

การเปรียบเทียบประสิทธิผลของคอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้าในเซรั่มบำรุงผิวหน้า

Efficacy Comparison of Commercial Collagen Hydrolysate in Facial Serum

ณัฐภัตสร สิทธีมณีวรรณ

อีเมล: today.chem18@gmail.com

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร. ถวณันท์ ศรีพิสุทธิ

อีเมล: tawanun.sri@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร. นนท์ ธิดิเลศเดชา

อีเมล: nont.thi@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันคอลลาเจนเป็นสารสำคัญสารหนึ่งในผิวของมนุษย์ที่ใช้ในการบำรุงผิวและช่วยทำให้ผิวดูอ่อนเยาว์ โดยคอลลาเจนที่ใช้ในการผลิตเซรั่มสำหรับใช้กับผิวหน้า สามารถสกัดได้จากหลายแหล่งแตกต่างกัน ซึ่งก็จะให้ผลกับผิวมนุษย์แตกต่างกันเช่นกัน การค้นคว้าและการวิจัยฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการให้ความยืดหยุ่นและความชุ่มชื้นผิวก่อนและหลังใช้ ผลิตภัณฑ์คอลลาเจนธรรมชาติจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ แหล่งคอลลาเจนธรรมชาติจาก ปลานิล, แมงกะพรุน และ ปลาฉลามเพื่อนำไปพัฒนาในสูตรตำรับเซรั่มบำรุงผิวหน้า โดยในงานวิจัยจะแบ่งเป็น 3 ส่วน ในส่วนที่ 1 การพัฒนาสูตรตำรับคอลลาเจนเซรั่ม 3 ตำรับสูตรคือตำรับคอลลาเจนเซรั่มจากปลานิล, แมงกะพรุน และปลาฉลาม และทำการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ ส่วนที่ 2 คือ การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนซึ่งเป็นสารสำคัญในตัวอย่างคอลลาเจนด้วย Bradford's method ผลการวิเคราะห์พบว่าคอลลาเจนจากแมงกะพรุนมีปริมาณโปรตีนมากที่สุด อันดับที่ 2 คือ คอลลาเจนจากปลานิล และคอลลาเจนจากปลาฉลามมีปริมาณโปรตีนน้อยที่สุด ตามลำดับ ส่วนที่ 3 คือ การทดสอบประสิทธิภาพในการเพิ่มความชุ่มชื้นและความยืดหยุ่นผิวในอาสาสมัคร โดยให้อาสาสมัครทาผลิตภัณฑ์คอลลาเจนเซรั่มแต่ละตำรับ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ แล้วทำการวัดค่าความชุ่มชื้นผิวด้วยเครื่อง Moistsense® และวัดค่าความยืดหยุ่นผิวด้วยเครื่อง Cutometer® ซึ่งหลังจากเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงก่อนและหลังใช้ผลิตภัณฑ์ ในส่วนของการทดสอบค่าความ

ชุ่มชื้นผิวพบว่า คอลลาเจนจากปลานิลและแมงกะพรุนมีค่าความชุ่มชื้นผิวของอาสาสมัครเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนสูตรตำรับที่มีส่วนผสมของคอลลาเจนจากปลาขาวไม่มีผลในการเพิ่มค่าความชุ่มชื้นผิวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และผลการศึกษาค่าความยืดหยุ่นผิว พบว่าผลิตภัณฑ์เซรั่มตำรับที่มีส่วนผสมของคอลลาเจนจากปลานิล และคอลลาเจนจากแมงกะพรุน มีค่าความยืดหยุ่นผิวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนสูตรตำรับที่มีส่วนผสมของคอลลาเจนจากปลาขาวไม่มีผลในการเพิ่มค่าความยืดหยุ่นผิวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า ผลการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์นั้นมีความสอดคล้องกับปริมาณ โปรตีนที่พบในตัวอย่างคอลลาเจนที่นำมาทดสอบอีกด้วย ผลที่ได้จากการวิจัยนี้อาจจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ประกอบการและผู้บริโภค ที่จะสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการตัดสินใจเลือกใช้คอลลาเจนจากแหล่งต่างๆ ได้อย่างเหมาะสม และสามารถนำไปพัฒนาตำรับเครื่องสำอางผสมคอลลาเจนธรรมชาติให้ได้ประโยชน์อย่างแพร่หลายต่อไป

คำสำคัญ: คอลลาเจนไฮโดรไลเสท / ความยืดหยุ่น / ความชุ่มชื้น

Abstract

Collagen is an important compound in human skin to make people look younger. Collagen is used in facial serum production can be extracted from various natural sources, which contributed to different results on human skin. The objective of this study was to compare efficacy of collagen that derived from aquatic sources; tilapia, jellyfish and starfish, on human skin moisture and skin elasticity before and after used the facial serum. First, serum containing collagen which derived from tilapia, jellyfish and starfish was formulated and was used to determine its physical property. Second, protein content in collagen was measured by Bradford's method. The results showed that collagen which derived from jellyfish had more protein than that derived from tilapia and starfish, respectively. Finally, the skin moisture content was measured by Moistsense[®] and the skin elasticity was measured by Cutometer[®]. The skin moisture and skin elasticity of each collagen facial serum were evaluated on volunteers and the results were compared. After 10 weeks of treatment, the study of skin moisture content in the facial serum with collagen derived from tilapia and jellyfish gave an increasing of the skin moisture content significantly whereas the facial serum with collagen derived from starfish did not give an increasing of the skin moisture content significantly. In addition, the study of the skin elasticity in

the facial serum with collagen derived from tilapia and jellyfish showed significant induce skin elasticity while the facial serum with collagen derived from starfish did not. This result was consistent with the amount of proteins in tilapia, jelly fish and starfish. Hence, the information generated from this study may be useful for appropriately selection of collagen sources and useful for collagen facial serum production development widely.

Keywords: Collagen hydrolysate / Elasticity / Moisturizer

บทนำ

มนุษย์เราเมื่ออายุมากขึ้นเซลล์ต่างๆของร่างกายรวมไปถึงเซลล์ของผิวหนังต้องเผชิญต่ออนุมูลอิสระที่ผิวหนังเริ่มมีประสิทธิภาพในการทำงานลดลงองค์ประกอบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเส้นใยคอลลาเจนอีลาสตินรวมถึงกรดไฮยาลูโรนิกมีปริมาณลดลงหรือเสื่อมสลายไปทำให้ความยืดหยุ่นและความเรียบตึงของผิวหนังลดลงรักษาความชุ่มชื้นไว้ได้น้อยลงจึงปรากฏเป็นรอยเหี่ยวย่นขาดความยืดหยุ่นผิวบางและหยาบแห้งไม่ลื่นนุ่มนวลเช่นเดียวกับวัยหนุ่มสาวซึ่งถือว่าเป็นความแก่ตามวัยไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้แต่สามารถชะลอให้เกิดช้าลงหรือฟื้นฟูสภาพผิวให้ดูดีขึ้นได้โดยการให้สารอาหารหรือสารเสริมสร้างเซลล์ผิวและวิตามินต่างๆลงไปทดแทนได้

นอกจากความแก่ของผิวหนังที่เกิดขึ้นตามวัยแล้วยังมีปัจจัยอื่นๆอีกหลายประการจากภายนอก เช่นจากมลภาวะความเครียด รังสีอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet radiation) และอาหารปัจจัยเหล่านี้สามารถทำลายเซลล์ของผิวหนังทำให้ความแข็งแรงลดลง เกิดการเหี่ยวย่นตามมาเรียกว่าการแก่ก่อนวัยอันควร

ผลิตภัณฑ์ชะลอวัยจึงมีบทบาทมากในปัจจุบันมีการค้นคว้าวิจัยมากมายเพื่อจะหาสารหรือวิธีการที่จะทำให้สามารถชะลอวัยลงทั้งจากสารสังเคราะห์ทางเคมีและสารจากธรรมชาติสารเหล่านี้ได้แก่สารที่ให้ความชุ่มชื้นเป็นพิเศษต่อผิวหนัง สารอาหารหรือวิตามินทดแทนสารธรรมชาติในผิวหนังที่ลดน้อยหรือขาดหายไปสารฟื้นฟูและปรับสภาพผิวให้ตึงเรียบ เป็นต้น

สารที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ชะลอความแก่ในปัจจุบันนั้นมีมากมายในท้องตลาด พบว่าคอลลาเจนก็เป็นสารสำคัญที่มีการใช้อย่างแพร่หลายทั้งในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเครื่องสำอาง ได้จากแหล่งธรรมชาติต่างๆกัน ซึ่งมีการกล่าวอ้างสรรพคุณที่ช่วยในเรื่องการให้ความชุ่มชื้นและความยืดหยุ่นผิว ชะลอวัย ดังนั้นจึงทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจในการศึกษาการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการของคอลลาเจนจากแหล่งต่างๆโดยนำมาพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์เสริมสำหรับผิวเพื่อ

เป็นข้อมูลเบื้องต้นและประโยชน์ในการเลือกใช้คอลลาเจนชนิดต่างๆให้กับผู้ผลิตเครื่องสำอางหรือผู้บริโภคทั่วไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติของคอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้าจากแหล่งต่างๆ
2. เพื่อตั้งสูตรตำรับเสริมสำหรับผิวหนังที่มีส่วนผสมของคอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้า
3. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการให้ความชุ่มชื้นและความยืดหยุ่นผิวของคอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้า

ขอบเขตการวิจัย

1. วิเคราะห์คุณภาพของคอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้าจากแหล่งต่างๆ
2. วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างคอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้า
3. พัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์คอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้าในเสริมบำรุงผิวหนัง
4. เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการให้วัดความชุ่มชื้นผิวและความยืดหยุ่นผิว โดยทดสอบในอาสาสมัคร

การทบทวนวรรณกรรม

คอลลาเจน (collagen) เป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง ในกลุ่มโปรตีนเส้นใย (fibrous protein) พบเป็นองค์ประกอบสำคัญในทุกส่วนของร่างกายมากถึง 30-40% ของโปรตีนในร่างกาย โดยจะพบมากที่เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ผิวหนัง กระดูก ข้อต่อ หลอดเลือดแดง ฟัน และผม collagen เป็นโปรตีนรูปทรงกระบอก มีลักษณะเป็นสายเปปไทด์ซึ่งเรียกว่า α -chain 3 สายเรียงตัวโดยขดเกลียวรวมกันเป็น Triple helix protein ซึ่งประกอบไปด้วยกรดอะมิโน (amino acid) กว่า 70% ของกรดอะมิโนที่พบในคอลลาเจน คือ glycine, proline และ hydroxyproline ด้วยการจัดเรียงตัวดังกล่าวของกรดอะมิโนเส้นใยคอลลาเจนจึงทำหน้าที่ยึดโครงสร้างของร่างกายเข้าไว้ด้วยกัน ทำให้ผิวหนัง เส้นเอ็น เนื้อเยื่อเกี่ยวพันเกิดความแข็งแรง ช่วยรักษาความสมดุล และยืดหยุ่นของผิวหนัง (Foegeding, 1996) (Archive.lib.cmu, 2552)

คอลลาเจนเป็นสารโปรตีนที่มีคุณภาพสูงสำหรับใช้เป็นผลิตภัณฑ์ดูแลผิว สามารถสกัดได้จากแหล่งโปรตีนต่าง ๆ เช่น โปรตีนจากเนื้อสัตว์ พืช ปลาน้ำจืด และปลาทะเล ใช้ได้ทั้งในรูปแบบ

ผลิตภัณฑ์คอลลาเจนบริสุทธิ์หรือเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง โดยมีคุณสมบัติที่ดีต่อผิว อาทิ ซึมเข้าสู่ผิวได้ดี ช่วยปกป้องผิว และให้ความชุ่มชื้นแก่ผิว

การประยุกต์ใช้คอลลาเจนในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

คอลลาเจนที่ใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ คอลลาเจนที่ละลายน้ำได้ น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 300,000 ดาลตัน (Da) มีคุณสมบัติดูดซึมสู่ผิวหนังอย่างช้า ๆ อีกชนิดคือ ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน (hydrolyzed collagen) ที่ได้จากการนำคอลลาเจนมาย่อยด้วยด่างหรือเอนไซม์ จนมีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 1,000-25,000 ดาลตัน ทำให้มีคุณสมบัติละลายน้ำ และดูดซึมสู่ผิวหนังได้ดีขึ้น การศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยมุ่งเน้นศึกษา ไฮโดรไลซ์คอลลาเจน จาก 3 แหล่ง ดังนี้

1. คอลลาเจนจากเกล็ดปลาสายพันธุ์ Tilapia (fish collagen) ผลิตโดยบริษัท armicogen (ประเทศเกาหลี) ผลิตโดยขบวนการ Enzymatic hydrolysis เป็นคอลลาเจนไฮโดรไลเซทขนาดโมเลกุล 500 ดาลตัน (Da) มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีเหลืองอ่อนๆ มีกลิ่นคาวเล็กน้อยละลายน้ำได้ดี
2. คอลลาเจนจากปลาตาว ผลิตโดยบริษัท Biochempro Corporation (ประเทศเกาหลี) เป็นคอลลาเจนไฮโดรไลเซทขนาดโมเลกุล 100-200 กิโลดาลตัน (kDa) มีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลืองอ่อนมีกลิ่นเฉพาะตัว
3. คอลลาเจนจากแมงกะพรุน ผลิตโดยบริษัท Javenech (ประเทศฝรั่งเศส) เป็นคอลลาเจนไฮโดรไลเซทขนาดโมเลกุลประมาณ 100 กิโลดาลตัน (kDa) มีลักษณะเป็นของเหลวขุ่นมัวเล็กน้อยสีเหลืองอ่อนมีกลิ่นเฉพาะตัวแมงกะพรุนถือเป็นแหล่งผลิตคอลลาเจนที่น่าสนใจเนื่องจากมีปริมาณมากและสามารถสกัดคอลลาเจนได้ร้อยละของผลิตภัณฑ์ค่อนข้างมาก

คอลลาเจนไฮโดรไลเซท 3 ชนิดหลังนี้ ปัจจุบันมีการทดสอบในระดับห้องทดลองเท่านั้น อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงประสิทธิผลของการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ศึกษาคุณภาพของคอลลาเจนไฮโดรไลเซททางการค้าจากแหล่งต่าง ๆ จากข้อมูลผู้ผลิต
2. วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างคอลลาเจนไฮโดรไลเซททางการค้าด้วยวิธี Bradford
3. เตรียมสูตรตำรับครีม
4. ทำการทดสอบด้านคุณภาพด้วย

5. การทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นในอาสาสมัครด้วยวิธี Single close patch test
6. ทำการประเมินประสิทธิภาพการให้ความชุ่มชื้นด้วยเครื่อง Moistsense® และความยืดหยุ่นผิวด้วยเครื่อง Cutometer®

ผลการวิจัย

วิเคราะห์คุณภาพของคอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้าจากแหล่งต่าง ๆ

ทำการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ สี กลิ่น ค่าความเป็น กรด-ด่าง คุณสมบัติการละลายของคอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้าชนิดต่าง ๆ โดยพิจารณาจากเอกสารข้อกำหนดของบริษัทผู้ผลิต ได้ผลดังตารางที่ 1 พบว่าคอลลาเจนจากปลานิลมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีค่อนข้างขาว มีกลิ่นคาวเล็กน้อย ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 - 7.5 ละลายน้ำได้ดี ขนาดโมเลกุล 500 ดาลตัน, คอลลาเจนจากปลาฉลามมีลักษณะเป็นเหลวใสสีเหลืองอ่อน ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.0 - 7.0 ละลายน้ำได้ดี ขนาดโมเลกุล 100-200 กิโลดาลตัน, คอลลาเจนจากแมงกะพรุนมีลักษณะเป็นเหลวสีขาวขุ่น ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.5 - 5.5 ละลายน้ำได้ดี ขนาดโมเลกุล 100 กิโลดาลตัน จากผลการตรวจสอบคุณภาพคอลลาเจนจากปลานิลมีกลิ่นคาวเล็กน้อยอาจส่งผลกระทบต่อกลิ่นของตำรับผลิตภัณฑ์ที่จะนำไปใช้ นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างของคอลลาเจนจากแหล่งต่างๆ อาจส่งผลกระทบต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของตำรับผลิตภัณฑ์ คอลลาเจนที่มีลักษณะเป็นผงคุณสมบัติการละลายก็จะส่งผลกระทบต่อตำรับผลิตภัณฑ์ ดังนั้นในการนำคอลลาเจนทางการค้าจากแหล่งต่างๆ ไปใช้ควรพิจารณาเลือกให้เหมาะสมกับตำรับผลิตภัณฑ์นั้นๆ

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบคุณภาพของคอลลาเจน

หัวข้อตรวจสอบ	ชนิดของคอลลาเจนที่ทำการศึกษา		
	ปลานิล	ปลาฉลาม	แมงกะพรุน
ลักษณะสี	ผงละเอียด ค่อนข้างขาว	ของเหลว ใสถึงสีเหลือง อ่อน	ของเหลว สีขาวขุ่น
กลิ่น	กลิ่นคาวเล็กน้อย	กลิ่นเฉพาะตัว	กลิ่นเฉพาะตัว
การละลาย	ละลายน้ำ	-	-
ขนาดโมเลกุล	500 Da	100 kDa	100 – 200 kDa

(อ้างอิงข้อมูลผู้ผลิต)

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างคอลลาเจนไฮโดรไลสสทางการค้าวิธีเบรดฟอร์ด (Bradford Method)

ผลการทำกราฟมาตรฐานของสาร BSA (Bovine serum albumin Standard curve) ที่ได้ จาก Bradford's method วัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 595 nm เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.010 - 0.100 mg/ml มีค่า R² เท่ากับ 0.9977 สมการเส้นตรงที่ได้คือ $y = 7.4448x + 0.00743$

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างคอลลาเจนจากแหล่งต่าง ๆ ดังตารางที่ 2 พบว่าปริมาณโปรตีนในตัวอย่างคอลลาเจนชนิดต่างๆด้วยวิธีเบรดฟอร์ด (Bradford's method) พบว่า ตัวอย่างคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 519.93 ± 1.78 mg/g ตัวอย่างคอลลาเจนจากปลาขาว มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 18.45 ± 0.11 mg/ml และตัวอย่างคอลลาเจนจากแมงกะพรุน มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 1366.22 ± 2.72 mg/ml ซึ่งมีปริมาณโปรตีนมากกว่า อาจจะส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการเพิ่มความชุ่มชื้นและยืดหยุ่นผิวที่ดีกว่าคอลลาเจนจากแหล่งอื่น (Daithankar, Pamwar, Pisal, Paradkar and Mahagik, 2003)

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณโปรตีนในตัวอย่างคอลลาเจนแต่ละชนิดที่วิเคราะห์ได้

สารตัวอย่างคอลลาเจน	ปริมาณโปรตีน*	หน่วย	ราคาต่อกิโลกรัม (บาท)
ปลานิล	519.93 ± 1.78	mg/g	1100
ปลาขาว	18.45 ± 0.11	mg/ml	5500
แมงกะพรุน	1366.22 ± 2.72	mg/ml	50000

หมายเหตุ. ผลการทดลองแสดงอยู่ในรูปค่าเฉลี่ย ทำการทดลอง 3 ซ้ำ, คอลลาเจนจากปลานิลมีลักษณะเป็นผง

จากตารางที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบราคาตัวอย่างคอลลาเจนจากทั้ง 3 แหล่ง พบว่าราคาคอลลาเจนจากแมงกะพรุนมีราคาสูงที่สุด รองลงมาคือปลาขาวและปลานิลตามลำดับ ดังนั้นผลของราคาตัวอย่างคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิดน่าจะมาจาก ปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง แหล่งที่มาและราคาของตัวอย่างก่อนนำมาสกัด โดยแมงกะพรุนและปลาขาวเป็นสัตว์ทะเลที่มีมูลค่าสูงจึงทำให้ราคาของตัวอย่างสูงเช่นเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตามตัวอย่างแมงกะพรุนประกอบด้วยโปรตีนที่มากกว่าปลาขาวถึง 74 เท่า จึงทำให้มีราคาขายที่สูงกว่าตามมา

การพิสูจน์หาเอกลักษณ์โปรตีนในสารตัวอย่าง

ผลการสแกนสารตัวอย่างคอลลาเจนชนิดต่าง ๆ ด้วยเครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 200 - 400 นาโนเมตร พบว่าตัวอย่างคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงการดูดกลืนแสงของสารประเภทโปรตีนที่มีกรดอะมิโนชนิด ฟีนิลอะลานีน ทรีปโตเฟน และไทโรซีน (Zeng et al., 2009) แต่ไม่พบการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นประมาณ 233 นาโนเมตร ซึ่งเป็นการดูดกลืนแสงของกรดอะมิโนชนิดที่มีในคอลลาเจน (นรินทร์ และวารงคณา, 2558) แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างคอลลาเจนทางการค้าทั้ง 3 ชนิด มีโปรตีนชนิดอื่นปะปนอยู่และอาจมีกรดอะมิโนชนิด ไกลซีน โพรลีน ไฮดรอกซีโพรลีน ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของคอลลาเจนปริมาณน้อยมาก จึงทำให้ไม่พบการดูดกลืนแสงในช่วง 233 นาโนเมตร พบว่าคอลลาเจนจากแมงกะพรุนมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร มากที่สุด อันดับที่สองเป็นคอลลาเจนจากปลานิล และคอลลาเจนจากปลาดาวมีค่าการดูดกลืนแสงน้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับประมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้ โดยคอลลาเจนจากแมงกะพรุนมีปริมาณโปรตีนมากกว่าคอลลาเจนจากปลานิล และ คอลลาเจนจากปลาดาว ตามลำดับ

การตรวจสอบด้านคุณภาพของสูตรตำรับ

ผลการตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์เริ่มต้น

ผลการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าความหนืดของผลิตภัณฑ์ ดังตารางที่ 3 พบว่า สูตรตำรับทั้ง 4 สูตร เนื้อผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นครีมเจล สีขาวขุ่น มีกลิ่นเฉพาะตัวค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง (pH) และค่าเฉลี่ยความหนืด (Viscosity) มีค่าใกล้เคียงกัน ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลการตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์เริ่มต้น

คุณสมบัติทางกายภาพ	F1	F2	F3	F4
ลักษณะ	ครีมเจล	ครีมเจล	ครีมเจล	ครีมเจล
สี	สีขาวขุ่น	สีขาวขุ่น	สีขาวขุ่น	สีขาวขุ่น
กลิ่น	กลิ่นเฉพาะตัว	กลิ่นเฉพาะตัว	กลิ่นเฉพาะตัว	กลิ่นเฉพาะตัว

ตารางที่ 3 แสดงผลการตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์เริ่มต้น (ต่อ)

คุณสมบัติทางกายภาพ	F1	F2	F3	F4
pH *(25 ⁰ C)	6.65 ± 0.02	6.29 ± 0.05	6.42 ± 0.05	6.45 ± 0.05
ความหนืด*(cps) S :S62 ,1.5 rpm	43089 ± 361	43253 ± 566	41447 ± 600	43862 ± 388
% Torque*	79.5 ± 0.67	79.8 ± 1.04	76.5 ± 1.11	80.9 ± 0.72

หมายเหตุ. ผลแสดงอยู่ในรูปค่าเฉลี่ยการทดลอง 3 ซ้ำ F1 = ตำรับคอลลาเจนจากปลาไนล์, F2 = ตำรับคอลลาเจนจากปลาคว, F3 = ตำรับคอลลาเจนจากแมงกะพรุน, F4 = ตำรับพื้นฐาน

ผลการหลังการทดสอบการปั่นเหวี่ยง

ผลการหลังการทดสอบการปั่นเหวี่ยง เนื้อครีมไม่แยกชั้น

ผลการทดสอบความคงตัวของตำรับด้วยวิธี Heating cooling cycle

หลังการทดสอบคงตัวของตำรับด้วยวิธี Heating cooling cycle จำนวน 6 รอบ พบว่าผลิตภัณฑ์คอลลาเจนตำรับทั้ง 4 สูตรมีลักษณะเป็นครีมเจลสีขาวขุ่นมีกลิ่นเฉพาะตัวพบเนื้อครีมยังมีสภาพปกติไม่แยกชั้นค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง (pH) ใกล้เคียงกันแต่จะลดลงเล็กน้อยจากค่าเริ่มต้น และค่าเฉลี่ยความหนืด (Viscosity) ลดลงเล็กน้อยจากค่าเริ่มต้น ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลการตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์หลังทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Heating cooling cycle จำนวน 6 รอบ

รายการตรวจสอบ	F1	F2	F3	F4
ลักษณะ	ครีมเจล	ครีมเจล	ครีมเจล	ครีมเจล
สี	สีขาวขุ่น	สีขาวขุ่น	สีขาวขุ่น	สีขาวขุ่น
กลิ่น	กลิ่นเฉพาะตัว	กลิ่นเฉพาะตัว	กลิ่นเฉพาะตัว	กลิ่นเฉพาะตัว
pH* (25 ⁰ C)	6.51 ± 0.02	6.25 ± 0.03	6.37 ± 0.05	6.33 ± 0.04
ความหนืด*(cps) S : S62,1.5 rpm	42335 ± 493	41980 ± 485	40525 ± 611	43032 ± 491
% Torque*	78.1 ± 0.74	77.5 ± 0.73	74.8 ± 0.95	79.4 ± 0.74

หมายเหตุ. ผลการทดลองแสดงอยู่ในรูปค่าเฉลี่ย ทำการทดลอง 3 ซ้ำ F1 = ตำรับที่มีคอลลาเจนจากปลานิล, F2 = ตำรับที่มีคอลลาเจนจากปลาขาว, F3 = ตำรับที่มีคอลลาเจนจากแมงกะพรุน, F4 = ตำรับที่พื้นฐาน

ผลการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้น โดยวิธี Single close patch test

จากการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัครจำนวน 15 คน พบว่าหลังจากอาสาสมัครทั้ง 15 คน ถูกสัมผัสด้วยสูตรตำรับคอลลาเจนไฮโดรไลเสทที่บริเวณท้องแขน ไม่พบรอยแดง หรือแสดงอาการระคายเคืองใดๆ

การทดสอบผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร

งานวิจัยนี้มีผู้เข้าร่วมจำนวนทั้งสิ้น 15 ราย ทำการทดสอบตั้งแต่เดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2559 กลุ่มตัวอย่างมีอายุระหว่าง 30 - 60 ปี อายุเฉลี่ย 37.67 ± 9.04 ปี เป็นเพศหญิง 13 ราย (ร้อยละ 86.67) เป็นเพศชาย 2 ราย (ร้อยละ 13.33)

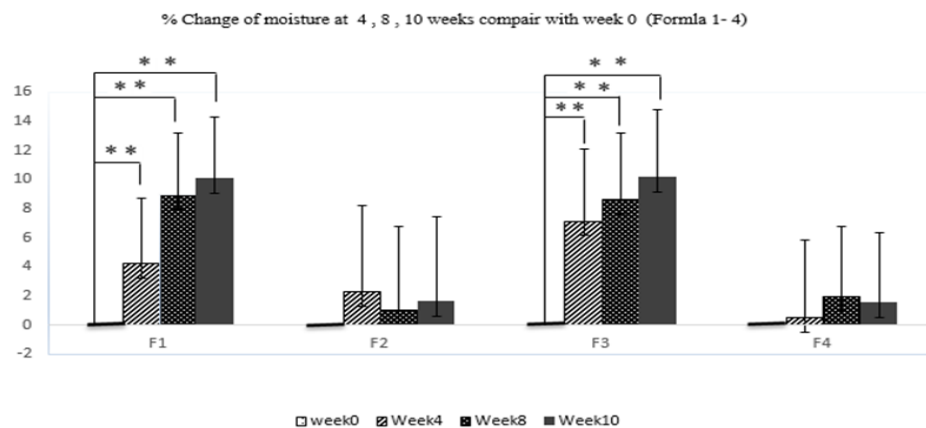
ผลการวัดค่าความชุ่มชื้นผิว (Moisture) ด้วยเครื่องมือเซนส์ (Moistsense®)

นำค่าความชุ่มชื้นผิวที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง (%Change) ของสัปดาห์ที่ 4, 8, 10 เปรียบเทียบกับค่าความชุ่มชื้นผิวก่อนใช้ผลิตภัณฑ์ (สัปดาห์ที่ 0) ดังภาพที่ 1 แผนภูมิแท่งแสดงร้อยละการเปลี่ยนแปลงของค่าความชุ่มชื้นผิวเปรียบเทียบจากก่อน และหลังใช้ผลิตภัณฑ์ 10 สัปดาห์ พบว่าสูตรตำรับ F1 มีค่าเพิ่มขึ้นในทางบวกเท่ากับร้อยละ 10.07 ± 4.21 สูตรตำรับ F2 ค่าเพิ่มขึ้นในทางบวกเท่ากับร้อยละ 1.62 ± 5.79 สูตรตำรับ F3 มีค่าเพิ่มขึ้นในทางบวกเท่ากับร้อยละ 10.17 ± 4.62 และสูตรตำรับ F4 มีค่าเพิ่มขึ้นในทางบวกเท่ากับร้อยละ 1.54 ± 4.79

เมื่อนำผลของการตรวจวัดค่าความชุ่มชื้นผิวของผิวหนังก่อนและหลังการทดลอง 10 สัปดาห์ มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้การทดสอบสมมติฐานของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่สัมพันธ์กัน (Paired Sample T-test) พบว่า ในสัปดาห์ที่ 10 สูตรตำรับที่มีส่วนผสมของคอลลาเจนไฮโดรไลเสทของปลานิล ($p = 0.000$) และแมงกะพรุน ($p = 0.000$) เพิ่มความชุ่มชื้นผิวในอาสาสมัครอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่สูตรตำรับที่มีส่วนผสมของคอลลาเจนจากปลาขาว ($p = 0.372$) และสูตรตำรับพื้นฐาน ($p = 0.407$) ค่าความชุ่มชื้นผิวในอาสาสมัครไม่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการศึกษาค่าความชุ่มชื้นผิวด้วยเครื่องมือเซนส์หลังจากการใช้ผลิตภัณฑ์ 10 สัปดาห์ โดยเปรียบเทียบระหว่างก่อน และหลังใช้ผลิตภัณฑ์ พบว่าผลิตภัณฑ์เซรัมตำรับที่มีส่วนผสมคอลลาเจนจากปลา (F1) และคอลลาเจนจากแมงกะพรุน (F3) ผิวของอาสาสมัครตรงบริเวณที่ทดสอบมีความ

ชุ่มชื้นผิวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ให้ผลสอดคล้องกัน ส่วนสูตรตำรับที่มี ส่วนผสมของคอลลาเจนจากปลาขาว (F2) และสูตรตำรับพื้นฐาน (F4) มีค่าความชุ่มชื้นผิวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งผลของค่าความชุ่มชื้นผิวที่เพิ่มขึ้นของตำรับที่มี ส่วนผสมของคอลลาเจนจากปลานิลและคอลลาเจนจากแมงกะพรุนนั้นสอดคล้องกับปริมาณ โปรตีนที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างคอลลาเจนแต่ละชนิด



ภาพที่ 1 ร้อยละการเปลี่ยนแปลงของค่าความชุ่มชื้นผิวก่อนและหลังการใช้สูตร F1, F2, F3 และ F4 ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ 8 สัปดาห์และ 10 สัปดาห์เมื่อเปรียบเทียบกับเริ่มต้นก่อนใช้ผลิตภัณฑ์ (สัปดาห์ที่ 0), ** แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

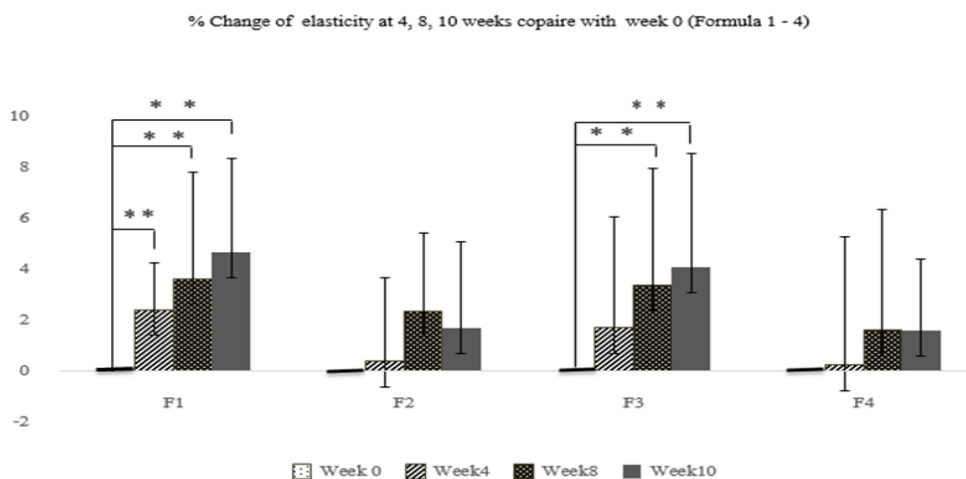
ผลการวัดค่าความยืดหยุ่นผิว (Elasticity) ด้วยเครื่อง Cutometer® MPA 580

นำค่าความยืดหยุ่นผิวที่วัดได้มาคำนวณหาร้อยละการเปลี่ยนแปลง (%Change) ของ สัปดาห์ที่ 4, 8 และ 10 เทียบกับ ค่าความยืดหยุ่นผิวก่อนใช้ผลิตภัณฑ์สัปดาห์ที่ 0 ได้ ดังภาพที่ 2 แผนภูมิแท่งแสดงร้อยละการเปลี่ยนแปลงของค่าความยืดหยุ่นผิวเปรียบเทียบจากก่อนและหลังใช้ ผลิตภัณฑ์ 10 สัปดาห์ สูตรตำรับ F1 มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในทางบวกเท่ากับร้อยละ 4.63 ± 3.07 , สูตร ตำรับ F2 ค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในทางบวกเท่ากับร้อยละ 1.67 ± 3.40 , สูตรตำรับ F3 มีค่าเพิ่มขึ้นใน ทางบวกเท่ากับร้อยละ 4.06 ± 4.46 , สูตรตำรับ F4 มีค่าเพิ่มขึ้นในทางบวกเท่ากับร้อยละ 1.45 ± 2.18

นำผลของการตรวจวัดค่าความยืดหยุ่นของผิวหนังก่อนและหลังการทดลองที่ 10 สัปดาห์มา วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้การทดสอบสมมติฐานของกลุ่ม

ตัวอย่าง 2 กลุ่มที่สัมพันธ์กัน (Paired Sample T-test) ได้ผลดังนี้ สูตรตำรับที่มีส่วนผสมของคอลลาเจนไฮโดรไลเสทของปลานิล ($p = 0.000$) และแมงกะพรุน ($p = 0.004$) เพิ่มความยืดหยุ่นผิวในอาสาสมัครอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่สูตรตำรับที่มีส่วนผสมของคอลลาเจนจากปลาขาว ($p = 0.094$) และสูตรตำรับพื้นฐาน ($p = 0.0084$) ค่าความยืดหยุ่นผิวในอาสาสมัครไม่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

จากผลการทดสอบการตรวจวัดค่าความยืดหยุ่นของผิวหนังด้วยเครื่อง Cutometer® MPA 580 ก่อน และหลังการทดลองใช้ผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าผลิตภัณฑ์เซรั่มตำรับที่มีส่วนผสมของคอลลาเจนจากปลา (F1) และคอลลาเจนจากแมงกะพรุน (F3) ผิวของอาสาสมัครตรงบริเวณที่ทดสอบมีความยืดหยุ่นผิวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ให้ผลสอดคล้องกัน ส่วนสูตรตำรับที่มีส่วนผสมของคอลลาเจนจากปลาขาว (F2) และสูตรตำรับพื้นฐาน (F4) มีค่าความยืดหยุ่นผิวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)



ภาพที่ 2 ร้อยละการเปลี่ยนแปลงของค่าความยืดหยุ่นผิวก่อน และหลังการใช้สูตร F1, F2, F3 และ F4 ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์, 8 สัปดาห์ และ 10 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบกับเริ่มต้นก่อนใช้ผลิตภัณฑ์, ** แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

อภิปรายผลการวิจัย

ผลการตรวจสอบคุณสมบัติของคอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้าชนิดต่างๆ จากข้อมูลของบริษัทผู้ผลิต พบว่าคอลลาเจนจากปลานิลมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีค่อนข้างขาว มีกลิ่นคาว

เล็กน้อย ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0–7.5 ละลายน้ำได้ดี ขนาดโมเลกุล 500 ดาลตัน คอลลาเจนจากปลาความีลักษณะเป็นเหลวใสสีเหลืองอ่อน ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.0–7.0 ละลายน้ำได้ดี ขนาดโมเลกุล 100-200 กิโลดาลตัน คอลลาเจนจากแมงกะพรุนมีลักษณะเป็นเหลวสีขาวขุ่น ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.5–5.5 ละลายน้ำได้ดี ขนาดโมเลกุล 100 กิโลดาลตัน

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างคอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้า ด้วยวิธีแบรดฟอร์ด (Bradford Method) พบว่า คอลลาเจนจากแมงกะพรุน มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดเท่ากับ 1366.22 mg/ml รองลงปลานิลเท่ากับ 519.93 mg/g และปลาดาวน้อยที่สุดเท่ากับ 18.45 mg/ml และเมื่อคิดปริมาณโปรตีนในสูตรตำรับที่มีตัวอย่างคอลลาเจน 5 % w/w ตำรับที่มีส่วนผสมคอลลาเจนจากปลานิลเท่ากับ 2599.65 มิลลิกรัม คอลลาเจนจากปลาดาว เท่ากับ 92.25 มิลลิกรัม, คอลลาเจนจากแมงกะพรุนมีโปรตีนเท่ากับ 6831.10 มิลลิกรัม

ผลการสแกนตัวอย่างคอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้า พบว่าทั้ง 3 ชนิดดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร พบว่าคอลลาเจนจากแมงกะพรุนมีค่าการดูดกลืนแสง มากกว่าปลานิลและปลาดาวตามลำดับ แต่คอลลาเจนทั้ง 3 ชนิดไม่พบการดูดกลืนแสงที่ประมาณ 233 นาโนเมตร แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างคอลลาเจนทางการค้าทั้ง 3 ชนิด มีโปรตีนชนิดอื่นปะปนอยู่และอาจมีกรดอะมิโนชนิด ไกลซีน โพรลีน ไฮดรอกซีโพรลีน ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของคอลลาเจนปริมาณน้อยมาก (นรินทร์ และวารงคณา, 2558)

ผลการเตรียมสูตรตำรับคอลลาเจนไฮโดรไลเสททางการค้าในเซรัมบำรุงผิวหนัง ได้เซรัมที่มีลักษณะเป็นเนื้อครีมเจล สีขาวขุ่น มีกลิ่นเฉพาะตัว ค่าความเป็นกรด-ด่างของทั้ง 3 สูตรประมาณ 6 เมื่อนำไปทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัครไม่พบอาการระคายเคือง

ผลการศึกษาค่าความชุ่มชื้นด้วยเครื่องมือยเซ็นส์และความยืดหยุ่นผิวด้วยเครื่องคิวโตมิเตอร์หลังจากการใช้ผลิตภัณฑ์ 10 สัปดาห์ พบว่าผลิตภัณฑ์เซรัมตำรับที่มีส่วนผสมของคอลลาเจนจากปลานิล และคอลลาเจนจากแมงกะพรุน มีค่าความชุ่มชื้นผิวและค่าความยืดหยุ่นผิวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนสูตรตำรับที่มีส่วนผสมของคอลลาเจนจากปลาดาวไม่มีผลในการเพิ่มค่าความชุ่มชื้นผิวและความยืดหยุ่นผิวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพในการให้ความชุ่มชื้นและความยืดหยุ่นผิวของคอลลาเจนชนิดต่าง ๆ นั้นสอดคล้องกับปริมาณ โปรตีนที่วิเคราะห์ได้ ด้วยวิธีแบรดฟอร์ด (Bradford's method) ซึ่งมีปริมาณ โปรตีนมากกว่า อาจจะส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการเพิ่มความชุ่มชื้นและยืดหยุ่นผิวที่ดีกว่าคอลลาเจนจากแหล่งอื่น (Daithankar et al., 2003) ดังนั้นในการพิจารณาคัดเลือกคอลลาเจน ใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง จำเป็นต้องคำนึงถึงปริมาณสารสำคัญในคอลลาเจนชนิดนั้นๆ รวมไปถึงควรพิจารณาถึงคุณสมบัติและคุณภาพของคอลลาเจนทางการค้าแต่ละชนิด เช่น

ลักษณะ สี กลิ่น คุณสมบัติในการละลาย ค่าความเป็นกรดต่าง ซึ่งอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาวิจัยพบว่ามีข้อจำกัดเกี่ยวเพศและอายุของอาสาสมัครได้แก่อาสาสมัครเพศชายมีจำนวนน้อยเพียง 2 คน จากทั้งหมด 15 คนทำให้ไม่สามารถแปรผลการเปลี่ยนแปลงของผิวที่เพศอาจมีผลได้ และการแบ่งกลุ่มอายุของอาสาสมัครไม่ชัดเจนเนื่องจากจำนวนแต่ละช่วงอายุแตกต่างกัน ซึ่งทำให้ไม่สามารถแปรผลการเปลี่ยนแปลงของผิวที่ช่วงอายุอาจส่งผล

2. กรณีมีผู้สนใจอาจทำการศึกษาต่อด้วยการใช้คอลลาเจนชนิดใหม่ ๆ ที่เกิดขึ้นมาทดสอบเพิ่มเติมเพื่อเป็นประโยชน์ในการเลือกวัตถุดิบที่มีคุณภาพในการผลิตเครื่องสำอางต่อไป

3. ในการศึกษาทดลองอาจมีการปรับเปลี่ยนเครื่องมือที่ใช้ทดสอบผิวที่มีความละเอียดมากขึ้นเพื่อเพิ่มความแม่นยำของผลการทดสอบมากขึ้น เช่น เครื่องวัดความชุ่มชื้นผิว (Corneometer®)

รายการอ้างอิง

นรินทร์ ทาหอม และวรางคณา สมพงษ์. (2558). สมบัติของคอลลาเจนที่ละลายด้วยกรดจากหนังปลาสด. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 23 (12), 257-267.

พิมพ์ร ลิลาพรพิสิฐ. (2544). *เครื่องสำอางสำหรับผิวหน้า (ฉบับปรับปรุง)*. เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Archive.lib.cmu.ac.th. (2552) . ปลาเพาะ , คอลลาเจน. สืบค้นเมื่อ 8 มกราคม 2559 จาก http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2552/food0952tp_ch2.pdf

Daithankar, Pamwar, Pisal, Paradkar & Mahagik, (2003). Moisturizing efficiency of silk protein hydrolysate: Silk fibroin. *Indian journal of Biotechnology*, Vol 4, January 11, 2005, 115-121. from <http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/5625/1/IJBT%204%281%29%20115-121.pdf>

Foegeding, E. A., Lanier, T. C., & Hultin, H. O. (1996). Characteristics of edible muscle tissues. *Food chemistry*, 3(15), 879-942.

Zeng, S., Yin, J., Yang, S., Zhang, C., Yang, P., & Wu, W. (2012). Structure and characteristics of acid and pepsin-solubilized collagens from *the skin of cobia (Rachycentron canadum)*. *Food chemistry*, 135(3), 1975-1984.