การผลิตครีมมาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ

CREAM MARKS PRODUCTION WITH *Isaria tenuipes* EXTRACTS

ธนวัฒน์ เอี่ยมสำอาง

บุณฑริก ดวงสง่าศรี

ปิ่นปินัทธ์ กุลเมธีทวีวุฒิ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CREAM MARKS PRODUCTION WITH *Isaria tenuipes* EXTRACTS

THANAWAT AIAMSAM-ARNG

BUNTARIG DUANGSANGASRI

PINPINAT KULMETEETAWEEWUT

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN BIOTECHNOLOGY FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตครีมมาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ

Cream marks production with *Isaria tenuipes* extracts

ชื่อนักศึกษา นายธนวัฒน์ เอี่ยมสำอางค์ รหัสนักศึกษา 58050764

นางสาวบุณฑริก ดวงสง่าศรี รหัสนักศึกษา 58050773

นางสาวปิ่นปินันท์ กุลเมธีทวีวุฒิ รหัสนักศึกษา 58050817

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.อารี ฤทธิบูรณ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ ประธานกรรมการ	
ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการ	
รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตครีมมาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ

Cream marks production with *Isaria tenuipes* extracts

ชื่อนักศึกษา	นายธนวัฒน์	เอี่ยมสำอางค์	รหัสนักศึกษา 58050764
	นางสาวบุณฑริก	ดวงสง่าศรี	รหัสนักศึกษา 58050773
	นางสาวปิ่นปินันท์	กุลเมธีทวีวุฒิ	รหัสนักศึกษา 58050817
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2561		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.อารี ฤทธิบูรณ์		

บทคัดย่อ

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเราพบว่าเห็ดถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยที่ DPPH มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ ABTS มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.09 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วเรายังพบว่าในเห็ดถั่งเช่าหิมะ มีสารซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพ และเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเห็ดถั่งเช่าหิมะที่จะผสมลงในครีมมาสก์หน้า โดยมีความแตกต่างของความเข้มข้นของเห็ดถั่งเช่าหิมะ คือ 2%, 5% และ 8% จากนั้นนำครีมมาสก์หน้ามาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่า ครีมมาสก์หน้าสูตร 5% และ 8% DPPH มีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.88 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 1.95 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วน ABTS มีค่า IC_{50} เท่ากับ 7.54 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 5.72 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้เรายังทำการวิเคราะห์ปริมาณของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในมาสก์ครีมมาสก์หน้าสูตร 2%, 5% และ 8% มีค่าเท่ากับ 2.65 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน, 3.06 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน และ 3.65 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ ค่า pH ของครีมมาสก์หน้าสูตร 8% มีค่าเท่ากับ 4.5 การปนเปื้อนทางจุลชีววิทยาของครีมมาสก์ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย ในทางสถิติค่าความชุ่มชื้นของมาสก์ครีมมาสก์สูตร 8% นั้นมีค่าแตกต่างจากครีมมาสก์สูตร 2% และ 5% อย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญ : ถั่งเช่าหิมะ สารต้านอนุมูลอิสระ ครีมมาสก์ สารคอร์ไดเซปิน สารอะดีโนซีน สารซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Cream marks production with *Isaria tenuipes* extracts	
Students	Mr. Thanawat Aiamsam-arng	Student ID 58050764
	Miss Buntarig Duangsangasri	Student ID 58050764
	Miss Pinpinat Kulmeteetaweewut	Student ID 58050764
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)	
Department	Biology	
Faculty	Science	
University	King Monkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)	
Academic Year	2018	
Advisor	Assoc. Prof. Aree Rittiboon	

Abstract

From an analysis of antioxidant activity, we found that *Isaria tenuipes* had a strong antioxidant activity at DPPH IC_{50} of 0.50 mg/ml and ABTS IC_{50} of 0.09 mg/ml. We found that *Isaria tenuipes* had superoxide dismutase, a potent antioxidant. To find out the right amount of *Isaria tenuipes* to be incorporated in the cream mask, we prepared the cream with 2%, 5% and 8% *Isaria tenuipes* and analyzed the cream's antioxidant activity, in terms of DPPH and ABTS equivalents. We found that the 5% and 8% cream exhibited equivalent DPPH activities of 4.88 mg/ml and 1.95 mg/ml, respectively, and ABTS equivalents of 7.54 mg/ml and 5.72 mg/ml, respectively. We also analyzed the amounts of superoxide dismutase in the 2%, 5% and 8% cream mask and found them to be 2.65 U/mg.protein, 3.06 U/mg.protein, and 3.65 U/mg.protein, respectively. The pH of the 8% cream mask was 4.5. Regarding microbiological contamination, the cream was uncontaminated with fungus, yeast, and bacteria. Statistically, the facial moisture retained by the 8% cream mask was significantly higher than the those retained by the 2% and 5% cream masks.

Keywords : *Isaria tenuipes* , Antioxidant , Cream mask , Cordycepin , Adenosine , superoxide dismutase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้จัดขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งได้สำเร็จด้วยความอนุเคราะห์และการช่วยเหลือจากผู้อุปการคุณหลายท่าน

ขอขอบพระคุณ รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆเกี่ยวกับการทำงาน การตรวจทาน ตลอดจนชี้แนะข้อบกพร่องต่างๆที่เกิดขึ้น พร้อมทั้งช่วยชี้แนวทางในการแก้ไขปัญหาแก่คณะผู้จัดทำ เพื่อให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ ประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษและดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการสอบโครงงานพิเศษ ที่สละเวลาในการตรวจสอบ แก้ไขและให้คำแนะนำในการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆแก่โครงงานพิเศษฉบับนี้ ให้เสร็จสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนและถ่ายทอดความรู้ต่างๆที่ทำให้โครงงานพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ตลอดจนบุคลากรและพี่นักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือและอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ต่างๆสำหรับการทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อผู้ที่สนใจไม่มากก็น้อย หากมีข้อผิดพลาดประการใดทางคณะผู้จัดทำต้องขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

ธนวัฒน์ เอี่ยมสำอาง

บุณฑริก ดวงสง่าศรี

ปิ่นปินัทธ์ กุลเมธีทวีวุฒิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ข

กิตติกรรมประกาศ..... ค

สารบัญ..... ฆ

สารบัญตาราง..... ช

สารบัญรูป..... ญ

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงาน..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เห็ดถั่งเช่าหิมะ (Isaria tenuipes)..... 3

2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าหิมะ..... 4

2.2.1 คอร์ไดเซปิน..... 4

2.2.2 อะดีโนซีน..... 5

2.3 วิธีทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ..... 10

2.4 ส่วนผสมของครีมมาสก์หน้า..... 12

2.4.1 กลีเซอรีน (Glycerine)..... 12

2.4.2 METHOCEL F4M..... 12

2.4.3 White Mineral Oil..... 12

2.4.4 เคโอลิน (Kaolin)..... 13

2.4.5 ZOHAREX GLST-SE..... 13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.6 ปิโตรเลียมเจล (White Petroleum Jelly) 13
2.4.7 Cethyl ethylhexanoate 13
2.4.8 ซิทิว แอลกอฮอล์ (Cetyl Alcohol) 13
2.4.9 Behenyl Alcohol 13
2.4.10 ทัลก์ (Talc) 14
2.4.11 Spectrastat BHL 14
2.4.12 กรดซิตริก (Citric acid) 14
2.5 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนผลิตภัณฑ์พอกหน้า มผช.175/2554 14
2.5.1 คุณลักษณะที่ต้องการ 14
2.5.2 จุลินทรีย์ 14
2.5.3 การระคายเคือง (เบื้องต้น) 15
2.5.4 ความคงสภาพ (เฉพาะของเหลวและของเหลวข้น) และความเป็นกรด-ด่าง 15
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 16
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี 17
3.1.1 วัตถุดิบ 17
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ 17
3.1.3 สารเคมี 19
3.2 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 20
3.2.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นและการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะ 20
3.2.2 การสกัดสารพอลิแซคคาไรด์และการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ 21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.3 การสกัดสารเพื่อวิเคราะห์สารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน..... 22

3.2.4 การวิเคราะห์กิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส.....22

3.3 การทำครีมมาสก์หน้า..... 23

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า.....24

3.4.1 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า.....24

3.4.2 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า.....25

3.4.3 การวิเคราะห์สารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า.....25

3.4.4 การวิเคราะห์กิจกรรมของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า..... 25

3.5 วิธีการการทดสอบคุณลักษณะผลิตภัณฑ์ตามมาตรฐาน มผช.175/2554.....26

3.5.1 คุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมี..... 26

3.5.2 คุณลักษณะทางจุลชีววิทยาเบื้องต้น..... 26

3.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัส.....26

3.7 การทดสอบความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า.....26

3.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....26

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลของการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะ.....27

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าหิมะ.....28

4.2.1 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH.....28

4.2.2 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS..... 29

4.2.3 วิเคราะห์สารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน..... 29

4.2.4 วิเคราะห์กิจกรรมของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส.....29

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า..... 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.1 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า.....30

4.3.2 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า.....30

4.3.3 การวิเคราะห์สารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า.....30

4.3.4 การวิเคราะห์กิจกรรมของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า.....30

4.4 ผลการทดสอบคุณลักษณะผลิตภัณฑ์ตามมาตรฐาน มผช.175/2554.....31

4.4.1 คุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมี.....31

4.4.2 คุณลักษณะทางจุลชีววิทยาเบื้องต้น.....31

4.5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส.....32

4.6 ผลการทดสอบความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า.....32

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย.....34

5.2 ข้อเสนอแนะ.....34

เอกสารอ้างอิง.....36

ภาคผนวก.....43

ภาคผนวก ก ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะ.....44

ภาคผนวก ข สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ.....48

ภาคผนวก ค การเตรียมสารในการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS.....50

ภาคผนวก ง การเตรียมสารในการวิเคราะห์กิจกรรมของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส.....53

ภาคผนวก จ การคำนวณและข้อมูลผลการทดลอง.....55

ภาคผนวก ฉ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ผลิตภัณฑ์พอกหน้า ๑๗๕/๒๕๕๔.....67

ภาคผนวก ช การทำสถิติ.....74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 องค์ประกอบทางเคมีในดอกเห็ดถั่งเช่าหิมะ..... 3

2.2 กรดอะมิโนในดอกเห็ดถั่งเช่าหิมะ..... 4

2.3 ตารางแสดงผลการทดลองปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน..... 5

2.4 Reactive oxygen และ nitrogen species ที่มีความสำคัญทางชีวภาพ..... 7

2.5 สรุปวิธีการตรวจวัดฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ใช้กันโดยทั่วไป..... 9

2.6 ส่วนผสมครีมมาสก์หน้า..... 15

3.1 ส่วนประกอบของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ..... 23

4.1 ผลของการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ..... 31

4.2 แสดงค่าเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของครีมมาสก์หน้าที่มีความเข้มข้นของ
สารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่แตกต่างกัน..... 32

4.3 แสดงค่าเฉลี่ยการทดสอบความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้าที่มีความ
เข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่แตกต่างกัน..... 32

4.4 เปรียบเทียบการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าหิมะก่อนและหลัง
ทำผลิตภัณฑ์..... 33

ตารางภาคผนวกที่

จ-1 พื้นที่ใต้กราฟของปริมาณสารอะดีโนซีน..... 61

จ-2 แสดงกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส และปริมาณโปรตีนในเห็ดถั่งเช่าหิมะ..... 62

**จ-3 แสดงกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในครีมมาสก์หน้า ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5
และ 8 ในหน่วยยูนิต/มิลลิลิตร**..... 64

**จ-4 แสดงปริมาณโปรตีนในครีมมาสก์หน้า ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8
ในหน่วยมิลลิกรัม/มิลลิลิตร**..... 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ **หน้า**

ช-1 คะแนนความชอบแต่ละด้านของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.....78

ช-2 คะแนนความชอบแต่ละด้านของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5.....79

ช-3 คะแนนความชอบแต่ละด้านของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8.....80

ช-4 คะแนนความชอบในด้านค่าความชื้นหลังใช้ครีมมาสก์ที่วัดโดยเครื่องวัดความชุ่มชื้นผิว ของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8.....81

ช-5 ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะและปริมาณอะดีโนซีนในครีมมาสก์เห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์.....82

ช-6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะและปริมาณอะดีโนซีนในครีมมาสก์เห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์.....83

ช-7 การจัดกลุ่มของข้อมูลของกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8 โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%.....83

ช-8 การจัดกลุ่มของข้อมูลของปริมาณอะดีโนซีนในครีมมาสก์เห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8 โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%.....84

ช-9 ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้านสี เนื้อครีม ความหนืด กลิ่น ความชุ่มชื้นต่อผิว และความพึงพอใจโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์.....84

ช-10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยด้านสี เนื้อครีม ความหนืด กลิ่น ความชุ่มชื้นต่อผิว และความพึงพอใจโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์.....86

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ **หน้า**

ช-11 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านสีต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%..... 86

ช-12 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านเนื้อครีมต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%..... 87

ช-13 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านความหนืดต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%..... 87

ช-14 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านกลิ่นต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%..... 87

ช-15 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านความชุ่มชื้นต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%..... 88

ช-16 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านความพึงพอใจโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%..... 88

ช-17 ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของค่าความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ที่วัดด้วยเครื่องวัดความชื้นผิวหน้าต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์..... 88

ช-18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ที่วัดด้วยเครื่องวัดความชื้นผิวหน้าต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์..... 89

ช-19 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านค่าความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ที่วัดด้วยเครื่องวัดความชื้นผิวหน้าต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์..... 89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเห็ดถั่งเช่าหิมะ 3

2.2 โครงสร้างทางเคมีของคอร์ไดเซปิน 5

2.3 โครงสร้างทางเคมีของสารอะดีโนซีน 6

2.4 โครงสร้างของ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 11

2.5 โครงสร้างของ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothizoline-6-sulfonic acid; ABTS) 11

2.6 ปฏิกิริยาเคมีของ ABTS 12

4.1 ลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเช่าหิมะที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA ในที่มืด ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน 27

4.2 การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะในอาหารเหลว PDB ในที่มืดพร้อมกับเขย่า ที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 27

4.3 ลักษณะของเห็ดถั่งเช่าหิมะในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่อินทรีย์ เป็นแหล่งคาร์บอนในที่มืดที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 14 วัน 28

4.4 ลักษณะเห็ดถั่งเช่าหิมะในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่อินทรีย์เป็น แหล่งคาร์บอน เมื่อนำมาเปิดดอกโดยการให้แสงสว่าง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน 28

รูปภาคผนวกที่

ก-1 นำฟรุตติ้งบอดี้ที่ได้จากหัวเชื้อมาทำการฆ่าเชื้อ 44

ก-2 หัวเชื้อ PDA เมื่อครบ 14 วัน 44

ก-3 หัวเชื้อเริ่มต้นจากอาหารแข็ง PDA ที่ครบเวลา 14 วัน นำมาค๊อก จำนวน 4 ค๊อก ต่อฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลว PDB 45

ก-4 เพาะเลี้ยงในที่มืดพร้อมกับเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน เพื่อนำมาใช้เป็นหัวเชื้อในครั้งต่อไป 45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปภาคผนวกที่ **หน้า**

ก-5 เส้นใยที่เจริญเต็มขวดโหลเพาะเลี้ยง....46

ก-6 ถั่งเช่าหิมะที่เจริญพร้อมตัดดอก....46

จ-1 ตัวอย่างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระและ
ความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)....55

จ-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้น
ของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)....56

จ-3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้น
ของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)....56

จ-4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้น
ของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่อยู่ในครีมมาสก์ สูตรที่ 2 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)....57

จ-5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้น
ของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่อยู่ในครีมมาสก์สูตรที่ 3 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)....57

จ-6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้น
ของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่อยู่ในครีมมาสก์ สูตรที่ 2 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)....58

จ-7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้น
ของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่อยู่ในครีมมาสก์สูตรที่ 3 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)....58

จ-8 กราฟมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร....58

จ-9 กราฟมาตรฐานเอนไซม์ซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความ
เข้มข้นของสารยับยั้งอนุมูลอิสระ และร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ
ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร....62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปภาคผนวกที่ **หน้า**

จ-10 กราฟมาตรฐานโปรตีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 40, 80, 120, 160, 200 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร..... 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงาน

เห็ดถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*) หรือชื่อเดิม *Paecitomyces tenuipes* อยู่ในกลุ่ม Ascomycetes (Bunyapaiboonsri *et al.*, 2011) ชาวเกาหลีจะเรียกสมุนไพรนี้ว่า Snow-flake Dong ChoongHaCho (Nam *et al.*, 2001) ราชนิดนี้เป็นปรสิตในดักแด้หรือตัวอ่อนของผีเสื้อในสกุล Lepidoptera (Xu *et al.*, 2006) ในช่วงฤดูใบไม้ร่วงสปอร์ของเชื้อราจะเป็นปรสิตในตัวอ่อนหนอนและสร้างเส้นใยเจริญเติบโตโดยรับสารอาหารภายในตัวหนอน จากนั้นเส้นใยจะรวมตัวกันหนาแน่นเจริญเป็นส่วนที่เรียกว่าฟรุตติ้งบอดี้จะยื่นออกมาจากซากของหนอนในช่วงฤดูร้อน (Nam *et al.*, 2001)

ปัจจุบันมีการศึกษาและค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในเห็ดถั่งเช่าเพิ่มมากขึ้น เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ นิวคลีโอไทด์ (Xu*et al.*, 2003) อะดีโนซีน (adenosine) คอร์ไดเซปิน (Cordycepin) (Du *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015) และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) (Park *et al.*, 2011) เป็นต้น สรรพคุณของสารเหล่านี้มีความสำคัญในทางการแพทย์และเภสัชวิทยาเป็นอย่างมาก สามารถช่วยฟื้นฟูระบบร่างกายให้แข็งแรงส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันเพิ่มการไหลเวียนเลือด (Chen *et al.*, 2008) ช่วยลดน้ำตาลในเลือด (Park *et al.* 2011) สามารถรักษาอาการของโรคภูมิแพ้โรคหอบหืดและวัณโรค (Zhu *et al.*, 1998) ต้านการเกิดเนื้องอก (Kim *et al.*, 2011) ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ในเซลล์มะเร็งต่างๆและสามารถก่อให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Park *et al.*, 2000) ทั้งนี้ยัง ค้นพบว่าถั่งเช่าหิมะสามารถลดระดับไขมันในหนูที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีไขมันสูงได้ (Che *et al.*, 2014) จากความหลากหลายทางคุณสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพนี้ทำให้ถั่งเช่าหิมะมีศักยภาพที่นำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เป็นแหล่งทรัพยากรทางพันธุกรรมที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรค อาหารเสริม ผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ และอุตสาหกรรมอื่นๆที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมเครื่องสำอางกำลังเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากผู้คนในยุคปัจจุบันทั้งเพศชาย เพศหญิง ในทุกๆช่วงวัย โดยเฉพาะในวัยหนุ่มสาวต่างให้ความสนใจและใส่ใจเกี่ยวกับเรื่องสุขภาพ ความงาม และผิวพรรณ รวมทั้งการดูแลตัวเองมากขึ้น งานวิจัยนี้ได้จัดทำขึ้นเพื่อมุ่งเน้นให้เห็ดถั่งเช่าหิมะมีมูลค่าเพิ่มมากขึ้นโดยทำการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า และนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากเห็ดถั่งเช่าหิมะได้แก่ สารอะดีโนซีน พอลิแซคคาไรด์ และสารซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทำให้ได้ผิวหน้าที่ชุ่มชื้นและอ่อนเยาว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อทำการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะ และทำการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

2) เพื่อศึกษาการผลิตครีมมาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ

3) เพื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1) ทำการศึกษาการเจริญของเห็ดถั่งเช่าหิมะ และทำการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ สารอะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน พอลิแซคคาไรด์ และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส

2) ทำการศึกษาการผลิตครีมมาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่ดี ที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิว

3) ทำการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ คือ สารอะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทำให้ทราบวิธีการเพาะเลี้ยง และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าหิมะ

2) สามารถนำคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ๆเกิดขึ้น

3) ทำให้ทราบองค์ประกอบ ขั้นตอนการดำเนินการผลิตครีมมาสก์และสามารถหาสูตรการผลิตครีมมาสก์หน้าที่ดีได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เห็ดถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*)

เห็ดถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*) หรือชื่อเดิม *Paecilomyces tenuipes* จัดอยู่ใน Class Ascomycetes เป็นปรสิตที่ทำให้เกิดโรคโดยเฉพาะในดักแด้หรือตัวอ่อนของแมลงจำพวกผีเสื้อสกุล Lepidoptera พบว่าลักษณะของดอกเห็ดมีสีเหลืองอ่อน (รูปที่ 2.1) มีการแตกกิ่งก้านไม่สม่ำเสมอ หรือมีลักษณะคล้ายปะการัง ความยาว 1.5-4.7 เซนติเมตร และมีสปอร์หนาแน่นอยู่บริเวณปลาย (Samson 1974; Yamanaka *et al.*, 1998; Kana-uchi and Fukatsu 1999) พบได้ในพื้นที่ที่เป็นภูเขาสูง ความสูงกว่า 3,500 เมตร เหนือจากระดับน้ำทะเล พบได้หลายแห่งในประเทศเกาหลี ญี่ปุ่น (Kang *et al.*, 2010) ดอกของเห็ดถั่งเช่าหิมะได้รับการยกย่องว่าเป็นยาที่ได้รับความนิยมหรือเป็นยาที่มีประสิทธิภาพที่ใช้ในการรักษาโรคของมนุษย์ เช่น โรคหอบหืด หลอดลมอักเสบ ปอด และโรคไต (Hong *et al.*, 2007) มีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเห็ดถั่งเช่าหิมะ ประกอบไปด้วยไขมัน โปรตีน แร่ธาตุ และกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิด (Hong *et al.*, 2007) แสดงดังตารางที่ 2.1 และ 2.2

รูปที่ 2.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเห็ดถั่งเช่าหิมะ

ที่มา: Takano *et al.*, (2C05)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีในดอกเห็ดถั่งเช่าหิมะ

ส่วนประกอบทางเคมี(ร้อยละ)				
ความชื้น	**คาร์โบไฮเดรต**	**ไขมัน**	**ใยอาหาร**	**โปรตีน**
57.56 ± 0.07	3.49 ± 0.00	21.46 ± 0.00	6.20 ± 0.26	6.83 ± 0.02

ที่มา: Hong *et al.*, (2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 กรดอะมิโนในดอกเห็ดถั่งเช่าหิมะ

กรดอะมิโนในดอกเห็ดถั่งเช่าหิมะ	มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง
กรดแอสปาร์ติค	0.76
ซีรีน	1.19
กรดกลูตามิค	0.85
ไกลซีน	1.77
ฮิสทิดีน	0.61
อาร์จินีน	2.21
ธรีโอนีน	1.07
อะลานีน	0.97
โพรลีน	1.68
ไทโรซีน	1.51
วาลีน	0.87
เมไธโอนีน	0.36
ไลซีน	0.53
ไอโซลิวซีน	0.64
ลิวซีน	1.08
ฟีนีลอะลานีน	0.99

ที่มา: Hong *et al.*, (2007)

2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าหิมะ

2.2.1 คอร์ไดเซปิน

คอร์ไดเซปินเป็นสารชีวภาพที่แยกได้เป็นครั้งแรกจากน้ำหมักที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง(Cunningham *et al.*, 1950) ซึ่งเป็นเชื้อราที่เติบโตในตัวอ่อนแมลงและดักแด้ Tuli *et al.*,(2013) ได้รายงานว่าสารคอร์ไดเซปิน หรือ 3'-deoxyadenosine มีสูตรโครงสร้างทางเคมี คือ $C_{10}H_{13}N_5O_3$ น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 251.24 กรัมต่อโมล มีคุณสมบัติเป็นเบสรูปร่างเป็นผลึกเหมือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คริสตัล มีจุดหลอมเหลว 228-231 องศาเซลเซียส สามารถดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดที่ 259.0 นาโนเมตร เป็นอนุพันธ์ของนิวคลีโอไซด์ที่มีโครงสร้างคล้ายกับอะดีโนซีนซึ่งเป็นองค์ประกอบของดีเอ็นเอ (DNA) แต่แตกต่างโดยไม่มีกลุ่มของไฮดรอกซิลอยู่ในตำแหน่ง 3 ตรงส่วนของน้ำตาลไรโบส (Ribose) รูปที่ 2.2 โครงสร้างของคอร์ไดเซปินประกอบด้วยเพียวรีน (อะดีนีน) โมเลกุลของนิวคลีโอไซด์ยึดติดกับน้ำตาลไรโบส (ไบฟูราโนส) เชื่อมต่อกันด้วยโดยพันธะ β-N9-glycosidic สถาบันการแพทย์แผนจีนแห่งประเทศจีนได้ทำการทดสอบเพื่อเปรียบเทียบ *Cordyceps sinensis* และ *Cordyceps militaris* มีนิวคลีโอไซด์เดียวกัน องค์ประกอบทางเคมีโดยทั่วไปแล้วเหมือนกัน (Ping Zhang *et al.*, 2003) เห็ดถั่งเช่ามีฤทธิ์ต้านไวรัสต้านเชื้อแบคทีเรียฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด (Jianhua Han *et al.*, 2011) คอร์ไดเซปินช่วยลดความเข้มข้นของการเกิดกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและเพิ่มกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของเอนไซม์และไม่ใช่เอนไซม์มีผลต่อการป้องกันคล้ายกันในการเกิดริ้วรอยบนใบหน้าของมนุษย์ ข้อมูลผลของคอร์ไดเซปินที่มีต่อ mRNA และระดับการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับสารต้านอนุมูลอิสระของเอนไซม์ (Thiyagarajan *et al.*, 2012)

รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของคอร์ไดเซปิน

ที่มา: Radawan and Wilson (1980)

ตารางที่ 2.3 ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน

ตัวอย่าง	Peak area (mAu*s)						The average peak area (mAu*s)	RSD%
อะดีโนซีน	769.92	769.28	768.79	768.66	769.49	768.81	769.15	0.06
คอร์ไดเซปิน	627.15	626.56	626.50	625.90	626.24	626.56	626.49	0.07

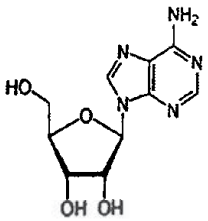
ที่มา: Li *et al.*, (2015)

2.2.2 อะดีโนซีน

สูตรโครงสร้างทางเคมีของอะดีโนซีน คือ $C_{10}H_{13}N_5O_4$ น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 267.24 กรัมต่อโมล เป็นนิวคลีโอไทด์เพียวรีน เกิดขึ้นจากการย่อยสลายของอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (ATP) ประกอบขึ้นจากองค์ประกอบเพียงสองอย่างคือโมเลกุลของอะดีนีน ที่ยึดติดกับโมเลกุลของน้ำตาลไร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โบส เชื่อมกันด้วยพันธะ β-N-glycosidic โดยใช้คาร์บอนตำแหน่งที่ 1' ของน้ำตาลเชื่อมกับไนโตรเจนตำแหน่งที่ 9' ของ พิวรีน (Eltzchig. 2009) รูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของสารอะดีโนซีน

ที่มา: Lia *et al.*, (2006)

2.2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ ซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase)

อนุมูลอิสระคืออะตอมที่มีอิเล็คตรอนโดดเดี่ยว หรือไม่มีคู่อยู่ในวงโคจรของอิเล็คตรอน วงนอกสุด (valence electron) ความหมายของอนุมูลอิสระยังครอบคลุมถึงสารอื่นที่มีความไวและเกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระ (related reactive species) เช่น สารที่อยู่ในสภาวะเร้า (excited states) ที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ หรือสารที่เป็นผลพวงจากปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเป็นต้น (Devasagayam *et al.*, 2004) โดยทั่วไปอิเล็คตรอนที่โดดเดี่ยวจะพยายามเข้าคู่กับอิเล็คตรอนอื่นเพื่อช่วยให้โมเลกุลของมันเสถียร จึงทำให้อนุมูลอิสระมีความว่องไวเป็นพิเศษในการเกิดปฏิกิริยาเคมี เนื่องจากอนุมูลอิสระสามารถดึงอิเล็คตรอนออกจากโมเลกุลของสารอื่นข้างเคียงเพื่อจับคู่กับอิเล็คตรอนที่ไร้คู่ทำให้โมเลกุลของสารอื่นที่สูญเสียอิเล็คตรอนไปเกิดเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ซึ่งสามารถดึงอิเล็คตรอนออกจากโมเลกุลของสารอื่นต่อเนื่องกันเป็นทอดๆ เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ดังนั้นแม้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นเพียงไม่กี่โมเลกุลก็สามารถเหนี่ยวนำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่องและเกิดอนุมูลอิสระต่างๆได้หลากหลายชนิด (Ncguchi and Niki, 1999) อนุมูลอิสระเข้าไปทำลายเซลล์เมื่อร่างกายไม่สามารถผลิตหรือได้รับสารต้านอนุมูลอิสระเพียงพอที่จะไปยับยั้งหรือจับอนุมูลอิสระได้ภายในเซลล์ร่างกาย ผลคือทำให้เซลล์เกิดความเสียหายและนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง หัวใจและหลอดเลือด แก่ก่อนวัย ต้อกระจก (รัชนี, 2008) อนุมูลอิสระจำแนกเป็นกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบหลัก เรียกว่า Reactive Oxygen Species (ROSs) และกลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลัก เรียกว่า Reactive Nitrogen Species (RNS) ROSs สามารถจำแนกเป็นกลุ่ม oxygen centered radicals ได้แก่ superoxide anion ($O^{\bullet}_2^-$), hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$), alkoxyl radicals ($RO^{\bullet}$) และ peroxyl radicals ($ROO^{\bullet}$) เป็นต้นและกลุ่ม oxygen centered non radicals ได้แก่ hydrogen peroxide (H_2O_2), และ singlet oxygen ($1\ O_2$) เป็นต้น สำหรับตัวอย่างของ RNSได้แก่ nitric oxide ($NO^{\bullet}$), nitric dioxide ($NO^{\bullet}_2$) และ peroxynitrite ($OONO^-$) (El-Bahr, 2013) โดยทั่วไปอนุมูลอิสระชนิดต่างๆมีอายุสั้นมาก เวลาครึ่งชีวิต (half life) อาจเป็น 1 หรือ10^{-3} -

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10^{-9} วินาทีตารางที่ 2.4 แสดงเวลาครึ่งชีวิตและบทบาทของอนุมูลอิสระชนิดต่างๆที่มีความสำคัญทางชีวภาพ (Devasagayam *et al.*, 2004)

ตารางที่ 2.4 Reactive oxygen และ nitrogen species ที่มีความสำคัญทางชีวภาพ

Reactive species	สัญลักษณ์	เวลาครึ่งชีวิต	ความว่องไวในการทำปฏิกิริยา /แหล่งกำเนิด
Reactive oxygen species: Superoxide	$O^{\bullet}_2{}^-$	10^{-6}วินาที	สร้างในไมโทคอนเดรียระบบหัวใจและหลอดเลือด
Hydroxyl radical	$HO^{\bullet}$	10^{-9}วินาที	มีความว่องไวสูง สร้างในร่างกายเมื่อมีสภาวะเหล็กสูง
Hydrogen peroxide	H_2O_2	มีความเสถียร	สร้างจากหลายปฏิกิริยาในร่างกายและก่อให้เกิด •OH
Peroxyl radical	$ROO^{\bullet}$	วินาที	มีความไว สร้างจากไขมันโปรตีน DNA และน้ำตาลในภาวะที่มีอนุมูลอิสระมากเกิน
Organic hydroperoxide	ROOH	มีความเสถียร	ทำปฏิกิริยากับ transient metal ions ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระอื่น
Singlet oxygen	$^1O_2$	10^{-6}วินาที	มีความว่องไวสูงสร้างเมื่อเกิดปฏิกิริยาโฟโตเซ็นซีไทเซชัน (Photosensitization)และจากปฏิกิริยาเคมีอื่น
Ozone	O^3	วินาที	อยู่ในมลพิษทางอากาศสามารถทำปฏิกิริยากับหลายโมเลกุลก่อให้เกิด $1O_2$
Reactive nitrogen species: Nitric oxide	$NO^{\bullet}$	วินาที	เป็นสารสื่อประสาทควบคุมความดันโลหิต ก่อให้เกิดสารออกซิแดนท์ต่างๆขณะเกิดพยาธิสภาพ
Peroxynitrite	$ONOO^-$	10^{-3}วินาที	มีความไวสูง สร้างจาก NO และซูเปอร์ออกไซด์
Peroxynitrous acid	ONOOH	มีความเสถียรปานกลาง	เป็น protonated form ของ $ONOO^-$
Nitrogen dioxide	NO_2	วินาที	สร้างระหว่างการเกิดมลพิษในบรรยากาศ

ที่มา: ดัดแปลงจาก Devasagayam *et al.*, (2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.1 บทบาทของอนุมูลอิสระต่อสุขภาพ

อนุมูลอิสระมีทั้งประโยชน์และโทษต่อร่างกาย มีความสำคัญทั้งด้านสุขภาพและการก่อโรค อนุมูลอิสระที่ถูกสร้างขึ้นภายในเซลล์ จะถูกควบคุมให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมเพื่อช่วยในการทำหน้าที่และรักษาสภาวะสมดุล (homeostasis) ภายในเซลล์ ประโยชน์ของอนุมูลอิสระที่เกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ของกระบวนการต่างๆภายในเซลล์ (Devasagayam *et al.*, 2004) มีดังนี้คือ

1. การสังเคราะห์ ATP จาก ADP ด้วยกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสโฟริเลชันที่เกิดภายในไมโทคอนเดรีย

2. การทำงานของกลุ่มเอนไซม์ไซโตโครมพี 450 ในปฏิกิริยาออกซิเดชันเพื่อลดความเป็นพิษของสารแปลกปลอมต่อร่างกาย (xenobiotics)

3. รูปแบบการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (apoptosis) ที่ใช้ในการกำจัดเซลล์ที่ชำรุด หรือเป็นอันตรายต่อร่างกาย

4. การทำลายจุลินทรีย์ หรือเซลล์มะเร็งโดยเซลล์เม็ดเลือดขาวแมกโครเฟจ (macrophage) และไซโตทอกซิกเซลล์ที (cytotoxic T lymphocyte)

5. การทำงานของเอนไซม์ออกซิจิเนส (oxygenase) เช่น ไซโคลออกซิจิเนส (cyclooxygenase) และลิพอกซีจีเนส (lipoxygenase) ในการสังเคราะห์พรอสตาแกลนดิน (prostaglandins) และลิวโคทรีน (leukotrienes)

6. เป็นปัจจัยในการกระตุ้นการถอดรหัส (transcription) และการแสดงออกของยีน (gene expression) 7. กระบวนการส่งสัญญาณและการสื่อสารของเซลล์ (signal transduction) เช่น $O^{\bullet}_2^-$, $NO^{\bullet}$และ H_2O_2 ทำหน้าที่เป็น secondary messenger ภายในเซลล์นอกจากนั้น $NO^{\bullet}$ ยังมีผลในเชิงสรีรวิทยาช่วยให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด (vasodiation)

2.2.3.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) หมายถึงสารที่ทำหน้าที่ยับยั้ง ทำลาย หรือกำจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย การสร้างสารต้านอนุมูลอิสระเป็นกลไกในการป้องกันความเสียหายที่เกิดขึ้นจากอนุมูลอิสระของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 2 ประเภท คือ ประเภทที่ร่างกายสร้างขึ้นและประเภทที่ได้รับจากภายนอกร่างกาย

สารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นภายในร่างกายมี 2 ประเภท คือ พวกที่จัดเป็นเอนไซม์และพวกที่ไม่จัดเป็นเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1 สารต้านอนุมูลอิสระที่จัดเป็นเอนไซม์

ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส เป็นกลไกแรกในการป้องกันอนุมูลอิสระต่อเซลล์ ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสที่อยู่ในยูแคริโอต (eurkaryote) จะทำงานร่วมกับโลหะ ส่วนซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสที่อยู่ในไซโทพลาสซึม(cytoplasm)จะใช้ทองแดงและสังกะสีช่วยในการทำงานในขณะที่ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสในไมโทคอนเดรียใช้แมงกานีสช่วยในการทำงาน ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสจะเกิดปฏิกิริยาทั้งออกซิเดชันและรีดักชันพร้อมกัน เรียกว่าดิสมิวเทชั่น (dismutation) ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส รีดิวซ์ 1 โมเลกุลของ O_2 ให้เป็น H_2O_2 และออกซิไดซ์อีก1 โมเลกุลของ $O^{\cdot}_2$ ให้เป็นออกซิเจน

$$2O^{\cdot}_2 + 2H \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

คะตะเลส (Catalase; CAT)เป็นเอนไซม์ที่กำจัด H_2O_2จากเนื้อเยื่อต่างๆป้องกันไม่ให้เซลล์ถูกทำลายและป้องกันการก่อตัวของอนุมูลอิสระชนิดอื่นที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสและคะตะเลสมักพบร่วมกันในธรรมชาติ การทำงานร่วมกันของเอนไซม์ทั้งสองจะทำให้เกิดการต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง

$$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

1.2 สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่จัดเป็นเอนไซม์

สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ไม่จัดเป็นเอนไซม์ที่สามารถพบในร่างกายมีหลายชนิด เช่น กลูตาไทโอน กรดไลโปอิค (lipoic acid) เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin) อัลบูมิน (albumin) ทรานสเฟอร์ริน (transferrin) แล็กโทเฟอร์ริน (lactoferrin) แฮปโตโกลบิน (hepatoglobin) ฮีโมเพกซิน (hemopexin) บิลิรูบิน (bilirubin) และกรดยูริก ซึ่งมีบทบาททั้งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ (pro-oxidant) (Noguchi and Niki, 1999; Sautin and Johnson, 2008)

ตารางที่ 2.5 สรุปวิธีการตรวจวัดฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ใช้กันโดยทั่วไป

แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ	วิธีการตรวจวัดอนุมูลอิสระ	เวลาที่ใช้ (นาที)
DPPH radical	DPPH assay	5-10 นาที
Methyloleate + O_2	Peroxide	12-16 ชั่วโมง
Brain homogenate+ O_2	O_2 Consumption	1 ชั่วโมง
Oil + O_2	Electro-conductivity	1-3 ชั่วโมง
Luminol + UVA	Chemiluminescence	1-3 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Egg yolk + Fe^{+2}	Chemiluminescence	10-20 นาที
ABTS + Peroxidase + H_2O	VIS - spectrometry	5 นาที
ABTS + Peroxidase + H	Fluorencence R-phycoerythrin	70 นาทีต่อตัวอย่าง
ABAP (TRAP test)	Fluorencence R-phycoerythrin	20-40 นาที
Luminol + H2O2	Chemiluminescence	10-20นาที

ที่มา: ดัดแปลงจาก พรทิพย์ และคณะ (2013)

2.3 วิธีทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay หรือ DPPH assay (ดัดแปลงจาก Brand-William *et al.*, 1995)

DPPH assay เป็นวิธีการตรวจสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (radical scavenging) อาศัย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) โดยมีโครงสร้างแสดงดังรูป 2.4 เป็นอนุมูลอิสระที่มีสีม่วงและมีความเสถียรในตัวทำละลายเมทานอล ซึ่งดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยสารต้านอนุมูลอิสระ (AH) หรือ radical species (R•) จะทำปฏิกิริยากับ DPPH• ซึ่งDPPH• จะถูกรีดิวซ์ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ หรือ radical species กลายเป็น DPPH-H หรือ DPPH-R ดังสมการต่อไปนี้

$$\underset{\text{(purple)}}{DPPH\bullet} + AH \longrightarrow \underset{\text{(yellow)}}{DPPH\text{-}H} + A\bullet \qquad \text{สมการที่ (1)}$$

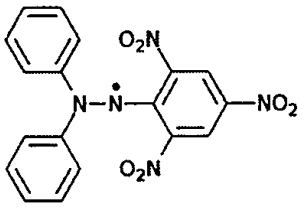
$$\underset{\text{(purple)}}{DPPH\bullet} + R\bullet \longrightarrow \underset{\text{(yellow)}}{DPPH\text{-}R} \qquad \text{สมการที่ (2)}$$

จากปฏิกิริยาความเข้มข้นของสารละลายสีม่วงของ DPPH• ลดลงกลายเป็นสารละลายสีเหลือง ถ้าตัวอย่างที่เราทดสอบมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้สูง จะทำให้ปริมาณ DPPH• ลดลงได้มาก การรายงานผลจะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ (DPPH•) ลดลง 50%

ข้อดีของ DPPH assay คือ เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์และมีความถูกต้องใช้เครื่องมือสามัญที่มีทั่วไป นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสียของ DPPH assay คือ อนุมูล DPPH• มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

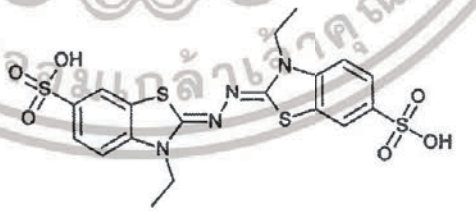
ที่มา: Wikipedia (2018)

2.3.2 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothizoline-6-sulfonic acid) cation radical scavenging assay หรือ ABTS assay (ดัดแปลงจาก Re *et al.*, 1999; Lo and Cheung 2005)

ABTS assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดย reagent คือ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothizoline-6-sulfonic acid; ABTS) ซึ่งเมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายสีเขียวอ่อน โครงสร้างของ ABTS แสดงดังรูปที่ 2.5 เมื่อทำให้เกิดเป็น stable radical ในตัวทำละลายน้ำสารละลายจะมีสีเขียวเข้มของABTS$^{\bullet+}$ รูปที่ 2.6 ซึ่งดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 414 นาโนเมตร และมีช่วงการดูดกลืนแสงรองลงมาที่ความยาวคลื่น 645 , 734 และ 815 นาโนเมตร ในการทดลองจะวัดค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS$^{\bullet+}$ ที่ 734 นาโนเมตร ซึ่งความยาวคลื่นนี้จะมีการรบกวนต่างๆน้อยมาก ปฏิกิริยาของ ABTS$^{\bullet+}$ กับสารต้านอนุมูลอิสระมีสมการดังต่อไปนี้

$$ABTS^{\bullet+} + AH \longrightarrow ABTS + AH^{\bullet} \qquad \text{สมการที่ (3)}$$

(สีเขียว) (สีเหลือง)



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothizoline-6-sulfonic acid; ABTS)

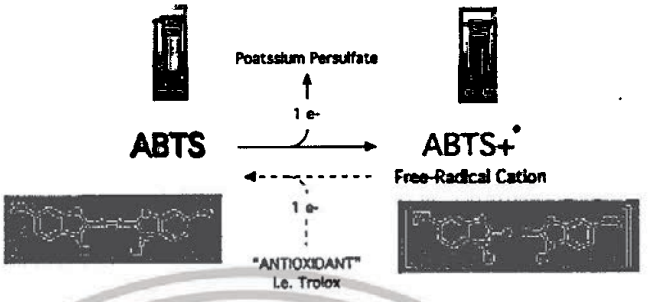
ที่มา: Wikipedia (2013)

การทำให้เกิด ABTS radical นั้นทำได้ 2 วิธี คือ

1. Enzymatic reaction คือ ใช้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เกิด ABTS radical เช่น เอนไซม์ peroxidase เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Chemical reaction คือ ใช้ปฏิกิริยาเคมีทำให้เกิด ABTS radical เช่น manganese dioxide , potassium persulfate เป็นต้น ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ potassium persulfate เป็นตัวที่ทำให้เกิด ABTS radical ดังสมการต่อไปนี้ ABTS + $\longrightarrow$ $K_2S_2O_8$ $ABTS^{\bullet+}$



รูปที่ 2.6ปฏิกิริยาเคมีของ ABTS

ที่มา: ดัดแปลงจาก Pannala *et al.*, (2011)

2.4 ส่วนผสมของครีมมาสก์หน้า

2.4.1 กลีเซอรีน (Glycerine) (เคมีภัณฑ์, 2553)

กลีเซอรีน คือ แอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง ซึ่งจะมีหมู่ OH เกาะอยู่ มีสูตรทางเคมีคือ $C_3H_5(HO)_3$ มีลักษณะข้นและใส ไม่มีสี เป็นผลพลอยได้จากกระบวนทำสบู่ โดยที่ด่างจะผสมกับไขมันจากสัตว์และพืช ผู้ผลิตสบู่จะแยกกลีเซอลีนออกมาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการทำโลชั่นและครีมได้อีก กลีเซอรีนเมื่ออยู่ในโลชั่นจะให้ผลดีมาก เนื่องจากเป็นวัตถุดิบที่ให้ความชุ่มชื้น สามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์และในน้ำ

2.4.2 METHOCEL F4M (ดาว เคมิคอล, 2558)

METHOCEL F4M เป็นโพลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ที่ได้จากเซลลูโลสผลิตภัณฑ์ Methocel F4M ใช้เป็นสารเพิ่มความข้นหนืด สารประสาน ตัวกักเก็บความชุ่มชื้น นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ช่วยไม่ให้เกิดการแขวนลอย สารลดแรงตึงผิว สารหล่อลื่นและอิมัลซิไฟเออร์ เนื่องจาก METHOCEL F4M มีคุณสมบัติที่หลากหลายและราคาประหยัดเมื่อเทียบกับโพลีเมอร์อื่น จึงนิยมใช้

2.4.3 White Mineral Oil (เคมีภัณฑ์, 2553)

White Mineral Oil หรือ White Oil เป็นน้ำมันที่ได้มาจากการกลั่นปิโตรเลียม ถ้าอยู่ในรูปของน้ำมันเราเรียกว่า Mineral Oil แต่ถ้าอยู่ในรูปของแวกซ์เราเรียกว่า ปิโตรเลียมเจล น้ำมันประเภทนี้มีหน้าตาเป็นน้ำมันใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ซึ่งที่มาก็คือเป็นสารสกัดที่เป็นผลพลอยได้มาจากการทำน้ำมันปิโตรเลียม ทำหน้าที่ในการให้ความชุ่มชื้นแก่ผิว ป้องกันผิวหนังแห้ง ตกสะเก็ด คัน และลดการระคายเคืองผิวหนัง ซึ่งสาเหตุของผิวแห้งส่วนใหญ่เกิดจากการสูญเสียน้ำผ่านทางผิวหนัง mineral

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

oil จะทำหน้าที่เป็นชั้นฟิล์มน้ำมันเคลือบบริเวณผิวหนังชั้นบนป้องกันไม่ให้เกิดการสูญเสียน้ำผ่านทางผิวหนังและเก็บรักษาความชุ่มชื้นไว้กับผิวหนัง

2.4.4 **เคโอลิน (Kaolin)** (เคมีภัณฑ์, 2553)

เคโอลิน (Kaolin) เป็นแป้งที่ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและยา เนื่องจากเป็นแป้งทึบแสงและกลมกลืนกับผิวได้ดี เหมาะสำหรับทำแป้งแต่งหน้า

2.4.5 ZOHAREX GLST-SE (Zohar Dalia, 2008)

ZOHAREX GLST-SE ใช้เป็น emulsifier และ co-emulsifier สำหรับเครื่องสำอางและยา นำมาใช้ประโยชน์ในแชมพู คอนดิชั่นเนอร์ และครีม เป็นตัวทำให้เข้มข้นและขึ้นเงามากยิ่งขึ้น

2.4.6 **ปิโตรเลียมเจล (White Petroleum Jelly)** (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2559)

ปิโตรเลียมเจลเป็นสารที่มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว ได้มาจากกระบวนการกลั่นน้ำมันดิบโดยใช้ความร้อนแปรสภาพน้ำมันให้กลายเป็นไอ ไอจะลอยขึ้นสู่ชั้นบนของหอกลั่นแล้วกลั่นตัวเป็นน้ำมันต่างๆ ณ จุดเดือดที่อุณหภูมิ 150 - 275 องศาเซลเซียสที่ไอกลั่นตัวเป็นน้ำมันเบนซินและเกิดสารเหลืองค้างเกาะอยู่ชั้นบนของหอกลั่นเรียกว่า พาราฟิน ซึ่งส่วนนี้เองที่นำมาทำเป็นปิโตรเลียมเจล ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้ผิวหนังแห้งและถนอมความชุ่มชื้นให้อยู่กับผิวหนัง

2.4.7 Cethyl ethylhexanoate (Nikko Chemicals Shanghai, 2010)

ชื่อทางการค้า :Nikkol SG-ClO มีลักษณะเป็นของเหลวไม่มีสี ช่วยทำให้ผิวอ่อนนุ่ม

2.4.8 **ซิทิว แอลกอฮอล์ (Cetyl Alcohol)** (กรุงเทพเคมี, 2560)

ซิทิว แอลกอฮอล์มีคุณสมบัติหลักๆที่สามารถพบได้ คือ สามารถเพิ่มความเสถียรของปฏิกิริยาอิมัลชันภายในครีมหรือเครื่องสำอาง ช่วยให้ครีมหรือเครื่องสำอางนั้นมีความหนืดมากขึ้น ทำให้มีคุณสมบัติเป็นสารเคลือบผิวหนังช่วยให้เครื่องสำอางนั้นมีคุณสมบัติเพิ่มความเนียนนุ่มให้กับผิว จึงเหมาะกับการใช้งานในเครื่องสำอางประเภทครีมบำรุงผิวทุกชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเครื่องสำอางประเภทมอยส์เจอร์ไรเซอร์ ยิ่งไปกว่านั้นซิทิว แอลกอฮอล์ ยังเป็นสารเคมีที่มีกลิ่นประจำตัวอ่อน จึงไม่ก่อให้เกิดการผิดเพี้ยนของกลิ่นเครื่องสำอางโดยเฉพาะอย่างยิ่งเครื่องสำอางที่ต้องทำการแต่งกลิ่น รวมถึงยังไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวอีกด้วย

2.4.9 **Behenyl Alcohol, Polyglyceryl-10 Pentastearate, SodiumStearoyl Lactylate (Nikko Chemicals Shanghai, 2010)**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อทางการค้า : Nikkomulese 41มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวถึงสีเหลืองอมเหลือง ทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์สร้างโครงสร้างเครือข่ายเจลในน้ำกักเก็บน้ำได้ยอดเยี่ยมทำให้มีความชุ่มชื้นยาวนานและยังเป็นอิมัลซันของน้ำมันต่างๆ มีจุดหลอมเหลวระหว่าง 65 - 75 องศาเซลเซียส

2.4.10 **ทัลก์ (Talc)** (กรุงเทพเคมี, 2560)

แป้งทัลคัม CAS Number : 14807-96-6 เป็นแป้งที่ทำมาจากแร่หินสบู่ซึ่งมีชื่อทางเคมีว่า ไฮเดรต แมกนิเซียมซิลิเกต (Hydrated magnesium silicate) มักนำมาใช้เป็นแป้งในเครื่องสำอางโดยตัวนี้จะเป็นแบบขนาดละเอียด 325 mesh โดยในรูปของผงละเอียดนั้นช่วยทำให้ผิวลื่นและยังทำให้เนื้อครีมมาสก์มีความทึบแสงมากขึ้น

2.4.11 **Spectrastat BHL** (INOLEX Incorporated, 2012).

Spectrastat BHL เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับเครื่องสำอางและปราศจากสารกันบูดเหมาะสำหรับการใช้งานบนใบหน้าที่บอบบางและมีการระคายเคืองต่ำ Spectrastat BHL ไม่มีสารไบโอไซด์หรือสารกันบูดทั่วไปเหมาะสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ต้องปราศจากพาราเบนหรือสารกันบูด มีค่า pH ที่เป็นกลาง Spectrastat BHL เข้ากันได้กับส่วนผสมเครื่องสำอางส่วนใหญ่

2.4.12 **กรดซิตริก (Citric acid)** (เคมีภัณฑ์, 2553)

กรดซิตริกได้มาจากการหมักคาร์โบไฮเดรต หรือได้มาจากน้ำมะนาว หรือน้ำสับปะรด โดยมีการสกัดเป็น ซิเตรตออกมา ซึ่งจะอยู่ในรูปของกรดซิตริก ดังนั้นกรดซิตริกจึงเป็นกรดที่ได้มาจากวัตถุดิบตามธรรมชาติ ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางใช้เป็นตัวปรับค่า pH ในครีมหรือเจล

2.5 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนผลิตภัณฑ์พอกหน้า มผช.175/2554

2.5.1 คุณลักษณะที่ต้องการ

ลักษณะทั่วไปต้องมีสีสม่ำเสมอ ไม่มีสิ่งแปลกปลอมและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นหืน กลิ่นบูด กรณีเป็นครีมหรือของเหลวข้นต้องเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้น ไม่ตกตะกอ กรณีเป็นผงต้องไม่จับตัวเป็นก้อน การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจและดม

2.5.2 จุลินทรีย์

2.5.2.1 จำนวนแบคทีเรีย ยีสต์ และราทั้งหมดที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศต้องไม่เกิน 1×10^3 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2.5.2.2 *Pseudomonas aeruginosa* ต้องไม่พบ

2.5.2.3 *Staphylococcus aureus* ต้องไม่พบ

2.5.2.4 *Candida albicans* ต้องไม่พบ

2.5.2.5 *Crostridium spp* ต้องไม่พบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3 การระคายเคือง (เบื้องต้น)

ต้องไม่ทำให้เกิดอาการคัน ผื่นแดง หรืออาการข้างเคียงอื่นทางผิวหนัง

2.5.4 ความคงสภาพ (เฉพาะของเหลวและของเหลวข้น) และความเป็นกรด-ด่าง

ลักษณะทั่วไปต้องอยู่ในสภาพที่ดี ไม่แปรสภาพหรือเสื่อมคุณภาพ โดยความเป็นกรด-ด่าง ต้องแตกต่างจากเดิมไม่เกิน ± 1.0 และต้องอยู่ระหว่าง 4.5 ถึง 8.0

ตารางที่ 2.6 ส่วนผสมครีมมาสก์หน้า

ชื่อสารเคมี	ปริมาณ (%น้ำหนัก/น้ำหนัก)	คุณสมบัติ
Part A		
DI. water	qs.100	ตัวละลาย
Glycerin	10.00	ให้ความชุ่มชื้น
Methocel F4M	0.20	เพิ่มความเข้มข้น
Part B		
White Mineral Oil USP Grade 15	5.00	ผิวอ่อนนุ่ม
Kaolin	10.00	ดูดซับความมัน
Zohar GLST-SE	6.00	ตัวประสานน้ำกับน้ำมัน
White Petroleum Jelly Pionier 3476	5.00	ผิวอ่อนนุ่ม
SG-CIO	5.00	สร้างแผ่นฟิล์ม
Cetyl Alcohol	5.00	ตัวประสานน้ำกับน้ำมัน
Nikkommuless 41	3.00	ตัวประสานน้ำกับน้ำมัน
Part C		
Talc LS-61D	5.00	ให้ความทึบแสง
Others		
Spectrastat BHL	1.50	สารกันบูด
Citric Acid (1% Solution)	2.25	ปรับ pH

ที่มา: หน่ำเซียน (2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Yamanaka (1998) พบว่าการเพาะเลี้ยงดอกเห็ดเมื่อให้แสงส่องสว่างที่ความเข้มสูงอย่างต่อเนื่องที่ 2.93 วัตต์ต่อตารางเมตร ทำให้มีผลยับยั้งการยืดยาวของดอกเห็ด และการใช้แสงที่ความเข้มต่ำที่ 0.088 วัตต์ต่อตารางเมตร ยับยั้งการแตกแขนงของดอกเห็ดเล็กน้อย

Huang *et al.*, (2009) ได้มีการศึกษาเห็ดถั่งเช่า *C. militaris* และ *C. sinensis* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวาง และสามารถนำไปเพาะเลี้ยงได้ในอาหารหลากหลายชนิด ในการศึกษานี้ได้ศึกษาเนื้อหาของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญคืออะดีโนซีนในร่างกาย *C. militaris* และ *C. sinensis* ได้ถูกวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูง (HPLC) ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของอะดีโนซีนของ *C. militaris* คือ 2.45 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัม ส่วน *C. sinensis* คือ 1.643 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัม สรุปได้ว่า *C. militaris* มีปริมาณอะดีโนซีนมากกว่าใน *C. sinensis*

Dong *et al.*, (2012) พบว่าในการใช้แสงสีที่แตกต่างกันมีผลต่อการผลิตดอกเห็ดและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ต่างกัน โดยทำการศึกษากับแสงสีชมพูอ่อน ความยาวคลื่น 450-460 นาโนเมตร แสงสีขาว และแสงสีแดง ความยาวคลื่น 620-630 นาโนเมตร พบว่าแสงสีชมพูสามารถเพิ่มน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดได้ดีที่สุดร้อยละ 6.77 รวมถึงมีผลต่อการสะสมของสารแคโรทีนอยด์ และสารคอร์ไดเซปิน ดีที่สุด สำหรับการเพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีแดงมีผลต่อการผลิตสารอะดีโนซีนได้เป็นอย่างดี

Sapan (2015) ทำการศึกษาว่าเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ สกัดโดยการปั่นเหวี่ยงเส้นใยชีวมวลที่ 10,000 x g เป็นเวลา 12 นาที จากนั้นนำส่วนใสที่ได้มาผสมกับเอทานอลบริสุทธิ์ ที่มีปริมาตรเป็นสามเท่าของส่วนใส และทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นทำการแยกตะกอนโดยการหมุนเหวี่ยงที่ 8000 x g เป็นเวลา 12 นาที ล้างตะกอนของเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์ด้วยน้ำบริสุทธิ์และทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเพื่อการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

Sapan (2015) ศึกษาการกำจัดอนุมูลอิสระของ DPPH วิธีนี้ทำได้โดยนำสารละลาย DPPH (200 ไมโครโมลาร์) ที่ความเข้มข้นต่างกัน (2-10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เติมลงในตัวอย่างที่ละลายในเอทานอล 0.05 มิลลิลิตร เติมเอทานอลในจำนวนที่เท่ากันในชุดควบคุม ใช้กรดแอสคอร์บิก (วิตามินซี) เป็นตัวควบคุม อ่านค่าการดูดกลืนแสงหลังจากบ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จะคำนวณได้โดยใช้สูตร A_0-A_p/ A_0 x 100 โดยที่ A_0 เป็นค่าการดูดกลืนของสารที่เป็นตัวควบคุม และ A_p เป็นค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 ข้าวไรซ์เบอร์รี่อินทรีย์

3.1.1.2 ไข่ไก่ (ท็อปส์ มาร์เก็ต)

3.1.1.3 หนอนไหม (สยามแม็คโคร)

3.1.1.4 มันฝรั่ง (ท็อปส์ มาร์เก็ต)

3.1.1.5 ข้าวโพดอ่อน (ท็อปส์ มาร์เก็ต)

อาหารเลี้ยงเชื้อ (รายละเอียดในภาคผนวก ข)

Potato Dextrose Agar เสริมไข่ไก่

Potato Dextrose Broth เสริมไข่ไก่

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.2.1 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

3.1.2.2 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)

3.1.2.3 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

3.1.2.4 เครื่องเขย่า (Shaker)

3.1.2.5 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3.1.2.6 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

3.1.2.7 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

3.1.2.8 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

3.1.2.9 เครื่องเขย่าคลื่นเสียงความถี่สูง

3.1.2.10 เครื่องระเหยสรแบบหมุน (evaporator)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2.11 เครื่องกวนสารให้ความร้อน (hotplate stirrer)

3.1.2.12 เครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศ

3.1.2.13 เครื่องกวนสาร และแท่งแม่เหล็ก

3.1.2.14 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

3.1.2.15 ฟลาสก์ ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.2.16 ขวดโหล

3.1.2.17 ฝาปิดขวดโหล

3.1.2.18 ขวดดูแรน

3.1.2.19 ช้อนตักสาร

3.1.2.20 แท่งแก้วคนสาร

3.1.2.21 จานเพาะเชื้อ

3.1.2.22 เข็มเขี่ยเชื้อ

3.1.2.23 Forceps

3.1.2.24 หลอดปั่นเหวี่ยง

3.1.2.25 ผ้าขาวบาง

3.1.2.26 เตาแก๊ส

3.1.2.27 กระบอกตวง

3.1.2.28 หลอดทดลอง

3.1.2.29 ตะแกรงสแตนเลสใส่หลอดทดลอง (rack)

3.1.2.30 ตะแกรงใส่หลอดทดลองพลาสติก

3.1.2.31 ปิเปตแก้ว

3.1.2.32 ลูกยาง

3.1.2.33 พาสเจอร์ปิเปต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2.34 หลอดหยด (Droper)

3.1.2.35 ขวดปรับปริมาตร

3.1.2.36 ไมโครปิเปต (Micropipette)

3.1.2.37 ทิปเลือง

3.1.2.38 ทิปฟ้า

3.1.2.39 บีกเกอร์

3.1.2.40 Cork

3.1.2.41 มีด

3.1.2.42 มีดผ่าตัด

3.1.2.43 เขียง

3.1.2.44 ชามสแตนเลส

3.1.2.45 ถาดสแตนเลส

3.1.2.46 ไฟแช็ค

3.1.2.47 กระบอกฉีดน้ำ

3.1.2.48 แอลกอฮอล์

3.1.3 สารเคมี

3.1.3.1 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

3.1.3.2 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothizoline-6-sulfonic acid)(ABTS)

3.1.3.3 เอทานอลความเข้มข้น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์

3.1.3.4 โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต 2.45 มิลลิโมลาร์

3.1.3.5 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6 และ 7.8

3.1.3.6 ไรโบฟลาวิน 0.0001 โมลาร์

3.1.3.7 กรดเอทิลีนไดอามีนเตตราอาเซติก 0.1 โมลาร์

3.1.3.8 โตรบลูเตตร าโซเดียม 0.01 โมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3.9 เมไทโอนีน 0.1 โมลาร์

3.1.3.10 น้ำเกลือชนิดนอร์มัลซาไลน์ ความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์

3.2 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.2.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นและการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะ

3.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารแข็งหรือตัวหนอน

นำหัวเชื่อเริ่มต้นหรือหัวเชื้อเหลวใส่ลงในหนอนเพื่อทำการเพาะเลี้ยง โดยเตรียมขวดโหลแก้ว ขนาด 16 ออนซ์ ใส่ตัวหนอน 30 กรัม ที่ผ่านการอบ 2-3 ชั่วโมง และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นใส่หัวเชื้อเหลวลงไป ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้ว นำไปเพาะเลี้ยงในที่มืด ที่อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส จนเส้นใยเจริญเต็มอาหารและนำไปเลี้ยงต่อในที่มีแสงเพื่อชักนำการเกิดเป็นฟรุตติ้งบอดี้ และนำฟรุตติ้งบอดี้ที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) แสดงดังภาคผนวก ก

3.2.1.2 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารแข็ง PDA

นำฟรุตติ้งบอดี้ที่ได้มาทำการฆ่าเชื้อด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 3 เป็นเวลา 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นตัดเป็นชิ้นเล็กๆความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหารแข็ง PDA (ทำในตู้ปลอดเชื้อ) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 14 วัน แสดงดังภาคผนวก ก

3.2.1.3 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว PDB เสริม

หัวเชื้อเริ่มต้นจากอาหารแข็ง PDA ระยะเริ่มต้น ในขั้นตอนที่ 3.3.2 นำมาค้อกจำนวน 4 ชิ้นต่อฟลาสก์ ทำการเพาะเลี้ยงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลว PDB ปริมาตร 105 มิลลิลิตร (ทำในตู้ปลอดเชื้อ) และนำไปเพาะเลี้ยงในที่มืดพร้อมกับเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน เพื่อนำมาใช้เป็นหัวเชื้อในครั้งต่อไป แสดงดังภาคผนวก ก

3.2.1.4 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะในอาหารแข็งธัญพืช

นำ PDB เสริม ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ผสมกับข้าวไรซ์เบอร์รี่ 40 กรัม และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอจนข้าวในโหลเย็น จากนั้นใส่หัวเชื้ออาหารเหลวที่เตรียมไว้จากข้อ 3.3.3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในที่มืด ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนเส้นใยเจริญเต็มอาหารและนำไปเลี้ยงต่อในตู้ให้แสงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อผ่านไปประมาณ 5 วัน จะทำการฉีดฮอร์โมน และเลี้ยงต่อไปจนสามารถเก็บดอกได้ (ประมาณ 9 วัน) และทำการเก็บเกี่ยวโดยนำไปอบในเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการบันทึกน้ำหนักเซลล์แห้ง และนำไปเก็บไว้ในเดซิเคเตอร์ แสดงดังภาคผนวก ก

3.2.2 การสกัดสารพอลิแซคคาไรด์และการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

การสกัดพอลิแซคคาไรด์ทำได้โดยดัดแปลงจากวิธีของ Sapan Kumar Charma (2015) นำเห็ดที่อบแห้งมาบดในโกร่งให้เป็นผงละเอียด จากนั้นชั่งตัวอย่างมา 0.4 กรัม เติมน้ำ 8 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำการเก็บส่วนใสและเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 4 เท่าจากส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงและทิ้งให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำตะกอนที่ได้ไปเป่าให้แห้งด้วยไนโตรเจนจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และหาน้ำหนักตะกอนที่ได้ จากนั้นนำมาเติมน้ำเพื่อละลายตะกอน ให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ แสดงดังภาคผนวก ค3

3.2.2.1 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ใช้สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ (ภาคผนวก ค1) และตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 3.0 , 1.5 , 0.75 , 0.375 , 0.1875 , 0.0938 , 0.0469 , 0.0234 , 0.0117 , 0.0059 , 0.00293 และ 0.0015 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยจะแบ่งสารออกเป็น 4 ชุด ชุดที่ 1 คือ ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆและสารละลาย DPPH ชุดที่ 2 คือ ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆและแบลงก์ (น้ำกลั่น) ชุดที่ 3 คือ ตัวควบคุม (น้ำกลั่นและสารละลาย DPPH) ชุดที่ 4 คือ แบลงก์ (น้ำกลั่น) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

3.2.2.2 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

ใช้สารละลาย ABTS ที่ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ในโพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ อัตราส่วน 1:1 ทิ้งไว้ 4-16 ชั่วโมง (ภาคผนวก ค2) จากนั้นนำไปเจือจางให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง 0.7 ± 0.05 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร จากนั้นเตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 3.0 , 1.5 , 0.75 , 0.375 , 0.1875 , 0.0938 , 0.0469 , 0.0234 , 0.0117 , 0.0059 , 0.00293 และ 0.0015 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยจะแบ่งสารออกเป็น 4 ชุด ชุดที่ 1 คือ ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆและสารละลาย ABTS ชุดที่ 2 คือ ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆและแบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลงก์ (น้ำกลั่น) ชุดที่ 3 คือ ตัวควบคุม (น้ำกลั่นและสารละลาย ABTS) ชุดที่ 4 คือ แบลงก์ (น้ำกลั่น) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

3.2.3 การสกัดสารเพื่อวิเคราะห์สารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน

3.2.3.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน (ดัดแปลงจาก Wang *et al.*, 2015)

ทำการบดเห็ดถั่งเช่าหิมะประมาณ 0.1 กรัม ลงในโกร่ง (ทำ 3 ซ้ำ) จากนั้นเติมน้ำกลั่น 25มิลลิลิตร และนำไปสกัดด้วยอัลตราโซนิคอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15นาที หลักจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง 9,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร กรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมโครเมตร ทดสอบตัวอย่างด้วย HPLC และทำการวิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน

3.2.3.2 สภาวะของการทำโครมาโตกราฟี (ดัดแปลงจาก Wang *et al.*, 2015)

คอลัมน์โครมาโตกราฟี: ZORBAX SB-C18 (4.6 มิลลิเมตร x 250 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร) เฟสเคลื่อนที่: เมทานอล-น้ำ อัตราส่วน 85:15 (ปริมาตร/ปริมาตร) อัตราการไหล: 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ปริมาตรการฉีด 1 ไมโครลิตร ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร

3.2.4 การวิเคราะห์กิจกรรมของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส (ดัดแปลงจาก Guang Yu Cheng *et al.*, 2012)

3.2.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งเห็ดถั่งเช่าหิมะที่ผ่านการอบแห้ง 0.5 กรัม นำไปบดในโกร่งและเติมบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 6 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปใส่ในหลอดเซนติฟิวจ์เพื่อไปปั่นเหวี่ยง9,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์และปริมาณโปรตีนทั้งหมด

3.2.4.2 การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์

นำส่วนใสจากข้อ 3.2.4.1 มาเจือจาง 100 เท่า ปริมาณ 50 ไมโครลิตร มาใส่ในหลอดทดลอง 3 หลอด (ทำ 2 ซ้ำ) ใส่ในหลอดที่มี reaction mixture ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ดังแสดงภาคผนวก ง ใส่ตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร ทำ 2 ซ้ำ และตัวควบคุม 3 ซ้ำ โดยกระตุ้นด้วยแสง ความยาวคลื่น 18 วัตต์ 30 นาที และ blank ไม่กระตุ้นด้วยแสงแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

560 นาโนเมตร

3.2.4.3 การวัดปริมาณโปรตีนทั้งหมด

นำส่วนใสจากข้อ 3.2.4 เจือจาง 100 เท่า 1 มิลลิลิตร ตามวิธีการของ Lowry (1951) โดยนำตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณโปรตีน (หรือสารละลายมาตรฐานของโปรตีน) ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง โดยทำการเจือจาง 100 เท่า และเติมสารละลาย ค ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ดังแสดงภาคผนวก ง ลงในหลอดทดลองที่มีตัวอย่าง ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที เมื่อครบเวลาเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ความเข้มข้น 1 นอร์มัล ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากันทันทีตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที เพื่อให้เกิดสีอย่างสมบูรณ์นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร และเขียนกราฟมาตรฐานของสารละลาย BSA ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ BSA แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่วัดได้ไปหาปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ BSA วิธีการคำนวณแสดงดังภาคผนวก จ9 (อารี, 2016)

3.3 การทำครีมมาสก์หน้า

3.3.1 การแปรผันปัจจัยในการผลิตครีมมาสก์หน้า คือ ใช้ปริมาณสารสกัดเห็ดถั่งเช่าหิมะเท่ากับร้อยละ 2, 5 และ 8

กำหนดปริมาณครีมมาสก์ทั้งหมด 100 กรัม และเติมสารที่เป็นตำหรับของครีมมาสก์หน้า 3 สูตร โดยแบ่งองค์ประกอบเป็นสัดส่วน คือ ส่วน A , ส่วน B , ส่วน C และอื่นๆ ผสมครีมมาสก์ดังนี้

1. ชั่งสารส่วน A และส่วน B นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 – 80 องศาเซลเซียส
2. เทส่วน A ลงส่วน B ปั่นโฮโมจีไนซ์เซอร์ คนให้เข้ากันจากนั้นเติมส่วน C ลงไป
3. Cool down ที่อุณหภูมิห้อง เติม Spectrastat BHL และกรดซิตริก คนให้เข้ากัน
4. เติมเห็ดถั่งเช่าหิมะแบบผง คนให้เข้ากัน
5. บรรจุลงในกระปุกผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ

ชื่อสารเคมี	ปริมาณ (%น้ำหนัก/น้ำหนัก)		
Part A	**สูตร 1**	**สูตร 2**	**สูตร 3**
DI. water	40.05	37.05	34.05
Glycerin	10.00		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ต่อ

Methocel F4M	0.20		
Part B			
White Mineral Oil USP Grade 15	5.00		
Kaolin	10.00		
Zohar GLST-SE	6.00		
White Petroleum Jelly Pionier 3476	5.00		
SG-CIO	5.00		
Cetyl Alcohol	5.00		
Nikkommuless 41	3.00		
Part C			
Talc LS-61D	5.00		
Others			
Spectrastat BHL	1.50		
Citric Acid (1% Solution)	2.25		
เห็ดถั่งเช่าหิมะบดละเอียด	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3
	2	5	8

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

3.4.1 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

ใช้สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ และตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 12.0, 6.0, 3.0, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.0938, 0.0469, 0.0234, 0.0117 และ 0.0059 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยจะแบ่งสารออกเป็น 4 ชุด ชุดที่ 1 คือ ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆและสารละลาย DPPH ชุดที่ 2 คือ ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆและแบลงก์ (น้ำกลั่น) ชุดที่ 3 คือ ตัวควบคุม (น้ำกลั่นและสารละลาย DPPH) ชุดที่ 4 คือ แบลงก์ (น้ำกลั่น) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

ใช้สารละลาย ABTS ที่ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ในโพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟต ที่ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ อัตราส่วน 1:1 ทิ้งไว้ 4-16 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเจือจางให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง 0.7 ± 0.05 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร จากนั้นเตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 12.0, 6.0, 3.0, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.0938, 0.0469, 0.0234, 0.0117 และ 0.0059 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยจะแบ่งสารออกเป็น 4 ชุด ชุดที่ 1 คือ ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆและสารละลาย ABTS ชุดที่ 2 คือ ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆและแบลงก์ (น้ำกลั่น) ชุดที่ 3 คือ ตัวควบคุม (น้ำกลั่นและสารละลาย ABTS) ชุดที่ 4 คือ แบลงก์ (น้ำกลั่น) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

3.4.3 การวิเคราะห์สารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

ชั่งครีม 1 กรัม ในแต่ละสูตร (ทำ 3 ซ้ำ) จากนั้นเติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร คนให้เป็นเนื้อเดียวกัน และนำไปสกัดด้วยอัลตราโซนิคอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลักจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง 9,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร กรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมโครเมตร ลงในขวดทดสอบตัวอย่างของ HPLC และทำการวิเคราะห์ปริมาณโดยใช้สภาวะของโครมาโตกราฟีดังข้อ 3.2.3.2 และคำนวณค่าออกมาในหน่วยมิลลิกรัม/กรัม ซึ่งแสดงดังภาคผนวก จ8 ในทำการวิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน

3.4.4 การวิเคราะห์กิจกรรมของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

3.4.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งครีม 1 กรัม ในแต่ละสูตร เติมบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ pH 6 ปริมาณ 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปใส่ในหลอดเซนติฟิวจ์เพื่อไปปั่นเหวี่ยง 9,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์และปริมาณโปรตีนทั้งหมด

3.4.4.2 การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์

นำส่วนใสจากข้อ 3.4.4.1 และทำการทดลองตามข้อ 3.2.4.1 และการคำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในหน่วยยูนิต แสดงดังภาคผนวก จ10

3.4.4.3 การวัดปริมาณโปรตีนทั้งหมด

นำส่วนใสจากข้อ 3.4.4.1 และทำการทดลองตามข้อ 3.4.4.2 และการคำนวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีนตามกราฟมาตรฐานของปริมาณโปรตีนในหน่วยมิลลิกรัมโปรตีน แสดงดังภาคผนวก จ10

3.5 วิธีการการทดสอบคุณลักษณะผลิตภัณฑ์ตามมาตรฐาน มผช.175/2554 บางส่วน

3.5.1 คุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมี

เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 45 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำเช่นนี้จนครบ 4 ครั้ง นำมาวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบลักษณะทั่วไปเปรียบเทียบกับสภาพเดิมของผลิตภัณฑ์และวัดความเป็นกรด-ด่าง แสดงดังภาคผนวก ฉ

3.5.2 คุณลักษณะทางจุลชีววิทยาเบื้องต้น

นำตัวอย่างครีมมาสก์ 1 กรัม เติม 0.9% normal saline ที่ปลอดเชื้อ ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วทำการเจือจางตัวอย่าง เลือกระดับความเจือจางที่เหมาะสม จากนั้นทำการ pour plate โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อราและยีสต์ และอาหาร Trypticase Soy Agar (TSA) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นเวลา 3 วัน แล้วบันทึกผล แสดงดังภาคผนวก ฉ

3.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้วิธี 5-point hedonic scaling test แสดงดังภาคผนวก ช2 (เอกพล, 2014)

3.7 การทดสอบความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

ทำการทดสอบความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้าทั้ง 3 สูตร โดยทดสอบกับผู้ทดสอบจำนวน 30 คน โดยใช้เครื่องวัดความชื้นผิวหน้า (Digital Moisture Monitor For Skin รุ่น SK-IV) วัดค่าความชุ่มชื้นก่อนใช้ผลิตภัณฑ์ จากนั้นทำการมาสก์ทั้ง 3 สูตร ทิ้งไว้ที่ท้องแขน เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด และทำการวัดค่าความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์พร้อมบันทึกผล

3.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ปัจจัยที่ศึกษาคือความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ โดยนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งวิเคราะห์สถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 23.0 ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) และทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan แสดงดังภาคผนวก ช (วราพร, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลของการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะ

จากการศึกษาระยะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้นและลักษณะเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าหิมะที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA ดังแสดงรูปที่ 4.1 พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเห็ดถั่งเช่าหิมะในที่มืดที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 14 วัน ลักษณะการเจริญเส้นใยเป็นสีขาวฟู กระจายล้อมรอบชิ้นส่วนของเห็ดถั่งเช่าหิมะที่ทำการเพาะเลี้ยง

รูปที่ 4.1 ลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเช่าหิมะที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA ในที่มืด ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

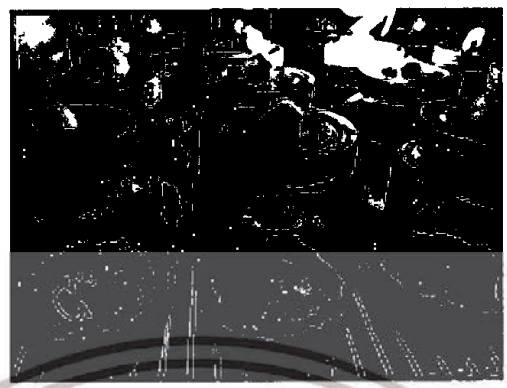
จากการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง PDA ครบระยะเวลาประมาณ 14 วัน จึงนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว PDB เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของหัวเชื้อต่อไป โดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3-4 วัน ในที่มืดพร้อมกับเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าในอาหารเหลว PDB มีลักษณะขุ่นและหนืด เนื่องจากเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าหิมะมีการเจริญเติบโต ทำให้สีหรือลักษณะของอาหารเหลว PDB มีลักษณะเปลี่ยนไปจากเดิม ดังแสดงรูปที่ 4.2

รูปที่ 4.2 การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะในอาหารเหลว PDB ในที่มืดพร้อมกับเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เมื่อถ่ายหัวเชื้อเห็ดถั่งหิมะที่เพาะเลี้ยงจากอาหารเหลว PDB เสริม ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่อินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน และทำการเพาะเลี้ยงในที่มืด ที่อุณหภูมิ 18 องศา

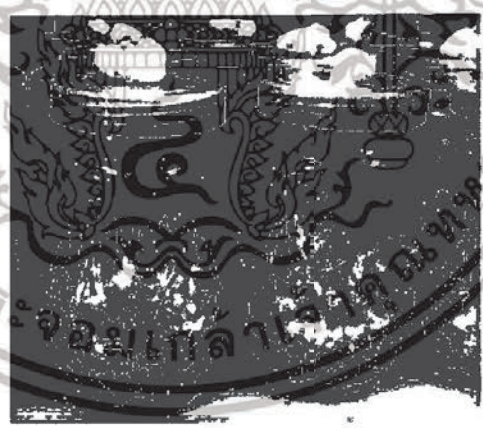
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 14 วัน พบว่าเส้นใยเห็ดถั่งเช่าหิมะมีสีขาว ฟู เจริญปกคลุมเต็มขวดโหลเพาะเลี้ยง ดังแสดงรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 ลักษณะของเห็ดถั่งเช่าหิมะในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่อินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนในที่มืดที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 14 วัน

การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่อินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อนำมาเปิดดอกโดยการให้แสงสว่าง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60-80 พบว่าเส้นใยจะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีเหลือง และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลาประมาณ 9 วัน เส้นใยจะเจริญสูงมากขึ้น มีขนาดความสูงประมาณ 3 เซนติเมตร ดอกของเห็ดมีลักษณะสูง เรียว ยาว สีเหลือง ดังแสดงรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 ลักษณะเห็ดถั่งเช่าหิมะในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่อินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อนำมาเปิดดอกโดยการให้แสงสว่าง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าหิมะ

4.2.1 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในเห็ดถั่งเช่าหิมะ พบว่า จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดจาก

เอกสารนี้ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เห็ดถั่งเช่าหิมะที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังภาคผนวก จ3 พบว่า ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้ครึ่งหนึ่ง มีค่าเท่ากับ 0.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หมายความว่าใช้ปริมาณเห็ดถั่งเช่าหิมะ 0.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ก็สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้ครึ่งหนึ่ง ซึ่งเปรียบเทียบกับงานวิจัยของปวีนาและสุพิชญา (2560) พบว่าจากการทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.04 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของสุกัลญาและคณะ (2562) พบว่าการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.58 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผลการทดลองของเราดีกว่าเพราะใช้ปริมาณเห็ดถั่งเช่าที่น้อยกว่าก็สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้ครึ่งหนึ่ง

4.2.2 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในเห็ดถั่งเช่าหิมะ พบว่า จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังภาคผนวก จ4 พบว่า ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ได้ครึ่งหนึ่ง มีค่าเท่ากับ 0.09 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หมายความว่าใช้ปริมาณเห็ดถั่งเช่าหิมะ 0.09 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ก็สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ได้ครึ่งหนึ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัย (Chi-Dung Nguyen *et al.*, 2017) พบว่าเห็ดถั่งเช่าสายพันธุ์ *Cordyceps neovolkiana* มีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.13 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แสดงว่าผลการทดลองของเราดีกว่า เพราะใช้ปริมาณเห็ดถั่งเช่าที่น้อยกว่าก็สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ได้ครึ่งหนึ่ง

4.2.3 วิเคราะห์สารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน

จากการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน โดยการนำสารสกัดของเห็ดถั่งเช่าหิมะมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง พบว่า สารอะดีโนซีน Retention Time ประมาณนาทีที่ 9 ในปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 6.07 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมน้ำหนักแห้ง แสดงดังภาคผนวก จ7 เมื่อเปรียบกับงานวิจัย (Jing Z *et al.*, 2012) มีปริมาณอะดีโนซีน 0.649 มิลลิกรัม ต่อ 1 กรัมน้ำหนักแห้งในเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordycepssinensis*) พบว่าปริมาณอะดีโนซีนของการทดลองมีค่ามากกว่าในงานวิจัย และไม่พบสารคอร์ไดเซปิน เนื่องจากการทดลองมีการสกัดด้วยอัลตราโซนิคอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิมีผลต่อสารคอร์ไดเซปิน คือ อุณหภูมิที่มากกว่า 30 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้สารคอร์ไดเซปินลดลง (Hung *et al.*, 2009)

4.2.4 วิเคราะห์กิจกรรมของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส

จากการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส พบว่าเมื่อคำนวณหาปริมาณของกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในเห็ดถั่งเช่าหิมะ มีค่าเฉลี่ย 47.92 ยูนิต/มิลลิลิตร ส่วนปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้ มีค่าเฉลี่ย 8.69 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และคำนวณเห็ดถั่งเช่าหิมะเป็น 1.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรัม จะได้ เห็ดถั่งเช่าหิมะตัวอย่างเฉลี่ย มีค่าเท่ากับ 11.11 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยเราจะพบว่าปริมาณของกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในเห็ดถั่งเช่าทั่วไปจะอยู่ที่ 10.32 ยูนิต/มิลลิกรัม (Dong *et al.*, 2012) ซึ่งค่าที่ได้จากการทดลองไม่ต่างกันมากนัก

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

4.3.1 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

จากการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้าพบว่าเมื่อคำนวณหาค่า IC_{50} กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะในครีมมาสก์สูตร 1, 2 และ 3 พบว่าสูตรที่ 1 ยังไม่พบค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ส่วนครีมสูตร 2 และ 3 ได้เท่ากับ 4.88 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 1.95 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาคผนวกรูปที่ จ-4 และ จ-5 ตามลำดับ)

4.3.2 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

จากการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้าพบว่าเมื่อคำนวณหาค่า IC_{50} กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะในครีมมาสก์สูตร 1, 2 และ 3 พบว่าที่ความเข้มข้นดังกล่าว สูตรที่ 1 ยังไม่พบค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ส่วนครีมสูตร 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 7.54 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 5.72 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาคผนวกรูปที่ จ-6 และ จ-7 ตามลำดับ)

4.3.3 การวิเคราะห์สารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

จากการวิเคราะห์สารอะดีโนซีนในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า วิธีการคำนวณแสดงดังภาคผนวก จ8 ได้ผลดังนี้ ครีมมาสก์หน้าสูตร 1 ไม่พบอะดีโนซีนในครีม แต่ครีมมาสก์หน้าสูตร 2 มีค่าเท่ากับ 21.34 มิลลิกรัม/กรัม และครีมมาสก์หน้าสูตร 3 มีค่าเท่ากับ 20.72 มิลลิกรัม/กรัม แสดงดังภาคผนวก จ7 ปริมาณคอร์ไดเซปินไม่พบในครีมมาสก์ทั้ง 3 สูตร

4.3.4 การวิเคราะห์กิจกรรมของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

การวิเคราะห์กิจกรรมของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้าสูตร 1 , 2 และ 3 แสดงดังภาคผนวก จ10 พบว่าครีมมาสก์หน้าสูตร 3 มีกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสสูงที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.65 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ส่วนครีมมาสก์หน้าสูตร 1 และ 2 มีกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสเฉลี่ยเท่ากับ 2.65 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน และ 3.06 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ผลของการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ

ครีมมาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของเห็ดถั่งเช่าหิมะ ความเข้มข้นต่างๆ	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ		
	ปริมาณสารอะดีโนซีน (มิลลิกรัม/กรัม)	ปริมาณสารคอร์ไดเซปิน (มิลลิกรัม/กรัม)	ปริมาณสารซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส (ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน)
สูตร 1	0.00[b]	-	2.65[a]
สูตร 2	21.34[a]	-	3.06[a]
สูตร 3	20.72[a]	-	3.65[b]

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

- หมายถึง ไม่พบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.4 ผลการทดสอบคุณลักษณะผลิตภัณฑ์ตามมาตรฐาน มผช.175/2554

4.4.1 คุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมี

ผลการทดสอบคุณลักษณะทางกายภาพของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ เมื่อทำการทดสอบทำให้เยือกแข็งแล้วปล่อยให้ละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 4 รอบ พบว่ากลิ่น และความเป็นเนื้อเดียวกันของครีมมาสก์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ผลการทดสอบสีพบว่า สีของครีมมาสก์มีการเปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองอมส้มเป็นสีเขียวอ่อน ส่วนคุณลักษณะทางเคมีของครีมมาสก์เมื่อทำการทดสอบทำให้เยือกแข็งแล้วปล่อยให้ละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 4 รอบ พบว่าค่าพีเอชเฉลี่ย เท่ากับ 4.5 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้

4.4.2 คุณลักษณะทางจุลชีววิทยาเบื้องต้น

ผลการทดสอบคุณลักษณะทางด้านจุลชีววิทยา เมื่อทำการทดสอบด้วยเทคนิค pour plate ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อราและยีสต์ และอาหาร Trypticase Soy Agar (TSA) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นเวลา 3 วัน พบว่าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรียตามมาตรฐาน มผช.175/2554

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าความพึงพอใจในด้านสีของผลิตภัณฑ์ที่ครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะสูตรที่ 2 และ 3 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ ในด้านของเนื้อครีม ความหนืด กลิ่น ความชุ่มชื้นต่อผิว ความพึงพอใจโดยรวม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงดังภาคผนวก ช

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของครีมมาสก์หน้าที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้น	สีของผลิตภัณฑ์	เนื้อของครีมมาสก์	ความหนืด	กลิ่นหอม	ความชุ่มชื้นต่อผิว	ความพึงพอใจโดยรวม
ร้อยละ 2	3.9[a]	3.53[a]	3.63[a]	3.00[a]	3.67[a]	3.67[a]
ร้อยละ 5	3.47[b]	3.23[a]	3.43[a]	2.70[a]	3.80[a]	3.77[a]
ร้อยละ 8	3.30[b]	3.13[a]	3.43[a]	2.80[a]	3.97[a]	3.87[a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.6 ผลการทดสอบความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

ผลการทดสอบความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า พบว่าค่าความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ (%) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังภาคผนวก ช

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ยการทดสอบความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้าที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้น	ค่าความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ (%)
ร้อยละ 2	11.17[a]
ร้อยละ 5	11.45[a]
ร้อยละ 8	12.87[a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์ หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าหิมะก่อนและหลังทำผลิตภัณฑ์

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	เห็ดถั่งเช่าหิมะ	ครีมมาสก์หน้าที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ		
		สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3
ค่า IC_{50} DPPH (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	0.50	-	4.88	1.95
ค่า IC_{50} ABTS (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	0.09	-	7.54	5.72
อะดีโนซีน (มิลลิกรัม/กรัม)	6.07	-	21.34	20.72
กิจกรรมของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส (ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน)	11.11	2.65	3.06	3.65

หมายเหตุ : - หมายถึง ไม่พบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะโดยใช้สภาวะอาหารแข็ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในเห็ดถั่งเช่าหิมะและในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า พบว่าค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ครึ่งหนึ่งในเห็ดถั่งเช่าหิมะตัวอย่าง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และครีมมาสก์หน้าสูตรที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะร้อยละ 8 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.95 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนในการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในเห็ดถั่งเช่าหิมะและในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า พบว่าค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ได้ครึ่งหนึ่งในเห็ดถั่งเช่าหิมะตัวอย่าง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.09 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และครีมมาสก์หน้าสูตรที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะร้อยละ 8 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 5.72 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในการวิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนในเห็ดถั่งเช่าหิมะและในครีมมาสก์เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานอะดีโนซีน มีค่าเท่ากับ 6.07 มิลลิกรัม/กรัม และในครีมมาสก์หน้าสูตรที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะร้อยละ 5 เท่ากับ 21.343 มิลลิกรัม/กรัม การวิเคราะห์กิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในเห็ดถั่งเช่าหิมะ มีค่าเท่ากับ 11.11 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ในครีมมาสก์หน้าสูตรที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะร้อยละ 8 มีกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ ดิสมิวเทส เฉลี่ยเท่ากับ 3.65 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน จากนั้นเมื่อได้ผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะแล้วจะนำไปตรวจสอบคุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมีด้วยวิธีทำให้เยือกแข็งแล้วปล่อยให้ละลายครบทั้ง 4 รอบ พบว่า กลิ่น ความเป็นเนื้อเดียวกันของครีมมาสก์ไม่เปลี่ยนแปลง แต่พบสีของครีมมาสก์มีการเปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองอมส้มเป็นสีเขียวอ่อน ค่าพีเอชเฉลี่ยอยู่ที่ 4.5 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ และเมื่อทำการประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้ 30 คน ที่มีต่อครีมมาสก์หน้า พบว่า ครีมมาสก์หน้าสูตรที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะร้อยละ 8 ได้รับความพึงพอใจโดยรวมมากที่สุด และมีค่าเฉลี่ยด้านความพึงพอใจโดยรวม เท่ากับ 3.87 ส่วนการประเมินค่าความชุ่มชื้นหลังใช้ครีมมาสก์(%) พบว่า ครีมมาสก์สูตรที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะร้อยละ 8 มีค่าความชุ่มชื้นหลังใช้ครีมมาสก์มากที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.87 %

5.2 ข้อเสนอแนะ

ผลงานวิจัยนี้พบว่าในเห็ดถั่งเช่าหิมะมีสารต้านอนุมูลอิสระและเอนไซม์ซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสอยู่ด้วย จึงเล็งเห็นที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ ซึ่งงานวิจัยนี้นำไปเป็นส่วนผสมในการผลิตครีมมาสก์หน้าเพื่อชะลอการเกิดกระบวนการออกซิเดชั่น ซึ่งกระบวนการออกซิเดชั่นจะสร้างความเสียหายต่อร่างกาย อนุมูลอิสระจะเข้าไปทำลายเซลล์ ทำให้เสียความชุ่มชื้น เมื่อร่างกายไม่สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตหรือได้รับสารต้านอนุมูลอิสระเพียงพอที่จะไปยับยั้งหรือไปจับกับอนุมูลอิสระได้ภายในเซลล์ของร่างกาย ผลคือทำให้เซลล์เกิดความเสียหาย ผิวขาดความชุ่มชื้นนำไปสู่ริ้วรอยต่างๆ นอกจากนี้เห็ดถั่งเช่าหิมะยังมีสาระสำคัญชนิดอื่นๆ เช่น กรดคอร์ไดเซปิก คอร์ไดเซปิน และอะดีโนซีน เป็นต้น ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย จึงเหมาะที่จะนำไปศึกษาต่อในการสร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ เช่น นำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริม พัฒนาทางด้านเภสัชกรรม และนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ทั้งนี้ควรมีการศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบอื่นๆ ในเห็ดถั่งเช่าหิมะที่ยังไม่พบในงานวิจัยเพิ่มเติม เพื่อหาสาระสำคัญในการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมด้านอื่นๆ หรือนำไปเป็นแนวทางในด้านวิชาการต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรุงเทพเคมี. 2560. **ซิทิว แอลกอฮอล์ (Cetyl Alcohol).** [Online]. Available : 12cgi8d9atj3mva5fc.com/%E0%B8%8B%E0%B8%B4%E0%B8%97%E0%B8%B4%E0%B8%A7%E0%B9%81%E0%B8%AD%E0%B8%A5%E0%B8%81%E0%B8%AD%E0%B8%AE%E0%B8%AD%E0%B8%A5%E0%B9%8C-Cetyl-Alcohol (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

กรุงเทพเคมี. 2560. **ทัลก์ (Talc).** [Online]. Available : https://xn--12cgi8d9atj3mva5fc.com/Talcum-Powder-%E0%B9%81%E0%B8%9B%E0%B9%89%E0%B8%87%E0%B8%97%E0%B8%B1%E0%B8%A5%E0%B8%84%E0%B8%B1%E0%B8%A1. (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด. 2553. **กรดซิตริก (Citric acid).** [Online]. Available : https://www.chemipan.com/a/th-th/244-%E0%B8%AA%E0%B8%B4%E0%B8%99%E0%B8%84%E0%B9%89%E0%B8%B2/328-%E0%B9%80%E0%B8%84%E0%B8%A1%E0%B8%B5%E0%B8%97%E0%B8%B1%E0%B9%88%E0%B8%A7%E0%B9%84%E0%B8%9B/5296-citric-acid-anhydrous-%E0%B8%81%E0%B8%A3%E0%B8%94%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B8%99%E0%B8%B2%E0%B8%A7-%E0%B9%81%E0%B8%AD%E0%B8%99%E0%B9%84%E0%B8%AE%E0%B8%94%E0%B8%A3%E0%B8%B1%E0%B8%AA-1kg.html. (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด. 2553. **กลีเซอรีน (Glycerine).** [Online]. Available : https://www.chemipan.com/a/th-th/244-สินค้า.html. (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด. 2553. **เคโอลิน (Kaolin).** [Online]. Available : https://www.chemipan.com/a/index.php?option=com_virtuemart&view=prod

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

uctdetails&virtuemart_product_id=1079&virtuemart_category_id=30&lang=th-th (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด. 2553. **White Mineral Oil.** [Online]. Available : https://www.chemipan.com/a/index.php?option=com_virtuemart&view=productdetails&virtuemart_product_id=5401&virtuemart_category_id=30&lang=th-th. (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

ดาว เคมิคอล. 2558. **METHOCEL F4M.** [Online]. Available : https://www.dow.com/en-US/ShowPDF.ashx?id=090003e8805fc2a9. (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

ปวีนา กัลยาประสิทธิ์, สุพิชฌา บุญอินทร์. 2560. "**การผลิตโลชั่นที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ.**" โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พรทิพย์ วิรัชวงศ์, วราภรณ์ บูรณานนท์, วราภรณ์บูรณานนท์ และพรทิพย์วิรัชวงศ์. **ฤทธิ์ของน้ำมันรำข้าวในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่น.** ประเทศไทย. สิทธิบัตรไทย. เลขที่ 1503. 20 กันยายน 2547.

รัชนี คงคาฉุยฉาย, ริญ เจริญศิริ, อภิชาต วรรณวิจิตร และศิริพัฒน์ เรืองพยัคฆ์. 2008. **สารต้านอนุมูลอิสระ.** สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล. 1: 1-3.

วราพร เหลือสินทรัพย์.// 2556.// การวางแผนการทดลอง.// 6.// กรุงทพฯ/:// โครงการตำรา คณะวิทยาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วิกิพีเดีย. ABTS. [Online]. Available : https://th.wikipedia.org/wiki/ABTS. (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 2559. **ปิโตรเลียมเจล (White Petroleum Jelly).** [Online]. Available : https://www.nstca.or.th/th/vdo-nstda/science-day-techno/4073-paraphin. (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

หน่ำเซียน. **Aloe Vera Clay Mask.** ประเทศไทย. สิทธิบัตรไทยเลขที่ 18. 1 กุมภาพันธ์ 2556.

อารี ฤทธิบูรณ์.// 2559.// ปฏิบัติการเทคโนโลยีของเอนไซม์.// 3.// กรุงทพฯ/:// โครงการตำรา คณะวิทยาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เอกพล ลิ้มพงษา, นภภัค ใจภักดี และ ศิริรัตน์ ดีศีลธรรม. 2014. การตั้งตำหรับและประเมิน**ผลิตภัณฑ์พอกหน้าที่เตรียมจากข้าวหอมมะลิไทย.** *Asia Pacific Journal of Science and*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Technology. 19(6): 905-915.

Brand-Williams W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Food Science and Technology.* 28(1): 25-30.

Bunyapaiboonsri, T., Yoiprommarat, S., Srisanoh, U., Choowong, W., Tasanathai, K., Hywel-Jones, N.L., Luangsa-Ard, J.J. andIsaka, M. 2011. Isariotins G-J from cultures of the Lepidoptera pathogenic fungus *Isaria tenuipes. Phytochemistry Letters.* 4(3): 283-286.

Che, J.H., Yun, J. W., Cho, E.Y., Kim, S.H., Kim, Y.S., Kim, W.H., and Kang, B.C. 2014. Toxicologic assessment of *Paecilomyces tenuipes* in rats: Renal toxicity and mutagenic potential. *Regulatory and Pharmacology.* 70(2): 527-534.

Chen, X.M., Lu, J.X., Zhang, Y.D., He, J.T., Guo, X.Z., Tian, G.Y. and Jin, L.Q. 2008. Studies of macrophage immune-modulating activity of polysaccharides isolated from *Paecilomyces tenuipes. International Journal of Biological Macromolecules.* 43(3): 252-256.

Cheng Y.G., Liu J., Tao M.X., Lu C.M., and Wu G.R., 2012. Activity, thermostability and isozymes of superoxide dismutase in 17 edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis.* 26: 136-143.

Chi-Dung Nguyen., Thu Huynh., and Minh-Hiep Dinh. 2017. Screening for some biological activities of Cultured *cordyceps neovolkiana. Science and Technology Development Journal.* 20(3): 106-112.

Cunningham, K.G., Manson, W., Spring, F.S., and Hutchinson, S.S. 1950 Cordycepin, a metabolic product isolated from cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) Link. *Nature.* 166: 949.

Devasagayam, T.P., Tilak, J.C., Boloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S., Lele, R.D., 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *The Journal of the Association of Physicians of India.* 52: 794-804.

Dong, J.Z., Lei, C., and Wang Y. 2012. Selenium Enrichment on *Cordyceps militaris* Link and Analysis on Its Main Active Components. *Appl Biochem Biotechnol.* 166: 1215-1224.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Du, L., Song, J., Wang, H., Li., P., Yang, Z., Meng, L., and Teng, L. 2012 Optimization of the fermentation medium for *Paecilomyces tenuipes* N45 using statistical approach. *African Journal of Microbiology Research.* 6(32): 6130-6141.

El-Bahr, 2013. Biochemistry of Free Radicals and Oxidative Stress. Science International. 1: 111-117

Eltzschig, H.K. 2009. Adenosine: an old drug newly discovered. *Anesthesiology.* 111(4): 904-915.

Hong, I.P., Nam, S.H., Sung, G.B., Chung, I.M., Hur, H., Lee, M.W., Kim, M.K. and Guo, S.X. 2007. Chemical components of *Paecilomyces tenuipes* (Peck) Samson. *Mycobiology.* 35: 215-218.

Hung, L.T., Keawsompong, S., Hanh, V.T., Sivichai, S. and Hywel-Jones, N.L. 2009. Effect of Temperature on Cordycepin Production in *Cordyceps militaris. Thai Journal of Agricultural Science.* 42(4): 219-225.

INOLEX Incorporated. 2012. **Spectrastat BHL**. [Online]. Available : https://www.ulprospector.com/en/eu/PersonalCare/Detail/352/583440/Spectrastat-BHL. (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

Takano, F., Yahagi, N., Yahagi, R., Takada, S., Yamaguchi, M., Shoda, S., Murase, T., Fushiya, S. and Ohta, T. 2005. The liquid culture filtrates of *Paecilomyces tenuipes* (Peck) Samson (=*Isaria japonica Yasuda*) and *Paecilomyces cicadae* (Miquel) Samson (=*Isaria sinclairii* (Berk.) Llond) regulate Th1 and Th2 cytokine response in murine Peyer's patch cells in vitro and ex vivo. *International immunopharmacology.* 2005. 5(5): 903-916.

Jianhua Han., Shufang Yang. and Jihong Sun. 2011. Comprehensive extraction of cordycepin and adenosine in *Cordyceps militaris. North Sericulture.* 102: 485-491 .

Jiamin Li., Minyi Guan and Yi Li. 2015. Effects of cooking on the contents of adenosine and cordycepin in *Cordyceps militaris. Procedia Engineering.* 102: 485-491.

Kana-uchi, A. and Fukatsu, T. 1999. Light-induced fruit body formation of an

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

entomogenous fungus *Paecilomyces tenuipes*. *Mycoscience*. 40: 349-351

Kang, C., Wen, T.C., Kang, J.C., Meng, Z.B., Li, G.R. and Hyde, K.D. 2014. Optimization of large-scale culture conditions for the production of cordycepin with *Cordyceps militaris* by liquid static culture. *The Scientific World Journal*. 4: 1-15.

Kim, H.C., Choi, B.S., Sapkota, K., Kim, S., Lee, H.J., Yoo, J.C. And Kim, S.J. 2011. Purification and characterization of a novel, highly potent fibrinolytic enzyme from *Paecilomyces tenuipes*. *Process Biochemistry*. 46(8): 1545-1553.

Lia, S.P., Yanga, F.Q. and Tsim, Karl W.K. 2006. Quality control of *Cordyceps sinensis* a valued tranditional Chinese medicine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41(5): 1571-1584.

Lo K.M. and Cheung P.C. 2005. Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegerita* var. alba. *Food Chemistry*. 89: 533-539.

Nam, K.S. Jo, Y.S. Kim, Y.H. Hyun, J.W. and Kim, H.W. 2001. Cytotoxic activities of acetoxyscirpenediol and ergosterol peroxide from *paecilomyces tenuipes*. *Life Sciences*. 69: 229-237.

Nikko Chemicals Shanghai Co.,Ltd. 2010. **Behenyl Alcohol, Polyglyceryl-10 Pentastearate, Sodium Stearoyl Lactylate**. [Online]. Available : https://www.chemical-navi.com/en/product_search/detail273.html. (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

Nikko Chemicals Shanghai Co.,Ltd. 2010. **Cethyl ethylhexanoate**. [Online]. Available : file:///C:/Users/Hp/Downloads/NIKKO%20CHEMICALS%20SHANGHAI.pdf. (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

Noguchi and Niki. 1999. Diet Nutrition and Health, twentieth ed. Papas M. P., CRC Press, Florida.

Pannala, S.A., Chan, T.S., Rice-Evans, C. 2001. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity. *Biochem Biophys Res Commun*. 282: 1161-1168.

Park, Y.H., Moon, E.K., Shin, Y.K., Bae, M.A., Kim, J.G. and Kim, Y.H. 2000. Antitumor

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

activity of *Paecilomyces japonica* is mediated by apoptotic cell-death. *Journal of Microbiology and Biotechnology.* 1: 16-20.

Park, J.H, Park, N.S., Lee, S.M. and Park, E. 2011. Effect of Dongchunghacho Rice on Blood Glucose Level, Lipid Profile, and Antioxidant Metabolism in Streptozotocinduced Diabetic Rats. *Food Science and Biotechnology.* 20(4): 933-940.

Ping Zhang., Shujun Zhu., and Dashun Qian. 2003. Analysis of function components and health function of *Cordyceps militaris*. *Jiangsu Agricultural Sciences*. 6: 105-107.

Radawan, M. AND Wilson, H.R. 1980. The Structure of Cordyeepin. *Acta crystallographica section B.* 36: 2185.

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 Radic. *Biol. Med.* 26: 1231–1237.

Samson, R.A. 1974. *Paecilomyces* and allied *Hyphomycetes. Studies in Mycology.* 6: 119-119

Sapan Kumar Sharma. 2015. Opitimized extraction and antioxidant activities of polysaccharide from two entomogenous fungi, *Bioanalysis and Biomedicine Journal*. 1: 180-186.

Thiyagarajan R., Sung K.Y., Sung W.K., Seock Y.H., Sang H.S., Kim and Si K.K. 2012. Cordycepin (3'-deoxyadenosine) attenuates age-related oxidative stress and ameliorates antioxidant capacity in rats. *Experimental Gerontology*. 47: 979-987

Tuli, H.S., Sharma, A.K., Sandhu, S.S. and Kashyap, D. 2013. Cordycepin: a bioactive metabolite with therapeutic potential. *Life Science.* 93: 863-869.

Wang, L.Y., Cheong, K.L., Wu, D.T., Meng, L.Z., Zhao, J. and Li, S.P. 2015. Fermentation optimization for the production of bioactive polysaccharides from *Cordyceps sinensis* fungus UM01. *International Journal of Biological Macromolecules.* 79: 180-185.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Xu, C.P., Kim, S.W., Hwang, H.J., Choi, J.W. and Yun, J.W. 2003. Optimization of submerged culture conditions for mycelia growth and exo-biopolymer production by *Paecilomyces tenuipes* C240. *Process Biochemistry.* 38: 1025-1030.

Yamanaka, K. Inatomi, S. and Hanaoka M. 1998. Cultivation characteristics of *Isaria japonica. Mycoscience.* 39: 43-48.

Zhu, J.S., Halpern, G.M., and Jones, K. 1998. The scientific rediscovery of an ancient Chinese herbal medicine: *Cordyceps sinensis:* part I. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine.* 4: 289-303.

Zohar Dalia Surfactants. 2008. **ZOHAREX GLST-SE.** [Online]. Available : http://www.zohardalia.com/media/1402/zoharex-glst-se.pdf. (วันที่ค้นข้อมูล: 18 มีนาคม 2562).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะ

1. การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะด้วยหนอนไหมในโหลแก้ว

2. การเตรียมหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะเพื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร PDA

มีขั้นตอนดังนี้

2.1 นำฟรุตติ้งบอดี้ที่ได้จากหัวเชื้อมาทำการฆ่าเชื้อด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 3 เป็นเวลา 3 นาที

รูปภาคผนวกที่ ก-1 นำฟรุตติ้งบอดี้ที่ได้จากหัวเชื้อมาทำการฆ่าเชื้อ

2.2 ล้างฟรุตติ้งบอดี้ด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหารแข็ง PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 14 วัน

รูปภาคผนวกที่ ก-2 หัวเชื้อ PDA เมื่อครบ 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเตรียมเตรียมหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร PDB เสริม มีขั้นตอนดังนี้

3.1 นำหัวเชื้อเริ่มต้นจากอาหารแข็ง PDA ที่ครบเวลา 14 วัน ในขั้นตอนที่ 2.2 นำมาค้อก จำนวน 4 ค้อกต่อฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลว PDB ปริมาตร 105 มิลลิลิตร

รูปภาคผนวกที่ ก-3 หัวเชื้อเริ่มต้นจากอาหารแข็ง PDA ที่ครบเวลา 14 วัน นำมาค้อก จำนวน 4 ค้อกต่อฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลว PDB

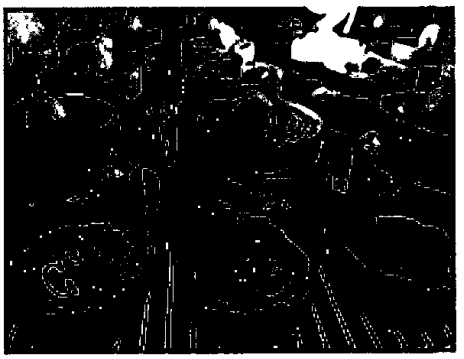
3.2 นำไปเพาะเลี้ยงในที่มืดพร้อมกับเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน เพื่อนำมาใช้เป็นหัวเชื้อในครั้งต่อไป

รูปภาคผนวกที่ ก-4 เพาะเลี้ยงในที่มืดพร้อมกับเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน เพื่อนำมาใช้เป็นหัวเชื้อในครั้งต่อไป

4. การถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารเหลว PDB เสริม ในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่อินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน

4.1 ทำการถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารเหลว PDB เสริม ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงตรงกลางขวดอาหารแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่อินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน จากนั้นนำไปบ่มในที่มืดและที่อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 14 วัน เส้นใยจะเจริญเต็มขวดโหลเพาะเลี้ยง (เส้นใยสีขาว)

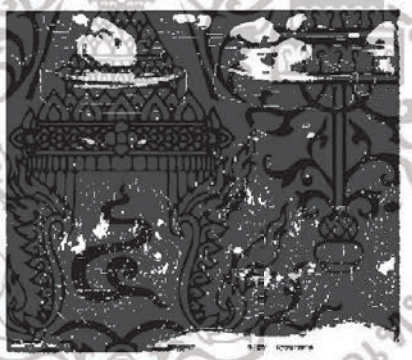
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ ก-5 เส้นใยที่เจริญเต็มขวดโหลเพาะเลี้ยง

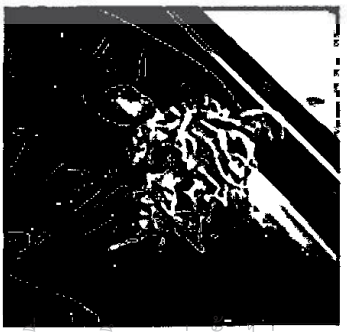
4.2 จากนั้นทำการเปิดดอกโดยให้แสงกับเส้นใย ที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60-80 เส้นใยจะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีเหลือง รอจนเกิดเป็นดอกเห็ดมีความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร จากนั้นทำการฉีดฮอร์โมน และนำไปเลี้ยงต่อจนครบเวลาประมาณ 15 วัน นับจากวันที่เปิดดอก

5. การตัดดอกเห็ดถั่งเช่าหิมะ



รูปภาคผนวกที่ ก-6 ถั่งเช่าหิมะที่เจริญพร้อมตัดดอก

5.1 ทำการตัดดอก โดยแยกส่วนดอก ขอบ และฐาน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาคผนวกที่ ก-7 การตัดดอก โดยแยกส่วนดอก ขอบ และฐาน

5.2 นำส่วนดอกนำไปอบที่ vacuum ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

5.3 หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ใน desiccator (โถทำแห้ง) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ภาคผนวก ข1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Potato dextrose agar (PDA)

องค์ประกอบอาหารสูตรอาหาร PDA (กรัมต่อลิตร) เตรียมปริมาตร 1 ลิตร

น้ำกลั่น	1	ลิตร
มันฝรั่ง	200	กรัมต่อลิตร
ข้าวโพดอ่อน	50	กรัมต่อลิตร
ยีสต์สกัด	5	กรัมต่อลิตร
เปปโตน	5	กรัมต่อลิตร
น้ำตาลกลูโคส	10	กรัมต่อลิตร
วุ้นบริสุทธิ์	20	กรัมต่อลิตร

หั่นมันฝรั่งให้มีลักษณะเป็นลูกเต๋าขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร และหั่นข้าวโพดอ่อนให้มีลักษณะเป็นแว่นบางๆ จากนั้นต้มน้ำจนเดือด เมื่อน้ำเดือดใส่มันฝรั่งหั่นเต๋าและข้าวโพดอ่อนที่เตรียมไว้ลงไป ต้มเป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบกำหนด นำมากรองผ่านผ้าขาวบาง และทำการปรับปริมาตรโดยเติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร เติมยีสต์สกัด เปปโตน น้ำตาลกลูโคส และวุ้นบริสุทธิ์ คนจนส่วนผสมละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Potato dextrose broth (PDB)

องค์ประกอบอาหารสูตรอาหารเหลว PDB เสริม (กรัมต่อลิตร) เตรียมปริมาตร 1 ลิตร

น้ำกลั่น	1	ลิตร
มันฝรั่ง	200	กรัมต่อลิตร
ข้าวโพดอ่อน	50	กรัมต่อลิตร
ยีสต์สกัด	5	กรัมต่อลิตร
เปปโตน	5	กรัมต่อลิตร
น้ำตาลกลูโคส	10	กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้มมันฝรั่งและข้าวโพดเป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบกำหนด นำมากรองผ่านผ้าขาวบาง และทำการปรับปริมาตรโดยเติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร เติมยีสต์สกัด เปปโตน และน้ำตาลกลูโคส คนจนส่วนผสมละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งธัญพืช

องค์ประกอบอาหารสูตรอาหารแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่อินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน (กรัมต่อลิตร)

ทำการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในอาหารเหลว คือ ไข่ไก่ แทนการใช้ เปปโตนและยีสต์สกัด

มันฝรั่ง	200	กรัมต่อลิตร
ข้าวโพดอ่อน	50	กรัมต่อลิตร
ไข่ไก่	63.57	กรัมต่อลิตร
น้ำตาลกลูโคส	20	กรัมต่อลิตร
หนอน	30	กรัมต่อลิตร
ปริมาตรอาหารเหลว	60	มิลลิลิตรต่อขวดอาหารเพาะเลี้ยง
ข้าวไรซ์เบอรี่อินทรีย์	40	กรัมต่อขวดอาหารเพาะเลี้ยง

ต้มมันฝรั่งและข้าวโพดเป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบกำหนด นำมากรองผ่านผ้าขาวบาง และทำการปรับปริมาตรโดยเติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร เติมไข่ไก่ น้ำจากตัวหนอนและน้ำตาลกลูโคส คนจนส่วนผสมละลายเป็นเนื้อเดียวกัน และนำอาหารเหลวมาปริมาตร 60 มิลลิลิตร ผสมกับข้าวไรซ์เบอร์รี่ 40 กรัม และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารในการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS

ภาคผนวก ค1 การเตรียมสารละลาย DPPH

ต้องการเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

คำนวณ $g / MW = CV / 1000$

เมื่อ g คือ มวลของสาร (กรัม)

MW คือ มวลโมเลกุลของสาร

C คือ ความเข้มข้นของสารที่ต้องการเตรียม

V คือ ปริมาตรของสาร

แทนค่า $g / 394.32 = (200 \times 10^{-6}$ โมลาร์)(25 มิลลิลิตร) / 1000

$g = 0.002$ กรัม

ภาคผนวก ค2 การเตรียมสารละลาย ABTS

ต้องการเตรียมสารละลาย ABTS ที่ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ในโพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟต ที่ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์อัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

คำนวณ ABTS ที่ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์โดยใช้สูตร $g / MW = CV / 1000$

เมื่อ g คือ มวลของสาร (กรัม)

MW คือ มวลโมเลกุลของสาร

C คือ ความเข้มข้นของสารที่ต้องการเตรียม

V คือ ปริมาตรของสาร

แทนค่า $g / 548.68 = (7 \times 10^{-3}$ โมลาร์)(50 มิลลิลิตร) / 1000

$g = 0.192$ กรัม

คำนวณ โพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟต ที่ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์

โดยใช้สูตร $g / MW = CV / 1000$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ g คือ มวลของสาร (กรัม)

MW คือ มวลโมเลกุลของสาร

C คือ ความเข้มข้นของสารที่ต้องการเตรียม

V คือ ปริมาตรของสาร

แทนค่า $g / 270.3 = (2.45 \times 10^{-3}$ โมลาร์)(50 มิลลิลิตร) / 1000

$g = 0.033$ กรัม

ภาคผนวก ค3 การเจือจางสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะเพื่อนำไปวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS

หลังจากนำตะกอนของเห็ดถั่งเช่าหิมะไปอบและชั่งน้ำหนักตะกอนแล้ว จะต้องเติมน้ำกลั่นลงไปเพื่อละลายตะกอนให้เป็นสารสกัดเห็ด

ตัวอย่างการคำนวณ : ชั่งน้ำหนักตะกอนได้ 0.0104 จะเติมน้ำกลั่นลงไปอีก 1.04 มิลลิลิตร แล้วคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดถั่งเช่าหิมะในหน่วย มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

สารสกัดปริมาตร 1.04 มิลลิลิตร มีปริมาณเห็ด 10.4 มิลลิกรัม

สารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร มีปริมาณเห็ด 10 มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดเห็ดถั่งเช่าหิมะ คือ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในการทดลองวิเคราะห์การกำจัดอนุมูลอิสระ จะต้องทำการเจือจางสารสกัดเห็ดให้มีความเข้มข้น 3.0 , 1.5 , 0.75 , 0.375 , 0.1875 , 0.0938 , 0.0469 , 0.0234 , 0.0117 , 0.0059 , 0.00293 และ 0.0015 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

คำนวณ $C_1V_1 = C_2V_2$

ตัวอย่างการคำนวณ : ต้องการเตรียมสารสกัดเห็ดให้มีความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร จากตัวอย่างเห็ดที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

แทนค่า (10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)(V_1) = (3.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)(1 มิลลิลิตร)

V_1= 0.3 มิลลิลิตร หรือ 300 ไมโครลิตร

เพราะฉะนั้น ต้องปิเปตสารสกัดเห็ดถั่งเช่าหิมะ 0.3 มิลลิลิตร หรือ 300 ไมโครลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นอีก 700 ไมโครลิตร จะได้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 3.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปเจือจางต่ออีก โดยทำการปิเปตจากความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เริ่มต้น 3.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นอีก 500 ไมโครลิตร นำไปเจือจางต่ออีกจนครบความเข้มข้นที่กำหนด จากนั้นนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป คือการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การเตรียมสารในการวิเคราะห์กิจกรรมของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส

ภาคผนวก ง1 การวิเคราะห์กิจกรรมของซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส

การเตรียมสารเคมีในการวิเคราะห์กิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส

1. Phosphate Buffer pH 6 ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

(สารไดโซเดียมไฮโดรเจนนออโทรฟอสเฟต 123 มิลลิลิตร และสารโซเดียมไฮโดรเจนออโทรฟอสเฟต 877 มิลลิลิตร)

Phosphate Buffer pH 7.8 ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

(สารไดโซเดียมไฮโดรเจนนออโทรฟอสเฟต 915 มิลลิลิตร และสารโซเดียมไฮโดรเจนนออโทรฟอสเฟต 80.5 มิลลิลิตร)

2. ไรโบเฟลวิน ความเข้มข้น 0.0001 โมลาร์ ชั่งมา 0.0037 กรัม ใน buffer 100 มิลลิลิตร
3. กรดเอเดติก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ชั่งมา 2.9224 กรัม ใน buffer 100 มิลลิลิตร
4. NBT ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ชั่งมา 0.081764 กรัม ใน buffer 10 มิลลิลิตร
5. เมทไธโอนีน ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ชั่งมา 0.1492 กรัม ใน buffer 10 มิลลิลิตร

การเตรียมสารเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

1. สารละลาย ก

ละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 20 กรัม/ลิตร ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

2. สารละลาย ข

ละลายคอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4.5H_2O$) ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร ในสารละลายโซเดียมโพแตสเซียมทาร์เทรต (sodium potassium tartrate) ความเข้มข้น 10 กรัม/ลิตร

3. สารละลาย ค

สารละลายอัลคาไลคอปเปอร์ (alkali copper) เตรียมโดยผสมสารละลาย ก ปริมาตร 50 มิลลิลิตร กับสารละลาย ข ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ควรเตรียมเมื่อต้องการใช้)

4. สารละลาย Folin Clocalte

นำสาร Folin-Clocalte (ความเข้มข้น 2 นอร์มัล) มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. สารละลายมาตรฐานของโปรตีน

ละลาย bovine serum albumin (BSA) ในระดับความเข้มข้น 0, 40, 80, 120, 160 และ 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

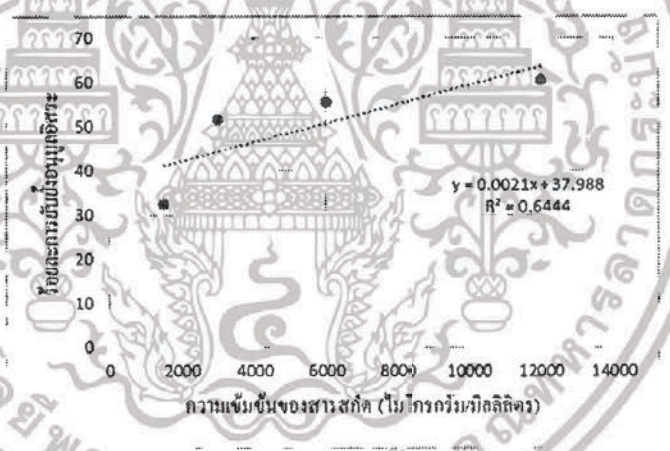
การคำนวณและข้อมูลผลการทดลอง

ภาคผนวก จ1 การคำนวณร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และวิธี ABTS

การยับยั้งอนุมูลอิสระ (%) = $\frac{(A_{DPPH} - A_{Blank\ DPPH}) - (B_{sample} - B_{Blank\ sample})}{(A_{DPPH} - A_{Blank\ DPPH})}$ x 100

ภาคผนวก จ2 การคำนวณค่าความเข้มข้นของสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาได้ครึ่งหนึ่ง (IC_{50})

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มาคำนวณหาร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ ตามสูตรข้างต้น และนำร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระไปพลอตกราฟ โดยให้แกนแนวตั้ง (y) เป็นค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ และแกนแนวนอน (x) เป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) แล้วคำนวณหาแนวโน้มสมการ เพื่อให้ได้สมการเส้นตรง y = mx + c



รูปภาคผนวกที่ จ-1 ตัวอย่างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

เมื่อได้กราฟเส้นตรงแล้ว จะแทนค่า y ในสมการเท่ากับ 50 ซึ่งหมายถึงความสามารถที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ครึ่งหนึ่ง แล้วคำนวณหาค่า x ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นสารสกัดในหน่วยมิลลิกรัม/มิลลิลิตร

สมการเส้นตรง y = mx + c

กำหนดให้ y คือ ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ

m คือ ความชันของกราฟ

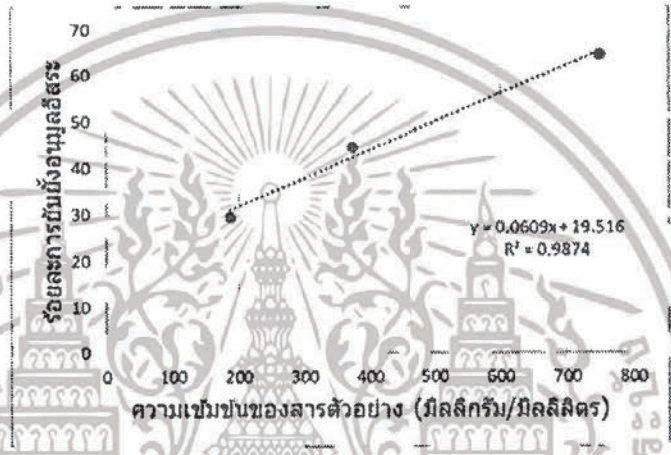
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

x คือ ความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

c คือ จุดตัดแกน y

ภาคผนวก จ3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยใช้ตัวอย่างเป็นสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ

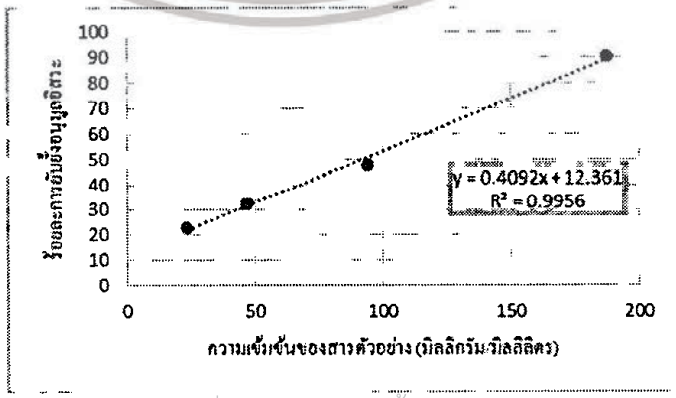
ทำการพลอตกราฟเพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ครึ่งหนึ่ง (The half maximal inhibitory concentration; IC_{50})



รูปภาคผนวกที่ จ-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

ภาคผนวก จ4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS โดยใช้ตัวอย่างเป็นสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ

ทำการพลอตกราฟเพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTSได้ครึ่งหนึ่ง (The half maximal inhibitory concentration; IC_{50})

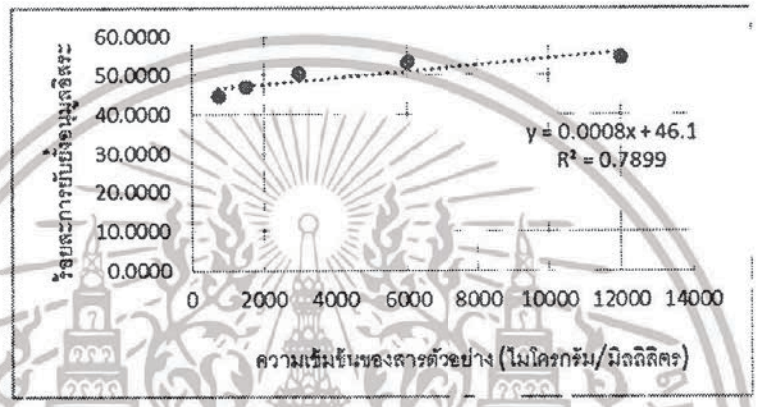


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

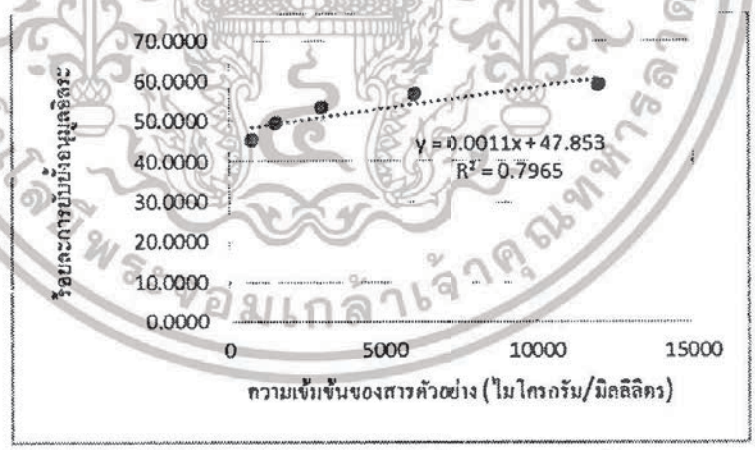
รูปภาคผนวกที่ จ-3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

ภาคผนวก จ5 การวิเคราะห์การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยใช้ตัวอย่างเป็นครีมมาสก์หน้า 3 สูตรที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ

ทำการพลอตกราฟเพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ครึ่งหนึ่ง (The half maximal inhibitory concentration; IC_{50})



รูปภาคผนวกที่ จ-4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่อยู่ในครีมมาสก์ สูตรที่ 2 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

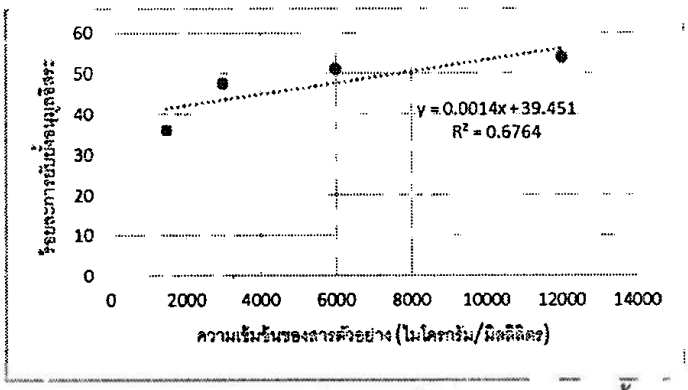


รูปภาคผนวกที่ จ-5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่อยู่ในครีมมาสก์สูตรที่ 3 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

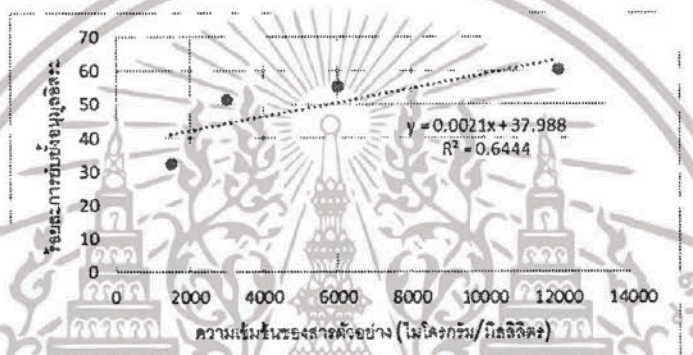
ภาคผนวก จ6 การวิเคราะห์การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS โดยใช้ตัวอย่างเป็นครีมมาสก์หน้า 3 สูตร ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ

ทำการพลอตกราฟเพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTSได้ครึ่งหนึ่ง (The half maximal inhibitory concentration; IC_{50})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



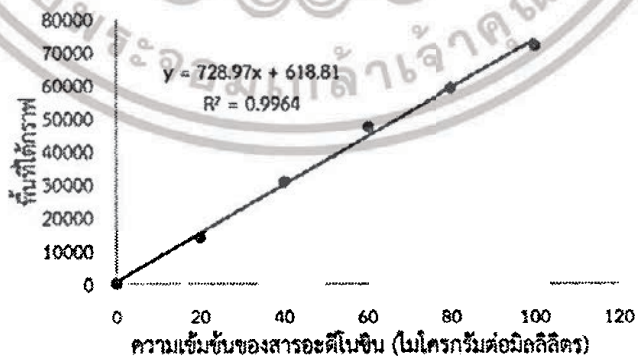
รูปภาคผนวกที่ จ-6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่อยู่ในครีมมาสก์ สูตรที่ 2 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)



รูปภาคผนวกที่ จ-7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะที่อยู่ในครีมมาสก์สูตรที่ 3 (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

ภาคผนวก จ7 วิเคราะห์สารอะดีโนซีน

วิเคราะห์สารอะดีโนซีน ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

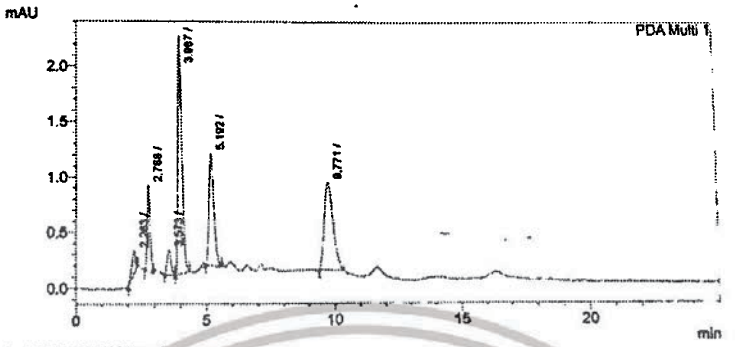


รูปภาคผนวกที่ จ-8 กราฟมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาปริมาณอะดีโนซีนด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง(HPLC)

1. โครม่าโทแกรมแสดงพีคอะดีโนซีนของตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าหิมะ



1 PDA Multi 1/254nm 4nm

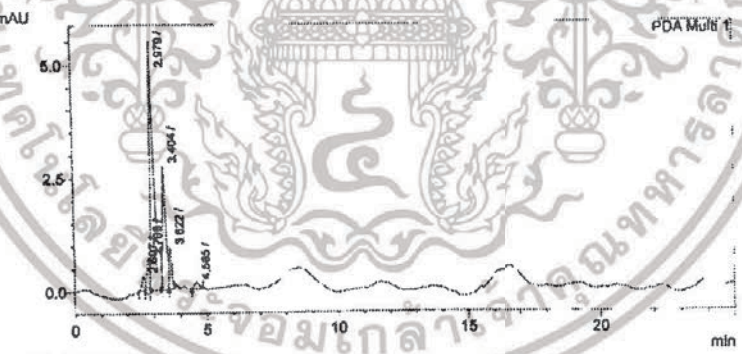
<Results>

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1		2.263	1907	194	0.751	0.000	0.000	
2		2.788	6364	787	1.419	2.039	0.000	
3		3.573	2249	223	1.068	3.075	0.000	
4		3.987	22910	2149	1.385	1.453	0.000	
5		5.192	13376	1016	1.338	3.754	0.000	
6		9.771	19201	801	1.227	9.273	0.000	
Total			66003	5169				

1.1 จากการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนซึ่งค่า retention time ของโครมาโทแกรมของอะดีโนซีนในนาทีที่ 9.771

2. โครมาโทแกรมแสดงพีคอะดีโนซีนของตัวอย่างครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ



1 PDA Multi 1/254nm 4nm

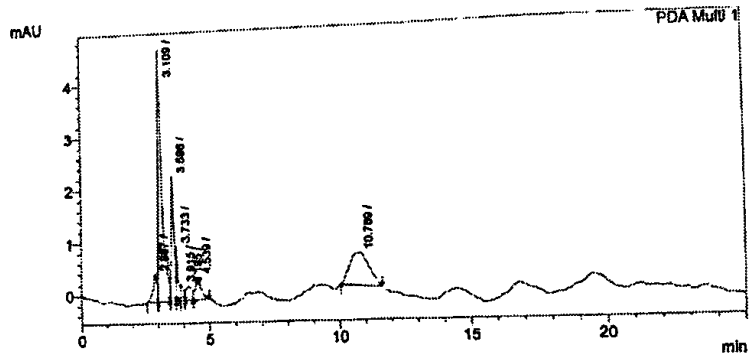
<Results>

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1		2.607	2511	329	0.000	0.000	0.000	
2		2.788	5543	720	0.000	0.599	0.000	
3		2.979	57963	5522	0.000	0.683	0.000	
4		3.404	24201	2733	0.000	1.694	0.000	
5		3.622	5497	912	0.000	0.831	0.000	
6		4.585	1562	140	1.323	3.279	0.000	
Total			97278	10355				

2.1 จากผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะความเข้มข้นร้อยละ 2 ซึ่งค่า retention time ของโครมาโทแกรมของอะดีโนซีนไม่ปรากฏ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1		2.697	5774	525	0.000	0.000	0.000	
2		3.109	60266	4811	0.000	0.680	0.000	
3		3.586	18886	2372	0.000	1.924	0.000	
4		3.733	5449	1047	0.000	0.634	0.000	
5		3.915	2715	295	0.000	0.497	0.000	
6		4.195	4089	262	0.000	0.413	0.000	
7		4.539	5637	429	0.000	0.562	0.000	
8		10.789	31736	618	1.078	7.002	0.000	
Total			125533	10358				

2.2 จากผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะความเข้มข้นร้อยละ 5 ซึ่งค่า retention time ของโครมาโทแกรมของอะดีโนซีนในนาทีที่ 10.789

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1		2.688	1099	93	0.000	0.000	0.000	
2		3.094	47229	4398	0.000	0.000	0.000	
3		3.404	25797	2264	0.000	1.109	0.000	
4		3.707	5105	980	0.000	1.259	0.000	
5		3.957	4526	390	0.000	0.357	0.000	
6		4.188	10287	610	0.000	0.267	0.000	
7		9.939	61043	989	1.050	5.096	0.000	
Total			155086	9725				

2.3 จากผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะความเข้มข้นร้อยละ 8 ซึ่งค่า retention time ของโครมาโทแกรมของอะดีโนซีนในนาทีที่ 9.939

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ8 ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณอะดีโนซีน

ตารางภาคผนวกที่ จ-1 พื้นที่ใต้กราฟของปริมาณสารอะดีโนซีน

พื้นที่ใต้กราฟปริมาณสารอะดีโนซีน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
18144
17939
19133

วิธีการคำนวณปริมาณสารอะดีโนซีน

สมการเส้นตรงของอะดีโนซีน

$$y = 728.97x + 618.81$$

มีหน่วยเป็น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

แก้สมการเส้นตรง $x = \frac{y-618.81}{728.97}$

แทนค่า y เท่ากับ 18144 จะได้ $x = \frac{18144-618.81}{728.97}$

$x = 24.04$ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ดังนั้น ในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร มี 24.04 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ถ้าน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร มี 601.03 ไมโครกรัม/น้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร

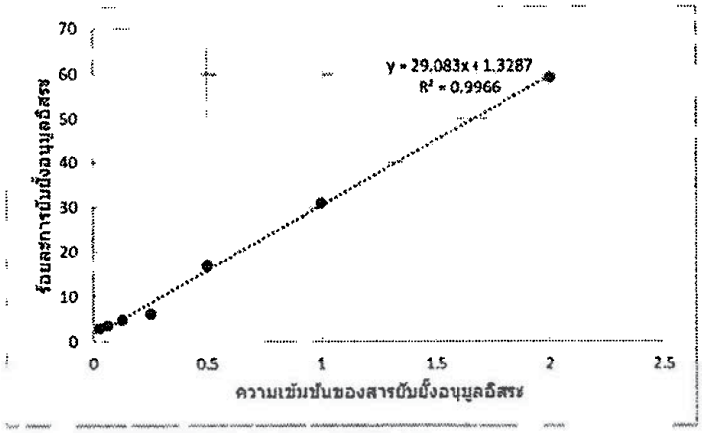
ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 0.1 กรัม มี 601.03 ไมโครกรัม/น้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร

ถ้าตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มี 6010 ไมโครกรัม/กรัม

ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มีปริมาณสารอะดีโนซีน 6010 ไมโครกรัม/กรัม หรือ 6.01 มิลลิกรัม/กรัม

ภาคผนวก จ9 การวิเคราะห์กิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในเห็ดถั่งเช่าหิมะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ จ-9 กราฟมาตรฐานเอนไซม์ซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารยับยั้งอนุมูลอิสระ และร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร

ตารางภาคผนวกที่ จ-2 แสดงกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทส และปริมาณโปรตีนในเห็ดถั่งเช่าหิมะ

กิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในเห็ดถั่งเช่าหิมะ (ยูนิต)	ปริมาณโปรตีนในเห็ดถั่งเช่าหิมะ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
57.37	9.29
46.03	7.48
40.36	9.29

วิธีการคำนวณกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในเห็ดถั่งเช่าหิมะ

โดยใช้ตัวอย่างเห็ด 0.5 กรัม ต่อบัฟเฟอร์ pH 6 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

ค่า od ของ control เท่ากับ 0.294 และค่า od ของตัวอย่าง เท่ากับ 0.210

$$\% \text{ inhibition} = \left(\frac{\text{od ของ control} - \text{od ของตัวอย่าง}}{\text{od ของ control}}\right) \times 100$$

$$= \left(\frac{0.294 - 0.2096}{0.294}\right) \times 100$$

$$= 28.71$$

คุณการเจือจาง จะได้ $= 28.71 \times 100$

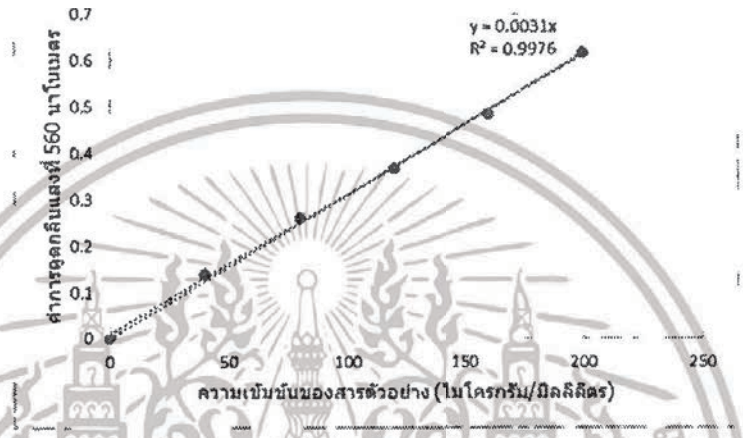
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

= 2871

50 % inhibition = 2871÷ 50

= 57.42 ยูนิต

วิธีการคำนวณปริมาณโปรตีนในเห็ดถั่งเช่าหิมะ



รูปภาคผนวกที่ จ-10 กราฟมาตรฐานโปรตีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 40, 80, 120, 160, 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

ค่า od ของตัวอย่าง เท่ากับ 0.288

สมการเส้นตรงของโปรตีน

$$y = 0.0031x$$

แทนค่า y เท่ากับ 0.288 จะได้ $x = \frac{0.288}{0.0031}$

$$x = 92.90$$

คูณการเจือจาง จะได้ = 92.90 × 100

= 9290 ไมโครกรัม/โปรตีน หรือ 9.29 มิลลิกรัมโปรตีน

ในการหากิจกรรมเอนไซม์ โดยการนำ $\frac{\text{ยูนิต}}{\text{มิลลิกรัมโปรตีน}}$

$$\text{กิจกรรมเอนไซม์} = \frac{57.42 \text{ ยูนิต}}{9.29 \text{ มิลลิกรัมโปรตีน}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

= 6.18 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

ดังนั้น กิจกรรมเอนไซม์ 6.18 เท่ากับ ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

ในตัวอย่างเห็ด 0.5 กรัม มี 6.18 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

ถ้าตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มี 12.36 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 1 กรัม จะได้กิจกรรมเอนไซม์ 12.36 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

ภาคผนวก จ10 การวิเคราะห์กิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในครีมมาสก์หน้า

ตารางภาคผนวกที่ จ-3 แสดงกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในครีมมาสก์หน้าที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8 ในหน่วยยูนิต/มิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดถั่งเช่าหิมะ	ปริมาณสารซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในครีมมาสก์หน้า (ยูนิต)			
ร้อยละ 2	0.17	0.13	0.15	เฉลี่ย=0.15
ร้อยละ 5	0.54	0.58	0.50	เฉลี่ย=0.54
ร้อยละ 8	1.47	1.42	1.38	เฉลี่ย=1.42

ตารางภาคผนวกที่ จ-4 แสดงปริมาณโปรตีนในครีมมาสก์หน้าที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8 ในหน่วยมิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดถั่งเช่าหิมะ	ปริมาณโปรตีนในครีมมาสก์หน้า (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
ร้อยละ 2	0.28	0.28	0.29	เฉลี่ย=0.28
ร้อยละ 5	0.36	0.35	0.35	เฉลี่ย=0.35
ร้อยละ 8	0.39	0.38	0.39	เฉลี่ย=0.39

วิธีการคำนวณปริมาณเห็ดในผลิตภัณฑ์ครีมมาสก์หน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยใช้ตัวอย่างครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ 1 กรัม ต่อบัฟเฟอร์ pH 6 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร

ซึ่งวิธีการคำนวณหากิจกรรมเอนไซม์ซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในครีมมาสก์ จะใช้วิธีการคำนวณเดียวกันกับเห็ดถั่งเช่าหิมะ

เมื่อเทียบปริมาณเห็ดในครีมมาสก์ 1 กรัม

ครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2

ในครีมมาสก์ 80 กรัม มีปริมาณเห็ด 1.6 กรัม

ถ้าครีมมาสก์ 1 กรัม มีปริมาณเห็ด 0.02 กรัม

ครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5

ในครีมมาสก์ 80 กรัม มีปริมาณเห็ด 4 กรัม

ถ้าครีมมาสก์ 1 กรัม มีปริมาณเห็ด 0.05 กรัม

ครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8

ในครีมมาสก์ 80 กรัม มีปริมาณเห็ด 6.4 กรัม

ถ้าครีมมาสก์ 1 กรัม มีปริมาณเห็ด 0.1 กรัม

วิธีคำนวณกิจกรรมเอนไซม์ซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสในครีมมาสก์หน้าในหน่วย ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

ครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2

เห็ด 0.02 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 0.15 ยูนิต

เห็ด 1 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 7.5 ยูนิต

เห็ด 1 กรัม ในน้ำ 1 มิลลิลิตร มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 0.75 ยูนิต/มิลลิลิตร

ดังนั้น ครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 2.67 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

ครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เห็ด 0.05 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 0.54 ยูนิต

เห็ด 1 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 10.8 ยูนิต

เห็ด 1 กรัม ในน้ำ 1 มิลลิลิตร มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 1.08 ยูนิต/มิลลิลิตร

ดังนั้น ครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 3.08 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

ครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8

เห็ด 0.1 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 1.42 ยูนิต

เห็ด 1 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 14.2 ยูนิต

เห็ด 1 กรัม ในน้ำ 1 มิลลิลิตร มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 1.42 ยูนิต/มิลลิลิตร

ดังนั้น ครีมมาสก์ที่มีสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 3.64 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ผลิตภัณฑ์พอกหน้า ๑๗๕/๒๕๕๔

๑. ขอบข่าย

๑.๑ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมผลิตภัณฑ์พอกหน้าที่มีลักษณะเป็นผง ของเหลว และของเหลวข้น

๒. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้กับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้มีดังต่อไปนี้

๒.๑ ผลิตภัณฑ์พอกหน้า หมายถึง ผลิตภัณฑ์สำหรับใช้พอกใบหน้าเพื่อบำรุงผิวหน้า ขจัดคราบสกปรกและเซลล์ผิวที่ตายแล้ว ทำให้ผิวหน้าผุดผ่องขึ้น โดยอาจมีส่วนผสมของผงหรือสารสกัดของสมุนไพร

๓. ส่วนประกอบ

๓.๑ สารที่ใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์พอกหน้า ให้เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่ออกตาม พระราชบัญญัติเครื่องสำอางฉบับที่มีผลบังคับใช้

๔. คุณลักษณะที่ต้องการ

๔.๑ ลักษณะทั่วไป

ต้องมีสีสม่ำเสมอ ไม่มีสิ่งแปลกปลอมและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นหืน กลิ่นบูด กรณีเป็น ครีมหรือของเหลวข้นต้องเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้น ไม่ตกตะกอน กรณีเป็นผงต้องไม่จับตัวเป็นก้อน การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจและดม

๔.๒ สารปนเปื้อน

๔.๒.๑ ตะกั่ว ต้องไม่เกิน ๒๐ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

๔.๒.๒ สารหนู (คำนวณเป็น As_2O^3) ต้องไม่เกิน ๒ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

๔.๒.๓ ปรอท ต้องไม่เกิน ๐.๕ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การทดสอบให้ใช้อะตอมิกแอบซอร์ปชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

๔.๓ ความเป็นกรด-ด่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้องอยู่ระหว่าง ๔.๕ ถึง ๘.๐ การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

๔.๔ จุลินทรีย์

๔.๔.๑ จำนวนแบคทีเรีย ยีสต์และราทั้งหมดที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ ต้องไม่เกิน ๑ x ๑๐^{๓} โคโลนีต่อตัวอย่าง ๑ กรัม หรือ ๑ ลูกบาศก์เซนติเมตร

๔.๔.๒ ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา ต้องไม่พบ

๔.๔.๓ สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส ต้องไม่พบ

๔.๔.๔ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ต้องไม่พบ

๔.๔.๕ คลอสตริเดียม ต้องไม่พบ

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม ISO หรือ BAM (U.S.FDA) หรือ USP หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

๔.๕ การระคายเคือง (เบื้องต้น) ต้องไม่ทำให้เกิดอาการคัน ผื่นแดง หรืออาการข้างเคียงอื่นทางผิวหนัง

การทดสอบให้ปฏิบัติตามข้อ ๙.๑

๔.๖ ความคงสภาพ (เฉพาะของเหลวและของเหลวข้น) ลักษณะทั่วไปต้องอยู่ในสภาพที่ดีไม่แปรสภาพหรือเสื่อมคุณภาพ โดยความเป็นกรด-ด่างต้องแตกต่างจากเดิมไม่เกิน ± ๑.๐ และต้องอยู่ระหว่าง ๔.๕ ถึง ๘.๐ การทดสอบให้ปฏิบัติตามข้อ ๙.๒

๕. สุขลักษณะ

๕.๑ สุขลักษณะในการทำผลิตภัณฑ์พอกหน้า ให้เป็นไปตามภาคผนวก ก.

๖. การบรรจุ

๖.๑ ให้บรรจุผลิตภัณฑ์พอกหน้าในภาชนะบรรจุที่เหมาะสม สะอาด ปิดได้สนิท ไม่รั่ว ไม่แตก และสามารถ ป้องกันสิ่งปนเปื้อนจากภายนอกได้ การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจ

๖.๒ ปริมาตรสุทธิหรือน้ำหนักสุทธิของผลิตภัณฑ์พอกหน้าในแต่ละภาชนะบรรจุต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก การทดสอบให้ใช้เครื่องวัดปริมาตรหรือเครื่องชั่งที่เหมาะสม

๗. เครื่องหมายและฉลาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๗.๑ ที่ฉลากหรือภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์พอกหน้าทุกหน่วยอย่างน้อยต้องมี เลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้ง รายละเอียดต่อไปนี้ให้เห็นได้ง่ายชัดเจน

(๑) ชื่อผลิตภัณฑ์ (ตามชื่อ มผช.) อาจตามด้วยชื่อเรียกผลิตภัณฑ์เช่น สมุนไพรพอกหน้า

(๒) ส่วนประกอบทุกชนิด ให้เรียงปริมาณจากมากไปน้อย

(๓) ปริมาตรสุทธิหรือน้ำหนักสุทธิเป็นลูกบาศก์เซนติเมตรหรือกรัม

(๔) เดือน ปีที่ทำ หรือปี เดือนที่ทำ

(๕) เดือน ปีที่หมดอายุหรือปีเดือนที่หมดอายุสำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีอายุน้อยกว่า ๓๐ เดือน

(๖) เลขที่แสดงครั้งที่ทำหรือรหัสรุ่นที่ทำ

(๗) วิธีใช้

(๘) คำเตือน ต้องเป็นไปตามที่ประกาศกระทรวงสาธารณสุขกำหนด

(๙) การเก็บรักษา (ถ้ามี)

(๑๐) เลขที่ใบรับแจ้ง

(๑๑) ชื่อผู้ทำหรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง และเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียนหรือชื่อการค้า ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

หมายเหตุ (๑) ชื่อผลิตภัณฑ์และชื่อทางการค้าให้ขนาดตัวอักษรใหญ่กว่าข้อความอื่น

(๒) ส่วนประกอบให้ใช้ภาษาไทย หรือภาษาไทยทับศัพท์ภาษาอังกฤษ หรือภาษาอังกฤษ

๘. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

๘.๑ รุ่น ในที่นี้หมายถึง ผลิตภัณฑ์พอกหน้าที่มีส่วนประกอบเดียวกัน ที่ทำในระยะเวลาเดียวกัน

๘.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

๘.๒.๑ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไป การบรรจุ และเครื่องหมายและ ฉลาก ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๔.๑ ข้อ ๖. และข้อ ๗. ทุกรายการ จึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์พอกหน้ารุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๘.๒.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบสารปนเปื้อน ความเป็นกรด-ด่าง และการ ระคายเคือง (เบื้องต้น) ให้ชักตัวอย่างที่ผ่านการการทดสอบตามข้อ ๘.๒.๑ แลว จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เพื่อทำเป็นตัวอย่างรวม โดยมีปริมาตรรวมหรือน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า ๑๐๐ ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ ๑๐๐ กรัม กรณีตัวอย่างไม่พอให้ชักตัวอย่างเพิ่มโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันให้ได้ตัวอย่างที่มีปริมาตรรวมหรือน้ำหนักรวมตามที่กำหนด เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๔.๒ ข้อ ๔.๓ และข้อ ๔.๕ จึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์พอกหน้ารุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๘.๒.๓ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบจุลินทรีย์ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันจำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เพื่อทำเป็นตัวอย่างรวม โดยมีปริมาตรรวมหรือน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า ๑๐๐ ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ ๑๐๐ กรัม กรณีตัวอย่างไม่พอให้ชักตัวอย่างเพิ่มโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันให้ได้ตัวอย่างที่มีปริมาตรรวมหรือน้ำหนักรวมตามที่กำหนด เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๔.๔ จึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์พอกหน้ารุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๘.๒.๔ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับทดสอบความคงสภาพ (เฉพาะของเหลวและของเหลวข้น) ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุเมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๔.๖ จึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์พอกหน้ารุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๘.๓ เกณฑ์ตัดสิน

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์พอกหน้าต้องเป็นไปตามข้อ ๘.๒.๑ ข้อ ๘.๒.๒ ข้อ ๘.๒.๓ และข้อ ๘.๒.๔ ทุกข้อจึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์พอกหน้ารุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

๙. การทดสอบ

๙.๑ การทดสอบการระคายเคือง (เบื้องต้น)

๙.๑.๑ ใช้อาสาสมัคร ๖ คน ที่มีสุขภาพแข็งแรง ไม่เป็นโรคผิวหนังและต้องไม่มีบาดแผลบริเวณท้องแขน ทำความสะอาดบริเวณท้องแขนข้างใดข้างหนึ่งของอาสาสมัครทุกคนให้สะอาดด้วยน้ำสะอาดและซับให้แหงสนิท

๙.๑.๒ กำหนดพื้นที่ทดสอบขนาด (๓ × ๓) เซนติเมตร บริเวณผิวหนังท้องแขนทดสอบของอาสาสมัคร ทาตัวอย่างผลิตภัณฑ์พอกหน้าที่มีปริมาตรประมาณ ๑ ลูกบาศกเซนติเมตร หรือน้ำหนักประมาณ ๑ กรัม ให้ทั่วบริเวณผิวหนังทดสอบ ทิ้งไว้เป็นเวลา ๑ ชั่วโมง แล้วสังเกตบริเวณผิวหนัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบ โดยอาสาสมัครทั้ง ๖ คน ต้องไม่เกิดอาการคัน ผื่นแดง หรืออาการข้างเคียงอื่นทางผิวหนัง จึงจะถือว่าผ่านการทดสอบการระคายเคือง

๙.๒ การทดสอบความคงสภาพ (เฉพาะของเหลวและของเหลวข้น)

เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์พอกหน้าที่ไม่เคยเปิดฝาภาชนะบรรจุมาก่อนที่อุณหภูมิ (๔ ± ๒) องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ (๔๕ ± ๒) องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง ทำเช่นนี้จน ครบ ๔ ครั้ง นำมาวางไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบลักษณะทั่วไปเปรียบเทียบกับสภาพเดิมของ ผลิตภัณฑ์และวัดความเป็นกรด-ด่าง

ภาคผนวก ก.

สุขลักษณะ (ข้อ ๕.๑)

ก.๑ สถานที่ตั้งและอาคารที่ทำ

ก.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและที่ใกล้เคียงอยู่ในที่ที่จะไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ทำเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย โดย

ก.๑.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบสะอาด ไม่มีน้ำขัง แฉะ และสกปรก

ก.๑.๑.๒ อยู่ห่างจากบริเวณหรือสถานที่ที่มีฝุ่น เขม่า ควัน

ก.๑.๑.๓ ไม่อยู่ใกล้เคียงกับสถานที่น่ารังเกียจ เช่น บริเวณเพาะเลี้ยงสัตว์ แหล่งเก็บหรือกำจัดขยะ

ก.๑.๒ อาคารที่ทำมีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบและก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงรักษา การทำความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงาน โดย

ก.๑.๒.๑ พื้น ฝาผนัง และเพดานของอาคารที่ทำก่อสร้างด้วยวัสดุที่คงทน เรียบ ทำความสะอาด และ ซ่อมแซมให้อยู่ในสภาพที่ดีตลอดเวลา

ก.๑.๒.๒ แยกบริเวณที่ทำออกเป็นสัดส่วน สำหรับวัตถุดิบ วัสดุบรรจุ ผลิตภัณฑ์รอการบรรจุ และ ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ไม่อยู่ใกล้ห้องสุขาซึ่งเปิดสู่บริเวณที่ทำโดยตรง ไม่มีสิ่งของที่ไม่ใช้แล้วหรือไม่เกี่ยวข้องกับการทำอยู่ในบริเวณที่ทำ

ก.๑.๒.๓ พื้นที่ปฏิบัติงานไม่แออัด มีแสงสว่างเพียงพอ และมีการระบายอากาศที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.๑.๒.๔ ห้องสุขา อ่างล้างมือมีจำนวนเหมาะสม มีอุปกรณ์เครื่องใช้สำหรับทำความสะอาดหรือฆ่าเชื้อโรค

ก.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการทำ

ก.๒.๑ ภาชนะหรืออุปกรณ์ในการทำที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ ทำจากวัสดุมีผิวเรียบ ไม่เป็นสนิม ล้างทำความสะอาดได้ง่าย

ก.๒.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้สะอาด ก่อนและหลังการใช้งานต้องทำความสะอาด เหมาะสมกับการใช้งาน ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อน ติดตั้งได้ง่าย มีปริมาณเพียงพอ รวมทั้งสามารถ ทำความสะอาดได้ง่ายและทั่วถึง และเก็บไว้ในที่เหมาะสม

ก.๓ การควบคุมกระบวนการทำ

ก.๓.๑ วัตถุดิบและส่วนผสมในการทำ ต้องสะอาด มีคุณภาพดีได้จากแหล่งที่เชื่อถือได้ปลอดภัย จัดเก็บในภาชนะสะอาด ป้องกันการปนเปื้อนได้ แยกเก็บเป็นสัดส่วน

ก.๓.๒ การทำ การเก็บรักษา การขนย้าย และการขนส่ง ให้มีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์

ก.๓.๓ เครื่องชั่งที่ใช้ต้องตรวจสอบได้เที่ยงตรง

ก.๔ การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด

ก.๔.๑ น้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์และมือของผู้ทำ เป็นน้ำสะอาดและมีปริมาณเพียงพอ

ก.๔.๒ มีวิธีการป้องกันและกำจัดสัตว์นำเชื้อ แมลง และฝุ่นผงในบริเวณที่ทำตามความเหมาะสม

ก.๔.๓ มีวิธีการป้องกันไม่ให้สัตว์เลี้ยง เช่น สุนัข แมว เข้าไปในบริเวณที่ทำ

ก.๔.๔ มีการกำจัดขยะสิ่งสกปรก และน้ำทิ้ง อย่างเหมาะสม เพื่อไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับลงสู่ผลิตภัณฑ์

ก.๔.๕ สารเคมีที่ใช้ล้างทำความสะอาด และใช้กำจัดสัตว์นำเชื้อและแมลง ใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และเก็บแยกจากบริเวณที่ทำ เพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่ผลิตภัณฑ์ได้

ก.๕ บุคลากรและสุขลักษณะของผู้ทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.๕.๑ ผู้ทำทุกคน ต้องมีสุขภาพดีทั้งร่างกายและจิตใจ รักษาความสะอาดส่วนบุคคลให้ดีเช่น สวมเสื้อผ้าที่สะอาด มีผ้าคลุมผมเพื่อป้องกันไม่ให้เส้นผมหล่นลงในผลิตภัณฑ์ ไม่ไว้เล็บยาว ล้างมือให้สะอาดทุกครั้งก่อนปฏิบัติงาน หลังการใช้ห้องสุขา และเมื่อมือสกปรก

ก.๕.๒ ผู้ทำทุกคน ต้องไมระทำการใดๆ ที่ไม่ถูกสุขลักษณะในสถานที่ทำ เช่น รับประทานอาหาร สูบบุหรี่

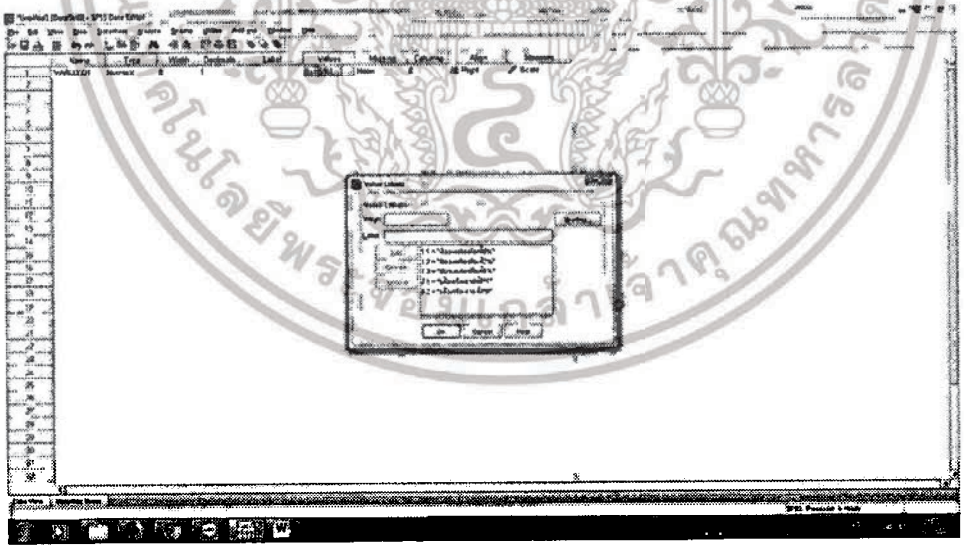
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช

วิธีการวิเคราะห์โดยโปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 23.0

ภาคผนวก ช1 การใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 23.0

1. ให้ทำการเรียงข้อมูลที่จะใช้ในการวิเคราะห์ลงในโปรแกรมลงใน คอลัมน์ของโปรแกรม



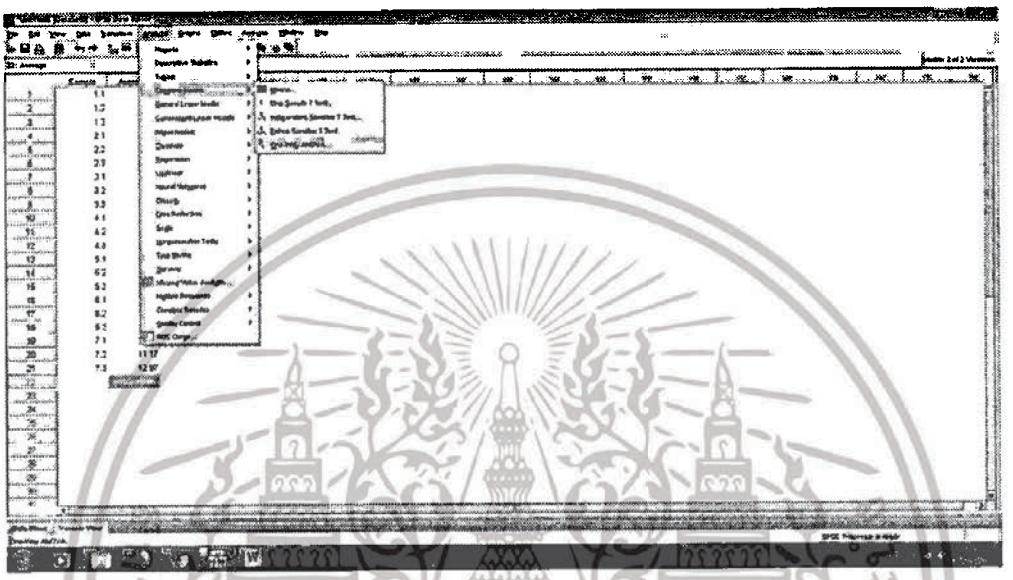
2. คลิกที่ variable view ทำการเปลี่ยนชื่อคอลัมน์

3. คลิกที่ values ใส่โค้ดตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ (1)

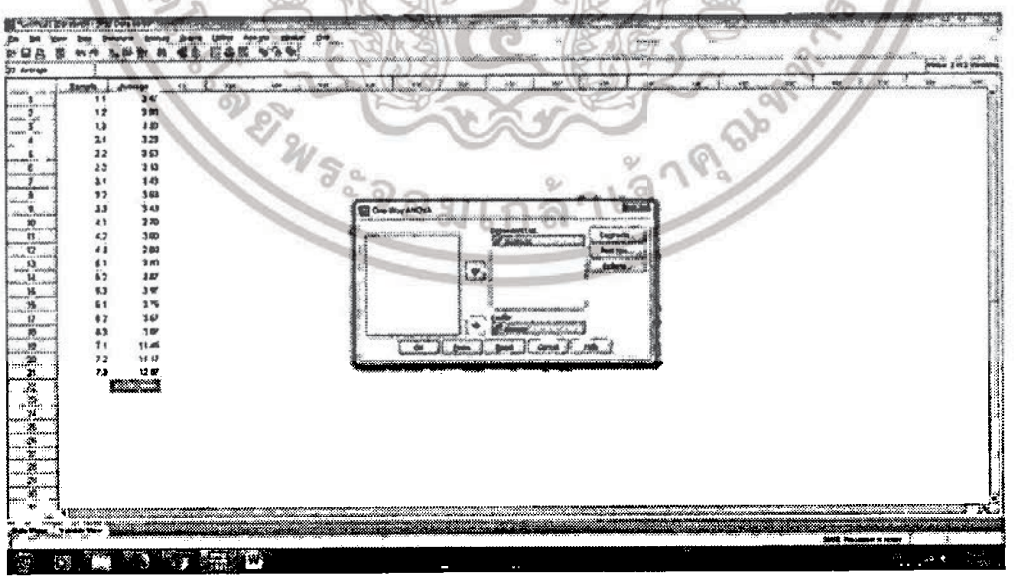
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ช่อง value ใส่จำนวนตัวอย่างลงในช่อง , label ใส่โค้ดของตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ และกด add (2)

5. คลิก OK (3)



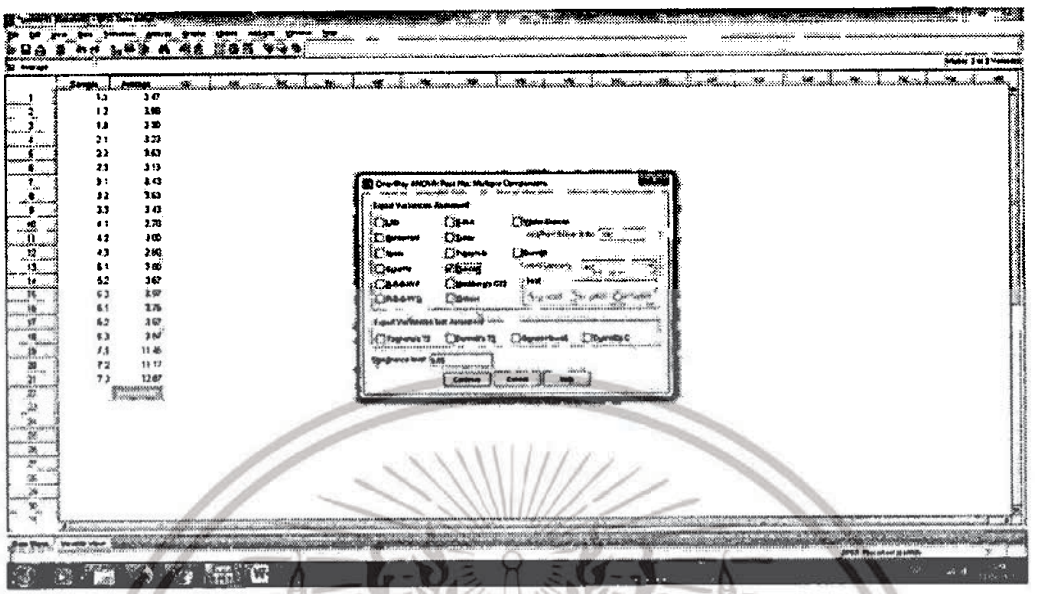
6.ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยกด Analyze -> Compare Means -> One-way ANOVA



7. ทำการเลือก ตัวอย่างให้คลิกไปที่ช่อง Factor และ Average ไปที่ช่อง dependent list

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. คลิกที่ Post Hoc



9. ให้คลิก เลือกวิธี Duncan และกด Continue

10. คลิกที่ Options และให้เลือกการวิเคราะห์ที่ต้องการ

11. คลิกที่ Continues และให้กด OK เป็นการเริ่มการวิเคราะห์ข้อมูล

12. การแสดงผล ถ้าค่าในแต่ละปัจจัยอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ถ้าค่าในแต่ละปัจจัยอยู่คนละคอลัมน์ แสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช2 แบบประเมินความพึงพอใจที่มีต่อครีมมาสก์เห็ดถั่งเช่าหิมะ

ให้คะแนนความพึงพอใจต่อมาสก์เห็ดถั่งเช่าหิมะที่ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิว โดยมาสก์ทั้ง 3 สูตร ทิ้งไว้ที่ท้องแขนเป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด แล้วจึงตอบลงในแบบทดสอบ

เกณฑ์การประเมิน 5 หมายถึง พึงพอใจมากที่สุด

4 หมายถึง พึงพอใจมาก

3 หมายถึง พึงพอใจปานกลาง

2 หมายถึง พึงพอใจน้อย

1 หมายถึง พึงพอใจน้อยที่สุด

ความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ในด้าน	ระดับความพึงพอใจของชุดตัวอย่าง		
	920	517	638
1.สีของผลิตภัณฑ์			
2.เนื้อของครีมมาสก์			
3.ความหนืด			
4.กลิ่นหอม			
5.ความชุ่มชื้นต่อผิว			
6.ความพึงพอใจโดยรวม			

ผลการทดสอบ

	920	517	638
ค่าความชุ่มชื้นก่อนใช้ผลิตภัณฑ์ (%)			
ค่าความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์(%)			

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ช-1 คะแนนความชอบแต่ละด้านของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2

ลำดับ	สีของผลิตภัณฑ์	เนื้อของครีมมาสก์	ความหนืด	กลิ่น	ความชุ่มชื้นต่อผิว	ความพึงพอใจโดยรวม
1	5	5	3	2	5	5
2	5	4	3	2	4	4
3	3	2	2	4	3	3
4	3	4	4	3	4	4
5	3	3	3	3	3	3
6	4	4	4	3	4	4
7	2	2	4	3	3	3
8	3	3	3	1	5	4
9	3	3	2	1	5	3
10	4	4	4	2	4	3
11	5	5	5	4	4	5
12	5	4	3	4	4	5
13	3	2	4	3	3	2
14	4	3	3	2	4	4
15	2	1	5	3	2	2
16	3	3	2	2	4	4
17	5	2	5	3	4	1
18	5	5	4	3	4	5
19	5	4	5	4	4	4
20	5	4	4	5	3	4
21	5	5	2	4	4	4
22	5	4	4	4	3	4
23	3	5	3	4	4	4
24	5	3	4	3	3	3
25	4	3	4	4	2	4
26	4	4	4	4	3	4
27	3	3	3	2	4	4
28	5	3	4	4	4	5
29	5	5	4	1	3	3
30	2	4	4	3	4	5
ค่าเฉลี่ย	3.9	3.533333	3.633333	3	3.666667	3.666667

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ช-2 คะแนนความชอบแต่ละด้านของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5

ลำดับ	สีของผลิตภัณฑ์	เนื้อของครีมมาสก์	ความหนืด	กลิ่น	ความชุ่มชื้นต่อผิว	ความพึงพอใจโดยรวม
1	4	3	4	2	3	4
2	5	3	4	2	3	3
3	4	3	3	3	3	4
4	4	3	3	3	3	3
5	4	3	3	2	4	4
6	3	3	3	2	4	3
7	3	2	4	3	3	3
8	2	1	2	1	3	4
9	2	2	2	2	3	3
10	5	5	5	2	4	5
11	3	3	4	4	4	4
12	4	2	3	4	4	4
13	4	4	2	3	3	4
14	3	3	3	1	4	4
15	3	3	4	2	4	3
16	3	3	2	2	4	3
17	2	4	3	2	4	3
18	4	4	4	3	4	4
19	4	5	4	5	5	5
20	3	5	5	4	5	5
21	4	5	4	5	5	5
22	4	3	4	3	4	4
23	4	5	3	4	3	3
24	5	3	2	3	4	3
25	1	3	4	1	4	3
26	3	4	4	3	4	4
27	4	3	4	2	4	4
28	3	3	4	4	4	4
29	3	4	4	1	4	4
30	4	3	4	3	4	4
ค่าเฉลี่ย	3.466667	3.233333	3.433333	2.7	3.8	3.766667

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ช-3 คะแนนความชอบแต่ละด้านของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 8

ลำดับ	สีของผลิตภัณฑ์	เนื้อของครีมมาสก์	ความหนืด	กลิ่น	ความชุ่มชื้นต่อผิว	ความพึงพอใจโดยรวม
1	3	2	4	3	3	4
2	4	2	5	2	3	5
3	4	2	4	4	3	3
4	4	2	5	3	3	5
5	3	3	3	3	4	3
6	3	3	3	2	4	4
7	4	2	4	3	3	3
8	2	2	3	1	3	2
9	2	1	2	1	3	3
10	3	4	4	2	4	4
11	4	3	4	4	4	4
12	3	2	3	2	4	2
13	3	3	3	3	3	2
14	3	5	5	1	4	5
15	5	4	3	4	4	5
16	3	3	2	2	4	4
17	4	3	1	4	4	5
18	3	4	4	3	4	5
19	3	4	3	3	5	3
20	4	3	3	3	5	3
21	3	5	3	3	5	3
22	3	4	4	2	4	5
23	4	5	4	5	3	5
24	4	5	5	4	4	5
25	4	5	5	5	4	5
26	3	4	4	3	4	4
27	3	2	1	1	4	3
28	4	3	3	4	4	4
29	2	4	4	1	4	5
30	3	2	2	3	4	4
ค่าเฉลี่ย	3.3	3.133333	3.433333	2.8	3.8	3.966667

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ช-4 คะแนนความชอบในด้านค่าความชื้นหลังใช้ครีมมาสก์ที่วัดโดยเครื่องวัดความชุ่มชื้นผิวของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8

ลำดับ	ค่าความชื้นหลังใช้ครีมมาสก์(%)		
	ร้อยละ 2	ร้อยละ 5	ร้อยละ 8
1	0.8	3.5	1.6
2	1.6	0.3	1
3	3.2	2.3	2.9
4	1.2	3.5	5.9
5	0.9	3.1	3
6	22.6	13.5	25.4
7	5.6	4.1	5.4
8	5.1	4.3	0.3
9	13.2	14.7	19.7
10	20.6	11.7	12.4
11	15.9	13.7	13.8
12	21.5	4.6	1.3
13	0.1	4.4	5.8
14	4.5	7.9	8.7
15	9.9	8.2	15.2
16	16.5	8.1	3.9
17	11.2	9.7	13.8
18	5.0	10.3	14.5
19	24.1	17.0	16.6
20	21.6	18.1	16.6
21	10.5	5	3.4
22	12.0	13.2	17.8
23	29.9	36.2	38.4
24	12.1	17.2	17.1
25	5.0	9.2	9.1
26	27.7	24.3	25.4
27	17.9	23.2	28.3
28	10.6	12.2	18.9
29	6.9	12.3	13.6
30	5.8	19.2	24.9
ค่าเฉลี่ย	11.45	11.17	12.87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ช-5 ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะและปริมาณอะดีโนซีนในครีมมาสก์เห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์

							95% Confidence Interval for Mean			
			N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
SOD	2%		3	2.6500	.36373	.21000	1.7464	3.5536	2.32	3.04
	5%		3	3.0567	.23029	.13296	2.4846	3.6287	2.86	3.31
	8%		3	3.6500	.11533	.06658	3.3635	3.9365	3.54	3.77
	Total		9	3.1189	.48922	.16307	2.7428	3.4949	2.32	3.77
	Model	Fixed Effects			.25732	.08577	2.9090	3.3288		
		Random Effects				.29035	1.8696	4.3682		
Adenosine	2%		3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	5%		3	2.12023E1	.061256	.035366	21.05016	21.35450	21.132	21.244
	8%		3	2.06773E1	.254237	.146784	20.04577	21.30889	20.435	20.942
	Total		9	1.39599E1	10.473201	3.491067	5.90947	22.01030	.000	21.244
	Model	Fixed Effects			.150984	.05032[illegible]	13.83674	14.08304		
		Random Effects				6.981590	-16.07947	43.99924		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ช-6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะและปริมาณอะดีโนซีนในครีมมาสก์เห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
SOD	Between Groups	1.517	2	.759	11.459	.009
	Within Groups	.397	6	.066		
	Total	1.915	8			
Adenosine	Between Groups	877.367	2	438.683	1.924E4	.000
	Within Groups	.137	6	.023		
	Total	877.503	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช-7 การจัดกลุ่มของข้อมูลของกิจกรรมซูเปอร์รอกไซด์ดิสมิวเทสของครีมมาสก์หน้าเห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8 โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%

Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2%	3	2.6500	
5%	3	3.0567	
8%	3		3.6500
Sig.		.101	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ช-8 การจัดกลุ่มของข้อมูลของปริมาณอะดีโนซีนในครีมมาสก์เห็ดถั่งเช่าหิมะ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5 และ 8 โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2%	3	.00000		
8%	3		2.06773E1	
5%	3			2.12023E1
Sig.		1.000	1.000	1.000

ตารางภาคผนวกที่ ช-9 ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้านสี เนื้อครีม ความหนืด กลิ่น ความชุ่มชื้นต่อผิว และความพึงพอใจโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์

			N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
							Lower Bound	Upper Bound
สี	2%		30	3.90	1.062	.194	3.50	4.30
	5%		30	3.47	.937	.171	3.12	3.82
	8%		30	3.30	.702	.128	3.04	3.56
	Total		90	3.56	.937	.099	3.36	3.75
	Model	Fixed Effects			.913	.096	3.36	3.75
		Random Effects				.179	2.79	4.32
เนื้อครีม	2%		30	3.53	1.074	.196	3.13	3.39
	5%		30	3.23	.935	.171	2.88	3.58
	8%		30	3.13	1.106	.202	2.72	3.55
	Total		90	3.30	1.043	.110	3.08	3.52
	Model	Fixed Effects			1.041	.110	3.08	3.52
		Random Effects				.120	2.78	3.82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ช-9 ต่อ

ความหนืด	2%		30	3.63	.928	.169	3.29	3.98
	5%		30	3.43	.858	.157	3.11	3.75
	8%		30	3.43	1.104	.202	3.02	3.85
	Total		90	3.50	.963	.101	3.30	3.70
	Model	Fixed Effects			.969	.102	3.30	3.70
		Random Effects				.102[a]	3.06[a]	3.94[a]
กลิ่น	2%		30	3.00	1.050	.192	2.61	3.39
	5%		30	2.70	1.119	.204	2.28	3.12
	8%		30	2.80	1.157	.211	2.37	3.23
	Total		90	2.83	1.104	.116	2.60	3.06
	Model	Fixed Effects			1.110	.117	2.60	3.07
		Random Effects				.117[a]	2.33[a]	3.34[a]
ความชุ่มชื้นต่อผิว	2%		30	3.67	.758	.138	3.38	3.95
	5%		30	3.80	.610	.111	3.57	4.03
	8%		30	3.97	.964	.176	3.61	4.33
	Total		90	3.81	.792	.083	3.65	3.98
	Model	Fixed Effects			.791	.083	3.65	3.98
		Random Effects				.087	3.44	4.18
โดยรวม	2%		30	3.67	.559	.175	3.31	4.02
	5%		30	3.77	.679	.124	3.51	4.02
	8%		30	3.87	.776	.142	3.58	4.16
	Total		90	3.77	.808	.085	3.60	3.94
	Model	Fixed Effects			.813	.086	3.60	3.94
		Random Effects				.086[a]	3.40[a]	4.41[a]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ช-10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยด้านสี เนื้อครีม ความหนืด กลิ่น ความชุ่มชื้นต่อผิว และความพึงพอใจโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
สี	Between Groups	5.756	2	2.878	3.455	.036
	Within Groups	72.467	87	.833		
	Total	78.222	89			
เนื้อครีม	Between Groups	2.600	2	1.300	1.199	.306
	Within Groups	94.300	87	1.084		
	Total	96.900	89			
ความหนืด	Between Groups	.800	2	.400	.426	.655
	Within Groups	81.700	87	.939		
	Total	82.500	89			
กลิ่น	Between Groups	1.400	2	.700	.569	.568
	Within Groups	107.100	87	1.231		
	Total	108.500	89			
ความชุ่มชื้นต่อผิว	Between Groups	1.356	2	.678	1.083	.343
	Within Groups	54.433	87	.626		
	Total	55.789	89			
โดยรวม	Between Groups	.600	2	.300	.454	.637
	Within Groups	57.500	87	.661		
	Total	58.100	89			

ตารางภาคผนวกที่ ช-11 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านสีต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
8%	30	3.30	
5%	30	3.47	3.47
2%	30		3.90
Sig.		.481	.069

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ช-12 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านเนื้อครีมต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
8%	30	3.13
5%	30	3.23
2%	30	3.53
Sig.		.164

ตารางภาคผนวกที่ ช-13 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านความหนืดต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
5%	30	3.43
8%	30	3.43
2%	30	3.63
Sig.		.456

ตารางภาคผนวกที่ ช-14 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านกลิ่นต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
5%	30	2.70
8%	30	2.80
2%	30	3.00
Sig.		.329

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ช-15 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านความชุ่มชื้นต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
2%	30	3.67
5%	30	3.80
8%	30	3.97
Sig.		.170

ตารางภาคผนวกที่ ช-16 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านความพึงพอใจโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ โดยวิธี Duncan ที่ความเชื่อมั่น 95%

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
2%	30	3.67
5%	30	3.77
8%	30	3.87
Sig.		.374

ตารางภาคผนวกที่ ช-17 ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของค่าความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ที่วัดด้วยเครื่องวัดความชื้นผิวหน้าต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
2%	30	11.167	7.8721	1.4372	8.227	14.106
5%	30	11.450	8.6178	1.5734	8.232	14.668
8%	30	12.867	9.4703	1.7290	9.330	16.403
Total	90	11.828	8.6125	.9078	10.024	13.632

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ช-17 ต่อ

Model	Fixed Effects			8.6780	.9147	10.010	13.646
	Random Effects				.9147[a]	7.892[a]	15.764[a]

ตารางภาคผนวกที่ ช-18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ที่วัดด้วยเครื่องวัดความชื้นผิวหน้าต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	49.772	2	24.886	.330	.719
Within Groups	6551.748	87	75.307		
Total	6601.521	89			

ตารางภาคผนวกที่ ช-19 การจัดกลุ่มของข้อมูลด้านค่าความชุ่มชื้นหลังใช้ผลิตภัณฑ์ที่วัดด้วยเครื่องวัดความชื้นผิวหน้าต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบบประเมินความพึงพอใจ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
2%	30	11.167
5%	30	11.450
8%	30	12.867
Sig.		.480

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้