

บทที่ 3

การทดลอง

เครื่องมือ

Autoclave (Model HA-3D No. 80055118, Hirayama manufacturing corporation Tokyo, Japan)

Blender (Waring Blender)

Brookfield Viscometer (Brookfield engineering laboratories, Inc, U.S.A.)

Centrifuge (Sigma, U.S.A.)

Chromatographic Chamber

Digital Controller Panel Mounting (Model HBO 434.206, Denmark)

Freeze Dryer (Model DC-35, Yamato Scientific Co. Ltd., Japan)

Hot Air Oven (Mettert, West Germany)

Infrared Spectrophotometer IR-440 (Shimadzy, Japan)

Nitro Atomizer Mobile Minor Spray Dryer (Pharmaceutical Organization, Denmark)

Ostwald Viscometer (Thomas, Philadelphia, U.S.A.)

Pycnometer (Thomas, U.S.A.)

Sartorius L310 (Sartorius GmbH, West Germany)

Spray Apparatus

Vortex Genine (Scientific industries Inc., U.S.A.)

Ultraviolet Detector (Camag)



## สารที่ใช้

### 1. Carrier

Acacia BP. (Wendt Chemic, Germany)  
 Tragacanth A 65 (Wendt Chemie, Germany)  
 Sodium Carboxymethylcellulose (Medium Viocosity)  
 Methylcellulose 1500 (U.S.A.)  
 Sodium alginate (BDH Chemicals Ltd Poole, England)

### 2. สารถนอม

Methyl paraben (Uno, Japan)  
 Propyl paraben (Uno, Japan)

### 3. Chelating agents

Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (Merck, Germany)

### 4. สารต้านออกซิเดชัน

Sodium metabisulfite (Merck, Germany)

### 5. ตัวทำละลายที่ใช้ใน Thin-Layer Chromatography

Ethanol (กรมสรรพสามิต, กรุงเทพฯ)  
 Deionized water  
 n-Butyl alcohol (Merck, Germany)

### 6. อาหารเลี้ยงเชื้อ (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U.S.A.)

Soybean Casein Digest Agar (Tryptic Soy Agar)  
 Sabouraud Dextrose Agar



Fluid Soybean Casein Digest Medium (Tryptic Soy Broth)

Mannitol Salt Agar

Cetrimide Agar Base

MacConkey Agar

Agar

Selenite Broth

Bismuth Sulphite Agar

SS Agar

Cooked Meat Medium

EMB

7. สีย้อมเชื้อ

Gram Crystal Violet

Gram Safranin

Gram Iodine

8. สารที่ใช้เตรียมครีม 1

Mineral oil (U.S.A.)

Cetyl alcohol (Henkel, Germany)

Stearic acid (Henkel, Germany)

Amerchol L-101 (Croda, England)

Glyceryl monostearate (Bush Boake Allen, France)

Triethanolamine (Merck, Germany)

Propylene glycol (Arco, U.S.A.)

9. รีเอเจนต์ที่ใช้ทำให้เกิดสีบน Chromatogram

1-Naphthol (May & Baker, England)

Sulphuric acid 95-97% (Merck, Germany)



10. ว่านหางจระเข้ (*Aloe vera* จากคณะปริญญา ประดิษฐ์  
จ. ประจวบคีรีขันธ์)
11. อื่น ๆ  
 Dry Ice (บริษัทผลิตภัณฑ์อากาศ, กรุงเทพฯ)  
 Potassium bromide (England)  
 Anaerobic Indicator 100 (BBL, Canada)  
 Gaspak (BBL, Canada)  
 Aloe gel powder (U.S.A.)
12. Stationary Phases ที่ใช้ใน Thin Layer Chromatography  
 Kieselgel 60 G Art. 7731 (Merck, Germany)  
 Kieselgel 60 H F<sub>254</sub> Art. 7739 (Merck, Germany)  
 TLC plates RP-8 F<sub>254</sub> S (Merck, Germany)  
 TLC plates RP-18 F<sub>254</sub> S (Merck, Germany)

### วิธีการทดลอง

#### ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมเจลจากว่านหางจระเข้

- 1.1 ล้างใบว่านหางจระเข้ให้สะอาด แล้วตัดเป็นท่อน ๆ
- 1.2 ใช้มีดฝานใบว่านหางจระเข้ออกเป็น 2 ส่วน แล้วใช้ช้อนขูดเจลออกมาโดยไม่ให้มีน้ำยางสีเหลืองติดปนมา
- 1.3 นำเจลไปปั่นจนเหลวคล้ายน้ำ
- 1.4 centrifuge ด้วยความเร็ว 4500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที
- 1.5 กรองเอาส่วนใสไปใช้

#### ขั้นตอนที่ 2 การเตรียมเจลในรูปผงแห้ง

##### 2.1 การเตรียมโดยวิธี freeze-dried

เตรียมเจลจากว่านหางจระเข้ดังขั้นตอนที่ 1 จากนั้นนำมาเตรียมตำรับต่าง ๆ ดังต่อไปนี้



2.1.1 เจลจากวุ้นหางจระเข้

2.1.2 เจลจากวุ้นหางจระเข้ผสม carrier ต่าง ๆ คือ

- sodium carboxymethylcellulose (Medium Viscosity)
- methylcellulose 1500 cps.
- acacia
- tragacanth A 65
- sodium alginate

ในความเข้มข้น 0.5% w/v, 1.0% w/v และ 1.5% w/v ตามลำดับ

2.1.3 เจลจากวุ้นหางจระเข้ผสม methyl paraben 0.2% w/v, propyl paraben 0.02% w/v, EDTA 0.05% w/v และ sodium metabisulfite 0.1% w/v

2.1.4 เจลในข้อ 2.1.3 ผสม carrier ต่าง ๆ คือ

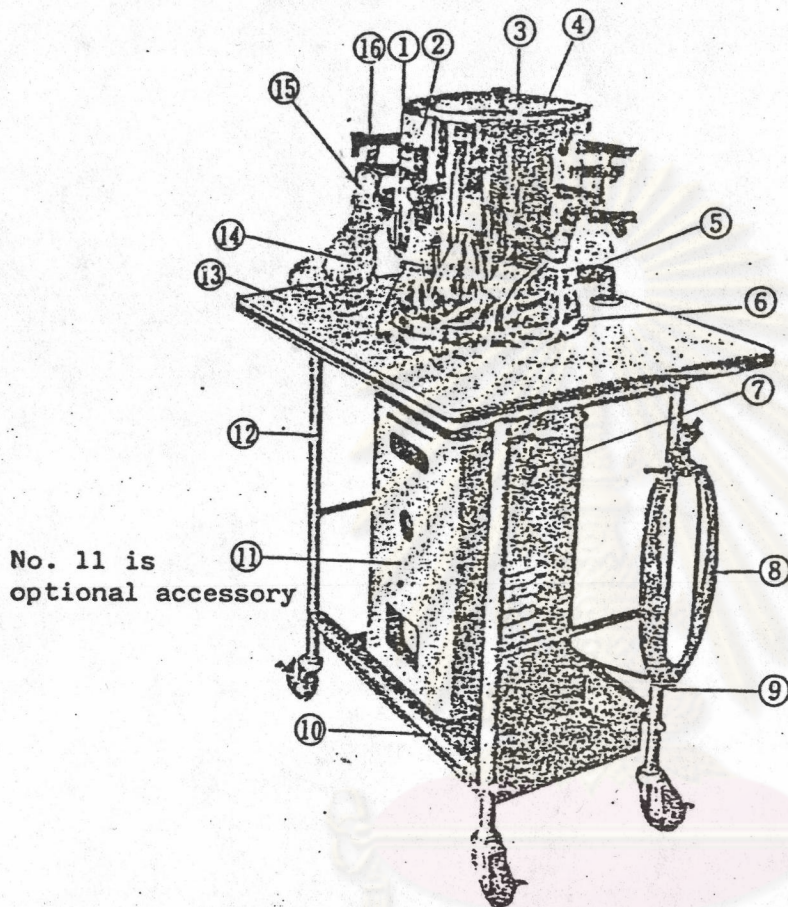
- sodium carboxymethylcellulose (Medium Viscosity)
- methylcellulose 1500 cps.
- acacia
- tragacanth A 65
- sodium alginate

ในความเข้มข้น 0.5% w/v, 1.0% w/v และ 1.5% w/v ตามลำดับ

นำตำรับทั้งหมดไปทำให้แห้งโดยวิธี freeze-dried โดยใช้เครื่องมือ Freeze Dryer Model DC-35 ดังภาพที่



## External View



- (1) Bennet type vacuum indicator
- (2) Outer trap cylinder
- (3) Inner trap cylinder cover
- (4) Inner trap cylinder
- (5) Vacuum hose
- (6) Trap receptacle
- (7) Oil gauge
- (8) Power cord
- (9) Power cord hook
- (10) Vacuum pump holding base
- (11) Vacuum pump (Optional Accessory)
- (12) Cart
- (13) Table
- (14) S29/42 eggplant-shaped flask
- (15) Flask joint
- (16) Vacuum cock

ภาพที่ 2 เครื่อง Freeze Dryer Model DC-35 (Yamato Scientific Co., Ltd., Japan)

ขั้นตอนการทำงานของเครื่อง Freeze Dryer Model DC-35

1. ค่อย ๆ เติม dry ice ลงใน ethanol ซึ่งบรรจุใน inner trap cylinder จนกระทั่ง ethanol ขึ้นเหนือ, ขาว และค่อยเติม dry ice ตลอดการทดลองเพื่อให้อุณหภูมิคงที่



2. นำตัวอย่างที่เตรียมไว้ใส่ใน flask แล้วหมนใน dry ice-ethanol freezing mixture ให้ได้ชิ้นบาง ๆ ของของเหลว ซึ่งเยือกแข็งและแห้งอย่างรวดเร็ว แล้วนำไปรวมเข้ากับ flask joint connector ที่ต่อกับ vacuum cock จากนั้นดูดอากาศออกจนได้ vacuum
3. ปลอ่ยให้เครื่องทำงาน 7 ชม. จะได้ผลิตภัณฑ์ที่แห้งสนิท

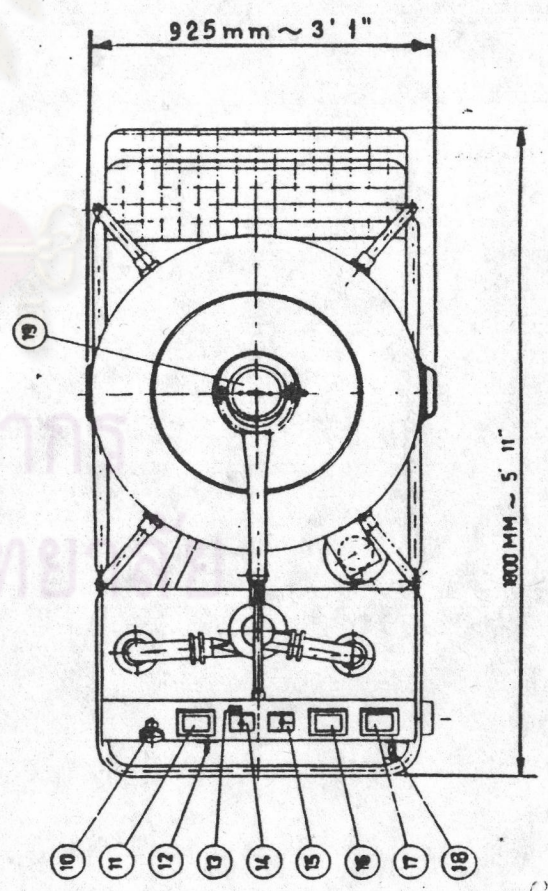
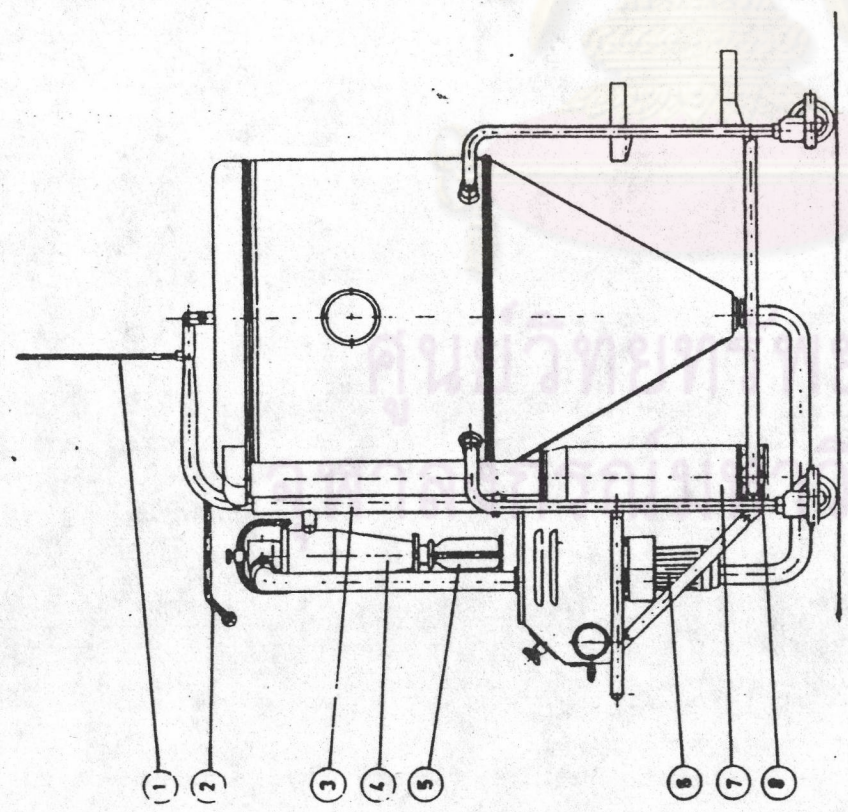
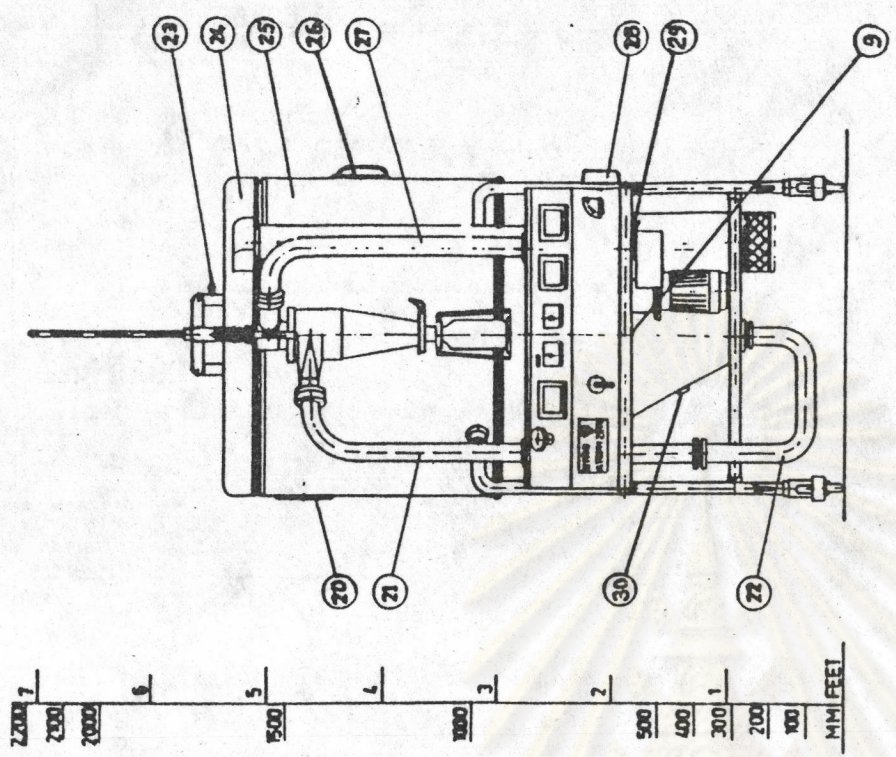
## 2.2 การเตรียมโดยวิธี Spray-dried

เตรียมตัวอย่างตามตำรับ 2.1.1, 2.1.2, 2.1.3 และ 2.1.4 จากนั้นนำไปทำให้แห้งโดยวิธี spray-dried โดยใช้เครื่องมือ Nitro Atomizer Mobile Minor Spray Dryer ดังแสดงในภาพที่ 3

### ขั้นตอนการทำงานของเครื่อง Nitro Atomizer Mobile Minor Spray Dryer

1. ตั้ง inlet air temperature ที่  $170^{\circ}\text{C}$   
outlet air temperature ที่  $77^{\circ}\text{C}$   
ความดัน 80 ปอนด์/ตร.นิ้ว
2. นำตัวอย่างผ่านเครื่อง Digital Controller Panel Mounting Model HBO 434.206 ซึ่งสามารถปรับอัตราเร็วในการป้อน (rate of feed) โดยให้ละอองฝอยแต่ละหยดที่พ่นออกแห้งก่อนที่จะตกลงไปสัมผัสกับผนังด้านในของอบแห้ง (Drying chamber)  
ตั้ง rate of feed ที่ 6
3. ตัวอย่างจะผ่านเข้าหัวฉีด ซึ่งจะผ่านตัวอย่างออกเป็นหยดเล็ก ๆ โดยใช้ใบพัดหมุนด้วยความเร็วที่สูงมาก
4. หยดขนาดเล็กจะถูกพ่นเข้าไปในห้องอบแห้ง ซึ่งกระแสอากาศร้อนจะทำให้เกิดการระเหยอย่างรวดเร็ว
5. จากนั้นจะมีการแยกผลิตภัณฑ์ที่เป็นของแข็งแห้งออกจากอากาศใน cyclone มาเก็บที่ collector





ภาพที่ 3 Nitro Atomizer Mobile Minor Spray Dryer (Pharmaceutical Organization, Denmark)



1. Vertical support for feed container
2. Handle
3. Pneumatic lifting device
4. Cyclone
5. powder discharge with isolating vane
6. Fan motor
7. Electrical air heater
8. Air filter
9. Socket for feed pump
10. Air valve for atomizer
11. Pressure gauge
12. Valve for lifting device
13. Panel live control lamp
14. Operation switch
15. Switch for feed pump
16. Digital controller for inlet air temperature
17. Digital indicator for outlet air temperature
18. Damper for exhaust air
19. Atomizer
20. Chamber window
21. Transport duct
22. Transport duct
23. Locking device for chamber roof
24. Chamber roof
25. Drying chamber
26. Chamber light
27. Transport duct
28. Exhaust fan air take-off
29. Ball bearing housing for fan
30. Rapping stud



ขั้นตอนที่ 3 การประเมินผลเจลในรูปผงแห้งเปรียบเทียบกับเจลในรูปผงแห้งจากท้องตลาด

โดยคัดเลือกเจลในรูปผงแห้งที่มีลักษณะทางกายภาพ เมื่อมองจากสายตาแล้ว ผนังเย็ด, การไหลดี, ค่าการละลาย, pH, และความหนืด ใกล้เคียงกับเจลในรูปผงแห้งจากท้องตลาดมากที่สุด

3.1 เปรียบเทียบลักษณะของเจลในรูปผงแห้งที่เตรียมจากวิธี freeze-dried และวิธี spray-dried

3.2 คำนวณหา percentage yield ของเจลในรูปผงแห้งที่เตรียมขึ้นทั้งวิธี freeze-dried และ spray-dried โดยคำนวณจากสูตร

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น.น. ของเจลในรูปผงแห้งหลังจากผ่านกรรมวิธีทำให้แห้ง}}{\text{น.น. ของตัวอย่างตอนเริ่มต้น}} \times 100$$

3.3 ทดสอบหาการละลายของเจลในรูปผงแห้งในน้ำเปรียบเทียบกับเจลในรูปผงแห้งจากท้องตลาด ซึ่งเจลในรูปผงแห้ง 0.1 กรัม 2 ตัวอย่างเติมน้ำทีละ 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นผสมด้วยเครื่อง Vortex Genie ที่ speed 9 จนกระทั่งเป็น mucilage แล้วบันทึกจำนวนน้ำที่ใช้ แล้วคำนวณกลับเป็น กรัม : น้ำ (มิลลิลิตร) หาค่าเฉลี่ยของ 2 ตัวอย่าง

3.4 ทดสอบหาความหนืดของเจลในรูปผงแห้งโดยละลายให้อยู่ในรูปสารละลายที่มีความเข้มข้นของวุ้นหางจระเข้เท่ากับเจลจากวุ้นหางจระเข้สด เปรียบเทียบกับเจลในรูปผงแห้งจากท้องตลาด

- ตำรับที่ผสม acacia, ใช้เครื่อง Ostwald Viscometer วัดความหนืด
- ตำรับที่ผสม tragacanth, sodium CMC, methylcellulose ใช้เครื่อง Brookfield viscometer วัดความหนืด โดยใช้ cone เบอร์ 52 speed 100

โดยวัดเมื่อตั้งทิ้งไว้ 1, 4, 7, 10, 14, 22, 30, 38, 42 วันตามลำดับ

3.5 ทดสอบหาค่า pH ของเจลในรูปผงแห้งเมื่อละลายกลับเป็นรูปสารละลายของเจลวุ้นหางจระเข้ที่มีความเข้มข้นเท่ากับเจลจากวุ้นหางจระเข้สด วัดเมื่อตั้งทิ้งไว้ 1, 4, 7, 10, 14, 22, 30, 38, 42 วันตามลำดับ



3.6 คัดเลือกตำรับเจลในรูปผงแห้งที่ผ่านการประเมินผลข้อ 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5 โดยคัดเลือกตำรับที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับเจลในรูปผงแห้งจากห้องตลาดมากที่สุด สารละลายนำมาศึกษาจำนวนและชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ตามที่กำหนดในมาตรฐานกระทรวงอุตสาหกรรม (2519) โดยหาในช่วงเวลา 1, 150, 210 วัน ตามลำดับ

3.7 คัดเลือกตำรับที่ผ่านการศึกษาน้ำหนักและชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่เข้าตามกำหนดมาตรฐานกระทรวงอุตสาหกรรม (2519) นำมาทดสอบเอกลักษณ์โดย

3.7.1 ใช้ Infrared Spectrophotometer IR-440 โดยใช้ผลึกโพแทสเซียมโบรไมด์ หาสเปกตรัมของ

- เจลในรูปผงแห้งจากห้องตลาด
- เจลจากว่านหางจระเข้ที่ผ่านกรรมวิธี freeze-dried
- acacia
- เจลในรูปผงแห้งที่ผ่านการคัดเลือก คือ ตำรับเจลจากว่านหางจระเข้ผสม acacia 1.5%w/v ที่ผ่านกรรมวิธี freeze-dried และวิธี spray-dried

3.7.2 ใช้ thin layer chromatography โดยทำการทดลองใช้ stationary phases 3 ชนิดและหา mobile phase ที่เหมาะสม

3.7.2.1 Stationary phase : TLC plates RP-18

$F_{254}^S$

Mobile phase :  $H_2O$

:  $H_2O$  : ethanol ในอัตรา

ส่วน 1:4

3.7.2.2 Stationary phase : TLC plates RP-8

$F_{254}^S$

Mobile phase :  $H_2O$

:  $H_2O$  : ethanol ในอัตรา

ส่วน 1:4



: H<sub>2</sub>O : ethanol ในอัตรา  
ส่วน 1:1

: H<sub>2</sub>O : ethanol ในอัตรา  
ส่วน 3:7

: H<sub>2</sub>O : ethanol ในอัตรา  
ส่วน 1:9

3.7.2.3 Stationary phase Kieselgel 60 G :

Kieselgel 60 HF<sub>254</sub> ในอัตราส่วน 2:1

Mobile phases: n-butyl alcohol :

ethanol : H<sub>2</sub>O

(5:3:4)

: n-butyl alcohol :

ethanol : H<sub>2</sub>O

(5:4:6)

จากผลการทดลองได้เลือก system ที่สามารถแยกเจลจากว่าน  
หางจรเข้, สารนอม, carrier ออกจากกันอย่างชัดเจน คือ

Mobile Phase : ใช้ n-butyl alcohol : ethanol : H<sub>2</sub>O

ในอัตราส่วน 5 : 4 : 6

Detector

1. Ultraviolet Detector

2. Spray reagents ใช้

5% 1-Naphthol ใน ethanol และ

50% conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ใน ethanol

หาโครมาโทแกรมของ

- เจลในรูปผงแห้งจากท้องตลาด
- เจลจากว่านหางจรเข้สด



- เจลในรูปผงแห้งที่ผ่านการคัดเลือกคือตำรับเจลจากว่านหางจระเข้ ผสม acacia 1.5% w/v ที่ผ่านกรรมวิธี freeze-dried และวิธี spray-dried
- acacia

ขั้นตอนที่ 4 การทดสอบความคงตัวของเจลในรูปผงแห้งที่ผ่านการคัดเลือก  
เปรียบเทียบกับเจลในรูปผงแห้งจากท้องตลาด

4.1 เปรียบเทียบลักษณะของเจลในรูปผงแห้งเมื่อเก็บไว้ในตู้เย็น (4°C) และอุณหภูมิห้องในช่วงเวลา 0, 30, 60 วัน ตามลำดับ

4.2 เตรียมสารละลายของเจลในรูปผงแห้งที่ผ่านการคัดเลือก โดยเตรียมความเข้มข้น 1:199 เช่นเดียวกับสารละลายของเจลในรูปผงแห้งจากท้องตลาดและเจลสด เตรียมสารละลายโดยใช้ส่วนผสม methyl paraben 0.2% w/v, propyl pparaben 0.02% w/v, sodium metabisulfite 0.1% w/v และ EDTA 0.05% w/v เป็นตัวทำละลาย เปรียบเทียบความหนืด, pH เมื่อตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็นและอุณหภูมิห้องที่ช่วงระยะเวลา 0, 30, 60 วัน ตามลำดับ

4.3 ศึกษาจำนวนและชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ตามที่กำหนดในมาตรฐานกระทรวงอุตสาหกรรม (2519) ระหว่าง

- สารละลายของเจลในรูปผงแห้งจากท้องตลาด ความเข้มข้น 1:199
- สารละลายของเจลในรูปผงแห้งที่ผ่านการคัดเลือก คือ
  - ตำรับเจลจากว่านหางจระเข้ผสม acacia 1.5% w/v ที่ผ่านกรรมวิธี spray-dried
  - ตำรับเจลจากว่านหางจระเข้ผสม acacia 1.5% w/v ที่ผ่านกรรมวิธี freeze-dried
 เตรียมในความเข้มข้น 1:199



เตรียมสารละลายโดยใช้ส่วนผสม methyl paraben 0.2% w/v, propyl paraben 0.02% w/v, sodium metabisulfite 0.1% w/v และ EDTA 0.05% w/v เป็นตัวทำละลาย

- เจลจากว่านหางจระเข้ผสม methyl paraben 0.2% w/v, propyl paraben 0.2% w/v, EDTA 0.05% w/v และ sodium metabisulfite 0.1% w/v

เมื่อเก็บทิ้งไว้ตู้เย็นและอุณหภูมิห้องในช่วงเวลา 0, 30, 60 วัน

ตามลำดับ

4.4 ใช้ Infrared Spectrophotometer IR-440 ทดสอบเอกลักษณ์ของเจลในรูปผงแห้งที่ผ่านการคัดเลือก เปรียบเทียบกับเจลในรูปผงแห้งจากท้องตลาด เมื่อเก็บไว้ในตู้เย็นและอุณหภูมิห้องในช่วงเวลา 0, 60 วัน ตามลำดับ

4.5 ใช้ thin layer chromatography ทดสอบเอกลักษณ์

- สารละลายเจลในรูปผงแห้งจากท้องตลาด ความเข้มข้น 1:199
- สารละลายเจลในรูปผงแห้งที่ผ่านการคัดเลือก เตรียมความเข้มข้น 1:199
- เจลจากว่านหางจระเข้ผสม methyl paraben 0.2% w/v, propyl paraben 0.2%, w/v, EDTA 0.05% w/v และ sodium metabisulfite 0.1% w/v

เมื่อเก็บทิ้งไว้ในตู้เย็นและอุณหภูมิห้องในช่วงเวลา 0, 60 วัน ตามลำดับ

ขั้นตอนที่ 5 การผสมเจลในรูปผงแห้งที่ผ่านการคัดเลือก, เจลในรูปผงแห้งจากท้องตลาดและเจลสตีเรียค

5.1 สูตรตำรับครีม

Mineral oil	10	g
Cetyl alcohol	2	g
Stearic acid	5	g



Amerchol L-101	1	g
Glyceryl monostearate	1	g
Triethanolamine	2.5	g
Propylene glycol	2	g
Methyl paraben	0.2	g
Propyl paraben	0.02	g
EDTA	0.05	g
Sodium metabisulfite	0.1	g
Water to	100	g

#### 5.2 เตรียมตำรับครีมสูตรต่าง ๆ

- สูตรที่ 1 เป็นตำรับครีมปกติตั้งข้อ 5.1
- สูตรที่ 2 เป็นตำรับครีมที่ผสมเจลในรูปผงแห้งจากท้องตลาด 20% โดยน้ำหนัก
- สูตรที่ 3 เป็นตำรับครีมที่ผสมเจลในรูปผงแห้งที่เตรียมจากเจลว่านหางจระเข้ ผสม acacia 1.5% w/v ที่ผ่านกรรมวิธี spray-dried 20% โดยน้ำหนัก
- สูตรที่ 4 เป็นตำรับครีมที่ผสมเจลในรูปผงแห้งที่เตรียมจากเจลว่านหางจระเข้ ผสม acacia 1.5% w/v ที่ผ่านกรรมวิธี freeze-dried 20% โดยน้ำหนัก
- สูตรที่ 5 เป็นตำรับครีมที่ผสมเจลว่านหางจระเข้สด 20% โดยน้ำหนัก

#### 5.3 ทดสอบความคงตัวทางกายภาพของตำรับครีมทั้ง 5 โดยวิธี Freeze & Thaw โดยเปรียบเทียบคุณสมบัติต่าง ๆ คือ


- ลักษณะของครีม
- ความหนืด
- pH

ก่อนและหลังเข้า Freeze & Thaw 6 cycle



5.4 ทดสอบหาความหนืด และ pH ของตำรับครีมทั้ง 5 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิช่วงระยะเวลา 0, 30, 60 วันตามลำดับ

5.5 ศึกษาจำนวนและชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ตามที่กำหนดในมาตรฐานกระทรวงอุตสาหกรรม (2519) ในตำรับครีมทั้ง 5 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องช่วงระยะเวลา 1, 30, 60 วันตามลำดับ



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย