

บทที่ 2

วัสดุอุปกรณ์ สารเคมีและระเบียบวิธีการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์

ขวด vial 20	SFC [®] (24L-SFE Supercritical Fluid Extraction)
ขวดยาลม่อง	GC-MS (thermo) Column Bebron ZB-5ms
เครื่องชั่งวิเคราะห์ 4 ตำแหน่ง	CK electronic GmbH [®] MPA580Germany
เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง	Polytron [®]
แท่งแก้ว ปีกเกอร์ขนาด 10 100 250 มล.	
ลูกยางและกระดาษกรอง	
Water bath	

สารเคมี (ใช้ Pharmaceutical Grade)

Alpha-Tocopherol I	Ethyl alcohol (95%)	Rice bran oil
Beeswax	Hard paraffin	Propylene glycol
Bronidrox [®]	Isopropyl myristate	i-Propyl myristate
Butylated hydroxyanisole (BHA)	Jojoba oil	Sodium hydroxide
Butylated hydroxytoluene (BHT)	Liquid paraffin	Sorbitol solution
Carbopol 941, 940	Methyl paraben	Span 20, 60, 80, 85
Ceterate A25 [®]	Macadamia oil	Stearic acid
Cetostearyl alcohol	Olive oil	Stearyl alcohol
Cetyl alcohol	Ozokerite	Triethanolamine
Coconut oil	Perfume	Tween 20, 60, 80
Dimethicone 350 (silicone)	Panthenol	White soft paraffin
EDTA	PEG-40 stearate	White wax
Glycerin	Polyethylene glycol 200	Propyl paraben
Glyceryl monostearate		

การพัฒนาเครื่องสำอางบำรุงมือและเล็บจากไขกระบก พานี ศิริสะอาดและคณะ 2552

ระเบียบวิธีวิจัย

รูปแบบการวิจัยเป็นการวิจัยเชิงทดลองเพื่อพัฒนาเครื่องสำอางคือครีมบำรุงมือและเล็บ การดำเนินการวิจัยตามลำดับคือ

1. สกัดไขมันพืชจากเมล็ดกระบกโดย คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤติยิ่งยวด (Super Critical Fluid Extraction)
2. ตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของไขกระบก โดยใช้ DSC ศึกษาHLB value
3. พัฒนารับครีมไขกระบก
4. ประเมินคุณภาพและ ศึกษาความคงตัวของครีมที่พัฒนาขึ้น
5. ผลการใช้ครีมในอาสาสมัคร 20 คน

1. สกัดไขมันพืชจากเมล็ดในกระบกโดย คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤติยิ่งยวด (Super Critical Fluid Extraction) โดย SFC (24L-SFE Supercritical Fluid Extraction)

นำเมล็ดกระบกมาสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว แบ่งการทดลองเป็นสามสภาวะการสกัด โดยมีสภาวะและวิธีการทดลองดังนี้

สภาวะการทดลอง

- อุณหภูมิในการสกัด 60°C ความดัน 23 MPa เวลาที่ใช้สกัดต่อ1ถังการผลิต (9 กก.) 6 ชั่วโมง
- ถังสกัดที่ 1 อุณหภูมิ 60°C ความดัน 9 MPa ใช้รหัส (S2)
- ถังสกัดที่ 2 อุณหภูมิ 40°C ความดัน 4 MPa ใช้รหัส (S3)
- ถังสกัดที่ 3 Feed Co-solvent (ethanol 95%) ใช้รหัส (S3 cosolvent)

วิธีการทดลอง นำเมล็ดกระบกที่ได้มาล้าง นำไปบดหยาบ แล้วนำไปใส่ถังสกัดปริมาณ 9 กก. ต่อ 1 ครั้งการสกัด

วิธีการวิเคราะห์

โดย GC-MS (thermo), Column Bebron ZB-5ms Flow rate 1 ml/min Inject 1 ul สำหรับ MS (Polaris Q) ใช้ Full scan 35-650

Oven (Focus GC)

Ramp (°C/min)	Tep (°C)	Hold (min)
	60	5
3	280	

การพัฒนาเครื่องสำอางบำรุงมือและเล็บจากไขกระดูก พานี ศิริสะอาดและคณะ 2552

Autosampler (Triplus) การเตรียมตัวอย่าง ชั่งตัวอย่าง ๆ ละ 10 ug ละลายด้วยตัวทำละลาย Methanol และ Chloroform อัตราส่วน 9:1 การวิเคราะห์ใช้ไขกระดูกที่สกัดได้ S2 S3 S3 cosolvent เปรียบเทียบกับไขกระดูกที่ได้จากการหีบในการศึกษาก่อนหน้านี้ โดยใช้รหัส Kabok A Panee (คือ ไขกระดูกที่สกัดด้วยวิธีใช้เครื่องหีบแบบอัตโนมัติ)

2. การตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของไขกระดูก โดยใช้ DSC และศึกษา HLB value

Differential Scanning Calorimetry (DSC) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ชนิดหนึ่งที่วัดสมบัติทางกายภาพ (physical properties) ของสารต่างๆ เปรียบเทียบกับอุณหภูมิหรือเวลา โดยจะวัดอุณหภูมิ และ heat flow จากการเปลี่ยนแปลงความร้อน (thermal transition) ของวัสดุเปรียบเทียบกับอุณหภูมิหรือเวลา ทำให้ได้ข้อมูลทั้งทางด้านคุณภาพและปริมาณที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมี การเปลี่ยนแปลงนี้จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการดูดหรือคายความร้อน (endothermic or exothermic processes) หรือการเปลี่ยนแปลงความจุความร้อน (heat capacity changes) นิยมนำมาศึกษาสมบัติที่เป็นลักษณะพิเศษของวัสดุต่างๆ ได้แก่ โพลีเมอร์ ยา อาหาร และตัวอย่างทางชีววิทยา วัสดุอินทรีย์ และ อนินทรีย์ สำหรับการวิจัยและพัฒนา การควบคุมคุณภาพและการผลิต

วิธีการ

เปิดเครื่อง และทำการตั้งค่า ดังนี้

ช่วงอุณหภูมิ แกน X $30^{\circ}\text{C} - 60^{\circ}\text{C}$, แกน Y $-10 - 30\text{ mW}$, Rate $2.0^{\circ}\text{C}/\text{min}$

แล้วทำการ Run baseline



ชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 5.000 mg ใส่ลงใน pan ขนาด 50 ul

ปิดด้วย Cover ขนาด 0.1



ใส่ pan ที่ปิด cover แล้ว ลงในเบ้าของเครื่องตอก และทำการตอกให้ pan และ cover ติดกัน



นำตัวอย่างที่ตอกแล้วใส่ลงในเครื่อง DSC 7 โดย ด้านขวาใส่ Reference และด้านซ้ายใส่ Sample ที่เตรียมไว้



ทำการ Start run หลังจากที่ได้ตัวเลขค่าที่อ่านมุมด้านซ้ายของหน้าจอ เท่ากับ $0.000 (\pm 0.001)$



ประมวลผลค่าของ peak ที่ได้ โดยใช้ วิธีการตามที่เครื่องกำหนด

การพัฒนาเครื่องสำอางบำรุงมือและเล็บจากไขกระบก พานี ศิริสะอาดและคณะ 2552

ตัวอย่างที่ทดลอง : กระบอกจากสกัดด้วยวิธีหีบ วิธีใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหลวได้แก่ S2, S3 และใช้ S3 Cosolvent (ใช้สารสกัดร่วมด้วย)

หมายเหตุ : ตัวอย่าง กระบอกจากใช้สารสกัดร่วมกับการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหลว (Cosolvent) ต้องนำมาเกลี่ยบนภาชนะก่อนซึ่งเพื่อให้ Solvent ระเหยออกให้หมดก่อน

3. การพัฒนาตำรับครีมบำรุงมือและเล็บจากไขกระบก

(MOISTURIZING HAND & Nail CREAM from Krabok Wax)

การพัฒนาตำรับครีมบำรุงมือและเล็บจากไขกระบก ทำโดยเลือกใช้ชนิดของตัวทำอิมัลชันแตกต่างกัน พัฒนาครีมนั้นที่คงตัว คำนวณค่า HLB ของตำรับ จากนั้นจึงพัฒนาครีมไขกระบกโดยใช้ค่า required HLB ไขกระบก พัฒนาครีมนั้นที่มีความหลากหลาย โดยให้มีเนื้อครีมตามคุณสมบัติที่ตั้งไว้ สูตรตำรับที่ตั้งไว้ นำมาผ่านเครื่องปั่น หลังจากเตรียมไว้ค้างคืน นำสูตรที่ผ่านการประเมินเบื้องต้นไปขยายขนาดการผลิต และนำมาทดสอบความคงสภาพแบบเร่ง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 45 และอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน นำผลิตภัณฑ์มาทำการแต่ง กลิ่น หลากๆชนิด และให้อาสาสมัครทดลอง ที่ชอบ พัฒนาปรับปรุงคุณสมบัติอีกครั้ง ก่อนทดสอบกับอาสาสมัคร โดยให้ความหนืด ความมันหลายระดับเพื่อให้เหมาะสมในการใช้ให้มีลักษณะเป็นมันแต่ไม่เหนอะหนะและดูดซึมผิวได้ปานกลาง สามารถเข้ากับผิวได้ดีการเตรียมครีม ใช้วิธี Beaker method โดยหลอม วัฏภาคน้ำเช่น EDTA, Tween, และน้ำมันเช่น mineral oil, Silicone oil, Cetyl alcohol, stearic acid, BHT และ Span แยกกันที่อุณหภูมิ 65-70°C บนหม้อไอน้ำ จากนั้นนำมาหลอมรวมกัน คนให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที เมื่ออุณหภูมิลดลงประมาณ 50°C จึง เติม Carbopol940, สารกันเสีย หรือน้ำหอมและสารที่ระเหยง่าย คนให้เข้ากันสักครู่แล้วทิ้งให้เย็น การพัฒนาสูตรแบ่งเป็น

การพัฒนาเครื่องสำอางบำรุงมือและเล็บจากไขกระบก พานี ศิริสะอาดและคณะ 2552

Series I ชุดที่ 2 สูตรที่ 8 8.1 8.2 8.3 8.4 และ 8.5

ตำรับ	สูตรที่					
	8	8.1	8.2	8.3	8.4	8.5
ไขกระบก	-	2	4	4	4	4
Water	72	86	72	72	72	72
Glycerin	2	2	4	4	4	4
α -tocopherol	1	1	2	2	0.1	0.1
GMS S.E.	7	3.8	7.6	3.8	4.19	4.19
Cremophor A25	7	1.2	2.4	1.2	1.81	1.81
Cetyl alcohol	3	1	2	2	2	2
Mineral oil	2	2	4	4	4	4
Conc.paraben	1	1	2	2	2	2
Dimethicone 350	-	-	-	-	-	1

การพัฒนาเครื่องสำอางบำรุงมือและเล็บจากไขกระบก พานี ศิริสะอาดและคณะ 2552

Series 2 ใช้ emulsifier ที่เกิดจากปฏิกิริยา (In situ soap) จำนวน 1 ตำรับ คือตำรับ3

ตำรับ 3

Cetyl alcohol	3.275
Stearic acid	3.275
Silicone	2.2
NaOH	0.5 / water 25 ml
Conc.paraben	1.25
Propylene glycol	2.2
Perfume	0.25
Carbopol	0.25
ไขกระบก	12.5
BHT in alc	0.025
Purified water	qs. 100

การพัฒนาเครื่องสำอางบำรุงมือและเล็บจากไขกระบก พานี ศิริสะอาดและคณะ 2552

Series III การใช้น้ำมันพืชธรรมชาติร่วมกับ ดำเนินการตามสูตรที่ 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.4.2 (ชุดที่1), 7.1, 7.2 (ชุดที่2) และ สูตร RxB (ชุดที่3) ดังนี้

Series III ชุดที่1 สูตรที่ 6.1, 6.2, 6.3, 6.4 และ 6.4.2

รายการสารเคมี	สูตรที่				
	6.1	6.2	6.3	6.4	6.4.2
Rice bran oil	10	10	10	10	10
Cetostearyl alc	5	5	5	5	-
Glyceryl monostearate	-	-	-	-	5
Ozokerite	5	-	-	-	-
ไขกระบก		5	5	5	5
Tween 80	2.74	2.74	2.74	2.74	2.74
Span 80	2.26	2.26	2.26	2.26	2.26
Conc.paraben	1	1	1	1	1
Sorbitol 70%	10	10	10	10	10
EDTA	-	-	0.01	0.001	0.001
BHT	-	-	0.01	0.01	0.01
Carbopol 940	-	-	-	0.2	0.2
Purified water	64	64	64	64	64

การพัฒนาเครื่องสำอางบำรุงมือและเล็บจากไขกระบก พานี ศิริสะอาดและคณะ 2552

Series III ชุดที่2 สูตรที่ 7.1 สูตรที่ 7.2

สารเคมี (กรัม)	สูตรที่	
	7.1	7.2
ไขกระบก	-	5.6
Cetyl alcohol	5	2.5
Stearyl alcohol	4.5	2.25
Macadamia oil	5	5
Jojoba oil	5	5
Olive oil	5	5
Coconut oil	5	5
Dimethicone 350 (silicone)	1	1
Span 80	4.6	4.6
Glyceryl monostearate SE	1.7	0.85
Alpha-Tocopherol	0.1	0.1
Perfume	1	1
Propylene glycol	5	5
Panthenol	1	1
Tween 80	1.7	1.7
Conc. Paraben	1	1
Water	53.4	53.4

การพัฒนาเครื่องสำอางบำรุงมือและเล็บจากไขกระบก พานี ศิริสะอาดและคณะ 2552

Series III ชุดที่3 สูตร RxB

สูตร RxB

สารประกอบ	%
Glyceryl monostearate	1.0
Cetyl alcohol	1.0
Petrolatum	1.0
Mineral oil	1.0
Isopropyl myristate	1.0
Coconut oil	2.0
BHT	0.01
PEG-40 stearate	1.0
Silicone oil	0.5
ไขกระบก	2.0
Carbopol 941 2.0%	6.0
Conc.Paraben	1.0
DI water qs to	100
Perfume	qs

4. ประเมินคุณภาพและ ศึกษาความคงตัวของครีมที่พัฒนาขึ้น

คัดเลือกสูตรที่คงตัว โดยเมื่อนำไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงแล้วไม่แยกชั้น เนื้อไม่เป็นป็นขาว เนื้อครีมสีขาวละเอียดมีกลิ่นกระบกอ่อนๆ ดูดซึมได้ดี ไม่เหนอะหนะ มีความมันปานกลาง แฝงกระจายได้ดี ความเป็นกรดต่างไม่เกิด 8

เตรียมครีมสูตรที่ต้องการศึกษา บรรจุขวด 12 ขวด ปิดด้วยกระดาษพาราฟิน โดยแบ่งเป็นอย่างละสามขวดเก็บใส่ไว้ในตู้เย็นห้อง (RT 30°C), ในตู้เย็น (4-8°C), ในตู้อบ (45°C) และเก็บใส่ตู้อบ 48 ชั่วโมง นำออกมา แล้วเก็บใส่ตู้เย็นอีก 48 ชั่วโมง (จัดเป็นหนึ่งรอบ) ทำหกรอบ (เรียกว่า Heating-cooling) โดยครีมที่คง

การพัฒนาเครื่องสำอางบำรุงมือและเล็บจากไขกะบก พานี ศิริสะอาดและคณะ 2552

ตัว ต้องไม่แยกชั้น ไม่มีเชื้อราขึ้น ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสี และกลิ่น รวมทั้งความเป็นกรด ต่างไม่เกิน 8 และเมื่อทำการวัดความหนืด ไม่มีการเปลี่ยนแปลงความหนืด



5. ประเมินคุณภาพของเครื่องสำอาง

โดยวัดความชื้นของผิวหนัง สองจุดคือ บริเวณด้านหลังมือ ตำแหน่งง่ามนิ้วมือระหว่างนิ้วหัวแม่มือ และนิ้วชี้ และตำแหน่งใกล้จมูกเล็บด้านหลังโดยใช้ด้วยเครื่อง Cutometer[®] (CKelectronic GmbH) MPA580 Germany) และประเมินความพึงพอใจหลังใช้ การประเมินทั้งสองจะทำในอาสาสมัครอย่างน้อย 20 คน อาสาสมัครเป็นผู้ที่ได้รับการชี้แจงก่อนเข้าร่วมโครงการ มีอายุมากกว่า 35 ปี ขึ้นไป และใช้ครีมบำรุงมือเป็นเวลา หนึ่งเดือน ทุกเช้าและก่อนนอน โดยโครงการวิจัย แบบสอบถาม และวิธีการวัดในอาสาสมัคร จะต้องผ่านการพิจารณาโดยกรรมการจริยธรรมของคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ การวัดต้องวัดบริเวณหลังมือบริเวณง่ามระหว่างนิ้วหัวแม่มือและนิ้วชี้ และบริเวณจมูกเล็บด้านหลังของนิ้วกลางตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 22 08 2554
เลขทะเบียน 212606
เลขเว็ทหนังสือ