ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
(ฉบับที่ ๑๓) พ.ศ. ๒๕๓๖
ออกตามความในพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. ๒๕๓๕
เรื่อง แป้งน้ำ

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕(๒) (๔) (๕) และมาตรา ๒๗ แห่งพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. ๒๕๓๕ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข ออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้แป้งน้ำ เป็นเครื่องสำอางควบคุม

ข้อ ๒ ในประกาศนี้

"แป้งน้ำ" หมายความว่า สิ่งปรุงที่ใช้ทาหน้าและส่วนอื่นๆ ของร่างกายซึ่งประกอบด้วยทัลค์ (talc or natural hydrated magnesium silicate) แคลเซียมคอร์บอเนต (calcium carbonate) และ/หรือแมกนีเซียมคาร์บอเนต (magnesium carbonate) และ/หรืออะลูมิเนียมซิลิเคต (aluminium silicate) ผสมกับน้ำ และอาจประกอบด้วยสารฝาดสมาน สารช่วยทำให้ผิวเย็น สารกันเสีย สารแต่งกลิ่น หรือสี และอื่นๆ ด้วยก็ได้

ข้อ ๓ แป้งน้ำต้องมีคุณภาพมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(๑) ไม่มีวัตถุห้ามใช้ ไม่มีวัตถุใดหรือสารใดที่เป็นอันตราย หรือไม่ปลอดภัยในการใช้ ตามที่ได้กำหนดไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ซึ่งออกตามความในพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. ๒๕๓๕ เกี่ยวกับเรื่องนั้น

(๒) ไม่มีสารปนเปื้อน เว้นแต่

(ก) สารหนู (arsenic) ไม่เกิน ๕ ส่วนในล้านส่วน โดยน้ำหนัก

(ข) โซลูเบิลแบเรียม (soluble barium) ในรูปของแบเรียมคลอไรด์ (barium chloride) ไม่เกินร้อยละ ๐.๐๕ โดยน้ำหนัก

(ค) ปรอท (mercury) ไม่เกิน ๐.๕ ส่วนในล้านส่วน โดยน้ำหนัก

(ง) ตะกั่ว (lead) ไม่เกิน ๒๐ ส่วนในล้านส่วน โดยน้ำหนัก

(๓) ใช้สีผสมถูกต้องหรือมีปริมาณไม่เกินกำหนด ตามที่ได้กำหนดไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ซึ่งออกตามความในพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. ๒๕๓๕

(๔) มีคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ ดังนี้

(ก) แบคทีเรีย ยีสต์ และราทั้งหมด น้อยกว่า ๑๐๐๐ โคโลนีต่อกรัม (total colony count)

(ข) ปรีซัมป์ตีฟ โคลิฟอร์ม น้อยกว่า ๑๐ โคโลนีต่อกรัม (presumptive coliform)

(ค) ฟีคัล โคไล (faecal coli) ไม่พบ

(ง) สตาฟีโลคอกคุส ออเรอุส (Staphylococcus aureus) ไม่พบ

(จ) ซูโดโมนาส แอรูจิโนซา ไม่พบ
(Pseudomonas aeruginosa)

(ฉ) ซาลโมเนลลา ไม่พบ
(Salmonella spp.)

(ช) โคลสตริดิอุม ไม่พบ
(Clostridium spp.)

คุณภาพมาตรฐานของแป้งน้ำ ต้องผ่านการตรวจสอบโดยใช้วิธีการตรวจแป้งน้ำทางจุลชีววิทยาที่แนบท้ายประกาศนี้

(๕) ความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของส่วนที่เป็นน้ำ (โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด - ด่าง) อยู่ระหว่าง ๕.๕ - ๘.๐

ข้อ ๔ แป้งน้ำสำหรับเด็กต้องไม่มีกรดบอริก (boric acid) และ/หรือเกลือบอเรต เมนทอล (menthol) การบูร (camphor) หรือวัตถุที่มีชื่อเรียกอย่างอื่นแต่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีอย่างเดียวกันกับวัตถุที่ระบุนี้

ข้อ ๕ แป้งน้ำ ถ้ามีส่วนผสมของกรดบอริก (boric acid) หรือโซเดียมบอเรต (sodium borate) ต้องใช้ในอัตราส่วนไม่เกินร้อยละ ๓.๐ โดยน้ำหนัก และถ้ามีส่วนผสมของเมนทอล (menthol) ต้องใช้ในอัตราส่วนไม่เกินร้อยละ ๑.๐ โดยน้ำหนัก และ/หรือการบูร (camphor) ต้องใช้ในอัตราส่วนไม่เกินร้อยละ ๑.๕ โดยน้ำหนัก

ข้อ ๖ ให้ถือว่าข้อ ๓ (๑) หรือ (๒) และข้อ ๔ เป็นการกำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง ตามมาตรา ๕ (๔) และให้ถือว่าข้อ ๓ (๓) เป็นการกำหนดวัตถุที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง

ตามมาตรา ๕(๕) และให้ถือว่า ข้อ ๓(๔) หรือ (๕) และข้อ ๕ เป็นการกำหนดวิธีการผลิตและปริมาณของส่วนประกอบสำคัญของเครื่องสำอางควบคุมตามมาตรา ๒๗ แห่งพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. ๒๕๓๕

ประกาศฉบับนี้ให้ใช้บังคับเมื่อพ้นกำหนดเก้าสิบวันนับแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๑๖ ธันวาคม ๒๕๓๖
อาทิตย์ อุไรรัตน์
รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

การตรวจแป้งน้ำทางจุลชีววิทยา

1. เครื่องมือ (ผ่านการฆ่าเชื้อ นอกจากข้อ 4, 5, 6, 7)
   (1) ปิเปตมีขีดแบ่งปริมาตรความจุ 1.0, 2.0 มิลลิลิตร
   (2) จานเลี้ยงเชื้อขนาด 100x15 มิลลิเมตร
   (3) หลอดแก้วฝาเกลียวขนาด 13x100, 16x150, 25x150 และ 25x200 มิลลิเมตร
   (4) เครื่องชั่งที่ชั่งได้ละเอียดถึง 0.01 กรัม
   (5) ตู้อบเพาะเชื้อ 35±2 องศาเซลเซียส, 25-30 องศาเซลเซียส
   (6) เครื่องนับโคโลนี
   (7) เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex Mixer)

2. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายต่างๆ
   2.1 สารละลายผสมของ Ethanol 80 % และ Hydrochloric acid 1 % ในอัตราส่วน 1 : 1 โดยปริมาตร
   2.2 แอลกอฮอล์ (Ethanol) 70 % โดยปริมาตร
   2.3 สารละลายเจือจางฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (USP) + ทวีน (โปลีซอเบต) 80 ร้อยละ 1 ของน้ำหนักต่อปริมาตร + เปปโตนร้อยละ 0.1 ของน้ำหนักต่อปริมาตรที่ pH 7.0
   2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆ ซึ่งจะได้กล่าวถึงในแต่ละขั้นตอน

3. การเตรียมตัวอย่าง
   3.1 ทำความสะอาดบริเวณภายนอกภาชนะบรรจุโดยเฉพาะบริเวณที่ปิด-เปิด ด้วยสารละลายผสมตามข้อ 2.1 หรือ 2.2
   3.2 เขย่าขวดบรรจุเพื่อให้เกิดการแขวนตะกอนอย่างสม่ำเสมอ ชั่งตัวอย่าง 2.0 กรัม ลงในหลอดแก้วฝาเกลียวขนาด 25x200 มิลลิเมตร ที่มีสารละลายเจือจางตามข้อ 2.3 ปริมาตร 18.0 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1 ใน 10 (10^{-1}) เขย่าให้เข้ากันโดยใช้ Vortex mixer แล้วดำเนินการตรวจตามวิธีที่กำหนดต่อไป

4. การตรวจหาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด
   วิธีวิเคราะห์
   4.1 เตรียมและแสดงฉลากบนจานเลี้ยงเชื้อขนาด 100x15 มิลลิเมตร จำนวน 6 คู่ สำหรับใส่ตัวอย่างที่มีความเจือจางตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-6}
   4.2 เจือจางตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 10^{-1} (ข้อ 3.2) ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยดูดตัวอย่าง 1.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดแก้วฝาเกลียวขนาด 16x150 มิลลิเมตรที่มีสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9.0 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-2} ทำต่อไปจนได้ตัวอย่างที่มีความเจือจางครบตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-6}
   4.3 ดูดตัวอย่างที่เจือจางแล้วในข้อ 4.2 ที่ความเจือจางละ 1.0 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่แสดงฉลากไว้ในข้อ 4.1

4.4 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar ที่ละลายและทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ประมาณ 15 ถึง 20 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีตัวอย่าง แล้วขยับจานเลี้ยงเชื้อให้ตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากัน ปล่อยทิ้งไว้ให้แข็ง กลับจานเลี้ยงเชื้อ นำเข้าตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

4.5 นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นเฉพาะจานที่มีโคโลนี 30 ถึง 300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยแต่ละความเจือจางแล้วคูณด้วย dilution factor จะได้จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียต่อตัวอย่าง 1 กรัม

5. <u>การตรวจหายีสต์และรา</u>

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

5.1 ทำเช่นเดียวกับข้อ 4.1 - 4.3

5.2 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud Dextrose Agar ที่ละลายและทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ประมาณ 15 ถึง 20 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีตัวอย่าง ขยับจานเลี้ยงเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้อและตัวอย่างเข้ากัน ปล่อยทิ้งไว้ให้แข็ง กลับจานเลี้ยงเชื้อ นำเข้าตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25 - 30 องศาเซลเซียส นาน 5 ถึง 7 วัน

5.3 นับจำนวนโคโลนีแล้วหาค่าเฉลี่ยของทุกความเจือจาง คูณด้วย dilution factor จะได้จำนวนโคโลนีของยีสต์และราต่อตัวอย่าง 1 กรัม

<u>หมายเหตุ</u> วิธีคำนวณปริมาณแบคทีเรีย ยีสต์และราทั้งหมด (Total Colony Count) นำผลในข้อ 4.5 และ 5.3 มารวมกันด้วยวิธีทางคณิตศาสตร์ โดยใช้ dilution factor เท่ากัน

6. <u>การตรวจหาจำนวนปรีซัมป์ตีฟ โคลิฟอร์ม และฟีคัล โคไล</u>

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

6.1 ดูดตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 10^{-1} (3.2) 1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อจำนวน 2 จาน

6.2 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey Agar ที่ละลายและทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ประมาณ 15 ถึง 20 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อ (6.1) ขยับจานเลี้ยงเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้อและตัวอย่างเข้ากัน ปล่อยทิ้งไว้ให้แข็ง แล้วกลับจานเลี้ยงเชื้อ นำเข้าตู้อบเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6.3 นับจำนวนโคโลนีที่มีสีแดงเข้ม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่ต่ำกว่า 0.5 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นโคโลนีของ ปรีซัมป์ตีฟ โคลิฟอร์ม

6.4 เขี่ยเชื้อจากโคโลนีในข้อ 6.3 มาเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB (Eosin Methylene Blue) ถ้ามีโคโลนีที่แสดงลักษณะเลื่อมโลหะภายใต้รีเฟลกเตดไลต์ และสีน้ำเงินเกือบดำภายใต้ทรานสมิตเตดไลต์ (Metallic sheen under reflected light and a blue black appearance under transmitted light) แสดงว่ามี ฟีคัล โคไล ถ้าต้องการยืนยันผลให้ทำการทดสอบทางชีวเคมี

7. การตรวจหาโคโลนีของ สตาฟิโลคอกคุส ออเรอุส (Staphylococcus aureus)

วิธีวิเคราะห์

7.1 ชั่งแป้งน้ำตัวอย่าง 2.0 กรัม ใส่ลงในหลอดแก้วฝาเกลียวขนาด 25X150 มิลลิเมตร ที่มี Tryptic Soy Broth (ที่มี NaCl 7.5% น้ำหนักต่อปริมาตร) 18.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำเข้าตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส นาน 24 ถึง 48 ชั่วโมง

7.2 ถ่ายเชื้อจากข้อ 7.1 มา 1 ลูป นำไปเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Vogel Johnson Agar นำเข้าตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส นาน 24 ถึง 48 ชั่วโมง

7.3 เลือกโคโลนีที่มีลักษณะโค้งนูนดำเป็นมัน อาจมีสีเหลืองโดยรอบโคโลนีหรือไม่ก็ได้มาอย่างน้อย 1 โคโลนี ถ่ายเชื้อลงใน Tryptic Soy Agar Slant นำไปอบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส นาน 18 ถึง 24 ชั่วโมง จนมีการเจริญของเชื้ออย่างชัดเจน

7.4 ถ่ายเชื้อจากข้อ 7.3 ลงในหลอดทดลองขนาด 13X100 มิลลิเมตร ที่มี Brain Heart Infusion Broth 0.2 มิลลิลิตร เติม Plasma 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส ตรวจดูปฏิกริยา Coagulase positive ว่ามีการจับตัวเป็นก้อนแข็งหรือไม่ ทุก 3 ชั่วโมงจนครบ 24 ชั่วโมง โดยใช้จุลินทรีย์ที่ทราบว่าเป็นชนิด Coagulase positive และ Coagulase negative เป็นตัวเปรียบเทียบ ถ้าได้ผลบวกก็แสดงว่ามี Staphylococcus aureus

8. การตรวจหาซูโดโมนาส แอรูจิโนซา (Pseudomonas aeruginosa)

วิธีวิเคราะห์

8.1 ใช้แป้งน้ำตัวอย่าง 2.0 กรัม ใส่ลงในหลอดแก้วฝาเกลียวขนาด 25X150 มิลลิเมตรที่มี Tryptic Soy Broth 18.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปอบเพาะเชื้อที่ อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง

8.2 ถ่ายเชื้อจากข้อ 8.1 มา 1 ลูป เกลี่ยบนจานที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Cetrimide Agar นำไปอบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง

8.3 เลือกโคโลนีที่มีสีเขียวบน Cetrimide Agar เขี่ยเชื้อแล้วนำมาเกลี่ยบนจานที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Pseudomonas aeruginosa Agar P และ Pseudomonas Agar F นำไปอบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียสนาน 24 ถึง 48 ชั่วโมง ตรวจดูการเรืองแสงของโคโลนีภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต (รายละเอียดตามตารางที่ 1)

8.4 ยืนยันผลในข้อ 8.3 โดยการเขี่ยเชื้อของโคโลนีที่สงสัย (ตามตารางที่ 1) ลงบนแถบของกระดาษกรอง ซึ่งชุบสารละลาย N,N-dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride ถ้ากระดาษกรองเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีม่วง แสดงว่าอาจมี Pseudomonas aeruginosa ถ้าต้องการยืนยันผลแน่นอน ให้ทดสอบทางชีวเคมี

ตารางที่ 1 Morphologic and Diagnostic Characteristics of Pseudomonas aeruginosa on Selective and diagnostic Agar Media

Media	Cetrimide Agar Medium	Pseudomonas Agar Medium for Detection of Fluorescin	Pseudomonas Agar Medium for Detection of Pyocyanin
Characteristic Colonial Morphology	Generally greenish	Generally Colourless to yellowish	Generally greenish
Fluorescence in UV Light	Greenish	Yellowish	Blue
Oxidase Test	Positive	Positive	Positive
Gram Stain	Negative rods	Negative rods	Negative rods

9. การตรวจหาโคลสตริดิอุม (Clostridium spp.)

วิธีวิเคราะห์

9.1 ชั่งแป้งน้ำตัวอย่าง 2.0 กรัม ใส่ลงในหลอดแก้วฝาเกลียวขนาด 25X150 มิลลิเมตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Cook Meat Medium 20.0 มิลลิลิตร ซึ่งต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ประมาณ 2-3 นาที แล้วทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จำนวน 2 หลอด (เพื่อแยกระหว่างเชื้อที่สร้างสปอร์และไม่สร้างสปอร์) หลอดแรกปิดผิวหน้าด้วยพาราฟินที่ฆ่าเชื้อแล้ว ส่วนหลอดที่สองต้มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที แล้วจึงปิดทับด้วยพาราฟินที่ฆ่าเชื้อแล้วเช่นกัน

9.2 นำหลอดทั้งสองไปอบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส โดยตรวจดูทุก 24 ชั่วโมง จนครบ 4 วัน ถ้าไม่มีการเจริญของเชื้อทั้ง 2 หลอด แสดงว่าไม่มี Clostridium spp.และ anaerobic bacteria ตัวอื่น

9.3 ถ้ามีการเจริญเติบโตของเชื้อให้ทดสอบและยืนยันผลตามวิธีใน Thai Pharmacopoeia 1987 เล่มที่ 1 หน้า 486-487

10. การตรวจหา ซาลโมเนลลา (Salmonella spp.)

วิธีวิเคราะห์

10.1 เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับที่เตรียมไว้สำหรับตรวจวิเคราะห์ Pseudomonas aeruginosa ในข้อ 8.1

10.2 ถ่ายเชื้อจากข้อ 10.1 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในซีลีไนต์บรอท (Selenite Cystine Broth) ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้เขย่าให้เข้ากัน นำใส่ตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียสนาน 16 ถึง 24 ชั่วโมง

10.3 ใช้ลูป แตะเชื้อจากข้อ 10.2 ลากไปมา (streak) เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยวๆ บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด ที่เตรียมไว้คือ เอส เอส อะการ์ (S.S Agar) เข้าตู้เพาะเชื้อที่มีอุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง และบิสมัทซัลเฟตอะการ์ (Bismuth Sulfate Agar) เข้าตู้อบเพาะเชื้อ 35±2 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมง

10.4 ดูลักษณะเฉพาะของโคโลนีซาลโมเนลลาบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิด ทดสอบขั้นต่อไปทางชีวเคมี และวิธีแอนตี้ซีรั่ม (antiserum) ตามวิธีของในหนังสือ Bergey's Determinative Bacteriology ปี 1974

เอกสารอ้างอิง

1. Madden N.J.1979. Microbiological Method for Cosmetics. FDA BACTERIOLOGICAL 5th Edition.
2. U.S.P. XXII.P. 1479-1484.
3. Lucas P.J., 1977. Microbiological Examination of Cosmetics. Manual of Cosmetic Analysis 2nd Edition.p. 132-140.
4. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (มอก.152-2518)
5. Thai Pharmacopoeia, 1987. vol. 1 p. 48.