บทที่ 3

การทดลอง

เครื่องมือ

Analytical Balance (Satorius Gmblt, West Germany)

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

Blender

Centrifuge (Sigma, U.S.A.)

Freeze Dryer (FTS systems, Inc., U.S.A.)

Hot Air Oven (Memmert, West Germany)

High Performance Liquid Chromatography for detecting glucose, mannose

- Refracto Monitor® IV (LDC Analytical, U.S.A.)
- Liquid Chromatography LC-3A (Shimadzu, Japan)
- Oven CTO-2A (Shimadzu, Japan)
- Chromatopac C-R1A Integrator (Shimadzu, Japan)
- Carbohydrate Column 0.65 cm. id x 30 cm. (Varian, U.S.A.)

High Performance Liquid Chromatography for detecting amino acids

- Integrator Varian 4400 (Varian, U.S.A.)
- Fluorichrom II (Varian, U,S,A)
- Solvent Delivery System Varian 9010 (Varian, U,S,A)
- Autosampler Varian 9095 (Varian, U,S,A)
- Nova-Pak® C-18 column particle size 4 μm 3.9 mm id x 150 mm (Waters, Assoc., U.S.A.)

Incubator (Memmert, West Germany)

Just A Tilt Shell Freezer (FTS systems Inc., U.S.A.)

Karl Fischer Processor (Model 658, Metrohm, Switzerland) with titrating stand and cell (Model 665 Dosimat, Metrohm)

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

pH Meter (Model 420 A, Orion, U.S.A.)

Pycnometer (Thomas, U.S.A.)

Refrigerator

Rotary Evaporator (Büchi 011, Switzerland)

Ultrasonic Bath (Bransonic 3210, Branson, Smithkline)

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

สารเคมี

1. ว่านหางจระเข้ (ไร่สยามอะโล, กำแพงแสน, นครปฐม)
2. carriers

   acacia (S. Tong Chemicals Co., Ltd.)

   methylcellulose 15 cps (Colorcon, England)

   methylcellulose 25 cps. (Colorcon, England)

   Poloxamer 407 (BASF)

   polyvinylpyrrolidone K30 (S. Tong Chemicals Co., Ltd.)

   polyvinylpyrrolidone K90 (S. Tong Chemicals Co., Ltd.)

   sodium carboxymethylcellulose (S. Tong Chemicals Co., Ltd.)
3. สารถนอม

   Bronidox-L® (Henkel, Germany)
4. สารต้านออกซิเดชัน

   sodium metabisulfite (BDH Limited Poole., England)
5. Chelating agent

   Ethylenediaminetetraacetic acid (Merck, Germany)
6. สารที่ใช้ในการวัดปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์

Karl Fischer reagent (Merck Germany)

methanol, absolute (Merck, Germany)

sodium tartrate (BDH Limited Poole, England)

7. สารที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนและน้ำตาล

ethanol, absolute (Merck,Germany)

sulfuric acid (BDH Limited Poole, England)

hydrochloric acid (BDH Limited Poole, England)

o-Phthaldialdehyde reagent solution (Sigma, U.S.A.)

methanol, HPLC grade (J.T. Baker Inc., U.S.A.)

sodium acetate, AR (Merck, Germany)

acetic acid (BDH Limited Poole, England)

tetrahydrofuran (J.T. Baker Inc., U.S.A.)

glucose (Fluka Chemika, Germany)

mannose (Fluka Chemika, Germany)

mannitol (Fluka Chemika, Germany)

amino acid standard solution (Sigma, U.S.A.)

tyramine (Sigma, U.S.A.)

8. สารที่ใช้ในการทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อ (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U.S.A.)

Peptone

Tryptone

Yeast extract

Dextrose

Agar

Malt extract

Mycological peptone

Sabouraud dextrose agar

Tryptic soy broth

Cetrimide agar base

Vogel-Johnson agar medium

Macconkey agar

Selenite broth

Bismuth sulphite agar

S.S. agar

Cooked meat medium

วิธีการทดลอง

การศึกษาในครั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ขั้นตอนใหญ่ ๆ ดังนี้

1. การศึกษาผลของกระบวนการไลโอฟิไลซ์ต่อความหนืด ความเป็นกรด-ด่าง และส่วนประกอบทางเคมีของเจลว่านหางจระเข้

2. การเตรียมเจลว่านหางจระเข้โดยผสมกับ carrier ชนิดต่าง ๆในรูปผงแห้งเพื่อคัดเลือกตำรับที่สวยงาม เมื่อละลายน้ำแล้วให้ลักษณะทางกายภาพใกล้เคียงว่านหางจระเข้สด

3. การศึกษาความคงสภาพทางกายภาพ เคมี และการปนเปื้อนเชื้อของตำรับเจลว่านหางจระเข้ต่าง ๆ ที่เตรียมขึ้นในรูปผงแห้ง ดังนี้

- เจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้ง
- เจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งผสม Bronidox-L® 0.2% v/v, Sodium metabisulfite 0.1% w/v, EDTA 0.05% w/v
- เจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งผสม carrier ที่ได้รับคัดเลือก

I18710487

1. การศึกษาผลของกระบวนการไลโอฟิไลซ์ต่อความหนืด ความเป็นกรด-ด่าง และส่วนประกอบทางเคมีของเจลว่านหางจระเข้

1.1 การเตรียมเจลว่านหางจระเข้

1.1.1 ล้างอบเครื่องมือทุกชิ้น กลั้วด้วยแอลกอฮอล์ 70% v/v

1.1.2 ล้างว่านหางจระเข้ให้สะอาด ตัดเป็นท่อน ๆ ปอกเปลือกใช้มีดขูดเอาเฉพาะส่วนเจลว่านหางจระเข้ออกมา โดยไม่มีน้ำยางเจือปน

1.1.3 ปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้

1.1.4 Centrifuge ด้วยความเร็ว 4600 รอบต่อนาที นาน 20 นาที

1.1.5 แยกเอาส่วนใสไปใช้ โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปวัดความหนืด ความเป็นกรด-ด่าง และส่วนประกอบทางเคมี ส่วนที่สองนำไปทำผงแห้ง ก่อนนำไปวัดค่าต่าง ๆ เหมือนส่วนแรก

1.2 การวัดความหนืด ความเป็นกรด-ด่าง ของว่านหางจระเข้

1.2.1 วัดความหนืดของเจลว่านหางจระเข้ โดยใช้เครื่อง Ostwald viscometer

1.2.2 วัดความเป็นกรด-ด่างของเจลว่านหางจระเข้ โดยใช้ pH meter

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส และแมนโนสในโพลิแซคคาไรด์ ของเจลว่านหางจระเข้

1.3.1 <u>การเตรียมสารละลายตัวอย่าง</u>

1.3.1.1 แบ่งเจลว่านหางจระเข้เป็น 2 ชุด ชุดละ 20 มิลลิลิตร

1.3.1.2 ตกตะกอนโพลิแซคคาไรด์ในเจลว่านหางจระเข้ ทั้ง 2 ชุด ด้วย absolute ethanol โดยเติมเอธานอลแล้วนำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4600 รอบต่อนาที เก็บตะกอน และนำส่วนใสมาตกตะกอนใหม่ไปเรื่อย ๆ จนในที่สุดจะได้ตะกอนที่สมบูรณ์

1.3.1.3 นำตะกอนจากเจลว่านหางจระเข้ชุดที่หนึ่งมา เติมกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.25 โมลาร์ จำนวน 10 มิลลิลิตร นำไปวางบนหม้ออังไอน้ำ อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง เพื่อไฮโดรไลซ์โพลิแซคคาไรด์ ให้เปลี่ยนเป็นน้ำ

ตาลโมเลกุลเดี่ยว กรองด้วย membrane filter 0.45 ไมครอน ดังนั้นในตัวอย่างนี้ จะมีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทั้งจากโพลิแซคคาไรด์ และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีอยู่ในเจลว่านหางจระเข้

1.3.1.4 นำตะกอนจากเจลว่านหางจระเข้ชุดที่สองมา เติมน้ำปริมาตร 10 มิลลิลิตร กรองด้วย membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอน น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในตัวอย่างนี้ จะเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอิสระที่มีอยู่ในเจลว่านหางจระเข้

1.3.1.5 ปิเปตสารละลายตัวอย่างในข้อ 1.3.1.3 และ 1.3.1.4 มาอย่างละ 500 ไมโครลิตร เติมสารละลาย mannitol ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 100 ไมโครลิตร เพื่อเป็น internal standard

1.3.2 <u>การเตรียมสารละลายมาตรฐานของกลูโคสและแมนโนส</u>

1.3.2.1 ชั่งกลูโคสและแมนโนสอย่างละ 50 มิลลิกรัม ละลายน้ำให้มีปริมาตร 25 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานของกลูโคสและแมนโนส ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำ serial dilution เพื่อเตรียมสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้น 1, 0.5, 0.25 และ 0.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

1.3.2.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาอย่างละ 50 ไมโครลิตร เติมสารละลาย mannitol ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 100 ไมโครลิตร เป็น internal standard

1.3.3 <u>HPLC conditions ที่ใช้ในการวิเคราะห์กลูโคสและแมนโนส</u>

Column	: Carbohydrate column (Varian,U.S.A.) บรรจุด้วย cation exchange resin ในรูปแคลเซียมอิออนขนาด 0.65 x 30 เซนติเมตร
Mobile phase	: น้ำกลั่น 3 ครั้ง
Oven temperature	: 90 °ซ
Flow rate	: 0.3 มิลลิลิตร/นาที
Attenuation	: 4
Chart speed	: 0.25 เซนติเมตร/นาที
Injection volume	: 20 ไมโครลิตร
Internal standard	: Mannitol
Detector	: Refractive Index Detector (Refracto Monitor® IV, LDC Analytical, U.S.A.)

1.3.4 วิเคราะห์ปริมาณกลูโคสและแมนโนส ในโพลิแซคคาไรด์

วิเคราะห์ปริมาณกลูโคสและแมนโนสในตัวอย่างข้อ 1.3.1.5 นำปริมาณน้ำตาลจากตัวอย่างข้อ 1.3.4.3 ลบด้วยปริมาณน้ำตาลจากตัวอย่างข้อ 1.3.1.4 จะได้ปริมาณกลูโคสและแมนโนสในโพลิแซคคาไรด์

1.4 การวิเคราะห์กรดอะมิโนในเจลว่านหางจระเข้

1.4.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

1.4.1.1 นำสารละลายในชั้นของเอธานอลในข้อ 1.3.1.2 มาระเหยเอาเอธานอลออก โดยใช้ Rotary evaporator

1.4.1.2 ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก 3 มิลลิลิตร กรองด้วย membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอน

1.4.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดอะมิโน

Stock solution ของสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน มีความเข้มข้นกรดอะมิโนแต่ละตัว 2.5 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร โดยประกอบด้วย L-alanine, L-aspartic acid, L-glutamic acid, L-glycine, L-histidine, L-isoleucine, L-leucine, L-lysine, L-methionine, L-phenylalanine, L-proline, L-serine, L-threonine, L-tyrosine, L-valine เจือจางให้ได้สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 5, 10, 15, 30 และ 60 พิโคโมลต่อไมโครลิตร

1.4.3 การเตรียมสารละลาย Internal standard

เตรียมสารละลาย tyramine (ซึ่งเป็น internal standard) เข้มข้น 200 พิโคโมลต่อไมโครลิตร โดยชั่ง tyramine (มวลโมเลกุล = 137.2) 0.0274 กรัม เติมน้ำจนมีปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย tyramine เข้มข้น 2,000 พิโคโมลต่อไมโครลิตร ปิเปตมา 10 มิลลิลิตร เติมน้ำปรับปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

1.4.4 การเตรียม Mobile phase

Mobile phase ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ solvent A เป็น tetrahydrofuran: methanol: สารละลาย sodium acetate ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (pH 7.2) = 5:95:900 เตรียมโดยการชั่ง sodium acetate 8.203 กรัม ละลายน้ำปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร วัดความเป็นกรด-ด่าง ปรับให้เป็น 7.2 โดยใช้ acetic acid ผสม tetrahydrofuran 5 มิลลิลิตร และ methanol 95 มิลลิลิตร และสารละลาย sodium acetate 900 มิลลิลิตร ให้เข้า

กัน กรองด้วย membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอน ไล่ฟองอากาศออกโดยใช้ ultrasonic bath

solvent B เป็น methanol, HPLC grade กรองด้วย membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอน ไล่ฟองอากาศออกโดยใช้ ultrasonic bath

1.4.5 <u>HPLC condition ที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดอะมิโน</u>

Column : Nova-Pak® C-18 particle size 4 ไมครอน 3.9 id x 150 มิลลิลิตร (Waters Assoc.,U.S.A.)

Mobile phase : solvent A = tetrahydrofuran : methanol : sodium acetate 0.1 โมลาร์ (5:95:900)

solvent B = methanol

ระบบการผสม solvent A และ B ขณะวิเคราะห์จะเป็นลักษณะ gradient elution ดังนี้

เวลา (นาที)	% solvent A	%solvent B	flow rate (มิลลิลิตรต่อนาที)
0	100	0	1.0
25	75	25	1.0
30	60	40	1.0
36	60	40	1.0
43	40	60	1.0
48	40	60	1.0
52	100	0	1.0

Attenuation : 8-16

Chart speed : 0.25 เซนติเมตร/นาที

Injection volume : 10 ไมโครลิตร

Internal standard : tyramine

Derivatizing agent : *o*-Phthaldialdehyde reagent solution (OPA)

Detector : Fluorescence detector (Fluorichrom II , Varian, U.S.A.)

ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน ใช้สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย tyramine ความเข้มข้น 200 พิ-

โคโมลต่อไมโครลิตร จำนวน 20 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับสารสร้างอนุพันธุ์คือ OPA ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เป็นเวลา 1 นาที ก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC

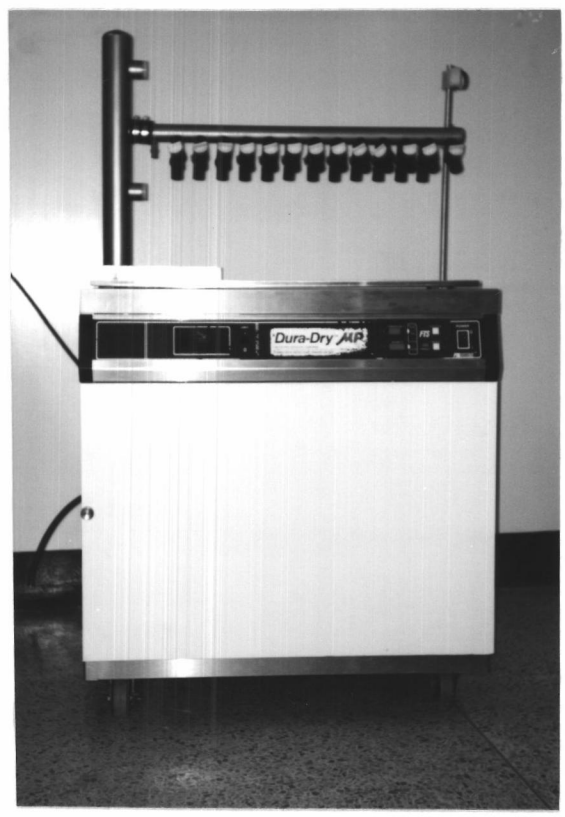
1.5 การเตรียมเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้ง

นำเจลว่านหางจระเข้ในข้อ 1.1.5 ไปทำผงแห้ง โดยใช้ Lyophilizer (FTS Systems, Inc.,U.S.A.) (ภาพที่ 12)

1.5.1 ทำเจลว่านหางจระเข้ให้แข็งเป็นฟิล์ม โดยการหมุนใน ethanol bath ของ Just A Tilt Sheel Freezer อุณหภูมิ -40 ^{o}ซ

1.5.2 อุ่นเครื่อง Lyophilizer จนมีสูญญากาศต่ำกว่า 100 ไมครอนปรอท

1.5.3 นำตัวอย่างใส่เข้าเครื่องทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จะได้เจลว่านหาง-จระเข้ผงแห้ง



ภาพที่ 12 Lyophilizer (FTS Systems, Inc., U.S.A.)

1.6 การวัดความหนืด ความเป็นกรด-ด่าง และส่วนประกอบทางเคมีของเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้ง

ละลายเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งด้วยน้ำ ให้มีปริมาตรเท่ากับก่อนไลโอฟิไลเซชัน แล้ววัดความหนืด, ความเป็นกรด-ด่าง, ปริมาณกลูโคส แมนโนส และกรดอะมิโน เช่นเดียวกับที่ทำในเจลว่านหางจระเข้สด ดังข้อ 1.2-1.4

1.7 เปรียบเทียบผลของกระบวนการไลโอฟิไลซ์

เปรียบเทียบความหนืด, ความเป็นกรด-ด่าง, ปริมาณกลูโคส แมนโนส และกรดอะมิโน ระหว่างเจลว่านหางจระเข้สดกับเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้ง โดยใช้ paired t-test

2. การพัฒนาตำรับเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้ง โดยการใช้ carrier

การพัฒนาตำรับเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้ง โดยการใช้ carrier เพื่อให้ได้ตำรับที่มีลักษณะภายนอกสวยงาม เมื่อละลายน้ำแล้วมีความหนืด และความเป็นกรด-ด่างใกล้เคียงกับเจลว่านหางจระเข้สด มีขั้นตอนดำเนินการดังนี้

2.1 เตรียมเจลว่านหางจระเข้ จากต้นว่านหางจระเข้ที่ปลูกในบริเวณใกล้กัน มีอายุประมาณ 1 ปี หาค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่างและความหนืด จากตัวอย่าง 10 ชุด เพื่อใช้เป็นตัวแทนค่าความเป็นกรด-ด่าง และความหนืดของเจลว่านหางจระเข้สด

2.2 เตรียมเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งโดยวิธีไลโอฟิไลเซชัน ซึ่งเปลี่ยนแปลงชนิดของ carrier ไป และ carrier แต่ละชนิดจะเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นระหว่าง 0.5-2.0% w/v จนได้ตำรับที่มีลักษณะที่ดีทางกายภาพ carrier ชนิดต่าง ๆ มีดังนี้

acacia

methylcellulose (15 cps.)

methylcellulose (25 cps.)

sodium carboxymethylcellulose (low viscosity)

polyvinylpyrrolidone (K30)

polyvinylpyrrolidone (K90)

Poloxamer 407

ลักษณะที่ดีทางกายภาพของตำรับที่ต้องการประเมินจาก

- ความละเอียดของผง

- สีของผง

- ความสามารถในการละลายน้ำ โดยเติมน้ำครั้งละ 0.1 มิลลิลิตร ลงในเจลผงแห้ง ปั่นด้วย Vortex Genine ทำเช่นนี้จนกว่าเจลผงแห้งจะละลายเป็นเนื้อเดียวกัน คำนวณในรูป 1 กรัมของผงเจลต่อมิลลิลิตรของน้ำ

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง และความหนืดหลังจากการละลายน้ำให้มีความเข้มข้นเท่าเดิม ต้องอยู่ในช่วง $\pm$10% ของค่าเฉลี่ยของเจลว่านหางจระเข้สด (ในหัวข้อ 2.1)

คัดเลือกตำรับที่ดีมา 3-5 ตำรับ

3. การศึกษาความคงสภาพทางกายภาพ เคมี และการปนเปื้อนของเชื้อของเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งตำรับต่าง ๆ

ตำรับเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งที่นำมาศึกษาความคงสภาพ มีดังนี้

- เจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งบริสุทธิ์

- เจลว่านหางจระเข้ในรุปผงแห้งผสม Bronidox-L® 0.2% v/v, sodium metabisulfite 0.1% w/v และ EDTA 0.05% w/v

- เจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งผสม carrier ตำรับที่ได้รับการคัดเลือกในข้อ 2

เพื่อศึกษาความคงสภาพของแต่ละตำรับ และศึกษาผลของ Bronidox-L® 0.2% v/v, sodium metabisulfite 0.1% w/v และ EDTA 0.05% w/v ต่อความคงสภาพ รวมทั้งศึกษาผลของ carrier ต่อความคงสภาพของตำรับด้วย สถิติที่ใช้วิเคราะห์คือ Analysis of Variance (ANOVA) ขั้นตอนการดำเนินการมีดังนี้

3.1 การศึกษาความคงสภาพทางกายภาพ

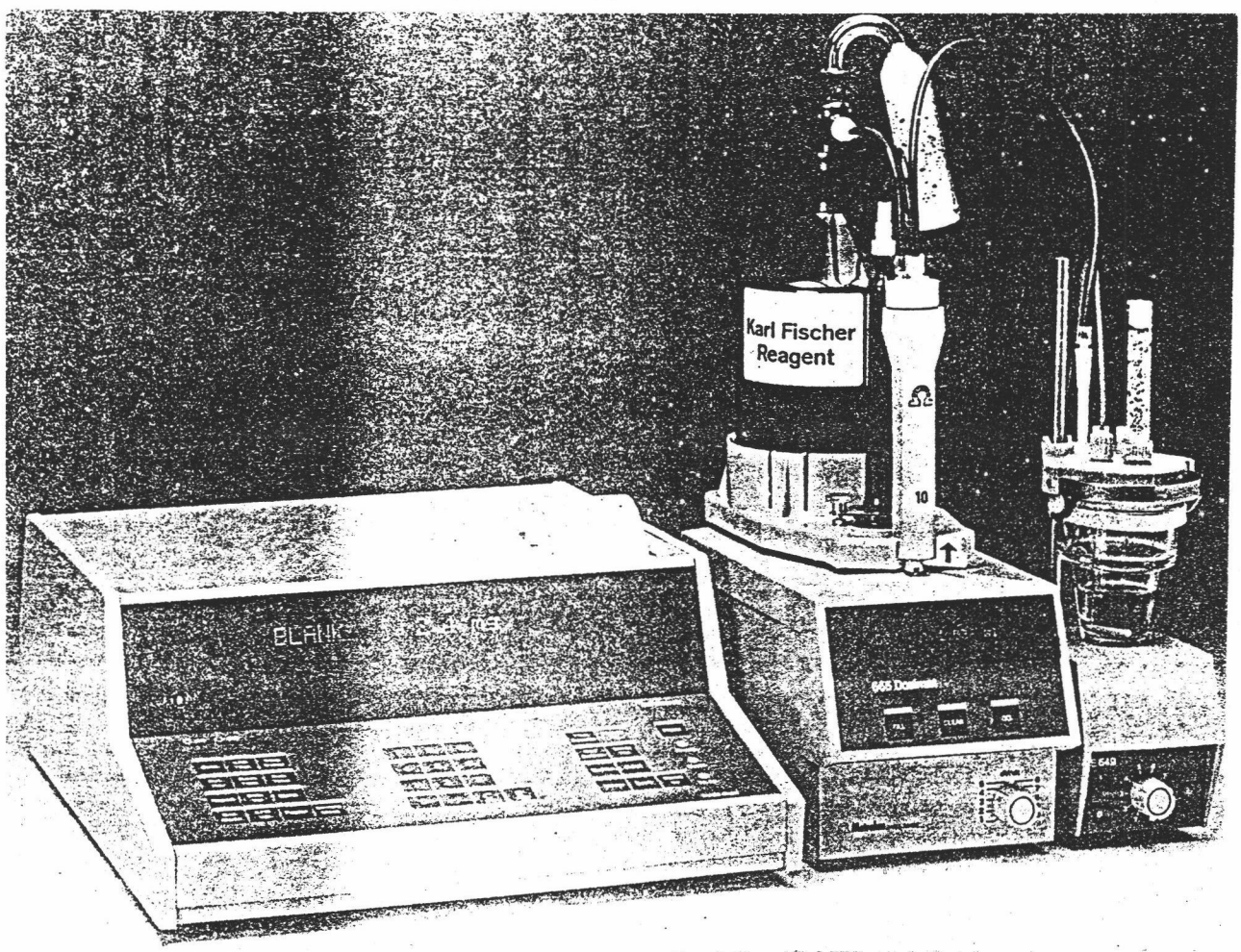
เตรียมเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งตำรับต่าง ๆ เก็บไว้ในขวดสีชาปิดสนิท ที่อุณหภูมิห้อง (ambient temperature) เป็นเวลา 6 เดือน ประเมินความคงสภาพโดย

3.1.1 สังเกตลักษณะภายนอก

สังเกตความละเอียดและสีของผง ที่เวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน

3.1.2 วัดปริมาณน้ำในตำรับโดยการไตเตรต

การวัดปริมาณน้ำในตำรับที่เวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน โดยใช้ Karl Fischer Processor (model 658) ร่วมกับ Titrating Stand และ Cell (Model 665 Dosimat) (Metrohm, Switzerland) (ภาพที่ 13) มีขั้นตอนดังนี้



ภาพที่ 13 Karl Fischer Processor model 658 และ Titrating Stand และ Cell model 665 Dosimat (Metrohm, Switzerland)

3.1.2.1 การหามาตรฐาน (Standardization) ของ Karl Fischer reagent โดย ใส่เมธานอล 50 มิลลิลิตร ลงใน titrating cell ไตเตรตด้วย Karl Fischer reagent จนถึงจุดยุติ (เพื่อตัดปริมาณน้ำในเมธานอล) เติม sodium tartrate ($Na_2C_2H_4O_6.2H_2O$) จำนวน 150-350 มิลลิกรัม ลงใน titrating cell อย่างรวดเร็ว คนด้วย stirrer จน sodium tartrate ละลายเป็นเนื้อเดียวกับเมธานอล จึงไตเตรตด้วย Karl Fischer reagent จนถึงจุดยุติ ดังนั้น

Karl Fischer reagent 1 มิลลิลิตร จะทำปฏิกิริยาสมมูลย์กับน้ำ = 2(18.02/230.08)(w/v)

เมื่อ มวลโมเลกุลของน้ำคือ 18.02

มวลโมเลกุลของ sodium tartrate คือ 230.08

w คือ น้ำหนัก sodium tartrate (มิลลิกรัม)

v คือ ปริมาตรของ Karl Fischer reagent ที่ใช้ (มิลลิลิตร)

3.1.2.2 การหาปริมาณน้ำในตำรับ ใช้วิธีการทดลองเดียวกับการหามาตรฐานของ Karl Fischer reagent เพียงแต่เปลี่ยน sodium tartrate เป็นสารตัวอย่าง สามารถหาปริมาณน้ำในตำรับ โดยคำนวณจากสูตรข้างต้น

3.1.3 <u>วัดความสามารถในการละลายน้ำ</u>

โดยคิดเทียบเป็น 1 กรัมของเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งต่อมิลลิลิตรของน้ำ ที่เวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน

3.1.4 <u>วัดความเป็นกรด-ด่างและความหนืด</u>

นำเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งมาละลายน้ำ ให้ได้ความเข้มข้นเท่าเดิม วัดความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ pH meter และวัดความหนืดโดยใช้ Ostwald viscometer ที่เวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน

3.2 การศึกษาความคงสภาพทางเคมี

3.2.1 เตรียมเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งตำรับต่าง ๆ ใส่ในขวดสีชาปิดสนิท นำไปศึกษาความคงสภาพทางเคมีในสภาพต่าง ๆ

3.2.1.1 ศึกษาความคงสภาพเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 45 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 75% เป็นเวลา 4 เดือน เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส แมนโนส และกรดอะมิโน ที่เวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน

3.2.1.2 ศึกษาความคงสภาพเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง (ambient temperature) เป็นเวลา 4 เดือน เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส แมนโนส และกรดอะมิโน ที่เวลา 0, 2 และ 4 เดือน

3.2.1.3 ศึกษาความคงสภาพเมื่อเก็บไว้ในตู้เย็น เป็นเวลา 4 เดือน เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส แมนโนส และกรดอะมิโน ที่เวลา 0, 2 และ 4 เดือน

3.2.2 เตรียมเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งตำรับต่าง ๆ โดยใช้เจลว่านหางจระเข้ชุดเดียวกัน และเตรียมเป็นผงแห้งพร้อมกัน เก็บในขวดสีชาปิดสนิท ที่อุณหภูมิ 45 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 75% เป็นเวลา 2 เดือน เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส แมนโนส และกรดอะมิโน ที่เวลา 0 และ 2 เดือน เพื่อหาปริมาณสารเริ่มต้นในแต่ละตำรับว่าเท่ากันหรือไม่ (ศึกษาผลของสารต่าง ๆ ที่เติมลงไป ต่อส่วนประกอบทางเคมีของเจลว่านหางจระเข้) และเป็นการทดสอบความคงสภาพ สนับสนุนการทดลองในข้อ 3.2.1.1

3.3 การทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อ

เตรียมเจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งตำรับต่าง ๆ เก็บในขวดสีชาปิดสนิท ที่อุณหภูมิห้อง (ambient temperature) เป็นเวลา 6 เดือน เก็บตัวอย่างมาทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อ ที่เวลา 0, 1, 3 และ 6 เดือน วิธีในการทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อ ใช้วิธีที่กำหนดในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, สำนักงาน, 2519) ดังแสดงในภาคผนวก ค เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบได้แก่ แบคทีเรีย, ยีสต์, รา, Presumptive coliform, Faecal coli, S. aureus, P. aeruginosa, Salmonella species. และ Clostridium species