

การวิเคราะห์ปริมาณ **วิตามินอี** ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง



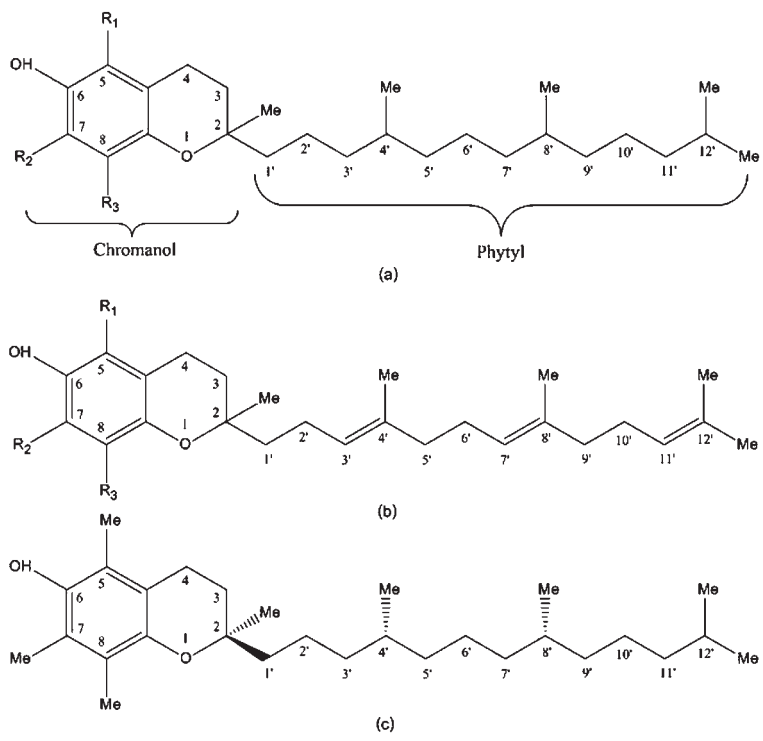
มาศก พรหมรังสรรค์
ภาณุพล ลิกธิเดช

วิตามินอีเป็นวิตามินชนิดละลายในไขมัน (fat soluble vitamin) ที่นำมาใช้ในเครื่องสำอาง เรียกว่า วิตามินสำหรับปกป้อง (protecting vitamin) โดยปกป้องเยื่อเมมเบรนของร่างกายจากการถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดจากการที่ร่างกายได้รับสารเคมีหรือผลจากการได้รับรังสีอัลตราไวโอเล็ต

โครงสร้างโมเลกุลของวิตามินอีจะประกอบด้วยส่วนหัว วงโครมานอล (Chromanol ring) ซึ่งจะมีหมู่ไฮดรอกซีที่ตำแหน่ง 6 และจะมีส่วนหางไฟติล (Phytyl tail) เป็นสายโซ่ที่มีคาร์บอนจำนวน 12 หน่วย ตามภาพที่ 1 (a) วงโครมานอลจะเป็นส่วนที่แสดงฤทธิ์ antioxidant

ส่วนหางไฟติลเป็นส่วนที่มีขั้วต่ำทำให้ดูดซึมในไขมันได้ดี วิตามินอีเป็นชื่อรวมของ Tocopherol และ Tocotrienol

โมเลกุล Tocopherol ต่างกับ Tocotrienol ที่ส่วนหางไฟติลของ Tocotrienol มีตำแหน่งไม่อิ่มตัวอยู่ 3 ที่ แต่ส่วนของวงโครมานอลมีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง 5, 7, 8 ซึ่งทำให้โมเลกุล Tocopherol และ Tocotrienol มีรูปแบบอนุพันธ์อย่างละ 4 รูปแบบ คือ α , β , γ , δ ตามตารางที่ 1 Tocopherol ที่พบในธรรมชาติคาร์บอนที่ตำแหน่ง 2, 4', 8' ซึ่งเป็น Chiral center จะเป็น R, R, R เท่านั้น หรือสามารถระบุได้เป็น R, R, R- α -tocopherol หรือ D- α -tocopherol



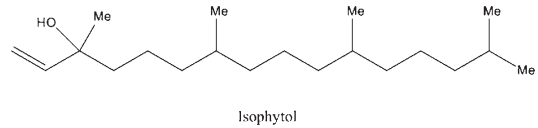
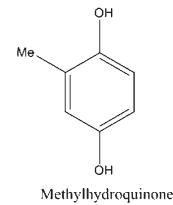
ภาพที่ 1 (a) Tocopherol, (b) Tocotrienol และ (c) (2R, 4'R, 8'R)- α -tocopherol

รูปแบบ	R ₁	R ₂	R ₃
α - tocopherol/tocotrienol	Me	Me	Me
β - tocopherol/tocotrienol	Me	H	Me
γ - tocopherol/tocotrienol	H	Me	Me
δ - tocopherol/tocotrienol	H	H	Me

Me = Methyl, H = Hydrogen atom

ตารางที่ 1 รูปแบบต่างๆ ของ Tocopherol และ Tocotrienol

วิตามินอีสามารถสังเคราะห์โดยการทำปฏิกิริยาระหว่าง Methylhydroquinone และ Isophytol (ภาพที่ 2) ผลของการสังเคราะห์จะได้ Tocopherol เป็นของผสมแรซีมิก (Racemic) ที่มีไอโซเมอร์ต่างกันทั้งหมด 32 รูปแบบ ตามตารางที่ 2 สำหรับ Tocotrienol จะได้จากธรรมชาติ เป็นส่วนใหญ่โดยอยู่ในรูปโครงสร้าง D-tocotrienol มีการเตรียมโดยการสังเคราะห์บ้าง ซึ่งจะได้เป็นของผสมแรซีมิกที่จะอยู่ในรูป DL-tocotrienol ซึ่งจะมีไอโซเมอร์ต่างกัน 32 รูปแบบเช่นกัน



ภาพที่ 2 โมเลกุล Methylhydroquinone และ Isophytol

แหล่งของวิตามินอี

แหล่งที่สำคัญของวิตามินอี คือ น้ำมันพืช เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน น้ำมันจมูกข้าวสาลี น้ำมันข้าวโพด นอกจากนี้ยังพบในไบโอดีและไบโอดีบางชนิด แต่ปริมาณวิตามินอีที่พบมีน้อย ในน้ำมันจมูกข้าวสาลี 100 กรัมจะมีวิตามินอี 119 มิลลิกรัม ในน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน 100 กรัมมีวิตามินอี 50 มิลลิกรัม น้ำมันถั่วเหลือง 100 กรัมมีวิตามินอี 8.1 มิลลิกรัม ส่วนน้ำมันพืชชนิดอื่นๆ

รูปแบบ Tocopherol	α	β	γ	δ
1	2R ⁴ 'R ⁸ 'R	2R ⁴ 'R ⁸ 'R	2R ⁴ 'R ⁸ 'R	2R ⁴ 'R ⁸ 'R
2	2R ⁴ 'R ⁸ 'S	2R ⁴ 'R ⁸ 'S	2R ⁴ 'R ⁸ 'S	2R ⁴ 'R ⁸ 'S
3	2R ⁴ 'S ⁸ 'S	2R ⁴ 'R ⁸ 'S	2R ⁴ 'R ⁸ 'S	2R ⁴ 'R ⁸ 'S
4	2R ⁴ 'S ⁸ 'R	2R ⁴ 'R ⁸ 'S	2R ⁴ 'R ⁸ 'S	2R ⁴ 'R ⁸ 'S
5	2S ⁴ 'S ⁸ 'S	2S ⁴ 'S ⁸ 'S	2S ⁴ 'S ⁸ 'S	2S ⁴ 'S ⁸ 'S
6	2S ⁴ 'S ⁸ 'R	2R ⁴ 'S ⁸ 'R	2R ⁴ 'S ⁸ 'R	2R ⁴ 'S ⁸ 'R
7	2S ⁴ 'R ⁸ 'R	2S ⁴ 'R ⁸ 'R	2S ⁴ 'R ⁸ 'R	2S ⁴ 'R ⁸ 'R
8	2S ⁴ 'R ⁸ 'S	2S ⁴ 'R ⁸ 'R	2S ⁴ 'R ⁸ 'S	2S ⁴ 'R ⁸ 'S
รูปแบบ Tocotrienol	α	β	γ	δ
1	2R-trans/trans	2R-trans/trans	2R-trans/trans	2R-trans/trans
2	2R-trans/cis	2R-trans/cis	2R-trans/cis	2R-trans/cis
3	2R-cis/trans	2R-cis/trans	2R-cis/trans	2R-cis/trans
4	2R-cis/cis	2R-cis/cis	2R-cis/cis	2R-cis/cis
5	2S-trans/trans	2S-trans/trans	2S-trans/trans	2S-trans/trans
6	2S-trans/cis	2S-trans/cis	2S-trans/cis	2S-trans/cis
7	2S-cis/trans	2S-cis/trans	2S-cis/trans	2S-cis/trans
8	2S-cis/cis	2S-cis/cis	2S-cis/cis	2S-cis/cis

ตารางที่ 2 ไอโซเมอร์ของวิตามินอี

มีวิตามินอีน้อยกว่า 100 มิลลิกรัมในน้ำมัน 100 กรัม การแยกวิตามินอีออกมาเพื่อการค้าจึงไม่คุ้มค่า

ในกระบวนการทำน้ำมันพืชให้บริสุทธิ์โดยการกลั่นส่วนที่กลั่นได้เรียกว่า Fatty acid distillate (FAD) มีส่วนประกอบสำคัญ คือ กรดไขมันอิสระ (Free fatty acid หรือ FFA) ซึ่งเป็นส่วนที่มีปริมาณมากที่สุด ร้อยละ 25-80 นอกนั้นเป็น เอซิลกลีเซอรอล (Acylglycerol) สเตอรอล แวกซ์ แอลดีไฮด์ สารสี (pigment) น้ำ และ วิตามินอี FAD จากน้ำมันถั่วเหลืองมีวิตามินอีร้อยละ 10 - 14 น้ำมันข้าวโพด ร้อยละ 7 - 10 น้ำมันเมล็ดฝ้ายร้อยละ 6 - 10 น้ำมันเมล็ดดอกทานตะวันร้อยละ 5 - 6 และจากน้ำมันปาล์ม ร้อยละ 0.1 - 0.4 ปริมาณวิตามินอีที่พบใน FAD มีปริมาณมากพอที่สามารถทำให้บริสุทธิ์เพื่อการค้าได้ ถึงแม้ FAD จากน้ำมันปาล์มจะมีปริมาณวิตามินอีไม่มากแต่ร้อยละ 70 - 80 ของวิตามินอีเป็น Tocotrienol น้ำมันปาล์มจึงเป็นแหล่งสำคัญสำหรับการผลิต Tocotrienol ซึ่งต่างจากน้ำมันชนิดอื่นที่จะเป็น Tocopherol

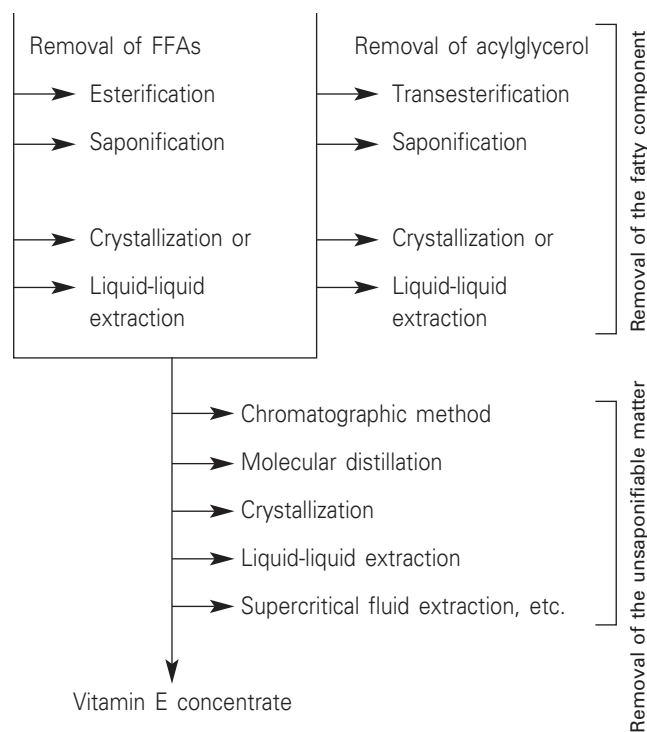
การแยกวิตามินอีจาก FAD เพื่อให้ได้วิตามินอีบริสุทธิ์จะต้องกำจัดกรดไขมันอิสระก่อน โดยเปลี่ยนให้เป็นเอสเทอร์แล้วกลั่นออกไป จากนั้นทำปฏิกิริยาแซพอนิฟิเคชัน แล้วสกัดวิตามินอีกับส่วนที่ไม่เกิดปฏิกิริยาแซพอนิฟิเคชันด้วยตัวทำละลาย วิตามินอีที่สกัดได้จะมีสเตอรอล แวกซ์ ไฮโดรคาร์บอน รวมอยู่ด้วย ซึ่งจะแยกวิตามินอีออกมาโดยการตกผลึกซ้ำหรือใช้การสกัด (liquid-liquid extraction) จากนั้นทำให้วิตามินอีบริสุทธิ์โดยใช้วิธีโครมาโทกราฟีรวมทั้งเทคนิคอื่นๆ ร่วมกันตามความบริสุทธิ์ที่ต้องการ ซึ่งสรุปในแผนภาพการแยกวิตามินอีแสดงในภาพที่ 3

การแยกวิตามินอีจากน้ำมันพืชสามารถใช้กระบวนการตามแผนภาพข้างต้นได้เช่นกัน แต่เนื่องจากน้ำมันพืชมีส่วนประกอบหลักคือเอซิลกลีเซอรอลซึ่งต้องใช้ปฏิกิริยา Transesterification แล้วกำจัดออกไปโดยการกลั่น

ในกรณีนี้วัตถุดิบเป็นไบโหรือนเมล็ด ต้องบดก่อนโดยอาจใช้การทำให้แห้งร่วมด้วย จากนั้นสกัดด้วยตัวทำละลาย เช่น แอลกอฮอล์ อะซีโตน หรือตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ ตามความเหมาะสมกับวัตถุดิบ จากนั้นจะใช้วิธีโครมาโทกราฟี รวมถึงเทคนิคอื่นๆ ร่วมด้วย

Starting material : FAD

Vegetable oil



ภาพที่ 3 แผนภาพการแยกและทำให้บริสุทธิ์

การนำวิตามินอีมาใช้ในเครื่องสำอาง

ผิวหนังชั้นนอกที่ปกป้องร่างกายประกอบด้วย เซลล์สำคัญ 3 ชนิด คือ Keratinocyte, Melanocytes และ Langerhans ใน Keratinocyte จะมีการสร้างโปรตีนสำคัญ ชนิดหนึ่งคือ Keratin เป็นส่วนที่อุ้มน้ำได้ดีทำให้เซลล์ผิวหนังมีความชุ่มชื้นและมีความยืดหยุ่นสูง ใน Melanocytes จะมีการสร้างสารสีหรือเมลานินซึ่งทำให้ผิวมีสีเข้ม ส่วน Langerhans เป็นเซลล์ที่มีหน้าที่ผลิตภูมิคุ้มกัน

Keratinocyte อยู่ด้านนอกสุดจะเปลี่ยนเป็น เซลล์ที่ไม่มีชีวิตที่เรียกว่า Corneocyte ซ้อนกันเป็นชั้น ภายในจะบรรจุด้วย Keratin ขณะที่ผิวหนังถูกโจมตีจากรังสีอัลตราไวโอเล็ตหรือสารเคมีจากสิ่งแวดล้อม จะทำให้เกิดอนุมูลอิสระและกลุ่มสารที่เรียกว่า Reactive Oxygen Species (ROS) ซึ่งจะเกิดขึ้นได้ทั้งภายในและระหว่างเซลล์ ทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า Oxidative stress ที่จะมีผลต่อการทำลายเซลล์ และทำให้เกิดอาการต่างๆ เช่น การอักเสบของผิวหนังโดยมีลักษณะเป็นผื่นแดง ผิวหยابกระด้างเนื่องจาก Keratin ถูกทำลาย ทำให้เสียสภาพของการอุ้มน้ำ ทำให้ผิวหยابกระด้าง ดูแก่ก่อนวัย ROS ที่เกิดขึ้นจะมีผลกระทบต่อ Melanocyte ซึ่งจะกระตุ้นให้เกิดการสร้างเมลานินมากขึ้น จึงทำให้ผิวมีสีคล้ำ และยังอาจเกิดอาการคันจากการหลั่งแอนติฮิสตามีนได้ รังสีอัลตราไวโอเล็ตช่วงที่มีผลต่อเซลล์ชั้นนอกจะเป็นช่วงความยาวคลื่น 290-320 นาโนเมตร (UVB) นอกจากทำให้ผิวขาดความยืดหยุ่น ดูแก่ก่อนวัยแล้ว ยังอาจทำให้เกิดมะเร็งผิวหนังได้มากกว่าช่วง UVA (ความยาวคลื่น 320-400 นาโนเมตร)

วิตามินอีสามารถลดการเกิดอาการต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้น ด้วยคุณสมบัติที่เป็น Antioxidant โดยไปลดการเกิดอนุมูลอิสระและลดการเกิด ROS ในเซลล์ผิวหนังจะมีโปรตีนชนิดหนึ่งที่เรียกว่า Glutathione ซึ่งจะทำหน้าที่ให้ความสมดุลของปฏิกิริยารีดอกซ์ภายในเซลล์ สามารถป้องกันสภาวะ Oxidative stress ได้ พบว่า ถ้ามีวิตามินอีปริมาณสูงจะทำให้เซลล์ผลิต Glutathione ได้มากขึ้น นอกจากนี้ Glutathione ยังเป็นตัวช่วยในการสร้างเมลานินอีกด้วย

วิตามินอีที่นำมาใช้ในเครื่องสำอางส่วนใหญ่จะเป็น α หรือ γ -tocopherol เนื่องจากเป็นไอโซเมอร์ที่มีมาก

ที่สุดในธรรมชาติและมีฤทธิ์เป็น Antioxidant เท่าๆ กัน นอกจากนั้นรูปแบบ D หรือ L ก็มีฤทธิ์ไม่แตกต่างกัน เพราะโมเลกุลมีความแตกต่างกันเฉพาะรูปแบบสามมิติของตำแหน่งคาร์บอนบนส่วนหางไฟติล แต่พบว่า Tocotrienol รักษาอาการที่ผิวหนังให้ผลดีกว่า Tocopherol เนื่องจาก Tocotrienol มีความไม่อิ่มตัวบนไฟติลถึง 3 ตำแหน่ง จึงทำให้ถูกดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดีกว่า

แต่ Tocopherol ไม่ค่อยเสถียร จึงได้มีการสังเคราะห์เป็นสารเอสเทอร์ของหมู่ไฮดรอกซีที่ตำแหน่ง 6 ของวงโครมานอล ทำให้โมเลกุลมีความเสถียรมากขึ้น สามารถออกฤทธิ์ได้นานขึ้น แต่ Sensitivity ลดลง เนื่องจากเมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังแล้วจะต้องไฮโดรไลซิสหมู่เอสเทอร์ เพื่อให้ได้ Tocopherol กลับคืนมาก่อนจึงแสดงฤทธิ์ได้ การสังเคราะห์เป็นเอสเทอร์ที่นิยมใช้กันมากคือ แอสซีเทต ซัคซีเนต นิโคติเนต ลิโนเลอต หมู่เอสเทอร์ที่สังเคราะห์นอกจากเพิ่มความเสถียรให้กับโมเลกุลแล้วยังช่วยให้มีผลต่อการละลายในตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วต่างกัน ซึ่งจะมีประโยชน์สำหรับการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้หลากหลาย

การนำวิตามินอีมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง มีผลการทดสอบจากการนำ Tocopheryl acetate มาใช้ในครีมทาผิว หากต้องการให้ได้ผลดี จะต้องมีปริมาณอย่างน้อยร้อยละ 5 ดังนั้นการควบคุมปริมาณการใช้วิตามินอีในเครื่องสำอางจึงมีความสำคัญ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพ การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินอีที่ใช้กันมากที่ให้ความถูกต้องและแม่นยำ คือวิธี High performance liquid chromatography โดยระบบรีเวอร์สเฟส (reversed phase) และนอร์มอลเฟส (normal phase) ที่ใช้ UV detector การเตรียมตัวอย่างจะใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนการวิเคราะห์ทางคุณภาพเพื่อระบุชนิดของวิตามินอีสามารถใช้ Retention time หรือใช้เครื่องตรวจวัดอื่นๆ เช่น Mass spectrometer, Electrochemical detector

ในขณะนี้กรมวิทยาศาสตร์บริการยังไม่ได้ให้บริการวิเคราะห์ทดสอบวิตามินอีในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง แต่กำลังเตรียมความพร้อมเพื่อให้บริการได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป