

โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟาง : นวัตกรรมจากพืชสู่ความงามที่ยั่งยืน

Hydrolyzed Straw Mushroom Protein : Plant-Based Innovation to Sustainable Beauty

สุรีย์รัตน์ รักเหลือ¹ วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร¹ ปาริชาติ อยู่แพทย์¹ อกนิษฐ์ พิศาลวัชรินทร์¹
Sureerat Rukluarh¹ Wimonwan Wattanawichit¹ Parichart Yoopaet¹ Akanit Pisalwatcharin¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟาง มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มมูลค่าเห็ดฟาง โดยเฉพาะเห็ดฟางดอกบานที่ใกล้หมดอายุการวางจำหน่ายและราคาตกต่ำ ด้วยการผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซต สำหรับเป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยศึกษาการใช้เอนไซม์อัลคาเลส ในการย่อยเห็ดฟางที่ระยะเวลาการย่อย 2 3 4 และ 5 ชั่วโมง เพื่อคัดเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีคุณภาพเหมาะสมที่สุดในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว จากการทดลองพบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยเห็ดฟางดอกบานที่ 4 ชั่วโมง มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดและสูงกว่าวิตามินซีถึง 30.36% ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งยังพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยเห็ดฟางดอกตูม 3 ชั่วโมง มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่เป็นสาเหตุของความหมองคล้ำสูงที่สุด หรือมีค่า IC_{50} 1.72 ± 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากทั้งสองกรรมวิธียังมีการตกตะกอนต่ำ โกลซีน ซีรีน โพลีน อะลานีน และอาร์จินีนในปริมาณสูง จึงเลือกนำโปรตีนไฮโดรไลเซตจากการย่อยเห็ดฟางดอกบานที่ 4 ชั่วโมง และดอกตูมที่ 3 ชั่วโมง มาผสมใช้ร่วมกันในอัตราส่วน 1:1 เพื่อให้ได้คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ไปประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมในโลชั่นบำรุงผิวที่ความเข้มข้น 0.5% โดยผลิตภัณฑ์โลชั่นที่ได้เป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร โดยมี pH 6.47 ไม่พบสารปนเปื้อนได้แก่ สารหนูปรอท และแบคทีเรียที่ละลายได้ ไม่พบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* และ *Clostridium* spp. ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผ่านการทดสอบความคงตัวที่สภาวะเร่งแบบเย็นสลับร้อนที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 45 ± 2 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 4 รอบ ได้การยอมรับผลิตภัณฑ์ 80% จากผู้ทดสอบทั้งผู้ฝึกฝนจำนวน 25 คน และได้คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสด้าน สี ความหนืด การซึมสู่ผิว ความเหนียวเหนอะหนะ กลิ่นหลังทา ความชุ่มชื้นหลังทา 5.24 5.16 5.08 5.16 3.92 และ 5.72 คะแนนจาก 7 คะแนน โดยผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตมีต้นทุนการผลิต 53.69 บาทต่อโลชั่น 250 กรัม

คำสำคัญ: สารสกัดจากเห็ดฟาง โปรตีนจากเห็ดฟาง โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟาง โลชั่นบำรุงผิว

¹ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ตลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

¹ Postharvest and Processing Research and Development Division Ladyaw Chatuchak Bangkok 10900

ABSTRACT

Straw mushrooms, especially those that are in full bloom stage, have a short shelf life with unattractive appearance for consumers resulting in low prices. The aim of this study was to increase the value of straw mushroom by processing a hydrolyzed protein as a key substrate in cosmetic products. The straw mushrooms at stages of bud and bloom, were digested by alcalase enzyme for either 2, 3, 4 or 5 hours to find out the high quality hydrolyzed protein. It was found that the four-hour hydrolyzed protein of the bloom straw mushrooms had the highest antioxidant activity which was higher than vitamin C 30.36% comparing to standardized vitamin C at the concentration of 50 mg/L. In addition, the three-hour hydrolyzed protein of the mushroom buds had the highest inhibition of tyrosinase, which causes melanogenesis IC_{50} of 1.72 ± 0.31 mg/ml. Both obtained protein contained high amounts of glutamic acid, glycine, serine, proline, alanine and arginine which were reported as the active ingredients. Therefore, the four-hour hydrolyzed protein of the bloom mushrooms and the three-hour hydrolyzed protein of the mushroom buds were combined at the ratio 1:1 for the high activity of anti-oxidation and tyrosinase inhibition. Then, the mixture was applied in the body lotion at 0.5% concentration. The body lotion conform of TIS 15-2561 standard regarding herbal skin care products with pH 6.47. The heavy metal contaminants viz. arsenic, mercury, soluble barium and pathogens viz. *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* and *Clostridium* spp. were not detected. Moreover, the straw mushroom hydrolyzed protein body lotion has been passed the accelerated storage test of cold and hot cycles of $4 \pm 2^\circ\text{C}$, 24 hours and $45 \pm 2^\circ\text{C}$, 24 hours for 4 cycles. The final product was accepted by 80% from 25 semi-trained testers. The sensory score in terms of color, viscosity, skin absorbed, stickiness, skin odor and skin moisture after application were 5.24, 5.16, 5.08, 5.16, 3.92 and 5.72 of 7 points, respectively. The cost of hydrolyzed straw mushroom protein body lotion was 53.69 baht per 250 grams of lotion.

Keywords: straw mushroom extract, straw mushroom protein, hydrolyzed straw mushroom, body lotion

คำนำ

เห็ดฟางมีปริมาณการผลิตสูงคิดเป็น 75% ของผลผลิตเห็ดทั้งหมดในประเทศไทย (ดำเกิง, 2547) มีอายุการเก็บรักษาสั้น โดยเฉพาะเห็ดฟางดอกบาน ซึ่งไม่นิยมบริโภค และเน่าเสียได้ง่าย ทำให้เกิดความสูญเสียของผลผลิตทางการเกษตร ดังนั้นการแปรรูปเห็ดฟางจึงเป็นการเพิ่มการใช้ประโยชน์ให้มีความหลากหลายมากขึ้น เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่ม เนื่องจากเห็ดฟางมีโปรตีนสูง ประกอบด้วยโปรตีนถึง 32-33 % ในเห็ดฟางแห้ง 1 กรัม มีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย ทั้งยังประกอบด้วยกรดอะมิโนที่สำคัญต่อผิว ได้แก่ กรดกลูตามิก

(glutamic acid) 43.58 มิลลิกรัม ไกลซีน (glycine) 9.65 มิลลิกรัม โพลีน (proline) 10.59 มิลลิกรัม อะลานีน (alanine) 14.78 มิลลิกรัม และซีรีน (serine) 10.99 มิลลิกรัม (รัฐพล, 2538) ซึ่งกรดกลูตามิก และไกลซีน เป็นกรดอะมิโนที่สำคัญในการสร้างกลูตาไธโอนซึ่งทำหน้าที่ในการปกป้องผิวไม่ให้ถูกทำลายโดยสารอนุมูลอิสระ กรดกลูตามิก ไกลซีน โพลีน อะลานีน ซีรีน เป็นกรดอะมิโนที่สำคัญในการสร้างคอลลาเจน ช่วยคงความอ่อนเยาว์ และคงโครงสร้างผิว รักษาความชุ่มชื้น และเสริมสร้างความยืดหยุ่นแก่ผิว โดยกรดกลูตามิกที่มีขนาดโมเลกุลเล็กมากจะมีความสามารถอุ้มน้ำได้ดี จึงรักษาความชุ่มชื้นไว้ที่ผิว นอกจากนี้กรดอะมิโนไกลซีน ยังช่วยในการปกป้องเนื้อเยื่อ และเพิ่มอัตราการฟื้นฟูผิว ส่วนอาร์จินีน (arginine) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการรักษาบาดแผลให้หายเร็ว (Alyssa, 2021) ในการประยุกต์ใช้โปรตีนในเครื่องสำอางซึ่งมีน้ำเป็นส่วนประกอบหลัก จำเป็นต้องทำให้โปรตีนอยู่ในรูปแบบที่ละลายน้ำได้ง่าย และมีอนุภาคขนาดเล็ก จึงต้องใช้เอนไซม์โปรตีเอสในการย่อย ด้วยกระบวนการไฮโดรไลซิส โปรตีนขนาดใหญ่จะถูกตัดพันธะเป็นเปปไทด์และกรดอะมิโนที่ละลายน้ำได้ (Gianfranco, 2008) และเรียกโปรตีนที่ถูกย่อยนี้ว่าโปรตีนไฮโดรไลเซต ซึ่ง Chuan *et al.* (2009) ได้ศึกษาชนิดของเอนไซม์โปรตีเอสในการย่อยสลายโปรตีนจากป่าน เพื่อผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต พบว่า เอนไซม์อัลคาเลส และ เปปซิน ทำให้ปริมาณเปปไทด์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ตามมาด้วยเอนไซม์โปรตีเมก และนิวเทรล สุดท้าย คือ เฟเวอไซม์และทริปซิน เอนไซม์อัลคาเลสจึงเป็นเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต

ผิวหนังมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ ในระหว่างวันจะมีการสูญเสียโปรตีนเนื่องจากการเสื่อมสภาพของเซลล์ รังสียูวี และมลภาวะ สามารถทดแทนโปรตีนที่สูญเสียไปด้วยการใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของโปรตีนไฮโดรไลเซต โดยโปรตีนไฮโดรไลเซตมีขนาดเล็กมาก จึงยึดเกาะกับน้ำและผิวหน้าได้โดยตรง และสามารถซึมแซมส่วนที่สึกหรอได้ เนื่องจากโปรตีนมีคุณสมบัติในการจับตัวกับน้ำ และจับตัวกับผิวหนังทำให้ผิวมีความชุ่มชื้น เรียบเนียน เพิ่มความยืดหยุ่น ยกกระชับผิว ซึ่งปริมาณของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางเพื่อการดูแลผิว อยู่ที่ 0.1-2% จากงานวิจัยของอภิญาและคณะ (2561) ได้สกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีแอลคาไลน์ ทรีตเมนต์ พบว่า มะเขือเทศมีปริมาณกรดกลูตามิกและไลโคปีนสูง ซึ่งมีคุณสมบัติเหมาะสมในการนำไปใช้ในเครื่องสำอางได้ นอกจากนี้สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร (2564) ได้ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากรำข้าวหอมมะลิและนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว เซรั่มบำรุงผิวหน้า เป็นต้น ผลจากการใช้ผลิตภัณฑ์ พบว่า ผิวชุ่มชื้น โดยเครื่องสำอางดังกล่าวช่วยกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนให้ผิวเต่งตึงและเรียบเนียน มีฤทธิ์ช่วยยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และทำให้ผิวดูกระจ่างใส อ่อนเยาว์ และลดเลือนริ้วรอย Oludemi *et al.* (2016) ได้กล่าวว่าเห็ดมีคุณค่าทางโภชนาการ สรรพคุณทางยา และฤทธิ์ทางชีวภาพ ทั้งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต่อต้านวัย ต้านจุลชีพ และสารต้านการอักเสบ แก่ไขว้รอย เนื่องจากสารสกัดจากเห็ดมีกรดฟีนอลิก เห็ดจึงเหมาะสมในการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางจากธรรมชาติ ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ผิวหนังรวมถึงความสามารถป้องกันรังสียูวีได้ และกรดอะมิโนที่ได้จากเห็ดฟางมีคุณสมบัติที่ดีปลอดภัยต่อผู้บริโภค งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาเทคโนโลยีในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟาง เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง คือ โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟาง

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมเห็ดฟางดอกตูม และเห็ดฟางดอกบานอบแห้งบดละเอียด

เตรียมเห็ดฟางทั้ง 2 ระยะ ได้แก่ ระยะดอกตูม และระยะดอกบาน ล้างทำความสะอาด ลดขนาดให้มีชิ้นเล็ก อบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 10 ชั่วโมง ด้วยตู้อบแห้งแบบลมร้อน (BWS Trading, Model BWS-USC-1) จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (Toshiba, Model BL T100GS) วิเคราะห์ ดังนี้

- องค์ประกอบทางเคมีตามมาตรฐานของ ศูนย์ห้องปฏิบัติการและวิจัยทางการแพทย์และการเกษตร แห่งเอเชีย ได้แก่ โปรตีน (AOAC (2016) 981.10) ไขมัน (AOAC (2016) 922.06) เถ้า (AOAC (2016) 940.26)
- ค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ด้วยเครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ Novasina, Model TH 200
- ค่าสี ด้วยเครื่องวัดสี Konica Minolta Chroma meter, Model CR-400
- ปริมาณความชื้น ด้วยวิธี AOAC (2016) 964.22
- ผลผลิตที่ได้
- ปริมาณกรดอะมิโน 15 ชนิด ได้แก่ กรดแอสปาทิก (aspartic acid) ทรีโอนีน (threonine) ซีรีน กรดกลูตามิก โพรลีน ไกลซีน อะลานีน วาลีน (valine) ไอโซลิวซีน (isoleucine) ลิวซีน (leucine) ไลซีน (tyrosine) ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ฮิสทีดีน (histidine) ไลซีน (lysine) และ อาร์จินีน ด้วยวิธีตามมาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์บริการ (AOAC (2019) 978.04 และ 994.12)

2. การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางด้วยการย่อยโดยเอนไซม์อัลคาเลส

คัดเลือกกรรมวิธีการย่อยที่ได้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสดีที่สุดในยุคที่ใช้ในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตสกัดจากเห็ดฟางวางแผนการทดลองแบบ randomized complete block 8 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 เห็ดฟางในระยะดอกตูม สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมง (Bu2)
- กรรมวิธีที่ 2 เห็ดฟางในระยะดอกตูม สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง (Bu3)
- กรรมวิธีที่ 3 เห็ดฟางในระยะดอกตูม สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง (Bu4)
- กรรมวิธีที่ 4 เห็ดฟางในระยะดอกตูม สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 5 ชั่วโมง (Bu5)
- กรรมวิธีที่ 5 เห็ดฟางในระยะดอกบาน สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมง (Bl2)
- กรรมวิธีที่ 6 เห็ดฟางในระยะดอกบาน สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง (Bl3)
- กรรมวิธีที่ 7 เห็ดฟางในระยะดอกบาน สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง (Bl4)
- กรรมวิธีที่ 8 เห็ดฟางในระยะดอกบาน สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 5 ชั่วโมง (Bl5)

นำเห็ดฟางบดละเอียดใส่น้ำกลั่นที่ความเข้มข้นของเห็ดฟาง 5 % โดยน้ำหนัก ให้ความร้อน สารละลายที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ปรับ pH เป็น 8.0 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.0 mol/L กวนผสมตลอดเวลา เติมเอนไซม์อัลคาเลสในอัตราส่วนเอนไซม์ต่อวัตถุดิบเห็ดฟางแห้ง คือ 1:20 ควนผสมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และ pH 8.0 ตลอดการย่อย กวนผสมตลอดระยะเวลาตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้

ต้มสารละลายในอ่างน้ำอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส 15 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ ทำให้อุณหภูมิเย็นลงจนมีอุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองสารละลายด้วยตะแกรงเพื่อนำกากเห็ดฟางออกและนำสารละลายไปเหวี่ยงทิ้งตะกอนด้วยเครื่องเหวี่ยงความเร็วสูง (GEAs Westfalia, Model KA 05-00-105) นำส่วน

ที่เป็นของเหลวใส่ไปทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (LSI, Model Lyodryer LT) ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างใส่ถุงอลูมิเนียมฟอยล์แล้วปิดสนิท เก็บที่อุณหภูมิ -25 องศาเซลเซียส บันทึกข้อมูล

- ปริมาณความชื้น ค่าปริมาณน้ำอิสระ ค่าสี ผลผลิตที่ได้
- ปริมาณกรดอะมิโน 15 ชนิด
- ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อเทียบกับวิตามินซีด้วยวิธี DPPH ตามวิธีของ

Aloglu and Oner. (2011)

- ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง โดยใช้ Kojic acid เป็นตัวเปรียบเทียบกับวิธี Dopachome method ตามมาตรฐานของศูนย์วิจัยสุขภาพและความงามมาโนเซ่ โดยดัดแปลงจาก Chang (2009) และ Manosoi *et al.* (2011)

3. การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว

นำโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวในปริมาณ 0.5% ของเนื้อโลชั่นทั้งหมด โดยวางแผนการทดลองแบบ randomized complete block 9 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ ดังนี้

Table 1 Components of skin lotions with different methods

Phase	Chemicals	Method								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	Carbopol 940	-	-	-	0.05	0.10	0.10	0.15	0.10	0.15
	Distilled water	-	-	-	49.45	49.40	49.40	49.35	49.40	49.35
	Triethanolamine	-	-	-	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
B	Distilled water	67.88	72.38	72.38	25.42	25.42	27.67	27.68	28.67	28.68
	Disodium EDTA	0.10	0.10	0.10	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
	Glycerine	3.00	1.50	1.50	1.50	1.50	0.75	0.75	0.75	0.75
C	Viscolam at 100P	2.00	2.00	1.50	2.00	2.00	2.00	2.00	0.75	0.75
D	Cetearly alcohol	2.00	2.00	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	E-wax	3.00	1.00	1.00	1.50	1.50	0.50	0.50	0.50	0.50
	PEG 40	2.00	1.00	1.50	1.00	1.00	0.50	0.50	0.75	0.75
	Virgin olive oil	3.00	3.00	3.00	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
	Isopropyl Myristate	3.00	3.00	3.00	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
	Vitamin E Acetate	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
E	Niacinamide	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
	Pantothenic acid	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	Sodium Ascorbyl Phosphate	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	Hydrolyzed mushroom	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
	Distilled water	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
	Glycolic acid	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03	0.02	0.03	0.02
F	Essential oil	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
	Fragrant	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
	Microcare (PHC)	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Total		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

3.1. ขั้นตอนการเตรียมโลชั่น โดยการเตรียมแยกเป็นเฟสต่างๆ ดังนี้

- 1) การเตรียมเฟสน้ำ โดยละลายสารต่างๆ ใน เฟส B เข้าด้วยกัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- 2) การสร้างเนื้อครีม โดยค่อยๆ เติมเฟส B ลงใน เฟส C กวนผสมให้เป็นเนื้อครีมด้วยหัวปั่นเอนกประสงค์ จะได้เนื้อครีมเฟสน้ำ
- 3) การเตรียมเฟสน้ำมัน โดยหลอมองค์ประกอบเฟส D บนหม้ออังไอน้ำ ทำให้ร้อนจนถึงอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนของแข็งละลายหมด พักไว้ จนอุณหภูมิลงจนเหลือ 40 องศาเซลเซียส
- 4) การทำให้เกิดอิมัลชัน เติมเฟส D ลงในของผสมเฟส B+C จากข้อ 2) ปั่นจนเกิดเนื้อโลชั่น
- 5) สำหรับกรรมวิธีที่ 4 – 9 ใช้เจลผสมในโลชั่นเพื่อให้มีเนื้อสัมผัสบางเบา โดยค่อยๆ ละลาย Carbopol 940 ในน้ำ ปั่นด้วยหัวปั่นเอนกประสงค์จน Carbopol 940 พองตัว เติม triethanolamine กวนผสมให้เข้ากัน จะเกิดเนื้อเจลใสเฟส A เติมเจลลงใน เฟส B+C+D ดัง 4) แล้วปั่นผสมให้เข้ากัน
- 6) ละลายโปรตีนไฮโดรไลเซท และสารในเฟส E ทั้งหมดให้เข้ากันบนหม้ออังไอน้ำ จนถึงอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- 7) ใส่สารสำคัญจากเฟส E ที่ได้จาก 6) ลงในโลชั่นทุกกรรมวิธี ปั่นผสมให้เข้ากัน
- 8) ใส่สารในเฟส F ลงในโลชั่นจาก 7) จากนั้นปั่นผสมให้เข้ากัน
- 9) วิเคราะห์ค่าสี และ pH ของผลิตภัณฑ์

3.2. การทดสอบความคงตัวแบบเร่ง (accelerated storage test)

เตรียมผลิตภัณฑ์โลชั่นใส่ขวดพลาสติกใสขนาด 100 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วปรับอุณหภูมิเป็น 45 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สลับกันจนครบ 4 ครั้ง ตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบลักษณะผลิตภัณฑ์ บันทึกผล สี การแยกชั้น pH คัดเลือกตัวอย่างที่ไม่แยกชั้นและมีสภาพปกติ

3.3. ทดสอบความชอบด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคในโลชั่นบำรุงผิวที่คัดเลือกจาก 3.2 โดยใช้ผู้ทดสอบทั้งฝึกฝนจำนวน 25 คน ด้วยวิธี 7 point hedonic scale โดยทดสอบ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ความเหนียวเหนอะหนะ การซึมสู่ผิว และการยอมรับผลิตภัณฑ์ ด้วยการทาที่แขน

3.4. วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวตาม มอก. เอส 15-2561 ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร ประกอบด้วย ค่าสี pH ความคงตัวในสภาวะแบบเร่งร้อนสลับเย็น สารปนเปื้อน ได้แก่ ตะกั่ว ปรอท สารหนู และแบคทีเรียที่ละลายได้ ตามมาตรฐานของศูนย์วิจัยสุขภาพและความงามมาโนเช่ (Julshamn et al.,2013) จุลินทรีย์ปนเปื้อน ได้แก่ total aerobic plate count, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* และ *Clostridium* spp. ตามมาตรฐานของศูนย์วิจัยสุขภาพและความงามมาโนเช่ โดยดัดแปลงวิธีของ Erin (2012) และ Ann et al. (2010)

4. คำนวณต้นทุนการผลิต

คำนวณต้นทุนการผลิตด้านวัตถุดิบของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง และผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเตรียมเห็ดฟางดอกตูมและเห็ดฟางดอกบานอบแห้งบดละเอียด

เห็ดฟางดอกตูมอบแห้งมีน้ำหนัก 9.48% ของน้ำหนักสด มีคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 52.94% โปรตีน 32.87% ไขมันทั้งหมด 2.83% เกลือ 9.34% ปริมาณความชื้น 2.02% a_w 0.14 และมีค่าสีดังนี้ ค่าความสว่าง (L^*) 49.11 ค่าความเป็นสีเขียว-แดง (a^*) 3.48 และค่าความเป็นสีน้ำเงิน-เหลือง (b^*) 5.62 ตัวอย่างจึงมีลักษณะค่อนข้างสีเหลืองผสมน้ำตาล

เห็ดฟางดอกบานอบแห้งมีน้ำหนัก 7.98% ของน้ำหนักสด มีคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 52.85% โปรตีน 32.05% ไขมันทั้งหมด 3.73% เกลือ 9.12% และปริมาณความชื้น 2.25% a_w มีค่า 0.14 และมีค่าสี L^* a^* และ b^* 42.27 4.30 และ 5.78 ตามลำดับ ตัวอย่างจึงมีลักษณะค่อนข้างสีเหลืองผสมน้ำตาล

2. การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางด้วยการย่อยโดยเอนไซม์อัลคาเลส

การย่อยเห็ดฟางอบแห้งบดละเอียด ด้วยเอนไซม์อัลคาเลสที่ระยะเวลาต่างกัน พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางที่ได้มีความชื้นสูงขึ้น เมื่อเทียบกับเห็ดฟางอบแห้งบดละเอียด เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเซทถูกตัดพันธะ ทำให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงจึงสามารถดูดความชื้นกลับได้เร็ว (เกียรติศักดิ์และบุรฉัตร, 2557) โดยมีความชื้นอยู่ในช่วง 4.29 - 6.73% ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ปริมาณน้ำอิสระมีค่าที่ 0.16-0.17 ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นการย่อยเห็ดฟางดอกตูมที่ระยะเวลาการย่อย 2 ชั่วโมง มีค่าปริมาณน้ำอิสระน้อยที่สุด เนื่องเป็นการย่อยระยะที่น้อยที่สุดจึงยังคงมีโปรตีนสายยาวอยู่ โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีค่าสีเปลี่ยนแปลงไปจากเห็ดฟางดอกตูมอบแห้งบดละเอียด โดยมีค่าความสว่าง ต่ำลงอยู่ในช่วง 34.24-37.98 มีค่าความเป็นสีแดงสูงขึ้นอยู่ในช่วง 4.54-5.52 มีค่าความเป็นสีเหลืองต่ำลงอยู่ในช่วง -1.58 ถึง 1.98 ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทมีสีคล้ำลง (Table 2 และ Figure 1) นอกจากนี้ความชื้นยังส่งผลต่อค่าสี เมื่อความชื้นสูงขึ้นส่งผลให้ค่าความสว่างลดลง เนื่องจากปฏิกิริยาการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลชนิดไม่มีเอนไซม์ (non enzymetic reaction) หรือ ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการย่อย เนื่องจากเห็ดฟางยังคงมีน้ำตาลรีดิวซ์อยู่จึงถูกออกซิไดซ์เป็นสารมีสี โดยมีน้ำ ความร้อน เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Qinchun *et al.*, 2016)

Table 2 Characteristics of hydrolyzed straw mushroom protein (bud and bloom) with different methods

methods	% Yield	% Yield	% Moisture	a_w	Color		
	wet basis	dry basis			L^*	a^*	b^*
Bu2	55.50 ab	51.21 ab	4.29	0.12 a	37.98 a	5.06	0.67 ab
Bu3	61.25 ab	54.95 ab	6.30	0.16 b	35.84 ab	4.54	0.01 ab
Bu4	69.75 a	63.78 a	5.97	0.16 b	36.80 ab	5.52	-0.77 b
Bu5	57.25 ab	51.30 ab	5.95	0.17 b	36.61 ab	5.24	-1.22 b
Bl2	50.25 b	45.13 b	5.12	0.16 b	36.23 ab	4.82	0.08 ab
Bl3	62.00 ab	55.89 ab	6.11	0.17 b	34.24 b	4.84	1.98 a
Bl4	54.00 ab	47.27 ab	6.73	0.17 b	35.27 ab	4.77	-0.83 b
Bl5	64.15 ab	57.91 ab	6.24	0.17 b	35.98 ab	5.44	-1.58 b

Means within the same column followed by different letter are significantly different ($P < 0.05$)



Figure 1 Hydrolyzed mushroom protein with different methods

ผลผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้ในแต่ละสภาวะมีค่า 45.13-63.78 % โดยน้ำหนัก ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าสี ปริมาณความชื้น แตกต่างกันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น กรดอะมิโนส่วนใหญ่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการย่อยนานขึ้น (Table 3) ได้แก่ กรดแอสปาร์ติก ทรีโอนีน ซีรีน กรดกลูตามิก โพลีน ไกลซีน อะลานีน วาลีน ไอโซลิวซีน ฮิสทีดีน ส่วน ลิวซีน ไทโรซีน ฟีนอลอะลานีน ไลซีน อาร์จินีน มีแนวโน้มคงที่ สำหรับกรดอะมิโนที่เพิ่มขึ้นสูงมากคือ กรดกลูตามิก โดยเฉพาะในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางดอกบาน ระยะเวลาในการย่อยจึงมีผลต่อปริมาณกรดอะมิโนที่ได้ สอดคล้องกับ ประพนอม (2556) ที่รายงานการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดด้วยเอนไซม์โบรมิเลนจากเห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม และเห็ดหอม พบว่า มีกรดกลูตามิกมากที่สุด 2048.2 932.5 และ 514.5 มิลลิกรัม/100กรัม ตามลำดับ

จากสมบัติของปริมาณกรดอะมิโนที่มีความสำคัญกับผิวหนัง ได้แก่ กรดกลูตามิก ไกลซีน โพลีน อะลานีน ซีรีน และอาร์จินีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญในการสร้างกลูตาไธโอน คอลลาเจน คงความชุ่มชื้นไว้ที่ผิว การปกป้องเนื้อเยื่อ และเพิ่มอัตราฟื้นฟูผิว จากการทดลองพบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตจากกรรมวิธีที่ 2 6 และ 7 คือ การย่อยเห็ดฟางดอกตูมที่ 3 ชั่วโมง เห็ดฟางดอกบาน ที่ 3 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ มีปริมาณกรดอะมิโนสำคัญสำหรับผิวหนังสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ

Table 3 Amino acid Profiles of Hydrolyzed Straw protein with different methods

Amino acid profile unit (mg/100g)	Dried straw Bud	Dried straw Bloom	Methods							
			Bu2	Bu3	Bu4	Bu5	BL2	BL3	BL4	BL5
Aspartic acid	2,480	2,302	2,653	2,741	2,486	2,676	2,678	2,702	2,677	2,604
Threonine	1,380	1,288	1,510	1,546	1,481	1,462	1,480	1,487	1,548	1,465
Serine	1,413	1,272	1,486	1,509	1,405	1,465	1,457	1,473	1,458	1,473
Glutamic acid	4,775	4,756	5,193	5,460	4,937	5,097	5,710	5,728	5,594	5,583
Proline	1,118	1,041	1,247	1,387	1,242	1,344	1,294	1,313	1,314	1,197
Glycine	1,204	1,140	1,301	1,301	1,242	1,276	1,278	1,311	1,345	1,311
Alanine	1,993	1,861	2,168	2,209	2,156	2,153	2,225	2,213	2,300	2,199
Valine	1,484	1,373	1,752	1,834	1,755	1,828	1,875	1,847	1,801	2,006

Amino acid profile unit (mg/100g)	Dried straw Bud	Dried straw Bloom	Methods							
			Bu2	Bu3	Bu4	Bu5	BL2	BL3	BL4	BL5
Isoleucine	1,191	1,161	1,483	1,433	1,404	1,460	1,421	1,424	1,433	1,423
Leucine	1,472	1,261	1,360	1,351	1,172	1,299	1,600	1,659	1,590	1,639
Tyrosine	751	729	731	769	629	778	737	805	771	813
Phenylalanine	1,104	990	919	917	730	914	929	963	905	898
Hidtidine	454	446	491	580	503	523	581	575	547	467
Lysine	1,607	1,339	1,608	1,642	1,348	1,505	1,401	1,486	1,497	1,475
Arginine	1,421	1,210	1,241	1,288	1,186	1,194	1,177	1,088	1,155	1,035
Total protein	32,870	32,050	32,950	32,900	32,500	32,000	32,900	32,600	31,900	32,400

เมื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ เห็นว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางทุกกรรมวิธี มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซี ซึ่งกรรมวิธีที่ 7 คือ การย่อยเห็ดฟางดอกบานที่ 4 ชั่วโมง มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดคือ 32.20% ซึ่งสูงกว่าวิตามินซีถึง 30.36% แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสต่ำ ($IC_{50} = 144.15$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในขณะที่กรรมวิธีที่ 2 คือโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางดอกตูมย่อยที่ 3 ชั่วโมง มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่ $IC_{50} = 1.72$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Table 4) เมื่อวิเคราะห์ทั้ง 3 ปัจจัยร่วมกัน คือ ปริมาณกรดอะมิโนที่สำคัญต่อผิวหนัง ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จึงคัดเลือกโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางดอกบานย่อยที่ 4 ชั่วโมงที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง และเสริมฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางดอกตูมย่อยที่ 3 ชั่วโมง ในอัตราส่วน 1:1 เพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางที่มีประสิทธิภาพในการดูแลผิวพรรณครบถ้วน

3. การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว

การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว พบว่า กรรมวิธีที่ 1-3 มี pH อยู่ในค่ามาตรฐานอุตสาหกรรมเอส 15-2561 ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร (3.5 ถึง 7.5) (สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม, 2561) คือ มีค่าอยู่ในช่วง 6.42-6.70 ส่วนกรรมวิธี 4 – 9 มีค่า pH มากกว่า 7.5 เนื่องจากมีส่วนประกอบของสารก่อเจล triethanolamine ซึ่งเป็นด่าง หากพิจารณาปรับกรดให้มี pH ต่ำกว่า 7.5 จะทำให้เนื้อโลชั่นมีการเปลี่ยนแปลงและเกิดการแยกชั้นได้ สำหรับค่าความสว่างของโลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง มีความแตกต่างกันเล็กน้อย โดยโลชั่นกรรมวิธีที่ 1-3 ไม่มีส่วนผสมของเจลจึงมีความสว่างมากกว่า ค่าความเป็นสีแดง และค่าความเป็นสีเหลือง มีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย ยกเว้นตัวอย่างที่ 4-5 มีค่าความเป็นสีเหลืองต่ำสุด (Table 5)

Table 4 Bioactivity of 50 ppm hydrolyzed straw mushroom protein (DPPH for inhibition of anti-oxidation compared with Vitamin C and Dopachome for tyrosinase inhibition)

Methods	Anti-oxidation (%DPPH Inhibition)	Tyrosinase inhibition IC ₅₀ (mg/mL)
Dried Straw Bud Mushroom	17.92 d	0.70 ± 0.04 b
Dried Straw Bloom Mushroom	25.30 c	1.71 ± 0.27 c
Bu2	29.10 bc	2.64 ± 0.71 d
Bu3	27.41 c	1.72 ± 0.31 c
Bu4	28.57 bc	Not detected
Bu5	27.64 c	Not detected
Bl2	28.64 bc	Not detected
Bl3	29.76 b	Not detected
Bl4	32.20 a	144.15 ± 1.72 f
Bl5	32.00 a	102.72 ± 2.33 e
Vitamin C standard	24.70 c	-
Kojic acid standard	-	0.02 ± 0.00 a

Means within the same column followed by different letter are significantly different (P<0.05).

Table 5 Color and pH of the hydrolyzed straw mushroom protein body lotion

Method	Color			pH
	L*	a*	b*	
1	50.93 a	1.20 ab	5.19 b	6.47 a
2	51.62 a	1.16 ab	5.58 ab	6.42 a
3	51.33 a	1.27 ab	5.49 ab	6.70 b
4	48.87 b	1.31 b	4.13 c	8.58 d
5	48.74 b	1.07 a	4.49 c	8.31 c
6	49.14 b	1.21 ab	5.20 b	8.35 c
7	49.14 b	1.21 b	5.20 a	8.35 cd
8	48.95 b	1.15 ab	5.40 ab	8.39 cd
9	48.47 b	1.34 b	5.96 a	8.33 c

Means within the same column followed by different letter are significantly different (P<0.05).

เมื่อทำการทดสอบความคงตัวของโลชั่นที่สภาวะเร่งด้วยอุณหภูมิเย็นสลับร้อน พบว่า กรรมวิธีที่ 1 ผ่านการทดสอบที่สภาวะเร่ง โดยยังมีความคงตัวเป็นเนื้อเดียวกัน ส่วนกรรมวิธีอื่น ๆ ผลิตภัณฑ์โลชั่น

มีการแยกชั้น (Figure 2) จึงคัดเลือกกรรมวิธีที่ 1 นำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพก่อนและหลังการทดสอบด้วยสภาวะเร่ง ซึ่งไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของโลชั่นสูตรดังกล่าว (Table 6) ดังนั้นจึงเลือกกรรมวิธีที่ 1 เพื่อทดสอบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสต่อไป

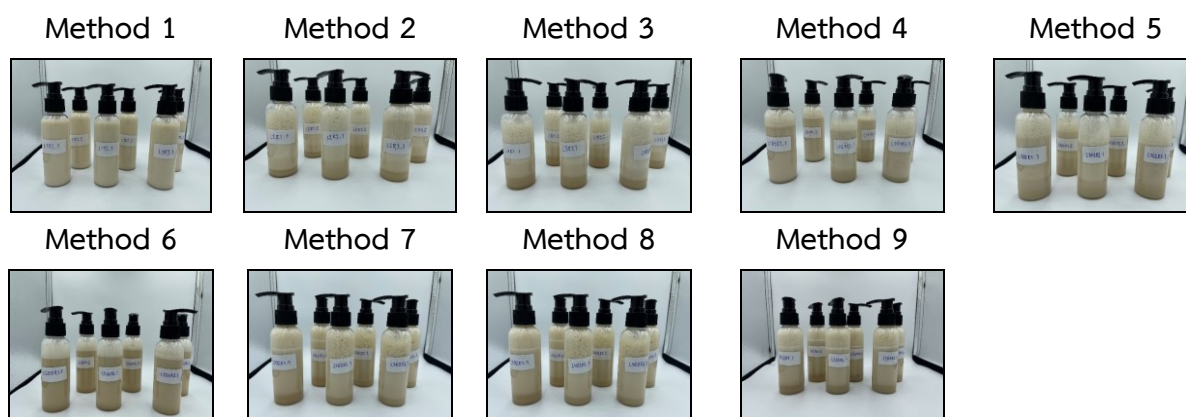


Figure 2 The 4 cycles accelerated storage test of hydrolyzed straw mushroom body lotions

Table 6 Characteristic of hydrolyzed straw mushroom protein before and after test with accelerated storage test

Methods	Color			pH
	L*	a*	b*	
Before Test	50.93 ns	1.20 ns	5.19 ns	6.47 ns
After Test	50.44 ns	1.51 ns	5.60 ns	6.48 ns

Analyzed by one-samples t-test

ผลการทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัส และการยอมรับของผู้บริโภคต่อโลชั่นเป็นดังนี้ ความชอบด้านสี 5.24 คะแนน ความหนืด 5.16 คะแนน การซึมสู่ผิว 5.08 คะแนน ความเหนียวเหนอะหนะ 5.16 คะแนน กลิ่นหลังทา 3.92 คะแนน ความชุ่มชื้นหลังทา 5.76 คะแนน และมีการยอมรับต่อผลิตภัณฑ์ที่ 80% จากจำนวนผู้ทดสอบทั้งหมด โดยไม่พบผู้แพ้หรือระคายเคือง (Figure 3)

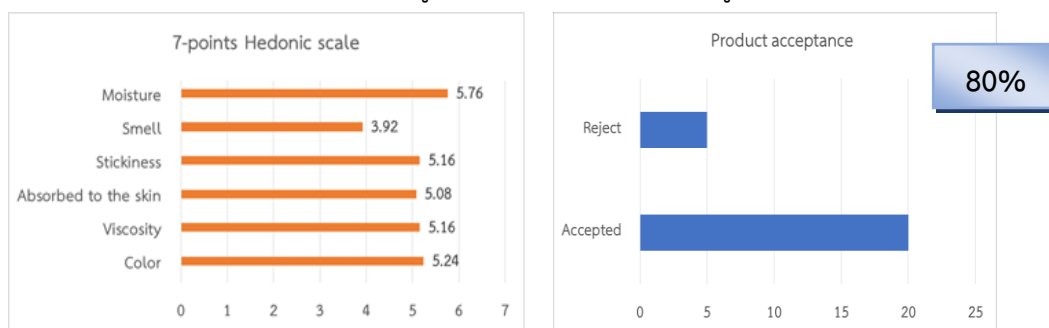


Figure 3 The result of 7-point hedonic scale test and the product acceptance

การทดสอบสารปนเปื้อนต้องห้ามตามมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส 15-2561 ตรวจพบตะกั่วในปริมาณน้อยมากและตรวจไม่พบปรอท สารหนูและแบเรียมที่ละลายได้ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐาน (Table 7)

Table 7 Heavy metal contaminant test of the hydrolyzed straw mushroom protein body lotion and Thai SMEs standard 15-2561.

Item	Thai SMEs standard 15-2561	Hydrolyzed straw mushroom protein body lotion
Lead (Pb)	20 mg/kg	0.13 mg/kg
Arsenic (As)	5 mg/kg	Not detected
Mercury (Hg)	1 mg/kg	Not detected
Soluble barium	0.05%	Not detected

วิเคราะห์จุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟาง ได้แก่ total aerobic plate count, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* และ *Clostridium* spp. พบจำนวนรวมของแบคทีเรียที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศในปริมาณ 300 CFU/g ซึ่งน้อยกว่าเกณฑ์กำหนด และตรวจไม่พบจุลินทรีย์ที่ก่อโรคชนิดอื่น (Table 8) ดังนั้นผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจึงผ่านมาตรฐานอุตสาหกรรมเอส 15-2561 ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร

Table 8 Microbial test of the hydrolyzed straw mushroom protein body lotion and Thai SMEs standard

Item	Thai SMEs standard 15-2561	Hydrolyzed straw mushroom protein body lotion
Total aerobic plate count	1,000 CFU/g	300 CFU/g
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Not detected	Not detected
<i>Staphylococcus aureus</i>	Not detected	Not detected
<i>Candida albicans</i>	Not detected	Not detected
<i>Clostridium</i> spp.	Not detected	Not detected

4. คำนวณต้นทุนการผลิต

โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางในผลิตภัณฑ์โลชั่น ขนาด 250 กรัม มีต้นทุนค่าวัตถุดิบ 3.16 บาท (Table 9) และผลิตภัณฑ์โลชั่นผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางปริมาณ 250 กรัม มีต้นทุนค่าวัตถุดิบ 53.69 บาท (Table 10)

Table 9 Cost of the hydrolyzed straw mushroom protein

Hydrolyzed straw mushroom proteins	Quantity (gram)	Finely ground mushroom (gram)	Fresh mushroom (gram)	Cost of fresh mushroom (baht)	Cost of enzyme (baht)	Cost of NaOH (baht)	Cost of distilled water (baht)	Total cost (baht)
Bud	1	1.63	17.19	1.55	0.0815	0.02	0.465	2.12
Bloom	1	1.85	23.18	2.08	0.0925	0.02	0.74	2.93
Mixing hydrolyzed straw mushroom proteins (baht/gram)								2.53

Table 10 Cost of the hydrolyzed straw mushroom protein body lotion

Chemical	Quantity (g)	Cost (baht)
Distilled water	187.20	3.18
Disodium EDTA	0.25	0.08
Glycerine	7.50	0.70
Viscolam at 100P	5.00	9.47
Cetearly alcohol	5.00	0.82
Emulsifying Wax	7.50	2.85
PEG-40 hydrogenated Castor oil	5.00	1.22
Extra virgin olive oil	7.50	2.60
Isopropyl Myristate	7.50	2.21
Vitamin E Acetate	0.50	1.15
Niacinamide	7.50	4.05
Pantothenic acid	2.50	3.75
Sodium Ascorbyl Phosphate	2.50	12.69
Hydrolyzed mushroom	1.25	3.16
Glycolic acid	0.05	0.08
Lavender Essential oil	0.63	2.26
Fragrant (Geranium)	0.63	1.38
Microcare (PHC)	2.00	2.04
Total Cost (Baht/250 g)	250.00	53.69

สรุปผลการทดลอง

ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางเพื่อใช้ในโลชั่น เริ่มจากการอบแห้งเห็ดฟางดอกตูม และดอกบานที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดละเอียดแล้วย่อยด้วยเอนไซม์ อัลคาเลส โดยได้คัดเลือกกระบวนการผลิต 2 กรรมวิธี คือ โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางดอกบานที่ ผ่านการย่อย 4 ชั่วโมง ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ 32.20% และเสริมฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์

ไทโรซิเนส จากโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางดอกตูมที่ผ่านการย่อย 3 ชั่วโมง ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้ง เอนไซม์ไทโรซิเนสสาเหตุของความหมองคล้ำสูงสุด คือ มีค่า IC_{50} ที่ 1.72 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ร่วมกันในอัตราส่วน 1:1 เพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางที่มีประสิทธิภาพในการดูแลผิวพรรณ ครบถ้วน ประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โลชั่นที่ความเข้มข้น 0.5% ได้ผลิตภัณฑ์โลชั่นที่ผ่านมาตรฐาน อุตสาหกรรมเอส 15-2561 ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร คือ มี pH 6.47 มีความคงตัวที่สภาวะเร่ง เย็นสลับร้อน ไม่พบ สารปนเปื้อนต้องห้าม และคุณภาพจุลินทรีย์เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด ได้รับการ ยอมรับผลิตภัณฑ์ที่ 80 % และได้คะแนนทางด้านประสาทสัมผัสด้านสี ความหนืด การซึมสู่ผิว ความ เหนียวเหนอะหนะ กลิ่นหลังทา ความชุ่มชื้นหลังทา 5.24 5.16 5.08 5.16 3.92 และ 5.72 จาก 7 คะแนน โดยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางซึ่งมีต้นทุนการผลิต 2.53 บาท/กรัม ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุง ผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตมีต้นทุนการผลิต 53.69 บาทต่อโลชั่น 250 กรัม จากการทดลองดังกล่าวจะ เห็นได้ว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง เป็นพืชที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อ เพิ่มความสวยงาม ทั้งเรื่องช่วยชะลอความแก่ชราของผิว คงความอ่อนเยาว์ ลดริ้วรอย ผิวหนังชุ่ม ชื่น เนียนกระชับ และลดการผลิตเม็ดสีเมลานิน ทำให้ผิวขาวใส ลดการเกิดฝ้า จุดด่างดำ เป็นวัตถุดิบชั้น ยอดในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่หลากหลายได้อย่างมีประสิทธิภาพ และช่วยเพิ่ม มูลค่าของเห็ดฟางดอกบานที่ใกล้หมดอายุในการวางจำหน่ายซึ่งมีราคาตกต่ำได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. จัดทำสื่อวิดีโอเรื่องการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดฟางและประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ โลชั่นบำรุงผิว เพื่อเตรียมถ่ายทอดให้ผู้ประกอบการบริษัท เบล เอ็นเอ็น บิลเลียน
2. ขอจดอนุสิทธิบัตร เลขรับที่ 2203002829
3. นำเสนอและตีพิมพ์ในหนังสือประมวลบทความในงานการประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยศรีปทุม ครั้งที่ 17 เรื่อง การวิจัยและนวัตกรรมสู่การพัฒนาที่ยั่งยืน วันที่ 27 ตุลาคม 2565 เวลา 08.30-16.30 น. ในรูปแบบออนไลน์ และ e-Proceedings หน้า 3182-3192.

เอกสารอ้างอิง

- เกียรติศักดิ์ ดวงมัลย์ และบุรฉัตร ศรีทองแท้. 2557. การดัดแปรสมบัติของโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โปรติเอสและการประยุกต์ใช้. *ว.วิทย์. มช.* 42(2): 274-288.
- ดำเกิง ป้องพาล. 2547. การผลิตเห็ด. เอกสารประกอบการเรียนการสอน วิชา พส 413. ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่. 287 หน้า.
- ประนอม สุขเกื้อ. 2556. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางโปรตีนไฮโดรไลเซตเพื่อสุขภาพจากเห็ด. รายงานการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ. 68 หน้า.
- รัฐพล ศรประเสริฐ. 2538. การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนละครดอะมีโนในเส้นใยและดอกเห็ด. *นิตยสารอาหาร.* 25(3): 178-184.

- สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. 2564. ต้นแบบผลิตภัณฑ์สารสกัดโปรตีนรำข้าวจากงานวิจัย. แหล่งที่มา: <https://kapi.ku.ac.th/kapioku/rice-protein-extract>. สืบค้น: 9 มกราคม 2564.
- สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม. 2561. มาตรฐานอุตสาหกรรมเอส ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร. กระทรวงอุตสาหกรรม. 11 หน้า.
- อภิษฐา แซ่เต็ง, ญัฐรา เลาหกุลจิตติ และ อรพิน เกิดชูชื่น. 2561. การสกัดกรดกลูตามิกจากมะเขือเทศ. *ว. วิทย. กษ.* 49(พิเศษ 2): 497-500.
- Aloglu, H.S and Z. Oner. 2011. Determination of antioxidant activity of bioactivepeptide fractions obtained from yogurt. *J. Dairy Sci.* 94 : 5305–5314.
- Alyssa, M. 2021. Why Mushroom Skincare Is The Biggest Beauty Trend Of 2020. แหล่งที่มา: <https://editorialist.com/beauty/mushroom-skincare/>. สืบค้น: 12 กรกฎาคม 2021.
- Ann, D., J. Claus, and N. Dorthe. 2010. *A Guidance Document on Microbiological Control of Cosmetic Products*. Kobenhavn: Danish Environmental Protection Agency. 43 p.
- AOAC. 2016. Association of Official Chemists, Official Method of analysis. 20th ed. Washington, D.C.
- AOAC. 2019. Association of Official Chemists, Official Methods of analysis, 21st ed. Washington, D.C.
- Chang, T.S. 2009. An update review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Science*. 10(6): 2440-2475.
- Chuan, H.T., S.W. Xian and Q.Y. Xian. 2009. Enzymatic hydrolysis of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate by various proteases and antioxidant properties of the resulting hydrolysates. *Journal of Food Chemistry*. 114: 1484-1490.
- Gianfranco, S. 2008. Role of protein in cosmetics. Article in Clinics in Dermatology July 2008.
- Julshamn, K., A. Maage, H.S. Norli, K.H. Grobecker, L. Jorhem, P. Fecher and D. Dowell. 2013. Determination of arsenic, cadmium, mercury and lead in foods by pressure digestion and inductively coupled plasma / mass spectrophotometry: first action 2013.06. *Journal of AOAC International*. 96(5): 1101-1102.
- Manosoi, A., K. Boonpisuttinant, S. Winitchai, W. Manosoi and J. Manosoi. 2011. Free radical scavenging and tyrosinase inhibition activity of physic nut seed oil entrapped in niosomes. *Current Nanoscience*. 7(5): 825-829.
- Oludemi, T., A.H. Sandrina, C.C. Ricardo, J.A. Maria, B. Lillian, M.F. Barreiro, A.M. González-Paramás C. Isabel and F.R. Ferreira. 2016. Development of mushroom-based cosmeceutical formulations with anti-inflammatory, anti-tyrosinase, antioxidant and antibacterial properties. *Molecules*. 21(10):1372.
- Qinchun, R., A.K. Kamdar and T.P. Labuza. 2016. Storage stability of food protein hydrolysate: A review. *Critical review in Food Science and Nutrition*. 56(7): 1169-1192.