

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวหน้าที่มีสารสกัดจากด้งเช่าหิมะ

DEVELOPMENT OF FACIAL SERUM PRODUCT CONTAINING  
*Isaria tenuipes* EXTRACT

จิราภรณ์ พิมพ์ทอง

JIRAPORN PIMTHONG

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL-2020-SC-M-020-0

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวหน้าที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

DEVELOPMENT OF FACIAL SERUM PRODUCT CONTAINING  
*Isaria tenuipes* EXTRACT

จิราภรณ์      พิมพ์ทอง

JIRAPORN   PIMTHONG

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL--2020-SC-M-020-0

DEVELOPMENT OF FACIAL SERUM PRODUCT CONTAINING  
*Isaria tenuipes* EXTRACT

JIRAPORN PIMTHONG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE  
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY  
DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2020

KMITL--2020-SC-M-020-0

COPYRIGHT 2020

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวหน้าที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจิราภรณ์ พิมพ์ทอง
รหัสประจำตัว	60605046
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
พ.ศ.	2563
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์อารี ฤทธิบุรณ์

### บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าถั่งเช่าหิมะเจริญในอาหารแข็งมีลักษณะโคโลนีสีขาวฟู อัตราการเจริญของเส้นใยในอาหารเหลวของหัวเชื้อพบว่าช่วงเวลาที่ 96 มีปริมาณเส้นใยแห้งสูงสุดคือ 18.20 กรัมต่อลิตร จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกถั่งเช่าหิมะพบว่า มีสีเหลือง ก้านเรียวยาว มีรูปร่างกึ่งก้านสาขาไม่เป็นระเบียบและมีสปอร์สีขาวอยู่ด้านบน พบว่ามีน้ำหนักแห้งของดอกถั่งเช่าหิมะ 1.63 กรัมต่อ 100 กรัมสารตั้งต้น ทำการวิเคราะห์สารสำคัญพบว่าคอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน พอลิแซ็กคาไรด์ มีค่าคือ 1.06, 9.61 และ 29.32 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ จากนั้นวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ ABTS พบว่ามีค่า IC<sub>50</sub> คือ 0.66 และ 0.35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และทำการวิเคราะห์เอนไซม์ SOD พบว่ามีปริมาณ 9.17 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน จากการศึกษาความคงตัวของสารสำคัญจากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์และอะดีโนซีนที่ทำการเก็บรักษาในรูปแบบของสารละลายที่สัปดาห์ที่ 12 ทั้งอุณหภูมิที่ 4 และ 30 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารไม่ถึงร้อยละ 10 จากนั้นทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของปริมาณสารสกัดถั่งเช่าหิมะในเซรั่ม โดยใส่สารสกัดถั่งเช่าหิมะลงในเซรั่มร้อยละ 1.8, 1.9 และ 2.0 พบว่าปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และปริมาณอะดีโนซีนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าปริมาณคอร์ไดเซปินร้อยละ 1.8 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับร้อยละ 2.0 ดังนั้นจึงทำการเลือกใส่สารสกัดร้อยละ 2.0 ทำการศึกษาวิจัยต่อไป จากนั้นทำการศึกษาความคงตัวของเซรั่มถั่งเช่าหิมะสามารถวิเคราะห์ความคงตัวเป็นค่าร้อยละ พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ คอร์ไดเซปิน และอะดีโนซีนในเซรั่มถั่งเช่าหิมะมีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารสำคัญของสารสกัดที่สัปดาห์ที่ 12 ทั้งอุณหภูมิที่ 4 และ 30 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารทั้งหมดมากกว่าร้อยละ 10 สำหรับปัจจัยเรื่องอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมื่อทำการเปรียบเทียบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียสพบว่า การเก็บรักษาในอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาสารสำคัญให้มีความคงตัวมากกว่าแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นพอลิแซ็กคาไรด์ที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ ต่อมาการศึกษาความคงตัวของร่างกายจากเซรั่มที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ โดยทำการวัดพีเอช ความหนืด และทำการวัดสี โดยเก็บรักษาเซรั่มที่อุณหภูมิห้อง และ 30 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับเซรั่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าลดลงไม่เกินร้อยละ 10 และทำการวิเคราะห์จุลชีววิทยา พบว่าเป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรม และทำแบบสอบถามการประเมินทางประสาทสัมผัส โดยทำการเปรียบเทียบเซรั่มถั่งเช่าหิมะกับเซรั่มที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า พบว่าอาสาสมัครมีความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์เซรั่มถั่งเช่าหิมะมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**คำสำคัญ :** คอร์โดเซปิน เซรั่ม ถั่งเช่าหิมะ พอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน

<b>Thesis Title</b>	A study of stability from <i>Isaria tenuipes</i> extract and apply in facial serum product
<b>Student Name</b>	Jiraporn Pimthong
<b>Student ID</b>	60605046
<b>Degree</b>	Master of Science (Biotechnology)
<b>Department</b>	Biology
<b>Year</b>	2020
<b>Thesis Advisor</b>	Assoc. Prof. Aree Rittiboon

### Abstract

The characteristic of *Isaria tenuipes* grown on the solid-state medium demonstrated a white and spongy colony. The morphology of fruiting bodies showed the yellow, tapering rod, disorderly branch shape, and white spore on top. The highest mycelium growth rate in a liquid medium for inoculum in 96 hours was 18.20 g /L based on dry weight and the fruiting body was 1.63 g /substrate based on dry weight. The major compounds found in the fruiting body extract were cordycepin, adenosine, and polysaccharides with the amount of 1.06, 9.61, and 29.32 mg/g based on dry weight, respectively. Additionally, the extract demonstrated an antioxidant activity investigated by DPPH and ABTS assays with the IC<sub>50</sub> values of 0.66 and 0.35 mg/mL, respectively. The extract had the SOD content equal to 9.17 units/mg protein. The stabilities of polysaccharides and adenosine in the solution of *isaria tenuipes* extract were stable than cordycepin after storage at 4 and 30 °C for 12 weeks. The polysaccharides and adenosine contents were reduced by less than 10%. A skin serum was formulated with 1.8, 1.9, and 2.0 % of *Isaria tenuipes* extract. Although the cordycepin or polysaccharides contents were not significantly different among the formulations, the cordycepin contents showed the highest amount in the formulation of 2% of the extract. Therefore, for further study, a skin serum was formulated with 2% of *Isaria tenuipes* extract. The chemical stabilities of skin serum formulations demonstrated that the polysaccharides, cordycepin, and adenosine contents in a skin serum were decreased greater than 10 % after storage at 4 and 30 °C for 12 weeks. However, the physical stabilities of skin serum formulations showed no significant differences in pH,

viscosity, and color among the formulations after storage at 4, 25, and 30 °C 12 weeks. The Microbiology, which passed the safety of cosmetic products acceptance criteria. A sensory evaluation questionnaire showed that the overall of a skin serum of *Isaria tenuipes* extract were more significant preference than those of a commercial product.

**Keywords** : adenosine, cordycepin, facial serum, *Isaria tenuipes*, polysaccharide

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดีด้วยความกรุณาจากรองศาสตราจารย์ อารี ฤทธิบุรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อาจารย์พิมพ์สุมน เจียมบุญศรี รองศาสตราจารย์ ดร. มาริส จาตุพรพิพัฒน์ ที่ได้ให้ความรู้ แนวทางในการดำเนินงานวิจัย คำแนะนำในการแก้ปัญหา อีกทั้งยังได้กรุณาตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สีหนาท ประสงค์สุข อาจารย์ผู้ทรงคุณวุฒิจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการเป็นประธานกรรมการสอบ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัยและตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ที่ให้การสนับสนุนทั้งด้านทุนทรัพย์และเป็นกำลังใจที่สำคัญจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำและคอยช่วยเหลือเสมอมา นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้ความสะดวกในการดำเนินการวิจัยในด้านสถานที่ อุปกรณ์ และสิ่งอำนวยความสะดวกต่าง ๆ

... (นางสาวจิราภรณ์ พิมพ์ทอง)...

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	น
สารบัญรูป	ป
คำย่อ/สัญลักษณ์	ฝ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>3</b>
2.1 ถั่งเช่า	3
2.1.1 ลักษณะและการสืบพันธุ์ของถั่งเช่า	4
2.1.2 วงจรชีวิตและกลไกการทำลายแมลงของถั่งเช่า	4
2.1.3 สารสำคัญและคุณประโยชน์ของถั่งเช่า	6
2.2 ถั่งเช่าหิมะ	6
2.3 สารสำคัญของถั่งเช่าหิมะ	8
2.3.1 คอร์ไดเซปิน (cordycepin)	10
2.3.2 อะดีโนซีน (adenosine)	11
2.3.3 พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide)	13
2.3.3.1 หลักการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธีแอนโทรน	13
2.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่าหิมะ	13
2.4.1 ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส	15
2.4.2 อนุมูลอิสระ (Free Radical)	15
2.4.2.1 ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ	16
2.4.2.2 หลักการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ	16
2.5 ความคงตัวสารสำคัญ	18

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.1 ความคงตัวของยาและเภสัชภัณฑ์สามารถแบ่งเป็น 5 ประเภท	19
2.6 เครื่องสำอางที่ใช้สำหรับผิวหนัง	19
2.6.1 ผิวหนัง	19
2.6.2 กายวิภาคของผิวหนัง	19
2.6.3 เครื่องสำอาง	21
2.6.4 อิมัลชันทางเครื่องสำอาง	21
2.6.4.1.การแบ่งตามลักษณะภายนอกที่มองเห็น	22
2.6.4.2. แบ่งตามชนิดของของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายในและวัฏ	22
ภาคภายนอก	
2.6.4.3.แบ่งตามความหนืดของอิมัลชัน	23
2.7 คุณลักษณะทางจุลชีววิทยาในเครื่องสำอาง	23
2.7.1 จำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญโดยใช้อากาศ	24
(aerobic plate count)	
2.8 เครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง	24
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	25
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>	<b>27</b>
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	30
3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์	30
3.1.2 สารเคมี	30
3.1.3 วัตถุติด	30
3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ	31
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน	31
3.2.1 การวิเคราะห์สารสำคัญและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่าหิมะ	33
3.2.1.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อและวิเคราะห์อัตราการ	34
เจริญของถั่งเช่าหิมะ	
3.2.1.2 การเพาะเลี้ยงและการทำแห้งถั่งเช่าหิมะ	34
3.2.1.3 การสกัดสารและการวิเคราะห์คอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน	34
3.2.1.4 การสกัดสารและการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์และสาร	35
ตำนานมูลิสระ	

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.1.5 การสกัดสารและการวิเคราะห์เอนไซม์ SOD	36
3.2.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาและความคงตัวของสารสกัดถั่งเช่าหิมะ	36
3.2.2.1 การสกัดสารสกัดถั่งเช่าหิมะ	37
3.2.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	37
3.2.2.3 การทดสอบความคงตัว	37
3.2.3 ทดสอบทางประสาทสัมผัสของสูตรตำรับพื้นฐาน	37
3.2.3.1 เตรียมสูตรตำรับพื้นฐาน 2 สูตร	37
3.2.3.2 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ	37
3.2.3.3 ประเมินคุณสมบัติทางเคมี	38
3.2.3.4 ประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส	38
3.2.4 การหาสภาวะที่เหมาะสมและความคงตัวของเซรั่มที่มีส่วนผสมของสารสกัดถั่งเช่าหิมะ	39
3.2.5 การประเมินคุณภาพและทางประสาทสัมผัสของเซรั่มที่พัฒนาแล้ว	40
3.2.5.1 การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ	40
3.2.5.2 การประเมินคุณสมบัติทางเคมี	40
3.2.5.3 การประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพ	40
3.2.5.4 การประเมินความคงตัว	41
3.2.5.5 การประเมินการระคายเคืองและการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการทำแบบสอบถาม	41
3.2.5.6 การวิเคราะห์ค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ.	41
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล</b>	<b>42</b>
4.1 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	43
4.1.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงถั่งเช่าหิมะ	43
4.1.2 การศึกษาสารสำคัญของถั่งเช่าหิมะ	43
4.1.3 การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่าหิมะ	43
4.1.4 การศึกษาสารสำคัญของสารสกัดถั่งเช่าหิมะ	44
4.1.5 การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดถั่งเช่าหิมะ	44
4.1.6 การศึกษาความคงตัวของสารสำคัญจากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ	45

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1.7 ผลการทดสอบทดสอบทางประสาทสัมผัสของสูตรตำรับพื้นฐาน	48
4.1.8 การหาสภาวะที่เหมาะสมของปริมาณสารสกัดง่่าหิมะในเซรัม	50
4.1.9 การศึกษาความคงตัวของสารสำคัญจากเซรัมที่มีสารสกัดง่่าหิมะ	50
4.1.10 ผลการศึกษาความคงตัวของทางกายภาพจากเซรัมที่มีสารสกัดง่่าหิมะ	54
หิมะ	
4.1.11 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในเซรัมที่มีสารสกัดง่่าหิมะ	56
หิมะ	
4.1.12 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส	56
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	<b>58</b>
5.1 สรุปผลการวิจัย	58
5.2 ข้อเสนอแนะ	59
เอกสารอ้างอิง	60
ภาคผนวก	72
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	73
ภาคผนวก 1ก การเตรียมอาหารแข็งเลี้ยงเชื้อสูตร potato dextrose	73
Agar (PDA) เสริม	
ภาคผนวก 2ก การเตรียมอาหารเหลวเลี้ยงหัวเชื้อสูตร potato	73
dextrose broth (PDB) เสริม	
ภาคผนวก 3ก การเตรียมอาหารแข็งสำหรับเพาะเลี้ยงง่่าหิมะ	73
ภาคผนวก ข การเตรียมสารและการวิเคราะห์	75
ภาคผนวก 1ข การวิเคราะห์โดยวิธีแอนโทรน	75
ภาคผนวก 2ข การวิเคราะห์โดยวิธี DPPH	75
ภาคผนวก 3ข การวิเคราะห์โดยวิธี ABTS	76
ภาคผนวก 4ข การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ SOD	76
ภาคผนวก 5ข การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีของ Lowry ในสารละลาย	77
เอนไซม์	
ภาคผนวก 6ข การสร้างกราฟมาตรฐานคอร์โคโรเตซินและอะดีโนซีน	78
ภาคผนวก ค รูปการทดลอง	80

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ง ผลการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ	83
ภาคผนวก ง1. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์ SOD โดยใช้ฟอสเฟตบัพเฟอร์ที่ค่าพีเอชที่ 6, 7 และน้ำเป็นตัวควบคุม	83
ภาคผนวก ง2. ค่าเฉลี่ยของผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์ SOD โดยใช้ฟอสเฟตบัพเฟอร์ที่ค่าพีเอชที่ 6, 7 และน้ำเป็นตัวควบคุมทางสถิติโดยวิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	83
ภาคผนวก ง3. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	83
ภาคผนวก ง4. ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยวิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	84
ภาคผนวก ง5. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	84
ภาคผนวก ง6. ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยวิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	84
ภาคผนวก ง7. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของดีโนซินจากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	85
ภาคผนวก ง8. ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความคงตัวของดีโนซินจากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยวิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	85
ภาคผนวก ง9. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของดีโนซินจากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	85

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ง10. ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความคงตัวของดีโนซินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	86
ภาคผนวก ง11. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของโคอร์โดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	86
ภาคผนวก ง12. ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความคงตัวของโคอร์โดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	86
ภาคผนวก ง13. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของโคอร์โดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	87
ภาคผนวก ง14. ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความคงตัวของโคอร์โดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	87
ภาคผนวก ง15. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	87
ภาคผนวก ง16. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	88
ภาคผนวก ง17. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	88
ภาคผนวก ง18. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	88

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ง19. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของดีโนซีนจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	89
ภาคผนวก ง20. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของดีโนซีนจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	89
ภาคผนวก ง21. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของดีโนซีนจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	89
ภาคผนวก ง22. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของดีโนซีนจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	90
ภาคผนวก ง23. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของคอรีโดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	90
ภาคผนวก ง24. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของคอรีโดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	90
ภาคผนวก ง25. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของคอรีโดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	91
ภาคผนวก ง26. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของคอรีโดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	91
ภาคผนวก ง27. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบความพึงพอใจของสีจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร	92
ภาคผนวก ง28. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบความพึงพอใจของสีจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	92

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ง29. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบความพึงพอใจของกลิ่นจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร	92
ภาคผนวก ง30. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบความพึงพอใจของกลิ่นจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	92
ภาคผนวก ง31. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบความพึงพอใจของความชุ่มชื้นจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร	93
ภาคผนวก ง32. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ข้อมูลการทดสอบความพึงพอใจของความชุ่มชื้นจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	93
ภาคผนวก ง33. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบความพึงพอใจของเนื้อสัมผัสจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร	93
ภาคผนวก ง34. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ข้อมูลการทดสอบความพึงพอใจของเนื้อสัมผัสจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	93
ภาคผนวก ง35. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบความพึงพอใจของความชุ่มชื้นเข้าสู่ผิวจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร	94
ภาคผนวก ง36. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบความพึงพอใจของความชุ่มชื้นเข้าสู่ผิวจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	94
ภาคผนวก ง37. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบความพึงพอใจของความชอบโดยรวมจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร	94
ภาคผนวก ง38. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ข้อมูลทดสอบทางประสาทสัมผัสของความชอบโดยรวมจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	95
ภาคผนวก ง39. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบการหาสภาวะที่เหมาะสมของคอร์ไดเซปินในเซรัมถึงเข้าหิมะ	95
ภาคผนวก ง40. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ผลการทดสอบการหาสภาวะที่เหมาะสมของคอร์ไดเซปินในเซรัมถึงเข้าหิมะโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	95

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ง41. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบการหาสภาวะที่เหมาะสมของอะดีโนซีนในเซรัมถั่งเช่าหิมะ	96
ภาคผนวก ง42. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ผลการทดสอบการหาสภาวะที่เหมาะสมของอะดีโนซีนในเซรัมถั่งเช่าหิมะโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	96
ภาคผนวก ง43. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบการหาสภาวะที่เหมาะสมของพอลิแซ็กคาไรด์ในเซรัมถั่งเช่าหิมะ	96
ภาคผนวก ง44. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ผลการทดสอบการหาสภาวะที่เหมาะสมของพอลิแซ็กคาไรด์ในเซรัมถั่งเช่าหิมะโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	96
ภาคผนวก ง45. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	97
ภาคผนวก ง46. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	97
ภาคผนวก ง47. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	97
ภาคผนวก ง48. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	98
ภาคผนวก ง49. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของอะดีโนซีนจากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	98
ภาคผนวก ง50. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของอะดีโนซีนจากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	98

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ง51. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของดีโนซินจากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้าง ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	99
ภาคผนวก ง52. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของดีโนซินจากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้าง ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	99
ภาคผนวก ง53. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของคอรีโดเซปินจากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้าง ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	100
ภาคผนวก ง54. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของคอรีโดเซปินจากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้าง ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	100
ภาคผนวก ง55. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของคอรีโดเซปินจากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้าง ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	100
ภาคผนวก ง56. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของคอรีโดเซปินจากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้าง ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	101
ภาคผนวก ง57. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของลิแซ็งคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้าง ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	101
ภาคผนวก ง58. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของลิแซ็งคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้าง ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	101
ภาคผนวก ง59. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของลิแซ็งคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้าง ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	102

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ง60. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	102
ภาคผนวก ง61. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวอะดีโนซีนจากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	102
ภาคผนวก ง62. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวอะดีโนซีนจากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	103
ภาคผนวก ง63. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวอะดีโนซีนจากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	103
ภาคผนวก ง64. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวอะดีโนซีนจากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	103
ภาคผนวก ง65. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวคอร์โดเซปินจากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	104
ภาคผนวก ง66. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวคอร์โดเซปินจากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	104
ภาคผนวก ง67. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวคอร์โดเซปินจากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	105

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ง68. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวคอรีโด เซปินจากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการ ทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่น ร้อยละ 95	105
ภาคผนวก ง69. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวทาง กายภาพ คือ พีเอช ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์	105
ภาคผนวก ง70. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ พีเอช ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศา เซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	106
ภาคผนวก ง71. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวทาง กายภาพ คือ ความหนืด ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์	106
ภาคผนวก ง72. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ ความหนืด ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศา เซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	106
ภาคผนวก ง73. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวทาง กายภาพ คือ สี (ค่า L*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์	107
ภาคผนวก ง74. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ สี (ค่า L*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศา เซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	107

## สารบัญ (ต่อ)

### หน้า

ภาคผนวก ง75. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ สี (ค่า $a^*$ ) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์	107
ภาคผนวก ง76. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ สี (ค่า $a^*$ ) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	108
ภาคผนวก ง77. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ สี (ค่า $b^*$ ) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์	108
ภาคผนวก ง78. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ สี (ค่า $b^*$ ) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	108
ภาคผนวก ง79. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละความคงตัวทางกายภาพ คือ พีเอช ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์	109
ภาคผนวก ง80. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละความคงตัวทางกายภาพ คือ พีเอช ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	110
ภาคผนวก ง81. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละความคงตัวทางกายภาพ คือ ความหนืด ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์	110

## สารบัญ (ต่อ)

### หน้า

ภาคผนวก ง82. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละความคงตัวของ กายภาพ คือ ความหนืด ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถึงเช้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	110
ภาคผนวก ง83. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละความคงตัว ทางกายภาพ คือ สี (ค่า $L^*$ ) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถึงเช้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็น ระยะเวลา 12 สัปดาห์	110
ภาคผนวก ง84. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละความคงตัวของ กายภาพ คือ สี (ค่า $L^*$ ) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถึงเช้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	111
ภาคผนวก ง85. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละความคงตัว ทางกายภาพ คือ สี (ค่า $a^*$ ) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถึงเช้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์	111
ภาคผนวก ง86. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละความคงตัวของ กายภาพ คือ สี (ค่า $a^*$ ) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถึงเช้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	111
ภาคผนวก ง87. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละความคงตัว ทางกายภาพ คือ สี (ค่า $b^*$ ) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถึงเช้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์	112
ภาคผนวก ง88. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละความคงตัวของ กายภาพ คือ สี (ค่า $b^*$ ) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรัมถึงเช้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	112
ภาคผนวก ง89. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของสี ในการทดสอบความ พึงพอใจเซรัมถึงเช้าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า	112

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ง90. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสของ เซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	113
ภาคผนวก ง91. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกลิ่น ในการทดสอบ ทางประสาทสัมผัสเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า	113
ภาคผนวก ง92. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสกลิ่น ของเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า ทางสถิติโดยใช้วิธี ของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	113
ภาคผนวก ง93. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความชุ่มชื้น ในการ ทดสอบทางประสาทสัมผัสเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทาง การค้า	114
ภาคผนวก ง94. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสความ ชุ่มชื้นของเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าทางสถิติโดยใช้ วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	114
ภาคผนวก ง95. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเนื้อสัมผัส ทางประ สาทสัมผัสเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า	114
ภาคผนวก ง96. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสเนื้อ สัมผัสของเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าทางสถิติโดยใช้ วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	114
ภาคผนวก ง97. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนืด ในการ ทดสอบทางประสาทสัมผัสเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทาง การค้า	115
ภาคผนวก ง98. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสความหนืด ของเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าทางสถิติโดยใช้วิธี ของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	115
ภาคผนวก ง99. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการชิมซาบเข้าสู่ผิว ใน การทดสอบทางประสาทสัมผัสเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ ทางการค้า	115

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ง100. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส การชิมซาบเข้าสู่ผิวของเซรัมถึงเซ่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	116
ภาคผนวก ง101. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความชอบโดยรวม ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเซรัมถึงเซ่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า	116
ภาคผนวก ง102. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส ความชอบโดยรวมของเซรัมถึงเซ่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95	116
ภาคผนวก จ มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม	117
ภาคผนวก ฉ แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส	124
ภาคผนวก ช ผลการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา	127
ภาคผนวก ซ การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติด้วยโปรแกรม Minitab	129

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่า	7
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของถั่งเช่าหิมะ	8
2.3 ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ในถั่งเช่าหิมะ	8
2.4 ปริมาณของกรดอะมิโนอิสระในถั่งเช่าหิมะ	9
2.5 ปริมาณของกรดไขมันในถั่งเช่าหิมะ	9
2.6 ขนาดอนุภาควิภาคภายในกับลักษณะอิมัลชันที่ปรากฏ	22
3.1 ส่วนประกอบตำรับเสริมพื้นฐานสูตรที่ 1	38
3.2 ส่วนประกอบตำรับเสริมพื้นฐานสูตรที่ 2	39
4.1 ค่าความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์ไดเซปิน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	46
4.2 ค่าความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์ไดเซปิน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	46
4.3 การเปรียบเทียบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์ไดเซปิน จากสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่อุณหภูมิที่ 4 กับ 30 องศาเซลเซียส ที่เวลา 12 สัปดาห์	47
4.4 ค่าร้อยละความคงตัวที่เหลือของสารสำคัญจากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบ ทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	47
4.5 ค่าร้อยละความคงตัวที่เหลือของสารสำคัญจากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบ ทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	48
4.6 ผลการทดสอบคุณสมบัติสูตรตำรับเสริมพื้นฐาน	49
4.7 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของสูตรตำรับเสริมพื้นฐาน โดยการทำแบบสอบถามแบบ Hedonic scale 5 ระดับของสูตรตำรับเสริมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร	49
4.8 ส่วนประกอบตำรับเสริมสูตรที่ได้รับการคัดเลือก	50
4.9 ค่าความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์ไดเซปินจากเสริมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	51
4.10 ค่าความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์ไดเซปินจากเสริมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	52
4.11 การเปรียบเทียบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์ไดเซปิน จากเสริมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่อุณหภูมิที่ 4 กับ 30 องศาเซลเซียสของสัปดาห์ที่ 12	53

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.12 ค่าร้อยละความคงตัวของสารสำคัญจากเซรัมถึงเช่าหิมะ เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์	53
4.13 ค่าร้อยละความคงตัวของสารสำคัญจากเซรัมถึงเช่าหิมะ เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์	53
4.14 ค่าร้อยละความคงตัวของทางกายภาพที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกันจากเซรัมถึงเช่าหิมะ เมื่อทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์	55
4.15 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า	56
6.1 การเจือจางสารละลายกลูโคสมาตรฐานด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	74
6.2 การเตรียมฟอสเฟสบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 6, 7 และ 7.8	76

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ถังเช่าทิเบต ถังเช่าสีทอง ถังเช่าหิมะ และถังเช่าจกจัน	4
2.2 วงจรชีวิตของถังเช่า	5
2.3 ลักษณะทั่วไปของถังเช่าหิมะ	8
2.4 โครงสร้างคอร์ไดเซปิน	10
2.5 โครงสร้างอะดีโนซีนจากถังเช่าหิมะ	11
2.6 การทำนายโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ CPS-2 ที่แยกมาจากดอกถังเช่าทิเบต	12
2.7 หลักการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธีแอนโทรน	13
2.8 โครงสร้างผลึกสามมิติของ SOD ทองแดงและสังกะสีจะแสดงเป็นทรงกลมสีฟ้าและสีส้มตามลำดับ พันธะซัลไฟด์ซึ่งเป็นหน่วยย่อยภายในจะแสดงเป็นสีแดง	14
2.9 โครงสร้างสาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH*)	17
2.10 โครงสร้างสาร 2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS**)	18
2.11 โครงสร้างชั้นผิวหนัง	20
2.12 องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง	26
3.1 ภาพรวมในการดำเนินงานวิจัย	33
4.1 (ก) ลักษณะโคโลนีถังเช่าหิมะที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA สำหรับเพาะเลี้ยงหัวเชื้อ (ข) และ (ค) ลักษณะสัณฐานเบื้องต้นของดอกถังเช่าหิมะ	41
6.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร	75
6.2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย bovine serum albumin (BSA) ที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 0, 40, 80, 120, 160 และ 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	77
6.3 กราฟมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 0, 20, 40, 60 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร	77
6.4 กราฟมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 0, 20, 40, 60 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร	78
6.5 โครมาโทแกรมแสดงลักษณะพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานคอร์ไดเซปิน นาที้ที่ 12.17 ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC	79
6.6 โครมาโทแกรมแสดงลักษณะพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานอะดีโนซีน นาที้ที่ 9.43 ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC	79

## สารบัญญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
6.7 โครมาโทแกรมแสดงลักษณะพื้นที่ใต้กราฟของอะดีโนซีน นาที่ที่ 9.73 และคอร์ไดเซปิน นาที่ที่ 11.98 ซึ่งเป็นตัวอย่างในการศึกษาปริมาณสารสำคัญจากดอกถั่งเช่าหิมะ โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC	79
6.8 ลักษณะเส้นใยถั่งเช่าหิมะที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA เสริม (ก) PDB เสริม (ข) และอาหารแข็งสำหรับเพาะเลี้ยงถั่งเช่า (ค)	80
6.9 ลักษณะสีฐานเบื้องต้นของดอกถั่งเช่าหิมะ	80
6.10 ลักษณะสารสกัดถั่งเช่าหิมะจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง	80
6.11 ลักษณะเซรัมถั่งเช่าหิมะ	81

## คำย่อ/สัญลักษณ์

w/w

v/v

w/o

o/w

w/o/w

o/w/o

โดยน้ำหนัก

โดยปริมาตร

น้ำในน้ำมัน

น้ำมันในน้ำ

น้ำในน้ำมันในน้ำ

น้ำมันในน้ำในน้ำมัน

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*) ในประเทศเกาหลีเรียกว่า “Dongchunghacho” เนื่องจากมีลักษณะเหมือนเกล็ดหิมะมีสีขาวขุ่น (Ji *et al.*, 2011) อยู่ในกลุ่ม Ascomycetes เป็นเชื้อราปรสิตชนิดหนึ่งที่เจริญในหนอนผีเสื้อ (Bunyapaiboonsri *et al.*, 2011) ในสภาพแวดล้อมเหมาะสม เมื่อหนอนผีเสื้อตายถั่งเช่าหิมะจะเจริญออกมาและเกิดสปอร์จำนวนมาก (Ji *et al.*, 2011) ซึ่งในช่วงฤดูหนาวจะมีลักษณะเหมือนหนอน ในช่วงฤดูร้อนจะมีลักษณะเหมือนหญ้า (Hong *et al.*, 2007) ถั่งเช่าหิมะมีคุณค่าทางโภชนาการสูงเนื่องจากเป็นสมุนไพร อีกทั้งยังมีความหลากหลายทางชีวภาพและมีสรรพคุณทางยา (Sapkota *et al.*, 2011)

จากการศึกษาพบว่า พอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยของถั่งเช่าหิมะ (Sharma, 2015) มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมาจากประสิทธิภาพที่สูงของซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase; SOD) ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการป้องกันการเกิดภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล (oxidative stress) (Wu *et al.*, 2016) ทั้งยังช่วยฟื้นฟูความแข็งแรง ลดอัตราการถูกทำลายของเซลล์ และอาจเป็นปัจจัยสำคัญในการช่วยลดริ้วรอย ชะลอกระบวนการชรา (Earl, 2010) และพบว่าในถั่งเช่าหิมะมีอะดีโนซีน (adenosine) (Hong *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2017) ซึ่งสามารถยับยั้งการอักเสบ (Liu *et al.*, 2017) อีกทั้งอะดีโนซีนที่เป็นอนุพันธ์ของนิวคลีโอไซด์ (nucleoside) เป็นสารชนิดหนึ่งในกระบวนการทำงานของเซลล์ และเป็นสารตั้งต้นที่ไปกระตุ้นการทำงานของดีเอ็นเอ (DNA) ในการสร้างโปรตีนของเซลล์ผิวหนัง (Marconi *et al.*, 2002) จึงทำให้ผิวคงสภาพและอ่อนเยาว์ เสริมสร้างให้ผิวกระจ่างใส และทำให้ผิวหนังตึงกระชับ (ธัญญา, 2555) ในถั่งเช่าหิมะยังมีคอร์ไดเซปิน (cordycepin) (Du *et al.*, 2012) หรือ 3'-deoxyadenosine ซึ่งสามารถป้องกันการเสื่อมของผิวหนังจากรังสีอัลตราไวโอเล็ตในแสงแดด (Lee *et al.*, 2009)

งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงถั่งเช่าหิมะ วิเคราะห์อัตราการเจริญของหัวเชื้อ และปริมาณสารสำคัญ คือ พอลิแซ็กคาไรด์ คอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ สารต้านอนุมูลอิสระ และเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส จากนั้นนำมาวิเคราะห์ความคงตัวสารสำคัญของสารสกัดถั่งเช่าหิมะ และทำการเพิ่มมูลค่าโดยประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น เซรั่ม ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลผิวและทำการศึกษาความคงตัวสารสำคัญในเซรั่มที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ จากนั้นทำการทดสอบตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมทางด้านกายภาพ ชีวภาพ เคมี และเพื่อเป็นแนวทางสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป

### 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในถั่งเช่าหิมะ เช่น คอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน พอลิแซ็กคาไรด์ และวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่งเช่าหิมะ เช่น เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส สารต้านอนุมูลอิสระ

2) ศึกษาความคงตัวของสารสำคัญในสารสกัดถั่งเช่าหิมะ

3) ศึกษาความคงตัวของสารสำคัญในเซรัมที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

4) ศึกษาคุณลักษณะทางเคมี ชีวภาพ กายภาพ และอายุการเก็บรักษาทางกายภาพ

### 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) ทำการเพาะเลี้ยงและทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในถั่งเช่าหิมะ เช่น วิเคราะห์ คอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน ด้วยเครื่อง HPLC พอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธีแอนโทรน และวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ในถั่งเช่าหิมะ เช่น เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส โดยวิธี NBT photochemical assay สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และวิธี ABTS

2) ศึกษาความคงตัวของสารสำคัญในสารสกัดถั่งเช่าหิมะ คือ คอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน และ พอลิแซ็กคาไรด์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

3) ศึกษาความคงตัวของสารสำคัญในผลิตภัณฑ์เซรัมบำรุงผิวหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะเป็นเวลา 12 สัปดาห์

4) ทดสอบคุณลักษณะทางเคมี ชีวภาพ กายภาพ และอายุการเก็บรักษาตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถเพาะเลี้ยง และทราบปริมาณสารสำคัญในถั่งเช่าหิมะ เช่น คอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน พอลิแซ็กคาไรด์ ทราบปริมาณสารออกฤทธิ์ในถั่งเช่าหิมะ เช่น เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส สารต้านอนุมูลอิสระ

2) เพื่อทราบความคงตัวของสารสำคัญของสารสกัดถั่งเช่าหิมะ และความคงตัวของสารสำคัญในผลิตภัณฑ์เซรัมบำรุงผิวหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

3) ผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะซึ่งเป็นสารสกัดจากธรรมชาติเป็นส่วนผสมและเป็นแนวทางสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางอื่น ๆ ต่อไป

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาพบว่า ถั่งเช่าหิมะมีสารสำคัญและสารออกฤทธิ์หลายชนิด เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ (Sharma, 2015) ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) (Wu *et al.*, 2016) อะดีโนซีน (adenosine) (Hong *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2017) อีกทั้งยังมีคอร์ไดเซปิน (cordycepin) (Du *et al.*, 2012) หรือ 3'-deoxyadenosine ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น เซรั่มบำรุงผิวหน้า ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าของถั่งเช่าหิมะและความหลากหลายของตลาด

### 2.1 ถั่งเช่า

ถั่งเช่าเป็นเชื้อราชนิดหนึ่งรู้จักมาตั้งแต่สองพันปีก่อนคริสตศักราชถูกค้นพบอย่างบังเอิญ เชื่อกันว่าสมัยโบราณคนเลี้ยงสัตว์บนที่ราบสูงทิเบตสังเกตเห็นสัตว์ที่เลี้ยงไปกินเห็ดดอกเล็ก ๆ ที่มีลักษณะคล้ายใบหญ้าเข้าไปแล้วมีสุขภาพแข็งแรง ไม่เป็นโรค และในสัตว์ที่มีอายุมากพบว่ามีการทำงานของกระฉับกระเฉงเหมือนเป็นหนุ่มสาวจึงได้เก็บมารับประทาน หลังจากทานแล้วพบว่าดีต่อสุขภาพจึงจัดเป็นยาบำรุงชั้นเลิศที่รำลือกันไปทั่ว ชาวจีนเชื่อว่าเป็นยาอายุวัฒนะมีสรรพคุณช่วยปรับสมดุลของร่างกายเป็นสมุนไพรร้อน ในสมัยโบราณถั่งเช่าถูกจำกัดการใช้เฉพาะจักรพรรดิและเชื้อพระวงศ์ชั้นสูงของจีนเท่านั้น คนธรรมดาสามัญไม่มีสิทธิ์บริโภค เป็นของที่หายากและมีค่าดั่งทอง (ธัญญา, 2555) ถั่งเช่ามีประวัติการใช้เป็นยานับพันปีในเอเชีย (Gu *et al.*, 2007) ชื่อถั่งเช่า (cordyceps) ได้มาจากคำสองคำในภาษาละติน คือ cord และ ceps ที่หมายถึงส่วนลำตัวและศีรษะตามลำดับ (Wang *et al.*, 2008)

ถั่งเช่าจัดเป็นเชื้อราในแมลงในกลุ่ม Ascomycetes มีชื่อเรียกอีกอย่างว่า “หญ้าหนอน” เนื่องจากในฤดูหนาวเป็นหนอน ในฤดูร้อนเป็นหญ้า บนที่ราบสูงทิเบตตัวหนอนของผีเสื้อจะเจริญเติบโตอยู่ใต้ผิวดินบนภูเขาที่ปกคลุมด้วยหิมะโดยมีสปอร์ของเชื้อรากระจายอยู่ทั่วไป เมื่อหิมะละลายสปอร์จะไหลไปกับน้ำและซึมลงใต้ผิวดิน เมื่อหนอนกินสปอร์ของเชื้อราชนิดนี้เข้าไปสปอร์ก็จะงอกเป็นเส้นใยเจริญเติบโตบนตัวหนอน เมื่อฤดูใบไม้ผลิมาถึงอุณหภูมิสูงขึ้นเส้นใยรวมตัวหนาแน่นขึ้นก็จะแทงออกจากปากตัวหนอนที่ตายแล้วแข็งเป็นมันเมื่อออกมาเป็นดอกที่มีลักษณะเหมือนหญ้าออกโผล่เหนือพื้นดินเพราะต้องการแสง เช่น ถั่งเช่าจึงกลายเป็นชุมทองของชาวทิเบตซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างสูง โดยมีการจัดจำหน่ายมากกว่า 750 สายพันธุ์ทั่วโลก ประมาณ 400 สายพันธุ์ค้นพบที่เอเชีย (เนปาล จีน ญี่ปุ่น เกาหลี เวียดนาม และไทย) มีความหลากหลายในสภาพขึ้นและป่าเขตร้อน (Sung *et al.*, 2007) โดยถั่งเช่าที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรมและทางการค้ามี 4 ชนิด ดังรูปที่ 2.1 คือ ถั่งเช่าทิเบต (*Ophiocordyceps sinensis*) หรือชื่อเดิม *C. sinensis* เป็นต้นตำรับของถั่งเช่าที่ได้รับการยอมรับมาอย่างยาวนาน ถั่งเช่าสีทอง (*C. militaris*) มีสรรพคุณที่มีประโยชน์มากมายทำให้เป็นที่ต้องการของคนทั่วโลก ถั่งเช่าหิมะ (*Paecilomyces tenuipes* หรือ

*Isaria japonica*) ได้รับความนิยมมากในประเทศเกาหลี ส่วนมากนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและถั่งเช่าจ๊กจั่น (*P. scicadae* หรือ *I. sinclairii*) เกิดขึ้นจากจ๊กจั่น ภายในตัวจ๊กจั่นนั้นมีเชื้อราอยู่และแตกหน่อในที่สุด ซึ่งความพิเศษของถั่งเช่าประเภทนี้ก็คือไม่จำเป็นต้องเพาะเลี้ยงในห้องที่มีอากาศเย็น (ธัญญา, 2555)



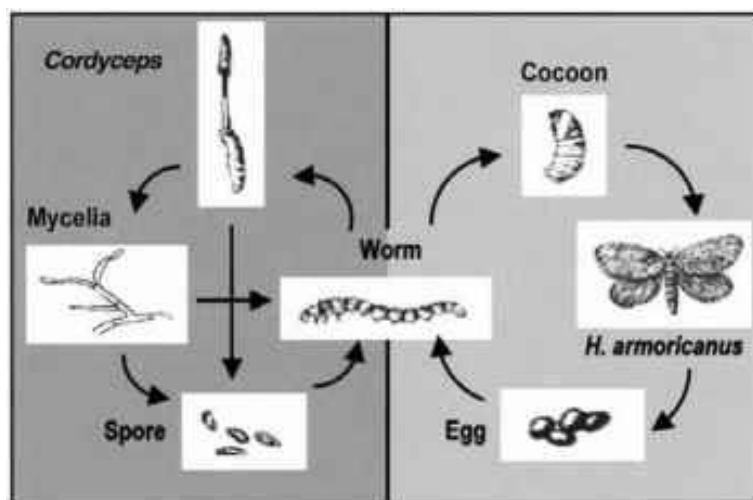
รูปที่ 2.1 ถั่งเช่าทิเบต ถั่งเช่าสีทอง ถั่งเช่าหิมะ และถั่งเช่าจ๊กจั่น  
ที่มา: omg Thailand, 2560

### 2.1.1 ลักษณะและการสืบพันธุ์ของถั่งเช่า

ถั่งเช่าเป็นสิ่งมีชีวิตในอาณาจักรฟังไจ (Fungi) ในกลุ่มยูคาริโอต (eukaryote) อยู่ในไฟลัมแอสโคไมซีเทส (Ascomycetes) มีหลายเซลล์ เป็นกลุ่มเส้นใยหรือไมซีเลียม ลักษณะเส้นใยมีผนังกันเซลล์ แต่มีช่องว่างระหว่างเซลล์ที่ติดกันเพื่อลำเลียงสารอาหารระหว่างเซลล์ได้ โดยจะมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ ซึ่งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจะสร้างสปอร์เรียกว่า โคนิเดีย (conidia) บนก้านชู (conidiophore) สำหรับการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะสร้างสปอร์ที่เรียกว่า แอสโคสปอร์ (ascospore) ภายในโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นถุงเรียกว่าแอสคัส (ascus) แอสคัสส่วนใหญ่จะถูกห่อหุ้มด้วยโครงสร้างที่เรียกว่า ฟรุติติง บอดี (fruiting body) หรือแอสโคคาร์ป (ascocarp) ซึ่งมีรูปร่างที่หลากหลายแตกต่างกัน

### 2.1.2 วงจรชีวิตและกลไกการทำลายแมลงของถั่งเช่า (Packer et al., 2005)

การเกิดดอกถั่งเช่าสามารถแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่ การติดเชื้อ ภาวะ  
 ปรสิตร (การพัฒนาของเชื้อร่าก่อนแมลงตาย) และการหลั่งเอนไซม์ออกนอกเซลล์ เพื่อการย่อยสลาย



รูปที่ 2.2 วงจรชีวิตของถั่งเช่า

ที่มา: Packer *et al.*, 2005

สารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และซับซ้อนให้ได้เป็นโมเลกุลขนาดเล็กที่สุดแล้วจึงดูดซับเข้าไป  
 ภายในเซลล์ (การเจริญเติบโตของเชื้อราหลังจากแมลงตาย) โดยถั่งเช่าจะอาศัยอยู่ในแมลงหรือหนอน  
 (host) เช่น หนอนผีเสื้อ (*H. armoricanus*) ซึ่งเชื้อราของถั่งเช่าสามารถบุกรุกเข้าไปในตัวอ่อนหนอน  
 ผีเสื้อ โดยอาจเกิดจากการที่หนอนผีเสื้อกินอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อราถั่งเช่า เชื้อราจะบุกรุกผ่านพื้นที่  
 ทางเดินอาหารหรืออาจเกิดจากเชื้อราถั่งเช่าปลิวมาสัมผัสกับตัวหนอนผีเสื้อ การติดเชื้อเริ่มต้นด้วย  
 การกระจายของคอนิเดียของเชื้อราถั่งเช่าลงบนบนผิวของหนอนผีเสื้อซึ่งคอนิเดียจะทำการขับเอนไซม์  
 ออกมา คือ เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส ((superoxide dismutases; SOD) และ เพอร์ออกซิ  
 เดส (peroxidases) ซึ่งมีส่วนช่วยในการปกป้องคอนิเดียจากแสงยูวี ความร้อนและสภาพแวดล้อม  
 โดยในผิวของหนอนผีเสื้อจะประกอบด้วยไคติน ไขมันและอื่น ๆ ที่สามารถถูกย่อย (hydrolyzed)  
 ด้วยเอนไซม์ไฮโดรไลซ์จากคอนิเดียของเชื้อราถั่งเช่า เช่น โปรตีเอส (proteases) ไคตินเอส  
 (chitinases) และไลเปส (lipases) นอกจากนี้เอนไซม์เหล่านี้ยังเป็นสารอาหารให้คอนิเดียสามารถ  
 เจริญอีกด้วย ซึ่งคอนิเดียจะเริ่มงอกภายในสภาวะที่เหมาะสมภายในไม่กี่ชั่วโมง (Wanga *et al.*,  
 2005) นอกจากนี้จะมีเส้นใยสั้น ๆ ที่ยื่นออกมาจากคอนิเดียจะแผ่เป็นตุ่มเรียกว่า แอพเพลสสอเรียม  
 (appressorium) แล้วเพิ่มเนื้อที่ยึดแน่นมากขึ้น แอพเพลสสอเรียมนี้นี้จะสามารถแทงผ่านหนอนผีเสื้อ  
 ด้วยความดันกลทำให้เชื้อราบุกรุกเข้าไปในตัวหนอนผีเสื้อได้ (Ali *et al.*, 2010) โดยเชื้อราถั่งเช่าจะ  
 ใช้ช่องท้องของหนอนผีเสื้อเป็นสารอาหารและเริ่มเติบโต จากนั้นสร้างสารที่เป็นพิษจำนวนมากซึ่งจะ  
 แพร่ไปทั่วของตัวหนอนผีเสื้อในขณะที่มีชีวิต หลังจากหนอนผีเสื้อเสียชีวิตแล้วจะมีการสร้างเนื้อเยื่อที่

หยาบแข็ง สีผิวของหนอนผีเสื้อจะจางลง ถ้าสภาวะเหมาะสมเส้นใยถ่งเช่าในหนอนผีเสื้อจะงอกออกมาผ่านช่องปากและเกิดเป็นดอกถ่งเช่า ดังรูปที่ 2.2

### 2.1.3 สารสำคัญและคุณสมบัติของถ่งเช่า (Shashidhar *et al.*, 2013)

ถ่งเช่ามีการใช้กันอย่างแพร่หลายเป็นยาชูกำลังและเป็นอาหารที่คิดค้นสูตรตำรับโดยมีวัตถุประสงค์ที่ชัดเจนในการรักษาโรคทางการแพทย์ในประเทศจีนอย่างยาวนาน เนื่องจากมีประโยชน์ด้านสุขภาพที่นำมาหัตถ์จรรยจึงได้เกิดการค้นคว้าวิจัยต่าง ๆ ดังตารางที่ 2.1 เพื่อยืนยันคุณสมบัติของถ่งเช่าซึ่งพบว่าถ่งเช่าทำให้ร่างกายและจิตใจทนทานต่อความกดดัน การเสื่อมชราช้าลง ทำให้ร่างกาย ช่วยคงความสดใสเยาว์วัยอยู่ต่อไปได้นานขึ้น (adaptogenic) เสริมสร้างสมรรถภาพทางเพศ (aphrodisiac) เป็นสารกำจัดอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) ชะลอวัย (anti-aging) มีฤทธิ์ทางด้านการป้องกันเซลล์สมอง (neuroprotective) จากการขาดเลือด ช่วยบำรุงสมองเป็นอาหารเสริมที่ช่วยกระบวนการรับรู้ของสมอง (neuroprotective) เป็นสารปรับภูมิคุ้มกันร่างกาย (immunomodulatory) มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง (anti-cancer) และช่วยในการปกป้องตับ (hepatoprotective) โดยดอกถ่งเช่าตลอดจนตัวหนอนที่ถ่งเช่าใช้เป็นแหล่งสารอาหารล้วนมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยส่วนประกอบที่มีลักษณะคล้ายกัน สารสำคัญและสารออกฤทธิ์จากถ่งเช่ามีหลายชนิด เช่น นิวคลีโอไซด์ (nucleosides) เอ็กโซ-พอลิแซ็กคาไรด์ (exo-polysaccharides) สเตอรอล (sterols) โปรตีน (proteins) และสารอื่น ๆ โดยในนิวคลีโอไซด์ จะประกอบด้วย อะดีโนซีน (adenosine) และคอร์ไดเซปิน (cordycepin) เป็นหลัก จากงานวิจัยเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าถ่งเช่าสามารถช่วยให้มีสุขภาพดี ซึ่งมีผลมาจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนั้นการศึกษาวินิจฉัยถ่งเช่าถือเป็นการพัฒนาอย่างยั่งยืนสำหรับสุขภาพมนุษย์

### 2.2 ถ่งเช่าหิมะ

ถ่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*) ชื่อเดิมคือ *Paecilomyces tenuipes* เป็นเชื้อราที่พบได้ทั่วไปในบริเวณภูเขาประเทศเกาหลี (Kang *et al.*, 2010) ซึ่งในภาษาเกาหลีเรียกว่า “Dongchunghacho” เนื่องจากมีลักษณะเหมือนเกล็ดหิมะ มีสีขาวขุ่น (Ji *et al.*, 2011) อยู่ในกลุ่ม Ascomycetes เป็นเชื้อราปรสิตชนิดหนึ่งที่เจริญในหนอนผีเสื้อ (Bunyapaiboonsri *et al.*, 2011) ในสภาพแวดล้อมเหมาะสม เมื่อหนอนผีเสื้อตายถ่งเช่าหิมะจะเจริญออกมา ทำให้เกิดสปอร์จำนวนมาก (Ji *et al.*, 2011) ซึ่งในช่วงฤดูหนาวจะมีลักษณะเหมือนหนอนและในช่วงฤดูร้อนจะมีลักษณะเหมือนหญ้า (Hong *et al.*, 2007) ถ่งเช่าหิมะจะมีความยาว 1-3.5 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 200-500 ไมโครเมตร ช่วงแรกของการเจริญมีสีเหลืองหรือสีเหลืองเขียว เมื่อสิ้นสุดการเจริญจะมีสีขาวเหลือง การสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศเกิดจากก้านชูสปอร์เรียกว่า โคนิไดโอฟอร์ (conidiophore) แบบ mononematous หรือ synnematous มีลักษณะตั้งตรง อ่อนนุ่ม ขนาด 90-120 x 2.5-4.0 ไมโครเมตร ประกอบด้วยแขนงของข้อฉัตร (verticillate) คือ ข้อดอกที่มีดอกย่อยเกิดบริเวณรอบข้อของแกนกลางที่มีลักษณะหยิกงอ โดยส่วนปลายจะสร้างลักษณะที่มีรูปร่างแบน ๆ ที่เรียกว่า ฟิอะไลด์ (phialides) จำนวน 2-6 ฟิอะไลด์ โดยฟิอะไลด์มีขนาด 4.5-6.2 x 2.5-3.2

ไมโครเมตร ซึ่งเมื่อไฟอะไลต์แก่เต็มที่จะทำการผลิตสปอร์ (conidia) ออกมา โดยสปอร์จะมีรูปทรงกระบอก มีความแข็งแรงแต่อ่อนนุ่ม สามารถโค้งได้ ในบางสายพันธุ์ มีขนาด 3.0-7.5 x 2.0-2.5

### ตารางที่ 2.1 ฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่า

ฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่า	แหล่งที่มา
กระตุ้นภูมิคุ้มกัน	Chena <i>et al.</i> , 2008; Zhou <i>et al.</i> , 2009
ต่อต้านมะเร็ง	Suk <i>et al.</i> , 2001; Jordan <i>et al.</i> , 2010
ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์	Tuli <i>et al.</i> , 2014
ต่อต้านเชื้อเอชไอวี (HIV)	Yamada <i>et al.</i> , 1997
ป้องกันการเสื่อมของผิวหนัง	Lee <i>et al.</i> , 2009; Wong <i>et al.</i> , 2011
เพิ่มประสิทธิภาพการปกป้องไต	Jiang and Geo, 1995; Niwa <i>et al.</i> , 2013; Liu <i>et al.</i> , 2015
ฟื้นฟูสมรรถภาพทางเพศ	Huang <i>et al.</i> , 2004
ลดอาการอ่อนล้าในผู้สูงอายุ	Zhang <i>et al.</i> , 1995
ลดระดับน้ำตาลในเลือด	Shashidhar <i>et al.</i> , 2013
ยับยั้งการขยายตัวของเซลล์เนื้องอก	Suk <i>et al.</i> , 2001; Zhou <i>et al.</i> , 2009; Liu <i>et al.</i> , 2017
ยับยั้งการอักเสบ	Yang <i>et al.</i> , 2011; Liu <i>et al.</i> , 2017
ยับยั้งแบคทีเรีย	Wang <i>et al.</i> , 2016; Sharma <i>et al.</i> , 2018
ลดระดับสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde) ในน้ำเหลืองและตับ	Wu <i>et al.</i> , 2016
เพิ่มประสิทธิภาพการรักษาควบคู่กับยาแผนปัจจุบันในผู้ป่วยโรคหัวใจล้มเหลวเรื้อรัง	Chen, 1995
สารต้านอนุมูลอิสระ	Han <i>et al.</i> , 2004; Kumar, 2015; Wu <i>et al.</i> , 2016
เสริมสร้างสมรรถภาพทางร่างกาย ช่วยให้ร่างกายแข็งแรง	Nagata <i>et al.</i> , 2006; Chen <i>et al.</i> , 2010

ไมโครเมตรหรือการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ สปอร์จะบรรจุอยู่ในฟรุติติงบอดีที่มีรูปร่างแบบซินนีมาตา (synnemata) มีรูปร่างเป็นกิ่งก้านอย่างไม่เป็นระเบียบ (Bensch, 2018) ซึ่งถั่งเช่าหิมะมีลักษณะทั่วไปดังรูปที่ 2.3 มีองค์ประกอบทางเคมีของดอกถั่งเช่าหิมะดังตารางที่ 2.2 มีปริมาณน้ำตาลที่ละลาย

น้ำใต้ของถั่งเช่าหิมะดังตารางที่ 2.3 มีปริมาณของกรดอะมิโนอิสระในถั่งเช่าหิมะดังตารางที่ 2.4 และมีปริมาณของกรดไขมันในถั่งเช่าหิมะดังตารางที่ 2.5



ก

ข

ค

รูปที่ 2.3 ลักษณะทั่วไปของถั่งเช่าหิมะ ก.ถั่งเช่าหิมะที่เจริญในหนอนผีเสื้อ ข.ภาพก้านชูสปอร์ (conidiophores) ของถั่งเช่าหิมะ ค.โคนิเดียของถั่งเช่าหิมะภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ที่มา: National Agricultural Research Organization, 2014

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของดอกถั่งเช่าหิมะ

องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละ)				
ความชื้น	คาร์โบไฮเดรต	ไขมัน	ใยอาหาร	โปรตีน
57.56 ± 0.07	3.49 ± 0.00	21.76 ± 0.00	6.20 ± 0.26	6.83 ± 0.02

ที่มา: Hong *et al.*, 2007

ตารางที่ 2.3 ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ของถั่งเช่าหิมะ

ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ของถั่งเช่าหิมะ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง)				
กลีเซอรอล	กลูโคส	แมนนิทอล	ซูโครส	น้ำตาลทั้งหมด
3.71 ± 0.44	9.21 ± 1.31	8.40 ± 0.58	2.67 ± 0.81	24.00 ± 3.14

ที่มา: Hong *et al.*, 2007

## 2.3 สารสำคัญของถั่งเช่าหิมะ

ถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*) นิยมในหลายประเทศ เช่น ประเทศจีน เกาหลี และญี่ปุ่นโดยนำไปใช้เป็นยารักษาโรคตามแบบฉบับของแพทย์แผนจีน (Kumar *et al.*, 2011) เนื่องจากเป็นสมุนไพร อีกทั้งยังมีความหลากหลายทางชีวภาพและมีสรรพคุณทางยา (Sapkota *et al.*, 2011)

### 2.3.1 คอร์ไดเซปิน (cordycepin)

คอร์ไดเซปิน (cordycepin) (9-(3-Deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl) adenine) สูตรโมเลกุล คือ  $C_{10}H_{13}N_5O_3$  และจุดหลอมเหลว คือ 228-231 องศาเซลเซียส มวลโมเลกุล 251.24 กรัม

#### ตารางที่ 2.4 ปริมาณของกรดอะมิโนอิสระในถั่วงา

กรดอะมิโน	(มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง)
กรดแอสปาร์ติก (Aspartic acid)	0.76
ซีรีน (Serine)	1.19
กรดกลูตามิก (Glutamic acid)	0.85
ไกลซีน (Glycine)	1.77
ฮิสทีดีน (Histidine)	0.61
อาร์จินีน (Arginine)	2.21
ธรีโอนีน (Threonine)	1.07
อะลานีน (Alanine)	0.97
โพรลีน (Proline)	1.68
ไทโรซีน (Tyrosine)	1.51
วาลีน (Valine)	0.87
เมไธโอนีน (Methionine)	0.36
ไลซีน (Lysine)	0.53
ไอโซลิวซีน (Isoleucine)	0.64
ลิวซีน (Leucine)	1.08
ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine)	0.99

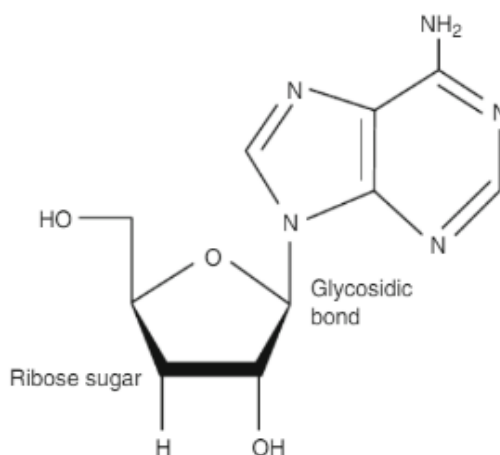
ที่มา: Hong *et al.*, 2007

#### ตารางที่ 2.5 ปริมาณของกรดไขมันในถั่วงา

กรดไขมัน	ปริมาณกรดไขมันของถั่วงา (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด)
กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid C16:0)	17.08
กรดสเตียริก (Stearic acid C18:0)	3.16
กรดโอเลอิก (Oleic acid C18:1)	38.35
กรดไลโนเลอิก (Linoleic acid C18:2)	12.35
กรดลิโนเลนิก (Linolenic acid C18:3)	28.30

ที่มา: Hong *et al.*, 2007

โมเลกุลของนิวคลีโอไซด์เบสพิวรีน (อะดีนีน) ที่ยึดติดกับน้ำตาลไรโบส (ribose sugar moiety) ผ่านพันธะ  $\beta$ -N9-glycosidic (Tuli *et al.*, 2016) และเป็นอนุพันธ์ของอะดีโนซีน (adenosine) มีลักษณะโครงสร้างสารคล้ายกันแต่ขาดออกซิเจนที่ตำแหน่ง 3' ของโครงสร้างหลักน้ำตาลไรโบส (Raethong *et al.*, 2018) คอโรโดเซปินเป็นสารสำคัญชนิดแรกที่มีการตรวจพบในถั่วงา (Cunningham *et al.*, 1950)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างคอโรโดเซปิน

ที่มา: Tuli *et al.*, 2016

Choi *et al.* (2011) ทำการศึกษาคอโรโดเซปินจากถั่วงาในระดับห้องปฏิบัติการ จากทำการทดสอบกับเซลล์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ 2 ชนิด คือ MDA-MB-231 และ MCF-7 พบว่าคอโรโดเซปินมีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมทั้ง 2 ชนิดได้เป็นอย่างดี

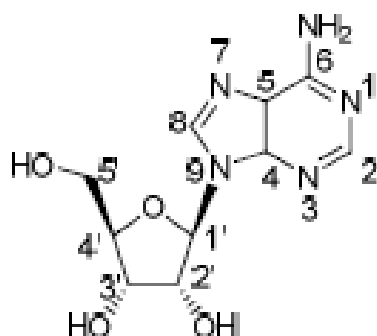
Lee *et al.* (2009) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของคอโรโดเซปินในการยับยั้งผลจากแสงแดดที่ทำให้ผิวเสีย (anti-skin photoaging effects) ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยทำการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ 2 ชนิดที่มีอยู่ในเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ ได้แก่ (metallo protease 1; MMP-1) และ (metallo protease 3; MMP-3) ซึ่งพบว่าคอโรโดเซปินสามารถป้องกันรังสีรังสีอัลตราไวโอเล็ตไม่ให้เหนี่ยวนำการสร้าง MMP โดยยับยั้งการกระตุ้นเอ็นเอฟ แคปป่าบี (NF-kappa B) จึงสามารถป้องกันการเสื่อมของผิวหนังจากรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่มีในแสงแดดได้

### 2.3.2 อะดีโนซีน

อะดีโนซีนสูตรโมเลกุล คือ  $C_{10}H_{13}N_5O_4$  มวลโมเลกุล 251.24 กรัมต่อโมล ซึ่งโครงสร้างดังรูปที่ 2.5 อะดีโนซีนมีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางชีวเคมีในร่างกาย โดยเป็นนิวคลีโอไซด์ ที่สำคัญในถั่วงา เกิดขึ้นมาจากนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ที่มีชื่อว่า อะดีโนซีน โมโนฟอสเฟต (adenosine monophosphate; AMP) สามารถย่อยสลายเป็นอะดีโนซีน (นิวคลีโอไซด์) และไอโนซีน (inosine) ซึ่งอาจจะเกิดปฏิกิริยาการขจัดหมู่อะมิโน (oxidative deamination) ของอะดีโนซีน

(Liu *et al.*, 2015) อะดีโนซีนถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ดูแลผิวซึ่งได้รับความสนใจจากบริษัทเครื่องสำอาง จากการศึกษาได้แสดงให้เห็นว่าการใช้อะดีโนซีนในผลิตภัณฑ์สำหรับการบำรุงผิวอาจเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการต่อต้านริ้วรอย ช่วยปรับสภาพผิวให้เรียบเนียน มีความชุ่มชื้น ด้วยเหตุนี้จึงพบอะดีโนซีนได้บ่อยในผลิตภัณฑ์ดูแลผิว เช่น ครีม (Abella, 2006) โดยอะดีโนซีนเป็นสารสำคัญที่พบในถั่วงา (Kang *et al.*, 2010) จากการศึกษาพบว่าปริมาณอะดีโนซีนในถั่วงามีค่าตั้งแต่ 0.28-14.15 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จากการศึกษาวิเคราะห์ความเข้มข้นของอะดีโนซีนในถั่วงาหิมะ พบว่ามีปริมาณร้อยละ 0.013 ในส่วนฐาน (copus) และร้อยละ 0.033 ในดอกถั่วงาหิมะ (Hong *et al.*, 2007) ในปัจจุบันได้มีการใช้ถั่วงาในทางเวชสำอางหรือการผลิตเครื่องสำอาง เนื่องจากถั่วงามีอะดีโนซีนซึ่งเป็นสารชนิดหนึ่งในกระบวนการทำงานของเซลล์ ช่วยให้เซลล์ทำงานได้ดีขึ้นและเป็นตัวกระตุ้นที่ไปกระตุ้นการทำงานของดีเอ็นเอ (DNA) ในการสร้างโปรตีนของเซลล์ผิว (Maconi *et al.*, 2002) จึงทำให้ผิวคงสภาพอ่อนเยาว์ เสริมสร้างให้ผิวกระจ่างใส ทำให้ผิวหน้าตึงกระชับ (ธัญญา, 2555) และลดเลือนริ้วรอยได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย

Abella. (2006) ได้ทำการศึกษาสูตรตำรับครีมที่ประกอบด้วยอะดีโนซีนเพื่อช่วยในการลดรอยเหี่ยวย่นในบริเวณรอบดวงตา ซึ่งทดสอบกับอาสาสมัครหญิงจำนวน 126 คน อายุระหว่าง 45 ถึง 65 ปี โดยให้ทาครีมที่ประกอบด้วยอะดีโนซีนและครีมที่ไม่ประกอบด้วยอะดีโนซีนในบริเวณที่ต่างกัน ของใบหน้า เป็นเวลา 8 สัปดาห์ และทำการประเมินผลภายใต้การดูแลของแพทย์ผิวหนังที่ 0, 3 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้โดยใช้เทคนิคสำหรับการวิเคราะห์โครงสร้างสามมิติของผิวหนังในระดับ



รูปที่ 2.5 โครงสร้างอะดีโนซีนจากถั่วงาหิมะ

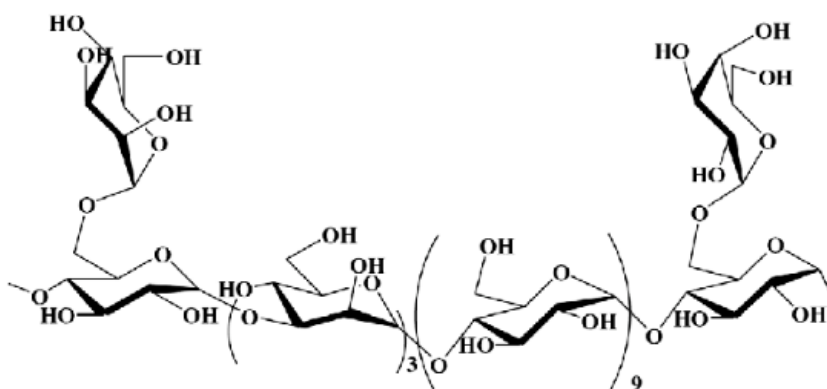
ที่มา: Tuan *et al.*, 2016

ไมโคร (Fast Optical In-vivo Topometry; FOITS) ซึ่งพบว่าครีมที่มีอะดีโนซีนสามารถช่วยปรับปรุงและลดรอยเหี่ยวย่นในบริเวณรอบดวงตาได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

### 2.3.3 พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide)

พอลิแซ็กคาไรด์เป็นหนึ่งในสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญและเป็นสารที่พบมากที่สุดที่ถั่วงา (Zhong *et al.*, 2009) โดยพบโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ครั้งแรกในถั่วงาทิเบต

พบว่าเป็นเบต้ากลูแคน 1,3 กับ 1,6 โครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ได้รับการศึกษาครั้งแรกโดย (Miyazaki *et al.*, 1977) จากถั่งเช่าทิเบตซึ่งมีการทำนายโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ดังรูปที่ 2.6 โดยพอลิแซ็กคาไรด์เป็นโมเลกุลคาร์โบไฮเดรตสายยาวที่ประกอบด้วยหน่วยมอโนเมอร์ซ้ำ ๆ มาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก จะอยู่ในผนังเซลล์ของถั่งเช่าและอยู่ในไซโตพลาสซึมซึ่งเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างเซลล์ จากการเพาะเลี้ยงถั่งเช่าหิมะในสภาวะที่เหมาะสมพบว่า ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด คือ 10.76 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนส ร้อยละ 43.20 น้ำตาลแรมโนส ร้อยละ 32.10 น้ำตาลไซโลส ร้อยละ 14.50 และ น้ำตาลอราบินอส ร้อยละ 10.20 จากการศึกษาด้วยเทคนิคการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุล (size exclusion chromatography) พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากถั่งเช่าทิเบตมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 100 กิโลดาลตัน (Chen *et al.*, 2010) ซึ่งในงานวิจัยใช้วิธีแอนโทรนในการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์



รูปที่ 2.6 การทำนายโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ CPS-2 ที่แยกมาจากดอกถั่งเช่าทิเบต  
ที่มา: Wang *et al.*, 2013

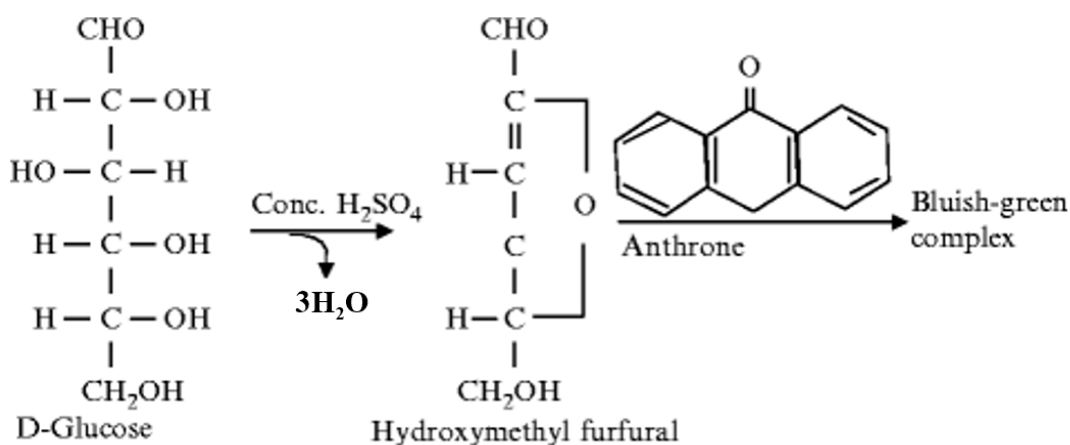
Wong *et al.* (2011) ได้ทำการทดสอบ โดยใช้วิธี enzyme-assisted comet assay เพื่อวัดค่าไซโคลบิวเทน-ไพริมิดิน ไดมเมอร์ (cyclobutane - pyrimidine dimers; CPDs) ในดีเอ็นเอที่เกิดจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากเส้นใยถั่งเช่า สามารถป้องกันเซลล์ผิวหนังของมนุษย์จากการทำลายของรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UVB 290-320 นาโนเมตร) โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนัง (fibroblast) แล้วแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกมีการเติมสารสกัดจากถั่งเช่า ส่วนกลุ่มที่สองมีการเติมน้ำอุ่นเพื่อเป็นกลุ่มเปรียบเทียบ แล้วนำมาฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต (302 นาโนเมตร) จากนั้นทำการตรวจสอบดีเอ็นเอที่เสียหายหรือเปลี่ยนแปลงไป ผลปรากฏว่าสารสกัดจากถั่งเช่าสามารถป้องกันผิวหนังจากรังสียูวีบีไม่ให้เกิดมะเร็งผิวหนังได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Xiao *et al.* (2012) ได้ทำการตรวจสอบคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของถั่งเช่า พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ซึ่งประกอบไปด้วยกลูโคส แมนโนส และกาแลคโทส มีคุณสมบัติเป็นสารต้าน

อนุมูลอิสระตามธรรมชาติ ช่วยในการชะลอวัย และนอกจากนี้ยังสามารถระดับสารมาลondiอัลดีไฮด์ (malondialdehyde) ในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

Yu *et al.* (2004) พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดของถั่งเช่าสีทองแสดงให้เห็นถึงกิจกรรมการต่อต้านริ้วรอย และฤทธิ์ต้านการอักเสบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

### 2.3.3.1 หลักการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธีแอนโทรน



รูปที่ 2.7 หลักการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธีแอนโทรน

ที่มา: Gaurab, 2018

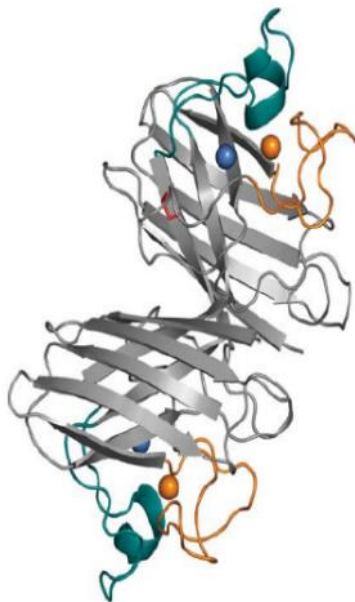
โดยความร้อนจะช่วยย่อยพอลิแซ็กคาไรด์ให้เป็นกลูโคสจากนั้นจะทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟูริกและคายน้ำออกเป็น ไฮดรอกซีฟูรัล เฟอร์ฟูรัล (Hydroxymethyl furfural) และทำปฏิกิริยากับสารแอนโทรนเกิดเป็นสีเขียวดังรูปที่ 2.7 (Pinto *et al.*, 1993; Gaurab, 2018)

## 2.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่าหิมะ

### 2.4.1 ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส

ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสมีการค้นพบและมีรายงานในปี ค.ศ.1969 (McCord and Fridovich, 1969) มีโครงสร้างดังรูปที่ 2.8 เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งในระบบป้องกันที่เป็นตัวทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดจากการเผาผลาญภายในเซลล์ ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญของร่างกาย ช่วยกำจัดอนุมูลอิสระที่ชื่อ อนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide radical) เอนไซม์ชนิดนี้มีอยู่ในร่างกายตั้งแต่แรกเกิด เมื่อเราอายุมากขึ้นร่างกายของเราจะสร้าง SOD น้อยลง โดยการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสในขั้นแรก SOD จะเปลี่ยนอนุมูลอิสระให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ก่อน หลังจากนั้นจะมีการทำปฏิกิริยาต่อด้วยเอนไซม์คะตาเลส ทำให้ได้น้ำ (H<sub>2</sub>O) และก๊าซออกซิเจน (O<sub>2</sub>) เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย ส่วนอีกวิธีของการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ที่เกิดขึ้น จะมีกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส

(Glutathione Peroxidase) เป็นเอนไซม์เร่งปฏิกิริยาและได้น้ำ ( $H_2O$ ) และก๊าซออกซิเจน ( $O_2$ ) เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายเช่นเดียวกัน ดังนั้น SOD จึงเป็นเอนไซม์ที่สำคัญมากเพราะถ้าขาดจะทำให้ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องในการเปลี่ยนอนุมูลอิสระให้เป็นสารที่ไม่มีพิษ เช่น น้ำ และออกซิเจนได้ (Moore and Moore, 2010)



**รูปที่ 2.8** โครงสร้างผลึกสามมิติของซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส ทองแดงและสังกะสีจะแสดงเป็นทรงกลมสีฟ้าและสีส้มตามลำดับ พันธะซัลไฟด์ซึ่งเป็นหน่วยย่อยภายในจะแสดงเป็นสีแดง

ที่มา: Valentine *et al.*, 2005

จากการศึกษาลักษณะทางโมเลกุลของ SOD จากถั่งเช่าหิมะ พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์และโครงสร้างอินตรอน เอ็กซอนของยีนซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสจากถั่งเช่าหิมะ มีระยะห่าง 966 คู่เบส และประกอบด้วยอินตรอน 3 ตัวและเอ็กซอน 4 ตัว (Park *et al.*, 2005<sup>b</sup>) มีค่ากิจกรรมเอนไซม์จากการทำให้บริสุทธิ์โดยการรีคอมปิแนนประมาณ 568 ยูนิตต่อมิลลิกรัม โปรตีน จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีเซาเทิร์น บล็อก (southern blot) พบว่ายีนของ SOD จากถั่งเช่าเป็นยีนเดี่ยว การวิเคราะห์นอร์ธเทิร์น บล็อก (northern blot) และเวสเทิร์น บล็อก (western blot) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD มีการเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยไม่มีการกระตุ้นภายนอก (Park *et al.*, 2005<sup>a</sup>) ในปัจจุบัน SOD กำลังเป็นที่นิยมอย่างมากในวงการด้านความสวยความงามและการบำรุงผิว เนื่องจากสามารถทำลายซูเปอร์ออกไซด์จึงลดการเกิดออกซิเดชันของไขมัน เช่น ไขมันตามผนังเซลล์ (พิมพร, 2547) ชะลอความชราและช่วยให้ผิวพรรณเปล่งปลั่ง

Menander *et al.* (1978) พบว่าซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสเป็นสารต้านการอักเสบที่ปลอดภัย เนื่องจากได้ทำการทดลองกับสัตว์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารชนิดนี้ไม่รบกวนการทำงานของ

รังสีหรือเคมีบำบัด โดยทำการศึกษาแบบปกปิดสองทาง (double-blind) และการศึกษาควบคุมด้วยยาหลอก (placebo-controlled) แสดงให้เห็นว่าหลังจากทำการฉีดซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสรวมกับการฉายรังสีทุกวัน มีความปลอดภัยและประสิทธิภาพสูงในการรักษาหรือป้องกันผลข้างเคียงเนื่องจากการรักษาด้วยรังสีพลังงานสูงของเนื้องอกในกระเพาะปัสสาวะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Murakami *et al.* (2009) พบว่าการขาดซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสในหนูจะทำให้เกิดความเสื่อมสภาพของคอลลาเจนและเส้นใยยืดหยุ่น (elastic fiber) อีกทั้งทำให้เกิดการขาดไฮดรอกซีโพรลีน (Hydroxyproline) ในผิวหนัง โดยสารเหล่านี้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งทำให้ผิวหนังเหี่ยวย่นและการเกิดความผิดปกติของการสังเคราะห์คอลลาเจนและอีลาสตินนั้นทำให้ผิวหนังบางลง ดังนั้นหนูที่ขาดซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสสามารถนำไปใช้กับการศึกษาที่มีคุณสมบัติต่อต้านริ้วรอยที่ผิวหนัง

Sasaki *et al.* (2000) ทำการประเมินความเป็นพิษของรังสีอัลตราไวโอเล็ตบี โดยวัดจากจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตโดยใช้ trypan blue dye exclusion assay จากเซลล์เคอราติโนไซต์ (HaCaT cells) ในผิวหนังของมนุษย์ โดยแบ่งส่วนสี่ของเซลล์เป็น 2 กลุ่ม กลุ่ม 1 ทำการเติมสารไดเอทิลไดไทโอคาร์บอเมต (diethyldithiocarbamate) เกิดการยับยั้งซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสที่มีภายในเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 2 ที่ไม่ได้เติมสารไดเอทิลไดไทโอคาร์บอเมต จากนั้นนำทดสอบรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีเป็นเวลา 8 และ 24 ชั่วโมง นับจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตพบว่าจำนวนเซลล์ของกลุ่ม 1 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการวิจัยเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสอาจมีบทบาทหลักในการป้องกันความเสียหายของเซลล์จากรังสีอัลตราไวโอเล็ต

#### 2.4.1.1 หลักการวิเคราะห์ SOD โดยใช้ NBT photochemical assay

การหาปริมาณ SOD โดยใช้ NBT photochemical assay โดยทำให้เกิดในสารผสม  $O_2^-$  ที่ประกอบด้วย methionine, nitroblue tetrazolium (NBT) และบัพเฟอร์ จากนั้นใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ทำให้ L-methionine (electron donor) รีดิฟริคซ์ riboflavin เป็น semiquinone ซึ่งรีดิฟริคซ์  $O_2$  ให้เป็น  $O_2^-$  และ  $O_2^-$  ที่เกิดขึ้นจะรีดิฟริคซ์ NBT ให้กลายเป็น formazan สีน้ำเงินเข้ม ซึ่ง SOD จะลด reduction ของ NBT เป็น formazan ได้ โดย SOD จะลดปริมาณของ  $O_2^-$  ดังปฏิกิริยา  $O_2^- + O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$  ถ้ามี SOD activity มากจะเหลือ  $O_2^-$  ที่จะไปรีดิฟริคซ์ NBT ให้กลายเป็น formazan ได้น้อย สี formazan ที่ได้จึงจาง ในทางตรงข้ามกัน ถ้ามี SOD activity น้อยก็จะ catalyze  $O_2^- \longrightarrow H_2O_2$  ได้น้อย ก็จะเหลือ  $O_2^-$  มากพอที่จะไปรีดิฟริคซ์ NBT ให้กลายเป็น formazan ได้มากสีที่ได้จึงเข้ม (McCord and Fridovich, 1969)

#### 2.4.2 อนุมูลอิสระ (Free Radical) (บั้งอร และ ศศิลักษณ์, 2549)

อนุมูลอิสระ หรือ อนุมูลเสรี หมายถึงอะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่ (unpaired electron) อย่างน้อย 1 ตัวโคจรรอบวงนอกสุด อนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออก ทำให้อนุมูลอิสระไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็ว จึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่รอบ ๆ โดยดึงหรือให้อิเล็กตรอนโมเลกุลข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลข้างเคียงที่

สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่ไม่เสถียรและเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) โดยเฉพาะอนุมูลอิสระที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น ๆ อย่างไรก็ตามยังคงมีอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีความเสถียร ไม่วิในการเกิดปฏิกิริยา สามารถคงอยู่ในสภาพอนุมูลอิสระได้นาน อนุมูลอิสระที่มีความเสถียรมีจำนวนน้อยชนิดมาก

#### 2.4.2.1 ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ

ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระจัดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (free radical chain reaction) ซึ่งมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน คือ

##### 1) ระยะเวลาเหนี่ยวนำ (initiation step)

ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ มักเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการสลายพันธะด้วยน้ำ (hydrolysis) แสง (photolysis) รังสี (radiolysis) หรือปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์อื่น ๆ อีกหลายชนิดที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในเซลล์รวมถึงโมเลกุลที่มีความไวสูงในการทำปฏิกิริยา เช่น ไนตริกออกไซด์ nitric oxide (NO) และออกซิเจนโมเลกุลเดี่ยว singlet oxygen ( $O_2$ ) ซึ่งหมายถึงออกซิเจนในสถานะที่ถูกกระตุ้น (excited state) สิ่งเหล่านี้ล้วนทำให้เกิดขั้นตอนการเหนี่ยวนำของปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ ดังเช่น สมการที่ 1



##### 2) ระยะเวลาเพิ่มจำนวน (propagation step)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการเหนี่ยวนำจะดำเนินปฏิกิริยาต่อไปในขั้นตอนการเพิ่มจำนวน โดยเกิดปฏิกิริยาขึ้น 2 ทาง คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลข้างเคียง หรือโดยการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนที่อยู่ในสถานะพื้น (ground state) ทำให้ได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ ดังสมการที่ 2 - 4



##### 3) ระยะเวลาสิ้นสุด (termination step)

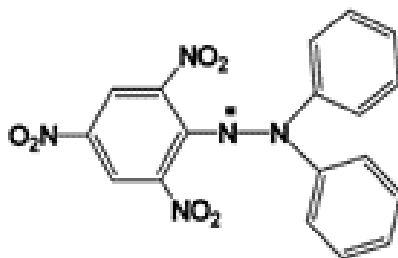
ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น 2 ตัวมารวมกันได้เป็นสารที่มีความเสถียรจึงเป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 5 และ 6



#### 2.4.2.2 หลักการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ทำโดยวัดปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยหลักการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องมือที่เรียกว่า เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Visible spectrophotometer) ซึ่งเป็นเครื่องมือพื้นฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป สำหรับวิธีที่ใช้ในทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีหลายวิธี ได้แก่

1) วิธี  $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH) โดย DPPH<sup>•</sup> เป็นอนุมูลอิสระไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอิสระอยู่แล้วซึ่งมีลักษณะโครงสร้างดังรูปที่ 2.9 โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลอิสระซึ่งการวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ การวัดทำโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนของแสงวัดการลดลงของสีเมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ดังสมการ DPPH<sup>•</sup> + AH → DPPH-H + A<sup>•</sup> ข้อดีของวิธีนี้ คือ ง่าย ใช้เครื่องมือสามัญที่มีทั่วไป นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ยกเว้นสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีดูดกลืนแสงในย่านเดียวกัน ข้อด้อยของวิธีนี้คือ อนุมูลอิสระ DPPH<sup>•</sup> มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงได้ นอกจากนี้โครงสร้างทางเคมีของ DPPH<sup>•</sup> ที่แสดงจะเห็นว่าอิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3 วง และหมู่ไนโตรเจน ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์แรงแต่มีขนาดใหญ่บางสาร ไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลอิสระหรือเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าความเป็นจริง นอกจากนี้สารรีดิวซ์สามารถทำให้สี DPPH<sup>•</sup> จางลงได้อีกด้วย (ศรัญญา, 2559)

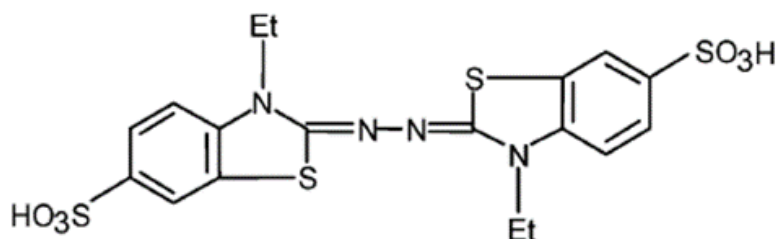


รูปที่ 2.9 โครงสร้างสาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>)

ที่มา: Prior *et al.*, 2005

2) วิธี 3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) เป็นการวัดความสามารถในการฟอกสีของอนุมูลอิสระเอปิตีเอส (ABTS<sup>•+</sup>) หรือ 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ซึ่งมีสีเขียวปนน้ำเงินให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไปจะทำให้สีลดลง ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างของสารดังรูปที่ 2.10 โดยข้อดีของวิธีนี้ คือ อนุมูลอิสระเอปิตีเอส ABTS<sup>•+</sup> ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์สามารถทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็วกับสารต้านอนุมูลอิสระภายในเวลา 30 นาที ใช้ได้ในช่วงพีเอชที่กว้าง ดังนั้นจึงตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่ละลายได้ในน้ำและที่

ละลายในไขมัน ข้อเสียคือ อนุมูลอิสระปียีเอส (ABTS<sup>+</sup>) ไม่ใช่สารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต (อรวรรณ., 2555; Re *et al.*, 1999)



รูปที่ 2.10 โครงสร้างสาร 2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS<sup>+</sup>)  
ที่มา: Prior *et al.*, 2005

Sharma, (2015) ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยชีวมวลของเชื้อถั่งเช่าหิมะเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์และกิจกรรมทางชีวภาพ ซึ่งพบว่าการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้รับอิทธิพลจากแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน แร่ธาตุที่แตกต่างกัน และพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของถั่งเช่าหิมะที่เพาะเลี้ยงในปัจจัยที่ต่างกัน จะมีฤทธิ์ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีอัตราการยับยั้งสูงต่อการเกิดปฏิกิริยาในกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน

## 2.5 ความคงตัวของสารสำคัญ

การใช้สมุนไพรเพื่อเป็นเครื่องสำอางได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในปัจจุบัน โดยพัฒนาการใช้ประโยชน์และการทำผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรให้ทันสมัยสอดคล้องกับวิถีชีวิตสมัยใหม่ โดยควบคุมปริมาณสารสำคัญให้มีปริมาณที่แน่นอนในทุกครั้งของการผลิตที่เรียกว่า “Standardized products” หรือสารสกัดมาตรฐาน (มยุรี และณัฐยา, 2555) สารสกัดมาตรฐานนี้ นอกจากจะมีความคงตัวทางกายภาพซึ่งสามารถสังเกตได้จากภายนอกแล้วจะต้องมีความคงตัวทางเคมีของสารสำคัญ เพื่อให้คงประสิทธิภาพของสารสกัดนั้นและต้องมีความปลอดภัย ดังนั้นการควบคุมคุณภาพของสารสำคัญเหล่านี้จึงมีความจำเป็น นอกจากนี้ต้องมีการทดสอบปริมาณและฤทธิ์ของสารสกัด โดยสามารถทำได้ทั้งในหลอดทดลอง เช่น กิจกรรมการวัดทางเคมี หรือในร่างกายของอาสาสมัครมนุษย์ (Tiedtke, 2006) โดยสภาวะในการเก็บรักษาก็จะมีผลกับความคงตัวหรือสลายตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนั้นจึงควรศึกษาเพื่อหาสภาวะและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเพื่อให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคงอยู่ได้นานที่สุด (สุนีรัตน์ และคณะ, 2556) และเมื่อนำสารสกัดมาประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง เครื่องสำอางเหล่านั้นควรจะมีคุณภาพ โดยจะต้องมีประสิทธิภาพตรงกับช่วงเวลาที่ใช้ผู้ซื้คาดหวัง ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญที่จะทำให้ผู้ใช้นั้นมั่นใจว่าผลิตภัณฑ์มีคุณภาพ โดยต้องพิจารณาระยะเวลาในการจัดจำหน่ายผลิตภัณฑ์จากผู้ผลิตไปยังผู้บริโภคและระยะเวลาการใช้งานจริง

นอกจากนี้ต้องเพิ่มความคงตัวโดยจะต้องใส่ใจในทุกขั้นตอนของการผลิต เพื่อรับประกันคุณภาพเมื่อเพิ่มขนาดการผลิตตั้งแต่การพัฒนาจนถึงขั้นตอนการผลิตในขนาดใหญ่ทั้งเรื่องของวัตถุดิบ และกระบวนการผลิต เช่น อุณหภูมิ ระยะเวลาในการผลิต ลำดับขั้นตอนในกระบวนการ ปริมาณการผลิต การบรรจุ (Mitsui, 1997)

### 2.5.1 ความคงตัวของยาและเภสัชภัณฑ์สามารถแบ่งเป็น 5 ประเภท (ซูดา, 2559)

1.ความคงตัวทางเคมี (Chemical stability) หมายถึง ตัวยาสำคัญในเภสัชภัณฑ์ มีสมบัติทางเคมี ปริมาณ หรือความแรง (strength) ตามฉลากและตามเกณฑ์ที่กำหนด

2.ความคงตัวทางกายภาพ (Physical stability) หมายถึง เภสัชภัณฑ์คงไว้ซึ่ง ลักษณะทางกายภาพต่าง ๆ เช่น ลักษณะทางภายนอก รสชาติ ความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) การละลาย ความสามารถในการกระจายตัว ลักษณะปรากฏที่สวยงาม

3.ความคงตัวทางจุลชีววิทยา (Microbiological stability) หมายถึง เภสัชภัณฑ์ที่มีความปราศจากเชื้อหรือต้านทานต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ตามข้อกำหนด สารกันเสียที่อยู่ในผลิตภัณฑ์ยังมีประสิทธิภาพตามเกณฑ์ที่กำหนด

4.ความคงตัวทางการรักษา (Therapeutic stability) หมายถึง เภสัชภัณฑ์ยังคง ประสิทธิภาพในการรักษาโรคของยา โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงประสิทธิภาพการรักษา

5.ความคงตัวทางพิษวิทยา (Toxicological stability) หมายถึง เภสัชภัณฑ์ยังคง มีความปลอดภัย โดยตัวยาสำคัญหรือสารเสื่อมสลายไม่มีพิษเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

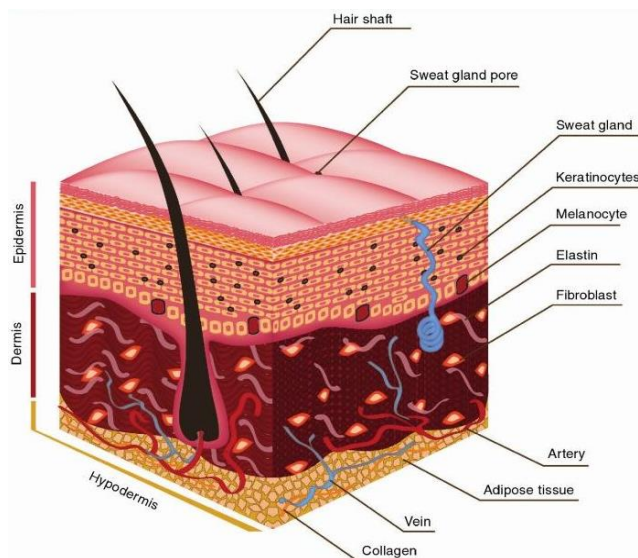
## 2.6 เครื่องสำอางที่ใช้สำหรับผิวหนัง

### 2.6.1 ผิวหนัง (สมศักดิ์, 2550)

ผิวหนังจะปกคลุมร่างกายของมนุษย์ไว้ทั้งหมด ช่วยในการป้องกันอวัยวะภายใน จากเชื้อโรค สิ่งแวดล้อมที่เป็นอันตราย การกระทบกระแทก รวมทั้งป้องกันไม่ให้สูญเสียน้ำออกไปจากร่างกายโดยผิวหนังเป็นอวัยวะที่ใหญ่ที่สุดของร่างกาย มีน้ำหนักรวมกันประมาณ 7.25 กิโลกรัม (ร้อยละ 7 ของน้ำหนักตัว) มีความหนาโดยเฉลี่ย 2 มิลลิเมตร บริเวณที่บางคือ หนังกตาประมาณ 0.5 มิลลิเมตร บริเวณที่หนาที่สุดของร่างกายคือ ฝ่าเท้าประมาณ 4.5 มิลลิเมตร ซึ่งผิวหนังประกอบด้วย เซลล์ที่ส่วนใหญ่จะมีลักษณะแบนจำนวนถึง 52,000 ล้านเซลล์โดยเฉลี่ย บนผิวหนัง 1 ตารางเซนติเมตรจะมีเซลล์อยู่ 3 ล้านเซลล์และขน 1 เส้น โดยเซลล์ที่ต้องลอกออกมา (ตาย) แล้วกลายเป็นขี้ไคลจะมีประมาณวันละ 300 ล้านเซลล์ เซลล์เกิดใหม่จะมีสีขาวย่นชมพู เรียบเนียน สวยงาม โดยความเร็วในการแบ่งตัวจะช้าลงเมื่อมีอายุมากขึ้นทำให้ผิวหนังดูไม่สดใส

### 2.6.2 กายวิภาคของผิวหนัง

ผิวหนังมีโครงสร้างเป็น 3 ชั้นที่สำคัญด้วยกัน คือ ชั้นหนังกำพร้า (epidermis) อยู่ชั้นนอกสุด ชั้นหนังแท้ (dermis หรือ cutis) อยู่ชั้นในใต้ชั้นหนังกำพร้าเข้ามา และชั้นไขมันใต้ผิวหนัง (subcutaneous fatty layer) ดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 โครงสร้างชั้นผิวหนัง

ที่มา: Pereira *et al.*, 2013

1) หนังกำพร้า (epidermis) อยู่ชั้นนอกสุดของผิวหนัง เซลล์บริเวณนี้จะลอกออกเป็นซีไคลตลอดเวลา ส่วนหนังแท้ (dermis) จะไม่ลอก หนังกำพร้ามีลักษณะบางมาก หนาประมาณ 0.4 มิลลิเมตร ซึ่งหนังกำพร้าต้องอาศัยชั้นหนังแท้ที่อยู่ใต้ลงไปในการส่งสารอาหารขึ้นมา และรับของเสียกลับออกไป โดยชั้นผิวบนสุดของหนังกำพร้าจะประกอบด้วยเซลล์รูปสี่เหลี่ยมแบน ๆ ซ้อนกันหลาย ๆ ชั้นเหมือนสะเก็ด (stratified squamous epithelium) แต่ชั้นล่างสุดของหนังกำพร้า มีรูปร่างกลม (basal cell) มีหน้าที่แบ่งตัวเพื่อสร้างเซลล์ใหม่ให้ทดแทนเป็นซีไคลที่ลอกออกมา ซึ่งเซลล์ของหนังกำพร้าเป็นเซลล์ที่ไม่มีนิวเคลียส พร้อมจะหลุดลอกออกไปตามธรรมชาติ เมลานิน (melanin) คือเม็ดสีที่ทำให้ผิวหนังเป็นสีดำ เหลือง หรือขาว โดยเซลล์ที่ผลิตเม็ดสีเมลานิน เรียกว่า เมลาโนไซท์ (melanocyte) อยู่ในหนังกำพร้าชั้นล่างสุด เมื่อถูกแสงแดดรบกวนจะทำให้เอนไซม์ชื่อ ไทโรซิเนส (tyrosinase) ถูกกระตุ้นให้ทำหน้าที่ย่อยสารตั้งต้นเป็นกรดอะมิโนไทโรซิน (tyrosine) ให้เกิดเป็นเม็ดสีเมลานิน ซึ่งเป็นการป้องกันตัวจากแสงแดดของผิวหนังที่จะไม่ให้แสงแดดผ่านเม็ดสีเข้ามาทำอันตรายกับร่างกายที่อยู่ลึกลงไปได้ และในหนังกำพร้ายังมีเม็ดโลหิตขาวขนาดใหญ่ (macrophage) ซึ่งถ้าอยู่ในผิวหนังเรียกว่า ลางเกอร์ฮานส์ เซลล์ (langerhans cell) ซึ่งมีความสามารถที่จะกินและย่อยสิ่งแปลกปลอมรวมทั้งผลิตสารเคมี (cytokine) เพื่อสร้างภูมิคุ้มกัน โดยปกติเม็ดโลหิตขาวขนาดใหญ่จะไม่ทำงานจนกว่าจะถูกกระตุ้น โดยตัวกระตุ้นจะเป็นกลุ่มเปปไทด์เชิงซ้อน (พอลิแซ็กคาไรด์) เช่น เบต้า 1,3 กลูแคน ทำให้มันปล่อยสารเคมี ชื่อ ไซโตไคน์ (cytokine) ออกมา ซึ่งสำคัญมากต่อภูมิคุ้มกันของร่างกายโดยเฉพาะที่ผิวหนัง และในถึงเข้าหิมะก็มีพอลิแซ็กคาไรด์ที่จัดอยู่ในกลุ่มเบต้า กลูแคน คือ กลูโคส  $9.21 \pm 1.31$  แมนนิทอล  $8.40 \pm 0.58$  และ ซูโครส  $2.67 \pm 0.81$  มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (Hong *et al.*, 2007)

2) หนังแท้ (dermis หรือ cutis) เป็นชั้นของผิวหนังที่อยู่ใต้หนังกำพร้าลงมา ประมาณ 25 เท่า มีปลายประสาท ต่อมเหงื่อ ต่อมไขมัน รูขุมขนและหลอดเลือด หน้าที่สำคัญของหนังแท้คือ คอยประคองและสนับสนุนหนังกำพร้า องค์ประกอบที่สำคัญของหนังแท้คือโปรตีนที่มีชื่อว่า คอลลาเจน (collagen) และอีลาสติน (elastin) สานกันอยู่เป็นใยโดยมีกรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid) เป็นตัวเชื่อมสำคัญ ถ้าผิวหนังถูกแสงแดดบ่อย ๆ หรืออายุมากขึ้น โปรตีนคอลลาเจนและอีลาสตินจะถูกทำลายหรือเสื่อมสภาพตามกาลเวลาทำให้ผิวหนังหมดความนุ่มนวล คอลลาเจนพร่องลงทำให้เกิดรอยย่นบนใบหน้า ผิวหนังจะเหี่ยวเพราะขาดความยืดหยุ่น

3) ชั้นไขมันใต้ผิวหนัง (subcutaneous fatty layer) ชั้นไขมันนี้ประกอบด้วยไขมัน (fat) โดยมีหลอดเลือดมาหล่อเลี้ยงในบริเวณนี้จำนวนมาก ไขมันจะทำหน้าที่เป็นตัวกลางยึดหนังแท้ด้านบนกับกล้ามเนื้อหรือกระดูกอยู่ด้านล่างให้ติดกันและช่วยเป็นเบาะกันกระแทกให้กับอวัยวะต่าง ๆ อีกด้วย

### 2.6.3 เครื่องสำอาง (พิมพร, 2547)

เครื่องสำอาง หมายถึงผลิตภัณฑ์ที่มุ่งหมายสำหรับใช้ทา ภู นวด โรอย ฟ่น หยอด ใส่ อบ หรือกระทำด้วยวิธีอื่นใดต่อส่วนหนึ่งส่วนใดของร่างกายเพื่อความสะอาด ความสวยงาม หรือส่งเสริมให้เกิดความสวยงามและรวมตลอดทั้งเครื่องประทีนผิวต่าง ๆ ด้วย เช่น แชมพู สบู่ แป้งฝุ่นโรยตัว แต่ไม่รวมถึงเครื่องประดับและเครื่องแต่งตัวซึ่งเป็นอุปกรณ์ภายนอกร่างกาย การใช้เครื่องสำอางและเครื่องหอมต่าง ๆ เริ่มมาจากชาวอียิปต์ต่อมาอาณาจักรโรมันมีความรุ่งเรือง ชาวโรมันได้มีการใช้เครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย มีการสร้างสถานอาบน้ำสาธารณะ มีการใช้สบู่ซึ่งทำจากไขมันสัตว์ ส่วนซีกโลกตะวันออกก็มีการใช้เครื่องสำอางมาแต่โบราณกาล เช่น ชาวจีนใช้กากเมล็ดชา (แต่โคว) สระผม ชาวญี่ปุ่นใช้แป้งทาจนหน้าขาว เขียนคิ้วด้วยผงถ่าน ทาปากทาแก้มด้วยสีคาร์มีน ชาวพม่าใช้กระแจะ หรือไม้พญาายซึ่งเรียกว่า ทะนะคา นำมาฝนเพื่อทาหน้าและผิวกายให้ขาวนวล ชาวไทยโบราณใช้มะคำดีควายและเปลือกขี้หนอนในการสระผม ใช้ดินสอพองทาหน้า ใช้ขมิ้นทาผิวให้เหลือง ใช้น้ำอบไทยทาผิวให้หอม จนกระทั่งหลังสงครามโลกครั้งที่ 1 จึงมีอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องสำอางขึ้นใน ค.ศ. 1914 ต่อมาการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเริ่มต้นอย่างจริงจังและออกสู่ท้องตลาดในปี ค.ศ. 1950 จากนั้นก็ได้มีการศึกษาวิจัยสารสกัดจากธรรมชาติมากขึ้น จนทำให้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติทั้งหลายได้รับความนิยมเป็นอันมาก ในปัจจุบันเครื่องสำอางประเภทที่ใช้บำรุงใบหน้ามีหลายชนิด เช่น น้ำตบหรือวอเตอร์เอสเซนส์ (Water Essences) ครีมบำรุงผิวหน้า (Facial Cream) และเซรั่ม (Face Serum) โดยเซรั่มเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลผิวหน้าที่สามารถนำมาใช้กับผิวหนังหลังจากทำความสะอาดแล้วอีกทั้งยังให้ความชุ่มชื้น และสามารถนำส่วนผสมที่มีประสิทธิภาพเข้าสู่ผิวได้โดยตรง เนื่องจากประกอบด้วยโมเลกุลขนาดเล็กที่สามารถซึมซาบลงสู่ผิวและปลดปล่อยสารที่มีประสิทธิภาพในความเข้มข้นสูง (Lindsey, 2017)

### 2.6.4 อิมัลชันทางเครื่องสำอาง (พิมพร, 2536)

อิมัลชัน (emulsion) หมายถึง ผลิตภัณฑ์รูปแบบหนึ่งที่ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด ซึ่งไม่เข้ากันหรือไม่ละลายในกันและกัน เช่น น้ำ น้ำมัน นำมาทำให้ผสมผสานเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้โดยอาศัยตัวทำอิมัลชัน (emulsifier) อิมัลชันที่เกิดขึ้นถ้ามองด้วยตาเปล่าจะเห็นลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน แต่ถ้าส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็น 2 วัฏภาคภายใน (internal or dispersed phase) กระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่งซึ่งเรียกว่า วัฏภาคภายนอก (external or continuous phase) โดยทั่วไปหยดของวัฏภาคภายในอาจทำให้มีขนาดต่างกันได้ตั้งแต่ 0.05 ไมครอนจนถึง 25 ไมครอน ซึ่งขนาดหยดอนุภาคของวัฏภาคภายในนี้มีผลต่อการกระจายแสงได้ต่างกัน จึงทำให้อิมัลชันมีลักษณะภายนอกที่มองเห็นได้แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 2.6

#### 2.6.4.1. การแบ่งตามลักษณะภายนอกที่มองเห็น

1) แมโครอิมัลชัน (macroemulsion) คือ อิมัลชันที่มีลักษณะขุ่นขาว โดยอนุภาคภายในมักมีขนาดตั้งแต่ 0.25-10 ไมโครเมตร จึงทำให้เกิดความแตกต่างในค่าดัชนีการหักเหแสงของวัฏภาคทั้งสองและเกิดการกระจายแสง ทำให้เห็นเป็นลักษณะขุ่นขาว แมโครอิมัลชันเป็นอิมัลชันชนิดที่พบมากที่สุด ทั้งในอุตสาหกรรม ยา อาหาร และเครื่องสำอาง เช่น ครีมกันแดด โลชั่นทาผิว เป็นต้น

2) ไมโครอิมัลชัน (microemulsion) คือ อิมัลชันที่มีลักษณะโปร่งใส อนุภาคภายในมีขนาดเล็กมาก มักมีขนาดตั้งแต่ 10-75 นาโนเมตร ซึ่งมีค่าน้อยกว่าหนึ่งในสี่ของความยาวคลื่นแสงที่มองเห็นได้ (visible light) จึงไม่หักเหหรือกระจายแสง แสงจะทะลุผ่านได้ ทำให้มองดูโปร่งใส หยดของวัฏภาคภายในมีลักษณะกลม ถูกล้อมรอบด้วยฟิล์มของตัวทำอิมัลชัน

ตารางที่ 2.6 ขนาดอนุภาควัฏภาคภายในกับลักษณะอิมัลชันที่ปรากฏ

ขนาดหยดอนุภาควัฏภาคภายใน (ไมโครเมตร)	ลักษณะอิมัลชัน
เล็กกว่า 0.05	โปร่งใส (transparent)
0.05 - 0.10	ขุ่นหรือโปร่งแสง (translucent)
0.10 - 1.00	ขาวอมฟ้า
ใหญ่กว่า 1.00	ขุ่นขาวทึบ

ที่มา: พิมพร, 2536

#### 2.6.4.2. แบ่งตามชนิดของของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายในและวัฏภาคภายนอก

1) อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O emulsion) อิมัลชันชนิดนี้มีวัฏภาคภายในเป็นน้ำ วัฏภาคภายนอกเป็นน้ำมัน พบอิมัลชันชนิดนี้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมล้างหน้า (cleansing cream) ครีมทากลางคืน (night cream) ครีมนวดหน้า (massage cream) และ

ครีมฮอร์โมน (hormone cream) เป็นต้น เนื่องจากอิมัลชันชนิดนี้มีความเหนอะหนะและล้างน้ำออกยากจึงเป็นที่นิยมใช้น้อย

2) อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W emulsion) อิมัลชันชนิดนี้กลับกันกับชนิดแรก คือ มีวัฏภาคภายในเป็นน้ำมัน วัฏภาคภายนอกเป็นน้ำ จึงมีความเหนอะหนะน้อย ทาแล้วกระจายดี ล้างน้ำออกง่าย เป็นที่นิยมมากในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมและโลชั่นทาผิว (body cream and lotion) ครีมทาหน้า (vanishing cream) ครีมทากันแดด (sunscreen cream) ครีมรองพื้น (foundation cream) เป็นต้น

3) อิมัลชันเชิงซ้อน (multiple emulsion) เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายในซ้อนกัน ซึ่งเป็นของเหลวต่างชนิดกัน เช่น W/O/W หรือ O/W/O โดยสามารถกลับกลายเป็นอิมัลชันธรรมดาได้ เช่น W/O/W ซึ่งมีน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก แต่วัฏภาคภายในซึ่งเป็นน้ำมันจะมีหยดเล็ก ๆ ของน้ำซ้อนอยู่อีกที เมื่อกลับกลายเป็นอิมัลชันธรรมดา จะกลายเป็น O/W พบอิมัลชันชนิดนี้บ้างในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น โคลด์ครีม (cold cream) ซึ่งเป็นชนิด O/W/O เป็นต้น

#### 2.6.4.3 แบ่งตามความหนืดของอิมัลชัน

1) โลชั่น (Lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ (เหลว) เพราะมีวัฏภาคภายนอกในปริมาณที่สูง วัฏภาคภายในมักมีไม่เกินร้อยละ 35 โลชั่นอาจเป็นทั้งชนิด O/W หรือ W/O ซึ่งอาจมีชื่อเรียกต่างออกไปว่า น้่านม (milk or milky lotion) เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุด ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาผิว โดยเฉพาะผิวแห้งที่มีบริเวณกว้างเพราะทาแล้วชุ่มชื้น ไม่เหนอะหนะ ดูดี ให้ความรู้สึกสบาย และล้างน้ำออกง่าย เช่น โลชั่นทาผิว โลชั่นป้องกันแสงแดด เป็นต้น โลชั่นชนิด W/O มีการใช้บ้างแต่ไม่นิยมเพราะทาแล้วเหนอะหนะผิว เช่น โลชั่นป้องกันแดด ในกรณีที่ใช้ทา ก่อนลงว้ายน้ำซึ่งใช้ชนิด O/W ไม่ได้เพราะถูกน้ำชะล้างออกหมด เป็นต้น โลชั่นนี้อาจใช้สารเพิ่มความหนืด (thickening agent) ในวัฏภาคน้ำเพื่อให้หนืดขึ้นได้แต่ยังคงเป็นของเหลวที่ไหลได้

2) ครีม (cream) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง (ลักษณะกึ่งแข็ง) เพราะมีส่วนประกอบของสารพวกไขแข็ง (waxes) และไขมัน (fatty acid or fatty alcohol) ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืดและเนื้อครีมผสมอยู่กับน้ำมัน (oils) ในวัฏภาคน้ำมัน ครีมมีทั้งชนิด O/W และ W/O ครีมมีความหนืดมากกว่าโลชั่นเพราะมีปริมาณวัฏภาคภายในสูงกว่า คือ ประมาณร้อยละ 35-75 แล้วแต่ความหนืดของเนื้อครีมที่ต้องการ โดยมีการใช้สารโดยมีการใช้สารเพิ่มความหนืด (bodying or stiffening agent) เช่น ไขมันและไขแข็งดังกล่าวแล้ว นอกจากนี้กรณีของครีมชนิด O/W อาจมีการใส่สารเพิ่มความหนืด (thickening agent) ร่วมด้วยในตำรับ เช่น อาเคเซีย (acacia) วีกัม (veegum) และเมทิลเซลลูโลส (methylcellulose) เป็นต้น ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืดแต่วัฏภาคน้ำ ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่เป็นครีมชนิด O/W ได้แก่ ครีมทาผิว ครีมบำรุงถนอมผิว ครีมแต่งผม ครีมโกนหนวด ครีมทากันแดด ครีมระงับเหงื่อและขจัดกลิ่นตัว ครีมทาแก้สิว ครีมทาแก้ผื่น เป็นต้น ครีมชนิด W/O ได้แก่ ครีมฮอร์โมน ครีมล้างหน้า ครีมนวดหน้า ครีมแต่งผม เป็นต้น

### 2.7 คุณลักษณะทางจุลชีววิทยาในเครื่องสำอาง

### 2.7.1 จำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และราที่เจริญโดยใช้อากาศ (aerobic plate count)

1) เครื่องสำอางที่ใช้บริเวณรอบดวงตา เครื่องสำอางที่สัมผัสกับเยื่อบุอ่อนและเครื่องสำอางสำหรับเด็กอายุต่ำกว่า 3 ขวบ ต้องไม่เกิน 500 โคโลนีต่อกรัมหรือโคโลนีต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

2) เครื่องสำอางอื่น ๆ ต้องไม่เกิน 1,000 โคโลนีต่อกรัมหรือโคโลนีต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

### 2.7.2 จุลินทรีย์ก่อโรคซึ่งต้องไม่พบในผลิตภัณฑ์

1) *Pseudomonas aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Pseudomonadaceae สามารถเคลื่อนที่ได้โดยแฟลเจลลัม 1 เส้นที่ติดอยู่ตรงหัวปกติจะพบกระจายในดิน น้ำ ขยะ หรือในพืช และเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ตามปกติ (normal flora) ในลำไส้คน *P. aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้งสัตว์ แมลง ต้นไม้ และสามารถติดเชื้อได้หลายระบบในร่างกายเนื่องจากมีหลายปัจจัยในการก่อให้เกิด เช่น ความสามารถในการเกาะยึดติดกับเยื่อบุผิว ตื้อต่อยาปฏิชีวนะ สร้างโปรตีนที่มาทำลายเนื้อเยื่อ สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อได้ในหลายส่วนของร่างกายทั้งผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน คนที่มีสุขภาพดีก็สามารถติดเชื้อได้จากการอาบน้ำหรือเล่นน้ำในสระว่ายน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ ซึ่งโรคติดเชื้อ *P. aeruginosa* ที่ผิวหนังนี้มักเกิดการสับสนกับโรคอีสุกอีใสและจะเกิดอาการรุนแรงได้กับผู้ที่ติดเชื้อในกระแสเลือดร่วมด้วย *P. aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับสองในการก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในบาดแผลไฟไหม้ในผู้ป่วยที่พักรักษาตัวที่โรงพยาบาลเนื่องจาก *P. aeruginosa* ตื้อต่อยาปฏิชีวนะ ดังนั้นในการรักษาจึงนิยมให้ยาปฏิชีวนะสองตัว ซึ่งบางครั้งจำเป็นต้องตัดเนื้อเยื่อส่วนที่ติดเชื้อและถูกทำลายออกไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่สมองอักเสบ ติดเชื้อที่ตา กระดูกและข้อต่อ หู หัวใจหรือบาดแผล แต่อย่างไรก็ตามโรคติดเชื้อจาก *P. aeruginosa* ก็มีอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยสูง (Wordpress, 2018)

2) *Staphylococcus aureus* ถูกจัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งอยู่ในวงศ์ Micrococcaceae สกุล *Staphylococcus* มีรูปร่างกลม มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วยสายสั้น ๆ เป็นกิ่งหรือเป็นลักษณะพวงองุ่น (spherical shape) สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีอากาศและมีอากาศ (facultative anaerobes) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ 15–45 องศาเซลเซียส จะมีการสร้างสีเหลืองในโคโลนีแต่บางครั้งอาจพบเป็นสีครีมได้โดยเฉพาะเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อหลาย ๆ ครั้ง สีเกิดจากสารประกอบพวกคาโรทีนอยด์ (carotenoid) แต่การเกิดสีบนโคโลนีมีความแตกต่างกันสูงมาก สามารถสร้างเอนไซม์คาตาเลส (catalase) ใช้กลูโคสได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไร้อากาศเจริญได้ในระดับความเข้มข้นของเกลือสูงถึงร้อยละ 15 เป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น การติดเชื้อบริเวณเนื้อเยื่อ ส่วนใหญ่จำแนกเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากเชื้อชนิดอื่น ๆ ของ *Staphylococcus* โดยใช้ความสามารถในการทำให้พลาสมาแข็งตัวเนื่องจากการสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลส (coagulase) มักพบเชื้อ *Staphylococcus* ในคนและสัตว์เลือดอุ่นชนิดอื่น ๆ

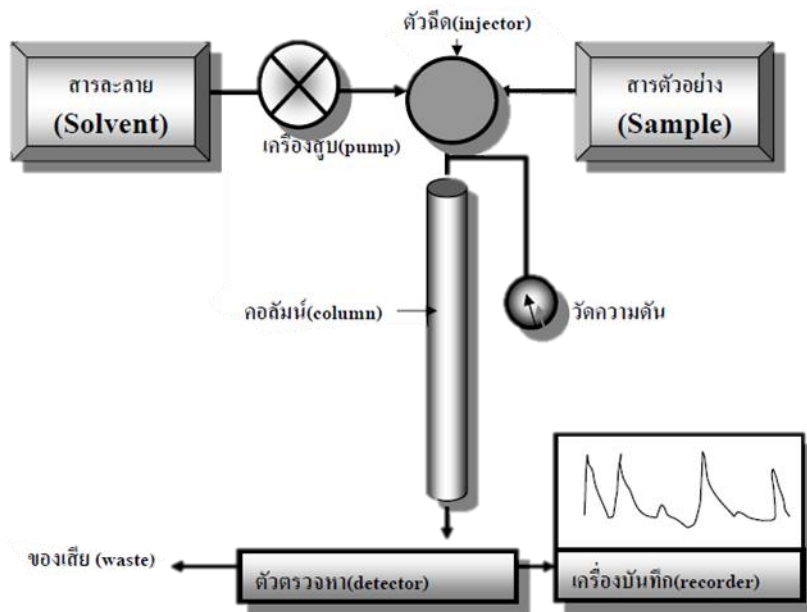
*S. aureus* เป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ผิวหนังได้บ่อยที่สุดในบรรดาเชื้อก่อโรคทั้งหลาย เป็นแบคทีเรียที่เด่นในเรื่องผิวหนัง เนื่องจากโดยปกติมันอาศัยตามผิวหนังของคน หากมีแผลอักเสบแล้วไปแกะไปเกา ก็จะติดเชื้อตัวนี้ได้ง่าย แบคทีเรียตัวนี้ก่อให้เกิดผิวหนังอักเสบ บวม พอง และสามารถติดต่อจากคนสู่คน ผ่านการสัมผัสแผล หนอง แต่อย่างไรก็ตามเชื้อ *S. aureus* อาจก่อให้เกิดการติดเชื้อที่รุนแรงได้เหมือนกัน เช่น การติดเชื้อที่แผลผ่าตัดหรือปอดอักเสบติดเชื้อ (ศิวาพร, 2542)

3) *Candida albicans* เป็นเชื้อราในตระกูล Cryptococcaceae Deuteromycota เชื้อนี้มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศด้วยการแตกหน่อหรือสร้างบลาสโตโคนีเดีย (blastoconidia) ซึ่งหน่อมีลักษณะกลมรีหรือรูปไข่ มีการเรียงตัวแบบเดี่ยวหรือแบบกลุ่มเรียงต่อกันเป็นสาย ซึ่งเป็นเชื้อประจำถิ่นอาศัยอยู่ในตัวคน สัตว์และสิ่งแวดล้อม โดยจะพบเชื้อนี้ได้ในช่วงปาก คอหอย ลำไส้ใหญ่ ช่องคลอด และผิวหนัง โดย *C. albicans* สามารถก่อโรคตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย โดยมีอาการที่แตกต่างออกไปขึ้นกับการติดเชื้อนั้น เช่น สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อบริเวณผิวหนัง ขาหนีบ รักแร้ ใต้เต้านม หรือตามรอยพับย่นของผิวหนัง ซึ่งจะปรากฏรอยผื่นแดงอย่างชัดเจน อาจจะมีลักษณะคล้ายรอยผุร่อนที่เชื้อรากรุกรานเข้าไปผสมกับเยื่อเมือกสีขาว นอกจากนี้บริเวณซอกเล็บเป็นที่ที่สามารถเกิดการติดเชื้อได้ โดยเฉพาะผู้ที่ต้องสัมผัสน้ำเป็นประจำทำให้บริเวณดังกล่าวเปื่อยขึ้นตลอดเวลา (สุภาพ, 2548)

4) *Clostridium* spp. (เฉพาะเครื่องสำอางสมุนไพร) เป็นชื่อสกุลของแบคทีเรียในแกรมบวก (gram positive bacteria) อยู่ในวงศ์ Bacillaceae มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) จับกันเป็นคู่ หรือเป็นสายโซ่สั้น ๆ มีมากกว่า 200 สกุล (genus) แพร่พันธุ์โดยการสร้างสปอร์ (spore) แต่มีเพียงบางสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคในคน ซึ่งเครื่องสำอางสมุนไพรจะต้องตรวจไม่พบเนื่องจากเป็นเชื้ออันตรายก่อให้เกิดการอักเสบรุนแรง เป็นฝีหนอง สร้างสปอร์ (spore forming bacteria) ไม่ต้องการอากาศ (anaerobic bacteria) คนที่มีภูมิคุ้มกันต้านทานโรคต่ำ และผู้สูงอายุมีความเสี่ยงในการติดเชื้อแบคทีเรียนี้เพิ่มขึ้น โดยติดเชื้อจากบาดแผลที่เปิด รอยถลอกที่ผิวหนัง หรือทางเดินอาหาร เกิดการติดเชื้อที่บาดแผลเรียก แก๊สแกงกรีน (Gas Gangrene) ซึ่งเกิดจากสปอร์ของเชื้องอกและผลิตสารพิษออกมา จากนั้นปนเปื้อนเข้าสู่บาดแผลเชื้อและเพิ่มจำนวนในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำโดยทั่วไป จะพบเกี่ยวข้องกับการบาดเจ็บรุนแรงอาการจะคล้ายกับโรคอาหารเป็นพิษโบทูลิซึม แต่อาจใช้เวลา 2 วัน หลังติดเชื้อจึงจะเริ่มแสดงอาการ (ปิยะดา และคณะ., 2558)

## 2.8 เครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง (ซูชาติ, 2534)

เครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เป็นเครื่องมือที่สามารถแยกสารและวิเคราะห์สารได้อย่างมีประสิทธิภาพเป็นจำนวนมาก ถึงแม้ว่ารูปร่างของเครื่องมือจะมีความแตกต่างกันไปตามผู้ผลิตแต่มีองค์ประกอบหลักที่สำคัญเหมือนกันดังรูปที่ 2.12 คือ 1. เครื่องสูบ (pump) มีหน้าที่สูบของเหลวซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่ให้ไหลเข้าไปในคอลัมน์ด้วยอัตราเร็ว 0.5-10 มิลลิลิตร/นาที และรักษาให้คงที่ในช่วงอัตราเร็วช่วงใดช่วงหนึ่งโดย



รูปที่ 2.12 องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง

ที่มา: ชูชาติ, 2534

มีความผิดพลาดไม่เกินร้อยละ 2 ของปริมาตรที่สูบ สำหรับความดันสูงที่อัดเข้าไปในคอลัมน์จะมีค่าตั้งแต่ 1,000-6,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2. ตัวฉีด (injector) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมปริมาตรของสารตัวอย่างที่ไหลเข้าสู่คอลัมน์ซึ่งส่วนให้อาจอยู่ในช่วง 0.5-10 ไมโครลิตร

3. คอลัมน์ (column) อาจทำจากแก้ว พลาสติก หรือเหล็กกล้าไร้สนิม มีความยาวในการใช้งานตั้งแต่ 10-150 เซนติเมตร กรณีที่มีความยาวมากอาจขดคอลัมน์เป็นวง แต่มักพบว่าประสิทธิภาพในการแยกสารลดลง มีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่น้อยกว่า 1 มิลลิเมตรจนถึงหลายมิลลิเมตร สามารถทนแรงดันได้สูงถึง 6,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุที่ใช้ทำคอลัมน์และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของคอลัมน์

4. ตัวตรวจหา (detector) มีหน้าที่วัดปริมาณของสารเพื่อส่งให้เครื่องบันทึกผลทำการบันทึกค่าและแสดงกราฟของสารชนิดต่าง ๆ ตัวตรวจหาหลายชนิดขึ้นอยู่กับประเภทของสารที่ต้องตรวจหา ตัวอย่างเช่น ตัวไวแสง (photo detector) ใช้สำหรับการวัดสารที่มีสีหรือมีความขุ่น ตัววัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence detector) ใช้สำหรับวัดปริมาณสารที่สามารถเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ ตัววัดดัชนีหักเห (refractive index detector) ใช้สำหรับวัดสารละลายที่ใสและมีตัวถูกละลายอยู่ ตัววัดกัมมันตภาพรังสี (radioactivity detector) ใช้สำหรับวัดสารกัมมันตรังสี ตัวตรวจหาแต่ละชนิดมีความไวและข้อจำกัดในการใช้งานแตกต่างกัน ตัวตรวจหาที่นิยมใช้มากที่สุด ในปัจจุบันเป็นการวัด

การดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นแสงอัลตราไวโอเล็ตเนื่องจากสารส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยหมู่ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าวได้ดี

5. เครื่องบันทึกผล ใช้สำหรับแสดงตำแหน่งของสารที่ออกมาจากคอลัมน์เพื่อประโยชน์ในการจำแนกชนิดของสารหรือคำนวณหาปริมาณสารซึ่งสามารถคำนวณได้จากความสูงของโครมาโทกราฟีของเหลวความดันสูงยอดพีค (peak high) หรือพื้นที่ใต้พีค (peak area) โดยกราฟที่มีลักษณะสมมาตรควรคำนวณค่าจากความสูง แต่ถ้ากราฟเบ้ควรคำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟกราฟที่บันทึกได้

โดยหลักการคือ แยกสารประกอบที่สนใจซึ่งผสมอยู่ในตัวอย่างซึ่งกระบวนการแยกสารประกอบที่สนใจจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสคงที่ (stationary phase) หรือ คอลัมน์ (column) กับเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งจะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน สารผสมที่อยู่ในตัวอย่าง สามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้น จะขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับเฟสเคลื่อนที่หรือเฟสคงที่โดยสารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเฟสเคลื่อนที่สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับเฟสเคลื่อนที่หรือเข้ากันได้ดีกับเฟสคงที่ก็จะถูกแยกออกมาทีหลังโดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้ จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัดสัญญาณ (detector) และสัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่า โครมาโตแกรม (chromatogram)

Li *et al.* (2015) พบว่าผลของความร้อนและเวลาที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อสารสำคัญ คือ อะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินในถั่งเช่าสีทอง เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) ในสภาวะเฟสเคลื่อนที่เป็นเมทานอลต่อน้ำ อัตราส่วน 16:84 ตามลำดับ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณการฉีด 10 ไมโครลิตร ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร กล่าวคือการใช้อุณหภูมิไม่เกิน 40 องศาเซลเซียสและเวลาไม่เกิน 15 นาทีจะทำให้สารสำคัญทั้งสองยังคงมีปริมาณมากที่สุด

## 2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Zhu *et al.* (2016) ทำการศึกษาการเจริญของเส้นใยและการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของ *Cordyceps gunnii* โดยใช้แหล่งไนโตรเจนสามชนิดคือ เปปโตน บีฟสก็ด และยีสสก็ด มาใช้ในการทดสอบเพื่อคัดเลือกแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด พบว่าเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นยีสสก็ดให้ผลเส้นใยสูงที่สุดคือ  $12.37 \pm 0.46$  กรัม/ลิตร แต่การใช้ยีสสก็ดและเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนนั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าเปปโตนนั้นให้ค่าผลได้การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดเท่ากับ  $98.87 \pm 4.77$  มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร รวมถึงในอาหารเพาะเลี้ยงที่ใช้เปปโตนเป็นส่วนประกอบยังให้ค่าผลได้ที่สูงกว่าอาหารที่ใช้ยีสสก็ด ดังนั้นเปปโตนจึงถูกเลือกใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดเนื่องจากสามารถหาได้ง่ายและราคาค่อนข้างถูก

Li *et al.* (2001) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) ของถั่งเช่าที่เก็บได้จากธรรมชาติและที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเส้นใย โดยทำการทดสอบ 3 ชนิด ได้แก่ สารยับยั้งการสร้างแซนทีน (xanthine) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของกรดยูริก โดยสารยับยั้งการ

เหนียวนำไปให้เม็ดเลือดแดงแตกและการย่อยสลายไขมัน ซึ่งผลปรากฏว่าถั่งเช่าจากธรรมชาติและถั่งเช่าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงให้ผลดีใกล้เคียงกันมาก และยังพบอีกว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่แยกได้จากถั่งเช่าที่เพาะเลี้ยงมีประสิทธิภาพเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น 10-30 เท่า

Yang *et al.* (2011) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเส้นใยถั่งเช่า ในการยับยั้งการปลดปล่อยซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (superoxide anion) และเอนไซม์อีลาสเทส (elastase) ในกรณีที่เกิดแผลแล้วจะมีผลทำให้อักเสบ ผลปรากฏว่าสารที่สกัดได้มีส่วนประกอบสำคัญคือ 1-(5-Hydroxymethyl-2-furyl)-b-carboline มีฤทธิ์ในการยับยั้งการปลดปล่อยซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน และเอนไซม์อีลาสเทสได้ดีทำให้แผลหายเร็วขึ้นมาก

Hong *et al.* (2009) ได้ทำการศึกษาถั่งเช่าหิมะ (*Paecilomyces tenuipes*) โดยพบว่ามีความสามารถในการต่อต้านมะเร็ง เมื่อทำการทดสอบโดยเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง พบว่าถั่งเช่าหิมะสามารถสร้างความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและเนื่องจากความต้องการถั่งเช่ามีเพิ่มมากขึ้น แต่ปริมาณของดอกถั่งเช่าจากธรรมชาติมีไม่เพียงพอ นักวิทยาศาสตร์ในประเทศเกาหลีจึงคิดค้นและพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสายพันธุ์ต่าง ๆ โดยใช้หนอนไหมเป็นส่วนประกอบในการเจริญ ซึ่งงานวิจัยนี้จะทำการวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในถั่งเช่า พบว่าดอกถั่งเช่าที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยใช้หนอนไหมมีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ น้ำตาลที่สามารถละลายได้ (soluble sugar) กรดอะมิโน และกรดไขมัน โดยน้ำตาลที่พบในถั่งเช่า ได้แก่ กลีเซอรอล กลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล

ดวงทิพย์. (2556) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันของเซรัมที่มีส่วนผสมของสารสกัดชาขาวซึ่งมีคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันสูง โดยเตรียมเซรัมที่มีสารสกัดชาขาวร้อยละ 2, 4, 6, 8 และ 10 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ได้เซรัมเนื้อใสอมเหลืองอ่อน การทดสอบคุณสมบัติต้านออกซิเดชันของเซรัมแต่ละสูตร โดยวิธี DPPH โดยเทียบกับเซรัมวิตามินซี พบว่าค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ที่ใกล้เคียงกันของเซรัมทั้งสอง โดยต้องใช้สารสกัดจากชาขาวเป็นปริมาณหนึ่งเท่าตัวของวิตามินซีในเซรัม การทดสอบความระคายเคืองในอาสาสมัคร 20 คน ประเมินผลจากค่า Mean Irritation Index (M.I.I) พบว่าไม่มีการระคายเคืองต่อเซรัมที่ทดสอบและทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คนพบว่าอาสาสมัครส่วนใหญ่พึงพอใจมากกับลักษณะทางกายภาพของเซรัม รวมไปถึงความรู้สึกดีขณะใช้และหลังใช้เซรัม โดยไม่ก่อให้เกิดอาการระคายเคือง

เสาวนีย์ และ หทัยชนก. (2549) ทดลองสกัดสารซีรีซินจากกระบวนการสาวไหม นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางทำให้ผิวชุ่มชื้นและอ่อนนุ่ม ซึ่งในการศึกษานี้ได้เตรียมโลชั่นตามสูตรต่าง ๆ 6 สูตร แล้วทำการพัฒนาตำรับในแต่ละสูตรจนกว่าจะได้โลชั่นที่มีคุณสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสม แล้วจึงเลือกสูตรที่ดีมาพัฒนาต่อเพื่อใช้ในการเตรียมตำรับซีรีซินโลชั่น และนำซีรีซินโลชั่นมาประเมินความคงตัวอีกครั้งพร้อมทั้งประเมินความรู้สึกในการใช้โลชั่นเพื่อหาสูตรตำรับที่ดีที่สุด แล้วจึงนำมาทดสอบในอาสาสมัครที่เป็นคนสูงอายุ (อายุมากกว่า 50 ปี) ทั้งหมด 14 คน ในการทดลองนี้จะให้อาสาสมัครทาโลชั่นที่บริเวณแขน โดยแขนข้างหนึ่งทาซีรีซินโลชั่นและอีกข้างหนึ่ง

ทาโลชั่นพื้นฐานที่ไม่มีส่วนประกอบของซีรีซินเป็นเวลาทั้งหมด 5 สัปดาห์ แล้วจึงประเมินผลของสกัดสารซีรีซินในฤทธิ์ของการช่วยลดริ้วรอยโดยเครื่องวัดสภาพผิว พบว่ามีรอยเหี่ยวย่นลดลงร้อยละ 50 และผิวมีความชุ่มชื้นเพิ่มขึ้นร้อยละ 92.80 เมื่อเทียบกับโลชั่นพื้นฐาน

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์

##### 3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1.1 หัวเชื้อถังเช่าหิมะจากสถานีเห็ด อ.คลองสาม จ.ปทุมธานี

##### 3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสมาตรฐาน (superoxide dismutase; SOD)  
(Sigma, USA)

3.1.2.2 โซเดียมฟอสเฟตโมนอบสิค (sodium phosphate monobasic) (Merck,  
Germany)

3.1.2.3 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) (Sigma, USA)

3.1.2.4 ไนโตรบลูเตตรazole คลอไรด์ (nitro blue tetrazolium chloride; NBT) (Sigma, USA)

3.1.2.5 กรดเอทิลีนไดอามีนเตตราอะซิติก (ethylene diamine tetraacetic acid; EDTA)

3.1.2.6 ไอโซโพรพิลไมริสเทท (iso propyl myristate) (Krungthepchemi, Thailand)

3.1.2.7 โซเดียมฟอสเฟตไดเบสิค (sodium Phosphate dibasic) (Merck, Germany)

3.1.2.8 โพลีไวนิลไพร์โรลิโดน (polyvinylpyrrolidone) (Chemipan, Thailand)

3.1.2.9 โซเดียมอัลจีเนต (sodium alginate) (Krungthepchemi, Thailand)

3.1.2.10 กลูโคส (glucose) (Weifang shengtai medicine Co., Ltd, China)

3.1.2.11 สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (standard glucose) (Ajax, Australia)

3.1.2.12 สารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid)(Merck, Germany)

3.1.2.13 สารมาตรฐานคอร์ไดเซปิน (standard cordycepin) (Sigma, USA)

3.1.2.14 ไรโบฟลาวิน (riboflavin) (Sisco Research Laboratories, India)

3.1.2.15 เมทานอลร้อยละ 99 (methanol) (Carloerba reagents, France)

3.1.2.16 คลิโมฟอร์ อาร์เอช40 (cremophor RH40) (Namsiang, Thailand)

3.1.2.17 เซทิลแอลกอฮอล์ (cetyl alcohol) (Krungthepchemi, Thailand)

3.1.2.18 โพรไพลีนไกลคอล (propylene glycol) (Namsiang, Thailand)

3.1.2.19 สารมาตรฐานอะดิโนซีน (standard cordycepin) (Sigma, USA)

3.1.2.20 สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) (Becton Dickinson, USA)

3.1.2.21 ไอโอดีนคาร์ราจีแนน (iota carageenan) (Scidict, Thailand)

3.1.2.22 แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride) (Granular, Japan)

3.1.2.23 กรดซัลฟิวริกร้อยละ 98 (sulfuric acid) (JK-Baker, China)

3.1.2.24 2,2-diphenyl-1-pic-rylhydrazy (DPPH) (Sigma, USA)

### 3.1.2 สารเคมี (ต่อ)

3.1.2.25 โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (potassium persulfate)

3.1.2.26 ฟีนอสแตท (phenostat) (Namsiang, Thailand)

3.1.2.27 สารละลายแอนโทรน (anthrone) (Sigma, USA)

3.1.2.28 เปปโตน (peptone) (Becton Dickinson, USA)

3.1.2.29 ผงวุ้น (agar powder) (Bioagars, Thailand)

3.1.2.30 เมไทโอนีน (methionine) (Sigma, USA)

3.1.2.31 เอทานอลร้อยละ 95 (ethanol)

3.1.2.32 น้ำกลั่น (distilled water)

### 3.1.3 วัตถุดิบ

3.1.3.1 ข้าวลิ้มผัว วิสาหกิจชุมชนข้าวเหนียวดำพันธุ์ลิ้มผัว อ.พบบพระ จ.ตาก จากที่อพมาร์เก็ต สาขารังสิต ปทุมธานี

3.1.3.2 ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ยี่ห้อมาบุญครอง จากที่อพมาร์เก็ต สาขาลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

3.1.3.3 ดอกแต่ใหม่ ยี่ห้อเอโร (aro) จากแมคโคร สาขาบางกะปิ กรุงเทพมหานคร

3.1.3.4 น้ำมะพร้าวอ่อน จากที่อพมาร์เก็ต สาขาลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

3.1.3.5 ข้าวโพดอ่อน จากโลตัสเอ็กเพรส สาขาลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

3.1.3.6 มันฝรั่งอ่อน จากที่อพมาร์เก็ต สาขาลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

### 3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.4.1 ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส รุ่น Contherm design series oven (Contherm Scientifica, New Zealand)

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

3.1.4.3 เครื่องเขย่าสารโดยใช้เสียงความถี่สูง (Ultrasonic Sonicator) รุ่น ETLIS TED, Germany

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

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

3.1.4.6 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น Hermle, Germany

3.1.4.7 ตู้เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ควบคุมอุณหภูมิ รุ่น Hermle, Germany

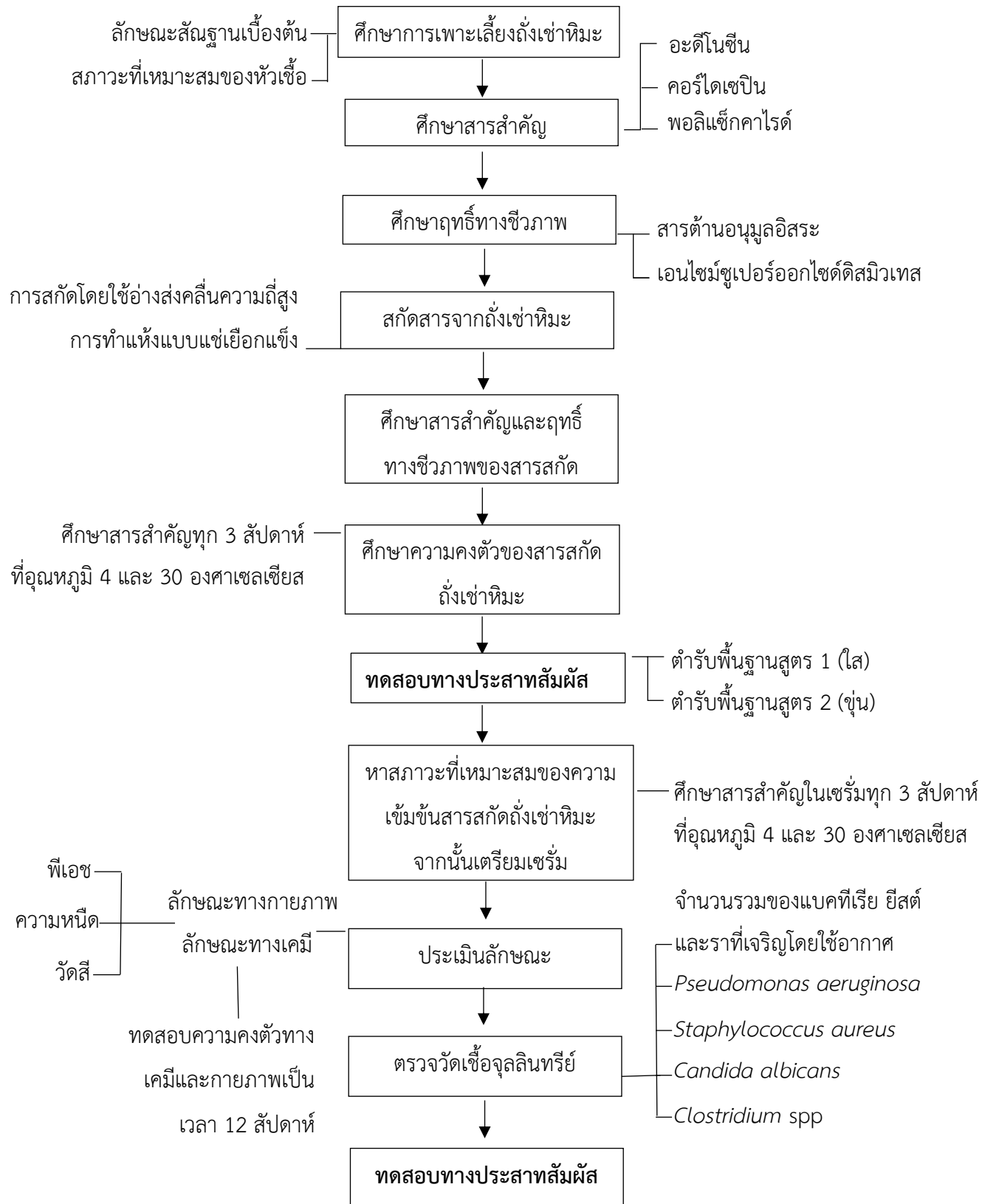
3.1.4.8 เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter) รุ่น UB-10 (Denver Instrument, USA)

3.1.4.9 ปีเปตอัตโนมัติ (Refurbished Gilson Pipetman, United States)

3.1.4.10 ที่เจาะจุกคอร์ก (cock borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร

- 3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ (ต่อ)
- 3.1.4.11 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (SHIMADZU, Japan)
- 3.1.4.12 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง รุ่น CH30RF200 (Olympus, Japan)
- 3.1.4.13 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) (Boss Tech Co., Ltd., USA)
- 3.1.4.14 ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส (Sanyo, Japan)
- 3.1.4.15 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น AR 2140 (OHAUS, USA)
- 3.1.4.16 ชุดรางน็อน FL20SS-D/18-ESP Panasonic BS1X18W
- 3.1.4.17 เครื่องผสมสารรุ่น G560E (Scientific Industries, USA)
- 3.1.4.18 ตู้บ่มเชื้อ (The cool company, Thailand)
- 3.1.4.19 ชุดกรองสุญญากาศ (Pyrex, Germany)
- 3.1.4.20 ตู้เย็น (General Electric, USA)
- 3.1.4.21 ทิปสำหรับปิเปตอัตโนมัติ
- 3.1.4.22 ขวดโหลขนาด 16 ออนซ์
- 3.1.4.23 ตะแกรงวางเครื่องมือ
- 3.1.4.24 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 3.1.4.25 โถแก้วดูดความชื้น
- 3.1.4.26 ครอบป้องกันเชื้อ
- 3.1.4.27 โถสำหรับบด
- 3.1.4.28 ซ้อนตักสารเคมี
- 3.1.4.29 หลอดทดลอง
- 3.1.4.30 จานเพาะเชื้อ
- 3.1.4.31 ขวดรูปชมพู
- 3.1.4.32 ผ้าขาวบาง
- 3.1.4.33 เข็มเย็บเชื้อ
- 3.1.4.34 ขวดดูแรน
- 3.1.4.35 ขวดสีชา
- 3.1.4.36 ปีกเกอร์
- 3.1.4.37 สำลี
- 3.1.4.38 มีด

### 3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน



รูปที่ 3.1 ภาพรวมในการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การวิเคราะห์สารสำคัญและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่าหิมะ (คันสุณีย์, 2561)

### 3.2.1.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อและวิเคราะห์อัตราการเจริญของถั่งเช่าหิมะ

ทำการเพาะเลี้ยงถั่งเช่าหิมะในอาหารแข็ง โดยตัดดอกถั่งเช่าหิมะขนาด 1 เซนติเมตร ล้างในไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 3 เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ และซับด้วยกระดาษชำระที่ปราศจากเชื้อ นำดอกถั่งเช่าหิมะวางลงในอาหารแข็งจากภาคผนวก 1ก ซึ่งทั้งหมดต้องทำในตู้ปลอดเชื้อ และนำไปบ่มที่ตู้ที่บ่มแสงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน จนเกิดเส้นใยสีขาว จากนั้นเตรียมหัวเชื้อถั่งเช่าหิมะในอาหารเหลว โดยเตรียมอาหารเหลวจากภาคผนวก 2ก ปริมาตร 105 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เจาะเส้นใยหัวเชื้อถั่งเช่าหิมะด้วยที่เจาะ (cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร จำนวน 4 ชิ้น ใส่ลงในอาหารเหลว บ่มที่ตู้บ่มแบบเขย่า 25 องศาเซลเซียส 179 รอบต่อนาที จากนั้นวิเคราะห์อัตราการเจริญโดยทำการเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 144 ชั่วโมง จำนวน 5 มิลลิลิตรด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ เติลงในหลอดปั่นเหวี่ยง ทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000g เป็นเวลา 20 นาที เติส่วนใสทิ้ง ทำการล้างเซลล์และปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง จากนั้นนำตะกอนเซลล์ที่ได้ไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบอบลมร้อนที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ทำการชั่งน้ำหนักตะกอน บันทึกผลและนำไปวิเคราะห์อัตราการเจริญ

### 3.2.1.2 การเพาะเลี้ยงและการทำแห้งถั่งเช่าหิมะ (คันสุณีย์ และคณะ., 2560)

เตรียมอาหารเหลวจากภาคผนวก 2ก และซังข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่อข้าวสาลีผั้ว อัตราส่วน 20:20 กรัม ในขวดโหลขนาด 16 ออนซ์ เทอาหารเหลวลงในขวดโหลที่มีข้าวบรรจุอยู่ จากนั้นทำการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำหัวเชื้ออาหารเหลวของถั่งเช่าหิมะใน 72 ชั่วโมง ใส่ลงในอาหารแข็ง จำนวน 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน จนเชื้อเจริญเต็มหน้าอาหาร แล้วจึงย้ายไปบ่มที่ตู้มีแสงที่มีปริมาณแสงประมาณ 500 ลักซ์ เมื่อครบ 7 วัน นำมาฉีดด้วยน้ำมะพร้าวร้อยละ 10 เพื่อเร่งการเจริญ เมื่อครบ 20 วัน บันทึกผลและทำการเก็บดอก จากนั้นนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมงจะได้ดอกถั่งเช่าหิมะอบแห้ง

3.2.1.3 การสกัดสารและการวิเคราะห์คอร์โคไดเซปินและอะดีโนซีน (ดัดแปลงจาก Li et al., 2015)

นำดอกถั่งเช่าหิมะที่อบแห้งมาทำการบดให้เป็นผงละเอียด จากนั้นชั่งผงถั่งเช่าหิมะกับน้ำบริสุทธิ์สูงอัตราส่วน 0.2:2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) สกัดด้วยเครื่องเขย่าเสียงความถี่สูงที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000g เป็นเวลา 30 นาที นำส่วนใสกรองสารสกัดผ่านกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตรลงในขวดสำหรับวิเคราะห์

ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถภาพสูง (HPLC) นำไปวิเคราะห์คอร์โดเซปินและสารอะดีโนซีน

การวิเคราะห์คอร์โดเซปินและอะดีโนซีน (Zhu *et al.*, 2016) ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถภาพสูง (HPLC) โดยใช้เฟสเคลื่อนที่คือ น้ำบริสุทธิ์สูงต่อเมทานอล อัตราส่วน 85:15 (โดยปริมาตร) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่คือ 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ปริมาตรของตัวอย่างที่วิเคราะห์คือ 1 ไมโครลิตร และใช้คอลัมน์ C18 (4.6 มิลลิเมตร x 250 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตรและสร้างกราฟมาตรฐาน จากนั้นวิเคราะห์ค่าโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของคอร์โดเซปินและอะดีโนซีน

### 3.2.1.4 การสกัดสารและการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์และสารต้านอนุมูลอิสระ

(ดัดแปลงจาก Zhu *et al.*, 2016)

นำดอกถึงเข้าหิมะที่อบแห้งมาทำการบดให้เป็นผงละเอียด จากนั้นชั่งผงถึงเข้าหิมะกับน้ำบริสุทธิ์ อัตราส่วน (น้ำหนัก/ปริมาตร) นำไปต้มที่อ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยง 6000g เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเทส่วนใสเก็บไว้ (ทิ้งตะกอน) ใส่เอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วนตัวอย่าง (ส่วนใส) ต่อเอทานอล 1:4 ทิ้งให้ตกตะกอนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000g เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งส่วนใส นำตะกอนเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจนให้แห้ง ทำแห้งตะกอนด้วยเครื่องทำแห้งแบบลมร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที บันทึกน้ำหนักที่คงที่ของตะกอน นำไปวิเคราะห์สารพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธีแอนโทรนและสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และวิธี ABTS

การวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธีแอนโทรน (Dreywood, 1946) ทำการละลายตะกอนตัวอย่างด้วยน้ำเปล่าบริสุทธิ์ 1 มิลลิลิตร ผสมให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน และทำการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธีแอนโทรน โดยนำสารสกัดถึงเข้าหิมะปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง นำหลอดไปแช่อ่างน้ำแข็งรอจนสารละลายเย็น เติมสารละลายแอนโทรนที่แช่เย็นลงไป 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน รอจนหลอดเย็นประมาณ 0 องศาเซลเซียส นำหลอดไปแช่ในอ่างน้ำเดือด 10 นาที ทำให้เย็นลงในอ่างน้ำแข็ง และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร จากนั้นวิเคราะห์ค่าโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (Singh *et al.*, 2018) ทำการละลายตะกอนตัวอย่างด้วยน้ำบริสุทธิ์สูงให้ได้ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางแบบลำดับส่วน (serial dilution) ดูดตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย DPPH จำนวน 100 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้ในแต่ละความเข้มข้นหาค่าเฉลี่ย แล้วนำมาคำนวณร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition) และนำไปสร้างกราฟเพื่อหาค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC50) จากสมการ % radical scavenging = [ A control - (A sample - A sample blank) / A control ] x 100

เมื่อ A sample = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง

A control = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS (Singh *et al.*, 2018) ทำการละลายตะกอนตัวอย่างด้วยน้ำเปล่าบริสุทธิ์ให้ได้ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางแบบลำดับส่วน (serial dilution) ดูดตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย ABTS จำนวน 100 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้ในแต่ละความเข้มข้นหาค่าเฉลี่ย แล้วนำมาคำนวณร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition) และนำไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า IC50 จากสมการ % radical scavenging =  $[A \text{ control} - (A \text{ sample} - A \text{ sample blank}) / A \text{ control}] \times 100$

เมื่อ A sample = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง

A control = ค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS

### 3.2.1.5 การสกัดสารและการวิเคราะห์เอนไซม์ SOD (Kaushal *et al.*, 2018)

นำดอกถึงเข้าหิมะที่อบแห้งมาทำการบดให้เป็นผงละเอียด ซึ่งระหว่างการทำบดทำการเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชที่ 6, 7 จากภาคผนวก 2x ที่มี polyvinylpyrrolidone ร้อยละ 1 และใช้น้ำกลั่นที่มี polyvinylpyrrolidone ร้อยละ 1 เป็นตัวควบคุม โดยต้องทำการบดในโกร่งที่มีความเย็นอยู่ตลอดเวลา แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 15000g เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์

การวิเคราะห์ปริมาณ SOD (ดัดแปลงมาจาก Beyer and Fridovich, 1987) เตรียมสารผสมที่เกิดปฏิกิริยา (reaction mixture) ซึ่งประกอบด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (พีเอช 7.8) 50 มิลลิโมลาร์ ไโรโบฟลาวิน  $1.77 \times 10^{-6}$  โมลาร์ อีดีทีเอ  $12 \times 10^{-3}$  โมลาร์ เอ็นพีที  $4.07 \times 10^{-5}$  โมลาร์ เมไทโอนีน  $13 \times 10^{-3}$  โมลาร์ เขย่าให้เข้ากัน เริ่มปฏิกิริยาด้วยการนำไปส่องด้วยหลอดฟลูออเรสเซนซ์ 18 วัตต์ เป็นเวลา 30 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยการปิดไฟแล้วคลุมหลอดด้วยผ้าสีดำ นำสารละลายสีน้ำเงินที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ (อารี, 2559) นำตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานโปรตีน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงไปหลอดทดลอง เติมสารละลายอัลคาไลคอปเปอร์ จากภาคผนวก 4x ปริมาณ 5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองที่มีตัวอย่าง ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Folin – Ciocalteu ความเข้มข้น 1 นอร์มัล ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย BSA และคำนวณค่ากิจกรรมจำเพาะ (specific activity) โดยนำปริมาณโปรตีนไปหารกิจกรรมของเอนไซม์จะได้ กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน)

### 3.2.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาและความคงตัวของสารสกัดถึงเข้าหิมะ

### 3.2.2.1 การสกัดสารสกัดแห้งเข้าหิมะ (ดัดแปลงจาก Choi *et al.*, 2017)

ทำการสกัดสารโดยนำผงแห้งเข้าหิมะ 5 กรัม ใส่ลงในน้ำ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่อ่างส่งคลื่นความถี่สูง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองผ่านกระดาษกรอง what man เบอร์ 4 จากนั้นนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยนำสารสกัดไปแช่ที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเข้าเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 20 ชั่วโมง นำผงที่ได้เก็บในตู้ดูดความชื้น

### 3.2.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำผงสารสกัดแห้งเข้าหิมะละลายน้ำอัตราส่วน 0.2 กรัม ต่อน้ำ 4 มิลลิลิตร จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ คือ คอร์โคเซปิน อะดีโนซีน พอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณสารออกฤทธิ์ คือ เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส สารต้านอนุมูลอิสระ

### 3.2.2.3 การทดสอบความคงตัว

นำผงสารสกัดแห้งเข้าหิมะละลายน้ำอัตราส่วน 0.2 กรัม ต่อน้ำ 4 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ คือ คอร์โคเซปิน อะดีโนซีน พอลิแซ็กคาไรด์ ทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

## 3.2.3 ทดสอบทางประสาทสัมผัสของสูตรตำรับพื้นฐาน

### 3.2.3.1 เตรียมสูตรตำรับพื้นฐาน 2 สูตร

กำหนดสูตรตำรับเสริมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร ดังตารางที่ 3.1 และ 3.2 จากนั้นทำการประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัสจากอาสาสมัครจำนวน 36 คน เพื่อทำการคัดเลือกตำรับเสริมสูตรพื้นฐานที่ดี

สูตร 1 นำ Disodium EDTA ละลายกับน้ำ 20 กรัม จนเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นใส่ Sorbitol, Propylene glycol, Glycerin ละลายจนเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นใส่ Simulgel EG ลงไปทำการละลายต่อ คนจนขึ้นเนื้อเจล ค่อย ๆ เติมน้ำจนครบปริมาตรที่กำหนด จากนั้นเติม Cremophor RH40 และ Phenostat คนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

สูตร 2 นำ Disodium EDTA ละลายกับน้ำ 20 กรัมจนเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นใส่ Sorbitol, Propylene glycol, Glycerin ละลายจนเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน และนำ Pro Polymer ละลายกับน้ำ 20 กรัม เติมน้ำลงไป คนจนขึ้นเนื้อเจลค่อย ๆ เติมน้ำจนครบปริมาตรที่กำหนด จากนั้นเติม Cremophor RH40 และ Phenostat คนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

### 3.2.3.2 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ (วนาพร, 2559; เสาวนีย์ และหทัยชนก, 2549)

สังเกตการเกิด Creaming การเกิด Cracking ความหนืด และสี ซึ่งวัดโดยเครื่องวัดสี ระบบ  $L^* a^* b^*$  บันทึกผล

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบตำรับเซรัมพื้นฐานสูตรที่ 1

ส่วนประกอบ	อัตราส่วน (ร้อยละ)	หน้าที่
น้ำ	90.74	ตัวทำละลาย (solvent)
Simulgel EG	3.50	สารที่ช่วยในการสร้างเนื้อเจล
Sorbitol	2	สารให้ความชุ่มชื้น
Propylene glycol (PG)	2	กักเก็บความชุ่มชื้นและซึมผ่านสู่ชั้นผิวหนังได้ดี
Phenostat	1	สารกันเสียที่ปลอดภัยสำหรับผิวหนัง และเป็นสารกันเสียที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ครอบคลุม
Glycerin	0.50	สารกักเก็บและดูดความชื้นสู่ผิว ช่วยในการทำละลายและช่วยทำให้ผิวหนังนุ่มลื่น
CremophorRH40	0.20	สารลดแรงตึงผิว ช่วยเพิ่มการละลายให้กับสารที่ไม่ละลายน้ำ หรือละลายน้ำได้น้อย
DisodiumEDTA	0.06	สารจับประจุในน้ำ(Chelating agent) ป้องกันไม่ให้ประจุในน้ำ(ในกรณีที่ไม่ใช่ น้ำกลั่น) มารบกวนส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์บางตัวที่มีความอ่อนไหวต่อประจุ รวมถึงช่วยให้สูตรมีความคงตัว สามารถเก็บได้ยาวนานขึ้น

### 3.2.3.3 ประเมินคุณสมบัติทางเคมี (วนาพร, 2559)

ตรวจสอบพีเอชโดยใช้เครื่องวัดพีเอช ซึ่งต้องมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง

3.5-7.5 บันทึกผล

### 3.2.3.4 ประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส

เตรียมเซรัมสูตรตำรับพื้นที่ 2 สูตร จากนั้นทำการประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัสจากอาสาสมัครจำนวน 36 คน ที่มีสุขภาพแข็งแรงไม่เป็นโรคผิวหนังและไม่มีบาดแผลบริเวณท้องแขน ทำความสะอาดบริเวณท้องแขนของอาสาสมัครทุกคนให้สะอาดด้วยน้ำสะอาดและซับให้แห้งสนิท ใช้ดินสอสำหรับเขียนผิวหนังขีดกำหนดพื้นที่ทดสอบขนาด 3 × 3 เซนติเมตร บริเวณผิวหนังท้องแขนของอาสาสมัคร ทาตัวอย่างผลิตภัณฑ์ปริมาณประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือประมาณ 1 กรัมโดยทำแบบสอบถามการตามภาคผนวก ฉ ในเรื่องของสี ความหนืด เนื้อสัมผัส การซึมซาบเข้าสู่ผิว ความชุ่มชื้น และความชอบโดยรวม เป็นต้น จะได้เซรัมสูตรที่ผ่านการคัดเลือกและนำมาทำการวิจัยต่อไป

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบตำรับเซรัมพื้นฐานสูตรที่ 2

ส่วนประกอบ	อัตราส่วน (ร้อยละ)	หน้าที่
น้ำ	93.85	ตัวทำละลาย (solvent)
Sorbitol	2	สารให้ความชุ่มชื้น
Propylene glycol (PG)	2	กักเก็บความชุ่มชื้นและซึมผ่านสู่ชั้นผิวหนังได้ดี
Phenostat	1	สารกันเสียที่ปลอดภัยสำหรับพาราเบน และเป็นสารกันเสียที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ครอบคลุม
Glycerin	0.50	สารกักเก็บและดูดความชื้นสู่ผิว ช่วยในการทำละลายและช่วยทำให้ผิวหนังนุ่มลื่น
Pro Polymer	0.80	สารที่ช่วยในการสร้างเนื้อเจล
CremophorRH40	0.20	สารลดแรงตึงผิว ช่วยเพิ่มการละลายให้กับสารที่ไม่ละลายน้ำ หรือละลายน้ำได้น้อย
DisodiumEDTA	0.06	สารจับประจุในน้ำ (Chelating agent) ป้องกันไม่ให้ประจุในน้ำ (ในกรณีที่ไม่ใช่น้ำกลั่น) มารบกวนส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์บางตัวที่มีความอ่อนไหวต่อประจุ รวมถึงช่วยให้สูตรมีความคงตัว สามารถเก็บได้ยาวนานขึ้น

### 3.2.4 การหาสภาวะที่เหมาะสมและความคงตัวของเซรัมที่มีส่วนประกอบของสารสกัดถั่ง

#### เช่าหิมะ

#### 3.2.4.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของเซรัมที่มีส่วนประกอบของสารสกัดจากถั่ง

#### เช่าหิมะ (XU, 2015)

ทำการหาสภาวะที่เหมาะสมของเซรัมโดยใช้สารสกัดที่ปริมาณต่าง ๆ คือ ร้อยละ 1.8, 1.9 และ 2 จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ คือ คอร์โคเดเซปิน อะดีโนซีน พอลิแซ็กคาไรด์

#### 3.2.4.2 การทดสอบความคงตัวในเซรัมที่มีส่วนประกอบของสารสกัดถั่งเช่าหิมะ

นำเซรัมที่มีส่วนประกอบของปริมาณสารสกัดถั่งเช่าหิมะที่เหมาะสมไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ คือ คอร์โคเดเซปิน อะดีโนซีน พอลิแซ็กคาไรด์ ทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยนำเซรัมที่มีส่วนประกอบของสารสกัดถั่งเช่าหิมะละลายน้ำอัตราส่วน 0.2 กรัม ต่อน้ำ 2 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงที่ 5000g เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสที่ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ คือ คอร์โคเดเซปิน อะดีโนซีน พอลิแซ็กคาไรด์

### 3.2.5 การประเมินคุณภาพและทางประสาทสัมผัสของเซิร์มที่พัฒนาแล้ว

3.2.5.1 การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ (วนาพร, 2559; เสาวนีย์ และหทัยชนก, 2549)

สังเกตการเกิด Creaming การเกิด Cracking ความหนืด และสี ซึ่งวัดโดยเครื่องวัดสี ระบบ  $L^* a^* b^*$  บันทึกผล

3.2.5.2 การประเมินคุณสมบัติทางเคมี (วนาพร, 2559)

ตรวจสอบพีเอชโดยใช้เครื่องวัดพีเอช ซึ่งต้องมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 3.5-7.5 บันทึกผล

3.2.5.3 การประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพ (The central lab by pathawin<sup>a</sup>; The central lab by pathawin<sup>b</sup>)

ทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสียที่ใช้เป็นส่วนประกอบตำรับผลิตภัณฑ์โดยวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (USP 41 chapter 61) ในผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี total plate count ด้วยการนำตัวอย่างเซิร์มถึงเข้าหิมะเจือจาง (10-fold dilution) ในอาหาร Ptytic Soy Borth โดย Total Aerobic Microbial Count จะนำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร Pour plate ในอาหาร Ptytic Soy Agar บ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน และ Total Combined Yeast And Mold Count จะนำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร Pour plate ในอาหาร Sabouraud Dextrose Agar บ่มที่ 20-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน เมื่อครบเวลาทำการนับจำนวนโคโลนี โดยประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพ คำนวณโคโลนีเชื้อที่มีชีวิตรอดโดยใช้สมการ (CFU/ml) =  $n/10^a \times V$

โดย n คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่อจานอาหาร

$10^a$  คือ ระดับความเจือจาง

V คือ ปริมาตรอาหารที่ดูตมา

การตรวจเชื้อ (USP 41 chapter 62) *S.aureus* โดยนำตัวอย่าง 1 กรัมทำการเจือจาง (10-fold dilution) ลงอาหาร Soybean Casein Digest Broth บ่ม 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้น Streak plate ลงในอาหาร Mannitol Salt Agar บ่ม 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-72 ชั่วโมง ทำการตรวจผล การตรวจเชื้อ *P.aeruginosa* โดยนำตัวอย่าง 1 กรัมทำการเจือจาง (10-fold dilution) ลงอาหาร Soybean Casein Digest Broth บ่ม 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้น Streak plate ลงในอาหาร Cetrimide Agar บ่ม 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-72 ชั่วโมง ทำการตรวจผล การตรวจเชื้อ *Candida albicans* โดยนำตัวอย่าง 1 กรัมทำการเจือจาง (10-fold dilution) ลงอาหาร Sabouraud Dextrose Broth บ่ม 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้น Streak plate ลงในอาหาร Sabouraud Dextrose Agar บ่ม 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทำการตรวจผล การตรวจเชื้อ *Clostridium* spp. นำตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ใน Tryptic Soy Broth (TSB) จากนั้นแบ่งเป็น 2 ส่วน ๆ ละ 10 มิลลิลิตร นำส่วนที่ 1 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นทันที ส่วนที่ 2 ไม่ต้องให้ความ

ร้อน จากนั้นใส่ Reinforced Medium for Clostridium 40 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างทั้งสองส่วน จากนั้นนำทั้ง 2 ส่วน บ่มแบบสุญญากาศที่ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง Streak plate ลงบน Columbia Agar และบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะสุญญากาศ ทำการตรวจผล

#### 3.2.5.4 การประเมินความคงตัว

นำเซรัมที่มีสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ ไปเก็บไว้ในอุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4-8 องศาเซลเซียส  $45 \pm 2$  องศาเซลเซียส และในอุณหภูมิห้องนาน 12 สัปดาห์ จากนั้นตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนแน่ใจว่าตัวอย่างมีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้อง ทำการเปรียบเทียบสีวัดสีโดยเครื่องวัดสีแบบ  $L^* a^* b^*$  ความหนืด พีเอช (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ภาคผนวก จ)

#### 3.2.5.5 การประเมินการระคายเคืองและการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการ ทำแบบสอบถาม (วนาพร, 2559; ไพโรจน์, 2545)

เตรียมเซรัมสูตรที่ได้รับการคัดเลือก จากนั้นใช้อาสาสมัคร 100 คนที่มีสุขภาพแข็งแรงไม่เป็นโรคผิวหนังและไม่มีบาดแผลบริเวณท้องแขน ทำความสะอาดบริเวณท้องแขนของอาสาสมัครทุกคนให้สะอาดด้วยน้ำสะอาดและซับให้แห้งสนิท ใช้ดินสอสำหรับเขียนผิวหนังขีดกำหนดพื้นที่ทดสอบขนาด  $3 \times 3$  เซนติเมตร บริเวณผิวหนังท้องแขนของอาสาสมัคร ทาตัวอย่างผลิตภัณฑ์ปริมาณประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือประมาณ 1 กรัมให้ทั่วบริเวณที่ทดสอบ เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ทางการค้า ขณะทาให้สังเกตผลที่เกิดขึ้นขณะใช้ จากนั้นบันทึกผลและทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยทำแบบสอบถามการยอมรับของผู้บริโภคของผลิตภัณฑ์ (ดังภาคผนวก ฉ) ในเรื่องของสี ความหนืด เนื้อสัมผัส การซึมซาบเข้าสู่ผิว ความชุ่มชื้น และความชอบโดยรวม เป็นต้น

#### 3.2.5.6 การวิเคราะห์ค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้การทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design; CRD) และวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธีทางสถิติ ANOVA โดยใช้โปรแกรม Minitab ในการสร้างความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ ) ทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey

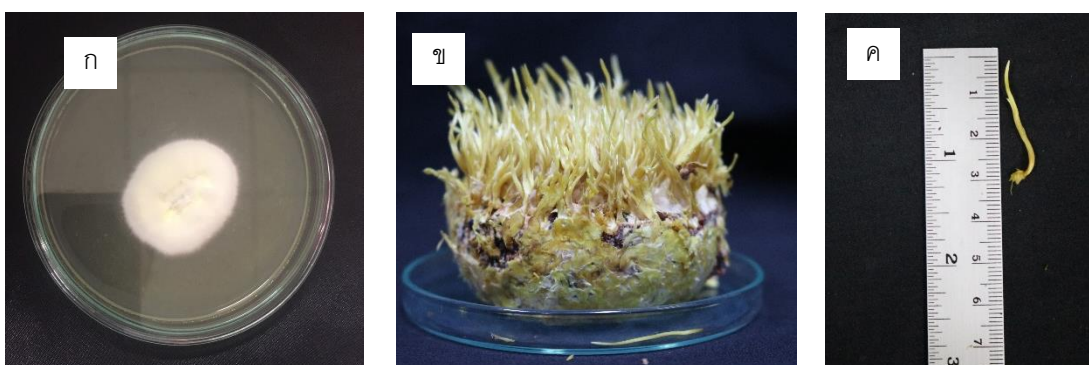
## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

##### 4.1.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงถั้วเช่าหิมะ

การศึกษาการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อถั้วเช่าหิมะในอาหารแข็งโดยการควบคุมอุณหภูมิที่ 20 องศาเซลเซียสในสภาวะที่บดแสง พบว่าลักษณะโคโลนีมีเส้นใยฟู สีขาว ซึ่งมีลักษณะสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mar *et al.*, 2012 ซึ่งทำการแยกสปอร์ของถั้วเช่าหิมะจากซากแมลงและทำการเพาะเลี้ยงจนเกิดโคโลนีในอาหารแข็ง potato dextrose agar (PDA) โดยมีลักษณะโคโลนีและสีใกล้เคียงกัน และสามารถเจริญได้บนอาหารแข็งชนิดเดียวกัน



รูปที่ 4.1 (ก) ลักษณะโคโลนีถั้วเช่าหิมะที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA สำหรับเพาะเลี้ยงหัวเชื้อ (ข) และ (ค) ลักษณะสัณฐานเบื้องต้นของดอกถั้วเช่าหิมะ

และทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อในอาหารเหลว โดยทำการสุ่มตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 144 ชั่วโมง เพื่อหาค่าน้ำหนักของเส้นใยแห้ง พบว่าชั่วโมงที่ 96 มีค่าของน้ำหนักเส้นใยแห้งสูงสุด คือ 18.20 กรัม น้ำหนักแห้งต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ศันสนีย์, 2561 ที่ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเส้นใยชีวมวลจากถั้วเช่าหิมะ ซึ่งมีค่าของน้ำหนักเส้นใยแห้งสูงสุดในชั่วโมงที่ 96 เช่นกัน และองค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเหมือนกัน Meletiadis *et al.*, 2001 ได้กล่าวไว้ว่าสารอาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญมีอิทธิพลต่อการเจริญ แต่การเตรียมหัวเชื้อนั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อนำไปขยายพันธุ์ ดังนั้นหัวเชื้อที่เหมาะสมต้องอยู่ในระยะเจริญแบบทวีคูณ อายุไม่เกิน 72 ชั่วโมง มีปริมาณหนาแน่น มีความบริสุทธิ์ไม่มีเชื้ออื่นเจือปน เพราะฉะนั้นจึงเลือกระยะเริ่มต้นของการเจริญแบบทวีคูณในชั่วโมงที่ 72 (ศันสนีย์, 2561) ในการศึกษาการเพาะเลี้ยงถั้วเช่า เนื่องจากระยะนี้เซลล์จะเริ่มแบ่งตัวอย่างรวดเร็วและสร้างสารที่จำเป็นต่อการเจริญจึงเหมาะสมสำหรับใช้เป็นหัวเชื้อ นอกจากนี้ยังเป็นการประหยัดเวลาและพลังงานในการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อ

เชื้อและศึกษาการเพาะเลี้ยงถั่วงอกเห็ดเหาะอาหารแข็งโดยใช้อัตราส่วนข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่อข้าวลิ้มผั่ว 20:20 กรัมในขวดโหลขนาด 16 ออนซ์ เมื่อทำการกระตุ้นด้วยแสงเป็นเวลา 20 วัน พบว่าถั่วงอกเห็ดเหาะจะมีลักษณะสีเหลือง เป็นแท่งเรียวยาว มีขนาดประมาณ 2-3 เซนติเมตร มีรูปร่างเป็นกิ่งก้านอย่างไม่เป็นระเบียบ ส่วนปลายเป็นสปอร์สีขาว ซึ่งมีลักษณะดอกถั่วงอกเห็ดเหาะและอาหารแข็งที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Zhang *et al.*, 2018 และ Sumalee *et al.*, 2011 หลังจากนั้นทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศพบว่ามีน้ำหนักดอกหลังทำแห้ง คือ 1.63 กรัม น้ำหนักแห้งต่อ 100 กรัม สารตั้งต้น

#### 4.1.2 การศึกษาสารสำคัญของถั่วงอกเห็ดเหาะ

จากการศึกษาพบว่าการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์โดยใช้วิธีแอนโทรนเป็นการวิเคราะห์น้ำตาลเฮกโซส (hexose) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีคาร์บอน 6 อะตอม (Southgate, 1969) พบว่ามีค่าเท่ากับ 29.32 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ซึ่งจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของถั่วงอกเห็ดเหาะจากงานวิจัยของ Hong *et al.*, 2007 พบว่ามีน้ำตาลที่จัดเป็นน้ำตาลเฮกโซสมีค่าเท่ากับ 17.62 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง โดยปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์มีผลมาจากอาหารและสภาพที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง (Leung *et al.*, 2006) และวิเคราะห์ปริมาณคอร์โดเซปินและอะดีโนซีนด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้สภาวะจากงานวิจัยของ Li *et al.*, 2015 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารคอร์โดเซปินและอะดีโนซีน พบว่ามีค่าเท่ากับ 1.06 และ 9.61 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ศันสนีย์, 2561 ที่ทำการศึกษาน้ำตาลที่เห็ดเหาะที่เหมาะสมต่อการเจริญของถั่วงอกเห็ดเหาะและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยปริมาณสารคอร์โดเซปินและสารอะดีโนซีนมีค่าเท่ากับ 1.04 และ 12.02 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง เนื่องจากใช้สภาวะในการสกัดและวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารด้วยวิธีเดียวกัน จากผลการทดลองยังพบว่าปริมาณสารอะดีโนซีนมากกว่างานวิจัยของ Hong *et al.*, 2007 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.33 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง แต่อย่างไรก็ตามปริมาณสารสำคัญที่มีอยู่ในดอกเห็ดขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความแข็งแรงของสายพันธุ์ อาหารเพาะเลี้ยง สภาพแวดล้อม ระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง รวมไปถึงขั้นตอนวิธีการสกัด การวิเคราะห์สารและอื่น ๆ ดังนั้นจึงยากที่จะนำมาเปรียบเทียบกัน (ณัฐพงษ์และคณะ., 2559)

#### 4.1.3 การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่วงอกเห็ดเหาะ

เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่ามีค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC 50) มีค่าเท่ากับ 0.66 และ 0.35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และจากงานวิจัยของ Sharma, 2015 ได้ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยของถั่วงอกเห็ดเหาะและนำมาทำการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS เพื่อวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลงร้อยละ 50 (EC 50) มีค่าเท่ากับ 2.71 และ 3.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสารตัวอย่างมีค่า IC 50 น้อยกว่าค่า EC 50 แสดงว่าสารตัวอย่างมีประสิทธิภาพดีกว่า เมื่อใช้ในปริมาณเท่ากันสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้

มากกว่า ทั้งนี้เนื่องมาจากการใช้สภาวะในการสกัดสารที่แตกต่างกัน (Sharma, 2015; Leung *et al.*, 2006) จากนั้นทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์ SOD โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชที่ 6, 7 และน้ำเป็นตัวควบคุม และวิเคราะห์โดยวิธี NBT photochemical assay ซึ่งพบว่าปริมาณเอนไซม์ SOD ที่ได้มีค่าเท่ากับ 9.17, 6.71 และ 6.00 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับซึ่งแตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชที่ 6 จึงเหมาะสมในการสกัดเอนไซม์ SOD เนื่องจากให้ปริมาณเอนไซม์ SOD ได้มากที่สุด โดยการควบคุมระดับความเป็นกรด-ด่างภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตให้มีระดับที่เหมาะสมเป็นสิ่งจำเป็นซึ่งจะช่วยรักษาการทำงานของระบบต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิตให้คงที่หรือเปลี่ยนแปลงในช่วงแคบ ๆ เช่น การทำงานของเอนไซม์ในปฏิกิริยาต่าง ๆ ให้ดำเนินไปได้อย่างปกติและมีประสิทธิภาพสูงสุด สิ่งมีชีวิตจึงต้องมีระบบบัฟเฟอร์เพื่อต่อต้านการเปลี่ยนแปลงพีเอชที่อาจเกิดขึ้นภายในเซลล์ (ชัยวัฒน์, 2555) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kaushal *et al.*, 2018 โดยทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์ SOD จากเห็ดนางรมซึ่งพบว่า การสกัดด้วยโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 6.0 ให้ปริมาณเอนไซม์ SOD ได้มากที่สุด

#### 4.1.4 การศึกษาสารสำคัญของสารสกัดถั่งเช่าหิมะ

นำสารสกัดถั่งเช่าหิมะมาทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.32 และ 5.62 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งมีค่าลดลงจากการนำผงถั่งเช่าหิมะมาสกัด และเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์โดยใช้วิธีแอนโทรนพบว่ามีค่าเท่ากับ 65.78 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยพบว่ามีปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์มากกว่าในการนำผงถั่งเช่าหิมะมาทำการสกัด ซึ่งการสกัดทั้งสองแบบเป็นการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ภายในเซลล์ (intra cellular polysaccharide) โดยการสกัดผงถั่งเช่าหิมะจะทำให้ได้เฉพาะพอลิเมอร์ของน้ำตาล หรือเรียกอีกอย่างว่า แซคคาไรด์ (saccharide) ซึ่งการสกัดของสารสกัดจะทำให้ได้ทั้งพอลิเมอร์ของน้ำตาล และน้ำตาลรีดิวซ์

#### 4.1.5 การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะ

จากนั้นทำการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่ามีค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC 50) มีค่าเท่ากับ 0.27 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่เพิ่มขึ้น ทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น (Haghpour *et al.*, 2013) เนื่องจากพอลิแซ็กคาไรด์จากถั่งเช่าหิมะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Sharma *et al.*, 2015) และทำการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ SOD โดยวิธี NBT photochemical assay ซึ่งใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชที่ 6 พบว่าไม่มีปริมาณเอนไซม์ SOD เนื่องจากจากทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นการทำลายโครงสร้างของเอนไซม์อย่างถาวรและเกิดการเปลี่ยนแปลง ค่า  $K_{cat}/K_m$  ของเอนไซม์ คือค่า second-order rate constant ของเอนไซม์อิสระ (free enzyme) ใน organic media ที่แตกต่างจากเมื่ออยู่ใน aqueous media ดังนั้นควรเติมสารเติม

แต่ง (additive) เช่น ไครโอโพรเทกแทนต์ (cryoprotectants) หรือสารอื่นเพื่อป้องกันการ freeze stress (Gupta, 2004)

#### 4.1.6 การศึกษาความคงตัวของสารสำคัญจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ

ทำการศึกษาความคงตัวของสารสำคัญจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ โดยการสกัดสารในอ่างส่งคลื่นความถี่สูง จากนั้นทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและนำผงถึงเช่าหิมะที่ได้มาทำการละลายน้ำบริสุทธิ์ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธีแอนโทรน พบว่าอุณหภูมิที่ 4 และ 30 องศาเซลเซียส จากสัปดาห์ที่ 0 ถึง 3 มีการลดลงของปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์จาก 65.87 เป็น 63.38 และจาก 65.87 เป็น 62.89 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จากสัปดาห์ที่ 3 ถึง 12 มีการลดลงของปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์จาก 63.38 เป็น 62.45 และจาก 62.89 เป็น 61.50 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากนั้นทำการศึกษาความคงตัวของอะดีโนซีนจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ วิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนโดยเครื่อง HPLC พบว่าที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส จากสัปดาห์ที่ 0 ถึงสัปดาห์ที่ 12 มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณอะดีโนซีนจาก 5.62 เป็น 5.66 และมีการลดลงของปริมาณอะดีโนซีน 5.62 เป็น 5.23 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และทำการศึกษาความคงตัวของคอร์โดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณคอร์โดเซปินโดยเครื่อง HPLC พบว่าจากสัปดาห์ที่ 0 ถึงสัปดาห์ที่ 6 ที่อุณหภูมิ 4 มีการลดลงของปริมาณคอร์โดเซปินจาก 0.52 เป็น 0.38 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสัปดาห์ที่ 0 ถึงสัปดาห์ที่ 3 ที่อุณหภูมิ 30 มีการลดลงของปริมาณคอร์โดเซปินจาก 0.52 เป็น 0.38 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 4.1 และ 4.2 เมื่อเปรียบเทียบสัปดาห์ที่ 12 ระหว่างอุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่ามีปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์ ที่อุณหภูมิที่ 4 มากกว่าอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียสแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่ามีปริมาณอะดีโนซีนในอุณหภูมิที่ 4 มากกว่าอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียสซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบปริมาณคอร์โดเซปิน คือ 0.41 และ 0.29 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง โดยปริมาณของสารที่อุณหภูมิที่ 4 มากกว่าที่อุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียสซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 4.3 จากการศึกษาความคงตัวของสารสำคัญจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ สามารถวิเคราะห์ความคงตัวเป็นค่าร้อยละดังตารางที่ 4.4 และ 4.5 พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์และอะดีโนซีนที่ทำการเก็บรักษาในรูปของสารละลายของสารสกัดที่สัปดาห์ที่ 12 ทั้งอุณหภูมิที่ 4 และ 30 องศาเซลเซียสมีการลดลงของปริมาณสารไม่ถึงร้อยละ 10 ยกเว้นอะดีโนซีนซึ่งเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คอร์โดเซปินมีการลดลงของปริมาณสารมากกว่าร้อยละ 10 ปัญหาที่เกิดขึ้นคือสารสกัดจากธรรมชาติมีความคงตัวน้อยเสื่อมสลายตัวง่าย (Chang *et al.*, 2005; Cinar, 2005) จึงควรหาวิธีในการเก็บสารให้มีความคงตัวได้นาน และสอดคล้องกับงานวิจัยของ พจวรรณ, 2551 ได้ทำการนำสารสกัดจากกากชามาละลายน้ำแล้วทำการทดสอบความคงตัวพบว่า สารสกัดจากกากชาที่ถูกละลายน้ำเกิดการเสื่อมสภาพสูญเสีย

ความคงตัวของกายภาพและเคมีภายใน 3 วัน ซึ่งทำให้เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงได้ทำการเติม EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ซึ่งสามารถจับกับแร่ธาตุประจุบวก

**ตารางที่ 4.1** ค่าความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์โดเซปิน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากสารสกัดถึงเข้าหิมะ เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	ชนิดของสารสำคัญ		
	ค่าเฉลี่ยพอลิแซ็กคาไรด์ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)	ค่าเฉลี่ยอะดีโนซีน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)	ค่าเฉลี่ยคอร์โดเซปิน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)
0	65.87 <sup>a</sup>	5.62 <sup>a</sup>	0.52 <sup>a</sup>
3	63.38 <sup>b</sup>	5.64 <sup>a</sup>	0.42 <sup>ab</sup>
6	62.82 <sup>b</sup>	5.43 <sup>a</sup>	0.38 <sup>bc</sup>
9	61.82 <sup>b</sup>	5.48 <sup>a</sup>	0.42 <sup>ab</sup>
12	62.45 <sup>b</sup>	5.66 <sup>a</sup>	0.41 <sup>abc</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสทมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

**ตารางที่ 4.2** ค่าความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์โดเซปิน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากสารสกัดถึงเข้าหิมะ เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	ชนิดของสารสำคัญ		
	ค่าเฉลี่ยพอลิแซ็กคาไรด์ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)	ค่าเฉลี่ยอะดีโนซีน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)	ค่าเฉลี่ยคอร์โดเซปิน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)
0	65.87 <sup>a</sup>	5.62 <sup>a</sup>	0.52 <sup>a</sup>
3	62.89 <sup>b</sup>	5.37 <sup>a</sup>	0.38 <sup>bc</sup>
6	62.88 <sup>b</sup>	5.25 <sup>a</sup>	0.30 <sup>bc</sup>
9	61.36 <sup>b</sup>	5.31 <sup>a</sup>	0.30 <sup>bc</sup>
12	61.50 <sup>b</sup>	5.23 <sup>a</sup>	0.29 <sup>c</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสทมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

**ตารางที่ 4.3** การเปรียบเทียบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์ไดเซปิน จากสารสกัดถึงเข้าหิมะที่อุณหภูมิที่ 4 กับ 30 องศาเซลเซียส ที่เวลา 12 สัปดาห์

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ชนิดของสารสำคัญ		
	ค่าเฉลี่ยพอลิแซ็กคาไรด์ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)	ค่าเฉลี่ยอะดีโนซีน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)	ค่าเฉลี่ยคอร์ไดเซปิน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)
4	62.45 <sup>a</sup>	5.66 <sup>a</sup>	0.41 <sup>a</sup>
30	61.50 <sup>a</sup>	5.23 <sup>a</sup>	0.29 <sup>b</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสทมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

(chelating agent) ที่จะไปจับโลหะหนักหรืออัลคาไลน์เอิร์ธ (alkaline earth) เกิดเป็นสารละลายเชิงซ้อนที่ละลายน้ำได้ โดยการกำจัดไอออนเหล่านี้ออกจากสารละลายเนื่องจากไอออนของโลหะหนักเหล่านี้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน และจากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของ EDTA ร้อยละ 0.01 มีความเหมาะสม จึงสรุปได้ว่าควรเติมสารอื่นเพื่อช่วยในการคงตัวของสารละลาย สำหรับปัจจัยเรื่องอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมื่อทำการเปรียบเทียบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่าการเก็บรักษาในอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาสารสำคัญให้มี

**ตารางที่ 4.4** ค่าร้อยละความคงตัวที่เหลือของสารสำคัญจากสารสกัดถึงเข้าหิมะ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบ ทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	ชนิดของสารสำคัญ		
	ค่าเฉลี่ยพอลิแซ็กคาไรด์ (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยคอร์ไดเซปิน (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยอะดีโนซีน (ร้อยละ)
0	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
3	96.73 <sup>b</sup>	89.76 <sup>a</sup>	100.34 <sup>a</sup>
6	95.37 <sup>b</sup>	72.10 <sup>a</sup>	96.50 <sup>a</sup>
9	93.86 <sup>b</sup>	80.29 <sup>a</sup>	97.42 <sup>a</sup>
12	94.81 <sup>b</sup>	77.95 <sup>a</sup>	100.66 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสทมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

**ตารางที่ 4.5** ค่าร้อยละความคงตัวที่เหลือของสารสำคัญจากสารสกัดถึงเข้าหิมะ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบ ทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	ชนิดของสารสำคัญ		
	ค่าเฉลี่ยพอลิแซ็กคาไรด์ (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยคอร์โคไดเซปิน (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยอะดีโนซีน (ร้อยละ)
0	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
3	95.62 <sup>b</sup>	72.19 <sup>b</sup>	95.43 <sup>a</sup>
6	95.47 <sup>b</sup>	57.09 <sup>c</sup>	93.33 <sup>a</sup>
9	93.15 <sup>b</sup>	57.18 <sup>c</sup>	94.41 <sup>a</sup>
12	93.35 <sup>b</sup>	55.25 <sup>c</sup>	93.05 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสทมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

ความคงตัวมากกว่าแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นคอร์โคไดเซปินที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยเรื่องความคงตัวของสารจากธรรมชาติในหลายรายงาน เช่น ความคงตัวของสารสีแคโรทีนอยด์ในมันเทศที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส จะคงตัวอยู่ได้นานถึง 120 วัน ซึ่งมากกว่าการเก็บที่ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งคงตัวได้เพียง 34 วัน (Cinar, 2005) และจากงานวิจัยของ (ศิริรัตน์, 2558) พบว่าอุณหภูมิในการเก็บรักษาสารสกัดมะขามป้อมโดยการแช่เย็นจะช่วยรักษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง และจากงานวิจัยของ (มยุรี และณัฐยา, 2555) ทำการศึกษาสาร สกัดมาตรฐานจากเปลือกลิ้นจี่ พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากนั้นทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งและอุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าการเก็บสารสกัดในรูปของแข็งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีความคงตัวทางกายภาพและเคมีดีที่สุด ส่วนเมื่อเก็บสารสกัดไว้ในรูปแบบสารละลายที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสมีความคงตัวต่ำที่สุด

#### 4.1.7 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของสูตรตำรับเข้มข้นพื้นฐาน

ทำการทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของสูตรตำรับเข้มข้นพื้นฐานสูตร 1 และสูตรตำรับพื้นฐานสูตร 2 ดังแสดงผลในตารางที่ 4.6 โดยพบว่าสูตรตำรับเข้มข้นพื้นฐานสูตร 1 และ 2 มีค่าพีเอช 6.01 และ 4.69 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วงที่กำหนดไว้คือ 3.5-7.5 ตามมาตรฐานอุตสาหกรรม (ภาคผนวก จ) ซึ่งมีค่าความหนืด 7547.06 และ 2946.25 เซนติพอยท์ ตามลำดับ จากนั้นทำการวัดสี

โดยใช้เครื่องวัดสีระบบ  $L^*a^*b^*$  โดยสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานสูตร 1 และ 2 มีค่า  $L^*100.43$   $a^*-1.75$   $b^*-8.15$  มีลักษณะสีขาวขุ่น และ  $L^*13.41$   $a^*-0.05$   $b^*-3.73$  มีลักษณะใส ตามลำดับ โดยค่า  $L^*$  มาก แสดงว่าเซรัมพื้นฐานสูตรที่ 1 มีลักษณะสีขาว (อรรถทิพย์ และคณะ, 2555) และพบว่าสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานสูตร 1 และ 2 ไม่มีการเกิด Creaming และไม่มีการเกิด Cracking

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบคุณสมบัติสูตรตำรับเซรัมพื้นฐาน

สูตรตำรับเซรัมพื้นฐาน	คุณสมบัติ						
	พีเอช	ค่าความหนืด	ลักษณะสี			การเกิด Creaming	การเกิด Cracking
			$L^*$	$a^*$	$b^*$		
1	6.01	7547.06 เซนติพอยท์	100.43	-1.75	-8.15	ไม่มีการเกิด	ไม่มีการเกิด
2	4.69	2946.25 เซนติพอยท์	13.41	-0.05	-3.73	ไม่มีการเกิด	ไม่มีการเกิด

\* การเกิด Creaming เป็นลักษณะที่วัตถุภายในแยกไปรวมตัวกันลอยอยู่ชั้นบน หรือนอนก้นภาชนะ ทำให้เห็นแยกเป็นชั้นครีมและชั้นอิมัลชันที่เจือจาง เกิดขึ้นไม่ถาวร เมื่อเขย่าสามารถทำให้ชั้นที่แยกผสมกันผสมกันได้ดังเดิม

\*\*การเกิด Cracking เป็นลักษณะที่หยดวัตถุภายในเกิดหลอมรวมเข้ากันเป็นหยดที่โตขึ้น จนแยกออกเป็นชั้นน้ำและน้ำมันอย่างชัดเจน ซึ่งเป็นความคงตัวที่เกิดขึ้นถาวร

จากนั้นทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสของสูตรตำรับพื้นฐาน โดยการทำแบบสอบถามแบบ Hedonic scale 5 ระดับ จากอาสาสมัครจำนวน 36 คน โดยให้คะแนน 1-5 คือ ไม่ชอบมากที่สุด ไม่ชอบเล็กน้อย เฉยๆ ชอบเล็กน้อย ชอบมากที่สุด ตามลำดับ ระหว่างสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานสูตร 1 (รหัสตัวอย่าง 46) และ 2 (รหัสตัวอย่าง 12) การวิเคราะห์สีและการชิมซาบเข้าสู่ผิวพบว่า อาสาสมัครมีความชอบสีของสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานสูตร 2 มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การวิเคราะห์กลิ่นพบว่า อาสาสมัครมีความชอบกลิ่นของสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานสูตร 1 มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การวิเคราะห์ความชุ่มชื้น เนื้อสัมผัส ความชอบโดยรวม พบว่าอาสาสมัครมีความชอบสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานสูตร 2 มากกว่าแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติดังตารางที่ 4.7 ซึ่งจากผลการทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นและผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของอาสาสมัคร จึงเลือกเซรัมพื้นฐานสูตร 2 เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยต่อไป

ตารางที่ 4.7 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของสูตรตำรับเซรัมพื้นฐาน โดยการทำแบบสอบถามแบบ Hedonic scale 5 ระดับของสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร

สูตรตำรับ เซรัมพื้นฐาน	ค่าเฉลี่ยคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัส					
	สี	กลิ่น	ความชุ่มชื้น	เนื้อสัมผัส	การซึมซาบ เข้าสู่ผิว	ความชอบ โดยรวม
1	3.42 <sup>b</sup>	3.53 <sup>a</sup>	4.08 <sup>a</sup>	3.89 <sup>a</sup>	3.53 <sup>b</sup>	3.78 <sup>a</sup>
2	4.34 <sup>a</sup>	3.11 <sup>b</sup>	4.12 <sup>a</sup>	4.17 <sup>a</sup>	4.22 <sup>a</sup>	4.02 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสทมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

#### ตารางที่ 4.8 ส่วนประกอบตำรับเซรัมสูตรที่ได้รับการคัดเลือก

ส่วนประกอบ	อัตราส่วน (ร้อยละ)	หน้าที่
น้ำ	93.85	ตัวทำละลาย (solvent)
<i>Isaria tenuipes</i> extracts	2	สารสำคัญและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
Sorbitol	2	สารให้ความชุ่มชื้น
Propylene glycol (PG)	2	กักเก็บความชุ่มชื้นและซึมผ่านสู่ชั้นผิวหนังได้ดี
Phenostat	1	สารกันเสียที่ปลอดภัยและเป็นสารกันเสียที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ครอบคลุม
Pro Polymer	0.8	สารที่ช่วยในการสร้างเนื้อเจล
Glycerin	0.5	สารกักเก็บและดูดความชื้นสู่ผิว ช่วยในการทำละลายและช่วยทำให้ผิวนุ่มลื่น
CremophorRH40	0.2	สารลดแรงตึงผิว ช่วยเพิ่มการละลายให้กับสารที่ไม่ละลายน้ำ หรือละลายน้ำได้น้อย
DisodiumEDTA	0.06	สารจับประจุในน้ำ(Chelating agent) ป้องกันไม่ให้ประจุในน้ำ(ในกรณีที่ไม่ใช่ น้ำกลั่น) มารบกวนส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์บางตัวที่มีความอ่อนไหวต่อประจุ รวมถึงช่วยให้สูตรมีความคงตัว สามารถเก็บได้ยาวนานขึ้น
Parfum	0.05	สารแต่งกลิ่น

#### 4.1.8 การหาสถานะที่เหมาะสมของปริมาณสารสกัดงาช้างหิมะในเซรัม

ทำการศึกษาสถานะที่เหมาะสมของปริมาณสารสกัดงาช้างหิมะในเซรัม โดยใส่สารสกัดงาช้างหิมะลงในเซรัมร้อยละ 1.8, 1.9 และ 2 จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณพอลิ

แซ็กคาไรด์โดยวิธีแอนโทรน พบว่ามีค่าเท่ากับ 30.71, 32.77 และ 35.89 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำการวิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนโดยใช้เครื่อง HPLC พบว่ามีค่าเท่ากับ 1.14, 1.19 และ 1.25 กรัม/น้ำหนักแห้งตามลำดับ ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำการวิเคราะห์ปริมาณคอร์โดเซปินโดยใช้เครื่อง HPLC พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.113, 0.118 และ 0.123 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ซึ่งพบว่าปริมาณคอร์โดเซปินร้อยละ 1.8 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับร้อยละ 1.9 และปริมาณคอร์โดเซปินร้อยละ 1.9 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับร้อยละ 2.0 แต่ปริมาณคอร์โดเซปินร้อยละ 1.8 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับร้อยละ 2.0 ดังนั้นจึงทำการเลือกใส่สารสกัดร้อยละ 2.0 ลงในเซรุ่มถึงเข้าหิมะ จากนั้นเตรียมเซรุ่มจากสูตรที่ได้รับการคัดเลือกและทำการศึกษาวิจัยต่อไป ดังตารางที่ 4.8

#### 4.1.9 การศึกษาความคงตัวของสารสำคัญจากเซรุ่มที่มีสารสกัดถึงเข้าหิมะ

ทำการศึกษาความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรุ่มที่มีสารสกัดถึงเข้าหิมะ โดยการนำเซรุ่มมาผสมน้ำบริสุทธิ์ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธีแอนโทรน พบว่าจากสัปดาห์ที่ 0 เมื่อถึง 12 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เกิดการลดลงของปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์จาก 35.89 เป็น 27.87 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าจาก

**ตารางที่ 4.9** ค่าความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์โดเซปินจากเซรุ่มที่มีสารสกัดถึงเข้าหิมะ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	ชนิดของสารสำคัญ		
	ค่าเฉลี่ยพอลิแซ็กคาไรด์ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)	ค่าเฉลี่ยอะดีโนซีน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)	ค่าเฉลี่ยคอร์โดเซปิน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)
0	35.89 <sup>a</sup>	1.25 <sup>a</sup>	0.12 <sup>a</sup>
3	35.48 <sup>a</sup>	1.11 <sup>ab</sup>	0.09 <sup>b</sup>
6	34.09 <sup>a</sup>	0.99 <sup>ab</sup>	0.08 <sup>bc</sup>
9	32.21 <sup>ab</sup>	0.93 <sup>b</sup>	0.07 <sup>cd</sup>
12	27.87 <sup>bc</sup>	0.88 <sup>b</sup>	0.07 <sup>cd</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสทมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

**ตารางที่ 4.10** ค่าความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์โดเซปินจากเซรุ่มที่มีสารสกัดถึงเข้าหิมะ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	ชนิดของสารสำคัญ		
	ค่าเฉลี่ยพอลิแซ็กคาไรด์ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)	ค่าเฉลี่ยอะดีโนซีน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)	ค่าเฉลี่ยคอร์โดเซปิน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)
0	35.89 <sup>a</sup>	1.25 <sup>a</sup>	0.12 <sup>a</sup>
3	35.44 <sup>a</sup>	1.10 <sup>ab</sup>	0.09 <sup>b</sup>
6	33.49 <sup>a</sup>	1.00 <sup>ab</sup>	0.07 <sup>c</sup>
9	28.20 <sup>bc</sup>	0.83 <sup>b</sup>	0.04 <sup>d</sup>
12	24.91 <sup>c</sup>	0.88 <sup>b</sup>	0.05 <sup>d</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสทมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

สัปดาห์ที่ 0 เมื่อถึง 9 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เกิดการลดลงของปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์จาก 35.89 เป็น 28.20 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำการศึกษาความคงตัวของอะดีโนซีนจากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้างหิมะ โดยการนำเซรัมมาผสมน้ำบริสุทธิ์ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนโดยเครื่อง HPLC พบว่าจากสัปดาห์ที่ 0 เมื่อถึง 9 ที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส เกิดการลดลงของปริมาณอะดีโนซีนจาก 1.25 เป็น 0.93 และจาก 1.25 เป็น 0.83 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำการศึกษาความคงตัวของคอร์โดเซปินจากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้างหิมะ โดยการนำเซรัมมาผสมน้ำบริสุทธิ์ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณคอร์โดเซปินโดยเครื่อง HPLC พบว่าจากสัปดาห์ที่ 0 เมื่อถึง 3 ที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส เกิดการลดลงของปริมาณคอร์โดเซปินจาก 0.12 เป็น 0.09 และจาก 0.12 เป็น 0.09 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติดังตารางที่ 4.9 และ 4.10 และเมื่อเปรียบเทียบสัปดาห์ที่ 12 ระหว่างอุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่ามีปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์ที่อุณหภูมิ 4 มากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากนั้นพบว่ามีปริมาณของอะดีโนซีนที่อุณหภูมิ 30 มากกว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่ามีปริมาณของคอร์โดเซปินที่อุณหภูมิ 4 มากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสโดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 4.11 จากการศึกษาความคงตัวของเซรัมงาช้างหิมะสามารถวิเคราะห์ความคงตัวเป็นค่าร้อยละดังตารางที่ 4.12 และ 4.13 พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ คอร์โดเซปิน และอะดีโนซีนในเซรัมงาช้างหิมะมีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารสำคัญของสารสกัดเนื่องจากต้องผ่านขั้นตอนการผลิตที่มีการผสมกับสารประกอบ ต่าง ๆ และมีกระบวนการผลิตหลายขั้นตอน ตลอดจนสารประกอบต่าง ๆ ซึ่งอาจจะทำให้สารสำคัญในเซรัมงาช้างหิมะนั้นมีการสลายตัวไปได้

บางส่วน (สุวรรณ และชำนาญ, 2548) ที่สัปดาห์ที่ 12 ทั้งอุณหภูมิที่ 4 และ 30 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารมากกว่าร้อยละ 10 สำหรับปัจจัยเรื่องอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมื่อทำการเปรียบเทียบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียสพบว่า การเก็บรักษาในอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บ

**ตารางที่ 4.11** การเปรียบเทียบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ อะดีโนซีน และคอร์โดเซปิน จากเซรัมที่มีสารสกัดงั้วเช่าหิมะที่อุณหภูมิที่ 4 กับ 30 องศาเซลเซียสที่เวลา 12 สัปดาห์

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ชนิดของสารสำคัญ		
	ค่าเฉลี่ยพอลิแซ็กคาไรด์ (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)	ค่าเฉลี่ยอะดีโนซีน (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)	ค่าเฉลี่ยคอร์โดเซปิน (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)
4	27.87 <sup>a</sup>	0.875 <sup>a</sup>	0.07 <sup>a</sup>
30	24.91 <sup>a</sup>	0.876 <sup>a</sup>	0.05 <sup>b</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสดมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

**ตารางที่ 4.12** ค่าร้อยละความคงตัวของสารสำคัญจากเซรัมงั้วเช่าหิมะ เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	ชนิดของสารสำคัญ		
	ค่าเฉลี่ยพอลิแซ็กคาไรด์ (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยคอร์โดเซปิน (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยอะดีโนซีน (ร้อยละ)
0	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
3	98.84 <sup>a</sup>	75.44 <sup>ab</sup>	88.58 <sup>b</sup>
6	94.99 <sup>ab</sup>	64.66 <sup>ab</sup>	79.27 <sup>bc</sup>
9	89.75 <sup>b</sup>	53.03 <sup>ab</sup>	73.82 <sup>c</sup>
12	77.64 <sup>c</sup>	54.64 <sup>b</sup>	69.82 <sup>c</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสดมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

**ตารางที่ 4.13** ค่าร้อยละความคงตัวของสารสำคัญจากเซรัมถั่งเช่าหิมะ เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	ชนิดของสารสำคัญ		
	ค่าเฉลี่ยพอลิแซ็กคาไรด์ (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยคอร์ไดเซปิน (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยอะดีโนซีน (ร้อยละ)
0	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
3	98.74 <sup>a</sup>	75.02 <sup>ab</sup>	87.69 <sup>b</sup>
6	93.30 <sup>ab</sup>	55.09 <sup>bc</sup>	79.94 <sup>c</sup>
9	78.58 <sup>bc</sup>	35.10 <sup>cd</sup>	65.91 <sup>d</sup>
12	69.41 <sup>c</sup>	40.87 <sup>d</sup>	69.94 <sup>d</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสทมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

รักษาสารให้มีความคงตัวมากกว่าแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (ศิริรัตน์, 2558) พบว่าอุณหภูมิและเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่มีมะขามป้อมเป็นส่วนผสม การเก็บรักษาโดยการแช่เย็นจะช่วยรักษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง โดยเวลาในการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระลดลงน้อยกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง และงานวิจัยของ พจวรรณ, 2551 ได้ทำการศึกษาดำรับโลชั่นที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากกากชา พบว่าความคงตัวทางกายภาพและเคมีดีเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบกับ การเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 สัปดาห์ จะทำให้สารสำคัญทั้ง 3 ชนิดลดลงมากกว่าร้อยละ 10 จะเห็นได้ว่าดำรับโลชั่นที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากกากชาจะเสื่อมสลายได้ง่ายในที่มีอุณหภูมิสูง

#### 4.1.10 ผลการศึกษาความคงตัวทางกายภาพจากเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ

ทำการศึกษาความคงตัวทางกายภาพของเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะ โดยทำการเก็บรักษาเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะไว้ที่อุณหภูมิ 4 (อุณหภูมิควบคุม) อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าก่อนการเก็บรักษามีค่าพีเอช คือ 5.91 มีค่าการวัดสีด้วยระบบ  $L^*a^*b^*$  คือ  $L^*3.52$   $a^*1.32$   $b^*3.76$  ค่าความหนืด 2946.25 เซนติพอยส์ ไม่มีการเกิด Creaming และไม่มีการเกิด Cracking จากนั้นทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากนั้นนำเซรัมที่มีสารสกัดถั่งเช่าหิมะทำการวัดพีเอช ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คือ 5.99 ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) คือ 5.79 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส คือ 5.57 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากนั้นทำการวัดค่าความหนืด พบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คือ 2970.20 เซนติพอยส์ ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) คือ 2933.75 เซนติพอยส์ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส คือ 2813.98 เซนติพอยส์ โดยที่อุณหภูมิ 4 (อุณหภูมิควบคุม) และอุณหภูมิห้องไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสแตกต่างกับอุณหภูมิอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และทำการวัดสี พบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีค่า  $L^*a^*b^*$  คือ  $L^*3.80$   $a^*1.34$   $b^*3.53$  ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) มีค่า  $L^*a^*b^*$  คือ  $L^*3.68$   $a^*1.36$   $b^*3.41$  ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสมีค่า  $L^*a^*b^*$  คือ  $L^*3.45$   $a^*1.45$   $b^*3.39$  โดยค่า  $L^*$  ที่อุณหภูมิ 4 และอุณหภูมิห้องไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสแตกต่างกับอุณหภูมิอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่า  $a^*$ ,  $b^*$  ที่อุณหภูมิ 4 (อุณหภูมิควบคุม) อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งค่า  $b$  เป็นบวกแสดงว่าตัวอย่างมีสีเหลือง (อรุณทิพย์ และคณะ, 2555) โดยค่า  $b$  จากอุณหภูมิ 4 (อุณหภูมิควบคุม) อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จะลดลงตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ผลพีเอช ความหนืดและสีเป็นค่าร้อยละดังตารางที่ 4.14 เพื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิควบคุม พบว่าทั้งอุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส ความแตกต่างจากอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่เกินร้อยละ 10 จึงมีความคงตัวทางกายภาพ (มาตรฐานอุตสาหกรรม ภาคผนวก จ) โดยอุณหภูมิมีผลต่อความคงสภาพทางกายภาพ ซึ่งอาจจะเปลี่ยนรูปพื้นฐานเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ดังนั้นการเก็บรักษาให้มีความคงสภาพได้นาน จึงควรเก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิเหมาะสม หลีกเลี่ยงความชื้น ออกซิเจน และแสง หรือเก็บไว้ในภาชนะบรรจุที่เหมาะสม (ซุตา, 2559) และอุณหภูมิที่ทำการเก็บรักษามีผลต่อค่าพีเอช เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นค่าพีเอชจะลดลง (Claire Gillespie, 2018) เนื่องจากอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้น้ำซึ่ง

**ตารางที่ 4.14** ค่าร้อยละความคงตัวทางกายภาพที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกันจากเซรัมถึงเซราหิมะ เมื่อทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

อุณหภูมิการเก็บรักษา (องศาเซลเซียส)	การทดสอบทางกายภาพ				
	ค่าเฉลี่ยพีเอช (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยความ หนืด (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยสี (ร้อยละ)		
			$L^*$	$a^*$	$b^*$
4	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
อุณหภูมิห้อง	96.66 <sup>b</sup>	98.77 <sup>a</sup>	96.84 <sup>b</sup>	101.24 <sup>a</sup>	96.42 <sup>b</sup>
45	92.99 <sup>c</sup>	94.74 <sup>b</sup>	90.71 <sup>c</sup>	108.19 <sup>a</sup>	96.04 <sup>b</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสทมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

เป็นส่วนประกอบหลักในเซรั่มมีความสามารถในการแตกตัวมากขึ้น ดังนั้นความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน ( $H^+$ ) ในสารละลายจึงเพิ่มขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้พีเอชในสารละลายลดลง (Sinensky, 2013) และอุณหภูมิจะมีผลต่อความหนืด โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจะมีการแลกเปลี่ยนโมเลกุลเพิ่มขึ้น เนื่องจากโมเลกุลเคลื่อนที่เร็วขึ้นในอุณหภูมิที่สูงขึ้นในของเหลวจะมีแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของของเหลว ผลของการเพิ่มอุณหภูมิของของเหลว คือ การลดแรงยึดเกาะในขณะที่เพิ่มอัตราการแลกเปลี่ยนโมเลกุล ทำให้ของเหลวแสดงความหนืดลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น Fungilab, 2013 เมื่อทิ้งให้เย็นความหนืดจะเพิ่มกลับมาแต่ไม่เท่าเดิม ซึ่งความร้อนสูงไม่เกิน 70 องศาเซลเซียส จะไม่มีผลทำลายโครงสร้างอย่างถาวร (สุนันท์ และคณะ., 2549) ส่วนค่าสีที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากส่วนประกอบที่ทำให้เกิดสีในเซรั่มเป็นสารสกัดถึงเข้าหิมะที่เป็นสารจากธรรมชาติ เมื่ออุณหภูมิที่สูงขึ้นจึงเกิดการเปลี่ยนแปลงมากกว่า (ณิชากร และคณะ., 2548) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cinar, 2005 ที่ทำการศึกษาคงตัวของสารสีในมันเทศโดยพบว่าการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส จะคงตัวอยู่ได้นานถึง 120 วัน ซึ่งมากกว่าการเก็บที่ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งคงตัวได้เพียง 34 วัน และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Manolopoulou and Varzakas, 2016 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการลดสีของผักสีเขียวและปริมาณคลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสี ผักที่ศึกษาได้แก่ ผักกาดหอมและบร็อคโคลี่ ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าเมื่ออุณหภูมิการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น อัตราการย่อยสลายคลอโรฟิลล์และการย่อยสลายสีจะเพิ่มขึ้นด้วย และงานวิจัยของ ยูพาพร, 2547 พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ซึ่งเป็นสารสี โดยในสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำ ( $4 \pm 3$  องศาเซลเซียส) ความคงตัวของแอนโทไซยานินส์จะสูงกว่าสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง ( $30 \pm 3$  องศาเซลเซียส)

#### 4.1.11 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในเซรั่มที่มีสารสกัดถึงเข้าหิมะ

ทำการวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรีย, รา, ยีส ซึ่งพบว่ามีน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม และวิเคราะห์ไม่พบ *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Clostridium*. spp ซึ่งเป็นจำนวนที่ไม่เกินตามมาตรฐานอุตสาหกรรม (ภาคผนวก จ)

#### 4.1.12 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยการทำแบบสอบถามตามภาคผนวก ฉ แบบ Hedonic scale 5 โดยให้คะแนน 1-5 คือ ไม่ชอบมากที่สุด ไม่ชอบเล็กน้อย เฉยๆ ชอบเล็กน้อย ชอบมากที่สุด ตามลำดับ คน โดยทำการเปรียบเทียบเซรั่มถึงเข้าหิมะ (รหัสตัวอย่าง 812) กับเซรั่มที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า (รหัสตัวอย่าง 046) โดยคุณลักษณะที่ใช้ประเมิน คือ สี กลิ่น ความหนืด เนื้อสัมผัส การชิมซาบเข้าสู่ผิว ความชุ่มชื้น และความชอบโดยรวม เป็นต้น จากอาสาสมัครจำนวน 100 พบว่าอาสาสมัครมีความชอบสีและกลิ่นของผลิตภัณฑ์ทางการค้ามากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และอาสาสมัครมีความชอบความหนืด เนื้อสัมผัส การชิมซาบเข้าสู่ผิว ความชุ่มชื้น และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์เซรั่มถึงเข้าหิมะมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 4.15

**ตารางที่ 4.15** ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเซรุ่มถั่งเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรุ่มที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า

สูตรตำรับ	ค่าเฉลี่ยคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัส					
	สี	กลิ่น	ความชุ่มชื้น	เนื้อสัมผัส	การซึมซาบเข้าสู่ผิว	ความชอบโดยรวม
เซรุ่มถั่งเช่าหิมะ	3.52 <sup>b</sup>	3.02 <sup>b</sup>	4.02 <sup>a</sup>	3.93 <sup>a</sup>	4.10 <sup>a</sup>	4.06 <sup>a</sup>
เซรุ่มที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า	4.16 <sup>a</sup>	4.24 <sup>a</sup>	3.49 <sup>b</sup>	3.25 <sup>b</sup>	3.25 <sup>b</sup>	3.65 <sup>b</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสทมภ์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P>0.05$ )

## บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการวัดอัตราการเจริญของเส้นใยในอาหารเหลวของหัวเชื้อพบว่าชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณเส้นใยแห้งสูงสุดคือ 18.20 กรัมต่อลิตร และนำหัวเชื้อมาเพาะเลี้ยงในขวดโหล จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกถั่งเช่าหิมะพบว่า มีสีเหลือง ก้านเรียวยาว มีรูปร่างกึ่งก้านสาขาไม่เป็นระเบียบและมีสปอร์สีขาวอยู่ด้านบน จากนั้นทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศพบว่ามีน้ำหนักแห้งของดอกถั่งเช่าหิมะ 1.63 กรัมต่อขวด

ทำการสกัดสารจากดอกของถั่งเช่าหิมะแห้ง โดยคอร์โดเซปิน อะดีโนซีน และพอลิแซ็กคาไรด์ มีค่าคือ 1.06, 9.61 และ 29.32 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ สารต้านอนุมูลอิสระวัดโดยวิธี DPPH และวิธี ABTS พบว่ามีค่า IC 50 คือ 0.66 และ 0.35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และพบว่าการใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอช 6 มีความเหมาะสมในการสกัดเอนไซม์ SOD โดยมีปริมาณเอนไซม์ SOD มีค่าเท่ากับ 9.17 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

นำสารสกัดถั่งเช่าหิมะมาทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ พบว่าคอร์โดเซปิน อะดีโนซีน และพอลิแซ็กคาไรด์มีค่าเท่ากับ 0.32, 5.62 และ 65.78 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากถั่งเช่าหิมะทำการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่า IC 50 มีค่าเท่ากับ 0.27 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และทำการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ SOD พบว่าไม่มีปริมาณเอนไซม์ SOD

จากการศึกษาความคงตัวของสารสำคัญจากสารสกัดถั่งเช่าหิมะ พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ และอะดีโนซีนที่ทำการเก็บรักษาในรูปของสารละลายที่สัปดาห์ที่ 12 ทั้งอุณหภูมิที่ 4 และ 30 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารไม่ถึงร้อยละ 10 แต่คอร์โดเซปินทำการเก็บรักษาในรูปของสารละลายที่สัปดาห์ที่ 12 ทั้งอุณหภูมิที่ 4 และ 30 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารมากกว่าร้อยละ 10

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของสารสกัดถั่งเช่าหิมะในเซรัม โดยใส่สารสกัดถั่งเช่าหิมะลงในเซรัมร้อยละ 1.8, 1.9 และ 2 จากนั้นทำการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์ พบว่ามีค่าเท่ากับ 30.71, 32.77 และ 35.89 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำการวิเคราะห์อะดีโนซีน พบว่ามีค่าเท่ากับ 1.14, 1.19 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำการวิเคราะห์คอร์โดเซปิน พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.113, 0.118 และ 0.123 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ซึ่งพบว่าปริมาณคอร์โดเซปินร้อยละ 1.8 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับร้อยละ 1.9 และร้อยละ 1.9 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับร้อยละ

2.0 แต่ปริมาณคอร์โดเซปินร้อยละ 1.8 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับร้อยละ 2.0 ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดร้อยละ 2.0 ใส่ลงในเซรัมถึงเข้าหิมะและทำการศึกษาวิจัยต่อไป

จากนั้นทำการศึกษาคงตัวของเซรัมถึงเข้าหิมะสามารถวิเคราะห์ความคงตัวเป็นค่าร้อยละ พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ คอร์โดเซปิน และอะดีโนซีนในเซรัมถึงเข้าหิมะมีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารสำคัญของสารสกัดที่สัปดาห์ที่ 12 ทั้งอุณหภูมิที่ 4 และ 30 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารทั้งหมดมากกว่าร้อยละ 10 สำหรับปัจจัยเรื่องอุณหภูมิในการเก็บรักษาเมื่อทำการเปรียบเทียบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่าการเก็บรักษาในอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาสารสำคัญให้มีความคงตัวมากกว่าแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นพอลิแซ็กคาไรด์

จากการศึกษาคงตัวทางกายภาพจากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเข้าหิมะ โดยทำการเก็บรักษาเซรัมที่มีสารสกัดถึงเข้าหิมะไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากนั้นทำการการวัดพีเอช ความหนืด และทำการวัดสีที่อุณหภูมิห้อง และ 45 พบว่าความแตกต่างจากอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสไม่เกินร้อยละ 10 ดังนั้นเซรัมที่มีสารสกัดถึงเข้าหิมะจึงมีความคงตัวทางกายภาพ ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรม

ทำการวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรีย รา ยีส ซึ่งพบว่าไม่น้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม และไม่พบ *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Clostridium spp* ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรม

จากนั้นทำการประเมินความระคายเคืองของผิวหนังและการยอมรับของผู้บริโภค โดยการทำแบบสอบถามการยอมรับของผู้บริโภคของผลิตภัณฑ์ โดยทำการเปรียบเทียบเซรัมถึงเข้าหิมะกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า พบว่าอาสาสมัครมีความชอบสีและกลิ่นของเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้ามากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การวิเคราะห์ความหนืด เนื้อสัมผัส การซึมซาบ เข้าสู่ผิว ความชุ่มชื้น และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ พบว่าอาสาสมัครมีความชอบเซรัมถึงเข้าหิมะมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารอื่น ๆ เช่น วิธีการสกัด ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด กระบวนการทำให้สารสกัดเข้มข้นขึ้น เพื่อให้ได้รับสารสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด

5.2.2 ในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางอาจเพิ่มความน่าสนใจ โดยนำเทคโนโลยีใหม่ ๆ ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางมาประยุกต์ใช้ เช่น การทำเซรัมปิด และทำการปรับปรุงและพัฒนาเรื่องสีและกลิ่นของผลิตภัณฑ์ของเครื่องสำอาง

5.2.3 ควรนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทำการทดสอบ Franz Diffusion Cell ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบการซึมผ่านหรือการปลดปล่อยของสารสำคัญทางยาและเครื่องสำอาง เพื่อดูปริมาณการดูดซึมของยาสู่ผิวหนัง

5.2.4 ควรศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มเติม เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านการแพ้ ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์และสัตว์ทดลอง เพื่อเป็นแนวทางการศึกษาวิจัยทางคลินิกต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

- ชัยวัฒน์ วามวรรธน์. 2555. ปฏิบัติการชีวเคมี I (บัพเฟอร์). นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
กำแพงแสน.
- ชูดา จิตตสุโก. 2559. ความคงสภาพของยาและเภสัชภัณฑ์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: บริษัท ทริลเพ็ล  
กรุ๊ป จำกัด.
- ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2534. โครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง. เครื่องมือวิทยาศาสตร์. ครั้งที่พิมพ์ 1  
ขอนแก่น: โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.
- ณัฐพงษ์ สิงห์ภูงา, พิระศักดิ์ ฉายประสาท, และ บุญส่ง แสงอ่อน. 2559. ผลของสูตรอาหารเทียมต่อ  
การเกิดดอกและการผลิตสารสำคัญทางยาของเห็ดถั่งเช่าสีทอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลา  
นครินทร์. 3: 34-46.
- ณิชากร เจริญกุล, อุดมลักษณ์ สุขอิตตะ, ประภัสสร รักถาวร, สิริพร ศิริวรรณ และอุไรวรรณ ดิลก  
คุณานันท์. 2548. การพัฒนาเจลทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของสารสกัดพลู (*Piper  
betle* Linn.) การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 43: 363-370.
- ดวงทิพย์ ปานรักษา. 2556. ประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันโดยเทคนิค DPPH ของเซรัมที่มี  
ส่วนผสมของสารสกัดชาขาว. ปริญญาวิทยาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- ธัญญา ทะพิงค์แก. 2555. ผลของวิธีการเพาะเลี้ยงต่อการผลิตสารคอร์ไดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง.  
เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.
- นภักดิ์ ใจภักดี, กมลวรรณ ตระการชัยวงศ และเอกพล ลี้มพงษา. 2558. การประเมินความคงตัวของ  
กายภาพ ประสิทธิภาพ และความพึงพอใจของครีมต้านเซลล์โลทที่มีส่วนผสมของสาร  
ธรรมชาติ. วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน. 11(2): 55-70.
- บังอร วงศ์รักษ์ และศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน. ปริญญา  
เภสัชศาสตรบัณฑิต, มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์, ชุตินา จิตตราสาทศิลป์ และธนิชชัย คำแดง. 2558. คู่มือการตรวจวินิจฉัยเชื้อ  
*Clostridium botulinum* ในห้องปฏิบัติการ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กซ์ แอนด์  
เจอร์นัล พับลิคชั่น จำกัด.
- พจวรรณ ลาวัณย์ประเสริฐ. 2551. การพัฒนาผลิตภัณฑ์สำหรับผิวพรรณของสารสกัดจากกากชา.  
กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- พิมพ์พร ลีลาพรพิสิฐ. 2536. อิมัลชันทางเครื่องสำอาง. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่: โครงการตำรา งาน  
ส่งเสริมการวิจัยและตำรากองบริการการศึกษา สำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- พิมพ์พร ลีลาพรพิสิฐ. 2547. เครื่องสำอางธรรมชาติ ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหน้า. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ:  
สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- พีรตนย์ พักตร์เพียงจันทร์ และ ฐานปณีย์ ชูสุวรรณ. 2561. การแปรรูปถั่งเช่า และการพัฒนาสินค้า

- ต้นแบบผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ. ปทุมธานี: บริษัท ซีดีไอที จำกัด.
- ไพโรจน์ วิริยจาโร. 2545. การประเมินทางประสาทสัมผัส (Sensory Evaluation). พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่: คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- มยุรี กัลยาวัฒนกุล และณัฐยา เหล่าฤทธิ. 2555. การเตรียมสารสกัดมาตรฐานเปลือกลิ้นจี่เพื่อเป็นสารสำคัญในเครื่องสำอางลดริ้วรอย. เชียงราย: เงินอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- ยุพาพร ผลาจรศักดิ์. 2547. การสกัดและความคงตัวของแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- วนาพร แซ่อึ้ง. 2559. การสกัดและการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวไร้เพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ศรัญญา มณีทอง. 2559. การสกัดและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร 4 ชนิดด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอส. บุรีรัมย์: โครงการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.
- ศันสนีย์ ภูประกิจ, มาริสา จาตุพรพิพัฒน์, ณัฐวดี รุ่งจินดามัย และอารี ฤทธิบุรณ์. 2560. สภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับกระบวนการเพาะเลี้ยงถังเช่าหิมะโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง. วิจัยและนวัตกรรมขับเคลื่อนเศรษฐกิจและสังคม. 13: 411-420.
- ศันสนีย์ ภูประกิจ. 2561. สภาวะที่เหมาะสมของหัวเชื้อเริ่มต้นและการเพาะเลี้ยงถังเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*) เพื่อการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ศิริรัตน์ พันธุ์เรือง. 2558. ศึกษาวิธีการสกัดและทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดมะขามป้อม. พิษณุโลก: โครงการทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.
- ศิวาพร ศิวาเวช. 2542. การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สมศักดิ์ วรคามิน. 2550. ผิวสวย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์สามเจริญพาณิชย์.
- สุนันท์ พงษ์สามารถ, พนิดา วัยมหัสวรรณ และ นฤพร สุตตันทวีบูลย์. 2549. ผลิตภัณฑ์เจลและแผ่นแปะแผลของสารสกัดพอลิแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน. กรุงเทพฯ: เงินอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุนิรัตน์ เรืองสมบุรณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ และดุสิต เอื้ออำนวย. 2556. ผลของระยะเวลา แสง และอุณหภูมิในการเก็บรักษาสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย, *Phormidium angustissimum* ต่อความสามารถในการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดเขียววางตุ้ง. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 41(4): 973-984.
- สุภาพ เหมือนแก้ว. 2548. การศึกษาชนิดและปริมาณของแบคทีเรียและเชื้อราก่อโรคที่สำคัญจาก

- ตัวอย่างน้ำขยะในเขตกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี และอยุธยา. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุวรรณมา เหลืองชลธาร และชำนาญ ภัครพานิช. 2548. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารสำคัญในการออกฤทธิ์ของสมุนไพรบัวบก ในเภสัชผลิตภัณฑ์และเครื่องสำอาง. กรุงเทพฯ: โครงการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอางที่มีมาตรฐานจากสมุนไพรบัวบกสู่การผลิตระดับอุตสาหกรรม.
- เสาวนีย์ กระสานตีสุข และหทัยชนก รุณรงค์. 2549. การพัฒนาตำรับโลชั่นบำรุงผิว. ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต, มหาวิทยาลัยมหิดล.
- อรรรรณ กริ่งเกษมศรี. 2555. ปริมาณสารโพลีฟีนอลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกและเมล็ดของผลไม้ไทย. วิทยานิพนธ์สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- อรุณทิพย์ เหมะจุลิน, สกุลกานต์ สิมลา สรุศักดิ์ บุญแต่ง และ สุดาทิพย์ อินทร์ชื่น. 2555. ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี ( $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$ ) กับปริมาณแอนโทไซยานินในเชื้อพันธุกรรมข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง. แก่นเกษตร. 40(4): 59-64.
- อารี ฤทธิบุรณ์. 2559. ปฏิบัติการเทคโนโลยีของเอนไซม์. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- 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.
- Ali, S. Ren, S. Huang, Z. and Wu, J. 2010. Purification of enzymes related to host penetration and pathogenesis from entomopathogenic fungi. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. 2: 15-22.
- Bensch, K. 2018. Mycobank Database Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks. [Online]...Available: <http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?TableKey=14682616000000063&Rec=21886&Fields=All>. 22 November 2018.
- Beyer, F.W. and Fridovich, I. 1987. Assaying for Superoxide Dismutase Activity: Some Large Consequences of Minor Changes in Conditions. Analytical Biochemistry. 161: 559-566.
- Bunyapaiboonsri, T. Yoiprommarat, S. Srisanoh, U. Choowong, W. Tasanathai, K. Hywel-Jones, N. Luangsa-ard, J. and Isaka, M. 2011. Isariotins G–J from cultures of the Lepidoptera pathogenic fungus *Isaria tenuipes*. Phytochemistry Letters. 4: 283–286.

- Chang, Q. Zuo, Z. Chow, M.S.S. and Ho, W.K.K. 2005. Effect of storage temperature on phenolics stability in hawthorn (*Crataegus pinnatifida* var. *major*) fruits and a hawthorn drink. *Food Chemistry* 38: 91-98.
- Chen, G. 1995. Effects of Jinshuibao capsule on quality of life of patients with chronic heart failure. *Journal of Traditional Chinese Medicine*. 5: 40-43
- Chen, S. Li, Z. Krochmal, R. Abrazado, M. Kim, W. and Cooper, C.B. 2010. Effect of Cs-4 (*Cordyceps sinensis*) on exercise performance in healthy older subjects: A double-blind, Placebo-Controlled Trial. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 16(5): 585-590.
- Chena, X. J. Zhangc, Y. Hec, J. Guoc, Z. Tianb, G. and Jin, L. 2008. Studies of Macrophage immuno-modulating activity of polysaccharides isolated from *Paecilomyces tenuipes*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 43: 252-256.
- Choi, S. Lin, M.H. Kim, K.M. Jeon, B.H. Song, W.O. and Kim, T.W. 2011. Cordycepin-induced apoptosis and autophagy in breast cancer cells are independent of the estrogen receptor. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 257(2): 165-173.
- Choi, J.S. Heo, J.H. Kim, D.J. Namkung, S.M. Lee, T.B. Lee, M.W. Kim, S.W. 2017. Anti-cancer Effect of Hot Water Extract from Mycelium in Germanium-enriched *Cordyceps militaris*. *The Korean Journal of Clinical Laboratory Science*. 49(2): 69-78.
- Cinar, I. 2004. Carotenoid pigment loss of freeze-dried plant samples under different storage condition. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie-Food Science and Technology*. 37: 363-367.
- Cinar, I. 2005. Stability studies on the enzyme extracted sweet potato carotenoproteins. *Food Chemistry* 89: 397-401.
- Claire Gillespie. 2018. The Effects of Temperature on the pH of Water. [Online]. Available: <https://sciencing.com/effects-temperature-ph-water-6837207.html>. 8 April 2020.
- 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 Journal of Science*. 166(4231): 949.
- Dreywood, R. 1946. Qualitative Test for Carbohydrate Material. *Industrial and Engineering Chemistry, Analytical Edition*. 18(8): 499-499.

- Du, L. Song, J. Wang, H. Li, P. Yang, Z. Meng, L. Meng, F. Lu, J. and Teng, L. 2012. Optimization of the fermentation medium for *Paecilomyces tenuipes* N45 using statistical approach. *Microbiology Research*. 6(32): 6130-6141.
- Earl, M. 2010. Vitamin Bible. แปลโดย ชิตากานต์ รัตนบรรณางกูร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ อมรินทร์สุขภาพ.
- Fungilab.2013. How does Temperature Change Viscosity in Liquids and Gases ?. [online] Available:<https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=10036>.
- Gaurab, K. 2018. tests for carbohydrates. [Online]. Available: <https://www.onlinebiology.com/anthrone-test-objective-principle-reagents-procedure-and-result/>. 2 July 2019.
- Gu, Y.X. Wang, Z.S. and Li, S.X. 2007. Effect of multiple factors on accumulation of nucleosides and bases in *Cordyceps militaris*. *Food Chemistry*. 102: 1304–1309.
- Gupta, N.M. 2004. Enzymes in organic media. *European Journal of Biochemistry*. 271(13): 2575-2583.
- Haghpour, S. Shabanpour, B. Kashiri, H. Alipour, G.H. and Sodagar, M. 2013. A Comparative Study on Antioxidative Properties of Caramelized Reducing Sugars; Inhibitory Effect on Lipid Oxidative and Sensory Improvement of Glucose Caramelized Products in Shrimp Flesh. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 15: 87-99.
- Han, H.C. Lindequist, U. Hyun, J.W. Kim, Y.H. An, H.S. Lee, D.H. and Kim, H.W. 2004. Apoptosis induction by 4  $\beta$ -acetoxyscirpentiol from *Paecilomyces tenuipes* in human leukaemia cell lines. *Pharmazie*. 59(1): 42-9.
- Hong, I. Nam, S. Sung, G. Chung, I. Hur, H. Lee, M. Kim, M. and Guo, S. 2007. Chemical Components of *Paecilomyces tenuipes* (Peck) Samson. *The Korean Society of Mycology*. 35(4): 215-218.
- Hong, I.P. Nam, S.H. Sung, G.B. Lee, K.G. Cho, S.M. Seok, S.J. Hyeon, H. Lee, M.W. and Guo, S.X. 2009. Chemical composition of main *Cordyceps* species in Korea, *International Journal Industrial*. 18: 13-17.
- Huang, Y.L. Leu, S.F. Liu, B.C. Sheu, C.C. Huang, B.M. 2004. In vivo stimulatory effect of *Cordyceps sinensis* mycelium and its fractions on reproductive function in male mouse. *Life Sciences*. 75: 1051-1062.
- Ji, S.D. Sung, G.B. Kang, P.D. Kim, K.Y. Choi, Y.S. Kim, N.S. Woo, S.O. Han, S.M. Hong, I.P.

- and Ha, N.G. 2011. Synnemata production using silkworm variety, female Yangwonjam by *Isaria tenuipes*. *Microbiology*. 39: 158–163.
- Jiang, J.C. and Gao, Y.F. 1995. Summary of Treatment of 37 chronic renal dysfunction patients with Jinshuibao. *Journal of Traditional Chinese Medicine*. 5: 23-24.
- Jordan, J.L. Nowak, A. Lee, T.D. 2010. Activation of innate immunity to reduce lung metastases in breast cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 59(5): 789-797.
- Kang, P.D. Sung, G.B. Kim, K.Y. Kim, M.J. Hong, I.P. and Ha, N.G. 2010. Breeding of a silkworm variety for synnemata production of *Isaria tenuipes*. *Mycobiology*. 38: 180–183.
- Kaushal, V. Thakur, V. Kumar, M. Bhatt, A.K. 2018. Anti-Oxidative Stress Enzyme from *Pleurotus* Sp. *Advances in Biotechnology & Microbiology*. 10(5): 1-4.
- Kumar, S. Moon, S.M. Choi, B.S. Seung, K. Kim, Y.S. and Kim, S.J. 2011. Enhancement of IL-18 expression by *Paecilomyces tenuipes*. *Mycoscience*. 52: 260-267.
- Kumar, S.S. 2015. Optimized Extraction and Antioxidant Activities of Polysaccharides from Two Entomogenous Fungi. *Bioanalysis & Biomedicine*. 7(6): 180-187.
- Lee, Y.R. Noh, E.M. Jeong, E.Y. Yun, S.K. Jeong, Y.J. Kim, J.H. Kwon, K.B. Kim, B.S. Lee, S.H. Park, C.S. and Kim, J.S. 2009. Cordycepin inhibits UVB-induced matrix metalloproteinase expression by suppressing the NF-KB pathway in human dermal fibroblast. *Experimental & Molecular Medicine*. 41(8): 548-554.
- Leung, P.H. Zhang, Q.X. and Wu, J.Y. 2006. Mycelium cultivation, chemical composition and anti tumour activity of a *Tolyptocladium* sp. fungus isolated from wild *Cordyceps sinensis*. *Journal of Applied Microbiology*. 101(2): 275-283.
- Li, J. Guan, M. and Li, Y. 2015. Effects of cooking on the contents of adenosine and cordycepin in *Cordyceps militaris*. *Procedia Engineering*. 102: 485 – 491.
- Li, S.P. LI, P. Dong, T.T.X. and Tsin, K.W. 2001. Antioxidant activity of different type of natural *Cordyceps sinensis* and cultured *Cordyceps* mycelia. *Phytomedicine*. 8(3): 207-212.
- Lindsey, S. 2017. These are the main reasons why you should use a face serum everyday. [online] Available:<https://hellogiggles.com/beauty/skin/why-you-should-use-a-face-serum-every-day-skin-care-routine/>.
- Liu, K. Wangc, F. Wangc, W. and Dong, C. 2017. Beauveria bassiana: a new N<sup>6</sup>-(2-hydroxyethyl)-adenosine-producing fungus. *Mycology*. 8(4): 259–266.

- Liu, Y. Wang, J. Wang, W. Zhang, H. Zhang, X. and Han, C. 2015. The Chemical Constituents and Pharmacological Actions of *Cordyceps sinensis*. *Complementary and Alternative Medicine*. 2: 1-12.
- Manolopoulou, E. and Varzakas, T. 2016. Effect of Temperature in Color Changes of Green Vegetables. *Current Research in Nutrition and Food Science*. 4:10-17.
- Mar, T.T, Suwannarach, N. and Lumyong, S. 2012. Isolation of entomopathogenic fungi from Northern Thailand and their production in cereal grains. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 28: 3281–3291.
- Marconi, A. Pastorin, G. Ros, T.D. and Spalluto, G. 2002. Synthesis, Biological Properties, and Molecular Modeling Investigation of the First Potent, Selective, and Water-Soluble Human A3 Adenosine Receptor Antagonist. *Medicinal Chemistry*. 45(17): 3579-82.
- McCord, J.M. and Fridovich, I. 1969. Superoxide Dismutase an enzymic function for erythrocyte. *Biological Chemistry*. 22(25): 6049-6055.
- Meletiadiis, J. Meis, J.F. Mouton, J.W. and Verweij, P.E. 2001. Analysis of Growth Characteristics of Filamentous Fungi in Different Nutrient Media. *Journal of Clinical Microbiology*. 39(2): 478–484.
- Menander, K.B. Edsmyr, F. and Huber, W. 1978. Orgotein (superoxide dismutase): a drug for the amelioration of radiation-induced side effects. *Urological Research* 6(4): 255–257.
- Mitsui, T. 1997. *New Cosmetic*. [E-Book]. Netherlands: Science Elsevier Science.
- Miyazaki, T. Oikawa, N. and Yamada, H. 1997. Studies on fungal polysaccharides Galactomannan of *cordyceps sinensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 25(12): 3324-3328.
- Moore, T. and Moore, T. 2010. Vitamin stuff. [Online]. Available: <http://www.vitaminstuff.com/>. 4 November 2018.
- Murakami, K. Inagaki, J. and Saito, M. 2009. Skin atrophy in cytoplasmic SOD-deficient mice and its complete recovery using a vitamin C derivative. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 382(2): 457–461.
- Nagata, A. Tajima, T. Uchida, M. 2006. Supplemental anti-fatigue effects of *Cordyceps sinensis* (Tochu-Kaso) extract powder during three stepwise exercise of human. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*. 55: 145-151.
- Niwa, Y. Matsuura, H. Murakami, M. Sato, J. Hirai, K. and Sumi, H. 2013. Evidence that

- Naturopathic Therapy including *Cordyceps sinensis* Prolongs Survival of Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Integrative Cancer Therapies*. 12(1): 50-68.
- Omg thailand. 2560. เพยต้นกำเนิดสมุนไพรรเห็ดตั้งถั่งเช่า พร้อมสรรพคุณและประโยชน์. [Online]. เข้าถึงได้จาก <https://www.omgthailand.net /cordyceps-origin-and-benefits/>. 23 November 2018.
- Packer L. Ong C.N. and Halliwall B. 2005. *Herbal and Traditional Medicine*. [E-Book]. New York: Mareel Dekker.
- Park, N.S.<sup>a</sup>Lee, K.S. Sohn, H.D. and Kim, D.H. 2005. Molecular cloning, expression, and characterization of the Cu, Zn superoxide dismutase (SOD1) gene from the entomopathogenic fungus *Cordyceps militaris*. *Mycologia*. 97: 130–138.
- Park, N.S.<sup>b</sup>Lee ,K.S. Sang, M.L. and Je, Y.H. 2005. enomic Structure of the Cu,Zn Superoxide Dismutase (SOD1) Gene of *Paecilomyces tenuipes* and *Paecilomyces* sp. *Mycologia*. 10(1): 35–43.
- Pereira, R.F. Barrias, C.C. Granja, P.L. and Bartolo, P.J. 2013. Advanced Biofabrication Strategies for Skin Regeneration and Repair. *Nanomedicine*. 8(4): 603-621.
- Pinto, J.Q. Dadach, Z.E. Lemoyne, A. Kaliaguine, S. 1993. Acid Hydrolysis of Glycosidic Bonds in Polysaccharides: Modelling and Stochastic Simulation. *Advances in Thermochemical Biomass Conversion*. 1: 1583-1597.
- Prior, R.L. Wu, X. and Schaich, K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Agricultural and Food Chemistry*. 53: 4290-4302.
- Raethong, N. Laoteng, K. and Vongsangnak, W. 2018. Uncovering global metabolic response to cordycepin production in *Cordyceps militaris* through transcriptome and genome-scale network-driven analysis. *Scientific Reports*. 8(1): 9250.
- Re, R. Pellegrini, N. Proteggente, A. Pannala, A. Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. 26: 1231-1237.
- Sapkota, K. Moon, S. Choi, B. Kim, S. Kim, Y. and Kim, S. 2011. Enhancement of IL-18 expression by *Paecilomyces tenuipes*. *Mycoscience*. 52: 260–267.
- Sasaki, H. Akamatsu, H. and Horio, T. 2000. Protective role of copper, zinc superoxide

- dismutase against UVB-induced injury of the human keratinocyte cell line HaCaT. *Journal of Investigative Dermatology*. 114(3): 502–507.
- Sharma, K. 2015. Optimized Extraction and Antioxidant Activities of Polysaccharides from Two Entomogenous Fungi. *Bioanalysis & Biomedicine*. 7: 180-187.
- Sharma, S.K. Gautam, N. and Atri, N.S. 2015. Evaluation of Mycelial Nutrients, Bioactive Compounds, and Antioxidants of Five Himalayan Entomopathogenic Ascomyceteous Fungi from India. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 17(7): 661-669.
- Sharma, S.K. Gautam, N. and Atri, N.S. 2018. Optimized extraction, composition, antioxidant and antimicrobial activities of exo and intracellular polysaccharides from submerged culture of *Cordyceps cicadae*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 10(18): 276.
- Shashidhar, M.G. Giridhar, P. Udaya, S.K. and Manohar, B. 2013. Bioactive principles from *Cordyceps sinensis*: A potent food supplement – A review. *Journal of Functional Foods* 5(3): 13-30.
- Sinensky, A. 2013. How does temperature affect the pH of liquids? Are there general relationships for different types of liquids. [online] Available:<https://www.quora.com/How-does-temperature-affect-the-pH-of-liquids-Are-there-general-relationships-for-different-types-of-liquids-i-e-not-just-for-pure-water>.
- 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.
- Southgate, D.A. 1969. Determination of carbohydrates in foods. I. Available carbohydrate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 20(6): 326-330.
- Suk, N.K. Job, Y. Kimb, Y. Won, H.J. and Kim, H. 2001. Cytotoxic activities of acetoxyscirpenediol and ergosterol peroxide from *Paecilomyces tenuipes*. *Life Sciences*. 69: 229–237.
- Sumalee, S. Urrat, S. Sutichai, N. Kanoksri, T. Jennifer, J. L. Chun-Ru, L.I. and Masahiko, I. 2011. Beauvericin production by the Lepidoptera pathogenic fungus *Isaria tenuipes*: Analysis of natural specimens, synnemata from cultivation, and mycelia from liquid-media fermentation. *Natural Products and Bioprospecting*. 1:112–115.

- Sung, G.H. Sung, J.M. HywelJones, N.L. and Spatafora, J.W. 2007. A multi-gene phylogeny of Clavicipitaceae (Ascomycota, Fungi): Identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 44(3): 12-23.
- The central lab by pathawin<sup>a</sup>. 2020. รายงานผลการทดลอง (ภาคผนวก ข). ปทุมธานี: บริษัท ปฐวีนจำกัด.
- The central lab by pathawin<sup>b</sup>. 2020. รายงานผลการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา (ภาคผนวก ข). ปทุมธานี: บริษัท ปฐวีนจำกัด.
- Tiedtke, J. 2006. information requirement for botanical cosmetic ingredients. *Cosmetic Science Technology*. 15-21.
- Tuan, N.N. Thanh, N.T. Xuan, D.T. and Thang, T.D. 2016. Chemical Constituents from the mycelium of *isaria japonica* yasuda. *Journal of Science and Technology*. 54(2): 334-340.
- Tuli, H.S. Sandhu, S.S. and Sharma, A.K. 2014. Pharmacological and therapeutic potential of *Cordyceps* with special reference to Cordycepin. 3 *Biotech*. 4: 1–12.
- Tuli, H.S. Sandhu, S.S. and Sharma, A.K. 2016. Cordycepin: A *Cordyceps* Metabolite with Promising Therapeutic Potential. *Fungal Metabolites*. 10: 761-782.
- Valentine, J.S. Doucette, P.A. and Potter, S.Z. 2005. Copper-zinc superoxide dismutase and amyotrophic lateral sclerosis. *Annual Review of Biochemistry*. 74: 563–93.
- Wang, L. Zhang, W.M. Hu, B. Chen, Y.Q. and Qu, L.H. 2008. Genetic variation of *Cordyceps militaris* and its allies based on phylogenetic analysis of rDNA ITS sequence data. *Fungal Divers*. 31: 147–156.
- Wang, L. Liu, C.C. Wang, Y.Y. Xu, H. Su, H. and Cheng, X. 2016. Antibacterial activities of the novel silver nanoparticles biosynthesized using *Cordyceps militaris* extract. *Current Applied Physics*. 16: 969-973.
- Wanga, Z. Heb, Z. Lib, S. and Yuanb, Q. 2005. Purification and partial characterization of Cu, Zn containing superoxide dismutase from entomogenous fungal species *Cordyceps militaris*. *Enzyme and Microbial Technology*. 36: 862–869.
- Wong, W.C. Wu, J.Y. Benzie, I.F. 2011. Photoprotective potential of *Cordyceps* Polysaccharides against ultraviolet B radiation-induced DNA damage to human skin cells. *British Journal of Dermatology*. 164(5): 980-986.

- Wordpress. 2018. *Pseudomonas aeruginosa*. [Online]. Available: <https://www.truthinaging.com/review/calcium-as-an-anti-ager>. 14 January 2019.
- Wu, Z. Zhanga, M. Xieb, M. Daib, Z. Wan, X. Hub, B. Yeb, H. and Zengb, X. 2016. Extraction, characterization and antioxidant activity of mycelial polysaccharides from *Paecilomyces hepiali* HN1Z. *Carbohydrate Polymers*. 137: 541–548.
- H. Facial cream containing ingredient of cordyceps militaris and preparation method thereof. Chinese. CN104434761A. 25 June 2015.
- Yamada, T. Ogamo, A. Saito, T. Watanabe, J. Uchiyama, H. and Nakagawac, Y. 1997. Preparation and anti-HIV activity of low-molecular weight carrageenans and their sulfated derivatives. *Carbohydrate Polymers*. 32: 51–55.
- Yang, M.L. Kuo, P.C. Hwang, T.L. and Wu, T.S. 2011. Anti-inflammatory principles from *Cordyceps sinensis*. *Journal of Natural Products*. 74(9): 1996–2000.
- Yu, R. Song, L. Zhao, Y. Bin, W. Wang, L. Zhang, H. Wu, Y. Ye, W. and Yao, X. 2004. Isolation and biological properties of polysaccharide CPS-1 from cultured *Cordyceps militaris*. *Fitoterapia*. 75: 465–472.
- Zhang, X. Hu, Q. and Weng, Q. 2018. Secondary metabolites (SMs) of *Isaria cicadae* and *Isaria tenuipes*. *The Royal Society of Chemistry*. 9(1): 172–184.
- Zhang, Z. Huang, W. Liao, S. Li, J. Lei, L. Leng, F. Gong, W. Zhang, H. Wan, L. Wu, R. Li, S. Luo, H. and Zhu, F. 1995. Clinical and Laboratory studies of Jinshuibao in scavenging oxygen free radicals in elderly senescent XuZheng patients. *Journal of Traditional Chinese Medicine* 5: 14–18.
- Zhong, S. Pan, H. Fan, L. Lu, G. Wu, Y. Parmeswaran, B. Pandey, A. and Soccol, C.R. 2009. Advances in Research of Polysaccharides in *Cordyceps* Species. *Food Technology and Biotechnology*. 47(3): 304–312.
- Zhou, X. Gong, Z. Sua, Y. Lin, J. and Tanga, K. 2009. *Cordyceps* fungi: natural products, pharmacological functions and developmental products. *Pharmacy and Pharmacology*. 61: 279–291.
- 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(4): 494–498.

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

### การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

**ภาคผนวก 1ก** การเตรียมอาหารแข็งเลี้ยงเชื้อสูตร Potato dextrose Agar (PDA) เสริม โดยเตรียม 1000 มิลลิลิตร (คัมสุณีย์, 2561)

มันฝรั่งปอกเปลือกและหั่น	200 กรัม
กลูโคส	10 กรัม
ผงวุ้น	20 กรัม
ข้าวโพดอ่อน	50 กรัม
สารสกัดยีสต์	5 กรัม
เปปโตน	5 กรัม

ต้มมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนเป็นเวลา 20 นาที ในน้ำกลั่น จากนั้นกรองเอาแต่ส่วนใส ทำการปรับปริมาตรจนครบ 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำตาลกลูโคส ยีสสกัด เปปโตนและผงวุ้น คนให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**ภาคผนวก 2ก** การเตรียมอาหารเหลวเลี้ยงหัวเชื้อสูตร 1 Potato dextrose broth (PDB) เสริม โดยเตรียม 1000 มิลลิลิตร ดัดแปลงจาก (คัมสุณีย์, 2561)

มันฝรั่งปอกเปลือกและหั่น	200 กรัม
กลูโคส	10 กรัม
ข้าวโพดอ่อน	50 กรัม
สารสกัดยีสต์	5 กรัม
เปปโตน	5 กรัม

ต้มมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนเป็นเวลา 20 นาที ในน้ำกลั่น จากนั้นกรองเอาแต่ส่วนใส ทำการปรับปริมาตรจนครบ 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำตาลกลูโคส ยีสสกัด และเปปโตน คนให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**ภาคผนวก 3ก** การเตรียมอาหารแข็งสำหรับเพาะเลี้ยงถึงเช้า เตรียม 1000 มิลลิลิตร ดัดแปลงจาก (คัมสุณีย์, 2561)

มันฝรั่งปอกเปลือกและหั่น	200 กรัม
กลูโคส	20 กรัม
ข้าวโพดอ่อน	50 กรัม
สารสกัดยีสต์	5 กรัม
เปปโตน	5 กรัม
หนอน	30 กรัม

ต้มมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนเป็นเวลา 20 นาที ในน้ำกลั่น จากนั้นกรองเอาแต่ส่วนใส ทำการ  
ปรับปริมาตรจนครบ 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำตาลกลูโคส ยีสสกัด และเปปโตน คนให้เข้ากัน เติมน้ำ  
โหลจำนวน 60 มิลลิลิตร ที่มีข้าวลีสผิวต่อข้าวไรซ์เบอร์รี่อัตราส่วน 20:20 กรัมต่อโหล นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ  
ในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

## ภาคผนวก ข

### การเตรียมสารและการวิเคราะห์

#### ภาคผนวก 1 ข การวิเคราะห์โดยวิธีแอนโทรน (Dreywood, 1946)

##### 1.1 สารเคมี

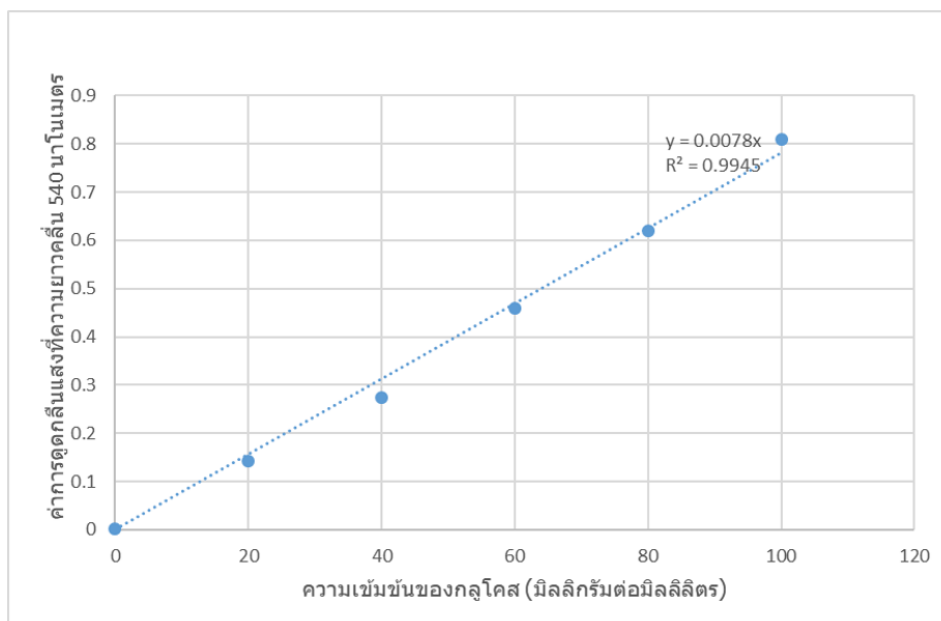
1) กรดซัลฟิวริกร้อยละ 75 เตรียมโดยใส่น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร ใส่แท่งแม่เหล็กวางในอ่างน้ำบนเครื่องกวน (ทำในตู้ดูดควัน) เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (ร้อยละ 95-97) ปริมาตร 390 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรที่มีน้ำกลั่นอย่างช้า ๆ และระมัดระวัง ปล่อยให้เย็นตัวที่อุณหภูมิห้องแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2) สารละลายแอนโทรน เตรียมโดยชั่งสารแอนโทรน 0.5 กรัม ลงในปิកเกอร์ เติมเอทานอลร้อยละ 99.5 มิลลิลิตร คนให้พอดีละลายแล้วเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร มีกรดซัลฟิวริกร้อยละ 75 จากนั้นกลั่นปิកเกอร์ด้วยเอทานอลร้อยละ 99.5 มิลลิลิตร เทลงในขวดปรับปริมาตรอีกครั้ง และปรับปริมาตรด้วยกรดซัลฟิวริกร้อยละ 75 ใส่แท่งเหล็ก ปิดฝา แล้วห่อขวดด้วยฟลอยด์ (ห้ามโดนแสง) จากนั้นนำไปตั้งบนแท่งกวน เพื่อให้สารแอนโทรนละลายจนหมด

3) สารละลายกลูโคสมาตรฐาน เตรียมชั่งกลูโคส 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางให้เป็นความเข้มข้นตั้งแต่ 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 6.1

ตารางที่ 6.1 การเจือจางสารละลายกลูโคสมาตรฐานด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หลอดที่	สารละลายกลูโคส (0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	สารละลายกลูโคส มาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	0	10	0
2	2	8	20
3	4	6	40
4	6	4	60
5	8	2	80
6	10	0	100



รูปที่ 6.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

## ภาคผนวก 2x การวิเคราะห์โดยวิธี DPPH (Singh *et al.*, 2018)

### 2.1 สารเคมี

1) เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ชั่งสาร DPPH (MW = 394.32) 0.0039 กรัม ละลายในเอทานอลบริสุทธิ์ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

### 2.2 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งน้ำหนักตะกอนต่อน้ำกลั่น อัตราส่วน 0.01:1 กรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นความเข้มข้นเริ่มต้น คือ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจาง แบบ serial dilution

## ภาคผนวก 3x การวิเคราะห์โดยวิธี ABTS (Singh *et al.*, 2018)

### 3.1 สารเคมี

1) เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ชั่งสาร ABTS (MW = ) 0.0384 กรัม ต่อน้ำบริสุทธิ์ 10 มิลลิลิตร

2) เตรียมสารโพแทสเซียม ความเข้มข้น 2.4 มิลลิโมลาร์ ชั่งสาร 0.6623 กรัมต่อน้ำบริสุทธิ์ 10 มิลลิลิตร

3) นำสารละลาย ABTS และสารโพแทสเซียม ผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ทิ้งไว้ 14-16 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำบริสุทธิ์ ด้วยอัตราส่วน 2 มิลลิลิตรต่อ 50 มิลลิลิตร ของสารต่อน้ำตามลำดับ จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ให้มีค่าเท่ากับ  $0.706 \pm 0.01$

## ภาคผนวก 4x การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ SOD

การเตรียมฟอสเฟสฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ดังตารางที่ 6.2

1)  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  มวลโมเลกุล 218.03 กรัม/โมล 10.89 กรัม/ลิตร (สาร ก)

2)  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  มวลโมเลกุล 137.99 กรัม/โมล 6.89 กรัม/ลิตร (สาร ข)

### ตารางที่ 6.2 การเตรียมฟอสเฟสบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 6 7 และ 7.8

พีเอช	สาร ก (มิลลิลิตร)	สาร ข (มิลลิลิตร)	ปริมาตรรวม (มิลลิลิตร)
6	6.15	43.85	50
7	30.50	19.50	50
7.8	45.75	4.25	50

การเตรียม reaction mixture โดยนำ 1. Phosphate buffer (พีเอช 7.8) ความเข้มข้น  $50 \times 10^{-3}$  โมลาร์ 2. Riboflavin (มวลโมเลกุล 376.37 กรัม/โมล) ความเข้มข้น  $1.77 \times 10^{-6}$  โมลาร์ 3. EDTA (มวลโมเลกุล 292.24 กรัม/โมล) ความเข้มข้น  $12 \times 10^{-3}$  โมลาร์ 4. NBT (มวลโมเลกุล 817.64 กรัม/โมล) ความเข้มข้น  $4.067 \times 10^{-5}$  โมลาร์ 5. Methionine (มวลโมเลกุล 149.208 กรัม/โมล) ความเข้มข้น  $13 \times 10^{-3}$  โมลาร์ จากนั้นนำ reaction mixture 3 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในหลอดทดลอง จากนั้นเติม SOD ที่ปริมาณต่าง ๆ จากความเข้มข้นเริ่มต้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำ serial dilution ดังนี้ 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 และ 0.03125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เริ่มปฏิกิริยาด้วยการนำไปส่องด้วยหลอดฟลูออเรสเซนซ์ 18 วัตต์ เป็นเวลา 30 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยการปิดไฟแล้วคลุมหลอดด้วยผ้าสีดำ นำสารละลายสีน้ำเงินที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง

### ภาคผนวก 5 ข การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีของ Lowry ในสารละลายเอนไซม์ (อารี, 2559)

สารละลาย ก เตรียมโดยละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 20 กรัม/ลิตร ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

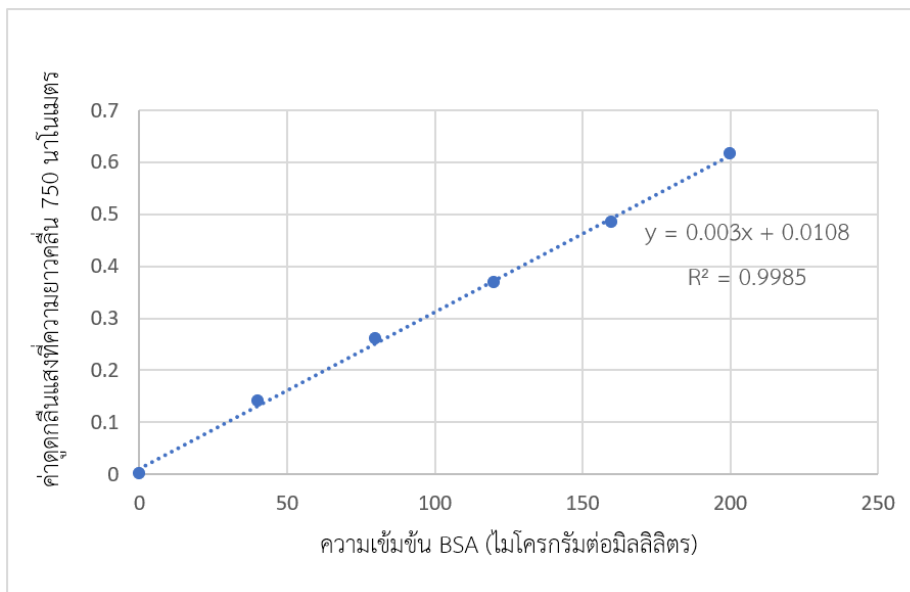
สารละลาย ข เตรียมโดยละลายคอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) ความเข้มข้น 5 กรัม/ลิตร ในสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (sodium potassium tartrate) ความเข้มข้น 10 กรัม/ลิตร

สารละลาย ค เตรียมสารละลายอัลคาไลคอปเปอร์ (alkali copper) โดยผสมสารละลาย ก ปริมาตร 50 มิลลิลิตร กับสารละลาย ข ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ควรเตรียมเมื่อต้องการใช้)

สารละลาย Folin – Ciocalteu (ความเข้มข้น 2 นอร์มัล) มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 (สารนี้เตรียมเมื่อต้องการใช้)

สารละลายมาตรฐานของโปรตีน

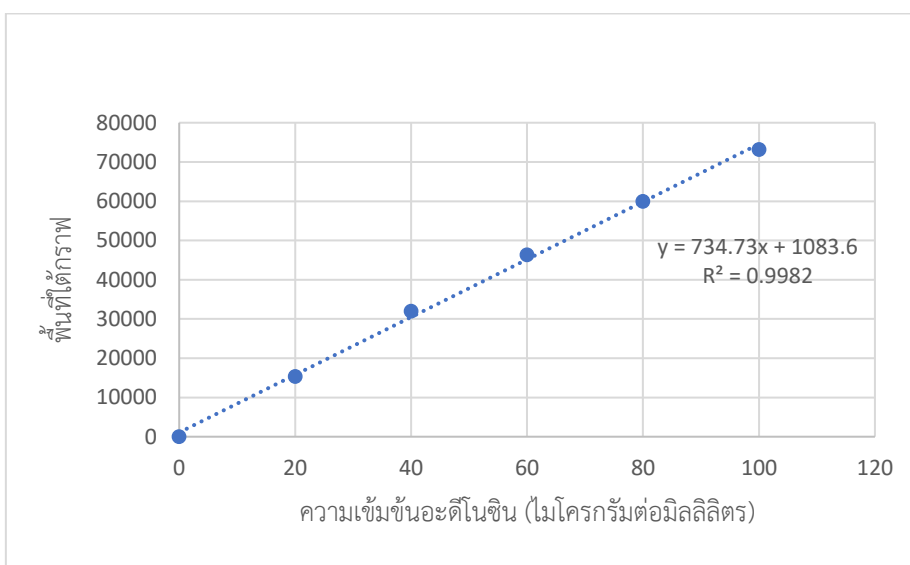
ละลาย bovine serum albumin (BSA) ในระดับความเข้มข้น 0, 40, 80, 120, 160 และ 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร



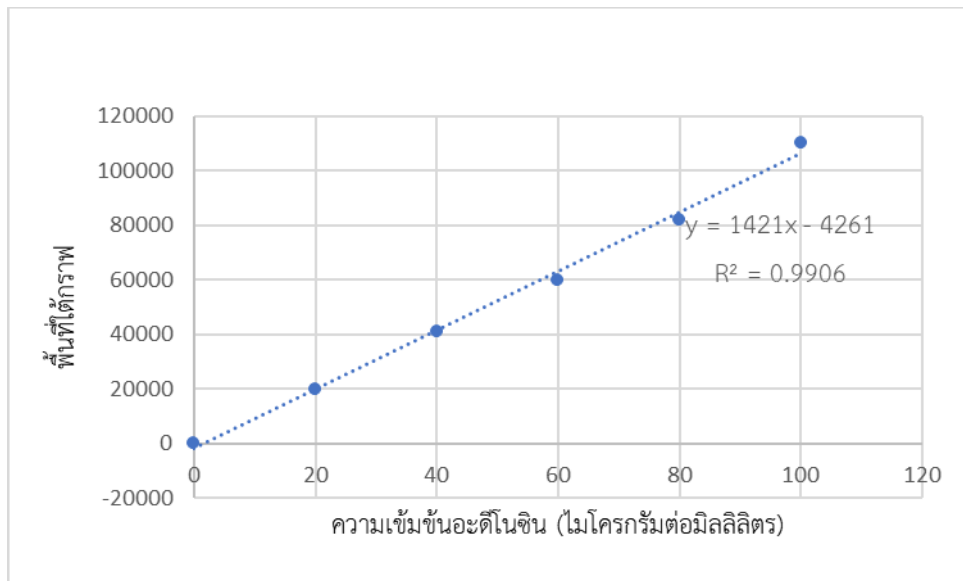
รูปที่ 6.2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย bovine serum albumin (BSA) ที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 0, 40, 80, 120, 160 และ 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

#### ภาคผนวก 6 ข การสร้างกราฟมาตรฐานคอร์ไตเซปินและอะดีโนซีน

ทำการชั่งสารมาตรฐานคอร์ไตเซปินและอะดีโนซีน 0.002 กรัม ละลายในน้ำบริสุทธิ์สูง 2 มิลลิลิตร แล้วทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำส่วนใสกรองผ่านเมมเบรนพิวเตอร์ขนาด 0.22 ไมโครเมตร ลงในขวดตัวอย่างขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารมาตรฐานด้วยเครื่องโครมาโทกราฟฟีของเหลวความดันสูง (HPLC) และนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานคอร์ไตเซปินและอะดีโนซีน



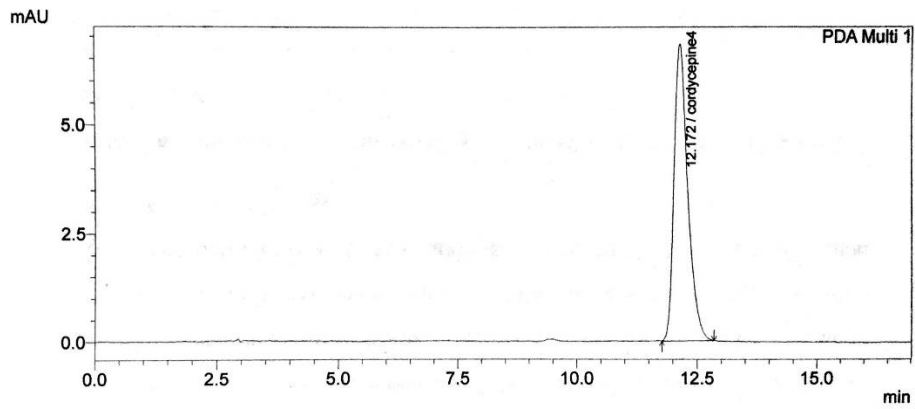
รูปที่ 6.3 กราฟมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 0, 20, 40, 60 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



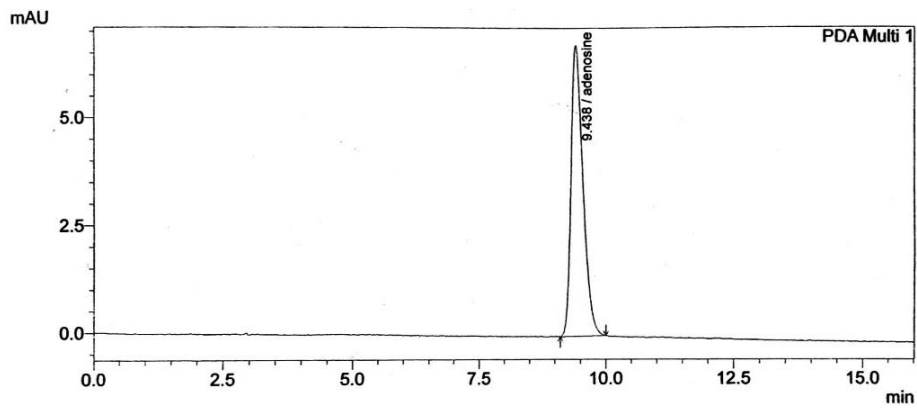
รูปที่ 6.4 กราฟมาตรฐานคอร์ไดซิปีนที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 0, 20, 40, 60 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

## ภาคผนวก ค

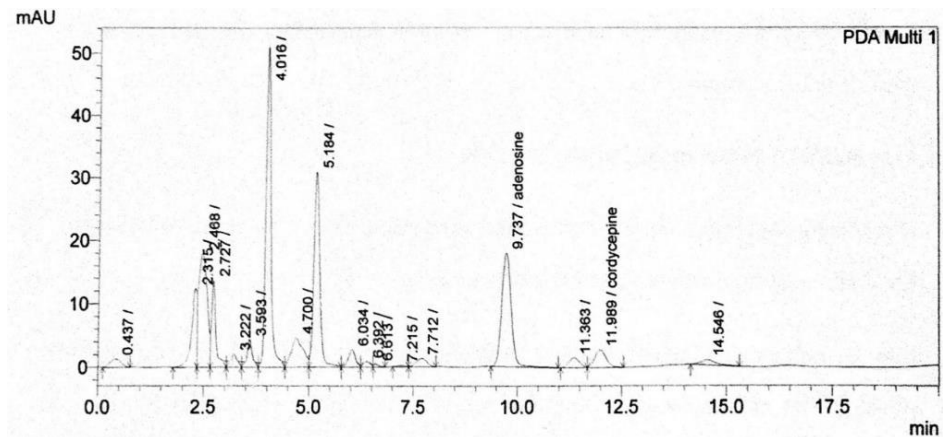
### รูปการทดลอง



รูปที่ 6.5 โครมาโทแกรมแสดงลักษณะพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานคอร์ไดเซปิน นาที้ที่ 12.17 ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC



รูปที่ 6.6 โครมาโทแกรมแสดงลักษณะพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานอะดีโนซีน นาที้ที่ 9.43 ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC



รูปที่ 6.7 โครมาโทแกรมแสดงลักษณะพื้นที่ใต้กราฟของอะดีโนซีน นาที้ที่ 9.73 และคอร์ไดเซป็น นาที้ที่ 11.98 ซึ่งเป็นตัวอย่างในการศึกษาปริมาณสารสำคัญจากดอกถั่งเช่าหิมะ โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC



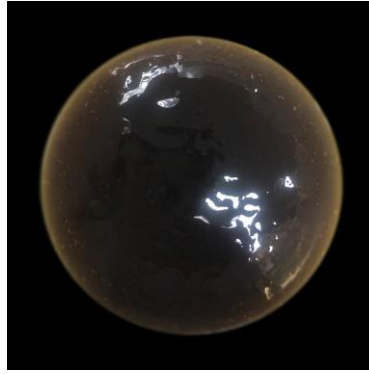
รูปที่ 6.8 ลักษณะเส้นใยถั่งเช่าหิมะที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA เสริม (ก) PDB เสริม (ข) และ อาหารแข็งสำหรับเพาะเลี้ยงถั่งเช่า (ค)



รูปที่ 6.9 ลักษณะสัณฐานเบื้องต้นของดอกถั่งเช่าหิมะ



รูปที่ 6.10 ลักษณะสารสกัดถั่งเช่าหิมะจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง



รูปที่ ค7 ลักษณะเซรั่มถั่งเช่าหิมะ

## ภาคผนวก ง

### ผลการวิเคราะห์ค่าสถิติ

1. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์ SOD โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชที่ 6, 7 และน้ำเป็นตัวควบคุม

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
pH	2	18.599	9.299	6.47	0.032
Error	6	8.621	1.437		
Total	8	27.220			

2. ค่าเฉลี่ยของผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์ SOD โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชที่ 6, 7 และน้ำเป็นตัวควบคุมทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for SOD

Tukey Pairwise Comparisons: pH

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

pH	N	Mean	SD	Grouping
6	3	9.16703	1.59546	A
7	3	6.21253	0.17355	A B
0	3	6.03068	1.31721	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

3. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถังเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	29.203	7.3007	13.91	0.000
Error	10	5.247	0.5247		
Total	14	34.450			

4. ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดง่เช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for polysaccharide extract keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	65.8687	0.88437	A
3	3	63.3812	0.30397	B
6	3	62.8174	0.34943	B
12	3	62.4525	0.60795	B
9	3	61.8224	1.16177	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

5. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดง่เช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	39.548	9.8870	10.75	0.001
Error	10	9.194	0.9194		
Total	14	48.742			

6. ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดง่เช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for polysaccharide extract keep at 30 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	65.8687	0.88437	A
3	3	62.9832	1.34600	B
6	3	62.8837	1.33862	B

12	3	61.4907	0.29849	B
9	3	61.3580	0.34941	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

7. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของดีโนซินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	0.1354	0.03385	0.05	0.994
Error	10	6.2331	0.62331		
Total	14	6.3685			

8. ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความคงตัวของดีโนซินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for adenosine extract keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
12	3	5.66045	0.66941	A
3	3	5.64252	0.38010	A
0	3	5.62348	0.03422	A
9	3	5.47844	0.91696	A
6	3	5.42674	1.29689	A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

9. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของดีโนซินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	0.3018	0.07546	0.87	0.513
Error	10	0.8647	0.08647		

Total 14 1.1665

10. ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความคงตัวของดีโนซินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for adenosine extract keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	5.62348	0.03422	A
3	3	5.36671	0.28831	A
9	3	5.30931	0.39195	A
6	3	5.24857	0.25859	A
12	3	5.23260	0.35712	A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

11. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของโคอร์ไดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	0.03654	0.009136	2.85	0.082
Error	10	0.03209	0.003209		
Total	14	0.06864			

12. ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความคงตัวของโคอร์ไดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for cordycepin extract keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	0.524787	0.01103	A

3	3	0.424484	0.05863	A
9	3	0.421359	0.07702	A
12	3	0.409048	0.03722	A
6	3	0.378372	0.07188	A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

13. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของคอร์ไดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	0.118946	0.029737	38.24	0.000
Error	10	0.007777	0.000778		
Total	14	0.126723			

14. ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความคงตัวของคอร์ไดเซปินจากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for cordycepin extract keep at 30 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	0.524787	0.01103	A
3	3	0.378834	0.02140	B
9	3	0.300081	0.04607	C
6	3	0.299579	0.02664	C
12	3	0.289946	0.02181	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

15. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
--------	----	--------	--------	---------	---------

week	4	68.43	17.108	13.67	0.000
Error	10	12.52	1.252		
Total	14	80.95			

16. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for % polysaccharide extract keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	100.000	1.34262	A
3	3	96.727	0.46148	B
6	3	95.368	0.53049	B
12	3	94.814	0.92297	B
9	3	93.857	1.76377	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

17. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	91.15	22.788	10.75	0.001
Error	10	21.19	2.119		
Total	14	112.34			

18. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for % polysaccharide extract keep at 30 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

## Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	100.000	1.34262	A
3	3	95.619	2.04346	B
6	3	95.468	2.03226	B
12	3	93.353	0.45317	B
9	3	93.152	0.53049	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

19. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของดีโนซินจากสารสกัดงาช้างหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	42.82	10.71	0.05	0.994
Error	10	1971.03	197.10		
Total	14	2013.85			

20. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของดีโนซินจากสารสกัดงาช้างหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for % adenosine extract keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

## Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
12	3	100.657	7.09378	A
3	3	100.339	11.17364	A
0	3	100.000	2.10209	A
9	3	97.421	14.67693	A
6	3	96.502	13.69857	A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

21. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของดีโนซินจากสารสกัดงาช้างหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

## Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	95.44	23.86	0.87	0.513
Error	10	273.43	27.34		
Total	14	368.88			

22. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของดีโนซินจากสารสกัดงั้วเห่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for % adenosine extract keep at 30 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	100.000	2.10209	A
3	3	95.434	4.07958	A
9	3	94.413	8.77952	A
6	3	93.333	5.07640	A
12	3	93.049	4.15621	A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

23. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของคอร์ดอร์โดเซปินจากสารสกัดงั้วเห่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	1443	360.9	3.10	0.067
Error	10	1165	116.5		
Total	14	2609			

24. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของคอร์ดอร์โดเซปินจากสารสกัดงั้วเห่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for % cordycepin extract keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	100.000	2.10209	A
3	3	89.756	11.17364	A
9	3	80.291	14.67693	A
12	3	77.946	7.09378	A
6	3	72.100	13.69857	A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

25. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของคอร์ไดเซปินจากสารสกัดงั้วเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	4319.0	1079.75	38.24	0.000
Error	10	282.4	28.24		
Total	14	4601.4			

26. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของคอร์ไดเซปินจากสารสกัดงั้วเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for % cordycepin extract keep at 30 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	100.000	2.10209	A
3	3	72.188	4.07958	B
9	3	57.182	8.77952	C
6	3	57.086	5.07640	C
12	3	55.250	4.15621	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

27. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของสีจากสูตรตำรับเซรั่ม  
พื้นฐานจำนวน 2 สูตร

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	15.12	15.1250	20.07	0.000
Error	70	52.75	0.7536		
Total	71	67.88			

28. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของสีจากสูตรตำรับเซรั่ม  
พื้นฐานจำนวน 2 สูตร โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for color from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: serum formula 1 and 2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
1	36	4.33333	0.99642	A
2	36	3.41667	0.71713	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

29. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของกลิ่นจากสูตรตำรับเซรั่ม  
พื้นฐานจำนวน 2 สูตร

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	3.125	3.1250	4.91	0.030
Error	70	44.528	0.6361		
Total	71	47.653			

30. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของกลิ่นจากสูตรตำรับเซรั่ม  
พื้นฐานจำนวน 2 สูตร โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for odor from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: serum formula 1 and 2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
-------	---	------	----	----------

1	36	4.33333	0.65404	A
2	36	3.41667	0.91893	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

31. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของความชุ่มชื้นจากสูตรตำรับ เซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	0.0139	0.01389	0.03	0.874
Error	70	38.3056	0.54722		
Total	71	38.3194			

32. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ข้อมูลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของความชุ่มชื้นจากสูตรตำรับ เซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for moisture from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: serum formula 1 and 2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
1	36	4.11111	0.76997	A
2	36	4.08333	0.70822	A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

33. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อสัมผัสจากสูตรตำรับ เซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	1.389	1.3889	2.18	0.144
Error	70	44.556	0.6365		
Total	71	45.944			

34. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ข้อมูลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อสัมผัสจากสูตรตำรับ เซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for texture from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: serum formula 1 and 2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
1	36	4.16667	0.85449	A
2	36	3.88889	0.73678	A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

35. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของความชื้นขาเข้าสู่ผิวจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	8.681	8.6806	12.35	0.001
Error	70	49.194	0.7028		
Total	71	57.875			

36. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของความชื้นขาเข้าสู่ผิวจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for Absorption from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: serum formula 1 and 2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
1	36	4.22222	0.84468	A
2	36	3.52778	0.83190	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

37. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของความชอบโดยรวมจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	1.125	1.1250	2.12	0.150
Error	70	37.194	0.5313		

Total 71 38.319

38. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ข้อมูลทดสอบทางประสาทสัมผัสของความชอบโดยรวมจากสูตรตำรับเซรัมพื้นฐานจำนวน 2 สูตร โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for liking from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: serum formula 1 and 2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
1	36	4.02778	0.79681	A
2	36	3.77778	0.65404	A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

39. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบการหาสภาวะที่เหมาะสมของคอร์ไดเซปินในเซรัมถั่งเช่าหิมะ

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
%extract	2	0.000152	0.000076	15.67	0.004
Error	6	0.000029	0.000005		
Total	8	0.000181			

40. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ผลการทดสอบการหาสภาวะที่เหมาะสมของคอร์ไดเซปินในเซรัมถั่งเช่าหิมะโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for cordycepin

Tukey Pairwise Comparisons: %extract

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

%extract	N	Mean	SD	Grouping
2.0	3	0.123434	0.00258	A
1.9	3	0.118821	0.00076	A B
1.8	3	0.113378	0.00269	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

41. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบการหาสถานะที่เหมาะสมของอะดีโนซีนในเซรัมถึงเข้าหิมะ

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
%extract	2	0.018004	0.009002	73.87	0.000
Error	6	0.000731	0.000122		
Total	8	0.018735			

42. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ผลการทดสอบการหาสถานะที่เหมาะสมของอะดีโนซีนในเซรัมถึงเข้าหิมะโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for adenosine

Tukey Pairwise Comparisons: %extract

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

%extract	N	Mean	SD	Grouping
2.0	3	1.25317	0.01070	A
1.9	3	1.19127	0.00469	B
1.8	3	1.14393	0.01513	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

43. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดสอบการหาสถานะที่เหมาะสมของพอลิแซ็กคาไรด์ในเซรัมถึงเข้าหิมะ

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
%extract	2	40.879	20.4394	33.33	0.001
Error	6	3.680	0.6133		
Total	8	44.558			

44. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ผลการทดสอบการหาสถานะที่เหมาะสมของพอลิแซ็กคาไรด์ในเซรัมถึงเข้าหิมะโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for polysaccharide

Tukey Pairwise Comparisons: %extract

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

%extract	N	Mean	SD	Grouping
2.0	3	35.8919	1.23018	A
1.9	3	32.7742	0.47191	B
1.8	3	30.7069	0.322138	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

45. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้างหิมะที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	127.77	31.943	27.73	0.000
Error	10	11.52	1.152		
Total	14	139.29			

46. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้างหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for polysaccharide from serum keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	35.8919	1.23018	A
3	3	35.4756	1.66111	A
6	3	34.0931	0.56574	A B
9	3	32.2131	0.98734	B
12	3	27.8675	0.43902	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

47. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดงาช้างหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	278.90	69.725	17.74	0.000
Error	10	39.30	3.930		
Total	14	318.20			

48. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for polysaccharide from serum keep at 30 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	35.8919	1.23018	A
3	3	35.4395	1.49254	A
6	3	33.4874	1.87305	A B
9	3	28.2045	2.62524	B C
12	3	24.9132	2.34741	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

49. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของดีโนซินจากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	0.2777	0.06943	4.43	0.026
Error	10	0.1566	0.01566		
Total	14	0.4343			

50. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของดีโนซินจากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for adenosine from serum keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

## Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	1.25317	0.01069	A
3	3	1.11007	0.17523	A B
6	3	0.99335	0.17295	A B
9	3	0.92507	0.10508	A B
12	3	0.87502	0.0808	B

Means that do not share a letter are significantly different.

51. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของดีโนซินจากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

## Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	0.35635	0.089087	23.72	0.000
Error	10	0.03756	0.003756		
Total	14	0.39390			

52. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของดีโนซินจากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for adenosine from serum keep at 30 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

## Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	1.25317	0.01069	A
3	3	1.09890	0.06081	A B
6	3	1.00175	0.05330	B C
12	3	0.87644	0.09733	C D
9	3	0.82601	0.05147	D

Means that do not share a letter are significantly different.

53. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของคอร์ไดเซปินจากเซรั่มที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	0.006770	0.001692	21.21	0.000
Error	10	0.000798	0.000080		
Total	14	0.007568			

54. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของคอร์ไดเซปินจากเซรั่มที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for cordycepin from serum keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	0.123434	0.00258	A
3	3	0.093117	0.00694	B
6	3	0.079814	0.01587	B C
12	3	0.067440	0.00747	C
9	3	0.065458	0.00600	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

55. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของคอร์ไดเซปินจากเซรั่มที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	0.012928	0.003232	116.44	0.000
Error	10	0.000278	0.000028		
Total	14	0.013205			

56. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ความคงตัวของคอร์ไดเซปินจากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for cordycepin from serum keep at 30 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	0.123434	0.00776	A
3	3	0.092594	0.00258	B
6	3	0.068003	0.00123	C
12	3	0.050444	0.00717	D
9	3	0.043325	0.00433	D

*Means that do not share a letter are significantly different.*

57. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	991.82	247.956	27.73	0.000
Error	10	89.43	8.943		
Total	14	1081.25			

58. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for % polysaccharide extract keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	100.000	3.42745	A
3	3	98.840	4.62809	A
6	3	94.988	1.57624	A B

9	3	89.750	2.75087	B
12	3	77.643	1.22317	C

Means that do not share a letter are significantly different.

59. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	2165.0	541.25	17.74	0.000
Error	10	305.1	30.51		
Total	14	2470.1			

60. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของพอลิแซ็กคาไรด์จากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for % polysaccharide extract keep at 30 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	100.000	3.42745	A
3	3	98.739	4.15843	A
6	3	93.301	5.21859	A B
9	3	78.582	7.31428	B C
12	3	69.412	6.54022	C

Means that do not share a letter are significantly different.

61. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของดีโนซินจากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	1768.5	442.13	4.43	0.026

Error	10	997.3	99.73
Total	14	2765.8	

62. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของดีโนซินจากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons % adenosine extract keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	100.000	0.85383	A
3	3	88.582	13.98365	A B
6	3	79.267	13.80119	A B
9	3	73.819	8.38520	A B
12	3	69.825	6.44802	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

63. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของดีโนซินจากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	2269.1	567.28	23.72	0.000
Error	10	239.2	23.92		
Total	14	2508.3			

64. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของดีโนซินจากเซรัมที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons % adenosine extract keep at 30 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	100.000	0.85383	A
3	3	87.690	4.85303	A B
6	3	79.938	4.25337	B C
12	3	69.938	4.10745	C D
9	3	65.914	7.76748	D

Means that do not share a letter are significantly different.

65. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของคอร์ไดเซปินจากเซรุ่มที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	4443.3	1110.82	21.21	0.000
Error	10	523.6	52.36		
Total	14	4966.9			

66. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของคอร์ไดเซปินจากเซรุ่มที่มีสารสกัดถึงเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติ โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for % cordycepin extract keep at 4 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	100.000	2.095770	A
3	3	75.438	5.62502	B
6	3	64.661	12.86451	B C
12	3	54.636	4.86170	C
9	3	53.030	6.05442	C

Means that do not share a letter are significantly different.

67. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความคงตัวของคอร์ไดเซปินจากเชรุ่มที่มีสารสกัดงั้งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
week	4	8484.8	2121.20	116.44	0.000
Error	10	182.2	18.22		
Total	14	8667.0			

68. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ร้อยละความคงตัวของคอร์ไดเซปินจากเชรุ่มที่มีสารสกัดงั้งเช่าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาที่ 30 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดสอบทุก ๆ 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติ โดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for % cordycepin extract keep at 30 °C

Tukey Pairwise Comparisons: week

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

week	N	Mean	SD	Grouping
0	3	100.000	2.09577	A
3	3	75.015	6.28850	B
6	3	55.092	1.00013	C
12	3	40.867	3.51412	D
9	3	35.100	5.81352	D

*Means that do not share a letter are significantly different.*

69. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของทางกายภาพ คือ พีเอช ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเชรุ่มงั้งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
pH	2	0.264800	0.132400	233.65	0.000
Error	6	0.003400	0.000567		
Total	8	0.268200			

70. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าความคงตัวของทางกายภาพ คือ พีเอช ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถึงเช้าหิมะ ที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for physical stability of pH

Tukey Pairwise Comparisons: temperature

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

temperature	N	Mean	SD	Grouping
4	3	5.99333	0.01527	A
25	3	5.79333	0.03511	B
45	3	5.57333	0.01527	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

71. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวของทางกายภาพ คือ ความหนืด ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถึงเช้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Viscosity	2	40076	20038	14.10	0.005
Error	6	8525	1421		
Total	8	48601			

72. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าความคงตัวของทางกายภาพ คือ ความหนืด ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถึงเช้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for physical stability of viscosity

Tukey Pairwise Comparisons: temperature

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

temperature	N	Mean	SD	Grouping
4	3	2970.20	8.14395	A
25	3	2933.75	8.63499	A

45      3    2813.98   7.86273      B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

73. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ สี (ค่า L\*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรามิกซ์เข้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
color	2	0.19369	0.096844	22.07	0.002
Error	6	0.02633	0.004389		
Total	8	0.22002			

74. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ สี (ค่า L\*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรามิกซ์เข้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for physical stability of color L\*

Tukey Pairwise Comparisons: temperature

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

temperature	N	Mean	SD	Grouping
4	3	3.80333	0.08144	A
25	3	3.68333	0.07002	A
45	3	3.45000	0.04	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

75. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ สี (ค่า a\*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรามิกซ์เข้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
color	2	0.02109	0.010544	1.50	0.296
Error	6	0.04213	0.007022		

Total 8 0.06322

76. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ สี (ค่า a\*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรามิกซ์เข้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for physical stability of color a\*

Tukey Pairwise Comparisons: temperature

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

temperature	N	Mean	SD	Grouping
45	3	1.45333	0.13316	A
25	3	1.36000	0.05291	A
4	3	1.34333	0.02309	A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

77. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ สี (ค่า b\*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรามิกซ์เข้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
color	2	0.03582	0.01791	0.84	0.478
Error	6	0.12840	0.02140		
Total	8	0.16422			

78. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าความคงตัวทางกายภาพ คือ สี (ค่า b\*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรามิกซ์เข้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for physical stability of color b\*

Tukey Pairwise Comparisons: temperature

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

temperature	N	Mean	SD	Grouping
4	3	3.53333	0.24826	A
25	3	3.40667	0.03055	A

45      3    3.39333   0.04041      A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

79. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละความคงตัวของกายภาพ คือ พีเอช ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถึงเข้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
temperature	2	0.264800	0.132400	233.65	0.000
Error	6	0.003400	0.000567		
Total	8	0.268200			

80. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละความคงตัวของกายภาพ คือ พีเอช ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถึงเข้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for stability

Tukey Pairwise Comparisons: physical stability of % pH

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

temperature	N	Mean	SD	Grouping
4	3	5.99333	0	A
25	3	5.79333	0.25487	B
45	3	5.57333	0.58596	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

81. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละความคงตัวของกายภาพ คือ ความหนืด ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถึงเข้าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
temperature	2	40076	20038	14.10	0.005
Error	6	8525	1421		

Total 8 48601

82. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละความคงตัวของกายภาพ คือ ความหนืด ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for physical stability Viscosity

Tukey Pairwise Comparisons: % viscosity

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

temperature	N	Mean	SD	Grouping
4	3	2970.20	0	A
25	3	2933.75	0.96407	A
45	3	2813.98	0.26472	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

83. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละความคงตัวของกายภาพ คือ สี (ค่า L\*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
temperature	2	133.899	66.949	44.47	0.000
Error	6	9.033	1.506		
Total	8	142.932			

84. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละความคงตัวของกายภาพ คือ สี (ค่า L\*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for physical stability viscosity

Tukey Pairwise Comparisons: % color L\*

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

temperature	N	Mean	SD	Grouping
-------------	---	------	----	----------

4	3	100.000	0	A
25	3	96.845	1.84674	B
45	3	90.710	1.05170	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

85. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละความคงตัวของกายภาพ คือ สี (ค่า a\*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
temperature	2	116.9	58.43	1.54	0.288
Error	6	227.6	37.93		
Total	8	344.4			

86. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละความคงตัวของกายภาพ คือ สี (ค่า a\*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for physical stability Viscosity

Tukey Pairwise Comparisons: % color a\*

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

temperature	N	Mean	SD	Grouping
45	3	108.189	9.91314	A
25	3	101.241	3.93908	A
4	3	100.000	0	A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

87. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าร้อยละความคงตัวของกายภาพ คือ สี (ค่า b\*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
--------	----	--------	--------	---------	---------

temperature	2	28.693	14.3467	20.94	0.002
Error	6	4.112	0.6853		
Total	8	32.805			

88. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละความคงตัวของกายภาพ คือ สี (ค่า b\*) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และ 45 องศาเซลเซียส จากเซรั่มถั่งเช่าหิมะที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for physical stability Viscosity

Tukey Pairwise Comparisons: % color b\*

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

temperature	N	Mean	SD	Grouping
4	3	100.000	0	A
25	3	96.415	1.14380	B
45	3	96.038	0.86463	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

89. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของสี ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเซรั่มถั่งเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรั่มที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	20.48	20.4800	23.80	0.000
Error	198	170.40	0.8606		
Total	199	190.88			

90. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสสีของเซรั่มถั่งเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรั่มที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for color from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: serum formula 1 and 2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
2	100	4.16	0.81302	A

1 100 3.52 1.02966 B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

91. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกลิ่น ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	74.42	74.4200	81.77	0.000
Error	198	180.20	0.9101		
Total	199	254.62			

92. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสกลิ่นของเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for odor from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: serum formula 1 and 2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
2	100	4.24	0.83023	A
1	100	3.02	1.06344	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

93. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความชุ่มชื้น ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	8.405	8.4050	10.25	0.002
Error	198	162.390	0.8202		
Total	199	170.795			

94. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสความชุ่มชื้นของเซรัมถึงเข้าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for moisture from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: Moisture

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
1	100	4.06	0.83870	A
2	100	3.65	0.96791	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

95. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเนื้อสัมผัส ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเซรัมถึงเข้าหิมะ โดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	14.05	14.0450	17.72	0.000
Error	198	156.95	0.7927		
Total	199	171.00			

96. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสเนื้อสัมผัสของเซรัมถึงเข้าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for Texture from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: serum formula 1 and 2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
1	100	4.02	0.84063	A
2	100	3.49	0.93738	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

97. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนืด ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเซรัมถึงเข้าหิมะ โดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า

## Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	23.12	23.1200	24.98	0.000
Error	198	183.26	0.9256		
Total	199	206.38			

98. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสความหนืดของเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for Viscosity from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: serum formula 1 and 2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
1	100	3.93	0.96666	A
2	100	3.25	0.95742	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

99. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการซึมซาบเข้าสู่ผิว ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า

## Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	36.13	36.1250	37.30	0.000
Error	198	191.75	0.9684		
Total	199	227.88			

100. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสการซึมซาบเข้าสู่ผิวของเซรัมถึงเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for Absorption from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: serum formula 1 and 2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
1	100	4.10	0.88191	A
2	100	3.25	1.07661	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

101. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความชอบโดยรวม ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเซรัมถั่งเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	4.805	4.8050	7.01	0.009
Error	198	135.790	0.6858		
Total	199	140.595			

102. ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสความชอบโดยรวมของเซรัมถั่งเช่าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรัมที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าทางสถิติโดยใช้วิธีของ Tukey ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Comparisons for liking from formula 1 and 2

Tukey Pairwise Comparisons: serum formula 1 and 2

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

serum	N	Mean	SD	Grouping
1	100	3.95	0.79613	A
2	100	3.64	0.85893	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

# ภาคผนวก จ

## มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

หน้า ๙

เล่ม ๑๒๙ ตอนพิเศษ ๑๘๘ ง

ราชกิจจานุเบกษา

๑๔ ธันวาคม ๒๕๕๕

### ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม

ฉบับที่ ๔๔๓๐ (พ.ศ. ๒๕๕๕)

ออกตามความในพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

พ.ศ. ๒๕๑๑

เรื่อง ยกเลิกมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

เครื่องสำอาง : ครีมและโลชั่นทาผิว

และกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

ผลิตภัณฑ์ทาบำรุงผิว

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เครื่องสำอาง : ครีมและโลชั่นทาผิว มาตรฐานเลขที่ มอก. 478 - 2526

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๑๕ แห่งพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พ.ศ. ๒๕๑๑ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงอุตสาหกรรมออกประกาศยกเลิกประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ ๓๓๑ (พ.ศ. ๒๕๒๖) ออกตามความในพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พ.ศ. ๒๕๑๑ เรื่อง กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เครื่องสำอาง : ครีมและโลชั่นทาผิว ลงวันที่ ๕ ตุลาคม ๒๕๒๖ และออกประกาศกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ผลิตภัณฑ์ทาบำรุงผิว มาตรฐานเลขที่ มอก. 478 - 2555 ขึ้นใหม่ ดังมีรายการละเอียดต่อท้ายประกาศนี้

ทั้งนี้ ให้มีผลตั้งแต่วันที่ประกาศในราชกิจจานุเบกษา เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๑ ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๕๕

หม่อมราชวงศ์พงษ์สวัสดิ์ สวัสดิวัตน์

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงอุตสาหกรรม

มอก. 478-2555

## มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ผลิตภัณฑ์ทาบำรุงผิว

### 1. ขอบข่าย

- 1.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้ครอบคลุมเฉพาะผลิตภัณฑ์ทาบำรุงผิวที่อยู่ในรูปครีม โลชัน น้ำมัน เจล และ โฟม
- 1.2 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้ไม่ครอบคลุมผลิตภัณฑ์ที่ใช้ได้วงแขน และผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด

### 2. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้ให้เป็นไปตาม มอก. 152 และดังต่อไปนี้

- 2.1 ผลิตภัณฑ์ทาบำรุงผิว (skin care product) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ใช้สำหรับทาผิวกายหรือผิวหน้า เพื่อบำรุงผิวให้อ่อนนุ่มและชุ่มชื้นขึ้น

### 3. ประเภท

- 3.1 ผลิตภัณฑ์ทาบำรุงผิวมี 2 ประเภท คือ
  - 3.1.1 เป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous)
  - 3.1.2 ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogeneous)

### 4. ส่วนประกอบ

- 4.1 ส่วนประกอบที่สำคัญ ได้แก่ สารบำรุงผิว และอาจมีสารอื่นด้วยก็ได้ ทั้งนี้ต้องเป็นไปตามกฎหมายที่เกี่ยวข้อง

### 5. คุณลักษณะที่ต้องการ

- 5.1 การระคายเคืองต่อผิวหนัง  
ดัชนีการระคายเคืองต่อผิวหนังต้องไม่เกิน 1  
การทดสอบให้ปฏิบัติตามข้อ 9.2
- 5.2 คุณลักษณะทางจุลชีววิทยา
  - 5.2.1 จำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์และราที่เจริญโดยใช้อากาศ (aerobic plate count)  
ต้องไม่เกิน 1 000 โคโลนีต่อกรัมหรือโคโลนีต่อลูกบาศก์เซนติเมตร  
การทดสอบให้ปฏิบัติตาม มอก. 152 ข้อ 8.3

## มอก. 478-2555

5.2.2 ต้องไม่พบจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ดังต่อไปนี้

- (1) *ซูโดโมนาส แอรูจิโนซา (Pseudomonas aeruginosa)*
- (2) *สตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส (Staphylococcus aureus)*
- (3) *แคนดิดา อัลบิแคนส์ (Candida albicans)*
- (4) *คลอสทริเดียม (Clostridium spp.)* (เฉพาะเครื่องสำอางผสมสมุนไพร)

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม มอก. 152 ข้อ 8.4

5.3 เสถียรภาพ (stability)

เมื่อทดสอบตามข้อ 9.3 แล้ว ผลิตภัณฑ์ทำบำรุงผิวต้องไม่แยกตัว สีและกลิ่นต้องไม่ต่างจากตัวอย่างสำหรับเปรียบเทียบ ความเป็นกรด-ด่าง และความหนืดต้องไม่ต่างจากตัวอย่างสำหรับเปรียบเทียบ  $\pm$  ร้อยละ 10

5.4 คุณลักษณะเฉพาะ

5.4.1 ลักษณะทั่วไป

5.4.1.1 ประเภทเป็นเนื้อเดียวกัน ต้องไม่แยกชั้นหรือตกตะกอน หรือต้องมีลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์นั้น ปราศจากสิ่งแปลกปลอม และเมื่อทาบนผิวต้องกระจายตัวได้ง่าย เนียนอยู่กับผิว เช็ดออกได้ง่ายเมื่อต้องการ

5.4.1.2 ประเภทไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ต้องแยกชั้น แต่ไม่มีการตกตะกอน หรือต้องมีลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์นั้น ปราศจากสิ่งแปลกปลอม และเมื่อทาบนผิวต้องกระจายตัวได้ง่าย เนียนอยู่กับผิว เช็ดออกได้ง่ายเมื่อต้องการ

การทดสอบให้ทำ โดยการตรวจพินิจ

5.4.2 คุณลักษณะทางเคมี

ให้เป็นไปตามตารางที่ 1

มอก. 478-2555

**ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางเคมี**  
(ข้อ 5.4.2)

รายการ ที่	คุณสมบัติ	เกณฑ์ที่กำหนด	วิธีทดสอบ ตาม
1	ความเป็นกรด-ด่าง (ยกเว้นผลิตภัณฑ์ทำบรรจุผิวที่เป็นน้ำมัน)	3.5 ถึง 7.5	ข้อ 9.4
2	ต้องไม่มีส่วนผสมของสารต่อไปนี้ แต่หากมีปนเปื้อน <ul style="list-style-type: none"> <li>- ตะกั่ว mg/kg ไม่เกิน 20</li> <li>- สารหนู (คำนวณเป็น As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) mg/kg ไม่เกิน 5</li> <li>- ปรอท mg/kg ไม่เกิน 1</li> <li>- แบเรียมที่ละลายได้ (soluble barium) ในรูปของแบเรียมคลอไรด์ % (m/m) ไม่เกิน 0.05</li> </ul>		ข้อ 9.5

### 6. การบรรจุ

- 6.1 ให้บรรจุผลิตภัณฑ์ทำบรรจุผิวในภาชนะบรรจุที่ถูกสุญญากาศ ไม่ทำปฏิกิริยากับผลิตภัณฑ์ทำบรรจุผิว และไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้
- การทดสอบให้แสดงเอกสารวิธีทดสอบความเข้ากันได้ระหว่างผลิตภัณฑ์ทำบรรจุผิวกับภาชนะบรรจุ (compatibility test) รวมทั้งผลการทดสอบ
- 6.2 ปริมาณสุทธิของผลิตภัณฑ์ทำบรรจุผิวในแต่ละภาชนะบรรจุต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก
- การทดสอบให้ปฏิบัติตาม มอก. 152 ข้อ 8.5

### 7. เครื่องหมายและฉลาก

- 7.1 ที่ภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์ทำบรรจุผิวทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน
- (1) ชื่อและชื่อทางการค้าของผลิตภัณฑ์ทำบรรจุผิวซึ่งต้องมีขนาดใหญ่กว่าข้อความอื่น
  - (2) ประเภท
  - (3) ปริมาณสุทธิ เป็นกรัม หรือมิลลิลิตร
  - (4) ชื่อของสารทุกชนิดที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิต ต้องเป็นชื่อตามตำราที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนด และต้องเรียงลำดับตามปริมาณของสารจากมากไปหาน้อย
  - (5) เดือน ปี หรือ ปี เดือน ที่ทำ
  - (6) เดือน ปี หรือ ปี เดือน ที่หมดอายุ กรณีที่มีอายุการใช้งานน้อยกว่า 30 เดือน หรือข้อความอื่นที่มีความหมายในทำนองเดียวกัน

มอก. 478-2555

- (7) รหัสรุ่นที่ทำ
  - (8) วิธีใช้
  - (9) ชื่อผู้ทำหรือโรงงานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน
  - (10) ค่าเดือนเกี่ยวกับอันตรายที่อาจเกิดขึ้นต่ออนามัยของบุคคล (ถ้ามี)
- ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศด้วย ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

### 8. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

- 8.1 การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน ให้เป็นไปตามภาคผนวก ก.

### 9. การทดสอบ

- 9.1 ให้ใช้วิธีทดสอบที่กำหนด ในมาตรฐานนี้หรือวิธีอื่นใดที่ให้ผลเทียบเท่า กรณีที่มีข้อโต้แย้ง ให้ใช้วิธีที่กำหนดในมาตรฐานนี้
- 9.2 การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนัง
- 9.2.1 การเตรียมตัวอย่าง  
ให้ใช้ตัวอย่างโดยตรง 0.5 g (กรัม) หรือ 0.5 ml (มิลลิลิตร) ต่อพื้นที่การทดสอบ 1 แห่ง
- 9.2.2 วิธีทดสอบ ให้ปฏิบัติตาม มอก. 152 ข้อ 8.2
- 9.3 การทดสอบเสถียรภาพ
- 9.3.1 เครื่องมือ
- 9.3.1.1 ตู้เย็นที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 4 °C (องศาเซลเซียส) ถึง 8 °C
- 9.3.1.2 ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ (45 ± 2) °C
- 9.3.1.3 เครื่องวัดความชื้น
- 9.3.2 วิธีทดสอบ
- 9.3.2.1 นำผลิตภัณฑ์ทำปฏิกิริยาตัวอย่าง 3 ชุดตัวอย่าง ไปเก็บไว้ในสภาวะแวดล้อมต่างๆ นาน 12 สัปดาห์ ดังนี้
- (1) ชุดตัวอย่างที่ 1 เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C ถึง 8 °C เป็นตัวอย่างสำหรับเปรียบเทียบ
  - (2) ชุดตัวอย่างที่ 2 เก็บในตู้อบที่อุณหภูมิ (45 ± 2) °C
  - (3) ชุดตัวอย่างที่ 3 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ในสภาวะแวดล้อมทั่วไป
- 9.3.2.2 เมื่อครบ 12 สัปดาห์ นำตัวอย่างออกจากตู้ปรับอุณหภูมิ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนแน่ใจว่าตัวอย่างมีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้อง
- 9.3.2.3 ตรวจสอบนิมิตการแยกตัว เปรียบเทียบสีและกลิ่นกับตัวอย่างสำหรับเปรียบเทียบ
- 9.3.2.4 วัดความเป็นกรด-ด่าง ตามข้อ 9.4 แล้วเปรียบเทียบกับตัวอย่างสำหรับเปรียบเทียบ

มอก. 478-2555

- 9.3.2.5 วัดความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืดที่อุณหภูมิ  $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$  แล้วเปรียบเทียบกับตัวอย่างสำหรับเปรียบเทียบ
- 9.4 การทดสอบความเป็นกรด-ด่าง
- 9.4.1 เครื่องมือ  
เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter)
- 9.4.2 วิธีทดสอบ  
เตรียมสารละลายตัวอย่างร้อยละ 10 โดยมวล แล้ววัดความเป็นกรด-ด่างที่อุณหภูมิ  $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$
- 9.5 การทดสอบตะกั่ว สารหนู ปะรอก และแบเรียมที่ละลายได้  
ให้ทดสอบโดยใช้วิธีอะตอมิกแอบซอร์ปชันสเปกโทรเมทรี

มอก. 478-2555

## ภาคผนวก ก.

## การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

(ข้อ 8.1)

- ก.1 รุ่น ในที่นี้ หมายถึง ผลิตภัณฑ์ทำบรรจุผิวประเภทเดียวกัน ที่ทำขึ้นแต่ละครั้ง ในวงจรการผลิต (cycle of manufacture) เดียวกัน มีคุณลักษณะและคุณภาพที่สม่ำเสมอจนตลอด
- ก.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้ หรืออาจใช้แผนการชักตัวอย่างอื่นที่เทียบเท่ากันทางวิชาการกับแผนที่กำหนดไว้
- ก.2.1 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไป การบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก
- ก.2.1.1 ให้ชักตัวอย่าง โดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน ตามจำนวนที่กำหนดในตารางที่ ก.1
- ก.2.1.2 จำนวนตัวอย่างที่ไม่เป็นไปตามข้อ 5.4.1 ข้อ 6. และข้อ 7. ในแต่ละรายการ ต้องไม่เกินเลขจำนวนที่ยอมรับที่กำหนดในตารางที่ ก.1 จึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์ทำบรรจุรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

## ตารางที่ ก.1 แผนการชักตัวอย่างสำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไป การบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก

(ข้อ ก.2.1.1)

ขนาดรุ่น หน่วยภาชนะบรรจุ	ขนาดตัวอย่าง หน่วยภาชนะบรรจุ	เลขจำนวนที่ยอมรับ
ไม่เกิน 1 200	8	1
1 201 ถึง 3 200	13	2
3 201 ถึง 35 000	20	3
เกิน 35 000	32	5

- ก.2.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนัง และคุณลักษณะทางจุลชีววิทยา
- ก.2.2.1 ให้ชักตัวอย่าง โดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันตาม มอก. 152
- ก.2.2.2 ตัวอย่างทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 5.1 และข้อ 5.2 ทุกรายการ จึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์ทำบรรจุรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด
- ก.2.3 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบเสถียรภาพ
- ก.2.3.1 ให้ชักตัวอย่าง โดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันจำนวน 3 ชุดตัวอย่าง และปริมาตรรวมในแต่ละชุด ไม่น้อยกว่า 400 ml
- ก.2.3.2 ตัวอย่างทุกชุดต้องเป็นไปตามข้อ 5.3 ทุกรายการ จึงจะถือว่าผลิตภัณฑ์ทำบรรจุรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

# ภาคผนวก ฉ

## แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

### 1. แบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์ ตำรับเซรัมสูตรพื้นฐาน

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบตัวอย่างตามหมายเลขรหัส 46 และ 12 ตามลำดับ แล้วให้คะแนนความชอบของสี กลิ่น เนื้อสัมผัส การซึมซาบเข้าสู่ผิว ความชุ่มชื้น 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

รหัส ตัวอย่าง	คุณลักษณะที่ใช้ประเมิน					
	สี	กลิ่น	ความชุ่มชื้น	เนื้อสัมผัส	การซึมซาบเข้าสู่ผิว	ความชอบโดยรวม
46						
12						

ข้อเสนอแนะอื่น ๆ

.....

.....

.....

.....

## 2. แบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัสเซรัมถั่งเช่าหิมะเปรียบเทียบกับเซรัมทางการค้า  
คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

**คำชี้แจง :** แบบประเมินนี้เป็นการเก็บข้อมูลความคิดเห็น และทางประสาทสัมผัสของนักศึกษา  
อาจารย์ และบุคคลทั่วไปที่มีต่อเซรัมถั่งเช่าหิมะเพื่อเปรียบเทียบกับเซรัมในท้องตลาด เพื่อนำความ  
คิดเห็นและความพึงพอใจที่ได้ไปสรุปและตัดสินใจในปรับปรุงเซรัมถั่งเช่าหิมะ

**ตอนที่ 1** ปัจจัยส่วนบุคคลของผู้บริโภค

**คำชี้แจง** โปรดทำเครื่องหมาย ✓ ลงใน ( ) หรือเติมข้อความลงในช่องว่างให้ตรงกับสภาพความเป็นจริงของท่าน

### 1. เพศ

( ) 1. เพศชาย

( ) 2. เพศหญิง

### 2. อายุ

( ) 1. 18 - 22 ปี

( ) 2. 23 - 30 ปี

( ) 3. 31 - 50 ปี

( ) 4. 50 ปีขึ้นไป

### 3. อาชีพ

( ) 1. นักเรียน/นักศึกษา

( ) 2. รับราชการ/รัฐวิสาหกิจ

( ) 3. พนักงานบริษัทเอกชน

( ) 4. ธุรกิจส่วนตัว

( ) 5. ลูกจ้างรายวัน

( ) 6. อื่น ๆ โปรดระบุ.....

**ตอนที่ 2** ระดับความพึงพอใจ

คะแนนระดับ 1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด

คะแนนระดับ 2 คือ ไม่ชอบเล็กน้อย

คะแนนระดับ 3 คือ เฉยๆ

คะแนนระดับ 4 คือ ชอบเล็กน้อย

คะแนนระดับ 5 คือ ชอบมากที่สุด

คุณภาพ	คะแนนเต็ม	รหัสตัวอย่าง	
		812	046
สี	5		
กลิ่น	5		
เนื้อสัมผัส	5		
ความหนืด	5		
การซึมซาบเข้าสู่ผิว	5		
ความชุ่มชื้น	5		
ความชอบโดยรวม	5		

ข้อเสนอแนะอื่น ๆ

.....

.....

.....

.....

# ภาคผนวก ข

## รายงานผลการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา



FM-QC-002-04

หมายเลขทะเบียน 1256/57

### รายงานผลการทดสอบ

ผู้ส่งตัวอย่าง : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ที่อยู่ : 3 หมู่ 2 ถนนฉลองกรุง แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง  
กรุงเทพมหานคร 10520  
ที่อยู่อีเมลล์/โทรศัพท์ : 087-692-0905  
ชื่อตัวอย่าง : SNOW FACE (Face Serum)  
ครั้งที่ 1 วันที่ผลิต 11/2/63  
รายละเอียดตัวอย่าง : ขวดหลอดหยดสีขาว

ใบรายงานเลขที่ : CL0026/2020  
หมายเลขตัวอย่าง : CL0026/2020  
วันที่รับตัวอย่าง : 13/02/2020  
วันที่เริ่มทดสอบ : 13/02/2020  
วันที่ออกรายงาน : 18/02/2020  
จำนวนตัวอย่าง : 1 (pcs) Pack Size 2 x 30 กรัม

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	วิธีทดสอบ
Total Aerobic Microbial Count	<10	CFU/g	USP 41 chapter <61>
Total Combined Yeast And Mold Count	<10	CFU/g	USP 41 chapter <61>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ไม่พบ	ต่อ 1 กรัม	USP 41 chapter <62>
<i>Staphylococcus aureus</i>	ไม่พบ	ต่อ 1 กรัม	USP 41 chapter <62>
<i>Candida albicans</i>	ไม่พบ	ต่อ 1 กรัม	USP 41 chapter <62>

หมายเหตุ: " รายการทดสอบที่ห้องปฏิบัติการไม่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน จะแสดงเครื่องหมาย \* "

ผู้วิเคราะห์ : .....  
( พ.ส. วนิดา วรรณรัตน์ )  
เจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา

ผู้อนุมัติ : .....  
(... พ.ส. วนิดา วรรณรัตน์ )



รายงานนี้รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการทดสอบเท่านั้น

ห้ามนำรายงานนี้ไปคัดลอกหรือทำสำเนาเฉพาะบางส่วนโดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการทดสอบ

บริษัท ปฐวิน จำกัด 55/1 หมู่ 6 ต.บางคย อ.สามโคก จ.ปทุมธานี 12160 โทรศัพท์ : 66-29773261-4 มือถือ 66-819751595 โทรสาร : 66-25931637



FM-QC-095-01

รายงานผลการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ผู้ส่งตัวอย่าง : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
 ที่อยู่ : 3 หมู่ 2 ถนนฉลองกรุง แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง  
 กรุงเทพมหานคร 10520

ใบรายงานเลขที่ : CT002/2020  
 หมายเลขตัวอย่าง : T6302-0042

วันที่รับตัวอย่าง : 12/02/2020  
 วันที่เริ่มทดสอบ : 14/02/2020  
 วันที่ออกรายงาน : 24/02/2020

ชื่อผู้อีเมลล์/โทรศัพท์ : 087-692-0905

รายละเอียดตัวอย่าง : SNOW FACE (Face Serum)  
 ครั้งที่ 1 วันที่ผลิต 11/2/63

ลักษณะตัวอย่าง : ขวดหลอดหยดสีขาว

จำนวนตัวอย่าง : 1 (pcs) Pack Size 1x30 g.

รายการทดสอบ	วิธีทดสอบ	ผลการทดสอบ
<i>Clostridium spp.</i>	In-house Method No. M – 12	ไม่พบ

หมายเหตุ: .....

ผู้วิเคราะห์ : .....  
 ( น.ส. กนิดา จรชนรัมย์ )  
 เจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา

ผู้อนุมัติ



รายงานนี้รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการทดสอบเท่านั้น

ห้ามนำรายงานนี้ไปคัดลอกหรือทำสำเนาเฉพาะบางส่วนโดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการทดสอบ

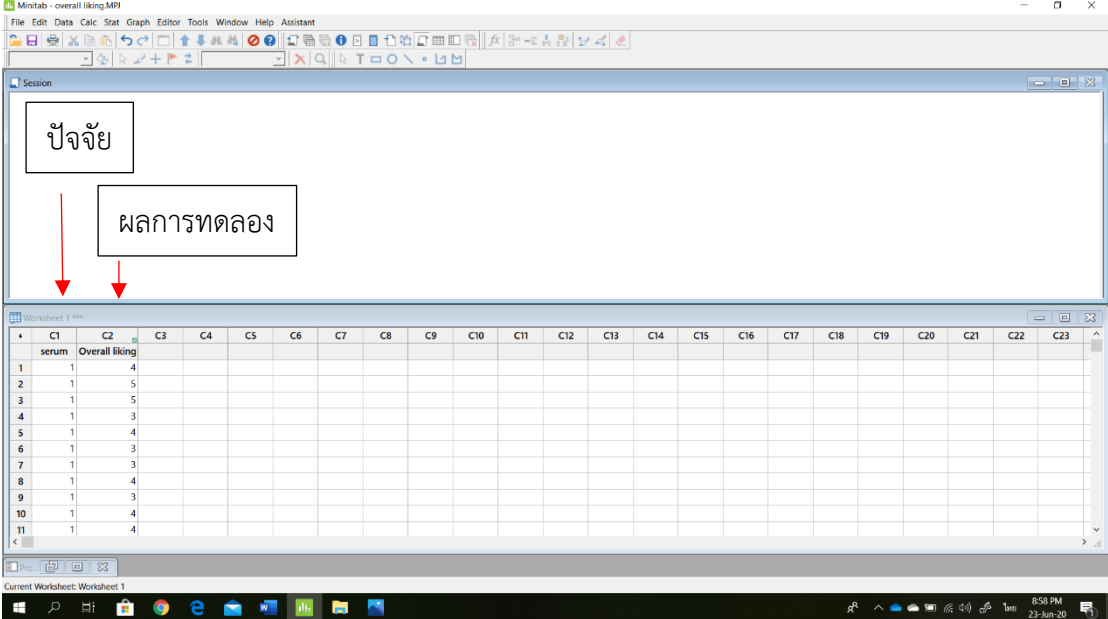
บริษัท ปฐวิ้น จำกัด 55/1 หมู่ 6 ค.บางแคช อ.สามโคก จ.ปทุมธานี 12160 โทรศัพท์ : 66-29773261-4 มือถือ 66-819751595 โทรสาร : 66-259931637

## ภาคผนวก ข

### การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติด้วยโปรแกรม Minitab

#### 1. เปิดโปรแกรม Minitab เวอร์ชัน 18

กรอกข้อมูลได้แก่ปัจจัย เช่น ความพึงพอใจความชอบโดยรวมของเซรั่มถึงเข้าหิมะโดยเปรียบเทียบกับเซรั่มที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า และกรอกผลการทดลอง (ผลการทดลองของแต่ละปัจจัยต้องมีข้อมูลอย่างน้อย 3 ซ้ำ)

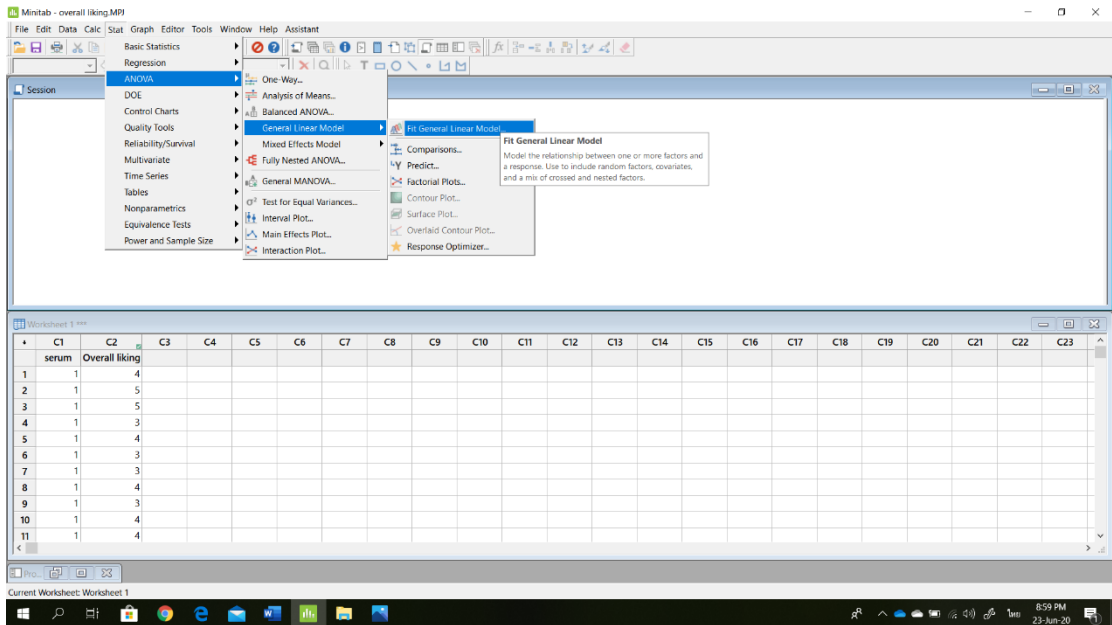


The screenshot shows the Minitab interface with a worksheet containing the following data:

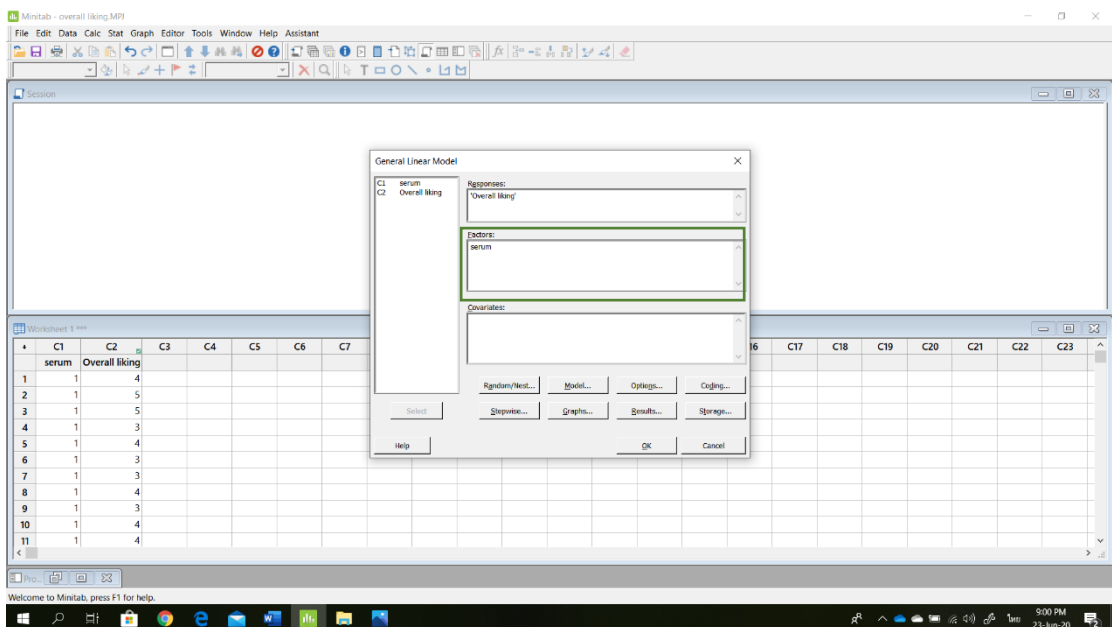
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20	C21	C22	C23
1	serum	Overall liking																					
2	1	4																					
3	1	5																					
4	1	3																					
5	1	4																					
6	1	3																					
7	1	3																					
8	1	4																					
9	1	3																					
10	1	4																					
11	1	4																					

#### 2. การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ครั้งที่ 1)

จากนั้นทำการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนโดยกดที่ปุ่ม Stat ทำการเลือกที่ ANOVA จากนั้นกดที่ General Linear Model และกดที่ Fit General Linear Model



จากนั้นกดเลือกข้อมูลที่จะทำการวิเคราะห์ โดยปัจจัยของผลการทดลองจะใส่ในช่องของ Factors และผลของการทดลองทุกอย่างจะใส่ลงในช่อง Responses ดังภาพ



จากนั้นกด OK แล้วจะได้ตารางข้อมูลวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนครั้งแรก จากนั้นจะทำการกดวิเคราะห์ค่าการแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

The screenshot shows the Minitab interface with a General Linear Model analysis. The 'Session' window displays the following information:

**General Linear Model: Overall liking versus serum**

**Method**  
Factor coding (-1, 0, +1)

**Factor information**

Factor	Type	Levels	Values
serum	Fixed	2	1, 2

**Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	4.835	4.8350	7.01	0.009
Error	198	135.790	0.6858		
Total	199	140.595			

The 'Worksheet: 1.mpx' window shows the following data:

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20	C21	C22	C23
	serum	Overall liking																					
1	1	4																					
2	1	5																					
3	1	5																					
4	1	3																					
5	1	4																					
6	1	3																					
7	1	3																					
8	1	4																					
9	1	3																					
10	1	4																					
11	1	4																					

### 3. การวิเคราะห์ค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

กดปุ่ม Stat ทำการเลือก ANOVA จากนั้น กดที่ General Linear Model และกดที่ Comparisons เมื่อกดเข้าไปทำการเลือกปัจจัยและผลการทดลองที่ต้องการวิเคราะห์ผลการทดลอง (CRD)

The screenshot shows the Minitab interface with the 'Stat' menu open, navigating to 'ANOVA' > 'General Linear Model' > 'Comparisons'. The 'Session' window displays the following information:

**General Linear Model**

**Method**  
Factor coding (-1)

**Factor information**

Factor	Type	Levels	Values
serum	Fixed	2	1, 2

**Analysis of Variance**

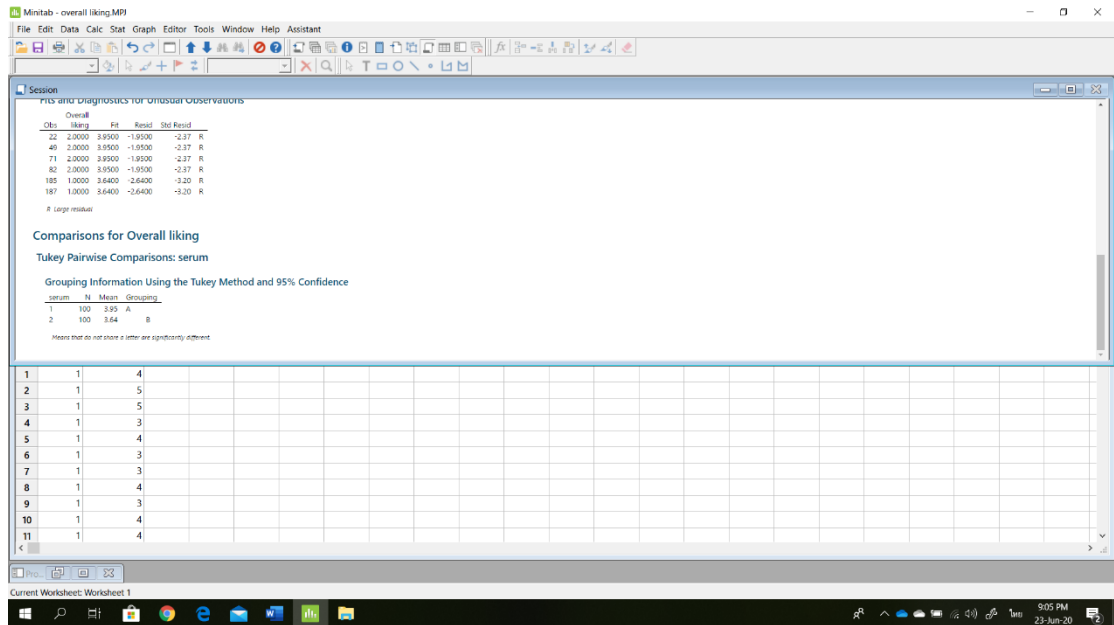
Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
serum	1	4.835	4.8350	7.01	0.009
Error	198	135.790	0.6858		
Total	199	140.595			

**Model Summary**

	R-sq	R-sq(Adj)	R-sq(Pred)
	0.028185	3.42%	2.93%
			1.46%

The 'Worksheet: 1.mpx' window shows the same data as in the previous screenshot.

เมื่อทำการตก OK จะได้ผลการวิเคราะห์มาดังภาพ ซึ่งจะแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ตัวอักษร A-Z หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )





คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ขอมอบเกียรติบัตรฉบับนี้ให้ไว้เพื่อรับรองว่าผลงานวิจัยเรื่อง

Culture and measurement of bioactive compound of *Isaria tenuipes*

โดย

Jiraporn Pimthong, Pimsumon Jiamboonsri, Marisa Jatupornpipat, Aree Rittiboon

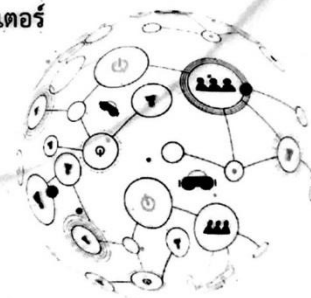
ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิและได้นำเสนอผลงานวิจัยแบบโปสเตอร์

ในการประชุมวิชาการระดับชาติ "วิทยาศาสตร์วิจัย" ครั้งที่ 11

ระหว่างวันที่ 23 - 24 พฤษภาคม พ.ศ. 2562

(รองศาสตราจารย์ ดร.ปริมินทร์ ชัยวิสุทธิทางกูร)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ



## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาว จิราภรณ์ พิมพ์ทอง

วัน เดือน ปีเกิด 17 มกราคม พ.ศ.2538

ที่อยู่ปัจจุบัน 19/9 หมู่ 8 ตำบลคลองห้า อำเภอลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

ประวัติการศึกษา (ปีที่จบ 2559) วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขา เทคโนโลยีชีวภาพ เกรตเฉลี่ย 2.76

(ชื่อสถานศึกษา) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

(ปีที่จบ 2562) วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา เทคโนโลยีชีวภาพ เกรตเฉลี่ย 3.78

(ชื่อสถานศึกษา) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ผลงานทางวิชาการ 1.การเผยแพร่ตีพิมพ์ในรายงานสืบเนื่องจากการประชุม วิชาการ (Proceedings)

เรื่อง “การเพาะเลี้ยงและการวัดปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่าหิมะ

(*isaria tenuipes*)”ในงาน “วิทยาศาสตร์วิจัย” ครั้งที่ 11 (The 11th National

Science Research Conference) ระหว่างวันที่ 23 – 24 พฤษภาคม 2562 ณ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ