



247172

การพัฒนาการเตรียมตัวก่อนเข้าทดสอบความชำนาญด้านอุทกวิทยาในผลิตภัณฑ์  
เครื่องวัดอุณหภูมิตัว

ฉันทนา สาขารวมญาติ

วิทยานิพนธ์เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของงานศึกษา  
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์  
ตุลาคม 2554  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

๐๐๐๒๕๕๘๔๙

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



247172

การพัฒนาการเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญด้านจุลชีววิทยาในผลิตภัณฑ์  
เครื่องสำอางชนิดครีม



สิริมา สายรวมญาติ

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์

ตุลาคม 2554

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ เรื่อง “การพัฒนาการเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญด้านจุลชีววิทยาในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชนิดครีม” ของ สิริมา สายรวมญาติ เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ ของมหาวิทยาลัยนเรศวร



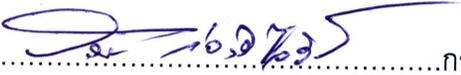
.....ประธาน

(ดร.อังคณา หิรัญสาลี)



.....กรรมการ

(ดร.ศิริวรรณ วิชัย)



.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.รสนิน ว่องวิไลรัตน์)



.....กรรมการ

(นางเพ็ญศรี รอดมา)



.....กรรมการ

(ดร.วิสาร สุพรรณไพบูลย์)

อนุมัติ



.....  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.คินีจ กุพัฒน์วิบูลย์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

๑๔ ตุลาคม 2554

## ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ เรื่อง “การพัฒนาการเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญด้านจุลชีววิทยา ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชนิดครีม” เป็นผลงานวิจัยร่วมระหว่างกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งเป็นเจ้าของผลงาน (Ownership) และมหาวิทยาลัยนเรศวรเป็นเจ้าของผลงานร่วม (Co-Ownership) ตามข้อตกลงต่อท้ายบันทึกความร่วมมือทางวิชาการและการวิจัย ระหว่างมหาวิทยาลัยนเรศวร กับ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ฉบับลงวันที่ 3 มิถุนายน พ.ศ. 2551 รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก จ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ ด้วยความกรุณา และความอนุเคราะห์อย่างยิ่งของ ดร.ศิริวรรณ วิชัย ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.รสริน ว่องวิไลรัตน์ และนางเพ็ญศรี รอดมา กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.วิสาร্থ์ สุพรรณไพบูลย์ กรรมการ และ ดร.อังคณา นีรัฐสวัสดิ์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ซึ่งได้ให้ข้อคิด คำแนะนำ ตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ทุกขั้นตอน ด้วยความรัก ความห่วงใย เอาใจใส่อย่างดียิ่ง และสม่ำเสมอ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งและสำนึกในพระคุณของทุกท่านเป็นที่สุด

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอย่างสูง สำหรับทุนสนับสนุนตลอดระยะเวลาในการดำเนินการวิจัยจาก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ขอบพระคุณ นางहरषा ไชยวานิช ผู้อำนวยการสำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เป็นอย่างสูง ที่ให้โอกาสและสนับสนุนทางการศึกษาแก่ผู้วิจัย

ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทดสอบทางชีววิทยาและความปลอดภัย และเจ้าหน้าที่สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ ความร่วมมือ ข้อเสนอแนะ และอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยแก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดี ขอขอบคุณความอนุเคราะห์และคำแนะนำจากเจ้าหน้าที่โรงงานต้นแบบผลิตภัณฑ์สมุนไพร สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในการเตรียมเครื่องสำอางชนิดครีม

สิ่งที่สำคัญที่สุด คือ ผู้วิจัยต้องกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และขอบคุณน้องๆ ทุกคนที่คอยห่วงใย ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้านอย่างดีที่สุดเสมอมา

คุณค่าและคุณประโยชน์อันมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอเทิดทูนแต่บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านด้วยความเคารพอย่างสูง

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาการเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญด้าน จุลชีววิทยาในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชนิดครีม
ผู้วิจัย	สิริมา สายรวมญาติ
ประธานที่ปรึกษา	ดร.ศิริวรรณ วิชัย
กรรมการที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.รสริน ว่องวิไลรัตน์ นางเพ็ญศรี รอดมา
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2554
คำสำคัญ	การเตรียมตัวอย่าง การทดสอบความชำนาญ จุลชีววิทยา เครื่องสำอาง

#### บทคัดย่อ

**247172**

ในประเทศไทยยังไม่มีมีการเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญด้านจุลชีววิทยาในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ตัวอย่างทดสอบความชำนาญเตรียมโดยใช้ครีมผสมกับจุลินทรีย์เป้าหมาย ได้แก่ *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* แยกได้จากผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* DMST 35549 แยกได้จากโลชั่น, *Pseudomonas putida* ATCC 17522 (DMST 14732), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 (DMST 5868) โดยทดสอบสมบัติของตัวอย่างทดสอบความชำนาญในด้านความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัว จากการวิจัยพบว่าตัวอย่างทดสอบความชำนาญมีความเป็นเนื้อเดียวกัน และมีความคงตัวที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน ตัวอย่างทดสอบความชำนาญที่ได้นี้เหมาะสมสำหรับการทดสอบความชำนาญในรายการทดสอบเชิงปริมาณ คือ Total Aerobic Microbial Count และ Total Combined Yeasts and Moulds Count และเหมาะสมสำหรับรายการทดสอบเชิงคุณภาพ คือ Detection of *Staphylococcus aureus*, Detection of *Pseudomonas aeruginosa* และ Detection of *Candida albicans*

**Title** DEVELOPMENT OF SAMPLES PREPARATION FOR  
MICROBIOLOGICAL PROFICIENCY TESTING IN CREAM  
COSMETIC PRODUCTS

**Author** Sirima Sairuomyart

**Advisor** Siriwan Wichai, Ph.D.

**Co - Advisor** Associate Professor Rosarin Wongvilairat, Ph.D.  
Pensri Rodma

**Academic Paper** Thesis M.S. in Medical Sciences,  
Naresuan University, 2011

**Keywords** sample preparation, proficiency testing, microbiological,  
cosmetic

#### ABSTRACT

**247172**

Proficiency Testing samples (PT sample) for microbiological testing in cosmetic products have not found that prepared in Thailand. PT samples from artificially contaminated samples using cream as matrix mixing with target microorganisms, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* isolated from cosmetic product, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* DMST 35549 isolated from lotion, *Pseudomonas putida* ATCC 17522 (DMST 14732), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 (DMST 5868) were prepared. These were then determined the homogeneity and stability. It was found that prepared PT samples were homogenous and could be stable for 3 days at 2-8°C. These PT samples were suitable for microbiological proficiency testing of cosmetic products for both quantitative method of Total Aerobic Microbial Count, Total Combined Yeasts and Moulds Count and qualitative method for *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* detection.

## สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาของปัญหา.....	1
จุดมุ่งหมายของการวิจัย.....	4
ความสำคัญของการวิจัย.....	5
ขอบเขตการวิจัย.....	5
คำสำคัญหรือคำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย.....	6
สมมติฐานของการวิจัย.....	7
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
เครื่องสำอาง.....	8
สูตรตำรับครีมบำรุงกลางคืน.....	10
สารกันเสีย.....	11
การตรวจหาจุลินทรีย์ปนเปื้อนในเครื่องสำอาง.....	15
การให้บริการทดสอบความชำนาญ.....	16
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	20
เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง.....	20
วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....	20
อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.....	21
จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ.....	21
การดำเนินการวิจัย.....	22

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล.....	45
ผลการดำเนินการวิจัยและอภิปรายผล.....	45
5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ.....	91
บรรณานุกรม.....	94
ภาคผนวก.....	99
ประวัติผู้วิจัย.....	120

## สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 แสดงสภาวะในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์และค่าความส่องผ่านของแสงของ จุลินทรีย์แต่ละชนิด.....	23
2 แสดงส่วนประกอบที่ใช้ในการเตรียมครีมบำรุงกลางคืน.....	25
3 แสดงระดับและปริมาณจุลินทรีย์ที่ใส่ในครีมบำรุงกลางคืน 3 ระดับ.....	28
4 แสดงส่วนประกอบที่ใช้ในการเตรียมครีมบำรุงกลางคืนที่ผสมหรือไม่ผสมสาร กันเสีย.....	31
5 แสดงระดับและปริมาณจุลินทรีย์ที่ใส่ผสมรวมในครีมบำรุงกลางคืน.....	39
6 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ที่ใส่ผสมรวมในครีมบำรุงกลางคืน เพื่อจัดเตรียมตัวอย่าง ทดสอบความชำนาญ ประเภทครีม 2 ตัวอย่าง.....	41
7 ปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นในตัวอย่างครีมบำรุงกลางคืน 3 ระดับการปนเปื้อน.....	46
8 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของปริมาณเชื้อทั้ง 3 ระดับการปนเปื้อน.....	47
9 เกณฑ์ยอมรับ $\pm 0.5 \log_{10}$ median ของผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของ 3 ระดับการปนเปื้อน .....	48
10 สรุปผลการทดสอบความคงตัวจากการตรวจหา <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027.....	54
11 ปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้น ณ 0 วัน ( $\log_{10}$ cfu) ของตัวอย่างทดสอบความชำนาญ A และ B โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้น (AH, AM, AL, BH, BM และ BL)....	65
12 ความคงตัวของแบคทีเรียที่ 6 ระดับการปนเปื้อนในตัวอย่างทดสอบความชำนาญ..	66
13 ความคงตัวของยีสต์ที่ 6 ระดับการปนเปื้อนในตัวอย่างทดสอบความชำนาญ.....	66
14 ความคงตัวของราที่ 6 ระดับการปนเปื้อนในตัวอย่างทดสอบความชำนาญ.....	67
15 แสดงผลการตรวจนับปริมาณและตรวจหาจุลินทรีย์ก่อโรค 3 ชนิดใน 6 ตัวอย่าง...	70
16 แสดงผลการตรวจหานับปริมาณจุลินทรีย์โดยเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด..	73
17 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันในรายการทดสอบ Total Aerobic Microbial Count และ Total Combined Yeasts and Moulds Count ของครีม A และ ครีม B.....	76

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
18 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันในรายการทดสอบ Detection of <i>Staphylococcus aureus</i> , Detection of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> และ Detection of <i>Candida albicans</i> ของครีม A และครีม B.....	77
19 เกณฑ์ยอมรับ $\pm 0.5 \log_{10}$ median ของผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของ ตัวอย่างทดสอบความชำนาญ ครีม A และครีม B ในรายการทดสอบ Total Aerobic Microbial Count และ Total Combined Yeasts and Moulds Count.....	78
20 การทดสอบความคงตัวในรายการทดสอบ Detection of <i>Staphylococcus aureus</i> , Detection of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> และ Detection of <i>Candida albicans</i> ของครีม A และครีม B.....	82
21 ผลการทดสอบความคงตัวในสภาวะการขนส่งในรายการทดสอบ Total Aerobic Microbial Count ของครีม A และครีม B.....	83
22 ผลการทดสอบความคงตัวในสภาวะการขนส่งในรายการทดสอบ Total Combined Yeasts and Moulds Count ของครีม A และครีม B.....	84
23 การทดสอบความคงตัวในสภาวะการขนส่ง รายการทดสอบ Detection of <i>Staphylococcus aureus</i> , Detection of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> และ Detection of <i>Candida albicans</i> ของครีม A และครีม B.....	85
24 สรุปลักษณะที่เปลี่ยนแปลงและระยะเวลาขณะขนส่งตัวอย่างทดสอบความชำนาญ.....	86
25 ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสูตรตำรับต่างๆ จากผู้ผลิตเครื่องสำอางภาคเอกชน.....	100
26 ตัวอย่างการคำนวณจากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน.....	101
27 ตัวอย่างการคำนวณค่า median ของผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ในรายการทดสอบ Total Aerobic Microbial Count ของโลชั่น A.....	103
28 Neutralizers of antimicrobial activity of preservatives และ rinsing liquids.....	105

## สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 ลักษณะของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ.....	12
2 โครงสร้างเอสเทอร์ของ p-hydroxybenzoic acid.....	13
3 แสดงส่วนผสม A ในอ่างน้ำร้อน.....	26
4 แสดงส่วนผสม B ในอ่างน้ำร้อน.....	26
5 แสดงการผสมครีมด้วยเครื่องตีผสม.....	27
6 แสดงส่วนผสม A บนเตาไฟฟ้า.....	32
7 แสดงส่วนผสม B บนเตาไฟฟ้า.....	33
8 แสดงหัวผสมของเครื่องผสมแบบ homoginizing mixer .....	33
9 แสดงเนื้อครีมขึ้นหลังจากตีผสมนาน 3 ชั่วโมง.....	34
10 การบรรจุตัวอย่างทดสอบความชำนาญพร้อม data logger.....	43
11 การรักษาอุณหภูมิตัวอย่างทดสอบความชำนาญขณะขนส่ง.....	44
12 เนื้อครีมจากการใช้หัวผสมแบบตะกร้อ.....	45
13 ผลการทดสอบความคงตัวของแบคทีเรียที่ระดับปนเปื้อนสูง.....	49
14 ผลการทดสอบความคงตัวของแบคทีเรียที่ระดับปนเปื้อนกลาง.....	50
15 ผลการทดสอบความคงตัวของแบคทีเรียที่ระดับปนเปื้อนต่ำ.....	51
16 ผลการทดสอบความคงตัวของราที่ระดับปนเปื้อนสูง.....	53
17 ผลการทดสอบความคงตัวของราที่ระดับปนเปื้อนกลาง.....	53
18 แสดงลักษณะครีมที่ได้จากการใช้เครื่องผสมแบบ homoginizing mixer.....	55
19 แสดงการเจริญในครีมบำรุงกลางคืนของ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (DMST 35549) สายพันธุ์ที่แยกจากตัวอย่างเครื่องสำอางชนิดโลชั่น.....	57
20 แสดงการเจริญของ <i>Pseudomonas putida</i> ATCC 17522 ในครีมบำรุง กลางคืน.....	58
21 แสดงการเจริญของ <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 ในครีมบำรุงกลางคืน.....	59
22 แสดงการเจริญของ <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 ในครีมบำรุง กลางคืน.....	60
23 แสดงการเจริญของ <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 ในครีมบำรุงกลางคืน.....	62

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
24	แสดงการเจริญของ <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404 ในครีมบำรุงกลางคืน.....	63
25	แสดงลักษณะเฉพาะของโคโลนี <i>P. aeruginosa</i> ที่ตรวจนับบน PP.....	71
26	แสดงลักษณะเฉพาะของโคโลนี <i>S. aureus</i> ที่ตรวจนับบน MSA + egg yolk.....	71
27	แสดงลักษณะเฉพาะของโคโลนี <i>C. albicans</i> ที่ตรวจนับบน CHROMagar™ Candida.....	72
28	แสดงเชื้อราเจริญปกคลุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่เวลา 48 ชั่วโมง.....	73
29	ความคงตัวในรายการทดสอบ Total Aerobic Microbial Count ของครีม A.....	79
30	ความคงตัวในรายการทดสอบ Total Aerobic Microbial Count ของครีม B.....	79
31	ความคงตัวในรายการทดสอบ Total Combined Yeasts and Moulds Count ของครีม A.....	80
32	ความคงตัวในรายการทดสอบ Total Combined Yeasts and Moulds Count ของครีม B.....	81
33	แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิทุก 30 นาที วันที่ 8 พ.ค. 54 ขณะขนส่งตัวอย่าง ทดสอบความชำนาญ.....	87
34	แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิทุก 30 นาที วันที่ 9 พ.ค. 54 ขณะขนส่งตัวอย่าง ทดสอบความชำนาญ.....	88
35	กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิทุก 30 นาทีขณะขนส่งตัวอย่างทดสอบ ความชำนาญ.....	89
36	แสดงอุณหภูมิเมื่อตัวอย่างทดสอบความชำนาญส่งกลับมาถึงห้องปฏิบัติการ.....	89