รายงานการวิจัย

เรื่อง

อิทธิพลของส่วนประกอบในแชมพูเหลวใสที่มีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบน

Influence of Clear Liquid Shampoo Components on Preservative Activity of Paraben

โดย

นางสาวสุวิภา ศรีเอี่ยม

นายเสน่ห์ แก้วนพรัตน์

นางสาวสิริรัศมิ์ ปิ่นสุวรรณ

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

ประเภททุนอุดหนุนการวิจัยสำหรับนักวิจัยใหม่

ปี 2535

เลขหมู่ QK61 ส๗5 2536ง ค.1

เลขทะเบียน .....

.....15 ต.ค. 2537.....

วัตถุกันเสีย - วิจัย

Order Key ...ง๑๖...

BIB Key ...๖๑๖๖๐...

คำหลัก Preservative Activity, Paraben, Shampoo Components, Sodium Lauryl Ether Sulfate, Coconut Fatty Acid Diethanolamide, Aloe Gel, Disodium Ethylenediaminetetraacetic Acid

บทคัดย่อ

ได้ทำการทดสอบสาร 4 ชนิด ซึ่งใช้เป็นส่วนประกอบในแชมพูเหลวใส ได้แก่ โซเดียมลอริลอีเธอร์ซัลเฟต (Texapon N 8000®) โคโคนัท แฟตตี้แอซิด ไดเอธาโนลาไมด์ (Comperlan KD®) เจลว่านหางจระเข้ และไดโซเดียมเอธิลลีนไดเอมีนเตตระอะซีติก แอซิด (Disodium EDTA)ในความเข้มข้นต่าง ๆ ถึงผลกระทบที่มีต่อการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบน(Paraben) โดยประเมินประสิทธิภาพของสารกันเสียตามเกณฑ์มาตรฐานของเภสัชตำรับอเมริกา เล่มที่ 22(USP XXII) โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิด คือ *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *C. albicans* และ *A. niger* จากการศึกษาพบว่าไดโซเดียมเอธิลลีนไดเอมีนเตตระอะซีติก แอซิดช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบน ต่อเชื้อทุกชนิดที่ใช้ทดสอบ ในขณะที่สารอีก 3 ชนิด ทำให้ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบนลดลง โดยขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของสารที่ใช้และเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ

Abstract

Four substances, sodium lauryl ether sulfate, coconut fatty acid diethanolamide, aloe gel and disodium ethylenediaminetetraacetic acid ,used as clear shampoo components,were tested for their effects on preservative activity of paraben. Each of them was formulated in various concentrations with paraben and effectiveness of preservative was determined by standard method of USP XXII. Four microorganisms i.e. *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *C. albicans* and *A. niger* were used in this test.

The results showed that disodium ethylenediaminetetraacetic acid increased the effectiveness of paraben for all tested microorganisms.On the contrary the three others components decreased the effectiveness of paraben depending on types and concentrations of the shampoo components and types of microorganisms.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ii
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ii
สารบัญเรื่อง	iii
บทนำ	1
วัสดุและวิธีการทดลอง	3
ผลการทดลองและการวิจารณ์ผลการทดลอง	8
สรุปผลการทดลอง	19
เอกสารอ้างอิง	20

บทนำ

แชมพูเหลวใส (Clear Liquid Shampoo) เป็นรูปแบบที่นิยมใช้ ทั้งนี้เพราะมีคุณสมบัติที่ดีหลายประการเช่น สวยงามน่าใช้ วินออกจากภาชนะง่าย เกิดฟองเร็ว ล้างน้ำออกได้ง่าย ส่วนประกอบที่สำคัญของแชมพูเหลวใส คือ (ก) สารลดแรงตึงผิวหลักซึ่งทำหน้าที่ทำความสะอาดผมและหนังศีรษะ ซึ่งนิยมใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบในกลุ่ม alkyl ether sulfate และสารลดแรงตึงผิวชนิด amphoteric (ข) สารช่วยลดแรงตึงผิวทำหน้าที่เสริมคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวหลักที่ขาดหายไปบางประการ เช่น ช่วยเพิ่มฟอง ช่วยเพิ่มอำนาจการชะล้าง ที่นิยมใช้คือ สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุในกลุ่ม alkalonamides และ (ค) สารเสริมผลิตภัณฑ์แชมพู เป็นสารที่ช่วยเสริมหรือปรุงแต่งให้ผลิตภัณฑ์แชมพูเหลวใสมีคุณสมบัติและรูปแบบตามที่ต้องการ รวมทั้งช่วยเสริมความคงสภาพความสวยงามน่าใช้ของผลิตภัณฑ์เพื่อให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งสารเหล่านี้บางชนิดจำเป็นต้องเติมลงไปในสูตรตำรับ เช่น สารกันเสีย สารช่วยให้ใส เป็นต้น (1,2)

พาราเบนเป็นสารกันเสียชนิดแรกที่นำมาใช้ในการป้องกันเชื้อรา และยังนิยมใช้ในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นสารที่มีพิษต่ำ ความเข้มข้นที่ใช้ไม่ระคายเคือง ออกฤทธิ์ได้ในช่วงความเป็นกรดด่างกว้าง มีผลต่อเชื้อราและแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (2,3,4,5) แต่เชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดที่พบว่าปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ใช้ในห้องน้ำเช่น *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*,*Candida albicans* เป็นต้น เป็นสาเหตุของโรคร้ายที่สำคัญ เชื้อเหล่านี้หลายชนิดที่เกิดการดื้อต่อสารกันเสีย ทำให้ประสิทธิภาพในการกันเสียในผลิตภัณฑ์ไม่เพียงพอ(6,7) อีกทั้งสารลดแรงตึงผิวซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในแชมพูสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารกันเสียซึ่งโดยทั่วไปจะทำให้ประสิทธิภาพของสารกันเสียลดลง มีรายงานว่าสารลดแรงตึงผิวชนิดที่ไม่มีประจุ เช่น polysorbate และสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่หลายชนิดที่ได้จากธรรมชาติลดประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบน (4, 8, 9, 10, 11) รวมทั้งสารลดแรงตึงผิวหลายชนิดสามารถเป็นแหล่งพลังงานให้กับแบคทีเรียและเชื้อราได้(9) เช่น Pseudomonas สามารถใช้สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ(anionic detergents) เป็นแหล่งคาร์บอนและซัลเฟอร์(12) โดยเฉพาะเมื่อใช้สารลดแรงตึงผิวในความเข้มข้นที่สูงกว่า critical micelles concentration ทำให้โมเลกุลของสารกันเสียเข้าไปอยู่ในไมเซลล์ทำให้ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ (10) ในบางตำรับใช้พาราเบนสูงถึง 2.5 % เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสียโดยวิธี Challenge test ก็ยังไม่สามารถกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้ในขณะที่เมธิลพาราเบนเพียง 0.2% ในน้ำก็มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์(13) นอกจากนี้ส่วนประกอบบางชนิดยังเป็นแหล่งอาหารที่ดีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น สารจากธรรมชาติที่นิยมนำมาใช้เตรียมแชมพู (เช่น ไข่ โปรตีน เบียร์ น้ำมะกรูด เจลว่านหางจระเข้)(14) น้ำที่ใช้เตรียมแชมพู สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุในความเข้มข้นที่ใช้เตรียมแชมพูหรือสารลดแรงตึงผิวประจุลบที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 15 แต่ในบางกรณีส่วนประกอบบางชนิดอาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสารกันเสียได้ เช่น การใช้สารลดแรงตึงผิวในความเข้มข้นต่ำ ๆ(ต่ำกว่า CMC) ทำให้

แรงดึงระหว่างผิวที่ผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ลดลง จึงเป็นการเร่งการซึมผ่านของโมเลกุลสารกันเสียให้เข้าไปในเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์(9,10) การใช้EDTAซึ่งเป็นสารชีเควสเทอร์ สารนี้จะไปทำปฏิกริยาเคมีกับเกลือโลหะหนักที่ไม่ละลายเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลาย เมื่อเติมลงในแชมพูจะช่วยทำให้แชมพูใสขึ้น รวมทั้งสามารถลดการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับสารลดแรงดึงผิวชนิดไม่มีประจุจึงช่วยเพิ่มการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบนด้วย(4,9,15)

การเตรียมแชมพูเหลวใสในขั้นอุตสาหกรรมต้องเผชิญกับปัญหาความคงตัวของผลิตภัณฑ์เช่นเดียวกับเครื่องสำอางอื่น ๆ เป็นการยากที่จะบ่งว่าควรจะใช้สารกันเสียชนิดใดในความเข้มข้นเท่าใดจึงจะเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์นั้นๆ เพราะถ้าใช้สารกันเสียในความเข้มข้นสูงจะเป็นอันตรายต่อผู้ใช้ แต่ที่ความเข้มข้นต่ำ การออกฤทธิ์ของสารกันเสียจะน้อย อีกทั้งประสิทธิภาพของสารกันเสียยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ ความเป็นกรดด่าง วิธีการเตรียม การบรรจุ สภาพที่เก็บรักษา ลักษณะภายนอกของผลิตภัณฑ์แชมพูในบางครั้งไม่สามารถแสดงถึงความปลอดภัยในการใช้ของผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ เนื่องจากมีการตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์แชมพูที่มีเชื้อเป็นล้านตัวต่อกรัม ซึ่งถือว่าไม่ปลอดภัยตามข้อกำหนดของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอางะแชมพูของประเทศไทย แต่ลักษณะภายนอกที่ปรากฏของแชมพูไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งจะมีความเสี่ยงต่อความปลอดภัยของผู้ใช้อย่างแน่นอน (1,2, 12,16) ดังนั้นผู้ผลิตจะต้องศึกษาถึงอิทธิพลที่มีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารกันเสียเป็นอย่างดีเพื่อให้แน่ใจว่าสารกันเสียที่เลือกใช้นั้นสามารถทำให้ผลิตภัณฑ์คงสภาพ รวมทั้งป้องกันผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ให้ปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์

ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาถึงชนิดและความเข้มข้นของส่วนประกอบในแชมพูเหลวใส ที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบนทั้งการเปลี่ยนแปลงในทางด้านบวกและลบ เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกใช้สารกันเสียพาราเบนในความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเตรียมตำรับเครื่องสำอางและตำรับยาให้คงตัวโดยพิจารณาจากส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เป็นสำคัญ

วัสดุและวิธีการทดลอง

สารเคมี

ว่านหางจระเข้

Sodium Lauryl Ether Sulfate (Texapon N 8000®) (Henkel)

Coconut Fatty Acid Diethanolamide (Comperlan KD®) (Henkel)

Ascorbic Acid (Roche)

Citric Acid (เภสัชพานิช)

Sodium Chloride (เภสัชพานิช)

Disodium Ethylenediaminetetraacetic Acid (Farmitalia Carlo Erba)

Methylparaben USP/BP Powder (Sanfu)

Propylparaben USP/BP Powder (Sanfu)

Propylene Glycol USP Grade (Asahi Denko Kogyo K.K.)

Soybean Casein Digest Agar Medium USP Dehydrate (Difco Laboratories)

Sabouraud Dextrose Agar Dehydrate (Difco Laboratories)

เครื่องมือ

1. Autoclave (Hirayama Mfg. Corp.)
2. ตู้อบ (Incubator) รุ่น B5060E (Haracus)
3. เตาอบลมร้อน (Hot air oven) รุ่น OM 25 (Clayson)
4. pH meter SA 520 (Orion)
5. เครื่องวัดความหนืด Brookfield LVTDV-IICP
6. Laminar Air Flow (Biohazard BHA 48 Astercair)
7. Vortex - Genie (Scientific Industries INC.)

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมตำรับเพื่อใช้ในการทดลอง

   สูตรตำรับประกอบด้วย

   1. สาร (ก) X %
   2. สารกันเสีย (ข) Y %
   3. น้ำบริสุทธิ์ qs 100 %

หมายเหตุ 1. สาร (ก) หมายถึงสารที่คาดว่าจะมีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารกันเสีย โดยเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น 4 ค่าให้อยู่ในช่วงที่ใช้เป็นส่วนประกอบในแชมพูใส ได้แก่

(1) สารลดแรงตึงผิวหลัก ได้แก่ Sodium Lauryl Ether Sulfate ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวประจุลบ โดยใช้ Texapon N 8000®(สารลดแรงตึงผิว 26.5-28.5%) ในความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 %

หรือ (2) สารเพิ่มฟอง, เพิ่มความข้น ได้แก่ Coconut Fatty Acid Diethanolamide ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุโดยใช้ Comperlan KD®(สารลดแรงตึงผิว 90%) ในความเข้มข้น 2, 3, 4 และ 5 %

หรือ (3) ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ ได้แก่ เจลว่านหางจระเข้ ความเข้มข้น 10 % โดยเตรียมดังนี้

- นำใบว่านหางจระเข้สดขนาดยาวประมาณ 20-30 ซม. ล้างให้สะอาด ใช้สำลีชุบแอลกอฮอลล์ 70 % เช็ดให้ทั่ว
- ใช้มีดสะอาดปอกเปลือกใบว่านออกโดยปอกส่วนสีเขียวออกให้หมด ตัดเป็นท่อนสั้น ชั่งน้ำหนักและนำไปแช่น้ำเพื่อล้างยางออกให้หมด
- นำวุ้นที่ได้มาปั่นโดยใช้เครื่องปั่นให้ก้อนวุ้นแตกออก แล้วกรองผ่านผ้าขาวบางเอากากออก
- นำวุ้นที่ได้เติมสารเคมีดังนี้ และคนให้ละลาย

วุ้นว่านหางจระเข้	100.0 g
Ascorbic Acid	0.120 g
Citric Acid	0.060 g
Sodium Chloride	0.075 g

หรือ (4) สารทำให้ใส ได้แก่ Disodium EDTA 1 %

2. สาร (ข) หมายถึงสารกันเสียพาราเบนโดยเตรียมในรูป Paraben Concentrate ใช้ในความเข้มข้น 1 % (เท่ากับความเข้มข้นที่ใช้ในการเตรียมตำรับเครื่องสำอางและยาทั่วไป)

ส่วนประกอบ - Methylparaben 10 %
- Propylparaben 2 %
- Propylene Glycol qs 100 %

รวมทั้งเตรียมตำรับควบคุม คือ ตำรับที่ไม่มีสาร(ก) และน้ำบริสุทธิ์ ซึ่งส่วนประกอบของตำรับทั้ง 12 ตำรับแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของสูตรตำรับที่ใช้ทดสอบ

ความเข้มข้นของสารเคมี (%)	สูตรตำรับที่											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Texapon N 8000®	10	20	30	40	-	-	-	-	-	-	-	-
Comperlan KD®	-	-	-	-	2	3	4	5	-	-	-	-
Aloe Gel	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-
Disodium EDTA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Paraben Concentrate	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-
Water qs	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

2. การประเมินประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียของตำรับที่เตรียมไว้ในข้อ 1. จำนวน 12 ตำรับโดยใช้วิธีมาตรฐานของเภสัชตำรับ USP XXII(17) เพื่อเป็นการพิสูจน์ถึงประสิทธิภาพในการทำงานของสารกันเสียว่ายังคงกำจัดเชื้อได้หรือไม่เมื่อเวลาผ่านไป

วิธีการทดสอบ

1. เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการทดสอบ
   (1) เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก : *Staphylococcus aureus* (ATCC No. 6538)
   (2) เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC No. 9027)
   (3) เชื้อรา : *Aspergillus niger* (ATCC No.16404)
   (4) ยีสต์ : *Candida albicans* (ATCC No. 10231)
2. เลี้ยงเชื้อทุกชนิดใน flask บนผิวหน้าของ soybean - casein digest agar media ให้นำเชื้อ *Ps. aeruginosa* และ *S. aureus*ไป incubate ที่ 30 - 35°ซ เป็นเวลา 18 - 24 ชม. ส่วนเชื้อ *C. albicans* และ *A. niger* เลี้ยงด้วย sabouraud dextrose agar นำไป incubate ที่ 20 - 25°ซ เป็นเวลา 48 ชม. และ 1 สัปดาห์ ตามลำดับ
3. ใช้น้ำเกลือล้างเชื้อจากผิวหน้าของ media นำเชื้อทั้งหมดไปปรับความขุ่นโดยวัดด้วย spectronic 20 ให้ได้ 25 % transmission ซึ่งจะมีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^8 ตัว/มล.หรือ 10^8สปอร์/มล.
4. ให้ทำ Plate count ของเชื้อแต่ละตัวด้วย media และ condition ที่ใช้ในข้อ 2. เพื่อตรวจนับจำนวนเชื้อที่แท้จริง
5. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างตำรับใส่ลงในหลอด ๆ ละ 20 มล. จำนวน 4 หลอด แล้วใส่เชื้อในข้อ 3. ที่ปรับความขุ่นแล้ว 0.1 มล. ลงในหลอด ๆ ละ 1 เชื้อ เพื่อให้ได้เชื้อ 10^5-10^6ตัวต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร
6. ให้ทำ Plate count เพื่อดูจำนวนเชื้อที่แท้จริงในยาแต่ละหลอด
7. นำหลอดในข้อ 5.ไป incubateที่ 20 - 25°ซ หลังจากเวลาผ่านไป 3,7,14,21 และ 28 วันให้สังเกตดูการเปลี่ยนแปลงลักษณะของตำรับ และทำ colony count ในแต่ละช่วงเวลา แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงปริมาณของเชื้อ
8. การประเมินผล : สารกันเสียยังคงมีประสิทธิภาพดีเมื่อผลออกมาดังนี้
   8.1 จำนวนของแบคทีเรียลดลงเหลือไม่มากกว่า 0.1 % ภายในเวลา 14 วัน
   8.2 จำนวนของยีสต์ และรา ยังคงมีจำนวนเท่าเดิมหรือน้อยกว่าเดิมเมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน
   8.3 เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมีจำนวนเท่ากับ หรือน้อยกว่าจำนวนในข้อ 8.1 และ 8.2 เมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน

3. เตรียมแชมพูเหลวใสของเจลว่านหางจระเข้ โดยเลือกใช้ส่วนประกอบต่างๆในความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งได้ข้อมูลจากผลการทดลองในข้อ 2. 4 สำหรับ ตังตารางที่ 2 และหลังจากเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 เดือน นำมาทดสอบดังนี้

3.1 ทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสียตามข้อ 2.

3.2 ศึกษาความคงตัวทางกายภาพ ได้แก่

- ความเป็นกรดด่าง
- ความหนืด
- การแยกชั้นของของเหลว
- สี
- กลิ่น
- ลักษณะอื่น ๆ ที่เปลี่ยนแปลงไปที่สังเกตได้

ตารางที่ 2 สูตรตำรับของแชมพูที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสีย

ความเข้มข้นของสารเคมี (%)	สูตรตำรับที่			
	13	14	15	16
Texapon N 8000®	40	40	40	40
Comperlan KD®	2	2	2	2
Aloe Gel	10	10	10	10
Disodium EDTA	1	-	1	-
Paraben Concentrate	1	1	2	2
Water qs	100	100	100	100

ผลการทดลองและการวิจารณ์ผลการทดลอง

การประเมินประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียโดยวิธีมาตรฐานของเภสัชตำรับ USP XXII นั้น สารกันเสียยังคงมีประสิทธิภาพดีก็ต่อเมื่อจำนวนแบคทีเรียลดลงเหลือไม่มากกว่า 0.1% ภายใน 14 วัน จำนวนของยีสต์และรายังคงมีจำนวนเท่าเดิมหรือน้อยกว่าเดิมเมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน และเมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดจะต้องมีจำนวนน้อยกว่าหรือเท่ากับจำนวนที่มีอยู่ในวันที่ 14 ซึ่งเมื่อนำตำรับที่เตรียมขึ้นและมีลักษณะทางกายภาพดังตารางที่ 3 มาทดสอบประสิทธิภาพได้ผลดังนี้

เมื่อใช้ Sodium Lauryl Ether Sulfate (SLES) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวประจุลบโดยใช้ Texapon N 8000® ในความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40% ผสมกับพาราเบน ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 1-4 พบว่าพาราเบนมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *S.aureus* และ *C.albicans* เข้ามาตรฐานทุกความเข้มข้นของ SLES ที่ผสม เมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งไม่มี SLES ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน แต่ในตำรับที่ใช้ Texapon N 8000® 10 % ประสิทธิภาพของพาราเบนที่ฆ่าเชื้อ *A. niger* ยังต่ำกว่ามาตรฐาน ถึงแม้ว่าประสิทธิภาพของของพาราเบนจะฆ่าเชื้อ *A. niger* เข้ามาตรฐานในสูตรที่มี Texapon N 8000® 20 % ขึ้นไปก็ตาม แต่ประสิทธิภาพของพาราเบนยังต่ำกว่าในสภาพที่ไม่มี SLES ส่วนประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *Ps. aeruginosa* ของพาราเบนที่มี SLES ผสมอยู่ทุกความเข้มข้นต่ำกว่ามาตรฐาน ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจาก *Ps. aeruginosa* สามารถใช้ SLES เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งซัลเฟอร์ได้(12) เมื่อเปรียบเทียบกับ control ที่ไม่มี SLES ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ*Ps. aeruginosa* จะดีกว่าเมื่อมี SLES ผสมอยู่

ผลของ Coconut Fatty Acid Diethanolamide (CFAD) ซึ่งใช้ Comperlan KD® ในความเข้มข้น 2, 3, 4 และ 5% แสดงดังรูปที่ 5-8 พบว่า CFAD ในช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบนลดลงอย่างชัดเจน เมื่อทดสอบกับเชื้อ *S.aureus, Ps.aeruginosa* และ *C.albicans* เห็นได้จากผลการทดสอบไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานฯ ส่วนการทดสอบกับ *A.niger* ถึงแม้ว่าการใช้ CFAD ในความเข้มข้น 2, 3 และ 4% จะผ่านเกณฑ์มาตรฐานฯ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับที่ 11 จะเห็นได้ว่า CFAD ทำให้อัตราเร็วในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของสารกันเสียพาราเบนลดลง ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจาก CFAD ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุซึ่งเกิดเป็นไมเซลล์ได้ในความเข้มข้นต่ำ และคาดว่าความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองสูงกว่า critical micelles concentration(9) CFAD จึงเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับพาราเบนทำให้ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของพาราเบนลดลง รวมทั้งตำรับที่ใช้ CFAD ทำให้ความเป็นกรด-ด่างของตำรับสูงกว่า 8 จึงทำให้การออกฤทธิ์ของสารกันเสียลดลง(18)

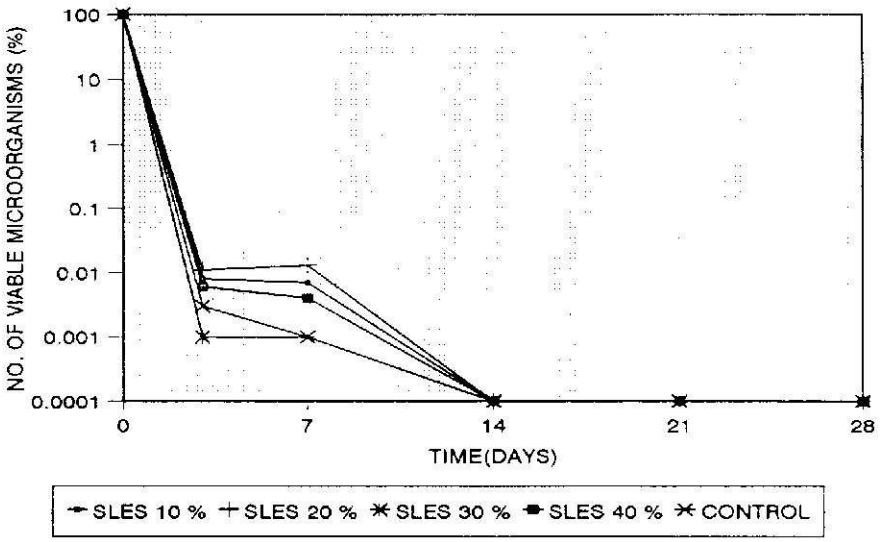
ตารางที่ 3 แสดงลักษณะตำรับที่เตรียมขึ้นเพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสียพาราเบน

สูตรตำรับ	pH	ลักษณะภายนอกที่สังเกตได้
1	6.81	ใสไม่มีสี มีกลิ่นเฉพาะของ Texapon N 8000®
2	6.79	"
3	6.82	"
4	6.82	"
5	8.24	ขุ่นขาว
6	8.51	"
7	8.70	"
8	8.85	"
9	4.16	ขุ่นเล็กน้อยเนื่องจากเจลว่านหางจระเข้
10	5.05	ใสไม่มีสี
11	6.33	ใสไม่มีสี
12	6.76	ใสไม่มีสี

การใช้ Aloe Gel ซึ่งเป็นสารจากธรรมชาติในความเข้มข้น 10% ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 9-12 จะเห็นได้ว่าการทดสอบกับเชื้อ *Ps.aeruginosa* และ *A.niger* ประสิทธิภาพของสารกันเสียพาราเบนลดลงอย่างเด่นชัดคือไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ถึงแม้ว่าสารกันเสียพาราเบนยังคงมีประสิทธิภาพดีเมื่อทดสอบกับ *S.aureus* และ *C.albicans* แต่อัตราเร็วในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์จะลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับที่ 11 ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจาก Aloe Gel เป็นอาหารที่ดีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

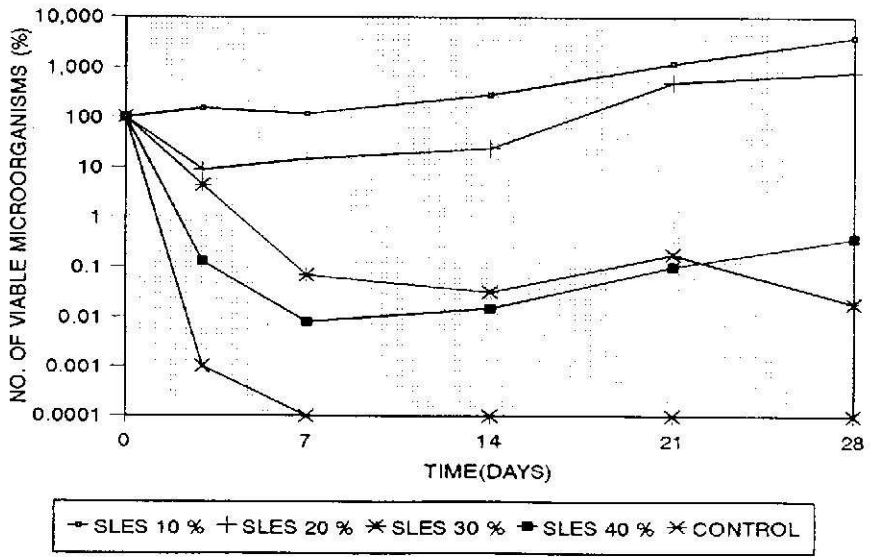
การใช้ disodium EDTA ในความเข้มข้น 1% ซึ่งนิยมใช้เพิ่มความใสให้กับผลิตภัณฑ์แชมพู และนอกเหนือจากที่มีรายงานว่าช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบนต่อ *Ps. aeruginosa* (4,15) จากการทดลองพบว่าช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสารกันเสียพาราเบนในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง *S.aureus, Ps.aeruginosa, C.albicans* และ *A.niger* ได้อย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับที่ 11 ดังรูปที่ 9-12

S. aureus

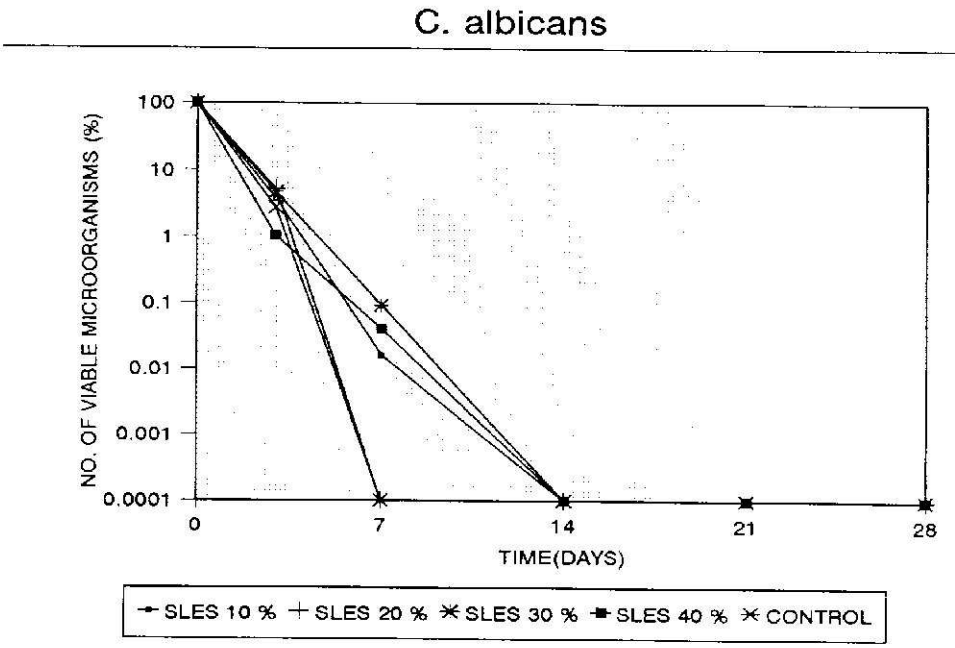


รูปที่ 1 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* ของพาราเบนที่มี SLES ความเข้มข้นต่าง ๆ

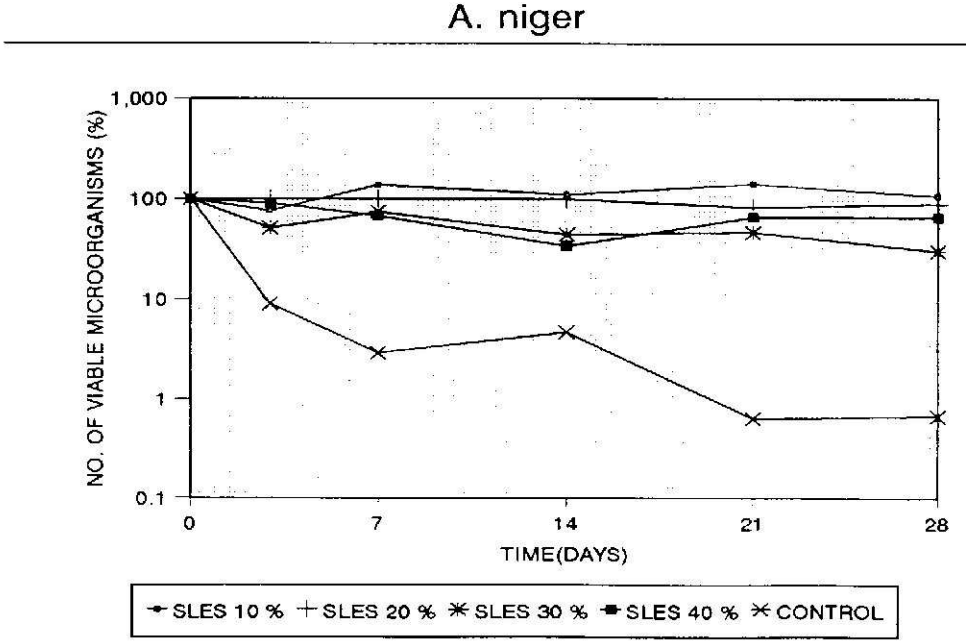
P. aeruginosa



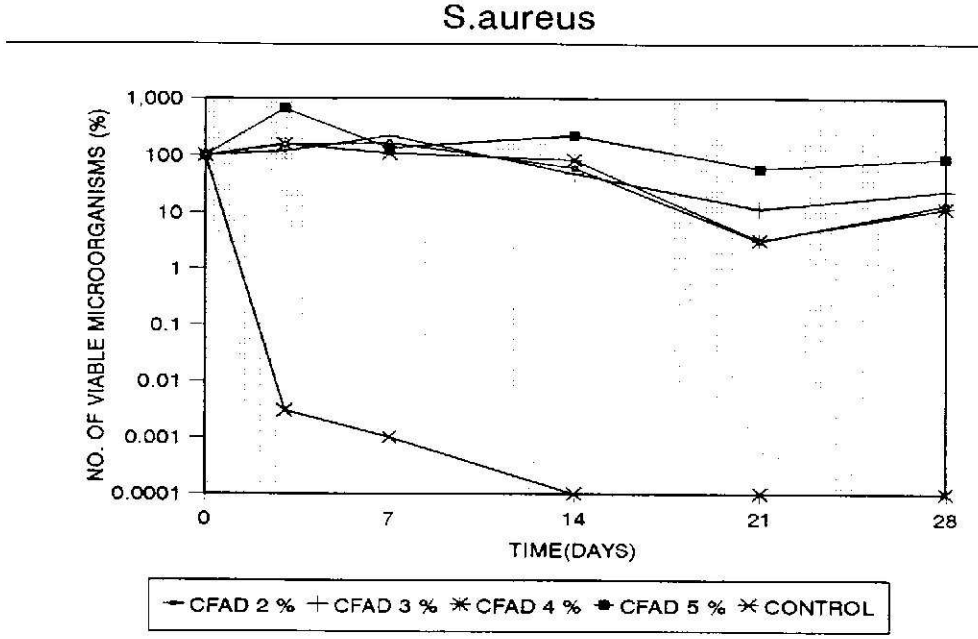
รูปที่ 2 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *Ps. aeruginosa* ของพาราเบนที่มี SLES ความเข้มข้นต่าง ๆ



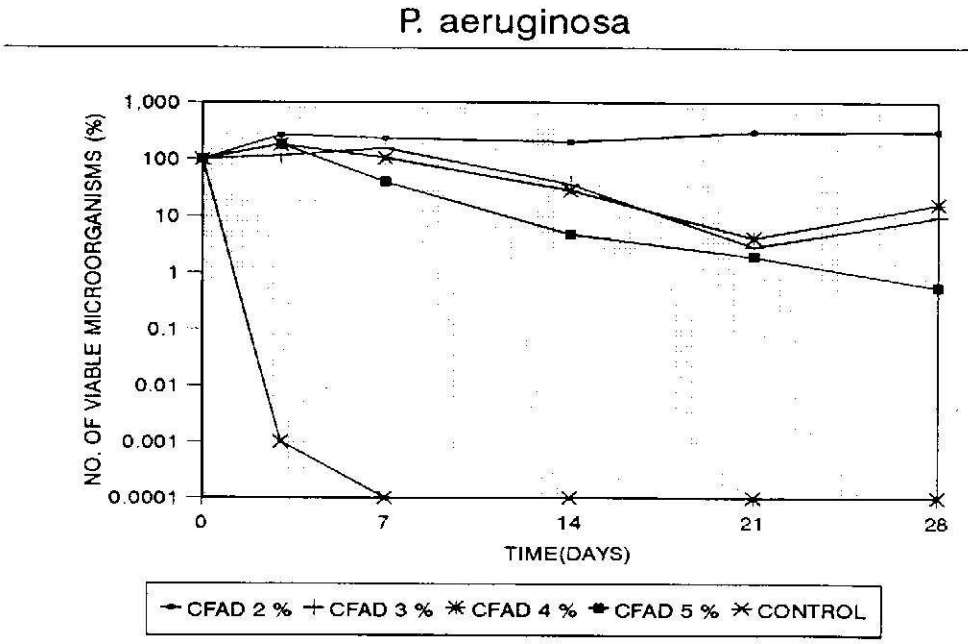
รูปที่ 3 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *C.albicans* ของพาราเบนที่มี SLES ความเข้มข้นต่าง ๆ



รูปที่ 4 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *A. niger* ของพาราเบนที่มี SLES ความเข้มข้นต่าง ๆ

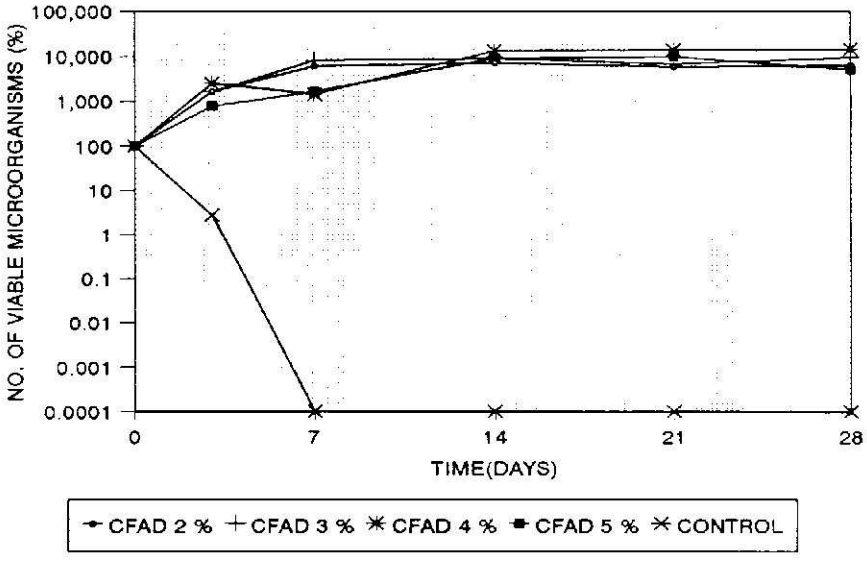


รูปที่ 5 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *S.aureus* ของพาราเบนที่มี CFAD ความเข้มข้นต่าง ๆ



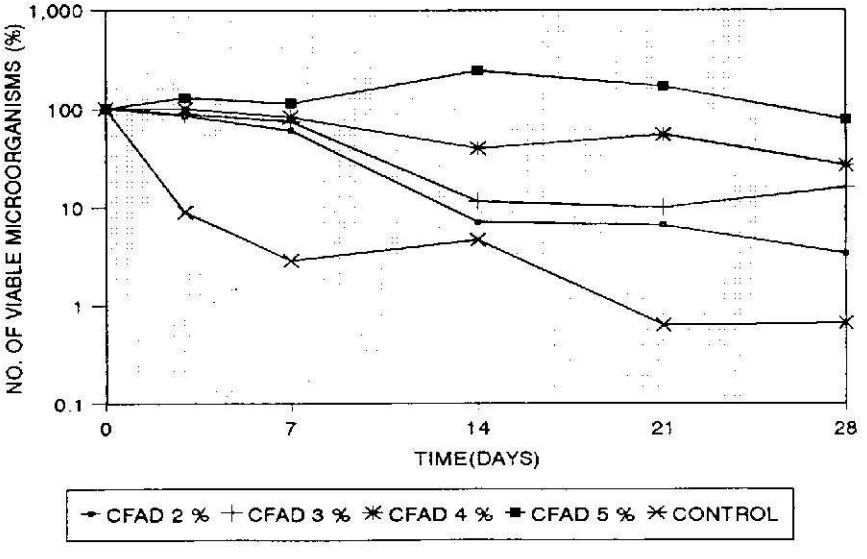
รูปที่ 6 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *Ps. aeruginosa* ของพาราเบนที่มี CFAD ความเข้มข้นต่าง ๆ

C. albicans



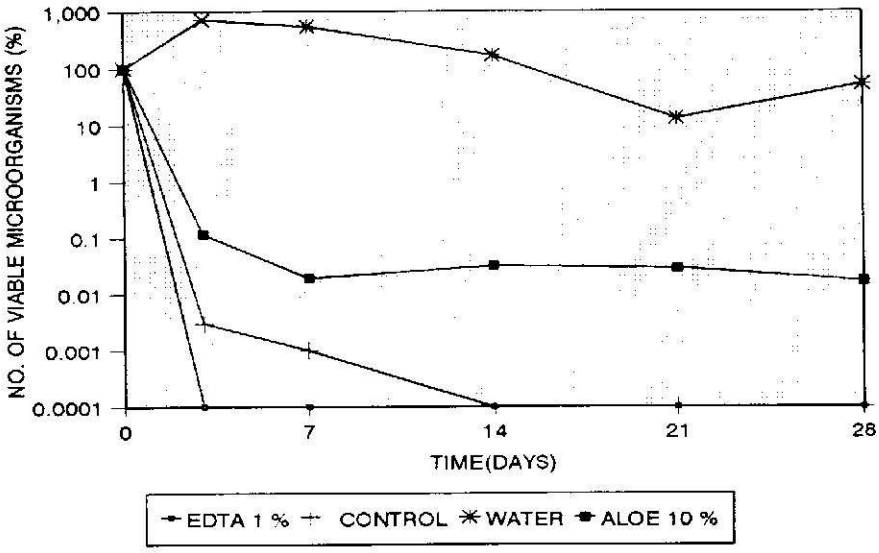
รูปที่ 7 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *C.albicans* ของพาราเบนที่มี CFAD ความเข้มข้นต่าง ๆ

A. niger



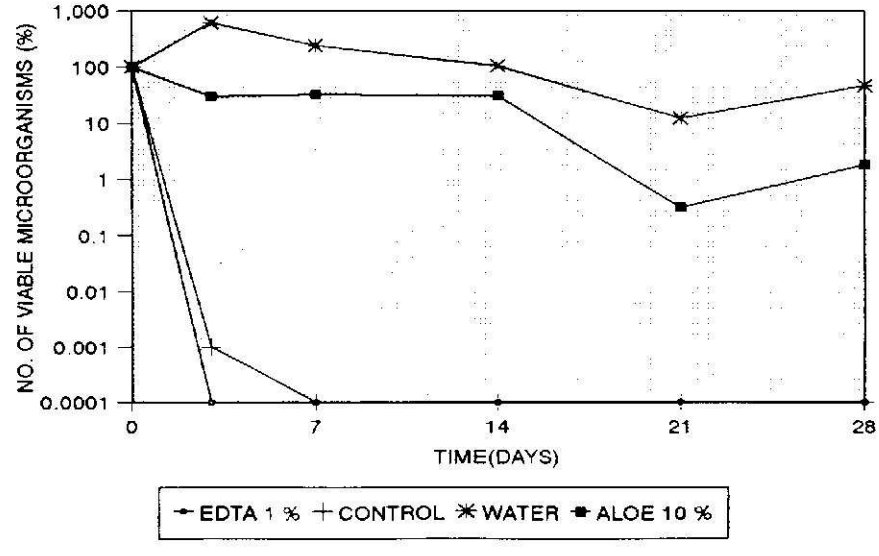
รูปที่ 8 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *A. niger* ของพาราเบนที่มี CFAD ความเข้มข้นต่าง ๆ

S. aureus



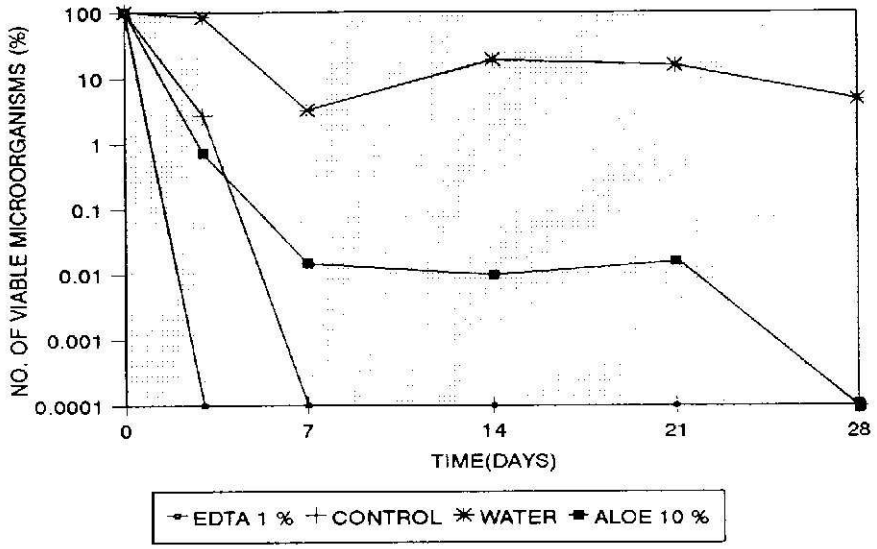
รูปที่ 9 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *S.aureus* ของพาราเบนที่มี Disodium EDTA 1 % และ Aloe gel 10 % เปรียบเทียบกับตำรับควบคุมที่ใช้ Paraben concentrate 1 % (ตำรับที่ 11)และน้ำบริสุทธิ์

P. aeruginosa



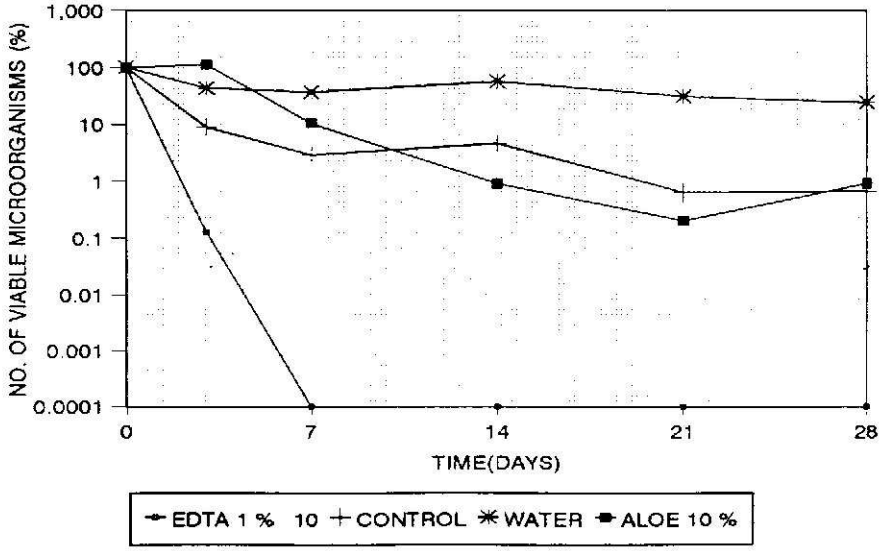
รูปที่ 10 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *Ps. aeruginosa* ของพาราเบนที่มี Disodium EDTA 1 % และAloe gel 10 % เปรียบเทียบกับตำรับควบคุมที่ใช้ Paraben concentrate 1 % (ตำรับที่ 11)และน้ำบริสุทธิ์

C. albicans



รูปที่ 11 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *C.albicans* ของพาราเบนที่มี Disodium EDTA 1 % และ Aloe gel 10 % เปรียบเทียบกับตำรับควบคุมที่ใช้ Paraben concentrate 1 % (ตำรับที่ 11)และน้ำบริสุทธิ์

A. niger



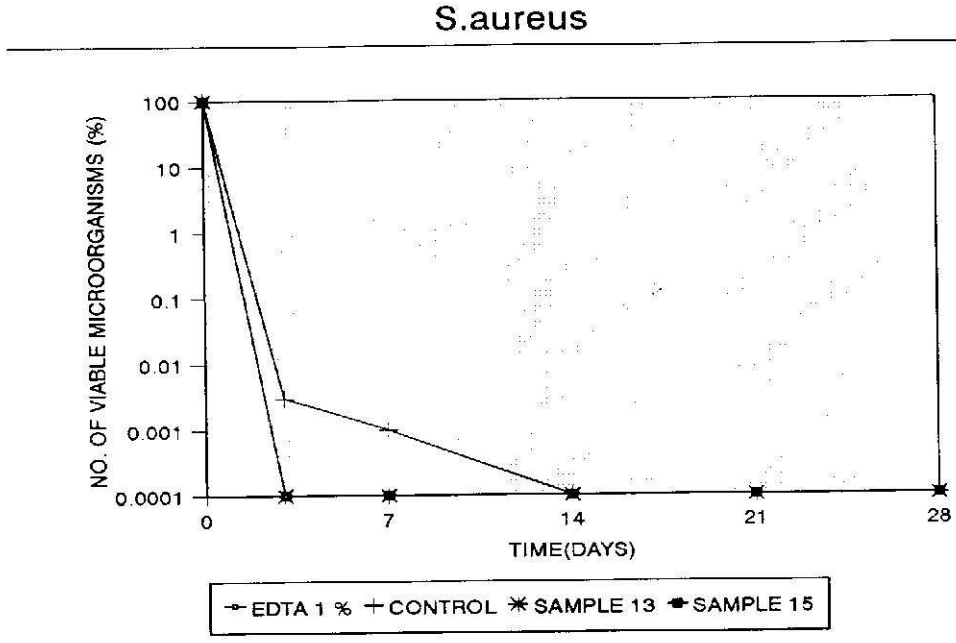
รูปที่ 12 แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *A. niger* ของพาราเบนที่มี Disodium EDTA 1 % และ Aloe gel 10 % เปรียบเทียบกับตำรับควบคุมที่ใช้ Paraben concentrate 1 % (ตำรับที่ 11)และน้ำบริสุทธิ์

ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์แชมพูเหลวใสว่านหางจระเข้ที่เตรียมได้แสดงดังตารางที่ 4 พบว่าเฉพาะตำรับที่ 13 และ 15 มีความคงตัวทางกายภาพหลังจากเก็บไว้นาน 5 เดือนที่อุณหภูมิห้อง เมื่อนำตำรับทั้งสองมาทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสีย ผลการทดสอบแสดงดังรูป 13-16 จะเห็นได้ว่าแม้ตำรับที่ 13 และ 15 มีส่วนประกอบที่มีผลทำให้ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียลดลง (Texapon N 8000® 40%, CFAD 2% และ Aloe Gel 10%) ก็ตาม แต่เนื่องจากทั้ง 2 ตำรับใช้ Disodium EDTA 1% เป็นส่วนประกอบในตำรับเพื่อเสริมฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบน จึงทำให้สารกันเสียพาราเบนยังคงออกฤทธิ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยไม่จำเป็นต้องใช้ปริมาณสารกันเสียเพิ่มขึ้น อีกทั้งเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับที่ 11 ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบนของตำรับที่ 13 และ 15 ยังคงฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ในอัตราเร็วสูงกว่าตำรับที่ 11 ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากEDTA ช่วยลดการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง CFAD และพาราเบน (9)

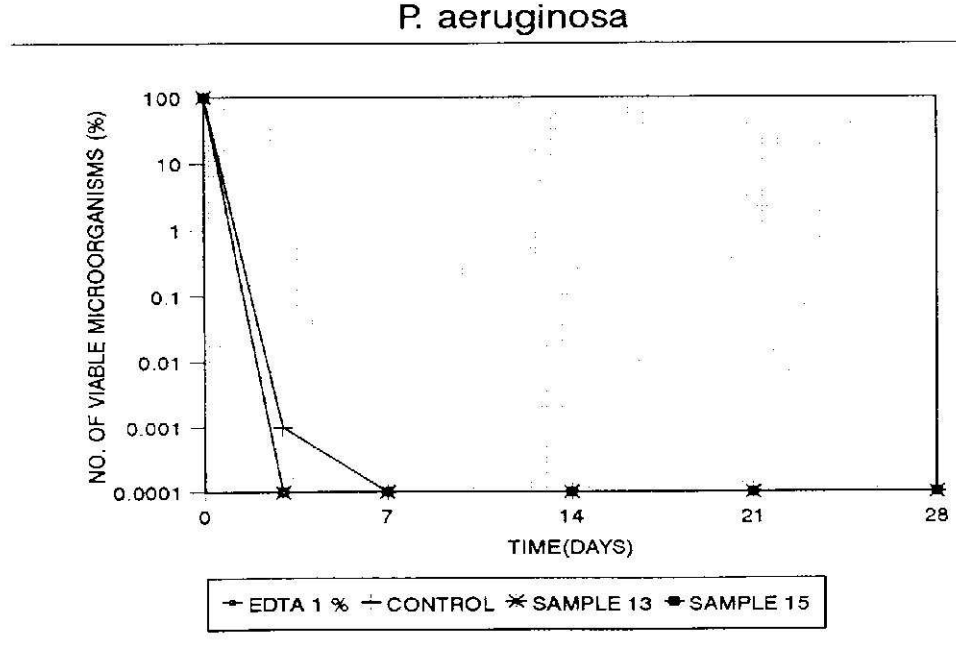
ตารางที่ 4 แสดงลักษณะทางกายภาพของตำรับที่ 13 - 16 หลังจากเตรียม (ก) และหลังจากเก็บตำรับไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30°C) เป็นเวลา 5 เดือน (ข)

ตำรับ	ลักษณะของผลิตภัณฑ์							
	pH		ความหนืด (cps)*		สี		ลักษณะอื่น ๆ	
	ก	ข	ก	ข	ก	ข	ก	ข
13	5.46	5.56	2.91	1.84	ไม่มีสี	เหลืองอมเขียว	ใส	ใส
14	7.53	6.25	2.94	1.70	ไม่มีสี	เหลืองอมเขียว	ใส	มีตะกอนสีขาวและเชื้อราขึ้น
15	5.46	5.62	3.11	2.24	ไม่มีสี	เขียวอ่อน	ใส	ใส
16	7.53	8.81	2.94	2.00	ไม่มีสี	เหลืองอมเขียว	ใส	มีตะกอนสีขาว

*ใช้ spindle number 40 ความเร็ว 12 rpm วัดที่อุณหภูมิ 24 $\pm$ 1°C

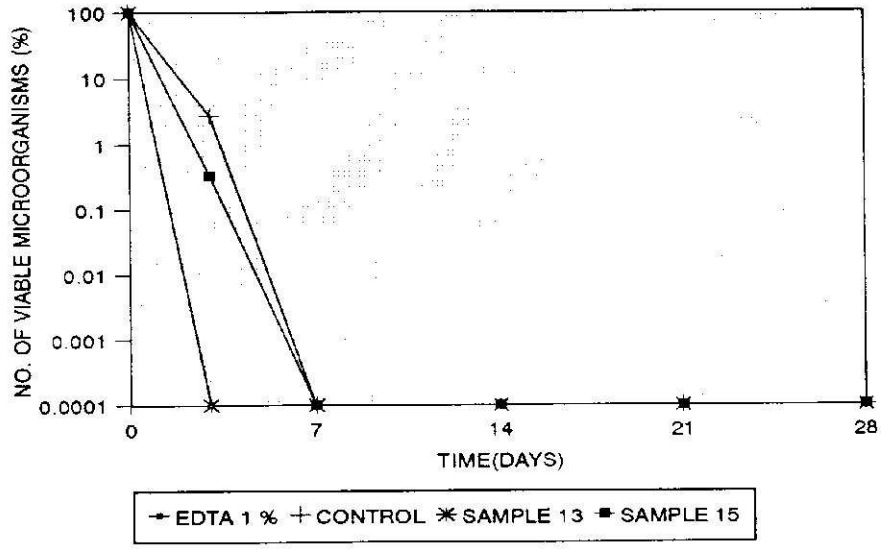


รูปที่ 13 แสดงผลของประสิทธิภาพของสารกันเสียพาราเบนในตำรับที่ 13 และ 15 ที่มีผลต่ออัตราการตายของ *S.aureus*



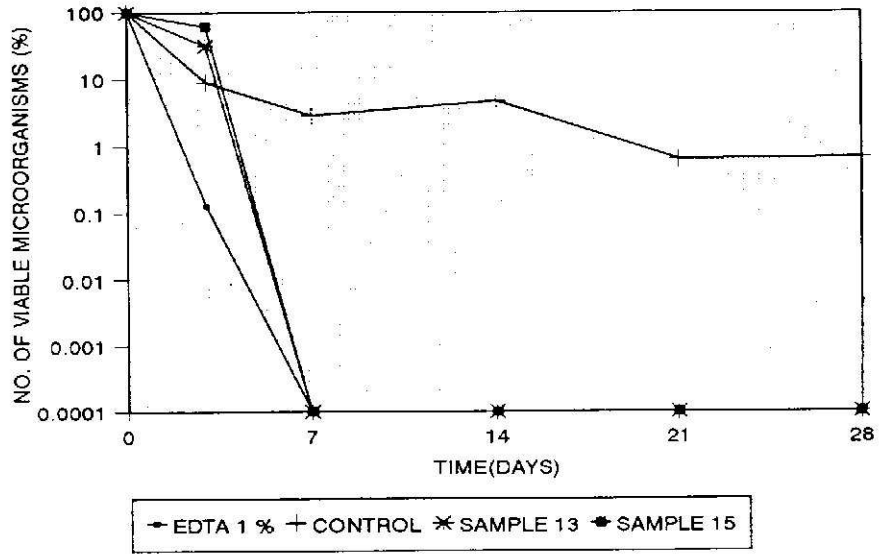
รูปที่ 14 แสดงผลของประสิทธิภาพของสารกันเสียพาราเบนในตำรับที่ 13 และ 15 ที่มีผลต่ออัตราการตายของ *Ps.aeruginosa*

C. albicans



รูปที่ 15 แสดงผลของประสิทธิภาพของสารกันเสียพาราเบนในตำรับที่ 13 และ 15 ที่มีผลต่ออัตราการตายของ *C.albicans*

A. niger



รูปที่ 16 แสดงผลของประสิทธิภาพของสารกันเสียพาราเบนในตำรับที่ 13 และ 15 ที่มีผลต่ออัตราการตายของ *A.niger*

จากผลการทดลองทั้งหมดจะเห็นได้ว่า Paraben concentrate เมื่อใช้ในความเข้มข้น 1% (Methylparaben 0.1%, Propylparaben 0.02%) ในน้ำมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และรา ที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4 ชนิด เป็นอย่างดี ดังรูปที่ 13-16 แต่ถ้าในตำรับมี SLES ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวประจุลบและ CFAD ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ รวมทั้ง Aloe Gel ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ มีผลทำให้ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียลดลง โดยขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของสารที่ใช้และชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ ในขณะที่การใช้ Disodium EDTA(ความเข้มข้น 1%)ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบนได้อย่างชัดเจน ถึงแม้ว่าในตำรับนั้น ๆ จะมีส่วนประกอบที่ลดประสิทธิภาพของสารกันเสียก็ตาม

<u>สรุปผลการทดลอง</u>

ส่วนประกอบในแชมพูเหลวใสที่ใช้ในการทดลองทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ Sodium Lauryl Ether Sulfate (สารลดแรงตึงผิวประจุลบ) Coconut Fatty Acid Diethanolamide (สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ) และ Aloe Gel (ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ) ทำให้ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบนที่มีต่อทั้งแบคทีเรีย ยีสต์และราลดลง โดยประสิทธิภาพที่ลดลงขึ้นกับความเข้มข้นและชนิดของส่วนประกอบของแชมพูเหลวใสที่เติมลงไป ในขณะที่การใช้ EDTA (Chelating agent)ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารกันเสียพาราเบน ดังนั้นในการเตรียมตำรับซึ่งมีสารที่คาดว่าจะลดประสิทธิภาพของสารกันเสียในกลุ่มพาราเบน เช่น สารลดแรงตึงผิว ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติควรตรวจสอบผลิตภัณฑ์ว่ายังคงมีประสิทธิภาพในการป้องกันเชื้อจุลินทรีย์หรือไม่ ซึ่งอาจจะต้องเพิ่มปริมาณสารกันเสียหรือสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกันเสียของพาราเบนให้แก่ผลิตภัณฑ์โดยใช้ EDTA ซึ่งอาจจะไม่จำเป็นต้องเพิ่มปริมาณสารกันเสียพาราเบน ดังเช่นการทดลองนี้

PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY

เอกสารอ้างอิง

1. พรทิพย์ นิมมานนิตย์. การบำรุงรักษาผมและแชมพู. กรุงเทพฯ ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,2527.
2. พิมพร ศรีฉัตราภิมุข. เครื่องสำอางเพื่อความสะอาด. เชียงใหม่ ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2530;19-40.
3. Cooper BF,Meyer MC,Palmer HA,Belmonte AA. Medication order. In: Hoover JE ed.:Dispensing for Medication. 8th ed. Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1976;21-23.
4. Kabara JJ. Cosmetic and Drug Preservative: Principle and Practice. New York and Basel:Marcel Dekker,Inc., 1984:63-78,323-338.
5. Scott EM, German SP. Chemical Disinfectant,Antiseptics and Preservatives in Hugo WB, Russel AD ed: Pharmaceutical Microbiology. 4th ed. Blackwell Scientific Publication, 1987;226-252.
6. Schanno RJ, Westlund JR, Roelsch DH. Evaluation of 1,3-dimethylol-5,5-dimethyl hydantoin as a Cosmetic Preservative. J Soc Cosmet Chem 31(Mar-Apr), 1980:85-96.
7. Wilkinson JB, Morre RJ. Harry's Cosmeticology. 7th ed. London: George Godwin, 1982:427-469.
8. Moral J. Cosmetic Microbiology : New Ingredients, New Preservation Strategies. Cosmet Toilet 107(May), 1992;65-72.
9. Idson B. Raw Materials and Preservative Activity. Drug Cosmet Ind 119 (Dec), 1976;40-42.
10. Coates D.Interaction Between Preservative and Surfactant. Manuf Chem Aerosol News 44(Aug), 1973;41-42.
11. Kurup TRR, Lucy SC, Chan LW. Interaction of Preservatives with Macromolecules: Part I - Natural Hydrocolloids. Pharm Acta Helv. 67 (11), 1992;301-307.
12. Flawn PC, Malcolm SA, Woodroffe RCS. Assessment of Preservative Capacity of Shampoo. J Soc Cosmet Chem 24(Apr), 1973;229-238.
13. O'Neill JJ, Mead CA. Paraben Bacterial Adaptation and Preservative capacity. J Soo Cosmet Chem 33 (Mar-Apr), 1982;75-84.
14. Fox C.Introduction to the Formulation of Shampoos. Cosmet Toilet 103(Mar), 1988;25-58.

Order Key 950
BIB Key 59560

15. Hart JR. EDTA-Type Chelating Agents in Personal Care Products. Cosmet. Toilet 93 (April), 1983;54-58.

16. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง : แชมพู มอก. 162-2518 กรุงเทพฯ:กระทรวงอุตสาหกรรม, 2518.

17. United States Pharmacopeial Convention, INC. USP XXII NF XVII The United States Pharmacopeia The National Formulary, 1990;1478-1479.

18. Rawlins EA. Bentley's Textbook of Pharmaceutics. 8 th ed. The English Language Book Society and Bailliere Tindall, 1977.