กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ซึ่งให้ทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภทเงินงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2555 – 2556 และมูลนิธิโทเรเพื่อการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ ประเทศไทย ซึ่งสนับสนุนเงินทุนช่วยเหลือทางด้านวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ครั้งที่ 18 พ.ศ. 2555 รวมทั้ง Mr. Eugene Kilayco คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ช่วยตรวจทานและแก้ไขต้นฉบับภาษาอังกฤษเพื่อตีพิมพ์ลงในวารสารระดับนานาชาติ

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ การพัฒนาแผ่นเส้นใยนาโนสำหรับโครมาโทกราฟีแผ่นบาง
ชื่อผู้วิจัย รศ.ดร.ธีรศักดิ์ โรจนราธา
รศ.ดร.ปราณีต โอปณะโสภิต
หน่วยงานที่สังกัด คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร
งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2555 - 2556
ปีที่เสร็จ พ.ศ. 2557
ประเภทการวิจัย การวิจัยประยุกต์

คำสำคัญ: โครมาโทกราฟีแผ่นบาง นาโนไฟเบอร์ อิเล็กโตรสปินนิง การแยก

เส้นใยนาโนจากเซลลูโลสอะซีเทตซึ่งเป็นอนุพันธ์ของพอลิเมอร์จากธรรมชาติ และมีราคาถูก ถูกเตรียมขึ้นโดยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง เพื่อใช้เป็นวัฏภาคคงที่สำหรับโครมาโทกราฟีแผ่นบาง โดยการสปินสารละลายเซลลูโลสอะซีเทต 17% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งเตรียมในอะซีโตนและเอ็น-เอ็นไดเมทิลอะเซตาไมด์ (2:1 โดยปริมาตร) ด้วยอัตราการพ่นสารละลายออกจากเข็ม 0.6 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ภายใต้สนามไฟฟ้า 17.5 กิโลโวลต์ต่อ 15 เซนติเมตร และใช้อัตราเร็วในการหมุนของดรัมที่รับเส้นใย 350 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ได้เส้นใยที่ปราศจากเม็ดบีด เรียงตัวแบบสุ่มในทุกทิศทาง และสามารถเกาะติดกับแผ่นรองรับได้ดี สามารถนำไปใช้ในการแยกสารสเตียรอยด์ในยาแผนโบราณและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้ โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ซึ่งประกอบด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ ภายในเวลา 30 – 45 นาที นอกจากนี้เพื่อปรับปรุงแผ่นเส้นใยให้ใช้เวลาในการแยกสารที่ลดลง ได้เตรียมเส้นใยในลักษณะเรียงตัวเป็นระเบียบในทิศทางเดียวกัน โดยเพิ่มอัตราเร็วในการหมุนของดรัมที่รับเส้นใยขึ้นเป็น 6,000 รอบต่อนาที และใช้เวลาในการสปิน 6 ชั่วโมงเพื่อให้ได้แผ่นเส้นใยที่มีความหนาเพียงพอ พบว่าเส้นใยดังกล่าวสามารถนำไปใช้ในการตรวจหาไฮโดรควิโนนและกรดเรทิโนอิกในเครื่องสำอางได้ โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ซึ่งประกอบด้วยเมทานอล น้ำ และกรดอะซีติก (65:35:2.5 โดยปริมาตร) ด้วยระยะเวลาในการแยกสารเป็นระยะทาง 5 เซนติเมตรน้อยกว่า 15 นาที ซึ่งเร็วกว่าการแยกสารโดยใช้แผ่นเส้นใยชนิดเรียงตัวแบบสุ่มถึง 2 – 3 เท่า นอกจากนี้จุดของสารที่ปรากฏบนแผ่นเส้นใยชนิดเรียงตัวเป็นระเบียบยังชัดเจนและมีความเข้มมากกว่า ส่งผลให้สามารถตรวจหาสารบนแผ่นเส้นใยชนิดเรียงตัวเป็นระเบียบได้ด้วยตาเปล่า ที่ระดับต่ำกว่าบนแผ่นเส้นใยชนิดเรียงตัวแบบสุ่มถึง 2 เท่า และต่ำกว่าบนแผ่นซิลิกาที่มีจำหน่ายทั่วไปถึง 5 เท่า

Abstract

Research Title	Development of nanofiber mats for thin layer chromatography
Researchers	Associate Professor Theerasak Rojanarata, Ph.D.
	Associate Professor Praneet Opanasopit, Ph.D.
Office	Faculty of Pharmacy, Silpakorn University
Research Grants	Research and Development Institute, Silpakorn University,
	Fiscal Budget of Year 2012 - 2013
Year of completion	2014
Type of research	applied research

Key words: thin layer chromatography, nanofiber, electrospinning, separation

Nanofibers fabricated from cheap, naturally derived biopolymer namely cellulose acetate via electrospinning were applied to use as stationary phase for thin layer chromatography. By electrospinning 17% (w/v) cellulose acetate solution prepared in acetone/*N*,*N*-dimethylacetamide (2:1, v:v), using a feed rate of 0.6 mL/h, electrostatic field strength of 17.5 kV/15 cm and drum collector speed at 350 rpm for 4 h, bead-free, randomly oriented nanofibers with good adherence to the backing plates were obtained. The nanofibers could be used for the separation of steroids adulterated in traditional medicine and nutraceutical products using the mixtures of water and alcohols as mobile phase within 30 – 45 min. To shorten the run time, nanofibers were fabricated in the uniaxial alignment by raising a rotation speed of drum collector to 6,000 rpm. Spin time of 6 h was used to produce the fiber thickness which was adequate for good separation. The nanofibers could be devised for screening hydroquinone and retinoic acid adulterated in cosmetics using mobile phase consisting of 65:35:2.5 methanol/water/acetic acid. It was found that the separation run on the aligned nanofibers over a distance of 5 cm took less than 15 min which was 2-3 times faster than that on the non-aligned ones. Notably, the spot visualization on the aligned nanofibers was more obvious due to the improved intensity and sharpness of spots, leading to the lower limit of detection on the aligned nanofibers for hydroquinone and retinoic acid (2 times lower than that on the non-aligned CA fibers and 5 times lower than that on conventional silica plates).

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อ	ii
Abstract	iii
สารบัญเรื่อง	iv
สารบัญตาราง	v
สารบัญภาพ	vi
บทนำ	1
วิธีดำเนินการวิจัย	4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล	13
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	35
เอกสารอ้างอิง	36
ภาคผนวก การเผยแพร่ผลงานจากโครงการวิจัย	37
ประวัติผู้วิจัย	

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	สมบัติทางกายภาพของสารละลาย cellulose acetate ที่เตรียมโดยใช้ตัวทำละลายซึ่งประกอบด้วย acetone กับ *N*, *N*-dimethylacetamide ในอัตราส่วนต่างๆ	14
ตารางที่ 2	สมบัติทางกายภาพของ acetone และ *N*, *N*-dimethylacetamide	14
ตารางที่ 3	ภาพถ่าย SEM ของเส้นใยที่เตรียมโดยใช้อัตราเร็วในการพ่นสารละลายออกจากเข็มและตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนต่างๆ	16
ตารางที่ 4	ขนาดของเส้นใยและบีดที่เกิดขึ้นในเส้นใยที่เตรียมโดยใช้อัตราเร็วในการพ่นสารละลายออกจากเข็มและตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนต่างๆ	17
ตารางที่ 5	ภาพถ่าย SEM ด้านข้าง แสดงลักษณะและความหนาของชั้นเส้นใยที่ได้จากการเตรียมโดยใช้ระยะเวลาในการสปินและตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนต่างๆ	18
ตารางที่ 6	การละลายของแผ่นเส้นใย cellulose acetate ในตัวทำละลายต่างๆ	20
ตารางที่ 7	เวลาที่ใช้ในการแยกสาร ค่า hR_f และค่า resolution (R_s) ของการแยก dexamethasone และ prednisolone โดยใช้ mobile phase ต่างๆ	22
ตารางที่ 8	ลักษณะของเส้นใยที่ได้จากการใช้ drum collector ซึ่งหมุนด้วยความเร็วที่แตกต่างกัน	26
ตารางที่ 9	ลักษณะการแยกของ prednisolone และ dexamethasone และเวลาที่ใช้บนแผ่นเส้นใย ชนิด aligned เปรียบเทียบกับชนิด non-aligned	28
ตารางที่ 10	ลักษณะการแยก hydroquinone, retinoic acid และวิตามินซี และเวลาที่ใช้บนแผ่นเส้นใยชนิด aligned และ non-aligned	29
ตารางที่ 11	พื้นที่ของจุดของสารที่ปรากฏบนแผ่นชนิด aligned และชนิด non-aligned เมื่อใช้สาร spot ในปริมาณที่เท่ากัน	31
ตารางที่ 12	ค่า plate number ของการแยกสารโดยใช้แผ่นเส้นใยชนิด aligned และ non-aligned และใช้ mobile phase ประกอบด้วย methanol:น้ำ:acetic acid อัตราส่วน 65:35:2.5	32
ตารางที่ 13	ปริมาณต่ำสุดของ hydroquinone และ retinoic acid ที่สามารถเห็นได้บนแผ่น TLC ชนิดต่างๆ	34

สารบัญภาพ

		หน้า
รูปที่ 1	เทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงสำหรับเตรียมแผ่นเส้นใยนาโน	2
รูปที่ 2	การติดตั้งอุปกรณ์สำหรับกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงในห้องปฏิบัติการ	5
รูปที่ 3	การเตรียมตัวอย่างเพื่อถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	3
รูปที่ 4	การเตรียมแผ่นเส้นใยชนิด non-aligned สำหรับใช้งานโครมาโทกราฟีแผ่นบาง	3
รูปที่ 5	โครงสร้างทางเคมีของ prednisolone และ dexamethasone	7
รูปที่ 6	ขั้นตอนการแยกสารด้วยโครมาโทกราฟีแผ่นบาง	7
รูปที่ 7	การติดแผ่นอะลูมิเนียมสำหรับการเตรียมแผ่นเส้นใยชนิด aligned	9
รูปที่ 8	การเตรียมแผ่นเส้นใยชนิด aligned สำหรับใช้งานโครมาโทกราฟีแผ่นบาง	10
รูปที่ 9	โครงสร้างทางเคมีของ hydroquinone, retinoic acid และวิตามินซี	11
รูปที่ 10	วิธีทำให้จุดของสารปรากฏสีโดยใช้ความร้อนจากตู้อบ	11
รูปที่ 11	โครงสร้างทางเคมีของ cellulose acetate	13
รูปที่ 12	ภาพถ่าย SEM ของเส้นใยที่เตรียมจากสารละลาย 17% (w/v) cellulose acetate ในตัวทำละลายซึ่งประกอบด้วย acetone-*N*, *N*-dimethylacetamide ในอัตราส่วน 2:1 , 1:1 และ 1:2 โดยปริมาตร	15
รูปที่ 13	ภาพถ่าย SEM ด้าน top view และ side view ของแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด non-aligned ที่ถูกคัดเลือกไปศึกษาต่อ	19
รูปที่ 14	FTIR spectra ของของสารบริสุทธิ์ cellulose acetate และเส้นใยนาโน cellulose acetate	19
รูปที่ 15	การแยกสารสเตียรอยด์บนแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด non-aligned โดยใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย methanol-น้ำ ในอัตราส่วน 50:50 , 60:40 และ 70:30	21
รูปที่ 16	การแยกสารสเตียรอยด์บนแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด non-aligned โดยใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย ethanol-น้ำ ในอัตราส่วน 40:60, 50:50 และ 60:40	22
รูปที่ 17	ตัวอย่างของผลการแยกสารสเตียรอยด์ที่เจือปนในตัวอย่างบนแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด non-aligned โดยใช้ mobile phase เป็น methanol-น้ำ (60:40) และ ethanol-น้ำ (40:60) เปรียบเทียบกับแผ่นที่เตรียมโดยเกลี่ยผง cellulose acetate	23
รูปที่ 18	การแยกสารสเตียรอยด์บนแผ่น commercial silica gel โดยใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย methanol-น้ำ (60:40) และ dichloromethane-methanol (90:10)	24

รูปที่ 19	ภาพถ่าย SEM แสดงลักษณะเส้นใยเมื่อเตรียมเสร็จใหม่ และหลังจากเก็บไว้นาน 6 เดือนใน desiccator	24
รูปที่ 20	ผลของระยะเวลาในการสปินต่อความหนาของแผ่นเส้นใยชนิด aligned และ non-aligned ซึ่งเตรียมโดยการสปินด้วย drum speed 6,000 และ 350 rpm ตามลำดับ	27
รูปที่ 21	ภาพถ่าย SEM ด้าน top view และ side view ของแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด aligned ที่ถูกคัดเลือกเพื่อนำไปศึกษาต่อ	30
รูปที่ 22	ลักษณะจุดของสารที่ปรากฏบนแผ่นชนิด aligned และบนแผ่นชนิด non-aligned	30
รูปที่ 23	การแยกของสารแสดงด้วยค่า R_f บนแผ่นเส้นใยชนิด aligned เมื่อใช้ mobile phase ที่มีอัตราส่วน methano ต่อน้ำต่างๆ	31
รูปที่ 24	การแยกสารผสม hydroquinone, retinoic acid และวิตามินซี บนแผ่น commercial TLC ชนิด silica gel และ silica gel RP-18	33
รูปที่ 25	ผลการทดสอบความจำเพาะของวิธีวิเคราะห์	34