

2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อพัฒนาวิธีการเตรียมอนุภาคนาโนเล็กจนถึงระดับนาโนเมตรของไคโตซาน และแคลเซียมแอลจินेटที่บรรจุกลูโคซามีน โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการขึ้นรูปอนุภาค และประสิทธิภาพในการบรรจุกลูโคซามีนเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสูตรสำหรับที่มีส่วนผสมของอนุภาคที่บรรจุกลูโคซามีนดังกล่าวที่สามารถนำไปใช้ในการบำบัดโรคข้อเสื่อมต่อไป

3. ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.1 ค้นหาข้อมูล เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

3.2 วิเคราะห์สมบัติพื้นฐานของไคโตซานที่นำมาศึกษา ได้แก่ มวลโมเลกุล และ degree of deacetylation (DD) ของไคโตซาน

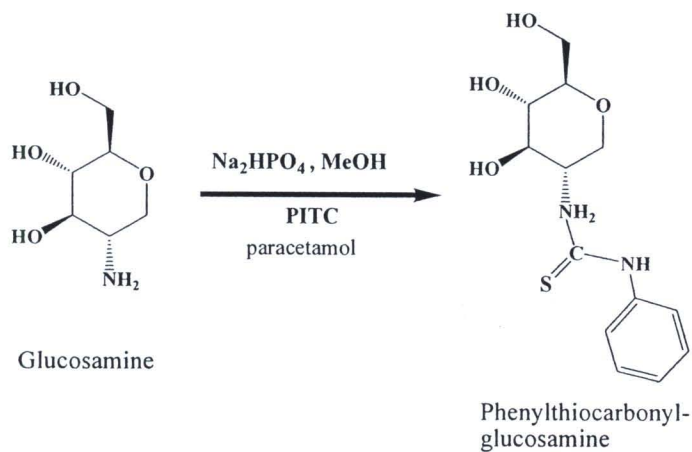
3.3 สังเคราะห์อนุพันธ์ที่มีประจุบวกถาวรของไคโตซาน 2 ชนิด คือ *N,N,N*-trimethylammonium chitosan chloride (TMC) และ *N*-[(2-hydroxyl-3-trimethylammonium)propyl]chitosan chloride (HTCC) ที่มีปริมาณประจุบวกต่าง ๆ กัน

3.4 เตรียมอนุภาคนาโนด้วยเทคนิคไอโอโนโทรปีคเจลเลชั่น โดยหยดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (0.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ลงในสารละลายแอลจินेट (0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ภายใต้การกวนอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 30 นาที และทำการโซนิเคชั่นที่ระยะเวลาต่างๆ จากนั้นหยดสารละลายไคโตซานปริมาตร 4 มิลลิลิตรลงในสารแขวนลอยอนุภาคนาโน โดยอนุภาคจะเกิดขึ้นในขณะที่หยดสารละลายไคโตซานลงไปของผสมและกวนอย่างต่อเนื่องอีก 30 นาที ก่อนที่จะไว้น้ำขึ้นเพื่อให้เกิดสมดุลและทำการตรวจสอบสมบัติ หลังจากนั้นแยกอนุภาคนาโนโดยใช้เครื่องอัลตราเซนตริฟิวจ์ (ล้างด้วยน้ำ 1 ครั้ง) และทำแห้งด้วยเทคนิคทำแห้งเยือกแข็ง (สำหรับการบรรจุกลูโคซามีนนั้นจะทำการผสมกลูโคซามีนในสารละลายแอลจินेटก่อน แล้วจึงหยดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ลงในสารละลายแอลจินेटหรือผสมกลูโคซามีนลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ แล้วจึงหยดสารละลายผสมลงในสารละลายแอลจินेटตามวิธีที่กล่าวไว้ข้างต้น) โดยศึกษาตัวแปรต่อไปนี้

- เวลาของการโซนิเคตสารละลายผสมของแคลเซียมคลอไรด์และสารละลายแอลจินेट ดังนี้ 0, 10, 20, 30, และ 60 นาที
- น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน ได้แก่ 71, 180, 220, 300, และ 583 กิโลดาลตัน
- ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ประจุบวก

3.5 วิเคราะห์สมบัติของอนุภาคนาโน ดังนี้

- วิเคราะห์พื้นฐานวิทยาและขนาดของอนุภาคโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน
- วิเคราะห์หาขนาดและค่าศักย์ซีต้าของอนุภาคด้วยเครื่อง zeta sizer
- วิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีนในอนุภาคนาโน โดยนำอนุภาคที่ได้หลังการทำแห้งเยือกแข็งมาทำปฏิกิริยากับ phenylisothiocyanate เกิดเป็นอนุพันธ์ดังสมการในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 สมการการสังเคราะห์ Phenylthiocarbonyl-glucosamine จากกลูโคซามีน

จากนั้นวิเคราะห์สารที่ได้ด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีของ Tekko และคณะ [9] และคำนวณประสิทธิภาพการกักเก็บกลูโคซามีนและปริมาณกลูโคซามีนต่อน้ำหนักของอนุภาคจากสูตร

$$\text{ประสิทธิภาพการกักเก็บสาร (\%)} = \frac{\text{ปริมาณกลูโคซามีนในอนุภาคที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นที่ได้}} \times 100$$

$$\text{ปริมาณกลูโคซามีนต่อน้ำหนักของอนุภาค (\%)} = \frac{\text{ปริมาณกลูโคซามีนในอนุภาคที่วิเคราะห์ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งของอนุภาค}}$$

