บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ก. วัสดุ-อุปกรณ์-สารเคมี

1. ABTS (2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))
2. Gallic acid
3. DI water
4. Ethanol
5. DI water
6. Folin-Denis Reagent
7. Gum acacia
8. Maltodextrin
9. Methanol
10. Modified starch
11. Phosphomolypdic acid
12. Phosphoric acid
13. Potassium persulfate
14. Sodium carbonate
15. Sodium tungstate
16. Trolox
17. Tween 80

ข. อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1. ชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหย
   - condenser
   - clevenger apparatus ชนิดเบากว่าน้ำ
   - round bottom flask
   - heating mantle (ELECTROMANTLE EM 0500/C MR1, ISOPAD U2/102)
2. เครื่องชั่งวิเคราะห์
   - OHAUS ARC 120
   - SARTORIUS ME 2155

3. เครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง
4. เครื่อง spray drying
5. Beaker
6. Burette
7. Cylinder
8. Gas Chromatography/Mass Spectrometry
   - Shimadzu GCMS QP 2010 Plus
9. Laminate foil
10. Micropipet
    - GILSON MODEL PIPETMAN P20, P200, P1000
11. Pipette
12. Rotary evaporator
13. Soxhlet apparatus
14. Ultraviolet-Visible Spectrophotometer
    - SPECTRONIC GENESYS2
15. Vortex mixer
    - SUPER-MIXER 1291
16. Vial for headspace technique ขนาด 20 ml
17. Volumetric flask

ค. ตัวอย่างพืชสมุนไพร

ตัวอย่างสมุนไพร

Curcuma ecomata Craib (Kra-Jeiw-Su-Thep)

Curcuma comosa (Wan-Chuk-Mod-Luk)

Kaempferia rotunda L. (Wan-Hao-Non)

Globba reflexa Craib (Kluay-Kreu-Kum)

Globba purpurascens Craib (Kluay-Jan)

Globba nuda K.Larsen

Zingiber zerumbet L. Sm. (KaTeu)

ตัวอย่างเก็บจากศูนย์การศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หริภุญชัย จังหวัดลำพูนเพื่อทำการตรวจพิสูจน์ชนิดและเก็บเพิ่มเติมจากองค์การสวนพฤกษศาสตร์ อำเภอแม่ริม จังหวัด

เชียงใหม่ สำหรับ *Z. zerumbet* ในปริมาณมากจัดซื้อจากศูนย์พัฒนาวัตถุดิบและแปรรูปสมุนไพรภาคเหนือ วิสาหกิจชุมชนพัฒนาวัตถุดิบและแปรรูปสมุนไพรภาคเหนือ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ง. เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคสำคัญ 8 ชนิด มาจาก ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้แก่

- *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ก่อโรคที่แยกได้จากหนองอักเสบที่ผิวหนัง
- *Escherichia coli* สายพันธุ์ก่อโรคที่ดื้อยาหลายชนิด
- *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ก่อโรคที่ดื้อยาหลายชนิด
- *Acinetobacter baumanii* สายพันธุ์ก่อโรคที่ดื้อยาหลายชนิด
- *Candida albicans* สายพันธุ์ก่อโรคที่แยกได้จากรอยโรคในช่องปาก
- *Streptococcus pyogenes* สายพันธุ์ก่อโรคที่แยกได้จากทอนซิลอักเสบ
- *Enterococcus faecalis* สายพันธุ์ก่อโรคที่ดื้อยาหลายชนิด
- *Propionebacterium acnes* สายพันธุ์ก่อโรคที่แยกได้จากหนองอักเสบที่สิว

วิธีดำเนินการวิจัย

ส่วนที่ 1 การศึกษาองค์ประกอบสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชในวงศ์ขิงบางชนิด

- รวบรวมข้อมูลผลการสำรวจพืชในวงศ์ขิงบริเวณพื้นที่วิทยาเขตศรีบัวบาน จ.ลำพูน
- สืบค้นข้อมูลการวิจัยที่เกี่ยวข้องของพืชที่พบในวงศ์ขิงบริเวณพื้นที่วิทยาเขตศรีบัวบาน จ.ลำพูน
- เก็บรวบรวมตัวอย่าง จำแนกชนิดพืช
- สกัดสารองค์ประกอบเคมีด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ และสกัดน้ำมันหอมระเหย จากส่วนต่าง ๆ ของพืช ได้แก่ ใบ เหง้า (และดอก)

วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย

พืชในวงศ์ขิงแต่ละชนิดนำมาทำให้แห้งโดยแยกส่วนใบและก้าน เหง้า ดอก นำไปอบที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำไปบดด้วยเครื่องบด จากนั้นนำไปสกัดด้วย Soxhlet apparatus โดยใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย

วิธีการกลั่นน้ำมันหอมระเหย

นำพืชตัวอย่างล้างให้สะอาด แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ รากและเหง้า ใบ-ก้านใบ และดอก ทำการลดขนาดโดยการหั่นให้มีขนาดประมาณครึ่งนิ้ว จากนั้นสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 12 ก.ค. 2554
เลขทะเบียน 242335
เลขเรียกหนังสือ

กลั่นด้วยน้ำ เป็นเวลา 5 ชั่วโมง แยกเฉพาะน้ำมันหอมระเหยออกมา และกำจัดน้ำที่เหลือโดย anhydrous sodium sulphate เก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4°C

หมายเหตุ การกลั่นน้ำมันหอมระเหยจะเตรียมเฉพาะพืชที่มีปริมาณมากเท่านั้น

- นำสารสกัด และน้ำมันหอมระเหยไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพดังนี้

○ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารในกลุ่มฟีนอลิก

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS method (ABTS free radical decolorization method)

วิธีการ

1. เตรียม $ABTS^{\bullet+}$ stock solution โดยผสม ABTS 7 mM กับ $K_2S_2O_8$ 2.45 mM ในอัตราส่วน 1 : 0.5 mole/mole ตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์

2. เตรียม working solution $ABTS^{\bullet+}$ โดยนำมาเจือจางด้วย absolute alcohol แล้วนำไปวัดค่า absorbance ที่ 734 nm ให้ได้ค่าประมาณ 0.7-0.9

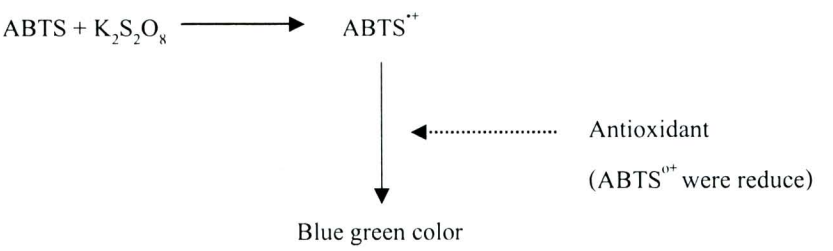
3. เตรียมสารมาตรฐาน Trolox ให้มีความเข้มข้น 2.5, 2.0, 1.5, 1.0 และ 0.5 mM และนำไปวัดค่า absorbance ที่ 734 nm เพื่อเตรียมกราฟมาตรฐาน

4. วัดค่า absorbance ของสารละลายตัวอย่าง และคำนวณหาค่า % Inhibition เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(A_{reagent} - A_{standard})}{A_{reagent}} \times 100$$

เมื่อ $A_{reagent}$ = ค่า Absorbance ของ working solution $ABTS^{\bullet+}$

$A_{standard}$ = ค่า Absorbance ของตัวอย่าง



การหาปริมาณ Total phenolic โดย Folin-Denis method

วิธีการ

นำสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาหาปริมาณ Total phenolic โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. เตรียม Folin-Denis reagent (เติมน้ำกลั่น 350 ml ใน round-bottom flask จากนั้นเติม sodium tungstate 50 g, phosphomolypdic acid 12 g of และ 25 ml phosphoric acid ตามลำดับ เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไป reflux 2 ชั่วโมง และเจือจางด้วยน้ำกลั่น 500 ml)

2. เตรียม sodium carbonate solution (ละลาย sodium carbonate anhydrous 200 g ในน้ำกลั่น 800 ml นำไปต้ม หลังทำให้เย็นเติม sodium carbonate anhydrous ลงไปอีกเล็กน้อย ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ไปกรอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

3. เตรียมสารมาตรฐาน Gallic acid ให้มีความเข้มข้น 2.5, 2.0, 1.5, 1.0 และ 0.5 mM และนำไปวัดค่า absorbance ที่ 725 nm เพื่อเตรียมกราฟมาตรฐาน

4. จากนั้นวัดค่า absorbance ของสารละลายตัวอย่าง (รายละเอียดดังแสดงใน**แผนภาพที่ 1**) และคำนวณหาค่า % Inhibition เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid

Sample/standard + water

↓

Folin-Denis reagent was added

↓

Sodium carbonate was added

↓ 30 mins

Determine the absorbance at 725 nm

แผนภาพที่ 1

○ ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพก่อโรคสำคัญ 8 ชนิดได้แก่

- *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ก่อโรคที่แยกได้จากหนองอักเสบที่ผิวหนัง
- *Escherichia coli* สายพันธุ์ก่อโรคที่ดื้อยาหลายชนิด
- *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ก่อโรคที่ดื้อยาหลายชนิด
- *Acinetobacter baumanii* สายพันธุ์ก่อโรคที่ดื้อยาหลายชนิด

ซึ่งทำการบ่มเพาะภายใต้บรรยากาศที่มีออกซิเจนปกติ ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บนอาหารเพาะเลี้ยง Tryptic soy agar

- *Candida albicans* สายพันธุ์ก่อโรคที่แยกได้จากรอยโรคในช่องปาก

ซึ่งทำการบ่มเพาะภายใต้บรรยากาศที่มีออกซิเจนปกติ ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บนอาหารเพาะเลี้ยง Sabouruad dextrose agar

- *Streptococcus pyogenes* สายพันธุ์ก่อโรคที่แยกได้จากทอนซิลอักเสบ
- *Enterococcus faecalis* สายพันธุ์ก่อโรคที่ดื้อยาหลายชนิด

ซึ่งทำการบ่มเพาะภายใต้บรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์หล่อเลี้ยงร้อยละ 5 ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บนอาหารเพาะเลี้ยง Blood agar

- *Propionebacterium acnes* สายพันธุ์ก่อโรคที่แยกได้จากหนองอักเสบที่สิว

ซึ่งทำการบ่มเพาะภายใต้บรรยากาศที่ไร้ออกซิเจน 5 ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บนอาหารเพาะเลี้ยง Anaerobic blood agar

โดยการทดสอบฤทธิ์จะใช้วิธี agar-cup diffusion assay เพื่อหาค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางการยับยั้งเชื้อในหน่วยมิลลิเมตร

- ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่าง ๆ ของพืชวงศ์ขิง โดยอาศัย Gas chromatography – Mass spectronmeter (GC-MS) โดยใช้สภาวะ ดังนี้

Instrument model: Shimadzu GCMS-QP2010 Plus

Column: DB- 5 ms, length 30 m, film thickness 0.25 μm , inner diameter 0.25 mm

Carrier gas: He

Detector: EI-MS, 70 eV

Fiber type*: PDMS-DVB

Incubation temp*: 40°C

Extraction period*: 30 min

Split ratio: 1:100

Column temperature program:

Rate (°C /min)	Temp (°C)	Hold time (min)
-	60.00	0.00
2.00	80.00	1.00
5.00	155.00	2.00
10.00	200.00	0.00

* For headspace-SPME technique

วิธีการตรวจสอบเบื้องต้นทางพฤกษเคมี

ก. การตรวจสอบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ (Alkaloid)

นำสารสกัดปริมาณ 0.3 กรัม ละลายใน 2 N hydrochloric acid 15 มล. กรอง แล้วแบ่งสารละลายที่กรองได้ออกเป็น 2 ส่วน นำไปทดสอบด้วย Mayer's reagent และ Dragendorff's reagent สังเกตสีและตะกอนที่เกิดขึ้น

ผลบวก : เติม Mayer's reagent แล้วได้ตะกอนสีขาวนวล และเติม Dragendorff's reagent แล้วได้ตะกอนสีส้ม

ข. การตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)

บดผสมสารสกัดปริมาณ 0.3 กรัม กับปิโตรเลียมอีเทอร์ครั้งละ 10 มล. จำนวน 2 ครั้ง เพื่อขจัดไขมันออกไป ทิ้งส่วนที่ละลายในปิโตรเลียมอีเทอร์ นำส่วนที่เหลือมาละลายใน 50 % เอธานอล 10 มล. กรองแล้วแบ่งสารละลายที่กรองได้ใส่หลอดทดลอง 2 หลอด แล้วนำมาทดสอบดังนี้

หลอดที่ 1 ใช้เป็นหลอดควบคุม

หลอดที่ 2 ทดสอบด้วย Shinoda's test โดยเติมกรดเกลือเข้มข้น 5 – 6 หยด ใส่แผ่นแมกนีเซียมลงไป 2 – 3 ชิ้น สังเกตสีที่เกิดขึ้นใน 1 – 2 นาที

ผลบวก : เกิดสีชมพูแดง

ค. การตรวจสอบสารกลุ่มคูมาริน (Coumarin)

นำสารสกัดปริมาณ 0.3 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำพอเปียก ปิดหลอดทดลองด้วยจุกคอร์กที่มีกระดาษกรองชุบสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางหมาด ๆ แขวนอยู่ อุ่นบนหม้ออังไอน้ำที่กำลังเดือดนาน 3 – 5 นาที จากนั้นนำกระดาษกรองมาส่องดูภายใต้แสงเหนือม่วงความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร 1 นาที

ผลบวก : กระดาษกรองเรืองแสงสีเขียวอมฟ้า

ง. การตรวจสอบสารกลุ่มซาโปนิน (Saponin)

ละลายสารสกัดปริมาณ 0.3 กรัม ในน้ำ 10 มล. กรองแล้วแบ่งสารละลายที่กรองได้ใส่หลอดทดลอง 2 หลอด แล้วนำมาทดสอบการเกิดฟอง (Froth test) ดังนี้

หลอดที่ 1 เขย่าแรง ๆ นาน 1 นาที ตั้งทิ้งไว้สังเกตฟองที่เกิดขึ้น เป็นเวลา 30 นาที

หลอดที่ 2 ต้มกับกรดเกลือเจือจาง แล้วเขย่าแรง ๆ นาน 1 นาที

ผลบวก : หลอดที่ 1 เกิดฟองรูปรังผึ้งที่คงทนนานกว่า 30 นาที

หลอดที่ 2 ไม่เกิดฟองรูปรังผึ้ง

จ. การตรวจสอบสารกลุ่มคาดิแอคกลัยโคซายด์ (Cardiac glycoside)

นำสารสกัดปริมาณ 1 กรัม ละลายใน 10 % เอธานอล กรองและนำสารละลายที่กรองได้มาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 3 ครั้ง นำชั้นคลอโรฟอร์ม มาระเหยให้แห้งในถ้วยกระเบื้อง จากนั้นจึงนำส่วนที่ระเหยแห้งมาทดสอบดังต่อไปนี้

(1) การทดสอบส่วนที่เป็น steroidal nucleus

ทดสอบด้วย Liebermann – Burchard test โดยนำส่วนที่ระเหยแห้งในถ้วยกระเบื้องใส่หลอดทดลอง เติมอะซิติกแอนไฮดรายด์ 3 หยด ผสมให้เข้ากัน ค่อย ๆ หยดกรดกำมะถันเข้มข้น ลงไปให้สัมผัสกับสารละลายช้า ๆ สังเกตสีที่ค่อย ๆ เปลี่ยนแปลง ทุก ๆ 5, 15 และ 30 นาที

ผลบวก : สีค่อย ๆ เปลี่ยนดังนี้ ชมพู แดง ม่วง น้ำเงิน เขียว

(2) การทดสอบส่วนที่เป็น deoxysugar

ทดสอบด้วย Keller – kiliani test โดยนำส่วนที่ระเหยแห้งในถ้วยกระเบื้องใส่หลอดทดลอง ละลายด้วยคลอโรฟอร์มเล็กน้อย เติม 10 % เฟอร์ริกคลอไรด์ในกรดอะซิติก 3 มล. ผสมให้เข้ากัน เอียงหลอดแล้วค่อย ๆ หยดกรดกำมะถันลงไปข้าง ๆ หลอด สังเกตสีที่เกิดขึ้นตรงรอยต่อระหว่างของเหลวทั้งสอง

ผลบวก : เกิดวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างของเหลวทั้งสอง

ฉ. การตรวจสอบสารกลุ่มไซยาโนเจนิกกลัยโคซายด์ (Cyanogenic glycoside)

นำสารสกัดปริมาณ 0.3 กรัม ใส่หลอดทดลอง ใส่น้ำพอเปียก เติมคลอโรฟอร์ม 2–3 หยด ปิดหลอดทดลองด้วยจุกคอร์กที่มีกระดาษกรองชุบสารละลายโซเดียมพิเครท สังเกตสีที่เกิดขึ้น ในเวลา 1, 3 และ 24 ชั่วโมง

ผลบวก : เกิดสีแดงอิฐบนกระดาษกรอง

ช. การตรวจสอบสารกลุ่มแอนทราควิโนนกลัยโคซายด์ (Anthraquinone glycoside)

ทดสอบด้วย Borntrager's test โดยต้มสารสกัดปริมาณ 0.3 กรัมกับกรดเกลือเจือจาง 20 มล. บนหม้ออังไอน้ำนาน 15 นาที กรองและทิ้งให้เย็น ทำการสกัดส่วนที่กรองได้ด้วยคลอโรฟอร์ม ครั้งละ 10 มล. จำนวน 2 ครั้ง เก็บชั้นคลอโรฟอร์มไว้ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง เขย่าให้เข้ากัน สังเกตสีในชั้นด่าง

ผลบวก : เกิดสีชมพูแดงในชั้นด่าง

ซ. การตรวจสอบสารกลุ่มแทนนิน (Tannin)

ต้มสารสกัดปริมาณ 0.3 กรัมกับน้ำกลั่น 20 มล. บนหม้ออังไอน้ำ ทิ้งให้เย็นแล้วกรอง แบ่งสารละลายที่กรองได้ใส่หลอดทดลอง หลอดละ 2 มล. จำนวน 7 หลอด แล้วนำมาทดสอบดังนี้

หลอดที่ 1 ใช้เป็นหลอดควบคุม

หลอดที่ 2 เติมสารละลาย 1% เจลาติน 2 – 3 หยด

ผลบวก : เกิดตะกอนขุ่นขาว

หลอดที่ 3 เติม $FeCl_3$ TS 2 – 3 หยด

ผลบวก : เกิดตะกอนสีน้ำเงิน มี hydrolysable tannin หรือมี tannin ทั้งสองชนิดเกิดตะกอนสีเขียว มี condense tannin

หลอดที่ 4 ทดสอบด้วย Formaldehyde – HCl test โดยเติม 40% ฟอร์มัลดิไฮด์ 3 หยด และ 10 % กรดเกลือ 6 หยด ต้มบนหม้ออังไอน้ำ1 – 2 นาที

ผลบวก : เกิดตะกอนสีชมพูแดง และตะกอนนี้ต้องไม่ละลายในน้ำร้อน แอลกอฮอล์ และ 5 %โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ แสดงว่ามี condense tannin

หลอดที่ 5 ทดสอบด้วย Vanillin – HCl test โดยถ่ายสารละลายที่กรองได้ลงในถ้วยกระเบื้อง ระเหยสารละลายที่ได้จนแห้งบนหม้ออังไอน้ำ เติมสารละลายวานิลิน 1 มล. และกรดเกลือเข้มข้น 1 หยด

ผลบวก : เกิดตะกอนสีชมพูแดง แสดงว่ามี condense tannin

หลอดที่ 6 เติมน้ำปูนใส 1 มล

ผลบวก : เกิดตะกอนและตะกอนอาจมีสีเทาแกมน้ำเงิน แสดงว่ามี hydrolysable tannin

หลอดที่ 7 เติม 10% กรดกำมะถัน 4 มล. และ 10 % น้ำยาตะกั่วอะซิเตต 2 มล.

ผลบวก : เกิดตะกอนภายใน 15 นาที

- คัดเลือกสารสกัดที่ให้ฤทธิ์ที่ดีมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยอาศัยเทคนิคทางโครมาโตกราฟี และติดตามผลด้วยการทดสอบฤทธิ์
- รวบรวมผล และสรุปผล

ส่วนที่ 2 การพัฒนาวัตถุดิบทางเภสัชกรรมของพืชในวงศ์ขิงบางชนิดโดยเทคนิคmicroencapsulation

วิธีทดลอง

1. เตรียมสารห่อหุ้มน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 20 % ประกอบด้วย maltodextrin : gum arabic = 6.7 : 13.3 นำมากระจายในน้ำกลั่น 100 มล. (เตรียม 300 มล.) และปล่อยให้สารดูดซับน้ำให้อิ่มในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10-12 $^{\circ}$ซ นาน 12 ชั่วโมง
2. เติมน้ำมันหอมระเหยจากกระทือ 5 % (15 มล.) ลงในสารห่อหุ้มในข้อ 1
3. เติม Tween 80 จำนวน 2 หยด แล้วจึงนำสารละลายทั้งหมด มาผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องปั่นผสมแบบ shear homogenizer นาน 5 นาที ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที
4. นำของเหลวที่ผสมครบเวลาแล้ว ไปทำให้แห้งโดยวิธี spray dried โดยมีสภาวะของการทำให้แห้ง ดังนี้ :
   - ความดันอากาศของหัวฉีดพ่น 2 บาร์
   - อัตราการป้อนน้ำยา 2 รอบต่อนาที
   - อุณหภูมิของอากาศเข้า 180 $^{\circ}$ซ
   - อุณหภูมิของอากาศออก 100 $^{\circ}$ซ
5. เก็บผง microcapsules ในขวดแก้วที่ปิดสนิท และเก็บใน dessicator ห่อฟอยล์ป้องกันแสง
6. การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่ได้