บทที่ 4

การอภิปรายผลการทดลอง

ศึกษาผลของสารถนอมต่อเสถียรภาพของเจล เนื่องจากเจลเป็นแหล่งอาหารที่ดีของเชื้อจุลินทรีย์การจะเก็บเจลไว้นาน ๆ จึงจำเป็นต้องใช้สารถนอม และถึงแม้ว่าเจลจะมีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย แต่ก็ต้องใช้ในความเข้มข้นสูง อีกทั้งเชื้อราและยีสต์ก็เจริญในเจลได้ดีด้วย จากการทดลองพบว่าภายใน 15 วัน จะสังเกตเห็นเจลที่ไม่ได้เติมสารถนอมมีเชื้อราขึ้นที่ผิวหน้าเต็มไปหมดและมีกลิ่นเหม็นเน่าเหมือนอาหารบูดทั่วๆ ไป เช่นเดียวกับเจลที่เติม Sodium benzoate (0.05, 0.075,0.1%), Potassium sorbate (0.025, 0.05, 0.1%) และ Bronopol(R) (0.01, 0.015, 0.02%) เป็นสารถนอม เมื่อตรวจนับโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย, ยีสต์และรา หลังตั้งทิ้งไว้ 15 วัน ที่อุณหภูมิห้องก็พบว่ามีจำนวนโคโลนีของเชื้อต่อ 1 มิลลิลิตรของเจลสูงมาก อีกทั้งยังตรวจพบเชื้อ Pseudomonas aeruginosa ในเจลที่ไม่เติมสารถนอมและเจลที่เติม Sodium benzoate, Potassium sorbate ส่วน Potassium sorbate จำนวน 0.025% ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ Escherichia coli ในเจลซึ่งอาจเป็นเพราะ Potassium sorbate มีฤทธิ์ต้านเชื้อยีสต์และรามากกว่าต้านเชื้อแบคทีเรีย และยิ่งใช้ในปริมาณต่ำทำให้ไม่ได้ผลดี(28) สำหรับ Bronopol(R) นั้นแม้ว่าจะสามารถยับยั้งการเจริญของ Pseudomonas aeruginosa และ Escherichia coli ที่ขึ้นในเจลได้ แต่การใช้ในปริมาณต่ำเพียง 0.01-0.02% ไม่มากพอจะต้านการเจริญของเชื้อราและยีสต์ จึงเห็นเชื้อราเจริญที่ผิวหน้าของเจลและเน่าเสีย ถ้าต้องการยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยีสต์ให้ได้ผลดีควรใช้ในปริมาณสูงขึ้นถึง 0.1% ในบรรดาสารถนอมที่นำมาทดลอง Bronidox L(R) 0.2% และ Methyl paraben (0.2%) + Propyl paraben (0.02%) สามารถยับยั้งการเจริญของ Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli ได้และจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย, ยีสต์,รา ต่อ 1 มิลลิลิตรของเจลก็ไม่มากนักเมื่อตั้งไว้ 60 วัน ที่อุณหภูมิห้องเจลยังคงสภาพดีไม่บูดเน่า สารทั้งสองจึงเหมาะสมจะใช้เป็นสารถนอมในเจล โดย

เฉพาะ Bronidox L(R) สามารถต้านการเจริญของแบคทีเรีย, ยีสต์และราดีกว่า Methyl paraben + Propyl paraben สำหรับ MP + PP พบว่าหลัง 15 วันไปแล้ว จำนวนแบคทีเรีย, ยีสต์, รา สูงขึ้นกว่าเมื่อวันที่ 15 อาจเป็นเพราะมีเชื้อราบางชนิดที่ให้เอนไซม์ Esterase มาไฮโดร-ไลซ์ Methyl paraben ให้กลายเป็น p-hydroxy benzoic acid ทำให้ฤทธิ์ในการเป็นสารถนอมของ Methyl paraben ลดลง[24],[30] นอกจากการใช้สารถนอมในเจลแล้วในการเตรียมทุกขั้นตอนยังควรจะระวังเรื่องความสะอาดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

ศึกษาผลของ chelating agents ต่อเสถียรภาพของเจล เนื่องจากการเสื่อมสลายของเจลมีสาเหตุสำคัญ ส่วนหนึ่งมาจากการเกิดออกซิเดชันของ phenolic compounds โดยมีเอนไซม์ Phenolic เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และการทำงานของเอนไซม์นี้ต้องอาศัย copper ion ร่วมด้วย ซึ่ง copper ion ก็มีอยู่ในเจล ดังนั้นการทำให้เอนไซม์หมดฤทธิ์อาจทำโดยใช้ chelating agents เพื่อให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ copper ion และโลหะหนักอื่นที่อาจเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน จากการทดลองใช้ Citric acid (0.05, 0.075, 0.1%) และ EDTA (0.05, 0.075, 0.1%) เป็น chelating agents ในเจลเปรียบเทียบกับเจลที่ไม่เติม chelating agents ทั้งที่อุณหภูมิห้อง และ 40°C พบว่ายังไม่สามารถจะหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบในเจลเนื่องจากที่เวลา 6-8 วัน เจลมีสีคล้ำลงพร้อม ๆ กัน ทั้งที่เติมและไม่เติม chelating agents เว้นแต่ Pure gel 1 ที่อุณหภูมิ 40°C สีคล้ำเร็วขึ้นคือประมาณ 2-4 วัน จากการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ phenolic compounds ในเจล โดย paired t-test ที่อุณหภูมิห้องนั้นเจลที่เติมEDTA (0.05 - 0.1%) และ Citric acid (0.05%) มีความเข้มข้นของ phenolic compounds สูงกว่าเจลที่ไม่เติม chelating agents โดยไม่พบความแตกต่างระหว่างเจลที่เติม chelating agents เหล่านั้นที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ส่วนที่ 40°C นั้นเจลที่เติม EDTA (0.05-0.1%) และ Citric acid(0.05, 0.1%) มีความเข้มข้นของ phenolic compounds สูงกว่าเจลที่ไม่เติม chelating agents agents โดยไม่พบความแตกต่างระหว่างเจลที่เติม EDTA (0.05-0.1%) แต่พบว่าเจลที่เติม EDTA (0.05%) มีความเข้มข้นของ phenolic compounds สูงกว่าเจลที่เติม Citric acid (0.05, 0.1%) ส่วนเจลที่เติม EDTA (0.075, 0.1%) ไม่ต่างจากเจลที่เติม Citric acid (0.05, 0.1%) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 นอกจากนี้ความหนืดของเจลทั้งที่เติมและไม่เติม chelating agents ลดลงด้วยอัตราเร็วพอ ๆ กัน pH ของเจลทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นไม่มากนัก แต่เจลที่ไม่เติม chelating agents มีอัตราการเพิ่ม pH สูงกว่าเจลที่เติม chelating agents เล็กน้อย

จากการวิเคราะห์ปริมาณ phenolic compounds, วัดความหนืด, pH และสังเกตสีของเจล จะเห็นว่าเจลยังคงเกิดการสลายตัว, อาจเป็นเพราะการทำให้เอนไซม์ลดฤทธิ์ลงเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอจะยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ทั้งหมด เนื่องจากออกซิเดชันของ phenolic compounds สามารถเกิดขึ้นได้โดยไม่ต้องอาศัยเอนไซม์ ถ้ายังมีปัจจัยอื่นส่งเสริม เช่น การมีออกซิเจน, ความชื้น, pH แสงและรังสี เป็นต้น ดังนั้นการจะยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของเจลให้ได้ผลดีนอกจากจะใช้ chelating agents แล้วควรใช้สารต้านออกซิเดชันร่วมด้วยเพื่อกำจัดปัจจัยส่งเสริมออกซิเดชันที่เหลืออยู่ให้หมดไปหรือลดน้อยลงกว่าเดิม

ศึกษาผลของสารต้านออกซิเดชันต่อเสถียรภาพของเจล เนื่องจากการสลายตัวของสารส่วนใหญ่โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันมักจะเกิดขึ้นได้เองโดยอาศัยปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain Reaction) การใช้สารต้านออกซิเดชันจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ขัดขวางปฏิกิริยาลูกโซ่ และเพื่อให้การยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันมีประสิทธิภาพมากขึ้น จึงใช้สารต้านออกซิเดชันร่วมกับ chelating agents ซึ่งจะเสริมฤทธิ์กัน[29],[31] การทดลองนี้ใช้ chelating agents ที่ดีที่สุดจากผลการทดลองที่ผ่านมาในขั้นตอนที่ 4 คือ EDTA 0.05% ร่วมกับสารต้านออกซิเดชันชนิดและปริมาณต่าง ๆ คือ Sodium metabisulfite (0.05, 0.1, 0.2%), Sodium bisulfite (0.05,0.1,0.2%), Sodium sulfite (0.05,0.1,0.2%) L-ascorbic acid หรือ Vitamin C (0.05,0.1,0.2%) พบว่าการใช้Sodium metabisulfite (0.05, 0.1, 0.2%) และ Sodium bisulfite (0.05, 0.1, 0.2%) ทำให้สีของเจลคล้ำลงช้ากว่าเจลที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันและเมื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของ phenolic compoumds พบว่าที่อุณหภูมิห้องนั้นเจลที่เติม Sodium metabisulfite (0.05, 0.1, 0.2%), Sodium bisulfite (0.1, 0.2 %) มีความเข้มข้นของ phenolic compounds สูงกว่าเจลที่ไม่ได้เติมสารต้านออกซิเดชันและไม่มีความแตกต่างระหว่างสารต้านออกซิเดชันดังกล่าวนั้น ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ส่วนที่ 40°C นั้นเจลที่เติม Sodium metabisulfite 0.1% มีความเข้มข้นของ phenolic compounds สูงกว่าเจลที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชัน โดย $p\text{-value} < 0.05$ จากผลการเร่งปฏิกิริยาโดยเก็บเจลไว้ที่ 40°C ทำให้เห็นว่า Sodium metabisulfite มีแนวโน้มจะต้านทานออกซิเดชันของเจลในระยะยาวได้ดีกว่าสารต้านออกซิเดชันชนิดอื่น ทั้งนี้เพราะเจลมี pH ค่อนข้างเป็นกรด

และ Sodium metabisulfite ก็เป็นสารต้านออกซิเดชันที่เหมาะสมในช่วง pH เป็นกรด จึงคงฤทธิ์อยู่ได้นาน[28],[31] สำหรับ Sodium sulfite และ Vitamin C นั้น เจลจะมีสีคล้ำลงช้ากว่าเจลที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และเมื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของ phenolic compounds ก็พบว่าไม่ต่างจากเจลที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังนั้น Sodium sulfite (0.05, 0.1, 0.2%) และ Vitamin C (0.05, 0.1, 0.2%) จึงไม่เหมาะสมจะใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันในเจล ทั้งนี้เพราะ Sodium sulfite เหมาะสมกับสารละลายที่เป็นด่าง[28],[31] และไม่สามารถเข้ากันได้กับสารละลายที่เป็นกรดอย่างเจลจากว่านหางจระเข้ นอกจากนี้ยังทำให้ pH ของเจลเพิ่มขึ้นด้วย อัตราเร็วสูงกว่าในเจลที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันอีกด้วย สำหรับ Vitamin C เป็นสารต้านออกซิเดชันที่นิยมใช้มากในการเพิ่มเสถียรภาพของเจลจากต้นว่านหางจระเข้[6] แต่จากการทดลองนี้พบว่า Vitamin C ไม่สามารถยับยั้งออกซิเดชันของเจลทั้ง ๆ ที่ใช้ EDTA ร่วมด้วย หรือถ้าจะยับยั้งได้ก็เพียง ช่วยชะลอปฏิกิริยาให้ช้าลงเล็กน้อยเท่านั้น คือ 1-2 วัน หลังจากนั้นเจลจะเกิดสีคล้ำลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งอาจเป็นเพราะสารละลายของ Vitamin C สลายตัวเมื่อถูกแสง, อากาศ, ความร้อน, เอนไซม์ และ copper ion[6],[28] อีกทั้ง Vitamin C ก็เป็นสารตั้งต้นตัวหนึ่งในปฏิกิริยาออกซิเดชันของเจล การเติม Vitamin C จึงเท่ากับเป็นการเพิ่มสารตั้งต้นทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันมีแนวโน้มเกิดได้มากขึ้น อย่างไรก็ตาม การมี EDTA อยู่ด้วยจะช่วยชะลอการสลายตัวของ Vitamin C ให้ช้าลง เนื่องจากจะขัดขวาง Copper-catalyzed oxidation ของสารละลาย Vitamin C ได้[28] แต่ปัจจัยอื่นเช่น ความร้อนก็น่าจะมีผลมากต่อการสลายตัวของ Vitamin C เนื่องจากอุณหภูมิโดยทั่ว ๆ ไปของประเทศไทยค่อนข้างร้อนจึงทำให้การสลายตัวของ Vitamin C เกิดขึ้นเร็วกว่าประเทศยุโรป หรืออเมริกาเมื่อทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง นอกจากนี้แล้วปริมาณกรด (Acid content) ในเจลจะมีผลต่อการสลายตัวของ Vitamin C ด้วย โดยพบว่ายิ่งปริมาณกรดในเจลมากเท่าใด อัตราเร็วของการทำลายVitamin C ยิ่งเร็วขึ้น[6] ซึ่งปริมาณกรดในเจลนี้ขึ้นกับกรดอินทรีย์ที่กล่าวมาแล้วในบทนำว่าจะมีปริมาณมากที่สุดในฤดูร้อน และจะเป็นไปได้หรือไม่ว่าว่านหางจระเข้ที่ปลูกในเมืองร้อนอย่างประเทศไทยน่าจะมีปริมาณกรดอินทรีย์สูงกว่าว่านหางจระเข้ที่ปลูกในเมืองหนาว จึงมีส่วนช่วยเพิ่มอัตราการทำลาย Vitamin C ให้เร็วขึ้น ทำให้การใช้ Vitamin C เป็นสารต้านออกซิเดชันไม่ได้ผลเท่าที่ควร

แม้ว่าการใช้สารต้านออกซิเดชันที่เหมาะสมที่สุดคือ Sodium metabisulfite จำนวน 0.1% ร่วมกับ EDTA 0.05% จะได้ผลดีพอสมควรในการยับยั้ง Browning ของเจล แต่ยังไม่สามารถหยุดหรือยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้อย่างสมบูรณ์ ดังจะเห็นจากสีของเจลยังเข้มขึ้นเล็กน้อยถึงแม้ว่าจะไม่เป็นสีน้ำตาลก็ตาม นอกจากนี้จะเห็นว่าความหนืดของเจลยังคงลดลง และ pH เพิ่มขึ้นเล็กน้อย

ส่วนการเก็บเจลที่เติม chelating agents และสารต้านออกซิเดชันไว้ที่อุณหภูมิ 40°C นั้น เพื่อดูว่าเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น จะมีการเร่งการสลายตัวหรือไม่ ซึ่งอุณหภูมิสูงมาก ๆ ในประเทศไทยประมาณ 40°C จากการทดลองพบว่าการเก็บเจลไว้ที่อุณหภูมิ 40°C ไม่ทำให้การสลายตัวของเจลแตกต่างไปจากที่อุณหภูมิห้องมากนัก

<u>ศึกษาเสถียรภาพของยาขี้ผึ้งของเจล</u> การนำเจลมาเตรียมในรูปยาขี้ผึ้งจะทำให้สะดวกในการนำมาใช้มากกว่าเจลที่อยู่ในรูปของเหลว แต่เนื่องจากมีปัจจัยหลายอย่างที่เพิ่มขึ้นในการเตรียมยาขี้ผึ้งไม่ว่าจะเป็นสูตรตำรับหรือวิธีการเตรียมซึ่งอาจมีผลให้เสถียรภาพของเจลเปลี่ยนไป การศึกษาทำโดยเลือกใช้ยาพื้นขี้ผึ้งที่เข้ากับเจลได้อย่างเหมาะสมคือ O/W Emulsion ointment bases ซึ่งผสมเจลในยาพื้นขี้ผึ้งชนิดนี้ได้เป็นจำนวนมากโดยยาขี้ผึ้งไม่แยกชั้น ในขณะที่ Hydrophilic petrolatum USP (Absorption ointment bases) สามารถผสมเจลได้ 22.40% และกับ Polyethylene Glycol ointment (Water soluble ointment bases) ผสมเจลได้เพียง 4% ถ้ามากกว่านี้แล้ว Polyethylene Glycol ointment จะละลายในเจลเป็นของเหลวใส สำหรับ Oleaginous ointment bases และ W/O Emulsion ointment bases ไม่ได้นำมาทดลองเพราะเจลมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นน้ำถึง 99.5% จะไม่สามารถเข้ากันได้กับ Oleaginous ointment bases และเข้ากับ W/O Emulsion ointment bases ได้เพียงเล็กน้อยทำให้ปริมาณเจลไม่สูงพออาจทำให้ไม่ได้ผลในการรักษา เมื่อนำเอา O/W Emulsion ointment bases มาพัฒนาสูตรตำรับต่อไปให้มีลักษณะสวยงามน่าใช้ทาผิวหนัง, ไม่แยกชั้น พบว่ายาพื้นขี้ผึ้งที่ดีคือ C, D, E, F แต่เมื่อผสมเจลลงในครีมโดยใช้เจลแทนน้ำในวัฏภาคของน้ำที่ใช้เตรียมอิมัลชัน พบว่าการใช้เจลปริมาณสูง ๆ คือ 70 - 80% ยาขี้ผึ้งจะมีสีค่อนข้างเหลืองและมีลักษณะเหลวลงกว่ายาพื้นขี้ผึ้ง จึงเลือกใช้เจลปริมาณ 60% มาเตรียมยาขี้ผึ้ง

และเลือกยาพื้นสูตร C เป็นตัวแทนของยาพื้นที่ดีเหล่านั้นมาทดสอบเสถียรภาพของเจล เพราะตำรับ C เมื่อทาผิวแล้วกระจายตัวดี, ไม่เหนอะหนะ, ทำให้ผิวนุ่มนวล และไม่เป็นปื้นขาว จึงเหมาะสมจะใช้เตรียมยาขี้ผึ้งทาผิวหนัง จากการทดลองพบว่า Bronidox L(R) 0.2% w/v ในเจลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราในยาขี้ผึ้งของเจลได้ผลดีไม่สังเกตเห็นการเจริญของเชื้อราเลยแม้จะตั้งไว้ในอุณหภูมิห้องนานถึง 2 เดือน เปรียบเทียบกับยาขี้ผึ้งของเจลที่ไม่เติมสารถนอมจะเห็นเชื้อราขึ้นที่ผิวหน้าเมื่อทิ้งไว้ 14 วัน และการวิเคราะห์หาปริมาณ phenolic compounds ในยาขี้ผึ้งของเจลพบว่ายาขี้ผึ้งที่เติม EDTA 0.05% ร่วมกับ Sodium metabisulfite 0.1% จะมีความเข้มข้นของ phenolic compounds สูงกว่ายาขี้ผึ้งของเจลที่ไม่เติม chelating agents และสารต้านออกซิเดชัน โดย p-value < 0.05 หลังจากตั้งยาขี้ผึ้งทั้งสองตำรับนี้ไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน ยาขี้ผึ้งทั้งสองสีไม่คล้ำลงเลย คล้ายกับว่าเจลที่เตรียมเป็นยาขี้ผึ้งแล้วเสถียรภาพดีกว่าเมื่ออยู่ในรูปของเหลว ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการใช้ความร้อนในการเตรียมยาขี้ผึ้งของเจล เพราะปริมาณของเจลสูงเกือบจะเท่าน้ำหนักทั้งหมดของวัฏภาคน้ำ จึงจำเป็นต้องอุ่นเจลทั้งหมดและส่วนประกอบอื่นของวัฏภาคน้ำคือ Propylene glycol และน้ำจำนวนเล็กน้อยบน water bath จนมีอุณหภูมิ 75°C จึงเทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมันที่มีอุณหภูมิเท่ากันแล้วคนจนเกิดอิมัลชัน ปกติแล้วการผสมเจลในยาขี้ผึ้งควรจะเตรียมอิมัลชันก่อนแล้วอุ่นเจลอุณหภูมิประมาณ 50-55°C เติมลงในอิมัลชันที่คนจนอุณหภูมิเย็นลงถึง 50-55°C คนต่อไปจนถึงอุณหภูมิห้อง(16) แต่กรณีนี้ไม่สามารถทำเช่นนั้นได้เพราะถ้าอุ่นเจลทั้งหมดที่ 50-55°C ครีมที่ได้เนื้อจะไม่เนียนขาวเท่าที่ควร ในที่นี้ใช้ความร้อนขนาด 75°C ซึ่งสูงพอจะทำลายเอนไซม์ Phenolase และยังช่วยกำจัดออกซิเจน จากเนื้อเยื่อของเจลด้วยทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดช้าลงทำให้ยาขี้ผึ้งของเจลสีไม่คล้ำลงเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานถึง 2 เดือน ทั้ง ๆ ที่ไม่เติม chelating agents และสารต้านออกซิเดชัน ผู้ผลิต Stabilized gel จำนวนมากใช้ความร้อนเพื่อการทำลายเอนไซม์, ทำลายเชื้อจุลินทรีย์, กำจัดออกซิเจนและทำลาย cellulose connective tissue ทำให้กรองง่ายขึ้น โดยใช้อุณหภูมิและระยะเวลาแตกต่างกันไปแล้วแต่วิธีการของแต่ละคน การใช้ความร้อนทำให้เกิดผลที่ไม่พึงประสงค์หลายประการโดยเฉพาะการสูญเสียสารอาหาร แต่ Morsy, E.M. เสนอว่าอุณหภูมิสูงสุดที่เจลยังคงตัวอยู่ได้คือ 80°C ซึ่งที่อุณหภูมินี้จะมีการสูญเสียสารอาหารไปไม่

มากนัก[6] ดังนั้นการให้ความร้อนขนาด 75°C แก่เจลในการเตรียมอิมัลชันจึงยังไม่ทำให้เจลสลายตัวไปทั้งหมด

แต่อย่างไรก็ตามอาจจะมีการสลายของสารองค์ประกอบในเจลเกิดขึ้น ดังจะเห็นว่าความเข้มข้นของ phenolic compounds ในยาขี้ผึ้งของเจล วันที่ 0 เท่ากับ 2.2639 mg ต่อ 1 กรัมของยาขี้ผึ้งหรือเท่ากับ 0.3773% w/w ของเจลซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าเมื่อเจลไม่ได้รับความร้อนอยู่หลายร้อยเท่าตัว โดยพบว่าความเข้มข้นของ phenolic compounds ในเจลที่ไม่เติมสารต้านออกซิเดชันและไม่ได้ให้ความร้อนขนาด 75°C (จากตารางที่ 19) เท่ากับ 6.7308 µg ต่อเจล 1 มิลลิลิตร หรือเท่ากับ 0.0067% w/v ของเจล