

การพัฒนาไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดด้วยบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ

DEVELOPMENT OF MICROEMULSION OF KAFFIR LIME OIL USING
BIO-BASED BLOCK COPOLYMER

พลอยสุตา แซ่ฮุน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ปีการศึกษา 2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

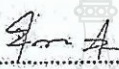
การพัฒนาไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดด้วยบล็อกโคพอลิเมอร์ฐาน
ชีวภาพ

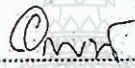
พลอยสุดา แซ่อุ้น

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2567
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การพัฒนาไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดด้วยบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ
Development of Microemulsion of Kaffir Lime Oil Using Bio-based
Block Copolymer
ชื่อ - นามสกุล นางสาวพลอยสุตา แซ่ฮุ้น
สาขาวิชา เคมีประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์อมร ไชยสัตย์, Ph.D.
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์, Ph.D.
ปีการศึกษา 2567

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

 ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์จันทิกา ชูโชติรส, Ph.D.)

 กรรมการ
(อาจารย์อรรจน์ เอี่ยมประเสริฐ, ป.ร.ด.)

 กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์, Ph.D.)

 กรรมการ
(รองศาสตราจารย์อมร ไชยสัตย์, Ph.D.)

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อนุมัติวิทยานิพนธ์
ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโท

 คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นันทิพย์ จงสวัสดิ์, ป.ร.ด.)

วันที่ 9 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2567

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดด้วยบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ
ชื่อ – นามสกุล	นางสาวพลอยสุตา แซ่ฮุ้น
สาขาวิชา	เคมีประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์อมร ไชยสัตย์, Ph.D.
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์, Ph.D.
ปีการศึกษา	2567

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิกรดเมทาคริลิก-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิกรดเมทาคริลิก-ไอโอไดด์ แบบการเชื่อมขวางสำหรับใช้หุ้มน้ำมันมะกรูด โดยขั้นแรก นำไบโอโมโนเมอร์ซินนามิลแอลกอฮอล์ทำปฏิกิริยากับเมทาคริลิก แอนไฮไดรด์ ผ่านปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันเพื่อให้มีพันธะคู่ ได้เป็นซินนามิลเมทาคริเลต จากนั้นนำมาโคพอลิเมอร์กับ กรดเมทาคริลิก ด้วยการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบสารละลายผ่านกลไกโยกย้ายไอโอไดน์ เกิดเป็น พอลิ(เมทาคริลิก แอซิด)-บล็อก-พอลิ(ซินนามิลเมทาคริเลต)-บล็อก-พอลิ(เมทาคริลิก แอซิด) (พีเอ็มเอเอ-บี-พีซีเอ็มเอ-บี-พีเอ็มเอเอ) ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 2,800 กรัมต่อโมล และมีความยาวสายโซ่ของ พีเอ็มเอ เอ-บี-พีซีเอ็มเอ-บี-พีเอ็มเอเอ เท่ากับ 7: 6: 7 หน่วย จากนั้น พีเอ็มเอเอ-บี-พีซีเอ็มเอ-บี-พีเอ็มเอเอ (BioSurf) จะถูกใช้เป็นเปลือกพอลิเมอร์ ในการกักเก็บ น้ำมันมะกรูด ในระบบไมโครอิมัลชัน ที่มีการ ทำงานร่วมกับทวิน 80 (สารลดแรงตึงผิวหลัก; Surf) และเอทานอล (สารลดแรงตึงผิวร่วม; CoSurf) อัตราส่วนระหว่างน้ำมันมะกรูด: Surf-CoSurf จะมีการปรับเปลี่ยนจาก 1: 9 ถึง 9: 1 (โดยน้ำหนัก) โดย ที่ Surf_{mix} คืออัตราส่วนของ BioSurf: Surf: CoSurf ที่ 1: 1: 1 (โดยน้ำหนัก) ถูกกระจายอยู่ในน้ำ เมื่อ ใช้อัตราการปั่น 400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที โดยสภาวะที่เหมาะสมคือ 6% น้ำมัน 24% Surf_{mix} และ 70% น้ำ ที่ซึ่งนาโนแคปซูลมีขนาดประมาณ 68 นาโนเมตรและมีประจุลบ -3.64 มิลลิโวลต์ หลังจากบ่มด้วยแสงยูวีที่ 254 นาโนเมตร เป็นเวลา 120 นาที การเกิดไดเมอโรเซชันของหมู่ซินนามิล ใน พีซีเอ็มเอ จะยืนยันโดย ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี ที่ซึ่งพิกัดการดูดกลืนแสงของหมู่ซินนามิลที่ 284 และ 293 นาโนเมตร ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ น้ำมันมะกรูดที่ถูกกักเก็บ จะถูกปลดปล่อยออกมาอย่างช้า ๆ เพียงร้อยละ 10 หลังจากผ่านไป 1 ชั่วโมง อีกทั้งยังมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ โดยมีร้อยละการ ยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจ เท่ากับ 32.07 ± 0.63 และไม่แสดงถึงความเป็นพิษ ต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ ที่ความเข้มข้นร้อยละโดยปริมาตรน้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 นอกจากนี้ ไมโครอิมัลชันยังมีความเสถียรทางอุณหภูมิศาสตร์ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส

การกักเก็บน้ำมันมะกรูดในไมโครอิมัลชัน เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และการใช้งานที่เกี่ยวข้อง

คำสำคัญ: น้ำมันมะกรูด ไมโครอิมัลชัน พอลิเมอร์ชีวภาพ บล็อกโคพอลิเมอร์ การเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง

Thesis Title	Development of Microemulsion of Kaffir Lime Oil Using Bio-based Block Copolymer
Name – Surname	Miss Ploysuda Saeun
Program	Applied Chemistry
Thesis Advisor	Associate Professor Amorn Chaiyasat, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Associate Professor Preeyaporn Chaiyasat, Ph.D.
Academic Year	2024

ABSTRACT

The research aimed to prepare photocrosslinkable bio-based block copolymers consisting of polymethacrylic acid-*block*-polycinnamyl methacrylate-*block*-poly methacrylic-iodide acid as polymer shells for Kaffir lime oil.

First, cinnamyl alcohol which was used as a biomonomer was functionalized with methacrylic anhydride via an esterification reaction to create a double bond named cinnamyl methacrylate. Then, it was copolymerized with methacrylic acid using solution iodine transfer polymerization, resulting in polymethacrylic acid-*block*-polycinnamyl methacrylate-*block*-poly methacrylic acid (PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA) with a molecular weight of 2800 g/mol and a chain length equals to 7: 6: 7 units. After that, PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA (BioSurf) was used as polymer shells to encapsulate Kaffir lime oil in a microemulsion system cooperated with Tween 80 (surfactant; Surf) and ethanol (co-surfactant; CoSurf). The ratio of Kaffir lime oil and Surf-CoSurf was varied from 1: 9 to 9: 1 (wt). The Surf_{mix} which consisted of BioSurf, Surf and Co-Surf at the ratio of 1: 1: 1 (wt) was dispersed in water at 400 rpm for 5 min. The optimal contents of oil, Surf_{mix}, and water were 6, 24, and 70%, respectively. The nanocapsule size was about 68 nm with -3.64 mV. After UV curing at 254 nm for 120 min, the dimerization of cinnamyl groups in PCMA was confirmed by the UV spectroscopy. The result revealed that the absorbance peaks of cinnamyl groups at 283 and 294 nm significantly decreased. It was found that 10% of the encapsulated Kaffir lime oil slowly permeated into skin after 1 h. In addition, the oil also had anti-inflammatory effects with the percentage of inhibited nitric oxide production in macrophage cells at 32.07± 0.63. Moreover, nanocapsules did not show toxicity to human skin cells at the concentrations of less than or equal to 1 v/v%. Finally, the microemulsion was thermodynamically stable at 4, 30, and 45 °C.

The encapsulation of Kaffir lime oil in microemulsion might be an alternative option for cosmetic products and related applications.

Keywords: Kaffir lime oil, microemulsion, bio-based polymer, block copolymer, photocrosslinkable

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความเมตตากรุณาอย่างสูงจาก รศ.ดร.อมร ไชยสัจย์ ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.ปรียาภรณ์ ไชยสัจย์ ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม อาจารย์อรรถจัน เอี่ยมประเสริฐ กรรมการสอบ และ ผศ.ดร.จันทิกา ชูโชติรส ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา และการแนะนำตลอดจนให้ความช่วยเหลือช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้บรรลุ ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อมร ไชยสัจย์ และรศ.ดร.ปรียาภรณ์ ไชยสัจย์ ซึ่งได้ให้โอกาสได้ รับการศึกษาเล่าเรียน และแนะนำข้อคิดเห็นต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวิทยานิพนธ์ อีกทั้งยังช่วยแก้ปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงานอีกด้วย และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการพอลิเมอร์ คอลลอยด์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือเรื่องสารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ต่าง ๆ และโครงการพัฒนา นักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ที่สนับสนุนทุนการศึกษาตลอดระยะเวลา 2 ปี และบริษัท บิวตี้มายคอสเมต จำกัด ผู้ประกอบการที่ร่วมสนับสนุนทุนวิจัย ทำให้การทำวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดาและครอบครัว ที่ให้กำลังใจตลอดจนส่งเสริม การศึกษาด้วยดีเสมอมา ขอขอบคุณอาจารย์ทุก ๆ ท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ชี้แนะแนวทางใน การทำวิจัย และขอขอบคุณครอบครัวพอลิเมอร์คอลลอยด์ทุกคน ที่ช่วยเป็นกำลังใจจนประสบผลสำเร็จ ตามที่คาดหวังไว้ ขอกราบขอบพระคุณทุกท่านเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

พลอยสุตา แซ่ฮุ้น

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	(3)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	(4)
กิตติกรรมประกาศ.....	(5)
สารบัญ.....	(6)
สารบัญตาราง.....	(10)
สารบัญภาพ.....	(11)
บทที่ 1 บทนำ.....	15
1.1 ที่มาและปัญหา.....	15
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	19
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	19
1.4 กรอบแนวความคิดของงานวิจัย.....	20
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	21
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	22
2.1 มะกรูด (kaffir lime)	22
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....	22
2.1.2 คุณค่าทางโภชนาการของมะกรูด.....	23
2.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหย (Extracting Essential Oil)	24
2.2.1 สกัดด้วยไอน้ำ (Steam Distillation)	24
2.2.2 สกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction)	25
2.2.3 สกัดเย็น (Cold-Press or Expression).....	25
2.3 น้ำมันมะกรูด (Kaffir lime oil)	26
2.3.1 องค์ประกอบทางเคมี	27
2.3.2 คุณสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	28
2.3.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)	29
2.4 พอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymers)	31
2.5 บล็อกโคพอลิเมอร์ (Block copolymers)	33

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6 ไมโครอิมัลชัน (Microemulsions)	34
2.6.1 สารลดแรงตึงผิว (Surfactant)	36
2.6.2 แผนภาพระบบสามส่วนประกอบ (Ternary phase diagram).....	38
2.7 การสังเคราะห์พอลิเมอร์ด้วยกลไกโยกย้ายไอโอดีน (ITP).....	38
2.8 การเชื่อมขวางผ่านการฉายรังสียูวี (Photo-crosslinking via UV irradiation).....	40
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	41
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	43
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	43
3.1.1 สารเคมี.....	43
3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	45
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	46
3.3 การทดลอง.....	47
3.3.1 การเตรียมมอนอเมอร์ชีวภาพที่มีพันธะคู่โดยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน.....	47
3.3.2 การสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดด์ (poly (methacrylic acid)-block-poly (cinnamyl methacrylate)-block-poly(methacrylic acid-Iodide ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบสารละลายไอทีพี.....	48
3.3.3 การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดด์ ผ่านการเชื่อมขวาง โดยการฉายรังสียูวี.....	52
3.3.4 การทดสอบสมบัติและลักษณะเฉพาะของบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ...	54
3.3.5 ทดสอบสมบัติต่าง ๆ ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่เตรียมได้.....	56
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	60
4.1 การเตรียมไบโอไมโนเมอร์ซินนามิลเมทาคริเลตที่มีพันธะคู่โดยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน.....	60

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 การสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ (poly (methacrylic acid)-block-poly (cinnamyl methacrylate)-block-poly (methacrylic acid-iodide; PMAA-b-PCMA-b-PMAA-I) ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบสารละลายไอทีพี.....	62
4.2.1 ศึกษาสถานะในการเตรียมพอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ (poly (methacrylic acid-iodide; PMAA-I)	62
4.2.2 การสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ (poly (methacrylic acid)-block-poly (cinnamyl methacrylate)-block-poly (methacrylic acid-iodide; PMAA-b-PCMA-b-PMAA-I).....	65
4.3 การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ ผ่านการเชื่อมขวาง โดยการฉายรังสียูวี.....	68
4.3.1 การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์.....	68
4.3.2 การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ ผ่านการเชื่อมขวาง โดยการฉายรังสียูวี.....	74
4.4 ทดสอบสมบัติต่าง ๆ ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่เตรียมได้.....	76
4.4.1 ทดสอบความคงตัวของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด.....	76
4.4.2 ทดสอบความเป็นพิษของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดต่อเซลล์ผิวหนังด้วยเทคนิค MTT assay.....	88
4.4.3 ทดสอบประสิทธิภาพการปลดปล่อยสารสำคัญไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดในระบบจำลอง (in vitro testing) ด้วยเทคนิค แฟรงค์ดีฟฟิวชัน เซลล์	

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
(Franze diffusion cell)	79
4.4.4 ทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ ด้วยวิธี กรีสรีเอเจนต์ (Griess reagent).....	80
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	83
บรรณานุกรม.....	84
ภาคผนวก.....	104
ภาคผนวก ก การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูด {Surf _{mix} (Bio Surf: Surf: Co-Surf);1: 1: 1}.....	105
ภาคผนวก ข องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมะกรูด โดย GC-MS.....	115
ภาคผนวก ค การเผยแพร่ผลงาน.....	121
ประวัติผู้เขียน.....	136



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบสารอาหารในมะกรูด.....	24
ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด.....	28
ตารางที่ 3.1 สารเคมีสำหรับการเตรียมซินนามิลเมทาคริเลต.....	48
ตารางที่ 3.2 ความสามารถในการละลายของสารเคมีสำหรับการสังเคราะห์.....	49
ตารางที่ 3.3 ศึกษาสภาวะการสังเคราะห์พอลิเมอร์ของพอลิกรดเมทาคริลิก-ไอโอไดด์ที่ใช้ตัวริเริ่ม ปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน ด้วย วิธีการสังเคราะห์แบบสารละลายไอทีพี.....	50
ตารางที่ 3.4 สารเคมีสำหรับการสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ.....	52
ตารางที่ 4.1 การกระจายน้ำหนักโมเลกุลตามจำนวนและค่าเฉลี่ยโดยน้ำหนักของ PMAA-I โดย GPC.....	64
ตารางที่ 4.2 การกระจายน้ำหนักโมเลกุลตามจำนวนและค่าเฉลี่ยโดยน้ำหนักของของบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์โดย ¹ H-NMR และ GPC.....	68
ตารางที่ 4.3 ความหนืดและร้อยละการส่งผ่าน (% Transmittance) ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง โดยการฉายรังสีวิธีที่เวลาต่าง ๆ.....	75
ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูด.....	76
ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบความเป็นพิษในเซลล์แมคโครฟาจของสารสกัดตัวอย่าง.....	79

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1.1 โมเดลการโตของหยดน้ำมัน.....	17
ภาพที่ 1.2 กลไกการเคลื่อนย้ายมอนอเมอร์ระหว่างหยดมอนอเมอร์ขนาดเล็กและขนาดใหญ่ตามปรากฏการณ์ออสวาลด์รีฟเพนนิ่งและความดันออสโมติก.....	18
ภาพที่ 2.1 มะกรูด (kaffir lime).....	22
ภาพที่ 2.2 กระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยการสกัดแบบไอน้ำ.....	24
ภาพที่ 2.3 กระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยการสกัดแบบใช้ตัวทำละลาย.....	25
ภาพที่ 2.4 กระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยการสกัดเย็น.....	26
ภาพที่ 2.5 น้ำมันมะกรูด (kaffir lime oil).....	26
ภาพที่ 2.6 องค์ประกอบทางเคมีหลักของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด.....	27
ภาพที่ 2.7 การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ.....	30
ภาพที่ 2.8 พอลิเมอร์ชีวภาพชนิดต่าง ๆ และส่วนประกอบ.....	31
ภาพที่ 2.9 การจำแนกประเภทของพอลิเมอร์ชีวภาพตามแหล่งกำเนิด.....	32
ภาพที่ 2.10 การจำแนกประเภทของพอลิเมอร์ชีวภาพตามความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ แกนหลักของพอลิเมอร์ และประเภทของมอนอเมอร์.....	33
ภาพที่ 2.11 การจัดเรียงสายโซ่บล็อกโคพอลิเมอร์.....	3
ภาพที่ 2.12 การจัดเรียงส่วนประกอบของไมโครอิมัลชันที่พื้นผิวของหยดไมโครอิมัลชัน O/W..	36
ภาพที่ 2.13 ดัชนีการเลือกใช้สารลดแรงตึงผิว.....	37
ภาพที่ 2.14 แผนผังวิภูภาคสามองค์ประกอบ ของสารลดแรงตึงผิว-สารลดแรงตึงผิวร่วมน้ำมันและน้ำ.....	38
ภาพที่ 2.15 กลไกของพอลิเมอร์ไรเซชันถ่ายโอนไอโอไดน์.....	39
ภาพที่ 2.16 กลไกการเชื่อมขวางผ่านการฉายรังสียูวีหรือโฟโตครอสลิงก์.....	40
ภาพที่ 3.1 การเตรียมไบโอโมโนเมอร์ที่มีพันธะคู่โดยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน.....	47
ภาพที่ 3.2 การเตรียมพอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์.....	50
ภาพที่ 3.3 การสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก-แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริลิก-บล็อก-พอลิกรดเมทาคริลิก-ไอโอไดด์ (poly(methacrylic acid)-block-poly(cinnamyl methacrylate)-block-poly(methacrylic acid-iodide; PMAA-b- PCMA-b-PMAA-I)	51

สารบัญภาพ (ต่อ)

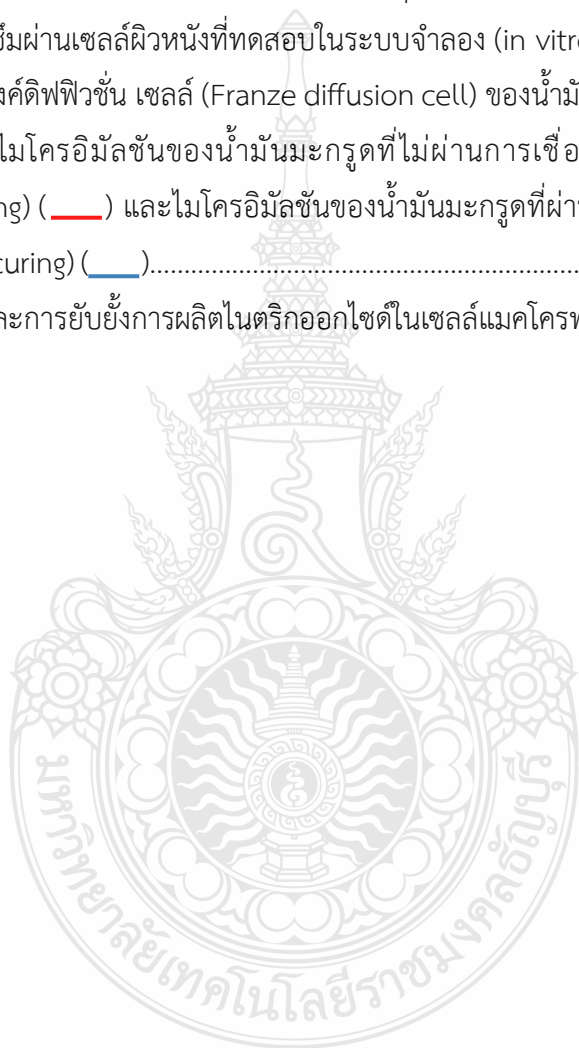
		หน้า
ภาพที่ 3.4	แผนภาพเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ.....	53
ภาพที่ 3.5	แผนภาพการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพผ่านการเชื่อมขวาง โดยการฉายรังสียูวี.....	54
ภาพที่ 4.1	มอนอเมอร์ชีวภาพซินนามิลเมทาคริเลต.....	60
ภาพที่ 4.2	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ โดย (a) ซินนามิลแอลกอฮอล์ และ (b) ซินนามิลเมทาคริเลต	61
ภาพที่ 4.3	สเปกตรัม FT-IR โดย (a) ซินนามิลแอลกอฮอล์ และ (b) ซินนามิลเมทาคริเลต.....	62
ภาพที่ 4.4	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของพอลิเมทาคริลิกแอซิด-ไอโอไดด์ (RUN 3).....	63
ภาพที่ 4.5	GPC โคมาโทแกรม ของ PMAA-I โดยศึกษาอัตราส่วนระหว่างโมลของตัวริเริ่มริเริ่มปฏิกิริยาต่อโมลของไอโอโดฟอร์ม (a) RUN 1 (V-501: CHI ₃ ; 1: 1) (b) RUN 2 (V-501: CHI ₃ ; 1: 0.67) (c) RUN 3 (V-501: CHI ₃ ; 1: 0.50) และ (d) RUN 4 (V-501: CHI ₃ ; 1: 0.22).....	64
ภาพที่ 4.6	ลักษณะหลังสังเคราะห์ของบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิกรดเมทาคริลิก-ไอโอไดด์.....	65
ภาพที่ 4.7	สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ พอลิ(กรดเมทาคริลิก) ₇ -บล็อก-พอลิ(ซินนามิลเมทาคริเลต) ₆ -บล็อก-พอลิ(กรดเมทาคริลิก) ₇ -ไอโอไดด์.....	66
ภาพที่ 4.8	ภาพถ่ายไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกรูดโดยใช้อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: Surfmix (โดยน้ำหนัก): (a) 1: 9 (b) 2: 8 (c) 3: 7 (d) 4: 6 (e) 5: 5 (f) 6: 4 (g) 7: 3 (h) 8: 2 and (l) 9: 1 ; เมื่อใช้อัตราส่วนของ BioSurf-Surf: CoSurf ที่ 2 : 1 โดยที่อัตราส่วนของ BioSurf: Surf ที่ 9:1.....	69
ภาพที่ 4.9	ภาพถ่ายไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกรูดโดยใช้อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: Surfmix (โดยน้ำหนัก): (a) 1: 9 (b) 2: 8 (c) 3: 7 (d) 4: 6 (e) 5: 5 (f) 6: 4 (g) 7: 3 (h) 8: 2 and (l) 9: 1 ; เมื่อใช้อัตราส่วนของ BioSurf-Surf: CoSurf ที่ 2 : 1 โดยที่อัตราส่วนของ BioSurf: Surf ที่ 8:2.....	70
ภาพที่ 4.10	ภาพถ่ายไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกรูดโดยใช้อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: Surfmix (โดยน้ำหนัก): (a) 1: 9 (b) 2: 8 (c) 3: 7 (d) 4: 6 (e) 5: 5 (f) 6: 4 (g) 7: 3 (h)	

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
	8: 2 and (l) 9: 1 ; เมื่อใช้อัตราส่วนของ BioSurf-Surf: CoSurf ที่ 2 : 1 โดยที่อัตราส่วนของ BioSurf: Surf ที่ 7:3.....	70
ภาพที่ 4.11	ภาพถ่ายไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกรูดโดยใช้อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: Surfmix (โดยน้ำหนัก): (a) 1: 9 (b) 2: 8 (c) 3: 7 (d) 4: 6 (e) 5: 5 (f) 6: 4 (g) 7: 3 (h) 8: 2 and (l) 9: 1 ; เมื่อใช้อัตราส่วนของ BioSurf-Surf: CoSurf ที่ 2 : 1 โดยที่อัตราส่วนของ BioSurf: Surf ที่ 6:4.....	71
ภาพที่ 4.12	ภาพถ่ายไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกรูดโดยใช้อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: Surfmix (โดยน้ำหนัก): (a) 1: 9 (b) 2: 8 (c) 3: 7 (d) 4: 6 (e) 5: 5 (f) 6: 4 (g) 7: 3 (h) 8: 2 and (l) 9: 1 ; เมื่อใช้อัตราส่วนของ BioSurf-Surf: CoSurf ที่ 2 : 1 โดยที่อัตราส่วนของ BioSurf: Surf ที่ 5:5.....	71
ภาพที่ 4.13	ภาพถ่ายไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกรูดโดยใช้อัตราส่วนของ KLO: Surfmix (โดยน้ำหนัก) ที่ 1: 9 (a-f) และ 2: 8 (g-l) โดยที่อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: BioSurf: Surf: CoSurf: H ₂ O (โดยน้ำหนัก): (a) 9: 27: 27: 9 (b) 7: 20: 20: 33 (c) 5: 15: 15: 15: 50 (d) 3: 5: 5: 5: 70 (e) 2: 5: 5: 5: 81 (f) 1: 3: 3: 3: 89 (g) 18: 24: 24: 24: 9 (h) 13: 18: 18: 18: 33 (i) 10: 13: 13: 13: 50 (j) 6: 8: 8: 8: 70 (k) 4: 5: 5: 5: 81 (l) 2: 3: 3: 3: 89.....	72
ภาพที่ 4.14	(a) แผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียม (pseudo-ternary phase diagram) และ(b-d) ขนาดอนุภาคของไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกรูด อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: BioSurf: Surf: CoSurf: H ₂ O (โดยน้ำหนัก): (b) 6: 8: 8: 8: 70 (c) 4: 5: 5: 5: 81 (d) 2: 3: 3: 3: 89.....	73
ภาพที่ 4.15	ภาพถ่าย (a-h) และ DLS ฮิสโทแกรม (a'-h') ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ชีวภาพผ่านการเชื่อมขวางโดยการฉายรังสียูวี โดย (a, a') 0 นาที (b, b') 1 นาที, (c, c') 5 นาที, (d, d') 10 นาที, (e, e') 30 นาที, (f, f') 60 นาที, (g, g') 90 นาที และ (h, h') 120 นาที.....	74
ภาพที่ 4.16	สเปกตรัมยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ชีวภาพผ่านการเชื่อมขวาง โดยการฉายรังสียูวี.....	76

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 4.17	ภาพถ่ายและขนาดของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูด (a) without UV curing และ (b) with UV curing ที่ 0 และ 28 วัน ที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ	77
ภาพที่ 4.18	ผลทดสอบความเป็นพิษในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูด	78
ภาพที่ 4.19	การซึมผ่านเซลล์ผิวหนังที่ทดสอบในระบบจำลอง (in vitro testing) ด้วยเทคนิคแฟรงค์ดิฟฟิวชั่น เซลล์ (Franze diffusion cell) ของน้ำมันมะกรูด (KLO) (—) และไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (without UV curing) (—) และไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง (with UV curing) (—).....	80
ภาพที่ 4.20	ร้อยละการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจของไมโครอิมัลชัน..	82



บทที่ 1

บทนำ

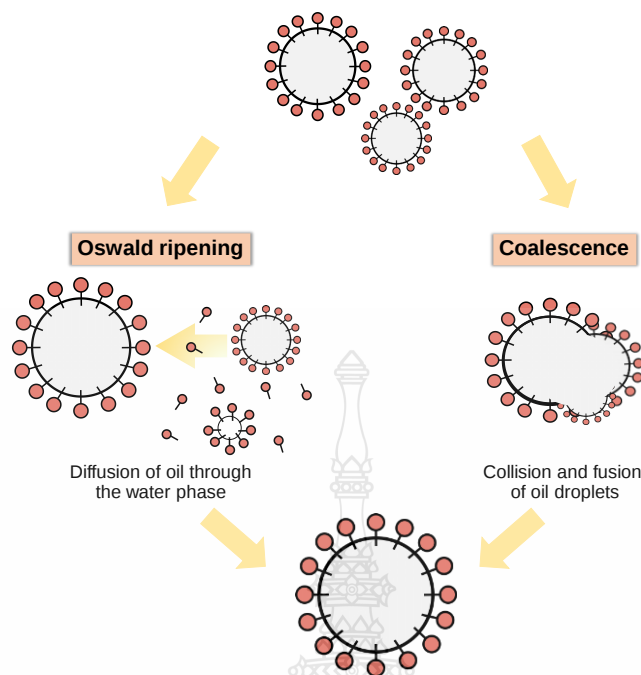
1.1 ที่มาและปัญหา

ผิวมะกรูดเป็นวัตถุดิบธรรมชาติที่นำมาสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหย ซึ่งเป็นสินค้าคุณภาพสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรได้เป็นอย่างดี [1-4]. การสกัดน้ำมันมะกรูด (Kaffir lime oil) ด้วยกระบวนการกลั่นเย็นที่ไม่ใช้ทั้งความร้อนและสารเคมี ทำให้น้ำมันมะกรูดที่ได้มีกลิ่นหอม คงกลิ่น คงสี คงคุณค่าและสรรพคุณไว้ได้เป็นระยะเวลานาน [5, 6] น้ำมันมะกรูดจากธรรมชาติมีกลุ่มสารสำคัญได้แก่ เบต้า-ไพเนน (β -pinene) แคมฟิน (Camphene) ซิทรัล (Citral) โลนาลูอล (Linalool) และ ซิโตรเนลลอล (citronellal) [7-10] ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพและเภสัชวิทยาที่โดดเด่น เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านจุลินทรีย์ [11, 12] ช่วยลดการเกิดรังแคบนหนังศีรษะ แก้อาการคันหนังศีรษะ ช่วยกระตุ้นการงอกของรากผม และช่วยให้เส้นผมดำและเงางาม จึงเหมาะนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับเส้นผมและหนังศีรษะ เช่น แฮร์ โทนิค (Hair tonic) และแฮร์ เซรั่ม (Hair Serum) ยาสระผม และครีมนวดผม [13-15]. อย่างไรก็ตามปัญหาหลักที่พบเมื่อนำน้ำมันมะกรูดไปใช้ในผลิตภัณฑ์เหล่านี้โดยตรง คือความไม่คงตัว (Instability) ของน้ำมันมะกรูด จากปัจจัยภายนอก ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น การถูกออกซิเดชัน แสง และความร้อน ส่งผลให้สารสำคัญเช่นสารต้านอนุมูลอิสระ (Anti-oxidant) สารต้านการอักเสบ (Anti-inflammation) และสารต้านจุลินทรีย์ก่อโรค (Anti-microbial) [11, 12, 16, 17] เกิดการเสื่อมสลายตัว (Degradation) อย่างรวดเร็ว [18-21] ส่งผลให้ประสิทธิภาพและอายุการใช้งานของผลิตภัณฑ์ลดลง รวมทั้งทำให้สีและกลิ่นของน้ำมันมะกรูดผิดเพี้ยนไปจากเดิม [5, 22] นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีอัตราการซึมผ่านผิวหนังที่ต่ำ (Low skin delivery) เนื่องจากละลายน้ำได้น้อยทำให้มีประสิทธิภาพต่ำในการนำส่งสารสำคัญไปยังบริเวณเป้าหมายรวมทั้งไม่สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญได้อย่างมีประสิทธิภาพ [23].

ในการแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้น ทำได้โดยกักเก็บน้ำมันมะกรูดให้อยู่ในรูปของไมโครอิมัลชัน ซึ่งจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสของน้ำมันมะกรูดกับผิวหนังได้มากขึ้น เพิ่มประสิทธิภาพการซึมผ่านผิวหนังได้มากขึ้น การเตรียมไมโครอิมัลชันหรือนาโนอิมัลชัน [24-26] จะนิยมใช้สารลดแรงตึงผิวทั้งที่มีประจุหรือชนิดไม่มีประจุละลายในน้ำทำหน้าที่เป็นวัฏภาคต่อเนื่อง (Continuous phase) จากนั้นนำน้ำมันมะกรูดมากระจายตัวในวัฏภาคต่อเนื่อง โดยไม่ใช้แรงเฉือนสูง [27, 28] ไมโครอิมัลชันที่ได้จะมีลักษณะโปร่งใส โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคประมาณ 10-150 นาโนเมตร ส่วนนาโนอิมัลชันจะมีลักษณะเป็น

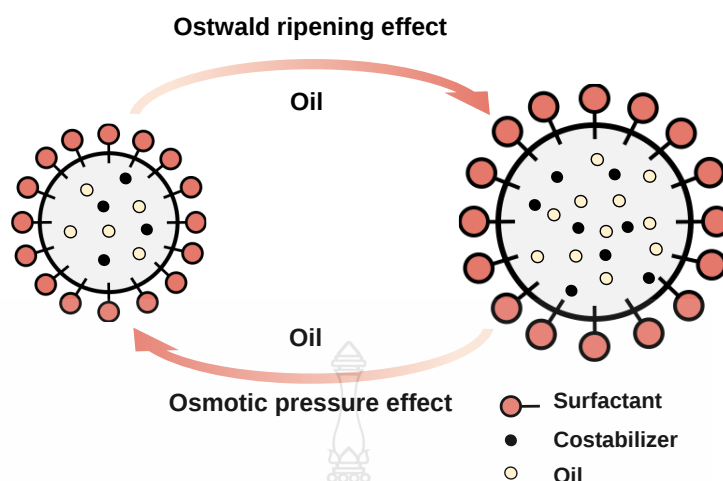
น้ำมัน เส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค ไม่เกิน 1 ไมครอน โดยหยดของน้ำมันมะกูดจะมีความเสถียรไม่เกาะกัน เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวมาเคลือบที่หยด อย่างไรก็ตาม พบว่าอิมัลชันของน้ำมันมะกูดคงสมบัติสำคัญ ๆ ไว้ได้ไม่นาน อาจเนื่องมาจากสารลดแรงตึงผิวเป็นสารโมเลกุลขนาดเล็ก สายโซ่สั้น ๆ ทำให้มีประสิทธิภาพต่ำในการกักเก็บน้ำมันมะกูดอยู่ภายในหยด [29]. โดยเฉพาะเมื่อนำอิมัลชันไปผสมกับองค์ประกอบอื่น ๆ ในการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เช่นยาสระผม ครีมนวดผม โลชั่น ซึ่งในระบบจะมีความหนืดสูง อิมัลชันของน้ำมันมะกูดจะคงรูปได้ยากขึ้น ส่งผลให้สมบัติสำคัญของน้ำมันมะกูดเสื่อมสลายได้เร็วขึ้น

อีกทั้งในการประยุกต์ใช้ไมโครอิมัลชันหรือนาโนอิมัลชันในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ปัญหาหลักที่พบอยู่เป็นประจำคือความไม่เสถียรของอิมัลชัน ซึ่งจะก่อให้เกิดการรวมตัวกันของขนาดหยดของอิมัลชันทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อเก็บไว้ในระยะเวลานาน อาจเกิดการแยกชั้นหรือตกตะกอนได้ [30, 31] ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อสมบัติของสารที่ถูกกักเก็บในอิมัลชัน เพราะจะสลายตัวได้ง่ายขึ้น ส่งผลเสียอย่างมากต่อผลิตภัณฑ์ที่ผสมไมโครอิมัลชันหรือนาโนอิมัลชัน การเกิดปัญหาดังกล่าวเกิดมาจากการที่น้ำมันในหยดขนาดเล็กเคลื่อนที่ผ่านน้ำไปที่หยดขนาดใหญ่ ทำให้เมื่อเวลาผ่านไปหยดขนาดเล็กจะหายไปและเหลือเฉพาะขนาดใหญ่เท่านั้นเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า “ออสวาลด์รีพเพนนิ่ง (Oswald ripening)” ถึงแม้ว่าจะมีสารลดแรงตึงผิวเกาะที่ผิวของหยดป้องกันการรวมตัวของหยดแล้วก็ตาม เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวจะป้องกันได้เฉพาะการชนกันของหยदन้ำมัน แต่ไม่สามารถป้องกันการเคลื่อนที่ของน้ำมันจากหยดเล็กไปที่หยดขนาดใหญ่ได้ เพราะกลไกที่จะทำให้ขนาดของหยदन้ำมันมีขนาดโตขึ้นมีสองกลไกคือการชนกันของหยดและออสวาลด์รีพเพนนิ่ง ดังแสดงในภาพที่ 1.1



ภาพที่ 1.1 โมเดลการโตของหยดน้ำมัน

ดังนั้นถึงแม้ว่าจะใช้สารลดแรงตึงผิวที่มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันการรวมตัวกันของหยดน้ำมัน (ที่เตรียมให้มีขนาดในช่วง 1-200 นาโนเมตร ไม่ใช่แรงเฉือนสูง) แต่สุดท้ายหยดน้ำมันจะโตขึ้น มีขนาดในระดับไมโครเมตรผ่านปรากฏการณ์ออสวาลด์ริฟเพนนิ่ง [32-35] และอาจเกิดการแยกชั้นซึ่งจะทำให้ให้น้ำมันเกิดการสลายตัวได้ง่าย การที่จะทำให้หยดน้ำมันมีความเสถียรหรือลดปรากฏการณ์ออสวาลด์ริฟเพนนิ่ง จะใช้สารตัวทำเสถียรร่วม (Costabilizer) ผสมลงในหยดน้ำมัน (ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน) [24, 36, 37] ในปริมาณ 1-8% โดยสารตัวทำเสถียรร่วมนี้จะต้องไม่ละลายในวัฏภาคต่อเนื่อง เมื่อหยดน้ำมันถูกเตรียมขึ้นกระจายในวัฏภาคต่อเนื่อง ทุกหยดของน้ำมันจะมีความเข้มข้นของสารตัวทำเสถียรร่วมเท่า ๆ กัน เมื่อน้ำมันจากหยดขนาดเล็กแพร่ผ่านวัฏภาคต่อเนื่องเข้าสู่หยดขนาดใหญ่ ตามปรากฏการณ์ออสวาลด์ริฟเพนนิ่ง สารตัวทำเสถียรร่วมจะไม่มี การแพร่เพราะไม่ละลายในวัฏภาคต่อเนื่อง ความเข้มข้นของตัวทำเสถียรร่วมจะเพิ่มขึ้นในหยดที่มีขนาดเล็กลง และจะเจือจางลงในหยดที่มีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อทั้งสองหยดมีความเข้มข้นของสารตัวทำเสถียรต่างกันมาก ๆ น้ำมันจากหยดที่ใหญ่กว่าจะเคลื่อนที่กลับมายังหยดขนาดเล็กกว่าเพื่อทำให้ความเข้มข้นของสารตัวทำเสถียรร่วมกลับมาเท่าเดิม ตามปรากฏการณ์ความดันออสโมติก แสดงดังภาพที่ 1.2



ภาพที่ 1.2 กลไกการเคลื่อนย้ายมอนอเมอร์ระหว่างหยดมอนอเมอร์ขนาดเล็กและขนาดใหญ่ตามปรากฏการณ์ออสวาลด์รีฟเฟนนิ่งและความดันออสโมติก

อย่างไรก็ตามการใช้เพียงสารลดแรงตึงผิวและสารตัวทำเสถียรร่วม หยดของน้ำมันซึ่งเป็นของเหลวจะไม่สามารถคงรูปทรงไว้เหมือนเดิมเมื่ออยู่ในองค์ประกอบที่มีความหนืดสูงเช่นโลชั่นหรือครีมนวดผมหรือยาสระผม ซึ่งอาจทำให้น้ำมันหลุดออกมาจากหยดได้ง่ายทำให้น้ำมันที่ถูกกักเก็บด้วยวิธีเหล่านี้มีความเสถียรต่ำ เสื่อมสภาพได้ง่าย [38] การเพิ่มพอลิเมอร์ชีวภาพเข้าไปในวัฏภาคน้ำมันพบว่า จะช่วยให้หยดมีความแข็งแรงและลดปรากฏการณ์ออสวาลด์รีฟเฟนนิ่งได้ดี [39-41] ดังนั้นในงานนี้จะทดลองใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพเข้ามาผสมกับน้ำมันมะกูด ทำงานช่วยสารลดแรงตึงผิว ทำให้คงรูปได้ดีขึ้น [40, 42, 43] ช่วยลดการหลุดออกของน้ำมันมะกูด และยืดอายุการใช้งาน

ซินนามิลแอลกอฮอล์ (Cinnamyl alcohol) เป็นมอนอเมอร์ชีวภาพที่ได้จากธรรมชาติ พบมากในเปลือกของอบเชย [44, 45] มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่โดดเด่น เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ [46-49] นอกจากนี้ยังมีหมู่ซินนามิลที่สามารถเชื่อมขวางได้โดยการฉายรังสียูวี ไม่ว่าจะอยู่ในสายโซ่หลักหรือเป็นส่วนหนึ่งของสายโซ่ด้านข้าง การเชื่อมขวางนี้เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาไดเมอไรเซชันของพันธะคู่คาร์บอน-คาร์บอนของหมู่ซินนามิล [50-56] ดังนั้นจึงนำไปสู่การสังเคราะห์พอลิเมอร์หรือมอนอเมอร์หลายชนิดที่มีหมู่ซินนามิลหรือซินนามิล วัสดุเหล่านี้รวมถึงพอลิเอสเทอร์ [57] นาโนคอมโพสิตของพอลิเมอร์ POSS-cinnamoyl [58] โคพอลิเมอร์เมทาคริเลต [59] และวัสดุพอลิคาร์บอนอะตอะลิฟาติกจากชีวภาพ [60]

ดังนั้นในงานนี้จึงมีการใช้โคพอลิเมอร์ชีวภาพ ชินนามิล เมทาคริเลต และกรดเมทาคริลิก (พอลิเมอร์ที่เข้ากันได้ทางชีวภาพ) เป็นครั้งแรก ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวเชิงพาณิชย์ผสมกับน้ำมันมะกูด โดยขั้นแรกนำมอโนเมอร์ชีวภาพ ชินนามิลแอลกอฮอล์ทำปฏิกิริยากับเมทาคริลิกแอนไฮไดรด์ ผ่านปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันเพื่อให้มีพันธะคู่ ได้เป็นชินนามิลเมทาคริเลต จากนั้นนำมาสังเคราะห์ร่วมกับโคพอลิเมอร์ กรดเมทาคริลิกในเอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายชีวภาพ [61] ผ่านการสังเคราะห์พอลิเมอร์ด้วยกลไกโยกย้ายไอโอดีนหรือโซลูชันไอทีพี [62-64] ทำให้เกิดเป็น พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิชินนามิล เมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดีน [PolyMethacrylic acid-*block*-PolyCinnamyl Methacrylate-*block*-PolyMethacrylic acid-iodide] [PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I] หลังการเตรียมไมโครอิมัลชัน โคพอลิเมอร์ชีวภาพ PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA ที่ถูกดัดซับบนหยด ตามด้วยไดเมอร์ไรเซชันที่ริเริ่มโดยการฉายรังสียูวี เพื่อเชื่อมต่อสายโซ่โคพอลิเมอร์ โดยไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพผ่านการเชื่อมร่างขวาง ถูกทดสอบคุณลักษณะหมู่ฟังก์ชันทางเคมีโดย FTIR และ $^1\text{H-NMR}$ ศึกษาประสิทธิภาพการควบคุมการปล่อยน้ำมันมะกูดที่รวมอยู่ในไมโครอิมัลชัน

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อเตรียมบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพเพื่อใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวในระบบไมโครอิมัลชัน

1.2.2 เพื่อพัฒนาการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดด้วยบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ

1.2.3 เพื่อทดสอบสมบัติของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่เตรียมได้

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ด้วยเทคนิคไอโอดีน แรดิคอล พอลิเมอร์ไรเซชัน รวมทั้งปรับเปลี่ยนความยาวของแต่ละบล็อกโคพอลิเมอร์ให้มีความเหมาะสมก่อนนำบล็อกโคพอลิเมอร์มาใช้ในการเตรียมไมโครอิมัลชันกักเก็บน้ำมันมะกูด

1.3.2 ศึกษาลักษณะของอนุภาคของบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพที่เตรียมได้โดยเทคนิคต่าง ๆ

1.3.3 ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อ ความเสถียรของไมโครอิมัลชัน รวมทั้งจะทดลองนำไมโครอิมัลชันที่ได้

1.4 กรอบแนวความคิดของงานวิจัย

ในการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดให้มีความแข็งแรงของเปลือก และมีความเสถียรทางคอลลอยด์ จะเลือกใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพของซินนามิลเมทาคริเลตและเมทาคริลิก แอซิด โดยพอลิซินนามิลเมทาคริเลต เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพ และในโครงสร้างยังมีหมู่ที่ตอบสนองต่อรังสียูวี เมื่อถูกกระตุ้นด้วยรังสียูวีจะเกิดการเชื่อมขวาง ทำให้ที่ผิวของหยดน้ำมันมะกูดมีความแข็งแรงมากขึ้น ในขณะเดียวกันส่วนของบล็อกเมทาคริลิก แอซิด จะมีหมู่คาร์บอกซิล ซึ่งมีความมีขั้วสูง จะช่วยดึงให้สายโซ่บล็อกโคพอลิเมอร์เคลื่อนที่มาอยู่ที่ผิวของหยดน้ำมันมะกูด ทำให้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพของซินนามิลเมทาคริเลตและเมทาคริลิก แอซิดเกาะได้ดีบนผิวของหยดน้ำมันมะกูด อย่างไรก็ตามการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดเดียว แม้ใช้ในปริมาณที่มาก แต่จะไม่สามารถเคลือบบนที่ว่างของผิวของหยดน้ำมันได้หมด ดังนั้นจำเป็นต้องมีสารลดแรงตึงผิวร่วมเคลือบบนช่องว่างที่เหลือของบล็อกโคพอลิเมอร์ เพื่อให้หยดของน้ำมันมะกูดมีความเสถียรทางเทอร์โมไดนามิกส์ มีหยดขนาดประมาณ 100 นาโนเมตรหรือเล็กกว่า ตามนิยามของการเตรียมหยดในระบบไมโครอิมัลชัน [65] โดยระบบไมโครอิมัลชันคือระบบที่ประกอบด้วยน้ำมัน สารลดแรงตึงผิว และน้ำ ที่เป็นคอลลอยด์ที่มีความโปร่งใส โดยหยดของน้ำมันจะมีขนาดเล็กมาก (≤ 100 นาโนเมตร) และมีความเสถียรสูง อย่างไรก็ตามในการที่จะเตรียมระบบไมโครอิมัลชันให้ประสบความสำเร็จ จำเป็นต้องใช้ปริมาณรวมของสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวรวมจำนวนมาก (อยู่ในช่วง 15-45%) [66, 67] อาจทำให้สมบัติของสารที่ถูกกักเก็บลดลงได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพของซินนามิลเมทาคริเลตและเมทาคริลิก แอซิด ทำงานร่วมกับทวิน 80 เป็นสารลดแรงตึงผิวหลัก โดยคาดหวังว่าการทำงานร่วมกันของสารทั้งสองจะเคลือบอยู่ที่ผิวของหยดน้ำมันมะกูดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้มีพื้นที่ผิวที่ว่างน้อยมาก (ลด Surface energy) จึงน่าจะช่วยเพิ่มอายุการใช้งานของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดได้ดี

ดังนั้นจะทำการเตรียมบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพก่อน โดยในช่วงแรกๆ การนำสารกลุ่มซินนามิลเมทาคริเลตผลิตเป็นพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ สามารถเตรียมผ่านกลไกการสังเคราะห์แบบประจุ แต่ได้ปริมาณของพอลิเมอร์น้อยและได้มวลโมเลกุลต่ำ [68] การเพิ่มประสิทธิภาพในการเตรียมพอลิซินนามิลเมทาคริเลตสามารถทำได้ โดยใช้กลไกการสังเคราะห์ผ่านอนุมูลอิสระ โดยก่อนการสังเคราะห์ ซินนามิลเมทาคริเลต จำเป็นต้องทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) ของซินนามิลแอลกอฮอล์กับกรดอะคริลิกแอซิดหรืออะคริลิกแอนไฮไดรต์ เพื่อให้มีพันธะคู่ก่อน [69-71] ในกรณีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ผ่านกลไกอนุมูลอิสระ เนื่องจากเป็นกลไกที่มีความเสถียรต่อสารปนเปื้อนต่าง ๆ ทำให้สามารถสังเคราะห์ได้แม้น้ำปนเปื้อนหรือเป็นองค์ประกอบ และสะดวกในการเตรียมพอลิเมอร์ที่มีหน้าที่เฉพาะ (Functional polymer) ทำให้ง่ายในการเตรียมในระดับอุตสาหกรรม อย่างไรก็ตาม กลไกนี้มีข้อด้อยที่สำคัญ คือ ไม่สามารถเตรียมบล็อกโคพอลิเมอร์ (block copolymer) พอลิเมอร์ที่มีการ

กระจายน้ำหนักโมเลกุลแคบ (Narrow Molecular Weight Distribution; MWDs) และพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน (Complex architectures) ได้ [72, 73] เนื่องมาจากอนุพลีอิสระมีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยา ทำให้เกิดการต่อสายโซ่พอลิเมอร์และมีโอกาสเกิดการสิ้นสุดปฏิกิริยา รวมทั้งการเกิดการโยกย้ายสายโซ่ (Chain transfer) และปฏิกิริยาข้างเคียงอื่น ๆ ได้ง่าย ดังนั้น ในช่วงเวลาหลายปีที่ผ่านมา การเตรียมพอลิเมอร์ด้วยกลไกแบบอนุพลีอิสระให้มีโครงสร้างแน่นอนตามต้องการ จึงเป็นเป้าหมายหลักของนักวิจัยด้านเคมีพอลิเมอร์ โดยรีเวอร์สซิเบิล ดีแอกติเวชัน แรดิคอล พอลิเมอไรเซชัน (Reversible-Deactivation Radical Polymerization; RDRPs) [72, 74] เป็นเทคนิคที่ถูกพัฒนาขึ้นมาในช่วงเวลาไม่นานเพื่อแก้ไขข้อด้อยต่าง ๆ ของการสังเคราะห์แบบอนุพลีอิสระแบบดั้งเดิมเช่น สามารถควบคุมการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ให้แคบได้ซึ่งทำให้พอลิเมอร์ที่ได้มีสมบัติที่สม่ำเสมอ [75, 76] หนึ่งในเทคนิค RDRPs ที่ได้รับความนิยม คือ เทคนิคไอโอดีน ทรานสเฟอ พอลิเมอไรเซชัน (iodine transfer polymerization; ITP) [77] เป็นหนึ่งในเทคนิค RDRPs ที่น่าสนใจ เนื่องจากไม่ใช้อุณหภูมิสูง และไม่ใช้โลหะหนักเป็นตัวควบคุมการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล แต่จะใช้สารประกอบพวกไอโอไดด์ เช่น ไอโอโดฟอร์ม (Iodoform) แทนโลหะหนัก ซึ่งสารเหล่านี้เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และมีราคาถูก โดยในงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ทีมผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการนำเทคนิค ITP ใช้ในการเตรียมอนุภาค/พอลิเมอร์ไมโครแคปซูล[78-88] รวมทั้งใช้ในการสังเคราะห์สารโยกย้ายสายโซ่หรือสารตัวควบคุมน้ำหนักโมเลกุลที่สามารถละลายในน้ำได้ คือ พอลิ(เมทาคริลิก แอซิด)-ไอโอไดด์ เพื่อนำไปเตรียมอนุภาคนาโนพอลิเมอร์ของพอลิ(เมทาคริลิก แอซิด)-บล็อก-พอลิสไตรีน [89] โดยอาศัยการประกอบตัวเอง [90]

ดังนั้นในงานนี้จะทดลองนำเทคนิคไอโอดีน ทรานสเฟอ พอลิเมอไรเซชัน มาใช้ในการสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ โดยจะใช้สภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์พอลิ(เมทาคริลิก แอซิด)-ไอโอไดด์ ในงานที่ผ่านมา มาประยุกต์ใช้ในการเตรียมบล็อกที่สอง ที่ใช้ซินนามิลเมทาคริเลตที่ทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันเรียบร้อยแล้ว ต่อลงบนสายโซ่ของพอลิ(เมทาคริลิก แอซิด)-ไอโอไดด์ ก่อนนำไปผสมกับน้ำมันมะกูดในการเตรียมไมโครอิมัลชัน โดยจะละลายในน้ำมันมะกูดและสารลดแรงตึงผิวไม่มีประจุในปริมาณและอัตราส่วนที่เหมาะสม ก่อนค่อย ๆ เติมน้ำ ภายใต้การปั่นที่เหมาะสม จนเกิดเป็นคอลลอยด์ที่โปร่งใส

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 เทคโนโลยีการผลิตไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ

1.5.2 ผลิตภัณฑ์ไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะกรูด (kaffir lime)



ภาพที่ 2.1 มะกรูด (kaffir lime)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

วงศ์	RUTACEAE
ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Citrus hystrix</i> DC.
ชื่อสามัญ	Kaffir lime, Leech lime, Mauritius papeda
ชื่อพื้นเมือง	มะขู, มะขุน, มะขูด (ภาคเหนือ), ส้มกรูด, ส้มมั่วผี (ภาคใต้), มะหูด, บักกรูด (ภาคอีสาน)

มะกรูด เป็นพืชในสกุลส้ม (Citrus) มีถิ่นกำเนิดในประเทศลาว อินโดนีเซีย มาเลเซีย และไทย ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นิยมใช้ใบมะกรูดและผิวมะกรูดเป็นส่วนหนึ่งของเครื่องปรุงอาหารหลายชนิด นอกจากในประเทศไทยและลาวแล้ว ยังมีความนิยมในกัมพูชา เวียดนาม มาเลเซีย และอินโดนีเซีย (โดยเฉพาะบาห์ลี) มะกรูดเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก เป็นไม้เนื้อแข็ง ลำต้นและกิ่งมีหนามยาวเล็กน้อย ใบเป็นใบประกอบชนิดดรู๊ป มีใบย่อย 1 ใบ เรียงสลับ รูปไข่ คือมีลักษณะคล้ายกับใบไม้ 2 ใบ ต่อกันอยู่ คอดกึ่งที่กลางใบเป็นตอน ๆ มีก้านแผ่ออกใหญ่เท่ากับแผ่นใบ ทำให้เห็นใบเป็น 2 ตอน กว้าง 2.5 - 4 เซนติเมตร ยาว 4 - 7 เซนติเมตร ใบสีเขียวแก่พื้นผิวใบเรียบเกลี้ยง เป็นมัน ค่อนข้างหนา มีกลิ่นหอมขดดอกออกเป็นกระจุก 3 - 5 ดอก กลีบดอกสีขาว เกสรสีเหลือง มีผลสีเขียวเข้มคล้ายมะนาวผิวเปลือก

นอกขรุขระมีต่อมน้ำมันกระจายอยู่ที่ผิว (hesperidium) ผลอ่อนมีเป็นสีเขียวแก่ เมื่อผลสุกจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองสด

2.1.2 คุณค่าทางโภชนาการของมะกรูด

ใบมะกรูด 100 กรัม ให้พลังงาน 171 กิโลแคลอรี ประกอบไปด้วยคุณค่าทางสารอาหารที่สำคัญ (แสดงในตาราง 2.1) [91] และยังพบว่ามะกรูดเป็นพืชสมุนไพรในการทางแพทย์สามารถป้องกันโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ นอกจากนี้ในมะกรูดยังมีกลุ่มสารสำคัญ ได้แก่ เบต้า-ไพเนน (β -pinene) แคมฟิน (Camphene) ซิตราล (Citral) ไลนาลูอล (Linalool) และ ซิโตรเนลลอล (citronellal) ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพและเภสัชวิทยา เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านจุลินทรีย์ และยังเป็นแหล่งสำคัญของเบต้าแคโรทีน ที่สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* และยับยั้งเนื้องอกในระบบทางเดินอาหาร

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบสารอาหารในมะกรูด

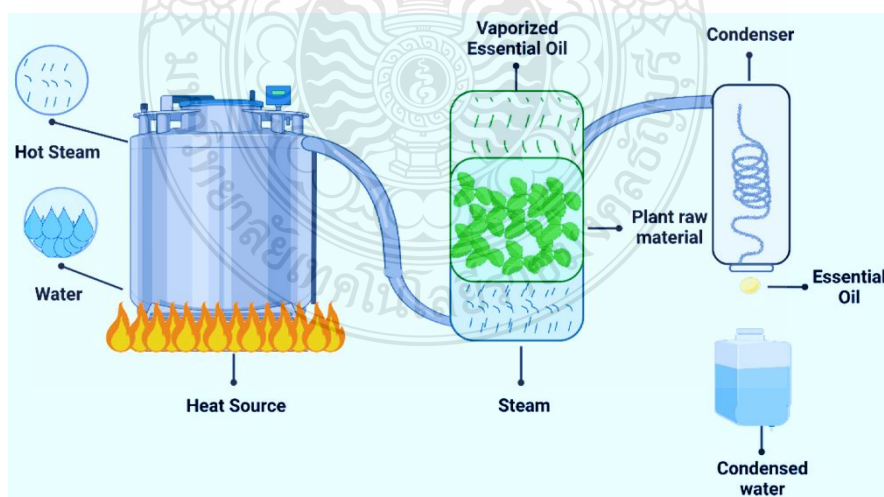
Chemical composition	Quantity / 100 g
Protein	6.80 g
Fat	3.10 g
Carbohydrates	29.00 g
Fiber	8.20 g
Calcium	1672.00 mg
Phosphorus	20.00 mg
Iron	3.80 mg
Vitamin A	303.00 μ g
Thiamine	0.20 mg
Riboflavin	0.35 mg
Niacin	1.00 mg
Vitamin C	20.00 mg
Ash	4.00 g

2.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหย (Extracting Essential Oil)

น้ำมันน้ำมันหอมระเหย ได้จากการสกัดด้วยกระบวนการต่าง ๆ ตามความเหมาะสมของพืชแต่ละชนิด โดยคุณสมบัติหลักของน้ำมันหอมระเหย คือ เป็นสารระเหยในอุณหภูมิปกติ ทำให้ได้รับกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยของพืชชนิดนั้น ๆ และน้ำมันหอมระเหยยังมีกลุ่มสารธรรมชาติที่สำคัญ ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพและเภสัชวิทยาที่โดดเด่น เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ ด้านจุลินทรีย์ เป็นต้น โดยกระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหย ที่นิยมใช้หลักๆ แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้

2.2.1 สกัดด้วยไอน้ำ (Steam Distillation)

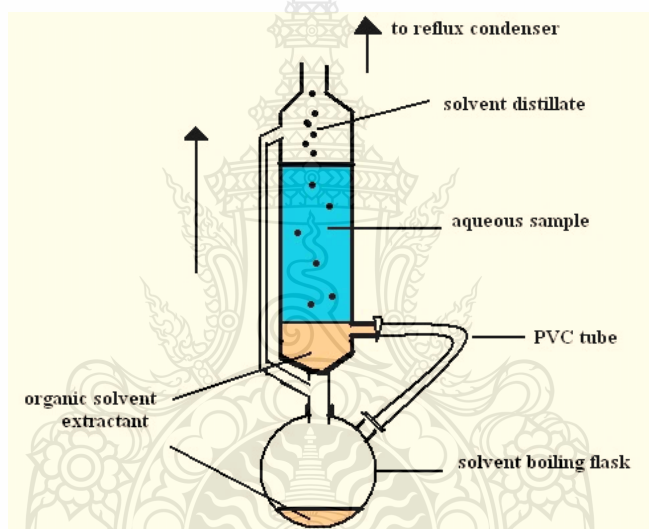
เป็นวิธีการสกัดที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายทั้งในภาคการเกษตรและอุตสาหกรรม (ดังภาพที่ 2.2) ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อน สามารถใช้สกัดพืชได้หลายชนิด โดยพืชที่นิยมนำมาสกัดด้วยวิธีนี้ คือ ลาเวนเดอร์, เปปเปอร์มินต์, และ ยูคาลิปตัส เป็นต้น โดยวิธีการสกัดจะใช้เวลาระหว่าง 1 ถึง 10 ชั่วโมง ปริมาณน้ำมันที่ได้จะขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการกลั่น อุณหภูมิ ความดัน และชนิดของพืช ในระหว่างการกลั่น ตัวอย่างจะถูกต้มให้เดือด เพื่อปล่อยน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ภายในผ่านการระเหยเป็นไอน้ำและไอระเหยของน้ำมันหอมระเหยจะถูกควบแน่น จากนั้นจะถูกรวบรวมและแยกออกจากกันในภาชนะที่เรียกว่า "ขวดฟลอเรนซ์" แม้ว่าการสกัดด้วยวิธีนี้ เป็นวิธีที่ง่ายและไม่ซับซ้อนแต่ก็มีข้อเสียมากมาย เนื่องจากตัวอย่างถูกต้มในน้ำเดือดเป็นเวลานาน ซึ่งส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ทำให้ทำประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยลดลง อีกทั้งยังทำให้กลิ่นและสีของน้ำมันหอมระเหยผิดเพี้ยนไปจากเดิม [92]



ภาพที่ 2.2 กระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยการสกัดแบบไอน้ำ [93]

2.2.2 สกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction)

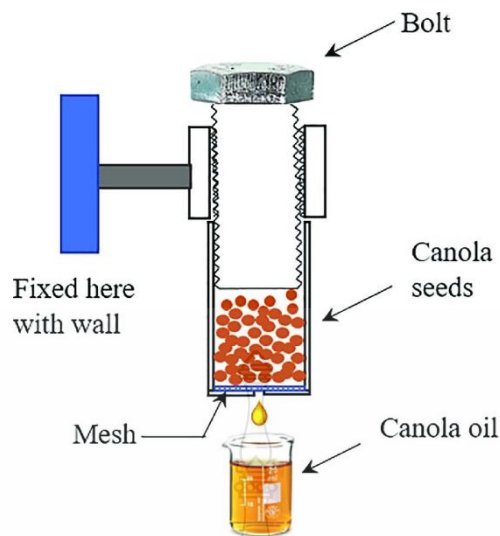
การสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยตัวทำละลายสามารถใช้เพื่อสกัดน้ำมันหอมระเหยที่ทนความร้อนได้ เช่น จากดอก โดยวิธีการสกัด ตัวอย่างที่บดแล้วจะถูกสกัดด้วยตัวทำละลายในอ่างตัวทำละลาย หลังจากการสกัดส่วนผสมของเหลวที่มีในน้ำมันหอมระเหย (รวมถึงสารประกอบอื่น ๆ) จะผ่านกระบวนการกรอง โดยตัวทำละลายที่มักใช้กันในการสกัด ได้แก่ แอลกอฮอล์ เฮกเซน เอทานอล ปิโตรเลียมอีเทอร์ และเมทานอล แม้ว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีที่รวดเร็วและใช้ต้นทุนที่ต่ำ ซึ่งช่วยลดความเสี่ยงของการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยวิธีนี้ ยังพบข้อเสียคือการตกค้างของตัวทำละลายในน้ำมันหอมระเหย ทำให้น้ำมันหอมระเหยที่ได้ไม่มีความบริสุทธิ์ จึงไม่สามารถใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารได้ [92]



ภาพที่ 2.3 กระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยการสกัดแบบใช้ตัวทำละลาย [94]

2.2.3 สกัดเย็น (Cold-Press or Expression)

การสกัดเย็นหรือการสกัดแบบบีบเป็นวิธีการสกัดที่เก่าแก่ที่สุด และมักใช้ในการผลิตน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม (Citrus) โดยการสกัดเย็นจะทำการแยกส่วนของน้ำมันออกมาจากส่วนต่าง ๆ ของพืชโดยการบีบอัดที่อุณหภูมิปกติโดยไม่ใช้ความร้อนและสารเคมี จากนั้นตั้งทิ้งไว้จนตกตะกอน แล้วกรองเอาเฉพาะส่วนของน้ำมันที่บริสุทธิ์มาใช้ ทำให้น้ำมันหอมระเหยที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง มีกลิ่นหอม คงกลิ่น คงสี คงคุณค่าและสรรพคุณไว้ได้เป็นระยะเวลานาน [92]



ภาพที่ 2.4 กระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยการสกัดเย็น [95]

2.3 น้ำมันมะกรูด (Kaffir lime oil)

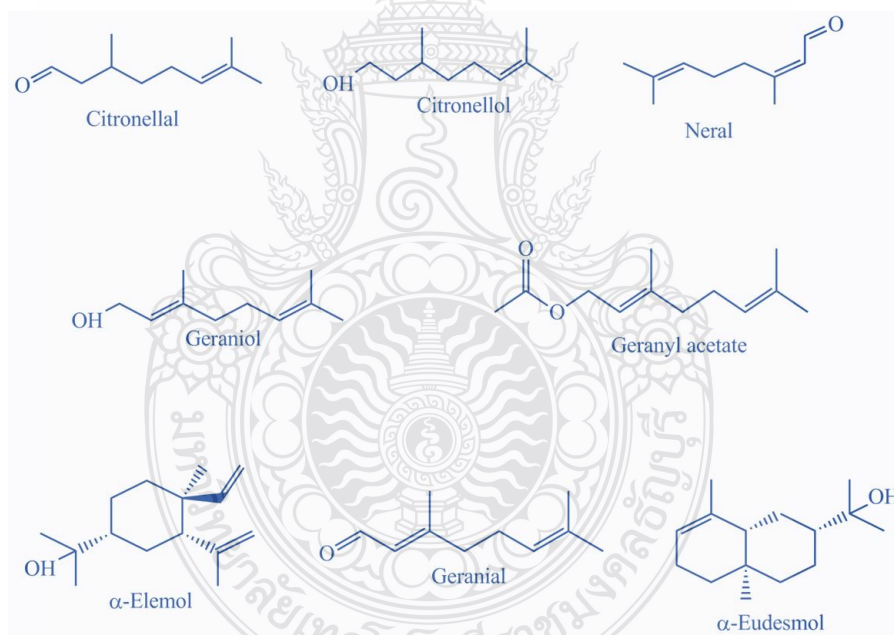


ภาพที่ 2.5 น้ำมันมะกรูด (kaffir lime oil) [96]

กลิ่นหอมเอกลักษณ์เฉพาะตัว แม้ว่าจะไม่ได้บริโภคโดยตรง บางครั้งยังใช้เป็นเครื่องเทศสำหรับการปรุงอาหารและใช้เป็นเครื่องดับ นอกจากนี้ยังนำไปทำน้ำมันสกัดจากเปลือกใช้ในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ความงาม โดยมีการศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับน้ำมันมะกรูด รายงานว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านไวรัส และปัจจุบันได้ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ ของใบมะกรูดที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นด้วยไฮโดรเจนหรือที่ได้จากเทคนิคการสกัดแบบระเหยอื่น ๆ

2.3.1 องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด (แสดงดังภาพที่ 2.6 และ ตารางที่ 2.2) ได้แก่ Citronellal, β -Myrcene, Limonene, Terpinene-4-oil, Citronellol, Citronellyl acetate, Geranial geranial acetate, β -pinene และ Neral ซึ่งทั้งหมดเป็นสารระเหยในกลุ่ม Monoterpenoids ลำดับน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด (*C. hystrix*) ที่เก็บรวบรวมในนิวกินี โดเนี่ยถูกสกัดโดยการกลั่นด้วยน้ำ วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) และประเมินฤทธิ์ต้านจุลชีพของพวกมัน [96] มีการระบุองค์ประกอบสามสิบแปดรายการ คิดเป็นร้อยละ 89.0 ขององค์ประกอบทั้งหมดในน้ำมันหอมระเหย ในบรรดาสารระเหยที่ระบุได้ของน้ำมันหอมระเหยใบมะกรูด ร้อยละ 87.0 มาจากกลุ่มมอนอเทอร์พีน โดยมีองค์ประกอบหลักคือ terpinene-4-oil of (13.0%) รองลงมาคือ β -pinene (10.9%), α -terpineol (7.6 %), 1,8-cineole (6.4 %) และ Citronellol (6.0 %) [97]



ภาพที่ 2.6 องค์ประกอบทางเคมีหลักของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด [98]

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด [7]

No.	Chemical compound	RT1 ^a [s]	Average RT2 ^b [s]	Similarity	Unique mass	Aroma descriptors
1	β-Pinene	1186	1.184	854	93	green, musty, pine, resinous, sweet, turpentine, woody
2	Sabinene	1050	2.097	939	93	herbal
3	Citronellal	1310	2.204	886	69	citrus, fatty, floral, lemon, rose
4	Linalool	1332	2.208	745	71	citrus, orange, lemon, floral, waxy, aldehydic, woody
5	α-Terpinol	1402	2.408	790	59	earthy, floral, musky, spicy, woody
6	β-Citronellol	1438	2.289	928	69	citrus, floral, rose
7	α-Citronellol acetate	1606	2.132	916	69	citrus, berry, floral, rose
8	α-Copaene	1682	2.070	937	161	woody
9	Geranyl acetate	1642	2.136	916	69	floral, rosy, waxy, herbal and green with a slight cooling nuance
10	α-Cubebene	1766	2.038	870	161	citrus, fruity, radish
11	β-Caryophyllene	1738	2.074	917	93	woody, spicy
12	Limonene	1170	2.026	936	93	citrus, mint, orange, terpenic, xyloloid
13	Germaene D	1694	2.012	907	161	woody, spicy
14	α-Pinene	998	2.034	861	93	pine, terpenic
15	Camphen	1056	1.984	951	91	arborescent
16	Terpinen-4-ol	1382	2.160	864	71	woody, fruity, herbal, licorice, moldy, musty
17	α-Terpinene	1134	2.044	939	93	woody, oil, fruit, gasoline, lemon,
18	Myrcene	1050	2.188	808	93	terpenic, herbaceous, woody with a rosy celery and carrot nuance
19	α-Phellandrene	1164	2.040	915	93	citrus herbal terpene green woody peppery
20	α-Thujene	962	2.128	899	93	arborescent
21	γ-Terpinene	1272	2.156	914	93	woody, fruity, gasoline, herbal, sweet, terpenic
22	β - Phellandrene	1058	2.200	836	93	minty, terpenic

^a RT1- first dimension retention time.

^b RT2- second dimension retention time.

2.3.2 คุณสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.3.2.1 ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory)

สารคูมาริน (Coumarins) 2 ชนิดที่ได้จากผลมะกรูด ได้แก่ สารเบอร์غامอททิน (Bergamot tin) และ N-(iminoethyl)-L-ornithine (L-NIO) มีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งของไนตริกออกไซด์ (NO) ในหลอดทดลอง ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดการอักเสบ ซึ่งหลังจากแมคโครฟาจ (Macrophage) ของหนูที่ถูกกระตุ้นด้วย ลิโปพอลิแซ็กคาไรด์ (Lipopolysaccharide; LPS) และ อินเตอร์เฟอรอนแกมมา(interferon-g; IFN- g) โดยมีค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาไปครึ่งหนึ่ง (linhibitory concentration; IC50) เท่ากับ 14.0 และ 7.9 ไมโครเมตร ตามลำดับ [99]

สารคูมาริน 3 ชนิด ได้แก่ สารเบอร์غامอททิน (Bergamot tin), สารออกซีพิวซีดานิน(Oxypeucedanin) และ ซอราเลน (Psoralen) สามารถยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ (NO) และเมื่อทดสอบในเซลล์แมคโครฟาจ RAW 264.7 ของหนู ถูกกระตุ้นด้วยลิโปพอลิแซ็กคาร์ไรด์ (LPS) และอินเตอร์เฟอรอน (Interferon) [100]

2.3.2.2 ฤทธิ์ปกป้องหัวใจ และตับ

ทดสอบฤทธิ์ปกป้องหัวใจ และตับ ของสารสกัด 70% เอทานอลจากผิวผลมะกรูด ในหนูขาวเพศผู้ สายพันธุ์ Sprague Dawley โดยใช้ ดอกโซรูบิซิน (Doxorubicin) ขนาด 4.67 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในการเหนี่ยวนำให้เกิดพิษต่อหัวใจและตับ โดยฉีดเข้าทางช่องท้องของหนู ร่วมกับ

การป้อนสารสกัดเอทานอลจากผิวผลมะกรูดขนาด 500 หรือ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในหนูแต่ละกลุ่ม ต่อเนื่องเป็นเวลา 11 วัน แล้วจึงเก็บเลือด และนำหัวใจ และตับแยกออกมาวิเคราะห์ ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดเอทานอลจากผิวมะกรูด ขนาด 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำให้โครงสร้างของกล้ามเนื้อหัวใจมีการฟื้นฟู แต่การอักเสบของกล้ามเนื้อหัวใจจำนวนมากยังคงมีอยู่ ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดเอทานอลจากผิวมะกรูดขนาด 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โครงสร้างของกล้ามเนื้อหัวใจมีการฟื้นฟูเช่นกัน แต่การอักเสบของกล้ามเนื้อหัวใจลดลง แต่สารสกัดทั้งสองขนาดไม่สามารถปกป้องเนื้อเยื่อตับได้ และจากการตรวจวัดระดับเอนไซม์ตับ ได้แก่ Alanine aminotransferase (ALT) และ Aspartate aminotransferase (AST) พบว่าสารสกัดทั้งสองขนาดไม่สามารถทำให้ระดับเอนไซม์ตับลดลงได้ โดยสรุปสารสกัดเอทานอลจากผิวผลมะกรูดสามารถปกป้องเนื้อเยื่อหัวใจจากเกิดพิษของ Doxorubicin ได้ โดยลดการอักเสบ การบวมของเนื้อเยื่อ แต่ไม่สามารถปกป้องเนื้อเยื่อตับได้ เนื่องจากระดับเอนไซม์ตับที่สูงขึ้นจากการได้รับยา Doxorubicin คือเอนไซม์ AST ไม่ลดลง ส่วนระดับเอนไซม์ ALT ไม่เปลี่ยนแปลง [101]

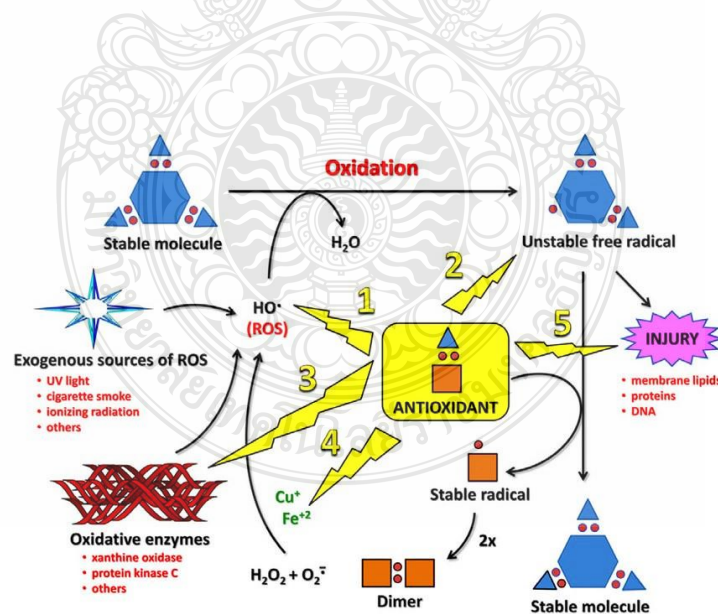
2.3.2.3ฤทธิ์ต้านเชื้อ (Antibacterial)

การศึกษาฤทธิ์ของน้ำมะกรูด และน้ำมะนาวต่อเชื้อกลุ่มสแตปฟีโลคอคไค ที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบ โคแอกกูเลสที่เป็นสาเหตุสำคัญในการก่อโรคผิวหนังอักเสบในสุนัข จำนวน 15 ไอโซเลต (Isolates) โดยมี S. aureus ATCC 25923 สายพันธุ์มาตรฐานเป็นเชื้อควบคุม ทำการทดสอบควบคุมไปด้วยโดยวิธีเจือจางในอาหารเหลว ใน 96 well U-shape plate ผลการทดสอบพบว่าน้ำมะนาว และน้ำมะกรูด มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อในกลุ่มนี้ อยู่ที่ 1.60 % (v/v) และ 1.34-1.74 % (v/v) ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นต่ำสุด ในการฆ่าเชื้อนี้ อยู่ที่ 1.87-3.33 % (v/v) และ 3.10 % (v/v) ตามลำดับ จากการศึกษาสรุปได้ว่าน้ำมะนาว และน้ำมะกรูดมีฤทธิ์ในการยับยั้ง และฆ่าเชื้อสแตปฟีโลคอคไค ที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบโคแอกกูเลสจากการทดสอบในหลอดทดลอง (โคแอกกูเลส เป็นน้ำย่อยที่เชื้อกลุ่มสแตปฟีโลคอคไคสร้างขึ้น ทำให้พลาสมาของคนหรือสัตว์ เกิดการตกตะกอน ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ใช้กำหนดว่าเชื้อสเตรปโตไคที่เป็นตัวก่อโรค ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปพิจารณาเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ทางการค้า ที่ใช้สำหรับสัตว์ต่อไป เพื่อลดการติดเชื้อทางผิวหนัง อย่างไรก็ตาม ควรมีการทดลองในการใช้กับสัตว์โดยตรงก่อน เพื่อศึกษาผลข้างเคียงอื่น ๆ ที่มีผลกระทบต่อกรยับยั้งเชื้อ และผลต่อตัวสัตว์ [102]

2.3.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระคือสารโมเลกุลที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่น ๆ ได้ โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันคือปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาสามารถให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารอนุมูลอิสระ (free

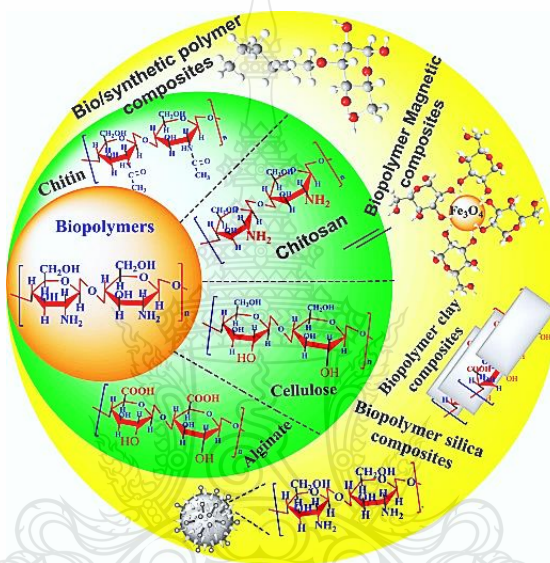
radical) โดยสารอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาถูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติปฏิกิริยาถูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยถูกออกซิไดซ์ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัววิฆาต เช่น ไธออล กรดแอสคอร์บิก และพอลิฟีนอล [103] ถึงแม้ว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นสิ่งสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต แต่ก็ยังเกิดโทษเช่นกัน ดังนั้นพืชและสัตว์จึงรักษาสมดุลด้วยระบบอันซับซ้อนของปฏิกิริยาโดยสารต้านอนุมูลอิสระดังเช่น กลูตาไธโอน วิตามินซี และวิตามินอี เช่นเดียวกับเอนไซม์อย่างตัวเร่งปฏิกิริยาและเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ รวมถึงเพอรอกซิเดสต่าง ๆ ระดับสารต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำหรือเอนไซม์ที่ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มากเกินไป จะยังผลให้เกิดภาวะออกซิเดชันที่มากเกินไป (oxidative stress) นำมาซึ่งการทำลายหรือสร้างความเสียหายแก่เซลล์ได้ ในภาวะที่ออกซิเดชันมากเกินไปจะทำให้เกิดโรคในมนุษย์หลายโรค การใช้สารต้านอนุมูลอิสระในทางเภสัชวิทยาได้รับการศึกษาอย่างละเอียดในการรักษาภาวะโรคหลอดเลือดสมองและโรค neurodegenerative disease อย่างไรก็ดี ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่าออกซิเดชันที่มากเกินไปนั้นเป็นสาเหตุการเกิดโรคหรือไม่ สารต้านอนุมูลอิสระถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหลายชนิด ด้วยคาดหวังในการรักษาสุขภาพและป้องกันโรคอย่างโรคมะเร็งและโรคหลอดเลือดหัวใจ รวมไปถึงโรคกลัวความสูง แม้การศึกษาในช่วงแรกให้การสนับสนุนถึงการเติมสารต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ช่วยให้สุขภาพดีขึ้น ภายหลังการศึกษาในระยะคลินิกพบว่าสารที่เติมลงไปไม่ได้ช่วยหรือก่อให้เกิดประโยชน์อันใดแก่ผู้บริโภค ซ้ำยังผลมาซึ่งอันตรายจากการรับประทานที่มากเกินไป [104]



ภาพที่ 2.7 การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ [105]

2.4 พอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymers)

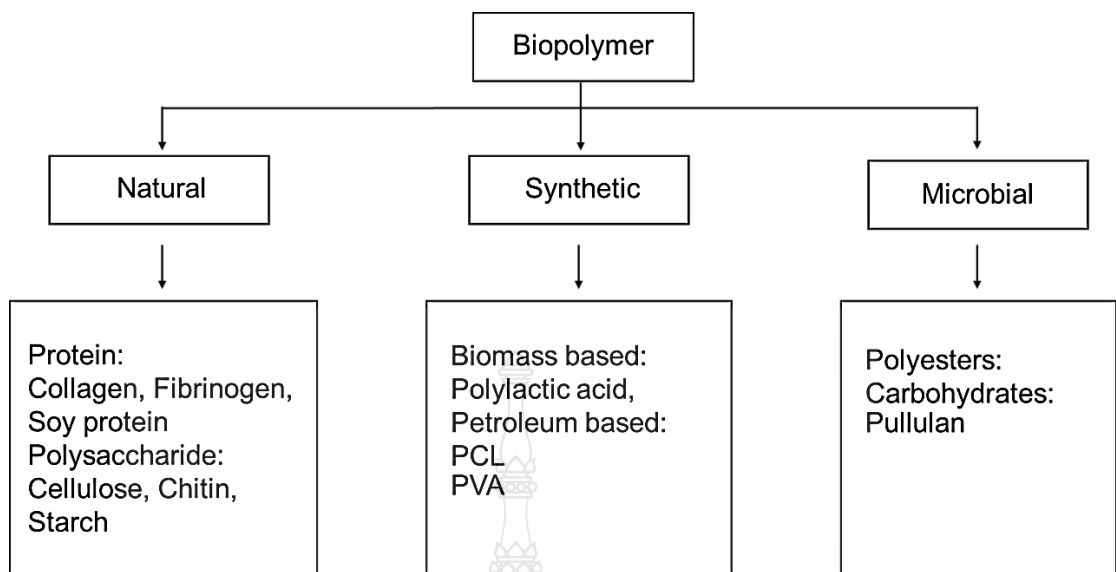
พอลิเมอร์ชีวภาพที่ได้มาจากแหล่งชีวภาพ เช่น พืช สัตว์ จุลินทรีย์ ของเสียจากการเกษตร พอสซิล หรือได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีที่มาจากโมโนเมอร์ทางชีวภาพ เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน ไขมันและน้ำมันตามธรรมชาติ และนิวคลีโอไทด์ พอลิเมอร์ชีวภาพเหล่านี้ ได้แก่ เซลลูโลส แป้ง ไคติน ไคโตซาน โปรตีน เปปไทด์ DNA RNA (ดังภาพที่ 2.8) เมื่อเปรียบเทียบกับพอลิเมอร์สังเคราะห์ พอลิเมอร์ชีวภาพจะมีโครงสร้างที่แน่นอน เป็นแหล่งที่ยั่งยืนของวัสดุพอลิเมอร์ ไม่เป็นพิษ ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และมีต้นทุนที่ต่ำ [106]



ภาพที่ 2.8 พอลิเมอร์ชีวภาพชนิดต่าง ๆ และส่วนประกอบ [107]

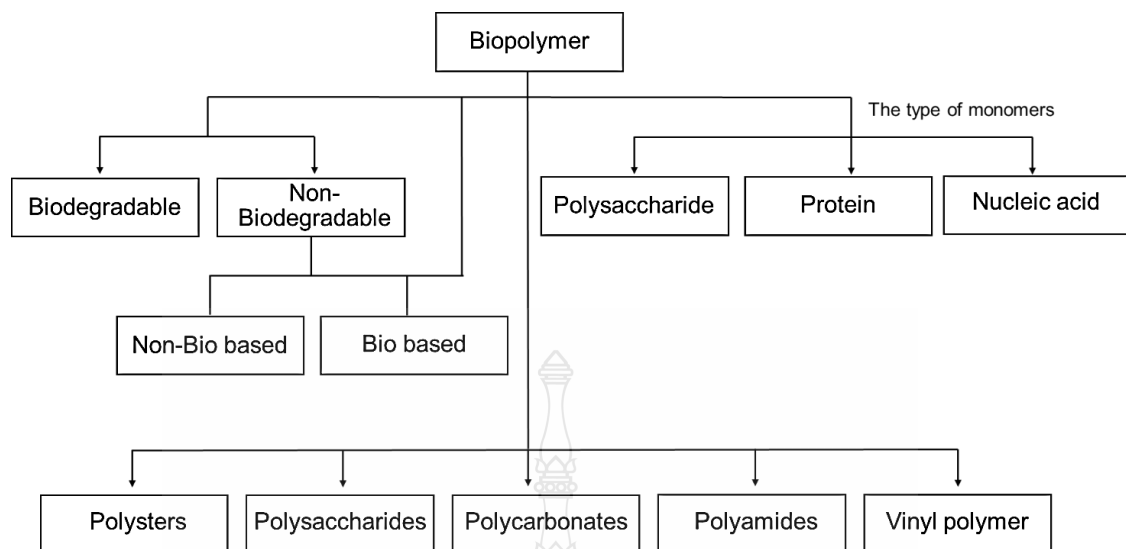
การจำแนกประเภทของพอลิเมอร์ชีวภาพ

พอลิเมอร์ชีวภาพสามารถจำแนกได้หลายรูปแบบ ทั้งตามขนาดที่แตกต่างกัน ตามแหล่งกำเนิด พอลิเมอร์ชีวภาพ (ดังภาพที่ 2.9) การจำแนกแบบดั้งเดิมจะจำแนกพอลิเมอร์ชีวภาพ พอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติ (Natural polymer) พอลิเมอร์สังเคราะห์ (Synthetic polymer) และพอลิเมอร์ที่เกิดจากจุลินทรีย์ (Microbial polymer)



ภาพ 2.9 การจำแนกประเภทของพอลิเมอร์ชีวภาพตามแหล่งกำเนิด [108]

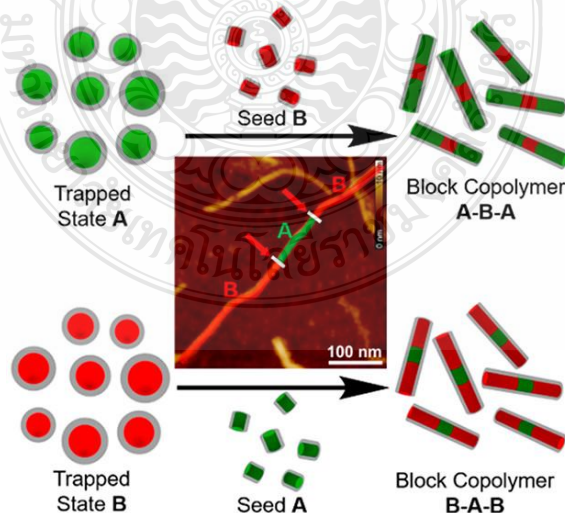
โดยทั่วไปพอลิเมอร์ จะมีทั้งมาจากพอลิเมอร์ชีวภาพและฟอสซิล ในขณะที่พอลิเมอร์ที่มาจากทั้งสองแหล่ง อาจสามารถและไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ในกรณีของพอลิเมอร์ที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพอาจเป็นได้ทั้งที่เป็นและไม่เป็นพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ โดยพอลิเมอร์ชีวภาพสามารถแบ่งเป็นกลุ่มพอลิเมอร์ต่าง ๆ ได้ดังนี้ พอลิเอสเทอร์ พอลิแซ็กคาไรด์ พอลิคาร์บอเนต พอลิเอไมด์ และพอลิเมอร์ไวนิล ขึ้นอยู่กับชนิดของมอนอเมอร์เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีน และ กรดนิวคลีอิก แสดงดังภาพที่ 2.10



ภาพที่ 2.10 การจำแนกประเภทของพอลิเมอร์ชีวภาพตามความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ แกนหลักของพอลิเมอร์ และประเภทของมอนอเมอร์[108]

2.5 บล็อกโคพอลิเมอร์ (Block copolymers)

โดยปกติโคพอลิเมอร์แบบบล็อกจะถูกเตรียมโดยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบควบคุมของโมโนเมอร์หนึ่งตัว ตามด้วยการขยายสายโซ่ด้วยโมโนเมอร์ที่แตกต่างกัน สลับกันต่อเป็นช่วง ๆ เพื่อก่อตัวเป็นสายโซ่โคพอลิเมอร์แบบบล็อก ตัวอย่างลักษณะการจัดเรียง เช่น AB หรือ ABA (ดังภาพที่ 2.11)



ภาพที่ 2.11 การจัดเรียงสายโซ่บล็อกโคพอลิเมอร์ (Block copolymers) [109]

ในการเตรียมบล็อกโคพอลิเมอร์ โดยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันของการถ่ายโอนอะตอม (Atom transfer radical polymerization; ATRP) โดยทั่วไป ATRP จะใช้สารเชิงซ้อนของโลหะทรานซิชันเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาโดย มีอัลคิลเฮไลด์เป็นตัวริเริ่ม (RX) สารเชิงซ้อนของโลหะทรานซิชันหลายชนิด ได้แก่ Cu, Fe, Ru, Ni และ Os ถูกนำมาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสำหรับ ATRP ในกระบวนการ ATRP สปีชีส์ที่อยู่เฉยๆจะถูกกระตุ้นโดยสารเชิงซ้อนของโลหะทรานซิชันเพื่อสร้างอนุมูลผ่านกระบวนการถ่ายโอนอิเล็กตรอนเพียงครั้งเดียว ในขณะเดียวกันโลหะทรานซิชันจะถูกออกซิไดซ์ให้มีสถานะออกซิเดชันที่สูงขึ้น กระบวนการที่ผันกลับได้นี้จะสร้างสมดุลอย่างรวดเร็วซึ่งส่วนใหญ่จะถูกเลื่อนไปทางด้านที่มีความเข้มข้นของอนุมูลที่ต่ำมาก จำนวนสายโซ่พอลิเมอร์ถูกกำหนดโดยจำนวนตัวเริ่มต้น สายโซ่ที่กำลังเติบโตแต่ละสายมีความน่าจะเป็นเท่ากันในการแพร่กระจายด้วยโมโนเมอร์เพื่อสร้างสายโซ่พอลิเมอร์ที่มีชีวิตอยู่เฉยๆ (RP_n-X) เป็นผลให้สามารถเตรียมพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกันและมีการกระจายน้ำหนักโมเลกุลที่แคบได้ [110]

2.6 ไมโครอิมัลชัน (Microemulsions)

ไมโครอิมัลชันเป็นระบบไอโซโทรปิกที่มีความเสถียรทางอุณหพลศาสตร์ องค์ประกอบของไมโครอิมัลชัน ได้แก่ น้ำ (Water; W) น้ำมัน (Oil; O) สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) และสารลดแรงตึงผิวร่วม (Co-surfactant) โดยปกติจะเป็นแอลกอฮอล์สายสั้นๆ โดยทำหน้าที่ทำให้หยดไมโครอิมัลชันมีความเสถียรทางอุณหพลศาสตร์ [111, 112] ขนาดหยดของวัฏภาคกระจาย (Dispersed phase) ในไมโครอิมัลชัน จะอยู่ในช่วง 1-100 นาโนเมตร เกิดขึ้นจากการผสมน้ำมันและน้ำที่มีสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม ซึ่งหยदन้ำมันหรือวัฏภาคกระจาย จะถูกสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมเคลือบที่ผิวของหยดป้องกันการรวมตัวของหยदन้ำมัน เมื่อจำนวนสายโซ่ของทั้งสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมอยู่บนผิวของหยดได้เพียงพอที่จะทำให้แรงตึงระหว่างผิว (Interfacial tension) ของหยदन้ำมันกับน้ำมีค่าเข้าใกล้ศูนย์ จะสามารถเตรียมหยดของน้ำมันให้มีขนาดเล็กและความเสถียรสูงได้โดยการเขย่าหรือปั่นด้วยแรงเฉือนต่ำ ๆ ได้ [113] ไมโครอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (Oil-in-water, O/W) ประกอบด้วยหยดของน้ำมันหรือวัฏภาคกระจาย กระจายตัวในวัฏภาคต่อเนื่อง (Continuous phase) ที่เป็นน้ำ ในขณะที่ไมโครอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน (Water-in-oil, W/O) วัฏภาคกระจายและวัฏภาคต่อเนื่องจะเป็นหยदनน้ำและน้ำมัน ตามลำดับ ในกรณีของน้ำมันในน้ำ อิมัลชัน สารลดแรงตึงผิวที่ใช้ส่วนใหญ่จะเป็นชนิดมีประจุ เช่น โซเดียมโดเดซิล ซัลเฟต ส่วนสารลดแรงตึงผิวร่วมจะใช้กลุ่มแอลกอฮอล์ เช่น เพนทานอล โดยสารลดแรงตึงผิวร่วมจะดูดซับที่ผิวของชั้นของสารลดแรงตึงผิวที่มี

ประจุที่เคลือบอยู่บนหยด (ดังภาพที่ 2.12) โดยจะทำให้ประจุของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิวที่ติดกันเข้าใกล้กันมากขึ้น (ลดแรงผลักระหว่างประจุ) เกิดหยดมอนอเมอร์ที่มีขนาดเล็กมาก จนอิมัลชันใส เนื่องจากมีความเสถียรทางเทอร์โมไดนามิกส์ พื้นที่ผิวรวมที่ได้จะมีเนื้อที่สูงมากถึง 100,000 ตารางเมตรต่อลิตรของอิมัลชัน [111]

ในระบบคอลลอยด์เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของพลังงานอิสระกิบส์ (ΔG) ที่สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงแรงตึงระหว่างผิวและพื้นที่ผิวที่รอยต่อระหว่างน้ำกับน้ำมัน

$$\Delta G = \Delta A \gamma_{ow} - T \Delta S \quad \text{.....สมการที่ 1}$$

เมื่อ ΔA คือค่าการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ผิวที่รอยต่อระหว่างน้ำกับน้ำมัน (1 หยดน้ำมันที่มีรัศมี r หา A ได้จาก $4\pi r^2$)

γ_{ow} คือแรงตึงระหว่างผิวของน้ำ (w) กับน้ำมัน (o)

T คืออุณหภูมิ (เคลวิน)

ΔS คือค่าการเปลี่ยนแปลงเอนโทรปีในระบบกระจาย (น้ำมันกระจายในน้ำ)

ในการที่จะทำให้ให้น้ำมันกระจายในน้ำมีความเสถียรค่า ΔG ในสมการที่ 1 ต้องมีค่าติดลบตามหลักของเทอร์โมไดนามิกส์ ดังนั้นจะพิจารณาถึงค่าแรงตึงระหว่างผิวที่สูงที่สุดที่จะยังทำให้ ΔG มีค่าเป็นลบ

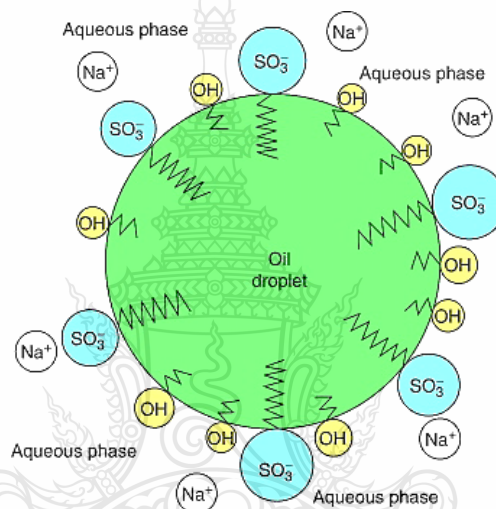
โดยทั่วไปแรงตึงระหว่างผิวของน้ำกับน้ำมัน (γ_{ow}) มีค่าประมาณ 50 mN/m (ในกรณีที่ไม่มีการลดแรงตึงผิว) เมื่อน้ำมันกระจายในน้ำจะมีหยดจำนวนมากเกิดขึ้นส่งผลให้พื้นที่ผิว (ΔA) สูงมาก ในขณะที่ ΔS มีค่าเป็นบวก

1. หากไม่มีสารลดแรงตึงผิว ในสมการที่ 1 เทอม $\Delta A \gamma_{ow}$ จะมากกว่า $T \Delta S$ ทำให้ ΔG มีค่าเป็นบวก และมีค่าสูงมาก อิมัลชันจะไม่เสถียร โดยหยดจะรวมตัวกันจนสุดท้ายเกิดการแยกชั้น (ลด ΔA ให้เหลือน้อยที่สุดที่จะทำให้ ΔG มีค่าเป็นลบ และระบบกลับมาเสถียรอีกครั้ง)

2. หากต้องการให้หยดน้ำมันที่เกิดขึ้น (มีค่า ΔA สูง) มีความเสถียรทางเทอร์โมไดนามิกส์ตามสมการที่ 1 จะต้องใช้สารลดแรงตึงผิวที่สามารถลดแรงตึงระหว่างผิวของน้ำกับน้ำมันให้มีค่าต่ำได้เพียงพอ ($\gamma_{ow} \sim 0.01$ mN/m) ที่จะทำให้เทอม $\Delta A \gamma_{ow}$ น้อยกว่า $T \Delta S$

ดังนั้นการใช้สารลดแรงตึงผิวจึงมีความสำคัญต่อการคงความเสถียรทางคอลลอยด์ของหยดน้ำมัน การที่จะทำให้ $\gamma_{ow} \leq 0.01$ mN/m การใช้สารลดแรงตึงผิว (ชนิดมีประจุหรือไม่มีประจุ) เพียงชนิด

เดียว เป็นไปได้ยากมาก และส่วนมากจะเกิดไมเซลล์ก่อนถึงค่าดังกล่าว ดังนั้นการทำให้ $\gamma_{ow} \leq 0.01$ mN/m โดยที่ไม่ทำให้สารลดแรงตึงผิวประกอบตัวเป็นไมเซลล์ก่อน จำเป็นต้องใช้สารลดแรงตึงผิวร่วม (นิยมใช้สายโซ่โมเลกุลของกลุ่มแอลกอฮอล์) โดยทั้งสองโมเลกุล (สารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม) จะดูดซับที่ผิวของหยดน้ำมัน โดยสารลดแรงตึงผิวร่วมจะช่วยลดแรงผลักระหว่างประจุของสองโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว ทำให้มีฟิล์มที่เคลือบลงบนผิวของหยดน้ำมันมีปริมาณของสารลดแรงตึงผิวมากขึ้นทำให้ค่าแรงตึงระหว่างผิวของน้ำมันและน้ำเข้าใกล้ศูนย์ โดยที่ไม่เกิดไมเซลล์ผสม สุดท้ายจะสามารถเตรียมไมโครอิมัลชันได้โดยไม่มีการใช้แรงเฉือนสูง



ภาพที่ 2.12 การจัดเรียงส่วนประกอบของไมโครอิมัลชันที่พื้นผิวของหยดไมโครอิมัลชัน O/W [111]

2.6.1 สารลดแรงตึงผิว (Surfactant)

สารลดแรงตึงผิวเป็นโมเลกุลที่ประกอบขึ้นเองเรียกว่าไมเซลล์ในสารละลาย (วัฏภาคน้ำหรือน้ำมัน) เป็นสารประกอบที่ทำให้แรงตึงผิวของของเหลวลดลง ช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างของเหลวสองชนิด ช่วยให้การกระจายตัวของของเหลวดีขึ้น และดูดซับส่วนต่อประสานระหว่างสารละลายและวัฏภาคอื่น (ก๊าซ/ของแข็ง) โดย สารลดแรงตึงผิวสามารถใช้เป็น อิมัลชัน น้ำยาซักล้าง โฟมมิงเอเจนต์ หรือ ดิสเพอร์สแซนต์ สารชนิดนี้จะมีทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว โดยปกติแล้วโมเลกุลของสารที่เรียกว่าสารลดแรงตึงผิวจะมีทั้งสายโซ่ที่เรียกว่ากลุ่มที่ไม่ชอบน้ำซึ่งไม่แสดงความสัมพันธ์กับน้ำ แต่เมื่อใช้ในระบบไขมันจะเรียกว่ากลุ่ม Lipophilic

สารลดแรงตึงผิวสามารถจำแนกได้ตามความสามารถในการละลาย เช่น สารลดแรงตึงผิวที่ชอบน้ำที่จะละลายได้ในน้ำและสารลดแรงตึงผิวที่ไม่ชอบน้ำจะละลายได้ในไขมัน สารลดแรงตึงผิว

แบบไอออนิกโดยทั่วไปเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ชอบน้ำ แต่สารลดแรงตึงผิวแบบไม่มีไอออนสามารถเป็นได้ทั้งแบบที่ชอบน้ำและแบบที่ชอบน้ำมัน ความสามารถในการละลายของสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุขึ้นอยู่กับความสมดุลระหว่างความสามารถในการดึงดูดน้ำของกลุ่มที่ชอบน้ำและความสามารถในการดึงดูดน้ำมันของกลุ่มไลโปฟิลิก โดยค่า Hydrophile-lipophile balance (HLB) เป็นสัดส่วนระหว่างส่วนที่ชอบน้ำกับส่วนที่ชอบน้ำมัน โดยคิดเป็นอัตราส่วน โดยน้ำหนัก (%w/w) เป็นตัวบ่งชี้ที่บอกปริมาณสมดุลสัมพัทธ์นี้ [114] มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 20 สารที่มีค่า HLB เท่ากับ 0 คือสารที่โมเลกุลมีแต่ส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ทั้งหมด ไม่ละลายในน้ำ ค่า HLB สูงขึ้น โมเลกุลจะมีส่วนที่ชอบน้ำมากขึ้น กระจายในน้ำได้ดีขึ้น ดัชนีการเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวตามค่า HLB แสดงดังภาพที่ 2.13 โดยมีรายละเอียดดังนี้

ค่า HLB ตั้งแต่ 1-3 ใช้เป็นสารกันการเกิดฟอง (antifoaming agent)

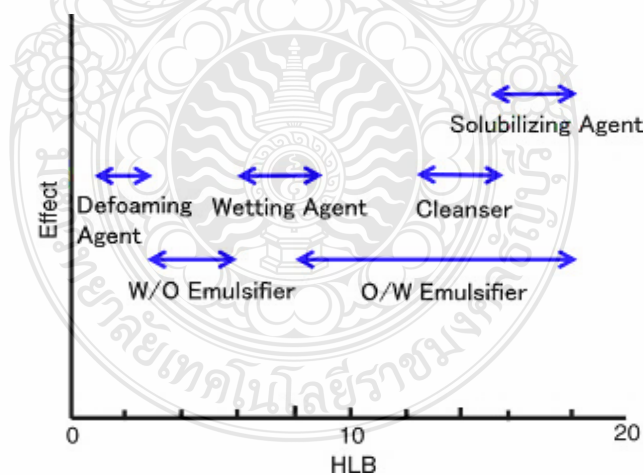
ค่า HLB ตั้งแต่ 3-6 เป็นอิมัลซิไฟเออร์ชนิด น้ำ-ใน-น้ำมัน (oil-in-water emulsifier)

ค่า HLB ตั้งแต่ 7-8 ใช้เป็นสารทำให้เปียก (wetting agent)

ค่า HLB ตั้งแต่ 8-18 เป็นอิมัลซิไฟเออร์ชนิด น้ำมัน-ใน-น้ำ (water-in-oil emulsifier)

ค่า HLB 13-15 เป็นสารทำความสะอาด (detergent)

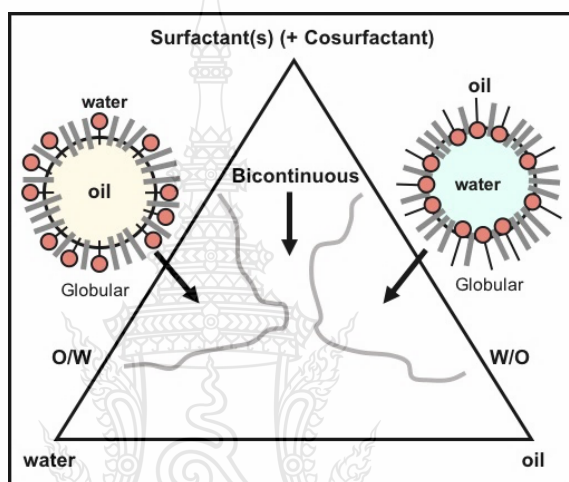
ค่า HLB 15-18 สารทำละลาย (solubilizer)



ภาพที่ 2.13 ดัชนีการเลือกใช้สารลดแรงตึงผิว [115]

2.6.2 แผนภาพระบบสามส่วนประกอบ (Ternary phase diagram)

ในระบบการเกิดไมโครอิมัลชันจะพิจารณาจากแผนผังวัฏภาคสามองค์ประกอบ (ดังภาพที่ 2.14) ของ (1) สารลดแรงตึงผิว-สารลดแรงตึงผิวร่วม (2) น้ำมัน และ (3) น้ำ การจะเกิดเป็นไมโครอิมัลชันได้จะใช้สารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวร่วมอยู่ในช่วงประมาณ 10-20% โดยหากใช้น้ำมันน้อยกว่าน้ำ หรือใช้น้ำน้อยกว่าน้ำมัน ที่วัฏภาคกระจายมีปริมาณ ~1-20% จะเกิดระบบไมโครอิมัลชันแบบ น้ำมันในน้ำ หรือ น้ำในน้ำมันตามลำดับ หากมีน้ำกับน้ำมันใกล้เคียงกันจะเกิดระบบไมโครอิมัลชันต่อเนื่องแบบคู่ (Biocontinuous)

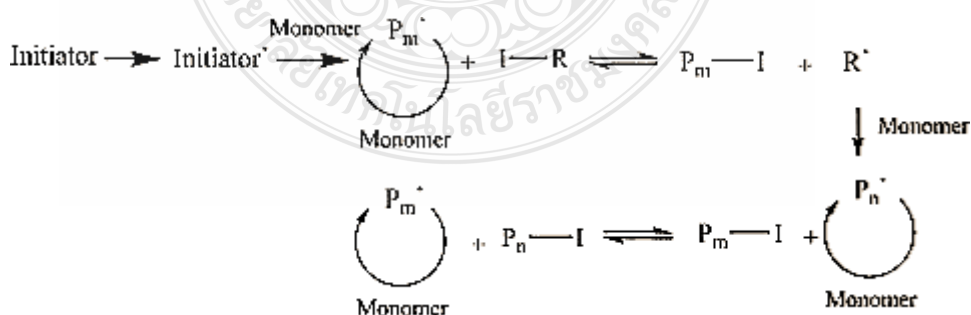


ภาพที่ 2.14 แผนผังวัฏภาคสามองค์ประกอบ ของสารลดแรงตึงผิว-สารลดแรงตึงผิวร่วมน้ำมันและน้ำ [116]

2.7 การสังเคราะห์พอลิเมอร์ด้วยกลไกโยกย้ายไอโอดีน (Iodine transfer polymerization)

ในกระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์ ด้วยกลไกอนุมูลอิสระแบบดั้งเดิม (Conventional free radical polymerization) เป็นกลไกที่ได้รับความนิยมมากในการสังเคราะห์พอลิเมอร์ เนื่องจากสามารถใช้ได้กับมอนอเมอร์หลายตัว และยังทนทานต่อสภาวะในการสังเคราะห์ แต่อย่างไรก็ตาม ในการสังเคราะห์พอลิเมอร์ด้วยกลไกด้วยกลไกอนุมูลอิสระแบบดั้งเดิม ยังมีข้อจำกัด เช่น การกระจายน้ำหนักพอลิเมอร์ที่กว้าง อีกทั้งยังไม่สามารถใช้เตรียมพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบอนุมูลอิสระขึ้น ซึ่งสามารถควบคุมการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ (Molecular weight distribution; MWD (M_w/M_n)) คือ เทคนิครีเวอร์สซิเบิล ดีแอคทีเวชัน แรดิคัล พอลิเมอไรเซชัน (Reversible deactivation radical

polymerizations ;RDRP) ประกอบด้วย 2 เทอม คือ การมีชีวิต (Livingness) หมายถึง จำนวนสัดส่วนของสายโซ่พอลิเมอร์ที่สามารถต่อสายโซ่พอลิเมอร์ไปได้เรื่อย ๆ เมื่อมีมอนอเมอร์เหลืออยู่ในระบบต่อสายโซ่พอลิเมอร์ทั้งหมด และคอนโทรล (Control) หมายถึง น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวน (Number average molecular weight: Mn) ของพอลิเมอร์จะเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง และการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลจะลดลงตามการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนมอนอเมอร์เป็นพอลิเมอร์ (Percent Conversion) ซึ่งแตกต่างกับกลไกแบบดั้งเดิมที่น้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ช่วงแรก และเกิดการสิ้นสุดของปฏิกิริยาได้ง่าย จึงทำให้การควบคุมน้ำหนักโมเลกุลทำได้ยาก (มีความยาวของสายโซ่แตกต่างกันมาก) ดังนั้น จึงได้มีการนำเทคนิครีเวอร์สซิเบิล ดีแอคทีเวชัน แรดิคอล พอลิเมอไรเซชัน มาประยุกต์ใช้ในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลในกระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์แบบแขวนลอย โดยเฉพาะเทคนิคโยกย้ายไอโอดีนหรือสารละลาย ITP (แสดงดังภาพที่ 2.14) สามารถควบคุมการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลพอลิเมอร์ให้มีการกระจายตัวที่แคบได้ดี โดยใช้สารประกอบไอโอดีนเป็นสารโยกย้ายสายโซ่ เช่น ไอโอดิฟอร์ม (Iodoform) เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและราคาถูก มีหลักการทำงาน ดังนี้ สารโยกย้ายสายโซ่จะแตกตัวเป็นไอโอดีน แรดิคอล มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา โดยจะทำหน้าที่เป็นสารโยกย้ายสายโซ่ (Chain transfer agent) จะเคลื่อนที่ระหว่างสองสายโซ่ที่มีแรดิคอล (โพลิเมอร์แรดิคอล) ทำให้สายโซ่ที่เกิดขึ้นในหดยมอนอเมอร์จะมีโอกาสน้อยมากที่จะเคลื่อนที่ (Exit) ออกจากหดยมอนอเมอร์เพื่อมาเกิดพอลิเมอไรเซชันในน้ำ เนื่องจากแรดิคอลจะมีเวลาน้อยมากที่จะอยู่ในรูปอิสระ ($k_{deact} \gg k_{act}$) โดยจะถูกสารโยกย้ายสายโซ่จับไว้ การเกิดอนุภาคใหม่ในวัฏภาคต่อเนื่องจึงลดลงในขณะที่ความแข็งแรงของเปลือกพอลิเมอร์จะเพิ่มขึ้น เนื่องจากทุกสายโซ่พอลิเมอร์ที่สังเคราะห์โดยกลไกโยกย้ายไอโอดีน จะมีความยาวใกล้เคียงกัน การจัดเรียงตัวของสายโซ่จึงมีความเป็นระเบียบสูงซึ่งแตกต่างจากการสังเคราะห์โดยทั่วไปที่ความยาวสายโซ่แตกต่างกันเมื่อเรียงตัวเกิดเป็นเปลือกพอลิเมอร์จะมีช่องว่างอยู่ภายในทำให้มีความแข็งแรงน้อย

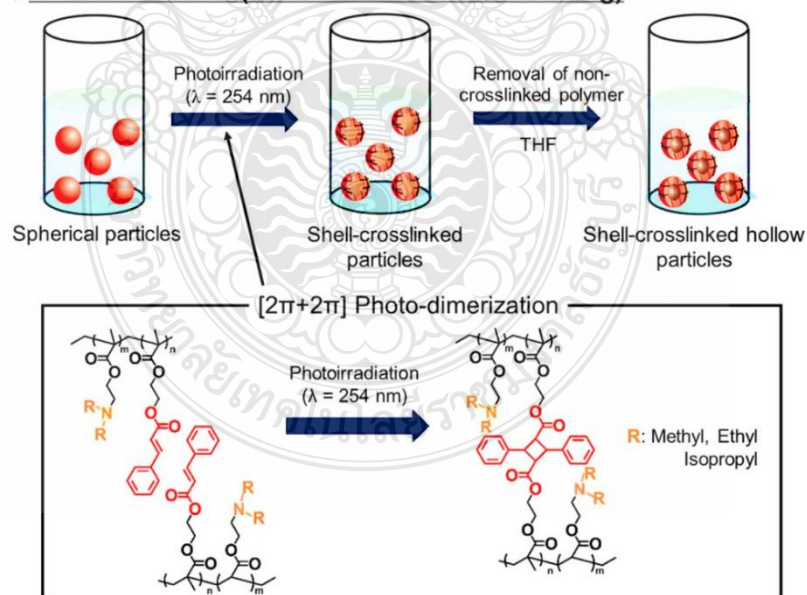


ภาพที่ 2.15 กลไกของพอลิเมอไรเซชันถ่ายโอนไอโอดีน [117]

2.8 การเชื่อมขวางด้วยแสง (Photo-crosslinking)

กระบวนการเชื่อมขวางผ่านการฉายรังสียูวีหรือโฟโตโครสลิงก์ คือ การเกิดพันธะเคมีที่ก่อให้เกิดการเชื่อมขวางระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ กลายเป็นโครงร่างที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น โดยทั่วไปโฟโตโครสลิงก์ จะช่วยปรับปรุงสมบัติต่าง ๆ ของพอลิเมอร์ให้ดีขึ้น เช่น ความแข็งแรง ความเหนียว ความทนทานต่อสารเคมี และสมบัติสำคัญอื่น ๆ โดยกระบวนการเชื่อมขวาง ระหว่างพื้นผิวของอนุภาคพอลิเมอร์ทรงกลม ได้รับการพัฒนาเป็นเส้นทางใหม่สำหรับการเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์กลวงที่เชื่อมร่างแหของเปลือกพอลิเมอร์ [51, 118] โดยผ่านการเกิดปฏิกิริยาโฟโตไดเมอไรเซชัน [$2\pi + 2\pi$] ของกลุ่มอัลคีน [119-121] ซึ่งปฏิกิริยาการเชื่อมขวางของสายโซ่พอลิเมอร์กับอนุภาคพอลิเมอร์ จะเกิดเฉพาะบริเวณผิวสัมผัสของอนุภาคพอลิเมอร์ที่มีแสงตกกระทบในบริเวณเปลือกอนุภาค หลังจากการเชื่อมขวางของอนุภาค พอลิเมอร์ที่ไม่เชื่อมขวางจะหลุดออกบริเวณแกนอนุภาคทำให้เกิดอนุภาคพอลิเมอร์กลวงที่เชื่อมขวางที่เปลือก (ดังภาพที่ 2.15) การใช้คุณสมบัติการเชื่อมขวางที่เปลือกของอนุภาคพอลิเมอร์กลวง หรือการห่อหุ้มของโมเลกุลต่าง ๆ ได้รับการพิสูจน์อย่างแพร่หลายและประสบความสำเร็จเป็นอย่างมาก นำไปสู่การเตรียมอนุภาคพอลิเมอร์แคปซูล อนุภาคพอลิเมอร์กลวง แคปซูลที่ตอบสนองต่อรีดอกซ์ และแคปซูลที่ย่อยสลายด้วยแสงได้ [122]

◆ Hollow Particles (Interfacial Photocrosslinking)



ภาพที่ 2.16 กลไกการเชื่อมขวางผ่านการฉายรังสียูวีหรือโฟโตโครสลิงก์ [123]

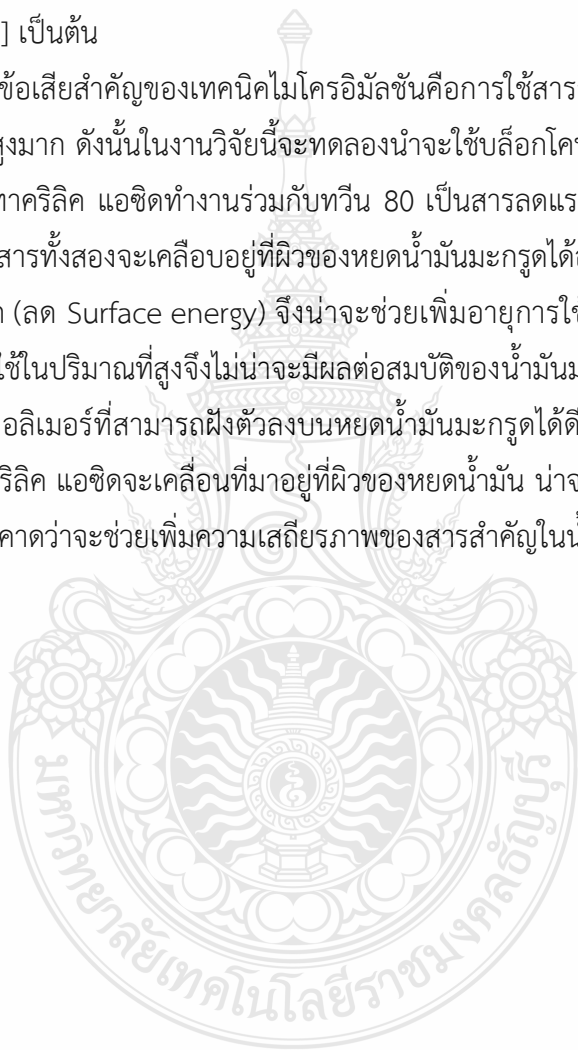
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นาโนอิมัลชันของน้ำมันในน้ำคือการกระจายตัวของหยดน้ำมันในระดับเล็กกว่าไมโครเมตร (submicron) (มากกว่า 100 นาโนเมตรถึง น้อยกว่า 1 ไมโครเมตร) จนถึงระดับนาโนเมตร (≤ 100 นาโนเมตร) โดยที่หยดน้ำมันจะถูกสารลดแรงตึงผิวเคลือบที่ผิวของหยดป้องกันการรวมตัวของหยดน้ำมัน [1] ซึ่งนาโนอิมัลชันสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานต่าง ๆ ที่หลากหลายเช่นเพิ่มความสามารถในการละลายของยาที่ละลายน้ำได้น้อย [31, 33, 124] ชีวปริมาณออกฤทธิ์ (bioavailability) [24, 35, 125] การนำส่งยา [37] ด้านอาหาร [40] เครื่องสำอาง [67] เกษตรเคมี [126] แต่ข้อด้อยหลัก ๆ ของนาโนอิมัลชัน ในกรณีที่เตรียมหยดน้ำมันในระดับเล็กกว่าไมโครเมตร คือความไม่เสถียรทางเทอร์โมไดนามิกส์ ทำให้มีการรวมตัวของหยดน้ำมันผ่านปรากฏการณ์ออสวาลด์ริฟเพนนิ่ง ส่งผลให้เกิดการเกาะตัวของหยดน้ำมันมากขึ้นสุดท้ายเกิดการแยกชั้นของน้ำกับน้ำมัน [71] วิธีที่ช่วยลดปรากฏการณ์ออสวาลด์ริฟเพนนิ่ง คือการเติมสารตัวทำเสถียรร่วม โดยทั่วไปจะเติมลงในวัฏภาคกระจายประมาณ 4-8% โดยน้ำหนัก นอกจากสารตัวทำเสถียรร่วมที่ใช้โดยทั่วไปเช่นโมเลกุลสายโซ่ยาวอัลเคน (เฮกซะเดเคน หรือ ออกตะเดเคน) หรือกลุ่มแอลกอฮอล์ (เซทิว แอลกอฮอล์; cetyl alcohol) แล้ว ยังสามารถใช้สายโซ่พอลิเมอร์ ตัวริเริ่มปฏิกิริยาชนิดละลายน้ำมัน สารโยกย่ายสายโซ่ และอื่น ๆ ได้ หากสารเหล่านี้ไม่ละลายน้ำ หากต้องการเตรียมหยดน้ำมันให้อยู่ในระดับนาโนเมตร จะเตรียมในระบบไมโครอิมัลชัน โดยจำเป็นต้องใช้สารลดแรงตึงผิวสองชนิดในปริมาณที่สูง ซึ่งสารลดแรงตึงผิวหลักจะมีสายโซ่ยาวกว่า สารลดแรงตึงผิวร่วม เพื่อทำให้ไม่เหลือช่องว่างของผิวของหยดน้ำมัน ส่งผลให้ surface energy เข้าใกล้ศูนย์ คอลลอยด์ที่ได้จะมีลักษณะโปร่งใส และมีความเสถียรสูง [66, 127, 128]

น้ำมันหอมระเหย เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพและเภสัชวิทยาที่ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และต้านจุลินทรีย์ เป็นต้น การใช้งานโดยตรงของสารเหล่านี้จะเสถียรภาพได้ง่าย [18-20] โดยทั่วไปจะนิยมกักเก็บให้อยู่ในรูปของแคปซูล เพื่อเพิ่มความเสถียรให้มากขึ้นและยืดอายุการใช้งาน โดยอาจจะกักเก็บในแคปซูลที่มีเปลือกที่แข็ง ดังเช่นการกักเก็บซิทรินเนลลอล ด้วยเจลาติน-อะคาเซีย (gelatin-acacia) ผ่านกลไกคอมเพล็กซ์โคอะเซอเรชัน ที่พอลิเมอร์จะเกิดที่ผิวของอนุภาคหยดซิทรินเนลลอล แคปซูลที่ได้มีเปลือกที่แข็งแรงและมีขนาดในระดับไมโครเมตร [129] หรือการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยกลิ่นส้ม (orange essential oil) ด้วยโปรตีนจากถั่ว โดยกระจายตัวของน้ำมันในน้ำมีโปรตีน เพื่อให้เกิดหยดอิมัลชันก่อนการทำพ่นแบบแห้ง เพื่อให้เกิดไมโครแคปซูล [130] ในกรณีที่เตรียมแคปซูลในระดับนาโนเมตรมีการใช้เปลือกพอลิเมอร์เป็นพอลิ(แลคติก-โค-ไกลโคลิก แอซิด) (poly(lactic-co-glycolic acid)) โดยใช้แรงเฉือนสูงควบคู่กับการระเหยตัวทำละลาย [131] อย่างไรก็ตามการที่จะกักเก็บน้ำมันหอมระเหยให้มีขนาดในระดับระดับเล็กกว่าไมโครเมตรจนถึงระดับนาโนเมตร จะนิยมเทคนิคนาโนหรือไมโครอิมัลชัน มากกว่าเทคนิคการเตรียมแคปซูลที่มีการใช้เปลือกที่แข็ง โดยจะใช้สารลดแรงตึง

ผิวเคลือบที่หยาบของน้ำมัน ซึ่งพบว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวทำงานร่วมกับสารลดแรงตึงผิวร่วม จะทำให้หยดน้ำมันกระจายตัวได้ดีในน้ำ รวมทั้งมีความเสถียรสูงแม้ว่าหลังจากผสมหรือขึ้นรูปผลิตภัณฑ์แล้ว [132] ช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายของน้ำมันหอมระเหยได้ดีขึ้น [133] ช่วยระบบการนำส่งสารให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น [134] ยืดอายุของน้ำมันหอมระเหย [67] ง่ายต่อการเตรียม ซึ่งจะขยายขนาดการผลิตได้ง่ายเนื่องจากไม่ใช้แรงเหวี่ยงสูง [135] มีการนำระบบไมโครอิมัลชันกักเก็บน้ำมันหอมระเหยชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำมันซินนามอน (Cinnamon oil) [136] น้ำมันเปปเปอร์มิน (Peppermint Oil) และโจโจบา (Jojoba Oil) [137] เป็นต้น

อย่างไรก็ตามข้อเสียสำคัญของเทคนิคไมโครอิมัลชันคือการใช้สารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมในปริมาณที่สูงมาก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะทดลองนำจะใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ชีวภาพของซินนามิลเมทาคริเลตและเมทาคริลิก แอซิดทำงานร่วมกับทวิน 80 เป็นสารลดแรงตึงผิวหลัก โดยคาดหวังว่าการทำงานร่วมกันของสารทั้งสองจะเคลือบอยู่ที่ผิวของหยดน้ำมันมะกรูดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้มีพื้นที่ผิวที่ว้างน้อยมาก (ลด Surface energy) จึงน่าจะช่วยเพิ่มอายุการใช้งานของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดได้ดี การใช้ในปริมาณที่สูงจึงไม่น่าจะมีผลต่อสมบัติของน้ำมันมะกรูด นอกจากนี้จะทำการออกแบบให้บล็อกโคพอลิเมอร์ที่สามารถฝังตัวลงบนหยดน้ำมันมะกรูดได้ดี ในขณะที่ส่วนที่มีขั้วคือหมู่คาร์บอกซิลของเมทาคริลิก แอซิดจะเคลื่อนที่มาอยู่ที่ผิวของหยดน้ำมัน น่าจะช่วยลดปริมาณของการใช้สารลดแรงตึงผิวลง ซึ่งคาดว่าจะช่วยเพิ่มเสถียรภาพของสารสำคัญในน้ำมันมะกรูดได้



บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

สารเคมี	เกรด	ยี่ห้อ
1. กรดเมทาคริลิก (Methacrylic acid; MAA)	Purify 99.99%	TGI
2. ฟาร์เนซีน (Farnesene, mixture of isomers)	Fragrance grade Halal Kosher	Sigma-Aldrich
3. ซินนามิลแอลกอฮอล์ (Cinnamyl alcohol)	Purify 98%	Sigma-Aldrich
4. ไมร์ซีน (Myrcene)	Technical grade	Sigma-Aldrich
5. น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ (Citronella Oil)	Purify 100%	
6. ไอโอโดฟอร์ม (Iodoform; CHI ₃)	Analytical reagent	Sigma-Aldrich
7. 4,4'-อะโซบิส(กรด 4-ไซยาโนวาเลอริก) (4,4'-Azobis(4-cyanovaleric acid); V-501)	Analytical reagent	Wako
8. 2'-อะโซบิส (ไอโซบิวทิว อะมิดีน) ไดไฮโดรคลอไรด์ (2,2'-azobisisobutyramidine dihydrochloride; AIBA)	Analytical reagent	Wako
9. 2,2'-อะโซบิส[2-เมทิล-N-(2-ไฮดรอกซีเอทิล)โพรพิโอนาไมด์] 2,2'-Azobis[2-methyl-N-(2-hydroxyethyl) propionamide; VA-086]	Analytical reagent	Wako
10. 1,4-ไดออกเซน (1,4 dioxane)	Analytical reagent	RCI Labscan
11. เอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate; EA)	Analytical reagent	RCI Labscan
12. เอทานอล (Ethanol)	Analytical reagent	RCI Labscan
13. น้ำมันหอมระเหย มะกรูด (Kaffir lime oil)	Purify 100%	ฮงฮวด
14. โพรพิลีนไกลคอล (Propylene glycol; PG)	Purify 99.99%	ฮงฮวด

สารเคมี	เกรด	ยี่ห้อ
15. แก๊สไนโตรเจน (Nitrogen gas; N ₂)	Purify 99.99%	Praxair
16. เตตระไฮโดรฟูราน (Tetrahydrofuran; THF)	Laboratory reagent	RCI Labscan
17. ไดเมทิล ซัลฟอกไซด์ (Dimethyl Sulfoxide; DMSO)	Purify 99.80%	Sigma-Aldrich
18. ไฮโดรควิโนน (Hydroquinone)	Purify 99.80%	Cambridge
19. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH)	Analytical reagent	RCI Labscan
20. เมทาคริลิกแอนไฮไดรด์ (Methacrylic anhydride; MAH)	Purify 94%	Sigma-Aldrich
21. 4-ไดเมทิลอะมิโนไพรีดีน (4-Dimethylaminopyridine; DMAP)	Purify 99.0%	TCI
22. โซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate; NaHCO ₃)	Analytical reagent	Sigma-Aldrich
23. ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane)	Purify 99.5%	Loba Chemie
24. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCL)	Purify 34.4%	Loba Chemie

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

เครื่องมือและอุปกรณ์	รุ่น	ยี่ห้อ
1. เครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance)	SI-234	Denver Instrument
2. เครื่องวัดขนาดอนุภาค (Particle size analysis-Dynamic light scattering; DLS)	Delsa™ Nano C	Beckman Coulter
3. เครื่องกวนแม่เหล็กแบบใช้ความร้อน (Hot plate stirrer)	C-MAG HS7	IKA
4. เครื่องผสมสาร (Vortex mixer)	VORTEX GENIE 2	Scientific Industries
5. ตู้สุญญากาศ (Vacuum oven)	DZF-6051	DZF
6. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	UNB 400	Memmert
7. นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy); NMR)	JNM-ECZR	JEOL
8. เจลเพอร์มิเอชันโครมาโตกราฟี (Gel Permeation Chromatography; GPC)	Water 2414	water
9. ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Fourier transforms infrared spectroscope; FT-IR)	Nicolet 6700	Thermo
10. ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer)	UV-1601	SHIMADZU
11. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscopy; TEM)	JEM-1400 Flash	JEOL
12. หลอดไฟยูวีซี	-	Nail Art Thai

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

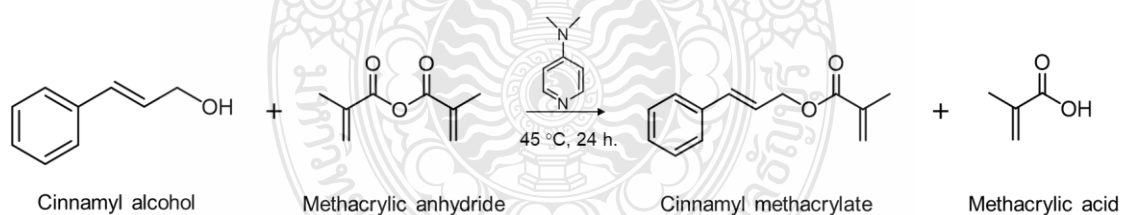
การดำเนินงานวิจัยแบ่งเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้



3.3 การทดลอง

3.3.1 การเตรียมมอนอเมอร์ชีวภาพซินนามิลเมทาคริเลตที่มีพันธะคู่โดยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน

นำมอนอเมอร์ชีวภาพกลุ่มที่มีหมู่ไฮดรอกซิล คือ ซินนามิลแอลกอฮอล์ (Cinnamyl alcohol) ทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันหมู่แอลกอฮอล์ของซินนามิลแอลกอฮอล์กับเมทาคริลิกแอนไฮไดรด์ โดยจะนำซินนามิลแอลกอฮอล์ละลายกับ 4-ไดเมทิลอะมิโนไพริดีน (4-dimethylaminopyridine; DMAP) ใส่สารละลายลงในขวดก้นกลม แล้วทำการไล่ออกซิเจนด้วยแก๊สไนโตรเจนและสุดท้ายทำให้อยู่ในระบบสุญญากาศ หลังจากนั้นเติมเมทาคริลิกแอนไฮไดรด์ (methacrylic anhydride; MAH) โดยใช้อัตราส่วนโมลของสารทั้งสามให้เหมาะสม ก่อนค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิจนถึง 45 องศาเซลเซียส แล้วทำการสังเคราะห์ประมาณ 24 ชั่วโมง ทำปฏิกิริยาสารด้วยการเจือจางด้วยไดคลอโรมีเทนและล้างด้วยสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate) เพื่อกำจัดเมทาคริลิกแอนไฮไดรด์และกรดเมทาคริลิกที่ไม่ทำปฏิกิริยาออก จนไม่มีฟองแก๊ส (CO_2) เกิดขึ้น จากนั้นนำชั้นสารอินทรีย์มาล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (1.0 และ 0.5 M) สารละลายไฮโดรคลอริก (1.0 M) และน้ำตามลำดับ ก่อนทำให้แห้ง [138] จะได้ ซินนามิลเมทาคริเลต (Cinnamyl methacrylate) โดยการเตรียมมอนอเมอร์ชีวภาพที่มีพันธะคู่โดยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันแสดงดังภาพที่ 3.1 และสารเคมีสำหรับการเตรียมซินนามิลเมทาคริเลตแสดงในตารางที่ 3.1 จากนั้นนำไปทดสอบสมบัติและพิสูจน์เอกลักษณ์ของมอนอเมอร์ชีวภาพที่เตรียมได้ด้วยเทคนิคต่าง ๆ เช่น FT-IR และ $^1\text{H-NMR}$



ภาพที่ 3.1 การเตรียมมอนอเมอร์ชีวภาพที่มีพันธะคู่โดยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน [138]

ตารางที่ 3.1 สารเคมีสำหรับการเตรียมซินนามิลเมทาคริเลต

Chemicals		
Cinnamyl alcohol	g (mol)	4.84 (0.031)
MAH	g (mol)	5.17 (0.034)
DMAP	g (mol)	0.08 (6.43×10^{-4})

3.3.2 การสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ (polymethacrylic acid-*block*-polycinnamyl methacrylate-*block*-polymethacrylic acid-iodide; PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I) ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบสารละลายไอทีพี

3.3.2.1 ศึกษาสถานะในการเตรียมพอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ (polymethacrylic acid-iodide; PMAA-I)

ในการสังเคราะห์แบบสารละลาย สารทุกชนิดจะต้องละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ดังนั้นก่อนการสังเคราะห์จะทำการทดสอบความสามารถในการละลายของสารเคมี โดยใช้ตัวทำละลายสารอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ จากผลการทดลอง (ตารางที่ 3.2) สารแต่ละชนิดมีความสามารถในการละลายที่แตกต่างกัน และมีตัวทำละลายที่เหมาะสมต่างกัน ดังนั้นข้อมูลดังกล่าวนี้จะนำไปใช้ในขั้นตอนการสังเคราะห์พอลิเมอร์ ซึ่งจะสามารถเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในสภาวะการทดลองต่าง ๆ ต่อไป

ตารางที่ 3.2 ความสามารถในการละลายของสารเคมีสำหรับการสังเคราะห์

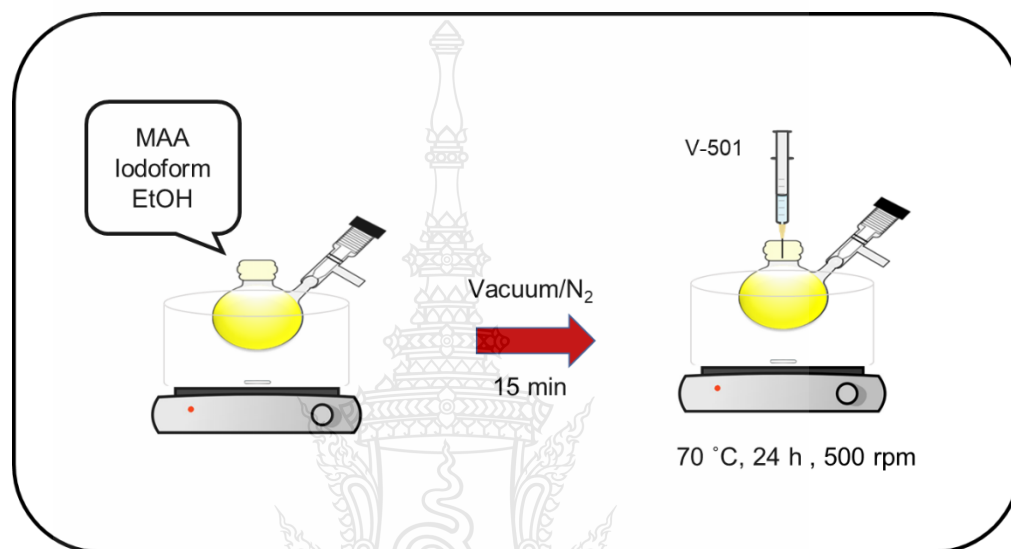
ตัวทำละลาย (Solvent)	มอนอเมอร์		ตัวริเริ่มปฏิกิริยา			ไอโอดิฟอร์ม (Iodoform)
	ซินนามิลเมทาคริเลต (CMA)	เมทาคริลิกแอซิด (MAA)	AIBA	V-501	VA-086	
1-Propanol	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Ethanol	✓	✓	-	-	✓	✓
Propan-2-ol	✓	✓	✓	-	✓	✓
Ethyl carbonate	-	✓	✓	-	-	✓
Ethyl acetate	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Acetonitrile	-	✓	-	✓	-	✓
1,4-Dioxane	✓	✓	-	✓	✓	✓

***หมายเหตุ ✓ คือละลายในตัวทำละลาย

ในขั้นตอนแรกจะศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียม PMAA-I ก่อนและเตรียม PMAA-I ที่มีความยาวสายโซ่ที่แตกต่างกันคือ 15, 30, 60 หน่วย โดยจะทำการเปรียบเทียบตัวริเริ่มปฏิกิริยา 3 ตัวคือ 2, 2'-อะโซบิส (ไอโซบิวทิว อะมิดีน) ไดไฮโดร คลอไรด์ (2,2'-azobisisobutyramidine dihydrochloride; AIBA), 2,2'-อะโซบิส [2-เมทิล-N-(2-ไฮดรอกซีเอทิล)โพรพิโอนาไมด์] 2,2'-Azobis; [2-methyl-N-(2-hydroxyethyl) propionamide; VA-086] และ 4,4'-อะโซบิส(กรด 4-ไซยาโนวาเลอริก) 4,4'-Azobis (4-cyanopentanoic acid; V-501) ซึ่งตัวริเริ่มปฏิกิริยา 3 ตัวนี้ จะละลายในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ดังนั้นสถานะที่ใช้ในการสังเคราะห์พอลิเมอร์เมื่อใช้ตัวริเริ่มปฏิกิริยาต่างชนิดกันจึงใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน

วิธีการเตรียมจะทำการละลายเมทาคริลิก แอซิด (MAA) มอนอเมอร์ และ ไอโอดิฟอร์ม (Iodoform) ด้วยตัวทำละลายสารอินทรีย์ให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกันในขวดสังเคราะห์กันกลม ปิดด้วยจุกยางซิลิโคน ที่ห่อด้วยฟอยล์เพื่อกันแสง ทำให้อยู่ในระบบสุญญากาศสลับการเป่าแก๊สไนโตรเจนประมาณ 5 รอบ (ครั้งสุดท้ายภายใต้ไนโตรเจน) ก่อนแช่ลงในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ด้วยอัตราการปั่น 500 รอบต่อนาที เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที จะทำการฉีดสารละลายของตัวริเริ่มปฏิกิริยาเข้าไป [139] ทำการสังเคราะห์ต่อที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ในตัวริเริ่มปฏิกิริยา AIBA V-501 และ 90 องศาเซลเซียส ในตัวริเริ่มปฏิกิริยา VA-086 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งจะได้ PMAA-I (ภาพที่ 3.2) ดังได้กล่าวไว้แล้วข้างต้นและสารเคมีสำหรับการเตรียมพอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดิฟอร์ม แสดงในตารางที่ 3.3

ซึ่งในช่วงเวลาสังเคราะห์จะทำการชักตัวอย่าง ทุก 2 ชั่วโมง เพื่อคำนวณหาร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนเป็นพอลิเมอร์ (% Conversion) ด้วยการชั่งน้ำหนัก ศึกษาน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ด้วยเทคนิคเจลเพอร์มิเอชันโครมาโตกราฟี (Gel permeation chromatography; GPC) และพิสูจน์โครงสร้างโมเลกุลของพอลิเมอร์ด้วยเทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี (Proton nuclear magnetic resonance; $^1\text{H-NMR}$)



ภาพที่ 3.2 การเตรียมพอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์

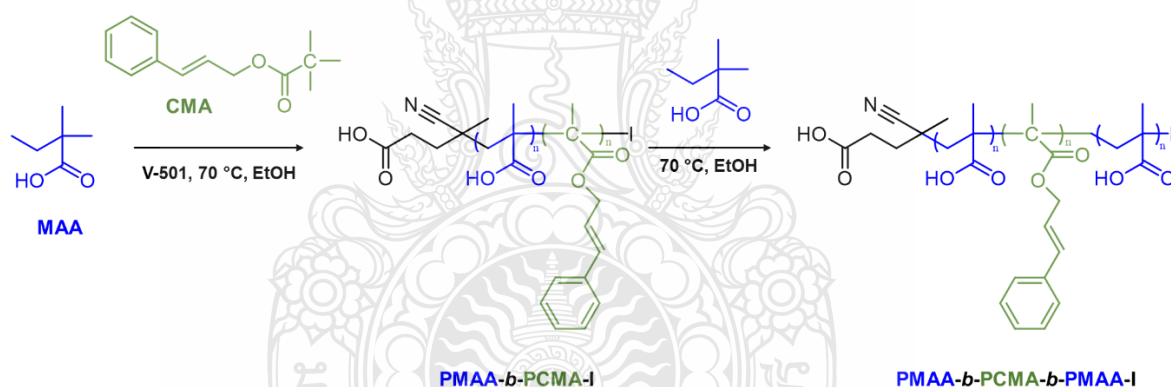
ตารางที่ 3.3 ศึกษาสภาวะการสังเคราะห์พอลิเมอร์ของพอลิกรดเมทาคริลิก-ไอโอไดด์ที่ใช้ตัวริเริ่มปฏิกิริยาที่ต่างกัน ด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบสารละลายไอทีพี

		RUN			
Chemicals		1	2	3	4
MAA	g (mmole)	7.25 (84.00)	4.78 (55.50)	3.62 (42.00)	1.62 (18.80)
* Initiator	g (mmole)	1.60 (5.60)	1.60 (5.60)	1.60 (5.60)	1.60 (5.60)
* CHI_3	g (mmole)	2.20 (5.60)	1.46 (3.70)	1.10 (2.80)	0.49 (1.25)
Solvent	g	30.37	30.37	30.37	30.37

**ศึกษาตัวริเริ่มปฏิกิริยา; AIBA ในตัวทำละลาย เอทิลอะซิเตต, VA-086 ในตัวทำละลาย 1, 4 ไดออกเซน และ V-501 ในตัวทำละลายเอทานอล

3.3.2.2 การสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดด์ (polymethacrylic acid-*block*-polycinnamyl methacrylate-*block*-polymethacrylic acid-iodide; PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I)

นำสารละลายพอลิกรดเมทาคริลิก-ไอโอดด์ (PMAA-I) ที่ได้จากที่เตรียมได้ก่อนหน้านี้ มาต่อสายโซ่พอลิเมอร์กับมอนอเมอร์ชีวภาพ โดยทำการฉีดมอนอเมอร์ตัวที่ 2 ซินนามิลเมทาคริเลต และมอนอเมอร์ตัวที่ 3 กรดเมทาคริลิก ซึ่งในช่วงเวลาสังเคราะห์ของแต่ละบล็อกจะทำการชักตัวอย่าง ทุก 2 ชั่วโมงเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมและคำนวณหาการหายละลายที่มอนอเมอร์เปลี่ยนไปเป็นพอลิเมอร์ (%Conversion) และทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของบล็อกโคพอลิเมอร์ด้วยเทคนิคเจลเพอร์มิเอชันโครมาโตกราฟี (Gel permeation chromatography; GPC) และโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโคปี (Proton nuclear magnetic resonance; ^1H -NMR) การสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพแสดงดังภาพที่ 3.3 และสารเคมีสำหรับการสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพแสดงดังตารางที่ 3.4



ภาพที่ 3.3 การสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดด์ (PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I)

ตารางที่ 3.4 สารเคมีสำหรับการสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ที่ความยาวสายโซ่แตกต่างกัน

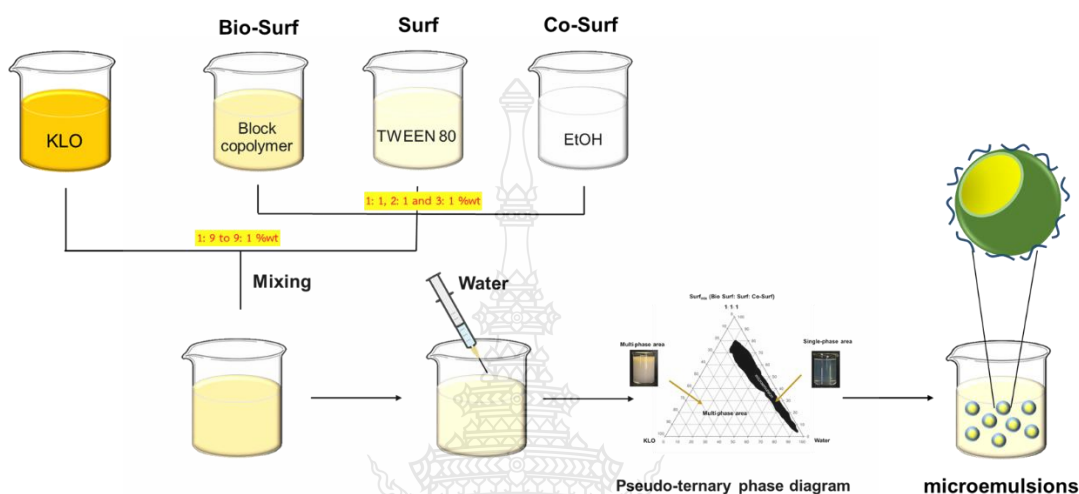
Chemicals		RUN		
		3.1 (15: 10: 15 unit)	3.2 (30: 10: 30 unit)	3.3 (60: 10: 60 unit)
MAA	g (mmol)	3.62 (42.00)	3.62 (42.00)	3.62 (42.00)
CMA	g (mmol)	5.66 (28.00)	2.83 (14.00)	1.41 (7.00)
MAA	g (mmol)	3.62 (42.00)	3.62 (42.00)	3.62 (42.00)
V-501	g (mmol)	1.60 (5.60)	1.60 (5.60)	1.60 (5.60)
CHI ₃	g (mmol)	1.10 (2.80)	0.56 (1.40)	0.28 (0.70)
EtOH	g	30.37	30.37	30.37

3.3.3 การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ ผ่านการเชื่อมขวาง โดยการฉายรังสียูวี

3.3.3.1 การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์

การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ขั้นแรกจะนำบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ (BioSurf) ที่เตรียมได้ก่อนหน้านี้ ผสมกับทวิน 80 (Surf) ซึ่งสารทั้ง 2 ตัวนี้จะทำหน้าที่เป็นสารลดแรงตึงผิวหลัก จากนั้นนำไปผสมกับเอทานอล (Co-Surf) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม โดยจะศึกษาอัตราส่วนสารลดแรงตึงผิวหลัก (BioSurf: Surf) ตั้งแต่ 5: 5 ถึง 9: 1 และต่อด้วยศึกษาอัตราส่วนระหว่างสารลดแรงตึงผิวหลักต่อสารลดแรงตึงผิวร่วม (BioSurf: Surf: Co-Surf) ตั้งแต่ 1: 1 , 2: 1 และ 3: 1 จะได้ออกมาเป็นสารลดแรงตึงผิวผสม (Surf_{mix}) ในขั้นตอนต่อไปจะนำไปผสมกับน้ำมันหอมระเหยมะกรูด (Kaffir lime oil; KLO) โดยอัตราส่วน KLO: Surf_{mix} จะปรับเปลี่ยนตั้งแต่ 1: 9 ถึง 9: 1 (โดยน้ำหนัก) และเติมน้ำ พร้อมทั้งปั่นผสม อัตราเร็วในการปั่น 400

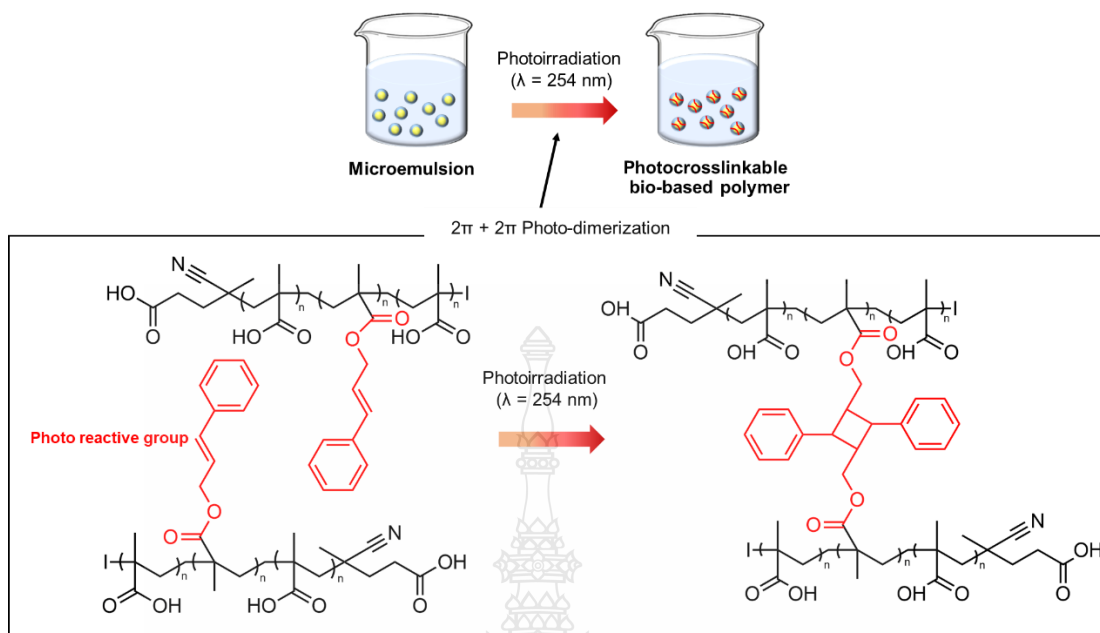
รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เปลี่ยนจากความโปร่งใส เกิดความขุ่น บันทึกน้ำหนัก (แสดงดังภาพที่ 3.4) คำนวณค่าที่ได้เป็นร้อยละ พล็อตลงแผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียม (pseudo-ternary phase diagram) จากนั้นนำไมโครอิมัลชันที่ได้ไปทดสอบสมบัติต่าง ๆ



ภาพที่ 3.4 แผนภาพการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ

3.3.3.2 การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ ผ่านการเชื่อมขวางโดยการฉายรังสียูวี

การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพของการเชื่อมขวาง ผ่านการฉายรังสียูวี ในขั้นแรกนำสารละลายไมโครอิมัลชันที่สภาวะที่เหมาะสมทำการฉายรังสียูวี (UV-irradiation) ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร [52] โดยจะทำการฉายแสงยูวีเป็นเวลาทั้งหมด 120 นาที ซึ่งในช่วงเวลาที่ทำการฉายแสงยูวีจะทำการสุ่มตัวอย่างทุก 0, 1, 5, 10, 30, 60, 90 และ 120 นาที (ภาพที่ 3.5) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการฉายแสงยูวี และนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ต่าง ๆ ซึ่งกระบวนการเชื่อมขวาง (Photo-crosslinking) จะถูกยืนยันโดยด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer)



ภาพที่ 3.5 แผนภาพการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุกโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ผ่านการเชื่อมขวางโดยการฉายรังสียูวี

3.3.4 การทดสอบสมบัติและลักษณะเฉพาะของบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ

3.3.4.1 วิเคราะห์หาโครงสร้างและองค์ประกอบของบล็อกโคพอลิเมอร์ ด้วยเทคนิค เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดเพกโตรสโคปี (Fourier transform Infrared (FTIR) Spectroscopy)

นำมอโนเมอร์ที่ผ่านการเตรียมให้มีพันธะคู่ โดยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ทำให้เกิดช่วงกลาง (Middle infrared region) โดยหาแถบการดูดกลืนแสงที่ ช่วงความยาวคลื่น 2.5 - 50 นาโนเมตร, ช่วงความถี่ $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$

3.3.4.2 การหาร้อยละที่มอโนเมอร์เปลี่ยนไปเป็นพอลิเมอร์ (%Conversion) ด้วยเทคนิคการชั่งน้ำหนัก

ทำการชั่งน้ำหนักบล็อกโคพอลิเมอร์ ที่ได้หลังสังเคราะห์ ประมาณ 1.50 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน) จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักและอบต่อจนน้ำหนักคงที่ จดบันทึกน้ำหนักหลังอบสุดท้าย นำน้ำหนักก่อนอบและหลังอบมาคำนวณหาร้อยละที่มอโนเมอร์เปลี่ยนไปเป็นพอลิเมอร์ โดยใช้สมการ ดังนี้

$$\% \text{ Conversion} = \frac{W_t - (W_{\text{CH}_3} + W_{\text{Initiator}})}{W_m} \times 100$$

.....สมการที่ 2

เมื่อ	W_t	คือ น้ำหนักพอลิเมอร์สุทธิ (ก่อนอบ – หลังอบ)
	W_{CH_3}	คือ น้ำหนักไอโอโดฟอร์ม
	$W_{\text{Initiator}}$	คือ น้ำหนักตัวริเริ่มปฏิกิริยา
	W_m	คือ น้ำหนักมอนอเมอร์

3.3.4.3 วิเคราะห์หามวลโมเลกุลของบล็อกโคพอลิเมอร์ ด้วยเทคนิคเจลเพอเมชันโครมาโทกราฟี (Gel permeation chromatography; GPC)

การหามวลโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักและโดยจำนวนของบล็อกโคพอลิเมอร์ หาได้โดยการวัดค่าปริมาตรการคงอยู่ (Retention Volume; V_R) ของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐานพอลิสไตรีน ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 500 2,000 20,000 50,000 และ 300,000 กรัมต่อโมล สำหรับการเตรียมสารมาตรฐานและตัวอย่างจะต้องเตรียมให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักในตัวทำละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (Tetrahydrofuran; THF) สถานะดังนี้

Injection Volume	: 20 ไมโครลิตร
Analysis time	: 30 นาที
Column	: Phenogel สองคอลัมน์ต่ออนุกรมกัน ขนาด $5 \times 10^5 \text{Å}$ และขนาด $5 \times 10^5 \text{Å}$
Flow rate	: 1 มิลลิลิตรต่อนาที
Mobile phase	: Tetrahydrofuran
Detector	: RI

3.3.4.4 วิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของบล็อกโคพอลิเมอร์ ด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี (Nuclear magnetic resonance; NMR)

ตัวอย่างบล็อกโคพอลิเมอร์ ถูกละลายในตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl Sulfoxide- d_6 ; DMSO) ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จากนั้นนำไปบรรจุใน หลอดแก้วขนาด 17.5 เซนติเมตร x 5 มิลลิเมตร โดยให้ระดับสารละลายของตัวอย่างสูงประมาณ 4 เซนติเมตร ทำการทดสอบด้วยเครื่อง NMR จากนั้น จะทำการวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลและค่าองศาการสังเคราะห์พอลิเมอร์

(Degree of polymerization; DP) ของบล็อกโคพอลิเมอร์จากสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ จากความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคและจำนวนโปรตอนของสารที่ทราบ DP และไม่ทราบ DP การคำนวณแสดงดังสมการ

$$DP_x = \frac{I_x \times DP_y \times N_{H,y}}{I_y \times N_{H,x}} \quad \dots\dots\text{สมการที่ 3}$$

$$M_n = (DP_x \times M_0) + M_c \quad \dots\dots\text{สมการที่ 4}$$

เมื่อ I_x และ $N_{H,x}$ คือ พื้นที่ใต้กราฟและจำนวนโปรตอน ตามลำดับ ของ x ที่ไม่ทราบ DP
 I_y และ $N_{H,y}$ คือ พื้นที่ใต้กราฟและจำนวนโปรตอน ตามลำดับ ของ y ที่ทราบ DP
 DP_x และ DP_y คือ ความยาวสายโซ่ของ x และ y ตามลำดับ
 M_0 คือ น้ำหนักโมเลกุลของ 1 สายโซ่ และ M_c คือ น้ำหนัก โมเลกุลรวมของสารที่ทราบ DP

3.3.5 ทดสอบสมบัติต่าง ๆ ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่เตรียมได้

3.3.5.1 วิเคราะห์ขนาดอนุภาคและประจุที่ผิวไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกูด ด้วยเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic light scattering; DLS)

นำไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดใส่ในคิวเวต (Cuvette) สำหรับการกระเจิงแสงแบบพลวัต เพื่อวิเคราะห์ขนาดอนุภาคอนุภาคเฉลี่ยโดยจำนวน และขนาดอนุภาคเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (Number and Weight average diameters; d_n , d_w respectively) และการค่าประจุที่ผิวจะนำตัวอย่างสารละลายมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเซต้า (Zeta potential)

3.3.5.2 ทดสอบความคงตัวของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด

นำไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดบรรจุในขวด จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 3 สภาวะคือ สภาวะที่ 1 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สภาวะที่ 2 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และสภาวะที่ 3 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน และทำการสุ่มบันทึกตัวอย่างทุก 0 7 14 21 และ 28 วัน เพื่อนำมาทดสอบความคงตัวของไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกูด โดยทำการวัดขนาดของอนุภาค และดูการแยกชั้น

3.3.5.3 ทดสอบความหนืดของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุก

การวัดค่าความต้านทานต่อการไหลของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุกประเภทนอนนิวโตเนียน (Non-Newtonian fluid) แบบซูโดพลาสติก (pseudo plastic fluid) โดยใช้เครื่อง Brookfield viscometer หัววัดหมายเลข 0 อุณหภูมิมาตรฐานที่กำหนดคือ 25 องศาเซลเซียส เตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุกโดยบรรจุใส่บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่ตัวอย่างปริมาตร 100 มิลลิลิตร วัดความหนืดทำที่ความเร็วรอบ 20 รอบต่อนาที บันทึกผลที่แสดงผลเป็นค่าความหนืด (Centipoise; cP.s) และร้อยละแรงบิด (% Torque)

3.3.5.4 ทดสอบความโปร่งใสด้วย การวัดค่าร้อยละการส่งผ่านแสง (transmittance) ด้วยเทคนิค ยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

นำไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุกที่เตรียมได้ใส่ในคิวเวต (Cuvette) ประมาณ 3 มิลลิลิตร เพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer) จากนั้นตั้งค่าเครื่องไปที่ การวัดค่า % transmittance และเลือกช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสม

3.3.5.5 ทดสอบความเป็นพิษของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุกต่อเซลล์ผิวหนังด้วยเทคนิค เอ็มทีที รีดักชัน แอสเสย์ (MTT reduction assay)

ทดสอบความเป็นพิษของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุกที่เตรียมได้ในเซลล์ผิวหนัง (Human skin fibroblast) ด้วยเทคนิค เอ็มทีที รีดักชัน แอสเสย์ (MTT reduction assay) โดยทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ในจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ บ่มในตู้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เมื่อเซลล์เจริญเต็มจานเพาะเลี้ยง (ซึ่งประมาณร้อยละ 70-80) ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์เพื่อนำไปทดสอบความเป็นพิษ โดยทำการล้างเซลล์ 1 ครั้งด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate-buffered saline; PBS) จากนั้นเติมทริปซิน-อีดีทีเอ (Trypsin-EDTA) 2 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.25 แล้วบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที เมื่อครบเวลาจะทำการหยุดการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน โดยการเติมดีเอ็มเอ็ม (DMEM) 8 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้น ร้อยละ 10 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

ทำการแบ่งเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ให้มีความเข้มข้น 1×10^4 เซลล์ต่อหลุม ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 96 หลุม ที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มเอ็ม ความเข้มข้นร้อยละ 10 นำไปบ่ม ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยมีกลุ่มควบคุมคือ ตัวทำละลายของสารทดสอบ (เอทานอล) แล้วบ่มไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง และล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.4 จำนวน 1 ครั้ง และเติม

สารละลาย เอ็มทีที (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide, MTT) ที่มีความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยวิธีเอ็มทีที รีดักชัน แอสเลย์ เป็นเทคนิคที่ใช้ในการทดสอบการมีชีวิตของเซลล์ (cell viability) โดยการวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ซัคซิเนต ดีไฮโดรจีเนส (succinate dehydrogenases) ในไมโทคอนเดรียของเซลล์ที่มีชีวิต ที่จะสามารถรีดิวซ์เตตระโซเนียม (tetrazotium salt, MTT) ที่มีสีเหลือง ให้เป็นผลึกฟอร์มาซาน (Formosan) ที่มีสีม่วง ซึ่งปริมาณของผลึกฟอร์มาซาน ที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิต โดยเมื่อเวลาครบ 6 ชั่วโมง จะทำการดูดสารละลายทิ้ง แล้วละลายผลึกฟอร์มาซานด้วย 100 ไมโครลิตร ของไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) เขย่าให้เข้ากันประมาณ 15 นาที จากนั้นทำการวิเคราะห์ความเข้มของสารละลายฟอร์มาซาน โดยนำไป วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร [140] และทำการคำนวณค่าร้อยละการมีชีวิตเซลล์ของสารทดสอบ ดังสมการที่ 5 โดยเปรียบเทียบกับค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนึ่งในกลุ่มควบคุม

$$\% \text{Cell viability} = \frac{A_{560} \text{Sample}}{A_{560} \text{Control}} \times 100 \quad \dots\dots \text{สมการที่ 5}$$

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

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

3.3.5.6 ทดสอบประสิทธิภาพการปลดปล่อยสารสำคัญไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดในระบบจำลอง (in vitro testing) ด้วยเทคนิค แฟรงค์ดิฟฟิวชัน เซลล์ (Franze diffusion cell)

ทดสอบประสิทธิภาพการปลดปล่อยของน้ำมันมะกรูดในระบบจำลอง (in vitro testing) ด้วยเทคนิค แฟรงค์ดิฟฟิวชัน เซลล์ (Franze diffusion cell) ชั้นแรกนำผิวหนังบริเวณหน้าท้องของหนู Sprague Dawley มาซึ่งไว้ระหว่างสอง chamber ของเครื่อง Franz diffusion cell โดย chamber บนหรือ donor chamber ติดกับผิวหนังหน้าท้องของหนู Sprague Dawley ด้านนอกที่สัมผัสกับตัวอย่างไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูด โดยตัวอย่างไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดจะอยู่ส่วน chamber ล่างที่บรรจุสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต pH 7.4 ซึ่งจะใช้เป็นตัวกลางแทนเลือด (จำลองสภาวะในร่างกายมนุษย์) ที่เรียกว่า receptor chamber โดยสามารถดูดตัวอย่างไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดจากสารละลายนี้ ในช่วงเวลาต่าง ๆ จากการศึกษาทดสอบประสิทธิภาพการปลดปล่อยของน้ำมันมะกรูดในการทดลองนี้ จะทำการสุ่มตัวอย่างที่ 1, 3 และ 6 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิของที่ 37 องศาเซลเซียส และนำไปวิเคราะห์เพื่อหาความเข้มข้นของน้ำมันมะกรูดที่ปลดปล่อยออกจากไมโคร

อิมัลชันผ่านผิวหนังลงมา โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทั้งนี้ chamber มีระบบการควบคุมอุณหภูมิและการกวนให้มีการไหลเวียนเพื่อไม่ให้สารละลาย ที่ใช้แทนเลือดหยุดนิ่งเพื่อเป็นการเลียนแบบสภาพจริงของร่างกาย[141-143]

3.3.5.7 ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ ด้วยวิธี กรีสรีเอเจนต์ (Griess reagent)

ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด โดยการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจ โดยขั้นแรก จะทำการกระจายเซลล์แมคโครฟาจ ลงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 24 หลุม จำนวน 1.5×10^5 เซลล์ต่อหลุม ในอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเมม ความเข้มข้นร้อยละ 10 แล้วบ่มเซลล์ไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในอากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเก่าทิ้ง แล้วเติมอาหารอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเมม ที่ไม่มีสีของ phenol red ที่ประกอบด้วย สารละลายตัวอย่างไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดร่วมกับ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของ LPS (lipopolysaccharides) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วทำการบ่มเซลล์ต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในอากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บอาหารเลี้ยงเซลล์ เพื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณการผลิตไนตริกออกไซด์ โดยการวัดปริมาณไนไตรท์ ซึ่งเป็นสารออกซิไดซ์ของไนตริกออกไซด์ที่เสถียร โดยไนไตรท์สามารถทำปฏิกิริยากับ สารละลาย Griess ที่ให้สารสีชมพู ซึ่งความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจะแปรผันตรงกับปริมาณไนไตรท์ (ปริมาณไนตริกออกไซด์) ที่ผลิตออกมาในอาหารเลี้ยงเซลล์ โดยนำอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เก็บไว้ไปปั่นเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 12000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการปิเปต 100 ไมโครลิตร ของ Griess reagent (ประกอบด้วยร้อยละ 0.1 (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร) N-(1-naphthyl)-ethylene diamine และร้อยละ 1 (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร) sulfanilamide ในร้อยละ 5 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) phosphoric acid ลงในเพลท 96 หลุม จากนั้นปิเปต 100 ไมโครลิตร ของอาหารเลี้ยงเซลล์ หลังจากปั่นเหวี่ยง ทำการผสมให้เข้ากัน แล้วบ่มทิ้งไว้ 10 นาที และนำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร [144] แล้วคำนวณผลการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ ดังสมการ 6 โดยเปรียบเทียบกับการผลิตไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจของน้ำมันมะกูด และน้ำมันมะกูดที่ถูกกักเก็บในรูปของไมโครอิมัลชัน

$$\% \text{No inhibition} = 100 - \frac{A_{560} \text{Sample}}{A_{560} \text{Control}} \times 100 \quad \dots\dots \text{สมการที่ 6}$$

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

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

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การเตรียมมอนอเมอร์ชีวภาพซินนามิลเมทาคริเลตที่มีพันธะคู่โดยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน

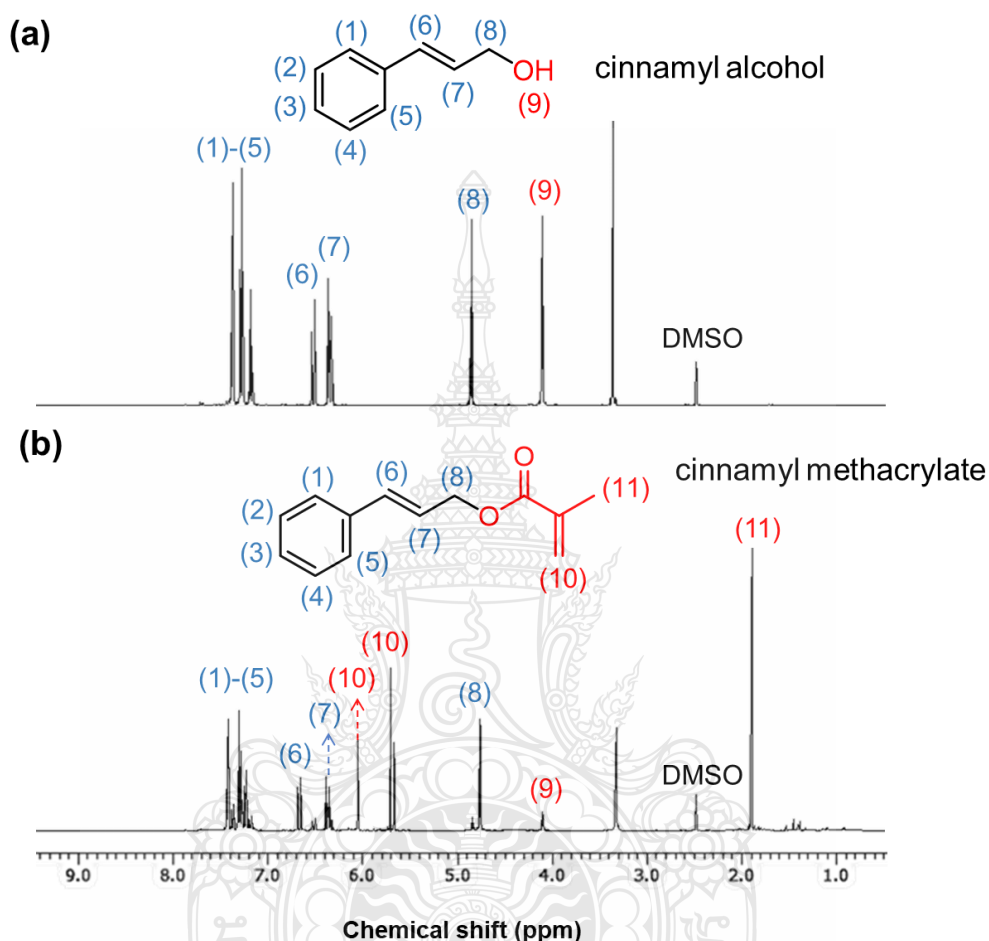
ก่อนการเตรียมบล็อกโคพอลิเมอร์จะทำการเตรียมมอนอเมอร์ชีวภาพให้มีพันธะคู่ก่อน โดยในการเตรียมมอนอเมอร์ชีวภาพซินนามิลเมทาคริเลตที่มีพันธะคู่ จะเตรียมผ่านปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันของหมู่แอลกอฮอล์ของซินนามิลแอลกอฮอล์กับเมทาไครลิกแอนไฮไดรด์ โดยมี 4-ไดเมทิลอะมีโนไพริดีน (4-dimethylaminopyridine; DMAP) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งพบว่าสารละลายมอนอเมอร์ชีวภาพซินนามิลเมทาคริเลตที่เตรียมได้นั้น มีลักษณะใสไม่มีสี (ดังภาพที่ 4.1) และได้ผลผลิตร้อยละ 87



ภาพที่ 4.1 ไบโอมอนเมอร์ซินนามิลเมทาคริเลต

เมื่อนำสารละลายมอนอเมอร์ชีวภาพซินนามิลเมทาคริเลต ไปศึกษาลักษณะโครงสร้างทางเคมี ด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโคปี ของซินนามิลแอลกอฮอล์ และซินนามิลเมทาคริเลต แสดงดังภาพ 4.2a และ 4.2b ตามลำดับ ในกรณีของซินนามิลแอลกอฮอล์ พบพีคที่ 4.2 ppm ซึ่งแสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $-OH$ และเมื่อหลังจากทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันหมู่แอลกอฮอล์ของซินนามิลแอลกอฮอล์ได้เปลี่ยนเป็นซินนามิลเมทาคริเลต (ภาพ 4.2b) โดยพบพีคที่ 1.9 ppm แสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $-CH_3$ พีคที่ 4.8 ppm แสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $=CH_2$ และ พีคที่ 6.2 ppm แสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $=CH$ สอดคล้องกับผลงานวิจัยก่อนหน้านี้ [145] ซึ่งแสดงให้เห็นว่า

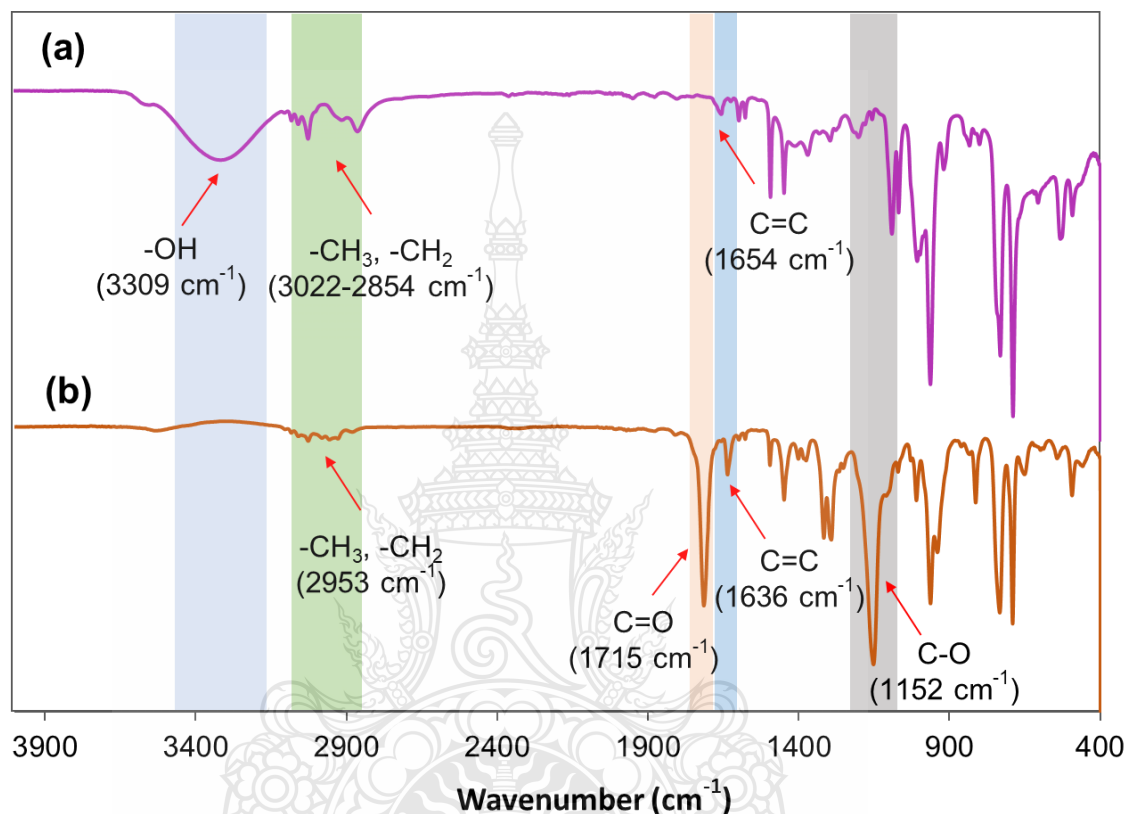
หมู่ -OH ของซินนามิลแอลกอฮอล์นั้นลดลงและมีพันธะคู่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าสามารถเตรียมมอนอเมอร์ชีวภาพซินนามิลเมทาคริเลตได้สำเร็จ



ภาพที่ 4.2 สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ โดย (a) ซินนามิลแอลกอฮอล์ และ (b) ซินนามิลเมทาคริเลต

นอกจากนี้ทำการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมี ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดเปกโตรมิเตอร์ ในช่วงความถี่ $400\text{--}3,900\text{ cm}^{-1}$ ของซินนามิลแอลกอฮอล์ (ภาพที่ 4.3a) และซินนามิลเมทาคริเลต (ภาพที่ 4.3b) โดยที่ความถี่ 3309 cm^{-1} เป็นการสั่นของพันธะ -OH หลังจากทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ิฟิเคชัน หมู่แอลกอฮอล์ของซินนามิลแอลกอฮอล์ได้เป็นซินนามิลเมทาคริเลต แสดงดังภาพ 4.3b ซึ่งพบการสั่นของพันธะ CH_2 และ CH_3 ที่ความถี่ $2,953\text{ cm}^{-1}$ การสั่นของพันธะ C=O ที่ความถี่ $1,715\text{ cm}^{-1}$ การสั่นของพันธะ C=C ที่ความถี่ $1,636\text{ cm}^{-1}$ และ การสั่นของพันธะ C-O ที่ความถี่ $1,152\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยก่อนหน้านี้ [145] จะเห็นได้ว่าหมู่ -OH ของซินนามิลแอลกอฮอล์นั้นลดลง

หลังจากทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันและมีพันธะคู่เพิ่มขึ้นมา สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโคปี จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสามารถเตรียมมอนอเมอร์ชีวภาพซินนามิลเมทาคริเลตได้สำเร็จ



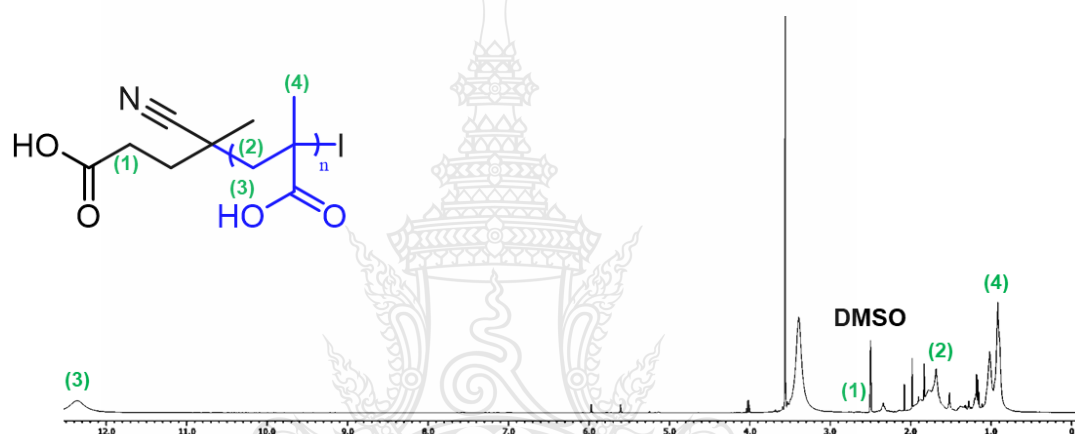
ภาพที่ 4.3 สเปกตรัม FT-IR โดย (a) ซินนามิลแอลกอฮอล์ และ (b) ซินนามิลเมทาคริเลต

4.2 การสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดด์ (polymethacrylic acid-*block*-polycinnamyl methacrylate-*block*-polymethacrylic acid-iodide; PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I) ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบสารละลายไอทีพี

4.2.1 การเตรียมพอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดด์ (polymethacrylic acid-iodide; PMAA-I)

ในการเตรียมพอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดด์ ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบสารละลายไอทีพี จะทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชัน เช่น ตัวริเริ่มปฏิกิริยา และอัตราส่วนระหว่างโมลของตัวริเริ่มริเริ่มปฏิกิริยาต่อโมลของไอโอดิฟอร์ม เป็นต้น ในการศึกษาชนิดของ

ตัวริเริ่มปฏิกิริยาจะเปรียบเทียบกับตัวริเริ่มปฏิกิริยา 3 ชนิด คือ AIBA VA-086 และ V-501 และอัตราส่วนโมลระหว่างตัวริเริ่มปฏิกิริยาต่อไอโอดิฟอร์ม พบว่า เมื่อใช้ตัวริเริ่มปฏิกิริยา V-501 ในการเตรียมพอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดิไดด์ ได้ร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนไปเป็นพอลิเมอร์ (% Conversion) มากที่สุดเมื่อเทียบกับใช้ตัวริเริ่มปฏิกิริยา AIBA และ VA-086 จากนั้นนำไปพิสูจน์โครงสร้างโมเลกุลด้วยเทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโคปี โดยพบพีคที่ 0.95 ppm แสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $-CH_3-$ พีคที่ 1.84 ppm แสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $-CH_2-$ และพีคที่ 12.30 ppm แสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $-OH$ ขึ้นใน ^1H-NMR สเปกตรัมของพอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดิไดด์ ทั้ง 4 สภาวะ (RUN 1 ถึง RUN 4) ดังภาพที่ 4.4 (RUN 3) ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยก่อนหน้านี้ [146]



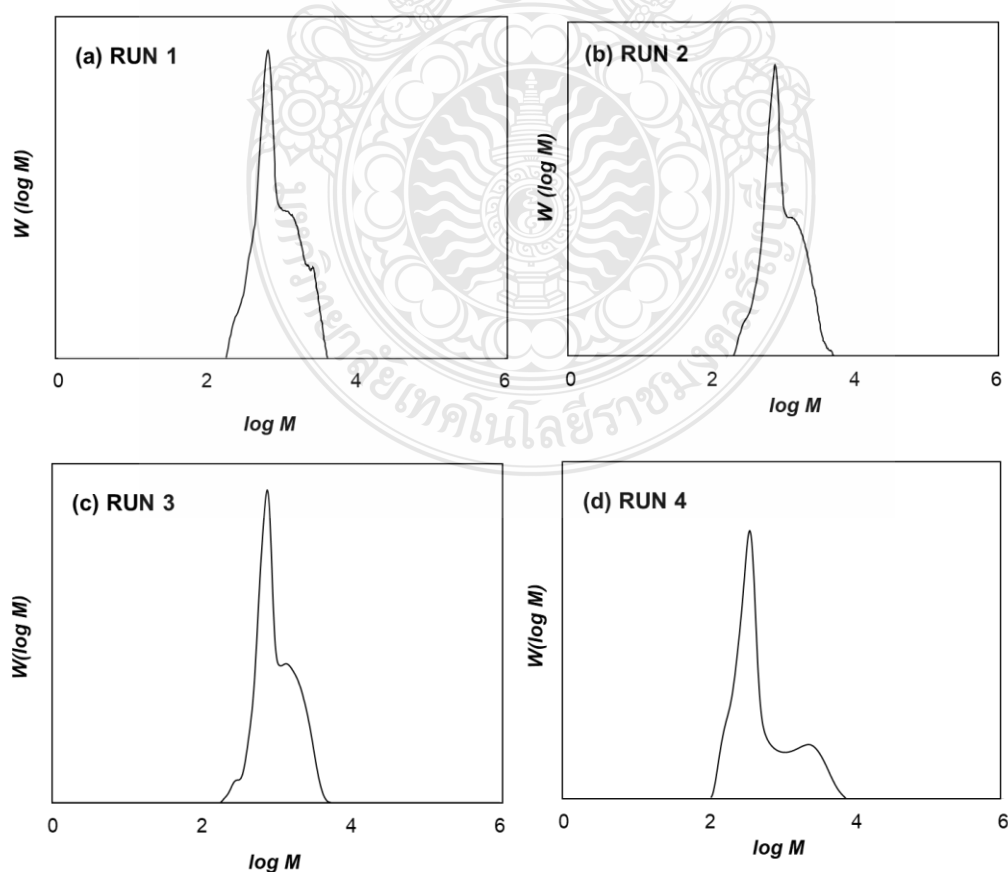
ภาพที่ 4.4 สเปกตรัม ^1H-NMR ของพอลิเมทาคริลิกแอซิด-ไอโอดิไดด์ (RUN 3)

เมื่อคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมทาคริลิกแอซิด-ไอโอดิไดด์ ของทั้ง 4 สภาวะการทดลองจาก สเปกตรัม ^1H-NMR ดังสมการ $DP_x = \frac{I_x \times DP_y \times N_{H,y}}{I_y \times N_{H,x}}$; โดยที่ I_x และ $N_{H,x}$ คือ พื้นที่ใต้กราฟและจำนวนโปรตอน ตามลำดับ ของ x ที่ไม่ทราบ DP , I_y และ $N_{H,y}$ คือ พื้นที่ใต้กราฟและจำนวนโปรตอนตามลำดับ ของ y ที่ทราบ DP , DP_x และ DP_y คือ ความยาวสายโซ่ของ x และ y ตามลำดับ พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุล 1019, 1228, 1095 และ 701 กรัมต่อโมล สำหรับ RUN 1 RUN 2 RUN 3 และ RUN 4 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าน้ำหนักโมเลกุลตามจำนวน ที่ตรวจได้จาก GPC เล็กน้อย (694, 783, 831 และ 456 กรัมต่อโมล สำหรับ RUN 1 RUN 2 RUN 3 และ RUN 4 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 อาจเนื่องมาจากมาตรฐานที่ใช้ใน GPC คือ พอลิสไตรีน ซึ่งมีมวลโมเลกุลของ 1 หน่วย (104 กรัม/โมล) มากกว่า หนึ่งหน่วยของเมทาคริลิก แอซิด (86 กรัม/โมล) ส่งผลให้ได้มวลโมเลกุลน้อยกว่าความเป็นจริง

นอกจากนี้ มีร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนไปเป็นพอลิเมอร์ ของ RUN 1 ถึง RUN 4 เท่ากับ 31 ถึง 86 % (ตารางที่ 4.1) จะเห็นว่า % Conversion นั้นลดลงเมื่อมีการใช้โมลของไอโอดิฟอร์มเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม การกระจายน้ำหนักโมเลกุล (M_w/M_n) ของพอลิเมทาคริลิกแอซิด-ไอโอดิฟอร์มที่สภาวะการทดลอง RUN 3 มีการกระจายน้ำหนักโมเลกุลแคบ (ภาพที่ 4.5) และร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนไปเป็นพอลิเมอร์สูง ดังนั้นจึงนำสภาวะการทดลอง RUN 3 ไปสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ต่อไป

ตารางที่ 4.1 การกระจายน้ำหนักโมเลกุลที่คำนวณจาก NMR และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวนและโดยน้ำหนักของ PMAA-I โดย GPC

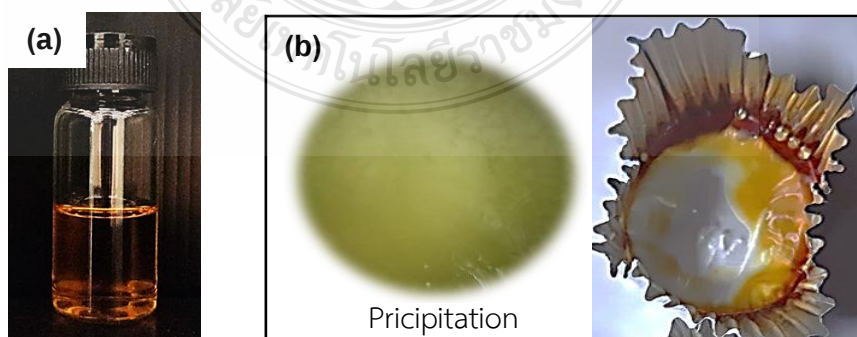
RUN	V-501: CHI ₃	Conversion n (%)	$M_{w,GPC}$	$M_{n,GPC}$	$M_{n,NMR}$	M_w/M_n	DP _{n,NMR}	DP _n
1	1: 1	31	1048	694	1019	1.51	8.49	15
2	1: 0.67	53	1111	783	1228	1.42	10.92	15
3	1: 0.50	59	1169	831	1095	1.41	9.37	15
4	1: 0.22	86	965	456	701	2.21	4.79	15



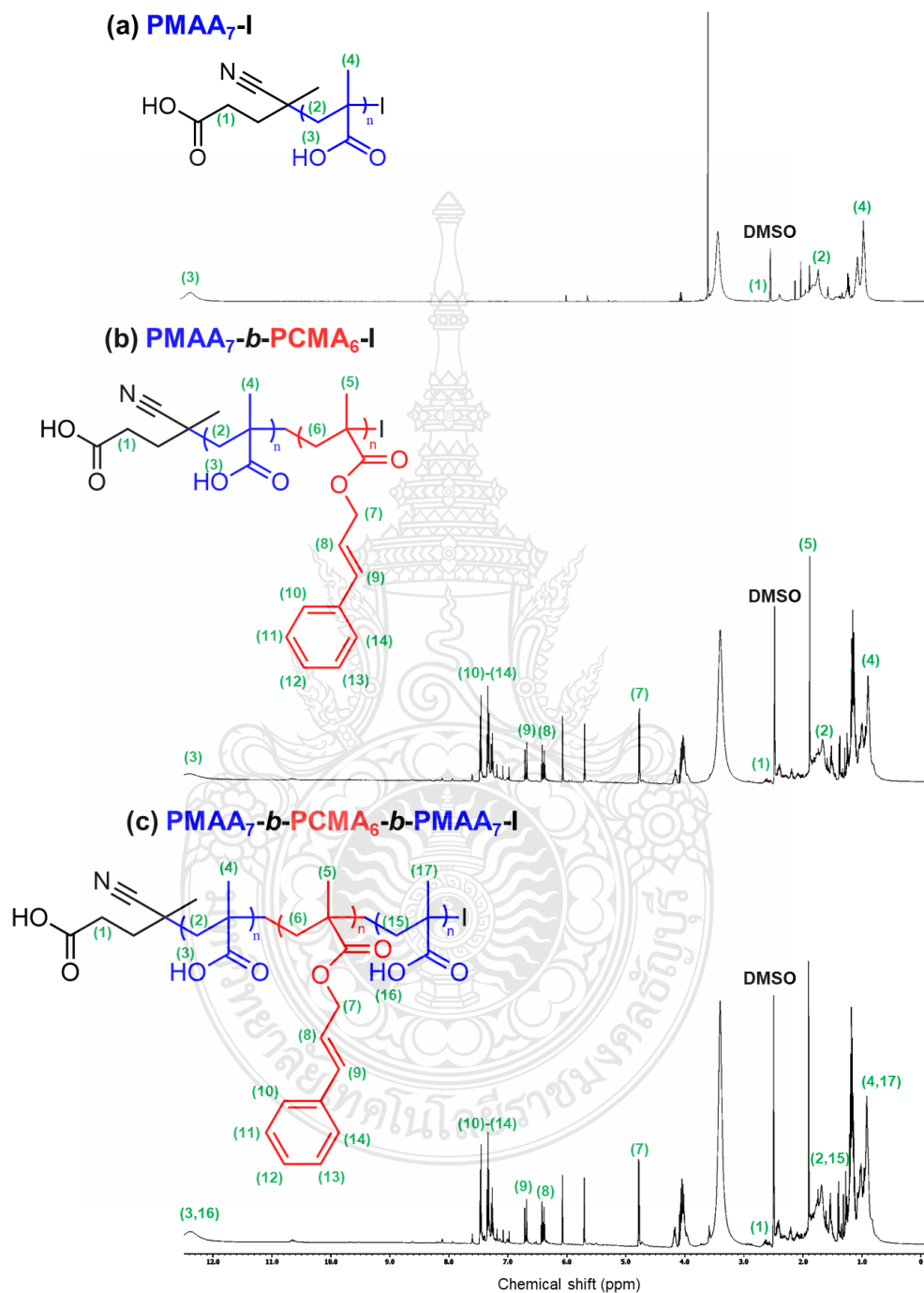
ภาพที่ 4.5 GPC โคมาทแกรม ของ PMAA-I โดยศึกษาอัตราส่วนระหว่างโมลของตัวริเริ่มริเริ่มปฏิกิริยาต่อโมลของไอโอดิฟอร์ม (a) RUN 1 (V-501: CHI_3 ; 1: 1) (b) RUN 2 (V-501: CHI_3 ; 1: 0.67) (c) RUN 3 (V-501: CHI_3 ; 1: 0.50) และ (d) RUN 4 (V-501: CHI_3 ; 1: 0.22)

4.2.2 การสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดิด์ (polymethacrylic acid-*block*-polycinnamyl methacrylate-*block*-polymethacrylic acid-iodide; PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I)

บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพของพอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดิด์ (PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I) ถูกสังเคราะห์ด้วยกระบวนการสังเคราะห์แบบสารละลายไอทีพี ที่ความยาวสายโซ่บล็อกโคพอลิเมอร์ แตกต่างกัน 3 สภาวะการทดลอง ดังนี้ 15: 10: 15 30: 10: 30 และ 60: 10: 60 หน่วย โดยหลังสังเคราะห์ สารละลายพอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดิด์ มีลักษณะเป็นสีเหลืองเมื่อนำไปตกตะกอนด้วยเอทิลอะซิเตตและอบแห้งจะมีลักษณะเป็นฟิล์ม (ภาพที่ 4.6) ในทั้ง 3 สภาวะการทดลอง จากนั้นนำ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอดิด์ (RUN 3.1) ไปพิสูจน์โครงสร้างโมเลกุล ด้วยเทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโคปี โดยพบพิกัดตัวแทนของพอลิเมทาคริลิก แอซิด โดยพิกัดที่ 0.95 ppm แสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $-\text{CH}_3-$ พิกัดที่ 1.84 ppm แสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $-\text{CH}_2-$ และพิกัดที่ 12.30 ppm แสดงเอกลักษณ์ของ $-\text{OH}$ (ภาพที่ 4.7a และ 4.7c) และพิกัดตัวแทนของพอลิซินนามิลเมทาคริเลต โดยพิกัดที่ 2.98 ppm แสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $-\text{CH}_3-$ พิกัดที่ 4.83 ppm แสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $-\text{CH}_2-$ พิกัดที่ 6.37, 6.79 ppm แสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $-\text{CH}-$ และพิกัดที่ 7.24-7.61 ppm แสดงเอกลักษณ์โปรตอนของ $-\text{CH}-$ (ภาพที่ 4.7b)



ภาพที่ 4.6 ภาพถ่ายของพอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ ก่อน (a) และหลัง (b) การตกตะกอน



ภาพที่ 4.7 สเปกตรัม ^1H -NMR ของ พอลิเมทาคริลิก แอซิด₇-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต₆-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด₇-ไอโอไดด์

โดยน้ำหนักโมเลกุลของบล็อกโคพอลิเมอร์ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ ทั้ง 3 สภาวะการทดลอง (RUN 3.1 RUN 3.2 และ RUN 3.3) ที่คำนวณจาก $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัม อยู่ในช่วง 2,742 ถึง 3,257 กรัมต่อโมล ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งสูงกว่าน้ำหนักโมเลกุลที่ตรวจวัดโดยเทคนิค GPC (1,241 ถึง 2,049 กรัมต่อโมล สำหรับ RUN 3.1 ถึง RUN 3.3) เช่นเดียวกับ พอลิเมทาคริลิก แอซิด เมื่อคำนวณออกมาในรูปของความยาวสายโซ่บล็อกโคพอลิเมอร์ ในสายโซ่พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดด์ ที่เตรียมที่ความยาวสายโซ่ทางทฤษฎีของ 15: 10: 15 30: 10: 30 และ 60: 10: 60 หน่วย ได้ความยาวสายโซ่ของแต่ละบล็อกโคพอลิเมอร์เป็น 7: 6: 7 11: 9: 11 และ 9: 9: 9 หน่วย ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนไปเป็นพอลิเมอร์ จะลดลงเมื่อความยาวสายโซ่ทางทฤษฎีของบล็อกโคพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น โดยจะลดลงจาก 84% 65% และ 57% สำหรับ RUN 3.1 RUN 3.2 และ RUN 3.3 ตามลำดับ อาจเนื่องมาจากปริมาณของมอนอเมอร์ที่มากเกินไป ในขณะที่อัตราการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชันของทั้งสามสภาวะไม่แตกต่างกัน ร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนไปเป็นพอลิเมอร์จึงลดลงตามปริมาณมอนอเมอร์ นอกจากนี้ ความหนืดที่มากขึ้นตามปริมาณของมอนอเมอร์เริ่มต้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพการควบคุมการต่อสายโซ่ของสารโพลิเมอร์สายโซ่ลดลง เนื่องจากการเคลื่อนที่ของสายโซ่พอลิเมอร์จะลดลง ดังนั้นในเวลากการสังเคราะห์เท่ากันจึงได้อัตราส่วนของแต่ละบล็อกโคพอลิเมอร์ไม่แตกต่างกัน และเนื่องจากอุปสรรคในการผลิตเชิงพาณิชย์ หากต้องเพิ่มระยะเวลาในการสังเคราะห์เพื่อให้ได้ร้อยละที่มอนอเมอร์เปลี่ยนไปเป็นพอลิเมอร์เข้าใกล้ 100 และความยาวของสายโซ่พอลิเมอร์เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงทำการเลือกสภาวะการทดลอง RUN 3.1 ไปใช้ในการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด รวมทั้งศึกษาการเชื่อมขวางที่ผิวของหยดน้ำมันมะกูด โดยการฉายรังสียูวีต่อไป

ตารางที่ 4.2 การกระจายน้ำหนักโมเลกุลตามจำนวนและค่าเฉลี่ยโดยน้ำหนักของของบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดต์โดย $^1\text{H-NMR}$ และ GPC

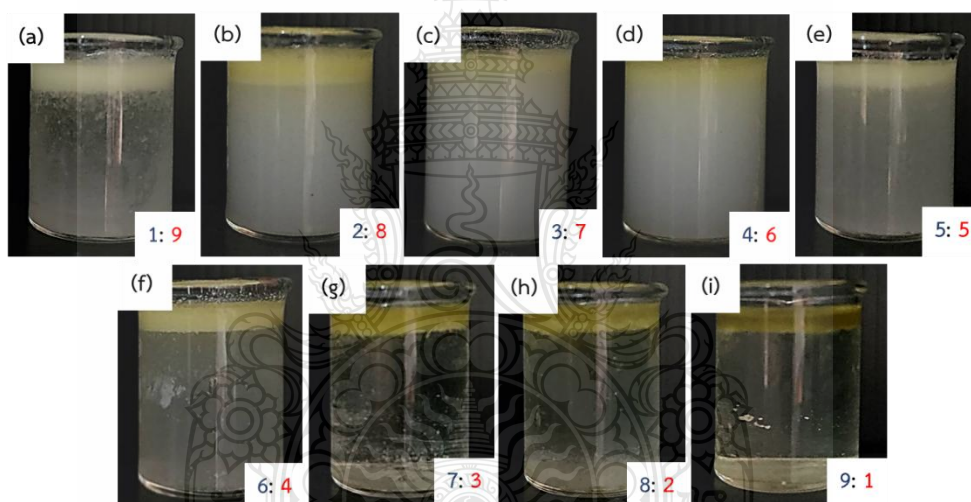
RUN	Sample	Conversion (%)	$M_{w,GPC}$	$M_{n,GPC}$	$M_{n,NMR}$	DP _{n,th}	DP _{n,NMR}
3.1	P(MAA) ₁₅ -b- P(CMA) ₁₀ -b- P(MAA) ₁₅ -I	84	2,860	1,241	2,742	15: 10: 15	7: 6: 7
3.2	P(MAA) ₃₀ -b- P(CMA) ₁₀ -b- P(MAA) ₃₀ -I	65	3,471	2,049	3,257	30: 10: 30	11: 9: 11
3.3	P(MAA) ₆₀ -b- P(CMA) ₁₀ -b- P(MAA) ₆₀ -I	57	3,059	1,600	3,126	60: 10: 60	9: 9: 9

4.3 การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดต์ ผ่านการเชื่อมร่างแห โดยการฉายรังสียูวี

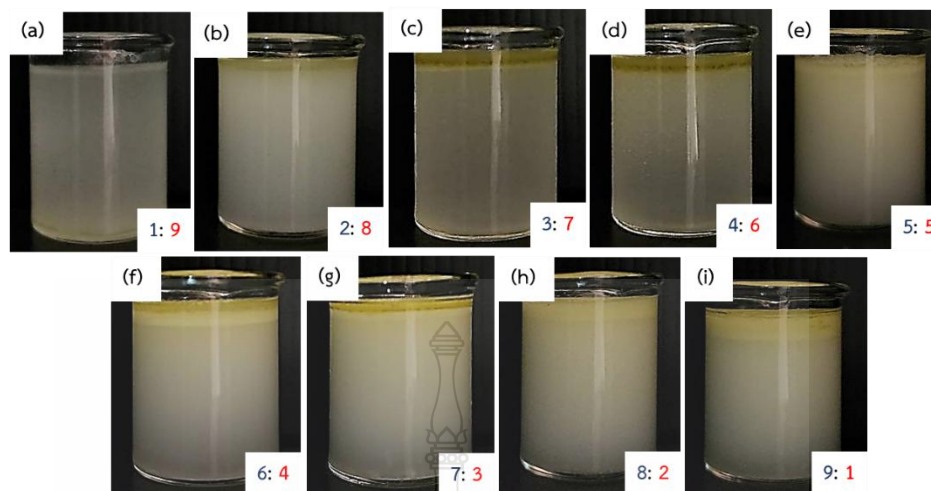
4.3.1 การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดต์

ในการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดโดยใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ ขั้นแรกจะนำบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิ(กรดเมทาคริลิก)₇-บล็อก-พอลิ(ซินนามิลเมทาคริเลต)₆-บล็อก-พอลิ(กรดเมทาคริลิก)₇-ไอโอไดต์ (BioSurf) ที่เตรียมได้ก่อนหน้านี้ ผสมกับทวิน 80 (Surf) ซึ่งสารทั้ง 2 ตัวนี้จะทำหน้าที่เป็นสารลดแรงตึงผิวหลัก จากนั้นนำไปผสมกับเอทานอล (Co-Surf) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม โดยจะศึกษาอัตราส่วนของ BioSurf: Surf ตั้งแต่ 5:5 ถึง 9:1 และต่อด้วยศึกษาอัตราส่วนระหว่างสารลดแรงตึงผิวหลักต่อสารลดแรงตึงผิวร่วม (BioSurf-Surf: Co-Surf) ตั้งแต่ 1: 0, 1: 1 , 2: 1 และ 3: 1 จะได้ออกมาเป็นสารลดแรงตึงผิวผสม (Surf_{mix}) ในขั้นตอนต่อไปจะนำไปผสมกับ

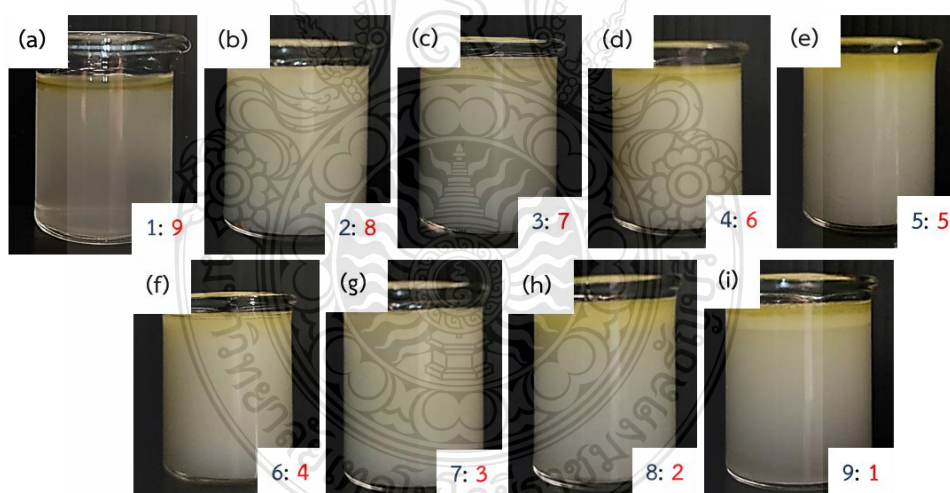
น้ำมันหอมระเหยมะกรูด (Kaffir lime oil; KLO) โดยอัตราส่วน KLO: Surf_{mix} มีความแปรผัน ที่ 1: 9 ถึง 9: 1 (โดยน้ำหนัก) และเติมน้ำ พร้อมทั้งปั่นผสม ผลการทดลอง แสดงในภาพที่ 4.8 ถึง ภาพที่ 4.12 จากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างสารลดแรงตึงผิวหลักต่อสารลดแรงตึงผิวร่วม (BioSurf-Surf: Co-Surf) พบว่าส่วนใหญ่จะเกิดการแยกวัฏภาค โดยที่สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครอิมัลชันของ น้ำมันมะกรูดที่ไม่เกิดการแยกวัฏภาค จะใช้อัตราส่วนของ BioSurf-Surf: CoSurf ที่ 2 : 1 (โดยน้ำหนัก) และใช้อัตราส่วนของ BioSurf: Surf ที่ 1: 1 ในขณะที่ปริมาณของน้ำมันมะกรูดไม่เกิน 20% ของ องค์ประกอบทั้งหมด โดยไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ได้จะค่อนข้างใสมองภายนอกเป็นคล้ายเป็น เนื้อเดียวกันแสดงในภาพที่ 4.12a และ 4.12b แสดงให้เห็นว่าขนาดหยดของน้ำมันมะกรูดมีขนาดเล็ก และมีความเสถียรทางอุณหพลศาสตร์สูง



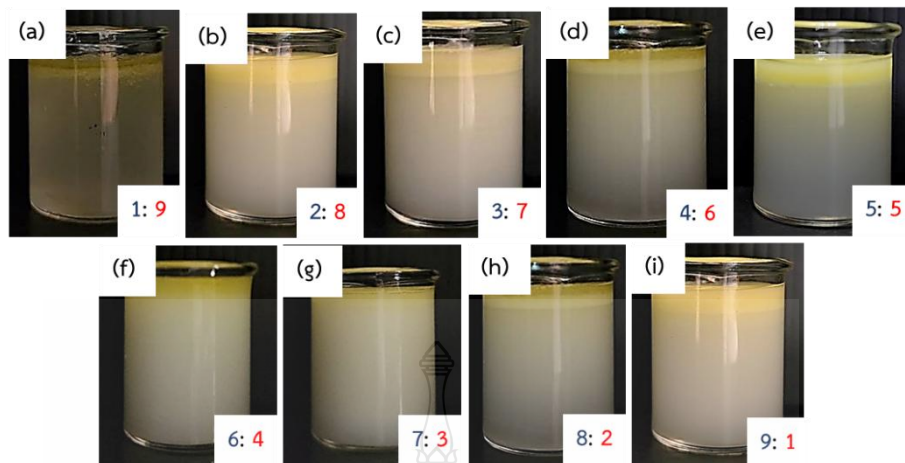
ภาพที่ 4.8 ภาพถ่ายไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกรูดโดยใช้อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: Surf_{mix} (โดย น้ำหนัก): (a) 1: 9 (b) 2: 8 (c) 3: 7 (d) 4: 6 (e) 5: 5 (f) 6: 4 (g) 7: 3 (h) 8: 2 and (i) 9: 1 ; เมื่อใช้อัตราส่วนของ BioSurf-Surf: CoSurf ที่ 2 : 1 โดยใช้อัตราส่วนของ BioSurf: Surf ที่ 9: 1



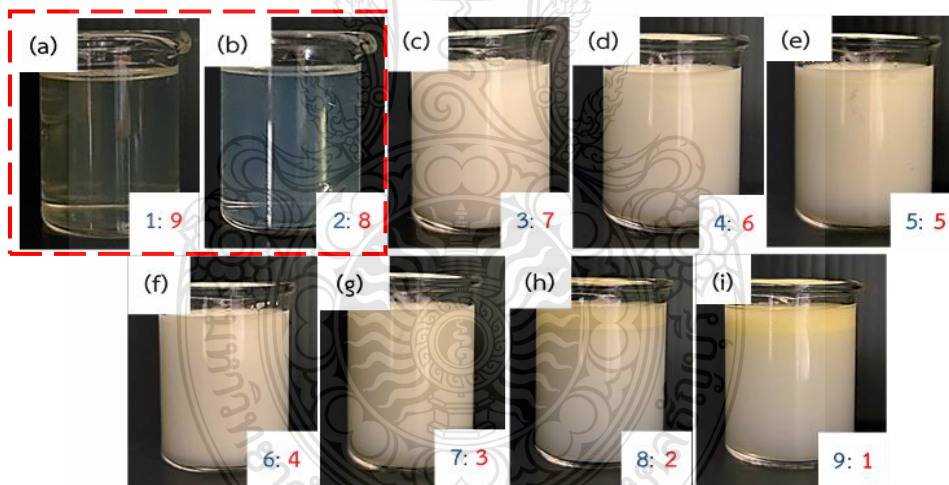
ภาพที่ 4.9 ภาพถ่ายไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกูดโดยใช้อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: $Surf_{mix}$ (โดย น้ำหนัก): (a) 1: 9 (b) 2: 8 (c) 3: 7 (d) 4: 6 (e) 5: 5 (f) 6: 4 (g) 7: 3 (h) 8: 2 and (i) 9: 1 ; เมื่อใช้อัตราส่วนของ BioSurf-Surf: CoSurf ที่ 2: 1 โดยที่อัตราส่วนของ BioSurf: Surf ที่ 8: 2



ภาพที่ 4.10 ภาพถ่ายไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกูดโดยใช้อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: $Surf_{mix}$ (โดย น้ำหนัก): (a) 1: 9 (b) 2: 8 (c) 3: 7 (d) 4: 6 (e) 5: 5 (f) 6: 4 (g) 7: 3 (h) 8: 2 and (i) 9: 1 ; เมื่อใช้อัตราส่วนของ BioSurf-Surf: CoSurf ที่ 2 : 1 โดยที่อัตราส่วนของ BioSurf: Surf ที่ 7: 3

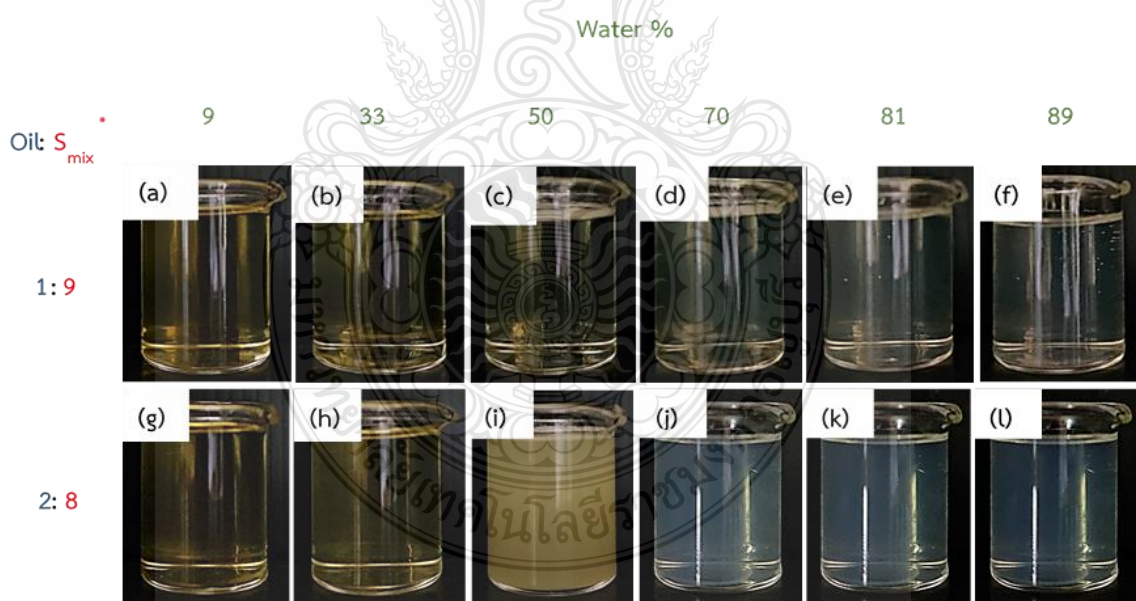


ภาพที่ 4.11 ภาพถ่ายไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกูดโดยใช้อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: Surf_{mix} (โดยน้ำหนัก): (a) 1: 9 (b) 2: 8 (c) 3: 7 (d) 4: 6 (e) 5: 5 (f) 6: 4 (g) 7: 3 (h) 8: 2 and (i) 9: 1 ; เมื่อใช้อัตราส่วนของ BioSurf-Surf: CoSurf ที่ 2 : 1 โดยที่อัตราส่วนของ BioSurf: Surf ที่ 6:4



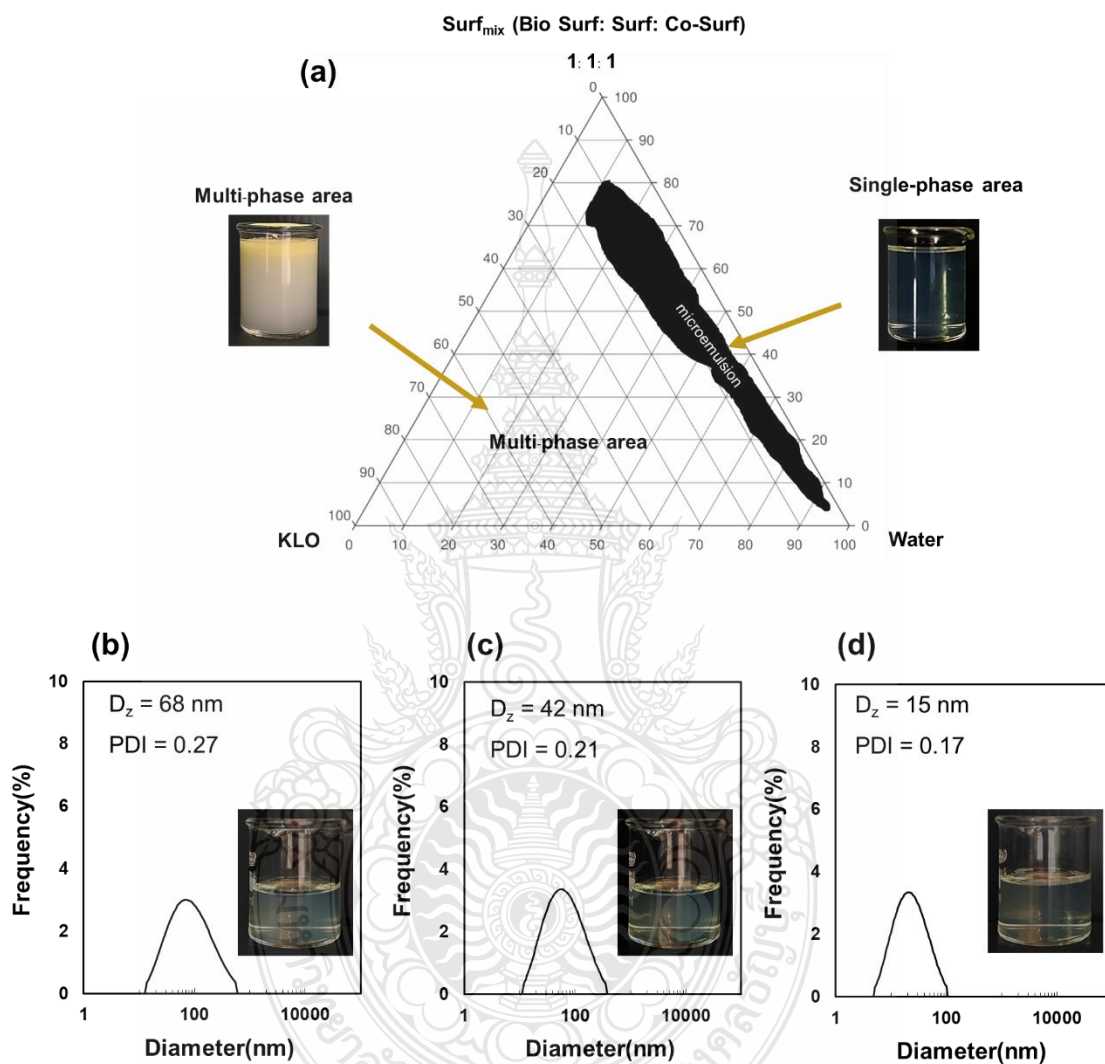
ภาพที่ 4.12 ภาพถ่ายไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกูดโดยใช้อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: Surf_{mix} (โดยน้ำหนัก): (a) 1: 9 (b) 2: 8 (c) 3: 7 (d) 4: 6 (e) 5: 5 (f) 6: 4 (g) 7: 3 (h) 8: 2 and (i) 9: 1 ; เมื่อใช้อัตราส่วนของ BioSurf-Surf: CoSurf ที่ 2 : 1 โดยที่อัตราส่วนของ BioSurf: Surf ที่ 5:5

จากนั้นนำไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุก สภาวะดังกล่าว (BioSurf: Surf: CoSurf อัตราส่วน 1: 1: 1 (โดยน้ำหนัก)) มาศึกษาเพิ่มเติมโดยการนำเข้าสู่ระบบไมโครอิมัลชัน ตั้งแต่ร้อยละ 9-89 พร้อมทั้งคำนวณค่าที่ได้เป็นร้อยละพล็อตลงแผนภาพวัฏภาคเทียม (pseudo-ternary phase diagram) โดยพบว่า เมื่อเติมน้ำเข้าสู่ระบบตั้งแต่ร้อยละ 9-89 (ภาพที่ 4.13-4.14) ไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุกยังคงเป็นเนื้อเดียวกันไม่เกิดการแยกชั้นและลักษณะสีของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุกมีความใสมากขึ้นเมื่อมีการเติมน้ำมากขึ้น อีกทั้งไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุกที่ได้มีความเสถียรทางอุณหพลศาสตร์ โดยสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุก มี 3 สภาวะดังนี้ สภาวะที่ 1 ประกอบไปด้วย น้ำมันมะกุก 6% บล็อกโคพอลิเมอร์ 8% ทวิน 80 8% เอทานอล 8% น้ำ 70% สภาวะที่ 2 ประกอบไปด้วย น้ำมันมะกุก 4% บล็อกโคพอลิเมอร์ 5% ทวิน 80 5% เอทานอล 5% น้ำ 81% และ สภาวะที่ 3 ประกอบไปด้วย น้ำมันมะกุก 2% บล็อกโคพอลิเมอร์ 3% ทวิน 80 3% เอทานอล 3% น้ำ 89% และเมื่อนำไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุกที่เตรียมได้ทั้ง 3 สภาวะ ไปทดสอบคุณสมบัติโดยการวัดขนาดอนุภาค พบว่าไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุก อยู่ในช่วง 15-68 นาโนเมตร (ภาพที่ 4.14b-4.14d) เนื่องจากไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกุกที่สภาวะที่ 1 จะมีน้ำมันมะกุกสูงสุดคือ 6% ดังนั้นจะนำไปทำการเชื่อมขวางโดยการฉายรังสีต่อไป



ภาพที่ 4.13 ภาพถ่ายไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกุกโดยใช้อัตราส่วนของ KLO: Surf_{mix} (โดยน้ำหนัก) ที่ 1: 9 (a-f) และ 2: 8 (g-l) โดยที่อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: BioSurf: Surf: CoSurf: H₂O (โดยน้ำหนัก): (a) 9: 27: 27: 27: 9 (b) 7: 20: 20: 20: 33 (c) 5: 15: 15: 15: 50 (d) 3: 5: 5: 5: 70 (e) 2: 5: 5: 5:

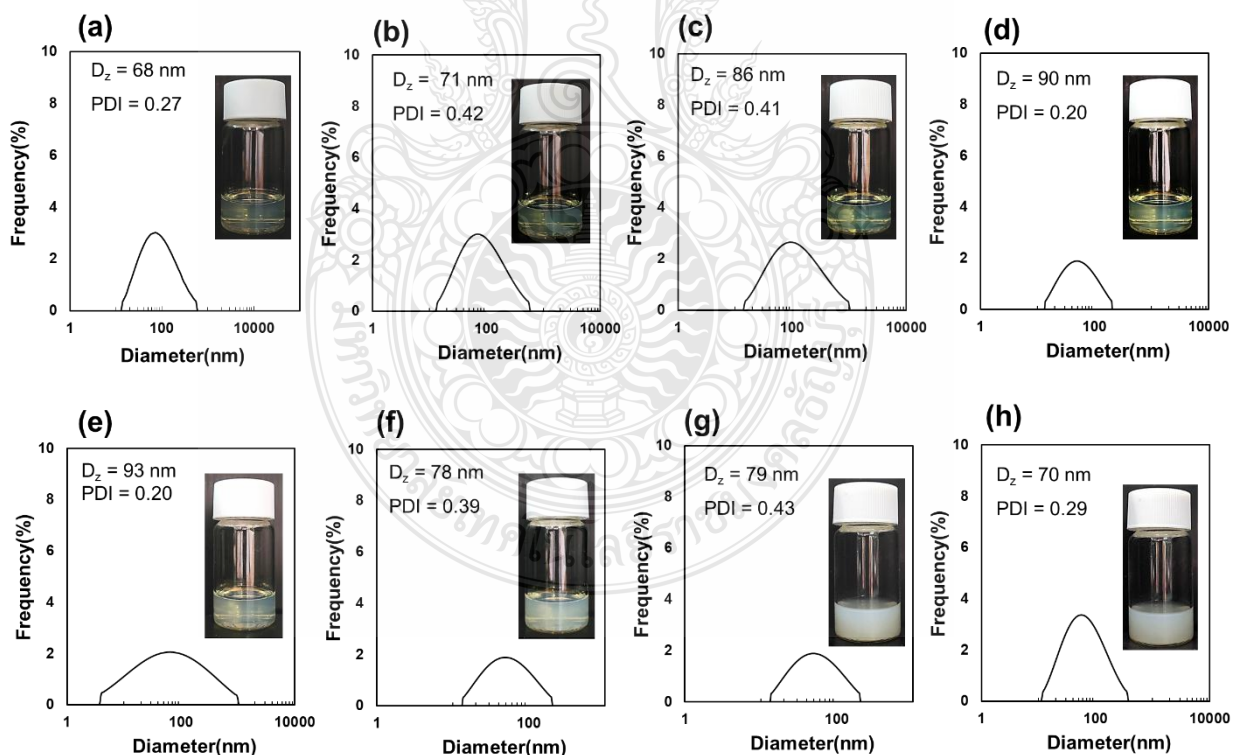
81 (f) 1: 3: 3: 3: 89 (g) 18: 24: 24: 24: 9 (h) 13: 18: 18: 18: 33 (i) 10: 13: 13: 13: 50 (j) 6: 8: 8: 8: 70 (k) 4: 5: 5: 5: 81 (l) 2: 3: 3: 3: 89



ภาพที่ 4.14 (a) แผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียม (pseudo-ternary phase diagram) และ(b-d) ขนาดอนุภาคของไมโครอิมัลชันน้ำมันมะกอก อัตราส่วนต่าง ๆ ของ KLO: BioSurf: Surf: CoSurf: H₂O (โดยน้ำหนัก): (b) 6: 8: 8: 8: 70 (c) 4: 5: 5: 5: 81 (d) 2: 3: 3: 3: 89

4.3.2 การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่ใช้บล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ พอลิเมทาคริลิก แอซิด-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-บล็อก-พอลิเมทาคริลิก แอซิด-ไอโอไดต์ ผ่านการเชื่อมขวาง โดยการฉายรังสียูวี

ไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่ผ่านการเชื่อมขวางโดยการฉายรังสียูวี พบว่าลักษณะที่บ่งชี้ตามเวลาที่ใช้ในการฉายรังสียูวี (ภาพที่ 4.15a-4.15h) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวัด ร้อยละการส่งผ่าน (% Transmittance) ที่เวลาการฉายแสงต่าง ๆ ตั้งแต่ 0 ถึง 120 นาที ซึ่งร้อยละการส่งผ่านลดลงจาก 94 ถึง 5 ตามลำดับ นอกจากนี้ความหนืดจะอยู่ที่ 2 ถึง 4 cP.s (ตารางที่ 4.3) สิ่งเหล่านี้เกิดจากการเชื่อมขวางของหมู่ซินนามิลของบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I โดยหมู่ซินนามิลเป็นหมู่ที่ตอบสนองต่อแสงยูวี ที่ 254 นาโนเมตร เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงจะเกิดการจับกันระหว่างหมู่ซินนามิล เกิดการเชื่อมขวางขึ้น [52, 123, 147] นอกจากนี้ยังพบว่าขนาดอนุภาคก่อนและหลังเชื่อมขวาง ไม่แตกต่างกัน โดยมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 79 นาโนเมตร (ภาพที่ 4.15a-4.15h) แสดงว่า จะเกิดการเชื่อมขวางเฉพาะที่ผิวของอนุภาคเป็นส่วนใหญ่ โดยไม่เกิดการเชื่อมขวางระหว่างอนุภาคหรือเกิดน้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ [52]

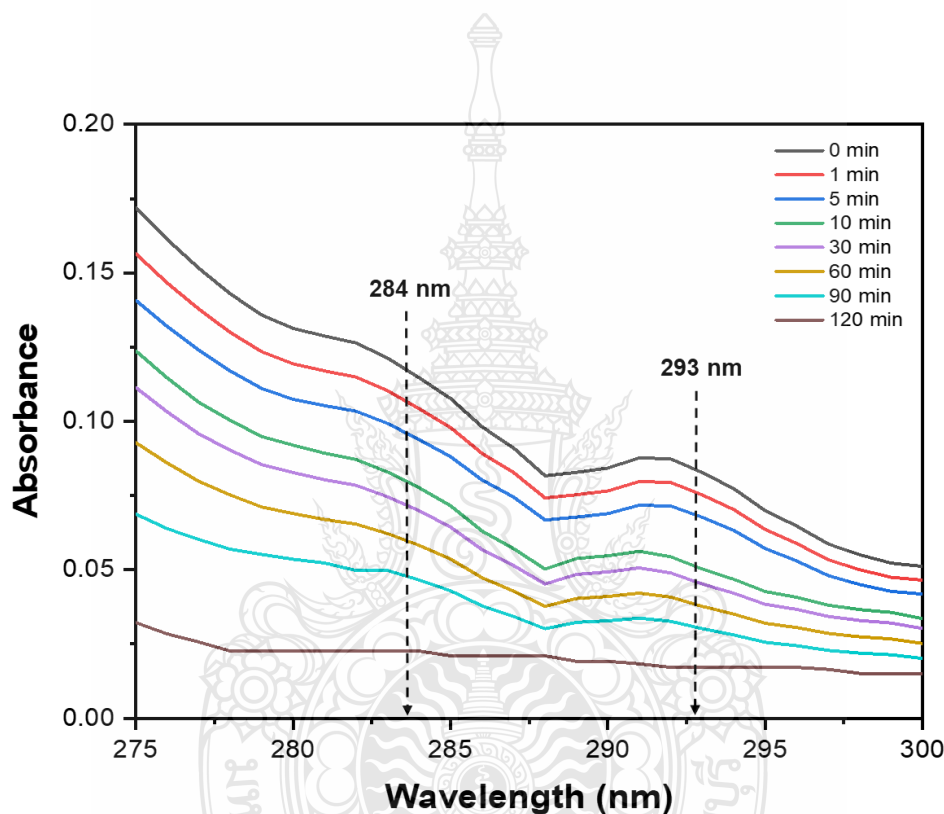


ภาพที่ 4.15 DLS ฮิสโทแกรม (a-h) ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง โดยการฉายรังสียูวีที่เวลาต่าง ๆ (นาที): (a) 0 (b) 1 (c) 5 (d) 10 (e) 30 (f) 60 (g) 90 และ (h) 120 นาที

ตารางที่ 4.3 ความหนืดและร้อยละการส่งผ่าน (% Transmittance) ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง โดยการฉายรังสียูวีที่เวลาต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ร้อยละการส่งผ่าน (%Transmittance)	ความหนืด (Viscosity; cP)
a (0 นาที)	94.0	2.36
b (1 นาที)	80.2	2.48
c (5 นาที)	69.1	3.31
d (10 นาที)	57.3	3.22
e (30 นาที)	16.8	3.72
f (60 นาที)	10.2	3.58
g (90 นาที)	0.5	4.43
h (120 นาที)	0.5	4.41

เพื่อยืนยันสมมติฐานดังกล่าว ไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง ถูกยืนยันโดย ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี โดยพบว่าค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มซินนามิลที่ 284 และ 293 นาโนเมตร ลดลงตามเวลาการฉายรังสียูวีอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในภาพที่ 4.16 โดยที่เวลาการฉายรังสียูวี 120 นาที ค่าการดูดกลืนแสงดังกล่าวจะหายไป แสดงให้เห็นว่าเกิดการเชื่อมขวางของหมู่ซินนามิลโดยสมบูรณ์ ในขั้นตอนต่อไปจะนำไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูด ที่ผ่านการเชื่อมขวางไปทดสอบคุณสมบัติต่อไป



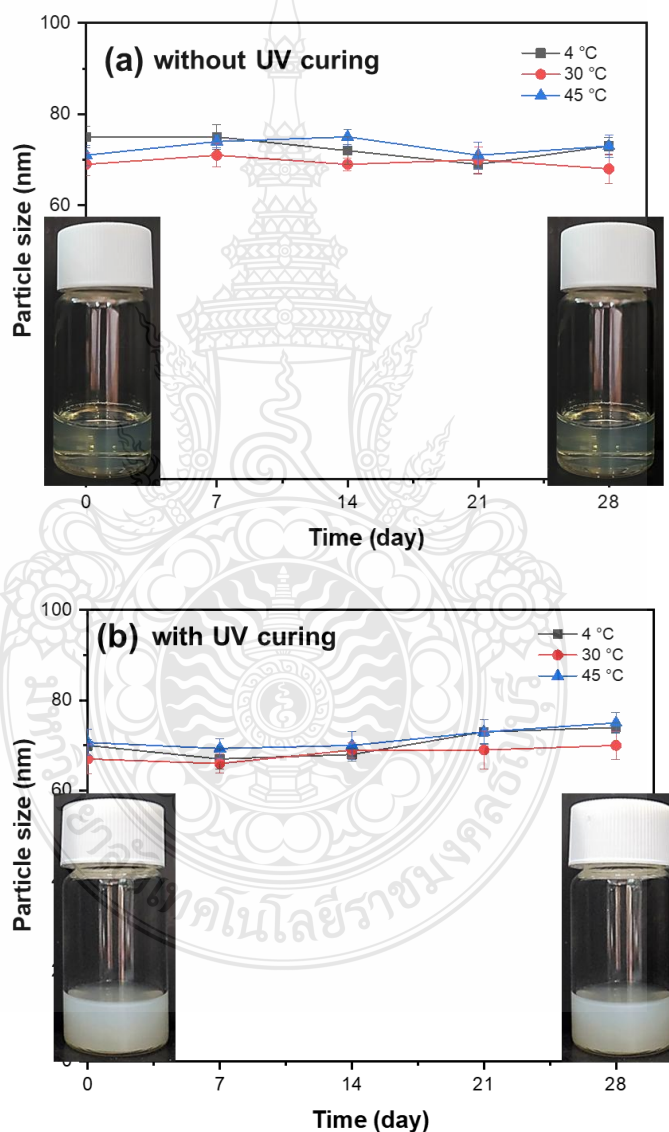
ภาพที่ 4.16 สเปกตรัมยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง โดยการฉายรังสียูวีที่เวลาต่าง ๆ

4.4 ทดสอบสมบัติต่าง ๆ ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่เตรียมได้

4.4.1 ทดสอบความคงตัวของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูด

ทดสอบความคงตัวโดยการวัดขนาดอนุภาคของตัวอย่างไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่เก็บไว้ในสภาวะที่แตกต่างกันคือ ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน โดยขนาดของอนุภาคไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูด ก่อน (without UV curing) และหลัง (with UV

curing) การฉายรังสียูวี มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 70 ± 0.40 และ 68 ± 0.22 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยจะทำการวัดขนาดของอนุภาคของทั้งสองสภาวะและที่ 3 อุณหภูมิ ที่เวลา 7 14 21 และ 28 วัน พบว่าทั้งไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (without UV curing) และไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง (with UV curing) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และคงที่ตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา (แสดงดังภาพ 4.17) แสดงให้เห็นว่าระบบไมโครอิมัลชันในงานนี้ มีความเสถียรทางอุณหพลศาสตร์ ทำให้ระบบไมโครอิมัลชันไม่เกิดการแยกชั้น หรืออนุภาคไม่เกิดการรวมตัวกัน เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานาน

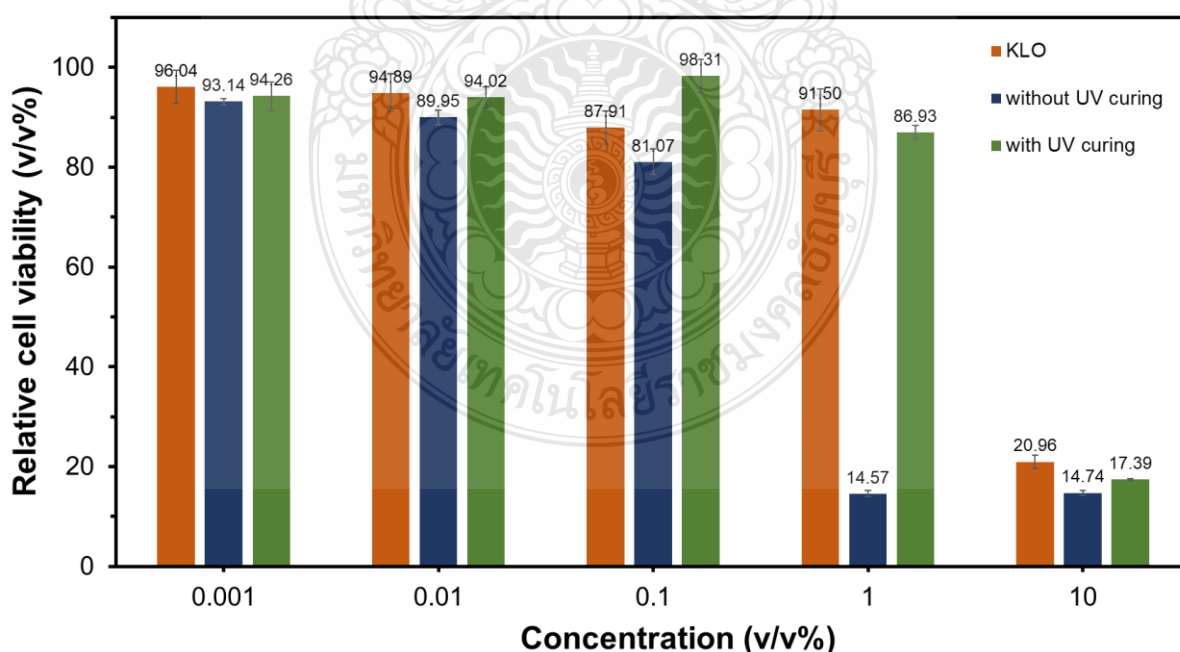


ภาพที่ 4.17 ภาพถ่ายและขนาดของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด (a) without UV curing และ (b) with UV curing ที่ 0 และ 28 วัน ที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ

4.4.2 ทดสอบความเป็นพิษของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดต่อเซลล์ผิวหนังด้วยเทคนิค

MTT assay

จากผลการทดสอบความเป็นพิษของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่เตรียมได้ในเซลล์ผิวหนัง (Human skin fibroblast) ด้วยเทคนิค เอ็มทีที รีดักชัน แอสเสย์ (MTT reduction assay) โดยทำการทดสอบไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง เปรียบเทียบกับ ไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (without UV curing) และน้ำมันมะกรูด (KLO) เมื่อทำการคำนวณค่าร้อยละการมีชีวิตเซลล์ของตัวอย่างทดสอบ ซึ่งพบว่า ไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง (with UV curing) และน้ำมันมะกรูด (KLO) ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ ที่ความเข้มข้นร้อยละโดยปริมาตรน้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 ซึ่งยังมีร้อยละการมีชีวิตเซลล์ของเซลล์ผิวหนังมากกว่า 80 ในขณะที่ไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (without UV curing) แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ แสดงผลในภาพที่ 4.18 และตารางที่ 4.3 เนื่องจากการมีอยู่ของ CMA ที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง ก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระในปริมาณที่มาก โดยอนุมูลอิสระนี้ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์สำคัญในเซลล์ทำให้เซลล์ตาย [148, 149] และความเป็นพิษต่อเซลล์ลดลงหลังจากที่ CMA ถูกเชื่อมขวางด้วยการฉายรังสียูวี ซึ่งบ่งชี้ว่าน้ำมันมะกรูดถูกห่อหุ้มอย่างมีประสิทธิภาพภายในนาโนแคปซูล



ภาพที่ 4.18 ผลการทดสอบความเป็นพิษในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูด

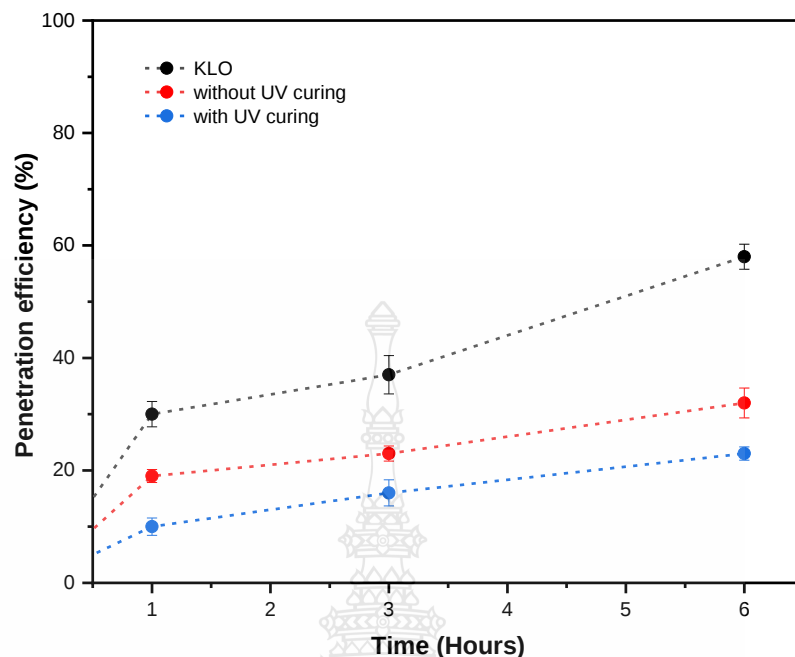
ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูด

ตัวอย่าง	ร้อยละการเจริญของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ (v/v%)				
	0.001	0.01	0.1	1	10
KLO	96.04 ± 3.30	94.89 ± 3.83	87.91 ± 3.33	91.50 ± 4.20	20.96 ± 1.34*
without UV curing	93.14 ± 0.64	89.95 ± 1.50	81.07 ± 2.58	14.57 ± 0.59*	14.74 ± 0.49*
with UV curing	94.26 ± 2.84	94.02 ± 2.13	98.31 ± 3.30	86.93 ± 1.41	17.39 ± 0.23*

หมายเหตุ : * คือ สารทดสอบที่มีร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังน้อยกว่า 80 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

4.4.3 ทดสอบประสิทธิภาพการซึมผ่านเซลล์ผิวหนังที่ทดสอบในระบบจำลอง (in vitro testing) ด้วยเทคนิค แฟรงค์ดิฟฟิวชัน เซลล์ (Franze diffusion cell)

ทดสอบประสิทธิภาพการซึมผ่านเซลล์ผิวหนังที่ทดสอบในระบบจำลอง (in vitro testing) ด้วยเทคนิค แฟรงค์ดิฟฟิวชัน เซลล์ (Franze diffusion cell) โดยจะหาความเข้มข้นของน้ำมันมะกรูดที่ปลดปล่อยออกจากไมโครอิมัลชันผ่านผิวหนังลงมา ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพการซึมผ่านน้ำมันมะกรูดของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง (with UV curing) มีอัตราการซึมผ่านต่ำกว่าไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูดที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (without UV curing) เนื่องจากที่ผิวของอนุภาคไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกรูด with UV curing เกิดการเชื่อมขวางโดยการฉายรังสียูวี ทำให้เปลือกของอนุภาคมีความแข็งแรง และป้องกันการหลุดออกของน้ำมันมะกรูดได้ดีกว่า [150] นอกจากนี้ยังพบว่าทั้งน้ำมันมะกรูดใน with UV curing และ without UV curing มีอัตราการซึมผ่านผิวหนังได้ต่ำกว่าการใช้น้ำมันมะกรูดโดยตรงอย่างมาก โดยน้ำมันมะกรูดที่ถูกดูดซับบนพื้นผิวของอนุภาคในไมโครอิมัลชันจะซึมผ่านเซลล์ผิวหนังก่อนในช่วงต้น ซึ่งจะมีอัตราที่ค่อนข้างสูงในช่วง 1 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นน้ำมันมะกรูดที่ติดอยู่บนโมเลกุลเชื่อมขวางจะค่อย ๆ ซึมผ่านออกมา [151] โดยอัตราการซึมผ่านน้ำมันมะกรูดที่ 1, 3 และ 6 ชั่วโมง เท่ากับ 10%, 16% และ 23% ตามลำดับ ซึ่งแสดงในภาพที่ 4.19



ภาพที่ 4.19 การซึมผ่านเซลล์ผิวหนังที่ทดสอบในระบบจำลอง (in vitro testing) ด้วยเทคนิค แฟรงก์ ดิฟฟิวชัน เซลล์ (Franze diffusion cell) ของน้ำมันมะกูด (KLO) (—) และไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (without UV curing) (—) และไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง (with UV curing) (—)

4.4.4 ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ ด้วยวิธี กรีสรีเอเจนต์ (Griess reagent)

ในการทำการศึกษาศักยภาพต้านการอักเสบของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด ด้วยวิธี กรีสรีเอเจนต์ จะพิจารณาร้อยละการเจริญเติบโตของเซลล์แมคโครฟาจ เพื่อเลือกความเข้มข้นของไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด ที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ก่อนที่จะใช้ความเข้มข้นดังกล่าวในการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ต่อไป ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้ไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง (with UV curing) เปรียบเทียบกับไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (without UV curing) และน้ำมันมะกูด (KLO)

ในกรณีของร้อยละการเจริญเติบโตของเซลล์แมคโครฟาจ พบว่าตัวอย่างทั้งสามชนิด ไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่ผ่านการเชื่อมขวาง (with UV curing) เปรียบเทียบกับไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง (without UV curing) และน้ำมันมะกูด (KLO) ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์แมคโครฟาจที่ความเข้มข้นใกล้เคียงกัน โดยที่ร้อยละโดยปริมาตรน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.1 มีร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์แมคโครฟาจมากกว่าร้อยละ 80 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

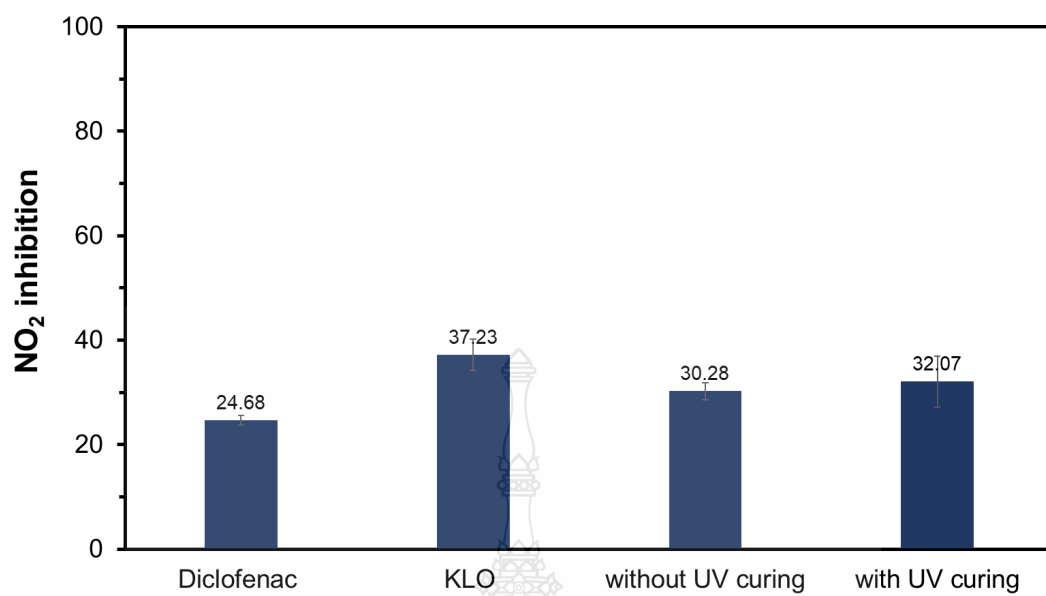
(ตารางที่ 4.4) ดังนั้นจะทำการเลือกความเข้มข้นของตัวอย่างที่ร้อยละโดยปริมาตรน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.1 สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบความเป็นพิษในเซลล์แมคโครฟาจของสารสกัดตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ร้อยละการเจริญเติบโตของเซลล์แมคโครฟาจ (v/v%)				
	0.001	0.01	0.1	1	10
KLO	97.16 ± 2.83	101.57 ± 5.07	88.86 ± 7.19	36.10 ± 7.94*	4.25 ± 0.27*
without UV curing	99.55 ± 3.13	94.61 ± 3.64	85.73 ± 0.95	4.94 ± 0.95*	10.56 ± 5.25*
with UV curing	101.81 ± 3.50	94.60 ± 2.37	85.64 ± 3.16	6.61 ± 4.46*	9.22 ± 5.28*

หมายเหตุ : * คือ สารทดสอบที่มีร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์แมคโครฟาจน้อยกว่า 80 % เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ในกรณีของการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจของตัวอย่างทดสอบ แสดงในภาพที่ 4.20 พบว่าน้ำมันมะกูด (KLO) มีฤทธิ์การยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ในเซลล์มาโครฟาจได้มากที่สุด คือ ร้อยละ 37.23 ± 0.96 ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่าไคโคลฟีแนค ที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (24.68 ± 4.87) นอกจากนี้ยังพบว่าไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด without UV curing และไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด with UV curing มีการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจได้ 30.28 ± 3.03 และ 32.07 ± 1.63 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าน้ำมันมะกูดเล็กน้อย อาจเนื่องจากในสถานะที่เป็นกลางน้ำมันมะกูดถูกห่อหุ้มอยู่ในอนุภาค และปลดปล่อยออกมาจากอนุภาค ได้อย่างช้า ๆ ทำให้การยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในแมคโครฟาจลดลง เมื่อเทียบกับน้ำมันมะกูดที่ไม่ถูกห่อหุ้ม อย่างไรก็ตามไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูดก็ยังมีประสิทธิภาพในการการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจ และน่าจะเก็บไว้ได้นานไม่เสื่อมสลายตัวง่ายเมื่อเทียบกับการใช้น้ำมันมะกูดโดยตรง



ภาพที่ 4.20 ร้อยละการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมโครฟาจของไมโครอิมัลชัน



บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ในการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด จะเริ่มจากเตรียมมอนอเมอร์ชีวภาพ โดยนำซินนามิลแอลกอฮอล์ทำปฏิกิริยากับเมทาคริลิกแอตไธไตรด์ผ่านปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันเพื่อให้เกิดพันธะคู่ได้เป็นซินนามิล เมทาคริเลต จากนั้นนำมาสังเคราะห์ร่วมกับกรดเมทาคริลิก ผ่านการสังเคราะห์พอลิเมอร์ด้วยกลไกโยกย้ายไฮโดรเจน เพื่อเตรียมเป็นบล็อกโคพอลิเมอร์ฐานชีวภาพ (พอลิกรดเมทาคริลิก-*b*-บล็อก-พอลิซินนามิลเมทาคริเลต-*b*-บล็อก-พอลิกรดเมทาคริลิก-ไอโอไดด์) [PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-*I*] และใช้เป็นเปลือกพอลิเมอร์ในการห่อหุ้มน้ำมันมะกูดในระบบไมโครอิมัลชันที่มีสารลดแรงตึงผิว (Tween 80) และสารลดแรงตึงผิวร่วม (เอทานอล) โดยอัตราส่วนของน้ำมันมะกูดต่อสารลดแรงตึงผิวผสม (S_{mix}) จะศึกษาอยู่ในช่วง 1: 9, 2: 8, 3: 7, 4: 6, 5: 5, 6: 4, 7: 3, 8: 2 และ 9: 1 (โดยน้ำหนัก) ในการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด จะทำการปั่นผสมในน้ำที่อัตราการบิน 400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที โดยขนาดนาโนแคปซูลอยู่ประมาณ 68 นาโนเมตร (ประกอบด้วยน้ำมันมะกูด 6 %, สารลดแรงตึงผิวผสม 24 %, น้ำ 70 %) จากนั้นทำการเชื่อมขวางสายโซ่พอลิเมอร์ที่ผิวของอนุภาคนาโนแคปซูล โดยการฉายรังสียูวีที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ซึ่งสามารถยืนยันการเชื่อมขวางของสายโซ่พอลิเมอร์ได้ด้วย ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี ซึ่งพบว่าค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาไมล์ที่ 284 และ 293 นาโนเมตร ลดลงตามระยะเวลาการฉายรังสียูวีอย่างมีนัยสำคัญและหายไปเป็นเวลาการฉายรังสียูวีที่ 120 นาที แสดงให้เห็นว่าสามารถเตรียมอนุภาคนาโนแคปซูล ที่สามารถเชื่อมขวางสายโซ่พอลิเมอร์ที่ผิวอนุภาคได้สำเร็จ เมื่อทำการศึกษาอัตราการปลดปล่อยน้ำมันมะกูด พบว่าหลังจากผ่านไป 1 ชั่วโมง ถูกปลดปล่อยออกมาอย่างช้า ๆ ร้อยละ 10 ซึ่งช้ากว่าไมโครอิมัลชันที่ไม่ได้ทำการเชื่อมขวาง นอกจากนี้ ยังพบว่าไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ โดยร้อยละการยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจ เท่ากับ 32.07 ± 1.63 โดยที่อนุภาคนาโนแคปซูลยังไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ เทียบเท่ากับน้ำมันมะกูดที่ความเข้มข้นร้อยละโดยปริมาตรน้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 อีกทั้ง อนุภาคนาโนแคปซูลยังมีความเสถียรทางอุณหภูมิศาสตร์ โดยมีอนุภาคเฉลี่ย 70 ± 0.65 นาโนเมตร หลังจากเก็บไว้เป็น 28 วัน ดังนั้นอนุภาคนาโนแคปซูลที่ห่อหุ้มน้ำมันมะกูด ที่เตรียมได้ในงานวิจัยนี้ จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับใช้เป็นส่วนผสมสำคัญในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหรือการใช้งานที่เกี่ยวข้องต่อไป

บรรณานุกรม

- [1] R. BudiartoA, R. Poerwanto, E. SantosaB, D. EfendiB, and A. AgustaC, "Production, post-harvest and marketing of kaffir lime (*Citrus hystrix* DC) in Tulungagung, Indonesia," *Journal of Tropical Crop Science Vol*, vol. 6, no. 2, 2019.
- [2] L. Chit-aree, Y. Unpaprom, R. Ramaraj, and M. Thirabunyanon, "Valorization and biorefinery of kaffir lime peels waste for antifungal activity and sustainable control of mango fruit anthracnose," *Biomass Conversion and Biorefinery*, pp. 1-15, 2021.
- [3] P. Chuenwarin *et al.*, "Genetic and morphological diversity analysis of lime and acidic *Citrus* spp. from two germplasm collections in Thailand," *Agriculture and Natural Resources*, vol. 55, no. 4, pp. 589–600-589–600, 2021.
- [4] D. SEBAYANG, H. SARYANTO, and J. SEBAYANG, "STRENGTHENING GRASSROOTS INNOVATION TO PRODUCE ESSENTIAL OIL IN TANAH DATAR," in *ICCD*, 2022, vol. 4, no. 1, pp. 209-215.
- [5] R. Budiarto and M. M. Sholikin, "Kaffir lime essential oil variation in the last fifty years: A meta-analysis of plant origins, plant parts and extraction methods," *Horticulturae*, vol. 8, no. 12, p. 1132, 2022.
- [6] M. Haniati, A. N. A. Fajrin, P. A. Devianda, A. Wiguno, R. Tetrisyanda, and K. Kuswandi, "The extraction of kaffir lime (*Citrus hystrix* DC.) peel and leaf essential oil by using water distillation and steam distillation methods," in *AIP Conference Proceedings*, 2023, vol. 2667, no. 1: AIP Publishing.
- [7] M. Lubinska-Szczygeł, A. Róžańska, T. Dymerski, J. Namieśnik, E. Katrich, and S. Gorinstein, "A novel analytical approach in the assessment of unprocessed Kaffir lime peel and pulp as potential raw materials for cosmetic applications," *Industrial Crops and Products*, vol. 120, pp. 313 - 321, 2018 / 09 / 15 / 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.036>.

- [8] S. Srifuengfung *et al.*, "Antibacterial oral sprays from kaffir lime (*Citrus hystrix* DC.) fruit peel oil and leaf oil and their activities against respiratory tract pathogens," *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, vol. 10, no. 6, pp. 594-598, 2020/11/01/ 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2019.09.003>.
- [9] T. An, T. Ngan, C. Van, H. Anh, L. Minh, and N. Ay, "The major and minor components of Kaffir Lime (*Citrus hystrix* DC) essential oil in the steam distillation process," in *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2021, vol. 1092, no. 1: IOP Publishing, p. 012082.
- [10] N. S. J. Jailani, Z. Muhammad, M. H. F. Rahiman, and M. N. Taib, "Analysis of Kaffir Lime oil chemical compounds by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and z-score technique," in 2021 *IEEE International Conference on Automatic Control & Intelligent Systems (I2CACIS)*, 2021: IEEE, pp. 110-113.
- [11] M. Mohideen, N. N. S. J. Mahadi, N. A. N. Suhaimi, N. A. Kamaruzaman, and A. Y. H. N. Azlan, "Antibacterial properties of essential oil extracted from Kaffir lime (*Citrus Hystrix*) peel," 2022.
- [12] P. K. Rahman and T. S. Wibowo, "Pharmacological Activities of *Citrus hystrix*," *Indonesian Journal of Interdisciplinary Research in Science and Technology*, vol. 1, no. 7, pp. 641-650, 2023.
- [13] N. Lourith and M. Kanlayavattanakul, "Phytocosmetics for Hair Care," in *Phytocosmetics and Cosmetic Science*: CRC Press, 2021, pp. 57-74.
- [14] C. L. Burnett *et al.*, "Safety Assessment of Citrus Flower-and Leaf-Derived Ingredients as Used in Cosmetics," *International journal of toxicology*, vol. 40, no. 3_suppl, pp. 53S-76S, 2021.
- [15] R. Keragala, T. Kasunsiri, K. Kempitiya, N. Kumarapeli, K. Kumara, and S. Gunathilaka, "A study on the extent, aetiology and associated factors of dandruff in a group of medical students and the in vitro effects of antidandruff preparations," *Infect. Dis*, vol. 10, pp. 134-145, 2020.

- [16] A. Suresh, S. Velusamy, S. Ayyasamy, and M. Rathinasamy, "Techniques for essential oil extraction from kaffir lime and its application in health care products—A review," *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 36, no. 1, pp. 5-21, 2021.
- [17] E. Husni and U. S. Putri, "Chemical content profile of essential oil from kaffir lime (*Citrus hystrix* DC.) in Tanah Datar regency and antibacterial activity," in *2nd International Conference on Contemporary Science and Clinical Pharmacy 2021 (ICCSCP 2021)*, 2021: Atlantis Press, pp. 174-181.
- [18] J. Sharifi-Rad *et al.*, "Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems," *Molecules*, vol. 22, no. 1, p. 70, 2017. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/1/70>.
- [19] W. Dhifi, S. Bellili, S. Jazi, N. Bahloul, and W. Mnif, "Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review," *Medicines*, vol. 3, no. 4, p. 25, 2016.
- [20] S. P. de Matos, H. F. Teixeira, Á. A. N. de Lima, V. F. Veiga-Junior, and L. S. Koester, "Essential Oils and Isolated Terpenes in Nanosystems Designed for Topical Administration: A Review," *Biomolecules*, vol. 9, no. 4, p. 138, 2019. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2218-273X/9/4/138>.
- [21] S. A. A. Murtadza, J. Jai, N. A. M. Zaki, and F. Hamzah, "Essential oils encapsulation performance evaluation: A review on encapsulation parameters," *Malaysian Journal of Chemical Engineering and Technology (MJCET)*, vol. 4, no. 2, pp. 114-123, 2021.
- [22] J. Adamiec, C. Borompichaichartkul, G. Srzednicki, W. Panket, S. Piriya-punsakul, and J. Zhao, "Microencapsulation of kaffir lime oil and its functional properties," *Drying technology*, vol. 30, no. 9, pp. 914-920, 2012.
- [23] Y. C. Cheng, T. S. Li, H. L. Su, P. C. Lee, and H. D. Wang, "Transdermal Delivery Systems of Natural Products Applied to Skin Therapy and Care," (in eng), *Molecules*, vol. 25, no. 21, Oct 30 2020, doi: 10.3390/molecules25215051.

- [24] T. J. Wooster, M. Golding, and P. Sanguansri, "Impact of Oil Type on Nanoemulsion Formation and Ostwald Ripening Stability," *Langmuir*, vol. 24, no. 22, pp. 12758-12765, 2008/11/18 2008, doi: 10.1021/la801685v.
- [25] D. Zamora García Rojas, N. V. Gallardo Rivas, J. L. Mendoza de la Cruz, B. A. Salazar Cruz, and U. Páramo García, "Effect of non-ionic surfactants on the transport properties of an emulsified heavy oil," *Fuel*, vol. 300, p. 120934, 2021/09/15/ 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.120934>.
- [26] P. Ghasemiyeh and S. Mohammadi-Samani, "Potential of Nanoparticles as Permeation Enhancers and Targeted Delivery Options for Skin: Advantages and Disadvantages," (in eng), *Drug Des Devel Ther*, vol. 14, pp. 3271 - 3289, 2020, doi: 10.2147/dddt.S264648.
- [27] H. L. Rosano and M. Clausse, *Microemulsion systems*. Crc Press, 1987.
- [28] G. Tartaro, H. Mateos, D. Schirone, R. Angelico, and G. Palazzo, "Microemulsion microstructure (s): A tutorial review," *Nanomaterials*, vol. 10, no. 9, p. 1657, 2020.
- [29] S. Ganta, M. Talekar, A. Singh, T. P. Coleman, and M. M. Amiji, "Nanoemulsions in translational research—opportunities and challenges in targeted cancer therapy," *Aaps Pharmscitech*, vol. 15, pp. 694-708, 2014.
- [30] P. Karthik, P. N. Ezhilarasi, and C. Anandharamakrishnan, "Challenges associated in stability of food grade nanoemulsions," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Article vol. 57, no. 7, pp. 1435 - 1450, 2017, doi: 10.1080/10408398.2015.1006767.
- [31] A. Gupta, H. B. Eral, T. A. Hatton, and P. S. Doyle, "Nanoemulsions: formation, properties and applications," *Soft matter*, vol. 12, no. 11, pp. 2826-2841, 2016.
- [32] A. S. Doost, C. V. Stevens, M. Claeys, and P. Van Der Meeren, "Fundamental Study on the Salt Tolerance of Oregano Essential Oil-in-Water Nanoemulsions Containing Tween 80," *Langmuir*, Article vol. 35, no. 32, pp. 10572-10581, 2019, doi: 10.1021/acs.langmuir.9b01620.

- [33] A. Khedr and A. Striolo, "Quantification of Ostwald Ripening in Emulsions via Coarse-Grained Simulations," *Journal of Chemical Theory and Computation*, Article vol. 15, no. 9, pp. 5058-5068, 2019, doi: 10.1021/acs.jctc.9b00296.
- [34] G. Kim, K. Park, Z. Zheng, S. Choi, and S. Jin, "Cross-Linker-Controlled Ostwald Ripening in Emulsion Polymerization of Hollow Copolymer Nanoparticles," *Journal of Physical Chemistry B*, Article 2020, doi: 10.1021/acs.jpcb.0c07814.
- [35] L. Mayr and J. Breu, "Encapsulation of Fragrance in Aqueous Emulsions by Delaminated Synthetic Hectorite," *Langmuir*, Article vol. 36, no. 37, pp. 11061-11067, 2020, doi: 10.1021/acs.langmuir.0c02025.
- [36] Y. De Smet, L. Deriemaeker, E. Parloo, and R. Finsy, "On the Determination of Ostwald Ripening Rates from Dynamic Light Scattering Measurements," *Langmuir*, vol. 15, no. 7, pp. 2327-2332, 1999/03/01 1999, doi: 10.1021/la9807513.
- [37] J. Weiss, N. Herrmann, and D. J. McClements, "Ostwald Ripening of Hydrocarbon Emulsion Droplets in Surfactant Solutions," *Langmuir*, vol. 15, no. 20, pp. 6652-6657, 1999/09/01 1999, doi: 10.1021/la981739d.
- [38] S. Ganta, M. Talekar, A. Singh, T. P. Coleman, and M. M. Amiji, "Nanoemulsions in Translational Research—Opportunities and Challenges in Targeted Cancer Therapy," *AAPS PharmSciTech*, vol. 15, no. 3, pp. 694-708, 2014/06/01 2014, doi: 10.1208/s12249-014-0088-9.
- [39] J. Wik, K. K. Bansal, T. Assmuth, A. Rosling, and J. M. Rosenholm, "Facile methodology of nanoemulsion preparation using oily polymer for the delivery of poorly soluble drugs," *Drug Delivery and Translational Research*, vol. 10, no. 5, pp. 1228-1240, 2020/10/01 2020, doi: 10.1007/s13346-019-00703-5.
- [40] K. K. Bansal, J. Gupta, A. Rosling, and J. M. Rosenholm, "Renewable poly(δ -decalactone) based block copolymer micelles as drug delivery vehicle: in vitro and in vivo evaluation," *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 26, no. 3, pp. 358-368, 2018/03/01/ 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.01.006>.

- [41] K. K. Bansal *et al.*, "New biomaterials from renewable resources – amphiphilic block copolymers from δ -decalactone," *Polymer Chemistry*, 10.1039/C5PY01203A vol. 6, no. 40, pp. 7196-7210, 2015, doi: 10.1039/C5PY01203A.
- [42] J. Wik, K. K. Bansal, T. Assmuth, A. Rosling, and J. M. Rosenholm, "Facile methodology of nanoemulsion preparation using oily polymer for the delivery of poorly soluble drugs," *Drug delivery and translational research*, vol. 10, pp. 1228-1240, 2020.
- [43] K. Bansal *et al.*, "New Biomaterials from Renewable Resources - Amphiphilic Block Copolymers from δ -Decalactone," *Polym. Chem.*, vol. 6, 10/28 2015, doi: 10.1039/C5PY01203A.
- [44] D. M. Fabros JR and W. Charerntantanakul, "ANTIVIRAL ACTIVITY OF CINNAMON ESSENTIAL OIL AND CINNAMALDEHYDE-DERIVED BENZIMIDAZOLE AGAINST PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME VIRUS," Maejo University, 2018.
- [45] ถ. ภ. ก. ด. ช. ศรี and แ. เ. ก. คำ, "ฤทธิ์ ของ สาร สกัด หยาบ จาก สมุนไพร ใน ครวเรือน ในการ ต้าน อนุมูล อิสระ ยับยั้ง จุลินทรีย์ และ ต้าน การ อักเสบ," *Journal of Science & Technology MSU*, vol. 42, no. 5, 2023.
- [46] H. B. Bang, Y. H. Lee, S. C. Kim, C. K. Sung, and K. J. Jeong, "Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the production of cinnamaldehyde," *Microbial cell factories*, vol. 15, no. 1, pp. 1-12, 2016.
- [47] S. Özbilgin *et al.*, "Morbidity and mortality predictivity of nutritional assessment tools in the postoperative care unit," *Medicine*, vol. 95, no. 40, p. e5038, 2016.
- [48] I. Utchariyakiat, S. Surassmo, M. Jaturanpinyo, P. Khuntayaporn, and M. T. Chomnawang, "Efficacy of cinnamon bark oil and cinnamaldehyde on anti-multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and the synergistic effects in combination with other antimicrobial agents," *BMC complementary and alternative medicine*, vol. 16, pp. 1-7, 2016.
- [49] C. Zhang, Q. Xu, H. Hou, J. Wu, Z. Zheng, and J. Ouyang, "Efficient biosynthesis of cinnamyl alcohol by engineered *Escherichia coli* overexpressing carboxylic acid reductase in a biphasic system," *Microbial Cell Factories*, vol. 19, pp. 1-10, 2020.

- [50] Y. Kitayama and A. Harada, "Interfacial Photo-Cross-Linking: Simple but Powerful Approach for Fabricating Capsule Polymer Particles with Tunable pH-Responsive Controlled Release Capability," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 13, no. 8, pp. 10359-10375, 2021/03/03 2021, doi: 10.1021/acsami.0c20152.
- [51] Y. Kitayama, K. Yoshikawa, and T. Takeuchi, "Efficient pathway for preparing hollow particles: Site-specific crosslinking of spherical polymer particles with photoresponsive groups that play a dual role in shell crosslinking and core shielding," *Langmuir*, vol. 32, no. 36, pp. 9245-9253, 2016.
- [52] L. Yan *et al.*, "Photo-cross-linked mPEG-poly(g-cinnamyl-L-glutamate) micelles as stable drug carriers," *Polymer Chemistry*, vol. 3, p. 2012, 03/09 2013, doi: 10.1039/c2py20049j.
- [53] S. Poplata, A. Tröster, Y.-Q. Zou, and T. Bach, "Recent Advances in the Synthesis of Cyclobutanes by Olefin [2 + 2] Photocycloaddition Reactions," *Chemical Reviews*, vol. 116, no. 17, pp. 9748-9815, 2016/09/14 2016, doi: 10.1021/acs.chemrev.5b00723.
- [54] M.-M. Gan, J.-G. Yu, Y.-Y. Wang, and Y.-F. Han, "Template-Directed Photochemical [2 + 2] Cycloaddition in Crystalline Materials: A Useful Tool to Access Cyclobutane Derivatives," *Crystal Growth & Design*, vol. 18, no. 2, pp. 553-565, 2018/02/07 2018, doi: 10.1021/acs.cgd.7b01308.
- [55] V. Kumar, L. Fusaro, C. Aprile, K. Robeyns, and Y. Garcia, "[2 + 2] Photodimerization of Sulfonate Derivative of trans-Cinnamic Acid: Kinetics Study Using Solid State ^{13}C NMR and Hybrid Material Inclusion," *Crystal Growth & Design*, vol. 20, no. 12, pp. 7850-7861, 2020/12/02 2020, doi: 10.1021/acs.cgd.0c01149.
- [56] T. B. Nguyen, T. M. Nguyen, and P. Retailleau, "[2+2] Photodimerization of Stilbazoles Promoted by Oxalic Acid in Suspension," vol. 26, no. 21, pp. 4682-4689, 2020, doi: <https://doi.org/10.1002/chem.201905597>.
- [57] T.-D. Kim, H.-M. Bae, and K.-S. J. B.-K. C. S. Lee, "Synthesis and characterization of a new polyester having photo-crosslinkable cinnamoyl group," vol. 23, no. 7, pp. 1031-1034, 2002.

- [58] A. B. V. Kiran Kumar, T. Daniel Thangadurai, and Y.-I. Lee, "Poly [2-(cinnamoyloxy)ethyl methacrylate-co-octamethacryl-POSS] nanocomposites: Synthesis and properties," *Reactive and Functional Polymers*, vol. 73, no. 9, pp. 1175-1179, 2013/09/01/ 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2013.05.010>.
- [59] D. J. M. R. Lerari, "Synthesis and characterization of new copolymer based cinnamyl methacrylate monomer: determination of monomer reactivity ratio and statistical sequence," vol. 18, pp. 1008-1014, 2015.
- [60] P.-L. Durand, A. Brège, G. Chollet, E. Grau, and H. Cramail, "Simple and Efficient Approach toward Photosensitive Biobased Aliphatic Polycarbonate Materials," *ACS Macro Letters*, vol. 7, no. 2, pp. 250-254, 2018/02/20 2018, doi: [10.1021/acsmacrolett.8b00003](https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.8b00003).
- [61] M. K. A. Mohammed *et al.*, "Improving the potential of ethyl acetate green anti-solvent to fabricate efficient and stable perovskite solar cells," *RSC Advances*, 10.1039/D2RA05454J vol. 12, no. 50, pp. 32611-32618, 2022, doi: [10.1039/D2RA05454J](https://doi.org/10.1039/D2RA05454J).
- [62] N. Prateepmaneerak, A. Chaiyasat, D. Kaewpa, and P. Chaiyasat, "Innovative bifunctional heat storage nanocapsules containing polymerizable surfactant for antimicrobial thermoregulating clothes," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Article vol. 653, 2022, Art no. 129954, doi: [10.1016/j.colsurfa.2022.129954](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.129954).
- [63] L. Phutthatham, P. Ngerchuklin, D. Kaewpa, P. Chaiyasat, and A. Chaiyasat, "UV-activated coating polymer particle containing quaternary ammonium for antimicrobial fabrics," *Colloid and Polymer Science*, Article vol. 300, no. 4, pp. 351-364, 2022, doi: [10.1007/s00396-022-04946-6](https://doi.org/10.1007/s00396-022-04946-6).
- [64] N. Kamlangmak, U. Eiamprasert, P. Chaiyasat, and A. Chaiyasat, "Multifunctional Polymer Particles Containing Quaternary Ammonium for Antimicrobial Particulate Surfactants and Defoaming," *ACS Applied Polymer Materials*, Article vol. 3, no. 7, pp. 3549-3559, 2021, doi: [10.1021/acsapm.1c00444](https://doi.org/10.1021/acsapm.1c00444).

- [65] T. P. Hoar and J. H. Schulman, "Transparent Water-in-Oil Dispersions: the Oleopathic Hydro-Micelle," *Nature*, vol. 152, no. 3847, pp. 102-103, 1943/07/01 1943, doi: 10.1038/152102a0.
- [66] M. Lade, H. Mays, J. Schmidt, R. Willumeit, and R. Schomäcker, "On the nanoparticle synthesis in microemulsions: detailed characterization of an applied reaction mixture," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 163, no. 1, pp. 3-15, 2000/03/31/ 2000, doi: [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(99\)00425-2](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(99)00425-2).
- [67] T. Tadros, P. Izquierdo, J. Esquena, and C. Solans, "Formation and stability of nano-emulsions," *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 108-109, pp. 303-318, 2004/05/20/ 2004, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.023>.
- [68] J. Lu, M. Kamigaito, M. Sawamoto, T. Higashimura, and Y.-X. Deng, "Cationic polymerization of β -pinene with the $\text{AlCl}_3/\text{SbCl}_3$ binary catalyst: Comparison with α -pinene polymerization," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 61, no. 6, pp. 1011-1016, 1996, doi: 10.1002/(sici)1097-4628(19960808)61:6<1011::Aid-app15>3.0.Co;2-z.
- [69] P. A. Wilbon, F. Chu, and C. Tang, "Progress in Renewable Polymers from Natural Terpenes, Terpenoids, and Rosin," *Macromolecular Rapid Communications*, vol. 34, no. 1, pp. 8-37, 2013, doi: 10.1002/marc.201200513.
- [70] M. F. Sainz *et al.*, "A facile and green route to terpene derived acrylate and methacrylate monomers and simple free radical polymerisation to yield new renewable polymers and coatings," *Polymer Chemistry*, 10.1039/C6PY00357E vol. 7, no. 16, pp. 2882-2887, 2016, doi: 10.1039/C6PY00357E.
- [71] V. Ladmiral *et al.*, "Aromatic biobased polymer latex from cardanol," *European Polymer Journal*, vol. 93, pp. 785 - 794, 2017/08/01/ 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.04.003>.
- [72] K. Matyjaszewski, *Advances in Controlled/Living Radical Polymerization*. Washington, DC.: American Chemical Society, 2003.

- [73] K. Matyjaszewski and T. P. Davis, *Handbook of Radical Polymerization*. New York Wiley-Interscience, 2002.
- [74] K. Matyjaszewski, *Controlled/Living Radical Polymerization: Progress in ATRP, NMP and RAFT*. Washiton,DC: American Chemical Society, 2000.
- [75] J. S. Wang and K. Matyjaszewski, "Controlled/"living" radical polymerization. atom transfer radical polymerization in the presence of transition-metal complexes," *J Am Chem Soc.*, vol. 117, pp. 5614-5615, 1995.
- [76] K. Matyjaszewski, S. Gaynor, and J. S. Wang, "Controlled radical polymerizations: the use of alkyl iodides in degenerative transfer," *Macromolecules*, vol. 28, pp. 2093-2095, 1995.
- [77] K. Matyjaszewski, S. Gaynor, and J.-S. Wang, "Controlled Radical Polymerizations: The Use of Alkyl Iodides in Degenerative Transfer," *Macromolecules*, vol. 28, pp. 2093-2095, 1995.
- [78] 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*, Article vol. 21, no. 5, pp. 935-943, 2020, doi: 10.1007/s12221-020-9241-0.
- [79] K. Rattanasaikeaw, A. Chaiyasat, and P. Chaiyasat, "Secondary particle formation in suspension polymerization using a particulate surfactant," *Polymer-Plastics Technology and Materials*, Article vol. 59, no. 16, pp. 1801-1811, 2020, doi: 10.1080/25740881.2020.1765386.
- [80] C. Klubchom, P. Chaiyasat, and A. Chaiyasat, "Composite polymer particles containing bismuth vanadate particles for self-cleaning fabrics," *Journal of Industrial Textiles*, Article 2020, doi: 10.1177/1528083720960752.
- [81] C. Huang, N. Yamashita, A. Chaiyasat, X. Liu, and M. Okubo, "Microsuspension iodine transfer polymerization (ms ITP) for synthesis of micrometer-size, "hydrophilic" polymer particles," *Polymer*, Article vol. 154, pp. 128-134, 2018, doi: 10.1016/j.polymer.2018.08.042.

- [82] A. Chaivasat, S. Namwong, B. Uapipatanakul, W. Sajomsang, and P. Chaivasat, "Innovative bifunctional microcapsule for heat storage and antibacterial properties," *International Journal of GEOMATE*, Article vol. 14, no. 45, pp. 91-98, 2018, doi: 10.21660/2018.45.7311.
- [83] J. Pansuwan and A. Chaivasat, "Innovative and high performance synthesis of microcapsules containing methyl anthranilate by microsuspension iodine transfer polymerization," *Polymer International*, Article vol. 66, no. 12, pp. 1921-1927, 2017, doi: 10.1002/pi.5475.
- [84] S. Namwong, M. Z. Islam, S. Noppalit, P. Tangboriboonrat, P. Chaivasat, and A. Chaivasat, "Encapsulation of octadecane in poly(divinylbenzene-co-methyl methacrylate) using phase inversion emulsification for droplet generation," *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, Article vol. 53, no. 1, pp. 11-17, 2016, doi: 10.1080/10601325.2016.1110452.
- [85] P. Chaivasat, S. Noppalit, M. Okubo, and A. Chaivasat, "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*, Article vol. 157, pp. 996-1003, 2016, doi: 10.1016/j.solmat.2016.07.028.
- [86] P. Chaivasat, S. Namwong, M. Okubo, and A. Chaivasat, "Synthesis of micrometer-sized poly(methyl methacrylate) particles by microsuspension iodine transfer polymerization (ms ITP)," *RSC Advances*, Article vol. 6, no. 97, pp. 95062-95066, 2016, doi: 10.1039/c6ra19288b.
- [87] S. Namwong, S. Noppalit, M. Okubo, S. Moonmungmee, P. Chaivasat, and A. Chaivasat, "Latent Heat Enhancement of Paraffin Wax in Poly(divinylbenzene-co-methyl methacrylate) Microcapsule," *Polymer - Plastics Technology and Engineering*, Article vol. 54, no. 8, pp. 779-785, 2015, doi: 10.1080/03602559.2014.974282.
- [88] P. Chaivasat, S. Noppalit, M. Okubo, and A. Chaivasat, "Do encapsulated heat storage materials really retain their original thermal properties?," *Physical Chemistry*

- Chemical Physics*, Article vol. 17, no. 2, pp. 1053-1059, 2015, doi: 10.1039/c4cp03458a.
- [89] S. Sue-eng, T. Boonchuwong, P. Chaivasat, M. Okubo, and A. Chaivasat, "Preparation of stable poly(methacrylic acid)-b-polystyrene emulsion by emulsifier-free emulsion iodine transfer polymerization (emulsion ITP) with self-assembly nucleation," *Polymer (United Kingdom)*, Article vol. 110, pp. 124-130, 2017, doi: 10.1016/j.polymer.2016.12.067.
- [90] C. J. Ferguson *et al.*, "Effective *ab Initio* emulsion polymerization under RAFT control," *Macromolecules*, vol. 35, pp. 9243-9245, 2002.
- [91] S. Siripongvutikorn, P. Thummaratwasik, and Y.-w. Huang, "Antimicrobial and antioxidation effects of Thai seasoning, Tom-Yum," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 38, no. 4, pp. 347-352, 2005/06/01/ 2005, doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.06.006>.
- [92] A. C. Stratakis and A. Koidis, "Chapter 4 - Methods for Extracting Essential Oils," in *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, V. R. Preedy Ed. San Diego: Academic Press, 2016, pp. 31-38.
- [93] C. A. Machado, F. O. Oliveira, M. A. de Andrade, K. V. S. Hodel, H. Lepikson, and B. A. S. Machado, "Steam Distillation for Essential Oil Extraction: An Evaluation of Technological Advances Based on an Analysis of Patent Documents," *Sustainability*, vol. 14, no. 12, p. 7119, 2022. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2071-1050/14/12/7119>.
- [94] S. al-amri, "Determination of Diazinon Pesticide in Water Using Continuous Solvent Extraction-Steam Distillation," *Al-Mustansiriyah J. Sci.*, vol. 21, pp. 175-182, 01/01 2010.
- [95] M. Saleem and N. Ahmad, "Characterization of canola oil extracted by different methods using fluorescence spectroscopy," *PLOS ONE*, vol. 13, p. e0208640, 12/17 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0208640.

- [96] J. Waikedre, A. Dugay, I. Barrachina, C. Herrenknecht, P. Cabalion, and A. Fournet, "Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from New Caledonian Citrus macroptera and Citrus hystrix," *Chemistry & biodiversity*, vol. 7, pp. 871-7, 04/01 2010, doi: 10.1002/cbdv.200900196.
- [97] S. Wongpornchai, "16 - Kaffir lime leaf," in *Handbook of Herbs and Spices (Second Edition)*, K. V. Peter Ed.: Woodhead Publishing, 2012, pp. 319-328.
- [98] S. Dangol *et al.*, "Essential Oil Composition Analysis of Cymbopogon Species from Eastern Nepal by GC-MS and Chiral GC-MS, and Antimicrobial Activity of Some Major Compounds," *Molecules*, vol. 28, no. 2, p. 543, 2023. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/2/543>.
- [99] N. Kubota *et al.*, "PPAR γ Mediates High-Fat Diet-Induced Adipocyte Hypertrophy and Insulin Resistance," *Molecular Cell*, vol. 4, no. 4, pp. 597-609, 1999/10/01/ 1999, doi: [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(00\)80210-5](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)80210-5).
- [100] P. Tangyuenyongwatana and W. Gritsanapan, "Prasapalai: An essential Thai traditional formulation for primary dysmenorrhea treatment," *TANG*, vol. 4, 05/31 2014, doi: 10.5667/tang.2014.0009.
- [101] S. P. Putri *et al.*, "Current metabolomics: Practical applications," *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 115, no. 6, pp. 579-589, 2013/06/01/ 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.12.007>.
- [102] M. Mohideen, S. Jannah, N. Suhaimi, N. A. Kamaruzaman, and A. Y. H. Nor Azlan, "Antibacterial Properties of Essential Oil Extracted from Kaffir Lime (Citrus Hystrix) Peel," *Biomedical and Pharmacology Journal*, vol. 15, pp. 179-186, 03/31 2022, doi: 10.13005/bpj/2353.
- [103] H. Sies, "Oxidative stress: oxidants and antioxidants," *Experimental Physiology*, vol. 82, no. 2, pp. 291-295, 1997, doi: <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004024>.
- [104] J. K. Baillie *et al.*, "Oral antioxidant supplementation does not prevent acute mountain sickness: double blind, randomized placebo-controlled trial," *QJM: An*

- International Journal of Medicine*, vol. 102, no. 5, pp. 341-348, 2009, doi: 10.1093/qjmed/hcp026.
- [105] E. Silva and R. Batista, "Ferulic Acid and Naturally Occurring Compounds Bearing a Feruloyl Moiety: A Review on Their Structures, Occurrence, and Potential Health Benefits," *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 16, pp. 580-616, 07/11 2017, doi: 10.1111/1541-4337.12266.
- [106] S. Ojha, D. Singh, A. Sett, H. Chetia, D. Kabiraj, and U. Bora, "Chapter 16 - Nanotechnology in Crop Protection," in *Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms*, D. K. Tripathi, P. Ahmad, S. Sharma, D. K. Chauhan, and N. K. Dubey Eds.: Academic Press, 2018, pp. 345-391.
- [107] A. Khan, S. Malik, N. Ali, M. Bilal, M. El-Shazly, and H. M. N. Iqbal, "Chapter 18 - Biopolymer-based sorbents for emerging pollutants," in *Sorbents Materials for Controlling Environmental Pollution*, A. Núñez-Delgado Ed.: Elsevier, 2021, pp. 463-491.
- [108] S. Ibrahim, O. Riahi, S. M. Said, M. F. M. Sabri, and S. Rozali, "Biopolymers From Crop Plants," in *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*: Elsevier, 2019.
- [109] W. Wagner, M. Wehner, V. Stepanenko, and F. Würthner, "Supramolecular Block Copolymers by Seeded Living Polymerization of Perylene Bisimides," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 141, no. 30, pp. 12044-12054, 2019/07/31 2019, doi: 10.1021/jacs.9b04935.
- [110] K. Matyjaszewski, "The synthesis of functional star copolymers as an illustration of the importance of controlling polymer structures in the design of new materials," *Polymer international*, vol. 52, no. 10, pp. 1559-1565, 2003.
- [111] E. McEvoy, S. Donegan, J. Power, K. Altria, and A. Marsh, "LIQUID CHROMATOGRAPHY | Microemulsion Based HPLC Methods," in *Encyclopedia of Separation Science*, I. D. Wilson Ed. Oxford: Academic Press, 2007, pp. 1-10.

- [112] S. Bahadur and K. Pathak, "Chapter 10 - Particulate carriers for nose-to-brain delivery," in *Direct Nose-to-Brain Drug Delivery*, C. V. Pardeshi and E. B. Souto Eds.: Academic Press, 2021, pp. 187-207.
- [113] S. Narasimha Murthy and H. N. Shivakumar, "CHAPTER 1 - Topical and Transdermal Drug Delivery," in *Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems*, V. S. Kulkarni Ed. Boston: William Andrew Publishing, 2010, pp. 1-36.
- [114] "Index," in *Cosmetic Science and Technology*, K. Sakamoto, R. Y. Lochhead, H. I. Maibach, and Y. Yamashita Eds. Amsterdam: Elsevier, 2017, pp. 805-835.
- [115] Y. Nakama, "Chapter 15 - Surfactants," in *Cosmetic Science and Technology*, K. Sakamoto, R. Y. Lochhead, H. I. Maibach, and Y. Yamashita Eds. Amsterdam: Elsevier, 2017, pp. 231-244.
- [116] C. Larpent, S. Amigoni-Gerbier, and A.-P. D. S. Delgado, "Synthesis of metal-complexing nanoparticles by post-functionalisation of reactive nanolatexes produced by microemulsion polymerisation," *Comptes Rendus Chimie*, vol. 6, no. 11-12, pp. 1275-1283, 2003.
- [117] Q.-D. Shen, "3 - Preparation, Structure and Properties of Fluorine-containing Polymers," in *Dielectric Polymer Materials for High-Density Energy Storage*, Z.-M. Dang Ed.: William Andrew Publishing, 2018, pp. 59-102.
- [118] Y. Kitayama, "The interfacial photoreaction: an efficient strategy to create functional polymer particles," *Polymer Journal*, vol. 51, no. 10, pp. 963-974, 2019.
- [119] Y. Ito, B. Borecka, J. Trotter, and J. R. Scheffer, "Control of solid-state photodimerization of trans-cinnamic acid by double salt formation with diamines," *Tetrahedron letters*, vol. 36, no. 34, pp. 6083-6086, 1995.
- [120] H. Morrison, H. Curtis, and T. McDowell, "Solvent effects on the photodimerization of coumarin1," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 88, no. 23, pp. 5415-5419, 1966.
- [121] V. Kumar, L. Fusaro, C. Aprile, K. Robeyns, and Y. Garcia, "[2+ 2] Photodimerization of Sulfonate Derivative of trans-Cinnamic Acid: Kinetics Study Using Solid State ^{13}C NMR

- and Hybrid Material Inclusion," *Crystal Growth & Design*, vol. 20, no. 12, pp. 7850-7861, 2020.
- [122] Y. Kitayama and T. Takeuchi, "Fabrication of redox-responsive degradable capsule particles by a shell-selective photoinduced cross-linking approach from spherical polymer particles," *Chemistry—A European Journal*, vol. 23, no. 52, pp. 12870-12875, 2017.
- [123] Y. Kitayama and A. Harada, "pH-Responsive Capsule Polymer Particles Prepared by Interfacial Photo-Cross-Linking: Effect of the Alkyl Chain Length of the pH-Responsive Monomer," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 13, no. 29, pp. 34973-34983, 2021/07/28 2021, doi: 10.1021/acsami.1c09203.
- [124] A. Sedaghat Doost, C. V. Stevens, M. Claeys, and P. Van Der Meeren, "Fundamental Study on the Salt Tolerance of Oregano Essential Oil-in-Water Nanoemulsions Containing Tween 80," *Langmuir*, vol. 35, no. 32, pp. 10572-10581, 2019/08/13 2019, doi: 10.1021/acs.langmuir.9b01620.
- [125] G. Kim, K. Park, Z. Zheng, S. Choi, and S. Jin, "Cross-Linker-Controlled Ostwald Ripening in Emulsion Polymerization of Hollow Copolymer Nanoparticles," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 124, no. 45, pp. 10276-10281, 2020/11/12 2020, doi: 10.1021/acs.jpcb.0c07814.
- [126] J. Lu, M. Kamigaito, M. Sawamoto, T. Higashimura, and Y. X. Deng, "Cationic polymerization of β -pinene with the $\text{AlCl}_3/\text{SbCl}_3$ binary catalyst: Comparison with α -pinene polymerization," *Journal of applied polymer science*, vol. 61, no. 6, pp. 1011-1016, 1996.
- [127] H. Wennerström, J. Balogh, and U. Olsson, "Interfacial tensions in microemulsions," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 291, no. 1, pp. 69-77, 2006/12/15/ 2006, doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.09.027>.
- [128] T. P. Hoar and J. H. Schulman, "Transparent Water-in-Oil Dispersions: the Oleopathic Hydro-Micelle," *Nature*, vol. 152, pp. 102-103, 1943.

- [129] S. Songkro, P. Yapong, P. Puechpan, D. Maneenuan, and P. Boonme, "Microencapsulation of citronella oil for mosquito repellent: Preparation and evaluation of release characteristics," *Songklanakarin J. Sci. Technol*, vol. 40, pp. 767-775, 2018.
- [130] C. R. L. Francisco, F. D. de Oliveira, G. Marin, I. D. Alvim, and M. D. Hubinger, "Plant proteins at low concentrations as natural emulsifiers for an effective orange essential oil microencapsulation by spray drying," *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 607, Dec 2020, Art no. 125470, doi: 10.1016/j.colsurfa.2020.125470.
- [131] M. Almnhawwy, M. Jebur, M. Alhajamee, K. Marai, and M. H. Tabrizi, "PLGA-Based Nano-Encapsulation of Trachyspermum Ammi Seed Essential Oil (TSEO-PNP) as a Safe, Natural, Efficient, Anticancer Compound in Human HT-29 Colon Cancer Cell Line," *Nutrition and Cancer-an International Journal*, doi: 10.1080/01635581.2020.1862256.
- [132] A. Hashem *et al.*, "Arbuscular mycorrhizal fungi regulate the oxidative system, hormones and ionic equilibrium to trigger salt stress tolerance in Cucumis sativus L," *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol. 25, no. 6, pp. 1102-1114, 2018/09/01/2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.03.009>.
- [133] G. Bonacucina, M. Cespi, M. Misici-Falzi, and G. F. Palmieri, "Colloidal soft matter as drug delivery system," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 98, no. 1, pp. 1-42, 2009/01/01/ 2009, doi: <https://doi.org/10.1002/jps.21423>.
- [134] S. Gupta and S. P. Moulik, "Biocompatible Microemulsions and Their Prospective Uses in Drug Delivery," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 97, no. 1, pp. 22-45, 2008/01/01/ 2008, doi: <https://doi.org/10.1002/jps.21177>.
- [135] D. J. McClements, "Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities," *Soft Matter*, 10.1039/C2SM06903B vol. 8, no. 6, pp. 1719-1729, 2012, doi: 10.1039/C2SM06903B.
- [136] Y. Wang, R. Zhao, L. Yu, Y. Zhang, Y. He, and J. Yao, "Evaluation of cinnamon essential oil microemulsion and its vapor phase for controlling postharvest gray mold of pears

- (*Pyrus pyrifolia*)," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 94, no. 5, pp. 1000-1004, 2014, doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6360>.
- [137] M. Balah, "Formulation of prospective plant oils derived micro-emulsions for herbicidal activity," *The Journal of Plant Protection and Pathology*, vol. 4, no. 11, pp. 911-926, 2013.
- [138] Y. Zhang, Y. Li, L. Wang, Z. Gao, and M. R. Kessler, "Synthesis and Characterization of Methacrylated Eugenol as a Sustainable Reactive Diluent for a Maleinated Acrylated Epoxidized Soybean Oil Resin," *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, vol. 5, no. 10, pp. 8876-8883, 2017/10/02 2017, doi: 10.1021/acssuschemeng.7b01673.
- [139] S. Sue-Eng, T. Boonchuwong, P. Chaiyasat, M. Okubo, and A. Chaiyasat, "Preparation of stable poly (methacrylic acid)-b-polystyrene emulsion by emulsifier-free emulsion iodine transfer polymerization (emulsion ITP) with self-assembly nucleation," *Polymer*, vol. 110, pp. 124-130, 2017.
- [140] K. Boonpisuttinant *et al.*, "In vitro anti-ageing activities of ethanolic extracts from Pink rambutan (*Nephelium lappaceum* Linn.) for skin applications," *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 31, no. 4, pp. 535 - 546, 2023 / 04 / 01 / 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.02.006>.
- [141] F. Netzlaff, K.-H. Kostka, C.-M. Lehr, and U. F. Schaefer, "TEWL measurements as a routine method for evaluating the integrity of epidermis sheets in static Franz type diffusion cells in vitro. Limitations shown by transport data testing," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 63, no. 1, pp. 44-50, 2006/05/01/ 2006, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2005.10.009>.
- [142] I. Sebe, L. Zsidai, and R. Zelkó, "Novel modified vertical diffusion cell for testing of in vitro drug release (IVRT) of topical patches," *HardwareX*, vol. 11, p. e00293, 2022/04/01/ 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ohx.2022.e00293>.
- [143] A. Pineau *et al.*, "In vitro study of percutaneous absorption of aluminum from antiperspirants through human skin in the Franz™ diffusion cell," *Journal of Inorganic*

- Biochemistry*, vol. 110, pp. 21-26, 2012/05/01/2012, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2012.02.013>.
- [144] Y. Nazir *et al.*, "High Efficiency In Vitro Wound Healing of Dictyophora indusiata Extracts via Anti-Inflammatory and Collagen Stimulating (MMP-2 Inhibition) Mechanisms," *Journal of Fungi*, vol. 7, no. 12, p. 1100, 2021. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/12/1100>.
- [145] D. Lerari, "Synthesis and Characterization of New Copolymer Based Cinnamyl Methacrylate Monomer: Determination of Monomer Reactivity Ratio and Statistical Sequence," *Materials Research*, vol. 18, pp. 1008-1014, 10/01 2015, doi: 10.1590/1516-1439.012015.
- [146] L. Guo, D. Xu, X.-d. Du, A. Zhang, and J.-h. Lei, "Preparation of Monodispersed PMAA for GPC Calibration Standards by Two-Step Hydrolysis," 2012.
- [147] S. Yano, T. Iwase, M. Shibata, Y. Miyamoto, T. Shimasaki, and N. Teramoto, "Synthesis of Photocrosslinkable Copolymers of Cinnamoyl Group-modified Methacrylate and 2-Hydroxyethyl Methacrylate, and Fibroblast Cell Growth on Their Thin Films," *Journal of Photopolymer Science and Technology*, vol. 32, pp. 823-833, 01/31 2020, doi: 10.2494/photopolymer.32.823.
- [148] A. Thakur and A. Kumar, "Unraveling the multifaceted mechanisms and untapped potential of activated carbon in remediation of emerging pollutants: A comprehensive review and critical appraisal of advanced techniques," *Chemosphere*, vol. 346, p. 140608, 2024.
- [149] V. Ansteinsen, H. Kopperud, E. Morisbak, and J. T. Samuelsen, "Cell toxicity of methacrylate monomers-The role of glutathione adduct formation," *Journal of biomedical materials research. Part A*, vol. 101, 12/01 2013, doi: 10.1002/jbm.a.34652.
- [150] K. W. Appel *et al.*, "Description and evaluation of the Community Multiscale Air Quality (CMAQ) modeling system version 5.1," *Geoscientific model development*, vol. 10, no. 4, pp. 1703-1732, 2017.

- [151] E. Appel, R. Forster, M. Rowland, and O. Scherman, "The control of cargo release from physically crosslinked hydrogels by crosslink dynamics," *Biomaterials*, vol. 35, 09/16 2014, doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.08.001.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันมะกูด

{Surf_{mix} (Bio Surf: Surf: Co-Surf); 1: 1: 1}

KLO	Surf _{mix} (Bio Surf: Surf: Co-Surf)	Water	Results
10	90		
9.09	81.82	9.09	S
8.33	75.00	16.67	S
7.69	69.23	23.08	S
7.14	64.29	28.57	S
6.67	60.00	33.33	S
6.25	56.25	37.50	S
5.88	52.94	41.18	S
5.56	50.00	44.44	S
5.26	47.37	47.37	S
5.00	45.00	50.00	S
4.00	36.00	60.00	S
3.33	30.00	66.67	S
2.86	25.71	71.43	S
2.50	22.50	75.00	S
2.22	20.00	77.78	S
2.00	18.00	80.00	S
1.82	16.36	81.82	S
1.67	15.00	83.33	S
1.54	13.85	84.62	S
1.43	12.86	85.71	S
1.33	12.00	86.67	S
1.25	11.25	87.50	S
1.18	10.59	88.24	S
1.11	10.00	88.89	S

หมายเหตุ S; Single-phase area (เฟสเดียว) , M; Multi-phase area (หลายเฟส)

KLO	Surf _{mix} (Bio Surf: Surf: Co-Surf)	Water	Results
20	80		
18.18	72.73	9.09	S
16.67	66.67	16.67	S
15.38	61.54	23.08	S
14.29	57.14	28.57	S
13.33	53.33	33.33	S
12.50	50.00	37.50	S
11.76	47.06	41.18	S
11.11	44.44	44.44	S
10.53	42.11	47.37	S
10.00	40.00	50.00	M
8.00	32.00	60.00	S
6.67	26.67	66.67	S
5.71	22.86	71.43	S
5.00	20.00	75.00	S
4.44	17.78	77.78	S
4.00	16.00	80.00	S
3.64	14.55	81.82	S
3.33	13.33	83.33	S
3.08	12.31	84.62	S
2.86	11.43	85.71	S
2.67	10.67	86.67	S
2.50	10.00	87.50	S
2.35	9.41	88.24	S
2.22	8.89	88.89	S

หมายเหตุ S; Single-phase area (เฟสเดียว) , M; Multi-phase area (หลายเฟส)

KLO	Surf _{mix} (Bio Surf: Surf: Co-Surf)	Water	Results
30	70		
27.27	63.64	9.09	M
25.00	58.33	16.67	M
23.08	53.85	23.08	M
21.43	50.00	28.57	M
20.00	46.67	33.33	M
18.75	43.75	37.50	M
17.65	41.18	41.18	M
16.67	38.89	44.44	M
15.79	36.84	47.37	M
15.00	35.00	50.00	M
12.00	28.00	60.00	M
10.00	23.33	66.67	M
8.57	20.00	71.43	M
7.50	17.50	75.00	M
6.67	15.56	77.78	M
6.00	14.00	80.00	M
5.45	12.73	81.82	M
5.00	11.67	83.33	M
4.62	10.77	84.62	M
4.29	10.00	85.71	M
4.00	9.33	86.67	M
3.75	8.75	87.50	M
3.53	8.24	88.24	M
3.33	7.78	88.89	M

หมายเหตุ S; Single-phase area (เฟสเดียว) , M; Multi-phase area (หลายเฟส)

KLO	Surf _{mix} (Bio Surf: Surf: Co-Surf)	Water	Results
40	60		
36.36	54.55	9.09	M
33.33	50.00	16.67	M
30.77	46.15	23.08	M
28.57	42.86	28.57	M
26.67	40.00	33.33	M
25.00	37.50	37.50	M
23.53	35.29	41.18	M
22.22	33.33	44.44	M
21.05	31.58	47.37	M
20.00	30.00	50.00	M
16.00	24.00	60.00	M
13.33	20.00	66.67	M
11.43	17.14	71.43	M
10.00	15.00	75.00	M
8.89	13.33	77.78	M
8.00	12.00	80.00	M
7.27	10.91	81.82	M
6.67	10.00	83.33	M
6.15	9.23	84.62	M
5.71	8.57	85.71	M
5.33	8.00	86.67	M
5.00	7.50	87.50	M
4.71	7.06	88.24	M
4.44	6.67	88.89	M

หมายเหตุ S; Single-phase area (เฟสเดียว) , M; Multi-phase area (หลายเฟส)

KLO	Surf _{mix} (Bio Surf: Surf: Co-Surf)	Water	Results
50	50		
45	45	9	M
42	42	17	M
38	38	23	M
36	36	29	M
33	33	33	M
31	31	38	M
29	29	41	M
28	28	44	M
26	26	47	M
25	25	50	M
20	20	60	M
17	17	67	M
14	14	71	M
13	13	75	M
11	11	78	M
10	10	80	M
9	9	82	M
8	8	83	M
8	8	85	M
7	7	86	M
7	7	87	M
6	6	88	M
6	6	88	M
6	6	89	M

หมายเหตุ S; Single-phase area (เฟสเดียว) , M; Multi-phase area (หลายเฟส)

KLO	Surf _{mix} (Bio Surf: Surf: Co-Surf)	Water	Results
60	40		
54.55	36.36	9.09	M
50.00	33.33	16.67	M
46.15	30.77	23.08	M
42.86	28.57	28.57	M
40.00	26.67	33.33	M
37.50	25.00	37.50	M
35.29	23.53	41.18	M
33.33	22.22	44.44	M
31.58	21.05	47.37	M
30.00	20.00	50.00	M
24.00	16.00	60.00	M
20.00	13.33	66.67	M
17.14	11.43	71.43	M
15.00	10.00	75.00	M
13.33	8.89	77.78	M
12.00	8.00	80.00	M
10.91	7.27	81.82	M
10.00	6.67	83.33	M
9.23	6.15	84.62	M
8.57	5.71	85.71	M
8.00	5.33	86.67	M
7.50	5.00	87.50	M
7.06	4.71	88.24	M
6.67	4.44	88.89	M

หมายเหตุ S; Single-phase area (เฟสเดียว) , M; Multi-phase area (หลายเฟส)

KLO	Surf _{mix} (Bio Surf: Surf: Co-Surf)	Water	Results
70	30		
63.64	27.27	9.09	M
58.33	25.00	16.67	M
53.85	23.08	23.08	M
50.00	21.43	28.57	M
46.67	20.00	33.33	M
43.75	18.75	37.50	M
41.18	17.65	41.18	M
38.89	16.67	44.44	M
36.84	15.79	47.37	M
35.00	15.00	50.00	M
28.00	12.00	60.00	M
23.33	10.00	66.67	M
20.00	8.57	71.43	M
17.50	7.50	75.00	M
15.56	6.67	77.78	M
14.00	6.00	80.00	M
12.73	5.45	81.82	M
11.67	5.00	83.33	M
10.77	4.62	84.62	M
10.00	4.29	85.71	M
9.33	4.00	86.67	M
8.75	3.75	87.50	M
8.24	3.53	88.24	M
7.78	3.33	88.89	M

หมายเหตุ S; Single-phase area (เฟสเดียว) , M; Multi-phase area (หลายเฟส)

KLO	Surf _{mix} (Bio Surf: Surf: Co-Surf)	Water	Results
80	20		
72.73	18.18	9.09	M
66.67	16.67	16.67	M
61.54	15.38	23.08	M
57.14	14.29	28.57	M
53.33	13.33	33.33	M
50.00	12.50	37.50	M
47.06	11.76	41.18	M
44.44	11.11	44.44	M
42.11	10.53	47.37	M
40.00	10.00	50.00	M
32.00	8.00	60.00	M
26.67	6.67	66.67	M
22.86	5.71	71.43	M
20.00	5.00	75.00	M
17.78	4.44	77.78	M
16.00	4.00	80.00	M
14.55	3.64	81.82	M
13.33	3.33	83.33	M
12.31	3.08	84.62	M
11.43	2.86	85.71	M
10.67	2.67	86.67	M
10.00	2.50	87.50	M
9.41	2.35	88.24	M
8.89	2.22	88.89	M

หมายเหตุ S; Single-phase area (เฟสเดียว) , M; Multi-phase area (หลายเฟส)

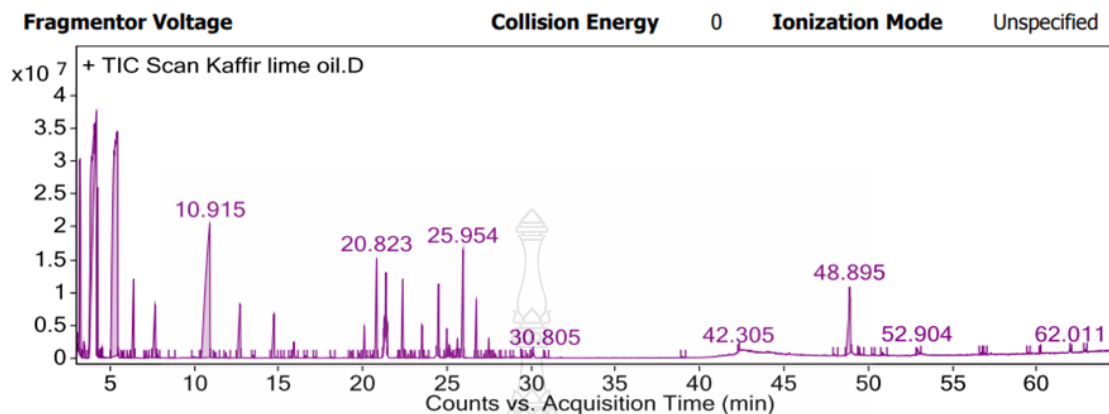
KLO	Surfmix (Bio Surf: Surf: Co-Surf)	Water	Results
90	10		
81.82	9.09	9.09	M
75.00	8.33	16.67	M
69.23	7.69	23.08	M
64.29	7.14	28.57	M
60.00	6.67	33.33	M
56.25	6.25	37.50	M
52.94	5.88	41.18	M
50.00	5.56	44.44	M
47.37	5.26	47.37	M
45.00	5.00	50.00	M
36.00	4.00	60.00	M
30.00	3.33	66.67	M
25.71	2.86	71.43	M
22.50	2.50	75.00	M
20.00	2.22	77.78	M
18.00	2.00	80.00	M
16.36	1.82	81.82	M
15.00	1.67	83.33	M
13.85	1.54	84.62	M
12.86	1.43	85.71	M
12.00	1.33	86.67	M
11.25	1.25	87.50	M
10.59	1.18	88.24	M
10.00	1.11	88.89	M

หมายเหตุ S; Single-phase area (เฟสเดียว) , M; Multi-phase area (หลายเฟส)

ภาคผนวก ข

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันมะกรูด โดย GC-MS

โครมาโทแกรมของน้ำมันมะกรูด โดย GC-MS



No.	RT	Name	DB Formula	Area Sum %
1	3.206	2-Pinene	C10H16	6.09
2	3.441	2,2-dimethyl-3-methylene-bicyclo [2.2.1]heptane	C10H16	0.57
3	4.081	4(10)-Thujene	C10H16	10.53
4	4.27	.beta.-Myrcene	C10H16	2.52
5	4.417	Octanal	C8H16O	0.07
6	4.518	.beta.-Phellandrene	C10H16	0.16
7	5.443	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1- methylethenyl)-	C10H16	29.61
8	5.701	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-	C10H16	0.11
9	6.05	.gamma.-Terpinene	C10H16	0.08
10	6.396	Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1- methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.alpha.)-	C10H18O	2.33
11	7.132	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1- methylethylidene)-	C10H16	0.18
12	7.675	Linalool	C10H18O	2.11

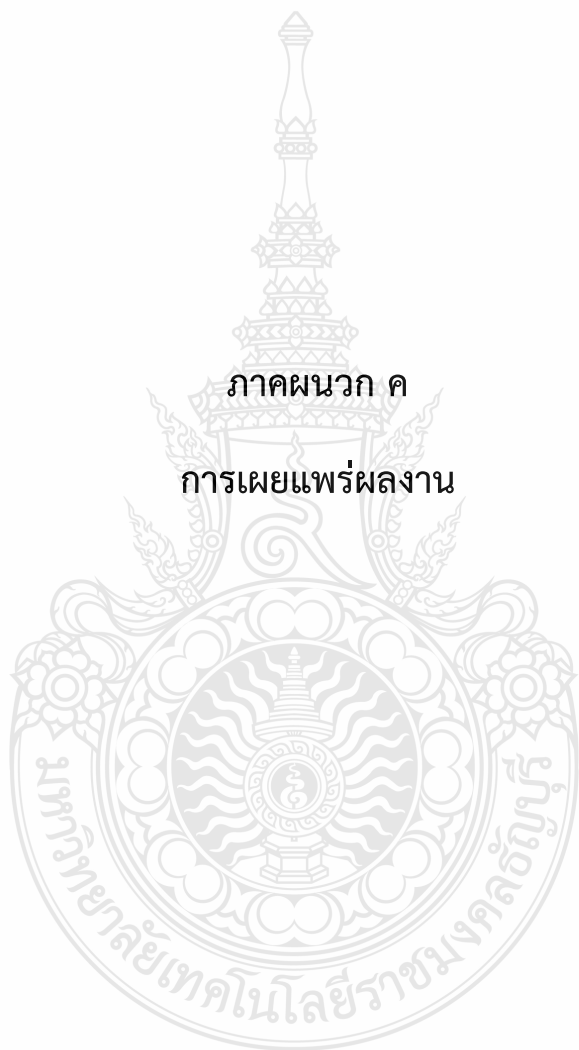
13	7.804	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	0.08
14	8.641	Bicyclo[3.1.1]heptan-2-ol, 2,6,6-trimethyl-	C ₁₀ H ₁₈ O	0.04
15	10.017	Isopulegol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.1
16	10.915	6-Octenal, 3,7-dimethyl-, (R)-	C ₁₀ H ₁₈ O	15.77
17	11.246	endo-Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.17
18	11.877	Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.17
19	12.71	2-(4-METHYL-3-CYCLOHEXEN-1-YL)-2-PROPANOL	C ₁₀ H ₁₈ O	2.37
20	13.469	Decanal	C ₁₀ H ₂₀ O	0.09
21	14.73	6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-	C ₁₀ H ₂₀ O	1.7
22	15.19	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	C ₁₀ H ₁₆ O	0.04
23	15.701	2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethyl)-	C ₁₀ H ₁₆ O	0.06
24	15.908	Geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.51
25	16.571	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	C ₁₀ H ₁₆ O	0.08
26	17.169	2-Norbornanol, 1,3,3-trimethyl-, acetate, endo-	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.04
27	18.177	Undecanal	C ₁₁ H ₂₂ O	0.04
28	19.304	Cyclohexene, 4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1-methylethyl)-, (3R-trans)-	C ₁₅ H ₂₄	0.22
29	19.778	1H-Cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzene, 3a,3b,4,5,6,7-hexahydro-3,7-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [3aS-(3a.alpha.,3b.beta.,4.beta.,7.alpha.,7aS*)]-	C ₁₅ H ₂₄	0.12
30	20.091	6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	0.83

31	20.515	(2Z)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL ACETATE	C12H20O2	0.07
32	20.823	.alfa.-Copaene	C15H24	3.16
33	21.265	Geranyl acetate	C12H20O2	0.48
34	21.375	1H- Cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzene, octahydro-7-methyl-3-methylene-4-(1- methylethyl)-, [3aS- (3a.alpha.,3b.beta.,4.beta.,7.alpha.,7aS*)]-	C15H24	1.43
35	21.44	2,4-DIISOPROPENYL-1-METHYL-1- VINYL CYCLOHEXANE	C15H24	0.29
36	22.107	Dodecanal	C12H24O	0.03
37	22.369	Caryophyllene	C15H24	2.24
38	22.673	(1R,2S,6S,7S,8S)-8-Isopropyl-1-methyl-3- methylenetricyclo[4.4.0.02,7]decane-rel-	C15H24	0.1
39	23.041	Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4- dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S- (1.alpha.,4.alpha.,7.alpha.)]-	C15H24	0.13
40	23.515	Humulene	C15H24	0.82
41	23.764	TRANS(.BETA.)-CARYOPHYLLENE	C15H24	0.08
42	24.505	8-ISOPROPYL-1-METHYL-5-METHYLENE-1,6- CYCLODECADIENE	C15H24	2.01
43	24.983	(1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11- Tetramethylbicyclo[8.1.0]undeca-2,6- diene	C15H24	0.7
44	25.14	.alpha.-Muurolene	C15H24	0.29

45	25.296	Azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]-	C15H24	0.16
46	25.503	.alpha.-Farnesene	C15H24	0.04
47	25.623	(3S,3aR,3bR,4S,7R,7aR)-4-Isopropyl-3,7-dimethyloctahydro-1H-cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzen-3-ol	C15H26O	0.44
48	25.954	.delta.-Cadinene	C15H24	3.29
49	26.741	Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3.alpha.,4.beta.)]-	C15H26O	1.54
50	27.188	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-, (E)-	C15H26O	0.09
51	27.482	(2E,4S,7E)-4-Isopropyl-1,7-dimethylcyclodeca-2,7-dienol	C15H26O	0.46
52	27.708	Globulol	C15H26O	0.04
53	27.869	Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3.alpha.,4.beta.)]-	C15H26O	0.12
54	28.283	Ledol	C15H26O	0.03
55	28.798	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-	C15H26O	0.05
56	29.447	.tau.-Muurolol	C15H26O	0.05
57	29.779	1,4-Dimethyl-7-(prop-1-en-2-yl)decahydroazulen-4-ol	C15H26O	0.1

58	30.096	Ledol	C15H26O	0.08
59	30.805	Cyclohexanol, 3-ethenyl-3-methyl-2-(1-methylethenyl)-6-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.,2.alpha.,3.beta.,6.alpha.)]-	C15H26O	0.16
60	38.964	1-(HYDROXYMETHYL)-2,5,5,8A-TETRAMETHYLDECAHYDRO-2-NAPHTHALENOL	C15H28O2	0.04
61	42.305	Oleic Acid	C18H34O2	0.04
62	47.98	HEPTADECENE-(8)-CARBONIC ACID-(1)	C18H34O2	0.06
63	48.895	Oxypeucedanin	C16H14O5	3.69
64	49.383	Oleic Acid	C18H34O2	0.03
65	49.508	4-(3-Methyl-2-oxobutoxy)-7H-furo[3,2-g][1]benzopyran-7-one	C16H14O5	0.11
66	50.267	Oleic Acid	C18H34O2	0.04
67	50.851	Pabulenol	C16H14O5	0.12
68	52.904	2,3-Dihydroxypropyl elaidate	C21H40O4	0.29
69	56.682	DIMETHOXYGLYCEROL DOCOSYL ETHER	C27H56O5	0.05
70	56.908	DIMETHOXYGLYCEROL DOCOSYL ETHER	C27H56O5	0.06
71	59.453	DIMETHOXYGLYCEROL DOCOSYL ETHER	C27H56O5	0.04
72	60.216	4H-1-Benzopyran-4-one, 2-(3,4-dimethoxyphenyl)-3,5-dihydroxy-7-methoxy-	C18H16O7	0.05
73	62.011	(22E)-STIGMASTA-5,22-DIEN-3-OL	C29H48O	0.05
74	62.886	DIMETHOXYGLYCEROL DOCOSYL ETHER	C27H56O5	0.04

ภาคผนวก ค
การเผยแพร่ผลงาน





Microemulsion containing Kaffir lime oil using photo-crosslinkable bio-based copolymer

Ploysuda Saeun^a, Preeyaporn Chaiyasat^{a,b}, Amorn Chaiyasat^{a,b,*}

^a Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Klong 6, Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Thailand

^b Advanced Materials Design and Development (AMDD) Research Unit, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Klong 6, Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Thailand

ARTICLE INFO

Keywords:

Kaffir lime oil
Microemulsion
Bio-based polymer
Block copolymer
Photocrosslinkable

ABSTRACT

The research aimed to prepare a microemulsion of Kaffir lime oil (KLO) using photocrosslinkable bio-based copolymers as polymer shells. First, cinnamyl alcohol was used as a biomonomer, which was functionalized with methacrylic anhydride via an esterification reaction to contain a double bond named cinnamyl methacrylate. Then, it was copolymerized with methacrylic acid by solution iodine transfer polymerization, resulting in polymethacrylic acid-block-poly(cinnamyl methacrylate)-block-poly(methacrylic acid) (PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA) with a molecular weight of 2700 g/mol and a chain length of PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA equals 7: 6: 7 units. After that, PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA (BioSurf) was used as the polymer shell to encapsulate KLO in a microemulsion system cooperative with Tween 80 (surfactant; Surf) and ethanol (co-surfactant; CoSurf). The ratio of kaffir lime oil: Surf-CoSurf was varied from 1: 9 to 9: 1 (wt) where Surf_{mix} was BioSurf: Surf: Co-Surf ratio of 1: 1: 1 (wt) dispersed in water at 400 rpm for 5 min. The optimal contents of oil, Surf_{mix}, and water were 6 %, 24 %, and 70 %, respectively, with the nanocapsule size at about 68 nm. After UV curing at 254 nm for 120 min, the dimerization of cinnamyl groups in PCMA was confirmed by UV spectroscopy, where the absorbance peaks of cinnamyl groups at 283 and 294 nm significantly decreased. The encapsulated KLO was slowly permeating skin which was only 10 % after 1 h, with the anti-inflammatory percentage of inhibited nitric oxide production in macrophage cells at 19.24 ± 1.63 . Moreover, nanocapsules did not show toxicity to human skin cells at concentrations less than or equal to 1 v/v%. Moreover, the microemulsion is thermodynamically stable at 4 °C, 30 °C, and 45 °C. The encapsulation of KLO in microemulsion might be an alternative candidate for cosmetic products and related applications.

1. Introduction

Kaffir lime peel is a natural raw material used to produce high-quality essential oil, which provides revenue for farmers (Budiarjo et al., 2019; Chit-aree et al., 2023; Pawesat et al., 2021; Sebayang et al., 2022). The oil is extracted by a cold extraction procedure that avoids the use of heat and chemicals, making Kaffir lime oil (KLO) with a good smell and also retaining its smell, color, and other properties for a long time (Budiarjo and Sholikin, 2022; Hanjati et al., 2023). KLO includes active components such as beta-pinene, camphene, citral, linalool, and citronellal (An et al., 2021; Lubinska-Szczygiel et al., 2018; Srituengfong et al., 2020). It exhibits remarkable biological and pharmacological properties (Jailani et al., 2021; Mohideen et al., 2022; Puji Kurniawati

et al., 2023). It is appropriate for hair and scalp treatments like tonics, hair serums, shampoos, and hair conditioners (Burnett et al., 2021; Keragala et al., 2020; Lourith and Kanlayavattanukul, 2021). The biggest issue arises when KLO is utilized directly in these products. The instability of KLO is influenced by external factors, including temperature, humidity, oxidation, light, and heat, leading to the rapid destruction of crucial compounds such as antioxidants, anti-inflammatory, and antibacterial agents (de Matos et al., 2019; Dhifi et al., 2016; Husni and Putri, 2021; Mohideen et al., 2022; Murtadza et al., 2021; Puji Kurniawati et al., 2023; Shariff-Rad et al., 2017; Suresh et al., 2021). In addition, natural product extracts were found to have a low skin delivery rate due to their low water solubility, resulting in poor efficiency in delivering active ingredients to the target area, including the inability to

* Corresponding author at: Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Klong 6, Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Thailand.

E-mail address: a.chaiyasat@mail.rmutt.ac.th (A. Chaiyasat).

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.119949>

Received 30 August 2024; Received in revised form 23 October 2024; Accepted 29 October 2024

0926-6690/© 2024 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

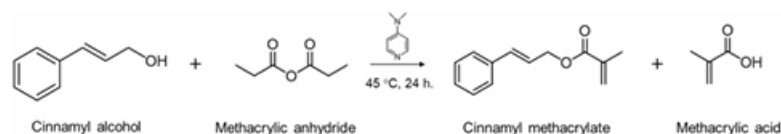


Fig. 1. Schematic diagram of cinnamyl methacrylate synthesis.

Table 1
Reagent amounts for the synthesis of PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I.

Chemicals		RUN
MAA	g (mmol)	3.62 (42.00)
CMA	g (mmol)	2.83 (14.00)
MAA	g (mmol)	4.65 (54.00)
CHI ₃	g (mmol)	0.56 (1.40)
V-501	g (mmol)	1.60 (5.60)
EtOH	g	30.37

control the release of active ingredients efficiently (Cheng et al., 2020).

To overcome this problem, the KLO was incorporated into polymer chains in the form of a microemulsion. This will increase the surface area of encapsulated oil on the skin, increasing skin penetration efficiency. In general, ionic and nonionic surfactants were used to emulsify the oil, and they were dissolved in water and acted as a continuous phase for microemulsion preparation (Ghasemiyeh and Mohammadi-Samani, 2020; Wooster et al., 2008; Zamora García Rojas et al., 2021). A microemulsion was formed after the oil was added in continuous phases and using a mild stirring rate (Rosano and Clause, 1987; Tataro et al., 2020). However, instability is frequently encountered when applying microemulsions to various products. This will cause agglomeration of the droplets, increasing the size when stored for a long time, and eventually, separation or sedimentation may occur (Karduk et al., 2017). In some conditions, the short-chain emulsifiers might have a low potential to maintain microemulsion stability, especially in high-viscosity conditions such as a lotion, hair conditioner, or shampoo. This can cause the oil to escape quickly from the droplets, resulting in poor stability (Ganta et al., 2014). As a result, the essential properties of encapsulated oil deteriorate faster. Increasing the chain length of the emulsifier with a bio-based copolymer might improve droplet strength (Bansal et al., 2015, 2018; Wik et al., 2020) and the microemulsion performance.

Cinnamyl alcohol exhibits favorable anti-inflammatory and antibacterial properties (Bang et al., 2016; Ozbelgin et al., 2016; Utchariyakiat et al., 2016). Furthermore, cinnamic groups are groups within a polymer that can be crosslinked by exposure to UV radiation, either in the main chain or as part of a side chain. This crosslinking occurs through the dimerization reaction of the carbon-carbon double bonds, facilitated by cycloaddition (Gan et al., 2018; Kitayama and Harada, 2021a; Kitayama et al., 2016; Kumar et al., 2020; Nguyen et al., 2020; Poplata et al., 2016; Yan et al., 2017; Zhang et al., 2020). The reaction led to the synthesis of several polymers or monomers containing cinnamoyl or cinnamyl groups. These materials included polyester (Kim et al., 2002), nanocomposites of POSS-cinnamoyl polymer (Kiran Kumar et al., 2013), methacrylate copolymer (Lerari, 2015b), and bio-based aliphatic polycarbonate materials (Durand et al., 2018).

Therefore, in this work, bio-based copolymers, cinnamyl methacrylate, and methacrylic acid (biologically compatible polymers) were used for the first time to cooperate with the commercial surfactant to encapsulate Kaffir lime oil. The cinnamyl alcohol was reacted with methacrylic anhydride to create cinnamyl methacrylate (CMA) before copolymerized with methacrylic acid in ethyl acetate as the green solvent (Mohammed et al., 2022) using solution iodine transfer polymerization (solution ITP) (Kamlangmak et al., 2021; Phutthatham et al.,

2022; Prateepmanee et al., 2022), resulting in polymethacrylic acid-block-polycinnamyl methacrylate-block-polymethacrylic acid (PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA). After microemulsion preparation, PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA bio-based copolymer adsorbed on the droplet was followed by UV-initiated dimerization of the π orbitals of the cinnamyl group to connect each bio-based copolymer chain. Finally, the microemulsion containing KLO using a bio-based copolymer was obtained. The curing time was investigated. Chemical functional groups were characterized by FTIR and ¹H NMR. Moreover, the toxicity of the skin cells, permeation efficiency, and anti-inflammatory activity of the KLO microemulsion were evaluated.

2. Experimental

2.1. Materials

Methacrylic acid (MAA; purity 99 %, Sigma-Aldrich) was purified by passing through the column packed with basic aluminum oxide to remove the contained inhibitors, cinnamyl alcohol (CAI; 98 %, Sigma-Aldrich) Iodoform (CHI₃; purity 99 %, Aldrich), (4,4'-Azobis(4-cyanovaleric acid) (V-501; purity 98 %, Wako Pure Chemicals), hydrochloric acid (HCl; purity 37 %, RCI Labscan), hydroquinone (purity 99 %, Aldrich), sodium chloride (NaCl; purity 99.9 %, Ajax Finechem), Kaffir lime oil (purity 100 %, honghuat), Ethanol (EtOH; Analytical reagent, RCI Labscan), Ethyl acetate (EA; Analytical reagent, RCI Labscan), Nitrogen gas (N₂; Purity 99.99 %, Praxair), Tetrahydrofuran (THF; Laboratory reagent, RCI Labscan), Dimethyl Sulfoxide (DMSO; purity 99.80 %, Sigma-Aldrich), Methacrylic anhydride (MAH; purity 94 %, Sigma-Aldrich), 4-Dimethylaminopyridine (DMAP; purity 99.0 %, TCI), Sodium bicarbonate (NaHCO₃; Analytical reagent, Sigma-Aldrich), Dichloromethane (CH₂Cl₂; purity 99.5 %, Loba Chemie), Sodium hydroxide (NaOH), TWEEN 80 (Laboratory reagent, Chem-Supply™)

2.2. Synthesis and characterization of monomers containing double bonds

Before preparing the block copolymer, the monomer was designed to have a double bond first. The cinnamyl alcohol amount of 4.16 g (0.03 mol) and 0.08 g (6.43 × 10⁻³ mol) of DMAP were added to a 25 mL round-bottom flask. After that, 5.17 g (0.03 mol) of methacrylic anhydride was added. Then, the flask was sealed and purged with nitrogen gas to remove oxygen. The reaction mixture was slowly heated to 45 °C while stirring vigorously for at least 24 h. The reaction solution was then diluted with dichloromethane and washed with saturated sodium bicarbonate aqueous solution repeatedly to remove the traces of unreacted methacrylic anhydride and methacrylic acid until CO₂ was no longer released. The organic layer was sequentially washed with 1.0 and 0.5 M NaOH aqueous solution, 1.0 M HCl aqueous solution, and water. Cinnamyl methacrylate (CMA) was obtained after drying in a vacuum oven at 60 °C overnight. A schematic diagram of cinnamyl methacrylate preparation is shown in Fig. 1.

2.3. Synthesis bio-base polymethacrylic acid-block-polycinnamyl methacrylate-block-Polymethacrylic acid-iodide

MAA monomer and Iodoform were dissolved in ethanol and transferred to a round-bottom flask. Then, the flask was sealed and purged

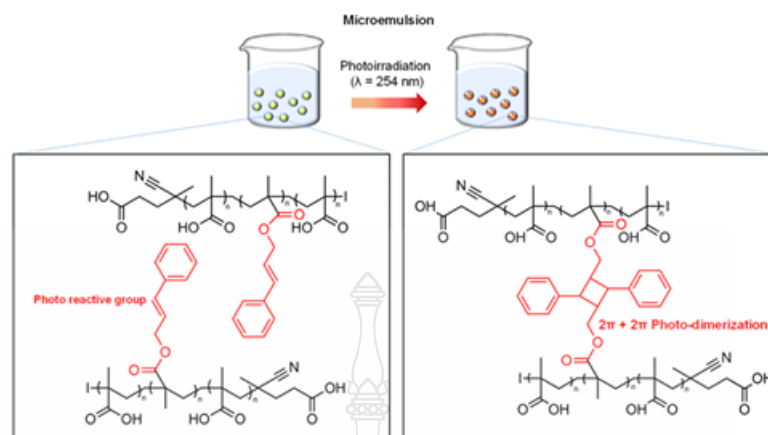


Fig. 2. Schematic diagram of KLO microemulsions using bio-based block copolymers by Photo-crosslinking.

with nitrogen gas to remove oxygen after 15 min, the V-501 initiator solution was injected, and the synthesis continued at 70 °C for 24 h to obtain PMAA-1. After that, the second (CMA) and third (MAA) monomers were sequentially injected under 70 °C for 24 h. Reagent amounts for the synthesis of PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-1 as various repeating units are shown in Table 1.

2.4. Preparation of KLO microemulsions using bio-based block copolymers

KLO microemulsions using PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA bio-based copolymer were prepared as follows. First, the copolymers as the Bio-surfactant (BioSurf) were used as the polymer shell to encapsulate KLO in a microemulsion system cooperative with a commercial surfactant (Tween 80; Surf) and co-surfactant (Ethanol; CoSurf) named Surf-surfactant mixture (Surf_{mix}) where various BioSurf: Surf: CoSurf ratios were used. The kaffir lime oil: Surf_{mix} ratios were varied from 1: 9–9: 1 (wt) and mixed with water at 400 rpm for 5 min before characterizations.

2.5. Photo-crosslinking bio-based copolymers in KLO microemulsions

The microemulsion was irradiated with UV light at 254 nm for 120 min. During the UV irradiation, samples were taken at 0, 1, 5, 10, 30, 60, 90, and 120 min to investigate the dimerization formation. A schematic diagram of KLO microemulsions using bio-based copolymers by Photo-crosslinking is shown in Fig. 2.

2.6. Characterizations

The chemical structures of bio-based block copolymers and monomers were analyzed using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR; NEXUS 470, Nexas) and 1H-nuclear magnetic resonance (1H NMR; JEOL JNM-ECZR 500 MHz, JOEL). In the case of FTIR, the dehydrated polymer was compacted into the test sample and measured within the range of 400–4000 cm⁻¹. In the case of 1H NMR, the polymers were completely dissolved in deuterated DMSO. The solution, with a concentration of roughly 0.1 M, was introduced to the NMR tube at a height of about 4 cm. A room-temperature 1H NMR analysis was conducted. The experiment examined the degree of polymerization (DP_{exp})

and the experiment average molecular weight ($M_{n,exp}$) of the bio-based block copolymers obtained. This was done by analyzing the 1H NMR spectra and comparing the relative integral proton peak (I) of a known moiety with a known number of protons to that of the repeating chain unit of interest (Guimarães et al., 2020; Izunobi and Higginbotham, 2011). The DP and M_n were calculated by Eqs. (1) and (2), respectively.

$$DP_{exp} = \frac{I_x \times DP_x \times N_{H,x}}{I_y \times N_{H,y}} \quad (1)$$

$$M_{n,exp} = (DP_x \times M_0) + M_c \quad (2)$$

Where I_x and $N_{H,x}$ are the integral peak and the number of protons of the moiety x (unknown DP), respectively. I_y and $N_{H,y}$ are the integral peaks and the number of protons of the moiety y (known DP), respectively. DP_x and DP_y are the degree of polymerization or repeating units of moiety x and y, respectively. M_0 is the molecular weight of one repeating unit, and M_c is the combined molecular weight of the known DP (Kamlangmak et al., 2021; Phutthatham et al., 2022).

Moreover, the theoretical number-average molecular weight ($M_{n,theo}$) of bio-based block copolymers was determined using the following Eq. (3):

$$M_{n,theo} = MW_i + \frac{(n_a \cdot MW_a) + (n_b \cdot MW_b) + (n_c \cdot MW_c) \cdot \alpha}{n_i \cdot 100} \quad (3)$$

Where MW_i , MW_a , MW_b , and MW_c are the atomic masses of iodine, MAA-1, CMA, and MAA-2, respectively. The n_i , n_a , n_b , and n_c are the mol in the recipe of iodoform, MAA-1, CMA, and MAA-2, respectively. α is the monomer conversion.

The stability of the microemulsion containing KLO was studied as follows. The prepared KLO microemulsions were stored in bottles at three different temperatures: 4, 30, and 45 °C. All samples were withdrawn at 0, 7, 14, 21, and 28 days, where the particle size of each sample was measured by Dynamic light scattering (DLS; DelsaTM Nano C, Beckman Coulter) at a 165 angle under room temperature. The nanocapsules (approximately 6 wt%) withdrawn from each sample were directly measured in concentration mode.

The viscosity of the KLO microemulsion was measured using a Brookfield Viscometer with a No. 0 spindle at 25 °C and 40 rpm. The

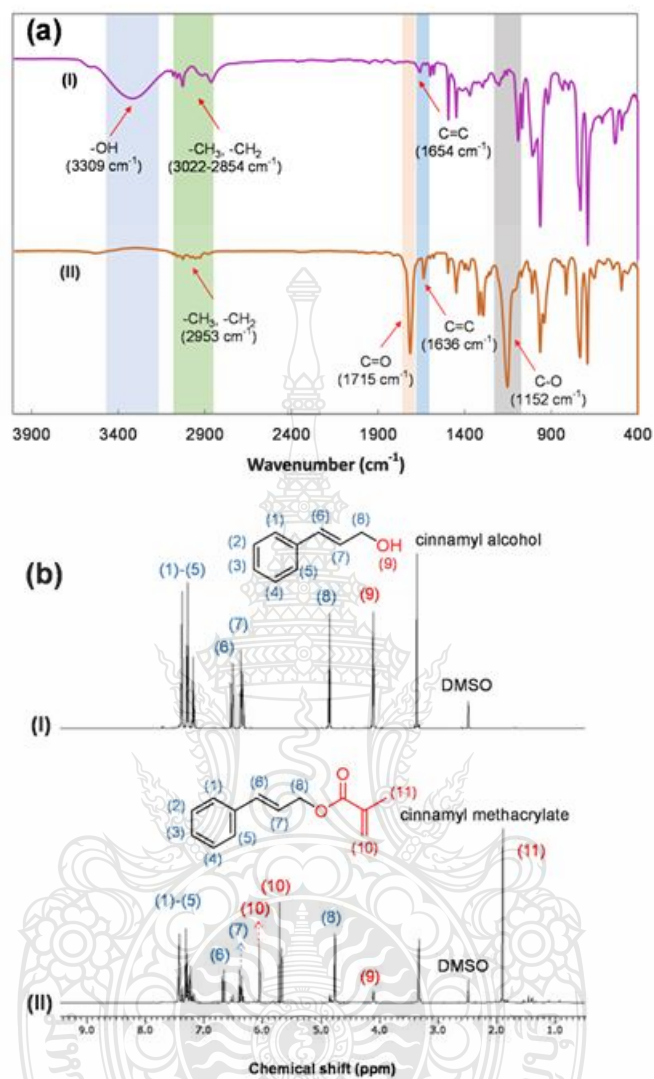


Fig. 3. FT-IR (a) and ^1H NMR (b) spectra of cinnamyl alcohol (I) and cinnamyl methacrylate (II).

Brookfield Viscometer will display the microemulsion's viscosity in the appropriate units (typically centipoise, cP) and the corresponding torque percentage. The transparency of the KLO microemulsion was measured by using a UV spectrophotometer with the % transmittance mode and the appropriate wavelength range.

2.7. Toxicity of KLO microemulsion on skin cells by MTT assay

Human skin fibroblasts were seeded at a density of 1×10^4 cells per well in 96-well plates. The plates were filled with culture media DMEM, which had a concentration of 10 wt%. The cells were then incubated at a

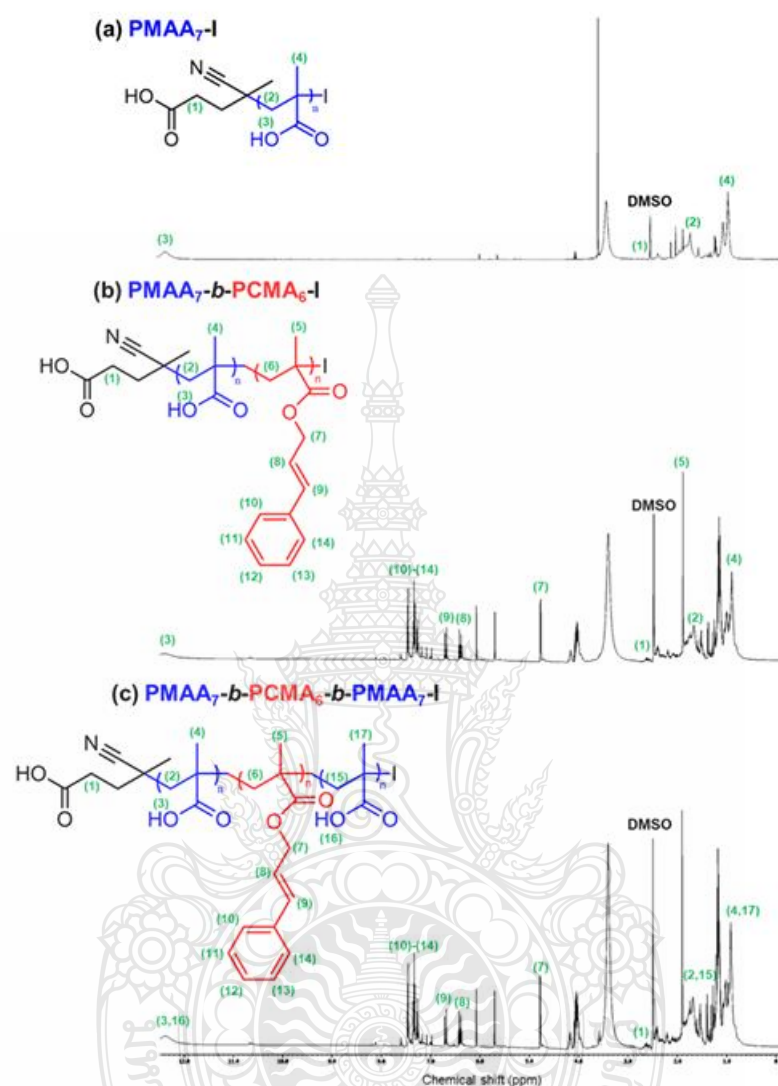


Fig. 4. ^1H NMR spectra of PMAA₇-I (a), PMMA₇-b-PCMA₆-I (b) and PMMA₇-b-PCMA₆-b-PMAA₇-I (c).

temperature of 37 °C in an atmosphere containing 5 % CO₂ for 24 h. Subsequently, the microemulsions of KLO at various concentrations were introduced and kept at a temperature of 37 °C in an environment with 5 % CO₂ for 24 h. Subsequently, the DMEM was extracted, and the remaining substance was rinsed three times with 10 mM PBS at a pH of

6.8. Subsequently, 0.1 mL of 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) was introduced at a concentration of 0.05 mg/mL, followed by a 6-h incubation period. After removing the MTT solution, Dimethyl sulfoxide (DMSO) was added at 0.1 mL per well. The mixture was then shaken at a speed of 200 rpm for 15 min.

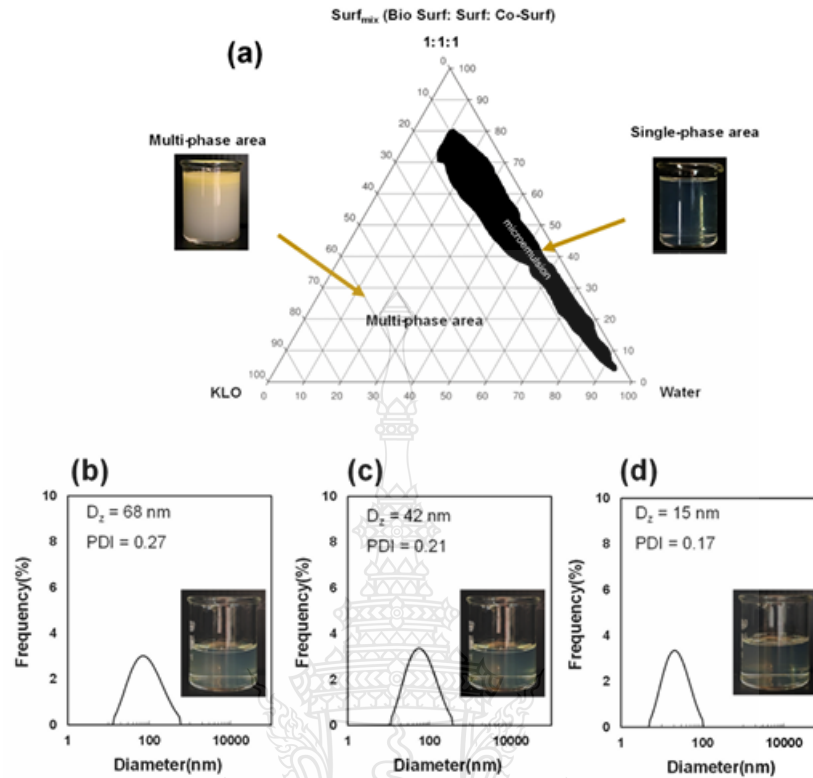


Fig. 5. Pseudo ternary phase diagram (a) and particle size distributions (b-d) of kaffir lime-oil microemulsion using various Oil: Surfmix: water ratios (wt); 6: 24: 70 (b), 4: 15: 81 (c) and 2: 9: 89 (d) where Surfmix was BioSurf: Surf: Co-Surf ratio of 1: 1: 1. Insert photographs are microemulsion of each condition.

Subsequently, the solution's absorbances were quantified using a microplate reader at a specific wavelength of 570 nm (Boonpisuttinani et al., 2023). The cell viability percentages were determined using Eq. 4:

$$\% \text{ Cell viability} = [A_{\text{sample}} / A_{\text{control}}] \times 100 \quad (4)$$

Where A_{control} and A_{sample} are the absorbances of the control and the samples, respectively.

2.8. Permeation efficiency of KLO in microemulsion by Franz diffusion cell

Permeation studies of encapsulated KLO in microemulsion were carried out using Franz diffusion cells, mainly composed of two compartments: the donor and receptor. Moreover, Sprague Dawley Rat skin pieces were mounted over diffusion cells with the dermal side in contact with the receptor phase filled with phosphate-buffered saline pH 7.4 (PBS), where the receptor phase was under mild stirring to mix the contents uniformly. The microemulsion containing KLO was added to the donor compartment. The KLO content permeated the Sprague Dawley Rat skin was measured where the solution in the receptor

compartment was withdrawn at specified intervals from the receptor compartment and measured by UV-spectrophotometry (Netzlaff et al., 2006; Pineau et al., 2012; Sebe et al., 2022).

2.9. Anti-inflammatory activity by the Griess reagent

The RAW 264.7 macrophages were cultured in DMEM, including 10 % (v/v) FBS, D-glucose (4500 mg/L), penicillin (100 U/mL), and streptomycin (100 mg/mL). The cells were placed in a temperature-controlled and humidified incubator with 5 % CO₂ at 37 °C until the subcultures achieved 80 % confluence (Nazir et al., 2021). The investigation involved studying the inhibition of nitric oxide generation in macrophage cells. Initially, 1×10^5 RAW 264 cells/mL were cultivated in 96-well plates for a duration of 24 h. Subsequently, the microemulsions containing KLO were introduced and allowed to undergo a reaction for a duration of 1 h. The cells were exposed to lipopolysaccharides (LPS) at a 1 µg/mL concentration for 24, 48, and 72 h, respectively. The positive control employed in the experiment was LPS, while the negative control was diclofenac sodium. After incubation, the liquid portion (supernatants) was collected and analyzed for the

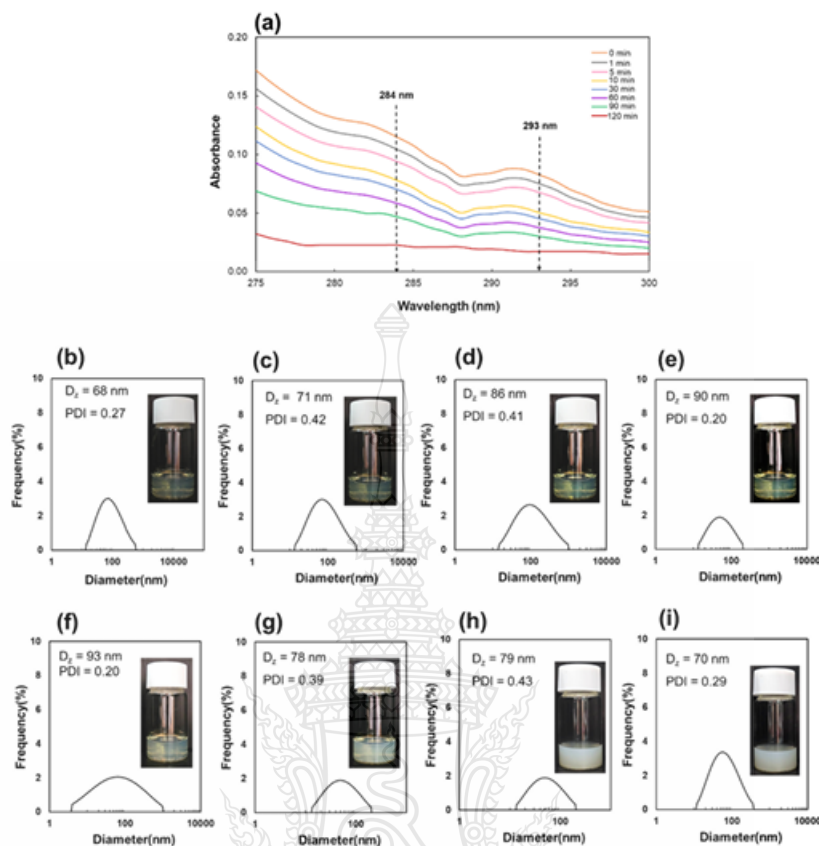


Fig. 6. UV-vis spectra (a) and particle size distribution (b-i) of KLO microemulsions with UV-initiated crosslinking at various times (min): 0 (b) 1 (c), 5 (d), 10 (e) 30 (f) 60 (g) 90 (h) and 120 (i). Insert photographs are microemulsions of KLO at various times of UV-initiated crosslinking.

presence of nitrite using the Griess reagent (Nazir et al., 2021). The percentages of inhibition of nitric oxide production in macrophage cells were calculated by Eq. (2).

$$\% \text{ No inhibition} = [A_{\text{sample}} / A_{\text{control}}] \times 100 \quad (5)$$

3. Results and discussion

3.1. Synthesis of bio-based block copolymer

Before the synthesis of the bio-based block copolymer, the vinyl group was introduced to the cinnamyl alcohol bio-monomer by esterification with methacrylic anhydride, resulting in obtaining cinnamyl methacrylate (CMA) with 87 % yield. To ensure obtaining CMA, FTIR and ^1H NMR were used to characterize the formation of the vinyl group

as shown in Fig. 3. In the case of FTIR (Fig. 3a), the spectra of cinnamyl alcohol (Fig. 3a(I)) (Lerari, 2015a; Sreevarun et al., 2023) and CMA (Fig. 3a(II)) at before and after introducing vinyl group, respectively, were compared. The primary functional vibrations, such as CH_2 and CH_3 at 2953 cm^{-1} and $\text{C}=\text{C}$ at 1636 cm^{-1} , were found in both cases. However, the characteristic peak of cinnamyl alcohol as OH vibration at 3309 cm^{-1} almost disappeared in the CMA spectrum. Moreover, the intensity of $\text{C}=\text{C}$ peak increased, and additional peaks of $\text{C}=\text{O}$ and $\text{C}-\text{O}$ at 1715 cm^{-1} and 1152 cm^{-1} , respectively, were found for the CMA spectrum. This indicated the CMA formation (Lerari, 2015a). In addition, ^1H NMR spectra of both cinnamyl alcohol (Fig. 3b(I)) and CMA (Fig. 3b(II)) were also used to confirm the formation of CMA. The main protons of both cinnamyl alcohol and CMA were observed. However, the characteristic proton of cinnamyl alcohol as $-\text{OH}$ peak at a position of 4.10 ppm was significantly reduced in the CMA spectrum. Moreover, the additional proton peaks of $\text{C}=\text{CH}_2$ at 4.80 and 6.20 ppm and $-\text{CH}_3$ at 1.90 ppm (Lerari, 2015a) were found in the CMA spectrum. The results

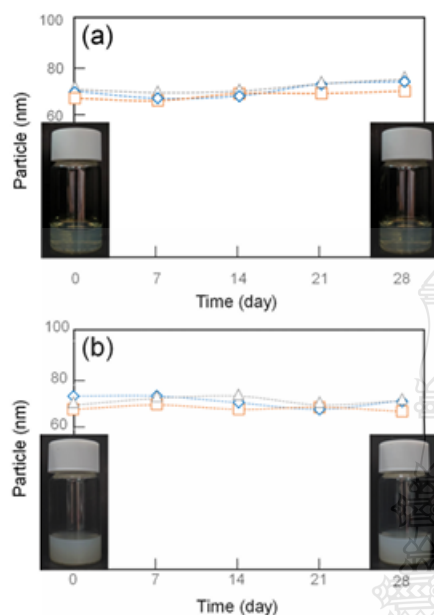


Fig. 7. The particle size of kaffir lime-oil microemulsion before (a) and after (b) UV-crosslinking storage for 4 weeks at various storage temperatures ($^{\circ}\text{C}$): 4 (rhombus), 30 (square) and 45 (triangle). Insert photographs are kaffir lime-oil microemulsion of 30°C at initial time and 4 weeks.

were in accordance with the FTIR data that CMA had successfully prepared.

To synthesize PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I, PMAA-I was first polymerized with solution ITP (Kamlangmak et al., 2024; Kraithip et al., 2023; Phutthatham et al., 2022; Prateepmanee et al., 2022) and sequentially followed with CMA and MAA, respectively. The molecular structure was then verified using proton nuclear magnetic resonance spectroscopy (^1H NMR). The ^1H NMR spectrum of PMAA-I (Fig. 4a) showed peaks at 0.95 ppm for $-\text{CH}_3$ protons, 1.84 ppm for $-\text{CH}_2$ protons, and 12.30 ppm for $-\text{OH}$ protons, consistent with previous research (Gün et al., 2012). Calculating the molecular weight of PMAA-I from the ^1H NMR spectrum using Eqs. 1 and 2 revealed a molecular weight of 1095 g/mol (Kamlangmak et al., 2021). This value was similar to the theoretical one (1155 g/mol) calculated by Eq. 3. Moreover, it was slightly higher than that obtained from GPC measurement (Fig. S1a) (831 g/mol; M_w/M_n of 1.41). This discrepancy may be due to the polystyrene standard used in GPC, which has a molecular weight per unit (104 g/mol) greater than methacrylic acid (86 g/mol), resulting in lower observed molecular weights.

For the synthesis of polymethacrylic acid-*block*-poly cinnamyl methacrylate-*block*-polymethacrylic acid-iodide (PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I), CMA and MAA were consequently added to PMAA-I solution, respectively. This synthesis was performed with different block copolymer chain lengths in three experimental MAA: CMA: MAA ratios of 15:10:15, 30:10:30, and 60:10:60 units, respectively. After synthesis, the solution of PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I appeared yellow. After precipitating with ethyl acetate and drying, the structure of PMAA-*b*-

PCMA-*b*-PMAA-I was verified using ^1H NMR. Focusing on the prominent characteristic peaks (Fig. 4a-4c), peaks at 0.95 ppm for $-\text{CH}_3$ protons, 1.84 ppm for $-\text{CH}_2$ protons, and 12.30 ppm for $-\text{OH}$ protons of both MAA and CMA segments (Fortier-McGill et al., 2012), whereas a peak at 2.98 ppm for $-\text{CH}_2$ protons, 4.83 ppm for $-\text{CH}_2$, 6.37, 6.79 ppm for $-\text{CH}$ protons, 7.24–7.61 ppm for $-\text{CH}$ protons (Lerari, 2015a; Sreevarun et al., 2023) (Fig. 4b). The molecular weights of the PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I block copolymer in the three experimental conditions measured by GPC (Fig. S1b-d) were 2860, 3059 and 3471 g/mol for the MAA: CMA: MAA ratios of 15:10:15, 30:10:30, and 60:10:60, respectively, where the chain lengths of each segment of the synthesized block copolymer were 7:6:7, 11:9:11, and 9:9:9 units, respectively. Additionally, the monomer conversion decreased as the theoretical block copolymer chain length increased, which were 84 %, 65 %, and 57 % for 15:10:15, 30:10:30, and 60:10:60 ratios of MAA: CMA: MAA, respectively. This decrease may be due to excessive monomer, while the polymerization rates of all three conditions were similar. Therefore, given the same synthesis time, the ratios of each block copolymer did not differ significantly. Commercial production constraints also extend the synthesis time to achieve high monomer conversion of longer polymer chain lengths of PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I. Thus, the experimental condition of 15:10:15 ratios of MAA: CMA: MAA giving PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I was chosen for further preparing the microemulsion of kaffir lime oil.

3.2. Preparation of microemulsions of KLO using bio-based block copolymers

In the preparation of KLO microemulsion using a bio-based block copolymer, the PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I block copolymer (BioSurf) was first mixed with Tween 80 (Surf), which acted as the primary surfactants. This mixture was then combined with ethanol (Co-Surf), the co-surfactant. The ratios of BioSurf to Surf were varied from 5:5–9:1, and the ratio of the primary surfactant mixture (BioSurf-Surf) to Co-Surf was fixed at 2:1, resulting in the surfactant mixture (Surf_{mix}). Next, this Surf_{mix} was mixed with KLO(KLO) in varying ratios of KLO to Surf_{mix} from 1:9–9:1, and water was added. The experimental results are shown in Fig. S2 to S6. It was found that phase separation mainly occurred in most cases. However, the optimal condition for preparing KLO microemulsion without phase separation was found with a BioSurf-Surf: Co-Surf ratio of 2:1 and a BioSurf: Surf ratio of 1:1 (BioSurf: Surf: Co-Surf ratio of 1:1:1), while keeping the KLO content below 20 % of the total composition. The resulting microemulsion was relatively transparent and appeared homogeneous (Fig. S6a and S6b), indicating nanometer droplet sizes of KLO forming with high thermodynamic stability (Saini et al., 2018; Yang et al., 2017). Consequently, the microemulsion of KLO under these conditions (BioSurf: Surf: Co-Surf ratio of 1:1:1 (wt)) was further studied by varying the water content from 9 % to 89 %. The results were plotted on a pseudo-ternary phase diagram (Fig. 5a) (Kalam et al., 2016; Lamouli et al., 2023). It was found that the dark area showing the KLO microemulsion remained homogeneous without phase separation. Due to the commercialization, the KLO might not be used at a high content. Therefore, three conditions with low content of KLO were selected, which were the ratios of KLO: BioSurf: Surf: Co-Surf: water (wt) at 6:8:8:8:70 (Fig. 5b), 4:5:5:5:81 (Fig. 5c) and 2:3:3:3:89 (Fig. 5d), respectively. The particle sizes ranged from 15 to 68 nanometers, increasing with KLO content. Since the microemulsion of KLO: BioSurf: Surf: Co-Surf: water at 6:8:8:8:70 had the highest KLO content, it was selected for further crosslinking by UV irradiation.

The microemulsion of KLO crosslinked by UV irradiation showed an increase in opacity over time during UV exposure (Fig. 6a-h). This corresponds to the %transmittance (%T) measurements at different irradiation times, ranging from 0 to 120 min, where %T decreased from 94 to 0.5, respectively. Additionally, the viscosity was between 2 and 4 cP.s (Table S1). This is attributed to crosslinking the cinnamyl groups in the PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA-I bio-based block copolymer. The cinnamyl groups are UV-responsive at 254 nm, and upon UV stimulation, they

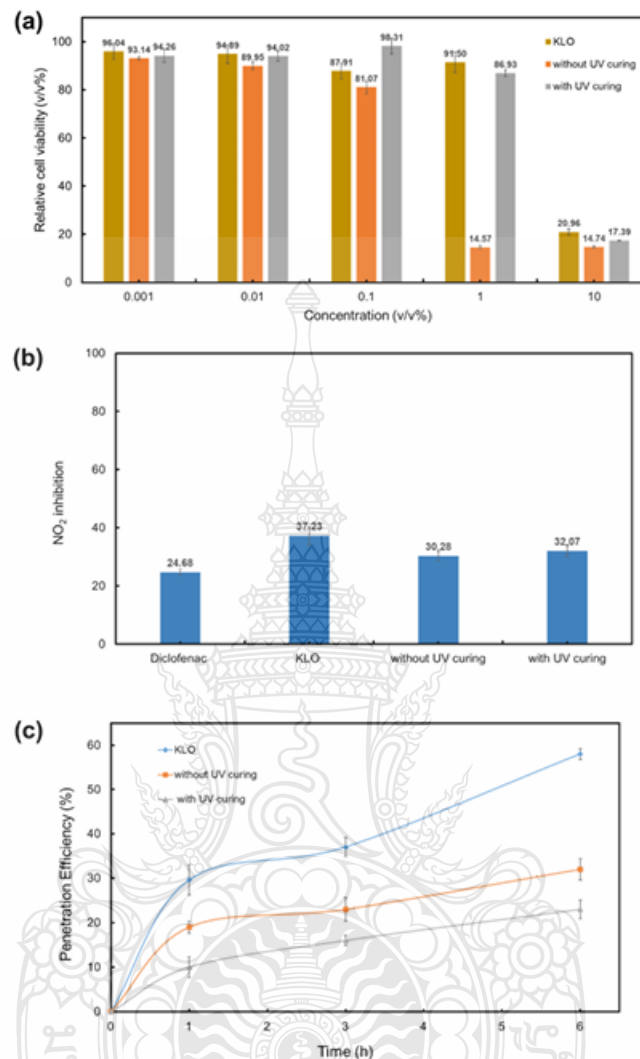


Fig. 8. Testing various properties of KLO microemulsions using bio-based block copolymers: Toxicity on skin cells (a), Anti-inflammatory activity (b) and Release efficiency (c).

form crosslinks (Kitayama and Harada, 2021b; Yan et al., 2012; Yano et al., 2020). To confirm this hypothesis, the crosslinked KLO microemulsion was analyzed using UV-visible spectroscopy (Fig. 6a). The absorption peaks of the cinnamyl groups at 284 and 293 nm significantly decreased with UV irradiation time. At 120 min of UV-exposure,

these absorption peaks disappeared, indicating complete crosslinking of the cinnamyl groups. Furthermore, it was observed that the particle size before and after crosslinking 120 min did not significantly differ, with an average particle size from 68 to 93 nm (Fig. 6b-i). This indicates that crosslinking occurred primarily at the particle surfaces without

inter-particle crosslinking. In the next step, the KLO microemulsion with a UV curing time of 120 min will be used for further property testing.

Stability testing was conducted by measuring the particle size of KLO microemulsion samples stored under different conditions at temperatures of 4°C, 30°C, and 45°C for 28 days. The particle sizes of the microemulsion before (Fig. 7a) and after (Fig. 7b) UV irradiation had average sizes of approximately 70 ± 0.40 and 68 ± 0.22 nm, respectively. Particle sizes for both conditions were measured at 7, 14, 21, and 28 days across the three temperatures. It was found that both conditions had no significant difference in average particle size and remained stable throughout the study period. This indicates that the microemulsion system in this study possesses thermodynamic stability, preventing phase separation or particle aggregation over time.

3.3. Evaluation of KLO microemulsion: toxicity on skin cells, permeation efficiency, and anti-inflammatory activity

The toxicity testing results of KLO, the prepared KLO microemulsion with and without crosslinking on human skin fibroblast cells using the MTT reduction assay were shown in Fig. 8a. It was found that the crosslinked KLO microemulsion and KLO were non-toxic to human skin cells at concentrations of less than or equal to 1 %v/v, with cell viability remaining above 80 % compared to the control group. In contrast, the ten times lower concentration of uncrosslinked KLO microemulsion showed no cytotoxicity, whereas more harmful cells were present due to the presence of many uncrosslinked CMA segments (Anstee et al., 2013; Belsito et al., 2011; Murakami et al., 2018; Thakur et al., 2024). Therefore, the cytotoxicity decreased after CMA segments were crosslinked, indicating that the KLO is effectively encapsulated within the nanocapsules.

In the study of the anti-inflammatory effects of KLO microemulsion using the Griess reagent method, the percentage of macrophage cell growth was considered to select the concentration of pristine KLO and encapsulated KLO in microemulsion with UV curing that is non-toxic to the cells. This concentration was then used to test the anti-inflammatory effect by inhibiting nitric oxide production (García-Aranda et al., 2020; Ren and Chung, 2007). Based on the previous section, a sample concentration of 0.1 % or less by volume was selected to study anti-inflammatory effects compared with diclofenac, a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) control. As shown in Fig. 8b, KLO had the highest inhibitory effect on nitric oxide production in macrophage cells, at 37.23 ± 0.96 %, which was more effective than diclofenac (24.68 ± 4.87 %), and the crosslinked KLO microemulsion (19.24 ± 1.63 %). This may be because KLO is encapsulated in particles and released slowly, reducing the inhibition of nitric oxide production in macrophages compared to unencapsulated KLO. However, the KLO microemulsions still demonstrated effectiveness in inhibiting nitric oxide production and are likely to have longer shelf life without easy degradation compared to direct use of KLO.

The release efficiency of KLO was tested in an in vitro system using the Franz diffusion cell technique. The concentration of KLO and encapsulated KLO released from the microemulsion through the skin was measured using a spectrophotometer, with results shown in Fig. 8c. It was found that a relatively high rate of permeation through the skin during the first hour before lower for the later period for all conditions. Without encapsulation, the pristine KLO showed the highest permeation, reaching 60 % for 6 h. For both encapsulation conditions, the KLO adsorbed on the particle surface permeated the skin cells initially, after which the KLO trapped in the microemulsion was gradually released (Appel et al., 2014). Moreover, the crosslinked KLO microemulsion represented a lower permeate skin than that of the KLO microemulsion without crosslinking, in which the encapsulated KLO was released only 23 % by 6 h. This is because the surface of the crosslinked KLO microemulsion particles was crosslinked by UV irradiation, resulting in a stronger particle shell that better prevents the release of KLO.

4. Conclusions

The PMAA-*b*-PCMA-*b*-PMAA bio-based block copolymer or BioSurf, composed of the biopolymer and biocompatible polymer, was synthesized by solution ITP. It is the main Surf_{mix} used to prepare the KLO microemulsion for the first time, where the Surf_{mix} is composed of BioSurf: Surf (tween 80): Co-Surf (ethanol) ratio of 1: 1: 1. At the optimal KLO: Surf_{mix}: water ratio of 6:24:70, the KLO microemulsion was successfully prepared with the nanocapsules, approximately 68 nm in size. The bio-based block copolymer shell was subsequently subjected to polymer chain crosslinking via UV irradiation at a wavelength of 254 nm to enhance the shell strength. In addition, only 10 % of encapsulated KLO slowly permeated the skin after 1 h and reached 23 % by 6 h, which is slower than uncrosslinked microemulsions. The encapsulated KLO also exhibited anti-inflammatory activity, as evidenced by a 19.24 ± 1.63 % inhibition of nitric oxide production in macrophage cells. It showed no cytotoxicity toward human skin cells at concentrations less than or equal to 1 % v/v. Moreover, the nanocapsules demonstrated thermodynamic stability, with an average particle size of 70 ± 0.65 nanometers after 28 days of storage. Therefore, the KLO microemulsion prepared in this study represents a promising alternative for use as a key ingredient in cosmetic products or related applications.

CRedit authorship contribution statement

Amorn Chaiyasat: Writing – review & editing, Writing – original draft, Validation, Supervision, Methodology, Conceptualization. **Pre-eyaporn Chaiyasat:** Writing – review & editing, Supervision, Investigation, Conceptualization. **Ploysuda Saeun:** Writing – original draft, Visualization, Investigation.

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 work was supported by Research and Researchers for Industries (RRI), National Research Council Thailand (NRCT), and Beauty My Cosmed Co., Ltd. (N41A640333) given to P. S. and A. C. The authors also thank RMUTT Central Lab, Institute of Research and Development, Rajamangala University of Technology Thanyaburi for facility support.

Appendix A. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.indcrop.2024.119949.

Data availability

Data will be made available on request.

References

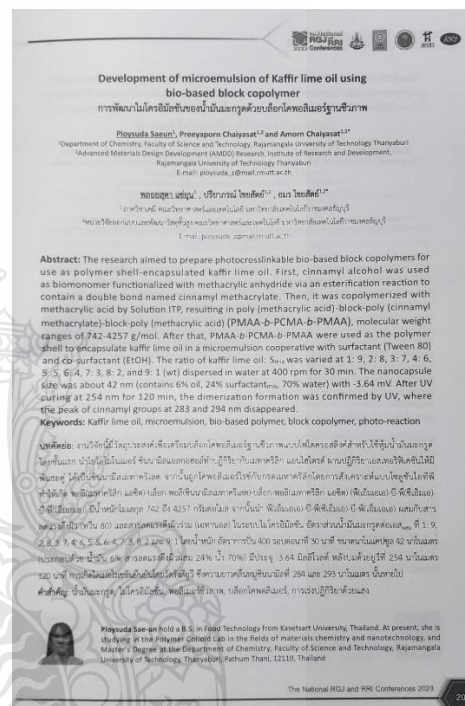
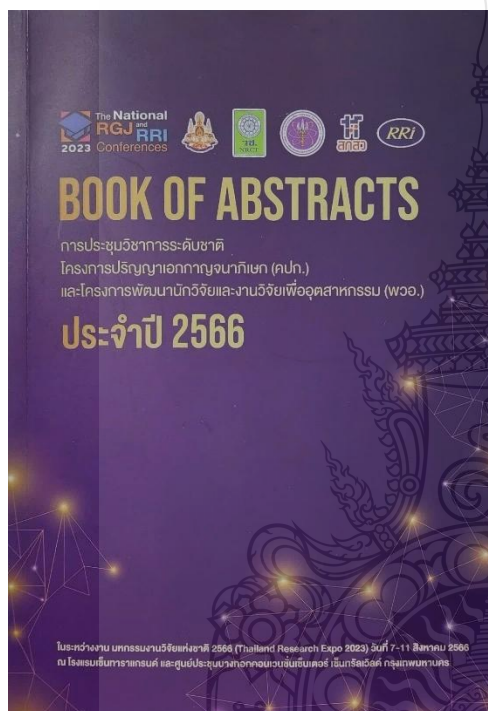
- An, T., Ngan, T., Van, C., Anh, H., Minh, L., Ay, N., 2021. The major and minor components of Kaffir Lime (Citrus hystrix DC) essential oil in the steam distillation process. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, IOP Publishing, 012082.
- Anstee, V., Kopperud, H.B., Mørch, E., Samuelsen, J.T., 2013. Cell toxicity of methacrylate monomers—the role of glutathione adduct formation. J. Biomed. Mater. Res. A 101, 3504–3510.
- Appel, E., Forster, R., Rowland, M., Scherman, O., 2014. The control of cargo release from physically crosslinked hydrogels by crosslink dynamics. Biomaterials 35, 1–12.
- Bang, H.B., Lee, Y.H., Kim, S.C., Song, C.K., Jeong, K.J., 2016. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the production of cinnamaldehyde. Microb. Cell Fact. 15, 1–12.

- Bansal, K., Kakte, D., Purdie, L., Irvine, D., Howdle, S., Mantovani, G., Alexander, C., 2015. New biomaterials from renewable resources - amphiphilic block copolymers from 6-decalactone. *Polym. Chem.* 6.
- Bansal, K.K., Gupta, J., Rodling, A., Rosenholm, J.M., 2018. Renewable poly (6-decalactone) based block copolymer micelles as drug delivery vehicle: in vitro and in vivo evaluation. *Saudi Pharm. J.* 26, 358–368.
- Belsito, D., Bickers, D., Bruze, M., Calow, P., Dagli, M., Fryer, A.D., Greim, H., Miyachi, Y., Saurat, J.H., Sipes, L.G., 2011. A toxicologic and dermatologic assessment of cinnamyl phenylpropyl materials when used as fragrance ingredients. *Food Chem. Toxicol.* 49, S256–S267.
- Boonplutlanti, K., Srisuttee, R., Yen Khong, H., Chutoprapat, R., Raksirwanich, W., Udompong, S., Chompoo, W., Boonhai, R., Rakkaew, R., Sangsee, J., Sriprasert, K., Mallias, W., 2023. In vitro anti-aging activities of ethanolic extracts from Pink rambutan (*Nephelium lappaceum* Linn.) for skin applications. *Saudi Pharm. J.* 31, 535–546.
- Budiarso, R., Shofikin, M.M., 2022. Kaffir lime essential oil variation in the last fifty years: a meta-analysis of plant origins, plant parts and extraction methods. *Horticulturae* 8, 1132.
- Budiarso, R., Poerwanto, R., Santosa, E., Efendi, D., Agustia, A., 2019. Production, post-harvest and marketing of kaffir lime (*Citrus hystrix* DC) in Tulungagung, Indonesia. *J. Trop. Crop Sci.* 6.
- Burnett, C.L., Bergfeld, W.F., Belkito, D.V., Hill, R.A., Klaassen, C.D., Liebler, D.C., Marks, J.G., Shank, R.C., Slaga, T.J., Snyder, P.W., 2021. Safety assessment of citrus flower- and leaf-derived ingredients as used in cosmetics. *Int. J. Toxicol.* 40, 535–765.
- Cheng, Y.C., Li, T.S., Su, H.L., Lee, P.C., Wang, H.D., 2020. Transdermal delivery systems of natural products applied to skin therapy and care. *Molecules* 25.
- Chit-aree, L., Ungaprom, Y., Ramaraj, R., Thirabunyanon, M., 2023. Valorization and biorefinery of kaffir lime peels waste for antifungal activity and sustainable control of mango fruit anthracnose. *Biomass Convers. Biorefinery* 13, 10735–10749.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., Mnif, W., 2016. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review. *Medicines* 3, 25.
- Durand, P.-L., Brège, A., Chollet, G., Grau, E., Gramail, H., 2018. Simple and efficient approach toward photosensitive biobased aliphatic polycarbonate materials. *ACS Macro Lett.* 7, 250–254.
- Fortier-McGill, B., Toader, V., Reven, L., 2012. 1H solid state NMR study of poly (methacrylic acid) hydrogen-bonded complexes. *Macromolecules* 45, 6015–6026.
- Gan, M.-M., Yu, J.-G., Wang, Y.-Y., Han, Y.-F., 2018. Template-directed photocyclization [2 + 2] cycloaddition in crystalline materials: a useful tool to access cyclobutane derivatives. *Cryst. Growth Des.* 18, 553–565.
- Ganta, S., Talekar, M., Singh, A., Coleman, T.P., Amiji, M.M., 2014. Nanoemulsions in transdermal research—opportunities and challenges in targeted cancer therapy. *Appl. Pharmaceut.* 15, 694–708.
- García-Aranda, M.I., González-Padilla, J.E., Gómez-Castro, C.Z., Gómez-Gómez, Y.M., Rosales-Hernández, M.C., García-Báez, E.V., Franco-Hernández, M.O., Castrejón-Flores, J.L., Padilla-Martínez, I.I., 2020. Anti-inflammatory effect and inhibition of nitric oxide production by targeting COXs and iNOS enzymes with the 1,2-diphenylbenzimidazole pharmacophore. *Bioorg. Med. Chem.* 28, 115429.
- Ghaseiniyeh, P., Mohammadi-Samani, S., 2020. Potential of nanoparticles in permeation enhancers and targeted delivery options for skin: advantages and disadvantages. *Drug Des. Dev. Ther.* 14, 3271–3289.
- Guimarães, T.R., Lanaslot, M., Bourgoat-Lami, E., 2020. Synthesis of double-responsive magnetic latex particles via seeded emulsion polymerization using macroRAFT block copolymers as stabilizers. *Polym. Chem.* 11, 648–652.
- Guo, L., Dun, X., Du, X., Zhang, A., Lei, J., 2012. Preparation of monodispersed PMAA for GPC calibration standards by two-step hydrolysis. *Adv. Anal. Chem.* 2, 1–5.
- Hanlari, M., Fujin, A.N.A., Devlinda, P.A., Wiguno, A., Teitryyanda, R., Kuswandi, K., 2023. The extraction of kaffir lime (*Citrus hystrix* DC) peel and leaf essential oil by using water distillation and steam distillation methods. *AIP Conference Proceedings*. AIP Publishing.
- Huani, E., Putri, U.S., Dachriyatus, 2021. Chemical Content Profile of Essential Oil from Kaffir Lime (*Citrus hystrix* DC.) in Tanah Datar Regency and Antibacterial Activity. *Atlantis Press*, pp. 174–181.
- Izumoto, J.U., Higginbotham, C.L., 2012. Polymer molecular weight analysis by ¹H NMR spectroscopy. *J. Chem. Educ.* 89, 1098–1104.
- Jafar, N.S.J., Muhammad, Z., Rulhman, M.H.F., Tach, M.N., 2021. Analysis of kaffir lime oil chemical compounds by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and Z-score technique. 2021 IEEE International Conference on Automatic Control & Intelligent Systems (ICACSIS) 116–118.
- Kalam, M.A., Aldhamsan, A., Aljoudi, J.A., Mkhia, A.R., Sulima, Y., 2016. Delivery of gentofloxacin using microemulsion as vehicle: formulation, evaluation, transdermal permeation and aqueous humor drug determination. *Drug Deliv.* 23, 886–897.
- Kamlangmai, N., Eiamprasert, U., Chaiyasat, P., Chaiyasat, A., 2021. Multifunctional polymer particles containing quaternary ammonium for antimicrobial particulate surfactants and defoaming. *ACS Appl. Polym. Mater.* 3, 3549–3559.
- Kamlangmai, N., Chaiyasat, P., Rattanawongwong, T., Sangpradit, K., Chaiyasat, A., 2024. Innovative multifunctional nanocapsules with antibacterial, perfume, and UV-initiated coating properties. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* <https://doi.org/10.1080/00914037.2024.20235155>.
- Karthik, P., Ezhilvarasi, P.N., Anandharajalakshman, C., 2017. Challenges associated in stability of food grade nanoemulsions. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 57, 1435–1450.
- Keragala, R., Kasusiri, T., Kempitaya, K., Kumpitaya, N., Kumara, K., Gunarathna, S., 2020. A study on the extent, aetiology and associated factors of diarrhoea in a group of medical students and the in vitro effects of antifungal preparations. *Infect. Dis.* 10, 134–145.
- Kim, T.-D., Bae, H.-M., Lee, K.-S., 2002. Synthesis and characterization of a new polyester having photo-crosslinkable cinnamoyl group. *Bull. Kor. Chem. Soc.* 23, 1031–1034.
- Kiran Kumar, A.B.V., Daniel Thangadurai, T., Lee, Y.-I., 2013. Poly [2-(cinnamoyloxy) ethyl methacrylate-co-octamethacryl-POSS] nanocomposites: synthesis and properties. *React. Funct. Polym.* 73, 1175–1179.
- Kitayama, Y., Harada, A., 2021b. pH-responsive capsule polymer particles prepared by interfacial photo-cross-linking: effect of the alkyl chain length of the pH-responsive monomer. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 13, 34973–34983.
- Kitayama, Y., Harada, A., 2021a. Interfacial photo-cross-linking: simple but powerful approach for fabricating capsule polymer particles with tunable pH-responsive controlled release capability. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 13, 10359–10375.
- Kitayama, Y., Yoshikawa, K., Takeuchi, T., 2016. Efficient pathway for preparing hollow particles: Site-specific crosslinking of spherical polymer particles with photoresponsive groups that play a dual role in shell crosslinking and core shielding. *Langmuir* 32, 9245–9253.
- Kraithep, C., Sajomsang, W., Minami, H., Busabok, C., Tangboriboonrat, P., Chaiyasat, P., Chaiyasat, A., 2023. Fabrication of porous polymer particles containing BiVO₄ and Fe₃O₄ nanoparticles using block copolymer as porogen for effective dye removal. *Surf. Interfaces* 37.
- Kumar, V., Fusaro, L., Aprile, C., Robeyns, K., Garcia, Y., 2020. [2 + 2] Photodimerization of sulfonate derivative of trans-cinnamic acid: kinetics study using solid state ¹³C NMR and hybrid material inclusion. *Cryst. Growth Des.* 20, 7850–7861.
- Lamoudi, L., Akretche, S., Hadjadok, A., Daoud, K., 2023. Fusicidic acid microemulsion based on a pseudoternary phase diagram: development, characterization, and evaluation. *J. Pharm. Innov.* 18, 621–628.
- Lerari, D., 2015a. Synthesis and characterization of new copolymer based cinnamyl methacrylate monomer: determination of monomer reactivity ratio and statistical sequence. *Mater. Res.* 18, 1008–1014.
- Lerari, D., J.M.R., 2015b. Synthesis and characterization of new copolymer based cinnamyl methacrylate monomer: determination of monomer reactivity ratio and statistical sequence. *Mater. Res.* 18, 1008–1014.
- Lourith, N., Kanlayavattanukul, M., 2021. Phytocosmetics for Hair Care. *Phytocosmetics and Cosmetic Science*. CRC Press, pp. 57–74.
- Lubinska-Szczepniak, M., Bóziańska, A., Dymerski, T., Namieśnik, J., Katrič, E., Gorinstein, S., 2018. A novel analytical approach in the assessment of unprocessed Kaffir lime peel and pulp as potential raw materials for cosmetic applications. *Ind. Crops Prod.* 120, 313–321.
- de Matos, S.P., Teixeira, H.F., de Lima, A.A.N., Veiga-Junior, V.F., Koester, L.S., 2019. Essential oils and isolated terpenes in nanosystems designed for topical administration: a review. *Biomolecules* 9, 138.
- Mohammed, M.K.A., Singh, S., Al-Mousal, A.K., Pandey, R., Madan, J., Dastan, D., Javi, G., 2022. Improving the potential of ethyl acetate green anti-solvent to fabricate efficient and stable perovskite solar cells. *RSC Adv.* 12, 32611–32618.
- Mohideen, M., Mahadi, N.N.S.J., Suhaimi, N.A.N., Kamaruzaman, N.A., Azlan, A.Y.H.N., 2022. Antibacterial properties of essential oil extracted from Kaffir lime (*Citrus hystrix*) peel. *Molecules* 27, 1000.
- Murakami, Y., Kawata, A., Suzuki, S., Fujisawa, S., 2018. Cytotoxicity and Pro-/Anti-inflammatory Properties of Cinnamates, Acrylates and Methacrylates Against RAW264.7 Cells. *In Vivo* 32, 1309–1322.
- Murtadiz, S.A.N., Dai, J., Zaki, N.A.M., Hamzah, F., 2021. Essential oils encapsulation performance evaluation: A review on encapsulation parameters. *Malays. J. Chem. Eng. Technol. (MJCT)* 4, 114–123.
- Nazir, Y., Ullahkhan, P., Khantham, C., Chaitap, T., Jantrawut, P., Chittasupho, C., Rachtanapun, P., Jantanasakulwong, K., Phimolsiripol, Y., Sommano, S.R., Tocharin, J., Mingmalairak, S., Wongsa, A., Arjin, C., Srirangam, K., Berrada, H., Barba, F.J., Raksirwanich, W., 2021. High Efficiency In Vitro Wound Healing of *Ditryophora indusiata* Extracts via Anti-Inflammatory and Collagen Stimulating (MMP-2 Inhibition) Mechanisms. *Int. J. Wound Med.* 7, 1100.
- Netzlaff, P., Koppke, K.-H., Lehr, C.-M., Schaefer, U.F., 2006. TEWL measurements as a noninvasive method for evaluating the integrity of epidermis sheets in static Franz type diffusion cells: in vitro experiments shown by transport data testing. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 63, 44–50.
- Nguyen, T.B., Nguyen, T.M., Retalieu, P., 2020. [2+2] Photodimerization of Stilbazoles Promoted by Oxalic Acid in Suspension. *Chem. Commun.* 26, 4682–4689.
- Ozbiçgin, S., Hancı, V., Özlü, D., Özbiçgin, M., Tosun, M., Yurtlu, S., Kızıkgöçlü, S., Arslan, A., 2016. Mortality and mortality predictivity of nutritional assessment tools in the postoperative care unit. *Medicine* 95, e5038.
- Pavani, C., Somrak, W., Puthadachai, B., Rimmannaporn, C., Wuttipong, S., Sriyak, N., Vongthong, T., Anjanuncho, A., 2021. Genetic and morphological diversity analysis of lime and acidic Citrus spp. from two ecophysiological collections in Thailand. *Agric. Nat. Resour.* 55, 599–600.
- Phanbutham, L., Ngernchukit, P., Kaewpa, D., Chaiyasat, P., Chaiyasat, A., 2022. UV-activated coating polymer particle containing quaternary ammonium for antimicrobial fabrics. *Colloid Polym. Sci.* 300, 351–364.
- Pheau, A., Guillard, O., Fancenez, B., Rivreau, F., Marty, M.-H., Guadin, A., Vincent, C.M., Marraud, A., Marty, J.-P., 2012. In vitro study of percutaneous absorption of aluminum from antiperspirants through human skin in the FranzTM diffusion cell. *J. Inorg. Biochem.* 110, 21–26.
- Poplat, S., Tröster, A., Zeng, Y.-Q., Bach, T., 2016. Recent advances in the synthesis of cyclobutanes by olefin [2 + 2] photocycloaddition reactions. *Chem. Rev.* 116, 9748–9815.
- Prateepanontak, N., Chaiyasat, A., Kaewpa, D., Chaiyasat, P., 2022. Innovative bifunctional thin storage nanocapsules containing polymerizable surfactant for antimicrobial thermoregulating clothes. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 653.

- Puji Kurniawati, R., Hamisah, Teguh Setiawan, W., 2023. Pharmacological activities of Citrus hystrix. *Indones. J. Interdiscip. Res. Sci. Technol.* 1, 641–650.
- Ren, J., Chung, S.H., 2007. Anti-inflammatory effect of α -linolenic acid and its mode of action through the inhibition of nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase gene expression via NF- κ B and mitogen-activated protein kinase pathways. *J. Agric. Food Chem.* 55, 5073–5080.
- Rosano, H.L., Clause, M., 1987. *Microemulsion systems*. CRC Press.
- Saini, R.K., Bagri, L.P., Bajpai, A.K., Mishra, A., 2018. 11 - Responsive polymer nanoparticles for drug delivery applications. In: Makhoul, A.S.H., Abu-Thabit, N.Y. (Eds.), *Stimuli Responsive Polymeric Nanocarriers for Drug Delivery Applications*, I. Woodhead Publishing, pp. 289–320.
- Sebayang, D., Saryanto, H., Sebayang, J., 2022. Strengthening grassroots innovation to produce essential oil in tanah datar. *ICCD* 209–215.
- Sebe, I., Zaidi, L., Zekki, R., 2022. Novel modified vertical diffusion cell for testing of in vitro drug release (IVRT) of topical patches. *HardwareX* 11, e00293.
- Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G.C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., Tundia, R., Sharifi-Rad, M., Lelito, M.R., Ademiluyi, A.O., Sharifi-Rad, R., Ayantunji, S.A., Iriti, M., 2017. Biological activities of essential oils: from plant chemocology to traditional healing systems. *Molecules* 22, 70.
- Sreevarun, M., Ajay, R., Suganya, G., Rakshagan, V., Bhanuchander, V., Suma, K., 2023. Formulation, configuration, and physical properties of dental composite resin containing a novel 2s - 2s photodimerized crosslinker-cinnamyl methacrylate: an in vitro research. *J. Contemp. Dent. Pract.* 24, 364–371.
- Srifuegfung, S., Bunyapraphatsara, N., Suttipatpan, V., Tribuddharat, C., Junyaprasert, V.B., Tungprasasut, W., Setiukh, V., 2020. Antibacterial oral sprays from kaffir lime (Citrus hystrix DC) fruit peel oil and leaf oil and their activities against respiratory tract pathogens. *J. Tradit. Complement. Med.* 10, 594–598.
- Suresh, A., Velusamy, S., Ayyasamy, S., Rathinasamy, M., 2021. Techniques for essential oil extraction from kaffir lime and its application in health care products—a review. *Flavour Fragr. J.* 36, 5–21.
- Tartaro, G., Mateos, H., Schirone, D., Angelico, R., Palazzo, G., 2020. Microemulsion microstructures: a tutorial review. *Nanomaterials* 10, 1657.
- Thakur, N.S., Saleh, N., Khan, A.F., Chakrabarty, B., Agrahari, V., 2024. Progress and promise of photoresponsive nanocarriers for precision drug delivery in cancer. *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* 59, 100665.
- Utchariyakiat, I., Surasmo, S., Jaturanpinyo, M., Khunayaporn, P., Chomnawong, M.T., 2016. Efficacy of cinnamon bark oil and cinnamaldehyde on anti-multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and the synergistic effects in combination with other antimicrobial agents. *BMC Complement. Altern. Med.* 16, 1–7.
- Wik, J., Bansal, K.K., Assmuth, T., Rosling, A., Rosenholm, J.M., 2020. Facile methodology of nanoemulsion preparation using oily polymer for the delivery of poorly soluble drugs. *Drug Deliv. Transl. Res.* 10, 1228–1240.
- Wooster, T.J., Golding, M., Sangsri, P., 2008. Impact of oil type on nanoemulsion formation and oswald ripening stability. *Langmuir* 24, 12758–12765.
- Yan, L., Yang, L., He, H., Hu, X., Xie, Z., Huang, Y., Jiang, X., 2012. Photo-cross-linked mPEG-poly(γ -cinnamyl-L-glutamate) micelles as stable drug carriers. *Polym. Chem.* 3, 1300–1307.
- Yang, J., Xu, H., Wu, S., Ju, B., Zhu, D., Yan, Y., Wang, M., Hu, J., 2017. Preparation and evaluation of microemulsion-based transdermal delivery of Cistanche rubrosa phenylethanoid glycosides. *Mol. Med Rep.* 15, 1109–1116.
- Yano, S., Iwase, T., Shibata, M., Miyamoto, Y., Shimazaki, T., Teramoto, N., 2020. Synthesis of photocrosslinkable copolymers of cinnamoyl group-modified methacrylate and 2-hydroxyethyl methacrylate, and fibroblast cell growth on their thin films. *J. Photopolym. Sci. Technol.* 32, 823–833.
- Zamora Garcia Rojas, D., Gallardo Rivas, N.V., Mendoza de la Cruz, J.L., Salazar Cruz, B. A., Pinaro Garcia, U., 2021. Effect of non-ionic surfactants on the transport properties of an emulsified heavy oil. *Fuel* 300, 120934.
- Zhang, C., Xu, Q., Hou, H., Wu, J., Zheng, Z., Ouyang, J., 2020. Efficient biosynthesis of cinnamyl alcohol by engineered *Escherichia coli* overexpressing carboxylic acid reductase in a biphasic system. *Microb. Cell Factor.* 19, 163.



นำเสนอผลงานในรูปแบบโปสเตอร์ ในการประชุมวิชาการระดับชาติ ภายใต้โครงการปริญญานิเทศการเอกภพ นาภิเชก (คป.) และโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ประจำปี 2566 (The National RGJ and RRI Conferences 2023) จัดขึ้นในงานมหกรรมวิจัยแห่งชาติ 2566 (Thailand Research Expo 2023) ครั้งที่ 18 ระหว่างวันที่ 7-11 สิงหาคม 2566 ณ โรงแรมเซ็นทาราแกรนด์และ ศูนย์ประชุมบางกอกคอนเวนชันเซ็นเตอร์ เซ็นทรัลเวิลด์ กรุงเทพมหานคร



นำเสนอผลงานในรูปแบบการนำเสนอปากเปล่า (Oral presentation) ในงาน International Conference on Biopolymers, Bioplastics, Biotechnology and Bioinformatics .จัดขึ้นในวันที่ 25-26.สิงหาคม.2566 ณ เมืองคิตะกีวชู ประเทศญี่ปุ่น



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – สกุล นางสาวพลอยสุดา แซ่อุ้น
วัน เดือน ปีเกิด 19 มีนาคม 2541
ที่อยู่ เลขที่ 4 หมู่ 7 หมู่บ้านโนนสวรรค์ ตำบลหนองไผ่ อำเภอนองหาน จังหวัด
อุดรธานี 41130
ประวัติการศึกษา ปริญญาตรี คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชา
เทคโนโลยีการอาหารและโภชนาการ สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร
เบอร์โทรศัพท์ 0879447335
อีเมล ploysuda.zaeun@gamil.com

