 4.2 a'-i') จะเห็นได้ว่ามีแคปซูลที่



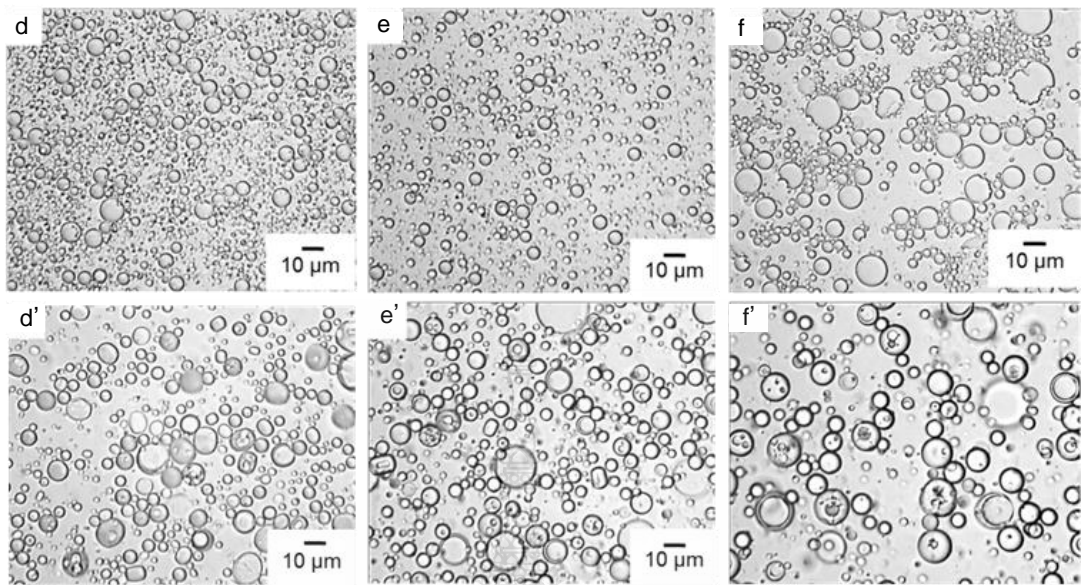
มีการกักเก็บสารสกัดสมุนไพรต้นแบบเกิดขึ้น โดยแคปซูลที่ได้จะมีลักษณะเป็นทรงกลม ขนาดในระดับไมโครเมตร มีการกระจายตัวค่อนข้างกว้าง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของการเตรียมโดยใช้แรงเฉือนสูง โดยเมื่อทำการหาปริมาณของสารสกัดสมุนไพรต้นแบบทั้งสามชนิดในรูปของเปอร์เซ็นต์การบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บ ดังสมการที่ 4 และ 5 ตามลำดับ พบว่า มีค่าน้อยมาก (น้อยกว่าค่าทางทฤษฎีอย่างน้อย 50 เปอร์เซ็นต์) เนื่องจากส่วนใหญ่เกิดการรวมตัวกันของอนุภาค แสดงให้เห็นว่า การเตรียมแคปซูลให้อยู่ในรูปน้ำ<sub>1</sub>ในน้ำมันในน้ำ<sub>2</sub>อิมัลชันไม่เหมาะสมสำหรับการเตรียมแคปซูลหุ้มสารสกัดต้นแบบ ดังนั้น ในขั้นต่อไปจะทำการเตรียมในระบบน้ำมันในน้ำอิมัลชัน เนื่องจากสารสกัดสมุนไพรมีค่าการละลายน้ำที่ต่ำมาก จึงน่าจะสามารเพิ่มเปอร์เซ็นต์การบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บได้ นอกจากนี้ การไม่ใช้ Span80 อาจช่วยทำให้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ทำงานได้ดีมากขึ้น ช่วยเพิ่มความเสถียรทางคอลลอยด์ของอิมัลชันที่เตรียมได้



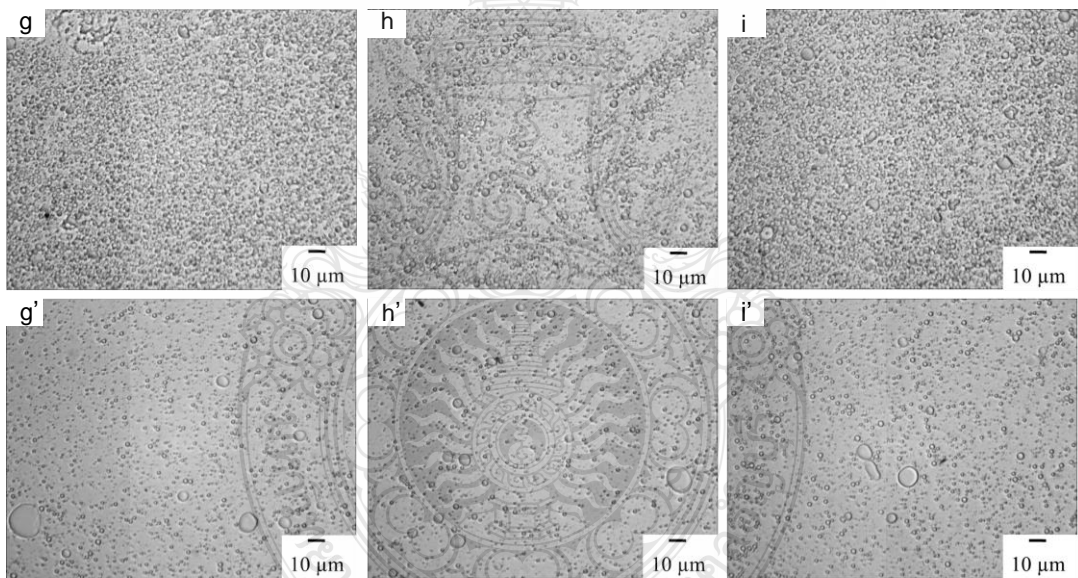
เคออสิติน

ภาพที่ 4.2 Optical micrograph ของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร (HE) ในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย ของเคออสิติน (a-c และ a'-c') เคอคูมิน (d-f และ d'-f') และลิโนลิก แอซิด (g-i และ g'-i') ที่อัตราส่วนต่างๆ ของ PLLA:HE: 1:1 (a และ a', d และ d' และ g และ g') 2:1 (b และ b', e และ e' และ h และ h') และ 3:1 (c และ c', f และ f' และ i และ i')





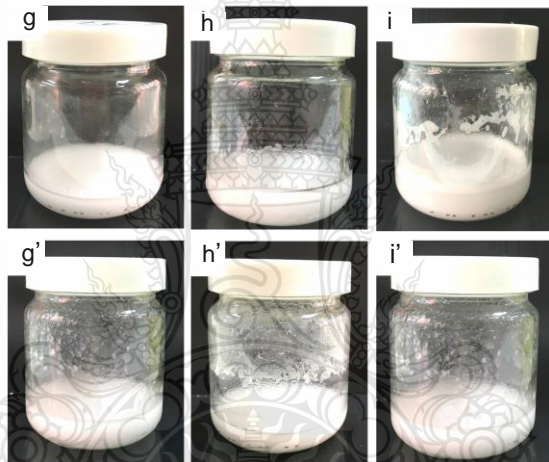
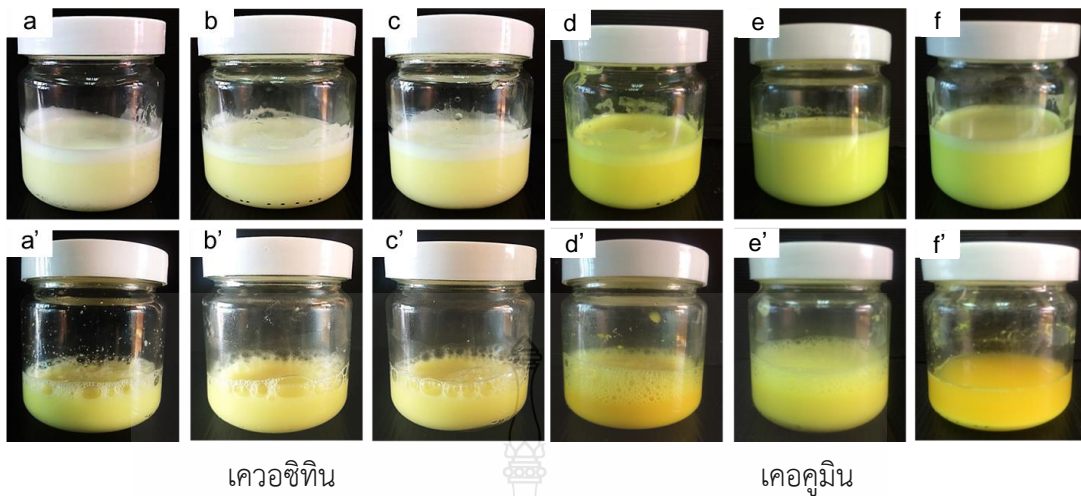
เคอคูมิน



ลิโนเลอิก แอซิด

ภาพที่ 4.2 Optical micrograph ของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร (HE) ในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย ของเคอคูมิน (a-c และ a'-c') เคอคูมิน (d-f และ d'-f') และลิโนเลอิก แอซิด (g-i และ g'-i') ที่อัตราส่วนต่างๆ ของ PLLA:HE: 1:1 (a และ a', d และ d' และ g และ g') 2:1 (b และ b', e และ e' และ h และ h') และ 3:1 (c และ c', f และ f' และ i และ i')

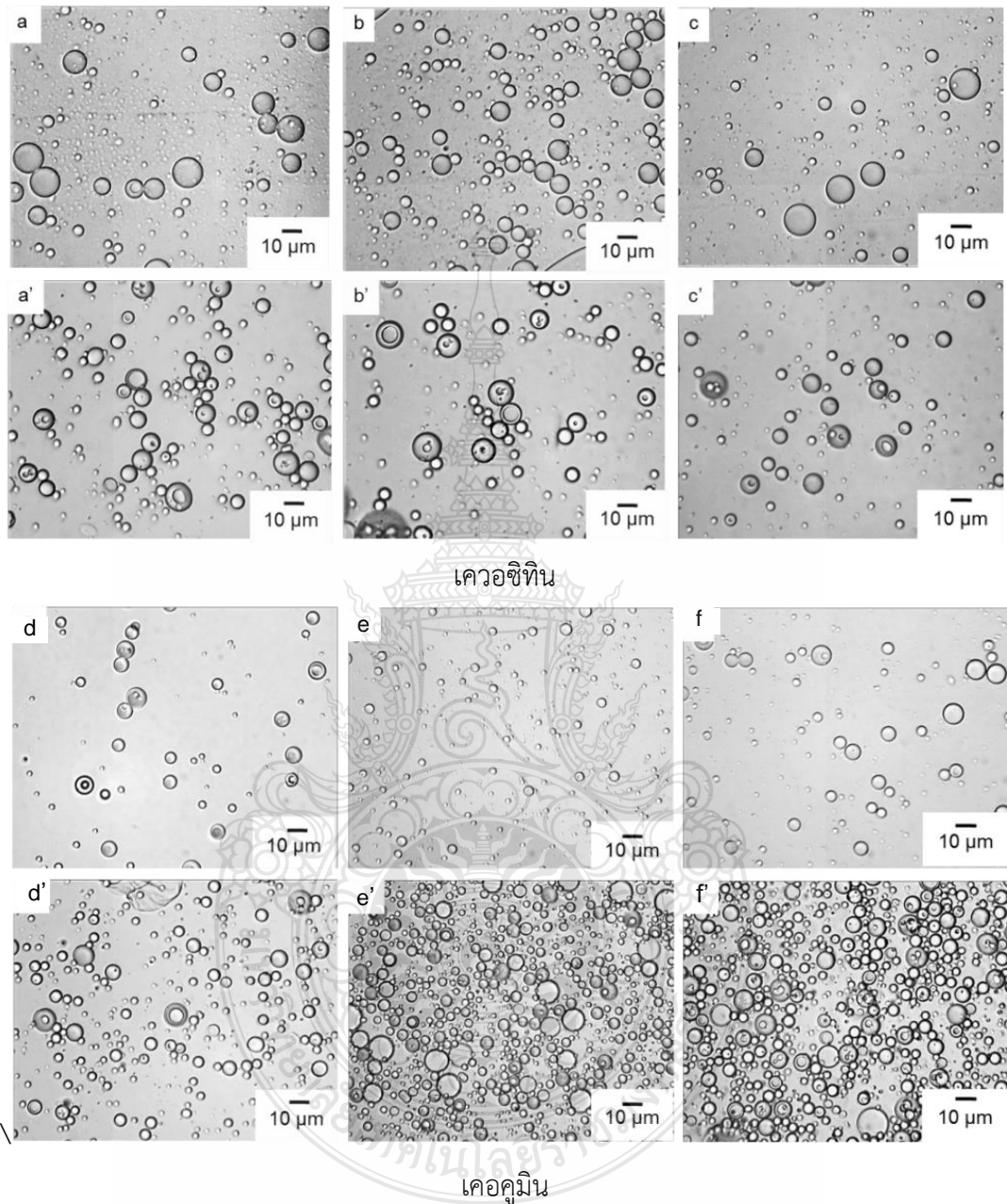
(2) การเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครแคปซูลที่กักเก็บสารสกัดสมุนไพรด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำมันในน้ำ ที่มีการเตรียมหยดสารอินทรีย์โดยใช้แรงเหวี่ยง โดยเริ่มต้นพอลิแอลแลคติก แอซิด สารสกัดสมุนไพร และตัวทำละลายอินทรีย์จะละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ก่อนที่จะกระจายตัวในวัฏภาคต่อเนื่อง (สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์) เป็นหยดสารอินทรีย์ด้วยการปั่นที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ความสามารถในการละลายของพอลิเมอร์กับสารสำคัญในจะค่อยๆลดลง เมื่อตัวทำละลายค่อยๆระเหยออกไปจนเกิดการแยกวัฏภาคภายในขึ้น เนื่องจากพอลิแอลแลคติก แอซิดมีความมีขี้วมมากกว่าสารสกัดสมุนไพร ดังนั้น พอลิแอลแลคติกแอซิดจะเคลื่อนที่ออกมาที่ด้านนอกของหยดสารอินทรีย์ (เข้าใกล้ น้ำ) เกิดเป็นเปลือก ในขณะที่สารสำคัญจะอยู่ด้านในกลายเป็นแกน จากการทดลองพบว่าทั้งสามสารสกัดสมุนไพรต้นแบบ อิมัลชันและสามอัตราส่วนของพอลิแอลแลคติก แอซิดมีความเสถียรสูงทั้งก่อนและหลังการระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ โดยอนุภาคแคปซูลมีการเกาะตัวกันน้อยมาก เมื่อทำการตรวจสอบสัณฐานทางวิทยาของหยดสารละลายอินทรีย์ (ดังภาพที่ 4.4 a-i) และอนุภาคแคปซูลหลังการระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ (ดังภาพที่ 4.4 a'-l') ทุกสภาวะการทดลอง (สารสกัดสมุนไพรต้นแบบและอัตราส่วนต่างๆ) หยดจะมีลักษณะเป็นทรงกลมมีการกระจายตัวของขนาดค่อนข้างกว้าง ในขณะที่แคปซูลจะมีลักษณะทรงกลมเช่นเดียวกัน แต่จะมีขนาดเล็กลง เนื่องจากการระเหยของตัวทำละลาย จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการเตรียมหยดแบบน้ำมันในน้ำอิมัลชัน มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าการเตรียมแบบน้ำ<sub>1</sub>ในน้ำมันในน้ำ<sub>2</sub>อิมัลชัน ทั้งในแง่ของกระบวนการเตรียมที่สั้นและกระชับกว่า และรวมถึงความเสถียรทางคอลลอยด์ของอิมัลชัน นอกจากนี้ หากพิจารณาเปอร์เซ็นต์การบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัด (คำนวณได้จากสมการ (4) และ (6) ตามลำดับ) แคปซูลที่เตรียมจากระบบอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ จะมีค่าเปอร์เซ็นต์การบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดสูงกว่าที่เตรียมแบบน้ำ<sub>1</sub>ในน้ำมันในน้ำ<sub>2</sub>อิมัลชัน ในทุกอัตราส่วนของพอลิแอลแลคติก แอซิดต่อสารสกัดสมุนไพรต้นแบบ ดังตารางที่ 4.1 โดยพบว่าเมื่อปริมาณของพอลิแอลแลคติก แอซิดเพิ่มมากขึ้นประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดจะเพิ่มขึ้น และคงที่ที่อัตราส่วนพอลิแอลแลคติก แอซิดต่อสารสกัดสมุนไพรต้นแบบที่ 2:1 และ 3:1 แต่เนื่องจากที่อัตราส่วน 2:1 มีเปอร์เซ็นต์การบรรจุสารสกัด (%L<sub>E</sub> ประมาณ 21-27 เปอร์เซ็นต์) ของทุกสารสกัดสมุนไพรมากกว่าในอัตราส่วนที่ 3:1 (%L<sub>E</sub> ประมาณ 15-21 เปอร์เซ็นต์)



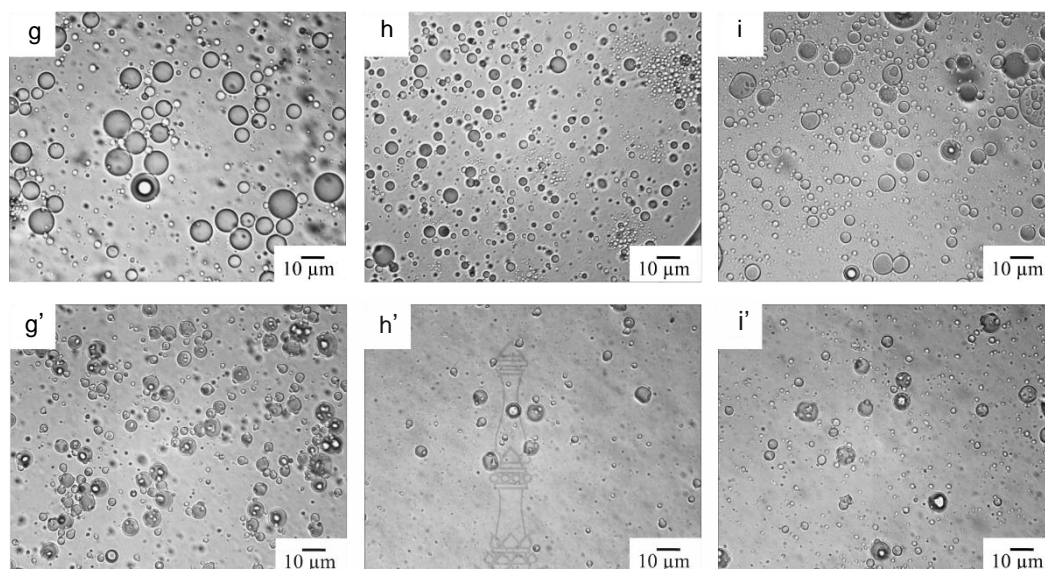
ลีนเลอิก แอซิด

ภาพที่ 4.3 อิมัลชันของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร (HE) ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย ของ Tween (a-c และ a'-c') Curcumin (d-f และ d'-f') และ Lecithin แอซิด (g-i และ g'-i') ที่อัตราส่วนต่างๆ ของ PLLA:HE: 1:1 (a และ a', d และ d' และ g และ g') 2:1 (b และ b', e และ e' และ h และ h') และ 3:1 (c และ c', f และ f' และ i และ i')

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมแคปซูลแบบน้ำมันในน้ำ อิมัลชัน คือ อัตราส่วนระหว่างพอลิแอลแลคติก แอซิดต่อสารสกัดสมุนไพรต้นแบบที่ 2:1 นอกจากนี้ยังได้มีการทดลองนำสภาวะที่เหมาะสมไปใช้ในการเตรียมแคปซูลที่กักเก็บสารสกัดสมุนไพรจริง พบว่า หลังจากการระเหยตัวทำละลายแคปซูลที่มีความเสถียรสูง อนุภาคไม่มีการเกาะตัวกัน มีรูปร่างเป็นทรงกลม ผิวเรียบ (ดังภาพที่ 4.5) และเมื่อทำการหาประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดสมุนไพร พบว่า สามารถกักเก็บสารสกัดสมุนไพรจริงได้ถึง 52 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในขั้นตอนต่อไป จะนำสภาวะที่เหมาะสมนี้ไปทดลองเตรียมแคปซูลในระดับนาโนเมตรต่อไป



ภาพที่ 4.4 Optical micrograph ของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร (HE) ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย ของเควอซีทิน (a-c และ a'-c') เคอคูมิน (d-f และ d'-f') และลิโนเลอิก แอซิด (g-i และ g'-i') ที่อัตราส่วนต่างๆ ของ PLLA:HE: 1:1 (a และ a', d และ d' และ g และ g') 2:1 (b และ b', e และ e' และ h และ h') และ 3:1 (c และ c', f และ f' และ i และ i')



ลิโนเลอิก แอซิด

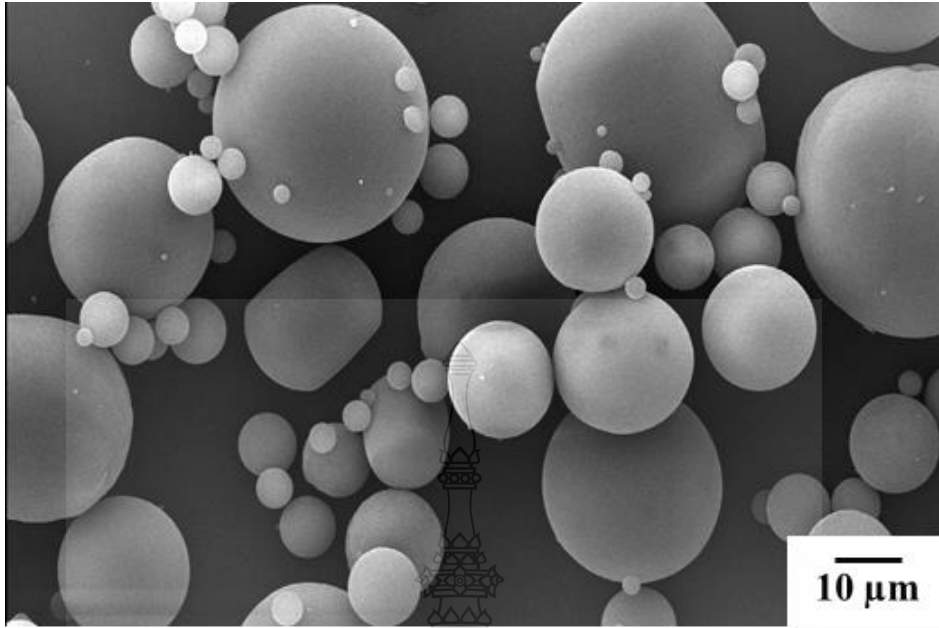
ภาพที่ 4.4 Optical micrograph ของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร (HE) ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลาย ของควอซิทิน (a-c และ a'-c') เคอคูมิน (d-f และ d'-f') และลิโนเลอิก แอซิด (g-i และ g'-i') ที่อัตราส่วนต่างๆ ของ PLLA:HE: 1:1 (a และ a', d และ d' และ g และ g') 2:1 (b และ b', e และ e' และ h และ h') และ 3:1 (c และ c', f และ f' และ i และ i')

ตารางที่ 4.1 ประสิทธิภาพการกักเก็บและประสิทธิภาพการบรรจุสารสกัดสมุนไพรในพอลิเมอร์ไมโครแคปซูล<sup>a</sup>

| HE         |               | PLLA:HE            |        |                    |        |                    |        |
|------------|---------------|--------------------|--------|--------------------|--------|--------------------|--------|
|            |               | 1:1                |        | 2:1                |        | 3:1                |        |
|            |               | L <sub>E</sub> (%) | EE (%) | L <sub>E</sub> (%) | EE (%) | L <sub>E</sub> (%) | EE (%) |
| W/O/W-like | Quercetin     | 9.50               | 19     | 8.96               | 27     | 6.50               | 26     |
|            | Curcumin      | 4.00               | 8      | 12.28              | 37     | 8.24               | 33     |
|            | Linoleic acid | 10.5               | 21     | 12.94              | 39     | 8.00               | 32     |
| O/W        | Quercetin     | 16.50              | 33     | 21.28              | 64     | 16.00              | 64     |
|            | Curcumin      | 23.00              | 46     | 27.31              | 82     | 20.80              | 83     |
|            | Linoleic acid | 28.50              | 57     | 22.58              | 68     | 15.25              | 61     |

<sup>a</sup>: %L<sub>Th</sub> คือ 50.00 33.33 และ 25.00 สำหรับอัตราส่วนของ PLLA:HE ที่ 1:1 2:1 และ 3:1 ตามลำดับ





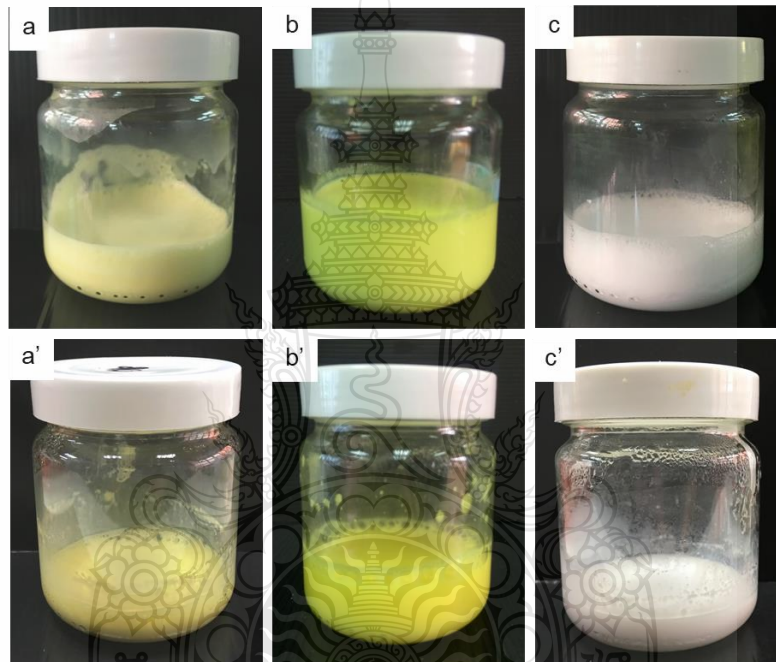
ภาพที่ 4.5 SEM micrograph ของพอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครแคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพรที่เตรียมได้ ในระบบน้ำมันในน้ำ ที่อัตราส่วนของ PLLA:HE ที่ 2:1

#### 4.1.2 การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลระดับนาโนเมตร

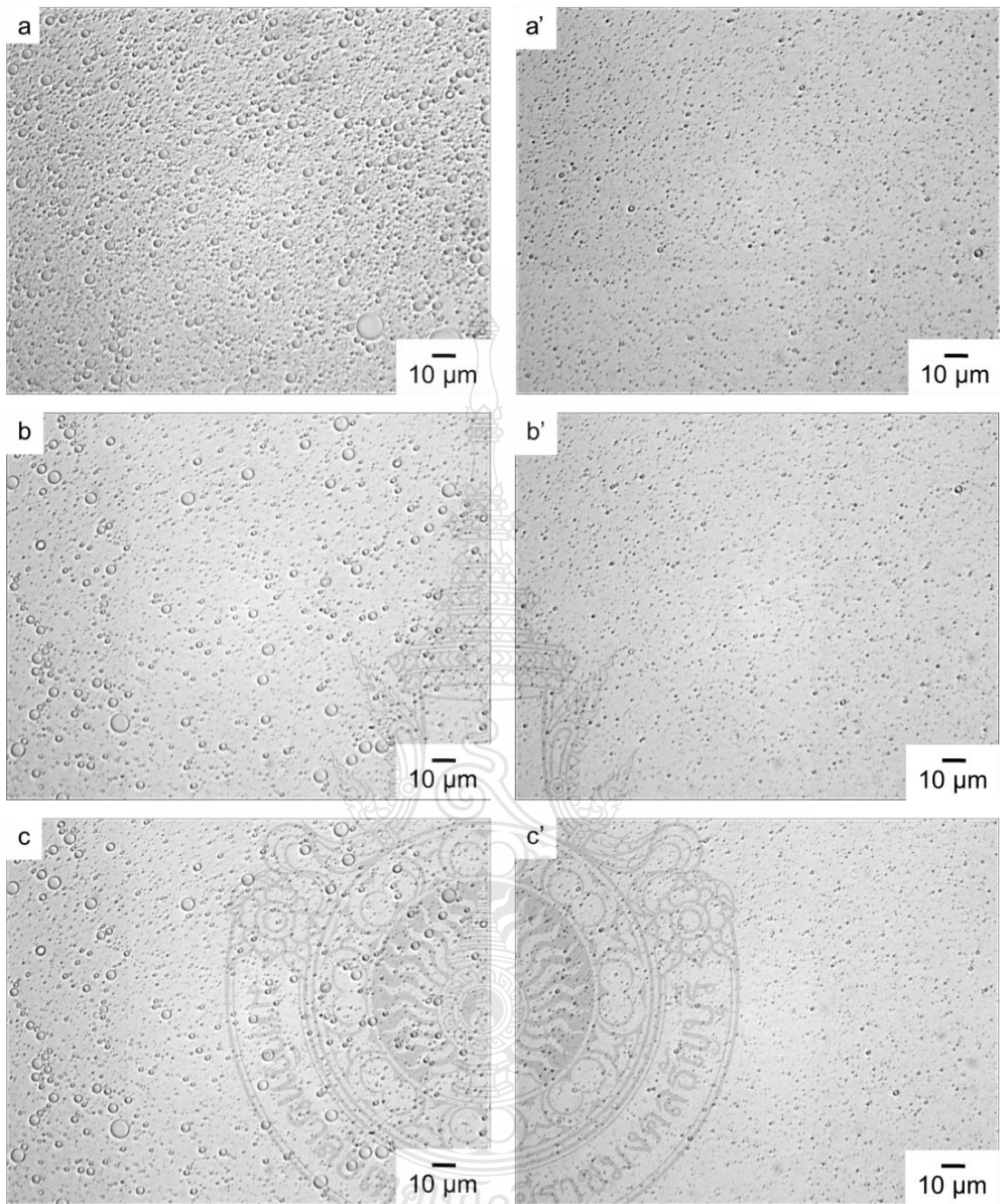
การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลในระดับนาโนเมตรนี้ จะเตรียมหดยาสารละลายพอลิเมอร์ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชันและการกลับวัฏภาค

การเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชัน ซึ่งมีขั้นตอนการเตรียมหดยาสารละลายพอลิเมอร์เช่นเดียวกับเทคนิคโฮโมจีไนเซชัน แต่ต่างตรงที่การเตรียมหดยาสารละลายพอลิเมอร์จะใช้คลื่นเสียงในการทำให้หดยาสารละลายพอลิเมอร์แตกตัวเป็นอนุภาคเล็ก ๆ มีสารลดแรงตึงผิวล้อมรอบอนุภาค เพื่อป้องกันการรวมตัวของหดยาสารละลายพอลิเมอร์ โดยจะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการเตรียมพอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครแคปซูลข้างต้น คือ อัตราส่วนของพอลิแอลแลคติก แอซิดต่อสารสกัดสมุนไพร ที่ 2:1 ในระบบน้ำมันในน้ำ การใช้คลื่นความถี่ในการเขย่าวัฏภาคอินทรีย์ให้เป็นหดยาสารละลายพอลิเมอร์ที่เตรียมได้จะมีขนาดเล็กกว่า และมีการกระจายตัวที่แคบกว่าการเตรียมหดยาสารละลายพอลิเมอร์ที่ใช้แรงเฉือนด้วยแรงกลแบบโฮโมจีไนเซอร์ ดังนั้นจึงสามารถใช้เตรียมแคปซูลในระดับนาโนเมตรได้ แม้ว่าจะใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดเดียวกัน

จากการทดลอง พบว่า อิมัลชันของทั้งสามสารสกัดสมุนไพรต้นแบบที่เตรียมได้มีความเสถียรทางคอลลอยด์สูงทั้งก่อนและหลังการระเหยตัวทำละลาย ดังภาพที่ 4.6 a-c และ a'-c' แสดงให้เห็นว่าการใช้คลื่นความถี่สูงในการเตรียมหยดมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้แรงกล โดยอนุภาคแคปซูลที่เตรียมได้จะมีลักษณะเป็นทรงกลมขนาดเล็ก และไม่พบการเกาะตัวกันหลังจากการระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ (ภาพที่ 4.7 a-c และ a'-c') เมื่อทำการวัดขนาดอนุภาคแคปซูลด้วยเทคนิคการกระเจิงแสง (Dynamic light scattering; DLS) พบว่า ขนาดของแคปซูลที่กักเก็บสารสกัดสมุนไพรต้นแบบทั้งสาม มีขนาดอนุภาคอยู่ในระดับนาโนเมตร (170-685 นาโนเมตร) และมีการกระจายตัวของขนาดที่ค่อนข้างแคบ (PDI อยู่ในช่วง 0.2-0.3) ดังตารางที่ 4.2



ภาพที่ 4.6 อิมัลชันก่อน (a-c) และหลัง (a'-c') ระเหยตัวทำละลายของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชัน ที่ใช้อัตราส่วนของ PLLA:HE: ที่ 2:1 โดยใช้สารสกัดสมุนไพรต้นแบบต่างๆ: เควอซิทิน (a และ a') เควอคูมิน (b และ b') และลีโนเลอิก แอซิด (c และ c')



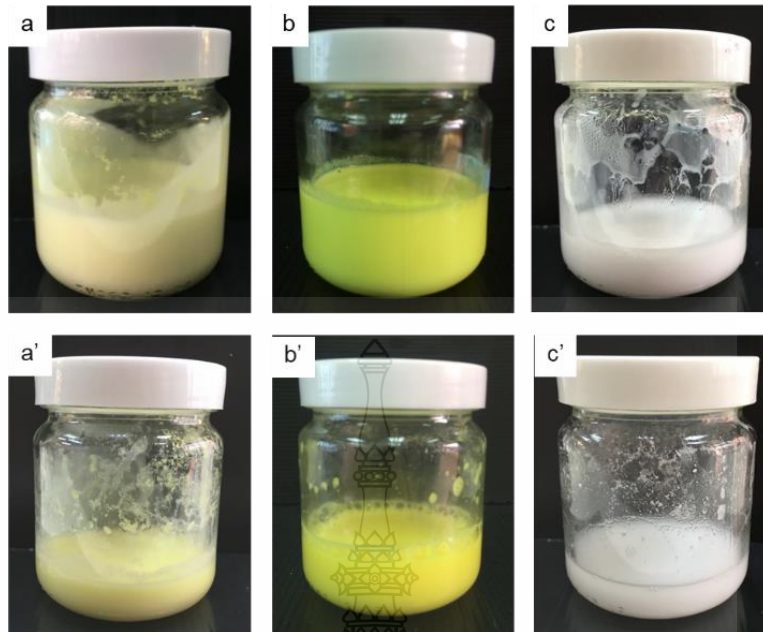
ภาพที่ 4.7 Optical micrograph ของหยด (a-c) และพอลิเมอร์แคปซูล (a'-c') กักเก็บสารสกัดสมุนไพร ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชัน ที่ใช้อัตราส่วนของ PLLA:HE: ที่ 2:1 โดยใช้สารสกัดสมุนไพรต้นแบบต่างๆ: เควอซิทิน (a และ a') เคอคูมิน (b และ b') และลิโนเลอิก แอซิด (c และ c')



**ตารางที่ 4.2** ขนาดอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร ด้วยเทคนิค อัลตราโซนิเคชัน ในระบบน้ำมันในน้ำ

| HE             | ก่อนระเหยตัวทำละลาย |              |       | หลังระเหยตัวทำละลาย |             |       |
|----------------|---------------------|--------------|-------|---------------------|-------------|-------|
|                | $d_v$ (nm)          | $d_n$ (nm)   | PDI   | $d_v$ (nm)          | $d_n$ (nm)  | PDI   |
| Quercetin      | 288.1±172.5         | 190.3±55.6   | 0.279 | 254.3±147.5         | 169.8±50.5  | 0.302 |
| Curcumin       | 1379.2±225.1        | 1284.7±192.1 | 1.07  | 996.2±560.1         | 685.2±196.3 | 0.287 |
| Linoleic acid  | 389.6±202.1         | 266.7±79.1   | 0.236 | 441.2±232.3         | 304.0±88.4  | 0.234 |
| Herbal extract | 364.9±181.0         | 254.4±74.4   | 0.233 | 402.2±194.2         | 282.6±82.5  | 0.238 |

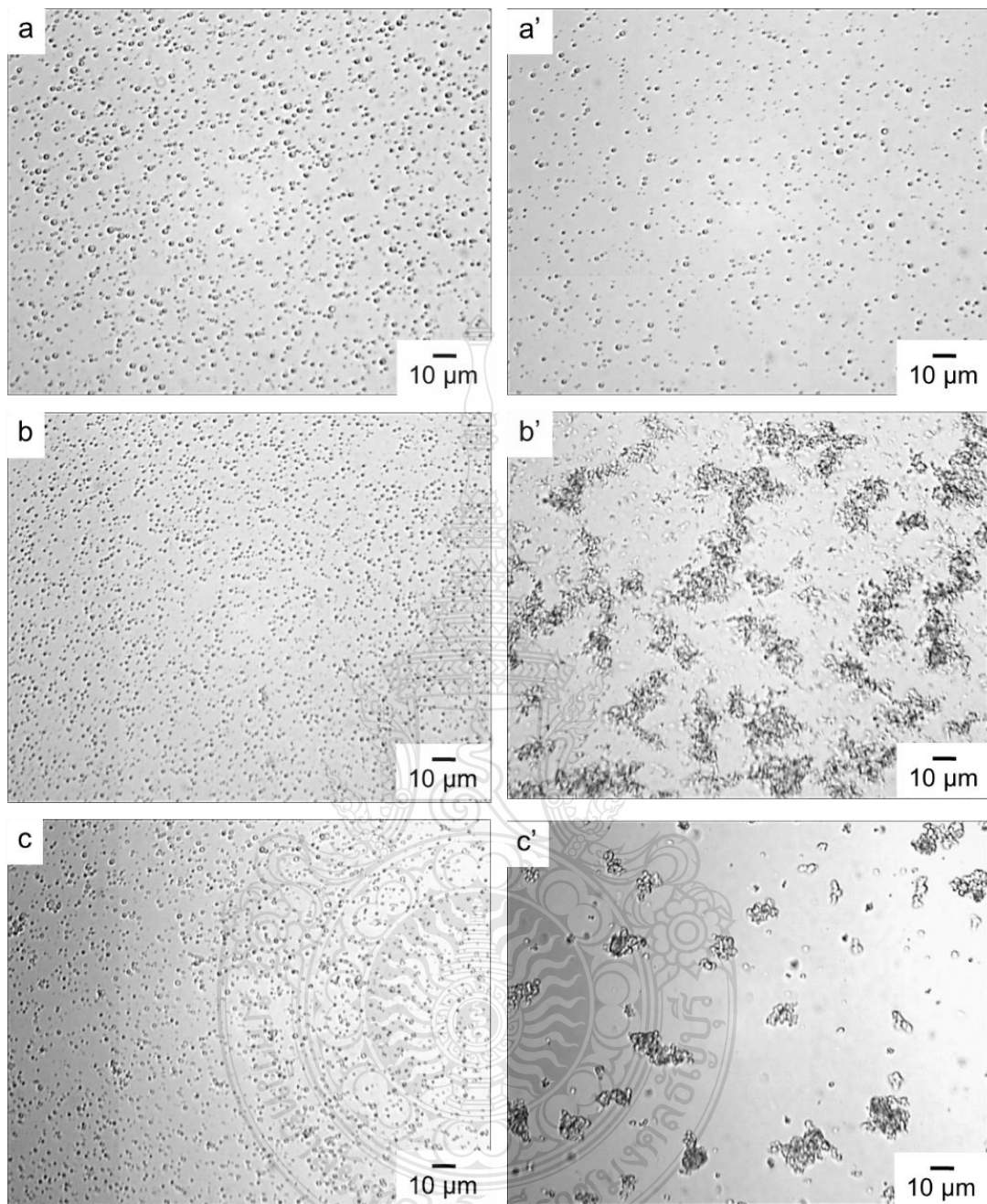
นอกจากนี้ยังได้มีการทดลองนำเทคนิคการเตรียมหยดสารอินทรีย์ ด้วยเทคนิค อิมัลชันแบบกลับวัฏภาค ซึ่งเป็นเทคนิคที่ไม่ใช้แรงเฉือนสูงในการเตรียม [70, 71] ในขณะที่หยดแคปซูล ที่ได้จะมีขนาดเล็กและมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่แคบ เช่นเดียวกับการใช้คลื่นความถี่สูง โดยพบว่าอิมัลชันของทั้งสามสารสกัดสมุนไพรต้นแบบมีความเสถียรสูงทั้งก่อนและหลังการระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ (ภาพที่ 4.8) นอกจากนี้ทั้งหยดและแคปซูลที่ได้จะมีลักษณะเป็นทรงกลม (ภาพที่ 4.9) อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการวัดขนาดของอิมัลชันด้วยเทคนิคการกระเจิงแสง ขนาดของหยดและอนุภาค แคปซูลจะค่อยๆโตขึ้น ตามสภาพขี้ของสารสกัดสมุนไพรต้นแบบ (ตารางที่ 4.3) สภาพขี้ของสารสกัดสมุนไพรต้นแบบที่เพิ่มขึ้น เช่น ลิโนเลอิก แอซิดโดยในระหว่างการกลับวัฏภาคจากระบบน้ำในน้ำมันมาเป็นน้ำมันในน้ำลิโนเลอิก แอซิดที่ละลายในน้ำมันช่วงแรก (ทำหน้าที่เป็นวัฏภาคต่อเนื่อง) จะเคลื่อนที่มาที่หยดน้ำได้เป็นจำนวนมาก ทำให้เมื่อมีการกลับวัฏภาค (ปริมาณน้ำมากกว่าน้ำมัน) ลิโนเลอิกแอซิดบางส่วนจะดูดซับอยู่ที่รอยต่อระหว่างผิวของหยดน้ำมันและน้ำ ทำให้สารลดแรงตึงผิวทั้งพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตมาดูดซับที่ผิวได้ยากขึ้น ส่งผลให้เกิดการรวมตัวกันของหยดน้ำมัน นอกจากนี้ยังพบว่าขนาดของแคปซูลที่ได้จะมีขนาดเล็กลง เมื่อเทียบกับหยดสารละลายพอลิเมอร์ อาจเนื่องจากตัวทำละลายอินทรีย์จำนวนมากได้ระเหยออกไปหมด



ภาพที่ 4.8 อิมัลชันก่อน (a-c) และหลัง (a'-c') ระยะเวลาการทำละลายของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอิมัลชันแบบกลับวัฏภาค ที่ใช้อัตราส่วนของ PLLA:HE: ที่ 2:1 โดยใช้สารสกัดสมุนไพรต้นแบบต่างๆ: เคอซีทิน (a และ a') เคอคูมิน (b และ b') และลิโนเลอิก แอซิด (c และ c')

เมื่อทำการตรวจวัดหาปริมาณของสารสกัดสมุนไพรต้นแบบทั้งสามชนิด และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บสารตามสมการที่ (4) และ (6) ตามลำดับ จะพบว่าทั้งประสิทธิภาพการบรรจุ (% $L_E$  อยู่ในช่วง 8-21 เปอร์เซ็นต์) และประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัด (% $EE$  อยู่ในช่วง 24-62 เปอร์เซ็นต์) จะมีค่าลดลงอย่างเห็นได้ชัด (ตารางที่ 4.4) เมื่อเทียบกับการเตรียมหยดด้วยคลื่นความถี่สูง ((% $L_E$  และ % $EE$  มีค่าอยู่ในช่วง 22-28 และ 67-84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) การที่ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารของเทคนิคอิมัลชันแบบกลับวัฏภาคต่ำกว่าการใช้คลื่นความถี่สูง อาจเนื่องมาจากสารสกัดมีโอกาสสัมผัสกับน้ำได้ในระหว่างการกลับวัฏภาค

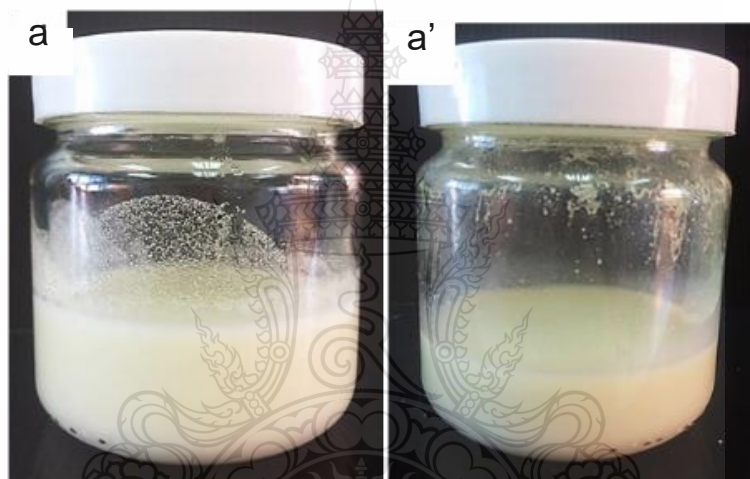
ดังนั้นในการพัฒนาเทคนิคการเตรียมแคปซูลในระดับนาโนเมตรจะเลือกใช้การเตรียมหยดแบบใช้คลื่นความถี่สูง โดยได้ทดลองนำไปเตรียมสารสกัดสมุนไพรจริง พบว่า อิมัลชันมีความเสถียรสูง (ภาพที่ 4.10) ทั้งก่อนและหลังการระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ ไม่มีการเกาะตัวกัน อนุภาคแคปซูลที่เตรียมได้จะมีลักษณะทรงกลม (ภาพที่ 4.11) และมีขนาด 412 นาโนเมตร มีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคใกล้เคียงกัน ( $PDI = 0.3$ ) และเมื่อพิจารณาถึงเปอร์เซ็นต์การบรรจุ (17 เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจวัดได้ แสดงให้เห็นว่าวิธีการเตรียมหยดด้วยคลื่นความถี่สูงจะมีประสิทธิภาพในการเตรียมแคปซูลได้ดีกว่าการใช้เทคนิคอิมัลชันแบบกลับวัฏภาค โดยเปอร์เซ็นต์การบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บสาร มีค่า 25 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



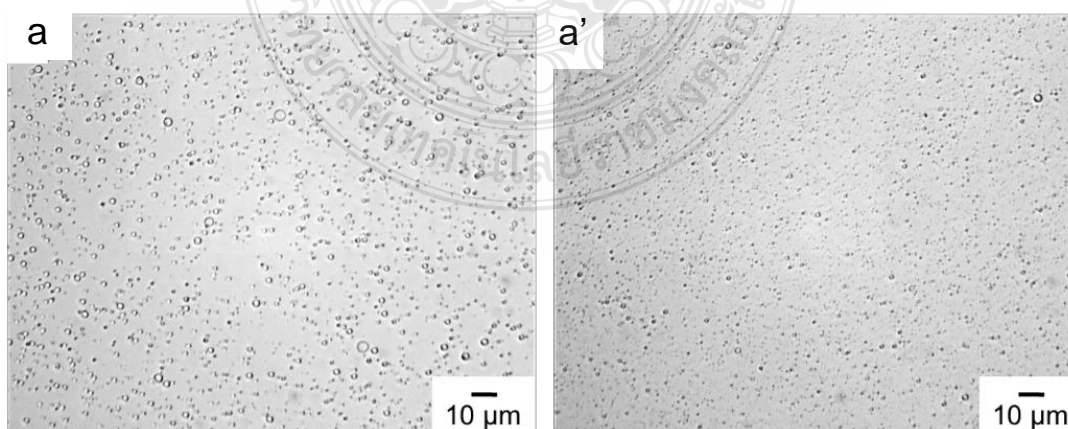
ภาพที่ 4.9 Optical micrograph ของหยด (a-c) และพอลิเมอร์แคปซูล (a'-c') กักเก็บสารสกัดสมุนไพร ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอิมัลชันแบบกลับวัฏภาค ที่ใช้อัตราส่วนของ PLLA:HE: ที่ 2:1 โดยใช้สารสกัดสมุนไพรต้นแบบต่างๆ: เควอซิทิน (a และ a') เคอคูมิน (b และ b') และลิโนลลิก แอซิด (c และ c')

ตารางที่ 4.3 ขนาดอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดนาโนแคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพร ด้วยเทคนิค การกลับวัฏภาค ในระบบน้ำมันในน้ำ

| HE            | ก่อนระเหยตัวทำละลาย |              |       | หลังระเหยตัวทำละลาย |                |       |
|---------------|---------------------|--------------|-------|---------------------|----------------|-------|
|               | $d_v$ (nm)          | $d_n$ (nm)   | PDI   | $d_v$ (nm)          | $d_n$ (nm)     | PDI   |
| Quercetin     | 3311.8±533.2        | 283.3±723.5  | 0.168 | 257.5±155.0         | 176.3±50.4     | 0.323 |
| Curcumin      | 1273.9±969.0        | 864.8±251.3  | 1.47  | 1002.2±550.7        | 698.3±196.0    | 1.43  |
| Linoleic acid | 4148.5±674.1        | 3866.9±575.7 | 0.058 | 14088.4±6370.2      | 10194.4±2895.4 | 1.872 |



ภาพที่ 4.10 อิมัลชันก่อน (a) และหลัง (a') ระเหยตัวทำละลายของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลกักเก็บสารสกัดสมุนไพรจริง ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชัน ที่ใช้อัตราส่วนของ PLLA:HE: ที่ 2:1



ภาพที่ 4.11 Optical micrograph ของหยด (a) และพอลิเมอร์แคปซูล (a') กักเก็บสารสกัดสมุนไพรจริง ในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชัน ที่ใช้อัตราส่วนของ PLLA:HE: ที่ 2:1

**ตารางที่ 4.4** ประสิทธิภาพการกักเก็บและผลการบรรจุสารสกัดสมุนไพรในพอลิเมอร์นาโนแคปซูล

|                 | HE             | % Loading<br>(33.33) | % Encapsulation |
|-----------------|----------------|----------------------|-----------------|
| Ultrasonication | Quercetin      | 22.47                | 67.41           |
|                 | Curcumin       | 24.03                | 72.09           |
|                 | Linoleic acid  | 27.90                | 83.7            |
|                 | Herbal Extract | 24.88                | 74.63           |
| PIE             | Quercetin      | 15.74                | 47.21           |
|                 | Curcumin       | 8.06                 | 24.18           |
|                 | Linoleic acid  | 20.70                | 62.10           |

#### 4.2 การศึกษาความคงตัวของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลที่เตรียมได้

การศึกษาคงตัวของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลที่เตรียมได้ โดยนำอิมัลชันของพอลิเมอร์แคปซูลเก็บที่อุณหภูมิ 5 และ 37 องศาเซลเซียส แล้วทำการวัดตัวอย่างทุก ๆ 48 ชั่วโมง จำนวน 5 ครั้ง เพื่อวัดขนาดของพอลิเมอร์แคปซูลเปรียบเทียบกับขนาดเริ่มต้น โดยข้อมูลแสดงตารางที่ 4.5 จากผลการทดลอง พบว่า อิมัลชันอนุภาคนาโนแคปซูลที่กักเก็บสารสกัดสมุนไพรต้นแบบทั้งสามชนิด (เคอควิทิน เคอคูมิน และลิโนเลอิก แอซิด) รวมทั้งสารสกัดสมุนไพรจริง มีความคงตัวค่อนข้างสูง โดยไม่มีการเกาะตัวกันเป็นก้อนขนาดใหญ่ หลังจากทิ้งเวลาไว้ 10 วัน (ทั้งอุณหภูมิ 5 และ 37 องศาเซลเซียส) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาถึงขนาดอนุภาคที่ตรวจวัดด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาคโดยใช้เทคนิคการกระเจิงแสง พบว่า ทั้งสี่การทดลองอนุภาคนาโนแคปซูลจะค่อยๆ มีขนาดของอนุภาคแคปซูลเพิ่มขึ้นหลังจาก 10 วัน เป็น 42 31 24 และ 9 เปอร์เซ็นต์ สำหรับนาโนแคปซูลที่กักเก็บเคอควิทิน เคอคูมิน ลิโนเลอิก แอซิด และสารสกัดสมุนไพรจริง ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ขนาดของอนุภาคแคปซูลจะเพิ่มขึ้นมากกว่าที่ 5 องศาเซลเซียสทุกสภาวะ โดยเพิ่มขึ้น 47 40 33 และ 38 เปอร์เซ็นต์ สำหรับแคปซูลที่กักเก็บเคอควิทิน เคอคูมิน ลิโนเลอิก แอซิด และสารสกัดสมุนไพรจริงตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม แม้ขนาดของนาโนแคปซูลจะเพิ่มขึ้น แต่ก็ไม่พบการเกาะตัวกันเป็นก้อนขนาดใหญ่ของแคปซูล ดังนั้นแคปซูลที่เตรียมได้น่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านเครื่องสำอางได้

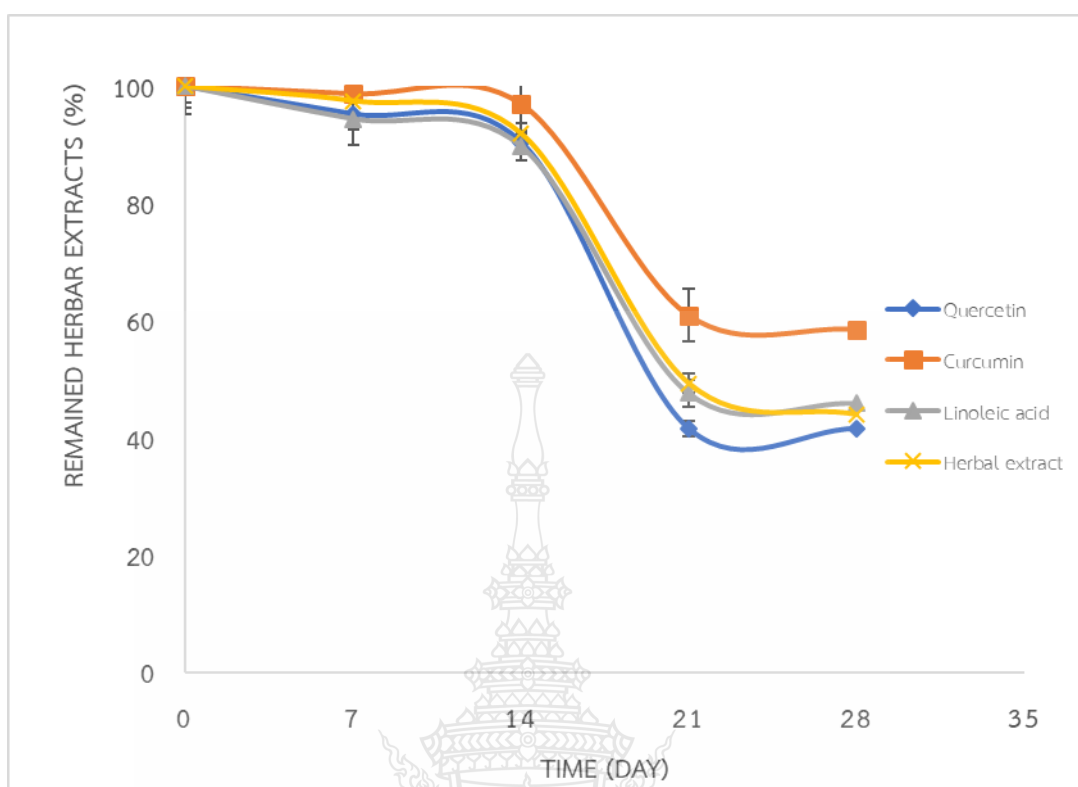
ตารางที่ 4.5 ความคงตัวของขนาดอนุภาคพอลิเมอร์นาโนแคปซูลที่อุณหภูมิต่าง ๆ

| อุณหภูมิ<br>(°C) | รอบที่ | Particle size (nm) |          |               |                |
|------------------|--------|--------------------|----------|---------------|----------------|
|                  |        | Quercetin          | Curcumin | Linoleic acid | Herbal extract |
| 5                | 0      | 169.8              | 685.2    | 304           | 282.6          |
|                  | 1      | 164.49             | 663.79   | 294.5         | 273.77         |
|                  | 2      | 187.96             | 687.39   | 304.97        | 236.37         |
|                  | 3      | 207.63             | 688.11   | 305.29        | 236.62         |
|                  | 4      | 237.25             | 786.29   | 348.85        | 270.38         |
|                  | 5      | 241.1              | 898.49   | 378.63        | 308.96         |
| 37               | 0      | 169.8              | 685.2    | 304           | 282.6          |
|                  | 1      | 175.84             | 709.57   | 314.81        | 198.25         |
|                  | 2      | 194.23             | 710.31   | 315.14        | 244.25         |
|                  | 3      | 221.94             | 735.56   | 306.34        | 252.94         |
|                  | 4      | 253.61             | 840.52   | 352.91        | 289.03         |
|                  | 5      | 249.8              | 960.45   | 406.12        | 390.27         |

#### 4.3 การศึกษาความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยของสารสำคัญในพอลิเมอร์แคปซูล

การศึกษาความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยสารสกัดสมุนไพรในพอลิเมอร์นาโนแคปซูล ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากการศึกษาการปลดปล่อยสารสกัดสมุนไพรของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลที่เตรียมได้ด้วยวิธีอัลตราโซนิเคชันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในสภาวะจำลอง พบว่า ช่วงสองสัปดาห์แรกทุกสารสกัดสมุนไพรทั้งสี่ชนิด จะค่อยๆปลดปล่อยออกมา อาจเนื่องจากพอลิแอลแลคติก แอซิด (มวลโมเลกุลไม่สูงมาก: 42,728 กรัมต่อโมล) ที่เป็นเปลือกค่อยๆ เกิดการสลายตัว และเมื่อมีการสลายตัวที่มากขึ้น เปลือกอาจเกิดการแตก ทำให้มีการปลดปล่อยสมุนไพรออกมาได้เร็วขึ้นในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ก่อนที่จะค่อยๆ คงที่ในสัปดาห์ที่ 4 อาจเนื่องมาจากสารสกัดสมุนไพรถูกกักเก็บในแคปซูลไม่ได้อยู่ในรูปแกน-เปลือก ทำให้ยังมีส่วนที่เหลือกระจายแทรกตัวอยู่ในเนื้อของพอลิแอลแลคติก แอซิด ส่งผลให้ยังเหลือปริมาณของสารสกัดสมุนไพรประมาณ 41-58 เปอร์เซ็นต์

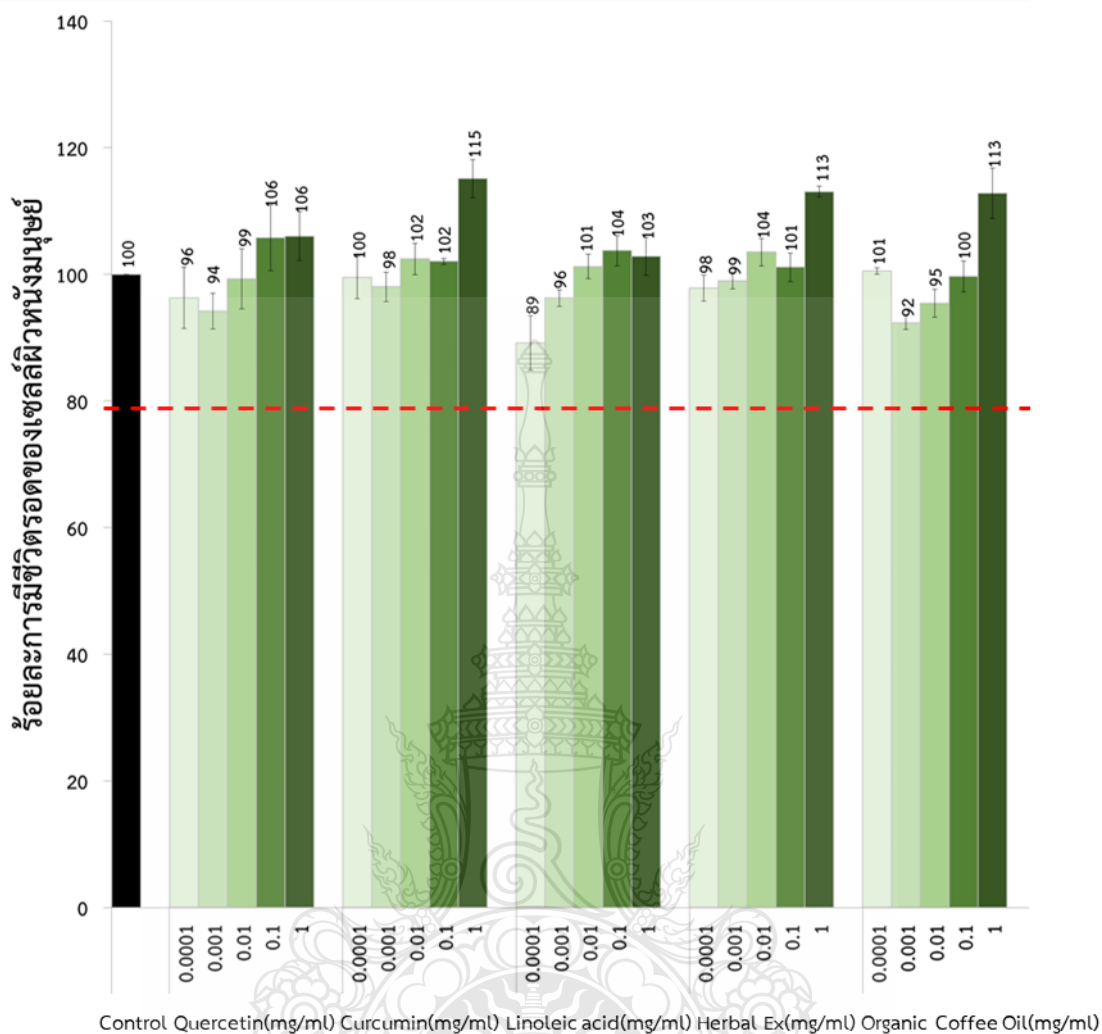




ภาพที่ 4.12 กราฟแสดงการลดลงของสารสกัดสมุนไพรในพอลิแอลแลคติก แอซิกนาโนแคปซูล ที่เตรียมด้วยวิธีอัลตราโซนิเคชัน

### 4.3 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธี MTT

การทดสอบความเป็นพิษของพอลิเมอร์นาโนแคปซูลต่อเซลล์ผิวหนังด้วยวิธี MTT ซึ่งเป็นการทดสอบการมีชีวิตรอดของเซลล์ (cell viability) โดยการวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ Succinate dehydrogenases ในไมโทคอนเดรียของเซลล์ที่มีชีวิตจะสามารถรีดิวซ์ Tetrazolium salt (MTT) ที่มีสีเหลือง ให้เป็นผลึก Formazan ที่มีสีม่วง ซึ่งปริมาณของผลึก Formazan ที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิตรอด (Buapool *et al.*, 2013) จากผลการทดลองพบว่าสารทดสอบทั้ง 4 ตัวอย่าง ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังทุกความเข้มข้น แม้ใช้ความเข้มข้นสูงถึง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยแสดงการมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 80 ดังแสดงในภาพที่ 4.13



ภาพที่ 4.13 ร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์ผึ้งนางมดเมื่อสัมผัสสารทดสอบ

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า ได้ประสบความสำเร็จในการเตรียมอนุภาคไมโครและนาโนแคปซูลของพอลิแอลแลคติก แอซิด/สารสกัดสมุนไพร ที่มีความเสถียรและมีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการกักเก็บสูง โดยใช้การระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำมันในน้ำอิมัลชัน เนื่องจากแคปซูลมีลักษณะที่ไม่มีพิษและมีการควบคุมการปลดปล่อยสารสกัดสมุนไพรได้ดี ไมโครและนาโนแคปซูลที่เตรียมได้จึงเหมาะสมสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง



## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการเตรียมไมโครและนาโนแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิดที่กักเก็บสารสกัดสมุนไพร โดยที่ใช้ เคอวอซิทิน เคอคูมิน และลิโนเลอิก แอซิดเป็นสารสกัดสมุนไพรต้นแบบที่มีสภาพขั้วแตกต่างกัน ด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำมันในน้ำอิมัลชัน

ในส่วนแรกเป็นการเตรียมพอลิเมอร์ไมโครแคปซูลด้วยเทคนิคโฮโมจีไนเซชัน ในระบบน้ำในน้ำมันในน้ำ และน้ำมันในน้ำ พบว่า อิมัลชันไม่มีความเสถียรทางคอลลอยด์ในกรณีของการเตรียมพอลิเมอร์แบบน้ำ1ในน้ำมันในน้ำ2 ในขณะที่ระบบน้ำมันในน้ำ แคปซูลที่ได้จะมีขนาดในระดับไมโครเมตร มีลักษณะเป็นทรงกลม และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่กว้าง นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง พอลิแอลแลคติก แอซิดต่อสารสกัดสมุนไพร ซึ่งพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 2:1 ที่ทำให้เปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการกักเก็บของสารสกัดสมุนไพรทั้งหมด (64-82%) ในกรณีการเตรียมนาโนแคปซูลด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำมันในน้ำ ที่มีการเตรียมพอลิเมอร์ด้วยเทคนิคอัลตราโซนิเคชัน ขนาดของแคปซูลที่ได้ประมาณ ขนาด 169-685 นาโนเมตร ซึ่งมีการกระจายตัวของขนาดที่แคบ (PDI: 0.22-0.30) โดยมีประสิทธิภาพการกักเก็บอยู่ในช่วง 67-83 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่างจากวิธีการเตรียมพอลิเมอร์แบบกลับวัฏภาค ที่มีการกระจายตัวของขนาดที่กว้าง (PDI: 0.29-1.89) โดยมีประสิทธิภาพการกักเก็บอยู่ในช่วง 24-88 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการระเหยตัวทำละลายนาโนแคปซูลที่ได้ เกิดการรวมตัวกันของอนุภาค ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าขนาดของอนุภาคและสภาพขั้วของสารสกัดสมุนไพรไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการกักเก็บ นอกจากนี้พอลิแอลแลคติก แอซิดไมโครและนาโนแคปซูลที่เตรียมได้มีความเสถียรทางคอลลอยด์สูง และไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังทุกความเข้มข้น แม้ใช้ความเข้มข้นสูงถึง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยแสดงควมมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 80 โดยจะค่อยๆปลดปล่อยสารสกัดสมุนไพรถึง 28 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 21 วัน

ดังนั้น สามารถสรุปได้ว่า งานวิจัยนี้ได้ประสบผลสำเร็จในการเตรียมนาโนแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิดที่กักเก็บสารสกัดสมุนไพร ที่มีความเสถียรและมีประสิทธิภาพในการกักเก็บสูง โดยใช้เทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำมันในน้ำอิมัลชัน เนื่องจากแคปซูลมีลักษณะที่ไม่มีพิษและมีการควบคุมการปลดปล่อยสารสกัดสมุนไพรทั้งหมดได้ดี นอกจากนี้การศึกษาสภาพขั้วของสารสกัดสมุนไพรต้นแบบที่ถูกกักเก็บในแคปซูล ยังสามารถนำไปเป็นแนวทางในการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการกักเก็บสารสกัดจากธรรมชาติได้ ไมโครและนาโนแคปซูลที่เตรียมได้จึงเหมาะสำหรับไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในขั้นตอนการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลในระบบน้ำมันในน้ำ ด้วยเทคนิคการเตรียมหยดแบบกลับวัฏภาค ควรศึกษาปัจจัยอื่น ๆ เพิ่มเติม เพื่อพัฒนาเทคนิคในการเตรียมนาโนแคปซูลแบบไม่ใช้แรงเฉือนสูง ซึ่งเหมาะกับการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม

2. ควรนำพอลิเมอร์แคปซูลที่ได้พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต้นแบบ เพื่อศึกษาผลของการซึมผ่านผิวหนัง รวมถึงความคงตัวของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเมื่อมีการผสมพอลิเมอร์แคปซูลลงไป



## บรรณานุกรม

- [1] พ. ถีลาพรพิสิฐ, "เครื่องสำอางธรรมชาติ ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหน้า," คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2554.
- [2] R. M. S. Narayana K Raj, MR Chaluvadi, DR Krishna, "Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential," *Indian Journal of Pharmacology*, vol. 33, no. 1 pp. 2-16, 2001
- [3] I. Erlund, "Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology," *Nutrition Research*, vol. 24, no. 10, pp. 851-874, 2004.
- [4] c. changkachitta, "Effects of quercetin and naringenin on functions of mitochondria isolated from rat liver," *Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Master of Science in Pharmacy Program in Pharmacology*, 2006.
- [5] J. Peterson and J. Dwyer, "Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity," *Nutrition Research*, vol. 18, no. 12, pp. 1995-2018, 1998.
- [6] Y. J. Moon, X. Wang, and M. E. Morris, "Dietary flavonoids: effects on xenobiotic and carcinogen metabolism," (in eng), *Toxicol In Vitro*, vol. 20, no. 2, pp. 187-210, 2006.
- [7] J. V. Formica and W. Regelson, "Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids," (in eng), *Food Chem Toxicol*, vol. 33, no. 12, pp. 1061-80, 1995.
- [8] M. Ajay, A. U. Gilani, and M. R. Mustafa, "Effects of flavonoids on vascular smooth muscle of the isolated rat thoracic aorta," (in eng), *Life Sci*, vol. 74, no. 5, pp. 603-12, Dec 19 2003.
- [9] ป. บุญคง, "บทความพื้นฟูวิชาการ ขมิ้นชัน สารพันประโยชน์," วารสารองค์การเภสัชกรรม, vol. 29, no. 1, pp. 31-38, 2546.
- [10] V. S. Govindarajan and W. H. Stahl, "Turmeric — chemistry, technology, and quality," *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 12, no. 3, pp. 199-301, 1980.
- [11] S. Toda, T. Miyase, H. Arichi, H. Tanizawa, and Y. Takino, "Natural antioxidants. III. Antioxidative components isolated from rhizome of *Curcuma longa* L," (in eng), *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, vol. 33, no. 4, pp. 1725-8, 1985.
- [12] G. Ciamician and P. Silber, "Zur Kenntniss des Curcumins," *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, vol. 30, no. 1, pp. 192-195, 1897.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- [13] K. R. Srinivasan, "A CHROMATOGRAPHIC STUDY OF THE CURCUMINOIDS IN CURCUMA LONGA, L," *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 5, no. 1, pp. 448-457, 1953.
- [14] T. Masuda, Y. Toi, H. Bando, T. Maekawa, Y. Takeda, and H. Yamaguchi, "Structural Identification of New Curcumin Dimers and Their Contribution to the Antioxidant Mechanism of Curcumin," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, no. 9, pp. 2524-2530, 1 2002.
- [15] W. D.-E. a. R. N. Supinya Tewtrakul " Simultaneous Determination of Individual Curcuminoids in Turmeric by TLC-Densitometric Method," *Thai J. Pharm. Sci.*, vol. 16, no. 3, pp. 251-259, 1992.
- [16] C. C. Araujo and L. L. Leon, "Biological activities of Curcuma longa L," (in eng), *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol. 96, no. 5, pp. 723-8, Jul 2001.
- [17] H. P. Ammon and M. A. Wahl, "Pharmacology of Curcuma longa," (in eng), *Planta Med*, vol. 57, no. 1, pp. 1-7, 1991.
- [18] J. S. Wright, E. R. Johnson, and G. A. DiLabio, "Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to Major Families of Antioxidants," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 123, no. 6, pp. 1173-1183, 2001.
- [19] T. Masuda, K. Hidaka, A. Shinohara, T. Maekawa, Y. Takeda, and H. Yamaguchi, "Chemical studies on antioxidant mechanism of curcuminoid: analysis of radical reaction products from curcumin," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 47, p. 71, 1999.
- [20] T. Masuda, T. Maekawa, K. Hidaka, H. Bando, Y. Takeda, and H. Yamaguchi, "Chemical studies on antioxidant mechanism of curcumin: Analysis of oxidative coupling products from curcumin and linoleate," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 49, p. 2539, 2001.
- [21] P. Hale. (1994, 13 October ). *Curcumin Study Validates Strategy of Pursuing Other LTR Inhibitors*. Available: <http://www.personalhealthfacts.com/antioxidants5.pdf>
- [22] อ. อภิสริยะกุล, "การศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียจากผู้ป่วยของน้ำมันขมิ้นชัน (tumeric oid) และเคอร์คิวมิน (Curcumin) ซึ่งสกัดได้จากขมิ้น," สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, เชียงใหม่, 2543.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- [23] ย. ศิริวัธนกุล, "การพัฒนาการใช้สมุนไพรเข้มข้นและการใช้ร่วมกับสมุนไพรฟ้าทะลายโจร เป็นวัตถุดิบในอาหารสัตว์สำหรับอุตสาหกรรมเลี้ยงไก่กระตัง," การประชุมวิชาการสมุนไพรไทย โอกาสและทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมผลิตสัตว์ ครั้งที่ 1 สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ, pp. 115-127, 2545
- [24] P. J. Roughley and D. A. Whiting, "Experiments in the biosynthesis of curcumin," *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 10.1039/P19730002379 no. 0, pp. 2379-2388, 1973.
- [25] N. Ghatak and N. Basu, "Sodium curcumin as an effective anti-inflammatory agent," (in eng), *Indian J Exp Biol*, vol. 10, no. 3, pp. 235-6, 1972.
- [26] พ. บุญศิริ, "เมแทบอลิซึมของลิพิด Lipid metabolism," ตำราชีวเคมี ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, pp. 298-327, 2540.
- [27] c. k. c. kelly lobb "Fatty acid classification and nomenclature," *In : Fatty Acids in Foods and Their Health Implications. Ed. Marcel C.K. Dekker, Inc. New York.*, pp. 5-15, 2000.
- [28] M. Du, D. U. Ahn, and J. L. Sell, "Effects of dietary conjugated linoleic acid and linoleic:linolenic acid ratio on polyunsaturated fatty acid status in laying hens," (in eng), *Poult Sci*, vol. 79, no. 12, pp. 1749-56, 2000.
- [29] Y. L. Ha, J. Storkson, and M. W. Pariza, "Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid," (in eng), *Cancer Res*, vol. 50, no. 4, pp. 1097-101, 1990.
- [30] T. R. Dhiman, E. D. Helmink, D. J. McMahon, R. L. Fife, and M. W. Pariza, "Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds," (in eng), *J Dairy Sci*, vol. 82, no. 2, pp. 412-9, 999.
- [31] R. J. Baer *et al.*, "Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil," (in eng), *J Dairy Sci*, vol. 84, no. 2, pp. 345-53, Feb 2001.
- [32] G. S. Kelly, "Conjugated linoleic acid: a review," (in eng), *Altern Med Rev*, vol. 6, no. 4, pp. 367-82, 2001.
- [33] J. Hunter, "Safety and health effects of isomeric fatty acid," *In "Fatty Acid in Foods and Their Health Implication*, pp. 667-686, 2000.
- [34] M. John, "Chemical and physical properties of fatty acids," *In: Fatty Acids in Foods and Their Health Implications*, pp. 17-46, 2000.
- [35] C. K. Chow, "Fatty acid in foods and their health implications," *Marcel. DekkerInc. New York. US.*, 2000.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- [36] C. Ip, J. A. Scimeca, and H. J. Thompson, "Conjugated linoleic acid. A powerful anticarcinogen from animal fat sources," (in eng), *Cancer*, vol. 74, no. 3 Suppl, pp. 1050-4, Aug 1 1994.
- [37] M. Sugano, A. Tsujita, M. Yamasaki, K. Yamada, I. Ikeda, and D. Kritchevsky, "Lymphatic recovery, tissue distribution, and metabolic effects of conjugated linoleic acid in rats," *The Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 8, no. 1, pp. 38-43, 1997.
- [38] M. E. Cook, C. C. Miller, Y. Park, and M. Pariza, "Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression," (in eng), *Poult Sci*, vol. 72, no. 7, pp. 1301-5, 1993.
- [39] R. R. Watson, S. Zibadi, R. Vazquez, and D. Larson, "Nutritional regulation of immunosenescence for heart health," (in eng), *J Nutr Biochem*, vol. 16, no. 2, pp. 85-7, 2005.
- [40] K. N. Lee, D. Kritchevsky, and M. W. Pariza, "Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits," (in eng), *Atherosclerosis*, vol. 108, no. 1, pp. 1994.
- [41] M. Javadi *et al.*, "Prolonged feeding of mice with conjugated linoleic acid increases hepatic fatty acid synthesis relative to oxidation," (in eng), *J Nutr Biochem*, vol. 15, no. 11, pp. 680-7, 2004.
- [42] R. M. Rasal, A. V. Janorkar, and D. E. Hirt, "Poly(lactic acid) modifications," *Progress in Polymer Science*, vol. 35, no. 3, pp. 338-356, 2010.
- [43] D. Garlotta<sup>1</sup>, "A literature review of poly lactic acid," *Journal of Polymers and the Environment*, vol. 9, pp. 517-526, 2002.
- [44] D. Garlotta, "A Literature Review of Poly(Lactic Acid)," *Journal of Polymers and The Environment*, vol. 9, no. 2, pp. 63-84, 2001.
- [45] C. Xudong, C. Yujun, H. Gong, and Z. Hui, "Effect of molecular weight on crystallization, melting behavior and morphology of poly(trimethylene terephthalate)," *Polymer Testing*, vol. 26, pp. 144-153, 2007.
- [46] M. L. D. Lorenzo, "Crystallization behavior of poly(L-lactic acid)," *European Polymer Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 41, pp. 569-575, 2004.
- [47] S. D. Park, M. Todo, K. Arakawa, and M. Koganemaru, "Effect of crystallinity and loading-rate on mode I fracture behavior of poly(lactic acid)," *Polymer*, vol. 47, no. 4, pp. 1357-1363, 2006.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- [48] K. A. Mohanty, M. Misra, and T. L. Drzal, "Natural fiber, biopolymers, and biocomposites," *Boca Raton: Taylor & Francis Group*, 2005.
- [49] B. K. Green and S. Lowell, "Pressure responsive record materials," ed: Google Patents, 1956.
- [50] M. A. Augustin, L. Sanguansri, C. Margetts, and B. Young, "Encapsulation of food ingredients," *Food Australia*, vol. 53, no. 6, pp. 220-223, 2001.
- [51] ว. วิรุฬห์ธากฤษณ์, "วิทยานิพนธ์เรื่อง การผลิตกลิ่นควันเทียนอบผงโดยใช้วิธีเอนแคปซูเลชัน," สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2554.
- [52] A. Madene, M. Jacquot, J. Scher, and S. Desobry, "Flavour encapsulation and controlled release – a review," *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 41, no. 1, pp. 1-21, 2006.
- [53] K. Pielichowska and K. Pielichowski, "Phase change materials for thermal energy storage," *Progress in Materials Science*, vol. 65, pp. 67-123, 2014.
- [54] ป. ภัทรสถาพรกุล, "การทำให้เป็นเม็ดด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง," ว. สมาคมเครื่องทำความเย็นไทย, vol. 16, pp. 15-18, 2548.
- [55] M. Chávarri, I. Marañón, and M. C. Villarán, *Encapsulation Technology to Protect Probiotic Bacteria (Probiotics)*. 2012.
- [56] W. Boontung, S. Moonmangmee, A. Chaiyasat, and P. Chaiyasat, "Preparation of Poly(l-lactic acid) Capsule Encapsulating Fertilizer," *Advanced Materials Research*, vol. 506, pp. 303-306, 2012.
- [57] K.-Y. Zhu, H.-Z. Qi, S. Wang, and X.-Y. Yuan, "Preparation and characterization of melamine-formaldehyde resin micro- and nano-capsules filled with n-dodecane," *Journal of Macromolecular Science* vol. 51, pp. 1976-1990, 2012.
- [58] E. Dickinson and G. Stainsby, *Colloids in Food* Applied Science Publishers, London., 1982.
- [59] E. Dickinson, *An Introduction to Food Colloids*. Oxford University Press, Oxford., 1992.
- [60] E. Dickinson and D. J. McClements, *Advance in Food Colloids*. Chapman & Hall, London., 1995.
- [61] N. Garti, "Double emulsions — scope, limitations and new achievements," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 123, pp. 233-246, 1997.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

- [62] M. Y. Khan, Z. A. A. Karim, F. Y. Hagos, and I. M. Tan, "Current Trends in Water-in-Diesel Emulsion as a Fuel," *The Scientific World Journal*, vol. 2017(17), p. 15, 2014.
- [63] 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.
- [64] ป. ตีกา, "การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มน้ำมันหอมระเหย," ปรินญาโท, สาขาวิชาเคมี นวัตกรรม, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2557.
- [65] S. Sugiura *et al.*, "Preparation characteristics of water-in-oil-in-water multiple emulsions using microchannel emulsification," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 270, no. 1, pp. 221-228, 2004.
- [66] T. Kemala, E. Budianto, and B. Soegiyono, "Preparation and characterization of microspheres based on blend of poly(lactic acid) and poly( $\epsilon$ -caprolactone) with poly(vinyl alcohol) as emulsifier," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 5, no. 1, pp. 103-108, 2012.
- [67] S. Arora *et al.*, "Synthesis, characterization, and evaluation of poly (D,L-lactide-co-glycolide)-based nanoformulation of miRNA-150: potential implications for pancreatic cancer therapy," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 9, pp. 2933-2942, 2014.
- [68] K. Boonpisuttinant, U. Sodamook, W. Ruksiriwanich, and S. Winitchai, "In Vitro Anti-melanogenesis and Collagen Biosynthesis Stimulating Activities of Star Grass (*Hypoxis aurea Lour.*) Extracts," *Asian Journal of Applied Sciences*, vol. 02, no. 04, pp. 405-413, 2014.
- [69] W. Zhou, J. Li, W. Wei, Z. Su, and G. Ma, "Effect of solubilization of surfactant aggregates on pore structure in gigaporous polymeric particles," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 384, no. 1, pp. 549-554, 2011.
- [70] P. Chaiyasat, M. Z. Islam, and A. Chaiyasat, "Preparation of poly(divinylbenzene) microencapsulated octadecane by microsuspension polymerization: oil droplets generated by phase inversion emulsification," *RSC Advances*, 10.1039/C3RA40802G vol. 3, no. 26, pp. 10202-10207, 2013.
- [71] S. Namwong, M. Z. Islam, S. Noppalit, P. Tangboriboonrat, P. Chaiyasat, and A. Chaiyasat, "Encapsulation of octadecane in poly(divinylbenzene-co-methyl



methacrylate) using phase inversion emulsification for droplet generation,"  
*Journal of Macromolecular Science, Part A*, vol. 53, no. 1, pp. 11-17, 2016.

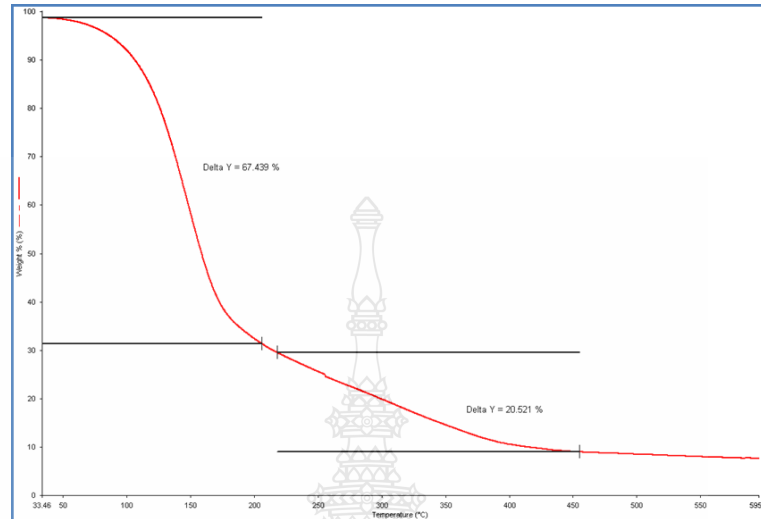




ภาคผนวก ก  
ศึกษาองค์ประกอบของพอลิเมอร์แคปซูล

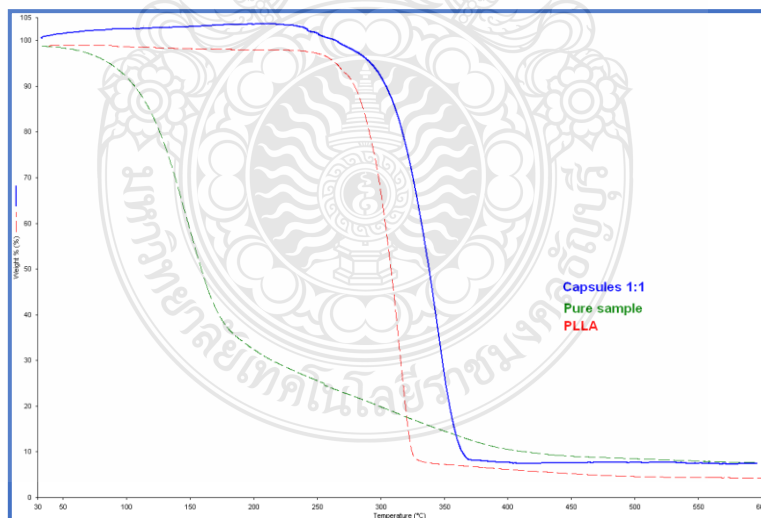


## 1. การสลายตัวทางความร้อนของสารสกัดสมุนไพรบริสุทธิ์



รูปที่ ก-1 TGA thermogram ของสารสกัดสมุนไพรจริง

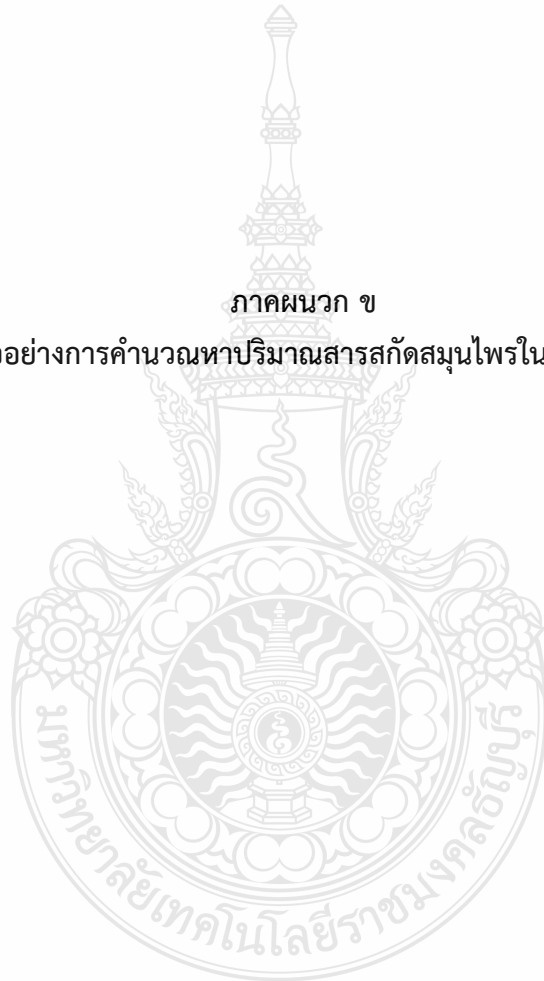
## 2. การสลายตัวทางความร้อนของพอลิเมอร์แคปซูล



รูปที่ ก-2 TGA thermogram ของพอลิแอลแลคติกแอซิดไมโครแคปซูลหุ้มสารสกัดสมุนไพร

ภาคผนวก ข

ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณสารสกัดสมุนไพรในแคปซูล



**ตัวอย่าง** การคำนวณสารสกัดสมุนไพรบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 0.02 % ปริมาตร 10 มิลลิลิตร  
ซึ่งสารสกัดสมุนไพร 0.025 กรัม ละลายในไดคลอโรมีเทนให้มีปริมาตร 25 มิลลิลิตร ซึ่งสารสกัด  
สมุนไพรจะมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.1 เปอร์เซ็นต์

- Stock 0.1 %, 25 ml

$$\begin{aligned} \text{น้ำหนักแคปซูลที่เตรียมได้} &= \frac{0.1 \times 25}{100} \\ &= 0.025 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

จากนั้นทำการเจือจางโดยปิเปตจาก Stock 0.1 เปอร์เซ็นต์ มา 2 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรเป็น  
10 มิลลิลิตร สารสกัดสมุนไพรจะมีความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์

- 0.02 %, 10 ml

$$\begin{aligned} C_1 V_1 &= C_2 V_2 \\ V_1 &= \frac{0.02 \times 10}{0.1} \\ &= 2 \text{ มิลลิลิตร} \end{aligned}$$

จากนั้นนำไปหาปริมาณด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 261  
นาโนเมตร

**ตัวอย่าง** การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การบรรจุและประสิทธิภาพการหุ้ม

ยกตัวอย่างการคำนวณที่อัตราส่วนของพอลิแอลแลคติกแอซิดต่อสารสกัดสมุนไพร 2:1 โดยมี  
สารละลายน้ำที่มีพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เป็นวัสดุภาคต่อเนื่อง

**ตารางที่ ข-1** แสดงข้อมูลที่เกี่ยวข้องในการคำนวณ

| สารที่ใช้ในระบบการเตรียมแคปซูล  | ปริมาณ     |
|---|------------|
| 1. สารสกัดสมุนไพร   | 0.417 กรัม |
| 2. พอลิแอลแลคติกแอซิด   | 0.834 กรัม |
| 3. แคปซูล   | 0.025 กรัม |
| 4. ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแคปซูลหุ้มสาร<br>สกัดสมุนไพรที่ปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร | 0.3115     |

### วิธีการคำนวณ

จากตารางที่ ข-1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแคปซูลหุ้มสารสกัดสมุนไพรที่ปริมาตร 10 มิลลิลิตรเท่ากับ 0.3115 สามารถคำนวณหา เปอร์เซ็นต์การบรรจุและประสิทธิภาพการหุ้ม ได้แสดงดังต่อไปนี้

สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานคือ  $y = 84.182x + 0.021$

ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างพอลิเมอร์แคปซูลคือ 0.3115

จะได้  $0.3115 = 84.182x + 0.021$

[HE] = 0.00345 % ..... ที่ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ที่ 25 มิลลิลิตร [HE] =  $0.00345 \times 5$   
= 0.01725 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณสารสกัดสมุนไพรในหน่วยกรัม

จากความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์แคปซูลคือ 0.01725 เปอร์เซ็นต์

สารละลายพอลิเมอร์แคปซูล 100 มิลลิลิตร จะมีสารสกัดสมุนไพรอยู่ 0.01725 กรัม

ถ้าสารละลายพอลิเมอร์แคปซูล 25 มิลลิลิตร จะมีสารสกัดสมุนไพรคือ

$$W_{\text{HE; Ext.}} \text{ (g)} = \frac{0.01725 \times 25}{100} = 0.00431 \text{ กรัม}$$

จากสมการที่ (4) เปอร์เซ็นต์การบรรจุ

$$= \frac{W_{\text{HE}} \text{ (g)} \times 100}{W_{\text{capsule; Ext.}}}$$

สามารถคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การบรรจุได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \%L_E &= \frac{W_{\text{HE}} \text{ (g)} \times 100}{W_{\text{capsule; Ext.}}} \\ &= \frac{0.00431 \times 100}{0.025} \\ &= 17.24 \text{ เปอร์เซ็นต์} \end{aligned}$$

ที่อัตราส่วนพอลิเมอร์ : สารสกัดสมุนไพรเท่ากับ 2:1 จะมีเปอร์เซ็นต์การบรรจุทางทฤษฎีดังนี้  
พอลิเมอร์แคปซูล 3 เปอร์เซ็นต์ มีจะมีสารสกัดสมุนไพร 1 เปอร์เซ็นต์

ถ้าพอลิเมอร์แคปซูล 100 เปอร์เซ็นต์ มีจะมีสารสกัดสมุนไพรคือ

$$\begin{aligned} \%L_{th} &= \frac{1 \times 100}{3} \\ &= 33.33 \text{ เปอร์เซ็นต์} \end{aligned}$$

ที่อัตราส่วนพอลิเมอร์ : สารสกัดสมุนไพรเท่ากับ 2:1 จะมีปริมาณสารสกัดสมุนไพรตามทฤษฎี (กรัม) ดังนี้  
พอลิเมอร์แคปซูล 3 กรัม มีจะมีสารสกัดสมุนไพร 1 กรัม

ถ้าพอลิเมอร์แคปซูล 0.025 กรัม มีจะมีสารสกัดสมุนไพรคือ

$$\begin{aligned} W_{HE; Th} (g) &= \frac{W_{HE; Recipe} \times W_{Capsule; Ext.}}{W_{Capsule; Recipe}} \\ &= \frac{1 \times 0.025}{3} \\ &= 0.00833 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

จากสมการ (6) ประสิทธิภาพการหุ้ม

$$= \frac{W_{HE; Ext.} \times 100}{W_{HE; Theory}}$$

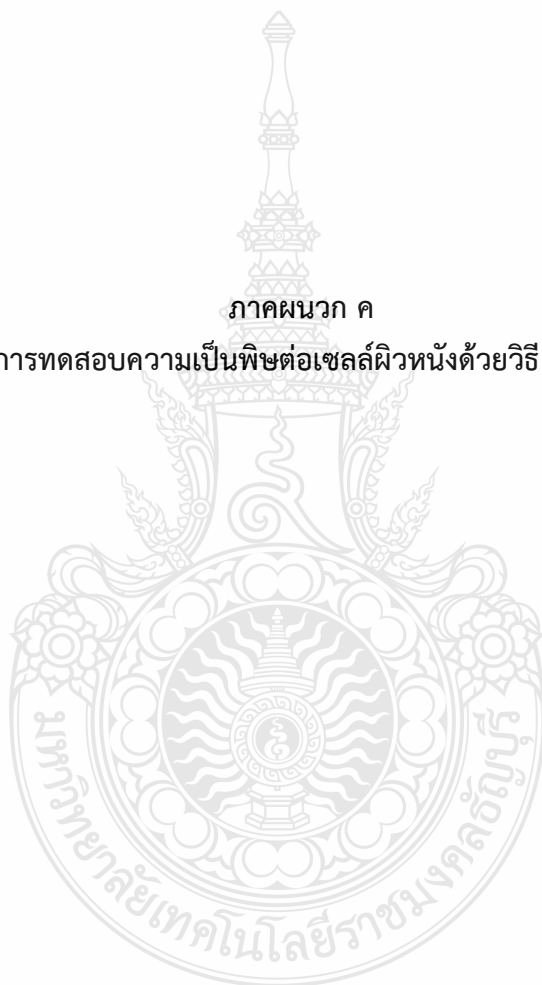
สามารถคำนวณหาประสิทธิภาพการหุ้มได้ดังนี้

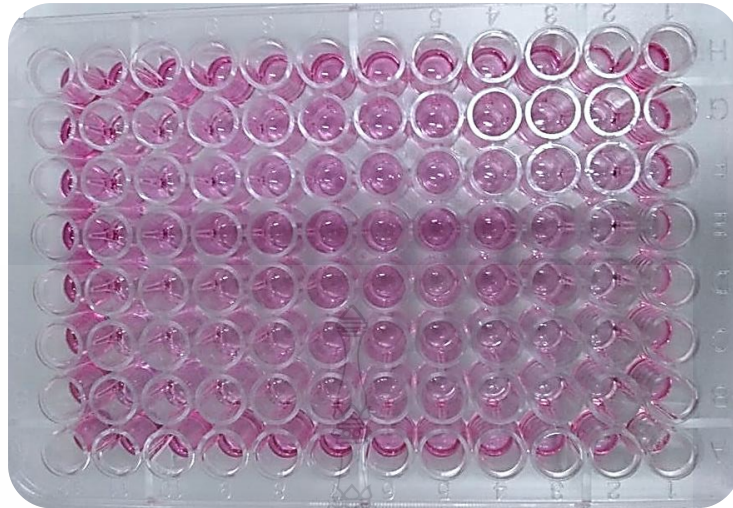
$$\begin{aligned} \%EE &= \frac{W_{HE; Ext.} \times 100}{W_{HE; Theory}} \\ &= \frac{0.00431 \times 100}{0.00833} \\ &= 51.74 \text{ เปอร์เซ็นต์} \end{aligned}$$



ภาคผนวก ค

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังด้วยวิธี MTT





รูปที่ ค-1 ภาพการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังด้วย MTT

ตัวอย่าง การคำนวณการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังจากสมการ

$$\% \text{ Cell viability} = \frac{A_{560} \text{ Sample}}{A_{560} \text{ Control}} \times 100$$

ตัวอย่าง การคำนวณการคำนวณการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังจากสมการ  
สารละลายของพอลิเมอร์แคปซูล ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

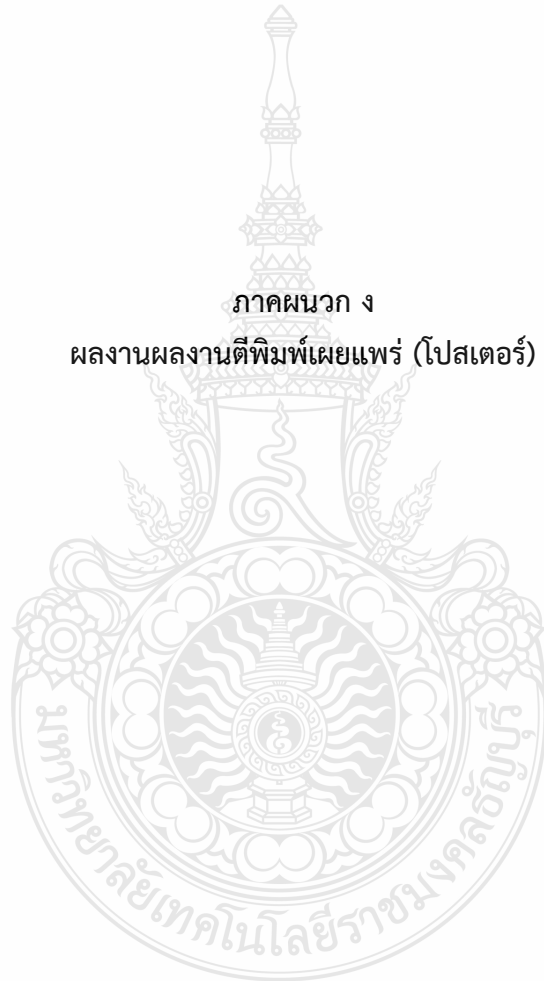
$$A_{\text{control}} = 0.459$$

$$A_{\text{sample}} = 0.469$$

$$\% \text{ cell viability} = \frac{0.469}{0.459} \times 100 = 102.179$$

ดังนั้น ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนัง (% cell viability) ของสารสกัดเท่ากับ 102.179 %

ภาคผนวก ง  
ผลงานผลงานตีพิมพ์เผยแพร่ (โปสเตอร์)





# ABSTRACT BOOK

International Polymer Conference of Thailand

At Pathumwan Princess Hotel, Bangkok, Thailand

June 30 - July 1, 2016



SESSIONS

- Biomedical and Environmentally Friendly Polymers
- Advances in Polymer Characterization
- Polymer Composites and Nanocomposites
- Advances in Polymer Processing
- Smart and Intelligent Polymers
- Natural and Synthetic Rubbers



Organized by Polymer Society of Thailand (PST)

Annual Meeting for Polymer Science and Technology  
for Academic Research and Industrial Development

SURF-P1

### Preparation and characterization of methyl methacrylate-based copolymer microcapsule encapsulated methyl anthranilate by microsuspension polymerization

Jiniuta Pansuwan, Preeyaporn Chaiyasat and Amorn Chaiyasat\*

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

\*corresponding author: a\_chaiyasat@mail.rmutt.ac.th

#### Abstract

In this research, the preparation of polymethyl methacrylate (PMMA) microcapsule encapsulated methyl anthranilate (MA) as an important ingredient of essential oil by microsuspension polymerization was studied. The obtained microcapsules were spherical with homogeneous distribution of MA in PMMA particles. Using iodine transfer microsuspension polymerization (microsuspension ITP), byproduct-free PMMA particles formed in an aqueous medium were greatly decreased compared with conventional radical microsuspension polymerization (microsuspension CRP). Moreover, percent total encapsulation before washing was about 93% which was higher than that of microsuspension CRP (64%). However, after washing, percent encapsulation were significantly decreased to 37 and 40% for microsuspension ITP and CRP, respectively, due to the removal of MA adsorbed nearly microcapsule surface. To increase encapsulation efficiency of MA, copolymerization of MMA with ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) as crosslinked monomer was conducted. Although, percent total encapsulation before washing of P(MMA-EDGMA)/MA microcapsule (92%) almost the same as that of PMMA/MA microcapsule, it was greatly improved after washing (58%).

**Keywords:** Microcapsule, Microsuspension polymerization, Iodine transfer polymerization, Methyl anthranilate

SURF-P2

### Preparation and characterization of poly(l-lactic acid)-based nanoencapsulated organic coffee oil by phase inversion emulsification technique

Jinapa Sangsri<sup>1</sup>, Supanida Winitchai<sup>2</sup>, Korawinwich Boonpisuttinant<sup>3</sup>, Preeyaporn Chaiyasat<sup>1</sup> and Amorn Chaiyasat<sup>1\*</sup>

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

<sup>2</sup>Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute (KAPI), Kasetsart University, Chatujuk,  
Bangkok 10900, Thailand

<sup>3</sup>Thai Traditional Medicine College, Rajamangala University of Technology, Thanyaburi, Prachatipat, Thanyaburi,  
Pathumthani 12130, Thailand

\*a\_chaiyasat@mail.rmutt.ac.th

#### Abstract

In this research, poly(l-lactic acid) (PLLA)-based nanoencapsulated organic coffee oil (OCO) was prepared in oil in water emulsion system using phase inversion emulsification with solvent evaporation technique. The influence of PLLA:PVA:OCO weight ratio, surfactant amount in continuous phase and dropwise additional rate of continuous phase on the colloidal stability, particle size and particle size distribution (PSD;  $d_w/d_n$ ) of the obtained nanocapsules were studied. The ratio of PLLA:PVA:OCO (w/w) at 3:2:1 and 5 wt% of SDS aqueous solution with addition rate of 2 ml/min in continuous phases was an optimum condition. The obtained spherical nanocapsules was approximately 200-300 nm with narrow PSD (1.29). The percent encapsulation and loading of the encapsulated OCO measured with UV-Visible spectroscopy were 67% and 17%, respectively.

**Keywords:** Nanocapsule, Encapsulation, Phase inversion emulsification, Organic coffee oil





## Preparation and characterization of poly(l-lactic acid)-based nanoencapsulated organic coffee oil by phase inversion emulsification technique

Jinapa Sangsee<sup>1</sup>, Supanida Winitchai<sup>2</sup>, Korawinwich Boonpisuttinant<sup>3</sup>, Preeyaporn Chaiyasat<sup>1</sup> and Amorn Chaiyasat<sup>1\*</sup>

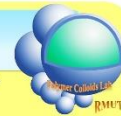
<sup>1</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Klong 6,

Thanyaburi, Pathumthani 12110, Thailand; www.sci.rmutt.ac.th/pcl/

<sup>2</sup>Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute (KAPI), Kasetsart University, Chatujuk, Bangkok 10900, Thailand

<sup>3</sup>Thai Traditional Medicine College, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Prachatipat, Thanyaburi, Pathumthani 12130, Thailand

\*E-mail: a\_chaiyasat@mail.rmutt.ac.th



### Abstract

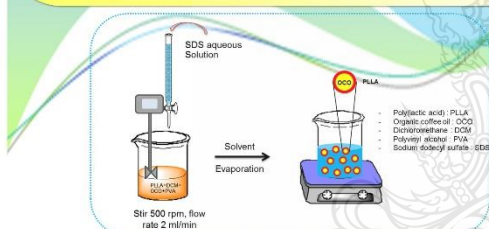
In this research, poly(l-lactic acid) (PLLA)-based nanoencapsulated organic coffee oil (OCO) was prepared in oil in water emulsion system using phase inversion emulsification with solvent evaporation technique. The influence of PLLA:PVA:OCO weight ratio, surfactant amount in continuous phase and dropwise additional rate of continuous phase on the colloidal stability, particle size and particle size distribution (PSD;  $dw/dn$ ) of the obtained nanocapsules were studied. The ratio of PLLA:PVA:OCO (w/w) at 3:2:1 and 5 wt% of SDS aqueous solution as continuous phases with addition rate of 2 ml/min was an optimum condition. The obtained nanocapsules were approximately 200-300 nm with narrow PSD (1.29). The percent encapsulation and loading of the encapsulated OCO measured with UV-Visible spectroscopy were 67% and 17%, respectively.

### Experimental

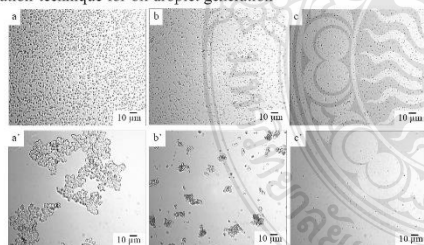
**Table 1** Recipes for the preparation of PLLA/OCO capsules<sup>a</sup> by solvent evaporation method

| Ingredient                                    | PLLA/OCO (w/w) |      |      |
|---|----------------|------|------|
|   | 1:1            | 2:1  | 3:1  |
| PLLA (g)                                      | 2.6            | 3.5  | 3.9  |
| OCO (g)                                       | 2.6            | 1.7  | 1.3  |
| PVA (g)                                       | 3.0            | 3.0  | 3.0  |
| DCM (g)                                       | 25.0           | 25.0 | 25.0 |
| SDS aqueous solution (5 wt%) <sup>b</sup> (g) | 50.0           | 50.0 | 50.0 |

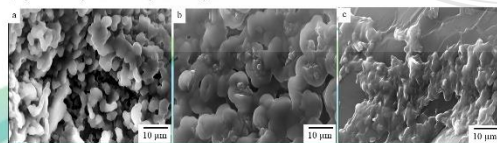
a) 500 rpm, 2 ml/min



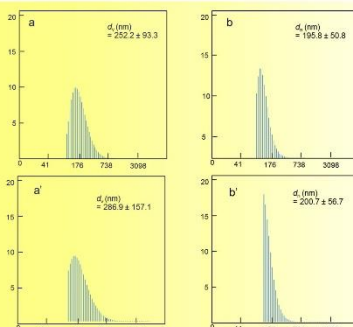
**Fig. 1** Schematic diagram for the preparation of PLLA capsules encapsulated OCO (PLLA/OCO) by solvent evaporation using phase inversion emulsification technique for oil droplet generation



**Fig. 2** Optical micrographs of PLLA/OCO capsules before (a, b and c) and after (a', b' and c') solvent evaporation at various PLLA:OCO ratios: (a and a') 1:1, (b and b') 2:1 and (c and c') 3:1



**Fig. 3** SEM micrographs of PLLA/OCO capsules at using SDS 5 wt% at various PLLA:OCO ratios: (a) 1:1, (b) 2:1 and (c) 3:1



**Fig. 4** DLS histograms of PLLA/OCO capsules before (a and b) and after (a' and b') solvent evaporation at PLLA:OCO ratio of 3:1 (w/w)

**Table 2** Recipes for the preparation of PLLA/OCO capsules by solvent evaporation method

| PLLA : Coffee | Loading (%) |        | Encapsulation <sup>a</sup> (%) |
|---------------|-------------|--------|--------------------------------|
|               | experiment  | theory |                                |
| 1:1           | 34.0        | 50.0   | 68.6                           |
| 2:1           | 21.7        | 33.3   | 65.3                           |
| 3:1           | 16.7        | 25.0   | 66.8                           |

$$a \% \text{ encapsulated} = \frac{\text{loading (experiment)}}{\text{loading (theory)}} \times 100$$

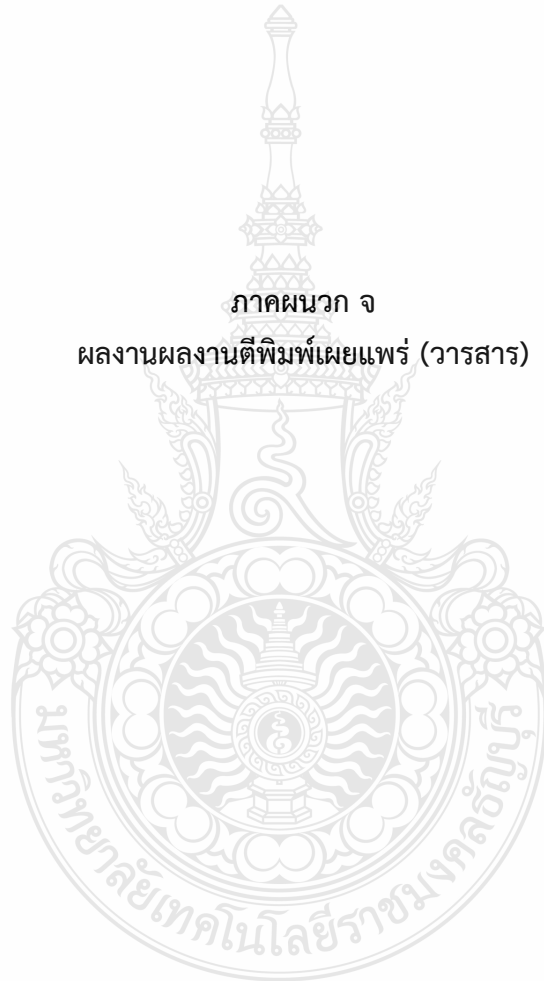
### Conclusions

In this research, PLLA-based nanoencapsulated OCO is successfully prepared in oil in water emulsion system using phase inversion emulsification with solvent evaporation technique. The obtained capsule size decreased with the increasing of polymer shell content. The ratio of PLLA:PVA:OCO (w/w) at 3:2:1 and 5 wt% of SDS aqueous solution as a continuous phases with addition rate of 2 ml/min is the optimum condition in which the capsule size is in the nanometer size range with high encapsulation efficiency (67%).

### References

- [1] 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.
- [2] P. Chaiyasat, Md. Z. Islam and A. Chaiyasat, Preparation of poly(divinylbenzene) microencapsulated octadecane by microsuspension polymerization: oil droplets generated by phase inversion emulsification, *RSC Advances*, vol. 3, pp. 10202-10207, 2013.
- [3] S. Namwong, S. Noppalit, Md. Z. Islam, P. Tangboriboonrat, P. Chaiyasat, A. Chaiyasat, Encapsulation of octadecane in poly(divinylbenzene-co-methyl methacrylate) using phase inversion emulsification for droplet generation, *J Macromol. Sci. A.*, vol. 53 (1), pp. 11-17, 2016.

ภาคผนวก จ  
ผลงานผลงานตีพิมพ์เผยแพร่ (วารสาร)



## Encapsulation of herbal extracts with poly(l-lactic acid) by a simple solvent evaporation

J. Sangsee<sup>1</sup>, K. Boonpisuttinan<sup>2</sup>, P. Chaiyasat<sup>1</sup> and A. Chaiyasat<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology,  
Rajamangala University of Technology Thanyaburi,  
Klong 6, Thanyaburi, Pathumthani 12110, Thailand  
Email: a\_chaiyasat@mail.rmutt.ac.th

<sup>2</sup>Thai Traditional Medical College,  
Rajamangala University of Technology Thanyaburi,  
8 Phaholyothin 87, Soi 2, Prachatipat, Thanyaburi,  
Pathumthani 12130, Thailand

\*corresponding author: a\_chaiyasat@mail.rmutt.ac.th

**Abstract**— Poly (l-lactic acid) (PLLA) microencapsulated herbal extracts (HE) was prepared in water in oil in water (W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub>) compared with oil in water (O/W) emulsion systems with a simple solvent evaporation technique. Using W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> emulsion system, microcapsule with low encapsulation efficiency was obtained. The spherical PLLA/HE microcapsule with broad particle size distribution was successfully prepared in O/W emulsion system. The %encapsulation (%E) was increased up to approximately 55%. Moreover, %E increased with increasing of PLLA content.

**Keywords**— Poly(l-lactic acid), Encapsulation, Water in oil emulsion (W/O), Herbal extracts, Solvent evaporation

### I. INTRODUCTION

Normally, Thai herbs such as bael, roselle chrysanthemum and lemongrass are used as the important ingredient of various Thai wisdom traditional products. They contain important active compounds as phenolic compounds in which display an extensive range of physiological properties, such as anti-allergenic, anti-arthrogenic, anti-inflammatory and anti-oxidant effects [1-6]. Phenolic compounds can be extracted with a simple polar solvent as ethanol or a mixture of ethanol and water [7, 8] which will be used in the HE form. Recently, encapsulation has been widely applied for many applications such as pharmaceutical, cosmetics, food processing and textile finishing [9, 10]. The encapsulation not only prevents the direct contact of the core substance from the outside environment but also improves shelf life and controls the releasing rate of active agents [11, 12]. In addition, the micrometer-size particles have higher surface area than similar masses of conventional core materials which lead to higher efficiency [9-12]. Various kinds of polymers were used as capsule shell encapsulated a numerous core substances. For example, polydivinyl benzene (PDVB) and

its copolymer [13-17], and polymethyl methacrylate (PMMA) and its copolymer [18, 19] were used for heat storage materials encapsulation. Essential oils and perfume were also encapsulated by various polymer shells as PMMA[20], gum arabic (GA) and modified starch (MS)[21], triacylglycerides [22], chitosan and modified chitosan[23], and so on. Polyamidoamine dendrimers [24], liposome based[25], poly(ethylene glycol)-poly lactic acid[26] were also used to encapsulate various kinds of drug. It is well known that the shell of the capsule containing drug or active compounds for control release in cosmetic and medical applications requires less toxicity. For such purposes, biodegradable polymers have been interested. They have been attractive as a substitute of petroleum-based polymers. One of the most popular biodegradable polymers is poly (l-lactic acid) (PLLA) which is non-toxic and environmental friendly. It is aliphatic polyester produced from renewable resources such as corn starch or sugarcane. PLLA is produced from direct polycondensation of l-lactic acid (L-LA) or ring-opening polymerization of l- lactide [27-30]. It is applied for a wide range of applications such as biomedical, pharmaceutical, food packaging and agricultural industries [31]. Grafted-starch with PLLA was developed to improve polymer shell property for urea encapsulation [32]. In the previous works, PLLA microencapsulated urea as fertilizer [33, 34] and vitamin E [35] were prepared in water in oil in water (W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub>) and oil in water (O/W) emulsion systems, respectively, with a simple solvent evaporation technique using homogenization technique for oil droplet generation. Because urea is a polar compound and complete miscible with water, W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> emulsion is then applied for urea encapsulation. In contrast, O/W emulsion is used for vitamin E encapsulation because of water immiscibility of vitamin E.

In this work, to encapsulate the moderate polarity HE, both W/O/W and O/W emulsions are implemented. To obtain high %loading (%LD) and %encapsulation (%E) of HE in the capsules, the PLLA: HE ratio is studied.



## II. EXPERIMENTAL

### A. Materials

PLLA was used as received from B. C. Polymers Marketing Co., Ltd. HE was obtained by the extraction of herbal with ethanol. Poly(vinyl alcohol) (PVA) (Aldrich; degree of saponification, 87-90%), sorbitan oleate (Span 80) (Sigma-aldrich), sodium dodecyl sulfate (SDS) (Sigma; purity, 95%) and dichloromethane (DCM) (RCI Labscan) were used as received.

### B. Capsule preparation

The PLLA encapsulated HE was firstly prepared in  $W_1/O/W_2$ -liked system by solvent evaporation technique under the conditions listed in Table 1. HE (in ethanol) was firstly mixed with 10 wt% (of total) span 80 and then poured into PLLA solution (in dichloromethane) with homogenization at 5,000 rpm for 5 min to form  $W_1/O$ -liked emulsion. It was subsequently dispersed in PVA aqueous solution with homogenization at 5,000 rpm for 5 min to form oil droplets in  $W_1/O/W_2$ -liked emulsion. After solvent evaporation with gentle stirring, PLLA/HE microcapsules were obtained.

TABLE I  
REAGENT AMOUNTS FOR THE PREPARATION OF PLLA/HE CAPSULES USING HOMOGENIZATION FOR OIL DROPLET GENERATION IN  $W_1/O/W_2$ -LIKED EMULSION SYSTEM

| Phase          | Ingredient                       | PLLA : HE |      |      |
|----------------|----------------------------------|-----------|------|------|
|                |                                  | 1:1       | 2:1  | 3:1  |
| W <sub>1</sub> | HE (g)                           | 2.5       | 1.66 | 1.25 |
|                | Span 80 (g)                      | 4.5       | 4.5  | 4.5  |
| O              | PLLA (g)                         | 2.5       | 3.34 | 3.75 |
|                | DCM (g)                          | 15.0      | 15.0 | 15.0 |
| W              | PVA aqueous solution (1 wt%) (g) | 45.0      | 45.0 | 45.0 |

The PLLA/HE microcapsules were also prepared in O/W emulsion system using homogenization for oil droplet generation. HE was firstly dissolved in PLLA solution (PLLA in dichloromethane) as oil phase. It was then poured to 3 wt% PVA aqueous solution before homogenized at 5,000 rpm for 5 min to obtain O/W emulsion under the condition shown in Table 2. Finally, dichloromethane was removed by overnight evaporation to form PLLA/HE microcapsules.

TABLE II  
REAGENT AMOUNTS FOR THE PREPARATION OF PLLA/HE CAPSULES USING HOMOGENIZATION FOR OIL DROPLET GENERATION IN O/W EMULSION SYSTEM

| Phase | Ingredient                       | PLLA : HE |       |       |       |
|-------|----------------------------------|-----------|-------|-------|-------|
|       |                                  | 0.5 : 1   | 1 : 1 | 2 : 1 | 3 : 1 |
| O     | PLLA (g)                         | 1.66      | 2.50  | 3.34  | 3.75  |
|       | HE (g)                           | 3.34      | 2.50  | 1.66  | 1.25  |
| W     | DCM (g)                          | 15.0      | 15.0  | 15.0  | 15.0  |
|       | PVA aqueous solution (3 wt%) (g) | 45.0      | 45.0  | 45.0  | 45.0  |

## III. CHARACTERIZATION

The oil droplets and polymer capsules were observed by

optical microscope (OM; SK-100EB & SK-100 ET, Seek Inter Corporation Ltd., Thailand). The surface of the polymer capsule was observed by scanning electron microscope (SEM; JSM-6510, JEOL, JEOL Ltd., Japan). For SEM observation, a few of dried capsules were placed on a nickel SEM stub and dried before Au-coated. The amount of encapsulated HE was measured by UV-visible spectrophotometer (UV 1601, Shimadzu, Japan). Approximately 0.025 g of dried PLLA capsule was dissolved in 25 ml dichloromethane as stock solution. It was diluted to 0.02 wt% before measurement. The amount of HE in microcapsule was determined at  $\lambda_{max}$  262 nm. To determine HE concentration, the measured absorbance of sample was compared with standard curve of HE solution at 0.0010, 0.0025, 0.0050, 0.0100 and 0.0250 wt% in which it was then used to calculate  $W_{HE}$  by equation (1). In addition, the % LD and % E were obtained from the equation (2) and (3), respectively.

$$W_{HE-capsule} (g) = \frac{[HE] \times 5 \times 25 \text{ ml}}{100} \quad (1)$$

$$\%LD = \frac{W_{HE-capsule}}{W_{capsule}} \times 100 \quad (2)$$

$$\%E = \frac{W_{HE-capsule}}{W_{HE-recipe}} \times 100 \quad (3)$$

Where [HE] is the concentration of HE obtained from standard curve (wt%).  $W_{capsule}$  is the weight of polymer capsule (0.025 g).  $W_{HE-capsule}$  and  $W_{HE-recipe}$  are the weights of encapsulated HE in polymer capsule of 0.025 g and in the recipe (total weight of 0.025 g), respectively.

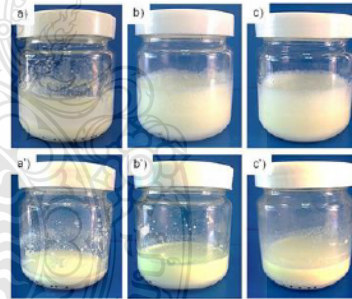


Fig. 1. Suspension photos of PLLA/HE microcapsules before (a, b and c) and after (a', b' and c') solvent evaporation at various ratios of PLLA:HE: a, a') 1:1; b, b') 2:1 and c, c') 3:1

## IV. RESULTS AND DISCUSSION

In our previous articles [33, 34], PLLA microencapsulated urea was successfully prepared by a simple solvent evaporation method of polymer droplets in  $W_1/O/W_2$  emulsion system. Therefore, the preparation of PLLA/HE microcapsule was firstly then studied in  $W_1/O/W_2$  system. The suspensions of  $W_1/O/W_2$

droplets without coalescence were obtained as shown in Fig. 1 a-c. However, after solvent evaporation, coagulation of PLLA/HE microcapsules were clearly observed (Fig. 1 a'-c'). The existence of nonionic emulsifier as Span 80 in the W<sub>1</sub>/O-like emulsion may reduce the ability of PVA to stabilize the particles. At high concentration of Span 80, emulsifier molecule may aggregate in an oil phase by self-assemble to form reverse micelle arrays and then act as the capacity of absorbing water from the external aqueous phase [36]. Approximately 50 wt% of nonionic emulsifier related to disperse phase was obtained after solvent evaporation. The particle aggregation may then occur. From the optical micrographs, spherical PLLA/HE droplets (Fig. 2 a-c) and residual microcapsules (obtained from the suspension separating the aggregation) with broad PSD were found (Fig. 2 a'-c'). Moreover, %E of HE was significantly low, less than 10%, which may be due to particle aggregation.

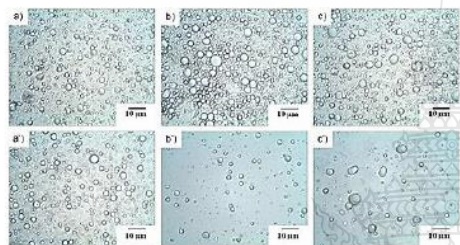


Fig. 2. Optical micrographs of PLLA/HE microcapsules in W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> system before (a, b and c) and after (a', b' and c') solvent evaporation at various ratios of PLLA:HE: a, a') 1:1; b, b') 2:1 and c, c') 3:1

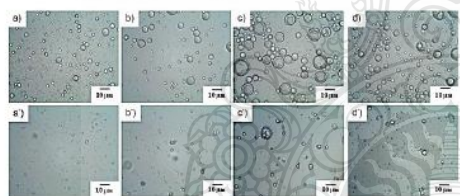


Fig. 3. Optical micrographs of PLLA/HE microcapsules O/W system before (a, b, c and d) and after (a', b', c' and d') solvent evaporation at various ratios of PLLA:HE: a, a') 0.5:1; b, b') 1:1; c, c') 2:1 and d, d') 3:1

To solve this problem, O/W emulsion system without the presence of Span 80 was then applied. In addition, the PVA concentration was increased to 3 wt% for more effective stabilization. Using various PLLA:HE ratios, suspension of PLLA/HE droplets were smoothly formed. However, after solvent evaporation, small amounts of particle coagulation were found especially in the case of 0.5:1 PLLA:HE. From the optical micrograph of PLLA/HE droplets (Fig. 3 a-d), before solvent evaporation, spherical droplets were observed. When dichloromethane was evaporated, smaller size spherical microcapsules were obtained as shown in Fig. 3 a'-d'. Using

small amount of PLLA as in the case of 0.5:1 ratio, spherical microcapsule could not formed (Fig. 4 a) because of insufficient PLLA polymer formed as microcapsule shell leading to the formation of big coagulation. When PLLA content was increased, the formation of microcapsule was then improved. The spherical microcapsules with smooth outer surface were observed in the case of PLLA:HE ratio at 2:1 and 3:1 (Fig. 4c and d). The PSD of the prepared microcapsule was broad which is characteristic of particle prepared by homogenization [20, 35, 37-40]

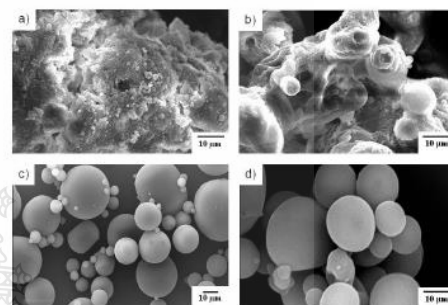


Fig. 4. SEM micrographs of PLLA/HE microcapsules at various ratios of PLLA:HE: a) 0.5:1; b) 1:1; c) 2:1 and d) 3:1

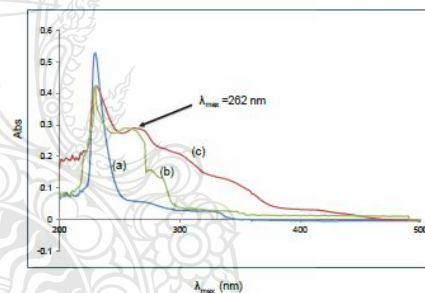


Fig. 5. UV-visible spectra of PLLA (a), HE (b) and PLLA/HE microcapsule (c)

To confirm the encapsulation, the amount of encapsulated HE was measured with UV-visible spectrophotometry at λ<sub>max</sub> 262 nm which accords to the absorption of phenolic compounds [41]. In Figure 5, the spectra of HE, PLLA and encapsulated HE in PLLA shell were overlaid. It was found that the λ<sub>max</sub> of HE was observed at 262 nm which accords with that of encapsulated HE. This confirmed that HE was encapsulated in the prepared PLLA microcapsules. The % LD and %E of encapsulated HE in the microcapsules with various ratios of PLLA:HE were calculated by equation 2 and 3, respectively. %E of HE was remarkably increased (29-55%) from previous W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> -liked emulsion system (less than 10%). In addition, it was also



increased with PLLA shell content (29, 30, 52 and 55% for PLLA:HE ratios of 0.5:1, 1:1, 2:1 and 3:1, respectively) which because large amounts of PLLA shell were used for encapsulation. Although, in the cases of 2:1 ratio, %E was lower than that of 3:1, its %LD (18%) was still higher than that of 3:1 ratio (13%) which would be more benefit for the applications.

#### V. CONCLUSIONS

PLLA microencapsulated HE was successfully prepared in O/W system using simple solvent evaporation technique. The spherical microcapsules were obtained in the cases of 2:1 and 3:1 PLLA:HE ratios. The %E increased with PLLA content because sufficient PLLA as microcapsule shell was used. Although %E of 2:1 ratio was lower than that of 3:1, its %LD (18%) was higher than that of 3:1 ratio (13%) which would be more benefit for the applications.

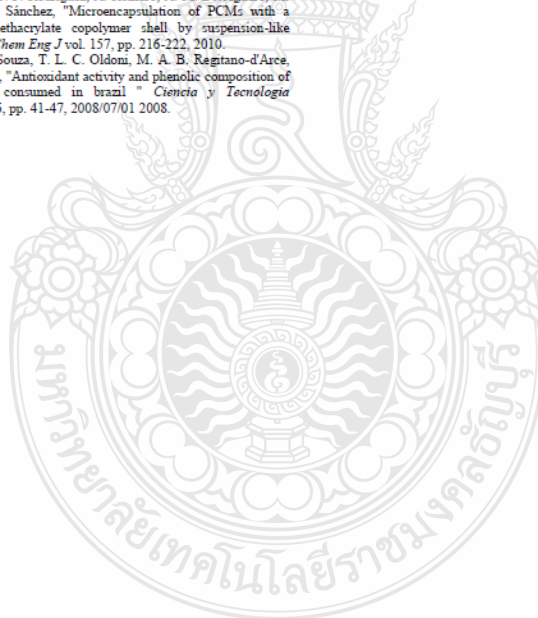
#### ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by RMUTT annual government statement of expenditure in 2016 (NRMS No. 2559A16503013 given to A.C., P.C. and K.B.) and Thailand Toray Science Foundation (2015 given to A.C.)

#### REFERENCES

- [1] R. C. Minussi, M. Rossi, L. Bologna, L. v. Cordi, D. Rotilio, G. M. Pastore, *et al.*, "Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines," *Food Chemistry*, vol. 82, pp. 409-416, 2003.
- [2] R. A. Moyer, K. E. Hummer, C. E. Finn, B. Frei, and R. E. Wrolstad, "Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity in Diverse Small Fruits: Vaccinium, Rubus, and Ribes," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, pp. 519-525, 2002/01/01 2002.
- [3] K. Murota and J. Terao, "Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 417, pp. 12-17, 2003.
- [4] A. Benrick, "Interaction of plant polyphenols with salivary proteins," *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, vol. 13, pp. 184-196, 2002.
- [5] A. Moure, J. M. Cruz, D. Franco, J. M. Dominguez, J. Sineiro, H. Dominguez, *et al.*, "Natural antioxidants from residual sources," *Food Chemistry*, vol. 72, pp. 145-171, 2001.
- [6] E. Haslam, "Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action," *Journal of Natural Product*, vol. 59, pp. 205-215, 1996.
- [7] A. F. Sánchez-Maldonado, E. Mudge, M. G. Gänzle, and A. Schieber, "Extraction and fractionation of phenolic acids and glycoalkaloids from potato peels using acidified water/ethanol-based solvents," *Food Research International*, vol. 65, Part A, pp. 27-34, 2014.
- [8] Y. M. Monroy, R. A. F. Rodriguez, A. Sartoratto, and F. A. Cabral, "Optimization of the extraction of phenolic compounds from purple corn cob (*Zea mays* L.) by sequential extraction using supercritical carbon dioxide, ethanol and water as solvents," *The Journal of Supercritical Fluids*, vol. 116, pp. 10-19, 2016.
- [9] M. Fathia, M. R. Mozafari, and M. Mobein, "Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems," *Trends Food Sci Tech*, vol. 23, pp. 13-27, 2012.
- [10] Z. Fang and B. Bhandari, "Encapsulation of polyphenols – a review," *Trends Food Sci Tech*, vol. 21, pp. 510-523, 2010.
- [11] M. Maswal and A. A. Dar, "Formulation challenges in encapsulation and delivery of citral for improved food quality," *Food Hydrocolloid*, vol. 37, pp. 182-193, 2014.
- [12] A. E. Abohamdi, K. Miladi, W. Badri, M. Sala, E. H. A. Addi, H. Casabianca, *et al.*, "Essential oils: From extraction to encapsulation," *Int J Pharm*, vol. 483, pp. 220-243, 2015.
- [13] P. Chaiyasat, M. Z. Islam, and A. Chaiyasat, "Preparation of poly(divinylbenzene) microencapsulated octadecane by microsuspension polymerization: oil droplets generated by phase inversion emulsification," *RSC Adv*, vol. 3, pp. 10202-10207, 2013.
- [14] D. Supatumuro, S. Promdsorn, S. Thipsit, W. Boontung, P. Chaiyasat, and A. Chaiyasat, "Poly(divinylbenzene) microencapsulated octadecane for use as a heat storage material: influences of microcapsule size and monomer/octadecane ratio," *Polym Plast Technol Eng*, vol. 51, pp. 1167-1172, 2012.
- [15] P. Chaiyasat, A. Chaiyasat, W. Boontung, S. Promdsorn, and S. Thipsit, "Preparation and characterization of poly(divinylbenzene) microcapsules containing octadecane," *Mater Sci Appl*, vol. 2, pp. 1007-1013, 2011.
- [16] A. Chaiyasat, C. Waree, K. Songkhamrod, P. Sinthip, V. Voranuch, and P. Chaiyasat, "Preparation of Polydivinylbenzene/Natural Rubber Capsule Encapsulating Octadecane: Influence of Natural Rubber Molecular Weight and Content," *Express Polym Lett*, vol. 6, pp. 70-77, 2012.
- [17] P. Chaiyasat, S. Noppalit, M. Okubo, and A. Chaiyasat, "Do encapsulated heat storage materials really retain original thermal properties?," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 17, pp. 1053-1059, 2015.
- [18] S. Namwong, S. Noppalit, M. Z. Islam, P. Tangborboorut, P. Chaiyasat, and A. Chaiyasat, "Encapsulation of octadecane in poly(divinylbenzene-co-methyl methacrylate) using phase inversion emulsification for droplet generation," *J Macromol. Sci. A*, vol. 53, pp. 11-17, 2016.
- [19] S. Namwong, S. Noppalit, M. Okubo, S. Moonmungee, P. Chaiyasat, and A. Chaiyasat, "Latent heat enhancement of paraffin wax in poly(divinylbenzene-co-methyl methacrylate) microcapsule," *Polym Plast Technol Eng*, vol. 54, pp. 779-785, 2015.
- [20] P. Teeka, A. Chaiyasat, and P. Chaiyasat, "Preparation of Poly (methyl methacrylate) microcapsule with encapsulated Jasmine oil," *Energ Procedia*, vol. 56, pp. 181-186, 2014.
- [21] A. A. Santana, D. M. Cano-Higuera, R. A. d. Oliveira, and V. R. N. Telis, "Influence of different combinations of wall materials on the microencapsulation of jussara pulp (*Euterpe edulis*) by spray drying," *Food Chem*, vol. 212, pp. 1-9, 2016.
- [22] N. Khalid, I. Kobayashi, M. A. Neves, K. Uemura, M. Nakajima, and H. Nabetani, "Microchannel emulsification study on formulation and stability characterization of monodisperse oil-in-water emulsions encapsulating quercetin," *Food Chem*, vol. 212, pp. 27-34, 2016.
- [23] F. Casanova, B. N. Estevinho, and L. Santos, "Preliminary studies of rosmarinic acid microencapsulation with chitosan and modified chitosan for topical delivery," *Powder Technol*, vol. 297, pp. 44-49, 2016.
- [24] S. Sanyakamdorn, D. Agudelo, L. Bekale, and H. A. Tajmir-Rishi, "Targeted conjugation of breast anticancer drug tamoxifen and its metabolites with synthetic polymers," *Colloid Surface B*, vol. 145, pp. 55-63, 2016.
- [25] M. Painsi, S. R. Daly, B. Aliakbarian, A. Fathi, E. A. Tehrani, P. Perego, *et al.*, "An efficient liposome based method for antioxidants encapsulation," *Colloid Surface B*, vol. 136, pp. 1067-1072, 2015.
- [26] J.-M. Rabanel, J. Faivre, G. D. Paka, C. Ramassamy, P. Hildgen, and X. Banquy, "Effect of polymer architecture on curcumin encapsulation and release from PEGylated polymer nanoparticles: Toward a drug delivery nano-platform to the CNS," *Eur J Pharm Biopharm*, vol. 96, pp. 409-420, 2015.
- [27] F. Achmad, K. Yamane, S. Quan, and T. Kokugan, "Synthesis of poly(lactic acid) by direct polycondensation under vacuum without catalysts, solvents and initiators," *Chem Eng J*, vol. 151, pp. 342-50, 2009.
- [28] Y. Zhao, Z. Wang, J. Wang, H. Mai, B. Yan, and F. Yang, "Direct synthesis of poly(D,L-lactic acid) by melt polycondensation and its application in drug delivery," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 91, pp. 2143-2150, 2004.
- [29] S. I. Moon, C. W. Lee, I. Taniguchi, M. Miyamoto, and Y. Kimura, "Melt/solid polycondensation of L-lactic acid: an alternative route to poly(L-lactic acid) with high molecular weight," *Polymer*, vol. 42, pp. 5059-5062, 2001.
- [30] G.-X. Chen, H.-S. Kim, E.-S. Kim, and J.-S. Yoon, "Synthesis of high-molecular-weight poly(L-lactic acid) through the direct condensation polymerization of L-lactic acid in bulk state," *Eur. Polym. J.*, vol. 42, pp. 468-472, 2006.

- [31] J. I. Tang, J. Sun, and Z. G. He, "Self-emulsifying drug delivery systems: strategy for improving oral delivery of poorly soluble drugs," *Curr. Drug Ther.*, vol. 2, pp. 85-93, 2007.
- [32] L. Chen, X. Qiu, Z. Xie, Z. Hong, J. Sun, X. Chen, et al., "Poly(l-lactide)/starch blends compatibilized with poly(l-lactide)-g-starch copolymer," *Carbohydr. Polym.*, vol. 65, pp. 75-80, 2006.
- [33] W. Boontung, A. Chaiyasat, and P. Chaiyasat, "Preparation of poly(l-lactic acid) capsule encapsulating fertilizer," *Adv. Mat. Res.*, vol. 506, pp. 303-306, 2012.
- [34] P. Chaiyasat, P. Pholrimumang, W. Boontung, and A. Chaiyasat, "Influence of Poly(l-lactic acid) Molecular Weight on the Encapsulation Efficiency of Urea in Microcapsule Using a Simple Solvent Evaporation Technique," *Polym. Plast. Technol. Eng.*, vol. 55, pp. 1131-1136, 2016.
- [35] P. Chaiyasat, A. Chaiyasa, P. Teeka, S. Noppalit, and U. Srinorachun, "Preparation of poly(l-lactic acid) microencapsulated vitamin E," *Energy Procedia*, vol. 34 pp. 656-663, 2013.
- [36] W. Zhou, J. Li, W. Wei, Z. Su, and G. Ma, "Effect of solubilization of surfactant aggregates on pore structure in gigaporous polymeric particles," *Colloid Surface A*, vol. 384, pp. 549-554, 2011.
- [37] W. Boontung, S. Moonmangmee, A. Chaiyasat, and P. Chaiyasat, "Preparation of Poly(l-lactic acid) Capsule Encapsulating Fertilizer," *Adv. Mat. Res.*, vol. 506, pp. 303-306, 2012.
- [38] P. Chaiyasat, P. Pholrimumang, W. Boontung, and A. Chaiyasat, "Influence of poly(L-Lactic Acid) molecular weight on the encapsulation efficiency of urea in microcapsule using a simple solvent evaporation technique," *Polym. Plast. Technol. Eng.* p. in press.
- [39] S. Nakai, M. Akiyoshi, and M. Okubo, "Preparation of Micrometer-Sized, Multifunctional Capsule Particles for Cosmetic by Microsuspension Polymerization Utilizing the Self-Assembling of Phase Separated Polymer Method," *J Appl Polym Sci*, vol. 127, pp. 2407-2413, Feb 2013.
- [40] L. Sánchez-Silva, J. F. Rodríguez, A. Romero, A. M. Borreguero, M. Carmona, and P. Sánchez, "Microencapsulation of PCMs with a styrene-methyl methacrylate copolymer shell by suspension-like polymerisation," *Chem Eng J* vol. 157, pp. 216-222, 2010.
- [41] R. A. Moraes-de-Souza, T. L. C. Oldoni, M. A. B. Regitano-d'Arce, and S. M. Alencar, "Antioxidant activity and phenolic composition of herbal infusions consumed in Brazil," *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*, vol. 6, pp. 41-47, 2008/07/01 2008.



## ประวัติผู้เขียน

|                  |  |
|------------------|--|
| ชื่อ-สกุล        | นางสาวจินภา แสงสี  |
| วัน เดือน ปีเกิด | 18 ธันวาคม 2535  |
| ที่อยู่          | 11/652 หมู่ 1 ตำบลบึงนาราง อำเภोधุมบุรี<br>จังหวัดพยุหะธานี 12110                              |
| ประวัติการศึกษา  | ปริญญาโท สาขาวิชาเคมีนวัตกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี<br>มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี |
| ประวัติการทำงาน  | ผู้ช่วยนักวิจัย วิทยาลัยการแพทย์แผนไทย<br>มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี                   |
| เบอร์โทรศัพท์    | 062-2589898  |
| อีเมลล์          | jinapa.rmutt@gmail.com   |

