

## รายงานอ้างอิง

- [1] W. M. Weber, L. A. Hunsaker, S. F. Abcouwer, Lorraine M. Deck, and L. Vandert Jagt. 2005. "Anti-oxidant activities of curcumin and related enones". *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **13**, 3811 - 3820.
- [2] I. Higuera-Ciajara, L. Felix-Valenzuela, F. M. Goycoolea, and W. Arguelles-Monal. 2004. "Microencapsulation of astaxanthin in a chitosan matrix". *Carbohydrate polymer*, **56**, 41 - 45.
- [3] B. Krajewska. 2004. "Membrane-based processes performed with use of chitin/chitosan materials". *Separation and Purification Technology*.
- [4] M.N.V. Ravi Kumar, U. Bakowsky, and C.M. Lehr. 2004. "Preparation and characterization of cationic PLGA nanospheres as DNA carriers". *Biomaterials*, **25**, 1771 - 1777.
- [5] Y. Xu, Y. Du. 2003. "Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles". *International journal of pharmaceutics*, **250**, 215 - 226.
- [6] J.A. Ko, H.J. Park, S.J. Hwang, J.B. Park, and J.S. Lee. 2002. "Preparation and characterization for controlled drug delivery". *International journal of pharmaceutics*, **249**, 165 - 174.
- [7] A. J. Ribeiro, Ronald J. Neufeld, Philippe Arnaud, and Jean C. Chaumeril. 1999. "Microencapsulation of lipophilic drugs in chitosan – coated alginate microspheres". *International journal of pharmaceutics*, **187**, 115
- [8] K. bouchemal, S. Briancon, E. Perrier, H. Fessi, I. Bonnet, and N. Zydowicz. 2004. "Synthesis and characterization of polyurethane and poly(ether urethane) nanocapsules using a new technique of interfacial polycondensation combined to spontaneous emulsification". *International journal of pharmaceutics*, **269**, 89 - 100.
- [9] ปรีญญา อรุโณทยานันท์ และคณะ. 2547. "รายงานสรุปการพัฒนาสมุนไพรไทย ขมิ้นชัน ด้วยนาโนเทคโนโลยี". สถาบันวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม.
- [10] วิเชียร กิรตินิจกาล. 2548. "รายงานสรุปการวิจัยทางพันธุกรรมของพืช" สถาบันวิจัยและพัฒนา แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [11] G. P. Lim, T. Chu, F. Yang, W. Beech, S.A. Frautschy, and G.M. Cole. 2001. "The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse". *The Journal of Neuroscience*, **21**, 8370 - 8377.

- [12] D. D. Heath, M. A. Pruitt, D. E. Brenner, and C. L. Rock. 2003. "Curcumin in plasma and urine: quantitation by high-performance liquid chromatography". *Journal of chromatography B*, **783**, 287 - 295.
- [13] J. S. Wright. 2002. "Predicting the antioxidant activity of curcumin and curcuminoids". *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, **591**, 207 - 217.
- [14] R. Hiserodt, T. G. Hartman, Chi-Tang Ho, and Robert T. Rosen. 1996. "Characterization of powdered turmeric by liquid chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry". *Journal of chromatography A*, **470**, 51 - 63.
- [15] S. Dutta, S. Padhye, K. I. Priyadarsini, and C. Newton. 2005. "Antioxidant and antiproliferative activity of curcumin semicarbazone". *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **15**, 2738 - 2744.
- [16] G. R. Pillai, A. S. Srivastava, T. I. Hassanein, D. P. Chauhan, and E. Carrier. 2004. "Induction of apoptosis in human lung cancer cells by curcumin". *Cancer Letters*, **208**, 163 - 170.
- [17] B. Krajewska. 2004. "Application of chitin-based materials for enzyme immobilizations : a review". *Enzyme and Microbial Technology*, **35**, 126 - 139.
- [18] ปรียา อาตม์ยะนันท์. "ไมโครเอนแคปซูลชัน". ตำราประกอบการสอนวิชาเภสัชอุตสาหกรรม. คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [19] I. Brigger, C. Dubernet, and P. Couvreur. 2002. "Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis". *Advanced Drug Delivery Reviews*. **54**, 631 - 651
- [20] พิมพ์ ลีลาพรพิสิฐ. 2540. "อิมัลชันทางเครื่องสำอาง". กรุงเทพฯ : โอ.เอส.พรีนติ้ง เฮ้าส์.
- [21] K. Bouchemal, S. Briancon, E. Perrier, and H. Fessi. 2004. "Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification:solvent, oil and surfactant optimisation". *International journal of pharmaceutics*, **280**, 241 - 251.
- [22] พรทิพย์ นิมมานนิตย์. 2543. "อิมัลชัน". เอกสารประกอบการสอนวิชาเภสัชอุตสาหกรรม. คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [23] J. Nunthanid. 2004. "Characterization of chitosan acetate as a binder for sustained release tablets ". *Journal of controlled release*, **99**, 15 - 26.
- [24] J. Senior and M. Radomsky. 2000. "Sustained - Release Injectable Products ". Interpharm Press Denver, Colorado.
- [25] S. Shen. 2004. "Fabrication and characterizations of a novel drug delivery device liposomes - in - microsphere (LIM)". *Biomaterials*, **25**, 5181 - 5189.



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ก.

ผลการวัดการกระจายขนาดด้วยเครื่อง Nanosizer

ศูนย์วิจัยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตาราง ก1 ค่าเฉลี่ยของขนาดของนาโนแคปซูลในอิมัลชัน (Core to Wall ratio 1:4, 2% w/v Span 80 และ 2% w/v Tween 80)

Formulation	Chitosan (% w/v)	TPP(w/v)	Span 80: Tween 80	ขนาดของอนุภาค (nm) ที่วัด			
				ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
1	2.0	0.7	50/50	534.2	511.5	545.0	530.2
2			60/40	388.9	401.7	362.0	384.2
3			70/30	348.9	345.6	374.5	356.3
4		1.0	50/50	522.6	534.3	606.0	554.3
5			60/40	399.8	422.2	398.5	406.8
6			70/30	353.5	383.6	399.1	378.7
7		1.5	50/50	407.0	407.9	385.1	400.0
8			60/40	384.8	418.1	417.1	406.7
9			70/30	342.8	381.0	365.0	362.9
10	2.5	0.7	50/50	371.7	404.4	427.9	401.3
11			60/40	395.7	404	407.9	402.5
12			70/30	384.2	432.6	449.8	422.2
13		1.0	50/50	417.7	434.5	455.2	435.8
14			60/40	414.1	391.2	414.6	406.6
15			70/30	472.1	469.4	485.3	475.6
16		1.5	50/50	441.2	394.0	476.6	437.3
17			60/40	366.5	386.7	376.8	376.7
18			70/30	381.5	416.3	395.9	397.9
19	3.0	0.7	50/50	423.8	426.1	446.3	432.1
20			60/40	488	511.2	520.5	506.6
21			70/30	478.5	465.2	485.3	476.3
22		1.0	50/50	420.7	431.4	468.4	440.2
23			60/40	471.9	473.7	524.6	490.1
24			70/30	478.5	498.2	473.6	483.4
25		1.5	50/50	379.6	340.4	370.2	363.4
26			60/40	411.9	425.1	457.8	431.6
27			70/30	435.4	455.1	462.7	451.1

ตาราง ก2 ค่าเฉลี่ยของขนาดของนาโนแคปซูลในอิมัลชัน (Core to Wall ratio 1:3)

Formulation	Chitosan (% w/v)	TPP(w/v)	Span 80: Tween 80	ขนาดของอนุภาค (nm) ที่วัด			
				ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
28	2.0	0.7	50/50	330.7	298.1	302.8	310.5
29			60/40	293.4	300.7	339.1	311.1
30			70/30	283.4	295	271.8	283.4
31		1.0	50/50	286.5	289	287.9	287.8
32			60/40	287.3	307.5	304.2	299.7
33			70/30	287.6	304	296	295.9
34		1.5	50/50	275	282.1	278.9	278.7
35			60/40	288.8	306.9	299.1	298.3
36			70/30	299.4	318.6	313.4	310.5
37	2.5	0.7	50/50	287.2	288.8	273.9	283.3
38			60/40	301.9	283.8	277.8	287.8
39			70/30	302	308.3	310.5	306.9
40		1.0	50/50	295.6	304.7	294.2	298.2
41			60/40	297.5	288.3	295.6	293.8
42			70/30	310.8	326.1	314.1	317.0
43		1.5	50/50	288.3	278.5	274	280.3
44			60/40	263.9	266	288.3	272.7
45			70/30	310.4	301.6	303.3	305.1
46	3.0	0.7	50/50	343	320.5	329.3	330.9
47			60/40	314	343	305.2	320.7
48			70/30	406.7	431.2	407.3	415.1
49		1.0	50/50	322	322.8	313	319.3
50			60/40	339	339.5	364.7	347.7
51			70/30	364	372.3	363.3	366.5
52		1.5	50/50	297.2	312.1	311.8	307.0
53			60/40	294.5	295.1	297.9	295.8
54			70/30	390.5	350.6	374.5	371.9

ตาราง ก3 ค่าเฉลี่ยของขนาดของนาโนแคปซูลในอิมัลชัน (Core to Wall ratio 1:4)

Formulation	Chitosan (% w/v)	TPP(w/v)	Span 80: Tween 80	ขนาดของอนุภาค (nm) ที่วัด			
				ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
55	2.0	0.7	50/50	337.4	351.8	327.1	338.8
56			60/40	368.1	351.1	357.1	358.8
57			70/30	342.0	359.2	397.4	366.2
58		1.0	50/50	301.2	324.4	335.2	320.3
59			60/40	385.3	374.1	369.5	376.3
60			70/30	329.4	331.7	356.5	339.2
61		1.5	50/50	312.3	348.7	328.0	329.7
62			60/40	397.6	439.0	408.9	415.2
63			70/30	294.9	332.1	285.1	304.0
64	2.5	0.7	50/50	254.5	263.0	252.0	256.5
65			60/40	262.2	263.5	273.9	266.5
66			70/30	270.0	315.0	284.4	289.8
67		1.0	50/50	239.7	264.2	270.4	258.1
68			60/40	239.7	264.2	270.4	258.1
69			70/30	281.1	314.3	318.5	304.6
70		1.5	50/50	250.0	268.1	266.8	261.6
71			60/40	252.4	278.1	276.3	268.9
72			70/30	267.3	284.0	264.6	272.0
73	3.0	0.7	50/50	282.8	265.6	280.0	276.1
74			60/40	257.0	262.7	286.3	268.7
75			70/30	283.4	270.7	286.1	280.1
76		1.0	50/50	251.5	253.5	270.5	258.5
77			60/40	323.0	317.5	320.0	320.2
78			70/30	288.5	278.3	292.5	286.4
79		1.5	50/50	238.7	246.1	276.7	253.8
80			60/40	283.4	270.7	286.1	280.1
81			70/30	272.7	306.9	273.1	284.2



ตาราง ก4 ค่าเฉลี่ยของขนาดของนาโนแคปซูลในอิมัลชัน (Core to Wall ratio 1:5)

Formulation	Chitosan (% w/v)	TPP(w/v)	Span 80: Tween 80	ขนาดของอนุภาค (nm) ที่วัด			
				ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
82	2.0	0.7	50/50	335.8	364.2	352.1	350.7
83			60/40	325.9	319.7	359.5	335.0
84			70/30	356.0	365.8	368.7	363.5
85		1.0	50/50	348.5	355.6	346.8	345.9
86			60/40	375.2	357.9	369.5	367.5
87			70/30	335.4	338.9	364.7	346.3
88		1.5	50/50	342.8	349.6	345.0	345.8
89			60/40	368.5	352.4	398.4	373.1
90			70/30	398.8	344.6	305.8	349.7
91	2.5	0.7	50/50	265.1	269.3	256.4	263.6
92			60/40	263.5	286.6	300.5	283.5
93			70/30	285.9	305.1	300.1	297.0
94		1.0	50/50	278.6	264.8	278.5	274.0
95			60/40	265.9	256.4	278.5	266.9
96			70/30	269.8	278.6	312.6	287.0
97		1.5	50/50	345.3	325.6	356.9	342.6
98			60/40	356.7	312.6	325.7	331.7
99			70/30	328.7	345.1	348.9	340.9
100	3.0	0.7	50/50	346.5	345.6	329.6	340.6
101			60/40	375.6	369.8	345.8	363.7
102			70/30	365.7	369.8	398.4	378.0
103		1.0	50/50	327.5	354.9	355.8	346.1
104			60/40	365.4	355.8	345.6	355.6
105			70/30	356.9	368.7	378.1	367.9
106		1.5	50/50	305.6	311.0	314.6	310.4
107			60/40	312.5	324.7	326.7	321.3
108			70/30	326.8	345.9	352.1	341.6

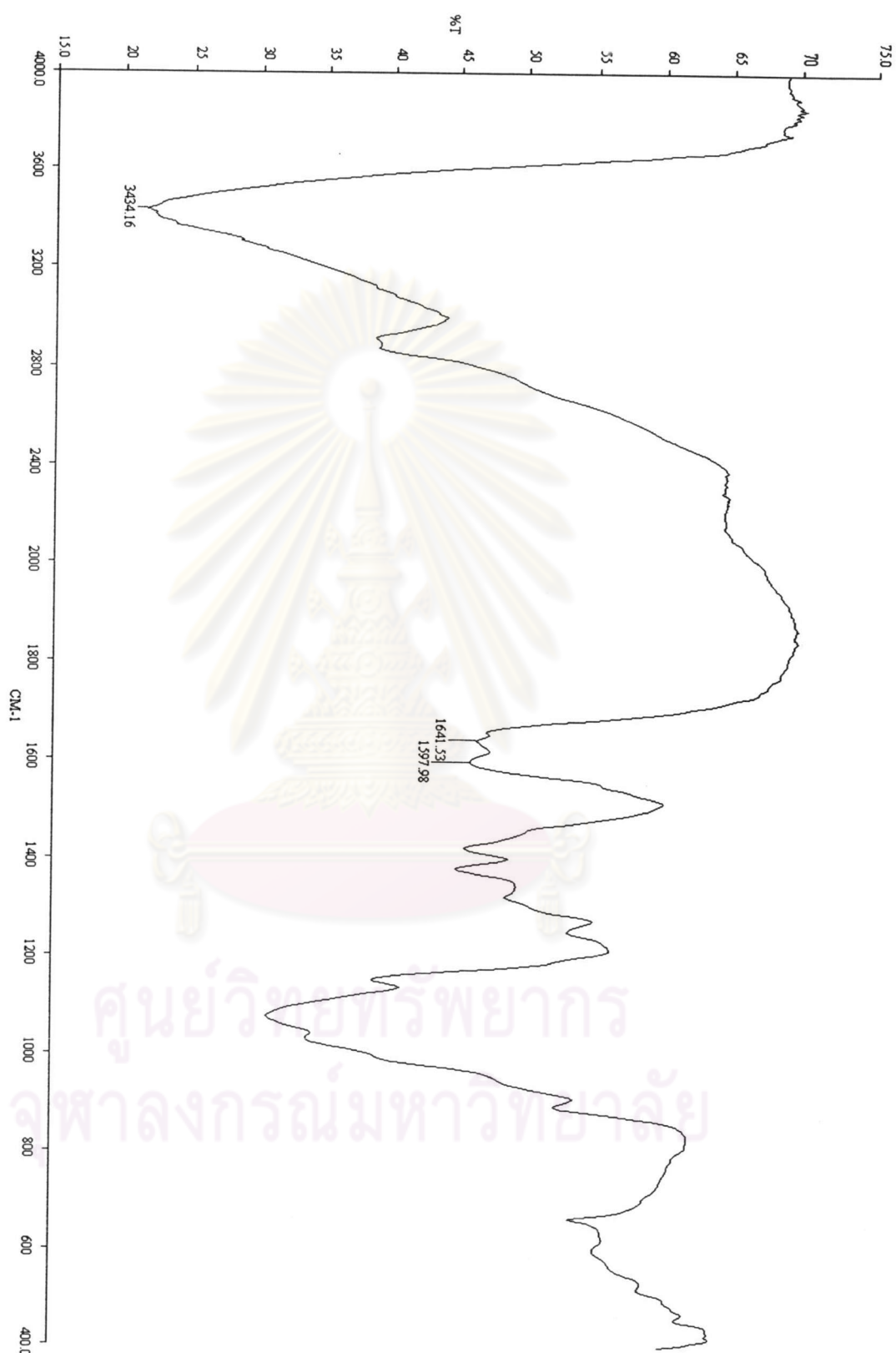


ภาคผนวก ข.

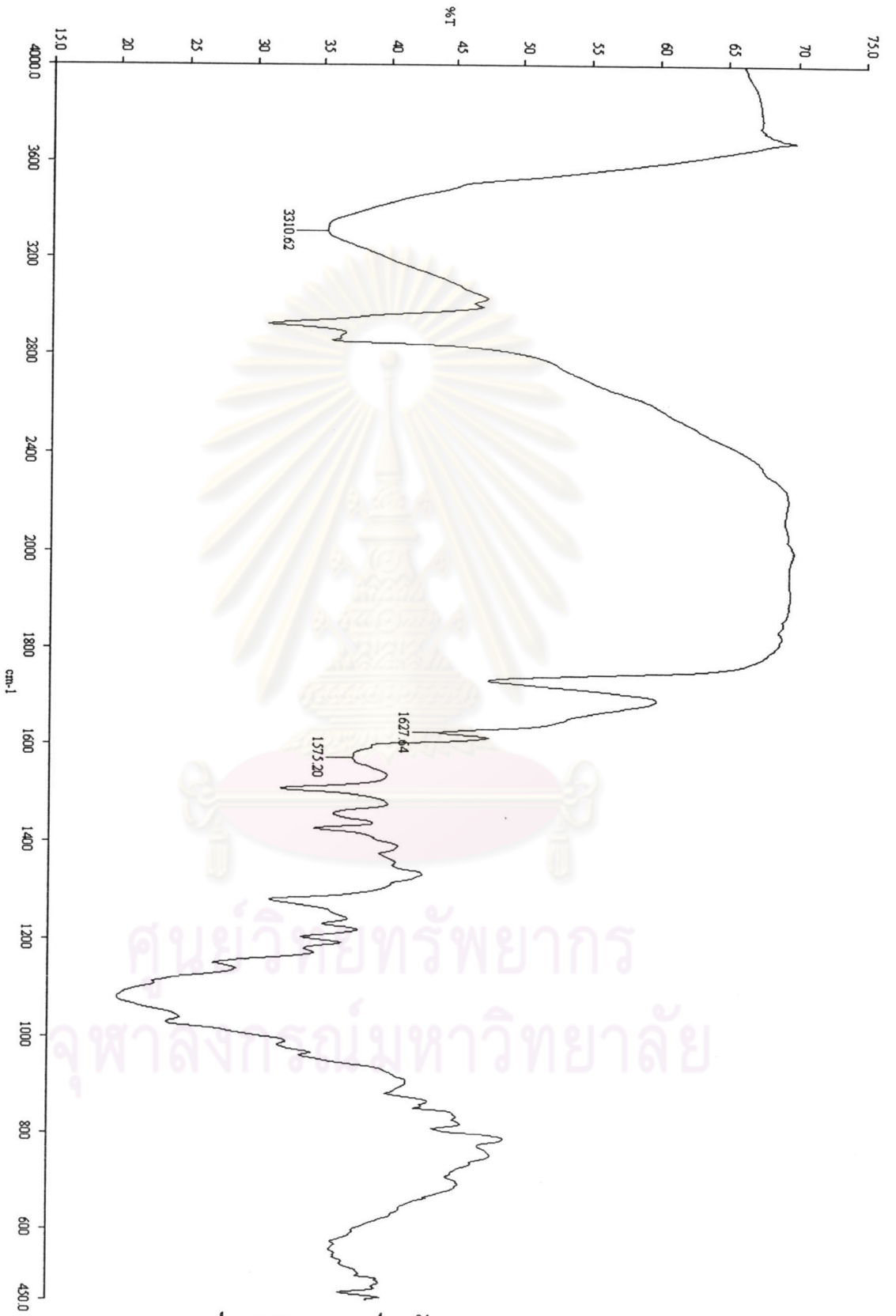
FT-IR

ศูนย์วิจัยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

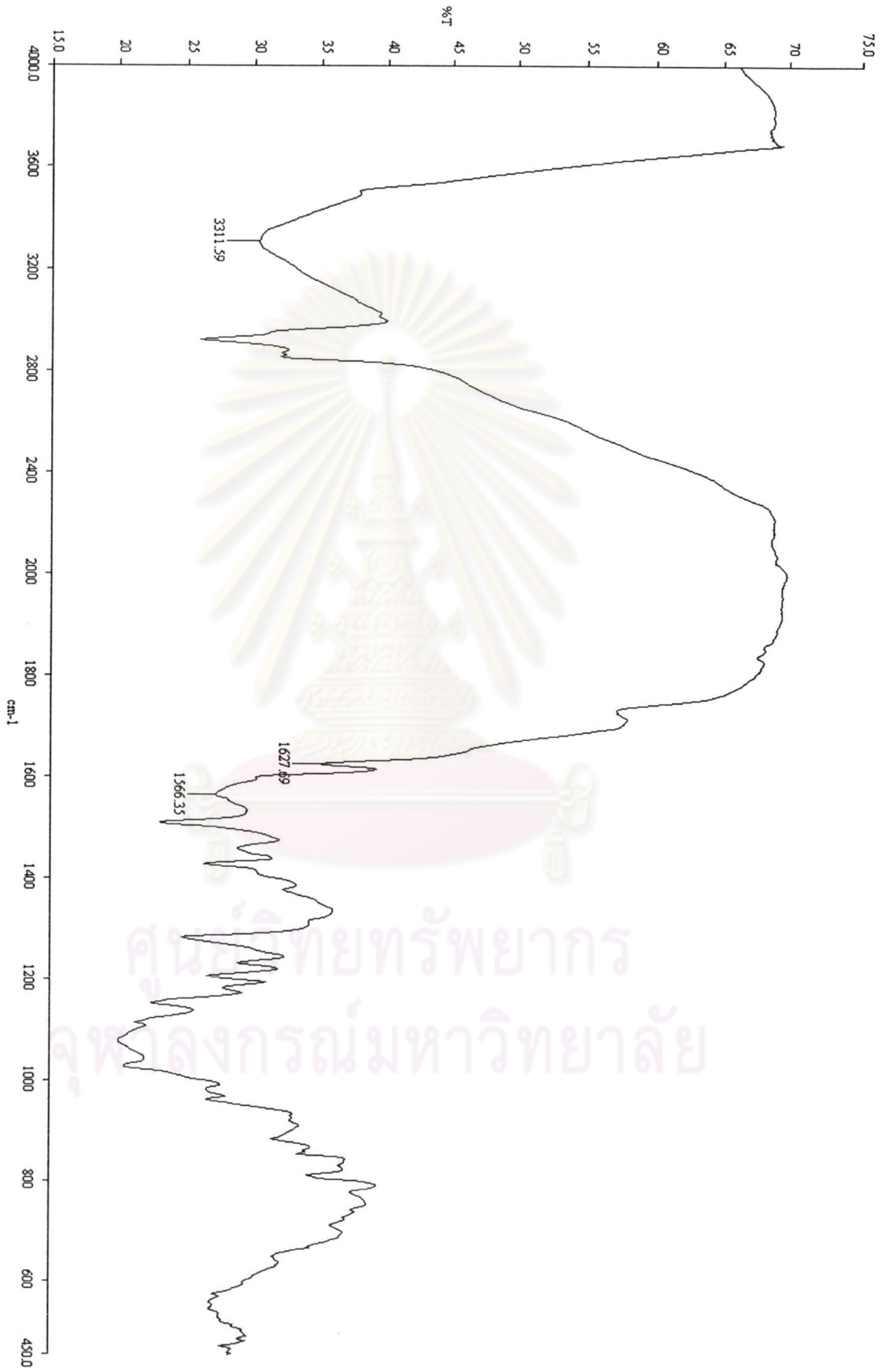




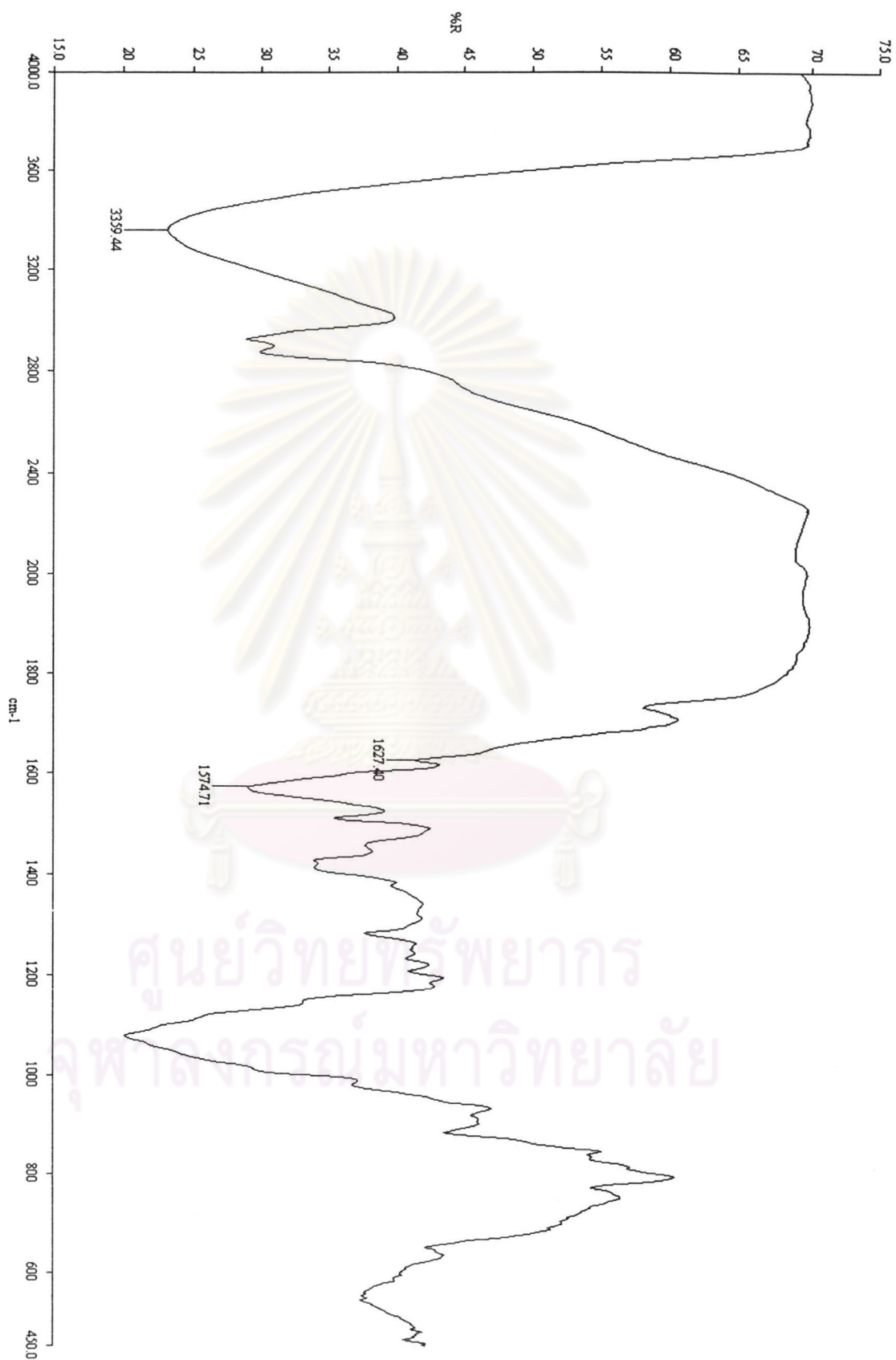
รูป ข1 FT-IR สเปกตรัมของโคโคซานบริสท์



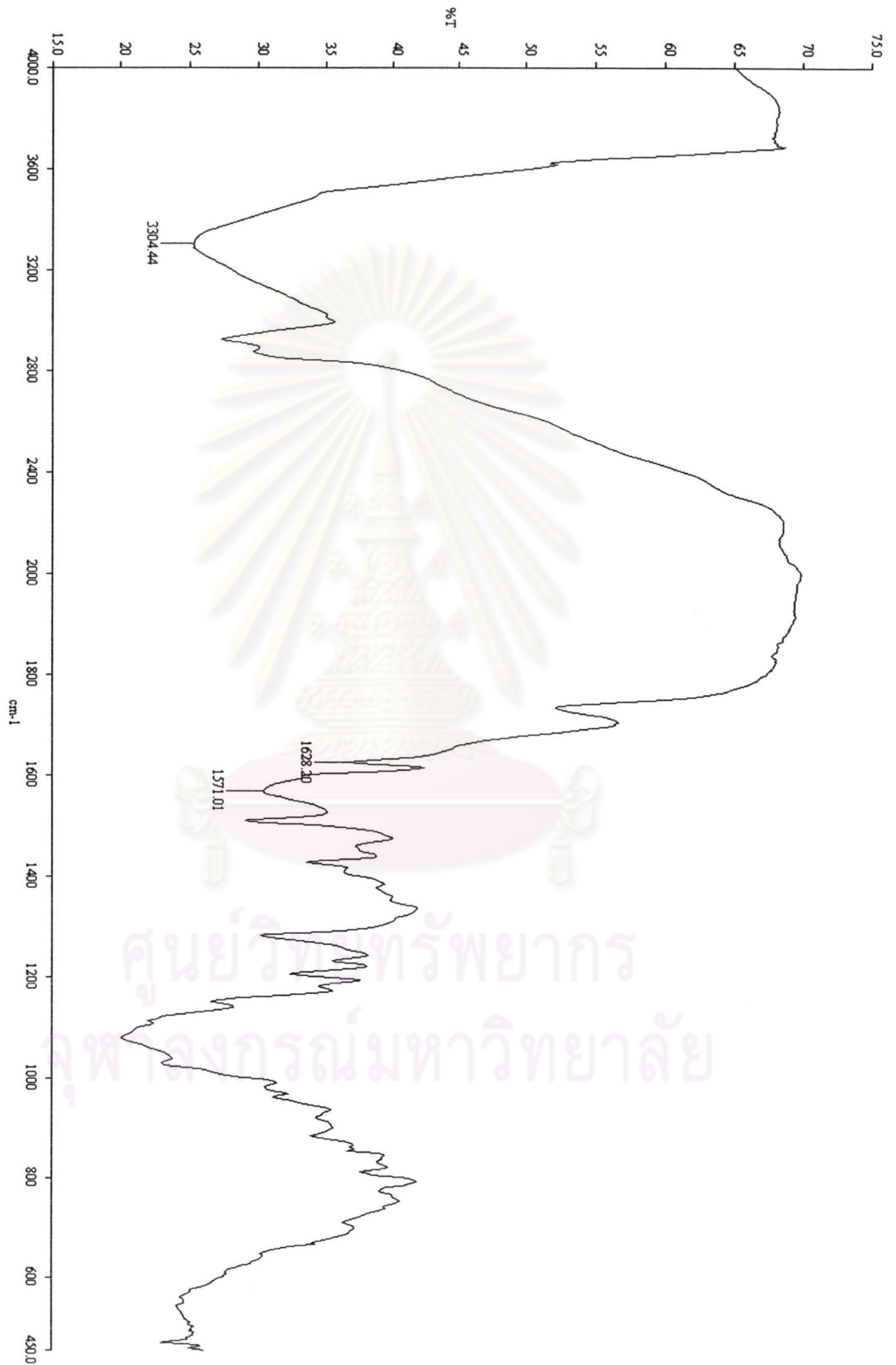
รูป ข 2 FT-IR สเปกตรัมของ Formulation 28



รูป ข3 FT-IR สเปกตรัมของ Formulation 43

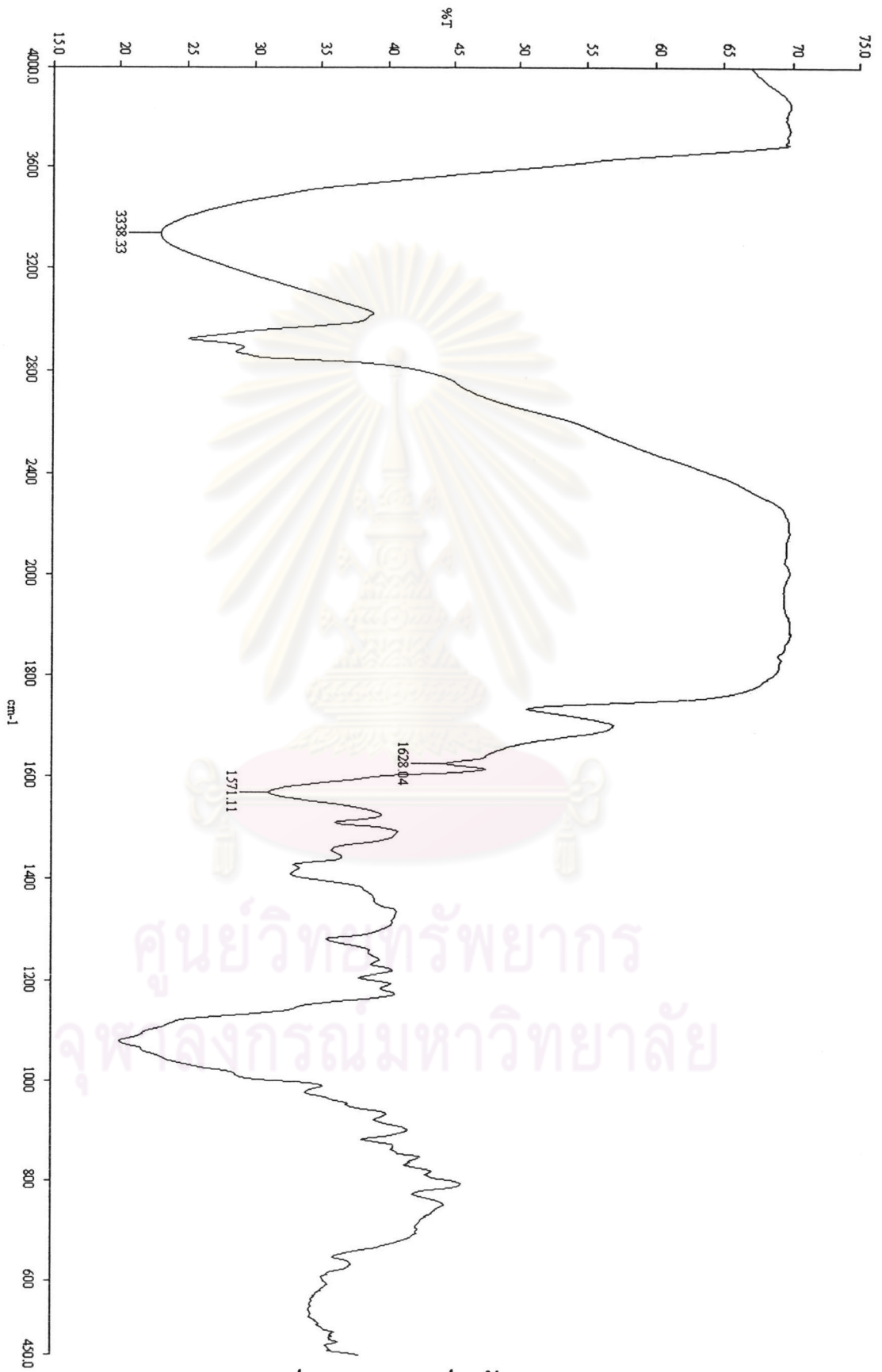


รูป ข4 FT-IR สเปกตรัมของ Formulation 62

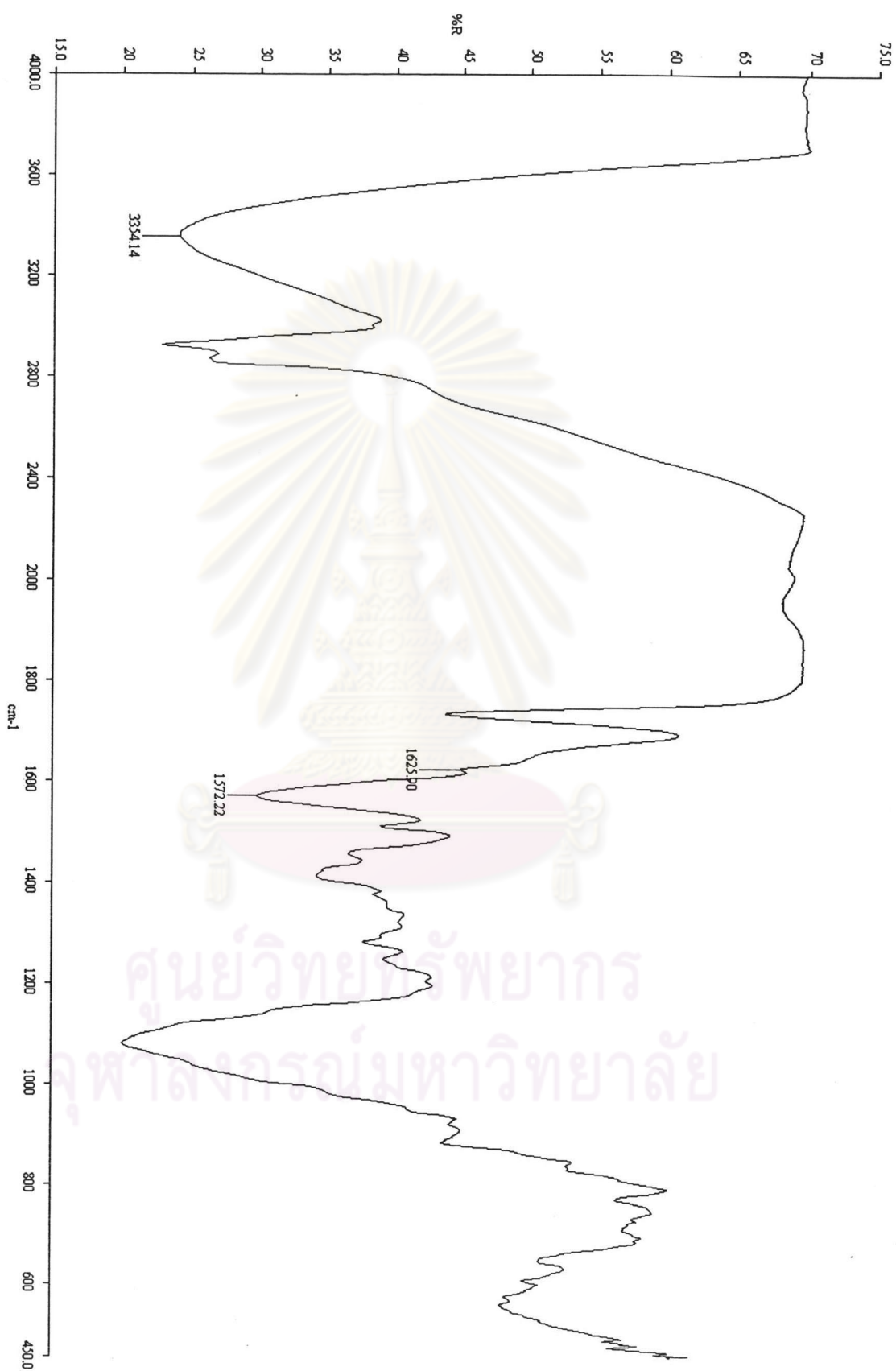


รูป ข5 FT-IR สเปกตรัมของ Formulation 70

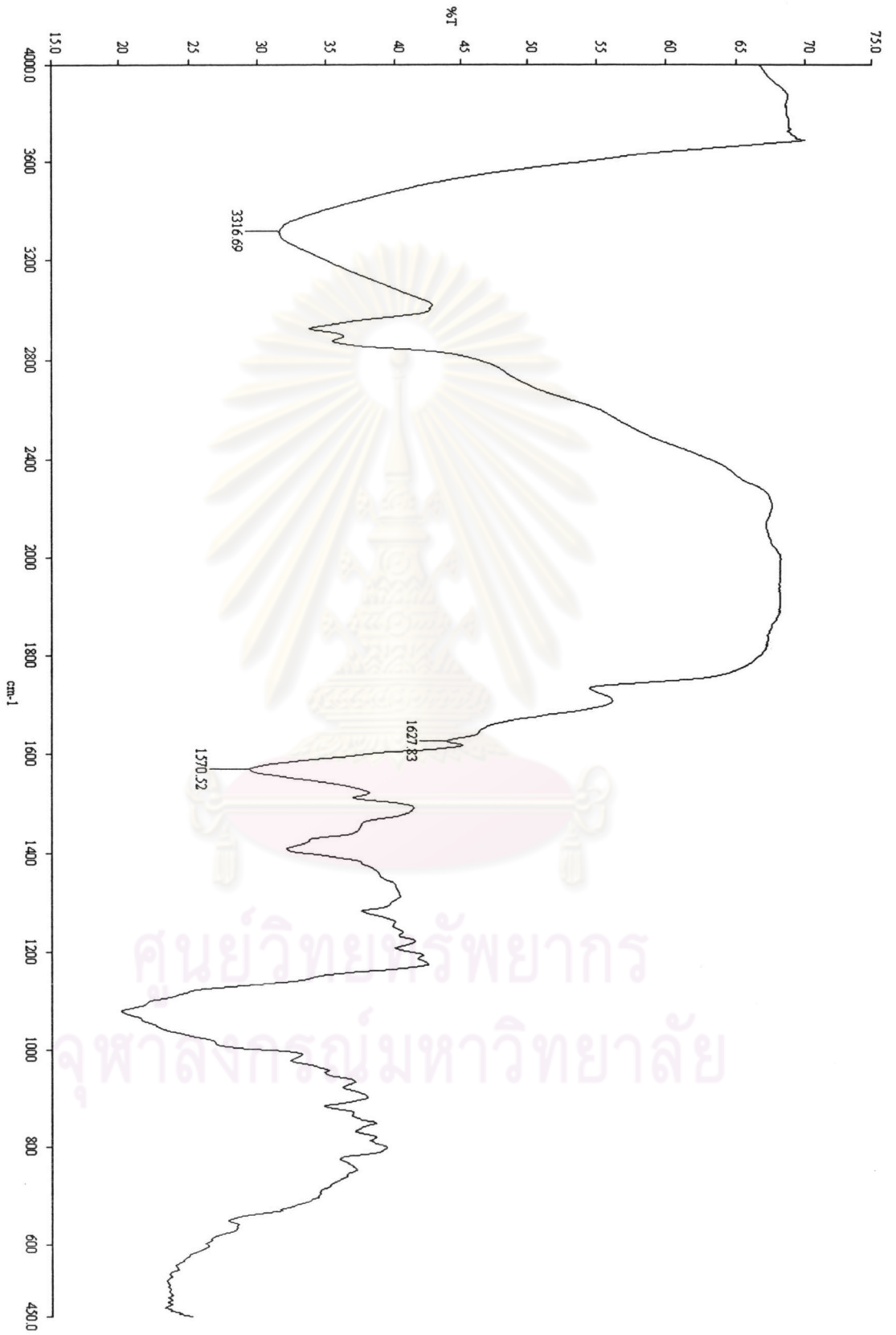




รูป ข6 FT-IR สเปกตรัมของ Formulation 71



รูป ข7 FT-IR สเปกตรัมของ Formulation 79



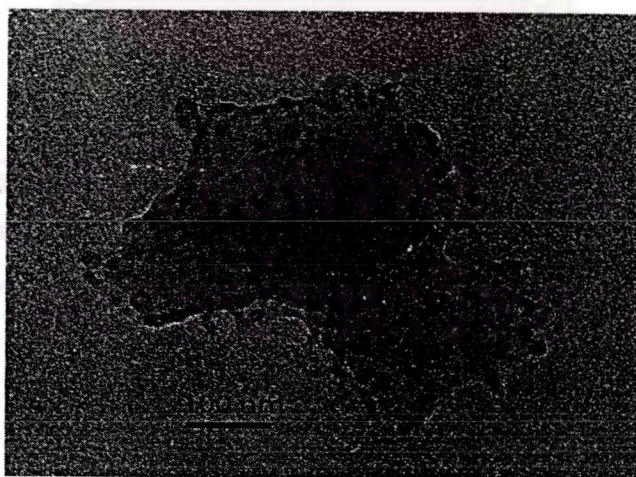
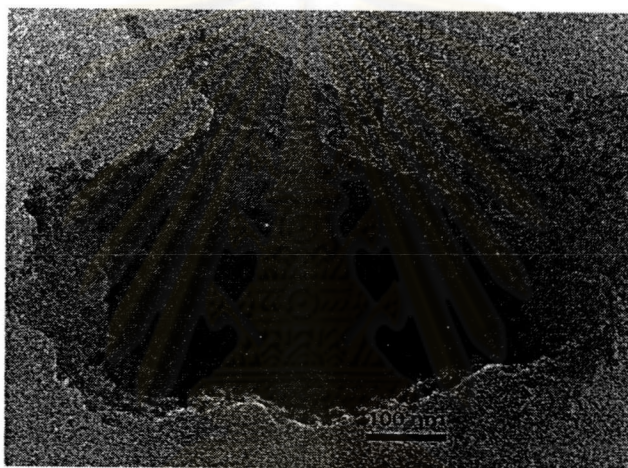
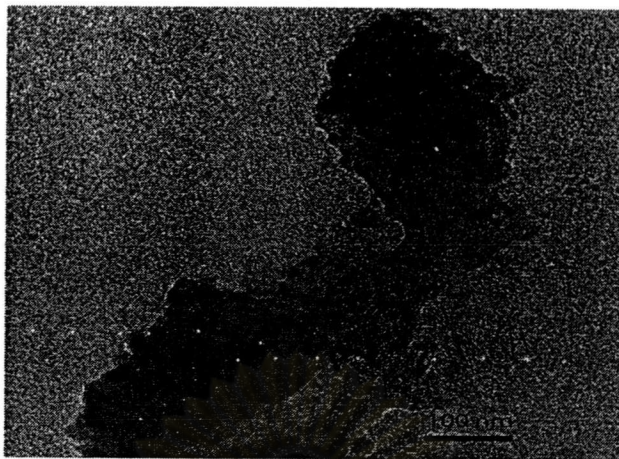
รูป ข8 FT-IR สเปกตรัมของ Formulation 80



ภาคผนวก ค.

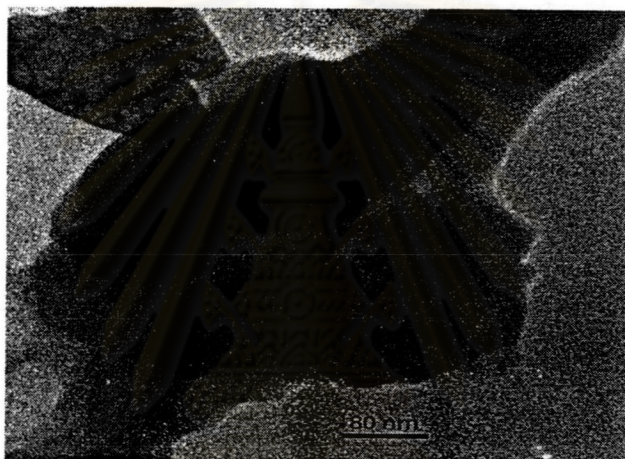
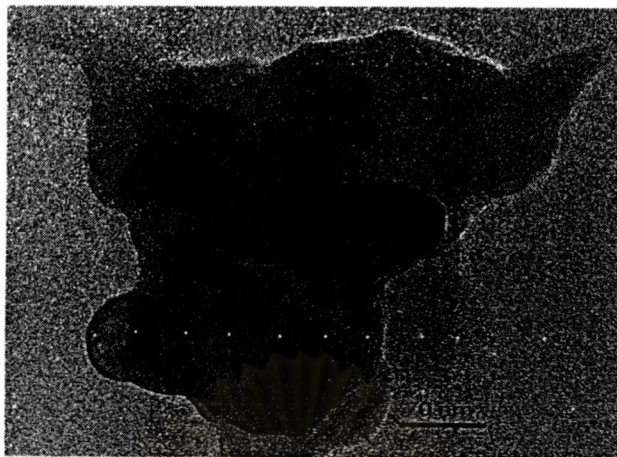
ภาพถ่าย TEM ของนาโนแคปซูล

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

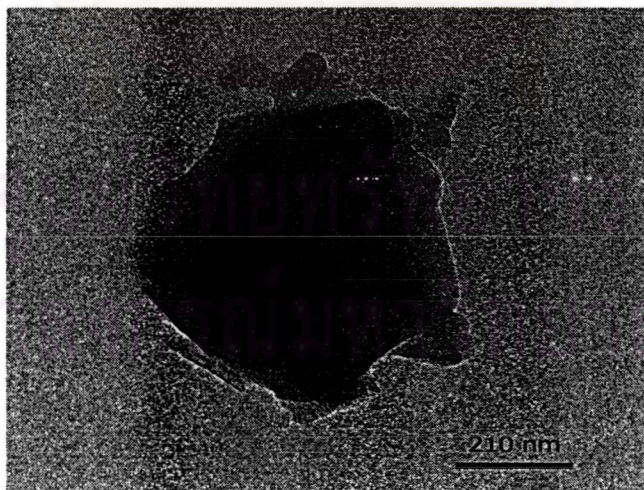
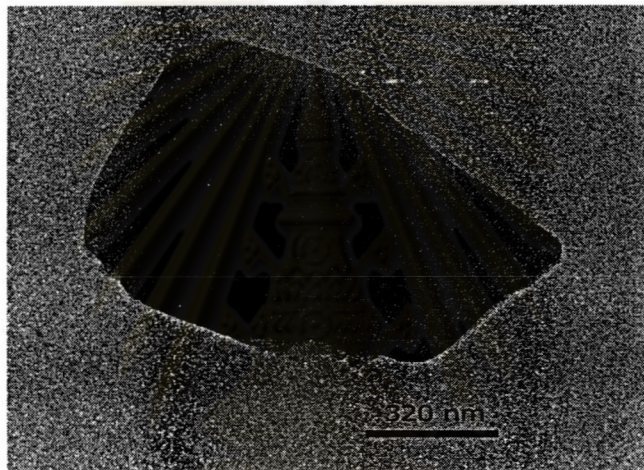
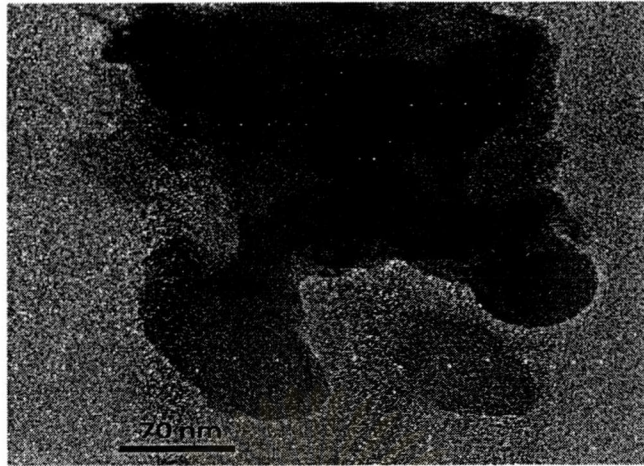


รูปที่ ค1 ภาพถ่าย TEM ของนาโนแคปซูล Formulation 28



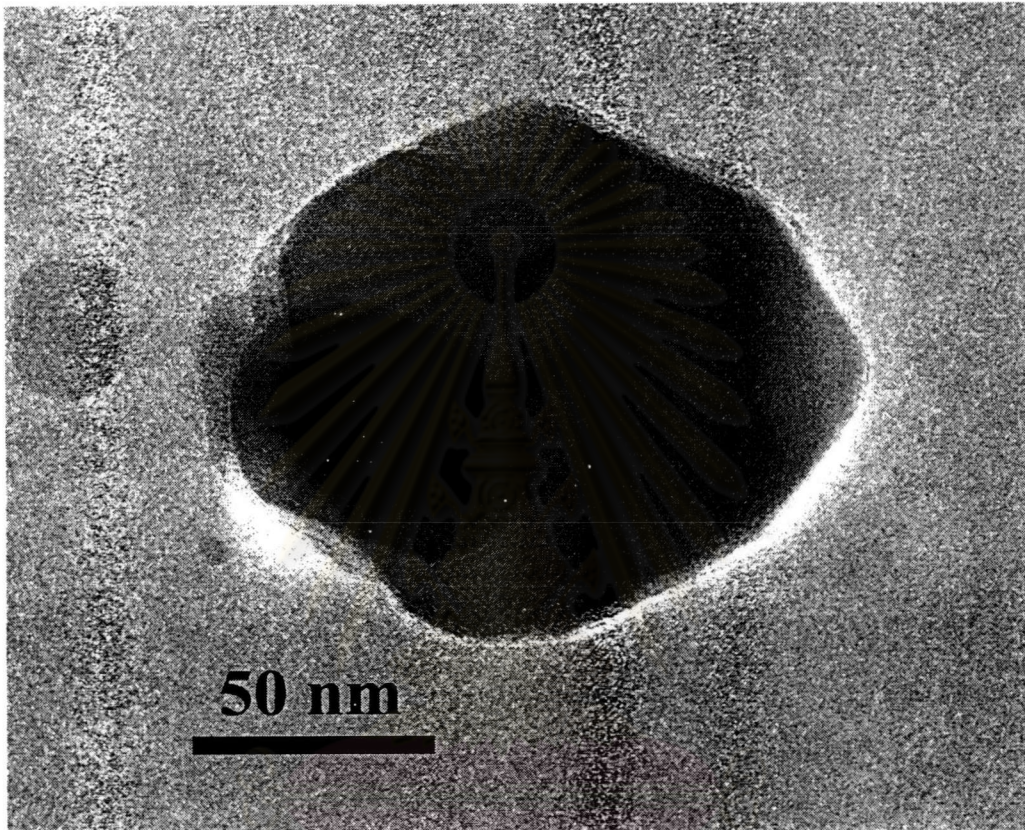


รูปที่ ค2 ภาพถ่าย TEM ของนาโนแคปซูล Formulation 43



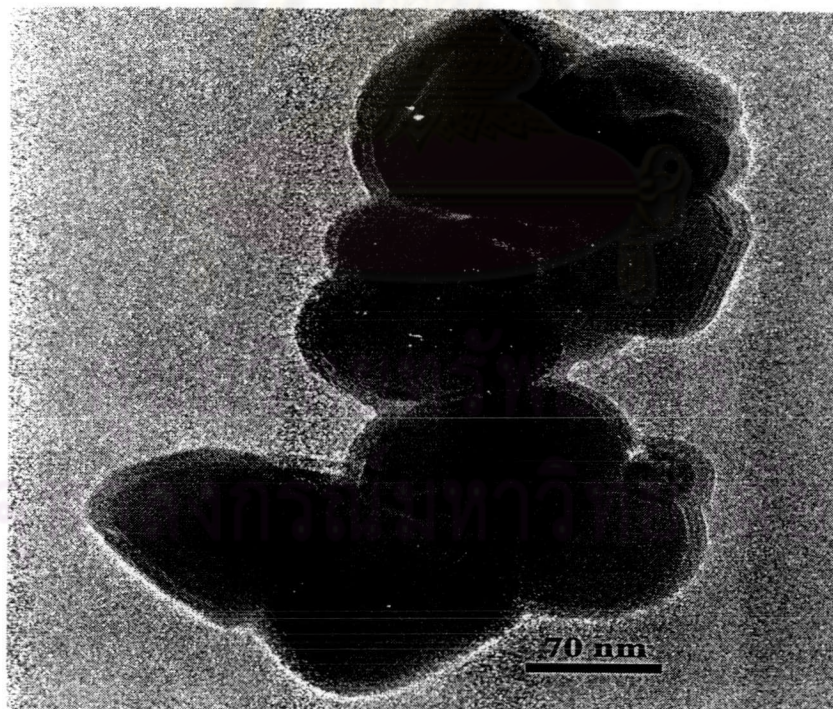
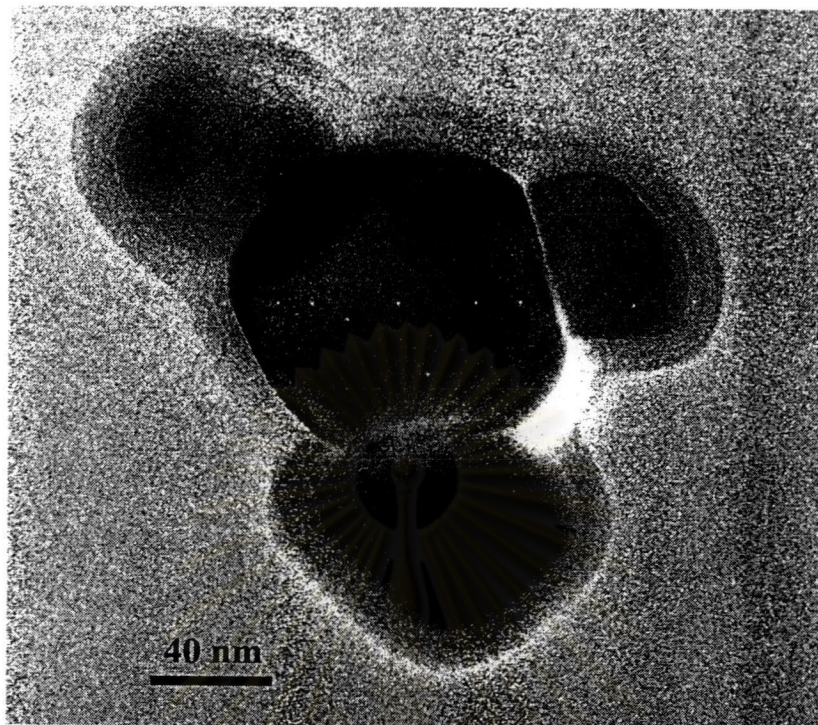
รูปที่ ค3 ภาพถ่าย TEM ของนาโนแคปซูล Formulation 62





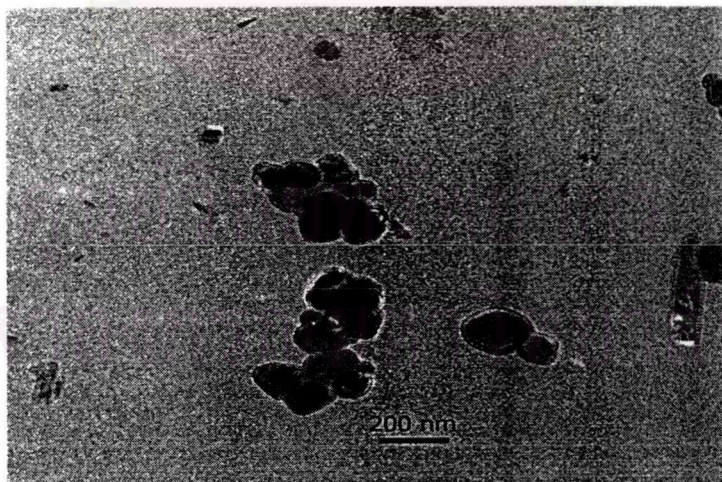
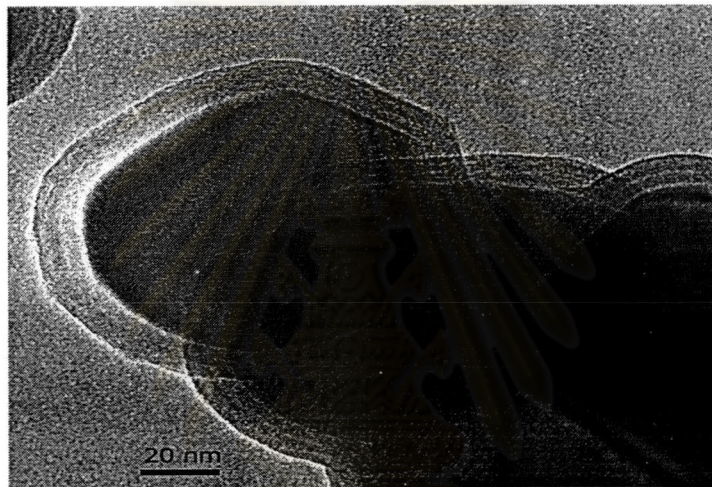
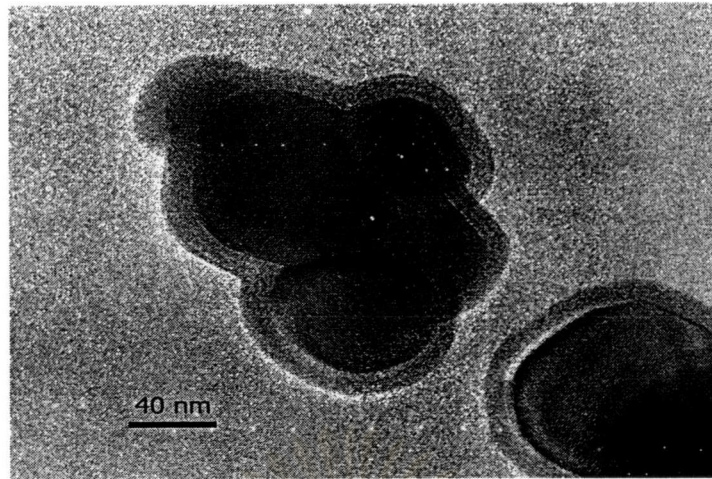
ศูนย์วิทยทรัพยากร  
รูปที่ ค4 ภาพถ่าย TEM ของนาโนแคปซูล Formulation 70  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





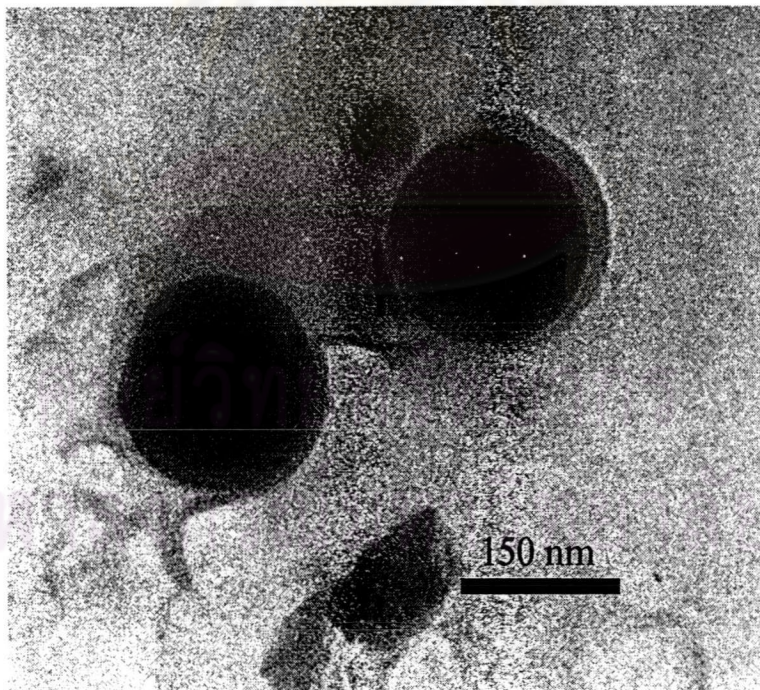
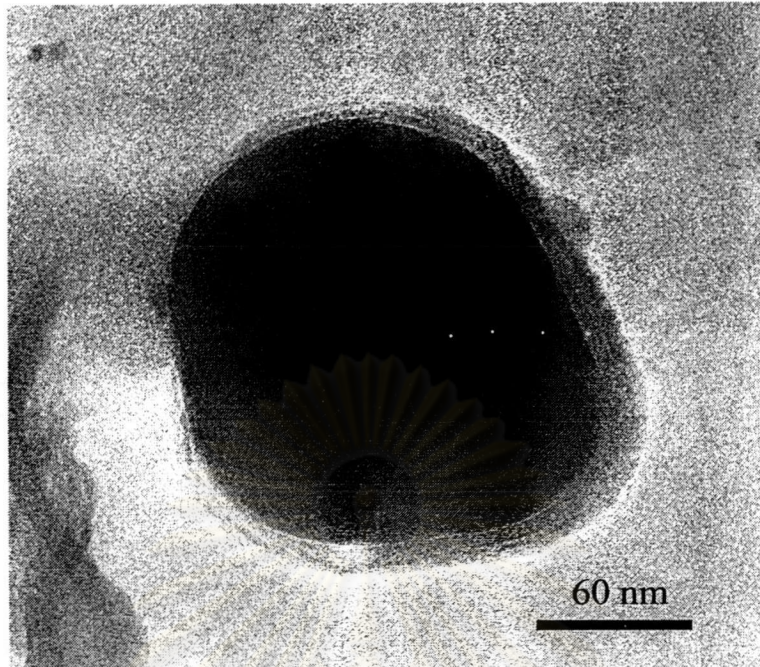
รูปที่ ค5 ภาพถ่าย TEM ของนาโนแคปซูล Formulation 71





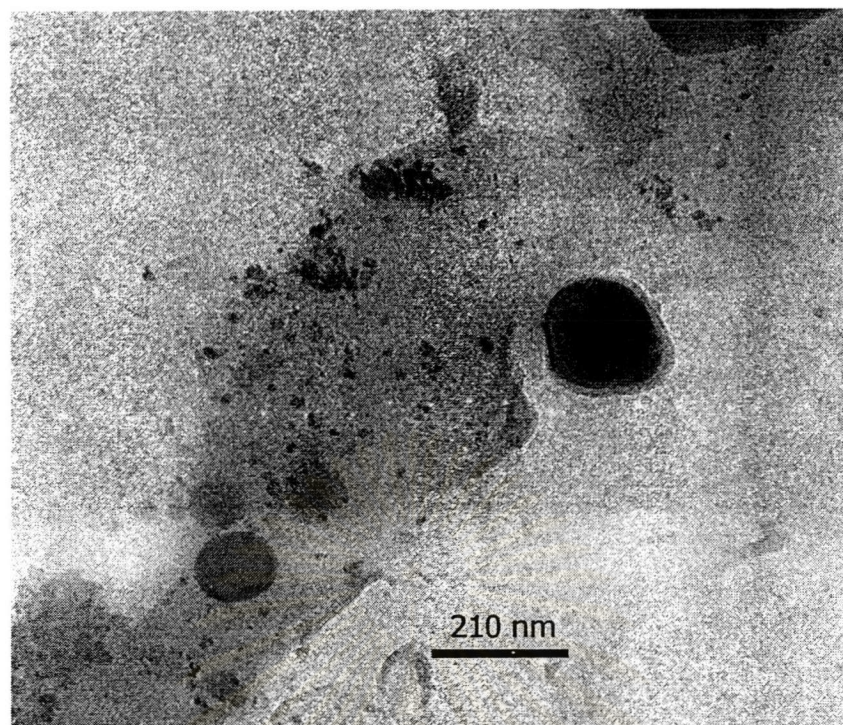
รูปที่ ค5 (ต่อ) ภาพถ่าย TEM ของนาโนแคปซูล Formulation 71





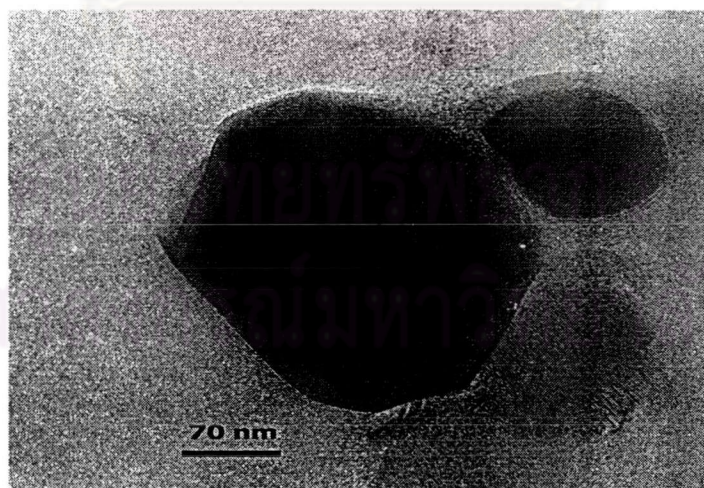
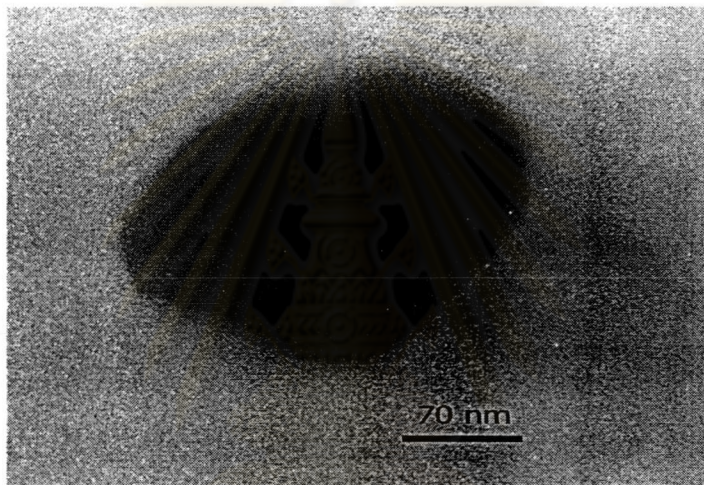
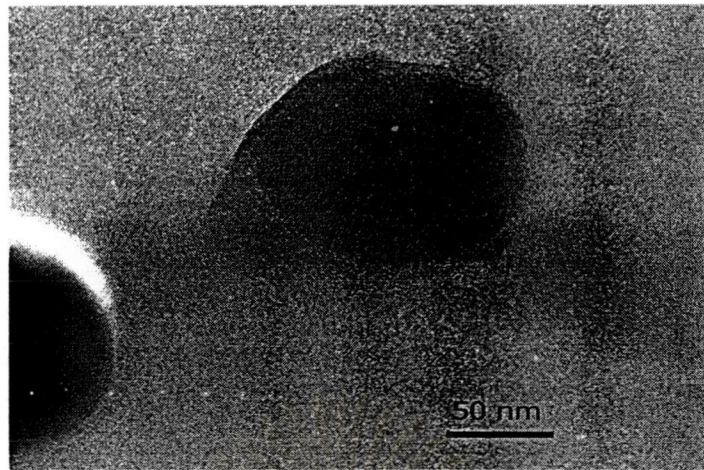
รูปที่ ค6 ภาพถ่าย TEM ของนาโนแคปซูล Formulation 79





รูปที่ ๓๖ (ต่อ) ภาพถ่าย TEM ของนาโนแคปซูล Formulation 79





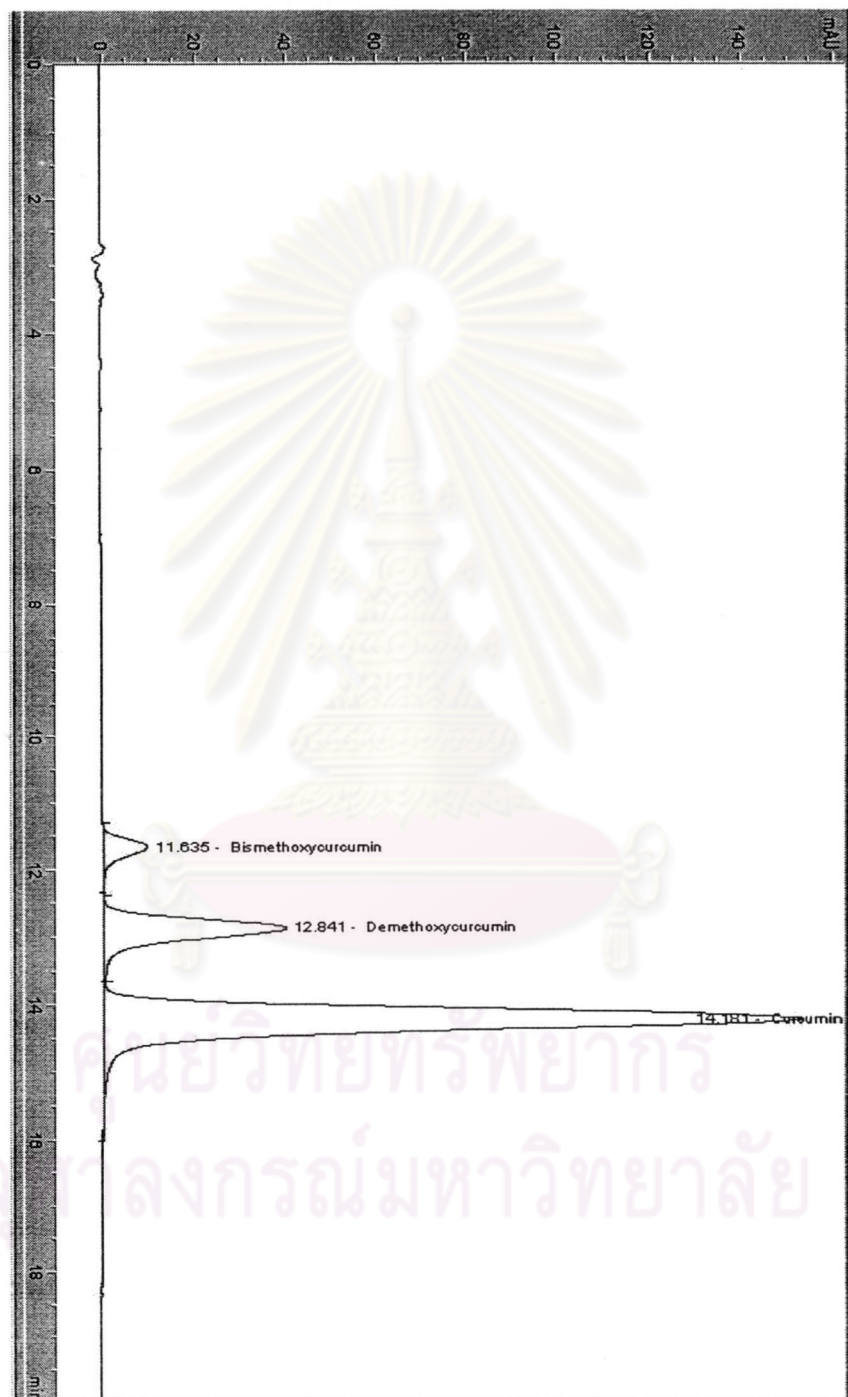
รูปที่ ๓7 ภาพถ่าย TEM ของนาโนแคปซูล Formulation 80



ภาคผนวก ง.

กราฟมาตรฐานของเคอร์คูมิน ด้วยเครื่อง HPLC

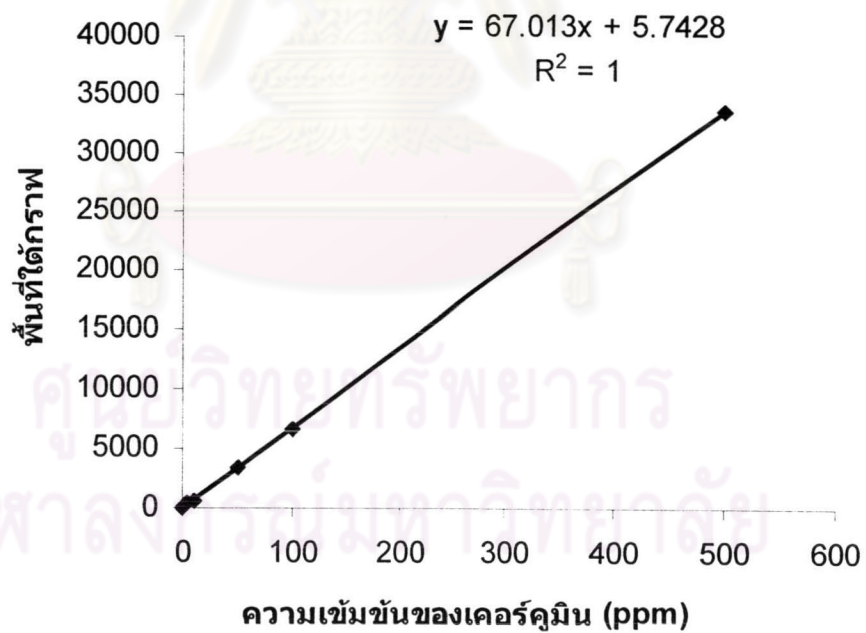
ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูป ๓1 Chromatogram ของเคอร์คูมินอยด์  
ด้วย เครื่อง HPLC

ตาราง ง1 ข้อมูลกราฟมาตรฐานของเคอร์คูมิน

Standard solution no.	ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้กราฟ
1	0	0.0000
2	0.5	31.3073
3	1	67.4742
4	5	336.0821
5	10	663.9371
6	50	3457.9834
7	100	6636.9384
8	500	33516.5000



รูป ง2 กราฟมาตรฐานสำหรับหาความเข้มข้นของเคอร์คูมินวิเคราะห์โดย HPLC





ภาคผนวก จ.

ผลการปลดปล่อยเคอร์คูมินจากนาโนแคปซูล

ศูนย์วิจัยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง จ 1 ผลการปลดปล่อยเคอร์คูมินออกจากนาโนแคปซูล Formulation 28 43 62 70 71 79 และ 80 ตามลำดับ

(hr)	% Curcumin released									
	Formulation 28	Formulation 43	Formulation 62	Formulation 70	Formulation 71	Formulation 79	Formulation 80			
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			
1	16.38	48.52	3.61	12.10	40.10	14.91	16.74			
2	19.51	52.64	6.08	12.63	42.05	18.72	19.40			
4	24.13	54.71	3.08	14.42	45.42	21.96	21.63			
6	27.61	57.78	3.83	15.09	49.35	24.50	24.53			
8	26.75	61.09	4.31	16.78	41.69	26.40	24.07			
10	28.54	57.54	13.75	15.66	42.25	28.67	24.05			
12	27.64	51.89	16.42	17.69	39.83	30.20	23.09			
14	28.54	45.41	15.27	17.63	39.08	30.40	22.78			
16	26.10	45.84	14.19	17.35	35.60	30.03	24.76			
18	20.66	45.44	12.09	17.62	37.43	30.61	22.20			
20	21.14	43.28	12.64	17.56	36.67	30.78	21.87			
22	19.35	43.29	11.75	17.23	36.20	31.78	20.28			
24	19.59	43.64	10.70	17.56	35.79	31.87	19.45			

ตาราง จ2 ผลการปลดปล่อยเคอร์คูมินจากนาโนแคปซูลสำหรับ Formulation 79 (No.3)

Time (min)	ความเข้มข้น (ppm)	ปริมาณยา (ไมโครกรัม)	% release
0	0	0	0
5	8.00	80.00	10.30
10	8.49	92.90	11.96
15	9.24	108.89	14.01
30	9.65	122.23	15.73
45	9.95	134.88	17.36
60	9.12	136.53	17.57
90	10.59	160.35	20.64
120	9.74	162.44	20.91
180	10.70	181.78	23.40
240	10.74	192.88	24.82
360	10.93	205.52	26.45
480	10.43	211.45	27.21
600	10.36	213.18	27.44
720	10.23	213.75	27.51
1440	10.15	213.94	27.53

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ฉ.

ค่าการคำนวณ  $N_p$   $V_{inside}$   $S_{total}$

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



**คำนวณจากไคโตซาน น้ำหนัก 1 กรัม**

**ตาราง น1** แสดงค่าการคำนวณ  $N_p$   $V_{inside}$   $S_{total}$  ที่ผนังไคโตซานหนา 5 นาโนเมตร

$d_p$ (nm)	$N_p$ (เม็ด)	$V_{inside}$ (nm) <sup>3</sup>	$S_{total}$ (nm) <sup>2</sup>
500	2.59941E+14	1.60045E+22	2.04054E+20
400	4.08209E+14	1.26723E+22	2.05084E+20
300	7.31838E+14	9.34087E+21	2.06817E+20
250	1.06098E+15	7.67574E+21	2.08218E+20
200	1.6747E+15	6.01139E+21	2.10342E+20

**ตาราง น2** แสดงค่าการคำนวณ  $N_p$   $V_{inside}$   $S_{total}$  ที่ผนังไคโตซานหนา 10 นาโนเมตร

$d_p$ (nm)	$N_p$ (เม็ด)	$V_{inside}$ (nm) <sup>3</sup>	$S_{total}$ (nm) <sup>2</sup>
500	1.32623E+14	7.67574E+21	1.04109E+20
400	2.09337E+14	6.01139E+21	1.05171E+20
300	3.78532E+14	4.34865E+21	1.06973E+20
250	5.52582E+14	3.51851E+21	1.08444E+20
200	8.81378E+14	2.69004E+21	1.10701E+20

**ตาราง น3** แสดงค่าการคำนวณ  $N_p$   $V_{inside}$   $S_{total}$  ที่ผนังไคโตซานหนา 20 นาโนเมตร

$d_p$ (nm)	$N_p$ (เม็ด)	$V_{inside}$ (nm) <sup>3</sup>	$S_{total}$ (nm) <sup>2</sup>
500	6.90727E+13	3.51851E+21	5.42221E+19
400	1.10172E+14	2.69004E+21	5.53506E+19
300	2.02762E+14	1.86503E+21	5.73005E+19
250	3.00256E+14	1.45522E+21	5.89252E+19
200	4.89454E+14	1.04918E+21	6.14754E+19

ตาราง ๓4 แสดงค่าการคำนวณ  $N_p$   $V_{inside}$   $S_{total}$  ที่ผนังโคโคซานหนา 50 นาโนเมตร

$d_p$ (nm)	$N_p$ (เม็ด)	$V_{inside}$ (nm) <sup>3</sup>	$S_{total}$ (nm) <sup>2</sup>
500	3.1325E+13	1.04918E+21	2.45902E+19
400	5.1644E+13	7.2973E+20	2.59459E+19
300	1.0057E+14	4.21053E+20	2.84211E+19
250	1.55986E+14	2.7551E+20	3.06122E+19
200	2.72975E+14	1.42857E+20	3.42857E+19



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ข.

การเสนอผลงานทางวิชาการของงานวิจัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## การเสนอผลงานทางวิชาการ

### ประชุมทางวิชาการ ระดับชาติ

**1. N., Sowasod, T., Charinpanitkul, and W. Tanthapanichakoon** “Nanoencapsulation of Curcumin in Biodegradable Chitosan via Multiple Emulsion/Solvent Evaporation”, Proceedings of Thailand Materials Science and Technology Conference 4<sup>th</sup>(MSAT) , pp. 221 - 223. March 31 - April 1, 2006, Thailand.



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## Nanoencapsulation of Curcumin in Biodegradable Chitosan via Multiple Emulsion/Solvent Evaporation

**Nataporn Sowasod**<sup>1,\*</sup>, and Tawatchai Charinpanitkul<sup>1</sup>, Wiwut Tanthapanichakoon<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Center of Excellence in Particle Technology, Department of Chemical Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

Phone 0-2218-6899, Fax. 0-2218-6899, E-Mail: [ctawat@chula.ac.th](mailto:ctawat@chula.ac.th)

<sup>2</sup> National Nanotechnology Center, NSTDA, Phatumthani 12120

Phone 0-2564-6984, Fax.0-2564-6985, E-Mail: [wiwut@nanotcc.or.th](mailto:wiwut@nanotcc.or.th)

\* Corresponding E-mail: [noo\\_pun22@hotmail.com](mailto:noo_pun22@hotmail.com)

### Abstract

Curcumin extract was nanoencapsulated in chitosan cross-linked with tripolyphosphate (TPP) via multiple emulsion/solvent evaporation technique as a potential controlled release system and the resulting nanocapsules were characterized. The charged water phase to oil phase ratio, initial chitosan concentration, the ratio of Span 80 to Tween 80 surfactants, and TPP concentration were investigated. The nanocapsules in the emulsion of interest are essentially spherical with average particle size of 253.8-415.2 nm. FT-IR analysis confirmed that tripolyphosphate (TPP) cross-linked with ammonium groups of chitosan in the nanocapsules. The yield of nanoencapsulated curcumin range from 18.56 to 96.28 %w/w.

### 1. Introduction

The natural curcumin (1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadione-3,5-dione) is a yellow pigment extracted from the turmeric. One application of curcumin is the usage as an antioxidant [1]. Its chemical structure is shown in Fig. 1.

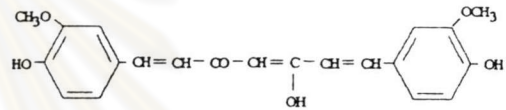


Fig. 1. Structure of curcumin.

Chitosan is a biopolymer obtain from renewable resources such as discarded crustacean shells. Chitosan is formed from basic units of 2-deoxy-N-acetyl-D-glucosamine and 2-deoxy-D-glucosamine linked by b-1,4 glycosidic bonds. It possesses biocompatibility, biodegradability, nontoxicity and biological properties attributable to the presence of amino and hydroxyl groups. It is a hydrophilic, tough and inert solid, insoluble in water [2].

The encapsulation or absorption in capsules of active lipophilic ingredient is widely used in the fields of cosmetology and dermatology. Nanocapsules are typically vesicular systems in which an active ingredient is confined to an aqueous or oily cavity surrounded by a single polymeric membrane [3]. A potential application is the slow release of the active ingredient using the chitosan membranes.

The objective of this study was to nanoencapsulate curcumin in chitosan cross-linked with tripolyphosphate (TPP) and to characterize the nanocapsules.

## 2. Materials

2.1 Polymer: chitosan (CS) (molecular weight around 227,000, degree of deacetylation 87 %) was obtained from Seafresh Chitosan (Lab) Co., Ltd, Thailand.

2.2 Active agent: curcumin was obtained from Thai-China Industry Co., Ltd, Thailand.

2.3 Solvents: acetic acid and ethanol (99.7%) were obtained from Merck England.

2.4 Surfactants: sorbitan monooleate (Span 80) and polyoxyethylene sorbitan monooleate (Tween 80) were obtained from Sigma-Aldrich, Switzerland.

## 3. Methods

### 3.1 Nanocapsules preparation

The methodology for making nanocapsules by multiple emulsion/solvent evaporation is shown schematically in Fig. 2.

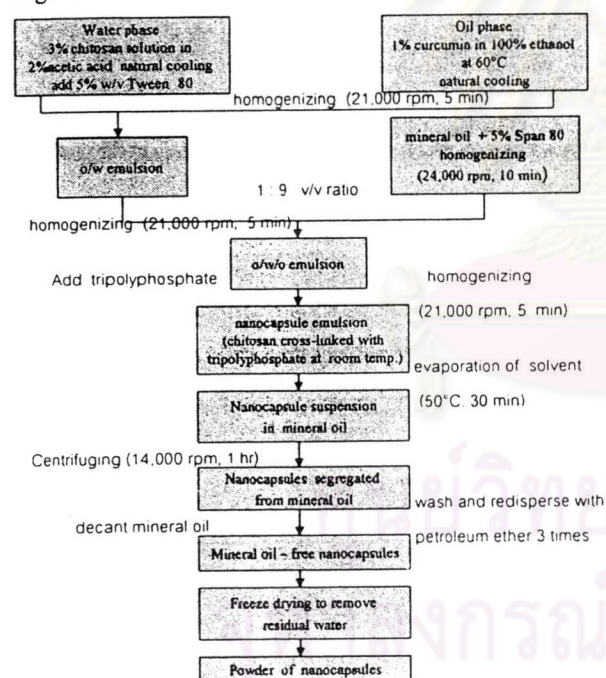


Fig. 2. Preparation procedure of nanocapsules.

### 3.2 Polymer characterization

The chitosan structure was confirmed by using Fourier transform infra-red spectroscopy (FT-IR).

### 3.3 Nanocapsules characterization

#### 3.3.1 Particle size distribution

The particle size distribution of the prepared nanocapsules was measured in suspension state by Dynamic Light Scattering (DLS) method with a Zetasizer Nano-ZS.

#### 3.3.2 Yield of encapsulation

$$Y = (L_c/T_c) \times 100 \quad (\%w/w)$$

where  $L_c$  is the curcumin concentration in loaded nanocapsules and  $T_c$  is the total concentration of curcumin introduced in the preparation.

Curcumin concentration was analyzed by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) analysis.

## 4. Results and discussion

Curcumin was nanoencapsulated in chitosan for potential cosmetic application by using the method of multiple emulsion / solvent evaporation. The nanocapsules were obtained while fixing the ratio of water phase and oil phase (4:1) and varying chitosan concentration at 2-3%w/v, the surfactant in a blend of Span 80 and Tween 80 (50/50 and 60/40v/v), TPP concentration 1.5%w/v. The experimental results were summarized in Table 1. The various batches of nanocapsules had average size range of 253.8-415.2 nm. The preliminary results on the yield of encapsulation was found to range from 18.56-96.28 % w/w.

Table 1 Average particle size and Yield of encapsulation.

% CS (w/v)	Span 80 / Tween80	Average size (nm)	%Yield of encapsulation
2.0	50/50	329.7	-
	60/40	415.2	25.90
2.5	50/50	261.6	18.56
	60/40	268.9	36.96
3.0	50/50	253.8	64.45
	60/40	282.4	96.28

Fig. 3 shows an example of nanocapsule size distribution in the suspension state obtained the ratio of water phase and oil phase (4:1), the surfactant in a blend of Span 80 and Tween 80 (50/50v/v), chitosan concentration at 3%w/v and TPP concentration at 1.5 %w/v.

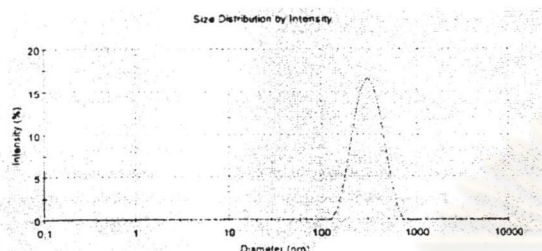


Fig. 3. Particle size distribution of nanocapsules.

An example of FT-IR spectrum of chitosan nanocapsules and commercial chitosan is shown in Fig.4. A valley at  $3434.16\text{ cm}^{-1}$  can be attributed to  $-\text{NH}_2$  and  $-\text{OH}$  groups in the commercial chitosan. In chitosan nanocapsules a shift from  $3434.16$  to  $3434.69\text{ cm}^{-1}$  was observed, and the valley of  $3434.69\text{ cm}^{-1}$  became wider, thereby indicating enhanced hydrogen bonding. In nanocapsules the  $1641.53$  and  $1579.98\text{ cm}^{-1}$  peaks of  $-\text{NH}_2$  bending vibration shifted to  $1632.86$  and  $1571.98\text{ cm}^{-1}$ . They may be attributed to the linkage between phosphoric and ammonium ions [4]. It may be considered that the tripolyphosphoric groups of TPP were cross-linked with the ammonium groups of chitosan.

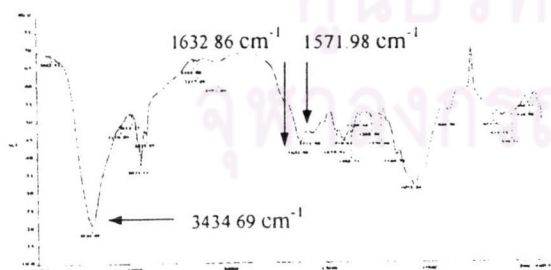


Fig. 4. FT-IR spectra of chitosan nanocapsules.

## 5. Conclusion

Under the conditions of this study, the nanocapsules had average size of 253.8-415.2 nm. The yield of encapsulation was at 18.56-96.28 %w/w. The average size and yield should further be improved by optimizing the synthesis conditions.

## Acknowledgement

This research receives partial financial support from the National Nanotechnology Center (Prof. Dr. W. Tanthapanichakoon) and Center of Excellence in Particle Technology Chulalongkorn University. Mr.Pricha Sangthirapithikul and Dr.Uracha Rungsardthong for their valuable suggestions and assistance.

## References

- [1] Weber, W. M., Hunsaker L., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13, 3811-3820, 2005.
- [2] Krajewska, B., *Separation and Purification Technology*, 41, 305-312, 2005.
- [3] Brigger, I., Dubernet, C., Couvreur, P., *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 631-651, 2002.
- [4] Xu, Y., Du, Y., (2003), *Int. J. Pharm.*, 250, 215-226, 2003.



## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว ฐพร โสวต เกิดเมื่อวันที่ 2 กรกฎาคม พ.ศ. 2522 จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาจากโรงเรียนพรหมมาตาวิทยา จังหวัดระยอง จากนั้นเข้าศึกษาต่อหลักสูตรประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง (ปวส.) ที่แผนกวิชาเคมีปฏิบัติการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตเทคนิคกรุงเทพ เมื่อเดือนมิถุนายน พ.ศ.2540 และสำเร็จการศึกษาเมื่อปี 2543 จากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาบัณฑิต ที่ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานครในปีเดียวกัน และสำเร็จการศึกษาเมื่อปี 2546 และได้ทำการศึกษาต่อในระดับปริญญาโทที่ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ.2547 และสำเร็จการศึกษาในปีการศึกษา 2548



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย