

ระเบียบวิธีการวิจัย/ การทดลอง

ในการศึกษาวิจัยนี้ได้กำหนดขอบข่ายของการวิจัยไว้ดังนี้

1. ศึกษาข้อมูลและเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อเป็นแนวทางในการทำวิจัย รวมทั้งติดต่อประสานงานกับแหล่งจำหน่าย Melon
2. วิเคราะห์คุณประโยชน์ทางอาหารของ Melon
3. ศึกษาการสกัดเพื่อให้ได้ซึ่งสารสกัดที่มีคุณภาพ และมีปริมาณที่เหมาะสมในการนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์
4. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด เปรียบเทียบตามวิธีสกัดที่แตกต่างกัน
5. ศึกษา Superoxide dismutase activity ของสารสกัด
6. ศึกษาพัฒนาการเตรียมตำรับครีมบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัด Melon
7. ศึกษาสภาพความคงตัวของครีมบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัด Melon
8. จัดทำ Standard Operation Practice (SOP) สำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว

I. การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของ Melon ที่เก็บในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

วิธีการ ทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของ Melon โดยจำลองการเก็บรักษาตามแบบการวางขายในห้างสรรพสินค้าที่อุณหภูมิ 22 °C ซึ่งแบ่งการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการออกเป็น 3 ช่วง ได้แก่ วันแรกทำการเก็บจากต้น, หลังจากเก็บรักษาไว้ 7 และเก็บไว้เป็นเวลา 14 วัน ตามลำดับ โดยทำการศึกษาค่าต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

ลำดับ	สมบัติ
1	วิตามินซี (Vitamin C) (วิธีการไทเทรตด้วยสารละลาย DCPIP ,dichlorophenolindophenol)
2	สารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Total phenolic content) (วิธี Folin-Ciocalteu assay, Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน)
3	ปริมาณแคโรทีนทั้งหมด (Total carotenoids) (วิธี colorimetry)
4	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) (วิธี phenol-sulfuric acid , กลูโคสเป็นสารมาตรฐาน)
5	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (°Brix) (ใช้ hand refractometer)
6	ค่าสี (วิธี CIE L*a*b* Minolta color meter) L* (ความสว่าง) a* (สีแดง) b* (สีเหลือง)
7	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ 50 % inhibition (IC50) (วิธี DPPH radical scavenging activity assay) แล้วคำนวณเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox รายงานเป็นค่า TEAC

II. การศึกษาปริมาณสารสกัด จากวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

วิธีการสกัด Melon. ที่ทำการศึกษเปรียบเทียบ มีด้วยกัน 5 วิธี โดยมีดังนี้

วิธีที่ 1 (A)

1. นำ Melon ล้างทำความสะอาด แล้วซับน้ำออก หลังจากนั้น ปลอกเปลือกและเอาเมล็ดออก เลือกเอาแต่ส่วนเนื้อทั้งหมด
2. นำเนื้อของ Melon มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ
3. ปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้เครื่องปั่นผลไม้ แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก
4. คั้นเอาเฉพาะน้ำของ Melon แยกเอากากออก โดยการบีบผ่านผ้าขาวบาง
5. นำน้ำ Melon ที่คั้น ได้กรองด้วยแรงดันสุญญากาศ ผ่านกระดาษกรองที่มีสำลีวางไว้ด้านบนอีกชั้น โดยใช้ Buchner funnel
6. นำมาระเหยภายใต้สุญญากาศ โดยใช้เครื่อง Rota vapor ที่อุณหภูมิประมาณ 40-45°C เพื่อระเหยเอาน้ำออกจนได้สารสกัดเข้มข้น
7. ชั่งน้ำหนักสารสกัด

วิธีที่ 2 (B)

1. นำ Melon ล้างทำความสะอาด แล้วซับน้ำออก หลังจากนั้น ปลอกเปลือกและเอาเมล็ดออก เลือกเอาแต่ส่วนเนื้อทั้งหมด
2. นำเนื้อของ Melon มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่งน้ำหนัก
3. เติม 20% Ethanol ลงไป ปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน (1 kg:300 ml)
4. คั้นเอาเฉพาะสารสกัด Melon แยกเอากากออก โดยการบีบผ่านผ้าขาวบาง
5. นำสารสกัดดังกล่าว กรองด้วยแรงดันสุญญากาศ ผ่านกระดาษกรองที่มีสำลีวางไว้ด้านบนอีกชั้น โดยใช้ Buchner funnel
6. นำสารสกัด ที่กรองแล้วมาระเหยภายใต้สุญญากาศ โดยใช้เครื่อง Rota vapor ที่อุณหภูมิประมาณ 40-45 °C เพื่อระเหยเอาน้ำ และ Ethanol ออกจนได้สารสกัดเข้มข้น
7. ชั่งน้ำหนัก

วิธีที่ 3 (C)

1. นำ Melon ล้างทำความสะอาด แล้วซับน้ำออก หลังจากนั้น ปลอกเปลือกและเอาเมล็ดออก เลือกเอาแต่ส่วนเนื้อทั้งหมด
2. นำเนื้อของ Melon มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่งน้ำหนัก

3. ปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เนื้อ Melon: Glycerin : น้ำ ในอัตราส่วน 4:3:1
4. คั้นเอาเฉพาะสารสกัด Melon แยกเอากากออก โดยการบีบผ่านผ้าขาวบาง
5. นำสารสกัดดังกล่าว กรองด้วยแรงดันสุญญากาศ ผ่านกระดาษกรองที่มีสำลีวางไว้ด้านบนอีกชั้น โดยใช้ Buchner funnel
6. นำสารสกัด ที่กรองแล้วมาระเหยภายใต้สุญญากาศ โดยใช้เครื่อง Rota vapor ที่อุณหภูมิ ประมาณ 40-45 °C เพื่อระเหยเอาน้ำออกจนได้สารสกัดเข้มข้น
7. ชั่งน้ำหนัก

วิธีที่ 4 (D)

1. นำ Melon ล้างทำความสะอาด แล้วซบน้ำออก หลังจากนั้น แช่ไว้ในช่องแช่แข็งจนกระทั่ง Melon มีสภาพเหมือนผักที่ทำการแช่แข็งทั่วไป
2. ปอกเปลือกและเอาเมล็ดออก เลือกเอาแต่ส่วนเนื้อทั้งหมด มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ
3. ปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องปั่นผลไม้ แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก
4. คั้นเอาเฉพาะน้ำของ Melon แยกเอากากออก โดยการบีบผ่านผ้าขาวบาง
5. นำน้ำ Melon ที่คั้นได้กรองด้วยแรงดันสุญญากาศ ผ่านกระดาษกรองที่มีสำลีวางไว้ด้านบนอีกชั้น โดยใช้ Buchner funnel
6. นำมาระเหยด้วยเทคนิควิธี Freeze dry จนสารสกัดแห้ง
7. ชั่งน้ำหนัก และเก็บใส่ถุงฟอยล์ ปิดปากให้สนิทเพื่อถนอมความชื้นสารสกัด

วิธีที่ 5 (E)

1. นำ Melon ล้างทำความสะอาด แล้วซบน้ำออก หลังจากนั้น แช่ไว้ในช่องแช่แข็งจนกระทั่ง Melon มีสภาพเหมือนผักที่ทำการแช่แข็งทั่วไป
2. ปอกเปลือกและเอาเมล็ดออก เลือกเอาแต่ส่วนเนื้อทั้งหมด มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก
3. ปั่นผสมกับ Buffer (Potassium hydrogen phosphate pH 7.4) ให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นผลไม้
4. คั้นเอาเฉพาะน้ำของ Melon แยกเอากากออก โดยการบีบผ่านผ้าขาวบาง
5. นำน้ำ Melon ที่คั้นได้กรองด้วยแรงดันสุญญากาศ ผ่านกระดาษกรองที่มีสำลีวางไว้ด้านบนอีกชั้น โดยใช้ Buchner funnel
6. นำมาระเหยด้วยเทคนิควิธี Freeze dry จนสารสกัดแห้ง
7. ชั่งน้ำหนัก และเก็บใส่ถุงฟอยล์ ปิดปากให้สนิทเพื่อถนอมความชื้นสารสกัด

III. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาฤทธิ์ Antioxidant ใช้ DPPH method โดยมีวิธี ดังนี้

1. เตรียม Stock solution ของ DPPH ให้มีความเข้มข้น $5.0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ โดยละลายใน 70% Ethanol สารละลายดังกล่าวควรเก็บไว้ในภาชนะที่ป้องกันแสงและที่อุณหภูมิ 4°C ไม่ควรเกิน 1 สัปดาห์
2. ก่อนการใช้งานจริง นำสารสกัดในข้อ 1 มา Dilute ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ $1.0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ จำนวน 200 ml ทุกครั้งใส่ในภาชนะที่ป้องกันแสง และทิ้งให้สารละลายดังกล่าวมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง
3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Tolox, ascorbic acid และ Quercetin ที่ช่วงความเข้มข้น 0.5-5.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$
4. เตรียม Stock สารสกัด *Cucumis melo* L. โดยชั่งสารสกัดตัวอย่าง ดังนี้
 - สารสกัด A, B, D และ E จำนวน 300 mg ละลายใน Ethanol 1 ml แล้วทำการ Dilute ให้ได้ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 2500 และ 300 mg/ml
 - สารสกัด C จำนวน 1000 mg ละลายใน 70% Ethanol 1 ml แล้ว Dilute ให้ได้ความเข้มข้น 200, 400, 600, 800, 1000 และ 1200 mg/ml
5. ปิเปิดสารสกัด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จำนวน 20 μL และ สารละลาย DPPH 180 μL ลงใน 96-well micro titer plate โดยใช้สารละลาย DPPH เป็น negative control ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ 30 นาที
6. นำไปวัดค่า การดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
7. เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน โดยเตรียมเช่นเดียวกันกับสารสกัดตัวอย่าง
8. นำค่า Absorbance ที่ได้มา plot graph ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและ 50% Inhibitory concentration (IC_{50})
9. คำนวณหาค่า IC_{50} จากสูตร

$$\text{DPPH Scavenging activity (\%)} = \frac{\text{Absorbance of control} - \text{Absorbance of sample} \times 100}{\text{Absorbance of control}}$$

IV. การศึกษา Super Oxide dismutase activity

ในการศึกษาจะใช้ Worthington ซึ่งเป็นวิธีพื้นฐานที่มีการศึกษามาแล้วของ Winterbourn *et al.* (1975) และเป็นการศึกษาพื้นฐานความสามารถของ superoxide dismutase ต่อการยับยั้ง หรือ การรีดิวซ์ nitro-blue tetrazolium โดย superoxide ซึ่ง 1 หน่วยของเอนไซม์ สามารถให้ค่านิยามคือ จำนวนของเอนไซม์ ครั้งหนึ่งที่ทำให้เกิดการยับยั้งสูงสุด ของ NBT reduction. อัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยา จะขึ้นอยู่กับตัวแปรต่าง ๆ ในสภาวะการทดสอบ เช่น Light intensity และ reaction temperature

สารเคมี

- 0.067 M Potassium phosphate buffer, pH 7.8
- 0.1 M Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) containing 0.3 mM sodium cyanide
- 0.12 mM Riboflavin (store cold in a dark bottle)
- 1.5 mM Nitroblue tetrazolium (NBT) (store cold)

การเตรียมเอนไซม์

เตรียม Stock solution เอนไซม์ ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml.

วิธีการทดสอบ

Pipette into a series of tubes:

EDTA/Cyanide	0.2 ml
NBT	0.1 ml
Enzyme	*
Phosphate buffer	q.s. to 3.0 ml

Include several tubes with no enzyme as controls.

* A series of samples ranging from 0.1-10 micrograms is recommended. A tube containing approximately 100 micrograms will generally produce maximum inhibition. Place the tubes in a light box providing uniform light intensity. (A foil-lined box approximately 4' long X 8" X 6" with an internally mounted 40 W fluorescent bulb has been used successfully). Incubate the tubes for 5-8 minutes to achieve a standard temperature. At zero time and at timed intervals add 0.05 ml riboflavin. Incubate all tubes in the light box for 12 minutes and at timed intervals read A_{560} . Determine percent inhibition of NBT reduction. Plot percent inhibition versus amount of enzyme in test. Determine the amount of enzyme resulting in one half of maximum inhibition.

Calculation

$$\text{Units/mg} = \frac{1000}{\mu\text{g enzyme resulting in } \frac{1}{2} \text{ max. inhibition}}$$

V. การพัฒนาโลชั่นบำรุงผิวผสมสารสกัด Melon

ความหมายของครีมบำรุงผิวและโลชั่น

โลชั่น (lotion) หมายถึง สิ่งปรุงที่มีลักษณะเป็นของเหลวสำหรับใช้ภายนอกเฉพาะที่อาจเป็นสารละลายใส ซัสเพนชันหรือ อิมัลชันครีม(cream) หมายถึง สิ่งปรุงที่มีลักษณะเป็นอิมัลชันกึ่งแข็ง (มอก. 152-2539)

ครีมและโลชั่น ทาผิว หมายถึง ครีมโลชั่นที่ทำขึ้นสำหรับใช้เพื่อบำรุงให้นุ่มและชุ่มชื้นขึ้น (มอก. 487-2526)

ชนิดของอิมัลชันแบ่งตามความหนืดได้ 2 ชนิดคือ

โลชั่น (lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ(เหลว) เพราะวัฏภาคภายนอกในปริมาณที่สูง วัฏภาคภายในมักไม่เกิน 35% เช่น ถ้าเป็นอิมัลชัน O/W (ชนิดน้ำมันในน้ำ) มีวัฏภาคภายในคือน้ำมันไม่เกินร้อยละ 35 เป็นต้น โลชั่นอาจเป็นได้ทั้ง O/W (ชนิดน้ำมันในน้ำ) หรือ W/O (ชนิดน้ำในน้ำมัน) แต่แบบ W/O ไม่เป็นที่นิยม เพราะจะถูกน้ำชะล้างออกหมด โลชั่นอาจใช้สารเพิ่มความหนืดเพื่อให้หนืดขึ้นได้แต่ยังคงเป็นของเหลวที่ไหลได้

ครีม (cream) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง(ลักษณะกึ่งแข็ง)เพราะมีส่วนประกอบของสาร พวกไขแข็ง(waxes) และไขมัน (fatty acid or fatty alcohol) ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืดให้เนื้อครีมได้ทั้งชนิดที่เป็น O/W หรือ W/O มีความข้นหนืดมากกว่าโลชั่น เพราะมีปริมาณวัฏภาคภายในสูงกว่าโลชั่น คือ ประมาณ ร้อยละ 35-75

สาเหตุและความจำเป็นในการใช้ครีมและโลชั่นสำหรับผิวหนัง

ผิวหนังเป็นส่วนหนึ่งที่สำคัญของร่างกาย มีหน้าที่ป้องกันอันตรายจากภายนอกเข้าสู่ร่างกาย ให้ความรู้สึกจากการสัมผัส ช่วยควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย ช่วยควบคุมระดับน้ำในร่างกายโดยการระเหยหรือขับเหงื่อ นอกจากนี้ยังมีไขมันผิวหนังช่วยป้องกันการสูญเสียความชื้นจากร่างกาย ถึงแม้ธรรมชาติจะป้องกันน้ำระเหยจากผิวโดยกลไกของผิวอยู่แล้ว แต่เนื่องจากการดำรงชีวิตประจำวันมลภาวะธรรมชาติไม่เพียงพอที่จะป้องกันผิว จากการแห้ง หรือแตกกระแหว่ จากอิทธิพลของสภาวะแวดล้อมต่างๆ ได้ ซึ่งสาเหตุที่ทำให้ผิวแห้งเนื่องจาก

1. การสูญเสียน้ำจากผิวหนังเป็น สาเหตุที่สำคัญที่สุดที่ทำให้ผิวแห้งเมื่อสภาพอากาศมีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ เช่นฤดูหนาว หรือห้องแอร์ทำให้เกิดความแตกต่างของความดันไอบนผิวกับอากาศ ผิวจึงสูญเสียน้ำมากโดยการระเหย การดูดซับสู่อากาศอย่างรวดเร็วกลไกของร่างกายก็พยายามป้องกันอย่างเต็มที่แต่ อาจ

แพ้ต่อสภาพอากาศจึงจำเป็นต้องใช้น้ำ น้ำมัน ช่วยรักษาความชุ่มชื้นของผิวเอาไว้ ซึ่งก็คือครีมที่มีมอยซ์เจอร์ เซอร์ และอิมอลเลียน

2. การสูญเสียไขมัน หรือน้ำมันที่หล่อเลี้ยงผิวหนึ่งส่วนใหญ่มักเกิดจากการชำระล้างบ่อยๆ ด้วยสบู่ หรือ ผงซักฟอก ซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่างจะเกิดการทำลายไขมันในผิวหนึ่ง เมื่อไขมันถูกทำลายไปผิวหนึ่งจะหยาบ กระจ่าง และแห้ง เหตุนี้การใช้ครีม และ โลชันทาผิวจะช่วยป้องกันไม่ให้ผิวหนึ่งชั้น horny layer แดกซึ่งเป็นเหตุให้ผิวหนึ่งหยาบ เพราะครีมจะให้ความชุ่มชื้น ยึดหยุ่นดีและทำให้สัมผัสดีมือไม่ระคายเคือง และครีม หรือ โลชันทาผิวยังมีส่วนประกอบของน้ำมันซึ่งจะทดแทนไขมันในผิว หนึ่งที่ถูกทำลายไปได้

3. ต่อมาไขมันได้ผิวหนึ่งจับน้ำมันน้อยลงทำให้ผิวหนึ่งแห้ง และเหี่ยวซึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงไปตามวัย กรณีนี้ควรใช้ และ โลชันที่มีส่วนประกอบของไขมัน และน้ำมันมากหน่อยเพื่อทดแทนแก่ผิวหนึ่งและมีส่วนผสมของวิตามินซึ่งช่วยเสริม สร้างหน้าที่ และความแข็งแรงแก่เซลล์ผิวหนึ่ง ส่วนผสมของ ผลิตภัณฑ์ ครีม และ โลชันบำรุงผิวครีมและ โลชันบำรุงผิว เป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอิมัลชันที่มีองค์ประกอบหลักสำคัญ 3 ส่วน คือ วัฏภาคน้ำ วัฏภาคน้ำมัน และตัวทำอิมัลชัน ซึ่งในแต่ละองค์ประกอบมีรายละเอียดดังนี้

องค์ประกอบที่ละลายในวัฏภาคน้ำมัน

องค์ประกอบที่เป็นวัฏภาคน้ำมันในรูปแบบอิมัลชันอาจเป็นน้ำมัน (oils) ไขมัน (fats) ไขแข็ง (waxes) ซึ่งอาจได้จากธรรมชาติ หรือการสังเคราะห์ โดยมีตั้งแต่ของเหลวไปจนถึงของแข็งให้เลือกมากมาย โดยสารต่างๆเหล่านี้มีคุณสมบัติ ข้อดี ข้อเสียทั้งด้านคุณภาพต่อผิวหนึ่ง หรือคุณภาพต่อรูปลักษณะผลิตภัณฑ์ ด้านคุณภาพต่อผิวหนึ่งนั้นหน้าที่ที่สำคัญได้แก่ เป็นสารอิมอลเลียนต์ซึ่งเป็นสารให้ความชุ่มชื้นผิวหนึ่ง (moisturizer) ที่ทำหน้าที่หล่อลื่นผิวให้ชุ่ม และลดต่อการสัมผัสช่วยรักษาความชุ่มชื้น และเพิ่มความยืดหยุ่นให้ผิว โดยการทำให้เกิดชั้นปิดกั้น (occlusive layer) บางๆบนผิวเป็นการป้องกันการสูญเสียน้ำออกจากผิวคุณภาพเมื่อใช้ทาบนผิวเช่นการหล่อลื่น ความอ่อนนุ่ม ความเหนอะหนะ และการกระจายตัวบนผิวหนึ่งแตกต่างกันไป ส่วนคุณภาพต่อรูปลักษณะของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ เป็นตัวพา (carrier) ที่ดีของน้ำหอมและสี ช่วยสี และกลืนกระจายตัวดีทำให้ผลิตภัณฑ์มีความสม่ำเสมอ และนำใช้ เป็นสารเพิ่มเนื้อครีม (bodying or stiffening agent) หรือสารควบคุมความหนืด (consistency regulating agent) เป็นต้น ซึ่งตัวอย่างสารที่เป็นอิมอลเลียน ได้แก่

ไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbons)

สารกลุ่มนี้ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ไม่มีหิน และมีความคงตัวดี ได้แก่ น้ำมันแร่ (mineral oil) และไขพาราฟิน (paraffin wax) มีคุณสมบัติคือทำให้เกิดฟิล์มกั้นน้ำบนผิวโดยไม่ซึมเข้าสู่ผิวหนึ่ง จึงเหมาะกับผลิตภัณฑ์ปกป้องผิว (protective preparation) และผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด ซึ่งไม่ต้องการให้มีการดูดซึมของการออกฤทธิ์ แต่ไม่เหมาะกับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว เพราะไม่สามารถทดแทนไขมันผิวหนึ่ง และยังคงละลาย

ส่วนประกอบของไขมันบนผิวหนังด้วยกรดไขมัน (Fatty acids) นิยม ใช้กรดไขมันที่มี C 12-18 ในครีม สำหรับผิวหนังเพื่อให้เกิดฟิล์มบางๆ กลุ่มผิว พบว่า กรดสเตียริก (stearic acid) นิยมใช้มากที่สุด เนื่องจาก สามารถอุ้มน้ำไว้ในโมเลกุล ทำให้เกิดความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังได้มาก

แอลกอฮอล์ ไขมัน (Fatty alcohols)

สารเหล่านี้ทำให้เกิดฟิล์มคลุมผิว แต่สามารถแทรกซึมเข้าสู่ผิวทำให้ผิวหนังนุ่มนวลขึ้นได้ และยังใช้เพื่อเพิ่มความเหนียวให้กับผลิตภัณฑ์ นิยมใช้สเตียริลแอลกอฮอล์ (stearyl alcohol), ซิทิลแอลกอฮอล์ (cetyl alcohol) หรือใช้ทั้ง 2 ตัวร่วมกัน

เอสเทอร์ของกรดไขมัน (fatty acid esters)

เอทิลเอสเทอร์ (Ethyl esters) เป็นน้ำมันซึ่งใช้เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า สามารถดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ง่าย และรวดเร็ว ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการพาตัวยา หรือสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังได้ เช่น เอทิลลาโนลิเอท (ethyl anolate) เป็นต้น

เอสเทอร์เหลวของกรดไขมัน (liquid fatty acid esters)

เป็นเอสเทอร์กรดไขมันผสม มีความเหนียวต่ำ เคลือบผิวแล้วเกิดฟิล์มบางๆที่ไม่เป็นมันสามารถถูกดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดี โดยไม่ทำให้รู้สึกเหนียวเหนอะหนะ เช่น ไอโซโพรพิลไมริสเทต (isopropylmyristate) ไอโซโพรพิลสเตียเรต (isopropyl stearates)

โพลีออลเอสเทอร์ (polyol ester)

เช่น กลีเซอรอลโมโนสเตียเรต (glyceryl monostearate), โพลีเอทิลีนไกลคอลเอสเทอร์ (polyethylene glycol esters) เป็นสารกึ่งแข็งกึ่งเหลวที่นิยมใช้ในอิมัลชัน

อีเทอร์ของกรด ไขมัน (Fatty ethers)

เป็นอีเทอร์ที่เกิดจากกรดไขมันทำปฏิกิริยากับเอทิลีนออกไซด์ (ethyleneoxide) หรือ โพรพิลีนออกไซด์ (propylene oxide) มักใช้เป็นตัวทำอิมัลชัน และมีฤทธิ์เป็นสารอิมอลเลียนด์ด้วย

ไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides)

น้ำมันที่ได้จากพืช และสัตว์ส่วนใหญ่ประกอบด้วย ไตรกลีเซอไรด์ของกรดไขมันสายตรงน้ำหนักโมเลกุลสูงทั้งชนิดอิ่มตัว และไม่อิ่มตัว และยังมีกลุ่มเอสเทอร์ซึ่งชอบน้ำบ้าง ดังนั้นน้ำมันเหล่านี้จึงไม่ละลายน้ำแต่ไม่ถึงกับไร้ขั้ว (Non polar) เท่ากับน้ำมันแร่ มีอำนาจการดูดซึมสู่ผิวหนัง และเส้นผมดีกว่าน้ำมันแร่

โดยพบว่าสามารถดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดี เช่นน้ำมันอโวคาโด น้ำมันรำข้าว การใช้ไขมันพืชในสูตรควรใส่ สารต้านการหืน (antioxidant) ด้วย

ซิลิโคน (Silicones)

เป็นน้ำมันที่มีความหนืดได้ตั้งแต่เหลวจนถึงกึ่งแข็ง มีความคงตัวทางเคมีสูง ทนความร้อนสูง กันน้ำได้ดี เกาะติดหนังโดยไม่ทำให้รู้สึกเหนอะหนะ

ลาโนลิน และอนุพันธ์ลาโนลิน (Lanolin and derivative)

เป็นสารที่สกัดได้จากต่อมไขมันของแกะ ไม่ละลายน้ำแต่อุ้มน้ำไว้ในตัวเองได้ ใช้ในเครื่องสำอางสำหรับผิวหนังเพื่อทำให้หนังกำพร้าที่แห้งกลับคืนสภาพชุ่มชื้น และยืดหยุ่นได้ ลาโนลินมีคุณสมบัติเป็นสารอิมอลเดียนส์ที่มีประสิทธิภาพดีมาก มีองค์ประกอบใกล้เคียงไขผิวหนังมากที่สุดแต่มีข้อเสีย คือ กลิ่นแรง ทั้งไว้นานสิ่งจะเข้มข้น ผสมเข้ากับสารอื่นยาก และเหนอะหนะผิว

สเตอรอล (sterols)

ที่นิยมใช้คือ โคลเลสเตอรอล (cholesterol) สารตัวนี้นอกจากทำให้ผิวหนังชุ่มชื้นแล้ว ยังแทนไขมันตามธรรมชาติของผิวที่ถูกขจัดออกไป เพราะไขมันที่ปกคลุมผิวหนังที่ประกอบด้วย ไข และ โคลเลสเตอรอล ประมาณร้อยละ 5 ดังนั้น โคลเลสเตอรอลที่ใส่ในครีมและ โลชั่นบำรุงผิวสามารถทดแทนไขมันตามธรรมชาติ เป็น อย่างดี

ฟอสโฟลิปิด (Phospholipid)

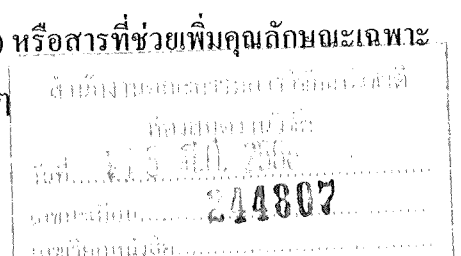
เป็นสารที่พบในเซลล์สัตว์ของ สิ่งมีชีวิตอยู่สูงถึงร้อยละ 2.6 คือ เลซิทีนและพบมากในน้ำมันพืช และสัตว์ มีคุณสมบัติดูดเก็บความชื้น และกระจายตัวได้ดีบนผิว

สารกันหืน (Antioxidants)

การเติมสารกันหืนเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับผลิตภัณฑ์ครีมบนผิวทั้งนี้เพื่อ ป้องกันการเกิด oxidation ของน้ำมัน และสารที่ไวต่อปฏิกิริยาออกซิซัน อันได้แก่ น้ำมัน หรือ ไขมันที่มีโครงสร้างเป็น โมเลกุลแบบไม่อิ่มตัว (unsaturated) หรือมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid) ใน ส่วนผสม สารกันหืนที่นิยมใช้ได้แก่ BHA, BHT และ Tocopherols (วิตามินอี)

สารผสมอื่นๆ

เช่นสารแต่งกลิ่น (Perfumes) และสารแต่งสี (coloring agent) หรือสารที่ช่วยเพิ่มคุณลักษณะเฉพาะ ให้ผลิตภัณฑ์ เช่น สารกันแดด สารกัลดจากธรรมชาติ หรือวิตามินต่างๆ



องค์ประกอบที่ละลายได้ในวัฏภาคน้ำ

สารอิมแมกแตนต์ (Humectants)

เป็น สารที่สามารถดูดเก็บความชื้นจากบรรยากาศรอบตัวมันมาเก็บในตัวได้ดี ทำหน้าที่ป้องกันการสูญเสียน้ำจากเนื้อครีมทำให้ครีมไม่แห้งง่ายเมื่อเก็บ ไว้นาน ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิว และช่วยรักษาความคงตัวให้กับผลิตภัณฑ์ โดยสารที่เป็นอิมแมกแตนต์ที่ดีควรดูดเก็บความชื้นจากบรรยากาศมาเก็บไว้ได้ ภาย ใต้ความชื้นปกติควรมีความหนืดต่ำเพื่อละลายหรือผสมได้ง่ายกับองค์ประกอบ อื่นๆ และความหนืด คงที่ไม่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิ ไม่ระเหยง่าย หรือตกผลึก หรือแข็งตัวภายใต้ความชื้นปกติของบรรยากาศ มีฤทธิ์เป็นกลาง เข้าได้ดีกับสารอื่นๆ ในสูตร ไม่ระคายเคืองผิวหนัง ซึ่งอิมแมกแตนต์ที่นิยมใช้มากที่สุด ใน เครื่องสำอางคือ โพรพิลีนไกลคอล (Propylene glycol) กลีเซอริน (glycerin) และซอร์บิทอล (sorbitol) เนื่องจากมีความปลอดภัยต่อผิวหนัง และไม่เป็นพิษ แต่ถ้าใส่มากเกินไปจะดูดความชื้นจากผิวหนังทำให้ ผิวแห้งแห้ง แทนที่จะรักษาความชุ่มชื้นให้กับผิวหนัง และทำให้ผลิตภัณฑ์เสียดความคงตัวทางกายภาพด้วย

สารเพิ่มความหนืด (Thickener)

เป็นสารช่วยเพิ่มความหนืดให้กับอิมัลชัน อาจเรียกว่าเป็นสารช่วยทำอิมัลชัน การเพิ่มความหนืดเป็น การเพิ่มความคงตัว และความสวยงามน่าใช้ให้กับผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะอย่างยิ่งอิมัลชันชนิดโลชั่น ซึ่งมี ปริมาณวัฏภาคน้ำใน(วัฏภาคน้ำมัน) น้อย ถ้าไม่ใช้สารเพิ่มความหนืดแก่วัฏภาคน้ำนอกจะช่วยจะทำให้หยด น้ำมันที่แยกตัวมา รวมตัวกันง่ายขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงคุณสมบัติการไหลของอิมัลชัน และความ หนืดให้ดีขึ้นทำให้ผลิตภัณฑ์ไม่เหลวจนเกินไป

สารกันเสีย (Preservative agent)

เนื่องจากครีม และ โลชันบำรุงผิวมีสารที่เสื่อมเสียง่ายโดยจุลินทรีย์เป็นส่วนประกอบจึงต้อง มีการใช้ สารกันเสียเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทั้งในระหว่างการผลิต และเมื่อผลิตภัณฑ์ถึงมือผู้บริโภค โดยสารกันเสียที่ดีควรใช้ได้ผลดีที่ความเข้มข้นต่ำ สามารถออกฤทธิ์ได้กว้างกับจุลินทรีย์ทุกชนิด ออกฤทธิ์ ได้ในช่วงความเป็นกรด-ด่างกว้าง สามารถเข้ากันได้กับสารอื่นในสูตร โดยเฉพาะสารลดแรงตึงผิว ทนความ ร้อน ไม่เป็นพิษ ไม่ระคายเคืองผิวหนัง ไม่มีสี กลิ่น และไม่ระเหย

สูตรครีม Base บำรุงผิวสำหรับผสมสารสกัด Melon

สูตรที่ 1

Rx	%w/w
Cetyl alcohol	4.0
Stearyl alcohol	1.0
Mineral oil	5.0
IPM	2.0
GMS	2.5
Cremophore A25	2.0
Silicone 350	1.0
Vitamin E	1.0
BHA (ใช้ BHT แทน)	0.02
EDTA	0.01
Concentrate Paraben	1.0
PG	1.0
Water	qs to 100

สูตรที่ 2

Rx	%w/w
Cetyl alcohol	1.0
Petrolatum	-
Mineral oil	5.5
Isopropyl myristate	1.0
GMS	3.0
Vitamin E acetate	0.5
Dimethicone	0.25
Silicone 350	1.5
Carbopol 941 2% w/w	4.0
Concentrate Paraben	1.0
BHT	0.01
Polyethylene glycol – 40 stearate	3.0

Water qs. to 100

สูตรที่ 3

Rx	%w/w
Cetyl alcohol	3.0
Petrolatum	1.0
Mineral oil	4.0
Isopropyl myristate	0.5
GMS	2.0
Vitamin E acetate	0.5
Dimethicone	0.25
Silicone 350	1.0
Carbopol 941 2% w/w	3.0
Concentrate Paraben	0.5
BHT	0.01
Polyethylene glycol – 40 stearate	3.0
Water	qs. to 100

สูตรที่ 4

Rx	%w/w
Cetyl alcohol	1.0
Petrolatum	1.0
Mineral oil	5.0
Isopropyl myristate	-
GMS	2.0
Vitamin E acetate	0.5
Dimethicone	0.25
Silicone 350	1.0
Carbopol 941 2% w/w	6.0
Concentrate Paraben	1.0
BHT	0.01
Polyethylene glycol – 40 stearate	2.0

Water qs. to 100

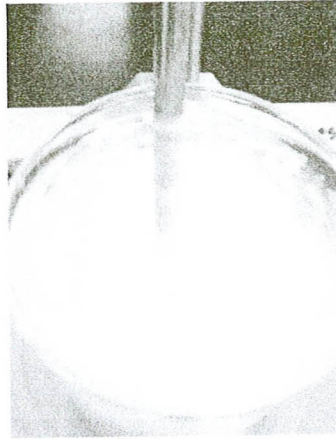
สูตรที่ 5

Rx	%w/w
Cetyl alcohol	2.0
Petrolatum	-
Mineral oil	4.0
Isopropyl myristate	-
GMS	2.0
Vitamin E acetate	0.5
Dimethicone	0.25
Silicone 350	1.0
Carbopol 941 2% w/w	3.0
Concentrate Paraben	1.0
BHT	0.01
Polyethylene glycol – 40 stearate	1.5
Water	qs. to 100

วิธีการเตรียมครีม Base

1. หลอม Oil Phase ได้แก่ Cetyl alcohol , Petrolatum , Mineral oil , IPM , GMS , Cremophore 942 2% w/w , Silicone 350 , BHT และ PEG 40 Stearate ให้เป็นเนื้อเดียวกันที่ 75°C
2. อุ้่น Water Phase ได้แก่ EDTA , Concentrate Paraben , PG , Water (mineral water) ให้ร้อน 80°C
3. ตั้ง Oil Phase ไว้บน Water bath ใช้เครื่องปั่น ปั่นที่ความเร็วประมาณ 300 รอบ/นาที
4. เท Water Phase ลงไปใน Oil Phase ที่ปั่นไว้บน water bath ให้เป็นสายต่อเนื่องกัน
5. ปั่น ไปอีก 5 นาที โดยถอดปลั๊ก water bath ออก แล้วปั่นต่อไปจนอุณหภูมิตกลงมาที่ประมาณ 50°C
6. เติม Vitamin E และน้ำหอมสำหรับแต่งกลิ่น
7. ปั่นต่อจนถึงอุณหภูมิห้อง
8. นำครีมที่ได้ไปเข้าเครื่อง Homogenizer เพื่อให้เนื้อครีมเนียนขึ้น เข้ากันมากขึ้น และเป็นเงามากขึ้น

*หมายเหตุ ขณะใช้เครื่องปั่นควรยกภาชนะขึ้นลงเป็นครั้งคราวให้เครื่องปั่นได้ทั่วถึง



รูปที่ 1 แสดงการปั่นครีมด้วยเครื่อง Homogenizer

วิธีการเตรียมครีมบำรุงผิวผสมสารสกัด Melon

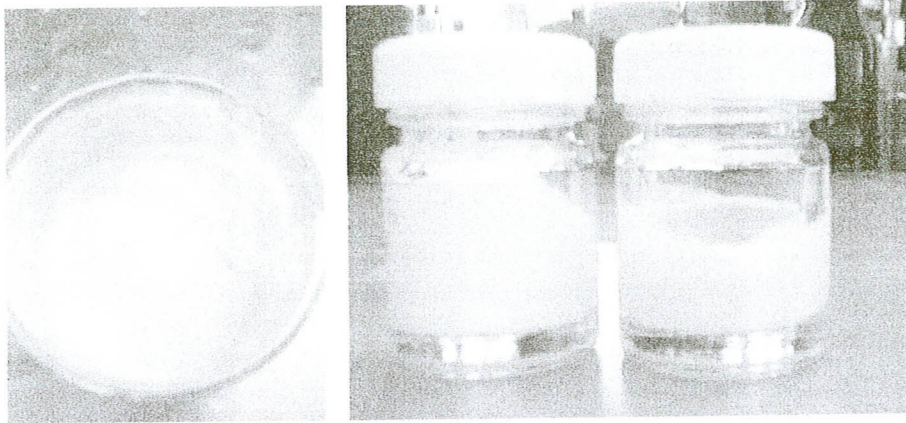
1. ชั่งสารสกัดให้ได้ปริมาณที่จะเติมลงไปนครีม Base ให้มีความเข้มข้น 2%
2. ชั่งครีม Base ให้ได้ปริมาณสำหรับผสมสารสกัด 2% ลงไป ตามต้องการ
3. ผสมครีม Base ลงในสารสกัดจำนวนเล็กน้อย คนจนเป็นเนื้อเดียวกัน
4. เติมครีม Base ลงไปจำนวน 1 เท่าตัวครีมที่ผสมแล้ว หลังจากนั้นผสมให้เข้ากันอีกครั้งจนเป็นเนื้อเดียวกัน ทำอย่างนี้ต่อไปเรื่อย จนได้ตามจำนวนครีม Base ที่เตรียมไว้ทั้งหมด
5. นำโลชั่นที่ผสมเสร็จไปผ่านเครื่อง Homogenize อีกครั้งเป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าเนื้อโลชั่นผสมกันหมด

ศึกษาสภาพความคงตัวของโลชั่นบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัด Melon

จากการศึกษาได้คัดเลือกครีมบำรุงสูตร 3 มาทำการศึกษาทดสอบสภาพความคงตัว โดยผสมกับสารสกัด Melon. โดยได้ทำการศึกษาสภาพความคงตัว ตามสภาวะต่าง ๆ ดังนี้

1. Cycling โดย สลับกันที่อุณหภูมิ 4 °C และ 45 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง /รอบ จำนวน 6 รอบ
2. อุณหภูมิห้อง จำนวน 1, 3 และ 6 เดือน
3. 4 °C และ 45 °C จำนวน 1, 3 และ 6 เดือน

โดยทำการศึกษา ลักษณะทางกายภาพของโลชั่น ได้แก่ ลักษณะเนื้อครีม ค่า pH สี และ กลิ่น



รูปที่ 2 แสดงลักษณะเนื้อครีมหลังผสมสารสกัด Melon และการบรรจุลงขวดเพื่อทำ Stability