



## สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครงด้วยเทคนิคอัลตราโซนิก และการวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนอง

### Optimum Condition of $\beta$ -glucan Extraction from *Schizophyllum Commune* using Ultrasonic Technique and Response Surface Methodology

จันทิมา ชั่งสิริพร<sup>1\*</sup> พฤกระยา พงศ์ยี่หล้า<sup>1</sup> และ นิรณา ชัยฤกษ์<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตำบลคอหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

Juntima Chungsiriporn<sup>1</sup> Prukraya Pongyeela<sup>1</sup> and Nirana Chairerk

<sup>1</sup>Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112 Thailand

\*Corresponding Author, E-mail: juntima.c@psu.ac.th

Received: 14 August 2020 | Revised: 14 December 2020 | Accepted: 30 December 2020

#### บทคัดย่อ

เห็ดแครงประกอบด้วยสารเบต้ากลูแคนที่ชื่อ Schizophyllan ซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำได้และมีคุณสมบัติทางเวชสำอางที่หลากหลาย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครง ด้วยวิธีการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 65 ทำการกวนสกัดและใช้อัลตราโซนิกความถี่ 45 kHz เพื่อระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่ทำให้สารสกัดเข้มข้นขึ้น การออกแบบการทดลองและสร้างโมเดลทางคณิตศาสตร์ได้ใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (RSM) ที่มีปัจจัยของเวลาสกัด ( $X_1$ ) 0 - 60 นาที อัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลาย ( $X_2$ ) 1:5 - 1:20 และอุณหภูมิอัลตราโซนิก ( $X_3$ ) 40 - 60 องศาเซลเซียส พบว่า สภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ระยะเวลาสกัด 48 นาที อัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลาย 1:17 และอุณหภูมิอัลตราโซนิก 45 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดที่มีสารเบต้ากลูแคนสูงสุดร้อยละ 40.48 ปริมาณฟีนอลิก 2,701 มิลลิกรัมแกลลิกต่อ 100 กรัมเห็ดแครง ปริมาณฟลาโวนอยด์ 12.83 มิลลิกรัมแควอซิตินต่อ 100 กรัมเห็ดแครง และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 73.16 สมการรูปแบบกำลังสอง (Quadratic Equation) ได้รับการยอมรับให้เป็นแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ เนื่องจากที่ระดับนัยสำคัญ  $\alpha = 0.05$  ค่า p-value ของรูปแบบสมการมีความเหมาะสม ดังนั้นสมการถดถอยที่ได้จากการทดลองสามารถอธิบายความสัมพันธ์ของปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัยได้เป็นอย่างดีและใช้ทำนายปริมาณเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครงได้อย่างแม่นยำ

#### ABSTRACT

*Schizophyllum commune* contains of  $\beta$ -glucan named Schizophyllan, which is water soluble polysaccharide with various cosmeceutical properties. The objective of this study is to investigate the optimum condition for  $\beta$ -glucan extraction. Solvent extraction was done by 65% ethanol and with 45 Hz ultrasonic. Vacuum evaporator was applied for evaporating solvent from the extract. Response surface methodology (RSM) was used in the study of extraction time ( $X_1$ ) 0 - 60 min, ratio of *Schizophyllum commune* and solvent ( $X_2$ ) 1:5 - 1:20 and the temperature of ultrasonic ( $X_3$ ) 40 - 60°C. The optimum condition inverted that the extraction time,

the ratio and the temperature of ultrasonic were 48 min, 1:17 and 45°C, respectively. The analytical results of the extract inverted that  $\beta$ -glucan content, phenolic content, flavonoid content, and DPPH scavenging activity were 40.48%, 2,701 mg gallic/100 g mushroom, 53.82 mg quercetin/100 g mushroom and 73.16%, respectively. The quadratic model has been accepted as a mathematical model. The significant level of  $\alpha$  is equal 0.05, the p-value of the equation model is appropriate. Hence, the regression model derived from the experimental data could describe the correlation among the three independent variables studied and provide the accurate prediction of  $\beta$ -glucan content from *Schizophyllum commune*.

**คำสำคัญ:** เห็ดแครง สารต้านอนุมูลอิสระ เทคนิคอัลตราโซนิค วิธีพื้นผิวตอบสนอง

**Keywords:** *Schizophyllum commune*, Antioxidant activity, Ultrasonic assisted extraction, Response Surface Methodology

## บทนำ

เห็ดแครงหรือเห็ดตีนตุ๊กแก มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Schizophyllum commune* เป็นเห็ดที่ขึ้นอยู่ทั่วโลกและงอกได้ตลอดทั้งปี มีขนาดเล็ก เจริญเติบโตได้ดีในฤดูฝน เป็นที่นิยมรับประทานในเขตภาคใต้ ภาคเหนือ และภาคอีสานตอนบนของประเทศไทย เห็ดแครงมีสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งการอักเสบและมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันที่สำคัญ คือ สารประกอบโพลีแซคคาไรด์ชนิดซิโซฟิลแลน (Schizophyllan) ซึ่งเป็นสารเบต้ากลูแคน ( $\beta$ -glucan) ที่ได้รับการพัฒนาเป็นยาต้านมะเร็งต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งหลายชนิด (Adejoy et al., 2007) นอกจากนี้คุณสมบัติต้านมะเร็งแล้ว เบต้ากลูแคนยังสามารถปรับระดับคอเลสเตอรอล ระดับน้ำตาล ความต้านทานต่อโรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจส่วนบนในร่างกาย และยังมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ เห็ดแครงยังมีสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีคุณสมบัติต้านการตายของเซลล์ ต้านสารก่อมะเร็ง ต้านการอักเสบ ต้านโรคหลอดเลือดแดงตีตัน ป้องกันโรคหัวใจ ปรับการทำงานของเอนโดธีเลียลเซลล์ สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกและ low-density lipoprotein (LDL) และป้องกันเนื้อเยื่อและดีเอ็นเอจากการถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระในร่างกาย

การสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค (Ultrasonic Assisted Extraction) ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายทำให้ได้สารสำคัญเพิ่มมากขึ้น ด้วยอัตราการสกัดที่เร็วขึ้นและเวลาในกระบวนการสกัดที่สั้นลง (Vikhu et al., 2008) การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคจะเป็นการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลายและการชะสารสำคัญออกจากเซลล์ การสั่นสะเทือนโมเลกุลของ

ตัวทำละลายด้วยคลื่นอัลตราโซนิคเป็นการเพิ่มพื้นผิวในการสัมผัสระหว่างตัวทำละลาย นอกจากนี้ผลของเวลาสกัดและอัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลายเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดเบต้ากลูแคน การเพิ่มอุณหภูมิสามารถลดระยะเวลาในการสกัดลงได้เนื่องจากสัมประสิทธิ์การแพร่ที่เปลี่ยนแปลงไป (Cisse et al., 2012)

วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology, RSM) เป็นวิธีการทางวิทยาศาสตร์และสถิติที่เป็นประโยชน์ในการสร้างแบบจำลองและวิเคราะห์ปัญหา ซึ่งแสดงผลตอบสนองต่อผลจากตัวแปรต่างๆ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาจุดหรือความเหมาะสมต่อผลนั้น ทำให้ง่ายในการจัดการและการอธิบายผลเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น (Box and Behnken, 1960)

งานวิจัยนี้ศึกษาการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครงด้วยคลื่นอัลตราโซนิค โดยการออกแบบการทดลองด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง โดยศึกษาความสัมพันธ์ของเวลาการสกัด อัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลายและอุณหภูมิอัลตราโซนิคที่ความถี่ 45 kHz ต่อประสิทธิภาพการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครง รวมถึงทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging assay

## วัสดุและวิธีการศึกษา

### 1. การเตรียมเห็ดแครง

ล้างทำความสะอาดเห็ดแครง ผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงจากนั้น

นำเห็ดที่อบแล้วไปบดและคัดขนาดด้วยตะแกรงขนาด 12 40 และ 100 เมช และเก็บตัวอย่างในโถดูดความชื้นสำหรับการสกัด

## 2. อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์

เครื่องอัลตราโซนิก เครื่องกวน (Jar test) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง ตู้อบ เครื่องบด โถดูดความชื้น ตะแกรงคัดขนาด เครื่องเหวี่ยงแยก และเครื่องระเหยสุญญากาศ

## 3. กระบวนการสกัดเห็ดแครง

นำเห็ดแครงที่ผ่านการบดและคัดขนาดปริมาณ 20 กรัม เติมน้ำทำละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 65 โดยปริมาตร ในอัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลาย 1:5-1:20 กรัมต่อมิลลิลิตร ทำการกวนสกัดและอัลตราโซนิกที่ความถี่ 45 kHz หลังกระบวนการสกัดทำการกรองสารสกัดด้วยผ้าขาวบาง แล้วเหวี่ยงแยกตะกอนละเอียดด้วยเครื่องเหวี่ยงแยก (Centrifuge) จะได้สารสกัดใส นำมาทำระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิอ่างน้ำ 40 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดเห็ดแครงเข้มข้น นำสารสกัดไปวิเคราะห์หาค่าร้อยละผลได้และเก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

## 4. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด

**4.1 วิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน** ด้วยวิธีทางเอนไซม์ที่ใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป (Mushroom and Yeast Beta-Glucan Assay Kit; K-YBGL; Megazyme, (2011)) ปริมาณเบต้ากลูแคนทั้งหมดสามารถคำนวณได้จากสมการ ปริมาณกลูแคนทั้งหมดลบด้วยปริมาณแอลฟากลูแคน โดยหน่วยเป็นร้อยละโดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (%w/w) ดังสมการที่ (1) (2) และ (3)

$$\text{Total glucan} = \Delta E \times \left(\frac{F}{W}\right) \times 90 \quad (1)$$

$$\alpha - \text{glucan} = \Delta E \times \left(\frac{F}{W}\right) \times 9.27 \quad (2)$$

$$\beta - \text{glucan} = \text{Total glucan} - (\alpha - \text{glucan}) \quad (3)$$

โดยที่

$\Delta E$  = ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างเทียบกับแบลนด์รีเอเจนต์

$F$  = ค่าใช้เปลี่ยนจากค่าการดูดกลืนแสงไปเป็นไมโครกรัม = (ปริมาณดีกลูโคสมาตรฐาน 150 ไมโครกรัม/ค่าการดูดกลืนแสงของดีกลูโคสมาตรฐาน 150 ไมโครกรัมในปฏิกิริยา GOPOD

$w$  = น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

**4.2 วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก** ปีเปตสารตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 9.5 มิลลิลิตร ปีเปต *Folin-Ciocalteu reagent* ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยปริมาตร จำนวน 2 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง จากนั้นคำนวณปริมาณสารฟีนอลิก จากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกและรายงานผลเป็นปริมาณกรดแกลลิก (มิลลิกรัมแกลลิกต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) (Inchue et al., 2010)

**4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์** ปีเปตสารตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ปีเปตสารละลาย โซเดียมไนไตรต์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าทิ้งไว้ 5 นาที ปีเปตสารละลาย อะลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร 150 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที และปีเปตสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จำนวน 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 488 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง โดยใช้เคอเวอซิตินเป็นสารละลายมาตรฐาน รายงานผลเป็นปริมาณเคอเวอซิติน (มิลลิกรัมเคอเวอซิตินต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) (Hu et al., 2016)

**4.4 วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ** โดยผสมสารสกัดความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตรปริมาตร 1 มิลลิลิตรกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตรทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สูตร ดังสมการที่ (4) (Numchok et al., 2012)

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \times 100 \quad (4)$$

$A_{\text{control}}$  คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

$A_{\text{sample}}$  คือค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ผสมกับสารละลาย DPPH

## 5. การออกแบบการทดลองและวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธีพินผิวตอบสนอง

ออกแบบการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครง โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) (Subsree, 2009)

ซึ่งมีตัวแปรที่มีอิทธิพล จำนวน 3 ตัวแปร ได้แก่ ระยะเวลาการสกัด ( $X_1$ ) อัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลาย ( $X_2$ ) และอุณหภูมิอัลตราโซนิก ( $X_3$ ) ดังแสดงในตารางที่ 1 ข้อมูลจากการสกัดจะถูกวิเคราะห์โดยวิธีพหุคูณตอบสนองด้วยสมการพหุนามกำลังสอง (Second-Order Polynomial Equation) ซึ่ง จะ อธิบาย ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลตอบสนอง (ปริมาณเบต้ากลูแคน ปริมาณฟีนอลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ)

ที่ได้จากการทำนายและค่าตัวแปรอิสระของการสกัดโดยที่สมการพหุนามกำลังสองดังกล่าวแสดงได้ตามสมการที่ (5) (Ziegel et al., 1997)

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad (5)$$

เมื่อ  $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$  คือ ค่าสัมประสิทธิ์  $X_i$  คือ ตัวแปรอิสระปัจจัยที่ต้องการศึกษาในกระบวนการสกัด

ตารางที่ 1 ตัวแปรและระดับตัวแปรของการออกแบบแบบ Central Composite Design

ตัวแปร	ระดับ		
	-1	0	1
เวลาสกัด (นาท)	0	30	60
อัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลาย (กรัม/มิลลิลิตร)	1:5	1:13	1:20
อุณหภูมิอัลตราโซนิก (องศาเซลเซียส)	40	50	60

**ผลการศึกษา**

จากการศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิอัลตราโซนิก เวลาในการสกัด และอัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดเบต้ากลูแคน 5 ระดับ คือ อุณหภูมิอัลตราโซนิก 40 45 50 55 และ 60 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัด 0 12 30 48

และ 60 นาท และอัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลายที่ 1:5 1:8 1:12 1:17 และ 1:20 วิเคราะห์ผลด้วยวิธี Response Surface Method ได้ผลการวิเคราะห์ค่า p-value เพื่อแสดงความมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) และไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า p-value ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีตอบสนองแบบพหุคูณ

ตัวแปร	เบต้ากลูแคน (ร้อยละ)	ฟีนอลิก (มิลลิกรัมแกลกติกต่อ 100 กรัมเห็ดแครง)	ฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมเคอซิทินต่อ 100 กรัมเห็ดแครง)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ)
$x_1$	0.0000126	-	0.00000065	-
$x_2$	-	-	0.00268	-
$x_3$	-	-	-	-
$x_1^2$	-	0.000000042	-	-
$x_2^2$	-	0.0000676	0.04071	0.00000027
$x_3^2$	0.000944	0.02672	-	0.00000030
$x_1x_2$	0.000000018	0.000000064	-	0.0000355
$x_1x_3$	-	-	0.00000132	-
$x_2x_3$	-	-	0.000526	0.00000017

หมายเหตุ  $x_1$  = เวลาสกัด  $x_2$  = อัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลาย  $x_3$  = อุณหภูมิอัลตราโซนิก

**1. ปริมาณเบต้ากลูแคน** จากผลการทดลองสามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างเวลาสกัด ( $x_1$ ) อัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลาย ( $x_2$ ) และอุณหภูมิอัลตราโซนิก ( $x_3$ ) ต่อปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้ ( $Y_1$ ) ดังสมการที่ (6)

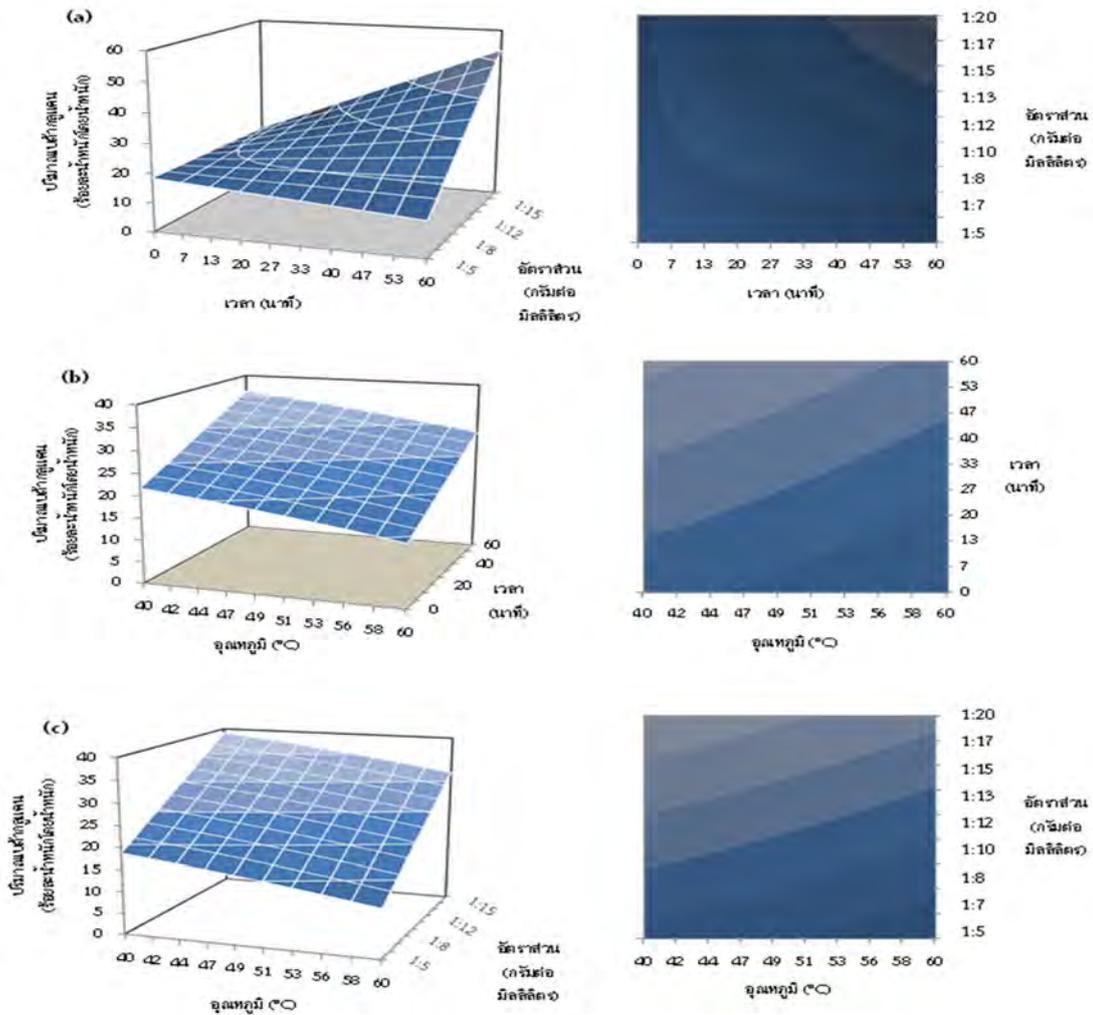
$$Y_1 = 27.73 - 0.326x_1 - 0.00375x_3^2 + 0.04508x_1x_2$$

$$R^2 = 0.952 \quad (6)$$

จากรูปที่ 1 พบว่า Response Optimizer ของสภาวะการสกัดที่ทำให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนสูงสุดเท่ากับร้อยละ 40.48 คือ ที่เวลาสกัด 48 นาท อัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลาย 1:17 และอุณหภูมิอัลตราโซนิก 45 องศาเซลเซียส พิจารณาความสัมพันธ์ของอัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลายกับเวลา (1a) และอัตราส่วนต่ออุณหภูมิอัลตราโซนิก (1c) พบว่าเมื่ออัตราส่วนเห็ดแครงต่อตัวทำละลายเพิ่มขึ้นปริมาณเบต้า

กลูแคนที่ได้จะเพิ่มขึ้น และความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับอุณหภูมิอัลตราโซนิค (1b) ปริมาณเบต้ากลูแคนสูงขึ้นตามเวลาสกัดที่นานขึ้น เนื่องจากระยะเวลาในการสกัดที่สูงขึ้นจะทำให้การสัมผัสระหว่างเห็ดแห้งกับตัวทำละลายเพิ่มขึ้น ทำให้ตัวทำละลายสามารถละลายสารสกัดได้ดี แต่ที่อุณหภูมิอัลตราโซนิคยิ่งสูงขึ้น

จะทำให้ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้ลดลง ซึ่งการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง ทั้งคุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติของสารต้านออกซิเดชั่น (Pokorn and Schmidt, 2001) และจากผล  $R^2 = 0.952$  สมการที่ (6) จึงสามารถนำมาใช้ทำนายปริมาณเบต้ากลูแคนได้เป็นอย่างดี



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ของอุณหภูมิอัลตราโซนิค เวลาสกัด และอัตราส่วนเห็ดแห้งต่อตัวทำละลายต่อปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแห้ง

2. ปริมาณฟีนอลิก จากผลการทดลองสามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรเวลาสกัด ( $x_1$ ) อัตราส่วนเห็ดแห้งต่อตัวทำละลาย ( $x_2$ ) และอุณหภูมิอัลตราโซนิค ( $x_3$ ) ต่อปริมาณฟีนอลิกที่สกัดได้ ( $Y_2$ ) ดังสมการที่ (7) และแสดงกราฟความสัมพันธ์ดังรูปที่ 2

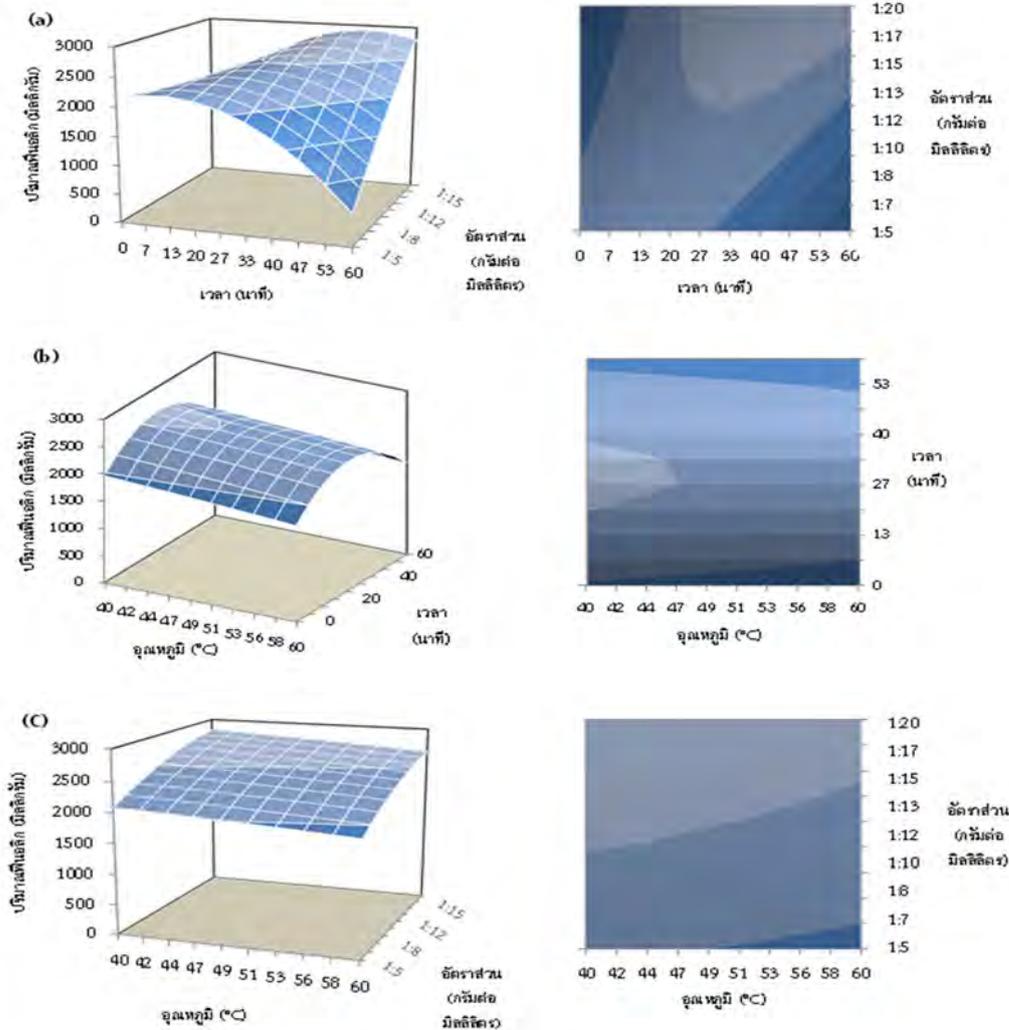
$$Y_2 = 2442.90 - 0.714x_1^2 - 2.039x_2^2 - 0.102x_3^2 + 3.319x_1x_2$$

$$R^2 = 0.957 \quad (7)$$

พบว่า Response Optimizer ของสภาวะการสกัดที่ทำให้ได้ปริมาณฟีนอลิกสูงสุด เท่ากับ 2,701 มิลลิกรัมแกลกติกต่อ 100 กรัมเห็ดแห้ง คือ ที่เวลาสกัด 48 นาที อัตราส่วนเห็ดแห้งต่อตัวทำละลาย 1:17 และอุณหภูมิอัลตราโซนิค 45 องศาเซลเซียส พิจารณาความสัมพันธ์ของเวลาสกัดกับอัตราส่วนเห็ดแห้งต่อตัวทำละลาย (2a) พบว่า ปริมาณฟีนอลิกมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนสูงขึ้นแต่ที่เวลาสกัดเพิ่มขึ้นปริมาณฟีนอลิกจะลดลงเนื่องจากที่เวลาสกัดที่นานเกินไปสารสกัดบางส่วนอาจเกิดการ

สลายตัวได้จากการถูกออกซิไดซ์ (วชิราภรณ์ และถนันทน์, 2559) เช่นเดียวกับความสัมพันธ์ของเวลาสกัดกับอุณหภูมิอัลตราโซนิก (2b) เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิอัลตราโซนิก (2c) ที่เพิ่มขึ้นส่งผลทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง

เนื่องจากฟีนอลิกเสื่อมสลายได้ง่ายด้วยความร้อน (ศรีณย์ และคณะ, 2555) โดยจากค่า  $R^2 = 0.957$  สมการที่ (7) จึงสามารถนำมาใช้ทำนายปริมาณฟีนอลิกได้เป็นอย่างดี



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ของอุณหภูมิอัลตราโซนิก เวลาสกัด และอัตราส่วนสกัดต่อตัวทำละลายต่อปริมาณฟีนอลิกในสารสกัดแห้ง

**3. ปริมาณฟลาโวนอยด์** จากผลการทดลองสามารถ

สร้างความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรเวลาสกัด ( $x_1$ ) อัตราส่วนสกัด ต่อตัวทำละลาย ( $x_2$ ) และอุณหภูมิอัลตราโซนิก ( $x_3$ ) ต่อ ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้ ( $Y_3$ ) ดังสมการที่ (8)

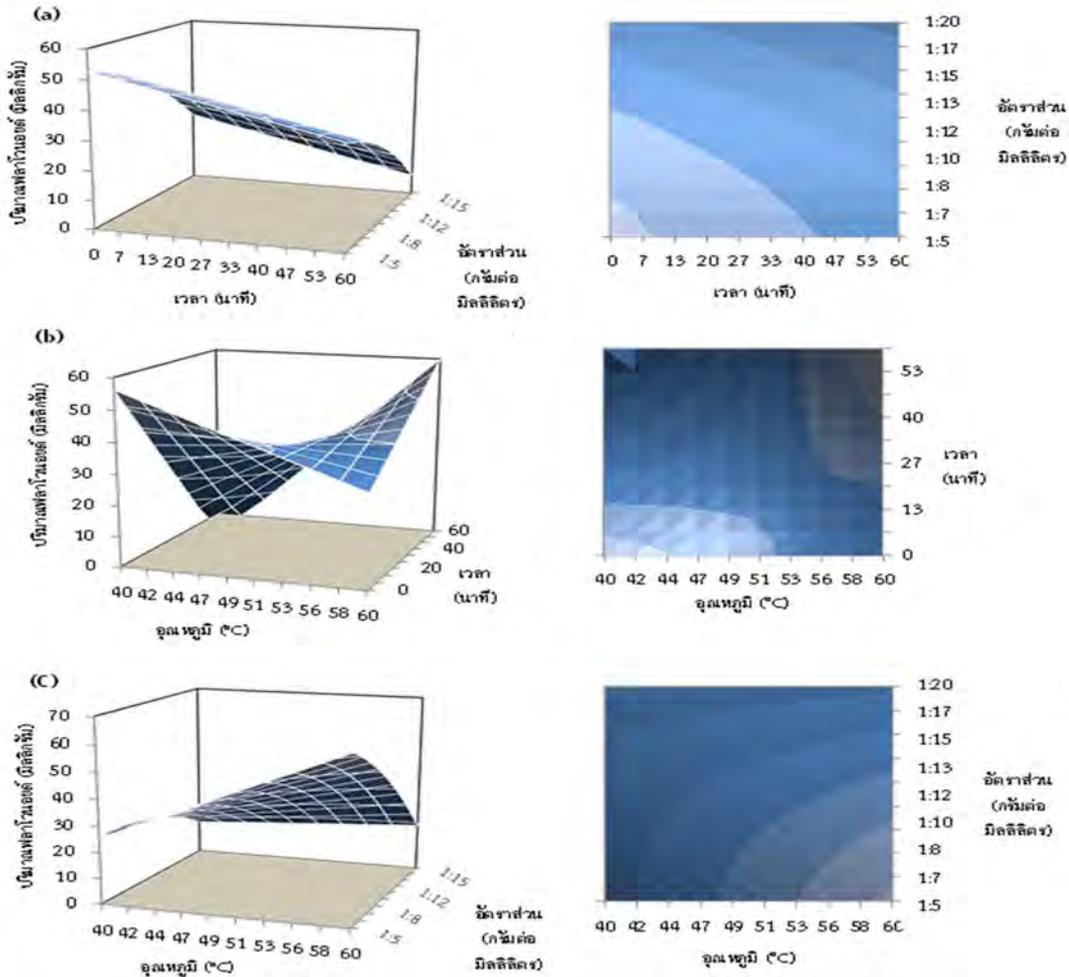
$$Y_3 = 53.89 - 4.241x_1 + 5.443x_2 - 0.08150x_2^2 + 0.079x_1x_3 - 0.106x_2x_3 \quad R^2 = 0.965 \quad (8)$$

จากรูปที่ 3 พบว่า Response Optimizer ของสภาวะ การสกัดที่ทำให้ได้ปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด เท่ากับ 53.82 มิลลิกรัมแควอซิตินต่อ 100 กรัมแห้งแคร่ง คือ ที่เวลาสกัด

48 นาที อัตราส่วนสกัดต่อตัวทำละลาย 1:8 และอุณหภูมิ อัลตราโซนิก 55 องศาเซลเซียส ความสัมพันธ์ของเวลาสกัดกับ อัตราส่วนสกัดต่อตัวทำละลาย (3a) พบว่าที่เวลาสกัดและ อัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ได้จะมีค่าลดลง โดยเมื่อ พิจารณาเวลาสกัดกับอุณหภูมิ (3b) ปริมาณฟลาโวนอยด์จะมีค่า สูงที่เวลาสกัดที่สูง ทั้งนี้เวลาสกัดที่นานทำให้ฟลาโวนอยด์ละลาย ในตัวทำละลายได้ดี แต่หากใช้เวลานานเกินไปสารอาจเกิดการ สลายตัวทำให้มีปริมาณลดลง และความสัมพันธ์ของอุณหภูมิ อัลตราโซนิกและอัตราส่วนสกัดต่อตัวทำละลาย (3c) พบว่า

ปริมาณฟลาโวนอยด์สูงขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิอัลตราโซนิกและอัตราส่วนเห็ดแห้งต่อตัวทำละลาย เนื่องจากฟลาโวนอยด์เป็นรงควัตถุที่มีความคงตัวต่อความร้อนได้ดี (ณัฐริกา, 2548) จึง

สามารถใช้อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสสกัดได้โดยไม่สูญเสีย และจากสมการที่ (6) มีค่า  $R^2 = 0.965$  จึงสามารถนำมาใช้ทำนายปริมาณฟลาโวนอยด์ได้เป็นอย่างดี



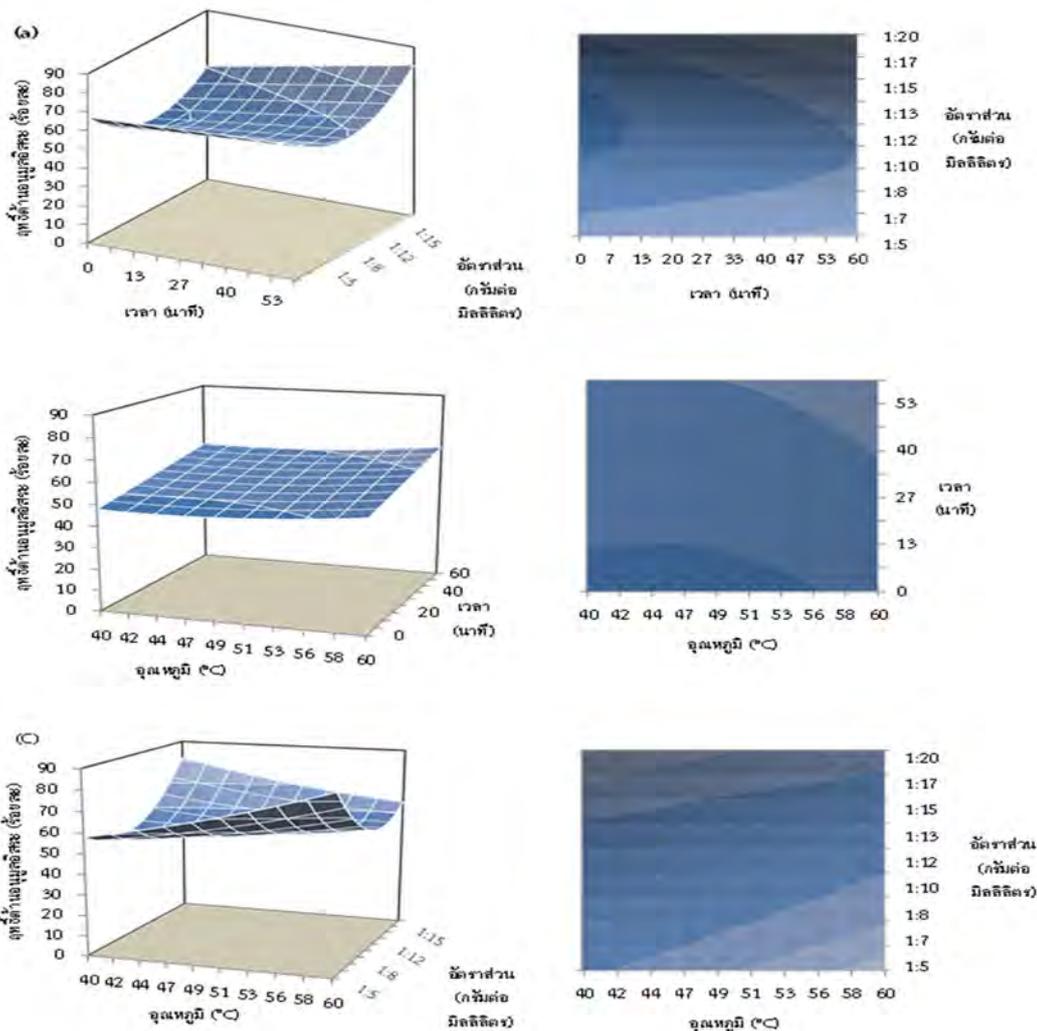
รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ของอุณหภูมิอัลตราโซนิก เวลาสกัด และอัตราส่วนเห็ดแห้งต่อตัวทำละลายต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดเห็ดแห้ง

4. **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ** จากผลการทดลองสามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรเวลาสกัด ( $x_1$ ) อัตราส่วนเห็ดแห้งต่อตัวทำละลาย ( $x_2$ ) และอุณหภูมิอัลตราโซนิก ( $x_3$ ) ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้ ( $Y_4$ ) ดังสมการที่ (9)

$$Y_4 = 44.78 + 0.283x_2^2 + 0.02104x_3^2 + 0.01659x_1x_2 - 0.150x_2x_3 \quad R^2 = 0.913 \quad (9)$$

จากรูปที่ 4 พบว่า Response Optimizer ของสภาวะการสกัดที่ทำให้ได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับร้อยละ 73.16 ที่เวลาสกัด 48 นาที อัตราส่วนเห็ดแห้งต่อตัวทำละลาย 1:17 และอุณหภูมิอัลตราโซนิก 45 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณา

ความสัมพันธ์เวลาสกัดกับอัตราส่วนของเห็ดแห้งต่อตัวทำละลาย (4a) ที่เพิ่มขึ้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นด้วย และเมื่ออุณหภูมิอัลตราโซนิกเพิ่มขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นเช่นกัน (4c) โดยการใช้อัตราส่วนเห็ดแห้งต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมและเวลาสกัดที่เพียงพอในการสัมผัสกันระหว่างเห็ดแห้งกับตัวทำละลายที่อุณหภูมิอัลตราโซนิกที่เหมาะสม จะทำให้สารสำคัญในเห็ดแห้งละลายออกมากับตัวทำละลายได้เต็มที่ เกิดกระบวนการสกัดที่มีประสิทธิภาพ ส่งผลทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูง สมการที่ (9) จึงสามารถนำมาใช้ทำนายฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี ( $R^2 = 0.913$ )



รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ของอุณหภูมิอัลตราโซนิก เวลาสกัด และอัตราส่วนแห้งแครงต่อตัวทำละลายต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเห็ดแครง

**วิจารณ์ผลการศึกษา**

จากการวิเคราะห์หาสมการที่เหมาะสมด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง พบว่า รูปแบบกำลังสอง (Quadratic) ได้รับการยอมรับให้เป็นแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ทั้งนี้เนื่องจากที่ระดับนัยสำคัญ  $\alpha = 0.05$  ค่า p-value ของรูปแบบสมการมีความเหมาะสม (Model Fit) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ความไม่สมรูปของข้อมูล (Lack-of-Fit) ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $R^2$ ) ของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ปริมาณเบต้ากลูแคน ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูง เท่ากับ 0.952 0.957 0.965 และ 0.913 ตามลำดับ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแบบจำลองแบบกำลังสอง (Quadratic Model) ดังแสดงในสมการที่ (6) (7) (8) และ (9) มีความเหมาะสมสำหรับเป็นตัวแทนจำลองที่จะใช้ในการทำนาย

ปริมาณเบต้ากลูแคน ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี โดยสารสกัดเห็ดแครงที่สกัดจากงานวิจัยมีปริมาณเบต้ากลูแคนสูงถึงร้อยละ 40.48 ซึ่งมีปริมาณสูงเมื่อเทียบกับสารสกัดจากเห็ดหอมและเห็ดออริจิที่ขายทั่วไปในท้องตลาด ซึ่งมีปริมาณเบต้ากลูแคนเพียงร้อยละ 26.68 และ 16.39 (สุภารัตน์, 2558)

**สรุปผลการศึกษา**

จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่ากระบวนการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครงที่เวลาสกัด 48 นาที อัตราส่วนแห้งแครงต่อตัวทำละลาย 1:17 และอุณหภูมิอัลตราโซนิก 45 องศาเซลเซียส สามารถสกัดเบต้ากลูแคนได้สูงสุุ่ร้อยละ 40.48 ปริมาณฟีนอลิก 2,701 มิลลิกรัมแกลลิกต่อ 100 กรัมเห็ดแครง ปริมาณฟลาโ-

นอยต์ 12.83 มิลลิกรัมเคอชิตินต่อ 100 กรัมแห้งแครง และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 73.16 จากการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีพี้นผิวดตอบสนอง (Response Optimizer) ปัจจัยหลัก คือ เวลาการสกัดและอัตราส่วนแห้งแครงต่อตัวทำละลาย จะส่งผลต่อปริมาณเบต้ากลูแคนมากที่สุด โดยสามารถนำสมการที่ได้จากการทำนายจากวิธีพี้นผิวดตอบสนองไปใช้ได้อย่างแม่นยำ

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติในการสนับสนุนทุนวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2562 และภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนสถานที่การทำวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

### เอกสารอ้างอิง

วชิราภรณ์ ภักดี และถวณันท์ ศรีพิสุทธิ. (2559). การพัฒนาสารสกัดจากข้าวไรซ์เบอร์รี่เพื่อเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ. สำนักงานวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง, มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

ณัฐริกา ศิลาลาย. (2548). ฟลาโวนอยด์ในใบชา: หน้าที่ การใช้ประโยชน์ และการวิเคราะห์. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม 2(1): 2-10.

สุภารัตน์ จันทร์เหลือง. (2558). การศึกษาหาปริมาณสารเบตากลูแคน โปรตีน และเส้นใยในเห็ดป่าที่ใช้บริโภคในจังหวัดอุบลราชธานี. รายงานโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม, มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. อุบลราชธานี 30-33.

ศรัณย์ ลากนิธิพร ณัฐรา เลหากุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น. (2555). องค์ประกอบทางเคมี กายภาพและคุณสมบัติ การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมะม่วงหิมพานต์. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 43(2) (พิเศษ): 409-412.

Adejoy, O. D., Tayo, B. C., Ojunjobi, A. A. and Afolabi, O. O. (2007). Physicochemical studies on Schizophyllum commune (fries) a Nigerian edible fungus. Journal of Applied Sciences 2: 73-76.

Box, G. E. P. and Behnken, D. W. (1960). Some new three level designs for the study of quantitative variables. Technometrics 2(4): 455-475.

Cisse, M., Bohuon, P., Sambe, F., Kane, C., Sakho, M. and Dornier, M. (2012). Aqueous extraction of anthocyanins from Hibiscus sabdariffa: Experimental kinetics and modeling. Journal of Food Engineering 109(1): 16-21.

Hu, Z., Tang, X., Liu, J., Zhu, Z. and Shao, S. (2016). Effect of parboiling on phytochemical content, antioxidant activity and physicochemical properties of germinated red rice. Food Chemistry 214(1): 285-292.

Inchue, S., Pornchaloempong, P. and Narkrugs, W. (2010). Effect of drying methods on chemical composition, color and antioxidant properties of Thai red curry powder. Kasetsart Journal: Natural Science 44: 142- 151.

Megazyme, (2011). Enzymatic yeast beta-glucan. Ireland: Megazyme International.

Numchok, J., Pasuk, S. and Thakonpakdee, P. (2012). Efficiency of feronia limonia swingle branch crude extract as antioxidant. in Proceedings of the 5th Rajamangala University of Technology National Conference. pp. 251-260.

Pokorn, J., and Schmidt, S. (2001). Effects of processing and storage on antioxidant efficacy in foods. In Oxidants in foods and beverages and antioxidant applications (Decker, E. A., Elias, R. J., McClements, D. J., eds.). Woodhead Publishing, Cambridge. pp. 368-393.

Subsree, J. (2009). DOE Central Composite Design. Retrieved June 4, 2016, from [http://www.tpa.or.th/publisher/pdfFileDownload/FQ145\\_p72-74.pdf](http://www.tpa.or.th/publisher/pdfFileDownload/FQ145_p72-74.pdf).

Vilkhu, K., Mawsom, R., Simons, L. and Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry – A review. Innovative Food Science and Emerging Technologies 9(2): 161-169.

Ziegel, E. R., Khuri, A. and Cornell, J. (1997). Response surfaces: Designs and analyses. Technometrics 39(3): 342.

