การพัฒนาตำรับครีมต้านออกซิเดชันจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีแกมมา

DEVELOPMENT OF CREAM CONTAINING GAMMA-IRRADIATED CARISSA CARANDAS FOR ANTIOXIDATION

เขมรุจิ เข็มทอง

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2563

การพัฒนาตำรับครีมต้านออกซิเดชันจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีแกมมา

เขมรุจิ เข็มทอง

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2563

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

DEVELOPMENT OF CREAM CONTAINING GAMMA-IRRADIATED CARISSA CARANDAS FOR ANTIOXIDATION

KHEMRUJI KHEMTHONG

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of MASTER OF SCIENCE

(Pharmaceutical Product Development)

Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University

2020

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาตำรับครีมต้านออกซิเดชันจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีแกมมา

ของ

เขมรุจิ เข็มทอง

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก

(อาจารย์ ดร.ภญ.ดวงรัตน์ ชูวิสิฐกุล)

..... ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร.ชุดา จิตตสุโภ)

..... ที่ปรึกษาร่วม

(อาจารย์ ดร.พิมพ์พร อุทยารัตน์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วีระศักดิ์ สามี)

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาตำรับครีมต้านออกซิเดชันจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีแกมมา
ผู้วิจัย	เขมรุจิ เข็มทอง
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2563
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.ภญ. ดวงรัตน์ ชูวิสิฐกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ ดร. พิมพ์พร อุทยารัตน์

ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีรายงานว่า อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระและวิตามินซี นำไปใช้เป็นส่วนผสมสำคัญในการตำรับครีมได้ ดังนั้นจุดมุ่งหมายของการศึกษานี้เพื่อพัฒนาและศึกษาลักษณะของครีมต้านออกซิเดชันจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีแกมมา ทำการศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารต้านอนุมูลอิสระและวิตามินซีได้มากที่สุด พบว่าการสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล เป็นตัวทำละลายที่มีเหมาะสม และการที่ฉายรังสีแกมมาปริมาณ 4 กิโลเกรย์ ทำให้สารฟีนอลิกทั้งหมด และการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ FRAP assay มากที่สุด แต่ทำให้วิตามินซีมีปริมาณลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ฉายรังสี เมื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์เพาะเลี้ยง HaCat (human keratinocyte) ด้วยวิธี MTT assay สารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสี ที่ความเข้มข้น 25 mg/mL ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ HaCat ทำการตั้งตำรับครีมจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ ศึกษาสมบัติทางกายภาพของตำรับครีมต้านออกซิเดชันชนิดน้ำในซิลิโคนรูปแบบครีมน้ำแตก โดยเปรียบเทียบชนิดของสารช่วยทางเภสัชกรรม คือ สารก่ออิมัลชันได้แก่ cetyl PEG/PPG-10/1 dimethicone และ PEG/PPG-18/18 dimethicone พบว่า ชนิดของสารก่ออิมัลชันและสัดส่วนซิลิโคนในตำรับมีผลต่อสมบัติทางกายภาพ ทำให้เกิดครีมและครีมรูปแบบน้ำแตก ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างชนิดครีมน้ำในซิลิโคน และครีมน้ำในน้ำมัน ทดสอบเสถียรภาพทางกายภาพด้วยวิธี heating and cooling cycle จำนวน 6 วัฏจักร ผลการศึกษา พบว่า ทั้ง 2 ตำรับเกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากแดงชมพูไปเป็นสีเหลืองน้ำตาล เนื่องมาจากการสลายตัวของวิตามินซีในตำรับ ตำรับครีมน้ำในซิลิโคนมีความหนืดลดลง ขณะที่ตำรับน้ำในน้ำมันมีความหนืดเพิ่มขึ้น จากความไม่มีเสถียรภาพทางอุณหพลศาสตร์ของอิมัลชัน การทดสอบเสถียรภาพทางเคมีที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ พบว่าการใช้สารช่วยทางเภสัชกรรม กลุ่ม humectant และ emollient ในวัฏภาคน้ำของตำรับครีมน้ำในซิลิโคน ทำให้วิตามินซีมีเสถียรภาพสูงกว่าตำรับครีมน้ำในน้ำมัน โดยยังคงรูปแบบของครีมน้ำแตกจนครบเวลาการทดสอบ ดังนั้นสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม สามารถนำมาเตรียมเป็นครีมชนิดน้ำในซิลิโคนได้ครีมที่รักษาเสถียรภาพของวิตามินซีในสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ได้

คำสำคัญ : มะม่วงหาวมะนาวโห่, รังสีแกมมา, วิตามินซี, ครีมน้ำแตก, เสถียรภาพทางกายภาพ, เสถียรภาพทางเคมี

Title	DEVELOPMENT OF CREAM CONTAINING GAMMA-IRRADIATED CARISSA CARANDAS FOR ANTIOXIDATION
Author	KHEMRUJI KHEMTHONG
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2020
Thesis Advisor	Dr. Duangratana Shuwisitkul , Ph.D.
Co Advisor	Dr. Pimporn Uttayarat , Ph.D.

Antioxidants and vitamin C are main ingredients of *Carissa carandas* L. (*C. carandas*) fruits. The extract from fruits of *C. carandas* can be used as an important ingredient in cream. Therefore, the aim of this research was to develop and to characterize an antioxidant cream containing *C. carandas* extract with the aid of gamma-irradiation. The types of solvents were studied to obtain the fruit extract with high levels of antioxidants and vitamin C. It was found that the extraction of *C. carandas* by 50% ethanol was a suitable solvent and irradiation at 4 kilograys of gamma radiation provided the high total phenolic compounds and antioxidants, which were measured by DPPH and FRAP assays. The amount of vitamin C measured by HPLC was not significantly different in terms of statistics compared to non-irradiated samples. The cytotoxicity of *C. carandas* extracts on HaCat (human keratinocyte) cell was studied using MTT assay. The irradiated *C. carandas* extract at the concentration of 25 mg/mL was not toxic to HaCat cells. Water-in-silicone cream was formulated using *C. carandas* extract and the physical properties of the antioxidant cream were determined. The type and ratio of emulsifiers including cetyl PEG/PPG-10/1 dimethicone and PEG/PPG-18/18 dimethicone were studied. The results showed that the type of silicone emulsifier and ratio between silicone and emulsifier were important factors to achieve water drop, quick breaking cream, homogeneity, viscosity, and spreadability on skin. The comparative study was further performed between the water-in-silicone cream and water-in-oil cream. The accelerated physical stability was tested using heating-cooling cycles. The results revealed that a change of color from salmon color to yellowish brown occurred in both formulas due to the decomposition of vitamin C. The viscosity of water-in-silicone cream was reduced, while the viscosity of the water-in-oil formula had increased caused by the thermodynamic instability of emulsion. The chemical stability test at accelerated temperatures showed that the humectant and emollient in the aqueous phase of water-in-silicone cream helps to stabilize vitamin C. The vitamin C content in the water-in-silicone cream was higher than that of the water-in-oil cream. In conclusion, fruits of *C. carandas* extracted by the suitable solvents can be prepared as a water-in-silicone cream in order to stabilize vitamin C in the fruit extract.

Keyword : Carissa carandas L., Gamma radiation, Vitamin C, Waterdrop Emulsion, Physical stability, Chemical stability

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีจากความกรุณา และความเมตตาอย่างยิ่งจาก อาจารย์ ดร.ภญ.ดวงรัตน์ ชูวิสิฐกุล ที่ให้ความกรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และ ดร.พิมพ์พร อุ-ทยารัตน์ ที่ให้ความกรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่าน ที่ให้คำแนะนำ ดูแลเอาใจใส่ในการดำเนินการวิจัยทุกขั้นตอนอย่างดียิ่ง นับตั้งแต่เริ่มดำเนินการจน สำเร็จสมบูรณ์เป็นปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ไว้ ณ ที่นี้

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชุดา จิตตสุโภ ที่ให้ความกรุณาเป็น ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกมหาวิทยาลัยในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำ และ ข้อเสนอแนะเพื่อให้ปริญญานิพนธ์มีความถูกต้อง และสมบูรณ์อย่างยิ่ง และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วีระศักดิ์ สามี (ประธานกรรมการบริหารหลักสูตร) ที่ให้ความกรุณาเป็น กรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ที่ได้ให้ข้อเสนอแนะต่าง ๆ เพื่อนำไปปรับปรุงแก้ไข ข้อบกพร่อง อันนำมาซึ่งประโยชน์ต่อปริญญานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาการเภสัช-ภัณฑ์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒทุกท่าน ที่ได้ถ่ายทอดวิชาความรู้ที่เป็น ประโยชน์ยิ่งแก่ผู้วิจัย นอกจากนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณนักวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์ แห่งชาติ คุณสุรศักดิ์ สัจจบุตร, คุณวชิราภรณ์ ผิวล่อง, คุณจารุรัตน์ เอี่ยมศิริ และคุณศิริลักษณ์ ชูแก้ว ที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ ตลอดจนความช่วยเหลือ และให้ความอนุเคราะห์ ในการใช้ ห้องปฏิบัติการ และเครื่องมือวิทยาศาสตร์สำหรับงานวิจัย และผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณณรงค์ มูลศรี, คุณสมชาย หลวงสนาม และคุณนิศา อุบลทิพย์ ที่ได้ช่วยเหลือเกี่ยวกับงานห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์ วิทยาศาสตร์ งานเอกสารและเทคโนโลยีสารสนเทศที่ใช้ในงานวิจัย

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณมารดา ที่ให้การสนับสนุนด้านการศึกษา และกำลังใจ ในการทำงานวิจัยจนประสบผลสำเร็จสมบูรณ์

เขมรุจิ เข็มทอง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ 2

1.3 สมมติฐาน 2

1.4 ปัจจัย และตัวแปรที่ศึกษา 2

1.5 กรอบแนวคิดงานวิจัย 3

ส่วนที่ 2 การพัฒนาตำรับเครื่องครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ 4

ส่วนที่ 3 การเปรียบเทียบตำรับครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ 4

1.6 ขอบเขตการวิจัย 4

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 5

บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6

2.1 มะม่วงหาวมะนาวโห่ 6

2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 7

2.2.1 วิตามินซี (vitamin c) 7

2.2.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี 8

2.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) 10

2.3 รังสีแกมมา (gamma rays) 11

2.4 ครีม (cream) 12

2.4.1 ครีมชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water emulsion; O/W) 12

2.4.2 ครีมชนิดน้ำในน้ำมัน (water in oil emulsion; W/O) 12

2.4.3 ครีมเบสซิลิโคน (silicone base cream) 12

2.4.3.1 ครีมชนิดซิลิโคนในน้ำ (silicone in water emulsion; Si/W) 12

2.4.3.2 ครีมชนิดน้ำในซิลิโคน (water in silicone emulsion; W/Si) 12

2.5 ซิลิโคน (silicone) 13

2.6 การดูดซึมทางผิวหนัง 14

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย 17

3.1 อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมี 17

3.1.1 อุปกรณ์เครื่องมือ 17

3.1.2 สารเคมี 17

3.2 วิธีการทดลอง 18

3.2.1 การเตรียมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ 18

3.2.2 การทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 19

3.2.2.1 ทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอล (total phenolics) 19

3.2.2.2 ทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ (radical scavenging activity) 19

3.2.2.3 ทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชัน 19

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (vitamin c) 20

3.2.4 การทดสอบความเป็นพิษ (Cytotoxicity) 20

3.2.5 การเตรียมตำรับครีม 21

3.2.5.1 ตำรับเครื่องสำอางชนิดครีมน้ำในซิลิโคน (W/Si) แบบ waterdrop emulsion 21

3.2.5.2 ตำรับเครื่องสำอางชนิดครีมน้ำในน้ำมัน (W/O) 22

3.2.6 การศึกษาเสถียรภาพ 23

3.2.6.1 เสถียรภาพทางกายภาพ 23

3.2.6.2 เสถียรภาพทางเคมี 23

บทที่ 4 ผลและอภิปรายผลการทดลอง 25

4.1 การสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ 25

4.1.1 ผลของชนิดตัวทำละลาย 25

4.1.2 ผลของรังสีแกมมาต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณวิตามินซี 26

4.3 การพัฒนาตำรับครีมชนิดน้ำในซิลิโคน 29

4.4 การเปรียบเทียบตำรับครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ 31

4.4.1 ผลการทดสอบด้านเสถียรภาพทางกายภาพ 32

4.4.2 ผลการทดสอบด้านเสถียรภาพทางเคมี 35

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย 37

ข้อเสนอแนะ 38

บรรณานุกรม 39

ประวัติผู้เขียน 45

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีกับระยะการสุกของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ 9

ตาราง 2 แสดงสูตรตำรับครีม waterdrop emulsion แบบน้ำในซิลิโคน (W/Si) 22

ตาราง 3 แสดงสูตรตำรับครีมน้ำในน้ำมัน (W/O) ที่มา: (จุฑาพร นามเสนาะ, 2558) 23

ตาราง 4 แสดงสภาวะการทดสอบเสถียรภาพทางเคมีของตำรับครีม 24

ตาราง 5 แสดงปริมาณสารสกัด ปริมาณ total phenolics, DPPH, FRAP และวิตามินซี..... 26

ตาราง 6 แสดงปริมาณรังสีแกมมา ปริมาณ total phenolics, DPPH, FRAP และวิตามินซี..... 28

ตาราง 7 แสดงสมบัติทางกายภาพของตำรับครีม w/si 30

ตาราง 8 แสดงผลการทดสอบ สี และค่า pH ของตำรับครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ .. 33

ตาราง 9 แสดงค่าความหนืด (cP) ของตำรับครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ 34

ตาราง 10 แสดงปริมาณวิตามินซีในตำรับครีมที่สภาวะและเวลาต่าง ๆ..... 36

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 แสดงลักษณะใบ ดอก ลำต้น และผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ 6

ภาพประกอบ 2 แสดงโครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี 7

ภาพประกอบ 3 แสดงการไตเตรทด้วย 2, 6-dichloroindophenol titrimetric method 8

ภาพประกอบ 4 แสดงการเกิดการรีดิวซ์สาร DPPH..... 10

ภาพประกอบ 5 แสดงปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine..... 11

ภาพประกอบ 6 แสดงอนุภาคของอิมัลชัน ชนิด W/Si ที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ 13

ภาพประกอบ 7 แสดงโครงสร้างเคมีของไดเมทิลพอลิไซโลเซน(D) และไซโครเพนตะซิโลเซน (D5) 14

ภาพประกอบ 8 แสดงโครงสร้างชั้นผิวหนัง..... 15

ภาพประกอบ 9 แสดงกลไกการดูดซึมผ่านผิวหนัง 16

ภาพประกอบ 10 แสดงโครงสร้างของสารแทนนินชนิดต่าง ๆ 27

ภาพประกอบ 11 แสดงร้อยละการรอดชีวิตของสารสกัดต่อเซลล์ HaCat cell 29

ภาพประกอบ 12 แสดงพฤติกรรมการไหลของตำรับครีมน้ำในซิลิโคนอิมัลชัน (ก) และตำรับครีมน้ำในน้ำมันอิมัลชัน (ข) 34

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

เครื่องสำอางเป็นเครื่องอุปโภคที่ใช้ภายนอกร่างกาย วัตถุประสงค์เพื่อทำความสะอาด ขจัดกลิ่น และตกแต่งให้สวยงาม ในปัจจุบันเครื่องสำอางมีการเติมสารสกัดจากธรรมชาติ เนื่องจากผู้บริโภคที่มีความตระหนักถึงปัญหาสุขภาพ ทำให้เกิดแนวความคิดใหม่ในการใช้เครื่องอุปโภคที่คำนึงถึงความปลอดภัย จึงให้ความสนใจกับผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติมากขึ้น การเติมสารสกัดจากธรรมชาติลงในเครื่องสำอาง อาจทำให้เครื่องสำอางถูกจัดเป็นเวชสำอางจากสมบัติในการออกฤทธิ์ หรือบรรเทาอาการไม่พึงประสงค์ เช่น การเพิ่มความกระจ่างใส ลดรอยฝ้ากระ การต้านออกซิเดชัน เป็นต้น ทั้งนี้การจัดประเภทของเวชสำอาง หรือเครื่องสำอางขึ้นกับกฎหมายของแต่ละประเทศด้วยเช่นกัน

จากการค้นคว้างานวิจัยเกี่ยวกับมะม่วงหาวมะนาวโห่ (Carissa carandas L.) พบว่าผลของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ หรือสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) และวิตามินซี (vitamin c) (Pewlong, Sajjabut, Eamsiri, & Chookaew, 2014) โดยสารต้านออกซิเดชัน และวิตามินซี จะช่วยชะลอการเสื่อมโทรมของเซลล์ ลดการเกิดริ้วรอยก่อนวัย ช่วยลดเลือนจุดด่างดำบนใบหน้า และช่วยให้ผิวพรรณขาวกระจ่างใสได้ (ฉัตรชัย ไตรทอง, 2552) เมื่อถึงฤดูเก็บเกี่ยวมะม่วงหาวมะนาวโห่จะให้ผลผลิตในปริมาณมากเกินความต้องการ การนำผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ มาใช้ประโยชน์ในการเตรียมเวชสำอาง จะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ และเป็นการใช้มะม่วงหาวมะนาวโห่ได้เกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้น

การฉายรังสีแกมมา (gamma irradiation) เป็นการใช้รังสีพลังงานสูงฉายลงบนวัสดุ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี และทางกายภาพ การฉายรังสีในอุตสาหกรรมเกษตร เพื่อประโยชน์ในการกำจัดจุลินทรีย์บางชนิดในอาหาร และยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้การฉายรังสียังมีรายงานว่าช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลสระในสมุนไพร และเครื่องเทศบางชนิดได้ด้วย (Pérez, Calderon, & Croci, 2007) ดังนั้นการฉายรังสีแกมมากับผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ อาจส่งผลให้เพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและไม่ส่งผลต่อปริมาณวิตามินซีในสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ เมื่อนำมาเตรียมเป็นตำรับครีมที่มีวัฏภาคภายนอกเป็นซิลิโคนน่าจะช่วยรักษาเสถียรภาพของสารต้านอนุมูลอิสระ และวิตามินซีได้ ทำให้ได้ตำรับครีมที่มีประสิทธิภาพต้าน

อนุมูลอิสระลดการเกิดริ้วรอยก่อนวัย ช่วยลดเลือนจุดด่างดำบนใบหน้า และเกิดเสถียรภาพของสารออกฤทธิ์ดังกล่าวที่ดีขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์

งานวิจัยมีวัตถุประสงค์หลัก เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เวชสำอางรูปแบบครีมน้ำในซิลิโคนชนิด waterdrop emulsion ผสมสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่มีเสถียรภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเวชสำอางรูปแบบครีมอื่น และมีวัตถุประสงค์ย่อยเพื่อ

1.2.1 หาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารต้านออกซิเดชัน และวิตามินซีจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่

1.2.2 เปรียบเทียบปริมาณรังสีแกมมาต่อสารต้านออกซิเดชัน และวิตามินซีของผลมะม่วงหาว-มะนาวโห่

1.2.3 เปรียบเทียบผลของชนิดตำรับครีมชนิดน้ำในซิลิโคน กับครีมชนิดน้ำในน้ำมันต่อเสถียรภาพของวิตามินซีจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

1.3 สมมติฐาน

การปรับเปลี่ยนสารช่วยทางเภสัชกรรม ทำให้ได้ตำรับครีมน้ำในซิลิโคนชนิด waterdrop emulsion มีสมบัติเหมาะสม ได้แก่ เกิดเป็นน้ำผุดขึ้นเมื่อเกลี่ยทาบนผิว และมีเสถียรภาพทางกายภาพหลังจากทดสอบอย่างน้อย 4 รอบของการทดสอบ ด้วยวิธี heating cooling cycle

1.3.1 ตัวทำละลายชนิดต่างกัน ทำให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และวิตามินซีของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่แตกต่างกัน

1.3.2 รังสีแกมมาที่ปริมาณต่างกัน ทำให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่แตกต่างกัน

1.3.3 ประเภทของครีมที่ต่างกัน ทำให้เสถียรภาพของวิตามินซีในตำรับแตกต่างกัน โดยครีมชนิดน้ำในซิลิโคนน่าจะส่งผลดีต่อเสถียรภาพของวิตามินซีมากกว่า

1.4 ปัจจัย และตัวแปรที่ศึกษา

โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 การสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่

ตัวแปรต้น : ตัวทำละลาย

ปริมาณรังสีที่ใช้

ตัวแปรตาม : ปริมาณสารสกัด

ปริมาณสารต้านออกซิเดชัน

ปริมาณวิตามินซี

ส่วนที่ 2 การพัฒนาตำรับเครื่องครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

ตัวแปรต้น : ปริมาณสารช่วยในตำรับ

ตัวแปรตาม : สมบัติทางกายภาพของตำรับครีมน้ำในซิลิโคน

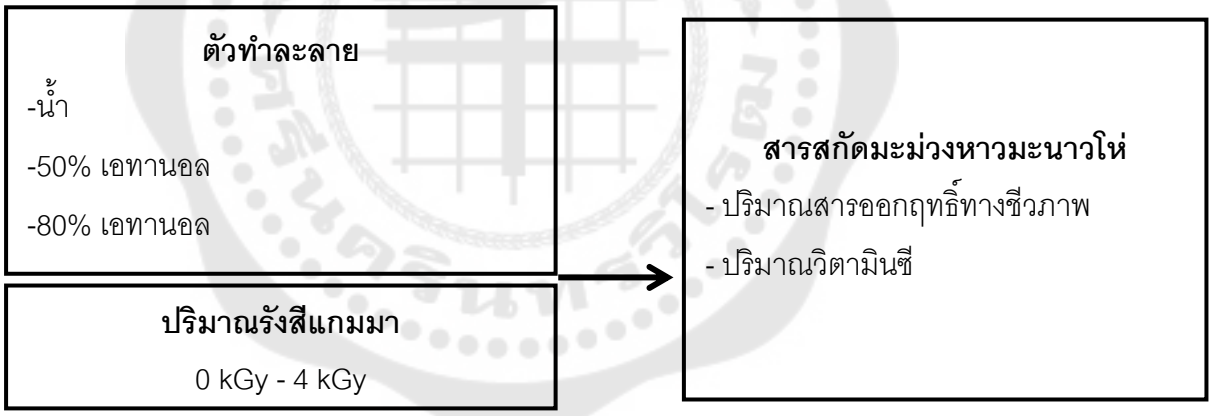
ส่วนที่ 3 การเปรียบเทียบตำรับครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

ตัวแปรต้น : ชนิดของตำรับครีม

ตัวแปรตาม : เสถียรภาพทางเคมีของวิตามินซี

1.5 กรอบแนวคิดงานวิจัย

ส่วนที่ 1 การสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่



ส่วนที่ 2 การพัฒนาตำรับเครื่องครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

ปริมาณสารช่วยทางเภสัชกรรมในตำรับ
- ครีมน้ำในซิลิโคนชนิด waterdrop emulsion ผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

→

ตำรับครีม waterdrop emulsion
สมบัติทางกายภาพ
- ค่าความหนืด, สี, ขนาดอนุภาค

ส่วนที่ 3 การเปรียบเทียบตำรับครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

ชนิดของตำรับครีม
- ครีมน้ำในซิลิโคนชนิด waterdrop emulsion ผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีแกมมา
-ครีมน้ำในน้ำมันผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีแกมมา

→

เสถียรภาพของครีม
ทางกายภาพ
-ค่าความหนืด, pH , สี
ทางเคมี
- ปริมาณวิตามินซี

1.6 ขอบเขตการวิจัย

โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ส่วน ดังนี้

1. ทำการศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการใช้สกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ได้แก่ น้ำ, 50% เอทานอลกับน้ำ และ 80% เอทานอลกับน้ำ ปริมาณรังสีแกมมาที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 kGy และตรวจหาปริมาณสารต้านออกซิเดชัน และวิตามินซี

2. ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่กับเซลล์เคอราติโนไซต์ (keratinocyte) ด้วยวิธี MTT assay เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งการจริญเติบโตของเซลล์ทดสอบ เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารสกัดที่เหมาะสมในการนำมาใช้เตรียมตำรับเครื่องสำอาง

3. พัฒนาตำรับครีมน้ำในซิลิโคนชนิด waterdrop emulsion โดยการเปลี่ยนแปลงสารช่วยทางเภสัชกรรม และศึกษาเสถียรภาพทางกายภาย

4. เปรียบเทียบตำรับครีมน้ำในซิลิโคนกับตำรับครีมน้ำในน้ำมันที่ผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่ส่งผลต่อเสถียรภาพทางเคมีของวิตามินซีจากสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ผ่านการฉายรังสี

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางรูปแบบครีมน้ำในซิลิโคนชนิด waterdrop emulsion ที่ผสมสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ฉายรังสีแกมมาที่มีเสถียรภาพของสารวิตามินซีที่ดีขึ้น

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะม่วงหาวมะนาวโห่

มะม่วงหาวมะนาวโห่ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Carissa carandas* L. และมีชื่อสามัญว่า karanda จัดอยู่ในวงศ์ตีนเป็ด *Apocynaceae* มีชื่อท้องถิ่นในประเทศไทยคือ หนามแดง หนามขี้แฮด และมะนาวโห่ ออกผลมากประมาณเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกรกฎาคม ลำต้นเป็นพุ่ม ขนาด 2-3 เมตร เปลือกลำต้นมีสีน้ำตาลเข้ม ลำต้น และกิ่งก้านเป็นหนามแหลม ยาวประมาณ 1 นิ้ว มียางสีขาว เป็นพืชใบเดี่ยว รูปทรงรี หลังใบและท้องใบเรียบ ก้านใบสั้น ใบอ่อนมีสีแดง ออกดอกเป็นช่อบริเวณปลายช่อ ดอกสีขาว มี 5 กลีบ ปลายกลีบดอกแหลม ผลเป็นรูปทรงรี ผิวเรียบ ผลดิบสีขาวอมแดง มีรสชาติเปรี้ยวปนฝาด เมื่อผลแก่จะมีรสชาติหวานมีสีชมพูเข้มจนเป็นสีแดงเข้มเกือบดำ เมล็ดมีลักษณะแบนมี 6 เมล็ด พบในประเทศอินเดีย อินโดนีเซีย มาเลเซีย ศรีลังกา พม่า จีน และประเทศไทย

ภาพประกอบ 1 แสดงลักษณะใบ ดอก ลำต้น และผลมะม่วงหาวมะนาวโห่

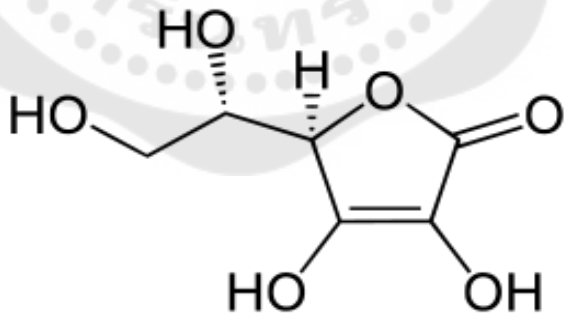
มะม่วงหาวมะนาวโห่ เป็นพืชชอบแดด สามารถเติบโตได้ในดินทั่วไป ทนความแห้งแล้งและมลพิษได้ดี โดยหลักแล้วมะม่วงหาวมะนาวโห่จะนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการบริโภค คือนำมารับประมาณผลสด และใช้ปรุงรสเปรี้ยวในอาหารแล้ว ยังมีพบว่ามีการนำผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น น้ำคั้นจากผลสด, แยม, ไอศกรีม, น้ำหมักไซเดอร์มะม่วงหาว

มะนาวโห่ และไวน์มะม่วงหาว-มะนาวโห่ เป็นต้น มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ช่วยต้านทานอาการหวัด บรรเทาอาการภูมิแพ้ ขับเสมหะ (สกุลกานต์ สิมลา, สุรศักดิ์ บุญแต่ง, & พัชรี สิริตระกูลศักดิ์, 2556)

2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.2.1 วิตามินซี (vitamin c)

วิตามินซี มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า กรดแอสคอร์บิค (ascorbic acid) เป็นวิตามินชนิดละลายน้ำ มีสมบัติเป็นกรดอ่อน ๆ ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เอง จึงจำเป็นต้องได้จากการรับประทานเข้าไป พบได้ในธรรมชาติจากผลไม้ และผักชนิดต่าง ๆ ประโยชน์คือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยจะเป็นตัวรีดิวซ์ ในการหยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ ซึ่งจะช่วยชะลอการเสื่อมของเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกาย ช่วยให้ผิวกระจ่างใส (depigmenting agent) เนื่องจากมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์เมลานิน (melanin) ที่เป็นสารเม็ดสีผิวใต้ผิวหนัง มีผลให้เกิดการสร้างเม็ดสีผิวลดลง จึงทำให้ดูกระจ่างใสขึ้น (จันทนา กาญจน์กมล, 2559) ทั้งยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และช่วยในการสังเคราะห์คอลลาเจน (collagen biosynthesis) เมื่อร่างกายมีปริมาณคอลลาเจนเพิ่มขึ้น จะมีผลทำให้ผิวหนังกระชับ เต่งตึง และอ่อนเยาว์ (Phillips, Combs, & Pinnell, 1994)



ภาพประกอบ 2 แสดงโครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี

ที่มารูปภาพ:(Ali Al-Mokaram, 2010)

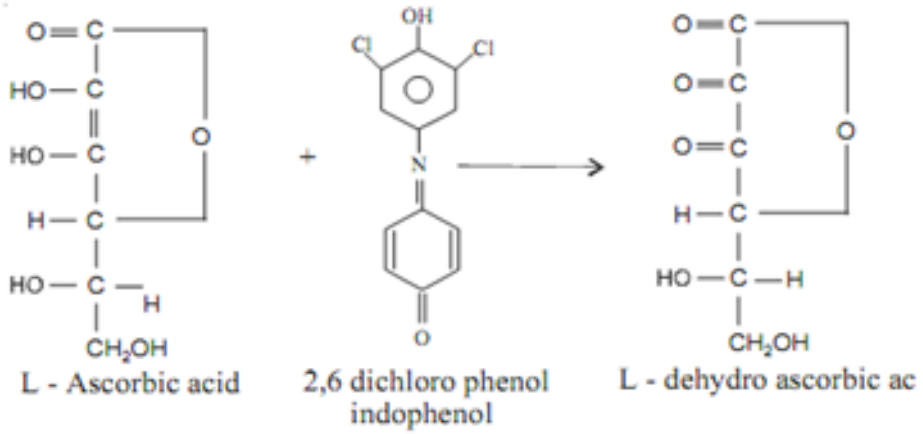
นอกจากนี้พบว่ามีงานวิจัยที่เกี่ยวกับวิตามินซีกับการสมานแผลไฟไหม้พบว่าเมื่อระยะเวลาในการทดสอบที่เท่ากัน บาดแผลที่ทดสอบด้วย วิตามินซี 10% ควบคู่กับยาทา 1%

silver sulfadiazine ให้ผลในการสมานแผล ได้มากกว่าการให้ยา 1% silver sulfadiazine เพียงอย่างเดียว (Hamid Sarpooshi, Mohammd Haddadi, Mohammad Siavoshi, & Rohollah Borghabani, 2017) และพบว่าการใช้ วิตามินซี 10% ในตำรับครีม (10% ascorbic acid, 2% zinc sulphate, and 0.5% tyrosine) กับแผลจากการเลเซอร์ CO_2 สามารถลดรอยแดงได้อย่างรวดเร็วภายใน 2 สัปดาห์ ซึ่งรวดเร็วกว่าการใช้ petrolatum-based emollient cream (Hydrotone) ที่ต้องใช้เวลานานถึง 8 สัปดาห์ รอยแดงจึงจะหายไป (Tina S. Alster MD & Tina B. West MD, 2013) และสำหรับการสังเคราะห์คอลลาเจน ได้มีงานวิจัยที่ทำการทดลองเปรียบเทียบผลของกรดแอสคอร์บิกต่อการสังเคราะห์คอลลาเจนของเซลล์ผิวหนัง fibroblasts ของผู้บริจาคที่มีอายุแตกต่างกัน คือ กลุ่ม Newborn (3-8 ปี) และกลุ่ม Elderly (78-93 ปี) พบว่าทั้ง cell line ทั้ง 2 กลุ่มมีความสามารถในการสังเคราะห์คอลลาเจนได้เพิ่มขึ้นจากเดิมคือ 10.5% และ 6.2% ไปเป็น 19.9% และ 12.4% ตามลำดับ (Phillips et al., 1994)

2.2.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

2.2.1.1.1 การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี โดยวิธีการไตเตรท (titration) ของ AOAC (1990)

เป็นการหาปริมาณวิตามินซีในสภาพรีดิวซ์ (reduced form) ของกรดแอสคอร์บิค โดยการไตเตรทด้วย 2, 6-dichloroindophenol (DPIP) ซึ่งมีสีน้ำเงิน ในสภาพออกซิไดซ์ (oxidizing agent) ซึ่งจะมีจุดยุติเป็นสีชมพู อย่างน้อย 15 วินาที



ภาพประกอบ 3 แสดงการไตเตรทด้วย 2, 6-dichloroindophenol titrimetric method

ที่มารูปภาพ:("Define titrimetric method - 2, 6 dichlorophenol indophenol," 2019)

2.2.1.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

HPLC เป็นเทคนิคการแยกสารผสมที่อยู่ในตัวอย่างให้แยกออกจากกัน โดยมีเฟส 2 เฟส คือ เฟสคงที่ (stationary phase) และมีเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งขึ้นอยู่กับความสามารถเข้ากันได้ของสารนั้น ๆ กับ mobile phase หรือ stationary phase ซึ่งวิตามินซีเป็นสารที่มีขั้ว จึงเหมาะกับให้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารที่มีขั้วเช่นกัน โดยสารที่ถูกแยกออกมาจะถูกตัวตรวจวัด (detector) จับสัญญาณ และแสดงออกมาในรูป chromatogram เป็นพีค (peak) เพื่อใช้ในพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร เทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี

เมื่อได้ศึกษาเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์หาวิตามินซี ที่มีเหมาะสมในการใช้วิเคราะห์ พบว่ามีงานวิจัยที่ทำการเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี ด้วยวิธีไตเตรทของ AOAC และเทคนิค HPLC ในตัวอย่างอาหาร 14 ชนิด พบว่าเทคนิค HPLC มีความแม่นยำสูงกว่าวิธีไตเตรทของ AOAC ทั้งการไตเตรทเป็นวิธีการที่ต้องใช้ความชำนาญในการมองเห็นของจุดยุติ เพื่อหลีกเลี่ยงการไตเตรทเกิดจุดยุติ (over titration) (นิภาภรณ์ ลักษณ์สมยา, 2541) มีงานวิจัยที่ใช้ HPLC วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในมะม่วงหาวมะนาวโห่ (Pewlong et al., 2014) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาสุกต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วย HPLC พบว่าผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่มีสีขาวปนแดง มีปริมาณวิตามินซีมากกว่าระยะการสุกอื่น ดังตาราง

ตาราง 1 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีกับระยะการสุกของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่

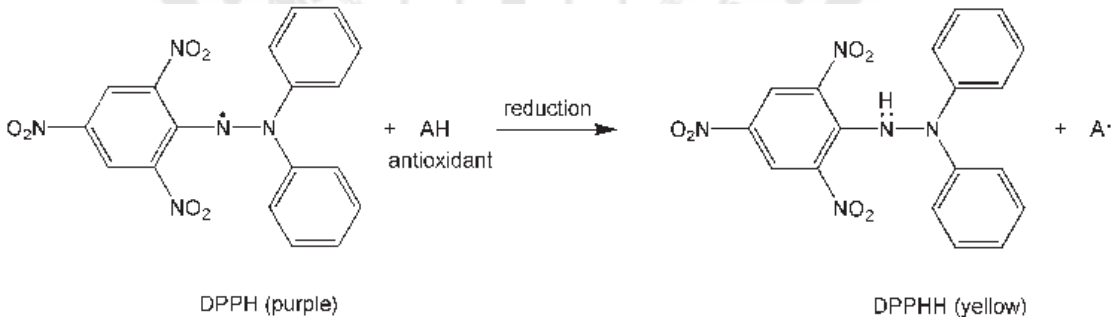
fruit ripening stage	vitamin c (mg/100g)
unripened	300.75± 57.65[b]
half-ripened	307.20± 26.75[b]
fully-ripened	180.40± 43.09[a]

Values are expressed as mean ± SD of triplicates measurement.
Different letters in the same column indicate significant differences at $p<0.05$.

2.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ หรือสารต้านออกซิเดชัน เป็นสารที่มีความสามารถในการรับอิเล็กตรอนเดี่ยว (free radicals) ที่มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาสูง โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะทำหน้าที่ดักจับ free radicals เพื่อหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ จนเกิดความเสถียร (Lobo, Patil, Phatak, & Chandra, 2010) แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ คือผัก ผลไม้ และสมุนไพร ซึ่งในแต่ละชนิดก็จะมีสารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน สารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในอาหาร เช่น วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอี สารประกอบฟีนอลิก เป็นต้น ซึ่งมีผลทำให้ลดอัตราการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น มะเร็ง โรคหัวใจ ภาวะข้อต่ออักเสบ และการเสื่อมของอวัยวะต่าง ๆ มีรายงานการศึกษาในอาหารและผลไม้ เช่น การศึกษาปริมาณของฟีนอลิก และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในตัวอย่างองุ่นที่นำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ลูกเกด จำนวน 7 ยี่ห้อการค้า พบว่าลูกเกดจากผลองุ่นสีดำสายพันธุ์ cardinal มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันถึง 27.88 mM Fe (II) ซึ่งสูงกว่ายี่ห้ออื่น ๆ (Meng et al., 2011)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ DPPH radical scavenging activity assay (DPPH assay) โดยใช้สาร DPPH ที่เป็นสารอนุมูลอิสระ มีสีน้ำเงินม่วง เมื่อเกิดปฏิกิริยาโดยการให้อิเล็กตรอนอิสระ กับสารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในสารสกัดมาเป็นตัวรับอิเล็กตรอน เพื่อหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แล้วจะเกิดการเปลี่ยนแปลงให้ DPPH มีสีจางลง

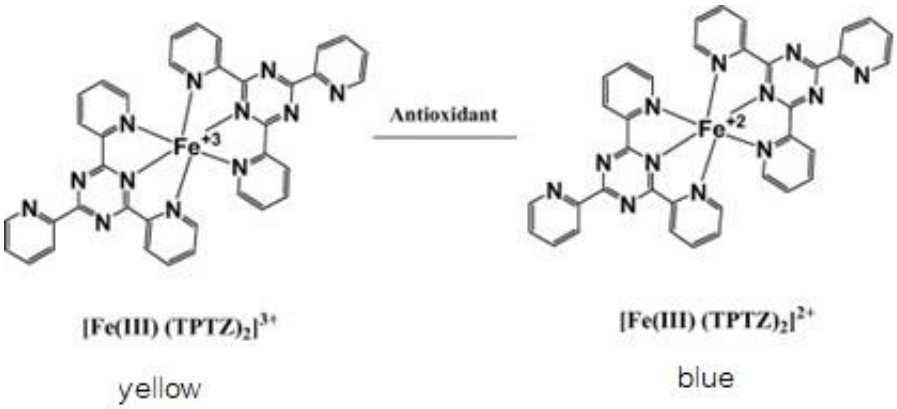


ภาพประกอบ 4 แสดงการเกิดการรีดิวซ์สาร DPPH

ที่มารูปภาพ:(Ivana GajiĆ, Ljiljana StanojeviĆ, Ana TaČiĆ, & Jelena StanojeviĆ, 2020)

การรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนมุลูอิสระ (ferric ion reducing- antioxidant power assay, FRAP assay) จากการเปลี่ยนสีของสารประกอบเชิงซ้อนไปจากเดิม คือเมื่อ

สารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) เมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชัน แล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous- tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) ที่มีสีน้ำเงินม่วง



ภาพประกอบ 5 แสดงปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine

ที่มารูปภาพ:(Pérez et al., 2007)

2.3 รังสีแกมมา (gamma rays)

เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าพลังงานสูง ที่ได้จากไอโซโทปกัมมันตรังสี คือ โคบอลต์ 60 (cobalt-60) มีอำนาจการทะลุทะลวงสูง การฉายรังสีแกมมาเป็นเทคนิคหนึ่งที่ได้รับนิยมใช้ในด้านการถนอมอาหารที่ใช้เวลาน้อย เกิดความร้อนต่ำ เพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ และทำลายสิ่งที่ไม่พึงประสงค์ของตัวอย่าง ทำให้การเปลี่ยนแปลงทางเคมีขึ้น และจากการศึกษาเพิ่มเติมมีรายงานการวิจัยพบว่า รังสีแกมมาได้ส่งผลต่อสารพฤกษเคมี และสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างได้เช่นกัน จากวิจัยที่ศึกษาการฉายรังสีแกมมาในตัวอย่างน้ำแครอทที่ปริมาณรังสี 3 กิโลเกรย์ (kGy) ในระยะ 3 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น (Song et al., 2006) นอกจากนี้ยังพบรายงานการฉายรังสีแกมมาในตัวอย่างผงโรสแมรี่ ที่ปริมาณรังสี 30 kGy ทำให้สารประกอบฟีนอลิก จากตัวอย่างที่สกัดด้วยน้ำ มีค่ามากกว่าตัวอย่างไม่ฉายรังสี 35% และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากตัวอย่างที่สกัดด้วยน้ำ มีค่ามากกว่าที่ไม่ฉายรังสี 22% (Pérez et al., 2007) และการศึกษาการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 20 kGy ในเห็ดบราซิลพบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่ามากกว่าที่ไม่ฉายรังสี 100.7% (Harrison & Were, 2007)

2.4 ครีม (cream)

จัดเป็นเครื่องสำอางที่ใช้ภายนอกร่างกาย ในรูปอิมัลชัน (emulsion) ที่ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด ที่มีไม่สามารถเข้ากันได้ เช่น น้ำ และน้ำมัน จึงจำเป็นต้องมีสารช่วยให้ทั้ง 2 ส่วนประสานเข้าด้วยกัน คือ สารก่ออิมัลชัน (emulsifier) เมื่อมองภายนอกลักษณะของอิมัลชันจะมีความเป็นเนื้อเดียวกัน แต่เมื่อนำมาส่องด้วยกล้องจุลทัศน์จะเห็นลักษณะแบ่งเป็น 2 วัฏภาค คือ วัฏภาคภายใน (internal or dispersed phase) ที่จะกระจายตัวอยู่ใน วัฏภาคภายนอก (external or continuous phase) ชนิดของอิมัลชันจะแบ่งตามประเภทของวัฏภาคในตำรับ

2.4.1 **ครีมชนิดน้ำมันในน้ำ** (oil in water emulsion; O/W)

เป็นครีมที่มีน้ำมันเป็นวัฏภาคภายใน และมีน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก จึงมีความเหนอหนะน้อยทำให้เป็นที่นิยม พบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมทาหน้า และโลชั่นทาผิว เพราะเมื่อทาแล้วกระจายตัวได้ดี แต่พบว่ามีข้อเสียคือ มีสามารถในการเคลือบผิวได้น้อย เนื่องจากวัฏภาคภายนอกเคลือบด้วยน้ำ เมื่อทาลงบนผิวจะให้ความรู้สึกเหมือนนำน้ำมาเคลือบลงบนผิว และทำให้ถูกล้างออกไปได้ง่าย

2.4.2 **ครีมชนิดน้ำในน้ำมัน** (water in oil emulsion; W/O)

เป็นครีมชนิดที่มีน้ำเป็นวัฏภาคภายใน และมีน้ำมันเป็นวัฏภาคภายนอก ซึ่งต่างจากแบบแรก พบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมล้างหน้า, ครีมทากลางคืน และครีมนวดหน้า เป็นต้น เมื่อน้ำมันเป็นวัฏภาคภายนอกตำรับ ทำให้สามารถเคลือบผิวได้ดี และคงอยู่บนผิวได้ยาวนอน แต่มีข้อเสียคือ ตำรับมีความเหนอหนะสูง เนื่องมาจากมีน้ำมันมาก (ประมาณ 60-90%) ทำให้ผิวดูมันวาว จึงไม่เป็นที่นิยม และไม่เหมาะกับภูมิอากาศร้อนของประเทศไทย

2.4.3 **ครีมเบสซิลิโคน** (silicone base cream)

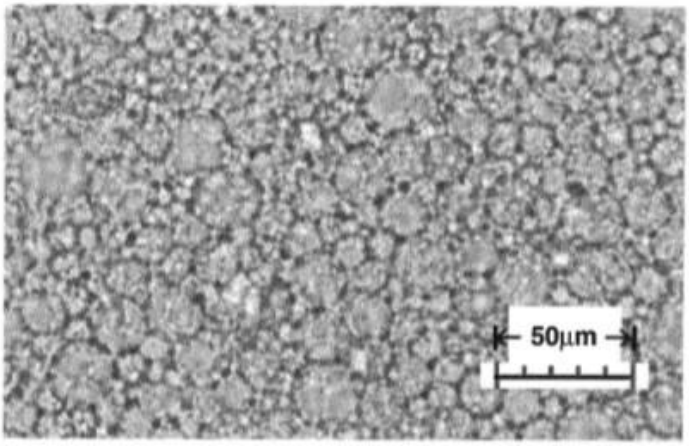
2.4.3.1 **ครีมชนิดซิลิโคนในน้ำ** (silicone in water emulsion; Si/W)

เป็นครีมเบสอิมัลชันชนิดที่มีซิลิโคนเป็นวัฏภาคภายใน และมีน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก พบในเครื่องสำอาง เช่น ครีมรองพื้น เป็นต้น มีลักษณะเนื้อครีมเหลว ไม่เหนอะหนะ บางเบา สามารถเกลี่ยบนผิวได้ดี เป็นตำรับที่เหมาะกับสารสำคัญละลายในน้ำมันซิลิโคน

2.4.3.2 **ครีมชนิดน้ำในซิลิโคน** (water in silicone emulsion; W/Si)

เป็นครีมเบสอิมัลชันชนิดที่มีน้ำเป็นวัฏภาคภายใน และมีซิลิโคนเป็นวัฏภาคภายนอก พบในเครื่องสำอาง เช่น ครีมบำรุงผิว ครีมทาหน้า เป็นต้น ซิลิโคนทำให้เนื้อครีมเกลี่ยง่าย เคลือบผิวได้ดี ไม่เหนอะหนะ เหมาะกับผู้ที่มีผิวแห้ง คือจะช่วยให้ผิวกักเก็บน้ำใต้ผิวหนังได้ดี และ

ไม่เพิ่มความมันวาว และไม่เพิ่มความเหนอะหนะให้กับผู้ที่มีผิวมัน เป็นตำรับที่เหมาะกับสารสำคัญละลายในน้ำ



ภาพประกอบ 6 แสดงอนุภาคของอิมัลชัน ชนิด W/Si ที่ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์

ที่มารูปภาพ:(Lee, 2014)

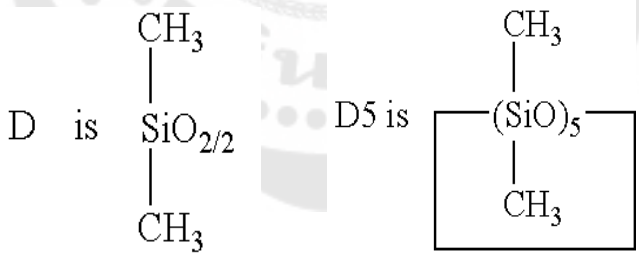
ครีม waterdrop emulsion มีชื่อเรียกภาษาไทยว่า “ครีมน้ำแตก” เป็นอิมัลชัน W/Si ที่อยู่ในรูปผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิว สำหรับสาเหตุที่เรียกว่าว่าครีมน้ำแตก เนื่องมาจากเมื่อทาครีมลงบนผิวแล้ว เนื้อครีมส่วนหนึ่งจะแตกตัวออกมาเป็นน้ำในทันที (quick breaking emulsions) ส่วนเนื้อครีมอีกส่วนจะยึดติดอยู่กับผิวในบริเวณที่ทา กลไกการเกิดซิลิโคนอิมัลชันคือการทำให้ของเหลวเกิดการแตกตัว และกระจายตัวเป็นหยดเล็ก ๆ เพื่อทำให้ผิวระหว่างของเหลว 2 ชนิด เข้ากันได้ไม่เกิดการแยกชั้น สามารถทำได้ด้วยการใช้แรงกล เช่น การกวนผสมด้วยมือ หรือใช้เครื่องกวนผสม (homogenizer) จนกลายเป็นเนื้อเดียวกัน ข้อดีคือ ซิลิโคนจะสามารถเคลือบผิวได้ดี มีความเหนอะหนะน้อย และไม่ใช้ความร้อนในการเตรียมตำรับ ทำให้เหมาะสำหรับเตรียมร่วมกับสารสำคัญที่สลายตัวได้ง่ายที่อุณหภูมิสูง และทำให้สารสำคัญภายในมีเสถียรภาพ

2.5 ซิลิโคน (silicone)

ซิลิโคน เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ มีส่วนประกอบหลักคือ ซิลิคอน (silicon) โดยมีโครงสร้างพื้นฐานสำคัญ คือ ธาตุออกซิเจน ไฮโดรเจน และคาร์บอนเป็นธาตุองค์ประกอบร่วมใน

โมเลกุล สามารถนำไปทำประโยชน์ได้หลากหลาย ซิลิโคนมีสมบัติการนำความร้อนต่ำ ความเป็นพิษน้อย และไม่เป็นอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ซิลิโคนได้นำมาใช้ทางการแพทย์ และในอุตสาหกรรมความงาม ซิลิโคนมีลักษณะเป็นของเหลวใส จึงสามารถแต่งสีในตำรับได้ง่าย ไม่มีกลิ่น อ่อนโยน ไม่ระคายผิว ไม่เหนอะหนะ และกระจายตัวครอบคลุมผิวได้ดี ให้สัมผัสนุ่มลื่นจึงเหมาะผลิตภัณฑ์ที่กับผม และผิวหนัง (Thomas, 2014. April 06) สามารถนำไปใช้ได้อย่างกว้างขวางในเครื่องสำอางสำหรับใช้แต่งหน้า บำรุงผิว ผลิตภัณฑ์เส้นผม ผลิตภัณฑ์กันแดด ผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกาย และผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิว (cleansing) เป็นต้น ชนิดของซิลิโคนที่นำมาใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง ยกตัวอย่างเช่น ไซโคลเพนตะซิโลเซน

ไซโคลเพนตะซิโลเซน(cyclopentasiloxane) เป็นซิลิโคนชนิดหนึ่ง มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยไดเมทิลพอลิไซโลเซน (dimethylpolysiloxane; D) เรียงต่อกัน 5 โมเลกุล (D5) เป็น 5 เหลี่ยม มีลักษณะเป็นของเหลวใส สามารถระเหยได้ (volatile silicone) และไม่มีกลิ่น ไม่สามารถดูดซึมเข้าสู่ผิวหนัง อ่อนโยนไม่ระคายผิว ไม่เหนอะหนะ และกระจายตัวครอบคลุมผิวได้ดี ให้สัมผัสนุ่มลื่นจึงเหมาะผลิตภัณฑ์ที่กับผม และผิวหนัง (Montemayor, Price, & van Egmond, 2013) สามารถนำไปใช้ได้อย่างกว้างขวางในเครื่องสำอางสำหรับแต่งหน้า ครีมบำรุงผิว ผลิตภัณฑ์เส้นผม ผลิตภัณฑ์กันแดด ผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกาย และผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิวต่าง ๆ



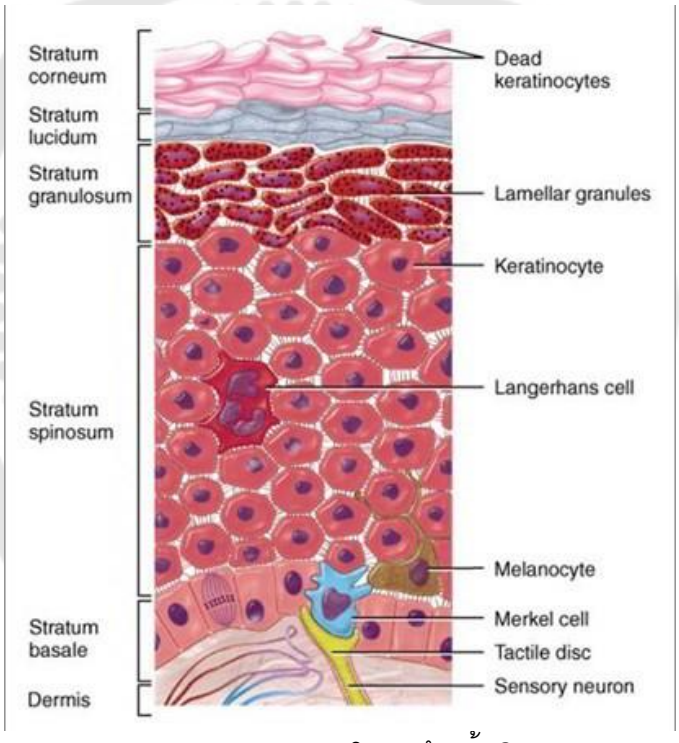
ภาพประกอบ 7 แสดงโครงสร้างเคมีของไดเมทิลพอลิไซโลเซน(D) และไซโครเพนตะซิโลเซน (D5)

ที่มารูปภาพ:(Ihara, 2004)

2.6 การดูดซึมทางผิวหนัง

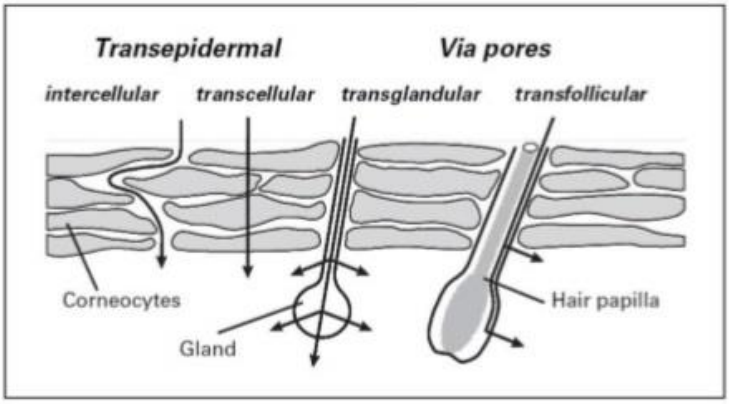
ผิวหนังเป็นอวัยวะที่มีพื้นที่มากที่สุดในร่างกาย มีหนังกำพร้า (epidermis) เป็นผิวหนังที่อยู่ชั้นนอก โดยมีผิวหนังชั้นนอกสุดคือ stratum corneum ที่ทำหน้าที่ป้องกันร่างกายจากสิ่งแวดล้อมภายนอก และลดการสูญเสียน้ำของร่างกาย ซึ่งทำให้มีผลต่อการดูดซึมสารทางผิวหนัง

เช่นกัน (Lampe et al., 1983) จากการศึกษาพบงานวิจัยเกี่ยวกับการดูดซึมสารทางผิวหนังโดยการปิดทับผิวหนังด้วยแผ่นฟิล์มซิลิโคน (occlusive effect) เป็นการทำให้ชั้น stratum corneum เกิดการชุ่มน้ำจนเกิดการคลายตัว เกิดช่องว่างระหว่างเซลล์ สามารถเพิ่มการดูดซึมสารทางผิวหนังแบบ intercellular route มากขึ้นจากเดิม 17.5% ไปเป็น 49% (Tiemessen, Boddé, & Junginger, 1989) การปิดทับผิวหนังด้วยแผ่นฟิล์มซิลิโคนน่าจะมีผลคล้ายคลึงกับการทาครีมจำพวกที่ใช้สารพื้นฐานเป็นซิลิโคน (silicone base cream) สามารถเพิ่มความชุ่มชื้นให้ผิวหนังและเพิ่มการซึมผ่านของสารสำคัญ แต่ให้ผลน้อยกว่าเนื่องจากชั้นฟิล์มที่เกิดจากซิลิโคน จึงเป็นวิธีหนึ่งที่ทำให้สารสำคัญดูดซึมสู่ผิวหนังได้



ภาพประกอบ 8 แสดงโครงสร้างชั้นผิวหนัง

ที่มารูปภาพ:(Joseph H Volker, 2018)



ภาพประกอบ 9 แสดงกลไกการดูดซึมผ่านผิวหนัง

ที่มารูปภาพ: (Hagen Trommer & Reinhard H H Neubert, 2006)

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์เครื่องมือ

เครื่องฉายรังสีแกมมา	(Gamma chamber 5000, India)
UV spectrophotometer	(Shimadzu UV-1700, Japan)
ตู้บ่มเลี้ยงเซลล์	(Binder C150, Germany)
Microplate reader	(Evolution 300, USA)
เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง	(Mettler Toledo, Switzerland)
เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง	(Labconco Freeze Dryer, U.S.A)
เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	(JASCO, Japan)
เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ	(Heidolph, Germany)
เครื่องกวนผสมสารเคมี	(IKA RW 20 digital, Germany)
เครื่องวัดความหนืด (Rheometer)	(Thermo scientific, Germany)

3.1.2 สารเคมี

Folin-Ciocalteu phenol reagent

Gallic acid

Sodium carbonate (Na_2CO_3)

Ascorbic acid

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Ferrous sulfate ($FeSO_4$)

Iron (III) chloride; Ferric chloride ($FeCl_3$)

Sodium acetate (CH_3COONa)

2,4,6-tri (2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ)

Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)

3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide (MTT)

MEM ที่ผสม phenol red, sodium bicarbonate ($NaHCO_3$) และ glutamine

Dulbecco's modified eagle medium (DMEM)

Penicillin/streptomycin

Fetal Bovine serum (FBS)

Trypsin EDTA

Buffer Phosphate Saline (PBS) pH7.4

Isopropanol

Dimethyl sulfoxide (DMSO)

Cetyl PEG/PPG-10/1 Dimethicone

PEG/PPG-18/18 Dimethicone

Cyclopentasiloxane

Glycerin

Butylene Glycol

Sodium Chloride

Disodium EDTA

Propranolol HCL

Beeswax

Lanolin

Glyceryl monostearate

Tween 60

Span 60

Methylparaben

Propylparaben

น้ำกลั่น

Triethanolamine (TEA)

Minerol Oil

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

นำผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่มีสีขาวปนแดงมาล้างให้สะอาดแล้วผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำมาแช่แข็งที่อุณหภูมิลบ 80 องศาเซลเซียส ทำแห้งแบบเยือกแข็งด้วยเครื่อง freeze dry แล้วนำผลแห้งไปฉายรังสีแกมมา ที่ปริมาณรังสี 2, 4, 6 และ 8 กิโลเกรย์ มาบดละเอียด แล้วสกัดด้วยตัว

ทำละลาย เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยวิธี maceration นำมากรองด้วยกระดาษกรอง นำส่วนใสมาระเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็งเครื่อง freeze dry เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จนได้สารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่แห้ง นำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิลบ 20 องศาเซลเซียส เพื่อทำการทดลองต่อไป

3.2.2 **การทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ**

3.2.2.1 **ทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอล** (total phenolics)

หาปริมาณสารประกอบฟีนอลได้ ด้วยวิธี Folin–Ciocalteu method โดยนำตัวอย่างสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร มาเติมสารละลาย folin ciocalteu reagent ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม 6% Na_2CO_3 ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 90 นาที เพื่อให้สารฟีนอลแตกตัวไปอยู่ในรูปฟีนอเลทไอออน เมื่อทำปฏิกิริยากับสาร folin ciocalteu reagent จะทำให้ได้สารละลายสีม่วง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 นาโนเมตร โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน (Velioglu, Mazza, Gao, & Oomah, 1998)

3.2.2.2 **ทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ** (radical scavenging activity*)*

ด้วยวิธีการ DPPH radical- scavenging activity assay โดยนำตัวอย่างสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร มาเติมสารละลาย 0.08 mM DPPH สีน้ำเงินม่วง ที่มีฤทธิ์เป็นสารอนุมูลอิสระ ปริมาตร 900 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที เมื่อเกิดปฏิกิริยาโดยสาร DPPH ให้อิเล็กตรอนอิสระ แล้วจะเกิดการเปลี่ยนแปลงให้ DPPH มีสีจางลง จากนั้นนำมาวัดการค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ลดลงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995)

3.2.2.3 **ทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชัน**

จากการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนมุลูอิสระ (ferric ion reducing-antioxidant power assay, FRAP assay) จากการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อนจากเดิมมีสีเหลือง ของ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) เปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous- tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) ที่มีสีน้ำเงินม่วง ด้วยการนำตัวอย่างสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมเข้ากับ FRAP solution ที่ประกอบด้วย CH_3COONa : $FeCl_3$: TPTZ อัตราส่วน 10:1:1 มิลลิลิตร ปริมาตร 2,700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 615 นาโนเมตร โดยใช้ ferrous sulfate เป็นสารมาตรฐาน (Langley-Evans, 2000)

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (vitamin c)

ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ด้วยการนำตัวอย่างสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่มาละลายด้วยน้ำ ให้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมากรองด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร และใช้ L-ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน) (Pewlong et al., 2014) โดยมีสภาวะในการทดสอบ ดังนี้

คอลัมน์ : C18 Sunfire Water (150 x 4.5 mm)

เฟสเคลื่อนที่ : 50mM KH2PO4 (pH 3) : methanol [90 : 10]

อัตราการไหล : 0.8 ml/นาที

UV detector : 205 nm.

3.2.4 การทดสอบความเป็นพิษ (Cytotoxicity)

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ฉายรังสีแกมมาต่อเซลล์ HaCat keratinocyte ด้วยเทคนิค MTT assay ซึ่งเป็นวิธีที่บอกถึงปริมาณเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ โดยอาศัยหลักการเปลี่ยนแปลงสี (colorimetric assay) การเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองของ MTT เป็นผลึก formazan ที่มีสีม่วง โดยอาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์ mitochondrial reductase ซึ่งจะพบได้ในเซลล์ที่มีชีวิต

โดยทำการเพาะเลี้ยง cell line keratinocyte ด้วยเซลล์ HaCat (human epidermal keratinocyte) ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco's modified eagle medium (DMEM) ชนิดกลูโคสสูง (high glucose) ที่ประกอบด้วย 10% FBS กับ 1% penicillin/streptomycin เป็นส่วนประกอบ นำเข้าตู้บ่มเลี้ยงเซลล์ที่สภาวะ 37 องศาเซลเซียส และ 5% CO2 การ subculture cell โดยการนำเซลล์ที่เพาะเลี้ยงมาถ่ายอาหารออก แล้วล้างส่วน monolayer ออก ด้วย PBS ที่ปราศจากแคลเซียม และแมกนีเซียม จากนั้นถ่ายเอา PBS ออก แล้วเติมสารละลาย trypsin EDTA ลงไป 200 ไมโครลิตร นำเข้าตู้บ่มอีกครั้งเป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้เซลล์ลอยตัวหลุดออกจากขวด นำมาเติม DMEM ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เพื่อ inactivated trypsin แล้วนำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในหลอด centrifuge และปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที ที่ความเร็ว 1,200 รอบต่อนาที เซลล์จะตกตะกอนที่ด้านล่างของหลอด ทำการถ่ายสารละลายออกก่อน แล้วเติม DMEM ลงไปอีกครั้ง ทำให้เซลล์กระจายตัวจากด้านล่างหลอดให้เป็นเนื้อเดียวกันกับ DMEM ด้วยการใช้ปิเปตดูดเข้าออก จากนั้นนำเซลล์ลงใน T75 flask แล้วบ่มในตู้เลี้ยงเซลล์ต่อไปเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยจะเพาะเลี้ยงเซลล์ไปอีกอย่างน้อย 2 รุ่นจากเซลล์ที่ thaw ออกมาเป็นครั้งแรกก่อนการทดสอบ เพื่อให้เซลล์ที่ใช้ทดสอบมีความแข็งแรงดี จากนั้นนำมาทำการทดสอบ MTT assay ด้วยการนำเซลล์ มาเพาะเลี้ยงใน 96-well plate โดยให้เซลล์ HaCat มีความหนาแน่น 5,000 เซลล์ต่อหลุม (ISO 10993-

5:2009(E), 2009) บ่มเลี้ยงไว้เป็น เวลา 24 ชั่วโมง จากเติมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่ความเข้มข้นระหว่าง 25 – 100 mg/mL มาบ่มเลี้ยงเซลล์ต่ออีกเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ในตู้บ่มเลี้ยงเซลล์ จากนั้นถ่ายเอาสารสกัดออก แล้วเติมสารละลาย MTT ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ถ่ายสารละลาย MTT ออกแล้วเติมสารละลาย isopropanol ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาทีในที่มืด เพื่อละลาย formazan crystals ก่อน แล้วนำมาวิเคราะห์ค่า optical density (OD) ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (ISO 10993-5:2009(E), 2009)

โดยในการทดลองจะต้องมีการตรวจคุณภาพของการทดสอบด้วยตัวอย่างอ้างอิงโดยเลือกใช้ DMSO เป็น positive control และให้อาหารบ่มเลี้ยงเซลล์เปล่าที่ใช้กับการทดลองนั้น ๆ เป็น negative control รวมอยู่กับตัวอย่างที่ทำการทดสอบด้วย (ISO 10993-5:2009(E), 2009) แล้วนำมาคำนวณหาอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ ดังสูตร

การรอดชีวิตของเซลล์ (%) = (A sample 570 / A control 570) x 100

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยวิธี one-way ANOVA ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

3.2.5 การเตรียมตำรับครีม

3.2.5.1 ตำรับเครื่องสำอางชนิดครีมน้ำในซิลิโคน (W/Si) แบบ waterdrop emulsion

1. นำส่วนผสมในเฟส A ได้แก่ cetyl PEG/PPG-10/1 dimethicone และ cyclopentasiloxane มาผสมให้เข้ากัน สูตรแสดงดังตารางที่ 2

2. นำส่วนผสมในเฟส B ได้แก่ น้ำ, glycerin, butylene glycol และ sodium chloride ผสมให้เข้ากัน

3. จากนั้นให้นำค่อย ๆ เทผสมเฟส B ลงในเฟส A กวนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนผสมสารที่ความเร็ว 400 รอบต่อนาที จนเข้ากัน และขึ้นเป็นเนื้อครีม

4. เติมเฟส C แล้วกวนผสมให้เข้ากัน เก็บสำหรับทำการทดสอบต่อไป

ตาราง 2 แสดงสูตรตำรับครีม waterdrop emulsion แบบน้ำในซิลิโคน (W/Si)

ส่วนประกอบ	หน้าที่ในตำรับ	ตำรับ (%w/w)				
		F1	F2	F3	F4	F5
Cyclopentasiloxane	ซิลิโคน	5.0	10.0	5.0	10.0	5.0
Cetyl PEG/PPG-10/1 Dimethicone	สารก่อซิลิโคนอิมัลชัน	5.0	10.0	-	-	2.5
PEG/PPG-18/18 Dimethicone	สารก่อซิลิโคนอิมัลชัน	-	-	5.0	10.0	2.5
น้ำ	น้ำในตำรับ	82.0	72.0	82.0	72.0	82.0
Glycerin	สารให้ความนุ่มลื่น	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Butylene Glycol	สารทำให้ผิวชุ่มชื้น	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Sodium Chloride	เพิ่มความหนืด	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Phenoxy ethanol	สารกันเสีย	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Alcohol	ตัวทำละลาย	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5

3.2.5.2 **ตำรับเครื่องสำอางชนิดครีมน้ำในน้ำมัน** (W/O)

1. การเตรียมวัฏภาคน้ำมัน ดังสูตรที่แสดงในตารางที่ 3 ด้วยการหลอมประกอบส่วนที่เป็นไขมันของแข็ง ได้แก่ ละลาย mineral oil, beeswax, lanolin, glyceryl monostearate, propyl paraben และ span 60 ใส่ บีกเกอร์ ตั้งบน water bath คนให้ละลายจนเป็นเนื้อเดียวกัน ทำให้ร้อนจนถึงอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมวัฏภาคน้ำ โดยใส่น้ำ, tween 60 และ methyl paraben คนให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำขึ้นตั้งบน water bath ให้ร้อนจนถึงอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส

3. การทำให้เกิดอิมัลชัน เติมวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมัน พร้อมทั้งคนจนเกิดเนื้อครีมขึ้น

4. ละลายสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ 2 กรัมในเอทานอลไว้ ใส่สารละลายครีมขณะอุณหภูมิลดลงมาที่อุณหภูมิ 45 องศาสเซลเซียส

ตาราง 3 แสดงสูตรตำรับครีมน้ำในน้ำมัน (W/O) ที่มา: (จุฑาพร นามเสนาะ, 2558)

ส่วนประกอบ	%w/w	หน้าที่ในตำรับ
Mineral oil	34.20	สารให้ความนุ่มลื่น
Beeswax	12.70	สารให้ความนุ่มลื่น
Lanolin	5.00	สารให้ความนุ่มลื่น
Glyceryl monostearate	1.96	สารเพิ่มความหนืด
Tween 60	3.00	สารก่ออิมัลชัน
Span 60	2.00	สารก่ออิมัลชัน
Methylparaben	0.25	สารกันเสีย
Propylparaben	0.15	สารกันเสีย
Ethanol	1.50	ตัวทำละลาย
น้ำ	q.s	น้ำในตำรับ

3.2.6 การศึกษาเสถียรภาพ

3.2.6.1 เสถียรภาพทางกายภาพ

ทำการทดสอบเสถียรภาพแบบเร่ง (Accelerated Storage test) ด้วยการเร่งด้วยอุณหภูมิ (heating – cooling cycle) โดยทำการนำครีมที่เตรียมเสร็จ แบ่งใส่ขวดแก้วทึบแสงแล้วปิดฝาในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเข้าตู้อบที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 วัฏจักร โดยทำการทดสอบจำนวน 6 วัฏจักร โดยการวัดค่ากรดด่างด้วย pH meter 3 ครั้ง เปรียบเทียบสีด้วยตาเปล่า และวัดความหนืดของตำรับด้วยเครื่อง *rheometer* หัววัดชนิด plate-plate ใช้เทคนิคการวิเคราะห์แบบ viscosity โดยกำหนดช่วงในการวัดค่าที่ 0.1-500 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วัดทั้งหมด 3 ครั้ง สุ่มตัวอย่างทดสอบที่ 0, 2, 4 และ 6 วัฏจักร

3.2.6.2 เสถียรภาพทางเคมี

เพื่อศึกษาเสถียรภาพของตำรับครีม W/Si เปรียบเทียบกับตำรับครีม W/O ที่ผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ ทำการทดสอบเสถียรภาพทางเคมีโดยการใช้อุณหภูมิคงที่ 3 อุณหภูมิ (ตารางที่ 4) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ นำครีมที่อุณหภูมิต่าง ๆ มาชั่งตำรับอย่างละ 1 กรัม ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex จากนั้น

นำไป sonicated เป็นเวลา 5 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที (อัจฉราภรณ์ สิงห์หาญ & รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2015) นำส่วนใสมาทดสอบหาปริมาณวิตามินซีด้วยเทคนิค HPLC

ตาราง 4 แสดงสภาวะการทดสอบเสถียรภาพทางเคมีของตำรับครีม

สภาวะการเก็บ (องศาเซลเซียส)	การสุ่มตัวอย่างทดสอบ (สัปดาห์)
4	2, 4, 6 และ 8
30	2, 4, 6 และ 8
45	2, 4, 6 และ 8

บทที่ 4
ผลและอภิปรายผลการทดลอง

การพัฒนาตำรับครีมต้านออกซิเดชันจากสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีแกมมาชนิดน้ำในซิลิโคน ทำการศึกษาผลชนิดของตัวทำละลายต่อการสกัดสารจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ และเปรียบเทียบปริมาณรังสีแกมมาที่มีผลต่อปริมาณวิตามินซี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสกัดสารผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ นำสารสกัดที่ได้มาพัฒนาตำรับครีมชนิดน้ำในซิลิโคน โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงสารช่วยทางเภสัชกรรม ได้แก่ cetyl PEG/PPG-10/1 dimethicone และ PEG/PPG-18/18 dimethicone ที่เป็นสารก่ออิมัลชันชนิดซิลิโคน (silicone emulsifier) ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของตำรับและทดสอบด้านเสถียรภาพทางกายภาพของตำรับที่ได้ ตลอดจนเสถียรภาพทางเคมีของวิตามินซีในตำรับดดยเปรียบเทียบระหว่างตำรับครีมชนิดน้ำในซิลิโคนและครีมชนิดน้ำในน้ำมันที่ผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีแกมมา

4.1 การสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

4.1.1 ผลของชนิดตัวทำละลาย

การสกัดสารจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ, 50% เอทานอลกับน้ำ และ 80%เอทานอลกับน้ำ นำมาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และวิตามินซีจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอลได้ปริมาณสารสกัด (yield) ปริมาณสารฟีนอลลิกทั้งหมด (total phenolics) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด มากกว่าการสกัดด้วย 80% เอทานอลและน้ำ (ตาราง 5) สำหรับปริมาณวิตามินซีเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยการสกัดเปลือกและเมล็ดองุ่นด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล พบปริมาณสาร total phenolics และ DPPH มากกว่าการใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย (วงศ์จิตตภิญโญ; และคณะ, 2552) และงานวิจัยที่สกัดสารสกัดจากลูกเกด พบว่า เอทานอลที่ความเข้มข้น 20-60% เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัด total phenolics เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เอทานอลความเข้มข้น 80% (Zhao; & Hall, 2008) นอกจากวิตามินซีแล้ว สารประกอบฟีนอลก็จัดเป็นสารที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระในพืชและผลไม้ โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยส่วนที่มีขั้ว คือ หมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) และไม่มีขั้ว คือ หมู่แอลคิล (alkyl group; R) ที่ละลายได้ในแอลกอฮอล์ การใช้ตัวทำละลายชนิดเดียวในการสกัดอาจมีประสิทธิภาพน้อยกว่าการใช้สารละลายผสมเอทานอลสำหรับ

สกัดสารประกอบฟีนอล สามารถอธิบายตามหลักการ “like dissolves like” ซึ่งตัวทำละลายในการสกัดต้องมีความเป็นขั้วที่คล้ายคลึงกับสารที่ต้องการสกัด

ตาราง 5 แสดงปริมาณสารสกัด ปริมาณ total phenolics, DPPH, FRAP และวิตามินซี

ตัวทำละลาย	Yield (%)	Total phenolics (mg GAE/g)	DPPH (mg AAE/g)	FRAP (μmol/g)	วิตามินซี (mg/g)
น้ำ	6.50±0.21[a]	8.12±1.56[a]	4.74±0.44[a]	110.11±1.50[a]	5.04±0.48[a]
50% เอทานอลกับน้ำ	7.15±0.13[b]	27.84±1.52[c]	9.52±0.59[c]	264.71±7.87[c]	5.03±0.30[a]
80% เอทานอลกับน้ำ	6.65±0.42[ab]	19.58±3.12[b]	6.70±0.70[b]	146.77±7.21[b]	4.58±0.27[a]

Values are expressed as mean ± SD of triplicate measurements.

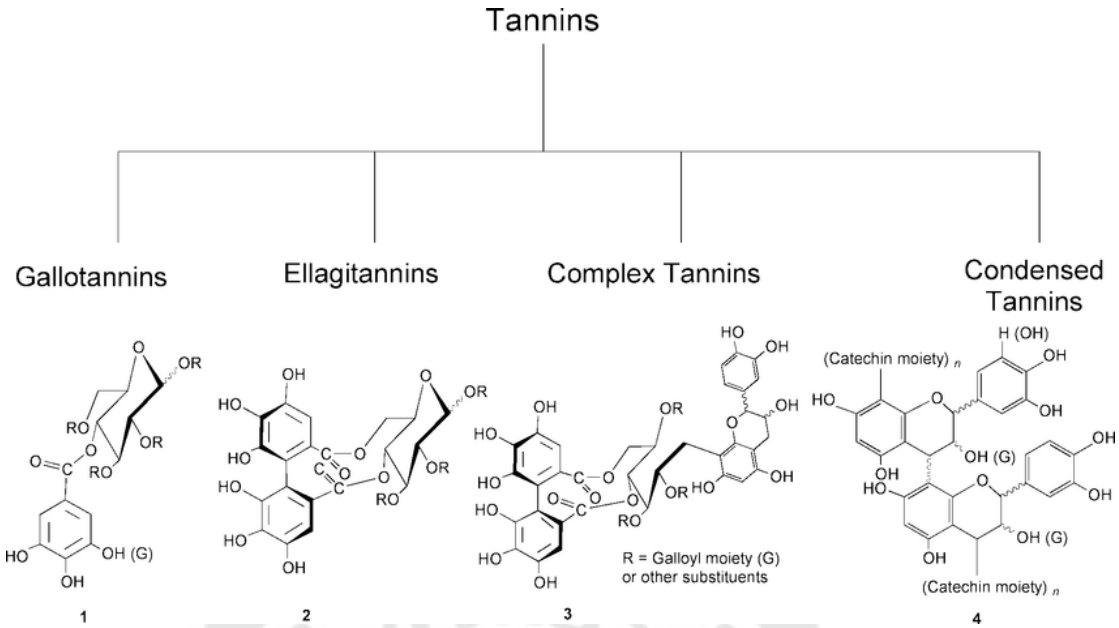
Signaling are indicated as follows: [a] $P < 0.05$, [b] $P < 0.01$, [c] $P < 0.001$.

Different letters in the same column indicate significant differences at $p \leq 0.05$.

GAE = gallic acid equivalent; AAE = ascorbic acid equivalent.

4.1.2 ผลของรังสีแกมมาต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณวิตามินซี

ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่มีสีขาวปนแดงมาทำแห้งแบบเยือกแข็ง นำไปฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 2, 4, 6 และ 8 kGy นำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล พบว่า ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีแกมมา 4, 6 และ 8 kGy มีปริมาณ total phenolics และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าตัวอย่างที่ฉายรังสี 2 kGy และตัวอย่างที่ไม่ได้ฉายรังสี (ตาราง 6) การเพิ่มขึ้นของสาร total phenolics มีความสอดคล้องกับงานวิจัยในสารสกัด almond skin พบว่าการฉายรังสีที่ 4 kGy มีปริมาณ total phenolics มากกว่าตัวอย่างที่ไม่ฉายรังสี (Harrison & Were, 2007) การเพิ่มขึ้นของปริมาณ total phenolics ในตัวอย่างพืช สันนิฐานว่ารังสีไปทำลายโครงสร้างของสารแทนนินที่เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโมเลกุลใหญ่ให้โครงสร้างของโมเลกุลเปลี่ยนแปลงไป (Variyar, Bandyopadhyay, & Thomas, 1998) อาจทำให้สารสำคัญมีการละลายสูงขึ้น ค่าที่ทดสอบจึงเพิ่มขึ้นได้ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของฤทธิ์อนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และความสามารถรีดิวซ์เฟอร์ริกด้วยวิธี FRAP มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหรือลดลงตามปริมาณ total phenolics ที่เปลี่ยนแปลง (ดลฤดี พิชัยรัตน์ & นพรัตน์ มะเห, 2557)



ภาพประกอบ 10 แสดงโครงสร้างของสารแทนนินชนิดต่าง ๆ

ที่มารูปภาพ:(K Khanbabaee & Teuns van Ree, 2002)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี พบว่า ตัวอย่างที่ไม่ได้ฉายรังสีมีปริมาณวิตามินซีมากที่สุด และปริมาณวิตามินซีจะมีค่าลดลงตามปริมาณรังสีแกมมาที่เพิ่มขึ้น (ตาราง 6) เนื่องมาจากวิตามินซีเป็นวิตามินที่สลายตัวได้อย่างรวดเร็วในสภาวะที่มีอากาศ แสง และความร้อน (ฉัตรชัย ไตรทอง, 2552) แม้ว่ากระบวนการฉายรังสีจะทำให้เกิดความร้อนต่ำ แต่สามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นได้ การลดลงของปริมาณวิตามินซีอาจมาจากการถูกเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับอนุมูลอิสระจากการฉายรังสี ทำให้วิตามินซีในรูปกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) สูญเสียไฮโดรเจนอะตอมจนเปลี่ยนแปลงรูปไปอยู่ในรูปกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (dehydroascorbic acid; DHA) (Snauwaert, Tobback, Anthonissen, & Maes, 1973) และพบว่าภายหลังการฉายรังสีมีผลทำให้ผักและผลไม้สูญเสียวิตามินซี ไม่เกิน 20% ซึ่งจัดอยู่ในการสูญเสียระดับต่ำเช่นกัน (Skala, McGown, & Waring, 1987)

ตาราง 6 แสดงปริมาณรังสีแกมมา ปริมาณ total phenolics, DPPH, FRAP และวิตามินซี

ปริมาณรังสีแกมมา (kGy)	Total phenolics (mg GAE/g)	DPPH (mg AAE/g)	FRAP (μmol/g)	วิตามินซี (mg/g)
ไม่ได้ฉายรังสี	50.65±0.22[c]	17.00±0.27[b]	442.35±0.68[c]	4.88±0.12[a]
2	51.79±0.54[b]	17.26±0.40[b]	452.60±0.46[b]	4.34±0.31[b]
4	55.46±0.36[a]	19.77±0.23[a]	475.11±0.54[a]	4.33±0.28[b]
6	55.45±0.40[a]	19.96±0.05[a]	472.64±1.28[a]	4.06±0.84[c]
8	55.10±0.72[a]	18.95±0.36[a]	470.00±1.37[a]	4.10±0.77[c]

Values are expressed as mean ± SD of triplicate measurements.

Signaling are indicated as follows: [a] $P < 0.05$, [b] $P < 0.01$, [c] $P < 0.001$.

Different letters in the same column indicate significant differences at $p \leq 0.05$.

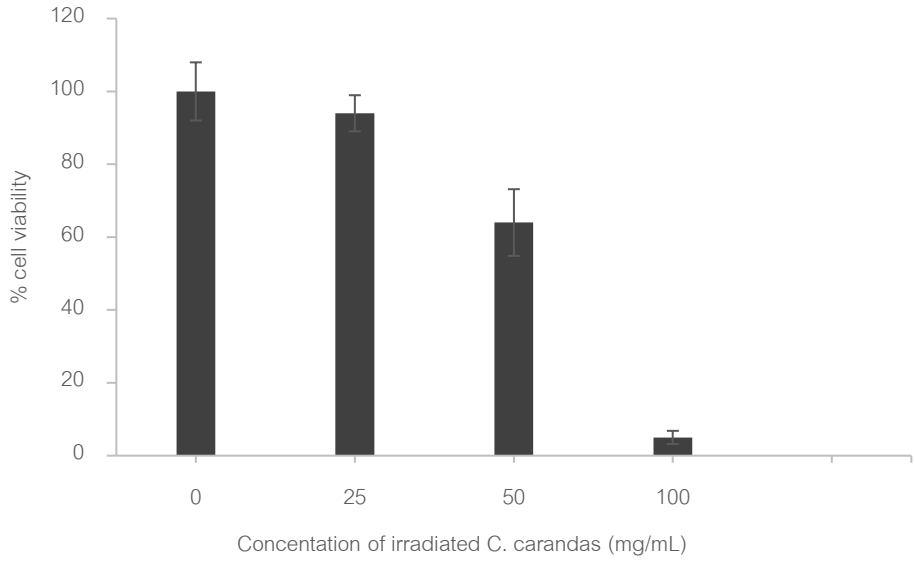
GAE = gallic acid equivalent; AAE = ascorbic acid equivalent.

ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่สีขาวปนแดงฉายรังสีแกมมาปริมาณ 4 kGy มีปริมาณ total phenolics และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ร่วมกับปริมาณวิตามินซีที่น้อยกว่าตัวอย่างที่ไม่ฉายรังสีเล็กน้อย คิดเป็น 11.27% นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณรังสีแกมมา 4 kGy เป็นปริมาณรังสีที่กระทรวงสาธารณสุขแนะนำเพื่อใช้สำหรับกำจัดเชื้อปรสิตได้ จึงทำให้ตัวอย่างผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีความปลอดภัยด้านจุลินทรีย์อีกด้วย ดังนั้นจึงนำมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีแกมมาปริมาณ 4 kGy มาพัฒนาเป็นสารสำคัญสำหรับต้านออกซิเดชันในตำรับครีมต่อไป

4.2. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์จะพิจารณจากความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ คือมีค่าร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ 90% (Chen, Xie, Yang, Liao, & Yu, 2010) เมื่อทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ฉายรังสีแกมมา 4 kGy ต่อเซลล์เพาะเลี้ยง HaCat (human keratinocyte) ด้วยวิธี MTT assay พบว่า ตัวอย่างที่ความเข้มข้น 25 mg/mL มีค่าร้อยละของการรอดชีวิตมากกว่า 90% และความเข้มข้น 50 mg/mL และ 100 mg/mL มีค่าร้อยละการรอดชีวิตน้อยกว่า 90% โดยร้อยละการรอดชีวิตที่ลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นสารสกัดที่เพิ่มขึ้น การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง HaCat เป็นเซลล์ผิวหนังที่ได้รับการยอมรับและมีผลทางคลินิกคล้ายกับการทำกับผิวหนังของมนุษย์จริง (Wattanapitayakul, Kunchana,

Chularojmontri, Jarisarapurin, & Sedtawong, 2017) จากการทดสอบนี้จึงสรุปได้ว่าสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ฉายรังสีแกมมา 4 kGy ที่ความเข้มข้น 25 mg/mL ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ HaCat สามารถนำมาใช้สำหรับพัฒนาตำรับครีมต้านออกซิเดชันต่อไป



ภาพประกอบ 11 แสดงร้อยละการรอดชีวิตของสารสกัดต่อเซลล์ HaCat cell

4.3 การพัฒนาตำรับครีมชนิดน้ำในซิลิโคน

การพัฒนาตำรับครีมชนิดน้ำในซิลิโคน (w/si) รูปแบบครีมน้ำแตก (waterdrop emulsion) โดยศึกษาผลของสารช่วยทางเภสัชกรรม 2 ชนิด ได้แก่ cetyl PEG/PPG-10/1 dimethicone (SE_1) และ PEG/PPG-18/18 dimethicone (SE_2) ซึ่งเป็นสารก่ออิมัลชันระหว่างน้ำและซิลิโคน (silicone emulsifier) ต่อสมบัติทางกายภาพ พบว่า ทุกตำรับมีเนื้อครีมเป็นเนื้อเดียวกัน ตำรับที่มี SE_1 เป็นส่วนประกอบ ได้แก่ ตำรับ F1 และตำรับ F2 มีเนื้อครีมสีขาวขุ่น เนื้อครีมจับตัวเป็นก้อน กระจายตัวไม่ดีทำให้เกลี่ยได้น้อย รู้สึกเหนอะผิวหลังทา (ตาราง 7) อาจมาจากสารช่วยทางเภสัชกรรม SE_1 มีสัดส่วนระหว่างส่วนที่ชอบน้ำกับส่วนที่ชอบน้ำมัน (hydrophile-lipophile balance; HLB) มีค่าน้อยกว่า 5 คือมีความเข้ากับน้ำมันได้ดี และละลายน้ำได้น้อย (วรรณี อุไพบูรณ์, 2547) การปรับเปลี่ยนสารช่วยทางเภสัชกรรมด้วยการปรับสัดส่วนระหว่าง PEG (polyethylene glycol) และ PPG (polypropylene glycol) จากเดิม คือ PEG/PPG 10/1 ไปเป็น PEG/PPG 18/18 ทำให้มีค่า HLB เท่ากับ 8 แสดงถึงความสามารถในการละลายน้ำได้

เพิ่มขึ้น จะทำให้ตำรับกระจายตัวได้ดีขึ้น (T. O'Lenick, 2017) ดังนั้นตำรับ F3 และตำรับ F4 เตรียมโดยใช้ SE_2 เป็นส่วนประกอบ เนื้อครีมมีสีขาวใส กระจายตัวดีเกลี่ยง่ายกว่า เมื่อผสมสารก่ออิมัลชัน SE_1 และ SE_2 ในตำรับ F5 ทำให้ตำรับกระจายตัวเกลี่ยบนผิวได้ดี แต่พบว่ารู้สึกเหนอะผิวคล้ายกับตำรับ F1 และ F2 *อาจเป็น*ผลจากสารประกอบใน silicone emulsifier ที่ต่างกัน ได้แก่ สาร cetyl dimethicone ที่โครงสร้างประกอบด้วยหมู่ R คือ cetyl group ถูกจัดเป็น silicone wax ชนิดเหลว เป็นสารเพิ่มเนื้อครีม และความหนืดข้นให้ตำรับ จึงอาจทำให้มีความรู้สึกเหนอะได้มากกว่า dimethicone ที่เป็นน้ำมันซิลิโคน ที่มีความบางเบาและกระจายตัวได้ดี (A. J. O'Lenick, 2008); (เสาวนีย กระสานติสุข & หทัยชนก รุณรงค์, 2549)

จากการศึกษาความหนืดพบว่าตำรับ F1, F3 และ F5 มีเฟสน้ำที่เป็นวัฏภาคภายในปริมาณมากกว่า 80% ของตำรับ ทำให้มีอนุภาคภายในหนาแน่นมาก เกิดการเคลื่อนที่ของอนุภาคได้น้อยเกิดแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมาก ทำให้ตำรับมีความหนืดมาก (ตาราง 7) แต่ความหนืดของตำรับครีมไม่สัมพันธ์กับการเกิดน้ำแตก ตำรับครีมที่มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 20 ไมครอน (μm) เมื่อเกลี่ยทาจะเกิดเป็นน้ำแตกได้ (ตาราง 7) ตำรับครีมน้ำในซิลิโคนเป็นอิมัลชันชนิดน้ำแตกเป็น แมโครอิมัลชัน (macroemulsion) ที่มีขนาดอนุภาคภายในขนาดใหญ่กว่าอิมัลชันทั่วไป อนุภาคขนาด 20 ไมครอน (μm) ทำให้อนุภาคภายในอิมัลชันเกิดการเสียสภาพอย่างรวดเร็วจากแรงกดขณะที่ทาครีมบนผิวหนัง ทำให้อนุภาคภายในแตกตัวเป็นน้ำ จึงสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (Lee, 2014)

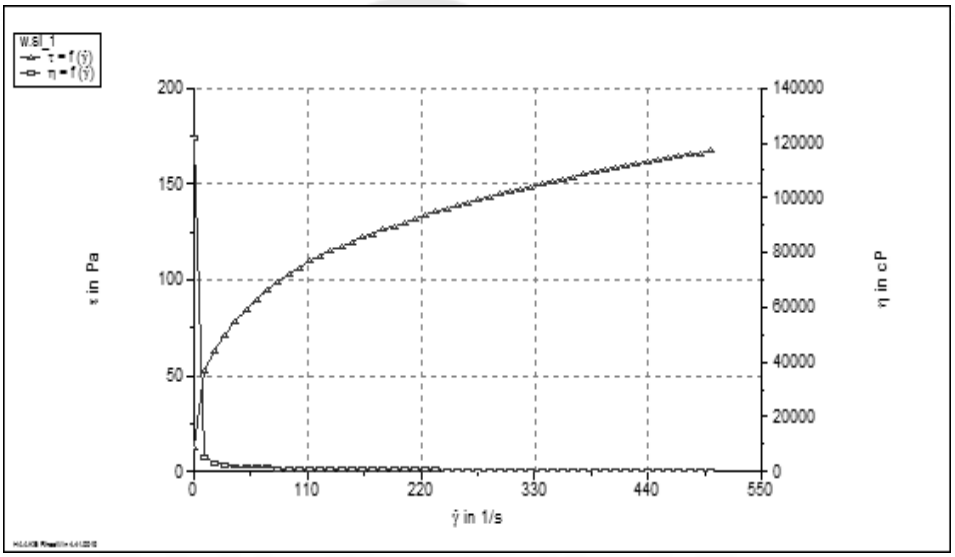
ตาราง 7 แสดงสมบัติทางกายภาพของตำรับครีม w/si

ตำรับ	สี	สมบัติทางกายภาพ				
		การเกลี่ย	เหนอะผิว	ความหนืด (cP) shear rate 1.0 (1/s)	ขนาดอนุภาค (μm)	การเกิดน้ำแตก
F1	ขาวขุ่น	*	**	39335.80±66.40	20.76±3.62	+
F2	ขาวขุ่น	*	**	33162.40±83.85	16.54±1.02	N/A
F3	ขาวใส	***	*	31948.00±64.29	21.70±7.66	+
F4	ขาวใส	***	*	26945.80±12.09	12.34±1.90	N/A
F5	ขาวขุ่น	**	**	27316.60±82.53	20.52±4.72	+

* หมายถึง น้อย ** หมายถึง ปานกลาง *** หมายถึง มาก

+ หมายถึง ปรากฏ N/A หมายถึง ไม่ปรากฏ

การศึกษาพฤติกรรมการไหลและความหนืดของตำรับ (ภาพประกอบ 12) พบว่าตำรับ w/si ที่เตรียมได้มีลักษณะการไหลที่ไม่เป็นไปตามกฎของนิวตัน (non newtonian flow) แสดงพฤติกรรมการไหลแบบซูโดพลาสติก (pseudoplastic flow) คือ เมื่ออัตราเฉือน (shear rate) เพิ่มขึ้น มีผลให้ความหนืด (viscosity) ของของไหลลดลงไม่คงที่ คือ เมื่อมีแรงกระทำจะทำให้ห่วงโซ่โมเลกุลคลายตัวออกจากกัน ทำให้มีความหนืดลดลง พบได้กับสารกลุ่มพอลิเมอร์และของเหลวที่มีอนุภาคสารแขวนลอย (จิตติพร เครือเนตร, 2546)



ภาพประกอบ 12 แสดงพฤติกรรมการไหลของตำรับน้ำในซิลิโคนตำรับ F3

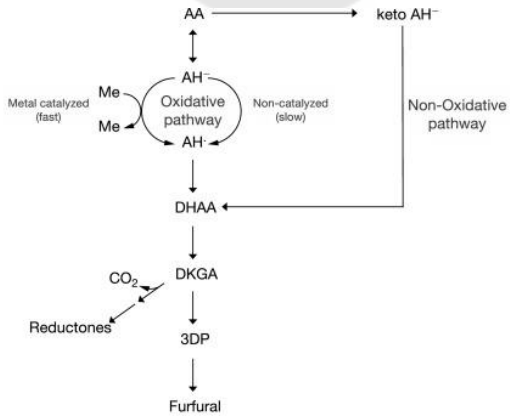
ตำรับครีมน้ำในซิลิโคน พิจารณาจากความเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่เหนอะผิวหลังการทา และสามารถแตกตัวเป็นน้ำได้ พบว่า ตำรับ F3 เป็นตำรับที่มีความน่าสนใจสำหรับนำมาพัฒนาเป็นตำรับครีมรูปแบบ waterdrop emulsion ผสมการสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่เพื่อเปรียบเทียบเสถียรภาพทางกายภาพและทางเคมีกับตำรับอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันต่อไป

4.4 การเปรียบเทียบตำรับครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

เปรียบเทียบชนิดของตำรับครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีแกมมา ได้แก่ ครีมชนิดน้ำในซิลิโคน (w/si) กับครีมชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o) ในด้านเสถียรภาพทางกายภาพและเสถียรภาพเคมีของตำรับครีม ได้ผลดังนี้

4.4.1 ผลการทดสอบด้านเสถียรภาพทางกายภาพ

จากการทดสอบก่อนหน้า พบว่าสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ฉายรังสีแกมมาปริมาณ 25 mg/mL ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง HaCat หรือคิดเป็นประมาณ 2.5% ดังนั้นจึงใส่สารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ฉายรังสีแกมมาในความเข้มข้น 2% ในตำรับ w/o และ w/si พบว่าทั้ง 2 ตำรับมีความเป็นเนื้อเดียวกันและไม่แยกชั้น และตำรับ w/si ยังคงรูปแบบของครีมน้ำแตกได้ เมื่อทดสอบเสถียรภาพทางกายภาพ ในสภาวะเร่งด้วยอุณหภูมิ จำนวน 6 วัฏจักร ผลพบว่าสีของตำรับ w/si เปลี่ยนจากสีแดงชมพูไปเป็นสีส้ม ส่วนสีตำรับ w/o เปลี่ยนจากสีขาวอมชมพูไปเป็นสีขาวเหลือง มีค่า pH เพิ่มขึ้นทั้ง 2 ตำรับ (ตาราง 8) โดยการเปลี่ยนแปลงสีของสารสกัดในตำรับอาจแสดงถึงความไม่มีเสถียรของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ สารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ประกอบด้วยวิตามินซีเป็นสารสำคัญ ที่เกิดการสลายตัวจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจากความชื้น, แสง และอุณหภูมิได้ง่าย การเปลี่ยนสีของตำรับครีมแสดงถึงการสลายตัวของวิตามินซี การเกิดสีเหลืองน้ำตาลของวิตามินซี (ascorbic acid browning reaction) จากกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (DHA) ที่เป็นวิตามินซีในรูปออกซิไดซ์ (oxidized) จากสภาวะที่มีความร้อนและความชื้น ทำให้ DHA ถูกออกซิเดชันจนอยู่ในรูปสารเฟอร์ฟูรัล (furfural) ที่มีสีเหลืองถึงน้ำตาลเข้ม (เจษฎา ราษฎร์นิยม, สุทธิพงศ์ บุญผดุง, & ธรรศนันต์ อุนนะนันทน์, 2560) ; (Naito, 1980) การสลายตัวทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงมีผลสอดคล้องกับค่า pH ของตำรับที่เพิ่มขึ้น (ตาราง 8) นอกจากนี้พบว่าการมีค่า pH เพิ่มขึ้นของตำรับอาจทำให้สารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ที่เป็นรงควัตถุให้สีในธรรมชาติของมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่มีสีแดงในสภาวะกรดแก่ (pH ต่ำกว่า 3) และมีสีน้ำเงินม่วงในสภาวะที่เป็นกลาง (pH 7-8) (Khoo, Azlan, Tang, & Lim, 2017) เกิดความไม่มีเสถียรภาพส่งผลให้สีของตำรับเปลี่ยนแปลงไป



AA: ascorbic acid. AH⁻: ascorbic acid monoanion. AH⁺: semidehydroascorbate radical. Me: Metal catalyzer. DHAA: dehydroascorbic acid. DKGA: diketogulonic acid. 3DP: 3-deoxypentosone.

ภาพประกอบ 13 แสดงการเปลี่ยนสีน้ำตาลของวิตามินซี

ที่มารูปภาพ:(Rufián-Henares & Pastoriza, 2016).

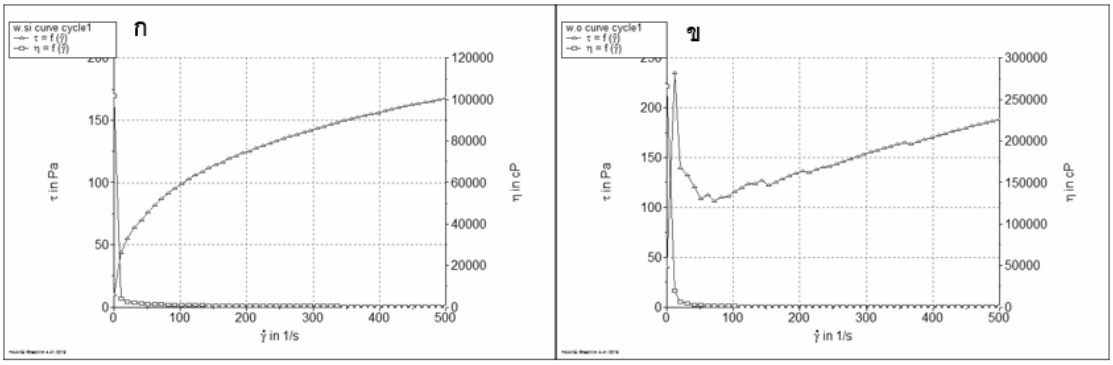
การศึกษาความหนืดของทั้ง 2 ตำรับ จำนวน 6 วัฏจักร พบว่าตำรับ w/si ความหนืดมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนตำรับ w/o พบว่าในวัฏจักรที่ 6 มีความหนืดเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 9) ค่าความหนืดที่เปลี่ยนแปลงไปจากค่าเริ่มต้น อาจเนื่องจากอิมัลชันเป็นระบบที่ไม่เสถียรทางอุณหพลศาสตร์ (thermodynamic) แรงตึงผิวระหว่างเฟส 2 เฟส ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของอนุภาคภายใน เช่น การรวมตัวกันของอนุภาคภายใน (coalescence) จนมีขนาดใหญ่ขึ้น จะส่งผลให้ความหนืดของตำรับลดลง (มนฑิรา โลลุพมาน, 2559); (สถาพร นิ่มกุลรัตน์, 2548) และการเสียสภาพจากการรวมตัวของวัฏภาคภายนอกหนาแน่นเป็นก้อน มีผลให้อนุภาคภายในเสียสภาพกระจายตัวได้ไม่ดีจากความหนืดที่เพิ่มขึ้น (ปรีชญา กรรณสูต, หทัยรัตน์ ริมคีรี, สุพนิดา วินิจฉัย, & สุคันธรส ธาดากิตติสาร, 2558)

ตาราง 8 แสดงผลการทดสอบ สี และค่า pH ของตำรับครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

ตำรับ		เริ่มต้น	2 วัฏจักร	4 วัฏจักร	6 วัฏจักร
w/si	สี				
	pH	3.04±0.05	3.26±0.02	3.33±0.01	3.40±0.02
w/o	สี				
	pH	3.07±0.01	3.30±0.02	3.45±0.02	3.63±0.01

ตาราง 9 แสดงค่าความหนืด (cP) ของตำรับครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

shear rate (1/s)	วัฏจักร	ตำรับ w/si	ตำรับ w/o
0.1	เริ่มต้น	171913.10 ± 20.50	257292.00 ± 6708.80
	2 วัฏจักร	161312 ± 1393.01	260489.92 ± 5893.27
	4 วัฏจักร	104339.10 ± 236.82	342426.60 ± 770.86
	6 วัฏจักร	107358.70 ± 285.92	402098.20 ± 1830.98
1.0	เริ่มต้น	31181.10 ± 89.75	54101.40 ± 945.74
	2 วัฏจักร	29978.41 ± 762.85	53740.91 ± 749.62
	4 วัฏจักร	22990.42 ± 61.96	56933.08± 571.57
	6 วัฏจักร	22916.80 ± 44.63	64625.25 ± 1065.12
10.0	เริ่มต้น	6040.47 ± 15.61	20032.90 ± 657.82
	2 วัฏจักร	5613.55 ± 40.37	18491.73 ± 346.52
	4 วัฏจักร	4559.27 ± 22.25	19033.47 ± 521.83
	6 วัฏจักร	4511.29 ± 35.92	30348.26 ± 167.87



ภาพประกอบ 12 แสดงพฤติกรรมการไหลของตำรับครีมน้ำในซิลิโคนอิมัลชัน (ก) และตำรับครีมน้ำในน้ำมันอิมัลชัน (ข)

4.4.2 ผลการทดสอบด้านเสถียรภาพทางเคมี

การศึกษาเสถียรภาพทางเคมีของตำรับครีม w/si และ w/o ผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบปริมาณวิตามินซีที่เป็นสารสำคัญอยู่ในช่วง 95-105% หลังจากเตรียมเสร็จในทั้ง 2 ตำรับ (ตาราง 10) ทำการศึกษาเสถียรภาพทางเคมีที่อุณหภูมิคงที่ 3 อุณหภูมิ อายุเก็บ 8 สัปดาห์ พบว่าทั้ง 2 ตำรับ มีปริมาณวิตามินซีลดลงอย่างชัดเจน โดยที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (°C) มีปริมาณวิตามินซีมากที่สุด รองลงมาคือ 30°C และ 45°C เนื่องจากอุณภูมิที่สูงขึ้นและเวลาที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้วิตามินซีสลายตัว สอดคล้องกับงานวิจัย (Khalid, Kobayashi, Neves, Uemura, & Nakajima, 2013) ที่พบว่าตำรับครีมที่มี ascorbic acid เป็นส่วนผสม ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดที่มีปริมาณวิตามินซีคงเหลือมากกว่าตำรับที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิอื่น

เปรียบเทียบเสถียรภาพของวิตามินซี พบว่า ตำรับ w/si มีปริมาณวิตามินซีคงเหลือมากกว่าตำรับ w/o ที่อุณหภูมิและเวลาทดสอบเดียวกัน ทั้งนี้มาจากส่วนประกอบของตำรับที่มีแตกต่างกัน ตำรับ w/o มีวัฏภาคภายนอกเป็นน้ำมันและไขมันแข็ง ได้แก่ mineral oil, beeswax, lanolin และ glyceryl monostearate ทำหน้าที่ให้ความชุ่มชื้นและปกคลุมผิวเป็นส่วนใหญ่ ส่วนตำรับ w/si ประกอบด้วยสารช่วยทางเภสัชกรรมที่ช่วยเพิ่มเสถียรสภาพให้อนุภาคภายในตำรับ ได้แก่ สารบิวทิลีนไกลคอล เป็นกลุ่มสารละลายไกลคอล ที่มีรายงานว่าช่วยลดการสลายตัวของวิตามินซีได้ โดยบิทิลีนไกลคอลเป็นตัวทำละลายที่สามารถทำพันธะไฮโดรเจนกับวิตามินซี จึงช่วยให้ชะลอการสลายตัวของวิตามินซีในสารละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบได้ (เจษฎา ราษฎร์นิยม et al., 2560) สารกลีเซอรีนทำหน้าที่เป็นมอยส์เจอร์ไรเซอร์, สารลดความชื้น ลดการระเหยของน้ำในตำรับ ทำให้อนุภาคภายในมีความคงสภาพ (เสาวนีย กระสานติสุข & หทัยชนก รุณรงค์, 2549) และการเติมแอลกอฮอล์ลงในตำรับจะช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยา decarboxylation ของวิตามินซีให้มีเสถียรภาพดีในสารละลายน้ำ (Lama Al Haushey & Natali Moussa, 2015)

ตาราง 10 แสดงปริมาณวิตามินซีในตำรับครีมที่สภาวะและเวลาต่าง ๆ

ตำรับ	สภาวะ	เปอร์เซนต์วิตามินซี				
	(°C)	วันแรก	2 สัปดาห์	4 สัปดาห์	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
w/si	4	101.88±0.00	100.13±0.00	90.88±0.01	93.73±0.02	90.13±0.03
	30	101.88±0.00	91.88±0.04	86.38±0.02	83.00±0.02	72.50±0.01
	45	101.88±0.00	87.25±0.00	77.38±0.01	71.51±0.02	70.88±0.01
w/o	4	99.88±0.02	97.50±0.00	90.00±0.01	88.38±0.01	85.50±0.01
	30	99.88±0.02	84.88±0.01	81.75±0.04	78.75±0.03	68.00±0.05
	45	99.88±0.02	83.00±0.02	70.50±0.01	67.50±0.02	65.63±0.01

พิจาณาจากเปอร์เซ็นต์วิตามินซีที่เป็นสารสำคัญมีค่าคงเหลือ 90% พบว่า ตำรับ w/si สามารถเก็บที่อุณหภูมิ 4°C ตลอดอายุเก็บ 8 สัปดาห์ และที่ 30°C เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ส่วนตำรับ w/o สามารถเก็บที่อุณหภูมิ 4°C ได้เป็นเวลา 4 สัปดาห์เสถียรภาพได้ดียิ่งขึ้นของการทดสอบ จากสภาวะที่มีออกซิเจนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้ปริมาณวิตามินซีเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วจากความไม่มีเสถียรภาพทางเคมีของวิตามินซี จึงได้ทำการค้นคว้าเพิ่มเติมพบว่า การเติมสารต้านออกซิเดชันเพิ่มในตำรับเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยเพิ่มเสถียรภาพทางเคมีให้ตำรับ เช่น กรดเฟอรูลิก (ferulic acid) ที่เป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีฤทธิ์ป้องกันผิวหนังจากรังสี UVB แล้วสามารถทำให้สารละลาย ascorbic acid มีเสถียรภาพมากขึ้น (Lin et al., 2005) ส่วนสีที่เปลี่ยนไปของตำรับจากการมีค่า pH เพิ่มขึ้น จากการค้นคว้างานวิจัย (เหมือนขวัญ กงนอก, 2556) พบว่าการเพิ่มสารละลายบัฟเฟอร์ pH 3 สามารถทำให้สารแอนโทไซยานินที่เป็นรงควัตถุที่ให้สีแดงในสภาวะเป็นกรดมีเสถียรภาพได้ดียิ่งขึ้น

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

การสกัดสารจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล ได้ปริมาณร้อยละของสารสกัด ปริมาณสารต้านออกซิเดชัน ได้แก่ สารฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ FRAP assay มากที่สุด และมีปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ วิตามินซี มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากตัวทำละลายอื่น รังสีแกมมาทำให้สกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่ทำให้สกัดวิตามินซีได้น้อยลง การฉายรังสีแกมมาปริมาณ 4 กิโลเกรย์ มีผลให้ปริมาณสารต้านออกซิเดชันสูง และมีผลให้ปริมาณวิตามินซีลดลงไม่มากนัก สารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ฉายรังสีในความเข้มข้น 25 mg/ml ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ HaCat

การศึกษาสมบัติของตำรับครีมน้ำในซิลิโคน ผลพบว่าชนิดของสารช่วยทางเภสัชกรรมและสัดส่วนของวัฏภาคซิลิโคนต่อวัฏภาคน้ำ มีผลต่อลักษณะภายนอก ความหนืด และขนาดอนุภาคภายในของตำรับ โดยตำรับที่ใช้ PEG/PPG-18/18 dimethicone เป็นสารช่วยทางเภสัชกรรม และไซโคลเพนตะซิโลเซน (D5) ในอัตราส่วน 5:5 %w/w ได้ครีมลักษณะเป็นเนื้อเดียว สามารถกระจายตัวได้ดีเมื่อเกลี่ยลงผิว และไม่รู้สึกเหนียวเหนอะผิวหลังการทา ขนาดอนุภาคภายในขนาดใหญ่กว่า 20 ไมโครเมตร ทำให้น้ำที่เป็นวัฏภาคภายในสามารถแตกตัวออกจากเนื้อครีมได้เมื่อทาลงบนผิว

การทดสอบเสถียรภาพทางกายภาพด้วยสภาวะเร่งทำให้ตำรับครีมผสมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ฉายรังสีแกมมา ทั้งชนิดครีมน้ำในซิลิโคน (w/si) และครีมน้ำในน้ำมัน (w/o) เกิดการเปลี่ยนแปลงสี เนื่องด้วยการสลายตัวของวิตามินซีในตำรับ ความหนืดของตำรับ w/si มีความหนืดลดลง ส่วนตำรับ w/o มีความหนืดเพิ่มมากขึ้น ซึ่งค่าที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากความไม่มีเสถียรภาพทางอุณหพลศาสตร์ของอิมัลชัน การทดสอบเสถียรภาพทางเคมีที่สภาวะเร่งอุณหภูมิพบว่าตำรับ w/si ซึ่งมีสารช่วยทางเภสัชกรรม กลุ่มที่ทำให้ผิวชุ่มชื้น (humectant) และสารเพิ่มความนุ่มลื่น (emollient) ในวัฏภาคน้ำ ทำให้วิตามินซีมีเสถียรภาพสูงกว่าตำรับ w/o ตำรับ w/si ยังคงรูปแบบของครีมน้ำแตกจนครบเวลาการทดสอบ

ข้อเสนอแนะ

ตำรับครีมน้ำแตกมีอนุภาคภายในขนาดใหญ่ จึงควรศึกษาการซึมผ่านผิวหนังเพิ่มเติม เพื่อยืนยันผลการปลดปล่อยสารสำคัญของตำรับ สำหรับนำไปใช้ต่อยอดในการกักเก็บสารสำคัญและยา เพื่อเพิ่มประโยชน์ในการนำส่งทางผิวหนัง

บรรณานุกรม

Ali Al-Mokaram. (2010). Control Released of Vitamin (C) From Acrylamide Grafted Chitosan Hydrogel. *Al-Mustansiriyah Journal of Science,* 21(5), 131.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and technology,* 28(1), 25-30.

Chen, M.-z., Xie, H.-g., Yang, L.-w., Liao, Z.-h., & Yu, J. (2010). In vitro anti-influenza virus activities of sulfated polysaccharide fractions from Gracilaria lemaneiformis. *Virologica Sinica,* 25(5), 341-351.

Define titrimetric method - 2 , 6 dichlorophenol indophenol. (2019). Retrieved from http://www.expertsmind.com/questions/define-titrimetric-method-2 -6 - dichlorophenol-indophenol-30180318.aspx

Hagen Trommer, & Reinhard H H Neubert. (2006). Overcoming the Stratum Corneum: The Modulation of Skin Penetration. *Skin Pharmacology and Physiology,* 19(2).

Hamid Sarpooshi, Mohammd Haddadi, Mohammad Siavoshi, & Rohollah Borghabani, W. H. w. V. C. T. B.-. (2017). Wound Healing with Vitamin C. *Translational Biomedicine,* 08(04).

Harrison, K., & Were, L. (2007). Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of almond skin extracts. *Food chemistry,* 102(3), 932-937.

Ihara, T., Sato, Sinobu., Ono, Ichiro,. Nakayama, Hiroshi., Minemura, Masahiko. (2004). Dimethylpolysiloxane composition. *United States Patent*.

ISO 10993-5:2009(E), c. o. (2009). ISO 10993-5:2009(E) Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity.

Ivana Gaji**ć**, Ljiljana Stanojevi**ć**, Ana Ta**č**i**ć**, & Jelena Stanojevi**ć**. (2020). The chemical composition of the essential oil and volatile compounds from caraway fruit (Carum carvi L.) extracted by headspace-solid phase microextraction and the antioxidant activity. *Advanced Technologies* 9(1), 37-43.

Joseph H Volker. (2018). Cells and Layers of the Epidermis. Retrieved from

https://www.earthslab.com/physiology/cells-layers-epidermis/

K Khanbabaee, & Teuns van Ree. (2002). Tannins: Classification and Definition. *Natural Product Reports* 18(6), 641-649.

Khalid, N., Kobayashi, I., Neves, M. A., Uemura, K., & Nakajima, M. (2013). Preparation and characterization of water-in-oil emulsions loaded with high concentration of l-ascorbic acid. *LWT-Food Science and technology,* 51(2), 448-454.

Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food Nutr Res,* 61(1), 1361779.

Lama Al Haushey, & Natali Moussa. (2015). The Shelf Life of Vitamin C in a w/o Emulsion According to the Q10 Method. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research,* 30(2), 33-39.

Lampe, M. A., Burlingame, A. L., Whitney, J., Williams, M. L., Brown, B. E., Roitman, E., & Elias, P. M. (1983). Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations. *Journal of lipid research,* 24.

Langley-Evans, S. C. (2000). Antioxidant potential of green and black tea determined using the ferric reducing power (FRAP) assay. *International journal of food sciences and nutrition,* 51(3), 181-188.

Lee, T.-Y. (2014). EP2730272A2. European Patent Office.

Lin, F., Lin, J., Gupta, R., Tournas, J., Burch, J., Selim, M., . . . &Pinnell, S. (2005). Ferulic Acid Stabilizes a Solution of Vitamins C and E and Doubles its Photoprotection of Skin. *Journal of Investigative Dermatology Home,* 125(4), 615-850.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews,* 4(8), 118.

Meng, J., Fang, Y., Zhang, A., Chen, S., Xu, T., Ren, Z., . . . Zhang, Z. (2011). Phenolic content and antioxidant capacity of Chinese raisins produced in Xinjiang Province. *Food Research International,* 44(9), 2830-2836.

Montemayor, B. P., Price, B. B., & van Egmond, R. A. (2013). Accounting for intended use application in characterizing the contributions of cyclopentasiloxane (D5) to

aquatic loadings following personal care product use: Antiperspirants, skin care products and hair care products. *Chemosphere,* 93(5), 735-740.

Naito, H. K. (1980). Role of vitamin C in health and disease *Nutritional Elements and Clinical Biochemistry* (pp. 69-115): Springer.

O'Lenick, A. J. (2008). *Silicones for personal care*: Allured Pub. Carol Stream, IL.

O'Lenick, T. (2017). Selecting PEG/PPG Dimethicone Silicone SurfactantsThe Agony and the Ecstasy. *Household and Personal Care Today,* 12(6).

Pérez, M. B., Calderon, N. L., & Croci, C. A. (2007). Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (Rosmarinus officinalis L.). *Food chemistry,* 104(2), 585-592.

Pewlong, W., Sajjabut, S., Eamsiri, J., & Chookaew, S. (2014). Evaluation of antioxidant activities, anthocyanins, total phenolic content, vitamin C content and cytotoxicity of Carissa carandas Linn. *CMUJ NS Food Appl Biosci,* 13, 509-517.

Phillips, C. L., Combs, S. B., & Pinnell, S. R. (1994). Effects of ascorbic acid on proliferation and collagen synthesis in relation to the donor age of human dermal fibroblasts. *Journal of Investigative Dermatology,* 103(2), 228-232.

Rufián-Henares, J., & Pastoriza, S. (2016). *Browning: Non-enzymatic browning*.

Skala, J., McGown, E., & Waring, P. (1987). Wholesomeness of irradiated foods. *Journal of food protection,* 50(2), 150-160.

Snauwaert, F., Tobback, P., Anthonissen, A., & Maes, E. (1973). *Influence of gamma irradiation on the provitamin A (beta-carotene) in solution.* Paper presented at the Radiation Preservation of Food; Proceedings of a Symposium, Bombay, 1972, Organized by IAEA and FAO.

Song, H.-P., Kim, D.-H., Jo, C., Lee, C.-H., Kim, K.-S., & Byun, M.-W. (2006). Effect of gamma irradiation on the microbiological quality and antioxidant activity of fresh vegetable juice. *Food Microbiology,* 23(4), 372-378.

Thomas, X. (2014. April 06). 17. Silicones in Medical Applications *Inorganic Polymers, an advanced research book* (Silicones in Industrial Applications). France: Nova Science Publishers.

Tiemessen, H. L., Boddé, H. E., & Junginger, H. E. (1989). A silicone membrane sandwich method to measure drug transport through isolated human stratum corneum having a fixed water content. *International journal of pharmaceutics,* 56(1), 87-94.

Tina S. Alster MD, & Tina B. West MD. (2013). Effect of Topical Vitamin C on Postoperative Carbon Dioxide Laser Resurfacing Erythema. *Dermatologic Surgery,* 24(3), 331-334.

Variyar, P., Bandyopadhyay, & Thomas. (1 9 9 8). Effect of gamma-irradiation on the phenolic acids of some Indian spices. *International Journal of Food Science and Technology,* 33, 533-537.

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural Food & Chemistry,* 46, 4113–4117.

Wattanapitayakul, S. K., Kunchana, K., Chularojmontri, L., Jarisarapurin, W., & Sedtawong, W. (2017). Extraction of Primary Human Keratinocytes and Fibroblasts from Adult Foreskin. *Thai Journal of Pharmacology,* 39(2), 5-22.

จันทนา กาญจน์กมล. (2559). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและปริมาณสารประกอบฟีโนลิกของสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่. การประชุมสวนสุนันทาวิชาการระดับชาติด้าน “การวิจัยเพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน”, 4.

จิตติพร เครือเนตร. (2546). กลศาสตร์ของของไหล ชนิดนอนนิวโทเนียน ตอนที่ 1, *Polymer Science*.

จุฑาพร นามเสนาะ. (2558). การพัฒนาตำรับครีมโพรพราโนลอลเพื่อใช้รักษาโรคเนื้องอกหลอดเลือดในทารก. (ปริญญานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต (Master's thesis)). มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ.

เจษฎา ราษฎร์นิยม, สุทธิพงศ์ บุญผดุง, & ธรรศนันต์ อุนนะนันทน์. (2560). การศึกษาความเสถียรของแอสคอบิคแอซิดโดยใช้ โพรไพลีน ไกลคอล บิวทิลีน ไกลคอล และเอทอกซี่ไดไกลคอลในน้ำเพื่อการประยุกต์ใช้ในการออกแบบสูตรผลิตภัณฑ์บำรุงผิว. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 3, 60-72.

ฉัตรชัย ไตรทอง. (2552). วิตามินซี (Ascorbic acid) แพทยสารทหารอากาศ.

ดลฤดี พิชัยรัตน์, & นพรัตน์ มะเห. (2557). ผลของการลวกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและ

สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของผักพื้นบ้านภาคใต้บางชนิด. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, 6(2), 36-46.

นิภาภรณ์ ลักษณ์สมยา. (2541). การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในอาหารบางชนิดโดยวิธี HPLC. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 40(3), 347-357.

ปรีชญา กรรณสูต, หทัยรัตน์ ริมคีรี, สุพนิดา วินิจฉัย, & สุคันธรส ธาดากิตติสาร. (2558). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มทำความสะอาดเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของนีโอโซมจากน้ำมันรำข้าวไรซ์เบอร์รี่. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 53.

มนฑิรา โลลุพมาน. (2559). การศึกษาการแยกน้ำออกจากน้ำมันดิบด้วยสารดิมัลซิไฟเออร์. (ปริญญานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต (Master's thesis)). มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

วรรณี อุ่ไพบูรณ์. (2547). การเลือกใช้สารอิมัลซิไฟเออร์ในอุตสาหกรรม. วารสารกรมวิทย์บริการ, 52(164), 38-40.

สกุลกานต์ สิมลา, สุรศักดิ์ บุญแต่ง, & พัชรี สิริตระกูลศักดิ์. (2556). การประเมินปริมาณสารพฤกษเคมีบางประการและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระใน Carissa carandas L. วารสารแก่นเกษตร, 41 ฉบับพิเศษ 1, 602-606.

สถาพร นิ่มกุลรัตน์. (2548). บทนำสู่วิทยาศาสตร์พอลิเมอร์. เอกสารประกอบการสอนเทคโนโลยีเภสัชกรรม 2เอกสารประกอบการสอนเทคโนโลยีเภสัชกรรม 2. สืบค้นจาก http://thesis.swu.ac.th/swuebook/h233172.pdf

เสาวนีย กระสานติสุข, & หทัยชนก รุณรงค์. (2549). การพัฒนาตำรับโลชั่นบำรุงผิว. (ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต). มหาวิทยาลัยมหิดล.

เหมือนขวัญ กงนอก. (2556). การใช้วิธีโคพิกเมนต์เทชันเพื่อเพิ่มความคงตัวของรงวัตถุจากกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชัน. วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยศิลปากร.

อัจฉราภรณ์ สิงห์หาญ, & รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2015). การพัฒนาตำรับไมโครอิมัลชันเพื่อช่วยเพิ่มความคงตัวของสารสกัดชาเขียว (Camellia sinesis) วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 4, 40-56.

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	เขมรุจิ เข็มทอง
วัน เดือน ปี เกิด	31 พฤษภาคม 2527
สถานที่เกิด	นครนายก
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาอนามัยสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยบูรพา (พ.ศ.2549)
ที่อยู่ปัจจุบัน	เลขที่ 59/1 หมู่ 7 ตำบลเขาพระ อำเภอเมือง จังหวัดนครนายก 26000