บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เครื่องสำอาง

เครื่องสำอาง เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับร่างกายในชีวิตประจำวันเพื่อทำความสะอาด ทำนุบำรุง เสริมสร้าง ปกป้อง แก้ไขข้อบกพร่อง หรือตกแต่งสีสันเพื่อความสวยงาม เครื่องสำอางมีการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ในทุกรูปแบบ เช่น น้ำยาใส (solution) อิมัลชัน (emulsion) ซัสเพนชัน (suspension) เพสต์ (paste) หรือผง (powder) อย่างไรก็ตาม พบว่าอิมัลชัน เป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่นิยมใช้มากที่สุด โดยพบในเครื่องสำอางเกือบทุกประเภทในรูปของครีม (อิมัลชันกึ่งแข็ง) หรือโลชั่น (อิมัลชันเหลว) ดังตัวอย่างคือ

1. ประเภทใช้กับเส้นผมและขน ได้แก่ แชมพู ครีม โลชั่น ครีมแต่งทรงผม เป็นต้น
2. ประเภทใช้กับใบหน้า ได้แก่ ครีมล้างหน้า ครีมนวดหน้า โลชั่นล้างหน้า เป็นต้น
3. ประเภทใช้กับร่างกาย ได้แก่ ครีมทาผิว โลชั่นทาผิว ครีมทาป้องกันแดด เป็นต้น
4. ประเภทเครื่องหอม ได้แก่ ครีมน้ำหอม
5. ประเภทตกแต่งสีสัน ได้แก่ ครีมรองพื้น ครีมทาแก้ม ลิปสติกครีม เป็นต้น

ซึ่งอิมัลชันเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบหนึ่งที่ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิดที่ไม่เข้ากันและไม่ละลายในกันละกัน เช่น น้ำและน้ำมัน ถูกนำมาไว้ด้วยกันในลักษณะที่ผสมผสานเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้โดยอาศัยตัวทำอิมัลชัน (emulsifier) อิมัลชันที่เกิดขึ้นถ้ามองด้วยตาเปล่าจะเห็นลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน แต่ถ้าส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็น 2 วัฏภาค คือหยดเล็กๆของของเหลวชนิดหนึ่งซึ่งเรียกว่า วัฏภาคภายใน (internal or dispersed phase) กระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเรียกว่า วัฏภาคภายนอก (external or continuous phase)

การแบ่งชนิดอิมัลชันตามชนิดของของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายในและวัฏภาคภายนอก ได้เป็น 3 ชนิดคือ

1. อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O emulsion) อิมัลชันชนิดนี้มีวัฏภาคภายในเป็นน้ำ วัฏภาคภายนอกเป็นน้ำมัน พบอิมัลชันชนิดนี้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมล้างหน้า (cleansing cream) ครีมทากลางคืน (night cream) ครีมนวดหน้า (massage cream) เป็นต้น เนื่องจากอิมัลชันชนิดนี้มีความเหนอะหนะและล้างน้ำออกยาก จึงเป็นที่นิยมใช้น้อย

2. อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W emulsion) อิมัลชันชนิดนี้มีวัฏภาคภายในเป็นน้ำมัน วัฏภาคภายนอกเป็นน้ำ จึงมีความเหนอะหนะน้อย ทาแล้วกระจายตัวดี ล้างน้ำออกง่าย เป็นที่นิยม

มากในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมและโลชั่นทาผิว (body cream and lotion) ครีมทากันแดด (sun screen cream) เป็นต้น

3. อิมัลชันเชิงซ้อน (multiple emulsion) เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายในซ้อนกันอยู่ ซึ่งเป็นของเหลวต่างชนิดกัน เช่น W/O/W หรือ O/W/O อิมัลชันเชิงซ้อนนี้สามารถกลับกลายเป็นอิมัลชันธรรมดาได้ เช่น W/O/W ซึ่งมีน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก แต่วัฏภาคภายในซึ่งเป็นน้ำมันจะมีหยดเล็กๆของน้ำซ้อนอยู่ เมื่อกลับกลายเป็นอิมัลชันธรรมดา จะกลายเป็นชนิด O/W พบอิมัลชันชนิดนี้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น cold cream ซึ่งเป็นชนิด O/W/O เป็นต้น

ผลิตภัณฑ์รูปแบบอิมัลชัน มีส่วนประกอบหลักที่สำคัญ 3 ส่วน คือ

1. วัฏภาคน้ำ (Water phase) ได้แก่ น้ำ และสารต่างๆซึ่งอาจเป็นของแข็งหรือของเหลวที่ละลายได้ในน้ำ อาจเป็นสารเพิ่มความหนืด เช่น veegum, acacia, tragacanth, methylcellulose, carbopol สารฮิวเมกแตนต์ เช่น glycerine, propylene glycol หรือ glycols ทั้งหลาย สารกันเสีย เช่น methylparaben, sodium benzoate สารลดแรงตึงผิว เช่น tween, sodium lauryl sulfate สีที่ละลายน้ำได้ เช่น amaranth, tartrazine สารต้านออกซิเดชัน เช่น sodium metabisulfite เป็นต้น สารต่างๆเหล่านี้อาจเติมลงในวัฏภาคน้ำได้ทั้งสิ้น

2. วัฏภาคน้ำมัน (Oil phase) ได้แก่ น้ำมันต่างๆ เช่น olive oil, mineral oil, castor oil ไขมัน เช่น stearyl alcohol, cetyl alcohol, lanolin ไขแข็ง เช่น spermaceti, beeswax, carnauba wax, paraffin wax สีที่ละลายในน้ำมัน เช่น D+C Red No 21 D+C Orange No 5 น้ำหอม เช่น peppermint oil, orange oil, perfume oil สารกันหืน เช่น BHT, BHA สารลดแรงตึงผิว เช่น spam, Emulgin C1000

3. ตัวทำอิมัลชัน (Emulsifier) ได้แก่ สารลดแรงตึงผิว (surfactant) เป็นสารซึ่งมีคุณสมบัติชอบทั้งน้ำและน้ำมัน เช่น tween, span, sodium lauryl sulfate คอลลอยด์ที่ชอบน้ำ เช่น acacia, gelatin ของแข็งอนุภาคละเอียด เช่น bentonite ตัวทำอิมัลชันเป็นตัวสำคัญในการผสมผสานให้วัฏภาคน้ำและน้ำมันเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้

ปกติของเหลวสองชนิดซึ่งไม่เข้ากันเมื่อถูกนำมารวมกันจะแยกกันอยู่เป็น 2 ชั้น เนื่องจากเกิดแรงตึงระหว่างผิวขึ้น แต่เมื่อมีการเขย่าซึ่งเป็นการเพิ่มพลังงานและเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างของเหลวทั้งสอง จะทำให้ของเหลวนั้นกระจายตัวเป็นหยดน้ำเล็กๆในกันและกันได้ และมีลักษณะของอิมัลชันเกิดขึ้น ดังนั้น การเกิดอิมัลชันได้ต้องอาศัยกระบวนการ 2 ขั้นตอน คือ

1. การทำให้ของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายในแตกกระจายเป็นหยดเล็กๆ โดยอาศัยการให้พลังงานซึ่งอาจใช้ในรูปของความร้อน (heat) การคนหรือเขย่า (mechanical agitation) การสั่นสะเทือนโดยคลื่นเสียง (Ultrasonic vibration) หรือไฟฟ้า (electricity)

2. การทำให้หยดเล็กๆที่กระจายตัวอยู่นั้นคงสภาพอยู่ได้ซึ่งอาศัยตัวทำอิมัลชัน โดยกลไกการทำงานของตัวทำอิมัลชันดังนี้

2.1 ลดแรงตึงระหว่างผิวของของเหลวทั้งสอง เป็นการลดพลังงานอิสระที่พื้นผิวด้วยทำให้โอกาสที่หยดวัฏภาคซึ่งกระจายตัวอยู่นั้นรวมตัวกันได้น้อยลง เป็นการเพิ่มความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์

2.2 เกิดฟิล์มที่แข็งแรงและยืดหยุ่นโดยรอบหยดวัฏภาคภายใน ความแข็งแรงและลักษณะการเรียงตัวของโมเลกุลของฟิล์มนี้แตกต่างกันออกไป แล้วแต่ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชันที่ใช้ ฟิล์มอาจมีการเรียงตัวเป็นโมเลกุลเดี่ยว (monomolecular film) โดยหันด้านมีประจุเข้าวัฏภาคน้ำ ด้านไม่มีประจุเข้าหาวัฏภาคน้ำมัน ฟิล์มชนิดนี้มักเกิดจากการใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นตัวทำอิมัลชัน หรือมีการเรียงตัวซ้อนกันของโมเลกุล (multimolecular film) เกิดจากการใช้คอลลอยด์ที่ชอบน้ำเป็นตัวทำอิมัลชัน หรือมีการเรียงตัวของอนุภาคเล็กละเอียดของของแข็ง (solid particle film) ซึ่งเกิดจากการใช้ของแข็งเล็กละเอียดบางชนิดซึ่งดูดซับที่ผิวของวัฏภาคทั้งสองได้ (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, 2540, หน้า 1- 5)

สูตรตำรับครีมบำรุงกลางคืน

ห้องปฏิบัติการทดสอบทางชีววิทยาและความปลอดภัย สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสียในเครื่องสำอาง 7 สูตรตำรับ ดังแสดงในภาคผนวก ก ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหลายประเภทและมีการใส่สารกันเสียในสูตรตำรับที่แตกต่างกันจากผู้ผลิตเครื่องสำอางภาคเอกชน โดยตามวิธีทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสียในเครื่องสำอางเป็นการศึกษาประสิทธิภาพสารกันเสียที่มีผลต่อการรักษาปริมาณการอยู่รอดของจุลินทรีย์ 5 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ซึ่งคำนวณและรายงานผลโดย คำนวณค่า log reduction จากสูตร $Rx = \lg (Ni) - \lg (Nx)$

โดย Ni = ค่า $\log_{10}$ ของปริมาณจุลินทรีย์ในชุดควบคุมที่ 0 วัน (T_0)

Nx = ค่า $\log_{10}$ ของปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างทดสอบที่ 0, 7, 14 และ 28 วัน

การทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสียกำหนดให้

แบคทีเรีย; มีค่า log reduction มากกว่า 2.0 ที่ 14 วัน และปริมาณจุลินทรีย์ไม่เพิ่มขึ้นที่ 28 วัน (Not less than 2.0 log reduction from the initial count at 14 days, and no increase from the 14 days' count at 28 days.)

ยีสต์และรา; ปริมาณยีสต์และราไม่เพิ่มขึ้นที่ 14 และ 28 วัน (No increase from the initial calculated count at 14 and 28 days)

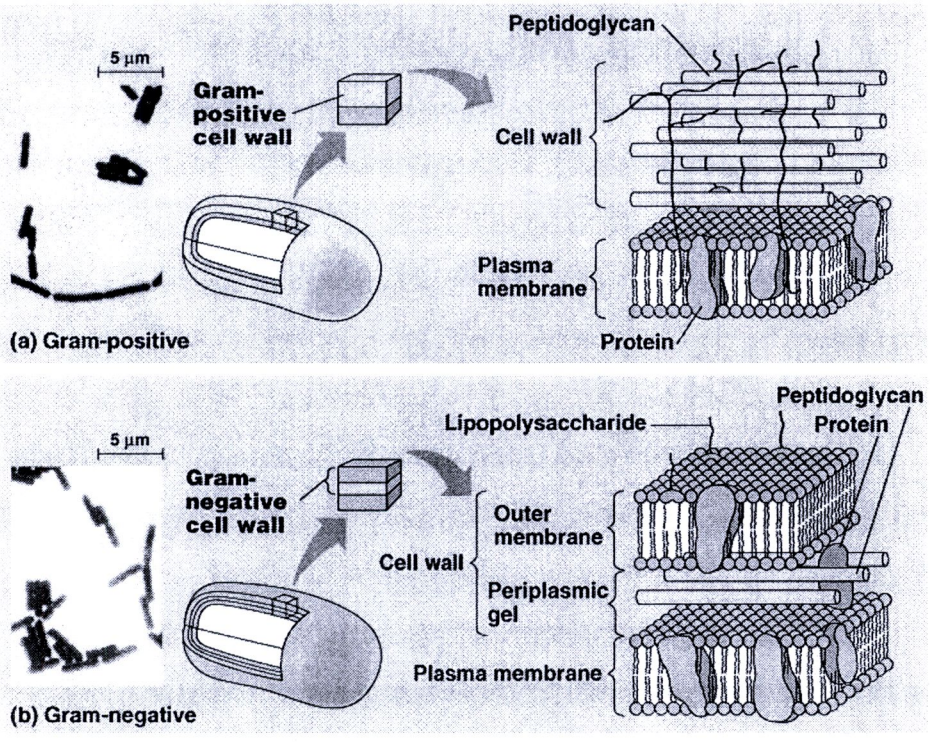
จากผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสียในเครื่องสำอาง พบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง Body Lotion No.1 (หมายเลขทดสอบ S7) ซึ่งมีสารกันเสีย Methylparaben 0.293 %w/w และ Propylparaben 0.098 %w/w เป็นสูตรตำรับที่จุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิด ยังคงมีชีวิตอยู่ได้นานถึง 7 วันแต่มีปริมาณลดลง ในขณะที่ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสูตรตำรับอื่นๆ จุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิดไม่สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ ผลจากการทดสอบจึงทำให้สามารถคัดเลือกสูตรตำรับเครื่องสำอาง Body Lotion No.1 (หมายเลขทดสอบ S7) เป็นสูตรตำรับในการพัฒนาเป็นตัวอย่างทดสอบความซำนาญต่อไป

สารกันเสีย

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ จะทำให้จุลินทรีย์เจริญได้ดีกว่าผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทผงแป้ง น้ำมัน และเครื่องสำอางระงับกลิ่นกาย ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและวัตถุดิบไม่เป็นผลิตภัณฑ์ที่ปราศจากเชื้อ จึงนำสารกันเสียมาใช้เพื่อป้องกันผลิตภัณฑ์จากการปนเปื้อนและถูกทำลายโดยจุลินทรีย์ เป็นสารที่ฆ่าหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่อาจปะปนมากับผลิตภัณฑ์ เพื่อป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์เสียหายทั้งในด้านความคงตัว ลักษณะกายภาพที่เปลี่ยนไป และในด้านอันตรายต่อผู้ใช้โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค หรือการเกิดพิษของผลิตภัณฑ์เนื่องจากจุลินทรีย์ และยังรวมไปถึงหน้าที่ในการป้องกันจุลินทรีย์ที่อาจปะปนมาระหว่างการใช้ผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ปลอดภัยต่อผู้ใช้ตลอดอายุการใช้งาน (Kabara, 1984, p. 404; Orth, 1993, pp. 3-4) ผลิตภัณฑ์ที่ถูกปนเปื้อนโดยจุลินทรีย์ อาจมีลักษณะทางกายภาพเปลี่ยนไป เช่น ขุ่น ตกตะกอน สีและกลิ่นเปลี่ยน ความหนืดลดลง และเนื่องจาก Baird ได้ให้ข้อสังเกตว่าไม่พบลักษณะผิดปกติใดๆ ของเครื่องสำอางที่พบจุลินทรีย์ปนเปื้อนมากถึง 10^3–10^6 โคโลนีต่อกรัม (Baird, 1976, p. 19)

จากองค์ประกอบของผนังเซลล์ พบว่าข้อแตกต่างระหว่างแบคทีเรียแกรมลบและแบคทีเรียแกรมบวกคือ ในแบคทีเรียแกรมบวกผนังเซลล์ประกอบด้วย peptidoglycan ถึงร้อยละ 90 ส่วนในแบคทีเรียแกรมลบผนังเซลล์ประกอบด้วย peptidoglycan ร้อยละ 5-20 และมีผนังชั้นนอกซึ่งประกอบด้วย lipid, polysaccharide และโปรตีน จึงเรียกผนังชั้นนอกว่า ชั้น

lipopolysaccharide ดังแสดงในภาพ 1 (แคมเบลล์, ม.ป.ป.) ข้อแตกต่างของชั้น lipopolysaccharideนี้ ทำให้แบคทีเรียแกรมลบมีความต้านทานต่อสารกันเสียได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก รวมถึงยีสต์และรา (Kabara, 1984, p. 23) จากการแยกจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางส่วนใหญ่เป็น Bacillus, Micrococcus และ Staphylococcus และเมื่อนำมาทดสอบความต้านทานกับสารกันเสีย 6 ชนิด คือ methylparaben, ethylparaben, propylparaben, buthyparaben, Imidazolidinylurea และ phenoxyethanol พบว่าจุลินทรีย์ทุกสายพันธุ์ที่แยกได้จากตัวอย่างเครื่องสำอางมีความต้านทานต่อmethyparaben และพบว่าจุลินทรีย์สามารถเจริญได้โดยใช้วัตถุดิบในสูตรตำรับเครื่องสำอาง เช่น starch, carboxymethylcelulosa, labrafil, tefose และ gelatine (Flores, Morillo and Crespo, 1997, pp.158-160)

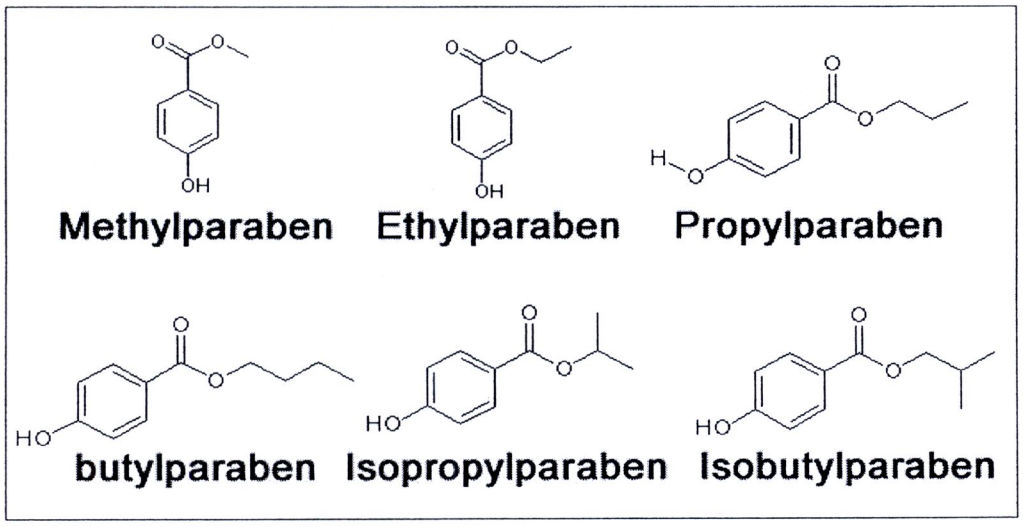


ภาพ 1 ลักษณะของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ

ที่มา: http://campbellzaa.exteen.com/campbell-pics

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 164 ง ลงวันที่ 29 ตุลาคม 2550 (ฉบับที่ 47) พ.ศ. 2550 เรื่องกำหนดวัตถุกันเสียที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง ซึ่งกำหนดให้ 4-Hydroxybenzoic acid and its salts and esters (Parabens) อัตราส่วนสูงสุดที่ให้ใช้ 0.8% (คำนวณในรูปกรด) เมื่อใช้ ester หลายชนิด (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 29 ตุลาคม 2550, หน้า 1) นอกจากนี้ methy, ethyl, propyl และ butyl เป็นเอสเทอร์ของ p-hydroxybenzoic acid (Kabara, 1984, p. 65) ดังแสดงในภาพ 2 (izntlifesojuicy, 2010) ซึ่งสารกันเสียที่นิยมใช้มากที่สุดในเครื่องสำอางในสหรัฐอเมริกาและแคนนาดา ได้แก่ methylparaben และ propylparaben (Steinberg, 2010, p. 50) Parabens มีข้อดี คือ มีความปลอดภัยต่อผู้ใช้, มีประสิทธิภาพในช่วง pH ที่กว้าง 3.0-9.5 ไม่ระเหยง่าย, ไม่มีสี, ไม่มีกลิ่น และมีความคงตัว (Kabara, 1984, p. 64) โดยปริมาณต่ำสุดที่ใช้ methyparaben 0.2% ร่วมกับ propyl paraben 0.1% เพื่อให้มีสารกันเสียอยู่ทั้งในวัฏภาคน้ำและวัฏภาคน้ำมัน เนื่องจาก methy ester ละลายน้ำได้ดีจึงออกฤทธิ์ในส่วนของวัฏภาคน้ำ ส่วนpropyl ester ละลายและออกฤทธิ์ในส่วนของวัฏภาคน้ำมัน (Block, 2001, p.1275) โดยความเข้มข้นรวมของ paraben ที่ใช้ต้องน้อยกว่า 0.8% (Abrutyn, 2010, p. 24; Orth, 1993, p. 76)



ภาพ 2 โครงสร้างเอสเทอร์ของ p-hydroxybenzoic acid

ที่มา: http://izntlifesojuicy.blogspot.com/2010/11/what-is-paraben.html

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 14 พ.ค. 2555
เลขทะเบียน 247172

นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารกันเสีย ได้แก่

1. การแตกตัวและพีเอช (Dissociation and pH) พีเอชเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลทั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และการออกฤทธิ์หรือการแตกตัวของสารกันเสีย สารกันเสียบางชนิดออกฤทธิ์ดี (แตกตัวน้อย) ในพีเอชกรด เช่น benzoic acid บางชนิดออกฤทธิ์ดีในพีเอชด่าง เช่น benzakonium chloride และ quaternary ammonium compounds

2. ความเข้มข้น ปัจจุบันนิยมใช้สารกันเสียร่วมกันหลายตัวเพื่อเพิ่มการออกฤทธิ์ ลดความเป็นพิษเพราะใช้แต่ละชนิดน้อยลงป้องกันการดื้อของจุลินทรีย์ต่อสารกันเสียเดี่ยวๆ เช่น การใช้ bronopol ร่วมกับ parabens ในผลิตภัณฑ์พีเอชด่าง

3. ค่าสัมประสิทธิ์การละลายในน้ำและน้ำมัน (Partition Coefficient, PC) ปัจจัยนี้สำคัญในตำรับอิมัลชันซึ่งมีวัฏภาคน้ำและวัฏภาคน้ำมัน ควรเลือกสารกันเสียที่มีค่า PC ต่ำ เพราะจุลินทรีย์ละลายในน้ำได้ดีกว่าน้ำมัน สารกันเสียจึงต้องละลายในน้ำได้ดีเพื่อออกฤทธิ์เต็มที่

4. ประสิทธิภาพต่อจุลินทรีย์ของสารกันเสีย (Susceptibility of organism to preservative) สารกันเสียบางชนิดอาจถูกรบกวนโดยสารลดแรงตึงผิวบางชนิดต่อจุลินทรีย์บางชนิดได้ เช่น tween 80 ป้องกัน *E. coli* จากการถูกทำลายโดย p-chloro-m-xylenol เป็นต้น

5. ปฏิกิริยาระหว่างกันของสารอื่นในสูตรกับสารกันเสีย (Interaction between ingredients and preservatives) สารกันเสียอาจเกิดปฏิกิริยากับสารต่างๆในสูตร เช่น เกิดการละลายกันหรือการดูดซับ ทำให้เหลือสารกันเสียที่จะออกฤทธิ์ได้น้อยลง เช่น อิมัลชันบางชนิดมีปริมาณตัวทำอิมัลชันในวัฏภาคน้ำมากเกินไปจะละลายสารกันเสียเข้าไปในหยดน้ำมันทำให้ฤทธิ์การฆ่าเชื้อลดลง ของแข็งบางชนิด เช่น talcum, kaolin, pigment อาจดูดซับสารกันเสียทำให้มีฤทธิ์น้อยลง (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, 2540, หน้า 105-107)

นอกจากนี้อุณหภูมิในการเก็บรักษาเครื่องสำอาง ยังมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในเครื่องสำอาง หากมีอุณหภูมิต่ำ จุลินทรีย์จะมีเมตาบอลิซึมลดลง โดยยังคงตัวอยู่ในเครื่องสำอางไม่เจริญเพิ่มจำนวนมากขึ้นและอาจตายลงอย่างช้าๆ อีกทั้ง matrix ที่เป็นองค์ประกอบในสูตรตำรับเครื่อง เช่น cetyl alcohol และ propylene glycol และลักษณะทางกายภาพที่ดีของอิมัลชัน ซึ่งเป็น protective effect ที่ป้องกันเซลล์จุลินทรีย์จากการถูกทำลายที่อุณหภูมิต่ำ (Kabara, 1984, pp. 390-392) และจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตในอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W emulsion) ได้ดีกว่าอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O emulsion) (Umbach, 1936, p. 274) และภาชนะบรรจุพลาสติกจำพวก polyurethane ทำปฏิกิริยากับสารกันเสียประเภท phenmolic พวก nylon, PE และ PVC ทำปฏิกิริยากับสาร parabens, benzoic acid,

sorbic acid และ salicylic acid และจุกยางที่ใช้ปิดปากขวดสามารถดูดซับสารกันเสียได้ เป็นต้น การเลือกใช้จึงควรคำนึงถึงปัจจัยเหล่านี้ด้วย (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, 2540, หน้า 105-107)

การตรวจหาจุลินทรีย์ปนเปื้อนในเครื่องสำอาง

กระทรวงสาธารณสุขมีเกณฑ์กำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 127 ตอนพิเศษ 51 ง ลงวันที่ 23 เมษายน 2553 ให้เครื่องสำอางที่มีคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาตามที่กำหนดไว้ดังต่อไปนี้เป็นเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย

1. เครื่องสำอางที่ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ดังต่อไปนี้

1.1 ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*)

1.2 สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*)

1.3 แคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*)

1.4 คลอสตริเดียม (*Clostridium* spp.) (เฉพาะเครื่องสำอางผสมสมุนไพร)

2. เครื่องสำอางที่ใช้บริเวณรอบดวงตา เครื่องสำอางที่สัมผัสเยื่อบุอ่อน และเครื่องสำอางสำหรับเด็กอายุต่ำกว่า 3 ปี ที่ตรวจพบจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์และรา ที่เจริญโดยใช้อากาศ (Aerobic plate count) มากกว่า 500 โคโลนีต่อกรัมหรือลูกบาศก์เซนติเมตร ขึ้นไป

3. เครื่องสำอางอื่น นอกเหนือจากที่กำหนดใน (2.) ที่ตรวจพบจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์และรา ที่เจริญโดยใช้อากาศ (Aerobic plate count) มากกว่า 1,000 โคโลนีต่อกรัมหรือลูกบาศก์เซนติเมตร ขึ้นไป

โดยคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาดังกล่าวให้ทดสอบตามวิธีที่ระบุไว้ในมาตรฐาน International Organization for Standardization (ISO) หรือ United States Pharmacopeia (USP) ในเรื่องที่เกี่ยวข้อง ฉบับล่าสุด หรือวิธีอื่นที่เป็นมาตรฐานสากลเป็นที่ยอมรับ (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2553, หน้า 13-14; ISO 21149, 2006; ISO 16212, 2008; ISO 18416, 2007; ISO 22717, 2006; ISO 22718, 2006; Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms, 2011, pp.56-58)

นอกจากนี้มีรายงานการติดเชื้อจากการใช้เครื่องสำอางที่มีจุลินทรีย์ปนเปื้อน ดังนี้ *S. aureus* สายพันธุ์ที่สร้างทอกซิน (toxic shock syndrome toxin-1, TSST-1) ทำให้เกิดโรคช็อก TSS ซึ่งมักเกิดในหญิงสาวที่ใช้ผ้าอนามัยแบบสอด แต่บุคคลอื่น ๆ รวมทั้งเด็กและผู้ชายที่เป็นฝีหรือผู้ติดเชื้อ *Staphylococcus* ก็อาจเป็นโรค TSS ได้ อาการของโรคมีไข้ความดันต่ำ ท้องร่วง เยื่อบุตาอักเสบ ปวดกล้ามเนื้อ และเกิดผื่นแดงของไข้ดำแดง หลังจากนี้มีการลอกของผิวหนังออกเป็นแผ่นหรือสะเก็ด และพบผู้ป่วยเป็นโรคตาอักเสบที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

ซึ่งปนเปื้อนในเครื่องสำอางที่ใช้บริเวณรอบดวงตา หากไม่ได้รับการรักษาที่ถูกต้องและทันการณ์ อาจมีผลทำให้ตาบอด เนื่องจากดวงตาเป็นเนื้อเยื่ออ่อนที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดอันตราย นอกจากนี้ เครื่องสำอางรอบดวงตาส่วนใหญ่จะมีอุปกรณ์ช่วยในการตกแต่งดวงตา เช่น ก้านพลาสติกสำหรับทาเปลือกตาด้วยอายแชโดว์ แปรงสำหรับปัดขนตาด้วยมาสคาร่า อาจจะทำให้เกิดบาดแผลบริเวณดวงตาและติดเชื้อได้ ดังนั้นในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่บริเวณรอบดวงตา รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการตกแต่งรอบดวงตา ต้องมีความระมัดระวังเป็นพิเศษ (พิมลพรรณ พิทยานุกูล, 2545)

การให้บริการทดสอบความชำนาญ

ระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐานสากล ISO/IEC 17025 กำหนดให้ห้องปฏิบัติการเข้าร่วมในโปรแกรมเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการหรือการทดสอบความชำนาญเพื่อให้ห้องปฏิบัติการพัฒนาความสามารถ และแสดงถึงความเชื่อมั่นว่า ผลทดสอบที่ได้จากห้องปฏิบัติการมีความถูกต้องสม่ำเสมอและน่าเชื่อถือ การทดสอบความชำนาญเป็นการใช้ผลของการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการเพื่อประเมินสมรรถนะของการทดสอบของห้องปฏิบัติการแต่ละแห่ง ดังนั้นการเข้าร่วมโปรแกรมการทดสอบความชำนาญจึงเป็นเครื่องมือที่เป็นรูปธรรมในการตรวจประเมินและแสดงความน่าเชื่อถือของผลการทดสอบ

ในการให้บริการทดสอบความชำนาญ หน่วยงานที่ดำเนินแผนงานทดสอบความชำนาญในรายการทดสอบนั้นๆ จะต้องจัดหาตัวอย่างทดสอบความชำนาญ (PT Sample) เพื่อส่งให้ห้องปฏิบัติการสมาชิกวิเคราะห์ในรายการทดสอบตามที่หน่วยงานที่ดำเนินแผนงานทดสอบความชำนาญให้บริการและส่งผลวิเคราะห์ให้ผู้ดำเนินการประเมินความสามารถโดยใช้สถิติที่เหมาะสม ซึ่งหน่วยงานดำเนินแผนงานทดสอบความชำนาญจะต้องทดสอบความใช้ได้ (validation) ของตัวอย่างทดสอบความชำนาญ ในหัวข้อความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) และความคงสภาพ (stability) ของตัวอย่างทดสอบด้วย นอกจากนี้จะต้องคำนึงถึงภาชนะบรรจุ การขนส่งและการเก็บรักษาตัวอย่างทดสอบด้วยเพื่อให้ตัวอย่างทดสอบมีสภาพสมบูรณ์และไม่มีผลกระทบต่อผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการสมาชิก ซึ่งหน่วยงานที่ให้บริการแผนงานทดสอบความชำนาญด้านต่างๆ จะต้องได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043: 2010

ในการให้บริการทดสอบความชำนาญด้านจุลชีววิทยาในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ในปัจจุบันพบว่ามีลักษณะของตัวอย่างทดสอบความชำนาญที่แยก matrix ของเครื่องสำอางกับจุลินทรีย์ออกจากกัน โดย matrix เครื่องสำอางที่ได้จะมาในรูปแบบต่างๆ คือ ครีม, ผงละเอียด และของเหลว ส่วนจุลินทรีย์จะแยกบรรจุมาเป็นผงแห้ง (lyophilize) โดยห้องปฏิบัติการสมาชิกจะต้อง

ผสม matrix และจุลินทรีย์ให้เข้ากันก่อนการทดสอบตามเอกสารแนบจากผู้ดำเนินแผนงานทดสอบความชำนาญ และปัจจุบันยังไม่พบผู้ให้บริการทดสอบความชำนาญด้านจุลชีววิทยาในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางแบบ real sample จึงทำให้เกิดการวิจัยในครั้งนี้ซึ่งเป็นการพัฒนาการเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญโดยใส่จุลินทรีย์แบบผสมรวมกันลงในตัวอย่างเครื่องสำอาง

การเข้าร่วมในแผนงานทดสอบความชำนาญ และการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการเป็นกิจกรรมที่สามารถใช้ในการประเมินความสามารถในการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ และเป็นข้อกำหนดที่สำคัญที่ห้องปฏิบัติการที่ต้องการขอการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ดังนั้นองค์กรที่ให้บริการทดสอบความชำนาญจึงมีการเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญสำหรับประเมินความสามารถในการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการด้านต่างๆตามชนิดของผลิตภัณฑ์ วัตถุทดสอบ เนื้อสาร เช่น อาหาร ยา เครื่องสำอาง วัตถุอันตราย พิษวิทยา วัตถุเสพติด เครื่องมือแพทย์และผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ ตัวอย่างทางด้านปศุสัตว์ ตัวอย่างทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ เป็นต้น โดยลักษณะของตัวอย่างทดสอบชำนาญควรมีลักษณะใกล้เคียงกับตัวอย่างทดสอบทั่วไปที่ทดสอบเป็นประจำในห้องปฏิบัติการและควรมีปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในตัวอย่างทดสอบความชำนาญใกล้เคียงกับเกณฑ์มาตรฐานเพื่อเป็นการทดสอบความสามารถของห้องปฏิบัติการสมาชิกที่เข้าร่วมแผนงานทดสอบความชำนาญ(ISO/TS 22117, 2010, pp. 4-5; ISO/IEC 17043, 2010, p. 8) และจะต้องทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้การประเมินทางสถิติ Sufficient Homogeneity test จากการคำนวณ s^2_{sam} น้อยกว่าหรือเท่ากับ $F_1 (0.3\sigma_p)^2 + F_2 s^2_{an}$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และทดสอบความคงตัว ต่อสภาวะแวดล้อมต่างๆ ของตัวอย่างทดสอบความชำนาญ ซึ่งประเมินผลทางสถิติโดยใช้ 0.5 $\log_{10}$rules หรือ Poisson distribution หรือสถิติอื่นที่เหมาะสม

Brodsky, Ciebin and Schiemann (1978, pp. 487-491) ได้ศึกษาระดับความเข้มข้นของ boric acid ที่ทำให้ *Escherichia coli* มีชีวิตอยู่รอดได้นานที่สุด โดยพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth ที่เติม 1.8% boric acid และ 1% sodium chloride ที่ pH 7.0 สามารถรักษาความคงตัวของ *Escherichia coli* ให้คงอยู่ในอุณหภูมิห้องได้นานถึง 10 วัน ประเมินผลจากค่า bacterial recovery ระหว่างการเก็บรักษา โดยใช้ ANOVA และนำผลที่ได้มาใช้เป็น preservation medium ในการเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญด้านชีววิทยากับตัวอย่างน้ำ ซึ่งทำให้เชื่อมั่นว่าจุลินทรีย์จะยังคงมีชีวิตอยู่และรักษาปริมาณในตัวอย่างทดสอบความชำนาญ

Toombs and Connor (1980, pp. 883-887) ศึกษาเปรียบเทียบ transport media 2 ชนิด เพื่อใช้ในโปรแกรมการควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการ คือ NYSDH-1 และ NYSDH-2 ซึ่ง

NYSDH-1 ประกอบด้วย K_2HPO_4 3.0 กรัม, sulfanilamide 1.5 กรัม และ 95%ethanol 10 มิลลิลิตรใน 1 ลิตร ส่วน NYSDH-2 ประกอบด้วย sodium benzoate 1.5 กรัมใน 1 ลิตร โดยนำ *E. coli* หรือ *P. aeruginosa* ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ NYSDH-1และผสมกับ surface หรือ portable water ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ NYSDH-2 ผสมกับ *E. cloacae* และผสมกับ surface หรือ portable water พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถรักษา *E. coli*, *E. cloacae* และ *P. aeruginosa* ที่ใส่ในน้ำให้มีชีวิตอยู่รอดได้ 88% ในเวลาอย่างน้อย 48 ชั่วโมงที่สภาวะปกติ (ambient temperature) ในรายการทดสอบ total coliform, fecal coliform และ standard plate count ประเมินผลการอยู่รอดโดยใช้ Poisson distribution ผลการศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้นำมาประยุกต์ใช้ในเตรียม และการทดสอบความชำนาญของตัวอย่างน้ำไปยังห้องปฏิบัติการสมาชิก

Basse, et al. (2008, pp. 36-42) ศึกษาเปรียบเทียบวิธีเก็บรักษาตัวอย่างนมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา เพื่อใช้เป็น inter-laboratory studies ในรายการทดสอบ *Listeria monocytogenes* และ coagulase-positive staphylococci ในตัวอย่างนมโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง (freezing temperature) และเติม bacteriostatic agent ที่อุณหภูมิแช่เย็น (refrigeration temperature) เช่น nystatin, boric acid, sodium azide และ lactoperoxidase system หรือ boric acid mixture เพื่อคัดเลือกวิธีการเก็บรักษา และรักษาระดับการอยู่รอดของจุลินทรีย์ระหว่างการขนส่ง ผลการศึกษาพบว่า boric acid mixture และ boric acid สามารถเก็บรักษาตัวอย่างนมรายการทดสอบ coagulase-positive staphylococci และที่อุณหภูมิแช่แข็งเก็บรักษา *L. monocytogenes* ได้ และพบว่า *L. monocytogenes* มีชีวิตอยู่รอดได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส และ boric acid mixture เป็น bacteriostatic agent ที่ดีในการนำมาใช้เก็บรักษาตัวอย่างนมเพื่อส่งไปยังห้องปฏิบัติการสมาชิกต่อไป

Puwastien, Judprasong and Pinprapai (2009, pp. 453-462) พัฒนาการเตรียมตัวอย่างข้าวเพื่อใช้เป็นวัสดุอ้างอิง (reference material) และใช้ในการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ด้านอาหาร โดยเตรียมเป็นผงละเอียดและทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันด้วยการประเมินค่าจากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารอาหาร เช่น ความชื้น, โปรตีน, ธาตุเหล็ก และวิตามินเป็นต้น รวมทั้งประเมินค่าจริง (assigned values) ของวัสดุอ้างอิงเพื่อนำวัสดุดังกล่าวมาใช้ในการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบความชำนาญจำนวน 62 ห้องปฏิบัติการ โดยค่าจริงได้มาจากคำนวณตาม ISO 13528 โดยประเมินจากค่าผลวิเคราะห์ของทั้ง 62 ห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างทดสอบในรายการวิเคราะห์สารอาหารต่างๆ ประเมินด้วย consensus values จะนำไปเป็นวัสดุอ้างอิงเพื่อใช้ในการทดสอบความสามารถในการตรวจ

วิเคราะห์, ใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพสำหรับระบบการควบคุมคุณภาพภายใน และใช้เป็นวัสดุอ้างอิงสำหรับการทดสอบความถูกต้องของวิธี