บทที่ 2

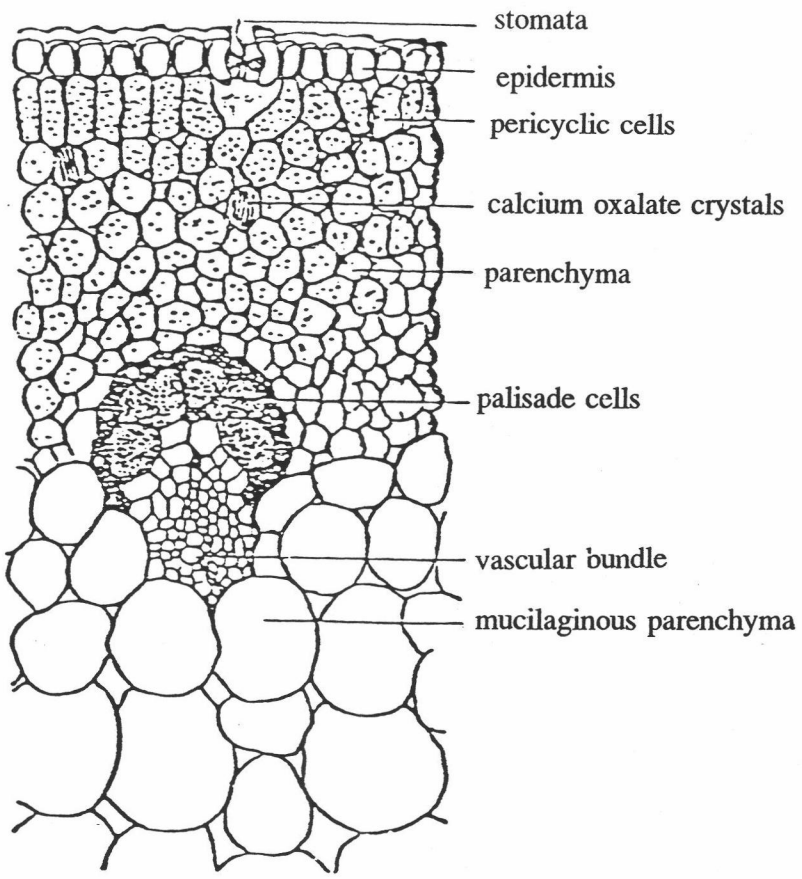
การปริทัศน์วรรณกรรม

ว่านหางจระเข้

Aloe มาจากคำภาษาอาราบิกว่า "Alloeh" ซึ่งมีความหมายว่าเป็นสารที่มีรสขมและเป็นเงา (จิราภา สุวรรณประกร, 2527) ต่อมาถูกเปลี่ยนเป็นภาษาลาตินว่า "Aloe" พืชตระกูลนี้มีอยู่ถึง 200 กว่าชนิด ว่านหางจระเข้อยู่ในตระกูลนี้เช่นกัน (Leung, 1977) ว่านหางจระเข้มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า Aloe barbadensis Mill. บางตำรากล่าวว่ามีชื่อพ้องคือ Aloe vera Linn. (Anonymous, 1983; Benson, 1982 and Medicine commission) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Liliaceae หรือ Lily family ใช้ชื่อเรียกกันต่าง ๆ ชื่ออังกฤษ Mediteranean Aloe, True Aloe, Star cactus ชื่อไทยทางภาคเหนือเรียกว่าว่านไฟไหม้ ภาคกลางเรียกว่าว่านหางตะเข้หรือว่านหางจระเข้ ส่วนชาวจีนเรียกว่านำเต็ก (วิทยาศาสตร์บริการ,กรม, 2527; ลัดดาวัลย์ บุญรัตนกรกิจ, 2535) ว่านหางจระเข้เป็นพืชพื้นเมืองของอาฟริกาใต้ แต่ได้มีผู้นำมาปลูกในประเทศที่มีอากาศร้อนทั่วไป ปัจจุบันพบมากในดินแดนแถบอเมริกาตอนใต้ เท็กซัส ฟลอริด้า อาฟริกาเหนือและใต้ เอธิโอเปีย บราซิล มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ (Fishman, 1987) สำหรับประเทศไทยนั้นมีการปลูกว่านหางจระเข้ในหลายจังหวัด เช่น ประจวบคีรีขันธ์, สุพรรณบุรี, นครปฐม, ฉะเชิงเทรา, และระยอง

ว่านหางจระเข้เป็นพืชล้มลุก มีส่วนของลำต้นสั้น เห็นแต่ใบที่เรียงซ้อนกันอยู่ ใบหนาสดและอวบน้ำ รูปร่างยาวปลายเรียวแหลม ขนาดใบยาว 30-50 เซนติเมตร โคนใบกว้าง 6-7 เซนติเมตร ด้านบนของใบมีลักษณะแบนกว่าด้านใต้ใบ ริมใบมักมีหนามเล็ก ๆ ส่วนขอบใบมีน้ำยางสีขาวอมเหลือง และมีวุ้นใส ๆ มีน้ำเมือกเหนียว (วิภา สุทธิศรี, 2527) ดอกสีเหลือง ส้ม-แดง ออกดอกเป็นช่อยาว 60-90 เซนติเมตร โดยก้านดอกแทงขึ้นจากกลางต้น เป็นก้านแข็งสูงราว 2 ฟุต (นันทวัน บุณยประภัศร, 2529) การขยายพันธุ์ใช้วิธีแยกหน่อและนำไปวางในที่ปลูก ขึ้นได้ในดินทั่วๆ ไปที่มีการระบายน้ำได้ดี เป็นพืชโตเร็ว

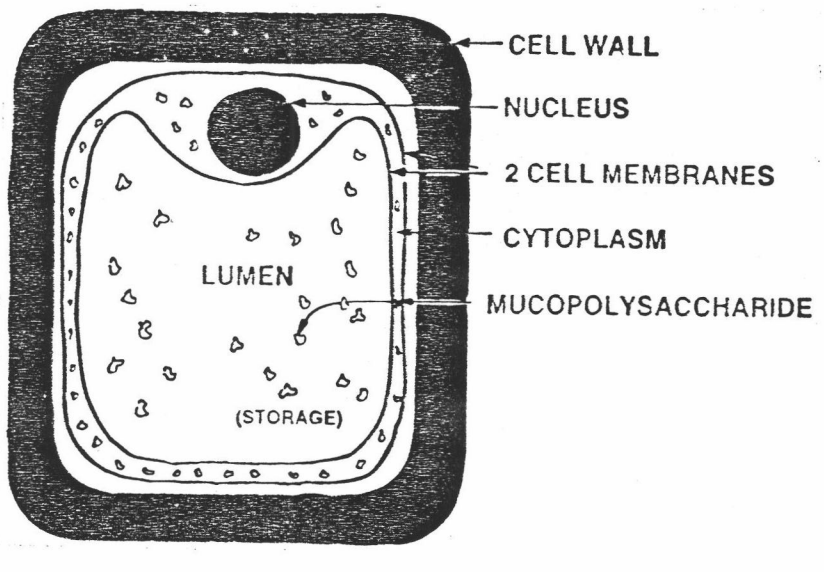
ว่านหางจระเข้ที่ปลูกในที่มีอากาศร้อนและอยู่ริมทะเลจะให้ปริมาณวุ้นมาก (พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ, 2529) เริ่มเก็บใบมาใช้ได้เมื่อพืชอายุได้ 1 ปี



ภาพที่ 1 ภาพตัดขวางใบว่านหางจระเข้:

เมื่อตัดใบว่านหางจระเข้ออกจากต้น จะมีของเหลวไหลออกมา 2 ส่วน ส่วนแรกเป็นน้ำยาง (latex) จากขอบใบ ส่วนที่สองเป็นน้ำเมือกจากวุ้นใส ๆ ภายในใบว่าน ซึ่งมักเรียกกันว่า Aloe vera gel (Nikitakis, McEwen and Wenninger, 1991) โดยส่วนที่เป็นน้ำยางเป็นของเหลวที่ไหลออกมาจาก pericyclic cell (ภาพที่ 1) ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่ใต้ cutinized epidermis มีสีเหลือง-น้ำตาล เมื่อนำไปเคี่ยวให้ข้น ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจะได้ก้อนสีดำเรียกว่ายาดำหรือ Curacaco Aloe (United States Pharmacopcial Convention, Inc., 1985) ภายในมีสารสำคัญเป็นพวก anthraquinone glycosides คือ aloin และ aloe-emodin มีฤทธิ์เป็นยาถ่ายที่มีศักยภาพสูงจนได้รับคัดเลือกไว้ในตำรายาหลัก (Pharmacopoeia) ของประเทศต่าง ๆ มากกว่า 20 ประเทศ (Reynolds, 1993) และมีระบุใน Thai Pharmacopoeia ด้วย (Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, 1993)

ของเหลวส่วนที่นิยมนำมาใช้ทางยาและเครื่องสำอางกันมากคือ ส่วนที่เป็นน้ำเมือกจากวุ้นใส ๆ ภายในใบว่านมีลักษณะใส ไม่มีสี เป็นน้ำเมือกลื่น ๆ สร้างจาก tubular cell ที่มีผนังเซลบาง พบอยู่ในส่วนที่เป็น mucilaginous parenchyma ของใบ (ภาพที่ 1) (McKeown, 1983) ส่วนที่เป็นน้ำเมือกนี้จะมีส่วนประกอบที่เป็นมิวโคโพลิแซคคาไรด์ เมื่อส่องกล้องจุลทรรศน์โดยขยายเป็น 50,000 เท่า และย้อมให้เห็นเฉพาะส่วนมิวโคโพลิแซคคาไรด์ที่ถูกสร้างขึ้นมา จะพบว่าเก็บอยู่ในส่วนที่เป็น lumen ของเซล (Aloe Research Foundation, Inc., 1992) (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ภาพขยาย (x 50,000) เซลที่เก็บมิวโคโพลิแซคคาไรด์

เจลว่านหางจระเข้สดนี้ โดยทั่วไปมีน้ำเป็นส่วนประกอบอยู่ถึงร้อยละ 99.5 (Gjerstad, 1971) ส่วนประกอบที่เหลือของเจลว่านหางจระเข้อยู่ในรูป solid component ซึ่งประกอบด้วยสารต่าง ๆ มากมาย โดยปริมาณสารต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับฤดูกาล, สถานที่, อายุและขนาดของว่าน รวมทั้งปริมาณน้ำ อากาศ แสงแดดที่ให้แก่ว่านหางจระเข้ด้วย ส่วนประกอบเหล่านี้ได้แก่

1. คาร์โบไฮเดรต ถือเป็นองค์ประกอบสำคัญใน solid component โดยคาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่ อยู่ในรูปโพลิแซคคาไรด์ ซึ่งมีส่วนประกอบหลักเป็นกลูโคแมน-แนน เป็นโพลิเมอร์สายตรงของกลูโคส-แมนโนส จับกันด้วยพันธะ 1,4 glycosidic (Gowda, Neelisiddaiah และ Anjaneyalu, 1979; Mandal และ Das, 1980) โดยอัตราส่วนของกลูโคสต่อแมนโนสขึ้นอยู่กับฤดูกาล สถานที่ อายุและขนาดของว่านหางจระเข้ (Waller, Mangiafico และ Richey, 1978) นอกจากกลูโคแมนแนนแล้ว เจลว่านหางจระเข้ยังมีโพลิ-แซคคาไรด์อยู่ในรูปอราบิแนนและกาแลคแตนอีกปริมาณเล็กน้อย (Mandal, Ghosh และ Das, 1983) เมื่อไฮโดรไลซ์โพลิแซคคาไรด์แล้วน้ำตาลส่วนใหญ่ที่ได้คือกลูโคสและแมนโนส จะพบอราบิโนส กาแลคโตส และไซโลสปริมาณเล็กน้อย ส่วนโมโนแซคคาไรด์ที่พบคือ กลูโคส, แมนโนส, อราบิโนส, กาแลคโตส และไซโลส การนำเจลว่านหางจระเข้ไปใส่ในเครื่องสำอางเพื่อให้เกิดผลในการเป็น moisturizer หรือ humectant อาศัยผลจากการมีมิวโค-โพลิแซคคาไรด์ในเจลว่านหางจระเข้นั่นเอง

2. กรดอะมิโน โปรตีน และเอนไซม์ เจลว่านหางจระเข้มีโปรตีนอยู่ประมาณ 2.5% ของ solid component (Gjerstad, 1971) บางชนิดอยู่ในรูปโปรตีนบริสุทธิ์ บางชนิดอยู่ในรูปไกลโคโปรตีนคือ เป็นคาร์โบไฮเดรตจับกับโปรตีน โดยสารเหล่านี้มักรู้จักกันในแง่คุณสมบัติที่ทำให้เซลรวมตัวกัน (cell-agglutinating properties) (McKeown, 1983) ไกลโค-โปรตีนชนิดหนึ่งเรียกว่า Aloctin A ปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับสารตัวนี้มากนัก มีเพียงข้อมูลเกี่ยวกับประโยชน์ของสารนี้ว่า อาจจะรักษามะเร็งบางชนิดหรือลดการอักเสบได้ (Rubel, 1983) ส่วนเอนไซม์ที่พบในเจลว่านหางจระเข้มีด้วยกันหลายชนิด เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม hydrolase และ oxidoreductase เช่น cellulase, catalase, amylase, oxidase, carboxypeptidase, peroxidase, lipase และ bradykininase ซึ่งมีรายงานว่าให้ผลในการต้านอักเสบลดบวมได้ (Rubel, 1983) สำหรับกรดอะมิโนในเจลว่านหางจระเข้นี้ มีรายงานว่าพบทั้งหมด 17 ชนิด (Waller, Mangiafico และ Ritchey, 1978) คือ aspartic acid, glutamic acid, serine, threonine, asparagine, glutamine, proline, glycine, alanine, valine, isoleucine,

leucine, tyrosine, phenylalanine, lysine, histidine และ arginine โดยทั่ว ๆ ไป กรดอะมิโนที่พบว่ามีมากในเจลว่านหางจระเข้คือ phenylalanine, valine, leucine และ isoleucine (Morsy, 1982)

3. Natural hydroxyquinone glucoside ส่วนใหญ่อยู่ในรูป anthraquinone glycoside เป็นสารที่พบในปริมาณเล็กน้อยในเจลว่านหางจระเข้ แต่เป็นส่วนประกอบหลักของน้ำยาง (latex) ของว่านหางจระเข้เช่น aloin, aloe-emodin, emodin, chrysofanol และ barbaloin เป็นต้น เชื่อว่าสารเหล่านี้มีฤทธิ์เป็นสารกันแดดได้เมื่อใส่เจลว่านหางจระเข้ในตำรับเครื่องสำอางในปริมาณที่เหมาะสม (Bader และคณะ, 1981; Proserpio, 1976) นอกจากนี้ยังมีการทดลองที่แสดงให้เห็นว่า สารเหล่านี้ในเจลว่านหางจระเข้ทำให้เกิดการเจริญเติบโตของเซลได้ด้วย (Danhof, 1987) แต่อย่างไรก็ตามยังมีข้อมูลอยู่น้อยมาก ต้องอาศัยการค้นคว้าต่อไป

4. วิตามิน มีหลายชนิดได้แก่ pro-vitamin A, riboflavin, thiamine, β carotene, niacin, folic acid และ ascorbic acid โดยแต่ละชนิดจะมีปริมาณเล็กน้อย

5. เกลือแร่ ที่พบมากในเจลว่านหางจระเข้ได้แก่ โพแทสเซียม, แคลเซียม, แมกนีเซียม, และโซเดียม นอกจากนี้ยังพบเกลือแร่อื่นๆ ในปริมาณเล็กน้อยเช่น ทองแดง, โครเมียม, ฟอสฟอรัส, เหล็ก, แมงกานีส, อลูมิเนียม และแบเรียม เป็นต้น (Morsy, 1982)

6. ไขมัน ในเจลว่านหางจระเข้ไขมันจะอยู่รวมกับ pro-vitamin A ประมาณร้อยละ 0.1

7. สเตอรอล ที่พบได้แก่ campesterol และ β-sitosterol ซึ่งเป็นสเตอรอลที่พบในพืชทั่ว ๆ ไป และอาจพบ cholesterol ได้ในปริมาณเล็กน้อย (Waller, 1978)

8. น้ำมัน ในเจลว่านหางจระเข้มีน้ำมัน (essential oil) เป็นส่วนประกอบอยู่ประมาณร้อยละ 2 น้ำมันเหล่านี้มีสีเหลืองอ่อน เป็นส่วนที่ทำให้เจลว่านหางจระเข้มีกลิ่นและรสเฉพาะตัว (Morsy, 1982) มีความถ่วงจำเพาะประมาณ 0.86 และมีจุดเดือดอยู่ระหว่าง 266-271 °ซ

เจลว่านหางจระเข้มีความคงสภาพต่ำมาก โดยเมื่อสูญเสียความคงสภาพจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพคือ สีจะคล้ำขึ้นจนเป็นสีน้ำตาลดำ กลิ่นผิดไป อาจมีการตกตะกอน หรือ เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี โดยปริมาณส่วนประกอบต่าง ๆ ใน solid component จะเปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน โปรตีน และวิตามิน

ต่าง ๆ รวมทั้งเกิดการเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยา โดยมีการปนเปื้อนของเชื้อ มีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เกิดการเน่าเสียของเจลว่านหางจระเข้ ความไม่คงสภาพของเจลว่านหางจระเข้เกิดขึ้นจากหลายสาเหตุด้วยกันคือ

1. ปฏิกิริยาเคมี ซึ่งยังแบ่งได้เป็น ปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ และปฏิกิริยาที่ไม่ใช้เอนไซม์
2. เชื้อจุลินทรีย์

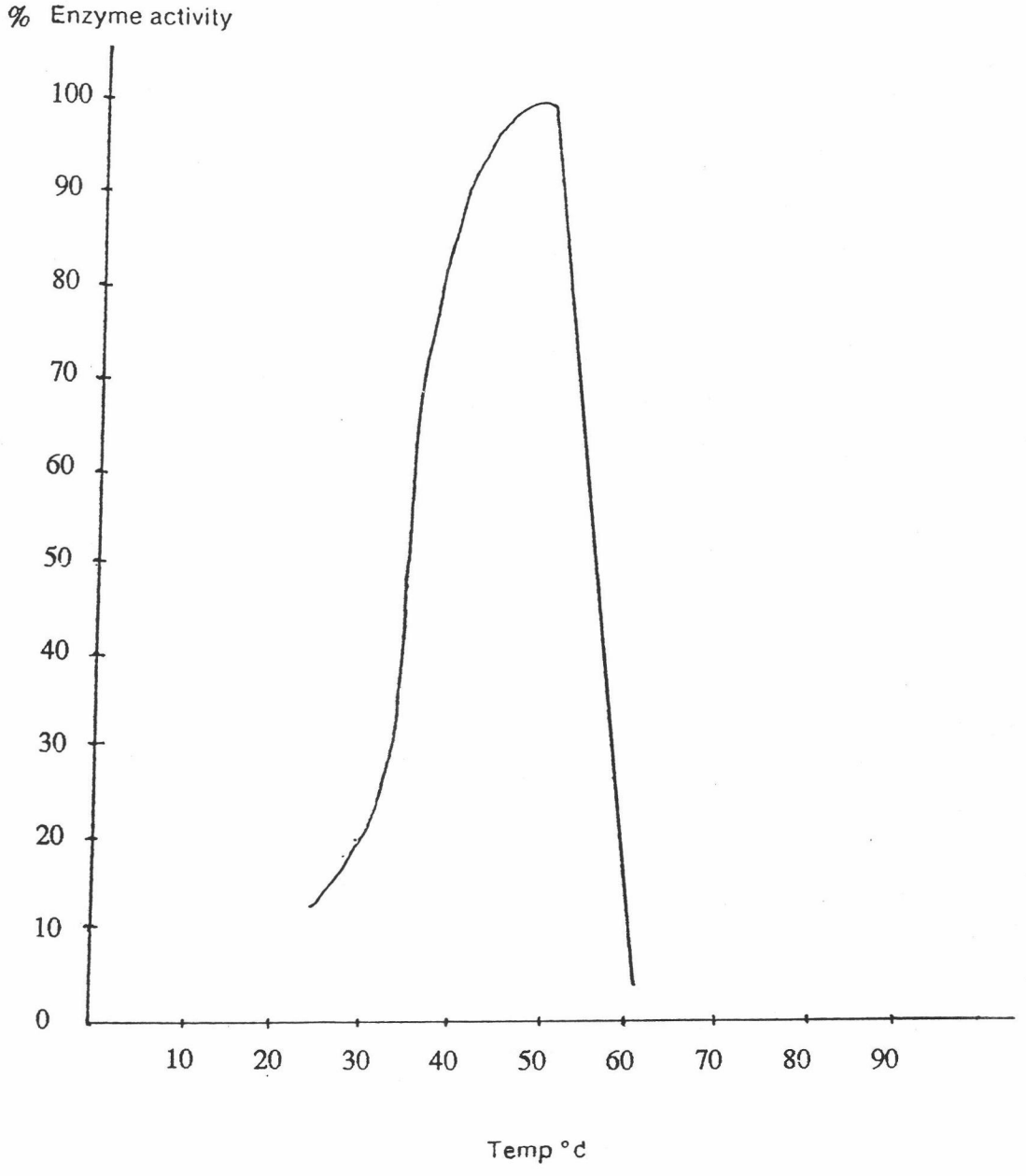
ความไม่คงสภาพของเจลว่านหางจระเข้ ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาเคมีแบบที่ใช้เอนไซม์เกิดขึ้นโดยอาศัยเอนไซม์ภายในเจลว่านหางจระเข้ (Morsy, 1982) เอนไซม์ที่มีผลต่อการสลายตัวของเจลมากที่สุดคือ peroxidase, oxidase และ catalase โดยเอนไซม์เหล่านี้จะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลหรือโพลิฟีนอล, กรดอะมิโน, แทนนิน และแอนทราควิโนน เกิดเป็นสารประกอบที่มีสีน้ำตาล (เกิดการสร้างเม็ดสี หรือเมลานิน) ซึ่งเรียกว่า Melanoidins ขึ้นมา มีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของเจลว่านหางจระเข้แบบนี้คือ (Morsy,1982)

1. ความเป็นกรด-ด่าง ประสิทธิภาพของเอนไซม์และปฏิกิริยาออกซิเดชันจะลดลง เมื่อความเป็นกรด-ด่างของเจลว่านหางจระเข้ต่ำกว่า 6 โดยถ้าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 3 เอนไซม์จะถูก inactivate อย่างถาวร
2. อุณหภูมิ ถ้าอุณหภูมิของเจลว่านหางจระเข้เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 3) โดยเอนไซม์จะมีประสิทธิภาพดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 30-50 °ซ ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เอนไซม์จะเกิดการสลายตัว (Morsy,1982)
3. ความชื้น ประสิทธิภาพของเอนไซม์ต่อความชื้น แสดงดังภาพที่ 4
4. แสง และปริมาณออกซิเจน ถ้ามีมากจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมาก

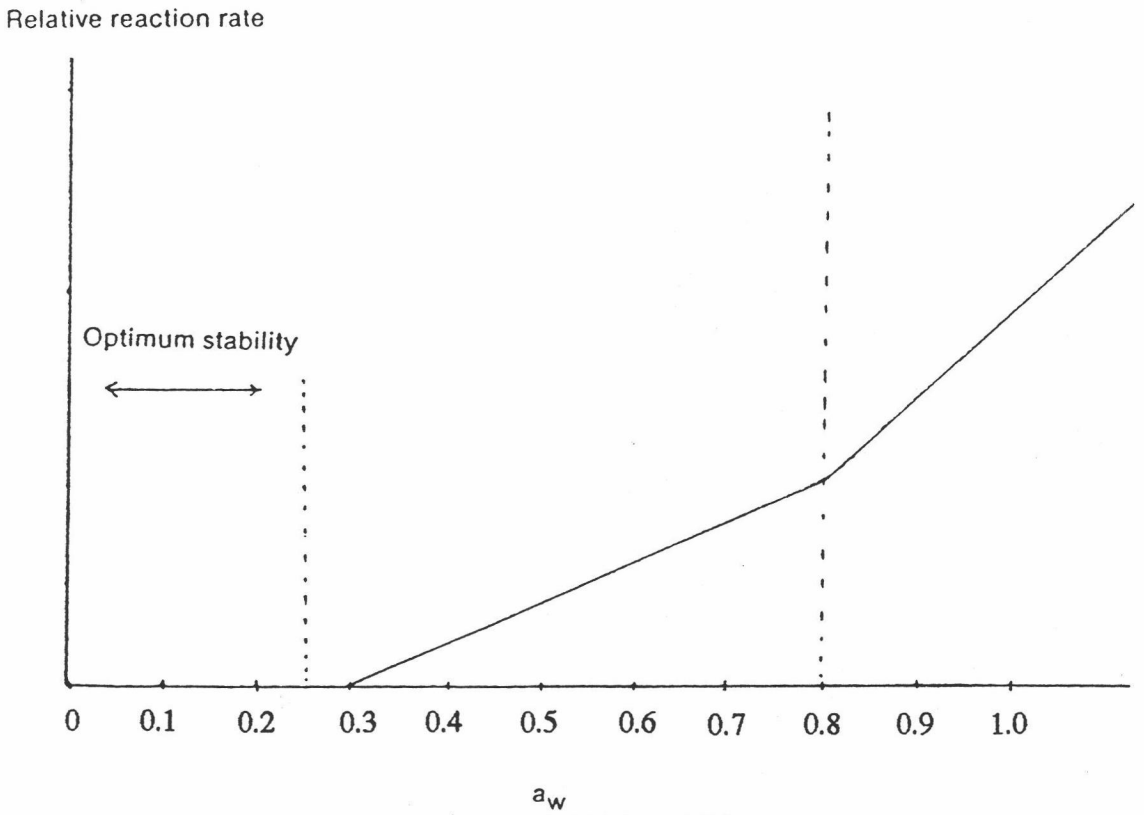
วิธีการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของเจลว่านหางจระเข้ ทำได้หลายวิธีด้วยกัน มีหลักใหญ่ ๆ คือ พยายามกำจัดปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยา ซึ่งได้แก่

1. การใช้สารต้านออกซิเดชันที่มีแนวโน้มในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าสารในเจลว่านหางจระเข้ ที่นิยมใช้กันได้แก่ ascorbic acid, citric acid, และสารที่สามารถปลดปล่อย sulfurdioxide ออกมาได้เช่น sodium sulfite, sodium bisulfite และ sodium metabisulfite เป็นต้น

2. การทำให้เจลว่านหางจระเข้อยู่ในสภาพที่เป็นกรดโดยการเติมกรดลงไป นิยมใช้ ascorbic acid และ citric acid



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและประสิทธิภาพของเอนไซม์ในเจลว่าน-หางจระเข้



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความชื้น (aw) กับอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

3. การเพิ่มอุณหภูมิของเจลว่านหางจระเข้ให้สูงกว่า 60 °ซ แต่วิธีนี้ไม่ถูกต้องนัก เนื่องจากนอกจากทำให้เอนไซม์หมดประสิทธิภาพแล้ว ยังทำให้โปรตีนอื่น ๆเกิดเสื่อมสภาพ เกิดการสลายตัวของวิตามิน (Waller, 1992) และเกิดสารประกอบสีน้ำตาล จากปรากฏการณ์ที่เรียกว่า Maillard เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสของสารประกอบจำพวกคาร์โบไฮเดรตหรือ glycosidic อีกด้วย

4. กำจัดความชื้นและแสง

5. ใช้ chelating agent ซึ่งเป็นสารที่จะจับโลหะหนักหรืออิออนของโลหะหนักเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน เนื่องจากในเอนไซม์ต่าง ๆ จะมีทองแดงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ดังนั้นเมื่อเติม chelating agent ลงไป จะทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ chelating agent ที่นิยมใช้ได้แก่ EDTA

นอกจากเจลว่านหางจระเข้จะเกิดความไม่คงสภาพเนื่องจากปฏิกิริยาเคมีแบบใช้เอนไซม์แล้ว เจลว่านหางจระเข้สามารถเกิดปฏิกิริยาเคมีแบบที่ไม่ต้องอาศัยเอนไซม์ได้ด้วย (Morsy, 1982) โดยปฏิกิริยาชนิดนี้เมื่อเกิดขึ้นจะทำให้ปริมาณสารสำคัญในเจลว่านหาง-จระเข้หลายตัวลดลง ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันของ ascorbic acid หรือปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสของคาร์โบไฮเดรต การที่คาร์โบไฮเดรตเกิดไฮโดรลิซิสจะได้สารประกอบพวก highly reactive carbonyl ซึ่งจะไปทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน, โปรตีน และวิตามินในเจลว่านหางจระเข้ สารประกอบที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของสารประกอบ highly reactive carbonyl กับกรดอะมิโน เกิดเป็นสารสีน้ำตาล ทำให้สีของเจลเปลี่ยนแปลงไป จากผลของปฏิกิริยาดังกล่าวนี้ ทำให้ปริมาณโพลิแซคคาไรด์ (ซึ่งให้ผลเป็น moisturizer หรือ humectant), กรดอะมิโน, โปรตีน และวิตามินต่าง ๆ ในเจลว่านหางจระเข้ลดลง

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดไฮโดรลิซิสของคาร์โบไฮเดรต จนกระทั่งได้สารประกอบสีน้ำตาลนั้น มีอยู่หลายอย่างด้วยกันที่สำคัญคือ

1. อุณหภูมิ ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น
2. แสงและเวลาที่สัมผัสแสง โดยแสงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยานี้
3. ปริมาณความชื้น โดยอัตราเร็วในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรลิซิส จะเพิ่มขึ้นตามปริมาณความชื้น

เชื้อจุลินทรีย์เป็นสาเหตุหนึ่งที่สำคัญ ในการทำให้เจลว่านหางจระเข้เสียความคงสภาพ (Morsy, 1982) โดยเชื้อจุลินทรีย์อาจปนเปื้อนมาจากกระบวนการเตรียมเจล หรือการเก็บเจลไม่ดี และเนื่องจากภายในเจลว่านหางจระเข้มีสารอาหารมากมายที่เชื้อจุลินทรีย์จะใช้เป็นอาหารได้ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว เชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่ทำให้เจลว่านหางจระเข้เสียความคงสภาพเป็นเชื้อแบคทีเรียประเภท anaerobic ซึ่งไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ดังนั้นแม้เก็บเจลว่านหางจระเข้ในขวดปิดสนิท เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ยังสามารถเจริญเติบโตได้ โดยทั่วไปแล้วจะพบความไม่คงสภาพของ

เจลว่านหางจระเข้เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนจะสังเกตเห็นความเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพ

วิธีทำให้เจลว่านหางจระเข้มีความคงสภาพ ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทำได้โดย

1. การใช้สารเคมี เป็นวิธีที่นิยมที่สุด โดยสารที่เติมลงไปเหล่านี้ จะไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Fungicidal หรือ Bacteriocidal) หรือเพียงยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในเจลว่านหางจระเข้ (Fungistatic หรือ Bacteriostatic) สารถนอมส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพการทำงานสูง เมื่ออยู่ในสภาพที่มีความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 3-7 กลไกการออกฤทธิ์ของสารถนอม เป็นการทำลายผนังเซลของเชื้อจุลินทรีย์หรือยับยั้งการสร้างเอนไซม์ที่สำคัญในการดำรงชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยทั่วไปนิยมใช้สารถนอมมากกว่า 1 ชนิดร่วมกัน

2. การใช้ความร้อน อาจทำโดยวิธีพลาสเจอไรซ์หรือสเตอริไลซ์ แต่เพื่อความมั่นใจ มักใช้วิธีสเตอริไลซ์แล้วเก็บเจลว่านหางจระเข้ในภาชนะปิดสนิท เพื่อป้องกันการปนเปื้อนเชื้อใหม่ วิธีนี้เป็นวิธีที่ให้ผลดีที่สุด แต่ถ้ามองในแง่การนำเจลว่านหางจระเข้มาใช้ประโยชน์ จะเป็นวิธีที่ไม่เหมาะสมนัก เนื่องจากวิธีนี้ทำให้ส่วนประกอบทางเคมีต่าง ๆ ในเจลว่านหางจระเข้สูญสลายไปได้ (Waller, 1992)

3. การใช้ความเย็น โดยแช่เย็นหรือแช่แข็ง เป็นวิธีที่ไม่นิยมในอุตสาหกรรม ถึงแม้ว่าเป็นวิธีที่ไม่มีการสูญสลายส่วนประกอบทางเคมีก็ตาม

4. การกำจัดน้ำออก (dehydration) ทำได้หลายวิธี อาจทำโดยระเหยน้ำให้เข้มข้นขึ้น หรือทำให้อยู่ในรูปผงแห้งโดยวิธีต่าง ๆ เช่น Spray-drying หรือ Freeze-drying (Waller, 1992)

ในปัจจุบัน เจลว่านหางจระเข้ที่มีจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาดเพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางจะอยู่ในรูปเจลว่านหางจระเข้ที่ถูกทำให้มีความคงสภาพมากขึ้นแล้ว รูปแบบต่าง ๆ เหล่านี้ได้แก่ (Leung, 1985; Meadows,, 1985)

1. Stabilized Aloe gel เป็นผลิตภัณฑ์เจลว่านหางจระเข้ที่มีการเติมสารเคมีชนิดต่าง ๆลงไปเพื่อทำให้มีความคงสภาพเพิ่มขึ้นเช่น การเติมสารถนอม, สารต้านออกซิเดชัน, chelating agent หรือกรดต่างๆ นำมาใช้ได้ทันทีเมื่อต้องการ การเตรียมเจลว่านหางจระเข้ให้อยู่ในรูป Stabilized Aloe gel นอกจากใช้วิธีเติมสารเคมีต่าง ๆ ดังกล่าวแล้ว ยังมีการศึกษา

วิจัยเตรียมเจลว่านหางจระเข้ให้คงสภาพ โดยใช้สาหร่ายสีแดง (Red microalgae) และ Xanthan gum (Yaron, Cohen และ Arad, 1992) เมื่อนำสาหร่ายสีแดงชนิด Prophyridium sp., Porphyridium aerugineum และ Rhodella reticulata มาสกัดแยกเอา sulfated polysaccharide ออกมาผสมกับเจลว่านหางจระเข้ ส่วน Xanthan gum จะแยกเอา natural anionic polysaccharide ออกมาผสมกับเจลว่านหางจระเข้พบว่า สารเหล่านี้สามารถทำให้โครงสร้างของโพลิแซคคาไรด์ในเจลว่านหางจระเข้คงสภาพได้ และรักษาความเป็นเนื้อเดียวกันของเจลได้เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1 เดือน

2. Aloe liquid concentrate เป็นผลิตภัณฑ์เจลว่านหางจระเข้ที่มีความเข้นข้นสูงกว่าปกติ เช่นเข้มข้นเป็น 10 เท่า หรือ 40 เท่า เมื่อจะนำมาใช้ต้องนำมาละลายน้ำให้ได้ความเข้มข้นเท่าเดิม เจลว่านหางจระเข้รูปแบบนี้ในปัจจุบันไม่ค่อยนิยมแล้ว เนื่องจากมีรายงานปัญหาเรื่องการสลายตัวของเจลมากที่สุด

3. Aloe powder เป็นผลิตภัณฑ์เจลว่านหางจระเข้ที่กำจัดน้ำออกแล้ว อยู่ในรูปผงแห้ง โดยวิธี Freeze-drying, Spray-drying หรือตกตะกอนด้วยตัวทำละลาย (หลังจากมีการระเหยน้ำขั้นต้นแล้ว) อาจอยู่ในรูปที่มีสารเจือจาง (diluent) ซึ่งทางการค้าอาจเรียก carrier หรือ stabilizer เจือปนอยู่ หรืออยู่ในรูปเจลผงแห้งบริสุทธิ์ สารอื่นๆที่เติมลงไป มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ง่ายต่อการนำไปใช้ (handling), ง่ายต่อการเก็บ หรือเพื่อวัตถุประสงค์อื่นๆ เมื่อจะนำมาใช้ต้องละลายผงแห้งในน้ำให้มีความเข้มข้นเท่าเดิม

4. Oil extracted Aloe vera เป็นผลิตภัณฑ์เจลว่านหางจระเข้ ซึ่งใช้กับตำรับเครื่องสำอางที่มีส่วนประกอบที่เป็นน้ำมันสูง โดยร้อยละ 70 ของ Aloe vera oil ถูกนำไปใช้สำหรับเตรียมผลิตภัณฑ์ป้องกันแดด ที่เหลือเป็นผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับริมฝีปาก (Aloe Research Foundation, Inc. 1992)

ว่างหางจระเข้นับเป็นสมุนไพรที่มีประโยชน์สูง มนุษย์ได้นำว่านหางจระเข้มาใช้เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ นานนับศตวรรษ ในระยะแรก ๆ ใช้ส่วนของยาง (latex) เป็นยาระบาย ในระยะหลัง ๆ ได้มีการทดลองใช้ส่วนของวุ้นมาทำยารักษาโรค และเครื่องสำอางมากมาย สำหรับการใช้เจลว่านหางจระเข้ทางคลินิกนั้น มีรายงานการวิจัยทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ

รายงานการใช้เจลว่านหางจระเข้ทางคลินิกในต่างประเทศมีดังนี้

1. รักษาแผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก และแผลทั่วไป โดยพบว่าการทาเจลว่านหางจระเข้สดลงบนผิวหนังที่ถูกไฟไหม้น้ำร้อนลวกทันทีทันใดที่เกิด จะยับยั้งการเกิดแผลได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อนำมารักษาแผลเรื้อรังที่ขาสามารถกระตุ้นให้แผลทุเลาได้ (Grosoirdy, 1864 อ้างถึงใน Henry, 1979) โดยสารในเจลว่านหางจระเข้ที่มีคุณสมบัติรักษาแผลหรือสมานแผลคือ มิวโคโพลิแซคคาไรด์ (Zawahry, Hegazy และ Helal, 1973) นอกจากนี้ยังสามารถนำเจลว่านหางจระเข้ไปใช้กับแผลถลอกอย่างได้ผลดี (Brnes, 1949)

2. รักษาแผลที่เกิดจากการฉายรังสี เมื่อนำเจลว่านหางจระเข้ทาแผลของผู้ป่วยที่เกิดจากการฉายรังสีบริเวณหน้าผากอย่างต่อเนื่องกันเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ผิวหนังบริเวณหน้าผากและหนังศีรษะสามารถฟื้นฟู (regeneration) ได้โดยไม่มีแผลเป็น รวมทั้งทำให้มีผมขึ้นใหม่ด้วยเนื่องจากเซลบริเวณผิวหนังที่ถูกรังสีจะเป็นเซลที่ตายแล้ว (Collins, 1935 อ้างถึงใน Henry, 1979) มีการทดลองแสดงให้เห็นว่าเจลว่านหางจระเข้สามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของเซล fibroblasts ได้ถึงเกือบ 100% (Danhof และ McAnalley, 1983; The National Aloe Science Council,1982) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้เจลว่านหางจระเข้ในผู้ป่วยที่เป็น osteoradionecrosis ซึ่งเป็นผลจากการฉายรังสีรักษามะเร็งที่ลิ้นโดยเจลว่านหางจระเข้สามารถลดอาการเจ็บปวดและลดขนาดของแผลได้ (Mandeville, 1939)

3. รักษาทางทันตกรรม การใช้เวลว่านหางจระเข้ผสมในวัสดุสำหรับปิดแผลผ่าตัดในงานศัลย์ปริทันต์ (Periodental dressing) นำวัสดุที่มีส่วนผสมของเจลว่านหางจระเข้ในปริมาณต่าง ๆ กันมาใส่ในที่เพาะเลี้ยงเซล epithelium และ fibroblasts พบว่า เจลว่านหาง-จระเข้สามารถกระตุ้นอัตราการเจริญของเซลที่เลี้ยงไว้ได้ นอกจากนี้การใช้เจลว่านหางจระเข้ภายหลังจากการทำศัลย์ปริทันต์จะทำให้ผู้ป่วยมีความเจ็บปวดและบวมน้อยกว่ากลุ่มที่ใช้ normal saline ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม (Grammer, 1969 อ้างถึงใน Henry, 1979)

4. ลดการอักเสบ ในญี่ปุ่นมีผู้ทำการทดลองฉีดสารชนิดหนึ่งเข้าที่เท้าของหนูเพื่อให้เกิดการอักเสบและบวม แล้วฉีดสาร Aloctin ซึ่งสกัดได้จากเจลว่านหางจระเข้เข้าไป พบว่าสามารถลดอาการบวมอักเสบได้ จึงมีการผลิตยาทาแก้อักเสบโดยเติมสารสกัดจากเจลว่านหางจระเข้ลงไปในครีมสเตรียรอยด์เพื่อช่วยเสริมฤทธิ์การแก้อักเสบ (Shinpo, Kameyama and Tokita, 1978: Suzuki, 1981) มีสมมุติฐานว่า ส่วนประกอบทางเคมีของเจลว่านหางจระเข้ที่มีฤทธิ์ในการลดการอักเสบ มี 3อย่างคือ (Rubel, 1983)

-bradykininase เป็นเอนไซม์ตัวหนึ่งที่สามารถทำให้กรดอะมิโนแตกตัวออกจาก bradykinin, angiotensin I และพันธะเปปไทด์อื่นๆ ทำให้ bradykinin หมดฤทธิ์ และ

angiotensin I เปลี่ยนเป็น angiotensin II จึงสามารถลดอาการเจ็บปวด และลดสภาวะหลอดเลือดขยายตัวจากการอักเสบ

-magnesium lactate จะเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ histidine decarboxylase ซึ่งเอนไซม์นี้จะมีหน้าที่ในการเปลี่ยน histidine (กรดอะมิโน) ให้เป็น histamine ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะเกิดขึ้นใน mast cell ของปอด, ตับและ gastric mucosa เนื่องจาก magnesium lactate เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ histidine decarboxylase ดังนั้นจึงทำให้ไม่เกิดการผลิต histamine ใน mast cell เมื่อการผลิต histamine ลดลง จะทำให้จำนวนของการขยายตัวของเส้นเลือดลดลง จึงอาจกล่าวได้ว่า เจลว่านหางจระเข้สามารถลดอาการอักเสบที่ gastric mucosa, ตับและปอดได้

ภาพที่ 5 การเปลี่ยน histidine เป็น histamine โดยอาศัยเอนไซม์ histidine decarboxylase

-Aloctin A เป็น glycoprotein ชนิดหนึ่งที่มีอยู่ในเจลว่านหางจระเข้ สารชนิดนี้จะเร่งการทำงานของเอนไซม์ adenylate cyclase ทำให้มีการสร้าง cyclic AMP มากขึ้น ดังนั้นจึงลดอาการบวมจากการอักเสบและกระตุ้นให้มีการแบ่งตัวของเซลเพิ่มขึ้นได้ นอกจากนี้ Aloctin A ยังช่วยเพิ่มอัตราเร็วในการหลุดลอกของเซลที่ตายแล้วออกจากแผลด้วย โดยเพิ่มการสร้าง Leucocyte

5. รักษาแผลในทางเดินอาหาร (Morsy, 1982) โดยสารที่เรียกกันว่า Aloe-ulcin ไปขัดขวางเอนไซม์ histidine decarboxylase ทำให้ histidine ไม่ถูกเปลี่ยนเป็น histamine ยับยั้งการหลั่งกรดเกลือจากกระเพาะ และลดการอักเสบของแผลที่ gastric mucosa

6. ฆ่าเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อรา เจลว่านหางจระเข้มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ โดยจะต้องใช้ในความเข้มข้นมากกว่า 90% (Henry, 1979) เจลว่านหางจระเข้ที่อยู่ในรูป Stabilized Aloe gel หรือเจลที่ให้ความร้อนขนาด 80°ซ นาน 15 นาที ยังมีฤทธิ์ในการ

ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยให้ inhibit zone อย่างชัดเจน เมื่อทดสอบด้วย agar diffusion test method (Morsy, 1982) นอกจากนี้ยังมีการทดลองเพื่อสนับสนุนความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ลดลงถึงร้อยละ 70 หรือมากกว่า ภายในเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อที่ทำการทดสอบได้แก่ E. coli, Klebsiella sp., P. aeruginosa, S. aureus, Bacillus subtilis, yeast และ C. albicans (Robson, 1982 อ้างอิงถึงใน Waller, 1992)

นอกจากมีการใช้เจลว่านหางจระเข้ทางคลินิกในต่างประเทศดังกล่าวแล้ว ในประเทศไทยมีการนำเจลว่านหางจระเข้มาใช้ทางคลินิกเช่นกัน ในปีพ.ศ. 2528 มีรายงานการใช้เจลว่านหางจระเข้รักษาแผลไฟไหม้น้ำร้อนลวกในโรงพยาบาลบางกระทุ่ม โดยทดลองใช้ว่านหางจระเข้ในการปิดแผลผู้ป่วย 3 กลุ่มคือ แผลจากไฟไหม้น้ำร้อนลวก แผลเรื้อรัง และบาดแผลอื่น ๆ รวม 23 ราย สรุปได้ว่าได้ผลดี (วัชรา ริ้วไพบูลย์, 2532) นอกจากนี้ ยังมีโครงการทดลองใช้วุ้นจากว่านหางจระเข้ในการรักษาแผลไฟไหม้และแผลเรื้อรัง ทดลองกับผู้ป่วย 16 ราย โดยใช้วุ้นสดและยาเตรียม (นันทวัน บุณยะประภัศร, 2532) ปรากฏว่าได้ผลดีทั้งวุ้นสดและยาเตรียม ในปีพ.ศ. 2529 มีการวิจัยทดสอบฤทธิ์ขั้นต้นในการรักษาโรคผิวหนังโดยนำเจลว่านหางจระเข้มาเตรียมผลิตภัณฑ์ในรูปของเจล ครีม และขี้ผึ้งซึ่งมีเจลว่านหาง-จระเข้เข้มข้น 90% ใช้รักษาผู้ป่วยที่มีอาการ dermatitis, pityriasis, tinea pedis, herpes zoster, แผลอักเสบจากรังสีบำบัดหลังผ่าตัด จำนวน 37 ราย ปรากฏว่าในราย pityriasis ยาในรูปของเจลให้ผลดีมาก ในรายที่เป็นโรคกลากและมีการอักเสบได้ผลเป็นที่น่าพอใจ ในราย contact dermatitis และอาการอักเสบที่เกิดจากไวรัสรวมทั้งแผลที่เกิดจากรังสีบำบัดหลังผ่าตัดให้ผลดี (โอภา วัชระคุปต์) ในปีพ.ศ. 2530 มีรายงานการเปรียบเทียบการหายของแผลภายหลังทำแผลด้วยเจลว่านหางจระเข้กับน้ำยาโพวิโดนไอโอดีน โดยทำการศึกษาแก่ผู้ป่วยที่มีแผลจากอุบัติเหตุที่โรงพยาบาลศิริราช จำนวน 60 ราย สรุปได้ว่า จำนวนวันที่แผลหายสมบูรณ์ของกลุ่มที่ใช้ว่านหางจระเข้น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ค่าเฉลี่ยของร้อยละของการหายของแผล หลังทำแผลได้ 7 วัน กลุ่มที่ใช้เจลว่านหางจระเข้สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (วรนุช เกียรติพงษ์ภาวร, 2536)

เจลว่านหางจระเข้นอกจากจะมีประโยชน์ทางคลินิกแล้ว ปัจจุบันนิยมนำเจลว่าน-หางจระเข้มาเติมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางกันอย่างมากมาย โดย Cosmetic, Toiletry and

Fragrance Association ของประเทศสหรัฐอเมริกา กำหนดหน้าที่ของเจลว่านหางจระเข้ไว้ว่าเป็น skin-conditioning agent และ humectant (Wenninger และ McEwen, 1992) โดยทั่วไปประโยชน์ของเจลว่านหางจระเข้ทางเครื่องสำอางมีดังนี้

1. เป็น moisturizer เจลว่านหางจระเข้มีคุณสมบัติเป็น moisturizer ที่ดี (Waller, 1992) คือเมื่อทาแล้วให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง ซึ่งเกิดจากโพลิแซคคาไรด์ และน้ำในเจลว่านหางจระเข้ (Leung, 1977) ผลในการเป็น moisturizer จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเจลว่านหางจระเข้ในตำรับ และวิธีการเก็บรักษาตำรับเมื่อเตรียมเสร็จแล้ว

2. เป็น humectant โดยเจลว่านหางจระเข้จะเป็นเหมือนฉากกั้น (barrier) ป้องกันความชื้น หรือน้ำระเหยออกไปจากผิวหนัง เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเป็น humectant ของเจลว่านหางจระเข้กับกลีเซอรินและโพรไพลีน ไกลคอล (Meadows, 1980) พบว่า กลีเซอรินมีประสิทธิภาพดีกว่าโพรไพลีน ไกลคอลและเจลว่านหางจระเข้ตามลำดับ แต่ตำรับที่ใส่เจลว่านหางจระเข้รวมกับกลีเซอรินหรือโพรไพลีน ไกลคอล จะป้องกันการสูญเสียน้ำได้ดีกว่า เมื่อใช้กลีเซอรินหรือโพรไพลีน ไกลคอลเพียงอย่างเดียว (ภาพที่ 6) และถ้าเปรียบเทียบตำรับอิมัลชันทั่วไปที่ไม่มีการเติม humectant กับตำรับที่ใส่เจลว่านหางจระเข้พบว่าตำรับที่ใส่เจลว่านหางจระเข้มีการสูญเสียน้ำออกจากตำรับน้อยกว่า (ภาพที่ 7)

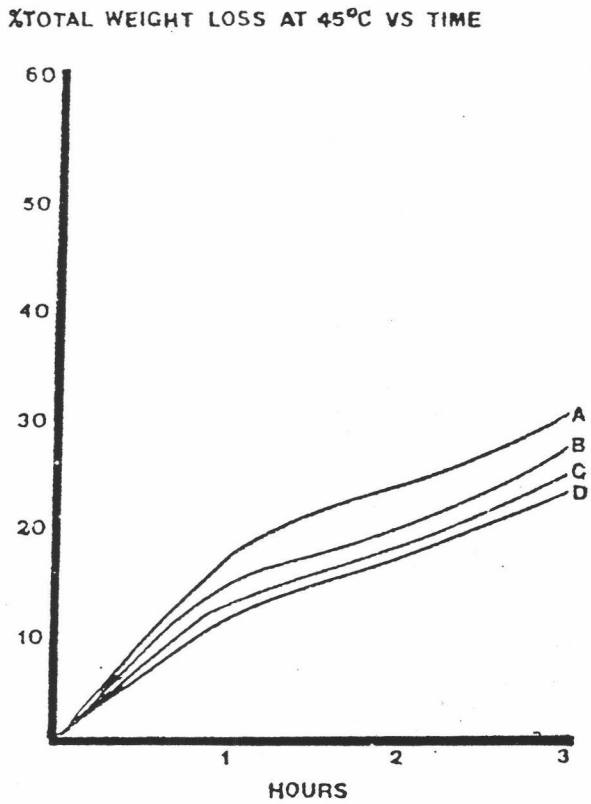
3. เป็น emollient ที่ดี หมายถึง มีคุณสมบัติในการลดแรงเสียดทานบนผิวหนัง ทำให้รู้สึกสบาย เนียน และลื่นไม่เหนียวเหนอะหนะ

4. เป็นสารกันแดดป้องกันผิวไหม้เกรียมจากแดด โดยสาร Aloin ในเจลว่านหางจระเข้ สามารถดูดกลืนแสงอุลตร้าไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 297 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นที่สามารถทำให้ผิวไหม้คล้ำได้ เมื่อได้รับเป็นเวลานานๆ (Bader และคณะ, 1981; Proserpio, 1976)

5. เป็นสารกำจัดฝ้าและผิวหนังด่างดำ พบว่าสาร Aloin และสารอื่น ๆ จากเจลว่านหางจระเข้มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase ซึ่งถ้ามีเอนไซม์นี้มากเกินไป จะมีผลทำให้ผิวหนังเกิดจุดด่างดำ โดยในประเทศญี่ปุ่นมีการใช้เจลว่านหางจระเข้ผสมในครีมกำจัดฝ้าและรอยด่างดำบนผิวหนัง (Ando, Ansano and Tsuchiya, 1978)

ปริมาณเจลว่านหางจระเข้ที่ใส่ลงในตำรับเครื่องสำอางจะมีปริมาณไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของตำรับและเวลาที่ตำรับสัมผัสบริเวณที่ใช้เช่น ครีมนวดผมประเภทต้องล้างน้ำออกจะใส่เจลว่านหางจระเข้ในปริมาณที่มากกว่าโลชั่นที่ใช้กับร่างกาย (body

lotion) ทั่วไป ปกติแล้วถ้าผลิตภัณฑ์สัมผัสอยู่นานความเข้มข้นของเจลว่านหางจระเข้ที่ใช้ประมาณ 10% แต่ถ้าผลิตภัณฑ์สัมผัสในเวลาอันสั้นเจลว่านหางจระเข้ที่ใช้จะเข้มข้นขึ้นใช้ประมาณ 60%



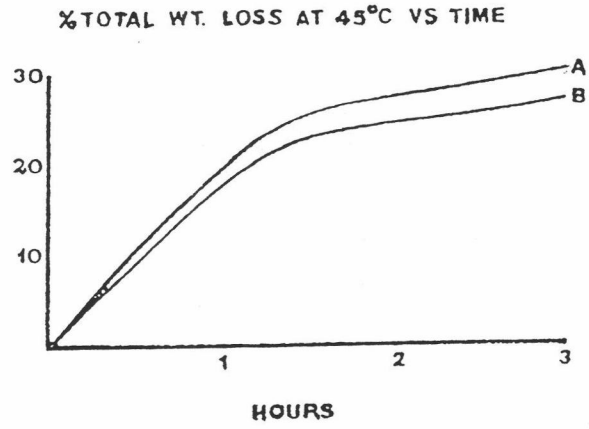
ภาพที่ 6 การเปรียบเทียบปริมาณน้ำที่สูญเสียไปจากตำรับอิมัลชัน ที่ประกอบด้วย humectant 10% ดังนี้

A-โพรไพลีน ไกลคอล

B-กลีเซอริน

C-เจลว่านหางจระเข้ผสมโพรไพลีน ไกลคอล

D-เจลว่านหางจระเข้ผสมกลีเซอริน



ภาพที่ 7 การเปรียบเทียบปริมาณน้ำที่สูญเสียไปจากตำรับอิมัลชัน โดยที่สูตรตำรับ A และ B เป็นดังนี้

	A	B
H2O	60.0	50.0
TWEEN-60	2.5	2.5
MINERAL OIL	31.5	31.5
ARLACEL-60	1.0	1.0
STEARIC ACID	5.0	5.0
ALOE VERA GEL	-	10.0

กระบวนการไลโอฟิไลเซชัน

ไลโอฟิไลเซชัน (Lyophilization) เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า Freeze drying หรือ gelsiccation หรือ drying by sublimation เป็นกระบวนการทำให้สารซึ่งอยู่ในรูปสารละลายหรือสารละลายแขวนตะกอน (ตัวทำละลายส่วนใหญ่เป็นน้ำ) แห้ง โดยใช้หลักการที่น้ำระเหิดออกจากของแข็งเป็นไอทันที โดยไม่ผ่านสถานะของเหลว (Lachman, Lieberman

and kanig, 1986; Swarbrick and Boylan, 1992) ขั้นตอนแรก สารละลายหรือสารแขวนตะกอนถูกแช่แข็ง ต่อมาทำให้อุณหภูมิสูงขึ้น โดยใช้การนำความร้อนหรือแผ่รังสี ภายใต้สูญญากาศ ตัวทำละลายซึ่งเป็นน้ำแข็งจะระเหิดออกจากตัวถูกละลายของแข็ง เหลือเพียงตัวถูกละลายอยู่ในรูปของแข็ง เมื่อต้องการนำมาใช้จะต้องนำผลิตภัณฑ์มาละลายน้ำให้อยู่ในรูปสารละลายหรือสารละลายแขวนตะกอนใหม่ (reconstitution) กระบวนการไลโอฟิไลเซชันนี้มักนิยมใช้กับผลิตภัณฑ์ซึ่งไม่คงสภาพถ้าอยู่ในรูปของเหลว และไม่ทนความร้อนเช่น ซีรัม, พลาสมา, ยาปฏิชีวนะ, ฮอร์โมน, วัคซีน หรือผลิตภัณฑ์จากอาหารและสมุนไพร

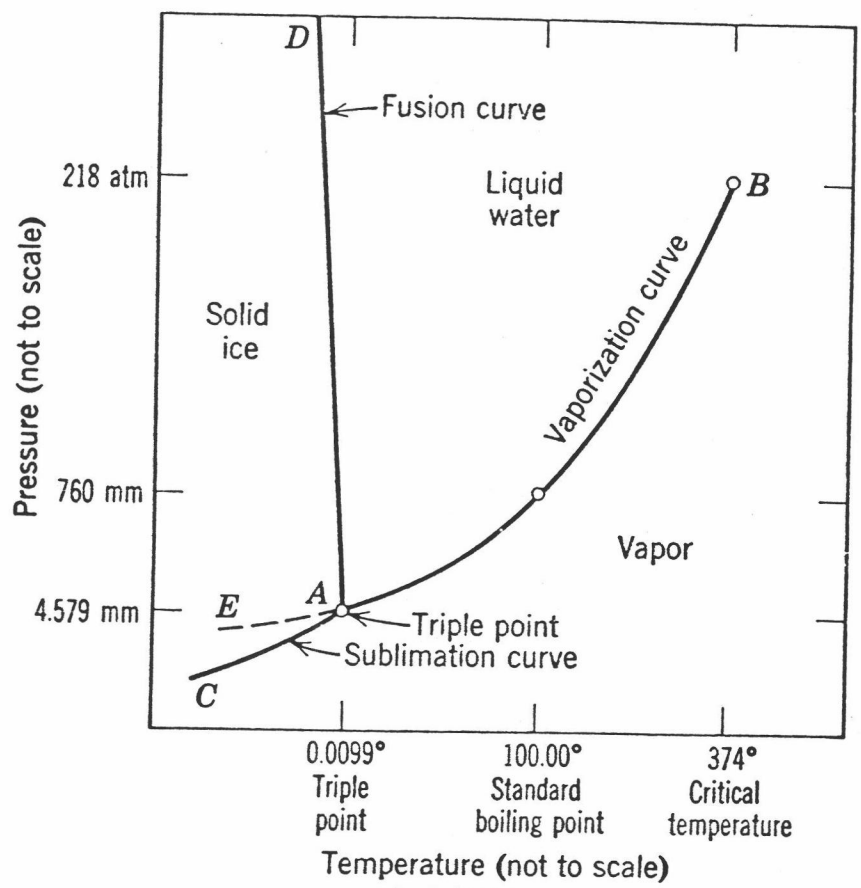
กระบวนการไลโอฟิไลเซชันขึ้นอยู่กับการระเหิด ปกติแล้วการระเหิดจะเกิดขึ้นที่ความดัน และอุณหภูมิที่ต่ำกว่า triple point ซึ่ง triple point ของน้ำจะอยู่ที่ความดัน 4579 ไมครอนปรอท และอุณหภูมิ 0.0099 °ซ (ภาพที่ 8) แต่สำหรับน้ำที่อยู่ในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการทำไลโอฟิไลเซชันนั้นจะมีเฟสไดอะแกรมแตกต่างจากน้ำทั่วไป ขึ้นอยู่กับชนิดตัวถูกละลาย โดยอุณหภูมิและความดันที่น้ำแข็งจะกลายเป็นไอโดยไม่ผ่านสภาวะของเหลวอยู่ที่ eutectic point กระบวนไลโอฟิไลเซชันจะกระทำที่อุณหภูมิและความดันต่ำกว่า eutectic point เพื่อป้องกันไม่ให้น้ำแข็งหลอมเหลวเป็นน้ำ ซึ่งจะมีผลให้ผลิตภัณฑ์ไม่แห้ง เพราะน้ำ (ของเหลว) และน้ำแข็งจะกลายเป็นไอพร้อมๆ กัน แต่โอกาสที่น้ำจะกลายเป็นไอยากกว่า ในทางปฏิบัติอุณหภูมิและความดันที่ใช้ในกระบวนการไลโอฟิไลเซชันคือ อุณหภูมิต่ำกว่า 40 °ซ และความดัน 2000 ถึง 100 ไมครอนปรอท

สิ่งที่ควารคำนึงถึงในการทำไลโอฟิไลเซชันมีหลายประการด้วยกัน ที่สำคัญมีดังนี้

1. ความดันไอของน้ำที่ผิวของสารละลายหรือสารละลายแขวนตะกอนที่ต้องการทำให้แห้ง จะต้องสูงกว่าความดันบรรยากาศรอบๆ
2. ความร้อนแฝงของการกลายเป็นไอที่ให้กับของแข็ง จะต้องอยู่ในระดับที่สามารถรักษาอุณหภูมิให้ต่ำกว่า eutectic point
3. ต้องมีระบบกำจัดไอน้ำ

ไลโอฟิไลเซชันทั่วไปมีส่วนประกอบหลัก ๆ อยู่ 4 อย่างคือ chamber สำหรับการทำแห้งภายในสูญญากาศ, แหล่งสูญญากาศ, แหล่งความร้อน และระบบกำจัดไอน้ำ

chamber ที่ใช้ต้องทำด้วยวัสดุที่สามารถทนสูญญากาศได้ เครื่องบางรุ่นจะออกแบบให้ทำงานตลอดเวลา โดยที่ chamber จะมีส่วนที่เป็น inlet และ outlet พิเศษ ระบบสูญญากาศที่ใช้จะได้จากปัมพ์หรือ steam ejector หรือทั้งสองอย่างร่วมกัน ความร้อนในระบบอาศัยกลไกการนำความร้อนหรือการแผ่รังสี ส่วนวิธีกำจัดไอน้ำที่เกิดขึ้นในระบบมีหลายวิธี คือ ใช้เครื่องควบแน่น (condensers) ใช้ตัวดูดความชื้น (desiccant) หรือปัมพ์ (pump) ไอน้ำที่เคลื่อนตัวออกจาก chamber จะควบแน่นเป็นแผ่นน้ำแข็งบน heat transfer surface ของเครื่องควบแน่น บางเครื่องจะมีเครื่องละลายน้ำแข็งที่เครื่องควบแน่นด้วย โดยการหล่อของเหลวที่ร้อน หรือใช้มีดขูด (scraper blade) การใช้ตัวดูดความชื้นมักใช้ร่วมกับปัมพ์นิยมในการทำไลโอฟิไลซ์แบบขนาดใหญ่ (large scale)



ภาพที่ 8 เฟสไดอะแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและความดันของน้ำ

การทำสารละลายหรือสารละลายแขวนตะกอนให้อยู่ในสภาพเยือกแข็งนั้น อาจทำโดยการแช่แข็งแบบอยู่กับที่ (static method) หรือการแช่แข็งแบบหมุน (agitational method) วิธีแช่แบบอยู่กับที่ นิยมทำใน small scale เช่น ทำในแอมพูลหรือขวดเล็ก ๆ อาจเรียกได้อีกอย่างว่า "plug freezing" จะได้สารละลายของแข็งที่หนาต้องใช้เวลาในการทำให้แห้งมากกว่าการแช่แข็งแบบหมุน ซึ่งได้สารละลายของแข็งที่เป็นฟิล์มบาง ๆ อยู่บนผิวของภาชนะ

การทำให้สารแห้งในกระบวนการไลโอฟิไลเซชันมี 2 ระดับคือ primary drying และ secondary drying หลังจากได้สารละลายหรือสารละลายแขวนตะกอนในสภาพเยือกแข็งแล้ว นำเข้าสู่ระบบสูญญากาศ และทำให้อุณหภูมิสูงขึ้น โดยอยู่ในช่วงต่ำกว่า eutectic point จะเกิดการระเหิดของน้ำแข็ง ขั้นตอนนี้เรียกว่า primary drying หลังจากขั้นตอนนี้พบว่า ยังคงมีน้ำเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์อีกถึง 20-50% จะต้องดำเนินการต่อไปเพื่อกำจัดน้ำที่เหลืออยู่เหล่านี้ให้เหลือน้อยที่สุด ขั้นตอนนี้เรียกว่า secondary drying เนื่องจากน้ำแข็งระเหิดไปมากแล้ว secondary drying จึงใช้ความร้อนน้อยกว่า primary drying และใช้เวลาน้อยกว่าด้วย การเพิ่มอัตราเร็วในการไลโอฟิไลเซชัน จะต้องเพิ่มความร้อนให้แก่ตัวผลิตภัณฑ์ แต่อย่างไรก็ตามจะต้องมีอุณหภูมิต่ำกว่า eutectic point เพื่อให้การระเหิดเกิดขึ้นได้และผลิตภัณฑ์ไม่มีการหลอมเหลว

แนวทางการทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปผงแห้ง

โดยทั่วไปในทางเภสัชกรรม ยาที่อยู่ในรูปผงแห้งจะต้องนำไป reconstitute ก่อนนำไปใช้ การทดสอบความคงสภาพค่อนข้างยาก มักทำการทดสอบแบบระยะยาว โดยเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ในสภาพปกติที่จำหน่ายเป็นเวลาอย่างน้อย 2 ปี เพื่อดูผลการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทางเคมี และการปนเปื้อนของเชื้อ ในสหรัฐอเมริกานิยมเก็บที่อุณหภูมิ 25 °ซ ในการทดสอบความคงสภาพทางกายภาพ และเคมี อาจใช้สภาพเร่ง โดยเก็บผลิตภัณฑ์ที่ 37-40 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 75-100% เป็นเวลา 3 เดือน ซึ่งสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกากำหนดให้ความคงสภาพของผลิตภัณฑ์เทียบเท่าเป็น 2 ปี (Carstensen, 1990) สำหรับประเทศไทยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากระทรวงสาธารณสุข กำหนดให้การศึกษาความคงสภาพแบบเร่งต้องใช้สภาวะการเก็บที่ 45 °ซ

ความชื้นสัมพัทธ์ 75% เป็นเวลา 4 เดือน ถ้ายานั้นยังมีคุณภาพมาตรฐานครบถ้วน อาจได้รับอนุมัติอายุการใช้ชั่วคราวได้ถึง 24 เดือน (คณะกรรมการอาหารและยา, สำนักงาน, 2535)

เนื่องจากเจลว่านหางจระเข้ได้มาจากพืชสมุนไพร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข จึงมีข้อกำหนดในการทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อในผลิตภัณฑ์ที่ใส่เจลว่านหางจระเข้ ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (มาตราฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, สำนักงาน, 2519) สำหรับผลิตภัณฑ์เจลว่านหางจระเข้ในรูปผงแห้งนั้นนับเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์ใหม่ ในประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดเกี่ยวกับการทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์รูปแบบนี้ ในการวิจัยครั้งนี้จึงถือเอาแนวทางการทดสอบผลิตภัณฑ์รูปผงแห้งทั่วไปและการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ใส่เจลว่านหางจระเข้ มาเป็นแนวทางในการทดสอบตำรับผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้ ดังนี้

-การทดสอบความคงสภาพทางกายภาพ (คณะกรรมการอาหารและยา, สำนักงาน, 2535) ทดสอบลักษณะความหยาบละเอียดของผงยา, สี, การละลาย, การหาปริมาณความชื้น, ความเป็นกรด-ด่าง หลังจากละลายน้ำ, ความหนืด

-การทดสอบความคงสภาพทางเคมี วิเคราะห์หาปริมาณตัวยาสำคัญ ในที่นี้คือ กลูโคส แมนโนส และกรดอะมิโน โดยใช้สภาพเร่ง

-การทดสอบการปนเปื้อนเชื้อ

การหาปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปผงแห้ง โดยวิธีไตเตรต

(United States Pharmacopeial Convention, Inc, 1995)

โดยทั่วไปแล้วการหาปริมาณความชื้น หรือปริมาณน้ำในสารตัวอย่าง ทำได้หลายวิธี ตามเภสัชตำรับของสหรัฐอเมริกา กำหนดวิธีหาปริมาณน้ำในตัวอย่างไว้ 5 วิธี ดังนี้

1. Titrimetric Method ใช้วิเคราะห์หาน้ำที่เกิดจากไฮเดรชัน
2. Azeotropic (Toluene Distillation) Method ใช้วิเคราะห์หน้าที่เกิดจากการ ไฮเดรชัน
3. Gravimetric Method ใช้วิเคราะห์หาน้ำที่เกิดจากไฮเดรชัน
4. Dew-point Method ใช้กับสารตัวอย่างที่อยู่ในรูปก๊าซ
5. Electrolytic Hygrometer Method ใช้กับสารตัวอย่างที่อยู่รูปก๊าซ

หลักทั่วไปของการหาปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์โดยวิธีไตเตรต คือ ให้น้ำในผลิตภัณฑ์ทำปฏิกิริยากับสารละลายซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ปราศจากน้ำและสารละลายไอโอดีน ในไพริดีนและเมธานอล (ดังสมการในภาพที่ 9) ปัจจุบันมีสารละลายสำเร็จรูปที่เรียกว่า Karl Fischer reagent ใช้ไตเตรตหาปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์ได้ทันที โดยเตรียมจากการละลายไอโอดีน 125 กรัม ลงในเมธานอล 670 มิลลิลิตร และไพริดีน 170 มิลลิลิตร แล้วทำให้เย็น นำไพริดีน 100 มิลลิลิตรผ่านซัลเฟอร์ไดออกไซด์แห้งลงไป จนได้ปริมาตรสารละลายเป็น 200 มิลลิลิตร เติมสารละลายนี้ลงในสารละลายไอโอดีนเย็น เขย่าให้เข้ากัน เก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิท ป้องกันแสงและแช่เย็น

$$I_2 + SO_2 + H_2O + CH_3OH + 3C_5H_5N \longrightarrow 2C_5H_5N\text{-}HI + C_5H_5NHSO_4CH_3$$

ภาพที่ 9 สมการแสดงกลไกการหาปริมาณความชื้น โดย Karl Fischer reagent

การไตเตรตหาปริมาณน้ำนี้ อาจใช้วิธี direct titration หรือ residual titration แต่นิยมใช้วิธี residual titration มากกว่า เนื่องจากการทำ direct titration ต้องใช้เวลามากกว่าจากการรอให้น้ำที่จับอยู่ถูกปลดปล่อยออกมาทำปฏิกิริยาอย่างช้า ๆ ความเที่ยงตรง(precision)ของวิธีหาปริมาณความชื้นโดยการไตเตรตอยู่ที่จะต้องกำจัดป้องกันความชื้นในบรรยากาศไม่ให้เข้ามาในระบบไตเตรต ซึ่งต้องพยายามให้เป็นระบบปิด

ในปัจจุบันนี้ เครื่องมือที่ใช้ส่วนใหญ่จะเป็นระบบที่บ่งบอกจุดยุติแบบอัตโนมัติ โดยจะมีอิเลกโตรดที่ทำจากแพลตตินัมจุ่มอยู่ในสารละลาย(ผลิตภัณฑ์ละลายอยู่ในแอนไฮดรัสเมธานอล) ที่มีการผ่านกระแสไฟฟ้าเข้ามา เมื่อถึงจุดยุติของการไตเตรตการมี Karl Fischer reagent มากเกินจุดยุติเพียงเล็กน้อย จะทำให้กระแสไฟฟ้าในระบบเพิ่มขึ้น 50-150 ไมโครแอมแปร์ จึงตรวจวัดจุดยุติได้ เครื่องมือบางรุ่นจะมีวาล์วที่อาศัยการทำงานของขดลวดโซลินอยด์ในสนามแม่เหล็ก เมื่อมีกระแสเพิ่มขึ้นวาล์วนี้จะไปควบคุมการทำงานของบิวเรตให้หยุดปล่อย Karl Fischer reagent ลงมาไตเตรต เป็นการยุติการไตเตรต โดยทั่วไปเครื่องมือนี้จะเป็นระบบปิด ที่มีบิวเรตอัตโนมัติและ titration vessel ที่สามารถจุ่มอิเลกโตรดลงมาได้วางอยู่บน magnetic stirrer อากาศในระบบถูกทำให้แห้ง โดยสารดูดความชื้นที่เหมาะสม เช่น ฟอสฟอรัส เพนตอกไซด์

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลในผลิตภัณฑ์โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography

การแยกและวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล โดยทั่วไปวิธีที่ใช้คือ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) และ Gas Liquid Chromatography (GLC) วิธี HPLC มักใช้กับสารประกอบของน้ำตาลที่ไม่ซับซ้อนมากนัก ส่วน GLC ใช้วิเคราะห์สารประกอบน้ำตาลที่มีความซับซ้อนมาก ๆ

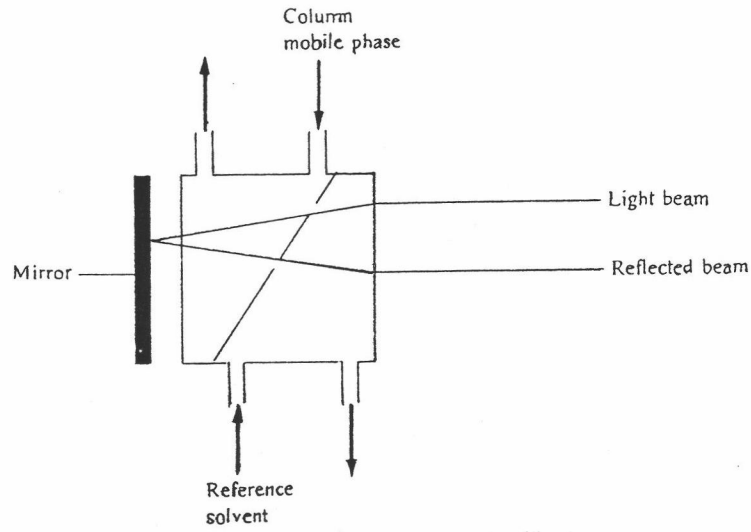
การใช้ HPLC ในการหาปริมาณน้ำตาลนั้นค่อนข้างมีความยุ่งยากกว่าสารเคมีทั่วๆ ไป เนื่องจากน้ำตาล หรือคาร์โบไฮเดรตไม่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงที่มองเห็นได้ ในช่วงอุตร้าไวโอเลตทั่วไปซึ่งมีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 210-800 นาโนเมตร และไม่สามารถเรืองแสงฟูลออเรสเซนต์ (Jeffery และคณะ, 1989)

การตรวจสอบมีหลายวิธีคือ

1. การตรวจสอบโดยตรง (Direct detection) เนื่องจากน้ำตาลสามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น far ultraviolet (192-200 นาโนเมตร) ได้ แต่วิธีนี้ไม่นิยมนัก เนื่องจากมีข้อจำกัดหลายอย่าง และการตรวจสอบในช่วงความยาวคลื่นนี้ต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาสูงและต้องใช้ตัวทำละลายที่มีความบริสุทธิ์มาก จึงนิยมใช้การตรวจสอบโดย Refractive index detectors แทน อาศัยหลักการที่ว่า น้ำตาลซึ่งออกมาจากคอลัมน์พร้อมเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) และผ่านเข้าตัวตรวจสอบ จะทำให้ดัชนีการหักเหแสงของตัวตรวจสอบเปลี่ยนแปลงไป (ภาพที่ 10) ซึ่งขนาดการเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำตาลในเฟสเคลื่อนที่ เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐาน สามารถทราบปริมาณน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ได้ การตรวจสอบโดยใช้ Refractive index detectors มีข้อเสียหลายอย่างคือ ไม่เหมาะสมในการใช้ gradient elution และอุณหภูมิที่ใช้ต้องแน่นอน ($\pm 0.001^{\circ}$ซ) เพื่อทำให้เกิดความไวในการตรวจสอบสูงสุด (ส่วนใหญ่จะใช้อุณหภูมิสูงมากกว่า 70°ซ) ถ้าอุณหภูมิไม่คงที่จะทำให้เกิด noise สูง

2. การทำให้เกิดอนุพันธุ์ของน้ำตาล (derivatization) ก่อนผ่านเข้าสู่ตัวตรวจสอบ (detector) เพื่อทำให้เกิดอนุพันธุ์ที่สามารถดูดกลืนแสงอุลตร้าไวโอเลต หรือแสงช่วงที่ตา

สามารถมองเห็นได้ หรือเป็นอนุพันธุ์ฟลูออเรสเซนต์ โดยอาจทำได้ทั้งก่อนหรือหลังการแยกในคอลัมน์โครมาโตกราฟี (pre-column หรือ post-column derivatization)



ภาพที่ 10 การหักเหแสงภายใน Refractive Index Detector

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์โดยวิธี (High Performance Liquid Chromatography

กรดอะมิโนเกือบทั้งหมดไม่มีโครโมฟอร์(chromophroe) จึงไม่มีการดูดกลืนแสง ยกเว้นที่ความยาวคลื่นสั้นมาก เช่น 200 นาโนเมตร ซึ่งที่ความยาวคลื่นในช่วงนี้มีสารประกอบหลายชนิดดูดกลืนแสงได้ ทำให้การแยกยุ่งยากและจำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายที่มีความบริสุทธิ์สูงมากเป็นพิเศษ ดังนั้นจึงนิยมเปลี่ยนรูปเป็นอนุพันธุ์ที่เหมาะสมก่อนหรือหลังการแยกในคอลัมน์โครมาโตรกราฟี (pre-column หรือ post-column derivatization) (White and Hart, 1992)

การเปลี่ยนรูปอนุพันธุ์ภายหลังจากการแยกในคอลัมน์โครมาโตกราฟี (มักใช้ ion-exchange chromatography) จะต้องใช้สารสร้างอนุพันธุ์ (derivatizing reagent) ที่เหมาะสมทำปฏิกิริยากับสารที่ออกมาจากคอลัมน์ ผ่านของเหลวผสมเหล่านี้ไปตาม reaction coil ซึ่งอาจต้องใช้ความร้อนเข้าช่วย สุดท้ายจะปัมพ์อนุพันธุ์ของกรดอะมิโนเข้าสู่ระบบตรวจสอบที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของสารสร้างอนุพันธุ์ ส่วนการตรวจสอบอนุพันธุ์ของกรดอะมิโนที่

มีการเปลี่ยนรูปก่อนการแยกในคอลัมน์โครมาโตกราฟี จะใช้สารสร้างอนุพันธุ์ทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนก่อน ต่อมาจึงผ่านสารอนุพันธุ์เข้าสู่คอลัมน์ (มักใช้ reverse-phase chromatography) และตัวตรวจสอบ ตามลำดับ

ปกติแล้ว ถือว่าการเปลี่ยนรูปอนุพันธุ์ก่อนการแยกในคอลัมน์โครมาโตกราฟีเป็น method of choice (ถึงแม้ว่าจะมีข้อเสียสำหรับกรดอะมิโนที่มี side chain เล็ก เพราะสารสร้างอนุพันธุ์จะเป็นตัวเจือจาง ทำให้ side chain เล็กมากขึ้นในคอลัมน์) เนื่องจากการตรวจสอบอนุพันธุ์ที่เปลี่ยนรูปภายหลังการแยกในคอลัมน์ มีข้อเสียหลายประการคือ ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน, ความไวจำกัด, peak ที่ได้ค่อนข้างกว้าง และระบบนี้ยุ่งยากในการทำงานและดูแล แม้ประสิทธิภาพในการแยกจะดี

สารสร้างอนุพันธุ์ก่อนการแยกในคอลัมน์โครมาโตกราฟีในอุดมคติควรมีลักษณะดังนี้

1. ทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับกรดอะมิโน
2. ควรทำปฏิกิริยาได้กับทั้ง primary และ secondary amino acid
3. อนุพันธุ์ที่เกิดขึ้นควรมีความคงสภาพมากกว่า 7 วัน
4. ไม่มีการรบกวนจากสารสร้างอนุพันธุ์ ไม่มีปฏิกิริยาข้างเคียง (side reaction)
5. ความสัมพันธ์ของการตอบสนองกับความเข้มข้นควรเป็นเส้นตรง

ในปัจจุบัน สารสร้างอนุพันธุ์มีด้วยกันมากมายหลายชนิด คุณสมบัติของแต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไป (ตารางที่ 1) สารสร้างอนุพันธุ์ที่มีรายงานว่านิยมใช้มากที่สุดคือ OPA (*o*-phthalaldehyde)(Sarwar and bottling, 1993)

OPA เป็นสารสร้างอนุพันธุ์สำหรับ primary amino acid ปฏิกิริยาระหว่างสารทั้งสองเกิดขึ้นเมื่อมี thiol เช่น 2-mercapto-ethanol หรือ ethanethiol อยู่ ทำให้เกิดอนุพันธุ์ฟลูออเรสเซนต์ได้ (ภาพที่ 11) โดยอนุพันธุ์จะอยู่ในรูป 1-alkylthio-2-alkyl substituted isoindoles แสดง optimal excitation ที่ 330 นาโนเมตร และ maximal emission ที่ 465 นาโนเมตร (Cunico, 1985) 1-alkylthio-2-alkyl substituted isoindoles จะมีความไว และความเฉพาะเจาะจงกับ reverse-phase high performance liquid chromatography เฟสเคลื่อนที่ต้อง

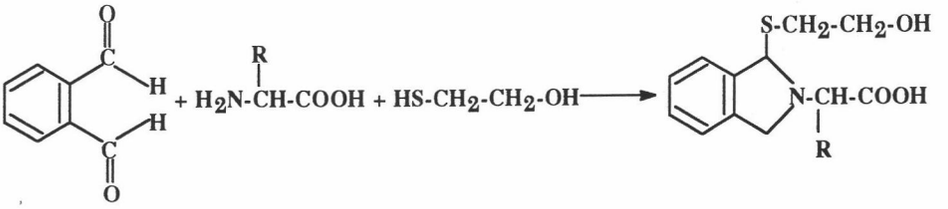
ทำในลักษณะที่เป็น gradient elution เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกสาร (Jones และ Gilligan, 1983)

ตารางที่ 1: รายละเอียดการใช้สารสร้างอนุพันธุ์ชนิดต่างๆ สำหรับการสร้างอนุพันธุ์ก่อนการแยกในคอลัมน์ โครมาโตกราฟี

คุณสมบัติในการสร้างอนุพันธุ์	สารสร้างอนุพันธุ์*					
	PITC	OPA	FMOC	FDNB	FDN	Dansyl
เวลาในการสร้างอนุพันธุ์(นาที)	20	0.5	5	30	50	30
การกำจัดสารสร้างอนุพันธุ์โดยการทำให้แห้ง	มี	ไม่มี	ไม่มี	มี	มี	ไม่มี
การสกัดตัวทำละลาย	ไม่มี	ไม่มี	มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
สามารถใช้ได้กับSecondary amine	ได้	ไม่ได้	ได้	ได้	ได้	ได้
ใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ	ได้	ได้	ได้	ได้	ได้	ได้
อนุพันธุ์มีความคงสภาพ	มี	ไม่มี	มี	มี	มี	ไม่มี
การรบกวนจากผลิตภัณฑ์ข้างเคียง (Side product)	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	มี	มี	มี
การตรวจสอบ (Detection)	254nm**	330nm ฟลูออ-เรสเซนส์	ฟลูออ-เรสเซนส์	365 nm **	340 nm **	ฟลูออ-เรสเซนส์
ความไว	pmol	fmol	fmol	pmol	pmol	pmol
การรบกวนโดยมีสิ่งปนเปื้อนในสารที่ออกจากคอลัมน์	มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	มี
เวลาในการทำโครมาโตรกราฟี (นาที)	15	18	30	70	110	30
ความยุ่งยากในการทำงาน	+ +	+	+ + +	+ +	+ +	+

*PITC = Phenylisothiocyanate, OPA = *o*-phthalaldehyde, FMOC = 9-fluorenylmethyl chloroformate, FDNPAA = 1-fluoro-2,4-dinitrophenyl-5-L-alanine amide, FDNB = 1-fluoro-2,4,dinitrobenzene dansyl = 5-dimethylamine-1-naphthalenesulfonyl chloride

** ความยาวคลื่นที่ใช้เมื่อตัวตรวจสอบเป็น spectophotometer



OPA Primary amino acid MCE

ภาพที่ 11 กลไกปฏิกิริยาระหว่าง primary amino acid และ OPA เมื่อมี thio อยู่

ปกติแล้ว OPA มีความไวต่อแสงและออกซิเจนมาก จึงต้องเก็บรักษาในภาชนะทึบแสงปิดสนิท ภายในก๊าซเฉื่อยเช่น ไนโตรเจน, ฮีเลียม หรืออาร์กอน อุณหภูมิ 0-5 °ซ ในทางการค้า สารละลายของ OPA อยู่ในรูป OPA ละลายอยู่ในเมธานอล มีโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ และกรดบอริกเป็นบัฟเฟอร์ (ความเป็นกรด-ด่าง 10.4) รวมอยู่กับ 2-mercaptoethanol (MCE) และ Brij 35 ซึ่งใช้เป็นตัวป้องกัน fluorescence quenching ของอนุพันธุ์ของไลซีน และฮีสติดีน

การทดสอบการปนเปื้อนเชื้อ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, สำนักงาน, 2519)

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กำหนดมาตรฐานทางจุลชีววิทยาสำหรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางไว้ดังนี้ (ให้คิดเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัม หรือลูกบาศก์เซนติเมตร)

1. จำนวนแบคทีเรีย ยีสต์และรา ทั้งหมด (total colony count)	น้อยกว่า 1000
2. presumptive coliform	น้อยกว่า 10
3. Faecal coli	น้อยกว่า 1
4. Staphylococcus aureus	น้อยกว่า 1
5. Pseudomonas aeruginosa	น้อยกว่า 1
6. Salmonella spp.	ต้องไม่พบใน100 กรัม

7. จุลินทรีย์ซึ่งทำให้เกิดการแปรสภาพ (fault producing organisms) เช่น Clostridium spp. ต้องไม่พบใน 100 กรัม