

บทที่ 3

การทดลอง

3.1 สารเคมีและวัสดุ

3.1.1 สารเคมี

1. Tapioca starch (E.T.C. International Trading Co., Ltd. Thailand)
2. Deionized water (Electroceramics Research center, Chiang Mai University, Thailand)
3. Dibasic calcium phosphate dihydrate (Sudeep Pharma Ltd., India)
4. Magnesium stearate (Akcros chemicals, Netherland)
5. Ethanol 99.9% (Merck, Germany)

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. Rapid Visco Analyser, RVA (RVA 4, Newport Scientific Pty. Ltd., Australia)
2. อุปกรณ์สำหรับการเตรียมเส้นใยนาโนไฟเบอร์ (คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่)
3. FT-IR (Nicolet 6700, Thermo Electron Scientific Instrument, LLC, USA)
4. Single stroke tableting machine (Hanseaten Exacta E1, Germany)
5. X-ray diffractometer (JDX-8030, JEOL, Japan)
6. เครื่องลดขนาด Oscillating granulator (KSL รุ่น 380 V3PH, ประเทศไทย)
7. ตู้อบ (Binder รุ่น ED 240/E2, Germany)
8. แร่ขนาด 20, 30, 40 mesh (Retsch รุ่น AS 200, Germany)
9. Hot plate และ magnetic stirrer (Heldolph รุ่น MR – 2002, Germany)
10. เครื่องวัดความแข็ง (Erweka, TBA-100, Germany)
11. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (JSM-5910, Jeol, Japan)
12. กล้องถ่ายภาพดิจิทัล (SONY รุ่น DSC – S750, China)
13. เครื่องวัดการแตกตัว (Pharmatest, PTZ-AUTO, Germany)
14. เครื่องชั่งวิเคราะห์ (Sartorius, Model 1702, Germany)
15. Differential scanning calorimeter (DSC 7, Perkin Elmer, USA)
16. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Avanti 30, Beckman, USA)
17. Moisture balance (MA 150, Sartorius, USA)

3.3. วิธีการทดลอง

3.3.1 การศึกษาเบื้องต้นในการเตรียมเส้นใยนาโนโดยวิธีอิเล็กโตรสปินนิง

การเตรียมเส้นใยจากแป้งเปียก

เพื่อศึกษาการเตรียมเส้นใยนาโนจากพอลิเมอร์โดยเน้นแป้งมันสำปะหลังเป็นหลักหรือมีการทดลองผสมกับพอลิเมอร์ชนิดที่นิยมใช้ในทางเภสัชกรรม เช่น ไคโตซาน และพอลิเอทิลีนออกไซด์ผสมร่วมด้วย สำหรับแป้งมันสำปะหลังให้เตรียมเป็นแป้งเปียกที่มีความเข้มข้น 5, 10, 15, และ 20 % โดยน้ำหนัก โดยเตรียมที่อุณหภูมิ 60, 70, 80, และ 90 °C ตามลำดับ ใช้เวลา 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นตัวลงที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำมาผ่านกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง

การเตรียมเส้นใยจากแป้งเปียกผสมสารละลายไคโตซานและพอลิเอทิลีนออกไซด์

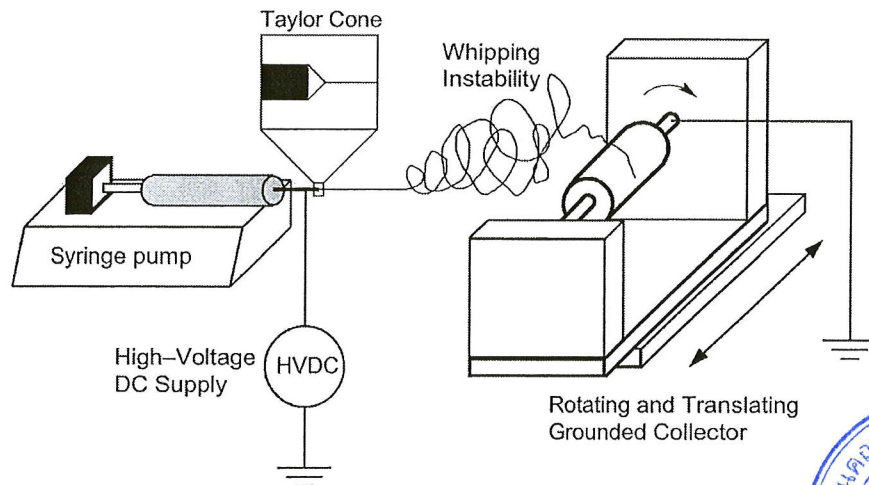
ในการเตรียมแป้งเปียกผสมสารละลายไคโตซานและพอลิเอทิลีนออกไซด์ แบ่งออกเป็น การเตรียมแป้งเปียก สารละลายไคโตซาน และพอลิเอทิลีนออกไซด์ โดยเตรียมแป้งเปียกเข้มข้น 15 % โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 90 °C ทิ้งไว้ให้เย็นตัวลงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเตรียมสารละลายไคโตซานและพอลิเอทิลีนออกไซด์อัตราส่วน 1:1 ในสารละลายกรดอะซิติก (50 % โดยปริมาตร) ความเข้มข้นทั้งหมด 5 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 ชั่วโมง จากนั้นนำแป้งเปียกมาผสมกับสารละลายที่เตรียมในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 2:1, 3:1, และ 4:1 ตามลำดับ แล้วทำการคนสารละลายเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายมานำมาผ่านกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง

การเตรียมสารละลายแป้งผสมกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

ในการเตรียมสารละลายจะใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ในความเข้มข้น 6 % โดยน้ำหนัก เริ่มจากการคำนวณแล้วชั่งผง PVA ตามที่คำนวณได้ ซึ่งปริมาตรของสารละลายจะเตรียมครั้งละ 15 มิลลิลิตร จากนั้นทำการชั่งแป้งแล้วทำการผสมลงไปพร้อมกับผง PVA โดยทำการเพิ่มปริมาณของแป้ง จาก 0.5, 1.0, 1.5, และ 2 กรัม ตามลำดับ ในน้ำปราศจากไอออน ที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นตัวลงจนได้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำตัวอย่างมาผ่านกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง

อุปกรณ์สำหรับกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง

อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงแสดงในรูปที่ 3.1 โดยในกระบวนการเตรียมเส้นใย จะใช้ความต่างศักย์ 20 กิโลโวลต์ ระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับแผ่นรับเส้นใย เท่ากับ 15 เซนติเมตร



รูปที่ 3.1 แสดงการจัดอุปกรณ์สำหรับการทำการสปินสารละลาย



3.3.2 การเตรียมเส้นใยจากแป้งมันสำปะหลังโดยวิธีอิเล็กโตรสปินนิง

ในการเตรียมเส้นใยจากแป้งมันสำปะหลังมีขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

1. การเตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลัง

ทำการเตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลังในน้ำกลั่นในความเข้มข้นต่างๆ กัน ได้แก่ 3, 3.5, 4, 4.5 และ 5% โดยน้ำหนัก โดยทำการผสมแป้งลงในน้ำในความเข้มข้นที่ต้องการ คนให้เข้ากันเป็นเวลานาน 15 นาที และให้ความร้อนจนได้อุณหภูมิที่ 75°C พร้อมกับคนไปด้วย จนกระทั่งแป้งละลายได้ทั้งหมด ปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องซึ่งพร้อมที่จะนำไปเตรียมให้เส้นใยโดยอาศัยอุปกรณ์สำหรับอิเล็กโตรสปินนิงที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ ระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับแผ่นรองรับที่แช่อยู่ในอ่างที่บรรจุแอลกอฮอล์มีระยะทาง 15 ซม. ความต่างศักย์ที่ใช้ในการเตรียมอยู่ในช่วง 15 – 20 kV การเตรียมเส้นใยเตรียมขึ้นที่อุณหภูมิห้อง

2. การศึกษาคุณสมบัติความหนืดของสารละลายแป้ง

ศึกษาคุณสมบัติการเกิดเป็นแป้งเปียก (paste) ในความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ น้ำกลั่น เป็นตัวกลาง รวมทั้งในขณะเดียวกันก็ศึกษาความหนืดที่เกิดขึ้นโดยใช้เครื่องมือ Rapid Visco Analyser ตามวิธีการของ AACCC^[43] โดยปริมาตรตัวอย่างที่ใช้แต่ละครั้งมีจำนวนเท่ากับ 25

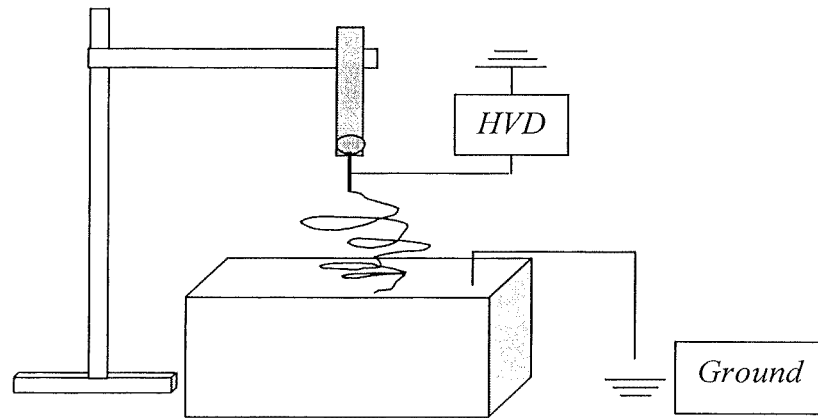
มิลลิลิตร ในความเข้มข้นต่างๆ กัน ตั้งแต่ 3, 3.5, 4, 4.5 และ 5% โดยน้ำหนัก กระบวนการให้ความร้อน และปล่อยให้เย็นลงของเครื่องมือมีขั้นตอนคือ การให้ความร้อนต่อตัวอย่างที่นำมาวัด จะเริ่มต้นที่การให้ความร้อนที่ 50°C นาน 1 นาที จากนั้นให้ความร้อนจนกระทั่งได้อุณหภูมิถึง 95°C ภายใน 5 นาที และให้ความร้อนต่อไป ณ อุณหภูมิ 95°C นั้นต่อไปอีกนาน 5 นาที และทำให้เย็นลงจนได้อุณหภูมิ 50°C ภายใน 7.5 นาที และในท้ายสุดจะคงอุณหภูมิของตัวอย่างไว้ที่ 50°C อีกนาน 2 นาที โดยทุกตัวอย่างที่นำมาทดสอบจะใช้วงจรการให้ความร้อนและการทำให้เย็นลงเหมือนกัน ค่าที่ทำการวัดโดยตรงได้แก่ค่า Peak viscosity (PV), Hot paste viscosity (HPV) และ Cool paste viscosity (CPV) นอกจากนี้จากข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่าง paste viscosity ในหน่วยของ centipoise (cP) กับเวลาที่ทดลองซึ่งสามารถที่จะทำให้ได้ค่า derivative parameters อื่นๆ เช่น ค่าของ breakdown ($\text{BD}=\text{PV}-\text{HPV}$), ค่าของ setback ($\text{SB}=\text{CPV}-\text{PV}$) และค่าของ peak time (P_{time})^[44-45]

ข้อมูลจากการศึกษานี้จะทำให้ได้ความเข้มข้นและความหนืดของตัวอย่างที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ฉีดเพื่อเตรียมเส้นใยโดยเทคนิคของอิเล็กโตรสปินนิงต่อไป

3. การฉีดเส้นใย

อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการเตรียมเส้นใยในการทดลองครั้งนี้แสดงในรูปที่ 3.2 ซึ่งอาศัยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง ที่ทำให้หยดของสารละลายพอลิเมอร์กลายเป็นเส้นใยโดยเฉพาะที่มีการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว โดยมีการควบคุมปัจจัยต่างๆ ที่สำคัญ 3 อย่าง คือ ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ อัตราการฉีดสารละลาย และระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉีดกับแผ่นรองรับ เพื่อให้ได้เส้นใยตามที่ต้องการ โดยในเบื้องต้นได้ทำการศึกษาเพื่อให้ได้ปัจจัยที่เหมาะสม โดยพบจุดที่เหมาะสมของศักย์ไฟฟ้าที่ 20 kV และระยะห่างที่เหมาะสมระหว่างปลายเข็มกับแผ่นรองรับคือ 15 เซนติเมตร

ในรูปที่ 3.2 แสดงถึงการติดตั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมเส้นใยจากแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งได้มีการดัดแปรที่แตกต่างไปจากวิธีการเดิมที่ใช้กันอยู่โดยมีการติดตั้งอ่างสำหรับบรรจุแอลกอฮอล์เพิ่มเติมเข้าไปในระบบและบรรจุแอลกอฮอล์ที่มีอุณหภูมิ -20°C เพื่อรองรับเส้นใยที่ถูกปั่นเหวี่ยงออกมาจากปลายเข็มเพื่อเร่งให้เส้นใยที่ได้มีการแห้งตัว แผ่นรองรับซึ่งเป็น metal grids จะวางแช่ในแอลกอฮอล์ แป้งเปียกที่มีความเข้มข้นต่างๆ จะถูกดันและปั่นเหวี่ยงออกจากปลายเข็มโดยใช้ syringe pump และตกลงไปหา metal grids ในอ่างที่มีแอลกอฮอล์บรรจุอยู่โดยตรงและได้เป็นเส้นใย หลังจากนั้นนำเส้นใยที่ได้ที่ยังมีน้ำและแอลกอฮอล์อยู่บางส่วนไปไล่น้ำและแอลกอฮอล์โดยอาศัยปั๊มสุญญากาศ



รูปที่ 3.2 อุปกรณ์อิเล็กตรอนสปินนิ่งที่มีอ่างบรรจุแอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิ -20°C

3.3.3 การตรวจสอบคุณลักษณะเส้นใยที่เตรียมได้

1. การหาขนาด รูปร่าง และลักษณะพื้นผิว

ตรวจสอบขนาดและลักษณะพื้นผิวโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) ซึ่งจะทำให้การวิเคราะห์ขนาด ช่วงขนาด รูปร่าง รูพรุน และลักษณะพื้นผิวจากภาพที่ถ่ายได้ โดยติดตัวอย่างบน metal stub ด้วย carbon adhesive และต่อมาเคลือบด้วยทองคำภายใต้สุญญากาศก่อนที่จะนำไปส่องกล้อง

2. ความสามารถในการพองตัวในน้ำ (swelling power) และดัชนีการละลายน้ำ (water solubility index)

การทดลองหา Swelling power และ water solubility index จะวิเคราะห์ตามวิธีที่ได้ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Kong และคณะ^[46] โดยชั่งแบ่งปริมาณ 100 mg (dry weight basis) ใน screw-cap test tube และจากนั้นเติมน้ำกลั่น 10 มล. ปิดฝา และนำหลอดทดลองไปเขย่าบน vortex mixer เป็นเวลา 10 วินาที และนำไป incubate ใน water bath ที่อุณหภูมิ 55°C , 65°C , 75°C , 85°C และ 95°C เป็นเวลา 30 นาที และมีการเขย่าหลอด โดย vortex mixer ทุก ๆ 2 นาที หลังจากนั้นทำให้หลอดทดลองเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง โดยแช่ในอ่างน้ำแข็ง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2000 g นาน 30 นาที และดูดเอาส่วนที่เป็นน้ำยาใส (supernatant) ออก ส่วนชั้นของแข็งสีขุ่นให้พิจารณาเป็นสิ่งที่ลอยอยู่บนผิว (supernatant) จะมีเพียงส่วนที่ติดอยู่กับผนังของหลอดทดลองเท่านั้นที่จะถูกนำไปคิดเป็นสารตกตะกอนและนำไปชั่งน้ำหนัก (Ws) นอกจากนั้นสิ่งที่ลอยอยู่บนผิว (supernatant) จะถูกทำ

ให้แห้งเพื่อหา constant weight (W1) ในตู้อบที่ 100 °C การคำนวณหา water solubility index (WSI) และ swelling power (SP) จะคำนวณตามสมการดังนี้

$$WSI = W1/0.1 \times 100\%, \quad SP = Ws/[0.1(100\% - WSI)](g/g)$$

การหา water swelling ratio (WSR) ของเส้นใยแป้งมันสำปะหลังที่ได้จากการผ่านกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง จะใช้สมการต่อไปนี้ในการคำนวณ

$$WSR = \frac{W_1 - W_0}{W_0} \times 100\%$$

โดย W_0 คือน้ำหนักของเส้นใยแป้งที่ผ่านการอบแห้งที่ 60 °C จนได้น้ำหนักคงที่
 W_1 คือน้ำหนักของเส้นใยที่มีการพองตัวเต็มที่และผ่านการปั่นเหวี่ยงที่ 4000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที
 ในการทดลองมีการทำซ้ำ 3 ครั้ง ^[47]

3. การตรวจหาความเป็นผลึก

ทำการตรวจหาความเป็นผลึกของแป้งมันสำปะหลังและเส้นใยจากแป้งมันสำปะหลังที่เตรียมได้โดยใช้เครื่อง X-ray diffractometer ที่ใช้ Nickle-filtered Cu K α ที่ 40 kV และ 50 mA ในช่วงของมุม 2 θ ระหว่าง 5°-60° โดยดู pattern ของ X-ray diffraction เพื่อเปรียบเทียบความเป็นผลึกของแป้งก่อนและหลังการผ่านกระบวนการของอิเล็กโตรสปินนิง

4. การตรวจการตอบสนองต่อความร้อนของแป้ง

ตรวจสอบโดยใช้เครื่อง Differential scanning calorimeter ตามวิธีการของ Kong และคณะ ^[46] โดยชั่งแป้งจำนวน 2.0 mg โดยฐานของน้ำหนักแห้งในจานชั่งอะลูมิเนียม (aluminium pan) และจากนั้นเติมน้ำกลั่น 6 μ l ลงไป แล้วปิดฝานีกลจานชั่งให้สนิทจนอากาศเข้าไม่ได้ และปล่อยให้สมดุลที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง จากนั้นใส่ในเครื่องและให้ความร้อนที่อัตรา 10 °C/นาที โดยเริ่มจากอุณหภูมิ 30 ถึง 120 °C โดยเปรียบเทียบกับจานชั่งเปล่าที่ไม่มีตัวอย่างที่ปิดสนิทเช่นกันเพื่อเป็นตัวอ้างอิง ค่าตัวแปรต่าง ๆ เช่น onset (T_0), peak (T_p), conclusion (T_c) temperature และ enthalpy (ΔH) ของการกลายเป็นเจล (gelatinization) ถูกวิเคราะห์โดย Universal Analysis software version 2.5H

5. FT-IR analysis

เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพว่าหมู่ฟังก์ชันที่มีอยู่ในโครงสร้างของแป้งและเส้นใยแป้งมีการเปลี่ยนแปลงไปหรือไม่หลังจากผ่านกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์สปินนิ่งโดยอาศัยจากสเปกตรัมของ FT-IR จากเครื่อง Nicolet 6700 โดยใช้ resolution 2 cm^{-1}

3.3.4 การเตรียมนยาเม็ดโดยใช้เส้นใยเป็นสารช่วย

เตรียมนยาเม็ดโดยกระบวนการตอกโดยตรงซึ่งไม่ต้องใช้สารช่วยยึดเกาะ โดยในตำรับยาเม็ดมีองค์ประกอบของเส้นใยที่เตรียมขึ้นได้ โดยใช้ในปริมาณร้อยละ 1, 2.5, 5, 7.5 และ 10 โดยน้ำหนักในตำรับเพื่อใช้เป็นสารช่วยแตกตัว และทำการเปรียบเทียบกับแป้งมันสำปะหลังในปริมาณที่เท่ากัน นอกจากนั้นยังทำการศึกษาผลของการใช้เส้นใยและแป้งมันสำปะหลังร่วมกัน โดยเลือกจากความเข้มข้นที่มีความเหมาะสมที่ได้จากการทดลอง

ทำการผสมเส้นใยที่เตรียมได้ หรือแป้งมันสำปะหลัง หรือเส้นใยผสมกับแป้งมันสำปะหลัง ในอัตราส่วนต่างๆ ตามที่กำหนดกับ dibasic calcium phosphate dihydrate โดยใช้การเขย่าในถุงพลาสติก (Tumbling) เป็นเวลานาน 5 นาที หลังจากนั้นทำการผสมผงผสมที่ผสมเข้ากันได้ทั่วแล้วกับ magnesium stearate ซึ่งเป็นสารช่วยหล่อลื่น โดยใช้ magnesium stearate ในปริมาณ 0.5% ผสมนานเป็นเวลา 1 นาที จึงนำผงผสมที่ได้ไปทำการตอกให้เป็นเม็ดยาที่มีขนาดน้ำหนัก 500 มิลลิกรัม โดยใช้เครื่องตอกยาเม็ดแบบสากลเดี่ยวที่สามารถวัดแรงตอกอัดได้ โดยแรงที่ใช้ตอกคือ 1800-2000 กิโลกรัม และสากลที่ใช้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ผิวหน้าเรียบ หลังจากนั้นทำการเก็บเม็ดยาที่ตอกได้ไว้ใน desicators เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำไปทดสอบคุณสมบัติทางด้านต่างๆ ของเม็ดยาต่อไป

จากการเตรียมนยาเม็ดโดยใช้วิธีตอกโดยตรงสามารถที่จะนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาใช้วิเคราะห์เส้นใยที่เตรียมได้ที่นำมาใช้ในตำรับในเบื้องต้นว่ามีความเหมาะสมในการใช้เป็นสารช่วยเพิ่มปริมาณ ได้หรือไม่นอกเหนือไปจากการใช้เป็นสารช่วยแตกตัวในยาเม็ด รวมทั้งการใช้เป็นสารช่วยยึดเกาะ

สำหรับการประเมินการนำเส้นใยที่เตรียมขึ้นมาใช้เป็นสารช่วยในการยึดเกาะในยาเม็ดยานั้นจะเปลี่ยนจากการใช้ dicalcium phosphate dihydrate ซึ่งเป็นสารเพิ่มปริมาณที่สามารถนำมาใช้ในการตอกโดยตรงได้โดยไม่ต้องใช้สารช่วยในการยึดเกาะเพราะมีคุณสมบัติช่วยให้ผงยาเกาะกันเองได้ในตัว จึงเปลี่ยนมาใช้แลคโตสแทนซึ่งเป็นสารเพิ่มปริมาณที่จะต้องอาศัยสารช่วยยึดเกาะเพื่อให้สามารถเกิดเป็นรูปเม็ดยาขึ้นไปได้ โดยนำเส้นใยมาเตรียมให้อยู่ในรูปสารละลายความเข้มข้น 10% โดยต้มกับน้ำและให้ความร้อนที่ 85°C นำไปผสมเปียกให้เข้ากัน

กับแลคโตสจำนวน 25 กรัม จนได้ผงผสมที่เปียกพอเหมาะ แล้วนำไปผ่านร่อนขนาด 14 mesh นำแกรนูลเปียกที่ได้ไปอบแห้งในตู้อบที่ 40 °C นาน 24 ชั่วโมง และนำแกรนูลแห้งที่ได้ไปผ่านร่อนขนาด 20 mesh อีกครั้ง จากนั้นนำไปผสมกับ magnesium stearate 0.5 % โดยน้ำหนัก ในถุงพลาสติกเป็นเวลานาน 1 นาที จากนั้นนำไปตอกเป็นเม็ดที่มีขนาดหนัก 400 มิลลิกรัม โดยใช้เครื่องตอกยาเม็ดแบบสากลเดี่ยวที่สามารถวัดแรงตอกอัดได้ โดยแรงที่ใช้ตอกคือ 1800-2000 กิโลกรัม และสากลที่ใช้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ผิวหน้าเรียบ และทำการวัดความแข็งของเม็ดยาที่ตอกได้

ความแข็งของเม็ดยาทำการวัดด้วยเครื่องวัดความแข็ง Erweka โดยวัดจำนวน 6 เม็ด และหาค่าเฉลี่ยความแข็งจากเม็ดยาทั้ง 6 เม็ด โดยมีหน่วยวัดเป็นนิวตัน ส่วนระยะเวลาการแตกตัว (Disintegration time) ทำการทดสอบโดยใช้เครื่อง Pharmatest โดยดำเนินการทดสอบการแตกตัวตามข้อกำหนดที่ระบุไว้ใน USP 32/NF 27^[48] โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวกลาง และทดสอบที่อุณหภูมิ 37 °C