การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

DEVELOPMENT OF SERUM BEAD PRODUCT WITH *Isaria tenuipes* EXTRACT

ญาดา วรโภคานันท์

YADA WORAPHOKANUNT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2567
KMITL-2024-SC-M-020-064

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DEVELOPMENT OF SERUM BEAD PRODUCT WITH *Isaria tenuipes* EXTRACT

YADA WORAPHOKANUNT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY

DEPARTMENT OF BIOLOGY SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2024
KMITL-2024-SC-M-020-064

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2024

SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ
ชื่อนักศึกษา	นางสาวญาดา วรโภคานันท์
รหัสประจำตัว	62605063
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
พ.ศ.	2567
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์อารี ฤทธิบูรณ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร. ภก. วีรวัฒน์ ตีรณะชัยดีกุล

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ โดยใช้เทคนิคไอออนิกเจลเลชั่นในการสร้างเม็ดบีด บรรจุลงในไฮโดรเจลสำหรับแช่เซรั่มบีด โดยมีการศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญจากถั่งเช่าหิมะที่ต่างกัน คือ การใช้เครื่องเขย่าสารความถี่สูงและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแช่แข็งแบบสุญญากาศ กับการสกัดด้วยการต้มและตกตะกอนด้วยเอทานอล และใช้ตัวทำละลายในการสกัดที่แตกต่างกันคือ น้ำปราศจากไอออน ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน ทำการวัดปริมาณสารสำคัญคือ คอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน และพอลิแซ็กคาไรด์ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคือ สารต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ได้จากการใช้เครื่องเขย่าสารความถี่สูงและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแช่แข็งแบบสุญญากาศและใช้น้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลายมีความเหมาะสมที่สุดที่จะนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะ โดยให้ปริมาณคอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน และพอลิแซ็กคาไรด์ เท่ากับ 0.22, 1.45 และ 57.30 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และให้ค่าความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS เท่ากับ 0.46 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ทำการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะโดยแปรผันอัตราส่วนของสารก่อเจลในตำหรับเซรั่มบีด ความเข้มข้นของ Carbopol® ultrez 20 ไฮโดรเจลสำหรับแช่บีด และปริมาณสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ต่างกัน พบว่าตำรับที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะคือการใช้อัตราส่วนระหว่างไอออต้าคาราจีแนนกับโซเดียมแอลจิเนตที่ 0.30:0.20 ความเข้มข้นของ Carbopol® ultrez 20 ที่ร้อยละ 0.70 และปริมาณสารสกัดถั่งเช่าที่ร้อยละ 0.80 ทำการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะเปรียบเทียบกับเซรั่มบีดที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า พบว่าอาสาสมัครให้การยอมรับผลิตภัณฑ์เซรั่มบีด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถั่งเช่าหิมะในด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส ความชุ่มชื้น และความชอบโดยรวมมากกว่าผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และทำการประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะทางกายภาพ คือ ค่าความหนืด ค่าสี ทางเคมี คือ ค่าพีเอช และทางชีวภาพ คือ การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะมีการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกอุณหภูมิ มีการเปลี่ยนแปลงค่าสีไปในทางที่เข้มและแดงมากขึ้นในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช คือ มีความเป็นด่างมากขึ้นในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในอากาศที่พบในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะมีจำนวนน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม และไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในเครื่องสำอางในทุกช่วงอุณหภูมิที่ทำการเก็บรักษา

คำสำคัญ : ถั่งเช่าหิมะ เซรั่มบีด ไอออนิกเจลเลชั่น อะดีโนซีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Development of serum bead product with *Isaria tenuipes* extract
Student Name	Yada Woraphokanunt
Student ID	62605063
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2024
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Aree Rittiboon
Thesis Co-Advisor	Assist. Prof. Dr. Veerawat Teeranachaideekul

Abstract

The purpose of this study was to develop a bead serum that contain a *Isaria tenuipes* extract. A bead serum was using the ionic gelation technique to encapsulate bead and then suspend in hydrogel. The study investigated different methods of bioactive compounds extract from *Isaria tenuipes*, including using ultrasonicate followed by freeze-drying, and extraction by boiling and precipitation with ethanol. Different solvents, deionized water, phosphate buffer, and phosphate-buffer saline were used for extraction. Then, the bioactive compounds that being measured included cordycepin, adenosine, and polysaccharides, as well as the biological activity of the extract in terms of antioxidant activity. It was found that the *Isaria tenuipes* extract obtained from ultrasonicate, freeze-drying and using deionized water as a solvent was the most suitable ingredient for the *Isaria tenuipes* bead serum. This method yielded cordycepin, adenosine, and polysaccharides at concentrations of 0.22, 1.45, and 57.30 mg/g of dry weight, respectively. The IC_{50} values for DPPH and ABTS radical scavenging were 0.46 and 0.16 milligrams per milliliter, respectively. The bead serum formulation was developed by varying the ratio of gelling agent in the bead serum, the concentration of Carbopol® Ultrez 20 and the amount of *Isaria tenuipes* extract. It was found that the optimal formulation for developing the *Isaria tenuipes* bead serum product consisted of a ratio of iota

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

carrageenan to sodium alginate at 0.30:0.20, Carbopol® Ultrez 20 concentration at 0.70%, and *Isaria tenuipes* extract at 0.80%. Sensory acceptance tests were conducted to compare the *Isaria tenuipes* bead serum product with a commercial bead serum product. The results showed that volunteers significantly preferred the *Isaria tenuipes* bead serum in terms of color, smell, texture, moisture, and overall liking over the commercial product. The stability of the *Isaria tenuipes* bead serum product was evaluated in terms of physical properties by using viscosity and color, chemical properties by using pH, and biological properties by using microbiological analysis when stored at 4, 25, and 45°c for three months. The viscosity of the *Isaria tenuipes* bead serum product significantly changed at all temperatures. The color became darker and redder when stored at 45°c. The pH increased, indicating greater alkalinity, in the product stored at 45°c. Microbiological analysis revealed that the number of aerobic microorganisms in the *Isaria tenuipes* bead serum product was less than 10 colonies per gram, and no pathogenic microorganisms were detected in the product at any storage temperature.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความกรุณาของรองศาตราจารย์อารี ฤทธิบูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย และช่วยแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นขณะทำวิจัย อีกทั้งยังคอยให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดมา จึงขอใช้โอกาสนี้กราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร. ภก. วีรวัฒน์ ตีรณะชัยดีกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ให้ความรู้ ข้อแนะนำในการดำเนินวิจัย และช่วยแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นขณะทำวิจัย ให้งานวิจัยของผู้วิจัยสามารถดำเนินได้อย่างลุล่วง

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาตราจารย์ ดร. สีหนาท ประสงค์สุข ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการแก้ไขและช่วยขัดเกลาให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอบคุณนายตันติกร เติมแก้ว และนายชญานนท์ สุขจิต มิตรสหายที่คอยช่วยเหลือผู้วิจัยในทุก ๆ ด้านด้วยความจริงใจ และคอยเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัยมาโดยตลอด

ขอบคุณเพื่อนร่วมทุกคนงานจากบริษัท เนิร์ดออฟทิไมซ์ จำกัดที่เข้าใจ คอยให้กำลังใจและให้การสนับสนุนผู้วิจัยอยู่เสมอ

สุดท้ายขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่อำนวยความสะดวกในด้านสถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์สำหรับใช้วิจัย และสนับสนุนค่าใช้จ่ายที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้

นางสาวญาดา วรโภคานันท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญรูป	ฑ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ฒ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ถั่งเช่า	4
2.2 ถั่งเช่าหิมะ	4
2.2.1 อนุกรมวิธาน	4
2.2.2 ลักษณะโดยทั่วไป	5
2.2.3 สารสำคัญของถั่งเช่าหิมะ	5
2.2.3.1 พอลิแซ็กคาไรด์	5
2.2.3.2 คอร์ไดเซปิน	6
2.2.3.3 อะดีโนซีน	7
2.2.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	8
2.2.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระ	8
2.2.4.1.1 เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส	9
2.3 การสกัด	10
2.3.1 หลักการสกัดสาระสำคัญจากสมุนไพร	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย	11
2.3.2.1 ประเภทการสกัดด้วยตัวทำละลาย	11
2.3.2.2 หลักการเลือกตัวทำละลาย	11
2.4 เครื่องสำอาง	11
2.4.1 ผิวหนัง	11
2.4.1.1 กายภาพของผิวหนัง	12
2.4.1.2 กระบวนการแพร่และดูดซึมผ่านของตัวยาต่อผิวหนัง	12
2.4.2 เครื่องสำอางจากธรรมชาติ	13
2.4.3 อิมัลชันทางเครื่องสำอาง	13
2.4.3.1 ชนิดของอิมัลชัน	14
2.4.3.2 สวนประกอบของอิมัลชัน	14
2.4.4 ประเภทของผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า	15
2.5 เม็ดบีด	16
2.5.1 เทคนิคไอออนิกเจลเลชั่น (ionic gelation)	16
2.5.2 เทคนิคสเฟียร์ริฟิเคชั่น (spherification)	16
2.5.3 เทคนิครีเวิร์สสเฟียร์ริฟิเคชั่น (reverse spherification)	17
2.5.4 สารประกอบสำหรับขึ้นบีด	17
2.5.4.1 โซเดียมแอลจิเนต	17
2.5.4.2 คาราจีแนน	17
2.5.4.3 แคลเซียมคลอไรด์	18
2.6 จุลินทรีย์ที่พบในเครื่องสำอาง	18
2.7 การวางแผนการทดลองทางสถิติ	19
2.7.1 แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์	19
2.7.2 แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	20
บทที่ 3 วิธีการดำเนินวิจัย	23
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	23
3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์	23
3.1.2 สารเคมี	23
3.1.3 วัตถุดิบ	24
3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ	24
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน	27
3.2.1 แผนผังภาพรวมของขั้นตอนการดำเนินงาน	27
3.2.2 การเพาะเลี้ยงถั่งเช่าหิมะเพื่อใช้เตรียมผลิตภัณฑ์	27
3.2.2.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น	27
3.2.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้ออาหารแข็ง PDA	27
3.2.2.1.2 การเตรียมหัวเชื้ออาหารเหลว PDB	27
3.2.2.2 การเพาะเลี้ยงถั่งเช่าหิมะ	28
3.2.3 การเตรียมสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะเพื่อหาปริมาณสารสำคัญ	28
3.2.4 การวิเคราะห์สารสำคัญและสารออกฤทธิ์ในสารสกัดถั่งเช่าหิมะ	29
3.2.4.1 คอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน	29
3.2.4.2 พอลิแซ็กคาไรด์	29
3.2.4.3 สารต้านอนุมูลอิสระ	29
3.2.5 การพัฒนาตำรับเซรั่มบีด	31
3.2.5.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของสารก่อเจลในตำรับเซรั่มบีด	31
3.2.5.2 การเตรียมเซรั่มบีด	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.5.3 การเตรียมไฮโดรเจลสำหรับแช่เซรั่มบีด	33
3.2.5.4 การทดสอบความพึงพอใจของไฮโดรเจลสำหรับแช่เซรั่มบีด	34
3.2.5.5 การทดสอบความคงตัวของเม็ดเซรั่มบีดที่แขวนลอยภายในไฮโดรเจล	35
3.2.5.6 การหาสภาวะที่เหมาะสมของเซรั่มบีดที่มีส่วนประกอบของสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ	35
3.3 การประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค	36
3.4 การประเมินลักษณะและความคงสภาพของเซรั่มบีด	36
3.4.1 การทดสอบความคงตัวของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะเมื่ออยู่ในสภาวะปกติ	36
3.4.1.1 การประเมินคุณภาพทางกายภาพของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ	36
3.4.1.2 การประเมินคุณภาพทางเคมีของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ	36
3.4.1.3 การประเมินคุณภาพทางชีวภาพของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ	36
3.5 การวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ	38
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	39
4.1 การเตรียมสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะเพื่อหาปริมาณสารสำคัญเริ่มต้น	39
4.1.1 พอลิแซ็กคาไรด์	39
4.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระ	40
4.1.3 อะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน	41
4.2 การพัฒนาตำรับเซรั่มบีด	43
4.2.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของสารก่อเจลในตำรับเซรั่มบีด	43
4.2.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของไฮโดรเจลสำหรับแช่เซรั่มบีด	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.3 การหาปริมาณที่เหมาะสมของสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะในเซรั่มบีด	50
4.2.4 การทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะเทียบกับเซรั่มบีดที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า	52
4.2.5 การประเมินลักษณะและความคงสภาพของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ	53
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	58
5.1 สรุปผลการวิจัย	58
5.2 ข้อเสนอแนะ	59
บรรณานุกรม	60
ภาคผนวก	71
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	72
1. การเตรียมอาหารแข็งเลี้ยงเชื้อสูตร Potato Dextrose Agar (PDA)	72
2. การเตรียมอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อสูตร Potato Dextrose Broth (PDB)	72
3. การเตรียมอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อสำหรับหุงข้าวไรซ์เบอร์รี่	73
ภาคผนวก ข การเตรียมสารสำหรับการสกัดและการวิเคราะห์	74
1. การเตรียมตัวทำละลายสำหรับการสกัดสารจากถั่งเช่าหิมะ	74
2. การเตรียมสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีแอนโทรน	74
3. การเตรียมสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน	75
4. การเตรียมสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	76
ภาคผนวก ค เอกสารรับรองโครงการวิจัยและแบบสอบถามทางประสาทสัมผัส	78
ภาคผนวก ง มาตรฐานผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง	82
ภาคผนวก จ ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เครื่องสำอาง	98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
1. รายงานการทดสอบผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะในเดือนที่ 0	98
2. รายงานการทดสอบผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะในเดือนที่ 3	99
2.1 ผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	99
2.2 ผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	100
2.3 ผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	101
ประวัติผู้เขียน	102

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 ส่วนประกอบของตำรับเซรั่ม	31
3.2 ส่วนประกอบของตำรับไฮโดรเจลสำหรับแขวนลอยเม็ดเซรั่มบีด	34
4.1 การเปรียบเทียบชนิดสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ใช้ตัวทำละลายและวิธีที่ต่างกันที่มีผลต่อปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ในสารสกัด	39
4.2 การเปรียบเทียบชนิดสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ใช้ตัวทำละลายและวิธีที่ต่างกันที่มีผลต่อค่าความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ในสารสกัด	41
4.3 การเปรียบเทียบชนิดสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ใช้ตัวทำละลายและวิธีที่ต่างกันที่มีผลต่อปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินในสารสกัด	42
4.4 ผลการประเมินสารก่อเจลที่มีผลต่อลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของเซรั่มบีดทั้ง 6 ตำรับ	44
4.5 ผลการทดสอบความแตกต่างของไฮโดรเจลสำหรับแช่เซรั่มบีดที่มีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัส	47
4.6 ผลการประเมินความคงตัวของไฮโดรเจลสำหรับแช่บีดในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 สัปดาห์ที่มีผลต่อค่าพีเอชและค่าความหนืด	48
4.7 ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่มีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี	50
4.8 ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่มีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัส	51
4.9 ผลการทดสอบวัดปริมาณสารอะดีโนซีนในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะ	52
4.10 ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะเทียบกับเซรั่มบีดที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าด้านการยอมรับทางประสาทสัมผัส	53
4.11 ผลการเก็บรักษาในช่วงอุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือนที่มีผลต่อค่าความหนืด	54
4.12 ผลการเก็บรักษาในช่วงอุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือนที่มีผลต่อค่าสีระบบ **L* a* b***	55
4.13 ผลการเก็บรักษาในช่วงอุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือนที่มีผลต่อค่าพีเอช	56
6.1 วัตถุดิบสำหรับเตรียมอาหารแข็งเลี้ยงเชื้อสูตร Potato Dextrose Agar (PDA)	72
6.2 วัตถุดิบสำหรับเตรียมอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อสูตร Potato Dextrose Broth (PDB)	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
6.3 วัตถุดิบสำหรับเตรียมอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อสำหรับหุงข้าวไรซ์เบอร์รี่	73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างทางเคมีของคอร์ไดเซปิน	6
2.2 โครงสร้างทางเคมีของอะดีโนซีน	7
4.1 ลักษณะโครงสร้างของอิมัลชันเชิงซ้อนในตำรับเซรั่มเมื่อส่องกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 100 X	45
4.2 ลักษณะของเม็ดเซรั่มบีด	46
4.3 ลักษณะภายนอกของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดก่อนเก็บรักษา (สัปดาห์ที่ 0) และผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดหลังเก็บรักษา (สัปดาห์ที่ 8)	49
6.1 กราฟมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	75
6.2 กราฟมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

W/O	น้ำในน้ำมัน
O/W	น้ำมันในน้ำ
W/O/W	น้ำในน้ำมันในน้ำ
O/W/O	น้ำมันในน้ำในน้ำมัน
DI	น้ำปราศจากไอออน
PB	ฟอสเฟตบัฟเฟอร์
PBS	ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน
FD	การทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ
EtOH	การตกตะกอนสารสกัดด้วยเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

ในปัจจุบัน มนุษย์ให้ความสำคัญกับความงามภายนอกเป็นอย่างมาก เช่น รูปร่างหน้าตา การแต่งกาย ซึ่งถือว่าเป็นภาพลักษณ์แรกก่อนที่จะเริ่มรู้จักถึงตัวตนภายใน ดังนั้นการดูแลผิวพรรณก็เป็นส่วนหนึ่งของการดูแลความงามภายนอก การที่มีผิวพรรณที่ดีเป็นการส่งเสริมบุคลิก และความมั่นใจส่วนบุคคล นอกจากจะต้องรับประทานอาหารอย่างถูกสุขลักษณะ ออกกำลังกาย การใช้เครื่องสำอางก็เป็นการช่วยให้บุคลิกดีขึ้นได้ด้วย แต่อย่างไรก็ตามผู้คนเริ่มหันมาสนใจผลิตภัณฑ์ที่มีสารสกัดจากธรรมชาติมากขึ้น เนื่องจากคำนึงถึงอันตรายจากสารเคมีที่ได้รับ ดังนั้นเครื่องสำอางที่มีสารสกัดจากธรรมชาติจึงเริ่มเป็นที่นิยม

ถั่งเช่าหิมะ หรือ *Isaria tenuipes* เป็นหนึ่งในราแมลงที่มีชื่อเสียงเช่นเดียวกับรา *Cordyceps sinensis* และ *Cordyceps militaris* (ถั่งเช่าทิเบต และ ถั่งเช่าสีทอง) ซึ่งเป็นเชื้อราบนตัวอ่อนของหนอนผีเสื้อ โดยเชื้อราจะแทงออกมาจากตัวอ่อนหรือดักแด้ และปกคลุมไปด้วยสปอร์สีขาวของรา ถั่งเช่าหิมะมักใช้เป็นยาชูกำลัง และเพื่อบำรุงโลหิต ลดอาการอ่อนเพลีย และเบื่ออาหาร เป็นที่นิยม ในญี่ปุ่น เกาหลีและจีน ส่วนดอกของถั่งเช่าหิมะ (ฟรุตติ้งบอดี้) มีคุณค่าสูงในฐานะสมุนไพรเนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและเภสัชวิทยาต่าง ๆ คุณสมบัติเด่น ๆ คือกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและต่อต้านเนื้องอก ในถั่งเช่าหิมะมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจำนวนมากเช่น คอร์ไดเซปิน สเตอรอล ไซโคเปปไทด์ และ พอลิแซ็กคาไรด์ (Kim *et al.*, 2011) จากสรรพคุณที่มากมายและเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของถั่งเช่าหิมะ ทำให้ในปัจจุบันนิยมนำถั่งเช่าหิมะมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ มากมาย เช่น ยาถั่งเช่า หรือนำไปเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง เป็นต้น

ดังนั้นผู้วิจัยจึงเห็นความสำคัญและสนใจที่จะนำถั่งเช่าหิมะมาเป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง โดยผลิตภัณฑ์ที่ผู้วิจัยเลือกมาพัฒนาคือเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะ โดยทดสอบลักษณะทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของสารสกัดถั่งเช่าหิมะ และศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญของสารสกัดถั่งเช่าหิมะ เช่น คอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน พอลิแซ็กคาไรด์ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ คือ สารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อนำมาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะ และทำการศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพและการเก็บรักษาของเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อสกัดสารสำคัญจากถั่งเช่าหิมะ เพื่อนำไปเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะ

2. เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. สกัดถั่งเช่าหิมะโดยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงด้วยน้ำปราศจากไอออน ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และนำไปทำแห้งแช่เยือกแข็งแบบสุญญากาศ กับการสกัดโดยการต้มด้วยน้ำปราศจากไอออน ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และนำไปตกตะกอนด้วยเอทานอล

2. วิเคราะห์ปริมาณและสารสำคัญของสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ได้ คือ ปริมาณสารสกัดที่ได้เมื่อเทียบกับผงถั่งเช่าหิมะก่อนสกัด ปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีแอนโทรน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS และปริมาณของคอร์ไดเซปิน อะดีโนซีนด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง

3. เปรียบเทียบถึงชนิดของสารก่อเจล คือ ไอออต้าคาราจีแนน โซเดียมแอลจิเนต และการผสมไอออต้าคาราจีแนนกับโซเดียมแอลจิเนต และอัตราส่วนของไอออต้าคาราจีแนนกับโซเดียมแอลจิเนต คือ 0.00:0.50, 0.10:0.40, 0.20:0.30, 0.30:0.20, 0.40:0.10 และ 0.50:0.00 ศึกษาถึงลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่าและการสัมผัส

4. เปรียบเทียบถึงความเข้มข้นของไฮโดรคอลลอยด์สำหรับแขวนลอยเม็ดบีด คือ Cabopol Ultrez 20 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.30, 0.50 และ 0.70 ศึกษาถึงลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่า ค่าพีเอช ค่าความหนืด ความสามารถในการแขวนลอยของเม็ดบีดที่กระจายตัวอยู่ภายในตัวนำพา และทดสอบประสาทสัมผัสด้วย hedonic scale 5 ระดับ

5. ทดสอบปริมาณของสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่เหมาะสมสำหรับใส่ลงในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีด โดยใช้ปริมาณของสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ร้อยละ 0.60, 0.80, 1.00 และไม่ใส่สารสกัดถั่งเช่าหิมะ ศึกษาถึงลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่า ค่าพีเอช และค่าสี

6. การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะโดยใช้แบบสอบถามประเมินถึงความชอบของสี กลิ่น เนื้อสัมผัส ความชุ่มชื้น การซึมซาบเข้าสู่ผิว และความชอบโดยรวมด้วย hedonic scale 5 ระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะในสภาวะปกติที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส นำผลิตภัณฑ์มาทดสอบทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อทราบถึงวิธีการสกัดและตัวทำละลายตัวที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดถั่งเช่าหิมะสำหรับการนำไปใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีด

2. เพื่อเป็นแนวทางการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากถั่งเช่าหิมะ ให้มีความหลากหลายมากขึ้น

3. สามารถนำงานวิจัยไปศึกษาและต่อยอดได้ในระดับอุตสาหกรรม

4. เพื่อเป็นการส่งเสริมให้ผู้ที่สนใจในการบริโภคเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมจากธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ถั่งเช่า

ถั่งเช่าจัดอยู่ในกลุ่มของราแมลง ซึ่งก็คือราที่สามารถเจริญเติบโตในแมลง และอาจอยู่ร่วมกับแมลงที่มีชีวิต หรือทำให้เกิดโรคและฆ่าแมลงได้ (สิริฉัตร, 2546) เมื่อแมลงหรือหนอนสัมผัสหรือกินสปอร์ของราเข้าไป เส้นใยของราก็จะเข้าไปฝังอยู่ในอวัยวะภายใน และเจริญเติบโต จากนั้นเชื้อราจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนแทนที่ในลำตัวของแมลงและกลายเป็นกลุ่มเส้นใยของราและเติบโตกลายเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ หรือ “ดอกเห็ด” ซึ่งรูปร่างและสีจะแตกต่างกัน (ธัญญา, 2553) ถั่งเช่าอุดมไปด้วยสารสำคัญหลายชนิดที่มีผลทางชีวภาพ เช่น โมโนแซ็กคาไรด์ (monosaccharide) ไดแซ็กคาไรด์ (disaccharides) พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) เบต้า-กลูแคน (beta glucan) แมนนิทอล (mannitol) กาแล็กโทส (galactose) อะดีโนซีน (adenosine) คอร์ไดเซปิน (cordycepin) กรดคอร์ไดเซปิก (cordycepic acid) กรดอะมิโน (amino acid) โปรตีน (protein) สเตอรอล (sterol) วิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด เช่น โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก คอปเปอร์ แมงกานีส สังกะสี ฟอสฟอรัส ซีลีเนียม เป็นต้น (Bhandari *et al.*, 2010; ธัญญา และคณะ, 2556) ในถั่งเช่านั้นมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และมีคุณสมบัติที่น่าสนใจทางเภสัชวิทยา (Holliday *et al*., 2004) โดยเห็ดสกุลถั่งเช่าเป็นที่รู้จักกันว่าเป็นเห็ดสมุนไพรใช้รักษาโรคมานานนับพันปี มีบันทึกในตำราการแพทย์ทิเบตว่าถูกนำไปใช้เป็นยาชูกำลัง รักษาสารพัดโรค สารสกัดจากเส้นใย และดอกเห็ดของถั่งเช่าทิเบต ถั่งเช่าสีทอง และถั่งเช่าชนิดอื่น ๆ สามารถต้านการทำงานของเซลล์มะเร็งได้

2.2 ถั่งเช่าหิมะ

2.2.1 อนุกรมวิธาน

Kingdom Fungi

Phylum Ascomycota

Subphylum Pezizomycotina

Class Sordariomycetes

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Subclass Hypocreomycetidae

Order Hypocreales

Family Cordycipitaceae

Genus *Cordyceps* (*Isaria*)

Species *tenuipes*

ที่มา : Mycobank

2.2.2 ลักษณะโดยทั่วไป

ถั่งเช่าหิมะเป็นถั่งเช่าชนิดหนึ่ง ลักษณะดอกของถั่งเช่าหิมะมีความเรียวยาว **มีสี**เหลือง หรือสีเหลืองอมเขียว ความยาวของดอกที่อยู่ที่ประมาณ 1.5-4.7 เซนติเมตร (Samson, 1974) เมื่อแก่จะมีสปอร์สีขาวเกาะที่ยอดดอกถั่งเช่า

2.2.3 สารสำคัญของถั่งเช่าหิมะ

2.2.3.1 พอลิแซ็กคาไรด์

พอลิแซ็กคาไรด์เป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลอย่างง่าย เช่น โมโนแซ็กคาไรด์ (คำว่า "saccharide" มาจากคำภาษากรีก sakchar หมายถึง "น้ำตาลหรือความหวาน") (Engelking, 2014)

พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดเป็นสารที่ประกอบขึ้นจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) หลายชนิด และยึดติดกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkages) พบได้บนผนังเซลล์ของเห็ดเป็นส่วนใหญ่ มีทั้งที่สามารถละลายน้ำได้และละลายไม่ได้ โดยพวกที่สามารถละลายน้ำได้มักจะเป็นองค์ประกอบที่จับตัวกันเป็นโครงสร้างภายนอกที่สัมผัสกับสิ่งต่าง ๆ สามารถสกัดออกมาได้ง่ายกว่าพวกที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งเป็นโครงสร้างที่จับตัวกันอยู่ภายใน (Wessels and Sietama, 1979) น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่พบมากและเป็นโครงสร้างหลักของพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบในเห็ดคือกลูโคส โดยจะต่อกันเป็นเส้นสายยาวสลับกันไปมาที่เรียกว่า เบต้า-กลูแคน จากนั้นจะมีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวชนิดอื่น ๆ เช่น กาแลกโตส (galactose) แมนโนส (mannose) อะราบิโรส (arabinose) และไซโลส (xylose) เป็นต้น มาต่อเป็นกิ่งก้านสาขาไม่มีที่สิ้นสุด เรียกว่าเฮทเทอโรกลูแคน (heteroglucans) ซึ่งพบได้หลายรูปแบบแล้วแต่ชนิดของเห็ด (Wasser, 2002)

Li *et al.,* 2003 ได้ระบุเป็นครั้งแรกว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากถั่งเช่าสามารถป้องกันความเป็นพิษของเซลล์ประสาทจากอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

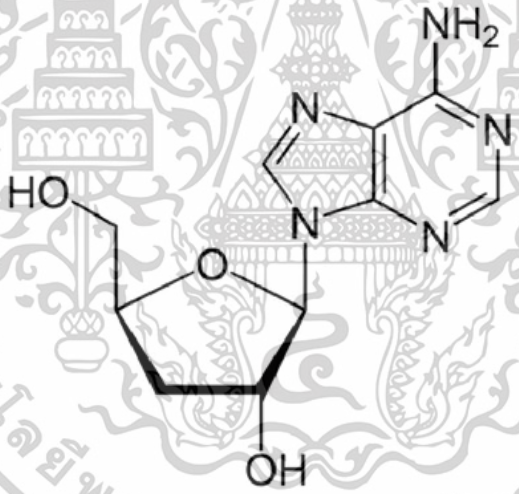
Jiang *et al.,* 2005 พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Isaria farinose* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพในหลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nie *et al*., 2013 กล่าวว่าพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Cordyceps sinensis* มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันมะเร็ง เพิ่มภูมิคุ้มกัน เป็นต้น

2.2.3.2 คอร์ไดเซปิน

คอร์ไดเซปินค้นพบครั้งแรกจากน้ำหมักของถั่งเช่าสีทอง ซึ่งเป็นเชื้อราที่เติบโตในตัวอ่อนของ lepidopteron และดักแด้แมลง (Cunningham *et al*., 1950) น้ำหนักโมเลกุลของคอร์ไดเซปิน ($C_{10}H_{13}N_5O_3$) เท่ากับ 251 ความยาวคลื่นที่สามารถดูดซับได้สูงสุดเท่ากับ 259 นาโนเมตร คอร์ไดเซปินสามารถละลายได้ในน้ำเกลือ แอลกอฮอล์ หรือเมทานอล นักวิจัยมากมายในห้องปฏิบัติการนิยมใช้น้ำเกลือฆ่าเชื้อและฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (PBS) เป็นตัวทำละลาย (Li and Jiang, 2005) ในปัจจุบันนี้ได้มีการศึกษาคอร์ไดเซปินมากขึ้น จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าคอร์ไดเซปินซึ่งเป็นสารประกอบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่าสีทองมีบทบาทต่อต้านมะเร็งในวงกว้าง (Hsu *et al*., 2017, Hwang *et al*., 2017, Wang *et al*., 2017, Wang *et al*., 2017, Zeng *et al*., 2017) ซึ่งโครงสร้างทางเคมีของคอร์ไดเซปินได้แสดงดังรูป 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของคอร์ไดเซปิน

ที่มา : Kwon *et al.,* 2017

คอร์ไดเซปิน และกรดคอร์ไดเซปิกในถั่งเช่าช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกาย (Dai *et al*., 2001) ใช้ในการเพิ่มความแข็งแกร่งของนักกีฬา (Parcell *et al*., 2004)

Chen *et al*., 2017 กล่าวสรุปไว้ว่าสารคอร์ไดเซปินในถั่งเช่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ และยังช่วยเสริมสรรมถภาพทางเพศ และความผิดปกติทางเพศ

Su *et al*., 2019 ได้ศึกษาผลกระทบของความเป็นพิษต่อเซลล์จากคอร์ไดเซปินร่วมกับเซลล์มะเร็งในช่องปากทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง พบว่าสารคอร์ไดเซปินจากถั่งเช่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

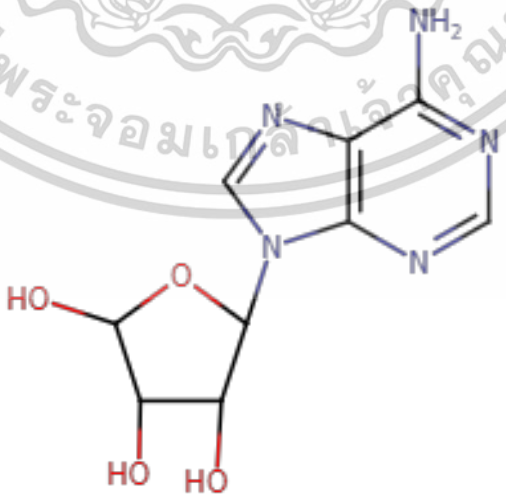
สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการไวต่อรังสีของเซลล์มะเร็งในช่องปาก และเมื่อทำการรักษาด้วยคอร์ไดเซปินพร้อมกับรังสีบำบัด พบว่าสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้มากกว่าการใช้รังสีบำบัดเพียงอย่างเดียวโดยที่ไม่ก่อให้เกิดความรุนแรงของการรักษาที่เพิ่มขึ้น

Qi *et al*., 2019 พบว่าคอร์ไดเซปิน ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของอะดีโนซีนจะไปกระตุ้นให้ร่างกายใช้พลังงานมากขึ้นจากการเพิ่มความร้อนแก่ร่างกายจึงทำให้เกิดเผาผลาญน้ำตาลและไขมันสามารถใช้รักษาโรคอ้วนได้

Jin *et al*., 2018 กล่าวสรุปไว้ว่าคอร์ไดเซปินในถั่งเช่าสามารถยับยั้งการเจริญของเนื้องอกโดยควบคุมการตายของเซลล์ให้เป็นปกติและเป็นการควบคุมการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งอีกด้วย ดังนั้นคอร์ไดเซปินอาจนำมาเป็นอาหารเสริมหรือยาทดแทนสำหรับการรักษามะเร็ง

2.2.3.3. อะดีโนซีน

อะดีโนซีนเป็นหนึ่งในอนุพันธ์ของนิวคลีโอไซด์ มีโครงสร้างทางเคมีแสดงดังรูปที่ 2.2 ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบในถั่งเช่ารองลงมาจากคอร์ไดเซปิน ปริมาณของอะดีโนซีนในถั่งเช่าสดจากธรรมชาตินั้นมีปริมาณต่ำ แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานปริมาณของนิวคลีโอไทด์จะสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่านิวคลีโอไทด์ในถั่งเช่าจากธรรมชาตินั้นเกิดจากการสลายตัวของนิวคลีโอไซด์ในระหว่างกระบวนการจัดเก็บ (Zhou *et al*., 2009) อะดีโนซีนช่วยกระตุ้นการจับออกซิเจนในกระแสเลือด มีส่วนเกี่ยวข้องในการขยายหลอดเลือดหัวใจ เพิ่มการไหลเวียนของเลือดและมีบทบาทสำคัญทางสรีรวิทยาในระบบหัวใจ หลอดเลือด และระบบต่าง ๆ ของร่างกาย ดังนั้นอะดีโนซีนนับเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพของถั่งเช่าเช่นเดียวกับคอร์ไดเซปิน



รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของอะดีโนซีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อะดีโนซีนมีผลอย่างมากต่อการทำงานของเซลล์ผิว เมื่ออายุมากขึ้นปริมาณอะดีโนซีนจะลดลง ก่อให้เกิดริ้วรอยบนผิวหนัง ดังนั้นอะดีโนซีนในเครื่องสำอางหรือเวชสำอางนั้นจะช่วยในเรื่องการลดริ้วรอยบนใบหน้า (Abella, 2006) และผิวหนัง ช่วยให้ผิวหนังกลับมาแข็งแรง สามารถฟื้นฟูเซลล์ผิวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

He *et al*., 2020 พบว่า อะดีโนซีนและแมนนิทอลที่ได้จากสารสกัด *Cordyceps* สามารถลดการออกซิเดชั่นจากยูวีบีรวมถึงลดการผลิตอนุมูลอิสระและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ดังนั้นสารสกัด *Cordyceps* อาจเป็นผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสำหรับการใช้ภายนอกของผิว

Kang *et al*., 2018 ได้ศึกษาประสิทธิภาพของอะดีโนซีนที่อยู่ในครีมกับอะดีโนซีนที่อยู่ในแผ่น Microneedle Patch พบว่าแผ่น Microneedle Patch ที่มีอะดีโนซีนเคลือบอยู่ดึงประสิทธิภาพของอะดีโนซีนได้ดีกว่าอะดีโนซีนในครีม โดยอะดีโนซีนส่งผลให้ผิวมีความยืดหยุ่นแข็งแรง ลดริ้วรอย และชุ่มชื้นขึ้น

2.2.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.2.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวในอะตอมหรือโมเลกุล (บุหรัน, 2556) ซึ่งสารอนุมูลอิสระเกิดจากกระบวนการต่าง ๆ ในร่างกาย และยังมีปัจจัยภายนอกอีก เช่น มลภาวะต่าง ๆ การได้รับรังสี ยารักษาโรคบางชนิด อาหารที่ไหม้เกรียม เป็นต้น เมื่อได้รับสารอนุมูลอิสระเป็นปริมาณมาก ๆ ก็จะเป็นอันตรายต่อเซลล์ และก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ พาร์กินสัน เป็นต้น ดังนั้นร่างกายจึงมีกลไกป้องกันอนุมูลอิสระด้วยการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ แต่ร่างกายสามารถสร้างสารต้านอนุมูลอิสระได้อย่างจำกัด จึงต้องมีการรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มเติม ซึ่งจะพบได้มากในพืชผัก

อนุมูลอิสระ DPPH เป็นอนุมูลอิสระไนโตรเจนที่คงตัวและมีสีม่วง การทดสอบ DPPH จะเป็นการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยให้ไฮโดรเจนอะตอม จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร สารละลาย DPPH แรกเริ่มจะมีสีม่วงในเอทานอล เมื่อสารละลายได้รับไฮโดรเจนอะตอมจะมีการทำปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จะนำไปคำนวณเป็นค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ เป็นสารสังเคราะห์ ไม่ได้เป็นสารที่พบในร่างกายหรือเซลล์ของสิ่งมีชีวิต มีสีเขียวปนน้ำเงิน สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ จะเป็นการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ โดยมีช่วงการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร $ABTS^{\bullet+}$ สามารถละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ สามารถทำปฏิกิริยาได้รวดเร็ว เมื่อ $ABTS^{\bullet+}$ เจอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารต้านอนุมูลอิสระ สีจะจางลง เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วสามารถนำไปคำนวณค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$

Chen *et al.,* 2013 ได้ทำการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากดอกถั่งเช่าสีทองด้วยน้ำร้อนและตกตะกอนด้วยเอทานอลร้อยละ 50 จะได้สารต้านอนุมูลอิสระจากดอกถั่งเช่าสีทอง (W-CBP50) จากนั้นทำการบริสุทธิ์โดย Sephadex G-100 chromatography (W-CBP50 I) และทำบริสุทธิ์โดย Sephadex G-200 chromatography (W-CBP50 II) จากผลการทดลองพบว่า W-CBP50, W-CBP50 I และ W-CBP50 II ซึ่งทดลองด้วยวิธี DPPH ได้ค่า IC50 คือ 0.042, 0.019 และ 0.135 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

2.2.4.1.1 เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD)

ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทสเป็นหนึ่งในเอนไซม์ที่มีอยู่ในสิ่งมีชีวิตที่ต้องการออกซิเจน และในสิ่งมีชีวิตที่ไม่ต้องการออกซิเจนบางกลุ่มถือเป็นป้อมปราการแรกในการป้องกันจากการออกซิเดชั่นโดยการเร่งปฏิกิริยาการแตกตัวของอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ไปเป็นโมเลกุลของออกซิเจนและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ก่อน จากนั้นจะทำปฏิกิริยาสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อด้วยคาตาเลสและกลูต้าไธโอนเปอร์ออกซิเดสจนได้น้ำและออกซิเจน เอนไซม์นี้จะค่อย ๆ ลดลงเมื่ออายุมากขึ้น ซึ่งหากขาดไปจะไม่สามารถขจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ได้

เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทสในเครื่องสำอางสามารถลดการสูญเสียของกิจกรรมและป้องกันการก่อตัวของเซลล์ผิวที่ถูกทำลายจากยูวีในแสงแดด (Steenvoorden and Henegouwen *et al.,* 1997) จึงสามารถปกป้องผิวจากอนุมูลอิสระซึ่งจะลดการก่อให้เกิดรอยเหี่ยวย่นบนผิวหนัง

Fujiwara *et al*., 2017 ได้ศึกษาผลของ SOD ที่มีผลต่อการรักษาบาดแผลบริเวณผิวหนังของหนูโดยใช้ไฟโบรบลาสต์ที่แยกจากผิวหนังของหนูที่มีอายุน้อยและหนูที่มีอายุมาก พบว่าไฟโบรบลาสต์ที่แยกจากหนูที่อายุมากมีการแสดงออกของ SOD ที่ลดลงส่งผลให้การสมานแผลเป็นไปได้ช้าลง กลับกันกับหนูอายุน้อยที่ยังมีการแสดงออกของ SOD ระดับปกติและการสมานแผลเร็วกว่าหนูที่มีอายุมาก จึงสรุปได้ว่า SOD นั้นมีผลต่อการรักษาแผล เมื่ออายุมากขึ้นการแสดงออกของ SOD จะลดลงจึงทำให้การรักษาแผลเป็นไปช้าลง

Kang *et al*., 2005 ได้กล่าวสรุปว่าซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสเหมาะสมที่จะเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางเพื่อต่อต้านริ้วรอยได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mizushima *et al.,* 1991 และ Niwa, 1989 แสดงให้เห็นว่าครีมที่มีส่วนผสมของ SOD มีประสิทธิภาพต่อโรคผิวหนังหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับระดับออกซิเจนที่เพิ่มขึ้นในมนุษย์

2.3 การสกัด

การสกัด (extraction) หมายถึง กระบวนการแยก (separation) โดยใช้ของเหลวอีกชนิดหนึ่งเป็นตัวทำละลาย สารที่ต้องการแยกโดยให้ละลายออกมาในตัวทำละลาย (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, ม.ป.ป.)

2.3.1 หลักการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร (ศิริวัลย์, 2563)

1) ชนิดของสารสำคัญที่อยู่ในสมุนไพร

ในสมุนไพรแต่ละชนิดสามารถพบสาระสำคัญหรือสารประกอบที่แตกต่างกัน ในสมุนไพรชนิดเดียวกันก็สามารถพบสารสำคัญหรือสารประกอบมากกว่าชนิดเดียว ซึ่งสารแต่ละชนิดก็มีคุณสมบัติแตกต่างกัน เช่นสารบางชนิดมีขั้ว (ละลายน้ำ) เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดอินทรีย์ เป็นต้น สารบางชนิดกึ่งมีขั้ว (ละลายแอลกอฮอล์) และสารบางชนิดไม่มีขั้ว (ละลายในตัวทำละลาย) ดังนั้นต้องทราบคุณสมบัติของสารสำคัญหรือสารประกอบที่สนใจในสมุนไพรนั้น จึงจะสามารถเลือกวิธีการสกัดและตัวทำละลายที่เหมาะสมได้ต่อไป

2) คุณสมบัติการทนความร้อนของสาร

สารสำคัญและสารประกอบบางชนิดในสมุนไพรจะเสียสภาพเมื่อโดนความร้อน ดังนั้นต้องคำนึงถึงวิธีการสกัดว่าใช้ความร้อนได้หรือไม่

3) วิธีการสกัด

การสกัดสารสำคัญหรือสารประกอบมีหลากหลายวิธี เช่น การหมัก การสกัดด้วยความร้อน การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง เป็นต้น โดยพิจารณาจากจุดประสงค์ว่าต้องการความบริสุทธิ์ของสารมากน้อยเพียงใด คุณค่าของสารสกัด ค่าใช้จ่ายการสกัด ความพร้อมของอุปกรณ์และเครื่องมือ เพื่อที่จะสามารถเลือกวิธีให้เหมาะสมกับงานได้

4) ชนิดของตัวทำละลาย

เนื่องจากในสมุนไพรชนิดหนึ่งสามารถพบสารประกอบได้หลายชนิด รวมถึงคุณสมบัติที่แตกต่างกันของสารแต่ละชนิด ทำให้การเลือกตัวทำละลายเพียงตัวทำละลายเดียวเพื่อให้ได้สารสำคัญและสารประกอบครบถ้วนจึงทำได้ยาก จึงต้องเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับสารที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สนใจ โดยคุณสมบัติของตัวทำละลายที่ดีนอกจากจะต้องละลายสารที่สนใจสกัดออกมาได้แล้วนั้น จะต้องไม่ระเหยยากหรือง่านจนเกินไป และต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่สนใจ

2.3.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (ศิริวัลย์, 2564)

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นการแยกสารโดยอาศัยหลักการละลายระหว่างตัวทำละลายกับสารสำคัญในสมุนไพร อาศัยหลักการละลายความมีขั้วของตัวทำละลายและสารสำคัญ โดยสารสำคัญจะละลายในตัวทำละลายได้ดีเมื่อความมีขั้วของทั้งสองอย่างใกล้เคียงกัน (Like Dissolve Like) ตัวถูกละลายที่มีขั้ว จะละลายในตัวทำละลายที่มีขั้ว เพราะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมีขั้วหรือแรงไดโพล-ไดโพล (Dipole-Dipole) ตรงกันข้าม ตัวถูกละลายไม่มีขั้วจะละลายในตัวทำละลายไม่มีขั้วเพราะแรงดึงดูดระหว่าโมเลกุลไม่มีขั้วหรือแรงแวนเดอวาลล์ (Van der Waals Force)

2.3.2.1 ประเภทการสกัดด้วยตัวทำละลาย

ประเภทการสกัดด้วยตัวทำละลายมีหลากหลายวิธี เช่น การหมัก การหมักแบบต่อเนื่อง การสกัดด้วยความร้อน การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง เป็นต้น

2.3.2.2 หลักการเลือกตัวทำละลาย

1) เลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อสกัดให้ได้สารที่ต้องการออกมามากและต้องมีสิ่งเจือปนน้อยที่สุด

2) ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องสารสกัด

3) ถ้าต้องการแยกสี ตัวทำละลายจะต้องไม่มีสี ถ้าแยกกลิ่น ตัวทำละลายจะต้องไม่มีกลิ่น

4) ไม่มีพิษ จุดเดือดต่ำ สามารถแยกออกจากสารที่ต้องการสกัดได้ง่าย

5) ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับสารที่นำมาสกัด

6) ตัวทำละลายมีราคาถูก

2.4 เครื่องสำอาง

เครื่องสำอางซึ่งใช้เสริมความงามหรือเสริมสร้างหน้าที่ของร่างกายนั้น มักใช้สำหรับอวัยวะส่วนนอกของร่างกาย ได้แก่ ผิวหนัง ผม ขน และเล็บ (พิมพร, 2543)

2.4.1 ผิวหนัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผิวหนังเป็นอวัยวะส่วนนอกของร่างกายที่มีพื้นที่ขนาดใหญ่ที่สุด มีหน้าที่ปกคลุมร่างกาย อวัยวะภายใน ป้องกันร่างกายจากสิ่งแวดล้อมและอันตรายภายนอก เช่น แสงแดด เชื้อโรค เป็นต้น นอกจากนี้ที่ผิวหนังยังให้ความรู้สึกจากการสัมผัส ความเจ็บปวด ควบคุมอุณหภูมิและระดับน้ำในร่างกาย และควบคุมการดูดซึมสารชนิดต่าง ๆ เข้าสู่ผิวหนัง

2.4.1.1 กายภาพของผิวหนัง (เกล็ดแก้ว, 2543)

ผิวหนังประกอบไปด้วย หนังกำพร้า และหนังแท้

1) หนังกำพร้า เป็นผิวหนังชั้นนอกสุด ประกอบไปด้วยเซลล์หลายชนิดเรียงตัวกันหลายชั้น เซลล์บริเวณนี้จะไม่มีหลอดเลือดมาเลี้ยงเซลล์ โดยเซลล์ชั้นนอกสุดของหนังกำพร้าเป็นเซลล์ที่ตายแล้ว พร้อมที่จะหลุดลอกเป็นขี้ไคล เซลล์นี้เรียกว่า corneocyte และชั้นนอกสุดที่มีเซลล์ corneocyte นี้อยู่คือชั้น stratum corneum สำหรับชั้นนี้ถือเป็นด่านแรกของการดูดซึมสารต่าง ๆ เข้าสู่ผิวหนัง เช่น ยาและเครื่องสำอาง เป็นต้น ชั้นถัดมาจะเป็นเซลล์ผิวที่มีชีวิต สามารถแบ่งชั้นผิวได้อีก 4 ชั้น ได้แก่ stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum และ stratum basale (basement layer)

2) หนังแท้ เป็นผิวหนังชั้นต่อลงมาจากหนังกำพร้า เป็นชั้นที่คอยพยุงโครงสร้างของผิวหนัง ประกอบไปด้วยเซลล์ fibroblast เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ในชั้นนี้จะเริ่มมีหลอดเลือดมาหล่อเลี้ยง รวมทั้งพบ ต่อมเหงื่อ ต่อมไขมัน หลอดน้ำเหลือง เส้นประสาทที่ทำหน้าที่รับความรู้สึกจากการสัมผัส การเจ็บปวด ความร้อนหนาว เป็นต้น

2.4.1.2 กระบวนการแพร่และดูดซึมผ่านของตัวยาต่อผิวหนัง (อังคณา, 2560)

ผิวชั้นนอกสุดหรือชั้น stratum corneum เป็นชั้นที่มีความสำคัญที่สุดในการควบคุมการแพร่และดูดซึมสารผ่านเข้าสู่ผนังชั้นในของร่างกาย เซลล์ corneocyte มีการเรียงตัวเป็นชั้น ๆ สลับกันเหมือนการเรียงตัวของก้อนอิฐ ช่องว่างระหว่างเซลล์มีไขมันเรียงตัวกันสลับกับชั้นน้ำ เรียกว่า lipid matrix

โดยทั่วไปยาและเครื่องสำอางสามารถดูดซึมผ่านเข้าสู่ผิวหนังชั้นในได้ 3 เส้นทาง ได้แก่

1) ช่องทางระหว่างเซลล์ (Intercellular route)

โดยตัวยาจะแทรกผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์ corneocyte ของชั้น stratum corneum ลงไปยังเซลล์ corneocyte ชั้นถัดลงไปและจึงเกิดการแพร่ (diffusion) ผ่าน lipid matrix ระหว่างเซลล์ corneocyte ซึ่งประกอบไปด้วยชั้นของเหลวที่มีคุณสมบัติละลายในน้ำ (aqueous region) และชั้นของเหลวที่มีคุณสมบัติละลายในน้ำมัน (lipid lamellar) สลับไปเรื่อย ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตลอดชั้นหนังกำพร้า ดังนั้นโครงสร้างของสารหรือโมเลกุลของตัวยาควรมีลักษณะมีขั้วบางส่วนและไม่มีขั้วบางส่วนจึงจะสามารถนำส่งผ่านช่องทางเส้นนี้ได้ ถ้าตัวยามีความสามารถละลายในน้ำได้ดี โมเลกุลของตัวยาส่วนใหญ่จะถูกกักเก็บไว้ที่ aqueous region ของผิว ในขณะที่ตัวยาซึ่งมีความสามารถละลายในไขมันได้ดี โมเลกุลของตัวยาส่วนใหญ่จะถูกดูดซึมหรือกักไว้ใน lipid lamellar region

2) ช่องทางผ่านเซลล์ (Intracellular route)

โดยตัวยาหรือเครื่องสำอางจะมีการดูดซึมและแพร่ผ่านทั้งเซลล์ corneocyte และ lipid matrix สลับกันไปจนกระทั่งถึงเซลล์เป้าหมาย ตัวยาต้องมีสมบัติที่ละลายได้ทั้งในน้ำมันและน้ำถึงจะสามารถผ่านช่องทาง intracellular นี้ได้

3) ช่องทางผ่านท่อหรือรูต่าง ๆ (Transappendageal route)

ตัวยาหรือเครื่องสำอางสามารถถูกดูดซึมผ่านผิวหนังในช่องทางนี้ผ่านท่อต่าง ๆ เช่น ท่อต่อมไขมัน ท่อต่อมเหงื่อและรูขุมขน จะเห็นได้ว่าช่องทางนี้จะสามารถทะลุผ่านชั้น stratum corneum ของชั้นหนังกำพร้าเข้าสู่ชั้นหนังแท้ได้โดยตรง แต่อย่างไรก็ตาม ช่องเปิดเหล่านี้มีพื้นที่เพียงประมาณร้อยละ 0.1 ของพื้นที่ผิวหนังทั้งหมด จึงเป็นการจำกัดปริมาณของตัวยาหรือเครื่องสำอางที่จะดูดซึมผ่านเข้าสู่ผิวหนังชั้นในอยู่ในตัวโดยธรรมชาติ

2.4.2 เครื่องสำอางจากธรรมชาติ

มนุษย์นั้นได้มีการเริ่มใช้เครื่องสำอางที่ได้จากธรรมชาติมาแต่โบราณ อาจทำการสกัดด้วยน้ำอย่างง่าย หรืออาจใช้โดยตรงไม่ผ่านกระบวนการใด ๆ ซึ่งมีข้อจำกัดในเรื่องการเก็บรักษา ปริมาณการผลิต และคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ในปัจจุบันมนุษย์จึงพัฒนาเทคโนโลยีที่ทันสมัย สามารถทำให้ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ธรรมชาตินั้นมีความคงตัวมากขึ้น คุณภาพดีขึ้นและปริมาณการผลิตมากขึ้น

การนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ทางเครื่องสำอาง นำมาใช้เป็นสารช่วยทำหน้าที่ต่าง ๆ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์รูปแบบตามต้องการ เช่น สารลดแรงตึงผิว สารเพิ่มความหนืด สารแต่งสี สารแต่งกลิ่น เป็นต้น นำมาใช้เป็นองค์ประกอบในตำรับเพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีคุณสมบัติหรือฤทธิ์ตามต้องการ เช่น สารมอยซ์เจอร์ไรเซอร์ พอลิแซ็กคาไรด์ กรดอะมิโน แร่ธาตุ ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้มีฤทธิ์ต่อร่างกาย เช่น ต้านอนุมูลอิสระ ต้านอักเสบ เป็นต้น (พิมพร, 2543)

2.4.3 อิมัลชันทางเครื่องสำอาง (พิมพร, 2536)

อิมัลชัน หมายถึงผลิตภัณฑ์ที่ประกอบไปด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิดที่ไม่เข้ากันหรือไม่ละลายกันและกัน เช่น น้ำและน้ำมัน ถูกนำมาไว้ด้วยกันในลักษณะที่ผสมผสานเข้าเป็นเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดียวกันโดยอาศัยตัวทำอิมัลชัน (Emulsifier) เมื่อมองด้วยตาเปล่าจะเห็นลักษณะที่เป็นเนื้อเดียวกัน แต่เมื่อมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็น 2 วัฏภาค หยดเล็ก ๆ ของของเหลวชนิดหนึ่งเรียกว่า วัฏภาคภายใน ที่กระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่งเรียกว่า วัฏภาคภายนอก

2.4.3.1 ชนิดของอิมัลชัน

แบ่งตามชนิดของของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายในและภายนอก สามารถแบ่งได้ 3 ชนิดหลัก ๆ คือ

1) อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O emulsion)

อิมัลชันชนิดนี้จะมีวัฏภาคภายในเป็นน้ำ และวัฏภาคภายนอกเป็นน้ำมัน อิมัลชันชนิดนี้จะให้ความรู้สึกหนัก ความเหนอะหนะ และล้างออกได้ยาก เนื่องจากวัฏภาคภายนอกเป็นน้ำมัน สามารถพบได้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบางชนิด เช่น ครีมสำหรับทากลางคืน ครีมล้างหน้า ครีมนวดหน้า ครีมฮอร์โมน เป็นต้น

2) อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W emulsion)

อิมัลชันชนิดนี้จะมีวัฏภาคภายในเป็นน้ำมัน และวัฏภาคภายนอกเป็นน้ำ อิมัลชันชนิดจะให้ความรู้สึกที่เบากว่า เหนอะหนะน้อยกว่า และสามารถล้างออกได้ง่ายกว่าชนิดน้ำในน้ำมัน เนื่องจากวัฏภาคภายนอกเป็นน้ำ จึงเป็นที่นิยมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมและโลชั่นทาหน้า ครีมและโลชั่นทาตัว ครีมกันแดด ครีมรองพื้น เป็นต้น

3) อิมัลชันเชิงซ้อน (Multiple emulsion)

อิมัลชันชนิดนี้เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบว่าวัฏภาคภายในที่เป็นของเหลวต่างชนิดซ้อนกันอยู่ สามารถพบทั้งชนิด น้ำในน้ำมันในน้ำ (W/O/W) และชนิดน้ำมันในน้ำในน้ำมัน (O/W/O) อิมัลชันชนิดนี้สามารถกลับวัฏภาคกลายเป็นอิมัลชันธรรมดาได้ เช่น W/O/W ซึ่งวัฏภาคภายนอกเป็นน้ำ และวัฏภาคภายในเป็นน้ำมัน แต่ในวัฏภาคภายในกลับมีวัฏภาคน้ำซ้อนอีกที และเมื่อกลับเป็นอิมัลชันธรรมดาจะกลายเป็น O/W เป็นต้น

นอกจาก 3 ชนิดหลัก ๆ นี้ก็ยังมีชนิดอื่นอีกเช่น ซิลิโคนในน้ำ น้ำในซิลิโคน เป็นต้น

2.4.3.2 ส่วนประกอบของอิมัลชัน

ผลิตภัณฑ์รูปแบบอิมัลชัน มีส่วนประกอบหลักที่สำคัญ 3 ส่วนดังนี้

1) วัฏภาคน้ำ (Water phase) ได้แก่ น้ำ และสารอื่น ๆ ที่สามารถละลายได้ในน้ำ เช่น สารเพิ่มความหนืด สารเพิ่มความชุ่มชื้น สารลดแรงตึงผิว สารกันเสีย สีละลายน้ำ สารต้านอนุมูลอิสระ สารออกฤทธิ์อื่น ๆ ที่สามารถละลายน้ำได้ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) วัฏภาคน้ำมัน (Oil phase) ได้แก่ น้ำมันชนิดต่าง ๆ ไขมัน ไขแข็ง สีละลายน้ำมัน น้ำหอม สารกันหืน สารลดแรงตึงผิว สารออกฤทธิ์ต่าง ๆ ที่ละลายในน้ำมัน เป็นต้น

3) ตัวทำอิมัลชัน (Emulsifier) เป็นตัวสำคัญที่ทำให้วัฏภาคน้ำและน้ำมันสามารถเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน ได้แก่ สารลดแรงตึงผิว คอลลอยด์ที่ชอบน้ำ เป็นต้น

2.4.4 ประเภทของผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า

ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า หรือ สกินแคร์ (Skin care) เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิว ช่วยป้องกันผิวจากสภาพแวดล้อมที่ไม่พึงประสงค์ ปรับสีผิวให้สม่ำเสมอ ลดเลือนริ้วรอย และช่วยในการปรับสภาพผิวก่อนลงเครื่องสำอาง ซึ่งมีหลายประเภท สามารถแบ่งได้ตามลักษณะเนื้อของผลิตภัณฑ์ได้ดังนี้

1) โทนเนอร์ (Toner)

โทนเนอร์เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อบางเบา ช่วยในเรื่องทำความสะอาดผิวจากสิ่งสกปรกที่ตกค้างจากการทำความสะอาดหน้าและปรับสภาพผิวก่อนลงผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้าชนิดอื่นต่อไป โดยทั่วไปโทนเนอร์จะมีส่วนผสมของสารประกอบที่ช่วยเรื่องการบำรุงผิวหน้า

2) เอสเซนส์ (Essence)

เอสเซนส์มีลักษณะเป็นน้ำเหลว เบาบาง สามารถซึมซาบลงผิวได้เร็วและไม่เหนียวเหนอะหนะ เน้นไปที่การบำรุงภายในถึงชั้นผิว ช่วยฟื้นฟูผิวให้ดูสุขภาพดี โดยทั่วไปเอสเซนส์จะมีส่วนผสมที่เป็นวัตภาคน้ำเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเหมาะกับทุกสภาพผิว แต่ส่วนผสมจะไม่เข้มข้นเท่าเซรั่ม

3) เซรั่ม (Serum)

เซรั่มเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีเนื้อสัมผัสบาง สามารถซึมซาบลงผิวได้ง่าย ไม่เหนียวเหนอะหนะ มีความเข้มข้นกว่าเอสเซนส์ เน้นการบำรุงผิวจากภายในเช่นเดียวกับเอสเซนส์ แต่คุณสมบัติเด่นของเซรั่มคือมีส่วนผสมที่เป็นสารออกฤทธิ์เป็นปริมาณมาก ด้วยความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ที่มากกว่าทำให้เซรั่มเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงที่ใช้แก้ปัญหาผิวได้อย่างตรงจุด ทำให้เห็นผลได้อย่างรวดเร็วหลังใช้ แต่เซรั่มมักมีส่วนผสมของน้ำมัน ทำให้ไม่เหมาะกับผู้ที่มีผิวมัน

4) อิมัลชัน (Emulsion)

อิมัลชันคือมอยซ์เจอไรเซอร์เนื้อบางเบา ลักษณะคล้ายโลชั่นแต่เนื้อเบากว่า สามารถซึมซาบลงผิวได้เร็วกว่าโลชั่น คุณสมบัติเน้นไปที่เพิ่มความชุ่มชื้น และช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของเอสเซนส์และเซรั่มให้ทำหน้าที่บำรุงได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

5) โลชั่น (Lotion)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โลชั่นเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงที่มีส่วนผสมของวัฏภาคน้ำมากกว่าวัฏภาคน้ำมัน อาจอยู่ในรูปของเหลวหรือน้ำ แต่มีความเข้มข้นกว่าอิมัลชันเพราะมีส่วนของน้ำมันมากกว่า คุณสมบัติของโลชั่นมักมุ่งไปในการเพิ่มความชุ่มชื้นและเคลือบผิวชั้นนอกเพื่อปกป้องการสูญเสียน้ำ

6) ครีม (Cream)

ครีมเป็นอิมัลชันที่มีองค์ประกอบของน้ำมันสูงที่สุดในกลุ่มผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า ทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อเข้มข้นและมีความหนืดมากที่สุด ทำให้ซึมซาบลงผิวได้ช้าแต่สามารถคงความชุ่มชื้นไว้ได้ดีที่สุด เหมาะกับผู้ที่มีผิวแห้ง

2.5 เม็ดบีด

2.5.1 เทคนิคไอออนิกเจลเลชั่น (ionic gelation)

ไอออนิกเจลเลชั่นเป็นเทคนิคที่ใช้ความแตกต่างระหว่างประจุของสารตั้งต้นและสารละลายรองรับมาทำปฏิกิริยาให้เกิดการเชื่อมขวางระหว่างพันธะ (cross-link) และกลายเป็นโครงสร้างตาข่ายขึ้น ทำให้สามารถกักเก็บสารสำคัญไว้ภายในเจลที่ห่อหุ้มไปด้วยฟิล์มพอลิเมอร์ได้ ซึ่งเป็นหนึ่งในกระบวนการเอนแคปซูเลชั่นที่ค้นพบโดย Calvo *et al.* (1998) ที่ได้นำสารสำคัญมารวมกับสารตั้งต้นที่เป็นประจุลบและหยดไปในสารละลายรองรับที่เป็นประจุบวกจนก่อตัวขึ้นมาเป็นทรงกลมที่มีฟิล์มห่อหุ้ม โดยเทคนิคไอออนิกเจลเลชั่นเป็นเทคนิคที่ถูกนำไปใช้ในหลายอุตสาหกรรม โดยเฉพาะการแพทย์และเภสัชกรรม

2.5.2 เทคนิคสเฟียร์ริฟิเคชั่น (spherification)

สเฟียร์ริฟิเคชั่นเป็นหนึ่งในเทคนิคที่ใช้ในการทำอาหารสมัยใหม่ คิดค้นโดย Peschardt ในปี 1946 และนำมาใช้ในร้าน elBulli ซึ่งเป็นหนึ่งในร้านอาหารที่มีความโดดเด่นที่สุดในโลก โดยเทคนิคสเฟียร์ริฟิเคชั่นเป็นเทคนิคที่ของเหลวถูกเคลือบด้วยฟิล์มพอลิเมอร์เกิดลักษณะทรงกลม แกนกลางเป็นของเหลว (Fu *et al*., 2014, Hoffman, 2009, Lee and Rogers, 2012) การใช้ประโยชน์จากอนุภาคไฮโดรเจลแคปซูลหรือไมโครแคปซูลซึ่งสามารถผลิตได้โดยใช้ไบโอพอลิเมอร์ที่สามารถรับประทานได้ เช่น โปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ (Li *et al*., 2011) อนุภาคไฮโดรเจลมักถูกเรียกว่าไฮโดรคอลลอยด์เจลหรือไฮโดรเจลเม็ด และมีการใช้กันอย่างแพร่หลายในสาขาต่าง ๆ เช่น เทคโนโลยีอาหาร เทคโนโลยีชีวภาพ วิทยาศาสตร์การแพทย์และเภสัชกรรม

โดยเทคนิคนี้จะนำสารประกอบที่ต้องการผสมกับสารประกอบไฮโดรคอลลอยด์ เช่น โซเดียมแอลจิเนต คาราจีแนน แล้วนำมาขึ้นรูปเม็ดเจลโดยการหยดลงในสารละลายรองรับที่เป็นพอลิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมอร์ไอออน เช่น แคลเซียมคลอไรด์ แคลเซียมแลคเตต เป็นต้น เม็ดบีดที่ได้นั้นจะมีเยื่อหุ้มที่บาง บีบแตกได้ง่าย แต่เทคนิคนี้มีข้อเสีย คือการทำปฏิกิริยาประจุระหว่างสารละลายไฮโดรคอลลอยด์และสารละลายรองรับพอลิเมอร์ไอออนจะยังดำเนินต่อไปเรื่อย ๆ จนทำให้แกนกลางที่เป็นของเหลวเกิดการแข็งตัวเป็นเจล

2.5.3 เทคนิครีเวิร์สสเฟียร์ริฟิเคชั่น (reverse spherification)

รีเวิร์สสเฟียร์ริฟิเคชั่นเป็นหนึ่งในเทคนิคที่ใช้ในการทำอาหารสมัยใหม่เช่นเดียวกับสเฟียร์ริฟิเคชั่น แต่จะมีวิธีทำที่แตกต่างกัน โดยเทคนิคนี้จะนำสารประกอบที่ต้องการมาผสมกับสารละลายพอลิเมอร์ไอออน ที่นิยมใช้หลัก ๆ คือ แคลเซียมคลอไรด์ แล้วนำมาขึ้นรูปเม็ดเจลโดยมีสารละลายรองรับเป็นไฮโดรคอลลอยด์ เช่น โซเดียมแอลจิเนต คาราจีแนน เม็ดบีดที่ได้จะมีฟิล์มพอลิเมอร์ห่อหุ้มภายนอก และมีภายในเป็นของเหลว แต่ของเหลวภายในจะไม่เป็นของแข็งเมื่อเวลาผ่านไปเหมือนกับเทคนิคสเฟียร์ริฟิเคชั่น แต่ข้อจำกัดของเทคนิคนี้คือโซเดียมแอลจิเนตเป็นไฮโดรคอลลอยด์ไม่สามารถละลายได้ในสารประกอบที่มีพีเอชต่ำ และเม็ดบีดที่ได้นั้น ฟิล์มที่หุ้มภายนอกไม่สามารถละลายได้ง่าย

2.5.3 สารประกอบสำหรับขึ้นบีด

2.5.3.1 โซเดียมแอลจิเนต

โซเดียมแอลจิเนตเป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดมาจากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล ประกอบไปด้วย 1,4-linked-β-D-mannuronic (M) และ α-L-guluronic acid (G) ที่ต่อกันแบบ homopolymeric blocks (G-blocks หรือ M-blocks) และ heteropolymeric blocks (MG-blocks) มีคุณสมบัติเป็นประจุลบ (Ress and Welsh, 1997) โซเดียมแอลจิเนตถือเป็นหนึ่งในพอลิเมอร์ที่นิยมใช้ที่สุดเนื่องจากคุณสมบัติที่เป็นเอกลักษณ์ เช่น ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ ความเป็นพิษ และความสามารถในการขึ้นรูปเจลภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง (Kim *et al.,* 2008) ซึ่งโซเดียมแอลจิเนตมีความปลอดภัยเนื่องจากเป็นสารสกัดจากธรรมชาติ สามารถใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารหรือเครื่องสำอางได้ เช่น การนำมาทำเป็นเม็ดบีด โดยการนำมาผสมในอาหารที่ต้องการ แล้วอาศัยความต่างของประจุโดยหยดอาหารที่มีโซเดียมแอลจิเนตลงในสารละลายที่มีประจุบวก เช่น แคลเซียมคลอไรด์

2.5.3.2 คาราจีแนน

คาราจีแนนสกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีแดง (red seaweed) ในกลุ่ม *Rhodophyceae* เป็นสารในกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์สายตรงที่มีหมู่ซัลฟา มีโครงสร้างหลักเป็นกาแล็กโทส (galactose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) (กัมปนาท และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธนิกานต์, 2556) คาราจีแนนสามารถนำมาใช้ในการเตรียมแคปซูลแบบนิ่มและแข็ง ใช้เป็นสารก่อเจลหรือเพิ่มความหนืดในยาลดกรด ใช้เพิ่มความคงตัวของอิมัลชันในตำรับยาที่ละลายน้ำยาก ในด้านเวชสำอางนอกจากจะใช้คาราจีแนนในการเพิ่มความคงตัวของตำรับแล้ว คาราจีแนนยังช่วยรักษาความชุ่มชื้นของผิวหนังโดยการลดอุณหภูมิของผิวหนังและลดการระเหยของน้ำจากผิวหนัง นอกจากนี้คาราจีแนนยังใช้ในการปรับลักษณะเนื้อครีมได้อีกด้วย (Imeson, 2000)

2.5.3.3 แคลเซียมคลอไรด์

แคลเซียมคลอไรด์เป็นหนึ่งในสารเคมีพื้นฐานที่มีการนำไปใช้ประโยชน์หลากหลาย เช่น ทำน้ำเกลือสำหรับโรงงานน้ำแข็ง เกลือที่ปราศจากน้ำสามารถใช้สำหรับดูดความชื้นผสมลงในเครื่องดื่มเกลือแร่ นอกจากนี้ยังใช้ในทางการแพทย์ โดยฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เข้าสู่เส้นเลือดดำเพื่อรักษาภาวะแคลเซียมในเลือดต่ำ แคลเซียมคลอไรด์มีประจุบวก ซึ่งสามารถจับกับโซเดียมแอลจิเนตที่เป็นประจุลบ จนเกิดปฏิกิริยาก่อเจล กลไกนี้สามารถนำมาใช้ในการขึ้นรูปเม็ดบีดของเทคนิคสเฟียร์ริฟิเคชั่น

2.6 จุลินทรีย์ที่พบในเครื่องสำอาง

ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมีสารตั้งต้นที่จุลินทรีย์หลากหลายชนิดสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ เนื่องจากมีสารอาหารบางชนิดที่ช่วยในการเจริญเติบโตเช่น น้ำ ไขมัน พอลิแซ็กคาไรด์ แอลกอฮอล์ โปรตีน กรดอะมิโน ไกลโคไซด์ เปปไทด์และวิตามิน (Herrera, 2004)

เครื่องสำอางเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ภายนอกร่ายกาย เช่น บริเวณผิวหนัง ซึ่งบริเวณผิวหนังนั้นก็สามารถติดเชื้อจุลินทรีย์จากผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้ หากในเครื่องสำอางมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก็สามารถทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะที่เปลี่ยนไป เช่น สี กลิ่น เนื้อสัมผัส เป็นต้น ในกระบวนการผลิตนั้นจึงจำเป็นต้องใส่สารกันเสียที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจมาปนเปื้อนได้

ข้อกำหนดของเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องสำอางมีดังนี้ (กระทรวงสาธารณสุข, 2559)

1) เครื่องสำอางต้องไม่ตรวจพบเชื้อก่อโรค ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* และ *Clostridium* spp. (เฉพาะเครื่องสำอางผสมสมุนไพร)

2) เครื่องสำอางที่ใช้รอบดวงตา เครื่องสำอางที่สัมผัสกับเยื่อบุอ่อนและเครื่องสำอางสำหรับเด็กอายุต่ำกว่า 3 ปี ต้องมีจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (total aerobic plate count) ไม่เกิน 500 โคโลนีต่อกรัม (cfu/g)* หรือลูกบาศก์เซนติเมตร ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องสำอางอื่น ๆ นอกเหนือจากนี้ต้องมีจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (total aerobic plate count) ไม่เกิน 1,000 โคโลนีต่อกรัม (cfu/g) หรือลูกบาศก์เซนติเมตร

3) วิธีการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ที่กล่าวถึงในข้อ 1 กับ 2 วิธีที่ใช้จะต้องมีที่มาจากมาตรฐาน ISO (International Organization for Standardization) หรือ USP (United States Pharmacopeia) หรือวิธีอื่นที่เป็นมาตรฐานสากลที่เป็นที่ยอมรับ

* Colony Forming Units หรือ cfu หมายถึงจำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเชื้อ 1 ตัวจะเกิดเป็น 1 โคโลนีเมื่อนำไปเพาะเชื้อ ตัวอย่าง เช่น พบเชื้อ 50 cfu/g หมายความว่าในเครื่องสำอาง 1 กรัม มีเชื้ออยู่ 50 โคโลนี เป็นต้น

2.7 การวางแผนการทดลองทางสถิติ

2.7.1 แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD)

แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ หมายถึง แบบแผนการทดลองที่หน่วยทดลองได้มาจากการสุ่มและการกำหนดตัวแปรทดลองให้กับหน่วยทดลองเป็นไปอย่างสุ่ม (ระวีวรรณ, 2540) แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์เป็นแผนการทดลองที่มีลักษณะง่ายสะดวกในการปฏิบัติและวิเคราะห์ข้อมูล เหมาะสำหรับหน่วยทดลองที่มีความสม่ำเสมอมาก ไม่มีความแตกต่างเนื่องจากปัจจัยอื่น ๆ

ลักษณะของรูปแบบการทดลอง

1) มีตัวแปรอิสระหรือตัวแปรทดลองเพียง 1 ตัวที่แบ่งออกเป็นหลายระดับ

2) มีหน่วยทดลองแต่ละหน่วยที่นำมาเป็นกลุ่มตัวอย่างจะต้องมาจากการสุ่ม

3) กลุ่มทดลองแต่ละกลุ่มจะได้รับตัวแปรทดลองเพียงตัวเดียวโดยการสุ่ม

2.7.2 แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiments)

แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล เป็นแบบแผนที่มีปัจจัย 2 ปัจจัยหรือมากกว่าในการทดลองเดียว ในแต่ละปัจจัยสามารถมีได้หลายระดับ จำนวนของปัจจัยและระดับไม่จำเป็นต้องเท่ากัน เช่น หากมี 2 ปัจจัย แต่ละปัจจัยมี 2 ระดับ เรียกว่าการทดลองแบบ 2×2 แฟคทอเรียล หรือหากมีปัจจัย 2 ปัจจัย แต่ละปัจจัยไม่เท่ากันโดย ปัจจัย A มี 2 ระดับและปัจจัย B มี 3 ระดับ เรียกว่าการทดลองแบบ 2×3 แฟคทอเรียล

ในการทดลองแบบแฟคทอเรียลจะมีอิทธิพลของทรีตเมนต์ 3 ประเภท คือ

1) อิทธิพลเดี่ยว เป็นความแตกต่างระหว่างระดับปัจจัยหนึ่งเมื่อให้อีกปัจจัยหนึ่งคงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) อิทธิพลหลัก เป็นอิทธิพลของปัจจัยแต่ละปัจจัย หมายถึงความแตกต่างระหว่างระดับของปัจจัยหนึ่งที่เกิดขึ้นในทุกระดับของอีกปัจจัยหนึ่ง ซึ่งคำนวณได้จากค่าเฉลี่ยของอิทธิพลเดี่ยว

3) อิทธิพลร่วมหรือปฏิสัมพันธ์ เป็นอิทธิพลของปัจจัยตั้งแต่ 2 ปัจจัยขึ้นไป ซึ่งเกิดร่วมกันหรือมีปฏิกิริยาสัมพันธ์ต่อกัน คือ ค่าเฉลี่ยของผลลัพธ์การทดลองที่เกิดจากระดับหนึ่งของปัจจัยที่ 1 จะมีค่าแตกต่างกันเมื่อใช้ระดับที่แตกต่างกันของปัจจัยที่ 2 ซึ่งคำนวณได้จากความแตกต่างของอิทธิพลเดี่ยวของปัจจัย

สำหรับแผนการทดลองนี้ทำให้ทราบเกี่ยวกับการเกิดอิทธิพลร่วมของปัจจัย ปัจจัยเป็นอิสระต่อกันหรือไม่ และการหาอิทธิพลของปัจจัยทำได้ง่าย

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ศันสุนีย์, 2561 ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับกระบวนการการผลิตถั่งเช่าหิมะ จากการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ ความเร็วของการเขย่าที่ 178.9 รอบต่อนาที ปริมาตรอาหาร 105 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร และเวลาในการเลี้ยงหัวเชื้อ 106 ชั่วโมง สามารถผลิตเส้นใยแห้งสูงสุดเท่ากับ 14.03 กรัมต่อลิตร

Zhang, 2014 ในสิทธิบัตรได้กล่าวไว้ว่าฟอสเฟตบัฟเฟอร์สามารถนำไปใช้ในการเตรียมสารสกัดจาก *Cordyceps sinensis* ซึ่งสารสกัดที่ได้จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ชะลอการแก่ก่อนวัย และช่วยในการกักเก็บน้ำในผิวเพื่อให้ความชุ่มชื้น ดังนั้นในสิทธิบัตรนี้จึงแสดงถึงวิธีการเตรียมและการใช้สารสกัดจาก *Cordyceps sinensis* โดยสกัดด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชในช่วง 7.0 ถึง 8.2 และนำไปประยุกต์ใช้ในการเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง โดยพบว่าฟอสเฟตบัปเฟอร์ที่พีเอช 7.8 จะให้ผลการยับยั้งสารอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด

Sim and Yang, 2015 ในสิทธิบัตรนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมีคุณสมบัติเพิ่มความชุ่มชื้น ต้านการอักเสบ และลดเลือนริ้วรอย โดยใช้สารสกัดจากถั่งเช่า โดยผลลัพธ์ที่ได้นั้นเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมจากสารสกัดถั่งเช่าช่วยให้ผิวของผู้ใช้มีสุขภาพดีขึ้น ผิวมีความชุ่มชื้น อาการอักเสบและริ้วรอยลดลง

Xiao *et al.,* 2012 ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของสารต้านอนุมูลอิสระของ *Cordyceps taii* ผลการทดลองพบว่าสารสกัดและพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จาก *Cordyceps taii* มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่าง ๆ เช่น 1,1-diphenyl-2 picrylhydrazyl radical, hydroxyl radical และ superoxide anion radical ค่า EC50 สำหรับ superoxide anion free radical อยู่ระหว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.04-2.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์มากกว่าไทโอยูเรียอย่างน้อย 2.6 เท่า พอลิแซ็กคาไรด์ยังช่วยเพิ่มกิจกรรมเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ (superoxide dismutase, catalase และกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส) และลดการผลิต malondialdehyde ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในหนู ดังนั้นพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Cordyceps taii* จึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Nguyen *et al.,* 2018 ได้ทำการศึกษาตัวทำละลายที่แตกต่างกันเพื่อสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Cordyceps militaris* การศึกษานี้ศึกษาผลของตัวทำละลายสามชนิด (เมทานอล เอทานอลอะซิโตน และน้ำกลั่นร้อน) ประสิทธิภาพในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากดอกของ *Cordyceps militaris* น้ำกลั่นร้อนให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดร้อยละ 7.22 รองลงมาคือเมทานอล (ร้อยละ 2.17), เอทานอล (ร้อยละ 1.70) และอะซิโตน (ร้อยละ 0.14) อาจเป็นเพราะความสามารถในการละลายของพอลิแซ็กคาไรด์ในเมทานอล เอทานอลและอะซิโตนต่ำ นอกจากนี้น้ำกลั่นเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ราคาถูก และไม่เป็นพิษเมื่อเทียบกับตัวทำละลายที่ผ่านการทดสอบอื่น ๆ

Zhang *et al.,* 2012 ได้ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดคอร์ไดเซปินจากดอกของ *Cordyceps militaris* YCC-01 ด้วยวิธีที่แตกต่างกัน คือ การสกัดด้วยน้ำ การสกัดด้วยเอทานอล การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก และการสกัดร่วมกันของการสกัดด้วยน้ำและการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก จากผลการทดลองพบว่าการสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง ร่วมกับการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 600 วัตต์ เป็นเวลา 35 นาที ให้ผลการสกัดดีที่สุด เมื่อนำมาตรวจสอบหาปริมาณของคอร์ไดเซปินด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบปริมาณของคอร์ไดเซปินเท่ากับ 9.559 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยวิธีการสกัดร่วมกันของการสกัดด้วยน้ำและการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกให้ผลผลิตสูงกว่ากลุ่มควบคุม (การสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง) ร้อยละ 66.2 และสูงกว่าการสกัดอัลตราโซนิกที่อุณหภูมิห้อง ร้อยละ 11.3

Yang and Li, 2008 ได้ทำการหานิวคลีโอไซด์ 5 ชนิด ได้แก่ อะดีโนซีน กวาโนซีน อิโนซีน ยูริดีน และคอร์ไดเซปินใน Cordyceps โดยใช้วิธีการสกัด 3 วิธี ได้แก่ การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ การสกัดด้วยน้ำเดือด และการสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิห้อง ตรวจหานิวคลีโอไซด์ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) - การตรวจจับอาเรย์ (DAD) การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์และการสกัดน้ำเดือดให้ผลที่คล้ายกัน แต่อย่างไรก็ตามปริมาณนิวคลีโอไซด์ของ *Cordyceps sinensis* ในธรรมชาติ และ *Cordyceps militaris* เพาะเลี้ยงที่สกัดด้วยน้ำอุณหภูมิห้องเพิ่มขึ้นอย่างมาก ยกเว้นอะดีโนซีนที่ได้จาก *Cordyceps sinensis* ในธรรมชาติ และคอร์ไดเซปิน *Cordyceps militaris* เพาะเลี้ยง นอกจากนี้ปริมาณของนิวคลีโอไซด์ใน *Cordyceps sinensis* เพาะเลี้ยงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการสกัดทั้งสามไม่มีความแตกต่างอย่างชัดเจน จากผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการเตรียมตัวอย่างส่งผลต่อปริมาณของนิวคลีโอไซด์ใน Cordyceps อย่างมีนัยสำคัญ

Wichchukit *et al.,* 2013 ได้ทำการศึกษาอัตราส่วนสารละลายระหว่างโซเดียมแอลจิเนตกับเวย์โปรตีนที่เหมาะสมกับการขึ้นเม็ดบีด โดยมีไรโบฟลาวินเป็นตัวแทนของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า ความหนืดของสารละลายมีผลต่อขนาดเม็ดบีดอย่างมาก ยิ่งมีความหนืดสูง ขนาดของเม็ดบีดยิ่งใหญ่ และเม็ดบีดที่มีโซเดียมแอลจิเนตสูงจะมีความชุ่มชื้นสูง

วิสสุตา และ กุลภรณ์, 2553 ได้ทำการพัฒนาเม็ดบีดเครื่องสำอางที่บรรจุวิตามินอีเพื่อเพิ่มความคงตัวและเพิ่มความเข้ากันได้ในการใช้เครื่องสำอางทั่วไป โดยใช้เทคนิคสเฟียร์ริฟิเคชั่น การเตรียมเม็ดบีดใช้อิมัลชันวิตามินอีที่มีคาราจีแนนและโซเดียมแอลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก ทำการประเมินคุณสมบัติของเม็ดบีดและประเมินความคงตัวของเม็ดบีด ผลการทดลองพบว่าเม็ดบีดที่เตรียมจากคาราจีแนนและโซเดียมแอลจิเนตอัตราส่วน 0:5 มีความคงตัวดีที่สุด ส่วนเม็ดบีดที่เตรียมจากคาราจีแนนและโซเดียมแอลจิเนตอัตราส่วน 4:1 มีความคงตัวต่ำที่สุด แต่อย่างไรก็ตามเม็ดบีดที่เตรียมจากคาราจีแนนและโซเดียมแอลจิเนต 2:3 เป็นเม็ดบีดที่มีลักษณะที่ดีที่สุด กระจายตัวดีบนผิว แตกง่ายเมื่อสัมผัส ไม่เป็นคราบ และยังให้ความรู้สึกชุ่มชื้นทั้งเมื่อเตรียมเสร็จและเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1.1 *Isaria tenuipes*

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 2, 2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) (Sigma, USA)

3.1.2.2 1, 3-โพรเพนไดออล (1, 3-propanediol) (Chanjao Longevity, Thailand)

3.1.2.3 โซเดียมแอลจิเนต (Sodium alginate) (Chanjao Longevity, Thailand)

3.1.2.4 กลูโคส (Glucose) (Weifang shentai medicine Co., Ltd, China)

3.1.2.5 สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (Standard glucose) (Ajax, Australia)

3.1.2.6 สารมาตรฐานคอร์ไดเซปิน (Standard cordycepin) (Sigma, USA)

3.1.2.7 สารมาตรฐานอะดีโนซีน (Standard adenosine) (Sigma, USA)

3.1.2.8 สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) (Becton Dickinson, USA)

3.1.2.9 กรดซัลฟิวริกร้อยละ 98 (Sulfuric acid) (JK-Baker, China)

3.1.2.10 เปปโตน (Peptone) (Becton Dickinson, USA)

3.1.2.11 ผงวุ้น (Agar) (Krungthepchemi, Thailand)

3.1.2.12 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihidrogen phosphate)

3.1.2.13 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอตเฟต (Disodium hydrogen phosphate)

3.1.2.14 โซเดียมไฮโดรเจนฟอตเฟต (Sodium hydrogen phosphate)

3.1.2.15 โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride)

3.1.2.16 โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate)

3.1.2.17 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

3.1.2.18 โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride)

3.1.2.19 เมทานอลบริสุทธิ์ (HPLC grade)

3.1.2.20 น้ำบริสุทธิ์สูง (Ultra-pure)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2.21 เอทานอล (Ethanol)

3.1.2.22 โซเดียมแอลจิเนต (Sodium Alginate) (Chanjao Longevity, Thailand)

3.1.2.23 แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium Chloride) (Chemipan, Thailand)

3.1.2.24 ไอออต้าคาราจีแนน (Iota-Carrageenan)

3.1.2.25 ทรีฮาโลส (Trehalose) (Chemipan, Thailand)

3.1.2.26 Cabopol Ultrez20 (Chemipan, Thailand)

3.1.2.27 ทวีน 80 (Tween 80) (Chemipan, Thailand)

3.1.2.28 สเปน 80 (Span 80) (Chemipan, Thailand)

3.1.2.29 ฟีนอกซีเอทานอล (Phenoxyethanol) (Chemipan, Thailand)

3.1.2.30 Butylated hydroxytoluene (BHT) (Chanjao Longevity, Thailand)

3.1.2.31 วิตามินอี (Tocopheryl Acetate) (Chanjao Longevity, Thailand)

3.1.2.32 แซนแทนกัม (Xanthan gum) (Chanjao Longevity, Thailand)

3.1.2.33 น้ำมันมะกอก (Olive Oil) (Chanjao Longevity, Thailand)

3.1.2.34 ไตรเอทาโนลามีน (Triethanolamine 99%) (Chanjao Longevity, Thailand)

3.1.2.35 เพนทิลีน ไกลคอล (Pentylene Glycol) (Chemicosmetics, Thailand)

3.1.2.36 น้ำปราศจากไอออน

3.1.3 วัตถุดิบ

3.1.3.1 ข้าวโพดอ่อน จากร้านออแกนิก KMITL กรุงเทพมหานคร

3.1.3.2 มันฝรั่ง จากร้านออแกนิก KMITL กรุงเทพมหานคร

3.1.3.3 ไข่ไก่ จากร้านออแกนิก KMITL กรุงเทพมหานคร

3.1.3.4 ดักแด้ไหม ยี่ห้อเอโร่ (aro) จากห้างสรรพสินค้าแมคโคร

3.1.3.5 ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ยี่ห้อบ้านศรีเบญจรงค์

3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.4.1 เครื่องทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธีนึ่งด้วยไอน้ำ (Autoclave) รุ่น ES-315 (Tomy Digital Biology Co., Ltd., Japan)

3.1.4.2 เครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง (Ultrasonic Sonicator) รุ่น ETLLIS TED, Germany

3.1.4.3 ตู้บ่มเชื้อแบบเขย่า (Incubator Shaker) รุ่น LSI-5002M (Daihan Lab Tech, Korea)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4.4 เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (Vacuum Oven) รุ่น VD 23 (Binder, Germany)

3.1.4.5 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงรุ่น CTO-10ASvp (SHIMADZU)

3.1.4.6 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ควบคุมอุณหภูมิ (Hermle, Germany)

3.1.4.7 เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter) รุ่น UB-10 (Denver Instrument, USA)

3.1.4.8 ปิเปตอัตโนมัติ (refurbished Gilson Pipetman, United States)

3.1.4.9 เครื่องวัดและอ่านปริมาณแสงแบบจานหลุม (Micro plate reader)

3.1.4.10 เครื่องทำแห้งแช่เยือกแข็งแบบสุญญากาศ (Vacuum Freeze Dry)

3.1.4.11 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) (Boss Tech Co., Ltd., USA)

3.1.4.12 ตู้บ่มเชื้อ (The cool company, Thailand)

3.1.4.13 ชุดกรองสุญญากาศ (Pyrex, Germany)

3.1.4.14 ตู้เย็น (General Electric, USA)

3.1.4.15 เครื่องวัดสี (HunterLab, USA)

3.1.4.16 เครื่องชั่งสาร (Ohaus, USA)

3.1.4.17 ที่เจาะจุกคอร์ก (Cock borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

3.1.4.18 เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic Stirrer)

3.1.4.19 ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)

3.1.4.20 แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic bar)

3.1.4.21 กระดาษกรอง whatman เบอร์ 4

3.1.4.22 เครื่องผสมสาร (Vortex mixer)

3.1.4.23 ทิปสำหรับปิเปตอัตโนมัติ

3.1.4.24 ขวดโหลขนาด 16 ออนซ์

3.1.4.25 ตะแกรงวางเครื่องมือ

3.1.4.26 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.4.27 โถแก้วดูดความชื้น

3.1.4.28 โกร่งสำหรับบด

3.1.4.29 ช้อนตักสารเคมี

3.1.4.30 หลอดทดลอง

3.1.4.31 จานเพาะเชื้อ

3.1.4.32 ขวดรูปชมพู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4.33 เข็มเขี่ยเชื้อ

3.1.4.34 ผ้าขาวบาง

3.1.4.35 ขวดดูแรน

3.1.4.36 กระชอน

3.1.4.37 บีกเกอร์

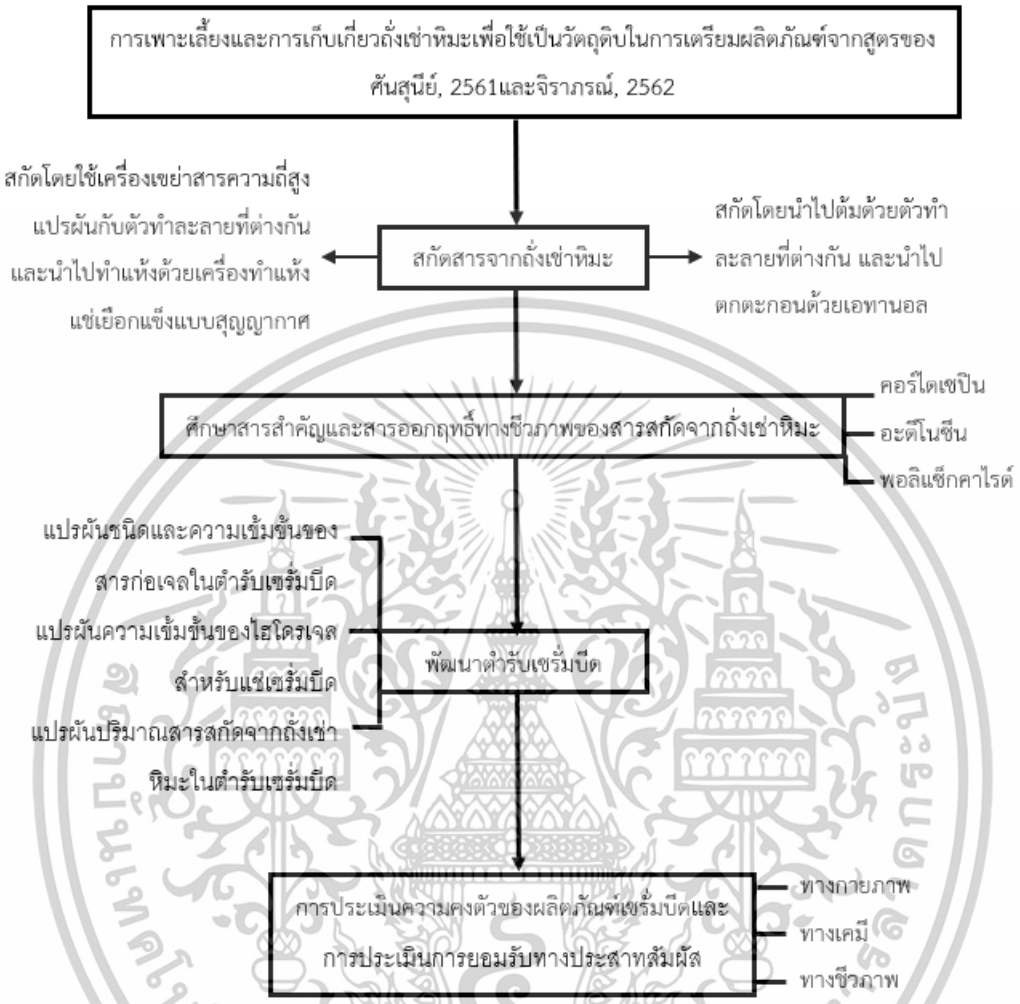
3.1.4.38 สำลี

3.1.4.39 มีด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.2.1 แผนผังภาพรวมของขั้นตอนการดำเนินงาน



3.2.2 การเพาะเลี้ยงถั่งเช่าหิมะเพื่อใช้เตรียมผลิตภัณฑ์

3.2.2.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น (ศันสุนีย์, 2561 และจิราภรณ์, 2563)

3.2.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารแข็ง PDA

นำดอกของถั่งเช่าหิมะมาล้างด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 เป็นเวลา 3 นาที และนำไปล้างในน้ำกลั่นที่ทำการฆ่าเชื้อแล้ว ซับด้วยกระดาษชำระที่ทำการฆ่าเชื้อแล้ว แล้วนำดอกของถั่งเช่าหิมะมาตัดให้ได้ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร นำมาวางบนอาหาร PDA จากภาคผนวก 1ก และนำไปบ่มที่ตู้ทึบแสงอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7-14 วัน จนเกิดเส้นใยสีขาวบริเวณที่วางดอกถั่งเช่าหิมะ

3.2.2.1.2 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว PDB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำหัวเชื้อจาก 3.2.1 มาเจาะเส้นใยสีขาวด้วยที่เจาะจุกคอร์ก จำนวน 4 ชิ้น ใส่ลงขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารเหลว PDB จากภาคผนวก 2ก ปริมาตร 105 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงต่อที่เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 179 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 วัน

3.2.2.2 การเพาะเลี้ยงถั่งเช่าหิมะ (ศันสุนีย์, 2561 และจิราภรณ์, 2563)

นำหัวเชื้อเหลวที่ได้จากขั้นตอน 3.2.2.1.2 ปริมาณร้อยละ 12.5 ใส่ลงอาหารแข็งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ใส่อาหารเหลว PDB สำหรับเพาะถั่งเช่าหิมะแสดงในภาคผนวก 3ก จากนั้นนำไปบ่มที่ตู้ทึบแสงอุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 7-14 วัน จนภายในขวดมีเส้นใยสีขาวเจริญคลุมหน้าอาหาร จากนั้นนำมาบ่มต่อในตู้ที่ให้แสงสีส้มอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60-80 เพื่อกระตุ้นให้เกิดดอก เมื่อครบ 15 วัน จึงทำการเก็บเกี่ยว นำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบดแห้งเพื่อเก็บไว้ทำการวิเคราะห์และทำผลิตภัณฑ์ต่อไป

3.2.3 การเตรียมสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะเพื่อหาปริมาณสารสำคัญ

หลังจากได้ถั่งเช่าหิมะบดแห้งจากขั้นตอน 3.2.2.2 แล้วจะทำการเตรียมสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะจาก 2 วิธี ในแต่ละวิธีใช้ตัวทำละลายที่ต่างกัน 3 ตัวทำละลายดังนี้

1) นำผงถั่งเช่าหิมะน้ำหนัก 5 กรัมใส่ลงในตัวทำละลายที่ต่างกันคือ น้ำปราศจากไอออน ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีนพีเอช 7.4 ฟอตเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.0 (ดัดแปลงจาก Zhang, 2014) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปสกัดด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 นำสารสกัดไปแช่แข็งที่ -80 องศาเซลเซียส และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแช่เยือกแข็งแบบสุญญากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมงจะได้สารสกัดลักษณะเป็นผง

2) นำผงสกัดถั่งเช่าหิมะ 0.2 กรัม เติมตัวทำละลายที่ต่างกันคือ น้ำปราศจากไอออน ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีนพีเอช 7.4 ฟอตเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.0 (ดัดแปลงจาก Zhang, 2014) ปริมาณ 4 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่ 80 องศาเซลเซียสในอ่างควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 6000g เป็นเวลา 20 นาทีเพื่อเอาส่วนใส จากนั้นนำส่วนใสที่ได้ไปใส่เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1:4 และนำไปตกตะกอนที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 9000g เป็นเวลา 30 นาทีเพื่อเก็บตะกอน นำตะกอนที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยการเป่าไนโตรเจนและนำไปอบต่อที่ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บันทึกน้ำหนักตะกอนที่ได้ แล้วนำไปละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นก่อนไปวิเคราะห์ (ดัดแปลงจาก Zhu *et al*., 2016)

3.2.4 การวิเคราะห์สารสำคัญและสารออกฤทธิ์ในสารสกัดถั่งเช่าหิมะ

เมื่อได้สารสกัดจากถั่งเช่าหิมะแล้วนำไปทำการวิเคราะห์สารสำคัญและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพดังนี้

3.2.4.1 คอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน (ดัดแปลงจาก Li *et al*., 2015)

นำผงสกัดถั่งเช่าหิมะ 0.2 กรัม ละลายด้วยน้ำบริสุทธิ์สูง 2 มิลลิลิตรจากนั้นนำมากรองผ่านตัวกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตรก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถภาพสูง

เฟสเคลื่อนที่ที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ประกอบด้วยน้ำและเมทานอลในอัตราส่วน 85:15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) การแยกจะใช้สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่คงที่ตลอดการวิเคราะห์ด้วยอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจจับของอาร์เรย์โฟโตไดโอดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตรและอุณหภูมิคอลัมน์คือ 40 องศาเซลเซียส ปริมาตรในการฉีดเท่ากับ 1 ไมโครลิตร

3.2.4.2 พอลิแซ็กคาไรด์

3.2.4.2.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ (ดัดแปลงจาก Zhu *et al*., 2016)

ละลายผงสกัดถั่งเช่า 0.01 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตรก่อนนำไปวิเคราะห์

3.2.4.2.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีแอนโทรน (ดัดแปลงจาก Dreywood, 1946)

เติมสารตัวอย่างจากขั้นตอน 3.2.4.2.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นนำหลอดไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง เมื่อสารตัวอย่างเย็น เติมสารละลายแอนโทรน 5 มิลลิลิตร (วิธีเตรียมสารแสดงในภาคผนวก ข) ผสมให้เข้ากัน รอให้สารละลายเย็นตัวลง จากนั้นนำไปต้มในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที นำมาให้ความเย็นในอ่างน้ำแข็งอีกครั้ง และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณค่าปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

3.2.4.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

3.2.4.3.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระทำเช่นเดียวกับหัวข้อพอลิแซ็กคาไรด์

3.2.4.3.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

1) การทดสอบด้วยวิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging (ดัดแปลงจาก Singh *et al*., 2018)

เตรียมสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างจากขั้นตอน 3.2.4.3.1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยให้ความเข้มข้นของตัวอย่างมีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการเจือจางแบบลำดับส่วน (serial dilution) หยดลงจานเพาะเชื้อ 96 หลุมปริมาณ 100 ไมโครลิตร และหยด DPPH ปริมาณ 100 ไมโครลิตร (วิธีเตรียมสารแสดงในภาคผนวก ข) บ่มเพาะที่อุณหภูมิห้องในที่มืด (28±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร คำนวณค่าร้อยละของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระจากสมการ

$$\text{ร้อยละของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ} = [(A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}})/A_{\text{ควบคุม}}] \times 100$$

โดย A คือค่าการดูดกลืนแสง

คำนวณค่าความเข้มข้นที่จับอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) จากกราฟที่พล็อตระหว่างร้อยละของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของตัวอย่าง

2) การทดสอบด้วยวิธี ABTS (ดัดแปลงจาก Singh *et al*., 2018)

ผสมโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต 2.45 มิลลิโมลาร์ ลงในสารละลาย ABTS 7.4 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง นำ $ABTS^{\bullet+}$ เจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรให้มีค่าเท่ากับ 0.7±0.02 เตรียมสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างจากขั้นตอน 3.2.3.3.1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยให้ความเข้มข้นของตัวอย่างมีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการเจือจางแบบลำดับส่วน (serial dilution) หยดลงจานเพาะเชื้อ 96 หลุมปริมาณ 100 ไมโครลิตร และหยด $ABTS^{\bullet+}$ ปริมาณ 100 ไมโครลิตร (วิธีเตรียมสารแสดงในภาคผนวก ข) ผสมให้เข้ากัน บ่ม 15 นาทีในที่มืด จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร คำนวณค่าร้อยละของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระจากสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ = $[(A_{ควบคุม} - A_{ตัวอย่าง})/A_{ควบคุม}] \times 100$

โดย A คือค่าการดูดกลืนแสง

คำนวณค่าความเข้มข้นที่จับอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) จากกราฟที่พล็อตระหว่างร้อยละของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของตัวอย่าง

3.2.5 การพัฒนาตำรับเซรั่มบีด

3.2.5.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของสารก่อเจลในตำรับเซรั่มบีด

ทำการเปรียบเทียบชนิดและความเข้มข้นของสารก่อเจล โดยชนิดของสารก่อเจลที่ใช้คือ ไอออต้าคาราจีแนน โซเดียมแอลจิเนต และไอออต้าคาราจีแนนผสมกับโซเดียมแอลจิเนต ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตาราง 3.1

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของตำรับเซรั่ม

ส่วนประกอบ	หน้าที่	ตำรับ (ร้อยละ น้ำหนักต่อน้ำหนัก)					
		1	2	3	4	5	6
1) W_1/O							
Span 80	สารลดแรงตึงผิว	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75
Tween 80	สารลดแรงตึงผิว	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
Olive oil	ให้ความชุ่มชื้น	70.00	70.00	70.00	70.00	70.00	70.00
1,3-propanediol	ให้ความชุ่มชื้นและตัวทำละลาย	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
butylated hydroxytoluene (BHT)	ต้านอนุมูลอิสระ	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
vitamin E	ต้านอนุมูล	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	อิสระ						
phenoxyethanol	สารกันเสีย	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
pentylene glycol	สารกันเสีย	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
น้ำปราศจากไอออน	ตัวทำละลาย	q.s.100	q.s.100	q.s.100	q.s.100	q.s.100	q.s.100
2) $W_1/O/W_2$							
iota-carrageenan	สารก่อเจล	0.50	0.40	0.30	0.20	0.10	0.00
sodium alginate	สารก่อเจล	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50
xanthan gum	เพิ่มความคงตัวแก่อิมัลชัน	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Tween 80	สารลดแรงตึงผิว	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
trehalose	ลดกลิ่นเหม็นหืน	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
1,3-propanediol	ให้ความชุ่มชื้นและตัวทำละลาย	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
W_1/O	วัฏภาคน้ำมัน	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
phenoxyethanol	สารกันเสีย	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
pentylene glycol	สารกันเสีย	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
น้ำปราศจากไอออน	ตัวทำละลาย	q.s.100	q.s.100	q.s.100	q.s.100	q.s.100	q.s.100

หมายเหตุ: q.s.100 หมายถึงการเติมสารที่เหลือให้ครบ 100

ที่มา: ดัดแปลงจาก Tamnak *et al*., 2016, วิสสุตาและกุลภรณ์, 2553 และมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม, 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5.2 การเตรียมเซรั่มบีด

เตรียม W_1/O โดยให้อัตราส่วนวัฏภาคน้ำส่วนแรก (W_1) ต่อน้ำมัน (O) ประมาณร้อยละ 20 ต่อ 80 เริ่มจากละลายวัฏภาคน้ำมัน (สเปน 80 น้ำมันมะกอก วิตามินอี และบีเอชที) และวัฏภาคน้ำ (ทวีน 80 โซเดียมคลอไรด์ 1,3-โพรเพนไดออล และน้ำปราศจากไอออน) เข้าด้วยกันที่อุณหภูมิประมาณ 75 องศาเซลเซียส จากนั้นปั่นกวนด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาทีจนเป็นอิมัลชันน้ำมันในน้ำ แล้วรอให้เย็นก่อนเติมฟีนอกซีเอทานอลและเพนทิลีน ไกลคอลที่ทำหน้าที่เป็นสารกันเสียจะได้ส่วน W_1/O แรก

เตรียม $W_1/O/W_2$ โดยให้อัตราส่วนวัฏภาคน้ำส่วนสอง (W_2) ต่อน้ำมัน ประมาณร้อยละ 80 ต่อ 20 ผสมวัฏภาคน้ำภายนอกโดยละลายไอออต้าคาราจีแนน โซเดียมแอลจิเนต และแซนแทนกัมในน้ำปราศจากไอออน ผสมด้วยเครื่องปั่นกวนสารละลายจนขึ้นเนื้อเจล จากนั้นเติม 1,3-โพรเพนไดออล ทวีน 80 และทรีฮาโลสผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำ W_1/O ที่เย็นแล้วค่อย ๆ เทลงวัฏภาคน้ำภายนอกพร้อมกับปั่นกวนด้วยโฮโมจีไนเซอร์ความเร็วรอบ 2000 รอบต่อนาทีจนเข้ากันได้เป็นอิมัลชันน้ำในน้ำมันในน้ำ และเติมฟีนอกซีเอทานอลและเพนทิลีน ไกลคอลที่ทำหน้าที่เป็นสารกันเสียเป็นลำดับสุดท้ายก่อนขึ้นเม็ดบีด ให้ทดสอบชนิดอิมัลชันของเซรั่มโดยการนำเซรั่มไปส่องกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

เมื่อได้เซรั่มแล้ว จากนั้นนำเซรั่มไปหยดลงในบีกเกอร์ที่มีแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยมวลต่อปริมาตรเป็นสารละลายรองรับ (ดัดแปลงจาก ธเนศ, 2555) ใส่แท่งแม่เหล็กกวนสารแล้ววางบนเครื่องกวนสารละลาย ให้แท่งแม่เหล็กกวนสารคอยกวนเซรั่มที่หยดลงไปเพื่อให้เกิดทรงกลมกวนทิ้งไว้เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำกระชอนตักเม็ดบีดที่ได้มาล้างในน้ำปราศจากไอออน ศึกษาถึงลักษณะของเม็ดบีดที่ได้ในแต่ละตำรับ ดังนี้

1. ค่าพีเอชก่อนขึ้นเม็ดบีด

2. ลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่า สังเกตรูปร่างของเม็ดบีดที่ได้ และสังเกตลักษณะของเม็ดบีดที่แตกเมื่อทาลงบนผิว

3.2.5.3 การเตรียมไฮโดรเจลสำหรับแช่เซรั่มบีด

เมื่อได้ตำรับอิมัลชันที่เหมาะสมสำหรับการขึ้นรูปเม็ดเซรั่มบีดแล้ว เม็ดเซรั่มบีดจากตำรับที่ได้รับการคัดเลือกนั้นจะถูกใส่ลงไปในไฮโดรเจลสำหรับแขวนลอยเม็ดเซรั่มบีด ในงานวิจัยนี้ใช้ Carbopol® ultrez 20 [INCI name; acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer] เป็นสารก่อเจลที่ทำหน้าที่ให้ความหนืดและใช้เป็นเจลสำหรับแขวนลอยเม็ดเซรั่มบีด ทำการทดสอบประสาทสัมผัสผู้บริโภคด้วยวิธี hedonic scale 5 ระดับและจะทำการผันแปรความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นของสารก่อเจลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.30, 0.50 และ 0.70 โดยแสดงตำรับไฮโดรเจลสำหรับแขวนลอยเม็ดเซรั่มบีดดังตารางที่ 3.2

การเตรียมไฮโดรเจลสำหรับแขวนลอยเม็ดเซรั่มบีดในขั้นแรกให้นำสารก่อเจลมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนโดยการปั่นกวนด้วยเครื่องกวนสารละลายให้ความร้อนที่อุณหภูมิห้อง หมุนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ปั่นกวนจนสารก่อเจลละลายและพองตัวเข้ากับน้ำจนหมด จากนั้นให้เติม 1,3-propanediol ที่ทำหน้าที่เพิ่มการละลายและเพิ่มความชุ่มชื้นลงไป และตามด้วยส่วนของ phenoxyethanol และ pentylene glycol ที่ทำหน้าที่เป็นสารกันเสีย เมื่อส่วนผสมทุกอย่างเข้ากันดีให้ทำการปรับค่าพีเอชด้วย triethanolamine (99%) ให้เท่ากับ 5 จะทำให้ของเหลวหนืดขึ้นจนกลายเป็นเจล

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของตำรับไฮโดรเจลสำหรับแขวนลอยเม็ดเซรั่มบีด

ส่วนประกอบ	หน้าที่	ตำรับ (ร้อยละ น้ำหนักต่อน้ำหนัก)		
		1	2	3
Carbopol® ultrez 20	สารก่อเจล	0.30	0.50	0.70
1,3-propanediol	ให้ความชุ่มชื้นและตัวทำละลาย	5.00	5.00	5.00
phenoxyethanol	สารกันเสีย	1.00	1.00	1.00
pentylene glycol	สารกันเสีย	3.00	3.00	3.00
น้ำปราศจากไอออน	ตัวทำละลาย	q.s.100	q.s.100	q.s.100
triethanolamine (99%)*	ปรับค่าพีเอช			

หมายเหตุ: q.s.100 หมายถึงการเติมสารที่เหลือให้ครบ 100 ; *ใช้สำหรับการปรับค่าพีเอชของตำรับเจลสำหรับแขวนลอยเม็ดเซรั่มบีดให้เท่ากับ 5.0

3.2.5.4 การทดสอบความพึงพอใจของไฮโดรเจลสำหรับแช่เซรั่มบีด

ทดสอบประสาทสัมผัสด้วยวิธี hedonic scale 5 ระดับ และทำการคัดเลือกตำรับที่เหมาะสมที่สุดสำหรับนำมาใช้เป็นไอโดรเจลสำหรับแช่บีดโดยคัดเลือกอาสาสมัคร 30 คนที่มีสุขภาพแข็งแรง ไม่เป็นโรคทางผิวหนัง และไม่มีบาดแผลบริเวณที่ใช้ทดสอบ จากนั้นให้อาสาสมัครทำความสะอาดบริเวณที่ใช้ทดสอบด้วยน้ำสะอาดและซับให้แห้ง และทาตัวนำพาสำหรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แช่เซรั่มบีดประมาณ 1 กรัมลงบนบริเวณผิวหนังที่ใช้ทดสอบ และให้ทำแบบสอบถามทางประสาทสัมผัสในหัวข้อความหนืด เนื้อสัมผัส ความชุ่มชื้น การซึมซาบเข้าสู่ผิว และความชอบโดยรวมตามภาคผนวก ค (การทดสอบประสาทสัมผัสได้ผ่านการรับรองโครงการวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง รหัสโครงการ ECKMITL_65_057)

3.2.5.5 การทดสอบความคงตัวของเม็ดเซรั่มบีดที่แขวนลอยภายในไฮโดรเจล

การทดสอบความคงตัวของเม็ดเซรั่มบีดที่แขวนลอยภายในไฮโดรเจลเพื่อดูความสามารถในการแขวนลอยของเม็ดเซรั่มบีดว่าสามารถแขวนลอยภายในไฮโดรเจลและมีความคงตัวเมื่อเก็บรักษาได้หรือไม่ โดยลักษณะที่คาดหวังคือเม็ดเซรั่มบีดจะต้องสามารถแขวนลอยและกระจายตัวอยู่ภายในไฮโดรเจล ไม่ตกลงไปสู่ด้านล่างหรือลอยขึ้นไปสู่ด้านบน

ขั้นตอนการทดสอบความคงตัวของเซรั่มบีดที่แขวนลอยอยู่ภายในเจลคือจะทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ทำการประเมินลักษณะของผลิตภัณฑ์ด้วยการสังเกตการแขวนลอยของเม็ดเซรั่มบีดในไฮโดรเจลด้วยตาเปล่า ประเมินลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ค่าความหนืด วัดด้วยเครื่องวัดความหนืด viscometer รุ่น DV2T (Brookfield, USA) และค่าพีเอช วัดด้วยเครื่องวัดพีเอช pH meter รุ่น S220 (Mettler Toledo, Switzerland)

3.2.5.6 การหาสภาวะที่เหมาะสมของเซรั่มบีดที่มีส่วนประกอบของสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ (ดัดแปลงจาก จิราภรณ์, 2563)

นำสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะด้วยวิธีที่ได้รับเลือกจาก 3.2.3 มาใส่ลงตำรับเซรั่มบีดที่ผ่านการคัดเลือกในปริมาณต่าง ๆ คือร้อยละ 0.60, 0.80, 1.00 และที่ไม่มีส่วนผสมของสารสกัดถั่งเช่าหิมะ เป็นตัวควบคุม จากนั้นประเมินลักษณะภายนอก เช่น ค่าพีเอช ค่าสี ค่าความหนืด และประเมินทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี hedonic scale 5 ระดับ โดยคัดเลือกอาสาสมัครทั้งหมด 30 คนที่สุขภาพแข็งแรง ไม่เป็นโรคทางผิวหนัง และไม่มีบาดแผลบริเวณที่ใช้ทดสอบ ประเมินถึงคุณลักษณะความชอบของสี กลิ่น เนื้อสัมผัส ความชุ่มชื้น การซึมซาบเข้าสู่ผิว และความชอบโดยรวมตามภาคผนวก ค

เมื่อได้ตำรับที่เหมาะสมของเซรั่มบีด ไฮโดรเจลสำหรับแขวนลอยเซรั่มบีดและปริมาณของสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะที่นำมาใส่ในเซรั่มบีดแล้ว นำเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หิมะใส่ลงในไฮโดรเจลสำหรับแช่เซรั่มบีด และนำลงบรรจุภัณฑ์ที่เป็นขวดปั๊มสุญญากาศ ทำการประเมินการยอมรับจากผู้บริโภคและประเมินคุณภาพของเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่พัฒนาแล้ว

3.3 การประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

เมื่อได้ผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะเป็นที่เรียบร้อยแล้ว ทำการประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสจากผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะเทียบกับเซรั่มบีดที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าด้วยวิธี hedonic scale 5 ระดับ ได้แก่ คะแนนระดับที่ 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด, คะแนนระดับที่ 2 หมายถึง ไม่ชอบเล็กน้อย คะแนนระดับที่ 3 หมายถึง เฉย ๆ คะแนนระดับที่ 4 หมายถึง ชอบเล็กน้อย และคะแนนลำกับที่ 5 หมายถึง ชอบมากที่สุด โดยคัดเลือกอาสาสมัครทั้งหมด 30 คนที่สุขภาพแข็งแรง ไม่เป็นโรคทางผิวหนัง และไม่มีบาดแผลบริเวณที่ใช้ทดสอบ ประเมินถึงคุณลักษณะความชอบของสี กลิ่น เนื้อสัมผัส ความชุ่มชื้น การซึมซาบเข้าสู่ผิว และความชอบโดยรวมตามภาคผนวก ค

3.4 การประเมินลักษณะและความคงสภาพของเซรั่มบีด (ดัดแปลงจาก อัษฎางค์, 2556)

3.4.1 การทดสอบความคงตัวของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะเมื่ออยู่ในสภาวะปกติ

นำเซรั่มบีดใส่ขวดขนาด 100 กรัม ทดสอบที่ 3 สภาวะคือ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน และเก็บตัวอย่างในเดือนที่ 0 และ 3 เพื่อนำมาประเมินคุณภาพทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ

3.4.1.1 การประเมินคุณภาพทางกายภาพของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

นำตัวอย่างมาวัดความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด (Viscometer) และประเมินสี ด้วยเครื่องวัดสี

3.4.1.2 การประเมินคุณภาพทางเคมีของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

ทดสอบความเป็นกรดด่างด้วยเครื่องวัดพีเอช

3.4.1.3 การประเมินคุณภาพทางชีวภาพของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ (วนาพร, 2559; มะลิ, 2563)

ทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในเซรั่มบีดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยข้อกำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย โดยเครื่องสำอาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร มาตรฐานเลขที่ มอก. เอส 15-2561 (ภาคผนวก ง) โดยทำการส่งตรวจที่บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด ซึ่งทางบริษัทฯ ได้ทำการทดสอบการเจริญของเชื้อของจุลินทรีย์ด้วยวิธีทดสอบอ้างอิงมาตรฐาน USP

1) ทดสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในอากาศด้วยวิธี Total aerobic plate count เตรียมสารละลายตัวอย่างมาเจือจางแบบขั้นบันได (serial dilution) โดยใช้ปริมาณตัวอย่าง 10 กรัมหรือ 10 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายเจือจาง 90 มิลลิลิตรเพื่อให้ได้ความเข้มข้น 1 ใน 10 จากนั้นนำตัวอย่างมาทดสอบด้วยวิธี spread plate บนอาหาร Plate Count Agar แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง เกณฑ์ในการนับจำนวนโคโลนี ให้นับเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อ 30-300 โคโลนีต่อจานเพาะเลี้ยงเชื้อเท่านั้น และนำค่าไปคำนวณปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในอากาศที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์โดยใช้สมการ

$$\text{จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (cfu/g)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีบนจานเพาะเลี้ยง}}{\text{ปริมาณตัวอย่างที่ใส่ลงในจานเพาะเลี้ยง} \times \text{ระดับการเจือจาง}}$$

2) การตรวจเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ห้ามพบในเครื่องสำอาง

การตรวจเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ห้ามพบในเครื่องสำอางจะทดสอบตามมาตรฐาน USP

- *Pseudomonas aeruginosa* เตรียมตัวอย่างโดยนำตัวอย่างไม่ต่ำกว่า 1 กรัมมาทำเป็นสารละลายเจือจาง 1 ใน 10 จากนั้นใช้ 10 มิลลิลิตรหรือปริมาณเทียบเท่า 1 กรัม ผสมเข้าไปใน Soybean–Casein Digest Broth จากนั้นให้กรองตัวอย่างผ่าน transdermal patch ที่ปราศจากเชื้อ แล้วใส่ลงใน Soybean–Casein Digest Broth ก่อนจะบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างมาเพาะเลี้ยงบน Cetrimide Agar แล้วนำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-72 ชั่วโมง ทำการตรวจผล

- *Staphylococcus aureus* เตรียมตัวอย่างโดยนำตัวอย่างไม่ต่ำกว่า 1 กรัมมาทำเป็นสารละลายเจือจาง 1 ใน 10 จากนั้นใช้ 10 มิลลิลิตรหรือปริมาณเทียบเท่า 1 กรัม ผสมเข้าไปใน Soybean–Casein Digest Broth จากนั้นให้กรองตัวอย่างผ่าน transdermal patch ที่ปราศจากเชื้อ แล้วใส่ลงใน Soybean–Casein Digest Broth ก่อนจะบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างมาเพาะเลี้ยงบน Mannitol Salt Agar แล้วนำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-72 ชั่วโมง ทำการตรวจผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- *Candida albicans* นำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตรหรือปริมาณเทียบเท่า 1 กรัม มาผสมเข้าไปใน Sabouraud Dextrose Broth ก่อนจะบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นให้นำตัวอย่างที่บ่มแล้วมาเพาะเลี้ยงบน Sabouraud Dextrose Agar และบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทำการตรวจผล

- *Clostridium* spp. เตรียมตัวอย่างโดยนำตัวอย่างไม่น้อยกว่า 2 กรัมหรือ 2 มิลลิลิตรมาทำเป็นสารละลายเจือจาง 1 ใน 10 ให้ได้ปริมาตรรวมไม่ต่ำกว่า 20 มิลลิลิตร จากนั้นให้แบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วน ส่วนละ 10 มิลลิลิตร ส่วนแรกทำให้อุณหภูมิถึง 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาทีและทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว ส่วนที่สองไม่ต้องทำให้ร้อน จากนั้นให้นำแต่ละส่วนไปบ่มใน Reinforced Medium for Clostridia ภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจนที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการตรวจผล

3.5 การวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ที่มี 1 ปัจจัยคือตัวทำละลายสำหรับการสกัดถั่งเช่าหิมะเพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มากที่สุด การวิเคราะห์อัตราส่วนของสารก่อเจลโซเดียมแอลจิเนตและคาราจีแนน การวิเคราะห์ความคงตัวของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่ถูกเก็บรักษาในช่วงเวลา 0, 1 และ 3 เดือน ซึ่งนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Minitab version 18 ตามวิธีของ Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) และข้อมูลการทดสอบความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยการทดสอบ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การเตรียมสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะเพื่อหาปริมาณสารสำคัญเริ่มต้น

จากการศึกษาการสกัดสารสำคัญจากถั่งเช่าหิมะด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันคือ น้ำปราศจากไอออน (DI) ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PB) และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (PBS) โดยสกัดด้วยการนำไปต้มและตกตะกอนด้วยเอทานอล (EtOH) และสกัดด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (FD) เพื่อหาตัวทำละลายและวิธีที่เหมาะสมกับการสกัดสารสำคัญจากถั่งเช่าหิมะ

4.1.1 พอลิแซ็กคาไรด์

นำสารสกัดจากแต่ละตัวทำละลายและแต่ละวิธีไปวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีแอนโทรนให้ผลดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 การเปรียบเทียบชนิดสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ใช้ตัวทำละลายและวิธีที่ต่างกันที่มีผลต่อปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ในสารสกัด

ชนิดสารสกัดถั่งเช่าหิมะ	ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
EtOH DI	$38.59\pm2.99^{b,c}$
EtOH PB	42.02 ± 3.13^{b}
EtOH PBS	33.05 ± 1.13^{c}
FD DI	57.30 ± 0.50^{a}
FD PB	56.26 ± 2.26^{a}
FD PBS	55.03 ± 1.63^{a}

หมายเหตุ : 1) ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$), 2) ชื่อชนิดสารสกัดถั่งเช่าหิมะจะขึ้นต้นด้วยวิธีการสกัด และตามด้วยชนิดของตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางพบว่าการสกัดด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงกว่าการสกัดด้วยการนำไปต้มและตกตะกอนด้วยเอทานอลในทุกตัวทำละลาย แต่ในวิธีนี้เมื่อเทียบกับตัวทำละลายที่ต่างกันจะเห็นได้ว่าไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยน้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดที่ 57.3 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับจิราภรณ์, 2563 ซึ่งทำการสกัดด้วยการต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนและตกตะกอนด้วยเอทานอล และสกัดโดยใช้น้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลายใช้เครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีเดียวกัน ได้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์เท่ากับ 29.32 และ 65.78 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ ศันสุนีย์, 2561 ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์สารพอลิแซ็กคาไรด์จากดอกถั่งเช่าหิมะด้วยวิธีฟีนอลซัลฟิวริกและดีเอ็นเอส โดยสกัดด้วยการต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนและตกตะกอนด้วยเอทานอล ให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่ 50.31 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

4.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

นำสารสกัดจากแต่ละตัวทำละลายและแต่ละวิธีไปวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS ให้ผลดังตารางที่ 4.2

จากตารางพบว่าการสกัดด้วยการต้มและตกตะกอนด้วยเอทานอลให้ค่า IC_{50} ต่ำกว่าการสกัดด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ โดยสารสกัดที่ได้จากการต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนและนำไปตกตะกอนด้วยเอทานอล (EtOH DI) ให้ค่า IC_{50} ที่ต่ำที่สุด คือ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในวิธี DPPH ซึ่งแตกต่างกับสารสกัดที่ได้จากวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และให้ค่า IC_{50} ที่ต่ำที่สุด คือ 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในวิธี ABTS ซึ่งแตกต่างกับสารสกัดที่ได้จากวิธีทำแห้งด้วยเครื่องสุญญากาศด้วยตัวทำละลายทุกชนิด (FD DI, FD PB และ FD PBS) และสารสกัดที่ได้จากการต้มด้วยตัวทำละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์และนำไปตกตะกอนด้วยเอทานอล (EtOH PB) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างจากสารสกัดที่ได้จากการต้มด้วยตัวทำละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีนและนำไปตกตะกอนด้วยเอทานอล (EtOH PBS) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งค่า IC_{50} คือค่าปริมาณสารที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ยิ่งใช้จำนวนสารสกัดน้อยแต่ได้ผลการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ถึงร้อยละ 50 เท่ากับว่าสารสกัดนั้นให้ฤทธิ์ดี ดังนั้นการสกัดด้วยการต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนและตกตะกอนด้วยเอทานอลที่มีค่า IC_{50} น้อยที่สุด จึงให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 การเปรียบเทียบชนิดสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ใช้ตัวทำละลายและวิธีที่ต่างกันที่มีผลต่อค่าความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ในสารสกัด

ชนิดสารสกัดถั่งเช่าหิมะ	ความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ด้วยวิธี DPPH (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ด้วยวิธี ABTS (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
EtOH DI	0.20 ± 0.03^{a}	0.10 ± 0.00^{a}
EtOH PB	0.49 ± 0.04^{b}	0.15 ± 0.01^{b}
EtOH PBS	0.42 ± 0.01^{b}	$0.13\pm0.02^{a,b}$
FD DI	0.46 ± 0.03^{b}	$0.16\pm0.02^{b,c}$
FD PB	0.47 ± 0.04^{b}	$0.19\pm0.02^{c,d}$
FD PBS	0.81 ± 0.04^{c}	0.20 ± 0.00^{d}

หมายเหตุ : 1) ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$), 2) ชื่อชนิดสารสกัดถั่งเช่าหิมะจะขึ้นต้นด้วยวิธีการสกัด และตามด้วยชนิดของตัวทำละลาย

Sharma, 2015 ได้ทำการสกัด IPS จากหัวเชื้อเหลวถั่งเช่าหิมะด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเอทานอลแล้วนำไปวัดค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS ให้ค่า EC_{50} เท่ากับ 2.71 และ 3.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ Prommaban *et al.,* 2022 ได้ทำการสกัดถั่งเช่าหิมะด้วยน้ำ และวัดค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.05 และ 0.22 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และ วริษฎา และคณะ, 2561 ได้ทำการสกัดถั่งเช่าสีทองโดยการต้มใช้น้ำเป็นตัวทำละลายสกัด นำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง และผงสกัดถั่งเช่าสีทองไปวัดค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS ได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 6.77 และ 3.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งทุกงานวิจัยที่ได้กล่าวมาให้ค่า IC_{50} แตกต่างกันทั้งหมด

4.1.3 อะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน

นำสารสกัดจากแต่ละตัวทำละลายและแต่ละวิธีไปวิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถภาพสูงให้ผลดังตารางที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การเปรียบเทียบชนิดสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ใช้ตัวทำละลายและวิธีที่ต่างกันที่มีผลต่อปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินในสารสกัด

ชนิดสารสกัดถั่งเช่าหิมะ	ปริมาณอะดีโนซีน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)	ปริมาณคอร์ไดเซปิน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
EtOH DI	ND	ND
EtOH PB	ND	ND
EtOH PBS	ND	ND
FD DI	1.45±0.01[a]	0.22±0.01[a]
FD PB	1.47±0.04[a]	0.21±0.00[a]
FD PBS	1.41±0.04[a]	0.21±0.00[a]

หมายเหตุ : 1) ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05), 2) ชื่อชนิดสารสกัดถั่งเช่าหิมะจะขึ้นต้นด้วยวิธีการสกัด และตามด้วยชนิดของตัวทำละลาย, 3) ND หมายถึง Not Detect

จากตารางพบว่าการสกัดด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศในทุกตัวทำละลาย (FD DI, FD PB และ FD PBS) ให้ปริมาณอะดีโนซีน 1.45, 1.47 และ 1.41 มิลลิกรัมต่อต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และให้ปริมาณคอร์ไดเซปิน 0.22, 0.21 และ 0.21 มิลลิกรัมต่อต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แต่ทั้งอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินในทุกสารสกัดให้ค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการสกัดด้วยการต้มและตกตะกอนด้วยเอทานอลไม่พบอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินในทุกตัวทำละลาย เนื่องจากคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนเป็นสารละลายมีขั้ว จึงไม่สามารถตกตะกอนในเอทานอลซึ่งเป็นสารละลายกึ่งมีขั้วได้ เมื่อเทียบกับจิราภรณ์, 2563 ที่ใช้การสกัดด้วยวิธีเดียวกัน และตัวทำละลายเดียวกันคือน้ำปราศจากไอออน พบว่าค่าอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินที่ได้คือ 5.62 และ 0.32 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และ Prommaban *et al.,* 2022 ได้ทำการสกัดสารจากถั่งเช่าหิมะโดยการต้มในน้ำเดือด และทดสอบปริมาณสารสำคัญด้วยเครื่อง HPLC พบว่ามีปริมาณอะดีโนซีนอยู่ที่ 1.95 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง แต่ไม่พบคอร์ไดเซปินในสารสกัด ซึ่งในงานวิจัยนี้ให้ปริมาณสารสำคัญแตกต่างกับงานวิจัยทั้งสอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์สารสำคัญและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ปริมาณสารที่ได้นั้นขึ้นกับหลายปัจจัย ไม่ว่าจะเป็นแหล่งหัวเชื้อที่ใช้ แหล่งอาหารและสภาวะการเพาะเลี้ยง (Esclapez *et al.,* 2011; Fabricant & Farnsworth, 2001) กระบวนการเก็บรักษาตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ วิธีและตัวทำละลายที่ใช้สกัดต่างก็มีผลต่อปริมาณสารสำคัญและสารออกฤทธิ์ทั้งสิ้น (Fotsing Yannick Stéphane, 2022) ดังนั้นการเทียบปริมาณสารสำคัญและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอาจทำได้ยาก

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญคือปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคือสารต้านอนุมูลอิสระ การสกัดด้วยการต้มและตกตะกอนด้วยเอทานอล โดยใช้น้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลายสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด แต่ไม่พบปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน สำหรับการสกัดด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ โดยใช้น้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินสูงที่สุด ดังนั้นการเลือกสารสกัดที่มาจากวิธีสกัดด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูงและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศจึงเป็นตัวเลือกที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะ

4.2 การพัฒนาตำรับเซรั่มบีด

4.2.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของสารก่อเจลในตำรับเซรั่มบีด

จากการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อนเพื่อเตรียมเซรั่มบีดโดยการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนระหว่างโซเดียมแอลจิเนตกับไอออต้าคาราจีแนน และทำการตรวจสอบโครงสร้างอิมัลชันเชิงซ้อนทั้ง 6 ตำรับผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าในทุกตำรับสามารถเห็นหยดน้ำซ้อนอยู่ในหยดน้ำอีกที ดังรูปที่ 4.1 แสดงว่า อิมัลชันที่ได้เป็นอิมัลชันเชิงซ้อน การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนระหว่างโซเดียมแอลจิเนตกับไอออต้าคาราจีแนนจึงไม่มีผลต่อการสร้างอิมัลชันเชิงซ้อน

จากการทดสอบเปรียบเทียบชนิดและความเข้มข้นของสารก่อเจล โดยชนิดของสารก่อเจลที่ใช้คือ ไอออต้าคาราจีแนน โซเดียมแอลจิเนต และไอออต้าคาราจีแนนผสมกับโซเดียมแอลจิเนต ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อได้ตำรับเซรั่มแล้วนำมาศึกษาถึงลักษณะต่าง ๆ คือ ค่าพีเอช ลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่า สังเกตรูปร่างของเม็ดบีดที่ได้ และสังเกตลักษณะของเม็ดบีดที่แตกเมื่อทาลงบนผิว พบว่าค่าพีเอชก่อนขึ้นเม็ดบีดของเซรั่มมีค่าพีเอชไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในส่วนของลักษณะเม็ดบีดที่ได้ แสดงผลดังตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลการประเมินสารก่อเจลที่มีผลต่อลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของเซรั่มบีดทั้ง 6 ตำรับ

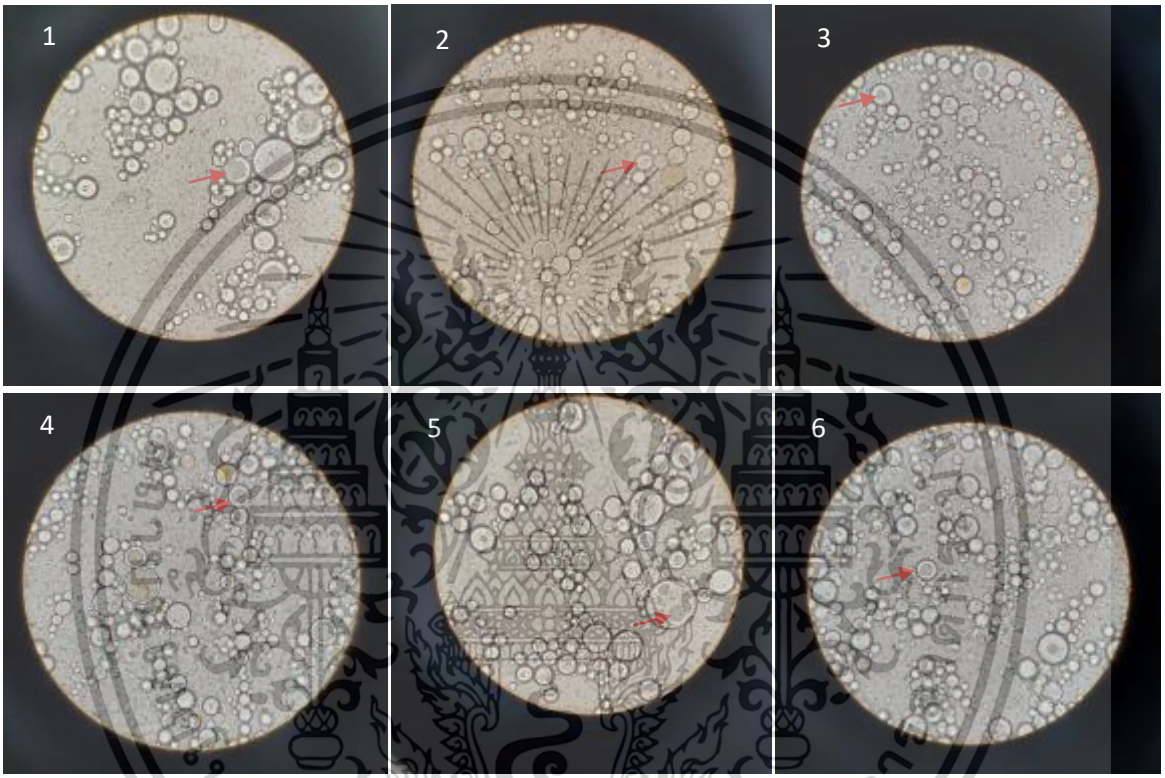
ตำรับ	ลักษณะทางกายภาพและทางเคมี	
	ค่าพีเอช	ลักษณะรูปร่างที่ได้หลังขึ้นรูปและเนื้อสัมผัสของเม็ดเซรั่มบีด
1	6±0.01[a]	เม็ดเซรั่มบีดไม่สามารถขึ้นรูปเป็นทรงกลม สามารถกดลงบนผิวและเกลี่ยให้กระจายบนผิวง่ายมาก
2	6±0.01[a]	เม็ดเซรั่มบีดค่อนข้างกลม สามารถกดลงบนผิวและเกลี่ยให้กระจายบนผิวได้ง่าย
3	6±0.02[a]	เม็ดเซรั่มบีดมีลักษณะเป็นทรงกลม สามารถกดลงบนผิวได้ปานกลางและเกลี่ยให้กระจายบนผิวได้ง่ายถึงปานกลาง
4	6±0.00[a]	เม็ดเซรั่มบีดมีลักษณะเป็นทรงกลม สามารถกดลงบนผิวได้ค่อนข้างยากและเกลี่ยให้กระจายบนผิวได้ยากกว่าตำรับที่ 3 เล็กน้อย
5	6±0.01[a]	เม็ดเซรั่มบีดมีลักษณะเป็นทรงกลม สามารถกดลงบนผิวและเกลี่ยให้กระจายบนผิวได้ยาก
6	6±0.02[a]	เม็ดเซรั่มบีดมีลักษณะเป็นทรงกลม กดลงบนผิวและเกลี่ยให้กระจายบนผิวได้ยากมาก

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

เมื่อนำเซรั่มไปหยดลงในแคลเซียมคลอไรด์เพื่อขึ้นเม็ดบีด พบว่าเมื่อใช้ไอออต้าคาราจีแนนเพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.50 โดยน้ำหนัก ได้ลักษณะของเม็ดบีดที่บีบแตกง่ายเละเกินไป และทำให้การขึ้นเม็ดบีดมีลักษณะเป็นแผ่น ไม่เป็นทรงกลม กลับกันเมื่อใช้โซเดียมแอลจิเนตเพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.50 โดยน้ำหนัก การขึ้นเม็ดบีดเป็นทรงกลมสวยงาม แต่เม็ดบีดแข็ง เหนียว และกดแตกยากมาก เมื่อใช้ไอออต้าคาราจีแนนผสมกับโซเดียมแอลจิเนตในอัตราส่วนต่าง ๆ เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมกับการขึ้นบีดดีที่สุด ดังผลการทดลองพบว่าเมื่อลดปริมาณไอออต้าคาราจีแนนและเพิ่มปริมาณโซเดียมแอลจิเนตส่งผลให้การขึ้นบีดเป็นทรงกลมมากขึ้น แต่ในขณะเดียวกันก็ทำให้เม็ดบีดแข็งตัวมากขึ้นเช่นกัน จึงทำการหาปริมาณของโซเดียมแอลจิเนตที่น้อยที่สุดที่สามารถก่อเจล และสามารถขึ้นเม็ดบีดทรงกลมเมื่อหยดลงแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยมวลต่อปริมาตรได้ จากผลการทดลองการใช้ไอออต้าคาราจีแนนที่ร้อยละ 0.30 และโซเดียมแอลจิเนตที่ร้อยละ 0.20 สามารถขึ้นเม็ดบีดที่มีลักษณะกลมและสามารถบีบแตกได้ง่าย คงตัว ไม่เละง่ายจนเกินไป ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงคัดเลือกตำรับที่ 3 ที่ใช้สัดส่วนของไอออต้าคาราจีแนนที่ร้อยละ 0.30 และโซเดียมแอลจิเนตที่ร้อยละ 0.20 เป็นตำรับพื้นฐานสำหรับนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดต่อไป

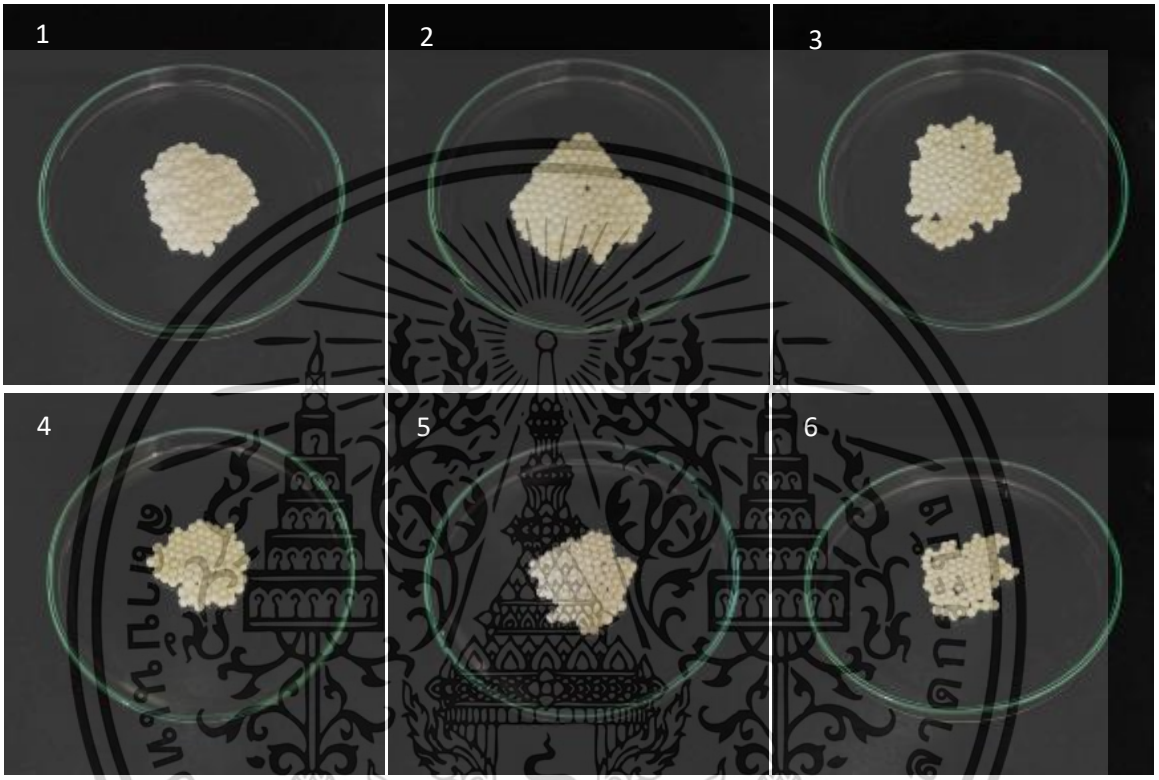


รูปที่ 4.1 ลักษณะโครงสร้างของอิมัลชันเชิงซ้อนในตำรับเซรั่มเมื่อส่องกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 100 X (1): ตำรับที่ 1; (2): ตำรับที่ 2; (3): ตำรับที่ 3; (4): ตำรับที่ 4; (5): ตำรับที่ 5 และ (6): ตำรับที่ 6

วิสสุตาและกุลภรณ์, 2553 ได้ทำการพัฒนาเม็ดบีดเครื่องสำอางบรรจุวิตามินอี โดยศึกษาถึงความคงตัวของเม็ดบีดที่ได้พัฒนาขึ้น พบว่าการเพิ่มอัตราส่วนของโซเดียมแอลจิเนตจะทำให้เม็ดบีดมีความแข็งแรงและคงตัวมากขึ้น และ จิรศิต และคณะ, 2561 ได้กล่าวไว้ว่าความสามารถในการก่อเจลหรือการเชื่อมขวางพันธะนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยปริมาณของสารทั้งสองชนิดคือโซเดียมแอลจิเนตและแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งกล่าวได้อีกอย่างว่าหากปริมาณของประจุลบ หรือสารก่อเจลซึ่งก็คือโซเดียมแอลจิเนตและไอออต้าคาราจีแนน กับประจุบวกหรือสารละลายรองรับซึ่งก็คือแคลเซียมคลอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไรด์ไม่สัมพันธ์กันจะไม่สามารถขึ้นเม็ดบีดเป็นทรงกลมและมีความคงตัวได้ และ จิรศิต และคณะ, 2561 ยังกล่าวเพิ่มอีกว่า หากปริมาณโซเดียมแอลจิเนตที่มากเกินไปจะมีผลทำให้เกิดการเชื่อมขวางพันธะได้ดี ส่งผลให้เกิดเม็ดบีดที่มีผนังแข็ง แตกยาก และกระจายตัวยากเมื่อทาบนผิว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ซึ่งเมื่อเพิ่มโซเดียมแอลจิเนตมาก ทำให้เม็ดบีดมีลักษณะที่แข็งและแตกยาก



รูปที่ 4.2 ลักษณะของเม็ดเซรั่มบีด (1): ตำรับที่ 1; (2): ตำรับที่ 2; (3): ตำรับที่ 3; (4): ตำรับที่ 4; (5): ตำรับที่ 5 และ (6): ตำรับที่ 6

4.2.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของไฮโดรเจลสำหรับแช่เซรั่มบีด

นำเซรั่มบีดที่ผสมลงในไฮโดรเจลทั้ง 3 ตำรับที่ความเข้มข้นแตกต่างกันมาทดสอบความชอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์โดยการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี hedonic scale 5 ระดับ ให้ผลการทดสอบดังตารางที่ 4.5

จากผลการทดลองพบว่าอาสาสมัครชื่นชอบความหนืด เนื้อสัมผัส และความชุ่มชื้นของตำรับที่ 3 มากที่สุด คือ 4.23, 4.30 และ 4.37 ตามลำดับ ซึ่งคะแนนระดับ 4 หมายถึง ชอบเล็กน้อย แต่ความชื่นชอบความหนืด เนื้อสัมผัส และความชุ่มชื้นไม่ต่างกับตำรับที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางสถิติ แต่เมื่อประเมินถึงความชอบโดยรวมพบว่าอาสาสมัครชื่นชอบตำรับที่ 3 มากที่สุดคือ 4.37 ซึ่งคะแนนความชอบมีความแตกต่างจากอีก 2 ตำรับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบความแตกต่างของไฮโดรเจลสำหรับแช่เซรั่มบีดที่มีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ตำรับ	ความหนืด	เนื้อสัมผัส	ความชุ่มชื้น	การซึมซาบเข้าสู่ผิว	ความชอบโดยรวม
1	3.37 ± 1.00^{b}	3.33 ± 0.84^{b}	3.77 ± 0.77^{b}	3.47 ± 1.00^{a}	3.47 ± 0.73^{b}
2	$3.87\pm0.86^{a,b}$	$3.80\pm0.85^{a,b}$	$4.10\pm0.76^{a,b}$	3.63 ± 0.89^{a}	3.77 ± 0.73^{b}
3	4.23 ± 0.78^{a}	4.30 ± 0.79^{a}	4.37 ± 0.77^{a}	3.83 ± 1.12^{a}	4.37 ± 0.67^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

จากนั้นทำการประเมินลักษณะทางกายภาพ คือ ค่าความหนืดและค่าพีเอช โดยประเมินลักษณะเหล่านี้ก่อนเก็บในสภาวะเร่ง (สัปดาห์ที่ 0) และหลังเก็บผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และประเมินความสามารถในการแขวนลอยของเม็ดเซรั่มบีดภายในไฮโดรเจลด้วยตาเปล่า ให้ผลดังตารางที่ 4.6 และรูปที่ 3

ผลการศึกษาความคงตัวและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่แขวนลอยอยู่ในไฮโดรเจล Carbopol® ultrez 20 ในสภาวะเร่งเพื่อประเมินความคงตัวของไฮโดรเจล Carbopol® ultrez 20 โดยวิเคราะห์ค่าพีเอช ค่าความหนืดก่อน-หลังเก็บรักษา และความสามารถในการแขวนลอยของเม็ดเซรั่มบีด เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดมีค่าพีเอชระหว่างก่อน-หลังเก็บรักษาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีค่าความหนืดระหว่างก่อน-หลังเก็บรักษาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับ สุกัญญา, 2564 ที่ได้ทำการศึกษาความหนืดของผลิตภัณฑ์ไฮโดรเจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดบรอกโคลีเมื่อเก็บรักษาในสภาวะเร่ง พบว่าความหนืดของผลิตภัณฑ์ลดลงในทุกตำรับพื้นฐาน และสอดคล้องกับ Aung *et al.,* 2022 ที่พัฒนายารักษาสิวโดยใช้ไฮโดรเจล Carbopol® ultrez 20 เป็นส่วนประกอบ ในขั้นตอนระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือนพบว่ามีค่าพีเอชระหว่างก่อนและหลังเก็บรักษาไม่มีความแตกต่างกัน แต่หลังจากเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่แขวนลอยอยู่ในไฮโดรเจล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าค่าความหนืดมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังเก็บรักษาสภาวะเร่ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยทั่วไปแล้วผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ถูกเก็บรักษาในสภาวะเร่งมักจะมีความหนืดที่ลดลง เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น โมเลกุลจะสามารถเอาชนะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลได้ ส่งผลให้ระยะห่างระหว่างโมเลกุลเพิ่มขึ้นและมีความหนืดลดลง และ Benderly and Zolotarsky, 2013 ได้ทำการทดสอบถึงความเป็นอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte) ที่มีผลต่อความหนืดของเจล พบว่าค่าความหนืดลดลงอย่างมากเมื่อเจล Carbopol® ultrez 20 เจอกับอิเล็กโทรไลต์ ทั้งนี้เนื่องจาก Carbopol® ultrez 20 จะให้เนื้อสัมผัสที่ดีเมื่อไม่มีอิเล็กโทรไลต์ เช่นเดียวกับ Hurler *et al.*, 2012 ที่ได้กล่าวไว้ว่าไฮโดรเจลโดยเฉพาะกลุ่ม carbopol จะสูญเสียความหนืดเมื่อเจอกับส่วนประกอบของอิเล็กโทรไลต์

ตารางที่ 4.6 ผลการประเมินความคงตัวของไฮโดรเจลสำหรับแช่บีดในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 สัปดาห์ที่มีผลต่อค่าพีเอชและค่าความหนืด

ตำรับ	ค่าพีเอช		ค่าความหนืด (cP)	
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 8
1	4.78±0.01^{a}	4.83±0.01^{a}	902.13±4.37^{c}	321.60±1.01^{c*}
2	4.66±0.01^{b}	4.70±0.01^{b}	5,912.00±12.50^{b}	591.20±5.67^{b*}
3	4.60±0.01^{c}	4.65±0.01^{c}	7,133.33±15.30^{a}	5,966.00±33.00^{a*}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05), เครื่องหมาย * ในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังเก็บรักษาสภาพผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดด้วยสภาวะเร่งโดยใช้การทดสอบ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

อย่างไรก็ตาม การฟอร์มเม็ดเซรั่มบีดด้วยเทคนิคไอออนิกเจลเลชั่นจำเป็นจะต้องใช้ความต่างของประจุในการขึ้นรูป ดังนั้น ถึงแม้ว่าหลังขึ้นรูปเม็ดเซรั่มบีดจะได้ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนก่อนนำไปแขวนลอยในไฮโดรเจล Carbopol® ultrez 20 ที่เตรียมไว้ แต่ก็มีโอกาสที่จะมีประจุหลงเหลืออยู่กับเม็ดเซรั่มบีด จึงทำให้ค่าความหนืดโดยรวมลดลงหลังเก็บรักษา ทั้งนี้ทั้งนั้นเม็ดเซรั่มบีดยังสามารถแขวนลอยอยู่ภายในเจลได้ถึงแม้ว่าความหนืดจะลดลงไปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อมองด้วยตาเปล่าจึงเห็นว่าลักษณะภายนอกของผลิตภัณฑ์ดูไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับ Hurler *et*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

al., 2012 ที่ได้ทดสอบความคงตัวของ Carbopol และไคโตซานด้วยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์พบว่า Carbopol สูญเสียโครงสร้างของเจลไปเพียงเล็กน้อยและไม่มีการเปลี่ยนแปลงถึงรูปลักษณ์ภายนอก แต่กลับกันกับไคโตซานที่สูญเสียโครงสร้างเจลเดิมไปเกือบทั้งหมดและรูปลักษณ์ภายนอกเปลี่ยนไปอย่างชัดเจน

รูปที่ 4.3 ลักษณะภายนอกของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดก่อนเก็บรักษา (สัปดาห์ที่ 0) (1a): ตำรับที่ 1; (2a): ตำรับที่ 2; (3a): ตำรับที่ 3 และผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดหลังเก็บรักษา (สัปดาห์ที่ 8) (1b): ตำรับที่ 1; (2b): ตำรับที่ 2; (3b): ตำรับที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาจากการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของอาสาสมัครทั้ง 30 คน ดังตารางที่ 4.5 พบว่ามีความชื่นชอบผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่แขวนลอยอยู่ในไฮโดรเจลของตำรับที่ 3 มากที่สุด ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงเลือกตำรับของไฮโดรเจลที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดและอาสาสมัครชื่นชอบมากที่สุดคือตำรับที่ 3 เป็นตำรับที่เหมาะสมที่สุดในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เซรั่มบีด

4.2.3 การหาปริมาณที่เหมาะสมของสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะในเซรั่มบีด

เมื่อได้ตำรับเซรั่มบีดและตำรับของไฮโดรเจลสำหรับแช่บีดที่เหมาะสมแล้วคือเซรั่มบีดตำรับที่ 3 และไฮโดรเจลสำหรับแช่บีดตำรับที่ 3 ซึ่งเมื่อนำมาประกอบกันจะได้ตำรับพื้นฐานเซรั่มบีด จากนั้นทำการศึกษาถึงปริมาณสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะในเซรั่มบีดที่เหมาะสม ทำการเปรียบเทียบปริมาณของสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่แตกต่างกันที่ร้อยละ 0.60, 0.80 และ 1.00 โดยใช้ค่าความหนืด ค่าพีเอช และค่าสีเป็นตัวชี้วัด ได้ผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่มีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี

ตำรับ	ความหนืด	ค่าพีเอช	L*	a*	b*
ตัวควบคุม	7,182.67±256^{a}	4.87±0.02^{a,b}	66.60±0.05^{a}	-0.92±0.35^{a}	-1.29±0.03^{c}
1	7,147.67±175^{a}	4.86±0.01^{b}	60.23±0.07^{b}	-1.58±0.03^{b}	3.97±0.03^{b}
2	7,050.33±26.8^{a}	4.84±0.01^{b}	58.43±0.16^{c}	-1.59±0.02^{b}	5.08±0.04^{a}
3	7,080.33±26.8^{a}	4.88±0.01^{a}	56.65±0.22^{d}	-1.51±0.01^{b}	5.17±0.04^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

จากผลการทดลองพบว่าค่าความหนืดของทุกตำรับรวมถึงตัวควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าปริมาณของสารสกัดถั่งเช่าหิมะไม่ได้ส่งผลกระทบถึงความหนืดของผลิตภัณฑ์ ในส่วนของค่าพีเอชพบว่าเมื่อเติมสารสกัดถั่งเช่าหิมะทำให้ค่าพีเอชในตำรับเปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีความเป็นกรดมากขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับตัวควบคุม แต่อย่างไรก็ตามค่าพีเอชของทุกตำรับรวมถึงตัวควบคุมยังอยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ดูแลผิวตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร (ภาคผนวก ง) สำหรับค่าสีของตำรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซรั่มบีดทั้ง 3 ตำรับและตัวควบคุมมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยิ่งเพิ่มปริมาณสารสกัดถั่งเช่าหิมะในตำรับมากเท่าไหร่ ค่า L* ยิ่งลดลงเท่านั้น ซึ่งค่า L* ยิ่งเลขน้อย ยิ่งมีความทึบมาก และในส่วนของค่า b* ยิ่งตัวเลขเพิ่มขึ้น ยิ่งมีความเป็นสีเหลืองมากขึ้น ดังนั้นสีของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่มีสารสกัดปริมาณมากก็ยิ่งเข้มและมีสีเหลืองมากขึ้น จึงสรุปได้ว่า ปริมาณสารสกัดถั่งเช่าหิมะจึงส่งผลต่อสีของตำรับเซรั่มบีด ซึ่งสอดคล้องกับ Sim and Nyam, 2021 ได้ศึกษาถึงการใช้สารสกัดจากใบปอแก้วในเครื่องสำอาง พบว่าการเพิ่มสารสกัดจากใบปอแก้วส่งผลถึงสีและพีเอชของตำรับเครื่องสำอาง แต่อย่างไรสีและพีเอชที่เปลี่ยนไปไม่ได้มีผลกระทบถึงความเหมาะสมของผลิตภัณฑ์

เมื่อนำผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ความเข้มข้นแตกต่างกันไปประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์โดยการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี hedonic scale 5 ระดับ ให้ผลการทดสอบดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่มีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ตำรับ	สี	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	ความชุ่มชื้น	การซึมซาบเข้าสู่ผิว	ความชอบโดยรวม
ตัวควบคุม	4.07±1.02^{a}	2.93±0.94^{a}	3.70±0.70^{a}	3.80±0.61^{a}	3.43±1.01^{a}	3.50±0.63^{a}
1	3.80±0.89^{a,b}	3.33±1.16^{a}	3.67±0.16^{a}	3.93±0.83^{a}	3.30±0.95^{a}	3.50±0.73^{a}
2	3.77±0.94^{a,b}	3.20±1.00^{a}	3.73±0.69^{a}	4.20±0.93^{a}	3.50±1.04^{a}	3.87±0.68^{a}
3	3.13±1.14^{b}	2.70±0.84^{a}	3.73±0.74^{a}	4.17±0.79^{a}	3.73±0.98^{a}	3.53±0.57^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสจากอาสาสมัครทั้งหมด 30 คนพบว่าอาสาสมัครชื่นชอบสีจากตัวควบคุมมากที่สุดและชื่นชอบสีจากตำรับที่ 3 น้อยที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งหมายความว่าอาสาสมัครไม่ยอมรับทางประสาทสัมผัสทางด้านสีของสารสกัดถั่งเช่าหิมะ โดยเฉพาะในตำรับที่ 3 ที่มีส่วนผสมของสารสกัดถั่งเช่าหิมะมากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามการประเมินความชอบกลิ่น เนื้อสัมผัส ความชุ่มชื่น การซึมซาบเข้าสู่ผิว และความชอบโดยรวมทั้ง 3 ตำรับและตัวควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากผลการทดสอบการยอมรับทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสาทสัมผัสนี้สามารถบอกได้ว่าปริมาณสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่แตกต่างกันในตำรับเซรั่มบีดไม่ได้มีผลกระทบต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น เนื้อสัมผัส ความชุ่มชื้น การซึมซาบสู่ผิวและความชอบโดยรวม แต่มีผลกระทบต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสี ดังนั้น เพื่อให้ผู้วิจัยสามารถคัดเลือกตำรับเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่เหมาะสมที่สุด จึงได้คัดเลือกตำรับที่ 1 และตำรับที่ 2 ที่มีค่าการยอมรับทางประสาทสัมผัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมาประเมินด้วยการวัดสารสำคัญอย่างอะดีโนซีนในเซรั่มถั่งเช่าหิมะ ให้ผลทดสอบดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบวัดปริมาณสารอะดีโนซีนในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะ

ตำรับ	อะดีโนซีน (มิลลิกรัม ต่อ กรัมน้ำหนักแห้ง)
1	0.03 ± 0.00^{b}
2	0.04 ± 0.00^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

จากผลการวิเคราะห์สารสำคัญอะดีโนซีนในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะในตำรับที่ 1 และตำรับที่ 2 ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถภาพสูง พบว่าตำรับที่ 2 มีปริมาณสารสำคัญที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ มีสารอะดีโนซีนอยู่ในตำรับที่ 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของถั่งเช่าหิมะ ซึ่งมากกว่าผลิตภัณฑ์เซรั่มถั่งเช่าหิมะในตำรับที่ 1 ดังนั้น ทางผู้วิจัยจึงเลือกตำรับที่ 2 หรือตำรับเซรั่มบีดที่มีส่วนผสมสารสกัดถั่งเช่าหิมะร้อยละ 0.80 เป็นตำรับที่เหมาะที่สุดในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะ

4.2.4 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะเทียบกับเซรั่มบีดที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า

เมื่อได้ตำรับผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะสุดท้ายแล้ว นำไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดทางการค้าด้วยวิธี hedonic scale 5 ระดับ พบว่าอาสาสมัครมีความชื่นชอบสี กลิ่น เนื้อสัมผัส ความชุ่มชื้น และความชอบโดยรวมของเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะมากกว่าเซรั่มบีดที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีคะแนนความชอบสี ความชอบกลิ่น และความชอบด้านการซึมซาบเข้าสู่ผิวอยู่ที่ 3.83, 3.57 และ 3.50 ตามลำดับ ซึ่งหมายถึง เฉย ๆ และมีคะแนนความชอบเนื้อสัมผัส ความชุ่มชื้น และความชอบโดยรวมอยู่ที่ 4.13,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.27 และ 4.10 ตามลำดับ ซึ่งหมายถึง ชอบเล็กน้อย ผลแสดงดังตารางที่ 4.10 ดังนั้น กล่าวสรุปได้ว่าอาสาสมัครมีการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะมากกว่าผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า

ตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะเทียบกับเซรั่มบีดที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าด้านการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ตำรับ	สี	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	ความชุ่มชื้น	การซึมซาบเข้าสู่ผิว	ความชอบโดยรวม
เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะ	3.83±0.95[a]	3.57±0.90[a]	4.13±0.82[a]	4.27±0.79[a]	3.50±0.86[a]	4.10±03.1[a]
เซรั่มบีดที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า	3.03±1.03[b]	2.93±1.17[b]	3.10±0.85[b]	3.53±1.01[b]	3.37±1.13[a]	3.23±0.86[b]

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

4.2.5 การประเมินลักษณะและความคงสภาพของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

4.2.5.1 การประเมินคุณภาพทางกายภาพของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

ก่อนการศึกษาความคงตัวทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะได้ทำการวัดความหนืดและค่าสีก่อนเก็บรักษา ได้ค่าความหนืดที่ 7,466 เซนติพอยต์ และค่าสีระบบ L* a* b* ที่ L*60.23, a*-1.59 และ b*5.08 หมายถึงมีสีไปทางเหลืองเขียวและเข้ม จากนั้นนำเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันคือ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส ในเดือนที่ 3 นำเซรั่มถั่งเช่าหิมะมาวัดความหนืดและวัดค่าสีอีกครั้ง พบว่าค่าความหนืดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกช่วงอุณหภูมิ โดยเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีความหนืดมากที่สุด คือ 11,616.70 เซนติพอยต์ และเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสมีความหนืดน้อยที่สุด คือ 2,450 เซนติพอยต์ และเมื่อเปรียบเทียบค่าความหนืดระหว่างก่อนเก็บรักษา (0 เดือน) และหลังเก็บรักษา (3 เดือน) ในช่วงอุณหภูมิที่ต่างกัน พบว่าก่อนเก็บรักษาและหลังเก็บรักษาในทุกอุณหภูมิมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงผลดังตารางที่ 4.11 และพบว่าค่าสีหลังเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยที่ผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มที่จะมีสีเข้มขึ้นจากค่า L* ที่เพิ่มขึ้น และมีสีแดงมากขึ้นจากค่า a* ที่เพิ่มขึ้นหลังเก็บรักษา แสดงผลดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.11 ผลการเก็บรักษาในช่วงอุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือนที่มีผลต่อค่าความหนืด

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าความหนืด (เซนติพอยต์; cP)	
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 3
4	7,466.70±37.30^{a}	11,616.70±65.10^{a*}
25	7,466.70±37.30^{a}	5,573.30±18.00^{b*}
45	7,466.70±37.30^{a}	2,450.00±22.70^{c*}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05), เครื่องหมาย * ในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังเก็บรักษาสภาพผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดเป็นเวลา 3 เดือน โดยใช้การทดสอบ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

ค่าความหนืดของเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่เพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาในที่อุณหภูมิต่ำ (4 องศาเซลเซียส) อาจเกิดขึ้นได้จากการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของพอลิเมอร์ เมื่ออุณหภูมิลดลง โมเลกุลของเจลจะสามารถเคลื่อนที่ได้ลดลง ก่อให้เกิดการสร้างพันธะเชื่อมขวางที่แข็งแรงขึ้น ส่งผลให้เซรั่มมีความหนืดมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Yağmur *et al*., 2023 ที่ได้ศึกษาการเก็บรักษามาสก์เจล พบว่าค่าความหนืดของเจลเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 สัปดาห์ และ Stojkov *et al*., 2021 ได้กล่าวถึงความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและความหนืดของไฮโดรเจล โดยที่ความหนืดจะเพิ่มขึ้นจากการที่โครงข่ายของพอลิเมอร์มีความเสถียรมากขึ้น เมื่ออยู่ในที่อุณหภูมิต่ำ

ค่าความหนืดของเซรั่มถั่งเช่าหิมะลดลงเมื่อเก็บรักษาในที่อุณหภูมิสูง (45 องศาเซลเซียส) อาจเกิดขึ้นได้จากการเสื่อมสภาพของไฮโดรเจล เมื่อโครงสร้างภายในไฮโดรเจลเกิดการเสียรูปจากการได้รับความร้อนเป็นเวลานาน จึงทำให้ความหนืดลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ Deuschle *et al.,*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2019 ที่ใช้ Carbopol® ultrez 20 เป็นสารสำหรับการสร้างเจลในผลิตภัณฑ์เจลต้านการอักเสบบนผิวหนังที่มีส่วนผสมสารสกัดหยาบของ *Persea americana* และได้ทำการทดสอบความคงตัวของสูตรเจลด้วยการวัดความหนืดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน ให้ผลการทดลองว่าความหนืดของเจลลดลง สำหรับสูตรที่มี *P. americana* ร้อยละ 1 และร้อยละ 3 คือ ร้อยละ 18.70 และ 15.10 ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม เมื่อเก็บรักษาเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะไว้เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าค่าความหนืดมีการเปลี่ยนแปลงในทุกช่วงอุณหภูมิ Hennink and Nostrum, 2012 ได้กล่าวไว้ว่าไฮโดรเจลที่เกิดจากการเชื่อมขวางทางกายภาพมีความแข็งแรงเชิงกลและความคงทนน้อย ซึ่งมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ประกอบไปด้วยไฮโดรเจลที่เกิดจากการเชื่อมขวางทางกายภาพเสียสภาพได้ง่ายกว่า ในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะมีการก่อเจลโดยการเชื่อมขวางด้วยความแตกต่างของประจุ หรือการเชื่อมขวางทางกายภาพ จึงมีโอกาสที่จะเสียสภาพเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานาน

โดยค่าความหนืดเป็นตัวประเมินถึงผลิตภัณฑ์ดูแลผิวที่มีคุณภาพ จึงสามารถนำมาเป็นหนึ่งในตัวชี้วัดถึงความคงตัวของผลิตภัณฑ์ได้ (Hashim *et al*., 2009). หากผลิตภัณฑ์มีค่าความหนืดที่ลดลง นั่นหมายความว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีแนวโน้มที่จะไม่คงตัว ดังนั้น จากค่าความหนืดที่เปลี่ยนแปลงไปของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดจึงมีแนวโน้มที่จะไม่คงตัว

ตารางที่ 4.12 ผลการเก็บรักษาในช่วงอุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือนที่มีผลต่อค่าสีระบบ L* a* b*

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าสี					
	L*		a*		b*	
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 3	เดือนที่ 0	เดือนที่ 3	เดือนที่ 0	เดือนที่ 3
4	60.23±0.07^{a}	60.27±0.14^{b}	-1.59±0.01^{a}	-1.61±0.07^{a}	5.08±0.04^{a}	5.06±0.05^{a}
25	60.23±0.07^{a}	60.23±0.12^{b}	-1.59±0.01^{a}	-1.59±0.05^{a}	5.08±0.04^{a}	5.07±0.06^{a}
45	60.23±0.07^{a}	60.73±0.10^{a*}	-1.59±0.01^{a}	-1.51±0.02^{a*}	5.08±0.04^{a}	5.04±0.02^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05), เครื่องหมาย * ในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังเก็บรักษาสภาพผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดเป็นเวลา 3 เดือน โดยใช้การทดสอบ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าสีที่เกิดการเปลี่ยนแปลงนั้นอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงสารสีของสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่เป็นสารสกัดจากธรรมชาติ โดยเฉพาะเมื่อเก็บรักษาในที่อุณหภูมิสูงจะมีโอกาสเกิดการเปลี่ยนแปลงมากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของยามีละและลัดดาวัลย์, 2565 ได้ทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อดูแลสุขภาพมารดาหลังคลอดในช่วงอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เกิดการเปลี่ยนแปลง คือ มีสีเข้มขึ้น และได้สรุปไว้ว่าควรเก็บสารสกัดในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เนื่องจากสามารถทำให้ผลิตภัณฑ์คงตัวได้นาน

4.2.5.2 การประเมินคุณภาพทางเคมีของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

ทำการประเมินคุณภาพทางเคมี คือ ค่าพีเอช ที่เก็บรักษาในช่วงอุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน ให้ผลดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 ผลการเก็บรักษาในช่วงอุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือนที่มีผลต่อค่าพีเอช

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าพีเอช	
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 3
4	4.98±0.02[a]	5.03±0.01[a]
25	4.98±0.02[a]	5.04±0.05[a]
45	4.98±0.02[a]	5.09±0.02[a*]

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05), เครื่องหมาย * ในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังเก็บรักษาสภาพผลิตภัณฑ์เซรั่มบีด เป็นเวลา 3 เดือน โดยใช้การทดสอบ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

จากผลการวิเคราะห์พบว่า ผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะมีค่าพีเอชระหว่างก่อน-หลังเก็บรักษาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและ 25 องศาเซลเซียส แต่พบว่าเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ค่าพีเอชจากเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่เก็บรักษาในทุกอุณหภูมิเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลา 3 เดือนก็ยังอยู่ในช่วงค่าพีเอช 3.5-7.5 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ของมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร มาตรฐานเลขที่ มอก. เอส 15-2561 (ภาคผนวก ง) ดังนั้นผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่เก็บรักษาสภาพเป็นเวลา 3 เดือนยังสามารถรักษาคุณภาพทางเคมีได้ตามมาตรฐาน

4.2.5.3 การประเมินคุณภาพทางชีวภาพของเซรั่มบีดที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในอากาศพบว่ามีจำนวนน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม และไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในเครื่องสำอางในทุกช่วงอุณหภูมิที่ทำการเก็บรักษา (4, 25, และ 45 องศาเซลเซียส) ตามรายงานผลการทดสอบตามภาคผนวก จ ซึ่งสอดคล้องกับประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยข้อกำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขายโดยเครื่องสำอาง และมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร มาตรฐานเลขที่ มอก. เอส 15-2561 (ภาคผนวก ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการสกัดถั่งเช่าหิมะด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันและวิธีที่ต่างกัน พบว่าการใช้น้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลายและใช้วิธีการสกัดสารด้วยเครื่องเขย่าสารโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศให้ปริมาณสารสำคัญเหมาะสมที่สุดเพื่อนำไปเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีด โดยให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์ไดเซปินสูงสุดที่ 57.3, 1.45 และ 0.22 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ และให้ค่าความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ที่ 0.46 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อวัดด้วยวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ

จากการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสร้างเม็ดบีดจากอิมัลชัน โดยการเปรียบเทียบอัตราส่วนของสารก่อเจลที่เหมาะสมต่อการตั้งตำรับ พบว่าอัตราส่วนระหว่างไอออต้าคาราจีแนนกับโซเดียมแอลจิเนตที่เหมาะสมที่สุดคือ 0.30:0.20 โดยให้ลักษณะของอิมัลชันเชิงซ้อนน้ำในน้ำมันในน้ำ และเมื่อนำมาขึ้นรูปเม็ดบีดสามารถให้ลักษณะทรงกลม สามารถกดลงบนผิวและเกลี่ยให้กระจายบนผิวได้ง่าย

จากการศึกษาความสามารถในการแขวนลอยของเม็ดบีดในเจลโดยใช้ไฮโดรเจล Cabopol Ultrez 20 ที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าทุกความเข้มข้นสามารถแขวนลอยเม็ดบีดได้ แต่เมื่อทดสอบความคงตัวของไฮโดรเจลที่ใช้แขวนลอยเม็ดเซรั่มบีด พบว่าค่าความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม เมื่อนำไปทดสอบประสาทสัมผัสกับอาสาสมัครจำนวน 30 คน พบว่าให้การยอมรับทางประสาทสัมผัสตำรับไฮโดรเจลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.70 มากที่สุด และตำรับนี้ยังมีค่าความหนืดเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด

จากการหาปริมาณของสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่เหมาะสมสำหรับใส่ในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีด พบว่าการใช้สารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ร้อยละ 0.8 ในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดมีความเหมาะสมที่สุด

จากการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะกับเซรั่มบีดทางการค้าโดยใช้อาสาสมัครจำนวน 30 คน พบว่าอาสาสมัครมีการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสีกลิ่น เนื้อสัมผัส ความชุ่มชื้น และความชอบโดยรวมของเซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะมากกว่าเซรั่มบีดที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบความคงสภาพทางกายภาพและทางเคมีของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะ เป็นเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าการเก็บผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ให้ค่าความหนืดเพิ่มขึ้น แต่ค่าสีและค่าพีเอชไม่มีการเปลี่ยนแปลง การเก็บผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่อุณหภูมิห้องหรือ 25 องศาเซลเซียส ให้ค่าความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่าสีและค่าพีเอชไม่มีการเปลี่ยนแปลง และการเก็บผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงทั้งค่าความหนืด ค่าสี และค่าพีเอชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการประเมินคุณภาพทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดด้วยการตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ พบว่ามีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในอากาศน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม และไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในเครื่องสำอาง ซึ่งสอดคล้องกับประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยข้อกำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย โดยเครื่องสำอาง และมาตรฐานอุตสาหกรรม เอส ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร มาตรฐานเลขที่ มอก. เอส 15-2561

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาความคงตัวของสารสกัดถั่งเช่าหิมะเพิ่มเติม เพื่อให้สามารถเก็บรักษาสารสกัดไว้ได้นานยิ่งขึ้น

5.2.2 ควรศึกษาวิธีการสกัดอื่น ๆ เพื่อดึงสารสำคัญภายในถั่งเช่าหิมะออกมาให้บริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น ลดปัญหาที่เกิดจากสารสกัดหยาบ เช่น สี กลิ่น ที่ไม่พึงประสงค์ และความคงสภาพอื่น ๆ ของสารสกัดที่อาจส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

5.2.3 ควรศึกษาถึงความเป็นพิษต่อเซลล์ เพื่อความปลอดภัยในการใช้ผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะที่เพิ่มขึ้น

5.2.4 ควรศึกษาถึงปริมาณของสารสำคัญภายในผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะ และทดสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์กับสัตว์ทดลอง เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะให้สามารถนำมาใช้งานได้จริงในมนุษย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กระทรวงสาธารณสุข. 2559. **ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. 2559.** [ประกาศ]. https://www.thaicosmetic.org/documents/Cosmetic133-72.pdf

กัมปนาท หวลบุตตา และธนิกานต์ แสงนิ่ม. 2556. "การประยุกต์ใช้พอลิเมอร์ที่ได้จากทรัพยากรทางทะเลในทางเภสัชกรรม." *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา.* 18(2) : 263-273.

เกล็ดแก้ว ด่านวิวัฒน์. 2543. **พื้นฐานกายวิภาคศาสตร์ของมนุษย์**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

จิรศิต อินทร, ญาณิศา จินดาหลวง และเปรมนภา สีโสภา. 2561. "การพัฒนาเม็ดบีดอิมัลชันเพื่อใช้เป็นส่วนผสมผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง." หน้า 443-449. ใน **การประชุมวิชาการระดับชาติพิบูลสงครามวิจัย ครั้งที่ 4 ประจำปี พ.ศ. 2561.** พิษณุโลก : มหาวิยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.

จิราภรณ์ พิมพ์ทอง. 2563. "การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวหน้าที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ธัญญา ทะพิงค์แก, มงคล ยะไชย และวรรณพร ทะพิงค์แก. 2556. **รายงานวิจัยเรื่องผลของวิธีการเพาะเลี้ยงต่อการผลิตสารคอร์ไดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง.** เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

ธัญญา ทะพิงค์แก. 2553. **"เอกสารประกอบการอบรบเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การเพาะเห็ดถั่งเช่า รุ่นที่ 1 วันเสาร์ที่ 9 ตุลาคม 2553."** เชียงใหม่ : สำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่. เอกสารอัดสำเนา

ธเนศ พงศ์จรรยากุล. 2555. **แอลจิเนต: พอลิเมอร์ธรรมชาติสู่ระบบนำส่งยา**. ขอนแก่น : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. "อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ." *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 21 : 275-286.

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2536. **อิมัลชันเครื่องสำอาง.** เชียงใหม่ : โครงการตำรา งานส่งเสริมการวิจัยและตำรา กองบริการการศึกษา สำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2543. **เครื่องสำอางธรรมชาติ ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง.** เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. **การสกัด.** [Online]. Available: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0309/extraction-สารสกัด.

มะลิ วิโรจน์แสงทอง. 2563. "ขีดจำกัดจุลินทรีย์ในเครื่องสำอาง." *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน.* 17(1) : 1-12.

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม. **อิมัลชันบีด (emulsion bead) ที่มีสารสกัดขลู่และอะโวคาโด.** ประเทศไทย. อนุสิทธิบัตรไทย เลขที่ 15153. 12 ธันวาคม 2560.

ยามีละ ดอแม และลัดดาวัลย์ ชูทอง. 2565. "การพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อดูแลสุขภาพมารดาหลังคลอด." *วารสารศิลปะการจัดการ.* 6(1) : 455-470.

ระวีวรรณ พันธุ์พานิช. 2540. **เอกสารประกอบการสอนแบบแผนเชิงสถิติของการทดลอง.** กรุงเทพฯ : คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

วนาพร แซ่อั้ง. 2559. "การสกัดและการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวไร่เพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง." ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วริษฎา ศิลาอ่อน, ไพจิตร ศรีธนานุวัฒน์ และอุษณา พัวเพิ่มพูนศิริ. 2561. "การพัฒนาชุดผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับฟื้นฟูสภาพผิวหน้าที่ผสมสารสกัดถั่งเช่าสีทอง." คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

วิสสุตา เกลียวกนกพันธ์ และกุลภรณ์ สุปรีย์. 2553. "การพัฒนาเม็ดบีดเครื่องสำอางบรรจุวิตามินอี." คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ศันสุนีย์ ภู่ประกิจ. 2561. "สภาวะที่เหมาะสมของหัวเชื้อเริ่มต้นและการเพาะเลี้ยงถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*) เพื่อการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม. 2563. **หลักการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร.** [Online]. Available: https://www3.rdi.ku.ac.th/cl/knowledge/2563/Herbal_extract.pdf.

ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม. 2564. **การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร: การสกัดด้วยตัวทำละลาย.** [Online]. Available: https://www3.rdi.ku.ac.th/cl/knowledge/2564/solvent_extraction.pdf.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สิริฉัตร ดิศรพงศ์. 2546. “การคัดเลือกราแมลง *Hypocrella scutata* ที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุกัญญา น้อยจันทร์. 2564. **การพัฒนาตำรับไฮโดรเจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดบรอกโคลี.** [Online]. Available: https://postgrads.mfu.ac.th/wp-content/uploads/2022/12/6151701292.pdf

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2561. ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร. กรุงเทพฯ : กระทรวงอุตสาหกรรม.

อัษฎางค์ พลนอก. 2556. “การพัฒนาโลชั่นบำรุงผิวผสมสารสกัดจมูกข้าว.” คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.

อังคณา วิชิต. 2560. “การดูดซึมเข้าสู่ผิวหนัง.” หน้า 1-11. ใน **ศูนย์การศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์.** นนทบุรี : สภาเภสัชกรรม.

Abella, M.L. 2006. “Evaluation of anti-wrinkle efficacy of adenosine-containing products using the FOITS technique.” *International Journal of Cosmetic Science.* 28(6) : 447-451.

Aung, W.M. Songkro, S. Songkharak, S. Kaewnopparat, N. and Wungsintaweekul, J. 2022. “Preparation, characterization, and antibacterial activity of plaunotol and plaunoi extracts complexed with hydroxypropyl-b-cyclodextrin.” *Saudi Pharmaceutical Journal.* 30 : 679-692.

Benderly, D. and Zolotarsky, Y. 2013. “Beyond thickening – Use of Alkyl Acrylate Crosspolymer in personal care formulations.” 205-218. In Patil, A. and Ferritto, M.S. **Polymers for personal care and cosmetics**. Washington, DC : American Chemical Society.

Bhandari, A.K. Negi, J.S. Bisht, V.K. Rana, C.S. Bharti, M.K. and Singh, N. 2010. “Chemical constituent, inorganic elements and properties of *Cordyceps sinensis* – a review.” *Nature and Science.* 8(9) : 253-256.

Calvo, P. Remuñan-Lópes, C. Vila-Jato, L. and Alonso, MJ. 1998. “Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers.” *Journal of Applied Polymer Science*. 63(1) : 125-132.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chen, X. Wu, G. and Huang, Z. 2013. "Structural analysis and antioxidant activities of polysaccharides from cultured *Cordyceps militaris.*" *International Journal of Biological Macromolecules.* 58: 18–22.

Chen, Y.C. Chen, Y.H. Pan, B.S. Chang, M.M. and Huang, B.M. 2017. "Functional study of *Cordyceps sinensis* and cordycepin in male reproduction: A review." *Journal of Food and Drug Analysis*. 25(1) : 197-205.

Cunningham, K.G. Manson, W. Spring, F.S. and Hutchinson, S.A. 1950. "Cordycepin, a metabolic product isolated from cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) Link." *Nature.* 166(4231) : 949.

Dai, G.W. Bao, T.T. Xu, G.F. Cooper, R. and Zhu, G.X. 2001. "CordyMax^{TM} Cs-4 improves steady-state bioenergy status in mouse liver." *Journal of Alternative and Complementary Medicine.* 7(3): 231-240.

Deuschle, V.C.K.N. Brusco, I. Piana, M and Faccin, H. 2019. "*Persea americana* Mill. crude extract exhibits antinociceptive effect on UVB radiation-induced skin injury in mice." Inflammopharmacology. 27(2) : 323-338.

Dreywood, R. 1946. "Qualitative Test for Carbohydrate Material." *Industrial and Engineering Chemistry, Analytical Edition.* 18(8): 499.

Engelking, L.R. 2014. "Chapter 1 - Chemical Composition of Living Cells". 2-6. In **Textbook of Veterinary Physiological Chemistry (Third Edition)**. Cambridge : Massachusetts: Academic Press.

Esclapez, M.D. García-Pérez, J.V. Mulet, A. and Cárcel, J.A. 2011. "Ultrasound-assisted extraction of natural products." *Food Engineering Reviews.* 3(2) : 108-120.

Fabricant, D.S. and Farnsworth, N.R. 2001. "The value of plants used in traditional medicine for drug discovery." *Environmental Health Perspectives.* 109(1) : 69-75.

Fotsing Yannick Stéphane, F. Kezetas Jean Jules, B. El-Saber Batiha, G. Ali, I. and Ndjakou Bruno, L. 2022. **Extraction of bioactive compounds from**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

medicinal plants and herbs. [Online]. Available : https://doi.org/10.5772/intechopen.98602

Fu, H. Liu, Y. Adrià, F. Shao, X. Cai, W. and Chipot, C. 2014. "From material science to avant-garde cuisine. the art of shaping liquids into spheres." *Journal of Physical Chemistry B.* 118(40) : 11747-11756.

Fujiwara, T. Dohi, T. Maan, Z.N. Rustad, K.C. Kwon, S.H. Padmanabhan, J. Whittam, A.J. Suga, H. Duscher, D. Rodrigues, M. and Gurtner, G.C. 2017. "Age-associated intracellular superoxide dismutase deficiency potentiates dermal fibroblast dysfunction during wound healing." *Experimental Dermatology.* 28 : 485–492.

Hashim, P. Shahab, N. Masilamani, T. Baharom, R and Ibrahim, R. 2009. "A cosmetic analysis in compliance with the legislative requirements, halal and quality control Mal." *Journal of Chemistry.* 11 : 81-87

He, H. Tang, J. Ru, D. Shu, X. Li, W. Li, J. Ma, L. Hu, X. Xiong, L. Li, L. 2020. "Protective effects of Cordyceps extract against UVB-induced damage and prediction of application prospects in the topical administration: An experimental validation and network pharmacology study." *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 121 : 109600.

Hennink, W.E. and Nostrum, C.F. 2012. "Novel crosslinking methods to design hydrogels." *Advanced Drug Delivery Reviews.* 64 : 223-236.

Herrera, G.A. 2004. "Microbiological analysis of cosmetics." *Methods in Molecular Biology.* 268 : 293–295.

Hoffman, J. 2009. "Q & A: Chemistry in the kitchen." *Nature.* 457(7227) : 267.

Holliday, J. and Cleaver, M. 2004. **On the Trail of the Yak Ancient Cordyceps in the Modern World.** [Online]. Available: http://www.earthpulse.com/cordyceps_inc/cordyceps_story.pdf.

Hsu, P.Y. Lin, Y.H. Yeh, E.L. Lo, H.C. Hsu, T.H. and Su, C.C. 2017. "Cordycepin and a preparation from *Cordyceps militaris* inhibit malignant transformation and

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

proliferation by decreasing EGFR and IL-17RA signaling in a murine oral cancer model." *Oncotarget.* 8(55) : 93712-93728.

Hurler, J. Engesland, A. Kermany, BP. And Skalko-Basnet, N. 2012. "Improved texture analysis for hydrogel characterization: Gel cohesiveness, adhesiveness, and hardness." *Journal of Applied Polymer Science.* 125(1) : 180-188.

Hwang, I.H. Oh, S.Y. Jang, H.J. Jo, E. Joo, J.C. Lee, K.B. Yoo, H.S. Lee, M.Y. Park, S.J. and Jang, I.S. 2017. "Cordycepin promotes apoptosis in renal carcinoma cells by activating the MKK7-JNK signaling pathway through inhibition of c-FLIPL expression." *PLOS One.* 12(10) : e0186489.

Imeson, A.P. 2000. **Handbook of hydrocolloids.** Cambridge : Woodhead Publishing.

Jiang, Y.H. Jiang, X.L. Wang, P. and Hu, X.K. 2005. "In vitro Antioxidant activities of water-soluble polysaccharides extracted from *Isaria farinosa* B05." *Journal of Food Biochemistry.* 29(3): 323-335.

Jin, Y. Meng, X. Qiu, Z. Su, Y. Yu, P. Qu, P. 2018. "Anti-tumor and anti-metastatic roles of cordycepin, one bioactive compound of *Cordyceps militaris*." *Saudi Journal of Biological Sciences.* 25(5) : 991-995.

Kang, G. Tu, T.N.T. Kim, S. Yang, H. Jang, M. Jo, D. Ryu, J. Baek, J. and Jung, H. 2018. "Adenosine-loaded dissolving microneedle patches to improve skin wrinkles, dermal density, elasticity and hydration." *International Journal of cosmetic science.* 40(2) : 199-206.

Kang, N.G. Lim, J.M. Chang, M.Y. Park, S.G. Cho, W.G. and Choi, S.Y. 2005. "Modified superoxide dismutase for cosmeceuticals." *International Journal of Cosmetic Science.* 27(5) : 299–300.

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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kim, W.T. Chung, H. Shin, I. Yam, K.L. and Chung, D.H. 2008. "Characterization of calcium alginate and chitosan-treated calcium alginate gel beads entrapping allyl isothiocyanate." *Carbohydrate Polymers.* 71 : 566–573.

Kwon, H.W. and Lee, D.H. 2017. "The Inhibitory Effects of Cordycepin on Phosphoproteins including PI3K, Akt, and p38." *The Korean Journal of Clinical Laboratory Science.* 49(2) : 99-107.

Lee, P. and Rogers M.A. 2012. "Effect of calcium source and exposure-time on basic caviar specification using sodium alginate." *International Journal of Gastronomy and Food Science.* 1(2) : 96-100.

Li, J. and Jiang, H.Y. 2005. "Progression on study of Cordycepin." *US China Health and Hygiene journal.* 8 : 27-30.

Li, J. Guan, M. and Li, Y. 2015. "Effect of cooking on the contents of adenosine and cordycepin in *Cordyceps militaris*." *Procedia Engineering.* 102 : 485-491.

Li, S.P. Zhao, K.J. Ji, Z.N. Song, Z.H. Dong, T.T.X Lo, C.K. Cheung, J.K.H Zhu, S.Q. and Tsim, K.W.K. 2003. "A polysaccharide isolated from *Cordyceps sinensis*, a traditional Chinese medicine, protects PC12 cells against hydrogen peroxide-induced injury." *Life Sciences.* 73(19) : 2503-2513.

Li, Y. Hu, M. Du, Y. Xiao, H. and McClements, D.J. 2011. "Control of lipase digestibility of emulsified lipids by encapsulation within calcium alginate beads." *Food Hydrocolloids.* 25(1) : 122-130.

Mizushima, Y. Hoshi, K. Yanagawa, A. and Takano, K. 1991. "Topical application of superoxide dismutase cream." *Drugs Under Experimental and Clinical Research.* 17(2) : 127-131.

Nguyen, H.C. Mong Thi, D.H. and Pham, D.C. 2018. "Optimization of extraction of polysaccharides from fruiting body of *Cordyceps militaris* (L.) link using response surface methodology." *AIP Conference Proceedings*. 030012 : 1-8.

Nie, S. Cui, S.W. Xie, M. Phillips, A.O. and Phillips, G.O. 2013. "Bioactive polysaccharides from *Cordyceps sinensis*: Isolation, structure features and bioactivities." *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fiber.* 1(1) : 38-52.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Niwa, Y. 1989. "Lipid Peroxides and Superoxide Dismutase (SOD) Induction in Skin Inflammatory Diseases, and Treatment with SOD Preparations." *Dermatology.* 179(1) : 101–106.

Parcell, A.C. Smith, J.M. Schulthies, S.S. Myrer, J.W. and Fellingham, G. 2004. "*Cordyceps sinensis* (CordyMax Cs-4) supplementation does not improve endurance exercise performance." *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism.* 14 : 236-242.

Prommaban, A. Sriyab, S. Marsup, P. Neimkhum, W. Sirithunyalug, J. Anuchapreeda, S. To-anun, C. and Chaiyana, W. 2022. "Comparison of chemical profiles, antioxidation, inhibition of skin extracellular matrix degradation, and anti-tyrosinase activity between mycelium and fruiting body of *Cordyceps militaris* and *Isaria tenuipes*." *Pharmaceutical biology.* 60(1) : 225-234.

Qi, G.H. Zhou, Y. Zhang, X.P. Yu, J.Q. Li, X. Cao, X.X. Wu, C.M. and Guo, P. 2019. "Cordycepin promotes browning of white adipose tissue through an AMP-activated protein kinase (AMPK)-dependent pathway." *Acta Pharmaceutica Sinica B.* 9(1) : 135-143.

Ress, D.A. and Welsh, E.J. 1997. "Secondary and tertiary structure of polysaccharides in solutions and gels." *Angewandte Chemie International Edition.* 16(4) : 214-224.

Samson, R.A. 1974. "*Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes." *Studies in Mycology*. 6 : 1–119.

Sharma, S.K. 2015. "Optimized extraction and antioxidant activities of polysaccharides from two entomogenous fungi." *Bioanalysis & Biomedicine.* 7 : 180-187.

Sim, Y.B. and Yang, S.W. **Functional cosmetic composition using *Cordyceps sinensis* extract.** South Korea. KR101634786B1. 30 October 2015.

Sim, Y.Y. and Nyam, K.L. 2021. "Application of *Hibiscus cannabinus* L. (kenaf) leaves extract as skin whitening and anti-aging agents in natural cosmetic prototype." *Industrial Crops and Products*. 167 : 113491.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Singh, S. Arif, M. Ranjan, S. and Nasim, M. 2018. "Comparative in vitro antioxidant activity of Natural and Cultured *Ophiocordyceps sinensis*." *International Journal of Advancement in life Sciences Research.* 1(3) : 30-39.

Steenvoorden, D.P.T. and Van Henegouwen, G.M.J. 1997. "The use of endogenous antioxidants to improve photoprotection." *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* 41 : 1–10.

Stojkov, G. Niyazov, Z. Picchioni, F. and Bose R.K. 2021. "Relationship between Structure and Rheology of Hydrogels for Various Applications." *Gels.* 7(4) : 255.

Su, N.W. Wu, S.H. Chi, C.W. Tsai, T.H. and Chen, Y.J. 2019. "Cordycepin, isolated from medicinal fungus *Cordyceps sinensis*, enhances radiosensitivity of oral cancer associated with modulation of DNA damage repair." *Food and Chemical Toxicology.* 124 : 400-410.

Tamnak, S. Mirhosseini, H. Tan, C.P. Amid, B.T. Kazemi, M. Hedayatnia, S. 2016. "Encapsulation properties, release behavior and physicochemical characteristics of water-in-oil-in-water (W/O/W) emulsion stabilized with pectinepea protein isolate conjugate and Tween 80." *Food Hydrocolloids.* 61 : 599-608.

Wang, C. Mao, Z.P. Wang, L. Zhang, F.H. Wu, G.H. Wang, D.Y. and Shi, J.L. 2017. "Cordycepin inhibits cell growth and induces apoptosis in human cholangiocarcinoma." *Neoplasma.* 64(6): 834-839.

Wang, C.W. Hsu, W.H. and Tai, C.J. 2017. "Antimetastatic effects of cordycepin mediated by the inhibition of mitochondrial activity and estrogen-related receptor a in human ovarian carcinoma cells." *Oncotarget.* 8(2): 3049-3058.

Wassels, J.G.H. and Sietama, J.H. 1979. "Wall structure and growth in *Schizophyllum commune.*" 27-48. in J.H. Burnett and A.P.J. Trinci. **Fungal walls and hyphal growth.** Cambridge : Cambridge University Press & Assessment.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wasser, S.P. 2002. "Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides." *Applied Microbiology and Biotechnology.* 60(3) : 258-274.

Wichchukit, S. Oztop, M.H. McCarthy, M.J. and McCarthy, K.L. 2013. "Whey protein/alginate beads as carriers of a bioactive component." *Food Hydrocolloids.* 33: 66-73.

Xiao, J.H. Xiao, D.M. Chen, D.X. Xiao, Yu. Liang, Z.Q. and Zhong, J.J. 2012. "Polysaccharides from the Medicinal Mushroom *Cordyceps taii* Show Antioxidant and Immunoenhancing Activities in a *D*-Galactose-Induced Aging Mouse Model." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 273435.

Yağmur, H.K. Kaya, İ. and Özer, H.K. 2023. **Formulation and evaluation of peel-off gel mask with St. John's Wort oil and activated carbon from pinecone**. [Online]. Available : https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2848645/v1

Yang, F.Q. and Li S.P. 2008. "Effects of sample preparation methods on the quantification of nucleosides in natural and cultured Cordyceps." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 48 : 231–235.

Zeng, Y. Lian, S. Li, D. Lin, X. Chen, B. Wei, H. and Yang, T. 2017. "Anti-hepatocarcinoma effect of cordycepin against NDEA-induced hepatocellular carcinomas via the PI3K/Akt/mTOR and Nrf2/HO-1/NF-kB pathway in mice." *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 95 : 1868-1875.

Zhang, H. Wang, J.W. Dong, S.Z. Xu, F.X. and Wang, S.H. 2012. "The Optimization of Extraction of Cordycepin from Fruiting Body of *Cordyceps militaris (L.) Link*." *Advanced Materials Research. 393-395* : 1024-1028.

Zhang, W. **Preparation method and application of *cordyceps sinensis* extract.** China. CN104224686A. 24 December 2014.

Zhou, X.W. Gong, Z.H. Su, Y. Lin, J. and Tang, K.X. 2009. "Cordyceps fungi: natural products, pharmacological functions and developmental products." *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 61 : 279–291.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zhu, Z.Y. Liu, X.C. Tang, Y.L. Dong, F.Y. Sun, H.Q. Chen, L. and Zhang, Y.M. 2016. "Effects of cultural medium on the formation and antitumor activity of polysaccharides by *Cordyceps gunnii*." *Journal of Bioscience and Bioengineering. 122* : 494-498.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. การเตรียมอาหารแข็งเลี้ยงเชื้อสูตร Potato Dextrose Agar (PDA)

ตารางที่ 6.1 วัตถุดิบสำหรับเตรียมอาหารแข็งเลี้ยงเชื้อสูตร Potato Dextrose Agar (PDA)

วัตถุดิบ	ปริมาณ (กรัมต่อลิตร)
มันฝรั่งปอกเปลือก	200
ข้าวโพดอ่อน	50
กลูโคส	20
สารสกัดจากยีสต์	5
เปปโตน	5
ผงวุ้น	20

ต้มมันฝรั่งปอกเปลือกและข้าวโพดอ่อนในน้ำกลั่นเดือดเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นกรองน้ำที่ได้จากการต้ม ปรับปริมาตรจนได้ 1000 มิลลิลิตร เติมกลูโคส สารสกัดจากยีสต์ เปปโตน และผงวุ้น คนให้เข้ากัน นำไปเข้าไมโครเวฟให้ผงวุ้นละลายและนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธีนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อสูตร Potato Dextrose Broth (PDB)

ตารางที่ 6.2 วัตถุดิบสำหรับเตรียมอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อสูตร Potato Dextrose Broth (PDB)

วัตถุดิบ	ปริมาณ (กรัมต่อลิตร)
มันฝรั่งปอกเปลือก	200
ข้าวโพดอ่อน	50
กลูโคส	20
สารสกัดจากยีสต์	5
เปปโตน	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้มมันฝรั่งปอกเปลือกและข้าวโพดอ่อนในน้ำกลั่นเดือดเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นกรองน้ำที่ได้จากการต้ม ปรับปริมาตรจนได้ 1000 มิลลิลิตร เติมกลูโคส สารสกัดจากยีสต์ และเปปโตน คนให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธีนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. การเตรียมอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อสำหรับหุงข้าวไรซ์เบอร์รี่

ตารางที่ 6.3 วัตถุดิบสำหรับเตรียมอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อสำหรับหุงข้าวไรซ์เบอร์รี่

วัตถุดิบ	ปริมาณ (กรัมต่อลิตร)
มันฝรั่งปอกเปลือก	200
ข้าวโพดอ่อน	50
กลูโคส	20
หนอน	40
ไข่ไก่	50

ต้มมันฝรั่งปอกเปลือกและข้าวโพดอ่อนในน้ำกลั่นเดือดเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นกรองน้ำที่ได้จากการต้ม ปรับปริมาตรจนได้ 1000 มิลลิลิตร เติมกลูโคส หนอน และไข่ไก่ กรองและคนให้เข้ากัน จากนั้นเทลงในโหลเพาะเลี้ยง อัตราส่วนข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ PDB คือ 20 กรัมต่อ 30 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธีนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การเตรียมสารสำหรับการสกัดและการวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวทำละลายสำหรับการสกัดสารจากถั่งเช่าหิมะ

1) ฟอสเฟสบัฟเฟอร์ พีเอช 6

บัฟเฟอร์ A เตรียมไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอตเฟต ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$) (มวลโมเลกุล = 218.03) ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ชั่ง 10.88986 กรัมต่อลิตร ละลายในน้ำกลั่น

บัฟเฟอร์ B เตรียมโซเดียมไฮโดรเจนฟอตเฟต ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$) (มวลโมเลกุล = 137.99) ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ชั่ง 6.8995 กรัมต่อลิตร ละลายในน้ำกลั่น

ต้องการฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6 ให้เตรียมโดยนำบัฟเฟอร์ A ปริมาตร 6.15 มิลลิลิตร ผสมกับบัฟเฟอร์ B ปริมาตร 43.85 มิลลิลิตร

2) ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน พีเอช 7.4

เตรียมน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตร ชั่งโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 8 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอตเฟต ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$) 2.8947 กรัม โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 0.2 กรัม และโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 0.2 กรัม ผสมให้เข้ากันและปรับพีเอชให้ได้ 7.4 จากนั้นปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

2. การเตรียมสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีแอนโทรน

1) สารละลายแอนโทรน

เตรียมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 75 โดยตวงน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตรลงขวดปรับปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 390 มิลลิลิตรลงขวดปรับปริมาตรที่ใส่น้ำกลั่นแล้วอย่างช้า ๆ ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

ชั่งแอนโทรน 0.5 กรัมใส่ในบีกเกอร์ เติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นเทลงขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร กลั้วบีกเกอร์อีกครั้งด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99 อีก 5 มิลลิลิตรเทลงขวดปรับปริมาตรเดิม จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 75 ลงในขวดปรับปริมาตร ใส่แท่งแม่เหล็กและปั่นกวนจนกว่าแอนโทรนจะละลายหมด (ตลอดกระบวนการห้ามโดนแสง)

2) สารละลายมาตรฐานกลูโคส

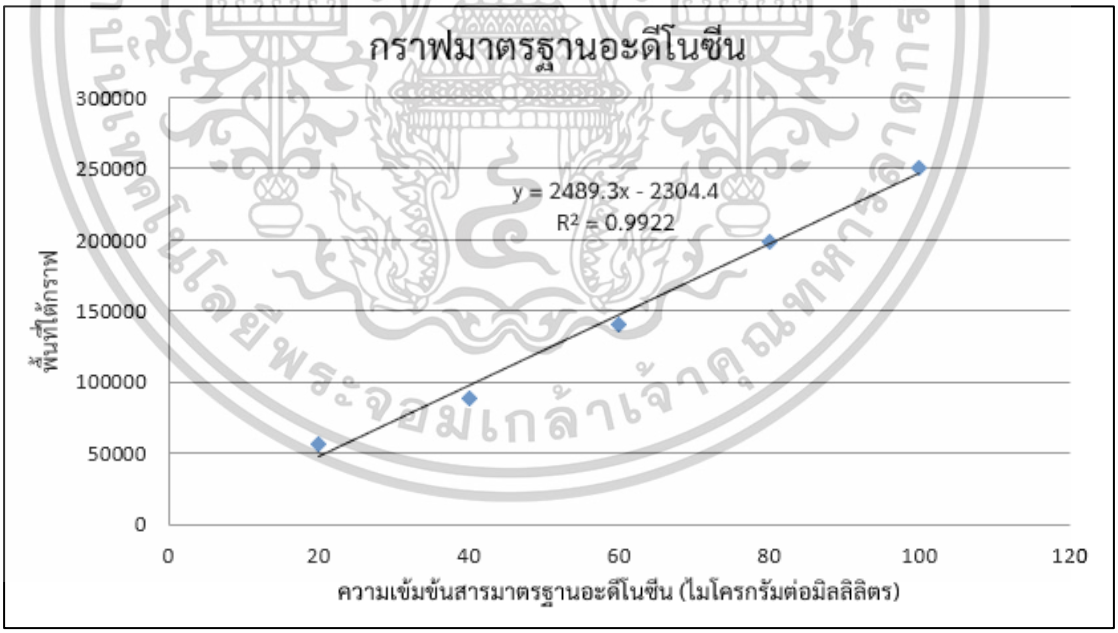
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อบน้ำตาลกลูโคสที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำตาลกลูโคส 0.1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยขวดปรับปริมาตร จะได้สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3. การเตรียมสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน

1) เตรียมสารละลายอ้างอิงอะดีโนซีน

ชั่งอะดีโนซีน 2 มิลลิกรัมใส่ลงขวดปรับปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมน้ำบริสุทธิ์สูงเพื่อละลายอะดีโนซีน ทำการเจือจางในระดับความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมากรองผ่านตัวกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตรลงในขวดแก้วฉีดตัวอย่างขนาด 2 มิลลิลิตร วิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารมาตรฐานด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC) และนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน

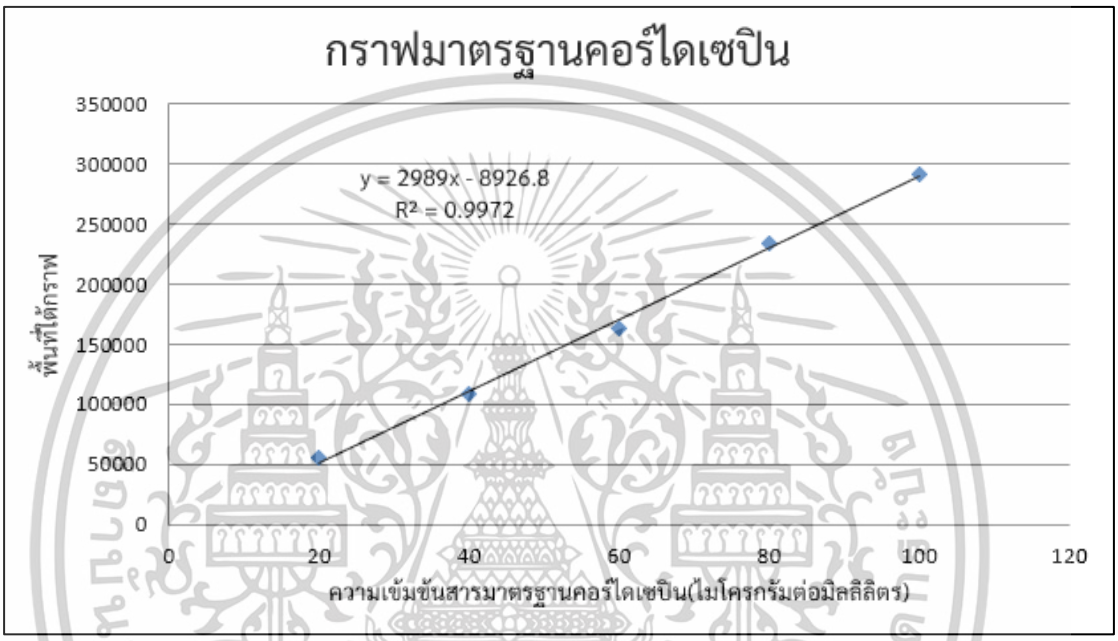


รูปที่ 6.1 กราฟมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2) เตรียมสารละลายอ้างอิงคอร์ไดเซปิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่งคอร์ไดเซปิน 2 มิลลิกรัมใส่ลงขวดปรับปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมน้ำบริสุทธิ์สูงเพื่อละลายคอร์ไดเซปิน ทำการเจือจางในระดับความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมากรองผ่านตัวกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตรลงในขวดแก้วฉีดตัวอย่างขนาด 2 มิลลิลิตร วิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารมาตรฐานด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC) และนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน



รูปที่ 6.2 กราฟมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4. การเตรียมสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

การเตรียมสารทดสอบ DPPH

1) เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์

ชั่งสาร DPPH 0.0039 กรัม ละลายในเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร

การเตรียมสารทดสอบ ABTS

1) เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7.4 มิลลิโมลาร์

ชั่งสาร ABTS (มวลโมเลกุล = 548.68) 0.0812 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร

2) เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ความเข้มข้น 2.4 มิลลิโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่งสารโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (มวลโมเลกุล = 270.322) 13.2 มิลลิกรัม ละลายด้วยสารละลาย ABTS 20 มิลลิลิตร

นำสารละลาย ABTS และสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตในข้อ 1 และ 2 มาผสมกันอัตราส่วน 0.5 ต่อ 1 นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องที่ห้องมืดเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง นำสารละลาย ABTS ที่ได้จากการบ่มมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นด้วยอัตราส่วน 2 มิลลิลิตรต่อ 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรให้มีค่าเท่ากับ 0.700±0.02 หลังจากเตรียมสาร ควรใช้ภายใน 4 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

เอกสารรับรองโครงการวิจัยและแบบสอบถามทางประสาทสัมผัส

ลำดับที่ 057
EC-KMITL_65_057

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ประจำ7
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารรับรองโครงการวิจัย

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังดำเนินการให้การรับรองการพิจารณาจริยธรรมโครงการตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นมาตรฐานสากล ได้แก่ Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline, International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice หรือ ICH-GCP

ชื่อโครงการวิจัย : การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องปิดผิวที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าสีทอง
รหัสโครงการ : EC-KMITL_65_057
ผู้วิจัยหลัก : รองศาสตราจารย์ ดร. ทิพย์ธิบูรณ์
ผู้ร่วมวิจัย : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วีรวัฒน์ ศิริณะชัยศักดิ์ และ นางสาว อัญลา วรุโณทกานนท์
สังกัดหน่วยงาน : คณะวิทยาศาสตร์
วิธีทบทวน : แบบเต็มชุด
รายงานความก้าวหน้า : ส่งรายงานความก้าวหน้าอย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี หรือส่งรายงานฉบับสมบูรณ์หากดำเนินโครงการเสร็จสิ้นก่อน 1 ปี/ส่งรายงานความก้าวหน้าอย่างน้อยทุก 3 เดือน 6 เดือน

เอกสารที่ได้รับการพิจารณา :
1. แบบเสนอโครงการวิจัย ฉบับที่ 1 ลงวันที่ 22 มีนาคม พ.ศ. 2565
2. โครงการวิจัยฉบับย่อ ฉบับที่ 2 ลงวันที่ 29 เมษายน พ.ศ. 2565
3. เอกสารชี้แจงอาสาสมัครผู้รับการวิจัย ลงวันที่ 22 มีนาคม พ.ศ. 2565
4. หนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย ลงวันที่ 22 มีนาคม พ.ศ. 2565
5. แบบสอบถามการยินยอมข้อมูล ฉบับที่ 1 ลงวันที่ 22 มีนาคม พ.ศ. 2565
6. ประวัติผู้วิจัย

ลงนาม
ลงชื่อ .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ทิพย์ธิบูรณ์ ทิพยโสธร)
ประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ ประจำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ. 2564

วันที่รับรอง : 20 พฤษภาคม พ.ศ. 2565
วันหมดอายุ : 20 พฤษภาคม พ.ศ. 2566

ทั้งนี้ การรับรองนี้มีเงื่อนไขดังที่ระบุไว้ด้านหลังทุกข้อ (ดูด้านหลังของเอกสารรับรองโครงการวิจัย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

1. แบบประเมินการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์ ตำรับตัวนำพาสำหรับแช่เชรั่มบีด

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบตัวอย่างตามหมายเลขรหัสตัวอย่าง แล้วให้คะแนนความชอบของความหนืด เนื้อสัมผัส ความชุ่มชื้น การซึมซาบเข้าสู่ผิว และความชอบโดยรวมที่มีต่อตัวอย่างด้วยวิธี Hedonic scale 5 ระดับ ได้แก่

คะแนนระดับ 1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด

คะแนนระดับ 2 คือ ไม่ชอบเล็กน้อย

คะแนนระดับ 3 คือ เฉยๆ

คะแนนระดับ 4 คือ ชอบเล็กน้อย

คะแนนระดับ 5 คือ ชอบมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง	คุณลักษณะที่ใช้ประเมิน				
	ความหนืด	เนื้อสัมผัส	ความชุ่มชื้น	การซึมซาบเข้าสู่ผิว	ความชอบโดยรวม

ข้อเสนอแนะอื่นๆ

.....

.....

.....

สำนักวิทยบริการฯ มจล.
EC-KMITL
2 ก.ย. 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

2. แบบประเมินการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส
ผลิตภัณฑ์ เซรั่มบัดที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบตัวอย่างตามหมายเลขรหัสตัวอย่าง แล้วให้คะแนนความชอบของสี กลิ่น เนื้อสัมผัส ความชุ่มชื้น การซึมเข้าสู่ผิว และความชอบโดยรวมที่มีต่อตัวอย่างด้วยวิธี Hedonic scale 5 ระดับ ได้แก่

คะแนนระดับ 1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด
คะแนนระดับ 2 คือ ไม่ชอบเล็กน้อย
คะแนนระดับ 3 คือ เฉยๆ
คะแนนระดับ 4 คือ ชอบเล็กน้อย
คะแนนระดับ 5 คือ ชอบมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง	คุณลักษณะที่ใช้ประเมิน					
	สี	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	ความชุ่มชื้น	การซึมซาบเข้าสู่ผิว	ความชอบโดยรวม

ข้อเสนอแนะอื่นๆ

.....

.....

.....

ผ่านจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ ของ EC-KMITL
2 ส.ค. 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

แบบประเมินความพึงพอใจตำรับเซรั่มบีตที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำชี้แจง : แบบประเมินนี้เป็นการเก็บข้อมูลความคิดเห็นและความพึงพอใจของนักศึกษา อาจารย์ และบุคคลทั่วไปที่มีต่อเซรั่มบีตที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ เพื่อนำความคิดเห็นและความพึงพอใจที่ได้ไปสรุปและตัดสินใจในปรับปรุงตำรับเซรั่มบีตที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

ตอนที่1 ปัจจัยส่วนบุคคลของผู้บริโภค

คำชี้แจง โปรดทำเครื่องหมาย √ ลงใน ( ) หรือเติมข้อความลงในช่องว่างให้ตรงกับสภาพความเป็นจริงของท่าน

1. เพศ

   ( ) 1.เพศชาย ( ) 2.เพศหญิง

2. อายุ

   ( ) 1. 20 - 25 ปี ( ) 2. 25 - 30 ปี

   ( ) 3. 31 - 50 ปี ( ) 4. 50 ปีขึ้นไป

3. อาชีพ

   ( ) 1. นักเรียน/นักศึกษา ( ) 2. รับราชการ/รัฐวิสาหกิจ

   ( ) 3. ลูกจ้างรายวัน ( ) 4.อื่นๆ โปรดระบุ.....

ตอนที่ 2 ระดับความพึงพอใจ

คะแนนระดับ 1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด คะแนนระดับ 3 คือ เฉยๆ

คะแนนระดับ 2 คือ ไม่ชอบเล็กน้อย คะแนนระดับ 4 คือ ชอบเล็กน้อย

คะแนนระดับ 5 คือ ชอบมากที่สุด

คุณภาพ	คะแนนเต็ม	รหัสตัวอย่าง	
สี	5		
กลิ่น	5		
เนื้อสัมผัส	5		
ความชุ่มชื้น	5		
การซึมซาบเข้าสู่ผิว	5		
ความชอบโดยรวม	5		

ข้อเสนอแนะอื่นๆ

.....

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สจจ. คณะกรรมการวิจัยในมนุษย์ สจจ.
EC-KMITL
2 ส.ค. 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

มาตรฐานผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

มอก.ร

มาตรฐานอุตสาหกรรมเอส

THAI SMEs STANDARD

มอก. เอส 15-2561

ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร

HERBAL BODY CREAM/LOTION

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม
กระทรวงอุตสาหกรรม
ICS 71.100.70
ISBN 978-616-346-900-7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานอุตสาหกรรมเอส

ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร

มอก. เอส 15-2561

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม
กระทรวงอุตสาหกรรม ถนนพระรามที่ 6 กรุงเทพฯ 10400
โทรศัพท์ 0 2202 3300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจุบันนี้ ผู้ทำซึ่งเป็นวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม (SMEs) และกลุ่มธุรกิจเกิดใหม่ (Startup) ได้ทำผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรเพื่อจำหน่ายในประเทศและส่งออกไปยังต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ซึ่งส่วนใหญ่ทำโดยใช้ประสบการณ์ของผู้ทำเอง ทำให้คุณภาพแตกต่างกัน

จึงเห็นควรกำหนดเกณฑ์คุณภาพสำหรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร เพื่อใช้เป็นมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส และเป็นการส่งเสริมและยกระดับอุตสาหกรรมประเภทนี้ให้มีคุณภาพดีและสม่ำเสมอ เป็นที่ยอมรับทั้งตลาดภายในประเทศและต่างประเทศ

มาตรฐานอุตสาหกรรมเอสนี้ จัดทำขึ้นโดยใช้ข้อมูลจากเอกสารต่อไปนี้ เป็นแนวทาง

มอก. 478	ผลิตภัณฑ์ทาบำรุงผิว
มผช. 551	ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประกาศสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

ฉบับที่ 15 (พ.ศ. 2561)

เรื่อง กำหนดมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส

ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมออกประกาศกำหนดมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร มาตรฐานเลขที่ มอก. เอส 15-2561 ดังมีรายละเอียดต่อท้ายประกาศนี้

ทั้งนี้ ให้มีผลบังคับใช้นับแต่วันที่ประกาศ เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ 15 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2561

ณัฐพล รังสิตพล

เลขาธิการสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มอก. เอส 15-2561

มาตรฐานอุตสาหกรรมเอส
ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร

1. ขอบข่าย

1.1 มาตรฐานอุตสาหกรรมเอสนี้ครอบคลุมเฉพาะผลิตภัณฑ์บำรุงผิวกายที่มีลักษณะเป็นของเหลว ของเหลวข้น และครีมผสมสารสกัดจากสมุนไพรหรือชิ้นส่วนสมุนไพร ไม่ครอบคลุมผลิตภัณฑ์ที่ใช้ใต้วงแขน และผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด

2. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานอุตสาหกรรมเอสนี้ มีดังต่อไปนี้

2.1 ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร (herbal body cream/lotion) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ใช้สำหรับทาผิวกายเพื่อบำรุงผิวให้อ่อนนุ่มและชุ่มชื้น ผสมสารสกัดจากสมุนไพรหรือชิ้นส่วนสมุนไพร เช่น สารสกัดจากขมิ้นชัน

3. ส่วนประกอบและการทำ

3.1 สารที่ใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร
ให้เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่ออกตามพระราชบัญญัติเครื่องสำอางฉบับที่มีผลบังคับใช้

3.2 สารสกัดจากสมุนไพรหรือชิ้นส่วนสมุนไพร ที่ใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร
ต้องเป็นไปตามที่จดแจ้งกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

4. คุณลักษณะที่ต้องการ

4.1 ลักษณะทั่วไป
ต้องไม่แยกชั้นหรือจับตัวเป็นก้อน ไม่มีสิ่งแปลกปลอม สีสม่ำเสมอ และมีกลิ่นที่ดีตามธรรมชาติ
การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจและการดม

4.2 การระคายเคืองต่อผิวหนัง
ดัชนีการระคายเคืองเบื้องต้น (primary irritation index, PII) ต่อผิวหนัง ต้องไม่เกิน 1
การทดสอบให้ปฏิบัติตามข้อ 9.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 สารปนเปื้อน

4.3.1 ตะกั่ว ต้องไม่เกิน 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

4.3.2 สารหนู (คำนวณเป็น As_2O_3) ต้องไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

4.3.3 ปรอท ต้องไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

4.3.4 แบเรียมที่ละลายได้ (soluble barium) ในรูปของแบเรียมคลอไรด์ ต้องไม่เกินร้อยละ 0.05

การทดสอบให้ใช้อะตอมิกแอบซอร์ปชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ อินดักทีฟลีคัพเพิลพลาสม่า หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

4.4 จุลินทรีย์

4.4.1 จำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และราที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ ต้องไม่เกิน 1 000 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

4.4.2 *ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (Pseudomonas aeruginosa)* ต้องไม่พบ

4.4.3 *สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (Staphylococcus aureus)* ต้องไม่พบ

4.4.4 *แคนดิดา อัลบิแคนส์ (Candida albicans)* ต้องไม่พบ

4.4.5 *คลอสตริเดียม (Clostridium spp.)* ต้องไม่พบ

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

4.5 ความเป็นกรด-ด่าง

ต้องอยู่ระหว่าง 3.5 ถึง 7.5

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

4.6 การใช้งาน

เมื่อทาแล้ว ต้องเนียนอยู่บนผิว ไม่ฝืด ไม่เป็นปื้น ไม่เหนียวเหนอะหนะ และไม่ทำให้เกิดการระคายเคือง

การทดสอบให้ปฏิบัติตามข้อ 9.3

4.7 ความคงสภาพ

ลักษณะทั่วต้องอยู่ในสภาพที่ดี ไม่แปรสภาพหรือเสื่อมคุณภาพในระยะเวลาตามที่กำหนด

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม ข้อ 9.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. สุขลักษณะ

5.1 สถานที่ตั้งและอาคารที่ทำ

5.1.1 สถานที่ตั้งตัวอาคารและที่ใกล้เคียง อยู่ในที่ที่จะไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ทำเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย โดย

5.1.1.1 สถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบ สะอาด ไม่มีน้ำขัง แฉะ และสกปรก

5.1.1.2 อยู่ห่างจากบริเวณหรือสถานที่ที่มีฝุ่น เขม่า ควัน มากผิดปกติ

5.1.1.3 ไม่อยู่ใกล้เคียงกับสถานที่น่ารังเกียจ เช่น บริเวณเพาะเลี้ยงสัตว์ แหล่งเก็บหรือกำจัดขยะ

5.1.2 อาคารที่ทำมีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบและก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงรักษา การทำความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงาน โดย

5.1.2.1 พื้น ฝาผนัง และเพดานของอาคารที่ทำ ก่อสร้างด้วยวัสดุที่คงทน เรียบ ทำความสะอาด และซ่อมแซมให้อยู่ในสภาพที่ดีตลอดเวลา

5.1.2.2 แยกบริเวณที่ทำออกเป็นสัดส่วน สำหรับวัตถุดิบ วัสดุบรรจุ ผลิตภัณฑ์รอการบรรจุ และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ไม่อยู่ใกล้ห้องสุขาซึ่งเปิดสู่บริเวณผลิตโดยตรง ไม่มีสิ่งของที่ไม่ใช้แล้วหรือไม่เกี่ยวข้องกับการทำอยู่ในบริเวณที่ทำ

5.1.2.3 พื้นที่ปฏิบัติงานไม่แออัด มีแสงสว่างเพียงพอ และมีการระบายอากาศที่เหมาะสม

5.1.2.4 ห้องสุขา อ่างล้างมือมีจำนวนเหมาะสม มีอุปกรณ์เครื่องใช้สำหรับทำความสะอาด หรือฆ่าเชื้อโรค

5.2 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการทำ

5.2.1 ภาชนะหรืออุปกรณ์ในการทำที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ ทำจากวัสดุมีผิวเรียบ ไม่เป็นสนิม ล้างทำความสะอาดได้ง่าย

5.2.2 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ สะอาด ก่อนและหลังการใช้งานต้องทำความสะอาดเหมาะสมกับการใช้งาน ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อน ติดตั้งได้ง่าย มีปริมาณเพียงพอ รวมทั้งสามารถทำความสะอาดได้ง่ายและทั่วถึง และเก็บไว้ในที่เหมาะสม

5.3 การควบคุมกระบวนการทำ

5.3.1 วัตถุดิบและส่วนผสมในการทำ ต้องสะอาด มีคุณภาพดี มีการล้างหรือทำความสะอาดก่อนนำไปใช้ ได้จากแหล่งที่เชื่อถือได้ ปลอดภัย จัดเก็บในภาชนะสะอาด ป้องกันการปนเปื้อนได้ แยกเก็บเป็นสัดส่วน

5.3.2 การทำ การเก็บรักษา การขนย้าย และการขนส่ง ให้มีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์

5.3.3 เครื่องชั่งที่ใช้ต้องตรวจสอบได้เที่ยงตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.4 การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด

5.4.1 น้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์ และมือของผู้ทำ เป็นน้ำสะอาดและมีปริมาณเพียงพอ

5.4.2 มีวิธีการป้องกันและกำจัดสัตว์นำเชื้อ แมลง และฝุ่นผง ไม่ให้เข้าในบริเวณที่ทำตามความเหมาะสม

5.4.3 มีวิธีการป้องกันไม่ให้สัตว์เลี้ยง เช่น สุนัข แมว เข้าไปในบริเวณที่ทำ

5.4.4 มีการกำจัดขยะ สิ่งสกปรก และน้ำทิ้ง อย่างเหมาะสม เพื่อไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับลงสู่ผลิตภัณฑ์

5.4.5 สารเคมีที่ใช้ล้างทำความสะอาด และใช้กำจัดสัตว์นำเชื้อและแมลง ใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และเก็บแยกจากบริเวณที่ทำ เพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่ผลิตภัณฑ์ได้

5.5 บุคลากรและสุขลักษณะของผู้ทำ

5.5.1 ผู้ทำทุกคน ต้องมีสุขภาพดีทั้งร่างกายและจิตใจ รักษาความสะอาดส่วนบุคคลให้ดี เช่น สวมเสื้อผ้าที่สะอาด มีผ้าคลุมผมเพื่อป้องกันไม่ให้เส้นผมหล่นลงในผลิตภัณฑ์ ไม่ไว้เล็บยาว ล้างมือให้สะอาดทุกครั้งก่อนปฏิบัติงาน หลังการใช้ห้องสุขา และเมื่อมือสกปรก

5.5.2 ผู้ทำทุกคน ต้องไม่กระทำการใด ๆ ที่ไม่ถูกสุขลักษณะในสถานที่ทำ เช่น รับประทานอาหาร สูบบุหรี่

6. การบรรจุ

6.1 ให้บรรจุผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรในบรรจุภัณฑ์ที่สะอาด ปิดได้สนิท และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้

การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจ

6.2 ปริมาณสุทธิของผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรในแต่ละบรรจุภัณฑ์ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

การทดสอบให้ปฏิบัติตามข้อ 9.5

7. เครื่องหมายและฉลาก

7.1 ที่ฉลากหรือบรรจุภัณฑ์ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน

(1) ชื่อผลิตภัณฑ์ตามมาตรฐานนี้ หรือชื่ออื่นที่สื่อความหมายว่าเป็นผลิตภัณฑ์ตามมาตรฐานนี้ เช่น โลชั่นทาผิวผสมสารสกัดจากแตงกวา

(2) ส่วนประกอบทุกชนิด ให้เรียงปริมาณจากมากไปน้อย

(3) ปริมาณสุทธิ เป็นกรัม หรือเป็นลูกบาศก์เซนติเมตร

(4) เดือน ปี หรือ ปี เดือน ที่ทำ

(5) เดือน ปี หรือ ปี เดือน ที่หมดอายุ

(6) เลขที่แสดงครั้งที่ผลิตหรือรหัสรุ่นที่ทำ

(7) วิธีใช้ เช่น เขย่าขวดก่อนใช้

(8) ข้อแนะนำและคำเตือน (ถ้ามี)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(9) การเก็บรักษา (ถ้ามี)

(10) ชื่อผู้ทำหรือโรงงานที่ทำ หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน

(11) ประเทศที่ทำ

ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

8. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

8.1 รุ่น ในที่นี้ หมายถึง ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรที่มีส่วนประกอบเดียวกัน ที่ทำหรือส่งมอบหรือซื้อขายในระยะเวลาเดียวกัน

8.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

8.2.1 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไป การบรรจุและเครื่องหมายและฉลาก ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วยบรรจุภัณฑ์ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตาม ข้อ 4.1 ข้อ 6. และข้อ 7. ทุกรายการ จึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

8.2.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนัง สารปนเปื้อน ความเป็นกรด-ด่าง และการใช้งาน ให้ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบตามข้อ 8.2.1 แล้ว จำนวน 3 หน่วยบรรจุภัณฑ์ เพื่อทำเป็นตัวอย่างรวม โดยมีปริมาตรรวมหรือมวลรวมไม่น้อยกว่า 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ 100 กรัม กรณีตัวอย่างไม่พอให้ชักตัวอย่างเพิ่มโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันให้ได้ตัวอย่างที่มีปริมาตรรวมหรือมวลรวมตามที่กำหนด เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตาม ข้อ 4.2 ข้อ 4.3 ข้อ 4.5 และข้อ 4.6 ทุกรายการ จึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

8.2.3 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบจุลินทรีย์ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วยบรรจุภัณฑ์ เพื่อทำเป็นตัวอย่างรวม โดยมีปริมาตรรวมหรือมวลรวมไม่น้อยกว่า 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ 100 กรัม กรณีตัวอย่างไม่พอให้ชักตัวอย่างเพิ่มโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันให้ได้ตัวอย่างที่มีปริมาตรรวมหรือมวลรวมตามที่กำหนด เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 4.4 ทุกรายการ จึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

8.2.4 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบความคงสภาพ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วยบรรจุภัณฑ์ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 4.7 จึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

8.3 เกณฑ์ตัดสิน

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรต้องเป็นไปตามข้อ 8.2.1 ข้อ 8.2.2 ข้อ 8.2.3 และข้อ 8.2.4 ทุกข้อ จึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรรุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอสนี้

9. การทดสอบ

9.1 ทั่วไป

9.1.1 ให้ใช้วิธีทดสอบที่กำหนดในมาตรฐานนี้ หรือวิธีอื่นใดที่ให้ผลเทียบเท่า ในกรณีที่มีข้อโต้แย้งให้ใช้วิธีที่กำหนดในมาตรฐานนี้

9.1.2 หากมิได้ตกลงกันเป็นอย่างอื่น น้ำกลั่นและสารเคมีที่ใช้ต้องมีความบริสุทธิ์เหมาะสำหรับใช้ในการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.2 การระคายเคืองต่อผิวหนัง

9.2.1 เครื่องมือ

9.2.1.1 หม้อนึ่งอัดไอ (autoclave)

9.2.1.2 ผ้าโปร่งดูดซึม พับทบกัน 4 ชั้น ขนาด 2.5 เซนติเมตร × 2.5 เซนติเมตร ที่ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 15 นาที

9.2.1.3 กระดาษลิตมัส บีกเกอร์ แท่งแก้ว ปิเปตต์ ช้อนตักสาร กรรไกรเหล็กกล้าไม่เป็นสนิม

9.2.1.4 ปลาสเตอร์ปิดแผลชนิดโปร่งแสง และผ้ายึดพันแผล

9.2.1.5 อุปกรณ์ตัดขนสัตว์

9.2.1.6 เครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียด 0.01 กรัม

9.2.2 น้ำบริสุทธิ์ที่ปราศจากเชื้อ

9.2.3 สัตว์ทดลองและการเตรียม

9.2.3.1 สัตว์ทดลอง

กระต่ายขาวสุขภาพดี สายพันธุ์นิวซีแลนด์ไวท์ (New Zealand White) เพศผู้หรือเพศเมีย น้ำหนักตัวละ 2 กิโลกรัม จำนวน 3 ตัว ต่อการทดสอบ 1 ตัวอย่าง

9.2.3.2 สภาวะการเลี้ยงกระต่าย

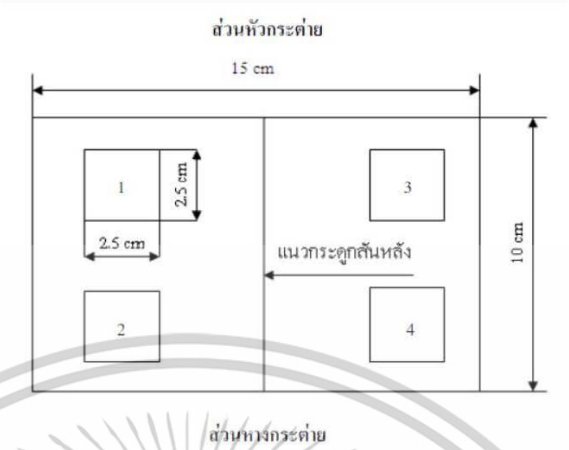
แยกเลี้ยงกระต่ายแต่ละตัว โดยควบคุมอุณหภูมิห้องปฏิบัติการสัตว์ทดลองที่ (20 ± 3) องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 30 และไม่เกินร้อยละ 70 ติดตั้งอุปกรณ์ส่องสว่างที่มีวัฏจักรสว่างเป็นเวลา 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง อาหารที่ให้กระต่ายต้องเป็นไปตามหลักโภชนาการของกระต่ายทดลองและเตรียมน้ำดื่มสะอาดให้ตลอดเวลา

9.2.3.3 การเตรียม

(1) ปรับสภาพกระต่ายก่อนนำไปทดสอบ โดยเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีการควบคุมอุณหภูมิอย่างเหมาะสม 5 วัน ถึง 7 วัน บันทึกเงื่อนไขต่าง ๆ

(2) ก่อนทำการทดสอบ 24 ชั่วโมง ตรวจสุขภาพของกระต่าย แล้วเลือกตัวที่มีสุขภาพ และสภาพผิวหนังดี บันทึกน้ำหนัก ใช้อุปกรณ์ตัดขนสัตว์ตัดขนกระต่ายให้เกรียนจนชิดผิวหนังที่บริเวณทั้งสองด้านของสวนหลังของลำตัวตามแนวขนาน และห่างจากแนวกระดูกสันหลังเป็นพื้นที่ทดสอบประมาณ 10 เซนติเมตร × 15 เซนติเมตร ดูรูปที่ 1 ระวังอย่าให้ผิวหนังกระต่ายเป็นแผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 พื้นที่ทดสอบบนผิวหนังกระต่าย

(ข้อ 9.2.3.3 (2) และข้อ 9.2.5.2)

9.2.4 การเตรียมตัวอย่าง

ให้เจือจางตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรด้วยน้ำบริสุทธิ์ปราศจากเชื้อให้มีความเข้มข้นร้อยละ 10

9.2.5 วิธีทดสอบ

9.2.5.1 วัดความเป็นกรด-ด่าง ของตัวอย่าง ถ้าได้ค่า ≤ 2 หรือ ≥ 11.5 ให้หยุดการทดสอบ

9.2.5.2 ใช้ผ้าโปร่งดูดซึม จำนวน 4 ชิ้น ใส่หรือชุบตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร 0.5 กรัม หรือ 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร (ตามสภาพตัวอย่างที่ระบุในข้อ 9.2.4) ลงบนผ้าโปร่งดูดซึม 2 ชิ้น แล้วนำไปปิดทับบนบริเวณทดสอบบนผิวหนังกระต่ายที่เตรียมไว้บริเวณ 1 และบริเวณ 4 อีก 2 ชิ้น ใส่น้ำบริสุทธิ์ที่ปราศจากเชื้อ 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วนำไปปิดทับบนบริเวณควบคุมบนผิวหนังกระต่าย ที่บริเวณ 2 และบริเวณ 3 (ดูรูปที่ 1) ยึดด้วยปลาสเตอร์ปิดแผลชนิดโปร่งแสง และพันทับรอบลำตัวกระต่ายด้วยผ้ายืดพันแผลเพื่อยึดให้อยู่ในตำแหน่งเดิมตลอดระยะเวลาทดสอบ

9.2.5.3 เมื่อครบ 4 ชั่วโมง ให้เอาผ้ายืดพันแผลและผ้าโปร่งดูดซึมที่ปิดทับพื้นที่ทดสอบบนผิวหนังกระต่ายออกแล้วล้างพื้นที่ทดสอบบนผิวหนังกระต่ายด้วยน้ำบริสุทธิ์ที่ปราศจากเชื้อ ปล่อยให้แห้ง

9.2.5.4 สังเกตผิวหนังบริเวณทดสอบ เมื่อครบเวลา 1 ชั่วโมง 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง เปรียบเทียบผิวหนังบริเวณควบคุม

9.2.5.5 บันทึกผลที่ได้และให้คะแนนตามหลักเกณฑ์การให้คะแนนข้อ 9.2.6 นำคะแนนที่ได้ไปคำนวณหาดัชนีการระคายเคืองเบื้องต้น ตามข้อ 9.2.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.2.6 หลักเกณฑ์การให้คะแนนและเกณฑ์การตัดสิน

9.2.6.1 ความแดงของผิวหนัง

ให้เป็นไปตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 หลักเกณฑ์การให้คะแนนความแดงของผิวหนัง

(ข้อ 9.2.6.1)

ลักษณะ	คะแนน
ไม่มีผื่นแดง	0
มีผื่นแดงเล็กน้อยเห็นได้ไม่ชัด	1
มีผื่นแดงเห็นได้ชัด	2
มีผื่นแดงปานกลางถึงรุนแรง	3
มีผื่นแดงปานกลางถึงรุนแรงถึงผิวหนังตกสะเก็ด	4

9.2.6.2 การบวมของผิวหนัง

ให้เป็นไปตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 หลักเกณฑ์การให้คะแนนการบวมของผิวหนัง

(ข้อ 9.2.6.2)

ลักษณะ	คะแนน
ไม่มีการบวม	0
มีการบวมเล็กน้อยเห็นได้ไม่ชัด	1
มีการบวมเล็กน้อย เห็นขอบบริเวณบวมได้ชัดเจน	2
มีการบวมปานกลาง ขอบบริเวณที่บวมสูงจากผิวหนังบริเวณข้างเคียงประมาณ 1 มิลลิเมตร	3
มีอาการบวมรุนแรง ขอบบริเวณที่บวมสูงจากผิวหนังบริเวณข้างเคียงประมาณ 1 มิลลิเมตร และลามไปสู่บริเวณข้างเคียง	4

9.2.6.3 เกณฑ์การตัดสิน

ให้เป็นไปตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เกณฑ์การตัดสิน

(ข้อ 9.2.6.3)

ดัชนีการระคายเคืองเบื้องต้นต่อผิวหนัง	ระดับการระคายเคือง
0 ถึง 1	ไม่ระคายเคือง
มากกว่า 1 ถึง 2	ระคายเคืองเล็กน้อย
มากกว่า 2 ถึง 5	ระคายเคืองปานกลาง
มากกว่า 5 ถึง 8	ระคายเคืองรุนแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.2.7 วิธีคำนวณ

9.2.7.1 คำนวณดัชนีการระคายเคืองเบื้องต้นต่อผิวหนัง ดังนี้

(1) คำนวนคะแนนการระคายเคืองเบื้องต้น (primary irritation score, PIS) บนพื้นที่ทดสอบของผิวหนังกระต่ายแต่ละตัว

$$\text{PIS ที่บริเวณควบคุม} = \frac{\text{ผลรวมคะแนนความแดงและการบวมที่บริเวณควบคุม}}{\text{จำนวนสังเกตผล}}$$

$$\text{PIS ที่บริเวณทดสอบ} = \frac{\text{ผลรวมคะแนนความแดงและการบวมที่บริเวณทดสอบ}}{\text{จำนวนสังเกตผล}}$$

PIS บนพื้นที่ทดสอบของกระต่ายแต่ละตัว = PIS ที่บริเวณทดสอบ – PIS ที่บริเวณควบคุม

หมายเหตุ *จำนวนสังเกตผล คือ จำนวนคะแนนที่สังเกต ณ เวลา 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง*

(2) คำนวณดัชนีการระคายเคืองเบื้องต้นต่อผิวหนัง โดยนำคะแนน PIS บนพื้นที่ทดสอบของกระต่ายแต่ละตัวรวมกัน หารด้วยจำนวนกระต่ายที่ใช้ทดสอบ ดังนี้

$$\text{PII ต่อผิวหนัง} = \frac{\text{ผลรวมของ PIS บนพื้นที่ทดสอบของผิวหนังกระต่ายทุกตัว}}{\text{จำนวนกระต่ายที่ใช้ทดสอบ}}$$

9.2.8 การรายงานผล

ให้รายงานผลการทดสอบอย่างน้อยให้มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

9.2.8.1 ห้องปฏิบัติการ

(1) ชื่อและที่อยู่ห้องปฏิบัติการทดสอบ

(2) เลขที่อ้างอิงของรายงานและวันที่รายงาน

(3) ชื่อและตำแหน่งผู้ทดสอบ ผู้รายงาน และผู้สรุปผล

9.2.8.2 ผู้ส่งตัวอย่าง

(1) ชื่อและที่อยู่บริษัท

9.2.8.3 ตัวอย่าง

(1) วันที่รับตัวอย่าง

(2) ชื่อตัวอย่าง รายละเอียดตัวอย่าง เดือน ปีที่ทำ/ผู้แทนจำหน่าย ขนาดบรรจุ และจำนวนตัวอย่าง

9.2.8.4 สัตว์ทดลอง

(1) รายละเอียดสัตว์ทดลองที่ใช้ทดสอบ

(2) สภาวะการเลี้ยง (housing condition)

(3) การเตรียมและสภาวะขณะเตรียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.2.8.5 การทดสอบ

(1) วันที่ทดสอบ

(2) การเตรียมตัวอย่าง

(3) การเตรียมวัสดุอุปกรณ์

(4) วิธีทดสอบและสภาวะทดสอบ

(5) ข้อมูลผลการทดสอบ PIS และ PII

(6) การอ่านและการประเมินผลการทดสอบ

9.2.8.6 สรุปผลการทดสอบตามเกณฑ์การตัดสิน

9.3 การใช้งาน

9.3.1 ใช้อาสาสมัคร 6 คน ที่มีสุขภาพแข็งแรงไม่เป็นโรคผิวหนังและต้องไม่มีบาดแผลบริเวณท้องแขน ทำความสะอาดบริเวณท้องแขนของอาสาสมัครทุกคนให้สะอาดด้วยน้ำสะอาดและซับให้แห้งสนิท

9.3.2 ใช้ดินสอสำหรับเขียนผิวหนังขีดกำหนดพื้นที่ทดสอบขนาด (3 × 3) เซนติเมตร บริเวณผิวหนังท้องแขนทดสอบของอาสาสมัคร ทาตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรที่มีปริมาตรประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือมวลประมาณ 1 กรัมให้ทั่วบริเวณผิวหนังที่ทดสอบ ขณะทาให้สังเกตผลที่เกิดขึ้นขณะใช้

9.3.3 ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วตรวจการระคายเคืองต่อผิวหนัง โดยอาสาสมัครอย่างน้อย 4 คน ต้องไม่รู้สึกระคายเคืองหรือต้องไม่มีผื่นแดงบริเวณผิวหนังที่ทดสอบที่ทาตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร จึงจะถือว่าไม่เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง

9.4 ความคงสภาพ

เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรที่ไม่เคยเปิดฝาบรรจุภัณฑ์มาก่อนที่อุณหภูมิ (4 ± 2) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ (45 ± 2) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำเช่นนี้สลับกันจนครบ 4 ครั้ง นำมาวางไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบลักษณะทั่วไปเปรียบเทียบกับสภาพเดิมของผลิตภัณฑ์

9.5 ปริมาณสุทธิ

ให้ทดสอบที่อุณหภูมิห้องและพิจารณาสภาพของผลิตภัณฑ์ ในกรณีที่ผลิตภัณฑ์ที่มีอุปกรณ์อื่นรวมอยู่ด้วย เช่น แปรง ให้ถอดอุปกรณ์นั้นออกก่อน แล้วจึงทดสอบปริมาณสุทธิ

9.5.1 มวลสุทธิ

9.5.1.1 ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรทั้งบรรจุภัณฑ์ให้ทราบมวลแน่นอน เทตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรออกจากบรรจุภัณฑ์ให้หมด ล้างบรรจุภัณฑ์ให้สะอาด ทำให้แห้ง แล้วชั่งบรรจุภัณฑ์เปล่า

9.5.1.2 คำนวณหามวลสุทธิของตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรจากผลต่างของมวลที่ชั่งได้ตามข้อ 9.5.1.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.5.2 ปริมาตรสุทธิ

9.5.2.1 กรณีบรรจุภัณฑ์โปร่งแสง

(1) ทำเครื่องหมายที่ข้างบรรจุภัณฑ์ภายนอกตรงระดับผิวหน้าตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร

(2) เทตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรออกจากบรรจุภัณฑ์ให้หมด ล้างบรรจุภัณฑ์ให้สะอาดและทำให้แห้ง เติมน้ำกลั่นลงไปในบรรจุภัณฑ์ให้ถึงขีดเครื่องหมายที่ทำไว้ ปริมาตรของน้ำกลั่นที่ใช้คือปริมาตรของตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรที่บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์นั้น

9.5.2.2 กรณีบรรจุภัณฑ์ทึบแสง

(1) ชั่งบรรจุภัณฑ์ซึ่งบรรจุตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรอยู่แล้วให้ทราบมวลแน่นอน

(2) นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรมาหาความหนาแน่น

(3) เทตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรออกจากบรรจุภัณฑ์ให้หมด ล้างบรรจุภัณฑ์ให้สะอาด ทำให้แห้ง แล้วชั่งบรรจุภัณฑ์เปล่า

(4) หามวลของตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรจากผลต่างของมวลที่ชั่งได้ระหว่างข้อ (1) กับข้อ (3)

(5) นำค่าความหนาแน่นและมวลของตัวอย่างผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรมาคำนวณหาปริมาตรสุทธิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า ๒๐
เล่ม ๑๓๓ ตอนพิเศษ ๗๒ ง ราชกิจจานุเบกษา ๒๘ มีนาคม ๒๕๕๙

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย

พ.ศ. ๒๕๕๙

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ และมาตรา ๖ (๑) แห่งพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. ๒๕๕๘ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข โดยคำแนะนำของคณะกรรมการเครื่องสำอาง ออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้เครื่องสำอางที่มีคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาตามที่กำหนดไว้ดังต่อไปนี้ เป็นเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย

(๑) เครื่องสำอางที่ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ดังต่อไปนี้

(ก) ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (Pseudomonas aeruginosa)

(ข) สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (Staphylococcus aureus)

(ค) แคนดิดา อัลบิแคนส์ (Candida albicans)

(ง) คลอสตริเดียม (Clostridium spp.) (เฉพาะเครื่องสำอางผสมสมุนไพร)

(๒) เครื่องสำอางที่ใช้บริเวณรอบดวงตา เครื่องสำอางที่สัมผัสเยื่อบุอ่อน และเครื่องสำอางสำหรับเด็กอายุต่ำกว่า ๓ ปี ที่ตรวจพบจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total aerobic plate count) มากกว่า ๕๐๐ โคโลนีต่อกรัม หรือลูกบาศก์เซนติเมตร ขึ้นไป

(๓) เครื่องสำอางอื่น นอกเหนือจากที่กำหนดใน (๒) ที่ตรวจพบจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total aerobic plate count) มากกว่า ๑,๐๐๐ โคโลนีต่อกรัม หรือลูกบาศก์เซนติเมตร ขึ้นไป

ข้อ ๒ คุณสมบัติทางจุลชีววิทยาตามข้อ ๑ ให้ทดสอบตามวิธีที่ระบุไว้ในมาตรฐาน International Organization for Standardization (ISO) หรือ United States Pharmacopeia (USP) ในเรื่องที่เกี่ยวข้อง ฉบับล่าสุด หรือวิธีอื่นที่เป็นมาตรฐานสากลเป็นที่ยอมรับ

ข้อ ๓ ให้เครื่องสำอางที่ใช้ภาชนะบรรจุที่มีลักษณะเป็นกระบอกฉีดยา (Syringe) หรือที่มีลักษณะเป็น Ampoule หรือ Vial หรืออยู่ในภาชนะบรรจุใด ๆ ที่ใช้เครื่องมือประกอบในการผลักดันสารเข้าสู่ผิวหนัง เช่น Iontophoresis, Mesotherapy เป็นต้น เป็นเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย

ข้อ ๔ ประกาศนี้ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๙ กุมภาพันธ์ พ.ศ. ๒๕๕๙
ปิยะสกล สกลสัตยาทร
รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เครื่องสำอาง

1. รายงานการทดสอบผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะในเดือนที่ 0

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขาฉะเชิงเทรา : 36/6 หมู่ 8 ต.ท่าสะอ้าน อ.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา 24130
Chachoengsao Branch : 36/6 Moo 8 Tha Sa-an, Bang Pakong, Chachoengsao 24130 Thailand
Tel : (66) 0 3853 3476-9 Fax : (66) 0 3853 3475
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop & Fast Services

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 21 มีนาคม 2567
เลขที่รายงาน TRCS67/10060
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า (ข้อมูลจากลูกค้า) สถาบันแพทย์แผนไทยฯ
เลขที่ 1 ซอยนองกรุง 1 ถนนสาคกระบัง แขวงสาคกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

รายละเอียดตัวอย่าง (ข้อมูลจากลูกค้า) เซรั่มบำหน้า (0 เดือน)

รหัสตัวอย่าง CS67/03842-001

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : เครื่องสำอาง
สภาพบรรจุ : ขวดแก้ว, จำนวน : 3 ขวด, น้ำหนักปริมาตร : 256.29 กรัม
จุลหภูมิ : จุลหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 15 มีนาคม 2567
วันที่ทดสอบ 15 มีนาคม 2567 - 20 มีนาคม 2567

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	LOQ	วิธีทดสอบอ้างอิง
Aerobic Plate Count	< 10	cfu/g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Candida albicans	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Clostridium spp.	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Pseudomonas aeruginosa	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Staphylococcus aureus	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015

-End of Report-

(นายภาณุ นิลหมื่อ)
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาฉะเชิงเทรา

CERTIFIED

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-R06(16/10/66)P1/1-CH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. รายงานการทดสอบผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะในเดือนที่ 3

2.1 ผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขาฉะเชิงเทรา : 36/6 หมู่ 8 ต.ท่าสะอ้าน อ.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา 24130
Chachoengsao Branch : 36/6 Moo 8 Tha Sa-an, Bang Pakong, Chachoengsao 24130 Thailand
Tel : (66) 0 3853 3476-9 Fax : (66) 0 3853 3475
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop & Fast Services

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 21 มิถุนายน 2567
เลขที่รายงาน TRCS67/19632
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า (ข้อมูลจากลูกค้า) คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เลขที่ 1 ซอยฉลองกรุง 1 เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
รายละเอียดตัวอย่าง (ข้อมูลจากลูกค้า) เซรั่ม 4 องศา 3 เดือน
รหัสตัวอย่าง CS67/07196-001
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : เซรั่ม
ลักษณะบรรจุ : ขวดพลาสติก, จำนวน : 3 ขวด, น้ำหนักโดยประมาณ : 251.20 กรัม
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ
วันที่รับตัวอย่าง 14 มิถุนายน 2567
วันที่ทดสอบ 14 มิถุนายน 2567 - 20 มิถุนายน 2567

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	LOQ	วิธีทดสอบอ้างอิง
Aerobic Plate Count	< 10	cfu/g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Candida albicans	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Clostridium spp.	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Pseudomonas aeruginosa	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Staphylococcus aureus	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015

-End of Report-

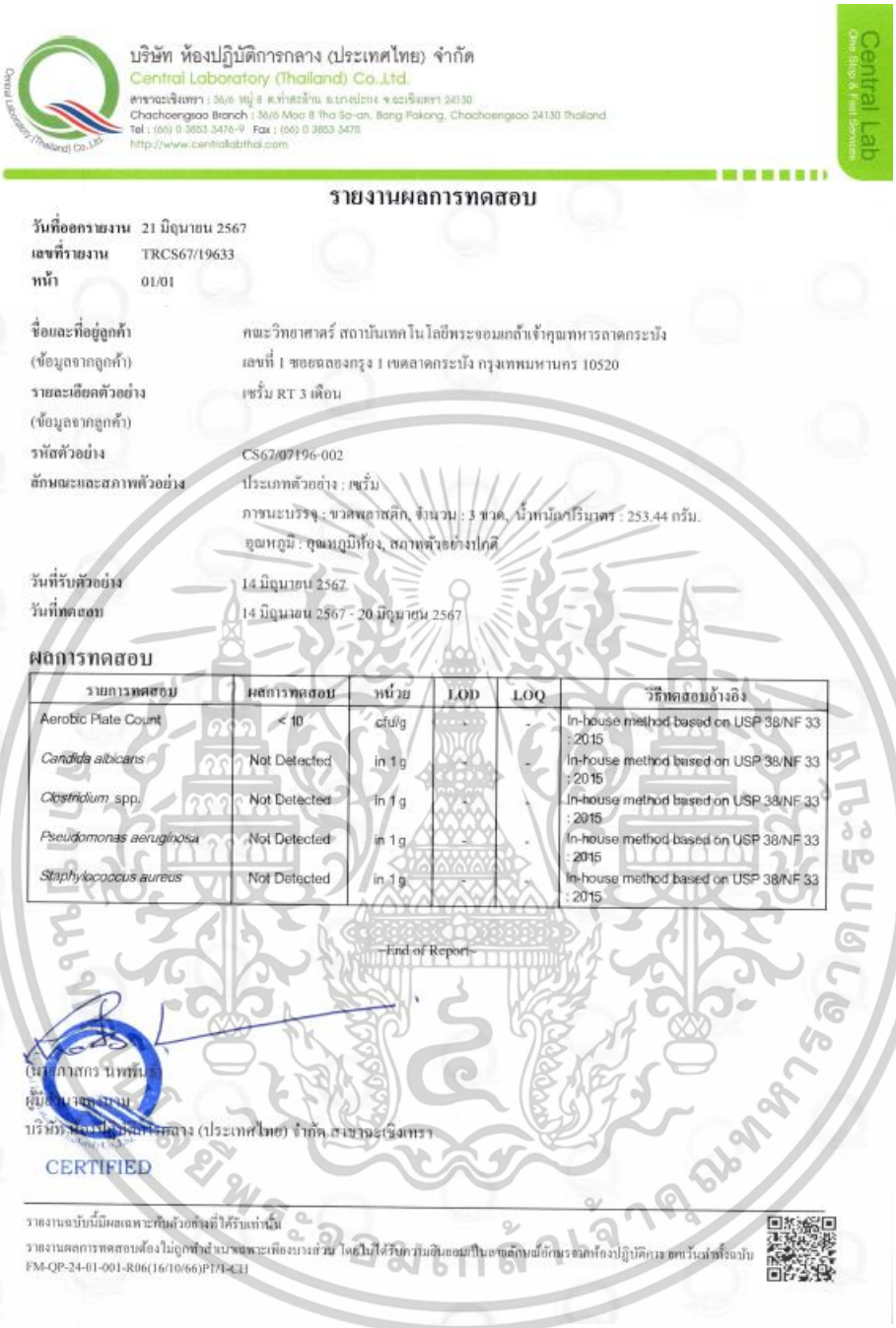
(นายณัฐกร นพพันธ์)
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาฉะเชิงเทรา

CERTIFIED

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-R06(16/10/66)P1/1-CH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขาฉะเชิงเทรา : 36/6 หมู่ 8 ต.ท่าสะอ้าน อ.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา 24130
Chachoengsao Branch : 36/6 Moo 8 Tha So-an, Bang Pakong, Chachoengsao 24130 Thailand
Tel : (66) 0 3853 3476-9 Fax : (66) 0 3853 3478
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop & Full Services

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 21 มิถุนายน 2567
เลขที่รายงาน TRCS67/19633
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า (ข้อมูลจากลูกค้า) คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เลขที่ 1 ซอยฉลองกรุง 1 เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

รายละเอียดตัวอย่าง (ข้อมูลจากลูกค้า) เซรั่ม RT 3 เดือน

รหัสตัวอย่าง CS67/07196-002

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : เซรั่ม
ภาชนะบรรจุ : ขวดพลาสติก, จำนวน : 3 ขวด, น้ำหนักโดยประมาณ : 253.44 กรัม.
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 14 มิถุนายน 2567
วันที่ทดสอบ 14 มิถุนายน 2567 - 20 มิถุนายน 2567

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	LOQ	วิธีทดสอบอ้างอิง
Aerobic Plate Count	< 10	cfu/g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Candida albicans	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Clostridium spp.	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Pseudomonas aeruginosa	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Staphylococcus aureus	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015

End of Report

(นางสาวกรวิ นพทรัพย์)
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาฉะเชิงเทรา

CERTIFIED

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบห้ามไม่ถูกทำสำเนาบางส่วน เว้นแต่จะได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นแต่ทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-R06(16/10/66)PT/I-CH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ผลิตภัณฑ์เซรั่มบีดถั่งเช่าหิมะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขาฉะเชิงเทรา : 36/6 หมู่ 8 ต.ท่าสะอ้าน อ.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา 24130
Chachoengsao Branch : 36/6 Moo 8 Tha So-an, Bang Pakong, Chachoengsao 24130 Thailand
Tel : (66) 0 3853 3476-9 Fax : (66) 0 3853 3475
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop & Best Services

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 21 มิถุนายน 2567
เลขที่รายงาน TRCS67/19634
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
(ข้อมูลจากลูกค้า) เลขที่ 1 ซอยฉลองกรุง 1 เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
รายละเอียดตัวอย่าง เซรั่ม 45 องศา 3 เดือน
(ข้อมูลจากลูกค้า)
รหัสตัวอย่าง CS67/07196-003
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : เซรั่ม
ภาชนะบรรจุ : ขวดพลาสติก, จำนวน : 3 ขวด, น้ำหนักโปรบาตร : 247.73 กรัม.
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ
วันที่รับตัวอย่าง 14 มิถุนายน 2567
วันที่ทดสอบ 14 มิถุนายน 2567 - 20 มิถุนายน 2567

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	LOQ	วิธีทดสอบอ้างอิง
Aerobic Plate Count	< 10	cfu/g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Candida albicans	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Clostridium spp.	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Pseudomonas aeruginosa	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015
Staphylococcus aureus	Not Detected	in 1 g	-	-	In-house method based on USP 38/NF 33 : 2015

-End of Report-

(นายวิทยาสกร นพพันธ์)
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาฉะเชิงเทรา

CERTIFIED

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-R06(16/10/66)P1/1-CH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวญาดา วรโภคานันท์
วัน เดือน ปีเกิด	3 มกราคม 2540
ที่อยู่ปัจจุบัน	277 ซอย ลาซาล 22 ถนน สุขุมวิท 105 แขวง/เขต บางนา กรุงเทพมหานคร 10260
ประวัติการศึกษา	(ปีที่จบ 2561) วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขา เทคโนโลยีชีวภาพ เกรดเฉลี่ย 3.22 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนอุดหนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงานทางวิชาการ	1. เผยแพร่ในวารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 29 (ฉบับที่ 2) พฤษภาคม - สิงหาคม 2567 เรื่อง “การพัฒนาตำรับเซรั่มบีด: การทดสอบอิทธิพลอัตราส่วนของโซเดียมแอลจิเนตและไอออต้าคาราจีแนนที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของเม็ดบีด” 2. เผยแพร่ในวารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 26 (ฉบับที่ 3) กันยายน - ธันวาคม 2564 เรื่อง “แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมในการเพาะถั่งเช่าหิมะเพื่อเพิ่มการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ”

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Burapha Science Journal
Faculty of Science, Burapha University
Tambon Saensuk, Amphoe Muang
Chonburi 20131 Thailand
Tel : +66 3810 3034

Buu.Sci.J. (2024) - 071

July 1, 2024

Dear Yada Woraphokanunt, Veerawat Teeranachaideekul, Aree Rittiboon and Marisa Jatupornpipat

After reviewing processes, it is my great pleasure to inform you that the manuscript ID246 entitled "Formulation Development of Serum Beads : Investigating the Influence of Sodium Alginate/Iota Carrageenan Ratio on Bead Characteristics" has been accepted by the editorial board to publish in Burapha Science Journal. The manuscript will appear as a research article in the journal volume 29 (No.2) May – August 2024 (pp.582–597), https://li05.tci- thaijo.org/index.php/buuscij/issue/view/26. On behalf of the editorial board, I would like to express our gratitude for submitting your manuscript to the Burapha Science Journal. We hope you will continue to consider the Burapha Science Journal for any future scientific publications.

Sincerely yours,

Associate Professor Dr. Sutin Kingtong
Chief Editor
Burapha Science Journal

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ ววบ/๒๕๖๔-๑๕๘

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี ๒๐๑๓๑

๘ กันยายน พ.ศ. ๒๕๖๔

เรื่อง แจ้งตอบรับบทความเพื่อออกเผยแพร่ในวารสารวิทยาศาสตร์บูรพา
เรียน คุณญาดา วรโกคานันท์, คุณมาริสา จาตุพรพิพัฒน์ และ คุณอารี ฤทธิบูรณ์

ตามที่ท่านได้ส่งบทความวิจัยเพื่อเข้ารับการพิจารณากลั่นกรองคุณภาพบทความในวารสารวิทยาศาสตร์บูรพา บัดนี้ ขั้นตอนได้ดำเนินการเสร็จสิ้นเรียบร้อยแล้ว จึงขอแจ้งผลการตอบรับบทความ ดังนี้

บทความ ID : 3842
ชื่อเรื่องภาษาไทย : แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมในการเพาะถั่งเช่าหิมะเพื่อเพิ่มการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษ : Optimum Carbon and Nitrogen Sources for Enhancing Bioactive Compound Production of *Isaria tenuipes*
ฉบับที่ออกเผยแพร่ : วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ ๒๖ (ฉบับที่ ๓) กันยายน - ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๖๔
เลขหน้า : ๑๖๘๓ - ๑๖๙๑
URL : http://science.buu.ac.th/ojs246/index.php/sci/issue/view/103

และในโอกาสนี้กองบรรณาธิการวารสาร ฯ ขอขอบคุณที่ท่านได้ให้ความไว้วางใจในการส่งบทความเพื่อเข้ารับการพิจารณา และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าท่านจะให้ความสนใจส่งบทความในโอกาสต่อไป

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

ขอแสดงความนับถือ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิภูษิต มัณฑะจิตร)
บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์บูรพา

งานวารสารวิทยาศาสตร์บูรพา
โทรศัพท์ ๐๓๘-๑๐๓๐๓๘
อีเมล์ buscij@buu.ac.th
เว็บไซต์ http://science.buu.ac.th/part/buuscij/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้