



การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวล
ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

EXTRACTION OF POLYSACCHARIDES AND PHENOLIC COMPOUNDS FROM
PINK OYSTER MUSHROOM (*PLEUROTUS DJAMOR*) USING AQUEOUS
TWO-PHASE SYSTEM

จุฑารัตน์ ชัยวัฒน์ธนน

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวล
ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค
EXTRACTION OF POLYSACCHARIDES AND PHENOLIC COMPOUNDS FROM
PINK OYSTER MUSHROOM (*PLEUROTUS DJAMOR*) USING AQUEOUS
TWO-PHASE SYSTEM

จุฑารัตน์ ชัยวัฒน์ธำ

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2567

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวล
ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค
EXTRACTION OF POLYSACCHARIDES AND PHENOLIC COMPOUNDS FROM
PINK OYSTER MUSHROOM (*PLEUROTUS DJAMOR*) USING AQUEOUS
TWO-PHASE SYSTEM

จุฑารัตน์ ชัยวัฒน์ธนน

การค้นคว้าอิสระนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

2567

คณะกรรมการสอบการค้นคว้าอิสระ

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจจุติ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรีตา สังข์ทอง)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัทวัฒน์ สีขาว)

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าอิสระนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และให้คำปรึกษารวมทั้งปรับปรุงแก้ไข ข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดีจนการค้นคว้าอิสระนี้สำเร็จลุล่วง ผู้เขียนขอกราบขอบคุณเป็นอย่างสูง ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณประธานกรรมการสอบและกรรมการสอบทุกท่านที่เสียสละเวลามาร่วมพิจารณา การสอบและให้ความรู้ คำแนะนำ จนการสอบลุล่วง ผู้เขียนขอกราบขอบคุณเป็นอย่างสูง ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณ คุณธนิชา ประเสริฐ เจ้าหน้าที่สำนักวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงที่ให้คำปรึกษาและดูแลอำนวยความสะดวกด้านสารเคมี อุปกรณ์ที่ใช้รวมถึงให้คำแนะนำ และประสานงานในด้านเอกสารต่าง ๆ มาโดยตลอด

ขอขอบคุณครอบครัวของผู้เขียนที่เป็นกำลังใจและช่วยเหลือในทุกด้านเพื่อให้งานวิจัยสำเร็จ ลุล่วงไปด้วยดีและเพื่อน ๆ ร่วมรุ่นปริญญาโททุกท่านที่เป็นกัลยาณมิตรที่ดี ช่วยเหลือกันมาตลอด

สุดท้ายนี้หวังว่างานวิจัยฉบับนี้คงเป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจไม่มากนักน้อย หากผู้เขียนมีสิ่งผิดพลาดประการใด ขอน้อมรับและขออภัย ไว้ ณ ที่นี้

จุฑารัตน์ ชัยวัฒน์ธนน

ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวลด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค
ชื่อผู้เขียน	จุฑารัตน์ ชัยวัฒน์ธนน
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง

บทคัดย่อ

เห็ดนางนวล (*Pleurotus djamor*) เป็นเห็ดสกุลนางรม งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เทคนิคการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (ATPS) เพื่อสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวลในขั้นตอนเดียว โดยทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) ร้อยละ 100, 125, 150 ตามลำดับ และผลของการเปลี่ยนสัดส่วนน้ำต่อเอทานอล 1:0.5, 1:1.5, 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร และเปรียบเทียบกับวิธีสกัดแบบทั่วไป ผลการศึกษาพบว่าเทคนิคการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคสามารถสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวลได้พร้อมกัน โดยสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ความเข้มข้นของเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) ร้อยละ 100 และอัตราส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ ให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิก สูงที่สุดเท่ากับ 24.29 ± 1.73 มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมสารสกัด, 31.15 ± 1.14 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีทั่วไปพบว่า ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ของวิธีทั่วไปเท่ากับ 150.96 ± 3.31 มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมสารสกัด มีปริมาณสูงกว่าจากการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของวิธีสกัดแบบทั่วไปเท่ากับ 12.75 ± 0.20 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมสารสกัด มีปริมาณต่ำกว่าจากการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

ดังนั้นการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคมีประโยชน์ในการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวลในขั้นตอนเดียว ซึ่งเป็นการลดต้นทุน และลดขั้นตอนในการสกัดสำหรับทางอุตสาหกรรมทางเครื่องสำอางได้

คำสำคัญ: ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค, โพลีแซ็กคาไรด์, ฟีนอลิก, เห็ดนางนวล, การสกัด



Independent Study Title	Extraction of Polysaccharides and Phenolic Compounds from Pink Oyster Mushroom (<i>Pleurotus djamor</i>) Using Aqueous Two-phase System
Author	Jutharat Chaiwatthanan
Degree	Master of Science (Cosmetic Science)
Advisor	Asst. Prof. Punnawat Pintathong, Ph. D.

ABSTRACT

The pink oyster mushroom (*Pleurotus djamor*) is a member of the oyster mushroom genus. This experiment aims to apply the extraction technique using an aqueous two-phase system (ATPS) to extract polysaccharides and phenolic compounds from pink oyster mushroom in one step. The conditions of the concentration of dipotassium phosphate salt (K_2HPO_4) (100, 125, and 150 %w/v) and ratio of water and ethanol (1:0.5, 1:1.5, and 1:2.0 v/v) were carried out. The results demonstrated that polysaccharides and phenolic compounds were simultaneously extracted from pink oyster mushroom. The optimum conditions included the concentration of dipotassium phosphate salt (K_2HPO_4) at 100 %w/v and the ratio of water and ethanol at 1:2.0 v/v that provided the highest amount of polysaccharides and phenolic compounds of 24.29 ± 1.73 mg glucose/g extract and 31.15 ± 1.14 mg GAE/g extract, respectively. As compared with the conventional method, the polysaccharide content obtained by the conventional method (150.96 ± 3.31 mg glucose/g extract) was higher than from using an ATPS, while the phenolic compound content (12.75 ± 0.20 mg GAE/g extract) was lower. Therefore, an aqueous two-phase system could be useful for the simultaneous extraction of polysaccharides and phenolic compounds from

pink oyster mushrooms, which could reduce costs and extraction steps for further scale up in cosmetic industries.

Keywords: Aqueous Two-phase System, Polysaccharides, Phenolic, Pink Oyster



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(3)
บทคัดย่อภาษาไทย	(4)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(6)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(11)
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตการศึกษา	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย	3
2 ทบทวนวรรณกรรม	4
2.1 เหน็ด	4
2.2 เหน็ดนางนวล	5
2.3 สารประกอบฟีนอลิก	6
2.4 พอลิแซ็กคาไรด์	9
2.5 การสกัดสารสำคัญ	10
2.6 ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (Aqueous Two Phase System)	11

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
3 วิธีดำเนินการวิจัย	13
3.1 วัตถุประสงค์ สารเคมี และเครื่องมือ	13
3.2 การเตรียมตัวอย่างเห็ดนางนวลให้อยู่ในรูปแบบผงแห้ง	14
3.3 การสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยวิธีการสกัดแบบทั่วไป	15
3.4 ศึกษาผลของการ Partition ระหว่าง เอทานอลกับเกลือ 4 ชนิด	15
3.5 การสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค	16
3.6 การวิเคราะห์ทางเคมี	17
4 ผลการทดลอง และการอภิปรายผล	18
4.1 ผลการเตรียมตัวอย่างเห็ดนางนวลให้อยู่ในรูปแบบผงแห้ง	18
4.2 ผลการสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยวิธีการสกัดแบบทั่วไป	19
4.3 ผลของการ Partition ระหว่างเอทานอลกับเกลือ 4 ชนิด	20
4.4 ผลการสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค	22
5 สรุปผลการวิจัย	29
5.1 สรุปผลวิจัย	29
5.2 ข้อเสนอแนะ	30
รายการอ้างอิง	31
ภาคผนวก	36
ประวัติผู้เขียน	38

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
3.1 สารเคมี	13
3.2 เครื่องมือ	14
4.1 ร้อยละผลผลิตจากสารสกัดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด	19
4.2 ลักษณะสารสกัด ร้อยละผลผลิตจากสารสกัด และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	20
4.3 ชนิดของเกลือและร้อยละของเกลือที่ไม่ละลาย	21
4.4 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดและร้อยละการกลับคืนของเกลือ	23
4.5 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด	24
4.6 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดและร้อยละการกลับคืนของเกลือ	26
4.7 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด	27
4.8 ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของชั้นเกลือ	27

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 ลักษณะสัญญาณของเห็ดนางนวล	5
2.2 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก	7
2.3 การจำแนกสารประกอบฟีนอลิก	7
2.4 การเปรียบเทียบวิธีการสกัดรูปแบบต่าง ๆ	10
2.5 การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ในเห็ดด้วย วิธี ATPS	11
4.1 ลักษณะของเห็ดนางนวลสด (ก) และ (ข) และเห็ดนางนวลแห้ง (ค)	18
4.2 สารสกัดจากวิธีสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน	19
4.3 สารสกัดจากวิธีสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยเอทานอล	20
4.4 การละลายของเกลือ อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร	21
4.5 สารสกัดด้วยวิธีแยกชั้นสองวัฏภาคและแยกชั้นด้วยกรวยแยกที่ระดับความเข้มข้นของเกลือไดโพลแทสเซียมฟอสเฟตที่ต่างกัน: (ก) 100%, (ข) 125% และ (ค) 150%	22
4.6 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดชั้นเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นของเกลือไดโพลแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) ต่างกัน: (ก) 100%, (ข) 125% และ (ค) 150%	23
4.7 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดชั้นกากเห็ดนางนวลที่ระดับความเข้มข้นของเกลือไดโพลแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) ต่างกัน: (ก) 100%, (ข) 125% และ (ค) 150%	23
4.8 สารสกัดด้วยวิธีแยกชั้นสองวัฏภาคและแยกชั้นด้วยกรวยแยกที่ระดับสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลที่ต่างกัน: (ก) 1:0.5, (ข) 1:1.5 และ (ค) 1:2.0	25
4.9 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดชั้นเอทานอลที่ระดับสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลที่ต่างกัน: (ก) 1:0.5, (ข) 1:1.5 และ (ค) 1:2.0	25
4.10 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดชั้นกากเห็ดนางนวลที่ระดับสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลที่ต่างกัน: (ก) 1:0.5, (ข) 1:1.5 และ (ค) 1:2.0	25

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

เห็ดเป็นอาหารที่ดีต่อสุขภาพและมีคุณค่าโภชนาการสูงและการบริโภคมีเห็ดแนวโน้มเติบโตขึ้นตามทิศทางการตลาดเพื่อสุขภาพทั้งในประเทศและต่างประเทศ การผลิตเห็ดในประเทศไทยทำให้มูลค่าทางเศรษฐกิจของเพิ่มขึ้นทุกปี มีส่วนน้อยที่ส่งออกตลาดต่างประเทศเพราะส่วนใหญ่ใช้บริโภคภายในประเทศ พบว่าในปี พ.ศ. 2560 ปริมาณผลผลิตเห็ด 41,322 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2,291 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2563 ผู้ประกอบการมีปริมาณการผลิตเชื้อเห็ดของ 20 ล้านขวด คาดว่าจะผลิตดอกเห็ดสดประมาณ 150,000 ตัน คิดเป็น 9,000 ล้านบาท แสดงให้เห็นว่าหนึ่งในประเทศที่มีศักยภาพการผลิตเห็ดเศรษฐกิจของโลกได้แก่ประเทศไทย (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.), 2564) สถานการณ์ผลผลิตเห็ดของประเทศไทยที่เป็นที่ต้องการของตลาด ได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดสกุลนางรม เห็ดหูหนู เห็ดขอนขาว เห็ดลม เป็นต้น โดยสกุลเห็ดนางรม (*Oyster Mushroom*) เป็นเห็ดซึ่งอยู่ในกลุ่มแรก ๆ ที่นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อการค้าและได้รับความนิยมค่อนข้างสูงทั้งจากผู้บริโภคและผู้เพาะเลี้ยงทำให้เป็นเห็ดที่คนไทยคุ้นเคยกันดี ในระยะเริ่มแรกผู้คนรู้จักเห็ดนางรมก่อนเห็ดชนิดอื่นที่อยู่ในสกุลเดียวกัน ในเวลาต่อมาได้มีเห็ดชนิดอื่น ๆ ในสกุลเดียวกันนี้ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกันออกมาให้เป็นที่รู้จักและได้รับความนิยมในตลาดหนึ่งนั้นได้แก่ เห็ดนางนวล (สำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ, ม.ป.ป.)

เห็ดนางนวล (*Pink Oyster*) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Pleurotus djamor* มีลักษณะหมวกกรวยต้นชมพู หรือรูปพัด กว้าง 2-5 ซม. แล้วเปลี่ยนเป็นสีครีมอมชมพู ครีบยาวลงไปติดโคน ครีบยาวไม่เท่ากัน แฉก เรียงถี่ ขอบเรียบ ขาวหรือครีม ก้านไม่มี หรือสั้นมีขนละเอียดบาง ๆ ต่อมาเรียบ หรือเป็นมันวาวเล็กน้อย (ฟาร์มเห็ดขอนแก่น, ม.ป.ป.) ซึ่งในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางในปัจจุบันมีการค้นหาส่วนผสมจากแหล่งธรรมชาติอย่างต่อเนื่อง เพราะผลกระทบที่เป็นพิษต่ำและมีประสิทธิภาพ เห็ดจึงเป็นส่วนผสมที่น่าสนใจในตำรับเครื่องสำอางเนื่องจากพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พอลิแซ็กคาไรด์ เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ ไกลโคไลโปรตีน เลคติน และส่วนประกอบไขมันหลายชนิด (Taofiq et al., 2016) ซึ่งในเห็ดนางนวลพบว่าสามารถสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยน้ำร้อนและนำไปทดสอบฤทธิ์

ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เท่ากับ $EC_{50} = 0.816 \pm 0.077$ มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (Maity et al., 2021) และสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยเมทานอลได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 7.845 ± 1.22 ไมโครกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด (Acharya et al., 2017)

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดมีวิธีที่หลากหลายจากการศึกษาของ (Leong et al., 2021) พบว่าการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์มีหลายวิธีแบ่งเป็นวิธี Conventional extraction ได้แก่ วิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot Water Extraction; HWE) วิธีการสกัดด้วยกรด/ด่าง (Acid-or Alkaline Extraction; AE) วิธี Advanced technologies extraction ได้แก่ วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่ร่วมในการสกัด (Ultrasonic-Assisted Extraction; UAE) วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด (Microwave-Assisted Extraction; MAE) วิธีการสกัดโดยใช้เอนไซม์ร่วมด้วยในการสกัด (Enzyme-Assisted Extraction; EAE) วิธีการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ (Subcritical Water Extraction; SWE) วิธีการสกัดโดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ (Pulsed Electric Field-Assisted Extraction; PEFAE) วิธีการสกัดโดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (Aqueous Two-Phase Extraction; ATPE) จากการเปรียบเทียบวิธีทั้งหมดวิธีการสกัดโดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค จะใช้เวลาในการสกัดน้อยและใช้อุณหภูมิไม่สูงมากโดยเกิดจากการผสมกันของโพลีเมอร์ เช่น polyethylene glycol (PEG), Dextran เป็นต้น กับโพลีเมอร์ แอลกอฮอล์ (สายสั้น ๆ) สารลดแรงตึงผิว กลีโกลินทรีย์ เช่น กลีโกลีลเฟต และถ่ายโอนตัวถูกละลายจากของเหลวเฟสหนึ่งไปยังอีกเฟส ตัวอย่างจากการศึกษาของ Ma et al. (2015) สกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธี Aqueous two-phase system จาก *Potentilla anserina* L. (ไม้ดอกในตระกูลกุหลาบ) โดยสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดใช้ เอทานอลร้อยละ 27 โดยปริมาตรต่อปริมาตร, K_2HPO_4 ร้อยละ 21 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร, 0.4 โมลต่อลิตร NaCl และ pH 7 พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ ได้ปริมาณเท่ากับร้อยละ 12.47 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักและ ได้ปริมาณมากกว่าวิธีสกัดแบบ Conventional เท่ากับร้อยละ 10.3 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักและจากการศึกษาของ Liu et al. (2019) สกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธี Aqueous three-phase system จาก เห็ดหังไซปรีเรีย (*Inonotus Obliquus*) โดยสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดใช้ $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร t-butanol pH 8.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 30 นาที และทดสอบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ได้ปริมาณเท่ากับร้อยละ 2.2 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักอย่างไรก็ตามวิธีในการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกในเห็ดส่วนใหญ่เป็นการแยกสกัดจึงใช้หลายขั้นตอน

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกแบบขั้นตอนเดียวในเห็ดนางรมด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคโดยใช้เอทานอลและกลีโกล เพื่อทำการสกัดเป็นการลดขั้นตอนการสกัดสารโดยไม่ใช้พลังงานสูง และไม่ใช้สารเคมีอันตรายและราคาแพง

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกออกจากเห็ดนางนวลแบบขั้นตอนเดียวโดยใช้เทคนิคการละลายสองวัฏภาค

1.2.2 เพื่อวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้โดยใช้เทคนิคการละลายสองวัฏภาคเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบทั่วไป

1.3 ขอบเขตการศึกษา

1.3.1 เตรียมตัวอย่างเห็ดนางนวลให้อยู่ในรูปแบบผงแห้ง

1.3.2 ทำการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวล โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ ผลของความเข้มข้นเกลือ และผลของอัตราส่วนระหว่างปริมาณเอทานอลและเกลือ

1.3.3 ทดสอบหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดที่เตรียมได้ รวมถึงประเมินคุณลักษณะเคมีกายภาพเบื้องต้นของสารสกัด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1.4.1 ได้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวล จากการสกัดแบบขั้นตอนเดียวด้วยเทคนิคการละลายสองวัฏภาค

1.4.2 ได้วิธีและสภาวะในการการสกัดแบบขั้นตอนเดียวโดยประยุกต์ใช้เทคนิคการละลายสองวัฏภาค

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 เห็ด

เห็ดเป็นอาหารที่ดีต่อสุขภาพจึงเป็นที่นิยมบริโภคเนื่องจากราคาไม่แพงและหาง่าย เห็ดมีพลังงานต่ำแต่คุณค่าทางโภชนาการสูงเนื่องจากมีไขมันน้อย ประเทศไทยมีเห็ดหลายชนิดทั้งที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เช่น เห็ดโคน เห็ดหลินจือ เป็นต้น และเพาะเลี้ยงขึ้นมา เช่น เห็ดฟาง เห็ดนางฟ้า เห็ดหูหนู เห็ดเข็มทอง และเห็ดนางรม เป็นต้น

2.1.1 ประเภทของเห็ด

เห็ดมีทั้งที่เป็นเห็ดไม่มีพิษ และมีพิษ สามารถบริโภคได้ ซึ่งในกลุ่มที่บริโภคได้แบ่งตามวิธีนำมาใช้แล้ว แบ่งได้ 2 กลุ่มใหญ่ คือ

2.1.1.1 เห็ดที่ใช้เป็นอาหาร (Dietary Mushroom) มีอยู่ประมาณ 90% ของเห็ดที่พบทั่วไปเช่น เห็ดหอม เห็ดฟาง เห็ดเข็มทอง และเห็ดหูหนู เป็นต้น

2.1.1.2 เห็ดที่ใช้เป็นยาสมุนไพร (Medicinal Phalloides) มีค่อนข้างน้อยที่กินได้และเป็นที่รู้จักอย่างดี เช่น เห็ดหอม เห็ดหลินจือ และเห็ดหูหนู เป็นต้น เห็ดบางอย่างยังไม่เป็นที่รู้จักและหายากเช่น เห็ดไมตาเกะ และเห็ดหัวลิง นอกจากนี้เห็ดสมุนไพรยังได้จากเห็ดพิษบางชนิด (วิภาวรรณ ศรีมูข, 2550)

2.1.2 ประโยชน์ของเห็ด

2.1.2.1 อาหาร

เห็ดถูกนำมาใช้เป็นอาหาร เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารครบถ้วนในกลุ่มอาหารที่สำคัญทั้งหมดเพราะส่วนประกอบที่สำคัญประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน วิตามิน และธาตุอาหารคาร์โบไฮเดรต และเยื่อใย

2.1.2.2 สุขภาพและการแพทย์

ยารักษาโรคที่สกัดจากดอกเห็ดซึ่งเป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ ใช้ในการสร้างภูมิคุ้มกันโรค ไม่มีผลข้างเคียง เช่น สารเลนโทโอนิน ในเห็ดหอม นอกจากใช้ดอกเห็ดแล้วยังศึกษาเส้นใย เช่น

เห็ดหัวลิง ใช้กระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค เห็ดหลินจือ ใช้ลดอาการเครียดของประสาท สามารถใช้ได้กับโรคอ้วนเพลีย ระบบการหายใจ โรคหัวใจ ช่วยให้หลับสนิท เป็นต้น (ดำเกิง ป้องพาล, 2547)

2.1.2.3 สุขภาพและการแพทย์

มีการศึกษาเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น สารประกอบฟีนอล เทอร์พีนอยด์ พอลิแซคคาไรด์ เลคติน สเตียรอยด์ ไกลโคโพรตีน และส่วนประกอบของไขมันหลายชนิดในสารสกัดเห็ดทำให้เป็นส่วนผสมที่น่าสนใจสำหรับสูตรเครื่องสำอาง สารสกัดจากเห็ดซึ่งทำให้มีฤทธิ์ เช่น anti-oxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, anti-hyaluronidase เป็นต้น

2.2 เห็ดนางนวล

2.2.1 การจำแนกทางพฤกษศาสตร์

เห็ดนางนวล (Pink Oysters) มีชื่อสามัญอังกฤษ คือ *Pleurotus djamor* มีลักษณะแสดงดังภาพที่ 2.1 จำแนกทางพฤกษศาสตร์ ดังนี้

Kingdom: Fungi
Division: Basidiomycota
Class: Agaricomycetes
Order: Agaricales
Family: Pleurotaceae
Genus: *Pleurotus*
Species: *P. Djamor*



ที่มา <https://ftiebusiness.com/shop4/product-detail.php?id=137570&uid=46554>)

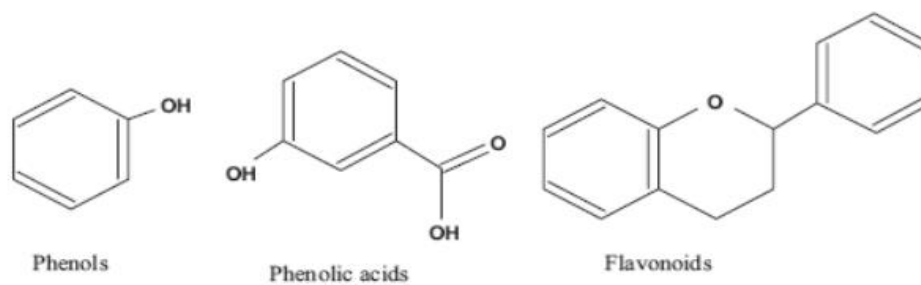
ภาพที่ 2.1 ลักษณะสัณฐานของเห็ดนางนวล

ลักษณะของเห็ด จะมีหมวกกว้าง 2-5 ซม. รูปพัด หรือ กรวยตื้นชมพู แล้วเปลี่ยนเป็นสีครีมอมชมพู มีขนละเอียดบาง ๆ ต่อมาเรียบ หรือเป็นมันวาวเล็กน้อย ครีบยาวลงไปติดโคน แฉก เรียงถี่ ครีบยาวไม่เท่ากัน ขอบเรียบมีสีขาวหรือครีม ก้านไม่มีหรือสั้น (ฟาร์มเห็ดขอนแก่น, ม.ป.ป.) สีสนของเห็ด

ค่อนข้างดูดน้ำได้ดีทำให้เข้าใจว่ามีพิษ แต่มีสรรพคุณทางยา ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ลดปริมาณน้ำตาลในเลือด ปรับสภาพความดันโลหิต มีสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น ซึ่งสีชมพูของเห็ดนางรมสีชมพู มาจากยูเมลานิน และฟีโอเมลานิน เพราะจากการทดสอบการสกัดสีของเห็ดสกุลนางรมสีชมพู สีดำ สีเหลือง ตรวจสอบด้วยเทคนิค FTIR และ HPLC พบว่าสีมาจากยูเมลานิน และฟีโอเมลานิน ในปริมาณที่ต่างกัน (Zhang et al., 2022) และพบว่าเห็ดนางรมสามารถสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยน้ำร้อนและนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เท่ากับ $EC_{50} = 0.816 \pm 0.077$ มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (Maity et al., 2021) และสามารถสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดโดยใช้เอนไซม์ร่วมด้วยในการสกัดโดยสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดได้แก่ pH 7.36 อัตราส่วน น้ำต่อตัวอย่าง เท่ากับ 56.78 เวลาในการสกัด 44.77 นาที อุณหภูมิ 35.36 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ร้อยละ 3.61 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (Jiao et al., 2017) และสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยเมทานอลได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 7.845 ± 1.22 ไมโครกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด (Acharya et al., 2017)

2.3 สารประกอบฟีนอลิก

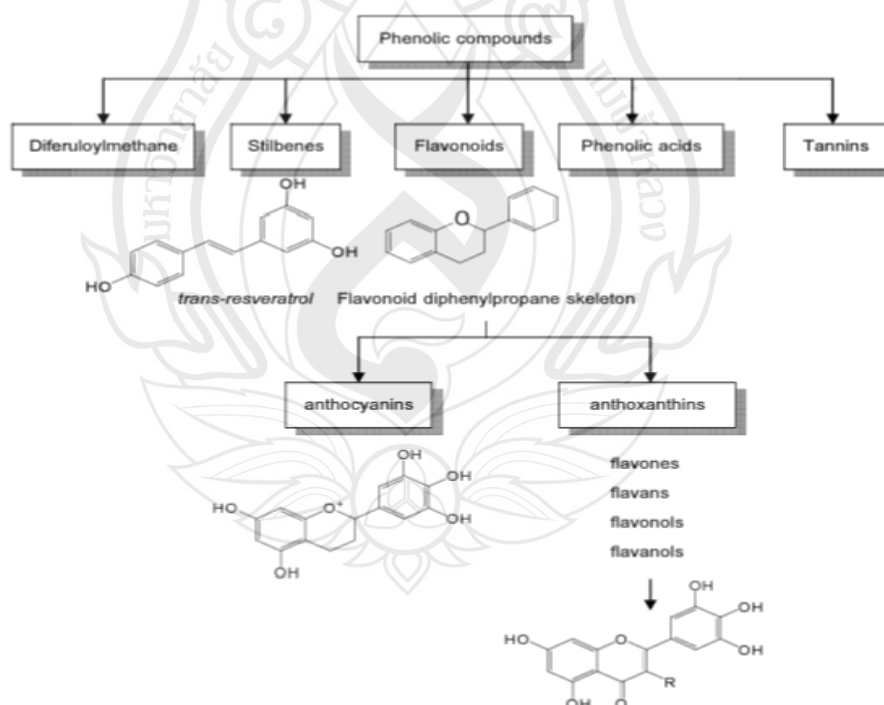
สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds) มีสูตรโครงสร้างทางเคมี เป็นวงแหวนที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซีนลักษณะแสดงดังภาพที่ 2.2 มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH Group) บนวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic Ring) ตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไป เป็นสารที่พบได้ทั่วไปในผลไม้ ผัก ไวน์ ชา น้ำมันมะกอก เป็นต้น ส่วนใหญ่จะพบในรูปของอนุพันธ์หรือไอโซเมอร์ฟลาโวนอลส์ ไอโซเมอร์ของฟลาโวนส์ กรดฟีนอลิก และคาร์นิทิน สารเหล่านี้มีฤทธิ์หลายอย่าง เช่น ด้านการการเกิดสภาวะออกซิเดชัน ด้านภาวะการอักเสบต่าง ๆ กำจัดอนุมูลอิสระ และช่วยปรับระบบภูมิคุ้มกัน (พิมพ์เพ็ญพรเฉลิมวงศ์ และนิธิยา รัตนพานนท์, ม.ป.ป.ก.)



ที่มา <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compounds>

ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่พบมากในธรรมชาติ จึงมีการจำแนกสารประกอบฟีนอลิกดังภาพที่ 2.3



ที่มา <https://www.thaiscience.info/journals/Article/JSMU/10888192.pdf>

ภาพที่ 2.3 การจำแนกสารประกอบฟีนอลิก

2.3.1 กลุ่มไดเฟอรูลอยลิวมีเทนส์ (Diferuloylmethanes)

ไดเฟอรูลอยลิวมีเทนส์ เป็นสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มเล็ก ๆ ได้แก่ เคอร์คิวมินอยด์ (Curcuminoids) พบมากในขมิ้นและไฮดรอกซีไทโรซอล (Hydroxytyrosol) พบมากในน้ำมันในผลไม้และน้ำมันมะกอก

2.3.2 กลุ่มสติลบี้น (Stilbenes)

สติลบี้นส์สามารถจำแนกได้จากโครงสร้างที่เป็นนิวเคลียส คือ 1,2-diphenylethylene และบริเวณหมู่ไฮดรอกซีที่วงแหวนจะถูกแทนที่ด้วยโมโนเมอร์หรือโอลิโกเมอร์ เช่น ทรานส์เรสเวราทรอล (Trans-resveratrol)

2.3.3 กลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)

ฟลาโวนอยด์ เป็นกลุ่มใหญ่ ประกอบด้วยกลุ่ม ฟลาโวนส์ ไอโซฟลาโวนส์ ฟลาโวนอลส์แอนโธไซยานินส์ และฟลาโวนอลส์

2.3.4 กลุ่มกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxybenzoic acids

กรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxybenzoic acids ได้แก่ gallic acid และกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxycinnamic acid ได้แก่ caffeic, ferulic และ coumaric acid

2.3.5 กลุ่มแทนนินส์ (Tannin)

แทนนินส์ มีโมเลกุลใหญ่และมีโครงสร้างสลับซับซ้อน สามารถละลายน้ำได้ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 500 ถึง 3,000 ส่วนใหญ่จะพบในรูปของไกลโคไซด์ ซึ่งโดยทั่วไปจะพบในรูปโครงสร้างที่ซับซ้อนจับอยู่กับอัลคาลอยด์ (Alkaloids) พอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน

การหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกโดยวิธีการสกัดฟีนอลิกที่เกิดขึ้นที่ผ่านมา คือ การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เป็นหลัก (Khoddami et al., 2013) โดยการศึกษาปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระระหว่างการงอกของสารสกัดจากเมล็ดถั่ว 5 ชนิด คือเมล็ดถั่วดำ (Vigna Mungo) เมล็ดถั่วแดง (Phaseolus vulgaris L.) เมล็ดถั่วเขียว (Vigna Radiata) เมล็ดถั่วเหลือง (Glycine Max) และเมล็ดถั่วขาว (Phaseolus vulgaris Linn.) โดยทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยสารละลายเอทานอล พบว่า ถั่วขาวที่ระยะเวลางอก 144 ชั่วโมง มีปริมาณสารฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (2,232.5 ไมโครกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมสารสกัดและ 566.1 ไมโครกรัมสมมูลโทรลอคซ์มิลลิกรัมสารสกัดตามลำดับ) (กัลยา เกิดศิริชัยรัตน์, 2561) และการศึกษาปริมาณฟีนอลิกในเห็ดปะการังเหลือง (Ramaria Flava) เห็ดลูกฟุ้ง (Rhizopogon Roseolus) และเห็ดโคลนหางขาว (Russula Delica) โดยทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยสารละลายเมทานอล

พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 2.09-10.50 ไมโครกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด (Gursoy et al., 2010)

2.4 พอลิแซ็กคาไรด์

พอลิแซ็กคาไรด์ เป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน ซึ่งในโมเลกุลประกอบด้วยมโนแซ็กคาไรด์ที่เป็นชนิดเดียวกัน (Homopolysaccharide) หรือต่างชนิดกัน (Heteropolysaccharide) เรียงต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์เป็นสายยาวตั้งแต่ 10 โมเลกุลขึ้นไปถึงจำนวนหลายร้อยโมเลกุล มีคุณสมบัติช่วยทำให้ข้นหนืด (Thickening Agent) ทำให้คงตัว (Stabilizing Agent) ทำให้เกิดเจล (Gelling Agent) ทำให้มีอิมัลชันคงตัว (Emulsifier) เป็นต้น

2.4.1 ประเภทของพอลิแซ็กคาไรด์

2.4.1.1 Homopolysaccharide

เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ในโมเลกุลเป็น monosaccharide ชนิดเดียวกันได้แก่ สตาร์ช (Starch) ซึ่งประกอบด้วย อะไมโลส (Amylose) อะไมโลเพกทิน (Amylopectin) เซลลูโลส (Cellulose) homopolysaccharide ที่พบในสัตว์ คือ ไกลโคเจน (Glycogen) ฟลาไวโนยด์ เป็นกลุ่มใหญ่ประกอบด้วย กลุ่มฟลาไวโนส ไอโซฟลาไวโนส ฟลาไวโนอลส์

2.4.1.2 Heteropolysaccharide

เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ในโมเลกุลเป็น monosaccharide มากกว่า 1 ชนิด เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (Glycosidic Bond) ตัวอย่างได้แก่ กัมจากเมล็ดพืช (Seed Gum) เช่น กัวกัม (Guar Gum) กัมจากจุลินทรีย์ เช่น แซนแทนกัม (Xanthan Gum) และสกัดได้จากสาหร่าย เช่น คาร์ราจีแนน (Carrageenan) วุ้น (Agar) เป็นต้น (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมวงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์, ม.ป.ป.ช.)

ในการศึกษาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกแก้วมังกร เพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้นผิวโดยใช้วิธีสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยการแช่น้ำปราศจากไออน จากนั้นนำไปต้มให้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส พบว่า สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัด มีค่าร้อยละผลผลิตเท่ากับ 2.14 เมื่อเทียบกับน้ำหนักเปลือกสด (วาสนิณี ภิรมณ์รัก, 2561) และการศึกษาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ในเห็ดฟางโดยทำการสกัด 3 วิธี ได้แก่ hotwater shaking (HS), microwave-assisted (MA) และ ultrasonic-assisted (UA) พบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ 0.46, 0.58, 0.59 กรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดตามลำดับ โดยพบว่าวิธี hot water shaking (HS) สามารถสกัดเบต้ากลูแคนได้สูงที่สุด

เท่ากับร้อยละ 18.80 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักและเป็นวิธีที่มีฤทธิ์ยับยั้ง lipid peroxidation (IC_{50} of 0.0378 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร), tyrosinase (51.46 mg KAE/g) (Sangthong et al., 2022)

2.5 การสกัดสารสำคัญ

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดมีวิธีที่หลากหลายดังแสดงดังภาพที่ 2.4 จากการ ศึกษาของ Leong et al. (2021) พบว่าการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์มีหลายวิธีแบ่ง เป็นวิธี Conventional extraction ได้แก่ วิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot Water Extraction; HWE) วิธีการ สกัดด้วยกรด/ด่าง (Acid-or Alkaline Extraction; AE) วิธี Advanced Technologies Extraction ได้แก่ วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่ร่วมในการสกัด (Ultrasonic-Assisted Extraction; UAE) วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด (Microwave-Assisted Extraction; MAE) วิธีการสกัดโดยใช้เอนไซม์ร่วมด้วยในการสกัด (Enzyme-Assisted Extraction; EAE) วิธีการสกัดด้วย น้ำกึ่งวิกฤติ (Subcritical Water Extraction; SWE) วิธีการสกัดโดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ (Pulsed Electric Field-Assisted Extraction; PEFAE) วิธีการสกัดโดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (Aqueous Two-Phase Extraction; ATPE)

จากการเปรียบเทียบวิธีทั้งหมดวิธีการสกัดโดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคเป็นวิธีที่ง่าย ที่สุดที่จะใช้เวลาในการสกัดน้อยและใช้อุณหภูมิไม่สูงมาก

Comparison between different mushroom polysaccharides extraction techniques

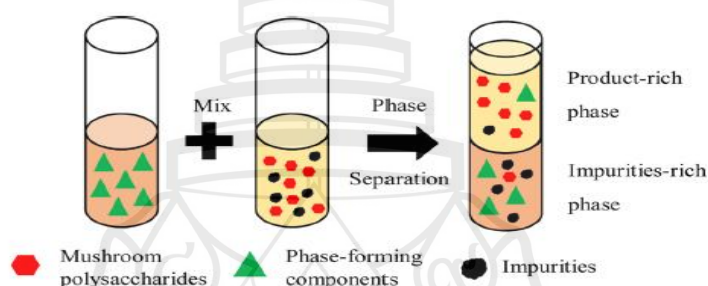
Technique	HWE	AE	UAE	MAE	EAE	SWE	PEF	ATPE
Yield	Low to moderate	Low to moderate	Moderate	Moderate	Moderate	High	Moderate	Moderate
Treatment time	Long	Very long	Short to moderate	Short	Moderate to long	Short to moderate	Short to moderate	Short
Operating temperature	High	Moderate to high	Moderate to high	Moderate to very high	Low to moderate	Very high	Moderate to high	Low to moderate
Equipment costs	Low	Low	High	Moderate	High	High	High	Moderate
Operator skills	Low	Low	Moderate	Moderate	Moderate	Moderate	Moderate	Moderate
Energy consumption	High	High	Moderate to high	Moderate to high	Low	High	Moderate to high	Low
Scale-up	Easy	Easy	Moderate	Moderate	Moderate	Moderate	Moderate	Easy
Repeatability	Good	Good	Moderate	Good	Good	Good	Moderate	Good
Effect on polysaccharides structure	Possible degradation	Possible degradation	Possible degradation	Possible degradation	No negative impact	Possible degradation	Possible degradation	No negative impact

ที่มา Leong et al. (2021)

ภาพที่ 2.4 การเปรียบเทียบวิธีการสกัดรูปแบบต่าง ๆ

2.6 ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (Aqueous Two Phase System)

การสกัดด้วยสารละลายน้ำสองวัฏภาค (ATPS) สามารถใช้สกัดโปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ สารประกอบฟีนอลิก และอื่น ๆ เป็นเทคนิคในการแยกสารทางชีวภาพโดยการกระจายตัว โดยสองวัฏภาคเกิดจากการผสมกันของสารสองชนิดได้แก่โพลีเมอร์เช่น polyethylene glycol (PEG), Dextran เป็นต้น กับโพลีเมอร์ แอลกอฮอล์ (สายสั้น ๆ) สารลดแรงตึงผิว เกลืออนินทรีย์ เช่น เกลือซัลเฟต เป็นต้น (ภาพที่ 2.5) ปัจจัยที่มีผลในการสร้างเฟส เช่น การเลือกรูปแบบเฟส สารละลาย ความเข้มข้น ค่า pH และอุณหภูมิในการสกัด เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพมากที่สุด



ที่มา Leong et al. (2021)

ภาพที่ 2.5 การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ในเห็ดด้วย วิธี ATPS

ตัวอย่างงานวิจัยที่ทำการศึกษากการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค จาก *Potentilla anserine* L. (ไม้ดอกในตระกูลกุหลาบ) โดยสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดใช้ เอทานอล ร้อยละ 27 โดยปริมาตรต่อปริมาตร, K_2HPO_4 ร้อยละ 21 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 0.4 โมลต่อลิตร NaCl และ pH 7 พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ ได้ปริมาณเท่ากับร้อยละ 12.47 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักและได้ปริมาณมากกว่าวิธีสกัดแบบ Conventional เท่ากับร้อยละ 10.3 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (Ma et al., 2015) และการศึกษาการสกัดแยกโปรตีนและสารประกอบฟีนอลิกในกากถั่วเหลืองด้วยระบบสารละลายน้ำสามวัฏภาคพบว่าสามารถสกัดโปรตีนและสารประกอบฟีนอลิกออกจากถั่วเหลืองได้พร้อมกันแต่ความเข้มข้นของเกลือและเอทานอลมีผลต่อการสกัดโดยสภาวะที่ดีที่สุดสำหรับการสกัดโปรตีนปริมาณสูงสุดเท่ากับ 41.85 ± 0.08 มิลลิกรัมโปรตีน/กรัมสารสกัด โดยที่ใช้ความเข้มข้นเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 30 และอัตราส่วนความเข้มข้นของสารผสมหยาดถั่วเหลืองต่อเอทานอลเท่ากับ 1:1 ขณะที่อัตราส่วนความเข้มข้นของสารผสมหยาดถั่วเหลืองต่อเอทานอลเท่ากับ 1:0.5 จะให้

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงสุดเท่ากับ $329.29 + 0.023$ มิลลิกรัมสมมูลทอรอลอกซ์ต่อกรัมการสกัด เนื่องจากมีองค์ประกอบของ กรดแกลลิกและเจนิสเตอิน (ฉันทิภัทร เซ็นโซ, 2561)

ข้อดีของการสกัดโดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

1. เป็นวิธีสกัดที่ง่ายและรวดเร็ว
2. สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกและพอลิแซ็กคาไรด์ได้ในครั้งเดียว
3. ไม่ใช้พลังงานสูง และไม่ใช้สารเคมีอันตรายและราคาแพง

ด้วยข้อมูลดังกล่าวข้างต้น ทำให้ผู้ศึกษาสนใจศึกษากรรมวิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางรมแบบขั้นตอนเดียวโดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ สารเคมี และเครื่องมือ

3.1.1 วัตถุดิบ

เห็ดนางรมจากฟาร์มเห็ดบางขันหมาก อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี

3.1.2 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ทั้งหมดของงานวิจัย ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สารเคมี

สารเคมี	บริษัท
1. Ammonium sulfate (NH_4SO_4)	Sigma Aldrich / USA
2. Dipotassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4)	Merck / Germany
3. Potassium dihydrogen orthophosphate (KH_2PO_4)	Merck / Germany
4. Magnesium sulfate anhydrous (MgSO_4)	Panreac / Spain
5. Ethyl alcohol 99.99 เปอร์เซ็นต์ (Absolute for Analysis)	Carlo erba / Italy
6. Gallic acid anhydrous ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$)	Merck / Germany
7. Folin-Ciocalteu reagent	Merck / Germany
8. Sulfuric acid 98 เปอร์เซ็นต์ (H_2SO_4)	Merck / Germany
9. Sodium carbonate (Na_2CO_3)	Merck / Germany
10. Phenol crystallized 99 เปอร์เซ็นต์ ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$)	Carlo erba / Italy
11. D-Glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)	Carlo erba / Italy

3.1.3 เครื่องมือ

อุปกรณ์และเครื่องมือทั้งหมดในงานวิจัย ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 เครื่องมือ

เครื่องมือ	รุ่น	บริษัท
1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance)	XT 220A	Precisa / Switzerland
2. เครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary Evaporator)	CCA-1110	Eyela / Japan
3. เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum Pump)	35031-10	Cole-parmer/Taiwan
4. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Vis Spectrophotometer)	Cary 60	Agilent / Malaysia
5. ตู้อบลมร้อน (Oven)	Memmert Ecocell 222C	Memmert / Germany
6. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking Water Bath)	SW22	Julabo / Germany
7. เครื่องเขย่า (Shaker)	Orbit 1000	Labnet / China
8. เครื่องกวนแม่เหล็กดิจิตอล (Magnetic Stirrer)	RH basic 2	IKA / Germany
9. เครื่องปั่น (Blender)	LM-110T	Hanil / Korea

3.2 การเตรียมตัวอย่างให้นางนวลให้อยู่ในรูปแบบผงแห้ง

เตรียมให้นางนวลจากฟาร์มเห็ดบางชันหมาก อำเภอมือง จังหวัดลพบุรีนำไปล้างให้สะอาดด้วยน้ำจากนั้นผึ่งให้แห้งและนำไปอบที่ตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนแห้งและนำหนักคงที่แล้วนำมาบดละเอียดด้วยเครื่องปั่น

3.3 การสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยวิธีการสกัดแบบทั่วไป

สกัดสารและทดสอบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวลโดยใช้วิธีทั่วไปและหาปริมาณสารสกัด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)

3.3.1 การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot Water Extraction; HWE)

นำเห็ดนางนวลที่ผ่านการอบแห้ง 6 กรัม แช่น้ำปราศจากไอออน ในอัตราส่วน 1:20 โดยน้ำหนัก ต่อปริมาตรจากนั้นนำไปต้มให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้วนำไปกรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำของเหลวที่ได้มาตกตะกอนด้วยเอทานอล นำตะกอนที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงและนำไปอบให้แห้ง (ภาณุพงษ์ ใจจุติ และคณะ, 2559)

3.3.2 การสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยเอทานอล

นำเห็ดนางนวลที่ผ่านการอบแห้ง 6 กรัม สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ในอัตราส่วน 1:20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำไปสกัดด้วยโดยใช้เครื่องเขย่าแบบหมุนรอบด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำสารสกัดมากรองด้วยกระดาษกรองหมายเลข 1 เก็บสารละลายใส่ไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุน จากนั้นนำตะกอนที่ได้ไปอบให้แห้ง (สราญจิตร อินอ่อน, 2560)

3.4 ศึกษาผลของการ Partition ระหว่าง เอทานอลกับเกลือ 4 ชนิด

เตรียมเกลือ 4 ชนิดแยกกัน ได้แก่ NH_4SO_4 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , MgSO_4 อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และใส่เอทานอลในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ จากนั้นเลือกชนิดของเกลือที่ละลายน้ำได้ นำมาเติมเกลือลงไปจนกว่าเกลือไม่ละลาย นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้อง 60 นาที ความเร็วรอบ 150 ต่อนาที จากนั้นคำนวณปริมาณของเกลือ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ต่ำสุดที่ไม่ละลายน้ำ

3.5 การสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

นำเห็ดนางนวลที่ผ่านการอบแห้งและน้ำปราศจากไอออน อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตรา ส่วน 1:20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นปิดฝา ปั่นเหวี่ยง ด้วยเครื่องกวนสาร 20 นาที เมื่อครบเวลานั้น เติมเกลือ 100 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตรของน้ำ) และใส่เอทานอลในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ นำไปเขย่า 60 นาที จากนั้นนำมา ใส่กรวยแยก ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ให้แยกชั้นจากนั้นแยกตัวอย่าง Top phase, Intermediate phase และ Bottom phase ใส่ในปิเกอร์แยกกัน

ปิเกอร์ที่ 1 Top phase ชั้นของเอทานอลนำไประเหยโดยใช้วิธีปั่นเหวี่ยงสุญญากาศออกจาก สารสกัดนำตะกอนที่ได้ไปอบให้แห้ง ซึ่งน้ำหนักคำนวณร้อยละผลผลิตของสารสกัด และหาปริมาณสาร สารประกอบฟีนอลิก

ปิเกอร์ที่ 2 Intermediate phase ชั้นของกากเห็ดนางนวลให้ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบต่อนาที และนำของเหลวใสมาตกตะกอนด้วยเอทานอลเย็นใน อัตราส่วน 1:5 โดยต่อปริมาตรจากนั้นนำตะกอนที่ได้ไปอบให้แห้ง ซึ่งน้ำหนักคำนวณร้อยละผลผลิตของ สารสกัด และปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์

ปิเกอร์ที่ 3 Bottom phase ชั้นน้ำเกลือนำไประเหยโดยใช้วิธีปั่นเหวี่ยงสุญญากาศและนำไป อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ซึ่งน้ำหนักคำนวณร้อยละการกลับคืน

3.5.1 ศึกษาผลของการเปลี่ยนความเข้มข้นเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) ด้วย ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

เปลี่ยนความเข้มข้นของเกลือ เป็น 125 และ 150 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตรของน้ำ) ให้ครบทั้งหมด จากนั้นเปรียบเทียบปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกที่ได้และร้อยละ ผลผลิตของสารสกัด จากนั้นเลือกความเข้มข้นที่ของเกลือไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

3.5.2 ศึกษาผลของการเปลี่ยนสัดส่วนน้ำต่อเอทานอลที่ 1:0.5, 1:1.5, 1:2.0 ด้วยระบบ สารละลายน้ำสองวัฏภาค

เปลี่ยนสัดส่วนน้ำต่อเอทานอลในอัตราส่วนจาก 1:1 เป็น 1:0.5, 1:1.5, 1:2.0 โดย ปริมาตรต่อ ปริมาตรของน้ำ โดยใช้ความเข้มข้นของเกลือที่สรุปได้จากข้อ 3.2.4.1

3.5.3 ศึกษาผลของปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ของชั้นเกลือ

นำชั้นเกลือที่ได้ จากการศึกษาผลของการเปลี่ยนความเข้มข้นเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) ข้อ 3.5.1 และ 3.5.2 การศึกษาผลของการเปลี่ยนสัดส่วนน้ำต่อเอทานอลที่ 1:0.5, 1:1.5,

1:2.0 ที่ระเหยน้ำออกด้วยโดยใช้วิธีปั่นเหวี่ยงสุญญากาศและนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ มาทดสอบปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์

3.6 การวิเคราะห์ทางเคมี

3.6.1 การหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมด้วยวิธี Phenol-Sulfuric Acid

วิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมด้วยวิธี Phenol-Sulfuric Acid นำสารสกัดผสมกับ สารละลาย 5% Phenol ปริมาตร 0.5 ml จากนั้นผสมกับ Sulfuric acid ปริมาตร 2.5 ml แล้วนำไปอุ่น ในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จะทำให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีส้ม แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV Spectrophotometer โดยเทียบกับ กราฟสารมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นคำนวณผลในรูป มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด

3.6.2 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

วิเคราะห์ฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu นำสารสกัดมาเตรียมเป็นสารละลายด้วย ตัวทำละลายสัดส่วนน้ำต่อเอทานอลในอัตราส่วนจาก 1:1 จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่าง แล้วเติมน้ำปราศจากไอออน เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตรต่อ ปริมาตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรตามลำดับ เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิห้องนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV Spectrophotometer โดยเทียบกับกราฟสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic Acid) คำนวณผลในรูป มิลลิกรัมแกลลิก/กรัมสารสกัด

บทที่ 4

ผลการทดลอง และการอภิปรายผล

4.1 ผลการเตรียมตัวอย่างเห็ดนางนวลให้อยู่ในรูปแบบผงแห้ง

นำเห็ดนางนวลสดสีชมพู ล้างให้สะอาดด้วยน้ำจากนั้นผึ่งให้แห้งและนำไปอบที่ตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำไปบด ผลที่ได้ เห็ดนางนวลสดสีชมพูเมื่อนำไปอบและบดจะได้ผงเห็ดสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว ดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 ลักษณะของเห็ดนางนวลสด (ก) และ (ข) และเห็ดนางนวลแห้ง (ค)

4.2 ผลการสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยวิธีการสกัดแบบทั่วไป

4.2.1 การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot Water Extraction; HWE)

สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดผงเห็ดนางนวลแห้งโดยใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยเขย่าในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ และตกตะกอนด้วยเอทานอล นำตะกอนที่ได้ไปอบแห้งจะได้สารสกัดมีลักษณะเนื้อเหนียว จับตัวเป็นก้อน และมีสีดำเข้ม มีกลิ่นเฉพาะตัว ดังภาพที่ 4.2 จะได้ปริมาณร้อยละของผลผลิตของสารสกัด 3.31 และปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด 150.96 ± 3.31 มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด ดังตารางที่ 4.1



ภาพที่ 4.2 สารสกัดจากวิธีการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน

ตารางที่ 4.1 ร้อยละผลผลิตจากสารสกัดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด

ปริมาณสารสกัด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด)
3.31	150.96 ± 3.31

4.2.2 การสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยเอทานอล

สารสกัดฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดผงเห็ดนางนวลแห้งด้วยวิธีการเขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าแบบหมุนรอบด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 60 นาที ด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.9 หลังจากกำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนจะได้สารสกัดมีลักษณะข้นเหนียว

สีเหลืองและมีกลิ่นเฉพาะตัว ดังภาพที่ 4.3 จะได้ปริมาณร้อยละของผลผลิตของสารสกัด 8.94 และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 12.75 ± 0.20 มิลลิกรัมแกลลิก/กรัมสารสกัด ดังตารางที่ 4.2



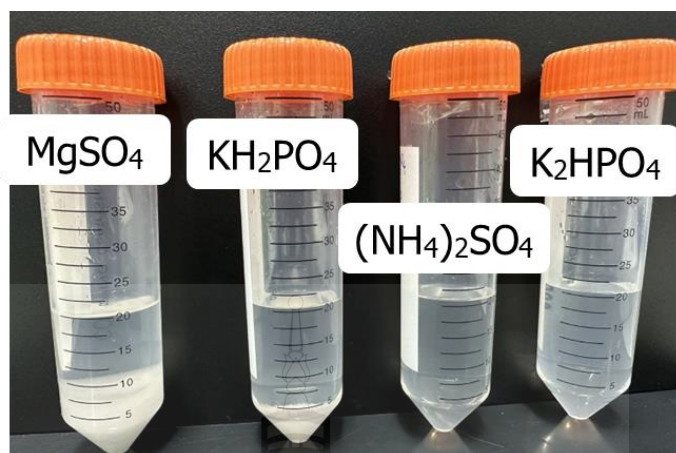
ภาพที่ 4.3 สารสกัดจากวิธีสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยเอทานอล

ตารางที่ 4.2 ลักษณะสารสกัด ร้อยละผลผลิตจากสารสกัด และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ปริมาณสารสกัด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมแกลลิก/กรัมสารสกัด)
8.94	12.75 ± 0.20

4.3 ผลของการ Partition ระหว่างเอทานอลกับเกลือ 4 ชนิด

การ Partition ระหว่างเอทานอลกับเกลือ 4 ชนิด ได้แก่ เกลือ NH_4SO_4 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , MgSO_4 โดยเตรียมเกลือ อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และใส่เอทานอลในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำจะได้ชนิดของเกลือที่ไม่ละลายได้แก่ MgSO_4 , KH_2PO_4 แสดงดังภาพที่ 4.4 จากนั้นเติมเกลือลงไปจนกว่าเกลือไม่ละลาย นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้อง 60 นาที ความเร็วรอบ 150 ต่อนาที จะได้ปริมาณร้อยละของเกลือ NH_4SO_4 , K_2HPO_4 ที่เกลือไม่ละลาย 28, 155 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.3



ภาพที่ 4.4 การละลายของเกลือ อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ตารางที่ 4.3 ชนิดของเกลือและร้อยละของเกลือที่ไม่ละลาย

ชนิดของเกลือ	ปริมาณของเกลือ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)
$MgSO_4$	10
KH_2PO_4	10
NH_4SO_4	28
K_2HPO_4	155

ผลการเปรียบเทียบชนิดของเกลือที่มีปริมาณร้อยละของเกลือที่ไม่ละลายสูงที่สุด ได้แก่ K_2HPO_4 จึงเลือกไปใช้สกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค โดยใช้เอทานอลและเกลือ K_2HPO_4 ที่ความเข้มข้นเกลือตั้งแต่ 100, 125, 150% ตามลำดับ

จากผลการทดสอบเกลือพบว่าถ้ามีการปรับปรุงวิธีการละลายของเกลือโดยเตรียมเกลือละลายกับน้ำและนำไปเขย่าก่อนเพื่อให้ละลายจากนั้นค่อยเติมเอทานอลจะช่วยให้เกลือละลายได้มากยิ่งขึ้น

4.4 ผลการสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

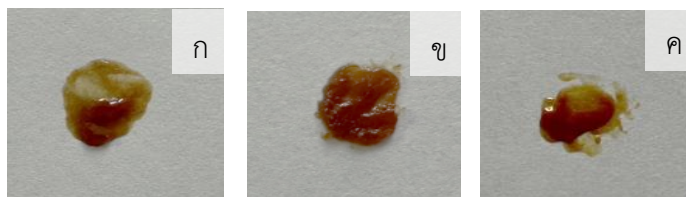
4.4.1 ผลของการเปลี่ยนความเข้มข้นเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4)

การสกัดเห็ดนางนวลด้วยเทคนิคระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคโดยการเปลี่ยนความเข้มข้นของเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) 100, 125, 150 % ตามลำดับและใช้เอทานอลอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ แสดงผลดังภาพที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าสารจะทำการแยกชั้นทุกความเข้มข้นเกลือตั้งแต่ 100, 125, 150%

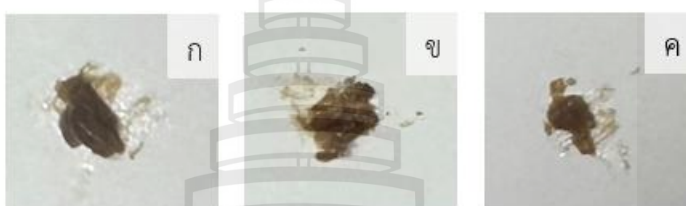


ภาพที่ 4.5 สารสกัดด้วยวิธีแยกชั้นสองวัฏภาคและแยกชั้นด้วยกรวยแยกที่ระดับความเข้มข้นของเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟตที่แตกต่างกัน: (ก) 100%, (ข) 125% และ (ค) 150%

สารสกัดที่ได้จะถูกแบ่งเป็น 3 ชั้น คือ ชั้น (1) ชั้นเอทานอล (2) ชั้นกากเห็ดนางนวล (3) ชั้นน้ำเกลือ โดยสารสกัดชั้นเอทานอลจะถูกกำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนจะเห็นได้ว่าลักษณะของสารสกัดมีลักษณะใกล้เคียงกัน ชั้นเหนียวสีเหลืองและมีกลิ่นเฉพาะตัว ดังภาพที่ 4.6 สารสกัดชั้นกากเห็ดนางนวลนำมาตกตะกอนด้วยเอทานอล นำตะกอนที่ได้ไปอบแห้งจะได้สารสกัดมีลักษณะเนื้อเหนียว จับตัวเป็นก้อน และมีสีเข้ม ดังภาพที่ 4.7 และชั้นน้ำเกลือกำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนและนำไปอบให้แห้งเพื่อหาค่าร้อยละการกลับคืน



ภาพที่ 4.6 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดชั้นเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นของเกลือไดโพรแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) ต่างกัน: (ก) 100%, (ข) 125% และ (ค) 150%



ภาพที่ 4.7 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดชั้นกากเห็ดนางนวลที่ระดับความเข้มข้นของเกลือไดโพรแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) ต่างกัน: (ก) 100%, (ข) 125% และ (ค) 150%

เมื่อทำการชั่งน้ำหนักสารที่สกัดได้ในแต่ละชั้นของความเข้มข้นเกลือตั้งแต่ 100% 125% 150% พบว่าชั้นเอทานอลที่ความเข้มข้นของเกลือต่ำจะให้ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดสูงที่สุด 10.31, 9.95, 8.50 ตามลำดับ ชั้นกากเห็ดนางนวลความเข้มข้นของเกลือสูงให้ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดสูงที่สุด 3.32, 3.33, 4.60 ตามลำดับ และชั้นน้ำเกลือได้ร้อยละการกลับคืน 72.18, 74.23, 76.73 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดและร้อยละการกลับคืนของเกลือ

ปริมาณของ K_2HPO_4 (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	ร้อยละผลผลิตของสารสกัด		ร้อยละการกลับคืน ชั้นน้ำเกลือ
	ชั้นเอทานอล	ชั้นกากเห็ดนางนวล	
100	10.31	3.32	72.18
125	9.95	3.33	74.23
150	8.50	4.60	76.73

หมายเหตุ เห็ดนางนวลที่ใช้ปริมาณ 6 กรัม, น้ำ 120 มิลลิลิตร, เอทานอล 120 มิลลิลิตร

เมื่อทำการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของแต่ละชั้นของความเข้มข้นเกลือตั้งแต่ 100%, 125%, 150% พบว่าที่ความเข้มข้นของเกลือที่ 125% จะให้ปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด 18.70 ± 0.10 , 28.85 ± 0.36 , 24.52 ± 0.21 ตามลำดับ ความเข้มข้นของเกลือที่ 100% จะให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงที่สุด 15.60 ± 1.69 , 14.85 ± 0.23 , 6.26 ± 0.24 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.5

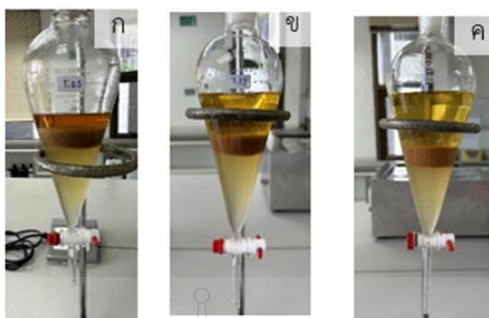
จากการศึกษาผลของเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) จึงเลือกความเข้มข้นของเกลือที่ 100% เนื่องจากใช้เกลือความเข้มข้นน้อยที่สุดแต่ได้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดทั้งชั้นเอทานอล และชั้นกากเห็ดนางรมได้ดีค่อนข้างสูงและมีปริมาณปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงที่สุดและสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าวิธีทั่วไป

ตารางที่ 4.5 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด

ปริมาณของ K_2HPO_4 (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมแกลลิก/กรัมสารสกัด)	ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด)
100	18.70 ± 0.10^a	15.60 ± 1.69^b
125	28.85 ± 0.36^c	14.85 ± 0.23^b
150	24.52 ± 0.21^b	6.26 ± 0.24^a

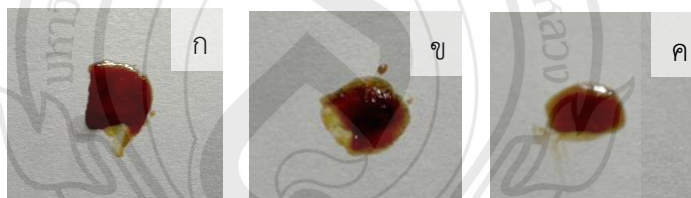
4.4.2 ผลของการเปลี่ยนสัดส่วนน้ำต่อเอทานอล

การสกัดเห็ดนางรมด้วยเทคนิคระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคเหมือนกับข้อ 4.3.2 โดยทำการเปลี่ยนสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:0.5, 1:1.5, 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ ตามลำดับ โดยใช้เข้มข้นของเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) 100% แสดงผลดังภาพที่ 4.8 จะเห็นได้ว่าสารจะทำการแยกชั้นที่สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:0.5, 1:1.5, 1:2 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ



ภาพที่ 4.8 สารสกัดด้วยวิธีแยกชั้นสองวัฏภาคและแยกชั้นด้วยกรวยแยกที่ระดับสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลที่ต่างกัน: (ก) 1:0.5, (ข) 1:1.5 และ (ค) 1:2.0

สารสกัดที่ได้จะถูกแบ่งเป็น 3 ชั้น คือ ชั้น (1) ชั้นเอทานอล (2) ชั้นกากเห็ดนางนวล (3) ชั้นน้ำเกลือ โดยสารสกัดชั้นเอทานอลจะถูกกำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนจะเห็นได้ว่าลักษณะของสารสกัดมีลักษณะใกล้เคียงกัน ชั้นเหนียวสีเหลืองและมีกลิ่นเฉพาะตัว ดังภาพที่ 4.9 สารสกัดชั้นกากเห็ดนางนวลนำตกตะกอนด้วยเอทานอล นำตะกอนที่ได้ไปอบแห้งจะได้สารสกัดมีลักษณะเนื้อเหนียว จับตัวเป็นก้อน และมีเข็ม ดังภาพที่ 4.10 และชั้นน้ำเกลือกำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนและนำไปอบให้แห้งเพื่อหาค่าร้อยละการกลับคืน



ภาพที่ 4.9 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดชั้นเอทานอลที่ระดับสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลที่ต่างกัน: (ก) 1:0.5, (ข) 1:1.5 และ (ค) 1:2.0



ภาพที่ 4.10 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดชั้นกากเห็ดนางนวลที่ระดับสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลที่ต่างกัน: (ก) 1:0.5, (ข) 1:1.5 และ (ค) 1:2.0

เมื่อทำการชั่งน้ำหนักสารที่สกัดได้ในแต่ละขั้นของการเปลี่ยนสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:0.5, 1:1.5, 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ พบว่าชั้นเอทานอลที่สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลสูงจะให้ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดสูงสุดที่ 10.16, 13.12, 7.05 ตามลำดับ ชั้นกากเห็ดนางนวลที่สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลสูงจะให้ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดสูงสุดที่ 7.05, 5.82, 7.47 ตามลำดับ และชั้นน้ำเกลือได้ร้อยละการกลับคืน 74.97, 72.56, 71.18 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดและร้อยละการกลับคืนของเกลือ

สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล (ปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ)	ร้อยละผลผลิตของสารสกัด		ร้อยละการกลับคืน ชั้นน้ำเกลือ
	ชั้นเอทานอล	ชั้นกากเห็ดนางนวล	
1:0.5	10.16	7.05	74.97
1:1.5	13.12	5.82	72.56
1:2.0	14.51	7.47	71.18

หมายเหตุ เห็ดนางนวลที่ใช้ปริมาณ 6 กรัม, เกลือไดโพอแทสเซียมฟอสเฟต 100 %

เมื่อทำการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของแต่ละขั้นของการเปลี่ยนสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:0.5, 1:1.0, 1:1.5, 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ (ผลของสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:1.0 ของข้อ 4.3.2 มาเปรียบเทียบ) พบว่าที่สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลที่ 1:1.0 จะให้ปริมาณฟีนอลิกสูงสุด 13.41 ± 0.36 , 18.70 ± 0.10 , 22.52 ± 0.15 , 31.15 ± 1.14 ตามลำดับ และที่สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลสูงจะจะให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด 14.06 ± 1.25 , 15.60 ± 1.69 , 16.33 ± 0.22 , 24.29 ± 1.73 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.6

จากการศึกษาผลของสัดส่วนน้ำต่อเอทานอลพบว่า มีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดต่ำกว่าวิธีทั่วไป แต่ที่สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ จะให้ปริมาณฟีนอลิกสูงสุดและสูงกว่าวิธีทั่วไป

ตารางที่ 4.7 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด

สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล (โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ)	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมแกลลิก/กรัมสารสกัด)	ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด)
1:0.5	13.41 ± 0.36 ^a	14.06 ± 1.25 ^a
1:1.0	18.70 ± 0.10 ^b	15.60 ± 1.69 ^a
1:1.5	22.52 ± 0.15 ^c	16.33 ± 0.22 ^a
1:2.0	31.15 ± 1.14 ^d	24.29 ± 1.73 ^b

4.4.3 ผลปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของชั้นเกลือ

จากการศึกษาผลของการเปลี่ยนความเข้มข้นเกลือไดโพลเทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) และผลของการเปลี่ยนสัดส่วนน้ำต่อเอทานอลพบว่า ผลทดสอบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดต่ำกว่าวิธีทั่วไปจึงทำการทดสอบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของชั้นเกลือ

ตารางที่ 4.8 ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของชั้นเกลือ

สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล (โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ)	ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของชั้นเกลือ (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด)
1:0.5	2.22 ± 0.09 ^d
1:1.0	1.42 ± 0.15 ^a
1:1.5	1.79 ± 0.18 ^b
1:2.0	1.96 ± 0.11 ^b

เมื่อทำการหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของชั้นเกลือที่ได้จากการสกัดโดยการเปลี่ยนสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:0.5, 1:1.0, 1:1.5, 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของ พบว่าให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ เท่ากับ 2.22±0.09, 1.42±0.15, 1.79±0.18, 1.96±0.11 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.8

จากผลการทดสอบ ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ จากการสกัดเห็ดนางรมด้วยระบบสารละลาย น้ำสองวัฏภาคพบว่ามีปริมาณต่ำกว่าวิธีสกัดแบบทั่วไปเนื่องมาจากขั้นตอนการการสกัดมีการใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาที่น้อยซึ่งจากการรายงานพบว่าการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่อุณหภูมิสูง จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ได้ เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น

จะไปช่วยทำลายหรือลดพันธะระหว่างสารประกอบต่าง ๆ ที่จับกันอยู่ภายในเซลล์ได้ จึงทำให้ได้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้เพิ่มขึ้น (Afshari et al., 2015) แต่จากการรายงานพบว่าการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธีการสกัดโดยใช้เอนไซม์ร่วมด้วยในการสกัดได้ปริมาณร้อยละของผลผลิตของสารสกัดเท่ากับ 3.61 ซึ่งได้น้อยกว่าวิธีสกัดด้วยน้ำร้อนและสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (Jiao et al., 2017) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก จากการสกัดเห็ดนางนวลด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคมีปริมาณมากกว่าวิธีทั่วไปและมีปริมาณมากกว่าในเห็ดนางนวลสดอีกด้วย ซึ่งจากรายงานพบว่าการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเห็ดนางนวลสดทุกระยะการเติบโตมีปริมาณฟีนอลิกในช่วง 1.2–2.7 มิลลิกรัม/กรัม เท่านั้น (Saha et al., 2012)



บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

5.1 สรุปผลวิจัย

จากการศึกษาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวลด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค พบว่าเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเกลือไดโพลแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) และสัดส่วนน้ำต่อเอทานอลที่ใช้ในการสกัดจะส่งผลต่อปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิก โดยใช้ความเข้มข้นของเกลือไดโพลแทสเซียมฟอสเฟตร้อยละ (K_2HPO_4) 100, 125, 150 ตามลำดับและเปลี่ยนสัดส่วนน้ำต่อเอทานอล 1:0.5, 1:1.5, 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ พบว่าความเข้มข้นของเกลือไดโพลแทสเซียมฟอสเฟตร้อยละ (K_2HPO_4) 100 และอัตราส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด เท่ากับ 24.29 ± 1.73 มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด, 31.15 ± 1.14 มิลลิกรัมแกลลิก/กรัมสารสกัด ตามลำดับ จากผลทดสอบทำให้สรุปได้ว่าการเพิ่มปริมาณเอทานอลสูงขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้น แต่การเพิ่มปริมาณของความเข้มข้นเกลือนั้นไม่ได้แปรผันตรงกับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและพอลิแซ็กคาไรด์แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีทั่วไปพบว่า ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ของวิธีทั่วไป เท่ากับ 150.96 ± 3.31 มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด มีปริมาณสูงกว่าจากการสกัดด้วยด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค ซึ่งเกิดจากการสกัดด้วยด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค มีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ปนอยู่ในชั้นเกลือแต่เมื่อรวมพอลิแซ็กคาไรด์ในชั้นเกลียยังมีปริมาณต่ำกว่าวิธีทั่วไปและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของวิธีทั่วไป เท่ากับ 12.75 ± 0.20 มิลลิกรัมแกลลิก/กรัมสารสกัดมีปริมาณต่ำกว่าจากการสกัดด้วยด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าเห็ดนางนวลสามารถสกัดปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกได้ในขั้นตอนเดียวด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค ซึ่งเป็นการลดต้นทุน และลดขั้นตอนในทางอุตสาหกรรมได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ศึกษาเพิ่มเติมในการทดสอบการ Partion ระหว่างเอทานอลกับเกลือ โดยเพิ่มเวลาละลายเกลือโดยนำไปเขย่าก่อนจากนั้นค่อยใส่เอทานอล เพื่อให้เกลือละลายอย่างสมบูรณ์

5.2.2 ศึกษาเพิ่มเติมในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคโดยเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นและควบคุมอุณหภูมิของน้ำที่ใช้สกัดให้คงที่และระยะเวลานานขึ้น หรือหลังจากสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคให้นำชั้นกากเห็ดนางรมไปสกัดอีกครั้งโดยเพิ่มอุณหภูมิและเวลาเพื่อให้ได้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์มากยิ่งขึ้น





รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิง

- กัลยา เกิดศิริชัยรัตน์. (2561). ปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระระหว่างการงอกของสารสกัดกากเมล็ดถั่ว 5 ชนิด (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- ดำเกิง ป้องพาล. (2561). การผลิตเห็ด (*mushroom production*): เอกสารประกอบการสอน คณะผลิตกรรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- ณิชภัทร เซ็นโส. (2561). การสกัดโปรตีนและฟีนอลิกแบบขั้นตอนเดียวจากกากถั่วเหลืองโดยเทคนิคการละลายสามวัฏภาค (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมวงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์. (ม.ป.ป.ก). *Phenolic compounds*. สืบค้นเมื่อ 4 ธันวาคม 2566, จาก <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compounds>
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมวงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์. (ม.ป.ป.ก). *Polysaccharide*. สืบค้นเมื่อ 4 ธันวาคม 2566, จาก <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1101/polysaccharide-พอลิแซ็กคาไรด์>
- ฟาร์มเห็ดখনอม. (ม.ป.ป). *เห็ดนางนวล*. สืบค้นเมื่อ 4 ธันวาคม 2566, จาก <https://sites.google.com/site/khanommushroomfarm/ru-reuxng-hed/hed-nangnwl-sichmphu>
- กาญจพงษ์ ใจจุติ, ปัญญวัฒน์ ปินตาทอง และนิสากร แซ่วัน. (2558). ฤทธิ์ทางชีวภาพของพอลิแซ็กคาไรด์ละลายน้ำจากเห็ดหูหนูเห็ดหูหนูขาว เห็ดฟาง และเห็ดนางฟ้าสำหรับประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- วาสิณี ภิรมณ์รัก. (2561). การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกแก้วมังกร เพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้นผิว (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

วิภาวรรณ ศรีมุข. (2550). *เรื่องน่ารู้เห็ด*. https://www.dss.go.th/images/st-article/bsp_12_2550_Mushroom.pdf

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.). (2564). *การรวบรวมข้อมูลการผลิตและการตลาดเห็ดเศรษฐกิจและเห็ดป่ากินได้ในประเทศไทย*.
<https://waa.inter.nstda.or.th/stks/pub/2021/20210817-economic-mushroom-market.pdf>

สำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. (ม.ป.ป). *โครงการการศึกษาทดลองการใช้เชื้อวัสดุในท้องถิ่นลิบชนิดเพื่อลดต้นทุนการผลิตเห็ดนางฟ้าภูฐาน*. สืบค้นเมื่อ 4 ธันวาคม 2566, จาก [https://www.rdpb.go.th/th/Studycenter/ฐานข้อมูลการศึกษาทดลองและวิจัยของศูนย์-c78/โครงการการศึกษาทดลองการใช้เชื้อวัสดุในท้องถิ่นลิบชนิด-v10286#:~:text=ภาพที่%203%20เห็ดนางพื้,20\(Pleurotus%20djamor\)](https://www.rdpb.go.th/th/Studycenter/ฐานข้อมูลการศึกษาทดลองและวิจัยของศูนย์-c78/โครงการการศึกษาทดลองการใช้เชื้อวัสดุในท้องถิ่นลิบชนิด-v10286#:~:text=ภาพที่%203%20เห็ดนางพื้,20(Pleurotus%20djamor))

สรณจิตร์ อินอ่อน. (2560). *ความสัมพันธ์ของสีใบหูกวางกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ* (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

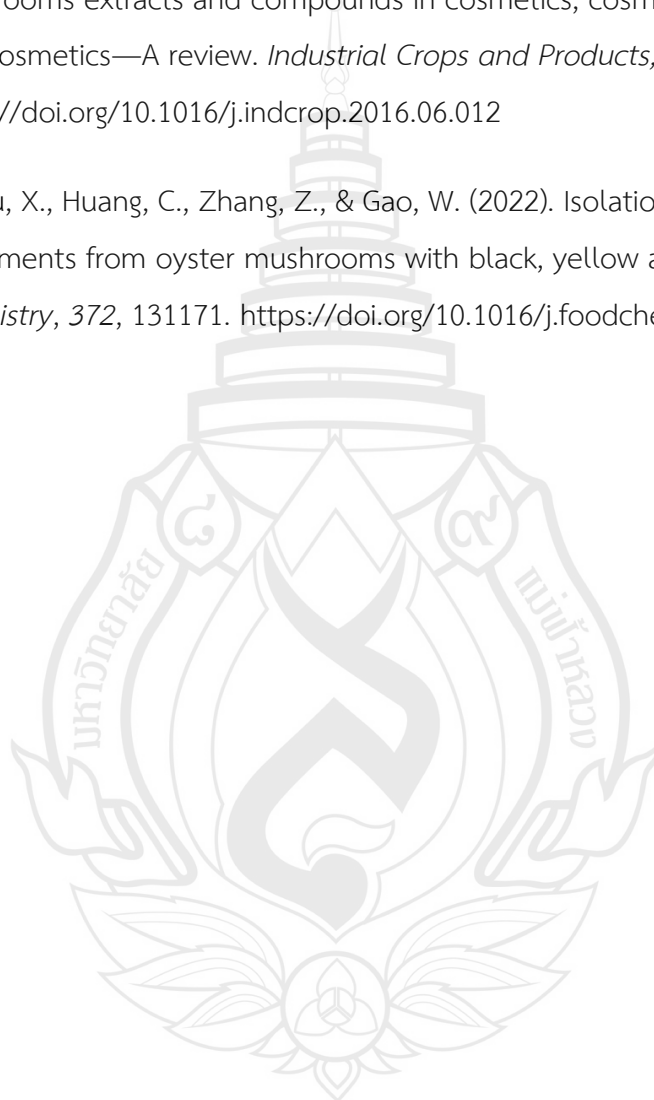
Acharya, K., Khatua, S., & Ray, S. (2017). Quality assessment and antioxidant study of *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(6), 105-110.

Afshari, K., Samavati, V., & Shahidi, S. A. (2015). Ultrasonic-assisted extraction and in-vitro antioxidant activity of polysaccharide from *Hibiscus* leaf. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 558-567.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.07.023>

Jiao, F., Wang, X., Song, X., Jing, H., Li, S., Ren, Z., . . . Jia, L. (2017). Processing optimization and anti-oxidative activity of enzymatic extractable polysaccharides from *Pleurotus djamor*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 469-478. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.126>

- Gursoy, N., Sarikurkcu, C., Tepe, B., & Halil Solak, M. (2010). Evaluation of antioxidant activities of 3 edible mushrooms: *Ramaria flava* (Schaeff.: Fr.) Quél., *Rhizopogon roseolus* (Corda) TM Fries., and *Russula delica* Fr. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 691-696. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0097-8>
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375. <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>
- Leong, Y. K., Yang, F. C., & Chang, J. S. (2021). Extraction of polysaccharides from edible mushrooms: Emerging technologies and recent advances. *Carbohydrate Polymers*, 251, 117006. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117006>
- Liu, Z., Yu, D., Li, L., Liu, X., Zhang, H., Sun, W., . . . Jia, W. (2019). Three-phase partitioning for the extraction and purification of polysaccharides from the immunomodulatory medicinal mushroom *Inonotus obliquus*. *Molecules*, 24(3), 403. <https://doi.org/10.3390/molecules24030403>
- Maity, G. N., Maity, P., Khatua, S., Acharya, K., Dalai, S., & Mondal, S. (2021). Structural features and antioxidant activity of a new galactoglucan from edible mushroom *Pleurotus djamor*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 168, 743-749. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.131>
- Ma, H., Wei, J. Q., Su, D., Guo, T., Feng, Z. P., Zhang, J. B., . . . Wei, L. Y. (2015). Aqueous two-phase extraction of polysaccharide from *Potentilla anserine* L. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 9(10), 807-811. <https://doi.org/10.19026/ajfst.9.1665>
- Sangthong, S., Pintathong, P., Pongsua, P., Jirarat, A., & Chaiwut, P. (2022). Polysaccharides from *Volvariella volvacea* mushroom: Extraction, biological activities and cosmetic efficacy. *Journal of Fungi*, 8(6), 572. <https://doi.org/10.3390/jof8060572>

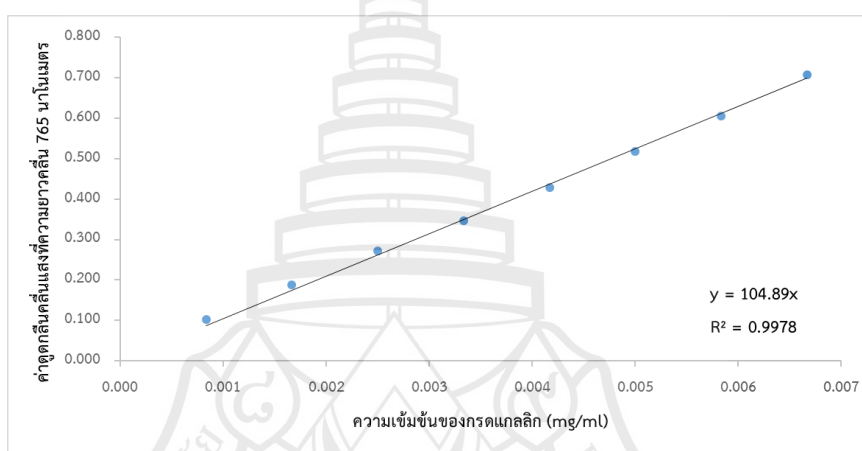
- Saha, A. K., Acharya, S., & Roy, A. (2012). Antioxidant level of wild edible mushroom: *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedijn. *Journal of Agricultural Technology*, 8(4), 1343-1351.
- Taofiq, O., González-Paramás, A. M., Martins, A., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. (2016). Mushrooms extracts and compounds in cosmetics, cosmeceuticals and nutricosmetics—A review. *Industrial Crops and Products*, 90, 38-48.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.06.012>
- Zhang, Y., Wu, X., Huang, C., Zhang, Z., & Gao, W. (2022). Isolation and identification of pigments from oyster mushrooms with black, yellow and pink caps. *Food Chemistry*, 372, 131171. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131171>



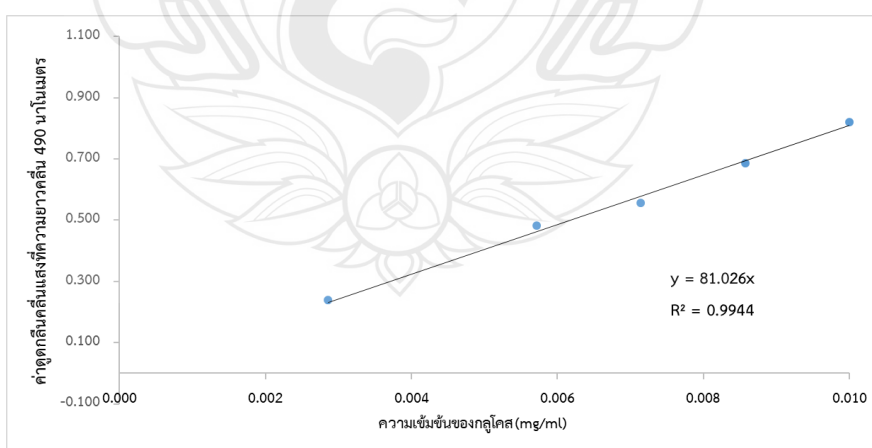


ภาคผนวก

กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมและ ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวม



ภาพที่ ก1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกที่ค่าดูดกลืนแสง 765 นาโนเมตรเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม



ภาพที่ ก2 กราฟมาตรฐานกลูโคสที่ค่าดูดกลืนแสง 490 นาโนเมตรเพื่อวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวม



ประวัติผู้เขียน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	จุฑารัตน์ ชัยวัฒน์ธนน
ประวัติการศึกษา	
2556	ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมี มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี
ประวัติการทำงาน	
2562-ปัจจุบัน	QC Product บริษัท เอส แอนด์ เจ อินเตอร์เนชั่นแนล เอนเตอร์ไพรส์ จำกัด (มหาชน) จังหวัดชลบุรี
2556-2562	QA Analyst บริษัท E85 จำกัด (Double A Ethanol) จังหวัดปราจีนบุรี