

# ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากใบหม่อนด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง

## Factors Influencing the Ultrasonic-assisted Extraction of Phenolic Compounds from Mulberry Leaves (*Morus alba* L.)

บรรลือ สังข์ทอง<sup>1\*</sup>, กนกรัตน์ สายคง<sup>2</sup>, กมลวรรณ อนุมาน<sup>2</sup>, พันธวงษ์ โรจน์ธนศิริวิณิช<sup>2</sup>, เมธิน ผดุงกิจ<sup>3</sup>  
Bunleu Sungthong<sup>1\*</sup>, Kanokrat Saikong<sup>2</sup>, Kamolwan Anaman<sup>2</sup>, Phantawong Rojthanasirivanid<sup>2</sup>,  
Methin Phadungkit<sup>3</sup>

### บทคัดย่อ

ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากใบหม่อน (*Morus alba* L.) พบได้ทั่วไปในประเทศไทย เนื่องจากใบหม่อนเป็นแหล่งสำคัญของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเช่น สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เป็นต้น การสกัดสารออกฤทธิ์ให้ได้ปริมาณสูงมีความสำคัญต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพชนิดที่มีฤทธิ์แรง (high potency products) การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงเป็นวิธีการสกัดที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากสกัดได้สารประกอบฟีนอลิกในปริมาณสูงและยังใช้เวลาในการสกัดสั้น งานวิจัยนี้วางแผนการทดลองแบบ Central composite face-centered design เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละ 50 – 90) และเวลาในการสกัดใบหม่อน (20 – 40 นาที) ที่ให้สารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดเมื่อตรวจวัดโดยวิธี Folin-Ciocalteu ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของเอทานอลมีผลต่อการสกัดใบหม่อนมากกว่าระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด การสร้างแบบจำลองจากการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นแบบพหุคูณพบว่า แบบจำลองนี้มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เป็น 0.937 และค่าสัมประสิทธิ์ของการทำซ้ำเป็น 0.932 จากแบบจำลองสามารถทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพื่อให้ได้สารประกอบฟีนอลิกสูงสุดได้คือ การใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 และสกัดเป็นเวลา 40 นาที

**คำสำคัญ:** ใบหม่อน สารประกอบฟีนอลิก คลื่นเสียงความถี่สูง การสกัด

### Abstract

Health products from mulberry leaves (*Morus alba* L.) are widely available in Thailand due to highly containing bioactive compounds e.g. phenolic and flavonoid compounds. Extracts possess large amount of bioactive compounds is required to develop a high potency health product. Ultrasonic-assisted extraction has been exhibited as an effective method for a high yield of phenolic contents and time-saving extraction. A central composite face-centered design was applied to investigate the effects of ethanol concentration (50 – 90%) and extraction time (20 – 40 min.) on total phenolic contents, which were determined using the Folin-Ciocalteu method. It was found that concentration of ethanol played more important role on extraction yield

<sup>1</sup>อาจารย์, <sup>2</sup>นิสิตหลักสูตรเภสัชศาสตรบัณฑิต สาขาการบริบาลทางเภสัชกรรม, <sup>3</sup>ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

<sup>1</sup>Lecturer, <sup>2</sup>Students in Doctor of Pharmacy Program in Pharmaceutical Care, <sup>3</sup>Assistant Professor, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Kantarawichai District, Maha Sarakham, 44150, Thailand

\*Corresponding Author: Bunleu Sungthong, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Kantarawichai District, Maha Sarakham, 44150, Thailand, e-mail: bun\_sung@yahoo.com

than extraction time. The model was further fit with multiple linear regression analysis, and showed good fit with high correlation coefficient ( $R^2 = 0.937$ ) and high reproducibility (0.932). The optimal condition for phenolic extraction from mulberry leaves was 50% ethanol with extraction time of 40 min.

**Keywords:** Mulberry leaves, Phenolic compounds, Ultrasonication, Extraction

## บทนำ

ปัจจุบันประชาชนให้ความสนใจด้านการดูแลสุขภาพมากขึ้น โดยมุ่งเน้นการรับประทานอาหารหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เพื่อป้องกันโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง เป็นต้น<sup>1</sup> ซึ่งโรคดังกล่าวนี้เกิดจากการเสื่อมของเนื้อเยื่อต่าง ๆ อันมีสาเหตุมาจากการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน<sup>2</sup> ผลิตภัณฑ์ที่มีอยู่ในท้องตลาดที่มุ่งเน้นการป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันมีหลายชนิดเช่น ยาเม็ดสารสกัดเมล็ดองุ่น ยาเม็ดสารสกัดจากผลเชอร์รี่อะเซโรรา เป็นต้น องค์ประกอบของสารสกัดเหล่านี้คือ วิตามิน เกลือแร่ สารประกอบฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิก สำหรับสารประกอบฟีนอลิกหรือสารประกอบฟลาโวนอยด์นั้น นอกจากฤทธิ์ต้านภาวะเครียดออกซิเดชันแล้ว ยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่น เช่นฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด<sup>3,4</sup> ฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง<sup>5</sup> และลดการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด<sup>7</sup>

หม่อน (*Morus alba* L.) เป็นพืชที่มีศักยภาพสูงในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพ เนื่องจากมีส่วนประกอบของสารประกอบทุติยภูมิ ได้แก่ สารประกอบฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิก<sup>8</sup> ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด<sup>9</sup> ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส<sup>10</sup> ฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือด<sup>11</sup> ปัจจุบันมีการพัฒนาใบหม่อนเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น ชาชง ลูกก๊อบหม่อน แยมลูกหม่อน เป็นต้น<sup>12</sup>

การนำใบหม่อนหรือผงใบหม่อนไปผลิตหรือใช้ประโยชน์โดยตรงนั้น ต้องใช้ในปริมาณที่สูงมาก จึงจำเป็นต้องสกัดใบหม่อนเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพปริมาณมาก การสกัดสารสำคัญจากพืชสามารถทำได้หลายวิธี เช่นการสกัดด้วยการหมัก

การสกัดแบบวิธี soxhlet<sup>13</sup> การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ การสกัดด้วยของไหลยิ่งยวด<sup>14</sup> การสกัดด้วยคลื่นความถี่สูง<sup>15,16</sup> การสกัดแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อจำกัดต่างกัน เช่นการสกัดด้วยวิธีการหมักจะใช้เวลานานในการสกัด ในขณะที่การสกัดด้วยวิธี soxhlet และคลื่นไมโครเวฟจะเกิดความร้อนสูงในขณะที่สกัดจึงไม่เหมาะสมที่สลายตัวได้ด้วยความร้อน และการสกัดด้วยของไหลยิ่งยวดนั้นต้องการเครื่องมือที่จำเพาะและมีราคาแพง สำหรับการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงนั้นเป็นวิธีที่ใช้ระยะเวลาในการสกัดสั้น เกิดความร้อนต่ำ และเครื่องมือราคาไม่สูงมากนัก<sup>17</sup>

การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงนั้น เป็นการให้คลื่นเสียงความถี่สูงมากกว่า 20 kHz แก่ตัวอย่างของเหลวส่งผลให้เกิดการสั่นของอนุภาค โดยคลื่นเสียงนี้จะทำให้เกิดการบีบอัดและการคลายตัวเป็นจังหวะ ในขั้นตอนการคลายตัวนั้นจะเกิดฟองสุญญากาศทำหน้าที่เป็น microjet และทำให้เซลล์พืชแตก จึงปลดปล่อยสารสำคัญออกสู่ตัวทำละลาย<sup>18,19,20</sup> ดังนั้นการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงสามารถลดระยะเวลาในการสกัด มีประสิทธิภาพสูงในการสกัดรวมทั้งไม่เกิดการสลายตัวจากความร้อน เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีดั้งเดิม เช่นการหมักหรือการสกัดด้วยวิธี soxhlet<sup>13</sup>

งานวิจัยก่อนหน้านี้ได้มีการศึกษาอัตราส่วนของเมทานอล เอทานอล n-propanol และ isopropanol กับน้ำในอัตราส่วนร้อยละ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ต่อปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากใบหม่อน (*Morus alba* L.) พบว่าการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 40 สกัดได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด<sup>21</sup> นอกจากนี้ Wanyo et al.<sup>22</sup> ได้ศึกษาการทำใบหม่อนให้แห้งโดยการใช้รังสีอินฟราเรดเปรียบเทียบกับ การอบด้วยลมร้อน (60 °C) พบว่าใบหม่อนที่ทำแห้ง

ด้วยที่ทำแห้งด้วยรังสีอินฟราเรดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าการอบด้วยลมร้อน จากการศึกษาข้างต้นยังไม่พบการศึกษาใดที่ใช้การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกในใบหม่อน (*Morus alba* L.) โดยวางแผนการทดลองแบบ Central composite face-centered design ร่วมกับการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นแบบพหุคูณ เพื่อวิเคราะห์ผลของความเข้มข้นของเอทานอล (50 – 90%) และระยะเวลาในการสกัด (20 – 40 นาที) คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดออกมาในรูปแบบโครมัสโมแกรมของกรดแกลลิก (Gallic acid) ในใบหม่อนแห้ง 1 กรัม และแสดงสมการของแบบจำลองทางสถิติ (Statistical Model)

### วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

#### สารเคมีและเครื่องมือ

กรดแกลลิกซื้อจากบริษัท Acros Organics (Geel, Belgium) Folin-Ciocalteu's reagent จากบริษัท Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA) อ่างสกัดคลื่นเสียงความถี่สูงจากบริษัท Crest Ultrasonics (Penang, Malaysia) เครื่อง Microplate reader with UV-Vis spectrophotometer จากบริษัท BMG

LABTECH (Offenburg, Germany) สารเคมีอื่นี่มีความบริสุทธิ์ระดับ Analytical grade

#### ตัวอย่างพืช

ตัวอย่างใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 (เก็บเกี่ยวในเดือนมีนาคม 2555) ซึ่งพิสูจน์เอกลักษณ์และเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในตู้สุญญากาศใหม่ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตัวอย่างใบหม่อนที่ได้นำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำปราศจากไอออน ตัดเส้นใบออก หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็กและอบที่ 50 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง บดลดขนาด เก็บรักษาไว้ในโถดูดความชื้นและป้องกันแสงจนกว่าจะทำการทดลอง

#### การสกัดใบหม่อน

ชั่งผงใบหม่อนหนัก 0.5 กรัม เติมเอทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 50 – 90) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าเพื่อให้ผงใบหม่อนเปียกทั้งหมด สกัดที่เวลาต่างๆ (20 – 40 นาที) โดยสกัดด้วยอ่างสกัดคลื่นเสียงความถี่สูง 45 kHz กำลังไฟ 200 วัตต์ เมื่อการสกัดเสร็จสิ้นตามเวลาที่กำหนดไว้ นำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที แยกสารสกัดส่วนใสออกจากหลอดทดลองและนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

**Table 1** Experimental design level and total phenolic compounds from mulberry leaves

Exp No	Ethanol concentration [%]	Extracting time [minutes]	Total phenolic contents <sup>a</sup>
			[µg GAE/ g]
1	50 (-1) <sup>b</sup>	20 (-1)	221.196
2	90 (+1)	20 (-1)	146.558
3	50 (-1)	40 (+1)	294.529
4	90 (+1)	40 (+1)	160.399
5	50 (-1)	30 (0)	280.471
6	90 (+1)	30 (0)	194.312
7	70 (0)	20 (-1)	223.587
8	70 (0)	40 (+1)	230.471
9	70 (0)	30 (0)	244.674
10	70 (0)	30 (0)	238.152
11	70 (0)	30 (0)	220.761

<sup>a</sup> microgram gallic acid equivalent per 1 g of mulberry leave on dry basis

<sup>b</sup> a number in parenthesis indicated; the low level (-1), the middle level (0), and the high level (+1) of the model.

### การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents)

วิธีการวิเคราะห์ปรับปรุงจาก Lapornik *et al.*<sup>23</sup> โดยนำสารสกัดผงใบหม่อนปริมาณ 25  $\mu\text{L}$  ใส่ใน micro-titer 96-Well plate เติมน้ำละลาย Folin-Ciocalteu's reagent 125  $\mu\text{L}$  ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเติมน้ำละลาย 7.5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  100  $\mu\text{L}$  ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง Microplate reader with UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร แสดงผลในหน่วยไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกในสารสกัดใบหม่อนแห้ง 1 กรัม

### การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิก

การออกแบบการแบบ Central composite design เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิก 2 ปัจจัย โดยปัจจัยที่หนึ่งคือความเข้มข้นของเอทานอลในการสกัด โดยกำหนดระดับของตัวแปรเป็นดังนี้ ความเข้มข้นระดับต่ำ (level -1) คือ ร้อยละ 50 ระดับกลาง (level 0) คือ ร้อยละ 70 และระดับสูง (level +1) คือ ร้อยละ 90 ปัจจัยที่สองคือ ระยะเวลาในการสกัด โดยกำหนดระดับของตัวแปรเป็นดังนี้ ระยะเวลาในการสกัดระดับต่ำ (level -1) คือ 20 นาที ระยะเวลาในการสกัดระดับกลาง (level 0) คือ 30 นาที และระยะเวลาในการสกัดระดับสูง (level +1) คือ 40 นาที สามารถคำนวณจำนวนตัวอย่างและออกแบบการทดลองได้จากสมการ

$$N = 2^n + 2n + 3 \quad (1)$$

เมื่อ N คือ จำนวนครั้งของการทดลองและ

n คือ จำนวนตัวแปรที่ทำการศึกษา

จากสมการ (1) การทดลอง 3 ครั้งเพิ่มเติมเป็นการทำซ้ำที่ค่ากลางของแต่ละตัวแปร เพื่อศึกษาความแปรปรวนของแบบจำลองการสกัดนี้ ลำดับการทดลองทั้งหมดได้จากการสุ่ม เพื่อลดความผิดพลาดเชิงระบบ (Systematic error) การสร้างแบบจำลองใช้โปรแกรม

MODDE 9.0 (Umetrics, Umeå, Sweden) ลำดับการทดลองและรายละเอียดของการทดลองแสดงใน Table 1 เมื่อได้ข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากการศึกษาแล้ว นำข้อมูลดังกล่าวสร้างแบบจำลอง และศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรต่าง ๆ กับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกโดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นแบบพหุคูณ (multiple linear regression analysis)

### ผลการทดลองและวิจารณ์

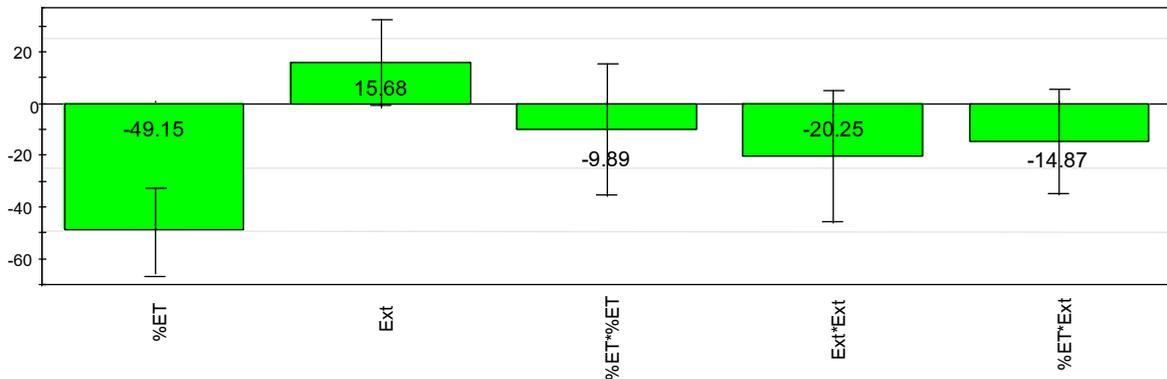
ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้ ซึ่งตรวจวัดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu แสดงใน Table 1 นำข้อมูลดังกล่าวมาสร้างแบบจำลองด้วยวิธี Multiple linear regression analysis โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป MODDE 9.0 ค่าสัมประสิทธิ์ของแต่ละตัวแปรหรือระหว่างตัวแปรดังแสดงใน Figure 1 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $R^2$ ) ของแบบจำลองมีค่าเป็น 0.937 ค่า adjusted  $R^2$  เป็น 0.875 และมีค่าสัมประสิทธิ์ความแม่นยำในการทำซ้ำเป็น 0.932 แสดงว่าแบบจำลองนี้สามารถคาดการณ์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกจากความเข้มข้นของเอทานอลและระยะเวลาในการสกัด ได้ใกล้เคียงกับค่าจริงที่ได้จากการทดลองดังแสดงใน Figure 2 ( $p = 0.005$ )

จากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของเอทานอลส่งผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าระยะเวลาในการสกัด ดังจะเห็นได้จากค่าสัมประสิทธิ์สัมบูรณ์ของความเข้มข้นเอทานอล (49.15) มีค่ามากกว่าค่าสัมประสิทธิ์สัมบูรณ์ของระยะเวลาสกัด (15.68) ดังแสดงใน Figure 1

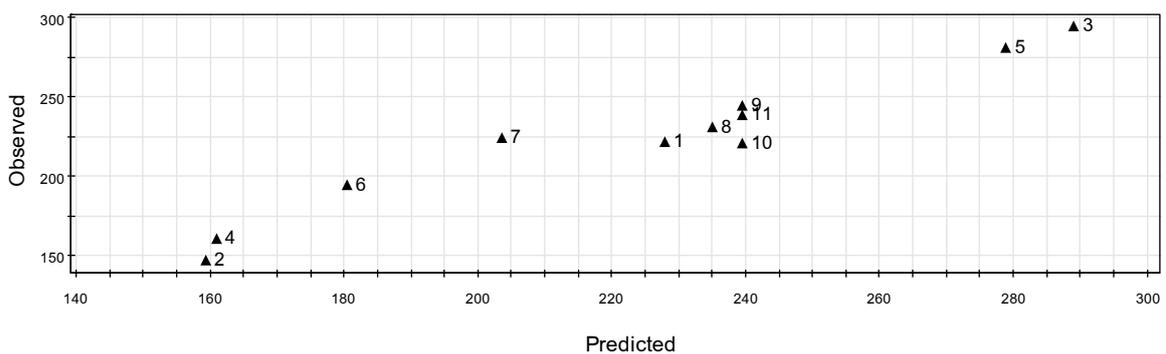
เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกันในความเข้มข้นของเอทานอลที่เท่ากันพบว่าเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีค่าเพิ่มขึ้น ( $p \leq 0.05$ ) ส่วนที่ความเข้มข้นร้อยละ 70 พบว่าการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดไม่ทำให้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น ( $p \leq 0.05$ ) แต่สำหรับความเข้มข้นร้อยละ 90 พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลายาวขึ้นจะทำให้ปริมาณสารเพิ่มขึ้นจนถึงค่าหนึ่ง (30 นาทีพบ

194.321 µg/g) จากนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงเมื่อเพิ่มเวลาขึ้น (40 นาทีพบ 160.399 µg/g) อาจเกิดจากการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงในตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ ทำให้เกิดอนุมูลอิสระชนิดไฮดร

อกซิลมีผลให้สารประกอบฟีนอลิกไม่คงตัว นอกจากนี้แล้วการใช้เวลาในการสกัดนานขึ้นทำให้เกิดความร้อน ดังนั้นจึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกสลายตัวได้เช่นเดียวกัน<sup>19</sup>



**Figure 1** Scaled and centered coefficients of total phenolic contents from mulberry leaves (N = 11,  $R^2 = 0.937$ , Adjust  $R^2 = 0.875$ , Confident level = 0.95, %ET = concentration of ethanol, Ext = extraction time)



**Figure 2** Observed values and predicted values of total phenolic contents with experiment number label (N = 11,  $R^2 = 0.937$ )

สำหรับการสร้างแบบจำลองของการสกัดใบหม่อนด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง เพื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกโดยใช้โปรแกรม MODDE 9.0 ในการสร้าง Response surface plot (Figure 3) และได้สมการในการคาดการณ์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents, TPC) ในใบหม่อนดังนี้

$$\text{TPC} = -49.1545X + 15.6763Y - 9.8854X^2 - 20.2479Y^2 - 14.873XY + 239.628 \quad (2)$$

เมื่อ X คือ ความเข้มข้นของเอทานอลที่ระดับของตัวแปร (-1), (0) และ (+1)

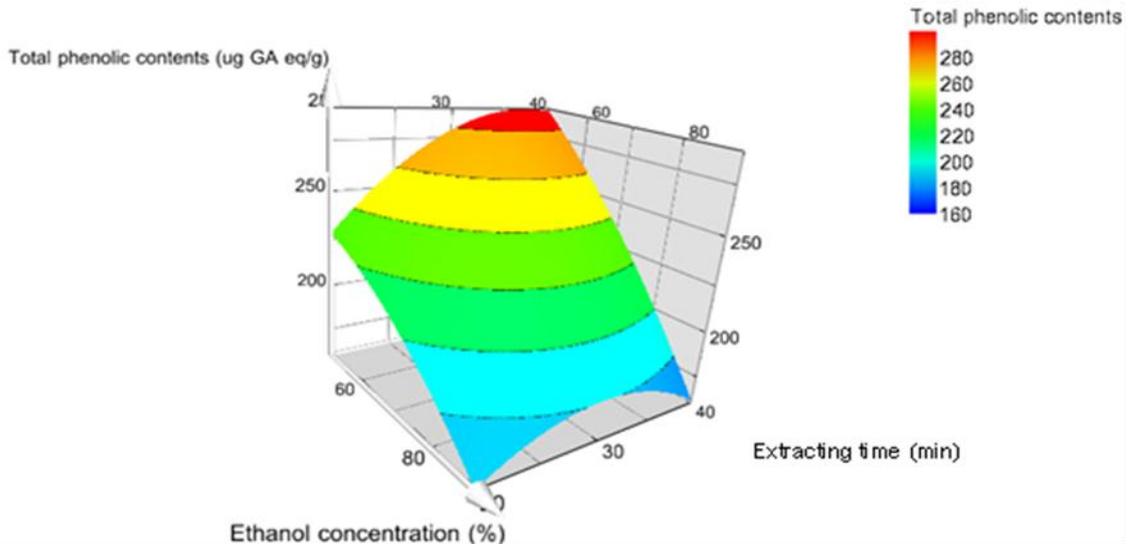
Y คือ ระยะเวลาในการสกัดที่ระดับของตัวแปร (-1), (0) และ (+1)

ระดับ (-1), (0) และ (+1) สามารถดูได้จาก Table 1

จากสมการที่ (2) พบว่าการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นเวลา 40 นาทีให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด ซึ่งค่าที่ได้ใกล้เคียงกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Kim *et al.*<sup>21</sup> ที่ทำการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด bio-active

ingredients จากใบหม่อน (*Morus alba* L.) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก คือการใช้เอทานอลความเข้มข้น 40% และสอดคล้องกับการทดลองของ Rodrigues *et al.*<sup>24</sup> ที่พบว่า การสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากกะลามะพร้าว (*Cocos nucifera*) ได้มากที่สุด และการศึกษาของ Wang *et al.*<sup>25</sup> พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

สารประกอบฟีนอลิกในเหง้าของ *Sparganii rhizoma* คือ 40 นาที สำหรับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของแบบจำลองนั้นมีค่า 0.937 ซึ่งมีค่าสูงใกล้เคียงกับการสกัด *Artemisia absinthium* ที่มีค่า 0.933<sup>17</sup> โดยปกติแล้วแบบจำลองที่ดีควรมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มากกว่า 0.8<sup>26</sup>



**Figure 3** Response surface plot of total phenolic contents from mulberry leaves as functions of ethanol concentration (%) and extracting time (min)

การสกัดโดยใช้เอทานอลผสมน้ำ ให้สารประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่ต่ำมาก เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์อื่น เช่น การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากใบของต้นโรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis*) พบว่าเมื่อสกัดด้วยเอทานอลจะได้สารสำคัญในปริมาณต่ำกว่าการสกัดด้วยบิวทานโน เอธิลอะซิเตต<sup>16</sup> และเมทานอล แต่เนื่องจากปัจจัยด้านความปลอดภัยต่อสุขภาพของมนุษย์และเหตุผลในการนำสารสกัดไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพ จึงยังคงใช้เอทานอลหรือเอทานอลผสมน้ำเป็นตัวทำละลายเพื่อสกัดสารสำคัญอยู่เช่นเดิม<sup>27</sup>

## สรุป

การสกัดใบหม่อนด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงเป็นวิธีที่รวดเร็ว ผลการสร้างแบบจำลองระหว่างความ

เข้มข้นของเอทานอลและระยะเวลาในการสกัดใบหม่อนกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่าความสัมพันธ์ของแต่ละตัวแปรส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้แตกต่างกัน พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลในการสกัดมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดใบหม่อนด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงคือ การใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 สกัดเป็นเวลานาน 40 นาที

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่สนับสนุนทุนวิจัยบางส่วน และอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ

## เอกสารอ้างอิง

1. Butt MS, Nazir A, Sultan MT, Schroen K. *Morus alba* L. nature's functional tonic. Trends Food Sci Tech 2008; 19: 505 – 512.
2. Bansal P, Paul P, Mudgal J, Nayak PG, Pannakal ST, Priyadarsini KI *et al.* Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of the flavonoid rich fraction of *Pilea microphylla* (L.) in high fat diet/streptozotocin-induced diabetes in mice. Expt Toxicol Pathol 2012; 64: 651 – 658.
3. Gandhi GR, Ignacimuthu S, Paulraj MG. *Solanum torvum* Swartz. Fruit containing phenolic compounds shows antidiabetic and antioxidant effects in streptozotocin induced diabetic rats. Food Chem Toxicol 2011; 49: 2725 – 2733.
4. Abdallah HM, Salama MM, Abd-elrahman, El-Maraghy SA. Antidiabetic activity of phenolic compounds from Pecan bark in streptozotocin-induced diabetic rats. Phytochem Lett 2011; 4: 337 – 341.
5. Atun S, Arianingrum R, Sulistyowati E, Aznam N. Isolation and antimutagenic activity of some flavanone compounds from *Kaempferia rotunda*. Int J Chem Anal Sci 2013; 4: 3 – 8.
6. Strube M, Dragsted LO, Larsen JC. Naturally occurring antitumor agents I: Plant phenols. Nordic Council of Ministers 1993; 605: 1 – 222.
7. Chan KC, HO HH, Huang CN, Lin MC, Chen HM, Wang CJ. Mulberry Leaf Extract Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Migration Involving a Block of Small GTPase and Akt/NF-KB Signals. J Agri Food Chem 2009; 57: 9147 – 9153.
8. Ercisli S, Orhan E. Chemical composition of white (*Morus alba*) red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. Food Chem 2007; 103: 1380 – 1384.
9. Zhang M, Chen M, Zhang HQ, Sun S, Xia B, Wu FH. In vivo hypoglycemic effects of phenolics from the root bark of *Morus alba*. Fitoterapia 2009; 80: 475 – 477.
10. Yang Z, Wang YC, Wang Y, Zhang Y. Bioassay-guided screening and isolation of  $\alpha$ -glucosidase and tyrosinase inhibitors from leaves of *Morus alba*. Food Chem 2012; 131: 617 – 625.
11. El-Beshbishy HA, Singab ANB, Sinkkonen J, Pihlaja K, Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba* L. (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats. Life Sci 2006; 78: 2724 – 2733.
12. Ning DW, Lu B, Zhang, YL. The processing technology of mulberry series product. Chin Fruit Veget 2005; 5: 38 – 40.
13. Sun Y, Liu Z, Wang J. Ultrasound-assisted extraction of five isoflavones from *Iris tectorum* Maxim. Sep Purif Technol 2011; 78: 49 – 54.
14. Wakte PS, Sachin BS, Patil AA, Mohato DM Band TH, Shinde DB. Sep Purif Technol 2011; 79: 50 – 55.
15. Albu S, Joyce E, Paniwnyk L, Lorimer JP, Mason TJ. Potential fro the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. Ultrason Sonochem 2004; 11: 261 – 265.
16. Briars R, Paniwnyk L. Effect of ultrasound on the extraction of artemisinin from *Artemisia annua*. Ind Crop Prod 2013; 42: 595 – 600.
17. Sahin S, Aybastier Ö, Isik E. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant compounds from *Artemisia absinthium* using response surface methodology. Food Chem 2013; 141: 1361 – 1368.
18. Paniwnyk L, Beaufoy E, Lorimer JP, Mason TJ. The extraction of rutin from flower buds of

- Sophora japonica*. Ultrason Sonochem 2001; 8: 299 – 301.
19. Toma M, Vinatoru M, Paniwnyk L, Mason TJ. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. Ultrason Sonochem 2001; 8: 137 – 142.
20. Tian Y, Xu Z, Zheng B, Lo YM. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. Ultrason Sonochem 2013; 20: 202 – 208.
21. Kim JM, Chang SM, Kim IH, Kim YE, Hwang JH, Kim KS, *et al.* (2007). Design of optimal solvent for extraction of bio-active ingredients from mulberry leaves. Biochem Eng J; 37(3): 271–278.
22. Wanyo P, Siriamornpun S, Meeso N. (2011). Improvement of quality and antioxidant properties of dried mulberry leaves with combined far-infrared radiation and air convection in Thai tea process. Food Bioprod Process; 89: 22 – 30.
23. Lapornik B, Prosek M, Wondra AG. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. J Food Eng 2005; 71: 214 – 222.
24. Rodrigues S, Pinto GAS, Fernandes FAN. Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. Ultrason Sonochem 2008; 15: 95 – 100.
25. Wang X, Wu Y, Chen G, Yue W, Liang Q, Wu Q. Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from *Sparganii rhizoma* with response surface methodology. Ultrason Sonochem 2013; 20: 846 – 854.
26. Eriksson L, Johansson E, Kettaneh-Wold N, Wikström C, Wold S. Design of Experiments: Principles and Applications. Umeå: Umetrics Academy; 2000.
27. Paniwnyk L, Cai H, Albu S, Mason TJ, Cole R. The enhancement and scale up of the extraction of anti-oxidants from *Rosmarinus officinalis* using ultrasound. Ultrason Sonochem 2009; 16: 287 – 292.