นวัตกรรมพอลิเมอร์แคปซูลที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมจาก
พอลิแอลแลคติกแอซิด

INNOVATIVE ECO-FRIENDLY POLYMER CAPSULES DERIVED FROM POLY-L-LACTIC ACID

ชยานันท์ โคตรชนะ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

นวัตกรรมพอลิเมอร์แคปซูลที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมจาก
พอลิแอลแลคติกแอซิด

ชยานันท์ โคตรชนะ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

หัวข้อวิทยานิพนธ์ นวัตกรรมพอลิเมอร์แคปซูลที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมจากพอลิแอลแลคติกแอซิด

Innovative Eco-Friendly Polymer Capsules Derived from Poly-L-Lactic Acid

ชื่อ – นามสกุล นางสาวชยานันท์ โคตรชนะ

สาขาวิชา เคมีประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์อมร ไชยสัตย์, Ph.D.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์พงศธร ประภักรางกูล, Ph.D.

ปีการศึกษา 2564

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ

(อาจารย์ดวงพร พลพานิช, Ph.D.)

.... กรรมการ

(อาจารย์อรรจน์ เอี่ยมประเสริฐ, ปร.ด.)

.... กรรมการ

(อาจารย์พงศธร ประภักรางกูล, Ph.D.)

.... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์อมร ไชยสัตย์, Ph.D.)

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อนุมัติวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นิพัทธ์ จงสวัสดิ์, ปร.ด.)

วันที่ 23 เดือน กันยายน พ.ศ. 2564

หัวข้อวิทยานิพนธ์	นวัตกรรมพอลิเมอร์แคปซูลที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมจากพอลิแอลแลคติก แอซิด
ชื่อ – นามสกุล	นางสาว ชยานันท์ โคตรชนะ
สาขาวิชา	เคมีประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์อมร ไชยสัตย์, Ph.D.
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์พงศธร ประภักรางกูล, Ph.D.
ปีการศึกษา	2564

บทคัดย่อ

พอลิแอลแลคติก แอซิด (พีแอลแอลเอ) เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่รู้จักอย่างแพร่หลายโดยทั่วไป สังเคราะห์ได้จากการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบขั้น หรือแบบเปิดวง ของกรดแลคติกหรือมอนอเมอร์แลคไทด์ ตามลำดับ อนุภาคทรงกลมขนาดไมโครเมตรของพีแอลแอลเอจะถูกสังเคราะห์ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบกระจาย ร่วมกับการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบเปิดวงของมอนอเมอร์แลคไทด์ โดยมีสายโซ่ของโคพอลิเมอร์เป็นสารลดแรงตึงผิว ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่ง่ายเนื่องจากจำเป็นต้องกำจัดน้ำในระบบ

ในงานนี้ได้นำเสนอวิธีการเตรียมอนุภาค/แคปซูล ฐานพีแอลแอลเอ ขนาดไมโครเมตร และมีขนาดใกล้เคียงกัน ด้วยกระบวนการที่ง่ายและคงทน ผ่านกระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอน ที่ปราศจากการใช้สารลดแรงตึงผิว พีแอลแอลเอเกรดทางการค้าเริ่มต้นจะถูกนำมาทำปฏิกิริยาไกลโคไลซิสด้วยเอทิลีนไกลคอล เพื่อให้มีมวลโมเลกุลต่ำ ไกลโคไลซ์ พีแอลแอลเอ (จีพีแอลแอลเอ) จากนั้นจีพีแอลแอลเอที่ได้จะถูกนำไปโคพอลิเมอไรเซชันร่วมกับมอนอเมอร์กรดเมทาคริลิกและเอทิลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลต โดยใช้เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยา ตำแหน่งที่ว่องไวต่อปฏิกิริยาบนแกนหลักจีพีแอลแอลเอ จะเกิดขึ้นเมื่อมีการจับไฮโดรเจนของอนุมูลอิสระเบนโซยิวล็อกซี่ จากนั้นจะถูกโคพอลิเมอไรซ์ ก่อนประกอบตัวเอง เกิดเป็นอนุภาคพอลิเมอร์ ซึ่งมีขนาดอนุภาคสม่ำเสมอประมาณ 300 นาโนเมตรและมีดัชนีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคต่ำ (พีดีไอ) ที่ 0.017

วิธีนี้ยังถูกนำไปทดลองเตรียมแคปซูลกักเก็บไลนาโลออลที่มีขนาดใกล้เคียงกัน โดยได้ขนาดอนุภาคแคปซูลฐานพีแอลแอลเอ ประมาณ 280 นาโนเมตรและมีการกระจายตัวของอนุภาคที่แคบ (มีค่าพีดีไอที่ 0.120) นอกจากนี้แคปซูลฐานพีแอลแอลเอมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลชีพ *Staphylococcus aureus* *Escherichia coli* และ *Candida albicans* และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์

คำสำคัญ: พอลิแอลแลคติกแอซิด กระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอน แคปซูลพอลิเมอร์ อนุภาคพอลิเมอร์

Thesis Title	Innovative Eco-Friendly Polymer Capsules Derived from Poly-L-Lactic Acid
Name – Surname	Miss Chayanan Khotchana
Program	Applied Chemistry
Thesis Advisor	Associate Professor Amorn Chaiyasat, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Mr. Pongsathon Phapugrangkul, Ph.D.
Academic Year	2021

ABSTRACT

Poly(l-lactic acid) (PLLA) is a well-known biopolymer, usually synthesized via step-growth or ring-opening polymerization from lactic acid or a lactide monomer, respectively. PLLA microspherical particles are produced by dispersion polymerization with a ring-opening lactide monomer using a particular copolymer chain as a stabilizer. This is not easy to achieve when dehydration is needed.

In this work, a robust and simple synthesis of a nearly monodisperse, submicron PLLA-based particle/capsule was proposed via precipitation polymerization without the use of surfactant. A commercial PLLA was first glycolyzed with ethylene glycol to obtain a low molecular weight glycolyzed PLLA (GPLLA). Then, the GPLLA was copolymerized with methacrylic acid and ethylene glycol dimethacrylate monomers using a benzoyl peroxide initiator. Active sites on the GPLLA backbone were generated by hydrogen abstraction of benzoyloxy radicals that further copolymerized before self-assembly to form the polymer particles. A uniform particle size of about 300 nm with a low polydispersity index (PDI) of 0.017 was obtained.

This method was also implemented to produce nearly monodisperse capsules containing linalool. The particle size of PLLA-based capsules was about 280 nm with a narrow particle size distribution (PDI of 0.120). Moreover, the PLLA-based capsules effectively inhibited microbial growth of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* and were not toxic to human skin cells.

KEYWORDS: poly (l-lactic acid), precipitation polymerization, polymer capsules, polymer particles

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณา ให้คำปรึกษาและคำแนะนำตลอดจนให้ความช่วยเหลือ แก้ไขข้อผิดพลาดต่างๆ ด้วยดีตลอดมาจาก รศ.ดร. อมร ไชยสัตย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร. พงศธร ประภักรางกูล และ รศ.ดร. ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร. ดวงพร พลพานิช ประธานกรรมการสอบ และ ดร. อรรจน์ เอี่ยมประเสิร์ฐ กรรมการสอบ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณประสบการณ์และความรู้ทั้งการดูแลเป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาในการศึกษาจาก รศ.ดร. อมร ไชยสัตย์ และ รศ.ดร. ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์ ตลอดจนบุคลากรและหน่วยงานต่างๆ ดังนี้

ขอขอบพระคุณห้องปฏิบัติการณ์พอลิเมอร์คอลลอยด์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์เรื่องสารเคมี อุปกรณ์ต่างๆ ตลอดจนการอำนวยความสะดวกในการทำวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณวิทยาลัยแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือในการวิเคราะห์ผลการวิจัย

ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ทุนการสร้างภาคีในการผลิตบัณฑิตระดับปริญญาโท-เอก ร่วมกับสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่ให้การสนับสนุนทุนในการวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ สารเคมี และเจ้าหน้าที่ที่ช่วยเหลือในการวิเคราะห์ผลการวิจัย

ขอขอบพระคุณครูบาอาจารย์ที่ได้อบรมสั่งสอนมอบวิชาความรู้ให้กับผู้วิจัย จนผู้วิจัยสามารถนำเอาความรู้ที่ได้รับมาประยุกต์ใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้

คุณประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบเพื่อเทิดทูนคุณบิดา มารดา ครู อาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

ชยานันท์ โคตรชนะ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(4)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(6)
สารบัญ	(7)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(11)
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	15
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	18
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	18
1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย	18
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	20
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ไลนาโลออล (Linalool)	21
2.1.1 คุณสมบัติของไลนาโลออล	23
2.1.2 ความเป็นพิษของไลนาโลออล	25
2.1.3 คุณสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	25
2.2 พลาสติกชีวภาพ (Bioplastics)	28
2.3 พอลิแลคติก แอซิด	29
2.3.1 คุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติก	30
2.3.2 การสังเคราะห์พอลิแลคติก แอซิด	32
2.3.3 คุณสมบัติของพอลิแลคติก แอซิด	33
2.4 การสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอน (Precipitation polymerization)	39
2.4.1 กลไกการเกิดอนุภาคของการสังเคราะห์แบบตกตะกอน	40
2.4.2 กระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน	41
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	42

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.. 45

3.1.1 สารเคมี.. 45

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ... 47

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.. 48

3.3 การทดลอง... 48

3.3.1 ศึกษาการลดมวลโมเลกุลของพอลิแอลแลคติก แอซิดเกรดการค้า......... 48

3.3.2 ศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบตกตะกอน.. 49

3.3.3 ศึกษาวิธีการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออลด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบตกตะกอน.. 51

3.3.4 การทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อและความเป็นพิษของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโนออล... 52

3.3.5 การศึกษาคุณสมบัติของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออล............. 54

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การเตรียมไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด.. 58

4.2 การเตรียมอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบตกตะกอน.. 61

4.2.1 ตัวทำละลายหรือวัฏภาคต่อเนื่องที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน.. 61

4.2.2 การเตรียมอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบตกตะกอน โดยใช้อะซิโตไนไตรเป็นวัฏภาคต่อเนื่องและใช้เมทาคริลิคแอซิด เป็นโคมอนอเมอร์... 65

4.3 การเตรียมแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิดกักเก็บไลนาโลออลด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบตกตะกอน... 72

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.1 การเตรียมแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิด กักเก็บไลนาโลออล โดยศึกษาปริมาณมอนอเมอร์เชื่อมร่างแห และโคมอเนอร์ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บไลนาโลออล.. 72

4.3.2 การปรับปรุงประสิทธิภาพการกักเก็บไลนาโลออล โดยการเพิ่มสารที่มีอัตราส่วนระหว่างส่วนที่ชอบน้ำกับส่วนที่ชอบน้ำมันต่ำ (Low HLB value).. 75

4.4 การศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อและความเป็นพิษของแคปซูล............... 77

4.4.1 การทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อของแคปซูลพอลิแอลแลคติกแอซิดกักเก็บไลนาโลออลด้วยวิธี agar well diffusion........................ 77

4.4.2 การทดสอบความเป็นพิษของแคปซูลกักเก็บไลนาโนออลโดยใช้วิธี MTT assay.. 78

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย... 82

บรรณานุกรม... 84

ภาคผนวก.. 96

ภาคผนวก ก.. 97

ประวัติผู้เขียน... 119

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	แสดงตัวอย่างพืชที่มีไลนาโลออลเป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืชนั้นๆ	21
ตารางที่ 2.2	แสดงคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของไลนาโลออล	24
ตารางที่ 2.3	แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติก	31
ตารางที่ 2.4	แสดงคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของไลนาโลออล	34
ตารางที่ 2.5	แสดงผลของสเตอริโอเคมีของพอลิแลคติก แอซิดต่อจุดหลอมเหลวและอุณหภูมิคล้ายแก้ว	35
ตารางที่ 2.6	เปรียบเทียบคุณสมบัติเชิงกลของพอลิแอลแลคติก แอซิด กับพอลิสไตรีน และ พอลิเอทิลีน เทเรฟทาเลต	37
ตารางที่ 3.1	สารเคมี	45
ตารางที่ 3.2	อุปกรณ์และเครื่องมือ	47
ตารางที่ 3.3	สภาวะการเตรียมอนุภาคที่ใช้พอลิแลคติก แอซิดเป็นหลักด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน	50
ตารางที่ 3.4	สภาวะการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออล ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน	52
ตารางที่ 4.1	แสดงมวลโมเลกุลเฉลี่ยของพอลิแอลแลคติก แอซิด เกรดการค้าและไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด เตรียมที่เวลา 60 180 และ 300 นาที	59
ตารางที่ 4.2	แสดงร้อยละการเปลี่ยนมอนอเมอร์เป็นพอลิเมอร์ ขนาดอนุภาคเฉลี่ย ของอนุภาคที่สังเคราะห์โดยมีการเติม Low HLB value ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักของไลนาโลออล	76
ตารางที่ 4.3	แสดงร้อยละการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์เมื่อทดสอบด้วยไลนาโลออลดั้งเดิมและแคปซูลกักเก็บไลนาโลออล ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง	80
ตารางที่ 4.4	แสดงขนาดอนุภาคเฉลี่ย ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บสารหอมกลิ่นมังคุด (เกรดการค้า) ของอนุภาคแคปซูลกักเก็บกลิ่นมังคุดที่เตรียมได้จากการสังเคราะห์แบบตกตะกอน	81

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1.1	โครงสร้างของไลนาโลออล	15
ภาพที่ 1.2	กระบวนไฮโดรไลซิสของพอลิแอลแลคติกแอซิด	19
ภาพที่ 1.3	การทำปฏิกิริยาไกลโคไลซีส ของพอลิแอล-แลคติก แอซิดกับเอทิลีนไกลคอล	20
ภาพที่ 2.1	ลิพเพีย (*Lippia alba*)	23
ภาพที่ 2.2	วงจรการเกิดและย่อยสลายของพอลิแลคติก แอซิด	30
ภาพที่ 2.3	โครงสร้างโมเลกุล D และ L ของกรดแลคติก	31
ภาพที่ 2.4	ปฏิกิริยาที่เกิดในการผลิตพอลิแลคติก แอซิด	32
ภาพที่ 2.5	กระบวนการเกิดแลคไทด์และพอลิแลคติก แอซิด	33
ภาพที่ 2.6	ไออาร์สเปคตราของพอลิแลคติก แอซิด	36
ภาพที่ 2.7	กลไกการเกิดอนุภาคแบบเอกพันธ์ของกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน	41
ภาพที่ 2.8	กระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอน	41
ภาพที่ 3.1	กลไกการลดมวลโมเลกุลของพอลิแอลแลคติก แอซิดโดยการไกลโคไลซีสด้วยเอทิลีน ไกลคอล	49
ภาพที่ 3.2	แผนภาพการเตรียมอนุภาคที่ใช้พอลิแอลแลคติก แอซิดเป็นหลักด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน	50
ภาพที่ 3.3	แผนภาพการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโนออลด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน	51
ภาพที่ 4.1	กลไกการเตรียมไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด : พอลิแอลแลคติก แอซิด (a), เอทิลีนไกลคอล (b) และ ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด (c)	58
ภาพที่ 4.2	ไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด หลังตกตะกอนในเมทานอลและอบให้แห้งในตู้อบสุญญากาศ ที่ผ่านกระบวนการไกลโคไลซิสที่เวลา 60 (a), 180 (c), และ 300 (d) นาที	60

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 4.3 แสดงการกระจายตัวของมวลโมเลกุลพอลิแอลแลคติก แอซิดเกรดการค้า ที่มีมวลโมเลกุล 56,000 (a) กรัมต่อโมล เปรียบเทียบกับ ไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด ที่ผ่านกระบวนการไกลโคไลซิสที่เวลา 60 (b), 180 (c), และ 300 (d) นาที.......... 60

ภาพที่ 4.4 ภาพ (a-c) และภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (a’) ของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด ที่สังเคราะห์ด้วยเทคนิคตกตะกอน โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างไดออกเซนกับทูโพรพานอลเป็นวัฏภาคต่อเนื่อง สังเคราะห์ร่วมกับโคมอนอเมอร์ ไกลซิดิว เมทาคริเลต (a) เมทิล เมทาคริเลต (b) และเมทาคริลิค แอซิด(c).......... 61

ภาพที่ 4.5 ภาพของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดหลังสังเคราะห์ (a-c) และหลังปั่นเหวี่ยง 5 นาที (a’-c’) สังเคราะห์ร่วมกับไกลซิดิว เมทาคริเลตในตัวทำละลายผสมระหว่างไดออกเซนกับทูโพรพานอล โดยใช้ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดที่มีมวลโมเลกุล 10,000 (a และ a’), 6,600 (b และ b’) และ 2,800 (c และ c’) กรัมต่อโมล.......... 62

ภาพที่ 4.6 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดสังเคราะห์ร่วมกับไกลซิดิว เมทาคริเลตในตัวทำละลายผสมระหว่างไดออกเซนกับทูโพรพานอล โดยใช้ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดที่มีมวลโมเลกุล 10,000 (a), 6,600 (b) และ 2,800 (c) กรัมต่อโมล.......... 63

ภาพที่ 4.7 ภาพของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด สังเคราะห์ร่วมกับไกลซิดิว เมทาคริเลต (a), เมทิล เมทาคริเลต (b) และ เมทาคริลิก แอซิด (c) ในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต.......... 63

ภาพที่ 4.8 ภาพของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดที่สังเคราะห์ด้วยเทคนิคตกตะกอนโดยใช้ตัวทำละลายอะซิโตไนไตรเป็นวัฏภาคต่อเนื่อง สังเคราะห์ร่วมกับโคมอนอเมอร์ ไกลซิดิว เมทาคริเลต (a) เมทิล เมทาคริเลต (b) และเมทาคริลิค แอซิด (c).......... 64

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 4.9	กราฟแสดงการกระจายตัว (a), TEM ไมโครกราฟที่กำลังขยาย 10000X (b) และที่กำลังขยาย 22000X (b’) ของขนาดอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด ที่สังเคราะห์ด้วยเทคนิคตกตะกอน โดยใช้ตัวทำละลายอะซิโตไนไตรเป็นวัฏภาคต่อเนื่อง ร่วมกับโคมอนอเมอร์เมทาคริลิค แอซิด........................	65
ภาพที่ 4.10	กลไกการเกิดอนุภาค/แคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพกักเก็บไลนาโลออล.......	66
ภาพที่ 4.11	ภาพอิมัลชัน (a และ b) และกราฟแสดงการกระจายตัว (a’ และ b’) ของขนาดอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน โดยใช้เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ (a และ a’) และใช้ วี-501 (b และ b’) เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยา..	67
ภาพที่ 4.12	TGA เทอร์โมแกรมของคอมโพสิทระหว่างผงไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดกับอนุภาคเมทาคริลิก แอซิด (a) อนุภาคของพอลิแอลแลคติก แอซิด ที่เตรียมได้จากการใช้ วี-501 (b) และ เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ (c) เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยา..	69
ภาพที่ 4.13	^{1}H NMR สเปกตรัมของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด (a), เมทาคริลิก แอซิดมอนอเมอร์ (b) และ อนุภาคของพอลิแอลแลคติก แอซิดกราฟ พอลิเมทาคริลิค แอซิด (c)..	70
ภาพที่ 4.14	ภาพอิมัลชันและกราฟแสดงการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่ไม่มีตัวเชื่อมร่างแห (a a’ และ a’’) และอนุภาคที่มีตัวเชื่อมร่างแห (b b’ และ b’’) ก่อน (a และ b) และหลัง (a’ และ b’) เติมเตตระไฮโดรฟูแรน (<u>เส้นทึบ</u> คือก่อนเติม และ <u>เส้นประ</u> คือหลังเติมเตตระไฮโดรฟูแรน)................................	71
ภาพที่ 4.15	ภาพอิมัลชันของแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิด ที่มีปริมาณมอนอเมอร์เชื่อมร่างแหและโคมอนอเมอร์ที่แตกต่างกัน โดยอัตราส่วนระหว่าง GPLLA : MAA : EGDMA ดังนี้ 50:30:20 (a), 50:20:30 (b), 50:10:40 (c) และ 50:5:45 (d) ร้อยละโดยน้ำหนัก..	72

สารบัญภาพ (ต่อ)

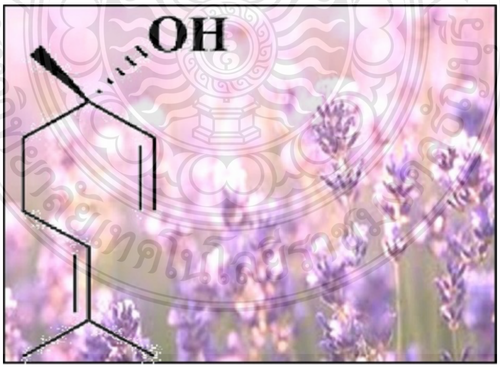
หน้า

ภาพที่ 4.16	กราฟแสดงการกระจายตัวของขนาดอนุภาคแคปซูล โดยอัตราส่วนระหว่าง GPLLA : MAA : EGDMA ดังนี้ 50:30:20 (a), 50:20:30 (b) และ 50:10:40 (c) ร้อยละโดยน้ำหนัก......	73
ภาพที่ 4.17	ประสิทธิภาพการกักเก็บไลนาโลออลในแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิด ที่ปริมาณ EGDMA ต่างๆกัน (* และ ** ความเข้มข้นของเอทิลอะซิเตตร้อยละ 10 และ 20 ตามลำดับ)......	74
ภาพที่ 4.18	TEM ไมโครกราฟ (a) และกราฟแสดงการกระจายตัว (b) ของขนาดอนุภาคแคปซูลกักเก็บไลนาโลออลที่สังเคราะห์ในตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลอะซิเตตกับอะซิโตไนไตรที่อัตราส่วน 2:8 ร้อยละโดยน้ำหนัก......	75
ภาพที่ 4.19	ภาพของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด หลังสังเคราะห์โดยใช้ไลโนเลอิก แอซิด (a) และ โอเลอิกแอซิด (b) ในระบบการสังเคราะห์ที่ใช้วัฏภาคต่อเนื่องเป็นเอทิลอะซิเตตผสมกับอะซิโตไนไตร......	76
ภาพที่ 4.20	ภาพอิมัลชันของแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิด ที่มีการเติมไลโนเลอิก แอซิด (a) และโอเลอิกแอซิด (b) ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักของไลนาโลออล......	76
ภาพที่ 4.21	ภาพโซนการยับยั้งเชื้อ *E. coli* (a), *S. aureus* (b) และ *C. albicans* (c) และ ขนาดโซนในการยับยั้งเชื้อ (d) ของแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิดกักเก็บไลนาโลออล (A), ไลนาโลออลดั้งเดิม (B), ตัวควบคุมที่ให้ผลเป็นบวก (C) และตัวควบคุมที่ให้ผลเป็นลบ (D)......	78
ภาพที่ 4.22	กราฟแสดงความมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ เมื่อทดสอบด้วยไลนาโลออลดั้งเดิมและแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิดกักเก็บไลนาโลออล ที่เวลาทดสอบ 24 ชั่วโมง......	79
ภาพที่ 4.23	ภาพอิมัลชัน (a) และกราฟแสดงการกระจายตัว (b) ของแคปซูลกักเก็บสารหอมกลิ่นมังคุด (เกรดการค้า) ที่เตรียมได้จากการสังเคราะห์แบบตกตะกอน......	81

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไลนาโลออล (Linalool) เป็นสารสกัดธรรมชาติที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายวงศ์ตระกูล ได้แก่วงศ์กะเพรา เช่น ลาเวนเดอร์ สะระแหน่ โรสแมรี วงศ์อบเชย และในวงศ์ผักชี ซึ่งมีโครงสร้างดังภาพที่ 1.1 มีกลิ่นคล้ายน้ำมันมะกรูดหรือลาเวนเดอร์ฝรั่งเศส มักถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์น้ำหอม สารแต่งกลิ่น ยาและเครื่องสำอาง [1, 2] นอกจากกลิ่นของไลนาโลออลที่ช่วยลดความเครียดและช่วยให้หลับสบาย ยังพบว่าไลนาโลออลสามารถต้านการอักเสบและเสริมสร้างเซลล์ผิวอีกทั้งยังต้านอาการปวดของกล้ามเนื้อได้ โดยในทางการแพทย์แผนจีนมีการใช้น้ำมันหอมระเหยของกำยานซึ่งมีไลนาโลออลเป็นหนึ่งในองค์ประกอบที่สำคัญ ในการรักษาอาการอักเสบและปวดของกล้ามเนื้อ ปวดท้องเนื่องจากการมีประจำเดือน และอาการปวดตามไขข้อ [3] รักษาอาการอักเสบของทางเดินหายใจ [4] ในผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอางมีการเติมน้ำมันหอมระเหยจากพืช เพื่อช่วยในการต้านเชื้อแบคทีเรียและมีกลิ่นที่สดชื่น แต่ต้องใช้ในปริมาณสูงจึงจะมีประสิทธิภาพเพียงพอ ซึ่งจะส่งผลให้ยาหรือเครื่องสำอางมีเนื้อสัมผัสที่เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ยังอาจก่อให้เกิดอาการระคายเคืองต่อผู้ใช้อีกด้วย ดังนั้นจึงมีการเติมไลนาโลออลลงในน้ำมันหอมระเหยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียให้กับน้ำมันหอมระเหย ทำให้สามารถลดปริมาณการใช้ลงได้ [5] อย่างไรก็ตามการใช้งานไลนาโลออลค่อนข้างจำกัดเนื่องจากไลนาโลออลระเหยอย่างรวดเร็ว มีความเสถียรต่ำ และไม่ละลายในน้ำ



ภาพที่ 1.1 โครงสร้างของไลนาโลออล [1]

ปัจจุบันมีการนำพอลิเมอร์มาใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆมากมาย เนื่องจากพอลิเมอร์มีคุณสมบัติที่เด่นหลายด้าน เช่น น้ำหนักเบา ทนทานสูง ทนต่อการกัดกร่อน [6] ส่งผลให้ทั่วโลกมีการนำพอลิเมอร์

มาใช้งานจำนวนมากตลอดหลายสิบปีที่ผ่านมา (มากกว่า 200 ล้านตันต่อปี) [6-10] พอลิเมอร์ที่นิยมนำมาใช้ เช่น พอลิเอทิลีน (Polyethyelene; PE) พอลิโพรพิลีน (Polypropylene; PP) พอลิสไตรีน (Polystyrene; PS) และพอลิ(เอทิลลีนเทอเรพทาเลต) (Poly(ethylene terephthalate); PET) ซึ่งมีความคงทนและสลายตัวได้ยาก บางชนิดต้องใช้เวลานานหลายสิบปีจึงจะย่อยสลายได้ ด้วยเหตุนี้จึงเกิดปัญหาการตกค้างของพอลิเมอร์ในธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอนุภาคของพอลิเมอร์ขนาดเล็กในแหล่งน้ำต่างๆทั่วโลก [11-21] และได้ทวีความรุนแรงมากยิ่งขึ้นเมื่อมีการตรวจพบอนุภาคของพอลิเมอร์ในสัตว์ทะเล อีกทั้งยังเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของสัตว์ทะเลบางประเภทอีกด้วย และยังมีโอกาสที่อนุภาคเหล่านี้จะเข้าสู่ร่างกายมนุษย์เมื่อมีการบริโภคอาหารทะเล โดยพอลิเมอร์นั้นเป็นกลุ่มสารอินทรีย์ที่มีความเป็นพิษสูง [8, 13, 16, 17] อนุภาคพอลิเมอร์มักถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น เป็นวัสดุกรองแสงแดด และสารขัดผิว (Exfoliating agents) ในผลิตภัณฑ์ดูแลส่วนตัว (Personal care products) เช่น โลชันต่างๆ ครีมขัดผิว โฟมล้างมือ-ล้างหน้า สบู่ แชมพู และยาสีฟัน เป็นต้น [14, 22] แต่เนื่องจากอนุภาคพอลิเมอร์ที่นำมาใช้ไม่สามารถย่อยสลายได้ ในปัจจุบันจึงเริ่มมีการจำกัดการใช้อนุภาคพอลิเมอร์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ในหลายประเทศ ปัจจุบันถึงแม้ประเทศไทยยังไม่ได้มีกฎหมายหรือระเบียบในการจำกัดการใช้ อนุภาคพอลิเมอร์ดังกล่าวในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง แต่การหาวัสดุอื่นมาทดแทนก็เป็นสิ่งจำเป็น เนื่องจากทั่วโลกให้ความสนใจและตระหนักถึงปัญหาของอนุภาคพอลิเมอร์ ประกอบกับในประเทศก็มีอุตสาหกรรมด้านเครื่องสำอางอยู่เป็นจำนวนมาก ที่มีการผลิตและส่งออกต่างประเทศ หากยังไม่มีการพัฒนาและวิจัยการทดแทนอนุภาคพอลิเมอร์ในผลิตภัณฑ์เหล่านี้ อาจจะทำให้ไม่เพียงเกิดปัญหาการตกค้างในสิ่งแวดล้อม แต่อาจรวมไปถึงปัญหาการแข่งขันทางการค้าของอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางภายในประเทศด้วย

ดังนั้น จึงเกิดความสนใจที่จะพัฒนาการเตรียมแคปซูลกักเก็บไลนาโลออลจากพอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer) ที่สามารถย่อยสลายได้เองในธรรมชาติ เพื่อมาทดแทนแคปซูลที่เตรียมจากพอลิเมอร์ดั้งเดิม ทำให้เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และไม่ก่อให้เกิดการตกค้างในสิ่งแวดล้อม โดยนำพอลิแอลแลคติกแอซิด (Poly-L-lactic acid; PLLA) เป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพโดยการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) หรือการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (Enzymatic degradation) ไม่มีความเป็นพิษ และสามารถใช้ทางการแพทย์ได้ [23-26] มาเป็นองค์ประกอบหลักในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออล เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางและสารบำรุงผิว ซึ่งจะช่วยลดการระเหยของไลนาโลออล เพิ่มเสถียรภาพทางการเก็บรักษา ทำให้เก็บได้นานยิ่งขึ้น ป้องกันการเสื่อมสภาพจากการเกิดปฏิกิริยากับสภาวะภายนอก เช่น แสง ความร้อน อากาศ น้ำ และออกซิเจน จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) โดยสารจะถูกปลดปล่อยในอัตราเร็วและปริมาณที่เหมาะสม ยืดระยะเวลาการ

ออกฤทธิ์ นอกจากนี้พอลิแอลแลคติกแอซิดยังเป็นพอลิเมอร์ที่มีราคาไม่สูงมากนักจึงได้รับการส่งเสริมจากรัฐบาลและหน่วยงานวิจัยในการนำมาใช้งานในด้านต่างๆ

โดยในงานวิจัยนี้ทำการเตรียมแคปซูล โดยใช้เทคนิคการสังเคราะห์แบบตกตะกอน (Precipitation polymerization) [27-31] ผ่านกลไกการสังเคราะห์แบบอนุมูลอิสระ (Free radical polymerization) ซึ่งจะทำให้ได้แคปซูลที่มีขนาดใกล้เคียงกัน และไม่ต้องใช้แรงเฉือนสูงในการสังเคราะห์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์ที่มีพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติหรือเข้ากันได้ทางชีวภาพเป็นองค์ประกอบหลัก

1.2.2 เพื่อศึกษาการเตรียมแคปซูลหุ้มไลนาโลออล โดยเปลือกของแคปซูลมีพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติหรือเข้ากันได้ทางชีวภาพเป็นองค์ประกอบหลัก

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 ศึกษาการลดมวลโมเลกุลของพอลิแอลแลคติกแอซิดจากเกรดทางการค้า ด้วยวิธีไกลโคไลซิส (Glycolysis)

1.3.2 หาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออล โดยใช้พอลิแอลแลคติกแอซิดเป็นองค์ประกอบหลัก

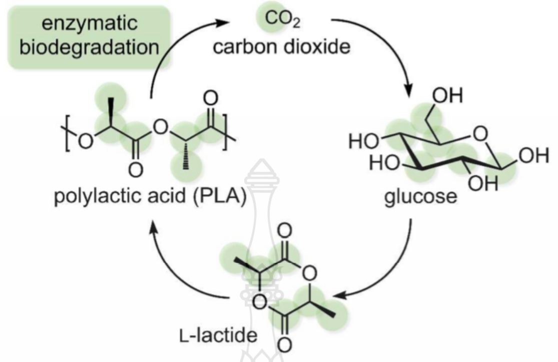
1.3.3 ศึกษาการนำพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ไปทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อจุลชีพและความเป็นพิษกับเซลล์ผิวหนังมนุษย์

1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลที่กักเก็บไลนาโลออล ในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้พอลิเมอร์จากธรรมชาติที่ไม่เป็นพิษ (Non-toxic polymer) มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพเป็นเปลือก คือ พอลิแอลแลคติกแอซิด ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพโดยการไฮโดรไลซิส หรือการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ตามกระบวนการดังภาพที่ 1.2 ไม่มีความเป็นพิษและสามารถใช้ทางการแพทย์ได้ [23-26] รวมถึงสามารถนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้อย่างปลอดภัย อีกทั้งยังมีราคาถูก จึงเหมาะที่จะนำมากักเก็บไลนาโลออล ซึ่งเป็นสารสกัดธรรมชาติที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายวงศ์ตระกูล ได้แก่วงศ์กะเพรา เช่น ลาเวนเดอร์ สะระแหน่ โรสแมรี วงศ์อบเชย และในวงศ์ผักชี มีกลิ่นคล้ายน้ำมันมะกรูดหรือลาเวนเดอร์ฝรั่งเศส มักถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์น้ำหอม สารแต่งกลิ่น ยาและเครื่องสำอาง [1, 2]

โดยทั่วไปอนุภาคพอลิเมอร์หรือไมโครแคปซูลสามารถเตรียมได้หลายวิธี เช่น การสังเคราะห์ในระบบกระจายในน้ำด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย (Suspension polymerization) การพ่นแห้ง (Spray dry) และการระเหยตัวทำละลาย (Solvent evaporation) ในระบบอิมัลชัน ซึ่งแต่ละเทคนิคมีข้อดี ข้อเสียที่แตกต่างกัน สำหรับการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยการสังเคราะห์แบบแขวนลอยนั้น เริ่มต้นด้วยการเตรียมหยดมอนอเมอร์ให้ได้ขนาดตามต้องการ โดยใช้แรงเฉือนสูง

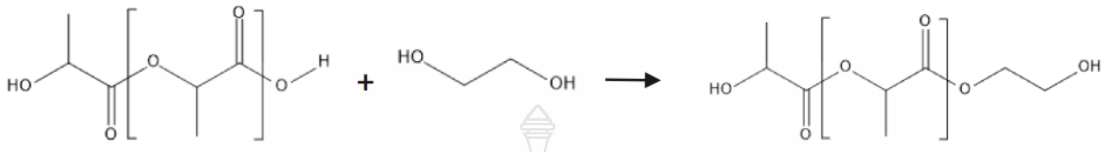
ก่อนทำการสังเคราะห์ ซึ่งไม่เหมาะกับการนำไปประยุกต์ในระดับอุตสาหกรรม นอกจากนี้อนุภาคพอลิเมอร์ที่ได้จะมีการกระจายตัวของขนาดค่อนข้างสูง สำหรับการพ่นแห้ง เริ่มต้นด้วยการละลาย



ภาพที่ 1.2 กระบวนไฮโดรไลซิสของพอลิแอลแลคติกแอซิด [32]

พอลิเมอร์ในตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมแล้วกระจายตัวในสารละลายที่เหมาะสม ก่อนนำไปพ่นในระบบที่มีความดันต่ำ ซึ่งจะทำให้ตัวทำละลายระเหยออกไป ทำให้ได้อนุภาคพอลิเมอร์ที่ต้องการ เทคนิคกลุ่มนี้จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาสูงและการใช้งานค่อนข้างยุ่งยาก ในขณะที่การใช้เทคนิคการระเหยตัวทำละลายของหยดสารละลายพอลิเมอร์ในระบบน้ำมันในน้ำถึงมีหลักการที่ง่าย แต่ก็ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณที่มาก ดังนั้นในการเตรียมไมโครแคปซูลให้มีขนาดใกล้เคียงกันและไม่ใช้แรงเฉือนสูงจึงเป็นโจทย์ที่น่าสนใจ จึงได้เลือกใช้เทคนิคการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอน [27-31] ผ่านกลไกการสังเคราะห์แบบอนุมูลอิสระ โดยในระบบจะประกอบไปด้วยมอนอเมอร์ กลุ่มอะคริเลต คือ เมทาคริลิค แอซิด (Methacrylic acid; MAA) และ เอทิลีน ไกลคอล ไดเมทาคริเลต (Ethylene glycol dimethacrylate; EGDMA) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่เข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatible) [33-37] พอลิแอลแลคติกแอซิด ตัวเริ่มปฏิกิริยา (ชนิดมีขั้ว) และ ไลนาโลออล ละลายในตัวทำละลาย เมื่อให้ความร้อนตัวเริ่มปฎิกิริยาจะแตกตัวเกิดเป็นอนุมูลอิสระที่สามารถจับไฮโดรเจนที่สายโซ่ของพอลิแอลแลคติกแอซิด ทำให้สายโซ่มีอนุมูลอิสระที่สามารถเกิดการต่อสายโซ่พอลิเมอร์กับมอนอเมอร์ได้ เมื่อมีความยาวที่เพียงพอและไม่สามารถละลายในตัวทำละลายได้อีกจะประกอบตัวเองเกิดเป็นอนุภาคพอลิเมอร์ ซึ่งในระหว่างที่มีการประกอบตัวเองเป็นอนุภาคนั้นสายโซ่จะหุ้มไลนาโลออลซึ่งละลายอยู่ในตัวทำละลายเข้าไปในอนุภาคด้วย ทำให้ได้อนุภาคแคปซูลกักเก็บไลนาโลออล โดยอนุภาคที่ได้จะมีความเสถียรทางคอลลอยด์สูงเนื่องจากมีหมู่คาร์บอกซิล (ประจุลบ) ของเมทาคริลิคแอซิดอยู่ที่ผิวอนุภาค ซึ่งจะช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างตัวทำละลายและอนุภาค ลดการเกาะตัวกันของอนุภาค โดยในกรณีของพอลิแอลแลคติกแอซิดที่นำมาใช้ในงานนี้จะต้องมีมวลโมเลกุลไม่สูงมากนักเพื่อที่จะสามารถละลายในตัว

ทำละลายได้ โดยจะทำการลดมวลโมเลกุลของพอลิแอลแลคติกแอซิด เกรดทางการค้า โดยการทำปฏิกิริยาไกลโคไลซีส ด้วยเอทิลีน ไกลคอล [38, 39] จะทำให้ได้ไกลโคไลส์พอลิแลคติคแอซิด (Glycolysed polylactic acid; GPLLA) ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ กลไกการเกิด GPLLA แสดงดังภาพที่ 1.3



ภาพที่ 1.3 การทำปฏิกิริยาไกลโคไลซีส ของพอลิแอล-แลคติก แอซิดกับเอทิลีน ไกลคอล

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออลได้อย่างมีประสิทธิภาพในระบบการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

1.5.2 ได้พอลิเมอร์แคปซูลที่สามารถย่อยสลายและเข้ากันได้ทางชีวภาพ ช่วยลดปัญหาการตกค้างของพอลิเมอร์แคปซูลในธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

1.5.3 ได้พอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออลที่สามารถต้านเชื้อจุลชีพและไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไลนาโลออล (Linalool)

ไลนาโลออล หรือเรียกอีกชื่อว่า สามเจ็ด ไดเมทิล หนึ่งหก ออคตะไดอีน สาม ออล (3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol) ($C_{10}H_{18}O$) [40] เป็นสารประกอบอะโรมาติค อยู่ในกลุ่ม อะไซคลิค โมโนเทอพีนเทอเทียรี่ แอลกอฮอล์ (โมโนเทอพีนอล) [41] พบในน้ำมันหอมระเหย ซึ่งส่วนใหญ่มักพบในพืช วงศ์กะเพรา เช่น ลาเวนเดอร์ สะระแหน่ โรสแมรี วงศ์อบเชย และวงศ์ผักชี [2] ตัวอย่างพืชที่มีไลนาโลออลเป็นองค์ประกอบแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงตัวอย่างพืชที่มีไลนาโลออลเป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืชนั้นๆ [2, 42, 43]

สกุลพืช	ชนิดของพืช (ส่วนที่นำมาใช้)	วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย	องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย
วงศ์ผักชี (*Apiaceae*)	ผักชี (*Coriandrum sativum L.*) (เมล็ด)	การต้มกลั่น (Hydrodistillation)	Linalool (66.3%) γ-Terpinene (5.3%) α-Pinene (3.5%)
	ผักชี (*Coriandrum sativum L.*) (ซีกผล)	การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam Distillation)	(S)-Linalool (78.96%) Cymene (6.38%) Ocimene (4.46%)
วงศ์กำลังเสือโคร่ง (*Betulaceae*)	กำลังเสือโคร่ง (*Betula utilis*) (เปลือก)	การต้มกลั่น (Hydrodistillation)	Geranic acid (11.4%) β-Seleneol (11.0%) β-Linalool (10.9%)
วงศ์กะเพรา/มินต์ (*Lamiaceae*)	ดอกฮิสซอฟ (*Hyssopus officinalis*) (ส่วนเหนือดิน)	การต้มกลั่น (Hydrodistillation)	Linalool (51.2%) Methyl Eugenol (7.3%) (Z)-Beta-Ocimene (5.6%)

ตารางที่ 2.1 แสดงตัวอย่างพืชที่มีไลนาโลออลเป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืชนั้นๆ [2, 42, 43] (ต่อ)

สกุลพืช	ชนิดของพืช (ส่วนที่นำมาใช้)	วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย	องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย
	ลาเวนเดอร์ (*Lavandula angustifolia*) (ทุกส่วน)	การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam Distillation)	Linalool (37-54%) Linalyl acetate (21-36%) (E)-β-Caryophyllene (1-3%)
	ลาเวนเดอร์ (*Lavandula latifolia*) (ทุกส่วน)	การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam Distillation)	Linalool (35-51%) Eucalyptol (26-32%) Camphor (10-18%)
	โหระพา (*Ocimum basilicum L.*) (ใบและดอก)	การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam Distillation)	Linalool (22.4%) Eugenol (17.9%) Methylchaviol (1.2%)
	อบเชย (*Cinnamomum camphora*) (ใบ)	การต้มกลั่น (Hydrodistillation)	Camphor (18.5%) Eucalyptol (16.5%) Linalool (11.6%)
วงศ์อบเชย (*Lauraceae*)	อบเชย (*Cinnamomum camphora*) (เมล็ด)	การต้มกลั่น (Hydrodistillation)	Eucalyptol (20.9%) Methyleugenol (20.0%) Linalool (14.7%)
	อบเชย (*Cinnamomum camphora*) (กิ่ง)	การต้มกลั่น (Hydrodistillation)	Eucalyptol (17.2%) Camphor (13.2%) Linalool (5.1%)
วงศ์ชมพู่ (*Myrtaceae*)	เมอร์เทิล (*Myrtus communis L.*) (ผล)	การต้มกลั่น (Hydrodistillation)	1,8-Cineole (29.20-31.40%) Linalool (15.67-19.13%)

ตารางที่ 2.1 แสดงตัวอย่างพืชที่มีไลนาโลออลเป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืชนั้นๆ [2, 42, 43] (ต่อ)

สกุลพืช	ชนิดของพืช (ส่วนที่นำมาใช้)	วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย	องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย
	เมอร์เทิล (*Myrtus communis L.*) (ใบและดอก)	การต้มกลั่น (Hydrodistillation)	α-Pinene (33.6%) Linalool (14.8%) 1.8 Cineole (13.3%)
วงศ์ส้ม (*Rutaceae*)	ส้มซ่า (*Citrus aurantium L.*) (ใบ)	การต้มกลั่น (Hydrodistillation)	Linalyl Acetate (19.3%) Linalool (17.3%) β-Pinene (5.3%)
วงศ์ผกากรอง (*Verbenaceae*)	ลิพเพีย (*Lippia alba*) (ใบ) แสดงดังภาพที่ 2.1	การต้มกลั่น (Hydrodistillation)	Linalool (53.37%) 1,8-Cineole (4.23%) Limonene (1.35%)

ภาพที่ 2.1 ลิพเพีย (*Lippia alba*)

2.1.1 คุณสมบัติของไลนาโลออล

ที่อุณหภูมิห้อง ไลนาโลออลมีลักษณะเป็นของเหลว ใส ไม่มีสีหรือค่อนข้างเหลือง [44] เป็นสารกลุ่มโมโนเทอพีนที่มีกลิ่นค่อนข้างชัดเจน คล้ายน้ำมันมะกรูด หรือ ลาเวนเดอร์ฝรั่งเศส คุณสมบัติของไลนาโลออลแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของไลนาโลออล [2, 45, 46]

คุณสมบัติ	ไลนาโลออล
CAS-Number	78-70-6
สูตรเคมี	$C_{10}H_{18}O$
ลักษณะปรากฏ	ของเหลวใส หรือมีสีเหลืองอ่อนๆ
กลิ่น	กลิ่นของไม้หรือดอกไม้ ที่มีความเผ็ดร้อน เหมือนกลิ่นน้ำมันมะกรูดและลาเวนเดอร์ฝรั่งเศส
รสชาติ	คล้ายดอกไม้หรือไม้ หวานแบบธรรมชาติ และเผ็ดร้อน
มวลโมเลกุล	154.25 กรัมต่อโมล
ความหนาแน่น	0.87 กรัมต่อมิลลิลิตร (ที่ 25 องศาเซลเซียส)
การละลายน้ำ	0.00159 กรัมต่อมิลลิลิตร (ที่ 25 องศาเซลเซียส)
จุดวาบไฟ	78 องศาเซลเซียส
จุดเยือกแข็ง	ต่ำกว่า -74 องศาเซลเซียส
จุดหลอมเหลว	ต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส
สัมประสิทธิ์การกระจายตัว [log P (o/w)]	2.84 (ที่ 25 องศาเซลเซียส)
แรงตึงผิว	8.3 เมกานิวตันต่อเมตร (ที่ 20 องศาเซลเซียส)
ความหนืด	0.004465 ปาสคาลต่อวินาที (ที่ 25 องศาเซลเซียส)
ดัชนีหักเหแสง	1.462 (ที่ 20 องศาเซลเซียส)
ช่วงดูดกลืนแสง	ไม่ดูดกลืนแสงช่วง 290-700 นาโนเมตร

ไลนาโลออลคือโมเลกุลขนาดเล็กที่มีหมู่ไฮดรอกซิล การมีหมู่ฟังก์ชันของแอลกอฮอล์ในโครงสร้างส่งผลทำให้ ไลนาโลออลมีส่วนที่มีขั้วไวต่อปฏิกิริยาเคมี ไลนาโลออลมีความสามารถในการละลายในน้ำได้น้อยเนื่องจากความไม่มีขั้วของไฮโดรคาร์บอนในโครงสร้าง แต่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ (แอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ เป็นต้น) น้ำมัน และ โพรพิลีน ไกลคอล [41, 44] ในปัจจุบันมีการนำไลนาโลออลมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหลายชนิด (น้ำหอม แชมพู เป็นต้น) และในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เนื่องจากกลิ่นหอมของโมโนเทอร์พีน นอกจากนี้ ไลนาโลออลยังถูกนำมาใช้เป็นสารแต่งกลิ่นและรสชาติในผลิตภัณฑ์อาหารอีกด้วย ด้วยเหตุนี้ทั่วโลกจึงมีปริมาณการบริโภคไลนาโลออลสูงถึงหนึ่งพันตันต่อปี [46, 47]

2.1.2 ความเป็นพิษของไลนาโลออล

ไลนาโลออลไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้และไม่มีผลกระทบต่อผิวหนังของมนุษย์ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อไลนาโลออลสัมผัสกับอากาศ มักจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ได้เป็นไลนาโลออลออกไซด์ (ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ฟูแรนออกไซด์ ไพรานออกไซด์ แอลกอฮอล์ และไลนาลิลแอลดีไฮด์) ซึ่งทำให้ผิวหนังเกิดอาการแพ้ได้ [44, 47] ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไลนาโลออลคือ สารปนเปื้อนอื่นๆและอุณหภูมิในการเก็บรักษาไลนาโลออล ซึ่งสามารถป้องกันได้โดยการเติมสารต้านอนุมูลอิสระ (เช่น วิตามินอี) โดยสมาคมน้ำหอมนานาชาติ (International fragrance association : IFRA) ได้ประเมินค่าเปอร์ออกไซด์ของไลนาโลออลที่เหมาะสมสำหรับนำมาเป็นส่วนผสมในน้ำหอมจะต้องมีค่าต่ำกว่าหรือเท่ากับ 20 มิลลิโมลต่อลิตร [47] อีกทั้งยังมีการตรวจสอบว่าไลนาโลออลไม่เป็นพิษต่อหน่วยพันธุกรรมระดับเซลล์ และไม่ใช่สารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์อีกด้วย [44]

ส่วนความเป็นพิษของไลนาโลออลทางด้านสิ่งแวดล้อม พบว่าไลนาโลออลสามารถสะสมในสิ่งแวดล้อม มีความเสี่ยงที่จะเป็นพิษในน้ำโดยเฉพาะปลา ไลนาโลออลสามารถมีความเป็นพิษต่อปลาได้ โดยค่าความเข้มข้นของไลนาโลออลที่ส่งผลให้ปลาตายเป็นจำนวนร้อยละ 50 ของจำนวนประชากรปลาทั้งหมด (LC_{50}) คือ 46.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นควรมีการใช้อย่างระมัดระวัง [2]

2.1.3 คุณสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

พืชสามารถผลิตน้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นของสารกลุ่มโมโนเทอร์พีนสูงๆ เช่น ไลลาโลออล สาเหตุหลักๆเนื่องมาจากคุณสมบัติของสารพฤกษเคมีในละอองเกสรสำหรับการดึงดูดหรือขับไล่แมลง ซึ่งพบว่า ไลนาโลออลมีคุณสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างกว้างขวางและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมยา ทางด้านผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อสุขภาพ [40]

2.1.3.1 ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory)

การอักเสบ คือ การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันเพื่อปกป้องสิ่งมีชีวิตจากการติดเชื้อและการบาดเจ็บ จุดประสงค์คือ เพื่อบอกตำแหน่ง และกำจัดเนื้อเยื่อที่เสียหายเพื่อให้ร่างกายสามารถเริ่มฟื้นตัวเองได้ การแพทย์จีนได้มีการนำน้ำมันกำยานมาใช้รักษาอาการปวดและอักเสบอย่างกว้างขวาง รวมไปถึงอาการปวดเนื่องจากเป็นประจำเดือน ปวดกล้ามเนื้อ และปวดไขข้อ โดยในน้ำมันกำยานมีไลนาโลออลเป็นองค์ประกอบหลักซึ่งทำหน้าที่ช่วยลดอาการปวด โดยไลนาโลออลจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส (Cyclooxygenase-2, COX-2) ซึ่งจะช่วยลดการสร้างโพรสตาแกลนดินส์ (Prostaglandins, PG) ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการอักเสบ ทำให้เกิดอาการปวดและมีไข้ [3]

2.1.3.2 ต้านการแบ่งเซลล์และต้านมะเร็ง (Anti-proliferative and Anticancer)

ไม่นานมานี้มีการศึกษาและรายงานว่า สารพฤกษเคมีโดยเฉพาะสารกลุ่มโมโนเทอร์พีน จะไปรบกวนเส้นทางในการส่งสัญญาณภายในเซลล์ ส่งผลให้เกิดการกินตัวเองของเซลล์ (Autophagy) และการตายของเซลล์ (Apoptosis) ในเซลล์มะเร็งแต่ละชนิด [48] ในทางการแพทย์แผนโบราณของชาวญี่ปุ่นมีการใช้น้ำมันหอมระเหยจากคุโรโมจิ (*Lindera umbellata*) ในการรักษาอาการคอเคล็ดและปวดหลังในขณะเดียวกัน ในน้ำมันหอมระเหยนั้นมีไลนาโลออลเป็นองค์ประกอบหลักและที่ขนาดการรักษาเท่ากันคือ 5 หรือ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไลนาโลออลสามารถยับยั้งการแพร่การแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Human leukemia cells, HL-60) รวมทั้งเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์ [49] เช่นเดียวกับการใช้น้ำมันหอมระเหยจากดอกลาเวนเดอร์ มีการทดสอบในหลอดทดลอง (*in vitro*) ว่าสามารถลดการมีชีวิตของเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Human cervix carcinoma cells, HeLa) และ เซลล์มะเร็งปอด (Lung adenocarcinoma cells, A549) ซึ่งฤทธิ์ในการต้านมะเร็งนี้ส่วนใหญ่เป็นผลมาจากไลนาโลออลที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหย [50]

2.1.3.3 ลดไขมัน (Antihyperlipidemic)

โรคอ้วนกำลังเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทั้งในประเทศที่พัฒนาและยังไม่พัฒนา สาเหตุหลักเนื่องมาจากการใช้ชีวิตประจำวันซึ่งมีการใช้พลังงานลดลงและมีการบริโภคอาหารที่ไม่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากขึ้น ภาวะไขมันในเลือดสูง คือภาวะที่มี โคเลสเตอรอล น้ำตาลกลูโคสในเลือดและระดับไตรกลีเซอไรด์เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งเป็นปัจจัยหลักที่ก่อให้เกิดโรคเบาหวาน รวมทั้งโรคหัวใจและหลอดเลือด

มีการใช้น้ำมันหอมระเหยของอบเชย ที่มีส่วนประกอบหลักคือ ไลนาโลออล โดยทำการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ไขมัน (Adipocyte) ในเซลล์ไขมัน 3T3-L1 ของหนู ซึ่งเป็นเซลล์ไขมันต้นแบบที่นิยมนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ไขมัน (Adipogenesis) โดยจากผลการศึกษาพบว่า ไลนาโลออลสามารถรักษาระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด และโคเลสเตอรอลในหนูให้อยู่ในระดับปกติได้ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าไลนาโลออลมีผลทำให้ค่าไตรกลีเซอไรด์รวมลดลงได้ถึงร้อยละ 25 จากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าไลนาโลออลสามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดได้ สำหรับเซลล์ 3T3-L1 ในหนู พบว่าทั้งน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยและไลนาโลออล ที่ความเข้มข้นสูง (100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถลดการผลิตไขมันได้อย่างมีนัยสำคัญ จากผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าไลนาโลออลมีศักยภาพพอที่จะใช้ในการช่วยควบคุมน้ำหนักโดยปราศจากผลข้างเคียง [51]

2.1.3.4 ต้านเชื้อจุลชีพ (Antimicrobial)

ไลนาโลออลสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ โดยมีการศึกษาศักยภาพของไลนาโลออลในการเพิ่มความสามารถในการต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหย ทำให้สามารถลดความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยในผลิตภัณฑ์ได้ น้ำมันหอมระเหยที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาด เช่น น้ำมันหอมระเหยจาก ไธม์ (*Thymus vulgaris*) ต้นสน (*Juniperus communis*) เจอราเนียม (*Pelargonium graveolens*) มะกรูด (*Citrus bergamia*) เกรฟฟรุ๊ต (*Citrus paradise*) ลาเวนเดอร์ (*Lavandula angustifolia*) อบเชย (*Cinnamomum zeylanicum*) ต้นชา (*Melaleuca alternifolia*) กานพลู (*Syzygium aromaticum*) มักมีการเติมไลนาโลออลลงไปเพื่อเพิ่มความสามารถในการต้านเชื้อให้สูงขึ้นมากกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยเพียงอย่างเดียว โดยได้มีการนำไปใช้กับเชื้อต่างๆ ดังนี้

1) ซูโดโมแนว แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa* NCTC 12924) เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาส จะมีการติดเชื้อกับผู้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมากๆ หรือผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล ที่เรามักได้ยินว่ามีการติดเชื้อในกระแสเลือดนั่นเอง

2) เอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli* NCTC 12923) เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบได้ในลำไส้ของคน หากลุกล้ำไปสู่ระบบอื่นๆในร่างกาย จะทำให้เกิดโรคติดเชื้อรุนแรง เช่น โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ และบางสายพันธุ์ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้

3) สตาฟิโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus* NCTC 10788) เป็นแบคทีเรียปรสิตที่ผิวหนังและเยื่อเมือกของคนและสัตว์ ทำให้พลาสมาเป็นลิ่ม เป็นสาเหตุทำให้เกิดฝีแผลพุพองและเกิดการติดเชื้อหลังผ่าตัด

4) แคนดิดา แอลบิแคนส์ (*Candida albicans* NCPF 3179) เป็นเชื้อราประเภทยีสต์ที่พบได้ตามปกติในระบบทางเดินอาหารและช่องคลอด หากยีสต์ดังกล่าวมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างไร้การควบคุมจะทำให้เกิดภาวะเชื้อราในลำไส้ (Yeast syndrome) ซึ่งทำให้เกิดอาการ เช่น อ่อนเพลีย ปวดศีรษะ อารมณ์แปรปรวน เยื่อบุไซนัสบวม ซึมเศร้า ความจำไม่ดีและไม่มีสมาธิ รวมทั้งทำให้เกิดเชื้อราในช่องคลอด

ไลนาโลออลมีความสามารถในการต้านเชื้อ *E. coli* ได้ดีกว่าการใช้ น้ำมันหอมระเหยจาก ต้นสน มะกรูด และ เจอราเนียม โดยปราศจากการเติมไลนาโลออล การเติมไลนาโลออลในน้ำมันหอมระเหยจากกานพลู ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *P. aeruginosa, A. brasiliensis, S. aureus, E. coli* และ *C. albicans* และนอกจากนี้ยังมีการเติมไลนาโลออลในน้ำมันหอมระเหยจากไธม์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *P. aeruginosa* อีกด้วย [5]

2.1.3.5 รักษาอาการซึมเศร้า (Anxiolytic and Antidepressant)

ปัจจุบันการดำเนินชีวิตประจำวันที่ต้องแข่งขันกับเวลาส่งผลให้มีผู้ป่วยทางจิตเพิ่มมากขึ้นในประเทศที่พัฒนาแล้ว ทางการแพทย์แผนโบราณของชาวบราซิลมีการใช้น้ำมันหอมระเหยจากโรสวูดซึ่งมีไลนาโลออลเป็นองค์ประกอบ (ร้อยละ 45-88.6) มาใช้สำหรับเป็นยารักษาโรคซึมเศร้า โดยได้มีการประเมินคุณสมบัติในการเป็นยารักษาอาการซึมเศร้าของน้ำมันหอมระเหยและไลนาโลออลในหนูทดลอง ซึ่งทดสอบภายใต้พฤติกรรมที่แตกต่างกัน เช่น ใช้เครื่อง อีลีเวท พลัส เมซ (Elevated plus maze, EPM) เพื่อทดสอบความกังวล ใช้วิธีบังคับให้หนูว่ายน้ำในพื้นที่จำกัด (Splash and forced swimming) เพื่อทดสอบความซึมเศร้า ใช้วิธีทดสอบในพื้นที่เปิด (Open field) เพื่อทดสอบพฤติกรรมการเคลื่อนไหว และทดสอบความสามารถในการจดจำของหนู โดยผู้ทดสอบชี้ให้เห็นว่าไลนาโลออลมีหน้าที่หลักในการต้านอาการซึมเศร้า และมีการรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยและไลนาโลออลไม่มีผลต่อการเคลื่อนที่และการจดจำของหนู [52] กลูตาเมต (Glutamate) คือสารสื่อประสาทที่ทำหน้าที่ส่งสัญญาณภายในสมองและระบบประสาททั่วร่างกาย การมีระดับกลูตาเมตที่เหมาะสมจะช่วยเรื่องการเรียนรู้และความจำ นอกจากนี้หากสมองมีปัญหาเกี่ยวกับการสร้างหรือใช้กลูตาเมตจะส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางจิตหลายอย่างเช่น โรคซึมเศร้า โรคย้ำคิดย้ำทำ เป็นต้น มีการศึกษาพบว่า ไลนาโลออลซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยจากลาเวนเดอร์ มีฤทธิ์ลดการหลั่งกลูตาเมต ที่ชักนำด้วยโพแตสเซียมและลดการดึงกลับของกลูตาเมต ที่ส่วนปลายของจุดประสานประสาทของเปลือกสมอง (Cortical synaptosomes) ในหนูถีบจักร [53]

2.2 พลาสติกชีวภาพ (Bioplastics)

พลาสติกชีวภาพ คือ พอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Biodegradable) ภายใต้การเกิดปฏิกิริยาในธรรมชาติเพื่อสลายตัวเป็นสารประกอบที่มีขนาดเล็กลงไป ซึ่งสารประกอบนั้นจะถูกดูดซึมและถูกนำไปใช้ในกระบวนการทางสิ่งแวดล้อมต่อไป โดยทั่วไป พอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพสามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภท ตามแหล่งวัตถุดิบและวิธีที่ใช้ในการสังเคราะห์พอลิเมอร์ชนิดนั้นๆ [54]

2.2.1 ประเภทที่หนึ่ง ได้แก่ พอลิเมอร์ชีวภาพที่ได้มาจากสารชีวมวล (Biomass)

พอลิเมอร์กลุ่มนี้จะประกอบไปด้วย พอลิเมอร์ที่ได้มาจากผลิตผลทางการเกษตรซึ่งจะเป็นพอลิแซคคาไรด์ (Polysaccharides) และโปรตีนเป็นหลัก

2.2.1.1 พอลิแซคคาไรด์จัดอยู่ในกลุ่มสารอนุพันธ์ของแป้งและเซลลูโลสซึ่งถูกผลิตขึ้นมาเพื่อนำไปใช้งานทางด้านพลาสติกหรือพลาสติกที่สามารถละลายน้ำได้ [55]

2.2.1.2 โปรตีน ส่วนใหญ่เป็นพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติ ไม่สามารถละลายน้ำได้หรือละลายได้แต่ไม่เกิดการสลายตัว โครงสร้างของโปรตีนประกอบไปด้วยกรดอะมิโนเชื่อมต่อกันผ่านพันธะของเอไมด์ ซึ่งสลายตัวได้ง่ายด้วยเอไซม์ โดยเฉพาะ โปรทีเอส (Proteases) ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในรูปของเส้นใย เช่น ขนสัตว์ ผ้าไหม เจลาติน (คอลลาเจน) เป็นต้น [56]

2.2.2 ประเภทที่สอง คือ พอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ โดยได้มาจากกระบวนการผลิตทางจุลชีพ

ยกตัวอย่างเช่น พอลิไฮดรอกซี่อัลคาโนเอท (Polyhydroxyalkanoates) เป็นอะลิฟาติกพอลิเอสเตอร์ธรรมชาติ จากกระบวนการของจุลินทรีย์ในอาหารที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลัก โดยแบคทีเรียนำมาใช้เป็นวัสดุกักเก็บพลังงานและคาร์บอนอะลิฟาติก พอลิเอสเตอร์ส่วนใหญ่เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่สลายตัวได้ง่าย และเป็นพอลิเอสเตอร์ย่อยสลายได้กลุ่มแรกที่นำมาทำเป็นพลาสติก [57]

2.2.3 ประเภทที่สาม คือ พอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ที่ประกอบด้วยมอนอเมอร์จากทรัพยากรทางการเกษตร

ซึ่งจะถูกนำมาสังเคราะห์ให้เป็นพอลิเมอร์ เช่น พอลิไกลโคลิก แอซิด และ พอลิแลคติก แอซิด พอลิเมอร์ทั้งสองชนิดนี้ถูกนำมาใช้ทางการแพทย์ เป็นวัสดุที่สามารถย่อยสลายได้และไม่เป็นพิษ โดยเฉพาะพอลิแลคติก แอซิด เนื่องจากสามารถนำมาใช้งานได้อย่างกว้างขวางและเป็นพอลิเมอร์ที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ด้วยเหตุนี้จึงได้รับความนิยมสูงขึ้นเรื่อยๆ [55]

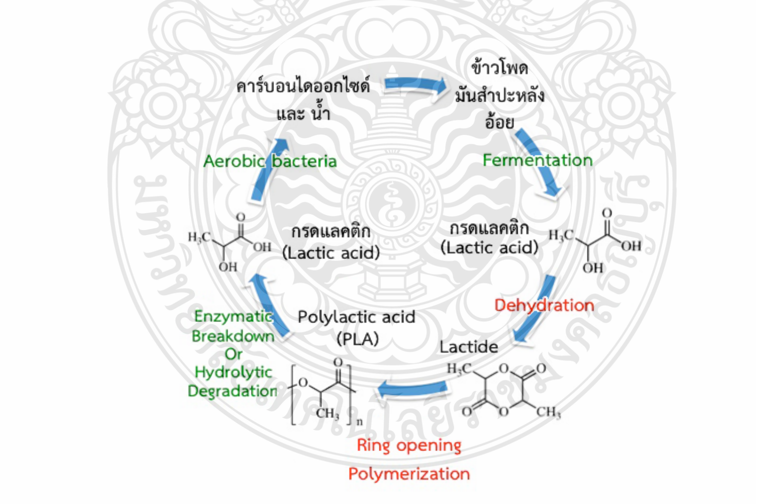
2.2.4 ประเภทที่สี่ คือ พอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ จากทรัพยากรที่ไม่หมุนเวียน

เช่น เชื้อเพลิงฟอสซิล ตัวอย่างพอลิเมอร์กลุ่มนี้ได้แก่ พอลิคาโปรแลคโทน (Polycaprolactones) พอลิเอสเตอร์เอไมด์ (Polyesteramides) พอลิบิวทิลีน ซัคซิเนท อะดิเพท [Poly(butylene succinate adipate)] [58]

2.3 พอลิแลคติก แอซิด

พอลิแลคติก แอซิด เป็นพลาสติกกลุ่มพอลิเอสเตอร์ สามารถนำไปใช้งานได้อย่างหลากหลายและย่อยสลายได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำด้วยจุลินทรีย์ในธรรมชาติ ดังวงจรในภาพที่ 2.2 ผลิตได้จากแหล่งทรัพยากรที่สามารถสร้างขึ้นมาทดแทนหรือหมุนเวียนได้ เช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง โดยกระบวนการย่อยแป้งจากพืชดังกล่าวด้วยเอนไซม์ให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคส จากนั้นผ่านกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรีย แลคโตบาซิลลัส เบรวิส (*Lactobacillus brevis*) จนได้กรดแลคติก ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชัน จะได้เป็นพอลิแลคติก แอซิด เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ

สำหรับการนำมาใช้งานทดแทนกลุ่มพอลิเมอร์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากปิโตรเคมี ที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติ เช่น พอลิเอทิลีน เทเรฟทาเลต พอลิไวนิลคลอไรด์ (Polyvinyl chloride; PVC) เป็นต้น พอลิแลคติก แอซิด สามารถสลายสู่ธรรมชาติได้ในเวลาไม่ถึงเดือน ในขณะที่พลาสติกจากปิโตรเคมีใช้เวลาถึงศตวรรษในการย่อยสลาย ดังนั้นพอลิแลคติก แอซิด จึงเหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับการนำมาใช้งานในระยะสั้น เช่น ขวดบรรจุน้ำดื่ม ภาชนะบรรจุอาหารหรือของใช้ เป็นต้น กระบวนการผลิตพอลิแลคติก แอซิด ยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย เพราะนอกจากจะใช้วัตถุดิบที่หมุนเวียนได้แล้ว ยังมีอัตราการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกที่ต่ำอีกด้วย เนื่องจากมีการบริโภคคาร์บอนไดออกไซด์ในระหว่างที่ข้าวโพด หรือมันสำปะหลังมีการเจริญเติบโต พอลิแลคติก แอซิด เป็นเทอร์โมพลาสติกชนิดหนึ่ง สามารถหลอมเหลวและขึ้นรูปใหม่ได้ที่อุณหภูมิ 150-160 องศาเซลเซียส โดยไม่มีการสลายตัว ทำให้สามารถนำกลับมาใช้งานใหม่ได้ อีกทั้งยังสามารถสลายตัวเป็นมอนอเมอร์ตั้งต้นด้วยกระบวนการสลายตัวทางความร้อน (Thermal de-polymerization) อย่างไรก็ตามการนำพอลิแลคติก แอซิดมาใช้งานก็ยังมีข้อจำกัดเนื่องจากไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในงานที่ต้องใช้ความร้อนสูง เช่น เป็นภาชนะบรรจุของเหลวร้อนในช่วงฤดูร้อนอาจพบวัสดุที่ทำจากพอลิแลคติก แอซิด เกิดการอ่อนตัวหรือเปลี่ยนรูปได้ นอกจากนี้ยังด้อยกว่าพอลิเมอร์ชนิดอื่นๆ ในด้านการนำมาทำภาชนะบรรจุอาหารสำหรับการเก็บรักษาในระยะยาวเนื่องจากปัญหาทางด้านการซึมผ่านของความชื้นและออกซิเจนส่งผลให้อาหารที่บรรจุเสียเร็วขึ้น อีกทั้งพอลิแลคติก แอซิดยังไม่เหมาะกับการนำมาใช้งานที่ต้องทนต่อแรงกระแทกสูงอีกด้วย

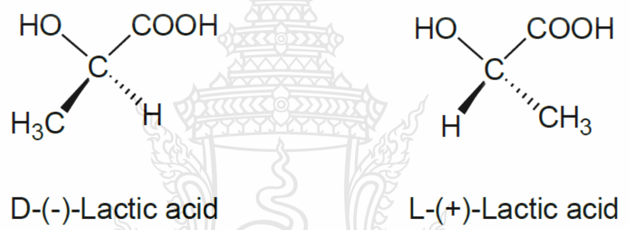


ภาพที่ 2.2 วงจรการเกิดและย่อยสลายของพอลิแลคติก แอซิด

2.3.1 คุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติก

กรดแลคติก (Lactic acid) เป็นกรดที่ผลิตได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีหรือการเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ มีลักษณะเป็นของเหลวไม่มีสี ละลายในน้ำ และตัวทำละลายได้ดี

สามารถตกผลึกได้หากมีความเข้มข้นสูง ใช้มากในภาคอุตสาหกรรม มีชื่อทางเคมีว่า ทูไฮดรอกซีโพรพาโนอิก แอซิด (2-hydroxypropanoic acid) หรือเรียกง่ายๆว่า ทูไฮดรอกซีคาร์บอกซิลิก แอซิด (2-hydroxycarboxylic acid) หรือ แอลฟาไฮดรอกซี แอซิด (α-hydroxy acid) ที่มีคาร์บอนไครัลอะตอมและมี 2 อีแนนทิโอเมอร์ คือ กรดแลคติกชนิด L(+) และ D(-) ไอโซเมอร์ มีโครงสร้างทางเคมีดังภาพที่ 2.3 โดยสมบัติทางกายภาพของพอลิแลคติก แอซิด มีผลมาจากตำแหน่งไอโซเมอร์ของ L(+) และ D(-) ในมอนอเมอร์ ซึ่งพอลิแลคติก แอซิด ประกอบด้วย 3 ไอโซเมอร์เชิงสเตอริโอ ที่มีชื่อเรียกแตกต่างกัน ได้แก่ พอลิแอลแลคติก แอซิด พอลิดีแลคติก แอซิด (Poly-D-lactic acid; PDLA) และพอลิดีแอลแลคติก แอซิด (Poly-DL-lactic acid; PDLLA) [59] ซึ่งในธรรมชาติส่วนใหญ่มักจะพบในรูปของพอลิแอลแลคติก แอซิด ในขณะที่การสังเคราะห์ทางเคมีมักจะพบในรูปของพอลิดีแอลแลคติก แอซิด คุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติกแสดงดังตารางที่ 2.3



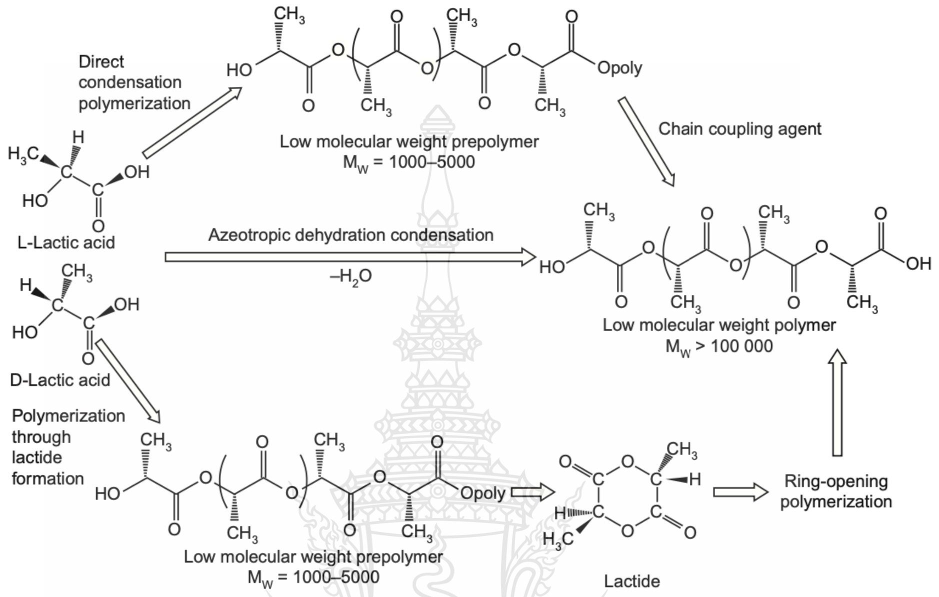
ภาพที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุล D และ L ของกรดแลคติก [59]

ตารางที่ 2.3 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลคติก [60]

คุณสมบัติ	กรดแลคติก
CAS-Number	78-70-6
มวลโมเลกุล (g/mol)	90.08
สูตรเคมี	$C_3H_6O_3$
ความหนาแน่น (g/ml)	1.33 (ที่ 20 °C)
การละลายน้ำ (wt%)	86
จุดเดือด (°C)	122 (ที่ 14 mmHg)
ความหนาแน่นของของเหลว (g/ml ที่ 20 °C)	1.224 (ขณะที่เป็นของเหลว)
ความหนืด (mPa/s)	1.186 (สารละลายร้อยละ 80.8)
ความร้อนจำเพาะ (J/gK ที่ 25 °C)	28.5 (สารละลาย 85.3% ที่ 25 °C)

2.3.2 การสังเคราะห์พอลิแลคติก แอซิด

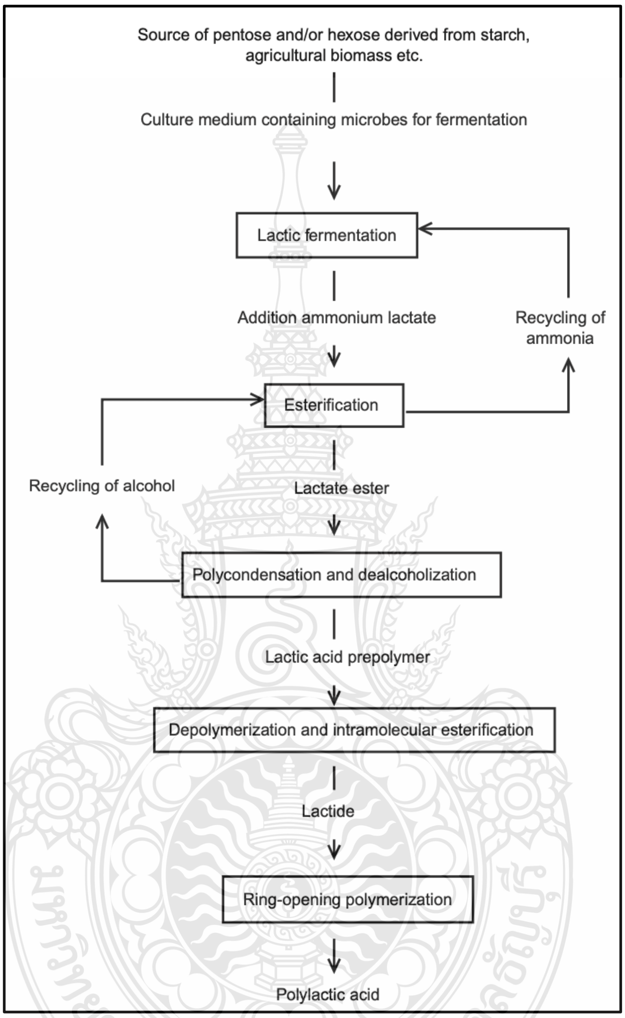
แลคไทด์ (Lactide) เป็นสารมัธยันต์ (Intermediate substance) ในกระบวนการผลิตพอลิแลคติก แอซิด ด้วยวิธีการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบเปิดวง (ring-opening polymerization) ดังภาพ 2.4



ภาพที่ 2.4 ปฏิกิริยาที่เกิดในการผลิตพอลิแลคติก แอซิด [61]

วิธีการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบเปิดวงประกอบไปด้วย ขั้นตอนการผลิตกรดแลคติก พรีพอลิเมอร์ (Prepolymer) การสังเคราะห์พอลิเมอร์ผ่านรูปแบบของแลคไทด์ ไม่จำเป็นต้องมีสารคู่ควบ (Coupling agent) วัตถุประสงค์ของการเติมสารคู่ควบเพื่อเพิ่มมวลโมเลกุลของพอลิแลคติก แอซิด ซึ่งกรดแลคติก พรีพอลิเมอร์คือพอลิแลคติก แอซิด ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ (มวลโมเลกุล 1000-5000) ไม่มีความเสถียร มีลักษณะคล้ายแก้วและเปราะ การก่อตัวของพอลิแลคติก แอซิดที่มีมวลโมเลกุลต่ำส่วนใหญ่เกิดจากปฏิกิริยาโดยตรงของพรีพอลิเมอร์ เนื่องจากพอลิเมอร์ที่มีมวลโมเลกุลสูง จะมีหมู่ปลายสายโซ่ (End group) ที่ขาดความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา น้ำที่เยอะเกินไปและความหนืดสูงของสายโซ่พอลิเมอร์เมื่อปฏิกิริยาการสังเคราะห์พอลิเมอร์สิ้นสุดลง โมเลกุลของแลคไทด์สามารถเกิดได้ทั้งปฏิกิริยาแบบไอออนลบ (Anionic) และแบบไอออนบวก (Cationic) ขึ้นกับชนิดของตัวริเริ่มปฏิกิริยา (Initiator) ที่เลือกใช้ และสำหรับตัวริเริ่มปฏิกิริยาแบบอนุมูลอิสระจะจับกับหมู่แทนที่ของแลคไทด์และมีการต่อสายโซ่ไปเรื่อยๆ จนได้เป็นพอลิเมอร์ที่มีมวลโมเลกุลสูง [62] กระบวนการสังเคราะห์แลคไทด์มีรายละเอียดดังภาพ 2.5 กรดแลคติกจะเกิดการควบแน่น โดยการให้ความร้อนแบบขั้นที่อุณหภูมิตั้งแต่ 130 – 220 องศาเซลเซียส โดยแต่ละขั้นจะทำการลดความดันเป็น 5 มิลลิเมตรปรอท จะได้เป็นพอลิ

แลคติก แอซิด พรีพอลิเมอร์ ที่มวลโมเลกุล 1000 – 3500 ในระหว่างกระบวนการจะมีการเติมตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นโลหะ ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส และที่ความดัน 5 มิลลิเมตรปรอท เพื่อผลิตแลคไทด์ โดยจะเติมตัวเร่งปฏิกิริยาร้อยละ 0.001 – 0.01 โดยน้ำหนัก เทียบกับกรดแลคติกในปฏิกิริยา [63]



ภาพที่ 2.5 กระบวนการเกิดแลคไทด์และพอลิแลคติก แอซิด [63]

2.3.3 คุณสมบัติของพอลิแลคติก แอซิด

2.3.3.1 คุณสมบัติทางความร้อน

องค์ประกอบทางไอโซเมอร์เชิงสเตอริโอของพอลิแอลแลคติก แอซิด ส่งผลต่อจุดหลอมเหลว อัตราในการเกิดผลึก ขอบเขตของการเกิดผลึก และคุณสมบัติเชิงกล [64] ระดับความเป็นผลึกและคุณสมบัติทางความร้อนของพอลิแลคติก แอซิด ขึ้นกับมวลโมเลกุลของพอลิเมอร์ เงื่อนไขหรือตัวแปรในการเกิดพอลิเมอร์ พอลิเมอร์นั้นผ่านกระบวนการทางความร้อนมาอย่างไร สิ่งเจือปน

เป็นต้น พอลิแอลแลคติก แอซิดและพอลิดีแลคติก แอซิด เป็นพอลิเมอร์กึ่งผลึก (Semi-crystalline polymer) ที่มีจุดหลอมเหลวอยู่ที่ 180 องศาเซลเซียส ในขณะที่โคพอลิเมอร์อย่าง พอลิดีแอลแลคติก แอซิด เป็นพอลิเมอร์อสัณฐาน (Amorphous polymer) มีอุณหภูมิคล้ายแก้ว (Glass transition temperature; T_g) เพียง 50 – 57 องศาเซลเซียส จากตารางที่ 2.4 จะเห็นว่าที่แลคไทด์ไอโซเมอร์ที่แตกต่างกันมีผลต่อ มวลโมเลกุล อุณหภูมิคล้ายแก้ว อุณหภูมิในการหลอมเหลม เอนทัลปี (Enthalpy) และอุณหภูมิในการเกิดผลึก (Crystallization temperature; T_c) ของพอลิแลคติก แอซิด จะเห็นว่า อุณหภูมิคล้ายแก้วและอุณหภูมิในการหลอมเหลวของพอลิแลคติก แอซิด เพิ่มสูงขึ้นสัมพันธ์กับมวลโมเลกุล ทั้งไอโซเมอร์ชนิดแอล และ ดี สำหรับโคพอลิเมอร์อย่างพอลิดีแอลแลคติก แอซิด ที่ประกอบไปด้วยกรดแลคติกชนิดแอลและดี จะตรวจพบอุณหภูมิการหลอมเหลวและอุณหภูมิการเกิดผลึก เฉพาะที่มวลโมเลกุลสูงเท่านั้น เนื่องจากการก่อตัวของโครงสร้างอะแทคติค (Atactic) มีผลกระทบต่อการจัดเรียงโครงสร้างระดับไมโครในขณะที่เย็นตัว ในขณะเดียวกันมวลโมเลกุลยังมีผลน้อยมากต่อปริมาณความร้อนที่ใช้ในการเกิดผลึก ΔH_c (0.3 จูล/กรัม) จากการเปรียบเทียบแอลไอโซเมอร์ มวลโมเลกุล 4.7 กับ 14.0 พบว่าอุณหภูมิการเกิดผลึกเพิ่มขึ้นเป็น 12 บ่งชี้ให้เห็นว่าพอลิแลคติก แอซิดที่มีสายโซ่ยาวขึ้น มีความต้องการพลังงานจลน์ที่สูงขึ้นเพื่อทำลายพันธะระหว่างโมเลกุล ขณะที่พอลิแลคไทด์ยังคงหาค่าไม่ได้ถึงแม้สายโซ่จะมีความยาวเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นถึงข้อจำกัดในการเกิดผลึกของพอลิแลคติก แอซิด [65]

ตารางที่ 2.4 แสดงคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของไลนาโลออล [65]

Isomer Type	M_n X 10^3	M_w/M_n	T_g (°C)	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	Tc (°C)	ΔH_c (J/g)
L	4.7	1.09	45.6	157.8	55.5	98.3	47.8
DL	4.3	1.90	44.7	-	-	-	-
L	7.0	1.09	67.9	159.9	58.8	108.3	48.3
DL	7.3	1.16	44.1	-	-	-	-
D	13.8	1.19	65.7	170.3	67.0	107.6	52.4
L	14.0	1.12	66.8	173.3	61.0	110.3	48.1
D	16.5	1.20	69.1	173.5	64.6	109.0	51.6
L	16.8	1.32	58.6	173.4	61.4	105.0	38.1

อุณหภูมิในการสลายตัวของพอลิแลคติก แอซิด โดยปกติมักมีค่าอยู่ที่ 230 – 260 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงมีความปลอดภัยสำหรับนำมาใช้งานที่อุณหภูมิห้อง แต่ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้งานที่อุณหภูมิสูง เช่น ที่อุณหภูมิน้ำเดือด เพราะโครงสร้างของพอลิแลคติก แอซิด มีแนวโน้มที่จะเกิดความเสียหายที่อุณหภูมิมากกว่า 60 องศาเซลเซียส ถึงแม้ว่าพอลิแลคติก แอซิด จะไม่ได้ปลดปล่อยสารพิษออกมา แต่ก็อาจมีเศษพลาสติกหรือโอลิโกเมอร์ (Oligomer) ตกค้างอยู่

2.3.3.2 คุณสมบัติทางเคมี

1) สเตอริโอเคมีของพอลิแลคติก แอซิด

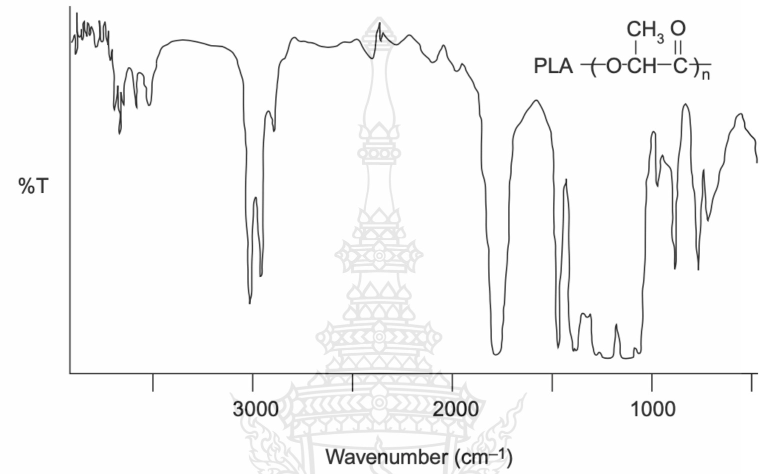
กรดแลคติกเป็นโมเลกุลไครัลที่มีแอลและดีไอโซเมอร์เป็นองค์ประกอบ โดยองค์ประกอบที่แตกต่างกันของกรดแลคติกจะส่งผลต่อคุณลักษณะของพอลิแลคติก แอซิด และมีผลต่อการนำไปประยุกต์ใช้งาน โดยการจัดเรียงตัวของมอนอเมอร์มีผลต่อความเป็นผลึกของพอลิแลคติก แอซิด ซึ่งพอลิแลคติก แอซิด ที่เกิดจากกรดแลคติกชนิดแอลหรือดีเพียงชนิดเดียวสามารถเป็นพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างผลึกได้ ส่วนพอลิแลคติก แอซิดที่มีดีและแอลรวมกัน (มากกว่าร้อยละ 20) จะเป็นพอลิเมอร์อสัณฐาน นอกจากนี้สเตอริโอเคมีของพอลิแลคติก แอซิด ยังมีผลต่อจุดหลอมเหลวและอุณหภูมิคล้ายแก้วดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ผลของสเตอริโอเคมีของพอลิแลคติก แอซิดต่อจุดหลอมเหลวและอุณหภูมิคล้ายแก้ว[61]

โครงสร้าง	**ตัวอย่าง**	**จุดหลอมเหลว (องศาเซลเซียส)**	**อุณหภูมิคล้ายแก้ว (องศาเซลเซียส)**
ไอโซแทคติก		170 – 190	55 – 65
- PLLA	~ LLLLLL ~		
- PDLA	~ DDDDDD ~		
สเตอริโอคอมเพล็กซ์			
- PLLA/PDLA	~ LLLLLL ~ ผสมกับ ~ DDDDDD ~	220 – 230	65 – 72
สเตอริโอบล็อคคอมเพล็กซ์			
- PLLA/PDLA	~ LLLLLL ~ DDDDDD ~	205	40
ซินดิโอแทคติก			
- PDLLA	~ DLDLDLDLDLDL ~	179	

2) อินฟราเรด สเปคโตรสโคปี (Infrared spectroscopy) [61]

เป็นเทคนิคสำหรับวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชั่นและพันธะหรืออันตระกิริยาของพอลิแลคติก แอซิด โดยทั่วไปมักใช้ ฟูเรียร์ ทรานสฟอร์ม อินฟราเรด สเปคโตรสโคปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy; FT-IR) ซึ่งจะสแกนที่ความยาวคลื่นในช่วง 4000 – 400 cm^{-1} โดยไออาร์สเปคตราของพอลิแลคติก แอซิด แสดงดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 ไออาร์สเปคตราของพอลิแลคติก แอซิด [61]

พบ -C=O คาร์บอนิล สเตรท (Stretch) ที่ 1748 cm^{-1} และเบนดิ้ง (Bending) ที่ 1225 cm^{-1} -C-H อะซิมเมทริก (Asymmetric) ที่ 2997 cm^{-1} และซิมเมทริก (Symmetric) ที่ 2946 cm^{-1} -CH_3 หมู่เมทิล (Methyl) พบที่ 2877 cm^{-1} คือ ซึ่งเป็นพันธะที่แข็งแรงน้อยที่สุด ส่วนอะตอมออกซิเจนที่อยู่ถัดจาก C-H จะมีเลขคลื่น (Wave number) เพิ่มมากขึ้นเนื่องจากอิเล็กโทรเนกาติวิตี (Electronegativity) ของอะตอมออกซิเจนที่มีต่อ C-H ให้ผลเป็น O=C-H ที่ตำแหน่ง 2997 cm^{-1} -OH สเตรทชิ่ง (Stretching) พีคมีความกว้างที่ 3571 cm^{-1} ซึ่งเป็นลักษณะของกรดคาร์บ็อกซิลิค (Carboxylic acid) โดย -OH สเตรทชิ่งของกรดคาร์บ็อกซิลิคจะมีค่าเลขคลื่นต่ำกว่าของแอลกอฮอล์ (Alcohol) (3300 cm^{-1}) ส่วนการสั่นของพันธะแบบเบนดิ้ง คือ -C=O และ -OH พบที่เลขคลื่น 1225 cm^{-1} และ 1047 cm^{-1} ตามลำดับ

3) ความสามารถในการละลายของพอลิแลคติก แอซิด

พอลิแลคติก แอซิด สามารถละลายได้ในคลอโรฟอร์ม (Chloroform) เมทิลีน คลอไรด์ (Methylene chloride) ไดออกเซน (Dioxane) อะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile) วันวันทูไตรคลอโรอีเทน (1,1,2-trichloroethane) และ ไดคลอโรอะซิติก แอซิด (Dichloroacetic acid) และ

ยังสามารถละลายได้ในโทลูอีน (toluene) อะซิโตน (Acetone) เอทิล เบนซีน (Ethyl benzene) และเตตระไฮโดรฟูแรน (Tetrahydrofuran; THF) เมื่อให้ความร้อนไปจนถึงจุดเดือด แต่ละลายได้ค่อนข้างน้อยที่อุณหภูมิต่ำ โดยทั่วไปพอลิแลคติก แอซิด ไม่สามารถละลายในน้ำ แอลกอฮอล์ และอัลเคน พอลิแลคติก แอซิดที่มีความเป็นผลึกสูงละลายได้ยากใน อะซิโตน เอทิลอะซิเตต และเตตระไฮโดรฟูแรน ในขณะที่พอลิแลคติก แอซิดอสัณฐาน เช่น พอลิดีแอลแลคติก แอซิด สามารถละลายได้ง่ายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่หลากหลาย เช่น ตะตระไฮโดรฟูแรน ตัวทำละลายคลอริเนท เบนซีน อะซิโตไนไตรล์ และไดออกเซน ความสามารถในการละลายของพอลิแลคติก แอซิด ขึ้นอยู่กับความเป็นผลึก เนื่องจากโครงสร้างที่มีการจัดเรียงตัวเป็นระเบียบสูงจะทำให้โมเลกุลของตัวทำละลายแทรกหรือเคลื่อนที่ได้ยาก [66] การละลายของพอลิแลคติก แอซิดในตัวทำละลายนั้นจะพิจารณาได้จากค่าพารามิเตอร์การละลาย (Solubility parameters; δ) ของพอลิเมอร์และตัวทำละลาย จะต้องมีค่าแตกต่างกันไม่เกิน 2.5 [67]

2.3.3.3 คุณสมบัติเชิงกล

พอลิแลคติก แอซิดเกรดการค้ามีคุณสมบัติเชิงกลที่ค่อนข้างแปรผันและหลากหลายตั้งแต่นุ่ม ยืดหยุ่นไปจนถึงแข็ง มีความแข็งแรงสูง เปลี่ยนไปตามพารามิเตอร์ต่างๆ เช่น ความเป็นผลึก โครงสร้างพอลิเมอร์ มวลโมเลกุล รวมทั้งส่วนผสมในการผลิตเป็นวัสดุ (เช่น การผสมสารพลาสติกไซเซอร์ องค์ประกอบ เป็นต้น) และการจัดเรียงตัว พอลิแลคติก แอซิด หรือเรียกอีกชื่อว่า พอลิแลคไทด์ ซึ่งดั้งเดิมเป็นวัสดุที่มีความเปราะ มีความสามารถในการต้านทานแรงกระแทกและความยืดหยุ่นที่จุดแตกหัก (Elongation at break) ต่ำเหมือนพอลิสไตรีน ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีความเปราะเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตาม พอลิแลคติก แอซิด มีความทนทานต่อแรงดึง (Tensile strength) และมอดูลัส (Modulus) เทียบเท่ากับพอลิเอทิลีนเทเรฟทาเลต แสดงดังตารางที่ 2.6 [68]

ตารางที่ 2.6 เปรียบเทียบคุณสมบัติเชิงกลของพอลิแอลแลคติก แอซิด กับพอลิสไตรีน และ พอลิเอทิลีน เทเรฟทาเลต [68]

วัสดุ	Tensile strength (MPa)	Young's Modulus (GPa)	Elongation at break (%)	การรับแรงกระแทก (Notched Izod) (J/m)
PLLA	59	3.8	4 – 7	26
PS	45	3.2	3	21
PET	57	2.8 – 4.1	300	59

2.3.3.4 การย่อยสลายของพอลิแลคติก แอซิด

พอลิแลคติก แอซิดถูกนำมาใช้สำหรับเป็นผลิตภัณฑ์อุปโภค บริโภค และบรรจุภัณฑ์ในปริมาณมากกว่าหนึ่งแสนตันต่อปี ดังนั้นส่วนใหญ่การกำจัดหรือทำลายพอลิแลคติก แอซิดหลังใช้งานแล้ว จึงมักใช้วิธีการฝังกลบและปล่อยให้ย่อยสลายทางชีวภาพผ่านทั้งแอโรบิคและแอนแอโรบิค โดยปริมาณออกซิเจนที่มีต้องเพียงพอสำหรับการดูดซึมของแบคทีเรีย (Bacteria) และเชื้อรา (Fungi) วิธีการวัดปริมาณการย่อยสลายของพอลิแลคติก แอซิดมีหลากหลายวิธี เช่น ปริมาณการใช้ออกซิเจน น้ำหนักที่สูญเสียไป การสร้างก๊าซชีวภาพและปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกผลิตออกมาเมื่อมีการย่อยสลาย [61]

พอลิแลคติก แอซิดจะถูกย่อยสลายอย่างช้าๆ โดยมีกระบวนการที่เกี่ยวข้องดังนี้

1) กระบวนการไฮโดรไลซิส โดยจะเกิดขึ้นที่พันธะเอสเทอร์ (Ester) ของสายโซ่หลักทำให้สายโซ่และมวลโมเลกุลลดลง

2) การสลายตัวเนื่องจากความร้อน (Thermal degradation) เป็นปรากฏการณ์ที่ทำให้เกิด สารประกอบอื่นๆ เช่น โมเลกุลที่มีขนาดเล็กลง โอลิโกเมอร์เชิงเส้นและวงที่มวลโมเลกุลต่างๆกัน รวมไปถึงแลคไทด์

3) การสลายตัวเนื่องจากแสง (Photodegradation) แสงยูวีนำไปสู่การสลายตัวของพอลิแลคติก แอซิด

ปฏิกิริยาไฮโดรไลติคแสดงดังนี้ $-COO + H_2O \rightarrow -COOH + -OH^-$ [69]

2.3.3.5 การประยุกต์ใช้พอลิแลคติก แอซิด [61]

1) เครื่องนุ่งห่ม (แจ็คเก็ต หมวก เสื้อโปโล ชุดออกกำลังกาย)

เส้นใยจากพอลิแลคติก แอซิดสามารถนำมาทำเป็นเสื้อผ้าแทนพอลิเอสเตอร์ได้ ซึ่งเครื่องแต่งกายที่ทำจากพอลิแลคติก แอซิด มีคุณสมบัติการดูดซับที่ดีเยี่ยม กักเก็บความชื้นและกลิ่นต่ำ ไม่ระคายเคืองผิว สามารถนำมาผสมกับเส้นใยธรรมชาติอย่างเซลลูโลส และเส้นใยสังเคราะห์ได้สูงสุดถึงร้อยละ 67 เพื่อให้ได้ผ้าที่มีคุณสมบัติหลากหลาย

2) ขวด / บรรจุภัณฑ์

พบว่าขวดจากพอลิแลคติก แอซิด จะมีความเงางาม โปร่งใส เทียบเท่าพอลิเอทิลีนเทเรฟทาเลต อีกทั้งยังมีคุณสมบัติเด่นในด้านการป้องกันกลิ่นได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังมีการนำมาทำเป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหาร เช่น แก้ว ถ้วย เพื่อช่วยลดปริมาณการใช้พอลิเมอร์ที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ โดยพอลิแลคติก แอซิด มีคุณสมบัติที่ดีในด้านการป้องกันการซึมของ ไขมัน น้ำมัน

ความชื้น และมีความยืดหยุ่น ปรับใช้ได้ง่ายกับเทคโนโลยีการผลิตพลาสติก เป็นบรรจุภัณฑ์อาหารที่มีน้ำหนักเบา และสามารถนำมาพิมพ์ลายได้ง่ายเทียบเท่าพอลิสไตรีน และพอลิเอทิลีน

3) ทางด้านวิศวกรรมและเกษตรกรรม

พอลิแลคติก แอซิดเหมาะที่จะนำมาใช้งานทางด้านวิศวกรรม เนื่องจากมีคุณสมบัติเชิงกลที่ดีซึ่งง่ายต่อการนำไปประยุกต์ใช้งาน และยังสามารถย่อยสลายได้ง่ายหลังใช้งานเสร็จแล้ว ยกตัวอย่างการนำพอลิแลคติกมาใช้งานในชิ้นส่วนยานยนต์ เช่น แผ่นรองพื้นในรถยนต์ ฝาครอบยางอะไหล่ หรือใช้เป็นไฟเบอร์สำหรับพรมรถยนต์ ใช้เป็นชิ้นส่วนอาคารบ้านเรือน เช่น นำมาทำเป็นพื้นลามิเนต และวอลเปเปอร์ติดผนัง ชิ้นส่วนอิเล็กทรอนิกส์ เช่น ใช้เคลือบสายไฟ ใช้ทำปลอกอุปกรณ์ไฟฟ้า ส่วนทางด้านเกษตรกรรม มีการนำพอลิแลคติก แอซิด มาทำกระถางดอกไม้ หรือฟิล์มคลุมผิวดิน เป็นต้น

4) ทางด้านการแพทย์

พอลิแลคติก แอซิด นิยมนำมาใช้ทางด้านการแพทย์ เพราะนอกจากจะสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพแล้ว ยังไม่มีความเป็นพิษ และมีคุณสมบัติเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility) มักมีการนำมาใช้เป็นโครงสร้างที่ยึดติดกับเนื้อเยื่อของมนุษย์ เพื่อให้ง่ายต่อการยึดเกาะของเนื้อเยื่อในการผ่าตัด นอกจากนี้ยังมีการนำมาใช้สำหรับเป็นตัวนำส่งยาในการรักษาโรคมะเร็งอีกด้วย

2.4 การสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอน (Precipitation polymerization)

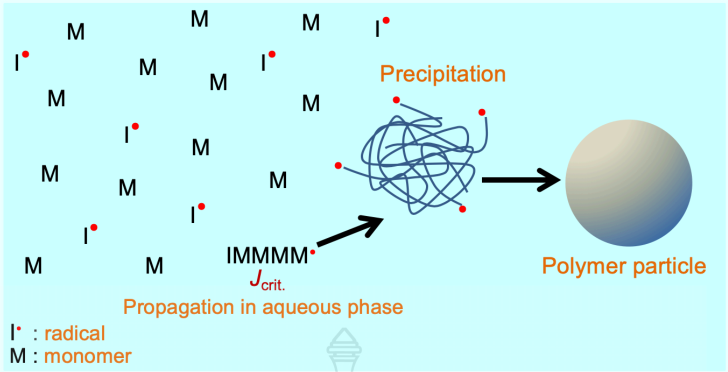
วิธีการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอนเป็นกระบวนการที่ง่ายและมีประสิทธิภาพสูงในการสังเคราะห์อนุภาคพอลิเมอร์ให้ได้ขนาดใกล้เคียงกัน (Monodisperse) มีกระบวนการสังเคราะห์แบบขั้นตอนเดียว โดยปราศจากการใช้สารลดแรงตึงผิว (Stabilizer) หรือสารอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) อนุภาคจะถูกสร้างขึ้นจากการตกตะกอนของสารตั้งต้นหลัก และตะกอนดังกล่าวจะดูดซับโอลิโกเมอร์ที่กระจายอยู่ในตัวทำละลายหรือวัฏภาคต่อเนื่อง (Continuous phase) จนโตขึ้นเรื่อยๆ การสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอนจะต้องมีการใช้มอนอเมอร์ชนิดที่ทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมร่างแห (Cross-linker) ซึ่งมีผลต่อการก่อตัวเป็นทรงกลม และค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาค [30] การสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอนเป็นการสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่คล้ายกับการสังเคราะห์แบบกระจาย (Dispersion polymerization) เนื่องจากมีหลักการคล้ายกัน และมีกลไกการเกิดอนุภาคที่ใกล้เคียงกันอีกด้วย แต่แตกต่างกันที่การสังเคราะห์แบบตกตะกอนนั้นไม่ใช้สารลดแรงตึงผิว ทำให้อนุภาคที่สังเคราะห์ได้อาจเกิดการรวมตัวกัน (Coagulation formation) การเลือกตัวทำละลายในการสังเคราะห์จะต้องเลือกตัวทำละลายที่สามารถละลายมอนอเมอร์และตัวริเริ่มปฏิกิริยาได้ แต่เมื่อมีการก่อตัวเป็น

พอลิเมอร์แล้วตัวทำละลายดังกล่าวจะต้องไม่ละลายและไม่บวมเข้าไปในอนุภาคพอลิเมอร์ [28] ดังนั้นเริ่มต้นสารละลายของมอนอเมอร์ ตัวริเริ่มปฏิกิริยา จะต้องละลายใสเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneous solution) แต่เมื่อการสังเคราะห์ผ่านไป จะเกิดการตกตะกอนของอนุภาคพอลิเมอร์แยกออกจากวัฏภาคต่อเนื่อง ดังนั้นหลังสังเคราะห์สารละลายจะมีสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนม ไม่เป็นเนื้อเดียว (Heterogeneous solution) แต่จะมีทั้งวัฏภาคต่อเนื่อง (ตัวทำละลายที่ใช้) และวัฏภาคกระจาย (Disperse phase) (พอลิเมอร์ที่ก่อตัวขึ้นมา)

2.4.1 กลไกการเกิดอนุภาคของการสังเคราะห์แบบตกตะกอน [70]

การสังเคราะห์แบบตกตะกอนมีกลไกการเกิดอนุภาคเป็นแบบเอกพันธุ์ (Homogeneous nucleation) โดยอนุภาคเริ่มต้นจะเกิดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่มีมอนอเมอร์และตัวริเริ่มปฏิกิริยาละลายอยู่ในตัวทำละลาย (มักใช้ตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น แอลกอฮอล์หรืออะซิโตไนไตรล์ ผสมกับน้ำ) สารละลายจะถูกปั่นกวนที่ประมาณ 200 – 600 รอบต่อนาทีและมีสภาวะที่เหมาะสม (ความร้อน แสง เป็นต้น) สำหรับการสลายตัวของตัวริเริ่มปฏิกิริยาเป็นอนุมูลอิสระ (Free radical) ในวัฏภาคต่อเนื่อง จากนั้นจะเกิดการเชื่อมต่อของโมเลกุลมอนอเมอร์ด้วยพันธะโคเวเลนต์ผ่านกลไกอนุมูลอิสระซึ่งยังสามารถละลายในวัฏภาคต่อเนื่องได้อยู่ จนกระทั่งมีการต่อสายโซ่ยาวขึ้นเรื่อยๆ ตามจำนวนหน่วยของมอนอเมอร์ ทำให้ความไม่มีขั้วของสายโซ่เพิ่มขึ้น และเมื่อสายโซ่พอลิเมอร์ยาวจนไม่สามารถละลายในวัฏภาคต่อเนื่องได้ เรียก “ความยาวสายโซ่วิกฤต (J critical หรือ J_{crit})” สายโซ่พอลิเมอร์ดังกล่าวจะประกอบตัวเอง (Self-assembly) โดยหันส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าหากันและหันส่วนที่มีขั้ว (คือส่วนที่มีประจุจากตัวริเริ่มปฏิกิริยา) ออกด้านนอกสัมผัสกับวัฏภาคต่อเนื่องจะได้เป็น อนุภาคเริ่มต้น (Nuclei) ส่วนที่มีขั้วมักจะมาจากโมเลกุลของตัวริเริ่มปฏิกิริยา หรืออาจมาจากประจุของโคมอนอเมอร์ชนิดที่มีขั้ว โดยประจุที่ผิวของอนุภาคจะช่วยป้องกันไม่ให้อนุภาคที่เกิดขึ้นรวมตัวกัน กลไกการเกิดอนุภาคแบบเอกพันธุ์แสดงดังภาพที่ 2.7

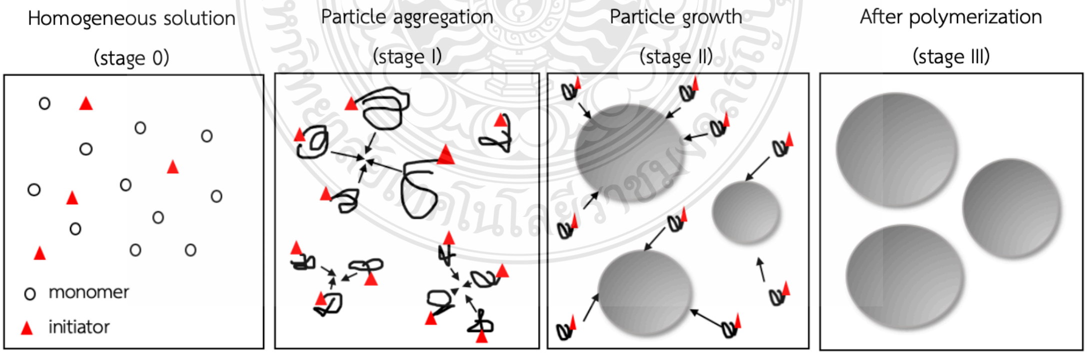
เนื่องจากมอนอเมอร์สามารถละลายได้ดีในวัฏภาคต่อเนื่อง จึงมีโอกาสน้อยมากที่มอนอเมอร์จะบวมเข้าไปในอนุภาค ดังนั้นสำหรับการสังเคราะห์แบบตกตะกอนจึงไม่มีการต่อสายโซ่ภายในอนุภาคทำให้ขนาดอนุภาคค่อนข้างจะคงที่ตลอดการสังเคราะห์



ภาพที่ 2.7 กลไกการเกิดอนุภาคแบบเอกพันธ์ของกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน [70]

2.4.2 กระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน [71]

เริ่มต้นโดยการละลาย มอนอเมอร์ มอนอเมอร์เชื่อมร่างแห รวมทั้งตัวริเริ่มปฏิกิริยาในตัวทำละลายจนได้สารละลายใสเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อเริ่มให้ความร้อน/แสง/ปฏิกิริยารีด็อกซ์ ตัวริเริ่มปฏิกิริยาจะสลายตัวเกิดเป็นอนุมูลอิสระ และจับกับมอนอเมอร์เกิดการต่อสายโซ่พอลิเมอร์ไปเรื่อยๆ จนไม่สามารถละลายในตัวทำละลาย จะเกิดการประกอบตัวเองเป็นอนุภาคพอลิเมอร์ อนุภาคที่เกิดขึ้นจะดูดซับโอลิโกเมอร์และอนุภาคพอลิเมอร์ขนาดเล็กๆ ที่เกิดใหม่ แต่จะไม่เกิดการต่อสายโซ่ภายในอนุภาคเนื่องจากมอนอเมอร์ไม่ได้บวมเข้าไปในอนุภาค โดยอนุภาคจะมีขนาดใหญ่ขึ้นจนกระทั่งมอนอเมอร์ในวัฏภาคต่อเนื่องหมด จะได้อนุภาคพอลิเมอร์ที่มีขนาดประมาณ 0.5 – 15 ไมโครเมตร แยกออกมาจากวัฏภาคต่อเนื่อง โดยที่ไม่มีการบวมของตัวทำละลาย กระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอนแสดงดังภาพที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 กระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอน

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มีหลากหลายงานวิจัยที่ได้ศึกษาถึงประโยชน์ของไลนาโลออลที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยจากพืช เช่น ลาเวนเดอร์ อบเชย โรสแมรี่ ผักชี เป็นต้น โดยพบว่าไลนาโลออลสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายด้าน ไม่ว่าจะเป็นทางด้านเครื่องสำอางพบว่า มีการใช้ไลนาโลออลเป็นสารแต่งกลิ่นในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เนื่องจากไลนาโลออลมีกลิ่นหอม สดชื่น อีกทั้งยังช่วยให้จิตใจสงบและผ่อนคลายทำให้หลับสบาย [1, 2] ในทางการแพทย์มีการนำไลนาโลออลมาใช้ในการรักษาอาการต่างๆ มากมายตั้งแต่อาการอักเสบและปวดของกล้ามเนื้อ ปวดท้องประจำเดือน รวมไปถึงอาการปวดตามข้อ [3] อีกทั้งยังสามารถช่วยรักษาอาการอักเสบของทางเดินหายใจได้อีกด้วย [4] สารกลุ่มโมโนเทอร์พีนอย่างไลนาโลออลสามารถรบกวนเส้นทางในการส่งสัญญาณภายในเซลล์มะเร็ง ส่งผลให้เซลล์มะเร็งเกิดการกินตัวเองและตายในที่สุด [48] การเติมไลนาโลออลในน้ำมันหอมระเหยจากกานพลู ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *P. aeruginosa*, *A. brasiliensis, S. aureus, E. coli* และ *C. albicans* และนอกจากนี้ยังมีการเติมไลนาโลออลในน้ำมันหอมระเหยจากไธม์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *P. aeruginosa* อีกด้วย [5] จากการศึกษาผลของไลนาโลออลต่อพฤติกรรมของหนู พบว่าไลนาโลออลมีฤทธิ์ในการต้านอาการซึมเศร้าได้อีกด้วย [52, 53]

อนุภาคพอลิเมอร์ที่มีการใช้งานอยู่ในปัจจุบันผลิตมาจากพอลิเมอร์จากปิโตรเคมี (Petrochemical polymer) เช่น พอลิเอทิลีน พอลิโพรพิลีน พอลิสไตรีน และพอลิเอทิลีนเทอเรฟทาเลต [11-21] ซึ่งไม่สามารถย่อยสลายได้เองในธรรมชาติ จึงก่อให้เกิดปัญหามลพิษในรูปแบบต่างๆ เมื่อมีการใช้งานแล้วชำระล้างจะเกิดการตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อม เช่น แม่น้ำ ลำคลอง และสัตว์น้ำ เนื่องจากมีขนาดเล็กมากทำให้ผ่านระบบบำบัดน้ำเสียได้ จึงเกิดมลพิษทางน้ำ ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์อย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ [8, 13, 16, 17] เมื่อเร็วๆนี้ได้มีการห้ามใช้ไมโครบีดในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ดูแลตัวเอง ซึ่งทำให้เกิดมลพิษในทะเลสาบ แม่น้ำ และมหาสมุทร เรียกว่า กฎหมาย ‘Microbead-Free Waters Act of 2015’ โดยตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2017 จะไม่มีการผลิตไมโครบีดจากพลาสติกที่ย่อยสลายไม่ได้อีกในหลายๆ ประเทศ ซึ่งจะทำให้ไม่มีการใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ผสมไมโครบีดในปีถัดไป นอกจากนั้น ยังมีการรณรงค์ในระดับนานาชาติในเรื่องนี้ทำให้มีการหยุดใช้พลาสติกไมโครบีดในผลิตภัณฑ์ยี่ห้อต่างๆในหลายๆประเทศ ในปี 2014 นักวิจัยได้พบปริมาณของไมโครบีดพลาสติกในน้ำทะเลมีการสะสมอย่างรวดเร็ว ซึ่งสาเหตุหลักอย่างหนึ่งมาจากการชะล้างของไมโครบีดในผลิตภัณฑ์ดูแลตัวเอง ในปี 2009 นักวิจัยพบว่าไมโครบีด สามารถผ่านระบบการบำบัดออกมาในน้ำเสียจากบ้านเรือน เนื่องจากไมโครบีดมีขนาดเล็กมากจึงไม่ถูกกรองเอาไว้ ทำให้เกิดความสนใจและความต้องการในการใช้อนุภาคพอลิเมอร์ที่เตรียมจากพอลิเมอร์ชีวภาพที่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติหรือพอลิเมอร์ที่เข้ากันได้ทางชีวภาพ เพื่อมาทดแทนอนุภาคพอลิเมอร์ที่สลายตัวได้ยาก โดยใน

งานวิจัยนี้ ได้เลือกใช้พอลิแอลแลคติกแอซิด เป็นพอลิเมอร์หลักในการศึกษาการเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์กักเก็บไลนาโลออล ซึ่งพอลิแอลแลคติก แอซิดเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ของกรดแลคติกที่สามารถผลิตได้จากกระบวนการหมักของพืชที่มีน้ำตาลและคาร์โบไฮเดรตในปริมาณมาก เช่น มันสำปะหลัง อ้อย และข้าวโพด เป็นต้น โดยสามารถเตรียมได้ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบควบแน่น (Polycondenzation) [72, 73] และกระบวนการสังเคราะห์แบบเปิดวง (Ring opening polymerization) [74, 75] พอลิเมอร์ที่ได้จากทั้งสองกระบวนการมีลักษณะคล้ายกัน แต่น้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน โดยพอลิเมอร์ที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แบบควบแน่นจะมีน้ำหนักโมเลกุลไม่สูง ส่วนพอลิเมอร์ที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แบบเปิดวงจะมีน้ำหนักโมเลกุลสูง แต่กระบวนการสังเคราะห์ยุ่งยากและมีหลายขั้นตอน พอลิแอลแลคติกแอซิดสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพเมื่อนำไปฝังกลบในดินโดยใช้ระยะเวลาอันสั้นเมื่อเทียบกับพลาสติกที่ผลิตจากวัตถุดิบจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี โดยเมื่อเกิดการสลายตัวด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ จึงไม่เป็นพิษทั้งกับมนุษย์และสิ่งแวดล้อม เนื่องจากพอลิแอลแลคติกแอซิดเป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางธรรมชาติและยังสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบที่สร้างทดแทนใหม่ได้เสมอ วัสดุชนิดนี้จึงช่วยลดปัญหาขยะลงได้ อีกทั้งยังมีสมบัติความไม่เป็นพิษและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม จึงทำให้มีความนิยมที่จะนำเอาพอลิแอลแลคติกแอซิด ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ทางชีวภาพมาประยุกต์ใช้สำหรับงานต่างๆ เพื่อทดแทนพลาสติกจากพอลิเมอร์ทางปิโตรเคมี [76] ในด้านต่างๆ เช่น การแพทย์ การเกษตร และบรรจุภัณฑ์ [19] นอกจากนี้ ยังเป็นพอลิเมอร์ที่มีราคาไม่สูงมากนักจึงได้รับการส่งเสริมจากรัฐบาลและหน่วยงานวิจัยในการนำมาใช้งานในด้านต่างๆ

อนุภาคพอลิเมอร์หรืออนุภาคแคปซูลสามารถเตรียมได้หลายวิธี เช่น การสังเคราะห์ในระบบกระจายในน้ำด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบแขวนลอย [77, 78] หรือการสังเคราะห์แบบมินิอิมัลชัน [79] การพ่นแห้ง และการระเหยตัวทำละลายในระบบอิมัลชัน [77] ซึ่งแต่ละเทคนิคมีข้อดี ข้อเสียที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม การเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์ด้วยการสังเคราะห์แบบแขวนลอย [80-83] และแบบมินิอิมัลชัน จำเป็นต้องใช้แรงเฉือนสูงในการเตรียมหยด ในขณะที่เทคนิคการระเหยตัวทำละลายจำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็นจำนวนมากจึงไม่เหมาะหากจะพัฒนาในระดับอุตสาหกรรมต่อไป การเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์ด้วยเทคนิคการสังเคราะห์แบบตกตะกอนจึงเป็นเทคนิคที่น่าสนใจเนื่องจากไม่ต้องใช้แรงเฉือนสูงในการสังเคราะห์ อย่างไรก็ตามพอลิแอลแลคติก แอซิดจำเป็นต้องละลายได้ดีในตัวทำละลาย ดังนั้นพอลิแอลแลคติก แอซิดที่ใช้จึงต้องมีมวลโมเลกุลที่ไม่สูง โดยจะเตรียมโดยการลดมวลโมเลกุลจาก พอลิแอลแลคติคแอซิดเกรดทางการค้าโดยทำปฏิกิริยากับเอทิลีนไกลคอล เพื่อให้มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ปลายสายโซ่ [38, 39, 79] ก่อนนำไปสังเคราะห์อนุภาคพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออล

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการพัฒนาการเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออล โดยใช้พอลิแอลแลคติค แอซิดเป็นองค์ประกอบหลัก ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอนผ่านกลไกอนุมูลอิสระเป็นครั้งแรก หากประสบความสำเร็จน่าจะเป็นประโยชน์ต่อทั้งทางวิชาการและอุตสาหกรรมต่อไป

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ตารางที่ 3.1 สารเคมี

สารเคมี	เกรด	ยี่ห้อ
1. พอลิแอล-แลคติก แอซิด (poly(l-lactic) acid; PLLA)	Analytical Reagent	B.C. Polymer Marketing
2. คลอโรฟอร์ม (Chloroform; $CHCl_3$)	Purity 99.9%	RCL Labscan
3. 2-โพรพานอล (2-Propanol)	Analytical Reagent	RCL Labscan
4. เอทิลีน ไกลคอล (Ethylene glycol; EG)	Purity 99.5%	Loba chemie Pvt
5. เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ (Benzoyl peroxide; BPO)	Analytical Reagent	Merck
6. เมทานอล (methanol)	Analytical Reagent	Fisher scientific UK
7. เอทิลีน ไกลคอล ไดเมทาคริเลต (Ethylene glycol dimethacrylate; EGDMA)	Purity 98%	Merck
8. คลอโรฟอร์ม-ดี (Chloroform-d)	Purity 99.9%	Sigma Aldrich
9. อะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile; C_2H_3N)	Analytical Reagent	RCl Labscan
10. เมทาคริลิค แอซิด (Methacrylic acid; MAA)	Purity 99.9%	Sigma Aldrich
11. ไดออกเซน (Dioxane)	Analytical Reagent	RCl Labscan

ตารางที่ 3.1 สารเคมี (ต่อ)

สารเคมี	เกรด	ยี่ห้อ
12. เอทานอล (Ethanol; CH_3CH_2OH)	Analytical Reagent	RCI Labscan
13. ไฮโดรควิโนน (Hydroquinone)	Purity 99%	Sigma Aldrich
14. เตตระไฮโดรฟูแรน (Tetrahydrofuran; C_4H_8O)	Analytical Reagent	RCI Labscan
15. ไลนาโลออล (Linalool)	Purity 97%	Sigma Aldrich
16. กาน่ามัยซิน (Kanamycin)	30 µg/disc	Thermo Scientific
17. ทริปติค ซอย บรอธ (Tryptic Soy Broth; TSB)	General purpose medium	Difco
18. ซับรอด เด็กซ์โตรส บรอธ (Sabouraud Dextrose Broth; SDB)	General purpose medium	Difco
19. เบรน ฮาร์ด อินฟิวชัน อาการ์ (Brain heart infusion agar; BHI)	General purpose medium	Difco
20. ดีมิม (Dulbecco's Modified Eagle Medium; DMEM)	General purpose medium	Gibco, USA
21. ฟีตัล โบวิน เซรัม (Fetal bovine serum, FBS)	General purpose medium	Gibco
22. ทริปซิน (Trypsin/EDTA solution)	0.25%	Gibco
23. เอ็มทีที (MTT; (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazoliumbromide)	-	Sigma Aldrich

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

ตารางที่ 3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

อุปกรณ์และเครื่องมือ	รุ่น	ยี่ห้อ
1. เจลเพอมิเอชั่นโครมาโทกราฟ (Gel permeation chromatograph; GPC)	Water 2414	Water
2. แก๊สโครมาโทกราฟ (Gas chromatograph; GC)	Star 3400 Cx	Varian
3. ตู้อบสุญญากาศ (Vacuum oven)	DZF-6051	DZF
4. นิวเคลียร์ แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโตรมิเตอร์ (Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer; NMR)	JNM-ECZR	JEOL
5. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy; SEM)	JSM 6510	JEOL
6. เครื่องกวนแม่เหล็กแบบใช้ความร้อน (Hot plate stirrer)	C-MAG HS7	IKA
7. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Optical microscope; OM)	SK-100EB & SK-100ET	Seek
8. เครื่องวัดการกระเจิงของแสงพลวัต (Dynamic light scattering; DLS)	DelsaTM NanoC	Beckman Coulter
9. ตู้อบสุญญากาศ (Vacuum ovem)	DZF-6051	DZF
10. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance)	SI-234	DENVER INSTRUMENT
11. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)	Spinette centrifuge	IEC
12. ตู้เขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaker incubator)	H2010-E	Benchmark Scientific
13. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator)	UF30	Memmert, Germany

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

สำหรับงานวิจัยนี้ มีขั้นตอนการศึกษาทั้งหมด 4 ขั้นตอนหลักๆ ดังต่อไปนี้

ศึกษาการลดมวลโมเลกุลของพอลิแอลแลคติกแอซิดเกรดการค้า (มวลโมเลกุลเริ่มต้นประมาณ 100,000 กรัมต่อโมล) ด้วยกระบวนการไกลโคไลซีส

↓

ศึกษาสภาวะการเตรียมอนุภาคพอลิแลคติกแอซิด ด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

↓

ศึกษาสภาวะการเตรียมแคปซูลกักเก็บไลนาโลออล โดยใช้พอลิแลคติกแอซิดเป็นเปลือกด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

↓

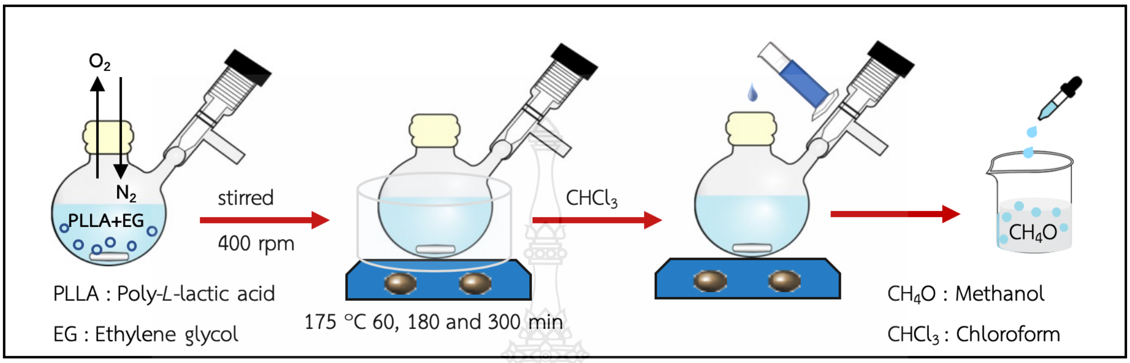
ศึกษาคุณสมบัติของอนุภาคแคปซูลที่เตรียมได้สำหรับการใช้เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 ศึกษาการลดมวลโมเลกุลของพอลิแอลแลคติก แอซิด เกรดทางการค้า

ในขั้นตอนนี้จะต้องลดมวลโมเลกุลของพอลิแอลแลคติก แอซิด เกรดทางการค้า (มวลโมเลกุล ~100,000 กรัมต่อโมล) ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม โดยการทำปฏิกิริยาไกลโคไลซีสด้วยเอทิลีนไกลคอล [38] ที่อัตราส่วนระหว่างพอลิแอลแลคติก แอซิด ต่อ เอทิลีนไกลคอล 1:1 เริ่มต้นโดยการนำพอลิแอลแลคติกแอซิด เกรดทางการค้า ผสมกับเอทิลีนไกลคอลในขวดทำปฏิกิริยา จากนั้นจึงแทนที่อากาศในระบบด้วยแก๊สไนโตรเจน โดยการเป่าแก๊สไนโตรเจนสลับกับการดูดอากาศออกด้วยปั๊มจำนวน 5 รอบ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 175 องศาเซลเซียส รอให้สารในขวดทำปฏิกิริยาละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้วจึงเริ่มจับเวลาที่ 60, 180 และ 300 นาที ซึ่งจะได้พอลิแอลแลคติกแอซิดที่มีมวลโมเลกุล

แตกต่างกัน หลังจากทำปฏิกิริยาตามเวลาที่กำหนดแล้ว นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาละลายด้วยคลอโรฟอร์ม จากนั้นทำการตกตะกอนในเมทานอล และทำให้แห้งในตู้อบสุญญากาศ โดยผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้เรียกว่า ไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด แสดงดังภาพที่ 3.1

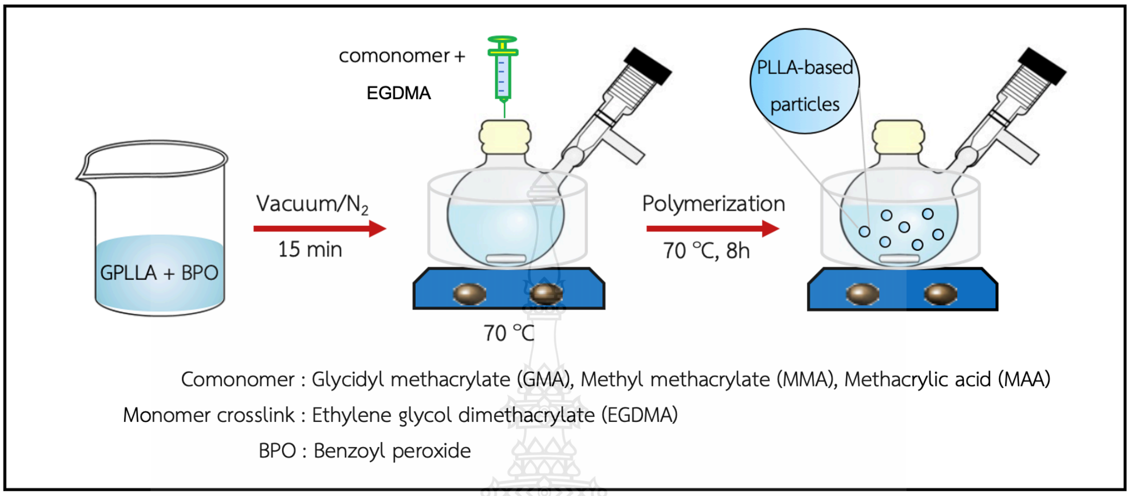


ภาพที่ 3.1 กลไกการลดมวลโมเลกุลของพอลิแอลแลคติก แอซิดโดยการไกลโคไลซีสด้วยเอทิลีนไกลคอล

3.3.2 ศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด ด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

ในเบื้องต้นจะศึกษาตัวทำละลายหรือวัฏภาคต่อเนื่องและโคมอนอเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมอนุภาคที่มีพอลิแลคติก แอซิด เป็นองค์ประกอบหลัก โดยสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคพอลิเมอร์ด้วยวิธีตกตะกอน ผ่านกลไกการสังเคราะห์แบบอนุมูลอิสระ ซึ่งจะใช้เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์แตกตัวให้อนุมูลอิสระ (เรดิคอล) ชนิดมีขั้วเป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยา ตัวทำละลายหรือวัฏภาคต่อเนื่องที่ใช้ จะต้องละลายมอนอเมอร์ ตัวริเริ่มปฏิกิริยา แต่ต้องไม่ละลายพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ขึ้น ดังนั้นในขั้นตอนนี้จะต้องเลือกศึกษาตัวทำละลายที่สามารถละลายไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิดได้ มี 2 ชนิด ได้แก่ สารละลายผสมระหว่างไดออกเซนกับทูโพรพานอล และ อะซิโตไนไตรล์ รวมทั้งศึกษาโคมอนอเมอร์ที่นำมาสังเคราะห์ร่วมคือ มอนอเมอร์กลุ่มอะคริเลต ได้แก่ ไกลซิดิว เมทาคริเลต เมทิลเมทาคริเลต และ เมทาคริลิค แอซิด รวมไปถึงมอนอเมอร์เชื่อมร่างแหได้แก่ เอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่เข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatible polymer) โดยนำไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด จากข้อ 3.3.1 ที่เวลา 60 นาที ละลายในตัวทำละลายพร้อมกับเบนโซอิลเปอร์ออกไซด์นำใส่ในขวดทำปฏิกิริยา จากนั้นจึงแทนที่อากาศในระบบด้วยแก๊สไนโตรเจน โดยการเป่าแก๊สไนโตรเจนสลับกับการดูดอากาศออกด้วยปั๊มจำนวน 5 รอบ นำไปให้ความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส เมื่อให้ความร้อนผ่านไป 15 นาทีจึงฉีดโคมอนอเมอร์และมอนอเมอร์เชื่อมร่างแหตามลงไป

แล้วจับเวลาสังเคราะห์ต่ออีก 8 ชั่วโมง แสดงดังภาพที่ 3.2 จะได้อนุภาคพอลิเมอร์ที่มีพอลิแลคติก แอซิดเป็นหลัก โดยมีสภาวะในการทดลองดังตารางที่ 3.3



ภาพที่ 3.2 แผนภาพการเตรียมอนุภาคที่ใช้พอลิแอลแลคติก แอซิดเป็นหลักด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

ตารางที่ 3.3 สภาวะการเตรียมอนุภาคที่ใช้พอลิแลคติก แอซิดเป็นหลักด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

Ingredients		GPLLA[a] : comonomer[b] : EGDMA
		5 : 3 : 2 (wt%)
GPLLA	g	1.25
Comonomer	g	0.75
EGDMA	g	0.50
Initiator[c]	g	0.20
continuous phase[d]	g	22.50

[a] ไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิดที่ใช้ จากกระบวนการไกลโคไลซีสที่ 60, 180 และ 300 นาที

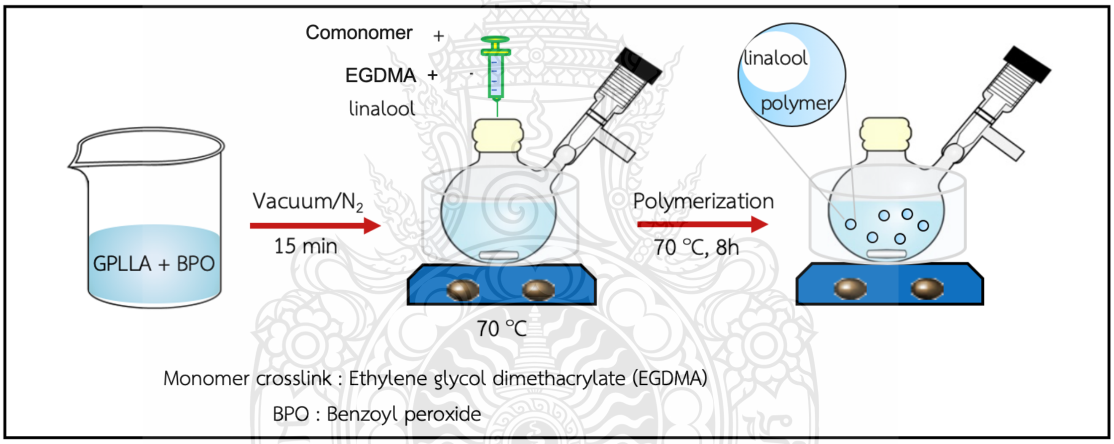
[b] โคมอนอเมอร์ที่ใช้ คือ ไกลซิดิว เมทาคริเลต เมทิลเมทาคริเลต และ เมทาคริลิค แอซิด

[c] ตัวริเริ่มปฏิกิริยา ศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง BPO และ V-501

[d] วัฏภาคต่อเนื่องที่ใช้ คือ สารละลายผสมระหว่างไดออกเซนกับทูโพรพานอล และ อะซิโตไนไตรล์

3.3.3 ศึกษาวิธีการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออล ด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

ในขั้นตอนนี้จะใช้สภาวะที่เหมาะสมคือโคมอนอเมอร์และวัฏภาคต่อเนื่อง จากการศึกษาในข้อ 3.3.2 สำหรับเตรียมเป็นพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออล โดยอัตราส่วนระหว่างพอลิเมอร์กับไลนาโลออลเป็น 1:1 เริ่มต้นนำไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด ที่เวลา 60 นาที ละลายในตัวทำละลายพร้อมกับเบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ นำใส่ในขวดทำปฏิกิริยา จากนั้นแทนที่อากาศในระบบด้วยแก๊สไนโตรเจนโดยการเป่าแก๊สไนโตรเจนสลับกับการดูดอากาศออกด้วยปั๊มจำนวน 5 รอบ นำไปให้ความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส เมื่อให้ความร้อนผ่านไป 15 นาที ฉีดโคมอนอเมอร์และมอนอเมอร์เชื่อมร่างแหพร้อมกับไลนาโลออลตามลงไป แล้วจับเวลาสังเคราะห์ต่ออีก 8 ชั่วโมง แสดงดังภาพที่ 3.3 จะได้พอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออลโดยเปลือกจะมีพอลิแลคติก แอซิดเป็นหลัก โดยมีสภาวะในการทดลองดังตารางที่ 3.4



ภาพที่ 3.3 แผนภาพการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโนออลด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

ตารางที่ 3.4 สภาวะการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออล ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

Ingredients		GPLLA[a] : comonomer[b] : EGDMA			
		5 : 3 : 2	5 : 2 : 3	5 : 1 : 4	5 : 0.5 : 4.5
GPLLA	g	1.25	1.25	1.25	1.25
Comonomer	g	0.75	0.50	0.25	0.13
EGDMA	g	0.50	0.75	1.00	1.13
BPO	g	0.20	0.20	0.20	0.20
Linalool	g	2.50	2.50	2.50	2.50
continuous phase[c]	g	22.50	22.50	22.50	22.50

[a] ไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิดที่ใช้ จากกระบวนการไกลโคไลซีสที่ 60 180 และ 300 นาที

[b] โคมอนอเมอร์ที่ใช้ คือ จากการศึกษาในข้อ 3.3.2

[c] วัฏภาคต่อเนื่องที่ใช้ คือ จากการศึกษาในข้อ 3.3.2

3.3.4 การทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อและความเป็นพิษของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโนออล

3.3.4.1 ความเป็นพิษของพอลิเมอร์แคปซูล

ทำการศึกษาความเป็นพิษของพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ในเซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยง (Human skin fibroblast) ด้วยวิธีเอ็มทีที รีดัคชั่น แอสเสย์ (MTT reduction assay) ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ในจานเพาะเลี้ยงขนาด 75 เซนติเมตร ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เมื่อเซลล์เจริญเต็มจานเพาะเลี้ยง (ประมาณร้อยละ 70-80) ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์เพื่อนำไปทดสอบความเป็นพิษ โดยทำการล้างเซลล์ 1 ครั้งด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate-buffered saline;PBS) จากนั้นเติม 2 มิลลิลิตร ของทริปซิน-อีดีทีเอ (Trypsin-EDTA) ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 แล้วบ่ม 5 นาที ที่ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลาหยุดการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน โดยการเติม 8 มิลลิลิตร ของดีเมม (DMEM) ความเข้มข้นร้อยละ 10 แล้วเก็บอาหารและนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

จากนั้นทำการแบ่งเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ให้มีความเข้มข้น 1×10^4 เซลล์ต่อหลุม ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 96 หลุม ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเมม ความเข้มข้นร้อยละ 10 นำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีปริมาตรคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา

24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยมีกลุ่มควบคุมคือ ตัวทำละลายของสารทดสอบ แล้วบ่มไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้งและล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.4 จำนวน 1 ครั้ง แล้วเติมสารละลายเอ็มทีที (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide; MTT) ที่มีความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งวิธีเอ็มทีที รีดัคชั่น แอสเสย์ ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการทดสอบการมีชีวิตรอดของเซลล์ (cell viability) โดยการวัดความสามารถการทำงานของเอนไซม์ซัคซิเนท ดีไฮโดรจิเนส (succinate dehydrogenases) ในไมโทคอนเดรียของเซลล์ที่มีชีวิต ที่จะสามารถรีดิวซ์เตตระโซเลี่ยม (tetrazolium salt; MTT) ที่มีสีเหลือง ให้เป็นผลึกฟอร์มาซาน (formazan) ที่มีสีม่วง ซึ่งปริมาณของผลึกฟอร์มาซาน ที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิตรอด จากนั้นเมื่อครบ 6 ชั่วโมง ทำการดูดสารละลายทิ้ง แล้วละลายผลึกฟอร์มาซานด้วย 100 ไมโครลิตร ของไดเมททิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) เขย่าให้เข้ากันประมาณ 15 นาที จากนั้นทำการวิเคราะห์ความเข้มของสารละลายฟอร์มาซาน โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร และทำการคำนวณค่าร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ของสารทดสอบ ดังสมการที่ 1 โดยเปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังในกลุ่มควบคุม

$$\% \text{ Cell viability} = \left(\frac{A_{560}\text{ Sample}}{A_{560}\text{ Control}}\right) \times 100 \qquad \text{.....สมการที่ 1}$$

โดยที่ A_{560}Sample = ค่าการดูดกลืนแสงของ สารทดสอบ

A_{560}Control = ค่าการดูดกลืนแสงของ กลุ่มควบคุม

3.3.4.2 ความสามารถในการต้านเชื้อจุลชีพของพอลิเมอร์แคปซูล

นำพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ไปทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อ โดยจะทดสอบทั้งหมด 3 ชนิดได้แก่สตาฟิโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus; S. aureus*) (แบคทีเรียแกรมบวก), เอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli; E. coli*) (แบคทีเรียแกรมลบ) และแคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans; C. albicans*) (เชื้อรา) ด้วยวิธีทดสอบแบบอาการ์เวลดิฟฟิวชั่น (agar well diffusion) โดยเตรียมเชื้อทดสอบให้มีจำนวนเชื้อเริ่มต้นที่ 10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร เทียบด้วยมาตรฐานแมคฟาแลนด์ เลขที่ 0.5 (McFarland Standard No. 0.5) สำหรับเอสเชอริเชีย โคไล และ สตาฟิโลคอคคัส ออเรียส ส่วนแคนดิดา อัลบิแคนส์ เทียบด้วยมาตรฐานแมคฟาแลนด์ เลขที่ 0.1 (McFarland Standard No. 0.1)

จากนั้นป้าย (swap) เชื้อให้ทั่วบริเวณอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง เบรน ฮาร์ด อินฟิวชัน อาการ์ (สำหรับสตาฟิโลคอคคัส ออเรียส และ เอสเชอริเชีย โคไล) และ ซับรอด เด็กซ์โตรส บรอธ อาการ์ (สำหรับแคนดิดา อัลบิแคนส์) โดยการลากเส้นผ่านศูนย์กลางของจานเพาะเชื้อ และป้ายอีกเส้นตั้งฉากกัน จากนั้นหมุนจานเพาะเชื้อประมาณ 60 องศา และป้ายเชื้อเพิ่มลงไปอีกเส้น ทำซ้ำจำนวน 3 ครั้ง เพื่อให้เชื้อราและแบคทีเรียกระจายทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างสม่ำเสมอ จากนั้นเจาะหลุมอาหารเลี้ยงเชื้อคอร์ค บอเรอร์เบอร์ 3 (cork borer No.3) จะได้หลุมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 มิลลิเมตร สำหรับใส่สารทดสอบและตัวควบคุม หยดสารทดสอบและตัวควบคุมที่ให้ผลเป็นลบ (DMSO) ปริมาตร 70 ไมโครลิตรลงในหลุมที่เจาะไว้ และแผ่นยาปฏิชีวณะซึ่งเป็นตัวควบคุมที่ให้ผลเป็นบวก คือ กาน่าไมซิน (Kanamycin) ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อแผ่น (สำหรับเชื้อแบคทีเรีย) ส่วน ไมโครนาโซล (Miconazole) ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อแผ่น (สำหรับเชื้อรา) วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสสำหรับเชื้อแบคทีเรีย และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสสำหรับเชื้อรา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการวัดโซนการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ดังสมการที่ 2

$$R_a = \left(\frac{D_C - D_S}{2} \right) \qquad \text{.....สมการที่ 2}$$

เมื่อ R_a คือ รัศมีการยับยั้ง

D_C คือ เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณ clear zone

D_S คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของ Well

3.3.5 การศึกษาคุณสมบัติของพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออล

3.3.5.1 ร้อยละการเปลี่ยนมอนอเมอร์เป็นพอลิเมอร์ (%Conversion)

วิธีหาร้อยละการเปลี่ยนมอนอเมอร์เป็นพอลิเมอร์ เริ่มต้นโดยการชั่งน้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมบันทึกค่า จากนั้นจึงใส่อิมัลชันของพอลิเมอร์แคปซูลลงในถ้วยอะลูมิเนียมประมาณ 1.5 กรัม พร้อมบันทึกค่าน้ำหนักที่แน่นอนไว้ นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำออกมาชั่งน้ำหนัก พร้อมบันทึกค่าน้ำหนักหลังอบและนำมาคำนวณดังสมการที่ 3

$$\%\text{Conversion} = \left(\frac{W_{after} - W_{BPO}}{W_m} \right) \times 100 \qquad \text{.....สมการที่ 3}$$

เมื่อ W_{after} คือ น้ำหนักพอลิเมอร์ที่เหลือหลังอบ

W_{BPO} คือ น้ำหนักของ BPO

W_m คือ น้ำหนักของ GPLLA และมอนอเมอร์ก่อนสังเคราะห์

3.3.5.2 การหาร้อยละการบรรจุ (% Loading) และร้อยละการกักเก็บ (%Encapsulation) ของไลนาโลออลในพอลิเมอร์แคปซูล

นำอิมัลชันของพอลิเมอร์แคปซูลมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที พอลิเมอร์แคปซูลจะตกลงมาด้านล่าง แยกชั้นสารวัฏภาคต่อเนื่องออกมาและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของไลนาโลออลที่เหลืออยู่ในวัฏภาคต่อเนื่องด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี โดยเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐานของไลนาโลออลในช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยมีสภาวะในการวิเคราะห์ดังนี้

เครื่องตรวจวัด : Flame Ionization Detector (FID)

คอลัมน์ : MEGA-WAX Plus 260 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิคอลัมน์และอินเจคเตอร์ที่ 250 องศาเซลเซียส

จากนั้นสามารถหาร้อยละการบรรจุจากการทดลอง (%L_E) ของไลนาโลออลในพอลิเมอร์แคปซูลได้จากสมการที่ 4,5 และ 6

$$W_{L,cont.} = C_{L,cont.} \times W_{cont.} \quad \text{.....สมการที่ 4}$$

เมื่อ $W_{L,cont.}$ คือ น้ำหนักของไลนาโลออลในวัฏภาคต่อเนื่องหลังสังเคราะห์ (mg)

$C_{L,cont.}$ คือ ความเข้มข้นของไลนาโลออลในวัฏภาคต่อเนื่องหลังสังเคราะห์ ที่ได้จาก GC (mg/Kg)

$W_{cont.}$ คือ น้ำหนักของวัฏภาคต่อเนื่องในระบบการสังเคราะห์ (Kg.)

$$W_{L,cap.} = W_{L,ini.} - W_{L,cont.} \quad \text{.....สมการที่ 5}$$

เมื่อ $W_{L,cap.}$ คือ น้ำหนักของไลนาโลออลในแคปซูลหลังสังเคราะห์ (mg)

$W_{L,ini.}$ คือ น้ำหนักของไลนาโลออลเริ่มต้น (mg)

$W_{L,cont.}$ คือ จากสมการที่ 4

$$\%L_E = \left(\frac{W_{L,cap.}}{W_{cap.}}\right) \times 100 \quad \text{.....สมการที่ 6}$$

เมื่อ $W_{L,cap.}$ คือ จากสมการที่ 4

$W_{cap.}$ คือ น้ำหนักของแคปซูลที่ได้จากการสังเคราะห์ (mg)

ส่วนร้อยละการบรรจุทางทฤษฎี ($\%L_T$) สามารถหาได้จากสมการที่ 7

$$\%L_T = \left(\frac{W_{L,ini.}}{W_{L,ini.}+\left(W_m \times \frac{\%conversion}{100}\right)}\right) \times 100$$ .....สมการที่ 7

เมื่อ W_m คือ น้ำหนัก GPLLA, comonomer และ EGDMA ก่อนการสังเคราะห์

$$\%\ Encapsulation = \left(\frac{\%L_E}{\%L_T}\right) \times 100$$ .....สมการที่ 8

3.3.5.3 ศึกษาขนาดและประจุที่ผิวของอนุภาคพอลิเมอร์แคปซูล

นำอิมัลชันของพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้มากระจายตัวในวัฏภาคต่อเนื่อง จากนั้นจึงนำสารละลายที่ได้ใส่ในเซลล์สำหรับการกระเจิงของแสงพลวัต เพื่อศึกษาขนาดของอนุภาคเฉลี่ยโดยน้ำหนักและปริมาตร (Number (d_n) and volume (d_V) average diameter) สำหรับค่าประจุที่ผิวจะนำสารละลายมาทดสอบด้วยเทคนิคศักย์เซต้า (Zeta potential)

3.3.5.4 การศึกษาโครงสร้างทางเคมีของพอลิเมอร์แคปซูล

ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของพอลิเมอร์แคปซูลด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโคปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy; NMR) ทำการสังเคราะห์พอลิเมอร์โดยไม่ใส่มอนอเมอร์เชื่อมร่างแห เพื่อให้พอลิเมอร์ที่สังเคราะห์สามารถละลายในดิวทีเรียมคลอโรฟอร์มได้ ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างบรรจุลงในหลอดแก้วขนาด 17.5 เซนติเมตร x 5 มิลลิเมตร โดยให้ระดับของสารละลายสูงประมาณ 4 เซนติเมตร ก่อนนำไปทดสอบ NMR

3.3.5.5 การศึกษาลักษณะของพอลิเมอร์แคปซูล

นำอิมัลชันของพอลิเมอร์แคปซูลมาเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสม จากนั้นนำไปเขย่าด้วยคลื่นความถี่สูง (Sonicator) ประมาณ 5 นาที เพื่อให้อนุภาคพอลิเมอร์กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ หยดตัวอย่างที่อนุภาคกระจายตัวดีแล้วลงบนแผ่นรองรับตัวอย่าง (Grid) และปล่อยให้แห้งในตู้อบสุญญากาศ และจึงนำมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

3.3.5.6 ศึกษามวลโมเลกุลของไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด ด้วยเทคนิคเจลเปอร์มิเอชันโครมาโทกราฟฟี (Gel permeation chromatography; GPC)

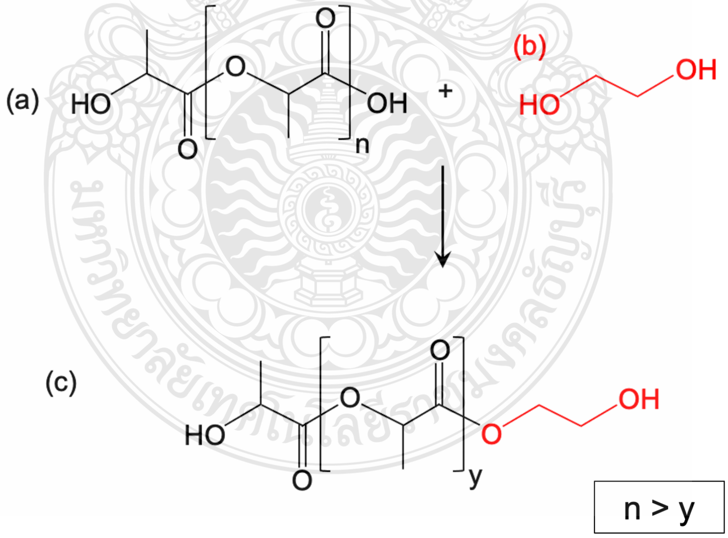
การหามวลโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักและโดยจำนวนของไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด ทำได้โดยการวัดค่าปริมาตรการคงอยู่ (Retention volume; V_R) ของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐานที่น้ำหนักโมเลกุล 500 2,000 20,000 50,000 300,000 กรัมต่อโมล โดยทั้งสารมาตรฐานและตัวอย่างจะเตรียมให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักในเตตระไฮโดรฟูแรน ก่อนฉีดเข้าคอลัมน์โดยคอลัมน์แยกสารจำนวนสองคอลัมน์ต่ออนุกรมในสภาวะดังนี้ ปริมาตรตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร เวลาในการวิเคราะห์ 30 นาที อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) 1 มิลลิลิตรต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิคอลัมน์ที่ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้ตัวตรวจวัดเป็นชนิดการหักเหแสง (Refractive index)

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การเตรียมไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด

พอลิแอลแลคติก แอซิด เป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติที่ไม่เป็นพิษ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ และที่สำคัญยังเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ดังนั้นจึงได้นำพอลิแอลแลคติก แอซิด มาเป็นเปลือกหุ้มไลนาโลออล ด้วยเทคนิคการสังเคราะห์แบบตกตะกอน ซึ่งเทคนิคดังกล่าวสารจะต้องละลายเป็นเนื้อเดียวกันในวัฏภาคต่อเนื่องก่อนการสังเคราะห์ ดังนั้นจึงต้องมีการนำพอลิแอลแลคติก แอซิด เกรดการค้า (มวลโมเลกุล ~100,000 กรัมต่อโมล) ซึ่งเกรดทางการค้าละลายในวัฏภาคต่อเนื่องได้ยาก จึงต้องมีการนำมาลดมวลโมเลกุลก่อนทำการสังเคราะห์ โดยใช้กระบวนการไกลโคไลซิสด้วยเอทิลีนไกลคอล กลไกดังภาพที่ 4.1 ที่อุณหภูมิสูงจะเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) ระหว่างหมู่เอสเทอร์ (COOR) ของพอลิแอลแลคติก แอซิดและหมู่ไดออลของเอทิลีนไกลคอล หมู่เอสเทอร์จะเกิดการแตกและถูกแทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (OH) ที่ปลายสายโซ่สุดท้ายจะได้ไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด ที่มวลโลกุลแตกต่างกัน ลักษณะเป็นผงสีขาวดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.1 กลไกการเตรียมไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด : พอลิแอลแลคติก แอซิด (a), เอทิลีนไกลคอล (b) และ ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด (c)

เมื่อนำพอลิแอลแลคติก แอซิด เกรดการค้าและไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด ที่เวลาในการทำปฏิกิริยาต่างๆ มาทดสอบด้วยเทคนิคเจลเปอร์มิเอชันโครมาโทกราฟฟี พบว่ามวลโมเลกุลของพอลิแอลแลคติก แอซิดเกรดทางการค้าจะลดลงจาก 100,000 เป็น 17,000, 10,000 และ 4,000 กรัมต่อโมล ที่เวลาของการเกิดปฏิกิริยา 60 180 และ 300 นาที ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.1 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการกระจายตัวของมวลโมเลกุล (ภาพที่ 4.3a) จะลดลงตามเวลาของการเกิดปฏิกิริยาไกลโคไลซิส (ภาพที่ 4.3b-d) นอกจากนี้ทุกพีคของการกระจายตัวของมวลโมเลกุลไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด (ภาพที่ 4.3b-d) จะมีความสมมาตรและมีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย (M_w/M_n : 1.48 – 1.78) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเกิดปฏิกิริยาไกลโคไลซิสได้ดีและทุกมวลโมเลกุลของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด จะถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพในขั้นต่อไป

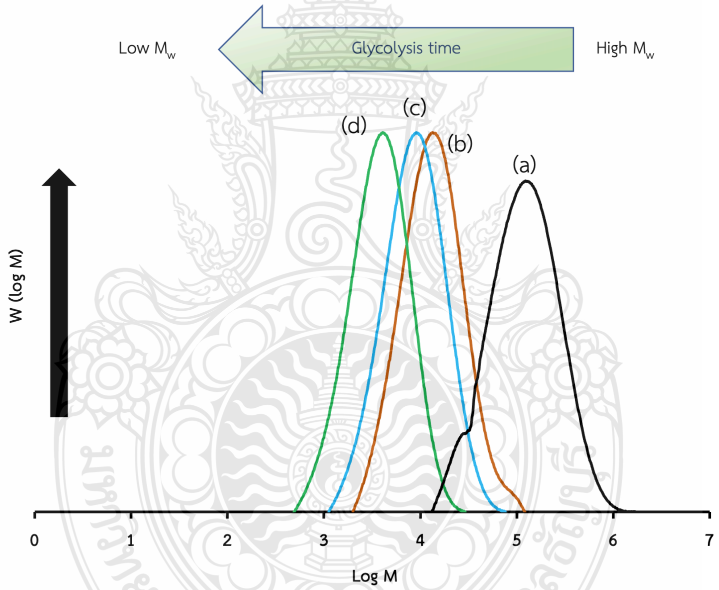
ตารางที่ 4.1 แสดงมวลโมเลกุลเฉลี่ยของพอลิแอลแลคติก แอซิด เกรดการค้าและไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด เตรียมที่เวลา 60, 180 และ 300 นาที

	M_w	M_n	M_w/M_n
$PLLA_{commercial}$[a]	112000	56000	2.01
$GPLLA_{60}$[b]	17200	10000	1.66
$GPLLA_{180}$[b]	11000	6600	1.64
$GPLLA_{300}$[b]	4000	2800	1.49

หมายเหตุ: a พอลิแอลแลคติก แอซิด เกรดการค้า

b ไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด เตรียมที่เวลา 60, 180 และ 300 นาที

ภาพที่ 4.2 ไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด หลังตกตะกอนในเมทานอลและอบให้แห้งในตู้อบสุญญากาศ ที่ผ่านกระบวนการไกลโคไลซิสที่เวลา 60 (a), 180 (b), และ 300 (c) นาที

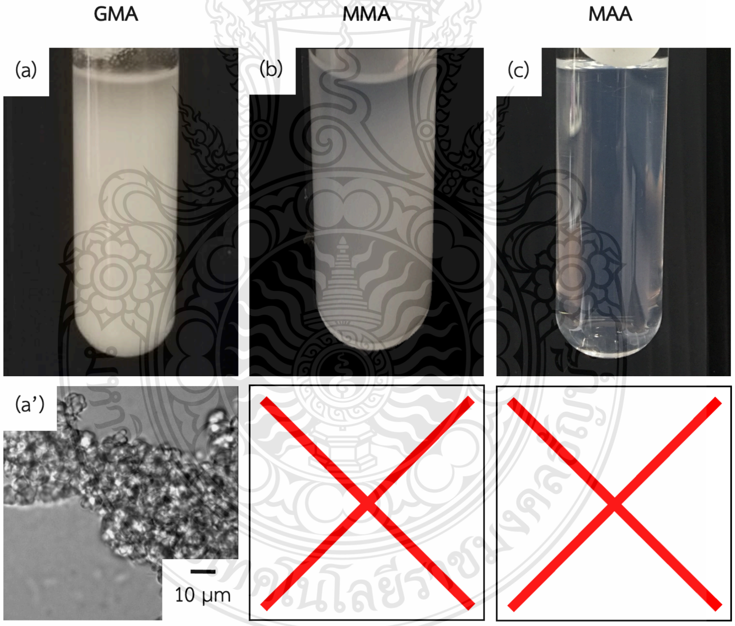


ภาพที่ 4.3 แสดงการกระจายตัวของมวลโมเลกุล (M_n) พอลิแอลแลคติก แอซิดเกรดการค้า ที่มีมวลโมเลกุล 56,000 (a) กรัมต่อโมล เปรียบเทียบกับ ไกลโคไลซ์พอลิแลคติก แอซิด ที่ผ่านกระบวนการไกลโคไลซิสที่เวลา 60 (b), 180 (c), และ 300 (d) นาที

4.2 การเตรียมอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด ด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

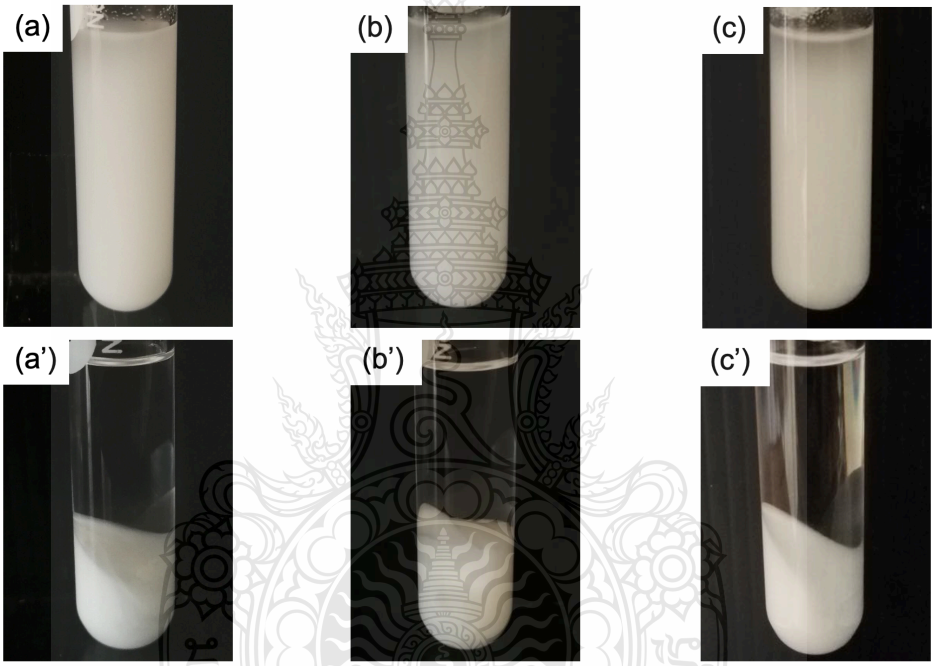
4.2.1 ตัวทำละลายหรือวัฏภาคต่อเนื่องที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

ตัวทำลายที่ใช้จะต้องสามารถละลายไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด โคมอนอเมอร์ และเบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ได้ แต่จะต้องไม่ละลายพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการสังเคราะห์ โดยตัวทำละลายที่ใช้มี 3 ชนิด คือ สารละลายผสมระหว่างไดออกเซนกับทูโพรพานอล เอทิลอะซิเตต และอะซิโตไนไตรล์ ในขณะเดียวกันก็ศึกษาโคมอนอเมอร์ที่นำมาสังเคราะห์ร่วมด้วย 3 ชนิด คือ ไกลซิดิวเมทาคริเลต เมทิล เมทาคริเลต และ เมทาคริลิค แอซิด และใช้ เอทิลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลต เป็นมอนอเมอร์เชื่อมร่างแห ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่เข้ากันได้ทางชีวภาพ พบว่า หลังทำการสังเคราะห์ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดที่มีมวลโมเลกุลเฉลี่ย 17,000 กรัมต่อโมลร่วมกับไกลซิดิว เมทาคริเลต ในตัวทำละลายผสมระหว่างไดออกเซนกับทูโพรพานอล เกิดอนุภาคขึ้นหลังสังเคราะห์ แต่อนุภาคที่เกิดขึ้นไม่มีความเสถียร จึงเกิดการรวมตัวกัน ดังภาพที่ 4.4a’ ส่วนโคมอนอเมอร์ชนิดอื่นๆ หลังสังเคราะห์ไม่เกิดเป็นอนุภาค ดังภาพที่ 4.4(b และ c)

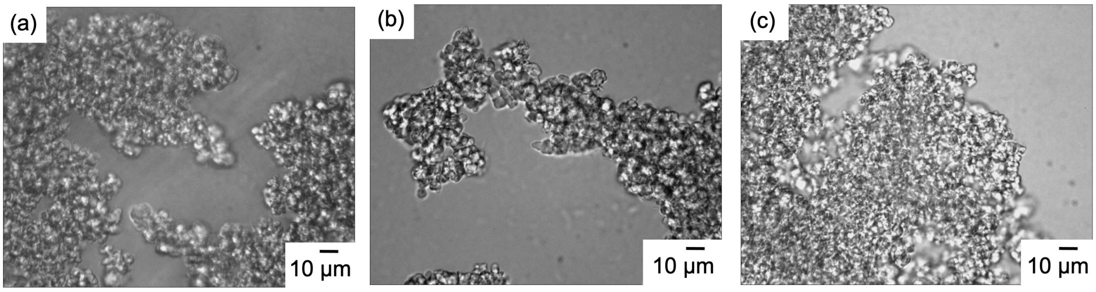


ภาพที่ 4.4 ภาพ (a-c) และภาพกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (a’) ของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด ที่สังเคราะห์ด้วยเทคนิคตกตะกอน โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างไดออกเซนกับทูโพรพานอลเป็นวัฏภาคต่อเนื่อง สังเคราะห์ร่วมกับโคมอนอเมอร์ ไกลซิดิว เมทาคริเลต (a) เมทิล เมทาคริเลต (b) และ เมทาคริลิค แอซิด (c)

จากการใช้ไกลซิดิว เมทาคริเลตเป็นโคมอนอเมอร์สังเคราะห์ร่วมกับไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด และเกิดอนุภาคขึ้นหลังสังเคราะห์ จึงได้ทดลองสังเคราะห์โดยใช้ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด ที่มวลโมเลกุลอื่นๆ (10,000 และ 4,000 กรัมต่อโมล) พบว่าสามารถเกิดเป็นอนุภาค แต่เมื่อนำอนุภาคแขวนลอยที่ได้ไปปั่นเหวียงแค่เพียง 5 นาที พบว่าอนุภาคตกตะกอนลงไปด้านล่างอย่างรวดเร็ว ดังภาพที่ 4.5(a’-c’) บ่งชี้ได้ชัดว่าอนุภาคเกิดการรวมตัวกันและไม่มีความเสถียร จึงตกตะกอนลงด้านล่างอย่างรวดเร็ว สอดคล้องกับภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่พบว่าอนุภาคเกิดการรวมตัวกันเป็นก้อน ดังภาพที่ 4.6

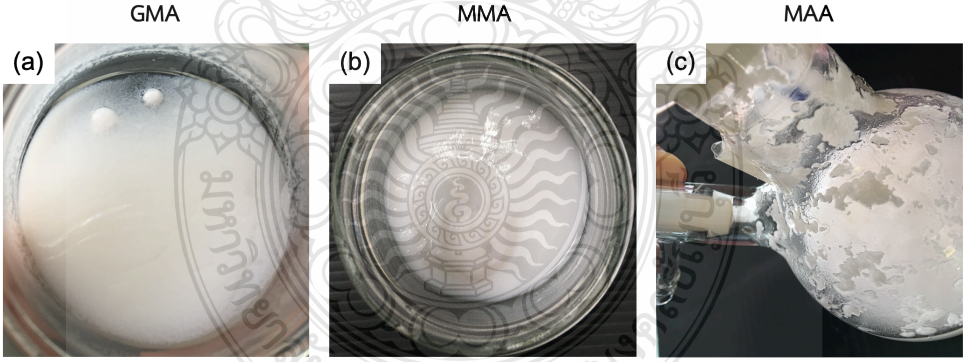


ภาพที่ 4.5 ภาพของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดหลังสังเคราะห์ (a-c) และหลังปั่นเหวี่ยง 5 นาที (a’-c’) สังเคราะห์ร่วมกับไกลซิดิว เมทาคริเลตในตัวทำละลายผสมระหว่างไดออกเซนกับทูโพรพานอล โดยใช้ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดที่มีมวลโมเลกุล 10,000 (a และ a’), 10,000 (b และ b’) และ 4,000 (c และ c’) กรัมต่อโมล



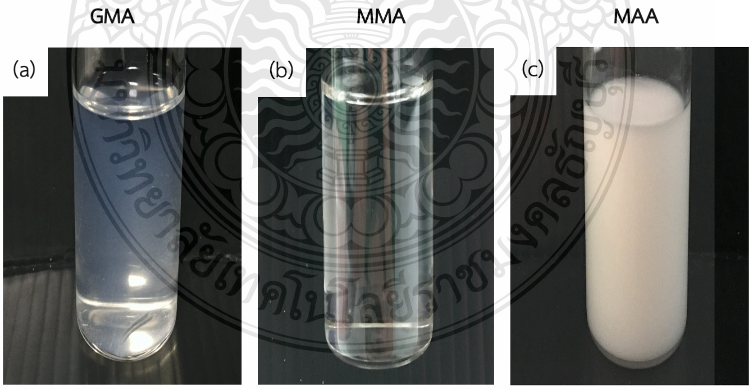
ภาพที่ 4.6 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด สังเคราะห์ร่วมกับไกลซิดิว เมทาคริเลตในตัวทำละลายผสมระหว่างไดออกเซนกับทูโพรพานอล โดยใช้ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดที่มีมวลโมเลกุล 17,000 (a), 10,000 (b) และ 4,000 (c) กรัมต่อโมล

จากนั้นจึงได้มีการสังเคราะห์โดยเปลี่ยนวัฏภาคต่อเนื่องเป็นเอทิลอะซิเตต ซึ่งหลังสังเคราะห์พบว่า เอทิลอะซิเตตแพร่เข้าไปในอนุภาคที่เกิดขึ้น ส่งผลให้อนุภาคบวมไปด้วยเอทิลอะซิเตตและเกิดการรวมตัวกันจนมีลักษณะเป็นก้อนเจล ดังภาพที่ 4.7 ดังนั้นตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตจึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาสังเคราะห์อนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด

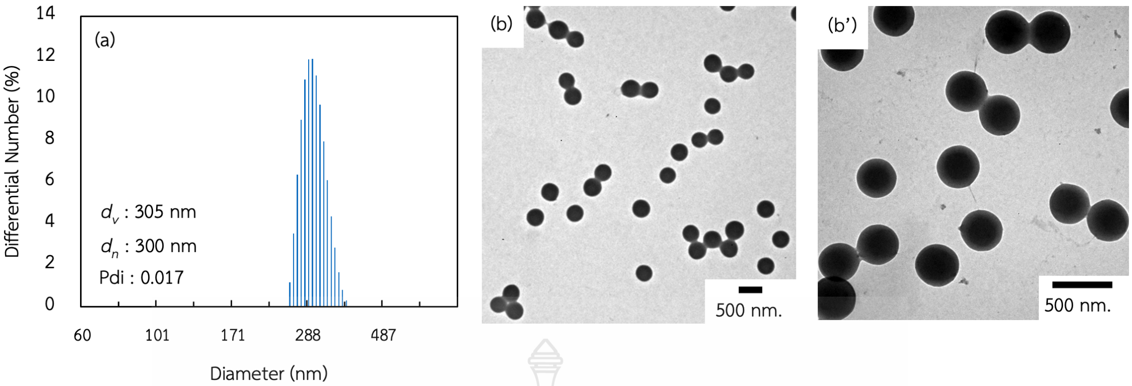


ภาพที่ 4.7 ภาพของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด สังเคราะห์ร่วมกับไกลซิดิว เมทาคริเลต (a), เมทิล เมทาคริเลต (b) และ เมทาคริลิก แอซิด (c) ในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต

ในขณะที่เมื่อสังเคราะห์พอลิแอลแลคติก แอซิด และเอทิลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลต ร่วมกับโคมอนอเมอร์แต่ละชนิด ในตัวทำละลายอะซิโตไนไตรล์ พบว่า เมื่อสังเคราะห์ร่วมกับโคมอนอเมอร์ชนิดไกลซิดิว เมทาคริเลต และเมทิล เมทาคริเลต ไม่เกิดเป็นอนุภาค ดังภาพที่ 4.8 (a และ b) ตามลำดับ แต่เมื่อสังเคราะห์ร่วมกับโคมอนอเมอร์ชนิดเมทาคริลิค แอซิด ในระบบการสังเคราะห์เกิดเป็นอิมัลชันสีขาวขุ่นเหมือนน้ำนม ดังภาพที่ 4.8c บ่งชี้ว่าเกิดอนุภาคขึ้นหลังสังเคราะห์ จากนั้นจึงได้นำอนุภาคที่ได้ไปทดสอบวัดขนาดของอนุภาค พบว่าอนุภาคที่สังเคราะห์ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 300 นาโนเมตร และมีค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่ค่อนข้างแคบ (pdi 0.017) ดังภาพที่ 4.9a สัมพันธ์กับการศึกษาลักษณะอสัณฐานของอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านที่ได้ ซึ่งมีลักษณะเป็นทรงกลมขนาดประมาณ 300 นาโนเมตรและมีความเสถียรที่ดีอีกด้วย ดังภาพที่ 4.9 (b และ b’) อนุภาคที่เตรียมได้จะมีความเสถียรทางคอลลอยด์ด้วยแรงผลักระหว่างประจุที่มาจากหมู่คาร์บอกซิลของเมทาคริลิก แอซิด ในขณะที่อะซิโตไนไตรล์จะใช้เป็นตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงค่า θ solvent สำหรับพอลิเมอร์ที่เตรียมได้ ทำให้อนุภาคที่ได้มีลักษณะเป็นทรงกลม อะซิโตไนไตรล์ละลายมอนอเมอร์ได้ดีแต่ไม่ละลายพอลิเมอร์ นอกจากนี้มีค่าคงที่ไดอิเล็กทริกที่สูง (ε_r = 36) หมู่คาร์บอกซิลของพอลิเมทาคริลิก แอซิด จะแตกตัวง่ายทำให้เกิดประจุลบที่ผิวอนุภาค ทำให้อนุภาคพอลิเมอร์มีความเสถียรทางคอลลอยด์ ดังนั้นจึงได้เลือกตัวทำละลายอะซิโตไนไตรล์เป็นวัฏภาคต่อเนื่อง ซึ่งนิยมใช้เป็นตัวทำละลายในเทคนิคการสังเคราะห์แบบตกตะกอน [84-87] และเมทาคริลิค แอซิด ที่มีประจุลบจากหมู่คาร์บ็อกซิล ช่วยให้อนุภาคมีความเสถียรทางคอลลอยด์ [84] เป็นโคมอนอเมอร์ในการสังเคราะห์อนุภาค



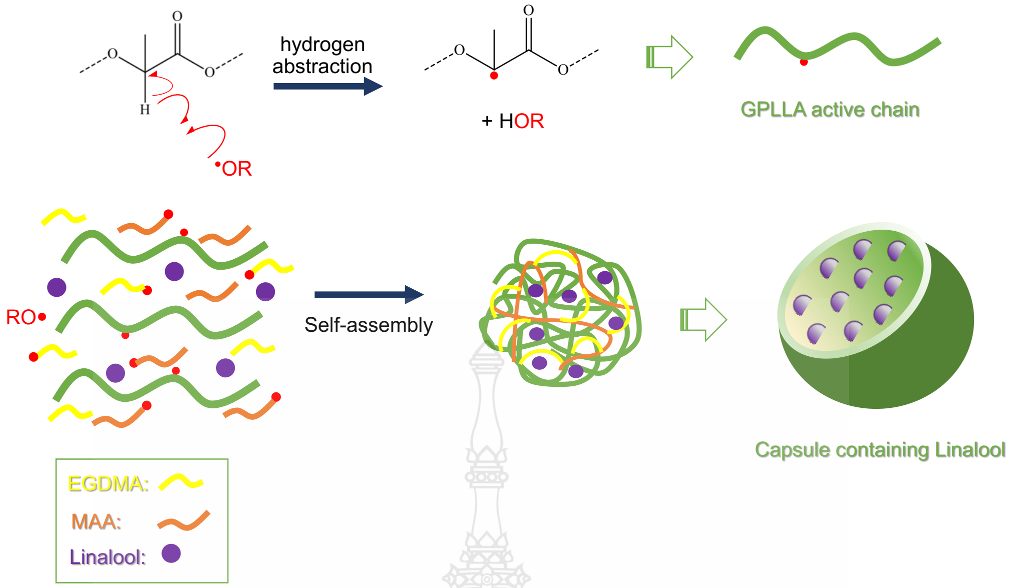
ภาพที่ 4.8 ภาพของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดที่สังเคราะห์ด้วยเทคนิคตกตะกอน โดยใช้ตัวทำละลายอะซิโตไนไตรล์เป็นวัฏภาคต่อเนื่อง สังเคราะห์ร่วมกับโคมอนอเมอร์ ไกลซิดิว เมทาคริเลต (a) เมทิล เมทาคริเลต (b) และ เมทาคริลิค แอซิด (c)



ภาพที่ 4.9 กราฟแสดงการกระจายตัว (a), TEM ไมโครกราฟที่กำลังขยาย 10000X (b) และที่กำลังขยาย 22000X (b’) ของขนาดอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดที่สังเคราะห์ด้วยเทคนิคตกตะกอน โดยใช้ตัวทำละลายอะซิโตไนไตรล์เป็นวัฏภาคต่อเนื่อง ร่วมกับโคมอนอเมอร์เมทาคริลิค แอซิด

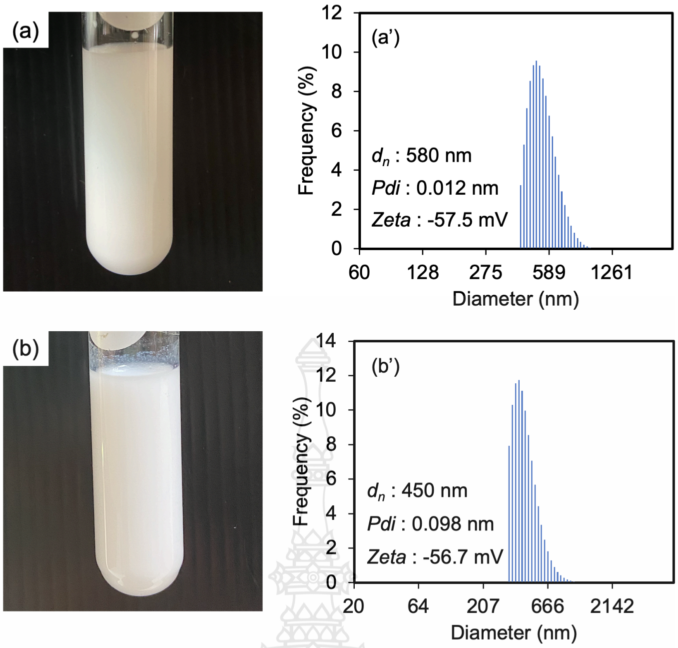
4.2.2 การเตรียมอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบตกตะกอน โดยใช้อะซิโตไนไตรล์เป็นวัฏภาคต่อเนื่อง และใช้เมทาคริลิค แอซิด เป็นโคมอนอเมอร์

โดยในระบบการสังเคราะห์ด้วยวิธีการตกตะกอนจะประกอบไปด้วยไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดที่มวลโมเลกุลต่างๆ เมทาคริลิค แอซิด และเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันในอะซิโตไนไตรล์ หลังจากเติมเบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ที่เป็นตัวเริ่มปฏิกิริยา เมื่อให้ความร้อนตัวเริ่มปฏิกิริยาจะแตกตัวเกิดเป็นอนุมูลอิสระที่สามารถจับไฮโดรเจนที่สายโซ่ของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด ทำให้สายโซ่มีอนุมูลอิสระที่สามารถเกิดการต่อสายโซ่พอลิเมอร์กับมอนอเมอร์ได้ เมื่อมีความยาวที่เพียงพอและไม่สามารถละลายในตัวทำละลายได้อีกจะประกอบตัวเองเกิดเป็นอนุภาคพอลิเมอร์ โดยอนุภาคที่ได้จะมีความเสถียรทางคอลลอยด์สูงเนื่องจากที่ผิวอนุภาคมีประจุลบจากหมู่คาร์บอกซิลของเมทาคริลิค แอซิด กลไกการเตรียมอนุภาค/แคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพแสดงดังภาพที่ 4.10



ภาพที่ 4.10 กลไกการเกิดอนุภาค/แคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพกักเก็บไลนาโลออล

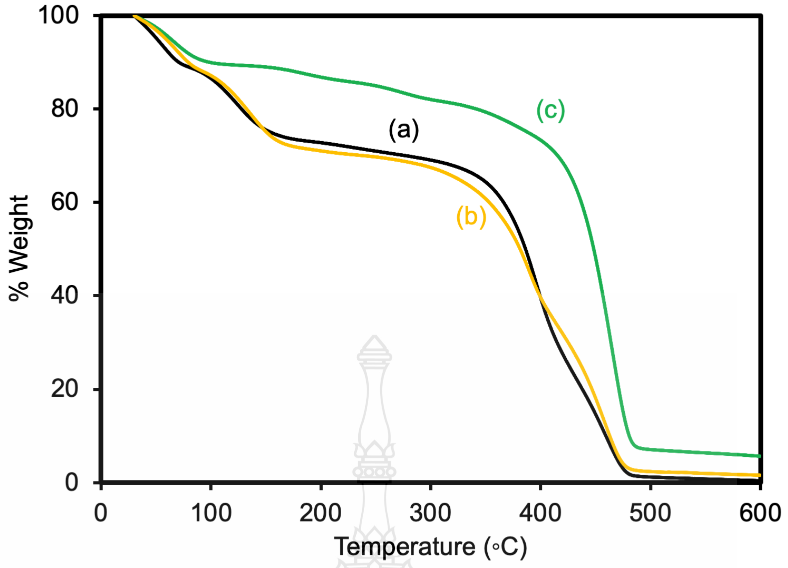
ในกรณีพอลิแอลแลคติก แอซิดเกรดทางการค้ามีมวลโมเลกุลสูง (100,000 กรัมต่อโมล) ทำให้ไม่สามารถละลายในอะซิโตไนไตรล์ได้ ในขณะที่ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดมวลโมเลกุลต่ำ (4,000 and 10,000 กรัมต่อโมล) อนุภาคที่เตรียมได้มีความเสถียรต่ำและมีการเกาะตัวกันของอนุภาคเป็นจำนวนมาก เนื่องจากอนุภาคมีการดูดซับตัวทำละลายจำนวนมาก ในทางตรงกันข้ามกรณีที่ใช้ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดที่มวลโมเลกุลสูง (17,000 กรัมต่อโมล) การสังเคราะห์พอลิเมอร์เป็นไปได้ด้วยดีมีการเปลี่ยนมอนอเมอร์เป็นพอลิเมอร์สูงถึง 99% อิมัลชันที่ได้ไม่มีการเกาะตัวกันของอนุภาค (ภาพที่ 4.11a) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอนุภาคพอลิเมอร์ที่ได้มีความเสถียรสูง มีค่าศักย์ซีต้าสูง (-57 มิลลิโวลต์) นอกจากนี้มีขนาดอนุภาคประมาณ 580 นาโนเมตรและมีค่าการกระจายตัวของอนุภาคต่ำ (dispersity index; PDI ~0.012) (ภาพที่ 4.11a') การที่ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดมีมวลโมเลกุลสูง (17,000 กรัมต่อโมล) อนุภาคพอลิเมอร์ที่เตรียมได้เข้ากันได้ยากกับอะซิโตไนไตรล์ ทำให้ตกตะกอนแยกออกจากวัฏภาคต่อเนื่อง อนุภาคจึงยังคงสภาพอนุภาคได้ดี



ภาพที่ 4.11 ภาพอิมัลชัน (a และ b) และกราฟแสดงการกระจายตัว (a’ และ b’) ของขนาดอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน โดยใช้เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ (a และ a’) และใช้ วี-501 (b และ b’) เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยา

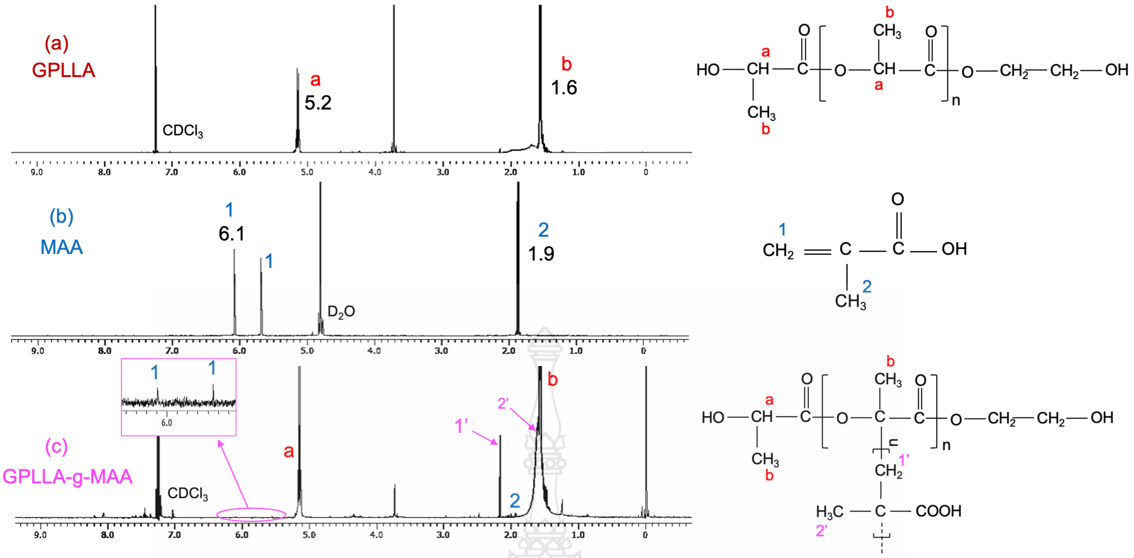
ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยวิธีตกตะกอน เมื่อให้ความร้อนเบนโซอิลเปอร์ออกไซด์จะแตกตัวให้อนุมูลอิสระในรูปเรดิคอล (RO●) สามารถที่จะจับอะตอมไฮโดรเจนได้ดี [88] ทำให้สายโซ่ของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดเกิดอนุมูลอิสระฟังก์ชันนอลมอนอเมอร์เช่น เมทาคริลิค แอซิดสามารถต่อสายโซ่พอลิเมอร์บนสายโซ่ของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด เมื่อสายโซ่พอลิเมอร์ยาวขึ้นจนถึงความยาววิกฤต (critical value; J_{crit}) พอลิเมอร์จะไม่สามารถละลายในตัวทำละลายได้อีกจะประกอบตัวเองเกิดเป็นอนุภาค และตกตะกอนแยกออกจากตัวทำละลาย นอกจากนี้อนุภาคที่เกิดขึ้นสามารถดูดซับโอลิโกเมอร์ที่เกิดขึ้นมาใหม่ได้ทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้นก่อนตกตะกอนแยกออกจากตัวทำละลาย ในการสนับสนุนสมมติฐานดังกล่าว อนุภาคพอลิเมอร์จะถูกเตรียมด้วยสภาวะเดียวกันแต่เปลี่ยนตัวริเริ่มปฏิกิริยาจากเบนโซอิลเปอร์ออกไซด์เป็น ชนิดเอโซที่มีเรดิคอลที่คาร์บอนอะตอม คือ วี-501 (V-501) ซึ่งจะจับไฮโดรเจนยากมาก ทำให้เกิดการกราฟลงบนสายโซ่ ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด ได้น้อย ดังนั้นสายโซ่ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดน่าจะไม่เกิดพอลิเมอไรเซชัน โดยพบว่าสามารถเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์ได้เช่นกัน ดังจะเห็นได้จากอิมัลชันในภาพที่ 4.11b เช่นเดียวกับการใช้เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ ขนาดของอนุภาคพอลิเมอร์ประมาณ 450 นาโนเมตร ที่มีการกระจายตัวต่ำ (PDI ~0.098) แสดงดังภาพที่ 4.11b’ ซึ่งมีขนาดใกล้เคียงกับที่ใช้เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์

ในการตรวจสอบว่าอนุภาคพอลิเมอร์ที่ได้เป็นโคพอลิเมอร์หรือคอมโพสิทพอลิเมอร์ TGA จะถูกใช้ในการตรวจสอบการสลายตัวของพอลิเมอร์ ซึ่งคาดว่าการสลายตัวจะเกิดหนึ่งขั้นและสองขั้นสำหรับโคพอลิเมอร์และคอมโพสิทพอลิเมอร์ ตามลำดับ จากภาพที่ 4.12 พบว่ามีการสลายตัวเป็นสองขั้น (70-160 และ 320-480 องศาเซลเซียส) (ภาพที่ 4.12a) เมื่อทำการตรวจวัดของผสมระหว่างไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด กับพอลิเมทาคริลิค แอซิด ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับที่พบในอนุภาคพอลิเมอร์ที่ใช้ วี-501 เป็นตัวเริ่มปฏิกิริยาที่มีการสลายตัวของขั้นที่หนึ่งและสองที่ 80-170 และ 300-480 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (ภาพที่ 4.12b) แสดงให้เห็นว่าอนุภาคพอลิเมอร์ที่ได้จากการใช้ วี-501 คือของผสมระหว่างไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดและพอลิเมทาคริลิค แอซิด โดยในระหว่างการสังเคราะห์เมทาคริลิค แอซิด และไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดละลายในวัฏภาคต่อเนื่อง อาจจะแพร่เข้าไปในอนุภาคพอลิเมทาคริลิค แอซิดที่เกิดการประกอบตัวเองเนื่องจากพอลิแอลแลคติก แอซิดมีค่าพารามิเตอร์การละลายของฮิลเดอแบรนด์ (Hildebrand solubility parameter; δ) ประมาณ 21.3 $MPa^{1/2}$ [89] ซึ่งใกล้เคียงกับเมทาคริลิค แอซิด (22.9 $MPa^{1/2}$) [90] พอลิแอลแลคติก แอซิดจึงแพร่เข้าไปในอนุภาคพอลิเมทาคริลิค แอซิดที่บวมด้วยเมทาคริลิค แอซิดมอนอเมอร์ได้ง่ายและอยู่ในนั้นจนสิ้นสุดการสังเคราะห์ทำให้เกิดคอมโพสิทพอลิเมอร์ของ ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด/พอลิเมทาคริลิค แอซิด ในทางกลับกัน กรณีของอนุภาคพอลิเมอร์ที่ใช้เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ การสลายตัวจะมีเพียงขั้นตอนเดียว (100-500 องศาเซลเซียส) ไม่พบขั้นการสลายตัวของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด (ภาพที่ 4.12c) จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าโครงสร้างของเรดิคอลที่ต่างกัน (ได้จากตัวริเริ่มปฏิกิริยาต่างชนิดกัน) มีผลต่อโครงสร้างของอนุภาคพอลิเมอร์ที่เตรียมได้ การใช้ตัวริเริ่มปฏิกิริยาชนิดเปอร์ออกไซด์ที่ให้ RO• จะจับอะตอมไฮโดรเจนได้ดีทำให้เกิดการกราฟพอลิเมอร์ลงบนสายโซ่ของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดได้



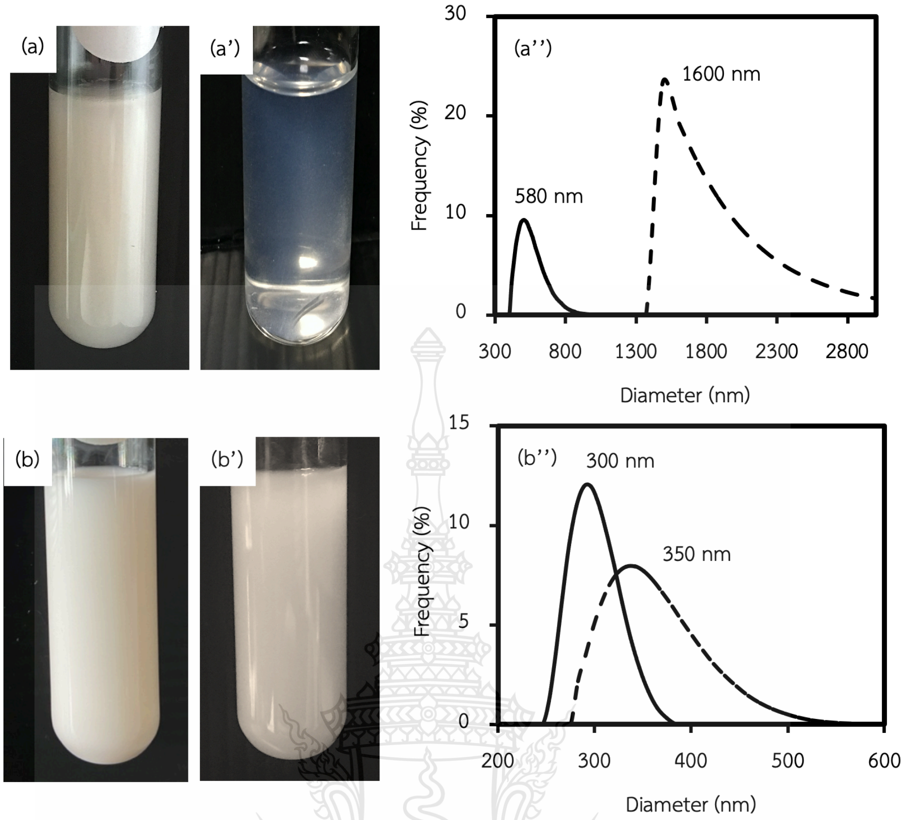
ภาพที่ 4.12 TGA เทอร์โมแกรมของคอมโพสิทระหว่างผงไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดกับอนุภาคเมทาคริลิก แอซิด (a) อนุภาคของพอลิแอลแลคติก แอซิดที่เตรียมได้จากการใช้ วี-501 (b) และ เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ (c) เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยา

นอกจากนี้อนุภาคพอลิเมอร์ที่เตรียมได้ยังทดสอบคุณสมบัติด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR เพื่อศึกษาโครงสร้างทางเคมี โดยจะทำการเปรียบเทียบกับไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดและเมทาคริลิก แอซิดมอนอเมอร์ แสดงดังภาพที่ 4.13 พบโปรตอนของหมู่มีไทน์ (methine) และหมู่เมทิล (methyl) ที่ตำแหน่ง 5.2 และ 1.6 ppm ตามลำดับ ทั้งในสเปกตร้าของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด (ภาพที่ 4.13a) และอนุภาคของพอลิแอลแลคติก แอซิดกราฟพอลิเมทาคริลิค แอซิด (ภาพที่ 4.13c) และพบโปรตอนของ CH_3 (หมายเลข 2) และ CH_2 (หมายเลข 1; พันธะคู่) ที่ตำแหน่ง 1.9 – 6.1 ppm ทั้งในสเปกตร้าของเมทาคริลิก แอซิดมอนอเมอร์ (ภาพที่ 4.13b) และอนุภาคของพอลิแอลแลคติก แอซิดกราฟพอลิเมทาคริลิค แอซิด (ภาพที่ 4.13c) อีกทั้งยังพบว่าความเข้มของพีคเหล่านี้ลดลงเมื่ออยู่ในสเปกตร้าของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดกราฟพอลิเมทาคริลิค แอซิดบ่งชี้ว่าร้อยละของการเปลี่ยนมอนอเมอร์เป็นพอลิเมอร์มีค่าสูงมาก (~100%) นอกจากนี้ยังพบว่าในสเปกตร้าของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดกราฟพอลิเมทาคริลิค แอซิด เกิดพีคใหม่ของโปรตอนเมทิล (หมายเลข 2’ ซ้อนทับกับพีคโปรตอนเมทิลของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด) และมีไทน์ (หมายเลข 1’) ของสายโซ่พอลิเมทาคริลิก แอซิดที่ตำแหน่ง 1.6 และ 2.2 ppm ตามลำดับ โดยการเคลื่อนตำแหน่งของพีคโปรตอนเหล่านี้เกิดจากการกราฟของพอลิเมทาคริลิค แอซิดบนสายโซ่ของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด [77, 91]



ภาพที่ 4.13 ^{1}H NMR สเปกตรัมของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด (a), เมทาคริลิก แอซิด มอนอเมอร์ (b) และ อนุภาคของพอลิแอลแลคติก แอซิดกราฟพอลิเมทาคริลิค แอซิด (c)

แม้ว่าอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดกราฟพอลิเมทาคริลิค แอซิดจะสามารถเตรียมได้ แต่อนุภาคที่ได้มีขนาดค่อนข้างใหญ่ (580 นาโนเมตร) เนื่องจากดูดซับอะซิโตไนไตรล์ในระหว่างการประกอบตัวเอง นอกจากนี้อนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดกราฟพอลิเมทาคริลิค แอซิดยังมีความทนทานต่อสารเคมีต่ำ ดังแสดงในภาพที่ 4.14 ก่อนการเติมเตตระไฮโดรฟูแรนอนุภาคจะอยู่ในรูปอิมัลชันน้ำนม (ภาพที่ 4.14a) แต่หลังจากการเติมเตตระไฮโดรฟูแรนอิมัลชันน้ำนมจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นน้ำนมใสๆ หลังจาก 25 นาที (ภาพที่ 4.14a') ผลการทดลองสอดคล้องกับการตรวจวัดขนาดของอนุภาคด้วย DLS (ภาพที่ 4.14a'') อนุภาคขนาด 580 นาโนเมตรของพอลิแอลแลคติก แอซิดกราฟพอลิเมทาคริลิค แอซิดจะค่อยๆเพิ่มขึ้นหลังจากเติมเตตระไฮโดรฟูแรนเป็น 1,600 นาโนเมตรและไม่สามารถตรวจวัดได้หลังจาก 25 นาที แสดงให้เห็นว่าอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิดกราฟพอลิเมทาคริลิค แอซิดไม่สามารถคงความเสถียรเมื่อมีเตตระไฮโดรฟูแรน ดังนั้นอนุภาคพอลิเมอร์เชื่อมร่างแหจึงน่าจะเหมาะในการประยุกต์ใช้ในงานต่างๆ นอกจากนี้การเกิดการเชื่อมร่างแหจะเหนี่ยวนำให้เกิดการประกอบตัวเองได้เร็วขึ้น เอทิลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลต จึงถูกใช้เป็นสารเชื่อมร่างแหในการเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์ อิมัลชันน้ำนมของอนุภาค GPLLA-g-P(MAA-EGDMA) ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงหลังจากเติมเตตระไฮโดรฟูแรน (ภาพที่ 4.14b และ b') หลังจากการสังเคราะห์ขนาดอนุภาคประมาณ 300 นาโนเมตร และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 350 นาโนเมตร เมื่อเติมเตตระไฮโดรฟูแรน (ภาพที่ 4.14b'') แสดงว่าอนุภาคพอลิเมอร์เชื่อมร่างแหมีความเสถียรต่อสารอินทรีย์สูง



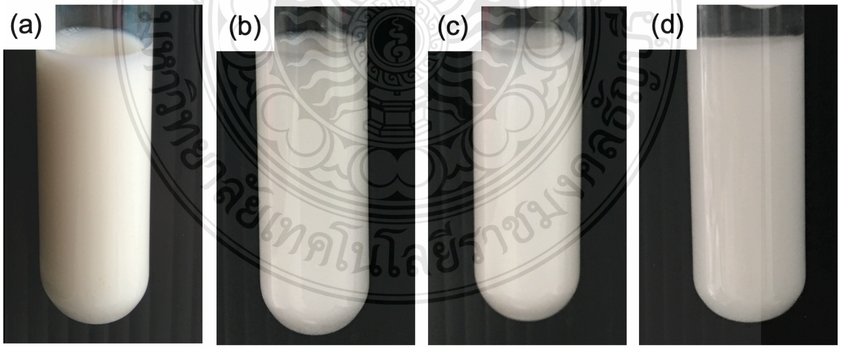
ภาพที่ 4.14 ภาพอิมัลชันและกราฟแสดงการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่ไม่มีตัวเชื่อมร่างแห (a a’ และ a’’) และอนุภาคที่มีตัวเชื่อมร่างแห (b b’ และ b’’) ก่อน (a และ b) และหลัง (a’ และ b’) เติมเตตระไฮโดรฟูแรน (<u>เส้นทึบ</u> คือก่อนเติม และ <u>เส้นประ</u> คือหลังเติมเตตระไฮโดรฟูแรน)

4.3 การเตรียมแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิดกักเก็บไลนาโลออล ด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

ไลนาโลออลเป็นสารกลุ่มมอนอเทอพีน ที่มีกลิ่นคล้ายน้ำมันมะกรูด หรือลาเวนเดอร์ฝรั่งเศส มีการนำมาใช้งานในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดเนื่องจากมีกลิ่นหอม อีกทั้งยังพบว่าไลนาโลออลมีความสามารถในการต้านเชื้อบางชนิดได้อีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามไลนาโลออลมีความสามารถในการละลายน้ำได้น้อย ระเหยไว มีความเสถียรต่ำ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทดลองนำไลนาโลออลมาเป็นสารต้นแบบ เพื่อศึกษาการเตรียมแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิดสำหรับกักเก็บไลนาโลออล

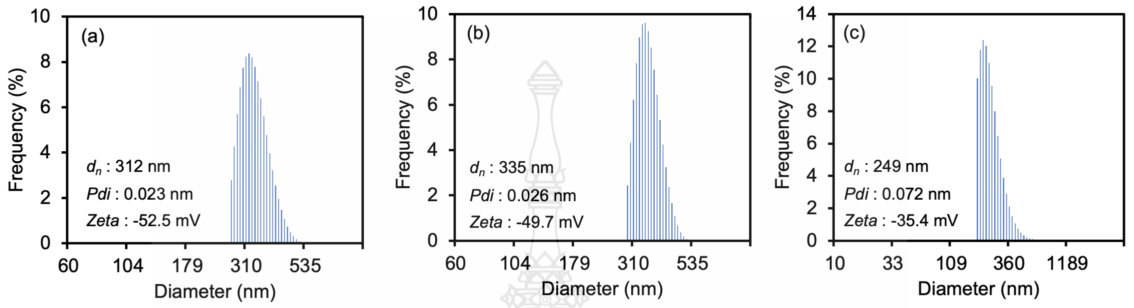
4.3.1 การเตรียมแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิดกักเก็บไลนาโลออล โดยศึกษาปริมาณมอนอเมอร์เชื่อมร่างแห และโคมอเนอร์ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บไลนาโลออล

ในกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน สายโซ่พอลิเมอร์จะประกอบตัวเองเป็นอนุภาคและตกตะกอนแยกออกจากวัฏภาคต่อเนื่อง ซึ่งในขณะที่สายโซ่พอลิเมอร์ในวัฏภาคต่อเนื่องกำลังประกอบตัวเองนั้น ไลนาโลออลที่ละลายอยู่กับพอลิเมอร์ดังกล่าวจะแพร่ (swell) เข้าไปอยู่ในอนุภาคที่เกิดขึ้น เกิดเป็นแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิดกักเก็บไลนาโลออลไว้ภายใน ซึ่งจากผลการศึกษาการเพิ่มปริมาณเอทิลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลตซึ่งเป็นมอนอเมอร์เชื่อมร่างแห ในขณะที่ลดปริมาณเมทาคริลิก แอซิดซึ่งเป็นโคมอนอเมอร์ลง และให้ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดมีปริมาณคงที่ร้อยละ 50 ของปริมาณมอนอเมอร์ทั้งหมด ดังสภาวะในตารางที่ 3.4 ผลพบว่าทุกสภาวะหลังสังเคราะห์เกิดเป็นอิมัลชันลักษณะสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนม ดังภาพที่ 4.15(a-d)



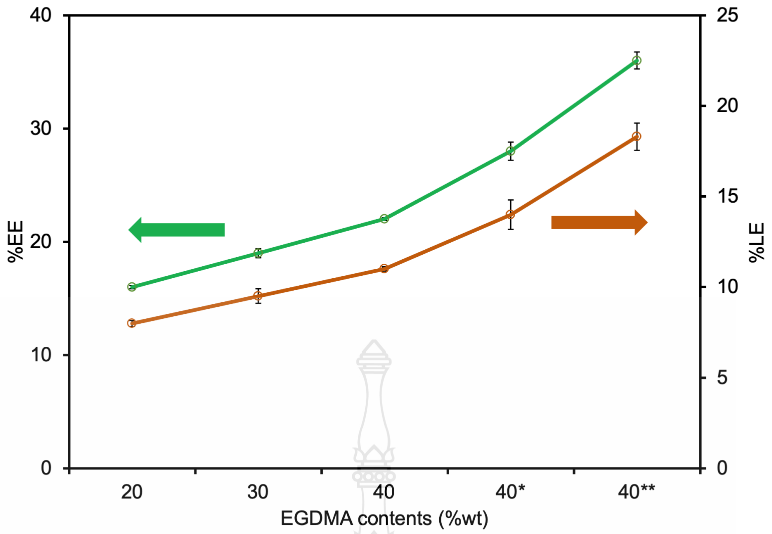
ภาพที่ 4.15 ภาพอิมัลชันของแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิด ที่มีปริมาณมอนอเมอร์เชื่อมร่างแหและโคมอนอเมอร์ที่แตกต่างกัน โดยอัตราส่วนระหว่าง GPLLA : MAA : EGDMA ดังนี้ 50:30:20 (a), 50:20:30 (b), 50:10:40 (c) และ 50:5:45 (d) ร้อยละโดยน้ำหนัก

ที่ปริมาณมอนอเมอร์เชื่อมร่างแหสูงถึงร้อยละ 40 อนุภาคพอลิเมอร์มีความเสถียรทางคอลลอยด์ และมีศักย์ซีต้ามากกว่า -35 มิลลิโวลต์ และสำหรับทุกสภาวะพบว่าอนุภาคที่ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยอยู่ที่ 300 นาโนเมตร มีค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่ค่อนข้างแคบ (pdi ต่ำกว่า 0.075) ดังภาพที่ 4.16(a-c)



ภาพที่ 4.16 กราฟแสดงการกระจายตัวของขนาดอนุภาคแคปซูล โดยอัตราส่วนระหว่าง GPLLA : MAA : EGDMA ดังนี้ 50:30:20 (a), 50:20:30 (b) และ 50:10:40 (c) ร้อยละโดยน้ำหนัก

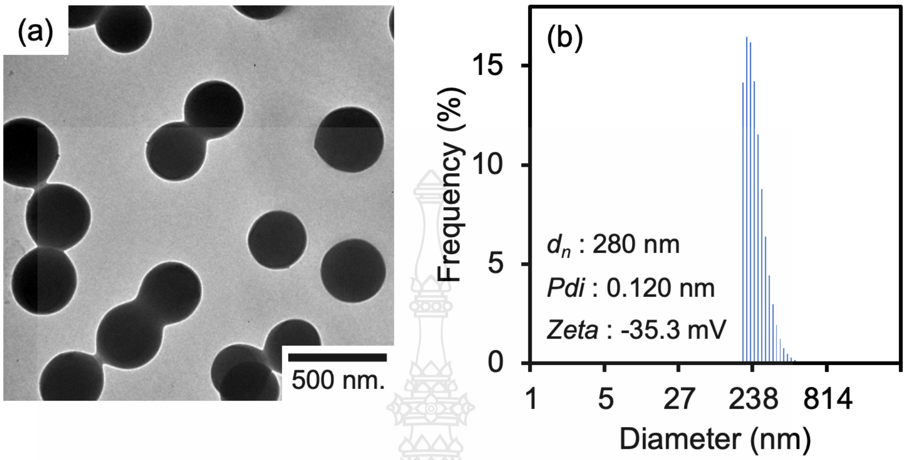
ในขณะที่เมื่อมอนอเมอร์เชื่อมร่างแหสูงถึงร้อยละ 45 พบว่าอนุภาคที่ได้ไม่มีความเสถียร อนุภาคจึงเกิดการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน เนื่องจากปริมาณของหมู่คาร์บอกซิลจากเมทาคริลิกแอซิดที่ต่ำเกินไป ส่งผลให้ประจุที่ผิวของอนุภาคมีค่าค่อนข้างต่ำ ในขณะที่ปริมาณมอนอเมอร์เชื่อมร่างแหสูงขึ้น ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บไลนาโลออลมีค่าสูงขึ้น ดังภาพที่ 4.17 จากร้อยละ 8-11 และ 16-22 สำหรับร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บไลนาโลออล ตามลำดับ โดยใช้มอนอเมอร์เชื่อมร่างแหร้อยละ 20-40 เนื่องจากเมื่อความหนาแน่นของร่างแหสูงขึ้นส่งผลให้เกิดช่องวางภายในอนุภาคสูงขึ้นตามไปด้วย จากผลการทดลองพบว่าที่ปริมาณมอนอเมอร์เชื่อมร่างแหร้อยละ 40 ได้อนุภาคที่มีความเสถียรและมีประสิทธิภาพการกักเก็บสูงกว่าสภาวะอื่นๆ ดังนั้นจึงได้เลือกสภาวะนี้ไปศึกษาต่อเพื่อหาแนวทางการเพิ่มร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บไลนาโลออลให้สูงขึ้น



ภาพที่ 4.17 ประสิทธิภาพการกักเก็บไลนาโลออลในแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิด ที่ปริมาณ EGDMA ต่างๆกัน (* และ ** ความเข้มข้นของเอทิลอะซิเตตร้อยละ 10 และ 20 ตามลำดับ)

เนื่องจากอนุภาคแคปซูลที่สังเคราะห์ได้ที่ปริมาณมอนอเมอร์เชื่อมร่างแหร้อยละ 40 มีความเสถียรที่ดี แต่มีประสิทธิภาพการกักเก็บไลนาโลออลที่ค่อนข้างต่ำ ดังนั้นจึงต้องใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตมาผสมร่วมกับอะซิโตไนไตรล์เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการกักเก็บไลนาโลออล ในระบบการสังเคราะห์แบบตกตะกอน เอทิลอะซิเตตมีค่าพารามิเตอร์การละลายอยู่ที่ 18.2 $MPa^{1/2}$ [90] ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ดีของไลนาโลออล ซึ่งมีค่าพารามิเตอร์การละลายอยู่ที่ 19.7 $MPa^{1/2}$ [92] นอกจากนี้ยังมีค่าใกล้เคียงกับพารามิเตอร์การละลายของพอลิแอลแลคติก แอซิด แต่มีค่าแตกต่างจากตัวทำละลายอะซิโตไนไตรล์ (24.3 $MPa^{1/2}$) ดังนั้นจึงได้เลือกเอทิลอะซิเตตมาเป็นตัวทำละลายผสมร่วมกับอะซิโตไนไตรล์ในกระบวนการสังเคราะห์เพื่อเป็นตัวนำไลนาโลออลเข้าไปอยู่ในอนุภาคพอลิเมอร์ระหว่างที่เกิดการประกอบตัวเองของสายโซ่พอลิเมอร์ โดยได้มีการนำเอทิลอะซิเตตผสมกับอะซิโตไนไตรล์ที่ร้อยละ 10 และร้อยละ 20 ของวัฏภาคต่อเนื่อง ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บไลนาโลออลมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเป็นร้อยละ 28 และ 36 ที่ปริมาณของเอทิลอะซิเตตร้อยละ 10 และ 20 ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.17 จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า เอทิลอะซิเตตช่วยเพิ่มการแพร่ของไลนาโลออลเข้าไปในอนุภาคได้มากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเมื่อได้ทำการทดลองเพิ่มเอทิลอะซิเตตให้สูงกว่าร้อยละ 20 ก็พบว่าอนุภาคไม่มีความเสถียรและเกิดการรวมตัวกัน ดังนั้นวัฏภาคต่อเนื่องที่ใช้เอทิลอะซิเตตที่ร้อยละ 20 ผสมกับอะซิโตไนไตรล์จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคแคปซูลกักเก็บไลนาโลออลเพื่อให้ได้อนุภาคที่มีความเสถียรและมีประสิทธิภาพในการกักเก็บไลนาโลออลสูงที่สุด พบว่าแคปซูลที่ได้

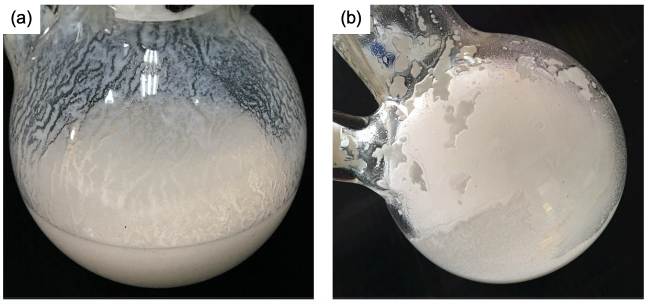
มีลักษณะเป็นทรงกลม ผิวเรียบ ดังภาพที่ 4.18a ขนาดอนุภาคเฉลี่ยที่ 280 นาโนเมตร และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่ค่อนข้างแคบ ดังภาพที่ 4.18b



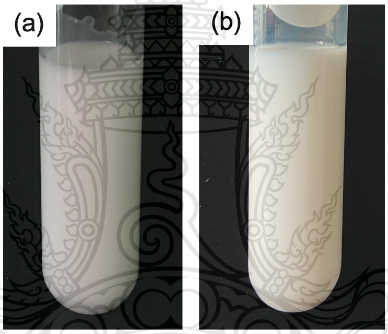
ภาพที่ 4.18 TEM ไมโครกราฟ (a) และกราฟแสดงการกระจายตัว (b) ของขนาดอนุภาคแคปซูลกักเก็บไลนาโลออลที่สังเคราะห์ในตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลอะซิเตตกับอะซิโตไนไตรล์ที่อัตราส่วน 2:8 ร้อยละโดยน้ำหนัก

4.3.2 การปรับปรุงประสิทธิภาพการกักเก็บไลนาโลออล โดยการเพิ่มสารที่มีอัตราส่วนระหว่างส่วนที่ชอบน้ำกับส่วนที่ชอบน้ำมันต่ำ (Low HLB value)

เพื่อเป็นการปรับปรุงประสิทธิภาพในการกักเก็บไลนาโลออลให้เพิ่มขึ้นอีก จึงได้มีการทดลองเพิ่มสารที่มีอัตราส่วนระหว่างส่วนที่ชอบน้ำกับส่วนที่ชอบน้ำมันต่ำ คือ ไลโนเลอิกแอซิด และโอเลอิกแอซิด ในระบบการสังเคราะห์ที่ใช้วัฏภาคต่อเนื่องเป็นเอทิลอะซิเตต ผสมกับอะซิโตไนไตรล์ โดยปริมาณที่ใช้คือร้อยละ 10 โดยน้ำหนักของไลนาโลออล ซึ่งพบว่าหลังสังเคราะห์ตัวทำละลายได้แพร่เข้าไปในอนุภาคจนอนุภาคบวมและรวมตัวกันเป็นก้อนเจลดังภาพที่ 4.19 ดังนั้นจึงได้ทดลองลดปริมาณลงเป็นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักของไลนาโลออล พบว่าหลังสังเคราะห์ได้อิมัลชันเป็นสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนม ดังภาพที่ 4.20 แต่เมื่อนำไปวัดขนาดของอนุภาคพบว่า อนุภาคมีการเกาะกลุ่มกันจนมีขนาดใหญ่ขึ้นถึง 40 เท่าของขนาดอนุภาคดั้งเดิม อีกทั้งยังมีค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่กว้างมาก (Pdi~0.309 และ 0.248 สำหรับ ไลโนเลอิกแอซิด และโอเลอิกแอซิด ตามลำดับ) ดังตารางที่ 4.2 ทั้งไลโนเลอิกแอซิดและโอเลอิกแอซิดที่เติมลงไป อาจจะเคลื่อนที่ไปที่รอยต่อระหว่างผิว รบกวนพอลิเมทาคริลิก แอซิด รวมทั้งลดประสิทธิภาพการแตกตัวของหมู่คาร์บอกซิลของเมทาคริลิก แอซิด ทำให้ความเสถียรของอนุภาคพอลิเมอร์ลดลง



ภาพที่ 4.19 ภาพของอนุภาคพอลิแอลแลคติก แอซิด หลังสังเคราะห์โดยใช้ไลโนเลอิกแอซิด (a) และโอเลอิกแอซิด (b) ในระบบการสังเคราะห์ที่ใช้วัฏภาคต่อเนื่องเป็นเอทิลอะซิเตตผสมกับอะซิโตไนไตรล์



ภาพที่ 4.20 ภาพอิมัลชันของแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิด ที่มีการเติมไลโนเลอิกแอซิด (a) และโอเลอิกแอซิด (b) ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักของไลนาโลออล

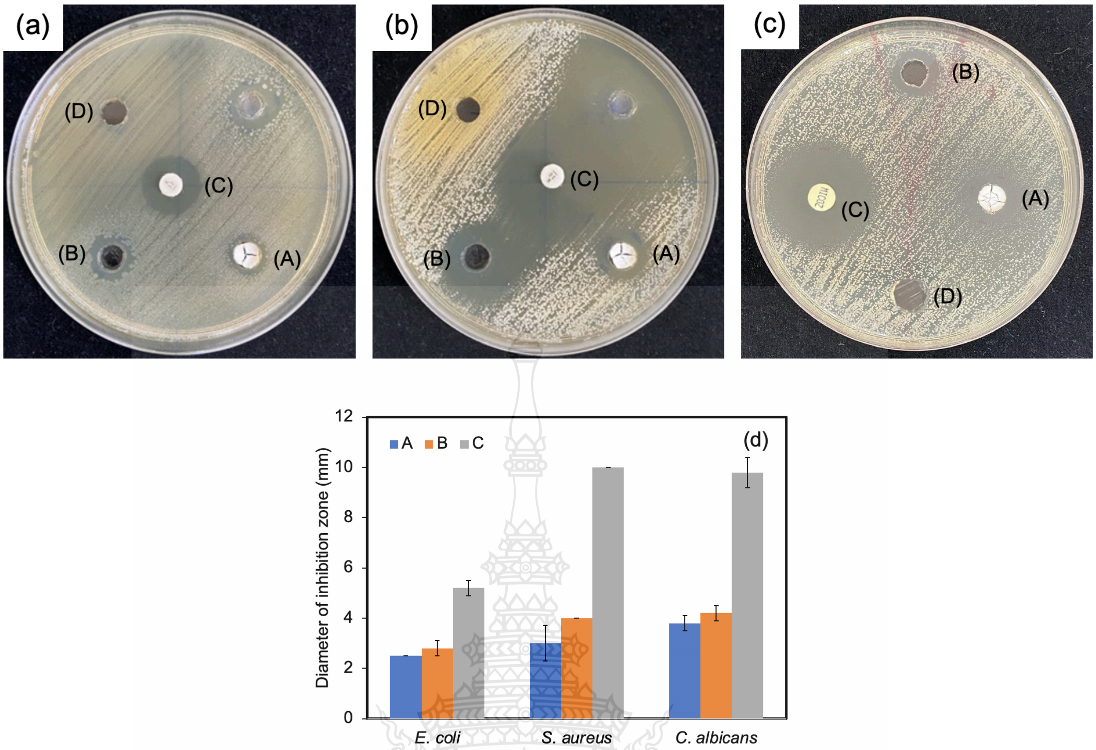
ตารางที่ 4.2 แสดงร้อยละการเปลี่ยนมอนอเมอร์เป็นพอลิเมอร์ ขนาดอนุภาคเฉลี่ย ของอนุภาคที่สังเคราะห์โดยมีการเติม Low HLB value ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักของไลนาโลออล

Low HLB value	Conversion (%wt)	d_v (nm)	d_n (nm)	pdi
ไลโนเลอิกแอซิด	97 ± 0.2	14143 ± 2675	13147 ± 1947	0.309
โอเลอิกแอซิด	95 ± 0.7	11741 ± 1414	11284 ± 1323	0.248

4.4 การศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อและความเป็นพิษของแคปซูล

4.4.1 การทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อของแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิดกักเก็บไลนาโลออลด้วยวิธี agar well diffusion

เนื่องจากไลนาโลออลมีความสามารถในการต้านเชื้อ [93, 94] ดังนั้นจึงได้มีการนำพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออลที่เตรียมได้มาทำการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อด้วยวิธี agar well diffusion โดยก่อนทดสอบได้เตรียมตัวอย่างแคปซูลละลายใน DMSO ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า เกิดบริเวณเคลียร์โซนในจานเลี้ยงเชื้อรอบตำแหน่งของแคปซูลกักเก็บไลนาโลออล (ตำแหน่ง A) บ่งชี้ว่าแบคทีเรีย (*E. coli*; ภาพที่ 4.21a และ *S. aureus;* ภาพที่ 4.21b) และเชื้อรา (ภาพที่ 4.21c) ไม่สามารถเติบโตได้ เทียบกับไลนาโลออลดั้งเดิม (ตำแหน่ง B) โดยใช้ Kanamycinและ Miconazole เป็นตัวควบคุมที่ให้ผลบวก (ตำแหน่ง C) และ DMSO ตัวควบคุมที่ให้ผลลบ (ตำแหน่ง D) ดังภาพที่ 4.21 เมื่อทำการวัดขนาดโซนในการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) สำหรับแคปซูลกักเก็บไลนาโลออลและไลนาโลออลดั้งเดิม ผลเป็นดังภาพที่ 4.21d พบว่าโซนในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *C. albicans* ของแคปซูลกักเก็บไลนาโลออล คือ 2.5, 3.0 และ 3.8 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับโซนในการยับยั้งเชื้อของไลนาโลออลดั้งเดิม คือ 2.8, 4.0 และ 4.2 มิลลิเมตร สำหรับ *E. coli*, *S. aureus* และ *C. albicans* ตามลำดับ จากผลดังกล่าวบ่งชี้ได้ว่าเปลือกพอลิเมอร์ไม่รบกวนคุณสมบัติต้านเชื้อจุลชีพของไลนาโลออลที่ถูกกักเก็บไว้ภายใน ในขณะที่ไลนาโลออลที่อยู่ภายในก็สามารถแพร่กระจายผ่านเปลือกพอลิเมอร์ออกไปต้านการเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ง่าย

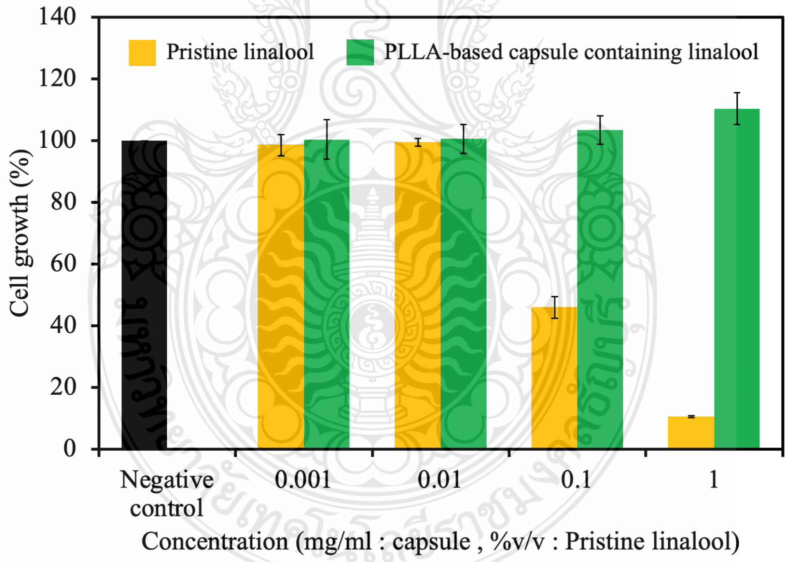


ภาพที่ 4.21 ภาพโซนการยับยั้งเชื้อ *E. coli* (a), *S. aureus* (b) และ *C. albicans* (c) และ ขนาดโซนในการยับยั้งเชื้อ (d) ของแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิดกักเก็บไลนาโลออล (A), ไลนาโลออลดั้งเดิม (B), ตัวควบคุมที่ให้ผลเป็นบวก (C) และตัวควบคุมที่ให้ผลเป็นลบ (D)

4.4.2 การทดสอบความเป็นพิษของแคปซูลกักเก็บไลนาโนออลโดยใช้วิธี MTT assay

เนื่องจากไลนาโลออลสามารถต้านเชื้อได้ดี และเปลือกแคปซูลเป็นพอลิแอลแลคติกแอซิดที่มีพอลิเมทาคริลิก แอซิด และ พอลิเอทิลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลต เป็นส่วนประกอบซึ่งอาจมีความเป็นพิษต่อเซลล์ได้ ดังนั้นจึงต้องมีการทดสอบความเป็นพิษของแคปซูลกักเก็บไลนาโลออลโดยทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ด้วยวิธี MTT assay และทดสอบที่ความเข้มข้นสูงสุดถึง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นเดียวกับที่ใช้ทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อจุลชีพ เปรียบเทียบกับไลนาโลออลดั้งเดิม โดยผลการทดสอบ 24 ชั่วโมงแรก แสดงดังภาพที่ 4.22 สำหรับไลนาโลออลดั้งเดิมที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.001 และ 0.01 โดยปริมาตร พบว่าความมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ไม่ได้แตกต่างจากไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ซึ่งเป็นตัวควบคุมที่ให้ผลเป็นลบ (~ร้อยละ 100) แต่เมื่อความเข้มข้นของไลนาโลออลดั้งเดิมเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 0.1 และ 1.0 โดยปริมาตร พบว่าความมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเป็น ร้อยละ 45 และ 10

ตามลำดับ จากผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าไลนาโลออลดั้งเดิมที่มีความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 0.01 โดยปริมาตร มีความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ค่อนข้างสูง ในทางตรงกันข้ามเมื่ออยู่ในรูปของแคปซูลกักเก็บไลนาโลออล พบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ทั้งที่ความเข้มข้นต่ำ (0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และแม้ความเข้มข้นในระดับที่แคปซูลสามารถต้านเชื้อจุลชีพได้ที่สูงถึง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งที่เวลา 24 ชั่วโมง ดังภาพที่ 4.22 และที่เวลา 48 ชั่วโมง โดยแสดงความมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์มากกว่าร้อยละ 100 ดังตารางที่ 4.3 อีกทั้งยังพบว่าแคปซูลกักเก็บไลนาโลออลอาจช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ได้อีกด้วย เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของแคปซูลกักเก็บไลนาโลออลเพิ่มขึ้น ความมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ก็มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (มากกว่าร้อยละ 100) ดังนั้นจากผลการทดลองข้างต้นสามารถบอกได้ว่าเปลือกของแคปซูลที่เป็นพอลิแอลแลคติก แอซิดเป็นหลักและมีพอลิเมทาคริลิก แอซิดและเอทิลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลตเป็นองค์ประกอบไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ อีกทั้งยังเป็นการยืนยันได้เป็นอย่างดีว่าไลนาโลออลถูกกักเก็บไว้ภายในแคปซูล และเปลือกของแคปซูลช่วยป้องกันไม่ให้ไลนาโลออลสัมผัสโดยตรงกับเซลล์ผิวหนังของมนุษย์



ภาพที่ 4.22 กราฟแสดงความมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ เมื่อทดสอบด้วยไลนาโลออลดั้งเดิมและแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิดกักเก็บไลนาโลออล ที่เวลาทดสอบ 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.3 แสดงร้อยละการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์เมื่อทดสอบด้วยไลนาโลออลดั้งเดิม และแคปซูลกักเก็บไลนาโลออล ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

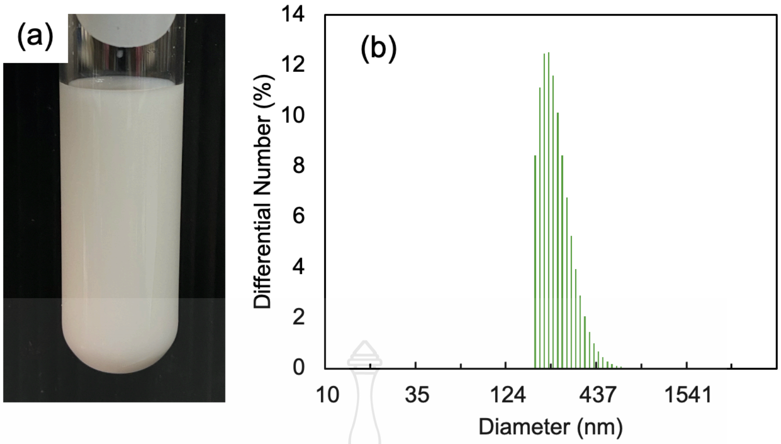
ตัวอย่าง		ร้อยละการเจริญของเซลล์ผิวหนังมนุษย์	
		24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
ไลนาโลออลดั้งเดิม	0.001% (v/v)	98.54 ± 3.37	ND.
	0.01% (v/v)	99.46 ± 1.25	
	0.1% (v/v)	45.96 ± 3.54*	
	1% (v/v)	10.46 ± 0.36*	
แคปซูลกักเก็บไลนาโลออล	0.001 mg/ml	100.38 ± 6.45	101.39 ± 2.96
	0.01 mg/ml	100.57 ± 4.62	104.93 ± 4.09
	0.1 mg/ml	103.43 ± 4.60	107.39 ± 3.65#
	1 mg/ml	110.41 ± 5.20#	125.08 ± 5.85#
กลุ่มควบคุม		100.00 ± 0.00	

* คือ สารทดสอบที่มีร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังน้อยกว่า 80 % เมื่อเทียบกลุ่มควบคุม

คือ สารทดสอบที่มีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ($p<0.05$)

ND คือ ไม่ได้ทดสอบ

นอกจากนี้ยังได้ทดลองนำวิธีการเตรียมแคปซูลกักเก็บไลนาโลออลด้วยวิธีสังเคราะห์แบบตกตะกอน ไปทดลองเตรียมแคปซูลกักเก็บสารหอมตัวอื่นๆ โดยได้ทดลองเตรียมเป็นแคปซูลกักเก็บน้ำหอมกลิ่นมังคุด (เกรดการค้า) ซึ่งหลังสังเคราะห์พบว่าเกิดอิมัลชันที่มีสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนมดังภาพที่ 4.23a มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 300 นาโนเมตร และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่ค่อนข้างแคบ ดังภาพที่ 4.23b โดยแคปซูลกักเก็บสารหอมที่เตรียมได้มีร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพในการกักเก็บสารหอมที่ประมาณร้อยละ 20 และ 41 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.4 จากการทดลองดังกล่าวสามารถบอกได้ว่า วิธีการเตรียมแคปซูลพอลิแอลแลคติก แอซิด สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับสารตัวอื่นๆได้ ซึ่งเป็นวิธีการเตรียมที่ง่ายอีกทั้งยังได้อนุภาคที่มีขนาดใกล้เคียงกันอีกด้วย



ภาพที่ 4.23 ภาพอิมัลชัน (a) และกราฟแสดงการกระจายตัว (b) ของแคปซูลกักเก็บสารหอมกลิ่นมังคุด (เกรดการค้า) ที่เตรียมได้จากการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

ตารางที่ 4.4 แสดงขนาดอนุภาคเฉลี่ย ร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บสารหอมกลิ่นมังคุด (เกรดการค้า) ของอนุภาคแคปซูลกักเก็บกลิ่นมังคุดที่เตรียมได้จากการสังเคราะห์แบบตกตะกอน

d_v (nm)	d_n (nm)	*Pdi*	Loading (wt%)		%EE (wt%)
			Theoretical	Experiment	
308 ± 102	247 ± 60	0.131	50	20.92 ± 1.10	41

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ และพอลิเมอร์แคปซูลกักเก็บไลนาโลออลจากพอลิเมอร์ฐานชีวภาพที่มีความเสถียรและมีขนาดของอนุภาคที่ใกล้เคียงกันด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบตกตะกอน โดยใช้พอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ในธรรมชาติ คือ พอลิแอลแลคติก แอซิด สังเคราะห์ร่วมกับมอนอเมอร์เมทาคริลิค แอซิด และมอนอเมอร์เอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริเลต เพื่อได้แคปซูลที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม สามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติ

เริ่มต้นโดยการลดมวลโมเลกุลของพอลิแอลแลคติก แอซิดเกรดการค้า ด้วยกระบวนการไกลโคไลซิสพบว่าที่เวลาในการทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นจะได้ไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด ที่มีมวลโมเลกุลลดลง (17,000 10,000 และ 4,000 กรัมต่อโมล) และยังมีค่าการกระจายตัวของมวลโมเลกุลที่ไม่กว้างมากนัก เมื่อนำไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดที่มวลโมเลกุลสูง (17,000 กรัมต่อโมล) ไปโคพอลิเมอไรเซชันร่วมกับมอนอเมอร์เมทาคริลิก แอซิด และเอทิลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลต ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ฟังชันนัลและเชื่อมร่างแห ตามลำดับ โดยใช้อะซิโตไนไตรล์เป็นตัวทำละลายหรือวัฏภาคต่อเนื่อง โดยอนุภาคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพที่สังเคราะห์ได้มีขนาดประมาณ 300 นาโนเมตร และมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่ค่อนข้างแคบ (Pdi ~ 0.017) อนุภาคพอลิเมอร์ที่เตรียมได้จะมีความเสถียรทางคอลลอยด์ด้วยแรงผลักระหว่างประจุที่มาจากหมู่คาร์บอกซิลของเมทาคริลิค แอซิด เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ถูกใช้เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยา โดยจะแตกตัวให้อนุมูลอิสระในรูปของเรดิคอล (RO●) สามารถที่จะจับอะตอมไฮโดรเจนได้ดี ทำให้สายโซ่ของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิดเกิดอนุมูลอิสระ จากนั้นมอนอเมอร์อื่นๆ จะมาต่อสายโซ่พอลิเมอร์บนสายโซ่ของไกลโคไลซ์พอลิแอลแลคติก แอซิด เนื่องจากวิธีการข้างต้นเป็นวิธีที่ง่ายในการเตรียมอนุภาคให้ได้ขนาดที่ใกล้เคียงกัน จึงได้ใช้วิธีการเดียวกันนี้ในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลฐานชีวภาพกักเก็บไลนาโลออล โดยสัดส่วนของมอนอเมอร์เมทาคริลิค แอซิด และเอทิลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลตที่เหมาะสมคือ 0.1 และ 0.4 ตามลำดับ และมีการใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต ที่มีค่าพารามิเตอร์การละลายใกล้เคียงกับพอลิเมอร์และไลนาโลออลมาเป็นตัวทำละลายผสมร่วมกับอะซิโตไนไตรล์ที่อัตราส่วน 2:8 พบว่าร้อยละการบรรจุและประสิทธิภาพการกักเก็บไลนาโลออลเพิ่มสูงขึ้นเป็นร้อยละ 18 และ 36 ตามลำดับ เมื่อนำแคปซูลที่ได้ไปทดสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลชีพ พบว่าแคปซูลกักเก็บไลนาโนออลที่เตรียมได้ยังคงมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับไลนาโลออลดั้งเดิม โดยได้ทำการทดสอบกับเชื้อสามชนิดคือ *E. coli*, *S. aureus* และ

C. albicans แต่เมื่อนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังมนุษย์พบว่า นอกจากแคปซูลจะไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์แล้ว ยังอาจมีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ได้อีกด้วย

กระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์แคปซูลฐานชีวภาพด้วยวิธีการตกตะกอนเป็นวิธีที่ง่าย อีกทั้งแคปซูลที่เตรียมได้ยังมีขนาดอนุภาคใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ยังสามารถใช้เตรียมเป็นแคปซูลกักเก็บสารตัวอื่นได้อีกด้วย

บรรณานุกรม

[1] R. C. Beier *et al.*, "Evaluation of linalool, a natural antimicrobial and insecticidal essential oil from basil: Effects on poultry1," *Poultry Science,* vol. 93, no. 2, pp. 267-272, 2014/02/01/ 2014, doi: https://doi.org/10.3382/ps.2013-03254.

[2] I. Pereira, P. Severino, A. C. Santos, A. M. Silva, and E. B. Souto, "Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems," (in eng), *Colloids Surf B Biointerfaces,* vol. 171, pp. 566-578, Nov 1 2018, doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.08.001.

[3] X. J. Li, Y. J. Yang, Y. S. Li, W. K. Zhang, and H. B. Tang, "α-Pinene, linalool, and 1-octanol contribute to the topical anti-inflammatory and analgesic activities of frankincense by inhibiting COX-2," (in eng), *J Ethnopharmacol,* vol. 179, pp. 22-6, Feb 17 2016, doi: 10.1016/j.jep.2015.12.039.

[4] M. G. Kim *et al.*, "Anti-inflammatory effects of linalool on ovalbumin-induced pulmonary inflammation," (in eng), *Int Immunopharmacol,* vol. 74, p. 105706, Sep 2019, doi: 10.1016/j.intimp.2019.105706.

[5] A. Herman, K. Tambor, and A. Herman, "Linalool Affects the Antimicrobial Efficacy of Essential Oils," (in eng), *Curr Microbiol,* vol. 72, no. 2, pp. 165-172, Feb 2016, doi: 10.1007/s00284-015-0933-4.

[6] M. Cole, P. Lindeque, C. Halsband, and T. S. Galloway, "Microplastics as contaminants in the marine environment: a review," *Marine pollution bulletin,* vol. 62, no. 12, pp. 2588-2597, 2011.

[7] A. L. Andrady, "Microplastics in the marine environment," *Marine Pollution Bulletin,* vol. 62, no. 8, pp. 1596-1605, 2011/08/01/ 2011, doi: https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030.

[8] D. K. A. Barnes, F. Galgani, R. C. Thompson, and M. Barlaz, "Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments," *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences,* vol. 364, no. 1526, pp. 1985-1998, 2009, doi: doi:10.1098/rstb.2008.0205.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[9] J. A. Ivar do Sul and M. F. Costa, "The present and future of microplastic pollution in the marine environment," *Environmental Pollution,* vol. 185, pp. 352-364, 2014/02/01/ 2014, doi: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.036.

[10] R. C. Thompson, S. H. Swan, C. J. Moore, and F. S. v. Saal, "Our plastic age," *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences,* vol. 364, no. 1526, pp. 1973-1976, 2009, doi: doi:10.1098/rstb.2009.0054.

[11] S. A. Carr, J. Liu, and A. G. Tesoro, "Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants," (in eng), *Water Res,* vol. 91, pp. 174-82, Mar 15 2016, doi: 10.1016/j.watres.2016.01.002.

[12] P. L. Corcoran, T. Norris, T. Ceccanese, M. J. Walzak, P. A. Helm, and C. H. Marvin, "Hidden plastics of Lake Ontario, Canada and their potential preservation in the sediment record," (in eng), *Environ Pollut,* vol. 204, pp. 17-25, Sep 2015, doi: 10.1016/j.envpol.2015.04.009.

[13] M. Eriksen *et al.*, "Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes," *Marine Pollution Bulletin,* vol. 77, no. 1, pp. 177-182, 2013/12/15/ 2013, doi: https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.007.

[14] L. S. Fendall and M. A. Sewell, "Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers," *Marine Pollution Bulletin,* vol. 58, no. 8, pp. 1225-1228, 2009/08/01/ 2009, doi: https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.04.025.

[15] L. Fok and P. K. Cheung, "Hong Kong at the Pearl River Estuary: A hotspot of microplastic pollution," (in eng), *Mar Pollut Bull,* vol. 99, no. 1-2, pp. 112-8, Oct 15 2015, doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.07.050.

[16] C. M. Free, O. P. Jensen, S. A. Mason, M. Eriksen, N. J. Williamson, and B. Boldgiv, "High-levels of microplastic pollution in a large, remote, mountain lake," *Marine Pollution Bulletin,* vol. 85, no. 1, pp. 156-163, 2014/08/15/ 2014, doi: https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.001.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[17] H. K. Imhof, N. P. Ivleva, J. Schmid, R. Niessner, and C. Laforsch, "Contamination of beach sediments of a subalpine lake with microplastic particles," (in eng), *Curr Biol,* vol. 23, no. 19, pp. R867-8, Oct 7 2013, doi: 10.1016/j.cub.2013.09.001.

[18] A. L. Lusher, G. Hernandez-Milian, J. O'Brien, S. Berrow, I. O'Connor, and R. Officer, "Microplastic and macroplastic ingestion by a deep diving, oceanic cetacean: the True's beaked whale Mesoplodon mirus," (in eng), *Environ Pollut,* vol. 199, pp. 185-91, Apr 2015, doi: 10.1016/j.envpol.2015.01.023.

[19] D. Mazurais *et al.*, "Evaluation of the impact of polyethylene microbeads ingestion in European sea bass (Dicentrarchus labrax) larvae," (in eng), *Mar Environ Res,* vol. 112, no. Pt A, pp. 78-85, Dec 2015, doi: 10.1016/j.marenvres.2015.09.009.

[20] Y. K. Song *et al.*, "A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples," (in eng), *Mar Pollut Bull,* vol. 93, no. 1-2, pp. 202-9, Apr 15 2015, doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.01.015.

[21] S. Zhao, L. Zhu, and D. Li, "Microplastic in three urban estuaries, China," *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987),* vol. 206, pp. 597-604, 08/24 2015, doi: 10.1016/j.envpol.2015.08.027.

[22] J. G. B. Derraik, "The pollution of the marine environment by plastic debris: a review," *Marine Pollution Bulletin,* vol. 44, no. 9, pp. 842-852, 2002/09/01/ 2002, doi: https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00220-5.

[23] O. Benny *et al.*, "Continuous delivery of endogenous inhibitors from poly(lactic-co-glycolic acid) polymeric microspheres inhibits glioma tumor growth," (in eng), *Clin Cancer Res,* vol. 11, no. 2 Pt 1, pp. 768-76, Jan 15 2005.

[24] S. Duvvuri, K. Gaurav Janoria, and A. K. Mitra, "Effect of polymer blending on the release of ganciclovir from PLGA microspheres," (in eng), *Pharm Res,* vol. 23, no. 1, pp. 215-23, Jan 2006, doi: 10.1007/s11095-005-9042-6.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[25] H. R. Kricheldorf, "Syntheses and application of polylactides," (in eng), *Chemosphere,* vol. 43, no. 1, pp. 49-54, Apr 2001, doi: 10.1016/s0045-6535(00)00323-4.

[26] J. Panyam and V. Labhasetwar, "Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue," (in eng), *Adv Drug Deliv Rev,* vol. 55, no. 3, pp. 329-47, Feb 24 2003, doi: 10.1016/s0169-409x(02)00228-4.

[27] F. Bai, B. Huang, X. Yang, and W. Huang, "Synthesis of monodisperse poly(methacrylic acid) microspheres by distillation–precipitation polymerization," *European Polymer Journal - EUR POLYM J,* vol. 43, pp. 3923-3932, 09/01 2007, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2007.06.024.

[28] S. Kawaguchi and K. Ito, "Dispersion Polymerization," in *Polymer Particles: -/-*, M. Okubo Ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2005, pp. 299-328.

[29] S. Pardeshi and S. K. Singh, "Precipitation polymerization: a versatile tool for preparing molecularly imprinted polymer beads for chromatography applications," *RSC Advances,* 10.1039/C6RA02784A vol. 6, no. 28, pp. 23525-23536, 2016, doi: 10.1039/C6RA02784A.

[30] Q. Xia, Y. Yun, Q. Li, Z. Huang, and Z. Liang, "Preparation and characterization of monodisperse molecularly imprinted polymer microspheres by precipitation polymerization for kaempferol," (in eng), *Des Monomers Polym,* vol. 20, no. 1, pp. 201-209, 2016, doi: 10.1080/15685551.2016.1239174.

[31] D. Zhang and X. Yang, "Precipitation Polymerization," in *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*, S. Kobayashi and K. Müllen Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2021, pp. 1-10.

[32] R. T. Martin, L. P. Camargo, and S. A. Miller, "Marine-degradable polylactic acid," *Green Chemistry,* 10.1039/C3GC42604A vol. 16, no. 4, pp. 1768-1773, 2014, doi: 10.1039/C3GC42604A.

[33] M. F. Akhtar, N. M. Ranjha, and M. Hanif, "Effect of ethylene glycol dimethacrylate on swelling and on metformin hydrochloride release behavior

of chemically crosslinked pH–sensitive acrylic acid–polyvinyl alcohol hydrogel," *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences,* vol. 23, no. 1, p. 41, 2015/08/19 2015, doi: 10.1186/s40199-015-0123-8.

[34] P. Christian, S. Tumphart, H. M. A. Ehmann, H. Riegler, A. M. Coclite, and O. Werzer, "Controlling Indomethacin Release through Vapor-Phase Deposited Hydrogel Films by Adjusting the Cross-linker Density," *Scientific Reports,* vol. 8, no. 1, p. 7134, 2018/05/08 2018, doi: 10.1038/s41598-018-24238-w.

[35] M. Mahkam and L. Vakhshouri, "Colon-specific drug delivery behavior of pH-responsive PMAA/perlite composite," (in eng), *Int J Mol Sci,* vol. 11, no. 4, pp. 1546-1556, 2010, doi: 10.3390/ijms11041546.

[36] M. Oliveira *et al.*, "Electrospun nanofibers of polyCD/PMAA polymers and their potential application as drug delivery system," *Materials Science and Engineering: C,* 04/22 2015, doi: 10.1016/j.msec.2015.04.042.

[37] Y. Zhang, W. Gu, J. Zhao, and Z. Qin, "A facile, efficient and "green" route to pH-responsive crosslinked poly(methacrylic acid) nanoparticles," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects,* vol. 531, pp. 1-8, 2017/10/20/ 2017, doi: https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.07.062.

[38] J. Tounthai, A. Petchsuk, P. Opaprakasit, and M. Opaprakasit, "Curable polyester precursors from polylactic acid glycolyzed products," *Polymer Bulletin,* vol. 70, no. 8, pp. 2223-2238, 2013/08/01 2013, doi: 10.1007/s00289-013-0940-1.

[39] P. Sukpuang, M. Opaprakasit, A. Petchsuk, P. Tangboriboonrat, P. Sojikul, and P. Opaprakasit, "Polylactic acid glycolysate as a cross-linker for epoxidized natural rubber:Effect of cross-linker molecular weight," *Journal of Elastomers & Plastics,* vol. 48, no. 2, pp. 105-121, 2016, doi: 10.1177/0095244314557974.

[40] A. E. Asbahani *et al.*, "Essential oils: From extraction to encapsulation," *International Journal of Pharmaceutics,* vol. 483, no. 1, pp. 220-243, 2015/04/10/ 2015, doi: https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[41] T. Ilc, C. Parage, B. Boachon, N. Navrot, and D. Werck-Reichhart, "Monoterpenol Oxidative Metabolism: Role in Plant Adaptation and Potential Applications," (in English), *Frontiers in Plant Science,* Review vol. 7, no. 509, 2016-April-26 2016, doi: 10.3389/fpls.2016.00509.

[42] H. Jiang *et al.*, "GC×GC-TOFMS Analysis of Essential Oils Composition from Leaves, Twigs and Seeds of Cinnamomum camphora L. Presl and Their Insecticidal and Repellent Activities," (in eng), *Molecules,* vol. 21, no. 4, pp. 423-423, 2016, doi: 10.3390/molecules21040423.

[43] G. Kavoosi and F. Rabiei, "Zataria multiflora: chemical and biological diversity in the essential oil," *Journal of Essential Oil Research,* vol. 27, no. 5, pp. 428-436, 2015/09/03 2015, doi: 10.1080/10412905.2015.1031917.

[44] A. M. Api *et al.*, "RIFM fragrance ingredient safety assessment, Linalool, CAS registry number 78-70-6," *Food and Chemical Toxicology,* vol. 82, pp. S29-S38, 2015/08/01/ 2015, doi: https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.01.005.

[45] P. Amiri, A. Shahpiri, M. A. Asadollahi, F. Momenbeik, and S. Partow, "Metabolic engineering of Saccharomyces cerevisiae for linalool production," *Biotechnology Letters,* vol. 38, no. 3, pp. 503-508, 2016/03/01 2016, doi: 10.1007/s10529-015-2000-4.

[46] A. Lapczynski, C. S. Letizia, and A. M. Api, "Addendum to Fragrance material review on linalool," *Food and Chemical Toxicology,* vol. 46, no. 11, Supplement, pp. S190-S192, 2008/11/01/ 2008, doi: https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.06.087.

[47] A. C. Aprotosoaie, M. Hăncianu, I.-I. Costache, and A. Miron, "Linalool: a review on a key odorant molecule with valuable biological properties," *Flavour and Fragrance Journal,* vol. 29, no. 4, pp. 193-219, 2014, doi: https://doi.org/10.1002/ffj.3197.

[48] J. Fernandes, "Antitumor monoterpenes," in *Bioactive essential oils and cancer*: Springer, 2015, pp. 175-200.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[49] H. Maeda, M. Yamazaki, and Y. Katagata, "Kuromoji (Lindera umbellata) essential oil-induced apoptosis and differentiation in human leukemia HL-60 cells," *Exp Ther Med,* vol. 3, no. 1, pp. 49-52, 2012/01/01 2012, doi: 10.3892/etm.2011.357.

[50] M. Nikolić *et al.*, "Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxic properties of five Lamiaceae essential oils," *Industrial Crops and Products,* vol. 61, pp. 225-232, 2014/11/01/ 2014, doi: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.011.

[51] B.-H. Cheng, L.-Y. Sheen, and S.-T. Chang, "Hypolipidemic effects of S -(+)-linalool and essential oil from Cinnamomum osmophloeum ct. linalool leaves in mice," *Journal of Traditional and Complementary Medicine,* vol. 8, 03/01 2017, doi: 10.1016/j.jtcme.2017.02.002.

[52] É. R. Q. dos Santos, C. S. F. Maia, E. A. Fontes Junior, A. S. Melo, B. G. Pinheiro, and J. G. S. Maia, "Linalool-rich essential oils from the Amazon display antidepressant-type effect in rodents," *Journal of Ethnopharmacology,* vol. 212, pp. 43-49, 2018/02/15/ 2018, doi: https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.013.

[53] L. S. Brum, T. Emanuelli, D. Souza, and E. Elisabetsky, "Effects of linalool on glutamate release and uptake in mouse cortical synaptosomes," *Neurochemical Research,* vol. 26, no. 3, pp. 191-194, 2001.

[54] L. Avérous and P. J. Halley, "Biocomposites based on plasticized starch," *Biofuels, bioproducts and biorefining,* vol. 3, no. 3, pp. 329-343, 2009.

[55] M. A. Elsawy, K.-H. Kim, J.-W. Park, and A. Deep, "Hydrolytic degradation of polylactic acid (PLA) and its composites," *Renewable and Sustainable Energy Reviews,* vol. 79, pp. 1346-1352, 2017.

[56] N. B. C. Engineers, *The Complete Book on Biodegradable Plastics and Polymers (Recent Developments, Properties, Analysis, Materials & Processes): How to Make Biodegradable Plastic, Biodegradable Plastic Bags, Biodegradable Plastic Bottles, Biodegradable Plastic Manufacture, Producing Biodegradable Plastic, Starch-Based Biodegradable Plastics, Biodegradable Plastic Packaging, Bio-Based Biodegradable Plastics, Biobased and Biodegradable Plastic,*

บรรณานุกรม (ต่อ)

Biodegradable Polymers, Biodegradable Polymers Plastic, Biodegradable Polymer Materials. Asia Pasific Business Press, 2006.

[57] F. Sabbagh and I. I. Muhamad, "Production of poly-hydroxyalkanoate as secondary metabolite with main focus on sustainable energy," *Renewable and Sustainable Energy Reviews,* vol. 72, pp. 95-104, 2017.

[58] P. Bordes, E. Pollet, and L. Avérous, "Nano-biocomposites: Biodegradable polyester/nanoclay systems," *Progress in Polymer Science,* vol. 34, no. 2, pp. 125-155, 2009/02/01/ 2009, doi: https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.10.002.

[59] ธนาวดี. "พลาสติกที่สลายตัวได้ทางชีวภาพ." http://www.ocsb.go.th/upload/bioindustry/fileupload/9757-9874.pdf (accessed.

[60] S. Abbott, "Chemical Compatibility of Poly(Lactic Acid): A Practical Framework Using Hansen Solubility Parameters," in *Poly(Lactic Acid)*, 2010, pp. 83-95.

[61] J. Sun *et al.*, "Nanofiller Reinforced Biodegradable PLA/PHA Composites: Current Status and Future Trends," *Polymers,* vol. 10, p. 505, 05/07 2018, doi: 10.3390/polym10050505.

[62] D. Garlotta, "A Literature Review of Poly(Lactic Acid)," *Journal of Polymers and the Environment,* vol. 9, no. 2, pp. 63-84, 2001/04/01 2001, doi: 10.1023/A:1020200822435.

[63] K. J. M. Hitomi Ohara and K. J. S. S. Ito, Otsu (JP) "Process for producing lactide and process for producing polylactic acid from fermented lactic acid employed as starting material," 2003. [Online]. Available: https://patentimages.storage.googleapis.com/82/68/2c/dd33c833941c6a/US6569989.pdf

[64] R. E. Drumright, P. R. Gruber, and D. E. Henton, "Polylactic Acid Technology," *Advanced Materials,* vol. 12, no. 23, pp. 1841-1846, 2000, doi: https://doi.org/10.1002/1521-4095(200012)12:23<1841::AID-ADMA1841>3.0.CO;2-E.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[65] J. Ahmed, J. X. Zhang, Z. Song, and S. K. Varshney, "Thermal properties of polylactides," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry,* vol. 95, no. 3, pp. 957-964, 2009/03/01 2009, doi: 10.1007/s10973-008-9035-x.

[66] K. Madhavan Nampoothiri, N. R. Nair, and R. P. John, "An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research," *Bioresource Technology,* vol. 101, no. 22, pp. 8493-8501, 2010/11/01/ 2010, doi: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.092.

[67] "Thermodynamics, solubility and environmental issues," T. M. Letcher, Ed., 1st ed. ed. Amsterdam ;: Elsevier, 2007.

[68] K. S. Anderson, K. M. Schreck, and M. A. Hillmyer, "Toughening Polylactide," *Polymer Reviews,* vol. 48, no. 1, pp. 85-108, 2008/02/01 2008, doi: 10.1080/15583720701834216.

[69] E. Castro-Aguirre, F. Iñiguez-Franco, H. Samsudin, X. Fang, and R. Auras, "Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life," *Advanced Drug Delivery Reviews,* vol. 107, pp. 333-366, 2016/12/15/ 2016, doi: https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.03.010.

[70] อ. ไชยสัตย์, การเกิดอนุภาคแบบเอกพันธ์ (การสังเคราะห์พอลิเมอร์ในระบบกระจาย). 2017.

[71] อ. ไชยสัตย์, การสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอน (การสังเคราะห์พอลิเมอร์ในระบบกระจาย). 2017.

[72] J. Zhang, P. Krishnamachari, J. Lou, and A. Shahbazi, "Synthesis of Poly(L(+) Lactic Acid) by Polycondensation Method in Solution," in *Proceedings of the 2007 National Conference on Environmental Science and Technology*, New York, NY, E. Nzewi *et al.*, Eds., 2009// 2009: Springer New York, pp. 3-8.

[73] 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," *European Polymer Journal,* vol. 42, no. 2, pp. 468-472, 2006/02/01/ 2006, doi: https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2005.07.022.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[74] B.-T. Ko and C.-C. Lin, "Synthesis, characterization, and catalysis of mixed-ligand lithium aggregates, excellent initiators for the ring-opening polymerization of L-lactide," *Journal of the American Chemical Society,* vol. 123, no. 33, pp. 7973-7977, 2001.

[75] S. Li and M. Vert, "Synthesis, characterization, and stereocomplex-induced gelation of block copolymers prepared by ring-opening polymerization of L (D)-lactide in the presence of poly (ethylene glycol)," *Macromolecules,* vol. 36, no. 21, pp. 8008-8014, 2003.

[76] L.-T. Lim, R. Auras, and M. Rubino, "Processing technologies for poly(lactic acid)," *Progress in Polymer Science,* vol. 33, pp. 820-852, 08/01 2008, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2008.05.004.

[77] P. Sangjun and A. Chaiyasat, "Poly(L-Lactic Acid)-Based Microcapsule Containing Phase-Change Material: Influence of Polymer Shell on Particle Morphology," *Fibers and Polymers,* vol. 21, no. 5, pp. 935-943, 2020/05/01 2020, doi: 10.1007/s12221-020-9241-0.

[78] K. Rattanasaikaew, A. Chaiyasat, and P. Chaiyasat, "Secondary particle formation in suspension polymerization using a particulate surfactant," *Polymer-Plastics Technology and Materials,* vol. 59, no. 16, pp. 1801-1811, 2020/11/01 2020, doi: 10.1080/25740881.2020.1765386.

[79] J. M. Asua, "Miniemulsion polymerization," *Progress in polymer science,* vol. 27, no. 7, pp. 1283-1346, 2002.

[80] P. Chaiyasat, M. 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, 06/11 2013, doi: 10.1039/C3RA40802G.

[81] S. Namwong, S. Noppalit, M. Okubo, S. Moonmungmee, P. Chaiyasat, and A. Chaiyasat, "Latent Heat Enhancement of Paraffin Wax in Poly(divinylbenzene-co-methyl methacrylate) Microcapsule," *Polymer-Plastics Technology and*

Engineering, vol. 54, no. 8, pp. 779-785, 2015/06/01 2015, doi: 10.1080/03602559.2014.974282.

[82] 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.

[83] P. Chaiyasat, S. Noppalit, M. Okubo, and A. Chaiyasat, "Innovative synthesis of high performance poly(methyl methacrylate) microcapsules with encapsulated heat storage material by microsuspension iodine transfer polymerization (ms ITP)," *Solar Energy Materials and Solar Cells,* vol. 157, pp. 996-1003, 2016/12/01/ 2016, doi: https://doi.org/10.1016/j.solmat.2016.07.028.

[84] T. Nakano, N. Saito, and H. Minami, "Preparation of Cross-Linked Monodisperse Poly(acrylic acid) Particles by Precipitation Polymerization," *Langmuir,* vol. 36, no. 40, pp. 11957-11962, 2020/10/13 2020, doi: 10.1021/acs.langmuir.0c02060.

[85] R. Joso, E. H. Pan, M. H. Stenzel, T. P. Davis, C. Barner-Kowollik, and L. Barner, "Ambient temperature synthesis of well-defined microspheres via precipitation polymerization initiated by UV-irradiation," *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry,* vol. 45, no. 15, pp. 3482-3487, 2007, doi: https://doi.org/10.1002/pola.22132.

[86] F. Limé and K. Irgum, "Preparation of Divinylbenzene and Divinylbenzene-co-Glycidyl Methacrylate Particles by Photoinitiated Precipitation Polymerization in Different Solvent Mixtures," *Macromolecules,* vol. 42, no. 13, pp. 4436-4442, 2009/07/14 2009, doi: 10.1021/ma900150b.

[87] J. Jiang, Y. Zhang, X. Guo, and H. Zhang, "Ambient temperature synthesis of narrow or monodisperse, highly cross-linked, and “living” polymer microspheres by atom transfer radical precipitation polymerization," *RSC Advances,* 10.1039/C2RA01249A vol. 2, no. 13, pp. 5651-5662, 2012, doi: 10.1039/C2RA01249A.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[88] M. Tamizifar and G. Sun, "Control of surface radical graft polymerization on polyester fibers by using Hansen solubility parameters as a measurement of the affinity of chemicals to materials," *RSC Advances,* 10.1039/C6RA27186C vol. 7, no. 22, pp. 13299-13303, 2017, doi: 10.1039/C6RA27186C.

[89] G. Biresaw and C. J. Carriere, "Interfacial tension of poly(lactic acid)/polystyrene blends," *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics,* vol. 40, no. 19, pp. 2248-2258, 2002, doi: https://doi.org/10.1002/polb.10290.

[90] W. Zeng, Y. Du, Y. Xue, and H. L. Frisch, "Solubility Parameters," in *Physical Properties of Polymers Handbook*, J. E. Mark Ed. New York, NY: Springer New York, 2007, pp. 289-303.

[91] T. C. Nguyen, C. Ruksakulpiwat, and Y. Ruksakulpiwat, "The Study on the Grafting of Glycidyl Methacrylate onto Poly(lactic acid) in an Internal Mixer," *Walailak Journal of Science and Technology (WJST),* vol. 13, no. 12, pp. 1037-1046, 04/11 2016. [Online]. Available: https://wjst.wu.ac.th/index.php/wjst/article/view/2385.

[92] P. Leelaphiwat, R. A. Auras, G. J. Burgess, J. B. Harte, and V. Chonhenchob, "Preliminary quantification of the permeability, solubility and diffusion coefficients of major aroma compounds present in herbs through various plastic packaging materials," *Journal of the Science of Food and Agriculture,* vol. 98, no. 4, pp. 1545-1553, 2018, doi: https://doi.org/10.1002/jsfa.8626.

[93] X. Liu *et al.*, "Antibacterial activity and mechanism of linalool against Pseudomonas aeruginosa," *Microbial Pathogenesis,* vol. 141, p. 103980, 2020/04/01/ 2020, doi: https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.103980.

[94] F. Guo *et al.*, "Antimicrobial Activity and Proposed Action Mechanism of Linalool Against Pseudomonas fluorescens," *Frontiers in Microbiology,* vol. 12, p. 49, 2021.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเผยแพร่ผลงาน

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 208 (2021) 112122

Contents lists available at ScienceDirect

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces

journal homepage: www.elsevier.com/locate/colsurfb

Protocols

Synthesis of uniform submicron poly(lactic acid)-based particles/capsules by radical precipitation polymerization

Chayanan Khotchana [a], Pongsathon Phapugrangkul [b], Pakorn Opaprakasit [c], Dolnapa Kaewpa [d], Preeyaporn Chaiyasat [a,e], Amorn Chaiyasat [a,e,*]

[a] Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Thailand
[b] Biodiversity Research Center, Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR), Pathum Thani 12120, Thailand
[c] School of Bio-Chemical Engineering and Technology, Sirindhorn International Institute of Technology (SIIT), Thammasat University, Pathum Thani 12121, Thailand
[d] Division of Biology, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Thailand
[e] Advanced Materials Design and Development (AMDD) Research Unit, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Thailand

ARTICLE INFO

Keywords:
Polylactic acid
Precipitation polymerization
Polymer capsule
Polymer particle

ABSTRACT

Poly(l-lactic acid) (PLLA) is a well-known biopolymer, usually synthesized via step-growth or ring-opening polymerization from lactic acid or a lactide monomer, respectively. PLLA microspherical particles are produced by dispersion polymerization with a ring-opening lactide monomer using a particular copolymer chain as a stabilizer. This is not easy to achieve when dehydration is needed. Here, a robust and simple synthesis of a nearly monodisperse, submicron PLLA-based particle/capsule was proposed via radical precipitation polymerization without the use of surfactant. A commercial PLLA was first glycolyzed with ethylene glycol to obtain a low molecular weight glycolyzed PLLA (GPLLA). Then, the GPLLA was copolymerized with methacrylic acid and ethylene glycol dimethacrylate monomers using a benzoyl peroxide initiator. Active sites on the GPLLA backbone were generated by hydrogen abstraction of benzoyloxy radicals that further copolymerized before self-assembly to form the polymer particles. Uniform particle size of about 580 nm with a low polydispersity index (PDI) of 0.012 was obtained. This method was also implemented to produce nearly monodisperse capsules containing linalool. The particle size of PLLA-based capsules was about 280 nm with narrow particle size distribution (PDI of 0.120). The PLLA-based capsules effectively inhibited microbial growth of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* and were not toxic to human cells.

1. Introduction

Nowadays, polymers are widely used in many products because of their superior lightweight, high durability and corrosion resistance properties, with quantities globally estimated at over 350 million tons per year [1–5]. Household names derived from fossil sources such as polyethylene (PE), polypropylene (PP), polystyrene (PS) and polyethylene terephthalate (PET) offer high durability but are difficult to degrade. Some polymers take many decades to degrade, causing polymer sediments in the natural environment, especially microplastic particles in marine ecosystems [6–17]. Microplastic particles are commonplace in aquatic animals and cause death in some marine animals due to high toxicity [2,8,11,12]. They are used as raw materials for cosmetic products such as UV filters and exfoliating agents in personal care merchandise (lotion, cream scrub, facial foam, soap, shampoo, and toothpaste, etc.) [9,18]. Because microplastic particles take a long time degradation, their use is restricted in many countries. Biodegradable materials are now attracting increasing global attention as an attractive alternative. Biodegradable polymer derived from cyclic monomers [19,20] and renewable resources lactic acid [21,22] can be degraded via hydrolysis, is widely used in various applications such as drug delivery, tissue engineering and the cosmetic industry [19,23–26] because it is non-toxic, biocompatible and eco-friendly. Based on renewable resources, poly (L-lactic acid) (PLLA) is a better alternative than using fossil-based polymers for preparing microplastic particles.

Various techniques can produce polymer particles or capsules,

* Corresponding author at: Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Thailand.
E-mail address: a_chaiyasat@mail.rmutt.ac.th (A. Chaiyasat).

https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112122
Received 31 May 2021; Received in revised form 11 September 2021; Accepted 16 September 2021
Available online 21 September 2021
0927-7765/© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.

including polymerization in heterogeneous systems as suspensions [27–39] and miniemulsions [40–42] polymerizations, solvent evaporation (oil-in-water or water-in-oil) emulsion systems [43–46] and spray drying methods. Capsules prepared by suspension and miniemulsion polymerizations give high encapsulation efficiency but require a high shear rate to generate monomer droplets, limiting upscale for commercial purposes. Moreover, it is not easy to produce oil droplets of high and moderate hydrophilic polymers with uniform or narrow particle size distribution [34,36,38,39]. Dispersion polymerization in non-aqueous using steric stabilization provided by a low molecular weight vinyl--functionalized polymeric dispersant was suitable for producing acrylic polymer particles with high solid content [47–49]. Similar idea, PLLA microspheres with narrow particle size distribution were successfully prepared using a dispersion polymerization technique with ring-opening of the lactide monomer using a graft copolymer stabilizer [50–52]. However, the molecular weight of the graft copolymer stabilizer had to be controlled to achieve the appropriate condition. At the same time, the reaction system also required dehydration to obtain high conversion and was inconvenient to scale up.

Therefore, this research proposed a simple technique as precipitation polymerization via radical polymerization using acetonitrile as the primary medium without the addition of a stabilizer to produce PLLA-based particles with narrow particle size distribution. It is one of the most well-known polymerization techniques in heterogeneous systems to prepare monodisperse polymer particles without a high shear rate [53–55]. In previous work [28], PLLA was copolymerized with glycidyl methacrylate to use as the polymer microcapsule shell encapsulating Rubitherm 27 in the suspension polymerization system. The polymerization was achieved with a benzoyl peroxide initiator. However, the obtained microcapsule was broad particle size distribution. It is well-known that graft polymerization can be conducted by presenting peroxyl radicals derived from peroxide initiator. They can attack the backbone of the polymer chain via hydrogen abstraction to produce polymer chain radicals [56,57]. Following this system, in this work, biocompatible monomers such as methacrylic acid (MAA) and ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) [58–62] are selected for copolymerization with PLLA in a radical precipitation polymerization. Before polymerization, PLLA molecular weight should be low enough to dissolve easily in the acetonitrile of the precipitation polymerization system. Therefore, commercial-grade PLLA is glycolyzed with ethylene glycol to obtain a low molecular weight PLLA in the form of glycolyzed PLLA (GPLLA) [63,64]. Thus, PLLA-based particles might be obtained based on (1) self-assembly nucleation when the polymerizing (GPLLA-grafted copolymer) chain reaches a critical length and cannot dissolve in the continuous phase based on *enthalpic* precipitation in cases of adverse polymer-solvent interactions or (2) cross-linking prevents the polymer and medium from spontaneously mixing based on *entropic* precipitation [65].

The encapsulation of linalool was also studied as a monoterpene model. Monoterpenes have been widely used in perfume, drugs and cosmetic products [66,67] due to their aroma, stress reduction, anti-inflammatory and antimicrobial properties and fresh scent. Monoterpene has high volatility and low aqueous solubility. For appropriate such applications, therefore, encapsulation was required. During self-assembly of the copolymer chain in the precipitation polymerization system, the polymer chain might encapsulate linalool dissolved in acetonitrile that enters the formed particles. Capsules containing linalool with high colloidal stability due to the presence of the carboxyl group (anion) of MAA on the particle surface would be obtained. The synthesized PLLA-based capsule in a submicrometer-sized range with a narrow particle size distribution would be a potential ingredient in cosmetic and personal care products. Moreover, the proposed synthesis might produce the capsule containing various core materials for drug delivery systems. The influence of GPLLA molecular weight and cross-linker content on particle formation was studied, and the improvement of encapsulation efficiency was investigated using ethyl acetate as a cosolvent.

2. Materials and methods

Commercial grade PLLA (molecular weight ~100,000 g/mol) (B. C. Polymers Marketing Co., Ltd., Bangkok, Thailand), ethylene glycol (EG, purity 99.5%; Loba Chemie Pvt. Ltd., India), chloroform ($CHCl_3$, purity 99.8%; RCI Labscan, Bangkok, Thailand) and deuterated chloroform ($CDCl_3$, 99.8%; Cambridge Isotope Laboratories, Inc., USA) were used as received. Acetonitrile (C_2H_3N, RCI Labscan, Bangkok, Thailand), ethyl acetate ($C_4H_8O_2$, RCI Labscan, Bangkok, Thailand), tetrahydrofuran (C_4H_8O, RCI Labscan, Bangkok, Thailand) and linalool (purity 97%; Aldrich, Wisconsin, USA) were used as received. EGDMA (Aldrich, Wisconsin, USA; purity 99%) and MAA (Aldrich, Wisconsin, USA; purity 99%) were purified by passing through a column packed with basic aluminum oxide to remove the inhibitor and kept in a refrigerator until required for use. Benzoyl peroxide (BPO, Analytical reagents; Merck, Germany) was purified by recrystallization in methanol.

2.1. GPLLA preparation

Commercial PLLA with a molecular weight of 100,000 g/mol was glycolyzed with EG as stated previously [63,64] to obtain low molecular weight PLLA as GPLLA. Briefly, PLLA and EG were mixed at a weight ratio 1:1 in a round-bottom flask and sealed with a silicone rubber septum. The flask was purged with five vacuum/N_2 cycles and finally filled with an N_2 atmosphere. The reaction was performed at 175 °C with stirring at 400 rpm for 60, 180 and 300 min to obtain various molecular weights of GPLLA. The obtained GPLLA was re-dissolved in chloroform and precipitated in methanol before further use in precipitation polymerization.

Moreover, the solubility of various GPLLA chain lengths in the continuous phase at 70 °C was studied. The known amount (~0.50) of various GPLLA chain lengths were separately added to ~10 g of acetonitrile or acetonitrile-ethyl acetate at room temperature until obtaining a cloudy solution and then increasing the temperature up to 70 °C to obtain the transparent solution. At 70 °C, the continuous solvent gradually evaporated. The solubility of GPLLA was obtained when the solution becomes cloudy again. The cloudy solution was measured by a spectrophotometer (UV/Vis, Lambda 35, PerkinElmer Inc., America) at 550 nm, where the transmittance of the solution was about 90% [68,69].

2.2. Polymer particle/capsule preparation

PLLA-based polymer particles or capsules were prepared by precipitation polymerization with the conditions shown in Table 1. First, GPLLA (molecular weight 17,000, 10,000 and 4000 g/mol) was homogeneously mixed with acetonitrile and BPO in a round-bottom flask and sealed with a silicone rubber septum. The solution was purged with five vacuum/N_2 cycles, filled by an N_2 atmosphere and then heated at 70 °C with a stirring rate of 400 rpm. After 15 min, MAA, EGDMA and linalool were added and the mixture was polymerized for 8 h. A schematic

Table 1
Reagent amounts for the preparation of polymer particles or capsules by precipitation polymerization.

Chemical (g)	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5	Run 6	Run 7
GPLLA	1.25[a]	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
MAA	1.25	0.75	0.75	0.50	0.25	0.13	0.25
EGDMA	–	0.50	0.50	0.75	1.00	1.13	1.00
BPO	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Linalool	–	–	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Acetonitrile	22.50	22.50	22.50	22.50	22.50	22.50	18.00
Ethyl acetate	–	–	–	–	–	–	4.50

[a] Various GPLLA molecular weights (100,000, 17,000, 10,000 and 4000 g/mol)

diagram of polymer capsule preparation is shown in Fig. 1.

2.3. Characterizations

Molecular weights of PLLA and GPLLA were measured by gel permeation chromatography (GPC; Waters 2414, Waters, USA) with two poly(S/divinylbenzene) gel columns (Phenogel 5 ×103 and 5 ×105 Å (pores), 7.8 mm (i.d.)× 30 cm (length), Phenomenex, USA) connected in series. Chloroform was used as the eluent, and its flow rate was maintained at 1.0 ml/min with a column temperature of 40 °C. The elution was monitored with a refractive index detector (RI 2414/Waters). Molecular weights of PLLA and GPLLA were obtained from the extrapolation of their retention volumes in the calibration curve of PS standard at six molecular weights (2.5×10^3 –6.0×10^5, *Mw*/*Mn* = 1.05–1.15). Particle size and morphology of polymer capsules or particles were analyzed by dynamic light scattering (DLS; Delsa Nano C, Beckman Coulter, Germany), while particle morphology was observed by transmission electron microscopy (TEM; Tecnai **20**, Philips, The Netherlands). Particle dispersion of about 1 wt% was dropped on a carbon-coated copper grid, then dried at room temperature in a desiccator overnight before TEM observations. Chemical structures were analyzed by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy (^{1}H NMR; PreCool ASC30, JEOL) at 500 MHz. GPLLA and purified PLLA-g-PMAA were dissolved in $CDCl_3$ where MAA was dissolved in D_2O before ^{1}H NMR measurement. Monomer conversion was calculated by gravimetry according to Eq. (1). A dispersion sample (~2.0 g) with several drops of hydroquinone solution (1 wt%) was placed in an aluminum cup and weighed before heating in an oven at 70 °C to evaporate the solvent. The weight of the dried polymer excluding the GPLLA mass as compared with the original monomer. Linalool content in polymer capsules (percentage experimental loading; $\%L_E$ (wt%)) was determined by gas chromatography (GC; Varian Star 3400 CX FID; Agilent, USA) with a flame ionization detector (FID). Flow rates of N_2 gas, air-zero, and H_2 gas were maintained at 30 ml/min with injection temperature at 250 °C and heating rate 5 °C/min. The dispersion sample was centrifuged and the supernatant was dissolved in acetonitrile before injection into the GC system. The Peak area of linalool in the supernatant was compared with the linalool standard calibration curve. Linalool content in the washed polymer capsules ($\%L_E$) was calculated from Eqs. (2)–(4):

$$\%\text{Conversion} = \frac{[(W_P \times W_{total}) - W_{GPLLA}] \times 100}{W_E \times W_M} \quad (1)$$

where W_P is the polymer weight (g) after drying, W_E is the polymer dispersion weight (g) before drying, W_{total} is the total weight (g) of the dispersion before polymerization, W_{GPLLA} is the GPLLA weight in the recipe, and W_M is monomer weight in the recipe.

$$W_{L,cont} = C_{L,cont} \times W_{cont} \quad (2)$$

where $W_{L,cont}$ is the weight (mg) of linalool in continuous phase after synthesis, $C_{L,cont}$ is the concentration (mg/kg) of linalool in the continuous phase obtained from GC, and W_{cont} is the weight (kg) of the continuous phase.

$$W_{L,cap} = W_{L,ini} - W_{L,cont} \quad (3)$$

where $W_{L,cap}$ is the weight (mg) of linalool contained in capsules and $W_{L,ini}$ is the weight (mg) of linalool before synthesis.

$$\%LE = \left(\frac{W_{L,cap}}{W_{cap}}\right) \times 100 \quad (4)$$

where W_{cap} is the weight (mg) of capsules obtained from the polymerization.

Theoretical percentage loading ($\%L_T$) of linalool in washed polymer capsules was calculated from Eq. (5) as follows:

$$\%LT = \left(\frac{W_{L,ini}}{W_{L,ini} + \left(W_m x \frac{\%conversion}{100}\right)}\right) \times 100 \quad (5)$$

where W_m is the weight of GPLLA, MAA and EGDMA in the recipes shown in Table 1.

Percentage encapsulation efficiency (%EE) of linalool was calculated from Eq. (5):

$$\%EE = \left(\frac{\%L_E}{\%L_T}\right) \times 100 \quad (6)$$

If all linalool used in the recipe was included inside the capsule, $\%L_T$ was equaled to $\%L_E$, where %EE was 100%. Moreover, the maximum L_E is then the linalool fraction in the mixture of polymer and linalool (in case of 100% conversion).

Before antibacterial activity and cytotoxicity studies, the capsule dispersion was centrifuged before the removal of the solvent. The remained capsule was then dried at room temperature, where the continuous phase, including the cosolvent incorporated inside the capsule, was quickly evaporated.

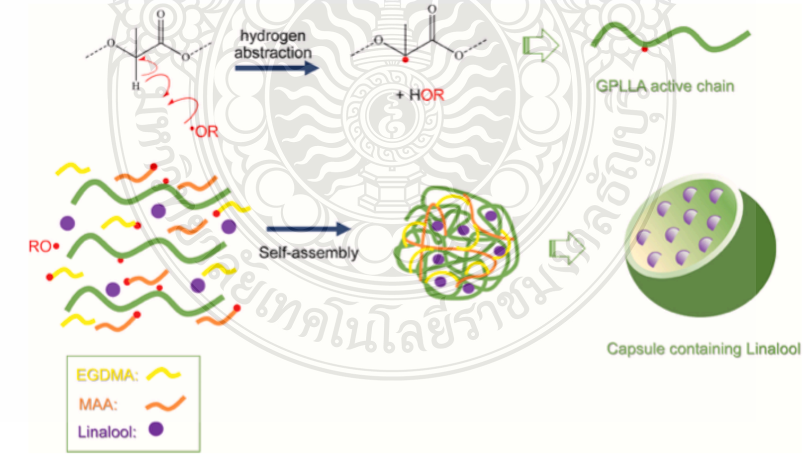


Fig. 1. Schematic diagram for the preparation of PLLA-based polymer capsules.

2.4. *Antibacterial activity*

Antibacterial activity of PLLA-based capsules containing linalool against gram-negative (*E. coli*, TISTR 257), gram-positive (*S. aureus*, TISTR 1466) bacteria and fungi (*C. albicans*, ATCC 10231) was examined using the agar well diffusion method. Inoculums test microorganism (10^8 CFU/ml) were swabbed on the surface of brain heart infusion agar (BHI) (for *E. coli* and *S. aureus*) and Sabouraud dextrose agar (SDA) (for *C. albicans*), then punched with a sterile cork borer No.3 on the agar plate as a well for loading 70 µl of capsule dispersion (~0.5%wt), linalool, kanamycin (30 µg/disc) as a positive control for *E. coli* and *S. aureus*, miconazole (10 µg/disc) as a positive control for *C. albicans*, and dimethyl sulfoxide (DMSO) as a negative control. The plate was incubated at 37 °C, 24 h (for bacteria) and 30 °C, 48 h (for fungi). The diameter of the inhibition zone surrounding the well was then measured.

2.5. *In vitro cytotoxicity*

Human skin fibroblasts obtained from the American Type Culture Collection (ATCC) were used for cytotoxicity testing by MTT assays. Human skin fibroblasts were trypsinized and seeded at a density of 1×10^4 cells/well in 96-well plates and then incubated at 37 °C under 5% CO_2 atmosphere for 24 h. The cells were treated with 20 µl of pristine linalool and GPLLA-*g*-P(MAA-EGDMA) capsule particle-containing linalool, and DMSO as the negative control, before incubation at 37 °C under 5% CO_2 atmosphere for 24 h. After incubation, the medium was removed and the cells were washed with phosphate buffer saline. Then, 100 µl of 0.05 mg/ml 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)−2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) solution was added into each well and further incubated for 6 h. After incubation, the MTT solution was removed, and 100 µl of DMSO was added to dissolve the formazan crystals. The plates were shaken at 200 rpm for 15 min and measured for absorbance at 560 nm by a microplate reader. Percentage of cell viability was calculated by comparing with 100% viability of untreated cells, as shown by Eq. (7).

$$\%\text{Cell viability} = \left(\frac{\text{A560 Sample}}{\text{A560 Control}}\right) \times 100 \quad (7)$$

where A_{560} Sample is the absorbance of sample and A_{560} Control is the absorbance of control.

3. Results and discussion

3.1. *Glycolysis reaction of PLLA*

For precipitation polymerization, all components must dissolve entirely in the continuous phase. Therefore, the molecular weight of PLLA must be reduced. The glycolysis reaction was used to reduce long chains of commercial PLLA under high temperature by trans-esterification between the ester (COOR) group of PLLA and the diol group of EG. The COOR group was broken and replaced by a hydroxyl (OH) group at the chain end of EG to obtain GPLLA (Fig. 2) [63,64]. The molecular weight of commercial PLLA decreased significantly from 100,000 to 17,000, 10,000 and 4000 g/mol at glycolysis reaction times of 60, 180 and 300 min, respectively. It is clearly seen that molecular weight distribution (MWD) (Fig. 2a) shifted to lower GPLLA (Fig. 2b-d) with reaction time. Moreover, MWD peaks of all GPLLA (Fig. 2b-d) were symmetrical and only a bit different (M_w/M_n:1.48–1.78), indicating that the glycolysis reaction smoothly proceeded. The obtained different molecular weights of PLLA and GPLLA were used in precipitation polymerization.

3.2. *PLLA-based particles and capsule synthesis*

In precipitation polymerization, the monomer, functional monomer and crosslinker are homogeneously dissolved in the continuous phase. When presenting the radical, polymerization takes place in the medium. Polymer particles were formed and precipitated from the medium. The obtained particles maintained their colloidal stability with electrostatic or steric chain stability on the surface. To produce PLLA-based particles, MAA providing the carboxyl group was used as the functional monomer, while acetonitrile was used as the solvent. Acetonitrile is a near theta solvent (θ solvent) for the formed polymers and is often used as the solvent in precipitation polymerization [55,70–73] to obtain spherical polymer particles. Acetonitrile is a suitable solvent with various monomers but has a low affinity with vinyl polymers such as PDVB, PAA and PMAA. Moreover, acetonitrile has a high dielectric constant (ε_r = 36). The carboxyl group of PAA and PMAA was easily deprotonated, giving a more negative charge on the particle surface [70] and particle stability.

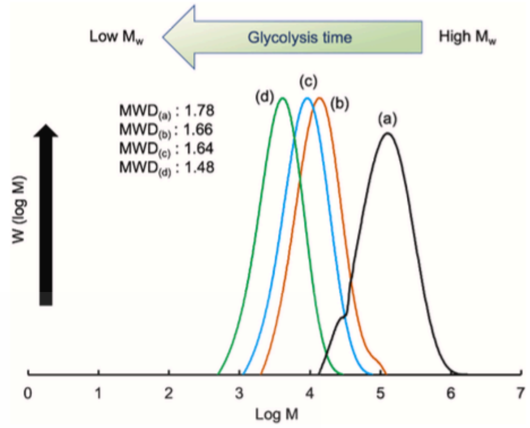


Fig. 2. The overlaid molecular weight distribution of commercial PLLA (a) and GPLLA (b-d) by glycolysis reaction at various reaction times of 60 (b), 180 (c) and 300 min (d).

The commercial PLLA (100,000 g/mol) could not be polymerized because it was insoluble in acetonitrile. In contrast, all lower GPLLA molecular weights, 4000, 10,000 and 17,000 g/mol, were dissolved entirely in acetonitrile (Run 1) at the concentration of about 5 wt%. It is because the solubility of GPLLA at 4000, 10,000, and 17,000 g/mol in acetonitrile at 70 °C were 7.58, 6.48 and 6.46 wt%, respectively, which were higher than those in the polymerization feed. PLLA-based particles (Run 1) were prepared using various molecular weights of GPLLA (4000, 10,000 and 17,000 g/mol). At lower molecular weights of GPLLA (4000 and 10,000 g/mol), the obtained particles were unstable and a large amount of coagulum was obtained. This occurred because the obtained particles swelled in the medium and easily aggregated. By contrast, polymerization proceeded smoothly with high conversion (99%) at a higher molecular weight (17,000 g/mol), and a milky emulsion (Fig. 3a) with no coagulation was obtained. This result indicated that the formed particles had high colloidal stability, concurring with the zeta potential measurement of −57 mV. Moreover, the number-average particle size (d_n) was 580 nm with a low dispersity index (PDI of 0.012), as shown in Fig. 3a'. Based on the high molecular weight (17,000 g/mol) of GPLLA, the formed particles had a low affinity with acetonitrile and precipitated out. The PLLA-based particles were thus able to maintain their shape.

The BPO initiator decomposed based on thermal initiation, giving a highly active radical (RO·) that abstracted H atoms and caused radically active sites on the GPLLA chain [56]. The functional monomer as MAA added onto the GPLLA active site. Polymer chain length increased until it reached a critical value (J_{crit}) and was no longer soluble in the medium. The PLLA-based particles were then assembled and precipitated

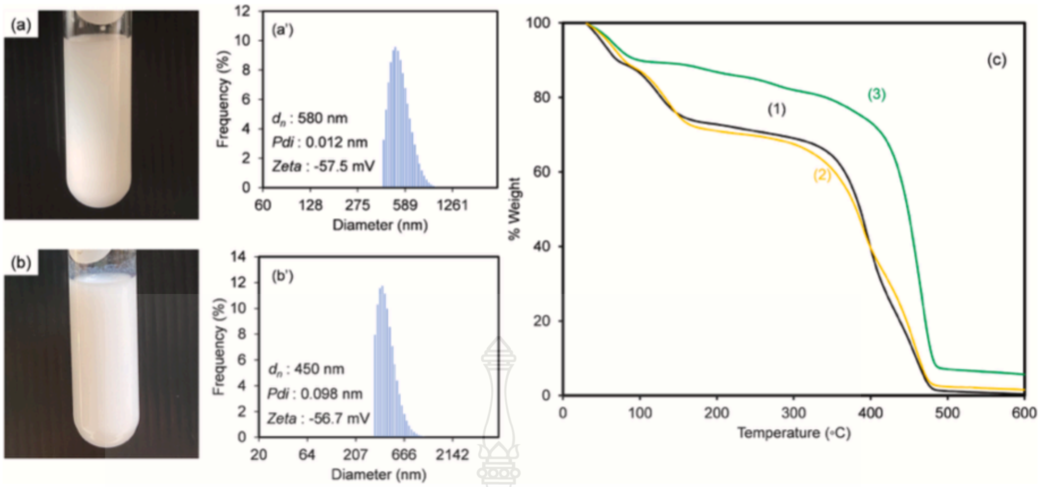


Fig. 3. Dispersion images (a and b) and DLS histograms (a' and b') of the PLLA-based particles prepared by precipitation polymerization using GPLLA with a molecular weight of 17,000 g/mol, using BPO (a and a') and V-501 (b and b') as initiators. TGA thermograms (c) of composite GPLLA/P(MAA-EGDMA) (1), and PLLA-based (GPLLA-g- PMAA) particles prepared with V-501 (2) and BPO (3).

out of the solution. These particles then captured more new oligomers nucleated in the medium for further growth. To confirm this idea, PLLA-based particles were also prepared with an azo initiator as V-501 with the exact condition of BPO. The carbon center radical initiated from V-501 had less reactive than peroxide radical in terms of hydrogen abstraction, giving a low active site on the GPLLA chain. Therefore, the GPLLA chain might not further be polymerized with any monomers via radical polymerization.

Fig. 3b shows that the milky emulsion of PLLA-based particles prepared with V-501 was similar to BPO. The d_n was about 450 nm with a low dispersity index (PDI of 0.098) as shown in Fig. 3b' and similar to d_n of using BPO. To determine whether the obtained particles were a copolymer or composite polymer, thermogravimetric analysis (TGA) was performed to observe the degradation of the prepared polymer. The degradation was expected to be one or two steps for copolymer and composite polymers, respectively. As shown in Fig. 3c(1), a two-step degradation (70–160 °C and 320–480 °C) was observed when TGA was used to measure composite GPLLA/PMAA, as blending of pristine GPLLA and PMAA. A similar result of PLLA-based particles using V-501 was also shown, where the first and second degradation steps were observed at 80–170 °C and 300–480 °C, respectively (Fig. 3c(2)), indicating that the formed PLLA-based particles might be a mixture of GPLLA and PMAA. During the polymerization of MAA, GPLLA soluble in continuous phase might partition in the self-assembly of PMAA particles. The Hildebrand solubility parameter (*δ*) of PLLA (21.3 $MPa^{1/2}$) [74] was similar to MAA (22.9 $MPa^{1/2}$) [75]. PLLA might enter the formed particles swollen MAA monomers and locate there until high conversion forming the composite GPLLA/PMAA. For PLLA-based particles prepared with BPO, only a one-step degradation (100–500 °C) was found without the degradation temperature of GPLLA (Fig. 3c(3)). Results revealed that the difference in the molecular structure of the radical initiator fragment affects the final polymer structure. One radical fragment type preferentially abstracts hydrogens, while another one preferentially propagates with monomer. Active sites were generated on the GPLLA backbone using the peroxide radical, and GPLLA-g-PMAA particles were successfully formed.

Moreover, PLLA-based particles using BPO were characterized with ^{1}H NMR. The purified PLLA-based (GPLLA-*g*-PMAA) particles (~100% yield) were dissolved in $CDCl_3$ to analyze the chemical structures with ^{1}H NMR compared with GPLLA and MAA monomers (dissolved in D_2O). ^{1}H NMR spectra of GPLLA, MAA and GPLLA-*g*-PMAA particles were overlaid, as shown in Fig. 4. Peaks at 5.2 and 1.6 ppm of both GPLLA and GPLLA-*g*-PMAA spectra were attributed to methine and methyl protons, respectively. Protons were found at 1.9–6.1 ppm, attributed to CH_3 (marked as 2) and CH_2 (marked as 1, the double bond) for both the MAA monomer and GPLLA-*g*-PMAA spectra. The intensity of peaks on MAA significantly decreased on GPLLA-g-PMAA, indicating that the percentage of monomer conversion was very high and near to 100%. Moreover, new peaks of methyl (marked as 2') and methine (marked as 1') protons at 0.9 and 2.0 ppm, respectively, of the PMAA chain in GPLLA-*g*-PMAA were observed. The chemical shift of both peaks was caused by the grafting of PMAA on the GPLLA chain [28,76].

GPLLA-*g*-PMAA particles were successfully prepared by precipitation polymerization; however, the obtained particles were relatively large (580 nm) due to absorbing acetonitrile during self-assembly. Moreover, GPLLA-*g*-PMAA particles had a low potential for chemical resistance. In Fig. 5, a milky emulsion of GPLLA-*g*-PMAA particles before (Fig. 5a) the addition of THF was observed. After the addition of THF, the milky emulsion gradually changed to a relatively bright milky emulsion after 25 min (Fig. 5b). This result concurred with the DLS measurement (Fig. 5e). The d_n (580 nm) of GPLLA- g-PMAA particles gradually increased with the addition of THF to over 1600 nm and could not be detected after 25 min. Hence, The obtained GPLLA- g-PMAA particles were unable to maintain their structure with presenting THF. Crosslinked polymer particles are suitable for wide-ranging applications, besides presenting crosslink in precipitation polymerization induced fast for fixing the self-assembly structures [77]. Here, EGDMA was then used as a crosslinker for PLLA-based particle preparation (Run 2). The milky emulsion of GPLLA-g-P(MAA-EGDMA) particles did not change with the addition of THF (Fig. 5c and d). After polymerization, the obtained d_n was about 300 nm and slightly increased to 350 nm after the addition of THF (Fig. 5f). The crosslinked GPLLA-g-P(MAA-EGDMA) particles showed significant stability.

Linalool, the monoterpene model, was used for encapsulation. In precipitation polymerization, the GPLLA-*g*-P(MAA-EGDMA) polymer chain assembles to form the particles and precipitates out of the solvent. When linalool is present in the medium, it mixes with the polymer chain during self-assembly and swells into the particles, finally existing in the

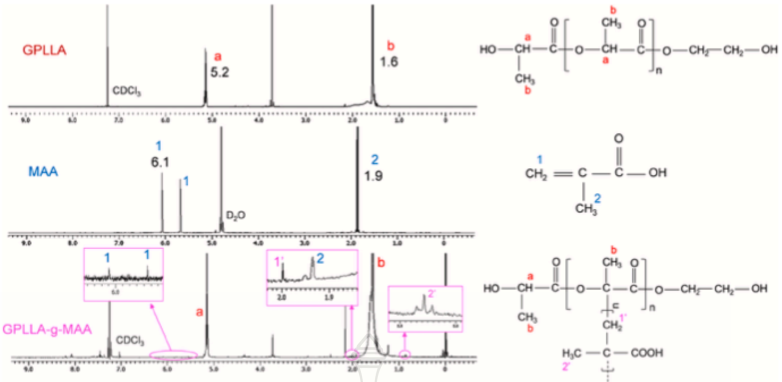


Fig. 4. [1]H NMR spectra of GPLLA, MAA and GPLLA-g-PMAA.

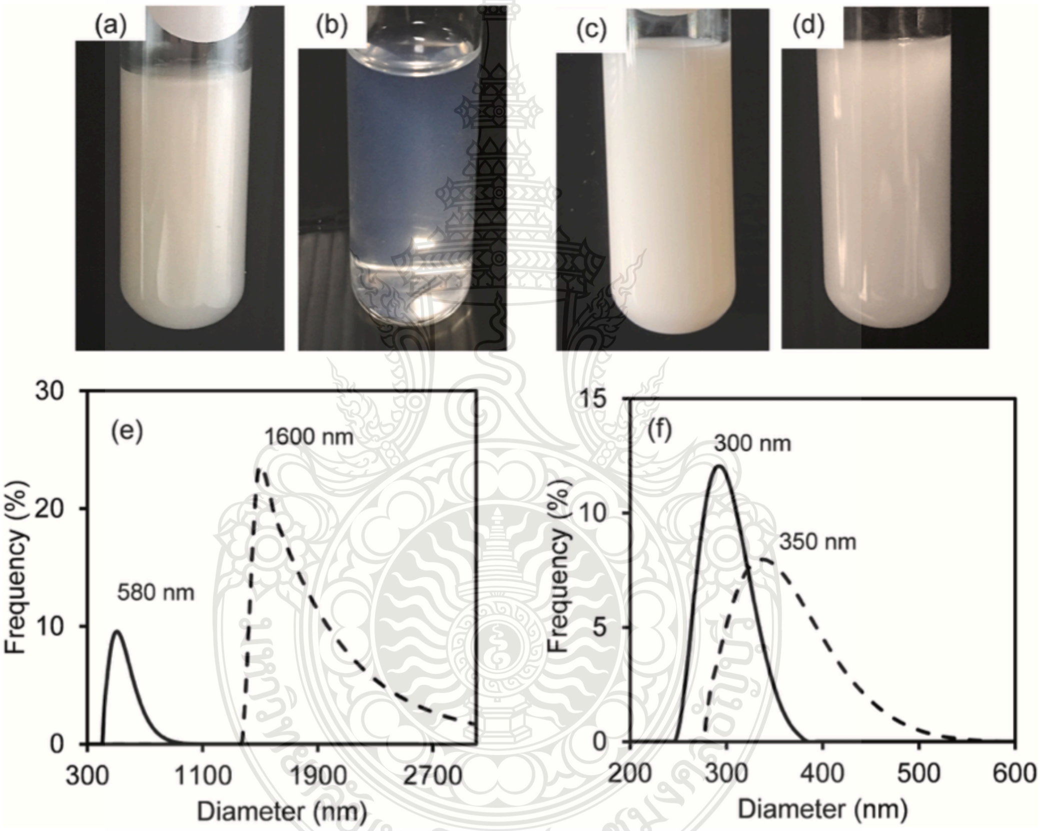


Fig. 5. Dispersion images (a-d) and particle size distribution (e and f) of GPLLA-g-PMAA (a,b and e) and GPLLA-g-P(MAA-EGDMA)(c, d and f) before (a, c and solid lines) and after (b, d and dashed lines) addition of THF.

PLLA-based capsule. The EGDMA and MAA contents were varied, while the amount of GPLLA was fixed at 50 wt% of all monomers as shown in the recipes in Table 1 (Runs 3–6). At contents of EGDMA up to 40%, the polymer particles showed good colloidal stability with zeta potentials over −35 mV. The d_n was about 300 nm for all cases with monodisperse (PDI lower than 0.075), as shown in Fig. 6(a-c). However, at an EGDMA of 45% (Table 1. (Run 6)), the obtained capsules were unstable, causing aggregation because of low carboxyl group content delivered from MAA, resulting in low surface charge. On the other hand, when the amount of EGDMA increased, %L_E and %EE also gradually increased (Fig. 6d) from

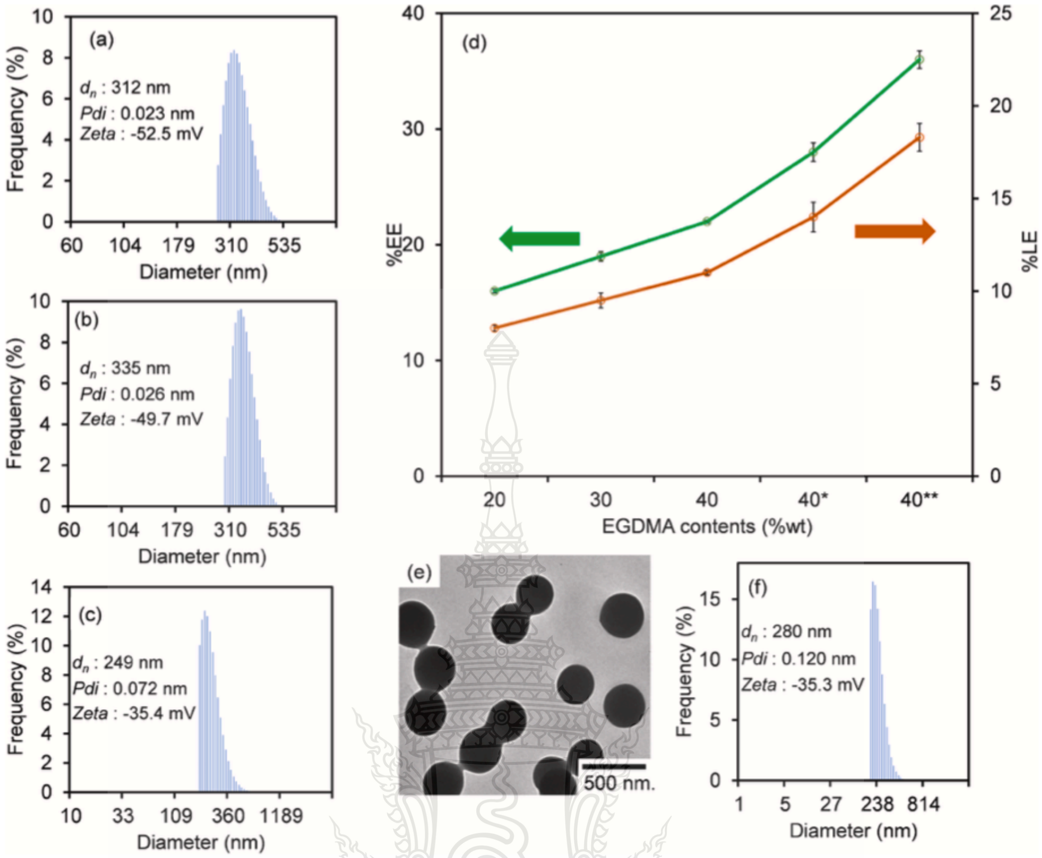


Fig. 6. Particle size distribution of PLLA-based capsule with the various ratios of GPLLA: MAA: EGDMA (%wt): 50: 30: 20 (a), 50: 20: 30 (b) and 50: 10: 40 (c). Encapsulation efficiency of linalool in GPLLA-*g*-P(MAA-EGDMA) capsule (d) with various EGDMA contents (%wt) where * and ** are the concentration of ethyl acetate at 10% and 20%, respectively. TEM photo (e) and DLS histogram (f) of GPLLA-*g*-P(MAA-EGDMA) capsules containing linalool using ratios of GPLLA: MAA: EGDMA (%wt) at 50: 10: 40 as polymer shell and ethyl acetate: acetonitrile ratio of 2:8 as a continuous phase.

8 to 11% and 16–22% for $\%L_E$ and %EE, respectively, using 20–40% EGDMA. It was because an increase in crosslink density caused higher internal cavities. As a result, the stable capsule of 40% EGDMA with the highest encapsulation efficiency was selected for further study.

High stability GPLLA-*g*-P(MAA-EGDMA) capsule particles were obtained, but the %EE was relatively low at 22 wt%. To improve %EE, a cosolvent as ethyl acetate was added to the precipitation polymerization system. Ethyl acetate with a δ of 18.2 $MPa^{1/2}$ [75] is a suitable solvent for linalool (19.7 $MPa^{1/2}$) [78]. Moreover, their δ values are close to GPLLA but far from the θ solvent as acetonitrile (24.3 $MPa^{1/2}$) [75]. Therefore, ethyl acetate was used as a cosolvent in precipitation polymerization to induce linalool to retain in the capsules during self-assembly. Various amounts of ethyl acetate were mixed with acetonitrile for use as the medium of precipitation polymerization. The %EE increased with ethyl acetate amount as 28% and 36% for 10 and 20% ethyl acetate, respectively (Fig. 6d). Moreover, at 20% of ethyl acetate, the particle size (280 nm) of the capsule in Fig. 6(c) is a bit increase from that (249 nm) of without cosolvent shown in Fig. 6(f). Results indicated that ethyl acetate allowed linalool to swell into the formed particles. However, further addition of ethyl acetate did not improve the encapsulation efficiency due to particle coagulation. The medium using 20% ethyl acetate was a suitable condition, where the obtained capsules represented excellent stability. The particle shape was spherical (Fig. 6e) with d_n of 280 nm and showed a relatively narrow particle size distribution (Fig. 6f).

It is the first time preparing a PLLA-based particle/capsule by radical precipitation polymerization. Although PLA-based particles were successfully prepared by dispersion polymerization via ring-opening of the lactide monomer using a graft copolymer stabilizer [50–52]. The particle sizes (~5 μm) were significantly larger than this work. Moreover, the encapsulation did not report. As mentioned in the introduction part, the copolymer stabilizer is also needed to control the molecular weight before being used. The preparation of PLLA-based microcapsules using suspension polymerization[28] was also reported. However, significantly larger particle sizes (5–20 μm) and broader size distribution were obtained. In addition, droplet generation with a high shear rate is needed before polymerization. The proposed method was operated at the mind stirring rate without stabilizer and a high shear rate. Therefore, it might be more beneficial for synthesizing PLLA-based particles and capsules where particle/capsule sizes were in the submicrometer-sized range (~250–580 nm) with a narrow particle size distribution.

3.3. Antimicrobial activity of the capsules

It is well known that linalool exhibits antimicrobial properties[79, 80]. Therefore, the antimicrobial activity of PLLA-based capsules containing linalool was evaluated using an agar well diffusion method. The clear zone on the disk around the capsule containing linalool (A position) revealed that bacteria (*E. coli*; Fig. 7a and *S. aureus;* Fig. 7b) and fungi (Fig. 7c) could not grow compared with pristine linalool (B position) using kanamycin and miconazole as the positive control (C position), and DMSO as the negative control (D position) (Fig. 7). Inhibition zone diameters for capsules containing linalool and pristine linalool were measured and shown in Fig. 7d. Inhibition zones for *E. coli*, *S. aureus* and *C. albicans* of the capsules were 2.5, 3.0 and 3.8 mm, respectively. These values were close to the utilization of pristine linalool at 2.8, 4.0 and 4.2 mm, for *E. coli*, *S. aureus* and *C. albicans*, respectively. Results indicated that the polymer shell did not disturb the antimicrobial properties of the encapsulated linalool, while encapsulated linalool easily diffused to the interface against both bacteria and fungi.

3.4. Cytotoxicity of the capsules

Strong antimicrobial activity of linalool and the PLLA-based polymer shell containing P(MAA-EGDMA) segment might induce cytotoxicity. Therefore, a toxicity test of PLLA-based capsules containing linalool on human skin fibroblast growth inhibition was evaluated using MTT assay and compared with pristine linalool, as shown in Fig. 7e. Using pristine linalool, percentage cell growth was not different from DMSO as the negative control (~100%) at concentrations of linalool at up to 0.01 mg/ml. However, percentage cell growth (~45 and ~10% for 0.1 and 1.0 mg/ml) was significantly reduced with a further increase in linalool concentration. Results indicated that concentrations of linalool over 0.01 mg/ml might be toxic to human cells. By contrast, percentage cell growth was maintained at about 100% from low (0.001 mg/ml) to high (1.0 mg/ml) concentrations of encapsulated linalool. Findings revealed that the PLLA-based shell did not affect the cytotoxicity and PLLA-based capsules containing linalool effectively inhibited the growth of bacteria and fungi but did not show toxicity to human cells. The PLLA-based polymer shell enveloped linalool, and the contact between linalool and human skin fibroblasts reduced, proving that linalool was encapsulated inside the PLLA-based capsules.

4. Conclusion

Stable monodisperse spherical PLLA-based particles/capsules were successfully prepared by radical precipitation polymerization using commercial PLLA as the starting material. PLLA biodegradable polymer, and EGDMA and MAA biocompatible polymers were used as the cross-linking and functional polymers. PLLA-based particles were achieved using fractions of EGDMA and MAA at 0.4 and 0.1, respectively. BPO was used as an initiator to generate active sites on the backbone of PLLA that smoothly grafted with the copolymer. This proposed system is simple for the preparation of a nearly monodisperse PLLA-based particle and capsule. The encapsulation of linalool was demonstrated. Ethyl acetate as the cosolvent, with similar solubility parameters to the encapsulated core and polymer shell, increased %EE to 36% with 18% loading capacity.The obtained capsules containing linalool showed high microbial activity against *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans* and were not

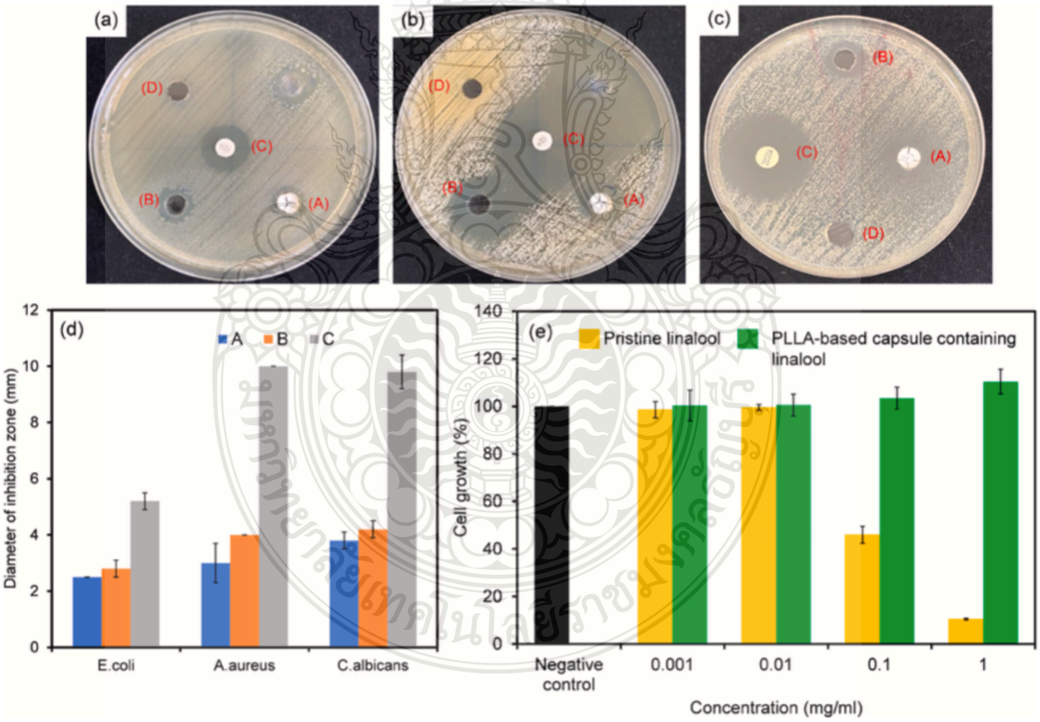


Fig. 7. *E. coli* (a), *S. aureus* (b) and *C. albicans* (c) inhibition zones and summarized inhibition zone diameter (d) of PLLA-based capsules containing linalool (A), pristine linalool (B), positive control (C), and negative control (D) on the agar plates. Cytotoxicity (e) of pristine linalool and PLLA-based capsules containing linalool at various concentrations on human skin fibroblasts.

toxic to human cells. The obtained bio-based particle/capsule can be used for personal care and biomedical functions as well as food applications.

CRediT authorship contribution statement

Chayanan Khotchana: Visualization, Investigation, Writing – original draft. **Pongsathon Phapugrangkul:** Writing – review & editing. **Pakorn Opaprakasit:** Writing – review & editing. **Dolnapa Kaewpa:** Writing – review & editing. **Preeyaporn Chaiyasat:** Conceptualization, Investigation, Writing – review & editing. **Amorn Chaiyasat:** Conceptualization, Methodology, Writing – original draft, Writing – review & editing, Validation.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

This research was supported by Thailand Science Research and Innovation (TSRI), Fundamental Fund 2021, No. 78039 (given to A. C. and P. C.) and the "Partnership Program in Production of Graduates in Master and Doctoral Degrees Between the Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) and Educational Institutions", Thailand Institute of Scientific and Technological Research (given to C. K.). The authors also thank RMUTT Central Lab, Institute of Research and Development, Rajamangala University of Technology Thanyaburi for facility support.

References

[1] A.L. Andrady, Microplastics in the marine environment, Mar. Pollut. Bull. 62 (2011) 1596–1605.
[2] D.K.A. Barnes, F. Galgani, R.C. Thompson, M. Barlaz, Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments, Philos. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci. 364 (2009) 1985–1998.
[3] M. Cole, P. Lindeque, C. Halsband, T.S. Galloway, Microplastics as contaminants in the marine environment: a review, Mar. Pollut. Bull. 62 (2011) 2588–2597.
[4] J.A. Ivar do Sul, M.F. Costa, The present and future of microplastic pollution in the marine environment, Environ. Pollut. 185 (2014) 352–364.
[5] R.C. Thompson, S.H. Swan, C.J. Moore, F.Sv Saal, Our plastic age, Philos. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci. 364 (2009) 1973–1976.
[6] S.A. Carr, J. Liu, A.G. Tesoro, Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants, Water Res. 91 (2016) 174–182.
[7] P.L. Corcoran, T. Norris, T. Ceccanese, M.J. Walzak, P.A. Helm, C.H. Marvin, Hidden plastics of Lake Ontario, Canada and their potential preservation in the sediment record, Environ. Pollut. 204 (2015) 17–25.
[8] M. Eriksen, S. Mason, S. Wilson, C. Box, A. Zellers, W. Edwards, H. Farley, S. Amato, Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes, Mar. Pollut. Bull. 77 (2013) 177–182.
[9] L.S. Fendall, M.A. Sewell, Contributing to marine pollution by washing your face: microplastics in facial cleansers, Mar. Pollut. Bull. 58 (2009) 1225–1228.
[10] L. Fok, P.K. Cheung, Hong Kong at the Pearl River Estuary: A hotspot of microplastic pollution, Mar. Pollut. Bull. 99 (2015) 112–118.
[11] C.M. Free, O.P. Jensen, S.A. Mason, M. Eriksen, N.J. Williamson, B. Boldgiv, High-levels of microplastic pollution in a large, remote, mountain lake, Mar. Pollut. Bull. 85 (2014) 156–163.
[12] H.K. Imhof, N.P. Ivleva, J. Schmid, R. Niessner, C. Laforsch, Contamination of beach sediments of a subalpine lake with microplastic particles, Curr. Biol. 23 (2013) R867–R868.
[13] A.L. Lusher, G. Hernandez-Milian, J. O'Brien, S. Berrow, I. O'Connor, R. Officer, Microplastic and macroplastic ingestion by a deep diving, oceanic cetacean: The True's beaked whale Mesoplodon mirus, Environ. Pollut. 199 (2015) 185–191.
[14] D. Mazurais, B. Ernande, P. Quazuguel, A. Severe, C. Huelvan, L. Madec, O. Mouchel, P. Soudant, J. Robbens, A. Huvet, J. Zambonino-Infante, Evaluation of the impact of polyethylene microbeads ingestion in European sea bass (Dicentrarchus labrax) larvae, Mar. Environ. Res. 112 (2015) 78–85.
[15] Y.K. Song, S.H. Hong, M. Jang, G.M. Han, M. Rani, J. Lee, W.J. Shim, A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples, Mar. Pollut. Bull. 93 (2015) 202–209.
[16] S. Zhao, L. Zhu, D. Li, Microplastic in three urban estuaries, China, Environ. Pollut. 206 (2015) 597–604.
[17] O. Dogu, M. Pelucchi, R. Van de Vijver, P.H.M. Van Steenberge, D.R. D'Hooge, A. Cuoci, M. Mehl, A. Frassoldati, T. Faravelli, K.M. Van Geem, The chemistry of chemical recycling of solid plastic waste via pyrolysis and gasification: State-of-the-art, challenges, and future directions, Prog. Energy Combust. Sci. 84 (2021), 100901.
[18] J.G.B. Derraik, The pollution of the marine environment by plastic debris: a review, Mar. Pollut. Bull. 44 (2002) 842–852.
[19] A. Tardy, J. Nicolas, D. Gigmes, C. Lefay, Y. Guillaneuf, Radical ring-opening polymerization: scope, limitations, and application to (bio)degradable materials, Chem. Rev. 117 (2017) 1319–1406.
[20] D. Gigmes, P.H.M. Van Steenberge, D. Siri, D.R. D'hooge, Y. Guillaneuf, C. Lefay, Simulation of the degradation of cyclic ketene acetal and vinyl-based copolymers synthesized via a radical process: influence of the reactivity ratios on the degradability properties, Macromol. Rapid Commun. 39 (2018), 1800193.
[21] T. Casalini, F. Rossi, A. Castrovinci, G. Perale, A Perspective on Polylactic Acid-Based Polymers Use for Nanoparticles Synthesis and Applications, Front. Bioeng. Biotechnol. 7 (2019).
[22] N.F. Zaaba, M. Jaafar, A review on degradation mechanisms of polylactic acid: Hydrolytic, photodegradative, microbial, and enzymatic degradation, Polym. Eng. Sci. 60 (2020) 2061–2075.
[23] J. Panyam, V. Labhasetwar, Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue, Adv. Drug Deliv. Rev. 55 (2003) 329–347.
[24] H.R. Kricheldorf, Syntheses and application of polylactides, Chemosphere 43 (2001) 49–54.
[25] S. Duvvuri, K. Gaurav Janoria, A.K. Mitra, Effect of polymer blending on the release of ganciclovir from PLGA microspheres, Pharm. Res. 23 (2006) 215–223.
[26] O. Benny, M. Duvshani-Eshet, T. Cargioli, L. Bello, A. Bikfalvi, R.S. Carroll, M. Machluf, Continuous delivery of endogenous inhibitors from poly(lactic-Co-glycolic acid) polymeric microspheres inhibits glioma tumor growth, Clin. Cancer Res.: Off. J. Am. Assoc. Cancer Res. 11 (2005) 768–776.
[27] N. Srisawang, A. Chaiyasat, P. Ngernchuklin, P. Chaiyasat, Novel reusable pH-responsive photocatalyst polymeric microcapsules for dye treatment, Int. J. Energy Res. 45 (2021) 7535–7548.
[28] P. Sangjun, A. Chaiyasat, Poly(L-lactic acid)-based microcapsule containing phase-change material: influence of polymer shell on particle morphology, Fibers Polym. 21 (2020) 935–943.
[29] C. Klubchom, P. Chaiyasat, A. Chaiyasat, Composite polymer particles containing bismuth vanadate particles for self-cleaning fabrics, J. Ind. Text. (2020), 152808372096075, https://doi.org/10.1177/1528083720960752.
[30] J. Sadchaiyaphum, P. Phapugrangkul, P. Chaiyasat, A. Chaiyasata, High encapsulation efficiency of magnetite nanoparticles in hydrophobic polymer microcapsules using microsuspension conventional radical polymerization, Oriental J. Chem. 35 (2019) 516–522.
[31] S. Jantang, P. Chaiyasat, High performance poly(methyl methacrylate-acrylic acid-divinylbenzene) microcapsule encapsulated heat storage material for thermoregulating textiles, Fibers Polym. 19 (2018) 2039–2048.
[32] C. Huang, N. Yamashita, A. Chaiyasat, X. Liu, M. Okubo, Microsuspension iodine transfer polymerization (ms ITP) for synthesis of micrometer-size, "hydrophilic" polymer particles, Polymer 154 (2018) 128–134.
[33] A. Chaiyasat, S. Namwong, B. Uapipatanakul, W. Sajomsang, P. Chaiyasat, Innovative bifunctional microcapsule for heat storage and antibacterial properties, Int. J. GEOMATE 14 (2018) 91–98.
[34] J. Pansuwan, A. Chaiyasat, Innovative and high performance synthesis of microcapsules containing methyl anthranilate by microsuspension iodine transfer polymerization, Polym. Int. 66 (2017) 1921–1927.
[35] S. Namwong, M.Z. Islam, S. Noppalit, 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. Part A: Pure Appl. Chem. 53 (2016) 11–17.
[36] P. Chaiyasat, S. Noppalit, M. Okubo, A. Chaiyasat, Innovative synthesis of high performance poly(methyl methacrylate) microcapsules with encapsulated heat storage material by microsuspension iodine transfer polymerization (ms ITP), Sol. Energy Mater. Sol. Cells 157 (2016) 996–1003.
[37] P. Chaiyasat, S. Namwong, M. Okubo, A. Chaiyasat, Synthesis of micrometer-sized poly(methyl methacrylate) particles by microsuspension iodine transfer polymerization (ms ITP), RSC Adv. 6 (2016) 95062–95066.
[38] S. Namwong, S. Noppalit, M. Okubo, S. Moonmungmee, P. Chaiyasat, A. Chaiyasat, Latent heat enhancement of paraffin wax in poly(divinylbenzene-co-methyl methacrylate) microcapsule, Polym. Plast. Technol. Eng. 54 (2015) 779–785.
[39] P. Chaiyasat, S. Noppalit, M. Okubo, A. Chaiyasat, Do encapsulated heat storage materials really retain their original thermal properties? Phys. Chem. Chem. Phys. 17 (2015) 1053–1059.
[40] S. Beckers, S. Peil, F.R. Wurm, Pesticide-loaded nanocarriers from lignin sulfonates—a promising tool for sustainable plant protection, ACS Sustain. Chem. Eng. 8 (2020) 18468–18475.
[41] E. Alehosseini, S.M. Jafari, Nanoencapsulation of phase change materials (PCMs) and their applications in various fields for energy storage and management, Adv. Colloid Interface Sci. 283 (2020), 102226.
[42] S. Seneca, S.K. Pramanik, L. D'Olieslaeger, G. Reekmans, D. Vanderzande, P. Adriaensens, A. Ethirajan, Nanocapsules with stimuli-responsive moieties for controlled release employing light and enzymatic triggers, Mater. Chem. Front. 4 (2020) 2103–2112.
[43] K. Thananukul, A. Petchsuk, W. Supmak, P. Chaiyasat, A. Chaiyasat, P. Opaprakasit, Preparation of crosslinked poly(Lactic acid-co-glycidyl methacrylate) microspheres by phase inversion emulsification, Chiang Mai J. Sci. 45 (2018) 2048–2058.

[44] P. Chaiyasat, P. Pholsrimuang, W. Boontung, 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. 55 (2016) 1131–1136.

[45] P. Chaiyasat, A. Chaiyasat, P. Teeka, S. Noppalit, U. Srinorachun, Preparation of poly(l-lactic acid) microencapsulated vitamin E, Energy Procedia 34 (2013) 656–663.

[46] E. Hajba-Horváth, E. Biró, M. Mirankó, A. Fodor-Kardos, L. Trif, T. Feczkó, Preparation and in vitro characterization of valsartan-loaded ethyl cellulose and poly(methyl methacrylate) nanoparticles, RSC Adv. 10 (2020) 43915–43926.

[47] W. Yang, R.A. Hutchinson, Investigating the effectiveness of reactive dispersants in non-aqueous dispersion polymerization, Macromol. React. Eng. 10 (2016) 71–81.

[48] M. Zhang, R.A. Hutchinson, Design of acrylic dispersants for nonaqueous dispersion polymerization: the importance of thermodynamics, Macromol. React. Eng. 12 (2018), 1800025.

[49] M. Zhang, R.A. Hutchinson, Synthesis and utilization of low dispersity acrylic macromonomer as dispersant for nonaqueous dispersion polymerization, Macromolecules 51 (2018) 6267–6275.

[50] M. Muranaka, T. Ono, Role of dispersion stabilizer with hydroxy groups in preparation of monodisperse polylactide microspheres, J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem. 47 (2009) 5230–5240.

[51] S. Slomkowski. Ring-Opening Dispersion Polymerization, Polymer Science: A Comprehensive Reference 10 Volume Set, 2012, pp. 645–660.

[52] M. Muranaka, H. Yoshizawa, T. Ono, Design of polylactide-grafted copolymeric stabilizer for dispersion polymerization of D,L-lactide, Colloid Polym. Sci. 287 (2009) 525–532.

[53] Q. Xia, Y. Yun, Q. Li, Z. Huang, Z. Liang, Preparation and characterization of monodisperse molecularly imprinted polymer microspheres by precipitation polymerization for kaempferol, Des. Monomers Polym. 20 (2017) 201–209.

[54] Z. Tang, C. Liu, J. Wang, H. Li, Y. Ji, G. Wang, C. Lu, Preparation and characterization of monodisperse molecularly imprinted polymers for the recognition and enrichment of oleanolic acid, J. Sep. Sci. 39 (2016) 1592–1602.

[55] R. Karnka, P. Chaiyasat, A. Chaiyasat, Synthesis of uniform and stable molecularly imprinted polymer particles by precipitation polymerization, Oriental J. Chem. 33 (2017) 2370–2376.

[56] M. Tamizifar, G. Sun, Control of surface radical graft polymerization on polyester fibers by using Hansen solubility parameters as a measurement of the affinity of chemicals to materials, RSC Adv. 7 (2017) 13299–13303.

[57] N.J. Huang, D.C. Sundberg, Fundamental studies of grafting reactions in free radical copolymerization. III. Grafting of styrene, acrylate, and methacrylate monomers onto cis-polybutadiene using benzoyl peroxide initiator in solution polymerization, J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem. 33 (1995) 2571–2586.

[58] P. Christian, S. Tumphart, H.M.A. Ehmann, H. Riegler, A.M. Coclite, O. Werzer, Controlling indomethacin release through vapor-phase deposited hydrogel films by adjusting the cross-linker density, Scientific Reports 8 (2018) 7134.

[59] M.F. Akhtar, N.M. Ranjha, M. Hanif, Effect of ethylene glycol dimethacrylate on swelling and on metformin hydrochloride release behavior of chemically crosslinked pH–sensitive acrylic acid–polyvinyl alcohol hydrogel, DARU J. Pharm. Sci. 23 (2015) 41.

[60] M. Mahkam, L. Vakhshouri, Colon-specific drug delivery behavior of pH-responsive PMAA/perlite composite, Int. J. Mol. Sci. 11 (2010) 1546–1556.

[61] Y. Zhang, W. Gu, J. Zhao, Z. Qin, A facile, efficient and "green" route to pH-responsive crosslinked poly(methacrylic acid) nanoparticles, Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp. 531 (2017) 1–8.

[62] M.F. Oliveira, D. Suarez, J.C.B. Rocha, A.V.N. de Carvalho Teixeira, M.E. Cortés, F. B. De Sousa, R.D. Sinisterra, Electrospun nanofibers of polyCD/PMAA polymers and their potential application as drug delivery system, Mater. Sci. Eng.: C 54 (2015) 252–261.

[63] J. Tounthai, A. Petchsuk, P. Opaprakasit, M. Opaprakasit, Curable polyester precursors from polylactic acid glycolyzed products, Polym. Bull. 70 (2013) 2223–2238.

[64] O. Torpanyacharn, P. Sukpuang, A. Petchsuk, P. Opaprakasit, M. Opaprakasit, Curable precursors derived from chemical recycling of poly(ethylene terephthalate) and polylactic acid and physical properties of their thermosetting (co)polyesters, Polym. Bull. 75 (2018) 395–414.

[65] J.S. Downey, R.S. Frank, W.-H. Li, H.D.H. Stöver, Growth mechanism of poly (divinylbenzene) microspheres in precipitation polymerization, Macromolecules 32 (1999) 2838–2844.

[66] I. Pereira, P. Severino, A.C. Santos, A.M. Silva, E.B. Souto, Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems, Colloids Surf. B: Biointerfaces 171 (2018) 566–578.

[67] R.C. Beier, J.A. Byrd, L.F. Kubena, M.E. Hume, J.L. McReynolds, R.C. Anderson, D. J. Nisbet, Evaluation of linalool, a natural antimicrobial and insecticidal essential oil from basil: Effects on poultry1, Poult. Sci. 93 (2014) 267–272.

[68] H. Kobayashi, A. Chaiyasat, Y. Oshima, T. Suzuki, M. Okubo, Incorporation of nonionic emulsifier inside carboxylated polymer particles during emulsion copolymerization: Influence of methacrylic acid content, Langmuir 25 (2009) 101–106.

[69] A. Chaiyasat, H. Kobayashi, M. Okubo, Incorporation of nonionic emulsifier inside methacrylic polymer particles in emulsion polymerization, Colloid Polym. Sci. 285 (2007) 557–562.

[70] T. Nakano, N. Saito, H. Minami, Preparation of cross-linked monodisperse poly (acrylic acid) particles by precipitation polymerization, Langmuir 36 (2020) 11957–11962.

[71] R. Joso, E.H. Pan, M.H. Stenzel, T.P. Davis, C. Barner-Kowollik, L. Barner, Ambient temperature synthesis of well-defined microspheres via precipitation polymerization initiated by UV-irradiation, J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem. 45 (2007) 3482–3487.

[72] F. Limé, K. Irgum, Preparation of divinylbenzene and divinylbenzene-co-glycidyl methacrylate particles by photoinitiated precipitation polymerization in different solvent mixtures, Macromolecules 42 (2009) 4436–4442.

[73] J. Jiang, Y. Zhang, X. Guo, H. Zhang, Ambient temperature synthesis of narrow or monodisperse, highly cross-linked, and "living" polymer microspheres by atom transfer radical precipitation polymerization, RSC Adv. 2 (2012) 5651–5662.

[74] G. Biresaw, C.J. Carriere, Interfacial tension of poly(lactic acid)/polystyrene blends, J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys. 40 (2002) 2248–2258.

[75] W. Zeng, Y. Du, Y. Xue, H.L. Frisch, Solubility parameters, in: J.E. Mark (Ed.), Physical Properties of Polymers Handbook, Springer, New York, NY, 2007, pp. 289–303.

[76] T.C. Nguyen, C. Ruksakulpiwat, Y. Ruksakulpiwat, The study on the grafting of glycidyl methacrylate onto poly(lactic acid) in an internal mixer, Walailak J. Sci. Technol. 13 (2016) 1037–1046.

[77] J. Sarkar, A.W. Jackson, A.M. van Herk, A. Goto, Synthesis of nano-capsules via aqueous emulsion RCMP-PISA and encapsulation, Polym. Chem. 11 (2020) 3904–3912.

[78] P. Leelaphiwat, R.A. Auras, G.J. Burgess, J.B. Harte, V. Chonhenchob, Preliminary quantification of the permeability, solubility and diffusion coefficients of major aroma compounds present in herbs through various plastic packaging materials, J. Sci. Food Agric. 98 (2018) 1545–1553.

[79] X. Liu, J. Cai, H. Chen, Q. Zhong, Y. Hou, W. Chen, W. Chen, Antibacterial activity and mechanism of linalool against Pseudomonas aeruginosa, Microb. Pathog. 141 (2020), 103980.

[80] F. Guo, Q. Chen, Q. Liang, M. Zhang, W. Chen, H. Chen, Y. Yun, Q. Zhong, W. Chen, Antimicrobial Activity and Proposed Action Mechanism of Linalool Against Pseudomonas fluorescens, Front. Microbiol. 12 (2021).

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces

Supports *open access*

8.2 CiteScore

5.268 Impact Factor

สำหรับเจ้าหน้าที่	
วันรับคำขอ 26 พ.ย. 2563	เลขที่คำขอ
วันยื่นคำขอ 26 พ.ย. 2563	2003003198
สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ ประเภทผลิตภัณฑ์	
วันประกาศโฆษณา	เลขที่ประกาศโฆษณา
วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่	

คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

☐ การประดิษฐ์
☐ การออกแบบผลิตภัณฑ์
☑ อนุสิทธิบัตร

ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535 และ พระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ สูตรและกรรมวิธีการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ

2. คำขอรับสิทธิบัตรการออกแบบผลิตภัณฑ์นี้เป็นคำขอสำหรับแบบผลิตภัณฑ์อย่างเดียวกันและเป็นคำขอลำดับที่
ในจำนวน คำขอ ที่ยื่นในคราวเดียวกัน

3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☐ บุคคลธรรมดา ☐ นิติบุคคล ☑ หน่วยงานรัฐ ☐ มูลนิธิ ☐ อื่นๆ
ชื่อ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ที่อยู่ 39 หมู่ 1 ถนนรังสิต-นครนายก
ตำบล/แขวง คลองหก อำเภอ/เขต ธัญบุรี จังหวัด ปทุมธานี รหัสไปรษณีย์ 12110 ประเทศ ไทย
อีเมล mayuree_j@rmutt.ac.th
☐ เลขประจำตัวประชาชน ☐ เลขทะเบียนนิติบุคคล ☑ เลขประจำตัวผู้เสียภาษีอากร 0 9 9 4 0 0 0 1 5 3 1 8 0 ☑ เพิ่มเติม (ดังแนบ)
ในกรณีที่กรมฯ สื่อสารกับท่าน ท่านสะดวกใช้ทาง ☑ อีเมลผู้ขอ ☐ อีเมลตัวแทน

3.1 สัญชาติ ไทย
3.2 โทรศัพท์ 0 2549 4493
3.3 โทรสาร 0 2549 4680

4. สิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
☐ ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ ☑ ผู้รับโอน ☐ ผู้ขอรับสิทธิโดยเหตุอื่น

5. ตัวแทน (ถ้ามี)
ชื่อ
ที่อยู่
ตำบล/แขวง อำเภอ/เขต จังหวัด รหัสไปรษณีย์ ประเทศ
อีเมล
เลขประจำตัวประชาชน ☐ เพิ่มเติม (ดังแนบ)

5.1 ตัวแทนเลขที่
5.2 โทรศัพท์
5.3 โทรสาร

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์ ☐ ชื่อและที่อยู่เดียวกันกับผู้ขอ
ชื่อ นายอมร ไชยสัตย์
ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี เลขที่ 39 หมู่ 1 ถนนรังสิต-นครนายก
ตำบล/แขวง คลองหก อำเภอ/เขต ธัญบุรี จังหวัด ปทุมธานี รหัสไปรษณีย์ 12110 ประเทศ ไทย
อีเมล a_chaiyasat@mail.rmutt.ac.th
เลขประจำตัวประชาชน 3 3 4 0 4 0 0 3 1 6 1 8 0 ☑ เพิ่มเติม (ดังแนบ)

7. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิม
ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้ถือว่าได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ในวันเดียวกับคำขอรับสิทธิบัตร
เลขที่ วันยื่น เพราะคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิมเพราะ
☐ คำขอเดิมมีการประดิษฐ์หลายอย่าง ☐ ถูกคัดค้านเนื่องจากผู้ขอไม่มีสิทธิ ☐ ขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ

หมายเหตุ ในกรณีที่ไม่อาจระบุรายละเอียดได้ครบถ้วน ให้จัดทำเป็นเอกสารแนบท้ายแบบพิมพ์นี้โดยระบุหมายเลขกำกับข้อและหัวข้อที่แสดงรายละเอียดเพิ่มเติมดังกล่าวด้วย

สำหรับเจ้าหน้าที่

จำแนกประเภทสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

☐ กลุ่มวิศวกรรม	☐ กลุ่มเคมี	สิทธิบัตรการออกแบบ	อนุสิทธิบัตร
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (วิศวกรรม)	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เคมีเทคนิค)	☐ สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 1)	☐ อนุสิทธิบัตร (วิศวกรรม)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ไฟฟ้า)	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ปิโตรเคมี)	☐ สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 2)	☐ อนุสิทธิบัตร (เคมี)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ฟิสิกส์)	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เทคโนโลยีชีวภาพ)	☐ สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 3)	
	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เภสัชภัณฑ์)		

8. การยื่นคำขอนอกราชอาณาจักร ☐ PCT ☐ เพิ่มเติม (ดังแนบ)

วันยื่นคำขอ	เลขที่คำขอ	ประเทศ	สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	สถานะคำขอ
8.1				
8.2				
8.3				

8.4 ☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอสิทธิให้ถือว่าได้ยื่นคำขอนี้ในวันที่ได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรในต่างประเทศเป็นครั้งแรกโดย
☐ ได้ยื่นเอกสารหลักฐานพร้อมคำขอนี้ ☐ ขอยื่นเอกสารหลักฐานหลังจากวันยื่นคำขอนี้

9. การแสดงการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรได้แสดงการประดิษฐ์ที่หน่วยงานของรัฐเป็นผู้จัด
วันแสดง วันเปิดงานแสดง ผู้จัด

10. การประดิษฐ์เกี่ยวกับจุลชีพ

10.1 เลขทะเบียนฝากเก็บ	10.2 วันที่ฝากเก็บ	10.3 สถาบันฝากเก็บ/ประเทศ

11. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอยื่นเอกสารภาษาต่างประเทศก่อนในวันยื่นคำขอนี้ และจะจัดยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ที่จัดทำเป็นภาษาไทยภายใน 90 วัน นับจากวันยื่นคำขอนี้ โดยขอยื่นเป็นภาษา
☐ อังกฤษ ☐ ฝรั่งเศส ☐ เยอรมัน ☐ ญี่ปุ่น ☐ อื่นๆ

12. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้อธิบดีประกาศโฆษณาคำขอรับสิทธิบัตร หรือรับจดทะเบียน และประกาศโฆษณาอนุสิทธิบัตรนี้ หลังจากวันที่
☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอให้ใช้รูปเขียนหมายเลข ในการประกาศโฆษณา

13. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ประกอบด้วย
ก. แบบพิมพ์คำขอ 3 หน้า
ข. รายละเอียดการประดิษฐ์ หรือคำพรรณนาแบบผลิตภัณฑ์ 4 หน้า
ค. ข้อถือสิทธิ 2 หน้า
ง. รูปเขียน 1 รูป 1 หน้า
จ. ภาพแสดงแบบผลิตภัณฑ์
☐ รูปเขียน รูป หน้า
☐ ภาพถ่าย รูป หน้า
ฉ. บทสรุปการประดิษฐ์ 1 หน้า

14. เอกสารประกอบคำขอ
☑ เอกสารแสดงสิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
☐ หนังสือรับรองการแสดงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์
☐ หนังสือมอบอำนาจ
☐ เอกสารรายละเอียดเกี่ยวกับจุลชีพ
☐ เอกสารการขอนับวันยื่นคำขอในต่างประเทศเป็นวันยื่นคำขอในประเทศไทย
☐ เอกสารขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ
☑ เอกสารอื่นๆ

15. ข้าพเจ้าขอรับรองว่า
☑ การประดิษฐ์นี้ไม่เคยยื่นขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรมาก่อน
☐ การประดิษฐ์นี้ได้พัฒนาปรับปรุงมาจาก

16. ลายมือชื่อ
☑ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☐ ตัวแทน
(นายสมหมาย ผิวสอาด) (นางชุติมา เอี่ยมโชติชวลิต)

หมายเหตุ บุคคลใดยื่นขอรับสิทธิบัตรการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ หรืออนุสิทธิบัตร โดยการแสดงข้อความอันเป็นเท็จแก่พนักงานเจ้าหน้าที่ เพื่อให้ได้ไปซึ่งสิทธิบัตรหรืออนุสิทธิบัตร ต้องระวางโทษจำคุกไม่เกินหกเดือน หรือปรับไม่เกินห้าพันบาท หรือทั้งจำทั้งปรับ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ใบต่อแนบท้าย แบบ สป/สผ/อสป/001-ก

3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร (ต่อ)
2) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
เลขที่ 35 หมู่ 3 เทคโนธานี ถนนเลียบคลองห้า ตำบลคลองห้า อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120
เลขประจำตัวผู้เสียภาษีอากร 0994000165617
อีเมล์ pongsaton@tistr.or.th

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์ (ต่อ)
2) ชื่อผู้ประดิษฐ์ นางสาวชยานันท์ โครตชนะ
ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
เลขที่ 39 หมู่ 1 ถนนรังสิต-นครนายก (คลองหก) ตำบลคลองหก อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110
อีเมล์ chayanan_k@rmutt.ac.th
เลขบัตรประจำตัวประชาชน 1429900152489

3) ชื่อผู้ประดิษฐ์ นางปรียาภรณ์ ไชยสัตย์
ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
เลขที่ 39 หมู่ 1 ถนนรังสิต-นครนายก (คลองหก) ตำบลคลองหก อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110
อีเมล์ p_chaiyasat@mail.rmutt.ac.th
เลขบัตรประจำตัวประชาชน 3820500059494

4) ชื่อผู้ประดิษฐ์ นายพงศธร ประภัครางกูล
ที่อยู่ ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
35 หมู่ 3 เทคโนธานี ถ.เลียบคลองห้า ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120 ประเทศไทย
อีเมล์ pongsaton@tistr.or.th
เลขบัตรประจำตัวประชาชน 3100501855576

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

รายละเอียดการประดิษฐ์

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

สูตรและกรรมวิธีการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ

สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

สาขาเคมีพอลิเมอร์ที่เกี่ยวข้องกับสูตรและกรรมวิธีการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพในกระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอน

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันมีการนำพอลิเมอร์มาใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ มากมาย เนื่องจากพอลิเมอร์มีคุณสมบัติที่เด่นหลายด้าน เช่น น้ำหนักเบา ทนทานสูง ทนต่อการกัดกร่อน ส่งผลให้ทั่วโลกมีการนำพอลิเมอร์มาใช้งานจำนวนมากตลอดหลายสิบปีที่ผ่านมา (มากกว่า 200 ล้านตันต่อปี) พอลิเมอร์ที่นิยมนำมาใช้ เช่น พอลิเอทิลีน (Polyethyelene; PE) พอลิโพรพิลีน (Polypropylene; PP) พอลิสไตรีน (Polystyrene; PS) และพอลิ(เอทิลลีนเทอเรพทาเลต) (Poly(ethylene terephthalate); PET) ซึ่งมีความคงทนและสลายตัวได้ยาก บางชนิดต้องใช้เวลานานหลายสิบปีจึงจะย่อยสลายได้ ด้วยเหตุนี้จึงเกิดปัญหาการตกค้างของพอลิเมอร์ในธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอนุภาคของพอลิเมอร์ขนาดเล็กในแหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วโลก และได้ทวีความรุนแรงมากยิ่งขึ้นเมื่อมีการตรวจพบอนุภาคของพอลิเมอร์ในสัตว์ทะเล อีกทั้งยังเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของสัตว์ทะเลบางประเภทอีกด้วย และยังมีโอกาสที่อนุภาคเหล่านี้จะเข้าสู่ร่างกายมนุษย์เมื่อมีการบริโภคอาหารทะเล

ดังนั้น พอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer) ที่สามารถย่อยสลายได้เองในธรรมชาติจึงได้รับความสนใจเพื่อทดแทนพอลิเมอร์ดั้งเดิม ซึ่งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และไม่ก่อให้เกิดการตกค้างในสิ่งแวดล้อม โดยพอลิแลคติกแอซิด (Poly lactic acid; PLA) เป็นหนึ่งในพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีการใช้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพโดยการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) หรือการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (Enzymatic degradation) ไม่มีความเป็นพิษ และสามารถใช้ทางการแพทย์ได้ โดยทั่วไปจะใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์หรือเป็นบรรจุภัณฑ์โดยการขึ้นรูปเป็นไหมละลาย วัสดุยึดกระดูก ขวดและถุง แต่ยังไม่ค่อยมีการนำพอลิเมอร์ดังกล่าวมาใช้ในรูปของอนุภาคพอลิเมอร์และแคปซูล อาจเนื่องมาจากกลไกการสังเคราะห์พอลิแลคติกแอซิดที่มีการต่อสายโซ่แบบควบแน่นไม่เหมาะสมในการสังเคราะห์ในระบบคอลลอยด์ หรือหากนำพอลิเมอร์มาทำเป็นอนุภาคหลังจากการสังเคราะห์แล้วก็จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เช่นคลอโรฟอร์ม (Chloroform) หรือไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) จำนวนมาก ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าสารเหล่านี้มีความเป็นพิษสูง โดยในงานประดิษฐ์นี้จะเสนอวิธีการเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีพอลิแลคติคแอซิดเป็นองค์ประกอบหลัก โคพอลิเมอร์กับพอลิเมอร์ที่เข้ากันได้ทางชีวภาพ ผ่านกลไกการสังเคราะห์แบบอนุมูลอิสระ (Free radical polymerization) โดยใช้เทคนิคการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอน (Precipitation polymerization) ซึ่งจะทำให้ได้แคปซูลที่มีขนาดใกล้เคียงกัน และไม่ต้องใช้แรงเฉือนสูงในการสังเคราะห์ ทั้งนี้จะเลือกใช้ตัวริเริ่มปฏิกิริยา (Initiator) ชนิดที่ชอบจับไฮโดรเจน เพื่อให้เกิดอนุมูลอิสระที่กลางสายโซ่ของพอลิแลคติกแอซิด มอนอเมอร์ที่เข้ากันได้ทางชีวภาพ จะสามารถกราฟต์ (Grafting) ลงบนสายโซ่ดังกล่าวได้ และเมื่อมีมอนอเมอร์

เชื่อมร่างแห เกิดการต่อสายโซ่ร่วม จะทำให้พอลิแลคติคแอซิด ที่ถูกกราฟต์ไม่สามารถละลายในระบบได้ จะประกอบตัวเอง (Self-assembly) เกิดเป็นอนุภาคพอลิเมอร์ หากมีการเติมสารที่ต้องการหุ้มและมีความเข้ากันได้ดีกับพอลิเมอร์ลงในระบบสังเคราะห์ อนุภาคพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นจะสามารถกักเก็บสารสำคัญไว้ภายใน ในระหว่างการประกอบตัวเอง โดยวิธีที่นำเสนอนี้สามารถเตรียมจากพอลิแลคติกแอซิดเกรดการค้าได้ หากมีมวลโมเลกุลที่สูงเกินไปสามารถทำการปรับลดมวลโมเลกุลก่อนนำไปสังเคราะห์ได้

จากการสืบค้นสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร วารสาร งานวิจัย และสิ่งประดิษฐ์เดิมที่เผยแพร่อยู่แล้ว หรือการประดิษฐ์ที่มีความใกล้เคียง พบว่า อนุสิทธิบัตรไทยเลขที่ 8878 (2557) ได้เขียนถึงรายละเอียดเกี่ยวกับการประดิษฐ์ผลิตภัณฑ์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ โดยผสมพอลิแลคติกแอซิดและพอลิบิวทิลีนอะดิเพท-โค-เทเรฟทาเลทกับยางธรรมชาติโดยการบดให้ละเอียด จากนั้นจึงนำไปขึ้นรูปด้วยการเป่าจะได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ที่มีการปรับปรุงคุณสมบัติด้านความเหนียว และคุณสมบัติเชิงกล เพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมด้านบรรจุภัณฑ์

อนุสิทธิบัตรไทยเลขที่ 12141 (2559) ได้ให้รายละเอียดเกี่ยวกับการประดิษฐ์แก้วพลาสติกที่ทำมาจากพอลิแลคติกแอซิด โดยใช้เรซินพอลิแลคติกแอซิด ที่มี ดี-แลคไทด์ (D-lactide) เป็นองค์ประกอบ 5-10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ผสมกับสารเพิ่มความสว่าง และสารเพิ่มความเหนียว ขึ้นรูปเป็นแก้วพลาสติกด้วยเครื่องเอ็กซ์ทรูเดอร์ (Extruder) ที่มีความเร็วรอบในช่วง 30-40 รอบต่อนาที และอุณหภูมิที่ใช้หลอมเหลวอยู่ที่ 180-210 องศาเซลเซียส

อนุสิทธิบัตรไทยเลขที่ 166237 (2560) ได้ประดิษฐ์บรรจุภัณฑ์ชนิดกล่องและฟิล์มสำหรับการบรรจุอาหารชนิดแช่เยือกแข็งที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ จากพอลิแลคติกแอซิดผสมกับยางซิลิโคนชนิดองค์ประกอบเดี่ยว โดยผสมส่วนประกอบต่างๆ ด้วยเครื่องบดหลอมผสมแบบสกรูคู่ แล้วนำไปขึ้นรูปด้วยวิธีการฉีดเข้าแบบ และเป่าเป็นฟิล์ม แล้วจึงนำไปอบบ่มด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง สุดท้ายได้เป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับบรรจุอาหารที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง และขยะของเสียหลังการใช้งานสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพด้วยวิธีการกำจัดแบบฝังกลบ

ผู้ประดิษฐ์จึงมีแนวคิดในการพัฒนาสูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ และกรรมวิธีการผลิต ซึ่งการใช้งานผลิตภัณฑ์ สามารถนำอนุภาคนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพในรูปแบบผงไปใช้ได้โดยตรง เนื่องจากสารสำคัญที่ถูกหุ้มไว้ภายในพอลิเมอร์แคปซูล เมื่อถูกนำไปผสมในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น เครื่องสำอาง สารสำคัญจะค่อยๆ ปลดปล่อยออกมา

<u>ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์</u>

สูตรและกรรมวิธีการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ประกอบด้วย พอลิแอล-แลคติกแอซิด เกรดการค้า หากมีมวลโมเลกุลมากกว่า 50,000 กรัม/โมล จะถูกนำมาลดมวลโมเลกุลผ่านกระบวนการไกลโคไลซีส (Glycolysis) ผ่านการแตกสายโซ่ด้วยเอทิลีนไกลคอล (Ethylene glycol) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไกลโคไลซ์พอลิแลคติกแอซิด (Glycolyzed polylactic acid ; GPLA) มอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง มอนอเมอร์ชนิดที่สอง ตัวริเริ่มปฏิกิริยา สารสำคัญ ตัวทำละลายชนิดที่หนึ่ง และตัวทำละลายชนิดที่สอง โดยมีวิธีการเตรียมดังนี้ เริ่มจากผสมพอลิแอล-แลคติกแอซิดเกรดการค้าหรือไกลโคไลซ์พอลิแลคติกแอซิด และตัวริเริ่มปฏิกิริยา แล้วนำไป

ละลายในตัวทำละลายชนิดที่หนึ่งและตัวทำละลายชนิดที่สอง จากนั้นเติมมอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง มอนอเมอร์ชนิดที่สองและสารสำคัญที่ต้องการห่อหุ้ม ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ก่อนทำการสังเคราะห์ด้วยการให้อุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จะได้นาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ

ความมุ่งหมายของการประดิษฐ์นี้ เพื่อพัฒนาการเตรียมนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ และสามารถกักเก็บสารสำคัญได้

<u>การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์</u>

สูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ มีองค์ประกอบดังนี้

- พอลิแลคติกแอซิด	เท่ากับ	2.50-5.00	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
- มอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง	เท่ากับ	0.45-2.50	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
- มอนอเมอร์ชนิดที่สอง	เท่ากับ	1.80-4.00	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
- ตัวริเริ่มปฏิกิริยา	เท่ากับ	0.10-1.00	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
- สารสำคัญ	เท่ากับ	2.50-20.00	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
- ตัวทำละลายชนิดที่หนึ่ง	เท่ากับ	40.00-70.00	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
- ตัวทำละลายชนิดที่สอง	เท่ากับ	2.50-20.00	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด

สูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ที่มีส่วนประกอบที่เหมาะสมที่สุด ประกอบด้วย

- พอลิแลคติกแอซิด	เท่ากับ	4.50	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
- มอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง	เท่ากับ	0.90	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
- มอนอเมอร์ชนิดที่สอง	เท่ากับ	3.60	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
- ตัวริเริ่มปฏิกิริยา	เท่ากับ	0.75	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
- สารสำคัญ	เท่ากับ	9.00	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
- ตัวทำละลายชนิดที่หนึ่ง	เท่ากับ	65.00	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
- ตัวทำละลายชนิดที่สอง	เท่ากับ	16.25	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด

ที่ซึ่ง พอลิแลคติกแอซิด ที่ใช้สามารถเลือกได้จาก พอลิแอลแลคติคแอซิด หรือ ไกลโคไลซ์พอลิแลคติคแอซิด อย่างใดอย่างหนึ่ง และ พอลิแลคติกแอซิด ที่เหมาะสมที่สุด คือ ไกลโคไลซ์พอลิแลคติกแอซิด

มวลโมเลกุลของพอลิแอลแลคติกแอซิดหรือไกลโคไลซ์พอลิแลคติกแอซิด สามารถเลือกได้จาก 3,000 6,000 10,000 70,000 100,000 และมากกว่า 100,000 กรัมต่อโมล อย่างใดอย่างหนึ่ง ที่ซึ่ง มวลโมเลกุลที่เหมาะสมที่สุด คือ 10,000 กรัมต่อโมล

มอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง สามารถเลือกได้จาก ไกลซิดิว เมทาคริเลต (Glycidyl methacrylate; GMA) หรือเมทิลเมทาคริเลต (Methyl Methacrylate; MMA) หรือ บิวทิวเมทาคริเลต (Butyl methacrylate; BMA) หรือเมทาคริลิค แอซิด (Methacrylic acid; MAA) อย่างใดอย่างหนึ่ง ที่ซึ่ง มอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง ที่เหมาะสมที่สุด คือ เมทาคริลิค แอซิด

มอนอเมอร์ชนิดที่สอง สามารถเลือกได้จาก ได (เอทิลลีน ไกลคอล) ไดเมทาคริเลต (Di (ethylene glycol) dimethacrylate) หรือเอทิลลีน ไกลคอล ไดอะคริเลต (Ethylene glycol diacrylate) หรือ ไตร (เอทิลลีนไกลคอล) ไดอะคริเลต (Tri (ethylene glycol) diacrylate) หรือ เตตระ (เอทิลลีนไกลคอล) ไดอะคริเลต (Tetra(ethylene glycol) diacrylate) หรือเอทิลลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลต (Ethylene glycol dimethacrylate; EGDMA) ที่ซึ่ง มอนอเมอร์ชนิดที่สองที่เหมาะสมที่สุด คือ เอทิลลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลต

ตัวริเริ่มปฏิกิริยา สามารถเลือกได้จาก เทอร์เชียรี-บิวทิล เปอร์ออกซีเบนโซเอต (tert-Butyl peroxybenzoate) หรือ ลอโรอิล เปอร์ออกไซด์ (Lauroyl peroxide) หรือ เทอร์เชียรี-บิวทิล เปอร์ออกไซด์ (tert-Butyl peroxide) หรือ เบนโซอิล เปอร์ออกไซด์ (Benzoyl peroxide; BPO) อย่างใดอย่างหนึ่ง ที่ซึ่งตัวริเริ่มปฏิกิริยาที่เหมาะสมที่สุด คือเบนโซอิล เปอร์ออกไซด์

ตัวทำละลายชนิดที่หนึ่งสามารถเลือกได้จาก โพรพานอล (Propanol) หรือบิวทานอล (Butanol) หรือ อะซิโตน (Acetone) หรือ เอทานอล (Ethanol) หรือ ไดออกเซน (Dioxane) หรือ อะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile) อย่างใดอย่างหนึ่ง ที่ซึ่งตัวทำละลายชนิดที่หนึ่งที่เหมาะสมที่สุด คือ อะซิโตไนไตรล์

ตัวทำละลายชนิดที่สอง สามารถเลือกได้จาก ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) หรือเฮกเซน (Hexane) หรือเอทิลอะซิเตต (Ethyl Acetate) อย่างใดอย่างหนึ่ง ที่ซึ่งตัวทำละลายชนิดที่สองที่เหมาะสมที่สุด คือ เอททิลอะซิเตต

สารสำคัญที่สามารถถูกกักเก็บในนาโนแคปซูลได้สูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ คือสารกลุ่มให้กลิ่นหอม ได้แก่ ไลนาลูออล (Linalool) เกอรานิล อะซิเตต (Geranyl acetate) ไอโซเอมิล อะซิเตต (Isoamyl acetate) เมทิล แอนทรานิเลต (Methyl anthranilate) เนอโรไลดอล (Nerolidol) และ ซิโทรเนลลัล (Citronellal)

กรรมวิธีการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมกักเก็บสารสำคัญ ด้วยกระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอน มีขั้นตอนดังนี้ เริ่มจากผสมพอลิแลคติค แอซิดหรือไกลโคไลซ์พอลิแลคติกแอซิด ตัวริเริ่มปฏิกิริยา ในตัวทำละลายชนิดที่หนึ่งและตัวทำละลายชนิดที่สองให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เมื่อให้ความร้อนผ่านไป 15 นาที เติมมอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง มอนอเมอร์ชนิดที่สอง และสารสำคัญ และทำการสังเคราะห์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จะได้น้ำนมของสารแขวนลอยของนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพกักเก็บสารสำคัญไว้ภายใน (รูปที่ 1ก) โดยนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพที่ได้จะมีลักษณะเป็นทรงกลม ขนาด 200-300 นาโนเมตร (รูปที่ 1ข)

<u>คำอธิบายรูปเขียนโดยย่อ</u>

รูปที่ 1 สารแขวนลอย (ก) และภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope; TEM) (ข) ของนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพกักเก็บสารสำคัญ

<u>วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด</u>

ดังได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

ข้อถือสิทธิ

1. สูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ มีองค์ประกอบดังนี้
   - พอลิแลคติกแอซิด เท่ากับ 2.50-5.00 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
   - มอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง เท่ากับ 0.45-2.50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
   - มอนอเมอร์ชนิดที่สอง เท่ากับ 1.80-4.00 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
   - ตัวริเริ่มปฏิกิริยา เท่ากับ 0.10-1.00 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
   - สารสำคัญ เท่ากับ 2.50-20.00 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
   - ตัวทำละลายชนิดที่หนึ่ง เท่ากับ 40.00-70.00 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
   - ตัวทำละลายชนิดที่สอง เท่ากับ 2.50-20.00 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
2. สูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่ง ที่มีส่วนประกอบที่เหมาะสมที่สุด ประกอบด้วย
   - พอลิแลคติกแอซิด เท่ากับ 4.50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
   - มอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง เท่ากับ 0.90 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
   - มอนอเมอร์ชนิดที่สอง เท่ากับ 3.60 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
   - ตัวริเริ่มปฏิกิริยา เท่ากับ 0.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
   - สารสำคัญ เท่ากับ 9.00 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
   - ตัวทำละลายชนิดที่หนึ่ง เท่ากับ 65.00 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
   - ตัวทำละลายชนิดที่สอง เท่ากับ 16.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารทั้งหมด
3. สูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ตามข้อถือสิทธิ 1 หรือ 2 ที่ซึ่ง พอลิแลคติกแอซิด ที่ใช้สามารถเลือกได้จาก พอลิแอลแลคติคแอซิด หรือ ไกลโคไลซ์พอลิแลคติคแอซิด อย่างใดอย่างหนึ่ง และ พอลิแลคติกแอซิด ที่เหมาะสมที่สุด คือ ไกลโคไลซ์พอลิแลคติกแอซิด
4. สูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ตามข้อถือสิทธิ 1-3 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่ง มวลโมเลกุลของพอลิแอล-แลคติกแอซิดหรือไกลโคไลซ์พอลิแลคติกแอซิด สามารถเลือกได้จาก 3,000 6,000 10,000 70,000 100,000 และมากกว่า 100,000 กรัมต่อโมล อย่างใดอย่างหนึ่ง ที่ซึ่ง มวลโมเลกุลที่เหมาะสมที่สุด คือ 10,000 กรัมต่อโมล
5. สูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ตามข้อถือสิทธิ 1-4 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่ง มอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง สามารถเลือกได้จาก ไกลซิดิว เมทาคริเลต หรือเมทิลเมทาคริเลต หรือ บิวทิวเมทาคริเลต หรือเมทาคริลิค แอซิด อย่างใดอย่างหนึ่ง ที่ซึ่ง มอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง ที่เหมาะสมที่สุด คือ เมทาคริลิค แอซิด
6. สูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ตามข้อถือสิทธิ 1-5 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่ง มอนอเมอร์ชนิดที่สอง สามารถเลือกได้จากได(เอทิลลีน ไกลคอล) ไดเมทาคริเลต หรือเอทิลลีน ไกลคอล ไดอะคริเลต หรือ

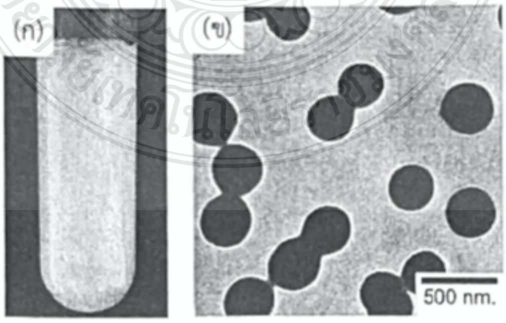
ไตร (เอทิลลีนไกลคอล) ไดอะคริเลต หรือเตตระ(เอทิลลีนไกลคอล) ไดอะคริเลต หรือเอทิลลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลต ที่ซึ่ง มอนอเมอร์ชนิดที่สองที่เหมาะสมที่สุด คือ เอทิลลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลต

7. สูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ตามข้อถือสิทธิ 1-6 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่ง ตัวริเริ่มปฏิกิริยาสามารถเลือกได้จาก เทอร์เชียรี-บิวทิล เปอร์ออกซีเบนโซเอต หรือ ลอโรอิล เปอร์ออกไซด์ หรือ เทอร์เชียรี-บิวทิล เปอร์ออกไซด์ หรือ เบนโซอิล เปอร์ออกไซด์ อย่างใดอย่างหนึ่ง ที่ซึ่งตัวริเริ่มปฏิกิริยาที่เหมาะสมที่สุด คือเบนโซอิล เปอร์ออกไซด์

8. สูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ตามข้อถือสิทธิ 1-7 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่ง ตัวทำละลายชนิดที่หนึ่ง สามารถเลือกได้จาก โพรพานอล หรือบิวทานอล หรือ อะซิโตน หรือ เอทานอล หรือ ไดออกเซน หรืออะซิโตไนไตรล์ อย่างใดอย่างหนึ่ง ที่ซึ่งตัวทำละลายชนิดที่หนึ่งที่เหมาะสมที่สุด คือ อะซิโตไนไตรล์

9. สูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ตามข้อถือสิทธิ 1-8 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่ง ตัวทำละลายชนิดที่สอง สามารถเลือกได้จากไดคลอโรมีเทน หรือเฮกเซน หรือเอททิลอะซิเตต อย่างใดอย่างหนึ่ง ที่ซึ่งตัวทำละลายชนิดที่สองที่เหมาะสมที่สุด คือ เอททิลอะซิเตต

10. กรรมวิธีการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ที่มีสูตรตามข้อถือสิทธิ 1-9 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่ง มีขั้นตอนดังนี้ เริ่มจากผสมพอลิแลคติค แอซิดหรือไกลโคไลซ์พอลิแลคติกแอซิด ตัวริเริ่มปฏิกิริยาในตัวทำละลายชนิดที่หนึ่งและตัวทำละลายชนิดที่สองให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เมื่อให้ความร้อนผ่านไป 15 นาที เติมมอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง มอนอเมอร์ชนิดที่สอง และสารสำคัญ และทำการสังเคราะห์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จะได้น้ำนมของสารแขวนลอยของนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพกักเก็บสารสำคัญไว้ภายใน โดยนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพที่ได้จะมีลักษณะเป็นทรงกลม ขนาด 200-300 นาโนเมตร ที่ซึ่งสารสำคัญที่สามารถกักเก็บไว้ภายในนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ คือสารกลุ่มให้กลิ่นหอม เช่น ไลนาลูออล หรือ เกอรานิล อะซิเตต หรือ ไอโซเอมิล อะซิเตต หรือเมทิล แอนทรานิเลต หรือ เนอโรไลดอล หรือ ซิโทรเนลลัล



รูปที่ 1

บทสรุปการประดิษฐ์

สูตรการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมที่มีประสิทธิภาพสูงในการกักเก็บสารสำคัญ ด้วยกระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบตกตะกอน ประกอบด้วย ไกลโคไลซ์พอลิแลคติกแอซิด มอนอเมอร์ชนิดที่หนึ่ง มอนอเมอร์ชนิดที่สอง ตัวริเริ่มปฏิกิริยา สารสำคัญ ตัวทำละลายชนิดที่หนึ่ง และตัวทำละลายชนิดที่สอง โดยอนุภาคนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพจะเกิดจากการประกอบตัวเองของสายโซ่ไกลโคไลซ์พอลิแลคติกแอซิด เมื่อมีมอนอเมอร์ที่หนึ่งและมอนอเมอร์ที่สองมากราฟต์ที่สายโซ่ทำให้ไม่สามารถละลายในตัวทำละลายชนิดที่หนึ่ง และตัวทำละลายชนิดที่สองได้อีก ในขณะที่สารสำคัญที่ละลายอยู่ในระบบจะเคลื่อนที่เข้าไปอยู่ภายในนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ โดยแคปซูลที่ได้จะมีลักษณะเป็นทรงกลมกระจายตัวอยู่ในตัวทำละลาย และมีความเสถียรสูงเมื่อนำไปกระจายตัวในน้ำ

หนังสือสัญญาโอนสิทธิขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

เขียนที่ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ถ.รังสิต-นครนายก ต.คลองหก
อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110

วันที่ 16 เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2563

หนังสือสัญญาฉบับนี้ทำขึ้นระหว่าง

1) นายอมร ไชยสัตย์ 2) นางสาวชยานันท์ โครตชนะ 3) นางปรียาภรณ์ ไชยสัตย์ สังกัดคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี เลขที่ 39 หมู่ที่ 1 ถนนรังสิต-นครนายก คลองหก อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110

4) นายพงศธร ประภักรางกูล ที่อยู่ ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เลขที่ 35 หมู่ 3 เทคโนธานี ถนนเลียบคลองห้า ตำบลคลองห้า อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120 **ในฐานะผู้โอนฝ่ายหนึ่ง**

และ 1) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์สมหมาย ผิวสอาด ตำแหน่งอธิการบดี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่อยู่ เลขที่ 39 หมู่ที่ 1 ถนนรังสิต-นครนายก คลองหก อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110

2) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย โดย นางชุติมา เอี่ยมโชติชวลิต ตำแหน่งผู้ว่าการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เลขที่ 35 หมู่ 3 เทคโนธานี ถนนเลียบคลองห้า ตำบลคลองห้า อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120 **ในฐานะผู้รับโอนฝ่ายหนึ่ง**

ผู้โอนขอโอนสิทธิในการประดิษฐ์ที่เกี่ยวข้องกับเรื่อง "สูตรและกรรมวิธีการผลิตนาโนแคปซูลพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ" ให้แก่ผู้รับโอน เพื่อเป็นพยานหลักฐานแห่งการนี้ ผู้โอนและผู้รับได้ลงลายมือชื่อไว้ข้างล่างนี้

(ลงชื่อ).................................ผู้โอน (นายอมร ไชยสัตย์)	(ลงชื่อ) ชยานันท์ โครตชนะ ผู้โอน (นางสาวชยานันท์ โครตชนะ)
(ลงชื่อ).................................ผู้โอน (นางปรียาภรณ์ ไชยสัตย์)	(ลงชื่อ).................................ผู้โอน (นายพงศธร ประภักรางกูล)
(ลงชื่อ).................................ผู้รับโอน (นางชุติมา เอี่ยมโชติชวลิต) ผู้ว่าการ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย	(ลงชื่อ).................................ผู้รับโอน (นายสมหมาย ผิวสอาด) อธิการบดี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
(ลงชื่อ).................................พยาน (นางจารุวรรณ สิทธิพล)	(ลงชื่อ).................................พยาน (นางสาววารุณี อริยวิริยะนันท์)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวชยานันท์ โคตรชนะ
วัน เดือน ปีเกิด	14 เมษายน 2535
ที่อยู่	69/400 หมู่ 3 บ้านฟ้ารังสิต ตำบลบึงยี่โถ อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12130
การศึกษา	ปริญญาตรี วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงาน	รองหัวหน้าแผนกควบคุมคุณภาพการผลิตกระป๋อง 3 ชิ้น บริษัทพูนทรัพย์โลหะการพิมพ์
เบอร์โทรศัพท์	0876437154
อีเมล์	chayanan_k@rmutt.ac.th

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี