ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอางทั่วไป มอก.152-2539 (ข้อกำหนดคุณลักษณะทางจุลชีววิทยา)

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอางทั่วไป มอก. 152-2539 (ข้อกำหนดคุณลักษณะทางจุลชีววิทยา)

เครื่องสำอางต้องมีคุณลักษณะจุลชีววิทยาดังนี้

1. จำนวนแบคทีเรีย ยีสต์ และราทั้งหมด (total colony count) น้อยกว่า 1000 โคโลนีต่อกรัม หรือลูกบาศก์เซนติเมตร

2. จุลินทรีย์อื่น ๆ ที่ทำให้เกิดการแปรสภาพ (fault producing organisms) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ เช่น ครอสตริเดียม (clostridium spp.) ต้องไม่พบ

3. สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (staphylococcus aureus roosenbach) ต้องไม่พบ

4. สเตรปโตค็อกคัส (streptococcus spp.) ต้องไม่พบ

5. ซาลโมเนลลา (salmonella) ต้องไม่พบ

6. ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (psudomonas aeruginosa (schroeter) migula) ต้องไม่พบ

7. โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (coliform bacteria) วิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) น้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัมลูกบาศก์เซนติเมตร

8. เอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli (Migula) Castle et Chalm*) ต้องไม่พบ

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total Polyphenol Contents)

การตรวจวัดปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด โดยวัดปริมาณความเข้มข้นของสาร ประกอบทั้งหมดที่มีหมู่ไฮดรอกซิล อยู่ในโมเลกุล และไม่คำนึงถึงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบ โพลีฟีนอลนั้นๆ ดังนั้นการวิเคราะห์ในรูปแบบนี้ จึงไม่มีการระบุชนิดของสารประกอบโพลีฟีนอลที่มีอยู่ในตัวอย่างซึ่ง วิธีการวิเคราะห์เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยารีดักชัน-ออกซิเดชัน (reduction-oxidation) โดยที่สารประกอบโพลีฟีนอลิกถูกออกซิไดซ์ในสภาวะที่เป็นด่าง จากนั้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะไปรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนทังสติก - ฟอสโฟโมลิบดิก (phosphotungstic - phosphomolybdic complex) ได้ผลิตภัณฑ์เชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงินและสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

1. สารเคมี

1.1 Folin-Ciocalteu

1.2 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

1.3 สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบลีฟีนอลในตัวอย่างสารสกัด

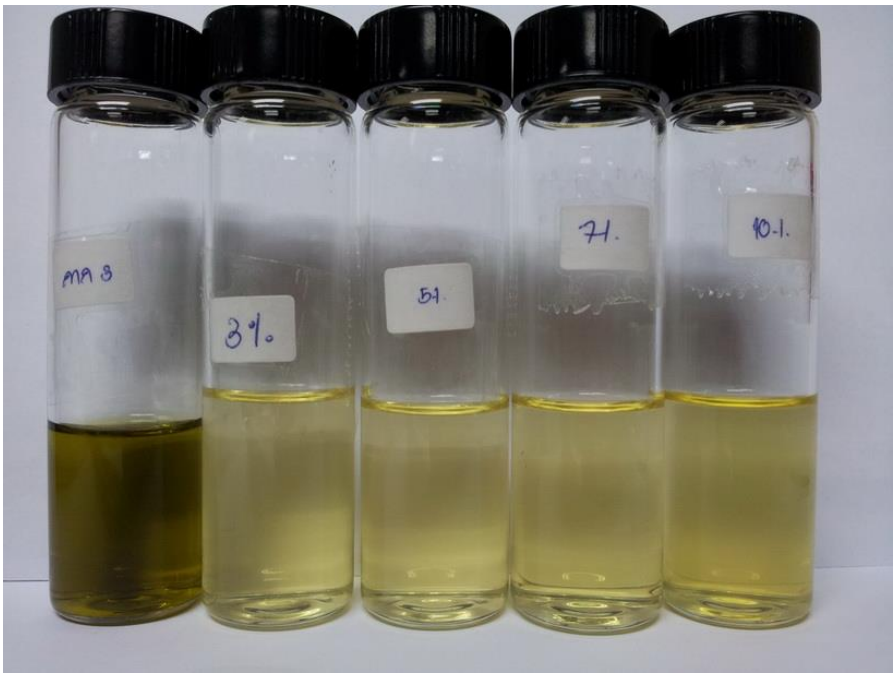
2.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตร รวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร

2.2 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vertex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

2.3 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vertex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

2.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

2.5 สำหรับ blank ให้ใช้เมธานอล 95 เปอร์เซ็นต์แทนตัวอย่างสารสกัดในข้อ 2.1



ภาพที่ ข1 แสดงสารสกัดกากใยสับปะรดและผลิตภัณฑ์ขัดผิวกายผสมกากใยสับปะรดสูตรต่าง ๆด้วยเมธานอล 95 เปอร์เซ็นต์

3. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

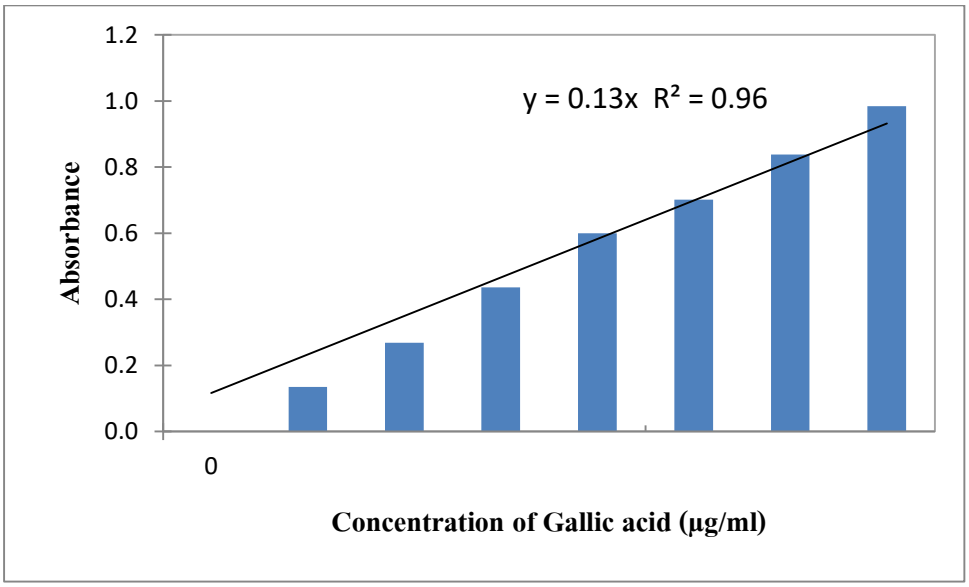
3.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.20, 0.30 และ 0.35 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร

3.3 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vertex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

3.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม(vertex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

3.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

3.6 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม



ภาพที่ ข2 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH จะใช้วิธีที่รายงานโดยมีหลักการคือ สารละลายของอนุมูลอิสระ DPPH จะมีสีม่วง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ที่ 517 นาโนเมตร ในกรณีตัวอย่างสารสกัดมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี จะทำให้สีม่วงแดงของสารละลาย DPPH จางลงได้มากกว่าตัวอย่างสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้น้อย

1. สารเคมี

1.1 สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ละลายในเมธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

2. วิธีวิเคราะห์

2.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัด และเมธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ นั่นคือปริมาตรรวมของตัวอย่างสารสกัด และเมธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ จะต้องเท่ากับ 5.4 มิลลิลิตร

2.2 ปิเปตสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ 0.6 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นปริมาตรของสารละลายที่ทำปฏิกิริยารวมทั้งหมดเป็น 6 มิลลิลิตร

2.3 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

2.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เมธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์เป็น blank

2.5 คำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐาน Ascobic acid ที่ความเข้มข้น 1 mM โดยวัดที่ระยะเวลาที่ทำปฏิกิริยาเท่ากัน การรายงานผลจะเป็น % antioxidant activity (% AA) คำนวณได้ดังสมการ

$$\%AA = \frac{[1-(A_{517}\ of\ sample)]}{(A_{517}\ of\ standard)} \times 100$$