# บทที่ 3
# วิธีการดำเนินการวิจัย

## 1. วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

### 1.1 วัตถุดิบ

แป้งข้าวเหนียว (glutinous rice starch) (Cho-Heng Company, Thailand)

### 1.2 สารเคมี

1.2.1 95 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล (95% ethanol) (กรมสรรพสามิต กระทรวงการคลัง ประเทศไทย)

1.2.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) (Lab-Scan, Ireland)

1.2.3 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) (BDH PROLABO, Belgium)

1.2.4 กรดซิตริกโมโนไฮเดรต (citric acid monohydrate) (Lab-Scan, Ireland)

1.2.5 โพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ (propranolol hydrochloride) (Jiangsu Yabang, China)

1.2.6 ไมโครคริสตอลไลน์เซลลูโลสพีเอช 102 (microcrystolline cellulose PH 102) (Novacel® PH 102) (FMC BioPolymer, Ireland)

1.2.7 ไฮดรอซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส อี 15 เอลวี พรีเมียม (hydroxypropylmethylcellulose; HPMC E15 LV; HPMC E15LV) (Methocel® E15LV) (Rama Production, Thailand)

1.2.8 ไดเบสิคโซเดียมไฮโดรเจนออโทรฟอสเฟตแอนไฮดรัส (dibasic-sodium hydrogen orthophosphate anhydrous) (Ajax Finechem, Australia)

1.2.9 คอลลอดอลซิลิคอนไดออกไซด์ (colloidal silicon dioxide) (Aerosil®200, Evonik Industries AG, Germany)

1.2.10 แมกเนเซียมสเตียเรท (magnesium stearate) (Fluka Chemika, Switzerland)

1.2.11 กลีเซอรอล (glycerol) (Ajax Finechem, Australia)

1.2.12 โพลีเอไทลีนไกลคอล 400 (polyethylene glycol 400; PEG 400) (ห้างหุ้นส่วนจำกัด เค ซายน์ เซนเตอร์, ขอนแก่น, ประเทศไทย)

1.2.13 ซอร์บิทอล (sorbitol) (D-sorbitol powder (Ajax Finechem, Australia)

1.2.14 เมทานอล (methanol) (Lab-Scan, Ireland)

1.2.15 โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) (Carlo Erba Reagenti, France)

## 1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.3.1 เครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอรีเมทรี (Differential Scanning Calorimetry) (Model DSC 822$^{e}$, Mettler Toledo, Switzerland)

1.3.2 เครื่องตอกยาเม็ดชนิดสากเดี่ยว (single punch tabletting machine) (Model EKO, บริษัท เหยี่ยวเฮง จำกัด, ประเทศไทย)

1.3.3 เครื่องวัดการปลดปล่อยตัวยาของยาเม็ด (dissolution apparatus) Model VK- 7000/8000, Vankel Technology Group, NC, USA)

1.3.4 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงยูวี (UV-VIS Spectrophotometry) (Model UV-1201, SHIMADZU, Japan)

1.3.5 เครื่องวัดหาขนาดอนุภาค (Laser Particle Size Analyzer) (Mastersizer® 2000, Malvern, England)

1.3.6 เครื่องวัดประจุบนผิวอนุภาค (Zetasizer Analyzer) (Model Nano Series ZS, Malvern, England)

1.3.7 เครื่องป้อนสารละลาย (peristaltic pump) (Model 505S, Watson-Marlow, England)

1.3.8 เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Analysis) (Model TA-XT Plus, Stable Micro Systems Texture Analyser , UK)

1.3.9 เครื่องวัดความหนืดอย่างรวดเร็ว (Rapid Visco Analyzer) (Model RVA 4, Newport Scientific, Australia)

1.3.10 เครื่องวัดความหนืด (Brookfield Rheometer) (Model DV-III,Brookfield® Engineering, Massachusetts, USA)

1.3.11 กล้องถ่ายภาพอิเลคตรอน (Scanning Electron Microscope; SEM) (Model JSM-5410LV, JEOL, Japan)

1.3.12 เครื่องหาโครงสร้างผลึกของสารด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffractometer) (Model D8 Discover, Bruker AXS, Germany)

1.3.13 เครื่องหาองค์ประกอบของสาร (Fourier Transform InfraRed Spectroscopy; FT-IR) (Spectrum One, Perkin Elmer, USA)

1.3.14 เครื่องวัดหาการแตกตัวของเม็ดยา (disintegration apparatus) (Model QC21, Hanson® Research, CA, USA)

1.3.15 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (Model M 250, CORNING®, England)

1.3.16 เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด (top loading balance) (Model A120S, BP 3100S, Sartorius®, Germany) (Model AG135, Mettler Toledo, Switzerland)

1.3.17 เครื่องเคลือบเม็ดยา (tablet coating machine) (Thai Coater 15”®, Model FC15”, Pharmacrutical and Medical Supply, Thailand)

1.3.18 เครื่องวัดความแข็งของยาเม็ด (tablet hardness tester) (Model VK 200, Vankel, Benchsarer™Series, NC, USA.)

1.3.19 เวอร์เนียคาลิเปอร์ (vernia caliper) (Mitutoyo®, Japan)

1.3.20 เครื่องวัดหาความกร่อนของเม็ดยา (friability tester) (Model Friabilitor, Vankel®, NJ, USA)

1.3.21 ตู้อบลมร้อน (hot air oven) (Model LD0-080F, DAIHAN LABTECH®, Korea)

1.3.22 เครื่องปั่นกวนสารละลาย (blender ,mixer) (Model RW20, IKA®, Janke & Kunkel, Germany)

1.3.23 ตะแกรงแร่ง (sieve) (ASTM Mesh no. 100, Retsch®, W. Germany)

1.3.24 โถควบคุมความชื้น 12 นิ้ว (glass type dessicator 12")

1.3.25 เครื่องปั่นเหวียงหนีศูนย์ (centrifuge) (Model Biofuge 28RS, HERAEUS®, Germany)

1.3.26 เครื่องเขย่าสารละลาย (shaking water bath) (Model SS40-A5, Grant, Barrington Cambridge, England)

1.3.27 อ่างน้ำความเร็วเหนือเสียง (ultra sonic bath) (Model Transsonic T 700/H, Elma®, Germany)

1.3.28 เครื่องวัดความชื้นแบบเข็ม (hygrometer) (Hot Marker, Japan)

## 2. วิธีดำเนินการวิจัย

### 2.1 การเตรียมแป้งข้าวเหนียวดัดแปรด้วยด่างในแอลกอฮอล์

**2.1.1** โปรยแป้งข้าวเหนียว จำนวน 200 กรัม ลงใน 40% w/w ethanol จำนวน 1,800 กรัม คนให้เข้ากันด้วย spatula เป็นเวลา 15 นาที

**2.1.2** เติม 2.1 M sodium hydroxide จำนวน 400 กรัม ลงไปด้วยอัตรา 20 กรัมต่อนาที (โดยใช้ peristaltic pump) ผสมให้เข้ากัน โดยใช้เครื่องปั่นกวนสารละลาย ใช้ใบพัดขนาด 100 มิลลิเมตร ความเร็วหมุน 200 รอบต่อนาที และหลังจากเติม 2.1 M sodium hydroxide ครบแล้ว ผสมต่อไปอีก 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม 40% w/w ethanol จำนวน 1,600 กรัม และผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 15 นาที

**2.1.3** เติม 1.0 M hydrochloric acid ใน 40% w/w ethanol จำนวน 400 กรัม ด้วยอัตรา 20 กรัมต่อนาที (โดยใช้ peristaltic pump) และผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องปั่นกวนสารละลาย ใช้ใบพัดขนาด 100 มิลลิเมตร ความเร็วหมุน 200 รอบต่อนาที

**2.1.4** แยก Supernatant 3,200 กรัม ออกจากตะกอนแป้งทันที (เพื่อไม่ให้ตะกอนแป้งจับตัวกันแน่น) เติม 40% w/w ethanol จำนวน 400 กรัม ลงในตะกอนแป้ง ใช้ spatula คนจนตะกอนแป้งกระจายตัวในของเหลว

**2.1.5** เติม 0.5 M citric acid monohydrate ใน 40% w/w ethanol จำนวน 40 กรัม ลงใน ข้อ 2.1.4 ด้วยอัตรา 20 กรัมต่อนาที (โดยใช้ peristaltic pump) และผสมให้เข้ากัน (โดยใช้เครื่องปั่นกวนสารละลาย ใช้ใบพัดขนาด 100 มิลลิเมตร ความเร็วหมุน 100 รอบต่อนาที) หลังจากเติม 0.5 M citric acid monohydrate ครบใช้ spatula บี้ก้อนแป้งที่จับกันจนทั่ว นาน 5 นาที

**2.1.6** ทำขั้นตอนข้อ 2.1.5 อีก 4 รอบ (รวมใช้ 0.5 M citric acid monohydrate ใน 40% w/w ethanol หลังกระทำกับตะกอนแป้งทั้งหมด 200 กรัม)

**2.1.7** กรองแยกตะกอนแป้งใส่ลงในภาชนะสแตนเลส เติม 95% w/w ethanol จำนวน 400 กรัม ใช้ spatula บี้ก้อนแป้งที่จับกันจนทั่ว นาน 5 นาที

**2.1.8** ทำดังข้อ 2.1.7 อีกครั้ง แล้วกรองแยกตะกอนแป้งใส่ลงในถาดสแตนเลส กระจายให้เป็นชิ้นเล็กๆ โดยใช้ spatula นำไปอบที่ตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักแป้งดัดแปรแห้งที่ได้ และนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดลดขนาด แล้วผ่านแร่งขนาดมาตรฐาน เบอร์ 100 mesh ที่รูเปิดขนาด 150 ไมครอน

## 2.2 การศึกษาคุณสมบัติของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรด้วยด่างในแอลกอฮอล์

### 2.2.1 ลักษณะภายนอกของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ

ศึกษาลักษณะขนาดและรูปร่างของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ โดยการโปรยผงแป้งลงบนสตับแล้วเคลือบด้วยทอง (gold) นำไปตรวจดูด้วยกล้องถ่ายภาพอิเลคตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM) ทำการเปรียบเทียบภาพถ่ายที่ได้กับแป้งข้าวเหนียวก่อนการดัดแปร

### 2.2.2 ขนาดอนุภาคของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ

ศึกษาขนาดอนุภาคของแป้ง โดยการเติมผงแป้งประมาณ 15 กรัม ลงในถาดตัวอย่าง ประกอบถาดตัวอย่างลงในเครื่องวัดอนุภาคด้วยเทคนิควัดการกระเจิงของแสงเลเซอร์ ปรับระดับการสั่นถาดตัวอย่างและแรงดันอากาศของการวัด เพื่อให้ได้ระดับสัญญาณการวัดที่แรงพอ บันทึกค่าการวัดและวิเคราะห์ผลจากกราฟแสดงการกระจายขนาดของอนุภาค จำนวนตัวอย่าง n = 3 ค่าร้อยละของขนาดอนุภาคที่วัดได้ ตั้งแต่ช่วง 0.1 ถึง 3,000 ไมครอน เปรียบเทียบขนาดอนุภาคของแป้งดัดแปรฯ กับแป้งก่อนการดัดแปร

### 2.2.3 คุณสมบัติด้านอุณหภูมิของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ

ศึกษาอุณหภูมิที่ทำให้แป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะจากของแข็งกลายเป็นเจล (Gelatinization Temperature; Tg.) โดยใช้เครื่องดิฟเฟอร์เรนเชียลสแกนนิ่งแคลอรีเมทรี (Differantial Scanning Calorimetry; DSC) และใช้ถาดอลูมิเนียม (Aluminium Pan) ขนาด 40 ไมโครลิตร การทดสอบทำโดยชั่งตัวอย่างแป้ง น้ำหนัก 3.0-3.5 มิลลิกรัม ใส่ในถาดอลูมิเนียมบนเครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด 5 ตำแหน่ง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 7 ไมโครลิตร ปิดผนึกด้วยฝาอลูมิเนียม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำถาดตัวอย่างเข้าทดสอบในเครื่อง DSC กำหนดอุณหภูมิทดสอบที่ 25 ถึง 100 องศาเซลเซียส ในอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที แล้วทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิปกติ บันทึกกราฟคุณสมบัติทางอุณหภูมิหรือเทอร์โมแกรม (Thermogram) อุณหภูมิเริ่มต้น (Onset Temperature; $T_o$ ) อุณหภูมิสูงสุด (Peak Temperature; $T_p$ ) อุณหภูมิสุดท้าย (Conclusion Temperature; $T_c$ ) และเอนทัลปี (Enthalpy; $\Delta H$,J/g.) เปรียบเทียบเทอร์โมแกรมของแป้งดัดแปรฯ กับแป้งก่อนการดัดแปร จำนวนตัวอย่าง n = 3

### 2.2.4 คุณสมบัติโครงสร้างผลึกของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ

ศึกษาโครงสร้างผลึกของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ ด้วยเครื่องเครื่องหาโครงสร้างผลึกของสารด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffractometer) โดยใช้รังสี copper (Cu) กำหนดสภาวะที่ 40 กิโลโวล์ท 40 มิลลิแอมป์ มุมกระทบของรังสี $2\theta$ = 3-40 องศา อัตราการสแกน 0.03 องศาต่อสเตป ที่ 0.5 วินาทีต่อสเตป ทำการเปรียบเทียบโครงสร้างผลึกของแป้งดัดแปรฯ กับแป้งก่อนการดัดแปร

**2.2.5 ศึกษาองค์ประกอบของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ**

ศึกษาองค์ประกอบของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ โดยบดผสมตัวอย่างแป้งเข้ากับโพแทซเซียมโบรไมด์ (KBr) ใน smooth motar แล้วนำไปอัดเป็นแผ่น disk ด้วยเครื่องอัดไฮโดรริก นำไปวัดด้วยเครื่องหาองค์ประกอบของสาร (Fourier Transform InfraRed Spectroscopy; FT-IR) กำหนดความยาวคลื่นช่วง 450 ถึง 4,000 $cm^{-1}$ เปรียบเทียบ spectrum ของแป้งดัดแปรฯ กับแป้งก่อนการดัดแปร

**2.2.6 คุณสมบัติความเป็นประจุที่ผิวของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ**

ศึกษาความเป็นประจุที่ผิวของแป้ง โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างแป้ง 0.1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร เขย่าให้แป้งละลาย นำสารละลายแป้งดังกล่าว เติมลงใน cell ทดสอบ ไล่ฟองอากาศออกให้หมด แล้วปิดจุก cell ทดสอบ ใช้กระดาษทิชชูเช็ดบริเวณหน้าสัมผัสขั้วไฟฟ้าที่ cell ให้แห้งสนิท นำไปวัดด้วยเครื่อง Zetasizer (Zeta Potential) เปรียบเทียบความเป็นประจุของแป้งดัดแปรฯ กับแป้งก่อนการดัดแปร จำนวนตัวอย่าง n = 3

**2.2.7 คุณสมบัติความหนืดของสารละลายแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ ที่อุณหภูมิต่างๆ**

ชั่งตัวอย่างแป้ง 2.5 กรัม ลงในกระบอกใส่ตัวอย่าง เติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร กำหนดสภาวะของเครื่องวัดความหนืดอย่างรวดเร็ว (Rapid Visco Analyzer; RVA) ในการทดสอบ โดยใช้ชุดใบพัดกวนทำการกวนแป้งที่หมุนด้วยความเร็ว ดังนี้ วินาทีที่ 0-10 หมุนด้วยความเร็ว 960 รอบต่อนาที หลังจากนั้นหมุนด้วยความเร็ว 160 รอบต่อนาที จนเสร็จสิ้นเวลาทดสอบ และกำหนดอุณหภูมิในการทดสอบ ดังนี้

| | |
|---|---|
| อุณหภูมิเริ่มต้น 50 องศาเซลเซียส | คงที่นาน 1 นาที |
| อุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 50 ถึง 95 องศาเซลเซียส | ในเวลา 3.8 นาที |
| อุณหภูมิคงที่ที่ 95 องศาเซลเซียส | นาน 2.4 นาที |
| อุณหภูมิลดลงจาก 95 ถึง 50 องศาเซลเซียส | ในเวลา 3.8 นาที |
| อุณหภูมิสุดท้ายที่ 50 องศาเซลเซียส | คงที่นาน 2 นาที |
| รวมระยะเวลาทั้งสิ้น | 13 นาที |

เปรียบเทียบกราฟคุณสมบัติของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ กับแป้งก่อนการดัดแปร
จำนวนตัวอย่าง n = 3

**2.2.8 คุณสมบัติความหนืดของสารละลายแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ**

ศึกษาความหนืดของแป้งในสารละลายตัวกลาง 3 ชนิด คือ น้ำ, 0.1 M hydrochloric acid และ phosphate buffer pH 6.8 โดยชั่งตัวอย่างแป้ง 5.0 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายตัวกลาง 30 กรัม กวนด้วยแท่งแก้วจนแป้งกระจายตัว แล้วเติมสารละลายตัวกลางจนได้สารละลายแป้ง 100 กรัม คนด้วยแท่งแก้วให้กระจายตัว และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อให้แป้งพองตัวเต็มที่ นำไปวัดความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield® Rheometer เปรียบเทียบความหนืดของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ กับแป้งก่อนการดัดแปร จำนวนตัวอย่าง n = 3

**2.2.9 ความเป็นกรด-ด่างของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ**

ศึกษาความเป็นกรด-ด่างของแป้งในสารละลายตัวกลาง 3 ชนิด คือ น้ำ, 0.1 M hydrochloric acid และ phosphate buffer pH 6.8 โดยนำสารละลายแป้งจากข้อ 2.2.8 ไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง เปรียบเทียบความเป็นกรด-ด่าง ของแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ กับแป้งก่อนการดัดแปร จำนวนตัวอย่าง n = 3

**2.2.10 ความสามารถในการพองตัว (Swelling Capacity)**

ศึกษาความสามารถในการพองตัวของแป้งในสารละลายตัวกลาง 3 ชนิด คือ น้ำกลั่น, 0.1 M hydrochloric acid และ phosphate buffer pH 6.8 โดยชั่งตัวอย่างแป้ง 2.0 กรัม ($V_0$) ใส่ลงในกระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายตัวกลางปริมาตร 80 มิลลิลิตร เขย่านาน 5 นาที เพื่อให้แป้งกระจายตัวในสารละลายตัวกลาง ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านค่าปริมาตรของแป้งที่พองตัว (V) จำนวนตัวอย่าง n = 3 คำนวณหาความสามารถในการพองตัว จากสูตร

$$Swelling\ Capacity = V/V_0 \qquad (1)$$

$V_0$ หาได้โดยชั่งตัวอย่างแป้ง 30 กรัม (mass) ใส่ลงในกระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตรเคาะห่างจากพื้นสูง 1 นิ้ว จำนวน 100 ครั้ง แล้วอ่านค่าปริมาตรของแป้งในกระบอกตวง (VT) คำนวณเป็นความหนาแน่นต่อน้ำหนักตัวอย่างแป้ง 2 กรัม จากสูตร

$$V_0 = 2x(VT/mass) \qquad (2)$$

**2.2.11 ความสามารถในการละลาย (Solubility)**

ทำการศึกษาความสามารถในการละลายของแป้งในสารละลายตัวกลาง 3 ชนิด คือ น้ำกลั่น, 0.1 M hydrochloric acid และ Phosphate Buffer pH 6.8 โดยชั่งตัวอย่างแป้ง 0.25 กรัม ลงในหลอดทดลองพลาสติก ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายตัวกลางจนครบน้ำหนัก 25 กรัม ปิดฝาหลอดทดลอง นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารละลาย นาน 30 นาที และนำไปปั่นแยกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงหนีศูนย์ ที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 30 นาที นำส่วนบนที่ใสน้ำหนักแม่นยำ 10 กรัม ใส่ลงใน Petri-Dish Plate ชั่งน้ำหนักสารละลายก่อนอบ นำเข้าตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักหลังอบ หักลบด้วยน้ำหนัก Petri-Dish Plate เปล่า ได้ค่าน้ำหนักของแป้งที่สามารถละลายได้ (W) จำนวนตัวอย่าง n = 3 นำไปคำนวณหาความสามารถในการละลายของแป้งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ จากสูตร

$$\%\ Solubility = 1,000xW \qquad (3)$$

**2.3 การศึกษาผลของสารเพิ่มความยืดหยุ่นที่มีต่อคุณสมบัติของฟิล์มจากแป้งข้าวเหนียวดัดแปรด้วยด่างในแอลกอฮอล์**

ศึกษาผลของสารเพิ่มความยืดหยุ่น 3 ชนิด ได้แก่ glycerol, sorbitol และ PEG400 โดยแต่ละชนิดศึกษาที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ที่ร้อยละ 10 20 และ 30 ของน้ำหนักแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ โดยมีกลุ่มเปรียบเทียบคือ แป้งข้าวเหนียวก่อนการดัดแปร (แป้งดิบ) และแป้งข้าวเหนียวดัดแปรที่ไม่ใช้สารเพิ่มความยืดหยุ่น และใช้ hydroxypropyl methylcellulose E15LV เป็นสารก่อฟิล์มต้นแบบ (Benchmark)

**2.3.1 การเตรียมสารละลายแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ**

โดยโปรยแป้งน้ำหนัก 25 กรัมลงในน้ำกลั่น น้ำหนัก 400 กรัม ที่ปั่นกวนด้วยเครื่องปั่นกวนสารละลาย ใช้ใบพัดขนาด 100 มิลลิเมตร ความเร็วในการหมุน 400 รอบต่อนาที กวนเป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง เติมสารเพิ่มความยืดหยุ่น ปรับน้ำหนักด้วยน้ำกลั่นจนครบ 500 กรัม โดยมีแป้งคิดเป็นความเข้มข้นร้อยละ 5 ของน้ำหนัก กวนต่ออีกเป็นเวลา 15 นาที เพื่อผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

**2.3.2 การเตรียมแผ่นฟิล์มแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ**

โดยการเทสารละลายฟิล์ม จากข้อ 2.3.1 น้ำหนัก 200 กรัม ลงในถาดขนาดกว้างคูณยาว 200x150 มิลลิเมตร นำไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลอกแผ่นฟิล์มออกจากถาด เก็บแผ่นฟิล์มที่ได้ในสภาวะที่ควบคุมใน dessicator ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ภายในเท่ากับ 40±2% RH (Pongjanyakul T., 2009) ที่อุณหภูมิห้อง

**2.4 การศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มจากแป้งข้าวเหนียวดัดแปรด้วยด่างในแอลกอฮอล์**

**2.4.1 การศึกษาคุณสมบัติด้านความเป็นกรดด่างสารละลายฟิล์มแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ**

นำสารละลายฟิล์มจากข้อ 2.3.1 ไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ที่อุณหภูมิห้อง จำนวนตัวอย่าง n = 3

**2.4.2 ความหนืดของสารละลายฟิล์มแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ**

นำสารละลายฟิล์มจากข้อ 2.3.1 ไปวัดค่าความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield® Rheometer ที่อุณหภูมิห้อง จำนวนตัวอย่าง n = 3

**2.4.3 การศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์ม**

ศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์ม ได้แก่ ความสามารถในการต้านทานการเจาะ (Puncture Strength; PS) และความสามารถในการยืด (Elongation) โดยใช้เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Analysis) กำหนดสภาวะของเครื่อง โดยใช้ Load Cell ขนาด 50 กิโลกรัม ชุดหัวกดเจาะแบบ 5 มิลลิเมตร Spherical Probe แท่นยึดตัวอย่างฟิล์มที่มีช่องเปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.8 มิลลิเมตร ความเร็วในการเคลื่อน Probe ที่ 2 มิลลิเมตรต่อวินาที ตัวอย่างฟิล์มที่ทดสอบมีขนาด 25x25 มิลลิเมตร บันทึกค่าที่ได้จากการทดสอบ ได้แก่ แรงสูงสุดที่ฟิล์มทนได้จนฉีกขาด (Max Force; F (Newton; N)) และระยะทางสูงสุดที่ฟิล์มสามารถยืดได้ก่อนฉีกขาด (Distance; D ( Millimetter; mm.)) จำนวนตัวอย่าง n = 3 คำนวณหาค่า Puncture Strength (MPa) และค่าความสามารถในการยืด (%Elongation) (Wei, Li-Fang, Bai, Chun-Lei, Qing, Young-Zhen and De-Ying, 2009.) จากสูตร

$$Puncture\ Strength = F/A_{cs} \qquad (4)$$

F คือ แรงที่ใช้ในการกดของ Probe สูงสุดจนฟิล์มฉีกขาด (Max Force, Newton;N)

$A_{cs}$ คือ พื้นที่หน้าตัดของตัวอย่างฟิล์มซึ่งมีขนาดเท่ากับช่องเปิดของแท่นยึดฟิล์ม

($A_{cs}$= 2rd, โดย r คือ รัศมีช่องเปิดของแท่นยึดฟิล์ม และ d คือ ความหนาของตัวอย่างฟิล์ม)

$$\%Elongation = (((r^2 + D^2)^{1/2} - r)/r)x100 \quad (5)$$

r = รัศมีช่องเปิดของแท่นยึดฟิล์ม

D = ค่าระยะทางสูงสุดที่ฟิล์มสามารถยืดได้ก่อนฉีกขาด (Distance, Millimetter; mm.)

**2.4.4 การศึกษาคุณสมบัติการซึมผ่านของไอน้ำผ่านแผ่นฟิล์ม**

ศึกษาการซึมผ่านของไอน้ำผ่านแผ่นฟิล์ม ทำโดยใช้ขวดทดสอบที่มีขนาด 5 มิลลิลิตร ฝาปิดรูเปิดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 10.5 มิลลิเมตร และชั่งน้ำหนักขวดทดสอบเปล่าพร้อมโอริงและฝาปิด บันทึกค่าน้ำหนักที่ชั่งได้ ใส่ silica gel (ที่ผ่านการอบไล่ความชื้น ที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และทิ้งไว้ให้เย็นลงในภาชนะปิดกันความชื้น) น้ำหนัก 5 กรัม บันทึกค่าน้ำหนักที่ชั่งได้จริง เก็บขวดทดสอบเข้าไว้ในภาชนะกันความชื้น ชั่งน้ำหนักตัวอย่างแผ่นฟิล์มที่ตัดด้วย Cutting Hole ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ½ นิ้ว บันทึกค่าน้ำหนัก และสวมตัวอย่างแผ่นฟิล์มเข้ากับฝาขวดทดสอบแล้วรองทับด้วยโอริง ประกอบเข้ากับตัวขวดทดสอบ บันทึกค่าน้ำหนักที่ชั่งได้ นำขวดทดสอบเข้าทดสอบในโถควบคุมความชื้นที่ 75%RH ที่อุณหภูมิห้อง นำขวดทดสอบออกมาชั่งน้ำหนักที่เวลาผ่านไป ที่ 30 นาที,1, 2, 6, 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง คำนวณหาค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อพื้นที่และความหนาของแผ่นฟิล์ม ได้ค่า Water Vapor Permeability of Films (WVP) เปรียบเทียบคุณสมบัติของฟิล์มแป้งดัดแปรฯ ในสภาวะต่างๆ กับฟิล์มจาก HPMC E15LV จำนวนตัวอย่าง n = 3 โดยใช้สูตร

$$Water\ Vapor\ Permeability(WVP)\ (g.mm./m^2.d.kPa) = (WVTRxThickness\ of\ Film)/(Sx(R_1-R_2) \quad (6)$$

$$Water\ Vapor\ Transmission\ Rate\ (WVTR)\ (g./m^2.d) = (G/t)/Area \quad (7)$$

โดย S คือ ค่าความดันไอน้ำอิ่มตัวที่ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 23.76 มิลลิเมตรปรอท ($0.1333x10^3$ ปาสคาล เท่ากับ 1 มิลลิเมตรปรอท)

$R_1$ คือ ค่าความชื้นสัมพัทธ์ ณ บรรยากาศภายในโถทดสอบ เท่ากับ ร้อยละ 75

$R_2$ คือ ค่าความชื้นสัมพัทธ์ ณ บรรยากาศภายในขวดทดสอบ

G/t คือ ความชันที่เป็นเส้นตรงของกราฟระหว่างน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง (กรัม) และเวลา (24 ชั่วโมง)

Area คือ พื้นที่หน้าตัดทดสอบของฟิล์ม เท่ากับ 92.242 ตารางมิลลิเมตร

**2.4.5 การศึกษาคุณสมบัติในการดูดความชื้นของฟิล์มแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ**

ศึกษาคุณสมบัติในการดูดความชื้นของฟิล์มแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ ทำโดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างแผ่นฟิล์มที่ตัดด้วย Cutting Hole ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ½ นิ้ว บันทึกค่าน้ำหนัก ($W_0$) วางตัวอย่างแผ่นฟิล์มเข้าไปในขวดทดสอบปิดฝาให้สนิท บันทึกค่าน้ำหนักตัวอย่างแผ่นฟิล์มรวมกับขวดทดสอบที่ชั่งได้ นำขวดทดสอบที่เปิดฝาออก เข้าทดสอบในโถควบคุมความชื้นที่ 75%RH ที่อุณหภูมิห้อง นำขวดทดสอบออกจากโถควบคุม ปิดฝาให้สนิท นำมาชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักฟิล์มโดยหักลบขวดทดสอบ (W) ที่เวลาผ่านไป ที่ 30 นาที,1, 2, 6, 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง คำนวณหาค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อพื้นที่และความหนาของแผ่นฟิล์ม ได้ค่า Water Uptake of Films (WU) เปรียบเทียบคุณสมบัติของฟิล์มแป้งดัดแปรฯ ในสภาวะต่างๆ กับฟิล์มจาก HPMC E15LV จำนวนตัวอย่าง n = 3 โดยใช้สูตร

$$\%Water\ Uptake\ ;\ WU = (W - W_0)/W_0)x100 \qquad (8)$$

**2.4.6 การศึกษาการละลายของแผ่นฟิล์ม (Solubiity of Films)**

ศึกษาการละลายของแผ่นฟิล์ม ทำโดยตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 25x25 มิลลิเมตร ชั่งน้ำหนักของฟิล์มก่อนทดสอบ ($T_0$) นำฟิล์มไปทดสอบการละลายโดยวางบนชุดทดสอบ (แผ่นตะแกรง เบอร์ 100 mesh ขนาด 60 x 60 มิลลิเมตร ยกขอบสูงประมาณ 5 มิลลิเมตร) ก่อนทดสอบทำการชั่งน้ำหนักชุดทดสอบเปล่า แล้วบันทึกค่าน้ำหนักก่อนทดสอบ วางชุดทดสอบในสารละลายตัวกลาง 3 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น, 0.1 M hydrochloric acid และ phosphate buffer pH 6.8 ที่อุณหภูมิห้องในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ที่ใช้ทดสอบ (ปริมาตรสารละลายตัวกลาง 800 มิลลิลิตร) โดยให้ชุดทดสอบวางที่ความลึกจากผิวน้ำ 50 มิลลิเมตร จับเวลาที่ 0 เมื่อชุดทดสอบสัมผัสสารละลายตัวกลาง และให้นำชุดทดสอบที่เวลา 5, 10, 15, 30 และ 60 นาที นำไปอบในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำมาชั่งน้ำหนักตะแกรงหลังการอบ ได้ค่าน้ำหนักรวม หักลบน้ำหนักชุดทดสอบ ได้เป็นค่าน้ำหนักแผ่นฟิล์มที่เหลือ (T) บันทึกค่า จากนั้นทดสอบการละลายที่เวลาต่างๆ และกระทำเช่นเดียวกัน นำค่าน้ำหนักที่ได้ไปคำนวณหาน้ำหนักฟิล์มที่ละลายออกไปคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบคุณสมบัติในการละลายของฟิล์มแป้งดัดแปรฯ ในสภาวะต่างๆ กับฟิล์มแป้งก่อนการดัดแปร และฟิล์มจาก HPMC E15LV จำนวนตัวอย่าง n = 3 โดยใช้สูตร

$$\%Solubility = (T - T_0)/T_0)x100 \qquad (9)$$

**2.4.7 คุณสมบัติด้านอุณหภูมิของฟิล์มแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ ด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimetry (DSC)**

ศึกษาอุณหภูมิที่ทำให้แผ่นฟิล์มแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะจากของแข็งกลายเป็นเจล (Gelatinization Temperature; Tg.) โดยใช้เครื่องดิฟเฟอร์เรนเชียลสแกนนิ่งแคลอรีเมทรี (Differantial Scanning Calorimetry; DSC) ใช้ถาดอลูมิเนียม (Aluminium Pan) ขนาด 40 ไมโครลิตร การทดสอบทำโดยชั่งตัวอย่างแผ่นฟิล์มที่ถูกตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ในถาดอลูมิเนียมให้ได้น้ำหนัก 3.0 ถึง 3.5 มิลลิกรัม โดยใช้เครื่อง

ชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด 5 ตำแหน่ง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 7 ไมโครลิตร ปิดผนึกด้วยฝาอลูมิเนียม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำถาดตัวอย่างทดสอบในเครื่อง DSC กำหนดอุณหภูมิทดสอบที่ 25 ถึง 100 องศาเซลเซียส ในอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที แล้วทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิปกติ บันทึกกราฟคุณสมบัติทางอุณหภูมิหรือเทอร์โมแกรม (Thermogram) อุณหภูมิเริ่มต้น (Onset Temperature; $T_o$ ) อุณหภูมิสูงสุด (Peak Temperature; $T_p$ ) อุณหภูมิสุดท้าย (Conclusion Temperature; $T_c$ ) และเอนทัลปี (Enthalpy; $\Delta H$,J/g.) เปรียบเทียบเทอร์โมแกรมของฟิล์มแป้งดัดแปรฯ ในสภาวะต่างๆ กับฟิล์มแป้งก่อนการดัดแปร และฟิล์มจาก HPMC E15LV จำนวนตัวอย่าง n = 3

**2.4.8 คุณสมบัติโครงสร้างผลึกของฟิล์มแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ**

ศึกษาโครงสร้างผลึกของฟิล์มแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ ด้วยเครื่องเครื่องหาโครงสร้างผลึกของสารด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer) โดยใช้รังสี copper (Cu) กำหนดสภาวะที่ 40 กิโลโวล์ท 40 มิลลิแอมป์ มุมกระทบของรังสี $2\theta$ = 3-40 องศา อัตราการสแกน 0.03 องศาต่อสเตป ที่ 0.5 วินาทีต่อสเตป ทำการเปรียบเทียบโครงสร้างผลึกของฟิล์มแป้งดัดแปรฯ ในสภาวะต่างๆ กับฟิล์มแป้งก่อนการดัดแปร และฟิล์มจาก HPMC E15LV

## 2.5 การเคลือบฟิล์มยาเม็ดด้วยสารก่อฟิล์มจากแป้งข้าวเหนียวดัดแปรด้วยด่างในแอลกอฮอล์

### 2.5.1 การเตรียมยาเม็ดแกน (core tablet)

โดยใช้ยา propranolol hydrochloride เป็นยาต้นแบบ (model drug) ที่เตรียมด้วยวิธีการตอกโดยตรง (direct compression) โดยยาเม็ดแกน 1 เม็ด มีน้ำหนัก 300 มิลลิกรัม ซึ่งประกอบด้วย propranolol hydrochloride 40 มิลลิกรัม Novacel® PH 102 ปริมาณ 256.4 มิลลิกรัม colloidal silicone dioxide 0.6 มิลลิกรัม และ magnesium stearate 3 มิลลิกรัม

นำสูตรตำรับที่ได้ไปตอกอัดเป็นเม็ดด้วยเครื่องตอกยาเม็ดชนิดสากเดี่ยว (single punch tabletting machine) โดยกำหนดขนาดด้วยสาก-เบ้า ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3/8 นิ้ว ผิวหน้าโค้ง ควบคุมให้ได้น้ำหนักต่อเม็ด 300 มิลลิกรัม ความแข็ง 17 ถึง 19 กิโลกรัม

### 2.5.2 การเคลือบเม็ดยาด้วยฟิล์มจากแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ

#### 2.5.2.1 การเตรียมสารเคลือบ

เตรียมสารเคลือบเม็ดยาที่มีสารก่อฟิล์มจากแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ ความเข้มข้นร้อยละ 5 ของน้ำหนัก และมีสารประกอบต่างๆ ในตำรับ ได้แก่ สารเพิ่มความยืดหยุ่น 3 ชนิด (glycerol (G), sorbitol (S) และ PEG400 (P)) แต่ละชนิด 3 ระดับ (ร้อยละ 10, 20 และ 30 ของน้ำหนักแป้ง) โดยมีกลุ่มเปรียบเทียบ คือ สารเคลือบฟิล์มแป้งข้าวเหนียวดัดแปรที่ไม่มีสารเพิ่มความยืดหยุ่น และ สารเคลือบฟิล์ม HPMC E15LV ที่ไม่มีสารเพิ่มความยืดหยุ่น ดังตารางที่ 14

**ตารางที่ 14** ส่วนประกอบของสารเคลือบ ใน 1,000 กรัม

| ลำดับ | ส่วนประกอบ (กรัม) | HPMC | AGS | AGS G10 | AGS G20 | AGS G30 | AGS P10 | AGS P20 | AGS P30 | AGS S10 | AGS S20 | AGS S30 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | HPMC E15LV | 50 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 2 | AGS | - | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| 3 | Glycerol | - | - | 5 | 10 | 15 | - | - | - | - | - | - |
| 4 | PEG 400 | - | - | - | - | - | 5 | 10 | 15 | - | - | - |
| 5 | Sorbitol | - | - | - | - | - | - | - | - | 5 | 10 | 15 |
| 6 | Purify Water | 950 | 950 | 945 | 940 | 935 | 945 | 940 | 935 | 945 | 940 | 935 |

**2.5.2.2 การเคลือบเม็ดยาด้วยสารละลายฟิล์มแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ**

โดยเคลือบเม็ดยาให้มีความหนาของฟิล์มที่ระดับของสารก่อฟิล์มคิดเป็นร้อยละ 3 ของน้ำหนักเม็ดยาแกน และเปรียบเทียบกับการเคลือบเม็ดยาด้วยฟิล์มจาก HPMC กำหนดสภาวะในการเคลือบเม็ดยา ดังนี้

สภาวะการเคลือบยาเม็ด

เม็ดยาแกน น้ำหนัก 1,500 กรัม, สารเคลือบที่ใช้ 900 กรัม

เครื่องเคลือบ Thai Coater 15”

อุณหภูมิลม เข้าในระบบ = 85±2 องศาเซลเซียส, ออกจากระบบ = 58±2 องศาเซลเซียส

ความเร็วหมุนของหม้อเคลือบ = 10 รอบต่อนาที

แรงดันอากาศหัวพ่นละอองสารเคลือบ = 550 กิโลปาสคาล

อัตราการป้อนสารเคลือบ = 6.5 กรัมต่อนาที

**2.5.2.3 ศึกษาผลของระดับของการเคลือบเม็ดยาด้วยสารละลายแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ**

โดยคัดเลือกสูตรสภาวะของสารเคลือบจากแป้งข้าวเหนียวดัดแปรฯ ที่มีผลการประเมินคุณสมบัติที่ดีมา 3 สูตร โดยพิจารณาจากคุณสมบัติที่ดี 4 ประการ ตามลำดับ ได้แก่ คุณสมบัติการซึมผ่านของไอน้ำผ่านแผ่นฟิล์ม (WVP) คุณสมบัติการดูดซับความชื้นของเม็ดยาเคลือบฟิล์ม (moisture absorption of film coated tablets) การละลายของแผ่นฟิล์ม (solubility of films) และคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์ม ได้แก่ ความสามารถในการต้านทานการเจาะ (puncture strength; PS) และความสามารถในการยืด (elongation) ทำการเคลือบเม็ดยา (เม็ดยาแกน น้ำหนัก 1,500 กรัม) ให้มีความหนาของฟิล์มที่แตกต่างกันโดยคิดจากน้ำหนักของสารเคลือบ 3 ระดับ คือเคลือบที่ระดับของสารก่อฟิล์มคิดเป็นร้อยละ 2, 3 และ 4 ของน้ำหนักเม็ดยาแกน และเปรียบเทียบกับการเคลือบเม็ดยาด้วย HPMC โดยใช้สภาวะในการเคลือบเม็ดยา ดังนี้

สภาวะการเคลือบยาเม็ด

สารเคลือบที่ใช้ 600 กรัม

ที่ระดับของสารก่อฟิล์มคิดเป็นร้อยละ 2 ของน้ำหนักเม็ดยาแกน

และ

สารเคลือบที่ใช้ 900 กรัม

ที่ระดับของสารก่อฟิล์มคิดเป็นร้อยละ 3 ของน้ำหนักเม็ดยาแกน

และ

สารเคลือบที่ใช้ 1,200 กรัม

ที่ระดับของสารก่อฟิล์มคิดเป็นร้อยละ 4 ของน้ำหนักเม็ดยาแกน

ส่วนสภาวะอื่นๆ กระทำเช่นเดียวกับ ข้อ 2.5.2.2

## 2.6 การประเมินคุณสมบัติของยาเม็ดเคลือบฟิล์มจากแป้งข้าวเหนียวดัดแปรด้วยด่างในแอลกอฮอล์

### 2.6.1 ศึกษาการดูดซับความชื้นของเม็ดยาเคลือบฟิล์ม (Moisture Absorption of film coated tablets)

ศึกษาโดยใช้ขวดทดสอบขนาดปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่มีฝาปิดสนิท ชั่งน้ำหนักขวดทดสอบเปล่าพร้อมฝา บันทึกค่าน้ำหนักที่ชั่งได้ จากนั้นบรรจุเม็ดยาเคลือบใส่ในขวดทดสอบและปิดฝา ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง บันทึกค่าน้ำหนักเริ่มต้น ($T_0$) นำขวดทดสอบที่เปิดฝาปิดออก เข้าทดสอบในโถกันความชื้น (dessicator) ที่บรรจุ sodium chloride ที่อิ่มตัวด้วยน้ำ ควบคุมความชื้นที่ 75 $\pm$ 2%RH ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเวลาผ่านไป (T) ที่ 12, 24, 36, 48, 60, 72, 96, 120, 144 และ 168 ชั่วโมง นำขวดทดสอบออกมาพร้อมปิดฝาขวดทดสอบทันที แล้วชั่งน้ำหนัก คำนวณหาค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของเม็ดยาเคลือบฟิล์ม คิดเป็นร้อยละของการดูดซับความชื้นที่เวลา 60 ชั่วโมง จำนวนตัวอย่าง n = 3 โดยเปรียบเทียบกับเม็ดยาที่ไม่ได้เคลือบ และเม็ดยาที่เคลือบด้วย HPMC E15LV คำนวณได้จากสูตร

$$\%Moisture\ Absorption = ((T-T_0)/T_0)x100)_{sample} - ((T-T_0)/T_0)x100)_{core} \qquad (10)$$

### 2.6.2 ศึกษาความหนาและน้ำหนักของเม็ดยาเคลือบ

ศึกษาความหนาของเม็ดยาเคลือบ โดยสุ่มตัวอย่างเม็ดยาเคลือบจำนวน 6 เม็ด นำไปวัดความหนาด้วย Vernia Caliper บันทึกค่าที่วัดได้ หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ศึกษาน้ำหนักของเม็ดยาเคลือบ โดยสุ่มตัวอย่างเม็ดยาจำนวน 20 เม็ด นำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง บันทึกค่าที่วัดได้ นำไปหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**2.6.3 ศึกษาความแข็งของเม็ดยาเคลือบ**

ศึกษาความแข็งของเม็ดยาเคลือบ โดยโดยสุ่มตัวอย่างเม็ดยาเคลือบจำนวน 10 เม็ด นำไปทดสอบความแข็ง ด้วยเครื่องวัดความแข็งของยาเม็ด (Tableted Hardness Tester) บันทึกค่าที่วัดได้ หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**2.6.4 ศึกษาคุณสมบัติด้านการแตกตัวของยาเม็ดเคลือบ**

ศึกษาความสามารถในการแตกตัวของเม็ดยาเคลือบ โดยโดยสุ่มตัวอย่างเม็ดยาเคลือบจำนวน 6 เม็ด นำไปทดสอบการแตกตัวของเม็ดยา ด้วยเครื่องวัดหาการแตกตัวของเม็ดยา (Disintegration Apparatus) ตามมาตรฐานข้อกำหนดใน USP 32/2009 ใช้น้ำเป็น medium บันทึกค่าที่วัดได้ หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**2.6.5 การหาปริมาณตัวยาสำคัญในยาเม็ดเคลือบ ด้วยวิธี UV Spectrophotometry**

ศึกษาปริมาณตัวยาสำคัญในยาเม็ดเคลือบ (content uniformetry) โดยสุ่มตัวอย่างเม็ดยา 1 เม็ด ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย dilute hydrochloric acid (1 : 100) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เม็ดยากระจายตัว และเติมเมธานอล ปริมาตร 70 มิลลิลิตร นำไป sonocate ด้วยเครื่อง Ultra Sonic Bath เป็นเวลานาน 1 นาที จากนั้นปรับปริมาตรด้วยเมธานอลจนครบปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปิเปตสารละลายส่วนใสปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมธานอลจนครบ 10 มิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงยูวี ความยาวคลื่น $\lambda$ Max ที่ 289 นาโนเมตร จำนวนตัวอย่าง n = 3

สำหรับสารละลายมาตรฐานโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ ทำโดยชั่งโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ น้ำหนักแม่นยำ 40 มิลลิกรัม ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตรมิลลิลิตร เติมสารละลาย dilute hydrochloric acid (1 : 100) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้กระจายตัว และเติมเมธานอล ปริมาตร 70 มิลลิลิตร นำไป sonocate ด้วยเครื่อง Ultra Sonic Bath เป็นเวลานาน 1 นาที จากนั้นปรับปริมาตรด้วยเมธานอลจนครบปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปิเปตสารละลาย 1,000 ไมโครลิตร ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมธานอลจนครบ 10 มิลลิลิตร ได้เป็นสารละลายมาตรฐานโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปสแกนหา $\lambda$ Max เพื่อหาความยาวคลื่นแสงยูวีที่ใช้ในการวัดปริมาณโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ (USP 32, NF 27, 2009) คำนวณหาปริมาตรสารโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ ที่มีอยู่ในเม็ดยา

**2.6.6 ศึกษาคุณสมบัติในการปลดปล่อยของยาเม็ดเคลือบ**

การศึกษา คุณสมบัติในการปลดปล่อยตัวยาโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์จากเม็ดยาเคลือบฟิล์ม ทำโดยการทดสอบด้วยเครื่องวัดการปลดปล่อยตัวยาแบบอัตโนมัติ Automatic Dissolution Apparatus ทดสอบในสภาวะสารละลายตัวกลางที่เป็นกรดเจือจางไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 ต่อ 100 (dilute hydrochloric acid 1:100) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง อุณหภูมิทดสอบที่ 37 $\pm$2 องศาเซลเซียส แกนทดสอบเป็นแบบ basket ความเร็วในการหมุน 100 รอบต่อนาที ทำการสุ่มสารละลายตัวอย่างที่เวลาทดสอบผ่านไปที่ 2, 5, 8, 12, 20, 30, 45 และ 60 นาที ปริมาตรในการเก็บตัวอย่าง 4 มิลลิลิตร และเติมสารละลายกรดเจือจางกลับที่ปริมาตรเดียวกัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิส สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น $\lambda$ Max คำนวณหาปริมาณตัวยาสำคัญโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ที่เม็ดยาสามารถปลดปล่อยออกมาได้ โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน

โพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ จำนวนตัวอย่าง n = 6 โดยคุณสมบัติของยาเม็ดโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์เคลือบฟิล์มจะต้องมีความสามารถในการปลดปล่อยตัวยาได้ มากกว่าร้อยละ 75 (Q) ของปริมาณตัวยาสำคัญตามที่ระบุไว้ ภายในเวลา 30 นาที คำนวณหาเวลาในการปลดปล่อยตัวยาสำคัญจากเม็ดยาเคลือบได้ร้อยละ 50 ($T_{50\%}$)

สำหรับสารละลายมาตรฐานโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ ทำโดยชั่งโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ น้ำหนักแม่นยำ 40 มิลลิกรัม ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตรมิลลิลิตร เติมสารละลาย dilute hydrochloric acid (1 : 100) ปริมาตร 70 มิลลิลิตร เขย่าให้กระจายตัว นำไป sonocate ด้วยเครื่อง Ultra Sonic Bath เป็นเวลานาน 1 นาที จากนั้นปรับปริมาตรด้วย dilute hydrochloric acid (1 : 100) จนครบปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปิเปตสารละลาย 125, 250, 500, 1,000 และ 1,250 ไมโครลิตร ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย dilute hydrochloric acid (1 : 100) จนครบ 10 มิลลิลิตร ได้เป็นสารละลายมาตรฐานโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 5, 10, 20, 40 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปค่าการดูดกลืนแสงยูวี ที่ความยาวคลื่น $\lambda$ Max นำค่าการดูดกลืนแสงไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ ได้สมการความสัมพันธ์ และนำไปใช้ในการคำนวณหาปริมาตรสารโพรพราโนลอลไฮโดรคลอไรด์ ที่มีอยู่ในเม็ดยา อ้างอิงตามข้อกำหนดใน USP 32, NF 27, 2009

## 2.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

### 2.7.1 การวิเคราะห์ตัวอย่าง (Data Analysis)

สถิติเชิงพรรณา (Descriptive Statistics) แต่ละกลุ่มหาค่าแนวโน้มเข้าสู่ส่วนกลาง (ค่าเฉลี่ย; mean) และการกระจายของข้อมูล (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; Standard Deviation; SD)

### 2.7.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์สถิติด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 17.0 KKU License, ID: 5068054, Serial : 5068054

ตั้งสมมติฐานแบบสองทาง (two-sided test)

$H_0$: $\mu 1 = \mu 2 = \mu$..... , $H_a$: $H_0$ is false กำหนด $\alpha = 0.05$

ใช้ Multiple Comparisons แบบ Tukey's HSD (Honestly Significant Difference) ในการพิสูจน์ความแตกต่างกัน