Published Online: 8 AUG 2024

การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวล ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

Extraction of Polysaccharides and Phenolic Compounds from Pink Oyster Mushroom (*Pleurotus djamor*) Using Aqueous Two-phase System

จุฑารัตน์ ชัยวัฒน์ธนัน
อีเมล: 6451701255@lamduan.mfu.ac.th
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญวัฒณ์ ปินตาทอง
อีเมล: punyawatt.pin@mfu.ac.th
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

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

ดังนั้นการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคมีประโยชน์ในการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวลในขั้นตอนเดียว ซึ่งเป็นการลดต้นทุน และลดขั้นตอนในการสกัดสำหรับทางอุตสาหกรรมทางเครื่องสำอางได้

คำสำคัญ: ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค, พอลิแซ็กคาไรด์, ฟีนอลิก, เห็ดนางนวล

Abstract

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

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

บทนำ/หลักการและเหตุผล

เห็ดเป็นอาหารที่ดีต่อสุขภาพและมีคุณค่าโภชนาการสูงและ การบริโภคมีเห็ดแนวโน้มเติบโตขึ้นตามทิศทางตลาด เพื่อสุขภาพทั้งในประเทศและต่างประเทศ การผลิตเห็ดในประเทศไทยทำให้มูลค่าทางเศรษฐกิจของเพิ่มขึ้นทุกปีโดยสถานการณ์ผลิตเห็ดของประเทศไทยที่เป็นที่ต้องการของตลาดในระยะเริ่มแรกผู้คนรู้จักเห็ดนางรมก่อนเห็ดชนิดอื่นที่อยู่ในสกุลเดียวกัน ในเวลาต่อมาได้มีเห็ดชนิดอื่น ๆ ในสกุลเดียวกันนี้ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกันออกมาให้เป็นที่รู้จักและได้รับความนิยมในตลาดหนึ่งในนั้นได้แก่ เห็ดนางนวลมีซึ่งชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Pleurotus djamor* มีลักษณะหมวกกรวยตื้นชมพู หรือรูปพัด กว้าง 2-5 ซม. แล้วเปลี่ยนเป็นสีครีมอมชมพู ครีบยาวลงไปติดโคน ครีบยาวไม่เท่ากัน แคบ เรียงถี่ ขอบเรียบ ขาวหรือครีม ก้านไม่มี หรือสั้นมีขนละเอียดบาง ๆ หรือเป็นมันวาวเล็กน้อย ซึ่งในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางในปัจจุบันมีการค้นหาส่วนผสมจากแหล่งธรรมชาติอย่างต่อเนื่อง เพราะไม่เป็นอันตรายและมีประโยชน์หลากหลาย เห็ดจึงเป็นส่วนผสมที่น่าสนใจในตำรับเครื่องสำอาง เนื่องจากพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic), พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide), เทอร์พีนอยด์ (Terpenoid), สเตียรอยด์ (Steroid), ไกลโคโปรตีน (Glycoprotein), เลคติน (lectin) และส่วนประกอบไขมันหลายชนิด ซึ่งในเห็ดนางนวลพบว่าสามารถสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยน้ำร้อนและนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS 0.816±0.077 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (Maity et al., 2021) และสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยเมทานอลได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 7.845±1.22 ไมโครกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด (Acharya et al., 2017) การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดมีวิธีที่หลากหลายเช่น ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค จะใช้เวลาในการสกัดน้อยและใช้อุณหภูมิไม่สูงมากโดยเกิดจากการผสมกันของโพลีเมอร์เช่น polyethylene glycol (PEG), Dextran เป็นต้น กับโพลีเมอร์ แอลกอฮอล์ (สายสั้น ๆ) สารลดแรงตึงผิว เกลืออนินทรีย์ เช่น เกลือซัลเฟต และถ่ายโอนตัวถูกละลายจากของเหลวเฟสหนึ่งไปยังอีกเฟส ตัวอย่างจากการศึกษาของ Ma et al. (2015) สกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธี Aqueous two-phase system จาก *Potentilla anserine L.* (ไม้ดอกในตระกูลกุหลาบ) โดยสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดใช้เอทานอลร้อยละ 27 โดยปริมาตรต่อปริมาตร K_2HPO_4 ร้อยละ 21 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 0.4 โมลต่อลิตร NaCl และ pH 7 พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ ได้ปริมาณเท่ากับร้อยละ 12.47 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักและได้ปริมาณมากกว่าวิธีสกัดแบบทั่วไป (Conventional) เท่ากับร้อยละ 10.3 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักและจากการศึกษาของ Liu et al. (2019) สกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธี Aqueous three-phase system จากเห็ดหิ้งไซบีเรีย (*Inonotus obliquus*) โดยสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดใช้ $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร tert-Butanol, pH 8.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 30 นาที และทดสอบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ได้ปริมาณเท่ากับร้อยละ 2.2 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก

อย่างไรก็ตามวิธีในการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกในเห็ดส่วนใหญ่เป็นการแยกสกัดจึงใช้หลายขั้นตอน

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกแบบขั้นตอนเดียวในเห็ดนางนวลด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคโดยศึกษาอัตราส่วนของเอทานอลและความเข้มข้นของเกลือเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบทั่วไป เพื่อเป็นการลดขั้นตอนการสกัดสารโดยไม่ใช้พลังงานสูง และไม่ใช้สารเคมีอันตรายและราคาแพง

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างเห็ดนางนวลให้อยู่ในรูปแบบผงแห้ง

เตรียมเห็ดนางนวลจากฟาร์มเห็ดบางขันหมาก อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี นำไปล้างให้สะอาดด้วยน้ำ จากนั้นผึ่งให้แห้งและนำไปอบที่ตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนแห้งและน้ำหนักคงที่แล้วนำมาบดละเอียดด้วยเครื่องปั่น

2. การสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยวิธีการสกัดแบบทั่วไป (Conventional)

สกัดสารและทดสอบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวลโดยใช้วิธีทั่วไปและหาปริมาณสารสกัด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)

1) การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน

นำเห็ดนางนวลที่ผ่านการอบแห้ง 6 กรัม แช่น้ำปราศจากไอออน ในอัตราส่วน 1: 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรจากนั้นนำไปต้มให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้วนำไปกรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำของเหลวที่ได้มาตกตะกอนด้วยเอทานอล 99.99 เปอร์เซ็นต์ นำตะกอนที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงและนำไปอบให้แห้ง (ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ และคณะ, 2558)

2) การสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยเอทานอล

นำเห็ดนางนวลที่ผ่านการอบแห้ง 6 กรัมสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลเปอร์เซ็นต์ในอัตราส่วน 1: 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำไปสกัดด้วยโดยใช้เครื่องเขย่าแบบหมุนรอบด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำสารสกัดมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารละลายใสไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุน จากนั้นนำตะกอนที่ได้ไปอบให้แห้ง (สราญจิตร อินอ่อน, 2560)

3. ศึกษาผลของการ Partition ระหว่าง เอทานอลกับเกลือ 4 ชนิด

เตรียมเกลือ 4 ชนิดแยกกัน ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต (NH_4SO_4), ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4), โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4), แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรในน้ำ และผสมกับเอทานอลในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำจากนั้นเลือกชนิดของเกลือที่ละลายน้ำได้ นำมาเติมเกลือลงไปจนกว่าเกลือไม่ละลาย

นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้อง 60 นาที ความเร็วรอบ 150 ต่อนาที จากนั้นคำนวณปริมาณของเกลือ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ต่ำสุดที่ไม่ละลายน้ำ

4. การสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

นำเห็ดนางนวลที่ผ่านการอบแห้งและน้ำปราศจากไอออน อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อัตราส่วน 1:20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นปิดฝาปั่นด้วยเครื่องกวนสาร 20 นาที เมื่อครบเวลานั้น เติมเกลือ 100 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของน้ำ) และใส่เอทานอลในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ นำไปเขย่า 60 นาที จากนั้นนำมาใส่กรวยแยก ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ให้แยกชั้นจากนั้นแยกตัวอย่าง Top phase, Intermediate phase และ Bottom phase ใส่ในบีกเกอร์แยกกัน

บีกเกอร์ที่ 1 Top phase ชั้นของเอทานอลนำไประเหยโดยใช้วิธีปั่นเหวี่ยงสุญญากาศออกจากสารสกัดนำตะกอนที่ได้ไปอบให้แห้ง ชั่งน้ำหนักคำนวณร้อยละผลผลิตของสารสกัด และหาปริมาณสารสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

บีกเกอร์ที่ 2 Intermediate phase ชั้นของกากเห็ดนางนวลให้ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบต่อนาที และนำของเหลวใสมาตกตะกอนด้วยเอทานอลเย็นในอัตราส่วน 1:5 โดยต่อปริมาตรจากนั้นนำตะกอนที่ได้ไปอบให้แห้ง ชั่งน้ำหนักคำนวณร้อยละผลผลิตของสารสกัด และปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธี Phenol–Sulfuric Acid

บีกเกอร์ที่ 3 Bottom phase ชั้นน้ำเกลือนำไประเหยโดยใช้วิธีปั่นเหวี่ยงสุญญากาศและนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักคำนวณร้อยละการกลับคืน

1) ศึกษาผลของการเปลี่ยนความเข้มข้นเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

เปลี่ยนความเข้มข้นของเกลือ เป็น 125 และ 150 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตรของน้ำ) ให้ครบทั้งหมดจากนั้นเปรียบเทียบปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกที่ได้และร้อยละผลผลิตของสารสกัด จากนั้นเลือกความเข้มข้นที่ของเกลือไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

2) ศึกษาผลของการเปลี่ยนสัดส่วนน้ำต่อเอทานอลที่ 1:0.5, 1:1.5, 1:2.0 ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

เปลี่ยนสัดส่วนน้ำต่อเอทานอลในอัตราส่วนจาก 1:1 เป็น1:0.5, 1:1.5, 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ โดยใช้ความเข้มของเกลือที่สรุปได้จากข้อ 4.1

3) ศึกษาผลของปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ของชั้นเกลือ

นำชั้นเกลือที่ได้ จากการศึกษาผลของการเปลี่ยน ความเข้มข้น เกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) ข้อ 3.5.1 และ 3.5.2 การศึกษาผลของการเปลี่ยนสัดส่วนน้ำต่อเอทานอลที่ 1:0.5, 1:1.5,

1:2.0 ที่ระเหยน้ำออกด้วยโดยใช้วิธีปั่นเหวี่ยงสุญญากาศและนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่มาทดสอบปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์

5. การวิเคราะห์ทางเคมี

1) การหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมด้วยวิธี Phenol –Sulfuric Acid

2) การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ผลวิจัย

1. ผลการเตรียมตัวอย่างเห็ดนางนวลให้อยู่ในรูปแบบผงแห้ง

เห็ดนางนวลสดสีชมพูเมื่อนำไปอบและบดจะได้ผงเห็ดสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว

2. ผลการสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยวิธีการสกัดแบบทั่วไป (Conventional)

1) ผลการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน

ได้สารสกัดมีลักษณะเนื้อเหนียว จับตัวเป็นก้อน และมีสีดำเข้ม มีกลิ่น มีปริมาณร้อยละของผลผลิตของสารสกัด 3.31 และปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด 150.96±3.31 มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด

2) ผลการสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยเอทานอล

ได้สารสกัดมีลักษณะข้นเหนียวสีเหลืองและมีกลิ่นเฉพาะตัว มีปริมาณร้อยละของผลผลิตของสารสกัด 8.94 และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 12.75±0.20 มิลลิกรัมแกลลิก/กรัมสารสกัด

3. ผลของการ Partition ระหว่างเอทานอลกับเกลือ 4 ชนิด

พบว่าที่อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และใส่เอทานอลในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรต่อปริมาตรพบว่าชนิดของเกลือที่ไม่ละลายได้แก่ $MgSO_4$ และ KH_2PO_4 จากนั้นเติมเกลือลงไปจนกว่าเกลือไม่ละลาย นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้อง 60 นาที ความเร็วรอบ 150 ต่อนาที จะได้ปริมาณร้อยละของเกลือ NH_4SO_4, K_2HPO_4 ที่เกลือไม่ละลาย 28, 155 ตามลำดับ ผลการเปรียบเทียบชนิดของเกลือที่มีปริมาณร้อยละของเกลือที่ไม่ละลายสูงที่สุด ได้แก่ K_2HPO_4 จึงเลือกไปใช้สกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค โดยใช้เอทานอลและเกลือ K_2HPO_4 ที่ความเข้มข้นเกลือตั้งแต่ 100, 125, 150% ตามลำดับ

4. ผลการสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

1) ผลของการเปลี่ยนความเข้มข้นเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) สารที่สกัดได้ในแต่ละชั้นของความเข้มข้นเกลือตั้งแต่ 100% 125% 150% พบว่าชั้นเอทานอลที่ความเข้มข้นของเกลือต่ำจะให้ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดสูงที่สุด 10.31, 9.95, 8.50 ตามลำดับ ชั้นกากเห็ดนางนวลความเข้มข้นของเกลือสูงให้ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดสูงที่สุด 3.32, 3.33, 4.60 ตามลำดับ และชั้นน้ำเกลือได้ร้อยละการกลับคืน 72.18, 74.23, 76.73 ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดและร้อยละการกลับคืนของเกลือ

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

เมื่อทำการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของแต่ละชั้นของความเข้มข้นเกลือที่ 100%, 125% และ 150% พบว่า ความเข้มข้นของเกลือที่ 125% ให้ปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด (28.85±0.36) ตามด้วย 100% (18.70±0.10) และ 150% (24.52±0.21) ตามลำดับในขณะที่ความเข้มข้นของเกลือที่ 100% ให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงที่สุด (15.60±1.69) ตามด้วย 125% (14.85±0.23) และ 150% (6.26±0.24) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด

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

จากการศึกษาผลของเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) จึงเลือกความเข้มข้นของเกลือที่ 100% เนื่องจากใช้เกลือความเข้มข้นน้อยที่สุดแต่ได้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดทั้งชั้นเอทานอลและชั้นกากเห็ดนางนวลได้ค่อนข้างสูงและมีปริมาณปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงที่สุดและสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าวิธีทั่วไป

2) ผลของการเปลี่ยนสัดส่วนน้ำต่อเอทานอล

สารที่สกัดได้ในแต่ละชั้นของการเปลี่ยนสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:0.5, 1:1.5, 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ พบว่าชั้นเอทานอลที่สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลสูงจะให้ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดสูงที่สุด 10.16, 13.12, 7.05 ตามลำดับ ชั้นกากเห็ดนางนวลที่สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลสูงจะให้ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดสูงที่สุด7.05, 5.82, 7.47 ตามลำดับ และชั้นน้ำเกลือได้ร้อยละการกลับคืน 74.97, 72.56, 71.18 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดและร้อยละการกลับคืนของเกลือ

สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล (ปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ)	ร้อยละผลผลิตของสารสกัด		ร้อยละการกลับคืนชั้นน้ำเกลือ
	ชั้นเอทานอล	ชั้นกากเห็ดนางนวล	
1:0.5	10.16	7.05	74.97
1:1.0	10.31	3.32	72.18
1:1.5	13.12	5.82	72.56
1:2.0	14.51	7.47	71.18

เมื่อทำการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของแต่ละชั้นของการเปลี่ยนสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:0.5, 1:1.0, 1:1.5, 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ พบว่าที่สัดส่วนของน้ำต่อเอทานอลที่ 1:2.0 ให้ปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุดเท่ากับ 13.41±0.36, 18.70±0.10, 22.52±0.15, 31.15±1.14 และให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงที่สุดเท่ากับ 14.06±1.25, 15.60±1.69, 16.33±0.22, 24.29±1.73 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด

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

3) ผลการสกัดสารจากเห็ดนางนวลด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

จากการศึกษาผลของการเปลี่ยนความเข้มข้นเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) และผลของการเปลี่ยนสัดส่วนน้ำต่อเอทานอลพบว่า ผลทดสอบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดต่ำกว่าวิธีสกัดแบบทั่วไปจึงทำการทดสอบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของชั้นเกลือเมื่อทำการหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของชั้นเกลือที่ได้จากการสกัดโดยการเปลี่ยนสัดส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:0.5, 1:1.0, 1:1.5, 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร พบว่าให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ เท่ากับ 2.22±0.09, 1.42±0.15, 1.79±0.18, 1.96±0.11 ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของชั้นเกลือ

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

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

จากผลทดลองพบว่า เทคนิคการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (ATPS) สามารถสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกจากเห็ดนางนวล (*Pleurotus djamor*) พร้อมกันได้ในขั้นตอนเดียวโดยสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ความเข้มข้นของเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) ร้อยละ 100 และอัตราส่วนของน้ำต่อเอทานอล 1:2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำ ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและพอลิแซ็กคาไรด์สูงที่สุดเท่ากับ 31.15±1.14 มิลลิกรัมแกลลิก/กรัมสารสกัด, 24.29±1.73 มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีทั่วไปพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของวิธีทั่วไปเท่ากับ 12.75±0.20 มิลลิกรัมแกลลิก/กรัมสารสกัด มีปริมาณต่ำกว่าจากการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค แต่ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ของวิธีทั่วไปเท่ากับ 150.96±3.31 มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด มีปริมาณสูงกว่าจากการสกัดด้วยด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค เนื่องมาจากขั้นตอนการการสกัดมีการใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาที่น้อยซึ่งจากการรายงานพบว่าการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่อุณหภูมิสูง จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ได้ เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น จะไปช่วยทำลายหรือลดพันธะระหว่างสารประกอบต่าง ๆ ที่จับกันอยู่ภายในเซลล์ได้ จึงทำให้ได้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้เพิ่มขึ้น (Afshari et al., 2015)

ดังนั้นข้อเสนอแนะจากการทดลองนี้ควรศึกษาเพิ่มเติมในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคโดยเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นและควบคุมอุณหภูมิของน้ำที่ใช้สกัดให้คงที่และระยะเวลานานขึ้น หรือหลังจากสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคให้นำชั้นกากเห็ดนางนวลไปสกัดอีกครั้งโดยเพิ่มอุณหภูมิและเวลา เพื่อให้ได้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์มากยิ่งขึ้น

รายการอ้างอิง

ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ, ปัญญวัฒณ์ ปินตาทอง และนิสากร แซ่วัน. (2558). *ฤทธิ์ทางชีวภาพของพอลิแซ็กคาไรด์ละลายน้ำจากเห็ดหูหนูเห็ดหูหนูขาว เห็ดฟาง และเห็ดนางฟ้าสำหรับประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ.* มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

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

Maity, G. N., Maity, P., Khatua, S., Acharya, K., Dalai, S., & Mondal, S. (2021). Structural features and antioxidant activity of a new galactoglucan from edible mushroom *Pleurotus djamor*. *International Journal of Biological Macromolecules, 168*, 743-749. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.131

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

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

Liu, Z., Yu, D., Li, L., Liu, X., Zhang, H., Sun, W., . . . Jia, W. (2019). Three-phase partitioning for the extraction and purification of polysaccharides from the immunomodulatory medicinal mushroom *Inonotus obliquus*. *Molecules*, *24*(3), 403. https://doi.org/10.3390/molecules24030403

Ma, H., Wei, J. Q., Su, D., Guo, T., Feng, Z. P., Zhang, J. B., . . . Wei, L. Y. (2015). Aqueous two-phase extraction of polysaccharide from *Potentilla anserine L.* *Advance Journal of Food Science and Technology, 9*(10), 807-811. https://doi.org/10.19026/ajfst.9.1665