

บทที่ 2

การทดลอง



1. เครื่องมือ

Soxlet Extractor, size, 10 litres

Blender

Hot Air Oven

Separatory Funnel, size, 1 litre

Mechanical Agitator

3750 rpm Centrifuge

Stormer Viscometer

Brookfield Synchro-Lectric Viscometer and Helipath Stand

Ostwald Viscometer

Microscope

-10°C Freezer

Analytical Balance

Melting Point Apparatus

Pycnometer

Refractometer

Saponification Flask

Iodine Flask

Temperature Controller



2. สารที่ใช้

2.1 วัตถุดิบ

2.1.1 น้ำมันมะกอกชนิดดี มีคุณสมบัติทางเคมี กรดไขมันชนิดอิ่มตัว 20.3% กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว 79.1% กรดไขมันชนิดอิ่มตัวประกอบด้วยกรดปาล์มิติก 16.9% กรดสเตียริก 2.7% กรดอร่าซติก 0.4% กรดโอโคซาโนอิก 0.1% กรดเบเคนิก 0.2% กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวประกอบด้วย กรดปาล์มิตอเลอิก 1.8% กรดโอเลอิก 61.9% กรดไลโนลอิก 14.8% กรดไลโนเลนิก 0.6% ค่ากรด (acid value) 0.3-1.0 ค่าไอโอดีนแบบวิจส์ (iodine value Wijs) 80-88 ค่าสะaponifiเคชั่น 188-196 สารที่สะaponifiเคชั่นไม่ได้ (unsaponifiable matter) ร้อยละโดยน้ำหนัก 0.5-1.0 คุณสมบัติทางกายภาพ ค่าดัชนีหักเห (refractive index) ที่ 28°C 1.4605 ความหนาแน่นสัมพัทธ์ (relative density) ที่ 30°/30°C 0.914-0.918

2.1.2 น้ำมันดินเบ็ดน้ำ มีคุณสมบัติทางเคมี กรดไขมันชนิดอิ่มตัว 31.6% กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว 68.4% กรดไขมันชนิดอิ่มตัวประกอบด้วยกรดปาล์มิติก 24.9% กรดสเตียริก 5% กรดอร่าซติก 1.7% กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวประกอบด้วย กรดปาล์มิตอเลอิก 0.9% กรดโอเลอิก 44.4% กรดไลโนลอิก 23.1% ค่ากรด (acid value) 0.4608, ค่าไอโอดีนแบบวิจส์ (iodine value Wijs) 63-67.5, ค่าสะaponifiเคชั่น 159-160, สารที่สะaponifiเคชั่นไม่ได้ (unsaponifiable matter) ร้อยละโดยน้ำหนัก 0.6563, ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) ไม่พบในน้ำมันที่เตรียมได้ใหม่ ๆ มีน้ำและสิ่งที่ระเหยได้ (water and volatile matter) ที่อุณหภูมิ 105°C ร้อยละของน้ำหนัก 0.047, คุณสมบัติทางกายภาพ ค่าดัชนีหักเห (refractive index) ที่ 28°C 1.46153 ความหนาแน่นสัมพัทธ์ (relative density) ที่ 30°/30°C 0.9116 ความหนืด (viscosity) ที่ 30°C 56.3 poise จุดหลอมเหลว (Melting point) 4°-7°C

2.2 ตัวทำอิมัลชัน

2.2.1 กรดล้เตียริค triple pressed เป็นผลึกของแข็งสีขาวหลอม
เหลวที่ 69-70°C ไม่ละลายน้ำ

2.2.2 triethanolamine, U.S.P., N (C₂H₄OH)₃ ประกอบด้วย
alkanolamines 97-103%, เป็นของเหลวสีเหลืองขุ่น มีฤทธิ์เป็นด่าง กลิ่นแอมโมเนีย
จาง ๆ ละลายได้ดีในน้ำ และดูดความชื้น

2.2.3 ด่างซีเก้ (caustic potash), B.P. 1968, KOH 85%

2.2.4 ไยปลาวาฟิ (spermaceti), U.S.P., องค์ประกอบหลักคือ
cetyl palmitate มีสีขาว จุดหลอมเหลวระหว่าง 42-50°C ไม่ละลายในน้ำ ความ
ถ่วงจำเพาะ 0.94

2.2.5 ไยจากรังผึ้ง U.S.P., องค์ประกอบหลักคือ cerotic acid
and myricin เป็นไยจากรังผึ้งฟอกสีและทำบริสุทธิ์แล้ว มีสีขาวออกเหลือง เกือบจะไม่
มีรส จุดหลอมเหลวระหว่าง 42-50°C ความถ่วงจำเพาะ 0.95

2.2.6 น้ำประสานทอง (borax หรือ sodium borate), U.S.P.,
Na₂B₄O₇ ไม่มีสี ผลึกโปร่งแสง ไม่มีกลิ่น ความเป็นกรดต่าง (pH) 9.5 การละลาย
1 กรัมละลายน้ำ 16 มิลลิลิตร

2.2.7 Span 80, sorbitan mono oleate, Atlas Company,
HLB 4.3

2.2.8 Span 60, sorbitan mono stearate, Atlas Company,
HLB 4.7

2.2.9 Tween 80, polyoxyethylene sorbitan mono oleate,
Atlas Company, HLB 15

2.2.10 Tween 60, polyoxyethylene sorbitan mono stearate,
Atlas Company, HLB 14.9

2.3 สารทำละลายและสารตรวจสอบปฏิกิริยา

2.3.1 n-hexane, commercial grade

2.3.2 แอลกอฮอล์ U.S.P., ethanol 95% V/V

2.3.3 กลีเซอริน (glycerin), U.S.P., ใส ไม่มีสี ของเหลวข้น
เหมือนน้ำเชื่อมรสหวานเล็กน้อย มีกลิ่นเฉพาะ ละลายได้ดีในน้ำ

2.3.4 activated charcoal, U.S.P., เป็นผงละเอียดมาก มีสีดำ
ไม่มีกลิ่น ไม่มีรส ไม่มีสิ่งแปลกปลอม ไม่ละลายน้ำ

2.3.5 Fuller's earth, Florex AA-RVM grade 60-100 mesh
(Floridin Co.)

2.3.6 anhydrous sodium sulphate, B.P.C., เป็นผงสีขาว ไม่มี
กลิ่น ดูดความชื้นได้

2.3.7 สารละลายตรวจสอบ Keller-Kiliani

2.3.8 สารละลายตรวจสอบ Leibermann-Burchard

2.3.9 สารละลายตรวจสอบ Kedde's Reagent

2.3.10 สารละลายโปแตสเซียม ไฮดรอกไซด์ในแอลกอฮอล์ 95% V/V
ความเข้มข้น 0.5N

2.3.11 สารละลายโปแตสเซียม ไฮดรอกไซด์ ในน้ำ ความเข้มข้น 0.5N

2.3.12 กรดเกลือ ความเข้มข้น 0.5N

2.3.13 สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein indicator
T.S.) ใน ethanol 95% V/V ความเข้มข้น 1%

2.3.14 อีเทอร์ ACS reagent grade

2.3.15 อะซิโตน ACS reagent grade

2.3.16 สารละลายต่างโซดาแผดเผาในแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 0.1N

2.3.17 สารละลายต่างโซดาแผดเผาในน้ำ ความเข้มข้น 0.1N

2.3.18 กรดเกลือความถ่วงจำเพาะ 1.18, ACS reagent grade

2.3.19 คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (carbon tetrachloride), ACS reagent grade

2.3.20 สารละลายโปแตสเซียม ไอโอไดด์ (potassium iodide T.S., free from iodates) ความเข้มข้น 10%

2.3.21 สารละลายแป้งสำหรับตรวจสอบไอโอดีน (starch indicator T.S.)

2.3.22 สารละลายโซเดียม ไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.1N

2.3.23 สารละลาย Wijs' iodine monochloride

3. วิธีการทดลอง

3.1 เตรียมและตรวจสอบน้ำมันดินเปิดน้ำ ตามรายงานผลการวิจัยคุณสมบัติและกรดไขมันน้ำมันดินเปิดน้ำ ของผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุหรั่ง สายศรี และคณะ^(4, 5) ดังรายละเอียดตามภาคผนวก ก.

3.2 เตรียมอิมัลชันที่มีอัตราส่วนของน้ำมันต่อน้ำ 1 ต่อ 2 และมีตัวทำอิมัลชัน 5% น้ำมันไขน้ำมันมะกอกและน้ำมันดินเปิดน้ำ ตัวทำอิมัลชันใช้ Span 60 + Tween 60 โดยคำนวณให้มีค่า HLB แปรเปลี่ยนไป ดังรายละเอียดตามตารางที่ 3 การคำนวณตามวิธีในภาคผนวก ข. และวิธีการเตรียมอิมัลชันและผลิตภัณฑ์เกล็ดกรรมในภาคผนวก ค.

นำอิมัลชันซึ่งคงสภาพไม่แยกชั้น ไปตรวจสอบความคงตัว โดยผ่าน five freeze-thaw cycles คือ นำอิมัลชันอบที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และแช่แข็งที่อุณหภูมิ -10°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กระทำเช่นเดียวกันนี้เป็นจำนวน 5 รอบ

อิมัลชันมีตำรับดังนี้*

น้ำมัน	10 มิลลิลิตร
น้ำ	20 มิลลิลิตร
ตัวทำอิมัลชัน	1.5 กรัม

3.3 เตรียมผลิตภัณฑ์เภสัชกรรมของน้ำมันมะกอบควบคู่กับน้ำมันดินเปิดน้ำ ตามตำรับ โลชั่น วานิลี่ซิงคริม โคลด์คริม คีซาและตรวจล่อผลิตภัณฑ์เภสัชกรรมดังกล่าวตามวิธีการตรวจล่อลักษณะผลิตภัณฑ์ตาม 3.4 และตามวิธีการเตรียมอิมัลชันและผลิตภัณฑ์เภสัชกรรมในภาคผนวก ค.

โลชั่นมีตำรับดังนี้**

น้ำมัน	11 มิลลิลิตร
น้ำ	75.3 มิลลิลิตร
triethanolamine	1.7 มิลลิลิตร
กรดลึเตียริค	5.3 กรัม

วานิลี่ซิงคริมมีตำรับดังนี้***

น้ำมัน	200 มิลลิลิตร
น้ำ	800 มิลลิลิตร
กรดลึเตียริค	160 กรัม
ต่างอีเก้	14 กรัม

* ตำรับผู้วิจัยตั้งเอง

** ตำรับดัดแปลงมาจากตำรับ Baby Lotion ของ New York Hospital

*** ตำรับดัดแปลงมาจากตำรับวานิลี่ซิงคริมของตำรา American Pharmacy

โคลด์ครีมมีตำรับดังนี้****

น้ำมัน	560 กรัม
น้ำ	190 มิลลิลิตร
ไฮปลาวาฟิ	125 กรัม
ไฮจากรังผึ้ง	120 กรัม
น้ำประสานทอง	5 กรัม

3.4 การตรวจสอบลักษณะผลิตภัณฑ์

นำผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้ไปศึกษา ตามหัวข้อและวิธีการดังนี้

3.4.1 ความสวยงาม เฝียน กลมกลืนของผลิตภัณฑ์ ตรวจสอบด้วยตาเปล่า ผลิตภัณฑ์ที่สวยงามต้องมีเนื้อละเอียด สม่ำเสมอ ไม่ปรากฏเม็ดหรือหยดน้ำมัน มีสีขาวบริสุทธิ์ ความเหลว ความข้น พอเหมาะต่อชนิด เนื้อสารขององค์ประกอบต้องกลมกลืนเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แสดงออกให้เห็น และเมื่อนำมาทาบนผิวจะต้องแนบเนียนกับผิว กลมกลืนไปกับผิวไม่ปรากฏคราบให้เห็น ไม่มีเม็ดหรือจุดใดปรากฏบนผิวเมื่อทา

3.4.2 ความยากง่ายในการรินจากขวด ตรวจสอบโดยตะแคงขวดให้เนื้อผลิตภัณฑ์ภายในไหลออกจากขวดโดยสม่ำเสมอ ถ้าผลิตภัณฑ์มีความข้นเหลวพอเหมาะ เนื้อผลิตภัณฑ์จะไหลรินออกมาเป็นสายติดต่อกันตลอด ถ้าผลิตภัณฑ์มีความข้นมาก เนื้อผลิตภัณฑ์จะไม่ไหลรินออกมาเป็นสายติดต่อกันโดยตลอด แต่จะขาดเป็นช่วง ๆ จากกัน

3.4.4 ความเป็นกรดต่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์ ตรวจสอบโดยชั่งเนื้อผลิตภัณฑ์จำนวน 1 กรัม ใส่ Beaker 50 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำ ซึ่งควบคุม pH แล้ว จำนวน 9 มิลลิลิตร เขย่าหรือคนให้ทั่ว แล้วนำไปวัดด้วย pH meter

3.4.4 ขนาดหยดของวัตถุภายในของอิมัลชัน ตรวจสอบโดยยกกล้องจุลทรรศน์ ขนาด 40×40 วัดขนาดหยดเล็ก ๆ จากมาตรของ eye piece เป็นไมครอน

นับจำนวนของหยดเล็ก ๆ แจกตามขนาดพิสัยต่าง ๆ ที่เราต้องการจาก one-view ของแต่ละสไลด์ ขนาดพิสัยและจำนวนของหยดเล็ก ๆ ไว้ เพื่อการคำนวณและคาดคะเนความคงตัวของอิมัลชันต่อไป วัตถุประสงค์ของการกระจายตัวของวัตถุภายในไว้

3.4.5 ความหนืด การตรวจสอบลอชัน ไข่ Stormer Viscometer

ซึ่งเป็น cup and bob type viscometer และคำนวณความหนืดได้จากสูตร

$$U = K_V \cdot \frac{W - W_f}{v}$$

ในเมื่อ U = plastic viscosities หน่วยเป็น Poise หรือ centi Poise

K_V = instrument constant

W = weight (shearing stress) หน่วยเป็นกรัม

W_f = yield value intercept หน่วยเป็นกรัม

(ได้จากกราฟ ซึ่ง plot ระหว่าง shearing stress VS shearing rate)

v = (shearing rate) r.p.m.

instrument constant, K_V ถ้าไม่แจ้งไว้ที่เครื่องมือ หาได้โดยนำของเหลว (ซึ่งมีความหนืดมากกว่า 20 cPs.) ที่ทราบค่า Viscosity มา Calibrate แล้วหา K_V ได้ตามสูตร ในการทดลองนี้ใช้ glycerin ซึ่งมี viscosity 629 cPs. เป็นของเหลวมาตรฐาน

$$\eta = K_V \cdot \frac{W}{v}$$

ซึ่ง η = ความหนืด Newtonian liquid

การตรวจสอบครีมไข่เครื่องมือ Brookfield Synchro-Lectric Viscometer and Helipath Stand

3.4.6 การแยกตัวและการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ โดยใช้ centrifuge 3750 r.p.m., หลอดแก้วยาว 10 ซม. เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ซึ่ง Becher พบว่า มีค่าเท่ากับแรงดึงดูดของโลกเป็นระยะเวลา 1 ปี

3.4.7 ระยะเวลาของความคงตัวโดยนำผลิตภัณฑ์ไปเก็บรักษาไว้ที่ 45°C เป็นเวลา 3 สัปดาห์ และอีกส่วนหนึ่งนำไปเก็บรักษาไว้ที่ 45°C 1 วัน แล้วย้ายไปเก็บรักษาที่ -10°C 1 วัน สลับกันไป 5 รอบ ซึ่งการตรวจเครื่องสำอางยอมรับว่า เหมือนกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิปกติ 2 ปี

การตรวจสอบถ้าไม่เกิดรอยฉีก หรือร้าวสภาพมีร้าว (cracking) ผลิตภัณฑ์นั้นถือว่า มีความคงตัวที่อุณหภูมิปกติมากกว่า 2 ปี

3.4.8 การทดสอบอาการระคายเคืองเบื้องต้น^(6, 7, 20) (test of primary irritation) การเตรียมกระต่ายขลิบขนไว้ก่อนทดลอง 24 ชั่วโมง ใช้กระต่ายขาวครั้งละ 6 ตัว ขลิบขนบนหลังให้สั้นที่สุดเท่าที่จะทำได้เป็น 4 แห่ง มีระยะห่างประมาณ 10 เซนติเมตร ใช้แพตช์เป็น light gauze ล่องชั้น หรือผ้าสักหลาด ตัดเป็นสี่เหลี่ยมขนาดกว้างยาว 2.5×2.5 ตารางเซนติเมตร นำมาชุบเครื่องสำอางหรือตัวยาที่จะทดสอบเป็นเวลา 1 วัน สารที่จะนำมาตรวจถ้าเป็นของเหลวใช้ 0.5 มิลลิลิตร ถ้าเป็นของแข็งใช้ 0.5 กรัม แล้วปิดบนบริเวณผิวกระต่ายที่เตรียมไว้ ยึดไว้ด้วยแถบเหนียว (adhesive tape) และห่อลำตัวกระต่ายไว้ด้วยผ้าบางเพื่อยึดแพตช์ให้อยู่กับที่ และป้องกันไม่ให้ตัวยาระเหยไปเร็วนัก ทดลองไว้ 24 ชั่วโมง หลังเอาแพตช์ออกแล้ว ให้สังเกตอาการผิดปกติ เช่น บวมแดง ตรงบริเวณที่ทดลองทุกวัน เป็นเวลา 3 วัน ติดต่อกันพร้อมทั้งบันทึกผลเป็นคะแนนตามอาการที่ตรวจพบดังรายละเอียดตารางที่ 8 โดยให้นับวันที่ปิดยาเป็นศูนย์ เริ่มนับวันที่ 1 เมื่อเริ่มนำแพตช์ออกแล้ว

กำหนดว่า ดัชนีอาการระคายเคืองเบื้องต้น เป็นดังนี้

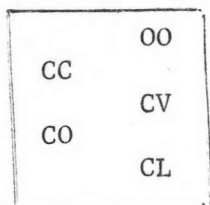
ผลรวมคะแนนเฉลี่ยน้อยกว่าหรือเท่ากับ	2	มีการระคายเคืองเล็กน้อย
ผลรวมคะแนนเฉลี่ยระหว่าง	2-5	มีการระคายเคืองปานกลาง
ผลรวมคะแนนเฉลี่ยมากกว่า	6	มีการระคายเคืองมาก

กำหนดให้ใช้ น้ำมันมะกอกบริสุทธิ์ เป็น control

กำหนดให้	แพตช์คู่บ	น้ำมันมะกอกบริสุทธิ์	ใช้สัญลักษณ์	OO
	แพตช์คู่บ	น้ำมันดินเปิดน้ำ	ใช้สัญลักษณ์	CO
	แพตช์คู่บ	โลชั่นของน้ำมันดินเปิดน้ำ	ใช้สัญลักษณ์	CL
	แพตช์คู่บ	วาชิยซึ่งครีมของน้ำมันดินเปิดน้ำ	ใช้สัญลักษณ์	CV
	แพตช์คู่บ	โคลด์ครีมของน้ำมันดินเปิดน้ำ	ใช้สัญลักษณ์	CC

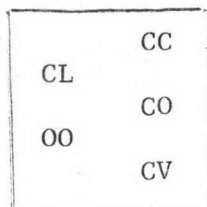
นำแพตช์คู่บใส่รให้อิ่มตัว แล้วปิดบนลำตัวกระต่ายขาว ดังผังดังนี้

หัวกระต่าย



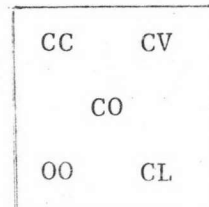
ตัวที่ 1

หัวกระต่าย



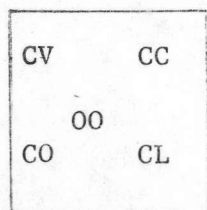
ตัวที่ 2

หัวกระต่าย



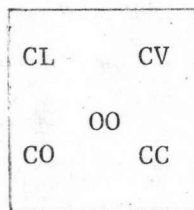
ตัวที่ 3

หัวกระต่าย



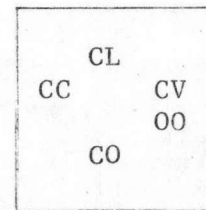
ตัวที่ 4

หัวกระต่าย



ตัวที่ 5

หัวกระต่าย



ตัวที่ 6