



การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่ด้วยการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด  
ENZYME-ASSISTED EXTRACTION OF POLYSACCHARIDES  
FROM *Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. ROB.

ศิริภัทร์ พลอยทับทิม

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง  
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2565

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่ด้วยการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด  
ENZYME-ASSISTED EXTRACTION OF POLYSACCHARIDES  
FROM *Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob.

ศิริภัทร์ พลอยทับทิม

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2565

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

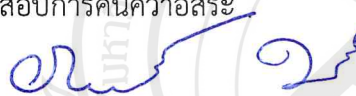
การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีด้วยการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด  
ENZYME-ASSISTED EXTRACTION OF POLYSACCHARIDES  
FROM *Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob.

ศิริภัทร์ พลอยทับทิม

การค้นคว้าอิสระนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

2565

คณะกรรมการสอบการค้นคว้าอิสระ



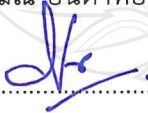
ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ)



อาจารย์ที่ปรึกษา

(ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง)



กรรมการ

(ดร.ณัฐวฑูฒิ จิตติปราโมทย์)

**วรรณิศา ชัยญาณะ**

กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณิศา ชัยญาณะ)

## กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าอิสระฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความกรุณา คำแนะนำ และความช่วยเหลือจากคณาจารย์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ที่กรุณามอบคำปรึกษา คำแนะนำตลอดระยะเวลาการทำงานทดลอง รวมถึงตรวจสอบความถูกต้องของเนื้อหาและรายละเอียดต่าง ๆ จวบจนการค้นคว้าอิสระเสร็จสมบูรณ์ ผู้เขียนขอกราบขอบคุณเป็นอย่างสูง ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณ คุณธนิชา ประเสริฐ เจ้าหน้าที่ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง ประจำหน่วยประสานงานมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง กรุงเทพฯ ที่มอบคำปรึกษา ดูแลและอำนวยความสะดวก ตลอดจนช่วยประสานงานด้านต่าง ๆ ตั้งแต่เริ่มต้นจนการวิจัยเสร็จสิ้น

ขอขอบคุณบริษัท ยูนิลีเวอร์ ไทย เทรตติ้ง จำกัด ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ สารเคมี ตลอดจนเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ดร.รุ่งนภา อนันตวรสกุล และนางสาววสุพร ตันติกุลวรชัย หัวหน้างานแผนกวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ ฝ่ายผลิตภัณฑ์ดูแลผิวกาย ประจำพื้นที่ภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่ช่วยประสานงาน มอบคำแนะนำ กำลังใจและคำปรึกษา ตลอดจนมอบความรู้เพิ่มเติมทางด้านวิชาการจนการทดลองเสร็จสมบูรณ์

ท้ายนี้ขอขอบคุณบิดา มารดา และเพื่อน ๆ ที่ช่วยเหลือและมอบกำลังใจโดยเสมอมา ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจที่จะนำการศึกษาไปต่อยอดในอนาคต หากการศึกษามีข้อบกพร่องหรือมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้เขียนขออภัยไว้ ณ ที่นี้

ศิริภัทร์ พลอยทับทิม

ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีด้วยการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด
ชื่อผู้เขียน	ศิริภัทร์ พลอยทับทิม
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง

### บทคัดย่อ

หมี (*Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob. เป็นไม้ยืนต้นที่สามารถพบได้ทั่วภูมิภาคของประเทศไทย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาประสิทธิภาพการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีด้วยวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัดและประเมินคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เพื่อประโยชน์ทางเครื่องสำอาง งานวิจัยนี้ได้ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดของเอนไซม์และความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการสกัดภายใต้สภาวะเดียวกัน (พีเอช อุณหภูมิและระยะเวลาการสกัด) จากนั้นวิเคราะห์ร้อยละผลผลิต ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวม ลักษณะทางกายภาพและเคมี ผลการศึกษาพบว่าการสกัดแบบวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัดให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงกว่าการสกัดแบบวิธีดั้งเดิม (การสกัดด้วยวิธีต้ม; hot water extraction method) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้มีลักษณะคล้ายคลึงกับสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยวิธีต้มทั้งทางกายภาพและเคมี และมีเอกลักษณ์ของหมู่ฟังก์ชันคล้ายคลึงกัน ร้อยละผลผลิตสูงสุด มีค่าเท่ากับ ร้อยละ  $9.25 \pm 0.51$  เมื่อสกัดด้วยเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิด (เซลลูเลส : เพกตินเนส : ปาเปน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 60 ยูนิตเอนไซม์/กรัม ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมสูงสุดมีค่าเท่ากับ  $452.26 \pm 0.13$  มิลลิกรัมสมมูลกลูโคส/กรัมสารตัวอย่าง เมื่อสกัดด้วยเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิด (เซลลูเลส : เพกตินเนส : ปาเปน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 20 ยูนิตเอนไซม์/กรัม ความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดที่ละลายน้ำได้มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 1.2 (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) เมื่อละลายด้วยสารสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 60 ยูนิตเอนไซม์/กรัม และความสามารถการพองตัว (%SI) ของสารสกัด มีค่าระหว่าง  $111.11 \pm 19.25$  ถึง  $866.67 \pm 57.74$  เมื่อพิจารณาถึงความสามารถการก่อก้อน สารสกัดแสดงประสิทธิภาพการก่อก้อนต่ำกว่าเมื่อเทียบกับแขนแทนกันที่ความเข้มข้นเดียวกัน ดังนั้นสารสกัด

พอลิแซ็กคาไรด์จากไบโหมีสามารถประยุกต์ใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อปรับปรุงเนื้อของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง  
ได้ในอนาคต

**คำสำคัญ:** เซลลูโลส, เพกติน, ปาเปน, สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์, หมี่



**Independent Study Title** Enzyme-assisted Extraction of Polysaccharides from *Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob.

**Author** Siriphat Ploytabtim

**Degree** Master of Science (Cosmetic Science)

**Advisor** Punyawatt Pintathong, Ph. D.

## ABSTRACT

*Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob. is an evergreen or deciduous trees found throughout Thailand. This research was aimed to improve the efficiency of polysaccharides extraction from *L. glutinosa* leaves using enzyme-assisted extraction (EAE) method and to study physio-chemical characteristics of polysaccharides extract for application as cosmetic ingredients. The experiment was carried out under the same conditions (pH, extraction time and liquid-solid ratio), whereas type of enzymes and enzyme unit were varied. Extraction yield, total carbohydrates content, and physio-chemical properties were determined. In comparison to the conventional extraction method (hot water extraction; HWE), the EAE method showed greater efficiency and significant difference ( $p < 0.05$ ) in yield and polysaccharide content. Furthermore, the physio-chemical properties of both methods were similar in term of chemical functional group. The maximum yield ( $9.25 \pm 0.51\%$ ) was obtained by extracting with enzyme cocktail at 60 U/g, while the highest total carbohydrates content ( $452.26 \pm 0.13$  mg GE/g extract) was obtained by extracting with enzyme cocktail at 20 U/g. Maximum water solubility of 12 mg/mL was obtained by extracting with papain at 60 U/g. In addition, the polysaccharides swelling index (%SI) ranged from  $111.11 \pm 19.25$  to  $866.67 \pm 57.74$ . The gel forming property of *L. glutinosa*

polysaccharides was compared with xanthan gum. At the same concentration, the *L. glutinosa* polysaccharides extract was showed less effective in gel formation than xanthan gum. In conclusion, the *L. glutinosa* polysaccharides could be interesting for being used as a sensory modifying ingredient in cosmetic products.

**Keywords:** Cellulase, *Litsea glutinosa*, Papain, Pectinase, Polysaccharides



## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(3)
บทคัดย่อภาษาไทย	(4)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(6)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(11)
<b>บทที่</b>	
<b>1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ที่มา ปัญหาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ขอบเขตการศึกษา	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>2 ทบทวนวรรณกรรม</b>	<b>4</b>
2.1 หมี่	4
2.2 พอลิแซ็กคาไรด์	8
2.3 การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์	16
2.4 การสกัดด้วยการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด (Enzyme-assisted Extraction)	19
2.5 เอนไซม์เซลลูเลส	22
2.6 เอนไซม์เพกตินเนส	23
2.7 เอนไซม์ปาเปน	24

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่</b>	
<b>3 ระเบียบวิธีการวิจัย</b>	<b>25</b>
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และวัสดุที่ใช้ในการวิจัย	25
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	27
<b>4 ผลการทดลอง</b>	<b>31</b>
4.1 การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี	31
4.2 ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ของสารสกัดจากใบหมี	37
4.3 การทดสอบคุณสมบัติเคมีกายภาพของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี	42
<b>5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ</b>	<b>56</b>
5.1 สรุปผลการศึกษา	56
5.2 ข้อเสนอแนะ	57
<b>รายการอ้างอิง</b>	<b>58</b>
<b>ภาคผนวก</b>	<b>70</b>
ภาคผนวก ก กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง และความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลูโคส	71
ภาคผนวก ข คະแนนคุณสมบัติการก่อเจลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ ด้วยวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ	72
<b>ประวัติผู้เขียน</b>	<b>73</b>

## สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
3.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	25
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	26
3.3 การประเมินคะแนนความหนืด	29
4.1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีจากเอนไซม์ที่ยูนิตเอนไซม์ต่างกัน	36
4.2 ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีด้วยวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ ที่ระดับยูนิตของเอนไซม์แตกต่างกัน	41
4.3 การประเมินคุณสมบัติการก่อเจลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ	48
4.4 ความสามารถในการพองตัวของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีด้วยเอนไซม์ที่ระดับยูนิตต่าง ๆ	54

## สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 ลักษณะภายนอกของใบหมีและผลหมี	5
2.2 ลักษณะโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ประเภทต่าง ๆ	8
2.3 ลักษณะโครงสร้างของอะไมโลส	9
2.4 ลักษณะโครงสร้างของอะไมเพกติน	10
2.5 ลักษณะโครงสร้างของไกลโคเจน	11
2.6 ลักษณะโครงสร้างของเซลลูโลส	12
2.7 ลักษณะโครงสร้างของไคติน	13
2.8 ลักษณะโครงสร้างของเดกซ์ทรานส์	13
2.9 ลักษณะโครงสร้างของเพปทิโดไกลแคน	14
2.10 ลักษณะโครงสร้างอากาศ	15
2.11 ลักษณะโครงสร้างของไกลโคอะมิโนไกลแคน	16
2.12 เครื่องมือสำหรับการสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค	18
2.13 เครื่องมือสำหรับการสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วย	19
2.14 โครงสร้างของผนังเซลล์พืช	20
3.1 ตัวอย่างผงใบหมีแห้งก่อนนำไปสกัด	27
4.1 ลักษณะสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีจากการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นยูนิตเอนไซม์ 20 ยูนิต/กรัม, 40 ยูนิต/กรัม และ 60 ยูนิต/กรัม ตามลำดับ	31
4.2 ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี ด้วยวิธีการต้มและวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด	37
4.3 ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมของการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี ด้วยวิธีการต้มและวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด	42
4.4 FT-IR ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ	45

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพ

หน้า

- 4.5 ลักษณะการพองตัวของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นยูนิตเอนไซม์ 20 ยูนิต/กรัม, 40 ยูนิต/กรัม และ 60 ยูนิต/กรัม ตามลำดับ

55



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ที่มา ปัญหาและความสำคัญ

หมี หรือ *Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob. (Lauraceae) เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง พบได้ทั่วไปบริเวณทวีปเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Ramana & Raju, 2017) และทั่วภูมิภาคของไทย ใบหมีนิยมนำมารับประทานเพื่อลดอาการปวดท้องหรือนำมาต้มร้อนเพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์ชำระล้างเส้นผม เนื่องจากมีฤทธิ์เป็นสารชำระล้างตามธรรมชาติ สามารถเกิดฟองได้ดี (ฉันทพัชร เหล่าอาภาสุวงศ์, 2557)

ใบหมีประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย  $\beta$ -ocimene และ caryophyllene เป็นองค์ประกอบหลัก (Hien et al., 2010) มีองค์ประกอบของสารกลุ่มอัลคาลอยด์และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์หลายชนิด เช่น boldine, laurolitine (Yang et al., 2005), kaempferol 7-glucoside, kaempferol-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (Mohan & Pathak, 1975) เป็นต้น สารสกัดจากใบหมีพบว่ามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา คือ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ บรรเทาอาการปวด ลดการระคายเคืองของผิวหนัง (Bhowmick et al., 2014; Pradeepa et al., 2013) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Devi & Meera, 2010) และต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Pradeepa et al., 2011) นอกจากนี้สารเมือก (mucilage) ของใบหมีพบพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดละลายน้ำซึ่งมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง (Cui et al., 2011) โดยมีรายงานการพบ arabinoxylan ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดละลายน้ำที่ประกอบด้วย xylose และ arabinose (Das et al., 2013) ทางวงการแพทย์ arabinoxylan เป็นที่รู้จักโดยกว้าง โดยสามารถกระตุ้นการทำงานของลำไส้ (Lu, Gibson et al., 2000) ลดน้ำตาลในเลือด (Lu, Walker et al., 2000) รวมทั้งสามารถลดคอเลสเตอรอลได้ (Lu et al., 2004) นอกจากนี้มีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับคุณสมบัติของสารเมือกในใบหมี พบว่ามีประสิทธิภาพในการทำความสะอาดและกระตุ้นการเจริญของเส้นผม (Sitthithaworn et al., 2018) และสามารถลดการหลุดร่วงของเส้นผมได้อย่างมีนัยสำคัญ (ฉันทพัชร เหล่าอาภาสุวงศ์, 2557) จากคุณสมบัติดังกล่าวส่งผลให้มีการนำสารเมือกของใบหมีไปประยุกต์ใช้ในกลุ่มผลิตภัณฑ์ดูแลและทำความสะอาดเส้นผม

อย่างแพร่หลาย (Das et al., 2013; Herath et al., 1990) อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานการศึกษาหรือการนำไปประยุกต์ใช้ในกลุ่มดูแลผิวกาย หากสารเมือกจากไบโหมีมีคุณสมบัติบางประการเช่นเดียวกับสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากพืชที่มีปริมาณสารเมือกสูงก็จะช่วยเพิ่มมูลค่า คุณสมบัติของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากไบโหมี และนำไปประยุกต์ใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ดูแลผิวกายได้

กระบวนการสกัดเป็นขั้นตอนสำคัญต่อการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) ออกจากวัตถุดิบ (Salomon et al., 2014) การสกัดสารเมือกจากไบโหมีมีหลายวิธี เช่น สกัดด้วยวิธีการต้มด้วยน้ำร้อน (ณัฐพัชร เหล่าอาภาสุวงศ์, 2557; Das et al., 2013; Sitthithaworn et al., 2018) สกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค (พรพรรณ สิริระมนต์ และวิชาญ เอียดทอง, 2561) และสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วม (Manosroi et al., 2015) เป็นต้น ส่งผลให้ปัจจุบันมีการศึกษาและพัฒนาวิธีการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่หลากหลาย เช่น การสกัดโดยใช้เอนไซม์ช่วยสกัด ซึ่งเป็นวิธีการนำเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยองค์ประกอบและสารสำคัญออกจากพืชที่ศึกษา เพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญและผลผลิตสูงขึ้น โดยวิธีการสกัดด้วยเอนไซม์เป็นกระบวนการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถนำมาใช้ซ้ำ ลดปริมาณตัวทำละลายเคมีที่ใช้ในการสกัด ดำเนินการโดยใช้พลังงานและอุณหภูมิต่ำ ใช้ระยะเวลาการสกัดที่สั้น ส่งผลให้การสกัดมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น (Zhao et al., 2016) อย่างไรก็ตามการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัดต้องคำนึงถึงองค์ประกอบหรือชิ้นส่วนของพืชที่นำมาสกัด ชนิดของเอนไซม์ และสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดของเอนไซม์แต่ละชนิด (วีรภัทร วิโนทพรรษ์, 2557) ปัจจุบันได้มีการนำเอนไซม์มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมขนมอบ, อุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์, อุตสาหกรรมยาง, อุตสาหกรรมกระดาษ และอุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น (Kirk et al., 2002)

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาวิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากวิธีการสกัดด้วยเอนไซม์ต่างชนิดเพื่อเปรียบเทียบสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากไบโหมีที่ได้จากการสกัดแบบดั้งเดิม คือ การสกัดด้วยวิธีต้ม (hot water extraction method) พร้อมศึกษาประเมินคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในผลิตภัณฑ์สำหรับดูแลผิวกาย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1.2.1 เพื่อพัฒนาวิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากไบโหมีด้วยวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด
- 1.2.2 เพื่อประเมินคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากไบโหมีเพื่อประโยชน์ทางเครื่องสำอาง

### 1.3 ขอบเขตการศึกษา

1.3.1 ซึ่ตัวอย่างใบไหม้จากอำเภอฟ้าว จังหวัดเชียงใหม่ ช่วงระยะเดือนมีนาคม ทำความสะอาด ซับให้แห้ง หั่นเป็นชิ้นเล็ก นำไปอบที่ตู้อบลมร้อนจนน้ำหนักของใบไหม้คงที่ และนำมา บดให้ละเอียด

1.3.2 นำตัวอย่างใบไหม้ที่เตรียมไว้มาสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ คือ สกัดด้วยวิธีการต้มร้อน และสกัดด้วยวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด

1.3.3 นำตัวอย่างสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ มาวิเคราะห์ ทางกายภาพและเคมี

1.3.3.1 วิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมด้วยวิธี phenol-sulfuric method

1.3.3.2 พิสูจน์เอกลักษณ์ของพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยเทคนิค fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

1.3.3.3 ทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบไหม้ ได้แก่ การทดสอบความสามารถในการละลายน้ำและการก่อเจลของตัวอย่างสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ และการทดสอบคุณสมบัติการพองตัวของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 วิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

1.4.2 พอลิแซ็กคาไรด์จากใบไหม้ที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการพัฒนาเป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์ดูแลผิวหน้าและผิวกาย

## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรม

#### 2.1 หมี่

##### 2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

หมี่ มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ คือ *Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob. จัดอยู่ในวงศ์ LAURACEAE โดยสามารถพบได้ทั่วภูมิภาคของไทยและมีชื่อเรียกตามภูมิภาค ดังนี้ หมี่ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ); กำปรนปราย (ของ จันทบุรี); ดอกจุ่ม (ลำปาง); ตังสีไพร (พิษณุโลก); ทังบวน (ปัตตานี); มะเย้อ, ยุบเยา, หมี่เหม็น (ชลบุรี, ภาคเหนือ); มือเบาะ (มลายู-ยะลา); มัน (ตรัง); เส่ปียซู้ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน); หมี่ (ลำปาง, อุดรธานี); หมูทะลวง (จันทบุรี); หมูเหม็น (แพร่); อีเหม็น (กาญจนบุรี, ราชบุรี)

หมี่เป็นไม้ยืนต้น สูง 5-15 เมตร ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปรีแกมขอบขนานหรือรูปไข่กลับ กว้าง 5-9 ซม. ยาว 10-20 ซม. ปลายใบกลมหรือเรียวแหลม โคนใบสอบเป็นครีบริบหรือกลม ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่นเล็กน้อย ผิวใบด้านบนเกลี้ยงเป็นมัน ด้านล่างมีขน ก้านใบยาว 1-2.5 ซม. มีขน ดอกช่อซี่ร่มออกที่ซอกใบ แยกเพศอยู่ต่างต้น ช่อดอกเพศผู้มีประมาณ 8-10 ดอก กลีบรวมลดรูปลงเหลือ 1-2 กลีบ หรือไม่มีเลย รูปขอบขนาน ขอบกลีบมีขน เกสรเพศผู้มี 9-20 อัน ช่อดอกเพศเมียกลีบรวมลดรูปเหลือเพียงเล็กน้อยหรือไม่มี ผลสดรูปทรงกลม เมื่อสุกสีม่วงเข้ม ผิวมัน (ภาพที่ 2.1)



ที่มา Global Biodiversity Information Facility (2020)

### ภาพที่ 2.1 ลักษณะภายนอกของใบหมีและผลหมี

ลักษณะภายนอกของใบหมี คือ มีลักษณะเขียว สามารถพบเนื้อเยื่อแยกจากแผ่นใบเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะคือ ส่วน upper epidermis พบในด้านพื้นผิว (surface view) รูปร่างหลายเหลี่ยม ช่องระหว่างเซลล์ อาจพบหรือไม่พบปากใบ โดยอาจพบขนติดอยู่ด้วย ส่วน lower epidermis พบในด้านพื้นผิว (surface view) รูปร่างคล้าย upper epidermis แต่อาจมีขนาดเล็กกว่า โดยจะพบปากใบด้วยเสมอและอาจพบขนเช่นเดียวกัน ส่วน mesophyll มักพบอยู่ใต้ epidermis เมื่อพบชั้น epidermis แล้วปรับความชัดลึกลงไป ถ้าเป็น upper epidermis จะเห็นเซลล์ palisade แต่หากเป็นบริเวณ lower epidermis จะเห็น spongy cell ได้ในบางชั้น ในส่วนของ covering trichome เป็นแบบเซลล์เดี่ยว (unicellular) มีลักษณะเป็นรูปกรวย ผงังหนา และ lignified โดยเฉพาะบริเวณโคนขนยังมีผนังหนาเป็นพิเศษพบอยู่ทั่วไป ชั้นส่วนของ xylem vessel เป็นแบบ spiral ที่ลักษณะภายนอกของใบหมี (วารางคณา จินตพัฒนากิจ และสาวิตรี อัมภา, 2551)

#### 1.1.2 องค์ประกอบทางพฤกษเคมีของต้นหมี

องค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสกุลพืช *Litsea* ประกอบด้วยกลุ่มสารสำคัญต่าง ๆ ดังนี้

##### 1.1.2.1 กลุ่ม alkaloids

กลุ่มสาร alkaloids ที่พบได้มากในสายพันธุ์ *Litsea* คือ iso-quinoline alkaloids โดยสามารถจำแนกเป็นกลุ่มใหญ่ตามลักษณะของโครงสร้างของสาร ได้แก่ aporphine (ประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชัน N-methyl), proaporphine, 1-benzylisoquinoline, morphinane, phenanthrene และ dibenzopyrrocoline (Kong et al., 2015) และสามารถพบสารกลุ่ม alkaloids ในสกุลพืช

*Litsea* เพิ่มเติมราว ๆ 65 ชนิด รวมถึง boldine และ laurilitsine ที่พบได้มากในพืชตระกูล *Litsea* รวมถึงต้นหมี่เช่นกัน

Yang et al. (2005) ศึกษาสารสำคัญจากกิ่งและใบของต้นหมี่ผ่านการสกัดด้วยบิวทานอล จากการวิเคราะห์สารสำคัญที่ได้จากการสกัดกิ่งและใบพบกลุ่มสาร aporphine alkaloids เพิ่มเติมอีก 2 ชนิด คือ litseglutine A และ B

#### 1.1.2.2 กลุ่ม flavonoids

กลุ่มสาร flavonoids และอนุพันธ์เป็นองค์ประกอบหลักที่พบได้ในพืชสกุล *Litsea* ซึ่งสามารถจำแนกได้มากกว่า 40 ชนิด โดยมี flavanols, flavonols, chalcones และ glycosides เป็นหนึ่งในนั้น นอกจากนี้ยังพบ 2'-oxygenated flavone glycoside หรือ glutin ได้ใน *Litsea glutinosa*

#### 1.1.2.3 กลุ่ม butanolides และ butenolactones

Butanolides และ butenolactones คือ สารเมแทบอลิท์ทุติยภูมิที่พบมากในพืชสกุล *Litsea* (Agrawal et al., 2011) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาถึงพฤกษเคมีเพิ่มเติมของ *L. glutinosa* ผ่านการสกัดแก่นไม้ด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ ส่งผลให้สามารถจำแนกและค้นพบสารกลุ่ม butanolides เพิ่มเติม 4 ชนิด รวมถึงพบ (3R,4S,5S)-2-hexadecyl-3-hydroxy-4-methyl butanolide, litsealactone C, litsealactone D, litsealactone G และ eusmoside C ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ benzoic acid (Agrawal et al., 2013)

#### 1.1.2.4 กลุ่ม lignans

สารกลุ่ม lignans ที่พบในพืชสายพันธุ์ *Litsea* มีลักษณะโครงสร้างเฉพาะตัวประกอบด้วย neolignans, aryltetralones, dihydrobenzofurans, furofurans, lignanamides, ditetrahydro furans, benzofurans, biphenyl lignans, aryl naphthalene lignans และ dibenzyl butane lignans นอกเหนือจากกลุ่มสาร lignans ข้างต้นที่พบในพืชสายพันธุ์ *Litsea* ยังมีสารกลุ่ม lignans อื่น ๆ มากกว่า 35 ชนิด ที่พบในกลุ่มพืชวงศ์เดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์

Pan et al. (2010) ได้จำแนกชนิดของสารกลุ่ม lignan เพิ่มเติมผ่านการสกัดด้วยเอทิลอะซีเตท พบอนุพันธ์ของสารกลุ่ม lignan คือ litsea glutin A ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ abscisic acid และ (7'S,8R,8'S)-4-,4',9-trihydroxy-3,3', 5-trimethoxy-9'-O-β-D-xylopyranosyl-2,7'-cyclo lignan

#### 1.1.2.5 กลุ่ม fatty acid

Fatty acid ที่พบในสกุลพืช *Litsea* คือ cinnamic acid, canoic acid, octanoic acid, decenoic acid, dodecenoic acid, myristic acid, stearic acid, oleic acid และ linolenic acid (Xiaohong et al., 2000)

#### 1.1.2.6 กลุ่ม steroids

Parikh and Rangrez (2012) ศึกษาโดยสกัดสารสำคัญจากเปลือกของ *L. glutinosa* โดยการสกัดแบบซอกซ์เลตด้วยเมทานอล พบสารกลุ่ม steroids ที่จำนวนมากในสกุลพืช *Litsea* คือ  $\beta$ -sitosterolin ทั้งในรูปแบบอิสระและรูปแบบ glycosidic

#### 1.1.2.7 กลุ่ม terpenes

สกุลพืช *Litsea* ประกอบด้วยสารกลุ่ม terpenes ที่มีลักษณะของโครงสร้างและฟังก์ชันแตกต่างกันตามแต่ละสายพันธุ์ โดย monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes และ triterpenoids เป็น terpenes กลุ่มหลักที่พบได้ใน *Litsea* แม้ว่าสารกลุ่ม terpenes เหล่านี้จะพบได้ในทุกส่วนของพืช แต่สามารถพบได้มากในบริเวณกิ่งและใบ ซึ่ง monoterpenes ที่พบในสกุลพืช *Litsea* สามารถจำแนกได้ตามลักษณะของโครงสร้าง โดยแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ acyclic monoterpenes, monocyclic monoterpenes และ bicyclic monoterpenes รวมถึงสามารถพบอนุพันธ์ของ theiroxygenated ด้วยเช่นกัน สำหรับ monocyclic monoterpenes ที่พบได้ทั่วไปในสกุลพืช *Litsea* คือ 2,6-Dimethyloctanes ขณะที่ bicyclic monoterpenes คือ thujane, carane, pinane, fenchane และ camphene (Kong et al., 2015) สารกลุ่ม sesquiterpenes สามารถจำแนกเพิ่มเติมตามลักษณะของโครงสร้าง คือ monocyclic, bicyclic และ tricyclic sesquiterpenes โดยชนิดของ monocyclic สามารถจำแนกแยกย่อยได้อีก 6 ชนิด ได้แก่ bisabolene, humulane, germacrene, elemene, litseane และ megastimane โดย Wang et al. (2012) ได้ค้นพบ megastigmane O-glucopyranosides ใน *L. glutinosa* ส่วน bicyclic sesquiterpenes สามารถจำแนกออกเป็น 7 ชนิดย่อย ได้แก่ edesmane, santalane, cadinane, guaiane, caryophyllene, bergamot และ oploanane ขณะที่สารกลุ่ม tricyclic sesquiterpenes ประกอบด้วย 8 โครงสร้าง คือ copaene, ylangene, cubebane, aristolone, aromadendrene, bourbonane, cedrane และ patchoulene (Parikh & Rangrez, 2012)

#### 1.1.2.8 กลุ่ม essential oils

สารกลุ่ม essential oils ที่พบในสกุลพืช *Litsea* ส่วนใหญ่ประกอบด้วย oxygenated monoterpenes และ sesquiterpenes ซึ่งชนิดของสารกลุ่ม essential oils ที่ได้จะมีปริมาณและลักษณะที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์และบริเวณของพืชที่สกัด (ผล, ใบ, ราก, ดอก และ ลำต้น)

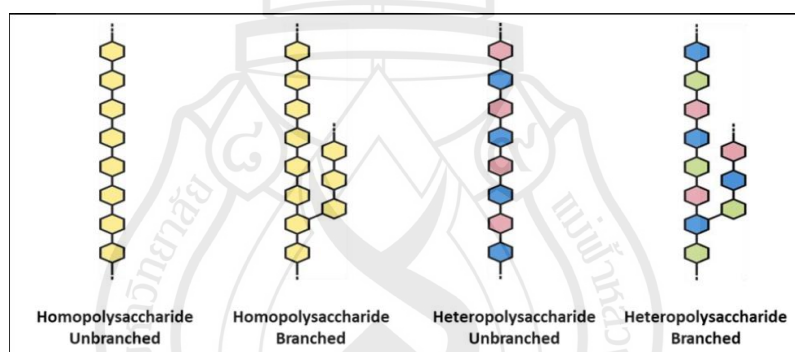
สารกลุ่ม essential oils ทั้ง 13 ชนิด ที่สามารถพบได้ใน *L. glutinosa* คือ  $\alpha$ -pinene, myrcene,  $\alpha$ -phellandrene,  $\alpha$ -terpinene, limonene,  $\gamma$ -terpinene, linalool, terpinen-4-ol,  $\beta$ -caryophyllene, aromadendrene,  $\alpha$ -humulene และ spathulenol (Son et al., 2014)

### 1.1.2.9 กลุ่มสารอื่นๆ

Das et al. (2013) ศึกษา *L. glutinosa* ผ่านการสกัดส่วนใบด้วยวิธีต้ม พบ arabinoxylan ที่เป็นสารพอลิแซ็กที่ละลายน้ำได้ที่ประกอบด้วย xylose และ arabinose โดยมีสัดส่วนโมลาร์ใกล้เคียง 1 : 3

## 2.2 พอลิแซ็กคาไรด์

พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) คือ มอนอแซ็กคาไรด์เชื่อมต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะไกลโคซิดิกจนเกิดเป็นโครงสร้างพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ เรียกว่า พอลิแซ็กคาไรด์ โดยพอลิแซ็กคาไรด์เป็นองค์ประกอบที่มีขนาดใหญ่ในกลุ่มสารชีวมวล คาดว่ามากกว่าร้อยละ 90 ของสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่พบในธรรมชาตินั้นอยู่ในรูปโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ (ภาพที่ 2.2)



ที่มา Gajendra Azad (2020)

ภาพที่ 2.2 ลักษณะโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ประเภทต่าง ๆ

ประเภทของพอลิแซ็กคาไรด์ แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ โฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ (homopolysaccharide) และ เฮเทโรพอลิแซ็กคาไรด์ (heteropolysaccharide)

### 2.2.1 โฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ (Homopolysaccharide)

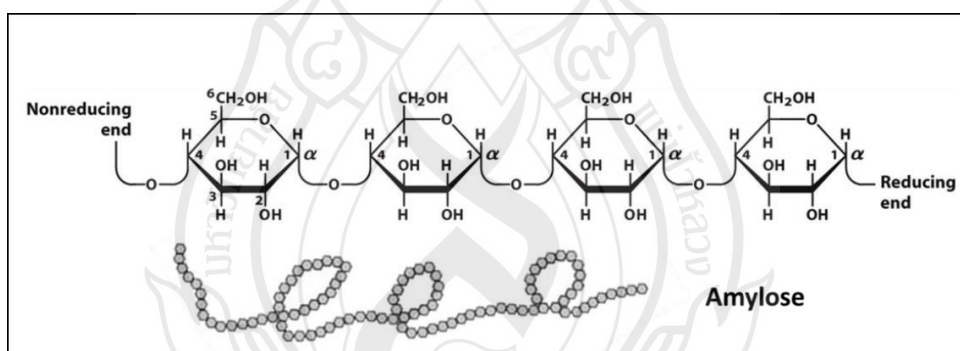
คือ มอนอแซ็กคาไรด์ชนิดเดียวกันเป็นโครงสร้างโซ่สายยาว โดยตัวอย่างของโฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นที่รู้จัก มีดังนี้

### 2.2.1.1 แป้ง (starch)

เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลที่ประกอบด้วยมอนอเมอร์ชนิดกลูโคส (glucose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก โดยแป้งเป็นโพลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นแหล่งอาหารสำคัญหรือเป็นแหล่งสารอาหารแหล่งแก่เซลล์พืช สามารถพบโมเลกุลของแป้งได้ภายในเซลล์พืช ทั้งลักษณะเป็นอนุภาคเล็กหรือมีลักษณะเป็นอนุภาคใหญ่แบบกรานูล (granule) นอกจากนี้ยังสามารถพบแป้งได้ 2 รูปแบบ คือ อะไมโลส (amylose) และ อะไมโลเพกติน (amylopectin) ซึ่งแป้งทั้งสองชนิดนั้นสร้างจากมอนอเมอร์ชนิดเดียวกัน คือ กลูโคส

### 2.2.1.2 อะไมโลส (amylose)

เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลสายตรง ประกอบด้วยมอนอเมอร์ชนิด  $\alpha$ -D-glucose เชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง  $\alpha$ -1,4 glycosidic linkage (ภาพที่ 2.3) อะไมโลสประกอบด้วย D-glucose ที่เชื่อมต่อกันเป็นโซ่สายยาวขนาดใหญ่ที่มีความยาวหลายพัน น้ำหนักของโมเลกุลของอะไมโลสจะเพิ่มมากขึ้นตามความยาวของสายโซ่ จากโครงสร้างเล็กก็สามารถมีโครงสร้างใหญ่จนถึง 200 ล้านดาลตันได้ (50–5000 หน่วยของกลูโคส)

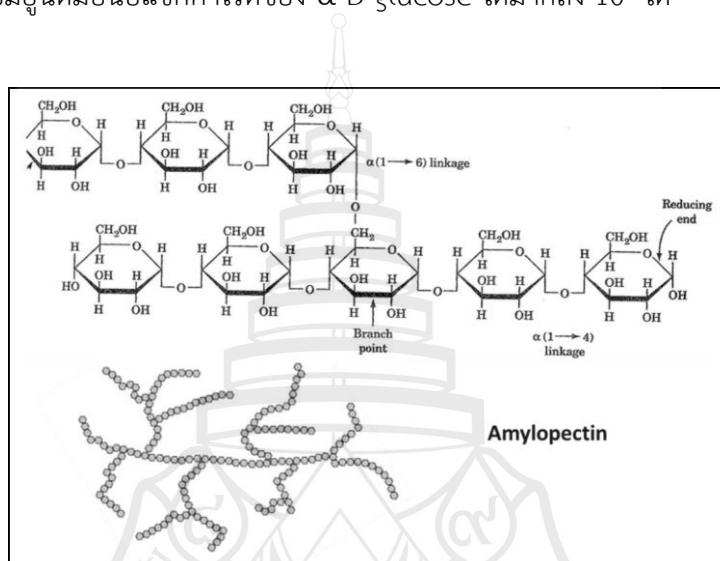


ที่มา Gajendra Azad (2020)

ภาพที่ 2.3 ลักษณะโครงสร้างของอะไมโลส

### 2.2.1.3 อะไมโลเพกติน (amylopectin)

เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสสายกิ่ง โดย  $\alpha$ -D-glucose เชื่อมต่อกันที่ตำแหน่งเดียวกันกับอะไมโลส คือ เชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง  $\alpha$ -1,4 glycosidic linkage แต่จะมีการเชื่อมต่อกันเป็นโซ่กิ่งตรงตำแหน่ง  $\alpha$ -1,6 glycosidic linkage (ภาพที่ 2.4) โดยทั่วไปจำนวนของมอนอเมอร์ที่เกาะโซ่กิ่งมีจำนวนอยู่ที่ประมาณ 24-30 ตัว น้ำหนักของโมเลกุลของอะไมโลเพกตินสามารถหนักได้ถึง 200 ล้านดาลตัน หรือมียูนิตมอนอแซ็กคาไรด์ของ  $\alpha$ -D-glucose ได้มากถึง  $10^6$  ได้

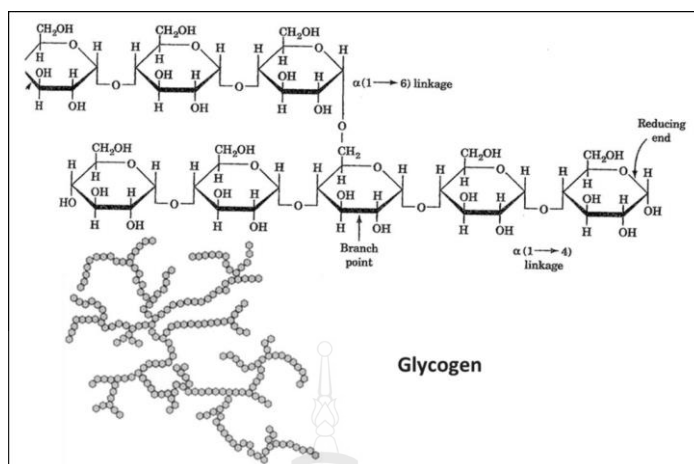


ที่มา Gajendra Azad (2020)

ภาพที่ 2.4 ลักษณะโครงสร้างของอะไมโลเพกติน

### 2.2.1.4 ไกลโคเจน (glycogen)

เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสสายกิ่ง โดยไกลโคเจนเป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีหน้าที่เก็บสำรองพลังงานภายในเซลล์ของสัตว์ โดยทั่วไปโครงสร้างของไกลโคเจนจะมีลักษณะคล้ายอะไมโลเพกติน แต่ต่างกันที่ลักษณะการขยายของโซ่กิ่ง (ภาพที่ 2.5) เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของโซ่กิ่งของไกลโคเจนกับอะไมโลเพกติน พบว่าไกลโคเจนมีลักษณะของการต่อของโซ่กิ่ง (มอนอเมอร์ที่เกาะ) น้อยกว่าในแต่ละสายโซ่ย่อย กล่าวคือ มีเพียงแค่ 8-12 มอนอเมอร์ที่ต่อเชื่อมกันในสายโซ่ย่อยของโมเลกุล สรุปได้ว่าไกลโคเจนเป็นโพลิเมอร์ที่ประกอบด้วย  $\alpha$ -D-glucose ที่เชื่อมต่อกันด้วย glycosidic linkage ที่ตำแหน่ง  $\alpha$ -1,4 และเชื่อมต่อกันเป็นโซ่กิ่งที่ตำแหน่ง  $\alpha$ -1,6

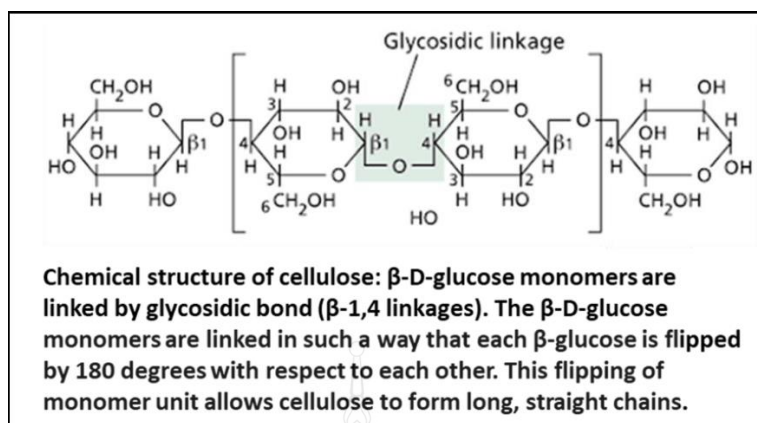


ที่มา Gajendra Azad (2020)

ภาพที่ 2.5 ลักษณะโครงสร้างของไกลโคเจน

#### 2.2.1.5 เซลลูโลส (cellulose)

เป็นโพลิเมอร์เชิงเส้นที่พบได้มากบนโลก สามารถสังเคราะห์ได้จากพืชชนิดต่าง ๆ ขณะเดียวกันก็สามารถพบการสังเคราะห์เซลลูโลสในแบคทีเรียบางชนิดได้ เซลลูโลสมีลักษณะหนา เป็นเส้นใย เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สามารถละลายน้ำได้หรือไม่สามารถละลายได้ในน้ำ ส่วนใหญ่จะพบเซลลูโลสที่ผนังเซลล์ของพืช หน้าที่หลักของเซลลูโลสคือช่วยให้เซลล์พืชคงรูปอยู่ได้ เซลลูโลสเป็นโพลิเมอร์ที่ประกอบด้วย  $\beta$ -D-glucose เชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง  $\beta$ -1,4 linkages โดยเซลลูโลสมีลักษณะคล้ายคลึงกับอะไมโลส กล่าวคือ มีลักษณะเป็นโซ่ตรง โพลิเมอร์เชิงเส้นที่ไม่ต่อกันเป็นลักษณะโซ่กิ่ง (ภาพที่ 2.6) โดยเซลลูโลสนั้นประกอบไปด้วย  $\beta$ -D-glucose เชื่อมต่อกันด้วย glycosidic linkage กันตั้งแต่ 10,000–15,000 หน่วยขึ้นไป



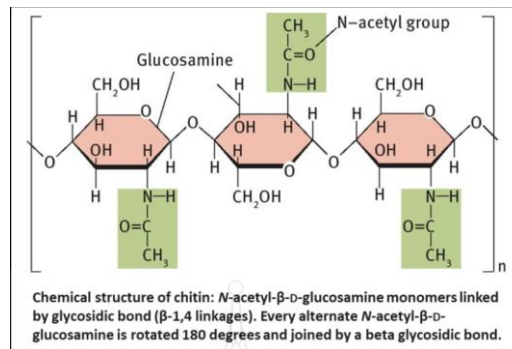
ที่มา Gajendra Azad (2020)

## ภาพที่ 2.6 ลักษณะโครงสร้างของเซลลูโลส

### 2.2.1.6 ไคติน (chitin)

เป็นโฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดโซ่ตรงเป็นหนึ่งในชีวพอลิเมอร์ที่สำคัญในธรรมชาติ ไคตินสามารถผลิตได้โดยกลุ่มฟังไจ (fungi) กลุ่มอาร์โทรพอดส์ (arthropods) และ กลุ่มนีมาโทดส์ (nematodes) โดยไคตินเป็นองค์ประกอบสำคัญที่อยู่มีอยู่ในโครงร่างเปลือกแข็งของสิ่งมีชีวิตประเภทอาร์โทรพอดส์ แมลง สัตว์เลื้อยคลาน และปู นอกจากนี้ไคตินยังเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดที่สองที่พบมากรองจากเซลลูโลส

ไคตินมีลักษณะเป็นโฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดโซ่ตรง มีมอนอเมอร์ N-acetyl- $\beta$ -D-glucosamine เป็นออกประกอบ ต่อกันด้วย glycosidic bond ( $\beta$ -1,4 linkages) นอกจากนี้จุดแตกต่างระหว่างโมเลกุลของไคตินและเซลลูโลสคือ โครงสร้างของไคตินจะมีการแทนที่ของหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่สองโดยแทนที่ด้วยกลุ่ม acetylated amino (ภาพที่ 2.7)

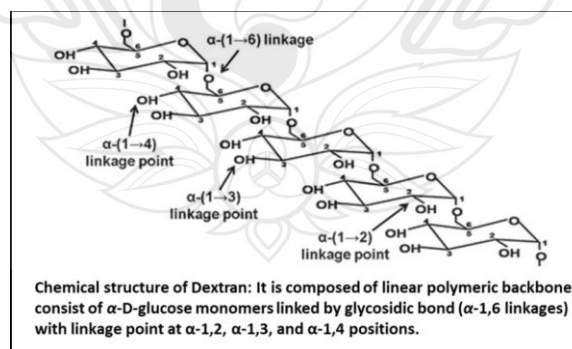


ที่มา Gajendra Azad (2020)

ภาพที่ 2.7 ลักษณะโครงสร้างของไคติน

#### 2.2.1.7 เดกซ์ทรานส์ (dextran)

เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่สังเคราะห์ขึ้นซึ่งสามารถสกัดแยกได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสกุล *Leuconostoc*. จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตเดกซ์ทรานส์ได้หลากหลายขนาดโมเลกุลหลากหลายโครงสร้าง โดยเดกซ์ทรานส์เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่ประกอบด้วย  $\alpha$ -D-glucose เชื่อมต่อเข้าไปด้วย glycosidic linkage โครงสร้างหลักของโมเลกุลเดกซ์ทรานส์มีลักษณะเป็นโซ่ตรงเชื่อมต่อที่ตำแหน่ง  $\alpha$ -1,6 glycosidic linkage เป็นหลัก เดกซ์ทรานส์นั้นสามารถเชื่อมต่อเป็นโซ่กิ่งได้ที่ตำแหน่ง  $\alpha$ -1,3 และพบได้มากที่ตำแหน่ง  $\alpha$ -1,4 หรือ  $\alpha$ -1,2 (ภาพที่ 2.8)



ที่มา Gajendra Azad (2020)

ภาพที่ 2.8 ลักษณะโครงสร้างของเดกซ์ทรานส์

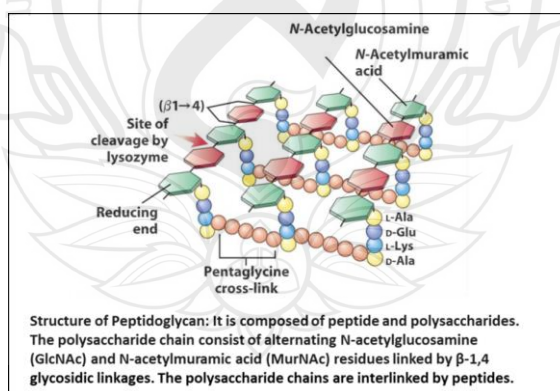
ทางอุตสาหกรรมอาหาร นิยมนำเดกซ์ทรานส์มาใช้เป็นสารเพิ่มความหนืด (thickener) ให้แก่อาหารประเภทแยม (jam) และไอศกรีม (ice cream) นอกจากนี้เดกซ์ทรานส์ยังช่วยป้องกันไม่ให้น้ำตาลแปรสภาพเป็นผลึก (crystallization) สามารถเพิ่มหรือกักเก็บความชุ่มชื้น คงรสชาติและลักษณะทางกายภาพให้แก่กลุ่มอาหารได้

## 2.2.2 เฮเทโรพอลิแซ็กคาไรด์ (Heteropolysaccharides)

เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยมอนอแซ็กคาไรด์เชื่อมต่อกันมากกว่าหนึ่งชนิดขึ้นไป โดยทั่วไปเฮเทโรพอลิแซ็กคาไรด์มักจะอยู่ในรูปแบบโมเลกุลผสมระหว่างเปปไทด์ (peptides) โปรตีน (protein) และไขมัน (lipids) ตัวอย่างกลุ่มเฮเทโรพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบได้ทั่วไป ดังนี้

### 2.2.2.1 เพปทีโดไกลแคน (peptidoglycans)

เป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์ของแบคทีเรีย พบได้บริเวณภายนอกของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเกือบทุกชนิด หน้าที่หลักคือช่วยรักษาและคงรูปเซลล์ให้แข็งแรง โครงสร้างหลักของเพปทีโดไกลแคนประกอบไปด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ต่อกันเป็นเส้นตรงและมีเพปไทด์สายสั้นเชื่อมต่อกันแบบ crossed-linked โดยประกอบด้วย N-acetylglucosamine และ N-acetylmuramic acid เชื่อมที่ตำแหน่ง  $\beta$ -1,4 glycosidic linkages โดย N-acetylglucosamine และ N-acetylmuramic acid วางเชื่อมต่อกันเป็นเส้นตรงที่มีลักษณะเหมือนผนังเซลล์ ขณะที่เพปไทด์สายสั้นก็จะเชื่อมต่อกันแบบ crossed-linked ซึ่งโครงสร้างของเพปไทด์สายสั้นที่เชื่อมต่อกันจะมีลักษณะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย (ภาพที่ 2.9)



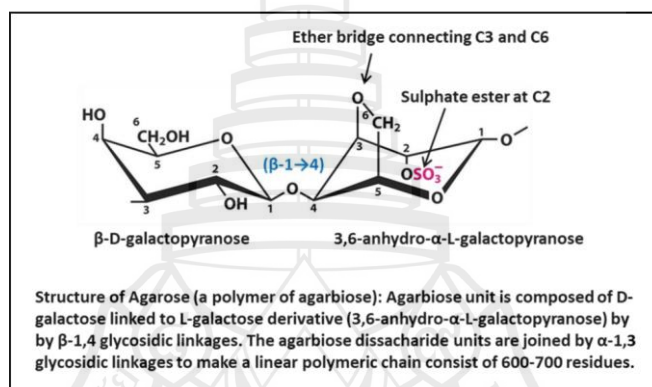
ที่มา Gajendra Azad (2020)

ภาพที่ 2.9 ลักษณะโครงสร้างของเพปทีโดไกลแคน

### 2.2.2.2 อากาโรส (agarose)

เป็นเฮเทโรพอลิแซ็กคาไรด์จากธรรมชาติที่พบได้ในสาหร่ายสีแดง ซึ่งอากาโรสเป็นองค์ประกอบสำคัญในผนังเซลล์และช่วยพยุงให้เซลล์คงรูปอยู่ได้

อากาโรสเป็นพอลิเมอร์เส้นตรงที่ประกอบด้วยอากาไบโอส (agarbiose) เชื่อมต่อกันเป็นสายยาว โดยอากาไบโอสเป็นไดแซ็กคาไรด์ประกอบด้วย D-galactose ( $\beta$ -D-galactopyranose) และกลุ่ม L-galactose derivative (3,6-anhydro- $\alpha$ -L-galactopyranose) เชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง  $\beta$ -1,4 glycosidic linkages หน่วยของอากาไบโอสเชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง  $\alpha$ -1,3 glycosidic linkage เพื่อสร้างเป็นพอลิเมอร์สายยาวที่มีขนาดประมาณ 600-700 หน่วย (ภาพที่ 2.10)



ที่มา Gajendra Azad (2020)

ภาพที่ 2.10 ลักษณะโครงสร้างอากาโรส

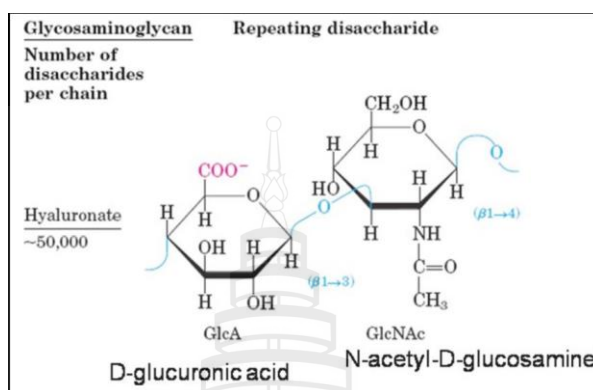
นอกจากนี้โมเลกุล 3,6-anhydro- $\alpha$ -L-galactopyranose ยังประกอบด้วย ether bridge ที่เชื่อมระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และ 6 เข้าด้วยกัน และโมเลกุล 3,6-anhydro- $\alpha$ -L-galactopyranose ยังมีองค์ประกอบของซัลเฟตเอสเทอร์ที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 2 อีกด้วย

### 2.2.2.3 ไกลโคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycan, GAG)

เป็นเฮเทโรพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบได้ในสิ่งมีชีวิตและแบคทีเรีย ยกเว้นในพืช เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ช่วยเชื่อมเซลล์เข้าด้วยกัน เป็นเส้นทางที่สามารถให้สารอาหารหรือออกซิเจนแพร่ผ่านเข้าออกจากแต่ละเซลล์ได้

โครงสร้างของไกลโคซามิโนไกลแคนประกอบด้วยพอลิเมอร์สายตรงที่เกิดจากไดแซ็กคาไรด์เชื่อมต่อกันอย่างซ้ำ ๆ โดยไกลโคซามิโนไกลแคนเป็นกลุ่มคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนที่ประกอบด้วยน้ำตาลอะมิโน และกรดยูโรนิก (uronic acid) ซึ่งมออนอแซ็กคาไรด์ที่ประกอบ

เป็นไกลโคซามิโนไกลแคน สามารถเป็นได้แค่ 2 ชนิด คือ N-Acetyl glucosamine หรือ N-Acetyl galactosamine หลังจากนั้นเชื่อมต่อกับกรดยูโรนิก พบมากคือ D-glucuronic หรือ L-iduronic acid เป็นต้น (ภาพที่ 2.11)



ที่มา Gajendra Azad (2020)

ภาพที่ 2.11 ลักษณะโครงสร้างของไกลโคซามิโนไกลแคน

ตัวอย่างของไกลโคซามิโนไกลแคนที่สำคัญ

Hyaluronic acid เกิดจากโตแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วย D-glucuronic และ N-Acetyl glucosamine เชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง  $\beta$ -1,3 linkage และโตแซ็กคาไรด์เชื่อมต่อกันซ้ำ ๆ ที่ตำแหน่ง  $\beta$ -1,4-linkage โดยทั่วไป hyaluronic acid ประกอบด้วยโตแซ็กคาไรด์เชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง  $\beta$ -1,4 ประมาณ 250-50,000 หน่วย ส่งผลให้โมเลกุลสามารถมีน้ำหนักได้มากถึง 4 ล้านดาลตัน (Gajendra Azad, 2020)

## 2.3 การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์

วิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ในปัจจุบัน เช่น การสกัดด้วยการต้ม (hot water extraction) การสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค (ultrasound-assisted extraction) การสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วย (microwave-assisted extraction) และการสกัดด้วยการแช่หมัก (maceration)

### 2.3.1 การสกัดด้วยการต้ม (Hot Water Extraction)

วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมที่ใช้อย่างแพร่หลายซึ่งสกัดโดยมีน้ำเป็นตัวทำละลายและใช้ความร้อนร่วมในการสกัด การสกัดด้วยการต้มแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนเตรียมวัตถุดิบ โดยเตรียมได้จากการนำตัวอย่างที่ต้องการศึกษาไปอบจนมีน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำตัวอย่างมาสกัดตามสัดส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลายที่กำหนด ขั้นตอนสกัด นำตัวอย่างไปสกัดโดยต้มกวนกับน้ำร้อนภายใต้อุณหภูมิที่กำหนดจนครบระยะเวลา ขั้นตอนตกตะกอน นำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการกรองไปตกตะกอนกับเอทานอล จากนั้นนำส่วนตะกอนที่ได้ไประเหยในตู้อบลมร้อนจนมีน้ำหนักคงที่และนำไปวิเคราะห์ตามวิธีที่ต้องการศึกษา (Das et al., 2013; Sitthithaworn et al., 2018)

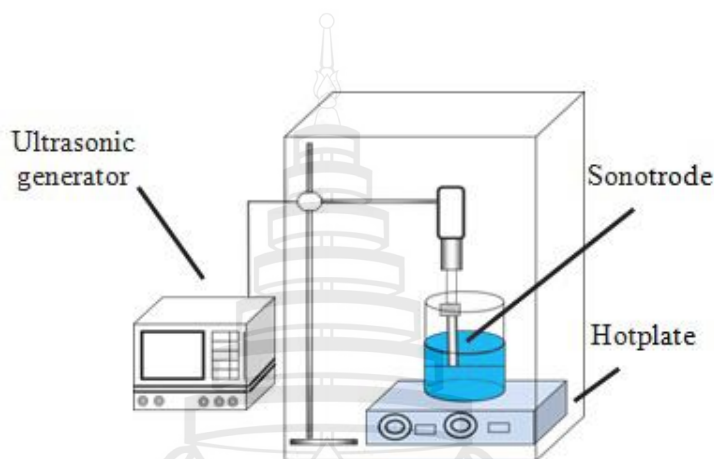
Das et al. (2013) ศึกษาสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดละลายน้ำ arabinoxylan ผ่านการสกัดสารเมือกจากใบหมีสด (*Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob.) ด้วยน้ำร้อน พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ arabinoxylan ประกอบด้วย xylose และ arabinose ในสัดส่วนโมลาร์ใกล้เคียง 1 : 3

### 2.3.2 การสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค (Ultrasound-assisted Extraction)

การสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด คือ วิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงหรืออัลตราโซนิค (ultrasonic) สกัดร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำเพื่อสกัดสารออกจากวัตถุดิบ เครื่องมือมีลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอกมีขนาด ความยาว และคลื่นความถี่ที่ต่างกันไป หลักการทำงาน คือ เครื่องมือจะปล่อยคลื่นเสียงความถี่สูง ส่งผลให้ตัวพา (น้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์) เปลี่ยนเป็นฟองก๊าซเกิดการหดและขยายตัวเป็นวัฏจักร เมื่อฟองก๊าซขยายตัวจะดึงสารที่อยู่ภายในตัวอย่างออกมาในตัวทำละลาย และเมื่อฟองก๊าซแตกออกจะเกิดความดันและความร้อนอย่างมากในบริเวณนั้นซึ่งจะมีผลทำให้เนื้อเยื่อของวัสดุพืชขาด ด้วยอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่ต้องการสกัดละลายในตัวทำละลายได้ดีขึ้น ประสิทธิภาพการสกัดด้วยคลื่นกับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ความถี่ของคลื่นเสียงที่ใช้ ถ้าใช้ความถี่สูงจะใช้เวลาน้อยในการสกัด สมบัติที่แตกต่างกันของตัวทำละลาย ได้แก่ ความดันไอ ตัวทำละลายที่มีความดันไอสูงสามารถสกัดได้ดีกว่าตัวทำละลายที่มีความดันไอต่ำ อุณหภูมิที่ใช้ซึ่งการสกัดเกิดได้ดีเมื่อมีอุณหภูมิสูง และความเข้มข้นของคลื่นเสียงที่ใช้ โดยทั่วไปวิธีนี้จะใช้สกัดสารกลุ่มเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ของพืช วิธีนี้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพทำให้สกัดสารได้ปริมาณมาก ตัวอย่างวัตถุดิบที่สกัดด้วยวิธีนี้ ได้แก่ ใบยาสูบ (Zhao et al., 2006) และโสม (Shu et al., 2003) เป็นต้น (ภาพที่ 2.12)

พรพรรณ สิริมนต์ และวิชาญ เอียดทอง (2561) ศึกษาผลของวิธีการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบหมีเหม็น ด้วยวิธีการสกัด 3 ชนิด คือ วิธีการหมัก วิธีการใช้คลื่นเสียงอัลตราโซนิคเสริมในการสกัด และวิธีการสกัดด้วยซอกซ์เล็ต โดยใช้ตัว

ทำละลายเอทานอลที่ 3 ระดับความเข้มข้น พบว่าวิธีการสกัดด้วยวิธีซอกซ์เลตโดยใช้ตัวทำละลายละลาย ความเข้มข้นร้อยละ 70 โดยปริมาตร ให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงสุด มีปริมาณร้อยละผลผลิต เท่ากับ ร้อยละ 22.21 (ของน้ำหนักแห้ง) และให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 862.75  $\mu\text{g}$  GAE/g (ของน้ำหนักแห้ง) เมื่อทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่ามีประสิทธิภาพต่อการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี มีความเข้มข้นต่อการกำจัดสารต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 50 ( $\text{IC}_{50}$ ) โดยทดสอบด้วย DPPH มีค่าเท่ากับ 833.47  $\mu\text{g}/\text{mL}$



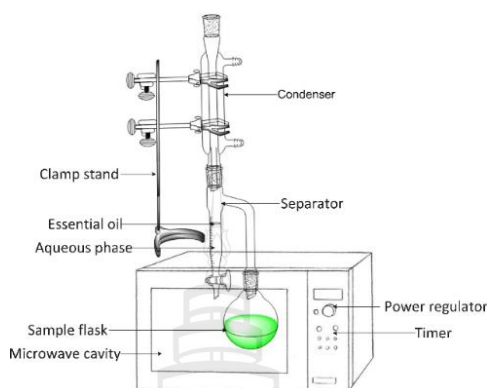
ที่มา Salehan et al. (2016)

ภาพที่ 2.12 เครื่องมือสำหรับการสกัดด้วยเทคนิคอัลตราซาวด์

### 2.3.3 การสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วย (Microwave-assisted Extraction)

ในปัจจุบันเทคนิคการสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟเป็นวิธีที่นิยมเนื่องจากวิธีการสกัดที่ รวดเร็ว (Accelerated Solvent Extraction, ASE) โดยหลักการของวิธีนี้ คือ ใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดสาร เมื่อวัตถุดิบวางตัวอยู่ใน สนามแม่เหล็กไฟฟ้า ด้วยสมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในวัตถุดิบทำให้เกิดการต้านการเคลื่อนที่ จนเกิดความร้อนขึ้น โดยความร้อนจะส่งผลต่อเนื้อเยื่อของวัตถุและมีผลต่อการละลายของสารที่ ต้องการศึกษ ด้วยสมบัติของตัวทำละลายที่ต่างกัน ทำให้การแสดงของสารที่ต้องการศึกษาแสดง พฤติกรรมที่ต่างกันไปในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า เช่น เกิดการดูดซับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เกิดการ สะท้อน เกิดการส่งผ่านคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เป็นต้น ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด คือ เวลา อุณหภูมิ กำลังของคลื่นไมโครเวฟ คุณสมบัติของวัตถุดิบ ความชื้นในองค์ประกอบของวัตถุดิบ

ความคงตัวของวัตถุดิบ สมบัติของตัวทำละลาย และสมบัติสารที่ต้องการสกัด (ดวงกมล เรืองงาม, 2557) (ภาพที่ 2.13)



ที่มา Tran et al. (2018)

ภาพที่ 2.13 เครื่องมือสำหรับการสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วย

### 2.3.4 การสกัดด้วยการแช่หมัก (Maceration)

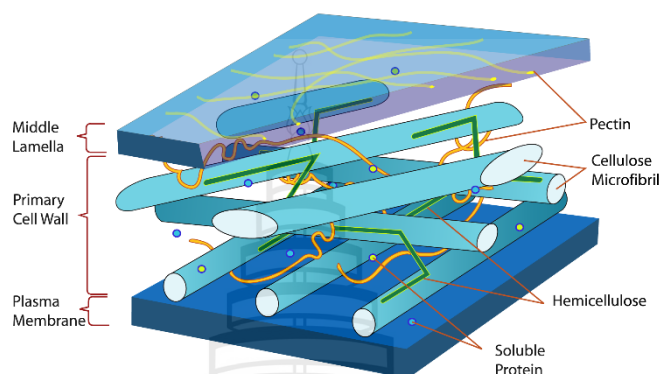
การสกัดแบบแช่หมัก คือ การสกัดโดยนำพืชหรือส่วนประกอบของพืชที่ต้องการศึกษามาแช่ในตัวทำละลายที่เหมาะสมในภาชนะแบบปิดเป็นระยะเวลาหลายวัน เมื่อครบตามวันที่กำหนดจึงนำสารละลายมากรอง จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายจนหมด จะได้สารสกัดหยาบที่มีสารสำคัญที่ต้องการ ข้อดีของการสกัดด้วยการแช่หมัก คือ สารสำคัญที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีนี้จะไม่เสียสภาพจากความร้อน ขณะที่ข้อเสียของวิธีการสกัดด้วยการแช่หมัก คือ สิ้นเปลืองสารเคมีเนื่องจากใช้ตัวทำละลายจำนวนมากต่อการสกัด

พงศ์ปณิต ร่วมแก้ว และคณะ (2559) ศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบและสมานแผลของสารสกัดใบหมี่เหม็นด้วยการสกัดแบบแช่หมักในตัวทำละลาย 80% เอทานอล พบว่าใบหมี่เหม็นมีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเซลล์ (cell proliferation) ของ keratinocyte cell และสามารถต้านการอักเสบแบบเรื้อรัง

## 2.4 การสกัดด้วยการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด (Enzyme-assisted Extraction)

คือการสกัดสารโดยใช้เอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยองค์ประกอบและสารสำคัญออกจากพืชที่ศึกษาเพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญและผลผลิตสูงขึ้น โดยเอนไซม์ที่นิยมนำมาสกัด ได้แก่ เซลลูเลส

(cellulase) เฮมิเซลลูเลส (hemicellulase) และเพกตินเนส (pectinase) เป็นต้น (ภาพที่ 2.14) การสกัดด้วยเอนไซม์นิยมใช้ร่วมกับการสกัดด้วยวิธีทางเคมี เนื่องจากสามารถช่วยย่อยส่วนประกอบของพืชได้เบื้องต้นก่อนจะนำมาสกัดด้วยวิธีทั่วไป ซึ่งแหล่งที่มาของเอนไซม์สามารถมาจากแบคทีเรีย เชื้อรา อวัยวะจากสัตว์ และสารสกัดจากผักหรือผลไม้ เป็นต้น (Puri et al., 2012)



ที่มา วีรภัทร วิโนทพรรษ์ (2557)

ภาพที่ 2.14 โครงสร้างของผนังเซลล์พืช

การใช้เอนไซม์ช่วยสกัดสารจากธรรมชาติสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับสารตั้งต้นหลายรูปแบบ เช่น การสกัดสารแคโรทีนอยด์จากเปลือกมะเขือเทศ (Dehghan-Shoar et al., 2011) การสกัดสารวานิลลินจากฝักวานิลลา (Ruiz-Terán et al., 2001) การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากต้น sterculia (Wu et al., 2007) เป็นต้น ส่งผลให้มีการนำเอนไซม์ไปใช้ในระดับอุตสาหกรรมเพื่อช่วยสกัดสารจากธรรมชาติ เช่น สกัดโอลิโกแซ็กคาไรด์จากธัญพืชด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (Patindol et al., 2007) สกัดแป้งจากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เพกตินเนส (Dzogbefia et al., 2008) และสกัดสารแคปไซซินจากพริกด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส และเพกตินเนส (Sampathu et al., 2006) ปัจจัยที่ส่งผลถึงประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ ได้แก่

#### 2.4.1 ส่วนของพืชที่จะนำมาสกัด

เนื่องจากองค์ประกอบหลักของพืชในแต่ละส่วนมีความแตกต่างกัน เช่น องค์ประกอบหลักที่พบได้ในผล คือ เพกติน องค์ประกอบหลักที่พบในเปลือกไม้ คือ ลิกนิน และองค์ประกอบหลักที่พบในใบและเหง้า คือ เซลลูโลส เป็นต้น องค์ประกอบหลักของชิ้นส่วนพืชจึงมีความจำเป็นต่อการเลือกชนิดของเอนไซม์ต่อการสกัด เพื่อให้เหมาะสมกับส่วนของพืช

#### 2.4.2 ชนิดของเอนไซม์ที่เลือกใช้ในการสกัด

การเลือกเอนไซม์ที่ใช้ในการสกัดควรเลือกให้เหมาะสมกับส่วนของพืชที่จะนำมาสกัด ทราบถึงความสามารถในการจัดหาและแหล่งที่มาของเอนไซม์ และหน้าที่การทำงานของเอนไซม์ เช่น เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่สกัดได้จากเชื้อจุลินทรีย์ มีคุณสมบัติในการตัดพันธะ  $\beta$ -1,4-D-glycosidic ที่พบในเซลลูโลส ส่งผลให้นิยมนำเซลลูเลสมาช่วยในการสกัดใบหรือเหง้าของพืช เพกตินเนสเป็นเอนไซม์ที่สกัดได้จากเชื้อจุลินทรีย์เช่นเดียวกับเซลลูเลส มีคุณสมบัติในการตัดพันธะ  $\alpha$ -1,4-D-galacturonic acid ที่อยู่ในเพกติน ส่งผลให้นิยมนำเพกตินเนสมาช่วยในการสกัดสารที่ได้จากผลพืช เป็นต้น นอกจากนี้เอนไซม์บางชนิดมีหน้าที่การทำงานเหมือนกัน แต่มีแหล่งที่มาต่างกัน อาจส่งผลต่อความคงตัว ความจำเพาะในการทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น และอัตราในการเร่งปฏิกิริยาต่างกัน

#### 2.4.3 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดและการทำงานของเอนไซม์

สภาวะที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและการทำงานของเอนไซม์ ได้แก่ ความเข้มข้นของเอนไซม์ ค่าความเป็นกรดต่าง สัดส่วนของตัวอย่างกับตัวทำละลาย เวลาที่ใช้ในการหมักเอนไซม์กับพืช และ อุณหภูมิ สามารถส่งผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดและประสิทธิภาพของเอนไซม์ ควรคำนึงถึงปัจจัยข้างต้นเพื่อให้เอนไซม์สามารถทำงานได้มีประสิทธิภาพสูงสุดและส่งผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ (วีรภัทร วิโนทพรรษ์, 2557)

ประโยชน์และข้อจำกัดของการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด

การประยุกต์ใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัดสารจากธรรมชาติมีประโยชน์ในการช่วยย่อยส่วนของพืชที่จะนำมาสกัด ทำให้สารสกัดออกจากเซลล์ได้ง่ายยิ่งขึ้น รวมทั้งลดปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ลดระยะเวลาที่ใช้ ช่วยเพิ่มปริมาณของการสกัดและทำให้คุณภาพของการสกัดดียิ่งขึ้น

วิธีการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัดยังมีความสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นกระบวนการพัฒนาที่ยั่งยืนและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม แต่วิธีการสกัดนี้อาจมีข้อจำกัดบางประการ เช่น เอนไซม์มีราคาสูง เอนไซม์ไม่สามารถย่อยสลายผนังเซลล์พืชหรือส่วนประกอบของพืชได้อย่างสมบูรณ์ ส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญค่อนข้างต่ำ รวมทั้งปัญหาของความคงตัวของเอนไซม์ในตัวทำละลายที่ใช้สกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซิโตน อะซิโตนไทรล์ และไดเมทิลฟอร์มาไมด์ ซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ลดลง แต่ในบางกรณีตัวทำละลายอินทรีย์ อาจเพิ่มความคงตัวของเอนไซม์ ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้นได้เช่นกัน นอกจากนี้ปัญหาสำคัญของการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด คือ เมื่อการสกัดเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ จะไม่สามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ซ้ำได้ ส่งผลให้เอนไซม์ถูกทิ้งไปพร้อมกับตัวทำละลายหลังการสกัดเสร็จสิ้นสมบูรณ์ (วีรภัทร วิโนทพรรษ์, 2557)

Chen et al. (2014) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยการใช้เอนไซม์ช่วยสกัดจาก *Astragalus membranaceus* จากการศึกษพบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดต่อการสกัด คือ สกัดที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 3.0 พีเอชของตัวทำละลายมีค่าเท่ากับ 7.8 ที่อุณหภูมิ 56.9 องศาเซลเซียส และใช้ระยะเวลาการสกัด 3.44 วัน จากสภาวะข้างต้น ส่งผลให้มีปริมาณร้อยละผลผลิตเท่ากับ  $29.96 \pm 0.14$

You et al. (2013) ศึกษาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากผลของ *Cornus officinalis* ด้วยวิธีการสกัดที่ต่างกัน คือ การสกัดด้วยวิธีต้ม การสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิคในการช่วยสกัด และการสกัดด้วยการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด พบว่าวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัดให้ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุด โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดด้วยเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิด (cellulase : pectinase : papain) ที่สัดส่วน 1 : 1 : 1 คือ สกัดที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.15, ที่พีเอช 4.2, สกัดด้วยอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และสกัดเป็นระยะเวลา 97 นาที โดยปริมาณร้อยละผลผลิตมีค่าเท่ากับ ร้อยละ  $9.29 \pm 0.31$

Li et al. (2019) ศึกษาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Auricularia auricula* ด้วยวิธีการสกัดทั้ง 3 ชนิด คือ การสกัดด้วยวิธีต้ม การสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิคในการช่วยสกัด และการสกัดด้วยการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด พบว่าวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัดให้ปริมาณร้อยละผลผลิตมากกว่าวิธีการสกัดด้วยวิธีต้มและการสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิคในการช่วยสกัด ขณะที่ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมที่ได้จากการสกัด *A. auricula-judae* และ *A. delicata* มีค่าใกล้เคียงกัน โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ คือ สกัดที่พีเอช เท่ากับ 5.0, สกัดด้วยอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และสกัดที่ความเข้มข้นของเซลลูเลส ร้อยละ 4

## 2.5 เอนไซม์เซลลูเลส

เซลลูเลส คือ เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเอนไซม์เซลลูเลสสามารถผลิตได้จากสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ เช่น พืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ ความสามารถในการย่อยสลายของเอนไซม์เซลลูเลสขึ้นกับสภาวะแวดล้อม รวมถึงชนิดของจุลินทรีย์ที่นำมาผลิต เซลลูเลสจะประกอบด้วยเอนไซม์ผสมหลัก 3 ชนิด คือ endo- $\beta$ -glucanase, exo- $\beta$ -glucanase และ  $\beta$ -glucosidase (นฤมล นະธรรมโม, 2544)

### 2.5.1 Endo- $\beta$ -glucanase หรือ 1,4- $\beta$ -D-glucan Glucanohydrolase

มีหน้าที่ตัดย่อยโครงสร้างของเซลลูโลสที่ตำแหน่ง 1,4- $\beta$ -glycosidic ในแบบสุ่ม โดยผลิตผลที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ โดยจะได้ผลผลิตเป็น glucose หรือ oligomer

### 2.5.2 Exo- $\beta$ -glucanase หรือ 1,4- $\beta$ -D-glucan Cellobiohydrolase

มีหน้าที่ทำงานร่วมกับเอนไซม์ endo- $\beta$ -glucanase ในการย่อยเซลลูโลสส่วนที่ไม่เป็นผลึก โดยผลิตผลที่ได้ คือ cellobiose

### 2.5.3 $\beta$ -glucosidase หรือ $\beta$ -glucoside Glucohydrolase

มีหน้าที่ย่อยโมเลกุลของ cellobiose ให้เป็น glucose แต่ไม่สามารถย่อยโมเลกุลเซลลูโลสที่มีขนาดใหญ่ให้มีขนาดย่อยได้โดยตรง

## 2.6 เอนไซม์เพกตินเอส

เอนไซม์เพกตินเอสมีความสามารถในการย่อยเพกตินที่พบอยู่ใน middle lamella และ primary cell wall ของพืชหลายชนิด โดยเอนไซม์เพกตินเอสประกอบด้วย 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่ทำปฏิกิริยาผ่านการดึงหมู่เมทิลออกจากโครงสร้างเพกติน คือ pectin esterase และกลุ่มที่ทำปฏิกิริยาโดยการสลายพันธะภายในสายโครงสร้างเพกตินด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) และไลเอส (lyase) คือ polygalacturonase และ pectate lyase (Soriano et al., 2006)

### 2.6.1 Pectin Esterase

ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการสลายพันธะ ester เพื่อกำจัดหมู่เมทิลออกจากโมเลกุลของ galacturonan โดยปฏิกิริยาที่เกิดโดยเอนไซม์ชนิดนี้จะเป็นเพียงการแยกหมู่เมทิลออกจากสารประกอบเพกติน ส่งผลให้ไม่มีการสลายพันธะ glycosidic ในโครงสร้าง อย่างไรก็ตาม pectin esterase ถูกจัดอยู่ในกลุ่มของเอนไซม์ไฮโดรเลสที่เร่งการสลายพันธะ ester สามารถเรียกชื่อสามัญอื่นของเอนไซม์ได้ เช่น pectin methylesterase, pectin demethoxylyase, pectase เป็นต้น โดยผลิตผลที่ได้จากเอนไซม์ชนิดนี้ คือ pectic acid และ methanol

### 2.6.2 Polygalacturonase หรือ Poly- $\beta$ -1,4-galacturonide Glyconohydrolase

ทำหน้าที่ทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่บริเวณพันธะ glycosidic ที่ต่ออยู่บริเวณหมู่ carboxyl ที่อยู่ในสารประกอบเพกติน สามารถแบ่งได้ตามลักษณะการย่อยสลาย โดยเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ

กลุ่มที่ย่อยสลายสายพอลิเมอร์แบบไม่เป็นระเบียบ (endo-splitting) และกลุ่มที่ย่อยสลายปลายสายพอลิเมอร์แบบเป็นระเบียบ (exo-splitting)

### 2.6.3 Pectate Lyase หรือ Poly- $\beta$ -1,4-galacturonide Lyase

ลักษณะการเกิดปฏิกิริยา คือ กระตุ้นการตัดพันธะ  $\alpha$ -1,4- glycosidic ในเพกตินที่เป็นองค์ประกอบหลักของ primary cell wall ให้กลายเป็นพอลิเมอร์สายสั้น โดยปลายสายพอลิเมอร์ข้างหนึ่งจะเป็นปลายรีติวซ์ ขณะที่อีกข้างจะเป็นพันธะคู่ โดยการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้จำเป็นต้องมีแคลเซียมช่วยทำปฏิกิริยา (Carpita & Gibeaut, 1993)

## 2.7 เอนไซม์ปาเปน

เอนไซม์ปาเปน คือ เอนไซม์ที่พบมากในยางมะละกอบริเวณส่วน ใบ ก้านและผลดิบ ขั้นตอนการผลิตเอนไซม์ปาเปนได้จากการกรีดยางมะละกอเพื่อนำไปสกัดเอนไซม์ปาเปน ปาเปนเป็นเอนไซม์กลุ่มโปรติเอส (protease) สามารถย่อยโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ให้เล็กลง (vegetable pepsin) โดยปาเปนจัดเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่มที่มีกิจกรรมหลากหลาย รวมถึง endopeptidase, amino peptidase, dipeptidyl peptidase และเอนไซม์ที่มีกิจกรรมทั้ง exo-peptidase และ endo-peptidase ปาเปนประกอบไปด้วยกรดอะมิโน จำนวน 212 ชนิด (Singh et al., 2019) โดยทั่วไป optimum pH ของเอนไซม์ปาเปนอยู่ในช่วงพีเอช 5-8 (Windholz et al., 1983)

## บทที่ 3

### ระเบียบวิธีการวิจัย

#### 3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และวัสดุที่ใช้ในงานวิจัย

##### 3.1.1 วัสดุที่ใช้ในการวิจัย

ใบหมี่ *Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob จากอำเภอพรวัว จังหวัดเชียงใหม่

##### 3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

#### ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

สารเคมี	ผู้ผลิต	ประเทศ
Cellulase from <i>Aspergillus niger</i> (EC 3.2.1.4, $\geq 0.3$ U/mg)	Sigma-Aldrich Corp	USA
95% Ethanol	R.B.T. Supply CO. LTD.	Thailand
Glucose	Sigma-Aldrich Corp.	USA
Hydrochloric acid	Merk	Germany
Sodium hyaluronate	Kewpie	Japan
Sodium hydroxide	Merck	Germany
Papain from <i>Carica papaya</i> lipase	Tiensri et al. (2017)	Thailand
Pectinase from <i>Aspergillus niger</i> (EC 3.2.1.15, $\geq 5$ U/mg)	Sigma-Aldrich Corp.	USA
Phenol	Merck	Germany

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

สารเคมี	ผู้ผลิต	ประเทศ
Sulfuric acid	Merck	Germany
Xanthan gum	Berli Jucker Specialist	Thailand

3.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

ตารางที่ 3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์	รุ่น	บริษัท
Centrifuge machine	Z 206 A	HERMLE
Cuvettes	-	Starna Scientific
Digital balance 4 scales	XT220A	Precisa
Hot air oven	UML800	Memmert
Hot plate	GmbH	Schott Instrument
Mixer	IKA RW28	BEC Thai
pH meter	B200	Qis
Spectrophotometer	CM-700d	Konica Minolta
UV/VIS spectrophotometer	Genesys 10S UV-Vis	Thermo Fisher Science
Viscosity meter	Brook field, RVDV-II+PRO	Germany
Water bath	DIN 12876-1-K1	Memmert

## 3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

### 3.2.1 การเตรียมตัวอย่างใบหมี

ซื้อตัวอย่างใบหมีจากต้นหมีในช่วงระยะเดือนมีนาคมจากอำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ ล้างด้วยน้ำสะอาด ซับให้แห้ง หั่นเป็นชิ้นเล็ก ขนาด  $0.5 \times 0.5$  cm นำไปอบที่ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างมีน้ำหนักคงที่ บดให้ละเอียดเพื่อเตรียมนำไปสกัดในขั้นตอนต่อไป (ภาพที่ 3.1)



ภาพที่ 3.1 ตัวอย่างผงใบหมีแห้งก่อนนำไปสกัด

### 3.2.2 การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีด้วยวิธีการต้ม

วิธีการสกัดสารเมือกพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการต้มอ้างอิงและดัดแปลงจาก Sitthithaworn et al. (2018)

ซังใบหมีที่เตรียมไว้ 5 กรัม สกัดด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 250 มิลลิลิตรที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1 : 50 (น้ำหนักต่อปริมาตร) สกัดด้วยวิธีต้มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส จากนั้นกรองตัวอย่างด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 6,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที เพื่อแยกส่วนใสออกจากตะกอน แล้วนำส่วนใสด้านบนไปตกตะกอนต่อด้วยเอทานอล 95% ที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย คือ 1 : 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ตั้งทิ้งไว้ในตู้ทำความเย็นเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นแยกส่วนใสทิ้ง นำตะกอนที่ได้จากการตกตะกอนไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 6,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที นำตะกอนที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงครั้งที่สองไปอบแห้ง

ที่ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างมีน้ำหนักคงที่ บดจนเป็นผงละเอียด ชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาปริมาณร้อยละของผลผลิต และนำไปวิเคราะห์ขั้นตอนต่อไป

### 3.2.3 การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากไบโหม้ด้วยวิธี Enzymes-assisted Extraction

วิธีการสกัดสารเมือกพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธี enzymes-assisted extraction อ้างอิงและดัดแปลงจากงานวิจัยของ Zhu et al. (2014), Pongsua (2016), Chaing and Lai (2019)

ชั่งไบโหม้ที่เตรียมไว้ 5 กรัม มากระจายตัวในน้ำกลั่นปริมาตร 250 มิลลิลิตร ที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1 : 50 (น้ำหนักต่อปริมาตร) สกัดด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ คือ เซลลูเลส, เพกตินเนส, ปาเปน และเอนไซม์ผสมระหว่าง เซลลูเลส : เพกตินเนส : ปาเปน ที่อัตราส่วนยูนิตของเอนไซม์เป็น 1 : 1 : 1 กำหนดให้พีเอช อุณหภูมิและระยะเวลาของการสกัดมีค่าคงที่ คือ 5, 50 องศาเซลเซียส และ 1 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นนำไปศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการสกัด ได้แก่ 20, 40, และ 60 ยูนิตต่อกรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) เมื่อครบระยะเวลาสกัด จึงนำสารละลายตัวอย่างไปต้มร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ จากนั้นกรองตัวอย่างด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการกรองไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 6,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที เพื่อแยกส่วนใสออกจากตะกอน นำส่วนใสด้านบนไปตกตะกอนต่อด้วยเอทานอล 95% ที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1 : 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ตั้งทิ้งไว้ในตู้ทำความเย็นเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นแยกส่วนใสทิ้ง นำตะกอนที่ได้จากการตกตะกอนไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 6,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที นำตะกอนที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงครั้งที่สองไปอบแห้งที่ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างมีน้ำหนักคงที่ บดเป็นผงละเอียด ชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณปริมาณร้อยละของผลผลิต และนำไปวิเคราะห์ขั้นตอนต่อไป

### 3.2.4 ศึกษาปริมาณรวมพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธี Phenol-sulfuric Method

การวิเคราะห์วิธีการทดสอบหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธี phenol-sulfuric method ดัดแปลงจาก Dubois et al. (1956)

นำตัวอย่างสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟีนอล 5% ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายกรดซัลฟูริก 96% ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างที่ควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เมื่อสารละลายเปลี่ยนเป็นสีส้ม จากนั้นนำไปแช่อ่างน้ำเย็นเป็นระยะเวลา 10 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยา นำสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับกราฟ

สารมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0.001–0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และรายงานผลเป็นมิลลิกรัม สมมูลของกลูโคสต่อกรัมผงตัวอย่าง

### 3.2.5 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ โดยใช้เทคนิคอินฟราเรดสเปกโตรสโกปีที่มีความยาวคลื่น 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  ด้วยวิธี KBr disc technique โดยบดสารตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งร่วมกับผง KBr (potassium bromide) อัดเป็นแผ่นกลม นำแผ่น KBr disc ใส่ลงช่องใส่ตัวอย่าง ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ความยาวคลื่น 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  (Zaharuddin et al., 2014)

### 3.2.6 ทดสอบทางเคมีกายภาพของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่

นำตัวอย่างพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่มาทดสอบลักษณะทางกายภาพด้วยตาเปล่า ทดสอบกลิ่นผ่านการดม วัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่อง pH meter

### 3.2.7 ศึกษาความสามารถในละลายน้ำของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่

เตรียมน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัด โดยเริ่มชั่งสารที่ ร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนัก นำไปทำละลายด้วยเครื่อง vortex mixer สังเกตด้วยตาเปล่า หากสารสกัดละลาย ให้เติมสารสกัดเพิ่มครั้งละ 0.1 มิลลิกรัมและทำซ้ำ จนกว่าสารสกัดตกตะกอน และบันทึกผล

### 3.2.8 ศึกษาความสามารถในการก่อเจลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่

การวิเคราะห์อ้างอิงและดัดแปลงการทดสอบจาก Kumar et al. (2011)

เตรียมน้ำกลั่นที่มีส่วนผสมจากสารสกัดตัวอย่างในความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0% และ 2.5% โดยน้ำหนัก เตรียมภายใต้อุณหภูมิห้อง จากนั้นประเมินผลด้วยสายตาและให้คะแนนโดยเปรียบเทียบผลที่ได้กับแขนแทนกัมที่มีความเข้มข้นเดียวกัน โดยคะแนนแสดงดังตารางที่ 3.3

### ตารางที่ 3.3 การประเมินคะแนนความเหนียว

0	+1	+2	+3	+4	+5
ความเหนียวเทียบเท่า น้ำกลั่น	ความเหนียวต่ำ	ความเหนียวค่อนข้างต่ำ	ความเหนียวปานกลาง	ความเหนียวค่อนข้างสูง	ความเหนียวสูง

### 3.2.9 ศึกษาความสามารถในการพองตัวของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่

การวิเคราะห์อ้างอิงและดัดแปลงการทดสอบจาก Kumar et al. (2011)

ซึ่งตัวอย่างสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่ 0.1 กรัม ลงในกระบอกตวงปริมาตร 10 มิลลิลิตร วัดความสูงเริ่มต้นของตัวอย่าง เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่างเบา ๆ ปิดกระบอกตวงด้วยพาราฟิล์ม ตั้งทิ้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกความสูงที่ได้ นำไปคำนวณตามสมการ (Kumar et al., 2011) และรายงานผลในหน่วยมิลลิลิตรต่อกรัมตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบผลที่ได้กับแซนแทนกัมและโซเดียม ไฮยาลูโรเนต

$$\text{Swelling index (SI)} = \frac{X_t - X_0}{X_0} \times 100$$

โดย  $X_0$  คือ ความสูงเริ่มต้นของผงตัวอย่างเมื่อบรรจุลงกระบอกตวง และ  $X_t$  คือ ความสูงของตัวอย่างหลังจากพองตัวเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

### 3.2.10 การวิเคราะห์ด้วยสถิติ

การทดลองทั้งหมดเป็นการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ( $n=3$ ) ผลการทดลองที่ได้ถูกนำไปวิเคราะห์ผ่านโปรแกรม SPSS เวอร์ชันที่ 21 ซึ่งเป็นโปรแกรมคำนวณทางสถิติจากบริษัท IBM วิเคราะห์โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one way ANOVA) และทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่โดยวิธี Turkey's test ซึ่งกำหนดค่า  $p$ -values น้อยกว่า 0.05 ถือว่าการศึกษามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

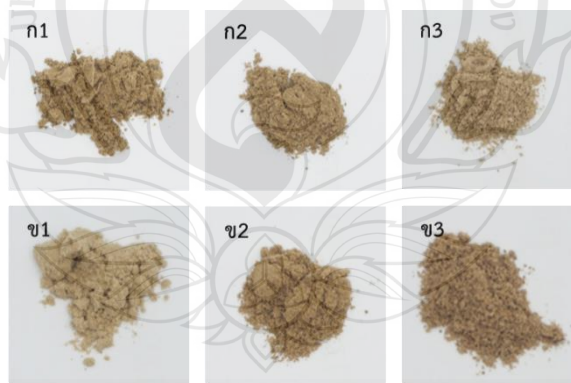
## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

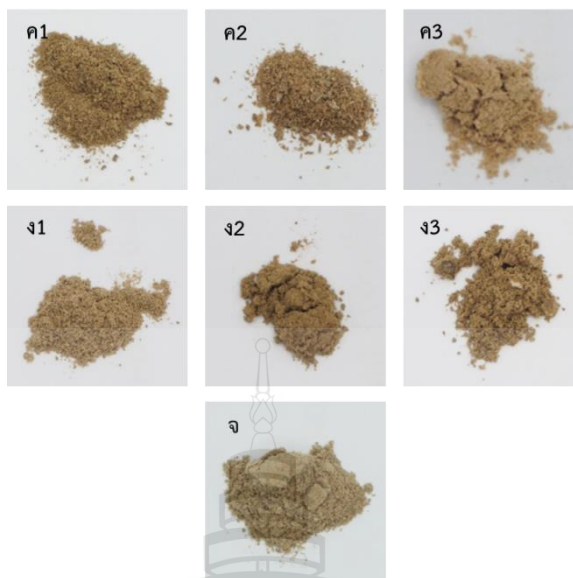
#### 4.1 การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี

##### 4.1.1 ลักษณะเคมีกายภาพของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี

ผลการสกัดด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ และเอนไซม์ผสมมีลักษณะปรากฏของสารสกัดมีความคล้ายคลึงกัน คือ มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลอ่อนจนถึงเข้ม มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว (ภาพที่ 4.1) โดยค่าพีเอชที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส, เพกตินเนส, ปาเปน และเอนไซม์ผสมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเปรียบเทียบค่าพีเอชของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีต้มพบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน ค่าพีเอชของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยวิธีต้ม มีค่าเท่ากับ  $6.79 \pm 0.01$  ขณะที่ค่าพีเอชของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ มีค่าอยู่ในช่วง  $6.78 \pm 0.01$ ,  $6.79 \pm 0.01$ ,  $6.79 \pm 0.02$  และ  $6.80 \pm 0.03$  ตามลำดับ



ภาพที่ 4.1 ลักษณะสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีจากการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นของยูนิตเอนไซม์ 20 ยูนิต/กรัม, 40 ยูนิต/กรัม และ 60 ยูนิต/กรัมตามลำดับ



- หมายเหตุ** (ภาพ ค1-ค3) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยเอโนไซม์เซลลูเลส  
 (ภาพ ข1-ข3) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยเอโนไซม์เพกตินเนส  
 (ภาพ ค1-ค3) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยเอโนไซม์ปาเปน  
 (ภาพ ง1-ง3) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยเอโนไซม์ผสม  
 (ภาพ จ) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากวิธีต้ม

ภาพที่ 4.1 (ต่อ)

#### 4.1.2 ร้อยละผลผลิตของการสกัด

ผนังเซลล์พืชช่วยให้พืชมีโครงสร้างความแข็งแรงและคงรูป ประกอบด้วยเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลัก มีลักษณะเป็นเส้นใยเรียงตัวเป็นชั้นไขว้กัน ผนังเซลล์พืชเมื่อเริ่มสร้างจะมีลักษณะบาง และเริ่มหนาเนื่องจากมีการสะสมสารต่าง ๆ ในเซลล์มากเมื่อมีอายุมากขึ้น เช่น เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เพกติน (pectin) ลิกนิน (lignin) และไกลโคโปรตีน (glycoproteins) เป็นต้น (วีรภัทร วิโนทพรรษ์, 2557)

การสกัดด้วยเอโนไซม์ คือ การนำเอโนไซม์ที่มีคุณสมบัติ ความสามารถจำเพาะ และทราบจำนวนมาย่อยหรือทำลายโครงสร้างผนังเซลล์พืชภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เพื่อให้ผนังเซลล์ของพืชปลดปล่อยสารประกอบที่ต้องการ การใช้เอโนไซม์ช่วยสกัดสารจากธรรมชาติโดยทั่วไปถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อย่อยส่วนประกอบต่าง ๆ ของพืช เพื่อให้สารสำคัญที่อยู่ในพืชถูกสกัดออกมาได้มากยิ่งขึ้น (วีรภัทร วิโนทพรรษ์, 2557)

ผลการศึกษาศึกษาการสกัดด้วยวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัดด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด คือ เซลลูเลส เพกตินเนส ปาเปน และเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิด (เซลลูเลส : เพกตินเนส : ปาเปน ที่สัดส่วน 1 : 1 : 1) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ภายใต้สภาวะเดียวกัน (พีเอช อุณหภูมิ สัดส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลายและระยะเวลาการสกัด) แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุดเมื่อสกัดด้วยเอนไซม์ผสม ที่ความเข้มข้น 60 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) มีค่าเท่ากับ ร้อยละ  $9.25 \pm 0.51$  ขณะที่ ปริมาณร้อยละผลผลิตต่ำสุด มีค่าเท่ากับ ร้อยละ  $2.69 \pm 0.93$  เมื่อสกัดด้วยเอนไซม์เพกตินเนสที่ ความเข้มข้น 20 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง)

#### 4.1.2.1 ศึกษาการสกัดด้วยเอนไซม์ต่างความเข้มข้น

เมื่อพิจารณาผลการสกัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกันที่ต่างความเข้มข้นให้ผล ดังนี้

เมื่อสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุด มีค่าเท่ากับ ร้อยละ  $7.56 \pm 0.82$  เมื่อสกัดที่ความเข้มข้น 20 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) แต่หากความเข้มข้น เพิ่มขึ้นสูงกว่า 20 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ปริมาณร้อยละผลผลิตมีค่าลดลงตามลำดับ และเมื่อพิจารณาปริมาณร้อยละผลผลิตที่สกัดด้วยความเข้มข้น 20 ยูนิต/กรัม และ 40 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) พบว่าการสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสให้ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงกว่าการ สกัดด้วยวิธีต้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เอนไซม์เซลลูเลสมีคุณสมบัติในการย่อยเส้นใยและ ผงังเซลล์พืช โดยตัดพันธะ  $\beta$ -1,4-D-glycosidic ในเซลลูโลส ช่วยให้สารสำคัญภายในเซลล์ถูก ปลดปล่อยมากยิ่งขึ้น เอนไซม์เซลลูเลสนิยมนำมาสกัดสารสำคัญบริเวณใบหรือเหง้าของพืช (วีรภัทร วิโนทพรรษ์, 2557) โดยทั่วไปสภาวะพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์เซลลูเลส คือ 4.0-6.0 และ 40-50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Song et al., 2020)

เมื่อสกัดด้วยเอนไซม์เพกตินเนส พบว่าร้อยละผลผลิตสูงสุดมีค่าเท่ากับ ร้อยละ  $5.44 \pm 0.87$  เมื่อสกัดที่ความเข้มข้น 40 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นเพิ่มสูงกว่า 40 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ปริมาณร้อยละผลผลิตกลับมีค่า ลดลง และเมื่อพิจารณาปริมาณร้อยละผลผลิตที่ได้จากการสกัดด้วยเพกตินเนสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าร้อยละผลผลิตที่ได้ให้ผลไม่ต่างจากการสกัดด้วยวิธีต้ม เอนไซม์เพกตินเนสมีคุณสมบัติในการย่อย เพกตินที่อยู่ใน middle lamella ผ่านการตัดพันธะ  $\alpha$ -1,4-D-galacturonic acid ของเพกติน หน้าที่ ของเพกติน คือ ช่วยเชื่อมเซลลูโลสให้ติดกัน สำหรับเอนไซม์เพกตินเนสนิยมนำมาประยุกต์ใช้ใน อุตสาหกรรมอาหาร ช่วยสกัดสารสำคัญในพืชที่เป็นผลเป็นส่วนใหญ่ เช่น แอปเปิ้ล ส้ม เป็นต้น สามารถพบเพกตินได้มากในบริเวณส่วนใบของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งผักตระกูล *Brassica* (Hasnain & Nayak, 2019) นอกจากนี้สภาวะพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมของเพกตินเนส คือ 3.0-5.0 และ 10-55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Song et al., 2020)

ผลการสกัดด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่าเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ปริมาณร้อยละผลผลิตมีค่าเพิ่มขึ้นตามลำดับ ร้อยละผลผลิตสูงสุดมีค่าเท่ากับ ร้อยละ  $9.11 \pm 0.43$  เมื่อสกัดที่ความเข้มข้น 60 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ซึ่งให้ผลต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบปริมาณร้อยละผลผลิตที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกันแต่ต่างความเข้มข้น เอนไซม์ปาเปนมีคุณสมบัติในการย่อยโมเลกุลโปรตีนขนาดใหญ่ให้เล็กลง นำมาประยุกต์ใช้ในหลากหลายอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมอาหาร ช่วยย่อยโปรตีนในเนื้อสัตว์ให้นุ่มมากยิ่งขึ้น อุตสาหกรรมยานำมาใช้เป็นองค์ประกอบของยาย่อยอาหาร และอุตสาหกรรมฟอกหนัง ช่วยทำให้หนังเรียบและนุ่มขึ้น เป็นต้น (Fernández-Lucas et al., 2017) โดยสภาวะพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมของของเอนไซม์ปาเปนอยู่ในช่วง 5.0-8.0 และ 50-57 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Singh et al., 2019)

ผลการศึกษาการสกัดด้วยเอนไซม์ผสมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับการสกัดด้วยเอนไซม์ปาเปน คือ เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ร้อยละผลผลิตมีค่าเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุดมีค่าเท่ากับ ร้อยละ  $9.25 \pm 0.51$  เมื่อสกัดที่ความเข้มข้น 60 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ซึ่งให้ผลต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับปริมาณร้อยละผลผลิตที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกันแต่ต่างความเข้มข้น การใช้เอนไซม์ผสมในการช่วยสกัด (เอนไซม์เซลลูเลสประกอบด้วยเอนไซม์ชนิดอื่น เช่น ปาเปน เพกตินเนส หรือ โปรเตส เป็นต้น) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดมากขึ้น เนื่องจากเอนไซม์แต่ละชนิดมีคุณสมบัติเฉพาะช่วยย่อยพันธะต่าง ๆ ระหว่างเซลลูโลส เพกติน โปรตีน และโมเลกุลอื่นภายในผนังเซลล์พืชได้ (Chen et al., 2013)

จากผลการศึกษาข้างต้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jia et al. (2013) ที่ศึกษาประสิทธิภาพการสกัด *Agaricus blazei* Murrill ระหว่างวิธีต้มและวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด โดยพบว่าวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัดให้ร้อยละผลผลิตสูงกว่าวิธีต้ม (ร้อยละ 14.5–17.4) นอกจากนี้ความเข้มข้นของเอนไซม์เป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของการสกัด เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์สูงขึ้นประสิทธิภาพการเข้าทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์และซับสเตรทเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีผลผลิตมากขึ้น อย่างไรก็ตามหากความเข้มข้นมากเกินไปจนเกิดการอิมัตว์ ส่งผลให้โมเลกุลของเอนไซม์บางโมเลกุลมีโอกาสเข้าทำปฏิกิริยาต่อซับสเตรทลดลง ประสิทธิภาพการย่อยลดลง (Li et al., 2019)

#### 4.1.2.2 ศึกษาการสกัดด้วยเอนไซม์ต่างชนิดที่ความเข้มข้นเดียวกัน

ผลการศึกษาการสกัดของเอนไซม์ต่างชนิดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 20 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุดได้จากสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส โดยมีค่าเท่ากับ ร้อยละ  $7.56 \pm 0.82$  ขณะที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 40 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุดได้จากสกัดด้วยเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิดมีค่าเท่ากับ ร้อยละ  $7.07 \pm 0.48$  และที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 60 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุด มีค่าเท่ากับ ร้อยละ  $9.25 \pm 0.51$  โดยได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิด

จากผลการศึกษาการสกัดด้วยเอนไซม์ต่างชนิดภายใต้ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าแต่ละความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ศึกษาต่างให้ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงกว่าวิธีการต้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Li et al. (2019) ที่ศึกษาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Auricularia auricula-judae*, *A. polytricha* และ *A. delicate* ด้วยวิธีสกัด 3 วิธี คือ วิธีต้ม วิธีสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วย และวิธีการสกัดด้วยการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด จากการศึกษาพบว่าเมื่อสกัด *Auricularia auricula-judae* ด้วยวิธีการใช้เอนไซม์ให้ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ (ร้อยละ  $35.35 \pm 0.54$  กรัม/กิโลกรัม) เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีต้ม (ร้อยละ  $29.55 \pm 0.36$ ) และวิธีสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วย (ร้อยละ  $24.68 \pm 0.39$ ) แต่เมื่อเปรียบเทียบผลระหว่างวิธีการสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยและวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัดใน *A. polytricha* และ *A. delicate* พบว่าผลที่ได้ไม่ต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

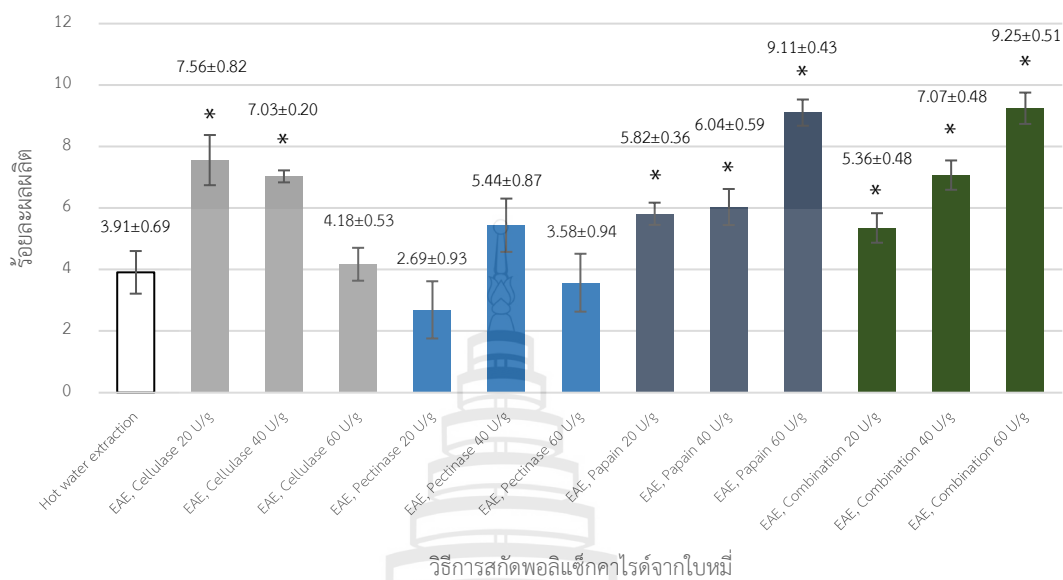
นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการสกัดที่แต่ละความเข้มข้นพบว่าให้ผลไม่ต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) จากการศึกษาสรุปได้ว่านอกเหนือจากชนิดของเอนไซม์และความเข้มข้นที่ใช้สกัด ควรพิจารณาถึงปัจจัยอื่นที่สามารถส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ร่วมด้วย คือ อุณหภูมิ, พีเอช, ระยะเวลาการสกัด และอัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย เนื่องจากเอนไซม์แต่ละชนิดสามารถทำงานได้ดีในสภาวะพีเอชและอุณหภูมิต่างกัน (Chen et al, 2013)

ตารางที่ 4.1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่จากเอนไซม์ที่ยูนิตเอนไซม์ต่างกัน

วิธีการสกัด	ปริมาณร้อยละผลผลิต		
	20 ยูนิต/กรัม	40 ยูนิต/กรัม	60 ยูนิต/กรัม
เซลลูโลส	7.56±0.82 <sup>aA</sup>	7.03±0.20 <sup>aA</sup>	4.18±0.53 <sup>bB</sup>
เพกตินเอส	2.69±0.93 <sup>cB</sup>	5.44±0.87 <sup>bA</sup>	3.58±0.94 <sup>bAB</sup>
ปาเปน	5.82±0.36 <sup>abB</sup>	6.04±0.59 <sup>abB</sup>	9.11±0.43 <sup>aA</sup>
เอนไซม์ผสมทั้งสามชนิด*	5.36±0.48 <sup>bC</sup>	7.07±0.48 <sup>aB</sup>	9.25±0.51 <sup>aA</sup>

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็ก แสดงถึง ความต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในสดมภ์เดียวกัน  
 อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ แสดงถึง ความต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในแถวเดียวกัน  
 เครื่องหมายดอกจัน แสดงถึง ความเข้มข้นรวมของเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิดมีค่าเป็น 3 เท่าของความเข้มข้นที่ศึกษา

ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี  
ด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ



**หมายเหตุ** เครื่องหมายดอกจัน แสดงถึง ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงกว่าการสกัดแบบวิธีต้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยวิเคราะห์ทางสถิติแบบ t-test

**ภาพที่ 4.2** ปริมาณร้อยละผลผลิตของการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีด้วยวิธีการต้มและวิธีที่ใช้เอนไซม์ช่วยสกัด

#### 4.2 ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ของสารสกัดจากใบหมี

วิธี phenol-sulfuric acid เป็นวิธีวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด สามารถวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวมได้แทบทุกชนิด (โมโนแซ็กคาไรด์ ไดแซ็กคาไรด์ โอลิโกแซ็กคาไรด์ และพอลิแซ็กคาไรด์) (Nielsen, 2017) โดยปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมของการศึกษานี้วิเคราะห์ด้วยวิธี phenol-sulfuric acid แสดงดังตารางที่ 4.2 พบว่าปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดที่แต่ละความเข้มข้นให้ผลต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jia et al. (2013), Li et al. (2019)

#### 4.2.1 ศึกษาการสกัดด้วยเอนไซม์ต่างความเข้มข้น

ผลการศึกษาการสกัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกันแต่ต่างความเข้มข้น พบว่าปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมสูงสุด มีค่าเท่ากับ  $452.26 \pm 0.13$  มิลลิกรัมสมมูลกลูโคส/กรัมสารตัวอย่าง เมื่อสกัดด้วยเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิดที่ความเข้มข้น 20 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ขณะที่ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมต่ำสุด มีค่าเท่ากับ  $182.14 \pm 0.06$  มิลลิกรัมสมมูลกลูโคส/กรัมสารตัวอย่าง เมื่อสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 20 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง)

เมื่อพิจารณาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด เมื่อสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมมีค่าสูงขึ้นตามลำดับ ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมสูงสุดเมื่อสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส มีค่าเท่ากับ  $326.81 \pm 0.16$  มิลลิกรัมสมมูลกลูโคส/กรัมสารตัวอย่าง เมื่อสกัดที่ความเข้มข้น 60 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ซึ่งให้ผลต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อพิจารณาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมที่ได้ระหว่างวิธีการสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและวิธีต้ม พบว่าวิธีการสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสให้ผลสูงกว่าการสกัดด้วยวิธีต้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เว้นการสกัดที่ความเข้มข้น 20 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ที่ให้ผลต่ำกว่าวิธีการสกัดด้วยวิธีต้มอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น เอนไซม์เซลลูเลสสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับซับสเตอร์ที่ติดมากขึ้น โดยตัดพันธะ  $\beta$ -1,4-D-glycosidic ในโมเลกุลเซลลูโลสให้มีขนาดสั้นลง ให้ผลผลิตเป็นเซลโลบิโอสและกลูโคสในที่สุด (Jayasekara & Ratnayake, 2019)

ผลการศึกษาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมจากการสกัดด้วยเอนไซม์เพกตินเอสที่ พบว่าผลการศึกษาในเชิงเดียวกันกับการสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส กล่าวคือ เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมมีค่าเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมสูงสุด เท่ากับ  $434.07 \pm 0.16$  มิลลิกรัมสมมูลกลูโคส/กรัมสารตัวอย่าง เมื่อสกัดที่ความเข้มข้น 60 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ซึ่งให้ผลต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อพิจารณาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมระหว่างวิธีการสกัดด้วยเอนไซม์เพกตินเอสและวิธีต้ม พบว่าปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์เพกตินเอสมีค่าสูงกว่าการสกัดด้วยวิธีต้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เว้นแต่การสกัดที่ความเข้มข้น 20 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ที่ให้ผลการสกัดต่ำกว่าวิธีต้มอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับการสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส จากผลการศึกษาสรุปได้ว่าเมื่อเอนไซม์เพกตินเอสสูงขึ้น เอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาย่อยเพกตินที่อยู่ในผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืชได้มากยิ่งขึ้น โดยให้ผลผลิตเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กรดกาแล็กทูโรนิก เป็นต้น (Verma et al., 2018)

ผลการศึกษาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมจากการสกัดด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่าปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมสูงสุดได้จากการสกัดที่ความเข้มข้น 20 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง)

โดยให้ผลต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อเทียบกับวิธีการสกัดด้วยเอนไซม์ปาเปน ที่ความเข้มข้นอื่น ๆ และวิธีต้ม อย่างไรก็ตามหากความเข้มข้นเพิ่มถึง 40 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมที่ได้กลับมีค่าลดลง สาเหตุอาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของเอนไซม์ที่มากเกินไป ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลง (Li et al., 2019) แต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มสูงกว่า 40 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมมีค่าเพิ่มขึ้นอีกครั้ง โดยปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมที่วิเคราะห์ได้อาจมีความคลาดเคลื่อนเนื่องจากตัวอย่างอาจมีองค์ประกอบของโปรตีนหรือสารประกอบเชิงซ้อนอื่นเจือปน (Chen et al., 2016)

เมื่อสกัดด้วยเอนไซม์ผสม พบว่าปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์สูงขึ้น ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมสูงสุดเท่ากับ  $452.26 \pm 0.12$  มิลลิกรัมสมมูลกลูโคส/กรัมสารตัวอย่าง เมื่อสกัดที่ความเข้มข้น 20 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) โดยให้ผลต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกัน และเมื่อพิจารณาผลการศึกษาระหว่างการสกัดด้วยเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิดและวิธีการต้ม พบว่าปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ผสมโดยรวมมีค่าสูงกว่าการสกัดด้วยวิธีต้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สำหรับสาเหตุของปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้น อาจเนื่องมาจากเอนไซม์ในระบบมีมากเกินไปจนเกิดการอิมพัลโมเลกุลของเอนไซม์บางโมเลกุลมีโอกาสเข้าทำปฏิกิริยากับซับสเตรทได้น้อยลง ส่งผลให้การย่อยซับสเตรทเกิดขึ้นอย่างไม่สมบูรณ์ (Li et al., 2019)

#### 4.2.2 ศึกษาการสกัดด้วยเอนไซม์ต่างชนิดที่ความเข้มข้นเดียวกัน

ผลการศึกษาศึกษาการสกัดที่ความเข้มข้นเดียวกันแต่สกัดด้วยเอนไซม์ต่างชนิด พบว่าที่แต่ละความเข้มข้นที่ศึกษา เอนไซม์แต่ละชนิดให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 20 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมมีค่าสูงสุด เมื่อสกัดด้วยเอนไซม์ผสม ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $452.26 \pm 0.12$  มิลลิกรัมสมมูลกลูโคส/กรัมสารตัวอย่าง เนื่องจากความสามารถของเอนไซม์ผสมที่มีคุณสมบัติในการย่อยโครงสร้างของเซลล์พืชได้ตามคุณสมบัติของเอนไซม์แต่ละชนิดส่งผลให้ได้ผลผลิตมากขึ้น (Chen et al., 2013)

ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 40 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมสูงสุดมีค่าเท่ากับ  $286.24 \pm 0.21$  มิลลิกรัมสมมูลกลูโคส/กรัมสารตัวอย่าง เมื่อสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ผลผลิตที่มากขึ้นเนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพในการสกัดมีค่าเพิ่มขึ้นตามลำดับ (Li et al., 2019)

ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 60 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมสูงสุดได้จากสกัดด้วยเอนไซม์เพกติเนส มีค่าเท่ากับ  $434.07 \pm 0.16$  มิลลิกรัมสมมูลกลูโคส/กรัมสารตัวอย่าง อาจเนื่องมาจากเอนไซม์เพกติเนสสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับโครงสร้างของเพกตินได้มากขึ้น นอกจากนี้เอนไซม์เพกติเนสมีคุณสมบัติในการย่อยสารเมือกในผักหรือผลไม้ ส่งผลให้เกิดผลผลิตมากยิ่งขึ้น (Verma et al., 2018)

เมื่อพิจารณาผลการสกัดระหว่างวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัดและวิธีการต้มพบว่าวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัดให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมความสูงกว่าวิธีการต้มอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมของการสกัดด้วยวิธีต้มมีค่าเท่ากับ  $247.21 \pm 0.38$  มิลลิกรัมสมมูลกลูโคส/กรัมสารตัวอย่าง)

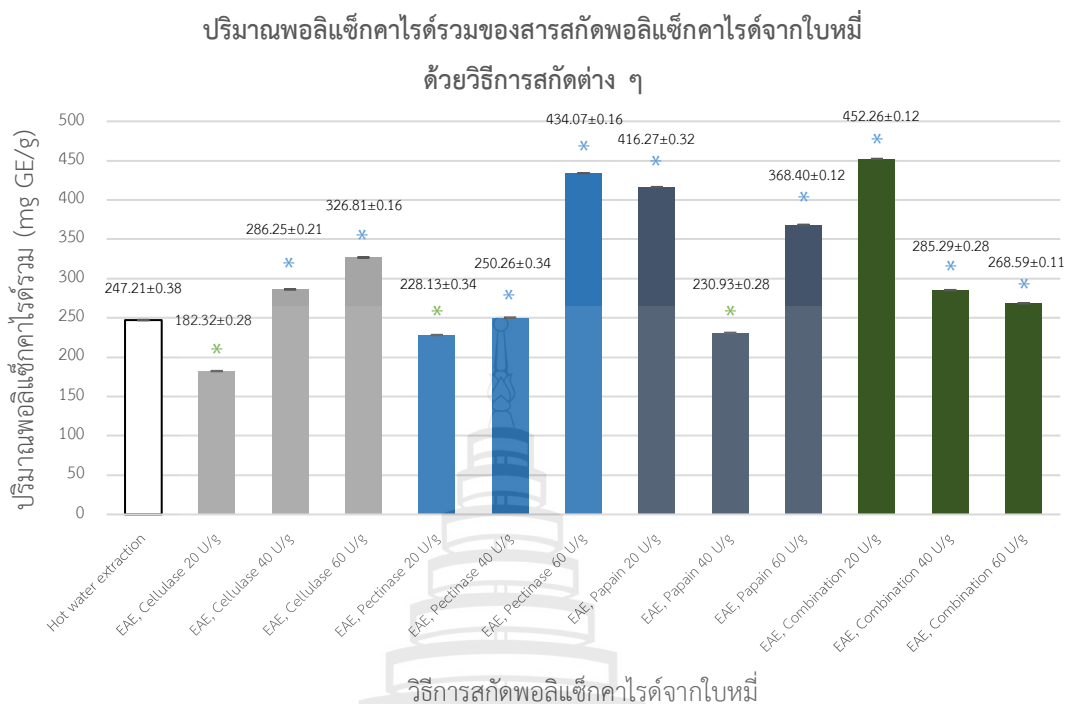
จากผลการศึกษาข้างต้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen et al. (2013) ที่ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Clitocybe maxima* จากวิธีการสกัด 3 วิธี คือ วิธีต้ม วิธีใช้เอนไซม์ช่วยสกัด และวิธีการสกัดแบบแช่หมัก พบว่าการสกัดด้วยวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัดให้ปริมาณร้อยละผลผลิตและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมสูงกว่าวิธีต้ม (ร้อยละ 10.3 และร้อยละ 53.1 ตามลำดับ)

การวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำสามารถวิเคราะห์ปริมาณได้โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานโมโนแซ็กคาไรด์ (Dubois et al., 1956) อย่างไรก็ตามวิธีการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำได้อาจมีค่าคลาดเคลื่อนเนื่องจากตัวอย่างอาจมีองค์ประกอบของโปรตีนหรือสารประกอบเชิงซ้อนอื่นเจือปน (Chen et al., 2016) โดยทั่วไปขั้นตอนในการแยกโปรตีนที่เจือปนในตัวอย่างสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีการแยกโปรตีนด้วย Sevag reagent วิธีการแยกโปรตีนด้วยตัวทำละลาย trichlorofluoromethane และวิธีการแยกโปรตีนด้วยตัวทำละลาย trichloroacetic acid เป็นต้น ในขั้นตอนในการสกัดแยกจะเติมสารละลายที่มีขี้ เช่น แอลกอฮอล์หรือคีโตน เพื่อแยกสารเจือปนที่ไม่ต้องการออกจากตัวอย่าง ซึ่งปฏิกิริยาการสกัดโปรตีนออกจากตัวอย่างขึ้นกับความสามารถในการละลายของตัวอย่างในตัวทำละลาย เช่นเดียวกัน เมื่อตัวอย่างถูกสกัดแยกอยู่ในตัวทำละลายก็จะสามารถสกัดแยกโปรตีนออกจากตัวอย่าง ส่งผลให้ตัวอย่างมีความบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น (Chen et al., 2016) นอกจากนี้การหยุดการทำงานของเอนไซม์ที่อุณหภูมิสูงสามารถเปลี่ยนโครงสร้างของโปรตีนได้อย่างถาวร นิยมดำเนินการภายใต้อุณหภูมิที่สูงมากกว่า 80 องศาเซลเซียส ภายใต้อุณหภูมิสูงโปรตีนจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและรวมตัวกัน (Matsuura et al., 2015)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่ด้วยวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ ที่ระดับยูนิตของเอนไซม์แตกต่างกัน

วิธีการสกัด	ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวม (mg GE/g)		
	20 ยูนิต/กรัม	40 ยูนิต/กรัม	60 ยูนิต/กรัม
เซลลูโลส	182.32±0.28 <sup>dC</sup>	286.24±0.21 <sup>aB</sup>	326.81±0.16 <sup>cA</sup>
เพกตินเนส	228.13±0.34 <sup>cC</sup>	250.26±0.34 <sup>cB</sup>	434.07±0.16 <sup>aA</sup>
ปาเปน	416.27±0.32 <sup>bA</sup>	230.93±0.28 <sup>dC</sup>	368.41±0.12 <sup>bB</sup>
เอนไซม์ผสมทั้งสามชนิด*	452.26±0.12 <sup>aA</sup>	285.29±0.28 <sup>bB</sup>	268.59±0.11 <sup>dC</sup>

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็ก แสดงถึง ความต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )  
 ในสดมภ์เดียวกัน  
 อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ แสดงถึง ความต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )  
 ในแถวเดียวกัน  
 เครื่องหมายดอกจัน แสดงถึง ความเข้มข้นรวมของเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิดมีค่าเป็น  
 3 เท่าของความเข้มข้นที่ศึกษา



**หมายเหตุ** เครื่องหมายดอกจันสีน้ำเงิน แสดงถึง ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมสูงกว่าการสกัดด้วยวิธีต้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยวิเคราะห์ทางสถิติแบบ t-test เครื่องหมายดอกจันสีเขียว แสดงถึง ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมต่ำกว่าการสกัดด้วยวิธีต้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยวิเคราะห์ทางสถิติแบบ t-test

**ภาพที่ 4.3** ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมของการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่ด้วยวิธีต้มและวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด

#### 4.3 การทดสอบคุณสมบัติเคมีกายภาพของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่

##### 4.3.1 การพิสูจน์หมู่ฟังก์ชันของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิค FT-IR สามารถวิเคราะห์ชนิดของคาร์โบไฮเดรตอย่างง่ายผ่านการจำแนกการดูดกลืนรังสีที่จำเพาะของแต่ละหมู่ฟังก์ชันทางเคมี โดยการวิเคราะห์ผล FT-IR ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ได้จากการสกัดแบ่งตามช่วงความยาวคลื่นต่าง ๆ โดยแสดงดังภาพที่ 4.4

ช่วงความยาวคลื่น 4000–2500  $\text{cm}^{-1}$  คือ ช่วงความยาวคลื่นการดูดกลืนรังสีสเปกตรัมของ หมู่ฟังก์ชันที่มีพันธะเดี่ยว โดยทั่วไปพอลิแซ็กคาไรด์จะแสดงช่วงการดูดกลืนรังสีเป็นแถบกว้าง อย่างเห็นได้ชัดในช่วงความยาวคลื่น 3600–3000  $\text{cm}^{-1}$  (Wiercigroch et al., 2017) เมื่อวิเคราะห์ ช่วงการดูดกลืนรังสีของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากวิธีการสกัดด้วยเอนไซม์ พบว่ามีการแสดงพิค การดูดกลืนรังสีสเปกตรัมเป็นแถบกว้างของหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (-OH) ที่บริเวณความยาวคลื่น 3390–3340  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งสอดคล้องกับการดูดกลืนรังสีสเปกตรัมของหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (-OH) ที่ช่วงความยาวคลื่น 3570–3200  $\text{cm}^{-1}$  (Nandiyanto et al., 2018) นอกจากนี้พบการดูดกลืนรังสี ที่ช่วงความยาวคลื่น 2929  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นช่วงการดูดกลืนรังสีของหมู่เมทิลีน (-CH<sub>2</sub> asymmetric stretching), 2883  $\text{cm}^{-1}$  คือ ช่วงการดูดกลืนรังสีของหมู่ฟังก์ชันเมทิลีน (-CH stretching) และ 2857  $\text{cm}^{-1}$  ช่วงการดูดกลืนรังสีของหมู่เมทิลีน (-CH<sub>2</sub> symmetric stretching) ตามลำดับ โดย ช่วงความยาวคลื่นข้างต้นสามารถแสดงถึงลักษณะการเกาะของหมู่ฟังก์ชันเมทิลีน (-CH<sub>2</sub>) และเมทิลีน (-CH) ที่เกาะอยู่บนโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ได้ (Wang et al., 2022)

ช่วงความยาวคลื่น 2500–2000  $\text{cm}^{-1}$  คือ ช่วงความยาวคลื่นการดูดกลืนรังสีสเปกตรัมของ หมู่ฟังก์ชันที่มีพันธะสาม พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดไม่มีช่วงการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น ดังกล่าว

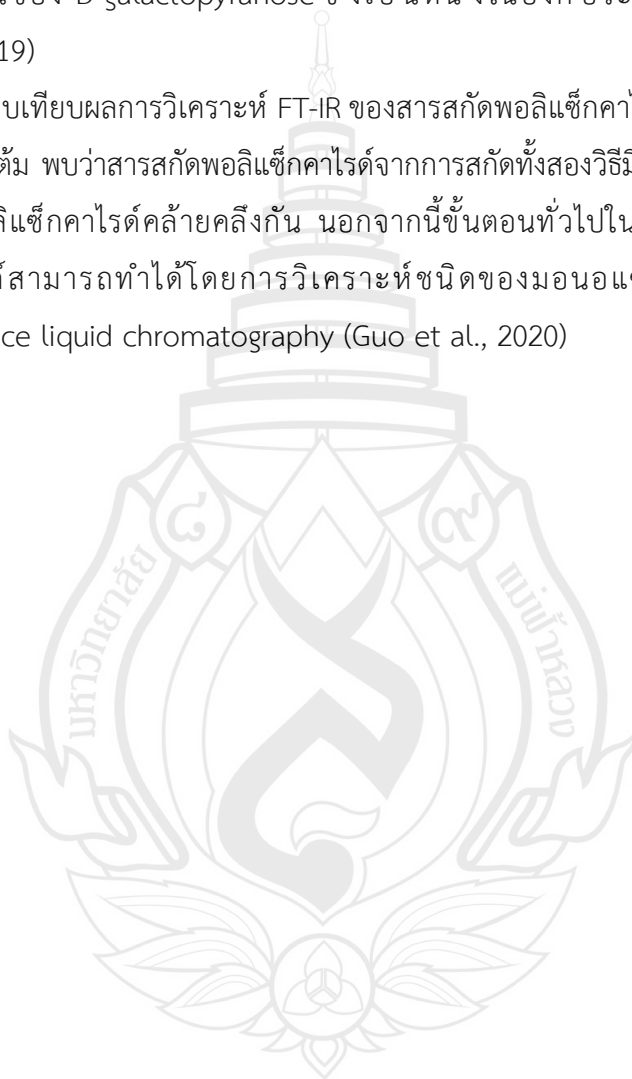
ช่วงความยาวคลื่น 1800–1500  $\text{cm}^{-1}$  คือ ช่วงความยาวคลื่นการดูดกลืนของหมู่ฟังก์ชัน พันธะคู่ ซึ่งสามารถพบหมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิล (-C=O) ได้ที่ช่วงความยาวคลื่นดังกล่าว (Wan et al., 2021) จากผลการวิเคราะห์พบว่าการดูดกลืนรังสีที่ช่วงความยาวคลื่น 1735  $\text{cm}^{-1}$  สอดคล้องกับ การดูดกลืนรังสีของหมู่ฟังก์ชันเอสเตออร์ (-COO) (Grassino et al., 2016) นอกจากนี้ยังพบ การดูดกลืนรังสีที่ช่วงความยาวคลื่น 1649  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นช่วงการดูดกลืนรังสีของหมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิล (C=O stretching) ที่เป็นหมู่ฟังก์ชันเอไมด์ปฐมภูมิ (-CONH<sub>2</sub>) (Song et al., 2011) ซึ่งสอดคล้องกับ การค้นพบสารกลุ่ม alkaloid ในพืชตระกูล *Litsea* (Yang et al., 2005) และพบการดูดกลืนรังสีที่ ความยาวคลื่น 1530  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นช่วงการดูดกลืนรังสีของช่วงการดูดกลืนรังสีของหมู่ฟังก์ชันเอไมด์ ทุติยภูมิ (-CONHR) (Chatjigakis et al., 1998)

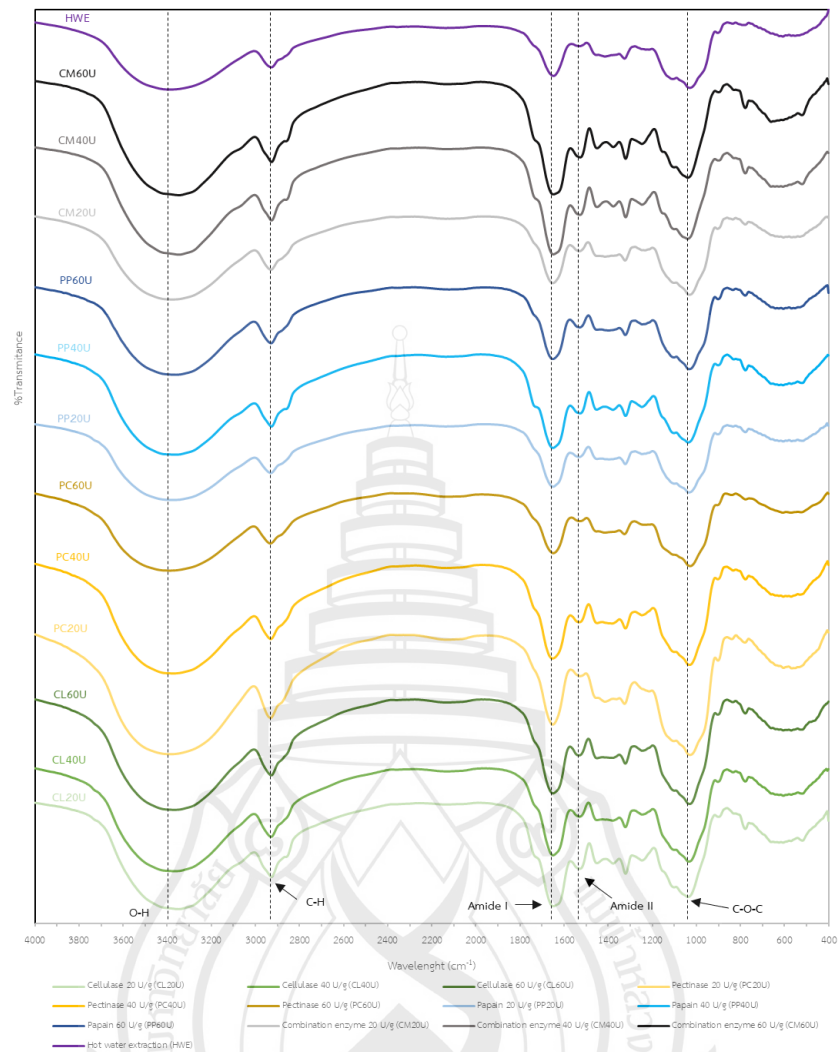
ช่วงความยาวคลื่น 1500–600  $\text{cm}^{-1}$  คือ ช่วงการดูดกลืนรังสีที่แสดงถึงลักษณะเฉพาะตัว (fingerprint) ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดจากพืชที่ศึกษา (Nandiyanto et al., 2018) จากตัวอย่างพบการดูดกลืนรังสีที่ความยาวคลื่น 1376  $\text{cm}^{-1}$  แสดงถึงช่วงการดูดกลืนรังสีของ พันธะ C-O stretching ในเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (Wang et al., 2019) ช่วงการดูดกลืนรังสีที่ ความยาวคลื่น 1326  $\text{cm}^{-1}$  สอดคล้องกับการดูดกลืนรังสีของหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (-OH bending) รวมถึงพบการดูดกลืนรังสีที่ความยาวคลื่น 1035  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นเฉพาะของ

เฮมิเซลลูโลสที่มีน้ำตาลไซโลสเป็นส่วนประกอบ เนื่องจากเกิดการยึดของ C-O-C ของพันธะไกลโคซิดิกที่บริเวณช่วงความยาวคลื่นนั้น (Peng et al., 2019)

ช่วงความยาวคลื่น  $950-750\text{ cm}^{-1}$  แสดงถึงช่วงการดูดกลืนรังสีของอะโนเมอร์คาร์บอน (anomeric carbon) บนโมเลกุล บริเวณนี้จะแสดงถึงการจัดเรียงตัวตรงตำแหน่งอะโนเมอร์คาร์บอน (แบบ  $\alpha$  และแบบ  $\beta$ ) (Wang et al., 2022) จากตัวอย่างพบการดูดกลืนรังสีที่  $900\text{ cm}^{-1}$  เกิดจากการสั่นของ D-galactopyranose ซึ่งเป็นหนึ่งในองค์ประกอบภายในเซลลูโลส (Shao et al., 2019)

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ FT-IR ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ระหว่างการสกัดด้วยเอนไซม์กับวิธีการต้ม พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดทั้งสองวิธีมีหมู่ฟังก์ชันในโครงสร้างของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์คล้ายคลึงกัน นอกจากนี้ขั้นตอนทั่วไปในการวิเคราะห์ชนิดของพอลิแซ็กคาไรด์สามารถทำได้โดยการวิเคราะห์ชนิดของมอนอแซ็กคาไรด์ด้วยเทคนิค High-performance liquid chromatography (Guo et al., 2020)





หมายเหตุ (HWE) สกัดด้วยวิธีต้ม, (CL20U) สกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ 20 ยูนิต/กรัม, (CL40U) สกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ 40 ยูนิต/กรัม, (CL60U) สกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ 60 ยูนิต/กรัม, (PC20U) สกัดด้วยเอนไซม์เพกตินเนสที่ 20 ยูนิต/กรัม, (PC40U) สกัดด้วยเอนไซม์เพกตินเนสที่ 20 ยูนิต/กรัม, (PC60U) สกัดด้วยเอนไซม์เพกตินเนสที่ 60 ยูนิต/กรัม, (PP20U) สกัดด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ 20 ยูนิต/กรัม, (PP40U) สกัดด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ 40 ยูนิต/กรัม, (PP60U) สกัดด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ 60 ยูนิต/กรัม, (CM20U) สกัดด้วยเอนไซม์ผสมที่ 20 ยูนิต/กรัม, (CM40U) สกัดด้วยเอนไซม์ผสมที่ 40 ยูนิต/กรัม และ (CM60U) สกัดด้วยเอนไซม์ผสมที่ 60 ยูนิต/กรัม

ภาพที่ 4.4 FT-IR ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ

#### 4.3.2 คุณสมบัติการละลายน้ำของสารสกัดจากใบหมี่

พอลิเมอร์ที่สามารถละลายน้ำถูกนำมาประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมสี อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมกระดาษ แม้แต่กระบวนการบำบัดน้ำ เป็นต้น พอลิแซ็กคาไรด์ส่วนใหญ่ประกอบด้วยไกลโคซิล (glycosyl) ซึ่งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) โดยทั่วไปอย่างน้อย 3 ตำแหน่ง โดยหมู่ไฮดรอกซิลบนโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนเชื่อมพันธะกับโมเลกุลของน้ำอย่างน้อย 1 ตำแหน่งหรือมากกว่า รวมถึงวงออกซิเจนอะตอมและอะตอมของออกซิเจนบนโมเลกุลไกลโคซิดิก (glycosidic) เชื่อมต่อกับโมเลกุลน้ำตาลข้างหนึ่ง ขณะที่อีกข้างเชื่อมต่อกับน้ำด้วยพันธะไฮโดรเจน ส่งผลให้โมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์สามารถอุ้มน้ำ เกิดการพองตัวและหยุดละลายเมื่อถึงขีดจำกัด (Kadajji & Betageri, 2011)

จากผลการศึกษาคุณสมบัติการละลายน้ำ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ลักษณะของสารละลายมีสีน้ำตาล มีความขุ่นเพิ่มขึ้นและเริ่มตกตะกอน จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นสูงสุดที่สามารถละลายได้คือ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อละลายด้วยสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 60 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถละลายได้ คือ 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อละลายด้วยสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยวิธีการต้ม

สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากใบหมี่ (*L. glutinosa*) มีพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำได้เป็นองค์ประกอบหลัก (Das et al., 2013) โดยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำได้เป็นหนึ่งในไบโอพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นเองและพบมากตามธรรมชาติ มีหลากหลายชนิด พบได้ทั้งในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ รวมถึงพืชและสัตว์ (The et al., 2009) นอกจากนี้สามารถพบ arabinoxylan ซึ่งเป็นหนึ่งในองค์ประกอบของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ (Das et al., 2013; Herath et al., 1990)










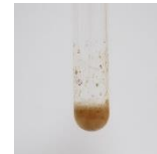

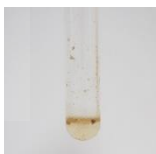


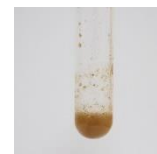
#### 4.3.3 คุณสมบัติการก่อเจลของสารสกัดจากใบหมี่

ผลการศึกษาคุณสมบัติการก่อเจลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) สารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำตาลอ่อนกลายเป็นน้ำตาลเข้มและเริ่มตกตะกอนเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.3) จากการศึกษาพบว่าโดยส่วนใหญ่สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ และสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีต้มเริ่มแสดงความหนืดเล็กน้อยที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) โดยมีความหนืดเทียบเท่ากับแซนแทนกัมที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงสุด (ร้อยละ 2.5 (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร)) พบว่าความหนืดของสารละลายตัวอย่างโดยส่วนใหญ่มี

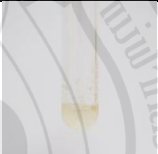
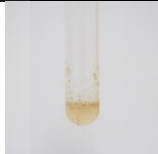







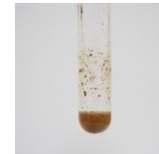




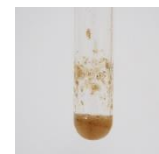
ความหนืดเพิ่มมากกว่าสารละลายที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) เพียงเล็กน้อย โดยมีความหนืดเทียบเท่ากับแซนแทนกัมที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) นอกจากนี้ลักษณะสัมผัสของสารละลายตัวอย่างมีความคล้ายเมือกกลื่น แต่ไม่เกิดการก่อเจล แต่อย่างไรก็ตามความเข้มข้นสูงสุดที่ศึกษา จากการศึกษาข้างต้นพบว่าความเข้มข้นที่เลือกอาจไม่เหมาะที่จะประยุกต์ใช้เป็นสารก่อเจลแก่ผลิตภัณฑ์

















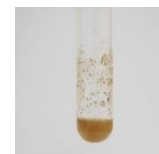
ตารางที่ 4.3 การประเมินคุณสมบัติการก่อเจลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น ยูนิตเอนไซม์	ความเข้มข้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%W/V)				
		0.5%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัด ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส	20 ยูนิต/กรัม					
		0	0	+	+	++
	40 ยูนิต/กรัม					
	0	0	+	+	++	
	60 ยูนิต/กรัม					
	0	0	+	+	++	






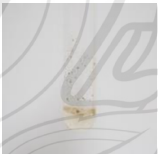


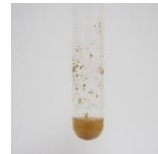
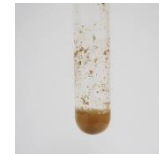





ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น ยูนิตเอนไซม์	ความเข้มข้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%W/V)				
		0.5%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัด ด้วยเอนไซม์เพกตินเอส	20 ยูนิต/กรัม					
	40 ยูนิต/กรัม					
	60 ยูนิต/กรัม					






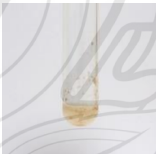


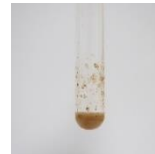
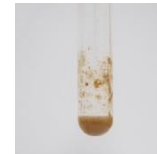
ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น ยูนิตเอนไซม์	ความเข้มข้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%W/V)				
		0.5%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัด ด้วยเอนไซม์ปาเปน	20 ยูนิต/กรัม	 0	 0	 0	 +	 +
	40 ยูนิต/กรัม	 0	 0	 +	 +	 +
	60 ยูนิต/กรัม	 0	 0	 +	 +	 +

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น ยูนิตเอนไซม์	ความเข้มข้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%W/V)				
		0.5%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัด ด้วยเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิด	20 ยูนิต/กรัม					
	40 ยูนิต/กรัม					
	60 ยูนิต/กรัม					

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น ยูนิตเอนไซม์	ความเข้มข้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%W/V)				
		0.5%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%
แซนแทนกัม	-					
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัด ด้วยวิธีต้ม	-					
		0	0	+	+	++

หมายเหตุ คะแนน (0) แสดงถึง ความหนืดเทียบเท่า น้ำกลั่น, คะแนน (+) แสดงถึง ความหนืดต่ำ, คะแนน (++) แสดงถึง ความหนืดค่อนข้างต่ำ, คะแนน (+++) แสดงถึง ความหนืดปานกลาง, คะแนน (++++) แสดงถึง ความหนืดค่อนข้างสูง และคะแนน (+++++) แสดงถึง ความหนืดสูง

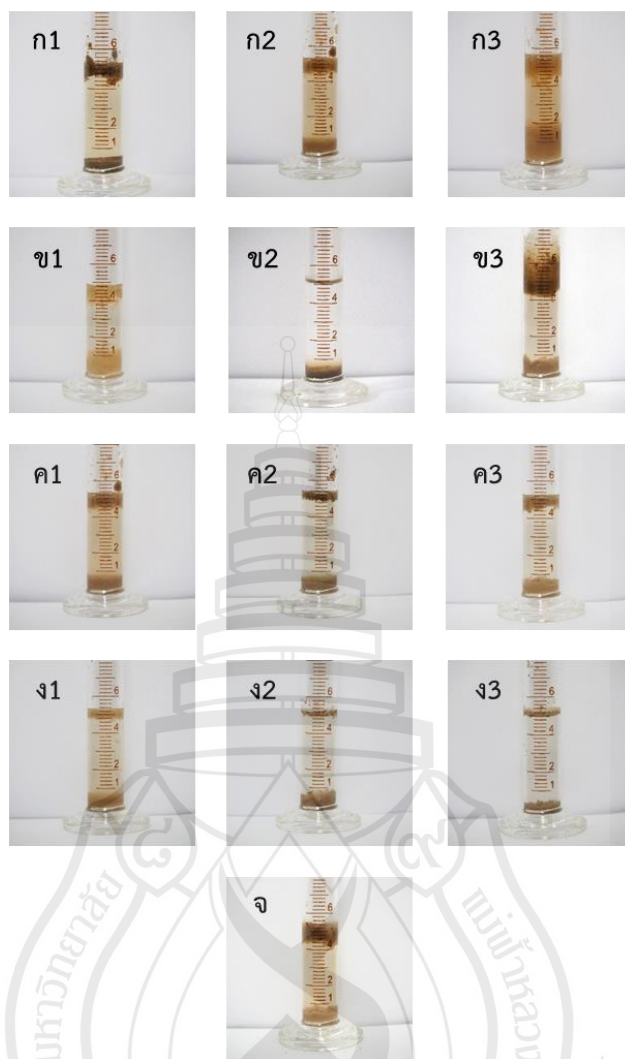
#### 4.3.4 คุณสมบัติความสามารถการพองตัวของสารสกัดจากใบหมี

ความสามารถการพองตัว (swelling index; SI) ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีจากวิธีการสกัดต่าง ๆ ถูกนำมาศึกษาและเปรียบเทียบกับแซนแทนกัม (%SI เท่ากับ  $1,833.33 \pm 57.74$ ), โซเดียมไฮยาลูโรเนต (%SI เท่ากับ  $450.00 \pm 44.10$ ) และการสกัดด้วยวิธีต้ม (%SI เท่ากับ  $308.33 \pm 38.19$ ) ภายใต้สภาวะเดียวกัน (ตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.5) จากการศึกษาพบว่าความสามารถการพองตัวของสารสกัดจากใบหมีจากการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ มีค่าระหว่าง  $111.11 \pm 19.25$  ถึง  $866.67 \pm 57.74$  เมื่อเปรียบเทียบกับความสามารถการพองตัวของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีกับงานวิจัยที่ศึกษาสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดมะขามเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ทางเชิงเภสัชกรรม พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดมะขามมีค่าความสามารถการพองตัวสูงถึงร้อยละ 1700 โดยค่าความสามารถการพองตัวของพอลิแซ็กคาไรด์ขึ้นการกักเก็บน้ำหรือความสามารถดูดซับของพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดนั้น หากมีค่าสูงแสดงว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ศึกษา มีความสามารถในการพองตัวสูง (Kumar et al., 2011) ในทางกลับกันหากสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มีความไม่ชอบน้ำ สารละลายจะแสดงลักษณะขุ่นและมีคุณสมบัติการพองตัวต่ำ (Huanbutta et al., 2017) สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าที่ศึกษาคุณลักษณะความสามารถการพองตัวของสารสกัดจากเมล็ดมะขาม พบว่าสารสกัดหยาบมีพฤติกรรมการพองตัวต่ำและมีความสามารถในการพองตัวลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น (Ponnikornkit et al., 2014)

ตารางที่ 4.4 ความสามารถการพองตัวของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี่ด้วยเอนไซม์ที่ระดับ  
ยูนิตต่าง ๆ

เอนไซม์/ วิธีการสกัด	ดัชนีการพองตัว (SI (%))		
	20 ยูนิต/กรัม	40 ยูนิต/กรัม	60 ยูนิต/กรัม
เซลลูเลส	325.00±25.00 <sup>bC</sup>	555.56±69.39 <sup>aB</sup>	866.67±57.74 <sup>aA</sup>
เพกทีเนส	466.67±57.74 <sup>aA</sup>	355.56±19.25 <sup>bA</sup>	466.67±88.19 <sup>bA</sup>
ปาเปน	433.33±57.74 <sup>abA</sup>	466.67±57.74 <sup>abA</sup>	500.00±66.67 <sup>bA</sup>
เอนไซม์ผสม*	355.56±19.25 <sup>abA</sup>	155.56±19.25 <sup>cB</sup>	111.11±19.25 <sup>cB</sup>

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็ก แสดงถึง ความต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )  
ในสดมภ์เดียวกัน  
อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ แสดงถึง ความต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )  
ในแถวเดียวกัน  
เครื่องหมายดอกจัน แสดงถึง ความเข้มข้นรวมของเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิดมีค่าเป็น  
3 เท่าของความเข้มข้นที่ศึกษา



- หมายเหตุ (ภาพ ก1-ก3) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส  
 (ภาพ ข1-ข3) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยเอนไซม์เพกทีเนส  
 (ภาพ ค1-ค3) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยเอนไซม์ปาเปน  
 (ภาพ ง1-ง3) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยเอนไซม์ผสม  
 (ภาพ จ) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากวิธีต้ม

ภาพที่ 4.5 ลักษณะการฟองตัวของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นยูนิตเอนไซม์ 20 ยูนิต/กรัม, 40 ยูนิต/กรัม และ 60 ยูนิต/กรัม ตามลำดับ

## บทที่ 5

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการศึกษา

การสกัดด้วยการใช้เอนไซม์แสดงประสิทธิภาพการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมีสูงกว่าวิธีการสกัดด้วยวิธีต้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด มีลักษณะคล้ายคลึงกับสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีต้มทั้งทางกายภาพและเคมี คือ เป็นผงสีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม มีกลิ่นหอมหวานเฉพาะตัว พีเอชอยู่ในช่วง  $6.79 \pm 0.07$  และมีเอกลักษณ์หมู่ฟังก์ชันทางเคมีที่คล้ายคลึงกัน

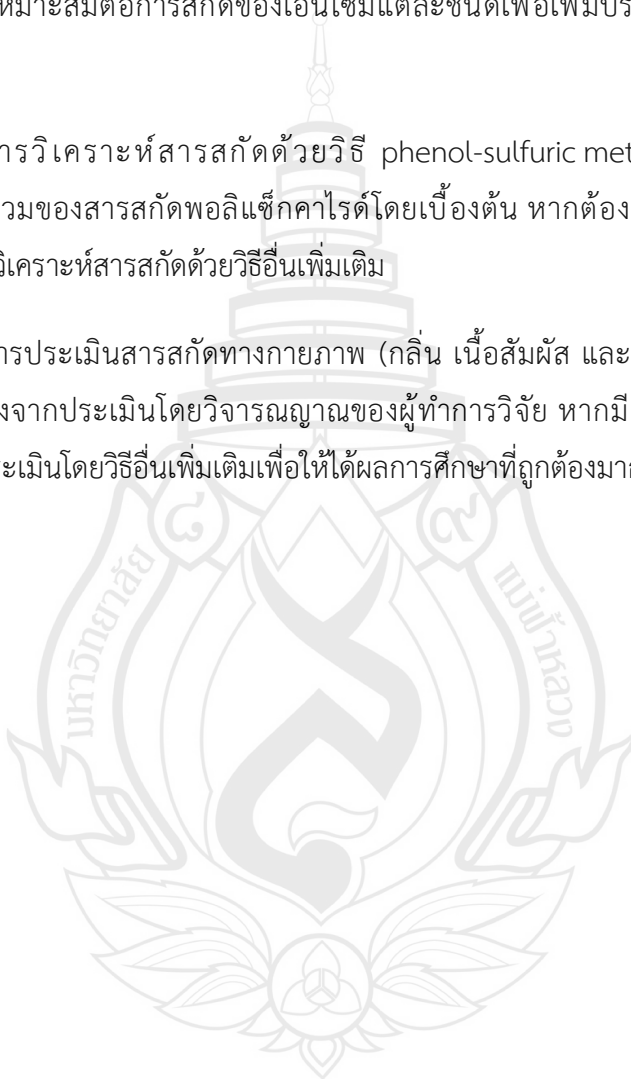
ผลการศึกษาการสกัดของเอนไซม์แต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่างกันโดยการสกัดภายใต้สภาวะเดียวกัน (พีเอช อุณหภูมิและระยะเวลาการสกัด) พบว่าปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุดมีค่าเท่ากับร้อยละ  $9.25 \pm 0.51$  เมื่อสกัดด้วยเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิด (เซลลูเลส : เพกตินเอส : ปาเปน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 60 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) ขณะที่ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมมีค่าสูงสุดเมื่อสกัดด้วยเอนไซม์ผสมทั้งสามชนิด (เซลลูเลส:เพกตินเอส:ปาเปน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 20 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) มีค่าเท่ากับ  $452.26 \pm 0.13$  มิลลิกรัมสมมูลกลูโคส/กรัมสารตัวอย่าง ขณะที่ ความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดที่ละลายได้มีค่าเท่ากับร้อยละ 1.2 (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) เมื่อละลายด้วยสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 60 ยูนิต/กรัม (โดยน้ำหนักของตัวอย่าง) และความสามารถการพองตัว (%SI) ของสารสกัด มีค่าระหว่าง  $111.11 \pm 19.25$  ถึง  $866.67 \pm 57.74$  อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงความสามารถการก่อเจลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากใบหมี พบว่าไม่เหมาะที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารก่อเจลแก่ผลิตภัณฑ์ เนื่องจากมีความสามารถการก่อเจลต่ำ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การศึกษาครั้งนี้ได้กำหนดค่ากลางสำหรับการศึกษาการสกัดของเอนไซม์ในแต่ละปัจจัย (พีเอช, อุณหภูมิ, เวลา และอัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย) อาจส่งผลให้ประสิทธิภาพการสกัดของเอนไซม์แต่ละชนิดมีความคลาดเคลื่อน หากมีการศึกษาครั้งต่อไปควรศึกษาแต่ละปัจจัยเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดของเอนไซม์แต่ละชนิดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดของเอนไซม์ได้

5.2.2 การวิเคราะห์สารสกัดด้วยวิธี phenol-sulfuric method แสดงถึงปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์โดยเบื้องต้น หากต้องการวิเคราะห์สารสำคัญอย่างละเอียดควรวิเคราะห์สารสกัดด้วยวิธีอื่นเพิ่มเติม

5.2.3 การประเมินสารสกัดทางกายภาพ (กลิ่น เนื้อสัมผัส และความหนืด) อาจมีความคลาดเคลื่อนเนื่องจากประเมินโดยวิจารณ์ญาณของผู้ทำการวิจัย หากมีการศึกษาครั้งต่อไปควรพิจารณาวิธีการประเมินโดยวิธีอื่นเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ผลการศึกษาที่ถูกต้องมากขึ้น





รายการอ้างอิง

## รายการอ้างอิง

- ณัฐพัชร์ เหล่าอากาศสูงศักดิ์. (2557). *ประสิทธิผลของสารสกัดใบหมีต่อการบำรุงผม เพื่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับเส้นผม* (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- ดวงกมล เรือนงาม. (2557). การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง*, 23(2), 120-139.
- นฤมล นະธรรมโม. (2544). *สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรียทนร้อน* (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- พงศ์ปณต ร่วมแก้ว, นาฏศจี นวลแก้ว และปราโมทย์ มหคุณากร. (2559). การศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบและสมานแผลของสารสกัดใบหมีเหม็น. ใน *การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยบัณฑิตศึกษา ระดับชาติและนานาชาติ 2559* (pp. 751-761). มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- พรพรรณ สิริมนต์ และวิชาญ เอียดทอง. (2561). ผลของวิธีการสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบหมีเหม็น. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มทร. ธัญบุรี*, 8(2), 45-52.
- วรางคณา จินตพัฒนากิจ และสาวิตรี อัมภา. (2551). *การพัฒนาสูตรตำรับแชมพูป้องกันผมร่วงจากใบหมี* (โครงการพิเศษปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต). มหาวิทยาลัยมหิดล.
- วีรภัทร วิโนทพรรษ์. (2557). การประยุกต์ใช้เอนไซม์ในรูปอิมัลชันและรูปตริงสำหรับการสกัดสารธรรมชาติจากพืช. *วารสารไทยเภสัชชนิพนธ์*, 9(1), 57-70.
- Agrawal, N., Choudhary, A. S., Sharma, M. C., & Dobhal, M. P. (2011). Chemical constituents of plants from the genus *Litsea*. *Chemistry & Biodiversity*, 8(2), 223-243.

- Agrawal, N., Pareek, D., Dobhal, S., Sharma, M. C., Joshi, Y. C., & Dobhal, M. P. (2013). Butanolides from methanolic extract of *Litsea glutinosa*. *Chemistry & Biodiversity*, 10(3), 394-400.
- Bhowmick, R., Sarwar, M. S., RahmanDewan, S. M., Das, A., Das, B., NasirUddin, M. M., . . . Islam, M. S. (2014). In vivo analgesic, antipyretic, and anti-inflammatory potential in *Swiss albino* mice and in vitro thrombolytic activity of hydroalcoholic extract from *Litsea glutinosa* leaves. *Biological Research*, 47(1), 1-8.
- Carpita, N. C., & Gibeaut, D. M. (1993). Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *The Plant Journal*, 3(1), 1-30.
- Chatjigakis, A., Pappas, C., Proxenia, N., Kalantzi, O., Rodis, P., & Polissiou, M. (1998). FT-IR spectroscopic determination of the degree of esterification of cell wall pectins from stored peaches and correlation to textural changes. *Carbohydrate Polymers*, 37(4), 395-408.
- Chen, H., Zhou, X., & Zhang, J. (2014). Optimization of enzyme assisted extraction of polysaccharides from *Astragalus membranaceus*. *Carbohydrate Polymers*, 111, 567-575.
- Chen, J., Lai, P., Shen, H., Zhen, H., & Fang, R. (2013). Effect of extraction methods on polysaccharide of *Clitocybe maxima stipe*. *Adv J Food Sci Technol*, 5(3), 370-373.
- Chen, Y., Yao, F., Ming, K., Wang, D., Hu, Y., & Liu, J. (2016). Polysaccharides from traditional Chinese medicines: extraction, purification, modification, and biological activity. *Molecules*, 21(12), 1705.

- Chiang, C.-F., & Lai, L.-S. (2019). Effect of enzyme-assisted extraction on the physicochemical properties of mucilage from the fronds of *Asplenium australasicum* (J. Sm.) Hook. *International Journal of Biological Macromolecules*, *124*, 346-353.
- Cui, S. W., Nie, S., & Roberts, K. T. (2011). Functional properties of dietary fiber. In Murray Moo-yang (Eds.), *Comprehensive Biotechnology* (3rd ed., p. 546-555). Pergamon.
- Das, D., Maiti, S., Maiti, T. K., & Islam, S. S. (2013). A new arabinoxylan from green leaves of *Litsea glutinosa* (Lauraceae): Structural and biological studies. *Carbohydrate Polymers*, *92*(2), 1243-1248.
- Dehghan-Shoar, Z., Hardacre, A. K., Meerdink, G., & Brennan, C. S. (2011). Lycopene extraction from extruded products containing tomato skin. *International Journal of Food Science & Technology*, *46*(2), 365-371.
- Devi, P., & Meera, R. (2010). Study of antioxidant, antiinflammatory and woundhealing activity of extracts of *Litsea glutinosa*. *J Pharm Sci Res*, *2*(2), 155-163.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. t., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, *28*(3), 350-356.
- Dzogbefia, V., Ofosu, G., & Oldham, J. (2008). Evaluation of locally produced *Saccharomyces cerevisiae* pectinase enzyme for industrial extraction of starch from cassava in Ghana. *Scientific Research and Essay*, *3*(8), 365-369.
- Fernández-Lucas, J., Castañeda, D., & Hormigo, D. (2017). New trends for a classical enzyme: Papain, a biotechnological success story in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, *68*, 91-101.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.017>

- Gajendra Azad. (2020). *Polysaccharides: Homopolysaccharides and Heteropolysaccharides. Biochemistry*.  
[https://www.patnauniversity.ac.in/econtent/science/zoology/Polysaccharides\(PG\)\\_BiochemistryCC7\\_Zoology\\_Gajendra%20Azad.pdf](https://www.patnauniversity.ac.in/econtent/science/zoology/Polysaccharides(PG)_BiochemistryCC7_Zoology_Gajendra%20Azad.pdf)
- Gibeaut, D. M., & Carpita, N. C. (1991). Tracing cell wall biogenesis in intact cells and plants: selective turnover and alteration of soluble and cell wall polysaccharides in grasses. *Plant Physiology*, 97(2), 551-561.
- Global Biodiversity Information Facility. (2020). *Litsea glutinosa (Lour.) C.B.Rob.*  
<https://www.gbif.org/species/7304140>
- Grassino, A. N., Brnčić, M., Vikić-Topić, D., Roca, S., Dent, M., & Brnčić, S. R. (2016). Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. *Food Chemistry*, 198, 93-100.
- Guo, Y., Shang, H., Zhao, J., Zhang, H., & Chen, S. (2020). Enzyme-assisted extraction of a cup plant (*Silphium perfoliatum* L.) Polysaccharide and its antioxidant and hypoglycemic activities. *Process Biochemistry*, 92, 17-28.
- Hasnain, M. S., & Nayak, A. K. (2019). Polysaccharides from leafy vegetables: Chemical, nutritional and medicinal. In *Natural Polysaccharides in Drug Delivery and Biomedical Applications*. Elsevier Science.
- Herath, H., Kumar, N. S., & Wimalasiri, K. S. (1990). Structural studies of an arabinoxylan isolated from *Litsea glutinosa* (Lauraceae). *Carbohydrate research*, 198(2), 343-351.
- Hien, N. T., Thang, T. D., & Thai, T. H. (2010). Chemical composition of the leaf oil of *Litsea glutinosa* (Lour.) CB Rob. from Ha Tinh province. *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology*, 26(3), 161-164.

- Huanbutta, K., & Sittikijyothin, W. (2017). Development and characterization of seed gums from *Tamarindus indica* and *Cassia fistula* as disintegrating agent for fast disintegrating Thai cordial tablet. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12(4), 370-377.
- Jayasekara, S., & Ratnayake, R. (2019). Microbial Cellulases: An Overview and Applications. In A. R. Pascual, & M. E. E. Martín (Eds.), *Cellulose* (p.87). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84531>
- Jia, S., Li, F., Liu, Y., Ren, H., Gong, G., Wang, Y., . . . Wu, S. (2013). Effects of extraction methods on the antioxidant activities of polysaccharides from *Agaricus blazei* Murrill. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 66-69. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.08.031>
- Kadajji, V. G., & Betageri, G. V. (2011). Water soluble polymers for pharmaceutical applications. *Polymers*, 3(4), 1972-2009.
- Kirk, O., Borchert, T. V., & Fugsang, C. C. (2002). Industrial enzyme applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4), 345-351.
- Kong, D.-G., Zhao, Y., Li, G.-H., Chen, B.-J., Wang, X.-N., Zhou, H.-L., . . . Shen, T. (2015). The genus *Litsea* in traditional Chinese medicine: An ethnomedical, phytochemical and pharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology*, 164, 256-264. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.02.020>
- Kumar, G. P., Gangarao, B., Kotha, N., & Lova, R. (2011). Isolation and evaluation of tamarind seed polysaccharide being used as a polymer in pharmaceutical dosage forms. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2(2), 274-290.
- Li, L., Yang, X., Pan, L., Su, Y., & Wang, Y. (2019). Comparing three methods of extraction of *Auricularia auricula* polysaccharides. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 17(1), 7-11.

- Lu, Z., Walker, K. Z., Muir, J. G., & O'Dea, K. (2004). Arabinoxylan fibre improves metabolic control in people with Type II diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58(4), 621-628.
- Lu, Z. X., Gibson, P. R., Muir, J. G., Fielding, M., & O'Dea, K. (2000). Arabinoxylan fiber from a by-product of wheat flour processing behaves physiologically like a soluble, fermentable fiber in the large bowel of rats. *The Journal of Nutrition*, 130(8), 1984-1990.
- Lu, Z. X., Walker, K. Z., Muir, J. G., Mascara, T., & O'Dea, K. (2000). Arabinoxylan fiber, a byproduct of wheat flour processing, reduces the postprandial glucose response in normoglycemic subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(5), 1123-1128.
- Manosroi, A., Pattamapun, K., Khositsuntiwong, N., Kietthanakorn, B.-o., Issarangporn, W., Chankhampan, C., . . . Manosroi, J. (2015). Physicochemical properties and biological activities of Thai plant mucilages for artificial saliva preparation. *Pharmaceutical Biology*, 53(11), 1653-1660.
- Matsuura, Y., Takehira, M., Joti, Y., Ogasahara, K., Tanaka, T., Ono, N., . . . Yutani, K. (2015). Thermodynamics of protein denaturation at temperatures over 100 C: CutA1 mutant proteins substituted with hydrophobic and charged residues. *Scientific Reports*, 5(1), 1-9.
- Mohan, H., & Pathak, H. (1975). Flavonoids from the leaves of *Litsea glutinosa*. *Natural and Applied Science Bulletin*, 27(3), 95-99.
- Nandiyanto, A. B. D., Andika, R., Aziz, M., & Riza, L. S. (2018). Working volume and milling time on the product size/morphology, product yield, and electricity consumption in the ball-milling process of organic material. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 3(2), 82-94.
- Nielsen, S. S. (2017) Total Carbohydrate by Phenol-Sulfuric Acid Method. *Food analysis Laboratory Manual* (pp. 137-141). Springer.

- Pan, J. Y., Zhang, S., Wu, J., Li, Q. X., & Xiao, Z. H. (2010). Litseaglutinan A and lignans from *Litsea glutinosa*. *Helvetica Chimica Acta*, 93(5), 951-957.
- Parikh, P. H., & Rangrez, A. Y. (2012). Extraction and Phytochemical Evaluation of LitseaGlutinosa Bark Methanolic Extract. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(5), 71-78.
- Patindol, J., Wang, L., & Wang, Y. J. (2007). Cellulase-assisted extraction of oligosaccharides from defatted rice bran. *Journal of Food Science*, 72(9), C516-C521.
- Peng, X., Nie, S., Li, X., Huang, X., & Li, Q. (2019). Characteristics of the water-and alkali-soluble hemicelluloses fractionated by sequential acidification and graded-ethanol from sweet maize stems. *Molecules*, 24(1), 212.
- Pongsua, P. (2016). *Extraction and biological activities of water-soluble polysaccharides from edible mushrooms for cosmetic applications* (Doctoral dissertation). Mae Fah Luang University.
- Ponnikornkit, B., Ngamsalak, C., Huanbutta, K., & Sittikijyothin, W. (2014). Swelling behaviour of carboxymethylated tamarind gum. *Advanced Materials Research*, 1060, 137-140.  
<https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1060.137>
- Pradeepa, K., Krishna, V., Kumar, K. G., Thirumalesh, B., & Kumar, K. N. (2011). Antibacterial screening of the stem bark and leaf extracts of *Litsea glutinosa* (Lour.) CB Rob-an ethnomedicinally important tree of the Western Ghats. *Pharmacognosy Journal*, 3(21), 72-76.
- Pradeepa, K., Krishna, V., Santosh, K., & Girish, K. K. (2013). Antinociceptive property of leaves extract of *Litsea glutinosa*. *Asian Journal. of Pharmaceutical and Clinical Research.*, 6(1), 182-184.

- Puri, M., Sharma, D., & Barrow, C. J. (2012). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in Biotechnology*, 30(1), 37-44.
- Ramana, K. V., & Raju, A. S. (2017). Traditional and commercial uses of *Litsea glutinosa* (Lour.) CB Robinson (Lauraceae). *Journal of Medicinal Plants Studies*, 5(3), 89-91.
- Ruiz-Terán, F., Perez-Amador, I., & López-Munguia, A. (2001). Enzymatic extraction and transformation of glucovanillin to vanillin from vanilla green pods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5207-5209.
- Salehan, N. A. M., Sulaiman, A. Z., & Ajit, A. (2016). Effect of temperature and sonication on the extraction of gallic acid from *Labisia Pumila* (Kacip Fatimah). *ARPJ Journal of Engineering and Applied Sciences*, 11(4), 2193-2198.
- Salomon, S., Sevilla, I., Betancourt, R., Romero, A., Nuevas-Paz, L., & Acosta-Esquivarosa, J. (2014). Extraction of mangiferin from *Mangifera indica* L. leaves using microwave-assisted technique. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 26(7), 616-622.
- Sampathu, S., Naidu, M., Sowbhagya, H., Naik, J., & Krishnamurthy, N. (2006). *A process for making chili oleoresin of improved quality*. U.S. Patent No. 7,097,867.
- Shao, H., Zhang, H., Tian, Y., Song, Z., Lai, P. F., & Ai, L. (2019). Composition and rheological properties of polysaccharide extracted from tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed. *Molecules*, 24(7), 1218.
- Shu, Y. Y., Ko, M. Y., & Chang, Y. S. (2003). Microwave-assisted extraction of ginsenosides from ginseng root. *Microchemical Journal*, 74(2), 131-139.
- Singh, P. K., Shrivastava, N., & Ojha, B. (2019). Enzymes in the meat industry. In *Enzymes in Food Biotechnology* (pp. 111-128). Elsevier.

- Sitthithaworn, W., Khongkaw, M., Wiranidchapong, C., & Koobkokkrud, T. (2018). Mucilage powder from *Litsea glutinosa* leaves stimulates the growth of cultured human hair follicles. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 40(5), 1076-1080.
- Son, L. C., Dai, D. N., Thang, T. D., Huyen, D. D., & Ogunwande, I. A. (2014). Analysis of the essential oils from five Vietnamese *Litsea* species (Lauraceae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(5), 960-971.
- Song, R., Wei, R., Zhang, B., Yang, Z., & Wang, D. (2011). Antioxidant and antiproliferative activities of heated sterilized pepsin hydrolysate derived from half-fin anchovy (*Setipinna taty*). *Marine Drugs*, 9(6), 1142-1156.
- Song, Y.-R., Han, A.-R., Park, S.-G., Cho, C.-W., Rhee, Y.-K., & Hong, H.-D. (2020). Effect of enzyme-assisted extraction on the physicochemical properties and bioactive potential of lotus leaf polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 153, 169-179.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.252>
- Soriano, M., Diaz, P., & Pastor, F. I. J. (2006). Pectate lyase C from *Bacillus subtilis*: a novel endo-cleaving enzyme with activity on highly methylated pectin. *Microbiology*, 152(3), 617-625.
- Tiensri, N. (2019). *Glucose palmitate and glucose palmate synthesis catalyzed by carica papaya latex lipase* (Doctoral dissertation), Mae Fah Luang University.
- The, D. P., Debeaufort, F., Voilley, A., & Luu, D. (2009). Biopolymer interactions affect the functional properties of edible films based on agar, cassava starch and arabinoxylan blends. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 548-558.
- Tran, T. H., Nguyen, H. H. H., Nguyen, D. C., Nguyen, T. Q., Tan, H., Nhan, L. T. H., . . . Nguyen, T. D. (2018). Optimization of microwave-assisted extraction of essential oil from vietnamese basil (*Ocimum basilicum* L.) using response surface methodology. *Processes*, 6(11), 206.

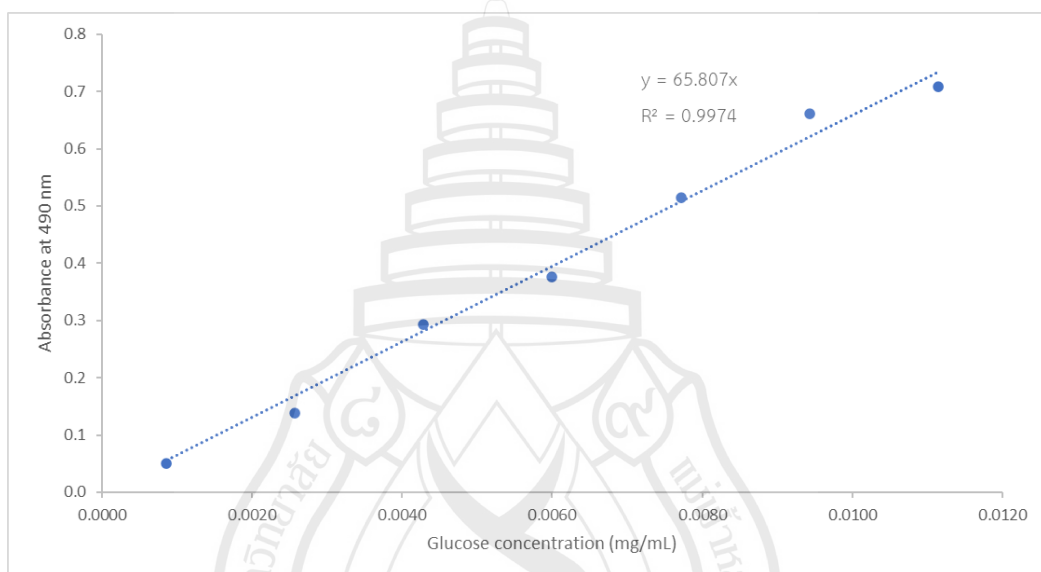
- Verma, H., Narnoliya, L. K., & Jadaun, J. S. (2018). Pectinase: A useful tool in fruit processing industries. *Nutr Food Sci Int J*, 5(5), 555673.
- Wan, Y.-J., Hong, T., Shi, H.-F., Yin, J.-Y., Koev, T., Nie, S.-P., . . . Xie, M.-Y. (2021). Probiotic fermentation modifies the structures of pectic polysaccharides from carrot pulp. *Carbohydrate Polymers*, 251, 117116.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117116>
- Wang, X., Chen, X., Xie, X., Cai, S., Yuan, Z., & Li, Y. (2019). Multi-Scale Evaluation of the Effect of Phenol Formaldehyde Resin Impregnation on the Dimensional Stability and Mechanical Properties of Pinus Massoniana Lamb. *Forests*, 10(8), 646.
- Wang, Y.-S., Liao, Z., Zhu, H.-K., Feng, X.-F., Kun Ming, J., Huang, R., . . . Yang, J.-H. (2012). Megastigmane O-glucopyranosides from *Litsea glutinosa*. *Chemistry of Natural Compounds*, 48(2), 346-349.  
<https://doi.org/10.1007/s10600-012-0247-8>
- Wang, Y.-X., Xin, Y., Yin, J.-Y., Huang, X.-J., Wang, J.-Q., Hu, J.-L., . . . Nie, S.-P. (2022). Revealing the architecture and solution properties of polysaccharide fractions from *Macrolepiota albuminosa* (Berk.) Pegler. *Food Chemistry*, 368, 130772.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130772>
- Wiercigroch, E., Szafraniec, E., Czamara, K., Pacia, M. Z., Majzner, K., Kochan, K., . . . Malek, K. (2017). Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: A review. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 185, 317-335.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.05.045>
- Windholz, M., Budavari, S., Blumetti, R. F., & Otterbein, E. S. (1983). In *The Merck Index, Merck & Co. Inc.* (p. 1051), Rahway, NJ.

- Wu, Y., Cui, S. W., Tang, J., & Gu, X. (2007). Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds by response surface methodology. *Food Chemistry*, *105*(4), 1599-1605.
- Xiaohong, Y., Fengxian, Z., Haihui, X., & Xiaoyi, W. (2000). A review of the studies on chemical constituents from *Litsea Lam*. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, *8*(2), 171-176.
- Yang, J. H., Li, L., Wang, Y. S., Zhao, J. F., Zhang, H. B., & Luo, S. D. (2005). Two new aporphine alkaloids from *Litsea glutinosa*. *Helvetica Chimica Acta*, *88*(9), 2523-2526.
- You, Q., Yin, X., & Zhao, Y. (2013). Enzyme assisted extraction of polysaccharides from the fruit of *Cornus officinalis*. *Carbohydrate Polymers*, *98*(1), 607-610.
- Zaharuddin, N. D., Noordin, M. I., & Kadivar, A. (2014). The Use of *Hibiscus esculentus* (Okra) Gum in Sustaining the Release of Propranolol Hydrochloride in a Solid Oral Dosage Form. *BioMed Research International*, *2014*, 735891. <https://doi.org/10.1155/2014/735891>
- Zhao, L., Zhao, G., Chen, F., Wang, Z., Wu, J., & Hu, X. (2006). Different effects of microwave and ultrasound on the stability of (all-E)-astaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(21), 8346-8351.
- Zhao, Y. M., Song, J. H., Wang, J., Yang, J. M., Wang, Z. B., & Liu, Y. H. (2016). Optimization of cellulase-assisted extraction process and antioxidant activities of polysaccharides from *Tricholoma mongolicum* Imai. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *96*(13), 4484-4491.
- Zhu, Y., Li, Q., Mao, G., Zou, Y., Feng, W., Zheng, D., . . . Wu, X. (2014). Optimization of enzyme-assisted extraction and characterization of polysaccharides from *Hericium erinaceus*. *Carbohydrate Polymers*, *101*, 606-613. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.099>



ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง  
และความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลูโคส

ภาพที่ ก1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตรของสารมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

## ภาคผนวก ข

**คะแนนคุณสมบัติการก่อเจลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์  
ด้วยวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ**

ตารางที่ ข1 คะแนนคุณสมบัติการก่อเจลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น ยูนิตเอนไซม์	คะแนนความหนืดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ				
		0.5%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสกัด ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส	ความเข้มข้น 20 U/g	0	0	+1	+1	+2
	ความเข้มข้น 40 U/g	0	0	+1	+1	+2
	ความเข้มข้น 60 U/g	0	0	+1	+1	+2
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสกัด ด้วยเอนไซม์เพกตินเนส	ความเข้มข้น 20 U/g	0	0	+1	+1	+2
	ความเข้มข้น 40 U/g	0	0	+1	+1	+1
	ความเข้มข้น 60 U/g	0	0	+1	+2	+2
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสกัด ด้วยเอนไซม์ปาเปน	ความเข้มข้น 20 U/g	0	0	0	+1	+1
	ความเข้มข้น 40 U/g	0	0	+1	+1	+1
	ความเข้มข้น 60 U/g	0	0	+1	+1	+1
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสกัด ด้วยเอนไซม์ผสม	ความเข้มข้น 20 U/g	0	+1	+1	+1	+2
	ความเข้มข้น 40 U/g	0	0	0	+1	+1
	ความเข้มข้น 60 U/g	0	0	0	+1	+1
แซนแทนกัม	-	+1	+2	+3	+4	+5
สารพอลิแซ็กคาไรด์จากสกัดด้วย วิธีต้ม	-	0	0	+1	+1	+2

**หมายเหตุ** คะแนน (0) แสดงถึง ความหนืดเทียบเท่ากับน้ำกลั่น, คะแนน (+) แสดงถึง ความหนืดต่ำ, คะแนน (++) แสดงถึง ความหนืดค่อนข้างต่ำ, คะแนน (+++) แสดงถึง ความหนืดปานกลาง, คะแนน (++++) แสดงถึง ความหนืดค่อนข้างสูง และคะแนน (+++++) แสดงถึง ความหนืดสูง



ประวัติผู้เขียน

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	ศิริภัทร์ พลอยทับทิม
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต เคมีสิ่งแวดล้อม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประวัติการทำงาน	นักวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ บริษัท ยูนิลีเวอร์ ไทย เทรดดิ้ง จำกัด กรุงเทพมหานคร

