

## การห่อหุ้มด้วยวิธีไอโอโนโทรปิกเจลชันต่อความเสถียรของธาตุเหล็ก Effect of Ionotropic Gelation Encapsulation on Iron Stability

พีรณัฐ นันสมบัติ แก้วตา เจตศรีสุภาพ\*

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

123 หมู่ 16 ถ.มิตรภาพ ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

Pheeranat Nansombat Kaewta Jetsrisuparb\*

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Khon Kaen University,  
123 Village No.16, Mittraphap Rd., Naimuang, Muang District, Khon Kaen, Thailand, 40002

\*Corresponding author Email: Kaewta@kku.ac.th

(Received: March 31, 2025; Revised: June 13, 2025 ; Accepted: June 30, 2025)

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการห่อหุ้มเหล็กเฟอร์รัสซัลเฟต (ferrous sulfate,  $\text{FeSO}_4$ ) ด้วยโซเดียมแอลจิเนต (sodium alginate, SA) เพื่อเพิ่มความเสถียรของธาตุเหล็กในสารละลายจำลองในกระเพาะอาหารที่ pH 1.2 และศึกษาการปลดปล่อยธาตุเหล็กในสารละลายจำลองในลำไส้เล็กที่ pH 7.4 โดยใช้วิธีการห่อหุ้มธาตุเหล็กด้วยไฮโดรเจลสองแบบ เป็นวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กด้วยวิธีการเชื่อมขวางและ วัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กจากการแช่ ผลจากการตรวจสอบด้วยเทคนิค Fourier transform Infrared (FTIR) พบว่าวิธีเชื่อมขวางสามารถห่อหุ้มธาตุเหล็กได้ดีกว่าการแช่ ผลการตรวจสอบด้วยเทคนิค UV-visible spectroscopy (UV-vis) และ atomic absorption spectroscopy (AAS) พบว่าภายใต้สภาวะ pH 1.2 วิธีการห่อหุ้มด้วยโซเดียมแอลจิเนตทั้งสองวิธีมีประสิทธิภาพในการลดการปลดปล่อยธาตุเหล็ก  $\text{Fe}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{3+}$  ดีกว่า  $\text{FeSO}_4$  และที่ pH 7.4 วัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กด้วยวิธีการเชื่อมขวางปลดปล่อยธาตุเหล็ก  $\text{Fe}^{2+}$  มากกว่าวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กจากการแช่ และ  $\text{FeSO}_4$  ที่ไม่ถูกห่อหุ้มถึง 30% ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการใช้โซเดียมแอลจิเนตเป็นวัสดุห่อหุ้มอาจมีประสิทธิภาพในการลดการปลดปล่อยธาตุเหล็กในสารละลายจำลองกระเพาะอาหาร อีกทั้งการห่อหุ้มด้วยวิธีเชื่อมขวางทำให้ธาตุเหล็ก  $\text{Fe}^{2+}$  มีความเสถียรในสารละลายจำลองลำไส้เล็ก ซึ่งอาจเพิ่มความสามารถในการดูดซึมธาตุเหล็กในร่างกายมากกว่า  $\text{FeSO}_4$  ที่ไม่ถูกห่อหุ้ม หรือการห่อหุ้มด้วยวิธีแช่

**คำสำคัญ:** แอลจิเนต ห่อหุ้ม การปลดปล่อยธาตุเหล็ก การเชื่อมขวาง

### ABSTRACT

This study focused on developing techniques to encapsulate ferrous sulfate ( $\text{FeSO}_4$ ) with sodium alginate (SA) by comparing two encapsulation methods: crosslinking SA using  $\text{Fe}^{2+}$  from  $\text{FeSO}_4$  as a crosslinker and immersion of SA beads in a  $\text{FeSO}_4$  solution. The aim was to enhance the stability of iron in a simulated gastric fluid at pH 1.2 and to release iron in a simulated intestinal fluid at pH 7.4. Analysis using Fourier Transform Infrared (FTIR) technique indicated successful binding of iron with alginate. Evaluation through UV-visible spectroscopy (UV-vis) and Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) demonstrated that iron-alginate beads prepared by both encapsulation and immersion effectively

reduced the release of  $Fe^{2+}$  and  $Fe^{3+}$  at pH 1.2 compared to unencapsulated  $FeSO_4$ . In particular, the crosslinked beads released up to 30% more  $Fe^{2+}$  at pH 7.4 than immersed beads and unencapsulated  $FeSO_4$ . This study demonstrated that using SA as an encapsulation material can reduce iron release in the gastric fluid, and crosslinking method resulted in  $Fe^{2+}$  that may be better absorbable in larger quantities in the intestine compared to soaking method and unencapsulated  $FeSO_4$ .

**Keyword:** Alginate, encapsulation, iron release, crosslinking.

## 1. บทนำ

ธาตุเหล็กเป็นส่วนประกอบของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงที่ช่วยในกระบวนการเมตาบอลิซึมและการลำเลียงออกซิเจนภายในร่างกาย ธาตุเหล็กมีสองรูปแบบหลักคือ  $Fe^{2+}$  และ  $Fe^{3+}$  โดย  $Fe^{2+}$  เป็นรูปแบบที่ร่างกายสามารถดูดซึมได้ง่ายและใช้ประโยชน์ได้ทันที เนื่องจาก  $Fe^{2+}$  สามารถถูกดูดซึมโดยตรงที่ลำไส้เล็ก ในทางตรงกันข้าม  $Fe^{3+}$  ต้องผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงเป็น  $Fe^{2+}$  ก่อนร่างกายจึงจะสามารถดูดซึมได้

อย่างไรก็ตามการลำเลียงธาตุเหล็ก  $Fe^{2+}$  ไปสู่ลำไส้ต้องผ่านกระเพาะอาหารที่มีความเป็นกรด (pH 1-3) ซึ่งเป็นสภาวะที่เหล็ก  $Fe^{2+}$  ละลายได้ดี แต่กระเพาะอาหารมีความสามารถในการดูดซึมธาตุเหล็กน้อยมาก เมื่อเทียบกับการดูดซึมในลำไส้เล็กที่มี pH 7-8 [1],[2] ดังนั้น  $Fe^{2+}$  ที่ละลายออกมาในกระเพาะอาหารจึงมักเกิดการออกซิเดชันเป็น  $Fe^{3+}$  หรือทำปฏิกิริยากับสารอาหารอื่นในกระเพาะอาหาร[3] ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพในการดูดซึมธาตุเหล็กลดลง การนำเทคนิคห่อหุ้มธาตุเหล็กด้วยวัสดุที่มีความเข้ากันได้กับร่างกาย (biocompatible) จึงถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มความเสถียรของธาตุเหล็ก  $Fe^{2+}$  จากปฏิกิริยาออกซิเดชันในสภาวะเป็นกรดใกล้เคียงกับกระเพาะอาหาร (pH 1.2) ในขณะที่  $Fe^{2+}$  ที่ถูกห่อหุ้มก็ยังสามารถละลายออกมาในสารละลายจำลองลำไส้เล็ก (pH 7.4)

แอลจินเนต คือ พอลิแซคคาไรด์ธรรมชาติที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเล ประกอบด้วยสายโซ่ตรงที่ประกอบไปด้วยกรด  $\alpha$ -L-guluronic (G) และกรด  $\beta$ -D-mannuronic (M) มีคุณสมบัติความเข้ากันได้กับร่างกาย และยังสามารถ

ในการเปลี่ยนจากสารละลายเป็นไฮโดรเจลหรือเม็ดบีดเมื่อเกิดปฏิกิริยาเชื่อมขวางกับแคทไอออน เช่น  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  และ  $Fe^{3+}$  เป็นต้น [4],[5] โดยการทำปฏิกิริยากับแคทไอออนแทบไม่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ แอลจินเนตจึงมีความเหมาะสมในการห่อหุ้มธาตุเหล็ก  $Fe^{2+}$  [6] ส่วนใหญ่แล้วการนำแอลจินเนตมาใช้มักมีการปรับปรุงหมู่โครงสร้าง COOH เป็น COOX (X= Ca, Na) เพื่อเพิ่มคุณสมบัติการละลายน้ำ ตัวอย่างเช่น แคลเซียมแอลจินเนต, โซเดียมแอลจินเนต [7] แทนที่จะใช้เป็นการดแอลจินิกโดยตรง

การห่อหุ้มสารลำเลียงด้วยวิธีไอโอโนโทรปิก (ionotropic gelation) เกิดจากปฏิกิริยาการเชื่อมขวางระหว่างหมู่คาร์บอกซิลของแอลจินเนตและธาตุเหล็กในสารละลาย โดยแรงดึงดูด (electrostatic force) ระหว่างขั้วบวกของธาตุเหล็ก  $Fe^{2+}$  หรือ  $Fe^{3+}$  และขั้วลบของหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิล ( $COO^-$ ) ของโซเดียมแอลจินเนต ซึ่งเพิ่มความแข็งแรงและความเสถียรให้กับวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็ก โดยงานวิจัยนี้ศึกษาวิธีการห่อหุ้มธาตุเหล็ก  $Fe^{2+}$  เพื่อป้องกันและรักษาคุณสมบัติของธาตุเหล็ก  $Fe^{2+}$  ด้วยวิธีการห่อหุ้ม 2 วิธี ได้แก่ วิธีเชื่อมขวางและวิธีแช่ต่อปริมาณธาตุเหล็ก  $Fe^{2+}$  และ  $Fe^{3+}$  ที่ปลดปล่อยออกมาในสารละลายจำลองกระเพาะอาหารที่ pH 1.2 และสารละลายจำลองลำไส้เล็กที่ pH 7.4

## 2. วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 2.1 วัสดุและอุปกรณ์

โซเดียมแอลจินเนต (sodium alginate) เกรดประกอบอาหาร ความบริสุทธิ์ 99.7% จากยี่ห้อ UCS ไอรอนซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ) ความบริสุทธิ์

มากกว่า 99% จากยี่ห้อ KEMAUS โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ความบริสุทธิ์ 99.8% จากยี่ห้อ UNIVAR กรดไฮโดรคลอริก (HCl) กรดซัลฟิวริก ( $H_2SO_4$ ) และกรดอะซิติก (Acetic acid) ความบริสุทธิ์ที่ 37% , 98% และ 99.8% จากยี่ห้อ RCI labscan ตามลำดับ โมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต ( $KH_2PO_4$ ) ความบริสุทธิ์ที่ 99.5% จากยี่ห้อ RCI labscan ไดโซเดียมฟอสเฟต ( $Na_2HPO_4$ ) โซเดียมอะซิเตรต ( $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ ) และโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความบริสุทธิ์ที่ >99%, 99.5% และ >99.8% จากยี่ห้อ QREC ตามลำดับ 1,10-พีแนนโทรลีนโมโนไฮเดรต ( $C_{12}H_{16}N_2 \cdot 1H_2O$ ) ความบริสุทธิ์มากกว่า 99% ยี่ห้อ VWR และน้ำปราศจากประจุ (deionized Water) ที่ค่าความต้านทาน 18.2 โอห์ม

## 2.2 วิธีเตรียมวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีเชื่อมขวาง (crosslinked Alg-Fe)

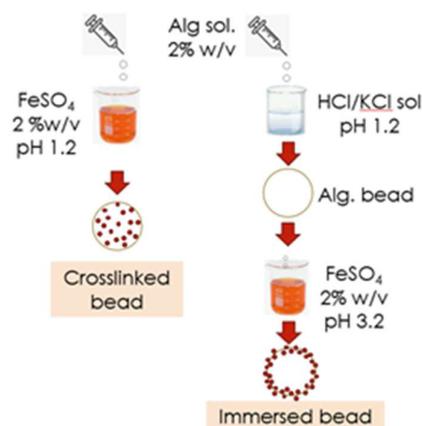
เตรียมสารละลายแอลจินेट 2% (w/v) จากการนำโซเดียมแอลจินेटที่ผ่านการอบที่ 60 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ไปละลายในน้ำปราศจากไอออน (DI) อุณหภูมิ 80 °C จนกระทั่งโซเดียมแอลจินेटละลายหมด แล้วกวนผสมเพื่อไล่ฟองอากาศ 12 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารละลายโซเดียมแอลจินेट 2% (w/v) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร หยดลงในสารละลาย  $FeSO_4$  2% (w/v) ที่มี pH 1.2 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร เมื่อสารละลายโซเดียมแอลจินेटสัมผัสกับสารละลาย  $FeSO_4$  จะเกิดเม็ดของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กบีดตามกระบวนการไอโอโนโทรปิก จากนั้นปล่อยให้เกิดการเชื่อมขวางต่อในสารละลาย  $FeSO_4$  ที่มี pH 1.2 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กที่ได้มาล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วนำไปอบที่ 40 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทำการบดด้วยโกร่งเพื่อเตรียมนำไปทดสอบ ดังแสดงในรูปที่ 1

## 2.3 วิธีเตรียมวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีแช่ (immersed Alg-Fe)

นำสารละลายโซเดียมแอลจินेट 2% (w/v) 20 มิลลิลิตร หยดลงในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก pH 1.2 ปริมาตร 80 มิลลิลิตร ระหว่างการหยดสารละลายโซเดียม

แอลจินेटลงในสารละลายกรด จะเกิดเป็นลักษณะเม็ดของวัสดุไฮโดรเจล ทำการล้างวัสดุไฮโดรเจลนั้นด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วนำไปแช่ลงในสารละลาย  $FeSO_4$  2% (w/v) 100 มิลลิลิตร pH 3.2 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นนำไปอบและบด เช่นเดียวกับการเตรียมวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีเชื่อมขวาง ดังแสดงในรูปที่ 1

ไฮโดรเจลที่สังเคราะห์ขึ้นจะถูกนำมาวิเคราะห์ขนาดด้วยโปรแกรม ImageJ



รูปที่ 1 แผนภาพแสดงการเตรียมวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กด้วยวิธีเชื่อมขวาง (ซ้าย) และวิธีแช่ (ขวา)

## 2.4 การพิสูจน์องค์ประกอบทางเคมี

การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของโซเดียมแอลจินेटทำได้โดยใช้เทคนิค FTIR โดยใช้ความยาวคลื่นในช่วง 500 – 3500 เซนติเมตร<sup>-1</sup> ทำการตรวจสอบตัวอย่างวัสดุไฮโดรเจลวิธีเชื่อมขวางและวิธีแช่ เทียบกับโซเดียมแอลจินेट เพื่อยืนยันการห่อหุ้มธาตุเหล็กด้วยวิธีเชื่อมขวางและวิธีแช่

## 2.5 การปลดปล่อยธาตุเหล็ก ( $Fe^{2+}$ และ $Fe^{3+}$ ) ของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็ก ( $Fe^{2+}$ , $Fe^{3+}$ )

สารละลายจำลองกระเพาะอาหารที่ pH 1.2 ถูกเตรียมจากกรดไฮโดรคลอริก 0.2M ผสมกับโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.2M จากนั้นปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริก

10% (v/v) จนได้สารละลาย pH 1.2 สารละลายจำลอง  
ลำไส้เล็กที่มีค่า pH 7.4 เตรียมจากสารละลายของโซเดียม  
คลอไรด์ 0.137 M, โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.0027 M, ได  
โซเดียมฟอสเฟต 0.010 M และโมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต  
(0.0018 M) ในน้ำปราศจากไอออน

วัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีเชื่อมขวาง, วัสดุ  
ไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีแช่และเฟอร์รัสซัลเฟต  
( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 0.150 กรัม ถูกนำมาแช่ในสารละลาย  
จำลองกระเพาะอาหารที่ pH 1.2 และลำไส้เล็กที่ pH 7.4  
ปริมาตร 150 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเก็บสารละลาย  
ตัวอย่างที่ละลายในสารละลายจำลอง ในเวลา 15 30 60  
120 180 และ 240 นาที สารละลายตัวอย่างจะถูกนำไป  
เจือจางในกรดไนตริกเข้มข้น 1% (v/v) เพื่อวิเคราะห์  
ความเข้มข้น  $\text{Fe}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{3+}$  ด้วยเทคนิค AAS (AAnalyst  
100) [8]

### 2.6 การปลดปล่อยธาตุเหล็ก $\text{Fe}^{2+}$ ของวัสดุไฮโดร เจลบรรจุธาตุเหล็ก

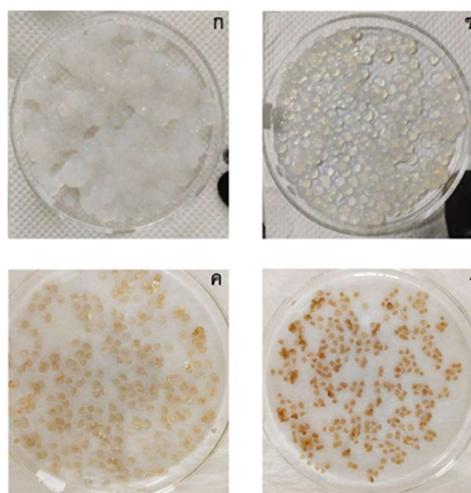
นำสารละลายที่ต้องการวัดปริมาณธาตุเหล็ก 40  
ไมโครลิตร หยดลงในสารละลายฟีนานโทรีน (0.1%  
(w/v)) 1 มิลลิลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ของอะซิเตด pH  
3.5 ปริมาณ 0.8 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออน  
จนได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยปริมาณธาตุเหล็ก  $\text{Fe}^{2+}$  ที่  
วัดได้จะเทียบกับกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ที่  
เตรียมจากเฟอร์รัสซัลเฟต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 0-4 ppm ที่  
ความเข้มข้นต่างๆ และนำมาวัดค่าการดูดซับด้วยเทคนิค  
UV-visible spectroscopy (UV-vis) ที่ 510 นาโนเมตร

## 3. ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

### 3.1 คุณสมบัติทางกายภาพของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุ ธาตุเหล็ก

สารละลายแอลจินेट 2% w/v มีลักษณะใสไม่มีสี มี  
ความหนืดที่อุณหภูมิห้อง  $25^\circ\text{C}$  อยู่ที่  $1083.01 \pm 7.48$   
mPa-s เมื่อถูกนำมาขึ้นรูปเป็นเม็ดจะได้วัสดุไฮโดรเจลทรง  
กลม เมื่ออ้อมด้วยน้ำขนาดของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุ  
เหล็กวิธีแช่มีขนาด  $6.05 \pm 0.48$  มิลลิเมตร ส่วนวัสดุไฮโดรเจล

บรรจุธาตุเหล็กวิธีเชื่อมขวางมีขนาด  $5.60 \pm 0.34$  มิลลิเมตร  
ดังรูปที่ 2(ก) และ 2(ข) ขนาดของวัสดุไฮโดรเจลที่แตกต่าง  
กันนั้น อาจจะเป็นผลจากความสามารถในการหดและ  
ขยายตัวของวัสดุแอลจินेटที่ pH ต่างกัน สอดคล้องกับ  
การศึกษาโดย Liu และคณะ ที่ pH 1.2 ไฮโดรเจลของแอลจิ  
เนตมีการหดตัว และเมื่อ pH เพิ่มขึ้นจะขยายตัว [9] จึง  
ส่งผลต่อพฤติกรรมหดตัวของวัสดุไฮโดรเจล นอกจากนี้  
ยังพบว่าวิธีการขึ้นรูปส่งผลต่อปริมาณธาตุเหล็กในวัสดุ  
ไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กอีกด้วย [10],[11]



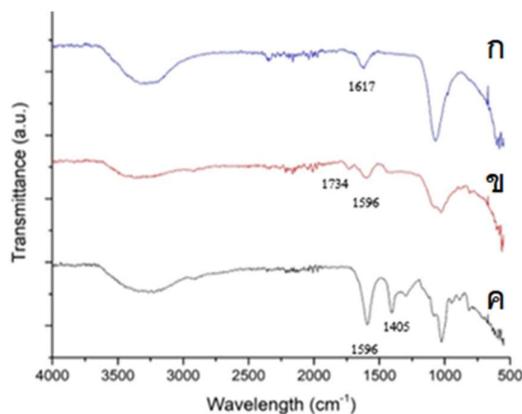
รูปที่ 2 ลักษณะของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กที่เตรียม  
ด้วย (ก) วิธีแช่เมื่ออ้อมด้วยน้ำ (ข) วิธีเชื่อมขวางเมื่ออ้อมด้วย  
ด้วยน้ำ (ค) วิธีแช่หลังจากกระเหยน้ำ และ (ง) วิธีเชื่อมขวาง  
หลังจากกระเหยน้ำ

หลังจากการระเหยน้ำออกจากวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุ  
เหล็กเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุ  
เหล็กเปลี่ยนรูปร่างจากทรงกลมเป็นแบนราบและมีสีที่  
เปลี่ยนไปจากสีขาวขุ่นไปเป็นมีสีเหลืองส้มที่เข้มข้นดังรูปที่  
2(ค) และ 2(ง) สีที่เปลี่ยนแปลงอาจเกิดจากการที่ธาตุเหล็ก  
ที่สัมผัสกับอากาศในระหว่างกระบวนการอบ ทำให้ธาตุ  
เหล็ก  $\text{Fe}^{2+}$  ในวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กถูกออกซิไดซ์  
เป็นธาตุเหล็ก  $\text{Fe}^{3+}$  [12] จากรูปที่ 2(ค) 2(ง) พบว่าวัสดุ  
ไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กแบบแห้งมีสีต่างกันเล็กน้อย อาจ  
เป็นผลจากพฤติกรรมหดตัวและคลายตัวของแอลจินेट

ในสภาพ pH ที่ต่างกันระหว่างการสังเคราะห์ทำให้ปริมาณธาตุเหล็กในโซเดียมแอลจินเตต่างกัน เนื่องจากรูปทรงของวัสดุไฮโดรเจลมีความต่างกันจึงนำไปดเป็นผงและกรองเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

### 3.2 องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็ก

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กที่ขึ้นรูปด้วยวิธีเชื่อมขวาง วิธีแช่ และโซเดียมแอลจินเตด้วยเทคนิค FTIR เป็นไปตามรูปที่ 3 (ก) 3(ข) และ 3(ค) ตามลำดับ โดยผล FTIR ของโซเดียมแอลจินเตพบพีคเอกลักษณ์ที่  $1596\text{ cm}^{-1}$ ,  $1405\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นพีคของหมู่ฟังก์ชัน COO(asym) และ COO(sym) ของโซเดียมแอลจินเตตามลำดับ [7]



รูปที่ 3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยเทคนิค FTIR ของ (ก) วัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีเชื่อมขวาง (ข) วัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีแช่ (ค) โซเดียมแอลจินเต

ส่วนบริเวณช่วงความยาวคลื่น  $1100-1000\text{ cm}^{-1}$  พีคเอกลักษณ์ไม่เด่นชัด เนื่องจากพีคที่ควรรวมกันของหมู่ฟังก์ชัน C-C และ C-O ในโซเดียมแอลจินเต [13] ผล FTIR ของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีแช่ (รูปที่ 3(ข)) แสดงให้เห็นพีคเอกลักษณ์ที่ความยาวคลื่น  $1596\text{ cm}^{-1}$  เป็นพีคเอกลักษณ์ของหมู่ฟังก์ชัน COO(asym) ของโซเดียมแอลจินเต และพบพีคเอกลักษณ์ที่ความยาวคลื่น  $1734\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งอาจเป็นพีคเอกลักษณ์ของหมู่ฟังก์ชัน COOH ของกรด

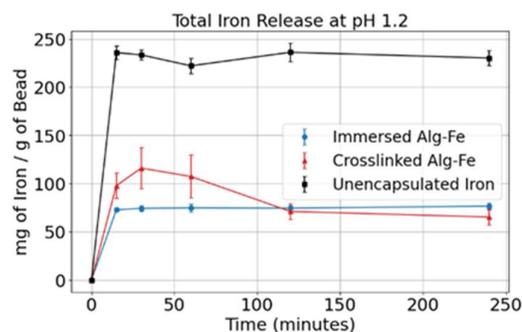
แอลจินิค [14] เนื่องจากเกิดการโปรโตเนต (protonate) ระหว่างการสังเคราะห์วัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กในสภาวะกรด อีกทั้งการหายไปของพีคเอกลักษณ์ COO(sym) ของโซเดียมแอลจินเตในช่วง  $1405\text{ cm}^{-1}$  [14] ทำให้สรุปได้ว่าโซเดียมแอลจินเตเกิดการโปรโตเนตระหว่างการสังเคราะห์วัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กอย่างแน่นอน ส่วน FTIR ของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีเชื่อมขวาง (รูปที่ 3(ก)) พบว่าพีค  $1596\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นพีคเอกลักษณ์ของหมู่ฟังก์ชัน COO ในโซเดียมแอลจินเตเกิดการ shift ไปที่  $1617\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งอาจเกิดจากการแลกเปลี่ยนประจุบวกระหว่าง  $\text{Na}^+$  ในหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิลิกของโซเดียมแอลจินเตกับธาตุเหล็ก  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  ทำให้เกิดพันธะ COO ในโซเดียมแอลจินเตกับธาตุเหล็ก  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  ทำให้พีคเอกลักษณ์ของ COO ในแอลจินเต shift ไปจากเดิมสอดคล้องกับ Katuwavila และคณะซึ่งพบการ shift ของพีคเอกลักษณ์ COO ในแอลจินเตจาก  $1580\text{ cm}^{-1}$  ไปเป็น  $1597\text{ cm}^{-1}$  [15] ส่วนพีคเอกลักษณ์ของ COO(sym) บริเวณ  $1405\text{ cm}^{-1}$  หายไปเนื่องจากการโปรโตเนต (protonate) ระหว่างการสังเคราะห์วัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กจากการเปลี่ยนแปลงนี้เป็นการยืนยันว่าแอลจินเตห่อหุ้มธาตุเหล็กได้สำเร็จด้วยการขึ้นรูปวิธีเชื่อมขวางเป็นไปดังสมมุติฐานเรื่องการกระจายตัวของธาตุเหล็กในวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็ก ส่วนการขึ้นรูปวิธีแช่จำเป็นต้องตรวจสอบการปลดปล่อยธาตุเหล็กเพื่อยืนยันว่าธาตุเหล็กถูกห่อหุ้มโดยโซเดียมแอลจินเตต่อไป

### 3.3 การปลดปล่อยธาตุเหล็กกรรม ( $\text{Fe}^{2+}$ และ $\text{Fe}^{3+}$ )

การวัดการปลดปล่อยธาตุเหล็กกรรมเป็นการวิเคราะห์ผลรวมของปริมาณ  $\text{Fe}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{3+}$  ที่ละลายออกมาในสารละลาย รูปที่ 4 แสดงลักษณะการปลดปล่อยธาตุเหล็กกรรมในสารละลายจำลองกระเพาะอาหารที่ pH 1.2 ของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีแช่และวิธีเชื่อมขวาง และ  $\text{FeSO}_4$  โดยพบอัตราการปลดปล่อยธาตุเหล็กกรรมของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดสูงสุดในช่วงเวลา 30 นาที จากนั้นปริมาณการปลดปล่อยธาตุเหล็กโดยรวมแทบจะไม่มี

เปลี่ยนแปลงหรือเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยจนครบ 240 นาที

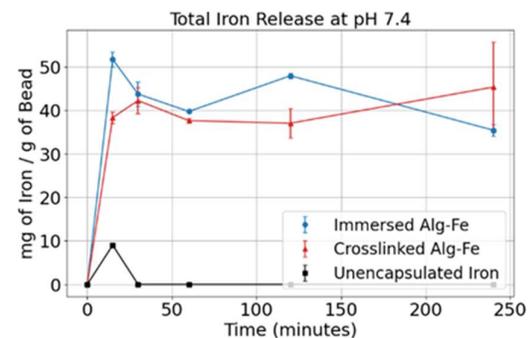
วัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีแช่และวิธีเชื่อมขวาง มีปริมาณการปลดปล่อยธาตุเหล็กรวมในสารละลายจำลองกระเพาะอาหารที่ pH 1.2 เฉลี่ยประมาณ 75 และ 65 มิลลิกรัมเหล็กต่อกรัมของไฮโดรเจลตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่า  $\text{FeSO}_4$  ที่ปลดปล่อยธาตุเหล็กรวมได้ประมาณ 230 มิลลิกรัมเหล็กต่อกรัมของ  $\text{FeSO}_4$  ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าโครงสร้างเครือข่ายสามมิติของแอลจินตและวิธีสังเคราะห์ไฮโดรเจลส่งผลต่อการอัตราการปลดปล่อยธาตุเหล็กออกสู่สารละลายจำลองกระเพาะอาหารที่ pH 1.2 โดยทำหน้าที่ควบคุมการแพร่และการละลายของธาตุเหล็กจากไฮโดรเจล ซึ่งแตกต่างจาก  $\text{FeSO}_4$  ที่ไม่ถูกห่อหุ้มเหล็กจึงละลายออกสู่สารละลายได้อย่างรวดเร็วและในปริมาณมาก ความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยของเหล็กด้วยไฮโดรเจลวิธีเชื่อมขวางสอดคล้องกับงานวิจัยของ Valenzuela และคณะ (2015) ที่ใช้แอลจินตห่อหุ้มธาตุเหล็กโดยใช้  $\text{Ca}^{2+}$  เป็นตัวเชื่อมขวาง [16]



รูปที่ 4 การปลดปล่อยธาตุเหล็กรวม ( $\text{Fe}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{3+}$ ) ในสารละลายจำลองกระเพาะอาหารที่ pH 1.2

ในสารละลายจำลองลำไส้เล็กที่ pH 7.4 (รูปที่ 5) พบว่าวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีแช่และวิธีเชื่อมขวางมีการปลดปล่อยธาตุเหล็กในรูป  $\text{Fe}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{3+}$  ที่มากกว่า  $\text{FeSO}_4$  แสดงให้เห็นว่าวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กสามารถปลดปล่อยธาตุเหล็กในสารละลายจำลอง

ลำไส้เล็กได้ เนื่องจากการขยายตัวของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กทำให้น้ำสามารถแทรกเข้าไปภายในโครงสร้างของไฮโดรเจล  $\text{Fe}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{3+}$  จึงสามารถละลายออกมาได้ ส่วนสาเหตุที่ไม่พบการละลายของธาตุเหล็กในตัวอย่าง  $\text{FeSO}_4$  อาจเป็นเพราะเมื่อ  $\text{Fe}^{2+}$  จาก  $\text{FeSO}_4$  ละลายออกมาและสัมผัสกับสารละลายจำลองลำไส้เล็กที่ pH 7.4  $\text{Fe}^{2+}$  จะเกิดการออกซิไดซ์กลายเป็น  $\text{Fe}^{3+}$  [17] และเมื่อสัมผัสกับฟอสเฟตในสารละลายจะเกิดเป็น  $\text{FePO}_4$  และตกตะกอน [18]



รูปที่ 5 การปลดปล่อยธาตุเหล็กรวม ( $\text{Fe}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{3+}$ ) ในสารละลายจำลองลำไส้เล็กที่ pH 7.4

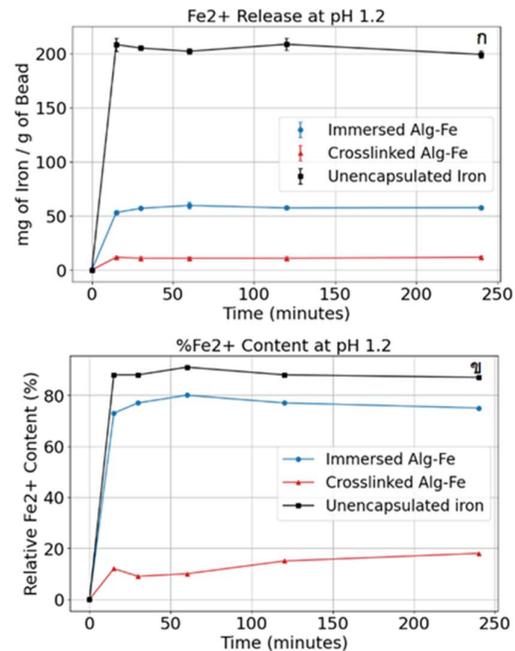
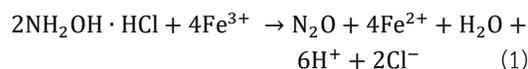
ดังนั้นในสภาวะจำลองกระเพาะอาหาร pH 1.2 ซึ่งเป็นสภาวะที่ธาตุเหล็กละลายได้ดี การห่อหุ้มด้วยแอลจินตช่วยลดการปลดปล่อยของธาตุเหล็ก ขณะที่ในสารละลายจำลองของลำไส้เล็กต้นที่ pH 7.4 การห่อหุ้มด้วยแอลจินตช่วยให้ธาตุเหล็กคงรูปในสภาพไอออนและปลดปล่อยออกมาได้

### 3.4 การปลดปล่อยธาตุเหล็ก $\text{Fe}^{2+}$

เนื่องจากร่างกายสามารถดูดซึม  $\text{Fe}^{2+}$  ได้มากกว่า  $\text{Fe}^{3+}$  การทดลองนี้จึงศึกษาการปลดปล่อยธาตุเหล็กในรูป  $\text{Fe}^{2+}$  ของไฮโดรเจลด้วยเทคนิคพีแวนโทเรลีน [19],[20] ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยาจำเพาะกับ  $\text{Fe}^{2+}$

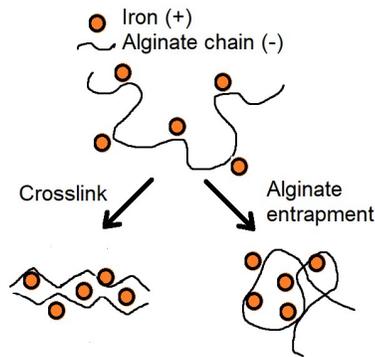
ผลการศึกษาการปลดปล่อย  $\text{Fe}^{2+}$  ในสารละลายจำลองกระเพาะอาหารที่ pH 1.2 รูปที่ 6(ก) พบว่า  $\text{FeSO}_4$  มีการปลดปล่อย  $\text{Fe}^{2+}$  ประมาณ 200 มิลลิกรัม  $\text{Fe}^{2+}$  ต่อ

กรัม  $\text{FeSO}_4$  ซึ่งมากกว่าการปลดปล่อย  $\text{Fe}^{2+}$  ของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีแช่ที่มีอัตราการปลดปล่อย  $\text{Fe}^{2+}$  (57 มิลลิกรัม  $\text{Fe}^{2+}$  ต่อกรัมของไฮโดรเจล) และวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีเชื่อมขวาง (11.7 มิลลิกรัม  $\text{Fe}^{2+}$  ต่อกรัมของไฮโดรเจล) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการปลดปล่อย  $\text{Fe}^{2+}$  ของวัสดุไฮโดรเจลห่อหุ้มธาตุเหล็กแบบเชื่อมขวางในงานวิจัยนี้ พบว่ามีค่าต่ำกว่าผลการศึกษาของ Nengsih และคณะ(2023) ซึ่งมีค่าสูงถึง 140 มิลลิกรัม  $\text{Fe}^{2+}$  ต่อกรัมของไฮโดรเจล [21] ความแตกต่างนี้อาจเกิดจากหลายปัจจัยที่ทำให้ความสามารถในการห่อหุ้มธาตุเหล็ก  $\text{Fe}^{2+}$  แตกต่างกัน เช่น ขนาดของไฮโดรเจล สัดส่วนของกรดกัลดูโรนิกต่อกรดมานูโรนิกในโมเลกุลของอัลจินต (G/M) [22] และความหนืดที่แตกต่างกัน [23] รูปที่ 6(ข) แสดงอัตราส่วนร้อยละการปลดปล่อยของ  $\text{Fe}^{2+}$  เปรียบเทียบกับปริมาณธาตุเหล็กรวม ( $\text{Fe}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{3+}$ ) ที่ละลายออกมาในสารละลาย ณ เวลานั้นๆ เมื่อพิจารณา  $\text{FeSO}_4$  พบว่าการปลดปล่อย  $\text{Fe}^{2+}$  อยู่ที่ร้อยละ 90 ในขณะที่ของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีแช่และวิธีเชื่อมขวางอยู่ที่ร้อยละ 75 และ 20 ตามลำดับ ดังนั้นการห่อหุ้มธาตุเหล็กด้วยแอลจินตสามารถช่วยปกป้องธาตุเหล็ก  $\text{Fe}^{2+}$  จากสภาวะจำลองกรดในกระเพาะอาหารที่ pH 1.2 ได้ดีกว่า  $\text{FeSO}_4$  ที่ไม่ได้ห่อหุ้ม สำหรับ  $\text{FeSO}_4$  นั้น ปริมาณ  $\text{Fe}^{2+}$  ร้อยละ 10 ที่ไม่พบในสารละลายนั้นอาจเกิดจากการออกซิเดชันเป็น  $\text{Fe}^{3+}$  ซึ่งไม่ทำปฏิกิริยากับพีแนนโทโรลีน สอดคล้องกับผลการทดลองทำเติมสารไฮดรอกซิลไมด์ไฮโดรคลอไรด์เพื่อรีดิวซ์  $\text{Fe}^{3+}$  ให้กลับเป็น  $\text{Fe}^{2+}$  [24] ดังปฏิกิริยาที่ (1) พบว่ามีปริมาณ  $\text{Fe}^{3+}$  อยู่ประมาณร้อยละ 10 ใน  $\text{FeSO}_4$



รูปที่ 6 ปริมาณการปลดปล่อย  $\text{Fe}^{2+}$  ในสารละลายจำลองกระเพาะอาหารที่ pH 1.2 (ก) ปริมาณของ  $\text{Fe}^{2+}$  ต่อน้ำหนักวัสดุ (ข) อัตราส่วนร้อยละของ  $\text{Fe}^{2+}$  ต่อปริมาณการปลดปล่อยธาตุเหล็กรวม ( $\text{Fe}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{3+}$ )

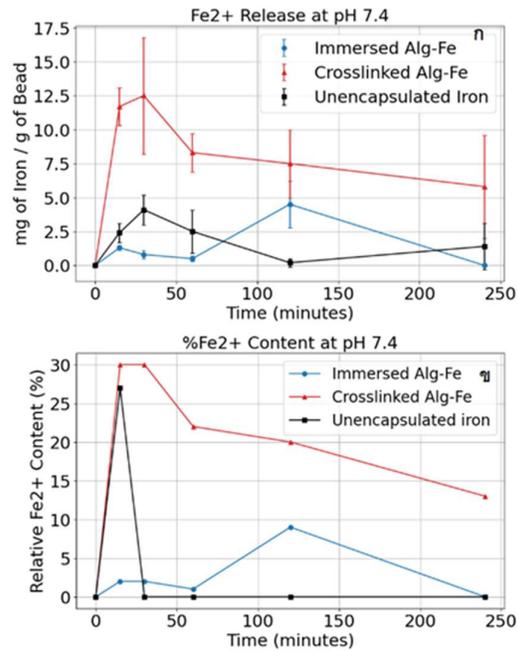
วิธีการสังเคราะห์วัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กมีผลต่อโครงสร้างภายใน การเชื่อมขวาง ความสามารถในการกักเก็บและปลดปล่อยธาตุเหล็ก โดยวิธีเชื่อมขวางจะใช้ธาตุเหล็กเป็นตัวเชื่อมขวางให้แอลจินตติดกับธาตุเหล็กและเกิดเป็นไฮโดรเจลพร้อมกัน ทำให้โครงสร้างตาข่ายแข็งแรง กักเก็บธาตุเหล็กได้ดี ในขณะที่การสังเคราะห์ด้วยวิธีแช่จะทำให้แอลจินตหอดตัวใน pH 1.2 จนเกิดเป็นไฮโดรเจลก่อน แล้วจึงนำไปแช่ในสารละลายธาตุเหล็กที่ pH 3.2 ทำให้แอลจินตขยายตัวเล็กน้อยและธาตุเหล็กค่อยๆ แทรกเข้าสู่โครงสร้าง ส่งผลให้ธาตุเหล็กติดอยู่ในโครงสร้างแอลจินต (alginate entrapment) และถูกปลดปล่อยออกมาได้ง่ายกว่าวิธีเชื่อมขวางดังรูปที่ 7



รูปที่ 7 แบบจำลองโครงสร้างของแอลจินเนตที่บรรจุธาตุเหล็กอยู่ข้างในโครงสร้าง (ดัดแปลงจาก [14])

ในสารละลายจำลองลำไส้เล็กที่ pH 7.4 (รูปที่ 8) แอลจินเนตที่ห่อหุ้มธาตุเหล็กจะเกิดการขยายตัว ส่งผลให้น้ำสามารถซึมเข้าสู่โครงสร้างของไฮโดรเจล และ  $Fe^{2+}$  สามารถแพร่ออกมาจากวัสดุไฮโดรเจลได้ เมื่อพิจารณาผลการทดลองจากรูปที่ 8(ก) พบว่าความสามารถในการปลดปล่อยธาตุ  $Fe^{2+}$  ของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีเชื่อมขวางสูงกว่าวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีแช่และ  $FeSO_4$  ที่ช่วงเวลา 0-30 นาที นอกจากนี้จากการพิจารณาอัตราส่วนร้อยละการปลดปล่อยของ  $Fe^{2+}$  ต่อปริมาณธาตุเหล็กกรรม ( $Fe^{2+}$  และ  $Fe^{3+}$ ) พบว่าวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กแบบวิธีเชื่อมขวางมีค่าการปลดปล่อยสูงถึงร้อยละ 30 ในขณะที่วัสดุที่เตรียมด้วยวิธีแช่และ  $FeSO_4$  มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 5 (รูปที่ 8(ข)) ความแตกต่างอย่างมีนัยยะระหว่างวัสดุไฮโดรเจลทั้ง 2 ชนิด แสดงให้เห็นว่าวิธีแช่ไม่สามารถปกป้อง  $Fe^{2+}$  จากการออกซิไดซ์เป็น  $Fe^{3+}$  ได้ดีเท่าวิธีเชื่อมขวาง

ลักษณะแนวโน้มการปลดปล่อย  $Fe^{2+}$  จากตัวอย่างทั้งสามชนิดในสารละลายจำลองลำไส้เล็กที่ pH 7.4 แสดงการเพิ่มขึ้นในช่วงแรกและลดลงอย่างรวดเร็วหลังจาก 15-30 นาที การลดลงของปริมาณ  $Fe^{2+}$  ในสารละลายตัวอย่างอาจเกิดจาก  $Fe^{2+}$  ส่วนหนึ่งในสารละลายถูกออกซิไดซ์เป็น  $Fe^{3+}$  ซึ่งมักพบในสภาวะที่มีค่า pH สูง ส่งผลให้ปริมาณ  $Fe^{2+}$  ลดลงต่อเนื่อง



รูปที่ 8 ปริมาณการปลดปล่อย  $Fe^{2+}$  ในสารละลายจำลองลำไส้เล็กที่ pH 7.4 ที่ได้จากการวัด UV (ก)  $Fe^{2+}$  ต่อกรัมของวัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็ก (ข) อัตราส่วนร้อยละของ  $Fe^{2+}$  ต่อปริมาณการปลดปล่อยธาตุเหล็กกรรม ( $Fe^{2+}$  และ  $Fe^{3+}$ )

#### 4. สรุปผลการทดลอง

วัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีเชื่อมขวางสามารถควบคุมการปลดปล่อย  $Fe^{2+}$  ในสารละลายจำลองกระเพาะอาหารที่ pH 1.2 ได้ดีกว่าไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีแช่และ  $FeSO_4$  ตามลำดับ นอกจากนี้ในสารละลายจำลองลำไส้เล็กที่ pH 7.4 วัสดุไฮโดรเจลบรรจุธาตุเหล็กวิธีเชื่อมขวางสามารถตรึงและปกป้องจากการออกซิเดชันของเหล็กในรูป  $Fe^{2+}$  ได้สูงถึงร้อยละ 30 วิธีสังเคราะห์จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความสามารถในการปกป้องและควบคุมการปลดปล่อยธาตุเหล็กของไฮโดรเจล

#### 5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิศวกรรมศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้การสนับสนุนทุนสำหรับงานวิจัยนี้

## 6. เอกสารอ้างอิง

- [1] K. Shubham, T. Anukiruthika, S. Dutta, A. V. Kashyap, J. A. Moses and C. Anandharamkrishnan, “Iron deficiency anemia: A comprehensive review on iron absorption, bioavailability and emerging food fortification approaches,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 99, pp. 58–75, 2020.
- [2] P. Sharp and S. K. Srai, “Molecular mechanisms involved in intestinal iron absorption,” *World J. Gastroenterol.*, vol. 13, no. 35, pp. 4716–4724, 2007.
- [3] E. Habeych, V. van Kogelenberg, L. Sagalowicz, M. Michel and N. Galaffu, “Strategies to limit colour changes when fortifying food products with iron,” *Food Res. Int.*, vol. 88, pp. 122–128, 2016.
- [4] [L. Mei *et al.*, “Novel intestinal-targeted Ca-alginate-based carrier for pH-responsive protection and release of lactic acid bacteria,” *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 6, no. 8, pp. 5962–5970, 2014.
- [5] [5] Y. S. Khotimchenko, V. V. Kovalev, O. V. Savchenko and O. A. Ziganshina, “Physical-Chemical Properties, Physiological Activity, and Usage of Alginates, the Polysaccharides of Brown Algae,” *Russ. J. Mar. Biol.*, vol. 27, no. 1, 2001.
- [6] J. Brus *et al.*, “Structure and Dynamics of Alginate Gels Cross-Linked by Polyvalent Ions Probed via Solid State NMR Spectroscopy,” *Biomacromolecules*, vol. 18, no. 8, pp. 2478–2488, 2017.
- [7] S. K. Papageorgiou, E. P. Kouvelos, E. P. Favvas, A. A. Sapidis, G. E. Romanos and F. K. Katsaros, “Metal-carboxylate interactions in metal-alginate complexes studied with FTIR spectroscopy,” *Carbohydr. Res.*, vol. 345, no. 4, pp. 469–473, 2010.
- [8] J. T. N. Knijnenburg, E. Seristatidou, F. M. Hilty, F. Krumeich and Y. Deligiannakis, “Proton-Promoted Iron Dissolution from Nanoparticles and the Influence by the Local Iron Environment,” *J. Phys. Chem. C*, vol. 118, no. 41, pp. 24072–24080, 2014.
- [9] G. Liu, H. Zhou, H. Wu, R. Chen and S. Guo, “Preparation of alginate hydrogels through solution extrusion and the release behavior of different drugs,” *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, vol. 27, no. 18, pp. 1808–1823, 2016.
- [10] R. Machado, P. M. P. Silva, A. A. Vicente, L. A. Souza-Soares, A. C. Pinheiro and M. A. Cerqueira, “Alginate Particles for Encapsulation of Phenolic Extract from *Spirulina* sp. LEB-18: Physicochemical Characterization and Assessment of In Vitro Gastrointestinal Behavior,” *Polymers*, vol. 14, no. 21, 2022.
- [11] C. Bennacef, S. Desobry-Banon, L. Probst and S. Desobry, “Advances on alginate use for spherification to encapsulate biomolecules,” *Food Hydrocoll.*, vol. 118, 106782, 2021.
- [12] N. Oturan and M. A. Oturan, “Electro-Fenton process: Background, new developments, and applications,” in *Electrochemical Water and Wastewater Treatment*, M. A. Rodrigo and E. Brillas, Eds. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 2018, pp. 193–221.

- [13] J. Diaz-Visurraga *et al.*, "Study on antibacterial alginate-stabilized copper nanoparticles by FT-IR and 2D-IR correlation spectroscopy," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 7, pp. 3597–3612, 2012.
- [14] F. Reyes-Ortega, "pH-responsive polymers: Properties, synthesis and applications," in *Smart Polymers and Their Applications*, M. R. Aguilar and J. San Román, Eds. Cambridge, UK: Woodhead Publishing, 2014, pp. 45–92.
- [15] N. P. Katuwavila *et al.*, "Alginate nanoparticles protect ferrous from oxidation: Potential iron delivery system," *Int. J. Pharm.*, vol. 513, no. 1–2, pp. 404–409, 2016.
- [16] C. Valenzuela, V. Hernández, M. S. Morales and F. Pizarro, "Heme Iron Release from Alginate Beads at In Vitro Simulated Gastrointestinal Conditions," *Biol. Trace Elem. Res.*, vol. 172, no. 1, pp. 251–257, 2016.
- [17] R. F. N. Quadrado and A. R. Fajardo, "Fast decolorization of azo methyl orange via heterogeneous Fenton and Fenton-like reactions using alginate-Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup> films as catalysts," *Carbohydr. Polym.*, vol. 177, pp. 443–450, 2017.
- [18] H. Galal-Gorchev and W. Stumm, "The reaction of ferric iron with ortho-phosphate," *J. Inorg. Nucl. Chem.*, vol. 25, no. 5, pp. 567–574, 1963.
- [19] N. A. Handayani, M. Luthfansyah, E. Krisanti, S. Kartohardjono and K. Mulia, "Preparation, physical characterization, and stability of Ferrous-Chitosan microcapsules using different iron sources," *AIP Conf. Proc.*, vol. 1904, 2017.
- [20] ASTM D 1068–05, "Standard Test Methods for Iron in Water," *ASTM Int.*, West Conshohocken, PA, USA, pp. 1–11, 2014. [Online]. Available: [www.astm.org](http://www.astm.org)
- [21] N. Z. Nengsih, K. Jetsrisuparb and J. T. N. Knijnenburg, "Development of Iron Alginate Beads by Ionotropic Gelation for Nutritional Applications," in *Toward. Sustain. Dev. Goals Transform. Beyond*, pp. 136–145, 2023.
- [22] J. T. N. Knijnenburg *et al.*, "Iron/zinc Alginates as Vehicles for Food Fortification with Enhanced Stability in Polyphenol-Rich Foods," *Food Biophys.*, vol. 19, no. 3, pp. 665–675, 2024.
- [23] C. Valenzuela, V. Hernández, M. S. Morales, A. Neira-Carrillo and F. Pizarro, "Preparation and characterization of heme iron-alginate beads," *LWT*, vol. 59, no. 2P2, pp. 1283–1289, 2014.
- [24] G. G. Rao and G. Somidevamma, "Volumetric determination of iron (III) with hydroxylamine as a reducing agent," *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, vol. 165, no. 6, pp. 432–436, 1959.