การพัฒนาเครื่องสำอางลดริ้วรอยซึ่งมีเบต้ากลูแคนที่สกัดจากเห็ดแครง

น.ส.สุจิตรา โนนทิง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DEVELOPMENT OF ANTI-WRINKLE COSMETICS CONTAINING β-GLUCAN EXTRACTED FROM *Schizophyllum commune*

Miss Sujitra Nonting

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering in Chemical Engineering
Department of Chemical Engineering
Faculty of Engineering
Chulalongkorn University
Academic Year 2018

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาเครื่องสำอางลดริ้วรอยซึ่งมีเบต้ากลูแคนที่สกัดจากเห็ดแครง
โดย	น.ส.สุจิตรา โนนทิง
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร.ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดุษฎี ชาญวาณิช

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุรเทพ เขียวหอม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ ดร.ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดุษฎี ชาญวาณิช)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ พัฒนะศรี)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรีเมฆ ชาวโพงพาง)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สุจิตรา โนนทิง : การพัฒนาเครื่องสำอางลดริ้วรอยซึ่งมีเบต้ากลูแคนที่สกัดจากเห็ดแครง. (DEVELOPMENT OF ANTI-WRINKLE COSMETICS CONTAINING β-GLUCAN EXTRACTED FROM *Schizophyllum commune*) อ.ที่ปรึกษาหลัก : อ. ดร. ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ดร.ดุษฎี ชาญวาณิช

ผนังเซลล์ของเห็ดแครงประกอบไปด้วยเบต้ากลูแคนอยู่ภายในโครงสร้างผนังเซลล์ชื่อว่า Schizophyllan ซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำได้และมีคุณสมบัติของเวชสำอางที่หลากหลาย งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดเบต้ากลูแคนด้วยน้ำจากเห็ดแครงซึ่งเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปและเพื่อศึกษาการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัด สภาวะในการสกัดด้วยน้ำที่เหมาะสม คือ ที่สัดส่วนของของแข็งต่อของเหลว 1:10 อุณหภูมิในการสกัด 75 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด 3 ชั่วโมง ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากการใช้สภาวะควบคุมดังกล่าวเท่ากับร้อยละ 9.20 ± 0.22 และมีค่ายับยั้งการเกิดออกซิเดชันจากการทดสอบด้วยวิธี DPPHเท่ากับร้อยละ 73.62 ±1.69 ผลของการใช้คลื่นไมโครเวฟเพื่อการปรับสภาพเบื้องต้นได้ถูกทดสอบโดยการใช้การออกแบบชนิด Box-behnken และวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมของปัจจัยสำคัญด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (RSM) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าผลได้ของการสกัดและปริมาณเบต้ากลูแคนมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อใช้คลื่นไมโครเวฟในการปรับสภาพเบื้องต้น ผลการทดลองทั้งสองมีความเหมาะสมกับแบบจำลองการถดถอยควอดราติก โดยมีค่าความน่าจะเป็นที่แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองดังกล่าวมีนัยสำคัญ (p-value<0.05) สภาวะการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยการใช้คลื่นรังสีไมโครเวฟที่เหมาะสม คือ การใช้รังสีไมโครเวฟเป็นเวลา 3.2 นาที อุณหภูมิการใช้รังสี 79.9 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2.2 ชั่วโมง ค่าผลได้การสกัดสูงสุดและปริมาณเบต้ากลูแคนได้รับเท่ากับ 4.84 กรัม และร้อยละ 15.26 ตามลำดับ นอกจากนี้ทำการศึกษาการขึ้นตำรับเจลสำหรับดวงตาที่มีสารสกัดเห็ดแครง ตำรับเจลสำหรับดวงตาที่มี อริสโตเฟลค ซิลค์ และคาร์โบพอล 940 ให้ลักษณะทางกายภาพที่ดีที่สุด ทุกตำรับไม่แสดงอาการระคายเคือง (การแตกตัวของเม็ดเลือดแดงน้อยกว่าร้อยละ 5) และผลิตภัณฑ์ทั้งสองมีความคงตัวที่สูงหลังจากการทดสอบด้วยวิธีเก็บในที่เย็นสลับร้อน ผลของงานวิจัยนี้ได้สนับสนุนการใช้ประโยชน์จากสารสกัดเห็ดแครงเพื่อเป็นเบต้ากลูแคนในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2561 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5870365721 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORD: Hot water extraction, Beta-glucan, Gel, Schizophyllum commune

Sujitra Nonting : DEVELOPMENT OF ANTI-WRINKLE COSMETICS CONTAINING β-GLUCAN EXTRACTED FROM *Schizophyllum commune*. Advisor: Chutimon Satirapipathkul, Ph.D. Co-advisor: Asst. Prof. Dusadee Charnvanich, Ph.D.

Schizophyllum commune cell wall structure consists of β-glucan named Schizophyllan, which is water-soluble polysaccharide with various cosmeceutical properties. The objective of this study is to investigate the water extraction process for β-glucan from *Schizophyllum commune* processed-product residue and to develop the formulation of the gel product containing the extract. The optimum water extraction conditions were the solid-liquid ratio of 1:10, the extraction temperature of 75°C and the extraction time of 3 h. The β-glucan content extracted at this operating condition was 9.20 ± 0.22 % and the DPPH scavenging activity was 73.62 ±1.69 %. The effect of microwave radiation pre-treatment was investigated by using Box-Behnken design and Response Surface Methodology to optimize the major parameters. The results indicated that the extraction yields and the β-glucan contents were improved by applying microwave (MW) irradiation pre-treatment. Both values were fitted with the quadratic model. Probability value showed the significance of the regression model (p-value<0.05). The optimum microwave irradiation pre-treatment conditions were the microwave irradiation time of 3.2 min, the irradiation temperature of 79.9°c and the extraction time 2.2 h. The highest extraction yield and β-glucan content were then obtained at 4.84 g and 15.26%, respectively. Furthermore, the eye gel formulation containing the *Schizophyllum commune* extract was investigated. The eye gel formulations with Aristoflex silk and Carbopol 940 shown the most excellent appearances. All formulations were non-irritating (hemolytic activity < 5%). Those showed high physical stability after tested by using the heating-cooling cycle method. The results from this research support the utilization of the *Schizophyllum commune* extract as β-glucan in cosmetic products.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Field of Study: Chemical Engineering Student's Signature .....

Academic Year: 2018 Advisor's Signature .....

Co-advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถบรรลุตามวัตถุประสงค์ได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับการอนุเคราะห์ช่วยเหลือที่ดียิ่งจากบุคคลต่างๆ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รวมถึง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดุษฎี ชาญวาณิช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางการวิจัย และให้ข้อคิดเห็นในการแก้ไขปัญหาต่างๆ ตลอดจนช่วยแก้ไขและเพิ่มเติมวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตั้งแต่ต้นจนสำเร็จเป็นรูปเล่ม

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งประกอบด้วย รองศาสตราจารย์ ดร. สุรเทพ เขียวหอม ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ พัฒนะศรี และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศรีเมฆ ชาวโพงพาง กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณการสนับสนุนทุนวิจัยจากโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) และไชโยฟาร์มที่ได้ให้การสนับสนุนวัตถุดิบในการทดลองและข้อมูลที่สำคัญในการทำงานวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

และขอขอบคุณบรรดาเพื่อนๆ พี่ และน้องทุกคนที่ได้ให้ความช่วยเหลือเพื่อให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ท้ายที่สุดขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา รวมถึงบุคคลในครอบครัว ที่ได้ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจให้แก่ข้าพเจ้ามาตั้งแต่เริ่มต้นศึกษา

สุจิตรา โนนทิง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ง

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญรูป ..... ฐ

สารบัญตาราง ..... ณ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2

1.3 ขอบเขตงานวิจัย 3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 5

1.5 แผนการดำเนินงานวิจัย 5

บทที่ 2 ทฤษฎี 1

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเห็ดแครง 1

2.2 สารชีวภาพออกฤทธิ์ชนิด Schizophyllan 2

2.4 Schizophyllanในเครื่องสำอาง 3

2.4 ทฤษฎีการสกัด 4

2.4.1 วิธีการสกัด 4

2.4.2 ตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อการสกัด 5

2.4.3 ข้อดีและข้อเสียของการสกัดแบบต่างๆ 6

2.5 วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ 7

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.5.1 กลไกของคลื่นไมโครเวฟในการสกัดสารสำคัญจากพืช 8
2.6 เบต้ากลูแคนในเห็ด 11
2.7 อนุมูลอิสระ 12
2.7.1 ผลของอนุมูลอิสระต่อสุขภาพมนุษย์ 12
2.7.2 สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ 13
2.7.3 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ 15
2.8 ข้อมูลอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและเวชสำอาง 15
2.8.1 อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและเวชสำอางในตลาดโลก 15
2.8.2 อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและเวชสำอางในประเทศไทย 16
2.9 วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology: RSM) 16
2.9.1 วิธีการกำลังสองน้อยสุด (Least Square Method) 18
2.9.2 การออกแบบบ็อกซ์-เบนเคน (Box-Behnken Design) 19
2.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) 19
2.11 แบบจำลองการถดถอย (Regression Model) 19
2.11.1 แบบจำลองการถดถอยสำหรับการออกแบบ Box-Behnken 20
2.11.2 วิเคราะห์แบบจำลองการถดถอยที่เหมาะสมกับผลตอบสนอง 21
2.11.3 การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของตัวแปรอิสระในแบบจำลองที่เลือก 25
2.11.4 การตรวจสอบความเหมาะสมของแบบจำลองการถดถอย (Diagnostics) 26
2.12 ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางแบบเจล (Gelling agent) 27
2.12.1 เจลวัตภาคเดียว (Single-phase gels) 28
2.12.2 เจลสองวัตภาค (Two-phase gels) 29
2.12.3 ชนิดของสารก่อเจล 30
1. Xanthan gum 30
2. Guar gum 30

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3. HPMC 400 31
4. CMC 31
5. Aristoflex silk 31
6. Carbopol 940 32
2.13 วิธีทดสอบความชอบ (Affective test) ด้วยวิธี Hedonic scaling 32
2.14 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 36
2.14.1 การสกัดเห็ดแครง 36
2.14.2 การใช้คลื่นไมโครเวฟกับการสกัด 39
2.14.3 ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางแบบเจล 42
บทที่ 3 อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์และวิธีดำเนินงานวิจัย 47
3.1 อุปกรณ์ 47
3.2 เคมีภัณฑ์ 48
3.3 การวิเคราะห์คุณภาพ การเตรียมและการปรับสภาพเบื้องต้นของเห็ดแครง 48
3.3.1 การวิเคราะห์คุณภาพของเห็ดแครง 48
3.3.2 การเตรียมผงเห็ดแครงอบแห้ง 49
3.3.3 การปรับสภาพเบื้องต้น (Pretreatment) 49
3.4 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) 50
3.4.1 การศึกษาสภาวะในการสกัดเบื้องต้น 50
3.4.2 การเปรียบเทียบปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดหยาบและในโพลีแซคคาไรด์ 51
3.4.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัดและเวลาที่ใช้ในการสกัด 51
3.4.4 การศึกษาสภาวะในการปั่นผงเห็ดแครงก่อนการสกัด 51
3.4.5 การศึกษาผลของการสกัดซ้ำ 52
3.5 การศึกษาผลของการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัด 52
3.6 การหาประสิทธิภาพของการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH free radical scavenging activity). 53

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.7 การวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน 54
3.8 การผลิตเครื่องสำอางบำรุงรอบดวงตาจากสารสกัดเห็ดแครง 62
3.9 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluation) 63
3.10 การทดสอบความระคายเคืองด้วยวิธี Hemolysis 64
3.11 การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์จากสารสกัดเห็ดแครง 64
3.11.1 การทดสอบการเก็บในที่เย็นสลับร้อน ด้วยวิธี Heating-cooling cycle 64
3.11.2 การทดสอบความคงตัวในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 65
3.11.3 การทดสอบความคงตัวในสภาวะอุณหภูมิห้อง 65
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล 66
4.1 การวิเคราะห์คุณภาพ การเตรียมและการปรับสภาพเบื้องต้นของเห็ดแครง 66
4.2 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) 67
4.2.1 สัดส่วนของของแข็งต่อตัวทำละลาย 68
4.2.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 70
4.2.3 เวลาที่ใช้ในการสกัด 72
4.2.4 การเปรียบเทียบปริมาณเบต้ากลูแคนในส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์และในสารสกัด 74
4.2.5 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดหยาบที่สภาวะการสกัดด้วยอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดต่างๆ 76
4.2.6 ผลของสภาวะในการปั่นเห็ดแครงก่อนการสกัด 80
4.2.7 ผลของการสกัดซ้ำ 83
4.3 การใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัด 85
4.3.1 ศึกษาการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดเบื้องต้น 85
4.3.1.1 อิทธิพลของการใช้คลื่นไมโครเวฟต่อน้ำหนักสารสกัดและปริมาณเบต้ากลูแคน 85

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.3.1.2 อิทธิพลของการใช้คลื่นไมโครเวฟต่อความสามารถในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระ (DPPH radical-scavenging activity)..... 88
4.3.2 การศึกษาพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology: RSM) ของปัจจัยในการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดผงเห็ดแครงเหลือทิ้งหลังผ่านกระบวนการแปรรูป 89
4.3.2.1 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด..... 90
1.) การวิเคราะห์แบบจำลองการถดถอยที่เหมาะสมกับผลตอบสนอง..... 92
2.) การวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนองของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด..... 97
3.) การวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสม (Optimum condition) ในการสกัดผงเห็ดแครง..... 103
4.3.2.2 น้ำหนักของสารสกัด..... 104
1.) การวิเคราะห์แบบจำลองการถดถอยที่เหมาะสมกับผลตอบสนอง..... 106
2.) การวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนองของน้ำหนักสารสกัด..... 112
3.) การวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสม (Optimum condition) ในการสกัดผงเห็ดแครง..... 116
4.3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครง..... 117
4.4 การขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง..... 118
4.4.1 ศึกษาสารก่อเจล (Gelling agent) ที่เหมาะสม..... 118
4.4.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluation)..... 122
4.4.3 ทดสอบความระคายเคืองของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี hemolysis..... 124
4.4.4 ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์..... 125
4.4.4.1 ทดสอบความคงตัวโดยการเก็บในที่เย็นสลับร้อน (Cooling-Heating cycle)..... 125
4.4.4.2 ทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส..... 129
4.4.4.3 ทดสอบความคงตัวที่ในอุณหภูมิห้อง..... 130
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 133

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5.1 สรุปผลการวิจัย 133
5.1.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) 133
5.1.2 การใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัด 134
5.1.3 การขึ้นรูปเจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง 135
5.2 ข้อเสนอแนะ 135
บรรณานุกรม 136
ภาคผนวก 143
ภาคผนวก ก 144
1. ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครงเริ่มต้น 144
2. ทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนด้วยชุดทดสอบ K-YBGL 145
ภาคผนวก ข 147
1. ข้อมูลปริมาณเบต้ากลูแคนในการศึกษาการสกัดด้วยอุณหภูมิและเวลาต่างๆ 147
2. การทดลองแบบ Box-behnken และผลของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครง 148
3. การทดลองแบบ Box-behnken และผลของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครง 149
4. ความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในการทดสอบความคงตัวแบบเร่ง 150
ประวัติผู้เขียน 151

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 ลักษณะของเห็ดแครง 1

รูปที่ 2.2 โครงสร้างของสารชนิด Schizophyllan 2

รูปที่ 2.3 กลไกการสกัดแบบของแข็ง-ของเหลว 9

รูปที่ 2.4 องค์ประกอบของผนังเซลล์เห็ด 11

รูปที่ 2.5 พื้นผิวตอบสนองแบบสามมิติ 17

รูปที่ 2.6 รูปร่างของ Residual Plots 27

รูปที่ 2.7 Residual Plots และ Normal Probability Plots แสดงให้เห็นถึงความเหมาะสมของรูปแบบการถดถอย 27

รูปที่ 2.8 ตัวอย่างแบบทดสอบความพึงพอใจแบบ hedonic scaling 33

รูปที่ 2.9 ส่วนของเห็ดนางรมที่นำมาสกัด Scleriotia และ Mycelia (2019) 36

รูปที่ 3.1ขั้นตอนการเตรียมผงเห็ดแครงอบแห้งที่ใช้ในการทดลอง 49

รูปที่ 3.2 สารในชุดทดสอบK-YBGL (Megazyme) และสารที่ต้องใช้ในการทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคน 1

รูปที่ 3.3 แผนผังการหาปริมาณ Total glucan 2

รูปที่ 3.4 แผนผังการหาปริมาณ Alpha glucan 1

รูปที่ 4.1 ผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป (ก) ก่อนบด (ข) หลังบด 67

รูปที่ 4.2 (ก) สารสกัดหยาบ (Crude extract) (ข) โพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากการสกัดเห็ดแครง 75

รูปที่ 4.3 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดที่ใช้อุณหภูมิและเวลาในการสกัดต่างๆ 1

รูปที่ 4.4 น้ำหนักผลได้ของสารสกัดเปรียบเทียบระหว่างการสกัดจากผงเห็ดแครงที่ถูกเตรียมด้วยวิธีปั่นแบบแห้งและปั่นแบบเปียก 81

รูปที่ 4.5 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเปรียบเทียบระหว่างผงเห็ดแครงเห็ดที่ปั่นแบบแห้งและปั่นแบบเปียก 82

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4.6 น้ำหนักผลได้ของสารสกัดเห็ดแครงที่ได้จากการสกัด 1 ครั้งและการสกัด 2 ครั้ง..... 83

รูปที่ 4.7 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครงที่ได้จากการสกัด 1 ครั้งและการสกัด 2 ครั้ง..... 84

รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างกับค่าประมาณบนเส้นถดถอยของปริมาณเบต้ากลูแคน. 96

รูปที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างที่เรียงลำดับคู่กับค่าคาดหวังของปริมาณเบต้ากลูแคน ... 97

รูปที่ 4.10 รูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติ (ก) และโครงร่างพื้นผิว (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ตัวแปรเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) อุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2) กับปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด..... 100

รูปที่ 4.11 รูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติ (ก) และโครงร่างพื้นผิว (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ตัวแปรเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) และ ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3) กับปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด..... 101

รูปที่ 4.12 รูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติ (ก) และโครงร่างพื้นผิว (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง อุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2) และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3) กับปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด..... 102

รูปที่ 4.13 Ramp ของสภาวะในการสกัดที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยในการสกัดให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนที่มากที่สุด 104

รูปที่ 4.14 ความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างกับค่าประมาณบนเส้นถดถอยของปริมาณสารสกัด ... 110

รูปที่ 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างที่เรียงลำดับคู่กับค่าคาดหวังของปริมาณเบต้ากลูแคน 111

รูปที่ 4.16 รูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติ (ก) และโครงร่างพื้นผิว (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ตัวแปรเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) อุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2) กับปริมาณสารสกัด 113

รูปที่ 4.17 รูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติ (ก) และโครงร่างพื้นผิว (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ตัวแปรเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3) กับปริมาณสารสกัด 114

รูปที่ 4.18 รูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติ (ก) และโครงร่างพื้นผิว (ข) ความสัมพันธ์ระหว่าง ตัวแปรอุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2) ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3) กับปริมาณสารสกัด..... 115

รูปที่ 4.19 Ramp ของสภาวะในการสกัดที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยในการสกัดให้ได้น้ำหนักของสารสกัดที่มากที่สุด 116

รูปที่ 4.20 Ramp ของสภาวะในการสกัดที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยในการสกัดให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนที่มากที่สุดร่วมกับน้ำหนักของสารสกัดที่มากที่สุด 117

รูปที่ 4.21 ผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง (ก.) Aristoflex silk, 1.0% (ข.) Carbopol 940, 0.5% 122

รูปที่ 4.22 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic 123

รูปที่ 4.23 ร้อยละการแตกของเม็ดเลือดแดง (Hemolysis) ของผลิตภัณฑ์ทั้งสองตำรับ 124

รูปที่ 4.24 ผลิตภัณฑ์เจลหลังผ่านการทดสอบความคงตัวแบบเร่ง (ก) Aristoflex silk 1% (ข) Carbopol 940 0.5% 125

รูปที่ 4.25 ความหนืดของผลิตภัณฑ์ระหว่างการทดสอบความคงตัวแบบเร่ง (ก) Aristoflex silk 1.0% (ข) Carbopol 940 0.5% 127

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.1 แผนการดำเนินงานวิจัย 5

ตารางที่ 2.1 แบบจำลองการถดถอยและสมมติฐานที่ใช้สาหรับการออกแบบBox-Behnken 21

ตารางที่ 3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย 47

ตารางที่ 3.2 เคมีภัณฑ์ที่ใช้ในงานวิจัย 48

ตารางที่ 3.3 ชนิดและสัดส่วนของสารก่อเจลที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ (Bhasha et al., 2013) 63

ตารางที่ 4.1 ปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดแครงก่อนและหลังผ่านกระบวนการแปรรูป 66

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักโพลีแซคคาไรด์และปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครง 50 กรัมด้วยสัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ต่างกัน (n=3) 68

ตารางที่ 4.3 ปริมาณโพลีแซคคาไรด์และปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครง 50 กรัมด้วยอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่แตกต่างกัน (n=3) 71

ตารางที่ 4.4 ปริมาณโพลีแซคคาไรด์และปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากเห็ดแครง 50 กรัมด้วยเวลาที่ใช้ในการสกัดที่แตกต่างกัน (n=3) 73

ตารางที่ 4.5 ปริมาณเบต้ากลูแคนเปรียบเทียบระหว่างโพลีแซคคาไรด์และสารสกัดหยาบ 75

ตารางที่ 4.6 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครงที่สภาวะการสกัดต่างๆ (n=3) 77

ตารางที่ 4.7 ผลได้และปริมาณเบต้ากลูแคนของสารสกัดที่มีการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัด (n=3) 86

ตารางที่ 4.8 ความสามารถในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดแครงจากสภาวะการสกัดต่างๆ (n=3) 88

ตารางที่ 4.9 ปัจจัยที่ศึกษาในการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดเห็ดแครง 90

ตารางที่ 4.10 การออกแบบการทดลองแบบ Box-behnken และผลของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครง 91

ตารางที่ 4.11 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ของแบบจำลองการถดถอยของผลตอบสนอง 92
ตารางที่ 4.12 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ของแบบจำลองการถดถอยแบบต่างๆ ... 93
ตารางที่ 4.13 ค่าการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของตัวแปรในแบบจำลองการถดถอย 94
ตารางที่ 4.14 ผลทางสถิติของแบบจำลองการ Quadratic และสมการถดถอยสำหรับปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด 95
ตารางที่ 4.15 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครงให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดที่มีค่ามากที่สุด 103
ตารางที่ 4.16 การออกแบบการทดลองแบบ Box-behnken และน้ำหนักผลได้ของสารสกัดเห็ดแครง 105
ตารางที่ 4.17 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ของการวิเคราะห์การถดถอยของผลตอบสนอง 106
ตารางที่ 4.18 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ของแบบจำลองการถดถอยแบบต่างๆ . 107
ตารางที่ 4.19 ค่าการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของตัวแปรในแบบจำลองการถดถอย 108
ตารางที่ 4.20 ผลทางสถิติของแบบจำลองการ Quadratic และสมการถดถอยสำหรับปริมาณสารสกัด 109
ตารางที่ 4.21 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครงให้ได้น้ำหนักสารสกัดที่มีค่ามากที่สุด 116
ตารางที่ 4.22 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครงให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดร่วมกับน้ำหนักของสารสกัดที่มีค่ามากที่สุด 117
ตารางที่ 4.23 ประเภทของสารก่อเจล 118
ตารางที่ 4.24 ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจลจากสารก่อเจลชนิดต่างๆ 120
ตารางที่ 4.25 ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง 121
ตารางที่ 4.26 เปรียบเทียบความหนืดของผลิตภัณฑ์ก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 129
ตารางที่ 4.27 เปรียบเทียบความหนืดของผลิตภัณฑ์ก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 วัน 131

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) เป็นเห็ดที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ คือ สารประกอบโพลีแซคคาไรด์ชนิด Schizophyllan ซึ่งเป็นสารเบต้ากลูแคนที่มีคุณสมบัติเด่น ได้แก่ การช่วยกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนที่ผิวหนัง กระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาว อีกทั้งยังสามารถลดการอักเสบของผิวหนังเนื่องจากแสงแดดได้ นอกจากนั้นสารชนิดนี้ยังมีความคงตัวในช่วงค่าความเป็นกรดด่างที่กว้าง จึงทำให้มีความเหมาะสมที่จะนำมาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางเพื่อช่วยในการลดริ้วรอยและช่วยให้ผิวพรรณเปล่งปลั่ง แต่อย่างไรก็ดีผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ต้องการการวิจัยที่มีความละเอียด เพื่อให้เกิดความคุ้มค่าในการลงทุนและสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพได้

เห็ดแครงเป็นเห็ดสายพันธุ์ที่นิยมเลี้ยงอย่างแพร่หลายในภาคใต้ของประเทศไทย และมีการเพาะปลูกเพื่อจำหน่ายในระดับอุตสาหกรรมขนาดเล็ก โดยขายในรูปแบบสินค้าอบแห้ง หรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น น้ำพริกเห็ดแครง โจ๊กเห็ดแครงอบแห้ง หรือแม้แต่เครื่องสำอางง่ายๆบางชนิด ในกระบวนการแปรรูปเห็ดแครงสดด้วยการอบแห้ง จะมีผงเห็ดแครงแห้งเหลือทิ้งจากกระบวนผลิตประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัตถุดิบเริ่มต้น ทำให้ผู้ประกอบการมีความสนใจที่จะนำผงเห็ดแครงเหลือทิ้งส่วนนี้มาใช้ในการสกัดเบต้ากลูแคนและขึ้นรูปเป็นเครื่องสำอางชนิดอื่น เพื่อเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบซึ่งเหลือจากกระบวนการแปรรูป และสร้างให้เป็นผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยซึ่งกำลังเป็นที่ต้องการของตลาดเครื่องสำอางซึ่งกำลังเติบโตอย่างรวดเร็วในปัจจุบัน จึงต้องทำการศึกษาเพื่อจะสกัดสารสำคัญจากเห็ดแครงด้วยวิธีที่มีประสิทธิภาพและมีความคุ้มค่าในการลงทุน เพื่อนำมาใช้สร้างผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติตามต้องการและก่อให้เกิดความพึงพอใจต่อผู้ใช้ เมื่อพิจารณาสมบัติของเบต้ากลูแคนในเห็ดแครงนั้น พบว่ามีความสามารถในการละลายน้ำได้ จึงสามารถสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายได้ จากการศึกษาของ Fengmei และคณะ (2015) พบว่าการสกัดโดยใช้น้ำที่มีอุณหภูมิสูงเป็นวิธีที่เหมาะสมและสะดวกที่สุดในการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ด (Zhu et al., 2016) อีกทั้งการใช้น้ำ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เป็นตัวทำละลายยังสามารถช่วยลดต้นทุนและปริมาณของเสียจากการสกัดได้ นอกจากนี้จากการศึกษาของ Noelia และคณะ (2015) พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับการสกัดสามารถช่วยเพิ่มปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดได้ แต่การใช้คลื่นไมโครเวฟที่อุณหภูมิสูงเกินไปหรือใช้ด้วยระยะเวลานานเกินไปอาจจะทำให้สารสำคัญอื่นในสารสกัดสลายตัวได้ (Flórez et al., 2015) ดังนั้นการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดในช่วงระยะเวลาสั้นๆ จึงถูกนำมาศึกษาเพื่อให้ได้การสกัดสารสำคัญจากผงเห็ดแครงอบแห้งเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

ในงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาวิธีการสกัดเบต้ากลูแคนจากผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป โดยใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำซึ่งมีประสิทธิภาพในการสกัดเบต้ากลูแคนสูง นอกจากนี้ยังเป็นตัวทำละลายที่ไม่ก่อให้เกิดมลพิษและปลอดภัยสำหรับการนำสารสกัดไปใช้ในการผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป อีกทั้งยังศึกษาการสกัดโดยใช้เทคนิคอื่นร่วมด้วยเพื่อลดเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดลง โดยเฉพาะการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดในช่วงเวลาสั้นๆ โดยทำการทดสอบอิทธิพลของปัจจัยที่สำคัญ เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีปริมาณผลได้และปริมาณเบต้ากลูแคนสูง นอกจากนี้แล้วยังได้ศึกษาการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทเจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง เพื่อพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์ที่เหมาะกับสภาพผิว โดยจะศึกษาชนิดของสารก่อเจล รวมถึงศึกษาความคงตัวทางกายภาพและความระคายเคือง เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีลักษณะทางกายภาพที่ดีและมีประสิทธิภาพ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเบต้ากลูแคนจากผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของการใช้คลื่นไมโครเวฟเพื่อปรับสภาพเบื้องต้นก่อนการสกัดเห็ดแครง (Microwave radiation pre-treatment)

1.2.3 เพื่อศึกษาพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครงที่มีความคงตัวที่ดีและมีลักษณะทางกายที่เหมาะสม

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดแครงก่อนและหลังผ่านกระบวนการแปรรูป

1.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดผงเห็ดแครงด้วยน้ำ โดยแปรผันปัจจัยต่างๆ ดังนี้

1.3.2.1 สัดส่วนของของแข็งต่อของเหลว 1:10, 1:15 และ 1:20

1.3.2.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 55, 65 และ 75 องศาเซลเซียส

1.3.2.3 เวลาที่ใช้ในการสกัด 1, 2 และ 3 ชั่วโมง

1.3.3 การปรับสภาพเบื้องต้น (Pre-treatment) โดยการใช้คลื่นไมโครเวฟ ในช่วงกำลัง 600 วัตต์ ด้วยเครื่องไมโครเวฟ MARS 5 โดยแปรผันตัวแปรดังนี้

1.3.3.1 เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟเป็น 2, 3 และ 4 นาที

1.3.3.2 อุณหภูมิของคลื่นไมโครเวฟ 65, 75 และ 85 องศาเซลเซียส

1.3.3.3 เวลาที่ใช้ในการสกัด (Conventional extraction) 2, 3 และ 4 ชั่วโมง

ทั้งนี้จะใช้สภาวะการสกัดปกติที่เหมือนกันในการเปรียบเทียบระหว่างการสกัดที่มีการใช้คลื่นไมโครเวฟและไม่มีการใช้คลื่นไมโครเวฟ

โดยในการศึกษากระบวนการสกัด วิธีการออกแบบการทดลองที่ใช้จะประกอบไปด้วย วิธีปัจจัยเดียว (Single-factor) แฟคทอเรียล (Factorial design) รวมถึงวิธี Box-behnken และการวิเคราะห์ทางสถิติจะใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.3.4 วิเคราะห์คุณสมบัติของสารสกัดเห็ดแครง

1.3.4.2 วิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน โดยใช้ β-Glucan Assay Kit (Yeast & Mushroom: K-YBGL) จากบริษัท Megazyme

1.3.4.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH free radical scavenging activity

1.3.5 ศึกษาการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง ขึ้นรูปผลิตภัณฑ์แบบเจล โดยการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นรูปจากสารก่อเจลต่างชนิดกัน ได้แก่ Xanthan gum, Guar gum, HPMC 4000, CMC, Aristoflex silk และ Carbopol 940

1.3.6 วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ โดยใช้วิธีทดสอบการยอมรับ (Affection test) ด้วยสเกลการทดสอบ 9 ระดับ ตามหลักการของ Hedonic test โดยปัจจัยที่ใช้ในการประเมินประกอบด้วย

1.3.6.1 เนื้อสัมผัส

1.3.6.2 สีของผลิตภัณฑ์

1.3.6.3 กลิ่นของผลิตภัณฑ์

1.3.6.4 ความลื่น

1.3.6.5 การซึมเข้าสู่ผิว

1.3.6.6 ความพึงพอใจโดยรวม

1.3.7 ทดสอบความระคายเคือง (Irritation test) ของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี Hemolysis กับเลือดแกะ

1.3.8 ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครงจากตำรับที่ดีที่สุดโดยวิธีทดสอบความคงตัว ดังนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.3.8.1 ทดสอบการเก็บในที่เย็นสลับร้อน ด้วยวิธี Heating-cooling cycle โดยวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพประกอบกับค่าความหนืดที่เปลี่ยนแปลงไป

1.3.8.2 ทดสอบความคงตัวในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพประกอบกับค่าความหนืดที่เปลี่ยนแปลงไป

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้ข้อมูลเกี่ยวกับวิธีและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญจากเห็ดแครง รวมทั้งสามารถวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆของสารสกัดที่ได้

1.4.2 ได้ข้อมูลเกี่ยวกับการเตรียมและการพัฒนาตำรับเครื่องสำอางลดริ้วรอยอย่างมีประสิทธิภาพ

1.4.3 มีส่วนช่วยในการสร้างมูลค่าเพิ่มขึ้นให้กับผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป

1.4.4 มีการถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ได้ให้กับผู้ประกอบการที่สนใจ

1.5 แผนการดำเนินงานวิจัย

แผนการดำเนินงานวิจัยแสดงดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 แผนการดำเนินงานวิจัย

การดำเนินงาน	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.รวบรวมข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง จัดซื้อสารเคมีและวัตถุดิบ												
2.ศึกษาการเตรียมและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดแครง												
3.ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด												

4.ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้ไมโครเวฟก่อนการสกัด												
5.ศึกษาการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ รวมทั้งความคงตัวของ												
6.ประชุมกลุ่มและสรุปผลการทดลอง												
7.จัดทำเล่มรายงานและวิทยานิพนธ์												

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 2
ทฤษฎี

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเห็ดแครง

เห็ดแครงเป็นเห็ดท้องถิ่นที่มีรายงานว่ามีการบริโภคในหลายประเทศ เช่น อินเดีย มาเลเซีย ไนจีเรีย รัสเซีย ในประเทศไทยนิยมบริโภคและปลูกกันมากในภาคใต้ และภาคอีสาน โดยนิยมนำมาประกอบอาหารพื้นบ้าน นอกจากนี้คนในประเทศจีน เกาหลี ญี่ปุ่น ยังนิยมบริโภคเห็ดเป็นอาหารเพื่อสุขภาพในรูปแบบต่างๆ เช่นน้ำซุปและอื่นๆ และมีการใช้เห็ดบางชนิดเป็นยารักษาโรค จากสรรพคุณดังกล่าวจึงทำให้ปัจจุบัน ชาวต่างชาติ อเมริกา รวมถึงยุโรป ตระหนักถึงคุณค่าทางโภชนาการและสรรพคุณทางยาของเห็ด จึงได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดมากยิ่งขึ้น (นฤมล มงคลธนวัฒน์, 2014)

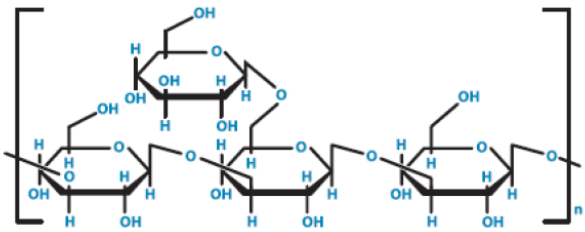
เห็ดแครงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Schizophyllum commune Fr.* จัดอยู่ในอาณาจักรเชื้อรา วงศ์ Schizophyllaceae มีชื่อสามัญว่า spilt gill เป็นเห็ดที่มีขนาดเล็ก รูปร่างคล้ายพัด ที่ฐานมีก้านสั้นๆ ยาวประมาณ 0.1-0.5 เซนติเมตร ดอกเห็ดกว้างประมาณ 3 เซนติเมตร ส่วนผิวด้านบนมีสีขาวปนเทา ลักษณะดอกมีความเหนียวและแข็งแรง ด้านใต้ของดอกมีครีบเป็นร่องสีน้ำตาลอ่อน ขอบดอกหยักคล้ายขอบเปลือกหอยแครง ด้านใต้ของดอกเห็ดมีครีบที่ลักษณะแตกเป็นร่อง (spilt gill) ดังแสดงในรูปที่ 2.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 2.1 ลักษณะของเห็ดแครง

2.2 สารชีวภาพออกฤทธิ์ชนิด Schizophyllan

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งพบในเห็ดแครงที่สำคัญและมีคุณสมบัติโดดเด่นคือ สารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่มีชื่อว่า schizophyllan (SPG) ตามงานวิจัยของ นฤมล มงคลธนวัฒน์ ในปี 2014 SPG เป็นโพลิแซคคาไรด์ที่ถูกค้นพบครั้งแรกโดย Kikumoto, Miyajima, Yoshizumi, Fujimotoc และ Kimura ในปี 1970 และโดย Kikumoto, Miyajima, Kimura, Okubo, และ Komatsu ในปี 1971 เกิดจากการสกัดเห็ดแครง โดยสามารถเพิ่มความเข้มข้นของสารที่ได้เป็น 35-45 เปอร์เซ็นต์ จากการสกัดด้วยน้ำกับตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เมทานอล เป็นต้น SPG เป็นโพลิแซคคาไรด์ที่เป็น non-ionic และสามารถละลายน้ำได้ ประกอบด้วย มีโครงสร้างเป็นสายตรง β-1,3 และกิ่งก้าน β-1,6 ดังแสดงในรูปที่ 2.2 (Zhang et al., 2013, นฤมล มงคลธนวัฒน์, 2014)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของสารชนิด Schizophyllan

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เห็ดเป็นแหล่งเส้นใยอาหารที่สำคัญ โดยในผนังเซลล์ของเห็ดจะประกอบไปด้วยสารสำคัญหลายอย่าง เช่น ไคติน เฮมิเซลลูโลส และ แมนแนน เป็นต้น โดยหนึ่งในสารสำคัญนั้นคือเบต้ากลูแคน โดยสารที่เป็นhomo หรือ hetero กลูแคนที่ประกอบไปด้วยพันธะ β-(1,3), β- (1-4) และ β- (1-6) จะมีคุณสมบัติที่ส่งผลสำคัญต่อด้านสุขภาพ เช่น เป็นตัวเพิ่มประสิทธิภาพระบบภูมิคุ้มกัน มีฤทธิ์ต่อต้านการติดเชื้อจากแบคทีเรีย ไวรัสและเชื้อรา ลดคอเรสเตอรอลในเลือด และลดระดับน้ำตาลในเลือด เป็นต้น (Manzi and Pizzoferrato, 2000)

เบต้ากลูแคนที่มาจากแหล่งที่มาที่ต่างกันก็จะมีลักษณะของกิ่ง ลักษณะการต่อและมวลโมเลกุลที่ต่างกัน โดยเบต้ากลูแคนที่พบในเห็ด จะมีโครงสร้างหลักที่ประกอบไปด้วยกลูโคสซึ่งต่อกันด้วยพันธะ β-(1,3) glycosidic และมีจุดที่เชื่อมกิ่งก้านไว้เป็นพันธะ β-(1,6) glycosidic ซึ่งจะแสดง

คุณสมบัติในการยับยั้งการอักเสบและช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน เบต้ากลูแคนที่ได้จากเห็ดจะแสดงคุณสมบัติที่แตกต่างจากเบต้ากลูแคนที่ได้จากโอ๊ตและข้าวบาร์เลย์ โดยเบต้ากลูแคนที่ได้จากเห็ดจะมีคุณสมบัติในการต่อต้านการอักเสบและช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ในขณะที่เบต้ากลูแคนจากโอ๊ตและข้าวบาร์เลย์จะช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลและระดับน้ำตาลในเลือด (Zhu et al., 2015)

Schizophyllan ซึ่งเป็นเบต้ากลูแคนชนิดที่ได้จากเห็ดแครง เป็นสารชนิด non-ionic และเป็นโพลิแซคาไรด์สายเดี่ยวที่สามารถละลายน้ำได้ โดยโพลิแซคคาไรด์ชนิดนี้ได้รับความสนใจจากอุตสาหกรรมทางการแพทย์และยาเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นสารที่ส่งผลต่อความสมดุลของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย สามารถใช้เป็นยาเคมีบำบัด และมีฤทธิ์ยับยั้งไวรัสต่างๆ สูงกว่ากลูแคนชนิดอื่น จากงานวิจัยพบว่า Schizophyllan สามารถช่วยในการรักษาได้เมื่อฉีดเข้าสู่เนื้องอกโดยตรง และพบว่า Schizophyllan ไม่ส่งผลนักต่อผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งกระเพาะอาหาร แต่สามารถช่วยยืดอายุขัยของผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งในระบบศีรษะและลำคอได้ (Ahmad Hasan, 2008)

นอกจากนี้ยังมีการนำสารชนิดนี้ไปประยุกต์ใช้กับงานหลากหลายด้าน เช่น ปิโตรเลียม เครื่องสำอาง การถนอมอาหาร และด้านการแพทย์ เป็นต้น SPG ยังเป็นตัวกระตุ้นในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อโรคต่าง ๆ เช่น AIDS และยังสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของวัคซีนได้อีกด้วย โดยในปัจจุบัน SPG ถูกผลิตเพื่อจำหน่ายโดยหลายๆบริษัทยาในประเทศญี่ปุ่นเพื่อใช้ในทางการแพทย์

อย่างไรก็ดี SPG สามารถนำมาผลิตเป็นเจลได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้นภายใต้อุณหภูมิต่ำกว่า 6 องศาเซลเซียส การเพิ่มความแข็งแรงของเจลจาก SPG จึงต้องมีการเติมสารที่มีโมเลกุลเล็กบางตัวเช่น borax และ sorbitol เป็นต้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.4 Schizophyllanในเครื่องสำอาง

Schizophyllan ซึ่งเป็นเบต้ากลูแคนในเห็ดแครง มีคุณสมบัติช่วยกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนที่ผิวหนัง กระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาว อีกทั้งยังลดการอักเสบของผิวหนังเนื่องจากแสงแดดได้อีกด้วย schizophyllan ยังมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี มีความคงตัวในค่าความเป็นกรดด่างช่วงกว้าง จึงมีความเหมาะสมในการนำมาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางเพื่อช่วยในการลดริ้วรอย ช่วยทำให้ผิวพรรณเปล่งปลั่ง ปัจจุบันในหลายๆประเทศได้มีการผลิตเครื่องสำอางจากเห็ดแครง เช่น ใน

ประเทศเกาหลี มีผลิตภัณฑ์ที่ชื่อว่า Sulwhasoo hydroaid ซึ่งมีสรรพคุณทำให้ผิวใส และ Alqvimia Eternal Youth Cream ที่มีสรรพคุณช่วยในการลดริ้วรอย ส่วนในประเทศไทย ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย รายงานว่า จากการนำเห็ดพื้นบ้านของไทยมาพัฒนาเป็นเวชสำอาง โดยทำการค้นหาสารต้านอนุมูลอิสระในเห็ดกว่า 10 ชนิด พบว่าเห็ดแครงมีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเห็ดอื่น ๆ จึงนำมาสกัดสารดังกล่าว แล้วนำมาพัฒนาสูตรเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากเห็ดแครงที่มีชื่อว่า ชิโซเดอมา บิวตี้ครีม (Schizoderma beauty cream) มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้เซลล์ผิวหนัง ต่อต้านการเกิดริ้วรอยก่อนวัย และป้องกันการเกิดมะเร็งผิวหนัง เป็นผลิตภัณฑ์ที่เหมาะกับทุกสภาพผิว ใช้ได้ทั้งผิวหน้าและผิวกาย ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้ผ่านการทดสอบและรับรองความปลอดภัยเทียบกับผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดเป็นที่เรียบร้อยแล้ว (นฤมล มงคลธนวัฒน์, 2014)

2.4 ทฤษฎีการสกัด

2.4.1 วิธีการสกัด

การสกัดเป็นกระบวนการที่ใช้แยกสารที่ต้องการออกจากของผสมหรือสารละลาย โดยใช้ตัวทำละลายและวิธีการที่เหมาะสม ถ้าตัวถูกละลายที่ต้องการสกัดอยู่ในตัวอย่างที่เป็นของแข็งสามารถทำการสกัดด้วยตัวทำละลายซึ่งเป็นของเหลวได้ ซึ่งเรียกวิธีการสกัดนี้ว่า Solid-Liquid Extraction การสกัดจะได้ผลดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับลักษณะของตัวถูกละลายที่อยู่ในสารตัวอย่าง ถ้าตัวถูกละลายเพียงดูดซับอยู่ที่ผิวของแข็ง การสกัดก็จะใช้เวลาน้อย แต่ถ้าตัวถูกละลายอยู่ภายในโครงร่างของของแข็งก็ต้องใช้เวลามากกว่า และถ้าการแพร่ของตัวทำละลายเข้าสู่ภายในโครงร่างของของแข็งเกิดได้ช้ามากก็จำเป็นที่จะต้องบดของแข็งให้มีขนาดเล็กลงก่อนทำการสกัด เพื่อช่วยลดระยะเวลาในการสกัดให้สั้นลง การสกัดของแข็งหรือการทำ Solid-Liquid Extraction สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการสกัดสารทางชีววิทยา สารอินทรีย์ ตลอดจนเกลือของสารอนินทรีย์ได้ โดยวิธีการสกัดของแข็งสามารถทำได้ 2 วิธีคือ (เสาวนีย์ เหลืองธนะผล, 2002)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

1. การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction)

ถ้าตัวถูกละลายอยู่ในตัวอย่างของแข็งเพียงแค่ดูดซับที่ผิว และการละลายของตัวถูกละลายในตัวสกัดมีค่าสูง การสกัดสามารถทำได้โดยเติมตัวสกัดหรือตัวทำละลายลงไปในสารตัวอย่างภายในบีกเกอร์หรือขวดรูปชมพู่ จากนั้นคนด้วยเครื่องคน (Magnetic Stirrer) หรือใช้เครื่องเขย่า (Shaker) จนกระทั่งตัวถูกละลายในตัวสกัดหมดแล้ว ให้ใช้วิธีการกรองเอาของแข็งออกจากสารละลาย จะสามารถแยกตัวถูกละลายออกจากสารตัวอย่างของแข็งได้

2. การสกัดด้วยเครื่องซอกเล็ต (Soxhlet Extractor)

ถ้าตัวถูกละลายเป็นสารประกอบอินทรีย์หรือสารทางชีววิทยา ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีการละลายในตัวสกัดต่ำหรือการสกัดจะสมบูรณ์ได้ต้องใช้เวลานาน จำเป็นต้องใช้เทคนิคการสกัดด้วยเครื่องซอกเล็ต โดยบรรจุของแข็งที่ต้องการสกัดลงในกรวยกระดาษ (Soxhlet thimble) แล้วใส่ในหลอดแก้ว ตัวสกัดคือตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งระเหยกลายเป็นไอได้บรรจุอยู่ในขวดก้นกลม โดยการให้ความร้อนแก่ตัวสกัดในขวดก้นกลมจะทำให้ตัวสกัดระเหยกลายเป็นไอผ่านหลอดแก้วไปยังตัวควบแน่น เมื่อตัวสกัดถูกควบแน่นกลายเป็นของเหลวจะไหลตกลงมาบนของแข็งที่ต้องการสกัด เมื่อตัวสกัดถูกสะสมในหลอดแก้วมากเพียงพอ จะเกิดกาลักน้ำดูดของเหลวให้ไหลกลับมายังขวดก้นกลม สารที่ถูกสกัดจะออกมากับตัวทำละลายและสะสมในขวดก้นกลม ส่วนตัวสกัดจะถูกความร้อนทำให้กลายเป็นไอแล้วควบแน่นมาใช้ใหม่ได้อีกอย่างต่อเนื่อง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.4.2 ตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อการสกัด

1. ขนาดอนุภาค (Particle size) ถ้าอนุภาคมีขนาดเล็กจะทำให้พื้นที่ผิวการถ่ายเทมวลสารมากขึ้น และระยะทางของตัวถูกละลายที่อยู่ภายในของแข็งก็จะสั้นลง ทำให้ตัวถูกละลายแพร่กระจายออกสู่ตัวทำละลายได้เร็วขึ้น
2. ตัวทำละลาย (Solvent) ตัวทำละลายที่ดีควรมีขั้วที่เหมาะสมกับตัวถูกละลาย และมีความหนืดต่ำ เพื่อให้มีคุณสมบัติการไหลที่ดี โดยทั่วไปจะใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์ ตัวทำละลายบริสุทธิ์จะไม่มีตัวถูกละลายอยู่เลย ระหว่างการสกัดความเข้มข้นของตัวถูกละลายจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งผลต่างความเข้มข้นของตัวถูกละลายในตัวทำละลายและตัวอย่างที่นำมาสกัดมีค่าลดลง ทำให้สกัดตัวถูกละลายได้น้อยลง

3. อุณหภูมิของตัวทำละลาย เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้อัตราการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นสัมประสิทธิ์การแพร่กระจาย (Diffusivity) มีค่าเพิ่มขึ้น
4. เวลาในการสกัด ถ้าใช้เวลาในการสกัดน้อย สารที่ต้องการสกัดจะถูกสกัดออกมาน้อย ดังนั้นจะต้องใช้เวลาในการสกัดที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด
5. การกวนของของไหล เป็นสิ่งสำคัญมากเพราะจะช่วยเพิ่มอัตราการสกัดเนื่องจากเกิดการแพร่ในสภาวะปั่นป่วนทำให้อัตราการแพร่สูงขึ้น การถ่ายเทมวลสารจากผิวสัมผัสของอนุภาคไปยังของเหลวภายนอกดีขึ้น การกวนจะทำให้อนุภาคลอยตัวผสมกันได้ดีและการลอยตัวขึ้นนี้จะมีผลทำให้พื้นที่สัมผัสระหว่างของแข็งและของเหลวมีมากขึ้น ทำให้การสกัดดีขึ้น

2.4.3 ข้อดีและข้อเสียของการสกัดแบบต่างๆ

1. การสกัดแบบแช่ (Maceration)

เป็นวิธีการสกัดที่ดำเนินการได้ง่ายที่สุด อย่างไรก็ตามการใช้ตัวทำละลายในปริมาณที่มากก็อาจก่อให้เกิดปัญหาทางมลพิษได้ จึงต้องมีวิธีการจัดการกับตัวทำละลายอย่างเหมาะสม การปรับเปลี่ยนอุณหภูมิและชนิดของตัวทำละลายสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดประเภทนี้ได้ และยังสามารถช่วยลดปริมาตรของตัวทำละลายในการสกัดแบบแช่ได้อีกด้วย การเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมจึงเป็นปัจจัยสำคัญในการสกัดประเภทนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2. การสกัดแบบ Soxhlet หรือการสกัดด้วยความร้อนอย่างต่อเนื่อง (Hot continuous extraction)

การสกัดชนิดนี้มีข้อดีตรงที่ใช้ตัวทำละลายในปริมาตรที่น้อยกว่าการสกัดแบบแช่ แต่อย่างไรก็ตาม การสกัดแบบ Soxhlet ก็ยังมีข้อเสียคืออันตรายเนื่องจากข้อจำกัดในการใช้สารที่มีอันตรายและติดไฟง่าย ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดจำเป็นต้องมีความบริสุทธิ์สูงทำให้มีค่าใช้จ่ายในการดำเนินการสกัดสูง การสกัดประเภทนี้ถูกจัดอยู่ในประเภทของการสกัดที่ไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เพราะสามารถทำให้เกิดปัญหาทางมลพิษได้เมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดแบบอื่นๆ เช่น การสกัดแบบ supercritical fluid extraction (SFE) เป็นต้น อีกทั้งการสกัดแบบ Soxhlet ยังมีข้อจำกัดต่อของแข็ง

ที่แห้งและมีขนาดเล็ก และยังต้องศึกษาตัวแปรในการสกัดหลายๆตัวแปร เช่น อุณหภูมิในการสกัด สัดส่วนของตัวอย่างต่อสารละลาย และความเร็วในการกวน เป็นต้น

3. การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ (Microwave-assisted extraction)

การสกัดแบบใช้คลื่นไมโครเวฟมีข้อดีตรงที่สามารถลดระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดและลดปริมาณของตัวทำละลายได้เมื่อเทียบกับการสกัดแบบดั้งเดิม (Conventional extraction) สามารถสกัดซ้ำได้แต่มีข้อจำกัดเรื่องการสลายตัวของสารสำคัญเนื่องจากความร้อน (Thermal degradation) การสกัดชนิดนี้มีข้อจำกัดต่อสารฟีนอลิกที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น phenolic acids, quacertin, isoflavin และtrans-resveratrol เนื่องจากโมเลกุลของสารจำพวกนี้มีความคงตัวอยู่ภายใต้สภาวะของคลื่นไมโครเวฟที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที การสกัดซ้ำด้วยคลื่นไมโครเวฟหลายๆครั้งอาจจะทำให้เกิดการลดลงอย่างรวดเร็วของสารประกอบ phenolic และ flavanone เนื่องจากเกิดกระบวนการออกซิเดชัน สารแทนนินและแอนโทไซยานินจึงไม่เหมาะกับการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟเนื่องจากเกิดการสลายที่อุณหภูมิสูง

4. การสกัดโดยใช้อัลตราโซนิค (Ultrasound-assisted extraction (UAE) or sonication extraction)

การสกัดแบบใช้อัลตราโซนิคมีประโยชน์ในการช่วยลดระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดและการใช้ตัวทำละลาย แต่การใช้คลื่นอัลตราโซนิคที่พลังงานมากกว่า 20 เมกกะเฮิร์ตซ์ อาจส่งผลต่อสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) ได้เนื่องจาก free radical (Azwanida, 2015)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.5 วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ

เป็นวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ซึ่งคลื่นนี้จะเปลี่ยนไปเป็นความร้อนโดยการทำให้อนุภาคหรือโมเลกุลที่มีขั้วเสียดสีกันและเกิดความร้อนขึ้น หรืออาจกล่าวได้ว่าเมื่อนำสารที่จะสกัดไปวางอยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า ด้วยคุณสมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในสารที่จะสกัด จะก่อให้เกิดแรงต้านการเคลื่อนที่หรือเสียดสีกัน ทำให้เกิดความร้อนขึ้นซึ่งมีผลต่อเซลล์พืชและเกิดการสกัดสารสำคัญออกมา

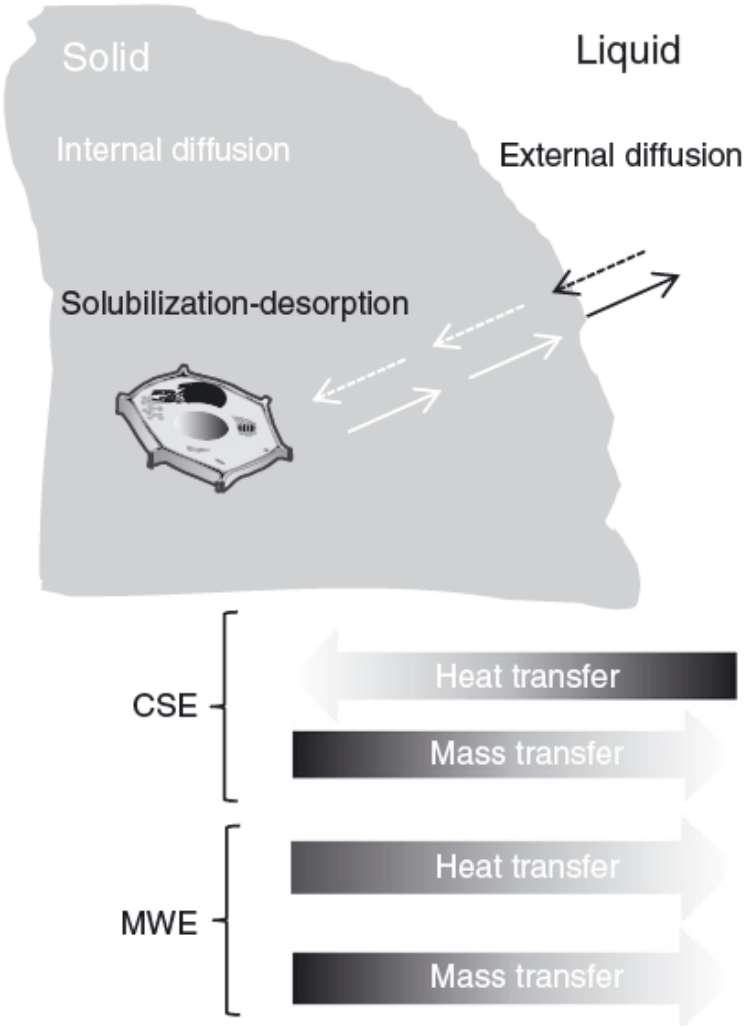
หลักการสกัดสารโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟสามารถอธิบายได้คือ เป็นการใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่อยู่ในช่วง 3×10^2 ถึง 3×10^5 เมกะเฮิรตซ์ และความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 0.01 ถึง 1 เมตร ร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์ ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพรสามารถทำได้โดยนำสารที่จะสกัดไปวางอยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า จากนั้นด้วยคุณสมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในสารที่จะสกัดจะทำให้เกิดแรงต้านการเคลื่อน ซึ่งก่อให้เกิดความร้อนขึ้นและมีผลต่อเนื้อเยื่อเซลล์ของวัตถุดิบและการละลายของสารสารสำคัญที่ต้องการ ด้วยคุณสมบัติของตัวทำละลายที่แตกต่างกันจึงทำให้มีลักษณะที่แตกต่างกันไปเมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า หรืออาจกล่าวได้ว่ากระบวนการทำความร้อนของคลื่นไมโครเวฟเกิดจากกระบวนการถ่ายเทพลังงานจาก 2 กลไก ได้แก่ dipole rotation และ ionic conduction ผ่านการเปลี่ยนแปลง dipole และแทนที่ไอออนที่มีประจุในสารกับตัวทำละลาย โดยที่ทั้งสองกระบวนการเกิดขึ้นพร้อม ๆ กัน การเคลื่อนที่ของไอออนจากการเปลี่ยนแปลงสนามไฟฟ้า เรียกว่า ionic conduction หากตัวทำละลายต้านการเคลื่อนที่ของไอออนจะส่งผลให้เกิดแรงเสียดทาน และทำให้เกิดความร้อนขึ้น การปรับเปลี่ยน dipole ของโมเลกุลร่วมกับการเปลี่ยนแปลงสนามไฟฟ้านี้เรียกว่า dipole rotation โดยที่ความถี่ 2450 เมกะเฮิรตซ์ คลื่นไมโครเวฟจะเปลี่ยน electric component ด้วยความเร็ว 4.9×10^4 ครั้งต่อวินาที จึงเกิดความร้อนขึ้นจากแรงเสียดทาน การถ่ายเทพลังงานเป็นคุณสมบัติหลักของการทำความร้อนของคลื่นไมโครเวฟ พบว่าที่ความถี่ 2450 เมกะเฮิรตซ์เป็นความถี่นิยมใช้กันมาก มีกำลังไฟฟ้าอยู่ในช่วง 600-700 วัตต์ ซึ่งโดยปกติการถ่ายเทความร้อนของ กระบวนการสกัดแบบดั้งเดิมนั้น พลังงานจะถ่ายเทไปยังสมุนไพรโดยการพาความร้อน (convection) การนำความร้อน(conduction) และการแผ่รังสี (radiation) ผ่านพื้นผิวภายนอกเท่านั้น (Areerat Suedee, 2017)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.5.1 กลไกของคลื่นไมโครเวฟในการสกัดสารสำคัญจากพืช

การเข้าใจโครงสร้างและองค์ประกอบของเซลล์พืชเป็นสิ่งสำคัญการเลือกวิธีการสกัดที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ เนื่องจากกระบวนการสกัดสารสำคัญจะส่งผลโดยตรงสู่เซลล์ซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่ของสารออกฤทธิ์ชนิดต่างๆ ในเซลล์พืชจะมีองค์ประกอบที่สำคัญคือส่วนที่เป็นแวคิวโอล (vacuoles) ซึ่งเป็นถุงขนาดใหญ่ ที่มีเยื่อหุ้มเพียงชั้นเดียว ทำหน้าที่เก็บของเหลว น้ำ สารอินทรีย์และอนินทรีย์ เช่น น้ำตาล กรดอินทรีย์ แทนนิน เป็นต้น และยังประกอบด้วยโครงสร้างย่อยที่มีขนาดเล็ก (Organnels) ซึ่งอยู่ในภายในไซโตพลาสซึมที่ถูกหุ้มห่อไว้ด้วยเยื่อหุ้มเซลล์ ภายในเยื่อหุ้มเซลล์

เหล่านี้จะประกอบไปด้วยโครงสร้างของเซลลูโลส (cellulose) ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นใยที่สานกันไปมาเป็นกลุ่ม เรียกว่า เซลลูโลส ไมโครไฟบริล (cellulose microfibril) นอกจากนี้ในโครงสร้างของผนังเซลล์ปฐมภูมิยังประกอบด้วยสารประกอบอื่นๆ ที่ไม่ใช่เซลลูโลส ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารพวกเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และเพกทิน



รูปที่ 2.3 กลไกการสกัดแบบของแข็ง-ของเหลว

กระบวนการสกัดเพื่อให้ได้สารสำคัญจากพืชเป็นการถ่ายโอนมวลสาร (Mass transfer) ประกอบไปด้วยขั้นตอนดังแสดงในรูปที่ 2.3 ได้แก่

1. ตัวทำละลายซึมเข้าสู่ของแข็ง
2. การละลายและการดูดซึมของสารสำคัญที่สามารถละลายในตัวทำละลายได้จากของแข็ง

3. การแพร่ออกสู่พื้นผิว

4. การถ่ายโอนมวลสารเข้าสู่สารละลายภายในระบบ

การทำลายโครงสร้างเซลล์ของพืชจึงเป็นการทำให้ตัวทำละลายสามารถผ่านเข้าไปในโพรโตพลาสซึม (protoplasm) ได้มากขึ้น นอกจากนั้นการลดขนาดของพืชด้วยการกัด (Milling) หรือบด (Grinding) ยังสามารถช่วยทำลายโครงสร้างของเซลล์ รวมถึงลดข้อจำกัดในการถ่ายโอนมวลสารภายในเซลล์และยังทำให้ตัวทำละลายเข้าถึงสารสำคัญซึ่งบริเวณผนังเซลล์และไซโตพลาสซึมได้อีกด้วย

การใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับการสกัดหรือที่เรียกกันว่า Microwave assisted extraction (MAE) จะช่วยในเรื่องผลของความร้อนที่มีต่อคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ (physicochemical properties) ของสารสำคัญและคุณสมบัติในการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายกับตัวถูกละลาย และที่สำคัญยังเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการสลายตัวของโครงสร้างในเซลล์เพิ่มขึ้นอีกด้วย

ในการสกัดแบบดั้งเดิม ความร้อนจะถูกถ่ายโอนด้วยวิธีการพาความร้อน (convection) และการนำความร้อน (conduction) แต่ในทางกลับกัน คลื่นไมโครเวฟจะผ่านเข้าสู่ของแข็งที่ถูกสกัดด้วยความเร็วสูง ทำให้เกิดความร้อนขึ้นภายในโดยตรงและอุณหภูมิก็จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งทำให้สามารถลดระยะเวลาในการสกัดได้ นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของสนามไฟฟ้ายังเหนี่ยวนำให้เกิดการหมุน การสั่นและการแกว่งในระดับโมเลกุล ทำให้เกิดการเคลื่อนที่และการชนกันของโมเลกุลมากขึ้น ส่งผลให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนแอลง เป็นสาเหตุของความเสียหายในโครงสร้างเซลล์ทำให้สารสำคัญละลายเข้าสู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น

ในระหว่างการใช้คลื่นไมโครเวฟ พลังงานที่เกิดขึ้นและอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นอย่างฉับพลันจะทำให้เกิดการระเหยและเกิดความดันขึ้นภายในเซลล์ อุณหภูมิที่สูง และความดันเหล่านี้จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของผนังเซลล์อย่างรุนแรง

การสูญเสียของเหลวภายในเซลล์จากการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟจะส่งผลให้เกิดการบีบอัดและการเปลี่ยนแปลงของแรงตึงผิวที่ผนังเซลล์ โครงสร้างของผนังเซลล์จึงถูกทำลาย ก่อให้เกิดโครงสร้างรูพรุนขนาดเล็ก (capillary-porous structure) ของเนื้อเยื่อ การละลายของสารสำคัญเข้า

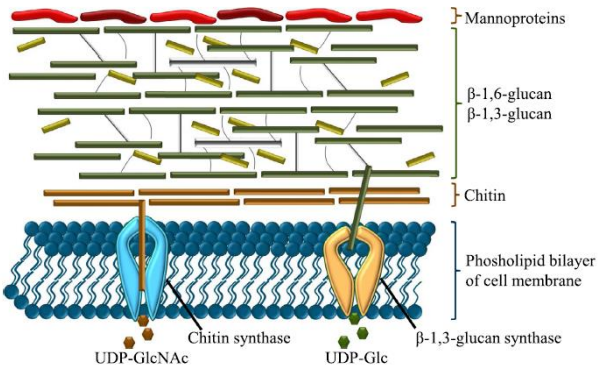
สู่ตัวทำละลายจึงเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นความร้อนที่เกิดโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการถ่ายโอนมวลสารภายในเซลล์ (Internal mass transfer) แตกต่างจากการใช้คลื่นอัลตราโซนิคซึ่งเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการถ่ายโอนมวลสารภายนอก (External mass transfer) (Flórez et al., 2015)

2.6 เบต้ากลูแคนในเห็ด

เบต้ากลูแคนเป็นโพลีแซคคาไรด์ชนิดหนึ่งที่เกิดจากโมเลกุลเดี่ยวของ D-glucose เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก โดยเป็นเส้นใยชนิดหนึ่งซึ่งอยู่ในธัญพืช เห็ด ยีสต์ หรือแม้แต่ในสาหร่าย เบต้ากลูแคนมีที่มาที่หลากหลายเนื่องจากมีแหล่งกำเนิดต่างๆกัน ซึ่งแหล่งที่มาที่แตกต่างกันนี้ทำให้เบต้ากลูแคนมีชนิดของพันธะเชื่อมต่อ รวมถึงมวลโมเลกุลที่ไม่เหมือนกัน

เบต้ากลูแคนมีคุณสมบัติทางเครื่องสำอางในการทำให้ผิวขาว อีกทั้งยังถูกค้นพบว่าสามารถใช้ได้กับผิวทุกประเภท เบต้ากลูแคนมีคุณสมบัติในการช่วยสร้างเซลล์คอลลาเจนในผิว ทำให้ผิวมีความแข็งแรง จึงสามารถป้องกันผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมภายนอกต่อผิวได้ นอกจากนี้ยังสามารถชะลอวัยของผิวและริ้วรอยได้อีกด้วย (Du et al., 2014)

ผนังเซลล์คือส่วนที่หุ้มอยู่รอบเซลล์ โดยผนังเซลล์ของเห็ดนี้จะประกอบไปด้วยไคตินที่อยู่ในตำแหน่งใกล้กับเมมเบรนของเซลล์ ส่วนที่เป็นเบต้ากลูแคนชนิด β-1,3- and β-1,6 จะติดอยู่กับไคตินและแมนโนโปรตีนซึ่งเป็นส่วนที่อยู่นอกสุดของผนังเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 2.4 (Philipp and Alga, 2016)



รูปที่ 2.4 องค์ประกอบของผนังเซลล์เห็ด

2.7 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คืออะตอมหรือโมลกุลของสารที่มีอิเลคตรอนโดดเดี่ยว 1 ตัวหรือมากกว่านั้น ซึ่งเกิดกการสูญเสียอิเลคตรอนโดดเดี่ยวหรือมีอิเลคตรอนโดดเดี่ยวที่เพิ่มขึ้น อาจเป็นประจุลบหรือประจุบวกหรือเป็นกลางก็ได้ ปกติอิเลคตรอนจะอยู่เป็นคู่ ถ้าหากอิเลคตรอนขาดคู่จะทำให้สารนั้นมีปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ว่องไวมาก ด้วยกระบวนการในการไปดึงอิเลคตรอนจากสารตัวอื่นมาไว้ให้เป็นคู่หรือให้อิเลคตรอนโดดเดี่ยวกับสารตัวอื่น เพื่อทำให้อะตอมหรือโมเลกุลนั้นสเถียรอได้ หรืออาจจะไปรวมกับโมเลกุลที่ไม่มีอนุมูล (non-radical) ถ้าอนุมูลให้ 1 อิเลคตรอนหรือรับ 1 อิเลคตรอน หรือรวมกับโมเลกุลที่ไม่มีอนุมูล จะกลายเป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไวมาก มีอายุสั้นและเกิดปฏิกิริยาแบบไม่เฉพาะเจาะจง ตัวอย่างของอนุมูลอิสระคือ ซูเปอร์ออกไซด์ (O_2) ไฮดรอกซิล (HO) ไนตรัสออกไซด์ (NO) เปอร์ออกซีไนไตรท์ (OONO) ไลปิดเปอร์ออกไซด์ (LOO) และเปอร์ไฮดรอกซิล (OOH) อนุมูลอิสระเกิดปฏิกิริยาแบบลูกโซ่ ซึ่ง 1 อนุมูลจะก่อให้เกิดอนุมูลอื่นต่อๆไป อนุมูลอิสระเกิดได้ภายในและภายนอกร่างกาย เช่นเกิดที่ไมโตรคอนเดรีย ไมโครโซม เพอร์รอกไซโซม ซึ่งเกิดจากกระบวนการขนส่งอิเลคตรอน การเกิดเมตาบอลิซึมฟาโกไซโตซิสหรือเกิดจากสารเคมี รังสี ยาบางชนิดและความร้อน (วิลาวัลย์ บุณย์ศุภา, 2008)

2.7.1 ผลของอนุมูลอิสระต่อสุขภาพมนุษย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กระบวนการเกิดพยาธิสภาพอันเนื่องมาจากอนุมูลอิสระที่จะนำไปสู่การติดโรคในมนุษย์เป้าหมายที่จะเกิดความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ ไขมัน โปรตีนหรือดีเอ็นเอ โดยภาวะที่มีการทำลายด้วยออกซิเดชันมากๆ จะเป็นผลร้ายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อ

ออกซิเดชันคือปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนให้แก่ธาตุหรือสาร หรือเป็นการลดจำนวนอิเลคตรอน ธาตุคาร์บอนอินทรีย์ที่ถูกเติมออกซิเจนจนกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์จะหมดศักยภาพของความเป็นสารที่มีพลังทางงานชีวภาพ เชื้อจุลชีพและพืชที่สังเคราะห์แสง จะพยายามที่จะเพิ่มสถานะของคาร์บอนให้เป็นรีดิวซ์คาร์บอน คือเปลี่ยนจากคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำให้เป็นสารอินทรีย์หรือสารอาหารเพื่อรักษาสภาพพลังงานที่เป็นประโยชน์ต่อชีวิตในเมตาบอลิซึมของเซลล์ เช่น ในไมโตรคอนเดรีย ไมโครโซม มีการเกิดออกซิเดชันตลอดเวลา หากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่

ขาดความควบคุมต่อเนื่องไปเรื่อยๆ จะก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ ถ้าไลปิดเปอร์ออกซิเดชันไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์จะถูกทำลายทำให้เซลล์ตายและเนื้อเยื่อเสื่อมสภาพ ถ้าการออกซิเดชันเกิดขึ้นที่โมเลกุลของโคเลสเตอรอลจะทำให้เกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัวตามมา ถ้าเกิดที่โปรตีนจะทำให้โปรตีนเสื่อมสภาพจากธรรมชาติ ถ้าเกิดที่ดีเอ็นเอจะทำให้ดีเอ็นเอถูกทำลายจากการเปลี่ยนแปลงรหัสทางพันธุกรรม เกิดโรคที่เกี่ยวกับความเสื่อมของประสาทและโรคเกี่ยวกับความผิดปกติของปอดโดยเฉพาะสาเหตุจากการอักเสบ

ออกซิเจนว่องไว (Reactive oxygen species, ROS) และไนโตรเจนว่องไว (Reactive nitrogen species, RNS) มักมีส่วนเกี่ยวข้องในกลไกการทำลายที่ทำให้เกิดการพัฒนาของโรค เช่น อนุมูลเปอร์ออกไซด์ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ไฮโปคลอไรท์ไฮดรอกซิล เฟอร์ริลฮีมโปรตีน (Ferryl heme protein species) ไลปิดอัลคอกวิลและเปอร์ออกซิล เปอร์ออกซีไนไตรด์ ไนตริกออกไซด์ และไนโตรเจนออกไซด์ การป้องกันการถูกทำลายของออกซิเขนว่องไวและไนโตรว่องไวแบ่งเป็น 3 วิธีได้แก่

1.) ป้องกันการเกิดออกซิเดชันโดยการลดการสร้างอนุมูลอิสระ
2.) กำจัดอนุมูลอิสระโดยยับยั้งการเริ่มต้นปฏิกิริยาลูกโซ่ และยับยั้งการแพร่ของปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ
3.) การใช้สารต้านออกซิเดชันที่มีบทบาทในกระบวนการซ่อมแซม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.7.2 สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ คือ สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน สามารถป้องกันหรือยืดเวลาการเกิดออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันที่พบในธรรมชาติมี 4 ประเภท ได้แก่

1. เอนไซม์ที่สร้างได้ในเซลล์ร่างกาย ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase) คาตาเลส (Catalase) กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase) และเมทไธโอนีนรีดักเตส (methionine reductase)
2. วิตามินต้านออกซิเดชันได้แก่ วิตามินอีในถั่ว ธัญพืช รำ ข้าวกล้อง งาและวิตามินซีในผลไม้ ผักสด

3. แร่ธาตุ เช่น ซิเลเนียมและสังกะสีเป็น co-factors ของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน
4. สารเคมีจากพืช (phytochemicals) เป็นสารเคมีจากพืชที่ไม่ใช่วิตามินและสารอาหาร เช่น แคโรทีน ไลโคปีน แซนโธฟิล แทนนินและฟลาโวนอยด์

ปัจจุบันมีผู้สนใจศึกษาเกี่ยวกับพืช ผลไม้และสมุนไพรต่างๆ เนื่องจากพบว่ามีสารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระอยู่มากมายหลายชนิดแตกต่างกันออกไปตามชนิดของพืช โดยทั่วไปจะไม่สามารถบอกปริมาณต่อหน่วยน้ำหนักของพืชได้ ส่วนใหญ่จะเป็นค่าเปรียบเทียบกับสารที่รู้อยู่แล้วว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินเอ วิตามินซีหรือสารที่นิยมใช้กันมากในขณะนี้เนื่องจากค่อนข้างคงตัวและใช้ได้ง่ายคือ 3-ter-butyl-4-Hydroxyanisole (BHA) หรือ Butylated hydroxytoluene (BHT) และการใช้อนุมูลอิสระที่เสถียรคือ 2,2-diphenyl-1-picrylthdeazyl (DPPH) ทำให้ทราบได้คร่าวๆว่า พืชมีสารต้านอนุมูลอิสระได้มากน้อยเพียงใดจากผลรวมของฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดที่มีอยู่ในพืชนั้น ซึ่งน่าจะให้ผลดีหากร่างกายได้รับในปริมาณที่เหมาะสมเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย

สารสำคัญในพืชและผลไม้ทั่วไปที่มีบทบาทและคุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ได้แก่ สารกลุ่ม polyphenols หรือ phenolic compounds

สารกลุ่ม polyphenols ทุกตัว มีโครงสร้างที่ประกอบด้วย aromatic ring ที่มี hydroxyl group ตั้งแต่ 1 กลุ่มขึ้นไป ชนิดที่พบในพืชและผลไม้ทั่วไปแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

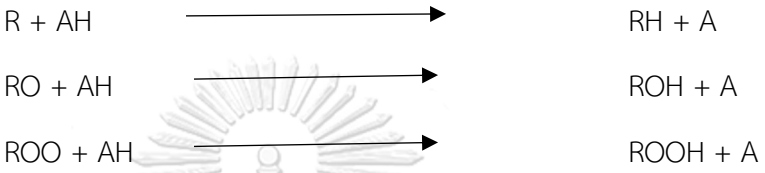
1. Phenolic acid รวมทั้งที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกัน ได้แก่ coumaric acid
2. Flavonoids จัดเป็นสารกลุ่มขนาดใหญ่ที่ประกอบด้วยสารจำพวก Polyhydroxy-phenols product กว่า 4000 ชนิด พบได้ทั่วไปในผัก ผลไม้ พืชตระกูลถั่วและเครื่องดื่ม เช่น ไวน์และชา

สารกลุ่ม polyphenols นี้ นอกจากจะมีคุณสมบัติความเป็นสารต้านออกซิเดชันที่เด่นชัด โดยมีกลไกที่สำคัญคือ การเปลี่ยนอนุมูลอิสระในรูปที่มีความสำคัญ สามารถทำลายเซลล์ให้อยู่ในรูปที่ไม่ทำให้เกิดพิษต่อเซลล์แล้ว สารกลุ่มนี้ยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอีกหลายประการ ไม่ว่าจะเป็นฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ได้หลายชนิดหรือฤทธิ์ต้านการอักเสบ จากการศึกษาในวงกว้างถึงประโยชน์อื่นๆ

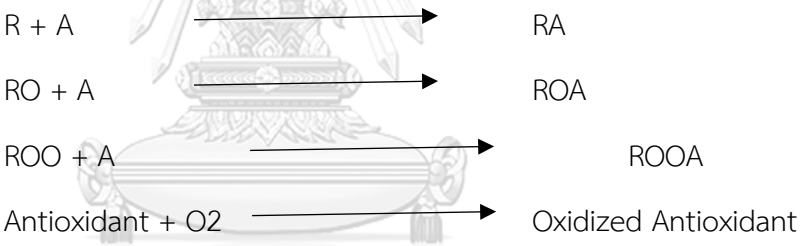
ของสารกลุ่ม polyphenols ยังพบว่ามีผลในการป้องกันหลอดเลือดหัวใจอุดตันได้ และอาจมีผลป้องกันการเกิดมะเร็ง แม้ว่าจะยังไม่พบฤทธิ์ในการรักษาโรคมะเร็งได้โดยตรงก็ตาม

2.7.3 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

ขั้นแรก : สารต้านอนุมูลอิสระจะไปเป็นตัวรีดิวซ์หรือให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระหมดฤทธิ์ไป จากนั้นตัวของสารต้านอนุมูลอิสระจะกลายเป็นอนุมูลอิสระเสียเอง



ขั้นที่ 2 : สารต้านอนุมูลอิสระที่กลายเป็นอนุมูลอิสระจากขั้นตอนแรกจะไปจับกับอนุมูลอิสระตัวใหม่ทำให้ไม่เกิดการสร้างอนุมูลอิสระต่อไป



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.8 ข้อมูลอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและเวชสำอาง

2.8.1 อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและเวชสำอางในตลาดโลก

เมื่อปี 2557 ภาพรวมของตลาดเครื่องสำอางโลกมีมูลค่าคิดเป็น 460 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ และคาดว่า ปี 2563 มูลค่าจะเพิ่มขึ้นเป็น 675 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อปีคิดเป็นร้อยละ 6.4 โดยมีประเภทของกลุ่มผลิตภัณฑ์ส่วนบุคคลที่มีส่วนแบ่งตลาดที่สูงที่สุดคือ กลุ่มผลิตภัณฑ์ดูแลผิวซึ่งคิดเป็นมูลค่า 111 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ

เมื่อจำแนกตามลักษณะทางภูมิศาสตร์ ในปี 2557 พบว่าส่วนแบ่งตลาดเครื่องสำอางโลกส่วนใหญ่อยู่ในเอเชียแปซิฟิก คิดเป็นร้อยละ 35 รองลงมาเป็นยุโรปตะวันตก คิดเป็นร้อยละ 22 อเมริกาเหนือคิดเป็นร้อยละ 21 ตามลำดับ

เมื่อจำแนกกลุ่มประเภทของผลิตภัณฑ์พบว่าส่วนแบ่งตลาดเครื่องสำอางส่วนใหญ่คือ กลุ่มผลิตภัณฑ์ดูแลผิวร้อยละ 35 ในอนาคตกลุ่มผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีแนวโน้มการขยายตัวของตลาดเพิ่มขึ้น คือกลุ่มผลิตภัณฑ์แต่งกายของผู้ชาย (Man's Grooming) กลุ่มผลิตภัณฑ์ความงามฮาลาล (Halal beauty) และกลุ่มผลิตภัณฑ์ดูแลผิวชีวภาพ (Bio-based skin care)

ภาพรวมมูลค่าตลาดเวชสำอางโลกมีมูลค่า 37.9 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ คาดว่าปี 2560 มูลค่าตลาดจะเพิ่มขึ้นเป็น 57.3 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ และปี 2563 มูลค่าตลาดจะมีค่า 61 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ จากข้อมูลปี 2558 ส่วนใหญ่ผลิตภัณฑ์ที่นิยมใช้มากที่สุดคือ ผลิตภัณฑ์ต่อต้านริ้วรอย (Anti-aging) ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 41 รองลงมาเป็นผลิตภัณฑ์ทำให้ขาวใส (Skin whitening) คิดเป็นร้อยละ 17

2.8.2 อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและเวชสำอางในประเทศไทย

ตลาดความงามภายในประเทศปี 2559 มีมูลค่า 81,000 ล้านบาท เมื่อรวมมูลค่าตลาดเครื่องสำอางไทยเข้าไปจะมีมูลค่าถึง 2 แสนล้านบาท ซึ่งมีการเติบโตต่อเนื่องร้อยละ 8-10 ในทุกปี และการส่งออกร้อยละ 27 เป็นการส่งออกสินค้าความงามไปยังกลุ่มประเทศอาเซียนทั้งสิ้น ส่วนใหญ่ส่วนแบ่งตลาดเครื่องสำอางและความงามของประเทศไทยคือ ผลิตภัณฑ์ดูแลผิว คิดเป็นร้อยละ 46 มีมูลค่า 26,000 ล้านบาท มีอัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อปีร้อยละ 5

ประเทศที่ไทยส่งเครื่องสำอางไปจำหน่ายมากที่สุดคือ ญี่ปุ่น คิดเป็นมูลค่า 3,648 ล้านบาท รองลงมาเป็นฟิลิปปินส์ คิดเป็นมูลค่า 1,733 ล้านบาท และอินโดนีเซีย คิดเป็นมูลค่า 1,266 ล้านบาท (คลังข้อมูลอุตสาหกรรม สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ)

2.9 วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology: RSM)

วิธีการพื้นผิวตอบสนองเป็นวิธีการรวบรวมเอาเทคนิคทั้งทางคณิตศาสตร์และทางสถิติที่มีประโยชน์ต่อการสร้างแบบจำลองและการวิเคราะห์ปัญหาโดยที่ผลตอบสนองที่เราสนใจขึ้นอยู่กับ

หลายปัจจัยและผู้ทดลองมีวัตถุประสงค์ที่จะหาค่าที่ดีที่เหมาะสมของผลตอบสนองนี้ เช่น ผลตอบสนอง y เป็นฟังก์ชันของ x_1 และ x_2 ดังนั้นจะสามารถเขียนในรูปแบบสมการได้ดังนี้

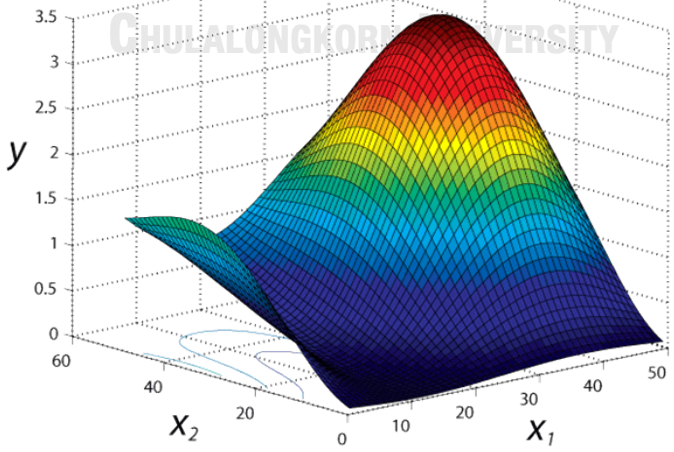
$$y = f(x_1, x_2) + \varepsilon \tag{2.1}$$

เมื่อ ε คือ ค่าความผิดพลาดของผลตอบ y ที่มีผลมาจากการทดลอง ถ้าเรากำหนดว่า $E(y) = f(x1, x2) = \eta$ ดังนั้นเราสามารถเขียนสมการพื้นผิวได้ คือ

$$\eta = f(x_1, x_2) \tag{2.2}$$

โดยมากแล้วจะแสดงพื้นผิวตอบสนองในรูปของกราฟิก ดังแสดงในรูปที่ 2.5 ซึ่ง η จะถูกพล็อตกับระดับของ x_1 และ x_2 เพื่อที่จะช่วยให้มองเห็นรูปร่างของพื้นผิวตอบสนองได้ดียิ่งขึ้นโดยมากแล้ว เราจะพล็อตเส้นโครงร่าง (Contour Plot) ของพื้นผิวตอบสนองดังแสดงในภาพ ในการสร้างเส้นโครงร่างนี้เส้นที่มีค่าของผลตอบคงที่จะถูกวาดอยู่บนระนาบ x_1 และ x_2 เส้นโครงร่างแต่ละเส้นจะมีความสูงของพื้นผิวตอบสนองที่เท่ากันค่าหนึ่ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 2.5 พื้นผิวตอบสนองแบบสามมิติ

ในปัญหาเกี่ยวกับพื้นผิวตอบสนองส่วนมากมักจะไม่ทราบความสัมพันธ์ระหว่างผลตอบและตัวแปรอิสระ ดังนั้นขั้นแรก คือ ผู้ทดลองต้องหาตัวประมาณที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวแทนสำหรับแสดงความสัมพันธ์ที่แท้จริงระหว่าง y และกลุ่มของตัวแปรอิสระ ซึ่งตามปกติแล้วจะใช้ฟังก์ชันพหุนามที่มีกำลังต่ำๆ ที่อยู่ภายใต้อาณาเขตบางส่วนของตัวแปรอิสระ ถ้าแบบจำลองของผลตอบมีความสัมพันธ์เป็นแบบเชิงเส้นกับตัวแปรอิสระ ฟังก์ชันที่จะใช้ในการประมาณความสัมพันธ์นี้คือแบบจำลองพหุนามกำลังหนึ่ง

$$\hat{y} = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \varepsilon \quad (2.3)$$

แต่ถ้ามีส่วนโค้งเข้ามาเกี่ยวข้องในระบบ จึงใช้ฟังก์ชันพหุนามที่มีกำลังสูงขึ้น เช่น พหุนามกำลังสอง

$$\hat{y} = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} {x_i}^2 + \sum_{i=1}^{k} \sum_{j=1, j<1}^{k} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (2.4)$$

ปัญหาเกี่ยวกับพื้นผิวตอบส่วนมากจะใช้แบบจำลองพหุนามกำลังหนึ่งหรือกำลังสองในการหาผลตอบแต่แบบจำลองทั้งสองชนิดนี้ไม่สามารถใช้ประมาณความสัมพันธ์ตลอดพื้นผิวทั้งหมดของตัวแปรอิสระ ถ้าพื้นผิวที่สนใจอยู่มีขนาดใหญ่การออกแบบพื้นผิวตอบสนองมีวิธีการที่นำมาใช้ในการหาค่าที่ดีที่สุดของผลตอบอยู่หลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ วิธีการกำลังสองน้อยที่สุด การปีนด้วยทางชัน การออกแบบสำหรับฟิตแบบจำลองอันดับที่หนึ่งและการออกแบบสำหรับ การฟิตแบบจำลองอันดับสอง ซึ่งการออกแบบสำหรับฟิตแบบจำลองอันดับสองนี้เป็นการเน้นไปที่การสร้างแบบจำลองควอดราติกของผลตอบ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.9.1 วิธีการกำลังสองน้อยสุด (Least Square Method)

จะถูกนำมาใช้ในการประมาณค่าพารามิเตอร์ ต่าง ๆ ของแบบจำลองพหุนาม การวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนองจะเกิดขึ้นกับพื้นผิวที่สร้างขึ้นนี้ ถ้าพื้นผิวที่สร้างขึ้นสามารถใช้ประมาณฟังก์ชันผลตอบได้อย่างดีเพียงพอ ดังนั้นการวิเคราะห์พื้นผิวที่ถูกสร้างขึ้นมานี้จะสามารถประมาณได้เหมือนกับการวิเคราะห์ระบบจริง พารามิเตอร์ต่าง ๆ ของแบบจำลองสามารถที่จะถูกประมาณได้เป็นอย่างดี ถ้าเราทำการออกแบบการทดลองเพื่อที่จะเก็บค่าได้อย่างเหมาะสม การออกแบบสำหรับการสร้างพื้นผิว

ตอบสนองเรียกว่า การออกแบบพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Design) (สันติ พุ่มกระจ่าง, 2009)

2.9.2 การออกแบบบ็อกซ์-เบนเคน (Box-Behnken Design)

เป็นการออกแบบสามระดับเพื่อการทำนายผลการทดลองแบบพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology: RSM) การออกแบบนี้ถูกสร้างขึ้นจากการรวมการออกแบบแฟกทอเรียล 2^k กับการออกแบบบล็อกไม่สมบูรณ์ ผลที่ได้จะมีประสิทธิภาพในด้านจำนวนของการรันที่ต้องการและการออกแบบนี้ยังมีความสามารถในการหมุนหรือเกือบหมุนได้อีกด้วย เนื่องจากการออกแบบบ็อกซ์-เบนเคนเป็นการออกแบบรูปทรงกลมที่ทุกจุดวางอยู่บนรูปทรงรัศมี และไม่ได้รวมเอาจุดใดๆ ที่เป็นจุดยอดของรูปลูกบาศก์ที่สร้างขึ้นจากขีดจำกัดบนและล่างของแต่ละตัวแปรเอาไว้ ซึ่งการออกแบบเช่นนี้มีประโยชน์มากเมื่อจุดที่อยู่บนมุมของลูกบาศก์เป็นการรวมเอาปัจจัยระดับ (Factor-Level Combination) ที่เป็นไปไม่ได้ที่จะทำการทดลองอันเนื่องมาจากข้อจำกัดทางด้านกายภาพของกระบวนการ

2.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA)

เป็นวิธีการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างตั้งแต่ 3 กลุ่มขึ้นไป ซึ่งจะเป็นการวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างความแปรปรวนระหว่างกลุ่ม (Between-group variance) และความแปรปรวนภายในกลุ่ม (Within-group variance) ค่าความแปรปรวนระหว่างกลุ่มคือค่าที่เกิดจากความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มต่างๆ ยิ่งค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มแตกต่างกันมาก ค่าความแปรปรวนระหว่างกลุ่มก็จะมากตามไปด้วย สำหรับความแปรปรวนภายในกลุ่มเป็นค่าที่แสดงให้เห็นว่าข้อมูลแต่ละตัวภายในกลุ่มนั้นมีการกระจายมากหรือน้อย ค่าที่คำนวณได้นี้เรียกว่าความคลาดเคลื่อน (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013)

2.11 แบบจำลองการถดถอย (Regression Model)

แบบจำลองการถดถอยเป็นการจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับการหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย เพื่อนำไปสร้างสมการทำนายค่าของผลตอบสนอง ซึ่งจะทำให้สามารถหาผลตอบสนองที่จุดใดๆในแต่ละช่วงของปัจจัยได้ โดยวิธีการที่ใช้ในการประมาณค่าตัวแปรต่างๆ ในแบบจำลองนี้

ส่วนใหญ่ คือ วิธีกาลังสองน้อยสุด (Least Square Method) ซึ่งเป็นการประมาณค่าตัวแปรที่ไม่ทราบค่า (β) เพื่อทำให้ผลรวมของกำลังสองของความผิดพลาด (2β) มีค่าน้อยที่สุดซึ่งบางครั้งเราเรียก β เหล่านี้ว่าค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย โดยมีขั้นตอนในการประมาณค่าดังนี้

1.) สร้างผลรวมของกำลังสองของค่าความผิดพลาดโดยการคงค่าผลตอบสนอง

2.) ประมาณค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของปัจจัยในเทอมต่างๆ ที่ทำให้ผลรวมของกำลังสองของค่าความผิดพลาดมีค่าน้อยที่สุด

3.) นำค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยที่ได้ไปเขียนสมการทำนายค่าของผลตอบสนอง

2.11.1 แบบจำลองการถดถอยสำหรับการออกแบบ Box-Behnken

แบบจำลองการถดถอยในการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken มีทั้งหมด 3 แบบดังต่อนี้

1.) Linear Model ดังสมการที่ (2.5)

$$E(y) = \beta_0 + \sum_{i=1}^{p} \beta_i x_i \qquad (2.5)$$

เมื่อ E(y) คือ การแจกแจงความน่าจะเป็นของผลตอบสนองของการศึกษา

$\beta_0,\beta_1,\ldots\beta_p$ คือ ค่าพารามิเตอร์

$x_1,x_2,\ldots,x_p$ คือ ปัจจัยที่ทำการศึกษา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.) 2FI (two-factor interaction) Model ดังสมการที่ (2.6)

$$E(y) = \beta_0 + \sum_{i=1}^{p} \beta_i x_i + \sum \sum_{i<j}^{P} \beta_{ij} X_i X_j \qquad (2.6)$$

เมื่อ E(y) คือ การแจกแจงความน่าจะเป็นของผลตอบสนองของการศึกษา

$\beta_0,\beta_1,\ldots\beta_p$ คือ ค่าพารามิเตอร์

$x_1,x_2,\ldots,x_p$ คือ ปัจจัยที่ทำการศึกษา

3) Quadratic Model ดังสมการที่ (2.7)

$$E(y) = \beta_0 + \sum_{i=1}^{p} \beta_i x_i + \sum \sum_{i<j}^{p} \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^{p} \beta_{ii} x_i^2 \quad (2.7)$$

เมื่อ E(y) คือ การแจกแจงความน่าจะเป็นของผลตอบสนองของการศึกษา

$\beta_0, \beta_1, \ldots \beta_p$ คือ ค่าพารามิเตอร์

$x_1, x_2, \ldots, x_p$ คือ ปัจจัยที่ทำการศึกษา

2.11.2 วิเคราะห์แบบจำลองการถดถอยที่เหมาะสมกับผลตอบสนอง

2.11.2.1) ทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษาและผลตอบสนอง

โดยทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษากับพื้นผิวตอบสนองสนองที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยพิจารณาสมมติฐานที่เหมาะสมของแบบจำลองการถดถอยแต่ละแบบด้วยค่า P-value ดังตารางที่ 2.1 (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013)

ตารางที่ 2.1 แบบจำลองการถดถอยและสมมติฐานที่ใช้สาหรับการออกแบบBox-Behnken

แบบจำลองการถดถอย	**สมมติฐานที่ใช้ในการทดสอบ**
Linear	$H_0 : \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta$ H_1 : At least one equality is false
2FI (Two-Factor Interaction Terms)	$H_0 : \beta_0 = \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta_{12} = \beta_{13} = \beta_{23} = 0$ H_1 : At least one equality is false
Quadratic	$H_0 : \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta, \beta_{12} = \beta_{13} = \beta_{23} = 0$ H_1 : At least one equality is false

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

พิจารณาจากค่า P-value

ถ้า P-value ≥ 0.05 : จะยอมรับ H_0 หมายความว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษากับผลตอบสนอง

ถ้า P-value < 0.05 : จะปฏิเสธ H_0 หมายความว่ามีปัจจัยที่ศึกษาอย่างน้อยหนึ่งตัวที่มีความสัมพันธ์กับผลตอบสนองแสดงว่าแบบจำลองการถดถอยที่ได้มีประโยชน์ต่อการทำนายค่าผลตอบสนอง

2.11.2.2) ทดสอบ Lack of Fit

เป็นการทดสอบว่าฟังก์ชันถดถอยหรือแบบจำลองการถดถอยที่ใช้มีความเหมาะสมกับข้อมูลการทดลองหรือไม่ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013) โดยสมมติฐานการทดสอบ คือ

H_0: แบบจำลองการถดถอยเหมาะสมกับข้อมูล

H_1: แบบจำลองการถดถอยไม่เหมาะสมกับข้อมูล

โดยพิจารณาจากค่า P-value

ถ้า P-value ≥ 0.05 : จะยอมรับ H_0 หมายความว่าแบบจำลองการถดถอยมีความเหมาะสมกับข้อมูล

ถ้า P-value < 0.05 : จะปฏิเสธ H_0 หมายความว่าแบบจำลองการถดถอยไม่มีความเหมาะสมกับข้อมูล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.11.2.3) วิเคราะห์ผลทางสถิติของแต่ละแบบจำลอง

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของแบบจำลองการถดถอยแต่ละแบบสามารถพิจารณาค่าดังต่อไปนี้ (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013)

1) Standard Deviation (Std. Dev.) คือ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของการประมาณค่าหรือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของผลตอบสนอง (Y) รอบเส้นถดถอยดังสมการที่ 2.8

$$\text{Std. Dev} = \sqrt{\text{MSE}} = \sqrt{\frac{\text{SSE}}{\text{n}-2}} \qquad (2.8)$$

เมื่อ Std. Dev. คือ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของการประมาณค่า

MSE คือ ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย

SSE คือ ผลบวกกำลังสองเนื่องมาจากความคลาดเคลื่อน

n คือ จำนวนข้อมูล

2) R-Squared (R^2)

R-Squared (R^2) หรือ สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ คือ ค่าที่ใช้อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษากับผลตอบสนอง ซึ่งสามารถใช้วัดว่าแบบจำลองการถดถอยที่ประมาณได้จากผลการทดลองนั้นมีความเหมาะสมชุดข้อมูลเพียงไร ถ้า R^2 มีค่ามากแสดงว่าแบบจำลองการถดถอยที่ประมาณได้มีความเหมาะสมกับข้อมูลมาก (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013) ดังสมการที่ 2.9

$$R^2 = 1 - \frac{SSE}{SST}; 0 \leq R^2 \leq 1 \quad (2.9)$$

เมื่อ R_2 คือ สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ

SSE คือ ผลบวกกำลังสองเนื่องมาจากความคลาดเคลื่อน

SST คือ ผลบวกกำลังสองทั้งหมดของผลตอบสนอง

CHULALONGKORN UNIVERSITY

3) Adjusted R-Squared (Adj-R^2)

Adjusted R-Squared (Adj-R^2) หรือ สัมประสิทธิ์การตัดสินที่มีการปรับค่า เนื่องจากข้อเสียของ R^2 คือ เมื่อจำนวนปัจจัยในแบบจำลองการถดถอยเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ค่า R^2 เพิ่มขึ้นตามไปด้วย แต่การเพิ่มของจำนวนปัจจัยในแบบจำลองการถดถอยนั้นไม่ได้แปลว่าแบบจำลองการถดถอยที่ได้จะมีความเหมาะสม เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว นักสถิติจึงปรับค่า R^2 สำหรับปัจจัยหลายๆ ปัจจัยด้วยการนำ Degree of freedom มาร่วมพิจารณาและเรียกค่า R^2 ที่มีการปรับค่าใหม่ว่า Adj-R^2 (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013) ดังสมการที่ (2.10)

$$Adj - R^2 = 1 - \frac{\frac{SSE}{n-k-1}}{\frac{SST}{n-1}}; 0 \leq Adj - R^2 \leq 1 \quad (2.10)$$

เมื่อ Adj-R^2 คือ สัมประสิทธิ์การตัดสินที่มีการปรับค่า

SSE คือ ผลบวกกำลังสองเนื่องมาจากความคลาดเคลื่อน

SST คือ ผลบวกกำลังสองทั้งหมดของผลตอบสนอง

n คือ จำนวนข้อมูล

4) Predicted Residual Error Sum of Square (PRESS)

Predicted Residual Error Sum of Square (PRESS) เป็นการวัดว่าแบบจำลองการถดถอยที่ประมาณได้ มีความเหมาะสมกับจุดที่ทำการออกแบบไว้หรือไม่ โดยที่แบบจำลองการถดถอยที่เหมาะสมจะเป็นแบบจำลองที่มีค่าPRESS ต่ำกว่าแบบจำลองอื่น (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013) ดังสมการที่ 2.11

$$PRESS = \sum(\frac{e_i}{1-h_{ii}})^2 \quad (2.11)$$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เมื่อ PRESS คือ ค่าผลรวมกำลังสองของความคลาดเคลื่อนตัดออก

e_i คือ ค่าความคลาดเคลื่อนของค่าสังเกต

h_{ii} คือ ค่า leverage ของค่าสังเกตที่ i (คำนวณจากข้อมูล n ค่า)

5) Predicted R-Squared (Pred-R^2)

Predicted R-Squared (Pred-R^2) หรืออีกชื่อหนึ่งว่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่ได้จากการทำนาย เป็นค่าที่แสดงสัดส่วนหรือเปอร์เซ็นต์ของปัจจัยซึ่งศึกษามีส่วนในการอธิบายความผันแปรทั้งหมดของผลตอบสนองที่ได้จากการทำนาย (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013) ดังสมการที่ 2.12

$$\text{Pred} - \text{R}^2 = 1 - \frac{\text{PRESS}}{\text{SS}_{\text{total}}} \quad (2.12)$$

เมื่อ $Pred\text{-}R^2$ คือ สัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่ได้จากการทำนาย

PRESS คือ ค่าผลรวมกำลังสองของความคลาดเคลื่อนตัดออก

SS_{total} คือ ผลบวกกำลังสองทั้งหมดของผลตอบสนอง

2.11.3 การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของตัวแปรอิสระในแบบจำลองที่เลือก

เป็นการตรวจสอบว่าปัจจัยที่ศึกษาปัจจัยใดบ้างที่อยู่ในรูปแบบจำลองถดถอยที่ถูกเลือกและมีความสัมพันธ์กับผลตอบสนอง โดยสมมติฐานการทดสอบคือ

$$H_0: \beta_j = 0$$

$$H_1: \beta_j \neq 0$$

โดยพิจารณาค่า P-value

ถ้า P-value ≥ 0.05 : จะยอมรับ H_0 หมายความว่าปัจจัยที่ศึกษาไม่มีความสัมพันธ์กับผลตอบสนอง

ถ้า P-value < 0.05 : จะปฏิเสธ H_0 หมายความว่าปัจจัยที่ศึกษามีความสัมพันธ์กับผลตอบสนอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ในกรณีที่ปัจจัยที่ศึกษาไม่มีความสัมพันธ์กับผลตอบสนอง ปกติแล้วจะตัดปัจจัยที่ศึกษานั้นออกจากแบบจำลองการถดถอย แล้วจึงทำการวิเคราะห์หาแบบจำลองการถดถอยแบบใหม่ แต่ทั้งนี้ต้องพิจารณาค่า P-value ร่วมกับค่า VIF (Variance Inflation Factor) ด้วย

ถ้า P-value ≥ α ขณะที่ ค่า VIF ≤ 5 ไม่จำเป็นต้องตัดปัจจัยที่ศึกษานั้นๆ ออกจากแบบจำลองการถดถอย แต่ถ้า VIF ≥ 5 แสดงว่าปัจจัยที่ศึกษาไม่มีความสัมพันธ์กับปัจจัยอื่นจนไม่นำมาพิจารณา (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013)

2.11.4 การตรวจสอบความเหมาะสมของแบบจำลองการถดถอย (Diagnostics)

การตรวจสอบความเหมาะสมของแบบจำลองการถดถอยที่ได้จากผลการทดลองว่ามีความเหมาะสมหรือไม่สามารถพิจารณาได้จากข้อมูลต่อไปนี้

2.11.4.1) การตรวจสอบส่วนตกค้าง (Residual Analysis)

การตรวจสอบส่วนตกค้างนั้นเป็นการตรวจสอบความเหมาะสมของแบบจำลองการถดถอย โดยอาศัยค่าความแตกต่างระหว่างค่าสังเกต Y_i และค่าประมาณ Y_i บนเส้นถดถอย (Fitted or Predicted value) หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า ค่าความคลาดเคลื่อน (Residuals) (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013) ดังสมการที่ 2.13

$$e_i = Y_i - \hat{Y}_i; i = 1,2, \dots, n \qquad (2.13)$$

เมื่อ e_i คือ ค่าความคลาดเคลื่อนของค่าสังเกต

Y_i คือ ค่าสังเกต

$\hat{Y}_i$ คือ ค่าประมาณ Y_i บนเส้นถดถอย

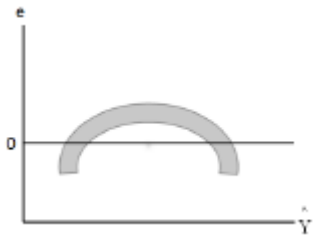
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

โดยที่การตรวจสอบความเหมาะสมของรูปแบบการถดถอย มีสองวิธีคือ

1) วิธีวิเคราะห์กราฟของส่วนตกค้าง เป็นการพล็อตแผนภาพกระจายของ Residuals คู่กับค่าประมาณบนเส้นถดถอย (fitted value:$\hat{Y}_i$) ปัจจัยที่ศึกษา (ตัวแปรอิสระ: X) และเวลาที่เกิดค่าสังเกต ดังแสดงในรูปที่ 2.6

(1)

สมการถดถอยมีความเหมาะสมกับข้อมูล



(2)

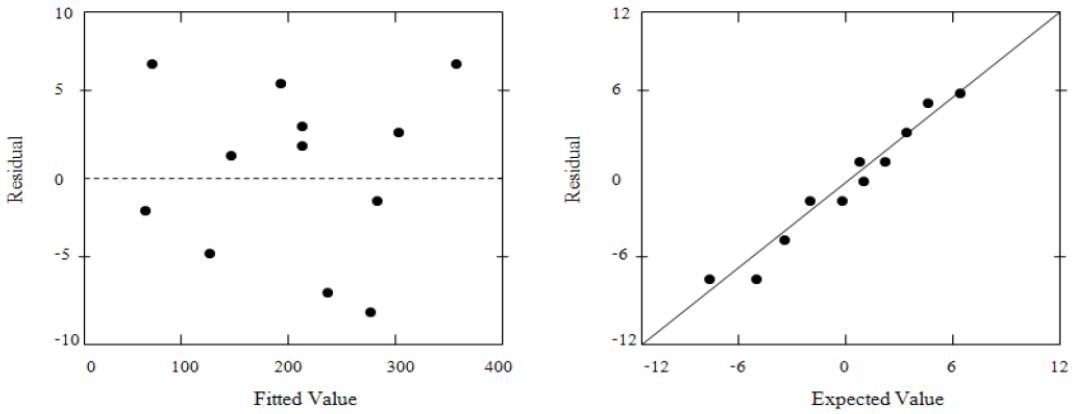
สมการถดถอยไม่มีความเหมาะสมกับข้อมูล

(3) (4)

ความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนไม่คงที่ ลักษณะกราฟชี้ให้เห็นว่ามีเวลาเข้ามาเกี่ยวข้อง

รูปที่ 2.6 รูปร่างของ Residual Plots

2) วิธีวิเคราะห์กราฟของความน่าจะเป็นแบบปกติ (Normal Probability Plots) เป็นการพล็อตแผนภาพกระจายของ Residuals ที่เรียงลำดับคู่กับค่าคาดหวัง (Expected values) ถ้าแผนภาพกระจาย ที่ได้มีรูปร่างใกล้เคียงเส้นตรงแสดงว่าความคลาดเคลื่อนมีการแจกแจงปกติ (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013) ดังรูปที่ 2.7



(1) Residuals vs $\hat{Y}_i$ (2) Normal probability plot

รูปที่ 2.7 Residual Plots และ Normal Probability Plots แสดงให้เห็นถึงความเหมาะสมของรูปแบบการถดถอย

2.12 ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางแบบเจล (Gelling agent)

เจล (Gels) หมายถึง ระบบที่ประกอบด้วยของเหลวที่เกิดเป็นเจลโดยการใช้สารก่อเจลที่เหมาะสม ระบบนี้อาจเป็นระบบกึ่งของแข็งที่ประกอบด้วยสารแขวนตะกอนที่เป็นอนุภาคอนินทรีย์

ขนาดเล็ก หรือเป็นระบบของสารอินทรีย์ขนาดใหญ่ที่มีของเหลวสอดแทรกอยู่ภายใน โดยจะสามารถแบ่งชนิดของเจลโดยใช้ชนิดของสารก่อเจลเป็นเกณฑ์ ได้ดังนี้ (อรวรรณ ติรภัทร, 2010)

2.12.1 เจลวัตภาคเดียว (Single-phase gels)

โดยที่เจลวัตภาคเดียวเป็นเจลที่มักนิยมใช้ในทางเภสัชกรรมและเครื่องสำอาง เนื่องจากคุณสมบัติหลายประการ เช่น สมบัติกึ่งแข็งกึ่งเหลว ใส ทาง่าย ใช้และล้างออกง่าย เจลชนิดนี้มักจะมีการปลดปล่อยยาที่รวดเร็ว โดยไม่ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการละลายน้ำของยา เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ชนิดครีมและขี้ผึ้ง สามารถจำแนกออกเป็น 3 ประเภทได้แก่

1. เจลน้ำ (Aqueous หรือ Hydroalcoholic gels)

มีลักษณะเป็นเจลที่ใสหรือขุ่นก็ได้ ซึ่งจะขึ้นกับชนิดและคุณสมบัติการละลายของสารก่อเจลในตัวกลางที่มีขั้ว ส่วนประกอบโดยทั่วไปจะประกอบด้วย สารก่อเจล น้ำ สารปรุงแต่งอื่นๆ และอาจจะมีส่วนผสมของตัวช่วยละลายอื่นๆ เช่น alcohol, propylene glycol, glycerin และ polyethylene glycol เป็นต้น เจลที่เข้ากับน้ำเป็นเจลที่นิยมใช้มากเพราะมีการปลดปล่อยตัวยาได้ดี ไม่เหนียวเหนอะหนะ โดยสารก่อเจลที่ใช้ในเจลประเภทนี้มีหลายชนิด ได้แก่ สารก่อเจลจากธรรมชาติ สารก่อเจลกึ่งสังเคราะห์ และสารก่อเจลสังเคราะห์

ก.) สารก่อเจลจากธรรมชาติ ยกตัวอย่างเช่น Tragacanth, Arcacia, Agar, Algenic acid, Bentonite, Veegum, Pectin และ Xanthan gum

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ข.) สารก่อเจลกึ่งสังเคราะห์ ได้แก่ อนุพันธ์เซลลูโลสชนิดต่างๆ ที่นิยมใช้มากที่สุดคือ Hydropropyl methyl cellulose (HPMC) ซึ่งละลายได้ดีทั้งในน้ำและแอลกอฮอล์ สามารถใช้เดี่ยวหรือใช้ร่วมกับสารก่อเจลอื่นๆ เพื่อให้ได้เนื้อสัมผัสและความหนืดที่ต้องการ นอกจากนี้ยังมี Methyl cellulose ซึ่งเป็นสารประจุลบ อนุพันธ์เซลลูโลสเหล่านี้มีความคล้ายคลึงกับ gum จากธรรมชาติ แต่จะต่างกันที่อนุพันธ์เซลลูโลสไม่เสียง่าย เนื่องจากเป็นโพลิเมอร์ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ จึงอาจจับหรือดูดซับสารกันเสียไว้ในตัวได้

ค.) สารก่อเจลชนิดสังเคราะห์ สารก่อเจลกลุ่มนี้เป็นที่นิยมใช้มากที่สุด ได้แก่ Carbopols, Poloxamers และ Polyvinyl alcohol เป็นต้น

2. เจลน้ำมัน (Oleo gel หรือ Oleogeneous gel หรือ Anhydrous gel)

เป็นเจลที่มีส่วนประกอบหลักเป็นน้ำมัน ได้แก่ mineral oil สำหรับสารก่อเจลที่ใช้ในเจลน้ำมันมีหลายชนิด เช่น metal stearate (aluminium stearate), polyxyaluminium stearate, lanolin derivative, fumed silica และ polyamide resin เป็นต้น ในตำรับนอกจากจะมีน้ำมันและสารก่อเจลแล้ว ยังมีสารปรุงแต่งอื่นๆที่จำเป็น สารก่อเจลที่นิยมใช้กันมากในเจลน้ำมัน ได้แก่ colloidal silica (fumed silica) ซึ่งมีพื้นที่ผิวสูง มีความสามารถในการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลและเดเป็นโครงสร้างแหตลอดตัวกลาง นอกจากนี้ยังสามารถเกิดพันธะกับสารอื่นในตำรับที่มีขั้วด้วย

3. เจลโปร่งใส (Transparent gel หรือTransparent oil-in-water gel)

สารกลุ่มนี้ไม่ใช่เจลอย่างแท้จริง แต่จัดอยู่ในไมโครอิมัลชัน ซึ่งมีลักษณะคล้ายเจลมาก เป็นไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในลักษณะกึ่งแข็ง ใสเหมือนเจลลี่ มีความคงตัว เจลโปร่งใสมีชื่อเรียกต่างกันหลายชื่อ เช่น microemulsion gel, clear gel, clear resonant gel, fat gel, clear oil gel เป็นต้น โดยมีส่วนประกอบสำคัญ ได้แก่ น้ำมัน สารก่ออิมัลชัน สารก่ออิมัลชันร่วม (พวกแอลกอฮอล์โซ่ยาว) น้ำ และสารปรุงแต่งอื่นๆ วัตภาคน้ำมันที่นิยมใช้กันได้แก่ mineral oil, light mineral oil, triglyceride และ esters ของ fatty acid สำหรับสารก่อเจลร่วมอาจเป็น co-solubilizer และ coupling agents ซึ่งสารก่อเจลร่วมช่วยทำให้เกิดไมโครอิมัลชัน เพิ่มความใส นอกจากนี้ยังเพิ่มความคงตัว ความข้นหนืด และจุดหลอมตัวของตำรับที่ได้ เจลโปร่งใสใช้กันมาในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น ผลิตภัณฑ์จัดแต่งทรงผม ผลิตภัณฑ์กันแดด ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ผลิตภัณฑ์ไล่ยุง เป็นต้น

2.12.2 เจลสองวัตภาค (Two-phase gels)

เจลสองวัตภาคเป็นระบบที่มีอนุภาคอนินทรีย์ขนาดเล็กแขวนลอยอยู่ในของเหลว เจลชนิดนี้มีการแยกของอนุภาคออกจากของเหลวอย่างชัดเจน เช่น เจลอลูมินัมไฮดรอกไซด์ (Aluminum hydroxide gel)อนุภาคเหล่านี้มีการเกาะกลุ่มกันอย่างหลวมๆ ถ้าอนุภาคที่แขวนลอยอยู่มีขนาดใหญ่อาจเรียกว่า แมกมา (Magma) เจลที่มีสองวัตภาคควรมีคำว่า เขย่าขวดก่อนใช้ ที่ฉลาก

2.12.3 ชนิดของสารก่อเจล

1. Xanthan gum

Xanthan gum เป็นสารก่อเจลที่ผลิตขึ้นจากการหมักโดยแบคทีเรีย (Bacteria fermentation) โดยช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางคือร้อยละ 0.5 -2 โดยทั่วไปแล้วความเข้มข้นของ xanthan gum ที่ต่ำกว่าร้อยละ 0.5 จะถูกใช้เป็นสารทำให้คงตัว (stabilizer) ในอิมัลชัน ส่วนที่ความเข้มข้นที่สูงกว่านั้นจะใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการเพิ่มความหนืดตามงานวิจัยของ Shaik และคณะ (2013) (Bhasha et al., 2013)

ขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลจาก xanthan gum โดยโปรยผง xanthan gum ลงในน้ำอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส และปั่นกวนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นจึงเติม Propylene glycol ในสัดส่วน Xanthan gum ต่อ Propylene glycol เท่ากับ 1:3 ทำการเพิ่มความหนืดของผลิตภัณฑ์โดยเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ประมาณร้อยละ 0.5 จากนั้นจึงเติมสารกันเสีย Unigerm-G2

2. Guar gum

Guar gum เป็นสารก่อเจลประเภทโพลีแซคคาไรด์ไม่มีขั้ว (non-ionic polysaccharide) ที่ได้ผลิตได้จากเมล็ดพืช สารละลายที่มีส่วนผสมของ Guar gum จะสามารถแสดงคุณสมบัติของเจลได้จากการเชื่อมพันธะด้วยการแลกเปลี่ยนไอออน ตามงานวิจัยของ Shaik และคณะ (2013) (Bhasha et al., 2013) โดยสัดส่วนที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางคือร้อยละ 0.5-2

ขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลโดยละลายผง Guar gum ในน้ำ ค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายจะสูงกว่า 9 ดังนั้นจึงต้องเติมกรดซิตริก (citric acid) ประมาณร้อยละ 0.2 -2 เพื่อปรับค่าความเป็นกรดด่างให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม ซึ่งค่าความเป็นกรดด่างของผิวมนุษย์อยู่ในช่วง 4 – 7 อ้างอิงจากงานวิจัยของ Lambers และคณะ (2006) (Lambers et al., 2006) จากนั้นจึงเติมสารกันเสีย Unigerm-G2

3. HPMC 400

HPMC 4000 เป็นสารก่อเจลที่มีลักษณะเป็นผงแกรนูลหรือเส้นใยสีครีมหรือสีขาว มีประโยชน์ทางเภสัชกรรมที่หลากหลาย ตัวอย่างเช่น เป็นสารเคลือบ สารเพิ่มคงตัว และสารเพิ่มความหนืดเป็นต้น (กัมปนาท หวลบุตตา, 2017)

ขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลโดยละลายผง HPMC 4000 ในน้ำอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส จนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน โดยสัดส่วนของ HPMC 4000 ที่เหมาะสมในการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลอยู่ที่ประมาณร้อยละ 1-2 ตามงานวิจัยของ Doaa และคณะ (2012) (Helal et al., 2012) จากนั้นจึงผสมสารกันเสีย Unigerm-G2

4. CMC

CMC เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถละลายได้ดีในน้ำและสามารถก่อให้เกิดเจลได้ ทำให้มีการประยุกต์ใช้ CMC เป็นสารช่วยแตกตัว หรือถ้าใช้ในปริมาณมากจะทำหน้าที่เป็นสารก่อเจลซึ่งช่วยชะลอการปลดปล่อยของยา โดยมีลักษณะเป็นผงแกรนูล มีสีขาวหรือค่อนข้างขาว และไม่มีกลิ่น (กัมปนาท หวลบุตตา, 2017)

ขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลโดยละลายผง CMC ในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส โดยมีการปั่นกวนอย่างสม่ำเสมอจนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกัน โดยสัดส่วนที่เหมาะสมของ CMC ในเครื่องสำอางอ้างอิงจากงานวิจัยของ Sumeet และคณะ (2012) (Dwivedi and Gupta, 2012) อยู่ที่ร้อยละ 1-3 จากนั้นจึงผสมสารกันเสีย Unigerm-G2 ลงไปในผลิตภัณฑ์

5. Aristoflex silk

Aristoflex silk เป็นสารก่อเจลที่เกิดจากการสังเคราะห์ซึ่งไม่มีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรตและสารอะโรมาติก มักจะถูกใช้ในผลิตภัณฑ์ที่เป็นระบบน้ำ (aqueous system) เพื่อทำหน้าที่เป็นสารเพิ่มความหนืด และสารเพิ่มความคงตัว โดยลักษณะทางกายภาพของไฮโดรเจลที่มีส่วนผสมของ Aristoflex silk จะขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้น จากงานวิจัยของ Baranova และ

คณะ (2017) พบว่าสัดส่วนที่เหมาะสมในการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลของ Aristoflex silk จะอยู่ในช่วงร้อยละ 0.5–1.5 (Baranova et al., 2017)

ขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลจาก Aristoflex silk โดยการโปรยผง Aristoflex silk ในน้ำอุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส อย่างช้าๆ พร้อมกับปั่นกวนตลอดการผสมจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นจึงผสมสารกันเสีย Unigerm-G2 ลงไปในผลิตภัณฑ์

6. Carbopol 940

Carbopol 940 เป็นพอลิเมอร์แบบร่างแห (Cross-linked polymer) โดยสารก่อเจลชนิดนี้จะเริ่มแสดงคุณสมบัติของเจลก็ต่อเมื่อสิ่งแวดล้อมในระบบมีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ที่ประมาณ 4-6 โดย Carbopol จะนิยมใช้เพิ่มความหนืดในผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลว (liquid) และ ผลิตภัณฑ์แบบกึ่งของแข็ง (semi-solid) (Bhasha et al., 2013)

ขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลจาก Carbopol 940 โดยค่อยๆโปรยผง Carbopol 940 ลงในน้ำพร้อมกับปั่นกวน จนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นจึงปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์ด้วยไตรเอทานอลมีน (TEA) ให้มีค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 5-6 แล้วจึงเติมสารกันเสีย Unigerm-G2 ในขั้นตอนสุดท้าย โดยสัดส่วนของ Carbopol 940 ที่เหมาะสมในการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 0.5-1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.13 วิธีทดสอบความชอบ (Affective test) ด้วยวิธี Hedonic scaling

การใช้สเกลแบบ Hedonic scaling เกิดขึ้นเมื่อ 200 ปีที่แล้ว วิธีนี้เคยถูกใช้ในการตรวจสอบอุณหภูมิของน้ำ ความเร็วของลม เป็นต้น การนำมาใช้ได้ขยายวงกว้างขึ้นหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 ซึ่งเกิดจากความจำเป็นในการวัดความต้องการอาหารและลักษณะของอาหารที่ต้องการของกองทัพ

เมื่อปี 1947 สเกลแบบ 7-point hedonic scaling ได้ถูกนำมาใช้ครั้งแรกโดยสถาบัน Quartermaster Food and Container Institute เพื่อตรวจสอบความชอบของทหารในรายการอาหาร จนประโยชน์ดังกล่าวได้รับความสนใจ และในปี 1952 สเกล 7 จุดดังกล่าวถูกกำหนดให้เป็น

เครื่องมือในการสำรวจลักษณะของอาหารเพื่อพิจารณาถึงแนวโน้ม โดยที่สเกล 7 จุด อาจจะถูกปรับให้เหลือเพียง 5 ทางเลือกเพื่อเพิ่มการวิเคราะห์อย่างมีประสิทธิภาพในสเกลของความชอบ/ไม่ชอบ

เพื่อแก้ไขปัญหาข้อบกพร่องดังกล่าว สเกลแบบ 9- point hedonic scaling ได้ถูกพัฒนาขึ้นในปี 1955 และพบว่ามีความไวมากกว่าสเกลที่สั้น และต่อมาสเกลแบบ 9 จุดกับความแปรปรวนของสเกลดังกล่าวได้รับการยอมรับที่กว้างขวางขึ้น ปัจจุบันการวิจัยมากมายยังคงศึกษาถึงประสิทธิภาพการวัดของวิธีนี้ในการสืบค้นการตอบสนองที่ถูกต้องภายใต้สภาวะที่กำหนดให้

1. วิธีการใช้สเกล Hedonic scaling ในการพรรณนา

วิธีการนี้เป็นวิธีการทดสอบที่อ้างถึงความพอใจทางจิตวิทยาและลำดับของความไม่พอใจของผู้บริโภค ซึ่งได้แสดงถึงวิธีจำเพาะของการลำดับสเกลเพื่อวัดสภาวะทางจิตวิทยาโดยตรง วิธีดังกล่าวเป็นการวัดการได้รับการยอมรับอย่างแท้จริงจากปฏิกิริยาของผู้บริโภคในเทอมของระดับการชอบ/ไม่ชอบของผลิตภัณฑ์ที่กำหนดให้ภายใต้สภาวะที่กำหนดไว้ ปฏิกิริยาของผู้ประเมินจะชี้ให้เห็นถึงคำที่พรรณนาบนสเกล ตัวอย่างแบบสอบถามในกรณี 9-point hedonic scaling ได้แสดงในรูปที่ 2.8

แบบสอบถามประเภท Hedonic scaling

ชื่อ..... ชุดที่.....
ผลิตภัณฑ์ ..... วันที่.....

ข้อเสนอแนะ : ทดสอบรสชาติของตัวอย่างที่ให้ และตรวจสอบว่าท่านชอบ/ไม่ชอมมากเพียงไรในผลิตภัณฑ์ ใช้สเกลที่เหมาะสมเพื่อแสดงทัศนคติของท่านโดยการขีดกำหนดจุดบนสเกลที่อธิบายความรู้สึกของท่านได้ดีที่สุด ดื่มน้ำหลังจากแต่ละผลิตภัณฑ์ถูกทดสอบแล้ว

สเกล	ตัวอย่างรหัส			
ชอบมากที่สุด				
ชอบมาก				
ชอบปานกลาง				
ชอบเล็กน้อย				
เฉยๆ				
ไม่ชอบเล็กน้อย				
ไม่ชอบปานกลาง				
ไม่ชอบมาก				
ไม่ชอบมากที่สุด				

ข้อเสนอแนะ.....
.....
.....
.....
.....
.....

ขอขอบคุณ

รูปที่ 2.8 ตัวอย่างแบบทดสอบความพึงพอใจแบบ hedonic scaling

วิธีแบบ Hedonic scaling ได้นำมาใช้เป็นเงื่อนไขสำหรับการทดสอบประเภทการพรรณนา ลักษณะด้วยการประเมินทางประสาทสัมผัส ความแตกต่างหลักอยู่ที่ว่าผู้ประเมินที่ใช้ในการทดสอบแบบ Hedonic scaling เป็นผู้บริโภค ซึ่งวิธีนี้จะคาดคะเนบนพื้นฐานความเชื่อที่ว่าการตอบสนองโดยตรงเป็นความรู้สึกที่มีเหตุสำหรับการคาดคะเนพฤติกรรมจริงในการตอบสนอง

ข้อดีของการทดสอบแบบใช้สเกลในการพรรณนา

เปรียบเทียบกับการทดสอบการประเมินทางประสาทสัมผัสอื่นๆ พบว่าการทดสอบแบบ Hedonic scaling เป็นการทดสอบที่ง่ายและเข้าใจได้ง่ายที่สุด โดยมีข้อดีหลักๆดังนี้

(1) พบว่าเป็นวิธีที่ใช้ตรวจสอบอย่างมีประสิทธิภาพด้วยความแตกต่างน้อยๆในระดับของความชอบในสิ่งที่คล้ายๆกัน และใช้ตรวจสอบความแตกต่างได้อย่างหยาบๆ แม้ว่าผู้ประเมินและสภาวะการทดสอบจะมีความแปรปรวน

(2) การทดสอบนี้ใช้แบบสอบถามและข้อเสนอแนะที่ง่ายและทำให้ผลิตภัณฑ์สามารถถูกเรียงลำดับในการประเมินครั้งแรกได้

(3) สเกลแบบ Hedonic scale สามารถแสดงให้เห็นความแตกต่างในกลุ่มของลักษณะความชอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะในการสำรวจภาคสนาม พบว่าการทดสอบผู้บริโภคด้วยสเกลแบบHedonic scale สามารถช่วยกำหนดระดับการยอมรับผลิตภัณฑ์ได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

(4) เป็นวิธีที่มีประโยชน์ในการตรวจสอบการยอมรับโดยเฉพาะอาหารที่ไม่ปกติหรือไม่ใช่การทดสอบเปรียบเทียบตัวอย่าง

(5) การวิเคราะห์ทางสถิติของข้อมูลจากการทดสอบแบบ Hedonic scaling มีความง่ายแม้ว่าประชากรตัวอย่างจะมาก

ข้อด้อยของการทดสอบแบบใช้สเกลในการพรรณนา

แม้ว่าผู้ใช้ส่วนใหญ่จะพบว่าการใช้ Hedonic scaling มีประโยชน์มาก แต่การทดสอบนี้ก็ยังมีข้อด้อยดังนี้

(1) ในประเทศที่ไม่ได้ใช้ภาษาอังกฤษเป็นการสื่อความหมาย ความจำเป็นในการแปลความหมายของระดับในสเกลเป็นสิ่งที่สำคัญ เช่นคำ ว่า “Like very much” อาจจะไม่สามารถแปลได้ตรงความหมายตามภาษาไทย

(2) ผู้ทดสอบที่เป็นผู้บริโภคถูกคาดเดาในการตอบสนองบนพื้นฐานของการแสดงอย่างฉับพลัน ซึ่งเป็นการป้องกันความคิดของผู้บริโภคที่จะสะท้อนถึงคุณภาพผลิตภัณฑ์อย่างแท้จริง การแสดงออกของผู้บริโภคจึงอยู่บนพื้นฐานของทัศนคติของผู้บริโภคและความชอบส่วนบุคคล จึงไม่สามารถบอกได้ว่าสิ่งเร้าใดที่ทำให้ผู้บริโภคประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากผู้บริโภคที่ทำการทดสอบแบบ Hedonic scaling โดยปกติเป็นผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนมาก่อน ดังนั้นการสะท้อนความรู้สึกจึงยังคงอยู่บนพื้นฐานการแสดงออกอย่างกว้างๆ เพื่อแก้ไขความเป็นไปได้ในการเกิดความแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้นอย่างมากในการตอบสนองของผู้บริโภค จึงต้องใช้จำนวนประชากรมากในการทดสอบ

(3) การลำดับสเกลแบบ Hedonic rating scale ไม่สามารถนำมาใช้เพื่อวัตถุประสงค์ของการควบคุมคุณภาพเพราะว่าความแปรปรวนที่มากอาจเกิดขึ้นได้ระหว่างการประเมิน หากต้องการทดสอบสิ่งที่แสดงถึงการควบคุมคุณภาพจึงไม่ควรใช้ผู้บริโภคที่ผ่านการฝึกฝนมาก่อน เนื่องจากผู้ทดสอบกลุ่มนี้มีแนวโน้มการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์อย่างลึกซึ้ง ดังนั้นการทดสอบแบบ Hedonic scaling ใดๆจะถูกโน้มน้าวโดยการฝึกฝนของผู้ประเมิน มีผลทำให้การยอมรับหรือความชอบของผู้บริโภคไม่เป็นตัวแทนที่ดีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

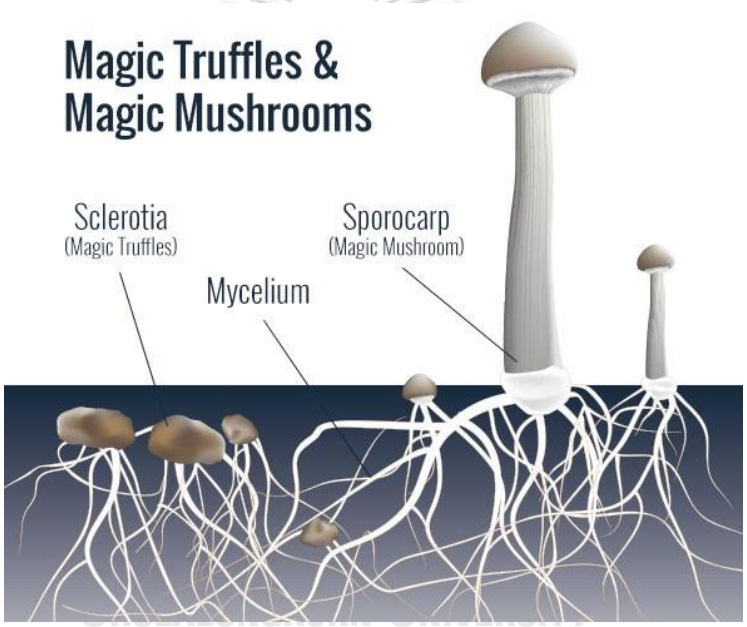
นอกจากข้อจำกัดข้างต้น พบว่าการทดสอบเชิงพรรณนาแบบ Hedonic scaling มีการประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางมากที่สุดในวิธีการประเมินทางประสาทสัมผัส อย่างไรก็ตามไม่มีความแน่นอนว่าผู้ใช้การทดสอบนี้จะตระหนักในข้อจำกัดเพียงพอหรือไม่

2.14 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.14.1 การสกัดเห็ดแครง

การสกัดสารสำคัญจากเห็ดนั้นสามารถทำได้หลายวิธีและในเห็ดชนิดต่างๆก็มีปริมาณสารสำคัญรวมถึงปริมาณเบต้ากลูแคนที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเห็ด ส่วนที่นำมาสกัด รวมถึงวิธีที่ใช้ในการสกัด

ในปี ค.ศ. 2004 Mei และคณะ ได้ศึกษาการสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่สามารถละลายน้ำได้จากส่วนที่เป็น Scleriotia และ Mycelia ซึ่งเป็นส่วนที่แตกต่างกันของเห็ด ดังแสดงในรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 ส่วนของเห็ดนางรมที่นำมาสกัด Scleriotia และ Mycelia (2019)

จากงานวิจัยของ Mei และคณะพบว่า โพลีแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดประกอบไปด้วยสองส่วนได้แก่ องค์ประกอบหลักที่เป็นโพลีแซคาไรด์กับกลูโคส และส่วนประกอบรองที่เป็นน้ำตาลกาแลคโตส และแมนโนส โดยโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้จาก mycelia จะมีปริมาณโปรตีนมากกว่าที่สกัดได้จาก scleriotia เนื่องจากส่วนที่เป็น scleritia มีโปรตีนเป็นองค์กระกอบน้อย นอกจากนั้นผู้ทดลองยังได้ศึกษาผลของการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคร่วมกับการสกัด ได้สารประกอบเชิงซ้อนไกลเคน-ไคตินที่มี

มวลโมเลกุลเฉลี่ยสูงกว่าการสกัดโดยใช้น้ำเพียงอย่างเดียว เนื่องจากการสั่นด้วยพลังงานสูงของคลื่นอัลตร้าโซนิค สามารถทำลายโครงสร้างผนังเซลล์ของเห็ดซึ่งประกอบไปด้วยโพลีแซคคาไรด์ ดังนั้นจึงมีสารประกอบเชิงซ้อนกลูแคน-ไคติน และแมนเนอร์ซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่มีมวลโมเลกุลสูงหลุดเข้าสู่ตัวทำละลายได้มาก ในทางกลับกัน โพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำที่มีมวลโมเลกุลเฉลี่ยอยู่ในช่วง 40×10^4 ถึง 80×10^4 มีฤทธิ์การยับยั้งการเกิดเนื้องอก (Anti-tumor activity) สูงกว่าโพลีแซคคาไรด์ที่มีการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคร่วมด้วย เนื่องจากโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยอัลตร้าโซนิคมีมวลโมเลกุลสูง ซึ่งส่งผลให้ฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเนื้องอกมีค่าลดลง จากการทดลองดังกล่าว พบว่าวิธีการสกัดโดยการใช้น้ำอุณหภูมิสูงทำให้ได้โพลีแซคคาไรด์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเนื้องอก เช่นเดียวกับผลการศึกษา Lentinan และ Schizophyllan (Zhanga et al., 2004)

ในปี ค.ศ.2010 Sheng และคณะ ได้ศึกษาการสกัดเห็ดหลินจือด้วยวิธี Alkali extraction โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบ Response Surface Methodology เพื่อหาสภาวะในการสกัดที่ทำให้ได้ร้อยละผลได้ของสารสกัดที่มากที่สุด โดยศึกษาตัวแปรคือ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ความเข้มข้นของNaOH สัดส่วนของ Alkali/Solid โดยได้สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ อุณหภูมิ 60.1 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการสกัดคือ 77.3 นาที ความเข้มข้นของNaOHคือ 5.1% สัดส่วนของ Alkali/Solid คือ 1:21.4 นอกจากนี้ยังได้นำสารสกัดไปทดสอบกับหนูทดลอง พบว่าสารสกัดไม่เกิดผลกับระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย (Huang et al., 2010)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ในปี ค.ศ. 2011 Anita และคณะ ได้ศึกษาการสกัดเห็ดแครงด้วยวิธี Hot water extract (HWE), Hot water extracted polysaccharides (HWP) และ Hot alkali extracted polysaccharides (HWAE) พบว่าการสกัดด้วยhot alkali จะได้ปริมาณพอลิแซคคาไรด์ที่มากกว่าการสกัดด้วยน้ำร้อน ส่วนปริมาณของกลูแคนในการสกัดทั้งสามแบบจะมีค่าใกล้เคียงกัน และพบว่าการสกัดด้วย hot alkali มีแนวโน้มที่จะให้ antioxidant activity มากกว่าการสกัดแบบHWEและHWP (Klaus et al., 2011)

ในปีค.ศ. 2012 In Young และคณะ ได้ศึกษาการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดดอกกะหล่ำ (Sparassis crispa) ด้วยน้ำ โดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology: RSM) ออกแบบการทดลองด้วยวิธี Box-Behnken ศึกษาตัวแปรได้แก่ ความเป็นกรดด่างที่ใช้ในการสกัด (6-

10) เวลาที่ใช้ในการสกัด (6-10 ชั่วโมง) และสัดส่วนของตัวทำละลายต่อวัตถุดิบ ผลการทดลองจากวิธี RSM ชี้ให้เห็นว่า โมเดลการวิเคราะห์ถดถอยที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดดอกกะหล่ำคือ โมเดลการวิเคราะห์ถดถอยแบบโพลิโนเมียล (Polynomial regression model) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ แสดงการตัดสินใจ (R^2) อยู่ที่ 0.95 และค่าความน่าจะเป็น (p-value) เท่ากับ 0.0074 และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ ความเป็นกรดด่างอยู่ที่ 6.05 เวลาที่ใช้ในการสกัดคือ 8 ชั่วโมง 55 นาที และสัดส่วนของตัวทำละลายต่อเห็ดเท่ากับ 19.74 โดยเมื่อทำการสกัดที่สภาวะนี้ จะได้ปริมาณเบต้ากลูแคนร้อยละ 60.76 (Bae et al., 2012)

วิธีการในการสกัดรวมถึงส่วนของเห็ดที่นำมาสกัดมีผลต่อปริมาณสารสำคัญเช่น เบต้ากลูแคน สารออกฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชัน สารออกฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเนื้องอก เป็นต้น โดยที่สารสำคัญดังกล่าวนี้ล้วนแต่เป็นสารสำคัญที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางได้

ในปี ค.ศ.2012 อรวัสสา เผือกสุข และคณะ ได้ศึกษาการเตรียมสารสกัดเห็ดฟางเพื่อประโยชน์ทางเครื่องสำอางด้วยเอทานอล ในช่วงเวลาการสกัดและอุณหภูมิต่างๆกัน พบว่าสารสกัดเห็ดฟางที่อุณหภูมิ 50 °C เวลา 6 ชั่วโมงให้ปริมาณร้อยละของผลผลิตต่อน้ำหนักแห้งสูงสุด จากนั้นนำสารสกัดเห็ดฟางมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและปริมาณฟีนอลิกรวม พบว่าในสารสกัดเห็ดฟางที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง แสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดสูง (ร้อยละ 82.08+3.17 ที่ 250 μg/ml และ 324.48+2.70 mgGAE/ 100 g crude ตามลำดับ) และสารสกัดเห็ดฟางที่อุณหภูมิ 25 °C ระยะเวลา 3 ชั่วโมง แสดงร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุด (ร้อยละ 57.66+0.90 ที่ 1000 μg/ml) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณฟีนอลิกรวม (R2= 0.6919)สรุปได้ว่าสารสกัดเห็ดฟางที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ที่อุณหภูมิห้องมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูง แสดงให้เห็นว่าความร้อนไม่ได้มีผลต่อปริมาณของสารสกัด ดังนั้นฤทธิ์ของสารสกัดจากเห็ดฟางจึงมีประโยชน์ในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในเครื่องสำอางต่อไป (อรวัสสา เผือกสุข et al., 2012)

ในปี ค.ศ.2012 อภิชาติ กาญจนทัต และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบเชิงซ้อนโพลีแซคคาไรด์-โปรตีนที่สกัดได้จากเส้นใย (mycelia) ของเห็ดตับเต่า ด้วยการสกัดสกัด

สารประกอบเชิงซ้อนจากเส้นใยเห็ดด้วยน้ำร้อนและตกตะกอนสารประกอบเชิงซ้อนหยาบด้วยเอทานอล ทำสารประกอบเชิงซ้อนให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนอิออนด้วยคอลัมน์ DEAE-cellulose และโครมาโทกราฟีแบบเจลฟิลเตรชันด้วยคอลัมน์ Superdex G-200โดยเรียกสารประกอบเชิงซ้อนที่ได้ว่า P11 นำมาศึกษาลักษณะสมบัติเชิงโครงสร้างด้วยNMR,FTIR และ GPC พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุล 294,725 ดาลตัน องค์ประกอบหลักของโมเลกุลเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ตำแหน่ง β ทำการทดลองฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 4 ระบบคือ DPPH, ABTS, nitric oxide และ hydrogen peroxide พบว่าความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อน P11 มีค่าน้อยกว่า 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่สามารถมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 50 เปอร์เซ็นต์ได้ทั้ง 4 ระบบ และสารประกอบเชิงซ้อน P11 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง 2 ชนิดคือ เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด BT474 และเซลล์มะเร็งชนิด HEP-G2 (อภิชาติ กาญจนทัต, 2009)

2.14.2 การใช้คลื่นไมโครเวฟกับการสกัด

การสกัดแบบดั้งเดิม (Conventional Extraction) ยังมีข้อด้อยในหลายๆด้าน เช่น เวลาในการสกัดที่นาน อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสูง เป็นต้น ซึ่งข้อด้อยดังกล่าวอาจทำให้ปริมาณรวมถึงประสิทธิภาพการทำงานของสารสำคัญลดลง ดังนั้น เทคนิคการสกัดอื่นๆจึงถูกนำมาร่วมพิจารณาเพื่อให้การสกัดสารสำคัญจากเห็ดเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ใช้เวลาน้อยลง ลดพลังงานรวมถึงลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษ เช่น การสกัดด้วยอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic extraction) การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave extraction) เป็นต้น

ในปี ค.ศ. 2007 Ye zou และคณะ ได้ศึกษาผลของของการใช้อัลตร้าโซนิคกับสารละลายก่อนทำการสกัด โดยศึกษากระบวนการสกัดคอลลาเจนจากตะพาบ เปรียบเทียบการสกัดแบบแช่ปกติ (Conventional extraction) และ การสกัดโดยมีการใช้อัลตร้าโซนิคกับสารลายก่อนทำการสกัด (Ultrasound pre-treatment extraction) จากการทดลองพบว่า การใช้อัลตร้าโซนิคทำให้ได้ปริมาณของคอลลาเจนที่สกัดได้มีปริมาณมากขึ้นถึง 33.6 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับการสกัดแบบปกติ นอกจากนั้นยังพบว่าคอลลาเจนที่ได้จากการสกัดโดยมีอัลตร้าโซนิคให้คอลลาเจนที่มีขนาดอนุภาคที่เล็กกว่า แสดงให้เห็นว่าการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคทำให้เกิดการละลายของคอลลาเจนดีมากขึ้น เป็นผล

มาจากการสั่นของคลื่นอัลตร้าโซนิคที่ทำให้คอลลาเจนกระจายออกเป็นชิ้นเล็กๆมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่ารูพรุนของคอลลาเจนที่ได้จากการสกัดโดยใช้อัลตร้าโซนิคมีขนาดที่ใหญ่กว่าการสกัดแบบปกติและยังมีความสามารถในการละลายมากกว่าด้วย การใช้การสกัดแบบมีอัลตร้าโซนิคทำให้ฤทธิ์การยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระของคอลลาเจนมากขึ้น จึงสรุปได้ว่าการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคกับสารละลายก่อนการสกัดสามารถทำให้ผลที่ได้จากการสกัดดีมากขึ้นกว่าการสกัดแบบปกติ (Zou et al., 2017)

ในปี ค.ศ.2016 Bin และคณะ พบว่าเห็ดแครงให้ exopolysaccharides (EPS) และเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ (anti-inflammatory) ได้ เมื่อถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมทางด้านการแพทย์และเครื่องสำอางจำเป็นต้องหาวิธีที่ที่มีประสิทธิภาพและสะดวกในการตัดพอลิแซคคาไรด์สายยาวให้สั้นลงเพื่อควบคุมมวลโมเลกุลและความหนืด วิธี ultrasonicเป็นวิธีหนึ่งที่ง่ายในการลดมวลโมเลกุลลดความหนืดเพิ่มความสามารถในการละลายและยังสามารถเพิ่ม bioactivity ให้กับพอลิแซคคาไรด์ได้อีกด้วย ทำการทดลองโดยการเพาะไมซีเลียมของเห็ดแครงลงบน potato dextrose agar แช่ในขวดรูปชมพู่แล้วนำไปเขย่าเป็นเวลา 7 วัน ใช้ ultrasonic probe ในการทดลอง ศึกษามวลโมเลกุลโดยใช้เทคนิคHPLC พบว่ามวลโมเลกุลลดลงแสดงให้เห็นว่าultrasonic สามารถทำให้พอลิแซคคาไรด์มีขนาดเล็กลงและมวลโมเลกุลลดลงโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหลักของโมเลกุล นอกจากนี้ยังทำให้ anti-inflammatory activity เพิ่มขึ้นอีกด้วย (Du et al., 2016)

อย่างไรก็ตาม เทคนิคในการสกัดดังกล่าวนี้ยังมีข้อเสียเปรียบตรงที่ทำให้เกิดการสิ้นเปลืองพลังงาน หากใช้ร่วมตลอดทั้งการสกัด ทำให้ไม่เกิดความคุ้มค่าในการลงทุน จึงได้มีงานวิจัยที่ศึกษาการใช้เทคนิคในการสกัดดังกล่าวในช่วงเวลาสั้นๆที่เรียกว่า การปรับสภาพ (Pre-tratment)ก่อนเข้าสู่การสกัด เพื่อลดพลังงาน โดยที่ยังคงไว้ซึ่งประสิทธิภาพของการสกัดรวมถึงปริมาณสารสำคัญที่สกัดได้

ในปี ค.ศ. 2008 Oscar และคณะ ได้ทำการทดลองสกัดเบต้ากลูแคนจากข้าวบาร์เลย์ โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสม (optimization) ในการสกัดและทำให้บริสุทธิ์ เพื่อลดเวลาในกระบวนการผลิตและปริมาณสารตั้งต้น มีการปรับสภาพเบื้องต้น (Pre-treatment) โดยใช้วิธีอัลตร้าโซนิค เอนไซม์และไมโครเวฟ ตัวแปรต้นในการสกัดที่ศึกษาได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ความเป็นกรดด่าง เวลาที่ใช้ในการสกัด สัดส่วนของตัวทำละลาย และความมีขั้วของตัวทำละลาย พบว่าตัวแปรอันได้แก่ อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัด เป็นตัวแปรที่ส่งผลต่อปริมาณผลได้มากที่สุด โดยปริมาณผลได้จะมี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ค่าเพิ่มขึ้นเมื่อสกัดด้วยอุณหภูมิที่สูง ส่วนเวลาที่ใช้ในการสกัดที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดคือไม่เกิน 3 ชั่วโมง จากการทดลองยังบ่งชี้ให้เห็นว่าการเพิ่มเวลาในการสกัดที่มากกว่า 3 ชั่วโมงขึ้นไป ไม่ได้ช่วยเพิ่มปริมาณของเบต้ากลูแคน ส่วนตัวแปรความเป็นกรดและด่างไม่ได้ส่งผลต่อปริมาณผลได้ เมื่อใช้แอลกอฮอล์ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงเช่น เมทานอล และเอทานอล ส่งผลให้เห็นว่าไม่ได้ช่วยเพิ่มอัตราการสกัด นอกจากนั้นยังทำให้คุณสมบัติการละลายน้ำของเบต้ากลูแคนลดลง จากการทดลองนี้ผู้ทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการใช้สกัดเบต้ากลูแคนให้ได้ปริมาณร้อยละ 40 – 50 จากบาร์เลย์คือ สัดส่วนของตัวทำละลายในช่วง 7 ถึง 12 อุณหภูมิในการสกัดที่ประมาณ 55 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัดประมาณ 3 ชั่วโมงเป็นเวลาที่เพียงพอจะให้ระบบเข้าสู่สมดุลเพื่อปริมาณผลได้ของเบต้ากลูแคนที่สูง (Oscar Benito, 2008)

ในปี ค.ศ. 2017 Ramos และคณะ ได้ศึกษาการวิธีการผลิตน้ำมันคาโนลา (canola oil) โดยใช้วิธีปรับปรุงสภาพเบื้องต้น (Pre-treatment) เมล็ดคาโนลา (canola seed) ด้วยคลื่นไมโครเวฟ วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology: RSM) กำลังของไมโครเวฟที่ใช้คือร้อยละ 80 และ 100 (หรือ 457 และ 607 วัตต์ ตามลำดับ) ตัวแปรที่ศึกษาคือ ปริมาณความชื้นเริ่มต้น (ร้อยละ 5-10) และระยะเวลาในการปรับสภาพเบื้องต้น (10-350 วินาที) ทดลองปรับเปลี่ยนตัวแปร 5 ระดับ สมการ second-order polynomial ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ผลของปริมาณน้ำมันที่ได้ ในขณะที่สมการ first-order polynomial ถูกนำมาใช้วิเคราะห์ปริมาณความชื้น จากการทดลองพบว่า การใช้คลื่นไมโครเวฟในการปรับสภาพเมล็ดคาโนลาเบื้องต้นช่วยทำให้การสกัดน้ำมันได้เร็วขึ้น และให้ปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยยะสำคัญในการสกัดเป็นระยะเวลา 2 และ 4 ชั่วโมง โดยเพิ่มผลผลิตขึ้นถึงร้อยละ 25.1 และ 6.9 ตามลำดับ การเพิ่มระยะเวลาในการปรับสภาพเบื้องต้นช่วยเพิ่มผลผลิตของน้ำมันกาโนลา แต่ในทางกลับกัน ปริมาณความชื้นมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดแบบปกติ นอกจากนั้น การทดลองยังบ่งชี้ให้เห็นว่าปริมาณ fatty acid และ ปริมาณสาร tocopherol ในน้ำมันที่ได้จากการสกัดโดยมีการปรับสภาพเมล็ดกาโนลาเบื้องต้นกับการสกัดปกติ ไม่มีความแตกต่างกัน จึงสามารถสรุปได้ว่าการปรับสภาพเบื้องต้นของวัตถุดิบก่อนกระบวนการผลิต สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตได้อย่างมีนัยยะสำคัญและไม่ส่งผลให้สารสำคัญลดลง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.14.3 ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางแบบเจล

สารสกัดที่ได้จากเห็ดแครงสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางได้ เนื่องจากมีสารสำคัญหลายตัวที่มีฤทธิ์ทางเครื่องสำอาง ในวิธีการผลิตเครื่องสำอางจากโดยมีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครงสามารถทำได้หลายรูปแบบ โดยในการผลิตจะต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายๆด้าน เช่น ชนิดของเครื่องสำอางที่ต้องการผลิต รวมถึงพฤติกรรมของสารสกัดที่จะนำมาใส่ในเครื่องสำอาง จึงได้มีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางซึ่งมีส่วนประกอบของสารสกัดจากเห็ดแครง เช่น เครื่องสำอางประเภทครีม เครื่องสำอางประเภทเจล เป็นต้น

ดังเช่นงานวิจัยของ Pirshahid และคณะ (2011) ได้ศึกษาการทำเครื่องสำอางชะลอวัยจากสารสกัดเห็ดแครง โดยการสกัดด้วยวิธีแช่ผงแห้งของเห็ดแครงกับเอทานอลความเข้มข้น 95% แล้วปั่นกวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ทำการทดสอบ antioxidant activity ด้วยวิธี DPPH เทียบกับTrolox พบว่ามีantioxidantเท่ากับ 1,480 µmol ทดสอบการระคายเคืองบนผิวหนังกระต่ายผ่านไป48ชั่วโมง พบว่าไม่มีการระคายเคืองเกิดขึ้น ทำการทดสอบการติดเชื้อโดยใช้จุลินทรีย์ Aspergillus niger, Candida albicans, Pseudomonas aeruginosa และ Staphylococcus หลังจากทิ้งไว้ 28 พบว่าไม่มีการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทดสอบความคงตัวของครีมโดยใช้วิธี heating-cooling หกรอบ พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น เนื้อสัมผัสและความหนืด (Pirshahid et al., 2011)

อรวรรณ ติรภัทร และคณะ (2010) กล่าวว่า เจล (Gels) หมายถึงระบบที่ประกอบด้วยของเหลวที่เกิดเป็นเจลโดยใช้สารก่อเจลที่เหมาะสม ระบบดังกล่าวนี้อาจเป็นระบบของแข็งที่ประกอบด้วยสารแขวนตะกอนที่เป็นอนุภาคอนินทรีย์ขนาดเล็ก หรือเป็นระบบของสารอินทรีย์ขนาดใหญ่ที่มีของเหลวสอดแทรกอยู่ภายใน ซึ่งสามารถแบ่งเจลออกเป็นสองชนิด โดยใช้สารก่อเจลเป็นเกณฑ์ ได้แก่ เจลวัตภาคเดียว (Single-phae gels) และเจลสองวัตภาค (Two-phase gels) ในเทคโนโลยีการทำเจล กลุ่มเจลที่มีปัญหามากที่สุดคือ กลุ่มเจลที่ละลายในน้ำที่ใช้ Carbomers เป็นสารก่อเจล เพราะในระหว่างกระบวนการสะเทินด้วยด่าง จะมีฟองอากาศเกิดขึ้นมาก นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปแบบเจลยังอาจเกิดปัญหาความไม่คงตัวหลายประการ เช่น อาจมีการหดตัว การ Coalescence เป็นต้น นอกจากนี้การบูดเสียก็ถือว่าเป็นความไม่คงตัวอีกอย่างหนึ่งของผลิตภัณฑ์ (อรวรรณ ติรภัทร, 2010) จึงได้มีงานวิจัยหลายงานที่ศึกษาเกี่ยวกับวิธีการทำเจลด้วยปัจจัยต่างๆ ไม่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ว่าจะเป็น ชนิดของสารก่อเจล วิธีการเตรียมเจล สัดส่วนของสารเคมีที่ใช้ เพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพ รวมถึงความคงตัวของผลิตภัณฑ์เจลเป็นต้น

ในปี ค.ศ.2004 Mitsuishi และคณะ ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเจลที่ประกอบด้วย phytonadione 2 เปอร์เซ็นต์ เรตินอล 0.1 เปอร์เซ็นต์ และวิตามิน Cและ E 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในการลดริ้วรอยและรอยคล้ำใต้ดวงตา โดยทำการทดลองกับอาสาสมัครชาวญี่ปุ่น 57 คน โดยให้อาสาสมัครทาเจลที่ใต้ตา 2 ครั้งต่อวันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 8 สัปดาห์ อาสาสมัครจำนวน 27 คน (47%) มีรอยคล้ำใต้ดวงตาลดลงและมีบางคนเท่านั้นที่ริ้วรอยลดลง (Mitsuishi et al., 2004)

ในปี ค.ศ.2005 อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ และคณะ ได้ศึกษาการพัฒนาเจลแต้มสิวจากสารสกัดเปลือกมังคุด พบว่าสูตรที่เหมาะสมประกอบด้วย น้ำ ร้อยละ 94.2, Carbopol Ultrez-10 ร้อยละ 0.5, Triethanolamine ร้อยละ 0.5, Panthenol ร้อยละ 0.5, Dimethicone ร้อยละ 2.0, Germaben II ร้อยละ 0.8, Polysorbate 20 ร้อยละ 1.0 และสารสกัดเย็นจากเปลือกมังคุดสด ร้อยละ 0.5 เมื่อศึกษาคุณภาพผลิตภัณฑ์เจลแต้มสิวผสมสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ได้พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.07 เจลขุ่นมีสีเหลืองน้ำตาล มีค่า L* เท่ากับ 31.39 ค่าสี a*เท่ากับ 2.19 ค่าสี b* เท่ากับ 4.49 มีค่าความหนืด 8023.33 cP จากการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อสิว Staphylococcus aureus, S. epidermidis และ Propionibacterium acnes พบว่า เจลแต้มสิวที่ได้จากการพัฒนามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ดี การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคเป้าหมาย จำนวน 120 คน ผู้บริโภคร้อยละ 71.7 ยอมรับผลิตภัณฑ์โดยมีความชอบรวมอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย (อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ et al., 2010)

ในปี ค.ศ.2007 จันทร์จารึก รัตนเดชสกุล ได้ศึกษาวิธีการเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรเอ็คไคนาเซียเพอร์พูเรียเพื่อพัฒนาตำรับครีมและเจลที่เหมาะสม และเพื่อประเมินประสิทธิภาพของตำรับที่ได้พัฒนาขึ้นในการลดริ้วรอยของผิวหนัง โดยสกัดผงแห้งสมุนไพรเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียด้วยเอทานอลเข้มข้นต่างกันตั้งแต่ 10% จนถึง 95%v/v ศึกษาฤทธิ์การต้านการเกิดออกซิเดชันโดยวิธี Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) และหาปริมาณสารประกอบฟีโนลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่า สารสกัดที่ได้จากเอทานอลเข้มข้น 50% และ 60% ให้ฤทธิ์ในการต้านการเกิด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ออกซิเดชัน และมีปริมาณสารประกอบฟีโนลิกรวมสูงที่สุด เมื่อนำสารสกัดสมุนไพรที่ได้จากเอทานอล 50% ในน้ำไประเหยแห้ง ได้สารสกัดเข้มข้นที่มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดข้น สีน้ำตาลเข้ม คิดเป็นร้อยละผลได้ 22.71±0.01 ของน้ำหนักผง นำยาพื้นครีมและยาพื้นเจลอย่างละ 15 ตำรับ มาคัดเลือกตำรับที่มีลักษณะทางกายภาพ และความคงสภาพที่ดี ได้ตำรับยาพื้นครีมและเจลอย่างละ 6 ตำรับ เพื่อนำไปผสมสารสกัดเอ็คไคนาเซียจนมีความเข้มข้น 9% w/w จากนั้นจึงได้คัดเลือกตำรับครีมและเจลเอ็คไคนาเซียที่ดีที่สุดอย่างละ 1 ตำรับโดยพิจารณาจากความคงสภาพทางกายภาพ และพฤติกรรมการไหล เพื่อนำมาทดสอบความระคายเคือง และประเมินประสิทธิภาพในการลดริ้วรอยในอาสาสมัคร ผลการศึกษาพบว่าครีมและเจลเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรียที่นำมาทดสอบไม่ทำให้เกิดการแพ้ หรือการระคายเคืองในอาสาสมัคร และสามารถเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง 22.8% และ 24.7% และทำให้ผิวหนังมีริ้วรอยลดลง 9.47% และ 14.92% และไม่ทำให้ผิวหนังคล้ำลง หรือมีการแดงขึ้นในบริเวณที่ทาตลอดระยะเวลา 1 เดือน อาสาสมัครมีความพึงพอใจต่อลักษณะครีม และเจลเอ็คไคนาเซียในระดับปานกลาง และมีความพึงพอใจต่อประสิทธิภาพของตำรับครีมมากกว่าตำรับเจลในด้านการให้ความชุ่มชื้น และทำให้ผิวเนียนนุ่มขึ้น (จันทร์จารึก รัตนเดชสกุล, 2007)

ในปี ค.ศ.2007 วิภาวี อุบลศักดิ์ ได้ศึกษาการสกัดใบกระบือเจ็ดตัว โดยนำใบมาสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง ด้วยตัวทำละลายตามลำดับดังนี้ เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม และ 95% เอทานอล นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์เบื้องต้นด้วยวิธีโครมาโตกราฟีผิวบาง พบว่าสารสกัดมีกรดกอลลิกเป็นองค์ประกอบและเมื่อหาปริมาณแทนนินรวมตามวิธี WHO ได้เท่ากับ 8.00% และหา ปริมาณของสารประกอบฟีโนลิกตามวิธี AOAC ได้เท่ากับ 0.55% เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานกรดแทนนิก ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัดก่อนตั้งตำรับ พบว่าสารสกัดละลายได้ดีในน้ำ โพรไพลีนไกลคอล โพลีเอธิลีนไกลคอล เมื่อนำสารสกัดไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ Staphylococcus aureus (ATCC25923) และ Propionibacterium acnes ซึ่งเป็นเชื้อก่อให้เกิดสิว อักเสบ มีค่า MIC ต่อเชื้อทั้งสองชนิดเท่ากับ 1.25 mg/ml จากการศึกษาเวลาในการฆ่าเชื้อของสาร สกัด พบว่า สารสกัดสามารถลดจำนวนเชื้อ S. aureus (ATCC 25923) และ P. acnes ได้ร้อย เปอร์เซนต์ ที่เวลา 8 และ 24 ชั่วโมง เตรียมตำรับสองรูปแบบ คือ ไฮโดรเจล และ transparent oil in water gel (TOW gel) ผลิตภัณฑ์ทั้งสองรูปแบบสามารถคงประสิทธิภาพในการต้านเชื้อสิวอักเสบได้ดีเมื่อผ่านการทดสอบความคงตัวระยะยาว ไม่ก่ออาการระคายเคืองผิวในกระต่ายและอาสาสมัคร มีความคงตัวทาง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กายภาพดีที่อุณหภูมิ 4-8 °C โดยที่ TOW gel จะคงตัวดีที่อุณหภูมิห้อง 32-38 °C ทั้งในสภาวะที่มีแสงหรือไม่มีแสง จากการใช้ผลิตภัณฑ์ทั้งสองรูปแบบในอาสาสมัคร พบว่าสามารถลดอาการอักเสบของสิว ของอาสาสมัครได้ใน 2-3 วัน และพบว่ารูปแบบไฮโดรเจลยังสามารถลดความมันบนใบหน้าด้วย จากการประเมินความพึงพอใจของอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์ทั้งสองรูปแบบ พบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจทั้งสองรูปแบบอยู่ในระดับดี (วิภาวี อุบลศักดิ์, 2007)

ในปี ค.ศ.2007 ศิริลักษณ์ รอบคอบ ได้ศึกษาการพัฒนาสูตรตำรับเจลจากสารสกัดชาเขียว ซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ได้แก่ อะซีโตน เฮกเซน น้ำและการสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายเมธิลแอลกอฮอล์ หาปริมาณสารสำคัญคาทิชิน (catichin) โดยใช้การสกัดแยกสารด้วยวิธีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบว่าสารสกัดชาเขียวด้วยตัวทำละลายเมธิลแอลกอฮอล์พบคาทิชินมากที่สุด มีการศึกษาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay) ซึ่งสารสกัดชาเขียวด้วยตัวทำละลายเมธิลแอลกอฮอล์มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงสุด จึงนำสารสกัดชาเขียวจากเมธิลแอลกอฮอล์มาเตรียมเจลที่ความเข้มข้น 0.13% เมื่อทดสอบทั้งทางกายภาพและความพึงพอใจของผู้ใช้เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่มีในท้องตลาด พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เตรียมขึ้นมีลักษณะที่ดีเทียบเท่าผลิตภัณฑ์ท้องตลาด (ศิริลักษณ์ รอบคอบ, 2010)

ในปี ค.ศ.2010 Yogesh และคณะ ได้ศึกษาการพัฒนาไฮโดรเจลจากว่านหางจระเข้ โดยใช้ aloe vera leaf, acacia, hydroxyl propyl methyl cellulose (HMPC), carbopol 934, glycerine, tartaric acid, potassium sorbate และ sodium benzoate ด้วยการเตรียมที่อุณหภูมิต่ำเพื่อรักษาความคงตัวของสารบางตัวที่ไวต่อความร้อน ทำการทดลองเตรียมเจลว่านหางจระเข้ขึ้นมา 4 สูตร (A1-A4) โดยมีความแตกต่างกันที่สัดส่วนของ acacia, HPMC และ carbopol 934 คือ 1:1:1, 1:2:1, 2:1:1 และ 1:1:2 ตามลำดับ ได้ทำการวิเคราะห์ร้อยละความชื้น ความโปร่งแสง ความนุ่ม ความหนืด และความเป็นกรดด่างของเจล พบว่าเจลที่ให้ประสิทธิภาพดีที่สุดคือ A4 เนื่องจากดูเรื่องความหนืดของเจลเป็นสำคัญ และความหนืดของเจลนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของ carbopol (Yogesh et al., 2012)

ในปี ค.ศ. 2013 อำภา จิมไธสง ได้ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและ total phenolic content ในใบและรากเตยหอมซึ่งสกัดโดยใช้ตัวทำละลายคือ ethanol และ propylene

glycol โดยพบว่าสารสกัดจากเตยหอมซึ่งสกัดด้วย propylene glycol มีค่า DPPH radical scavenging activity และ total phenolic content ที่สูงกว่าการสกัดด้วย ethanol ในการวิจัยนี้ได้พัฒนาครีมบำรุงผิวอิมัลชัน โดยใส่สารสกัดใบเตยหอมที่ 1, 3 และ 5 % ซึ่งพบว่าครีมบำรุงผิวที่ใส่สารสกัดใบเตย 3% มีลักษณะเนื้อครีมเหมาะสม มีกลิ่นหอมของเตยอ่อนๆ แต่ถ้าใส่ถึง 5% เนื้อครีมจะมีความเหลวเกินไป จากนั้นได้ทดสอบความคงตัวของครีมโดยการปั่นเหวี่ยงที่ 6000 rpm นาน 30 นาที พบว่าไม่มีการแยกชั้น และทดสอบความคงตัวของครีมที่สภาวะเร่ง 4°C, 45°C และ heating-cooling cycle (4°C, 24 h, 45°C, 24 h) เปรียบเทียบ กับสภาวะอุณหภูมิห้อง นาน 1 เดือน พบว่าครีมมีความคงตัวดี มีการเปลี่ยนแปลงของสีน้อย โดยสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดคือ 45°C และ heating-cooling นอกจากนี้ได้ทดสอบการแพ้เบื้องต้นในอาสาสมัคร โดยวิธี single patch test และไม่พบอาการแพ้ใดๆ อีกทั้งยังได้ทำการประเมินคุณภาพของครีม โดยการทำ sensory test และให้อาสาสมัครทดลองใช้ครีมโดยทาที่ผิว แล้วประเมินผลโดยการถ่ายภาพผิวด้วยเครื่อง Visoscan VC 98 ซึ่งพบว่าอาสาสมัครมีความพอใจต่อเนื้อครีมและคุณสมบัติของครีมในระดับสูง แต่มีความต้องการให้ปรับปรุงกลิ่น และผลการถ่ายภาพผิวด้วยเครื่อง Visoscan VC 98 พบว่าอาสาสมัครมีการลดลงของ wrinkles และ scarliness ดังนั้นผลการวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเตยหอมอาจเป็นตัวเลือกที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป (อำภา จิมไธสง, 2013)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์

ตารางที่ 3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

อุปกรณ์	แบบรุ่น	บริษัทผู้ผลิต
1. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-Vis spectrophotometer)	UV-2450	ShimadZu, ญี่ปุ่น
2. เครื่องกวนสารให้ความร้อน (Hot plate stirrer)	CMAC HS 7	IKA, เยอรมัน
3. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)	U-320	BOECO, เยอรมัน
4. เครื่องชั่งวิเคราะห์ความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง	PB303-S/FACT	Mettler Toledo, สวิตเซอร์แลนด์
5. ตู้อบ (Hot air oven)	ULM500	Memmert, เยอรมัน
6. เครื่องปั่นละเอียด (Blender)	HR2108	Philips, จีน
7. ไมโครเวฟ	CEM Mars 5	CEM, สหรัฐอเมริกา
8. เครื่องวัดความหนืด	SV-10	A&D, ญี่ปุ่น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2 เคมีภัณฑ์

ตารางที่ 3.2 เคมีภัณฑ์ที่ใช้ในงานวิจัย

เคมีภัณฑ์	บริษัทผู้ผลิต/จำหน่าย
1. น้ำกลั่น (distilled water)	-
2. น้ำปราศจากไอออน (Deioinization water)	-
3. Guar gum	บริษัท วันรัต (หน่ำเซียน) จำกัด, ไทย
4. Xanthan gum	บริษัท วันรัต (หน่ำเซียน) จำกัด, ไทย
5. HPMC 4000	บริษัท วันรัต (หน่ำเซียน) จำกัด, ไทย
6. CMC	บริษัท วันรัต (หน่ำเซียน) จำกัด, ไทย
7. Aristoflex Silk	บริษัท วันรัต (หน่ำเซียน) จำกัด, ไทย
8. Carbopol 940	บริษัท วันรัต (หน่ำเซียน) จำกัด, ไทย
9. K-YBGL assay kit	Megazyme, สหรัฐเอมริกา
10. เอทานอล ความเข้มข้น 95%	บริษัท ซีที เคมิคอล เทรดดิ้ง จำกัด, ไทย
11. เลือดแกะ	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ, ไทย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.3 การวิเคราะห์คุณภาพ การเตรียมและการปรับสภาพเบื้องต้นของเห็ดแครง

3.3.1 การวิเคราะห์คุณภาพของเห็ดแครง

นำเห็ดแครงก่อนเข้าสู่กระบวนการอบแห้งและผงเห็ดแครงที่เหลือทิ้งหลังกระบวนการอบแห้งจากไซโยฟาร์ม จังหวัดสุราษฎร์ธานี มาวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคนด้วยชุดทดสอบ K-YBGL

จากบริษัท Megazyme เพื่อเปรียบเทียบความเปลี่ยนแปลงของปริมาณเบต้ากลูแคนในผงเห็ดแครงเมื่อผ่านกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อน

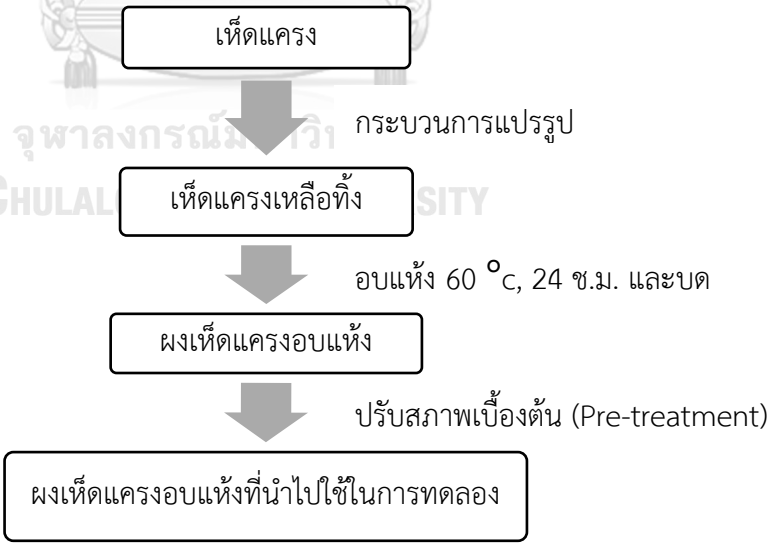
3.3.2 การเตรียมผงเห็ดแครงอบแห้ง

นำผงเห็ดแครงที่เหลือทิ้งมาทำการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทำให้แห้งสนิท หลังจากนั้นจึงนำมาบดละเอียดและเก็บไว้ในโถดูดความชื้น

3.3.3 การปรับสภาพเบื้องต้น (Pretreatment)

นำผงเห็ดแครงอบแห้งมาแช่ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ในเห็ดและเพื่อกำจัดน้ำตาล กรดอะมิโนและสารประกอบฟีนอลบางตัวที่มีอยู่ในเห็ด (Klaus et al., 2011) หลังจากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำส่วนที่เป็นของแข็งไปทำให้แห้งด้วยวิธีระเหยแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำผงเห็ดแครงส่วนที่ได้ไปใช้ในการทดลองต่อไป

โดยขั้นตอนตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงผงเห็ดแครงอบแห้งที่ใช้ในการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1ขั้นตอนการเตรียมผงเห็ดแครงอบแห้งที่ใช้ในการทดลอง

3.4 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction)

ศึกษาการสกัดผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป โดยนำผงเห็ดแครงที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นแล้วมาสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ควบคุมอุณหภูมิโดยใช้อ่างน้ำร้อน (Water bath) ศึกษาอิทธิพลของปัจจัยได้แก่ สัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดและเวลาที่ใช้ในการสกัด รวมถึงศึกษาปัจจัยอื่นๆที่อาจจะส่งผลต่อผลได้ของสารสกัด ได้แก่ สภาวะการปั่นผงเห็ดแครงก่อนการสกัดและการสกัดซ้ำ สารสกัดหยาบ (Crude extract) จะถูกนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และระเหยแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ทั้งโพลีแซคคาไรด์ที่ตกตะกอนได้จากสารสกัดหยาบด้วยสารละลายเอทานอลและสารสกัดหยาบปริมาณ 100 มิลลิกรัม จะถูกนำมาทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคน โดยการไฮโดรไลซิสด้วยกรดไฮโดรคลอริกตามวิธีของ Barry และคณะ (McCleary and Draga, 2016) แล้วจึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เพื่อใช้คำนวณปริมาณเบต้ากลูแคน โดยทำการทดลองซ้ำ 3 การทดลองในแต่ละสภาวะ เพื่อหาค่าเฉลี่ยที่เป็นตัวแทน

3.4.1 การศึกษาสภาวะในการสกัดเบื้องต้น

ศึกษาช่วงของตัวแปรที่เหมาะสมในการสกัดเบื้องต้นด้วยวิธีการออกแบบการทดลองแบบปัจจัยเดียว (Single-factor) โดยแปรผันตัวแปรได้แก่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

X_1 = สัดส่วนของของแข็งต่อของเหลว (1:10 – 1:20)

X_2 = อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (30 – 70 องศาเซลเซียส)

X_3 = เวลาที่ใช้ในการสกัด (1 – 5 ชั่วโมง)

หลังจากนั้นจึงตกตะกอนเพื่อให้ได้โพลีแซคคาไรด์โดยการผสมสารละลายเอทานอลกับสารสกัดหยาบในสัดส่วน เอทานอลต่อสารสกัด เป็น 2:1 แล้วจึงนำไปกรองเพื่อให้ได้ของแข็งที่เป็นโพลีแซคคาไรด์และระเหยแห้ง เฉพาะส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์นี้จะถูกนำไปทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคน หลังจากศึกษาปัจจัยในการสกัดเบื้องต้นดังกล่าวแล้วจึงได้ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มเติมในข้อที่ 3.4.3

3.4.2 การเปรียบเทียบปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดหยาบและในโพลีแซคคาไรด์

ทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนในส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์เปรียบเทียบกับปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดหยาบ (Crude extract) โดยการสกัดด้วยสภาวะได้แก่ สัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:10 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 70 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็น 3 ชั่วโมง แล้วจึงเปรียบเทียบผลได้รวมถึงปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดหยาบและในส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ โดยพิจารณาว่าผลได้ชนิดใดให้ปริมาณเบต้ากลูแคนสูงที่สุดเมื่อคิดเป็นสัดส่วนต่อผงเห็ดแครงอบแห้งเริ่มต้น

3.4.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัดและเวลาที่ใช้ในการสกัด

ศึกษาอิทธิพลของปัจจัยอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มเติมจากข้อ 3.4.1 โดยควบคุมตัวแปรสัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายเป็น 1:10 ทำการศึกษาโดยใช้วิธีออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial design) แปรผันตัวแปร 2 ตัวแปร คือ

X_1 = อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (65, 75, 85 องศาเซลเซียส)

X_2 = เวลาที่ใช้ในการสกัด (1, 2, 3 ชั่วโมง)

สารสกัด (Crude extract) ที่ได้จะถูกกรองด้วยกระดาษกรองก่อนนำไประเหยแห้งแล้ว โดยในการทดลองส่วนนี้จะทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดทั้งหมด

Chulalongkorn University

3.4.4 การศึกษาสภาวะในการปั่นผงเห็ดแครงก่อนการสกัด

ศึกษาความแตกต่างในการปั่นเห็ดแครงก่อนการสกัด เพื่อหาวิธีเตรียมผงเห็ดแครงที่เหมาะสมในการสกัดเบต้ากลูแคนให้ได้ปริมาณสูงที่สุด เปรียบเทียบการสกัดผงเห็ดแครงที่ถูกปั่นในสภาวะแห้งกับผงเห็ดแครงที่ถูกปั่นด้วยการผสมเห็ดแครงกับน้ำในอัตราส่วน 1:2 โดยควบคุมตัวแปรในการสกัดได้แก่ สัดส่วนของของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:10 อุณหภูมิที่ใช้การสกัดที่ 75 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2 และ 3 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และนำไประเหยแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบน้ำหนักผลได้ของสารสกัดและปริมาณเบต้ากลูแคน

3.4.5 การศึกษาผลของการสกัดซ้ำ

ศึกษาผลของการสกัดซ้ำ โดยนำเอาเห็ดแครงซึ่งผ่านการสกัดหนึ่งครั้งในสภาวะต่างๆมาสกัดซ้ำอีกครั้ง โดยกำหนดตัวแปรควบคุมคือเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็น 1 ชั่วโมง และแปรผันปัจจัยอุณหภูมิในการสกัดเป็น 55, 65 และ 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ นำสารสกัดหยาบที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง โดยส่วนที่เป็นของเหลวถูกนำไประเหยแห้งเพื่อทดสอบน้ำหนักผลได้และปริมาณเบต้ากลูแคน ส่วนที่เป็นของแข็งถูกนำไปสกัดซ้ำด้วยสภาวะและขั้นตอนเดิมกับการสกัดในรอบแรกเพื่อเปรียบเทียบน้ำหนักผลได้และปริมาณเบต้ากลูแคน

3.5 การศึกษาผลของการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัด

ศึกษาผลของการใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำ โดยทำการทดลองสกัดผงเห็ดแครงโดยควบคุมตัวแปรสัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ 1:10 ส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำจะถูกปรับสภาพด้วยเครื่องไมโครเวฟ MARS5 ด้วยการใช้ Vessel รุ่น XP-1500 จำนวน 4 vessel ต่อหนึ่งตัวอย่าง และกำหนดกำลังของเครื่องไมโครเวฟที่ 600 วัตต์

ทำการศึกษาโดยใช้วิธีออกแบบการทดลองแบบ Box-behnken แปรผันตัวแปร 3 ตัวแปร ที่ค่า 3 ระดับ ได้แก่

X_1 = เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ (2, 3 และ 4 นาที)

X_2 = อุณหภูมิไมโครเวฟ (65, 75 และ 85 องศาเซลเซียส)

X_3 = เวลาที่ใช้ในการสกัด (1, 2 และ 3 ชั่วโมง)

นำสารละลายที่ผ่านการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟไปสกัดด้วยวิธีปกติ (Conventional extraction) ด้วยอุณหภูมิการสกัด 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยสารสกัดหยาบที่ได้จะถูกกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ก่อนนำไประเหยแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

น้ำหนักผลได้ของสารสกัดและปริมาณเบต้ากลูแคนจากทุกตัวอย่างจะถูกวิเคราะห์ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology: RSM) โดยใช้โปรแกรม Design expert เวอร์ชัน 10.0.1 เพื่อหาสภาวะการสกัดที่เหมาะสม

3.6 การหาประสิทธิภาพของการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH free radical scavenging activity)

โดยดัดแปลงจากวิธีของ Hip Seng และคณะ (Yim et al., 2013) กับวิธีของ Sushila และคณะ (Devi et al., 2014)

1. เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 6×10^{-5} M ปริมาตร 20 ml ใน Absolute EtOH

2. เตรียมสารสกัดเห็ดแครงที่ความเข้มข้น 1,000 μg/mL ในน้ำ

3. เติมสารสกัดเห็ดแครงที่เตรียมไว้ ปริมาตร 100 μL ใส่ใน 96-well plate

4. เติมสารละลาย 6×10^{-5} M DPPH ปริมาตร 100 μL ลงไปและผสมให้เข้ากัน

5. เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เขย่าทุก ๆ 10 นาที

6. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 nm เปรียบเทียบกับตัวควบคุม (control) คือ L-Ascorbic acid (วิตามินซี) โดยทำการวัดซ้ำ 3 การทดลองในแต่ละตัวอย่าง เพื่อหาค่าเฉลี่ยที่เป็นตัวแทน และนำค่าที่ได้ไปคำนวณหา % inhibition ดังสมการที่ 3.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

$$\% \text{ inhibition} = (A_{control} - A_{sample})/ (A_{control})*100 \qquad \text{(สมการที่ 3.1)}$$

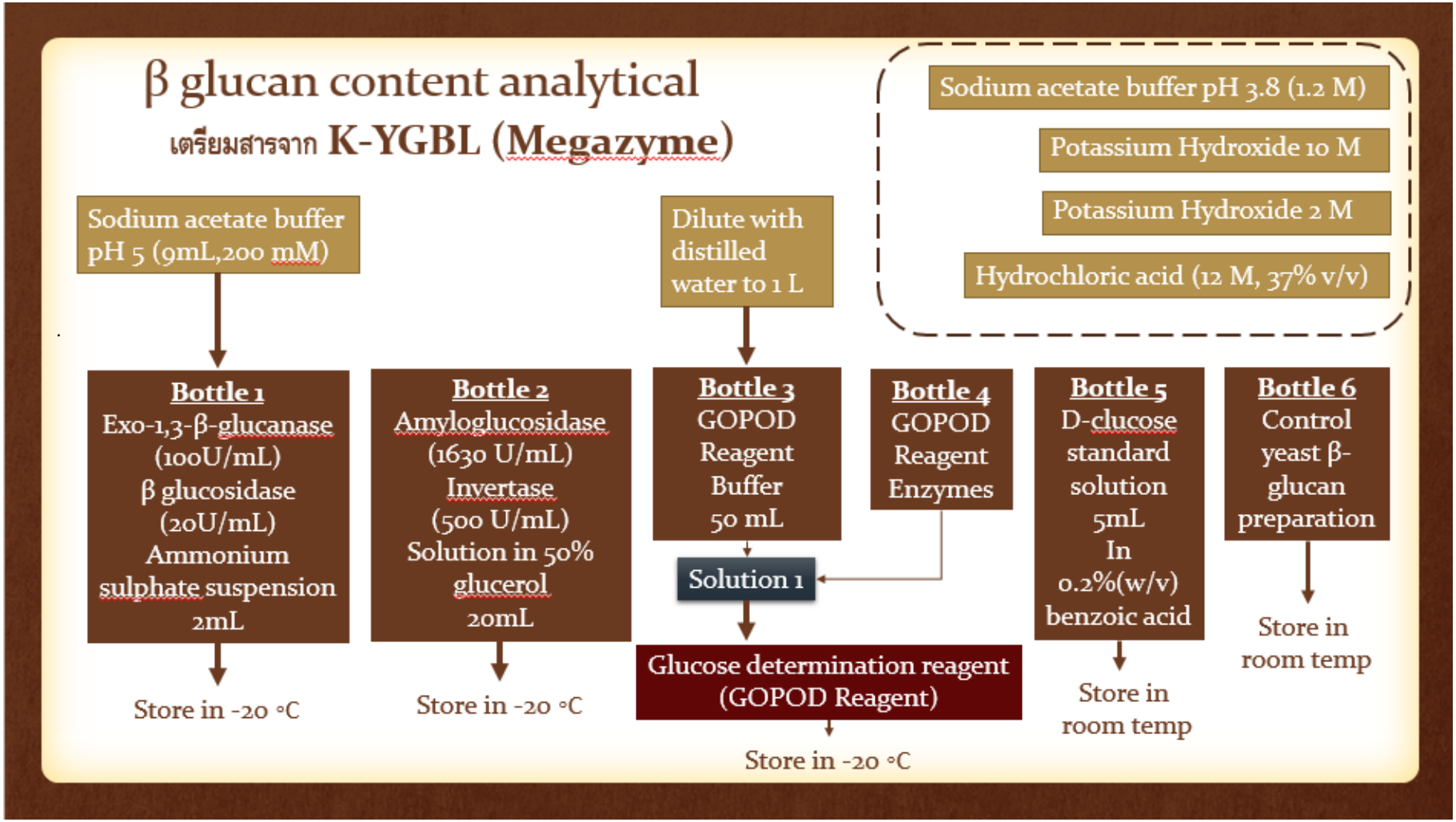
โดยที่ $A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม (L-Ascorbic acid)

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

3.7 การวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน

การวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคนด้วยชุดทดสอบ K-YBGL จากบริษัท Megazyme เป็นวิธีการปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดและยีสต์ โดยเป็นการวัดปริมาณเบต้ากลูแคนในทางอ้อมด้วยการใช้ชุดทดสอบวัดปริมาณกลูแคนทั้งหมด (Total glucan) และปริมาณอัลฟ่ากลูแคน (α-glucan) แล้วจึงมานำมาลบกันเพื่อให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคน (β-glucan) โดยมีสารในอุปกรณ์ชุดนี้และสารที่ต้องเตรียมดังรูปที่ 3.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 3.2 สารในชุดทดสอบK-YBGL (Megazyme) และสารที่ต้องใช้ในการทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคน

โดยมีขั้นตอนการทดสอบแบ่งออกเป็นการวัดปริมาณกลูแคนทั้งหมดและการวัดปริมาณอัลฟ่ากลูแคนดังนี้

1) วัดปริมาณเบต้ากลูแคนทั้งหมดด้วยวิธีการไฮโดรไลซิสด้วยกรดไฮโดรคลอริก (McCleary and Draga, 2016)

1.1 ใส่ผงเห็ดแครงตัวอย่างปริมาณ 100 มิลลิกรัมลงในหลอดทดลอง เติมกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 37%v/v (12 M) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดทดลองแล้วนำไปเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixer

1.2 นำหลอดทดลองใส่ลงในwater bath ที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำไปเขย่าให้เข้ากันอีกครั้งด้วย Vortex mixer เป็นเวลา 15 วินาที

1.3 เติมน้ำลงในหลอดทดลอง 10 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดทดลองแล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixer เป็นเวลา 10 วินาที

1.4 นำหลอดทดลองใส่ในอ่างน้ำเดือด (100 องศาเซลเซียส) โดยเปิดฝาหลอดทดลองออกเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นจึงปิดฝาหลอดทดลองแล้วบ่มต่ออีกเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

1.5 นำหลอดทดลองมาทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วจึงค่อยๆเปิดฝาหลอดทดลองออก จากนั้นเติม KOH ความเข้มข้น 2 M ปริมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน

1.6 เทสารละลายจากหลอดทดลองลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย sodium acetate buffer (pH 5) แล้วนำไปเขย่าให้เข้ากัน

1.7 แบ่งสารละลายใส่หลอดเพื่อทำการปั่นเหวี่ยง หลอดละ 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 1500 g เป็นเวลา 5 นาที

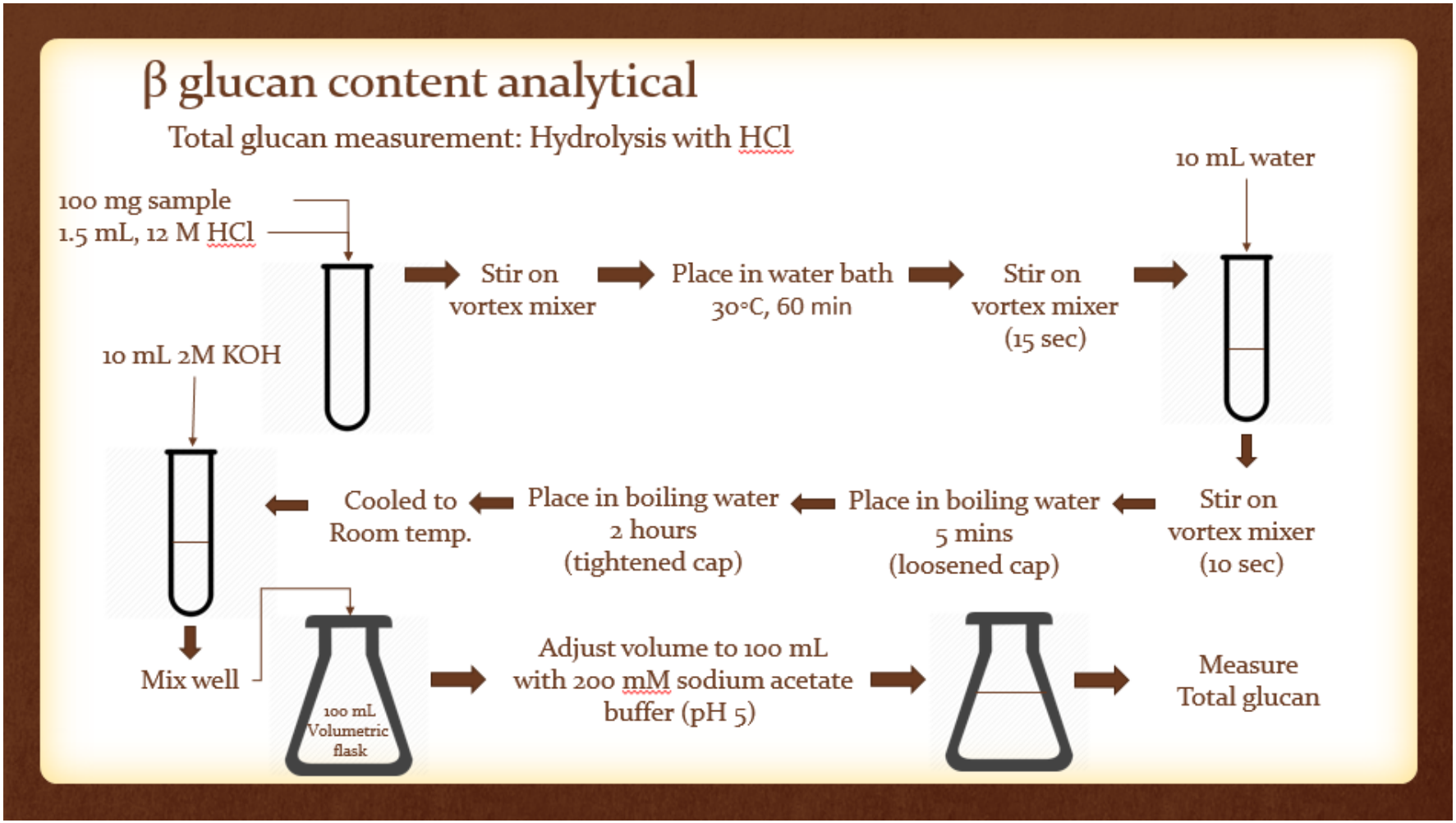
1.8 วัดปริมาณกลูโคสโดยการนำส่วนที่เป็นของเหลวหลังจากการปั่นเหวี่ยงปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดทดลอง เติม exo-1,3-β-glucanase (20 U/mL) ผสมกับ β-glucosidase (4 U/mL) ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เติม GOPOD reagent ปริมาณ 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มอีกครั้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

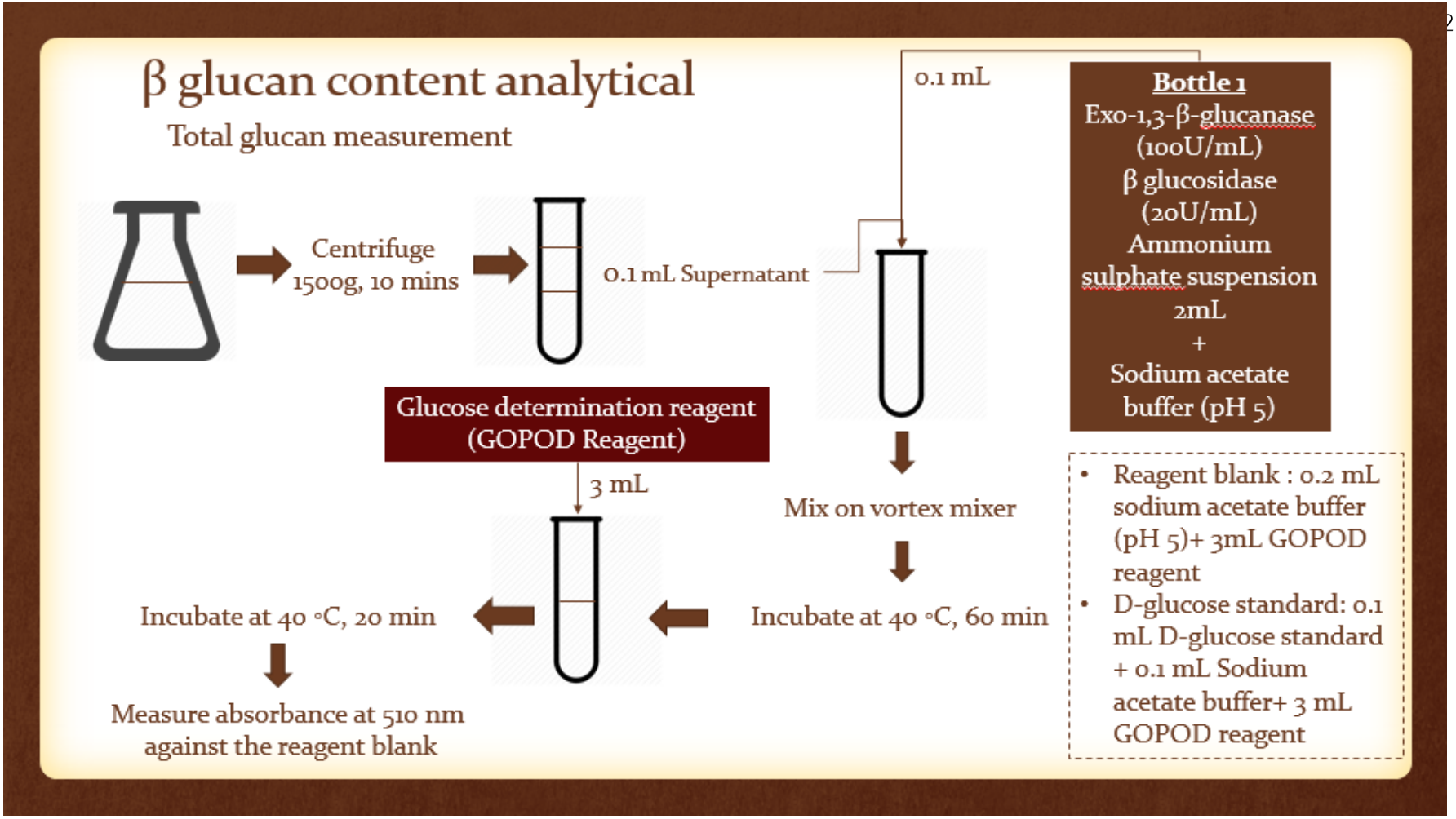
1.9 วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ reagent blank (sodium acetate buffer 200mM, pH 5 ปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร + GOPOD reagent ปริมาณ 3 มิลลิลิตร) และ D-glucose standard (sodium acetate buffer 200mM, pH 5 0.1 mL + GOPOD reagent 3 mL)

โดยขั้นตอนการวัดปริมาณกลูแคนทั้งหมดสามารถแสดงได้ดังผังการทดลองในรูปที่ 3.3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University


β glucan content analytical
Total glucan measurement: Hydrolysis with HCl
100 mg sample
1.5 mL, 12 M HCl
Stir on vortex mixer
Place in water bath 30°C, 60 min
Stir on vortex mixer (15 sec)
10 mL water
Stir on vortex mixer (10 sec)
Place in boiling water 5 mins (loosened cap)
Place in boiling water 2 hours (tightened cap)
Cooled to Room temp.
10 mL 2M KOH
Mix well
100 mL Volumetric flask
Adjust volume to 100 mL with 200 mM sodium acetate buffer (pH 5)
Measure Total glucan

(ก)



(ข)

รูปที่ 3.3 แผนผังการหาปริมาณ Total glucan

2) วัดปริมาณอัลฟ่ากลูแคน (McCleary and Draga, 2016)

การวัดปริมาณอัลฟ่ากลูแคนมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.1 ใส่ผงตัวอย่างเห็ดแครงประมาณ 100 มิลลิกรัม ลงในหลอดทดลอง เติม 2M KOH ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ปั่นกวนด้วย magnetic bar ในอ่างน้ำเย็นเป็นเวลา 20 นาที

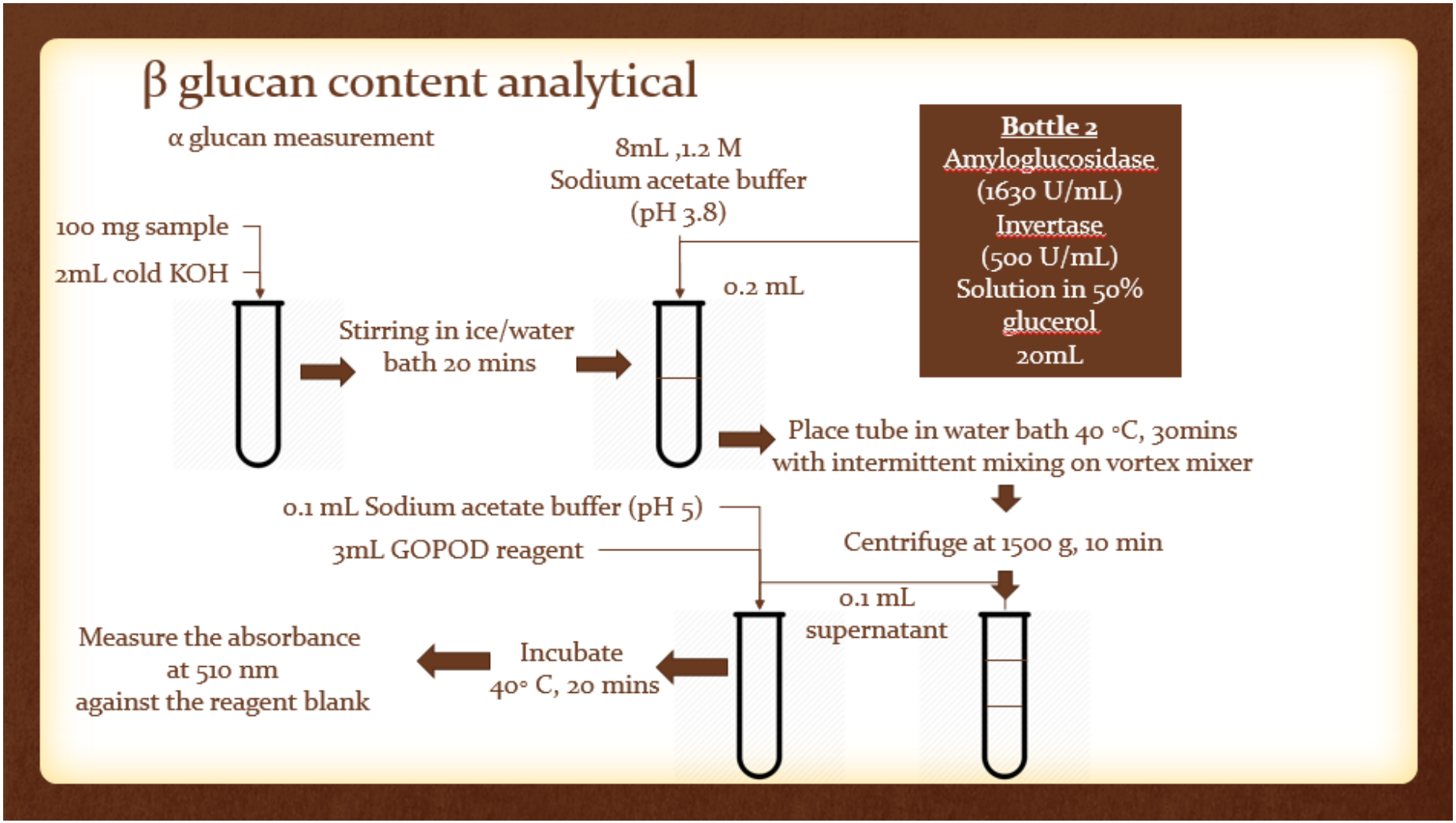
2.2 เติม 1.2M Sodium acetate buffer (pH 3.8) และเติม amyloglucosidase (1,630 U/mL) + invertase (500 U/mL) ปริมาณ 8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยขณะที่บ่มให้นำมาเขย่าด้วย Vortex mixer เป็นพักๆ

2.3 นำสารละลายมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 1,500 g เป็นเวลา 10 นาที

2.4 นำส่วนที่เป็นของเหลวจากการปั่นเหวี่ยงปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรมาใส่ในหลอดทดลอง เติม sodium acetate buffer (200 mM, pH 5) ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร และ GOPOD reagent 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ reagent blank โดยขั้นตอนการวัดปริมาณอัลฟ่ากลูแคนดังกล่าวมีแผนผังการทำงานดังรูปที่ 3.4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 3.4 แผนผังการหาปริมาณ Alpha glucan

คำนวณปริมาณกลูแคนทั้งหมดจากค่าการดูดกลืนแสงดังสมการที่ 3.2 และคำนวณปริมาณอัลฟ่ากลูแคนดังสมการที่ 3.2 แล้วจึงจะสามารถหาปริมาณเบต้ากลูแคนได้ด้วยการคำนวณดังสมการที่ 3.4 (2016)

$$\text{Total Glucan}\left(\%\frac{\text{w}}{\text{w}}\right) = \Delta\text{E x F x}\frac{100}{0.1}\ \text{x}\frac{100}{\text{w}}\ \text{x}\frac{162}{180} \qquad \text{(สมการที่ 3.2)}$$

$$\alpha\text{-}Glucan\ \left(\%\frac{w}{w}\right) =\ \Delta E\ x\ F\ x\ 1000\ x\frac{1}{1000}\ x\frac{100}{w}x\frac{162}{180} \qquad \text{(สมการที่ 3.3)}$$

$$\beta\text{-Glucan} = \text{Total glucan} -\ \alpha\text{-Glucan} \qquad \text{(สมการที่ 3.4)}$$

ΔE = reaction absorbance – blank absorbance

F = a factor to convert absorbance to µg of D- Glucose

= 100 (µg of D-glucose standard) GOPOD absorbance for 100 µg of D-glucose standard

W = weigh of sample analysed

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.8 การผลิตเครื่องสำอางบำรุงรอบดวงตาจากสารสกัดเห็ดแครง

ศึกษาการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลโดยใช้สารก่อเจล (Gelling agent) ชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ชนิดและสัดส่วนของสารก่อเจลที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ (Bhasha et al., 2013)

สารก่อเจล (Gelling agent)	ชนิด	ความเข้มข้นที่ใช้ (%)
Xanthan gum	ธรรมชาติ	1
Guar gum	ธรรมชาติ	1
Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) 4000	กึ่งสังเคราะห์	1
Carboxy methyl cellulose (CMC)	กึ่งสังเคราะห์	1
Aristoflex Silk®	สังเคราะห์	1
Carbopol 940®	สังเคราะห์	0.5

โดยการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลจากสารก่อเจลชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.3 มีวิธีที่แตกต่างกันตามคุณลักษณะของสารก่อเจล

3.9 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluation)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีการทดสอบความชอบหรือการยอมรับ (Affective/Hedonic test) โดยให้คะแนนลักษณะทางกายภาพทั้งหมด 6 ด้าน ได้แก่ เนื้อสัมผัส สีของผลิตภัณฑ์ กลิ่นของผลิตภัณฑ์ ความลื่น การซึมเข้าสู่ผิวและความพึงพอใจโดยรวม โดยผลิตภัณฑ์จะถูกให้คะแนนตามความพึงพอใจโดยแบ่งสเกลออกเป็น 9 ระดับ คือ

1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย

7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบที่สุด

3.10 การทดสอบความระคายเคืองด้วยวิธี Hemolysis

ทดสอบความระคายเคืองของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีการทดสอบภายนอกร่างกาย (In vitro test) โดยทดสอบปฏิกิริยาของผลิตภัณฑ์กับเลือดแกะจากภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้ (Amarnath et al., 2006) (Wakhet et al., 2015)

1. เจือจางเลือดแกะในน้ำเกลือด้วยสัดส่วน 4:5

2. นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับเลือดแกะที่เจือจางแล้วปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำเกลือ

3. เพื่อเปรียบเทียบปฏิกิริยา Hemolysis เตรียมตัวอย่าง Positive และ Negative โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.01 N ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร และ น้ำเกลือปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ

4. เก็บตัวอย่างทั้งหมดไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

5. นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นจึงนำส่วนที่ใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 545 นาโนเมตร

6. ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้สามารถนำมาคำนวณการเกิด Hemolysis ได้ดังสมการที่ 3.5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

$$\%\text{Hemolysis} = \frac{\text{OD}_{\text{test}} - \text{OD}_{\text{Negative}}}{\text{OD}_{\text{Positive}} - \text{OD}_{\text{Negative}}} \times 100 \qquad \text{(สมการที่ 3.5)}$$

3.11 การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์จากสารสกัดเห็ดแครง

3.11.1 การทดสอบการเก็บในที่เย็นสลับร้อน ด้วยวิธี Heating-cooling cycle

นำผลิตภัณฑ์จากตำรับที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดีที่สุดมาทดสอบความคงตัวแบบเร่ง โดยนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับอุณหภูมิร้อน-เย็น เป็นจำนวน 6 รอบ สังเกตค่าความหนืดและลักษณะทาง

กายภาพที่เปลี่ยนแปลง โดยทำการทดลองซ้ำ 3 การทดลองในแต่ละสภาวะ เพื่อหาค่าเฉลี่ยที่เป็นตัวแทน (วิภาวี อุบลศักดิ์, 2007)

3.11.2 การทดสอบความคงตัวในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

นำผลิตภัณฑ์ตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน สังเกตค่าความหนืดและลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลง

3.11.3 การทดสอบความคงตัวในสภาวะอุณหภูมิห้อง

นำผลิตภัณฑ์ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 วัน สังเกตค่าความหนืดและลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การวิเคราะห์คุณภาพ การเตรียมและการปรับสภาพเบื้องต้นของเห็ดแครง

ทำการศึกษาเห็ดแครงที่จะนำมาใช้ในการทดลอง โดยทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดแครงก่อนและหลังผ่านกระบวนการแปรรูปปริมาณ 100 มิลลิกรัม เพื่อเปรียบเทียบความเปลี่ยนแปลงด้วยวิธีการไฮโดรไลซิสด้วยกรดไฮโดรคลอริกตามวิธีของ Barry และคณะ (McCleary and Draga, 2016) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นี้สามารถนำมาคำนวณเพื่อหาปริมาณเบต้ากลูแคนได้จากการวิเคราะห์ปริมาณกลูแคนทั้งหมดหักล้างด้วยปริมาณอัลฟ่ากลูแคน ได้ผลดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดแครงก่อนและหลังผ่านกระบวนการแปรรูป

	ปริมาณเบต้ากลูแคน (%w/w)
เห็ดแครงก่อนผ่านกระบวนการแปรรูป	39.85 ± 1.54
เห็ดแครงหลังผ่านกระบวนการแปรรูป	34.25 ± 0.93

จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดแครงที่ผ่านกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อน จะมีปริมาณเบต้ากลูแคนลดลงจากเดิมเพียงร้อยละ 14.05 เท่านั้น ดังนั้นผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปในอุตสาหกรรม จึงน่าสนใจในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเบต้ากลูแคนอย่างมีประสิทธิภาพได้ เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิต นอกจากนั้นยังสามารถลดต้นทุนในการสร้างผลิตภัณฑ์อื่นอย่างเครื่องสำอางได้อีกด้วย

โดยในงานวิจัยนี้ได้นำเห็ดแครงที่เหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปมาใช้ในการสกัดเบต้ากลูแคน โดยได้อบแห้งและบดจนได้ผงเห็ดแครงซึ่งมีลักษณะทางกายภาพดังแสดงในรูปที่ 4.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

(ก) (ข)

รูปที่ 4.1 ผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป (ก) ก่อนบด (ข) หลังบด

4.2 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction)

เนื่องจากผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดเบต้ากลูแคน ดังนั้นจึงต้องศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัด เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์และความคุ้มค่าในการลงทุนสูงที่สุด

ทำการทดลองเพื่อศึกษาปัจจัยในการสกัดผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ศึกษาผลของตัวแปรเบื้องต้นอันประกอบไปด้วย สัดส่วนของของแข็งต่อตัวทำละลาย (1:10, 1:15 และ 1:20) อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส) และเวลาที่ใช้ในการสกัด (1, 3 และ 5 ชั่วโมง) จากนั้นเปรียบเทียบปริมาณเบต้ากลูแคนที่ได้จากการสกัดเห็ดแครงโดยใช้วิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) ที่สภาวะต่างๆเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในแต่ละปัจจัย

โดยการทดลองส่วนนี้จะศึกษาปริมาณเบต้ากลูแคนซึ่งอยู่ในส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ซึ่งตกตะกอนได้จากสารสกัดหยาบของเห็ดแครง (Crude extract) และใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบปัจจัยเดียว (Single-factor) ในการทดลอง

4.2.1 สัดส่วนของของแข็งต่อตัวทำละลาย

ทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยสัดส่วนของของแข็งต่อตัวทำละลายโดยนำผงเห็ดแครงอบแห้งที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณ 50 กรัม มาสกัดด้วยน้ำ โดยมีตัวแปรควบคุมคือ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่ 30 องศาเซลเซียส และเวลาในการสกัดเป็น 1 ชั่วโมง ทำการทดลองด้วยการใช้อ่างน้ำร้อน (Water bath) ในการให้ความร้อนต่อระบบ และมีการปั่นกวนด้วยความเร็วคงที่ตลอดการสกัด

ทำการทดลองโดยแปรผันสัดส่วนของของแข็งต่อตัวทำละลายเป็น 1:10, 1:15 และ 1:20 หลังจากสกัดทำการกรองสารละลายด้วยกระดาษกรองแล้วจึงตกตะกอนโพลีแซคคาไรด์จากส่วนที่เป็นของเหลว โดยการผสมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 กับสารสกัดหยาบในสัดส่วน 2:1 แล้วทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสก่อนจะนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วระเหยแห้งส่วนที่เป็นของแข็งเพื่อให้ได้โพลีแซคคาไรด์ โดยจะได้น้ำหนักผลได้ของโพลีแซคคาไรด์ภายใต้สภาวะการสกัดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.2

หลังจากนั้นจึงนำโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้ปริมาณ 100 มิลลิกรัม มาทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนตามวิธีมาตรฐาน

เมื่อพิจารณาผลที่ได้ร่วมกับน้ำหนักของโพลีแซคคาไรด์ (yield) สามารถคำนวณเป็นผลของเบต้ากลูแคนต่อปริมาณผงเห็ดแครงเริ่มต้นได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักโพลีแซคคาไรด์และปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครง 50 กรัมด้วยสัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ต่างกัน (n=3)

สัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย (g/mL)	น้ำหนักโพลี-แซคคาไรด์(g)	ปริมาณเบต้ากลูแคนในโพลีแซคคาไรด์ (%w/w)	ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครง (%w/w)
1:10	0.67 ± 0.04	21.61 ± 0.78	0.29
1:15	0.42 ± 0.03	20.24 ± 0.84	0.17
1:20	0.44 ± 0.04	32.94 ± 0.78	0.29

จากตารางที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่า อัตราส่วนของของแข็งต่อตัวทำละลายนั้นมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัด จากผลการทดลองพบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนในส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ซึ่งได้จากการสกัดด้วยสัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:10 และ 1:15 มีค่าใกล้เคียงกันคือร้อยละ 21.61 และ 20.24 ตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณของตัวทำละลายเป็นสัดส่วน 1:20 ปริมาณเบต้ากลูแคนในโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีปริมาณเบต้ากลูแคนสูงถึงร้อยละ 32.94 เนื่องจากปริมาณของตัวทำละลายเป็นตัวแปรหนึ่งที่สำคัญในการสกัด เมื่อปริมาณตัวทำละลายมากจะมีผลทำให้ตัวถูกละลายแพร่ออกมาจากในเซลล์ของเห็ดได้มากขึ้น เพราะปริมาณการแพร่ของตัวทำละลายเข้าสู่เซลล์ จะส่งผลต่อการถ่ายโอนมวลสารภายในเซลล์ของเห็ดซึ่งเป็นที่อยู่ของเบต้ากลูแคนได้มากขึ้น นอกจากนั้นคุณสมบัติการไหลของตัวทำละลายเหล่านี้ก็ยังส่งผลให้การสกัดมีประสิทธิภาพต่างกันอีกด้วย ดังการทดลองของ เสาวนีย์ เหลืองธนะผล (เสาวนีย์ เหลืองธนะผล, 2002)

นอกจากนี้เบต้ากลูแคนยังเป็นสารชนิดที่ละลายน้ำได้ดี ดังนั้นเมื่อมีน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายในปริมาณที่มากขึ้น จึงส่งผลให้ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้มากขึ้นตามไปด้วย สอดคล้องกับงานวิจัยของ In Young และคณะ ในปี 2012 ที่ได้ทำการศึกษาผลของปัจจัยต่างๆในการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดหูหนูขาว พบว่าสัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายในกระบวนการสกัดที่ทำให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนเพิ่มขึ้น จะอยู่ในช่วงสัดส่วน 1:10 ถึง 1:20 และสัดส่วนของเหลวที่เพิ่มขึ้นมากกว่านั้นจะไม่ส่งผลต่อปริมาณเบต้ากลูแคนที่ได้อย่างมีนัยสำคัญ (Bae et al., 2012)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากการผลการทดลองในตารางที่ 4.2 ยังพบว่าน้ำหนักผลได้ของโพลีแซคคาไรด์ในการสกัดด้วยสัดส่วนของแข็งต่อของเหลวที่ 1:10 มีค่ามากถึง 0.67 กรัม ทำให้เมื่อคำนวณปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครงอบแห้งเริ่มต้น จะได้ปริมาณเบต้ากลูแคนรวมสูงถึงร้อยละ 0.29 ซึ่งเป็นปริมาณที่ใกล้เคียงกับการสกัดด้วยสัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ 1:20

จากผลการทดลองข้างต้น จะเห็นได้ว่า น้ำหนักผลได้ของโพลีแซคคาไรด์ซลดลงเมื่อเพิ่มสัดส่วนของของเหลว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shiyu และคณะ ในปี 2011 ที่ได้ทำการศึกษาการสกัดโพลีแซคคาไรด์ด้วยน้ำจากผิวของเปลือกองุ่น แล้วพบว่าปริมาณโพลีแซคคาไรด์จะมีค่ามากเมื่อมีสัดส่วนของตัวทำละลายสูงถึงจุดหนึ่ง ซึ่งเป็นจุดที่การละลายของโพลีแซคคาไรด์ในตัวทำละลายมีค่า

สูง แต่เมื่อเพิ่มปริมาณตัวทำละลายมากกว่าจุดนั้น อิทธิพลของตัวทำละลายก็จะเริ่มมีผลน้อยลง ทำให้ปริมาณโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้มีค่าคงที่ก่อนจะมีแนวโน้มลดลง โดยที่ Shinyu และคณะได้ให้เหตุผลไว้ว่าการเพิ่มปริมาณตัวทำละลายนี้ทำให้สารตัวอื่นที่ไม่ใช่โพลีแซคคาไรด์มีความสามารถในการละลายมากขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้โพลีแซคคาไรด์ละลายเข้าสู่ตัวทำละลายได้อย่างจำกัด อีกทั้งการใช้ตัวทำละลายในปริมาณมากยังส่งผลต่อพลังงานในการสกัดที่เพิ่มมากขึ้นอีกด้วย (Tan et al., 2011)

เมื่อพิจารณาทั้งน้ำหนักผลได้ของโพลีแซคคาไรด์และปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดร่วมกัน จึงสามารถสรุปได้ว่า การสกัดโดยใช้สัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ 1:10 เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีความคุ้มค่าในการสกัดเพื่อให้ได้เบต้ากลูแคนในปริมาณมาก และยังสามารถลดค่าใช้จ่ายในการลงทุน รวมถึงลดของเสียที่เหลือจากการสกัดได้อีกด้วย

4.2.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

ทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด โดยใช้ผงเห็ดแครงอบแห้งที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณ 50 กรัม เข้าสู่กระบวนการสกัดด้วยน้ำ ทำการทดลองด้วยการใช้อ่างน้ำร้อน (Water bath) ในการให้ความร้อนต่อระบบ และมีการปั่นกวนด้วยความเร็วคงที่ตลอดการสกัด โดยตัวแปรควบคุมในการทดลองคือสัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายเป็น 1:10 และเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็น 1 ชั่วโมง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ดำเนินการทดลองโดยการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเป็น 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากนั้นจึงกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วตกตะกอนโพลีแซคคาไรด์จากสารสกัดที่ได้ด้วยสารละลายเอทานอล ได้น้ำหนักผลได้ของโพลีแซคคาไรด์จากการสกัดที่สภาวะต่างๆดังตารางที่ 4.3

นำโพลีแซคคาไรด์ที่ได้ปริมาณ 100 มิลลิกรัมมาทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนโดยวิธีมาตรฐาน และเมื่อพิจารณาร่วมกับน้ำหนักของโพลีแซคคาไรด์ สามารถคำนวณปริมาณของเบต้ากลูแคนที่ได้ต่อปริมาณผงเห็ดแครงเริ่มต้น ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณโพลีแซคคาไรด์และปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครง 50 กรัมด้วยอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่แตกต่างกัน (n=3)

อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (°c)	น้ำหนักโพลี-แซคคาไรด์(g)	ปริมาณเบต้ากลูแคนในโพลีแซคคาไรด์ (%w/w)	ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครง (%w/w)
30	0.87 ± 0.01	13.73 ± 0.61	0.24
50	1.14 ± 0.05	21.05 ± 0.42	0.48
70	1.24 ± 0.03	34.85 ± 0.19	0.86

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดจะส่งผลให้มีปริมาณเบต้ากลูแคนในสูงขึ้น ปริมาณเบต้ากลูแคนในโพลีแซคคาไรด์ที่สูงที่สุดได้จากการสกัดด้วยอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสซึ่งมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 34.85 มากกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสถึง 2.54 เท่า

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำอุณหภูมิสูงในการสกัดมีผลต่อปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้ เนื่องจากการสกัดด้วยอุณหภูมิสูงจะทำให้สัมประสิทธิ์การแพร่กระจาย (Diffusivity) ของทั้งตัวทำละลายและตัวถูกละลายในระบบมีค่าสูงมากขึ้น เมื่อตัวถูกละลายมีสัมประสิทธิ์การแพร่กระจายมากก็จะยิ่งทำให้ตัวทำละลายแพร่เข้าสู่ผนังเซลล์ของเห็ดซึ่งเป็นที่อยู่ของเบต้ากลูแคนได้มากขึ้น นอกจากนั้นตัวถูกละลายซึ่งในที่นี้คือเบต้ากลูแคนซึ่งอยู่ในผนังเซลล์ก็ยังสามารถแพร่และละลายเข้าสู่ตัวทำละลายได้มากขึ้นเช่นกัน สอดคล้องกับทฤษฎีการสกัดในการศึกษาของ เสาวนีย์ เหลืองธนะผล (เสาวนีย์ เหลืองธนะผล, 2002)

ผลการทดลองดังกล่าวยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Oscar และคณะ ในปี 2008 ซึ่งได้ทำการศึกษาผลของปัจจัยในการสกัดเบต้ากลูแคนจากข้าวบาร์เลย์ พบว่าเมื่อสกัดข้าวบาร์เลย์ด้วยอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดสูงมากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดให้สูงขึ้นถึง 65 องศาเซลเซียส ปริมาณเบต้ากลูแคนที่ได้จะมีอัตราการเพิ่มขึ้นต่ำลงจนเข้าสู่สภาวะ

คงที่ในที่สุด แสดงให้เห็นว่าหากมีการใช้อุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้นมากกว่านี้ก็ไม่อาจทำให้ปริมาณเบต้ากลูแคนที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ (Benito et al., 2008)

อย่างไรก็ตามในการทดลองของ Hip Seng และคณะ ในปี 2013 ที่ได้ทำการสกัดเห็ดแครงด้วยน้ำและทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันในสภาวะการสกัดต่างๆ ยังพบว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่จะทำให้สารสกัดที่ได้มีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันสูงที่สุด คือการสกัดในอุณหภูมิช่วง 35 - 45 องศาเซลเซียส เพราะการใช้อุณหภูมิที่สูงเกินไปในการสกัดสามารถทำให้เกิดการสลายตัวของสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ (Yim et al., 2013)

จากผลการทดลองข้างต้น จึงสามารถสรุปได้ว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดนั้นเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญอย่างมากต่อผลได้ของเบต้ากลูแคน แต่ในขณะเดียวกันอุณหภูมิในการสกัดที่สูงมากเกินไปก็อาจจะส่งผลต่อการสลายตัวของสารที่มีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันได้ จึงได้มีการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดผงเห็ดแครงเพิ่มขึ้นอีกในหัวข้อที่ 4.2.5

4.2.3 เวลาที่ใช้ในการสกัด

ทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยเวลาที่ใช้ในการสกัด โดยการนำผงเห็ดแครงอบแห้งที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณ 50 กรัมมาสกัดด้วยน้ำ ทำการทดลองด้วยการใช้อ่างน้ำร้อน (Water bath) ในการให้ความร้อนต่อระบบและมีการปั่นกวนด้วยความเร็วคงที่ตลอดการสกัด โดยมีตัวแปรที่ควบคุมคือ สัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายในการสกัดที่ 1:10 และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเป็น 30 องศาเซลเซียส

ทำการศึกษาอิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการสกัด โดยปรับเปลี่ยนเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็น 1, 3 และ 5 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วจึงตกตะกอนเพื่อให้ได้โพลีแซคคาไรด์ โดยการใช้สารละลายเอทานอล จะได้ปริมาณโพลีแซคคาไรด์จากการสกัดที่สภาวะต่างๆดังแสดงในตารางที่ 4.4

นำโพลีแซคคาไรด์ที่ได้ปริมาณ 100 มิลลิกรัม มาทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนโดยวิธีมาตรฐาน พิจารณาร่วมกับน้ำหนักของโพลีแซคคาไรด์จากการสกัด จะสามารถคำนวณผลของเบต้ากลูแคนที่ได้ต่อปริมาณเห็ดแครงเริ่มต้น ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ปริมาณโพลีแซคคาไรด์และปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากเห็ดแครง 50 กรัมด้วยเวลาที่ใช้ในการสกัดที่แตกต่างกัน (n=3)

เวลาที่ใช้ในการสกัด (h)	ปริมาณโพลี-แซคคาไรด์(g)	ปริมาณเบต้ากลูแคนในโพลีแซคคาไรด์ (%w/w)	ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครง (%w/w)
1	1.23 ± 0.03	13.55 ± 0.40	0.33
3	1.77 ± 0.10	17.28 ± 0.35	0.61
5	1.24 ± 0.05	21.98 ± 0.63	0.55

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.4 แสดงให้เห็นเวลามีผลต่อประสิทธิภาพการสกัด โดยพบว่าเมื่อเพิ่มเวลาที่ใช้ในการสกัด จะส่งผลให้ปริมาณเบต้ากลูแคนในโพลีแซคคาไรด์ที่ได้มีค่าเพิ่มมากขึ้น โดยเวลาที่ใช้ในการสกัดซึ่งให้ปริมาณเบต้ากลูแคนมากที่สุดคือ 5 ชั่วโมง โดยมีปริมาณเบต้ากลูแคนในโพลีแซคคาไรด์ร้อยละ 21.98

อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาจากปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครง พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดปริมาณเบต้ากลูแคนจะมีค่าสูงขึ้น แต่เมื่อใช้เวลาในการสกัดจนถึง 5 ชั่วโมง ปริมาณเบต้ากลูแคนที่ได้จะมีค่าลดลง เกิดจากการที่ระบบได้เข้าสู่สมดุลในการสกัด

ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ In Young และคณะ ในปี 2012 ที่ศึกษาการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดหูหนูขาว พบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นจาก 5 จนถึง 10 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงมีแนวโน้มลดลง กล่าวได้ว่าเวลาในการสกัดที่มากกว่านั้นไม่สามารถช่วยเพิ่มปริมาณเบต้ากลูแคนได้อย่างมีนัยสำคัญ อิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการสกัดมีส่วนช่วยทำให้การสกัดมีผลได้เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดจะทำให้ตัวทำละลายมีเวลาในการทำลายโครงสร้างของผนังเซลล์ซึ่งเป็นที่อยู่ของเบต้ากลูแคนเพิ่มมากขึ้น รวมถึงเพิ่มเวลาให้ตัวทำละลายสัมผัสกับสารที่เป็นเป้าหมาย แต่ในทางกลับกัน เมื่อสารสำคัญถูกละลาย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ออกมาจนหมดแล้ว การเพิ่มเวลาในการสกัดหลังจากนั้นจะไม่ได้ช่วยเพิ่มปริมาณของเบต้ากลูแคนในสารสกัดให้มากขึ้นแต่อย่างใด เนื่องจากระบบเข้าสู่สมดุล (Bae et al., 2012)

นอกจากนี้ จากการทดลองของ Oscar และคณะ ในปี 2008 ที่ได้ทำการศึกษาผลของปัจจัยในการสกัดเบต้ากลูแคนจากข้าวบาร์เลย์ พบว่าเมื่อใช้เวลาในการสกัดต่ำกว่า 2.5 ชั่วโมง สารสกัดที่ได้จะมีปริมาณเบต้ากลูแคนน้อยกว่าร้อยละ 40 ของปริมาณเห็ดแครงเริ่มต้น และเมื่อทำการสกัดโดยใช้เวลาที่ 5 ชั่วโมง ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดที่ได้จะไม่ต่างจากการสกัดโดยใช้เวลา 3 ชั่วโมงมากนัก (Oscar Benito, 2008)

จากผลการทดลองและงานวิจัยข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า การสกัดด้วยเวลา 3 ชั่วโมงเป็นเวลาที่เพียงพอในการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครง เนื่องจากเวลาที่มากกว่านั้นไม่สามารถช่วยเพิ่มปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดให้มากขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนั้นยังเป็นการสิ้นเปลืองต้นทุนในการใช้พลังงานอีกด้วย โดยจะมีการศึกษาตัวแปรเวลาที่ใช้ในการสกัดช่วงที่ต่ำกว่า 3 ชั่วโมงต่อไป

4.2.4 การเปรียบเทียบปริมาณเบต้ากลูแคนในส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์และในสารสกัด

ทำการศึกษาปริมาณเบต้ากลูแคนในส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากการตกตะกอนสารสกัดหยาบ (Crude Extract) เปรียบเทียบกับปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดหยาบ โดยทำการทดลองด้วยการนำเห็ดแครงที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น มาสกัดด้วยน้ำโดยใช้สภาวะในการสกัดได้แก่ สัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:10 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 70 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็น 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงทำการกรองด้วยกระดาษกรองแล้วนำสารละลายที่ได้มาตกตะกอนด้วยสารละลายเอทานอลเพื่อให้ได้ของแข็งที่เป็นโพลีแซคคาไรด์

ส่วนที่เป็นสารสกัดหยาบ (Crude extract) และส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลเข้มดังแสดงในรูปที่ 4.2 ถูกนำไประเหยแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้น้ำหนักผลได้ดังแสดงในตารางที่ 4.5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

(ก) (ข)

รูปที่ 4.2 (ก) สารสกัดหยาบ (Crude extract) (ข) โพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากการสกัดเห็ดแครง

สารสกัดหยาบและโพลีแซคคาไรด์ที่ได้ถูกนำมาทดสอบหาปริมาณเบต้ากลูแคน โดยโดยวิธีมาตรฐาน ปริมาณเบต้ากลูแคนในโพลีแซคคาไรด์และสารสกัดได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณเบต้ากลูแคนเปรียบเทียบระหว่างโพลีแซคคาไรด์และสารสกัดหยาบ

ตัวอย่างที่นำมาทดสอบ	น้ำหนักผลได้ (g)	ปริมาณเบต้ากลูแคน (%w/w)	ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครง (%w/w)
โพลีแซคคาไรด์	0.45 ± 0.07	15.18 ± 0.13	0.34
สารสกัด	3.56 ± 0.31	3.77 ± 0.35	0.67

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าลักษณะทางกายภาพของสารทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกัน โดยที่สารสกัดหยาบหลังการทำให้แห้งจะมีคุณสมบัติของความเหนียวปรากฏอยู่ อีกทั้งยังเกาะกันเป็นผลึกขนาดใหญ่ ในขณะที่โพลีแซคคาไรด์ซึ่งได้จากการตกตะกอน หลังการระเหยแห้งแล้วจะมีลักษณะเป็นผงหยาบและมีความชื้นน้อยกว่าส่วนที่เป็นสารสกัดหยาบ

จากตารางที่ 4.5 พบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนที่ได้จากส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์มีค่ามากกว่าส่วนที่เป็นสารสกัดอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากการตกตะกอนสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลเพื่อให้ได้เป็นโพลีแซคคาไรด์นี้ เป็นวิธีหนึ่งในการทำให้บริสุทธิ์ของเบต้ากลูแคน ดังนั้นเมื่อทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนโดยจากสารสกัดหยาบและโพลีแซคคาไรด์ปริมาณเท่ากันที่ 100 มิลลิกรัม ปริมาณเบต้ากลูแคนในโพลีแซคคาไรด์จึงมีค่ามากกว่า

แต่เมื่อนำผลดังกล่าวมาพิจารณาร่วมกับน้ำหนักผลได้ของโพลีแซคคาไรด์และสารสกัดหยาบ จะพบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดหยาบทั้งหมดจะมีค่ามากกว่าในส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ประมาณ 2 เท่า เนื่องจากน้ำหนักผลได้ของสารสกัดหยาบและโพลีแซคคาไรด์มีค่าแตกต่างกันเป็นอย่างมาก

นอกจากนี้ภายในสารสกัดหยาบยังมีสารชนิดอื่นอีกเป็นจำนวนมากที่อาจจะมีคุณสมบัติซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการทำเครื่องสำอาง ตามการศึกษาของ Yuanzheng และคณะในปี 2016 ที่พบว่าในสารสกัดหยาบของเห็ดแครงมีสารสำคัญซึ่งมีฤทธิ์ทางเครื่องสำอางนอกจากเบต้ากลูแคน ตัวอย่างเช่น เลคติน สารฟีนอลิก เทอร์พีนอยด์และสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ (Wu et al., 2016)

จึงได้ทำการทดลองปัจจัยต่างๆที่มีอิทธิพลในการสกัด โดยทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนจากส่วนที่เป็นสารสกัดหยาบทั้งหมด และจะนำส่วนที่เป็นสารสกัดหยาบ (Crude extract) ของเห็ดแครงมาใช้ในการขึ้นรูปเครื่องสำอางเป็นลำดับต่อไป

4.2.5 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดหยาบที่สภาวะการสกัดด้วยอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดต่างๆ

ทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด ออกแบบการทดลองด้วยวิธีแฟคทอเรียล (Factorial design) โดยแปรผันทั้งสองตัวแปรใน 3 ระดับ

ดำเนินการทดลองโดยสกัดผงเห็ดแครงซึ่งผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และมีตัวแปรควบคุมคือสัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ 1:10 ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดโดยแปรผันตัวแปรอุณหภูมิเป็น 55, 65 และ 75 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิในช่วงที่สูงกว่าการทดลองในข้อ 4.2.2 และเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็น 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นจึงกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์1 และระเหยแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

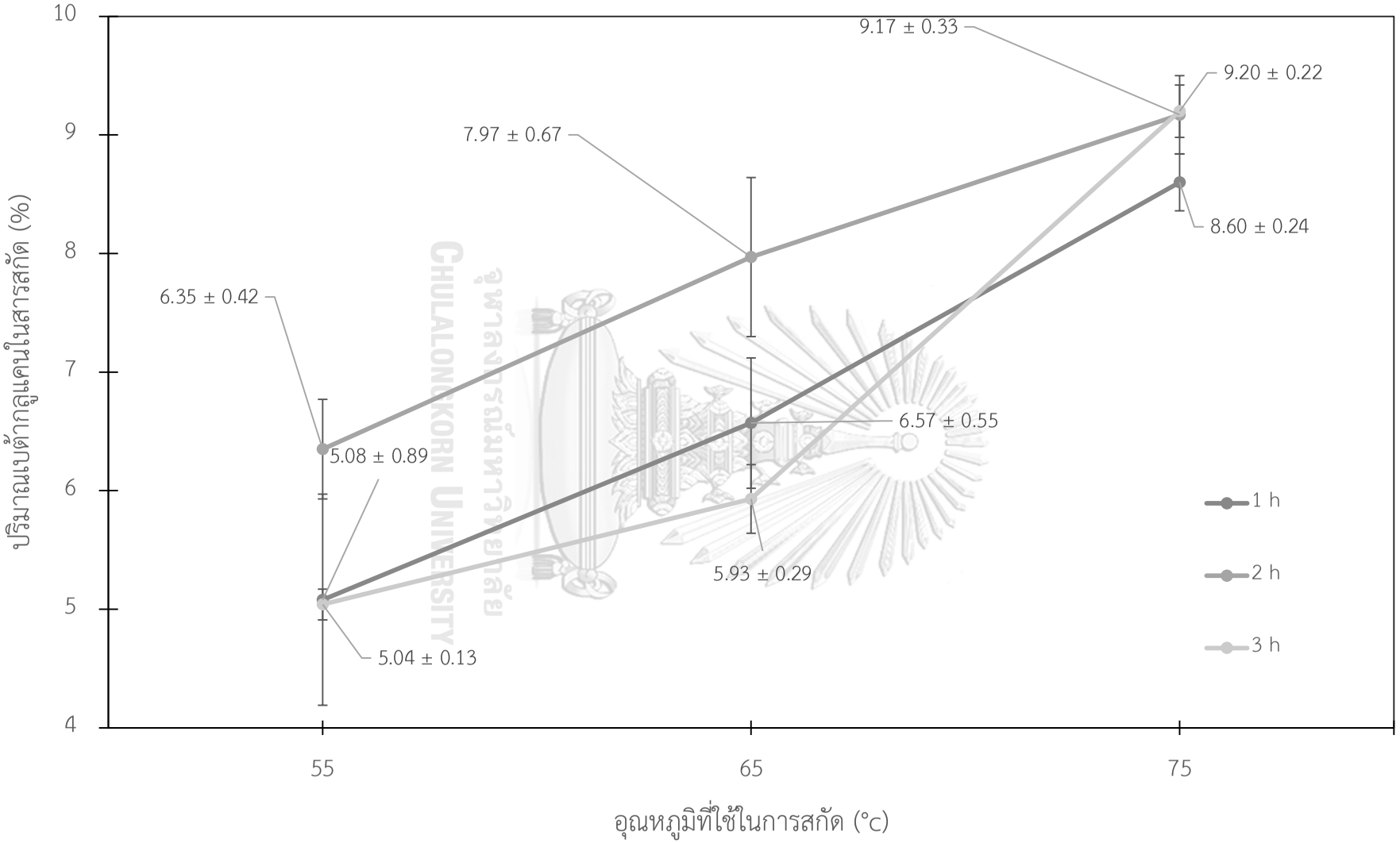
นำสารสกัดน้ำหนัก 100 มิลลิกรัม มาทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนโดยโดยวิธีมาตรฐาน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครงที่สภาวะการสกัดต่างๆ (n=3)

อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (°c)	ปริมาณเบต้ากลูแคน (%)		
	1 h	2 h	3 h
55	5.08 ± 0.89	6.35 ± 0.42	5.04 ± 0.13
65	6.57 ± 0.55	7.97 ± 0.67	5.93 ± 0.29
75	8.60 ± 0.24	9.17 ± 0.33	9.20 ± 0.22

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.6 สามารถสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดกับอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัด เพื่อวิเคราะห์อิทธิพลของตัวแปรต่างๆดังแสดงในรูปที่ 4.3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 4.3 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดที่ใช้อุณหภูมิและเวลาในการสกัดต่างๆ

จากรูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าทั้งตัวแปรอุณหภูมิและเวลามีอิทธิพลต่อปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด เมื่อพิจารณาอิทธิพลของอุณหภูมิจากผลการทดลอง พบว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดส่งผลอย่างมากต่อปริมาณของเบต้ากลูแคน เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดให้สูงขึ้นจะทำให้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยการสกัดด้วยความร้อนสูงถึง 75 องศาเซลเซียส จะทำให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดมากที่สุดในทุกๆตัวแปรของเวลาที่ใช้ในการสกัด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Oscar และคณะ ในปี 2011 (Benito et al., 2011) ที่ได้ศึกษาปริมาณเบต้ากลูแคนจากการสกัดบาร์เลย์ พบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด โดยจะมีอัตราการเพิ่มขึ้นเป็นความสัมพันธ์แบบเส้นตรง จนเมื่อถึงอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และหลังจากนั้นจะมีแนวโน้มคงที่จนได้ปริมาณเบต้ากลูแคนสูงสุดที่ 75 องศาเซลเซียส ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวมีลักษณะคล้ายกับการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดในการทดลองนี้ แต่อุณหภูมิที่สามารถสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครงได้ดีที่สุดจะอยู่ในช่วงที่สูงกว่างานวิจัยที่อ้างอิงดังกล่าว เนื่องจากผนังเซลล์และโครงสร้างของเห็ดแครงมีความหนาและความแข็งแรงมากกว่าบาร์เลย์ ตามงานวิจัยของ Philipp และคณะ (Philipp and Alga, 2016)

จากรูปที่ 4.3 เมื่อพิจารณาอิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการสกัด พบว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 55 และ 65 องศาเซลเซียส ปริมาณเบต้ากลูแคนจะมีค่าสูงขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด แต่ปริมาณเบต้ากลูแคนกลับลดลงเมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดเข้าสู่ช่วง 3 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ In Young และคณะ ที่ได้ศึกษาการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดหูหนูขาว พบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้นอยู่เพียงช่วงหนึ่ง และหลังจากนั้นจะมีแนวโน้มคงที่ แสดงให้เห็นว่าระบบได้เข้าสู่สมดุล ทำให้การเพิ่มเวลาในการสกัดไม่ได้ช่วยเพิ่มปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญ (Bae et al., 2012)

ผลการทดลองในการสกัดที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง แสดงผลปริมาณเบต้ากลูแคนที่สูงที่สุดแต่ยังมีค่าใกล้เคียงกับการสกัดด้วยเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการงานวิจัยของ Xu Sun และคณะ ในปี 2010 ที่ได้ทดลองสกัดเห็ดราชนิด Chroogomphis rutilus พบว่าเวลาที่เหมาะสมจะใช้ในการสกัดมากที่สุดคือช่วงเวลาประมาณ 2.5 ชั่วโมง และเมื่อใช้เวลาในการสกัดนานมากกว่านั้นผลได้จากการสกัดจะมีแนวโน้มคงที่และลดลง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

อิทธิพลของเวลาในการสกัดนี้เกิดขึ้นเนื่องจากการสกัดด้วยอุณหภูมิที่สูงและระยะเวลาที่นาน อาจจะทำให้เกิดการไฮโดรไลซิสของโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งอาจจะส่งผลให้เบต้ากลูแคนมีปริมาณลดลงได้ (Yong et al., 2010)

จากการทดลองข้างต้น สามารถสรุปได้ว่าสภาวะการสกัดที่ให้สารสกัดที่มีปริมาณเบต้ากลูแคนสูงที่สุดคือการสกัดที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ส่วนเวลาที่ใช้ในการสกัดจะมีการศึกษาเพิ่มเติมร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปต่อไปในข้อ 4.3

4.2.6 ผลของสภาวะในการปั่นเห็ดแครงก่อนการสกัด

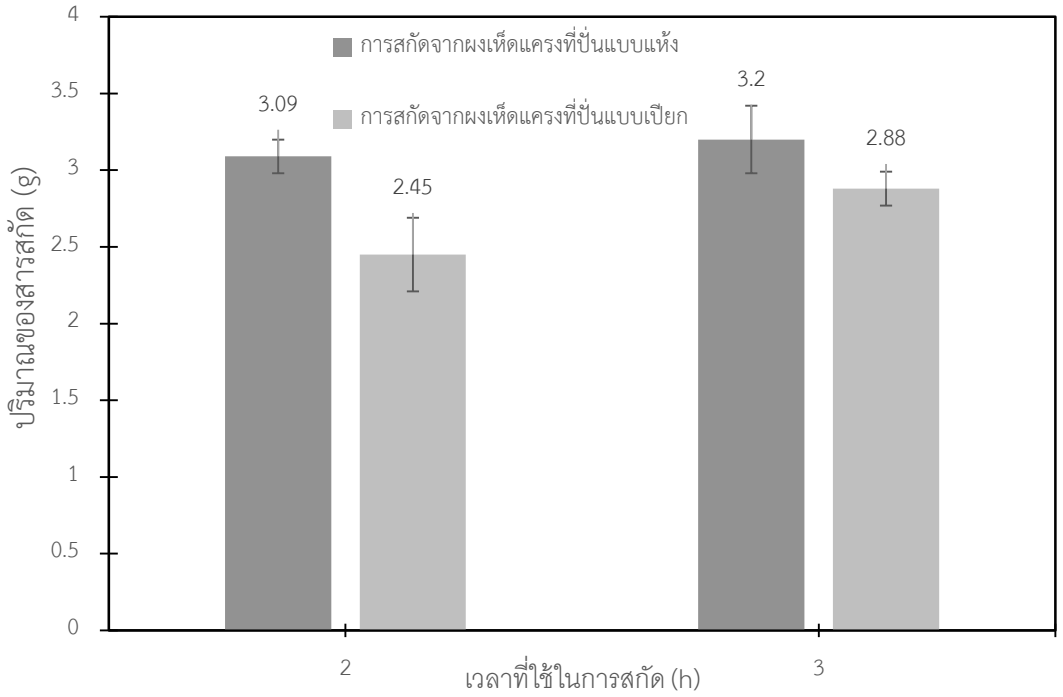
ขนาดอนุภาคของตัวถูกละลายเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด รวมถึงลักษณะทางกายภาพต่างๆของสิ่งที่จะนำมาสกัดก็มีอิทธิพลเช่นกัน ดังนั้นจึงได้ศึกษาความแตกต่างของวิธีการเตรียมผงเห็ดแครงก่อนการสกัด เพื่อหาวิธีเตรียมผงเห็ดแครงที่เหมาะสมในการสกัดเบต้ากลูแคนให้ได้ปริมาณสูงที่สุด ทำการทดลองโดยเปรียบเทียบสภาวะในการปั่นเห็ดแครงเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการสกัดสองวิธี ได้แก่

1. ปั่นเห็ดแครงแบบแห้งให้เป็นผงละเอียด

2. ปั่นเห็ดแครงโดยผสมเห็ดแครงกับน้ำในอัตราส่วน 1:2 เพื่อเพิ่มความชื้น จากนั้นจึงนำไปปั่นโดยเครื่องปั่นแบบเปียก (Wet miller)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หลังจากนั้นจึงนำเห็ดแครงที่ผ่านการเตรียมทั้งสองวิธีไปสกัดในอ่างน้ำร้อน (Water bath) โดยควบคุมตัวแปรได้แก่ สัดส่วนของของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:10 อุณหภูมิที่ใช้การสกัดที่ 75 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็น 2 และ 3 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และนำไประเหยแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ได้ผลน้ำหนักของสารสกัดจากการเตรียมผงเห็ดแครงทั้งสองวิธี ดังแสดงในรูปที่ 4.4

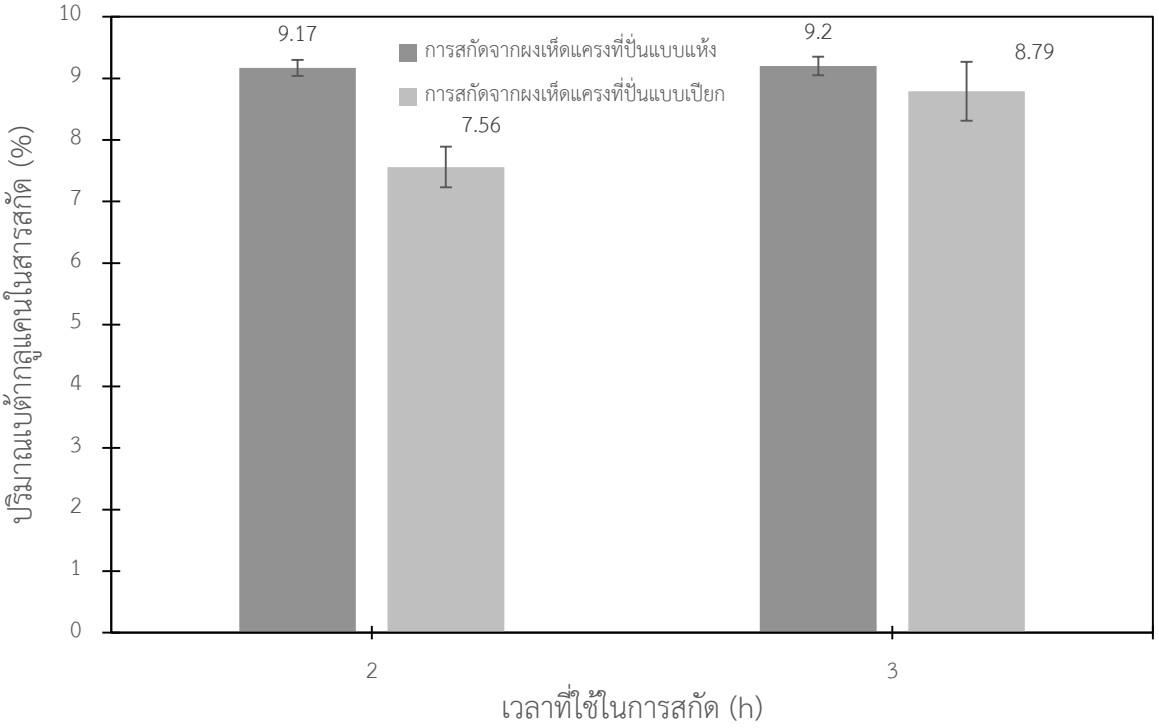


รูปที่ 4.4 น้ำหนักผลได้ของสารสกัดเปรียบเทียบระหว่างการสกัดจากผงเห็ดแครงที่ถูกเตรียมด้วยวิธีปั่นแบบแห้งและปั่นแบบเปียก

จากรูปที่ 4.4 พบว่าเมื่อบดเห็ดแครงแบบเปียกก่อนการสกัดจะทำให้น้ำหนักผลได้ของสารสกัดมีค่าลดลง เนื่องจากการทำให้ผงเห็ดแครงเปียกก่อนการบดจะทำให้มีความหนืดเพิ่มมากขึ้นระหว่างการปั่น และใบมีดของเครื่องปั่นก็ยังสัมผัสกับพื้นผิวของเห็ดแครงได้น้อยลง การปั่นละเอียดที่มีจุดประสงค์เพื่อลดขนาดของเห็ดแครงจึงมีประสิทธิภาพน้อยกว่าการเตรียมด้วยวิธีปั่นแบบแห้ง เป็นผลให้พื้นผิวการสัมผัสของเห็ดแครงกับตัวทำละลายซึ่งก็คือน้ำมีค่าลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของ Azwanida และคณะ ในปี 2015 ที่ระบุว่าการปั่นหรือบดละเอียดจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวของวัตถุดิบในการสัมผัสกับตัวทำละลาย ซึ่งการลดลงหรือเพิ่มขึ้นของพื้นผิวสัมผัสนี้จะมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของการสกัด (Azwanida, 2015)

นำเอาสารสกัดที่ได้จากการสกัดผงเห็ดแครงที่ถูกเตรียมด้วยวิธีปั่นแบบแห้งและปั่นแบบเปียกปริมาณ 100 มิลลิกรัม มาทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนโดยวิธีมาตรฐาน จะสามารถเปรียบเทียบอิทธิพลของวิธีการเตรียมผงเห็ดแครงต่อปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดได้ผลดังแสดงรูปที่ 4.5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 4.5 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเปรียบเทียบระหว่างผงเห็ดแครงเห็ดที่ปั่นแบบแห้งและปั่นแบบเปียก

จากรูปที่ 4.5 พบว่าในสารสกัดที่ได้จากการสกัดผงเห็ดแครงซึ่งถูกเตรียมด้วยวิธีการการปั่นเปียก จะมีปริมาณเบต้ากลูแคนน้อยกว่าที่ได้จากการสกัดเห็ดแครงซึ่งถูกเตรียมด้วยวิธีปั่นแห้ง ทั้งในการสกัดด้วยเวลา 2 และ 3 ชั่วโมง เกิดจากการปั่นที่มีประสิทธิภาพลดลงเนื่องด้วยความเปียกของเห็ดแครง ทำให้โครงสร้างของเห็ดแครงและผนังเซลล์ซึ่งเป็นที่อยู่ของเบต้ากลูแคนตามการศึกษาของ Philipp และคณะ (Philipp and Alga, 2016) ถูกทำลายให้เสียหายได้น้อยลงกว่าเห็ดแครงที่ถูกเตรียมด้วยวิธีการปั่นแห้ง เป็นสาเหตุให้ตัวทำละลายเข้าไปละลายสารสำคัญภายในผนังเซลล์ของเห็ดได้น้อยลง เบต้ากลูแคนที่สกัดได้จึงมีค่าลดลงตามมา

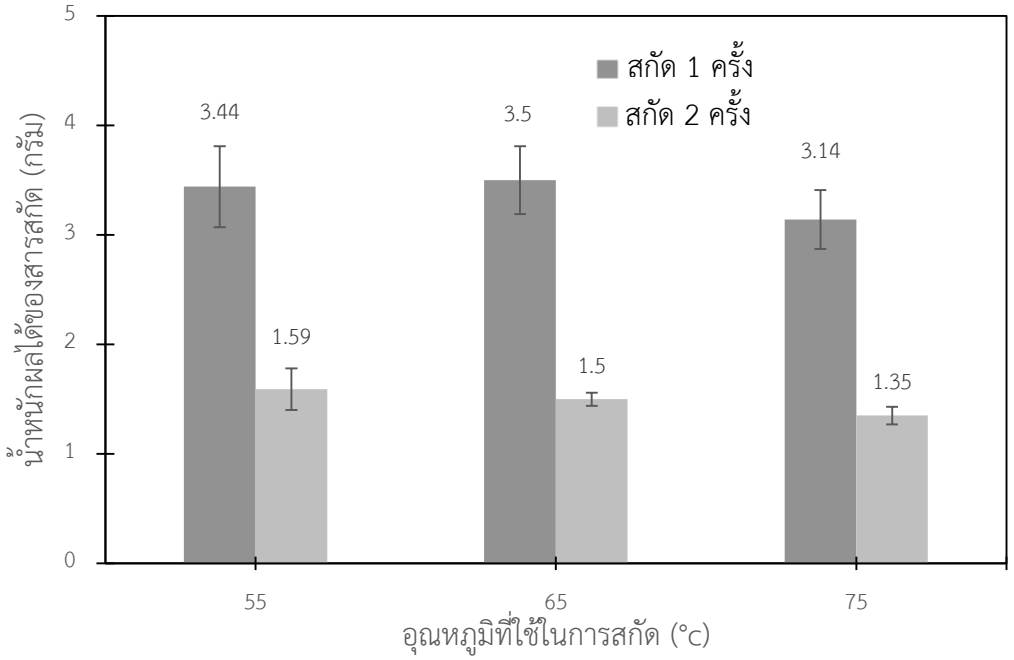
จากการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่า การเตรียมผงเห็ดแครงก่อนการสกัดด้วยวิธีการปั่นแบบแห้งเป็นวิธีการที่เหมาะสมกว่าการปั่นแบบเปียกในการนำมาใช้สกัดเบต้ากลูแคน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.2.7 ผลของการสกัดซ้ำ

เบต้ากลูแคนส่วนมากจะพบได้ในบริเวณผนังเซลล์ของเห็ดแครง ดังนั้นการผ่านกระบวนการสกัดเพียงครั้งเดียว อาจจะไม่สามารถทำลายผนังเซลล์ของเห็ดแครงได้อย่างสมบูรณ์ และหลังจากการสกัดอาจจะยังมีเบต้ากลูแคนที่หลงเหลืออยู่ในผงเห็ดแครงซึ่งยังไม่ละลายออกมากับตัวทำละลาย การทดลองนี้จึงได้ศึกษาการสกัดผงเห็ดแครงซ้ำ โดยพิจารณาอิทธิพลของการสกัดซ้ำที่ส่งผลต่อปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด

ทำการทดลองสกัดเห็ดแครงโดยนำเอาเห็ดแครงซึ่งผ่านการสกัดหนึ่งครั้งในสภาวะต่างๆมาสกัดซ้ำอีกครั้ง สภาวะในการสกัดที่นำมาใช้ในการเปรียบเทียบได้แก่ สัดส่วนของของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:10 ตัวแปรควบคุมคือเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็น 1 ชั่วโมง และแปรผันปัจจัยอุณหภูมิในการสกัดเป็น 55, 65 และ 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แล้วจึงนำสารสกัดที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ก่อนจะนำไประเหยแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ได้น้ำหนักผลได้ของสารสกัดเปรียบเทียบกันระหว่างการสกัดครั้งที่ 1 กับการสกัดครั้งที่ 2 ดังแสดงในรูปที่ 4.6

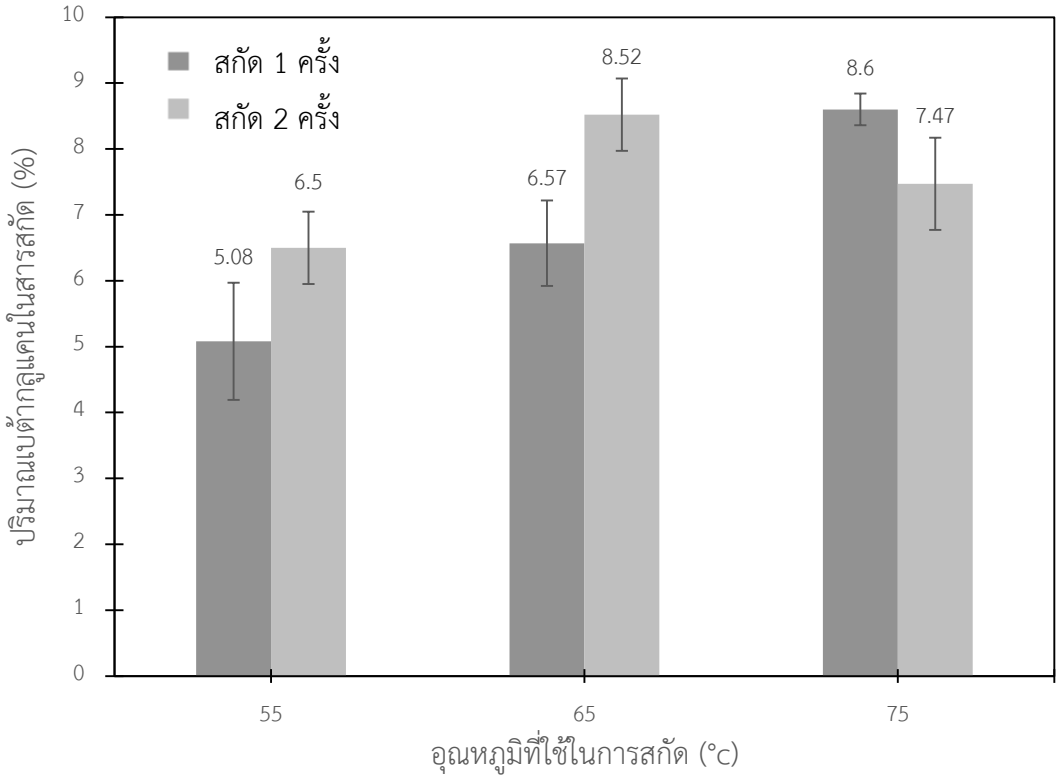


รูปที่ 4.6 น้ำหนักผลได้ของสารสกัดเห็ดแครงที่ได้จากการสกัด 1 ครั้งและการสกัด 2 ครั้ง

เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.6 จะพบว่าน้ำหนักของสารสกัดที่ได้จากการสกัดซ้ำนั้นมีปริมาณน้อยกว่าครั้งแรกประมาณเท่าตัว แสดงให้เห็นว่าการสกัดซ้ำสามารถช่วยผลได้ของสารสกัดเพียง

เล็กน้อยเท่านั้น เนื่องจากการสกัดครั้งแรกสามารถทำลายโครงสร้างภายในเซลล์และโครงสร้างของผนังเซลล์ไปจนเกือบหมดแล้ว

นำเอาสารสกัดจากการสกัดทั้งสองครั้งมาทดสอบเพื่อหาปริมาณเบต้ากลูแคนโดยวิธีมาตรฐาน เปรียบเทียบปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดที่ได้จากการสกัดทั้งสองครั้ง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครงที่ได้จากการสกัด 1 ครั้งและการสกัด 2 ครั้ง

เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.7 จะพบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดจากการสกัดซ้ำมีค่ามากกว่าการสกัดครั้งแรก เมื่อสกัดด้วยอุณหภูมิต่ำที่ 55 และ 65 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส การสกัดครั้งแรกจะมีปริมาณเบต้ากลูแคนมากกว่า

เหตุผลที่สารสกัดที่ได้จากการสกัดมีปริมาณเบต้ากลูแคนมากกว่าในสารสกัดที่ได้จากการสกัดครั้งแรก เกิดจากการที่ผนังเซลล์ของเห็ดแครงซึ่งเป็นที่อยู่ของเบต้ากลูแคนถูกทำลายมากขึ้นเมื่อถูกนำมาเข้าสู่กระบวนการสกัดเป็นครั้งที่สอง จึงทำให้เบต้ากลูแคนที่อยู่บริเวณผนังเซลล์ของเห็ดแครงสามารถละลายและแพร่เข้าสู่ตัวทำละลายเพิ่มขึ้นมากกว่าเดิม แสดงให้เห็นว่าเบต้ากลูแคนได้ละลาย

เข้าสู่ตัวทำละลายอย่างมีประสิทธิภาพตั้งแต่การสกัดครั้งแรก แต่การสกัดซ้ำก็ยังคงให้สารสกัดที่มีเบต้ากลูแคนในปริมาณมาก สอดคล้องกับการทดลองของ Xu Sun และคณะ ในปี 2010 ที่ได้ทดลองสกัดเห็ดราซ้ำหลายๆครั้ง พบว่าปริมาณโพลีแซคคาไรด์จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อสกัดซ้ำเป็นครั้งที่ 2 แต่การสกัดซ้ำครั้งหลังจากนั้นจะไม่ส่งผลให้ปริมาณเบต้ากลูแคนมีค่าเพิ่มขึ้น (Yong et al., 2010)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักผลได้ของสารสกัดร่วมกับปริมาณเบต้ากลูแคนแล้วรวมถึงต้นทุนในการผลิต จึงสรุปว่าจะใช้การสกัดเพียงครั้งเดียวในงานวิจัยนี้ เนื่องจากมีความคุ้มค่าในการลงทุนสกัดผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป

4.3 การใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัด

4.3.1 ศึกษาการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดเบื้องต้น

4.3.1.1 อิทธิพลของการใช้คลื่นไมโครเวฟต่อน้ำหนักสารสกัดและปริมาณเบต้ากลูแคน

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของการใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำเป็นระยะเวลาสั้นๆก่อนเข้าสู่กระบวนการการสกัดเบื้องต้น เพื่อศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่างๆในการใช้คลื่นไมโครเวฟเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพให้แก่การสกัดเบต้ากลูแคนจากผงเห็ดแครง เนื่องจากเป็นเทคนิควิธีที่สามารถช่วยลดระยะเวลาในการสกัดรวมถึงลดต้นทุนการผลิตได้

ทำการทดลองใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำก่อนการสกัดเบื้องต้นด้วยเครื่องไมโครเวฟ MARS5 และใช้ Vessel รุ่น XP-1500 จำนวน 4 vessel ต่อหนึ่งสภาวะ กำหนดตัวแปรควบคุมได้แก่ กำลังของคลื่นไมโครเวฟ 600 วัตต์ และใช้สัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลายที่ 1:10 โดยแปรผันปัจจัยเวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟที่ 2, 3 และ 4 นาที และอุณหภูมิของไมโครเวฟเป็น 65, 75 และ 85 องศาเซลเซียส

หลังจากนั้นจึงนำสารละลายที่ผ่านการใช้เครื่องไมโครเวฟเข้าสู่กระบวนการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการสกัดเป็น 3 ชั่วโมง กรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง

Whatman เบอร์ 1 แล้วจึงระเหยแห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาช่วงสภาวะที่เหมาะสมในการทำการทดลองต่อไป และเปรียบเทียบผลที่ได้กับการสกัดโดยไม่ใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำก่อนการสกัด น้ำหนักผลได้แสดงดังตารางที่ 4.7

นำสารสกัดที่ได้ปริมาณ 100 มิลลิกรัม มาทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนโดยวิธีมาตรฐาน ได้ผลของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดได้ดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ผลได้และปริมาณเบต้ากลูแคนของสารสกัดที่มีการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัด (n=3)

	เวลาที่ใช้ไมโครเวฟ (นาที)	อุณหภูมิไมโครเวฟ (°C)	น้ำหนักสารสกัด(กรัม)	ปริมาณเบต้ากลูแคน (%w/w)
การสกัดโดยไม่ใช้ไมโครเวฟ	-	-	3.20 ± 0.22	9.20 ± 0.22
การสกัดโดยใช้ไมโครเวฟก่อนสกัด	2	75	4.93 ± 0.28	10.73 ± 0.25
	4	75	4.90 ± 0.32	10.20 ± 0.30
	3	65	5.08 ± 0.31	8.62 ± 0.31
	3	85	4.71 ± 0.17	11.77 ± 0.40

พิจารณาจากตารางที่ 4.7 พบว่าเมื่อใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำก่อนเข้าสู่กระบวนการสกัด จะทำให้น้ำหนักผลได้ของสารสกัดมีค่าเพิ่มมากขึ้นที่ทุกสภาวะการทดลอง โดยสภาวะการสกัดที่ทำให้ได้น้ำหนักของสารสกัดมากที่สุดคือการใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที โดยจะได้น้ำหนักของสารสกัดเท่ากับ 5.08 กรัม ซึ่งเพิ่มขึ้นจากการสกัดแบบไม่ใช้ไมโครเวฟสูงถึงร้อยละ 58.75

ในขณะที่สภาวะของการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดซึ่งให้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดสูงที่สุดคือ การใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที โดยจะได้ปริมาณเบต้ากลูแคนร้อยละ 11.77 ซึ่งเพิ่มขึ้นจากการสกัดแบบดั้งเดิมร้อยละ 27.93

เมื่อพิจารณาปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครงจากผลการทดลองดังกล่าว พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำก่อนการสกัดทำให้ปริมาณเบต้ากลูแคนมีค่าสูงขึ้นกว่าการสกัดแบบปกติ อีกทั้งเมื่อพิจารณาจากเวลาในการใช้คลื่นไมโครเวฟที่ 3 นาที พบว่าเมื่อใช้เวลาเท่ากัน การใช้อุณหภูมิไมโครเวฟที่สูงกว่าจะทำให้สกัดเบต้ากลูแคนได้ในปริมาณที่มากกว่า

เนื่องจากในการสกัดแบบปกติ ความร้อนจะถูกถ่ายโอนโดยกระบวนการพาความร้อน (convection) และการนำความร้อน (conduction) ในขณะที่การใช้คลื่นไมโครเวฟนั้นจะเป็นการใช้คลื่นความร้อนที่สามารถเข้าสู่เซลล์ได้ด้วยความเร็วสูง ทำให้เกิดการก่อตัวของความร้อนขึ้นภายในเซลล์ของเห็ดแครงโดยตรงและทำให้ความร้อนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ความร้อนที่เพิ่มขึ้นภายในเซลล์นี้ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการถ่ายโอนของตัวถูกละลายเข้าสู่ตัวทำละลายมากขึ้นเมื่อเทียบกับการสกัดแบบปกติ อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงของสนามไฟฟ้าเนื่องจากคลื่นไมโครเวฟยังทำให้เกิดการหมุน การสั่นและการเหวี่ยงของโมเลกุลทำให้เกิดการเคลื่อนไหวภายในและเกิดการชนกันของโมเลกุลมากขึ้น ทำให้พันธะไฮโดรเจนถูกทำลาย การเชื่อมต่อระหว่างสารสำคัญกับผนังเซลล์ก็ถูกทำลายเช่นกัน จึงทำให้สารสำคัญเหล่านั้นถูกละลายออกมาในตัวทำละลายมากยิ่งขึ้น (Flórez et al., 2015)

ผลการทดลองข้างต้นยังสอดคล้องกับผลการทดลองของ Song และคณะ ในปี 2015 ที่ได้ศึกษาวิธีการสกัดเห็ดหลินจือด้วยน้ำ โดยใช้คลื่นไมโครเวฟกับสารละลายเห็ดหลินจือก่อนการสกัด พบว่าสภาวะการใช้ไมโครเวฟที่กำลัง 11.2 วัตต์/กรัม เป็นเวลา 180 วินาที ทำให้ได้ผลได้ของโพลีแซคคาไรด์เพิ่มขึ้นร้อยละ 1.775 จากการสกัดโดยไม่ใช้ไมโครเวฟ นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดจะช่วยลดระยะเวลาในการสกัดไปได้มากกว่าครึ่ง (Song et al., 2015)

จากการศึกษาเบื้องต้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าวิธีการใช้คลื่นไมโครเวฟในระยะเวลาสั้นๆก่อนการสกัดนั้นสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครงได้ เนื่องจากการใช้คลื่นไมโครเวฟจะใช้เพียงน้ำที่มีอุณหภูมิสูงและก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่ไม่รุนแรงนักแตกต่างจากการสกัดแบบปกติซึ่งใช้อุณหภูมิสูงและระยะเวลานาน วิธีนี้จึงสามารถช่วยลดต้นทุนในการผลิตและลดของเสียอันตรายที่เหลือทิ้งจากการสกัดได้ นอกจากนี้คุณสมบัติต่างๆภายในสารสกัดก็จะยังคงอยู่เมื่อเทียบกับการสกัดแบบดั้งเดิมที่ต้องดำเนินการภายใต้อุณหภูมิสูงอีกด้วย (Flórez et al., 2015)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.3.1.2 อิทธิพลของการใช้คลื่นไมโครเวฟต่อความสามารถในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระ (DPPH radical-scavenging activity)

ทำการทดลองเพื่อศึกษาอิทธิพลของการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดต่อความสามารถในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้ ด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl หรือ DPPH โดยดัดแปลงจากวิธีของ Hip Seng และคณะ (Yim et al., 2013) กับวิธีของ Sushila และคณะ ในปี 2014 ซึ่งได้ศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดแครงที่แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีวิเคราะห์ต่างๆ พบว่าสารสกัดเห็ดแครงความเข้มข้น 883 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรที่ถูกทดสอบด้วยวิธี DPPH แสดงความสามารถในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ ดังนั้นการทดสอบจึงใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดแครง 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Devi et al., 2014)

เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารสกัดเห็ดแครงที่สภาวะการสกัดต่างๆ ได้ผลการยับยั้งจากการคำนวณดังแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ความสามารถในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดแครงจากสภาวะการสกัดต่างๆ (n=3)

เวลาที่ใช้ไมโครเวฟ (นาที)	อุณหภูมิไมโครเวฟ (°c)	% inhibition
-	-	73.62 ±1.69
2	75	76.35 ±1.39
4	75	69.45 ±1.56
3	65	80.85 ± 2.68
3	85	74.69 ± 1.35

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

พิจารณาจากตารางที่ 4.8 พบว่าเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านการเกิดออกซิเดชันในสารสกัดจากการสกัดแบบปกติกับการสกัดโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟในการปรับสภาพ ฤทธิ์การต้านการเกิดออกซิเดชันจากการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟจะมีค่ามากกว่าการสกัดแบบปกติ เนื่องจากการใช้คลื่นไมโครเวฟสามารถทำลายโครงสร้างเซลล์และผนังเซลล์ของเห็ดแครง เป็นสาเหตุให้สารสำคัญละลายออกสู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Azadmard-Damirchi และคณะ ในปี 2014 ซึ่งได้ศึกษาผลของการใช้คลื่นไมโครเวฟปรับสภาพก่อนสกัดน้ำมันจากพืช โดยผู้วิจัยได้ศึกษาผลของ

การใช้คลื่นไมโครเวฟต่อสารสำคัญรอง (minor compound) เช่น ฟอสโฟลิพิด สารฟีนอลิก และโทโคฟีรอล พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยทำลายเซลล์ของเมล็ดพืชน้ำมัน (oilseed) และช่วยให้สารสำคัญต่างๆละลายเข้าสู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น โดยค่ายับยั้งการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันที่สกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟปรับสภาพมีค่าเพิ่มขึ้นจากการสกัดแบบดั้งเดิม และยังมีปริมาณสารฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดมากขึ้นอีกด้วย (Azadmard-Damirchi et al., 2011)

จากตารางที่ 4.8 เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลของการใช้คลื่นไมโครเวฟที่อุณหภูมิเดียวกันที่ 75 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการใช้ไมโครเวฟ จะทำให้ความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันมีค่าลดลง เกิดจากการที่สารต้านการเกิดออกซิเดชันซึ่งไวต่อความร้อนสลายไปในปริมาณมากเพราะใช้คลื่นไมโครเวฟเป็นเวลานาน สอดคล้องกับการทดลองของ Azadmard-Damirchi และคณะ ที่พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟในการปรับสภาพก่อนการสกัดเป็นระยะเวลานานจะยิ่งทำให้สารสำคัญที่อยู่ในสารสกัดมีค่าลดลง (Azadmard-Damirchi et al., 2011)

เมื่อพิจารณาค่าการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในสารสกัดที่ได้จากการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดในระยะเวลาที่เท่ากัน พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟที่อุณหภูมิสูงถึง 85 องศาเซลเซียสจะทำให้ฤทธิ์การต้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัดมีค่าลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hip Seng และคณะ ซึ่งพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเห็ดแครง จะทำให้ค่ายับยั้งการเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น จนเมื่อถึงอุณหภูมิสูง ค่ายับยั้งการเกิดออกซิเดชันจะเริ่มลดลงอย่างรวดเร็ว ในงานวิจัยดังกล่าวยังได้พบว่าในการสกัดเห็ดแครงเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีค่ายับยั้งการเกิดออกซิเดชันสูงนั้น โดยปกติการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะช่วยเพิ่มสัมประสิทธิ์การแพร่และการละลายของสารสำคัญเข้าสู่ตัวทำละลาย แต่การใช้อุณหภูมิที่สูงเกินไปก็อาจจะส่งผลต่อความคงตัวของสารฟีนอลิก และสารสำคัญที่ไม่ทนความร้อนได้ (Yim et al., 2013)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.3.2 การศึกษาพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology: RSM) ของปัจจัยในการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดผงเห็ดแครงเหลือทิ้งหลังผ่านกระบวนการแปรรูป

ทำการศึกษาอิทธิพลของการใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำเป็นระยะเวลาสั้นๆก่อนเข้าสู่กระบวนการสกัด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ด โดยใช้คลื่น

ไมโครเวฟก่อนการสกัดเห็ดแครง ด้วยเครื่องไมโครเวฟ MARS5 กำหนดตัวแปรกำลังเป็น 600 วัตต์ ใช้ Vessel รุ่น XP-1500 จำนวน 4 vessel ต่อหนึ่งตัวอย่าง ศึกษาปัจจัยทั้งหมด 3 ตัวแปร ได้แก่ เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ (2 - 4 นาที) อุณหภูมิไมโครเวฟ (65 – 85 องศาเซลเซียส) เวลาที่ใช้ในการสกัด (1 – 3 ชั่วโมง)

4.3.2.1 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด

ออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนองหรือ Response surface methodology (RSM) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครงโดยใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัด ศึกษาตัวแปร 3 ตัวแปร ได้แก่ เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ อุณหภูมิไมโครเวฟ เวลาที่ใช้ในการสกัด โดยปรับเปลี่ยนตัวแปร 3 ระดับ ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ปัจจัยที่ศึกษาในการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดเห็ดแครง

ปัจจัย	ระดับ		
	-1	0	1
X_1 : เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ (นาที)	2	3	4
X_2 : อุณหภูมิไมโครเวฟ (°c)	65	75	85
X_3 : เวลาที่ใช้ในการสกัด (ชั่วโมง)	1	2	3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หลังจากนั้นจึงทำการสกัดด้วยน้ำโดยมีตัวแปรควบคุมได้แก่ สัดส่วนของแข็งต่อตัวทำลาย 1:10 และอุณหภูมิในการสกัด 75 องศาเซลเซียส กรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และระเหยแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วจึงนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนโดยวิธีมาตรฐาน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 การออกแบบการทดลองแบบ Box-behnken และผลของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครง

	เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ (นาที) X1	อุณหภูมิไมโครเวฟ (°c) X2	เวลาที่ใช้ในการสกัด (ชั่วโมง) X3	ปริมาณเบต้ากลูแคน (%)
1	-1	-1	0	10.7677
2	1	-1	0	11.134
3	-1	1	0	13.922
4	1	1	0	15.362
5	-1	0	-1	15.01
6	1	0	-1	12.228
7	-1	0	1	11.409
8	1	0	1	13.562
9	0	-1	-1	9.9583
10	0	1	-1	11.329
11	0	-1	1	11.267
12	0	1	1	11.6205
13	0	0	0	15.01
14	0	0	0	15.113
15	0	0	0	14.997
16	0	0	0	14.987
17	0	0	0	15.276

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เมื่อพิจารณาผลในตารางที่ 4.10 พบว่าสภาวะการใช้คลื่นไมโครเวฟที่ให้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดต่ำที่สุดคือ เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ 3 นาที อุณหภูมิเครื่องไมโครเวฟ 65 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในกระบวนการสกัด 1 ชั่วโมง โดยจะได้ปริมาณของเบต้ากลูแคนในสารสกัดประมาณร้อยละ 9.96 ส่วนสภาวะที่ให้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดสูงที่สุดคือ เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ 4 นาที อุณหภูมิเครื่องไมโครเวฟ 85 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในกระบวนการสกัด 2 ชั่วโมง โดยจะได้ปริมาณของเบต้ากลูแคนในสารสกัดประมาณร้อยละ 15.36

1.) การวิเคราะห์แบบจำลองการถดถอยที่เหมาะสมกับผลตอบสนอง

เมื่อพิจารณาแบบจำลองการถดถอยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ 4.11 พบว่า ค่า P-value มีค่าเท่ากับ 0.0035 (P-value < 0.05) แสดงให้เห็นว่า ในการทดลองนี้มีปัจจัยอย่างน้อยหนึ่งตัวที่มีความสัมพันธ์กับผลตอบสนองของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด ดังสมมติฐานที่ได้ตั้งไว้ คือ H_1: มีความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษากับผลตอบสนองของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด

จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าปัจจัยที่ศึกษามีผลต่อปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครงอย่างมีนัยสำคัญ และสมการกำลังสองที่ได้จากผลการทดลองมีระดับความเชื่อมั่นที่สูง

ตารางที่ 4.11 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ของแบบจำลองการถดถอยของผลตอบสนอง

Source	SS	df	MS	F-value	p-value	
Model	52.82	9	5.87	9.56	0.0035	significant
Residual	4.3	7	0.61			
Lack of Fit	4.24	3	1.41	94.39	0.0004	significant
Pure Error	0.06	4	0.015			
Cor Total	57.12	16				

นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยสมการในแบบต่างๆ เมื่อพิจารณาผลทางสถิติของแบบจำลองการถดถอยแบบต่างดังแสดงในตารางที่ 4.12 พบว่าแบบจำลอง Cubic มีค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ (R^2) สูงที่สุดที่ 0.999 และมีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) ต่ำที่สุดที่ 0.12 แต่เนื่องจากแบบจำลอง Cubic มีความเป็นคู่แฝดแฝง (Aliased) ซึ่งหมายความว่าการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken ไม่เพียงพอที่จะสร้างแบบจำลอง Cubic จึงไม่ถูกนำมาร่วมพิจารณา (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013)

จากตารางที่ 4.12 เมื่อไม่พิจารณาแบบจำลอง Cubic พบว่า แบบจำลอง Quadratic มีความเหมาะสมมากที่สุด เนื่องจากเป็นแบบจำลองการถดถอยที่มีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) ต่ำที่สุดที่ 0.78 ค่า PRESS ต่ำสุดที่ 67.92 และยังมีค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ (R^2) สูงที่สุดเท่ากับ 0.9247 อีกด้วย แบบจำลองการถดถอย Quadratic equation จึงมีความเหมาะสมกับงานวิจัยนี้

ตารางที่ 4.12 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ของแบบจำลองการถดถอยแบบต่างๆ

Source	**Std. Dev.**	**R^2**	**Adjusted-R^2**	**PRESS**	
Linear	1.85	0.2182	0.0378	72.00	
2FI	2.06	0.2539	-0.1937	129.64	
Quadratic	0.78	0.9247	0.8280	67.92	Suggested
Cubic	0.12	0.9990	0.9958	+	Aliased

เมื่อเลือกแบบจำลอง Quadratic เป็นแบบจำลองการถดถอยของการทดลองที่เหมาะสมที่สุดแล้ว สามารถศึกษาว่าปัจจัยใดที่มีความสัมพันธ์กับผลตอบสนองของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสามารถตัดปัจจัยที่ไม่มีความสัมพันธ์กับแบบจำลองการถดถอยนี้ด้วยการพิจารณาค่า P-value ตามสมมติฐานที่ได้ตั้งไว้ (P-value < 0.05)

ประมาณค่าสัมประสิทธิ์ของปัจจัยต่างๆที่ศึกษาเพื่อทดสอบค่านัยสำคัญต่อปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.13

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.13 ค่าการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของตัวแปรในแบบจำลองการถดถอย

Source	SS	df	MS	F-value	p-value
X_1	1.68	1	1.68	2.74	0.142
X_2	10.37	1	10.37	16.88	0.0045
X_3	0.42	1	0.42	0.68	0.4379
X_1X_2	0.29	1	0.29	0.47	0.5154
X_1X_3	1.49	1	1.49	2.43	0.1627
X_2X_3	0.26	1	0.26	0.42	0.537
X_1^2	0.84	1	0.84	1.37	0.2801
X_2^2	14.15	1	14.15	23.04	0.002
X_3^2	20.38	1	20.38	33.18	0.0007

* หมายเหตุ X_1= เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ X_2= อุณหภูมิไมโครเวฟ X_3= เวลาที่ใช้ในการสกัด

เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4.13 พบว่าตัวแปรอิสระที่มีผลต่อปริมาณเบต้ากลูแคนอย่างมีนัยสำคัญได้แก่ พจน์อุณหภูมิของไมโครเวฟ (X_2) ซึ่งมีค่า P-value เท่ากับ 0.0045 พจน์กำลังสองของอุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2^2) มีค่า P-value เท่ากับ 0.002 และพจน์กำลังสองของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3^2) มีค่า P-value เท่ากับ 0.0007 เนื่องจากทั้งสามพจน์นี้เป็นพจน์ที่มีค่านัยสำคัญน้อยกว่า 0.05

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จากผลการศึกษาดังกล่าว ทำให้ได้สมการที่สามารถใช้ทำนายปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดดังสมการที่ 4.1 ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9247

$$Y = -105.33 - 0.09X_1 + 2.83X_2 + 9.10X_3 + 0.03X_1X_2 + 0.61X_1X_3 - 0.02X_2X_3 - 0.45{X_1}^2 - 0.02{X_2}^2 - 2.20{X_3}^2 \quad \text{(สมการที่ 4.1)}$$

จากค่าสัมประสิทธิ์ในสมการที่ 4.1 หากพจน์ใดมีสัมประสิทธิ์เป็นบวกแสดงว่ามีอิทธิพลทางบวกต่อปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครง ในที่นี้คือพจน์อุณหภูมิของไมโครเวฟ (X_2) ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3) พจน์ร่วมของเวลาที่ใช้ไมโครเวฟกับอุณหภูมิไมโครเวฟ (X_1X_2) พจน์ร่วมของเวลาที่ใช้ไมโครเวฟกับระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_1X_3) หากเพิ่มค่าของตัวแปรอิสระดังกล่าว ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดก็จะมีค่าเพิ่มมากขึ้น

แบบจำลองการถดถอยแบบ Quadratic สามารถนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.14

ตารางที่ 4.14 ผลทางสถิติของแบบจำลองการ Quadratic และสมการถดถอยสำหรับปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด

Std. Dev.	0.78	**R^2**	0.9247
Mean	12.97	**Adj-R^2**	0.8280
C.V. %	6.04	**Pred- R^2**	-0.1890
PRESS	67.92	**Adeq Precision**	9.406

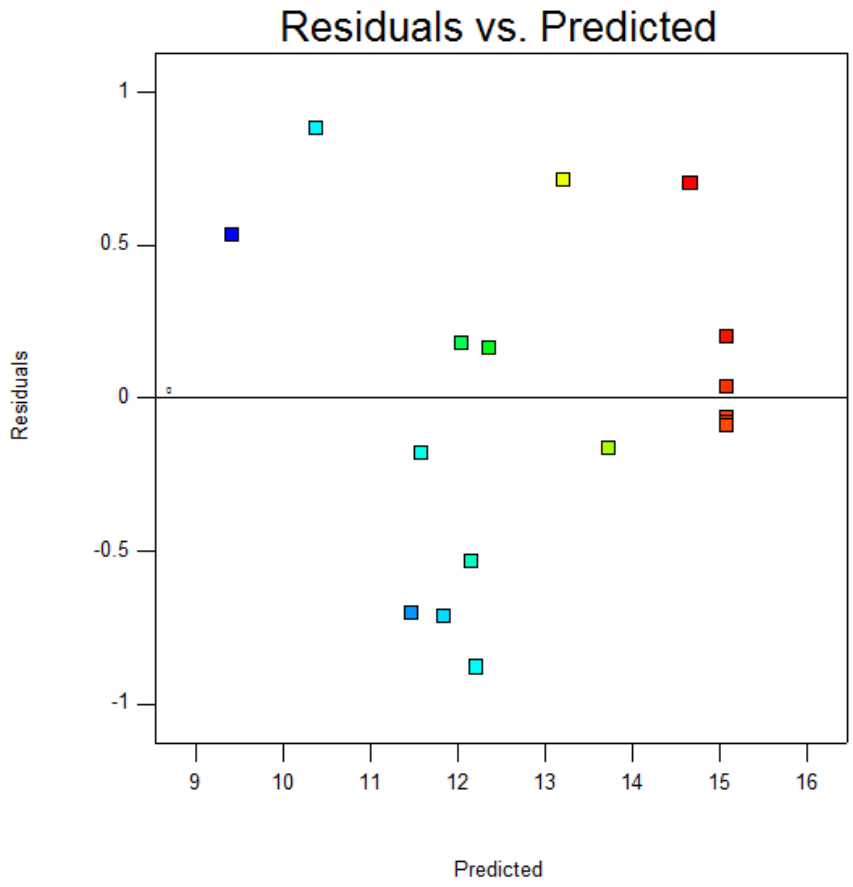
พิจารณาจากตารางที่ 4.14 ซึ่งเป็นผลทางสถิติของแบบจำลอง Quadratic พบว่า ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 0.78 ซึ่งมีค่าต่ำเมื่อเทียบกับมาตรฐาน ค่า PRESS มีค่าเท่ากับ 67.92 ซึ่งต่ำกว่าค่า PRESS ของแบบจำลองอื่นๆ แบบจำลองนี้จึงมีความเหมาะสมมากที่สุด ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) มีค่าเท่ากับ 0.9247 แสดงให้เห็นว่า ปัจจัยที่ทำการศึกษาสามารถอธิบายผลตอบสนองได้ร้อยละ 92.47 ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยที่ผ่านการปรับแก้แล้ว (Adjusted-R^2) มีค่าเท่ากับ 0.8280 แสดงให้เห็นว่า หากนำสมการนี้ไปใช้อ้างอิงกับกลุ่มอื่น จะทำให้ค่าอำนาจการจำแนกลดลงร้อยละ 82.80 ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยจากการทำนาย (Predicted-R^2) มีค่า -0.1890 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สัดส่วนของปัจจัยที่ศึกษามีส่วนในการอธิบายความแปรผันทั้งหมดของผลตอบสนองที่ได้จากการทำนาย และค่า Adequate-precision มีค่าเท่ากับ 9.406 ซึ่งทำให้เห็นว่า แบบจำลองการถดถอยที่ถูกเลือกมาเป็นที่ยอมรับได้ เนื่องจากมีค่ามากกว่า 4 อ้างอิงจากงานวิจัยของ ศกลธน ราโชกาญจน์ (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การตรวจสอบว่าแบบจำลองการถดถอยที่เลือกนั้นมีความเหมาะสมกับชุดข้อมูลหรือไม่ สามารถพิจารณาร่วมกับ การตรวจสอบส่วนตกค้างหรือที่เรียกว่า Residual analysis ซึ่งการตรวจสอบส่วนตกค้างนี้สามารถดำเนินการได้ 2 วิธี ดังนี้

1. วิธี Residual plots

เป็นการตรวจสอบคุณสมบัติของแบบจำลองการถดถอยอย่างง่าย โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างกับค่าประมาณบนเส้นถดถอย (Predicted) ซึ่งในการทดลองนี้สามารถสร้างความสัมพันธ์ของส่วนตกค้างกับค่าประมาณได้ดังแสดงในรูปที่ 4.8

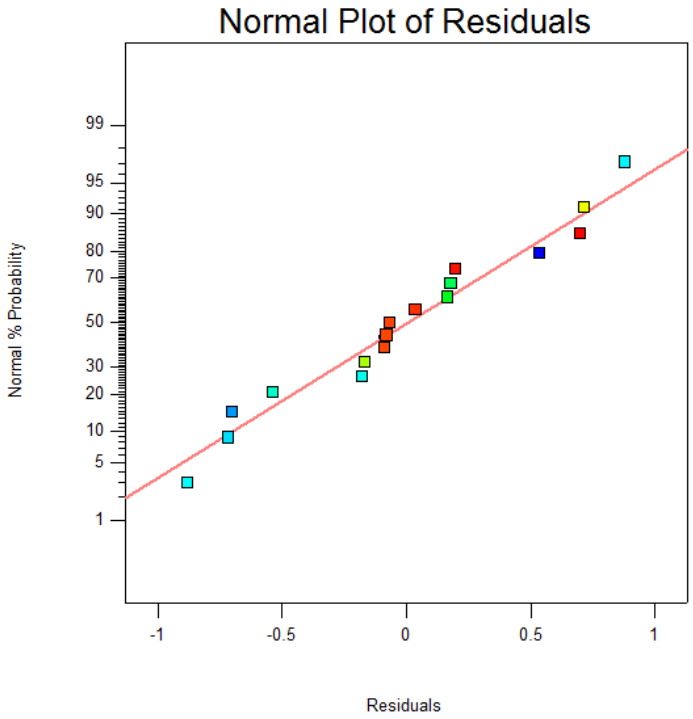


รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างกับค่าประมาณบนเส้นถดถอยของปริมาณเบต้ากลูแคน

พิจารณาจากรูปที่ 4.8 จะพบว่าส่วนตกค้างอยู่ภายในแถบแนวนอน (Horizontal band) และจากภาพมีการกระจายอยู่ไม่เกินเส้นขีดจำกัด ±3 แสดงให้เห็นว่ารูปแบบการถดถอยที่สร้างขึ้นมาจากการทดลองนั้นมีความเหมาะสม (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013)

2. วิธี Normal probability plots

เป็นการสร้างความสัมพันธ์เพื่อตรวจสอบความเหมาะสมของรูปแบบการถดถอย โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างที่เรียงลำดับคู่กับค่าคาดหวัง (Expected value) โดยข้อมูลจากการทดลองนี้สามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างกับความค่าคาดหวังได้ดังแสดงในรูปที่ 4.9



Chulalongkorn University

รูปที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างที่เรียงลำดับคู่กับค่าคาดหวังของปริมาณเบต้ากลูแคน

เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.9 จะพบว่าแผนภาพการกระจายเข้าใกล้กับเส้นแบบจำลองถดถอย แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองถดถอยที่เลือกใช้นั้นเหมาะสมกับข้อมูล (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013)

2.) การวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนองของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด

จากผลการทดลองสกัดผงเห็ดแครงโดยใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนกระบวนการสกัด ได้ผลการทดลองที่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยโปรกรม Design expert โดยใช้แบบจำลองการถดถอย Quadratic

เพื่อแสดงการวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติและโครงร่างพื้นผิว แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดกับตัวแปรเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) อุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2) และเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3)

จากรูปที่ 4.10 และรูปที่ 4.11 เมื่อพิจารณาอิทธิพลของเวลาที่ใช้ไมโครเวฟ พบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัด แต่แนวโน้มการเพิ่มขึ้นไม่ได้มีนัยสำคัญมากนักหลังจากผ่านเวลา 3 นาที แสดงให้เห็นว่าผนังเซลล์ซึ่งเป็นที่อยู่ของเบต้ากลูแคนมีการเสื่อมของโครงสร้างเมื่อใช้คลื่นไมโครเวฟในช่วงเวลาประมาณ 3 นาที ซึ่งทำให้เบต้ากลูแคนและสารสำคัญต่างๆซึ่งอยู่ภายในเซลล์ละลายเข้าสู่ตัวทำละลายได้อย่างมีประสิทธิภาพ

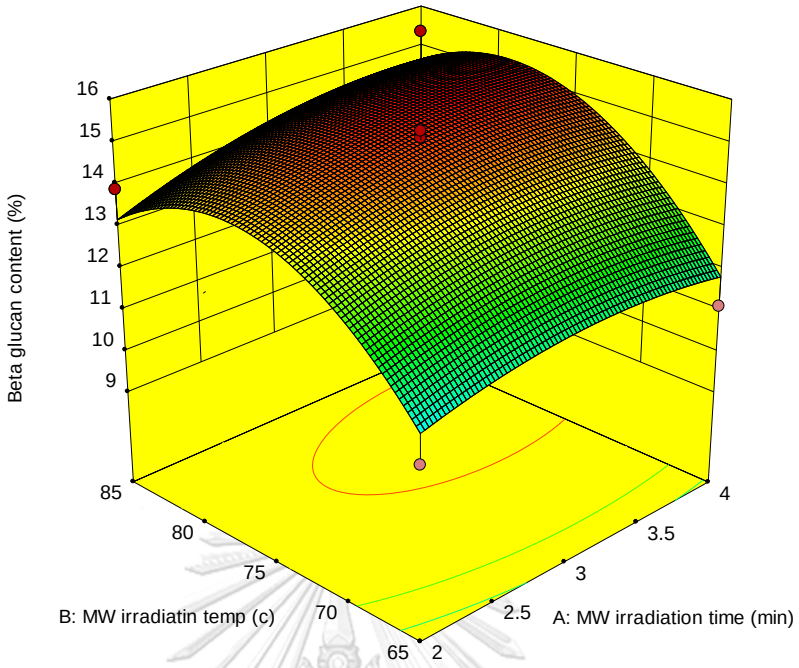
เมื่อพิจารณาอิทธิพลของปัจจัยด้านอุณหภูมิของไมโครเวฟ พบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดมีค่าสูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิของไมโครเวฟเพิ่มมากขึ้น จนเมื่อถึงอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดถึงมีแนวโน้มลดลง การทดลองนี้มีผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Leandro และคณะ ในปี 2012 ซึ่งพบว่าปรากฏการณ์ดังกล่าวเป็นผลมาจากการใช้คลื่นไมโครเวฟที่อุณหภูมิสูง โดยความร้อนจะส่งผลต่อความเข้มข้นของเบต้ากลูแคนในสารสกัดที่อุณหภูมิประมาณ 75 องศาเซลเซียส (Oliveira et al., 2012)

พิจารณารูปที่ 4.11ซึ่งเป็นรูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติและโครงร่างพื้นผิวแสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร เวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) กับ ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3) พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดจะมีค่าเพิ่มขึ้น จนเมื่อถึงระยะเวลาการสกัดประมาณ 2 ชั่วโมง ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดจึงมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยยะสำคัญ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Xu Sun และคณะ ในปี 2010 ที่ได้ทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดราชนิด Chroogomphis rutilus ด้วยอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส พบว่าเวลาที่เหมาะสมจะใช้ในการสกัดมากที่สุดคือช่วงเวลาประมาณ 2.5 ชั่วโมง และเมื่อใช้เวลาในการสกัดนานมากกว่านั้น ความเข้มข้นของโพลีแซคคาไรด์ในสารสกัดจะลดลง เนื่องจากการสกัดด้วยอุณหภูมิที่สูงและระยะเวลาที่นานอาจจะทำให้เกิดการไฮโดรไลซิสของโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งส่งผลให้มีปริมาณลดลงได้ (Yong et al., 2010) อีกทั้งการทดลองในส่วนนี้ยังสอดคล้องกับผลการทดลองก่อนหน้าที่ศึกษาการสกัดด้วยการออกแบบการทดลอง Factorial ที่แสดงให้เห็นว่าระยะเวลา 2 ชั่วโมง เป็นสภาวะที่ให้ปริมาณเบต้ากลูแคนมากที่สุดในเกือบทุกๆอุณหภูมิการสกัด จึงสรุปได้ว่าการสกัดโดย

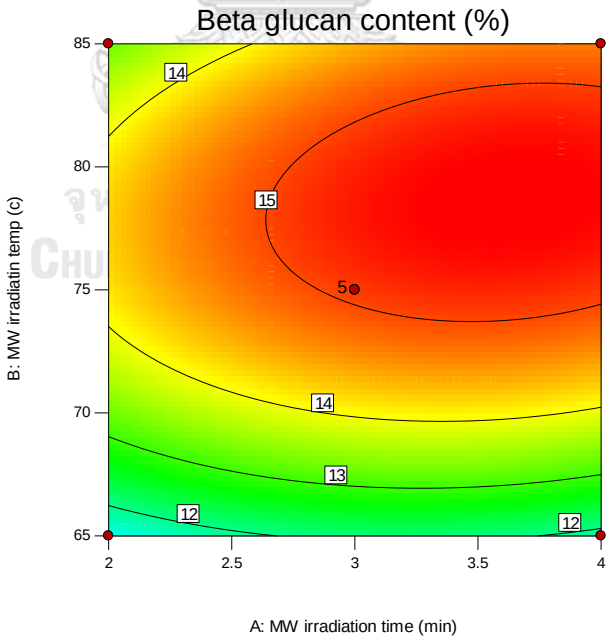
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ใช้ระยะเวลา 2 ชั่วโมงเพียงพอที่ระบบจะเข้าสู่สมดุลและสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

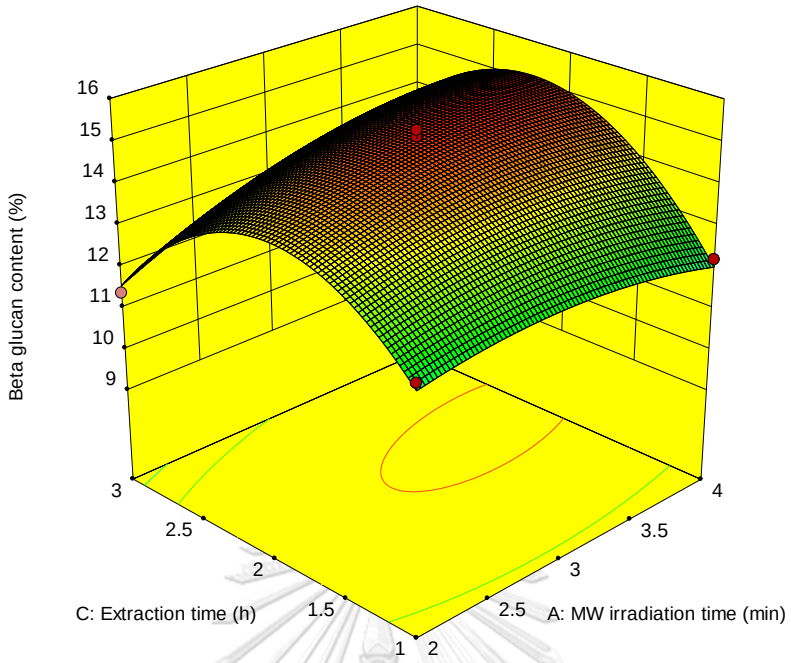


(ก)

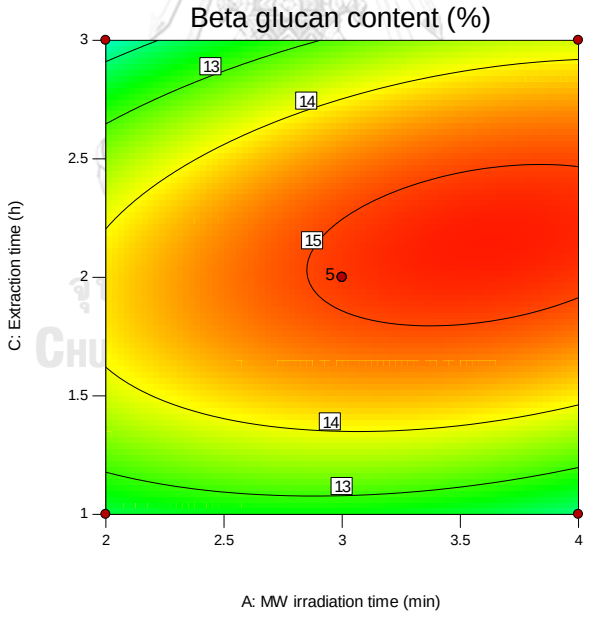


(ข)

รูปที่ 4.10 รูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติ (ก) และโครงร่างพื้นผิว (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ตัวแปรเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) อุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2) กับปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด

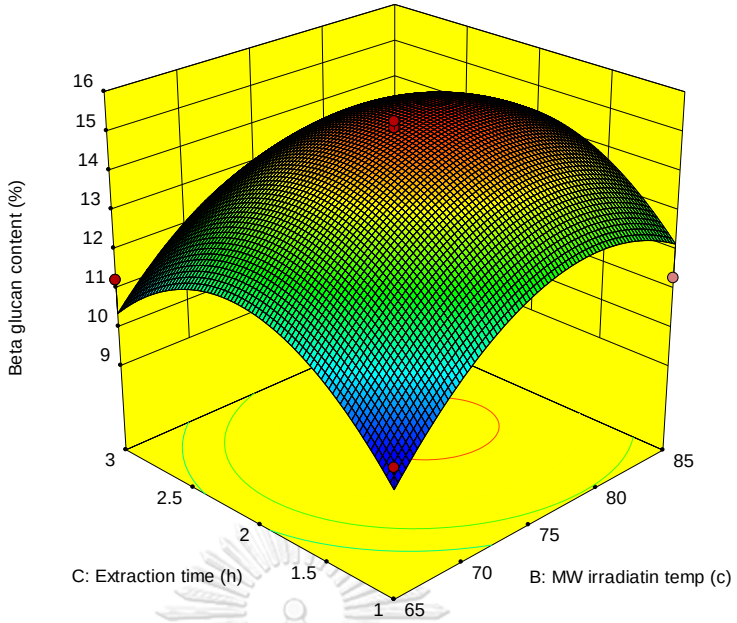


(ก)

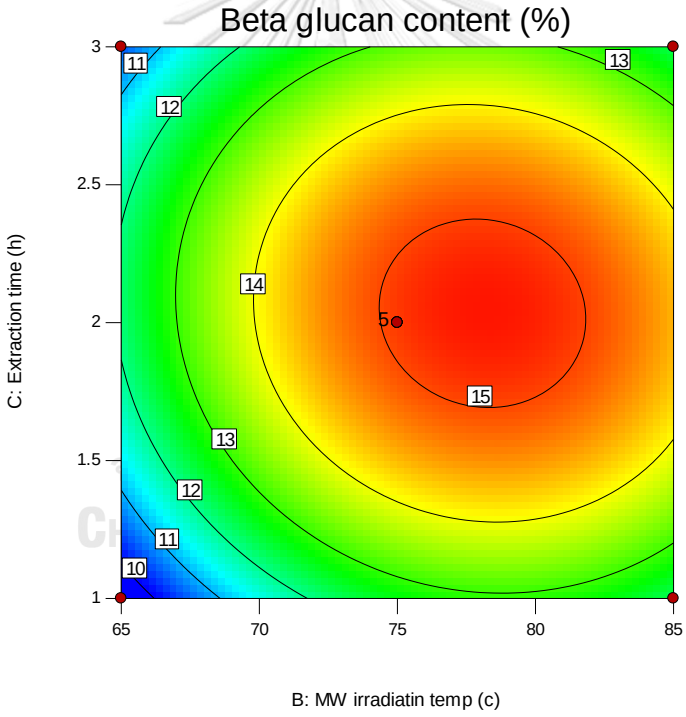


(ข)

รูปที่ 4.11 รูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติ (ก) และโครงร่างพื้นผิว (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ตัวแปรเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) และ ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3) กับปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.12 รูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติ (ก) และโครงร่างพื้นผิว (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง อุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2) และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3) กับปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด

3.) การวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสม (Optimum condition) ในการสกัดผงเห็ดแครง

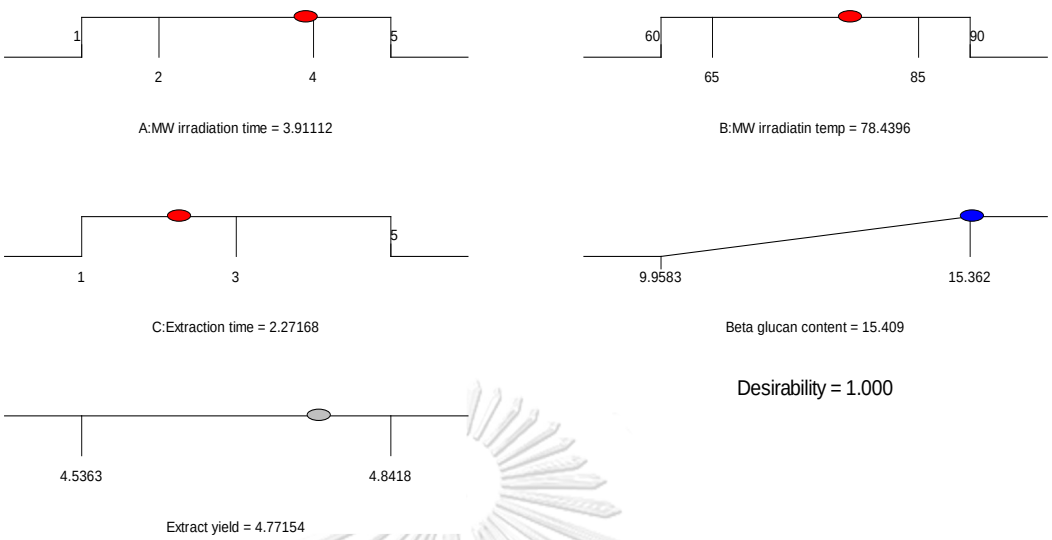
จากการทดลอง สามารถนำสมการการถดถอยที่ถูกสร้างด้วยแบบจำลอง Quadratic และพื้นผิวตอบสนองซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดกับปัจจัยต่างๆ มาคำนวณเพื่อวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมในการสกัด โดยศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมอันได้แก่ เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ อุณหภูมิไมโครเวฟ และเวลาที่ใช้ในการสกัด

การวิเคราะห์แบบจำลองการถดถอยนี้สามารถดำเนินการได้โดยใช้โปรแกรม Design Expert โดยกำหนดเป้าหมายในการคำนวณคือปริมาณเบต้ากลูแคนที่มีค่าสูงที่สุด การวิเคราะห์ถูกดำเนินการโดยทดสอบสมการถดถอยออกมาทั้งสิ้น 100 ตัวอย่าง และสามารถวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเบต้ากลูแคนจากผงเห็ดแครงให้ได้ปริมาณมากที่สุดได้ดังแสดงใน ตารางที่ 4.15 และ รูปที่ 4.13

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนสูงที่สุดจะประกอบไปด้วย เวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ 3.9 นาที อุณหภูมิไมโครเวฟ 78.4 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2.2 ชั่วโมง ซึ่งการสกัดด้วยสภาวะนี้จะทำให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดสูงสุดเท่ากับร้อยละ 15.41

ตารางที่ 4.15 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครงให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดที่มีค่ามากที่สุด

X_1	X_2	X_3	Beta glucan content	Extract yield	Desirability	
3.911	78.440	2.272	15.409	4.772	1.000	Selected



รูปที่ 4.13 Ramp ของสภาวะในการสกัดที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยในการสกัดให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนที่มากที่สุด

4.3.2.2 น้ำหนักของสารสกัด

ออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนองหรือ Response surface methodology (RSM) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเบต้ากลูแคนจากเห็ดแครงโดยใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัด ศึกษาตัวแปร 3 ตัวแปร ได้แก่ เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ อุณหภูมิไมโครเวฟ เวลาที่ใช้ในการสกัด โดยปรับเปลี่ยนตัวแปร 3 ระดับ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ทดลองสกัดผงเห็ดแครงด้วยน้ำโดยมีตัวแปรควบคุมได้แก่ สัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:10 และอุณหภูมิในการสกัด 75 องศาเซลเซียส กรองสารสกัดที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นจึงระเหยแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ได้น้ำหนักของสารสกัดที่จากสภาวะการสกัดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.16

ตารางที่ 4.16 การออกแบบการทดลองแบบ Box-behnken และน้ำหนักผลได้ของสารสกัดเห็ดแครง

หมายเลข	เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ (นาที) X1	อุณหภูมิไมโครเวฟ (°c) X2	เวลาที่ใช้ในการสกัด (ชั่วโมง) X3	น้ำหนักผลได้ของสารสกัด (กรัม)
1	-1	-1	0	4.6771
2	1	-1	0	4.7381
3	-1	1	0	4.7499
4	1	1	0	4.7707
5	-1	0	-1	4.6322
6	1	0	-1	4.5363
7	-1	0	1	4.7315
8	1	0	1	4.7564
9	0	-1	-1	4.7233
10	0	1	-1	4.7703
11	0	-1	1	4.6899
12	0	1	1	4.8096
13	0	0	0	4.7994
14	0	0	0	4.8154
15	0	0	0	4.8083
16	0	0	0	4.8418
17	0	0	0	4.8098

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เมื่อพิจารณาผลที่ได้จากตารางที่ 4.16 พบว่าสภาวะที่ทำให้ได้ปริมาณสารสกัดต่ำที่สุดคือการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดเป็นเวลา 4 นาที อุณหภูมิของไมโครเวฟ 75 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด 1 ชั่วโมง โดยจะได้สารสกัดปริมาณ 4.5363 กรัม ส่วนสภาวะการสกัดที่ทำให้ได้น้ำหนักของสารสกัดสูงที่สุดคือการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดเป็นเวลา 3 นาที อุณหภูมิของไมโครเวฟ 75 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัดคือ 2 ชั่วโมง โดยจะได้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุดคือ 4.8418 กรัม

1.) การวิเคราะห์แบบจำลองการถดถอยที่เหมาะสมกับผลตอบสนอง

เมื่อพิจารณาแบบจำลองการถดถอยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ 4.17 พบว่า ค่า P-value มีค่าเท่ากับ 0.0499 (P-value < 0.05) แสดงให้เห็นว่า ในการทดลองนี้มีปัจจัยอย่างน้อยหนึ่งตัวที่มีความสัมพันธ์กับผลตอบสนองของปริมาณสารสกัด ดังสมมติฐานที่ได้ตั้งไว้ คือ H_1: มีความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษากับผลตอบสนองของปริมาณสารสกัด

จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าปัจจัยที่ศึกษามีผลต่อปริมาณสารสกัดเห็ดแครงอย่างมีนัยสำคัญ และสมการกำลังสองที่ได้จากผลการทดลองมีระดับความเชื่อมั่นที่สูง

ตารางที่ 4.17 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ของการวิเคราะห์การถดถอยของผลตอบสนอง

Source	SS	df	MS	F-value	p-value	
Model	0.079	9	0.008782	3.68	0.0499	significant
Residual	0.017	7	0.002387			
Lack of Fit	0.016	3	0.005224	20.22	0.007	significant
Pure Error	0.001034	4	0.0002584			
Cor Total	0.096	16				

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยการจำลองแบบต่างๆ เมื่อพิจารณาผลทางสถิติของแบบจำลองการถดถอยแบบดังแสดงในตารางที่ 4.18 พบว่าแบบจำลอง Cubic มีค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ (R^2) สูงที่สุดที่ 0.9892 และมีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) ต่ำที่สุดที่ 0.016 แต่เนื่องจากแบบจำลอง Cubic มีความเป็นคู่แฝดแฝง (Aliased) ซึ่งหมายความว่า การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken ไม่เพียงพอที่จะสร้างแบบจำลอง Cubic จึงไม่ถูกนำมาร่วมพิจารณา (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013)

จากตารางที่ 4.18 เมื่อไม่พิจารณาแบบจำลอง Cubic พบว่า แบบจำลอง Quadratic เป็นแบบจำลองที่มีความเหมาะสมมากที่สุด เนื่องจากเป็นแบบจำลองการถดถอยซึ่งมีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) ต่ำที่สุดที่ 0.049 ค่า PRESS ต่ำสุดที่ 0.25 และยังมีค่าสัมประสิทธิ์

แสดงการตัดสินใจ (R^2) สูงที่สุดเท่ากับ 0.8255 อีกด้วย ดังนั้นแบบจำลองการถดถอยแบบ Quadratic จึงมีความเหมาะสมกับงานวิจัยนี้

ตารางที่ 4.18 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ของแบบจำลองการถดถอยแบบต่างๆ

Source	Std. Dev.	R^2	Adjusted- R^2	Predicted- R^2	PRESS	
Linear	0.075	0.2350	0.0584	-0.3426	0.13	
2FI	0.082	0.2911	-0.1343	-1.5662	0.25	
Quadratic	0.049	0.8255	0.6011	-1.6361	0.25	Suggested
Cubic	0.016	0.9892	0.9568		+	Aliased

เมื่อเลือกแบบจำลอง Quadratic เป็นแบบจำลองการถดถอยของการทดลองที่เหมาะสมที่สุดแล้ว ได้ทำการศึกษาว่าปัจจัยใดที่มีความสัมพันธ์กับผลตอบสนองของน้ำหนักสารสกัด ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสามารถตัดปัจจัยที่ไม่มีความสัมพันธ์กับแบบจำลองการถดถอยนี้ ด้วยการพิจารณาค่า P-value ตามสมมติฐานที่ได้ตั้งไว้ (P-value < 0.05)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากแบบจำลอง Quadratic สามารถประมาณค่าสัมประสิทธิ์ของปัจจัยต่างๆที่ศึกษาเพื่อทดสอบค่านัยสำคัญต่อน้ำหนักสารสกัดเห็ดแครง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.19

ตารางที่ 4.19 ค่าการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของตัวแปรในแบบจำลองการถดถอย

Source	SS	df	MS	F-value	p-value
X1	0.00001458	1	0.00001458	0.006109	0.9399
X2	0.009255	1	0.009255	3.88	0.0896
X3	0.013	1	0.013	5.54	0.0508
X_1X_2	0.000404	1	0.000404	0.17	0.6931
X_1X_3	0.003648	1	0.003648	1.53	0.2562
X_2X_3	0.001321	1	0.001321	0.55	0.4811
X_1^2	0.029	1	0.029	12.03	0.0104
X_2^2	0.00001068	1	0.00001068	0.004474	0.9485
X_3^2	0.02	1	0.02	8.22	0.0241

ตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อน้ำหนักของสารสกัดเห็ดแครงสามารถระบุได้จากค่านัยสำคัญของการทดสอบ (p-value) ที่น้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ หรือ 0.05

เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4.19 พบว่าตัวแปรอิสระที่มีผลต่อน้ำหนักของสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญประกอบไปด้วย พจน์กำลังสองของเวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ (X_1^2) และพจน์กำลังสองของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3^2) เนื่องจากเป็นพจน์ที่มีค่านัยสำคัญน้อยกว่า 0.05

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จากการศึกษาทำให้ได้รูปแบบสมการถดถอยที่เหมาะสมดังสมการที่ 4.2 ซึ่งสมการการถดถอยนี้มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.8255

$$Y = 3.78+0.51X_1 + (3.92 \times 10^{-4})X_2 + 0.09X_3 - (1 \times 10^{-3})X_1X_2 + 0.03X_1X_3 + (1.81 \times 10^{-3})X_2X_3 - 0.08{X_1}^2 + (1.59 \times 10^{-5}){X_2}^2 - 0.06{X_3}^2 \quad \text{(สมการที่ 4.2)}$$

จากค่าสัมประสิทธิ์ในสมการที่ 4.2 พจน์ใดมีสัมประสิทธิ์เป็นบวกแสดงว่ามีอิทธิพลทางบวกต่อปริมาณสารสกัดเห็ดแครง ในที่นี้คือพจน์ เวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) อุณหภูมิของไมโครเวฟ (X_2) ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3) พจน์ร่วมของเวลาที่ใช้ไมโครเวฟกับระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_1X_3)

พจน์ร่วมของอุณหภูมิไมโครเวฟกับระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_2X_3) และพจน์กำลังสองของอุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2^2) หากเพิ่มค่าของตัวแปรอิสระดังกล่าว ปริมาณสารสกัดที่ได้ก็จะมีค่าเพิ่มมากขึ้น

ซึ่งแบบจำลองการถดถอยแบบ Quadratic สามารถนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.20

ตารางที่ 4.20 ผลทางสถิติของแบบจำลองการ Quadratic และสมการถดถอยสำหรับปริมาณสารสกัด

Std. Dev.	0.049	**R^2**	0.8255
Mean	4.74	**Adj-R^2**	0.6011
C.V. %	1.03	**Pred- R^2**	-1.6361
PRESS	0.25	**Adeq. Precision**	6.580

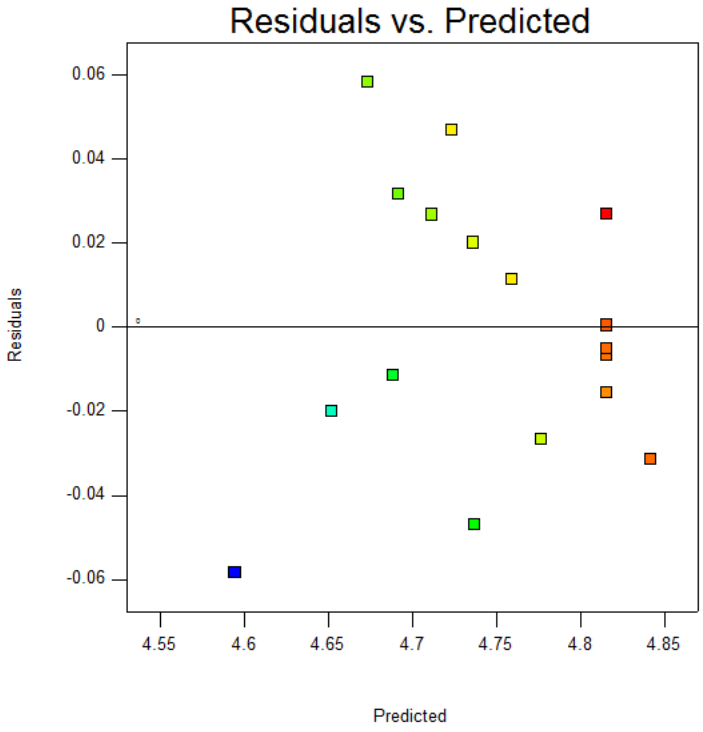
พิจารณาจากตารางที่ 4.20 ซึ่งเป็นผลทางสถิติของแบบจำลอง Quadratic พบว่าค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของแบบจำลองมีค่าเท่ากับ 0.049 ซึ่งมีค่าต่ำเมื่อเทียบกับมาตรฐาน ค่า PRESS มีค่าเท่ากับ 0.25 ซึ่งต่ำกว่าค่า PRESS ของแบบจำลองอื่นๆ แบบจำลองนี้จึงมีความเหมาะสมมากที่สุด ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจของแบบจำลอง (R^2) มีค่าเท่ากับ 0.8255 แสดงให้เห็นว่า ปัจจัยที่ทำการศึกษาสามารถอธิบายผลตอบสนองได้ร้อยละ 82.55 ส่วนค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยที่ผ่านการปรับแก้แล้ว (Adjusted-R^2) มีค่าเท่ากับ 0.6011 แสดงให้เห็นว่า หากนำสมการนี้ไปใช้อ้างอิงกับกลุ่มอื่น จะทำให้ค่าอำนาจการจำแนกลดลงร้อยละ 60.11 ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยจากการทำนาย (Predicted-R^2) มีค่า -1.6361 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สัดส่วนของปัจจัยที่ศึกษามีส่วนในการอธิบายความแปรผันทั้งหมดของผลตอบสนองที่ได้จากการทำนาย และค่า Adequate-precision มีค่าเท่ากับ 6.580 ซึ่งทำให้เห็นว่า แบบจำลองการถดถอยที่ถูกเลือกมาเป็นที่ยอมรับได้ เนื่องจากมีค่ามากกว่า 4 อ้างอิงจากงานวิจัยของ ศกลธน ราโชกาญจน์ (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การตรวจสอบว่าแบบจำลองการถดถอยที่ถูกเลือกนั้นมีความเหมาะสมกับชุดข้อมูลหรือไม่ สามารถพิจารณาร่วมกับ การตรวจสอบส่วนตกค้างหรือที่เรียกว่า Residual analysis ซึ่งการตรวจสอบส่วนตกค้างนี้สามารถดำเนินการได้ 2 วิธี ได้แก่

1. วิธี Residual plots

เป็นการตรวจสอบคุณสมบัติของแบบจำลองการถดถอยอย่างง่าย โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างกับค่าประมาณบนเส้นถดถอย (Predicted) ซึ่งในการทดลองนี้สามารถสร้างความสัมพันธ์ของส่วนตกค้างกับค่าประมาณได้ดังแสดงในรูปที่ 4.14

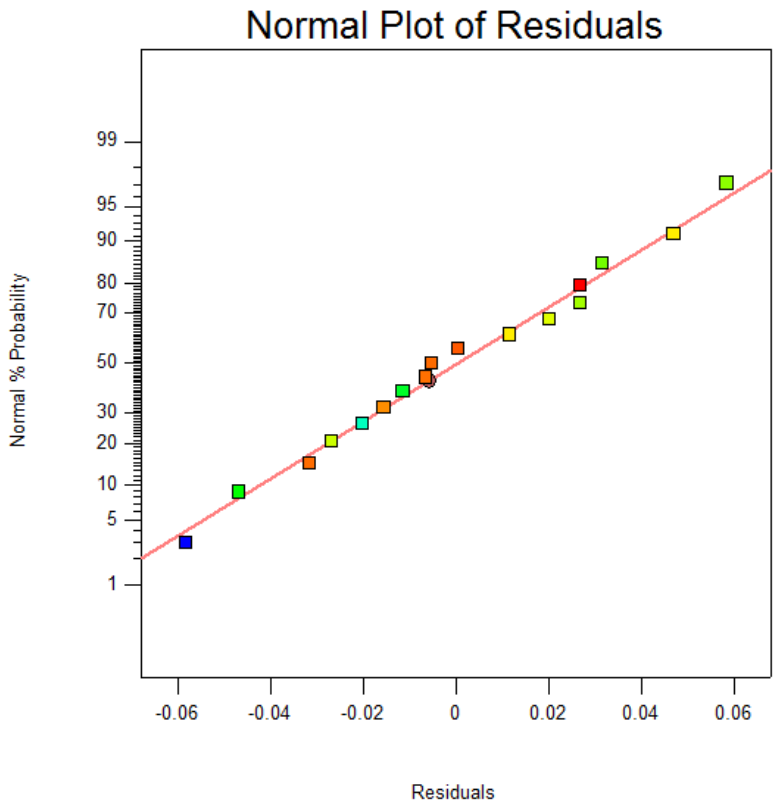


รูปที่ 4.14 ความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างกับค่าประมาณบนเส้นถดถอยของปริมาณสารสกัด

พิจารณาจากรูปที่ 4.14 จะพบว่าส่วนตกค้างอยู่ภายในแถบแนวนอน (Horizontal band) และมีการกระจายอยู่ไม่เกินเส้นขีดจำกัด ±3 แสดงให้เห็นว่ารูปแบบการถดถอยที่สร้างขึ้นมาจากการทดลองนั้นมีความเหมาะสม (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013)

2. วิธี Normal probability plots

เป็นการสร้างความสัมพันธ์เพื่อตรวจสอบความเหมาะสมของรูปแบบการถดถอย โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างที่เรียงลำดับคู่กับค่าคาดหวัง (Expected value) ข้อมูลจากการทดลองนี้สามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างกับความค่าคาดหวังได้ดังแสดงในรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างส่วนตกค้างที่เรียงลำดับคู่กับค่าคาดหวังของปริมาณเบต้ากลูแคน

เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.15 จะพบว่าแผนภาพการกระจายเข้าใกล้กับเส้นของแบบจำลองถดถอย แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองถดถอย Quadratic นั้นเหมาะสมกับข้อมูลการทดลองสกัดผงเห็ดแครง (ศกลธน ราโชกาญจน์, 2013)

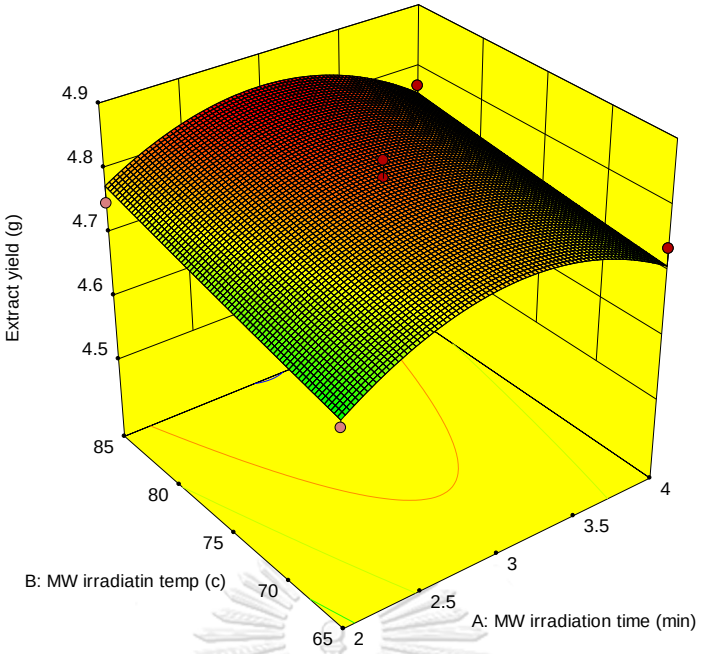
2.) การวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนองของน้ำหนักสารสกัด

จากผลการทดลองสกัดผงเห็ดแครงโดยใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนกระบวนการสกัด ได้ผลการทดลองที่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยโปรกรม Design expert โดยใช้แบบจำลองการถดถอย Quadratic เพื่อแสดงการวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติและโครงร่างพื้นผิว แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสกัดกับตัวแปรเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) อุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2) และเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3)

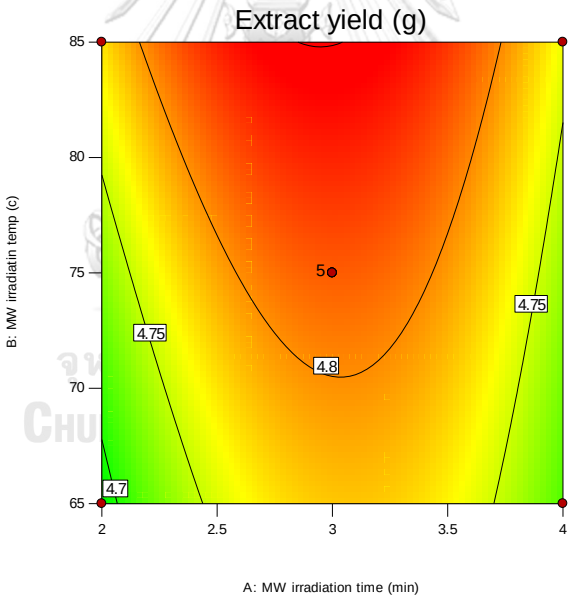
จากการวิเคราะห์ผลด้วยโปรกรม Design expert รูปที่ 4.16 แสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติและโครงร่างพื้นผิวของความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของสารสกัดกับตัวแปรเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) อุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2) เมื่อพิจารณาอิทธิพลของเวลาที่ใช้ไมโครเวฟ พบว่าน้ำหนักของสารสกัดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการใช้ไมโครเวฟก่อนการสกัด แต่มีจะมีแนวโน้มลดลงหลังจากเวลา 3 นาที สอดคล้องกับการทดลองของ Song และคณะ (Song et al., 2015)

เมื่อพิจารณาอิทธิพลของปัจจัยทางด้านอุณหภูมิของไมโครเวฟ พบว่าน้ำหนักของสารสกัดเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของไมโครเวฟและมีแนวโน้มใกล้เคียงกับความสัมพันธ์แบบเส้นตรง น้ำหนักผลได้ของสารสกัดมีปริมาณมากที่สุดเมื่ออุณหภูมิของไมโครเวฟสูงถึง 85 องศาเซลเซียส เนื่องมาจากผลของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นอย่างฉับพลันภายในเซลล์ของเห็ดแครงโดยคลื่นไมโครเวฟ ซึ่งส่งผลต่อโครงสร้างของผนังเซลล์รวมถึงคุณสมบัติการละลายและการเคลื่อนที่ของทั้งตัวทำละลายและตัวถูกละลาย ตามงานวิจัยของ Noelia และคณะ (Flórez et al., 2015)

พิจารณารูปที่ 4.17 ซึ่งเป็นรูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติและโครงร่างพื้นผิวแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสกัดกับตัวแปรเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3) พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด น้ำหนักของสารสกัดจะมีค่าเพิ่มขึ้น จนถึงระยะเวลาการสกัดที่ 2 ชั่วโมง น้ำหนักของสารสกัดจึงมีแนวโน้มลดลง จึงสรุปได้ว่าการสกัดเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมงเพียงพอที่ระบบจะเข้าสู่สมดุลและสามารถทำให้ได้ผลได้ของสารสกัดจากการสกัดเห็ดแครงมากที่สุด

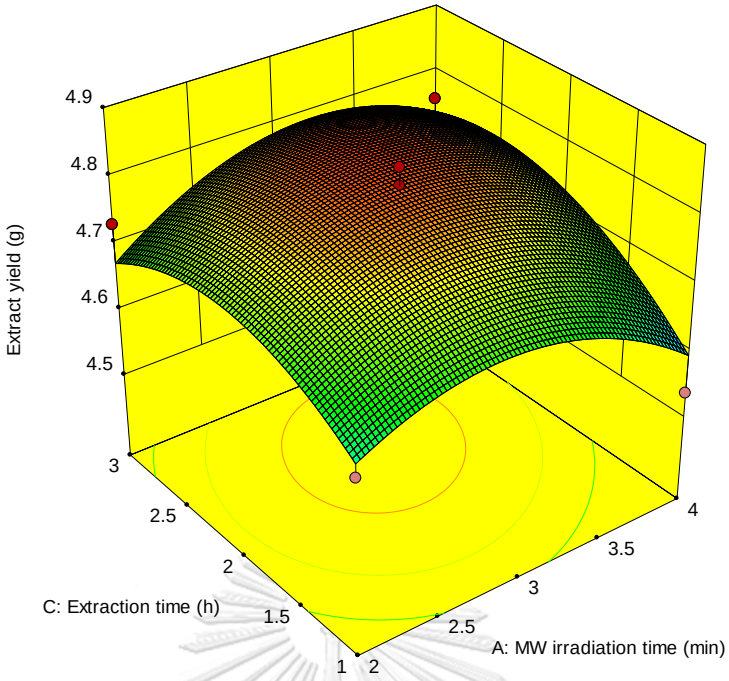


(ก)

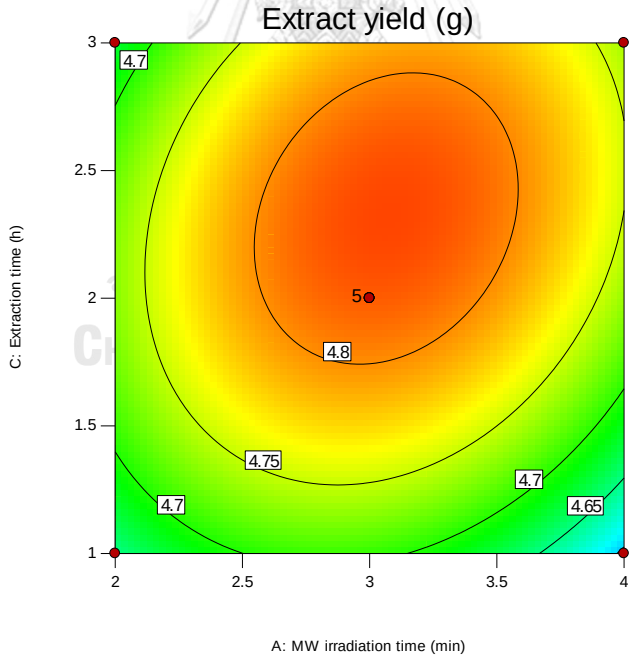


(ข)

รูปที่ 4.16 รูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติ (ก) และโครงร่างพื้นผิว (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ตัวแปรเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) อุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2) กับปริมาณสารสกัด

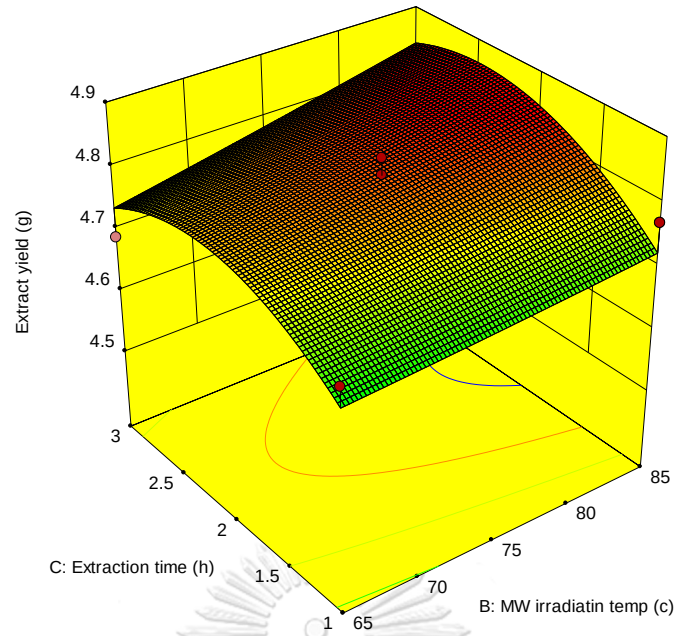


(ก)

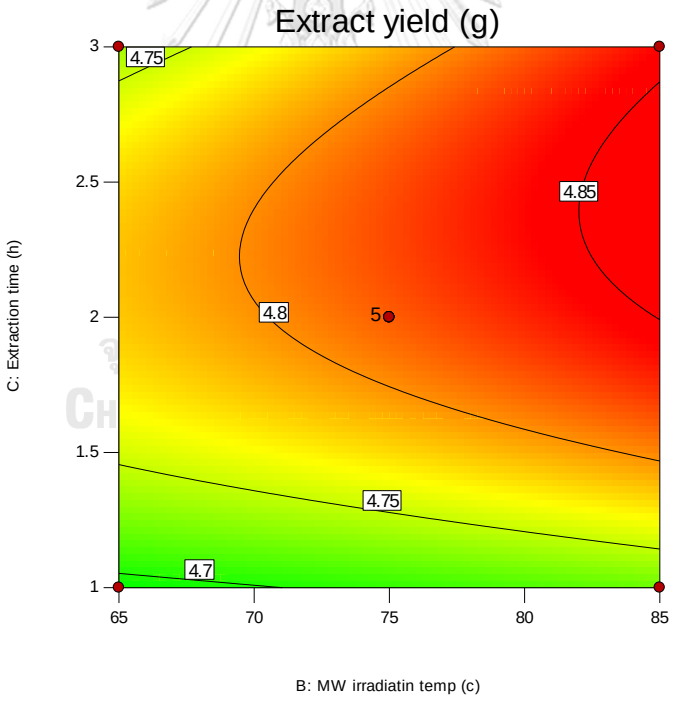


(ข)

รูปที่ 4.17 รูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติ (ก) และโครงร่างพื้นผิว (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ตัวแปรเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ (X_1) และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3) กับปริมาณสารสกัด



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.18 รูปแสดงพื้นผิวตอบสนองแบบ 3 มิติ (ก) และโครงร่างพื้นผิว (ข) ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอุณหภูมิไมโครเวฟ (X_2) ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (X_3) กับปริมาณสารสกัด

3.) การวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสม (Optimum condition) ในการสกัดผงเห็ดแครง

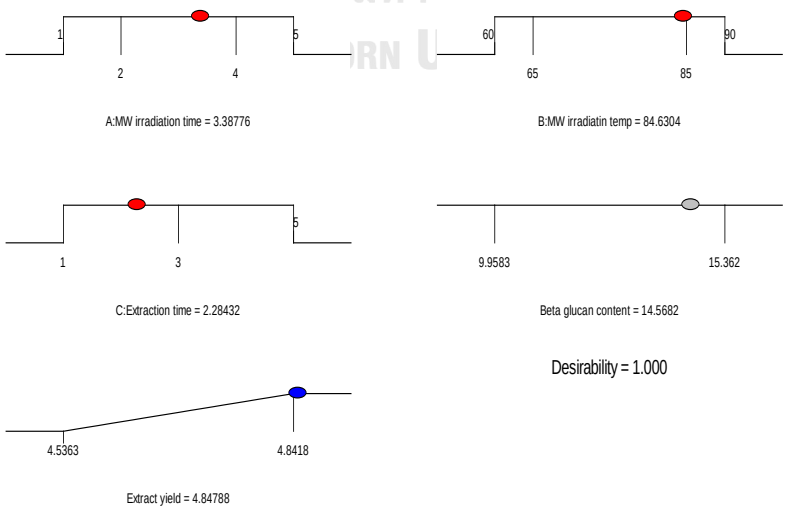
จากการทดลอง สามารถนำสมการการถดถอยที่ถูกสร้างด้วยแบบจำลอง Quadratic และพื้นผิวตอบสนองซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสกัดกับปัจจัยต่างๆ มาคำนวณเพื่อวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมในการสกัด โดยศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมอันได้แก่ เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ อุณหภูมิไมโครเวฟ และเวลาที่ใช้ในการสกัด

การวิเคราะห์แบบจำลองการถดถอยนี้สามารถดำเนินการได้โดยใช้โปรแกรม Design Expert โดยกำหนดเป้าหมายในการคำนวณคือน้ำหนักของสารสกัดที่มีค่าสูงที่สุด การวิเคราะห์ถูกดำเนินการโดยทดสอบสมการถดถอยออกมาทั้งสิ้น 100 ตัวอย่าง และสามารถวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครงได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.21 และ รูปที่ 4.19

สภาวะการสกัดที่เหมาะสมในการสกัดผงเห็ดแครงเพื่อให้ได้ปริมาณสารสกัดที่สูงที่สุด ประกอบด้วยเวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ 3.4 นาที อุณหภูมิไมโครเวฟ 84.6 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2.3 ชั่วโมง โดยการสกัดด้วยสภาวะนี้จะทำให้ได้น้ำหนักของสารสกัดสูงสุดที่ 4.85 กรัม

ตารางที่ 4.21 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครงให้ได้น้ำหนักสารสกัดที่มีค่ามากที่สุด

X_1	X_2	X_3	Beta glucan content	Extract yield	Desirability	
3.388	84.630	2.284	14.568	4.848	1.000	Selected



รูปที่ 4.19 Ramp ของสภาวะในการสกัดที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยในการสกัดให้ได้น้ำหนักของสารสกัดที่มากที่สุด

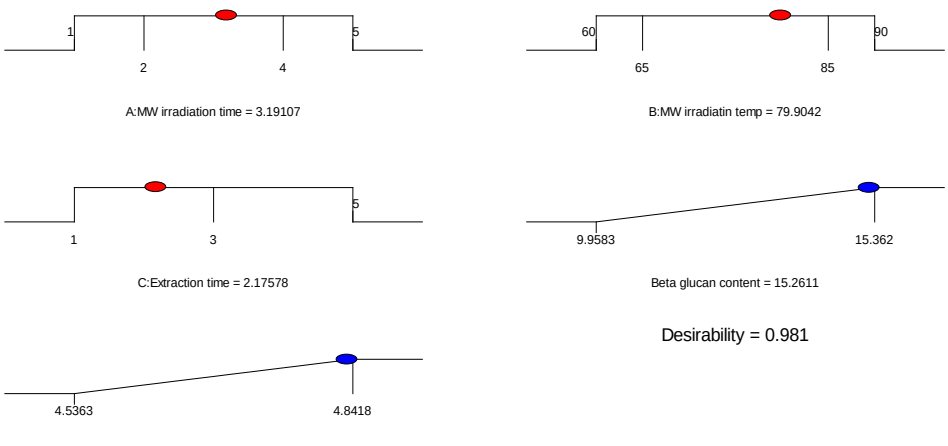
4.3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครง

จากการศึกษาวิธีสกัดเห็ดแครงด้วยน้ำโดยใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำก่อนการสกัด ด้วยวิธีออกแบบการทดลองแบบ Box-behnken และทำการวิเคราะห์แบบพื้นผิวตอบสนองของปัจจัยอันได้แก่ เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ อุณหภูมิไมโครเวฟ และเวลาที่ใช้ในการสกัด สามารถศึกษาหาสภาวะในการสกัดที่เหมาะสมร่วม เพื่อให้ได้น้ำหนักของสารสกัดรวมถึงปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดที่มากที่สุด โดยวิเคราะห์จากสมการถดถอยของทั้งน้ำหนักสารสกัดและปริมาณเบต้ากลูแคน ได้ผลจากการวิเคราะห์ดังแสดงใน ตารางที่ 4.22 และ รูปที่ 4.20

พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครงให้ได้น้ำหนักของสารสกัดมากที่สุดและมีปริมาณเบต้ากลูแคนสูงที่สุดคือ เวลาที่ใช้ในไมโครเวฟ 3.2 นาที อุณหภูมิไมโครเวฟ 79.9 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด 2.2 ชั่วโมง ซึ่งการสกัดด้วยสภาวะนี้จะทำให้ได้น้ำหนักสารสกัดสูงสุดเท่ากับ 4.84 กรัม และปริมาณเบต้ากลูแคนที่มีค่าสูงที่สุดอยู่ที่ร้อยละ 15.26

ตารางที่ 4.22 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครงให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดร่วมกับน้ำหนักของสารสกัดที่มีค่ามากที่สุด

X_1	X_2	X_3	Beta glucan content	Extract yield	Desirability	
3.191	79.904	2.176	15.261	4.836	0.981	Selected
3.193	79.895	2.178	15.262	4.836	0.981	



รูปที่ 4.20 Ramp ของสภาวะในการสกัดที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยในการสกัดให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนที่มากที่สุดร่วมกับน้ำหนักของสารสกัดที่มากที่สุด

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบผลได้ของการสกัดด้วยสภาวะที่เหมาะสมนี้ พบว่าจะสามารถเพิ่มปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดได้มากกว่าการสกัดแบบดั้งเดิมที่ไม่ได้ใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำโดยสกัดด้วยอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง ซึ่งได้สารสกัดที่มีปริมาณเบต้ากลูแคนอยู่ที่ร้อยละ 9.20 ประมาณ 1.6 เท่า

นอกจากนั้น หากทำการเปรียบเทียบสภาวะการสกัดที่ทำให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนที่เท่ากัน จะพบว่าสามารถลดระยะเวลาในกระบวนการสกัดได้ และยังสามารถลดอุณหภูมิของไมโครเวฟที่ใช้เพื่อประโยชน์ในการรักษาคุณสมบัติของสารสำคัญที่อยู่ในสารสกัดได้อีกด้วย

4.4 การขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง

4.4.1 ศึกษาสารก่อเจล (Gelling agent) ที่เหมาะสม

ทำการศึกษาการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลจากสารก่อเจล (Gelling agent) ชนิดต่างๆ เนื่องจากลักษณะและคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์จะแตกต่างกันไปตามชนิดของสารก่อเจล ทำการศึกษาสารก่อเจลที่เหมาะสม โดยทดลองขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ด้วยสารก่อเจลชนิดต่างๆ อันประกอบไปด้วย Xanthan gum, Guar gum, HPMC 4000, CMC, Aristroflex Silk และ Carbopol 940 ที่เป็นสารก่อเจลซึ่งต่างประเภทกัน จำแนกได้ดังแสดงในตารางที่ 4.23

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.23 ประเภทของสารก่อเจล

สารก่อเจล (Gelling agent)	ประเภท
Xanthan gum	ธรรมชาติ (Natural)
Guar gum	ธรรมชาติ (Natural)
HPMC 4000	กึ่งสังเคราะห์ (Semi-synthetic)
CMC	กึ่งสังเคราะห์ (Semi-synthetic)
Aristroflex Silk	สังเคราะห์ (Synthetic)
Carbopol 940	สังเคราะห์ (Synthetic)

ทำการศึกษาอิทธิพลของสารก่อเจลแต่ละชนิดต่อลักษณะทางกายภาพเบื้องต้น โดยยังไม่มีส่วนผสมของสารสกัดและสารออกฤทธิ์อื่นในผลิตภัณฑ์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง

จากการทดลองขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ดังกล่าว สามารถเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารก่อเจลชนิดแต่ละชนิดได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.24

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 4.24 ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจลจากสารก่อเจลชนิดต่างๆ

สูตรตำรับ	รูป	pH	ลักษณะ
Xanthan gum (1%)		5.27	- มีความขุ่นและมีสีเหลืองเล็กน้อย - เนื้อสัมผัสข้นหนืด
Guar gum (1%)		5.32	- มีความขุ่นมากและเกิดการแยกชั้น - เนื้อสัมผัสข้นหนืด
HPMC 4000 (1%)		5.46	- ใสและไม่แยกชั้น - เนื้อสัมผัสหนืดแต่ซึมเข้าสู่ผิวได้ช้า
CMC (1%)		5.73	- ใสและไม่แยกชั้น - เนื้อสัมผัสหนืดแต่ซึมเข้าสู่ผิวได้ช้า
Aristoflex silk (1%)		5.85	- ใสและไม่แยกชั้น - เนื้อสัมผัสข้นหนืดแบบเจลเมื่ออยู่ในภาชนะและแตกตัวเป็นของเหลวเมื่อสัมผัสกับผิว
Carbopol 940 (0.5%)		5.48	- ใสและไม่แยกชั้น - เนื้อสัมผัสข้นหนืดแบบเจลและซึมเข้าสู่ผิวได้ดี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

พิจารณาจากตารางที่ 4.24 พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นรูปด้วยสารก่อเจลต่างชนิดกันจะมีลักษณะทางกายภาพแตกต่างกัน

โดยสารก่อเจลที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะทางกายภาพอยู่ในเกณฑ์ที่ดีจะประกอบไปด้วย HPMC 4000, CMC, Aristoflex silk และ Carbopol 940 เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่เกิดปัญหาทางกายภาพ เช่น การแยกชั้นหรือมีลักษณะขุ่น เป็นต้น

ในทางตรงกันข้ามผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารก่อเจลซึ่งผลิตจากธรรมชาติอย่าง Xanthan gum และ Guar gum มีลักษณะทางกายภาพที่ไม่เหมาะแก่การนำมาใช้ขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์เจล เนื่องจากเกิดการแยกชั้นและยังมีลักษณะเป็นเจลเมือก (Mucilage) ตามงานวิจัยของอรวรรณ ติรภัทร และคณะ (อรวรรณ ติรภัทร, 2010) ซึ่งอาจส่งผลต่อความพึงพอใจของผู้ใช้

จากการทดลองข้างต้นเมื่อพิจารณาทั้งลักษณะทางกายภาพและเนื้อสัมผัสแล้ว ผู้วิจัยได้เลือกสารก่อเจลที่มีคุณสมบัติเหมาะสมกับการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครงคือ Aristoflex silk ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีลักษณะหนืดเป็นเจลเมื่ออยู่ในบรรจุภัณฑ์แต่จะแตกตัวเป็นของเหลวและซึมเข้าสู่ผิวได้ดีเมื่อสัมผัสกับผิวหนัง นอกจากนี้ยังได้เลือกสารก่อเจล Carbopol 940 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 เนื่องจากเป็นสารก่อเจลที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะทางกายภาพที่แข็งและข้นกว่าพวกสารก่อเจลจากธรรมชาติ (อรวรรณ ติรภัทร, 2010) โดยได้ทำการทดลองขึ้นรูปพร้อมกับใส่สารสกัดเห็ดแครงเป็นส่วนผสมด้วยสัดส่วนดังแสดงในตารางที่ 4.25

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.25 ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง

ส่วนผสม	หน้าที่	สัดส่วน (%)	
		ตำรับที่ 1 (Aristoflex, 1.0%)	ตำรับที่ 2 (Carbopol 940, 0.5%)
Aristoflex silk	สารก่อเจล	1.0	-
Carbopol 940	สารก่อเจล	-	0.5
สารสกัดเห็ดแครง	สารออกฤทธิ์	1.0	1.0
น้ำ	ตัวทำละลาย	qs to 100	
ไตรเอททานอลามีน	ตัวปรับ pH	qs to pH 5.5-6.0	-
Unigerm-G2	สารกันเสีย	1.0	1.0

เมื่อขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ทั้งสองตำรับจาก ตารางที่ 4.25 จะได้ผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครงซึ่งมีสีเหลืองใสเนื่องจากสีของสารสกัด ดังแสดงในรูปที่ 4.21

(ก.) Aristoflex silk, 1.0%

(ข.) Carbopol 940, 0.5%

รูปที่ 4.21 ผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง (ก.) Aristoflex silk, 1.0% (ข.) Carbopol 940, 0.5%

เมื่อทดสอบค่าความเป็นกรดด่างของผลิตภัณฑ์ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นรูปจากสารก่อเจลชนิด Aristoflex silk มีค่าความเป็นกรดด่างลดลงเมื่อใส่สารสกัดลงในผลิตภัณฑ์จาก 5.85 เป็น 5.5 ส่วนผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นรูปจากสารก่อเจลชนิด Carbopol 940 มีค่าความเป็นกรดด่างลดลงเมื่อใส่สารสกัดลงในผลิตภัณฑ์จาก 5.48 เป็น 5.37 โดยผลิตภัณฑ์ทั้งสองตำรับนี้จะถูกนำไปศึกษาในลำดับต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.4.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluation)

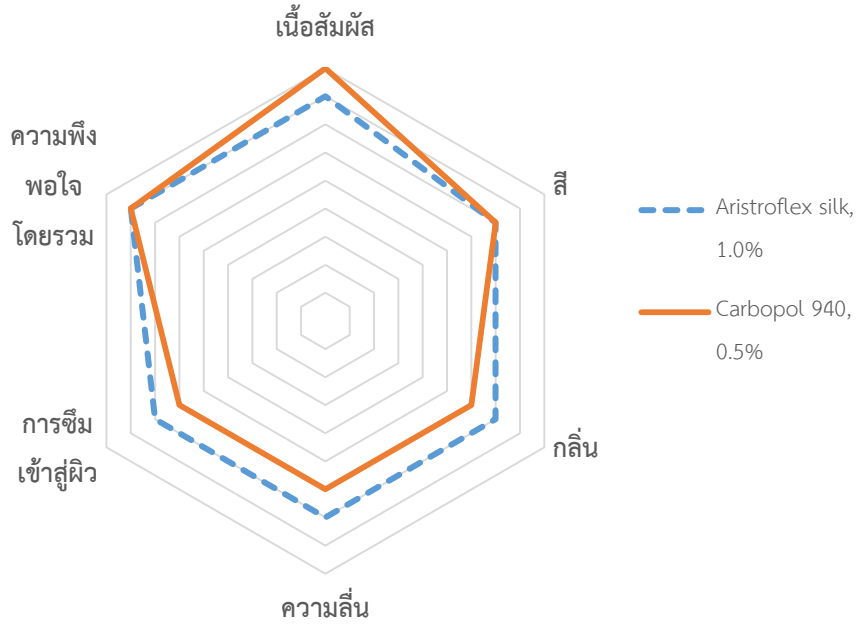
ทำการศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีการทดสอบความชอบหรือการยอมรับ (Affective/Hedonic test) ของผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครงทั้งสองตำรับ โดยวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพทั้งหมด 6 ด้าน ได้แก่ เนื้อสัมผัส สีของผลิตภัณฑ์ กลิ่นของผลิตภัณฑ์ ความลื่น การซึมเข้าสู่ผิวและความพึงพอใจโดยรวม โดยผลิตภัณฑ์จะถูกให้คะแนนตามความพึงพอใจโดยแบ่งสเกลออกเป็น 9 ระดับ ได้แก่

1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย

7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบที่สุด

โดยจากการประเมินได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.22



รูปที่ 4.22 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic

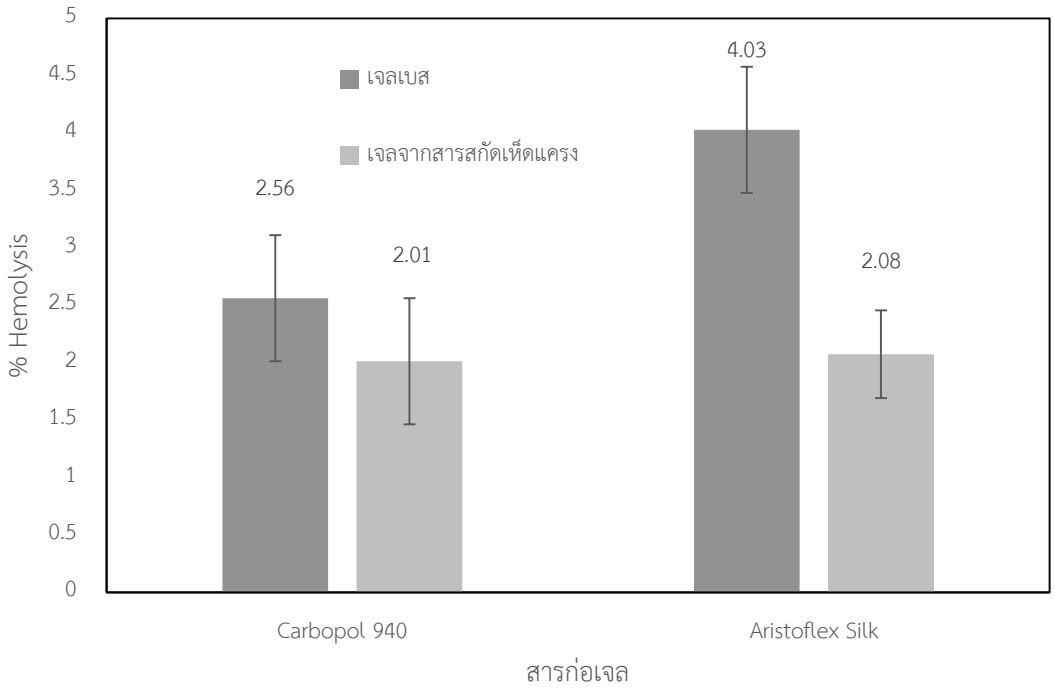
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

แผนภาพ Hedonic สามารถใช้ทดสอบความพึงพอใจหรือเรียกอีกอย่างว่าการยอมรับในผลิตภัณฑ์ เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.22 จะเห็นว่าทั้งสองผลิตภัณฑ์มีการยอมรับอยู่ในระดับที่ดี โดยผลิตภัณฑ์เจลที่มี Aristoflex silk เป็นส่วนประกอบจะมีข้อได้เปรียบในด้านของการซึมเข้าสู่ผิว ความลื่น และกลิ่น ส่วนผลิตภัณฑ์เจลที่มี Carbopol 940 เป็นส่วนประกอบมีคะแนนความพึงพอใจมากกว่าในการประเมินเนื้อสัมผัส เนื่องจากให้ความรู้สึกเป็นเจลมากกว่า Aristoflex silk ที่เมื่อทาลงบนผิวแล้วจะให้ความรู้สึกเป็นของเหลว

ผลิตภัณฑ์ทั้งสองตำรับนี้จึงเหมาะสมในการขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง โดยจะถูกนำไปทดสอบความระคายเคืองและความคงตัวในลำดับต่อไป

4.4.3 ทดสอบความระคายเคืองของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี hemolysis

ทำการทดสอบความระคายเคืองของผลิตภัณฑ์เจลทั้งสองตำรับด้วยวิธีทดสอบ Hemocompatability กับเลือดแกะจากภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ดัดแปลงจากงานวิจัยของ Leena และคณะ (Amarnath et al., 2006) กับงานวิจัยของ Senggam และคณะ (Wakhet et al., 2015) ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.23



รูปที่ 4.23 ร้อยละการแตกของเม็ดเลือดแดง (Hemolysis) ของผลิตภัณฑ์ทั้งสองตำรับ

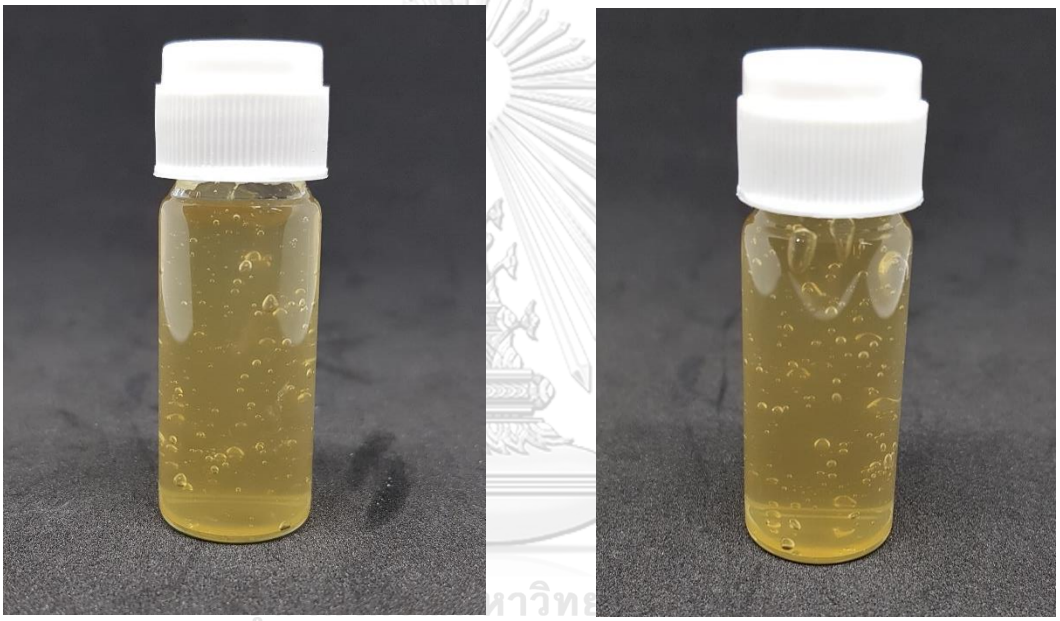
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

พิจารณาจากรูปที่ 4.23 จะเห็นว่าผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของสารก่อเจลทั้งสองชนิดไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง เนื่องจากค่าร้อยละการแตกของเม็ดเลือดแดงของตำรับเจลทั้งสองชนิดมีค่าน้อยกว่า 5 ซึ่งถือได้ว่าไม่ส่งผลต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง อ้างอิงจากงานวิจัยของ Senggam และคณะ (Wakhet et al., 2015)

4.4.4 ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

4.4.4.1 ทดสอบความคงตัวโดยการเก็บในที่เย็นสลับร้อน (Cooling-Heating cycle)

ทำการศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์เจลจากทั้งสองตำรับ ด้วยวิธีทดสอบความคงตัวแบบเร่งในอุณหภูมิเย็นสลับร้อน โดยเก็บผลิตภัณฑ์เจลทั้งแบบที่ไม่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครงและแบบที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง สลับกันระหว่างอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง กับการเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เป็นจำนวนทั้งสิ้น 6 รอบ ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์หลังผ่านการทดสอบความคงตัวแบบเร่งแสดงดังรูปที่ 4.24



(ก) (ข)

รูปที่ 4.24 ผลิตภัณฑ์เจลหลังผ่านการทดสอบความคงตัวแบบเร่ง (ก) Aristoflex silk 1% (ข) Carbopol 940 0.5%

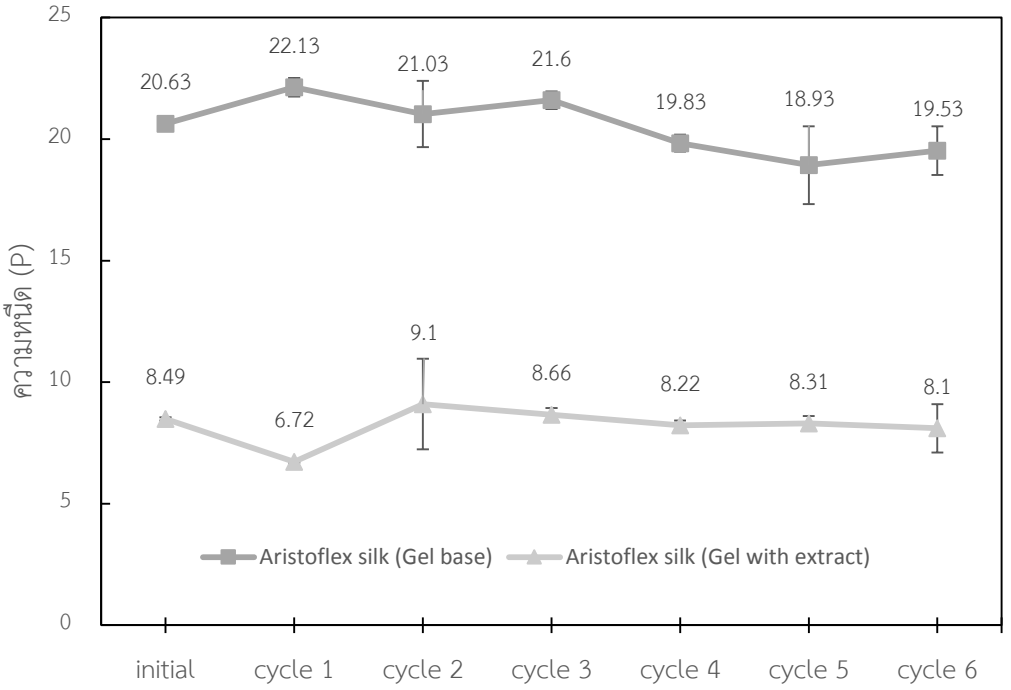
เมื่อสังเกตลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ทั้งสองตำรับหลังผ่านการทดสอบความคงตัวแบบเร่งดังรูปที่ 4.24 พบว่าลักษณะเนื้อสัมผัส ความใส สี กลิ่น และการแยกชั้นของผลิตภัณฑ์เจลทั้งสองตำรับก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวแบบเร่งไม่มีการเปลี่ยนแปลง มีเพียงค่าความเป็นกรดด่างที่เปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่ยังคงอยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับผิวหนังคือช่วง pH 5-6 ตามงานวิจัยของ Yogesh และคณะ (Yogesh et al., 2012)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

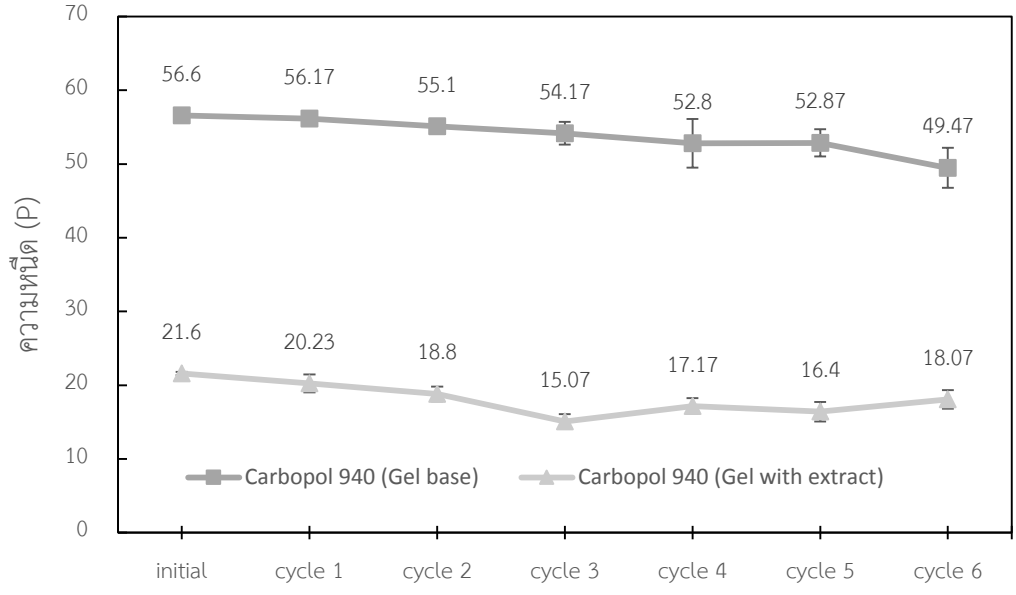
นอกจากนี้ในการทดสอบความคงตัวแบบเร่งโดยเก็บในที่ร้อนสลับเย็น ยังได้มีการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของความหนืด (Viscosity) ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ เพื่อศึกษาความเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเนื้อเจล เนื่องจากความหนืดเป็นค่าที่สามารถบ่งบอกได้ถึงธรรมชาติรวมถึงพฤติกรรมการไหลของสารกึ่งแข็ง (semi-solid) ได้ และนอกจากนั้นก็ยังบ่งบอกถึงความสามารถในการกระจายตัวบนผิวหนัง (Spreadability) ของผลิตภัณฑ์อีกด้วย (Yogesh et al., 2012)

ผลการศึกษาความเปลี่ยนแปลงความหนืดของผลิตภัณฑ์ในแต่ละรอบของการทดสอบความคงตัว สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 4.25

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.25 ความหนืดของผลิตภัณฑ์ระหว่างการทดสอบความคงตัวแบบเร่ง (ก) Aristoflex silk 1.0% (ข) Carbopol 940 0.5%

พิจารณาจากรูปที่ 4.25 ความหนืดของผลิตภัณฑ์เจลที่มี Aristoflex silk เป็นส่วนประกอบโดยไม่มีสารสกัด (Gel base) เริ่มต้นมีค่า 20.63 P หลังจากผ่านการทดสอบความคงตัวในที่เย็นสลับร้อน ความหนืดลดลงมีค่าอยู่ที่ 19.53 P แสดงให้เห็นว่ามีการลดลงคิดเป็นร้อยละ 5.33 เท่านั้น ส่วนในผลิตภัณฑ์ที่มีสารสกัดเห็ดแครงผสมอยู่จะเห็นว่าความหนืดมีค่าต่ำกว่าผลิตภัณฑ์แบบที่ไม่มีสารสกัด โดยค่าความหนืดของผลิตภัณฑ์แบบมีสารสกัดเริ่มต้นอยู่ที่ 8.49 P เมื่อผ่านกระบวนการทดสอบความคงตัว ความหนืดได้ลดลงจนถึง 8.10 P คิดเป็นร้อยละ 4.59

เมื่อพิจารณาความหนืดของผลิตภัณฑ์เจลที่มี Carbopol 940 เป็นส่วนประกอบโดยไม่มีสารสกัด (Gel base) จะพบว่าความหนืดเริ่มต้นมีค่า 56.6 P แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นรูปด้วยสารก่อเจลชนิด Carbopol 940 มีความหนืดสูงกว่า Aristoflex silk และมีเนื้อสัมผัสที่มีความเป็นเจลมากกว่า โดยหลังจากผ่านการทดสอบความคงตัวในที่เย็นสลับร้อน ความหนืดลดลงจนมีค่าอยู่ที่ 49.47 P ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 12.59 ส่วนในผลิตภัณฑ์ที่มีสารสกัดเห็ดแครงผสมอยู่จะเห็นว่าความหนืดของผลิตภัณฑ์มีค่าต่ำกว่าแบบที่ไม่มีสารสกัด ความหนืดของผลิตภัณฑ์ที่มีสารสกัดเริ่มต้นอยู่ที่ 21.60 P เมื่อผ่านกระบวนการทดสอบความคงตัว ความหนืดได้ลดลงจนมีค่า 18.07 P ลดลงคิดเป็นร้อยละ 16.34

เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองข้างต้น จะเห็นว่าเมื่อเติมสารสกัดเห็ดแครงลงในผลิตภัณฑ์เจล จะส่งผลให้ความหนืดลดลงเนื่องจากค่าความเป็นกรดด่างที่เปลี่ยนไป โดยผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจะมีความเป็นกรดมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีส่วนผสมของสารสกัด ซึ่งค่าความเป็นกรดด่างนี้มีผลต่อพฤติกรรมของสารก่อเจล สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kiran และคณะ (2018) ที่ได้ศึกษาวิธีการขึ้นรูปของเจลว่านหางจระเข้ที่มีความเข้มข้นและสภาวะความเป็นกรดด่างที่ต่างกัน พบว่าค่าความเป็นกรดด่างในการขึ้นรูปเจลมีอิทธิพลต่อคุณสมบัติของการไหล เนื่องจากปฏิกิริยาทางไฟฟ้าสถิต (Electrostatic interaction) ที่เกิดขึ้นจากประจุไอออนส่งผลต่อสัณฐาน (Morphology) ของเจล จึงทำให้เกิดโครงสร้างที่คล้ายกับรูพรุนขึ้น และมีอิทธิพลต่อคุณสมบัติการไหล (Patruni et al., 2018)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จากผลการทดลองข้างต้น ยังพบว่าผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารก่อเจลชนิด Aristoflex silk จะมีความคงตัวมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่มี Carbopol 940 เป็นสารก่อเจล เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดน้อยที่สุดเพียงร้อยละ 4.59

ผลิตภัณฑ์ที่มี Carbopol 940 เป็นสารก่อเจลยังมีข้อเสียตรงที่ต้องมีขั้นตอนการสะเทินสารละลาย Carbopol ด้วยด่างเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นเจลใสและมีค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม ซึ่งชนิดของสารละลายด่างที่นำมาทำปฏิกิริยาสะเทินนี้จะส่งผลต่อความหนืดของเจลแตกต่างกันตามผลงานวิจัยของอรวรรณ ติรภัทร และคณะ อีกทั้งงานวิจัยดังกล่าวยังได้พบว่าในระหว่างปฏิกิริยาสะเทินด้วยด่างนี้ยังก่อให้เกิดฟองอากาศขึ้น ซึ่งสามารถจำแนกได้เป็น 2 ชนิดคือ ฟองอากาศภายใน (Internal air bubble) ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติการละลายของหรือตัวทำละลายในตำรับ และฟองอากาศภายนอก (External bubble air) ซึ่งจะแทรกเข้ามาจากภายนอกระหว่างการผลิต เช่น การใช้เครื่องผสมแบบผิดวิธีที่ทำให้เกิดกระแสวน (vortex) เป็นต้น ซึ่งอาจจะส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและความคงตัวของผลิตภัณฑ์ (อรวรรณ ติรภัทร, 2010)

4.4.4.2 ทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจล โดยทดลองเก็บไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน จากนั้นศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของเนื้อสัมผัส ความใส สี กลิ่น การแยกชั้น และวัดความหนืดทั้งก่อนและหลังการทดสอบความคงตัว ได้ผลดังตารางที่ 4.26

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.26 เปรียบเทียบความหนืดของผลิตภัณฑ์ก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

ผลิตภัณฑ์	ความหนืด (P)	
	ก่อน	หลัง
Aristoflex silk, 1% (ไม่มีสารสกัด)	20.63	20.10
Aristoflex silk, 1% (มีสารสกัด)	8.49	7.65
Carbopol 940, 0.5% (ไม่มีสารสกัด)	56.60	56.30
Carbopol 940, 0.5% (มีสารสกัด)	21.60	20.10

เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพหลังการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ด้วยการเก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของจากทั้งสองตำรับมีลักษณะทางกายภาพที่คงเดิม โดยจะมีเพียงค่าความเป็นกรดด่างที่ลดลงจากตอนเริ่มต้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่ยังคงอยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับผิวหนัง

จากการวิเคราะห์ความหนืดของผลิตภัณฑ์ดังตารางที่ 4.26 พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นรูปด้วย Aristoflex silk โดยไม่มีส่วนผสมของสารสกัด มีค่าความหนืดเริ่มต้นเท่ากับ 20.63 P จนเมื่อผ่านเวลาการทดสอบ 30 วัน ความหนืดมีค่าเปลี่ยนไปเพียงเล็กน้อยที่ 20.10 P ซึ่งลดลงจากตอนเริ่มต้นเพียงร้อยละ 2.57 เท่านั้น ส่วนในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารสกัด ความหนืดของผลิตภัณฑ์เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 8.49 P และเมื่อผ่านกระบวนการทดสอบความคงตัว ความหนืดได้ลดลงจนมาอยู่ที่ค่า 7.65 P คิดเป็นร้อยละ 9.89

เมื่อพิจารณาความหนืดของผลิตภัณฑ์เจลที่มี Carbopol 940 เป็นส่วนประกอบโดยไม่มีสารสกัด จะพบว่าความหนืดเริ่มต้นมีค่า 56.60 P โดยหลังจากผ่านการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความหนืดมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยอยู่ที่ 56.30 P ซึ่งคิดเป็นเพียงร้อยละ 0.50 เท่านั้น ส่วนในผลิตภัณฑ์ที่มีสารสกัดเห็ดแครงผสมอยู่ ความหนืดของผลิตภัณฑ์เริ่มต้นมีค่าอยู่ที่ 21.60 P และเมื่อผ่านกระบวนการทดสอบความคงตัว ความหนืดได้ลดลงจนถึง 20.10 P คิดเป็นร้อยละ 6.94

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จึงสามารถสรุปได้ว่าเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครงในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์จะมีความคงตัวสูง

4.4.4.3 ทดสอบความคงตัวที่ในอุณหภูมิห้อง

ศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เจล โดยทดลองเก็บไว้ในอุณหภูมิห้ององศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน จากนั้นศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของเนื้อสัมผัส ความใส สี กลิ่น การแยกชั้น และวัดความหนืดทั้งก่อนและหลังการทดสอบความคงตัว ได้ผลดังตารางที่ 4.27

ตารางที่ 4.27 เปรียบเทียบความหนืดของผลิตภัณฑ์ก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 วัน

ผลิตภัณฑ์	ความหนืด (P)	
	ก่อน	หลัง
Aristoflex silk, 1% (ไม่มีสารสกัด)	20.63	19.30
Aristoflex silk, 1% (มีสารสกัด)	8.49	7.16
Carbopol 940, 0.5% (ไม่มีสารสกัด)	56.60	55.70
Carbopol 940, 0.5% (มีสารสกัด)	21.60	20.03

เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพหลังการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ด้วยการเก็บในอุณหภูมิห้อง พบว่าผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของจากทั้งสองตำรับมีลักษณะทางกายภาพที่คงเดิม โดยจะมีเพียงค่าความเป็นกรดด่างที่ลดลงจากตอนเริ่มต้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่ยังคงอยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับผิวหนัง

จากการวิเคราะห์ความหนืดของผลิตภัณฑ์ดังตารางที่ 4.27 พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นรูปด้วย Aristoflex silk โดยไม่มีส่วนผสมของสารสกัด มีค่าความหนืดเริ่มต้นเท่ากับ 20.63 P จนเมื่อผ่านเวลาการทดสอบ 30 วัน ความหนืดมีค่าเปลี่ยนไปเพียงเล็กน้อยที่ 19.30 P ซึ่งลดลงจากตอนเริ่มต้นเพียงร้อยละ 6.45 เท่านั้น ส่วนในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารสกัด ความหนืดของผลิตภัณฑ์เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 8.49 P และเมื่อผ่านกระบวนการทดสอบความคงตัว ความหนืดได้ลดลงจนมาอยู่ที่ค่า 7.16 P คิดเป็นร้อยละ 15.67

เมื่อพิจารณาความหนืดของผลิตภัณฑ์เจลที่มี Carbopol 940 เป็นส่วนประกอบโดยไม่มีสารสกัด จะพบว่าความหนืดเริ่มต้นมีค่า 56.60 P โดยหลังจากผ่านการทดสอบความคงตัวที่ห้อง ความหนืดมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยอยู่ที่ 55.70 P ซึ่งคิดเป็นเพียงร้อยละ 1.60 เท่านั้น ส่วนในผลิตภัณฑ์ที่มีสารสกัดเห็ดแครงผสมอยู่ ความหนืดของผลิตภัณฑ์เริ่มต้นมีค่าอยู่ที่ 21.60 P และเมื่อผ่านกระบวนการทดสอบความคงตัว ความหนืดได้ลดลงจนถึง 20.03 P คิดเป็นร้อยละ 7.27

จึงสามารถสรุปได้ว่าเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครงในห้องผลิตภัณฑ์จะมีความคงตัวสูง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction)

ผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปด้วยการอบแห้งสามารถนำมาสกัดด้วยน้ำเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีส่วนประกอบของเบต้ากลูแคนอยู่ในผนังเซลล์ของเห็ด ซึ่งเบต้ากลูแคนชนิดนี้มีฤทธิ์ในทางเครื่องสำอาง

โดยสัดส่วนของของแข็งต่อของเหลวที่มีเหมาะสมในการสกัดคือ 1:10 และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดก็จะยิ่งมากขึ้นเนื่องจากความสามารถในการแพร่และการละลายของสารสำคัญเข้าสู่ตัวทำละลายที่เพิ่มมากขึ้น ในส่วนของเวลาที่ใช้ในการสกัดปริมาณเบต้ากลูแคนมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดจนถึงเวลาช่วงหนึ่ง หลังจากนั้นจึงเริ่มลดลงเนื่องจากระบบเข้าสู่สมดุลในการละลาย

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป จึงประกอบไปด้วยสัดส่วนของของแข็งต่อของเหลวเป็น 1:10 อุณหภูมิซึ่งเหมาะสมจะใช้ในการสกัดคือ 75 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการสกัดซึ่งทำให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดสูงที่สุดคือ 3 ชั่วโมง เมื่อสกัดผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปด้วยสภาวะการสกัดที่ดีที่จะได้สารสกัดที่มีปริมาณเบต้ากลูแคนสูงสุดอยู่ที่ร้อยละ 9.20 ± 0.22 เมื่อทำการทดสอบค่ายับยั้งการเกิดออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดแครง 1,000 µg/mL พบว่ามีค่าการยับยั้ง (% inhibition) เท่ากับร้อยละ 73.62 ±1.69 แต่เนื่องจากเวลาในการสกัด 2 และ 3 ชั่วโมงให้ผลของปริมาณเบต้ากลูแคนที่ใกล้เคียงกัน จึงได้นำปัจจัยเวลาที่ใช้ในการสกัดไปศึกษาเพิ่มเติมร่วมกับการศึกษาการใช้คลื่นไมโครเวฟ

การลดขนาดอนุภาคของเห็ดแครงด้วยการปั่นโดยมีน้ำเป็นส่วนผสมจะทำให้น้ำหนักผลได้และปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดมีค่าลดลง ดังนั้นการปั่นเห็ดแครงแบบแห้งจึงเป็นวิธีในการเตรียมผงเห็ดแครงที่ดีกว่า ส่วนการสกัดซ้ำที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส จะทำให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนจากการสกัดซ้ำในปริมาณมากขึ้นและได้น้ำหนักของสารสกัดที่ลดลงจากการสกัดครั้งแรกประมาณ

ครึ่งหนึ่ง ดังนั้นการสกัดซ้ำจึงสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตได้ทั้งน้ำหนักของสารสกัดและปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด

5.1.2 การใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัด

จากการผลการศึกษาการใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำก่อนจะทำการสกัดแบบปกติ (Conventional extraction) พบว่าตัวแปรทั้งสามตัวแปรได้แก่ เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ อุณหภูมิไมโครเวฟ และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด มีอิทธิพลต่อปริมาณเบต้ากลูแคนและน้ำหนักของสารสกัดที่ได้จากการสกัดผงเห็ดแครงเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป

เมื่อศึกษาด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology : RSM) โดยดูผลของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดสามารถช่วยเพิ่มปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดได้ โดยสมการกำลังสอง (Quadratic equation) เป็นสมการที่เหมาะสมที่สุดที่จะใช้ในการคาดเดาผลของปริมาณเบต้ากลูแคน จากการคำนวณพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดประกอบด้วย เวลาที่ใช้ในโมเครเวฟคือ 3.9 นาที อุณหภูมิไมโครเวฟคือ 78.4 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัดคือ 2.2 ชั่วโมง ซึ่งการสกัดด้วยสภาวะดังกล่าว จะทำให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดสูงสุดเท่ากับร้อยละ 15.41 มีค่ามากกว่าการสกัดแบบปกติถึงร้อยละ 67.50

เมื่อศึกษาผลของการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดต่อน้ำหนักผลได้ของสารสกัด พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดสามารถช่วยเพิ่มน้ำหนักผลได้ของสารสกัดได้ โดยสมการกำลังสอง (Quadratic equation) เป็นสมการที่เหมาะสมที่สุดที่จะใช้ในการคาดเดาน้ำหนักผลได้ของสารสกัด จากการคำนวณพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดประกอบด้วย เวลาที่ใช้ในโมเครเวฟคือ 3.4 นาที อุณหภูมิไมโครเวฟคือ 84.6 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัดคือ 2.3 ชั่วโมง โดยการสกัดด้วยสภาวะนี้จะทำให้ได้น้ำหนักของสารสกัดสูงสุดเท่ากับ 4.85 กรัม

จากการคำนวณเพื่อหาสภาวะการสกัดร่วมเพื่อให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนสูงที่สุดและน้ำหนักผลได้ของสารสกัดมากที่สุด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดประกอบด้วย เวลาที่ใช้ในโมเครเวฟคือ 3.2 นาที อุณหภูมิไมโครเวฟคือ 79.9 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัดคือ 2.2 ชั่วโมง ซึ่งการสกัดด้วยสภาวะนี้จะทำให้ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนสูงสุดเท่ากับร้อยละ 15.26 และน้ำหนักของสารสกัดมีค่า 4.84 กรัม

นอกจากนี้การใช้คลื่นไมโครเวฟก่อนการสกัดยังสามารถให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันที่มากขึ้น เนื่องจากคลื่นไมโครเวฟทำให้เกิดความร้อนขึ้นภายในเซลล์โดยตรงและยังทำให้เกิดการสลายของพันธะที่เชื่อมระหว่างสารออกฤทธิ์กับผนังเซลล์ของเห็ดแครงมากขึ้น แต่หากเพิ่มอุณหภูมิและเวลาของไมโครเวฟมากเกินไปก็จะส่งผลให้สารสกัดมีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันลดลง

5.1.3 การขึ้นรูปเจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง

จากการศึกษาการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์เจลซึ่งมีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครง พบว่าสามารถขึ้นรูปผลิตภัณฑ์อย่างง่ายได้ โดยสารก่อเจลที่มีความเหมาะสมในการขึ้นรูปคือ Aristoflex silk ปริมาณร้อยละ 1 และ Carbopol 940 ปริมาณร้อยละ 0.5 โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะทางกายภาพและมีผลการประเมินความชอบ (Affection test) ที่ดีที่สุดและไม่มีความระคายเคืองเนื่องจากค่าร้อยละการแตกตัวของเม็ดเลือดแดงที่ทดสอบต่ำกว่า 5 หลังจากนำผลิตภัณฑ์ทั้งสองตำรับไปทดสอบความคงตัวแบบเร่งด้วยการเก็บในที่ร้อนสลับเย็นเป็นจำนวน 6 รอบ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 วัน พบว่าลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง รวมถึงความหนืดของเจลยังลดลงเพียงเล็กน้อย จึงสามารถสรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครงจากทั้งสองตำรับเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวทางกายภาพที่ดี

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาฤทธิ์ทางเครื่องสำอางเบื้องต้นอื่นๆของสารสกัดเห็ดแครงเพิ่มเติม

Chulalongkorn University

2. ควรศึกษาฤทธิ์การต้านการเกิดออกซิเดชัน (DPPH scavenging activity) ของสารสกัดที่ได้จากการใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำโดยออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken และวิเคราะห์ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง เพื่อจะได้ศึกษาอิทธิพลของปัจจัยที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านการเกิดออกซิเดชัน

3. ควรทดสอบปริมาณสารสำคัญอื่นๆในสารสกัดเห็ดแครง

4. ควรศึกษาความคงตัวทางเคมีของสารสกัดและผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

5. ควรทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดแครงในอาสาสมัคร

บรรณานุกรม

2016. *Mushroom and yeast beta-glucan assay procedure (K-YGBL)* [Online]. Megazyme International Ireland. Available: htttps://secure.megazyme.com/files/Booklet/K-YGBL_DATA.pdf [Accessed].

2019. Magic truffle and megic mushroom. *In:* FT-2-1 (ed.).

AHMAD HASAN, S. M. B. T. H. J. 2008. Biological activities of *Schizophyllum Commune Fr.*

AMARNATH, L. P., SRINIVAS, A. A. & RAMAMURTHI 2006. In vitro hemocompatibility testing of UV-modified hyaluronan hydrogels. *Biomaterials,* 27**,** 1416–1424.

AREERAT SUEDEE 2017. Microwave-Assisted Extraction of Active Compounds from Medicinal Plants. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*,* 11.

AZADMARD-DAMIRCHI, S., ALIREZALU, K. & ACHACHLOUEI, B. F. 2011. Microwave pretreatment of seeds to extract high quality vegetable oil. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering,* 5**,** 508-511.

AZWANIDA, N. N. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Azwanida, Med Aromat Plants,* 4.

BAE, I. Y., KIM, K. J., LEE, S. & LEE, H. G. 2012. Response surface optimization of β-Glucan extraction from Cauliflower mushrooms (*Sparassis crispa*). *Food Sci. Biotechnol,* 21**,** 1031-1035.

BARANOVA, I. I., KOVALENKO, S. M., KHOKHLENKOVA, N. V., MARTYNIUK, T. V. & KUTSENKO, S. A. 2017. Prospects of using synthetic and semi-synthetic gelling substances in development of medicinal and cosmetic gels. *Asian Journal of Pharmaceutics,* 11.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

BENITO, O., ALONSO, E. & LUCAS, S. 2008. Optimization of the extraction process of beta-glucans from Barley. *2008 AIChE Annual Meeting.* Philadelphia, PA, USA: Research.

BENITO, O., ALONSO, E. & LUCAS, S. 2011. Optimization of the b-glucan extraction conditions from different waxy barley cultivars. *Journal of Cereal Science,* 53**,** 271-276.

BHASHA, S. A., KHALID, S. A., DURAIVEL, S., BHOWMIK, D. & KUMAR, K. P. S. 2013. Recent trends in usage of polymers in the formulation of dermatological gels. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology,* 1**,** 161-168.

DEVI, L. S., DASGUPTA, A., CHAKRABORTY, M., BORTHAKUR, S. K. & SINGH, N. I. 2014. Chemical composition and antioxidant activity of *Schizophyllum Commune*. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.,* 27**,** 173-177.

DU, B., BIAN, Z. & XU, B. 2014. Skin health promotion effects of natural beta-glucan derived from cereals and microorganisms: A review. *PHYTOTHERAPY RESEARCH,* 28 159–166.

DU, B., ZENG, H., YANG, Y., BIAN, Z. & XU, B. 2016. Anti-inflammatory activity of polysaccharide from *Schizophyllum commune* as affected by ultrasonication. *International Journal of Biological Macromolecules 91* 91**,** 100-105.

DWIVEDI, S. & GUPTA, S. 2012. Formulation and evalution of herbal gel containing *Sesbania Grandiflora (L.) Poir.* leaf extract. *Acta Chim. Pharm. Indica,* 2**,** 54-59.

FLÓREZ, N., CONDE, E. & DOMÍNGUEZ, H. 2015. Microwave assisted water extraction of plant compounds. *J Chem Technol Biotechnol,* 90**,** 590–607.

HELAL, D. A., ABDEL-RHMAN, D., ABDEL-HALIM, S. A. & EL-NABARAWI, M. A. 2012. Formulation and evalution of fluconazole topical gel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,* 4.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

HUANG, S. Q., LI, J. W., WANG, Z., PAN, H. X., CHEN, J. X. & NING, Z. X. 2010. Optimization of alkaline extraction of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* and their effect on immune function in mice. *Molecules* 15**,** 3694-3708.

KLAUS, A., KOZARSKI, M., NIKSIC, M., JAKOVLJEVIC, D., TODOROVIC, N. & GRIENSVEN, L. J. L. D. V. 2011. Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharides extracted from the basidiomycete *Schizophyllum commune*. *LWT - Food Science and Technology,* 44**,** 2005-2011.

LAMBERS, H., PIESSENS, S., BLOEM, A., H., P. & FINKEL, P. 2006. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *International Journal of Cosmetic Science,* 28**,** 359–370.

MANZI, P. & PIZZOFERRATO, L. 2000. Beta-glucans in edible mushrooms. *Food Chemistry,* 68**,** 315-318.

MCCLEARY, B. V. & DRAGA, A. 2016. Measurement of beta-glucan in mushrooms and mycelial products. *J AOAC Int,* 99**,** 364-73.

MITSUISHI, T., SHIMODA, T., MITSUI, Y., KURIYAMA, Y. & KAWANA, S. 2004. The effects of topical application of phytonadione, retinol and vitamins C and E on infraorbital dark circles and wrinkles of the lower eyelids. *Journal of Cosmetic Dermatology,* 3**,** 73–75.

OLIVEIRA, L. D. C., OLIVEIRA, M., MENEGHETTI, V. L., MAZZUTTI, S., COLLA, L. M., ELIAS, M. C. & GUTKOSKI, L. C. 2012. Effect of drying temperature on quality of β-glucan in white oat grains. *Food Science and Technology* 32**,** 793-797.

OSCAR BENITO, E. A., SUSANA LUCAS 2008. Optimization od the extract process of beta-glucans from barley. *2008 AIChE Annual Meeting.* Philadelphia, PA, USA: Research.

PATRUNI, K., CHAKRABORTY, S. & PAVULURI, S. R. 2018. Rheological, functional and morphological characterization of reconstituted Aloe vera gels at different levels

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

of pH and concentration novel concepts of reconstituted Aloe vera gels formation. *International Journal of Biological Macromolecules,* 120**,** 414–421.

PHILIPP, H. F. & ALGA, Z. 2016. b-glucan: Crucial component of the fungal cell wall and elusive MAMP in plants. *Fungal Genetics and Biology,* 90**,** 53–60.

PIRSHAHID, P. A., PHROMTONG, C., LAOVITTHAYANGGOON, S., KHAMPHAN, Y., HEMTHANON, T., CHUEBOONMEE, P., EIAMWAT, J. & ARUNPAIROJANA, V. 2011. Anti-aging Cosmetics from *Schizophyllum commune Fries*. *Thai Journal of Agricultural Science,* 44**,** 242-246.

SONG, C. F., WANG, S. G., YANG, J., CUI, Z. W. & GU, Y. H. 2015. Optimization of vacuum-microwave radiation pretreatment on extraction of *Ganoderma* polysaccharides. *Hindawi Publishing Corporation Mathematical Problems in Engineering,* 2015.

TAN, S., XU, Q., LUO, Z., LIU, Z., YANG, H. & YANG, L. 2011. Inquiry of Water-Soluble Polysaccharide Extraction Conditions from Grapefruit Skin. *Engineering,* 2011**,** 1090-1094.

WAKHET, S., SINGH, V. K., SAHOO, S., SAGIRI, S. S., KULANTHAIVEL, S., BHATTACHARYA, M. K., KUMAR, N., BANERJEE, I. & PAL, K. 2015. Characterization of gelatin–agar based phase separated hydrogel, emulgel and bigel: a comparative study. *J Mater Sci: Mater Med,* 26.

WU, Y., CHOI, M. H., LI, J., YANG, H. & SHIN, H. J. 2016. Mushroom Cosmetics: The present and future. *Cosmetics,* 3.

YIM, H. S., CHYE, F. Y., RAO, V., LOW, J. Y., MATANJUN, P., HOW, S. E. & HO, C. W. 2013. Optimization of extraction time and temperature on antioxidant activity of *Schizophyllum commune* aqueous extract using response surface methodology. *J Food Sci Technol,* 50**,** 275-283.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

YOGESH, P., JAIN, P., KHURANA, N., OMRAY, L. K., PALIT, S. & GAJBHIYE, A. 2012. Formulation and characterization of *Aloe Vera* cosmetic herbal hydrogel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,* 4**,** 85-86.

YONG, X. S., JI, C. L. & JOHN, F. K. 2010. Extraction optimization of antioxidant polysaccharides from the fruiting bodies of Chroogomphis rutilus (Schaeff.: Fr.) O.K. Miller by Box-Behnken statistical design. *Carbohydrate Polymers* 82**,** 209–214.

ZHANG, Y., KONG, H., FANG, Y., NISHINARI, K. & O.PHILLIPS, G. 2013. Schizophyllan :A review onits structure, properties, bioactivities and recent developments. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibres I***,** 53-71.

ZHANGA, M., ZHANGA, L., CHEUNG, P. C. K. & OOI, V. E. C. 2004. Molecular weight and anti-tumor activity of the water-soluble polysaccharides isolated by hot water and ultrasonic treatment from the sclerotia and mycelia of *Pleurotus* tuber-regium. *Carbohydrate Polymers* 56**,** 123–128.

ZHU, F., DU, B. & XU, B. 2016. A critical review on production and industrial applications of beta glucans. *Food Hydrocolloids,* 52**,** 275-288.

ZHU, F., DUA, B., BIAN, Z. & XU, B. 2015. Beta-glucans from edible and medicinal mushrooms: Characteristics, physicochemical and biological activities. *Journal of Food Composition and Analysis,* 41**,** 165-173.

ZOU, Y., XU, P., LI, P., CAI, P., ZHANG, M., SUN, Z., SUN, C., XU, W. & WANG, D. 2017. Effect of ultrasound pre-treatment on the characterization and properties of collagen extracted from soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*). *Food science and technology,* 82**,** 72-81.

เสาวนีย์ เหลืองธนะผล. 2002. การศึกษาการสกัดสารแอนติออกซิแดนท์จากเปลือกเม็ดมะขาม. มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

กัมปนาท หวลบุตตา. 2017. พอลิเมอร์ที่ใช้ทางเภสัชกรรม (Pharmaceutical polymers). Available: http://ccpe.pharmacycouncil.org/showfile.php?file=258.

คลังข้อมูลอุตสาหกรรม สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. Available: http://www.technology.in.th/industrial-data/doku.php?id=cosmetics-industry:newstart-overview [Accessed].

จันทร์จารึก รัตนเดชสกุล. 2007. การพัฒนาตำรับครีม และเจลสารสกัดเอ็คไคนาเซีย เพอร์พูเรีย. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

นฤมล มงคลธนวัฒน์ 2014. เห็ดแครง : เห็ดพื้นบ้านที่มากด้วยคุณค่า. วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง, 1, 139-147.

วิภาวี อุบลศักดิ์. 2007. การพัฒนาเครื่องสำอางรักษาสิวรูปแบบเจลจากสารสกัดกระบือเจ็ดตัว. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วิลาวัลย์ บุณย์ศุภา. 2008. การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากดอกอัญชัน. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม.

ศกลธน ราโชกาญจน์. 2013. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแท่งเชื้อเพลิงจากต้นข้าวโพดด้วยวิธีการพื้นผิวตอบสนอง. Degree of Master of Science Program in Environmental Science, Chulalongkorn University.

ศิริลักษณ์ รอบคอบ. 2010. การพัฒนาและประเมินสูตรตำรับเจลจากสารสกัดชาเขียว. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สันติ พุ่มกระจ่าง. 2009. การวิเคราะห์ทางสถิติสำหรับพื้นผิวตอบสนองคู่ของกระบวนการติดหัวอ่านฮาร์ดดิสก์ไดร์ฟ. Master Degree, Thammasat University.

อภิชาติ กาญจนทัต. 2009. การวิเคราะห์โครงสร้างและฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งของโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดตับเต่าดำ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อรวรรณ ติรภัทร. 2010. การพัฒนาตำรับเจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากใบรางจืดเพื่อใช้ทางเครื่องสำอาง. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

อรวัสสา เผือกสุข, ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม & มยุรา กัลยาวัฒนกุล. 2012. ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเห็ดฟางเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

อำภา จิมไธสง. 2013. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเตยหอมเพื่อการนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, ประภัสสร รักถาวร, พจมาน พิศเพียงจันทร์ & อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. การพัฒนาเจลแต้มสิวจากสารสกัดเปลือกมังคุด. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46, 2010 กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก
การคำนวณ

1. ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครงเริ่มต้น

ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครงสามารถคำนวณจากน้ำหนักโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากผงเห็ดแครงและปริมาณเบต้ากลูแคนในโพลีแซคคาไรด์จากสูตร

ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครง = น้ำหนักโพลีแซคคาไรด์ x ปริมาณเบต้ากลูแคนในโพลีแซคคาไรด์

ตัวอย่าง

ปริมาณเบต้ากลูแคน (%) ที่สกัดได้จากผงเห็ดแครง เมื่อน้ำหนักโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ดแครงปริมาณ 50 กรัม มีค่าเท่ากับ 0.87 ± 0.01 และปริมาณเบต้ากลูแคนในส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์มีค่าเท่ากับ 13.73 ± 0.61

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิธีทำ ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครง

= น้ำหนักโพลีแซคคาไรด์ x ปริมาณเบต้ากลูแคนในโพลีแซคคาไรด์

$$= \frac{0.87 \text{ x } \frac{13.73}{100}}{50} \times 100\ \%$$

= 0.24 %

ดังนั้น ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้จากผงเห็ดแครงปริมาณ 100 กรัม จะมีค่าเท่ากับ 0.24 กรัม

2. ทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนด้วยชุดทดสอบ K-YBGL

เมื่อทำการทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนโดยวิธีมาตรฐานและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร จะสามารถนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นี้ มาคำนวณเพื่อหาปริมาณเบต้ากลูแคน โดยวิเคราะห์ปริมาณกลูแคนทั้งหมดหักล้างด้วยปริมาณอัลฟ่ากลูแคน โดยสามารถคำนวณได้จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{Total Glucan}\left(\%\frac{\text{w}}{\text{w}}\right) = \Delta\text{E x F x}\frac{100}{0.1}\ \text{x}\frac{100}{\text{w}}\ \text{x}\frac{162}{180}$$

$$\alpha\text{-}Glucan\ \left(\%\frac{w}{w}\right) =\ \Delta E\ x\ F\ x\ 1000\ x\frac{1}{1000}\ x\frac{100}{w}x\frac{162}{180}$$

$$\beta\text{-Glucan} = \text{Total glucan} -\ \alpha\text{-Glucan}$$

ΔE = reaction absorbance – blank absorbance

F = a factor to convert absorbance to µg of D- Glucose

= 100 (µg of D-glucose standard) GOPOD absorbance for 100 µg of D-glucose standard

W = weigh of sample analysed

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

<u>ตัวอย่าง</u>

ทำการทดสอบตัวอย่างสารสกัดปริมาณ 100 มิลลิกรัม เพื่อหาปริมาณเบต้ากลูแคน เมื่อผ่านวิธีทดสอบด้วยชุดทดสอบ K-YBGL แล้ว พบว่าค่าดูกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของกลูแคนทั้งหมดมีค่าเฉลี่ย 0.1155 และของอัลฟ่ากลูแคนมีค่าเฉลี่ย 0.041 และมีค่า Factor ที่ได้จากการทดสอบในเทียบกับสารมาตรฐาน D-glucose ปริมาณ 100 ไมโครกรัม เท่ากับ 107.4691

<u>วิธีทำ</u>

- คำนวณปริมาณกลูแคนทั้งหมด

จาก $\text{Total Glucan}\left(\%\frac{\text{w}}{\text{w}}\right) = \Delta\text{E x F x}\frac{100}{0.1}\text{ x}\frac{100}{\text{w}}\text{ x}\frac{162}{180}$

หรือ $= \Delta\text{E x }\frac{\text{F}}{\text{w}}\text{ x 90}$

โดย ΔE = 0.1155, F = 107.4691 และ w = 100 มิลลิกรัม

ดังนั้น $\text{Total Glucan}\left(\%\frac{\text{w}}{\text{w}}\right) = \Delta\text{E x }\frac{F}{w}\ x\ 90$

$= 0.1155 \text{ x } \frac{107.4691}{100} \text{ x } 90$

= 11.17 %

- คำนวณปริมาณอัลฟ่ากลูแคน

จาก $\alpha\text{-}Glucan\ \left(\%\frac{w}{w}\right) = \Delta E\ x\ F\ x\ 1000\ x\frac{1}{1000}\ x\frac{100}{w}x\frac{162}{180}$

หรือ $= \Delta\text{E x }\frac{\text{F}}{\text{w}}\text{ x }9.27$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

โดย ΔE = 0.041, F = 107.4691 และ w = 100 มิลลิกรัม

ดังนั้น $\alpha\text{-}Glucan\ \left(\%\frac{w}{w}\right) = \Delta\text{E x }\frac{\text{F}}{\text{w}}\text{ x }9.27$

$= 0.041 \text{ x } \frac{107.4691}{100} \text{ x } 9.27$

= 0.41 %

จะสามารถหาปริมาณเบต้ากลูแคนได้จากสูตร

เบต้ากลูแคน = กลูแคนทั้งหมด – อัลฟ่ากลูแคน = 11.17 – 0.4

ดังนั้น ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดมีค่า = 10.76 %w/w

ภาคผนวก ข

ข้อมูลการทดลอง

1. ข้อมูลปริมาณเบต้ากลูแคนในการศึกษาการสกัดด้วยอุณหภูมิและเวลาต่างๆ

ตารางที่ ข.1 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครงที่อุณหภูมิและเวลาในการสกัดต่างๆ (n=3)

อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (°c)	ปริมาณเบต้ากลูแคน (%)		
	1 h	2 h	3 h
55	5.08 ± 0.89	6.35 ± 0.42	5.04 ± 0.13
65	6.57 ± 0.55	7.97 ± 0.67	5.93 ± 0.29
75	8.60 ± 0.24	9.17 ± 0.33	9.20 ± 0.22

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2. การทดลองแบบ Box-behnken และผลของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครง

ตารางที่ ข. 2 ปริมาณเบต้ากลูแคนจากการสกัดเห็ดแครงโดยใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำก่อนการสกัด

	เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ (นาที) X1	อุณหภูมิไมโครเวฟ (°c) X2	เวลาที่ใช้ในการสกัด (ชั่วโมง) X3	ปริมาณเบต้ากลูแคน (%)
1	-1	-1	0	10.76
2	1	-1	0	11.13
3	-1	1	0	13.92
4	1	1	0	15.36
5	-1	0	-1	15.01
6	1	0	-1	12.23
7	-1	0	1	11.41
8	1	0	1	13.56
9	0	-1	-1	9.96
10	0	1	-1	11.33
11	0	-1	1	11.27
12	0	1	1	11.62
13	0	0	0	15.01
14	0	0	0	15.11
15	0	0	0	15.00
16	0	0	0	14.99
17	0	0	0	15.28

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3. การทดลองแบบ Box-behnken และผลของปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดเห็ดแครง

ตารางที่ ข. 3 น้ำหนักสารสกัดจากการสกัดเห็ดแครงโดยใช้คลื่นไมโครเวฟกับส่วนผสมของเห็ดแครงกับน้ำก่อนการสกัด

หมายเลข	เวลาที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ (นาที) X1	อุณหภูมิไมโครเวฟ (°c) X2	เวลาที่ใช้ในการสกัด (ชั่วโมง) X3	น้ำหนักผลได้ของสารสกัด (กรัม)
1	-1	-1	0	4.6771
2	1	-1	0	4.7381
3	-1	1	0	4.7499
4	1	1	0	4.7707
5	-1	0	-1	4.6322
6	1	0	-1	4.5363
7	-1	0	1	4.7315
8	1	0	1	4.7564
9	0	-1	-1	4.7233
10	0	1	-1	4.7703
11	0	-1	1	4.6899
12	0	1	1	4.8096
13	0	0	0	4.7994
14	0	0	0	4.8154
15	0	0	0	4.8083
16	0	0	0	4.8418
17	0	0	0	4.8098

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4. ความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในการทดสอบความคงตัวแบบเร่ง

ตารางที่ ข. 4 ค่าความหนืดระหว่างการทดสอบความคงตัวแบบเร่ง

cycle	Aristoflex silk (Blank)	Aristoflex silk (Extract)	Carbopol 940 (Blank)	Carbopol 940 (Extract)
initial	20.63	8.49	56.6	21.6
cycle 1	22.13	6.72	56.17	20.23
cycle 2	21.03	9.1	55.1	18.8
cycle 3	21.6	8.66	54.17	15.07
cycle 4	19.83	8.22	52.8	17.17
cycle 5	18.93	8.31	52.87	16.4
cycle 6	19.53	8.1	49.47	18.07

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาว สุจิตรา โนนทิง
วัน เดือน ปี เกิด	27 มิถุนายน 2536
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	จบการศึกษาในระดับมัธยมปลายจากโรงเรียนนครนายกวิทยาคม จังหวัดนครนายก เมื่อปี พ.ศ. 2553 หลังจากนั้นได้รับปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จากมหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปี พ.ศ. 2557 และได้ศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2558

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University