การเพิ่มมูลค่าน้ำมันมะพร้าวเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางและเวชภัณฑ์

อุเทน จำใจ

ดุษฎีนิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

การเพิ่มมูลค่าน้ำมันมะพร้าวเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางและเวชภัณฑ์

อุเทน จำใจ

ดุษฎีนิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล)
วันที่ 26 เดือน ม.ค. พ.ศ. 62

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญานี พงษ์ไพบูลย์)
วันที่ 26 เดือน ม.ค. พ.ศ. 62

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริศรา ไล้เลิศ)
วันที่ 26 เดือน ม.ค. พ.ศ. 62

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลินดา อริยเดช)
วันที่ 26 เดือน ม.ค. พ.ศ. 62

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รักษาการแทนรองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน
อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้
วันที่ 26 เดือน มค. พ.ศ. ๒๕๖๒

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

ชื่อเรื่อง การเพิ่มมูลค่าน้ำมันมะพร้าวเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางและเวชภัณฑ์
ชื่อผู้เขียน นายอุเทน จำใจ
ชื่อปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล

บทคัดย่อ

น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (virgin coconut oil; VCO) ถูกสกัดด้วยกระบวนการผลิตที่ไม่ผ่านความร้อนและสารเคมี น้ำมันมีลักษณะใส ไม่มีสี และมีกลิ่นของเนื้อมะพร้าวสดนำมาศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมัน วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฟว์อัลฟารีดักเทส และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส จากนั้นนำ VCO ไปเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า ผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผม และผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด ศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน ได้แก่ 4 °C, 45 °C และอุณหภูมิห้อง และสภาวะเร่งร้อนสลับเย็นที่อุณหภูมิ 45 °C และ 4 °C สลับกัน จากนั้นประเมินความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร 20 คน จากผลการศึกษาพบว่า VCO มีกรดลอริกเป็นกรดไขมันหลัก และมีสารประกอบฟีนอลิก มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบการขจัดอนุมูลเอบีทีเอส อนุมูลดีพีพีเอช และอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ ซึ่ง VCO มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.39 ± 0.01 มก./มล., 78.16 ± 0.06 มก./มล. และ 27.43 ± 0.37 มก./มล. ตามลำดับ นอกจากนั้นยังมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสที่ย่อยสลายคอลลาเจน และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในการป้องกันการสร้างเมลานิน พบว่า VCO มีค่า IC_{50} เท่ากับ 625.93 ± 11.62 มก./มล. และ 761.89 ± 18.85 มก./มล. ตามลำดับ เมื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฟว์อัลฟารีดักเทสในการป้องกันการหลุดร่วงของเส้นผม พบว่า VCO มีค่ามิลลิกรัมสมมูลของฟิแนสเทอไรด์ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (FEA) เท่ากับ 0.75 ± 0.07 มก. ส่วนฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส ที่ช่วยลดการอักเสบและป้องกันการเสื่อมของข้อ พบว่า VCO มีฤทธิ์การยับยั้ง MMP-9 สูงที่สุด เท่ากับ 84.53 ± 1.00% การหาสารประกอบฟีนอลิกในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ พบว่ามีค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อตัวอย่าง 1 กรัม (GAE) เท่ากับ 14.79 ± 0.19 มก. ฤทธิ์ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส เอนไซม์ไทโรซิเนส เอนไซม์ไฟว์อัลฟารีดักเทสเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส ส่วนหนึ่งมาจากสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ จากฤทธิ์ชีวภาพดังกล่าวจึงนำ VCO ไปพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า ผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผม และผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด เมื่อศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ภายใต้

283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

สภาวะที่แตกต่างกัน พบว่าผลิตภัณฑ์มีความคงตัวดีทางกายภาพในทุกสภาวะ และเมื่อประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัคร พบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์โดยรวมดีมาก และไม่มีอาการระคายเคืองตลอดช่วงเวลาประเมิน การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของ VCO ที่สามารถนำมาใช้พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางและเวชภัณฑ์ และเป็นการเพิ่มมูลค่าแก่ VCO

คำสำคัญ : น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์, ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า, ผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผม, ผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Title	VALUE ADDED OF COCONUT OIL AS COSMECEUTICAL AND PHARMACEUTICAL PRODUCTS
Author	Mr. Uten Jamjai
Degree	Doctor of Philosophy in Agricultural Interdisciplinary
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Doungporn Amornlerdpison

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

ABSTRACT

Virgin coconut oil (VCO) is extracted from fresh and mature coconut meat (*Cocos nucifera* Linn.) without using chemical reagent or heating process. The VCO is colorless and clear and has the aroma of fresh coconut. The present study was carried out to determine VCO for fatty acid composition, phenolic contents, antioxidant, collagenase inhibitory, tyrosinase inhibitory, 5-alpha reductase inhibitory and matrix metalloproteinase inhibitory activities. The VCO was then formulated into facial skincare cream, hair treatment oil, and pain relief ointment. The stability of formulation was examined under various storage conditions at room temperature, 4 °C and 45 °C and heating-cooling cycles. Satisfaction test using questionnaire was performed with 20 healthy volunteers. The results revealed that VCO contains primarily lauric acid and phenolic compound. The VCO was found to exhibit antioxidant activity when subjected to various assay including ABTS, DPPH, and superoxide radical scavenging, which VCO has an IC_{50} value of 1.39 ± 0.01 mg/mL, 78.16 ± 0.06 mg/mL and 27.43 ± 0.37 mg/mL, respectively. Additionally, VCO showed inhibitory activity against collagenase enzyme that degrade collagen under the skin, and exhibited an anti-tyrosinase effect causing hypopigmentation with IC_{50} values of 625.93 ± 11.62 mg/mL and 761.89 ± 18.85 mg/mL, respectively. The VCO had inhibitory property against 5-alpha reductase that promote hair loss, the FEA was 0.75 ± 0.07 mg. Matrix metalloproteinase inhibitory activity can reduce inflammation and protect degradation of cartilage, VCO had the highest inhibitory effect against

MMP-9, being 84.53 ± 1.00%. The VCO exhibited the presence of phenolic substances of which the GAE was found to be 14.79 ± 0.19 mg. It is likely that the phenolic substances play roles in its antioxidant, collagenase inhibitory, tyrosinase inhibitory, 5-alpha reductase inhibitory and matrix metalloproteinase activities. This finding suggested that VCO could be used for pharmaceutical and cosmeceutical products. The products demonstrated good physical stability under the various storage conditions. The results of product satisfaction revealed to be highly satisfied with the VCO products and no skin irritation in volunteers. In conclusion, the present study demonstrated that VCO could be developed and add value to cosmeceutical and pharmaceutical products.

Keywords : Virgin coconut oil, Facial skincare product, Hair treatment product, Pain relief product

MAEJO UNIVERSITY

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

กิตติกรรมประกาศ

ดุษฎีนิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดวงพร อมรเลิศพิศาล อาจารย์ที่ปรึกษาหลักที่กรุณาให้คำปรึกษา แก้ไขข้อบกพร่อง เป็นแรงบันดาลใจ คอยดูแลใส่ใจเสมอมา จนทำให้การทำวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี รองศาสตราจารย์ ดร. ญานี พงษ์ไพบูลย์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นริศรา ไล้เลิศ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่ได้เสียสละเวลา กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และชี้แนะการทำวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. ลภัสรดา มุ่งหมาย สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่ให้เกียรติเป็นประธานสอบดุษฎีนิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้เกียรติเข้าร่วมเป็นกรรมการสอบดุษฎีนิพนธ์ในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณสำหรับคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการเขียนดุษฎีนิพนธ์นี้

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) สำหรับเงินทุนสนับสนุนการวิจัยระดับปริญญาเอกภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) รหัสโครงการ PHD58I0076 ร่วมกับบริษัทอำพลฟูดส์ โพรเซสซิ่ง จำกัด

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางการเกษตรสำหรับบัณฑิตผู้ประกอบการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับการสนับสนุนอนุเคราะห์ด้านสถานที่ อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย และอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณครอบครัว เพื่อน พี่น้องระดับบัณฑิตศึกษาทุกท่าน ที่คอยเป็นกำลังใจที่ดีให้กันตลอดการศึกษา

อุเทน จำใจ

MAEJO UNIVERSITY

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ซ

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญภาพ ..... ฏ

บทที่ 1 บทนำ 1

ที่มาและความสำคัญของปัญหา 1

บทที่ 2 ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร 4

อนุมูลอิสระ 4

สารประกอบฟีนอลิก 6

น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 9

การสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 11

ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า 13

ภาวะผมร่วง 15

ข้ออักเสบ 17

อิมัลชัน 19

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการทดลอง 42

3.1 สารเคมี 42

3.2 อุปกรณ์ 43

3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 44

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดใน VCO 44
3.5 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ VCO 45
3.6 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส 46
3.7 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส 46
3.8 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส 47
3.9 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฟว์อัลฟารีดักเทส 47
3.10 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์ 48
3.11 การประเมินความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ 52
3.12 การทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง 52
3.13 การประเมินความพึงพอใจ 53
3.14 สถานที่ดำเนินงาน 54
3.15 ระยะเวลาในการวิจัย 55
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการทดลอง 56
4.1 การวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 56
4.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 58
4.3 การศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 59
4.4 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์ 68
4.5 การประเมินความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ 72
4.6 การทดสอบความระคายเคืองผิวหนัง 76
4.7 การประเมินความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร 76
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 81
บรรณานุกรม 83
ประวัติผู้วิจัย 138

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ตามมาตรฐานของ Codex และมาตรฐาน APCC 10

ตาราง 2 ขนาดของอนุภาคของวัฏภาคภายในต่อระบบกระจายตัว 20

ตาราง 3 แสดงค่า HLB ของสาร และประโยชน์การใช้ของสารลดแรงตึงผิว 28

ตาราง 4 การทดสอบชนิดของอิมัลชัน 35

ตาราง 5 ส่วนผสมที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวหน้า 49

ตาราง 6 ส่วนผสมที่ใช้ในผลิตภัณฑ์น้ำมันลดการหลุดร่วงของเส้นผม 50

ตาราง 7 ส่วนผสมที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งบรรเทาปวด 51

ตาราง 8 องค์ประกอบกรดไขมันของ VCO 57

ตาราง 9 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเอบีทีเอช ดีพีพีเอช และซุปเปอร์ออกไซด์ของ VCO 63

ตาราง 10 ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ 5α-reductase ของ VCO 68

ตาราง 11 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของตำรับครีมบำรุงผิวหน้า VCO 69

ตาราง 12 ลักษณะทางกายภาพของตำรับน้ำมันบำรุงเส้นผมผสม VCO 70

ตาราง 13 ลักษณะทางกายภาพของตำรับขี้ผึ้งบรรเทาปวด VCO 72

ตาราง 14 การทดสอบความคงสภาพของตำรับครีมบำรุงผิวหน้า VCO หลังจาก 45 วัน และร้อนสลับเย็น 5 รอบ 73

ตาราง 15 การทดสอบความคงสภาพของตำรับน้ำมันลดการหลุดร่วงของเส้นผม VCO หลังจาก 45 วัน และร้อนสลับเย็น 5 รอบ 74

ตาราง 16 การทดสอบความคงสภาพของตำรับขี้ผึ้งบรรเทาปวด VCO หลังจาก 45 วัน และร้อนสลับเย็น 5 รอบ 75

ตาราง 17 ความพึงพอใจของอาสาสมัครในผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวหน้าตำรับ FF1 และ FF2 76

283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

ตาราง 18 ความพึงพอใจของอาสาสมัครในผลิตภัณฑ์น้ำมันลดการหลุดร่วงของเส้นผมตำรับ HF1 และ HF2..... 77

ตาราง 19 ความพึงพอใจของอาสาสมัครในผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งบรรเทาปวดตำรับ PF1 และ PF2..... 78

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพ 1 กลไกการเกิดอนุมูลอิสระ 5

ภาพ 2 โครงสร้างหลักของฟีนอล 7

ภาพ 3 สังเคราะห์เมลานิน 15

ภาพ 4 ฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรนในหนังศีรษะ 16

ภาพ 5 กลไกการทำลายกระดูกอ่อนในโรคข้อเข่าเสื่อม 19

ภาพ 6 โครงสร้างระบบชั้นผิวหนัง 23

ภาพ 7 โครมาโทแกรมของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (VCO) 57

ภาพ 8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดใน VCO และสารมาตรฐานกรดแกลลิก 58

ภาพ 9 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเอบีทีเอสของ VCO 59

ภาพ 10 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของ VCO 61

ภาพ 11 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ของ VCO 62

ภาพ 12 ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของ VCO 64

ภาพ 13 ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของ VCO 65

ภาพ 14 ในการยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนสของ VCO 66

ภาพ 15 กราฟมาตรฐานของการยับยั้งเอนไซม์ 5α-reductase ของสารมาตรฐานฟิแนสเทอไรด์กับความเข้มข้นในหน่วยไมโครโมลาร์ ในช่วงความเข้มข้น 0.1-0.5 ไมโครโมลาร์ 67

ภาพ 16 ผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวหน้าที่มีส่วนผสมของ VCO 2 ตำรับ 69

ภาพ 17 ผลิตภัณฑ์น้ำมันลดการหลุดร่วงของเส้นผมที่มีส่วนผสมของ VCO 2 ตำรับ 71

ภาพ 18 ผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งที่มีส่วนผสมของ VCO 2 ตำรับ 72

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

บทที่ 1
บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

มะพร้าวเป็นพืชที่มีการเพาะปลูกทั่วทั้งประเทศไทย โดยเฉพาะภาคใต้ที่มีการเพาะปลูกมากกว่าภาคอื่นๆ ในปี พ.ศ. 2558 ประเทศไทยมีเนื้อที่เพาะปลูกมะพร้าว 1,197,127 ไร่ มีผลผลิตประมาณ 904,094 ตัน ผลผลิตที่ได้นอกจากใช้บริโภคภายในประเทศ ยังมีการส่งออกไปต่างประเทศในรูปแบบต่างๆ ได้แก่ มะพร้าวผล มะพร้าวฝอย น้ำตาลมะพร้าว เนื้อมะพร้าวแห้ง กะทิเข้มข้น และน้ำมันมะพร้าว เป็นต้น (อุตสาหกรรมพัฒนามูลนิธิเพื่อสถาบันอาหาร, 2559) ปัจจุบันน้ำมันมะพร้าวได้รับความนิยมมากขึ้น เนื่องจากคุณสมบัติที่ดีต่อสุขภาพ ดูดซึมง่าย ร่างกายสามารถเผาพลาญให้เกิดพลังงานแก่ร่างกายได้เร็ว จึงมีความต้องการในตลาดมากขึ้น ทำให้น้ำมันมะพร้าวถูกผลิตขึ้นมาเป็นจำนวนมาก โดยน้ำมันมะพร้าวมีองค์ประกอบหลักเป็นกรดไขมันอิ่มตัว 90% รองลงมาเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยในกรดไขมันอิ่มตัวมีกรดลอริก (lauric acid) ซึ่งมีขนาดโมเลกุลปานกลาง (medium chain fatty acid) อยู่ 45-56% ส่วนในกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมีกรดโอเลอิก (oleic acid) 4.5-10% (Asian and Pacific Coconut Community, 2010) นอกจากนี้ยังมีวิตามินอี สารฟีนอลิก และสารไฟโตสเตอรอล (Seneviratne and Sudarshana, 2008)

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวหน้าส่วนใหญ่มีการใช้สารประกอบที่สำคัญ คือ วิตามินอี และสารทำให้ผิวขาว (whitening agents) ที่มีคุณสมบัติช่วยให้ผิวชุ่มชื้น ลดริ้วรอย และขาวกระจ่างใส น้ำมันมะพร้าวนอกจากมีคุณสมบัติเป็นสารรักษาความชุ่มชื้น (moisturizer) แล้ว ยังมีวิตามินอีและสารกลุ่มฟีนอลิก (phenolic compound) ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระเป็นส่วนประกอบด้วย ซึ่งอนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นตัวการที่ทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์ผิวหนัง ทำให้เกิดริ้วรอยและจุดด่างดำขึ้นได้ ดังนั้นจึงมีความสนใจนำน้ำมันมะพร้าวมาพัฒนาเพิ่มมูลค่าในรูปแบบผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า

ผมร่วงเป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบโดยตรงต่อการดำเนินชีวิตและสุขภาพจิต มีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย เช่น พันธุกรรม ฮอร์โมนเพศ อายุที่สูงขึ้น ความเครียด เป็นต้น ปัจจุบันยาที่ใช้รักษาภาวะผมร่วงมีหลายชนิดแต่ยังคงมีประสิทธิภาพจำกัด เนื่องจากผู้ใช้ยามีการตอบสนองต่อยาค่อนข้างน้อย โดยหลังจากหยุดยาแล้วภาวะผมร่วงกลับมาเหมือนเดิม ในทางการแพทย์แผนไทยได้นำน้ำมันมะพร้าวมาชโลมเส้นผมและหนังศีรษะ พบว่าช่วยรักษารังแคหนังศีรษะ และลดปริมาณการสูญเสีย

ของเส้นผมได้ ดังนั้นจึงทำการพัฒนาตำรับเวชสำอางจากน้ำมันมะพร้าวมาใช้เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผม

ข้ออักเสบ (arthritis) เป็นกลุ่มของภาวะที่เกิดการทำลายข้อต่อของร่างกาย มีอาการปวด บวม อักเสบ ที่บริเวณข้อ ภาวะนี้สามารถพบได้กับทุกวัย ส่วนใหญ่พบในวัยผู้ใหญ่ สาเหตุของภาวะนอกจากอายุที่เพิ่มขึ้นแล้ว น้ำหนักตัวเกินค่ามาตรฐาน และวิถีชีวิตของคนในสังคมปัจจุบันที่มีการเคลื่อนไหวร่างกายน้อย ยังเป็นปัจจัยสำคัญที่เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะข้ออักเสบมากขึ้น โดยการรักษาอาการมักใช้ยาต้านการอักเสบชนิดที่ไม่ใช่สตีรอยด์ (Non-Steroidal Anti-inflammatory Drugs, NSAIDs) ในการบรรเทาอาการปวดและอาการอักเสบของข้อ ซึ่งยากลุ่มนี้มีอาการไม่พึงประสงค์ที่พบส่วนใหญ่คือ เกิดการระคายเคืองเยื่อบุกระเพาะอาหารจนทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร มีรายงานการวิจัยพบว่า น้ำมันมะพร้าวมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ จึงมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นสารป้องกันการเกิดข้ออักเสบได้ ดังนั้นการนำน้ำมันมะพร้าวมาพัฒนาเป็นเวชภัณฑ์ทาภายนอกเพื่อลดภาวะข้ออักเสบ จึงเป็นอีกแนวทางเลือกหนึ่งแทนการรับประทานยาแก้อักเสบ

จากกระแสนิยมในการนำน้ำมันมะพร้าวไปใช้เป็นส่วนประกอบในเวชสำอางหลายชนิด โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับการให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังและเส้นผม ช่วยบำรุงทำให้เส้นผมแข็งแรงและลดการหลุดร่วงของเส้นผม นอกจากนี้น้ำมันมะพร้าวยังถูกนำมาใช้ทานวดตัวเพื่อรักษาโรคกระดูกปวดเมื่อย และรักษาผิวไม่ให้กร้านแดดและเหี่ยวย่น จึงเห็นได้ว่าน้ำมันมะพร้าวมีบทบาทอย่างมากต่อสุขภาพและความงาม อย่างไรก็ตามรูปแบบการใช้ประโยชน์ยังไม่ได้รับความสนใจจากผู้บริโภคเท่าที่ควร ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้พัฒนาตำรับใหม่เพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่น้ำมันมะพร้าวเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในรูปแบบที่ทันสมัย มีผลการทดสอบประสิทธิภาพและการยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งมีผลต่อการตัดสินใจซื้อของผู้บริโภค ช่วยเพิ่มมูลค่าทางการตลาดของน้ำมันมะพร้าว เป็นการกระตุ้นระบบเศรษฐกิจโดยรวมของประเทศ และยังส่งผลถึงรายได้ที่ยั่งยืนให้กับเกษตรกรผู้เพาะปลูกมะพร้าวเป็นอาชีพหลักอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อทดสอบฤทธิ์ชีวภาพของน้ำมันมะพร้าวด้านเวชสำอาง

2. เพื่อพัฒนาน้ำมันมะพร้าวเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า ผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผม และผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด

3. เพื่อประเมินประสิทธิภาพและการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 ชนิด

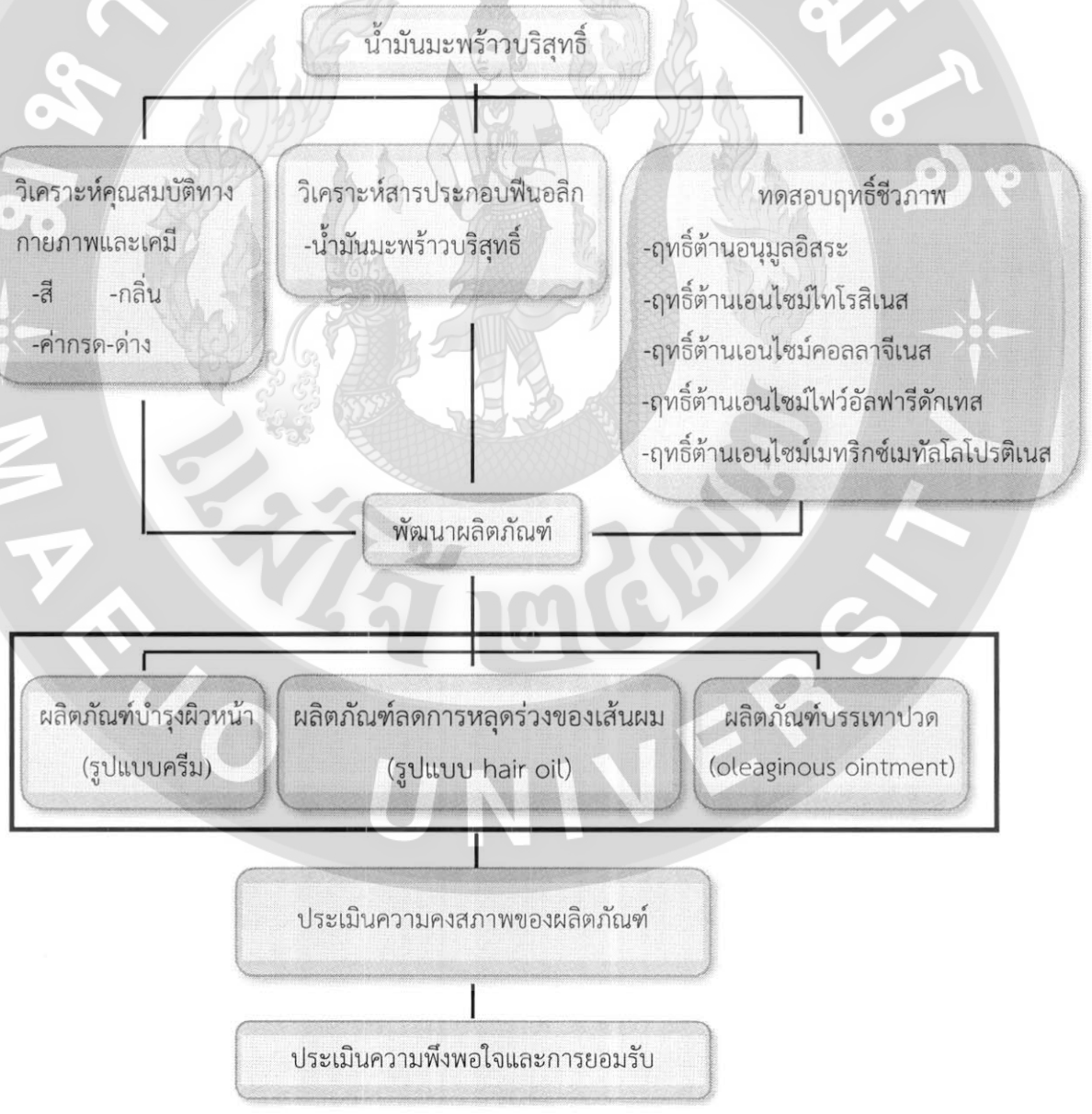
MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า ผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผม และผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด จากน้ำมันมะพร้าว

2. ผลิตภัณฑ์เวชสำอางและเวชภัณฑ์จากน้ำมันมะพร้าวมีประสิทธิภาพและได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค

แผนการดำเนินงาน



MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

บทที่ 2
ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร

น้ำมันมะพร้าว (coconut oil) เป็นส่วนที่ได้จากการแยกกรดไขมันออกจากเนื้อมะพร้าว (*Cocos nucifera* Linn.) โดยสามารถแบ่งออกตามวิธีสกัดได้ 3 วิธี คือ 1) น้ำมันมะพร้าวจากการเจียว (rendering coconut oil) โดยการคั้นกะทิแล้วเจียวจนได้น้ำมันใส 2) น้ำมันมะพร้าวทั่วไป (refined bleaching and deodorizing coconut oil) โดยการนำน้ำมันมะพร้าวที่ได้ ผ่านขั้นตอนทำให้บริสุทธิ์ จากนั้นฟอกสี และกำจัดกลิ่น 3) น้ำมันมะพร้าวสกัดเย็น (cold process coconut oil) หรือเรียกอีกอย่างว่า น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (virgin coconut oil; VCO) วิธีนี้น้ำมันมะพร้าวจะไม่ผ่านขั้นตอนที่ใช้ความร้อนและขบวนการทางเคมี ได้เป็นน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ที่คงสารสำคัญต่างๆ ไว้ (Nevin and Rajamohan, 2004) ในน้ำมันมะพร้าวมีสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกและวิตามินอีที่มีฤทธิ์ชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ (Hamsi et al., 2015; Seneviratne et al., 2009) จึงมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางสำหรับผม (Shrivastava, 2012) และเวชภัณฑ์แก้ปวด (Vysakh et al., 2014) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

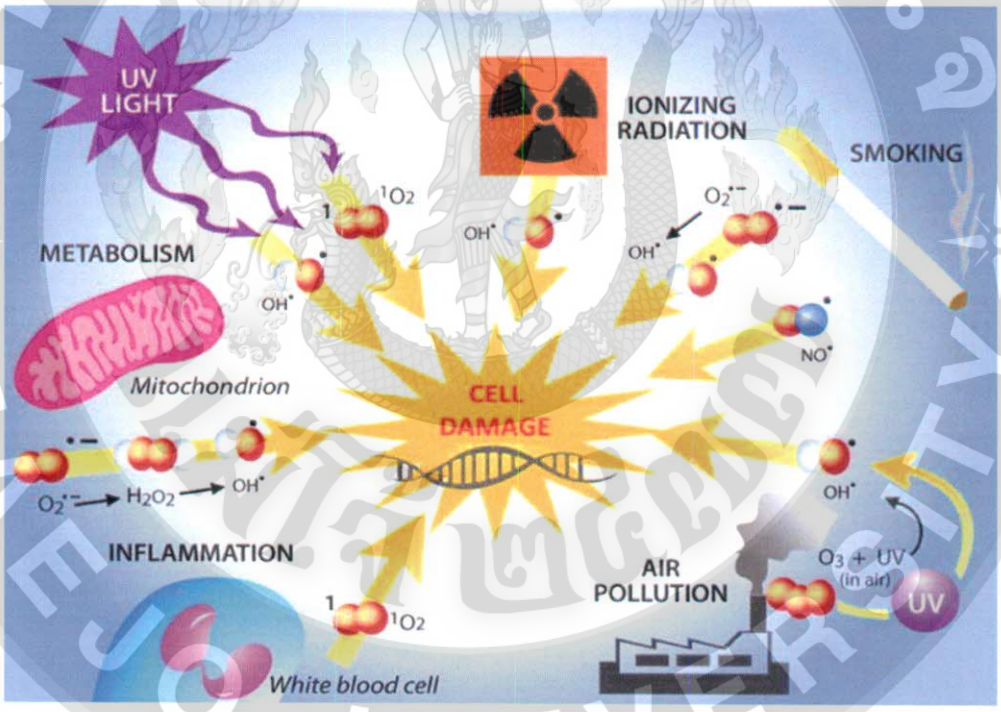
อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คืออะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนไม่มีคู่จะไม่เสถียร และพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีความไม่เสถียรและไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน ($O_2^{-\bullet}$) อนุมูลไฮดรอกซี ($^{\bullet}OH$) อนุมูลอัลคอกซี ($RO^{\bullet}$) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี ($HO_2^{\bullet}$) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก และขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) หรืออนุมูลไนตริกออกไซด์ ($^{\bullet}NO$) อนุมูลวิตามินอี และอนุมูลวิตามินซี เป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงรองลงมา (Vajragupta et al., 2007)

โรคบางชนิดมีสาเหตุส่วนหนึ่งมาจากอนุมูลอิสระ เช่น โรคข้ออักเสบ ภาวะชราก่อนวัย เป็นต้น ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้เกิดขึ้นได้จากเมตาบอลิซึมของร่างกาย หรือเกิดจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ ควันบุหรี่ ความเครียด รังสี ยาบางชนิด และมลพิษต่างๆ เป็นต้น จากสาเหตุดังกล่าวส่งผลให้มีการทำลายของดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน อย่างไรก็ตามร่างกายมีระบบควบคุมสมดุลของระดับอนุมูลอิสระคือ สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ที่มีหน้าที่ทำลายอนุมูลอิสระโดยจับกับสารอนุมูล

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

อิสระทำให้เกิดการลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดตั้งต้น หรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ในภาวะที่มีสารอนุมูลอิสระมากไม่สมดุลกับสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) เกิดขึ้น โดยอาจเป็นผลมาจากการสร้างสารอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และ/หรือมีการลดลงของสารและเอนไซม์ที่ต้านอนุมูลอิสระลดลง ซึ่งสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อม การปนเปื้อนจากสารพิษหรือโลหะหนัก ความเครียด เป็นต้น ทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระที่มีผลเป็นพิษต่อเซลล์ได้ (cytotoxic effect) หรือต่อ membrane phospholipids ที่มีทั่วร่างกาย เช่น การเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของโปรตีนต่างๆ ทั้งที่อยู่ในเซลล์และที่ผนังเซลล์ได้ เช่น ภาวะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระตัวหนึ่ง ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของภาวะลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน จากสาเหตุดังกล่าวจะส่งผลให้เกิดการทำลายของไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอขึ้น



ภาพ 1 กลไกการเกิดอนุมูลอิสระ

ที่มา (Kurzweilai, 2015)

ภาพ 1 แสดงอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมทาบอลิซึมที่เกิดขึ้นปกติในร่างกาย และอนุมูลอิสระที่เกิดจากปัจจัยภายนอก เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา จากมลภาวะต่างๆ ควันบุหรี่ ควันไอเสียจากรถมอเตอร์ไซด์ รถยนต์ จากโรงงานอุตสาหกรรม และจากกระบวนการอักเสบที่เกิดขึ้นในร่างกาย ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ต่างๆ และทำให้เซลล์เสื่อมสภาพ

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

สารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย มีกลไกที่จะลดสารอนุมูลอิสระโดยอาศัยเอนไซม์ที่มีบทบาทเกี่ยวกับการทำลายสารอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) ได้แก่ กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase, GPx) ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD) หรือคะตะเลส (catalase) เป็นเอนไซม์ที่ร่างกายสร้างขึ้น และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ หรืออาศัยกลไกที่ไม่พึ่งเอนไซม์ (non-enzymatic scavenger components) ได้แก่ กลูตาไธโอน (glutathione) วิตามินอี วิตามินซี ฟลาโวนอยด์ และแร่ธาตุต่างๆ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายได้รับเข้ามาจากภายนอก ซึ่งสามารถปกป้องเซลล์จากภาวะเครียดออกซิเดชันได้ (Simmons, 1984; Vajragupta et al., 2007)

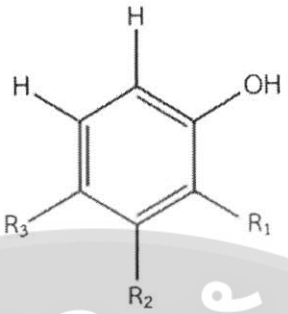
สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) มีโครงสร้างหลักทางเคมีประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติกและมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซี อย่างน้อย 1 หมู่ เป็น secondary metabolites เป็นสารที่สามารถพบได้ตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช สารประกอบฟีนอลิกมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Pourmorad et al., 2006) มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่าง เช่น ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ และเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย เป็นต้น (Ghasemzadeh and Jaafar, 2011)

สารประกอบฟีนอลิก จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอก และพบมากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติ เช่น กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกโดยเฉลี่ยที่ได้รับต่อวันอยู่ในช่วง 20-1,000 มิลลิกรัม สารโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสามารถละลายน้ำได้

โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่เป็นอนุพันธ์ของเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH-group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่พันธะ สารฟีนอลิกพื้นฐาน คือ ฟีนอล (phenol) ประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วงและหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ แสดงดังภาพ 2

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
28337/1823



Simple phenols

	R_1	R_2	R_3
Catechol	OH	H	H
Hydroquinone	H	H	OH
Resorcinol	H	OH	H

ภาพ 2 โครงสร้างหลักของฟีนอล

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

วิธีวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่นิยม ได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ($DPPH^{\bullet}$) และวิธีขจัดอนุมูลอิสระเอบีทีเอส ($ABTS^{\bullet+}$) เป็นวิธีการที่มีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน และวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้ง หรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลง หรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสง คำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระได้จาก อัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน เช่น ทรอลอกซ์ (trolox) วิตามินซี และวิตามินอี เป็นต้น

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) (Vajragupta et al., 2007)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (diphenyl-picryhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay) เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ คือ อนุมูลอิสระดีพีพีเอช ($DPPH^{\bullet}$, diphenyl-picryhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วง สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตรมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่ออนุมูล $DPPH^{\bullet}$ ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลง ตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูล

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

อิสระของสารตัวอย่างได้ จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูตรคำนวณได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใส่ตัวอย่างเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น ดังนี้

DPPH radical scavenging activity (%) = $((A_o - A_s) / A_o) \times 100$

โดย A_o = ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น

A_s = ค่าการดูดกลืนแสงภายหลังจากเติมสารตัวอย่าง

สารมาตรฐานที่ใช้ในการเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ กรดแกลลิก (gallic acid) แสดงค่า GAE (gallic acid equivalent) มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อกรัม (mg/g) ข้อดีของวิธีนี้ คือ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ข้อเสีย คือ อนุมูล DPPH$^{\bullet}$ ค่อนข้างเสถียร ไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ รวมถึงสารที่มีการปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน (interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรีดิวซ์แล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ จางลงได้เช่นกัน

การวิเคราะห์ฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS) (Vajragupta et al., 2007)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS radical cation decolorization assay) เป็นวิธีการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS$^{\bullet+}$, 2,2 ' -azino-bis (3 -ethylbenzothiazoline-6 -sulfonic acid) radical) เป็นสารสังเคราะห์มีสีเขียวแกมน้ำเงิน สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เนื่องจากสีของอนุมูล ABTS$^{\bullet+}$ ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง จึงต้องทำการเจือจาง ABTS$^{\bullet+}$ ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นนำ ABTS$^{\bullet+}$ ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายด้วยน้ำซึ่งจะทำให้สีจางลง และตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา สามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง ได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ ซึ่งวิธีการคำนวณและการเทียบกับสารมาตรฐาน 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox)

ข้อดีของวิธีการนี้ คือ อนุมูล ABTS$^{\bullet+}$ ละลายได้ดีในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง ส่วนข้อเสีย คือ อนุมูล ABTS$^{\bullet+}$ ไม่เป็นอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ

283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

น้ำมันมะพร้าวถูกใช้เป็นทั้งยาและอาหารในการบำรุงสุขภาพในประเทศแถบเขตร้อน เช่น ชาวอินเดียใช้เป็นยาอายุรเวท ชาวฟิลิปปินส์ใช้บำรุงเส้นผม รักษาแผลไฟไหม้ และกระดูกหัก ชาวอินโดนีเซียใช้ทาผิว เส้นผม และปรุงอาหาร ส่วนคนไทยนิยมนำมาปรุงอาหาร ใช้เป็นยา และบำรุงผิว แพทย์แผนไทยก็ได้ใช้น้ำมันมะพร้าวรักษาโรค ทั้งภายในและภายนอกมาเป็นเวลาช้านาน เช่น ในตำราพระโอสถพระนารายณ์ ตั้งแต่สมัยกรุงศรีอยุธยาได้ใช้น้ำมันมะพร้าวเป็นยานวดแก้ปวดเมื่อย ยารักษาโรคกระดูก ยารักษาแผลเน่าเปื่อย ส่วนตำราแพทย์แผนไทยในปัจจุบันก็แนะนำให้ใช้น้ำมันมะพร้าวรักษาโรคกระดูกที่เกิดจากอุบัติเหตุ รักษาเม็ดผดผื่นคัน ลบริ้วรอย แผลฟกช้ำ ซ่อมแซมส่วนสึกหรอ และป้องกันแสงแดด แม้กระทั่งแพทย์แผนปัจจุบันก็ให้คนไข้ที่มีปัญหาเกี่ยวกับการย่อยอาหารหรือการดูดซึมอาหาร เด็กทารกรวมทั้งเด็กเล็กที่ไม่สามารถย่อยไขมัน กินน้ำมันมะพร้าวเป็นยารักษาโรค (Chomchalow, 2005)

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

คุณสมบัติทางกายภาพด้านสีของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ควรใสเหมือนน้ำ กลิ่นของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ที่มีคุณภาพดี ควรมีกลิ่นหอมอ่อนๆ ของมะพร้าว และรสชาติของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ต้องไม่ระคายเคืองในลำคอเมื่อรับประทานเข้าไป โดยมีการกำหนดคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ตามมาตรฐานของ Codex และมาตรฐาน APCC แสดงในตาราง 1 ดังนี้

MAEJO UNIVERSITY
MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

ตาราง 1 คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ตามมาตรฐานของ Codex และมาตรฐาน APCC

คุณสมบัติ	Codex*	APCC**
ลักษณะเฉพาะ		
ความหนาแน่นสัมพัทธ์ (relative density) (40 °C/ น้ำ 20 °C)	0.908-0.921	0.915-0.920
ดัชนีหักเหที่ 40 °C (refractive index)	1.448-1.450	1.448-1.449
ความชื้น (moisture)	<0.2 %	0.1-0.5 %
สิ่งอื่นที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble impurities percent by mass)	0.05 %	0.05 %
ค่าสปอนิฟิเคชัน (sponification value) (mg KOH/g oil)	248-265	250-260
ค่าไอโอดีน (iodine value) (g iodine/100 g oil)	6.3-10.6	4.1-11.0
สารที่สปอนิฟายไม่ได้ (unsponifiable matter% by mass. Max.)	≤15	0.2-0.5
ความถ่วงจำเพาะ (specific gravity 30 deg./30 deg. C)	-	0.915-0.920
ค่าความเป็นกรด (acid value max.) (mg KOH/g oil)	0.6	0.5
Polenske value (min.)	13-18	13
องค์ประกอบของกรดไขมัน (%)		
Medium-chain fatty acid		
Caproic acid หรือ C6:0	ND-0.7	0.4-0.6
Caprylic acid หรือ C8:0	4.6-10.0	5.0-10.0
Capric acid หรือ C10:0	5.0-8.0	4.5-8.0
Lauric acid หรือ C12:0	45.1-53.2	43.0-53.0
Long-chain fatty acid		
Myristic acid หรือ C14:0	16.8-21.0	16.0-21.0
Palmitic acid หรือ C16:0	7.5-10.2	7.5-10.0
Unsaturated fatty acid		
Stearic acid หรือ C18:0	2.0-4.0	2.0-4.0
Oleic acid หรือ C18:1	5.0-10.0	5.0-10.0
Linoleic acid หรือ C18:2	1.0-2.5	1.0-2.5
Linolenic acid หรือ C18:3-C24:1	ND-0.7	<0.5

ที่มา : *(Codex alimentarius commission, 2001; Marina et al., 2009b)

**(Asian and Pacific Coconut Community, 2010)

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

การสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (Bawalan, 2011)

การสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์จากเนื้อมะพร้าวสด สามารถทำได้ 2 วิธีคือ

1. การสกัดแบบแห้ง (dry process) เป็นการสกัดโดยใช้เนื้อมะพร้าวสดที่นำไปทำให้แห้งโดยใช้ความร้อนไม่สูงมากประมาณ 40-50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30-45 นาที จากนั้นนำไปบีบเพื่อให้น้ำมันออกมาโดยใช้เครื่องบีบอัดแบบเย็น (cold press) ซึ่งมีอยู่ 2 ชนิดคือ เครื่องอัดแบบไฮโดรลิก (hydraulic press) และเครื่องอัดแบบเกลียวอัด (screw press)

2. การสกัดแบบเปียก (wet process) วิธีนี้น้ำมันมะพร้าวจะถูกสกัดจากเนื้อมะพร้าวสด โดยน้ำกะทิจะถูกบีบออกจากเนื้อมะพร้าว จากนั้นจึงนำไปแยกเอาน้ำมันออกจากน้ำกะทิ วิธีการแยกน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ออกจากน้ำกะทิสามารถทำได้หลายวิธี คือ วิธีการเคี่ยว (boiling) วิธีการหมัก (fermentation) การแช่เย็น (refrigeration) การใช้เอนไซม์ (enzymes) และการใช้เครื่องเหวี่ยง (centrifuge)

กระบวนการในการผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

กระบวนการผลิตน้ำมันมะพร้าวมีหลายกรรมวิธีด้วยกัน เช่น วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมในระดับครัวเรือน วิธีการสกัดโดยใช้เครื่องอัดแบบไฮโดรลิก วิธีการสกัดโดยใช้เครื่องอัดแบบเกลียวอัด วิธีการสกัดโดยใช้เครื่องเหวี่ยงและวิธีการหมัก (Attanatho, 2005) โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. Traditional hand pressed method เป็นกรรมวิธีการผลิตน้ำมันมะพร้าวในระดับครัวเรือนแบบดั้งเดิม การผลิตเริ่มต้นจากการบีบน้ำกะทิจากเนื้อมะพร้าวขูดที่เก็บรักษาไว้ไม่เกิน 24 ชั่วโมง องค์ประกอบในน้ำกะทิ ประกอบด้วยน้ำมัน น้ำ โปรตีนและอื่นๆ น้ำกะทิจะถูกหมักเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำมันมะพร้าวแยกออกจากชั้นน้ำ จากนั้นให้ความร้อนแก่น้ำมันมะพร้าวเพื่อไล่ความชื้นและทำการกรอง ข้อเสียของวิธีการนี้คือ เป็นการผลิตในระดับกำลังการผลิตขนาดเล็ก ทำให้การควบคุมคุณภาพของน้ำมันมะพร้าวให้สม่ำเสมอนั้นเป็นไปได้ยาก

2. Centrifuge process เป็นการผลิตโดยใช้เครื่องเหวี่ยง การผลิตน้ำมันมะพร้าววิธีนี้จะได้น้ำมันมะพร้าวที่มีคุณภาพสูงกว่าวิธี Traditional hand pressed method เนื่องจากไม่มีการให้ความร้อนแก่น้ำมันในขั้นตอนของการผลิต การผลิตเริ่มต้นจากการนำน้ำกะทิมาเหวี่ยงเพื่อแยกของแข็งและน้ำออกจากชั้นน้ำมันจนได้ชั้นของน้ำมันอยู่ด้านบน ข้อเสียของวิธีนี้คือ มีค่าใช้จ่ายสูง เนื่องจากต้องใช้เครื่องเหวี่ยงซึ่งมีราคาแพง ทั้งนี้การสกัดโดยใช้เครื่องเหวี่ยงมักจะใช้ในการสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ในระดับโรงงาน ข้อดีของการสกัดโดยใช้เครื่องเหวี่ยงคือ น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ที่ได้จะมีคุณภาพดีผ่านความร้อนและมีความชื้นน้อย (Hutapaed, 2005) จากการศึกษาของ Nour, และคณะ (Nour et al., 2009) โดยใช้เครื่องเหวี่ยงในการสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ที่ความเร็วในการเหวี่ยงหมุน

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

6,000-12,000 รอบต่อนาที และใช้เวลา 30-105 นาที นั้นพบว่า ความเร็วและเวลาที่ใช้ในการเหวี่ยงมีผลต่อปริมาณของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ที่ได้กล่าวคือ เมื่อความเร็วในการเหวี่ยงเพิ่มขึ้นจะทำให้ได้ปริมาณของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์เพิ่ม โดยความหนืดของน้ำมันมะพร้าวและน้ำจะมีความไวต่ออุณหภูมิ ซึ่งแรงเหวี่ยงจะทำให้เกิดความร้อนจากการเหวี่ยงหมุน เมื่ออุณหภูมิเพิ่ม ความหนืดของน้ำมันมะพร้าวจะลดลง ส่วนการเพิ่มอัตราเร่งในการเหวี่ยงหมุนจะทำให้อัตราเร็วในการแยกน้ำมันมะพร้าวเพิ่มขึ้น ผลที่ได้คือ ปริมาณของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ที่เพิ่มขึ้น และยังพบว่าผลผลิต (yield) ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์สูงสุดอยู่ที่ 29.5 % โดยใช้ความเร็วและเวลาในการเหวี่ยงหมุน 1,200 รอบต่อนาทีและ 105 นาทีตามลำดับ

3. Direct micro expeller (DME)- fresh dry process เป็นการผลิตน้ำมันมะพร้าวโดยใช้เครื่องบีบแบบสกรู (screw type press) โดยเนื้อมะพร้าวที่ใช้ได้ผ่านการขูดและอบแห้งที่อุณหภูมิประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส นานประมาณ 4 ชั่วโมงหลังจากกะเทาะเปลือกเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของแบคทีเรีย การผลิตวิธีนี้สามารถใช้ความดันต่ำร่วมด้วย หรือเรียกว่า low pressure oil extraction โดยเนื้อมะพร้าวที่ใช้จะมีความชื้นประมาณ 10-12 เปอร์เซ็นต์ ทำให้น้ำมันมะพร้าวที่บีบได้มีองค์ประกอบของน้ำที่มาจากความชื้นของเนื้อมะพร้าวประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันมะพร้าวที่ผลิตได้ เมื่อวางทิ้งไว้ให้น้ำมันและน้ำแยกชั้นแล้วอาจใช้ความร้อนเพื่อกำจัดปริมาณความชื้นที่เหลืออยู่ ระยะเวลาที่ใช้ต่อการดำเนินงาน 1 ครั้ง ประมาณ 1.5 ชั่วโมง และมีประสิทธิภาพในการสกัด (extraction efficiency; OEE) มากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์

4. การสกัดด้วยเครื่องไฮโดรลิก วิธีการสกัดโดยใช้เครื่องอัดแบบไฮโดรลิกและวิธีการสกัดโดยใช้เครื่องอัดแบบเกลียวอัดนั้น มีความเหมาะสมสำหรับการผลิตเชิงธุรกิจ เนื่องจากต้องลงทุนเกี่ยวกับเครื่องมือที่มีราคาค่อนข้างแพง โดยขั้นตอนในการสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีดังนี้คือ นำเนื้อมะพร้าวสดไปอบแห้งที่อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30-45 นาที นำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปบีบด้วยเครื่องบีบแบบไฮโดรลิก จะได้น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ออกมา จากนั้นนำน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ไปกรอง แล้วใส่ในภาชนะที่มีฝาปิด ตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ให้ตกตะกอน และนำน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์เฉพาะน้ำมันใสๆ มากรองอีกครั้งหนึ่ง จะได้น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์แบบบีบเย็น (cold pressed) นำไปบรรจุลงในขวดที่มีฝาปิด (Hutapaed, 2005)

5. การสกัดด้วยวิธีการหมัก เป็นวิธีการสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ที่ง่าย สะดวก และลงทุนต่ำการหมักทำโดยการคั้นน้ำกะทิจากผลมะพร้าวแก่ที่เก็บมาจากต้นภายใน 24 ชั่วโมง วิธีการหมักมีข้อเสียเกี่ยวกับความชื้นในน้ำมันมะพร้าว ถ้านำน้ำมันมะพร้าวไปไล่ความชื้นออก โดยผ่านการให้ความร้อนสามารถไล่ความชื้นออกไปได้ และได้น้ำมันที่มีคุณภาพดี

MJU ithesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

การสกัดด้วยวิธีการหมัก มีขั้นตอนดังนี้คือ นำเนื้อมะพร้าวขูดใส่ในกะละมัง เติมน้ำอุ่นอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสลงไป ใช้อัตราส่วนของเนื้อมะพร้าวขูดต่อน้ำอุ่นเท่ากับ 1 ต่อ 1 ส่วน จากนั้นคั้นน้ำกะทิในกะละมัง แล้วใช้ผ้าขาวบาง หรือ ตะแกรงลวดกรองเอากากมะพร้าวทิ้งไป โดยกากมะพร้าวสามารถนำไปใช้ประโยชน์อย่างอื่นได้ เช่น ทำปุ๋ย หรือใช้เป็นอาหารสัตว์ เป็นต้น นำน้ำกะทิที่คั้นได้ไปหมักในสภาวะไร้อากาศ โดยใส่ในขวดโหลหรือภาชนะอื่นๆ ที่มีทรงสูง โดยให้ขอบบนของน้ำกะทิห่างจากปากขวดประมาณ 2 นิ้ว ปิดปากขวดโหลด้วยผ้าพลาสติก ใช้หนังยางรัดให้แน่น แล้วตั้งทิ้งไว้ 36-48 ชั่วโมง เอนไซม์ที่มีอยู่ในมะพร้าวตามธรรมชาติจะทำให้โปรตีนแยกตัวออกจากน้ำมันหลังจากตั้งทิ้งไว้ 36-48 ชั่วโมงโดยน้ำกะทิจะแยกออกเป็น 3 ส่วนคือน้ำมันมะพร้าวจะลอยตัวอยู่ด้านบน ซึ่งอาจพบกากกะทิปนอยู่ด้วย ส่วนที่อยู่ตรงกลางระหว่างน้ำมันมะพร้าวกับน้ำจะเป็นกากกะทิ และส่วนล่างซึ่งมีปริมาณมากที่สุดก็คือ น้ำ ขั้นตอนสุดท้ายนำน้ำมันมะพร้าวที่ลอยอยู่ด้านบนแยกออกจากน้ำ โดยใช้สายยางหรือกระบวยตักน้ำ แล้วตั้งทิ้งไว้ 2-3 วัน เพื่อให้ตกตะกอน ทำการกรองเอาแต่น้ำมันใสๆ มาบรรจุลงในภาชนะทึบแสงหรือขวดที่มีฝาปิด ซึ่งสามารถเก็บน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ได้นานเป็นปีโดยไม่เสื่อมคุณภาพ การสกัดน้ำมันมะพร้าววิธีนี้จะได้น้ำมันออกมาประมาณ 15-20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเนื้อมะพร้าวที่นำมาสกัด (Hutapaed, 2005)

ปัจจุบันมีการนำน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มาใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น ด้านอาหาร มีการนำมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร ด้านเวชสำอาง มีการนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์โลชันบำรุงผิวกาย น้ำมันบำรุงผม สบู่ ครีมอาบน้ำ โลชันกันแดด และเจลสครับ เป็นต้น นอกจากนี้ ยังมีการนำมาใช้กลั้วปากเพื่อลดกลิ่นปาก เห็นได้ว่าปัจจุบันน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในการนำมาทำผลิตภัณฑ์ต่างๆ

ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า (Klinsunthorn et al., 2001)

สารที่มีคุณสมบัติช่วยให้ผิวขาวในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้าแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่

1) สารฟอกสี (bleaching agents) ออกฤทธิ์ยับยั้งขบวนการสร้างเม็ดสี มีประสิทธิภาพสูงในการทำให้ผิวขาว เช่น ไฮโดรควิโนน (hydroquinone) โมโนเบนโซน (monobenzone) และปรอทแอมโมเนีย (ammoniated mercury) (Agorku et al., 2016; Ekpunobi et al., 2014)

2) สารทำให้ผิวขาว (whitening agents) ออกฤทธิ์ยับยั้งขบวนการสร้างเม็ดสี เช่น อาร์บูติน (arbutin) กรดโคจิก (kojic acid) และวิตามินซีแมกนีเซียมแอสคอร์บิกฟอสเฟต (magnesium ascorbyl phosphate) ซึ่งเป็นสารที่เกิดการระคายเคืองและผลข้างเคียงน้อย (Sarkar et al., 2013)

3) สารปกคลุมผิว (covering agents) เป็นสารที่มีคุณสมบัติทึบแสงและช่วยให้ผิวขาวทันที แต่เมื่อล้างออกสีผิวคงเดิมไม่มีผลทำให้ผิวขาวขึ้น ซึ่งไทเทเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide) เป็น

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
283371823

สารที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ส่วนสารอื่นที่ใช้ เช่น ซิงค์ออกไซด์ (zinc oxide) ทัลคัม (talcum) บิสมัทซับไนเตรต (bismuth subnitrate) และคาโอลิน (kaolin) (Latha et al., 2013; Smijs and Pavel, 2011)

4) สารที่ช่วยผลัดเซลล์ผิว (Alpha Hydroxy Acids, AHAs) สารกลุ่มนี้ไม่ได้ช่วยลดการสร้างเม็ดสีโดยตรง แต่ช่วยเร่งการหลุดลอกของผิวชั้นนอกออกไป ทำให้ดูขาวขึ้น เป็นกรดผลไม้ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เช่น กรดซิตริก (citric acid) สกัดจากส้มและมะนาว กรดเมลิก (malic acid) สกัดจากแอปเปิ้ล กรดไกลโคลิก (glycolic acid) สกัดจากอ้อย และกรดทาร์ทาริก (tartaric acid) สกัดจากองุ่น (Babilas et al., 2012; Tang and Yang, 2018)

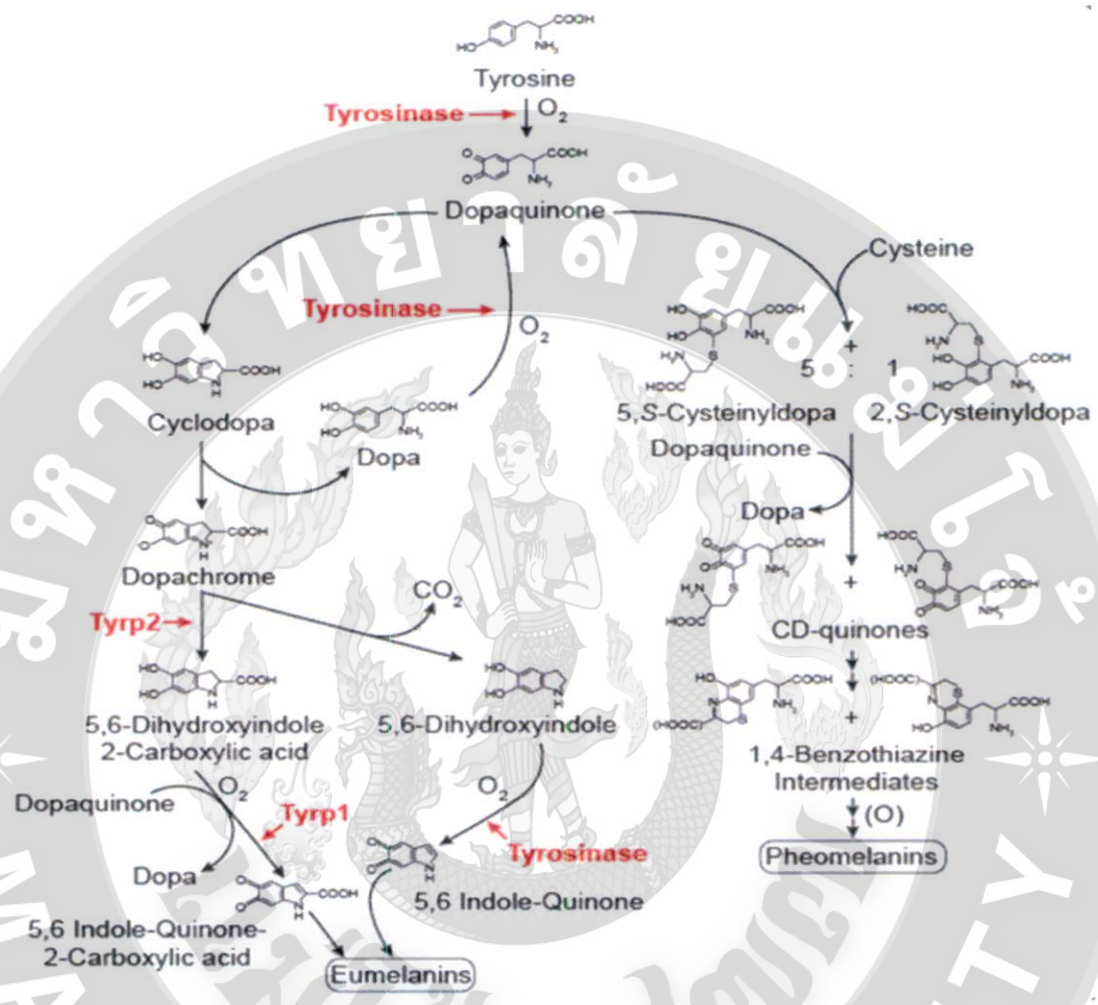
กลุ่มสารช่วยให้ผิวขาวในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้าที่นิยมใช้มากที่สุดคือ กลุ่มสารทำให้ผิวขาว ซึ่งสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส (tyrosinase inhibitor) โดยเอนไซม์นี้จะกระตุ้นผิวให้มีการผลิตเมลานิน ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิด ฝ้า กระ และจุดด่างดำ ในการประเมินสารที่มีคุณสมบัติต้านการสร้างเม็ดสี (depigmenting effect) มักทำในหลอดทดลองก่อนที่จะทดสอบทางคลินิกในคนเพื่อประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัย (Son and Heo, 2013) สารยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส ได้แก่ ไฮโดรควิโนน โมโนเบนโซน และปรอทแอมโมเนีย สารเหล่านี้มีประสิทธิภาพสูงในการลดเม็ดสีแต่ก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่รุนแรง กระทรวงสาธารณสุขได้ประกาศห้ามใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง ดังนั้นจึงมีการคิดค้นหาสารสำคัญจากพืชในธรรมชาติ ที่มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสและเกิดผลข้างเคียงน้อยที่สุดมาทดแทน เช่น อาร์บูติน สารสกัดจากแบร์เบอรี่ (bearberry) กรดโคจิกเป็นสารที่สร้างจากเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ลิโคไรซ์ (licorice) สารสกัดจากชะเอมเทศ เป็นต้น (Couteau and Coiffard, 2016; Pillaiyar et al., 2017; Zolghadri et al., 2019) ซึ่งต้องนำเข้าวัตถุดิบจากต่างประเทศ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีราคาสูง

ขบวนการผลิตเม็ดสีที่บริเวณผิวหนัง สร้างจากเซลล์เมลาโนไซต์ (melanocyte) ซึ่งเจริญจากนิวรัลเครสต์ (neural crest) ในระยะเอ็มบริโอของมนุษย์ โดยตำแหน่งที่มีเซลล์เมลาโนไซต์นอกจากบริเวณผิวหนัง เส้นผม แล้วยังพบได้ตามอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย ได้แก่ เยื่อบุตาชั้นคอรอยด์ (choroid) หูชั้นในบริเวณคอเคลีย (cochlea) และเยื่อหุ้มระบบประสาท (leptomeniges) (Bolognia and Orlow, 2018)

ภายในเซลล์เมลาโนไซต์ กระบวนการผลิตเม็ดสี (melanogenesis) เกิดขึ้นภายในถุงเมลาโนโซม (melanosome) ซึ่งมีสารตั้งต้นคือ L-tyrosine ซึ่งจะเปลี่ยนเป็น L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) โดยเอนไซม์ไทโรสิเนส (tyrosinase) และเปลี่ยนอีกครั้งเป็น L-DOPAquinone ซึ่ง

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

หลังจากนั้น L-DOPAquinone สามารถเปลี่ยนเป็นเม็ดสีได้สองรูปแบบ คือ pheomelanin ซึ่งมีสีเหลือง/แดง และ eumelanin ที่เป็นสีน้ำตาลเข้ม ดังภาพ 3



ภาพ 3 สังเคราะห์เมลานิน

ที่มา *(Mutagenetix, 2008)*

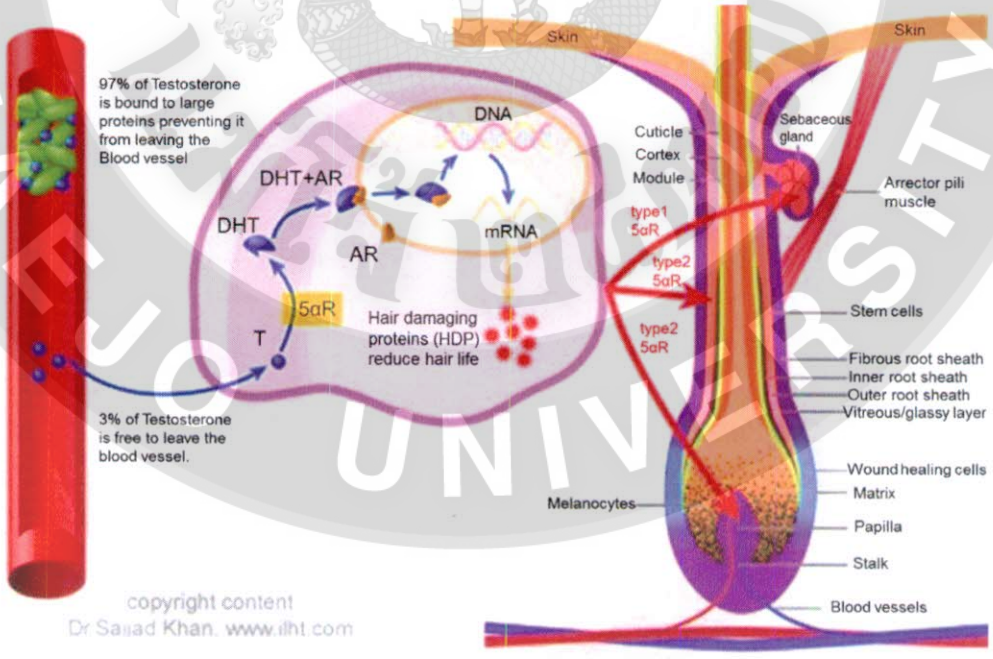
ภาวะผมร่วง

ผมร่วงและผมบางเป็นภาวะที่พบได้ทั้งในเพศชายและเพศหญิง ส่วนใหญ่พบในเพศชาย เกิดได้จากหลายสาเหตุ สาเหตุจากพันธุกรรมเป็นสาเหตุที่พบบ่อยที่สุด อีกทั้งยังมีปัจจัยอื่นที่มีความสำคัญร่วมด้วย เช่น ฮอร์โมนเพศชาย อายุที่สูงขึ้น ความเครียด การใช้ยา เช่น ยารักษาโรคมะเร็ง โรคต่างๆ เช่น โรคเอสแอลอี หรือลูปัส (systemic lupus erythematosus) โรคเชื้อราบนหนังศีรษะ โรคทางต่อมไทรอยด์ โรคซิฟิลิส หรืออาจเกิดจากการทำผม เป็นต้น (Wongpiyarattanakul, 2000) ซึ่งอาการผมร่วงในเพศชายนั้นส่วนใหญ่มีสาเหตุจากฮอร์โมนและ

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

กรรมพันธุ์ โดยสามารถเรียกว่า ผมร่วงจากกรรมพันธุ์ในเพศชาย (androgenic alopecia หรือ male pattern baldness) ซึ่งสามารถถ่ายทอดได้ทางพันธุกรรม โดยอาจได้รับกรรมพันธุ์จากพ่อหรือแม่ ผู้ชายที่ได้รับกรรมพันธุ์ดังกล่าวจะมีระดับฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรน (dihydrotestosterone, DHT) ที่หนังศีรษะเพิ่มสูงขึ้น เกิดจากการทำงานที่มากเกินปกติของเอนไซม์ไฟว์อัลฟารีดักเทส (5-alpha reductase) ที่เปลี่ยนเทสโทสเตอโรน (testosterone) เป็นไดไฮโดรเทสโทสเตอโรน โดยที่ไดไฮโดรเทสโทสเตอโรนจะไปจับกับเซลล์สร้างเส้นผมและออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสร้างเส้นผมปกติ ทำให้เส้นผมที่สร้างขึ้นมาใหม่แทนเส้นเดิมที่ร่วงไป มีขนาดเล็กลงเรื่อยๆ และหากไม่ได้รับการดูแลรักษาที่เหมาะสมจะนำไปสู่ภาวะศีรษะล้านในที่สุด (McElwee and Sinclair, 2008)

ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนในเพศชาย ผลิตจากอัณฑะเป็นส่วนใหญ่และบางส่วนจากต่อมหมวกไต โดยฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนจะกระจายทั่วร่างกายผ่านหลอดเลือด มีฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนเพียงร้อยละ 3 ที่สามารถหลุดออกมาจากผนังหลอดเลือดเข้าสู่เซลล์รากผมที่บริเวณหนังศีรษะ ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเทอโรนด้วยเอนไซม์ไฟว์อัลฟารีดักเทส ที่บริเวณ sebaceous gland, outer root sheath และ papilla หลังจากนั้นฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเทอโรนจะจับกับ androgen receptor แล้วเข้าสู่นิวเคลียสไปกระตุ้นให้ DNA สร้าง mRNA ที่สังเคราะห์โปรตีนที่ทำลายเส้นผม (Khan, 2015) ดังภาพ 4



ภาพ 4 ฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรนในหนังศีรษะ
ที่มา (Khan, 2015)

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833771823

ข้ออักเสบ (arthritis)

ข้ออักเสบเป็นภาวะที่มีการอักเสบของข้อหรือความผิดปกติเกิดขึ้นกับข้อ ซึ่งจะส่งผลให้เกิดอาการปวดข้อ ข้อบวม ข้อแข็ง หรืออาจแดงและร้อนตามข้อ สามารถพบได้กับทุกวัย ส่วนใหญ่พบในวัยผู้ใหญ่ สาเหตุของภาวะนอกจากอายุที่เพิ่มขึ้นแล้ว น้ำหนักตัวเกินค่ามาตรฐานและวิถีชีวิตของคนในสังคมปัจจุบันที่มีการเคลื่อนไหวร่างกายน้อย ยังเป็นปัจจัยสำคัญที่เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะข้ออักเสบมากขึ้น ข้ออักเสบมีหลายรูปแบบที่พบมากที่สุดคือ ข้อเสื่อม (osteoarthritis) และข้ออักเสบรูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) ข้อเสื่อมเกิดจากการบาดเจ็บของข้อต่อ การติดเชื้อที่ข้อต่อ และอายุที่มากขึ้น ส่วนข้ออักเสบรูมาตอยด์เกิดจากภาวะภูมิต้านทานของตนเอง นอกจากนี้ยังมีโรคข้ออักเสบอื่นๆ เช่น ข้อสะเก็ดเงิน (psoriatic arthritis) เก๊าท์ (gout) สติลล์ (still's disease) และเอสแอลอี เป็นต้น โดยการรักษามุ่งเน้นที่การลดความเจ็บปวด อาการบวม และเพิ่มความสามารถในการเคลื่อนไหวของข้อ โดยการใช้ยา หรือการผ่าตัดในกรณีที่ใช้ยาไม่ได้ผล ซึ่งยาที่ใช้ในการบรรเทาอาการปวดและอักเสบของข้อมักเป็นกลุ่มยาต้านการอักเสบชนิดที่ไม่ใช่สตีรอยด์ (Non-Steroidal Anti-inflammatory Drugs, NSAIDs) และอาการไม่พึงประสงค์ที่พบส่วนใหญ่คือ เกิดการระคายเคืองเยื่อบุกระเพาะอาหารจนทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร (Drini, 2017) ดังนั้นการใช้เวชภัณฑ์แบบทาภายนอกในรูปแบบครีมหรือเจล จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีความปลอดภัยและได้รับความนิยมในปัจจุบัน ในภาวะข้ออักเสบสามารถตรวจพบเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส (matrix metallopro-teinases, MMPs) ที่หลั่งออกมาจากเซลล์หลายชนิด และทำหน้าที่ย่อยโปรตีนที่เป็นส่วนสำคัญสำหรับ extracellular matrix และทำให้เกิดพยาธิสภาพหลายแบบในคนและสัตว์เลี้ยง โดยหากมีปริมาณมากจะทำให้กระดูกอ่อนบริเวณข้อต่อเสียหาย และทำให้เกิดภาวะข้ออักเสบตามมา โดยเฉพาะ MMP-9 ดังนั้นเอนไซม์ชนิดนี้จึงถูกนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ (biomarker) ภาวะอักเสบของข้อ (Chia et al., 2008)

เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส

เอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส (matrix metalloproteinase; MMP) เป็นเอนไซม์ที่อาศัยอะตอมสังกะสีเป็นตัวเร่งการทำงาน อยู่ในกลุ่ม endopeptidase ประกอบด้วยเอนไซม์โปรติ-เนสมากกว่า 20 ชนิด สามารถจำแนกออกเป็นกลุ่มย่อย 5 กลุ่ม คือ

1. เอนไซม์ MMPs กลุ่ม collagenase (Visse and Nagase, 2003)

เอนไซม์ในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ตัด extracellular matrix ส่วนที่เป็น collagen type I, II และ III รวมทั้ง soluble proteins ชนิดต่างๆ ตัวอย่างเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์ MMP-1, MMP-8 และ MMP-13 เป็นต้น

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

2. เอนไซม์ MMPs กลุ่ม stromelysin (Pei et al., 1994)

เอนไซม์ในกลุ่มนี้จะตัด substrate ส่วนที่เป็น sespins ได้ดี ตัวอย่างเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์ MMP-3, MMP-10 และ MMP-11 เป็นต้น

3. เอนไซม์ MMPs กลุ่ม furin-activated MMPs

เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีตำแหน่งตัดจำเพาะเหนือบริเวณ catalytic site ที่เรียกว่า furin cleavage ตัวอย่างเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์ MMP-11, MMP-21 และ MMP-28

4. เอนไซม์ MMPs กลุ่ม gelatinase

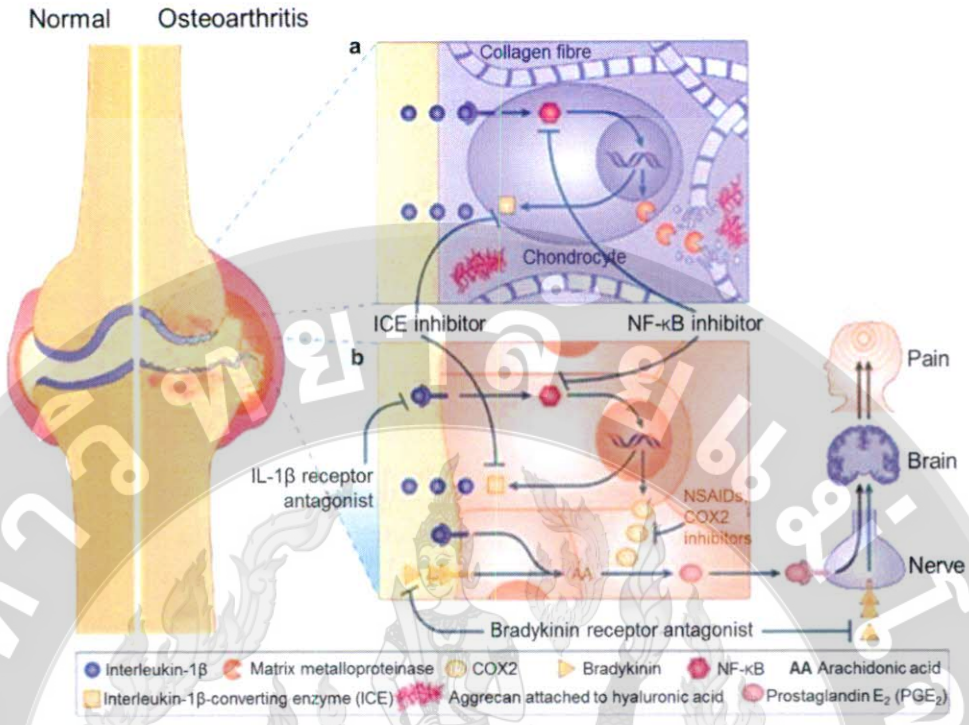
เอนไซม์ในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ในการตัด extracellular matrix ส่วนที่เป็น gelatinase เป็นหลัก เอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ เอนไซม์ MMP-2 และ MMP-9 โดยทำหน้าที่ในการย่อยและตัดส่วนโมเลกุลของ extracellular matrix เช่น laminin, aggrecan, collagen ชนิด IV, V และ XI ยกเว้น collagen ชนิด I, II และ III ที่มีเฉพาะเอนไซม์ MMP-2 สามารถย่อยและตัดได้เท่านั้น (Patterson et al., 2001)

5. เอนไซม์ MMPs กลุ่ม Matrilysins

ตัวอย่างเอนไซม์กลุ่มนี้ ได้แก่ เอนไซม์ MMP-7 และ MMP-26 โดยพบว่า เอนไซม์ MMP-7 ถูกสร้างจาก epithelial cells ส่วนเอนไซม์ MMP-26 พบได้ในเซลล์ปกติ เช่น endometrium และในเซลล์มะเร็งชนิด carcinoma บางชนิด (Marchenko et al., 2004)

ภาวะที่มีการเสื่อมของกระดูกอ่อน จะเกิดกระบวนการสลายมากกว่ากระบวนการสร้าง เกิดการผลิตสารสื่ออักเสบและเอนไซม์ในการย่อยเนื้อกระดูกต่างๆ มากกว่าปกติ เช่น IL-1 beta และ TNF-alpha สามารถกระตุ้นให้เซลล์กระดูกอ่อนผลิตเอนไซม์ในการทำลายเนื้อกระดูกอ่อนเช่น เอนไซม์เมทริกเมทัลโลโปรตีเนส และเอนไซม์แอกกริแคนเนส ทำให้เกิดการเสื่อมของกระดูกอ่อนผิวข้อ ในกระบวนการสลายของเนื้อกระดูกอ่อน IL-1 beta จะกระตุ้นการทำงานของโปรตีน NF-KB ผลิตเอนไซม์เมทริกเมทัลโลโปรตีเนส ซึ่งจะย่อยสลายส่วนประกอบเมทริกซ์ ได้แก่ collagen fibres และ aggrecan ส่วนในกระบวนการอักเสบของข้อต่อ เกิดจาก IL-1 beta กระตุ้น NF-KB ให้เกิดการอักเสบผ่านทาง cyclooxygenase-2 และอีกส่วนหนึ่ง IL-1 beta และ bradykinin กระตุ้น arachidonic acid ให้หลั่งพรอสทาแกลนดินอี 2 (PGE_2) ที่ส่งสัญญาณให้เกิดความเจ็บปวด (ภาพ 5) (Wieland et al., 2005)

283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25



ภาพ 5 กลไกการทำลายกระดูกอ่อนในโรคข้อเข่าเสื่อม

ที่มา (Wieland et al., 2005)

อิมัลชัน (Emulsion) (Leelapornpisid, 1997)

อิมัลชัน หมายถึง ระบบกระจายตัว (dispersed system) ที่ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด แบ่งเป็นสองวัฏภาค คือวัฏภาคภายใน และวัฏภาคภายนอก จะไม่กระจายตัวเข้าหากันหรือไม่ละลายในกันและกัน เช่น น้ำและน้ำมัน, น้ำและตัวทำละลายอินทรีย์, น้ำมันและตัวทำละลายอินทรีย์หรือตัวทำลายอินทรีย์ทั้ง 2 วัฏภาค โดยการที่จะนำของเหลวทั้งสองวัฏภาคกระจายตัวเข้าหากันจนเป็นเนื้อเดียวกันโดยอาศัยสารตัวที่สามซึ่งก็คือ สารทำอิมัลชัน (emulsifier หรือ emulsifying agent) โดยทั่วไป ขนาดของหยดของวัฏภาคภายใน จะอยู่ในช่วง 0.1-10 ไมครอน ซึ่งบางครั้งอาจพบอิมัลชันขนาดเล็กมากถึง 0.01 ไมครอน หรือใหญ่มากถึง 100 ไมครอน แต่จะทำให้ระบบไม่คงตัวมากยิ่งขึ้น โดยใน ตาราง 2 แสดงขนาดของอนุภาคของวัฏภาคภายในต่อระบบกระจายตัว

อิมัลชัน เป็นระบบที่มีสองวัฏภาคอยู่รวมกัน ดังนี้

1. วัฏภาคภายใน (dispersed phase หรือ internal phase หรือ discontinuous phase) คือ วัฏภาคที่ไปกระจายตัวในอีกวัฏภาคหนึ่ง กระจายตัวอย่างไม่ต่อเนื่อง

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

2. วัฏภาคภายนอก (dispersed medium หรือ external phase หรือ continuous phase) คือ ตัวที่เป็นตัวกลางที่ให้อีกวัฏภาคหนึ่งกระจายตัวอยู่

อิมัลชัน สามารถแบ่งออกเป็น 2 วัฏภาค ได้แก่

1. วัฏภาคน้ำ (water phase of emulsion) โดยทั่วไปในวัฏภาคน้ำไม่ได้มีเพียงน้ำเพียงอย่างเดียว แต่มีสารอื่นกระจายตัวอยู่ด้วย ซึ่งประกอบด้วย

- ยาที่ละลายในน้ำ (water-soluble drugs)
- สารเพิ่มความชุ่มชื้น (humectants)
- สารเพิ่มความหนืด เช่น veegum, acacia, tragacanth, carbopol, methycellu-lose
- สารกันเสีย (preservative) เช่น methylparaben, sodium benzoate
- สี (color) เช่น amaranth
- สารแต่งกลิ่นรส (flavor)

2. วัฏภาคน้ำมัน (oil phase of emulsion) ประกอบด้วย

2.1) น้ำมันที่เป็นของเหลว (fixed oil, volatile oil, mineral oil) เช่น arachis oil (peanut oil), cottonseed oil, soya been oil, safflower oil

2.2) น้ำมันที่เป็นของแข็ง (fats, waxes) เช่น paraffin, beeswax, carnauba wax, fatty alcohol (cetyl alcohol และ stearyl alcohol)

2.3) ยาที่ละลายในน้ำมัน (oil-soluble drugs) เช่น oil soluble vitamin, antiseptics

2.4) สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant)

ตาราง 2 ขนาดของอนุภาคของวัฏภาคภายในต่อระบบกระจายตัว

ขนาดของอนุภาคภายใน (ไมครอน)	ชนิดของการกระจาย
< 0.001	molecular dispersions หรือ true solution
0.001 – 0.500	colloidal dispersions เช่น gel
> 0.500	coarse dispersions เช่น suspension, emulsion, ointment, aerosol, suppository

(Leelapornpisid, 1997)

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
283371823

การจำแนกชนิดของอิมัลชัน อาจมีได้หลายลักษณะ ดังนี้

การแบ่งชนิดของอิมัลชันตามชนิดของของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายใน และวัฏภาคภายนอก แบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด คือ

1. คอนเวนชันนัลอิมัลชัน (conventional emulsions) อิมัลชันทั่วไป แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

1.1) อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water emulsions; O/W emulsions)

อิมัลชันชนิดนี้มีน้ำมันเป็นวัฏภาคใน น้ำเป็นวัฏภาคนอก จึงมีความเหนียวเหนอะหนะน้อย ทาแล้วกระจายดี ล้างออกได้ง่าย เป็นที่นิยมมากในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีม และโลชันทาผิว (body cream and body lotion) ครีมทาหน้า (vanishing cream) ครีมกันแดด (sun screen cream) เป็นต้น

1.2) อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (water in oil emulsion; W/O emulsions)

อิมัลชันชนิดนี้มีน้ำเป็นวัฏภาคใน น้ำมันเป็นวัฏภาคนอก พบอิมัลชันชนิดนี้บ้างในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมล้างหน้า (cleansing cream) ครีมทากลางคืน (night cream) ครีมนวดหน้า (massage cream) เป็นต้น อิมัลชันชนิดนี้ค่อนข้างเหนอะนะและล้างน้ำออกยาก จึงเป็นที่นิยมใช้น้อย

2. อิมัลชันเชิงซ้อน (multiple emulsions)

เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายในซ้อนกันอยู่ ซึ่งเป็นของเหลวต่างชนิดกัน อิมัลชันเชิงซ้อนเหล่านี้สามารถกลับกลายเป็นอิมัลชันธรรมดาได้ สามารถแบ่งอิมัลชันเชิงซ้อนเป็น 2 ประเภท คือ

2.1) water in oil in water emulsions (W/O/W emulsion)

คือ ระบบที่มีการกระจายตัวของ W/O ใน water phase

2.2) oil in water in oil emulsions (O/W/O emulsion)

คือ ระบบที่มีการกระจายตัวของ O/W ใน oil phase เช่น cold cream

3. ไมโครอิมัลชัน (microemulsions)

เป็นอิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคของวัฏภาคภายในเล็กมาก ประมาณ 0.01-0.075 ไมครอน ซึ่งมีค่าน้อยกว่า หนึ่งในสี่ของความยาวคลื่นแสงที่มองเห็นได้ (visible light) จึงไม่หักเหหรือกระจายแสง แสงจึงสามารถทะลุผ่านได้ ทำให้มีลักษณะโปร่งแสง มองไม่เห็นหยดอนุภาคของ วัฏภาคภายใน มีลักษณะคล้าย True solution

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
283371823

การแบ่งชนิดของอิมัลชันตามความหนืด แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. โลชัน (lotion)

เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ (เหลว) เพราะมีวัฏภาคภายนอกในปริมาณที่สูง วัฏ-ภาคภายในมักไม่เกิน 35 % โลชันอาจเป็นทั้งชนิด O/W และ W/O เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์ทาผิว โดยเฉพาะผิวหนังที่มีบริเวณกว้าง เพราะทาแล้วชุ่มชื้นไม่เหนอะหนะ ดูดซึมดี ให้ความรู้สึกสบาย และล้างน้ำออกได้ง่าย เช่นโลชันทาผิว โลชันป้องกันแสงแดด เป็นต้น โลชันชนิด W/O มีการใช้บ้าง แต่ไม่ค่อยได้รับความนิยม เนื่องจากเมื่อทาแล้ว จะรู้สึกเหนอะหนะผิว เช่นโลชันป้องกันแสงแดดชนิดที่มีคุณสมบัติกันน้ำ เป็นต้น ซึ่งโลชันนี้อาจใช้สารเพิ่มความหนืด (thickening agent) ในวัฏภาคน้ำเพื่อให้หนืดขึ้นได้ แต่ยังคงเป็นของเหลวที่ไหลได้

2. ครีม (cream)

เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง (ลักษณะกึ่งแข็ง) เพราะมีส่วนประกอบของสารพวกไขแข็ง (waxes) และไขมัน (fatty acid หรือ fatty alcohol) ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืด และเนื้อครีมที่ผสมอยู่กับน้ำมัน (oils) ในวัฏภาคน้ำมัน ครีมมีทั้งชนิด O/W และ W/O ครีมมีความหนืดมากกว่าโลชัน เพราะมีปริมาณวัฏภาคภายในสูงกว่า คือประมาณ 35-75% แล้วแต่ความหนืดที่ต้องการโดยมีการใช้สารเพิ่มเนื้อครีม (bodying or stiffening agent) เช่นไขมันและไขแข็ง นอกจากนี้กรณีของครีมชนิด O/W อาจมีการใส่สารเพิ่มความหนืดร่วมด้วย เช่น acacia, veegum, methylcellulose เป็นต้น ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืดให้แก่วัฏภาคน้ำ

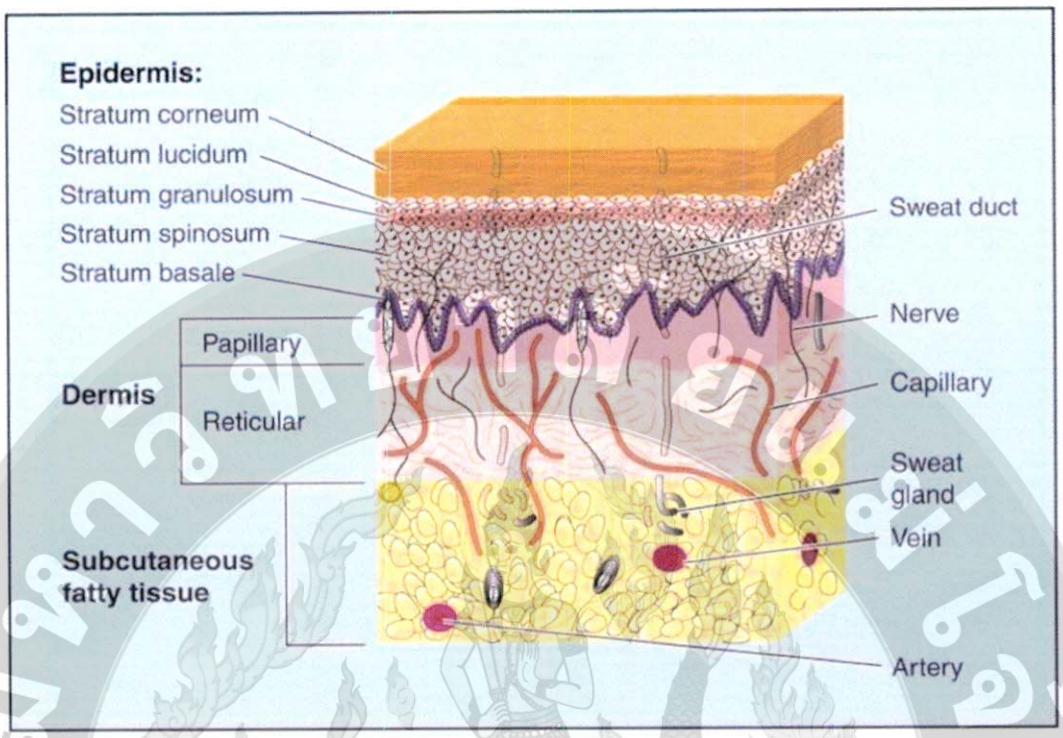
องค์ประกอบพื้นฐานในสูตรตำรับอิมัลชัน (Krasantisuk and Runnarong, 2006)

เราสามารถแยกองค์ประกอบพื้นฐาน ในสูตรตำรับอิมัลชันที่ซึ่งมักใช้กับผิวหนังเป็นส่วนใหญ่ตามหน้าที่ของสารในสูตรได้ดังนี้

1. สารให้ความชุ่มชื้นผิว (moisturizer) หมายถึง
   - สารที่ใช้ป้องกันหรือบรรเทาความแห้งของผิวหนัง
   - สารที่ทำให้ ผิวเนียน และอ่อนนุ่ม
   - สารที่สามารถเพิ่มปริมาณน้ำแก่ผิวหนัง
   - สารที่ทำให้ผิวชุ่มชื้น

สารให้ความชุ่มชื้นผิวที่ดี สามารถเพิ่มปริมาณน้ำในชั้น stratum corneum บนผิวหนัง และรักษาน้ำที่เพิ่มขึ้นไว้เป็นระยะเวลาพอสมควร จนสามารถเปลี่ยนแปลง stratum corneum ให้มีลักษณะนุ่มเนียนไม่แห้ง โดยโครงสร้างระบบชั้นผิวหนังแสดงในภาพ 6

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25



ภาพ 6 โครงสร้างระบบชั้นผิวหนัง

(Cosmotruth, 2013)

คำอื่นๆ ที่มีความหมายใกล้เคียงสารให้ความชุ่มชื้นผิว คือ emollient, humectant

- Emollient บางที่ใช้เป็น synonym กับ moisturizer หมายถึง สารที่ทำให้ผิวหนังนุ่มเนียน ป้องกันการสูญเสียน้ำ ทำให้ผิวไม่แห้งโดย occlusive action คือปิดกั้นไม่ให้น้ำระเหยไป มักเป็นพวก oleaginous substance

- Humectant หมายถึง สารที่ช่วยลดการระเหยของน้ำจากผิวหน้าของครีม, อิมัลชัน รวมถึงบนผิวหนัง

ลักษณะของ Ideal Moisturizer Product (Krasantisuk and Runnarong, 2006)

1) สามารถควบคุม และรักษาความชื้นใน stratum corneum ให้อยู่ในปริมาณที่พอเหมาะ คือ มี water content ประมาณ 10-20%

2) ไม่ทำให้เกิด superhydration เพราะจะลดความสามารถในการเป็น barrier ทำให้ติดเชื้อง่าย อาจเกิดการแพ้ง่าย

3) ประสิทธิภาพ ไม่ควรขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม

4) ถ้าใช้บ่อย หรือสม่ำเสมอ ไม่ควรทำให้ชั้น stratum corneum เป็นอันตราย

5) ไม่ทำให้ระคายเคืองหรือเกิดการแพ้

6) มีความคงตัวดี

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Emollient ชนิดต่างๆ (Krasantisuk and Runnarong, 2006)

- Lanolin and derivatives

1) Lanolin ใช้ในเครื่องสำอาง ที่ต้องการให้เกิดความชุ่มชื้นมันจะทำให้ Epidermis กลับคืนสู่สภาพปกติ ไม่ซึมเข้าผิวหนัง Lanolin เป็นขี้ผึ้งธรรมชาติ ประกอบด้วย ester ของ higher fatty acid ซึ่งไม่ละลายน้ำ สามารถอุ้มน้ำไว้ในตัวเอง และให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง ความเข้มข้นที่ใช้ ไม่เกิน 5 % ถ้าเกิน 5% ผิวหนังจะรู้สึกเหนอะหนะ

2) Derivatives ของ lanolin คือ ส่วนผสมที่ซับซ้อนของ Lanolin ester ทำในรูปแบบต่างๆ กัน เพื่อให้มีคุณสมบัติดีกว่าธรรมชาติ คือ ชุ่มชื้นมากกว่า เหนียวน้อยกว่าละลายที่อุณหภูมิต่ำกว่าใน hydrocabon สามารถใช้ในความเข้มข้นที่สูงกว่า ใช้ได้สะดวกกว่า และเกิดการแพ้ได้น้อย

- Sterols ได้แก่ cholesterol นอกจากจะทำให้ผิวชุ่มชื้น ยังใช้ลดการระคายเคืองผิวหนัง ethoxylated cholesterol มีการละลายน้ำ และ alcohol ดีกว่า cholesterol จึงนิยมใช้มาก

- Phospholipids เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายในไขมัน ประกอบด้วย fatty acid, glycerol, nitrogenous base และ phosphoric acid สารนี้พบได้ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ได้แก่ Lecithin ใช้ในความเข้มข้นไม่เกิน 1-2%

- Hydrocarbon ได้แก่ petrolatum, mineral oil, paraffin, wax และ ozokerite wax ปกคลุมผิวหนังป้องกันสารสูญเสียน้ำ สำหรับ mineral oil ไม่ควรใช้ในความเข้มข้นสูงเพราะพบว่าทำให้ epidermis ของหนูขาวขยายตัวขึ้นแต่ยังไม่พบข้อเสียในคน

- Fatty acids เป็นสารสำคัญในครีม และโลชันทาผิว ที่นิยมมากคือ stearic acid ให้ความชุ่มชื้นโดยเป็นฟิล์มบางๆ ปกคลุมผิวหนังและอุ้มน้ำไว้ในโมเลกุล เพื่อให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง ต่างจากสารอื่นที่ฟิล์มจะแห้งและไม่เป็นมัน ความเข้มข้นที่ใช้คือ 1-20% แล้วแต่ความหนืดที่ต้องการ oleic acid ใช้เมื่อต้องการประกายมุก แต่ไม่นิยมใช้มาก เนื่องจากเหม็นหืนง่าย ต่อมาจึงผลิต oleic acid ให้มี polysaturated ต่ำ เพื่อลดการเหม็นหืน

- Fatty alcohol เช่น cetyl และ stearyl alcohol ใช้ได้ดีมาก lauryl และ myristyl ใช้น้อย จะทำให้เกิดฟิล์มคลุมผิวหนังให้ความชุ่มชื้นดี ใช้ cetyl และ stearyl alcohol ร่วมกัน เพื่อให้มีจุดหลอมเหลวสูง มักใช้อย่างละ 0.2%

- Fatty acid ester ได้แก่ butyl stearate, isopropyl myristate มีความหนืดต่ำ เคลือบผิวหนังเป็นฟิล์มบางๆ ไม่เป็นมัน ไม่เหนียวเหนอะหนะ ความเข้มข้นที่ใช้คือ 2-20%

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

2. Barrier agents (protective agents) เป็นสารที่ใช้ป้องกันการแพ้ของผิวหนัง barrier ใน cream หรือ lotion ทาผิวหนังมี 2 ประเภทคือ water repellant และ oil repellant สารที่เป็น Barrier agent ได้แก่ petrolatum, ozokerite wax, beeswax, paraffin wax, stearic acid, silicone

3. Humectants เป็นสารที่ควบคุมความชื้นของครีมหรือโลชัน และความชื้นของผิวหนัง โดยลดการระเหยของน้ำ และจะดูดความชื้นในอากาศเข้ามาไว้ในเนื้อครีม จะทำให้ครีมไม่แห้ง ไม่ควรใช้ Humectants ในความเข้มข้นสูงเพราะจะดูดความชื้นจากผิวหนังออกมา ทำให้เกิดผลตรงข้ามกับความประสงค์

สารที่นิยมใช้เป็น humectants ได้แก่ glycerol, propylene glycol, sorbitol ทั้งสามชนิดเป็น polyhydric alcohol ต่างกันที่น้ำหนักโมเลกุลและการระเหย โดย propylene glycol มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ การระเหยสูง glycerol อยู่ในระดับปานกลาง และ sorbitol มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ความหนืดสูง และไม่ระเหย

Humectants อื่นๆ ได้แก่ polyoxyethylene sorbitols, sodium lactate, mannitol, polyoxyethylene glycols และ glucose

4. Thickeners and film formers ได้แก่ โพลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุล มีคุณสมบัติเป็นฟิล์ม ปกคลุมผิวทำให้ชุ่มชื้น และเกิดความเย็น นอกจากนี้ทำให้ครีมมีเนื้อข้น มักเตรียมอยู่ในรูป solution หรือ dispersions ในน้ำก่อนนำไปผสมกับยาอื่นๆ แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

4.1) สารจากธรรมชาติ ที่ใช้มาก ได้แก่ tragacanth, algin, cellulosederivative, veegum, gum

4.2) สารที่ได้จากการสังเคราะห์ จะหนืดมากกว่าที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่ carbopol, polyvinyl pyrollidone (P.V.P)

5. ตัวทำอิมัลชัน (emulsifiers) เป็นสารสำคัญในการผสมผสานให้วัฏภาคน้ำและน้ำมันเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน ตัวทำอิมัลชันประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic group) และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic group) ตัวทำอิมัลชันที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางคือ สารลดแรงตึงผิว ความสวยงามของครีมและโลชัน ขึ้นกับการเลือกใช้ตัวทำอิมัลชัน ที่จะให้น้ำกับน้ำมันเข้ากันและคงตัวดี นอกจากนี้ตัวทำอิมัลชันยังช่วยเพิ่มความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ด้วยคุณสมบัติหลายๆ ประการ ดังนี้

- ลดแรงตึงผิว (surface tension) ของระบบ
- ถูกดูดซับรอบๆ หยดอนุภาคและสร้างฟิล์มที่ต่อเนื่อง เพื่อป้องกันการรวมตัวของหยดอนุภาค
- สร้างประจุป้องกัน (electrical barrier) ที่ผิวอนุภาค ทำให้เกิดการผลักกันเมื่ออนุภาคเคลื่อนที่เข้าใกล้กันได้

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

- เพิ่มความหนืดให้กับตำรับ สามารถลดอัตราการวิ่งชนกันของหยดอนุภาค เพิ่มความคงตัวได้

ตัวทำอิมัลชันที่ใช้ทางเครื่องสำอาง มักเป็นสารลดแรงตึงผิว สามารถจำแนกตามแหล่งที่มาเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

5.1) สารสังเคราะห์หรือกึ่งสังเคราะห์ (synthetic หรือ semisynthetic emulsifying agent) แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ตามการแตกตัวในสารละลายน้ำ (ionization)

5.1.1 ตัวทำอิมัลชันที่มีประจุลบ (anionic emulsifiers)

เช่น sodium stearate, calcium oleate, triethanolamine stearate, sodium lauryl sulfate เป็นต้น

5.1.2 ตัวทำอิมัลชันที่มีประจุบวก (cationic emulsifiers)

เหมาะกับอิมัลชันที่มีฤทธิ์เป็นกรด เช่น cetyl pyridinium chloride, cetyl trimethyl-ammonium bromide เป็นต้น

5.1.3 ตัวทำอิมัลชันที่ไม่มีประจุ (non-ionic emulsifiers)

อาจใช้ร่วมกับตัวทำอิมัลชันที่มีประจุลบ และตัวทำอิมัลชันที่มีประจุบวก ตัวทำอิมัลชันที่ไม่มีประจุ เช่น sorbitan mono-stearate, glyceryl monostearate และ polysorbates เป็นต้น

5.1.4 ตัวทำอิมัลชันที่มีทั้งประจุลบและประจุบวก (amphoteric emulsifiers)

อ่อนโยนต่อผิวหนัง แต่ต้องปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เหมาะสม เพื่อป้องกันการระคายเคือง เช่น lecithin, amphoacetate และ betaine เป็นต้น

5.2) สารจากธรรมชาติ (naturally emulsifying agents) เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ได้มาจากธรรมชาติ เช่น acacia, gelatin, methyl cellulose และ beeswax เป็นต้น ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย แต่มักมีความแปรปรวนในการผลิต จึงไม่ค่อยนิยมใช้

5.3) ของแข็งที่มีอนุภาคละเอียด (finely divided solids) เป็นของแข็งที่ไม่ละลายน้ำแต่เปียกน้ำได้ เช่น montmorillonite clays จำพวก bentonite, aluminum magnesium silicate, colloidal silicon dioxide เป็นต้น

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

หลักในการเลือกใช้ตัวทำอิมัลชัน (Krasantisuk and Runnarong, 2006)

สารลดแรงตึงผิวที่ใช้เป็นตัวทำอิมัลชัน มีให้เลือกใช้มากมาย การเลือกใช้ตัวทำอิมัลชันกับผลิตภัณฑ์ชนิดใด ควรคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้ คือ

1) ชนิดของอิมัลชันที่ต้องการ และประเภทหรือคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

2) ความเข้ากันได้ทางเคมีของตัวทำอิมัลชันกับสารอื่นในสูตร เช่นสารกันเสีย สารแต่งสี กลิ่น และตัวทำอิมัลชันอื่น เป็นต้น โดยไม่ทำให้อิมัลชันแยกตัวภายหลัง

3) ผลของผลิตภัณฑ์ต่อผิวหนังและความรู้สึกเมื่อใช้ เช่นทำให้ผิวลื่น ชุ่มชื้น ไม่แตกแห้ง ไม่ทำลายสภาพธรรมชาติของผิวหนัง

4) ความหนืดของอิมัลชันที่ต้องการ ตัวทำอิมัลชันบางชนิดเหมาะในการเตรียมโลชัน แต่ไม่เหมาะในการเตรียมครีม เป็นต้น

5) ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีฟิสิกส์ ทนต่ออิเลคโทรไลท์ การเกิดออกซิเดชันการเกิดไฮโดรไลซิส และไม่ตกผลึกเมื่อเก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิต่ำ

6) ชนิดของเครื่องมือที่ใช้ผลิต ถ้าใช้เครื่องผสมที่มีอำนาจการผสมไม่ดีพอ อาจต้องใช้ตัวทำอิมัลชันที่ทำให้เกิดฟิล์มแข็งแรงมากกว่า หรือใช้ตัวทำอิมัลชันร่วมเพื่อเพิ่มความคงตัวแก่อิมัลชัน เมื่อใช้เครื่องผสมแบบ homogenizer

7) ความปลอดภัย เครื่องสำอางเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับร่างกาย โดยเฉพาะผิวหนัง และบางชนิดใช้ใกล้บริเวณตา จึงต้องระมัดระวังอย่างยิ่งถึงความปลอดภัยในแง่ของความระคายเคืองต่อผิวหนังและตา ความเป็นพิษ และผลทางผิวหนังอื่นๆ

8) ใช้ได้ผลดีในจำนวนน้อย เพื่อผลด้านความปลอดภัย

9) ความยากง่ายในการเตรียม และความคงตัวในสภาวะต่างๆ

10) ราคาประหยัด

Hydrophilic-Lipophilic Balance (HLB) (Williams, 2007)

ตัวทำอิมัลชันที่เป็นสารลดแรงตึงผิวนั้น ในโมเลกุลของสารมีทั้งส่วนที่ชอบน้ำและส่วนที่ชอบน้ำมันในอัตราส่วนต่างๆ กัน จึงมีคุณสมบัติในการละลายหรือกระจายตัวในน้ำได้ต่างกัน ถูกกำหนดเป็นค่า HLB ซึ่งค่า HLB นี้จะใช้เป็นดัชนีบ่งบอกถึงการละลายน้ำของสาร สารลดแรงตึงผิวที่มีค่า HLB

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
28337182

ต่ำ จะละลายน้ำได้น้อยแต่ละลายดีในน้ำมัน ถ้ามีค่า HLB สูง จะละลายน้ำได้ดีแต่ไม่ละลายน้ำมัน เป็นต้น ค่า HLB ของสาร และประโยชน์ของสารลดแรงตึงผิว แสดงในตาราง 3

ตาราง 3 แสดงค่า HLB ของสาร และประโยชน์การใช้ของสารลดแรงตึงผิว

ค่า HLB ของสาร	ประโยชน์การใช้
3.5 - 6.0	ตัวทำอิมัลชันชนิด W/O
7.0 – 9.0	สารช่วยให้เปียก
8.0 – 12.0	ตัวทำอิมัลชันชนิด O/W
13.0 – 15.0	สารทำความสะอาด
16.0 – 18.0	สารช่วยทำละลาย

ทำให้สามารถกำหนดค่า HLB อย่างหยาบๆ ขึ้นมาได้ ซึ่งได้จากการทดลอง หรือคำนวณจากส่วนประกอบทางเคมี และอัตราในการดูดน้ำของโมเลกุลของสาร (กรณีของสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ) ค่า HLB ของสารใช้เป็นแนวทางในการเลือกใช้ตัวทำอิมัลชันให้เหมาะสมกับสูตรตำรับ โดยดูได้จากค่า HLB ของวัฏภาคน้ำมัน โดยทั่วไปมักมีการประเมิณค่า HLB ของวัฏภาคน้ำมัน และเลือกตัวทำอิมัลชัน ให้มีค่า HLB เท่ากันหรือใกล้เคียงกัน จะทำให้ได้ระบบอิมัลชันที่คงตัวดี เรียก HLB method

HLB method นี้ เป็นเพียงแนวทางหยาบๆ เท่านั้นในการเลือกใช้ตัวทำอิมัลชันที่เหมาะสม ในทางปฏิบัติจริงต้องทดลองประเมินผลควบคู่ด้วย เพราะบางครั้งค่าที่คำนวณได้จะไม่ตรงกับคุณสมบัติของอิมัลชันที่ผลิตได้จริง เนื่องจากมีปัจจัยอื่นเกี่ยวข้องด้วย เช่น ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน อัตราส่วนวัฏภาคน้ำกับน้ำมัน การละลายของตัวทำอิมัลชัน การทำปฏิกิริยากันของตัวทำอิมัลชัน อุณหภูมิที่ใช้เตรียมและวิธีการผลิต เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีอิทธิพลอย่างมากต่อคุณภาพของอิมัลชันที่ได้

6. สารกันเสีย (preservatives) เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา และเชื้อยีสต์ เพื่อป้องกันไม่ให้เครื่องสำอางเสียง่าย สารกันเสียที่ใช้สำหรับเครื่องสำอาง เช่น กรดเบนโซอิก (benzoic acid) หรือ โซเดียมเบนโซเอต (sodium benzoate) ซึ่งยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ สารกลุ่มพาราเบน (paraben) ซึ่งพาราเบนที่นิยมใช้มี 3 ชนิด ได้แก่ เมทิลพาราเบน เอทิลพาราเบน และโพรพิลพาราเบน พาราเบนออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพแบบการยับยั้ง

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

เซลล์ (cytostatic activity) มากกว่าฆ่าเซลล์ (cytocidal activity) เมื่อใช้เดี่ยวๆ ออกฤทธิ์ต้านเชื้อราได้ดีมาก แต่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้จำกัด และเมื่อใช้ร่วมกัน เช่น เมทิลพาราเบนร่วมกับโพรพิลพาราเบน จะออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีขึ้น โดยออกฤทธิ์ต่อเชื้อแกรมบวกดีกว่าแกรมลบ (Soni et al., 2005) ฟีนอซีเอทานอล (phenoxyethanol) ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี แต่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อราได้จำกัด ปัจจุบันนิยมใช้สารผสมหลายชนิด เพื่อลดผลข้างเคียง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสูงขึ้น และยับยั้งเชื้อครอบคลุมได้หลายชนิด

7. สารต้านออกซิเดชัน (antioxidants) องค์ประกอบในผลิตภัณฑ์ หรือเครื่องสำอางบางชนิด อาจมีสารซึ่งไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้สลายตัวและ/หรือ ประสิทธิภาพของสารนั้นลดลง เป็นผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีรูปลักษณ์เปลี่ยนไป เช่น สีเข้มขึ้น กลิ่นเปลี่ยนไปจากเดิม หรือเกิดการแยกชั้นได้ ถ้าสารนั้นเป็นสารสำคัญจะทำให้ประสิทธิภาพลดลงด้วย จำเป็นต้องใช้สารต้านออกซิเดชัน เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาซึ่งก่อผลเสียดังกล่าว โดยสารต้านออกซิเดชันแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

7.1) สารต้านออกซิเดชันแท้ (true antioxidant) เป็นสารซึ่งละลายในวัฏภาคน้ำมัน ใช้เพื่อป้องกันการหืนของไขมันไม่อิ่มตัวต่างๆ ได้แก่ propyl gallate, alpha-tocopherols, butylated hydroxytoluene (BHT) และ nordihydroguaiaretic (NDGA) เป็นต้น โดยใช้ในความเข้มข้นต่ำๆ และอาจใช้ร่วมกับสารเสริมประสิทธิภาพ (synergists) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและลดความเข้มข้นที่ต้องใช้

7.2) สารรีดิวเซอร์ (reducing agents) เป็นสารซึ่งละลายน้ำ ใช้ป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารซึ่งละลายน้ำได้ ได้แก่ sodium sulphite, sodium metabisulfite และ ascorbic acid โดยใช้ในความเข้มข้นต่ำๆ เช่นกัน

7.3) สารเสริมประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชัน (antioxidation synergists) เป็นสารซึ่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันน้อยมาก แต่เมื่อใช้ร่วมกับสารกลุ่มที่ 1 จะเสริมฤทธิ์ได้ดียิ่งขึ้นจึงนิยมใช้สารทั้ง 2 กลุ่มนี้ร่วมกันในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง สารกลุ่มนี้ได้แก่ citric acid, phosphoric acid, disodium EDTA และ lecithin 0.05-0.10% เป็นต้น

8. สารแต่งสี (coloring agent) ซึ่งอาจเป็นสีที่ละลายน้ำ หรือสีที่ละลายในน้ำมัน

9. สารแต่งกลิ่น (perfume) อาจได้จากธรรมชาติ หรือการสังเคราะห์

10. สารอื่นๆ เช่น

10.1) Healing agent ช่วยกระตุ้นการเจริญของ granulation tissue ได้แก่ allantoin และยูเรีย (urea)

283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

10.2) ฮอร์โมน (hormone) ช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำไว้ในเซลล์ ได้แก่ estrogenic hormone ซึ่งอาจช่วยลบรอยเหี่ยวย่นรอบดวงตาได้

การเตรียมตำรับครีม โดยวิธีเตรียมแบบบีกเกอร์ (beaker method) (Komesmuneeborirak et al., 2013)

1. แบ่งส่วนประกอบของตำรับออกเป็นวัฏภาคน้ำ และวัฏภาคน้ำมัน สารที่ละลายหรือเข้ากันได้กับน้ำและทนความร้อนให้อยู่ในวัฏภาคน้ำ ส่วนสารที่ละลายน้ำมันหรือเข้ากันได้กับน้ำมันและทนความร้อนให้อยู่ในวัฏภาคน้ำมัน

2. ให้ความร้อนทั้งสองวัฏภาค โดยให้วัฏภาคน้ำมันมีอุณหภูมิประมาณ 70-73 องศาเซลเซียส และวัฏภาคน้ำมีอุณหภูมิประมาณ 73-75 องศาเซลเซียส ทั้งนี้จะต้องให้วัฏภาคน้ำมีอุณหภูมิสูงกว่าวัฏภาคน้ำมันเล็กน้อย เนื่องจากวัฏภาคน้ำคลายความร้อนได้เร็วกว่า เมื่อนำสองวัฏภาคมาผสมกันจะได้มีอุณหภูมิใกล้เคียงกันมากที่สุด เนื้อครีมที่ได้ก็จะเนียน และคงตัวไม่แยกชั้น

3. ผสมวัฏภาคทั้งสองรวมกัน มี 2 วิธี คือเทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมัน หรือเทวัฏภาคน้ำมันลงในวัฏภาคน้ำ

4. คนผสมอย่างต่อเนื่องด้วยความเร็วสม่ำเสมอจนได้อิมัลชัน อย่าให้เกิดฟอง และเย็นลงที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส จึงเติมสารอื่นๆ ที่ไม่ทนความร้อน เช่น แอลกอฮอล์ น้ำมันหอมระเหย สารแต่งกลิ่น และสารกันเสีย (preservative) เป็นต้น

5. ไม่ควรทำให้อิมัลชันเย็นลงอย่างรวดเร็ว เพราะอาจเกิดการตกตะกอนอย่างรวดเร็วของแว็กซ์ (waxes)

ตัวทำอิมัลชันที่นิยมใช้ในตำรับครีม

1. สารสังเคราะห์ หรือกึ่งสังเคราะห์

1.1) สารลดแรงตึงผิวประจุลบ (anionic surfactants) สารกลุ่มนี้ส่วนที่มีขั้วจะเป็นประจุลบ ราคาถูก แต่เป็นพิษได้หากใช้ในยารับประทาน จึงใช้ในตำรับยาใช้ภายนอกเท่านั้น และไม่ทนต่อสภาวะที่มีประจุบวกในตำรับ ตัวอย่างตัวทำอิมัลชันในกลุ่มนี้ ได้แก่ sodium stearate, triethanolamine stearate, sodium lauryl sulfate และ sodium dodecyl benzene sulfate เป็นต้น

1.2) สารลดแรงตึงผิวประจุบวก (cationic surfactants) สารกลุ่มนี้มีส่วนที่มีขั้วจะแสดงประจุบวก ได้ครีมชนิด O/W creams และมีประสิทธิภาพเป็นสารกันเสียได้อีกด้วย มักใช้ในตำรับครีมที่เป็นกรด (pH 3-5) สารทำอิมัลชันชนิดนี้มีข้อเสีย คือก่อให้เกิดพิษได้ ระคายเคืองต่อผิวหนัง ตัวอย่าง

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

ตัวทำอิมัลชันในกลุ่มนี้ ได้แก่ cetrimide, cetyl pyrinium chloride, benzalkonium chloride และ cetyl trimethyl ammonium chloride เป็นต้น

1.3) สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวกและลบ (amphoteric surfactants) คือสารลดแรงตึงผิวที่มีทั้งประจุบวกและลบในโมเลกุลเดียวกัน มีข้อดี คือเกิดความระคายเคืองผิวต่ำ และเข้ากันได้ดีกับสารทั้งประจุบวกและลบรวมทั้งสารไม่มีประจุ ไม่นิยมใช้ในตำรับครีม มักพบในตำรับเครื่องสำอางสำหรับทำความสะอาด ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ ได้แก่ betaines, 1,2-diacyl-L-phosphotidylcholine (lecithin) และ lauryl sulfobetaine เป็นต้น

1.4) สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (nonionic surfactants) คือสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุในโมเลกุล แต่จะแสดงความชอบน้ำหรือไขมันขึ้นอยู่กับสัดส่วนของ hydrophilic part เช่น alcohol หรือ ethylene oxide และ lipophilic part เช่น fatty acid, fatty alcohol และสายโซ่ hydrocarbon เป็นต้น ซึ่งแสดงเป็นค่า HLB (hydrophilic-lipophilic balance) สารลดแรงตึงผิวที่แสดงค่า HLB สูง จะมีความชอบน้ำมาก จะได้ครีมชนิด O/W creams สารที่แสดงค่า HLB ต่ำ จะได้ครีมชนิด W/O creams สารลดแรงตึงผิวชนิดนี้มีข้อดี คือไม่เป็นพิษต่อผิวหนัง เกิดการระคายเคืองผิวหนังได้น้อย เข้ากันได้กับสารหลายชนิด เข้ากันได้กับสารที่มีประจุบวกหรือลบ ใช้ได้กับ pH ในช่วงกว้าง คงตัวในสภาวะด่างอ่อนหรือกรดอ่อนได้ ครีมที่ได้มีความคงตัว ดังนั้นสารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้ได้รับความนิยมสำหรับการเตรียมตำรับครีมมากที่สุด สารในกลุ่มนี้ได้แก่

- สารกลุ่ม polyaloxyethers (polyoxyethylene glycol ethers) มีข้อเสีย คือ เกิดปฏิกิริยาจับกันกับสารกันเสียกลุ่ม parabens เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนได้ ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ (ชื่อการค้า Brij®) ได้แก่ PEG-20 cetyl ether (cetomacrogol 1000 หรือ ceteth-20) และ PEG-3 tridecyl ether (trideceth-3) เป็นต้น หากใช้เดี่ยวๆ จะได้ครีมที่ไม่ดีนัก นิยมใช้ร่วมกับ fatty alcohol จะได้ครีมที่มีความคงตัวมากขึ้น

- สารกลุ่ม polyalkoxyesters (polyoxyethylene glycol esters) การเติมสารกลุ่ม fatty alcohol ทำให้ครีมที่ได้มีความคงตัวมากขึ้น ตัวอย่างสารกลุ่มนี้ (ชื่อการค้า Myrj®) ได้แก่ PEG-40 stearate และ hydrogenated PEG-40 castor oil เป็นต้น

- สารกลุ่ม polysorbates มีชื่อทางการค้าว่า Tween® มีหลายชนิดขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่ oxyethylene เช่น polyoxythylene sorbitan monostearate (polysorbate 60), polyoxythylene sorbitan monooleate (polysorbate 80) เป็นต้น มีความชอบน้ำ ทำให้ได้ครีมชนิด O/W creams ได้ครีมที่มีความคงตัว ทนต่อการเปลี่ยนแปลง pH และสารอิเล็คโทรไลต์ นิยมใช้ร่วมกับสารทำอิมัลชันกลุ่ม soritan ester เพื่อให้ได้ค่า HLB ที่ตำรับต้องการ

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

- สารกลุ่ม sorbitan esters มีคุณสมบัติชอบไขมัน ทำให้ได้ครีมชนิด W/O creams ครีมที่ได้มีลักษณะที่ดี ทนต่อการเปลี่ยนแปลง pH และสารอิเล็คโทรไลต์ ตัวอย่างของสารกลุ่มนี้ (ชื่อการค้า Span®) ได้แก่ sorbitane monostearate (Span 60) และ sorbitane monooleate (Span 80) เป็นต้น

2. สารจากธรรมชาติ ไม่ค่อยนิยมใช้เป็นสารทำอิมัลชัน เนื่องจากมีความแปรปรวนระหว่างรุ่นการผลิตสูง และไวต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ตัวอย่างที่มีใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ beeswax, lanolin, acacia เป็นต้น

หลักในการเลือกตัวทำอิมัลชัน คือต้องระวังความเป็นพิษและการระคายเคือง พิจารณา ดังนี้

1. ถ้าให้ทางปาก จะต้องเลือกตัวทำอิมัลชันชนิดที่รับประทานได้เท่านั้น เช่น ตัวทำอิมัลชันจากธรรมชาติ (natural emulsifying agent), semisynthetic derivatives เช่น polysaccharides, glycol esters, cellulose ethers, sorbitan esters, polysorbates

2. nonionic types จะระคายเคืองและเป็นพิษน้อยกว่าพวก anionic และ cationic ซึ่งโดยทั่วไป nonionic surfactants จะเลือกเป็นตัวทำอิมัลชันสำหรับอิมัลชันใช้ทานทั่วไป การใช้ ionic ที่ความเข้มข้นสูงเกินไปจะไประคายเคืองระบบทางเดินอาหารเกิดฤทธิ์เป็นยาระบาย (laxative effect) และการใช้ cationic surfactants จะเป็นพิษกว่าพวก anionic และ nonionic จึงไม่นิยมใช้ในยากินรวมถึงการใช้ภายนอก เพราะระคายเคืองสูง

3. anionic alkaline soaps ที่มี pH สูงไม่เหมาะที่จะนำไปเตรียมเป็นยาทา เพราะจะทำให้ผิวหนังแตก และรู้สึกระคายเคือง

4. สำหรับยาฉีดควรเลือกตัวทำอิมัลชันที่มีความเป็นพิษต่ำสุด เช่น lecithin, polysorbate 80, methylcellulose, gelatin, serum albumin

การประเมินคุณภาพอิมัลชัน (Klinsunthorn et al., 2001)

มีการทดสอบเป็นขั้นตอน เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตออกมาจำหน่ายเป็นที่ยอมรับ และเชื่อถือได้ ควรมีขั้นตอนการทดสอบดังนี้

1. การทดสอบในห้องปฏิบัติการ (laboratory test) เป็นการประเมินผลขั้นต้น โดยการตรวจสอบคุณสมบัติต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ ว่าเข้าเกณฑ์มาตรฐานตามที่ตั้งไว้หรือไม่ มีการทดสอบดังนี้

1.1) ตรวจวิเคราะห์ทางเคมี เพื่อหาปริมาณตัวยาสำคัญ สารกันบูด เป็นต้น

1.2) การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพเคมี เช่น ความหนืด pH การไหล

1.3) การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ เช่นการแยกชั้นหรือตกตะกอน

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

1.4) การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

1.5) การทดสอบด้านประสาทสัมผัส เช่น สี กลิ่น ความเนียนของเนื้อครีม การดูดซึมเมื่อใช้ทาบนผิวเป็นต้น

2. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของผลิตภัณฑ์ (performance test) เป็นการตรวจสอบว่าผลิตภัณฑ์นั้นให้ผลการใช้ตามจุดประสงค์หรือไม่ โดยการใช้อาสาสมัครทดลองใช้ผลิตภัณฑ์ อาจให้ตอบคำถามในแบบสอบถามตามเกณฑ์ที่ผู้ผลิตตั้งขึ้น เช่น ความเหนอะหนะ การดูดซึมและการกระจายตัวของครีม ความพอใจในสี กลิ่น เป็นต้น แล้วนำมาประเมินผล

3. การทดสอบผลต่อร่างกาย (physiological test) เป็นการทดสอบว่าผลิตภัณฑ์ มีผลเสียหรือเป็นอันตรายต่อร่างกายหรือไม่ เช่น ทำให้เกิดการแพ้ หรือระคายเคืองหรือไม่ โดยการทำ patch test การทดสอบในข้อนี้เป็นสิ่งสำคัญที่ควรคำนึงถึง เพราะสารที่ใช้ผลิตอิมัลชัน โดยเฉพาะสารลดแรงตึงผิว น้ำหอมบางชนิดอาจทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้

4. การทดสอบด้านความคงสภาพของอิมัลชัน (stability test) เป็นสิ่งสำคัญที่ต้องทำการทดสอบ เพราะผลิตภัณฑ์ที่ดีเมื่อผลิตเสร็จใหม่ๆ ภายหลังการเก็บไว้นานๆ หรืออยู่ในห้องตลาดก่อนถึงมือผู้ใช้อาจถูกกระทบกระเทือนโดยปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิ การขนส่ง แสง เป็นต้น ทำให้ผลิตภัณฑ์นั้นไม่เป็นที่ยอมรับ หรือหมดความเชื่อถือต่อผู้บริโภค ปกติการดูแลผลด้านความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ มักมีการเก็บผลิตภัณฑ์ไว้บนหิ้งที่อุณหภูมิห้อง เพื่อสัมผัสภาวะภูมิอากาศที่เปลี่ยนตามฤดูกาล ซึ่งต้องใช้เวลานานเป็นปีถึงสองปี ทำให้ไม่สะดวกต่อการออกจำหน่าย จึงมีการทดสอบแบบเร่งเพื่อให้ระยะเวลาในการทดสอบเร็วขึ้น โดยการสร้างสถานการณ์เลียนแบบ โอกาสที่อิมัลชันจะสลายตัวไป เช่น การทดสอบความคงสภาพต่ออุณหภูมิ ความคงสภาพต่อการรวมตัว เป็นต้น

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของอิมัลชันที่ควรนำมาประเมิน มีดังนี้

1) ความหนืดและคุณสมบัติการไหล

2) ขนาดและการกระจายขนาดของอนุภาค

3) การสูญเสียน้ำและสารระเหยออกจากผลิตภัณฑ์

4) การเปลี่ยนแปลงของ phase to volume ratio

5) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH value)

6) ความเนียน และการแยกชั้น

7) การปนเปื้อน

8) ความคงตัวของตัวยาสำคัญและสารปรุงแต่งในผลิตภัณฑ์

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

การทดสอบความคงสภาพแบบเร่ง (Klinsunthorn et al., 2001)

การศึกษาสภาวะปกติจะต้องใช้เวลานาน การศึกษาโดยการเร่งจะเร็วขึ้นโดยการเพิ่มอุณหภูมิ แสง ความชื้นสัมพัทธ์ จึงช่วยร่นระยะเวลาการศึกษา เป็นประโยชน์มากในการเปรียบเทียบตำรับเพื่อคัดเลือกตำรับที่ดีที่สุด

1. การเร่งโดยใช้อุณหภูมิ การเร่งโดยการใช้อุณหภูมิยังไม่เป็นที่ยอมรับ เพราะอิมัลชัน เป็นระบบ 2 วัฏภาค เมื่ออุณหภูมิสูง จะทำให้การละลายของตัวอิมัลชันเปลี่ยนไป อาจทำให้วัฏภาคแยกชั้น หรือกลับวัฏภาค จึงใช้คาดคะเนความคงสภาพที่อุณหภูมิห้องได้ยาก แต่โดยทั่วไปจะทดสอบด้วยวิธีนี้ เพราะอิมัลชันที่คงทนต่อความร้อนได้ดีจะคงทนที่อุณหภูมิห้องด้วย และการเร่งอุณหภูมิต่ำ อิมัลชันก็อาจแยกชั้นเนื่องจากตัวทำอิมัลชัน หรือ wax ตกตะกอน ถ้าเย็นมากน้ำจะกลายเป็นน้ำแข็ง เป็นเกล็ดแยกออกจากน้ำมันได้ จึงเป็นการเร่งการสลายตัวของโลชัน

การใช้อุณหภูมิต่ำสลับสูง มี 2 ลักษณะคือ

- Heating cooling cycle โดยการเก็บอิมัลชันในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเข้าตู้อบที่ 45 องศาเซลเซียส อีก 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบรวมทั้งสิ้น 6-8 รอบแล้วนำมาประเมินผล

- Freeze and thaw cycle โดยการเก็บอิมัลชัน ในช่องแช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้น นำมาเข้าตู้อบที่ 25 องศาเซลเซียส อีก 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบรวมทั้งสิ้น 6-8 รอบแล้วนำมาประเมินผล

2. การเร่งโดยแสง พลังงานแสงอาจเร่งให้เกิดการ ซีตจาง การเปลี่ยนสี กลิ่น หรือเกิด ปฏิกิริยาเคมีตัวทำอิมัลชัน น้ำมันบางชนิดในสูตรตำรับอาจสลายตัวโดยแสงทำให้อิมัลชันมีลักษณะเปลี่ยนไปจากเดิม จึงควรทำการทดสอบอย่างยิ่ง

3. การเร่งโดยใช้แรงโน้มถ่วงโลก โดยการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) หรือ การเขย่า (shake) วิธีนี้จะเร่งการตกตะกอนของอิมัลชัน และเป็นวิธีที่ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์และความเหมาะสมในการทดสอบของแต่ละผลิต

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

วิธีทดสอบอิมัลชัน แสดงรายละเอียดในตาราง 4

ตาราง 4 การทดสอบชนิดของอิมัลชัน

วิธีทดสอบอิมัลชัน	W/O emulsion	O/W emulsion
1) dilution tests หรือ miscibility test	เข้ากันได้กับน้ำมันและไม่เข้ากันกับน้ำ	เข้ากันได้กับน้ำและไม่เข้ากันกับน้ำมัน
2) staining test โดยการเติม oil soluble dye		
2.1)macroscopic examination (ดูด้วยตาเปล่า)	สีเข้มกว่า	สีจางกว่า
2.2) microscopic examination (ดูด้วยกล้อง)	หยดอนุภาคไม่มีสีอยู่บนพื้นที่มีสี	หยดอนุภาคมีสีอยู่บนพื้นที่ไม่มีสี
3) conductivity test	ถ้าใส่ขั้วหลอดไฟฟ้า หลอดไฟจะติดๆ ดับๆ	ถ้าใส่ขั้วหลอดไฟฟ้า หลอดไฟจะสว่าง

ยาขี้ผึ้ง (ointments) (คัทลียา เมฆจรัสกุล, 2557)

ยาขี้ผึ้ง คือยาเตรียมกึ่งแข็งที่ประกอบด้วยสารกลุ่มไขมันหรือน้ำมัน สำหรับใช้ภายนอกร่างกาย ใช้ทาที่ผิวหนังหรือเยื่อบุต่างๆ (mucous membrane) ความเหนียวข้นของยาขี้ผึ้งจะอ่อนลงและแผ่กระจายบนผิวหนังดีขึ้นเมื่อออกแรงถู มีลักษณะเป็นวัฏภาคเดี่ยว (single-phase) สามารถแบ่งยาขี้ผึ้งตามการเกิดปฏิกิริยากับน้ำได้ 4 ประเภท ได้แก่

1. ยาพื้นชนิดเป็นมัน (oleaginous/hydrocarbon bases)

ประกอบด้วยสารกลุ่มไฮโดรคาร์บอน น้ำมันจากพืช (vegetable oils) ซิลิโคน (silicones) หรือเอสเทอร์ชนิดสังเคราะห์ (synthetic esters) เมื่อทาลงบนผิวหนังจะเกิดแผ่นฟิล์มบางๆ ปกคลุมผิวหนัง (occlusive effect) ทำให้น้ำไม่สามารถแพร่ผ่านผิวหนังได้ ป้องกันการสูญเสียน้ำออกจากผิวหนัง เพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิวหนังได้ดี รู้สึกเหนอะหนะ ล้างน้ำออกได้ยาก ไม่มีน้ำในตำรับและไม่เข้ากับน้ำ สารที่ใช้เป็นส่วนประกอบในยาพื้นชนิดเป็นมัน เช่น petrolatum, white petrolatum, white ointment, beeswax, mineral oil, spermaceti, paraffin และซิลิโคน เป็นต้น

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

2. ยาพื้นชนิดดูดน้ำได้ (absorption bases)

เกิดจากการนำยาพื้นชนิดเป็นมันมาเติมสารทำอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O emulsifiers) เช่น wool fat, wool alcohol, cholesterol, sorbitan ester และกรดไขมันชนิดแอลกอฮอล์ เป็นต้น ทำให้ยาพื้นชนิดเป็นมันสามารถบดผสมกับสารละลายน้ำได้เข้ากันดีมากขึ้น มีคุณสมบัติคล้ายกับยาพื้นเป็นมัน คือล้างน้ำออกยาก เป็นมัน ให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง แต่สามารถดูดซับน้ำเข้าหาตัวได้ หรือสามารถเติมสารละลายน้ำในตำรับยาพื้นขี้ผึ้งได้ เป็นฟิล์มปกคลุมผิวหนังได้น้อยกว่ายาพื้นชนิดเป็นมัน แบ่งประเภทตามการมีน้ำเป็นส่วนประกอบได้ 2 ประเภท ได้แก่

2.1) ยาพื้นชนิดดูดน้ำได้แบบที่ไม่มีน้ำในตำรับ (anhydrous forms) เมื่อดูดน้ำเข้ามาหรือเติมสารละลายน้ำเข้าไปในตำรับจะก่อให้เกิดเป็นอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O emulsion) ช่วยให้ตัวยาสำคัญที่ละลายน้ำแทรกซึมผิวได้ดีขึ้น และทาลงบนผิวหนังแล้วกระจายตัวได้ง่าย เช่น hydrophilic petrolatum, lanolin (anhydrous), aquabase ointment และ wool alcohol ointment เป็นต้น

2.2) ยาพื้นชนิดดูดน้ำได้แบบที่มีน้ำในตำรับ (hydrous forms) หรืออิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O emulsion) ที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบในตำรับ สามารถเติมสารละลายน้ำในตำรับเพิ่มได้อีก เช่น lanolin (hydrous) และ cold cream base เป็นต้น

3. ยาพื้นชนิดล้างน้ำออกง่าย (water-removable bases) หรืออิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W emulsion)

มีลักษณะคล้ายครีม ล้างน้ำออกง่าย เมื่อทาลงบนผิวหนัง เกิดเป็นฟิล์มบางๆ น้ำสามารถซึมผ่านได้ สามารถดูดซับสารคัดหลั่งทางผิวหนังได้ดี มีการนำมาใช้ทางเครื่องสำอาง เช่น vanishing cream และ hydrophilic ointment, USP เป็นต้น

4. ยาพื้นชนิดละลายน้ำได้ (water-soluble bases)

เป็นยาพื้นขี้ผึ้งที่ไม่เป็นมัน ไม่มีส่วนผสมของน้ำมันหรือไขมัน อาจมีหรือไม่มีน้ำเป็นส่วนประกอบในตำรับ ล้างน้ำออกง่าย เมื่อเติมน้ำลงในตำรับเนื้อขี้ผึ้งจะอ่อนนุ่ม มีลักษณะคล้ายเจล เช่น polyethylene glycol (PEG) ointment, bentonite, gelatin, veegum และอนุพันธ์ของเซลลูโลส เป็นต้น

ส่วนประกอบในยาขี้ผึ้ง ประกอบด้วย

1) ตัวยาสำคัญ (active ingredients)

2) ยาพื้นขี้ผึ้ง (ointment bases)

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

3) สารเติมแต่งในยาพื้นเพื่อให้มีคุณสมบัติตามต้องการ (additive) ได้แก่

3.1 Fatty acids และ fatty alcohol เช่น stearic acid, stearyl alcohol, cetyl alcohol และ cetostearyl alcohol เป็นต้น ช่วยทำให้ยาพื้นอ่อนนุ่มลง เพิ่มความสามารถในการรับน้ำแก่ soft paraffin และ PEG เพิ่มการดูดซึมเข้าสู่ผิวหนัง

3.2 เอสเทอร์สังเคราะห์จากกรดไขมัน (synthesis ester of fatty acid) เช่น myristate (IPM), isopropyl palmitate เป็นต้น นิยมใช้แทนสารประกอบไฮโดรคาร์บอน และน้ำมัน เพราะมีคุณภาพที่คงที่มากกว่า ไม่เกิดการหืน ไม่เหนียวเหนอะหนะ ใช้เพิ่มความอ่อนนุ่มแก่ยาพื้นได้ IPM เป็นสารที่นิยมใช้มาก มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ไม่ละลายน้ำ ทำให้ยาพื้นขี้ผึ้งมีเนื้อเนียน แผ่กระจายบนผิวหนังได้ง่าย และรวดเร็ว ดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ isopropyl stearate อยู่ในรูปของเหลวสามารถใช้แทน IPM ได้ และ isopropyl palmitate เป็นน้ำมันไม่มีสี คุณสมบัติคล้าย IPM แต่ดูดซึมสู่ผิวหนังได้ช้ากว่า

4) สารต้านออกซิเดชัน (antioxidants)

ใช้ป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันในตำรับ เช่น sodium sulfate, sodium metabisulfite และ ascorbic acid เป็นต้น

5) สารกันหืน (rancids)

ใช้ป้องกันการหืนของไขมันชนิดไม่อิ่มตัวในตำรับ สารกันหืนที่นิยมใช้ เช่น butylate hydroxytoliene (BHT), beta hydroxyl acid (BHA), tocopherol และ propyl-gallate เป็นต้น

6) สารคีเลต (chelating agents)

ใช้จับโลหะหนักที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน และใช้เป็นสารเสริมฤทธิ์ของสารต้านออกซิเดชัน เช่น citric acid, maleic acid, tartaric acid และ disodium EDTA เป็นต้น

7) สารเพิ่มความหนืด (thickening agents)

ใช้เพิ่มความข้นหนืดแก่ตำรับ ในตำรับที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ เพราะสามารถพองตัวได้ดีในน้ำ เช่น bentonite, sodium alginate, carbomer, methylcellulose และ sodium carboxy-methylcellulose เป็นต้น

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

8) สารกันเสีย (preservatives)

จำเป็นสำหรับตำรับยาขี้ผึ้งที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ ใช้เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตหรือฆ่าเชื้อจุลชีพ เช่น methyl paraben, propyl paraben, butyl paraben, sorbic acid, benzyl alcohol และ benzoic acid เป็นต้น

9) สารกันน้ำระเหย (humectants)

ช่วยป้องกันการระเหยของน้ำออกจากผิวหน้าของยาขี้ผึ้งที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ ป้องกันการระเหยของน้ำออกจากผิวหนังเมื่อทายาขี้ผึ้งที่มีสารกันน้ำระเหยเป็นส่วนประกอบ สารกันระเหยนี้สามารถดูดน้ำเข้าหาตัว ช่วยปรับปรุงความข้นเหนียวของตำรับ ทำให้ทาผิวหนังได้ง่ายขึ้น สะดวกในการทา ควรใช้ความเข้มข้นในช่วงร้อยละ 2-10 ในตำรับ หากใช้มากเกินไปจะดูดความชื้นออกจากผิวหนัง ทำให้ผิวหนังแห้งได้ ตัวอย่างสาร เช่น glycerin, propylene glycol, sorbital และ PEG เป็นต้น

10) บัฟเฟอร์ (buffers)

ใช้ปรับความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมให้กับตำรับ ช่วยให้ตำรับมีความคงตัวดี และให้ผลการรักษาตามต้องการ เช่น citric acid, phosphoric acid และ sodium phosphate เป็นต้น

11) สารแต่งกลิ่น และสารแต่งสี (coloring agent และ odoring agent)

ช่วยให้ตำรับมีสีและกลิ่นน่าใช้มากยิ่งขึ้น เช่น น้ำมันหอมระเหยต่างๆ เป็นต้น

วิธีเตรียมยาขี้ผึ้งมี 2 วิธี ได้แก่

1) การบดผสม (incorporation)

เป็นการหลอมยาขี้ผึ้งก่อน แล้วจึงบดและผสมกับยาสำคัญ และ/หรือสารอื่นๆ ในตำรับที่ไม่คงตัวที่อุณหภูมิสูง การบดผสมในปริมาณน้อยๆ อาจใช้โกร่ง และลูกโกร่ง หรือ slab และ spatula การใช้ spatula ควรคำนึงถึงการเกิดปฏิกิริยาของสารในตำรับกับ spectula สแตนเลสด้วย จึงควรใช้ spectula ชนิดยาง

กรณีที่ตัวยาสำคัญเป็นของแข็ง ควรลดขนาดอนุภาคให้ละเอียดก่อน อาจใช้สารช่วยปาด (levigating agents) ปริมาณเล็กน้อย เพื่อช่วยให้ผงยาเปียกก่อน ช่วยให้ยาสำคัญกระจายตัวง่ายและบดผสมง่ายขึ้น

กรณีที่ตัวยาสำคัญเป็นของเหลว หรือของแข็งที่สามารถละลายได้ สามารถบดผสมกับยาพื้นขี้ผึ้งได้เลย แต่ควรคำนึงถึงความสามารถในการรับสารละลายของยาพื้นด้วย ซึ่งยาพื้นขี้ผึ้งชนิดเป็นมัน

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

สามารถรับสารละลายได้น้อยมากๆ ขณะที่ยาพื้นขี้ผึ้งชนิดดูดน้ำ หรือชนิดล้างน้ำออกง่าย สามารถรับสารละลายตัวยาสำคัญได้มาก

2) การหลอม (fusion)

มักใช้กับตัวยาสำคัญที่ทนความร้อนได้ และยาขี้ผึ้งในตำรับปราศจากน้ำ เตรียมโดยหลอมส่วนประกอบในตำรับให้ละลาย และคนให้เป็นเนื้อเดียวกันจนกระทั่งเย็น อาจจะนำไปลดขนาดโดยใช้โกร่งเพื่อให้ได้เนื้อขี้ผึ้งเนียน นุ่ม เป็นเนื้อเดียวกัน หากมีตัวยาสำคัญหรือส่วนประกอบในตำรับที่ไม่คงตัวที่อุณหภูมิสูง สารระเหยได้ สารละลาย หรืออนุภาคของแข็งที่ไม่ละลายในยาพื้นขี้ผึ้ง อาจเติมลงไปในยาพื้นที่กำลังจะแข็งตัวหลังจากหลอมละลาย ควรนำสารนั้นมาอุ่นเล็กน้อยให้มีอุณหภูมิใกล้เคียงกับยาพื้นที่กำลังจะเย็นก่อนเติมลงไป เพราะการเติมลงไปขณะเย็นอาจทำให้สารบางตัวแยกตัวออกมาหรือตกผลึกได้ จากนั้นคนต่อเนื่องจนกระทั่งได้ตำรับยาขี้ผึ้งเย็น ควรคนอย่างต่อเนื่องเพื่อป้องกันตัวยาสำคัญตกตะกอนออกมา ในการหลอมควรค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิจนสารหลอมละลาย และค่อยๆ ลดอุณหภูมิลงจนได้ยาขี้ผึ้งที่เย็นและแข็งตัว ในการหลอมไม่ควรใช้ความร้อนโดยตรง เพราะอาจทำให้สารไหม้ได้ง่าย ควรหลอมบน water bath

กรณียาพื้นขี้ผึ้งชนิดอิมัลชัน เตรียมโดยวิธี beaker method โดยการหลอมวัฏภาคน้ำมันและวัฏภาคน้ำ จากนั้นเทวัฏภาคที่เป็นวัฏภาคภายในลงในวัฏภาคภายนอก และคนต่อเนื่องจนกระทั่งแข็งตัว

Beeswax, paraffin, stearyl alcohol และ PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ควรใช้วิธีหลอมจึงจะได้ขี้ผึ้งที่มีเนื้อเนียน เป็นเนื้อเดียวกัน

ยาขี้ผึ้ง เป็นยาเตรียมกึ่งแข็งสำหรับใช้เฉพาะที่ ส่วนประกอบหลักเป็นสารกลุ่มไขมัน หรือน้ำมัน มีลักษณะเป็นวัฏภาคเดี่ยว อาจบรรจุตัวยา หรือมีเฉพาะยาพื้นขี้ผึ้ง สำหรับเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง เมื่อทาแล้วจะเป็นฟิล์มปกคลุมผิวหนัง เหมาะกับการทาบริเวณผิวหนังที่แห้งมากๆ หากส่วนประกอบในตำรับทนความร้อนได้ เตรียมโดยวิธีหลอม แต่หากส่วนประกอบในตำรับไม่ทนความร้อน หรือไม่คงตัวที่อุณหภูมิสูงอาจใช้วิธีการบดผสมกับยาขี้ผึ้ง

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับเส้นผม (อรัญญา, 2532)

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับเส้นผมประเภทเพื่อคงไว้ซึ่งสุขภาพของเส้นผมและหนังศีรษะ ได้แก่ hair tonics, hair restorers, hair lotions และ hair conditioners เป็นกลุ่มผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับเส้นผม ที่มีไว้เพื่อป้องกันและยับยั้งอาการผมร่วง อาการคันศีรษะ รักษาและ

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

แก้ไขโรคผิวหนังศีรษะบางชนิด ตลอดจนมีไว้เพื่อรักษาบำรุงเส้นผม ผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้แบ่งได้ 2 ประเภท คือประเภทที่มีตัวยาผสมอยู่ด้วย (medicated products) ได้แก่ hair tonics และ hair restorers โดยเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับเส้นผมที่ใช้ต่อสู้แก้ไขปัญหาเส้นผมและหนังศีรษะ เช่น ผมร่วง คันศีรษะ ผมมัน และโรคหนังศีรษะที่พบบ่อย คือรังแค (dandruff) อีกประเภทหนึ่ง คือ ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีตัวยา หรือเป็นตัวยาพื้นปริมาณเล็กน้อย และไม่มีอันตรายต่อร่างกาย ได้แก่ hair lotions และ hair conditioners ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผม และใส่ผมเพื่อให้ผมเข้ารูป หวีง่าย ไม่ยุ่งเหยิง ส่วนใหญ่อยู่ในลักษณะโลชันใส หรือเป็นครีมข้น hair conditioners ในที่นี้ต่างจาก rinse ในแชมพู เนื่องจากไม่ต้องสระออกหลังจากใช้แล้ว

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภท medicated hair tonics และ hair restorers จุดมุ่งหมายของการใช้ผลิตภัณฑ์เพื่อหยุดยั้งอาการผมร่วง แก้อาการคันศีรษะ และรักษาโรคผิวหนังศีรษะบางชนิด โดยทั่วไปลักษณะของผลิตภัณฑ์จะเป็น alcoholic lotions ส่วนประกอบหลักของผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ ได้แก่

1) สารอาหารที่จำเป็นในการสร้าง keratin เช่น ไวตามินหรืออะมิโนแอซิดที่ธาตุซัลเฟอร์อยู่ เช่น การใช้ magnesium cysteinate ร่วมกับ magnesium dehydrocholate และ magnesium salt ของ unsaturated fatty acid จะช่วยกระตุ้นการงอกของผม เล็บ และผิวหนัง นอกจากนี้ ไวตามินต่างๆ ได้แก่ ไวตามินเอ ไวตามินอี กลุ่มไวตามินบี (บี1 บี2 บี6 และ บี12) และไวตามินเอฟ ซึ่งประกอบด้วย unsaturated fatty acid, biotin และไวตามินแฟกเตอร์อื่นๆ เช่น p-amino-benzoic acid, pantothenic acid และแอลกอฮอล์ต่างๆ เช่น panthenol ซึ่งไวตามินนี้จะไปกระตุ้นการงอกของเซลล์

2) สารที่ช่วยควบคุมการทำงานของต่อมไขมันบนหนังศีรษะ เช่น ไปกระตุ้นการทำงานของต่อมไขมัน ได้แก่ ฮอร์โมนเพศหญิง เช่น diethylstilbestrol และไวตามินบางชนิด เช่น pantothenic acid หรือ d-phentothenol เป็นต้น

3) Rubifacients ซึ่งได้แก่ตัวยาที่ทำให้ผิวหนังร้อน ช่วยให้ระบบการหมุนเวียนโลหิตบนหนังศีรษะดีขึ้น มีผลต่อการงอกของเส้นผม โดยมากเป็นสารประกอบที่ได้จากธรรมชาติ เช่น cantharide tincture, capsicum tincture, cinchona tincture และ chloral hydrate เป็นต้น

4) ตัวยาที่ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antiseptics) ซึ่งควรเป็นตัวยาที่มีอำนาจหยุดยั้งได้ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา ควรจะไม่มีกลิ่นและละลายได้ดีใน alcoholic lotion ตัวอย่างยา เช่น vancide, hebitane และ trichlorocarbinilide นอกจากนี้ยังมี tar ซึ่งได้จากธรรมชาติจากปฏิกิริยา carbonization ของไม้บางชนิด เช่น pine tar oil, cade, cedar และ birch oil เป็นต้น

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

5) สารอื่นๆ ที่ช่วยในการ promote การงอกและการเจริญเติบโตของเส้นผม เช่น egg yolk, ginseng, snake serum, ferulic acid, cholic acids เป็นต้น

นอกจากนี้ในสูตรของผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ยังมี แอลกอฮอล์ น้ำ และน้ำหอม สำหรับหัวน้ำหอมที่ใช้ควรเป็นชนิด hypoallergenic และมีกลิ่นอ่อน นุ่มนวล และไม่ควรใช้กลิ่นหอมที่แรง ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับผมที่ไม่ตัวยา (non-medicated products) ผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ได้แก่ hair lotions และ hair conditioners

Hair lotions ไม่มีตัวยาสำหรับบำรุงเส้นผม หรือมีตัวยาพื้นในปริมาณน้อย ลักษณะของ hair lotions คือ fragrance lotions ที่ช่วยให้เส้นผมหอม และเย็นผิวหนังศีรษะ

Hair conditioners ซึ่งต่างจาก cream rinse ตรงที่ไม่ต้องล้างออก จุดประสงค์ของการใช้คือเพื่อให้เส้นผมดูมีชีวิตชีวา มีสปริง อ่อนนุ่ม เป็นประกาย และหวีเข้ารูปทรงง่าย นอกจากนี้ ยังใช้เพื่อแก้ปัญหาเส้นผมที่ถูกทำลายเนื่องจากการฟอกสีผม การใช้น้ำยาดัดผม การสระผมบ่อย การเป่าผมด้วยความร้อน การตากแดดเป็นเวลานาน หรือจากสาเหตุภายใน เช่น ผมแห้ง เปราะ และแตกง่าย หรือการขาดน้ำมันหล่อเลี้ยงเส้นผม เป็นต้น hair conditions จะมีคุณสมบัติไปดูดซับบนผิวของเส้นผม ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของผิวเส้นผม หรืออาจเปลี่ยนโครงร่าง (texture) ของเส้นผม

MAEJO UNIVERSITY
แม่โจ้ ๒๕๔๓
2833771823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 สารเคมี

2, 2' -azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS, Sigma-Aldrich, USA)

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma-Aldrich, USA)

6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, (Trolox, Sigma-Aldrich, USA)

Acetic acid (Sigma-Aldrich, USA)

Collagenase type I, *Clostidium histolyticum* (Calbiochem®, USA)

Ethanol (RCI Labscan Limited, Thailand)

Folin-Ciocalteu's reagent (BDH Prolabo Chemicals, France)

(-)-Epigallocatechin gallate (EGCG, Calbiochem®, USA)

Gallic acid (Sigma, Germany)

Kojic acid (Sigma, Germany)

L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine, Sigma-Aldrich, China)

Methanol (Sigma-Aldrich, USA)

N-[3-(2-Furyl)acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA, Sigma-Aldrich, Switzerland)

Nicotinamide adenine dinucleotide (NADH, Sigma-Aldrich, USA)

Nitro blue tetrazolium (NBT, Sigma-Aldrich, UK)

Phenazine methosulfate (PMS, Sigma-Aldrich, Ukraine)

Potassium persulfate (Sigma-Aldrich, USA)

Sodium carbonate (BDH Prolabo Chemicals, France)

Sodium hydroxide (Sigma-Aldrich, USA)

Sodium phosphate dibasic (Sigma-Aldrich, USA)

Sodium phosphate monobasic (Sigma-Aldrich, USA)

Tyrosinase from mushroom (Sigma-Aldrich, USA)

Cosmetic ingredient; Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, *Argania spinose* oil, Ascorbyl tetraisopalmitate, Butylene glycol, *Butyrospermum parkii* butter,

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

C30-45 alkyldimethylsilyl polypropylsilsesquioxane, Caprylhydroxamic Acid (and) 1,2-Hexanediol, *Cera alba* (bees wax), *Cinnamonum camphora*, *Cinnamonum zeylanicum* oil, Cyclopentasiloxane, Cyclopentasiloxane (and) Dimethicone Crosspolymer, Dipotassium glycyrrhizate, dl-Alpha tocopherol, Isopropyl myristate, Lanolin, Methyl salicylate, Niacinamide, Panthenol, Paraffin, Petrolatum, Phenyl trimethicone, Propylene glycol, Sodium Hyaluronate, Squalane, Tocopheryl acetate และ Triethylhexanoin (วันรัต (หน่ำเซียน) จำกัด, ประเทศไทย)

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

3.2 อุปกรณ์

เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Ohaus NV2101/2, USA)

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Sartorius BSA224S-CW, Germany)

Auto pipette P20, P200, P1000 (Biohit, USA and Drawell, China)

96-well plate (NUNC™, Denmark)

Centrifuge (Hettich Mikro 200R, Germany)

Colorimeter (Colar CF-18, China)

Gas chromatography (GC) system (Agilent Technologies 6890N, Germany) – Flame-ionization detector (FID) system (Agilent Technologies 6890, USA)

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) system (Agilent Technologies 1100 series, USA)

High speed homogenizer (Siripanya Trading Co., Ltd., Thailand)

Hot plate stirrer (Xylem D-82363, Germany)

Microplate reader (Biochrom EZ read 400, UK)

pH meter (SI Analytics®, Germany)

Spectrophotometer (Thermo Scientific™ Evolution 260 Bio, USA)

Spectrophotometer (Trulab UV-51, India)

Spectrofluorophotometer (Shimadzu RF-1501, Japan)

Viscometer (DV-1 Qingtian, China)

Vortex mixer (LMS model VTX-3000L, Japan)

3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (virgin coconut oil; VCO) ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทอำพลฟูดส์ โพรเซสซิง จำกัด โดยมีวิธีการเตรียมโดยสรุปดังนี้ วิธีสกัด VCO ตามวิธีการของ Wong และ Hartina (2014) นำน้ำกะทิ 1 กิโลกรัม นำมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman's เบอร์ 4 จากนั้นนำส่วนที่กรองได้แช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาตั้งที่อุณหภูมิห้องเพื่อละลายน้ำแข็ง ต่อมานำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแยกตะกอน ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ที่ได้เก็บไว้ในขวดที่มีฝาปิด แล้วเก็บที่อุณหภูมิห้อง ปริมาณร้อยละของผลผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์เท่ากับ 8.8

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ VCO โดยเตรียมเป็นอนุพันธ์เมธิลเอสเทอร์ (methyl ester) ด้วยเครื่อง Gas Chromatography (Agilent technologies 6890N, Germany) ที่มี Flame Ionization Detector (FID) (Agilent technologies 6890, USA) เพื่อหาสัดส่วนปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิด สภาวะในการทดลองดังนี้ ใช้แคปิลารี่คอลัมน์ที่มีความยาว 100 เมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร และความหนาของฟิล์มเคลือบ 0.20 ไมโครเมตร สภาวะอุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้นที่ 140 องศาเซลเซียส และคงที่ที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส และคงที่ที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 นาที ซึ่งสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์จะมีอัตราการไหลของก๊าซฮีเลียม ก๊าซไฮโดรเจน และอากาศ เท่ากับ 1.10 40.00 และ 450.00 มิลลิเมตร ต่อนาที ตามลำดับ และมีค่า split ratio เท่ากับ 100:1 (Association of analytical communities, 2009)

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดใน VCO

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดใน VCO ด้วยวิธีการของ Hammerschmidt และ Pratt (1978) (Hammerschmidt and Pratt, 1978) ดังนี้ ผสมสารตัวอย่าง 0.20 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร และสารละลาย 7.50% โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 0.80 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Trulab UV-51 series, India) โดยใช้สารมาตรฐานคือ กรดแกลลิก (gallic acid) คำนวณค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก รายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg Gallic acid equivalent, GAE/g extract)

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

3.5 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ VCO

3.5.1) การทดสอบฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS)

ในการทดสอบฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระ $ABTS^{+\bullet}$ radical cation (2,2'-azino-bis 3-ethylbenz -thia zoline-6-sulfonic acid) ดัดแปลงจากวิธีการของ Re และคณะ (1999) (Re et al., 1999) โดยมีสารมาตรฐานคือ โทรลอกซ์ (trolox) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอี โดยเตรียมสาร ABTS 1.00 มิลลิลิตร กับสารละลายตัวอย่าง 0.10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที นำสารละลายที่ผสมวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Trulab UV-51 series, India) คำนวณค่าร้อยละการขจัดอนุมูลอิสระ ABTS ของสารตัวอย่างจากสมการ

ร้อยละของการขจัดอนุมูลอิสระ ABTS = $100 \times [(A_{ควบคุม} - A_{ตัวอย่าง})/A_{ควบคุม}]$

เมื่อ $A_{ควบคุม}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม และ $A_{ตัวอย่าง}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของหลอดตัวอย่าง

เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารทดสอบกับความเข้มข้นของโทรลอกซ์ที่แสดงฤทธิ์เท่ากัน (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC) รายงานผลเป็นมิลลิโมลาร์สมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด (mM TEAC/g extract)

3.5.2) การทดสอบฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH)

วิเคราะห์ฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ของ VCO ตามวิธีการของ Hou และคณะ (Hou et al., 2001) โดยเตรียมสารตัวอย่างปริมาตร 0.30 มิลลิลิตร ละลายใน 1.00 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl buffer (pH 7.9) ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติม 0.20 มิลลิโมลาร์ DPPH ที่ละลายในเมทานอลปริมาตร 0.60 มิลลิลิตร บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Trulab UV-51 series, India) ใช้สารมาตรฐานคือ กรดแกลลิก คำนวณค่าร้อยละของความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH จากสมการ

ร้อยละของการขจัดอนุมูลอิสระ DPPH = $100 \times [(A_{ควบคุม} - A_{ตัวอย่าง})/A_{ควบคุม}]$

เมื่อ $A_{ควบคุม}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม และ $A_{ตัวอย่าง}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของหลอดตัวอย่าง

เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่แสดงฤทธิ์เท่ากัน (Gallic Acid Equivalent, GAE) รายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/g extract)

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
28337 1823

3.5.3) การทดสอบฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์

การทดสอบฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ ตามวิธีการของ Nishikimi และคณะ (Nishikimi et al., 1972) โดยมีสารมาตรฐานคือ กรดแกลลิก โดยเตรียมสาร nitroblue tetrazolium (NBT) nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) และ phenazine methosulphate (PMS) ละลายใน 0.10 โมลาร์ phosphate buffer (pH 7.4) ผสม 156 ไมโครโมลาร์ NBT ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ด้วย 468 ไมโครโมลาร์ NADH ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร และสารละลายตัวอย่าง 0.10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นเติม 60 ไมโครโมลาร์ PMS ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที นำสารละลายที่ผสมวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโมเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Thermo Scientific Evolution 260 Bio, USA) คำนวณค่าร้อยละของความสามารถในการขจัดอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์จากสมการ

ร้อยละของการขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ = $100 \times [(A_{ควบคุม} - A_{ตัวอย่าง})/A_{ควบคุม}]$

เมื่อ $A_{ควบคุม}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม และ $A_{ตัวอย่าง}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของหลอดตัวอย่าง

เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่แสดงฤทธิ์เท่ากัน (GAE) รายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/g extract)

3.6 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส

วิธีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส ตามวิธีการของ Van Wart และ Steinbrink (Van Wart and Steinbrink, 1981) โดยผสมสารตัวอย่างปริมาตร 10 ไมโครลิตร ด้วย 50 มิลลิโมลาร์ Tricine buffer (pH 7.5) และสารละลาย 125 ยูนิต/มิลลิลิตร *Clostridium histolyticum* คอลลาจีเนส (type IA) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และสารละลาย N-[3-(2-furyl) acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) ปริมาตร 190 ไมโครลิตร นำสารละลายที่ผสมวัดค่าดูดกลืนแสงทันที และต่อเนื่องอีก 5 นาที ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตรมิเตอร์ ใช้สารมาตรฐานคือ Epigallocatechin gallate (EGCG)

3.7 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส

ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส ดัดแปลงจากวิธีการของ Pomerantz (1963) (Pomerantz, 1963) โดยผสมสารตัวอย่าง 25 ไมโครลิตร กับ 0.5 มิลลิโมลาร์ L-DOPA ปริมาตร 25

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

ไมโครลิตร 10 มิลลิโมลลาร์ l-tyrosine ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และ 50 มิลลิโมลาร์ (pH 6.8) phosphate buffer ปริมาตร 875 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที หลังจากนั้นเติมเอนไซม์ไทโรสิเนส 1,600 ยูนิต/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำสารละลายที่ผสมวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร ใช้กรดโคจิก (kojic acid) เป็นสารมาตรฐาน คำนวณค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของสารตัวอย่างจากสมการ

ร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส = $100 \times [(A_{ควบคุม} - A_{ตัวอย่าง})/A_{ควบคุม}]$

เมื่อ $A_{ควบคุม}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม และ $A_{ตัวอย่าง}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของหลอดตัวอย่าง

3.8 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส

โดยการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส (matrix metalloproteinase; MMP) ตามวิธีการของ Panyathep (2012) (Panyathep et al., 2012) โดยใช้ชุดการทดสอบ (Enzi Life Sciences AK016) ละลาย VCO ใน DMSO ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร และใช้ N-Isobutyl-N-(4-methoxyphenyl-sulfonyl) glycly hydroxamic acid (NNGH) เป็นสารควบคุม นำส่วนผสมที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30-60 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าเอนไซม์ MMP ด้วยแสงฟลูออเรสเซ้นต์ (fluorescence signal) ที่ Ex/Em 328/420 นาโนเมตร ใช้สารมาตรฐานคือ Epigallocatechin gallate (EGCG) คำนวณค่าเอนไซม์ MMP จากสมการ

ค่าเอนไซม์ MMP = (ค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง / ค่าดูดกลืนแสงของ MMP ควบคุม)

3.9 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฟว์อัลฟารีดักเทส

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฟว์อัลฟารีดักเทส (5-α reductase) ตามวิธีการของ Kumar และคณะ (2011) ผสมสารตัวอย่าง 0.20 มิลลิลิตร และ 0.02 มิลลิโมลาร์ phosphate buffer (pH 6.5) 1.00 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 500 ppm เทสโทสเตอร์โรนที่ละลายใน 50% เอทานอล ปริมาตร 0.30 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์ 5-α reductase 1.00 มิลลิลิตร และเติม 0.77 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร NADPH ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมไดคลอโรมีเทน 5.00 มิลลิลิตร และเติมสารมาตรฐาน 100 ppm โพรพิลพาราเบน 0.50 มิลลิลิตร เพื่อให้เป็นสารมาตรฐานภายในระบบ เขย่าสารละลาย

2833771823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

ทั้งหมดเป็นเวลา 1 นาที แยกชั้นของไดคลอโรมีเทน นำไประเหยให้แห้ง ก่อนนำไปวิเคราะห์ผลด้วย High Performance Liquid Chromatography (Agilent Technologies 1100 series, USA) ใช้คอลัมน์ Shodex C18-4E (250 มิลลิเมตร X 4.60 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร) เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย เมทานอลและน้ำ (65:35) ที่อัตราการไหล 1.00 มิลลิลิตร/นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 242 นาโนเมตร ใช้สารมาตรฐาน คือ ฟินแนสเทอไรด์ (finasteride) และแสดงค่าเป็น Finasteride equivalent 5 α-reductase inhibition activity (FEA) หน่วยเป็นมิลลิกรัมเทียบเท่าฟีแนสเทอไรด์ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ 5α-reductase เทียบเท่าฤทธิ์ของสารสกัด 1 กรัม (mg FEA/g extract)

3.10 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า ผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผมและผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด ที่มี VCO เป็นส่วนผสม

3.10.1) การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า

ตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้าในรูปแบบครีม โดยมีตำรับ ดังตารางที่ 5 แบ่งส่วนประกอบของตำรับออกเป็นวัฏภาคน้ำ (water phase) และวัฏภาคน้ำมัน (oil phase) เตรียมส่วนวัฏภาคน้ำ (part A) ได้แก่ niacinamide, dipotassium glycyrrhizate, carbopol ultez 21, butylene glycol, propylene glycol, sodium hyaluronate, panthenol, spectrastate BHL และน้ำ เตรียมส่วนวัฏภาคน้ำมัน (part B) ประกอบด้วย VCO, rose hip oil, jojoba oil, squalane, tocopheryl acetate, α-tocopherol, DC 556, novemer EC-2 และสารแต่งกลิ่น จากนั้นเทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมัน ผสมให้เข้ากันด้วย homogenizer ความเร็ว 2,000-2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

ตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้าที่ได้ นำไปประเมินความหนืด ด้วยเครื่อง Viscometer (Qingtian DV-I, China) ใช้เข็มเบอร์ 6 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ค่าสี ในระบบ CIE L* a* b* ด้วยเครื่อง Colorimeter (Colar CF-18, China) และวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง ด้วยเครื่อง pH meter (SI Analytics®, Germany)

2833771823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

ตาราง 5 ส่วนผสมที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวหน้า

Phase	Ingredients	INCI Name	% w/w	
			FF1	FF2
Water Phase (Part A)	Niacinamide	Niacinamide	2.00	2.00
	Dipotassium glycyrrhizate	Dipotassium glycyrrhizate	0.10	0.10
	Carbopol ultez 21	Acrylates/ C10-30 alkyl acrylate crosspolymer	0.28	0.43
	Butylene glycol	Butylene glycol	1.00	1.00
	Propylene glycol	Propylene glycol	0.50	0.50
	Sodium Hyaluronate	Sodium hyaluronate	0.06	0.06
	Panthenol	Panthenol	1.00	1.00
	Spectrastat BHL	Caprylhydroxamic acid (and) 1,2-hexanediol (and) butylene glycol	1.80	1.80
	Distilled water	Aqua	67.06	63.66
Oil Phase (Part B)	Virgin coconut oil	*Cocos nucifera* oil	7.00	8.25
	Rose hip oil	*Rosa canina* seed oil	1.40	1.65
	Jojoba oil	*Simmondsia chinensis* seed oil	2.80	3.30
	Squalane	Squalane	2.80	3.30
	Trifat S-308	Triethylhexanoin	4.20	4.95
	Tocopheryl acetate	Tocopheryl acetate	2.00	2.00
	dl-Alpha tocopherol	dl-Alpha tocopherol	0.50	0.50
	VC-IP	Ascorbyl tetraisopalmitate	1.00	1.00
	DC 556	Phenyl trimethicone	1.00	1.00
	DC 9045	Cyclopentasiloxane (and) dimethicone crosspolymer	1.00	1.00
	Novemer EC-2	Sodium acrylates/beheneth-25 methacrylate crosspolymer (and) hydrogenated polydecene (and) lauryl glucoside	2.00	2.00

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

Fragrance oil	Fragrance	0.50	0.50

3.10.2) การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผม

ตำรับผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผมในรูปแบบน้ำมัน โดยมีตำรับ ดังตารางที่ 6 เตรียมส่วนประกอบทั้งหมด ได้แก่ VCO, argan oil, isopropyl myristate, tocopheryl acetate, α-tocopherol, DC 245, DC 556, เอทานอล เมนทอล และสารแต่งกลิ่น จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วย homogenizer ความเร็ว 500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ตำรับผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผมที่ได้ นำไปวิเคราะห์ค่าสี ในระบบ CIE L* a* b* ด้วยเครื่อง Colorimeter (Colar CF-18, China)

ตาราง 6 ส่วนผสมที่ใช้ในผลิตภัณฑ์น้ำมันลดการหลุดร่วงของเส้นผม

Ingredients	INCI Name	% w/w	
		HF1	HF2
Virgin coconut oil	*Cocos nucifera* oil	30.0	30.0
Argan oil	*Argania spinose* oil	5.0	5.0
Isopropyl myristate	Isopropyl myristate	19.0	14.0
Tocopheryl acetate	Tocopheryl acetate	1.0	1.0
dl-Alpha tocopherol	dl-Alpha tocopherol	0.5	0.5
DC 245	Cyclopentasiloxane	35.0	40.0
DC 556	Phenyl trimethicone	5.0	5.0
Alcohol	Ethanol	2.0	2.0
Menthol	Menthol	0.5	0.5
Fragrance oil	Fragrance	2.0	2.0

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

3.10.3) การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด

ตำรับผลิตภัณฑ์บรรเทาปวดรูปแบบขี้ผึ้งชนิดเป็นมัน (oleaginous ointment) ดังตาราง 7 เตรียมส่วนประกอบ part A ได้แก่ VCO, hard paraffin wax, beeswax, soft paraffin, shea butter, DC sw-8005 และ wool fat จากนั้นให้ความร้อนอุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส นำส่วนประกอบ part B ได้แก่ rosemary oil, cinnamon oil, เมทิลซาลิไซเลต และการบูร ผสมลงใน part A และผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

ตาราง 7 ส่วนผสมที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งบรรเทาปวด

Part	Ingredients	INCI Name	% w/w	
			PF1	PF2
A	Virgin coconut oil	*Cocos nucifera* oil	10.0	10.0
	Hard paraffin wax	Paraffin	14.0	10.0
	Purified beeswax	*Cera alba* (bees wax)	14.0	10.0
	Soft paraffin	Petrolatum	34.0	42.0
	Shea butter	*Butyrospermum parkii* butter	10.0	10.0
	DC SW-8005	C30-45 alkyldimethylsilyl polypropylsilsesquioxane	2.0	2.0
	Wool fat	Lanolin	1.0	1.0
B	Menthol	Menthol	3.9	3.9
	Methyl salicylate	Methyl salicylate	3.3	3.3
	Camphor	*Cinnamonum camphora*	4.8	4.8
	Cinnamon oil	*Cinnamonum zeylanicum* oil	0.3	0.3
	Rosemary oil	*Rosmarinus officinalis* leaf oil	2.7	2.7

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833771823

3.11 การประเมินความคงสภาพของผลิตภัณฑ์

การประเมินความคงสภาพของตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า และตำรับผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผมนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (Censi et al., 2018) จากนั้นประเมินความคงสภาพโดยสภาวะเร่งผลิตภัณฑ์ถูกบรรจุในขวดแก้วฝาเกลียว ตั้งตำรับทั้งหมดไว้ที่สภาวะต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 45 วัน และอุณหภูมิร้อนสลับเย็น (heating-cooling cycle) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 5 รอบ (Naveed et al., 2011) หลังจากนั้นประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น ความเป็นกรด-ด่าง ความหนืด การแยกชั้น และความรู้สึกเวลาใช้

3.12 การทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง

อาสาสมัครจำนวน 10 คน ได้รับการทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง โดยใช้วิธี close patch test โดยทาสารที่ต้องการทดสอบบนผ้าก๊อซ ขนาด 1 x 1 ตารางเซนติเมตร นำไปปิดผิวหนังบริเวณต้นแขนด้านนอก แล้วปิดทับด้วยเทปปิดแผล ชนิดไม่ก่อให้เกิดการแพ้ ทิ้งไว้นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้แกะแผ่นทดสอบออก แล้วบันทึกผลการระคายเคืองหลังจากแกะแผ่นพลาสเตอร์ออก เป็นเวลา 1, 24 และ 48 ชั่วโมง (Harnish et al., 1999) โดยสารที่ทดสอบได้แก่ น้ำกลั่น ครีมบำรุงผิวหน้า น้ำมันลดการหลุดร่วงของเส้นผม และขี้ผึ้งบรรเทาปวด การประเมินดูความแพ้โดยการให้คะแนน ดังนี้

0 = ไม่เห็นปฏิกิริยาใดๆ
1 = ผื่นแดงเล็กน้อย
2 = ผื่นแดงมาก
3 = ผื่นแดงมากและบวม
4 = ผื่นแดงมาก บวม มีแผลพุพอง

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

3.13 การประเมินความพึงพอใจ

การประเมินความพึงพอใจ ใช้แบบสอบถาม 5-Likert scale โดยมีระดับคะแนนความพึงพอใจจากต่ำมาก (1) ไปสูงมาก (5) คำนวณคะแนนความพึงพอใจโดยแบ่งออกเป็น 5 ระดับ ได้แก่ สูงมาก (คะแนน 4.50-5.00) สูง (คะแนน 3.50-4.49) ปานกลาง (คะแนน 2.50-3.49) ต่ำ (คะแนน 1.50-2.49) และต่ำมาก (คะแนน 1.00-1.49)

3.12.1) การประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า

นำผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้าทดสอบกับอาสาสมัคร เพศชายและเพศหญิง อายุระหว่าง 20-60 ปี จำนวน 20 คน โดยให้อาสาสมัครใช้ทาบนผิวหน้า 2 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์

เกณฑ์การรับอาสาสมัคร (inclusion criteria)

- มีสุขภาพผิวหน้าที่ปกติ ไม่เป็นโรคเกี่ยวกับผิวหนัง รวมถึงไม่มีแผลบนผิวหน้า
- ไม่ได้รับยารักษาอาการแพ้ทางผิวหนัง
- ยอมรับเงื่อนไขการเป็นอาสาสมัคร และเป็นอาสาสมัครด้วยความสมัครใจ

เกณฑ์การแยกอาสาสมัครออก (exclusion criteria)

- อาสาสมัครที่ไม่สามารถรับเงื่อนไขของการทดสอบได้
- อาสาสมัครที่ทดสอบผลิตภัณฑ์อื่นอยู่

เกณฑ์การให้เลิกจากการศึกษา (discontinuation criteria)

- อาสาสมัครมีอาการแพ้ เนื่องจากการใช้ผลิตภัณฑ์
- อาสาสมัครต้องการออกจากการทดสอบ ไม่ว่าเหตุผลใดๆ
- อาสาสมัครไม่ปฏิบัติตามขั้นตอนของการทดสอบ

3.12.2) การประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผม

นำผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผมทดสอบกับอาสาสมัคร เพศชายและเพศหญิง อายุระหว่าง 20-60 ปี จำนวน 20 คน โดยให้อาสาสมัครใช้พ่นลงบนหนังศีรษะและเส้นผมวันละครั้ง เป็นเวลา 2 สัปดาห์

เกณฑ์การรับอาสาสมัคร (inclusion criteria)

- มีสุขภาพเส้นผมและหนังศีรษะที่ปกติ ไม่เป็นโรคเกี่ยวกับผิวหนังและไม่มีแผลบริเวณหนังศีรษะ และไม่มีอาการผมร่วง
- ไม่ได้รับยารักษาอาการที่เกี่ยวข้องกับเส้นผมและหนังศีรษะ
- ยอมรับเงื่อนไขการเป็นอาสาสมัคร และเป็นอาสาสมัครด้วยความสมัครใจ

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

เกณฑ์การแยกอาสาสมัครออก (exclusion criteria)

- อาสาสมัครที่ไม่สามารถรับเงื่อนไขของการทดสอบได้
- อาสาสมัครที่ทดสอบผลิตภัณฑ์อื่นอยู่

เกณฑ์การให้เลิกจากการศึกษา (discontinuation criteria)

- อาสาสมัครมีอาการแพ้ เนื่องจากการใช้ผลิตภัณฑ์
- อาสาสมัครต้องการออกจากการทดสอบ ไม่ว่าเหตุผลใดๆ
- อาสาสมัครไม่ปฏิบัติตามขั้นตอนของการทดสอบ

3.12.3) การประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด

นำผลิตภัณฑ์บรรเทาปวดทดสอบกับอาสาสมัคร เพศชายและเพศหญิง อายุระหว่าง 20-60 ปี จำนวน 20 คน โดยให้อาสาสมัครใช้ทาบริเวณใต้ท้องแขน 1 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์

เกณฑ์การรับอาสาสมัคร (inclusion criteria)

- ไม่มีปัญหาเกี่ยวกับโรคผิวหนัง
- ไม่ได้รับยารักษาอาการแพ้ทางผิวหนัง
- ยอมรับเงื่อนไขการเป็นอาสาสมัคร และเป็นอาสาสมัครด้วยความสมัครใจ

เกณฑ์การแยกอาสาสมัครออก (exclusion criteria)

- อาสาสมัครที่ไม่สามารถรับเงื่อนไขของการทดสอบได้
- อาสาสมัครที่ทดสอบผลิตภัณฑ์อื่นอยู่

เกณฑ์การให้เลิกจากการศึกษา (discontinuation criteria)

- อาสาสมัครมีอาการแพ้ เนื่องจากการใช้ผลิตภัณฑ์
- อาสาสมัครต้องการออกจากการทดสอบ ไม่ว่าเหตุผลใดๆ
- อาสาสมัครไม่ปฏิบัติตามขั้นตอนของการทดสอบ

3.14 สถานที่ดำเนินงาน

1) ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

2) ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

3) ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางการเกษตรสำหรับบัณฑิตผู้ประกอบการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

3.15 ระยะเวลาในการวิจัย : 24 เดือน

กิจกรรม	ระยะเวลา					
	เดือนที่ 1-3	เดือนที่ 4-7	เดือนที่ 8-12	เดือนที่ 13-15	เดือนที่ 16-19	เดือนที่ 20-24
1.เตรียมน้ำมันมะพร้าวเพื่อการวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี	↔	↔				
2.การศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของน้ำมันมะพร้าว		↔	↔			
3.การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า บำรุงเส้นผม และบรรเทาปวด			↔	↔		
4.การศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์				↔		
5.การทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง				↔	↔	
6.การทดสอบความพึงพอใจและการยอมรับหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค					↔	↔
7.เผยแพร่ผลงานทางวิชาการและตีพิมพ์					↔	↔
8.รายงานฉบับสมบูรณ์และเขียนเล่มดุษฎีนิพนธ์					↔	↔

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833771823

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการทดลอง

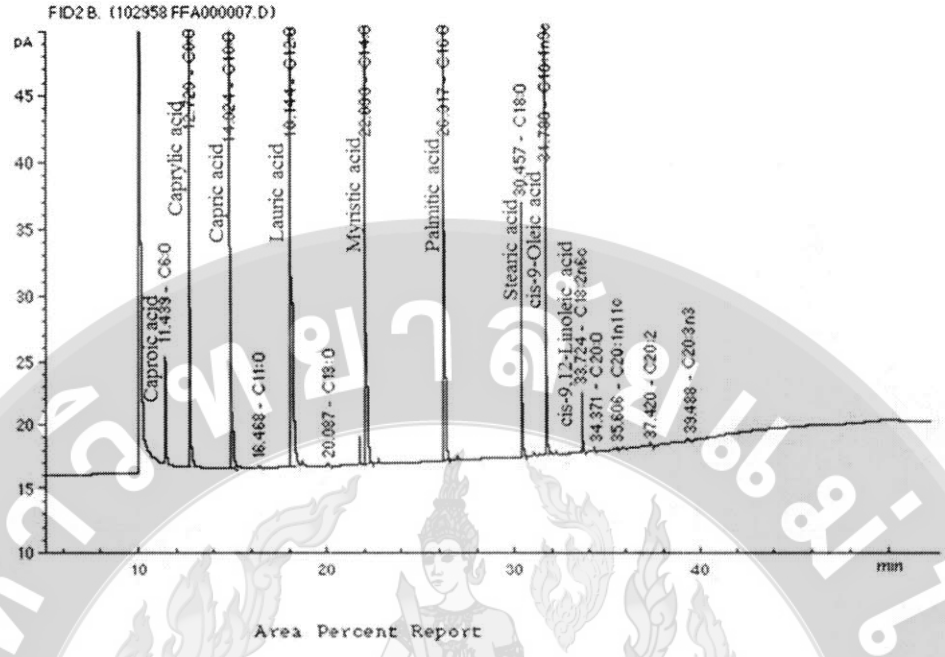
4.1 การวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

จากการศึกษาพบว่า VCO มีร้อยละสัดส่วนของกรดไขมันสายกลาง (medium chain fatty acids; MCFAs) ในปริมาณสูง ดังแสดงในภาพ 7 โดยมีองค์ประกอบได้แก่ กรดลอริก (lauric acid) ร้อยละ 51.88 กรดคาพริลิก (caprylic acid) ร้อยละ 9.43 กรดคาพริก (capric acid) ร้อยละ 7.15 และกรดคาโพรอิก (caproic acid) ร้อยละ 0.76 นอกจากนั้น ยังมีกรดไมริสติก (myristic acid) ร้อยละ 17.50 กรดปาล์มิติก (palmitic acid) ร้อยละ 6.82 และกรดสเตียริก (stearic acid) ร้อยละ 2.18 องค์ประกอบกรดไขมันใน VCO แสดงในตาราง 8 VCO มีกรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมดร้อยละ 95.72 ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมดร้อยละ 4.28 ซึ่งประกอบด้วยโอเมกา 3 (omega 3) ร้อยละ 0.02 โอเมกา 6 (omega 6) ร้อยละ 0.58 และโอเมกา 9 (omega 9) ร้อยละ 3.68

ร้อยละกรดไขมันที่พบใน VCO มีปริมาณกรดไขมันต่างๆ อยู่ในเกณฑ์ตามมาตรฐานของสมาคมมะพร้าวแห่งเอเชียและแปซิฟิก (The Asian and Pacific Coconut Community; APCC) ซึ่งมีร้อยละกรดไขมันหลัก ได้แก่ กรดลอริก ช่วง 43.00-53.00 กรดคาพริลิก ช่วง 5.00-10.00 กรดคาพริก ช่วง 4.50-8.00 และกรดคาโพรอิก ช่วง 0.40-0.60 (Asian and Pacific Coconut Community, 2010)

กรดไขมันอิ่มตัว ได้แก่ กรดลอริก และกรดคาพริก มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และต้านอักเสบที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* (Huang et al., 2014; Nakatsuji et al., 2009; Yang et al., 2009) โดยกรดคาพริกสามารถลดการบวมของหูหนูถีบจักรที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการบวมด้วยเชื้อ *P. acnes* และลดการผลิตสารอินเตอร์ลิวคิน 6 (Interleukin-6) และอินเตอร์ลิวคิน 8 (Interleukin-8) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเซลล์ซีโบไซต์ SZ95 (SZ95 sebocytes) ที่ถูกกระตุ้นด้วยเชื้อ *P. acnes* (Huang et al., 2014)

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823



ภาพ 7 โครมาโทแกรมของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (VCO)

ตาราง 8 องค์ประกอบกรดไขมันของ VCO

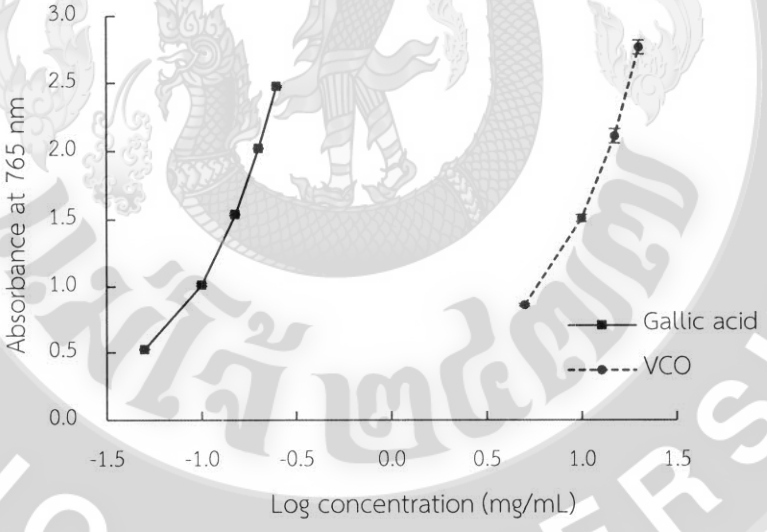
Fatty Acid Composition	Percentage
Caproic acid (C6:0)	0.76
Caprylic acid (C8:0)	9.43
Capric acid (C10:0)	7.15
Lauric acid (C12:0)	51.88
Myristic acid (C14:0)	17.50
Palmitic acid (C16:0)	6.82
Stearic acid (C18:0)	2.18
cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid (C20:3n3)	0.02
cis-9,12-Linoleic acid (C18:2n6)	0.58
cis-9-Oleic acid (C18:1n9C)	3.68

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

การศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของ VCO พบว่า มีสารประกอบฟีนอลิกมีค่ามิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิคต่อกรัมของสารตัวอย่าง (GAE) เท่ากับ 14.79 ± 0.19 แสดงใน ภาพ 8

สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารทุติยภูมิที่พบทั่วไปในพืช และมีรายงานการวิจัยจำนวนมาก พบว่าเป็นสารสำคัญที่มีฤทธิ์ชีวภาพในการต้านการเกิดออกซิเดชัน และต้านการอักเสบได้ มีผลการศึกษาของ Annuar (2012) และ Akademia Baru และคณะ (2015) (Akademia Baru et al., 2015; Annuar, 2012) พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของ VCO ที่สกัดด้วยวิธีปั่นเหวี่ยงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 4.34 ± 0.09 mg GAE/ 100 กรัม VCO และ 16.02 ± 0.44 mg GAE/ 100 กรัม VCO ตามลำดับ ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้มีปริมาณ 14.79 ± 0.19 mg GAE/ 1 กรัม VCO (ภาพ 8) ซึ่งสูงกว่ารายงานดังกล่าว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวัตถุดิบมะพร้าว วิธีการสกัด ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด และวิธีวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน



ภาพ 8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดใน VCO และสารมาตรฐานกรดแกลลิก

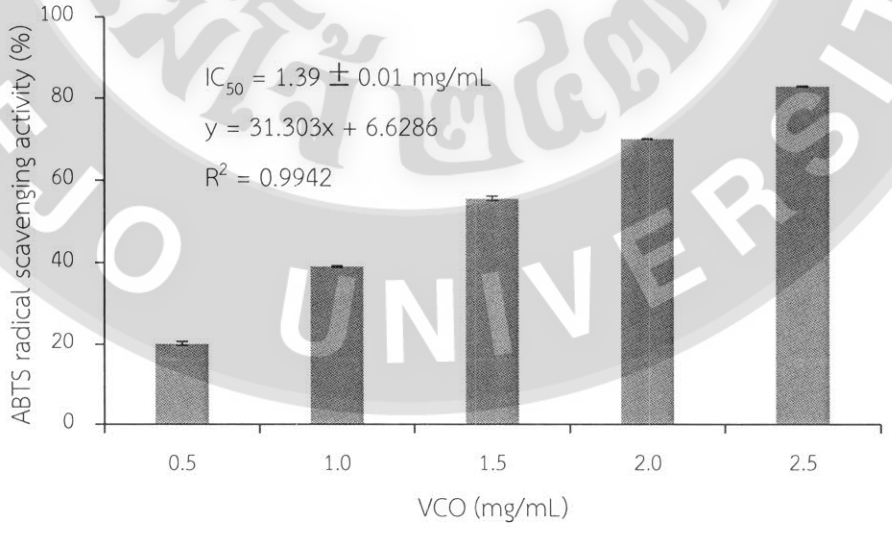
MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

4.3 การศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

4.3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเอบีทีเอส

ค่าร้อยละของการขจัดอนุมูลอิสระเอบีทีเอสของ VCO แสดงในภาพ 9 ค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (inhibition concentration at 50%; IC_{50}) พบว่า ฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระเอบีทีเอสของ VCO มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.39 ± 0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และทรอลอกซ์เท่ากับ 0.03 ± 0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ภาพ 9 แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ขจัดอนุมูลเอบีทีเอสของ VCO นั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้น เมื่อความเข้มข้นของ VCO สูงขึ้นจะทำให้ฤทธิ์ขจัดอนุมูลเอบีทีเอสสูงขึ้น VCO มีค่ามิลลิกรัมสมมูลทรอลอกซ์ต่อกรัมของสารตัวอย่าง 1 กรัม (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; TEAC) เท่ากับ 0.72 ± 0.01 มิลลิโมลาร์

การศึกษาฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระเอบีทีเอสถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย ในการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบ เนื่องจากมีวิธีการทดสอบที่ง่าย รวดเร็ว มีความไว และสามารถทำซ้ำได้ (MacDonald-Wicks et al., 2006) ฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระเอบีเอสของสารทดสอบถูกนำไปเทียบกับสารมาตรฐานทรอลอกซ์เป็นค่า TEAC พบว่าสารตัวอย่างยิ่งมีค่า TEAC สูง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระก็ยิ่งสูง การทดสอบนี้ยังเป็นวิธีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เหมาะสมของสารหลายชนิด เช่น สารต้านอนุมูลอิสระที่ให้อะตอมไฮโดรเจน หรืออิเล็กตรอน (สารต้านอนุมูลอิสระวัฏภาคน้ำ) และสารต้านอนุมูลอิสระที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (สารต้านอนุมูลอิสระวัฏภาคน้ำมัน (Pavithra and Vadivukkarasi, 2015)



ภาพ 9 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเอบีทีเอสของ VCO

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

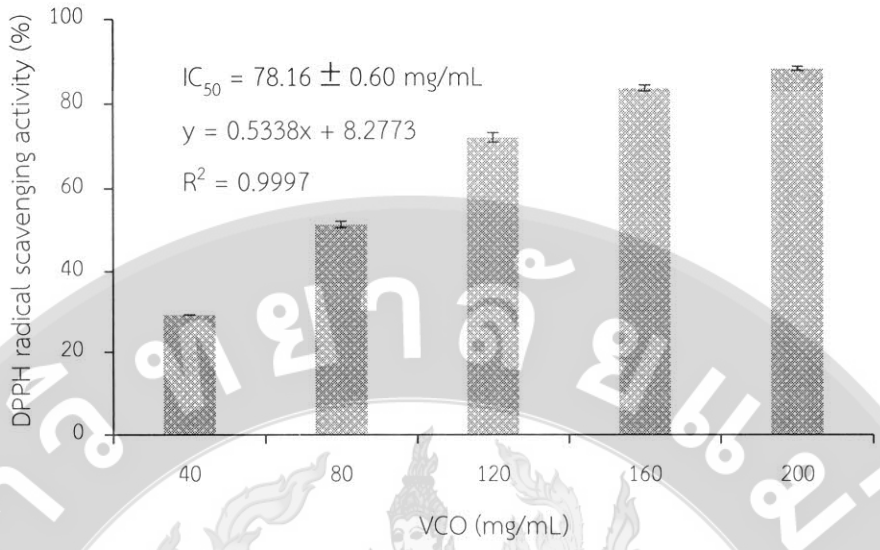
4.3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช

ภาพ 10 แสดงฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของ VCO จากการศึกษาพบว่า ฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของ VCO และกรดแกลลิค มีค่า IC_{50} เท่ากับ 78.16 ± 0.60 และ 0.04 ± 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และ VCO มีค่า GAE เท่ากับ 0.56 ± 0.01 มิลลิกรัม

การศึกษาฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชเป็นอีกหนึ่งวิธีการที่นิยมใช้มากที่สุด เนื่องจากสามารถทดสอบสารตัวอย่างได้ในช่วงระยะเวลาสั้นๆ และใช้ความเข้มข้นของสารตัวอย่างต่ำ (Piao et al., 2004) อนุมูลอิสระดีพีพีเอชเป็นอนุมูลอิสระที่มีอะตอมไนโตรเจนอยู่ตรงกลาง เมื่ออนุมูลอิสระดีพีพีเอชได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระ สีของสารจะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง การลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระดีพีพีเอชนั้น เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระขจัดอนุมูลอิสระโดยการให้อะตอมไฮโดรเจน (Kumar et al., 2010) การทดสอบฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระเอบีทีเอสนั้น มีพื้นฐานมาจากการสร้างอนุมูลเอบีทีเอสที่มีสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งสามารถละลายได้ทั้งในตัวทำละลายน้ำและอินทรีย์ จึงทำให้สามารถทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติละลายได้ทั้งในน้ำและไขมัน อย่างไรก็ตามวิธีการทดสอบฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชนั้น อนุมูลอิสระสามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ (เมทานอล หรือเอทานอล) เท่านั้น จึงเหมาะสมกับการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (Floegel et al., 2011)

จากรายงานของ Marina และคณะ (2009) (Marina et al., 2009a) พบว่าฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของ VCO ที่ได้จากการสกัดแยกน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ด้วยการหมัก (fermentation method) และการใช้ความร้อนสลับความเย็น (heating-cooling method) มีค่า IC_{50} ในช่วง 1.24-3.23 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ในการขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชที่สูงกว่าในการศึกษาครั้งนี้ ที่ใช้วิธีการสกัดแบบปั่นเหวี่ยง (centrifugation method) และใช้ระยะเวลาสกัดสั้นกว่า

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833771823



ภาพ 10 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของ VCO

4.3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์

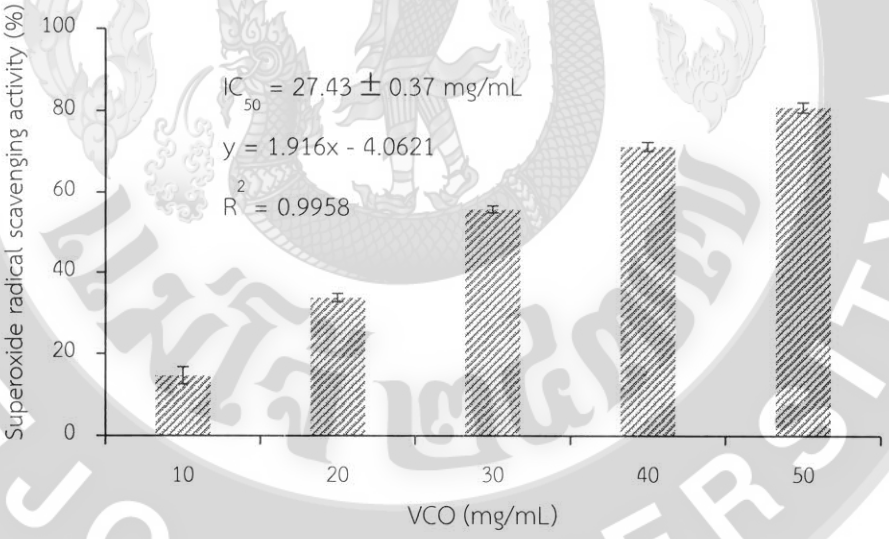
ฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ของ VCO แสดงใน ภาพ 11 จากการศึกษาพบว่า ฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ของ VCO และกรดแกลลิค มีค่า IC_{50} เท่ากับ 27.43 ± 0.37 และ 0.99 ± 0.02 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และ VCO มีค่า GAE เท่ากับ 36.32 ± 0.75 มิลลิกรัม

อนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์เป็นอนุมูลอิสระเริ่มต้น ที่เกิดจากระบบการขนส่งอิเล็กตรอนของไมโตคอนเดรีย ซึ่งไมโตคอนเดรียผลิตพลังงานโดยใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่สี่อิเล็กตรอนเพื่อนำออกซิเจนลงสู่น้ำ อิเล็กตรอนบางตัวหลุดออกจากห่วงโซ่ไมโตคอนเดรีย ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ ถึงแม้ว่าอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์จะเป็นอนุมูลอิสระที่มีความแรงในการทำปฏิกิริยาต่ำ แต่สามารถสร้างอนุมูลสร้างอนุมูลอิสระชนิดอื่นที่มีความแรงในการทำปฏิกิริยาสูง ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อนุมูลไฮดรอกซิล หรือซิงเกลตออกซิเจน (singlet oxygen) เป็นต้น (Lee et al., 2004) ซึ่งสามารถทำให้เกิดความเสียหายแก่ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ (Pietta, 2000) อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ในร่างกายจะถูกเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) ส่วนการทดสอบฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ในหลอดทดลอง อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์จะเปลี่ยนสีเหลืองเป็นสีน้ำเงินเข้ม ซึ่งวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร การลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารต้านอนุมูลอิสระแสดงถึงการขจัดอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ในการทำปฏิกิริยา (Saha and Paul, 2014)

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

อนุมูลอิสระมีผลต่อเซลล์และสารชีวโมเลกุลในร่างกาย ทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อในร่างกาย ทำให้เกิดการสลายตัวของคอลลาเจนใต้ผิวหนัง เกิดการสร้างเม็ดสีเมลานินเพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลกับผิวหนังเกิดเป็นความแก่ของผิวหนัง (skin aging) นอกจากนั้นยังทำให้เซลล์รูขุมขนเสื่อมสภาพ ทำให้เกิดการหลุดร่วงของเส้นผม และความเสียหายของเนื้อเยื่อยังทำให้เกิดกระบวนการอักเสบ ซึ่งเป็นกลไกการป้องกันสิ่งแปลกปลอมที่เกิดกับเซลล์หรือเนื้อเยื่อของร่างกายที่ได้รับบาดเจ็บ เพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมเหล่านั้นออกจากร่างกาย ส่งเสริมเซลล์และเนื้อเยื่อให้เกิดการซ่อมแซม การอักเสบที่เกิดจากความเครียดออกซิเดชันเป็นสาเหตุของโรคเรื้อรังหลายชนิด รวมถึงข้อเสื่อม และข้ออักเสบรูมาตอยด์ (Biswas et al., 2017)

จากผลการศึกษาฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี (ตาราง 9) สามารถสรุปได้ว่า VCO แสดงคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งกลไกอาจเป็นการให้อะตอมไฮโดรเจน อิเล็กตรอน หรือการกำจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์



ภาพ 11 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ของ VCO

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
28333718 23

ตาราง 9 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเอบีทีเอช ดีพีพีเอช และซุปเปอร์ออกไซด์ของ VCO

Sample	ABTS assay		DPPH assay		Superoxide assay	
	mM TEAC /g sample	IC_{50} (mg/mL)	mg GAE /g sample	IC_{50} (mg/mL)	mg GAE /g sample	IC_{50} (mg/mL)
VCO	0.72 ± 0.01	1.39 ± 0.01	0.56 ± 0.01	78.16 ± 0.60	36.32 ± 0.75	27.43 ± 0.37
Trolox	–	0.03 ± 0.01	–	–	–	–
Gallic acid	–	–	–	0.04 ± 0.19	–	0.99 ± 0.02

Data expressed as mean ± standard deviation of triplicate measurements.

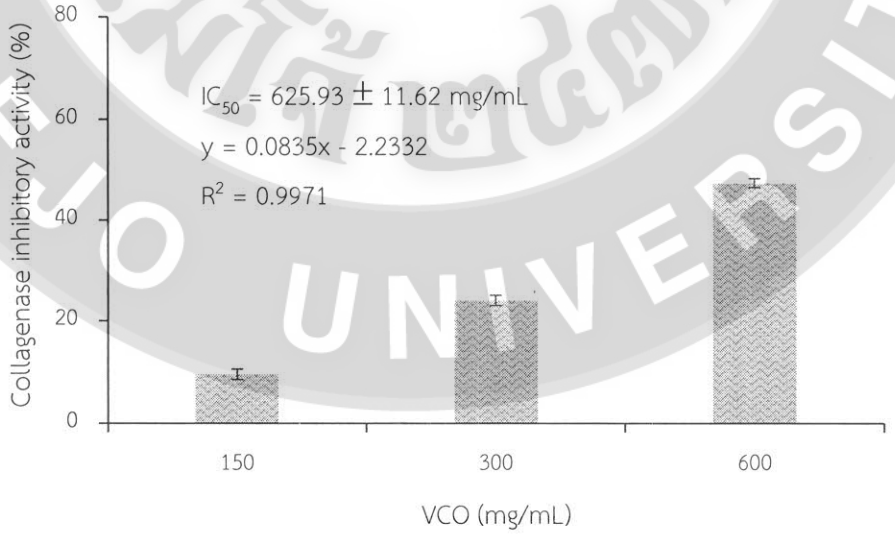
TEAC expressed as mM trolox per gram of VCO.

GAE expressed as mg gallic acid per gram of VCO.

4.3.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส

VCO สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอลลาจีเนส แสดงใน ภาพ 12 พบว่า สารมาตรฐาน EGCG ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เท่ากับ 65.48 ± 2.70% ส่วน VCO ที่ความเข้มข้น 150, 300 และ 600 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เท่ากับ 9.51 ± 1.03%, 23.99 ± 1.02% และ 47.47 ± 0.89% ตามลำดับ นอกจากนั้นค่า IC_{50} ของ VCO และ EGCG เท่ากับ 625.93 ± 11.62 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 0.015 ± 0.004 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

คอลลาเจนเป็นโปรตีนโครงสร้างหลักในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissues) และเป็นชนิดโปรตีนเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix; ECM) ที่พบมากที่สุดในร่างกายมนุษย์ (Masuda et al., 2012) คอลลาเจนมีลักษณะเป็นเส้นใยเมื่ออยู่ในรูปของคอลลาเจนไฟเบอร์ (collagen fibers) มีหน้าที่ให้ความแข็งแรงและยืดหยุ่นกับอวัยวะ ทำให้เซลล์ต่างๆ คงรูปร่างได้ และช่วยยึดเกาะเซลล์ผิวหนังให้แน่นกระชับ เอนไซม์คอลลาจีเนสทำหน้าที่สามารถย่อยสลายโมเลกุล เช่น aggrecan, elastin, fibronectin, gelatin, laminin และคอลลาเจน (Raffetto and Khalil, 2008) โดยเฉพาะคอลลาเจนในชั้นหนังแท้ของผิวหนัง (Watt and Fujiwara, 2011) ดังนั้นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอลลาจีเนส อาจมีประโยชน์ในการคงความแข็งแรงของผิวหนัง โดยการป้องกันการเสื่อมสภาพของคอลลาเจน และการเกิดริ้วรอยก่อนวัย



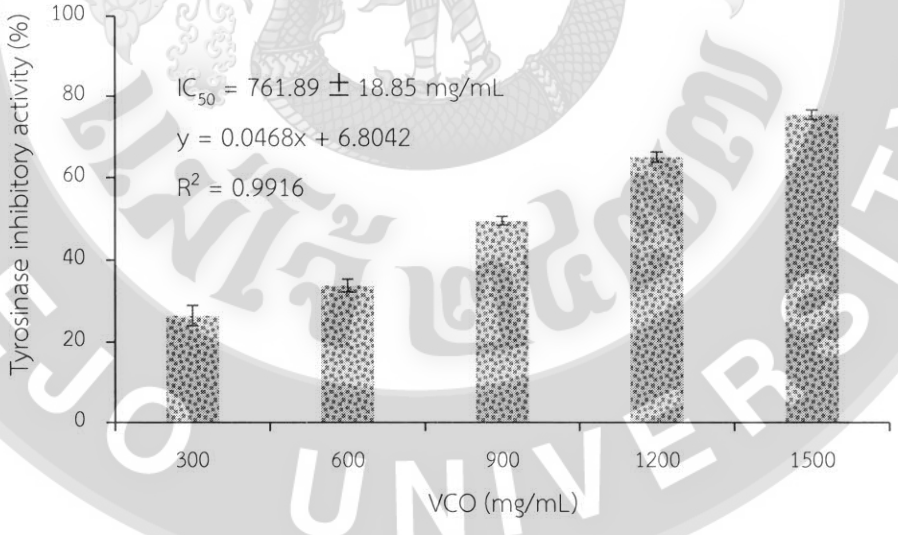
ภาพ 12 ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสของ VCO

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

4.3.5 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส

เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนการควบคุมการผลิตเมลานิน ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงมีแนวโน้มที่จะทำให้ผิวขาวขึ้น เนื่องจากการสังเคราะห์เมลานินลดลง ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของ VCO แสดงในภาพ 13 ค่า IC_{50} ของ VCO และกรดโคจิกพบว่ามีค่าเท่ากับ 761.89 ± 18.85 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 0.39 ± 0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

การเกิดรอยดำทำให้เกิดริ้วรอยบนผิวหนังของมนุษย์ และเกิดขึ้นจากปัจจัยทั้งภายในและภายนอกรวมถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมน การสัมผัสกับรังสียูวี ยา และสารเคมีต่างๆ (Costin and Hearing, 2007) การสังเคราะห์เมลานินเกิดขึ้นภายในเซลล์เมลาโนไซท์ (melanocytes) เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์หลักที่ควบคุมการสังเคราะห์เมลานิน ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เมลานินทั้งสองขั้นตอน ทั้งไฮดรอกซิเลชันของ L-tyrosine เป็น β-3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) และการออกซิเดชันของ L-DOPA เป็น DOPAquinone และเปลี่ยนเป็นเมลานินต่อไป (Costin and Hearing, 2007) ในการศึกษาเกี่ยวกับการทำให้ผิวกระจ่างใส สารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นวิธีการที่พบมากที่สุดในการลดกระบวนการสร้างเม็ดสี (Wang et al., 2011)

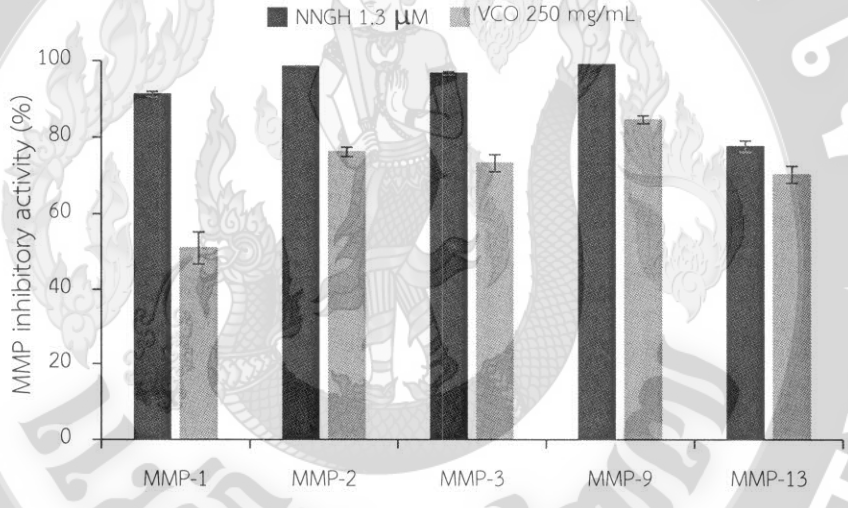


ภาพ 13 ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสของ VCO

283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

4.3.6 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส 5 ชนิด ได้แก่ MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 และ MMP-13 ผลการยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนสของ VCO แสดงในภาพ 14 ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่า น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีความสามารถในการยับยั้งกลุ่มเอนไซม์ MMP ได้หลากหลายชนิด โดยมีค่าการยับยั้งในช่วง 50-85% ซึ่งน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีฤทธิ์การยับยั้ง MMP-9 สูงที่สุด เท่ากับ 84.53 ± 1.00 % โดยระดับ MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 และ MMP-13 ใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ที่แสดงถึง กระบวนการย่อยสลายโปรตีนเมทริกซ์นอกเซลล์ และกระบวนการอักเสบของร่างกาย



ภาพ 14 ในการยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนสของ VCO

เอนไซม์ MMPs มีความสัมพันธ์กับกระบวนการอักเสบ โดยเป็นตัวควบคุมกระบวนการอักเสบ การแสดงออกของเอนไซม์ MMPs ที่เพิ่มขึ้น จะถูกพบได้ในกระบวนการอักเสบส่วนใหญ่ที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย ซึ่งเอนไซม์ MMPs ทำหน้าที่ควบคุมกลไกการป้องกันตนเอง (barrier function) ไซโทไคน์ที่กระตุ้นการอักเสบ (inflammatory cytokine) และกิจกรรมของคีโมไคน์ (chemokine activity) (Fingleton, 2017; Nissinen and Kahari, 2014) ฤทธิ์ต้านเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนสของ VCO นั้น อาจมาจากความสามารถการไปจับกับ Zn^{2+} ไอออนที่ช่วยในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส ส่งผลให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติ สอดคล้องกับการศึกษาของ (Huang et al., 2011) ระบุว่ากรดเอลลาจิก (ellagic acid) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก สามารถยับยั้งเอนไซม์ MMP-2 เนื่องจากความสามารถในการจับกับ

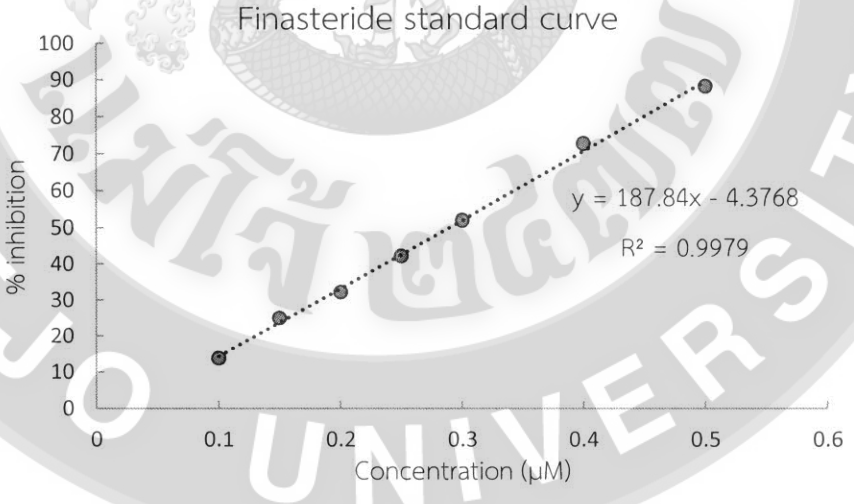
MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

Zn^{2+} ไอออน นอกจากนี้การศึกษาของ Calabriso et al. (2016) (Calabriso et al., 2016) รายงานว่าสารกลุ่มฟีนอลิกได้แก่ ทรานส์เรสเวอราทรอล (trans-resveratrol) ทรานส์พีซิด (trans-piceid) แคมเฟอรอล (kaempferol) และเควอเซติน (quercetin) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ MMP-2 และ MMP-9 ดังนั้นสารประกอบฟีนอลิกที่พบในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์จึงน่าจะเป็นสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

4.3.7 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ 5α-reductase

จากการทดลองในครั้งนี้ใช้ฟิแนสเทอไรด์ เป็นสารมาตรฐาน เนื่องจากมีฤทธิ์ที่แรงในการยับยั้งเอนไซม์ 5α-reductase พบว่า ในช่วงความเข้มข้น 0.1-0.5 ไมโครโมลาร์ สามารถยับยั้งเอนไซม์ได้ในลักษณะแปรผันตรงกับความเข้มข้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นจากช่วงความเข้มข้นนี้ ความแรงในการยับยั้งเอนไซม์จะไม่เพิ่มมากนัก จึงสร้างสมการมาตรฐานของฟิแนสเทอไรด์ในการยับยั้งเอนไซม์ 5α-reductase ได้ดังภาพ 15 เพื่อนำไปคำนวณความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ของสารสกัดทดสอบ

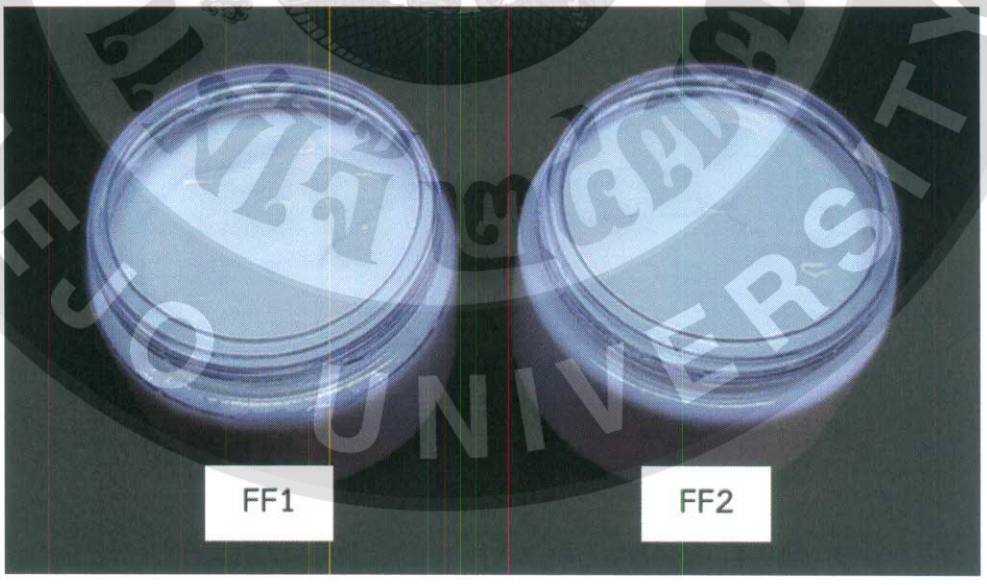


ภาพ 15 กราฟมาตรฐานของการยับยั้งเอนไซม์ 5α-reductase ของสารมาตรฐานฟิแนสเทอไรด์กับความเข้มข้นในหน่วยไมโครโมลาร์ ในช่วงความเข้มข้น 0.1-0.5 ไมโครโมลาร์

ตาราง 11 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของตำรับครีมบำรุงผิวหน้า VCO

Parameters	FF1	FF2
Color		
L^*	62.35 ± 0.04	62.58 ± 0.11
a^*	1.32 ± 0.10	0.75 ± 0.10
b^*	6.35 ± 0.04	5.81 ± 0.10
pH	8.13 ± 0.06	8.45 ± 0.13
Viscosity (Pa.s)	21.96 ± 0.13	94.42 ± 0.23
Centrifugation test	none	none

หมายเหตุ ประเมินความหนืด ด้วยเครื่อง Viscometer ใช้เข็มเบอร์ 6 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



ภาพ 16 ผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวหน้าที่มีส่วนผสมของ VCO 2 ตำรับ

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า VCO แสดงคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส ดังนั้น VCO เป็นน้ำมันที่สามารถนำมาทดแทนการนำเข้าน้ำมันจากต่างประเทศ และนำมาใช้ประโยชน์เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เวชสำอางชะลอวัยได้ดี

4.4.2 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผม

จากการพัฒนาตำรับน้ำมันลดการหลุดร่วงของเส้นผมที่มี VCO เป็นส่วนผสม ตาราง 12 แสดงผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ สี กลิ่น และการตกตะกอน พบว่า ตำรับที่ได้ทั้ง 2 ตำรับ คือ HF1 และ HF2 มีสีของผลิตภัณฑ์เป็นสีเหลืองใส ดังภาพ 17 มีกลิ่นหอมอ่อนๆ ของน้ำหอม เมื่อทาบนเส้นผมสามารถกระจายตัวได้ดี ซึมเข้าสู่หนังศีรษะเร็ว ไม่เหนอะหนะ และไม่มีการแยกชั้นหรือตกตะกอน เมื่อปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

ตาราง 12 ลักษณะทางกายภาพของตำรับน้ำมันบำรุงเส้นผมผสม VCO

Parameters	HF1	HF2
Color		
L^*	92.42 ± 0.42^a	92.14 ± 0.27^a
a^*	0.69 ± 0.12^a	0.79 ± 0.08^a
b^*	12.31 ± 0.11^a	12.26 ± 0.13^a

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
28337 1823

ภาพ 17 ผลิตภัณฑ์น้ำมันลดการหลุดร่วงของเส้นผมที่มีส่วนผสมของ VCO 2 ตำรับ

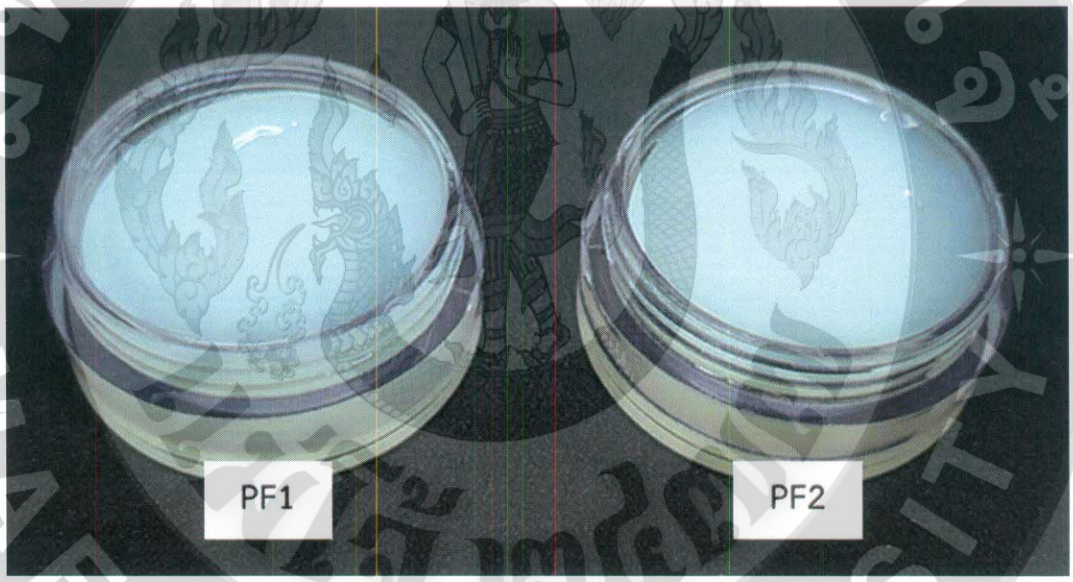
4.4.3 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด

ผลของการพัฒนาตำรับขี้ผึ้งบรรเทาปวดที่มี VCO เป็นส่วนผสม ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ สี กลิ่น เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ และการกระจายตัว ดังแสดงในตาราง 13 พบว่าตำรับที่ได้ทั้ง 2 ตำรับ คือ PF1 และ PF2 มีสีของเนื้อขี้ผึ้งเป็นสีขาว มีกลิ่นหอมสมุนไพรอ่อนๆ เนื้อของขี้ผึ้งมีความแข็ง เมื่อทาแล้วสามารถกระจายตัวได้ดี ไม่เป็นก้อน และไม่มีการแยกชั้น ดังภาพ 18

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

ตาราง 13 ลักษณะทางกายภาพของตำรับขี้ผึ้งบรรเทาปวด VCO

Parameters	PF1	PF2
Color		
L^*	24.19 ± 0.07[a]	29.06 ± 0.06[a]
a^*	-1.25 ± 0.10[a]	-2.33 ± 0.10[a]
b^*	-0.87 ± 0.11[a]	-1.87 ± 0.11[a]
Texture	hard	hard



ภาพ 18 ผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งที่มีส่วนผสมของ VCO 2 ตำรับ

4.5 การประเมินความคงสภาพของผลิตภัณฑ์

4.5.1 การประเมินความคงสภาพของตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า

ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 45 วันในสภาวะต่างๆ พบว่า ความคงตัวของตำรับเครื่องสำอาง ได้แก่ สี กลิ่น และความหนืด เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการยอมรับของตำรับ จากการศึกษาความคงตัวของครีม พบว่าค่าความหนืดและสีของครีมทั้ง 2 ตำรับ ในทุกสภาวะที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส, 45 องศาเซลเซียส และร้อนสลับเย็น ไม่มีความแตกต่างอย่างมี

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

นัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น ค่าความเป็นกรด-ด่างทุกสภาวะของทั้ง 2 ตำรับ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 14

ตาราง 14 การทดสอบความคงสภาพของตำรับครีมบำรุงผิวหน้า VCO หลังจาก 45 วัน และร้อนสลับเย็น 5 รอบ

Conditions		Color			pH	Viscosity (Pa.s)
		L*	a*	b*		
FF1	Initial	62.35 ± 0.04	1.32 ± 0.10	6.35 ± 0.04	8.13 ± 0.06	21.96 ± 0.13
	RT	62.09 ± 0.54	1.37 ± 0.08	6.46 ± 0.15	8.11 ± 0.02	21.91 ± 0.23
	4 °C	62.28 ± 1.03	1.48 ± 0.16	6.35 ± 0.04	8.12 ± 0.02	21.77 ± 0.09
	45 °C	61.67 ± 0.83	1.43 ± 0.21	6.36 ± 0.08	8.11 ± 0.04	21.97 ± 0.24
	H/C	61.31 ± 0.80	1.53 ± 0.25	6.37 ± 0.05	8.12 ± 0.06	22.20 ± 0.17
FF2	Initial	62.58 ± 0.11	0.75 ± 0.10	5.81 ± 0.10	8.45 ± 0.13	94.42 ± 0.23
	RT	62.46 ± 0.45	0.89 ± 0.09	5.80 ± 0.14	8.44 ± 0.11	94.17 ± 0.64
	4 °C	62.69 ± 0.95	0.83 ± 0.11	5.85 ± 0.12	8.42 ± 0.19	94.53 ± 0.19
	45 °C	61.97 ± 0.51	0.80 ± 0.08	5.86 ± 0.08	8.38 ± 0.14	94.74 ± 0.13
	H/C	62.06 ± 0.91	0.79 ± 0.17	5.74 ± 0.11	8.40 ± 0.21	94.71 ± 0.10

Data expressed as mean ± standard deviation of triplicate measurements. $p > 0.05$.
RT: room temperature, H/C: heating/cooling conditions.

หมายเหตุ ประเมินความหนืด ด้วยเครื่อง Viscometer ใช้เข็มเบอร์ 6 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

4.5.2 การประเมินความคงสภาพของตำรับผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผม

ผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผมเมื่อนำมาทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์โดยการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 45 วัน และร้อนสลับเย็น พบว่า ทั้ง 2 ตำรับมี สี กลิ่น และความเป็นเนื้อเดียวกันยังคงสภาพเดิม และผลิตภัณฑ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงหลังการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่ง (ร้อนสลับเย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 5 รอบ) สรุปความคงสภาพในตาราง 15

ตาราง 15 การทดสอบความคงสภาพของตำรับน้ำมันลดการหลุดร่วงของเส้นผม VCO หลังจาก 45 วัน และร้อนสลับเย็น 5 รอบ

Conditions		Color			Precipitation
		L*	a*	b*	
HF1	Initial	92.42 ± 0.42	0.69 ± 0.12	12.31 ± 0.11	none
	RT	92.41 ± 0.28	0.74 ± 0.08	12.32 ± 0.12	none
	4 °C	92.29 ± 0.27	0.69 ± 0.13	12.30 ± 0.12	none
	45 °C	92.34 ± 0.20	0.71 ± 0.10	12.35 ± 0.17	none
	H/C	92.34 ± 0.17	0.72 ± 0.09	12.34 ± 0.17	none
HF2	Initial	92.14 ± 0.27	0.79 ± 0.08	12.26 ± 0.13	none
	RT	92.24 ± 0.21	0.82 ± 0.08	12.31 ± 0.16	none
	4 °C	92.19 ± 0.28	0.79 ± 0.09	12.30 ± 0.23	none
	45 °C	92.09 ± 0.34	0.85 ± 0.11	12.33 ± 0.26	none
	H/C	92.11 ± 0.28	0.79 ± 0.09	12.24 ± 0.12	none

Data expressed as mean ± standard deviation of triplicate measurements. $p > 0.05$.
RT: room temperature, H/C: heating/cooling conditions.

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
28333771823

4.5.3 การประเมินความคงสภาพของตำรับผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด

ผลิตภัณฑ์บรรเทาปวดทั้ง 2 ตำรับ เมื่อนำมาทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์โดยการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่า สีและกลิ่นของขี้ผึ้งยังคงสภาพเดิม และขี้ผึ้งไม่มีการเปลี่ยนแปลงหลังการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่ง (ร้อนสลับเย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 5 รอบ) ดังแสดงใน ตาราง 16

ตาราง 16 การทดสอบความคงสภาพของตำรับขี้ผึ้งบรรเทาปวด VCO หลังจาก 45 วัน และร้อนสลับเย็น 5 รอบ

Conditions		Color			Odor
		L*	a*	b*	
PF1	Initial	24.19 ± 0.07	-1.25 ± 0.10	-0.87 ± 0.11	characteristic aroma
	RT	24.26 ± 0.08	-1.25 ± 0.15	-0.81 ± 0.07	characteristic aroma
	4 °C	27.27 ± 0.15	-1.33 ± 0.13	-0.85 ± 0.08	characteristic aroma
	45 °C	24.27 ± 0.14	-1.35 ± 0.12	-0.75 ± 0.09	characteristic aroma
	H/C	24.21 ± 0.15	-1.21 ± 0.10	-0.74 ± 0.08	characteristic aroma
PF2	Initial	29.06 ± 0.06	-2.33 ± 0.10	-1.87 ± 0.11	characteristic aroma
	RT	29.13 ± 0.20	-2.38 ± 0.09	-1.86 ± 0.11	characteristic aroma
	4 °C	29.15 ± 0.11	-2.35 ± 0.06	-1.89 ± 0.09	characteristic aroma
	45 °C	29.16 ± 0.10	-2.36 ± 0.12	-1.85 ± 0.13	characteristic aroma
	H/C	29.12 ± 0.09	-2.37 ± 0.09	-1.87 ± 0.09	characteristic aroma

Data expressed as mean ± standard deviation of triplicate measurements. $p > 0.05$

RT: room temperature, H/C: heating/cooling conditions.

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

4.6 การทดสอบความระคายเคืองผิวหนัง

ผลการทดสอบความระคายเคืองของผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า ผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผม และผลิตภัณฑ์บรรเทาปวดต่อผิวหนัง ของอาสาสมัครจำนวน 10 คน ต่อผลิตภัณฑ์ พบว่า ไม่เกิดการระคายเคือง บวม และผื่นแดงบนผิวหนังของอาสาสมัคร หลังทดสอบผลิตภัณฑ์ทั้งสามชนิด ดังนั้นทุกตำรับของผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสม VCO ทั้งสามชนิด มีความปลอดภัย สามารถนำไปทดสอบในอาสาสมัครต่อไปได้

4.7 การประเมินความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร

4.7.1 การประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า

ในการประเมินครีมบำรุงผิวหน้า VCO อาสาสมัคร 20 คน ตอบแบบสอบถาม เพื่อประเมินความพึงพอใจต่อครีมหลังการใช้ ความพึงพอใจของครีมนั้นพิจารณาจาก สี (color) กลิ่น (odor) และความนุ่มของเนื้อครีม (softness of cream) การกระจายบนผิวหนังขณะใช้ (spreadability) ความสามารถในการซึมผ่านผิวหนัง (skin penetration) ปริมาณน้ำมันที่เหลืออยู่บนผิว (oil on the skin) ความรู้สึกเหนอะของผิวหลังใช้ (greasiness of the skin) และความพึงพอใจโดยรวมของครีม (overall satisfaction) ความพึงพอใจของอาสาสมัครขึ้นอยู่กับระดับความชอบ 5 ระดับ ซึ่งค่าคะแนนแสดงถึง ความรู้สึกของอาสาสมัครเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์จาก ดีมาก (5) ถึงต่ำมาก (1) จากการศึกษาพบว่า ความพึงพอใจของอาสาสมัครต่อครีม VCO นั้น สูงถึงสูงมาก โดยมีความรู้สึกต่อการตอบสนองระหว่าง ดีและดีมาก สำหรับแบบสอบถามทุกข้อ ดังแสดงในตาราง 17

ตาราง 17 ความพึงพอใจของอาสาสมัครในผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวหน้าตำรับ FF1 และ FF2

Parameters	FF1	FF2
Color	4.90 ± 0.31	4.90 ± 0.31
Odor	4.65 ± 0.67	4.55 ± 0.83
Softness of cream	4.30 ± 0.57	4.10 ± 0.55
Spreadability	4.35 ± 0.59	4.10 ± 0.64
Skin penetration	4.40 ± 0.50	4.05 ± 0.69
Oil on the skin	3.95 ± 0.60	3.80 ± 0.70
Greasiness of the skin	4.00 ± 0.73	3.85 ± 0.75
Overall satisfaction	4.35 ± 0.49	4.10 ± 0.72

2833571823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

อาสาสมัครมีความพึงพอใจสูงมากกับสีและกลิ่นของครีมทั้ง 2 ตำรับ โดยสีของ FF1 และ FF2 มีคะแนน 4.90 ± 0.31 และ 4.90 ± 0.31 ตามลำดับ คะแนนกลิ่นของ FF1 เท่ากับ 4.65 ± 0.67 และ FF2 เท่ากับ 4.55 ± 0.83 ในแง่ของความรู้สึกระหว่างการใช้งานอาสาสมัครมีความพึงพอใจสูงต่อความนุ่มของครีม FF1 และ FF2 เท่ากับ 4.30 ± 0.50 และ 4.30 ± 0.57 ตามลำดับ ส่วนการกระจายบนผิวหนัง และความสามารถในการซึมผ่านผิวหนัง ได้รับความพึงพอใจระดับสูงทั้ง 2 ตำรับ ปริมาณน้ำมันที่เหลืออยู่บนผิวของ FF1 เท่ากับ 3.95 ± 0.60 และ FF2 เท่ากับ 3.80 ± 0.70 นอกจากนี้อาสาสมัครพึงพอใจสูงต่อ FF1 ในแง่ความรู้สึกเหนอะของผิว เท่ากับ 4.00 ± 0.73 ส่วน FF2 เท่ากับ 3.85 ± 0.75

อาสาสมัครพึงพอใจสูงที่สุดกับสีของครีมทั้ง 2 ตำรับ เท่ากับ 4.90 ± 0.31 ในขณะที่อาสาสมัครพึงพอใจน้อยที่สุดกับปริมาณน้ำมันที่เหลืออยู่บนผิวหนัง FF1 เท่ากับ 3.95 ± 0.60 และ FF2 เท่ากับ 3.80 ± 0.70 นอกจากนั้นความพึงพอใจโดยรวมต่อ FF1 เท่ากับ 4.35 ± 0.49 และ FF2 เท่ากับ 4.10 ± 0.72 จากผลการศึกษาแสดงว่า อาสาสมัครมีความพึงพอใจต่อครีมทั้ง 2 ตำรับสูง โดยอาสาสมัครมีความพึงใจในตำรับ FF1 สูงกว่า FF2 นอกจากนี้อาสาสมัครไม่มีอาการแพ้ หรือระคายเคือง ในช่วงระยะเวลาการทดสอบ 2 สัปดาห์ ดังนั้นตำรับ FF1 จึงเป็นตำรับที่เหมาะแก่การนำไปต่อยอดเชิงพาณิชย์ และเมื่อศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ FF1 ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส พบว่า ตำรับ FF1 ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนสได้เท่ากับ ร้อยละ 75.51

4.7.2 การประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผม

ตาราง 18 ความพึงพอใจของอาสาสมัครในผลิตภัณฑ์น้ำมันลดการหลุดร่วงของเส้นผมตำรับ HF1 และ HF2

Parameters	HF1	HF2
Color	4.70 ± 0.47	4.70 ± 0.47
Odor	4.40 ± 0.75	4.20 ± 1.15
Appearance	4.60 ± 0.50	4.45 ± 0.70
Skin penetration	3.80 ± 0.62	4.10 ± 0.85
Oil on the hair	3.25 ± 0.72	3.80 ± 0.95
Greasiness of the hair	3.65 ± 0.75	4.20 ± 0.62
Softness of the hair	3.75 ± 0.79	4.50 ± 0.89
Overall satisfaction	4.05 ± 0.51	4.50 ± 0.69

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

4.8 การออกแบบบรรจุภัณฑ์

ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์เวชสำอางและเวชภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของ VCO ทั้ง 3 ผลิตภัณฑ์ ที่ได้รับความพึงพอใจในอาสาสมัคร ถูกนำมาออกแบบฉลากและบรรจุภัณฑ์ให้เหมาะสม เพื่อให้สะดวกต่อการใช้งาน ดังภาพ 19 โดยผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้าใช้บรรจุภัณฑ์เป็นขวดกดสุญญากาศ (A) ผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผมใช้ผลิตภัณฑ์เป็นขวดสเปรย์ (B) ที่สามารถกระจายผลิตภัณฑ์ลงบนหนังศีรษะและเส้นผมได้เป็นอย่างดี และผลิตภัณฑ์บรรเทาปวดใช้บรรจุภัณฑ์แบบแท่งหมุน (C) ทำให้ง่ายต่อการทาบริเวณที่ต้องการ ผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 ชนิด มีรูปแบบบรรจุภัณฑ์พร้อมจำหน่ายดังภาพ 20

ภาพ 19 รูปแบบของบรรจุภัณฑ์ (A) ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า (B) ผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผม และ (C) ผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

ภาพ 20 การออกแบบบรรจุภัณฑ์พร้อมจำหน่าย

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่า น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีร้อยละสัดส่วนของกรดไขมันสายกลาง (medium chain fatty acids; MCFAs) ในปริมาณสูง โดยมีองค์ประกอบได้แก่ กรดลอริก (lauric acid) กรดคาพริลิก (caprylic acid) กรดคาพริก (capric acid) และกรดคาโพรอิก (caproic acid) น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีกรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมดร้อยละ 95.72 ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมดร้อยละ 4.28 ซึ่งประกอบด้วยโอเมก้า 3 (omega 3) ร้อยละ 0.02 โอเมก้า 6 (omega 6) ร้อยละ 0.58 และโอเมก้า 9 (omega 9) ร้อยละ 3.68 จากผลการศึกษาฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี ABTS, DPPH, superoxide สามารถสรุปได้ว่า VCO แสดงคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งกลไกอาจเป็นการให้อะตอมไฮโดรเจน อิเล็กตรอน หรือการกำจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ นอกจากนั้นยังมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสที่ย่อยสลายคอลลาเจน และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในการป้องกันการสร้างเมลานิน ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไฟว์อัลฟารีดักเทสในการป้องกันการหลุดร่วงของเส้นผม ส่วนฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส ที่ช่วยลดการอักเสบและป้องกันการเสื่อมของข้อ พบว่า VCO มีฤทธิ์การยับยั้ง MMP-9 สูงที่สุด ฤทธิ์ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส เอนไซม์ไทโรซิเนส เอนไซม์ไฟว์อัลฟารีดักเทสเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส ส่วนหนึ่งอาจมาจากสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ จากฤทธิ์ชีวภาพดังกล่าวจึงนำ VCO ไปพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า ผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผม และผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด เมื่อศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน พบว่าผลิตภัณฑ์มีความคงตัวดีทางกายภาพในทุกสภาวะ และเมื่อประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัคร พบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์โดยรวมดีมาก และไม่มีอาการระคายเคืองตลอดช่วงเวลาประเมิน การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของ VCO ที่มีฤทธิ์ชีวภาพสนับสนุนการนำมาเพิ่มมูลค่าและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางและเวชภัณฑ์ ช่วยส่งเสริมการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มาจากวัตถุดิบที่ผลิตได้ในประเทศไทย นอกจากนี้ยังช่วยลดการนำเข้าวัตถุดิบและเครื่องสำอางจากต่างประเทศได้อีกด้วย

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
28337823

ข้อเสนอแนะ

1. ผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวหน้าควรปรับ pH 5.5-6.0 เนื่องจาก เป็นค่ากรดด่างที่เหมาะสมกับสภาพผิวหน้า
2. ผลิตภัณฑ์ลดการหลุดร่วงของเส้นผม ควรมีการทดสอบเพิ่มเติมในส่วนของความสามารถในการต้านเอนไซม์ไฟว์อัลฟ้ารีดักเทสของผลิตภัณฑ์ เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์
3. ในการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควรทำเพิ่มเติมในอาสาสมัคร และการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับอาสาสมัครควรมีการรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมในมนุษย์ของมหาวิทยาลัยในการศึกษาครั้งต่อไป

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
28337/1823

บรรณานุกรม

Agorku, E. S., Kwaansa-Ansah, E. E., Voegborlo, R. B., Amegbletor, P. & Opoku, F. 2016. Mercury and hydroquinone content of skin toning creams and cosmetic soaps, and the potential risks to the health of Ghanaian women. **SpringerPlus**, 5(1), 319.

Akademia Baru, P., Ahmad, Z., Hasham, R., Aman Nor, N. & Sarmidi, M. 2015. Physico-chemical and antioxidant analysis of virgin coconut oil using West African Tall variety. **Journal of Advanced Research in Materials Science**, 13(1), 2289-7992.

Annuar, N. A. S. 2012. **Lipid and phytochemicals profiles of non heat treated virgin coconut oil.** Master dissertation. University Technology Malaysia, 111 p.

Asian and Pacific Coconut Community. 2010. **Standard for virgin coconut oil**. [Online]. Available http://www.apccsec.org/standards.htm (11 November 2016).

Association of analytical communities. 2009. **Fatty acid composition, in-house method TE-CH-208 based on AOAC 990.06.** [Online]. Available http://webdb.dmsc.moph.go.th (21 July 2018).

Attanatho, L. 2005. Production of virgin cold pressed coconut oil. **Thai Journal of Science and Technology**, 20(2), 67-72.

Babilas, P., Knie, U. & Abels, C. 2012. Cosmetic and dermatologic use of alpha hydroxy acids. **JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft**, 10(7), 488-491.

Bawalan, D. D. 2011. **Processing Manual for Virgin Coconut Oil, its Products and By-products for Pacific Island Countries and Territories**. Suva, Fiji: The Pacific Community. 102 p.

Biswas, S., Das, R. & Banerjee, E. R. 2017. Role of free radicals in human inflammatory diseases. **AIMS Biophysics**, 4(4), 596-614.

Bolognia, J. L. & Orlow, S. J. 2018. **Melanocyte biology. In: Bolognia, Jorizzo, Schaffer eds. Dermatology**. 4th ed. Philadelphia, PA: Elsevier: 1011-1022.

Calabriso, N., Massaro, M., Scoditti, E., Pellegrino, M., Ingrosso, I., Giovinazzo, G. &

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Carluccio, M. A. 2016. Red grape skin polyphenols blunt matrix metalloproteinase-2 and -9 activity and expression in cell models of vascular inflammation: protective role in degenerative and inflammatory diseases. **Molecules**, 21(9), pii: E1147.

Censi, R., Vargas Peregrina, D., Lacava, G., Agas, D., Lupidi, G., Sabbieti, M. & Di Martino, P. 2018. Cosmetic formulation based on an Açai extract. **Cosmetics**, 5, 48.

Chia, W. T., Chen, Y. W., Cheng, L. Y., Lee, H. S., Chang, D. M. & Sytwu, H. K. 2008. MMP-9 mRNA as a therapeutic marker in acute and chronic stages of arthritis induced by type II collagen antibody. **Journal of the Formosan Medical Association**, 107(3), 245-252.

Chomchalow, N. 2005. **The role of coconut oil on health and beauty**. [Online]. Available http://www.thaicam.go.th/home/index.php (1 November 2018).

Codex alimentarius commission. 2001. **Codex standards for named vegetable oils**. London: United Kingdom, 63 p.

Cosmotruth. 2013. **Skin anatomy**. [Online]. Available https://cosmotruth.wordpress.com/2013/07/08/skin-anatomy-101/ (12 September 2019).

Costin, G. E. & Hearing, V. J. 2007. Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. **Faseb Journal**, 21(4), 976-994.

Couteau, C. & Coiffard, L. 2016. Overview of skin whitening agents: Drugs and cosmetic products. **Cosmetics**, 3, 1-16.

Drini, M. 2017. Peptic ulcer disease and non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Australian prescriber**, 40(3), 91-93.

Ekpunobi, U. E., Okonkwo, E. O., Udeh, C., Ogbuagu, A. S. & Duru, C. B. 2014. Determination of hydroquinone and mercury concentrations in some skin lightening lotions and creams sold in Southeastern Nigeria. **International Journal of Biotechnology Research**, 2(1), 11-16.

Fingleton, B. 2017. Matrix metalloproteinases as regulators of inflammatory processes. **Biochimica et Biophysica Acta Molecular Cell Research**, 1864(11 Pt A), 2036-2042.

Floegel, A., Kim, D.-O., Chung, S.-J., Koo, S. I. & Chun, O. K. 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, 24(7), 1043-1048.

Ghasemzadeh, A. & Jaafar, H. Z. 2011. Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts. **Journal of Medicinal Plant Research**, 5(7), 1147-1154.

Hammerschmidt, P. A. & Pratt, D. E. 1978. Phenolic Antioxidants of Dried Soybeans. **Journal of Food Science**, 43(2), 556-559.

Hamsi, M. A., Othman, F., Das, S., Kamisah, Y., Thent, Z. C., Qodriyah, H. M. S., Zakaria, Z., Emran, A., Subermaniam, K. & Jaarin, K. 2015. Effect of consumption of fresh and heated virgin coconut oil on the blood pressure and inflammatory biomarkers: An experimental study in Sprague Dawley rats. **Alexandria Journal of Medicine**, 51(1), 53-63.

Hou, W. C., Chen, Y. C., Chen, H. J., Lin, Y. H., Yang, L. L. & Lee, M. H. 2001. Antioxidant activities of trypsin inhibitor, a 33 KDa root storage protein of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam cv. Tainong 57). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49(6), 2978-2981.

Huang, S. T., Yang, R. C., Wu, H. T., Wang, C. N. & Pang, J. H. 2011. Zinc-chelation contributes to the anti-angiogenic effect of ellagic acid on inhibiting MMP-2 activity, cell migration and tube formation. **PLoS One**, 6(5), e18986.

Huang, W. C., Tsai, T. H., Chuang, L. T., Li, Y. Y., Zouboulis, C. C. & Tsai, P. J. 2014. Anti-bacterial and anti-inflammatory properties of capric acid against *Propionibacterium acnes*: a comparative study with lauric acid. **Journal of Dermatological Science**, 73(3), 232-240.

Hutapaed, K. 2005. Extraction processes of virgin coconut oil. **Journal of Natural Agriculture**, 2, 1-5. [in Thai].

Khan, S. 2015. **Medical hair loss treatment**. [Online]. Available http://www.ilht.com/medical-hair-loss-treatment.php (16 November 2016).

Klinsunthorn, N., Nutsatapana, C., Khemthong, T. & Mapradit, P. 2001. Prohibited substances in acne melasma whitening cosmetic products in lower central provinces during 2010-2013 **Food and Drug Administration Journal**, 20(3), 28-36. [in Thai].

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Komesmuneeborirak, P., Werawatganone, P. & Muangsiri, W. 2013. Formulation of topical preparations containing high concentration of permeation enhancer in a treatment of onychomycosis. **Thai Journal of Pharmaceutical Sciences**, 38, 192-194.

Krasantisuk, S. & Runnarong, H. 2006. **The development of skin care sericin lotion.** Master dissertation. Mahidol University, 60 p.

Kumar, D., Kumar, S., Singh, J., Narender, Rashmi, Vashistha, B. & Singh, N. 2010. Free radical scavenging and analgesic activities of *Cucumis sativus* L. fruit extract. **Journal of Young Pharmacists**, 2(4), 365-368.

Kurzweilai. 2015. **How aging cripples the immune system.** [Online]. Available http://www.kurzweilai.net/how-aging-cripples-the-immune-system (16 November 2016).

Latha, M. S., Martis, J., Shobha, V., Sham Shinde, R., Bangera, S., Krishnankutty, B., Bellary, S., Varughese, S., Rao, P. & Naveen Kumar, B. R. 2013. Sunscreening agents: a review. **The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology**, 6(1), 16-26.

Lee, S. H., Seo, G. S. & Sohn, D. H. 2004. Inhibition of lipopolysaccharide-induced expression of inducible nitric oxide synthase by butein in RAW 264.7 cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 323(1), 125-132.

Leelapornpisid, P. 1997. **Cosmetic emulsions.** Bangkok: Odeon Store, 238 p. [in Thai]

MacDonald-Wicks, L. K., Wood, L. G. & Garg, M. L. 2006. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 86(13), 2046-2056.

Marchenko, N. D., Marchenko, G. N., Weinreb, R. N., Lindsey, J. D., Kyshtoobayeva, A., Crawford, H. C. & Strongin, A. Y. 2004. Beta-catenin regulates the gene of MMP-26, a novel metalloproteinase expressed both in carcinomas and normal epithelial cells. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, 36(5), 942-956.

Marina, A. M., Che Man, Y. B. & Amin, I. 2009a. Virgin coconut oil: emerging functional food oil. **Trends in Food Science and Technology**, 20(10), 481-487.

Marina, A. M., Che Man, Y. B., Nazimah, S. A. H. & Amin, I. 2009b. Chemical properties

2833771823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

of virgin coconut oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 86(4), 301-307.

Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Jiménez-Moreno, N., Ancín-Azpilicueta, C. & Rodríguez-Yoldi, M. J. 2017. Therapeutic applications of rose hips from different Rosa species. **International Journal of Molecular Sciences**, 18(6), pii: E1137.

Masuda, M., Murata, K., Naruto, S., Uwaya, A., Isami, F. & Matsuda, H. 2012. Matrix metalloproteinase-1 inhibitory activities of *Morinda citrifolia* seed extract and its constituents in UVA-irradiated human dermal fibroblasts. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 35(2), 210-215.

McElwee, K. & Sinclair, R. 2008. Hair physiology and its disorders. **Drug Discovery Today: Disease Mechanisms**, 5, e163-e171.

Mutagenetix. 2008. **Biochemical pathway leading to the synthesis of eumelanin**. [Online]. Available https://mutagenetix.utsouthwestern.edu/phenotypic/phenotypic_rec.cfm?pk=163 (17 November 2016).

Nakatsuji, T., Kao, M. C., Fang, J. Y., Zouboulis, C. C., Zhang, L., Gallo, R. L. & Huang, C. M. 2009. Antimicrobial property of lauric acid against *Propionibacterium acnes*: its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. **Journal of Investigative Dermatology**, 129(10), 2480-2488.

Naveed, A., Khan, B., Khan, M. S., Mahmood, T., Khan, H. M. s., Iqbal, M. & Bashir, S. 2011. Formulation development and moiturising effects of a topical cream of Aloe vera extract. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, 75, 172-180.

Nevin, K. G. & Rajamohan, T. 2004. Beneficial effects of virgin coconut oil on lipid parameters and in vitro LDL oxidation. **Clinical Biochemistry**, 37(9), 830-835.

Nishikimi, M., Appaji Rao, N. & Yagi, K. 1972. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 46(2), 849-854.

Nissinen, L. & Kahari, V. M. 2014. Matrix metalloproteinases in inflammation. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1840(8), 2571-2580.

Nour, A., S. Mohammed, F., Yunus, R. & Arman, A. 2009. Demulsification of Virgin

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Coconut Oil by Centrifugation Method: A Feasibility Study. **International Journal of Chemical Technology**, 1, 59-64.

Pagliuca, G., Bozzi, C., Gallo, F. R., Multari, G., Palazzino, G., Porra, R. & Panusa, A. 2018. Triacylglycerol "hand-shape profile" of Argan oil. Rapid and simple UHPLC-PDA-ESI-TOF/MS and HPTLC methods to detect counterfeit Argan oil and Argan-oil-based products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 150, 121-131.

Panyathep, A., Chewonarin, T., Taneyhill, K. & Vinitketkumnuen, U. 2012. Antioxidant and anti-matrix metalloproteinases activities of dried longan (Euphoria longana) seed extract. **ScienceAsia**, 39, 12-18.

Patterson, M. L., Atkinson, S. J., Knauper, V. & Murphy, G. 2001. Specific collagenolysis by gelatinase A, MMP-2, is determined by the hemopexin domain and not the fibronectin-like domain. **FEBS Letters**, 503(2-3), 158-162.

Pavithra, K. & Vadivukkarasi, S. 2015. Evaluation of free radical scavenging activity of various extracts of leaves from *Kedrostis foetidissima* (Jacq.) Cogn. **Food Science and Human Wellness**, 4(1), 42-46.

Pei, D., Majmudar, G. & Weiss, S. J. 1994. Hydrolytic inactivation of a breast carcinoma cell-derived serpin by human stromelysin-3. **Journal of Biological Chemistry**, 269(41), 25849-25855.

Piao, X. L., Park, I. H., Baek, S. H., Kim, H. Y., Park, M. K. & Park, J. H. 2004. Antioxidative activity of furanocoumarins isolated from *Angelicae dahuricae*. **Journal of Ethnopharmacology**, 93(2-3), 243-246.

Pietta, P. G. 2000. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, 63(7), 1035-1042.

Pillaiyar, T., Manickam, M. & Namasivayam, V. 2017. Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. **Journal of Enzyme Inhibition Medicinal Chemistry**, 32(1), 403-425.

Pomerantz, S. H. 1963. Separation, purification, and properties of two tyrosinases from hamster melanoma. **Journal of Biological Chemistry**, 238, 2351-2357.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J. & Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants.

283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

African Journal of Biotechnology, 5(11), 1142-1145.

Raffetto, J. D. & Khalil, R. A. 2008. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease. **Biochemical Pharmacology**, 75(2), 346-359.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 26(9-10), 1231-1237.

Saha, D. & Paul, S. 2014. Evaluation of antioxidant and free radical scavenging activities of different fractions of *Pterospermum suberifolium* leaf extract. **Thai Journal of Pharmaceutical Sciences**, 38, 28-35.

Sarkar, R., Arora, P. & Garg, K. V. 2013. Cosmeceuticals for hyperpigmentation: What is available? **Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery**, 6(1), 4-11.

Seneviratne, K. N., HapuarachchI, C. D. & Ekanayake, S. 2009. Comparison of the phenolic-dependent antioxidant properties of coconut oil extracted under cold and hot conditions. **Food Chemistry**, 114(4), 1444-1449.

Seneviratne, K. N. & Sudarshana, D. M. 2008. Variation of phenolic content in coconut oil extracted by two conventional methods. **International Journal of Food Science & Technology**, 43(4), 597-602.

Shrivastava, M. 2012. Efficacy and safety evaluation of sesa oil vs coconut oil in different hair & scalp ailments: Prospective, open label, randomized comparative study. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, 5, 62-64.

Simmons, K. 1984. Defense against free radicals has therapeutic implications. **Jama**, 251(17), 2187, 2191-2182.

Smijs, T. & Pavel, S. 2011. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: Focus on their safety and effectiveness. **Nanotechnology, science and applications**, 4, 95-112.

Son, K. H. & Heo, M. Y. 2013. The evaluation of depigmenting efficacy in the skin for the development of new whitening agents in Korea. **International Journal of Cosmetic Science**, 35(1), 9-18.

Soni, M. G., Carabin, I. G. & Burdock, G. A. 2005. Safety assessment of esters of p-

283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

hydroxybenzoic acid (parabens). **Food and Chemical Toxicology**, 43(7), 985-1015.

Tang, S.-C. & Yang, J.-H. 2018. Dual Effects of Alpha-Hydroxy Acids on the Skin. **Molecules**, 23, pii: E863.

Vajragupta, O., Boonchoong, P., Boonyarut, C. & Atsinthong, M. 2007. **Radical scavenging agent**. 2nd. Bangkok: P.S. Printing, 280p [in Thai].

Van Wart, H. E. & Steinbrink, D. R. 1981. A continuous spectrophotometric assay for Clostridium histolyticum collagenase. **Analytical Biochemistry**, 113(2), 356-365.

Visse, R. & Nagase, H. 2003. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. **Circulation Research**, 92(8), 827-839.

Vysakh, A., Ratheesh, M., Rajmohanan, T. P., Pramod, C., Premlal, S., Girish kumar, B. & Sibi, P. I. 2014. Polyphenolics isolated from virgin coconut oil inhibits adjuvant induced arthritis in rats through antioxidant and anti-inflammatory action. **International Immunopharmacology.**, 20(1), 124-130.

Wang, H. M., Chen, C. Y. & Wen, Z. H. 2011. Identifying melanogenesis inhibitors from *Cinnamomum subavenium* with in vitro and in vivo screening systems by targeting the human tyrosinase. **Experimental Dermatology**, 20(3), 242-248.

Watt, F. M. & Fujiwara, H. 2011. Cell-extracellular matrix interactions in normal and diseased skin. **Cold Spring Harbor Perspectives Biology**, 3(4).

Wieland, H. A., Michaelis, M., Kirschbaum, B. J. & Rudolphi, K. A. 2005. **Osteoarthritis - an untreatable disease?** . [Online]. Available http://www.nature.com/nrd/journal/v4/n4/full/nrd1693.html (16 November 2016).

Williams, J. J. (2007). B.1.II - Formulation of Carpet Cleaners. In I. Johansson และ P. Somasundaran (Eds.), **Handbook for Cleaning/Decontamination of Surfaces** (pp. 103-123). Amsterdam: Elsevier Science B.V.

Wongpiyarattanakul, N. 2000. **Hair loss, baldness and guidelines for consumer protection**. Bangkok: Cosmetic control group, Food and Drug Administration. 67p.

Yang, D., Pornpattananangkul, D., Nakatsuji, T., Chan, M., Carson, D., Huang, C. M. & Zhang, L. 2009. The antimicrobial activity of liposomal lauric acids against

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Propionibacterium acnes. **Biomaterials**, 30(30), 6035-6040.

Zolghadri, S., Bahrami, A., Hassan Khan, M. T., Munoz-Munoz, J., Garcia-Molina, F., Garcia-Canovas, F. & Saboury, A. A. 2019. A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 34(1), 279-309.

คัทลียา เมฆจรัสกุล. 2557. รูปแบบยากึ่งแข็งสำหรับใช้เฉพาะที่ผิวหนัง. [Online]. Available https://www.scribd.com/doc/297972578/Topical-Dermatologic-Products-18-%E0%B8%AA%E0%B8%84-2015 (30 พฤศจิกายน 2559).

อุตสาหกรรมพัฒนามูลนิธิเพื่อสถาบันอาหาร. 2559. อุตสาหกรรมมะพร้าว. [Online]. Available http://fic.nfi.or.th/foodsectordatabank-detail.php?id=22 (25 กันยายน 2559).

2833711823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

แบบสอบถามการประเมินการระคายเคืองของอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์ครีมที่ผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

1. ข้อมูลทั่วไป

1.1 ชื่อ-สกุล ..... หมายเลขโทรศัพท์ .....

1.2 เพศ [ ] ชาย [ ] หญิง

1.3 อายุ ..... ปี

1.4 ท่านมีโรคประจำตัวหรือไม่ [ ] ไม่มี [ ] มี (โปรดระบุ) .....

1.5 ในขณะนี้ท่านป่วยเป็นโรคทางผิวหนังอยู่หรือไม่

[ ] เป็น [ ] ไม่เป็น (ข้ามไปตอบข้อ 1.7)

1.6 อาการป่วยโรคทางผิวหนังของท่านเป็นอย่างไร

.....

1.7 ท่านเคยเข้าร่วมเป็นอาสาสมัครในการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องสำอางในงานวิจัยเช่นนี้มาก่อนหรือไม่

[ ] เคย [ ] ไม่เคย (ข้ามไปตอบข้อ 1.9)

1.8 งานวิจัยที่ท่านเคยเข้าร่วมครั้งก่อนหน้าห่างจากงานวิจัยครั้งนี้เป็นระยะเวลาเท่าใด

[ ] น้อยกว่า 1 เดือน [ ] 1-3 เดือน [ ] มากกว่า 3 เดือน

1.9 ท่านเคยมีอาการแพ้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวหรือไม่

[ ] เคย [ ] ไม่เคย

1.10 โปรดระบุชนิดและยี่ห้อของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่ท่านเคยแพ้

.....

1.11 ในขณะนี้ท่านได้ใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวหรือไม่

[ ] ใช้ [ ] ไม่ใช้

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

แบบสอบถามการประเมินการระคายเคืองของอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์บำรุงหนังศีรษะและเส้นผมที่ผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

1. ข้อมูลทั่วไป

1.1 ชื่อ-สกุล ..... หมายเลขโทรศัพท์ .....

1.2 เพศ [ ] ชาย [ ] หญิง

1.3 อายุ ..... ปี

1.4 ท่านมีโรคประจำตัวหรือไม่ [ ] ไม่มี [ ] มี (โปรดระบุ) .....

1.5 ในขณะนี้ท่านป่วยเป็นโรคทางผิวหนัง (หนังศีรษะ) อยู่หรือไม่

[ ] เป็น [ ] ไม่เป็น (ข้ามไปตอบข้อ 1.7)

1.6 อาการป่วยโรคทางผิวหนัง (หนังศีรษะ) ของท่านเป็นอย่างไร

.....

1.7 ท่านเคยเข้าร่วมเป็นอาสาสมัครในการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องสำอางในงานวิจัยเช่นนี้มาก่อนหรือไม่

[ ] เคย [ ] ไม่เคย (ข้ามไปตอบข้อ 1.9)

1.8 งานวิจัยที่ท่านเคยเข้าร่วมครั้งก่อนหน้าห่างจากงานวิจัยครั้งนี้เป็นระยะเวลาเท่าใด

[ ] น้อยกว่า 1 เดือน [ ] 1-3 เดือน [ ] มากกว่า 3 เดือน

1.9 ท่านเคยมีอาการแพ้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงหนังศีรษะและเส้นผมหรือไม่

[ ] เคย [ ] ไม่เคย

1.10 โปรดระบุชนิดและยี่ห้อของผลิตภัณฑ์บำรุงหนังศีรษะและเส้นผมที่ท่านเคยแพ้

.....

1.11 ในขณะนี้ท่านได้ใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงหนังศีรษะและเส้นผมหรือไม่

[ ] ใช้ [ ] ไม่ใช้

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833771823

แบบสอบถามการประเมินการระคายเคืองของอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งที่ผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

1. ข้อมูลทั่วไป

1.1 ชื่อ-สกุล ..... หมายเลขโทรศัพท์ .....

1.2 เพศ [ ] ชาย [ ] หญิง

1.3 อายุ ..... ปี

1.4 ท่านมีโรคประจำตัวหรือไม่ [ ] ไม่มี [ ] มี (โปรดระบุ) .....

1.5 ในขณะนี้ท่านป่วยเป็นโรคทางผิวหนังอยู่หรือไม่

[ ] เป็น [ ] ไม่เป็น (ข้ามไปตอบข้อ 1.7)

1.6 อาการป่วยโรคทางผิวหนังของท่านเป็นอย่างไร

.....

1.7 ท่านเคยเข้าร่วมเป็นอาสาสมัครในการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องสำอางในงานวิจัยเช่นนี้มาก่อนหรือไม่

[ ] เคย [ ] ไม่เคย (ข้ามไปตอบข้อ 1.9)

1.8 งานวิจัยที่ท่านเคยเข้าร่วมครั้งก่อนหน้าห่างจากงานวิจัยครั้งนี้เป็นระยะเวลาเท่าใด

[ ] น้อยกว่า 1 เดือน [ ] 1-3 เดือน [ ] มากกว่า 3 เดือน

1.9 ท่านเคยมีอาการแพ้ผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งทาบรรเทาปวดหรือไม่

[ ] เคย [ ] ไม่เคย

1.10 โปรดระบุชนิดและยี่ห้อของผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งทาบรรเทาปวดที่ท่านเคยแพ้

.....

1.11 ในขณะนี้ท่านได้ใช้ผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งทาบรรเทาปวดหรือไม่

[ ] ใช้ [ ] ไม่ใช้

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

กรุณาเขียนตัวเลขลงในช่องคะแนนเพื่อประเมินอาการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

เกณฑ์การให้คะแนน :

0 : ไม่มีอาการแพ้, 1 : อาการแพ้น้อยที่สุด, 2 : อาการแพ้เล็กน้อย, 3 : อาการแพ้ปานกลาง,

4 : อาการแพ้มาก, 5 : อาการแพ้มากที่สุด

	ชั่วโมงที่				
ตำรับ	4	6	12	24	48
ตำรับ A					
ตำรับ B					

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

แบบสอบถามการประเมินความพึงพอใจของอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์ครีมที่ผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

1. ข้อมูลทั่วไป

1.1 ชื่อ-สกุล .....หมายเลขโทรศัพท์ .....

1.2 เพศ [ ] ชาย [ ] หญิง

1.3 อายุ ..... ปี

1.4 ประกอบอาชีพ [ ] รับราชการ / พนักงานของรัฐ [ ] บริษัทเอกชน

[ ] นักศึกษา [ ] ธุรกิจส่วนตัว

[ ] อื่นๆ (โปรดระบุ) .....

1.5 ท่านมีโรคประจำตัวหรือไม่

[ ] ไม่มี [ ] มี (โปรดระบุ) .....

1.6 ในขณะนี้ท่านป่วยเป็นโรคทางผิวหนังอยู่หรือไม่

[ ] เป็น [ ] ไม่เป็น (ข้ามไปตอบข้อ 1.8)

1.7 อาการป่วยโรคทางผิวหนังของท่านเป็นอย่างไร

.....

1.8 ท่านเคยเข้าร่วมเป็นอาสาสมัครในการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องสำอางในงานวิจัยเช่นนี้มาก่อนหรือไม่

[ ] เคย [ ] ไม่เคย (ข้ามไปตอบข้อ 1.10)

1.9 งานวิจัยที่ท่านเคยเข้าร่วมครั้งก่อนหน้าห่างจากงานวิจัยครั้งนี้เป็นระยะเวลาเท่าใด

[ ] น้อยกว่า 1 เดือน [ ] 1-3 เดือน [ ] มากกว่า 3 เดือน

1.10 ท่านเคยมีอาการแพ้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวหรือไม่

[ ] เคย [ ] ไม่เคย

1.11 โปรดระบุชนิดและยี่ห้อของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวที่ท่านเคยแพ้

.....

1.12 ในขณะนี้ท่านได้ใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวหรือไม่

[ ] ใช้ [ ] ไม่ใช้

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

กรุณาทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องคะแนนเพื่อประเมินลักษณะ และความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์

วิธีใช้ : ทาครีมบนผิวหน้า 2 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์

เกณฑ์การให้คะแนน :

1 : ควรปรับปรุง, 2 : พอใช้, 3 : ปานกลาง, 4 : ดี, 5 : ดีมาก

	ตำรับ A					ตำรับ B				
2. ลักษณะทั่วไปของผลิตภัณฑ์	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
สีของเนื้อครีม										
กลิ่นของเนื้อครีม										
เนื้อของผลิตภัณฑ์										
3.ความพึงพอใจในการใช้ผลิตภัณฑ์										
ความชุ่มชื้นผิวหลังใช้										
การกระจายบนผิวขณะใช้										
การซึมสู่ผิวหนัง										
ปริมาณน้ำมันที่เหลืออยู่บนผิว										
ความเหนอะหนะของผิวหลังใช้										
ความพึงพอใจโดยรวม										

4. ท่านพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ตำรับใดมากที่สุด

[ ] ตำรับ A [ ] ตำรับ B

โปรดระบุผล .....

5. ท่านประสบปัญหาใดๆ จากการใช้ผลิตภัณฑ์ในโครงการนี้หรือไม่

[ ] ไม่มี

[ ] มี (โปรดระบุ) .....

6. ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....

.....

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833771823

แบบสอบถามการประเมินความพึงพอใจของอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์บำรุงหนังศีรษะและเส้นผมที่ผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

1. ข้อมูลทั่วไป

1.1 ชื่อ-สกุล .....หมายเลขโทรศัพท์ .....

1.2 เพศ [ ] ชาย [ ] หญิง

1.3 อายุ ..... ปี

1.4 ประกอบอาชีพ [ ] รับราชการ / พนักงานของรัฐ [ ] บริษัทเอกชน

[ ] นักศึกษา [ ] ธุรกิจส่วนตัว

[ ] อื่นๆ (โปรดระบุ) .....

1.5 ท่านมีโรคประจำตัวหรือไม่

[ ] ไม่มี [ ] มี (โปรดระบุ) .....

1.6 ในขณะนี้ท่านป่วยเป็นโรคทางผิวหนัง (หนังศีรษะ) อยู่หรือไม่

[ ] เป็น [ ] ไม่เป็น (ข้ามไปตอบข้อ 1.8)

1.7 อาการป่วยโรคทางผิวหนัง (หนังศีรษะ) ของท่านเป็นอย่างไร

.....

1.8 ท่านเคยเข้าร่วมเป็นอาสาสมัครในการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องสำอางในงานวิจัยเช่นนี้มาก่อนหรือไม่

[ ] เคย [ ] ไม่เคย (ข้ามไปตอบข้อ 1.10)

1.9 งานวิจัยที่ท่านเคยเข้าร่วมครั้งก่อนหน้าห่างจากงานวิจัยครั้งนี้เป็นระยะเวลาเท่าใด

[ ] น้อยกว่า 1 เดือน [ ] 1-3 เดือน [ ] มากกว่า 3 เดือน

1.10 ท่านเคยมีอาการแพ้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงหนังศีรษะและเส้นผมหรือไม่

[ ] เคย [ ] ไม่เคย

1.11 โปรดระบุชนิดและยี่ห้อของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงหนังศีรษะและเส้นผมที่ท่านเคยแพ้

.....

1.12 ในขณะนี้ท่านได้ใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงหนังศีรษะและเส้นผมหรือไม่

[ ] ใช้ [ ] ไม่ใช้

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

กรุณาทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องคะแนนเพื่อประเมินลักษณะ และความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์

วิธีใช้ : พ่นน้ำมันลงบนศีรษะและเส้นผมวันละครั้ง เป็นเวลา 2 สัปดาห์

เกณฑ์การให้คะแนน :

1 : ควรปรับปรุง, 2 : พอใช้, 3 : ปานกลาง, 4 : ดี, 5 : ดีมาก

	ตำรับ B					ตำรับ C				
2. ลักษณะทั่วไปของผลิตภัณฑ์	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
สี										
กลิ่น										
เนื้อของผลิตภัณฑ์										
ความหนืดของผลิตภัณฑ์										
3.ความพึงพอใจในการใช้ผลิตภัณฑ์										
การซึมสู่ผิวหนัง										
ความมัน										
ความเหนอะหนะ										
ความนุ่มลื่นของเส้นผม										
ความพึงพอใจโดยรวม										

4. ท่านพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ตำรับใดมากที่สุด

[ ] ตำรับ B [ ] ตำรับ C

โปรดระบุผล .....

5. ท่านประสบปัญหาใดๆ จากการใช้ผลิตภัณฑ์ในโครงการนี้หรือไม่

[ ] ไม่มี

[ ] มี (โปรดระบุ) .....

6. ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

แบบสอบถามการประเมินความพึงพอใจของอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งที่ผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

1. ข้อมูลทั่วไป

1.1 ชื่อ-สกุล .....หมายเลขโทรศัพท์ .....

1.2 เพศ [ ] ชาย [ ] หญิง

1.3 อายุ ..... ปี

1.4 ประกอบอาชีพ [ ] รับราชการ / พนักงานของรัฐ [ ] บริษัทเอกชน

[ ] นักศึกษา [ ] ธุรกิจส่วนตัว

[ ] อื่นๆ (โปรดระบุ) .....

1.5 ท่านมีโรคประจำตัวหรือไม่

[ ] ไม่มี [ ] มี (โปรดระบุ) .....

1.6 ในขณะนี้ท่านป่วยเป็นโรคทางผิวหนังอยู่หรือไม่

[ ] เป็น [ ] ไม่เป็น (ข้ามไปตอบข้อ 1.8)

1.7 อาการป่วยโรคทางผิวหนังของท่านเป็นอย่างไร

.....

1.8 ท่านเคยเข้าร่วมเป็นอาสาสมัครในการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องสำอางในงานวิจัยเช่นนี้มาก่อนหรือไม่

[ ] เคย [ ] ไม่เคย (ข้ามไปตอบข้อ 1.10)

1.9 งานวิจัยที่ท่านเคยเข้าร่วมครั้งก่อนหน้าห่างจากงานวิจัยครั้งนี้เป็นระยะเวลาเท่าใด

[ ] น้อยกว่า 1 เดือน [ ] 1-3 เดือน [ ] มากกว่า 3 เดือน

1.10 ท่านเคยมีอาการแพ้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวหรือไม่

[ ] เคย [ ] ไม่เคย

1.11 โปรดระบุชนิดและยี่ห้อของผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งทาบรรเทาปวดที่ท่านเคยแพ้

.....

1.12 ในขณะนี้ท่านได้ใช้ผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งทาบรรเทาปวดหรือไม่

[ ] ใช้ [ ] ไม่ใช้

283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

กรุณาทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องคะแนนเพื่อประเมินลักษณะ และความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์

วิธีใช้ : ทาขี้ผึ้งบริเวณใต้ท้องแขน 1 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์

เกณฑ์การให้คะแนน :

1 : ควรปรับปรุง, 2 : พอใช้, 3 : ปานกลาง, 4 : ดี, 5 : ดีมาก

	ตำรับ A					ตำรับ B				
2. ลักษณะทั่วไปของผลิตภัณฑ์	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
สี										
กลิ่น										
เนื้อของผลิตภัณฑ์										
ความหนืดของผลิตภัณฑ์										
3.ความพึงพอใจในการใช้ผลิตภัณฑ์										
เนื้อสัมผัส										
การกระจายบนผิว										
การซึมสู่ผิวหนัง										
ความมัน										
ความเหนอะหนะ										
การเคลือบคลุมบนผิว										
ความพึงพอใจโดยรวม										

4. ท่านพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ตำรับใดมากที่สุด

[ ] ตำรับ A [ ] ตำรับ B

โปรดระบุผล .....

5. ท่านประสบปัญหาใดๆ จากการใช้ผลิตภัณฑ์ในโครงการนี้หรือไม่

[ ] ไม่มี [ ] มี (โปรดระบุ) .....

6. ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....

283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

การนำเสนอผลงาน

1) เรื่อง Virgin coconut oil: A potential of functional ingredient for cosmetic product

Proceedings

2nd National Graduate Research Conference and Creative Innovation Competition

"Graduate Research and Innovation for Economic and Social Sustainability"

May 17–18, 2018

The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand

Copyright © 2018
Published by:
Graduate School, Maejo University

2nd GCIC, 46th National and 6th International Graduate Research Conference
May 17th -18th, 2018
At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand

IGRC02010103

Virgin Coconut Oil: A Potential of Functional Ingredient for Cosmetic Product

Uten Jamjai [1,*], Yanee Pongpaibul [2], Narissara Lailerd [3] and Doungporn Amornlerdpison [4]

[1] Interdisciplinary Agriculture Program, Graduate School, Maejo University, Chiang Mai, Thailand
[2] Department of Pharmaceutics and Drug discovery, Faculty of Pharmacy, Payap University, Chiang Mai, Thailand
[3] Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand
[4] Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

*Corresponding author, e-mail: tenjamjai@gmail.com

Abstract

The virgin coconut oil (VCO) was extracted from fresh and mature coconut meat (*Cocos nucifera* Linn.) without using chemical or high-heat in process. The VCO is colorless and clear, it has the aroma of fresh coconut. This study was undertaken to determine the fatty acid composition and pharmacological activity of VCO which benefit for skin, including anti-tyrosinase and anti-collagenase activities. The properties of fatty acid profile of the VCO were found mainly medium chain fatty acids (about 70%) that contain with caproic acid, caprylic acid, capric acid and lauric acids. Of the saturated fatty acids, VCO was primarily 48.41% lauric acid, 16.33% myristic acid, 8.80% caprylic acid, 6.67% capric acid, and 6.36% palmitic acid. Anti-tyrosinase activity was evaluated using L-DOPA as enzymatic substrate whereas collagenase inhibitory activity was also performed with FALGPA as enzymatic substrate. The result revealed that VCO exhibited anti-tyrosinase and anti-collagenase activities with IC_{50} values of 761.89 ± 18.85 mg/mL and 625.93 ± 11.62 mg/mL, respectively. However, VCO inhibited tyrosinase lower than kojic acid (IC_{50} = 0.39 ± 0.01 mg/mL) and collagenase inhibition of VCO was lower than EGCG (IC_{50} = 0.015 ± 0.004 mg/mL). From these results indicate that VCO obtain the potential of functional ingredient in cosmeceutical product such as whitening and aging skincare according to decrease hyperpigmentation and wrinkles of facial skin. The optimal concentration of VCO will be formulated in further study.

Keywords: anti-collagenase activity, anti-tyrosinase activity, cosmeceutical product, virgin coconut oil

INTRODUCTION

The virgin coconut oil (VCO) was extracted from fresh and mature coconut meat (*Cocos nucifera* Linn.) without using chemical or high-heat in process. The VCO is colorless and clear, it has the aroma of fresh coconut. It displays several biological activities like anti-inflammatory, analgesic and antipyretic properties *in vivo* [1]. Traditionally, virgin coconut oil is used to moisturize for skin and hair.

Tyrosinase is a copper-containing enzyme that catalyzes the synthesis of melanin and other pigments from tyrosine [2]. Melanin is a dark biological pigment that found in hair, skin, eyes, and other tissue. The overproduction of tyrosinase cause hyperpigmentation that is a common problem in middle aged and elderly people [3]. Tyrosinase inhibitors have become increasingly important for medicinal and cosmetic products that may be used as powerful skin-whitening agents for treating hyperpigmented skin [4].

Collagenase enzyme is a metalloproteinase which can degrade molecules such as aggrecan, elastin, fibronectin, gelatine, laminin, and collagen [5]. Collagenase inhibitors may have beneficial effects to maintain healthy skin by preventing dermal matrix degradation. Therefore, the purpose of this

2) เรื่อง Evaluation of antioxidant activities and phenolic contents of virgin coconut oil

การประชุมวิชาการระดับชาติ "มศว วิจัย" ครั้งที่ 12
วันที่ 20-21 มีนาคม 2562 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES AND PHENOLIC CONTENTS OF VIRGIN COCONUT OIL

อุเทน จำใจ[1*] ญาณี พงษ์ไพบูลย์[2] นริศรา ไล่เลิศ[3] ดวงพร อมรเลิศพิศาล[4]

Uten Jamjai[1*], Yanee Pongpibul[2], Narissara Lailerd[3], Doungporn Amornlerdpison[4]

[1]สาขาสหวิทยาการเกษตร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้
[1]Agricultural Interdisciplinary Program, Maejo University.
[2]ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพายัพ
[2]Department of Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Payap University.
[3]ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[3]Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.
[4]คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
[4]Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University.

*Corresponding author. E-mail: ten_t2m@hotmail.com

บทคัดย่อ

น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์เป็นผลผลิตที่ได้มาจากเนื้อมะพร้าวที่แก่เต็มที่ โดยมีกระบวนการผลิตที่ไม่ผ่านความร้อนและสารเคมี น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีลักษณะใส และไม่มีสี ซึ่งมีกลิ่นของเนื้อมะพร้าวสด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีส่วนเกี่ยวข้องในฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายด้าน ได้แก่ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ป้องกันภาวะหลอดเลือดแข็ง และป้องกันมะเร็ง การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณฟีนอลิกของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ผลการทดลองพบว่า น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS) และ อนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) โดยมีค่ามิลลิโมลาร์สมมูลของโทรลอกซ์ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (TEAC) และมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อตัวอย่าง 1 กรัม (GAE) เท่ากับ 0.719 ± 0.003 มิลลิโมลาร์ และ 0.563 ± 0.008 มิลลิกรัม ตามลำดับ ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกมีค่า GAE เท่ากับ 14.789 ± 0.192 มิลลิกรัม จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ที่มีศักยภาพในการเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอาง

คำสำคัญ: น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารกลุ่มฟีนอลิก สารประกอบเชิงหน้าที่

Abstract

The virgin coconut oil (VCO) was extracted from fresh and mature coconut meat (*Cocos nucifera* Linn.) without using chemical reagent or heating in process. The VCO is colorless and clear, it has the aroma of fresh coconut. Antioxidant activity has been proposed to play roles in various pharmacological activities such as anti-aging, anti-inflammatory, anti-atherosclerosis and anti-cancer activities. The present

2833771823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Maejo International Journal of Science and Technology

ISSN 1905-7873

Available online at www.mijst.mju.ac.th

Full Paper

Beneficial Effects of Virgin Coconut Oil and Its Cosmetic Ingredient for Anti-aging

Uten Jamjai [1], Yanee Pongpaibul [2], Narissara Lailerd [3] and Doungporn Amornlerdpison [4,5,*]

[1] Interdisciplinary Agriculture Program, Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

[2] Department of Pharmaceutics and Drug Discovery, Faculty of Pharmacy, Payap University, Chiang Mai, Thailand

[3] Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

[4] Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

[5] Center of Excellence in Agricultural Innovation for Graduate Entrepreneur, Graduate School, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

* Corresponding author, e-mail: doungpornfishtech@gmail.com

Received: / Accepted: / Published:

Abstract: Virgin coconut oil (VCO) was extracted from coconut meat (*Cocos nucifera* Linn.) using cold process. The VCO was analysed to investigate its fatty acid composition and potential as a cosmetic ingredient for anti-aging skincare. Characterisation of the fatty acids composition of VCO was accomplished using gas chromatography with flame ionise detection (GC-FID). The fatty acid profile of VCO was found to be 70% medium chains of saturated fatty acids that contain primarily lauric acid, at 48.41%. along with 16.33% myristic acid, 8.80% caprylic acid, 6.67% capric acid and 6.36% palmitic acid. VCO showed inhibition of free radicals, with IC_{50} values of 1.39 ± 0.01, 78.16 ± 0.60 and 27.43 ± 0.37 mg/mL in ABTS, DPPH and superoxide radicals scavenging tests, respectively. The skin-whitening effect was examined with a tyrosinase assay using L-DOPA as an enzymatic substrate. Anti-aging property was determined by collagenase inhibitory activity. The optimal IC_{50} values for anti-tyrosinase and anti-collagenase activities were 761.89 ± 18.85 mg/mL and

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

625.93 ± 11.62 mg/mL, respectively. These results indicated that VCO has potential as a functional ingredient in cosmeceutical products, such as whitening and anti-aging skincare products, that aim to decrease oxidative stress, hyperpigmentation and wrinkles of facial skin. The optimal concentration of VCO was formulated as VCO cream and analysed in terms of its physical characteristics and user satisfaction. The results revealed that 20 volunteers were highly satisfied with the VCO cream and suffered no skin irritation.

Keywords: antioxidant, anti-collagenase, anti-tyrosinase, cosmetic ingredient, virgin coconut oil

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

INTRODUCTION

Skin aging is a complicated biochemical progression that is due to intrinsic and extrinsic factors. Intrinsic factors include age, metabolic processes, genetic factors, unbalanced antioxidant components in the skin, free radicals and hormonal factors [1]. Extrinsic factors include exposure to UV radiation, stress, cigarettes, pollution, drugs and food [2]. Skin wrinkles form as a result of natural aging processes and the presence of excessive amounts of reactive oxygen species (ROS) [3]. ROS are defined as oxygen-containing, highly reactive species. ROS are generated constantly during normal cellular metabolism, which is essential for biological functions. However, excessive ROS causes oxidative stress and damages biological molecules [4]. ROS such as superoxide anion radical, hydroxyl radicals, singlet oxygen and hydrogen peroxide, formed during normal metabolic processes, can generate lipid peroxidation and lead to the accumulation of lipid peroxides [5]. ROS directly cause skin aging by involving the oxidative damage of the lipids, proteins and DNA of the skin and are mainly related to extracellular matrix (ECM) degradation. Collagenase and elastase enzymes are responsible for the breakdown of various components of the ECM, such as collagen and elastin.

Tyrosinase is a copper-containing enzyme that catalyses the synthesis of melanin and other pigments from tyrosine [6]. Melanin is a dark biological pigment found in hair, skin, eyes and other tissue, and it plays a crucial role in protecting human skin against ultraviolet (UV) radiation. The accumulation of tyrosinase causes hyperpigmentation, which is a common problem in middle-aged and older people [7]. Tyrosinase inhibitors have become increasingly important in medicinal and cosmetic products that may be used as powerful skin-whitening agents for treating hyperpigmented skin [8].

Collagen is the most abundant protein in the ECM; it functions as an adherent for connective tissues [9] and is responsible for tensile strength, providing firmness to the skin. The collagenase enzyme is a metalloproteinase that can degrade molecules

such as aggrecan, elastin, fibronectin, gelatine, laminin and collagen [10]. Accordingly, collagenase inhibitors may have beneficial effects in maintaining healthy skin by preventing dermal matrix degradation.

Virgin coconut oil (VCO) is extracted directly from fresh mature coconut meat (*Cocos nucifera* Linn.) without using chemicals or high heat; thus, it has more beneficial effects than coconut oil (CO), as VCO retains most of its unsaponifiable components [11]. VCO is colourless and clear, with the aroma of fresh coconut. It displays several biological activities, including anti-inflammatory, analgesic and antipyretic properties, in vivo [12]. Traditionally, virgin coconut oil is used for skin moisturisation. The present study was performed to evaluate the fatty acid composition of virgin coconut oil, as well as to evaluate any anti-aging potential it may have via *in vitro* antioxidant, anti-tyrosinase and anti-collagenase assays.

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

MATERIALS AND METHODS

Preparation of the Virgin Coconut Oil (VCO)

In this experiment, fresh coconut milk was brought from a local market in Chiang Mai, Thailand. The extraction method described by Wong and Hartina [13], with some modifications, was used. The coconut milk, at a weight of 1 kg, was filtered through Whatman's filter paper No. 4. The filtrate was centrifuged at a centrifugal speed of 5,000 rpm at 30°C for 30 minutes. The VCO was then stored in a glass bottle at room temperature. The VCO yield was 8.8%.

Determination of Fatty Acid Composition of VCO

The analysis of the VCO fatty acid profile was conducted via Agilent gas chromatography (Agilent technologies 6890N) equipped with a flame ionisation detector (FID) on a capillary column (100 m length, 0.25 mm internal diameter and 0.20 μm film thickness). The column was initially set at 140°C and held for five minutes, then increased to 250°C at a rate of 3°C/minute and held for 17 minutes at 250°C. The detectable peaks were recorded, and the retention time was confirmed [14].

Evaluation of VCO for Antioxidant Activity

$ABTS^{+\bullet}$ cation radical scavenging activity

The method described by Re et al. [15] was used with some modifications. The ABTS reagent was prepared by mixing 7 mM ABTS (2,2'-azino-bis 3-

ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) with 140 mM potassium persulfate. After the mixture was kept in the dark at room temperature for 16 h to allow the completion of radical generation, it was then diluted with deionised water to give an absorbance of 0.70 ± 0.05 at 734 nm before use. To determine the scavenging activity, 1 mL of ABTS reagent was mixed with 10 µL of VCO, and the absorbance was measured at 734 nm six minutes after the initial mixing. The scavenging activity of $ABTS^{+\bullet}$ radical was calculated using equation (1). All determinations were carried out in triplicate. The IC_{50} value was the inhibitory concentration at which $ABTS^{+\bullet}$ radical was scavenging at 50%. Trolox, a derivative of vitamin E, was employed as a positive control. The $ABTS^{+\bullet}$ radical scavenging activity was expressed as Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), which represented the concentration (mM) of Trolox per gram of sample.

$$\text{ABTS}^{+\bullet}\text{ radical scavenging activity (\%)} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \quad (1)$$

where $A_{control}$ shows the absorbance of the control and A_{sample} represents absorbance in the presence of the sample or positive control.

DPPH radical scavenging activity

The VCO was measured for DPPH (1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity according to the method of Hou et al. [16]. Briefly, each 0.3 mL of the sample solution was added to 0.1 mL Tris-HCl buffer (pH 7.9) and then mixed with 0.6 mL of 0.2 mM DPPH in methanol for 20 minutes, under light protection. The absorbance at 517 nm was determined. The scavenging activity of DPPH radical was calculated using equation (2). All determinations were carried out in triplicate. The IC_{50} value was the inhibitory concentration at which DPPH radical was scavenging at 50%. Gallic acid was used as a positive control. DPPH radical scavenging activity was expressed as gallic acid equivalent (GAE) in milligrams of gallic acid per gram of sample.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \quad (2)$$

where $A_{control}$ shows the absorbance of the control and A_{sample} represents absorbance in the presence of the sample or positive control.

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Superoxide anion ($O_2^{-\bullet}$) scavenging activity

Measurement of the superoxide anion scavenging activity of the virgin coconut oil was performed by following the method described by Nishikimi et al. [17]. Nitroblue tetrazolium (NBT), nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) and phenazine methosulphate (PMS) solutions at the concentrations of 156 µM, 468 µM and 60 µM, respectively, were prepared in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4). One mL of NBT solution, 1 mL of NADH solution and 0.1 mL of sample solution were mixed. The reaction was then started by adding 0.1 mL of PMS solution to the mixture. After five minutes of incubation at room temperature, the absorbance was measured at 560 nm, and the scavenging activity of superoxide anion radical was calculated using equation (3). All determinations were carried out in triplicate. Gallic acid was used as a positive control. Superoxide anion radical scavenging activity was expressed as gallic acid equivalent (GAE) in milligram gallic acid per gram of sample.

$$\text{Superoxide anion radical scavenging activity (\%)} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \quad (3)$$

where $A_{control}$ shows the absorbance of the control and A_{sample} represents absorbance in the presence of the sample or positive control.

Determination of Anti-tyrosinase Activity

The determination of tyrosinase inhibition activity was measured by the method described by Lim et al. [18]. L-DOPA was used as a substrate. A total of 40 µL of 2.5 mM L-DOPA solution, 80 µL of 0.1 M phosphate buffer (pH 6.8), 40 µL of test samples and 40 µL of tyrosinase solution (200 unit/mL) were mixed and incubated at 37°C for 30 minutes. The dopachrome formulation was measured at 475 nm. The inhibitory activity on tyrosinase was calculated using equation (4). All determinations were carried out in triplicate. Kojic acid was used as a standard tyrosinase inhibitor control.

$$\text{Inhibition of tyrosinase activity (\%)} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \quad (4)$$

where $A_{control}$ shows the absorbance of the control and A_{sample} represents absorbance in the presence of the sample or positive control.

Determination of Anti-collagenase Activity

Collagenase inhibition activity was determined according to the protocol of Van Wart and Steinbrink [19] with a slight modification. Briefly, 10 µL of the test sample was mixed with 10 µL of collagenase solution and 190 µL of N-[3-(2-furyl) acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) solution. The absorbance at 340 nm was measured immediately after adding the substrate and then continuously for five minutes using a microplate reader.

The inhibitory activity on collagenase was calculated using equation (5). All assays were performed in triplicate. Epigallocatechin gallate (EGCG) was used as a positive control.

$$\text{Inhibition of collagenase activity (\%)} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \qquad (5)$$

where $A_{control}$ shows the absorbance of the control and A_{sample} represents absorbance in the presence of the sample or positive control.

Formulation of the Cream

The emulsion of a cream containing VCO was formulated using the ingredients shown in Table 1. Briefly, the VCO, the emulsifying agent and other oil-soluble components were dissolved in the oil phase (Part A). Then, the preservatives and other water-soluble components were dissolved in the aqueous phase (Part B). After that, the aqueous phase was added in portions to the oil phase using a homogeniser, with constant stirring at 2,000 rpm for ten minutes.

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Table 1. Composition of ingredients used in formulation of the cream

Phase	Ingredients	% w/w
Water Phase	Dipotassium glycyrrhizate	0.10
(Part A)	Carbopol ultez 21	0.28
	Butylene glycol	1.00
	Propylene glycol	0.50
	Panthenol	1.00
	Spectrastat BHL	1.80
	Distilled water q.s. 100	q.s.
Oil Phase	Virgin coconut oil	12.20
(Part B)	Squalane	2.80
	Trifat S-308	4.20
	Tocopheryl acetate	2.00
	dl-Alpha tocopherol	0.50
	DC 556	1.00
	Novemer EC-2	2.00
	Fragrance oil	0.50

q.s.: quantity sufficient

Stability Test

The preliminary estimation of stability was assessed immediately and then again 24 hours after preparation using a centrifugation assay at 5,000 rpm (25°C) for 30 minutes. The formulated cream was monitored under accelerated stability studies, which were stored in well-closed glass containers at room temperature, at 4°C (in refrigerator) and at 45°C (in incubator) for 60 days; the heating/cooling method (at 45°C and 4°C, for 48 hours for each storage temperature) was applied for five cycles. Different physicochemical parameters, such as colour, pH, phase separation and viscosity, were evaluated to assure the desired stability of the cream [20].

Satisfaction Test

The cream containing VCO was tested with 20 volunteers to measure their satisfaction. The volunteers agreed to apply the cream base on their forearm skin twice

2833711823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

daily for two weeks. Their satisfaction was evaluated using a 5-point Likert scale questionnaire, in which 1 indicated very low satisfaction and 5 indicated very high satisfaction. Satisfaction scores were calculated as class intervals to yield five levels of satisfaction: very high (4.50-5.00), high (3.50-4.49), medium (2.50-3.49), low (1.50-2.49) and very low (1.00-1.49).

Statistical Analyses

Statistical analyses were conducted using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 17.0 for Windows. Statistical comparisons between groups were carried out using one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's honestly significant difference (HSD) post hoc test; *p*-values under 0.05 were considered significant.

RESULTS AND DISCUSSION

Virgin coconut oil (VCO) had a high proportion of medium chain fatty acids (MCFAs). As seen in Figure 1, these contain primarily lauric acid, at 51.88%, as well as 9.43% caprylic acid, 7.15% capric acid and 0.76% caproic acid. The results for fatty acids composition are shown in Table 2. The total saturated fatty acids were 95.72%, while the total unsaturated fatty acids were 4.28%; the latter consisted of omega 3 (0.02%), omega 6 (0.58%) and omega 9 (3.68%).

Saturated fatty acid, lauric acid and capric acid have been shown to possess antibacterial and anti-inflammatory properties that work against Propionibacterium acnes [21-23]. They attenuated *P. acnes*-induced ear swelling in mice and significantly reduced IL-6 and IL-8 production in *P. acnes*-stimulated SZ95 sebocytes [23]. Therefore, VCO has potential as an ingredient in acne skincare products due to its anti-acne bacterial and anti-inflammatory effects.

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

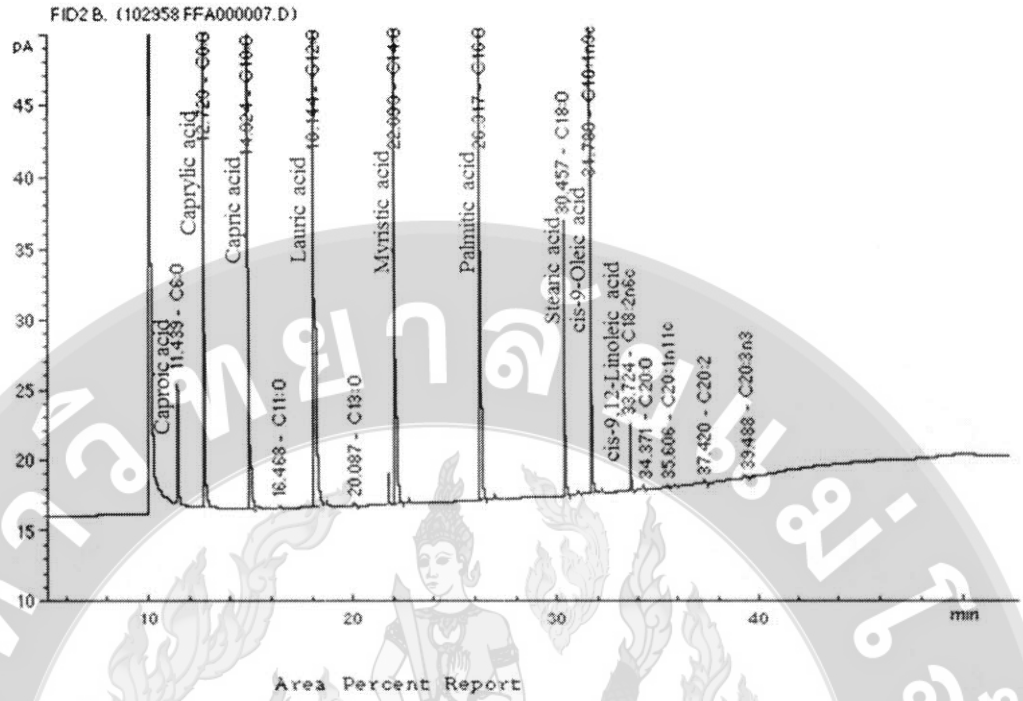


Figure 1. Gas chromatogram of virgin coconut oil

Table 2. Fatty acid composition of virgin coconut oil

Fatty Acid Composition	Percent
Caproic acid (C6:0)	0.76
Caprylic acid (C8:0)	9.43
Capric acid (C10:0)	7.15
Lauric acid (C12:0)	51.88
Myristic acid (C14:0)	17.50
Palmitic acid (C16:0)	6.82
Stearic acid (C18:0)	2.18
cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid (C20:3n3)	0.02
cis-9,12-Linoleic acid (C18:2n6)	0.58
cis-9-Oleic acid (C18:1n9C)	3.68

The percentage of ABTS radical scavenging activity in VCO is shown in Figure 2. The inhibition concentration was at 50% (IC_{50}) in the VCO, ABTS radical scavenging activity was 1.39 ± 0.01 mg/mL and that of Trolox was 0.03 ± 0.01 mg/mL. Figure 2 shows that the inhibitory effect of VCO on ABTS radical scavenging activity was concentration dependent. The Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) value of VCO was found to be 0.72 ± 0.01 mM.

2833711823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

The ABTS radical scavenging activity assay has been widely used to evaluate the antioxidant activity of compounds due to the simple, rapid, sensitive and reproducible nature of the procedure [24]. The extent of the inhibition of ABTS was plotted as a function of concentration to compare with a standard amount of Trolox and the TEAC value. It was observed that higher the TEAC value of the sample, the stronger the antioxidant activity. The assay is also an excellent method for determining the antioxidant activity of many substances, such as hydrogen or electron-donating antioxidants (scavengers of aqueous phase radicals) and chain-breaking antioxidants (scavengers of lipid peroxyl radicals) [25].

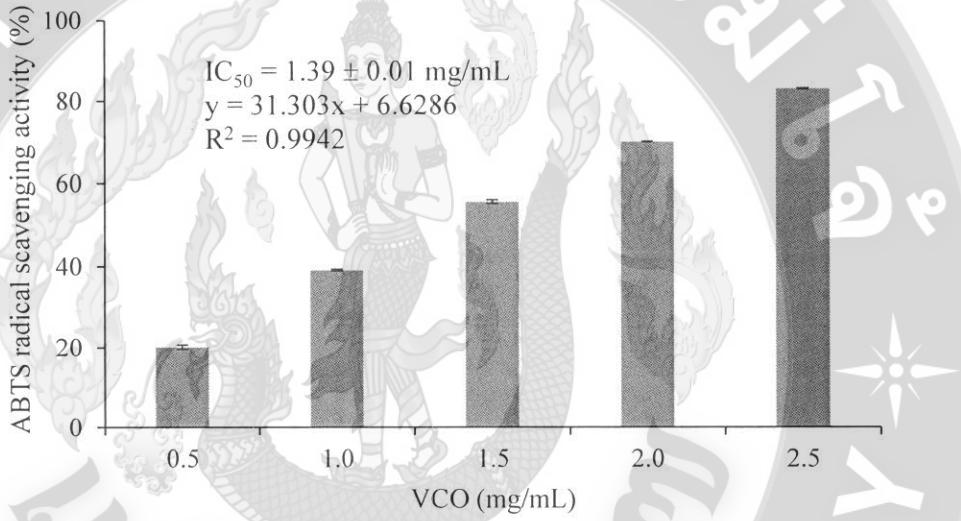


Figure 2. ABTS radical scavenging activity in virgin coconut oil

Figure 3 shows the scavenging activity of DPPH radical in the VCO. According to the linear regression analysis, the IC_{50} values of DPPH radical scavenging activity in the VCO and gallic acid were found to be 78.16 ± 0.60 and 0.04 ± 0.19 mg/mL, respectively. The gallic acid equivalent (GAE) value of the VCO was 0.56 ± 0.01 mg.

The DPPH assay is one of the most applied methods among antioxidant activity assays because it can accommodate samples in a short period of time and detect active ingredients at low concentrations [26]. The DPPH radical is a stable nitrogen-centred free radical. When the stable DPPH radical accepts an electron from the antioxidant compound, its colour changes from purple to yellow. The decrease in the absorbance of the DPPH radical is caused by antioxidants, due to the scavenging of the radical by donating hydrogen atoms [27]. The ABTS assay is based on the generation of bluish-green $ABTS^{+\cdot}$ chromophore, which can be solubilised in both

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

aqueous and organic solvents and is applicable to both hydrophilic and lipophilic antioxidant systems. However, the DPPH assay uses a radical dissolved in organic solvents (methanol) and is applicable to hydrophobic antioxidant systems [28].

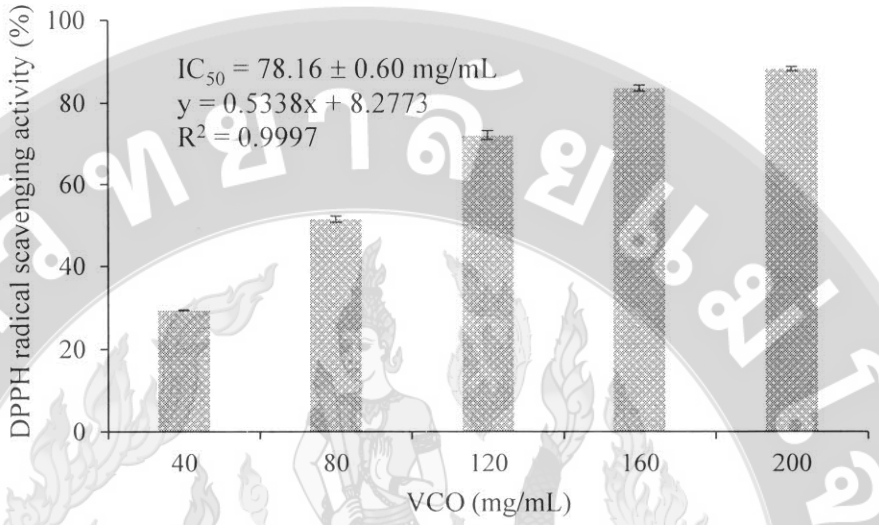


Figure 3. DPPH radical scavenging activity in the virgin coconut oil

VCO also scavenges superoxide radicals, as illustrated in Figure 4. The IC_{50} value of the VCO and gallic acid, which can be determined from the linear regression lines, were 27.43 ± 0.37 and 0.99 ± 0.02 mg/mL, respectively. The GAE value of the VCO was found to be 36.32 ± 0.75 mg.

A superoxide anion radical is an initial free radical formed from mitochondrial electron transport systems. Mitochondria generate energy using a four-electron chain reaction, reducing oxygen to water. Some of the electrons escaping from the mitochondrial chain directly react with oxygen and from superoxide anion. Although a relatively weak oxidant, $O_2^{-\bullet}$ exhibits limited chemical reactivity, but it can generate more dangerous species (other reactive oxygen species) in living systems, including hydrogen peroxide, hydroxyl radical or singlet oxygen [29], which induce oxidative damage in lipids, proteins and DNA [30]. In most organisms, $O_2^{-\bullet}$ is converted to hydrogen peroxide by superoxide dismutase. In the assay for superoxide anion radical scavenging activity, superoxide anion is induced in the PMS/NADH-NBT system. $O_2^{-\bullet}$ is derived from dissolved oxygen by a PMS/NADH coupling reaction that reduces NBT. With this method, $O_2^{-\bullet}$ reduces the yellow dye (NBT^{2+}) to produce blue formazan, which is measured spectrophotometrically at 560 nm. The decrease of

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

absorbance with antioxidants thus indicates the consumption of $O_2^{-\bullet}$ in the reaction mixture [31].

From the results of the three antioxidant assays, it can be concluded that VCO displays antioxidant properties. Its mechanism may lie in its hydrogen-donating ability or its quenching of superoxide anion radicals.

Tyrosinase is an enzyme involved in the rate-limiting step for the control of melanin production. Therefore, the inhibition of tyrosinase activity tends to induce skin whitening due to a reduction in melanin synthesis. The tyrosinase inhibitory activity of the VCO is shown in Figure 5. The IC_{50} value of tyrosinase inhibitory activity was determined from the linear regression lines. The IC_{50} values of the VCO and kojic acid were found to be 761.89 ± 18.85 and 0.39 ± 0.01 mg/mL, respectively.

Hyperpigmentation causes human skin aging and occurs as a result of both internal and external factors, including those related to hormones, UV exposure, drugs and the presence of various chemicals [32]. Melanin biosynthesis is a pathway that appears in melanocytes. The key enzyme that regulates melanin synthesis is tyrosinase, which is involved in two steps of melanin synthesis, including the hydroxylation of L-tyrosine to β-3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) and oxidation of L-DOPA to DOPAquinone, and further conversion to melanin [32]. In research on skin whitening, tyrosinase inhibitors are the most common approach to decreasing pigmentation processes [33].

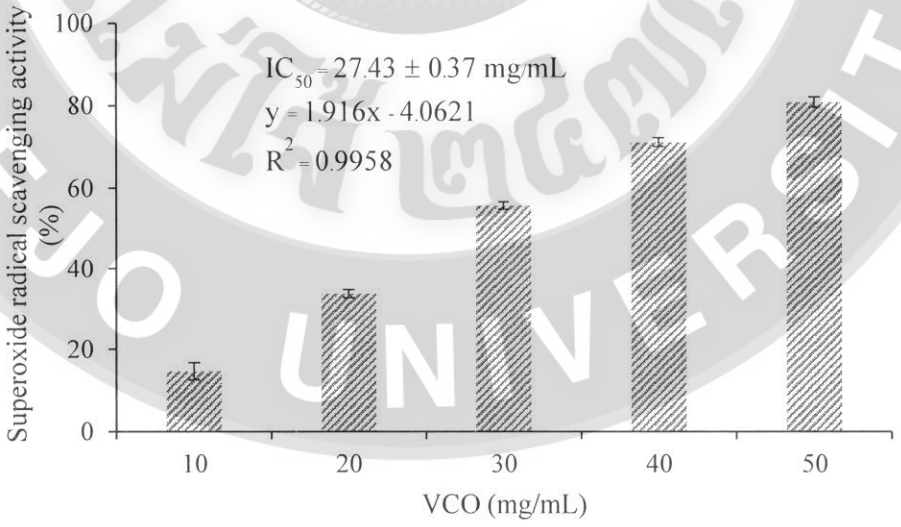


Figure 4. Superoxide radical scavenging activity in the virgin coconut oil

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

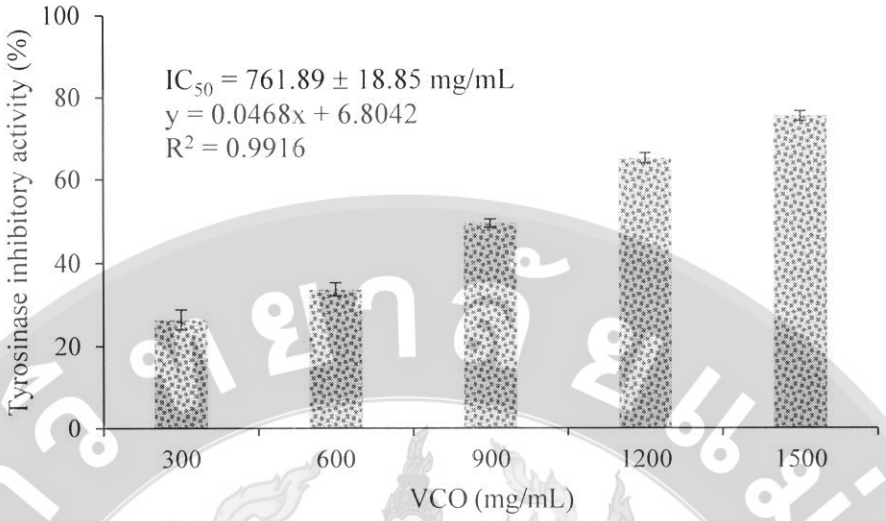


Figure 5. Tyrosinase inhibitory activity in the virgin coconut oil

VCO can also inhibit collagenase activity, as illustrated in Figure 6. An EGCG at 0.05 mg/mL showed the inhibition of collagenase activity at 65.48 ± 2.70%. The VCO, at 150, 300 and 600 mg/mL, presented inhibition collagenase activity of 9.51 ± 1.03%, 23.99 ± 1.02% and 47.47 ± 0.89%, respectively. The IC_{50} values of the VCO and EGCG were found to be 625.93 ± 11.62 and 0.015 ± 0.004 mg/mL, respectively.

Collagenase is the enzyme that digests the triple-helix structure of collagen, which is the major component of the ECM in the dermis layer of the skin [34]. Hence, the inhibition of collagenase activity could protect against collagen breakdown and subsequently, the wrinkling process.

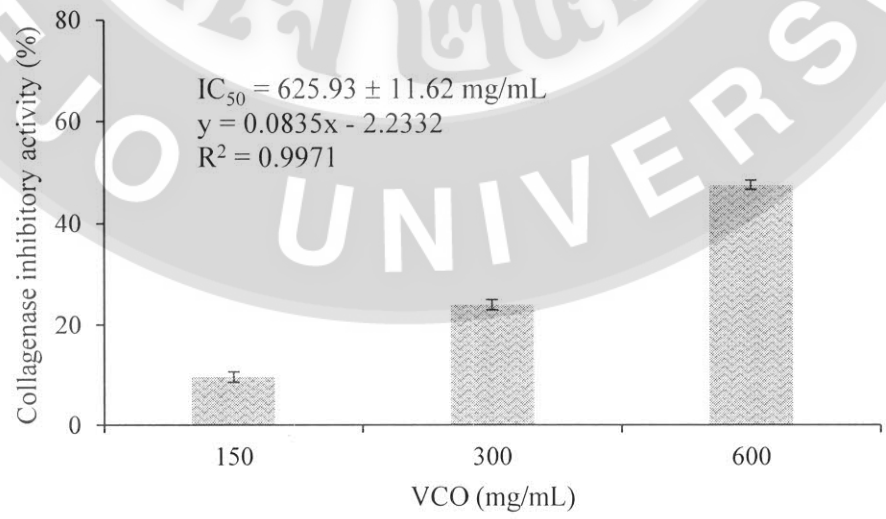


Figure 6. Effect of the virgin coconut oil on collagenase inhibitory activity

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

The formulated cream containing virgin coconut oil was analysed for its physical characteristics, including colour, pH and viscosity, as shown in Table 3. The cream was found to be of white colour, had good spreadability and presented no signs of phase separation when centrifuged at 5,000 rpm for 30 minutes.

During storage, a cosmetic formulation's thermal stability, colour and viscosity are the prime parameters that affect the formulation's acceptability. There were no significant differences ($p > 0.05$) in the viscosity and colour of all conditions comparative with start condition were found at room temperature, 4 °C, 45 °C and heating-cooling cycles. The pH of all conditions showed that there was no significant variation after the study period.

Table 3. Stability test of formulated cream after 45 days and heating/cooling for five cycles

Conditions	Colour			pH	Viscosity (cps)	Phase Separation
	L*	a*	b*			
Initial	62.35± 0.04[a]	1.32± 0.10[a]	6.35±0.04[a]	8.13± 0.06[a]	21962.33± 134.75[a]	none
RT	62.09± 0.54[a]	1.37± 0.08[a]	6.46±0.15[a]	8.11± 0.02[a]	21911.94± 231.90[a]	none
4 °C	62.28± 1.03[a]	1.48± 0.16[a]	6.35±0.04[a]	8.12± 0.02[a]	21774.00±93.38[a]	none
45 °C	61.67± 0.83[a]	1.43± 0.21[a]	6.36±0.08[a]	8.11± 0.04[a]	21994.22± 242.03[a]	none
H/C	61.31± 0.80[a]	1.53± 0.25[a]	6.37±0.05[a]	8.12± 0.06[a]	22202.50± 169.92[a]	none

Data expressed as mean ± standard deviation of triplicate measurements. Averages with different letters in the same column are different ($p < 0.05$). RT: room temperature, H/C: heating/cooling conditions.

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

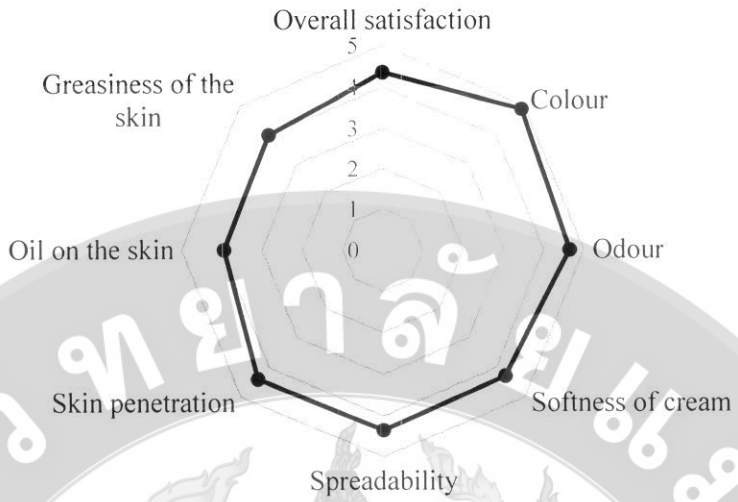


Figure 7. Volunteers' satisfaction with the cream

To evaluate the VCO cream, 20 volunteers were asked to answer a questionnaire to evaluate their satisfaction with the cream after use. The satisfaction of the cream was determined in terms of its colour, odour, softness, ability to be spread on the skin, ability to penetrate through to the skin, amount of oil left on the skin, greasy feeling of the skin and overall cream satisfaction. Volunteers' satisfaction was determined by a five-point Likert scale, in which the point value represented the volunteers' feelings about how well the product worked, from very well (5) to very poorly (1). The results revealed that the volunteers' satisfaction with the VCO cream was high to very high, with responses between "well" and "very well" for all areas measured. These are presented in Figure 7.

Regarding its physical appearance, the volunteers were very highly satisfied with the colour and odour of the cream. In terms of how it felt during use, the volunteers were highly satisfied with its softness, spreadability on the skin and its ability to penetrate the skin. In addition, they were highly satisfied with the amount of oil left on the skin and the extent to which the cream left a greasy feeling on the skin. They were most satisfied with the cream's colour, at 4.90 ± 0.31, while they were least satisfied with the amount of oil left on the skin (3.95 ± 0.60). These results indicate that, overall, the volunteers were highly satisfied with the cream. Additionally, the volunteers experienced no skin allergies or skin irritation during the two-week testing period.

In cosmetic products, argan oil and rosehip oil are popular plant oils used in skincare. Pagliuca et al. [35] reported that argan (*Argania spinose*) oil, an expensive product to obtain, is made with unroasted kernels; it is used to treat dry skin, acne,

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

wrinkles and joint paint and to prevent hair loss and dry hair. Argan oil contains 43% oleic acid, 36% linoleic acid and 16% palmitic acid [36]. Mármol et al. [37] reported that rosehip (*Rosa canina*) seed oil was composed of linoleic acid (40-56%), α-linolenic acid (20-30%), and oleic acid (14-20%). These oils have been used in cosmetics because of their therapeutic effects on skin disorders. In contrast, VCO has a high proportion of MCFAs, made up mainly of lauric acid. This study showed that VCO displays antioxidant, anti-tyrosinase and anti-collagenase properties. In this light, alongside argan oil and rosehip oil, VCO is a good alternative ingredient for cosmeceutical products.

CONCLUSIONS

VCO showed inhibitory activity against free radicals (ABTS, DPPH and superoxide radical), tyrosinase and collagenase, all of which are involved in skin aging. Therefore, VCO has the potential to be used as a functional ingredient in cosmeceutical products developed for anti-aging applications, such as whitening and anti-aging skincare meant to decrease oxidative stress, hyperpigmentation and wrinkles in the facial skin. The results revealed that volunteers were highly satisfied with the VCO cream and they had no skin irritation.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge the use of the services and facilities of the Center of Excellence in Agricultural Innovation for Graduate Entrepreneurs, Central Laboratory of Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand. This research was supported by Research and Researcher for Industry (RRi) grant PHD58I0076 and Ampol Food Processing Co., Ltd., Nakhon Pathom, Thailand.

REFERENCES

1. T. Chattuwatthana and E. Okello, "Anti-collagenase, anti-elastase and antioxidant activities of *Pueraria candollei* var. mirifica root Extract and *Coccinia grandis* fruit juice extract: An in vitro study", *European J. Med. Plants*, **2015**, *5(4)*, 318-327.
2. B. Poljšak and R. Dahmane, "Free radicals and extrinsic skin aging", *Dermatol. Res. Pract.*, **2012**, *2012*, 135206.
3. P. K. Mukherjee, N. Maity, N. K. Nema and B. K. Sarkar, "Bioactive compounds from natural resources against skin aging", *Phytomed.*, **2011**, *19(1)*, 64-73.

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

4. H. J. Kim, J. Yun, J. Lee, H. Hong, J. Jeong, E. Kim, Y. S. Bae and K. J. Lee, "SUMO1 attenuates stress-induced ROS generation by inhibiting NADPH oxidase 2", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2011**, *410(3)*, 555-562.
5. M. Rinnerthale, J. Bischof, M. K. Streubel, A. Trost and K. Richter, "Oxidative stress in aging human skin", *Biomol.*, **2015**, *5(2)*, 545-589.
6. V. J. Hearing and M. Jiménez, "Mammalian tyrosinase-the critical regulatory control point in melanocyte pigmentation", *Int. J. Biochem.*, **1987**, *19(12)*, 1141-1147.
7. R. Rauniyar, M. S. Talkad, S. Sahoo, A. Singh and P. Harlalka, "Anti-tyrosinase activity of *Stachytarpheta cayennensis* in vitro", *Int. J. Inno. Res. Sci. Eng. Tech.*, **2014**, *3(7)*, 14259-14266.
8. Y. J. Kim and H. Uyama, "Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: Structure, inhibition mechanism and perspective for the future", *Cell. Mol. Life Sci.*, **2005**, *62(15)*, 1707-1723.
9. M. Masuda, K. Murata, S. Naruto, A. Uwaya, F. Isami and H. Matsuda, "Matrix metalloproteinase-1 inhibitory activities of *Morinda citrifolia* seed extract and its constituents in UVA-irradiated human dermal fibroblast", *Biol. Pharm. Bull.*, **2012**, *35(2)*, 210-215.
10. J. D. Raffetto and R. A. Khalil, "Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease", *Biochem. Pharmacol.*, **2008**, *75(2)*, 346-359.
11. K. Subermaniam, Q. H. M. Saad, S. Das and F. Othman, "Virgin coconut oil (VCO) decreases the level of Malondialdehyde (MDA) in the cardiac tissue of experimental Sprague-Dawley rats fed with heated palm oil", *J. Med. Bioeng.*, **2014**, *3(2)*, 102-106.
12. S. Intaphuak, P. Khonsung and A. Panthong, "Anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic activities of virgin coconut oil", *Pharm. Biol.*, **2010**, *48(2)*, 151-157.
13. Y. C. Wong and H. Hartina, "Virgin coconut oil production by centrifugation method", *Orient. J. Chem.*, **2014**, *30(1)*, 237-245.
14. S. D. House, "Determination of total, saturated, and monounsaturated fats in foodstuffs by hydrolytic extraction and gas chromatographic quantitation: Collaborative study", *J. AOAC. Int.*, **1997**, *80(3)*, 555-563.
15. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free Radic. Biol. Med.*, **1999**, *26(9-10)*, 1231-1237.
16. W. C. Hou, Y. C. Chen, H. J. Chen, Y. H. Lin, L. L. Yang and M. H. Lee, "Antioxidant activities of trypsin inhibitor, a 33 kDa root storage protein of sweet

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam cv. Tainong 57", *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, *49(6)*, 2978-2981.

17. M. Nishikimi, N. Rao and K. Yagi, "The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1972**, *46(2)*, 849-854.
18. T. Y. Lim, Y. Y. Lim and C. M. Yule, "Evaluation of antioxidant, antibacterial and anti-tyrosinase activities of four Macaranga species", *Food Chem.*, **2009**, *114(2)*, 594-599.
19. H. E. Van Wart and D.R. Steinbrink, "A continuous spectrophotometric assay for *Clostridium histolyticum* collagenase", *Anal. Biochem.*, **1981**, *113(2)*, 356-365.
20. N. Akhtar, B. A. Khan, M. S. Khan, T. Mahmood, H. M. S. Khan, M. Iqbal and S. Bashir, "Formulation development and moisturising effects of a topical cream of *Aloe vera* extract", *Int. J. Med. Health Biomed. Bioeng. Pharmaceut. Eng.*, **2011**, *5(3)*, 128-136.
21. T. Nakatsuji, M. C. Kao, J. Y. Fang, C. C. Zouboulis, L. Zhang, R. L. Gallo and C. M. Huang, "Antimicrobial property of lauric acid against Propionibacterium acnes: Its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris", *J. Invest. Dermatol.*, **2009**, *129(10)*, 2480-2488.
22. D. Yang, D. Pornpattananangkul, T. Nakatsuji, M. Chan, D. Carson, C. M. Huang and L. Zhang, "The antimicrobial activity of liposomal lauric acids against Propionibacterium acnes". *Biomater.*, **2009**, *30(30)*, 6035-6040.
23. W. C. Huang, T. H. Tsai, L. T. Chuang and Y. Y. Li, "Anti-bacterial and anti-inflammatory properties of capric acid against Propionibacterium acnes: A comparative study with lauric acid", *J. Dermatol. Sci.*, **2014**, *73(3)*, 232-240.
24. L. K. MacDonald-Wicks, L. G. Wood and M. L. Garg, "Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: A review", *J. Sci. Food Agri.*, **2006**, *86(13)*, 2046-2056.
25. K. Pavithra and S. Vadivukkarasi, "Evaluation of free radical scavenging activity of various extracts of leaves from *Kedrostis foetidissima* (Jacq.) Cogn.", *Food Sci. Hum. Wellness*, **2015**, *4(1)*, 42-46.
26. X. L. Piao, I. H. Park, S. H. Baek, H. Y. Kim, M. K. Park and J. H. Park, "Antioxidative activity of furanocoumarins isolated from *Angelicae dahuricae*", *J. Ethnopharmacol.*, **2004**, *93(2-3)*, 243-246.
27. D. Kumar, S. Kumar, J. Singh, Narender, Rashmi, B. Vashistha and N. Singh, "Free radical scavenging and analgesic activities of *Cucumis sativus L.* fruit extract", *J. Young Pharm.*, **2010**, *2(4)*, 365-368.

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

28. A. Floegel, D. O. Kim, S. J. Chung, S. I. Koo and O. K. Chun, "Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods", *J. Food Compos. Anal.*, **2011**, *24(7)*, 1043-1048.
29. S. H. Lee, G. S. Seo and D. H. Sohn, "Inhibition of lipopolysaccharide-induced expression of inducible nitric oxide synthase by butein in RAW 264.7 cells", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2004**, *323(1)*, 125-132.
30. P. G. Pietta, "Flavonoids as antioxidant", *J. Nat. Prod.*, **2000**, *63(7)*, 1035-1042.
31. D. Saha and S. Paul, "Evaluation of antioxidant and free radical scavenging activities of different fractions of *Pterospermum suberifolium* leaf extract", *Thai J. Pharm. Sci.*, **2014**, *38(1)*, 28-35.
32. G. E. Costin and V. J. Hearing, "Human skin pigmentation: Melanocytes modulate skin color in response to stress", *FASEB. J.*, **2007**, *21(4)*, 976-994.
33. H. M. Wang, C. Y. Chen and Z. H. Wen, "Identifying melanogenesis inhibitors from *Cinnamomum subavenium* with *in vitro* and *in vivo* screening systems by targeting the human tyrosinase". *Exp. Dermatol.*, **2011**, *20(3)*, 242-248.
34. F. M. Watt and H. Fujiwara, "Cell-extracellular matrix interactions in normal and diseased skin", *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2011**, *3(4)*, a005124.
35. G. Pagliuca, C. Bozzi, F. R. Gallo, G. Multari, G. Palazzino, R. Porra and A. Panusa, "Triacylglycerol 'hand-shape profile' of argan oil. Rapid and simple UHPLC-PDA-ESI-TOF/MS and HPTLC methods to detect counterfeit argan oil and argan-oil-based products", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2018**, *150*, 121-131.
36. F. Khallouki, C. Younos, R. Soulimani, T, Oster, Z. Charrouf, B. Spiegelhalder, H. Bartsch and R. W. Owen, "Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects", *Eur. J. Cancer Prev.*, **2003**, *12(1)*, 67-75.
37. I. Mármol, C. Sánchez-de-Diego, N. Jiménez-Moreno, C. Ancín-Azpilicueta and M. J. Rodríguez-Yoldi, "Therapeutic applications of rose hips from different *Rosa* species", *Int. J. Mol. Sci.*, **2017**, *18(6)*, 1137.

© 2019 by Maejo University, San Sai, Chiang Mai, 50290 Thailand. Reproduction is permitted for noncommercial purposes.

2833711823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

การยับยั้งอนุมูลอิสระและเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนสของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์และผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด

Inhibition of free radicals and matrix metalloproteinase of virgin coconut oil and its pain relief product

อุเทน จำใจ[1] ญานี พงษ์ไพบูลย์[2] นริศรา ไล้เลิศ[3] และ ดวงพร อมรเลิศพิศาล[4, 5*]

Uten Jamjai[1] Yanee Pongpaibul[2] Narissara Lailerd[3] and Doungporn Amornlerdpisan[4*]

[1]สาขาสหวิทยาการเกษตร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[1]Interdisciplinary Agriculture Program, Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

[2]ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพายัพ เชียงใหม่ 50000

[2]Department of Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Payap University, Chiang Mai, Thailand 50000

[3]ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[3]Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand 50200

[4]คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[4]Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

[5]ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางการเกษตรสำหรับบัณฑิตผู้ประกอบการ

[5]Center of Excellence in Agricultural Innovation for Graduate Entrepreneur, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

*Corresponding author: doungpornfishtech@gmail.com

Abstract

The virgin coconut oil (VCO) was extracted from fresh and mature coconut meat (*Cocos nucifera* Linn.) without using chemical reagent or heating in process. The VCO is colorless and clear, it has the aroma of fresh coconut. The present study was carried out to determine VCO for phenolic contents, antioxidant, matrix metalloproteinase inhibitory activities, and then to formulate VCO pain relief product and evaluated their stability of

the product. The results revealed that the phenolic contents of VCO was 14.79 ± 0.19 mg GAE. The VCO presented DPPH and superoxide radical scavenging activities with GAE value of 0. 56 ± 0. 01 mg and 36. 32 ± 0. 75 mg, respectively. Additionally, matrix metalloproteinase inhibitory activity can be reduced inflammation and protected degradation of cartilage which VCO had the highest inhibitory effect against MMP-9 as 84.53 ± 1.00 % . The pain relief ointment product has been developed using VCO as active ingredient. The stability of formulation was tested with subjecting samples at room temperature, 4 °C and 45 °C for 45 days and heating-cooling cycles at intervals of 24 hours over 5 cycles. The product demonstrated good physical stability under the various conditions. The results of product satisfaction revealed that highly satisfied with the VCO ointment and no skin irritation in 20 volunteers.

Keywords: Virgin coconut oil, Antioxidant activity, Anti-matrix metalloproteinase activity, Pain relief product

บทคัดย่อ

น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (virgin coconut oil, VCO) ถูกสกัดด้วยกระบวนการผลิตที่ไม่ผ่านความร้อนและสารเคมี น้ำมันมีลักษณะใส ไม่มีสี และมีกลิ่นของเนื้อมะพร้าวสด ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนสของ VCO จากนั้นนำไปเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์บรรเทาอาการปวดที่มี VCO เป็นส่วนผสม และศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ผลจากการศึกษาพบว่า VCO มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อตัวอย่าง 1 กรัม (GAE) เท่ากับ 14.79 ± 0.19 มิลลิกรัม มีฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระทั้งดีพีพีเอช (DPPH) และอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ โดยมีค่า GAE เท่ากับ 0.56 ± 0.01 มิลลิกรัม และ 36.32 ± 0.75 มิลลิกรัม ตามลำดับ ส่วนฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส (MMP) ที่ช่วยลดการอักเสบและป้องกันการเสื่อมของข้อ พบว่า VCO มีฤทธิ์การยับยั้ง MMP-9 สูงที่สุด เท่ากับ 84.53 ± 1.00% จากฤทธิ์ชีวภาพดังกล่าวจึงนำ VCO ไปพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์บรรเทาปวดรูปแบบขี้ผึ้ง และทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์โดยเก็บที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4 °C และ 45 °C เป็นระยะเวลา 45 วัน รวมถึงการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่งที่อุณหภูมิ 4 °C และ 45 °C สลับกันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 5 รอบ พบว่า ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวดีทางกายภาพในทุกสภาวะ และเมื่อนำไปทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 20 คน พบว่า อาสาสมัครมีความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์โดยรวมดีมาก และไม่มีอาการระคายเคืองตลอดช่วงเวลาทดสอบ

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

คำสำคัญ: น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรตินเนส ผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด

คำนำ

น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (virgin coconut oil; VCO) เป็นผลผลิตที่ได้จากการสกัดน้ำมันออกจากเนื้อมะพร้าว(Cocos nucifera Linn.) โดยไม่ผ่านความร้อนและสารเคมี หรือเรียกว่าน้ำมันมะพร้าวสกัดเย็น ทำให้ได้น้ำมันที่มีลักษณะใส ไม่มีสี เป็นหนึ่งในน้ำมันที่ได้รับความนิยมนำมาใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพและอาหารฟังก์ชัน (Marina et al., 2009) VCO มีกรดลอริคซึ่งเป็นกรดไขมันสายปานกลางในปริมาณสูงกว่าร้อยละ 50 (Dayrit, 2014) มีการนำ VOC มาใช้บำรุงผิวและเส้นผม ทำให้ผมดกดำเป็นเงา และยังถูกนำมาใช้กลั้วปากโดยสามารถกำจัดแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของกลิ่นปาก (Tjin et al., 2016; Kaushik et al., 2016) และยังมีฤทธิ์ในการต้านอักเสบ ฤทธิ์ระงับปวด และลดไข้ (Intaphuak et al., 2010)

อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวในอะตอมหรือโมเลกุล ซึ่งมีความไวสูงต่อการเกิดปฏิกิริยา อนุมูลอิสระกลุ่มที่ไวต่อการทำปฏิกิริยา คือกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\bullet-}$) อนุมูล ไฮดรอกซิล ($OH^{\bullet}$) อนุมูลอัลโคซิล ($RO^{\bullet}$) และอนุมูลไนตรัส ($NO^{\bullet}$) เป็นต้น อนุมูลเหล่านี้สามารถทำอันตรายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อ เป็นผลให้เกิดภาวะที่เซลล์และร่างกายถูกออกซิไดส์จนเกินสมดุล (oxidative stress) ส่งผลให้เกิดการเสื่อมของเซลล์และเกิดการทำลายเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย และอาจนำไปสู่พยาธิสภาพต่างๆ ได้แก่ ภาวะทางระบบหลอดเลือดและหัวใจ (cardiovascular disease) ความจำเสื่อม (Alzheimer) มะเร็ง (cancer) และข้อเสื่อม (arthritis) เป็นต้น (Liou and Storz, 2010; Panth et al., 2016; Lepetsos and Papavassiliou, 2016; Huang et al., 2016) โดยมีการรวบรวมรายงานวิจัยจำนวนมากพบว่า สารประกอบฟีนอลิกที่พบในผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีฤทธิ์ในการยับยั้งหรือต้านการเกิดออกซิเดชัน (anti-oxidant) ต้านการอักเสบ และช่วยป้องกันการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังต่างๆ ได้ดี โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างสารสื่อกลาง (pro-inflammatory mediators) และหรือการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (Ambriz-Pérez et al, 2016)

เมทริกซ์เมทัลโลโปรตินเนส (matrix metalloproteinases; MMPs) เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลายโปรตีนเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix; ECM) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการแก่ของผิว (aging) การอักเสบ และมีส่วนเกี่ยวข้องในการพัฒนาและแพร่กระจายของมะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งตับ และมะเร็งปอด เป็นต้น (Radisky and Radisky, 2015; Pittayapruek et al., 2016; Naim et al., 2017; Merchant et al., 2017) นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในโรคกระดูกเสื่อม เช่น โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) และโรคข้อเสื่อม (osteoarthritis) (Itoh, 2017; Li et al., 2017)

มีรายงานการศึกษาทางพรีคลินิกที่ให้ข้อมูลน่าสนใจเกี่ยวกับการยับยั้งเอนไซม์ MMP สามารถรักษาโรคที่เกี่ยวกับการอักเสบทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง มะเร็งต่างๆ และข้ออักเสบ (Hu et al., 2007; Wu et

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

al., 2018; Winer et al., 2018) ดังนั้นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ MMP อาจมีประโยชน์ในการรักษาและบรรเทาอาการอักเสบจากโรคกระดูกเสื่อม นอกจากนี้ในตำรับยาแผนโบราณมีการนำน้ำมันมะพร้าวมาใช้ทานวด เพื่อช่วยบำบัดรักษาโรคกระดูกและข้อ บรรเทาอาการปวดเมื่อยร่างกาย และลดอาการอักเสบของผิวหนัง ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิก และฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์หรือ VCO ที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ฤทธิ์การขจัดอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ MMP ร่วมกับการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์บรรเทาอาการปวดจาก VCO

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมน้ำมันมะพร้าวสกัดบริสุทธิ์

สกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (virgin coconut oil;) ตามวิธีการของ Wong และ Hartina (2014) ดังนี้ นำน้ำกะทิ 1 กิโลกรัม นำมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman's เบอร์ 4 จากนั้นนำส่วนที่กรองได้แช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาตั้งที่อุณหภูมิห้องเพื่อละลายน้ำแข็ง ต่อมานำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแยกตะกอน ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ที่ได้เก็บไว้ในขวดที่มีฝาปิด แล้วเก็บที่อุณหภูมิห้อง ปริมาณร้อยละของผลผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์เท่ากับ 8.8

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ตามวิธีการของ Hammerschmidt และคณะ (1978) ผสมสารตัวอย่าง 0.20 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu 1.00 มิลลิลิตร และสารละลาย 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต 0.80 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-51 series, Trulab) โดยใช้สารมาตรฐานคือ กรดแกลลิค (gallic acid) รายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารทดสอบ (mg GAE/g sample)

การศึกษาฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระ

ฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช

วิเคราะห์ฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging assay) ตามการทดสอบของ Hou et al. (2001) โดยเตรียมสารตัวอย่างปริมาตร 0.30 มิลลิลิตร ละลายใน Tris-HCl buffer (pH 7.9) ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 0.2 มิลลิโมลาร์ของอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (diphenyl-picryhydrazyl radical, $DPPH^{\bullet}$) ปริมาตร 0.60 มิลลิลิตร บ่มในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว

2833771823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

คลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-51 series, Trulab) ใช้กรดแกลลิค (gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน คำนวณร้อยละการขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ดังนี้

ร้อยละการขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (%) = $((A_{ควบคุม} - A_{ตัวอย่าง})/A_{ควบคุม}) \times 100$

โดย $A_{ควบคุม}$ และ $A_{ตัวอย่าง}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม และค่าการดูดกลืนแสงของหลอดตัวอย่าง

เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับความเข้มข้นของกรดแกลลิคที่แสดงฤทธิ์เท่ากัน (Gallic Acid Equivalent, GAE) รายงานผลมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมของสารตัวอย่าง (mg GAE/g extract)

การศึกษาฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์

ฤทธิ์การขจัดอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical scavenging assay) ตามวิธีการของ Nishikimi et al. (1972) โดยผสม 156 ไมโครโมลาร์ของสารละลาย nitroblue tetrazolium (NBT) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และ 468 ไมโครโมลาร์ของสารละลาย nicotinamide adeninedinucleotide (NADH) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กับสารตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 60 ไมโครโมลาร์ของสารละลาย phenazine methosulphate (PMS) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิคเป็นสารมาตรฐาน คำนวณร้อยละการขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ ดังนี้

ร้อยละการขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ (%) = $((A_{ควบคุม} - A_{ตัวอย่าง})/A_{ควบคุม}) \times 100$

โดย $A_{ควบคุม}$ และ $A_{ตัวอย่าง}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม และค่าการดูดกลืนแสงของหลอดตัวอย่าง

เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับความเข้มข้นของกรดแกลลิคที่แสดงฤทธิ์เท่ากัน (Gallic Acid Equivalent, GAE) รายงานผลมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมของสารตัวอย่าง (mg GAE/g extract)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส (matrix metalloproteinase; MMP) ตามวิธีการของ Panyathep (2013) โดยใช้ชุดการทดสอบ (Enzo Life Sciences AK016) ละลาย VCO ใน dimethyl sulfoxide (DMSO) ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เพื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ MMPs (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 และ MMP-13) และใช้ N-Isobutyl-N-(4-methoxyphenyl-sulfonyl) glycyl hydroxamic acid (NNGH) เป็นสารยับยั้งเอนไซม์มาตรฐาน นำส่วนผสมที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นเติมซับสเตรท Omni-MMP fluorogenic แล้วนำไปวัดค่าเอนไซม์ MMP ด้วยแสงฟลูออเรสเซ้นต์ (fluorescence signal) ที่ Ex/Em 328/420 นาโนเมตร คำนวณค่าเอนไซม์ MMP จากสมการ

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

ค่าเอนไซม์ MMP = (ค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง / ค่าดูดกลืนแสงของ MMP ควบคุม)

การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บรรเทาปวด

การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บรรเทาปวดรูปแบบขี้ผึ้ง (oleaginous ointment) ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี โดยพิจารณาจากลักษณะที่มองเห็น ได้แก่ ลักษณะของเนื้อผลิตภัณฑ์ สี กลิ่น และการประเมินความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ โดยในตำรับผลิตภัณฑ์มีส่วนประกอบของ น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (VCO) พาราฟิน (paraffin) ขี้ผึ้ง (bees wax) ปิโตรลาทัม (petrolatum) เชียบัตเตอร์ (shea butter) ลาโนลิน (lanolin) เมนทอล (menthol) เมทิลซาลิไซเลต (methyl salicylate) และการบูร (camphor) ชั่งส่วนประกอบทั้งหมด หลังจากนั้นหลอมให้เข้ากันโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงและบรรจุใส่ภาชนะที่มีฝาปิด

การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์

การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ดัดแปลงตามวิธีการของ Chantree (2015) โดยพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพจากเนื้อสัมผัสและสีของผลิตภัณฑ์ ความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่ 3 สภาวะ ได้แก่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 45 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 45 วัน และทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่งโดยเก็บไว้ที่ความร้อนสลับเย็น (heating-cooling cycle) จำนวน 5 รอบ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงสลับกับที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 1 รอบ

การประเมินความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์

ทดสอบความพึงพอใจและการยอมรับหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ โดยใช้แบบสอบถามในอาสาสมัครจำนวน 20 คน แบบสอบถามประกอบด้วย ข้อมูลส่วนตัว ความพึงพอใจและการยอมรับต่อผลิตภัณฑ์ โดยมีเกณฑ์ระดับความพึงพอใจ 5 ระดับ จากน้อยไปมาก ดังนี้ 1 = ไม่ชอบ (dislike), 2 = ชอบน้อย (slight), 3 = ชอบปานกลาง (moderate), 4 = ชอบมาก (good) และ 5 = ชอบมากที่สุด (excellent) และแสดงความพึงพอใจในแต่ละระดับเป็นร้อยละ (% satisfaction) โดยได้ชี้แจงให้อาสาสมัครทราบก่อนการทดสอบว่า หากมีอาการแพ้ เช่น อาการแดง (erythema) และอาการบวม (edema) ให้หยุดใช้ทันที

ผลการวิจัย

ในการศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ชีวภาพในการขจัดอนุมูลอิสระของ VCO พบว่า มีสารประกอบฟีนอลิกมีค่ามิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิคต่อกรัมของสารตัวอย่าง (GAE) เท่ากับ 14.79 $\pm$ 0.19 มิลลิกรัม โดยมีฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช และฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ มีค่า GAE เท่ากับ 0.56 $\pm$ 0.01 มิลลิกรัม และ 36.32 $\pm$ 0.75 มิลลิกรัม ตามลำดับ ส่วนค่าความเข้มข้นของ VCO ต่อการขจัด

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

อนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (50% Inhibitory concentration; IC_{50}) แสดงใน Table 1 การเพิ่มความเข้มข้นของ VCO จะสามารถเพิ่มฤทธิ์ในการขจัดอนุมูลอิสระทั้งสองชนิดได้ดี โดย VCO ขนาด 20-100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ได้ร้อยละ 34-83 ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่าการขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชที่ได้ร้อยละ 19-62 ดังแสดงใน Figure 1

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Table 1 Antioxidant activities and phenolic compound of virgin coconut oil

	mg GAE/g extract	IC_{50} (mg/mL)
DPPH radical scavenging	0.56 ± 0.01	78.16 ± 0.60
Superoxide radical scavenging	36.32 ± 0.75	27.43 ± 0.37
Total phenolic contents	14.79 ± 0.19	-

Data expressed as mean ± standard deviation of triplicate measurements.
GAE expressed as mg gallic acid per gram of VCO

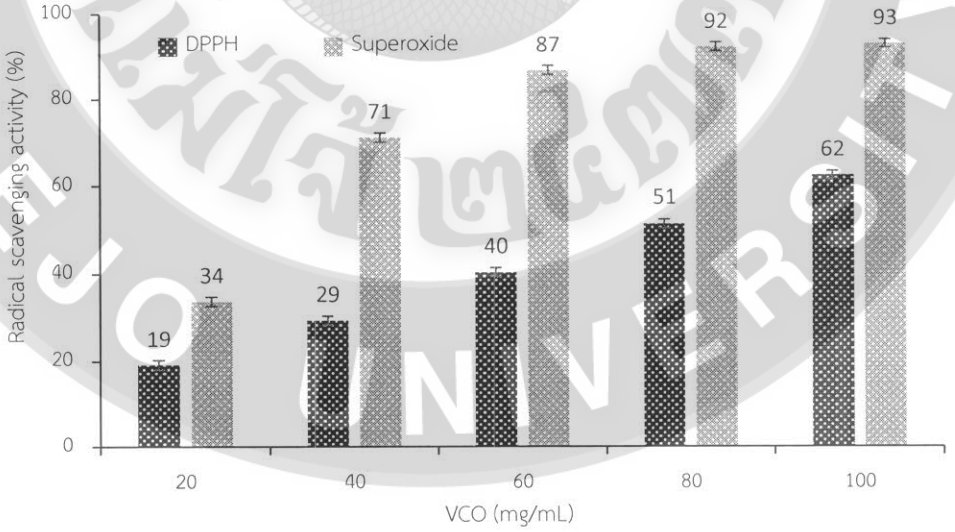


Figure 1 Free radicals scavenging activity of virgin coconut oil against DPPH and superoxide radicals

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส 5 ชนิด ได้แก่ MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 และ MMP-13 ผลการยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนสของ VCO แสดงใน Figure 2 ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่า น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีความสามารถในการยับยั้งกลุ่มเอนไซม์ MMP ได้หลากหลายชนิด โดยมีค่าการยับยั้งในช่วง 50-85% ซึ่งน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีฤทธิ์การยับยั้ง MMP-9 สูงที่สุด เท่ากับ 84.53 $\pm$ 1.00 % โดยระดับ MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 และ MMP-13 ใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ที่แสดงถึง กระบวนการย่อยสลายโปรตีนเมทริกซ์นอกเซลล์ และกระบวนการอักเสบของร่างกาย

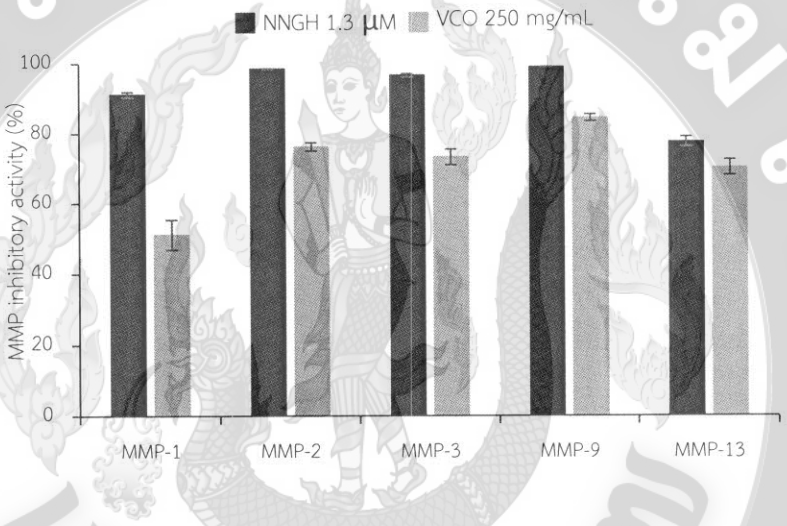


Figure 2 Matrix-metalloproteinase inhibitory activity of the virgin coconut oil

จากการพัฒนาตำรับขี้ผึ้งบรรเทาปวดที่มีน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์เป็นส่วนผสม ตำรับที่ได้มีสีของเนื้อขี้ผึ้งเป็นสีขาว มีกลิ่นหอมสมุนไพรอ่อนๆ เนื้อของขี้ผึ้งมีความแข็ง เมื่อทาแล้วสามารถกระจายตัวได้ดี ไม่เป็นก้อน และไม่มีการแยกชั้น เมื่อนำมาทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์โดยการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่า สี กลิ่น และความแข็งของขี้ผึ้งยังคงสภาพเดิม และขี้ผึ้งไม่มีการเปลี่ยนแปลงหลังการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่ง (ร้อนสลับเย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 5 รอบ) ดังแสดงใน Table 2

Table 2 Stability test of VCO ointment product under the various conditions

Conditions	Colour	Odour	Texture	Separation

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Initial	white	soft aroma	hard	none
RT	white	soft aroma	hard	none
4 °C	white	soft aroma	hard	none
45 °C	white	soft aroma	hard	none
H/C	white	soft aroma	hard	none

RT: room temperature, H/C: heating/cooling

ผลการประเมินความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งบรรเทาปวดผสมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ในอาสาสมัครจำนวน 20 คน ทั้งเพศหญิงและเพศชาย อายุระหว่าง 30-50 ปี พบว่า จากการประเมินโดยรวมของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ สี กลิ่น เนื้อของผลิตภัณฑ์ การกระจายตัว การซึมเข้าสู่ผิว ความมัน ความเหนอะ และความพึงพอใจโดยรวม อยู่ในระดับชอบมากถึงชอบมากที่สุด ดังแสดงใน Figure 3 อาสาสมัครมีความพึงพอใจต่อสีของผลิตภัณฑ์สูงที่สุด เท่ากับ 4.80 ± 0.41 ในขณะที่มีความพึงพอใจต่อการซึมเข้าสู่ผิวน้อยที่สุด เท่ากับ 4.10 ± 0.79

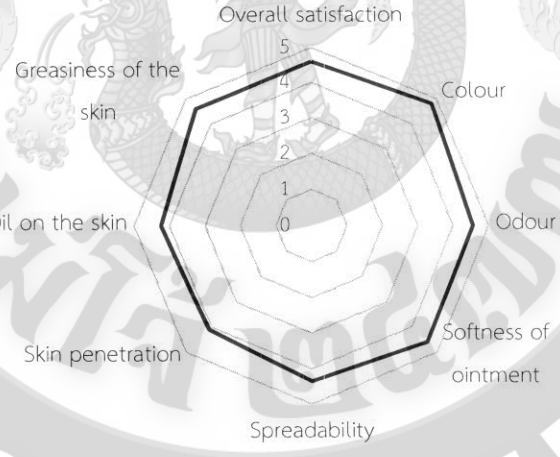


Figure 3 Volunteers' satisfaction with the VCO ointment product

วิจารณ์ผลการวิจัย

สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารทุติยภูมิที่พบทั่วไปในพืช และมีรายงานการวิจัยจำนวนมากพบว่าเป็นสารสำคัญที่มีฤทธิ์ชีวภาพในการต้านการเกิดออกซิเดชัน และต้านการอักเสบได้ มีผลการศึกษาของ Annuar (2012) และ Ahmad และคณะ (2015) พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของ VCO ที่สกัดด้วยวิธีปั่นเหวี่ยงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 4.34 ± 0.09 mg GAE/ 100 กรัม VOC และ 16.02 ± 0.44 mg GAE/

MAEJO UNIVERSITY
283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

100 กรัม VOC ตามลำดับ ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้มีปริมาณ 14.79 $\pm$ 0.19 mg GAE/ 1 กรัม VOC ซึ่งสูงกว่ารายงานดังกล่าว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวัตถุดิบมะพร้าว วิธีการสกัด ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด และวิธีวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน

อนุมูลอิสระมีผลต่อเซลล์และสารชีวโมเลกุลในร่างกายทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อในร่างกาย ทำให้เกิดการอักเสบ ซึ่งเป็นกลไกการป้องกันสิ่งแปลกปลอมที่เกิดกับเซลล์หรือเนื้อเยื่อของร่างกายที่ได้รับบาดเจ็บ เพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมเหล่านั้นออกจากร่างกาย ส่งเสริมเซลล์และเนื้อเยื่อให้เกิดการซ่อมแซม การอักเสบที่เกิดจากความเครียดออกซิเดชันเป็นสาเหตุของโรคเรื้อรังหลายชนิด รวมถึงข้อเสื่อม และข้ออักเสบรูมาตอยด์ (Biswas et al., 2017) จากรายงานของ Marina และคณะ (2009) พบว่าฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของ VCO ที่ได้จากการสกัดแยกน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ด้วยการหมัก (fermentation method) และการใช้ความร้อนสลับความเย็น (heating-cooling method) มีค่า IC_{50} ในช่วง 1.24-3.23 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ในการขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชที่สูงกว่าในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งวิธีการสกัดแบบปั่นเหวี่ยง (centrifugation method) และใช้ระยะเวลาสกัดสั้นกว่า อย่างไรก็ตาม VCO ที่สกัดได้ในการศึกษาครั้งนี้มีค่า IC_{50} ในการขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ได้สูงกว่าอนุมูลอิสระดีพีพีเอชถึง 3 เท่า และในขนาด 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ยังสามารถขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ได้ถึงร้อยละ 93 ซึ่งอนุมูลชนิดนี้สามารถทำลายเนื้อเยื่อและอาจนำไปสู่พยาธิสภาพต่างๆ ได้

เอนไซม์ MMPs มีความสัมพันธ์กับกระบวนการอักเสบ โดยเป็นตัวควบคุมกระบวนการอักเสบ การแสดงออกของเอนไซม์ MMPs ที่เพิ่มขึ้น จะถูกพบได้ในกระบวนการอักเสบส่วนใหญ่ที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย ซึ่งเอนไซม์ MMPs ทำหน้าที่ควบคุมกลไกการป้องกันตนเอง (barrier function) ไซโทไคน์ที่กระตุ้นการอักเสบ (inflammatory cytokine) และกิจกรรมของคีโมไคน์ (chemokine activity) (Nissinen and Kähäri, 2014; Fingleton, 2017) ฤทธิ์ต้านเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนสของ VCO นั้น อาจมาจากความสามารถการไปจับกับ Zn^{2+} ไอออนที่ช่วยในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส ส่งผลให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติ สอดคล้องกับการศึกษาของ Huang et al. (2011) ระบุว่ากรดเอลลาจิก (ellagic acid) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก สามารถยับยั้งเอนไซม์ MMP-2 เนื่องจากความสามารถในการจับกับ Zn^{2+} ไอออน นอกจากนี้การศึกษาของ Calabriso et al. (2016) รายงานว่าสารกลุ่มฟีนอลิกได้แก่ ทรานส์เรสเวอราทรอล (trans-resveratrol) ทรานส์พีซิด (trans-piceid) แคมเฟอรอล (kaempferol) และเควอเซติน (quercetin) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ MMP-2 และ MMP-9 ดังนั้นสารประกอบฟีนอลิกที่พบในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์จึงน่าจะเป็นสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส

จากฤทธิ์ชีวภาพของ VCO สรุปได้ว่า มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และเป็นสารต้านเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส จึงมีศักยภาพในการนำไปเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ (functional ingredient) จึง

283371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

นำไปเป็นส่วนผสมที่สำคัญในตำรับผลิตภัณฑ์บรรเทาการอักเสบของกล้ามเนื้อและข้อ โดยมีผลการประเมินความพึงพอใจของอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์ขี้ผึ้งผสม VCO ในระดับมากถึงดีมาก นอกจากนี้ยังไม่พบอาการแพ้ หรือระคายเคืองผิวหนังในอาสาสมัครอีกด้วย

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช และอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันมะพร้าวสกัดบริสุทธิ์แสดงให้เห็นว่าน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส 1, 2, 3, 9 และ 13 ซึ่งช่วยลดการอักเสบ และการเสื่อมสลายของข้อ เมื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์บรรเทาปวดในรูปแบบขี้ผึ้งที่มีส่วนผสมของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ พบว่าผลิตภัณฑ์มีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่ดี รวมถึงความคงสภาพของผลิตภัณฑ์เมื่อครบเวลาทดสอบไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง เมื่อทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครพบว่า อาสาสมัครมีความพึงพอใจโดยรวมอยู่ในระดับดีมาก

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) สำหรับทุนสนับสนุนการวิจัยระดับปริญญาเอกภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) รหัสโครงการ PHD58I0076 ร่วมกับบริษัทอำพลฟูดส์ โพรเซสซิ่ง จำกัด ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ และศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางการเกษตรสำหรับบัณฑิตผู้ประกอบการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สำหรับการสนับสนุนด้านสถานที่และอุปกรณ์ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Ahmad, Z., R. Hasham, N.F. Aman Nor, and M.R. Sarmidi. 2015. Physico-chemical and antioxidant analysis of virgin coconut oil using west African tall variety. **J. Adv. Res. Mater. Sci.** 13(1):1-10.

Ambriz-Pérez, D. A., N. Leyva-López, P. Erick Gutierrez-Grijalva and J. Basilio. 2016. Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A review. **J. Cogent Food & Agriculture**. 2 (1): 1131412.

Annuar, N.A.B.S.. 2012. **Lipid and phytochemicals profiles of non-heat treated virgin coconut oil.** Master dissertation. University Technology Malaysia. 33 p.

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Biswas, S., R. Das and E.R. Banerjee. 2017. Role of free radicals in human inflammatory diseases. **AIMS Biophys.** 4(4): 596-614.

Calabriso, N., M. Massaro, E. Scoditti, M. Pellegrino, I. Ingrosso, G. Giovinazzo, and M.A. Carluccio. 2016. Red grape skin polyphenols blunt matrix metalloproteinase-2 and -9 activity and expression in cell models of vascular inflammation: protective role in degenerative and inflammatory diseases. **Molecules.** 21(9): 1147. 18 p.

Dayrit, F.M. 2014. Lauric acid is a medium-chain fatty acid, coconut oil is a medium-chain triglyceride. **Philippine J. Sci.** 143(2): 157-166.

Fingleton, B. 2017. Matrix metalloproteinases as regulators of inflammatory processes. **Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.** 1864(11): 2036-2042.

Hou, W.C., Y.C. Chen, H.J. Chen, Y.H. Lin, L.L. Yang and M.H. Lee. 2001. Antioxidant activities of trypsin inhibitor, a 33 KDa root storage protein of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam cv. Tainong 57). **J. Agri. Food Chem.** 49(6): 2978-2981.

Hu, J., P.E. Van den Steen, Q.X. Sang and G. Opdenakker. 2007. Matrix metalloproteinase inhibitors as therapy for inflammatory and vascular diseases. **Nat. Rev. Drug Discov.** 6(6): 480-498.

Huang, S.T., R.C. Yang, H.T. Wu, C.N. Wang, and J.H. Pang. 2011. Zing-chelation contributes to the anti-angiogenic effect of ellagic acid on inhibiting MMP-2 activity, cell migration and tube formation. **PLoS One.** 6(5): e18986. 11 p.

Huang, W.J., X. Zhang and W.W. Chen. 2016. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. **Biomed. Rep.** 4(5): 519-522.

Intaphuak, S., P. Khonsung and A. Panthong. 2010. Anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic activities of virgin coconut oil. **Pharm. Biol.** 48(2): 151-157.

Itoh, Y. 2017. Metalloproteinases in rheumatoid arthritis: potential therapeutic targets to improve current therapies. **Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.** 148: 327-338.

Kaushik, M., P. Reddy, R. Sharma, P. Udameshi, N. Mehra and A. Marwaha. 2016. The effect of coconut oil pulling on *Streptococcus mutans* count in saliva in comparison with chlorhexidine mouthwash. **J. Contemp. Dent. Pract.** 17(1): 38-41.

Lepetsos, P. and A.G. Papavassiliou. 2016. ROS/oxidative stress signaling in osteoarthritis. **Biochim. Biophys. Acta.** 1862(4): 576-591.

Li, H., D. Wang, Y. Yuan and J. Min. 2017. New insights on the MMP-13 regulatory network in the pathogenesis of early osteoarthritis. **Arthritis Res. Ther.** 19(1): 248. 12 p.

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

Liou, G.Y. and P. Storz. 2010. Reactive oxygen species in cancer. **Free Radical Res.** 44(5): 10715761003667554, 31 p.

Marina, A.M., Y.B. Che Man and I. Amin. 2009. Virgin coconut oil: emerging functional food oil. **Trends Food Sci. Tech.** 20(10): 481-487.

Merchant, N., G.P. Nagaraju, B. Rajitha, S. Lammata, K. Jella, Z. Buchwald, S. Lakka and A. Ali. 2017. Matrix metalloproteinases: their functional role in lung cancer. **Carcinogenesis.** 38(8):766-780.

Naim, A., Q. Pan and M.S. Baig. 2017. Matrix metalloproteinases (MMPs) in liver diseases. **J. Clin Exp. Hepatol.** 7(4): 367-372.

Nishikimi, M., N. Appaji and K. Yagi. 1972. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 46(2): 849-854.

Nissinen, L. and V.M. Kähäri. 2014. Matrix metalloproteinases in inflammation. **Biochim. Biophys. Acta.** 1840(8): 2571-2580.

Panth, N., K.R. Paudel and K. Parajuli. 2016. Reactive oxygen species: a key hallmark of cardiovascular disease. **Adv. Med.** 2016: 9152732, 12 p.

Pittayapruek, P., J. Meephansan, O. Prapapan, M. Komine and M. Ohtsuki. 2016. Role of matrix metalloproteinases in photoaging and photocarcinogenesis. **Int. J. Mol. Sci.** 17(6): 868.

Radisky, E.S. and D.C. Radisky. 2015. Matrix metalloproteinases as breast cancer drivers and therapeutic targets. **Front. Biosci.** 20(7): 1144-1163.

Tjin, L.D., A.S. Setiawan and E. Rachmawati. 2016. Exposure time of virgin coconut oil against oral *Candida albicans*. **Padjadjaran J. Dent.** 28(2): 89-94.

Winer, A., S. Adams and P. Mignatti. 2018. Matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy: turning past failures into future successes. **Mol. Cancer Ther.** 17(6): 1147-1155.

Wong, Y.C. and H. Hartina. 2014. Virgin coconut oil production by centrifugation method. **Orient. J. Chem.** 30(1): 237-245.

Wu, Y. E.L. Goh, D. Wang and S. Ma. 2018. Novel treatments for osteoarthritis: an update. **Open Access Rheumatol.** 10: 135-140.

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25

การประกวดผลงานนวัตกรรม

ผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวหน้าที่มีส่วนผสมของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ในการประชุมวิชาการและประกวดนวัตกรรมบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 1 (1st National Graduate Research Conference and Creative Innovation Competition) ระหว่าง วันที่ 17-18 สิงหาคม 2560 ณ โรงแรมดิเอ็มเพรส จังหวัดเชียงใหม่

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25
2833371823

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นายอุเทน จำใจ
เกิดเมื่อ	18 มีนาคม 2524
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี สาขาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่
	ปริญญาโท สาขาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่
ประวัติการทำงาน	เข้าร่วมและนำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการ "โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ครั้งที่ 3" วันที่ 24 กรกฎาคม 2560 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพมหานคร
	เข้าร่วมการประกวดผลงานในงานประกวดนวัตกรรมบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 1 (1st National Graduate Research Conference and Creative Innovation Competition; 1st GCIC) วันที่ 17-18 สิงหาคม 2560 ณ โรงแรมดิเอ็มเพรส จังหวัดเชียงใหม่
	นำเสนอผลงานปากเปล่า ในงานประชุมวิชาการ 2nd GCIC, 46th National and 9th International Graduate Research Conference วันที่ 17-18 พฤษภาคม 2561 ณ โรงแรมดิเอ็มเพรส จังหวัดเชียงใหม่
	เข้าร่วมการประชุมวิชาการ "โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ครั้งที่ 4" วันที่ 23 กรกฎาคม 2561 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพมหานคร
	นำเสนอผลงานแบบปากเปล่า ในงานประชุมวิชาการระดับชาติ มศว. วิจัย ครั้งที่ 12 วันที่ 20-21 มีนาคม 2562 ณ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร

2833371823 MJU iThesis 5713501003 dissertation / recv: 25112562 14:38:09 / seq: 25