การหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรการสกัดสารสำคัญด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคจากเห็ดหูหนูดำ

OPTIMIZATION OF PROCESSING VARIABLES ON ULTRASOUND EXTRACTION FROM AURICULARIA POLYTRICHA FOR ESSENTIAL SUBSTANCES

ปทุมภรณ์ มะโนวรรณ์
PATUMPORN MANOWAN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2560
KMITL-2017-EN-M-270-145

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรการสกัดสารสำคัญด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคจากเห็ดหูหนูดำ

OPTIMIZATION OF PROCESSING VARIABLES ON ULTRASOUND EXTRACTION FROM *AURICULARIA POLYTRICHA* FOR ESSENTIAL SUBSTANCES

T148805

ปทุมภรณ์ มะโนวรรณ์
PATUMPORN MANOWAN

หมวดหมู่......
เลขทะเบียน 148805
วัน.เดือน.ปี 23 พ.ย. 2560

b. 0026718
i. ......

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2560
KMITL-2017-EN-M-270-145

OPTIMIZATION OF PROCESSING VARIABLES ON ULTRASOUND EXTRACTION FROM *AURICULARIA POLYTRICHA* FOR ESSENTIAL SUBSTANCES

PATUMPORN MANOWAN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF ENGINEERING IN FOOD ENGINEERING
FACULTY OF ENGINEERING
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2017

KMITL-2017-EN-M-270-145

COPYRIGHT 2017
FACULTY OF ENGINEERING
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรการสกัดสารสำคัญด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคจากเห็ดหูหนูดำ

Thesis Title Optimization of Precessing Variables on Ultrasound Extraction from *Auricularia Polytricha* for Essential Substances

นักศึกษา นางสาวปทุมภรณ์ มะโนวรรณ์

รหัสประจำตัว 57601286

ปริญญา วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา วิศวกรรมอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.มาฤดี ผ่องพิพัฒน์พงศ์

หมายเลขวิทยานิพนธ์ KMITL-2017-EN-M-270-145

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ดร.ลัดดา	แสงเดือน วัฒนศิริธรรม	
ดร.เอกพงษ์	ชีวิตโสภณ	
รศ.ดร.ดวงกมล	ณ ระนอง	
ผศ.ดร.ธีรินทร์	ฉายศิริโชติ	
ผศ.ดร.มาฤดี	ผ่องพิพัฒน์พงศ์	

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ วันอังคารที่ 18 กรกฎาคม พ.ศ. 2560 เวลา 13.00-15.00 น.

สถานที่สอบ ณ อาคารเฉลิมพระเกียรติห้อง HM-304

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

คณะวิศวกรรมศาสตร์ รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร. คมสัน มาลีสี)

คณบดี คณะวิศวกรรมศาสตร์

วันที่ 18 กรกฎาคม พ.ศ. 2560

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรการสกัดสารสำคัญด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคจากเห็ดหูหนูดำ
นักศึกษา นางสาวปทุมภรณ์ มะโนวรรณ์
รหัสประจำตัว 57601286
ปริญญา วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา วิศวกรรมอาหาร
พ.ศ. 2560
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร. มาฤดี ผ่องพิพัฒน์พงศ์

บทคัดย่อ

เห็ดหูหนูดำมีส่วนประกอบของสารเบต้ากลูแคน ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการและยังมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย และการนำเห็ดมาแปรรูปด้วยการสกัดแยกสารสำคัญที่มีในเห็ดออกมาช่วยเพิ่มความสะดวกต่อการนำไปใช้บริโภคและยังเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับผลผลิตเห็ดหูหนูดำได้ งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำ โดยมีวัตถุประสงค์สำคัญ คือ 1) เพื่อศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารสำคัญจากเห็ดด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมหรือการสกัดด้วยน้ำร้อนกับวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคที่ความถี่ 45 kHz และ 2) เพื่อศึกษาผลกระทบของปัจจัยการสกัดและหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคของเห็ดหูหนูดำ สำหรับการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมกับการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคนั้น ทำการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และปรับค่าตัวแปรอัตราส่วนเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่ค่าต่างกันในช่วง 1:20 1:25 และ 1:30 w v^{-1} ส่วนการศึกษาผลกระทบของปัจจัยการสกัดและการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค ทำโดยวางแผนการทดลองแบบบ๊อกเบเคนซ์ (Box – Behnken design) กำหนดปัจจัยการสกัดที่ศึกษา ประกอบด้วยขนาดเห็ดหูหนูดำ (20, 40, 60 mesh) อุณหภูมิการสกัด (45, 60, 75 °C) และระยะเวลาการสกัด (3, 4.5, 6 h) รวมการทดลองทั้งสิ้น 15 การทดลอง สารสกัดที่ได้จากการทดลอง นำไปวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ สารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระ จากนั้นจึงนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดด้วยวิธีการวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนอง ผลการศึกษาพบว่า การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคให้ประสิทธิภาพการสกัดได้ดีกว่าการสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์มากกว่าถึง 1.5 เท่า และเมื่อใช้อัตราส่วนเห็ดหูหนูแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1:20 w v^{-1} และได้นำสมการของฟิกส์มาอธิบายการเปลี่ยนแปลงทางจลนศาสตร์ของปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้กับระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ในรูปแบบสมการเอกซ์โปแนนเชียล โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (k) ขึ้นกับอัตราส่วนเห็ดหูหนูดำแห้งกับน้ำ (w) ดังนี้ $k = -0.0002w^2 + 0.0086w -$

0.1150 ค่าสหสัมพันธ์ที่ได้อยู่ในเกณฑ์ดี มีค่า $R^2 = 0.9549$, SE. = 0.0006 และปัจจัยที่ศึกษา ขนาดของเห็ดหูหนูดำ อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้สกัดมีผลต่อปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ สารประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ความสามารถในการรีดิวซ์ ความสามารถในการดักจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคของเห็ดหูหนูดำ เพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดี ควรใช้เห็ดหูหนูดำที่มีขนาด 60 mesh อุณหภูมิการสกัด 67 - 70 °C และเวลาการสกัด 3.5 – 4 h โดยสภาวะดังกล่าวให้สารพอลิแซ็กคาร์ไรด์ที่มากกว่า 10 g $100g^{-1}$ สารประกอบฟีนอลิก 1.7 mgGAE g^{-1} มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 25 – 30 % ความสามารถในการรีดิวซ์ 5 – 5.5 µmoleTE g^{-1} และความสามารถในการจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ 10 - 12 µmoleEDTA g^{-1} การนำคลื่นอัลตร้าโซนิคเข้ามาช่วยในการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำมีประสิทธิภาพการสกัดที่ดีกว่าการสกัดแบบดั้งเดิม เนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้และยังคงสามารถรักษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้อีกด้วย

Thesis	Optimization of Processing Variables on Ultrasound Extraction from *Auricularia polytricha* for Essential Substances
Student	Miss Patumporn Manowan
Student ID.	57601286
Degree	Master of Engineering
Program	Food Engineering
Year	2017
Thesis Advisor	Asst.Prof.Dr.Maradee Phongpipatpong

Abstract

Black fungus mushroom (or *Auricularia polytricha*) contains beta-glucan which comprises a group of polysaccharides with having high nutritional value and pharmacological activities that can benefit to health. Extraction of essential substances from mushroom brings about convenience in consumption and also adding higher value to the product. Therefore the attempt was made to black fungus mushroom extraction process. The objectives of this study were 1) to conduct the extraction comparison between tradition extraction method (hot water extraction) and 45 kHz ultrasonic extraction of black fungus mushroom and 2) to study the effect of processing variables and to determine the optimum condition for ultrasonic extraction of black fungus mushroom. In comparison between the traditional extraction and the ultrasonic extraction, water was used as solvent and the experiments were carried out by varying the weight ratio of dried black fungus mushroom to water. In study of the effect of ultrasonic extraction variables, the experiments were conducted based on Box-Behken design. The extraction variables consisted of particle size (20, 40, 60 mesh), extraction temperature (45, 60, 75 °C), and extraction time (3, 4, 5 h). The total experiment trials were 15 runs. All black fungus extracts were analyzed for polysaccharide, total phenolic content and its antioxidant activities in order to determine the optimum ultrasonic extraction condition for black fungus mushroom. The results indicated that the amount of polysaccharide obtained by using ultrasound assisted extraction was 1.5 times higher than the traditional extraction method when using the ration of black fungus mushroom to water at 1:20 w v^{-1}. The ultrasonic extraction provided better efficiency in mushroom extraction. The exponential equation described diffusion kinetic was developed based on Fick's law. Diffusion coefficient of polysaccharide (k) can be expressed as $k = -0.0002w^2 + 0.0086w - 0.1150$, where "w" was the ratio of weight ratio of dried black fungus mushroom to water $R^2 = 0.9549$, SE. = 0.0006. The result showed that particle size of dried fungus mushroom, extraction temperature and extraction time had a effect on polysaccharide, total polyphenol, and antioxidant properties. The optimum conditions for *A. polytricha* ultrasonic extraction with the particle size of 60 mesh, extraction temperature of 67 – 70 °C and the extraction duration of 3.5 – 4 h provided the fungus extract containing 10 g $100g^{-1}$ dry weight polysaccharide, 1.7 mgGAE g^{-1} total phenolic content, FRAP 5 - 5.5 µmoleTE g^{-1}, MCA 10 - 12 µmoleEDTA g^{-1}, and DPPH 25 – 30 %. The use of ultrasound assisted extraction provided greater efficiency than the traditional extraction, since it offers higher polysaccharide and antioxidant activities of the extract from black fungus mushroom.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. มาฤดี ผ่องพิพัฒน์พงศ์ และ ดร.ลัดดา แสงเดือน วัฒนศิริธรรม ที่ให้ความรู้ คำปรึกษา ความช่วยเหลือ ตลอดจนการแก้ปัญหาตลอดการเรียนและการทำวิทยานิพนธ์แก่ข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ธีรินทร์ ฉายศิริโชติ และ ดร.เอกพงษ์ ชีวิตโสภณ กรรมการสอบหัวข้อและโครงร่างวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนข้อชี้แนะจนในที่สุดทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

ขอขอบพระคุณ คุณอนุสรณ์ วัฒนกุล เจ้าหน้าที่จากกรมวิชาการเกษตร ที่ให้ข้อมูลและความรู้เกี่ยวกับเชื้อเห็ดและสายพันธุ์เห็ดในการนำมาทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณอาจารย์และบุคลากรทุก ๆ ฝ่ายของคณะวิศวกรรมศาสตร์ สาขาวิศวกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยให้ความรู้รวมไปถึงการสนับสนุนอุปกรณ์ตลอดการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณนักวิจัยและน้อง ๆ นักศึกษาฝึกงานทุกคนจากสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่คอยช่วยเหลือและให้คำแนะนำตลอดการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณครอบครัวและเพื่อน ๆ ผู้เป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือ และบุคคลอีกมากที่ข้าพเจ้าไม่สามารถกล่าวนามได้หมดในที่นี้ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอบคุณทุกความกรุณาและความปรารถนาดีของทุกท่านเป็นอย่างยิ่งจึงขอขอบคุณไว้ ณ โอกาสนี้

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดาซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครู อาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ให้วิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

สุดท้ายนี้หากวิทยานิพนธ์เล่มนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าก็ขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย ซึ่งข้าพเจ้าพร้อมน้อมรับคำแนะนำ เพื่อนำมาใช้แก้ไขปรับปรุงในการพัฒนางานวิจัยต่อไปในอนาคต และข้าพเจ้าหวังว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้อาจจะมีประโยชน์ไม่มากก็น้อยต่อผู้ที่สนใจศึกษาต่อไป

ปทุมภรณ์ มะโนวรรณ์

สารบัญ

หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III
กิตติกรรมประกาศ.....V
สารบัญ.....VI
สารบัญตาราง.....X
สารบัญรูป.....XI
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....3
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....5
2.1 ข้อมูลทั่วไปของเห็ด.....5
    2.1.1 ข้อมูลพฤษศาสตร์ของเห็ด.....5
    2.1.2 การนำเห็ดไปใช้ประโยชน์.....6
    2.1.3 ข้อมูลทางสถิติเกี่ยวกับเห็ด.....6
    2.1.4 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์และคุณค่าทางโภชนาการของเห็ดหูหนูดำ.....7
2.2 สารสำคัญที่พบในเห็ดหูหนูดำ.....9
    2.2.1 สารพอลิแซ็กคาไรด์.....9
    2.2.2 สารประกอบฟนอลิก.....12
    2.2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ.....13
2.3 การสกัด.....19
    2.3.1 หลักการทั่วไปของการสกัด.....20
    2.3.2 ชนิดของระบบการสกัด.....21
    2.3.3 เทคนิคการสกัดสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช.....24
    2.3.4 กระบวนการสกัดและทำให้บริสุทธิ์ของสารพอลิแซ็กคาไรด์.....26
2.4 อัลตร้าโซนิคในงานแปรรูปอาหาร.....27

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.1 คลื่นอัลตร้าโซนิค.....27

2.4.2 ระบบอัลตร้าโซนิค.....28

2.4.3 ชนิดของเครื่องอัลตร้าโซนิค.....28

2.4.4 ปรากฏการณ์แคปวิเตชัน (Cavitation).....30

2.4.5 การประยุกต์ใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในกระบวนการแปรรูปอาหาร.....31

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....35

2.5.1 จลนพลศาสตร์ของการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค.....35

2.5.2 การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารต้านอนุมูลอิสระ.....35

2.5.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์.....35

บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง.....42

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี.....42

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ศึกษา.....42

3.1.2 สารเคมี.....42

3.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์.....43

3.2 การเตรียมวัตถุดิบ.....44

3.3 การสกัด.....44

ส่วนที่ 1

3.3.1 ขั้นตอนการสกัดเปรียบเทียบการสกัดแบบดั้งเดิมและด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค.....45

3.3.1.1 เปรียบเทียบวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมกับการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค.....45

3.3.1.2 แบบจำลองจลนพลศาสตร์ของการสกัด.....45

ส่วนที่ 2

3.3.2 ศึกษาผลกระทบตัวแปรและการหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค.....45

3.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติของวัตถุดิบและสารสกัด.....46

3.4.1 ความชื้น.....46

3.4.2 สารพอลิแซ็กคาไรด์.....46

3.4.3 สารประกอบฟีนอลิก.....46

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.4 ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryhydrazyl) (DPPH radical scavenging activity)....47
3.4.5 ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay....47
3.4.6 ทดสอบความสามารถในการจับโลหะคอปเปอร์ (Copper chelating activity)....47
3.4.7 ค่าสี....48
3.4.8 ค่าพีเอช....48
3.5 การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ผลทางสถิติ....48
3.5.1 เปรียบเทียบวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมกับการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค....48
3.5.2 แบบจำลองจลนพลศาสตร์ของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค....48
3.5.3 ผลกระทบตัวแปรการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำ....49
3.5.4 การหาสภาวะที่เหมาะสมของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค....49
3.5.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ....50

บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปราย....51
4.1 ผลการเปรียบเทียบวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมกับการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค....51
4.2 ผลของจลนพลศาตร์ของการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค....53
4.3 ผลกระทบตัวแปรการสกัดต่อคุณสมบัติต่างๆของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค....54
4.3.1 สารพอลิแซ็กคาไรด์....57
4.3.2 สารประกอบฟีนอลิก....59
4.3.3 ความสามารถการสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH....62
4.3.4 ความสามารถในการรีดิวซ์....64
4.3.5 ความสามารถในการจับคอปเปอร์....66
4.3.6 ค่าสีของสารสกัด....68
4.3.7 ค่า pH ของสารสกัด....70
4.4 การหาสภาวะที่เหมาะสมของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค....72

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ....74

สารบัญ (ต่อ)

หน้า
เอกสารอ้างอิง 76
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของสารสกัดและกราฟมาตราฐาน 81
ภาคผนวก ข ข้อมูลการทดลองการสกัดเปรียบเทียบการสกัดแบบดั้งเดิมและด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค.......91
ภาคผนวก ค ข้อมูลการวิเคราะห์ผลกระทบตัวแปรการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำ 93
ภาคผนวก ง รูปประกอบการทดลอง...102
ประวัติผู้เขียน...106

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ตารางคุณค่าโภชนาการของเห็ดหูหนูดำ 9

2.2 ชนิดเห็ดและคุณสมบัติทางชีวภาพของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดชนิดต่างๆ 11

2.3 ตารางเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของเห็ดชนิดต่างๆ 14

3.1 การออกแบบการทดลองแบบบ๊อกเบเคนซ์ (Box-Behnken Design) 49

4.1 แสดงผลการเปรียบเทียบปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่วิธีการสกัดที่ต่างกัน 52

4.2 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค 54

4.3 ผลการทดลองการสกัดเห็ดหูหนูดำที่สภาวะต่าง ๆ 56

4.4 เกณฑ์การกำหนดสภาวะที่เหมาะสมของสารสกัดเห็ดหูหนูดำ 73

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ หน้า

2.1 สถิติราคาจำหน่ายเห็ดในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2559 7
2.2 แสดงการสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์รัส 16
2.3 เครื่องสกัดน้ำมันจากเมล็ดแบบกะและเครื่องชะละลายน้ำตาลจากหัวบีท 23
2.4 เครื่องสกัดแบบ Rotocel 23
2.5 คลื่นความถี่ของอัลตร้าโซนิคในช่วงต่าง ๆ 28
2.6 เครื่องอัลตร้าโซนิคแบบอ่าง 30
2.7 ลักษณะคัพฮอร์น 30
2.8 ระบบอัลตร้าโซนิคแบบโพรบ 31
2.9 การเกิดฟองอากาศในตัวกลางเนื่องจากคลื่นอัลตร้าโซนิค 31
3.1 แผนผังขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง 44
3.2 แผนผังขั้นตอนการสกัด 45
4.1 กราฟเปรียบเทียบค่าปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำระหว่างการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดคลื่นอัลตร้าโซนิคที่เวลาต่างๆ 52
4.2 การเปลี่ยนแปลงของสารพอลิแซ็กคาไรด์ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำที่สภาวะต่างๆ 58
4.3 การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำ 61
4.4 การเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถในต้านอนุมูลอิสระ DPPH 63
4.5 การเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถในการรีดิวซ์ 65
4.6 การเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถการจับโลหะคอปเปอร์ 67
4.7 การเปลี่ยนแปลงของค่าสีของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำ 69
4.8 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำ 71
4.9 กราฟความสัมพันธ์คุณสมบัติต่างๆ ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำ 75

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

เห็ดเป็นพืชที่มีประโยชน์และมีคุณค่าทางโภชนาการและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาสูง จึงได้รับความนิยมในประเทศแถบเอเชียในการนำมาบริโภคและนำมาใช้ในงานทางด้านเภสัชกรรม [1] นอกจากนั้นเห็ดยังเป็นแหล่งรวมของสารพรีไบโอติก ซึ่งประกอบด้วยสารพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น ไคติน เฮมิเซลลูโลส แอลฟาและเบต้ากลูแคน รวมทั้งสารในกลุ่มเปปไทด์หรือสารประกอบโปรตีน ทั้งนี้เห็ดแต่ละชนิดมีความแตกต่างของชนิดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ต่างกัน บางชนิดสามารถละลายได้ในน้ำและบางชนิดไม่ละลายน้ำ สารพอลิแซ็กคาไรด์ส่วนมากเป็นสายโมเลกุลของกลูโคส แต่บางชนิดมีส่วนกาแลคโทสและแมนโนสรวมอยู่ด้วย [2] สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีอยู่ในเห็ดมีลักษณะเป็นไบโอพอลิเมอร์ที่มีสรรพคุณ ช่วยต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งและสร้างภูมิคุ้มกันในร่างกาย จึงทำให้เป็นที่นิยมในการนำมาบริโภคเป็นอาหารเพื่อสุขภาพและผลิตจำหน่ายเชิงการค้า [3]

จากข้อมูลสถิติเห็ดในประเทศไทยปี พ.ศ. 2559 พบว่าเห็ดที่มีการนำมาบริโภคและจำหน่ายมากที่สุด 5 ชนิด ได้แก่ เห็ดนางฟ้า เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดเข็มทอง เห็ดฟางและเห็ดหูหนูดำ ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบราคาการจำหน่ายพบว่า เห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนูดำเป็นเห็ดที่มีราคาการจัดจำหน่ายที่ต่ำที่สุด โดยมีราคาจำหน่ายเฉลี่ยอยู่ที่ราคาประมาณ 41- 42 บาทต่อกิโลกรัม [4] ถึงแม้ว่าเห็ดหูหนูดำมีราคาจำหน่ายที่ต่ำเมื่อเทียบกับเห็ดชนิดอื่น แต่เห็ดหูหนูดำมีคุณค่าทางโภชนาการที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน แร่ธาตุและวิตามินสูง อีกทั้งมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่ดี คือ ช่วยลดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง สร้างระบบภูมิคุ้มกัน สารยับยั้งการเจริญของเนื้องอก ฤทธิ์เป็นยาแก้อักเสบ ป้องกันโรคที่เกิดจากกัมมันตภาพรังสี ส่วนเห็ดนางฟ้าไม่ปรากฏคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่โดดเด่นมากนัก [2] นอกจากนั้นเห็ดหูหนูดำยังมีสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีประโยชน์ในการยับยั้งภาวะที่ไม่สมดุลของอนุมูลอิสระในร่างกาย (Oxidative damage) ภาวะที่ไม่สมดุลของอนุมูลอิสระนี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ของสารชีวโมกุลขนาดใหญ่ เช่น โปรตีน ไขมันและกรดนิวคลีอิค ส่งผลต่อการเสื่อมสภาพของเซลล์และเนื้อเยื่อก่อให้เกิดโรคต่างๆขึ้นได้ ปัจจุบันผู้บริโภคที่รักสุขภาพนิยมเลือกบริโภคอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อช่วยป้องกันการเกิดโรคต่างๆ ที่เกิดจากภาวะของเซลล์ในร่างกายถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล [5] โดยปกติสารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในพืชและได้จากสารเคมีสังเคราะห์ แต่การบริโภคสารสังเคราะห์นั้นอาจสร้างปัญหาต่อสุขภาพหากมีการใช้เกินกำหนดจากปริมาณสูงสุดของการนำมาใช้ เนื่องจากเป็นสารพิษและสามารถทำลายดีเอนเอในร่างกาย [6]

เห็ดหูหนูดำเป็นเห็ดที่สามารถให้ผลผลิตได้ตลอดทั้งปีเป็นสารธรรมชาติ มีราคาต่ำเมื่อเทียบกับเห็ดชนิดอื่น มีอายุการเก็บรักษาสั้น ยิ่งกว่านั้นเห็ดหูหนูดำยังไม่ค่อยนิยมนำมาแปรรูปมากนัก เนื่องจากสี กลิ่นและเนื้อสัมผัสของเห็ดหูหนูดำไม่ค่อยเป็นที่นิยมในกลุ่มผู้บริโภค แต่อย่างไรก็ตามเห็ดหูหนูดำมีคุณค่าทางโภชนการและคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่สูง และหากพิจารณาทิศทางของอุตสาหกรรมอาหารพบว่ามีความต้องการสินค้านวัตกรรมที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพหรือสินค้าที่มีมูลค่าเพิ่ม สินค้าเหล่านั้นได้แก่สินค้าในกลุ่มอาหารและเครื่องดื่ม สมุนไพร อาหารอินทรีย์ อาหารเพื่อสุขภาพ อาหารฮาลาล อาหารฟังก์ชั่น อาหารท้องถิ่นที่มีเอกลักษณ์ เป็นต้น ซึ่งอาหารเหล่านี้ยังคงมีศักยภาพและต้องมีการพัฒนาให้เพิ่มสูงขึ้น [7] ดังนั้นการนำเห็ดหูหนูดำมาแปรรูปด้วยการสกัด ช่วยให้สามารถได้สารสำคัญ เช่น สารพอลิแซ็กคาไรด์และสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในเห็ดหูหนูดำเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้สะดวกขึ้น อีกทั้งยังเป็นผลิตภัณฑ์สารสกัดชนิดใหม่ สามารถสร้างมูลค่าให้กับภาคอุตสาหกรรมเกษตรและอุตสาหกรรมอาหาร

โดยทั่วไปในการสกัดสารสำคัญจากวัตถุดิบธรรมชาติมีหลายวิธี เช่น การสกัดด้วยน้ำร้อนซึ่งเป็นการสกัดแบบดั้งเดิม การสกัดแบบไหลวน การหมัก การแช่ เป็นต้น วิธีเหล่านี้ต้องใช้เวลาในการสกัดนาน ต้องอาศัยตัวทำละลายในปริมาณมากและมีต้นทุนสูง มีรายงานการนำเทคโนโลยีเข้ามาช่วยในการสกัด เช่น การนำคลื่นอัลตร้าโซนิคหรือคลื่นไมโครเวฟ การใช้ความดันสูงเข้ามาช่วยในการสกัด มีข้อได้เปรียบกว่าวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมหลายประการ โดยเฉพาะในด้านระยะเวลาสกัดที่สั้นลงและใช้ตัวทำละลายในปริมาณที่น้อยกว่าในขณะที่ได้ปริมาณสารสกัดที่เพิ่มขึ้น [8] การนำคลื่นอัลตร้าโซนิคมาช่วยในการสกัด เป็นการนำเทคโนโลยีคลื่นเสียงที่มีความถี่ในช่วง 20 - 100 kHz เข้ามาช่วยทำให้ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปในวัตถุดิบที่นำมาสกัดได้ดียิ่งขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพการถ่ายเทมวลสารเพิ่มสูงขึ้น ปัจจุบันมีการนำคลื่นอัลตร้าโซนิคมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพิ่มมากขึ้น เช่น ใช้เร่งการปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชัน ปฏิกิริยาการบ่มของผลิตภัณฑ์หมัก กระบวนการสเตอริไลซ์ การสกัด การตกผลึก เป็นต้น [9] มีรายงานข้อได้เปรียบของการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคเนื่องจากสามารถลดระยะการสกัดและให้สารสกัดในมีปริมาณสูง อีกทั้งยังคงรักษาคุณสมบัติของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากการสกัดแยกออกจากสารชีวโมเลกุลได้มากกว่าการสกัดแบบดั้งเดิมเนื่องจากมีการใช้อุณหภูมิการสกัดที่ต่ำกว่า [10] การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดแต่ละชนิด จำเป็นต้องทำการศึกษาวิธีการสกัดที่เหมาะสมให้เหมาะสมตามลักษณะของโครงสร้างผนังเซลล์ของเห็ดแต่ละชนิด และความสามารถในการละลายน้ำของสารพอลิแซ็กคาไรด์ [2] ยิ่งกว่านั้นยังมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อการสกัดอีกหลายประการ เช่น ขนาดของวัตถุดิบ ปริมาณความชื้นของวัตถุดิบ อุณหภูมิการสกัด และชนิดของตัวทำละลาย เป็นต้น [11] ดังนั้นหากนำคลื่นอัลตร้าโซนิคมาประยุกต์ใช้ในการสกัดสารสำคัญจากธรรมชาติให้เกิดประโยชน์จำเป็นต้องมีความรู้ความเข้าใจถึงผลกระทบของปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อการนำไปใช้ประโยชน์ โดยเฉพาะเมื่อนำมาใช้กับ

เห็ดเพื่อให้คงไว้ซึ่งคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา ที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสารและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ [8]

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำแบบดั้งเดิมกับการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค
2. เพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์ของการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหูหนูดำ
3. เพื่อศึกษาผลกระทบตัวแปรการสกัดและเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดจากเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1. เห็ดหูหนูดำที่ศึกษาใช้สายพันธุ์ *Auricularia Polytricha*
2. วิธีการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำแบบดั้งเดิม เป็นการสกัดโดยใช้น้ำเป็นสารตัวทำละลาย
3. วิธีการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค เป็นการสกัดโดยใช้น้ำเป็นสารตัวทำละลายร่วมกับการใช้ความถี่คลื่นอัลตร้าโซนิค 45 kHz
4. ปัจจัยการสกัดที่ศึกษา ประกอบด้วย อัตราส่วนน้ำต่อเห็ดหูหนูดำแห้ง อุณหภูมิการสกัด เวลาการสกัด และขนาดเห็ดหูหนูดำแห้ง
5. คุณสมบัติและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากเห็ดหูหนูดำที่ศึกษา ประกอบด้วย ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ สารประกอบฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-Diphenynyl-1-picryhydrazyl) ความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) และความสามารถในการจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ (Copper chelating activities)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. วิธีการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

2. ตัวแปรการสกัดต่อคุณสมบัติของสารที่สกัดได้จากเห็ดหูหนูดำและสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค
3. ได้รูปแบบของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำที่มีคุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่สะดวกต่อการนำไปใช้
4. สร้างมูลค่าเพิ่มให้กับเห็ดหูหนูดำและเป็นทางเลือกใหม่ให้ในการแปรรูปและเก็บรักษาเห็ดหูหนูดำ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปของเห็ด

2.1.1 ข้อมูลพฤกษศาสตร์ของเห็ด

เห็ดคือ เห็ดราที่ถูกจัดรวมอยู่ในกลุ่มเชื้อรา เห็ดมีความแตกต่างไปจากพืชทั่วไปคือ ไม่มีคลอโรฟิลล์ ทำให้ไม่สามารถสร้างอาหารได้เองด้วยวิธีสังเคราะห์แสง ต้องอาศัยอินทรีย์สารจากสิ่งมีชีวิตและสิ่งไม่มีชีวิต โดยดูดซึมสารอาหารผ่านเส้นใย เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ซึ่งวงจรชีวิตของเห็ดประกอบด้วย ระยะสร้างเส้นใยและระยะสร้างดอก ซึ่งเริ่มจากสปอร์เจริญเป็นเส้นใยและเจริญเติบโตไปเป็นดอกเห็ดในเวลาต่อมาในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม เห็ดที่นิยมนำมาบริโภคได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดหูหนูดำ เห็นนางรม เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดนางฟ้า เห็ดโคนหลวง เห็ดแครง และเห็ดเข็มทอง เป็นต้น [12]

เห็ดมีสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามินในปริมาณที่แตกต่าง ทั้งนี้เห็ดหูหนูดำบางชนิดมีปริมาณสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายสูงสุดและจากการวิจัยของหน่วยงานวิจัยอุตสาหกรรมการเพาะเห็ดแห่งสหรัฐอเมริกา (America Mushroom Industry Research) พบว่าเห็ดที่นิยมบริโภคโดยทั่วไปประกอบด้วยวิตามินหลายชนิด เช่น ไทอามีน ไรโบฟลาวิน ไนอาซีน และวิตามินซี ส่วนวิตามินบี 12 พบได้เฉพาะในเห็ดเป๋าฮื้อเท่านั้น ส่วนแร่ธาตุต่าง ๆ ที่พบในเห็ดทั่วไปได้แก่ ธาตุเหล็ก ฟอสฟอรัส และแคลเซียม เห็ดเป็นพืชที่มีสารโปรตีนสูง และโปรตีนจากเห็ดไม่มีสารคอเลสเตอรอลที่เป็นอันตรายต่อระบบไหลเวียนของโลหิต มีปริมาณโซเดียมค่อนข้างต่ำ จึงเป็นอาหารที่เหมาะสำหรับผู้ป่วยเป็นโรคตับ โรคไต โรคหัวใจ และโรคความดันโลหิตสูง นอกจากนี้เห็ดได้รับความนิยมในการนำมาแปรรูปเป็นอาหารในหมู่นักปฏิบัติมังสวิรัติ (Vegetarian) ผู้ที่ต้องการลดความอ้วน ผู้ป่วยหลังพักฟื้นและผู้ต้องการบำรุงร่างกาย เป็นต้น [12]

การจำแนกเห็ดตามประเภทของสารอาหารที่เห็ดใช้ในการเจริญเติบโต แบ่งเป็น 3 กลุ่ม

1. เห็ดที่ขึ้นอยู่บนเศษซากพืช (Saprophytic Mushrooms) ได้แก่ เห็ดที่ขึ้นอยู่บนซากใบ กิ่งไม้ ขอนไม้ผุ และบนมูลสัตว์ ซากแมลง
2. เห็ดที่ขึ้นอยู่บนลำต้น กิ่ง และก้านของพืชที่มีชีวิตหรือเห็ดปรสิต (Parasitic Mushrooms) ได้แก่ เห็ดทำให้พืชเกิดโรคที่เรียกว่า เห็ดโรคพืช (PathogeniC Mushrooms) โดยเส้นใยของเห็ดจะย่อยสลายเซลล์และเนื้อเยื่อของพืชที่มันขึ้นอยู่แล้วจึงดูดสารอาหาร ทำให้เซลล์ของพืชที่ถูกเบียดเบียนตาย

3. เห็ดที่อยู่แบบพึ่งพาอาศัยกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นหรือเห็ดซิมไบโอซิส (SymbiotiC Mushrooms) เป็นเห็ดที่ขึ้นโดยตรงจากดิน โผล่ขึ้นมาเหนือดิน ดังนั้นเห็ดโคนจึงขึ้นอยู่เหนือดินใกล้ ๆ กับรังปลวกหรือจอมปลวกเสมอ [12]

2.1.2 การนำเห็ดไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ [12]

2.1.2.1 บริโภคเป็นอาหาร เช่น เห็ดฝรั่งหรือเห็ดแชมปิญอง นิยมบริโภคกันในแถบยุโรปและเห็ดหอมเป็นเห็ดที่ชาวจีนนิยมบริโภคกันมากที่สุด ส่วนคนไทยนิยมบริโภคเห็ดโคนหรือเห็ดฟาง เห็ดหลาย ๆ ชนิดมีรสชาติที่ดีและมีคุณค่าทางอาหารสูง ทำให้มีผู้นิยมบริโภคกันมากขึ้น ตามลำดับ และทำให้เกือบทั่วโลกให้ความสนใจและร่วมมือกันในการวิจัย ค้นคว้า ทดลอง คัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์เห็ด รวมถึงพัฒนาเทคนิควิธีการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์เห็ด เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตให้เพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภค ประเทศไต้หวัน ญี่ปุ่น อินเดีย เกาหลีใต้ และไทย เป็นประเทศที่มีการผลิตเห็ดเป็นจำนวนมากและส่งไปจำหน่ายยังตลาดโลก ตามลำดับ

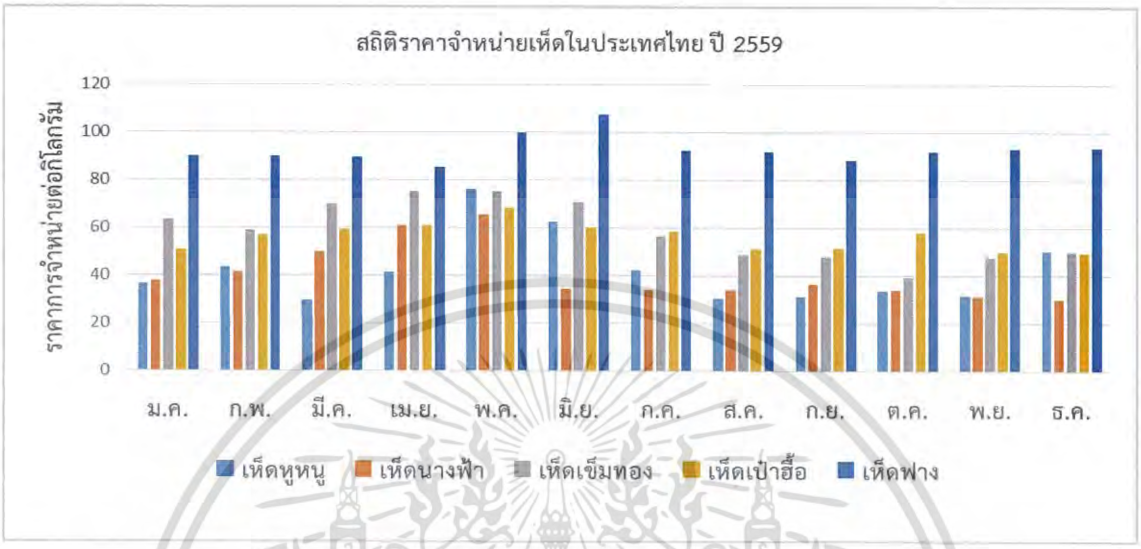
2.1.2.2 อาหารเสริมและอาหารสุขภาพเช่น เห็ดเข็มเงิน เห็ดเข็มทอง เห็ดหลินจือ เห็ดหัวลิง เห็ดหูหนูดำ เห็ดสกุลนางรมและสกุลอื่น ๆ มีการนำเห็ดมาแปรรูปในลักษณะของเห็ดบรรจุกระป๋อง บรรจุขวด เป็นผลผลิตทางเภสัชกรรม มีเห็ดหลายชนิดที่สามารถป้องกันและรักษาโรคบางอย่างได้ เช่น เห็ดหลินจือ เห็ดแม่ไก่ป่า เห็ดหอม สามารถนำไปใช้เป็นยาธรรมชาติในการป้องกันและบำบัดการสะสมไขมันในหลอดเลือด โรคความดันโลหิต และโรคมะเร็งได้อย่างปลอดภัย อีกทั้งยังมีสารเรทีน ซึ่งมีคุณสมบัติต่อต้านและชะลอการเติบโตของเนื้องอกในร่างกายได้

2.1.2.3 การใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ เช่น การผลิตเครื่องสำอาง โครงการพัฒนาเวชสำอางจากเห็ดสมุนไพรของฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีได้นำเห็ด เพื่อบริโภคมากกว่า 10 ชนิดมาทำการทดสอบ พบว่า “เห็ดแครง” หรือที่ท้องถิ่นเรียกว่า “เห็ดตีนตุ๊กแก” หลังผ่านกระบวนการสกัดจะได้สาร “ฟลาโวนอยด์” ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการออกซิเดชันสูงที่สุด การใช้ผลิตเอนไซม์เช่น เซลลูโลไลติกเอนไซม์ เซลลูเลส ไซแลนเนส ไคติเนส เพอรอกซิเดส และเอนไซม์ ไทโรซิเนส ชนิดเห็ดที่นิยมใช้ได้แก่ เห็ดสกุลนางรม สารควบคุมทางชีวภาพ ยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิดเช่น เห็ดที่ใช้ควบคุมรา สาเหตุโรคพืช เป็นต้น

2.1.3 สถิติการจำหน่ายเห็ดในประเทศไทย

จากข้อมูลสถิติการจัดจำหน่ายเห็ดในตลาดสี่มุมเมืองในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2559 [7] พบว่าเห็ดที่นิยมนำมาบริโภคและจำหน่ายในท้องตลาดมี 5 ชนิดคือ เห็ดหูหนูดำ เห็ดนางฟ้า เห็ดเข็มทอง เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดฟาง ซึ่งเห็ดแต่ละชนิดมีราคาการจัดจำหน่ายที่ต่างกัน เห็ดที่มีราคาการจัดจำหน่ายสูงสุดคือเห็ดฟาง เห็ดเข็มทอง เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดหูหนูและเห็ดนางฟ้า ตามลำดับ ราคาการจัดจำหน่ายเฉลี่ยตลอดทั้ง

ปีอยู่ที่ 93 บาทต่อกิโลกรัม 59 บาทต่อกิโลกรัม 56 บาทต่อกิโลกรัม 42 บาทต่อกิโลกรัมและ 41 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งแต่ละเดือนมีราคาการจัดจำหน่ายของเห็ดที่ต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 สถิติราคาจำหน่ายเห็ดในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2559 [4]

จากสถิติการจัดจำหน่ายเห็ดในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2559 พบว่า เห็ดที่มีราคาจัดจำหน่ายที่ต่ำที่สุดคือ เห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนูดำ ในราคา 41 และ 42 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังนั้นในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้เลือกใช้เห็ดหูหนูดำ เนื่องจากเป็นเห็ดที่มีราคาการจัดจำหน่ายที่ถูก และไม่ค่อยได้รับนิยมในการนำมาแปรรูปและใช้ประโยชน์มากนักเนื่องจาก สีและกลิ่นไม่ค่อยเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากนัก แต่เห็ดหูหนูดำมีคุณค่าทางโภชนาการสูงประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน แร่ธาตุและวิตามิน และในเห็ดหูหนูดำเมื่อนำมาสกัดพบว่า มีสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ช่วยลดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง สร้างระบบภูมิคุ้มกัน มีสารยับยั้งการเจริญของเนื้องอก มีฤทธิ์เป็นยาแก้อักเสบ [2] และสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำยังมีสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีประโยชน์ในการยับยั้งภาวะที่ไม่สมดุลของอนุมูลอิสระในร่างกาย (Oxidative damage) ซึ่งภาวะที่ไม่สมดุลของอนุมูลอิสระเกิดจากการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ของสารชีวโมกุลขนาดใหญ่ เช่น โปรตีน ไขมันและกรดนิวคลีอิค ส่งผลต่อการเสื่อมสภาพของเซลล์และเนื้อเยื่อก่อให้เกิดโรคต่างๆ [5]

2.1.4 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์และคุณค่าทางโภชนาการของเห็ดหูหนูดำ

Auricularia เรียกว่า เห็ดหูหนู เป็นเห็ดที่นำมานิยมรับประทานในประเทศไทย อีกทั้งเห็ดหูหนูติด 4 อันดับของเห็ดที่นิยมปลูกมากที่สุด นอกเหนือจากเห็ดกระดุมสีน้ำตาล เห็ดหอมและเห็ดนางฟ้า เนื่องจากเป็นเห็ดมีคุณค่าทางโภชนาการ มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและนิยมนำมาประกอบอาหาร และเริ่มมี

การนำไปใช้ประโยชน์เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ นอกจากนี้ดอกเห็ดของเห็ดหูหนูดำมีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและสารต้านอนุมูลอิสระอยู่เป็นจำนวนมาก และจาก ITS (Internal Transcribed Spacer) ซึ่งเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอเครื่องหมายสากลที่ใช้ในการระบุและการยืนยันกลุ่มเชื้อรา ได้จำแนกสายพันธุ์เห็ดหูหนู 3 ชนิดคือ *A. auricula-judae*, *A. polytriCha* และ *A. fuscosuccinea* [13]

จากข้อมูลกรมวิชาการเกษตรประเทศไทยปี พ.ศ. 2559 [14] พบว่าเห็ดหูหนูที่มีจำหน่ายในประเทศไทยส่วนมากเป็นเห็ดสายพันธุ์ *A. polytricha* และมีสายพันธุ์ *A. fuscosuccinea* อยู่บ้างเล็กน้อย โดยกรมวิชาการเกษตรแห่งประเทศมีสายพันธุ์เชื้อเห็ดหูหนู

2.1.4.1 ชนิดของเห็ดหูหนูในประเทศไทย

1. เห็ดหูหนู *Auricularia polytricha* สามารถแบ่งย่อยออกได้ 4 ชนิดย่อยดังนี้

- เชื้อเห็ดเบอร์ 1 ลักษณะพฤกษศาสตร์ เป็นดอกสีน้ำตาลเข้มหรือน้ำตาลแดง ดอกหนานุ่มขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 -10 cm ลักษณะขนยาว เจริญเร็วและผลผลิตสูง

- เชื้อเห็ดเบอร์ 3 ลักษณะพฤกษศาสตร์ เป็นเส้นใยสีขาวและมีสีน้ำตาลชมพูอ่อนเมื่อมีอายุมากกว่า 1 เดือน ลักษณะดอกเห็ดที่ได้เป็นกลุ่มขนาดดอกใหญ่เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 - 12.5 cm แผ่นดอกบาง มีสีน้ำตาลชมพูอ่อน ขนสั้น สามารถเพาะได้ตลอดปี ให้ผลผลิตสูงในฤดูฝนและช่วงอากาศเย็น

- เชื้อเห็ดเบอร์ 4 ลักษณะพฤกษศาสตร์ เป็นเส้นใยสีขาวเจริญเร็ว ลักษณะดอกเห็ดดอกเป็นกลุ่ม ขนาดของดอกมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 - 10 cm เนื้อหนา สีดอกม่วง - น้ำตาล น้ำตาลเข้ม และน้ำตาลดำขึ้นกับสิ่งแวดล้อม มีขนยาว สามารถเพาะปลูกได้ตลอดทั้งปีให้ผลผลิตสูงที่อุณหภูมิ 28 - 32 ℃

- เชื้อเห็ดเบอร์ 5 ลักษณะพฤกษศาสตร์ เป็นเส้นใยสีขาวและบางส่วนมีสีน้ำตาลดำเข้มเมื่อมีอายุมากกว่า 1 เดือน ดอกเป็นกลุ่มสีดำขนาดค่อนข้างเล็ก เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 - 6.5 cm ดอกไม่หนา มีขนสั้น สามารถเพาะปลูกได้ตลอดปี ให้ผลผลิตสูงในฤดูฝนและช่วงอากาศเย็น

2. เห็ดหูหนูสายพันธุ์ *Auricularia fuscosuccinea*

- เชื้อเห็ดเบอร์ 2 ลักษณะพฤกษศาสตร์ เป็นดอกสีน้ำตาล ดอกหนานุ่มขนยาว เส้นใยเจริญเร็วให้ผลผลิตสูง

2.1.4.2 ข้อมูลทางโภชนาการของเห็ดหูหนูดำ

เห็ดหูหนูดำมีคุณค่าทางโภชนาการสูงประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโน ไขมัน เส้นใย แร่ธาตุ วิตามิน รวมถึงโมโนแซ็กคาไรด์หลายชนิด เช่น ไซโลส แมนโนส กาแลคโทส กลูโคส กลูโคซามีน กรดยูโรนิค ที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ [15] ดังแสดงในตารางที่ 2.1

นอกจากเห็ดหูหนูดำจะประกอบด้วยคุณค่าทางโภชนาการที่สูงแล้ว ในเห็ดหูหนูดำยังประกอบด้วยสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารพอลิแซ็กคาไรด์และสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย

ตารางที่ 2.1 ตารางคุณค่าโภชนาการของเห็ดหูหนูดำ [15]

	Auricularia auricula (g dw)	*Auricularia polytricha* (g dw)
ความชื้น	71 ± 1.0	70 ± 1.0
โปรตีน	93 ± 4.0	51 ± 2.0
ไขมัน	16 ± 1.0	13 ± 1.0
เถ้า	92 ± 5.0	60 ± 4.0
คาร์โบไฮเดรต	79.9 ± 6.0	87.6 ± 5.0
แรมโนส	0.9 ± 0.1	-
ไซโลส	7.6 ± 0.4	11.1 ± 0.5
แมนโนส	29.9 ± 1.5	14.2 ± 0.7
กาแลคโทส	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0
กลูโคส	43.1 ± 1.8	63.3 ± 2.5
กลูโคซามีน	2.6 ± 0.3	2.5 ± 0.2
กรดยูโรนิค	14.6 ± 1.3	0.7 ± 0.0

2.2 สารสำคัญที่พบในเห็ดหูหนูดำ

เห็ดเป็นแหล่งรวมพรีไบโอติก ซึ่งประกอบด้วยสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่แตกต่างกัน เช่น ไคติน เฮมิเซลลูโลส แอลฟาและเบต้ากลูแคน และกลุ่มเปปไทด์หรือสารประกอบโปรตีน ซึ่งสารพรีไบโอติกเหล่านี้สามารถสร้างภูมิคุ้มกันและต้านเซลล์มะเร็ง [2]

2.2.1 สารพอลิแซ็กคาไรด์ [16]

สารพอลิแซ็กคาไรด์เป็นอนุพันธ์ของคาร์โบไฮเดรตที่นำมาใช้ประโยชน์ในการเภสัชกรรม ซึ่งคาร์โบไฮเดรตเป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน โดยไฮโดรเจนและออกซิเจนมักจะพบในสัดส่วน 2:1 เป็นกลุ่มสารที่พบในพืชและสัตว์ คาร์โบไฮเดรตในพืชสร้างจากการสังเคราะห์แสงและเก็บสะสมไว้ ซึ่งจะถูกนำมาใช้เป็นอาหารของคนและสัตว์ ชนิดของคาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์ของคาร์โบไฮเดรตอื่นที่นำมาใช้ประโยชน์ในการเภสัชกรรม เช่น

1. แป้งมีการนำมาใช้เป็นสารช่วยเพิ่มปริมาณและสารช่วยการแตกตัวเม็ดยา (Disintegrating agent)

2. กัมอะคาเซียและกัมทรากาคานธ์ เป็นสารที่ต้นไม้สร้างขึ้นเมื่อได้รับอันตรายหรือเป็นแผลจากต้นอะคาเซีย (*Acacia senegal wild.*) และต้นแอสตรากาลูส (*Astragalus spp.*) อะคาเซียใช้เป็นสารช่วยแขวนตะกอน สารช่วยยึดเกาะในเม็ดยา ทำให้ชุ่มคอ

3. น้ำผึ้ง ประกอบด้วยกลูโคสและฟรุกโทสเป็นส่วนใหญ่ ใช้เป็นส่วนประกอบในยาแก้ไอ ใช้เตรียมน้ำเชื่อมและมีฤทธิ์เป็นยาระบายอ่อนๆ

4. วุ้น เป็นสารจำพวกคอลลอยด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายแดง ประกอบด้วยอะกาโรส ซึ่งเป็นส่วนทำให้วุ้นแข็งตัวและอะกาโรเพกทิน ซึ่งเป็นส่วนที่เกี่ยวกับความหนืดของวุ้น ใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัวของผลิตภัณฑ์ สารช่วยในการเตรียมอิมัลชันและใช้เป็นยาระบาย

5. น้ำตาลทราย พบมากในบีทรูทและอ้อย ใช้เป็นสารแต่งความหวานและใช้เตรียมน้ำเชื่อม

6. เซลลูโลสและอนุพันธ์เซลลูโลส จัดเป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์พืช ในทางเภสัชกรรมใช้อนุพันธ์ของเซลลูโลส ได้แก่ เมทิลเซลลูโลส (Methyl cellulose) และคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Carboxymethyl cellulose) เป็นยาระบายชนิดหนึ่งชวยเพิ่มกากและใช้เป็นสารช่วยแขวนตะกอน เป็นต้น [16]

นอกจากนี้เห็ดแต่ละชนิดมีความแตกต่างของชนิดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีทั้งแบบละลายได้ในน้ำและไม่ละลายน้ำ โดยสารพอลิแซ็กคาไรด์ส่วนมากเป็นสายโมเลกุลกลูโคสแต่บางชนิดมีส่วนประกอบของกาแลคโทสและแมนโนส ซึ่งสารพอลิแซ็กคาไรด์เหล่านี้มีประโยชน์ ช่วยต้านเซลล์ที่ก่อให้เกิดเซลล์มะเร็ง เชื้อเอดส์ เป็นต้น สารพอลิแซ็กคาไรด์แต่ละชนิดมีคุณสมบัติทางชีวภาพที่ต่างกัน และยังมีงานวิจัยที่ทำการทดลองหาสารต้านเซลล์มะเร็งจากการแยกสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ด 22 ชนิด และการนำไปทดสอบกับสัตว์จำพวกหนู พบว่าสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้กว่า 50 เซลล์รวมไปถึงเซลล์ *Sarcoma* S –180, *Adenocarcinoma* 755 และ *Leukemia* L-1210 โดยสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สามารถยับยั้งมะเร็งตามธรรมชาติมีค่าความเป็นกรดและเป็นกลาง ทั้งนี้สายพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดต่างชนิดกันมีไกลโคซิดิกที่ต่างชนิดกันและบางส่วนมีสายเชื่อมต่อกับโปรตีนและเปปไทด์ เช่น โปรตีนพอลิแซ็กคาไรด์หรือสายเปปไทด์ ซึ่งสายแต่ละชนิดมีคุณสมบัติที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ต่างกันตามชนิดของเห็ดที่สกัดโดยรายละเอียดต่างๆ แสดงในตารางที่ 2.2 ซึ่งในเห็ดหูหนูดำมีสารพอลิแซ็กคาไรด์อยู่ที่ดอกเห็ด (Fruiting body) มีลักษณะเป็นสายกลูแคนที่มีคุณสมบัติลดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง สร้างระบบภูมิคุ้มกัน สารยับยั้งการเจริญของเนื้องอก ฤทธิ์เป็นยาแก้อักเสบ และป้องกันโรคกัมมันตภาพรังสี [2]

สารพอลิแซ็กคาไรด์มีคุณสมบัติตามโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 2.2 โครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ ประกอบด้วยเป็นมอโนแซ็กคาไรด์หลายชนิด เช่น กลูโคส กาแลคโทส แมนโนส ไซโลส อะราบิโนส ฟรุกโทส ไรโบส และกรดกลูคูโรนิค ส่วนสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่พันกันอยู่กับโปรตีนหรือเปปไทด์เป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ประเภทโปรตีนพอลิแซ็กคาไรด์หรือเปปไทด์ (Peptide complex)

บางชนิดเป็นสายกลูแคนเป็นโมเลกุลเชิงเส้นหรือแผ่กิ่งมีแกนกลางที่ ประกอบด้วยสายแอลฟาหรือเบต้าที่เชื่อมต่อกับสายกลูโคสในตำแหน่งต่าง ๆ บางชนิดเป็นสายเฮทเทอโรกลูแคน ประกอบด้วยกรดกลูคูโรนิค ไซโลส กาแลคโทส แมนโนส อาบิโนสหรือไรโบส และอีกกลุ่มใหญ่ของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพเรียกว่า เฮทเทอไกลแคนได้แก่ กาแลคแทน ฟรุกแทน ไซแลนและแมนแนน โดยมีสารประกอบของน้ำตาลเป็นแกนกลางของเฮทเทอโรไกลแคน ประกอบด้วยอะราบิโนส แมนโนส ฟรุกโทส กาแลคโทส ไซโลส กรดกลูคูโรนิก เป็นองค์ประกอบหลักของสาย โครงสร้างที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติของไกลแคน มีความหลากหลายของโครงสร้างที่ซับซ้อนและคล้ายกันของสายพอลิแซ็กคาไรด์ แต่มีความแตกต่างของกรดอะมิโนที่มากกว่า จึงยากที่จะกำหนดโปรโตคอลสากลสำหรับการวิเคราะห์และแยกสร้างเป็นกลุ่ม ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ที่ใช้ในการกำหนดโครงสร้างหลักของพอลิแซ็กคาไรด์ คือกำหนดโดยองค์ประกอบของโมโนแซ็กคาไรด์ การกำหนดค่าของสายไกลโคซิดิก ตำแหน่งของสายไกลโคซิดิก ลำดับของโมโนแซ็กคาไรด์ รวมถึงลักษณะจำนวนและตำแหน่งที่ตั้งของกลุ่มที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต [2]

ตารางที่ 2.2 ชนิดเห็ดและคุณสมบัติทางชีวภาพของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดชนิดต่างๆ [2]

ชนิดเห็ด	ส่วนที่พบ	โครงสร้าง	ฤทธิ์ทางชีวภาพ
เห็ดหูหนูดำ (*Auricularia auricular*)	Fruiting body	Glucan	1. ลดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง 2. สร้างระบบภูมิคุ้มกัน 3. สารยับยั้งการเจริญของเนื้องอก 4. ฤทธิ์เป็นยาแก้อักเสบ 5. ป้องกันโรคกัมมันตภาพรังสี
เห็ดหอม (*Lentinus edodes*)	Culture broth Fruiting body	Mannoglucan Polysaccharide Protein complex Glucan Lentinan	1. สร้างระบบภูมิคุ้มกัน 2. สารยับยั้งการเจริญของเนื้องอก 3. ต้านไวรัส
เห็ดนางรมทอง (*Pleurotus citrinopileatus*)	Fruiting body	Galactomannan	1. สารยับยั้งการเจริญของเนื้องอก
เห็ดหูหนูขาว (*Trametes robiniophila*)	MyCelium	Proteoglycan	1. สร้างระบบภูมิคุ้มกัน 2. ป้องกันความเป็นพิษต่อตับ 3. ต้านการเกิดโรคมะเร็ง
เห็ดเป๋าฮื้อ (*Pleurotus ostreatus*)	Fruiting body	Glycoprotein	1. สารยับยั้งการเจริญของเนื้องอก 2. ลดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง 3. สารต้านอนุมูลอิสระ
เห็ดแครง (*Schizophyllum commune*)	MyCelium	Glucan Schizophyllan	1. สารยับยั้งการเจริญของเนื้องอก
เห็ดหอม (*Lentinus edodes*)	Culture broth Fruiting body	Mannoglucan Polysaccharide Protein complex Glucan Lentinan	1. สร้างระบบภูมิคุ้มกัน 2. สารยับยั้งการเจริญของเนื้องอก 3. ต้านไวรัส
เห็ดหลินจือแดง (*Ganoderma applanatum*)	Fruiting body	Glucan	1. สารยับยั้งการเจริญของเนื้องอก

2.2.2 สารประกอบฟีนอลิก [17]

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีคุณสมบัติเป็นสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) ซึ่งเชื่อมต่ออยู่กับหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ หรือมากกว่า 1 หมู่ที่เข้ามาแทนที่ โดยอาจมีรูปแบบเป็นโมเลกุลฟีนอลิกอย่างง่าย (Simple phenolic molecules) จนถึงสารประกอบโพลิเมอร์ที่มีขนาดใหญ่ (Highly polymerized Compounds) สารประกอบในกลุ่มนี้มักจะเรียกว่า โพลีฟีนอล สารประกอบฟีนอลิกอย่างง่ายที่สุด คือ ฟีนอล ประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่

สารประกอบฟีนอลิกเป็นตัวแทนของสารในธรรมชาติที่นับว่ามีปริมาณมากชนิดหนึ่งและมีความสำคัญต่อสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยว เนื่องจากทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับสีและกลิ่นรส สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติส่วนมากจะเชื่อมต่ออยู่กับสารประกอบจำพวกน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ (Monosaccharide) และไดแซคคาไรด์ (Disaccharide) โดยกลุ่มที่ใหญ่สุดที่พบคือ สารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชสามารถจำแนกชนิดของตามโครงสร้างพื้นฐานได้ 4 กลุ่มใหญ่ คือ

1. อนุพันธ์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxylated derivatives) ของกรดเบนโซอิค และกรดซินนามิค ได้แก่ สารประกอบที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นพวกกรดฟีนอลิก (Phenolic acids) โดยอนุพันธ์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลของกรดเบนโซอิคจะพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ มีโครงสร้างเป็นสารประกอบอะโรมะติกที่มีลูกโซ่ด้านข้าง (Side Chain) เป็นคาร์บอน 1 อะตอม (C_6 - C_1) เช่น พาราไฮดรอกซีเบนโซอิค (p - hydroxybenzoic) วานิลลิค (Vanillic) แกลลิค (Gallic) ไซรินจิค (Syringic) ออโท-ไฮดรอกซีซาลิซิลิค (o-hydroxy salicylic) และกรดเจนทิซิค (Gentisic acid) ส่วนอนุพันธ์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลของกรดชินนามิค มีโครงสร้างเป็นสารประกอบอะโรมาติกที่มีลูกโซ่ด้านข้างเป็นคาร์บอน 3 อะตอม (C_6 - C_3) เช่น กรดพาราคิวมาริค (p-Coumaric acid) กรดคาเฟอิค (Caffeic acid) กรดเฟอรูลิค (Ferulic acid) และกรดซินนาพิค (Sinapic acid)

2. คิวมาริน (Coumarins) เป็นพวกที่มีโครงสร้างเป็น C_6 - C_3 เหมือนกรดชินนามิค แต่ C_3 จะเกิดเป็นออกซิเจน เฮทเทอโรไซเคิล (Oxygen heterocycle) คิวมารินจะพบอยู่ค่อนข้างน้อยในส่วนของเมล็ด และโดยมากจะพบอยู่ในรูปของกลูโคซายด์ (Glucoside)

3. ฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอลิกหลักที่พบในพืช มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ในโครงสร้างประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม จัดเรียงตัวแบบ C_6 - C_3 - C_6 ในโครงสร้างมีส่วนประกอบที่สำคัญคือวงแหวนอะโรมาติก 2 วงต่ออยู่กับคาร์บอนอีก 3 ตัวซึ่งปกติแล้วมักจะอยู่ในรูปของวงแหวนเฮทเทอโรไซคลิก (Heterocyclic ring) สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามความแตกต่างของ C_3 ทำให้ได้เป็นสาร

กลุ่มฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ เช่น ฟลาโวน (flavone) ฟลาโวนอล (flavonol) และแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) เป็นต้น

4. โพลีฟีนอลิกแทนนิน (Polyphenolic tannin) และลิกนิน (Lignin) สารประกอบฟีนอลที่มีโมเลกุลใหญ่ (Polymeric phenol) สามารถจำแนก ได้เป็น 3 กลุ่มย่อยตามผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังจากให้ความร้อนด้วยกรด หรือด่าง คือ แทนนิน คอนเดนแทนนิน ลิกนิน

นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งชนิดของสารประกอบฟีนอลิกตามจำนวนวงแหวนฟีนอลได้ 3 ชนิด ได้แก่ โมโนไซคลิกฟีนอล (Monocyclic phenols) มีวงแหวนฟีนอลอยู่ 1 วง ที่พบทั่วไปในพืชได้แก่ ฟีนอล แคทเทคอล (Catechol) ไฮโดรควิโนน (Hydroquinone) และ กรดพาราไฮดรอกซีซินนามิค (p-Hydroxycinnamic acid) ไดไซคลิกฟีนอล (Dicyclic phenols) มีวงแหวนฟีนอลอยู่ 2 วง ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และลิกแนน (Lignans) และโพลีไซคลิกฟีนอล (Polycyclic phenols) หรือโพลีฟีนอล ได้แก่ ลิกนิน เมลานิน (melanin) ฟลาโวแลน (flavolan) [17]

2.2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ [18]

สารต้านอนุมูลอิสระมีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ สารต้านอนุมูลแต่ละชนิดจะมีกลไลการทำงานที่ต่างกัน เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (Singlet oxygenquenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (Chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (Synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระเป็นต้น ตัวอย่างแสดงการดักจับอนุมูลอิสระดังสมการ 1 และ 2 [18]

$$R^{\bullet} + AH \leftrightarrow RH + A^{\bullet} \quad (1)$$

$$RO^{\bullet} + AH \leftrightarrow ROH + A^{\bullet} \quad (2)$$

โดย $R^{\bullet}$ และ $RO^{\bullet}$ คือ อนุมูลอิสระ และ AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในปัจจุบันมี 2 ชนิด ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากการกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี โดยเป็นสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ Propylgallate, 2-Butylated hydroxyanisole, 3 -Butylatehydroxyanisole, Butylated hydroxytoluene (BHT) และ Tertiary butylhydroquinone สารสังเคราะห์ดังกล่าวนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนแปลงไปสารสังเคราะห์นี้มีสภาพคงตัวกว่า

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค ขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งในเห็ดแต่ละชนิดมีสารต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ตารางเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของเห็ดชนิดต่างๆ [19]

ชื่อวิทยาศาสตร์	TPC	TFC	DPPH	FRAP	ABTS	MCA
Agaricus subrufescens	7.0±0.6	0.4±0.0	16.2±0.5	1.4± 0.0	26.8± 2.6	15.2± 0.8
Agrocybe aegirit	4.2± 0.1	0.8±0.0	11.4±0.0	1.1 ± 0.0	19.8± 1.9	18.0± 0.8
Armillaria mellea	1.9± 0.1	0.3±0.0	7.8±0.1	0.6± 0.0	13.7± 0.3	21.5± 1.0
Auricularia auricula	0.8± 0.0	0.2±0.0	5.0±0.4	0.4 ± 0.1	5.0± 0.2	1.9± 0.0
Boletus aereus	7.6± 0.4	1.2±0.0	18.5±0.7	4.0± 0.0	18.2± 0.5	21.2± 1.2
Boletus aereus	11.9±0.2	2.1±0.0	17.5±0.8	6.3± 0.0	28.2± 2.3	15.6± 0.0
Boletus luridus	10.6±0.7	2.1±0.1	16.5±1.3	6.8± 0.0	47.9± 4.5	11.6± 0.9
Boletus pinophilus	8.4±0.1	1.7±0.1	17.7±0.4	4.0± 0.0	54.8± 1.7	15.7± 0.7
Cantharellus cibarius	3.2± 0.2	0.3±0.0	10.9±0.8	0.3± 0.0	16.3± 1.1	24.3± 1.8
Chroogomphis rutillus	8.3±0.5	5.9±0.0	12.9±0.4	2.4± 0.0	84.9± 2.5	10.4± 0.3
Collybia albuosa	7.2±0.5	0.3±0.0	8.0±0.5	1.5± 0.1	51.8± 1.1	13.4± 0.7
Copyinds comatus	5.4±0.3	0.3±0.0	8.0±0.0	1.8 ± 0.0	31.4± 2.4	12.5± 0.8
Cordyceps militaris	7.8±0.4	0.6±0.0	6.9±0.4	1.4± 0.1	30.0± 2.9	29.4± 1.8
Ganoderma lucidum	1.9±0.1	0.5±0.0	8.1±0.7	1.0 ±0.0	15.6± 1.0	3.0± 0.2
Grifiola frondosa	3.9±0.0	0.3±0.0	7.8±0.3	1.6±0.0	24.5± 2.1	41.5± 2.8
Morehella esculenta	5.7±0.1	0.7±0.0	14.9± 0.3	1.6± 0.1	23.3± 1.9	31.4± 1.5

TPC = Total Phenolic Content หน่วย mgGAE g^{-1} TFC = Total Flovanol Content หน่วย mgGAE g^{-1}
DPPH = DPPH scavenging activity หน่วย µmoleTE g^{-1} FRAP = Ferric reducing activity power หน่วย µmoleFe^{2+} 100g^{-1}
ABTS = ABTS radical cation decolorization assay หน่วย µmoleTEg^{-1} MCA = Metal Chelating Activity หน่วย µmoleEDTA g^{-1}

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเป็นได้ทั้งเอนไซม์ วิตามินและสารอื่น ๆ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไซโตพลาซึม) วิตามินอี (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เมมเบรน) และกลูต้าไทโอน (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระที่ไซโตพลาซึมและเมมเบรน) ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ได้แก่ กลูต้าไทโอนเปอร์ร็อกซิเดรส (GPX), กลูตาไทโอนรีดักเทรสและกลูต้าไทโอนทรานเฟอเรส ทำหน้าที่ทำให้โมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นออกซิเจนและน้ำ ส่วนเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมูเทส (Superoxide dismutase

หรือ SOD) สามารถเปลี่ยน $O_2^{\bullet}$- เป็น H_2O_2 นอกจากนี้ยังมีสารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ ได้แก่ คาโรทีนอยด์และยูบิควินอล (Ubiquinone) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถป้องกันอนุมูลอิสระออกซิเจนทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ ในภาวะปกติร่างกายของคนเราจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระ โดยการสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณสารอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และอีกส่วนได้จากสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายรับประทานเข้าไปจำพวกวิตามิน เบต้าแคโรทีน และแคโรทีนอยด์ รวมทั้งสารประกอบพอลีฟีนอล ซึ่งสารดังกล่าวได้จากพืชผักและผลไม้ ตัวอย่างอาหารที่มีเบต้าแคโรทีนสูง ได้แก่ ผักใบเขียว เช่น ตำลึง และผักบุ้ง อาหารที่มีสีเหลือง เช่น แครอท มะละกอสุก มะม่วงสุกมะเขือเทศ ฟักทอง อาหารที่มีวิตามินซีสูง ได้แก่ พืช ผักสีเขียว และผลไม้รสเปรี้ยว เช่น ตำลึง ผักบุ้ง พริกหยวก ฝรั่ง มะขามป้อม ส้ม มะนาว สับปะรด (วิตามินซีจากพืชผักดังกล่าวมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่แรงมากและละลายน้ำได้ดี) วิตามินอีหรือโทโรฟีคอล ละลายได้ดีในน้ำมัน โดยวิตามินอีมีในน้ำมันจากเมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ เช่น รำละเอียดในพวกธัญพืชที่ไม่ขัดขาว ข้าวโพด ข้าวกล้อง ถั่วแดง ถั่วเหลือง [18]

2.2.3.1 ดัชนีชี้วัดความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน [20]

จากการที่ร่างกายและเซลล์อนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้หลายชนิด จึงมีระบบควบคุมป้องกันไม่ให้มีอนุมูลอิสระเกินสมดุลทำให้เกิดอันตราย ระบบควบคุมป้องกันประกอบด้วย สารขจัดอนุมูลอิสระ หรือต้านออกซิเดชัน ซึ่งมีทั้งโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น อัลบูมิน เฟอร์ริติน และโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น วิตามินซี และยูริก เป็นต้น และ เอนไซม์ขจัดอนุมูลอิสระหลายชนิดด้วยกัน การใช้ดัชนีจากการหาปริมาณสารต้านออกซิเดชันเดี่ยว ๆ หรือการวัดปริมาณการเกิดชีวโมเลกุลที่ถูกอนุมูลอิสระทำให้เสียหายเป็นดัชนีวัดภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุลว่ามีระดับมากน้อยเพียงใดนั้น อาจไม่เป็นค่าที่สะท้อนถึงภาพรวมของภาวะออกซิเดชันของร่างกายหรือสารตัวอย่าง ดังนั้นจึงมีการหาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน ซึ่งเป็นการรวมองค์ประกอบทั้งหมดของภาวะรีด๊อกซ์ และใช้เป็นดัชนีชี้วัดภาวะออกซิเดชันของร่างกายโดยตรวจวัดเดือด พลาสมาและของเหลวที่ได้จากร่างกาย ในการวิเคราะห์มีหลักการที่สำคัญสองวิธีการคือ การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน เช่น วิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) และวิธี Total reactive antioxidant potential (TRAP) และการวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเลคตรอนเดี่ยว ได้แก่ วิธี The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) และวิธี Trolox equivalent antioxidant capacity assay (TEAC) เป็นต้น

วิธีวิเคราะห์หาค่า Total Antioxidant Capacity (TAC) โดยอ้อม วิธีวิเคราะห์เป็นการหาความสามารถในการยับยั้งหรือขจัดอนุมูลอิสระที่ทำให้เกิดขึ้น ถือเป็นการวิเคราะห์โดยอ้อม ได้แก่ วิธี TRAP ORAC และ TEAC เริ่มด้วยการทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น และนำเลือดหรือพลาสมาเติมลงไปหลังจากนั้นจึงวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

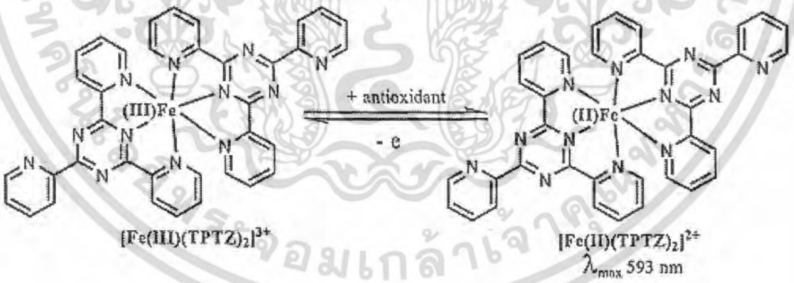
ตารางที่ 2.4 วิธีวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน [20]

การวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน	วิธีวิเคราะห์
Oxygen radical absorbance Capacity assay (ORAC)	วิธีโดยอ้อม HAT
Photochemiluminescence assay (PCL)	วิธีโดยอ้อม HAT
TEAC I ($ABTS^{\bullet+}$ I metmyoglobin)	วิธีโดยอ้อม SET
TEAC II ($ABTS^{\bullet+}$ with manganese dioxide $Mn0_2$)	วิธีโดยอ้อม SET
TEAC III ($ABTS^{\bullet+}$ with potassium persulfate KO_8S_2)	วิธีโดยอ้อม SET
2,2 - Diphenyl-1-picrylhydrazyly (DPPH) assay	วิธีโดยอ้อม SET
Total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP)	วิธีโดยอ้อม HAT
The ferric reducing ability of plasma assay (FRAP)	วิธีโดยตรง SET

TEAC= Trolox equivalent antioxidant Capacity assay, ABTS= 2,2 (-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid radical,

HAT = hydrogen atom transfer, SET = single electron transfer

วิธี FRAP วิธีนี้เป็นวิธีวิเคราะห์หาค่า TAC โดยตรง มีหลักการว่าสารต้านออกซิเดชันในร่างกาย ทำหน้าที่โดยการให้อิเลคตรอนจึงจัดเป็นสารรีดิวซ์ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า TAC เป็นความสามารถในการรีดิวซ์ วิธีนี้ใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+}-TPTZ (ferric tripyridyl triazine) เป็นการทดสอบ อะตอมเหล็กในสารนี้จะถูกรีดิวซ์โดยเลือดหรือสารต้านออกซิเดชัน ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์รัส Fe^{2+}-TPTZ ซึ่งมีสีน้ำเงินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm



รูปที่ 2.2 แสดงการสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์รัส [20]

วิธี FRAP จะวัดความต่างศักย์ของการรีด๊อกซ์ที่มีค่าต่ำกว่า 0.7 โวลท์ ซึ่งเป็นค่าความต่างศักย์ของสมการรีดอกซ์ของ Fe^{3+}-TPTZ ดังนั้นวิธี FRAP สามารถใช้วัดภาวะรีดอกซ์ของเซลล์และเนื้อเยื่อ แต่วิธี FRAP ไม่สามารถวัดสารต้านออกซิเดชันที่ขจัดอนุมูลอิสระโดยการให้อะตอมไฮโดรเจน (HAT) เช่น หมู่ไทออลในโปรตีน ดังนั้นเมื่อวิเคราะห์เลือดหรือพลาสมา วิธี FRAP จะให้ค่าต่ำกว่าความเป็นจริง

เนื่องจากความแตกต่างศักย์รีดอกซ์ของ Fe(III)-TPTZ มีค่าใกล้เคียงกับค่าของ $ABTS^{\bullet+}$ ซึ่งใช้ในวิธีวิเคราะห์ TEAC ดังนั้นสารต้านออกซิเดชันจำพวกเดียวกันมีโครงสร้างที่คล้ายกันจะทำปฏิกิริยาได้ทั้ง

ในวิธีวิเคราะห์ FRAP และวิธี TEAC แม้ว่าทั้งสองวิธีจะมีความแตกต่างกันในเรื่องค่าพีเอช โดยวิธี TEAC จะวิเราะห์โดยทำปฏิกิริยาในสภาวะเป็นกลาง ส่วนวิธี FRAP จะทำในสภาวะกรดมีค่าพีเอช เท่ากับ 3.6 เพื่อให้เหล็กละลายได้ เนื่องจากปฏิกิริยาที่เกิดค่าพีเอชต่ำหรือเป็นกรดจะลดค่าความต่างศักย์ในการแตกตัวเป็นอิออน ทำให้เร่งการส่งผ่านอิเลคตรอนและเพิ่มค่าความต่างศักย์รีดอกซ์ ดังนั้นถึงแม้ว่าค่าที่ได้จากทั้งสองวิธี TRAP และ TEAC จะให้ค่าที่ไปในทิศทางเดียวกัน แต่ค่าจากวิธี TRAP จะต่ำกว่าวีธี TEAC เสมอ และค่าจากวิธี FRAP ส่วนใหญ่จะไม่สัมพันธ์กับค่าที่หาโดยวิธีอื่น ๆ

ถึงแม้ว่าความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กจะมีความสัมพันธ์กับการขจัดอนุมูลโดยการให้อะตอมไฮโดนเจนไม่มาก แต่การที่อนุมูลออกซิไดซ์หรือถูกริดิวซ์ให้เป็นอิออนเป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ ดังนั้นการวัดความสามารถในการีดิวซ์โดยวิธี FRAP จึงแสดงถึงภาวะรีดอกซ์ของพลาสมา เนื่องจาก วิธี FRAP จะเป็นการวิเคราะห์โดยใช้เฉพาะหลักการ SET เท่านั้น ดังนั้นการนำผลการวิเคราะห์โดยวิธีอื่น ๆ มาประกอบขะให้การประเมินผลมีความถูกต้องดีขึ้น

ทั้งวิธี TEAC และ FRAP เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการีดิวซ์ซึ่งเกิดอย่างรวดเร็วภายใน 4 - 6 min แต่ในการวิเคราะห์สารต้านออกซิเดชันจากพืชจำพวกโพลีฟีนอล จะพบว่าค่าดูดกลืนแสงที่ 595 nm จะเพิ่มขึ้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ ดังนั้นการวัดครั้งเดียวตามเวลาที่กำหนด อาจไม่ใช่ค่าที่เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ และวิธี FRAP มีข้อดีคือเป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาน้อย ไม่แพง และไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ แต่มีข้อเสียคือกลไกของปฏิกิริยาที่ใช้ในการวิเคราะห์ไม่เกี่ยวข้องกับกลไกในร่างกาย

วิธี TEAC วิธี TEAC และวิธีวิเคราะห์อื่น ๆ โดยใช้ ABTS เป็นวิธีขจัด $ABTS^{\bullet+}$ เปรียบเทียบกับสารละลายโทล๊อกซ์ แม้ว่าวิธี TEAC จะใช้ปฏิกิริยาที่จัดอยู่ในประเภท SET สามารถปฏิกิริยาได้ทั้ง 2 แบบ โดยการเกิดรีดักชันโดยตรงด้วยกลไก SET และโดยการขจัดอนุมูลด้วยกลไก HAT วิธี TEAC เป็นการวัดความสามารถในการขจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ที่มีความคงตัว วิธีนี้ ABTS จะถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลเปอร์ออกซี เกิดเป็นอนุมูลที่มีประจุบวก $ABTS^{\bullet+}$ และมีสี ดังนั้นเมื่อเติมเลือด พลาสมา หรือสารต้านอนุมูลลงไปจะทำให้มีสีลดลง ผลการวิเคราะห์จะคำนวณเป็นค่าที่สัมพันธ์กับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานโทรล๊อกซ์ จึงมีชื่อว่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity วิธี TEAC มีการพัฒนาตามลำดับ ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอีที่ละลายน้ำ โดยวิธี TEAC แรกเริ่มใช้เมทไมโอโกลบินกับไฮโดรเจอเปอร์ออกไซด์ทำปฏิกิริยากัน เกิดเป็นอนุมูล Ferrylmyogolobin ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ ABTS ให้เป็นอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ที่มีสีมีค่า λ_{max} หลายค่า โดยค่า λ_{max} ที่ 415 nm และ 734 nm เป็นค่าความยาวคลื่นที่นิยมใช้ในการวัดการดูดกลืนแสงของ $ABTS^{\bullet+}$ โดยในการวิเคราะห์จะวัดค่าดูดกลืนแสงของ $ABTS^{\bullet+}$ ที่ลดลง จากค่าควบคุมที่ไม่ได้เติมสารทดสอบหรือเลือด

นำค่าที่ลดลงมาทำการเปรียบเทียบกับค่าที่ใส่สารมาตรฐานโทรล๊อกซ์ ในระยะแรกของการวิเคราะห์จะใส่สารทดสอบหรือพลาสมาและอื่น ๆ รวมกัน ก่อนและจึงทำให้เกิดอนุมูลโดยการเติม

148805

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นขั้นสุดท้าย ซึ่งทำให้ได้ค่าสูงกว่าความเป็นจริง หลังจากนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีโดยเปลี่ยนลำดับการเติมสารทดสอบโดยผสมสารหรือเลือดที่ต้องการวิเคราะห์ท้ายที่สุดภายหลังจากการที่ทำให้เกิดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ การพัฒนาวิธีต่อมาทำโดยใช้สารอื่นในการทำให้เกิดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ได้แก่แมงกานีสไดออกไซด์หรือโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟต ซึ่งทำให้สามารถวิเคราะห์สารต้านอนุมูลที่ละลายดีในลิปิด นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาวิธีการทำให้เกิด $ABTS^{\bullet+}$ โดยใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจาก Horseradish ซึ่งมีข้อดีคือใช้เวลาน้อยกว่าและเป็นปฏิกิริยาที่ไม่ต้องใช้สภาวะรุนแรง เช่น อุณหภูมิสูง หรือใช้สารเคมีต่าง ๆ นอกจากนี้การใช้เอนไซม์ทำให้สามารถศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลได้ในค่าพีเอชในช่วงกว้าง แต่ต้องคำนึงไว้ว่าในภาวะกรดจะเพิ่มการเกิด ET

ข้อดีของวิธี TEAC คือทำได้ง่าย อนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านอนุมูลภายในเวลา 30 min ปกติจะใช้เวลาประมาณ 5 min การวิเคราะห์ทำได้ในช่วงพีเองที่กว้างให้สามารถศึกษากลไกได้โดยละเอียด อนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ละลายได้ทั้งในน้ำและสารทำละลายอินทรีย์ ใช้วิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นสารที่ละลายน้ำ หรือสารที่ละลายในลิปิด ส่วนข้อเสียของวิธี TEAC คือ ABTS ไม่เป็นสารตามธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอนุมูลในเซลล์หรือร่างกายเช่นเดียวกับ Fe (III) –TPTZ

วิธี DPPH อนุมูล $DPPH^{\bullet}$ เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ การวัดทำโดยใช้เครื่องมือ EPR หรือใช้เครื่องสเปคโตรวัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารอนุมูลลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm

ข้อดีของวิธีนี้มีข้อดีคือง่าย ใช้เครื่องมือสามัญที่มีทั่วไป นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านอนุมูลตามธรรมชาติ ยกเว้นสารกลุ่มแคโรตินอยด์ที่มีการดูดกลืนแสงในกลุ่มเดียวกัน ข้อด้อยของวิธีนี้คือ อนุมูล $DPPH^{\bullet}$ มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะและจัดอันดับอนุมูลที่ความไวสูงได้ นอกจากนี้โครงสร้างทางเคมีของ $DPPH^{\bullet}$ ที่แสดงจะเห็นว่าอิเลคตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3 วง และหมู่ไนโตรเจน ทำให้สารต้านอนุมูลที่มีฤทธิ์แรงแต่มีขนาดใหญ่บางสารไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลหรือเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าความเป็นจริง ทั้ง ๆ ที่สารต้านอนุมูลนั้นมีฤทธิ์ดีในการขจัดอนุมูลเปอร์ออกซีนอกจากนี้สารรีดิวซ์สามารถทำให้สี $DPPH^{\bullet}$ จางลงได้อีกด้วย

2.2.3.2 การพิจารณาเลือกดัชนีและวิธีวิเคราะห์

การพิจารณาเลือกดัชนีบ่งชี้ภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล โดยอนุมูลอิสระ และวิธีวิเคราะห์ควรมีเกณฑ์ในการพิจารณาเรียงลำดับความสำคัญดังนี้ คือ ความเฉพาะเจาะจง ความคงตัว ความถูกต้องแม่นยำ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีกับอาการหรือโรค ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีกับระดับความ

รุนแรงของอาการหรือโรค นอกจากนี้ควรคำนึงถึงความยากง่ายในการวิเคราะห์เครื่องมือที่ใช้ กลไกของปฏิกิริยาและจุดจุติ รวมทั้งการที่สามารถวิเคราะห์ได้ ทั้งสารต้านอนุมูลที่ละลายน้ำและละลายในลิปิดอีกด้วย การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดั้งเดิมจะใช้หลักการ HAT เนื่องจากอนุมูลเปอร์ออกซีเป็นอนุมูลที่ก่อให้เกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน แต่ควรมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ใช้อนุมูลชนิดอื่น เช่น อนุมูลไฮดร็อกซี อนุมูลซุปเปอร์ออกซีไนเตรท ซึ่งเป็นอนุมูลสำคัญที่ทำลายชีวโมเลกุลในเซลล์ นอกจากนี้สารต้านอนุมูลจะมีความไวในการขจัดอนุมูลแต่ละชนิดไม่เท่ากัน โดยหลักการวิธีวิเคราะห์ที่ดีควรเป็นวิธีที่ใช้อนุมูลและกลไกที่เกี่ยวข้องในร่างกาย ซึ่งกลไก HAT โดยการใช้อนุมูลเปอร์ออกซี มีความใกล้เคียงกับสภาวะในร่างกายมากกว่ากลไก SET ที่ใช้อนุมูล ABTS$^{\bullet+}$ หรืออนุมูล DPPH$^{\bullet}$

2.3 การสกัด

2.3.1 หลักการทั่วไปของการสกัด

การสกัดคือ กระบวนการแยกสารที่เกี่ยวข้องกับ 2 เฟส โดยอาศัยคุณสมบัติการละลายของสารมาทำหน้าที่ ชะละลายสารที่ต้องการออกจากส่วนที่ไม่ละลายออกมา โดยที่ตัวลำละลายเป็นสารที่เติมเข้าไป เพื่อให้เกิดอีกเฟสที่แตกต่างจากเฟสเดิมขององค์ประกอบที่ต้องการแยก การแยกเกิดขึ้นได้เมื่อองค์ประกอบที่ต้องการแยกละลายออกมาในตัวทำละลาย ขณะที่องค์ประกอบอื่นๆ ที่เหลือยังคงอยู่ในเฟสเริ่มต้นสองเฟสดังกล่าว เพื่อให้เกิดความแตกต่างจากเฟสเดิมของวัตถุดิบที่ต้องการแยก หรือเป็นการใช้ตัวทำละลายไปชะส่วนประกอบที่สามารถละลายได้ออกมา โดยทั้ง 2 เฟสนี้ อาจเป็นของแข็งกับของเหลวหรือที่เรียกว่าการลิชชิ่ง (Leaching) หรือเป็นของเหลว 2 ชนิดที่ไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน หรือเป็นเฟสที่เป็นของแข็งกับแก๊ส ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของสารสกัด [21] ในการแยกสารสกัดจากกลุ่มพืชนั้นอาศัยวิธีการแยกสารที่ละลายได้ในพืชออกจากส่วนที่ละลายไม่ได้ ซึ่งสารที่สามารถสกัดออกมาส่วนมากได้แก่ แอลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ สารประกอบฟีนอลิก เทอร์พีนอยด์ และฟลาโวนอยด์ เทคนิคการสกัดมีหลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อจำกัดที่แตกต่างกันออกไป [8]

ปรากฏการณ์ทางกายภาพที่เกี่ยวข้องกับการสกัด [21] ได้แก่

1. การแพร่ การแพร่เป็นการเคลื่อนย้ายโมเลกุลต่างๆ ของสารประกอบชนิดหนึ่งผ่านส่วนที่ต่อเนื่องในเฟสหนึ่งหรือผ่านผิวระหว่างเฟส ในการสกัดของแข็ง - ของเหลว ตัวทำละลายจะต้องแพร่เข้าไปในของแข็ง เพื่อละลายตัวถูกละลายออกมาและตัวถูกละลายก็ต้องแพร่ออกมาจากของแข็งที่อิ่มตัวด้วยตัวทำละลายไปยังเฟสของตัวทำละลาย อัตราการแพร่หาได้จากระยะเวลาที่ต้องการให้สมดุลเกิดขึ้นระหว่างเฟสทั้งสอง ซึ่งเวลาที่ต้องการสำหรับกระบวนการแพร่ เพื่อให้ถึงสมดุลเป็นสัดส่วนกลับกับกำลังสองของระยะทางการแพร่ ดังนั้นในการสกัดด้วยตัวทำละลาย ยิ่งอนุภาคมีขนาดเล็ก ระยะเวลาที่ของแข็งต้องอยู่ในขั้นของการสกัดยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม แม้ว่าขนาดของอนุภาคของของแข็งจะมีผลต่อ

อัตราการสกัด คือ ยิ่งอนุภาคมีขนาดเล็ก พื้นที่ผิวสัมผัส ระหว่างของแข็งและของเหลวยิ่งมาก ทำให้อัตราการถ่ายเทขององค์ประกอบที่ละลายได้เพิ่มมากขึ้นก็ตาม แต่ในกรณีที่สารเป็นอนุภาคละเอียดมาก อาจก่อให้เกิดความต้านทานหรือยับยั้งการหมุนเวียนของตัวทำละลายที่จะผ่านชั้นของของแข็งทำให้พื้นที่ผิวของการสัมผัสที่มากขึ้นก็ไม่ได้ช่วยในเรื่องอัตราการถ่ายเทมวล

2. ความสามารถในการละลาย ความเข้มข้นของตัวถูกละลายสูงสุดที่เป็นไปได้ในการสกัดสุดท้ายที่ออกจากระบบการสกัดคือ ความเข้มข้นอิ่มตัว ดังนั้น อัตราส่วนของ (ตัวทำละลาย/ของแข็ง) ต้องสูงพอที่เมื่อตัวทำละลายบริสุทธิ์สัมผัสของแข็งที่ส่งเข้าสู่เครื่องสกัดในตอนต้น สารละลายที่ได้หลังสมดุลต้องมีความเข้มข้นต่ำกว่าความเข้มข้นอิ่มตัวของตัวถูกละลาย ในระบบที่ต้องทำการสกัดของแข็งหลายครั้งด้วยตัวทำละลายที่หมุนเวียนกลับมาใช้ (เช่น ในกรณีของการสกัดด้วยของไหลที่อยุ่เหนือจุดวิกฤต) ถ้าความสามารถในการละลายของตัวทำละลายสูงจะช่วยลดจำนวนเที่ยวของการหมุนเวียนตัวทำละลายที่ต้องใช้ เพื่อกำจัดตัวถูกละลายออกไปในระดับที่ต้องการ ของเหลวที่ใช้เป็นตัวทำละลาย ควรจะมีความหนืดต่ำ เพื่อให้เกิดการหมุนเวียนได้ดี โดยทั่วไป มักจะใช้ตัวทำละลายค่อนข้างบริสุทธิ์ในช่วงแรก แต่ขณะที่กระบวนการสกัดดำเนินต่อไป ความเข้มข้นของตัวถูกละลายจะเพิ่มขึ้น และอัตราการสกัดจะลดลงอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของความเข้มข้นลดลงและสารละลายมีความหนืดเพิ่มขึ้น ในหลายกรณี อุณหภูมิมีผลต่ออัตราการสกัด เนื่องจากความสามารถในการละลายของสารที่ต้องการสกัดจะเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ซึ่งทำให้อัตราการสกัดสูงขึ้น นอกจากนั้นสัมประสิทธิ์ของการแพร่มักจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น ทำให้อัตราการแลกเปลี่ยนดีขึ้นด้วย ส่วนการกวนมีความสำคัญในการช่วยเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์การแพร่แบบเอ็ดดี้ (Eddy diffusivity) และเพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลจากผิวของอนุภาคไปยังสารละลายส่วนใหญ่

3. สมดุล เมื่ออัตราส่วนของ (ตัวทำละลาย/ของแข็ง) มากพอที่จะทำให้ระดับของตัวถูกละลายที่ต้องการละลายออกมา สมดุลที่เกิดขึ้นจะเป็นสภาวะที่ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในเฟสของของแข็งและเฟสของตัวทำละลายเท่ากัน ดังนั้น ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในสารละลายที่อยู่ในของแข็งจะเท่ากับในเฟสของของเหลวหรือตัวทำละลาย แต่เมื่อปริมาณของตัวทำละลายไม่เพียงพอต่อการละลายตัวถูกละลายทั้งหมดที่มีอยู่ สมดุลจะพิจารณาว่าเป็นสภาวะที่ความเข้มข้นของตัวถูกละลายไม่มีการเปลี่ยนแปลงอีกต่อไปในทั้งสองเฟส ไม่ว่าจะมีการสัมผัสที่นานขึ้นก็ตาม อย่างไรก็ตามเพื่อให้สมดุลเกิดขึ้นจำเป็นต้องให้เฟสของแข็งและตัวทำละลายได้สัมผัสกันเป็นเวลาที่นานพอ ปริมาณที่บ่งบอกความเข้มข้นสมดุลของตัวถูกละลายในเฟสตัวทำละลายในขั้นของการสกัดขั้นหนึ่งๆ เรียกว่าประสิทธิภาพของขั้น ถ้าสมดุลเกิดขึ้นในขั้นการสกัดขั้นหนึ่งๆ ขั้นนั้นจะมีประสิทธิภาพเป็น 100% เรียกว่า ขั้นจินตภาพ ปัจจัยที่ควบคุมกระบวนการสกัดคือ พื้นที่ที่มีการสัมผัสระหว่างกระแสทั้งสอง เวลาของการสัมผัส คุณสมบัติของวัสดุที่เกี่ยวข้องกับการแจกแจงสมดุลของการถ่ายเทองค์ประกอบ ในการสกัดของแข็ง

โครงสร้างของของแข็ง อาจเป็นอุปสรรคต่อการแพร่ และการควบคุมอัตราการสกัด ซึ่งอัตราการสกัด (Rate of extraction) มีสมการอัตรา [21] ที่ใช้ในการพิจารณา คือ

$$\text{อัตราการสกัด} = \frac{\text{แรงขับเคลื่อน}}{\text{ความต้านทาน}} \tag{3}$$

ในกรณีแรงขับเคลื่อนคือ ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นขององค์ประกอบหนึ่ง (ตัวถูกละลาย) ที่จะถ่ายเทระหว่างผิวหน้า ของของแข็งกับกระแสของตัวทำละลาย

ตัวชี้อัตราการถ่ายเทตัวถูกละลาย ซึ่งละลายจากของแข็งไปยังเฟสของเหลว โดยพิจารณาฟิล์มของของเหลวที่อยู่รอบๆ ของแข็งว่าเป็นความต้านทานหลักต่อการถ่ายเทตัวถูกละลายไปยังตัวทำละลายส่วนใหญ่ ดังนั้น อัตราการถ่ายเท แสดงดังสมการที่ 4 [11]

$$\frac{dM}{dt} = K_L A\,(C_s - C) \tag{4}$$

เมื่อ

M = มวลของตัวถูกละลายที่มีการถ่ายเทเกิดขึ้น (kg)
t = เวลา (s)
K_L = สัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทมวล ($m\ s^{-1}$)
A = พื้นที่ผิวร่วม (m^2)
C_s = ความเข้มข้นของสารละลายอิ่มตัวที่สัมผัสกับของแข็ง ($kg\ m^{-3}$)
C = ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในสารละลายทั้งหมดที่เวลาใดๆ ($kg\ m^{-3}$)

โดยทั่วไปมักจะสมมติให้บริเวณผิวหน้าที่สัมผัสนั้นมีความเข้มข้นอิ่มตัว และเท่ากับ C_s ซึ่งเป็นความเข้มข้นอิ่มตัวของระบบ ณ อุณหภูมินั้น

2.3.2 ชนิดของระบบการสกัด

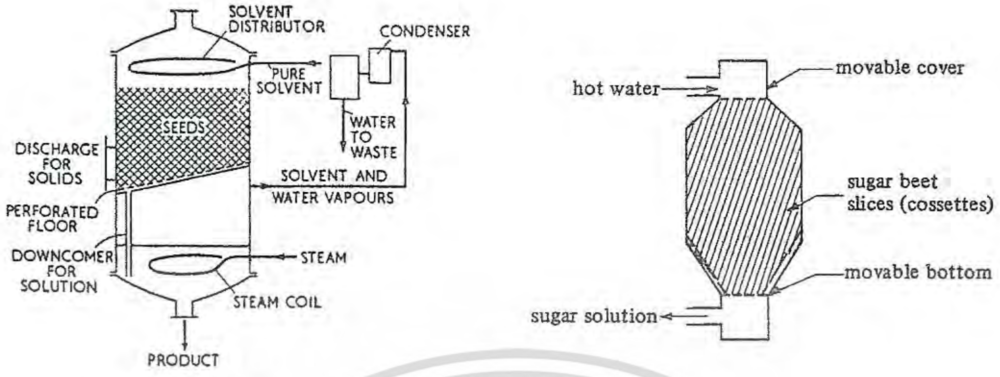
โดยทั่วไปตัวทำละลาย สามารถไหลซึมผ่านชั้นของสารที่หยาบ ขณะที่ของแข็งละเอียดจะทำให้เกิดความต้านทานการไหลค่อนข้างสูง ดังนั้นในเครื่องสกัดบางเครื่องจึงออกแบบมา เพื่อให้ของแข็งและของเหลวไหลสวนทางกันอย่างต่อเนื่อง ในตัวอย่างบางชนิด เช่น เมล็ดถั่วเหลืองที่มีน้ำมันอยู่ 15% มักจะใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายมากกว่าวิธีทางกล เนื่องจากไม่ค่อยมีประสิทธิภาพมากนัก โดยใช้ไตรโคลเรทิลีนหรืออะซีโตนหรืออีเทอร์เป็นตัวทำละลาย

2.3.2.1 การสกัดแบบกะเพียงขั้นเดียว ดังแสดงในรูปที่ 2.3 (a) ซึ่งเป็นเครื่องสกัดน้ำมันจากเมล็ดแบบกะ ในกระบวนการนี้ของแข็งจะสัมผัสกับตัวทำละลายที่ไม่มีตัวถูกละลายอยู่จนถึงสมดุล โดย

การปั๊มตัวทำละลายผ่านชั้นของแข็งแล้วหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่ หรือในรูปที่ 2.3 (b) ซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลจากหัวบีท ส่วนที่ปิดด้านบนสามารถเลื่อนออก เพื่อใส่หัวบีทที่เฉือนเป็นชิ้นบางเข้าไปในถังแล้วปล่อยน้ำร้อนอุณหภูมิประมาน 71 °C ถึง 77 °C ไหลเข้าไปในชั้นของของแข็ง เพื่อชะละลายน้ำตาลออกมา ของแข็งอาจแช่อยู่ในตัวทำละลายที่มีการกวนหรือไม่ก็ได้ หลังจากสมดุล เฟสของตัวทำละลายที่มีตัวถูกละลายอยุ่จะถูกระบาย ออกไปจากของแข็ง จากนั้นตัวทำละลายและน้ำที่สกัดได้จะถูกทำให้เดือดอย่างต่อเนื่องโดยได้รับความร้อนจากขดลวดไอน้ำ ตัวอย่างการสกัดอื่นๆ เช่น การสกัดกาแฟหรือชา และการกำจัดคาเฟอีนด้วยน้ำ ของเมล็ดกาแฟดิบ

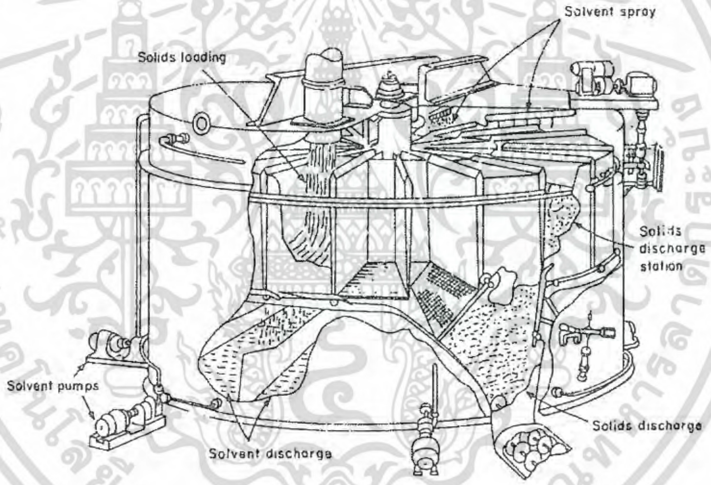
2.3.2.2 การสกัดแบบการไหลผ่านชนิดหลายขั้น ในกระบวนการนี้ ของแข็งจะสัมผัสตัวทำละลายบริสุทธิ์ซึ่งเริ่มต้นไม่มีตัวถูกละลายผสมอยู่ เช่น การสกัดไขมันด้วยซ็อกซ์เล็ต เพื่อวิเคราะห์อาหาร วิธีนี้ต้องการตัวทำละลายจำนวนมากหรือต้องการพลังงานจำนวนมาก เพื่อใช้ในการระเหยและควบแน่นตัวทำลาย เพื่อหมุนเวียนกลับมาใช้อีก ดังนั้นจึงไม่นิยมใช้ระบบนี้ในการแยกทางอุตสาหกรรม

2.3.2.3 การสกัดแบบไหลสวนทางกันแบบหลายขั้น ในกระบวนการนี้ ตัวทำละลายบริสุทธิ์จะเข้าสู่ระบบที่ปลายด้านตรงข้ามกับจุดที่ของแข็งที่ยังไม่ได้สกัดเข้าสู่ระบบ ตัวทำละลายบริสุทธิ์จะสัมผัสกับของแข็งอยู่ในขั้นสุดท้ายของการสกัด ทำให้ความเข้มข้นของตัวทำละลายในเฟสตัวทำละลายต่ำสุดที่สมดุล ตัวทำละลายที่มีตัวถูกละลายอยู่เป็นจำนวนมากจะเรียกว่า เอกซ์แทรคท์ ซึ่งได้จากระบบ ณ ขั้นแรกของการสกัดหลังจากสัมผัสกับของแข็งที่เพิ่งจะเข้าสู่ระบบ ของแข็งจะไหลจากขั้นหนึ่งไปอีกขั้นหนึ่งโดยใช้ตัวทำละลายเดียวกันนี้ จากขั้นหนึ่งไปสู่อีกขั้นหนึ่งเช่นกัน ด้วยเหตุนี้ ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในเฟสของตัวละลายจะเพิ่มขึ้นในขณะที่ตัวละลายเคลื่อนจากขั้นหนึ่งไปสู่อีกขั้นถัดไปและความเข้มข้นของตัวถูกละลายในเฟสของแข็งจะลดลง เมื่อเคลื่อนไปยังทิศทางตรงกันข้าม เช่น การสกัดน้ำมันถั่วเหลืองโดยใช้เครื่อง Rotocel ดังแสดงในภาพที่ 2.4 ในเครื่องสกัดนี้ประกอบด้วย ถังทรงกระบอก 2 ถัง ซึ่งถังบนจะหมุนอย่างช้าๆ เหนือถังทรงกระบอกที่อยู่นิ่งด้านล่าง ทั้งถังบนและถังล่างถูกแบ่งออกเป็นส่วนๆ ที่มีขนาดเท่ากัน โดยเรียกส่วนที่แบ่งในถังด้านบนว่าเป็นเซล เพื่อให้ของที่อยู่ในแต่ละส่วนไม่ผสมกัน ถังด้านล่างจะปิดด้วยตะแกรงลวดหรือจานที่มีรูของแข็งจะป้อนเข้าสู่แต่ละเซลของถังด้านบน เมื่อถังเคลื่อนผ่านให้ตัวฟีด หลังจากครบหนึ่งวงจรของการสกัด ของแข็งจะถูกนำออกไปโดยผ่านช่องเปิดที่พื้นซึ่งเป็นรูแล้วนำออกไปโดยสายพานแบบสกรู ตัวทำละลายบริสุทธิ์จะพ่นบนของแข็งก่อนที่ของแข็งจะถูกนำออกจากเครื่อง ตัวทำละลายจะไหลผ่านของแข็งในเซลที่อยู่ด้านบนและเข้าสู่ส่วนหรือห้องหนึ่งในถังที่อยู่นิ่งด้านล่าง จากนั้นตัวทำละลายในส่วนนี้จะถูกปั๊มขึ้นไปพ่นบนของแข็งในเซลถัดไปซึ่งอยู่ในลำดับของอนุกรม ลักษณะเช่นนี้จะเกิดขึ้นทุกเซล ทำให้เกิดลักษณะการไหลสวนทางกัน ส่วนสารละลายที่มีตัวถูกละลายอยู่เป็นจำนวนมากจะถูกนำออกไปจากห้องที่อยู่ใต้เซลซึ่งของแข็งใหม่เพิ่งจะส่งเข้าไป ในระบบนี้มักนิยมใช้กับการสกัดน้ำตาลจากหัวบีทและการสกัดน้ำมัน


SOLVENT DISTRIBUTOR
CONDENSER
PURE SOLVENT
SEEDS
WATER TO WASTE
DISCHARGE FOR SOLIDS
SOLVENT AND WATER VAPOURS
PERFORATED FLOOR
DOWNCOMER FOR SOLUTION
STEAM
STEAM COIL
PRODUCT
hot water
movable cover
sugar beet slices (cossettes)
movable bottom
sugar solution

(a) (b)

รูปที่ 2.3 (a) เครื่องสกัดน้ำมันจากเมล็ดแบบกะและ (b) เครื่องชะละลายน้ำตาลจากหัวบีท [21]


Solvent spray
Solids loading
Solids discharge station
Solvent pumps
Solids discharge
Solvent discharge

รูปที่ 2.4 เครื่องสกัดแบบ Rotocel [21]

นอกจากนี้ยังมีเครื่องสกัด Bollman ที่เคลื่อนที่อย่างต่อเนื่อง ซึ่งประกอบด้วยอนุกรมของถังที่มีรูให้ของเหลวไหลซึมผ่านได้ โดยจัดเรียงอยู่ในลักษณะที่สามารถยกขึ้นลงได้ ทั้งหมดนี้จะอยู่ในภาชนะที่ปิดสนิทไอผ่านเข้า - ออกไม่ได้ ของแข็งจะป้อนเข้าสู่เครื่องที่ถังตำแหน่งด้านบนขวาที่กำลังหมุน แล้วถูกชะละลายด้วยสารละลายเจือจางของน้ำมันในตัวทำละลายที่เรียกว่า อาล์ฟ มิสเซลลา โดยที่ของเหลวจะผ่านรูของตัวถังลงมาเก็บสะสมที่ด้านล่างเป็นสารละลายเข้มข้นที่เรียกว่า ฟูลมิสเซลลา จากนั้นถังจะเคลื่อนที่ขึ้นด้านซ้าย และถูกชะละลายแบบสวนทางกันกับตัวทำละลายบริสุทธิ์ที่พ่นบนถังด้านบน ของแข็งเปียกที่ชะละลายแล้วจะนำออกไปอย่างต่อเนื่อง

2.3.2.4 การสกัดแบบไหลสวนทางกันอย่างต่อเนื่อง ในระบบนี้ ลักษณะทางกายภาพของขั้นตอนการสกัดอาจจะนิยามไม่เด่นชัด แต่ในแบบที่ง่ายที่สุด จะประกอบด้วยสายพานสกรูที่ลาดลงมา เริ่มต้นสายพานนี้จะเต็มไปด้วยตัวทำละลายถึงระดับโอเวอร์โฟลว์ที่ปลายด้านที่ต่ำกว่า และของแข็งจะเข้าสู่ระบบที่ปลายด้านต่ำกว่า สกรูจะนำของแข็งเคลื่อนขึ้นผ่านตัวทำละลาย ตัวทำละลายบริสุทธิ์จะเข้าสู่ระบบที่ปลายด้านสูงแล้วตะเคลื่อนลงในทิศทางตรงกันข้ามกับการไหลของของแข็ง ในที่สุดตัวทำละลายที่มีตัวถูกละลายอยู่เป็นจำนวนมากจะถูกรวบรวมที่ปลายด้านที่ต่ำสุดของสายพานและนำออกไปจากระบบโดยผ่านตัวโอเวอร์โฟลว์ต ตัวอย่างลักษณะเครื่องสกัดดังกล่าวนี้ได้แก่ Dorr Classifier [22]

2.3.3 **เทคนิคสกัดสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช** [8]

2.3.3.1 การหมัก (Maceration) การชง (infusion) และการต้ม (decoction)

การหมักเป็นวิธีการสกัดที่มักใช้กับการทำไวน์และมีการประยุกต์ใช้ต่อในการสกัดสารจากพืชโดยการนำวัตถุดิบที่ต้องการสกัดลงในตัวทำละลายทำการกวนผสมและใส่ในบรรจุในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิดและเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลาการหมักขึ้นอยู่กับการความถี่ของการกวน วิธีนี้เป็นการสกัดแบบทั่วไปที่ใช้หลักการถ่ายเทมวลทั่วไป แต่ข้อจำกัดของตัวทำละลายที่ใช้ขึ้นกับชนิดของพืชที่นำมาสกัด ส่วนการแช่และการต้มยา ใช้หลักการเดียวกับการหมักแตกต่างกันที่ การแช่ใช้น้ำเย็นและการต้มยาใช้น้ำร้อนเดือด อย่างไรก็ตามการต้มสามารถใช้ได้กับสารสกัดที่มีความเสถียรหรือทนทานต่อความร้อน วัตถุดิบกลุ่มที่นิยมใช้สำหรับการสกัดวิธีนี้ได้แก่ พวกรากและเปลือก และสารสกัดที่ได้จะได้สารประกอบกลุ่มน้ำมันที่ละลายน้ำได้ที่มากกว่าวิธีการหมักและการแช่ การสกัดด้วยวิธีการแช่เป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณมากในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยการแช่วัสดุที่ต้องการสกัดลงในตัวทำละลายอินทรีย์ที่บรรจุในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิดเพื่อป้องกันการระเหยของตัวทำละลายอินทรีย์ วิธีนี้จัดเป็นวิธีที่ง่ายที่สุดแต่ใช้เวลานาน ยังคงใช้วิธีนี้ในการเลือกชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสม และอัตราส่วนตัวทำละลายกับวัสดุที่ต้องการสกัด

ข้อได้เปรียบและข้อจำกัด เนื่องจากการสกัดด้วยวิธีนี้เป็นวิธีการสกัดที่ง่ายและใช้ทั่วไป มักใช้สำหรับการนำของเสียที่เป็นออร์แกนิกมาใช้ประโยชน์ต่อ แต่วิธีนี้ใช้ตัวทำละลายที่มาก แต่ทั้งนี้การลดอุณหภูมิการต้มให้เหลือ 90 °C ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น แต่เวลาการสกัดที่เพิ่มขึ้นส่งผลต่อค่าพีเอชของสารสกัดหรืออาจทำให้สารสกัดบูดได้

2.3.3.2 การสกัดแบบซ็อกเลตซ์และการสกัดแบบดั้งเดิมหรือการสกัดแบบน้ำร้อน (Soxhlet extraction or hot continuous extraction)

การสกัดแบบซ็อกเลตซ์และการสกัดแบบดั้งเดิมหรือการสกัดแบบน้ำร้อน เป็นการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยตัวทำละลายโดยมีการให้ความร้อนกับตัวทำละลายในขวดแก้วกลม (Bottom flak)

ระเหยขึ้นไป โดยสารที่ต้องการสกัดจะละลายออกมาจากวัตถุดิบด้วยตัวทำละลายที่กลั่นและควบแน่นวนกลับมาอย่างต่อเนื่อง จนถึงสิ้นสุดกระบวนการสกัด

ข้อได้เปรียบและข้อจำกัด วิธีนี้จะใช้ตัวทำละลายที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับวิธีการหมัก อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีข้อเสียในเรื่องของอันตรายที่อาจเกิดจากการปล่อยก๊าซที่เป็นพิษที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างการสกัด และตัวทำละลายที่ใช้กับการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้มันใช้ตัวทำละลายที่มีความบริสุทธิ์สูงทำให้ค่าใช้จ่ายของการสกัดด้วยวิธีนี้ค่อนข้างสูง การสกัดด้วยวิธีนี้ เป็นวิธีการสกัดที่เป็นไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและอาจนำไปสู่ปัญหามลพิษเมื่อเทียบกับการสกัดที่ทันสมัยกว่า เช่น Supercritical fluid extraction (SFE) และข้อจำกัดของตัวอย่างที่ใช้สำหรับการสกัดด้วยวิธีนี้ต้องเป็นตัวอย่างแห้งที่บดละเอียดแล้ว และการสกัดด้วยวิธีซอกเลตซ์ยังมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ อัตราส่วนน้ำต่อตัวอย่างแห้ง และอัตราเร็วของการกวนผสม เป็นต้น

2.3.3.3 การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave assisted extraction หรือ MAE)

การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟเป็นการใช้แม่เหล็กไฟฟ้าร่วมกับตัวทำละลาย การแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนของรังสีไมโครเวฟกับขั้วของตัวทำละลายและตัวอย่าง เมื่อวัตถุดิบวางตัวอยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้าแล้วนั้นด้วยสมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในวัตถุดิบเคลื่อนที่สวนทางกับสนามแม่เหล็ก ทำให้เกิดความร้อนขึ้นที่ผิวเนื้อเยื่อของวัตถุดิบที่ต้องการสกัดส่งผลต่อการละลายของสารที่ต้องการสกัดของที่ต้านการเคลื่อนที่ทำให้เกิดความร้อนขึ้นซึ่งมีผลต่อเนื้อเยื่อของวัตถุและมีผลต่อการละลายของสารที่ต้องการ และช่วยให้ตัวทำละลายเข้าสู่ชั้นเมทริกซ์ของวัตถุดิบง่ายขึ้น ข้อจำกัดที่ควรพิจารณาสำหรับการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟได้แก่ กำลังของคลื่นไมโครเวฟ และสมบัติของตัวทำละลายว่ามีขั้ว ไม่มีขั้ว หรือกึ่งมีขั้ว

ข้อได้เปรียบและข้อจำกัดของวิธีนี้เป็นวิธีที่สามารถลดระยะเวลาการสกัดและลดปริมาณของตัวทำละลายเมื่อเทียบกับการสกัดแบบดั้งเดิม อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของความร้อนที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการสกัดที่ส่งผลต่อการแตกสลายของสาร และวิธีนี้ยังมีข้อจำกัดสำหรับสารประกอบฟีนอลิกที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น กรดฟีนอลิกพวกกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก ควันเซอฟิก ไอโซฟวาวิน และเรสเวอราทรอล เพราะโมเลกุลเหล่านี้จะไม่เสถียรต่อความร้อนของคลื่นไมโครเวฟที่มากกว่า 100 °C เป็นเวลา 20 min ทำให้ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่เป็นส่วนประกอบหลักของสารต้านอนุมูลอิสระลดลง ส่วนแทนนินและแอนโทไซยานินไม่เสถียรต่อการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟเนื่องจากอุณหภูมิที่สูงส่งผลต่อการสลายของสาร

2.3.3.4 การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค (Ultrasound-assisted extraction หรือ UAE)

เป็นการสกัดที่ใช้คลื่นเหนือเสียงที่อยู่ในช่วง 20 kHz ถึง 2000 kHz ระหว่างกระบวนการสกัดจะเกิดฏิกริยาที่เรียกว่า ปฏิกริยาเควิเตชั่น (Cavitation) ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นจะช่วยเพิ่มพื้นที่การสัมผัส

ระหว่างตัวทำละลายกับวัตถุดิบทำให้ช่วยการซึมผ่านเซลล์ได้ง่ายขึ้น คลื่นอัลตร้าโซนิคไปทำลายผนังเซลล์พืชทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี ดังนั้นคลื่นอัลตร้าโซนิคจะช่วยทำให้เกิดการถ่ายเทมวลได้มากขึ้น ขั้นตอนการสกัดด้วยวิธีนี้เป็นเทคโนโลยีการสกัดที่ง่ายและค่าใช้จ่ายค่อนข้างต่ำ สามารถใช้ได้ในระดับปฏิบัติการและระดับอุตสาหกรรมของการสกัดสารพฤกษเคมี

ข้อได้เปรียบและข้อจำกัด ประโยชน์ของการสกัดด้วยวิธีนี้จะช่วยลดระยะเวลาการสกัดและลดปริมาณตัวทำละลาย อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคที่ความถี่มากกว่า 20 kHz ส่งผลต่อสารพฤกษเคมีและสารอนุมูลอิสระ

2.3.3.5 การสกัดด้วยวิธีอื่นๆ

เช่น Accelerated solvent extraction (ASE) และ Supercritical fluid extraction (SFE) เป็นวิธีที่เริ่มมีการนำไปสำหรับการสกัดสารจากพืช วิธีการเหล่านี้ได้รับความนิยมน้อย เนื่องจากค่าใช้จ่ายของต้นทุนที่ค่อนข้างสูง ถึงแม้ว่าจะเป็นการสกัดที่มีประสิทธิภาพก็ตาม

Accelerated solvent extraction (ASE) เป็นวิธีที่มีที่ใช้ตัวทำละลายที่เป็นของเหลวน้อยกว่าการสกัดแบบหมักและการสกัดด้วยซอกต์เลต การสกัดด้วยวิธีนี้เป็นเทคโนโลยีการสกัดแบบอัตโนมัติ สามารถควบคุมอุณหภูมิและความดันของการสกัดได้และใช้ระยะเลาการสกัดน้อยกว่า 1 h ทั้งนี้ข้อจำกัดของการสกัดคล้ายกับการสกัดด้ยตัวทำละลายวิธีอื่น คือ ชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสม

การสกัดด้วยของไหลภายใต้สภาวะวิกฤติยวดยิ่ง Supercritical fluid extraction (SFE) หรือ Supercritical fluid (SF) การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ (Subcritical water extraction, SWE) [8]

2.3.4 กระบวนการสกัดและทำให้บริสุทธิ์ของสารพอลิแซ็กคาไรด์

สารพอลิแซ็กคาไรด์ในเห็ดเป็นส่วนประกอบโครงสร้างของผนังเซลล์ ซึ่งผนังเซลล์ของเห็ดประกอบด้วยสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สำคัญสองประเภทได้แก่ เส้นใยแข็งของไคตินหรือเซลลูโลสและอีกชนิดหนึ่งคือ เมทริกซ์ กลุ่มเบต้ากลูแคน แอลฟากลูแคนและไกลโคโปรตีน ดังนั้นการเลือกวิธีการสกัดพอลิแซกคาไรด์ขึ้นอยู่กับโครงสร้างผนังเซลล์ของเห็ด และการสกัดด้วยน้ำร้อนเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากและเป็นที่ยอมรับสำหรับการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากดอกเห็ดและเส้นใยไมซีเลียม โดยทั่วไปวิธีการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์เกี่ยวข้องกับการขจัดสารโมเลกุลต่ำจากเห็ด ซึ่งขั้นตอนการสกัดมักเริ่มด้วยน้ำร้อนทำให้ได้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำ และการสกัดด้วยสารละลายด่างช่วยในการละลายน้ำ วิธีการสกัดสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามโครงสร้างและความสามารถในการละลายน้ำของสารพอลิแซ็กคาไรด์ แต่หลักการพื้นฐานของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์คือ การทำลายผนังเซลล์จากชั้นนอกไปถึงผนังชั้นในภายใต้สภาวะการสกัดที่ไม่ทำลายเซลล์ของเห็ดที่มากเกินไป คือ ค่าพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสม [2]

การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์และทำให้บริสุทธิ์มีการใช้หลายๆ วิธีร่วมกัน เช่น การตกตะกอนของเอทานอล การตกตะกอนด้วยกรดอะซิติก เทคนิคโครมาโตกราฟแบบแลกเปลี่ยนประจุ เทคนิคเจล

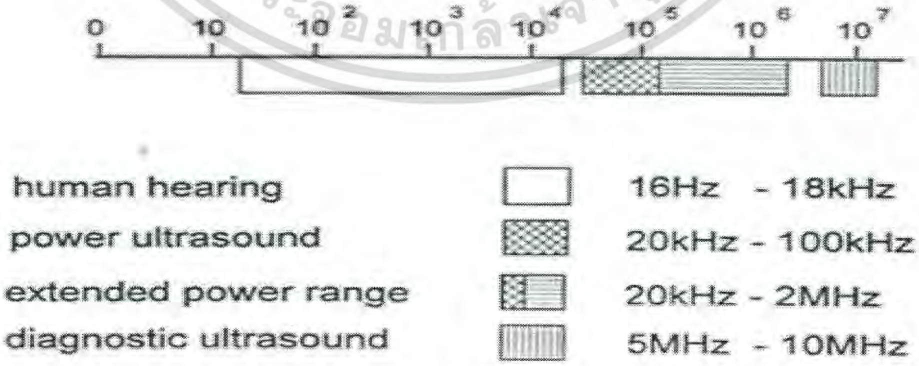
ฟิลเตรชันโครมาโตกราฟและเทคนิคโครมาโตรกราฟีแบบจำเพาะ การตกตะกอนของเอทานอลเป็นการกำจัดสิ่งสกปรกออกจากสารพอลิแซ็กคาไรด์ และสามารถแยกสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นกรดและเป็นกลางได้ [2] ดังนั้นสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดและทำให้บริสุทธิ์ของเห็ดหูหนูดำเป็นสาย 1 - 3 – β – D – glucan ที่ต่อกันเป็นสายเส้นตรง ลักษณะเป็นโฮโมกลูแคน ซึ่งโครงสร้างทางเคมีของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดที่ผ่านการสกัดและทำให้บริสุทธิ์มีลักษณะที่ต่างกันออกไปตามชนิดเห็ด

2.4 อัลตร้าโซนิคในงานแปรรูปอาหาร

2.4.1 คลื่นอัลตร้าโซนิค (ultrasonic waves)

คลื่นอัลตร้าโซนิคร่วม หมายถึง พลังงานที่เกิดจากคลื่นเสียงที่มีการสั่นของคลื่นประมาณ 20,000 ครั้งต่อวินาทีหรือสูงกว่าหรือ หมายถึงคลื่นความดันที่มีความถี่สูงกว่าคลื่นเสียงปกติ สูงกว่า 20,000 kHz ส่วนคำว่าอัลตร้าโซนิค (ultrasonics) หรือโซนิเคชันส์ (sonications) หมายถึงการศึกษาเกี่ยวกับคลื่นเสียงหรืออัลตร้าโซนิคในช่วงความถี่ดังกล่าว ซึ่งมนุษย์ไม่สามารถได้ยิน โดยทั่วไปแล้วคลื่นเสียงที่มนุษย์ได้ยินนั้นเกิดจากการสั่นสะเทือนของตัวกลางที่ยืดหยุ่นที่มีความถี่อยู่ในช่วง 20 – 20,000 kHz คลื่นเสียงผ่านเข้าสู่ตัวกลางที่ยืดหยุ่นในลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาว แต่คลื่นเสียงที่ผ่านเข้าไปภายในวัตถุที่เป็นของแข็งอาจอยู่ในลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาวหรือคลื่นตามขวาง [22]

การนำอัลตร้าโซนิคมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหรือในกระบวนการแปรรูปอาหาร โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ได้แก่ การใช้อัลตร้าโซนิคกำลังต่ำและความถี่สูง ซึ่งใช้ในด้านการวิเคราะห์ (diagnostic ultrasound) เป็นส่วนใหญ่และการใช้อัลตร้าโซนิคกำลังสูงและความถี่ต่ำหรือที่เรียกว่า พาวเวอร์อัลตร้าโซนิค ที่มักนำมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร คลื่นความถี่ของอัลตร้าโซนิคในช่วงต่าง ๆ แสดงดังภาพที่ 2.5



รูปที่ 2.5 คลื่นความถี่ของอัลตร้าโซนิคในช่วงต่าง ๆ [22]

2.4.2 ระบบอัลตร้าโซนิค

2.4.2.1 ระบบอัลตร้าโซนิค ประกอบด้วยอุปกรณ์ที่สำคัญ [22] อยู่ 3 ส่วน คือ

1. เครื่องกำเนิดกระแสไฟฟ้า (generator) โดยการเปลี่ยนกระแสไฟฟ้ากระแสตรงไปเป็นกระแสสลับที่ความถี่ที่ต้องการและผ่านเข้าสู่ทรานส์ดิวเซอร์

2. ทรานส์ดิวเซอร์ ทำหน้าที่เปลี่ยนไฟฟ้ากระแสสลับความถี่สูงไปเป็นการสั่นเนื่องจากพลังงานกล ทรานส์ดิวเซอร์ที่นิยมในปัจจุบันคือ ชนิดที่ใช้เทคโนโลยีพีโซอิเล็คตริก โดยที่รูปร่างและขนาดของทรานส์ดิวเซอร์ที่นำมาประกบกันจะขึ้นอยู่กับความถี่ที่ต้องการใช้งานและพลังงานจากทรานส์ดิวเซอร์ ดังนั้นในการประยุกต์ใช้พาวเวอร์อัลตร้าโซนิคจึงมักใช้ที่ช่วงความถี่ต่ำ โดยตัวทรานส์ดิวเซอร์จะอยู่ติดกับบูสเตอร์ (booster) หรือฮอร์น (horn) ด้านบนและเชื่อมต่อกับระบบส่งถ่ายพลังงาน

3. ระบบส่งถ่ายพลังงาน ทำหน้าที่ส่งถ่ายพลังงานจากการสั่นสะเทือนไปยังของเหลว ในกรณีที่เป็นอ่างอัลตร้าโซนิคตัวทรานส์ดิวเซอร์จะอยู่บริเวณฐานตรงด้านล่างของตัวอ่างหรือถังและส่งถ่ายพลังงานโดยตรงไปยังของเหลวที่อยู่ภายในอ่าง ส่วนระบบที่ต้องการพลังงานที่สูงกว่านี้ จะใช้วิธีขยายสัญญาณหรือพลังงานและส่งถ่ายพลังงานไปยังของเหลว โดยใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่า ฮอร์น ซึ่งเป็นแท่งโลหะที่มีรูปร่างแตกต่างกันและจะติดกับทรานส์ดิวเซอร์ โดยตัวฮอร์นมักทำจากวัสดุที่ทำให้เกิดขนาดของความยาวคลื่นครึ่งหนึ่งหรือเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนเท่าตัวของความยาวคลื่นเสียงประเภทของเครื่องอัลตร้าโซนิค

2.4.3 ชนิดของเครื่องอัลตร้าโซนิค

เครื่องอัลตร้าโซนิคที่ใช้อยู่ทั่วไปในปัจจุบันมีความแตกต่างกันตรงที่การออกแบบแหล่งกำเนิดไฟฟ้า แหล่งกำเนิดคลื่นและตัวเครื่องหรือเซลที่ใช้ร่วมกับแหล่งกำเนิดคลื่น โดยสามารถแบ่งเป็นชนิดต่างๆ ดังนี้

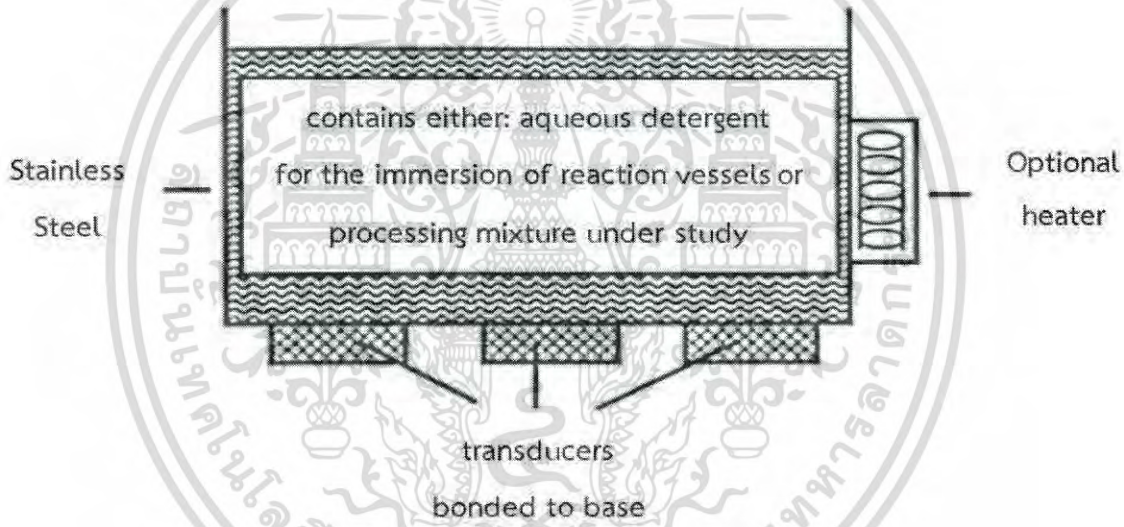
1. อ่างอัลตร้าโซนิค (ultrasonic bath) เป็นอุปกรณ์ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายและมีการนำมาใช้เป็นเวลานานแล้วโดยเฉพาะในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากมีราคาไม่แพงเมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องที่ใช้ระบบโพรบโดยทั่วไปทรานส์ดิวเซอร์จะติดอยู่กับบริเวณฐานด้านล่างของอ่างและความถี่ที่ใช้งานส่วนใหญ่ประมาณ 40 kHz อ่างอัลตร้าโซนิคมีลักษณะดังรูปที่ 2.6

สำหรับอ่างอัลตร้าโซนิคนั้นพลังงานสูงสุดที่สร้างได้จะอยู่ตรงบริเวณระดับความสูงค่าหนึ่งตลอดความลึกของอ่าง ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดคลื่นจากการสะท้อนของคลื่นอัลตร้าโซนิคที่ถูกสร้างขึ้นตรงบริเวณรอยต่อระหว่างอากาศและของเหลว ซึ่งแยกโดยระยะทางที่เทียบเท่ากับครึ่งหนึ่งของความยาวคลื่นเสียงของของเหลวภายในอ่าง (สำหรับน้ำ มีค่า λ = 37 mm ที่ความถี่ 40 kHz) ดังนั้นถ้าระดับน้ำในอ่างลดลงต่ำกว่าค่า λ จะมีผลทำให้ไม่สามารถทำให้เกิดคลื่นเสียงที่มีพลังงานสูงได้

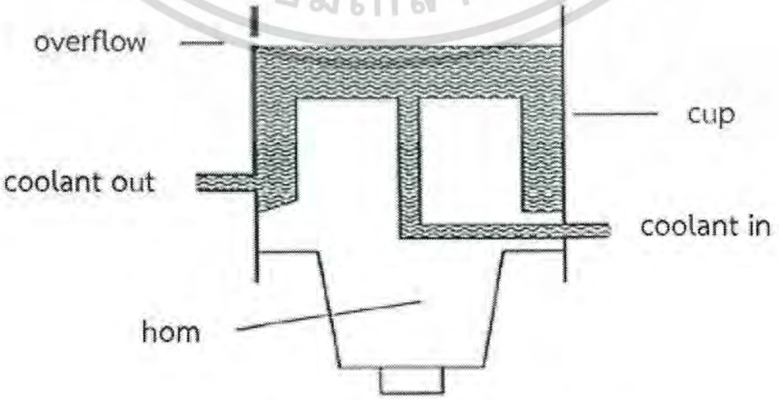
รูปแบบของอ่างอัลตร้าโซนิคอีกประเภทหนึ่งเรียกว่า คัพฮอร์น (cup horn) แสดงดังรูปที่ 2.7 โดยจัดว่าเป็นอ่างอัลตร้าโซนิคที่สร้างพลังงานได้สูงมาก ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณผิวหน้าที่เกิดคลื่นอัลตร้าโซนิค ซึ่งติดอยู่กับทรานส์ดิวเซอร์จะสัมผัสโดยตรงกับของเหลวและลักษณะการทำให้เกิดพลังงานหรือคลื่นจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้องและระดับของเหลวซึ่งมีความสำคัญมาก

2. ระบบอัลตร้าโซนิคแบบโพรบ (ultrasonic probe systems)

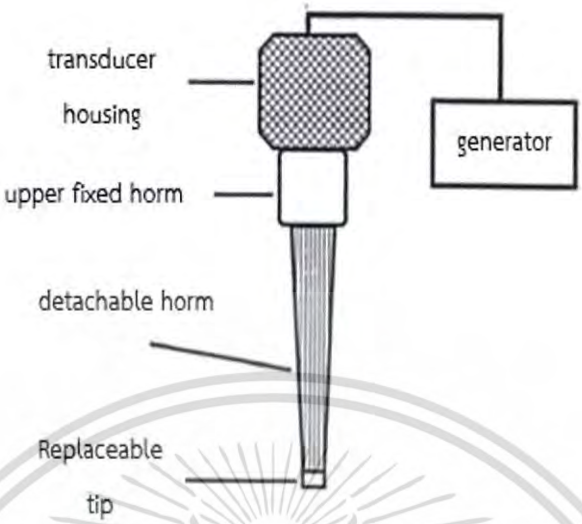
ระบบอัลตร้าโซนิคแบบโพรบใช้หลักการขยายพลังงานหรือคลื่นเสียงที่เกิดขึ้นจากทรานส์ดิวเซอร์ โดยทั่วไปจะนำทรานส์ดิวเซอร์มาต่อเข้ากับอุปกรณ์ที่เรียกว่า ฮอร์น (horn) ฮอร์นจะทำหน้าที่ขยายหรือเพิ่มการส่งถ่ายพลังงานเสียง ระบบการทำงานของเครื่องอัลตร้าโซนิคดูได้จากรูปที่ 2.8


contains either: aqueous detergent
for the immersion of reaction vessels or
processing mixture under study
Stainless
Steel
Optional
heater
transducers
bonded to base

รูปที่ 2.6 เครื่องอัลตร้าโซนิคแบบอ่าง [22]


overflow
cup
coolant out
coolant in
hom

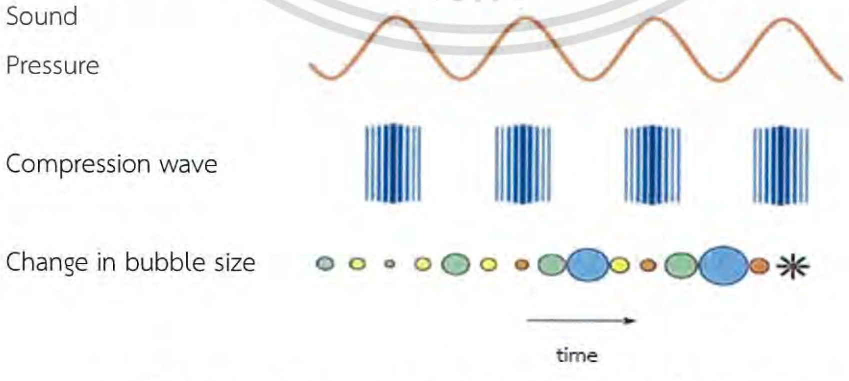
รูปที่ 2.7 รูปแสดงลักษณะคัพฮอร์น [22]


transducer
housing
generator
upper fixed horm
detachable horm
Replaceable
tip

รูปที่ 2.8 ระบบอัลตร้าโซนิคแบบโพรบ [22]

2.4.4 ปรากฏการณ์แคปวิเตชัน (cavitation)

ปรากฏการณ์แคปวิเตชัน หมายถึง กระบวนการที่เกิดขึ้นในตัวกลาง หรือสารละลายที่ได้รับคลื่นเสียงอัลตร้าโซนิค โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและทางกายภาพ (จากแรงกล) เนื่องมาจากฟองอากาศที่เกิดขึ้น ซึ่งการที่ฟองอากาศเกิดขึ้นได้นั้น เนื่องมาจากโครงสร้างของของเหลวที่ได้รับคลื่นอัลตร้าโซนิคจะถูกบีบอัด (compress) และคลายตัว (stretch) ซ้ำไปมาเป็นจำนวนหลายพันรอบ ทำให้เกิดฟองอากาศขึ้นแสดงดังรูปที่ 2.9 และฟองอากาศที่เกิดขึ้นภายในของเหลวนี้จะสัมผัสกับแรงสั่นที่เกิดจากคลื่นอัลตร้าโซนิคเป็นระยะและเกิดการแลกเปลี่ยนแก๊สระหว่างกันเป็นผลให้ฟองอากาศมีขนาดใหญ่ขึ้นไปเรื่อยๆ จนกระทั่งแตกออกในที่สุด [23]


Sound
Pressure
Compression wave
Change in bubble size
time

รูปที่ 2.9 การเกิดฟองอากาศในตัวกลางเนื่องจากคลื่นอัลตร้าโซนิค [23]

2.4.5 การประยุกต์ใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในกระบวนการแปรรูปอาหาร

ในศาสตร์ทางวิทยาศาสตร์ที่แตกต่างกันการนำคลื่นอัลตร้าโซนิคความถี่สูงมาใช้ประโยชน์ นอกจากนี้คลื่นอัลตร้าโซนิคที่มีความถี่ต่ำมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากไม่เป็นอันตราย ประหยัดเวลาและค่อยข้างสะดวก และใช้มีการนำมาใช้ในการตรวจสอบคุณภาพของอาหารบางชนิดเช่น เนื้อ ปลา เครื่องดื่ม น้ำมัน ผัก และผลไม้ และผลิตภัณฑ์นม คลื่นอัลตร้าซาวด์ถือยังเป็นเทคโนโลยีใหม่ใน หลายๆประเทศ เนื่องจากได้นำคลื่นอัลตร้าโซนิคมาใช้เป็น สำหรับการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตใน การผลิตอาหาร เพื่อลดผลเสียในผลิตภัณฑ์และควบคุมคุณภาพการผลิต นอกจากนี้คลื่นอัลตร้าโซนิคมี การประยุกต์ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหารมีหลายชนิด [24] ได้แก่

2.4.5.1 การประกันคุณภาพ (Quality Assurance)

การประกันคุณภาพเป็นประเด็นที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีด้านอาหาร เนื่องจากผู้บริโภค ต้องการอาหารที่มีคุณภาพ ดังนั้นทุกอุตสาหกรรมอาหารต้องมีการประกันคุณภาพฝ่ายตรวจสอบการผลิต ซึ่งต้องใช้การทดสอบผลิตภัณฑ์ในการทดสอบ คลื่นอัลตราซาวด์ความถี่ต่ำมีการนำมาใช้ เพื่อประเมิน คุณภาพของ อะโวคาโด มะม่วงและเมล่อน ใช้อัลตราซาวด์ในการประมานความเร็วในการสุกกับ ความสัมพันธ์กับลักษณะทางกายภาพและคำนวณการสุกของผลไม้โดยใช้ประโยชน์การคลื่นอัลตร้าโซนิค ใช้ประเมินคุณภาพของเนื้อวัว เนื้อไก่ เนื้อหมู นม ไวน์ สารละลายน้ำตาลและน้ำมันที่ โดยใช้ทฤษฎีของ พฤติกรรมคลื่น [24]

2.4.5.2 การละลาย การแช่แข็ง และการตกผลึก

ปัจจุบันมีการใช้งานและทดลองนำคลื่นอัลตร้าโซนิคมาใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรม อาหารใหม่ๆ คลื่นอัลตร้าโซนิคกำลังสูง ช่วยในการละลายเนื้อวัวหมูและปลา ซึ่งความถี่และความเข้มของ คลื่นอยู่ระหว่าง 500 kHz ด้วยรังสีอัลตร้าโซนิค เนื่องจากปัญหาที่พบบ่อยของการละลายด้วยไมโครเวฟ คือ ความร้อนทำให้พื้นผิวลดลงในตัวอย่างที่ละลายด้วยความเข้ม 7.6 W cm^{-2} ภายในเวลาประมาณ 2.5 h คลื่นอัลตร้าโซนิคที่มีความถี่ในช่วง 20-100 kHz มีประโยชน์ในการก่อตัวของผลึกน้ำแข็งระหว่างการ แข็งตัวของน้ำ มีอัตราก่อตัวดีขึ้นและความเสียหายของเซลล์ลดลง กลไกที่เกี่ยวข้องคือ อะคูสติคคาวิเตชั่น (a coustic cavitation) ซึ่งฟองอากาศที่เกิดจากเสียง ทำหน้าที่เป็นนิวเคลียสสำหรับการตกผลึก เครื่อง อัลตร้าโซนิคเป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์อย่างมากในการควบคุมการตกผลึกเพราะเป็นการเพิ่มอัตราการ เกิดนิวเคลียสและอัตราการตกผลึก ดังนั้นจึงเกิดการสร้างนิวเคลียร์ใหม่ขึ้น เช่น อัตราการแข็งตัวของมัน ฝรั่งเกิดขึ้นได้เร็วขึ้นโดยใช้อัลตร้าโซนิค กำลังขับ 15.85 W และใช้เวลา 2 min นอกจากนี้ยังมีโครงสร้าง จุลภาคที่ดีขึ้นภายใต้สภาวะการแช่แข็งเนื่องจากอัตราการประมวลผลที่สูง คลื่นอัลตร้าโซนิคมีการนำมาใช้ เพื่อตรวจสอบกระบวนการทำความเย็นของเจลาติน ไก่ แซลมอน เนื้อวัว และโยเกิร์ต โดยการวัดคลื่น

อัลตร้าโซนิคที่ใช้เวลาเดินทางไปยังพื้นผิวที่เย็นในผลิตภัณฑ์เดียวกัน การเคลื่อนไหวของน้ำแข็งถูกวัดโดยเวลาการเคลื่อนที่ของคลื่นอัลตร้าโซนิค โดยบันทึกจากเวลาที่มีเสียงสะท้อนออกมา ซึ่งมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์ของการแช่แข็ง [24]

2.4.5.3 การสกัด

การใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในกระบวนการสกัดเป็นประโยชน์ในการช่วยให้ตัวทำละลายไหลซึมเข้าสู่ผนังเซลล์ของวัตถุ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการแลกเปลี่ยนมวลและเพิ่มการกระจายตัวของผนังเซลล์ ในบางตัวอย่างการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการสกัดน้ำตาลจากชานอ้อย มีสารประกอบของเฮสิซิส เบอเบอรีน ไฮโดรคลอไรด์ เบอกานีนและโปรตีนจากน้ำนมถั่วเหลืองและชา การสกัดเอ็นไซม์เรนนินในการทำชีส การใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค ทำให้ได้จำนวนเอนไซม์สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดแบบธรรมดา การใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในกระบวกการสกัดส่งผลดีทำให้คือ ใช้อุณหภูมิลดลงและระยะเวลาที่สั้น

การสกัดสารบริสุทธิ์ในภาคอุตสาหกรรมมีการใช้ประโยชน์ของคลื่นอัลตร้าซาวด์ในกระบวนการสกัดเป็นจำนวนมาก ไม่ว่าจะเป็นการสกัดชาด้วยผ่านตัวทำละลายแบบน้ำ ทำให้ปริมาณที่เพิ่มขึ้นเกือบ 20% นอกจากนี้ยังมีการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการลดระยะเวลาในการหมัก และสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากสมุนไพร ในการสกัดวัตถุดิบคลื่นอัลตร้าโซนิคมีการถ่ายเทมวลเกิดขึ้นส่งผลทำให้เกิดการแตกของเซลล์และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดที่สูงขึ้นได้ อีกทั้งยังมีรายงานของกระบวนการสกัดน้ำมันอัลมอนด์ การสกัดสมุนไพร โสมซาโปนินม รูตินจาก โรสแมรี่ สารพอลิฟีนอล กรดอะมิโนคาเฟอีนจากชาเขียว ซึ่งกระบวนสกัดโดยใช้คลื่นอัลตร้าซาวด์แสดงผลการสกัดที่มีคุณภาพสูง ใช้เวลาสั้นลงและทำให้กระบวนการสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น [24]

2.4.5.4 การทำความสะอาด

การนำคลื่นอัลตร้าโซนิคเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ สำหรับการทำความสะอาดสามารถขจัดสิ่งสกปรกและแบคทีเรียจากพื้นผิวและรวมไปถึงรอยแยกหรือรอยต่อที่ยากต่อการทำความสะอาดในวิธีแบบธรรมดา การทำความสะอาดเครื่องมือทางการแพทย์ การผ่าตัด ทันตกรรม อาหาร และพื้นผิวที่ทำความสะอาดด้วยอัลตร้าโซนิค และมีการศึกษานำอัลตราซาวนด์มาใช้ร่วมกับสารฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เพื่อทำความสะอาดพื้นผิวของไข่ไก่ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาจำนวนมากที่พบว่า คลื่นอัลตร้าโซนิคที่ความถี่ 40 kHz สามารถใช้เพื่อกำจัดไบโอฟิล์ม ซึ่งบางครั้งเป็นสาเหตุของความสกปรกของอุปกรณ์ในอุตสาหกรรมอาหารบางอย่าง

การใช้ทำความสะอาดในอุตสาหกรรมนม เช่น ความสกปรกของหลอดที่ใช้ในการพาสเจอไรซ์และแปรรูปผลิตภัณฑ์บางชนิดมักเป็นสาเหตุของปัญหานมปนเปื้อน เนื่องจากสามารถเติมจุลินทรีย์บางชนิดลงในผนังของหลอดเหล่านี้ได้ คลื่นอัลตร้าโซนิคมีประสิทธิภาพเป็นสองเท่าในการกำจัดไบโอฟิล์มจากพื้นผิว จากการประเมินพื้นผิวเปรียบเทียบกับวิธีการทั่วไปในการเช็ดทำความสะอาดอุปกรณ์ นอกจากนั้น

คลื่นอัลตร้าโซนิคมีประโยชน์อย่างมากสำหรับการทำความสะอาดในกระบวนการผลิตเยื่อหุ้มเซลล์จากนม ระหว่างกระบวนการกรองโดยใช้ความถี่ต่ำคงที่ เช่น 50 kHz เมื่อเทียบกับการใช้งานที่ไม่ต่อเนื่อง [24]

2.4.5.5 กระบวนการออกซิเดชัน

มีการนำคลื่นอัลตราซาวนมาใชในการเรงปฏิกิริยาออกซิเดชันเชน ปฏิกิริยาการบ่ม (Aging) ของผลิตภัณฑหมักเชน ไวนและสุรากลั่น โดยทำใหเกิดกลิ่นรสและรสชาติที่เฉพาะตัวในช่วงระยะเวลาการบมที่สั้นลงเชน มีการศึกษาการใชคลื่นอัลตราซาวนขนาด 1 MHz แกผลิตภัณฑหมักดังกลาว ซึ่งทำให อัตราสวนระหว่างแอลกอฮอล์ต่อเอสเทอรเกิดความสมดุลและชวยให้เกิดลักษณะปรากฏที่ดีและในสวนของวิสกี้ พบว่า ชวยลดเวลาระยะเวลาการบ่มให้ต่ำกว่า 1 ปี [22]

2.4.5.6 การยับยั้งปฏิกิริยาเอนไซม์

กิจกรรมเอนไซม์ต่างๆ จะถูกยับยั้งได้ เนื่องจากการเกิดแคปวิเตชัน เชน มีการศึกษาการใช คลื่นอัลตร้าโซนิคขนาด 20 kHz ที่กำลัง 371 W cm^{-2} แก่เอนไซม์เพอร์ออกซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในผักและผลไม้สดและเปนเอนไซมกระตุ้นใหเกิดรสชาติผิดปกติและทำให้เกิดสีน้ำตาล เมื่อใหคลื่นอัลตร้าโซนิคขนาดดังกล่าว แก่เอนไซมในฟอสเฟส บัฟเฟอร pH 7.0 ที่อุณหภูมิ 20 °C เปนเวลา 3 h พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์นี้ลดลง 90% [24]

2.4.5.7 การกระตุ้นเซลล์ของสิ่งมีชีวิต

การใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค ช่วยในการผลิตโยเกิร์ต สามารถลดเวลาในการผลิตลงถึง 40% และช่วยปรับปรุงลักษณะของโยเกิรตเชน เนื้อสัมผัสให้ดีขึ้น นอกจากนั้นคลื่นอัลตร้าโซนิคยังสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดพืชได้ ทำให้ปริมาณผลผลิตในการผลิตขนาดใหญ่เพิ่มสูงขึ้น โดยคลื่นอัลตร้าโซนิคจะเหนี่ยวนำให้การงอกของเมล็ดเกิดได้รวดเร็วขึ้น รวมทั้งกระตุ้นใหรากงอกไดเร็วขึ้นเช่น ในเมล็ดทานตะวันที่ได้รับคลื่นอัลตร้าโซนิคสามารถงอกในดินไดดีกวาเมล็ดที่ไม่ได้รับคลื่นถึง 3 เท่าหรือในมะเขือเทศ ซึ่ง พบว่า เมล็ดของมะเขือเทศที่ได้รับคลื่นอัลตราโซนิคจะลดระยะเวลาการสุกไดเป็นระยะเวลาถึง 10 วัน คลื่นอัลตร้าโซนิคสามารถกระตุ้นเซลล์ที่มีชีวิตอยู่มีประโยชน์มากในการผลิตโยเกิร์ตซึ่งทำให้สามารถลดเวลาในการผลิตได้ถึง 40% โดยใช้อัลตร้าโซนิค นอกจากนี้นมจะถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้อัลตร้าโซนิคมากกว่าวิธีธรรมดาประสิทธิภาพในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นเนื่องจากอัลตร้าโซนิคมีการปรับปรุงความเหนียวข้นและเนื้อเสริมการทำให้หวาน [24]

2.4.5.8 การสเตอริไลซ์

มีการนำคลื่นอัลตร้าโซนิคมาใช้ในการทำความสะอาด โดยช่วยลดการปนเปื้อนที่บริเวณพื้นผิว เนื่องจากการเกิดคลื่นกระแทกขนาดเล็กจากการที่ฟองอากาศเกิดการแตกและมีทิศทางพุ่งเข้าสู่พื้นที่ผิวด้วยความเร็วสูงเป็นผลให้สิ่งสกปรกและแบคทีเรียที่เกาะติดอยู่ที่พื้นที่ผิวหลุดออก นอกจากนั้นยังสามารถใช้คลื่นอัลตราโซนิคในการทำลายแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนผิวของไข่ โดยใช้รวมกับสารฆ่าเชื้อ

แบคทีเรียและคลื่นอัลตราซาวน ชวยเพิ่มประสทธิภาพในการฆ่าเชื้อดวยสารเคมี เนื่องจากทำให้เซลลแบคทีเรียที่เกาะกลุ่มกันอยูเกิดการแตกกระจายเปนผลใหสารเคมีสามารถสัมผัสกับเชื้อจุลินทรียไดมากยิ่งขึ้น [24]

2.4.5.9 การใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคทำให้เกิดอิมัลชัน

คลื่นอัลตราซาวนทำให้อิมัลชันเสถียรขึ้น เนื่องจากการที่ฟองอากาศเกิดการแตกตรงบริเวณที่เป็นรอยตอระหวางเฟส (Phase boundary) ของของเหลวสองชนิดที่เขากันไมได ซึ่งคลื่นกระแทกที่มีแรงดันสูงที่เกิดขึ้นจะทำให้การผสมและเข้ากันไดดียิ่งขึ้น นอกจากนั้นการใชคลื่นอัลตราซาวนในแบบที่เรียกวา ลิควิดวิซเทิล (Liquid whistle) สามารถใชในกระบวนการผลิตที่ไหลอยางตอเนื่อง (Flow processing) และสามารถเชื่อมตอกับระบบประมวลผลได ทำให้สามารถเพิ่มปริมาตรในการผลิตไดสูงถึง 12,000 L h^{-1} เชน ในการผลิตน้ำผลไมซอสมะเขือเทศและมายองเนส เปนตน การสร้างอีมัลชั่นที่เสถียรโดยใช้อัลตราซาวน์เพียงเล็กน้อยหากมี Surfactant ตัวอย่างบางส่วนที่รวมอยู่ในซอสมะเขือเทศและมายองเนส ความเร็วอัลตร้าโซนิคและการแบ่งสเปกตรัม ถูกวัดด้วยฟังก์ชั่นของความถี่ในการทำอิมัลชันด้วยอัลตร้าโซนิค (1-5 MHz) อิมัลชันทำจากน้ำมันข้าวโพดในน้ำและความเร็วและการลดทอนจะเพิ่มขึ้นตามความถี่ในอิมัลชันทั้งหมดที่มีขนาดอนุภาคแตกต่างกันโดยประมาณจากสเปกตรัมอัลตร้าโซนิค [24]

2.4.5.10 การประยุกต์ใช้ในรูปแบบอื่นๆ

การนำคลื่นอัลตร้าโซนิคมาใช้ เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการไหลและคุณสมบัติทางกายภาพและความร้อน (Thermophysical) คุณสมบัติของเวย์โปรตีนไอโซเลท (WPI) และเวย์โปรตีนเข้มข้น (WPC) เปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอย่างที่ควบคุม พบว่า ความสามารถในการละลายน้ำของเวย์โปรตีนไอโซเลทและเวย์โปรตีนเข้มข้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจากการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค สำหรับพฤติกรรมการไหลปรากฏค่าความหนืดและดัชนีพฤติกรรมการไหลและค่าสัมประสิทธิ์ความเหนียวแน่นของเวย์โปรตีนไอโซเลทและเวย์โปรตีนเข้มข้นมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ คุณสมบัติกายภาพ เช่น การแช่แข็งครั้งแรกและอุณหภูมิการละลายน้ำแข็งเริ่มต้นถูกแปลงเปลี่ยนไป เมื่อเทียบกับการควบคุมแบบทดลอง [24]

การนำคลื่นอัลตราโซนิคมาใช้ช่วยการเพาะปลูกพืชเกษตรให้เร็วขึ้น เมื่อเมล็ดพืชผ่านการควบคุมด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค นอกจากนี้คลื่นอัลตร้าโซนิค สามารถใช้ในโรงบำบัดน้ำเสียบางแห่งภายในอุตสาหกรรมอาหาร การใช้คลื่นเสียงได้ช่วยกระบวนการชีวภาพและมีการปรับปรุงทางชีวภาพให้ดีขึ้น

การนำคลื่นอัลตร้าโซนิคมาใช้ประโยชน์ในกระบวนการผลิตอาหารของอุตสาหกรรมจำนวนมาก ไมว่าเทคนิคตรวจสอบคุณภาพของอาหารในสายการผลิตคุณภาพอาหารด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค ช่วยให้อุตสาหกรรมอาหารสามารถกำหนดคุณสมบัติของอาหาร ก่อน ระหว่าง และหลังการแปรรูป อีกทั้ง

คลื่นอัลตร้าโซนิคที่มีความเข้มสูง ความถี่ต่ำ ส่งผลการทำลายเชื้อจุลินทรีย์และเอนไซม์ด้วยคลื่นเสียงร่วมกับอุณหภูมิความดันและปัจจัยการเก็บรักษาอื่น ๆ ทั้งหมดแสดงผลในทางที่ดี

สรุปการนำคลื่นอัลตร้าโซนิคมาใช้ในมุมมองเชิงเศรษฐกิจ พบว่า อุปกรณ์เครื่องอัลตร้าโซนิคมีราคาไม่แพงเมื่อเทียบกับกับเทคโนโลยีอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามควรจะมีการคำนวณต้นทุนของการเปลี่ยนอุปกรณ์ในการปรับใช้อัลตร้าโซนิค นอกเหนือจากการปรับห้องเย็นหรือร้อนในขนาดอุตสาหกรรม จำเป็นต้องมีการวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับคลื่นอัลตร้าโซนิคความถี่ต่ำ เช่น ทดสอบจุลินทรีย์เป้าหมายในการพาสเจอร์ไรซ์และเอนไซม์ที่สำคัญ เพื่อเพิ่มเสถียรภาพของผลิตภัณฑ์ ปัจจัยอื่น ๆ ในการเก็บรักษา อาจรวมกับคลื่นอัลตร้าโซนิค เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแต่ปัจจัยอื่น ๆ เหล่านี้จะขึ้นอยู่กับเป้าหมายของผลิตภัณฑ์ [24]

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.5.1 จลนพลศาสตร์ของการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

Tao et al. [25] ได้ทำการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากกากองุ่น โดยศึกษาผลกระทบของอัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักกากองุ่นที่อัตราส่วน 6.8 : 1 - 47.4 : 1 ml g^{-1}และอุณหภูมิการสกัด 20 - 50 °C และทำการสกัดด้วยอ่างอัลตร้าโซนิคที่คลื่นความถี่ 25 kHz โดยใช้เอทานอล 50 % เป็นตัวทำละลาย ผลการศึกษา พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิและอัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักกากองุ่นส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น และผลจากการจำลองจลนพลศาสตร์ของกระบวนการสกัดภายใต้การอธิบายของกฎการแพร่ข้อที่ 2 ของ Fick's จะทำให้ได้ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของการสกัดสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งอัตราการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในช่วงแรกจะมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และอุณหภูมิที่ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด คือ 40 °C จากผลการศึกษาทำให้ได้สมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารประกอบฟีนอลิกกับอัตราส่วนน้ำและอุณหภูมิของการสกัดและการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการสกัดกากองุ่นด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคกับการสกัดแบบดั้งเดิม ผลที่ได้ คือ การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าและเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่สามารถนำมาใช้ในการสกัดสารชีวภาพจากกากองุ่น

Gonzalez - Centeno et al. [26] ทำการศึกษาผลกระทบของกำลังคลื่นอัลตร้าโซนิคต่อสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระและศึกษาจลนพลศาสตร์ของการสกัดกากองุ่นด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค ผลการศึกษา พบว่า แบบจำลองจลนพลศาสตร์ที่ใช้สำหรับการสกัด ใช้แบบจำลองของ Weibull model ในการอธิบายสัมพันธ์ ค่าสัมประสิทธิ์จากแบบจำลองแสดงให้เห็นเมื่อทำการเพิ่มเวลาการสกัดไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้นและผลที่ได้จากการนำคลื่นอัตราโซนิคมาประยุกต์ใช้ในการสกัดกากองุ่น สามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตเมื่อทำการเปรียบเทียบด้วยการสกัดแบบ

ดั้งเดิม ผลกระทบปัจจัยที่เกี่ยวข้องได้แก่ กำลังคลื่นอัลตร้าโซนิค อุณหภูมิ โดยการเพิ่มของกำลังคลื่นอัตราโซนิคและอุณหภูมิส่งผลให้ปริมาณสารฟีนอลิกและค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น

2.5.2 การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารต้านอนุมูลอิสระ

Fan et al. [27] ได้ทำการศึกษาการนำสารพอลิแซ็กคาไรด์ไปใส่ในขนมปัง เพื่อให้ขนมปังมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ โดยนำสารพอลิแซ็กคาไรด์ในส่วนดอกเห็ด (Fruit body) ของเห็ด *Auricularia auricular* หรือทั่วไปเรียก “เห็ดหูหนูดำหรือเห็ดหูต้นไม้” มาสกัดและทำแห้งแบบระเหิด (Lyophilized) และบดเป็นแป้งพอลิแซ็กคาไรด์เห็ดหูหนูดำหรือ “แป้งAAP” จากนั้นได้นำไปทดลองผสมกับแป้งขนมปังในอัตราส่วนการผสมที่แตกต่างกันเพื่อผลิตขนมปัง และทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของขนมปังที่ผลิต จากการศึกษานี้การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากดอกเห็ดของเห็ดหูหนูดำ ทำให้ได้แป้ง AAP และสามารถนำไปพัฒนาโดยบดผสมกับขนมปัง และทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของขนมปังกับการผสมแป้ง AAP ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันและ พบว่า สามารถเพิ่มแป้ง AAP ในสูตรขนมปังได้ถึง 9 % โดยไม่มีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสของขนมปัง รวมทั้งแป้ง AAP ยังมีแสดงคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นชัดเจน การผลิตขนมปังที่ทำจากแป้ง AAP สามารถเพิ่มการนำไปใช้ประโยชน์ของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากดอกเห็ดของเห็ดหูหนูดำ เนื่องจากมีความสามารถในต้านอนุมูลอิสระสูงและยังสามารถเป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้ อย่างไรก็ตามความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในขนมปังจะเกิดขึ้นหลังจากการย่อยส่วนหนึ่งหรือย่อยทั้งหมดยังไม่เป็นที่ทราบชัดเจน ดังนั้นงานวิจัยที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพควรได้มีการทดสอบในร่างกายต่อไป

Ozyurek et al. [5] ได้ทำศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเห็ดป่าสามชนิดที่สามารถบริโภคได้ด้วยคลื่นไมโครเวฟ จากการศึกษากระบวนการสกัดเห็ดป่าสามชนิดที่สามารถบริโภคได้ด้วยคลื่นไมโครเวฟ เพื่อหาปริมาณสารพอลิฟีนอล พบว่า สภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ คือ ความเข้มข้นของเมทานอล 80 % อุณหภูมิการสกัด 80 °C เวลาการสกัด 5 min จากการทดสอบหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน ได้แก่ การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด (TAC) และการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เพื่อใช้สำหรับการประเมินสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเห็ดป่า 3 ชนิด โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ผลจากการตรวจสอบปฏิกิริยาการดักจับสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี vitro พบว่า สารสกัดที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณที่สูง แสดงว่าสารสกัดมีค่าความสามารถในต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงเช่นกัน และในการศึกษานี้พบว่า การสกัดสารที่มีฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระ (ROS) ด้วยคลื่นไมโครเวฟมีประสิทธิภาพในการสกัดที่ดีกว่าการสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย เนื่องจากมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงและใช้เวลาในการสกัดที่สั้นลง ดังนั้นจากการศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเห็ดป่า 3 ชนิดที่สามารถ

บริโภคได้ในประเทศตุรกี แสดงให้เห็นคุณสมบัติสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นวัดโดยการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ เห็ดชนิดนี้มีศักยภาพในการหาสารต้านอนุมูลอิสระของธรรมชาติ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ และผลที่ได้ยังแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลจากเห็ดที่แสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกมีส่วนสำคัญต่อคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่พบในสารสกัดเหล่านี้ เห็ดป่ามีสารต้านอนุมูลอิสระที่หลากหลายเช่น สารประกอบฟีนอลิก โทโคฟีรอลหรือวิตามินอี กรดแอคอบิกและคาโรทีนอยด์ นอกจากนั้นยังมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ อีกมากมายที่มีคุณค่าทางโภชนาการ สามารถนำไปเป็นส่วนผสมของอาหารเพื่อสุขภาพ ป้องกันการเกิดสภาวะออกซิไดซ์เกินสมดุลในร่างกาย

Tian et al. [28] ได้ศึกษาการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดกระดุมขาวด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค โดยนำเห็ดกระดุมขาวมาทำการอบแห้งและบด หลังจากนั้นสกัดด้วยคลื่นอัตราโซนิกส์เมื่อสิ้นสุดการสกัด ทำการแยกตะกอนกับส่วนใสและนำส่วนในที่เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ไปทำการสกัดต่ออีกครั้งด้วยเอทานอล ก่อนจะทำแช่เยือกแข็งและนำไปศึกษาคุณสมบัติของสารพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งได้ศึกษาผลกระทบปัจจัยการสกัด 4 ปัจจัย ได้แก่ กำลังคลื่นอัลตร้าโซนิค อุณหภูมิการสกัด เวลาการสกัด และอัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักเห็ดกระดุมขาว ผลที่ได้พบว่า เมื่อเพิ่มกำลังคลื่นอัลตร้าโซนิคและอุณหภูมิการสกัดทำให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้สูงขึ้น และเมื่อเพิ่มเวลาการสกัดจะทำให้ได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สูงขึ้น โดยอัตราส่วนน้ำที่เหมาะสมในการสกัดคือ 30 : 1 ml g^{-1} ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์มากที่สุดคือ กำลังคลื่นอัลตร้าโซนิค อุณหภูมิการสกัด เวลาการสกัด และอัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักเห็ดกระดุมขาว ตามลำดับสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดคือ กำลังคลื่นอัลตร้าโซนิค 230 W อุณหภูมิการสกัด 70 °C เวลาการสกัด 62 min และเมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดกระดุมขาว 3 วิธีคือ การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค การสกัดด้วยน้ำร้อนหรือการสกัดแบบดั้งเดิม และการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ ผลที่ได้พบว่า การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคมีประสิทธิภาพการสกัดที่ดีกว่าการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ ทำให้ได้ผลผลิตของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มากกว่าถึง 15.08 % และ 27.81% ตามลำดับ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ให้สูงขึ้น อีกทั้งยังใช้เวลาการสกัดที่สั้นกว่าและอุณหภูมิการสกัดที่ต่ำกว่าการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ และนอกจากนั้นการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคยังใช้กำลังไฟและอุณหภูมิการสกัดที่น้อยกว่าการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟอีกด้วย แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทำการสกัดทั้ง 3 วิธี พบว่าค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้น

Zhao et al. [29] ได้ทำการศึกษาการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากตังกุยโดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค เพื่อศึกษาปัจจัยการสกัดได้แก่ กำลังคลื่นอัลตร้าโซนิค 140 - 180 W อัตราส่วนน้ำ 5 - 7 เท่า เวลาการสกัด 40 - 50 min และอุณหภูมิการสกัด 80 - 100 °C พบว่า เมื่อเพิ่มกำลังคลื่นอัลตร้าโซนิค ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ได้ ซึ่งกำลังคลื่นอัลตร้าโซนิคที่ทำให้มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดอยู่ที่ 180 W และเมื่อกำลังคลื่นอัลตราโซนิคที่มากกว่า 180 W ไม่ส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงของสารพอลิแซ็กคาไรด์ โดยทั่วไปอัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักวัตถุดิบแห้งเป็นสิ่งสำคัญในการสกัดของแข็งของเหลวหรือลิชชิ่ง เมื่อเพิ่มปริมาณอัตราส่วนน้ำปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ โดยอัตราส่วนที่ให้ได้สารพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด คือ 7 เท่าและเมื่ออัตราส่วนน้ำที่มากกว่า 7 เท่าจะไม่ส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงของสารพอลิแซ็กคาไรด์ และเมื่อกำหนดเวลาการสกัดที่ 45 min และทำการเพิ่มอุณหภูมิการสกัดจะทำให้ได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้น ดังนั้นการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ปัจจัยการสกัดที่เกี่ยวข้องหลัก คือ อุณหภูมิของการสกัดและเวลาการสกัด ตามลำดับ สภาวะที่เหมาะสมของการสกัดคือ กำลังคลื่นอัลตร้าโซนิค 180 W อัตราส่วนน้ำ 7 เท่า เวลาการสกัด 45 min และอุณหภูมิการสกัด 90 °C ทำให้ได้ปริมาณผลผลิตของสารพอลิแซ็กคาไรด์สูงถึง 6.96 % ซึ่งสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้มีคุณสมบัติทางชีวภาพที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ทำให้สามารถช่วยลดการเกิดภาวะออกซิไดซ์เกินสมดุลขึ้นในร่างกาย นอกจากนี้การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคให้ผลที่ดีกว่าการสกัดแบบดั้งเดิม และทำให้ได้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย

2.5.3 ด้านการหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์

Zhu and Liu. [30] ได้ทำการศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทับทิม ซึ่งศึกษาปัจจัยหลัก 3 ปัจจัย ได้แก่ เวลาการสกัด อุณหภูมิการสกัด และอัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักเปลือกทับทิมแห้งโดยใช้การทดลองแบบบ๊อกเบเคน (Box - Behnken and Design) โดยวิธีการศึกษานำเปลือกทับทิมแห้งมาบดและสกัดโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ก่อนนำไปสกัดนำไปปั่นผสมและเมื่อสิ้นสุดการสกัดนำไปเซนติฟิวส์แยกปริมานสารพอลิแซ็กคาไรด์และตะกอน หลังจากนั้นนำไประเหยและทำแห้ง ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณผลผลิตของสารพอลิแซ็กคาไรด์จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการสกัดเพิ่มไปจนถึง 1.5 h ซึ่งเมื่อเพิ่มเวลาการสกัด ส่งผลให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆจนถึงสภาวะที่สมดุล ผลกระทบของอุณหภูมิการสกัดเมื่อกำหนดให้อัตราส่วนน้ำอยู่ 30 : 1 ml g^{-1} ขณะที่เวลาการสกัด 1 h ปริมาณผลผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นในช่วง 70 - 95 °C โดยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จะสูงสุดที่อุณหภูมิ 95 °C อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าอุณหภูมิการสกัดที่ 100 °C จะให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มากกว่า แต่ต้นทุนการสกัดในภาคอุตสาหกรรมค่อนข้างสูง ดังนั้นอุณหภูมิการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ในช่วงอุณหภูมิ 95 - 100 °C จึงไม่ค่อยถูกนำมาใช้ใน

ภาคอุตสาหกรรม ส่วนผลกระทบของความแตกต่างของอัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักเปลือกทับทิมไม่ค่อยส่งผลกระทบต่อปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ แต่อย่างไรก็ตามปริมาณผลผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์จะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักเปลือกทับทิมที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากอัตราการแพร่ของสารละลายเข้าสู่ในเซลล์เพิ่มขึ้นและง่ายต่อการดูดซึมและระบบการถ่ายเทมวล ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดมากที่สุดคือ เวลา อุณหภูมิ และอัตราส่วนน้ำ ตามลำดับ ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนน้ำที่อยู่ในช่วง 20 - 35 ml g^{-1} ทำให้สารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้นแต่อัตราส่วนที่มากกว่า 35 เท่า สภาวะที่เหมาะสมของการสกัดคือ เวลาการสกัด 1.9 h อุณหภูมิการสกัด 98 ℃ และอัตราส่วนน้ำต่อเปลือกทับทิมแห้ง 37 : 1 ml g^{-1} ซึ่งสภาวะดังกล่าวทำให้ได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ 10.36%

Yim et al. [31] ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของสารสกัดจากเห็ดแครง เพื่อศึกษาผลกระทบของเวลาการสกัดและอุณหภูมิการสกัดต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า อุณหภูมิการสกัดส่งผลกระทบต่อปริมาณการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH คือ เมื่อทำการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิที่สูงกว่า 42.5 ℃ ส่งผลให้ฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง แต่เมื่อทำการเพิ่มเวลาการสกัดจะทำให้ฤทธิ์การดักจับเพิ่มขึ้น เนื่องจากตัวดักจับอนุมูลอิสระเกิดการแตกสลายและอุณหภูมิที่มากกว่า 50 ℃ ยังส่งผลต่อปริมาณสารฟีนอลิกที่อยู่ในพืชเกิดการแตกสลาย ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบเหล่านี้ไวต่อปริมาณความร้อนที่เพิ่มขึ้น ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดมากที่สุดคือ เวลาการสกัดและอุณหภูมิการสกัด ตามลำดับ และพบว่าเห็ดแครงมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงเมื่อเทียบกับเห็ดหอมและสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดเห็ดแครง คือเวลาการสกัด 99.5 - 290.5 min อุณหภูมิการสกัด 30.1- 54.8 ℃ เป็นสภาวะที่ให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกที่สูง

Tian et al. [32] ทำการศึกหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากตังกุยและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ กำลังคลื่นและอัตราส่วนน้ำและเวลาการสกัด ผลที่ได้คืออัตราส่วนน้ำต่อวัตถุดิบ 43.31 ml g^{-1} เวลาการสกัด 28.06 min กำลังคลื่น 396.83 W ภายใต้สภาวะการสกัดทำให้ได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ 21.89% นอกจากนั้นสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ยังมีฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระแบบซุปเปอร์ออกไซด์ไฮดรอกซิล ผลการศึกษา พบว่าปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จะเพิ่มขึ้น เมื่ออัตราส่วนน้ำเพิ่มจาก 10 - 40 ml g^{-1} และจะเริ่มลดลงเมื่ออัตราส่วนน้ำอยู่ที่ 40 - 50 ml g^{-1} เนื่องจากอัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักวัตถุดิบแห้งที่มากกว่าจะทำให้มีความหนาแน่นและความหนืดต่ำกว่าอัตราส่วนน้ำที่น้อยกว่า ส่วนเวลาการสกัด พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาการสกัดในช่วงแรกจะส่งผลให้ปริมาณสารพอลีแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้นต่อเนื่องไปจนถึง 25 min หลังจากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆ ทั้งนี้เป็นผลมาจากเวลาการสกัดที่มากจะส่งผลทำให้เกิดความร้อนเข้าไปทำลายปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ ผลของกำลังคลื่นอัตราโซนิคต่อปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่ากำลังคลื่นอัตราซาวน์ที่สูงจะทำให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้น แต่เมื่อใช้กำลังคลื่นที่มากกว่า 400 W ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จะลดลง เป็นผลมา

จากกำลังคลื่นอัลตร้าโซนิคที่มากเกินไปจะไปทำให้เกิดการทำลายสารพอลิแซ็กคาไรด์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่า ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากตังกุย ได้แก่ อัตราส่วนน้ำกำลังคลื่นอัลตร้าโซนิค และเวลาการสกัด และนอกจากนี้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์ โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จะทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากตังกุย สามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นอาหารทางเลือกหรือยารักษาโรคที่มีคุณสมบัติเด่นในเรื่องการต้านอนุมูลอิสระ แต่ต้องผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ก่อนการนำไปใช้

Chen et al. [33] ได้ศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากไมซีเลียมของเห็ดพอร์ชินีด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค ปัจจัยที่ศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ อัตราส่วนน้ำต่อไมซีเลียมแห้ง เวลาการสกัด และอุณหภูมิการสกัด ผลที่ได้คือ ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จะเพิ่มขึ้นเมื่อทำการเพิ่มอัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักไมซีเลียมแห้ง และการถ่ายเทมวลจะเริ่มเข้าสู่สมดุลที่อัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักไมซีเลียมแห้ง 50 : 1 ml g^{-1} โดยปริมาณผลผลิตของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ 14.1% จากการศึกษานี้พบว่า อัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักไมซีเลียมแห้ง 1:40 - 1:60 g ml^{-1} ส่วนผลกระทบของระยะเวลาการสกัด พบว่า เมื่อเวลาการสกัดที่เพิ่มมากขึ้นไม่ค่อยมีผลกระทบมากนักต่อปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ โดยเวลาที่เหมาะสมคือ 8 min ส่วนอุณหภูมิมีผลกระทบต่อปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ คือ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิระหว่าง 40 °C ถึง 60 °C ทำให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้นแต่เมื่ออุณหภูมิที่มากกว่า 60 °C จะทำให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เริ่มลดลงตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นเพราะว่าอุณหภูมิการสกัดทั่วไปจะใช้ความร้อนไม่เกิน 70 °C แต่เมื่อใช้คลื่นอัตราโซนิคจะใช้ความร้อนที่ต่ำกว่า ผลของปัจจัยที่ศึกษาพบว่า อุณหภูมิการสกัดส่ งผลกระทบต่อปริมาณการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์มากที่สุด รองลงมาคือ เวลาการสกัด และอัตราส่วนน้ำต่อไมซีเลียมแห้ง ตามลำดับ และปัจจัยร่วมระหว่างอุณหภูมิการสกัดกับอัตราส่วนน้ำต่อไมซีเลียมมีผลกระทบต่อปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากไมซีเลียมพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดคือ 56.06 °C เวลาการสกัด 8.38 min และอัตราส่วนน้ำต่อไมซีเลียมแห้งคือ 1:53 g ml^{-1} ทำให้ได้เปอร์เซนต์ปริมาณผลผลิต 15.48 % ซึ่งมากกว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากเห็ด Bachu ถึง 10% ดังนั้นวิธีนี้ให้ประสิทธิภาพการสกัดที่ค่อนค้างสูงถึง 15.48%

Ri et al. [34] ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Polygonatum odoratum* โดยใช้การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ เนื่องจากสารพอลิแซ็กคาไรด์มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอก แสดงให้เห็นปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยคลื่นไมโครเวฟ คือ อุณหภูมิการสกัดและกำลังของคลื่นไมโครเวฟ ส่วนอัตราส่วนน้ำต่อวัตถุดิบมีผลเพียงเล็กน้อย จากการศึกษาความแตกต่างของอุณหภูมิต่อผลกระทบของปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ช่วง 30 - 70 °C โดยใช้อัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักวัตถุดิบอยู่ที่ 20 : 1 ml g^{-1} คลื่นไมโครเวฟ 200 W ระยะเวลาการสกัด 10 min

พบว่า อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในช่วง 40 - 50 °C เป็นช่วงที่ให้สารพอลิแซ็กคาไรด์สูง ดังนั้นจะเห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสกัดคือ 50 °C และเมื่อทำการศึกษาความแตกต่างของอัตราส่วนน้ำต่อวัตถุดิบโดยกำหนดให้อุณหภูมิการสกัดอยู่ที่ 50 °C กำลังไฟ 200 W เวลาการสกัด 10 min จะเป็นจุดที่ให้ค่าปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดที่อัตราส่วนน้ำ 20 : 1 ml g^{-1} แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนน้ำที่มากกว่า 20 : 1 ml g^{-1} จะทำให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ลดลง ส่วนผลกระทบของกำลังคลื่นไมโครเวฟต่อปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่า กำลังคลื่นไมโครเวฟที่เหมาะสมจะอยู่ที่ 300 W โดยเมื่อทำการเพิ่มกำลังไฟจะทำให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้นส่วนผลกระทบของเวลาการสกัด พบว่า เมื่อเพิ่มเวลาการสกัดจะทำให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์มากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเมื่อการสกัดเข้าสู่สภาวะสมดุล เวลาจึงไม่มีผลกระทบต่อการสกัด

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ศึกษา

เห็ดหูหนูดำ (*Auricularia polytricha*) ที่ใช้ในการศึกษาเป็นเห็ดหูหนูดำสดที่ซื้อจากฟาร์มในเครือกรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

3.1.2 สารเคมี

1) Phenol
2) Conc. sulfuric acid
3) Glucose
4) Folin - Ciocalteu
5) Sodium bicarbonate ($NaHCO_3$)
6) Gaclic acid
7) 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
8) Ethanol
9) 3-tert-Butyl-4-hydroxyanisole (BHA)
10) Tripyridyltriazine (TPTZ)
11) Hydrogen chloride (HCl)
12) Iron(III) chloride hexahydrate ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)
13) Sodium acetate buffer
14) Acetic acid
15) 6-tert-Butyl-4-hydroxyanisole (Trolox)
16) Sodium acetate buffer
17) Pyprocetechol violet
19) Copper(II) Sulfate Pentahydrate ($CuSO_4$ X $5H_2O$)
20) Ethylene diaminetetraacetic acid disodium salt (EDTA)

3.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

1) ถุงบรรจุภัณฑ์โพลีเอธิลิน

2) เครื่องบดแบบละเอียด (Sun FM-60, Sunk.co.jp, Japan)

3) เครื่องอบแห้งแบบถาด (Electric Convention Dryer, Kluay Nam Thai Trading Group Co., Ltd., Thailand)

4) ตะแกรงร่อนคัดขนาด (Woven wire, Engecotts, UK)

5) เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง (CP3202S, Sartorius AG, Germany)

6) เครื่องอัลตร้าโซนิค (CP2600, Crest Ultrasonics Corporation, USA)

7) เครื่องผสมแบบโฮโมจิไนซ์ (T25 ULTRA-TURRAX, IKA-Works, Germany)

8) เครื่องเซนติฟิวส์หมุนเหวี่ยง (Model 3700, KUBOTA Corporation, Japan)

9) เครื่องเขย่า (PRO VSM-3 PRO, Scientific Inc., USA)

10) เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (Sartorius Analytical Balance, Sartorius AG, Germany)

11) ตู้อบระบบลมร้อน (Universal Oven UNB, Memmert GmbH, Germany)

12) ออโตปิเปตและทิป

13) เครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์ (UV-1601, SHIMADZU Corporation, Japan)

14) เครื่องวัดสี (Datacolor SF 600 PLUS, Datacolor, USA)

15) เครื่องวัดพีเอช (Docu-pH meter, Sartorius AG, Germany)

16) บีกเกอร์

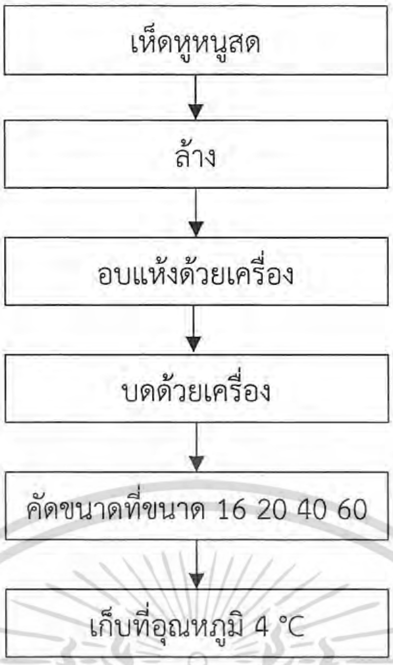
17) หลอดทดลอง

18) หลอดพลาสติก

19) อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Waterbath WNE 14 with M00 Shaker, Memmert GmbH, Germany)

3.2 การเตรียมวัตถุดิบ

เห็ดหูหนูดำ นำมาล้างและอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 11 h หรืออบจนมีความชื้นฐานแห้งเริ่มต้น 1% นำเห็ดหูหนูดำมาบดละเอียดด้วยเครื่องบดแบบหยาบ แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 16 20 40 60 mesh โดยส่วนที่เหลือบนตะแกรงจะถูกบดซ้ำอีกครั้ง ตัวอย่างที่ผ่านการบดถูกเก็บในถุงพลาสติกโพลีเอธิลีนปิดสนิท ก่อนนำมาใช้ทดลองในลำดับถัดไป



รูปที่ 3.1 แผนผังขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

3.3 การสกัด

3.3.1 ขั้นตอนการสกัดเปรียบเทียบการสกัดแบบดั้งเดิมและด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

3.3.1.1 เปรียบเทียบวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมกับการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

นำผงเห็ดขนาด 16 mesh ที่ได้มาเติมน้ำที่อัตราส่วนเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำ 1:20 1:25 และ 1:30 w v^{-1} จากนั้นนำมาปั่นด้วยเครื่องโฮโมจิไนซ์ที่ความเร็ว 13,500 rpm min^{-1} เป็นเวลา 2 min ก่อนนำมาสกัดด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิคที่ความถี่ 45 kHz และสกัดแบบดั้งเดิมด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C ทำการเก็บตัวอย่างสารสกัดเป็นเวลา 3 h เมื่อหลังจากสิ้นสุดกระบวนการสกัดมีการนำตัวอย่างที่สกัดได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนติฟิวส์ที่ 10,000 x g เป็นเวลา 30 min หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างส่วนใสใส่ขวดแก้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟูริกต่อไป

3.3.1.2 แบบจำลองจลนพลศาสตร์ของการสกัด

นำผงเห็ดที่ได้มาเติมน้ำที่อัตราส่วนเห็ดผงต่อปริมาณน้ำที่ 1:20 1:25 และ 1:30 w v^{-1} จากนั้นนำมาปั่นด้วยเครื่องโฮโมจิไนซ์ที่ความเร็ว 13,500 rpm min^{-1} เป็นเวลา 2 min ก่อนนำมาสกัดด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิคที่ความถี่ 45 kHz ที่อุณหภูมิ 80 °C ทำการเก็บตัวอย่างสารสกัดทุก 15 min จนกว่าจะเข้าสู่สภาวะสมดุล หลังจากสิ้นสุดกระบวนการสกัดนำตัวอย่างที่สกัดได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนติฟิวส์ 10,000 x g เป็นเวลา 30 min หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างส่วนใสใส่ขวดแก้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟูริกต่อไป ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์จากสมการที่ 3 [11]

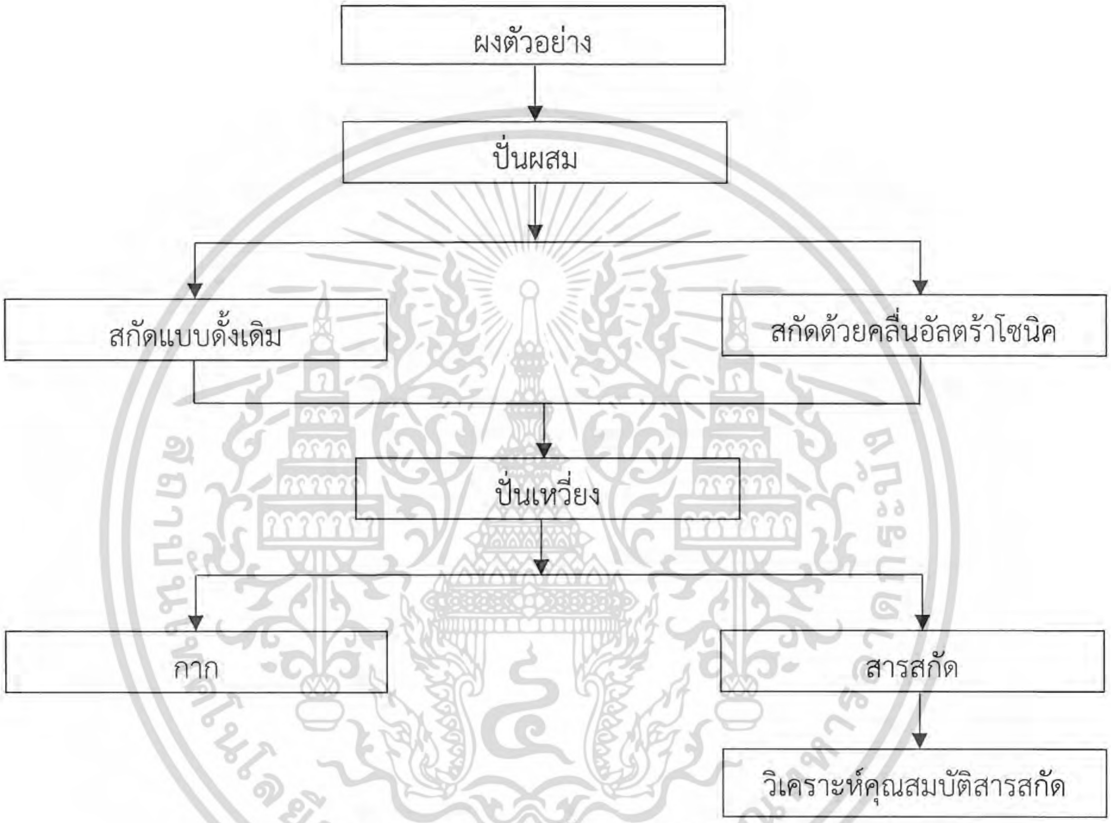
$$1 - \frac{C_c}{C_{cs}} = e^{-kt} \qquad (3)$$

เมื่อ C_c = ปริมาณสารพอลิแซ็คคาไรด์ที่เวลาใด ๆ

C_{cs} = ปริมาณสารพอลิแซ็คคาไรด์ที่เวลาสมดุล

k = ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (min^{-1})

w = อัตราส่วนน้ำ: เห็ดหูหนูดำแห้งโดยน้ำหนัก


ผงตัวอย่าง
ปั่นผสม
สกัดแบบดั้งเดิม
สกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค
ปั่นเหวี่ยง
กาก
สารสกัด
วิเคราะห์คุณสมบัติสารสกัด

รูปที่ 3.2 แผนผังขั้นตอนการสกัด

3.3.2 ผลกระทบตัวแปรการสกัดและการหาสภาวะที่เหมาะสมของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

นำเห็ดหูหนูดำแห้งที่เตรียมไว้แล้วมาเติมน้ำด้วยอัตราส่วนเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำเท่ากับ 1:20 w v^{-1} จากนั้นนำมาปั่นด้วยเครื่องผสมแบบโฮโมจิไนซ์ที่ความเร็ว 13,500 rpm เป็นเวลา 2 min ก่อนนำมาสกัดด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิคที่ความถี่ 45 kHz ปรับค่าอุณหภูมิและเวลาตามแผนการทดลอง เมื่อสิ้นสุดกระบวนการสกัด นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนติฟิวส์ที่ความเร็วรอบ 10,000 x g เป็นเวลา 30 min แยกส่วนใสใส่ขวดแก้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C ก่อนนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติสารสกัดที่ได้

3.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติของวัตถุดิบและสารสกัด

3.4.1 ความชื้น

ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 3 g ในกระดาษฟรอยอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 105 ℃ ด้วยเครื่องอบแห้งลมร้อน และนำมาทำให้เย็นในโถไล่ดูดความชื้น ก่อนนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง และคำนวณปริมาณความชื้นดังสมการที่ 4 [35]

$$\%\ \text{ความชื้น} = \frac{(W_2 - W_3)}{(W_2 - W_1)} \times 100 \qquad (4)$$

W_1 = มวลของกระดาษฟรอย (g)

W_2 = มวลของกระดาษฟรอยและตัวอยางกอนอบ (g)

W_3 = มวลของกระดาษฟรอยที่และตัวอยางหลังอบ (g)

3.4.2 สารพอลิแซ็กคาไรด์

การวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ใช้วิธีฟีนอล-กรดซัลฟูริก [36] โดยการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสีด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตรมิเตอร์ของน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่เกิดขึ้นในตัวอย่าง ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับฟีนอลและซัลฟูริกเข้มข้นจะให้สารสีส้มไปจนถึงสีเหลือง ซึ่งเป็นปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากสารสกัดเห็ดหูหนูดำ ผลการทดลองที่ได้รายงานผลในหน่วย g $100g^{-1}$ ของน้ำหนักแห้ง ตัวอย่างทั้งหมดทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ขั้นตอนการวิเคราะห์นำสารสกัดที่ได้มาเจือจางที่ความเข้มข้นในระดับที่เหมาะสม หลังจากนั้นปิเปตตัวอย่างสารละลายมา 500 µl ผสมกับสารละลายฟีนอล 5% ปริมาตร 500 µl จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 2.5 ml นำไปเขย่าให้เข้ากัน และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 min และแช่ในน้ำที่อุณหภูมิห้อง 20 min จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 nm การคำนวณปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ โดยนำไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายมาตราฐาน ซึ่งในการศึกษานี้ใช้กลูโคสเป็นสารละลายมาตรฐาน

3.4.3 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก วิเคราะห์ตามวิธีของ Singleton et al. [37] นำสารสกัดที่ได้ปริมาตร 100 µl ผสมกับสารละลายโฟลินซิโอคาลตู 0.2 N (0.2 N Folin–Ciocalteu) ปริมาตร 625 µl จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 340 µl ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 min จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนต 7.5 % ปริมาตร 500 µl เขย่าให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิ 40 ℃ เป็นเวลา 30 min และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้โดยเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐาน

3.4.4 ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ดัดแปลงตามวิธีของ Saiga et al. [38] นำสารสกัดที่ได้ปริมาตร 100 µl ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 mM ที่ละลายในเอทานอลปริมาตร 1.5 µl ตั้งทิ้งไว้ที่มืดจับเวลาที่แน่นอน 60 min วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nmนำคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการต้านอนุมูลอิสระและเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายบีเอสเอ (BHA) มาตรฐาน ดังสมการที่ 5 [38]

$$\%\ \text{Radical-scavenging activity} = \frac{(B - A) \times 100}{B} \qquad (5)$$

เมื่อ A และ B เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของตัวอย่าง

3.4.5 ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP

หลักการของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อนของเฟอร์ริก $[Fe(III)(TPTZ)^2]^{3+}$ ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเฟอร์รัส $[Fe(II)(TPTZ)^2]^{2+}$ จากสารละลายสีเหลืองจะถูกเปลี่ยนเป็นสารละลายสีน้ำเงินที่เข้มขึ้น ปริมาณของ $[Fe(II)(TPTZ)^2]^{2+}$ ที่เกิดขึ้น การตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์ที่มากขึ้นและความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันมากขึ้นตาม นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์

วิธี FRAP วิเคราะห์ตามวิธี Benzie et al. [39] ดัดแปลงเล็กน้อย ดังนี้ เตรียมสาร FRAP reagent โดยนำสารละลาย Tripyridyltriazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 mM ปริมาตร 2.5 ml กับสารละลาย $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ความเข้มข้น 20 mM ปริมาตร 2.5 ml และสารละลายอะซิเตท (Acetate) ความเข้มข้น 300 mM ปริมาตร 25 ml บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C หลังจากนั้นปิเปตตัวอย่างปริมาตร 200 µl และเติมสาร FRAP reagent ที่เตรียมไว้ปริมาตร 1.8 ml แล้วจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 15 min จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm คำนวณความสามารถในการรีดิวซ์ โดยใช้สารละลายโทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน

3.4.6 ทดสอบความสามารถในการจับโลหะคอปเปอร์ [38]

นำสารละลายโซเดียมอะซิเตดบัฟเฟอร์ (Na acetate buffer) ความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 2.3 ml ผสมกับสารละลาย Pyrocetechol violet ความเข้มข้น 4 mM ปริมาตร 60 µl เขย่าให้เข้ากันแล้วเติมสารละลาย $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ปริมาตร 100 µl หลังจากนั้นเติมสารสกัดที่ได้ปริมาตร 500 µl นำไปผสมให้เข้ากันและนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 632 nm คำนวณเปอร์เซนต์ความสามารถในการจับโลหะคอปเปอร์ ตามสมการที่ 6 [38] และใช้สารละลายอีดีทีเอ (EDTA) เป็นสารมาตรฐาน

$$\%\,\text{Copper chelating activity} = \frac{(B - A) \times 100}{B} \qquad (6)$$

เมื่อ A และ B เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 632 nm ของตัวอย่าง

3.4.7 ค่าสี

สารสกัดวัดสีใชค่าสีระบบ CIE (L* a* b*) ด้วยเครื่องวัดสีรุ่น Datacolor SF 600 PLUS ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณคาการเปลี่ยนแปลงของสี (ΔE) ตามสมการของ Sharma et al. [40] แสดงดังสมการที่ 7

$$\Delta E = \sqrt{(L_1^*-L_2^*)^2+(a_1^*-a_2^*)^2+(b_1^*-b_2^*)^2} \qquad (7)$$

L_1^* = ค่าความสว่างของตัวอย่างสารสกัด

L_2^* = ค่าความสว่างของตัวอย่างมาตราฐาน

a_1^* = ค่าสีแดงของตัวอย่างสารสกัด

a_2^* = ค่าสีแดงของตัวอย่างมาตราฐาน

b_1^* = ค่าสีเหลืองของตัวอย่างสารสกัด

b_2^* = ค่าสีเหลืองของตัวอย่างมาตราฐาน

3.4.8 ค่าพีเอช

สารสกัดวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์รุ่น Sartorius Docu-pH meter

3.5 การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.5.1 เปรียบเทียบวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมกับการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

ศึกษาผลกระทบของอัตราส่วนเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่ใช้ในการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยน้ำร้อนโดยใช้การทดลองแบบ full factorial design โดยใช้อุณหภูมิการสกัด 80 °C ภายใต้อัตราส่วนเห็ดหูหนูแห้งกับน้ำ 3 ระดับ คือ 1:20 1:25 และ 1:30 w v^{-1} วิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ โดยการทดลองทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.5.2 แบบจำลองจลนพลศาสตร์ของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

การถ่ายเทมวลระหว่างการสกัดสารพอลิแซคคาร์ไรด์เกิดจากการเคลื่อนที่จากเฟสของแข็งไปยังเฟสของเหลวซึ่งเป็นตัวชี้อัตราการการสกัดที่เกิดขึ้น โดยมีการเคลื่อนที่จากความเข้มข้นสูงไปยังความเข้มข้นต่ำ ซึ่งมีสมการอธิบายได้จากสมการของ Fick’s Law แสดงดังสมการที่ 8 [11]

$$\frac{N_c}{A_T} = -D_{Bc}\frac{dCc}{dz} \qquad (8)$$

N_c คือ อัตราการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของตัวถูกละลายหน่วยกิโลกรัมต่อวินาที (kg sec^{-1})

A_T คือ พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างเฟสของแข็งและของเหลวหน่วยตารางเมตร (m^2)

D_{Bc} คือ ค่าสัมประสิทธิ์ของการแพร่ของตัวทำละลายและตัวถูกละลายหรือค่าสัมประสิทธิ์การแพร่หน่วยตารางเมตรต่อวิmin ($m^2\ sec^{-1}$)

C_c คือ ความเข้มข้นของสารของตัวถูกละลายในสารละลายหน่วยกิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร (kg m^{-3})

Z คือ ความพรุนของวัสดุหรือระยะห่างของรูพรุนในเนื้อวัตถุดิบหน่วยเมตร (m)

3.5.3 ผลกระทบตัวแปรการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำ

การทดลองเพื่อศึกษาผลกระทบของปัจจัยการสกัดเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค ใช้แผนการทดลองแบบบ๊อกซ์ - เบห์นเคน (Box-Behnken) ปัจจัยที่ศึกษาประกอบด้วย 3 ปัจจัย แต่ละปัจจัยแบ่งเป็น 3 ระดับ คือ อุณหภูมิการสกัด ระยะเวลาการสกัดและขนาดของเห็ดหูหนูดำแห้ง แสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 การออกแบบการทดลองแบบบ๊อกเบเคนซ์ (Box-Behnken design)

ปัจจัย		ระดับ		
		-1	0	1
ขนาดของเห็ดหูหนูแห้ง (mesh)	X_1	20	40	60
อุณหภูมิการสกัด (°C)	X_2	45	60	75
ระยะเวลาในการสกัด (h)	X_3	3.0	4.5	6.0

3.5.4 การหาสภาวะที่เหมาะสมของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

การเลือกสภาวะที่เหมาะสมใช้เกณฑ์กำหนดปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ค่าความสามารถในการรีดิวซ์และค่าความสามารถในการจับโลหะคอปเปอร์

นำผลการทดลองที่ได้นำมาวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนองด้วยโปรแกรม MATLAB และอาศัยสมการโพลีโนเมียลอันดับสอง [31] โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel 2010 เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษากับคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i X_i + \sum_{ij=1}^{k} \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} x_i^2 \qquad (9)$$

3.5.5 วิเคราะห์ผลทางสถิติของสารสกัด

วิเคราะห์ผลทางสถิติวิเคราะห์แบบ Full Factorial design แล้ววิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan’s New Multiple’s Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรม SPSS

บทที่ 4

ผลการทดลองและการอภิปรายผล

จากการนำเห็ดหูหนูดำสายพันธุ์ *Auricularia polytricha* จากฟาร์มในเครือของกรมวิชาการเกษตรมาวิเคราะห์ พบว่า เห็ดหูหนูดำสดมีค่าความชื้นเริ่มต้น 85.7% หลังผ่านการอบแห้งเป็นระยะเวลา 11 h ปริมาณความชื้นลดลงเหลือ 1.2% และนำตัวอย่างเห็ดหูหนูดำแห้งไปบดลดขนาด ก่อนนำไปสู่ขั้นตอนการสกัด โดยแบ่งการศึกษาการสกัดออกเป็น 2 ส่วนสำคัญ คือ 1) ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมหรือการสกัดด้วยน้ำร้อนแบบธรรมดากับการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค และสร้างสมการจลนพลศาสตร์เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างสารพอลิแซคคาไรด์ที่ได้กับอัตราส่วนน้ำที่ใช้และระยะเวลาการสกัด และ 2) ศึกษาผลกระทบของปัจจัยการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคและหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

4.1 ผลการเปรียบเทียบวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมกับการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

ในงานวิจัยนี้ทดลองศึกษาเปรียบเทียบโดยวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดคือ สารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหูหนูดำ โดยเปรียบเทียบวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและวิธีสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคที่ความถี่คลื่น 45 kHz การสกัดทั้ง 2 วิธีนี้ใช้ขนาดเห็ดหูหนูดำ 16 mesh เวลาการสกัด 3 h ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่อุณหภูมิการสกัด 80 °C นอกจากนั้นศึกษาเปรียบเทียบปรับค่าอัตราส่วนน้ำหนักเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่ระดับต่าง ๆ (1:20 1:25 และ 1:30 $w\ v^{-1}$) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1

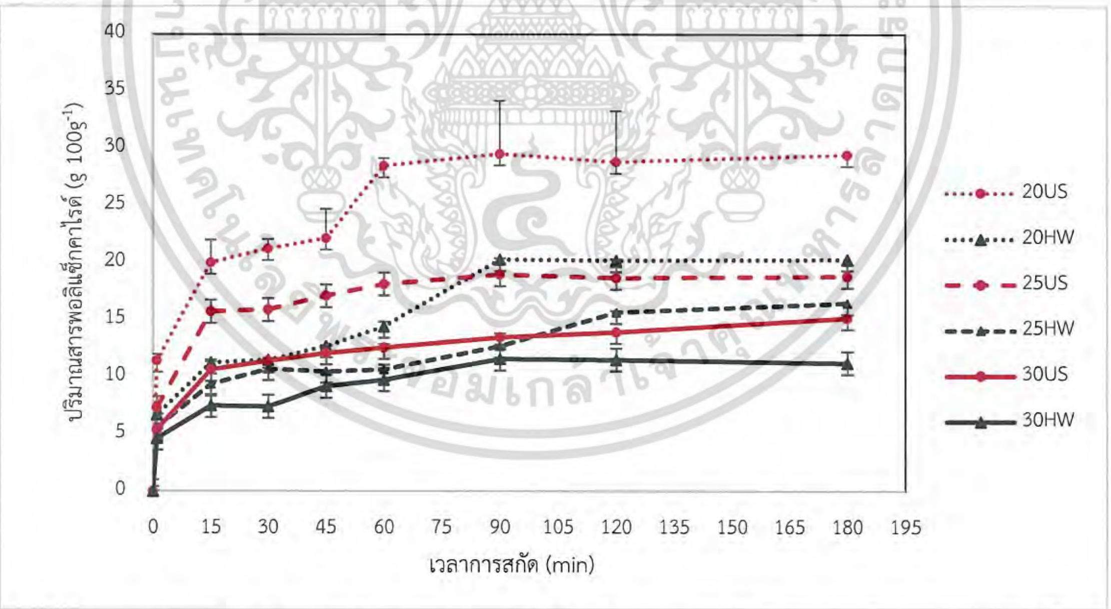
ตารางที่ 4.1 แสดงผลการเปรียบเทียบปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่วิธีการสกัดที่ต่างกัน

ชนิด การสกัด	อัตราส่วน ($w\ v^{-1}$)	เวลาการสกัด (h)		
		1	2	3
HW	1 : 20	15.77 ± 1.36^{efg}	17.48 ± 0.51^{efgh}	19.70 ± 1.09^{c}
	1 : 25	10.33 ± 0.38^{ab}	15.11 ± 1.23^{cdef}	16.81 ± 0.76^{cb}
	1 : 30	9.51 ± 0.28^{a}	11.74 ± 0.24^{abc}	11.98 ± 0.75^{a}
US	1 : 20	28.32 ± 1.48^{i}	28.29 ± 2.22^{i}	29.45 ± 2.86^{d}
	1 : 25	17.79 ± 0.65^{fgh}	18.66 ± 0.79^{fgh}	20.16 ± 0.35^{h}
	1 : 30	12.62 ± 0.67^{abcd}	13.59 ± 0.40^{bcd}	15.00 ± 1.66^{cde}

สัญลักษณ์ที่ใช้ HW = การสกัดแบบดั้งเดิม
US = การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

จากการเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค พบว่า ทั้งสองวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคให้ประสิทธิภาพการสกัดที่ดีกว่าการสกัดแบบดั้งเดิม ทั้งนี้เนื่องจากการ

ใชคลื่นเหนือเสียงหรือคลื่นอัลตร้าโซนิคช่วยในการสกัด มีลักษณะการเคลื่อนที่ของคลื่นที่เกิดการขยายตัวและบีบอัดด้วยความถี่สูง เกิดเป็นฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากที่ไปกระทบกับผนังเซลลของเห็ด ทำให้เกิดการปลดปลอยพลังงานปริมาณมาก ที่บริเวณผนังเซลลเปนช่องว่างโพรงอากาศหรือที่เรียกว่า ปรากฏการณ์การเกิดแคปวิเตชั่น (cavitation) ซึ่งทำให้บริเวณผนังเซลล์นั้นมีความดันและอุณหภูมิสูง เกิดความปนปวน ซึ่งชวยเพิ่มอัตราการถายโอนมวลและสงผลให้ตัวถูกละลายในวัตถุดิบละลายออกมาอยูในตัวทำละลายไดมากขึ้น [24] และอัตราส่วนเห็ดหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำส่งผลกระทบต่อการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ โดยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่อัตราส่วนน้ำหนักเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่ 1:20 1: 25 และ 1:30 w v^{-1} สามารถเพิ่มปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์เฉลี่ยได้มากกว่าการสกัดแบบดั้งเดิมถึง 1.67 1.47 และ 1.32 เท่าตามลำดับ (ภาคผนวก ข.2) ซึ่งอัตราส่วนเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่ 1:20 w v^{-1} ให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มากที่สุด ดังนั้นเห็นได้ว่า อัตราส่วนเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่อัตราส่วนน้ำที่น้อยกว่าให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สูงกว่าอัตราส่วนเห็ดหูหนูดำต่อปริมาณน้ำที่สูง อนึ่งในการการทดลองเบื้องต้นก่อนทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดนี้ ได้ทดลองใช้อัตราส่วนน้ำเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่ต่ำกว่าที่ 1:10 w v^{-1} และ 1:15 w v^{-1} พบว่า ไม่สามารถสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ออกจากเห็ดหูหนูดำได้ เนื่องจากสารที่ได้มีความข้นหนืดมากเกินไป



รูปที่ 4.1 กราฟเปรียบเทียบค่าปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำระหว่างการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคที่เวลาต่างๆ

สัญลักษณ์ที่ใช้ HW = การสกัดแบบดั้งเดิม

US = การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

20, 25, 30 = อัตราส่วนน้ำหนักเห็ดหูหนูแห้งต่อปริมาณน้ำ (1:xx w v^{-1})

จากรูปที่ 4.1 แสดงการอัตราการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคในช่วงเวลาต่างๆ ตลอดระยะเวลาการสกัดที่ 3 h ซึ่งพบว่า การเปลี่ยนแปลงในช่วงต้นของการสกัดมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้อย่างรวดเร็วหรืออัตราการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ค่อนข้างสูง โดยการสกัดแบบดั้งเดิมในช่วง 15 นาทีแรก พบว่า อัตราส่วนเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่มีอัตราการสกัดสูงสุดคือ 1:20 w v^{-1} รองลงมาคือ 1:25 และ 1:30 w v^{-1} โดยอัตราการสกัดอยู่ 0.31 0.25 0.19 g 100 g x min^{-1} ตามลำดับ ส่วนการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคในช่วง 15 นาทีแรก พบว่า อัตราส่วนเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำมีอัตราการสกัดสูงสุดคือ 1:20 w v^{-1} รองลงมาคือ 1:25 และ 1:30 w v^{-1} เช่นกัน โดยอัตราการสกัดอยู่ 0.57 0.56 0.34 g 100 g x min^{-1} ตามลำดับ จากนั้นการอัตราการสกัดของสารพอลิแซ็กคาไรด์ค่อย ๆ ลดลงตามระยะเวลาการสกัดและมีแนวโน้มเริ่มเข้าสู่ช่วงสมดุลของการสกัด

ดังนั้นสรุปได้ว่า การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคที่ความถี่ 45 kHz มาใช้ในการสกัดเห็ดหูหนูดำ พบว่า ช่วยเพิ่มปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เฉลี่ยได้สูงกว่าวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมประมาณ 1.5 เท่า ผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานวิจัยการสกัดสารชีวภาพจากพืชด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคที่ให้ประสิทธิภาพการสกัดดีกว่าการสกัดด้วยวิธีอื่นๆ เช่น การศึกษาของ Tian et al. [28] ซึ่งได้ศึกษาการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดกระดุมขาวด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค และพบว่าการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ สามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ให้สูงขึ้น อีกทั้งยังใช้เวลาการสกัดที่สั้นกว่าและใช้อุณหภูมิการสกัดที่ต่ำกว่าการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ นอกจากนั้นการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคยังสิ้นเปลืองพลังงานและอุณหภูมิการสกัดที่น้อยกว่าการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟอีกด้วย นอกจากนั้นยังมีรายงานของ Gonzalez - Centeno et al. [26] ซึ่งได้ทำการศึกษาผลกระทบของกำลังคลื่นอัลตร้าโซนิคต่อสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระและศึกษาจลนพลศาสตร์ของการสกัดกากองุ่นด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค ผลที่ได้จากการนำคลื่นอัลตร้าโซนิคมาประยุกต์ใช้ในการสกัดกากองุ่น สามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตเมื่อทำการเปรียบเทียบด้วยการสกัดแบบดั้งเดิม นอกจากนั้นยังพบว่า ผลกระทบปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระจากองุ่น ได้แก่ กำลังคลื่นอัลตร้าโซนิคและอุณหภูมิการสกัด

อัตราส่วนน้ำหนักเห็ดหูหนูดำต่อปริมาณสารสกัดที่เหมาะสมต่อการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำคือ 1:20 w v^{-1} อย่างไรก็ตามผลการทดลองที่ได้ตรงกันข้ามการศึกษาของ Tian et al. [32] ที่พบว่า การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากตังกุยที่อัตราส่วนน้ำหนักวัตถุดิบแห้งต่อปริมาณน้ำที่อัตราส่วนที่สูง ส่งผลต่อค่าความหนาแน่นและความหนืดที่ต่ำกว่าอัตราส่วนน้ำต่อน้ำหนักวัตถุดิบที่น้อยกว่า ทำให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มากกว่า แต่ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหูหนูดำ มีการใช้คลื่นความถี่ที่สูงกว่า 20 kHz อาจส่งผลทำให้โครงสร้างของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้แตกสลายและเสียสภาพไปด้วย [8] ทำให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จาก

เอกสาร[illegible]ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราส่วนน้ำหนักวัตถุดิบต่อปริมาณน้ำในอัตราส่วนที่สูง มีสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่น้อยกว่า และประสิทธิภาพของการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคยังขึ้นกับโครงสร้างของเห็ดและขนาดของเห็ดชนิดนั้นๆ ด้วย [41]

4.2 ผลของจลนพลศาตร์ของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

จากการทดลองการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคของเห็ดหูหนูดำพบว่า การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคให้ประสิทธิภาพการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดีกว่าการสกัดแบบดั้งเดิม ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาผลทางจลนพลศาตร์ของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค ที่อัตราส่วนของเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่ใช้ในช่วง 1:20 1:25 1:30 w v^{-1} โดยมีอุณหภูมิการสกัด 80 ℃ ขนาดเห็ดหูหนูดำ 16 mesh ระยะเวลาสกัด 8 h

จากผลการศึกษาจลนพลศาตร์ของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหูหนูดำพบว่า ค่าของปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มสูงขึ้นในช่วงต้นของการสกัดไปจนถึงระยะเวลาการสกัดที่ 60 min จากนั้นอัตราการเพิ่มของสารพอลิแซ็กคาไรด์มีค่าลดลงเมื่อเวลาการสกัดเพิ่มขึ้นจนกระทั่งเข้าสู่สภาวะสมดุล โดยใช้เวลาการสกัดนาน 8 h ซึ่งอัตราส่วนน้ำหนักเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่ 1:20 w v^{-1} ให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงที่สุด ซึ่งการถ่ายเทมวลระหว่างการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์เกิดจากการเคลื่อนที่จากเฟสของแข็งไปยังเฟสของเหลวเป็นตัวชี้อัตราการการสกัดที่เกิดขึ้น โดยมีการเคลื่อนที่จากความเข้มข้นสูงไปยังความเข้มข้นต่ำ โดยมีสมการอธิบายได้จากสมการของ Fick’s Law (สมการที่ 8) [11] โดยอัตราการถ่ายเทมวลระหว่างผิวสัมผัสที่เกิดขึ้นระหว่างการสกัดสามารถอธิบายได้โดยสมการเริ่มต้น ดังต่อไปนี้

$$N_C = \frac{V_d C_c}{dt} = A_T k_L (C_{cs}-C_c) \tag{10}$$

อินทิเกรตจาก t = 0 และ $C_c = C_{c0}$ ถึง t = t และ $C_c = C_c$

$$\int_{c_0}^{C_c} \frac{dCc}{C_{cs} - C_0} = \frac{Ak_L}{v} \int_{t=0}^{t} dt \tag{11}$$

$$\frac{C_{cs} - C_c}{C_{cs} - C_{c0}} = e^{-\left(\frac{k_L A}{v}\right)t} \tag{12}$$

$$\ln\left(\frac{C_{cs}\text{-}C_c}{C_{cs}\text{-}C_{c0}}\right) = -\left(\frac{k_L A}{v}\right)t \quad ; \quad \left(\frac{k_L A}{v}\right) = k \tag{13}$$

$$\ln\left(\frac{C_c - C_{cs}}{C_{c0} - C_{cs}}\right) = kt \tag{14}$$

โดยค่าสัมประสิทธิ์การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค สามารถตั้งสมมุติฐานในการทำนายปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้กับระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดในรูปแบบสมการเอกซ์โปแนนเชียลที่อัตราส่วนน้ำหนักเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่แตกต่างกัน ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์ของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค สามารถคำนวณได้จากค่าความชันของสมการเส้นตรงที่ทำการพลอตกราฟระหว่าง ln ของ $\frac{C_c - C_{cs}}{C_{c0} - C_{cs}}$ กับเวลา (สมการที่ 14) ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.2 และความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์ของการสกัดและอัตราส่วนน้ำหนักเห็ดหูหนูแห้งต่อปริมาณน้ำที่ใช้สกัด สามารถสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ เพื่ออธิบายปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์เป็นฟังก์ชั่นกับระยะเวลาการสกัด โดยอาศัยสมการของฟิกส์ สามารถแสดงในรูปแบบสมการเอกซ์โปแนนเชียล ได้ดังนี้ $k = -0.0002w^2 + 0.0086w - 0.1150$ ($R^2 = 0.9549$, SE. = 0.0006) โดยที่ w คือ อัตราส่วนน้ำหนักเห็ดหูหนูแห้งต่อปริมาณน้ำที่ใช้สกัด

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

อัตราส่วนน้ำหนักเห็ดหูหนูดำแห้ง ต่อปริมาณน้ำ ($w\ v^{-1}$)	ค่าความชัน (k)	R^2
1 : 20	-0.0105	0.9303
1 : 25	-0.0056	0.8010
1 : 30	-0.0083	0.9327

4.3 ผลกระทบตัวแปรการสกัดต่อคุณสมบัติต่างๆของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

จากการนำเห็ดหูหนูดำที่ผ่านการอบแห้งมาสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค ที่ความถี่ 45 kHz โดยใช้อัตราส่วนน้ำหนักเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่ 1:20 $w\ v^{-1}$ ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหูหนูดำที่ได้จากผลการทดลองที่ 4.1 และปรับค่าตัวแปรการสกัด ซึ่งประกอบด้วย ขนาดของเห็ดหูหนูดำแห้ง อุณหภูมิการสกัด และระยะเวลาการสกัด ตามแผนการทดลอง (ตารางที่ 3.1) หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของสารสกัด เช่น ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ค่าความสามารถในการรีดิวซ์ และค่าความสามารถในการจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ จากนั้นนำผลการวิเคราะห์ไปสร้างความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ในรูปแบบโพลิโนเมียลกำลังสองเพื่ออธิบายผลกระทบของตัวแปรที่ศึกษาต่อคุณสมบัติของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำ ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการทดลองการสกัดเห็ดหูหนูดำที่สภาวะต่างๆ

Factors				Polysac (Y_1)		TPC (Y_2)		DPPH (Y_3)		FRAP (Y_4)		MCA (Y_5)	
	X_1	X_2	X_3	Expt.	Pred.	Expt.	Pred.	Expt.	Pred.	Expt.	Pred.	Expt.	Pred.
1	20	45	4.5	5.89	5.80	1.94	1.85	47.22	41.82	3.53	3.32	12.8	14.44
2	60	45	4.5	6.00	4.42	1.72	1.63	41.90	40.39	4.32	3.92	11.45	14.51
3	20	75	4.5	11.64	12.04	1.17	1.19	19.74	20.11	5.38	5.48	10.11	9.34
4	60	75	4.5	11.76	12.24	1.44	1.55	16.28	22.06	5.46	5.78	9.86	7.45
5	40	45	3.0	4.16	4.75	1.40	1.44	40.73	41.30	3.87	4.02	14.33	13.18
6	40	45	6.0	3.07	4.15	1.62	1.76	20.33	26.67	4.12	4.59	26.55	23.00
7	40	75	3.0	10.45	9.77	1.28	1.16	15.82	9.85	5.85	5.49	12.2	14.99
8	40	75	6.0	16.55	16.35	1.14	1.13	11.38	11.19	6.58	6.53	10.72	11.10
9	20	60	3.0	6.90	7.41	1.38	1.39	21.86	30.20	5.50	4.83	10.35	12.39
10	20	60	6.0	6.89	6.49	1.74	1.72	22.97	22.60	7.67	7.57	15.2	15.97
11	20	60	3.0	7.83	7.41	1.31	1.39	33.13	30.20	3.94	4.83	16.08	12.39
12	60	60	6.0	8.70	8.22	1.79	1.68	33.04	27.26	6.71	6.39	11.01	13.42
13	40	60	4.5	6.01	6.72	1.42	1.47	21.62	30.51	6.17	6.17	10.52	10.70
14	40	60	4.5	7.02	6.72	1.28	1.47	29.34	30.51	6.03	6.17	11.76	10.70
15	40	60	4.5	6.34	6.72	1.66	1.47	39.82	30.51	6.12	6.17	11.34	10.70
R^2					0.9607		0.7042		7543.0		0.8995		0.7334
SE.					1.1380		0.2685		9.1640		0.6458		3.6335
Sig.					0.0052		0.3973		0.2888		0.4610		0.3336

หมายเหตุ:

X_1 = ขนาดเห็ดหูหนูดำแห้ง หน่วย mesh

X_2 = อุณหภูมิของการสกัด หน่วย °C

X_3 = เวลาของการสกัด หน่วย min

Y_1 = สารพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysac) หน่วย g 100 g^{-1}

Y_2 = สารประกอบฟีนอลิก (TPC) หน่วย mg GAE g^{-1}

Y_3 = ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH หน่วย %

Y_4 = ความสามารถในการรีดิวซ์ หน่วย µmoleTE g^{-1}

Y_5 = ความสามารถในการจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ หน่วย µmole EDTA g^{-1}

4.3.1 สารพอลิแซ็กคาไรด์

ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการทดลองสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำมีค่าอยู่ในช่วง 3.06 ± 0.07 ถึง 16.55 ± 0.69 g $100g^{-1}$ เมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาสร้างความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ระหว่างปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้กับขนาดเห็ดหูหนูดำ (X_1) อุณหภูมิการสกัด (X_2) และเวลาการสกัด (X_3) ผลที่ได้แสดงดังสมการ

$$Y = 58.7528 - 0.4069x_1 - 1.2989x_2 - 6.5290x_3 + 0.0040x_1x_2 + 0.0650x_1x_3 + 0.0799x_2x_3 - 0.0022x_1^2 + 0.0089x_2^2 + 0.0146x_3^2 \quad (15)$$

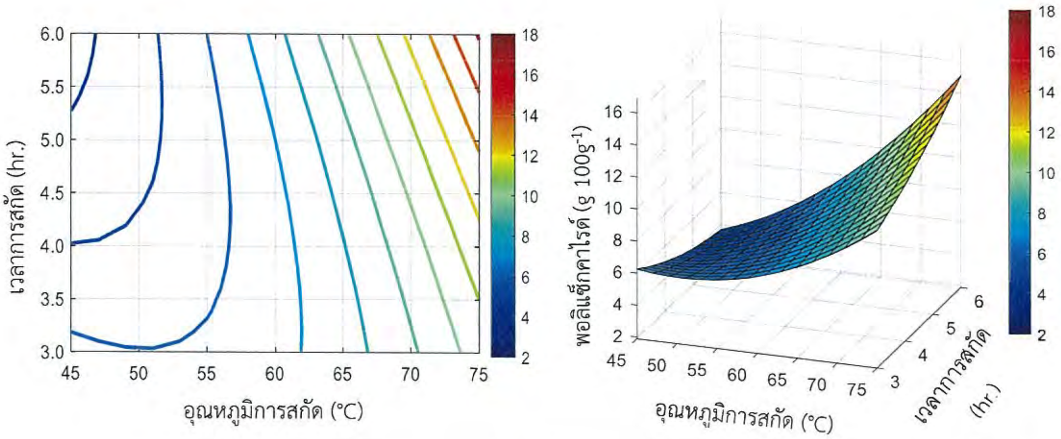
$$R^2 = 0.9607,\ SE. = 1.1380$$

จากการทดลองพบว่าลักษณะความสัมพันธ์ที่ได้ค่า R^2 และค่า SE. อยู่ในเกณฑ์ที่ดี ซึ่งสมการมีความเชื่อมั่นที่ $p < 0.001$ เมื่อนำสมการข้างต้นที่ได้มาสร้างกราฟพื้นผิวตอบสนองของปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของสารพอลิแซ็กคาไรด์ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำที่สภาวะต่างๆ (รูปที่ 4.2) และศึกษาผลกระทบของปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์

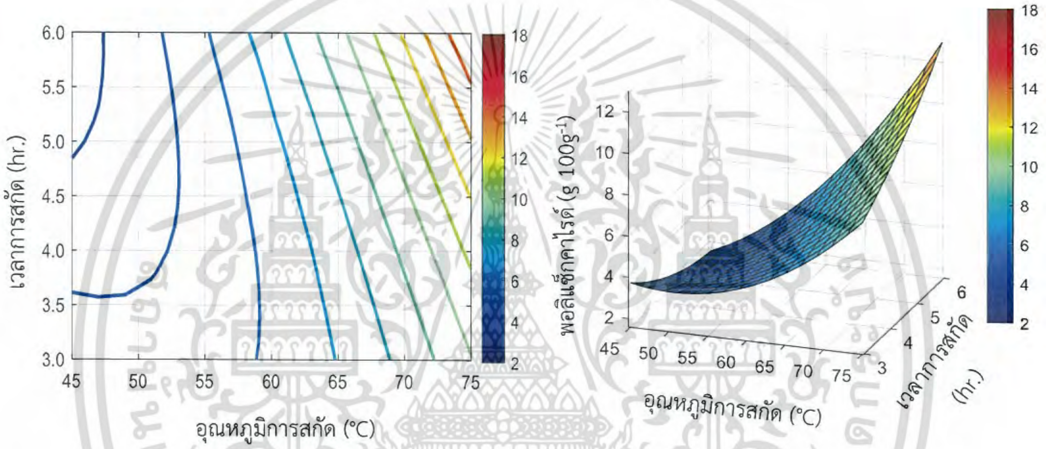
รูปที่ 4.2 a แสดงผลที่ได้จากการพิจารณาปัจจัยที่ศึกษา 2 ปัจจัยคือ อุณหภูมิการสกัดและเวลาการสกัด ที่ขนาดเห็ดหูหนูดำเท่ากับ 20 mesh พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิการสกัดทำให้ได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่เพิ่มขึ้น ขณะที่การเพิ่มขึ้นของเวลาในระยะเวลาการสกัดในช่วง 3 - 6 h ที่อุณหภูมิมากกว่า 70 °C ทำให้ได้ปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาที่ขนาดเห็ดหูหนูดำเท่ากับ 40 mesh และ 60 mesh แสดงดังรูปที่ 4.2 a และ 4.2 b ตามลำดับ พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิการสกัดส่งผลทำให้ได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่เพิ่มขึ้น ขณะที่การเพิ่มเวลาการสกัดส่งผลให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิการสกัดที่มากกว่า 65 °C และ 60 °C ตามลำดับ

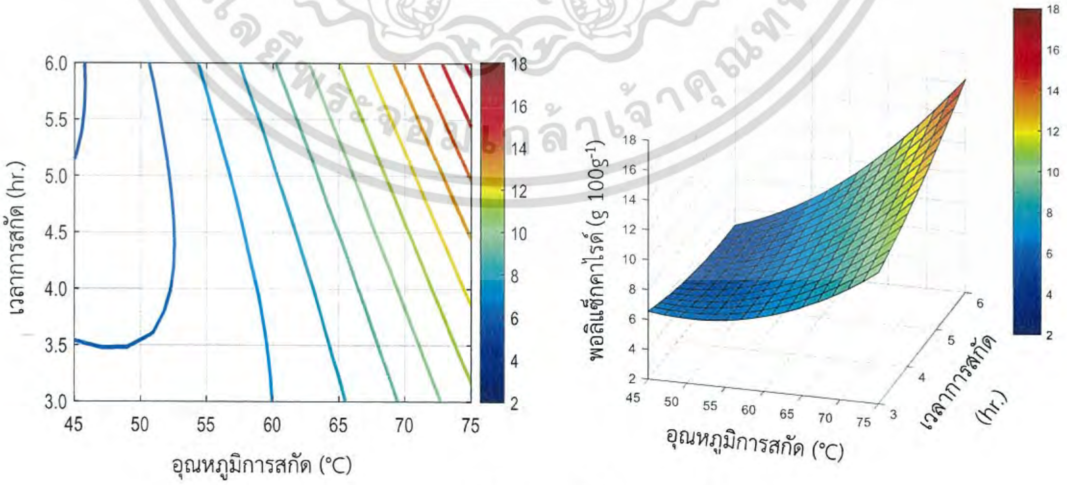
ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการเพิ่มอุณหภูมิการสกัดในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 45 – 75 °C ส่งผลทำให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น ส่งผลต่อความสามารถในการละลายของสารที่ต้องการสกัดจะเพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้อัตราการสกัดสูงขึ้น นอกจากนั้นอุณหภูมิที่สูงขึ้นยังส่งผลให้ค่าสัมประสิทธิ์ของการแพร่เพิ่มขึ้นตามด้วย ทำให้อัตราการแลกเปลี่ยนมวลสารระหว่างการสกัดดีขึ้นด้วย [25] และอุณหภูมิการสกัดที่ให้สารพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดคือ 75 °C ผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานวิจัยอื่นที่แสดงให้เห็นถึงผลกระทบของการเพิ่มอุณหภูมิการสกัดต่อปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สูงขึ้น เช่น การศึกษาของ Zhu and Liu [30] ซึ่งได้ศึกษาการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทับทิม พบว่า ปริมาณผลผลิตของสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นในช่วง 70 - 95 °C ซึ่งสภาวะที่ให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดคือ อุณหภูมิ 95 °C



(a) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 20 mesh



(b) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 40 mesh



(c) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 60 mesh

รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำที่สภาวะต่างๆ

อย่างไรก็ตามถึงแม้การเพิ่มอุณหภูมิการสกัดที่ 100 °C จะให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มากกว่า แต่ในเรื่องต้นทุนการสกัดในภาคอุตสาหกรรมค่อนข้างสูง ดังนั้นอุณหภูมิการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ในช่วงอุณหภูมิ 95 - 100 °C จึงไม่ค่อยถูกนำมาใช้ในภาคอุตสาหกรรม

ส่วนผลของระยะเวลาการสกัดต่อปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ คือ เวลาการสกัดที่มากขึ้นส่งผลกระทบต่อปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้มากขึ้น ทั้งนี้ประสิทธิภาพการสกัดที่ดีที่อุณหภูมิการสกัดสูงกว่า 60 °C ผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานวิจัยอื่นที่แสดงให้เห็นถึงผลกระทบของอุณหภูมิและเวลาต่อการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น การศึกษาของ Zhao et al. [29] ซึ่งได้ศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระและสารพอลิแซ็กคาไรด์จากตังกุยด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิการสกัดจะทำให้ได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้น ซึ่งปัจจัยหลักของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากตังกุยคือ อุณหภูมิของการสกัดและเวลาการสกัด ตามลำดับ

ขณะที่การศึกษาผลกระทบของขนาดเห็ดหูหนูดำต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์พบว่า เมื่อลดขนาดเห็ดหูหนูดำลงมีผลให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้มีค่าลดลง เมื่อขนาดน้อยกว่า 40 mesh (ขนาด mesh ต่ำกว่า) แต่ถ้าขนาดเห็ดหนูดำที่มีขนาดที่เล็กกว่า 40 mesh (ขนาด mesh สูงขึ้น) ส่งผลให้ได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย

จากการศึกษาผลกระทบของปัจจัยที่มีต่อการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้ คือ อุณหภูมิการสกัด เวลาการสกัด และขนาดของเห็ดหูหนูดำ ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงค่าอุณหภูมิการสกัด และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดที่เพิ่มขึ้น มีผลให้ได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มสูงขึ้นด้วย ขณะที่การลดขนาดอนุภาคเห็ดหูหนูดำให้เล็กลงกว่า 40 mesh (ขนาด mesh สูงขึ้น) ส่งผลให้ได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่งผลให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์คือ ขนาดเห็ดหูหนูดำ 60 mesh อุณหภูมิการสกัด 75 °C และเวลาการสกัด 6 h

4.3.2 สารประกอบฟีนอลิก

สารต้านอนุมูลอิสระในวัตถุดิบจากพืชมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแสดงให้เห็นความสัมพันธ์กับคุณสมบัติฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin – Ciocateu (FC) [19]

ผลการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 1.14 ± 0.04 ถึง 1.94 ± 0.23 mgGAE g^{-1} ผลการทดลองยังสอดคล้องกับการทดลองของ Islam et.al [19] ที่พบว่าโดยทั่วไปปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของเห็ด มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1 – 6 mgGAE g^{-1} ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเห็ดและวิธีการสกัดที่ต่างกัน และเมื่อนำผลการทดลองมาสร้างความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้กับขนาดเห็ดหูหนูดำ (X_1) อุณหภูมิการสกัด (X_2) และเวลาการสกัด (X_3) ผลที่ได้แสดงดังสมการ

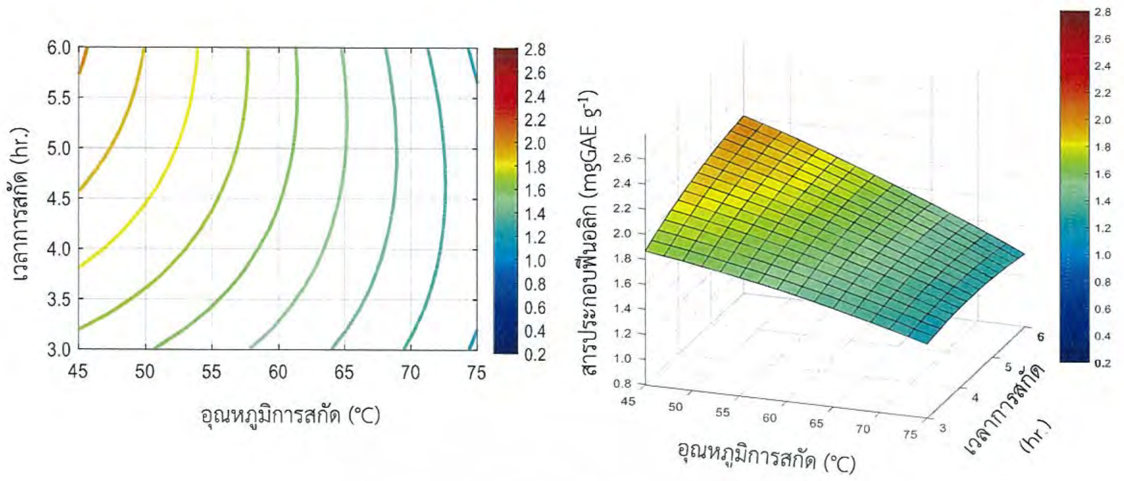
$$Y = 0.7734 - 0.0282x_1 - 0.0035x_2 + 0.7959x_3 + 0.0001x_1x_2 - 0.0026x_1x_3 - 0.0039x_2x_3 + 0.0005x_1^2 + 0.0000x_2^2 - 0.0452x_3^2 \quad (16)$$

$$R^2 = 0.7042,\ SE. = 0.2685$$

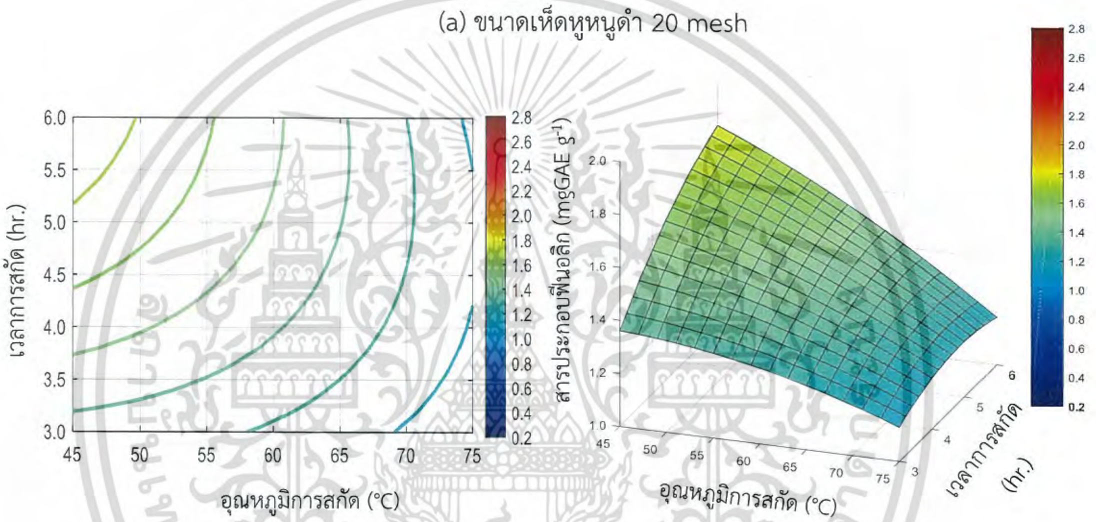
การศึกษาปัจจัยการสกัดของสารประกอบฟีนอลิกได้แก่ ขนาดเห็ดหูหนูดำแห้ง 20 – 60 mesh อุณหภูมิการสกัด 45 - 75 °C และเวลาการสกัด 3 - 6 h แสดงดังรูปที่ 4.3 พบว่า ช่วงขอบเขตที่ศึกษาไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจเกี่ยวข้องกับปัจจัยการสกัดของสารประกอบฟีนอลิกที่เกี่ยวข้องที่การศึกษานี้ยังไม่ครอบคลุม เช่น ชนิดตัวทำละลาย และกำลังคลื่นอัลตร้าโซนิค เป็นต้น

แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มอุณหภูมิการสกัด ส่งผลให้แนวโน้มของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง ทั้งนี้เนื่องจากความร้อนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของพืช เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ต่างๆ โดยเฉพาะในกลุ่มของสารอาหารพวกวิตามิน สารพฤกษเคมี สารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ลดลง สารเหล่านี้ที่คุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้น ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของพืชลดลง นอกจากนี้ความร้อนยังทำให้เอนไซม์ต่างๆ ถูกทำลายหรือเสียสภาพธรรมชาติ โดยเฉพาะเอนไซม์ที่ออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant enzyme activities) จึงทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง [43] สอดคล้องกับรายงานวิจัยอื่นที่แสดงให้เห็นถึงผลกระทบของอุณหภูมิต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิก เช่น การศึกษาของ Azwanida [8] ซึ่งได้ทำการเปรียบเทียบวิธีการสกัดที่นิยมนำมาใช้ในการสกัดสารชีวภาพจากพืช ซึ่งทราบข้อดีและข้อจำกัดของแต่ละวิธีที่ต่างกัน พบว่า การลดลงของอุณหภูมิการสกัดที่ต่ำกว่า 90 °C สามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ อย่างไรก็ตาม ภายใต้สภาพการสั่นสะเทือนจากปรากฏการณ์แคปวิเตชั่นของคลื่นอัลตร้าโซนิคและอุณหภูมิที่มากกว่า 50 °C ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกเกิดการแตกสลายตัวได้ง่ายขึ้น ทำให้เกิดการลดลงของปริมาณประกอบฟีนอลิก [30,31] ขณะที่ผลการทดลองขัดแย้งกับผลการศึกษาของ Tao et.al. (2014) ซึ่งได้ทำการสกัดได้ทำการศึกษาจลนพลศาสตร์และผลกระทบของปัจจัยของการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากกากองุ่น [26] พบว่า เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิการสกัดส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น และอุณหภูมิที่ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด คือ 40 °C ทั้งนี้อาจเนื่องจากขอบเขตช่วงอุณหภูมิการสกัดที่ใช้ต่างกัน โดยการศึกษานี้ใช้ช่วงขอบเขตอุณหภูมิที่สูงกว่า 40 °C และกำลังคลื่นที่ใช้สกัดสารประกอบฟีนอลิกที่สูงกว่า ซึ่งอาจส่งผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกถูกทำลายและแตกตัวได้

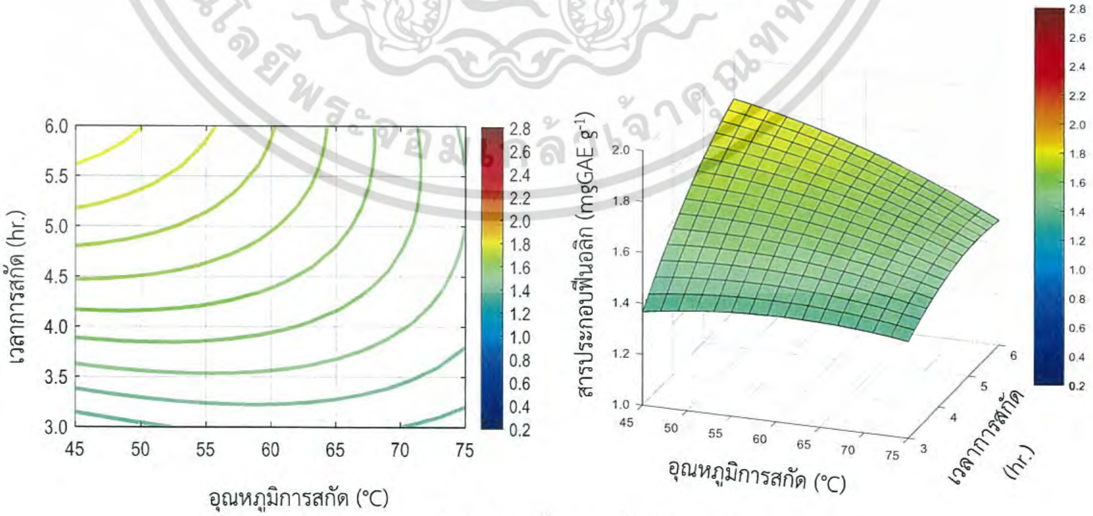
ขณะที่การเพิ่มเวลาการสกัดส่งผลกระทบต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้น และการลดขนาดเห็ดหูหนูดำที่น้อยกว่า 60 mesh ส่งผลกระทบให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น



(a) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 20 mesh



(b) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 40 mesh



(c) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 60 mesh

รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิกที่สภาวะต่างๆ

ดังนั้นสรุปได้ว่า การเพิ่มระยะเวลาการสกัดที่อุณหภูมิการสกัดที่ประมาณ 45 – 50 ℃ ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น แต่อุณหภูมิการสกัดที่สูง เวลาการสกัดไม่ค่อยส่งผลกระทบต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ส่วนขนาดเห็ดหูหนูดำ ไม่ค่อยส่งผลกระทบต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการศึกษาพบว่า สภาวะการสกัดที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง คือ ขนาดเห็ดหูหนูดำแห้งที่มีขนาด 60 mesh อุณหภูมิการสกัดที่ 45 ℃ ระยะเวลาการสกัด 6 h

4.3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อค่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH

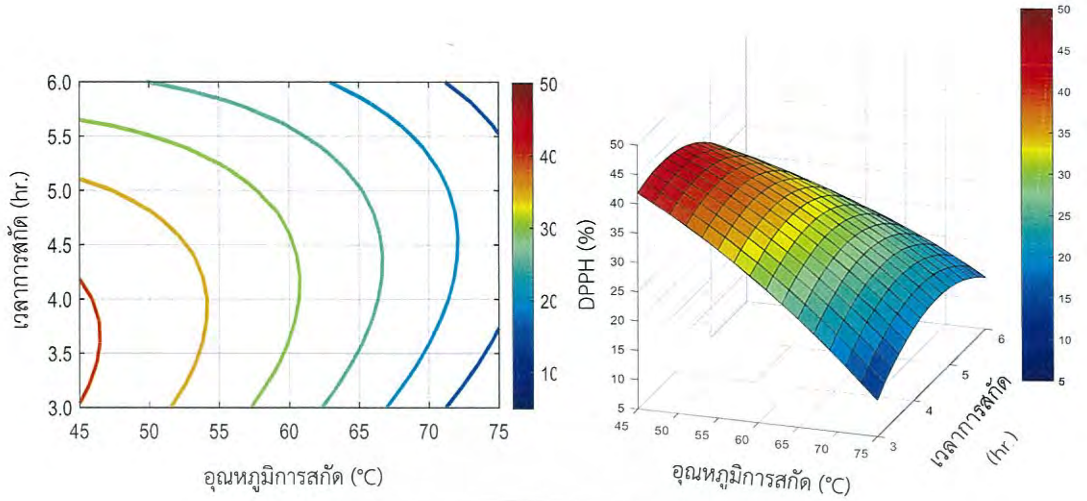
โดยทั่วไปอนุมูลอิสระสร้างขึ้นจากปฏิกิริยาชีวภาพหลายอย่างในร่างกายและสามารถทำลายสารชีวโมเลกุลที่สำคัญและหากส่วนประกอบของเซลล์ไม่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระนั้นได้ อาจก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพต่างๆ ตามมา ซึ่งปฏิกิริยาที่เป็นอันตรายจากอนุมูลอิสระนี้ สามารถยับยั้งได้ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ โดยกำจัดอนุมูลอิสระและสารพิษออกจากร่างกาย ในปัจจุบันมีรายงานงานวิจัยเกี่ยวกับอนุมูลอิสระที่ยืนยันว่าอาหารที่ประกอบไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมีประโยชน์ในการป้องกันโรคหัวใจ โรคมะเร็งและโรคประสาทเสื่อมรวมไปถึงการอักเสบของเซลล์และปัญหาที่เกิดจากเซลล์และความหย่อนยานของผิวหนัง อีกทั้งสารต้านอนุมูลอิสระยังมีความสำคัญในการควบคุมการทำลายเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพโครงสร้างของเนื้อเยื่อหรืออวัยวะหรือการแก่ชราและสารธรรมชาติจากพืชหลายชนิดมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและมีการสกัดนำมาใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมีเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ [6]

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำ ด้วยวิธี DPPH โดยแสดงผลที่ได้เป็นค่าเปอร์เซ็นต์การดักจับอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่พบในสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำมีปริมาณเฉลี่ย 11.38 ± 1.13 ถึง 47.22 ± 5.52 % และนำผลการทดลองที่ได้มาสร้างความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ระหว่างเปอร์เซนต์ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH กับขนาดเห็ดหูหนูดำ (X_1) อุณหภูมิการสกัด (X_2) และเวลาการสกัด (X_3) ผลที่ได้แสดงดังสมการ

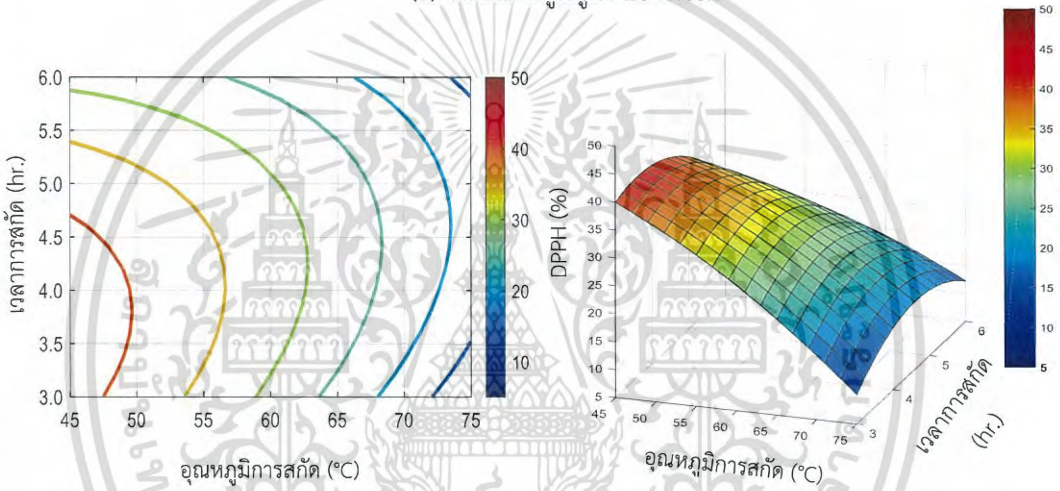
$$Y = 56.86435 - 0.6343x_1 - 0.4801x_2 + 12.1434x_3 - 0.0029x_1x_2 + 0.0160x_1x_3 + 0.1774x_2x_3 + 0.0104x_1^2 - 0.0082x_2^2 - 2.8493x_3^2 \tag{17}$$

$$R^2 = 0.7543, \text{SE.} = 9.1640$$

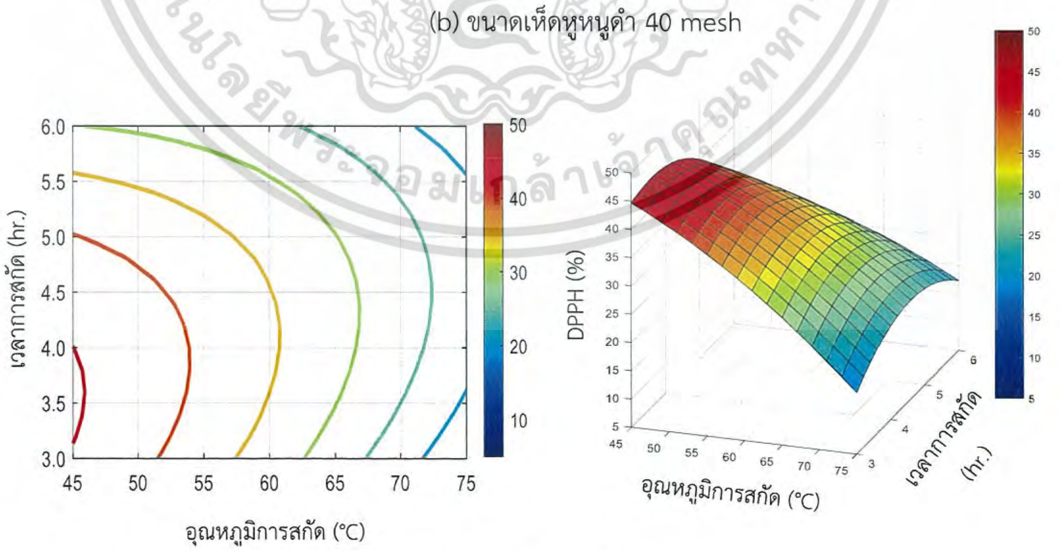
จากรูปที่ 4.4 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง อุณหภูมิการสกัด เวลาการสกัด และขนาดเห็ดหูหนูดำกับความสามารถในต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำ



(a) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 20 mesh



(b) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 40 mesh



(c) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 60 mesh

รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถในต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่สภาวะต่างๆ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิการสกัดจาก 45 °C จนถึง 75 °C ส่งผลต่อการลดลงของค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH อย่างเด่นชัด ในขณะที่การเพิ่มเวลาการสกัดในช่วงอุณหภูมิการสกัดในช่วง 45 °C ถึง 60 °C ส่งผลทำให้ค่าความสามารถในสารต้านอนุมูลอิสระลดลง แต่การเพิ่มเวลาการสกัดที่อุณหภูมิการสกัดที่มากกว่า 60 °C ไม่ค่อยส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงเกินไป ส่งผลทำให้ตัวดักจับอนุมูลอิสระเสียประสิทธิของการทำงานไปหมดแล้ว [31] ส่วนการลดขนาดเห็ดหูหนูดำแห้งให้เล็กลง ส่งผลให้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้น

ดังนั้นสภาวะที่ให้ปริมาณค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด คือ ขนาดเห็ดหูหนูดำ 20 mesh เวลาการสกัด 4.5 h และอุณหภูมิการสกัด 45 °C ซึ่งจะเห็นได้ว่าการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจะให้ประสิทธิภาพได้ดีที่อุณหภูมิการสกัดที่ต่ำ เนื่องจากอุณหภูมิที่มากกว่า 50 °C ตัวดักจับอนุมูลอิสระเกิดการแตกสลายไปแล้ว [31]

4.3.4 ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการรีดิวซ์

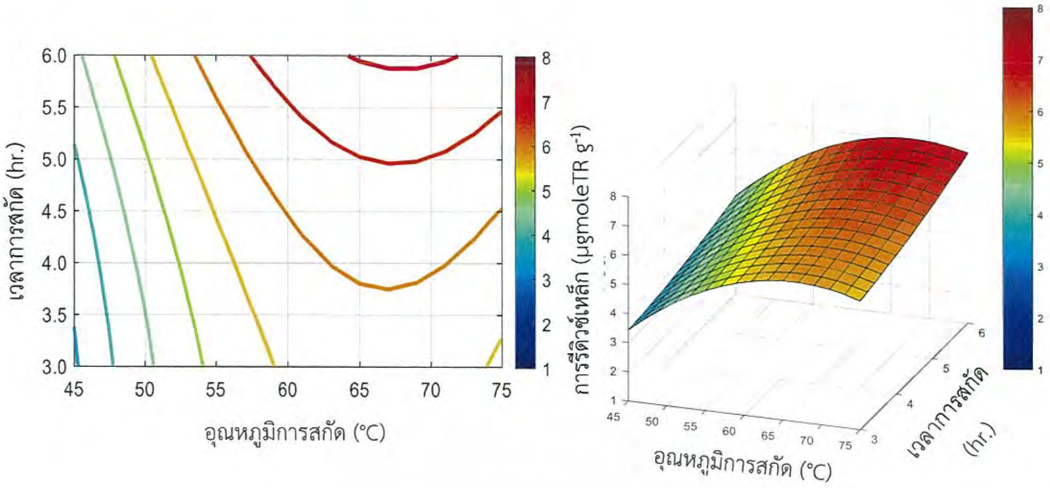
การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP เป็นการใช้หลักการการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อน Fe^{3+}TPTZ เปลี่ยนเป็น Fe^{2+}TPTZ โดยถ้าสารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าก็จะมีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ Fe^{3+}TPTZ ได้มากกว่า จึงนำมาใช้ในการพิจารณาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด [19] ความสามารถในการรีดิวซเหล็กของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำคำนวณไดจากกราฟมาตรฐานของสารละลายโทล๊อกซ์

จากการศึกษาพบว่า ค่าความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคที่ความถี่ 45 kHz มีค่าอยู่ระหว่าง 3.53 ± 0.06 ถึง 7.67 ± 0.64 μmoleTE g^{-1} และเมื่อนำค่าที่ได้จากการทดลองมาสร้างสมการสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์กับตัวแปรที่ศึกษาได้แก่ ขนาดเห็ดหูหนูดำแห้ง (X_1) อุณหภูมิการสกัด (X_2) และเวลาการสกัด (X_3) ได้สมการดังนี้

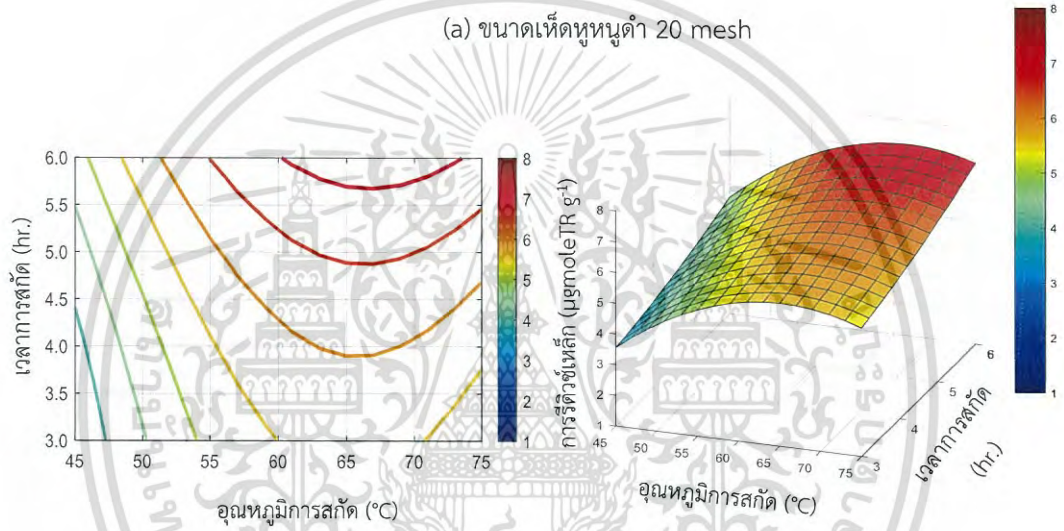
$$\begin{aligned} Y = -24.4299 + 0.2079x_1 + 0.8157x_2 - 0.3149x_3 - 0.0008x_1x_2 - 0.0322x_1x_3 \\ +0.0052x_2x_3 + 0.0000x_1^2 - 0.0063x_2^2 + 0.1731x_3^2 \end{aligned} \quad (18)$$

$$R^2 = 0.8995, SE. = 0.6458$$

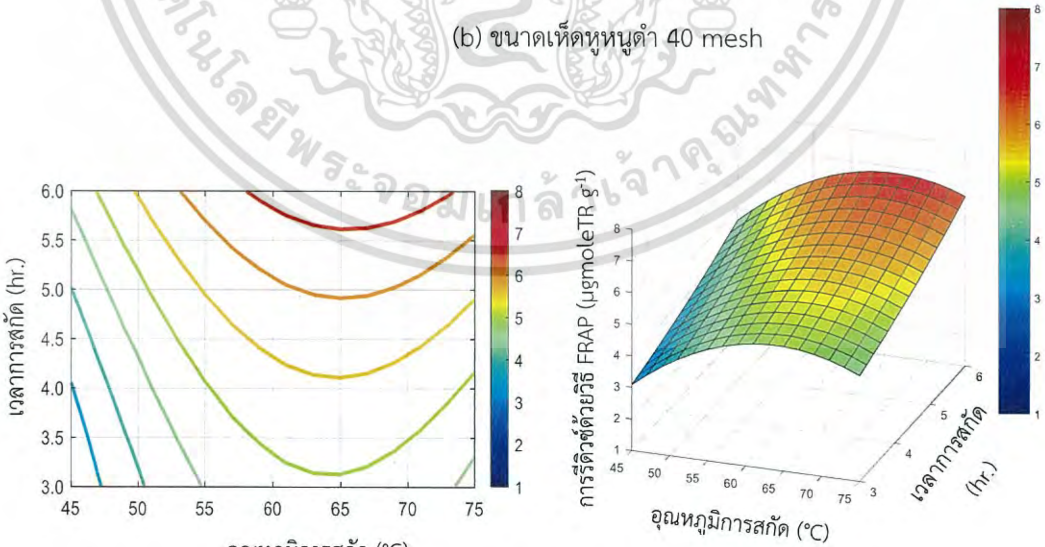
จากการทดลองพบว่า สมการมีความเชื่อมั่นที่ $p < 0.05$ และปัจจัยที่ศึกษาส่งผลกระทบต่อค่าการรีดิวซ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากสมการที่ 11 สามารถสร้างกราฟพื้นผิวตอบสนองของค่าความสามารถในการรีดิวซ์ แสดงได้ดังรูปที่ 4.5 ซึ่งกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำที่สภาวะต่าง ๆ



(a) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 20 mesh



(b) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 40 mesh



(c) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 40 mesh

รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถในการรีดิวซ์ที่สภาวะต่างๆ

ผลกระทบของอุณหภูมิการสกัดที่เพิ่มขึ้นทำให้ค่าการรีดิวซ์ของสารสกัดเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ผลของค่าความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำจะเริ่มมีปริมาณสูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิการสกัดที่มากกว่า 60 °C เนื่องจากช่วงอุณหภูมิการสกัดที่ 45 – 60 °C อุณหภูมิไม่ค่อยมีผลกระทบต่อค่าการรีดิวซ์ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูมากนัก

ส่วนระยะเวลาการสกัดในช่วง 3 – 6 h พบว่าเมื่อทำการเพิ่มเวลาการสกัดส่งผลให้ค่าการรีดิวซ์ของสารสกัดเพิ่มขึ้น ขณะที่ขนาดเห็ดหูหนูดำแห้งไม่ค่อยส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณค่าความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำ ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองได้มีการเตรียมตัวอย่างโดยการบดผสมเห็ดหูหนูดำแห้งกับน้ำด้วยอัตราส่วนเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำที่ 1 : 20 w v^{-1} ด้วยเครื่องบดผสมแบบโฮโมจิไนซ์ที่ความเร็วรอบ 1,000 x g min^{-1} ก่อนการนำไปสกัด ซึ่งอาจทำให้ขนาดเห็ดหูหนูดำส่งผลกระทบต่อปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้มากนัก

ดังนั้นจากการทดลองพบว่า สภาวะที่ให้ค่าความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดสูง คือ ขนาดเห็ดหูหนูดำแห้ง 60 mesh เวลาการสกัด 6 h และอุณหภูมิการสกัด 60 °C

4.3.5 ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์

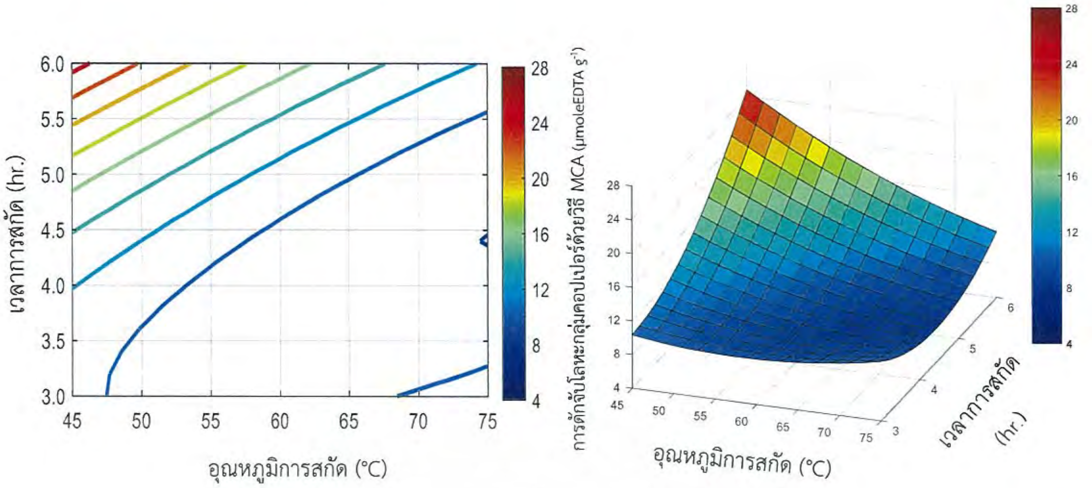
การเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถในการดักจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ด้วยวิธี MCA ที่สภาวะของขนาดเห็ดหูหนูดำ อุณหภูมิการสกัด และเวลาการสกัดที่ต่างกัน แสดงดังรูปที่ 4.6 จากผลการศึกษาความสามารถในการดักจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำ พบว่า ค่าความสามารถในการจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ด้วยวิธี MCA มีปริมาณเฉลี่ย 9.86 ± 0.00 ถึง 26.55 ± 0.50 µmoleEDTA g^{-1} และเมื่อนำค่าที่ได้จากการทดลองมาสร้างสมการสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์กับตัวแปรที่ศึกษาได้แก่ ขนาดเห็ดหูหนูดำแห้ง (X_1) อุณหภูมิการสกัด (X_2) และเวลาการสกัด (X_3) ได้สมการดังนี้

$$\begin{aligned} Y = {} & 24.1827 + 0.2051x_1 - 0.1756x_2 - 3.7901x_3 + 0.0001x_1x_2 - 0.0101x_1x_3 \\ & - 0.1522x_2x_3 - 0.0027x_1^2 + 0.0057x_2^2 + 1.5906x_3^2 \end{aligned} \qquad (19)$$

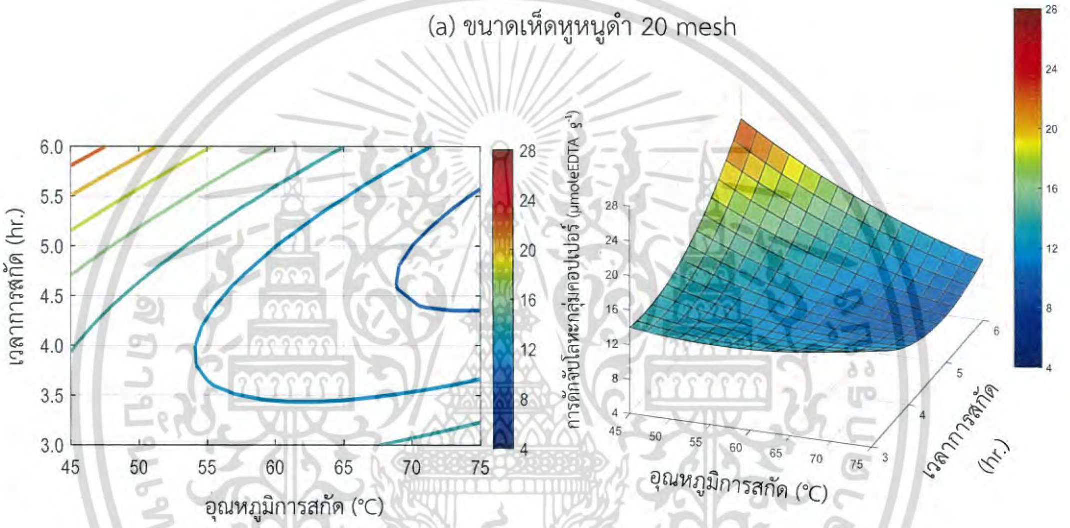
$$R^2 = 0.7334,\ SE. = 3.6335$$

จากการทดลองพบว่า ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการดักจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำ พบว่าปัจจัยที่ศึกษา ช่วงขอบเขตของระยะเวลาที่ศึกษาไม่ค่อยส่งผลกระทบต่อค่าการเปลี่ยนแปลงของมากนัก แต่อย่างไรก็ตามปัจจัยที่มีผลต่อค่าความสามารถในการดักจับโลหะ คือ เวลาการสกัด ขนาดของเห็ดหูหนูดำ และอุณหภูมิการสกัด ตามลำดับ

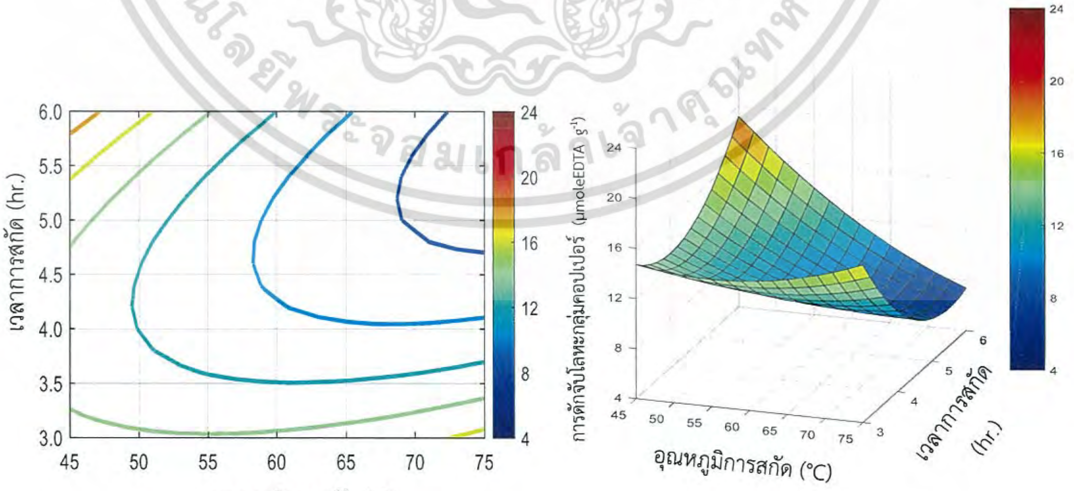
ขนาดเห็ดหูหนูดำแห้ง ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการดักจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำเพียงเล็กน้อย เมื่อทำการลดขนาดเห็ดหูหนูดำแห้งส่งผลให้ค่าความสามารถในการดักจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น



(a) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 20 mesh



(b) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 40 mesh



(c) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 60 mesh

รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงความสามารถการจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ที่สภาวะต่าง ๆ

เมื่อทำการเพิ่มอุณหภูมิการสกัด พบว่าทำให้ค่าความสามารถในการดักจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

ผลกระทบของเวลาการสกัดพบว่า เมื่อเพิ่มเวลาการสกัด ส่งผลให้ความสามารถในการดักจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำมีแนวโน้มลดลง

จากการศึกษาพบว่า สภาวะที่เหมาะสมของค่าความสามารถในการดักจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ด้วยวิธี MCA คือ ขนาดเห็ดหูหนูดำ 40 mesh เวลาการสกัด 6 h และอุณหภูมิการสกัด 45 °C

4.3.6 ปัจจัยที่มีผลต่อค่าสีของสารสกัด

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเห็ดหูหนูดำ อุณหภูมิการสกัด และเวลาการสกัดกับค่าการเปลี่ยนแปลงของสี และเมื่อนำค่าที่ได้จากการทดลองมาสร้างสมการสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์กับตัวแปรที่ศึกษาได้แก่ ขนาดเห็ดหูหนูดำแห้ง (X_1) อุณหภูมิการสกัด (X_2) และเวลาการสกัด (X_3) ได้สมการดังนี้

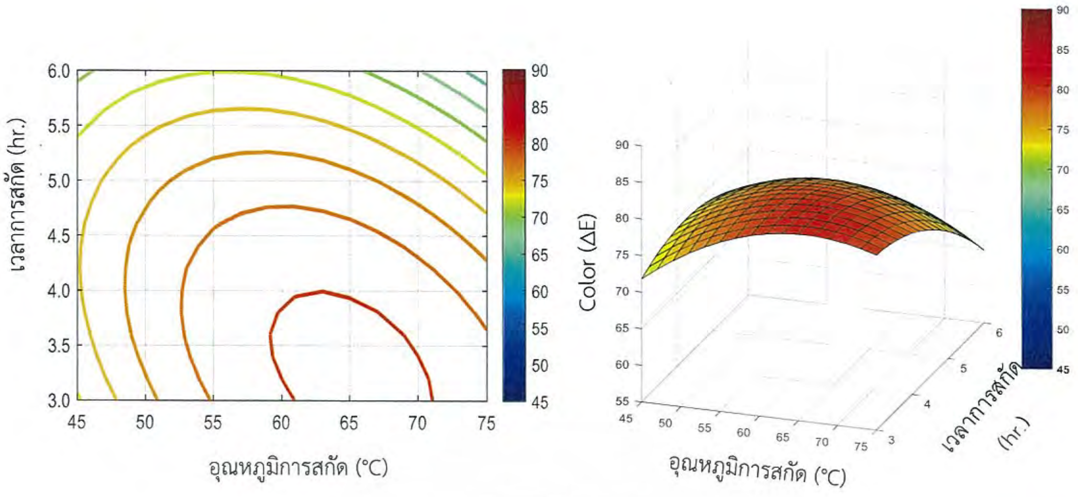
$$Y = 425.0846 - 1.9856x_1 - 6.9198x_2 - 53.3540x_3 - 0.0051x_1x_2 + 0.0861x_1x_3 + 0.2155x_2x_3 + 0.0248x_1^2 + 0.0496x_2^2 + 4.2593x_3^2 \tag{20}$$

$$R^2 = 0.2317,\ SE. = 27.6090$$

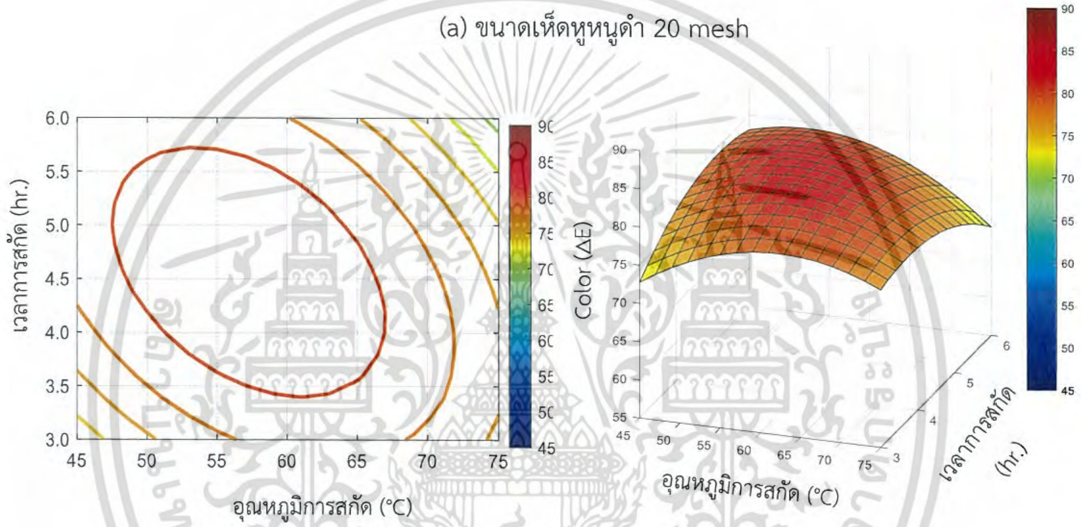
จากการทดลองพบว่า ลักษณะความสัมพันธ์ที่ได้ค่า R^2 และค่า S.E. อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ เมื่อนำสมการข้างต้นที่ได้มาสร้างกราฟพื้นผิวตอบสนองของค่าแสดงได้ดังรูปที่ 4.7 ซึ่งกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าสีที่สภาวะต่างๆ

ผลกระทบของอุณหภูมิการสกัดและเวลาการสกัดที่ขนาดเห็ดหูหนูดำ 20 mesh และขนาด 40 mesh แสดงดังรูปที่ 4.7 a และ 4.7 b พบว่า ค่าสีของสารสกัดไม่มีการเปลี่ยนแปลง ขณะที่ขนาดเห็ดหูหนูดำ 60 mesh แสดงดังรูปที่ 4.7 c พบว่า การเพิ่มขึ้นของเวลาสกัดที่อุณหภูมิมากกว่า 60 °C ส่งผลให้ค่าสีของสารสกัดเข้มขึ้น

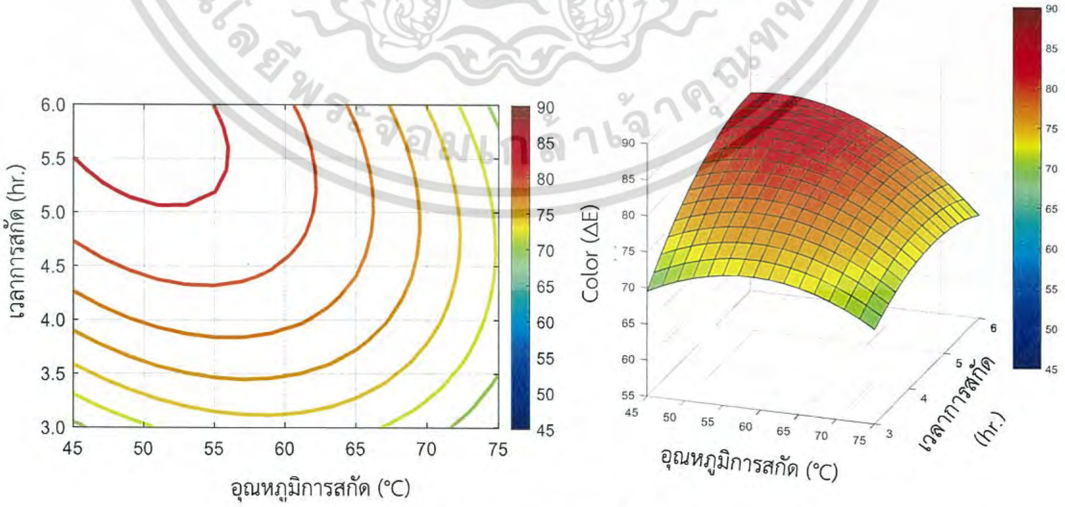
ดังนั้นสีจึงไม่เป็นปัจจัยที่นำมาใช้ในการพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัด เนื่องจากช่วงขอบเขตของปัจจัยที่ศึกษาไม่มีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงของสีสารสกัดมาก อีกปัจจัยหนึ่งคือ เนื่องจากสีเริ่มต้นของเห็ดหูหนูดำที่มีสีน้ำตาลเข้มไปจนถึงดำ ทำให้สีของสารสกัดที่ได้ออกมาในลักษณะของสีที่ออกเป็นสีเหลืองน้ำตาล อย่างไรก็ตามการนำสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำไปแปรรูปต่อในอุตสาหกรรมอาหารหรือยา ควรมีการปรับปรุงและพัฒนาต่อให้มีความเหมาะสมและตรงตามความต้องการของผู้บริโภคมากขึ้น



(a) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 20 mesh



(b) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 40 mesh



(c) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 60 mesh

รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าสีของสารสกัดที่สภาวะต่าง ๆ

4.3.7 ปัจจัยที่มีผลต่อค่า pH ของสารสกัด

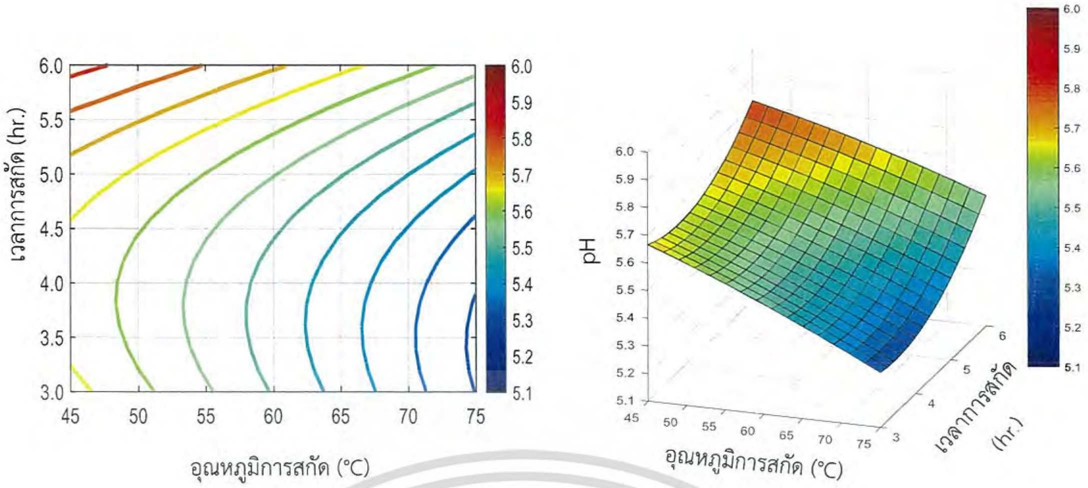
จากการศึกษาปัจจัยการสกัดสารจากเห็ดหูหนูดำที่มีผลต่อค่า pH ที่สภาวะต่างๆ ผลที่ได้จากการทดลองนำมาสร้างสมการสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์กับตัวแปรที่ศึกษาได้แก่ ขนาดเห็ดหูหนูดำแห้ง (X_1) อุณหภูมิการสกัด (X_2) และเวลาการสกัด (X_3) ได้สมการดังนี้

$$\mathrm{Y} = 6.0230+0.0177x_1+0.0170x_2-0.5034x_3+0.0001x_1x_2-0.0054x_1x_3+0.0013x_2x_3+ 0.0000x_1^2-0.0003x_2^2+0.0669x_3^2 \qquad (21)$$

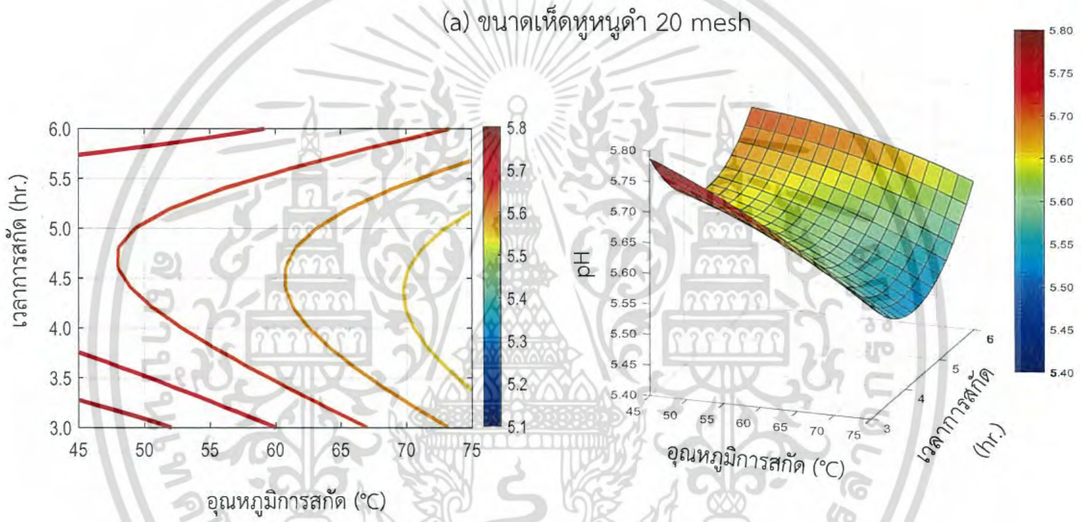
$$R^2 = 0.5609, SE. = 0.1574$$

เมื่อนำสมการที่ 16 ไปวิเคราะห์พื้นที่ผิวตอบสนองผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.8 ซึ่งจากรูปแสดงความสัมพันธ์ของค่าพีเอชกับระหว่างอุณหภูมิการสกัด และเวลาการสกัดที่ขนาดเห็ดหูหนูดำแห้ง 20 40 60 mesh ตามลำดับกับค่าพีเอชของสารสกัด พบว่าปัจจัยที่ศึกษา ไม่ค่อยส่งผลกระทบต่อค่าการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชมากนัก ปัจจัยที่มีแนวโน้มต่อค่าพีเอชมากสุดคือ เวลาการสกัด ขนาดเห็ดหูหนูดำและอุณหภูมิ ตามลำดับ ค่าพีเอชของสารสกัดอยู่ระหว่าง 5.38 – 5.88

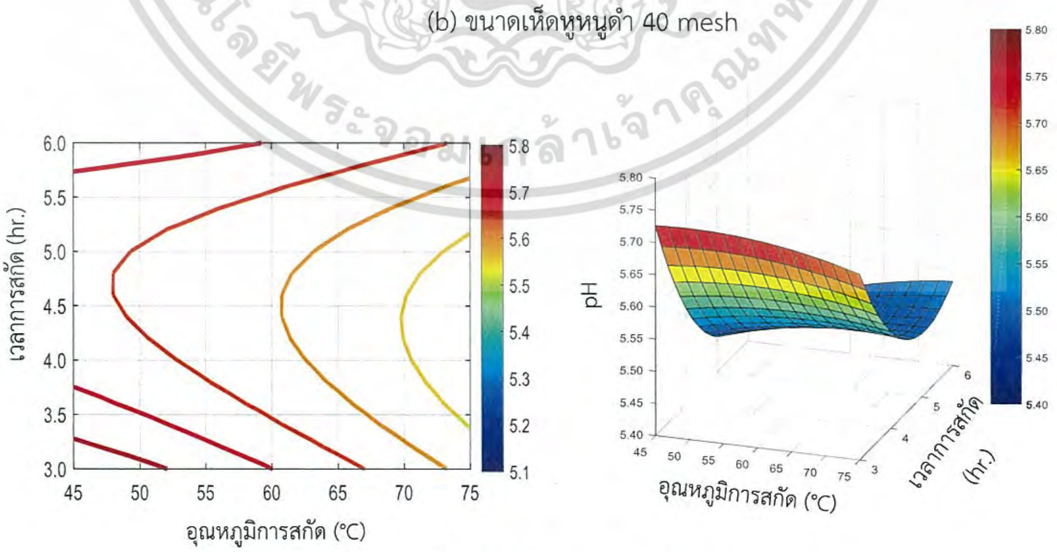
พบว่าปัจจัยที่ศึกษา ช่วงขอบเขตของระยะเวลาที่ศึกษาไม่ค่อยส่งผลกระทบต่อค่าการเปลี่ยนแปลงของมากนัก แต่ยังไงก็ตามที่ขนาดเห็ดหูหนูดำ 20 – 40 mesh แสดงดังรูปที่ 4.8 a และ 4.8 b พบว่า เมื่อทำการเพิ่มเวลาการสกัดส่งผลต่อค่าการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชที่สูงขึ้น ขณะที่การเพิ่มอุณหภูมิส่งผลต่อค่าพีเอชที่ลดลง และที่ขนาดเห็ดหูหนูดำแห้ง 60 mesh แสดงดังรูปที่ 4.8 c การเพิ่มอุณหภูมิไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช แต่การเพิ่มเวลาการสกัดส่งผลต่อค่าพีเอชที่ลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสกัดที่นานขึ้นอาจทำให้มีปริมาณของกรดฟีนอลิกพวกกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก ที่อยู่ในส่วนประกอบของสารประกอบฟีนอลิก [8] ออกมาในระหว่างสกัด ทำให้สารสกัดที่ได้มีค่ามีความเป็นกรด ในกรณีที่เวลาการสกัดนานขึ้น แต่ทั้งนี้เนื่องจากปัจจัยที่ศึกษาไม่ค่อยส่งผลกระทบต่อค่าการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชมากนัก ทำให้ค่าพีเอชของสารสกัดแต่ละสภาวะที่ทำการศึกษาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ แต่อย่างไรก็ตามค่าพีเอชถือว่ามีผลกระทบต่อด้านรสชาติของอาหาร จึงจำเป็นต้องมีการศึกษา



(a) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 20 mesh



(b) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 40 mesh



(c) ขนาดเห็ดหูหนูดำ 60 mesh

รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงของค่า pH ของสารสกัดที่สภาวะต่างๆ

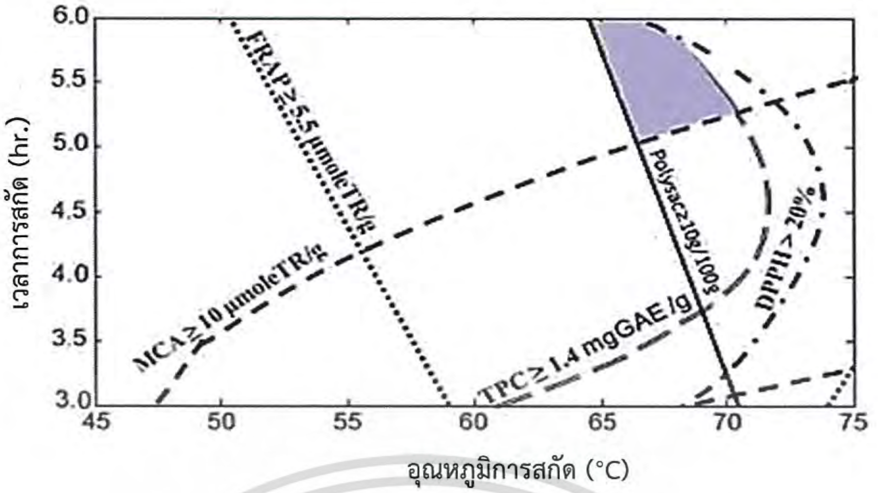
4.4 การหาสภาวะที่เหมาะสมของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

เมื่อทำการศึกษาผลกระทบของปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญในสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำและหาสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละคุณสมบัติของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำ พบว่ามีสภาวะที่เหมาะสมของสมบัติแต่ละชนิดต่างกัน ทั้งนี้จึงได้อาศัยเกณฑ์การพิจารณาที่ใช้การตัดสิน เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัด ดังตารางที่ 4.4

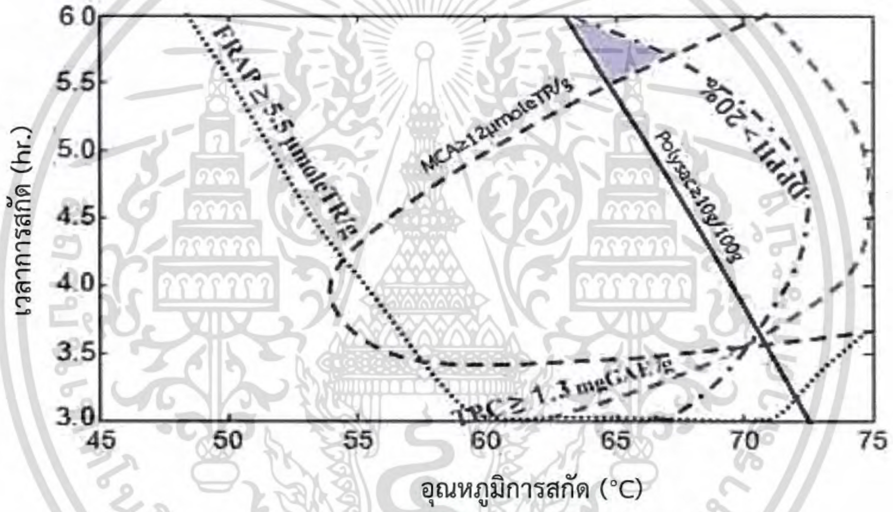
ตารางที่ 4.4 เกณฑ์การกำหนดสภาวะที่เหมาะสมของสารสกัดเห็ดหูหนูดำ

คุณสมบัติต่างๆของสารสกัด	ปริมาณ
ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์	≥ 10 g $100g^{-1}$
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก	≥ 1.6 mgGAE g^{-1}
คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ	
ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	≥ 20 %
ค่าความสามารถในการรีดิวซ์	≥ 5 µmoleTE g^{-1}
ค่าความสามารถในการจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์	≥ 10 µmoleEDTA g^{-1}

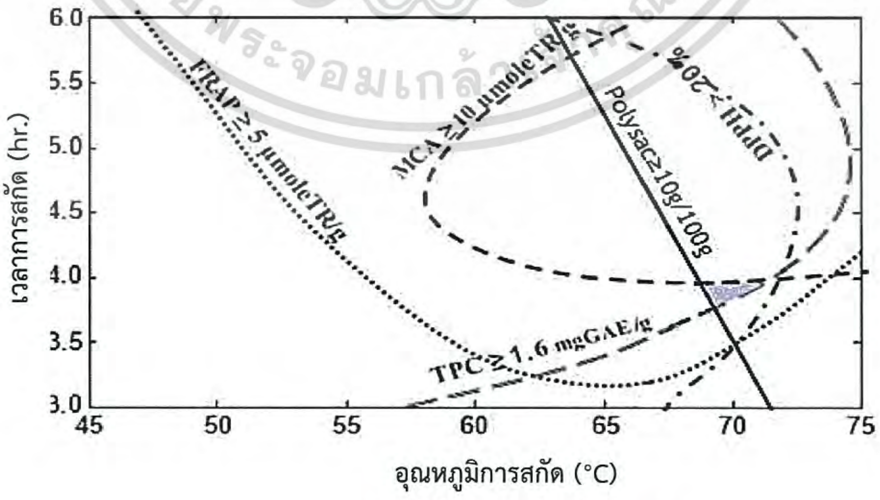
จากผลการทดลองได้ทำการสร้างความสัมพันธ์ระหว่างค่าคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัดที่ได้ จากสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำที่ผ่านการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคที่ความถี่คลื่น 45 kHz ที่สภาวะการศึกษาที่ต่างกัน และทำการกำหนดเกณฑ์ลักษณะของคุณสมบัติของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4.4 ผลการศึกษาที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.9 ซึ่งจากรูปแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิการสกัดกับเวลาการสกัดของคุณสมบัติสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำและแสดงสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารจากเห็ดหูหนูดำ ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้ได้คุณสมบัติของสารสกัดคือ มีคุณสมบัติของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สูง และยังคงมีสารประกอบฟีนอลิกและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ คือขนาดเห็ดหูหนูดำแห้งขนาด 60 mesh อุณหภูมิการสกัด 67 - 70°C และเวลาการสกัด 4 h ซึ่งสภาวะดังกล่าวได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ 10 g $100g^{-1}$ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 1.6 mgGAE g^{-1} และความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH 20 % ความสามารถของการรีดิวซ์ด้วยวิธี 5 µmoleTE g^{-1} ความสามารถของการดักจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ 10 µmoleEDTA g^{-1}



ขนาดเห็ดหูหนูดำ 20 mesh



ขนาดเห็ดหูหนูดำ 40 mesh



ขนาดเห็ดหูหนูดำ 60 mesh

รูปที่ 4.9 กราฟความสัมพันธ์คุณสมบัติต่างๆของสารสกัดจากเห็ดหูหนูดำ

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำ ได้ผลสรุปดังนี้

1. ผลการเปรียบเทียบการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหูหนูดำด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคที่ความถี่ 45 kHz โดยใช้น้ำเป็นตัวกลางและใช้อุณหภูมิ 80 °C พบว่าการสกัดด้วยคลืนอัลตร้าโซนิคได้ปริมาณสารพอลิแซ็คคาไรด์สูงกว่าการสกัดแบบดั้งเดิม ประมาณ 1.5 เท่า และใช้ระยะเวลาการสกัดที่น้อยกว่า

2. ผลการนำสมการในรูปแบบเอ็กซ์โปเนนเชียล มาอธิบายจลนพลศาสตร์ของการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคจากเห็ดหูหนูดำที่ความแตกต่างของอัตราส่วนน้ำหนักเห็ดหูหนูดำแห้งต่อปริมาณน้ำ สามารถสร้างค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (k) คือ $-0.0002w^2 + 0.0086w - 0.1150$ ($R^2 = 0.9549$, SE. = 0.0006)

3. สำหรับการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคพบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้คือ อุณหภูมิที่ใช้สกัด เวลาการสกัด และขนาดอนุภาคของเห็ด ตามลำดับ

4. การเพิ่มระยะเวลาในการสกัดในช่วง 3 ถึง 6 h มีผลให้ค่าปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ ปริมาณประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการรีดิวซ์มีค่าเพิ่มขึ้น ขณะที่ค่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ ความสามารถในการจับคอปเปอร์ และความเป็นกรด-ด่างลดลง

5. การเพิ่มอุณหภูมิการสกัดในช่วง 45 °C ถึง 75 °C มีผลให้ค่าปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ ความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก และความสามารถในการจับโลหะในกลุ่มคอปเปอร์ มีค่าสูงขึ้น ในขณะที่ค่าปริมาณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีค่าลดลง

6. ขนาดอนุภาคของเห็ดหูหนูดำ เมื่อลดขนาดอนุภาค ทำให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการจับโลหะในกลุ่มคอปเปอร์ มีค่าสูงขึ้น ในขณะที่ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง ขณะที่ขนาดอนุภาคของเห็ดหูหนูดำไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถในการรีดิวซ์

7. สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคของเห็ดหูหนูดำ เพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญที่มีสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สูงและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดี ควรใช้เห็ดหูหนูดำที่มีขนาด 60 mesh อุณหภูมิการสกัด 67 - 70 °C และเวลาการสกัด 3.5 – 4 h โดยสภาวะดังกล่าวให้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มากกว่า 10 g $100g^{-1}$ สารประกอบฟีนอลิก 1.7 mgGAE g^{-1} ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

DPPH 25 – 30 % ความสามารถในการรีดิวซ์ 5 – 5.5 µmoleTE g^{-1} และความสามารถในการจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์ 10 - 12 µmoleEDTA g^{-1}

8. การนำคลื่นอัลตร้าโซนิคเข้ามาช่วยในการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดที่ดีกว่าการสกัดแบบดั้งเดิม เนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้และยังคงสามารถรักษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระไว้ได้

ข้อเสนอแนะ

1) ควรทำการศึกษาการนำกากเห็ดหูหนูดำที่ได้หลังจากการสกัดไปใช้ เพื่อให้เกิดประโยชน์มากขึ้น เช่น นำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารผงด้วยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็งหรือทำแห้งแบบลูกกลิ้ง เนื่องจากในกากของเห็ดหูหนูดำที่เหลือจากการสกัดน่าจะยังคงมีปริมาณสารสำคัญเหลืออยู่

2) สารสกัดจากเห็ดหูหนูดำที่ได้สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดในอุตสาหกรรม เพื่อผลิตสารสำคัญทางด้านพฤกษศาสตร์ ซึ่งอาจนำไปแปรรูปต่อ เช่น นำสารสกัดที่ได้ไปทำเป็นผลิตภัณฑ์ผงเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เครื่องดื่ม หรือยา เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับเห็ดต่อไป

ควรทำการศึกษาต่อในส่วนโครงสร้างของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้หลังจากการสกัด เพื่อดูโครงสร้างที่เหลืออยู่ว่า เป็นมอโนแซ็กคาไรด์กลุ่มใด

เอกสารอ้างอิง

[1] Lindequist U., Niedermeyer., J H T., and Julich W D. "The Pharmacological Potential of mushooms.", **eCAM.**, vol.3, 2005. pp. 285-299

[2] Zhang M., Cui S W., Cheung C P K. and Wang Q. "Antitumor polysaccharide from mushooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity.", **Trends in Food Science & Technology.**, vol. 18, 2007. pp.4 - 19

[3] Giavasis L. "Bioactive fungal polysaccharide as potential functional ingredients in food and nutraceuticals.", **Current Opinion in Biotechnology.**, vol. 26, 2014. pp.162 - 173

[4] ตลาดสี่มุมเมือง "ราคาการจำหน่ายเห็ดในประเทศไทย.2559." [online]. Available:URL: http://www.taladsimummuang.com/dmma/Portals/PriceListItem.aspx?id=010132060

[5] Ozyurek M., Bener M., Guclu K. and Apak R. "antioxidant /antiradical properties of microwave- assisted extracts of three wild edible mushrooms. ", **Food Chemistry.**,vol.157, 2014. pp. 323-331

[6] Bougatef A., Nedjar-Arroume N., Manni L., Ravallec R., Barkia A., Guillochon D. and Nasri M. "Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic.", **Food Chemistry.**, vol.118, 2010. pp. 559-565

[7] กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม. อุตสาหกรรมสาร. กรุงเทพฯ : บริษัท ซี แอด โปรโมชั่น (1997) จำกัด 2558

[8] Azwanida. "A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation.", **Med Aromat Plants.**, vol.4, 2015.

[9] Timothy James Mason. and J. P. Lorimer. **Sonochemistry: theory, applications and uses of ultrasound in chemistry.** Ellis Horwood Publishers. 1988.

[10] Alzorqi I., Sudheer S., Lu T J. and Manickam S. "Ultrasonically extracted b-D-glucan from artificially cultivated mushroom, characteristic properties and antioxidant activity.", **Ultrasonics Sonochemistry.**, (In press).

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

[11] Angela M. and Meireles A. **Extracting Bioactive Compounds for Food Products: Theory and Application.** CRC Press Taylor & Francis Group, Inc. 2009.

[12] สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย. **เพาะเห็ดกินได้ทำขายรวย**. กรุงเทพมหานคร : เนชั่นบุ๊คส์. 2559

[13] Bandara A., Chen J., Samanthakarunarathna., Hyde K. and Kakumyan P. "*Auricularia thailandica* sp. nov. (*Auriculariaceae, Auriculariales*) a widely distributed species from Southeastern Asia.", **Phytotaxa 208.**, vol.2, 2015. pp. 147-156

[14] **"เชื้อเห็ดที่มีจำหน่ายจากกรมวิชาการเกษตร.2559."** [online]. Avaliable:URL:http://www.doa.go.th/biotech/index.php?option=com_content&view=article&id=80%3A2009-10-29-16-33-16&catid=35%3Amushroom&Itemid=131

[15] Cheung P C K. "Dietary Fibre Content and Composition of Some Edible Fungi Determined by Two Methods of Analysis.", **J Sci Food Agric.**, vol.73, 1977. pp. 255 - 260

[16] รัตนา อินทรานุปกรณ์. **การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร**. พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2550

[17] ศรัณยา ลาภส่งผล. "ผลของสภาวะการอบแห้งต่อสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสและสารประกอบฟีนอลิคในลำไยอบแห้งพร้อมเปลือกและชาลำไย", **วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งขอการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิตสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีอาหารบัณฑิตวิทยาลัย**, มหาวิทยาลัยศิลปากร. 2550.

[18] บุหรัน พันธุ์สวรรค์. "อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ." **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 2556. ฉบับที่ 3.

[19] Islam T., Yu X. and Xu B. "Phenolic profiles, antioxidant capacities and metal chelating ability of edible mushrooms commonly consumed in China.", **LWT - Food Science and Technology.**, vol.72, 2016. pp. 423-431

[20] โอภา วัชระคุปต์. **สารต้านอนุมูลอิสระ**. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ : พี.เอส.พริ้นท์. 2549

[21] รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิช. **"หน่วยปฏิบัติการในอุตสาหกรรมวิศวกรรมอาหาร (Food engineering : Unit operations in industry)."** 2547.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

[22] Povey, M. J. W and Mason, T. J. (1988). **Ultrasound in food processing.** Ellis Horwood Publishers. 1989

[23] Suslick S K. “Sonochemistry.”, **Chemistry Summer 2000**, vol.3, 2000. pp. 17-22

[24] Hao Feng., Gustavo V. Barbosa-Cánovas. And Jochen Weiss. “**Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing.**”

[25] Tao Y., Zhang Z. and Sun D W. “Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: Influence of acoustic energy density and temperature.”, **Ultrasonics Sonochemistry**., vol.21, 2014. pp. 1461-1469.

[26] González - Centeno M R., Comas-Serra F., Femenia A., Rosselló C. and Simal S. “Effect of power ultrasound application on aqueos extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomance (Vitis vinifera L.): Experimental kinetics and modeling.”, **Ultrasonics Sonochemistry**., vol.22, 2015. pp. 506-514

[27] Fan L., Zhang S., Yu L. and Ma L. “Evaluation of antioxidant property and quality of breads containing *Auricularia auricular* polysaccharide flour.”, **Food Chemistry**., 2006. Pp. 1158–1163

[28] Tian Y., Zeng H., Xu Z., Zheng B., Lin Y., Gan C. and Lo Y M. “Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of polysaccharides recovered form white button mushroom (*Agaricus bisporus*).”, **Carbohydrate Polymers.**, vol.88, 2012. pp. 522-529

[29] Zhao Y., Shi Y., Yang H. and Mao L. “Extraction of *Angelica sinensis* polysaccharides using ultrasound-assisted way and its bioactivity.”, **International Journal of Biological Macromolecules**., vol.88, 2016. pp. 44-50

[30] Zhu C. and Liu X. “Optimization of extraction process of crude polysaccharides from Pomegranate peel by response surface methodology.”, **Carbohydrate Polymers**., vol.92, 2013. pp. 1197-1202

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

[31] Yim H S., Chye F Y., Rao V., Low J Y., Matanjun P., How S E. and Ho C W. " Optimization of extraction time and temperature on antioxidant activity of Schizophyllum commune aqueous extract using response surface methodology.", **J Food Sci Technology.**, vol.50, 213. pp.275-283

[32] Tian S., Hao C., Xu G., Yang J. and Sun R. "Optimization conditions for extracting polysaccharide from *Angelica sinensis* and its antioxidant activities.", **Journal of Food And Drug Analysis.**, 2016. pp. 1-10

[33] Chen W., Wang W., Zhang H S., and Huang B. " Optimization of ultrasonic-assisted extraction of water-soluble polysaccharides from *Boletus edulis* mycelia using response surface methodology.", **Carbohydrate Polymers.**, vol.87, 2012. pp. 614 –619

[34] Ri Z X., Li X L., Feng X., Lin L X., Na Y C., Tian X. and Xia L. "Optimazation of Polysaccharide Extraction from Polygonatum odoratum by Response Surface Methodology and Evaluation of its Antitumor Activity.", **J Bioprocess Biotech.**, vol.6, 2016

[35] A.O.A.C (2000). Official methods of analysis. **Association of Official Analytical Chemists International**. Maryland, USA.

[36] Dubois M., Gilles K A., Hamiltion J K., Rebers P A. and Smith F. "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances.", **Analytical Chemistry.**, 1956. pp. 350-356

[37] Singleton V L., Orthofer R. and Lamuela – Raventos R M. " Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant s by means of folin–ciocalteu reagent.", **Methods in Enzymology.**, vol.299, 1999. pp. 152-178

[38] Saiga A., Tanabe S., and Nishimura T. "antioxidant Activity of Peptides Obtained from Porcine Myofibrillar Proteins by Protease Treatment.", **J. Agric. Food Chem.**, vol.51, 2003. pp. 3661-3667

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

[39] Benzie I F F. and Strain J J. “The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “antioxidant Power” : The FRAP Assay.”, **ANALYTICAL BIOCHEMISTRY.**, vol.239, 1996. pp. 70 - 76

[40] Sharma G., Wu W., and Dalal E N. “The CIEDE2000 Color-Difference Formula: Implementation Notes, Supplementary Test Data, and Mathematical Observations.”, **COLOR research and application.**, vol. 30, 2005. pp. 21 – 30

[41] Zhao S., Ronga C., Liua Y., Xua F., Wanga S., Duand C., Chena J. and Wu X. “Extraction of a soluble polysaccharide from *Auricularia polytricha* and evaluation of its anti-hypercholesterolemia effect in rats.”, **Carbohydrate Polymers.**, vol.122, 2015. pp. 39-45

[42] อริสรา โพธิ์สนาม, ศรัญญา สารพัด, สุรพร ใจทัศน์. “ผลของความร้อนและระยะเวลาเก็บรักษาต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มไหมข้าวโพด” **วารสารอุตสาหกรรมการเกษตรพระจอมเกล้า**, ปีที่ 4,ฉบับที่1, มกราคม 2555. หน้า 36 - 44

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของสารสกัด

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของสารสกัด

1. การวิเคราะห์ปริมาณสารพอลิแซกคาไรด์ด้วยวิธี Phenol Sulfuric method

1.1 สารเคมีที่ใช้

- Phenol 5%
- Cone. Sulfuric acid
- สารละลายมาตราฐานกลูโคส

1.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์

สารตัวอย่างหรือสารมาตราฐานปริมาตร 500 µl

↓

Phenol 5% ปริมาตร 500 µl

↓

Cone. Sulfuric acid ปริมาตร 2.5 ml

↓

ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

↓

แช่น้ำที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที

↓

วัดค่าการดูดกลืนแสง 490 นาโนเมตร

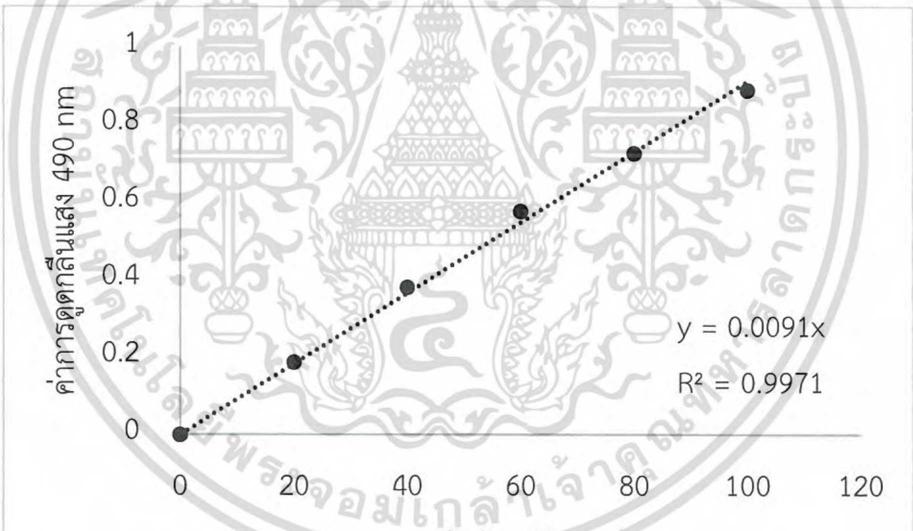
↓

ทำการวิเคราะห์การทดลอง 2 ซ้ำ

รูปผนวกที่ 1 แสดงปฏิกริยาเคมีที่เกิดขึ้นของการวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์

1.3 การคำนวณหาปริมาณสารพอลิแซกคาไรด์

การคำนวณหาปริมาณสารพอลิแซกคาไรด์โดยเทียบกราฟมาตรฐานกลูโคสและเทียบเป็น หน่วย g $100g^{-1}$



รูปผนวกที่ 2 แสดงกราฟมาตราฐานกลูโคส

2. Total phenolic content ด้วยวิธี Folin - Ciocalteau method

2.1 สารเคมีที่ใช้

- Folin 0.2 N
- $NaHCO_3$ 7.5 %
- กรดแกลลิกมาตราฐาน

2.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์

สารตัวอย่างหรือสารมาตราฐานปริมาตร 100 µl

↓

Folin ความเข้มข้น 0.2 N ปริมาตร 625 µl

↓

น้ำกลั่นปริมาตร 340 µl

↓

ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 8 นาที

↓

$NaHCO_3$ 7.5 % ปริมาตร 500 µl

↓

บ่มที่อุณหภูมิ 40 ˚c 30 นาที

↓

ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

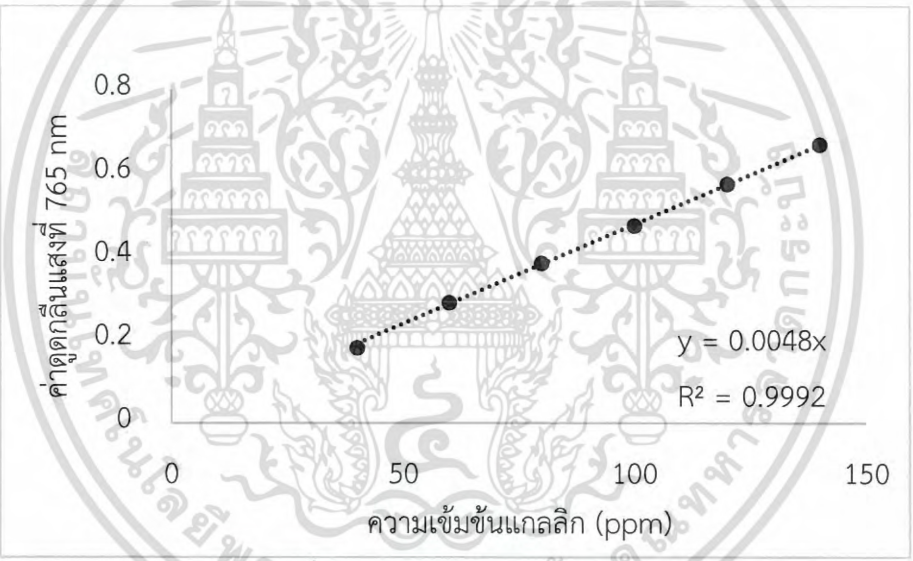
↓

วัดค่าการดูดกลืนแสง 765 นาโนเมตร

รูปผนวกที่ 3 แสดงปฏิกริยาเคมีที่เกิดขึ้นของการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

2.3 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก

การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกโดยเทียบกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกและเทียบเป็น หน่วย mgGAE g^{-1}



รูปผนวกที่ 4 แสดงกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

3. การวิเคราะห์ค่าความสามารถต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

3.1 สารเคมีที่ใช้

- DPPH 0.1 mM
- เอทานอล
- BHA (3-tert-Butyl-4-hydroxyanisole)

3.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์

สารตัวอย่างหรือสารมาตราฐาน 100 µl

↓

DPPH 0.1 mM ปริมาตร 1.5 ml

↓

ทิ้งไว้ในที่มืด 60 นาที จับเวลาที่แน่นอน

↓

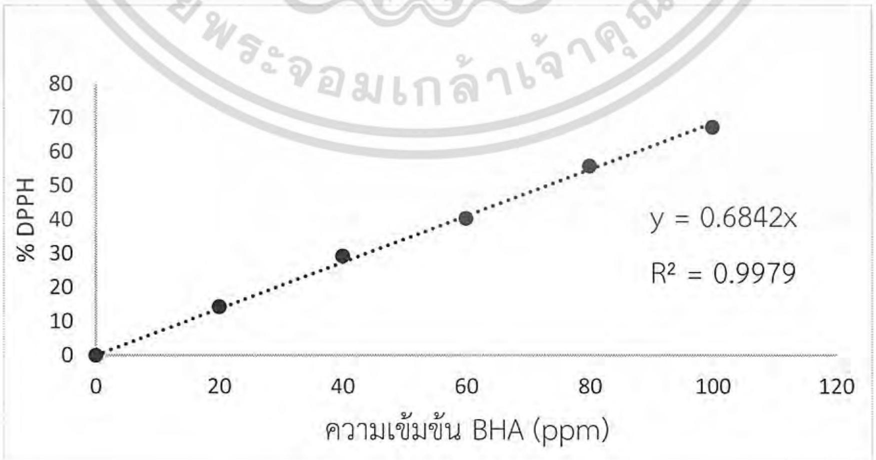
วัดค่าการดูดกลืนแสง 517 นาโนเมตร

3.3 การคำนวณค่าความสามารถต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การคำนวณหาค่าความสามารถต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยเทียบกราฟมาตรฐานสารละลาย BHA และเทียบเป็น หน่วย % การยับยั้งอนุมูลอิสระ จากสมการ

$$\%\ \text{Radical-scavenging activity} = \frac{((B-A) \times 100)}{B}$$

เมื่อ A และ B เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของตัวอย่าง



รูปผนวกที่ 5 แสดงกราฟมาตราฐานสารละลาย BHA

4. การวิเคราะห์ค่าความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี Ferric reducing ability power (FRAP)

4.1 สารเคมีที่ใช้

- Tripyridyltriazine (TPTZ) 10 mM
- HCl 40 mM
- FeCl3• 6H2O 20 mM
- Sodium acetate buffer 300 mM
- Acetic acid
- Ethanol
- Trolox (6-tert-Butyl-4-hydroxyanisole)

4.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์

ขั้นตอนการเตรียม FRAP

Tripyridyltriazine (TPTZ) 10 mM 2.5 ml

↓

$FeCl_3\cdot 6H_2O$ 20 mM ปริมาตร 2.5 ml 625 µl

↓

บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C

ขั้นตอนการวิเคราะห์

สารตัวอย่างหรือสารมาตราฐาน 200 µl

↓

FRAP ปริมาตร 1.8 ml 625 µl

↓

บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 15 นาที

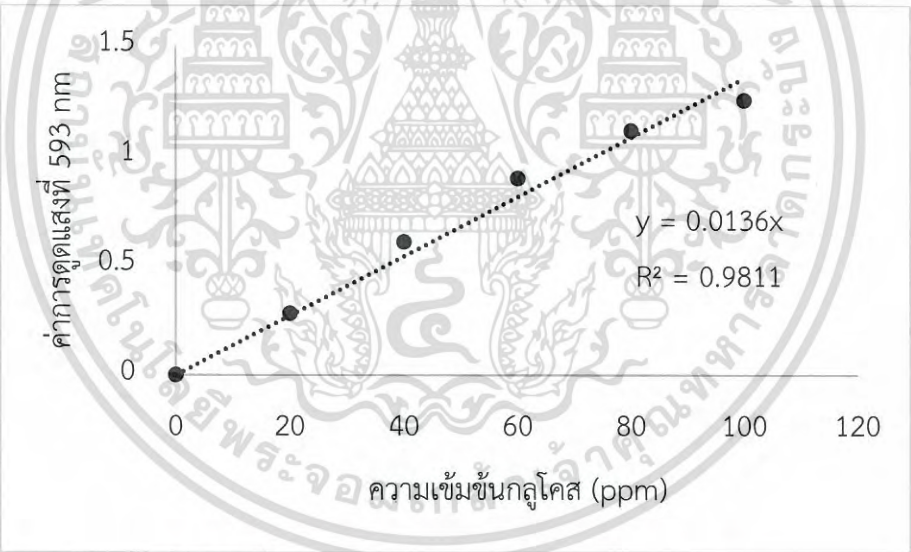
↓

วัดค่าการดูดกลืนแสง 593 นาโนเมตร

รูปผนวกที่ 6 แสดงปฏิกริยาเคมีที่เกิดขึ้นของการวิเคราะห์ค่าความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP

4.3 การคำนวณหาปริมาณค่าความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก

การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกโดยเทียบกราฟมาตรฐานโทรล๊อกซ์และเทียบเป็นหน่วย μmoleTE g^{-1}



รูปผนวกที่ 7 แสดงกราฟมาตราฐานสารละลาย Trolox

5. การวิเคราะห์ค่าความสามารถการจับคอปเปอร์โดยใช้วิธี Copper chelating activity

5.1 สารเคมีที่ใช้

- Sodium acetate buffer 50 mM
- Acetic Acid 50 mM

- Pyprocetechol violet 4 mM
- $CuSO_4$ X $5H_2O$ 1 mg/ml
- EDTA

5.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์

Sodium acetate buffer 50 mM ปริมาตร 2.3 ml

↓

Pyprocetechol violet 4 mM ปริมาตร 625 µl

↓

$CuSO_4$ X $5H_2O$ ปริมาตร 100 µl

↓

สารตัวอย่างหรือสารมาตราฐาน 500 µl

↓

วัดค่าการดูดกลืนแสง 632 นาโนเมตร

รูปผนวกที่ 8 แสดงปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นของการวิเคราะห์ค่าความสามารถจับโลหะคอปเปอร์

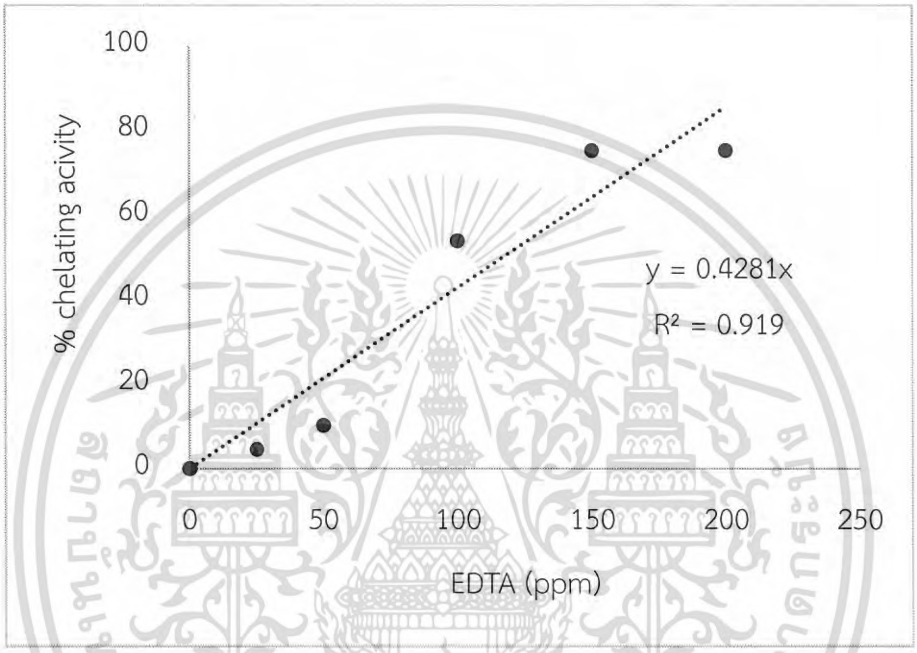
5.3 การคำนวณหาปริมาณค่าความสามารถจับโลหะคอปเปอร์

การคำนวณหาค่าความสามารถจับโลหะคอปเปอร์ โดยเทียบกราฟมาตรฐานสารละลายอีดีทีเอ (EDTA) และเทียบเป็น หน่วย µmoleEDTA g^{-1}

ซึ่งคำนวณเปอร์เซนต์ค่าความสามารถจับโลหะคอปเปอร์และเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายอีดีทีเอ (EDTA) มาตรฐานของสารสกัดที่ได้จากสมการ

$$\% \text{ Copper chelating activity} = \frac{((B\text{-}A) \times 100)}{B}$$

เมื่อ A และ B เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 632 nm ของตัวอย่าง



รูปผนวกที่ 9 แสดงกราฟมาตรฐานสารละลายอีดีทีเอ (EDTA)

ภาคผนวก ข

ข้อมูลการทดลองการสกัดเปรียบเทียบการสกัดแบบดั้งเดิม และด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

ภาคผนวก ข

ข้อมูลการทดลองการสกัดเปรียบเทียบการสกัดแบบดั้งเดิมและด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

	อัตราส่วนน้ำหนักแห้งเห็ดหูหนูดำต่อปริมาณน้ำ (w v^{-1})		
เวลา (นาที)	1:20	1:25	1:30
0	1.71	1.30	1.16
15	1.77	1.68	1.25
30	1.84	1.48	1.81
45	1.74	1.80	1.32
60	1.97	1.70	1.29
90	1.45	1.49	1.16
120	1.43	1.19	1.21
180	1.45	1.14	1.35
เฉลี่ย	1.67	1.47	1.32

ภาคผนวก ค

ข้อมูลการวิเคราะห์ผลกระทบตัวแปรการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ข้อมูลการวิเคราะห์ผลกระทบตัวแปรการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำ

1. ผลการวิเคราะห์การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์

SUMMARY OUTPUT

Regression Statistics	
Multiple R	0.969261056
R Square	0.939466994
Adjusted R Square	0.830507583
Standard Error	1.411605132
Observations	15

ANOVA

	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*
Regression	9	154.6271481	17.18079423	8.622173933	0.014396373
Residual	5	9.963145238	1.992629048		
Total	14		164.5902933		

	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*
Intercept	51.13125	18.48946784	2.765425725	0.03957925	3.602559822	98.65994018
ขนาด(x1)	-0.260797619	0.225310002	-1.157505731	0.299351958	-0.839975419	0.31838018
temp (x2)	-1.169484127	0.462341372	-2.529481887	0.052563163	-2.357970461	0.019002207
เวลา(x3)	-6.076190476	3.565791787	-1.704022792	0.149101538	-15.24235007	3.08996912
x1x2	8.33333E-06	0.002352675	0.003542067	0.997310822	-0.006039411	0.006056078
x1x3	0.040488095	0.032061559	1.262823664	0.262341639	-0.041928766	0.122904956
x2x3	0.079888889	0.031369003	2.546746197	0.051469396	-0.0007477	0.160525478
x1^2	0.00089747	0.002010004	0.446501794	0.673908946	-0.004269409	0.006064349
x2^2	0.008919312	0.00357334	2.496071626	0.054752622	-0.00026625	0.018104875
x3^2	0.041772487	0.357333983	0.116900403	0.911489429	-0.87678376	0.960328734

2. ผลการวิเคราะห์การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลลิก

SUMMARY OUTPUT

Regression Statistics	
Multiple R	0.8392
R Square	0.7042
Adjusted R Square	0.1718
Standard Error	0.2685
Observations	15.0000

ANOVA

	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*
Regression	9	0.85847	0.095386	1.322701	0.3973
Residual	5	0.360571	0.072114		
Total	14	1.219042			

	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*
Intercept	0.7734	3.581766	0.215924	0.837579	-8.43383	9.980612
ขนาดเห็ดหูหนูดำ(x1)	-0.0282	0.046959	-0.60045	0.574381	-0.14891	0.092516
อุณหภูมิ (x2)	-0.0035	0.085621	-0.041	0.96888	-0.22361	0.216584
เวลา(x3)	0.7959	0.676099	1.177208	0.292093	-0.94206	2.533876
x1x2	0.0001	0.000655	0.201415	0.848311	-0.00155	0.001817
x1x3	-0.0026	0.006464	-0.40657	0.701143	-0.01924	0.013988
x2x3	-0.0039	0.005968	-0.66182	0.537362	-0.01929	0.011391
x1^2	0.0005	0.000484	0.956216	0.382878	-0.00078	0.001708
x2^2	0.0000	0.000667	-0.0436	0.96691	-0.00174	0.001686
x3^2	-0.0452	0.065461	-0.69052	0.520606	-0.21348	0.123071

3. ผลการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการความสามารถการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

SUMMARY OUTPUT

Regression Statistics	
Multiple R	0.868514
R Square	0.754317
Adjusted R Square	0.312089
Standard Error	9.163965
Observations	15

ANOVA

	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*
Regression	9	1289.189	143.2432	1.705718	0.288737
Residual	5	419.8913	83.97826		
Total	14	1709.08			

	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*
Intercept	56.86435	122.2278	0.465232	0.661324	-257.332	371.061
ขนาดเห็ดหูหนูดำ(x1)	-0.63431	1.602482	-0.39583	0.708555	-4.75362	3.484998
อุณหภูมิ (x2)	-0.48008	2.921809	-0.16431	0.875923	-7.99083	7.030666
เวลา(x3)	12.14342	23.07188	0.52633	0.621162	-47.1647	71.45159
x1x2	-0.00293	0.022367	-0.13091	0.900952	-0.06042	0.054567
x1x3	0.016043	0.22058	0.072731	0.94484	-0.55098	0.583063
x2x3	0.177427	0.203644	0.871264	0.423462	-0.34606	0.70091
x1^2	0.010379	0.01653	0.627916	0.557618	-0.03211	0.05287
x2^2	-0.00819	0.022771	-0.35985	0.733662	-0.06673	0.05034
x3^2	-2.84933	2.233861	-1.27552	0.258171	-8.59165	2.89299

4. ผลการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อค่าความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก

SUMMARY OUTPUT

Regression Statistics	
Multiple R	0.9484
R Square	0.8995
Adjusted R Square	0.7185
Standard Error	0.6458
Observations	15

ANOVA

	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*
Regression	9	18.66234	2.073593	4.971350757	0.0461
Residual	5	2.085543	0.417109		
Total	14	20.74788			

	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*
Intercept	-24.4299	8.614126	-2.83603	0.036415865	-46.57322514
ขนาดเห็ดหูหนูดำ(x1)	0.2079	0.112936	1.840606	0.125050141	-0.082440929
อุณหภูมิ (x2)	0.8157	0.205917	3.961188	0.010730105	0.286349983
เวลา(x3)	-0.3149	1.626014	-0.19367	0.854059869	-4.494703398
x1x2	-0.0008	0.001576	-0.49469	0.641788086	-0.004831796
x1x3	-0.0322	0.015546	-2.06952	0.093296537	-0.072133205
x2x3	0.0052	0.014352	0.363186	0.731315057	-0.031680513
x1^2	0.0000	0.001165	0.028593	0.978295001	-0.002961251
x2^2	-0.0063	0.001605	-3.90103	0.011397507	-0.010385568
x3^2	0.1731	0.157434	1.099368	0.321701178	-0.231618317

5. ผลการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการความสามารถในการจับโลหะกลุ่มคอปเปอร์

SUMMARY OUTPUT

Regression Statistics	
Multiple R	0.8564
R Square	0.7334
Adjusted R Square	0.2535
Standard Error	3.6335
Observations	15.0000

ANOVA

	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*
Regression	9	181.5707	20.17452	1.52811	0.3336
Residual	5	66.01135	13.20227		
Total	14	247.582			

	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*
Intercept	24.1827	48.46308	0.498991	0.638961	-100.396	148.761
ขนาดเห็ดหูหนูดำ(x1)	0.2051	0.635381	0.322834	0.759884	-1.42818	1.838421
อุณหภูมิ (x2)	-0.1756	1.158491	-0.15159	0.885435	-3.15361	2.802377
เวลา(x3)	-3.7901	9.147953	-0.41431	0.69582	-27.3057	19.72545
x1x2	0.0001	0.008868	0.009777	0.992578	-0.02271	0.022883
x1x3	-0.0101	0.08746	-0.11556	0.9125	-0.23493	0.214715
x2x3	-0.1522	0.080744	-1.88524	0.11808	-0.35978	0.055338
x1^2	-0.0027	0.006554	-0.40704	0.700821	-0.01952	0.01418
x2^2	0.0057	0.009029	0.635966	0.552765	-0.01747	0.02895
x3^2	1.5906	0.885721	1.795868	0.13246	-0.68618	3.867457

6. ผลการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อค่าสีของสารสกัด

SUMMARY OUTPUT

Regression Statistics	
Multiple R	0.9173649
R Square	0.8415584
Adjusted R Square	0.5563634
Standard Error	2.996039
Observations	15

ANOVA

	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*
Regression	9	238.3855	26.48728	2.950818	0.123028
Residual	5	44.88125	8.97625		
Total	14	283.2667			

	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95.0%*
Intercept	-45.55677	39.9608	-1.14004	0.30592	-148.279	57.16573
ขนาดเห็ดหูหนูดำ(x1)	0.3915094	0.523911	0.747283	0.488524	-0.95525	1.738265
อุณหภูมิ (x2)	2.6035081	0.955247	2.725481	0.041503	0.147967	5.05905
เวลา(x3)	18.843492	7.543052	2.498126	0.054615	-0.54654	38.23352
x1x2	-0.0082511	0.007312	-1.12837	0.310378	-0.02705	0.010546
x1x3	0.15025	0.072116	2.083454	0.091659	-0.03513	0.33563
x2x3	-0.1298284	0.066579	-1.95	0.10867	-0.30097	0.041317
x1^2	-0.0069526	0.005404	-1.28654	0.2546	-0.02084	0.006939
x2^2	-0.0149168	0.007445	-2.00371	0.101458	-0.03405	0.00422
x3^2	-1.8389039	0.730332	-2.5179	0.053311	-3.71628	0.038474

7. ผลการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อค่า pH ของสารสกัด

SUMMARY OUTPUT

Regression Statistics	
Multiple R	0.7490
R Square	0.5609
Adjusted R Square	-0.2293
Standard Error	0.1574
Observations	15.0000

ANOVA

	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*
Regression	9	0.158322	0.017591	0.709799	0.6919
Residual	5	0.123918	0.024784		
Total	14	0.28224			

	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*
Intercept	6.0230	2.099755	2.868425	0.035059	0.625398	11.42058
ขนาด(x1)	0.0177	0.027529	0.643407	0.548304	-0.05305	0.088478
temp (x2)	0.0170	0.050194	0.338554	0.748699	-0.11203	0.146021
เวลา(x3)	-0.5034	0.396352	-1.27015	0.259927	-1.52228	0.515429
x1x2	0.0001	0.000384	0.360721	0.733047	-0.00085	0.001126
x1x3	-0.0054	0.003789	-1.41903	0.215109	-0.01512	0.004364
x2x3	0.0013	0.003498	0.381127	0.718767	-0.00766	0.010326
x1^2	0.0000	0.000284	0.034657	0.973694	-0.00072	0.00074
x2^2	-0.0003	0.000391	-0.71174	0.508446	-0.00128	0.000727
x3^2	0.0669	0.038376	1.743205	0.141758	-0.03175	0.165544

ตารางผนวกที่ 2 ข้อมูลดิบการวิเคราะห์ผลกระทบตัวแปรต่อการสกัดสารสำคัญจากเห็ดหูหนูดำ

Run	สารพอลิแซ็กคาไรด์	สารประกอบฟีนอลลิก	ความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH	ความสามารถในการรีดิวซ์ FRAP
1	5.839±0.402	1.936±0.022	47.223±5.515	7.642±0.068
2	5.988±0.224	1.724±0.008	41.880±4.403	4.326±0.161
3	11.614±0.020	1.454±0.085	19.737±0.340	5.384±0.400
4	11.865±0.161	1.400±0.023	16.277±0.657	7.753±0.279
5	4.162±0.101	1.618±0.029	40.733±1.321	3.868±0.119
6	3.099±0.063	1.281±0.010	28.839±0.698	4.122±0.308
7	10.484±0.630	1.142±0.041	16.017±0.475	5.853±0.020
8	16.549±0.689	1.380±0.018	11.668±0.502	6.576±0.039
9	6.896±0.036	1.741±0.032	21.865±0.497	5.505±0.128
10	6.887±0.107	1.309±0.081	19.190±5.483	8.291±0.004
11	7.837±0.130	1.791±0.002	33.128±0.871	3.937±0.202
12	8.698±0.048	1.419±0.077	33.078±0.918	6.726±0.401
13	6.023±0.039	1.282±0.005	21.618±0.782	6.169±0.160
14	7.029±0.188	1.657±0.023	29.337±2.452	5.966±0.094
15	6.339±0.116	6.339±0.116	39.833±0.492	6.142±0.151

ภาคผนวก ง

รูปประกอบการทดลอง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ภาคผนวก ง

รูปประกอบการทดลอง

1. รูปตัวอย่างวัตถุดิบที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดสารสำคัญจากเห็ด

รูปผนวกที่ 10 ตัวอย่างเห็ดหูหนูดำสด

รูปผนวกที่ 11 ตัวอย่างเห็ดหูหนูดำผ่านการอบและลดขนาดแบบหยาบ

16 mesh 20 mesh

40 mesh 60 mesh

รูปผนวกที่ 12 ตัวอย่างเห็ดหูหนูดำที่ผ่านการบดและลดขนาด

2. รูปตัวอย่างสารสำคัญจากเห็ด

รูปผนวกที่ 13 ตัวอย่างลักษณะของสารสกัดที่ได้จากเห็ดหูหนูดำ

รูปผนวกที่ 14 ตัวอย่างลักษณะกากที่แยกออกจากสารสกัด

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวปทุมภรณ์ มะโนวรรณ์
วัน เดือน ปีเกิด	8 พฤศจิกายน 2534 ที่จังหวัดเชียงใหม่
ที่อยู่	130/1 หมู่ 9 ตำบลม่อนปิ่น อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ 50110
ประวัติการศึกษา	2557 วิทยาศาตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประสบการณ์การทำงานและผลงานวิจัย

พ.ศ. 2556	นักศึกษาฝึกงานสถาบันวิจัยและพัฒนาเนื้อสัตว์ กรมปศุสัตว์ จังหวัดเชียงใหม่
พ.ศ. 2556 - 2557	นักศึกษาสหกิจศึกษาบริษัท ซีพีแรม จำกัด มหาชน และทำงานวิจัยเรื่อง การสังเกตการขึ้นตัวของสปองจ์ที่หมักด้วยแป้งชนิดต่างๆ ด้วยสายตา
พ.ศ. 2560 – ปัจจุบัน	นักวิเคราะห์ธุรกิจ บริษัท ไลคอน จำกัด