



การเตรียมโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจากเห็ดนางฟ้าภูฐาน
PREPARATION OF POLYSACCHARIDE HYDROLYSATES FROM
Pleurotus sajor-caju (Fr.) SINGER

อลิศรา สมานประธาน

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2568

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การเตรียมโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจากเห็ดนางฟ้าภูฐาน
PREPARATION OF POLYSACCHARIDE HYDROLYSATES FROM
Pleurotus sajor-caju (Fr.) SINGER

อลิศรา สมานประธาน

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2568

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง



หน้าอนุมัติการค้นคว้าอิสระ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

การค้นคว้าอิสระเรื่อง การเตรียมโพลิแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจากเห็ดนางฟ้าภูฐาน

Preparation of Polysaccharide Hydrolysates from

Pleurotus sajor-caju (Fr.) Singer

ผู้ประพันธ์ อลิศรา สมานประธาน

คณะกรรมการสอบ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สริตา สังข์ทอง

ประธานกรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ

กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง

กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มนตรา ศรีชะแย้ม

กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ)

คณบดี

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วันดี รังสิจิตรประภา)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง ที่คอยให้คำแนะนำและให้ความรู้ และเป็นที่ปรึกษาตลอดจนทำให้การศึกษาค้นคว้าอิสระนี้สำเร็จ และยังช่วยแก้ไขและตรวจทานเล่มการค้นคว้าอิสระนี้ให้สมบูรณ์แบบ

ขอขอบพระคุณประธานคณะกรรมการผู้คุมสอบ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สริตา สังข์ทอง ประธานกรรมการสอบ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มนตรา ศรีชะแย้ม กรรมการสอบ ที่ช่วยให้คำแนะนำและข้อเสนอแนะสำหรับการค้นคว้าอิสระในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงทุกท่าน ที่ให้ความรู้ รวมถึงเจ้าหน้าที่บุคลากรประจำสำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ทั้งในวิทยาเขตกรุงเทพ และเชียงราย ที่ให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือตลอดการทำการศึกษาค้นคว้าอิสระนี้ให้สำเร็จ

สุดท้ายขอขอบพระคุณครอบครัว เพื่อน และน้องแมวกะทิ กระทิง ลูกรัก ที่คอยเป็นกำลังใจ และแรงสนับสนุนที่ดีเสมอมา ผู้วิจัยหวังว่าการค้นคว้าอิสระนี้จะเป็นประโยชน์ให้แก่ผู้ที่สนใจ หากผิดพลาดประการใดขออภัยไว้ ณ ที่นี้

อลิศรา สมานประธาน

ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	การเตรียมโพลิแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจากเห็ดนางฟ้าภูฐาน
ผู้ประพันธ์	อลิศรา สมานประธาน
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเตรียมโพลิแซ็กคาไรด์และโพลิแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยวิธีการทางเอนไซม์จากเห็ดนางฟ้าภูฐาน โดยเริ่มจากการสกัดโพลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดนางฟ้าภูฐานด้วยน้ำร้อนพบว่า ได้ผลผลิตมากที่สุด คือ ร้อยละ 5.76 ± 0.15 โดยน้ำหนัก และเมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเบต้ากลูแคนพบว่า มีปริมาณเบต้ากลูแคนอยู่ที่ร้อยละ 17.19 ± 2.8 โดยน้ำหนัก และเมื่อนำสารสกัดโพลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ มาทำการย่อยด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส โดยใช้ปริมาณความเข้มข้นของยูนิตที่แตกต่างกัน ได้แก่ 10, 20 และ 30 ยูนิต ตามลำดับ โดยจะได้สารสกัดมาเป็น โพลิแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส และโพลิแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรท และจากผลที่ได้พบว่ามีปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการสกัด ไม่มีผลต่อผลผลิตของโพลิแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส และโพลิแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรท ซึ่งผลที่ได้จะอยู่ในช่วงร้อยละ 16.67 ± 2.8 , ร้อยละ 18.67 ± 1.15 , ร้อยละ 66.83 ± 4.6 และร้อยละ 68.33 ± 3.30 โดยน้ำหนักตามลำดับ และหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนสแล้ว ได้นำไปวิเคราะห์คุณสมบัติต่าง ๆ โดยพบว่า ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัด มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบสารด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีพบว่า สารสกัดโพลิแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสมีขนาดของโมเลกุลที่ใหญ่ ในขณะที่โพลิแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรทจะมีขนาดของโมเลกุลที่เล็กกว่า นอกจากนี้พบว่า ผลของการวัดค่าความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระแสดงให้เห็นว่า สารสกัดที่ได้มีค่าที่ลดลงประมาณ 2 เท่าหลังจากถูกย่อยด้วยเอนไซม์เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส โดยอย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาสารองค์ประกอบอื่น และฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นที่สำคัญเพิ่มเติม เพื่อแนวทางในการใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางต่อไป

คำสำคัญ: โพลิแซ็กคาไรด์, วิธีการทางเอนไซม์, โพลิแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส, โครมาโตกราฟี, ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

Independent Study Title Preparation of Polysaccharide Hydrolysates from *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer

Author Alisara Samanprathan

Degree Master of Science (Cosmetic Science)

Advisor Assistant Professor Phanuphong Chaiwat, Ph. D.

ABSTRACT

This study aims to prepare polysaccharide hydrolysates and their filtrates from *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer by the enzymatic method. The crude polysaccharides were extracted using hot water extraction, with the highest yield obtained at $5.76 \pm 0.15\%$ w/w and β -glucan content of $17.19 \pm 2.8\%$ w/w. The crude polysaccharides were then hydrolyzed using endo-1,3- β -D-glucanase at various enzyme concentrations of 10, 20, and 30 units. The results showed that the enzyme unit had no effect on the yields of polysaccharide hydrolysates and their filtrates, which ranged between $16.67 \pm 2.8\%$ and $18.67 \pm 1.15\%$ (w/w), and $66.83 \pm 4.6\%$ and $68.33 \pm 3.30\%$ (w/w), respectively. The results showed that the values of total carbohydrate content (TCC) and reducing sugar content were significantly decreased after enzymatic hydrolysis ($p < 0.05$). Thin-layer chromatography revealed that the large-sized molecules were present in the polysaccharide hydrolysates, while the polysaccharide hydrolysate filtrates possessed lower molecular size compounds. However, antioxidant capacity assayed by ABTS-radical scavenging activity was 2-fold decreased when the polysaccharides were hydrolyzed. Therefore, other bioactive constituents and their biological activities of polysaccharide hydrolysates could be conducted to support their potential utilization in cosmetics.

Keywords: Polysaccharide, Enzymatic Hydrolysis, Hydrolysate, Thin-layer Chromatography, Antioxidant

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ขอบเขตของการศึกษา	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2 ทบทวนวรรณกรรม	4
2.1 เห็น	4
2.2 เห็นนางฟ้าภูฐาน	5
2.3 โพลีแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide)	7
2.4 เบต้ากลูแคน (β -Glucan)	8
2.5 โอลิโกแซ็กคาไรด์ (Oligosaccharide)	9
2.6 프리ไบโอติก (Prebiotic)	10
2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ	10
2.8 การวิเคราะห์สารองค์ประกอบและฤทธิ์ทางชีวภาพ	11
3 วิธีดำเนินงานวิจัย	13
3.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	13
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	14
3.3 วิธีดำเนินการวิจัย	15
4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	18
4.1 การเตรียมตัวอย่างเห็นนางฟ้าภูฐาน	18
4.2 การสกัดโพลีแซ็กคาไรด์	18
4.3 การเตรียมโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส	19
4.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติต่าง ๆ ของโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส	20
5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	26
5.1 สรุปผลการวิจัย	26
5.2 ข้อเสนอแนะ	27

สารบัญ

บทที่	หน้า
รายการอ้างอิง	29
ภาคผนวก	33



สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
3.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	13
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	14
4.1 น้ำหนักก่อนอบ น้ำหนักหลังอบ และร้อยละน้ำหนักแห้งของเห็ดนางฟ้าภูฐาน	18
4.2 ปริมาณสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่ได้จากเห็ดนางฟ้าภูฐาน	19
4.3 ปริมาณสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่ได้จากสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ใน ปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ	20
4.4 ปริมาณกลูแคนที่ได้จากสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์	21
4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ ไฮโดรไลสที่สกัดได้ในปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ	21
4.6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคา ไรด์ไฮโดรไลสที่สกัดได้ในปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ	22
4.7 ค่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และ โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่สกัดได้ในปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ	25

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 ลักษณะของเห็ดนางฟ้าภูฐาน	6
2.2 การแบ่งประเภทโพลีแซ็กคาไรด์ตามพื้นฐานต่าง ๆ	7
2.3 โครงสร้างทางเคมีของเบต้ากลูแคน	9
4.1 สารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์	19
4.2 การเคลื่อนที่ของสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเสท	24



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

เห็ดเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และมีมูลค่าทางเศรษฐกิจที่มีแนวโน้มที่สูง พบว่ามูลค่าทางเศรษฐกิจของตลาดเห็ดในประเทศไทยมีแนวโน้มผลิตเห็ดเพิ่มขึ้นทุกปี สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทยพบว่าในปี พ.ศ.2560 มีปริมาณผลผลิตเห็ดอยู่ที่ 41,322 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2,291 ล้านบาท และในปี พ.ศ.2563 มีปริมาณการผลิตเชื้อเห็ดของผู้ประกอบการจำนวน 20 ล้านขวด โดยคาดว่าจะผลิตดอกเห็ดสดได้ปริมาณ 150,000 ตัน คิดเป็นมูลค่า 9,000 ล้านบาท แสดงให้เห็นว่าประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศที่มีศักยภาพการผลิตเห็ดเศรษฐกิจโลกและ พบว่าประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยงเห็ดเศรษฐกิจถึง 13 ชนิด ได้แก่ เห็ดนางฟ้าภูฐาน เห็ดนางรมฮังการี เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดหูหนู เห็ดกระด้าง เห็ดขอนขาว เห็ดหอม เห็ดโคนญี่ปุ่น เห็ดมิลค์กี้ เห็ดครง เห็ดหลินจือ และเห็ดถั่งเช่า (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ [สวทช.], 2564)

เห็ดนางฟ้าภูฐานหรือเห็ดแขก มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Pleurotus sajjo-caju* (Fr.) Singer เป็นเห็ดที่ขึ้นบนต้นไม้เนื่ออ่อนที่ตายแล้ว มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว ซึ่งพบได้ทั่วประเทศภูฐาน เป็นเห็ดตระกูลเดียวกับเห็ดนางฟ้า พบว่าเห็ดนางฟ้าภูฐานสามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็ว โดยในเห็ดพบว่ามีองค์ประกอบของฟีนอลิก เลคติน สเตียรอยด์ ไกลโคโปรตีน โพลีแซ็กคาไรด์ ในกลุ่มไฮโมไกลแคน หรือ เฮเทอโรไกลแคน น้ำตาลโอลิโกแซ็กคาไรด์ และไขมันหลายชนิด (Taofiq et al., 2016) นอกจากนี้ยังพบว่า เห็ดนางฟ้าภูฐานมีโพลีแซ็กคาไรด์ที่สำคัญ คือ เบต้ากลูแคน โดยปริมาณเบต้ากลูแคนที่พบในเห็ดนางฟ้าภูฐานมีปริมาณมากถึง 0.53 g/100 g on dry basis สูงสุดเมื่อเทียบกับเห็ดนางรม เห็ดนางรมหลวง และเห็ดหอม (Manzi et al., 2000) โดยสารในกลุ่มโพลีแซ็กคาไรด์ยังพบว่า มีความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกด้วย ซึ่งพรีไบโอติกนั้นก็คือ กลุ่มอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย และไม่ถูกดูดซึมในทางเดินอาหารส่วนบนโดย จะสามารถผ่านเข้าสู่ลำไส้ใหญ่ และไปช่วยในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกลุ่มโพรไบโอติก เช่น lactic acid bacteria และ bifidobacteria โดยจะทำให้ผู้ที่บริโภคกลุ่มนี้ในบริเวณลำไส้ใหญ่มีสุขภาพที่ดี และช่วยส่งเสริมสุขภาพด้วย และในปัจจุบันพบว่า มีการนำสารกลุ่มพรีไบโอติกมาใช้อย่างแพร่หลาย ไม่ว่าจะเป็นทางด้านการแพทย์ ทางด้านโภชนาการ หรือแม้กระทั่งด้านเครื่องสำอาง เป็นต้น (ประกานต์ ฤติกุลธำรง และจารุณี ควรพิบูลย์, 2555) โดยเฉพาะในทางด้านเครื่องสำอางพบว่า มีการนำ

การศึกษาเกี่ยวกับพรีไบโอติกมาประยุกต์ใช้ในทางเครื่องสำอาง เช่น จากกระแส Skin Microbiome ที่เน้นในเรื่องการรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ที่อยู่บนผิวหนังให้มีสภาวะที่เหมาะสม เพื่อให้ผิวหนังมีสุขภาพที่ดี (ผกากรอง วนไพศาล, 2563)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจการสกัดสารโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจากเห็ดนางฟ้าภูฐาน เพื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อเตรียมสกัดโพลีแซ็กคาไรด์จากเห็ดนางฟ้าภูฐาน

1.2.2 เพื่อศึกษาการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจากเห็ดนางฟ้าภูฐาน ด้วยวิธีทางเอนไซม์เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส

1.2.3 เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีจากสารสกัดที่ได้จากเห็ดนางฟ้าภูฐาน

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

1.3.1 เตรียมเห็ดนางฟ้าภูฐานเพื่อใช้ในการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสให้อยู่ในรูปแบบผงแห้ง

1.3.2 สกัดโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจากผงเห็ดนางฟ้าภูฐาน

1.3.3 วิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคนด้วยชุดทดสอบ

1.3.4 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี DNS (1,3-Dinitrosalicylic acid)

1.3.5 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total Carbohydrate Content)

1.3.6 วิเคราะห์องค์ประกอบในสารสกัดด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีผิวบาง (Thin-Layer Chromatography, TLC)

1.3.7 วัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี (Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP))

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้สกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจากเห็ดนางฟ้าภูฐาน

1.4.2 เป็นแนวทางเพิ่มศักยภาพการใช้ประโยชน์เห็ดนางฟ้าภูฐาน ทางเครื่องสำอาง



บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 เห็ด

เห็ดจัดเป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำประเภทราอยู่ในกลุ่มพวกจุลินทรีย์ ไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ และดำรงชีวิตโดยอาศัยสิ่งมีชีวิตอื่น หรือเป็นเห็ดที่เกิดบนพืชหรือสัตว์ที่ยังมีชีวิตอยู่ หรือจุลินทรีย์ด้วยกันเอง โดยมีการเจริญเติบโตเป็นเส้นใยที่แตกแขนงเรียกว่า ไฮฟา (Hypha) ซึ่งกลุ่มของเส้นใยเหล่านี้เรียกว่าไมซีเลียม (Mycelium) เห็ดที่พบเห็นทั่วไป ส่วนใหญ่อยู่ในไฟลัมเบสิดิโอไมโคตา สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ได้สปอร์ที่เรียกว่าเบสิดิโอสปอร์ (Basidiospore) โดยสปอร์ของเห็ดจะเกิดและติดอยู่บนก้านรูปกระบองที่เรียกว่าเบซิเดียม (Basidium) ซึ่งเรียงกันอยู่บนครีบ (Gills) หรือในรู (Pores) ส่วนเห็ดที่อยู่ในไฟลัมแอสโคไมโคตาจะสร้างสปอร์ ที่เรียกว่า แอสโคสปอร์ (Ascospore) ในถุง ที่เรียกว่า แอสคัส (Ascus) ที่อยู่ภายในแอสโคคาบ (Ascocarp) (ยุวศรี ต่ายคำ, 2555)

2.1.1 การจำแนกประเภทของเห็ด

เห็ดบนโลกนี้ถูกจำแนกเป็น 3 ประเภทด้วยกัน ได้แก่ กลุ่มที่ใช้เป็นอาหาร กลุ่มทางการแพทย์ และกลุ่มเห็ดมีพิษ

2.1.1.1 กลุ่มที่ใช้เป็นอาหาร โดยพบได้ทั่วไปในป่าของประเทศไทย นิยมนำมาประกอบอาหาร เนื่องจากรสชาติอร่อย และเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ เพราะประกอบไปด้วยโปรตีนที่มีในน้ำหนักรวบรวม มีไขมันต่ำ มีวิตามินบี 1 บี 2 และซี และมีแร่ธาตุอื่น ๆ อีกด้วย

2.1.1.2 กลุ่มที่ใช้เป็นยารักษาโรค เห็ดบางชนิดพบว่า มีสรรพคุณในด้านการรักษาโรค เพราะในเห็ดมีสารเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อโรคบางชนิด รวมถึงยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งอีกด้วย (คำเกิง บ้องพาล, 2547)

2.1.1.3 กลุ่มเห็ดมีพิษ เป็นเห็ดที่ไม่สามารถนำมารับประทานได้ หลายชนิดมีพิษรุนแรง หากรับประทานเข้าไปอาจมีอาการเมา ร่าเริง ปวดหัว อาเจียน ชัก หมดสติ หรือถึงแก่ชีวิตได้ (ปริญญา จันทร์ศรี, ม.ป.ป.)

2.1.2 ประโยชน์ของเห็ด

2.1.2.1 ประโยชน์ทางด้านอาหาร

ด้านอาหารและคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะใกล้เคียงกับผัก มีคุณค่าทางอาหารที่ดี นั่นคือมีวิตามิน แร่ธาตุ แต่พบว่า โปรตีนในเห็ดมีคุณภาพดีกว่าในผัก แต่ก็ยังจัดว่าเป็นโปรตีนไม่สมบูรณ์ เมื่อเทียบกับเนื้อสัตว์

2.1.2.2 ประโยชน์ทางเศรษฐกิจ

เนื่องด้วยสภาพอากาศของบ้านเราเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเห็ด อีกทั้งประเทศไทยยังเป็นประเทศเกษตรกรรม ทำให้มีเศษวัสดุเหลือใช้จากพืชต่าง ๆ ที่สามารถนำมาดัดแปลงใช้ในการเพาะเห็ดได้ ทำให้ประเทศไทยมีการปลูกเห็ดในอัตราที่สูง และพบว่ามูลค่าทางเศรษฐกิจของตลาดเห็ดในประเทศไทยมีแนวโน้มผลิตเห็ดเพิ่มขึ้นทุกปีอีกด้วย (หมอชาวบ้าน, 2549)

2.1.2.3 ประโยชน์ทางยา

ยาที่ใช้รักษาโรคสกัดจากดอกเห็ด ซึ่งเป็นราชันสูง พบใช้กันในแถบเอเชีย สารสกัดเห็ดที่ใช้เป็นยา เช่น สารโพลีแซ็กคาไรด์ ใช้ในการสร้างภูมิคุ้มกันโรคโดยไม่มีผลข้างเคียง เป็นต้น (ดำเกิง ปองพาล, 2547)

2.1.2.4 ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง

พบว่า มีการศึกษาที่มากมายเกี่ยวกับเห็ดในด้านเครื่องสำอาง เช่น การสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ เบต้ากลูแคน และสารประกอบฟีนอลิก เป็นต้น อีกทั้งยังพบว่า มีการนำสารสกัดจากเห็ดมาทดสอบและใช้งาน เช่น การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและสารลดการอักเสบ เป็นต้น

2.2 เห็ดนางฟ้าภูฐาน

เห็ดนางฟ้าภูฐานมีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) singer หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เห็ดแขก มีลักษณะดอกเป็นสีขาวนวลจนถึงสีน้ำตาลอ่อน ก้านดอกจะยึดติดกับตรงกลางหรือด้านข้างของหมวกดอกเป็นเนื้อเดียวกันดังภาพที่ 2.1 เห็ดนางฟ้าภูฐานเป็นที่นิยมในหลายประเทศ เช่น ไทย มาเลเซีย จีน อินเดีย ญี่ปุ่น เป็นต้น โดยพบว่าเป็นเห็ดที่มีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์ ดอกนุ่ม เนื้อแน่น รสชาติอร่อยจึงทำให้ผู้บริโภคนิยมนำมาใช้ประกอบอาหาร (มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน, 2556) เห็ดนางฟ้าภูฐานถูกนำเข้ามาโดยคุณอานนท์ เอื้อตระกูล ในปี 2526 (อานนท์ เอื้อตระกูล, 2527) โดยเห็ดนางฟ้าภูฐานเป็นเห็ดเศรษฐกิจที่มีความนิยมของตลาดอย่างแพร่หลายเนื่องจากเพาะพันธุ์ง่ายและใช้ระยะเวลาในการเพาะพันธุ์สั้น สามารถเพาะได้ทุกฤดูยกเว้นในช่วงฤดูร้อน เพราะเห็ดชอบอากาศที่เย็นและชื้น

Scientific name	<i>Pleurotus sajor-caju</i>
Class	Basidiomycetes
Order	Agaricales
Family	Tricholomataceae
Genus	Pleurotus



ที่มา ศูนย์เห็ดสิงห์บุรี (2562)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะของเห็ดนางฟ้าภูฐาน

2.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1. หมวกดอก (cap) หมวกดอกจะหนาและมีเนื้อแน่นกว่าเห็ดนางรม มีสีน้ำตาลอ่อน คล้ายเห็ดเป่าฮื้อ แต่มีสีจางกว่า มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-6 นิ้ว ดอกอาจเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นกระจุกก็ได้
2. ก้านดอก (stalk) ก้านดอกจะเป็นเนื้อเดียวกับหมวกดอกคล้ายเห็ดนางรม แต่มีเนื้อแน่นสี ขาว และไม่มีวงแหวนรอบก้านดอก ถ้าเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติตามขอนไม้ ดอกเห็ดจะมีลักษณะเรียงรายลดหลั่นเป็นชั้น ๆ ก้านดอกจะสั้นมาก
3. ครีบดอก (gill) ครีบดอกจะมีสีขาว และครีบบมีความยาวตลอดจนถึงก้านดอก
4. เส้นใย (mycelium) มีลักษณะค่อนข้างละเอียด แต่มีสีขาวมากกว่าเห็ดนางรม การเจริญเติบโตของเส้นใยจะมีลักษณะคล้ายเห็ดนางรม

2.2.2 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดนางฟ้าภูฐาน

ในเห็ดมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลักร้อยละ 3-28 (ประมาณร้อยละ 50-80 ของน้ำหนักแห้ง) และในส่วนของเส้นใยมีประมาณร้อยละ 3-32 (พรอริยา ฉิรินัง, 2548) โดยคาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของโพลีแซ็กคาไรด์ ซึ่งเป็นสารที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายชนิดยึดติดกัน ส่วนมากจะพบในผนังเซลล์ของเห็ดประมาณร้อยละ 50-90 นอกจากนี้ยังพบ

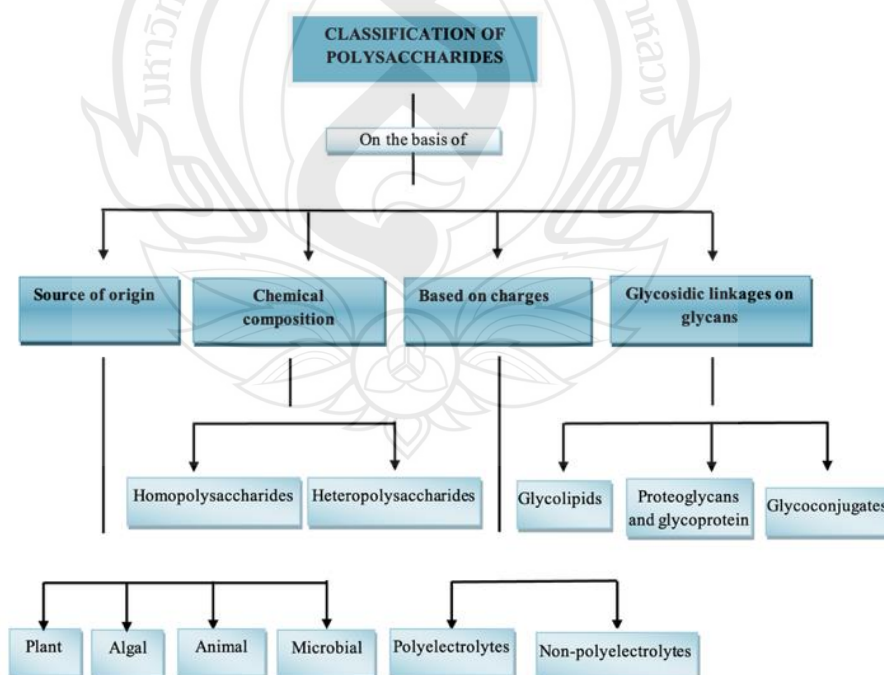
โพลีแซ็กคาไรด์ชนิดอื่น ๆ เช่น ไกลโคเจน (glycogen) ไคติน ไซแลน และเซลลูโลส (Cellulose) เป็นต้น และยังพบว่า มีโปรตีนปริมาณร้อยละ 19-35 ของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง (Zrodowski, 1995)

จากงานวิจัยของ Gutierrez et al. (1996) ได้ทำการศึกษาในเห็ดสกุล *Pleurotus* ในส่วนโพลีแซ็กคาไรด์ และส่วนที่ละลายน้ำได้ พบว่ามีส่วนที่เป็นโพลีแซ็กคาไรด์เป็นหลัก คิดเป็นร้อยละ 85 ของทั้งหมด และส่วนที่ละลายน้ำอื่น ๆ คิดเป็น 15% (Gutierrez et al., 1996)

2.3 โพลีแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide)

โพลีแซ็กคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนขนาดใหญ่ ประกอบด้วย มอนแซ็กคาไรด์สายยาว ตั้งแต่ 10 โมเลกุลขึ้นไป ต่อกันด้วยพันธะ ไกลโคซิดิก เช่น สตาร์ช (Starch), เซลลูโลส (Cellulose), เพกติน (Pectin) และกัมจากยางพารา (Exudate Gum) เป็นต้น โดยสามารถพบได้จากพืช สัตว์ และแบคทีเรีย โดยโพลีแซ็กคาไรด์ที่อยู่ในธรรมชาติจะมีลักษณะของโครงสร้างที่แตกต่างกัน เช่น น้ำหนักโมเลกุล, รูปแบบพันธะไกลโคซิดิก, การจัดเรียงประเภท (α หรือ β) และระดับการแตกกิ่ง เป็นต้น คุณสมบัติที่หลากหลายนี้จะมีผลต่อคุณสมบัติการทำงานของโพลีแซ็กคาไรด์ โดยจากคุณสมบัติที่กล่าวมาข้างต้น จึงจัดโพลีแซ็กคาไรด์แยกประเภทตามพื้นฐานต่าง ๆ ดังแสดงในภาพที่

2.2



ที่มา Parhi et al. (2023)

ภาพที่ 2.2 การแบ่งประเภทโพลีแซ็กคาไรด์ตามพื้นฐานต่าง ๆ

ประเภทโพลีแซ็กคาไรด์

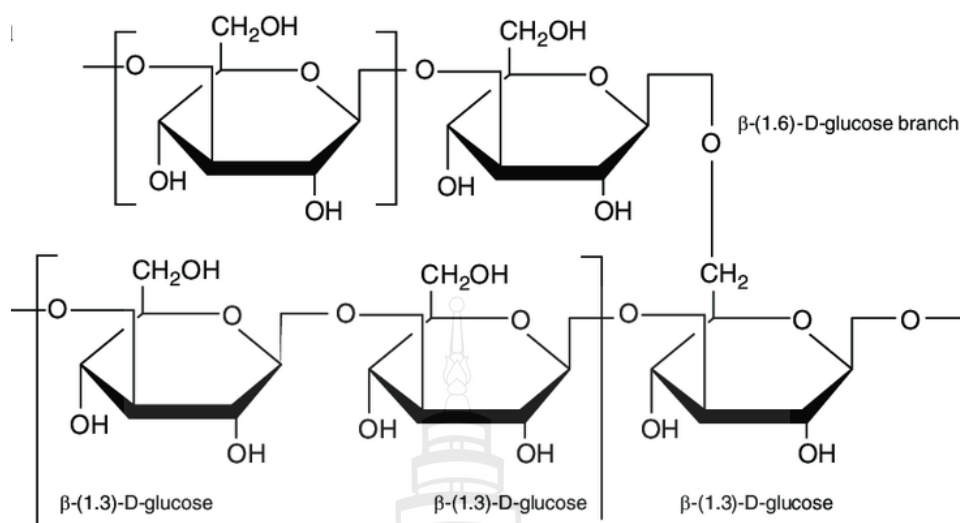
โพลีแซ็กคาไรด์แบ่งได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้

1. โฮโมโพลีแซ็กคาไรด์ (Homopolysaccharide) เป็นโพลีแซ็กคาไรด์ที่มีโมเลกุลเป็น มอนแซ็กคาไรด์ ชนิดเดียว เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ ได้แก่ สตาร์ช ซึ่งประกอบด้วย อะไมเลส, อะไมโลเพกติน และเซลลูโลส โดยพืชจะสร้างโพลีแซ็กคาไรด์มาจากการสังเคราะห์แสง และจะสะสม เป็นพลังงานไว้ในส่วนต่าง ๆ

2. เฮเทอโรโพลีแซ็กคาไรด์ (Heteropolysaccharide) เป็นโพลีแซ็กคาไรด์ที่มีโมเลกุล เป็น มอนแซ็กคาไรด์มากกว่า 1 ชนิดเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ ตัวอย่างเช่น กัมจากยางพารา ซึ่งเป็นของเหลวที่ไหลมาจากเปลือกไม้ และจะเกิดการแข็งตัวเมื่อโดนอากาศ และกัมจากจุลินทรีย์ เช่น แซนแทนกัม (Xanthan gum) เป็นต้น (พิมพ์พิชญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์, ม.ป.ป.)

2.4 เบต้ากลูแคน (β -Glucan)

เบต้ากลูแคนเป็นโพลีแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่ง ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสหลายโมเลกุลมา เชื่อมต่อกัน ด้วยพันธะไกลโคไซด์ มักพบในผนังของเซลล์ยีสต์ เห็ด ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ และใน แบคทีเรียบางชนิด โดยส่วนใหญ่พบว่าเบต้ากลูแคนจะมี 1-3 β -D-glucan เป็นโครงสร้างหลัก ที่มี คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 จับกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของน้ำตาลกลูโคสตัวถัดไป และมีสายกิ่ง คือ 1-6 β -D-glucan ที่แตกแขนงออกไปจากโครงสร้างหลักหรือไม่มีสายกิ่งก็ได้ (Goodridge et al., 2009) ดังภาพที่ 2.3 และหากโครงสร้างของเบต้ากลูแคนมีที่มาจากแหล่งที่มาที่แตกต่างกันก็จะมีการจัดเรียง ตัวของน้ำตาลกลูโคสที่ไม่เหมือนกัน เช่น เบต้ากลูแคนในราและเห็ดจะมีลักษณะโครงสร้าง 1-3 β -D-glucan เป็นโครงสร้างหลัก และมี 1-3, 1-6 β -D-glucan เป็นแขนงที่มีสายสั้น เป็นต้น (Volman et al., 2008)



ที่มา Abuajah (2017)

ภาพที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของเบต้ากลูแคน

2.5 โอลิโกแซ็กคาไรด์ (Oligosaccharide)

โอลิโกแซ็กคาไรด์ ประกอบด้วย มอโนแซ็กคาไรด์ ตั้งแต่ 2-10 โมเลกุล จับกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ โอลิโกแซ็กคาไรด์ส่วนใหญ่จะไม่สามารถย่อยได้โดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ ส่งผลให้สารเหล่านี้ผ่านเข้าสู่ลำไส้ใหญ่โดยไม่ถูกดูดซึม โดยพบว่าในลำไส้ใหญ่ โอลิโกแซ็กคาไรด์ทำหน้าที่เป็น แหล่งพลังงานให้แก่จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* spp. โดยทำหน้าที่เป็นพรีไบโอติกส่งเสริมสมดุลของจุลชีพในลำไส้ และสนับสนุนสุขภาพโดยรวมของระบบทางเดินอาหาร (Kubala, 2022) โอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีบทบาทสำคัญและเป็นที่รู้จักกันทั่วไป ได้แก่ มอลโทส (maltose), แลคโตส (lactose), ซูโครส (sucrose), เซลโลไบโอส (cellobiose) ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Fructooligosaccharides), กาแลคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Galactooligosaccharides), แมนแนนโอลิโกแซ็กคาไรด์ (mannanoligosaccharide) และไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Xylooligosaccharides) เป็นต้น (ณัฐพงษ์ บุญป่อง, 2563) โดยพบว่า ในเห็ดนางฟ้าภูฐานมีปริมาณ มอลโทส ซูโครส และ เซลโลไบโอส อยู่ที่ 74, 124 และ 127 มิลลิกรัมตามลำดับ (Seung et al., 1984)

2.6 พรีไบโอติก (Prebiotic)

พรีไบโอติกเป็นสารประกอบจำพวกโพลีไกลิแซ็กคาไรด์ โดยจะเป็นอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยและไม่ถูกไปดูดซึมในทางเดินอาหารส่วนบน แต่จะสามารถผ่านไปสู่ลำไส้ใหญ่ และช่วยส่งเสริมสุขภาพด้วย โดยจุลินทรีย์ในกลุ่มโพรไบโอติกจะทำการย่อยสารในกลุ่มพรีไบโอติก เพื่อให้ร่างกายนำกลับไปใช้ประโยชน์ เช่น กรดไขมันสายสั้น และส่งผลให้ความเป็นกรดต่างของลำไส้ลดลง ทำให้แบคทีเรียที่ก่อโรคในลำไส้มีการเจริญเติบโตที่น้อยลง โดยสารที่จะสามารถจัดเป็นพรีไบโอติกได้นั้น จะต้องมีความสมบัติ คือ ต้องทนต่อการย่อยของกรดในกระเพาะอาหาร ไม่ถูกดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก และส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่กลุ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ แต่ไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่กลุ่มแบคทีเรียที่ก่อโรค (เฉลิมขวัญ คำคำ และมัลลิกา ชมนาวัง, 2548) และจากงานวิจัยของ Leow and Rosma (2016) ที่ได้ทำการสกัดโพลีไกลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดนางฟ้าอินเดียพบว่า สารสกัดที่ได้มีความคงทนต่อเอนไซม์ในกระเพาะอาหารได้ดีกว่า สารมาตรฐาน อินนูลิน และ ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์

ประโยชน์ของพรีไบโอติก

พบว่าสามารถบรรเทาอาการท้องผูกได้ เนื่องจากพรีไบโอติกเป็นโพลีไกลิแซ็กคาไรด์ที่มีคุณสมบัติคล้ายเส้นใยและยังสามารถเพิ่มปริมาณของน้ำในลำไส้จากกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรีย ซึ่งผลจากการที่มีน้ำและเส้นใยมากขึ้น ส่งผลต่อการบีบตัวของลำไส้ และการขับถ่ายได้ดีขึ้น และยังสามารถช่วยในระบบภูมิคุ้มกันเนื่องจากพรีไบโอติกไปกระตุ้น แบคทีเรียในกลุ่มโพรไบโอติก ซึ่งแบคทีเรียบางชนิดในกลุ่มนี้ พบว่าสามารถกระตุ้นการทำงานของแมคโครฟาจ และโมโนไซต์ ได้ และยังพบว่าพรีไบโอติกสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางเครื่องสำอางได้อีกด้วย จากกระแส Skin Microbiome ที่เน้นในเรื่องการรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ที่อยู่บนผิวหนังให้มีสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ผิวหนังมีสุขภาพที่ดี (ผกากรอง วณไพศาล, 2563)

2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือ โมเลกุลของสารที่สามารถจับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลอื่น ๆ ได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาดังกล่าว สามารถให้ผลิตภัณฑ์เป็นอนุมูลอิสระ (Free radical) ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และ ทำลายเซลล์ของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับอนุมูล อิสระและยับยั้งปฏิกิริยา

ออกซิเดชันโดยถูกออกซิไดซ์ ดังนั้น สารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ สารต้านอนุมูลอิสระเป็นกลุ่มของสารอาหารที่มีมากมายหลายชนิด (วิชมณี ยืนยงพุทธกาล, 2558)

องค์ประกอบหลักทางเคมีที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในเห็ด คือ สารประกอบฟีนอลิก และองค์ประกอบอื่น ๆ ที่ ถูกพบได้น้อยมาก เช่น วิตามินซี เบต้าแคโรทีน ไลโคพีน วิตามินอี เป็นต้น ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกมีความหลากหลายขึ้นอยู่กับ โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก เช่น สารฟีนอล กรดฟีนอล และโพลีฟีนอล เป็นต้น โดยสารประกอบฟีนอลิกจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพที่สูง (ลักสรดา มุ่งหมาย และคณะ, 2563)

2.8 การวิเคราะห์สารองค์ประกอบและฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.8.1 วิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (3,5-Dinitrosalicylic Acid)

เป็นวิธีวิเคราะห์หาความเข้มข้นของปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโมเลกุลคู่ โดยใช้ 3,5-Dinitrosalicylic acid ละลายในโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะทำให้เกิดเป็นสีเหลืองส้มในสถานะที่เป็นด่าง และนำโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (Rochella salt) ไปละลายในน้ำปราศจากไอออน การเติมสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (Rochella salt) เพื่อเป็นการหยุดปฏิกิริยา ทำให้การละลายของออกซิเจนลดลงและสีที่ได้จากสารละลายจะมีความคงตัว จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะสังเกตได้จากความเข้มข้นของสี

2.8.2 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total Carbohydrate Content) ด้วยวิธี Phenol-Sulfuric Acid

เป็นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยจะใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้นในการทำให้คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดให้ย่อยแล้วกลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวโดยผสมสารละลายกลูโคส สารละลายฟีนอล และกรดซัลฟิวริก เข้าด้วยกัน จากนั้นนำไปแช่ที่อ่างน้ำร้อน (Water bath) ซึ่งจะทำให้สารละลายจะเปลี่ยนสีเป็นสีส้มเหลือง จากนั้นนำไปหยุดปฏิกิริยาในอ่างน้ำแข็ง ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงวัดค่าความดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร หลังจากนั้นคำนวณหา ค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตกลูโคสแล้วเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

2.8.3 วิเคราะห์องค์ประกอบในสารสกัดด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีผิวบาง (Thin-layer Chromatography)

เทคนิคโครมาโตกราฟีผิวบาง Thin-Layer chromatography (TLC) เป็นขั้นตอนที่วิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารประกอบ โดยหลักการทั่วไปของเทคนิคนี้ คือ จะทำบนแผ่นกระจก พลาสติก หรือแผ่นพอลิเอทิลีน ซึ่งเคลือบด้วยวัสดุดูดซับชั้นบาง ๆ ซึ่งโดยทั่วไป คือ ซิลิกาเจล อะลูมิเนียม

ออกไซด์ (อะลูมินา) หรือเซลลูโลส ชั้นของวัสดุเคลือบนี้เรียกว่าเฟสคงที่หลังจากนำตัวอย่างไปวางบนแผ่นแล้ว ตัวทำละลายหรือส่วนผสมของตัวทำละลาย (ที่เรียกว่าเฟสเคลื่อนที่) จะถูกดึงขึ้นบนแผ่นผ่านกระบวนการแคปิลลารี เนื่องจากสารวิเคราะห์ต่าง ๆ เคลื่อนขึ้นบนแผ่นโครมาโตกราฟีผิวบางด้วยอัตราที่ต่างกัน จึงสามารถแยกสารได้ ดังนั้นจึงขึ้นอยู่กับหลักการของโครมาโตกราฟีการดูดซับหรือโครมาโตกราฟีแบบแบ่งส่วนหรือการรวมกันของทั้งสอง ขึ้นอยู่กับสารดูดซับ การบำบัด และลักษณะของตัวทำละลายที่ใช้ ส่วนประกอบที่มีความสัมพันธ์กับเฟสคงที่มากกว่าจะเคลื่อนที่ช้ากว่า ส่วนประกอบที่มีความสัมพันธ์กับเฟสคงที่น้อยกว่าจะเคลื่อนที่เร็วกว่า เมื่อเกิดการแยกตัว ส่วนประกอบแต่ละชิ้นจะถูกมองเห็นเป็นจุดที่ระดับการเคลื่อนที่บนแผ่นตามลำดับ ลักษณะหรือลักษณะของส่วนประกอบจะถูกระบุโดยใช้เทคนิคการตรวจจับที่เหมาะสม

2.8.4 วัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP โดยดัดแปลงวิธีจาก (Keleş et al., 2011) โดยเตรียมรีเอเจนต์ TPTZ ได้จากการนำแอซิดเตตราบีเฟออร์ pH 3.6 ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ผสมกับสารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10:1:1 ในการวิเคราะห์ใช้รีเอเจนต์ TPTZ 2850 ไมโครลิตร เติมสารสกัดตัวอย่าง 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร ใช้ทรอลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน และนำไปคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย แสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

สารเคมี	ผู้ผลิต
เห็ดนางฟ้าภูฐาน	บริษัท เห็ดเศรษฐกิจ อายุ 1 เดือน
1-Nepthol	Kemaus
1,3-Dinitrosalicylic acid	Loba Chemi Pvt. Ltd.
Acetic acid Glacial	Carlo Erba
Alpha-Glucan oligosaccharide	Krungthepchemi
Beta-Glucan kit	megazyme
Butan-1-OL(n-Butanol)	Kemaus
Deionized water	TKA
D-Glucose	Ajax Finechem
D-Xylose	Krungthepchemi
Enzyme endo1-3- β -D glucose	megazyme
Ethanol	Spread Business Co., Ltd
Ethanol Absolute Anhydrous	Carlo Erba
Ferric Chloride Anhydrous 99% AR	Loba Chemi Pvt. Ltd.
Fructooligosaccharide	Sigma-Aldrich
Glucose	NIVAR (Australia)
Inulin	Sigma-Aldrich
Phenol	Fisher
Propan-2-OL (Iso-Propanol)	Kemaus

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

สารเคมี	ผู้ผลิต
Sodium acetate	MERCK
Sodium Hydroxide (NaOH)	Loba Chemi Pvt. Ltd.
Sodium potassium tartate	Qrec
Sucrose	Kemaus
Sulfuric acid 96%	Carlo Erba
Tripyridyltriazine (TPTZ)	Sigma-Aldrich
Trolox	Sigma-Aldrich
Xylooligosaccharide	Chanjao Longevity

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์	ผู้ผลิต
เห็ดนางฟ้าภูฐาน	SW22, Julabo
เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง	XB 2200C, Precisa
เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง	XT 220A, Precisa
เครื่องทำแห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง (Freeze Dryer)	Labconco
เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)	Z 206 A, HERMLE
เครื่องผสมสาร (Vortex Mixer)	VXMNAL, OHAUS
เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator)	Bath Hei-VAP core, Heidolph
เครื่องวัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH Meter)	B200, QIS
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงช่วง (UV-Visible)	Genesys 10s UV-VIS, Thermo Fisher Scientific
ตู้เย็น	Haier
ตู้แช่แข็ง	Haier
ตู้ดูดควัน (Fume Hood)	FH3, ELEXLAB
ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)	UF110, Memert

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างเห็ดนางฟ้าภูฐานในรูปแบบผงแห้ง

เตรียมเห็ดนางฟ้าภูฐาน โดยทำการซื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานอายุ 1 เดือนจาก ฟาร์มบริษัทเห็ดเศรษฐกิจ จ. ฉะเชิงเทรา แล้วนำไปล้างด้วยน้ำให้สะอาด จากนั้นนำไปผึ่งให้แห้งและนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนเห็ดแห้งและมีน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำมาทำการบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นให้เป็นผงและนำไปเก็บในถุงปิดผนึกที่อุณหภูมิแช่แข็ง -20 องศาเซลเซียสก่อนนำไปใช้งาน

3.3.2 การสกัดสารโพลีแซ็กคาไรด์

การสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ด้วยน้ำร้อน Hot Water Extraction (HWE) โดยการนำเห็ดนางฟ้าภูฐานที่ทำการบดละเอียดแล้วมาจำนวน 5 กรัม ต่อน้ำปราศจากไอออน 500 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน 1:100 (Sangthong et al., 2022) จากนั้นนำไปแช่ในเครื่องเขย่าสารควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเก็บส่วนของเหลว จากนั้นนำส่วนของเหลวที่เหลือไปตกตะกอนด้วยเอทานอลที่มีอุณหภูมิเย็น โดยใช้อัตราส่วนเป็น 1:5 โดยปริมาตร และนำไปทิ้งไว้ข้ามคืน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที และนำส่วนตะกอนที่ได้ไปทำให้เป็นผงแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็งและนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน, น้ำตาลรีดิวซ์, คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด, วิเคราะห์องค์ประกอบด้วยวิธีโครมาโตกราฟีผิวบาง และหาความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระ ต่อไป

3.3.3 การเตรียมสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยวิธีการทางเอนไซม์

การเตรียมสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยวิธีการทางเอนไซม์ โดยนำเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส มาย่อยสารสกัดที่ได้จากการทดลองที่ 3.3.2 โดยแบ่งเป็นความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ต่างกันเป็น 10, 20 และ 30 ยูนิต ด้วยอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่ pH 5.0 ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จากนั้นหยุดการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส ด้วยการนำไปแช่ในน้ำร้อนด้วยอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำส่วนของเหลวที่เหลือไปตกตะกอนด้วยเอทานอลที่มีอุณหภูมิเย็น ทิ้งไว้ข้ามคืน แล้วภายหลังการตกตะกอน นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 45 นาที แล้วนำส่วนของเหลวและส่วนตะกอน ไปทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง แล้วนำไปวิเคราะห์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์, ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด, วิเคราะห์องค์ประกอบด้วยวิธีโครมาโตกราฟีผิวบาง และหาความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระต่อไป

3.3.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติของสารที่สกัดโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส

3.3.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณเบต้ากลูแคนด้วยชุดทดสอบวิเคราะห์

นำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบหาปริมาณเบต้ากลูแคน โดยใช้ชุดตรวจเฉพาะในการตรวจหาเบต้ากลูแคน

3.3.4.2 การวิเคราะห์หาน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (3,5-Dinitrosalicylic acid)

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เตรียมโดยนำ 3,5-Dinitrosalicylic acid จำนวน 5 กรัม ละลายในโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 4 ปริมาณ 1 ลิตร และนำโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรท (Rochella salt) จำนวน 40 กรัม ไปละลายในน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายกลูโคส 0.4 มิลลิกรัมในน้ำปราศจากไอออนปริมาณ 1 มิลลิลิตร จากนั้นผสมสารที่เตรียมไว้ แล้วนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรท (Rochella salt) ความเข้มข้นร้อยละ 4 ของ จำนวน 500 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และทำเช่นเดียวกันกับสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และโอลิโกแซ็กคาไรด์

3.3.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดด้วยวิธี Phenol- Sulfuric Acid

วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด โดยเตรียมสารละลายฟีนอลร้อยละ 5 และกลูโคส 1 มิลลิกรัมในน้ำปราศจากไอออน 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้ทำกราฟกลูโคสมาตรฐาน โดยผสมสารละลายกลูโคส สารละลายฟีนอลร้อยละ 5 และกรดซัลฟิวริก 2.5 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน จากนั้นนำไปแช่ที่อ่างน้ำร้อน (Water bath) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที โดยสารละลายจะเปลี่ยนสีเป็นสีส้มเหลือง จากนั้นนำไปหยุดปฏิกิริยาในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร และทำเช่นเดียวกันกับสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้โดยใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสม

3.3.4.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยวิธีโครมาโตกราฟีผิวบาง Thin layer Chromatography (TLC)

เทคนิคโครมาโตกราฟีผิวบาง Thin-Layer Chromatography (TLC) เป็นวิธีการเบื้องต้นสำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารประกอบ อินทรีย์ทั้งด้านการสังเคราะห์และผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อพิจารณาจำนวนองค์ประกอบในสารผสมและวินิจฉัย (identify) องค์ประกอบนั้น ๆ ดัดแปลงมาจากวิธีของ Zhang et al. (2017) โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานทั้งหมด 8 ชนิด ดังนี้ กลูโคส ซูโครส ฟรุคโตส ซาโลส ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ ซาโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ แอลฟา-กลูแคน และอินูลิน โดยการนำสารสกัดที่ได้จำนวน 5 มิลลิกรัมมาละลายในน้ำปราศจากไอออนปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วนำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในโหลแก้ว และเตรียมสารช่วยมองเห็น (Visualizing

agent) โดยนำ 1-เนปทอล จำนวน 1 กรัมละลายในเอทานอลปริมาตร 90 มิลลิลิตรแล้วนำไปผสมกับ ร้อยละ 50 ของกรดซัลฟิวริก ปริมาตร 6 มิลลิลิตร จากนั้นทำการจุดสารละลายมาตรฐานและสารสกัด ลงไปบนแผ่น โครมาโตกราฟีผิวบาง แล้วนำไปแช่ไว้ในโหลแก้วที่เตรียมไว้ ตั้งไว้จนสารละลาย เคลื่อนที่ถึงจุดด้านบนระยะทางประมาณ 8 เซนติเมตร นำแผ่นโครมาโตกราฟีผิวบางออกมาแล้วนำไป จุ่มในสารช่วยมองเห็น (Visualizing agent) ที่เตรียมไว้ และนำไปให้ความร้อนประมาณ 5 นาที สังเกตสีที่เกิดขึ้น วัดระยะจากจุดเริ่มต้นถึงกึ่งกลางของจุดที่เห็นสี บันทึกแล้วนำไปเปรียบเทียบ

3.3.4.5 วัดความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

การวัดความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระ ทำโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานโทร ลอกซ์ 0.5 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งโทรลอกซ์ปริมาณ 0.0013 กรัม ในเอทานอลโดยทำการปรับปริมาณให้ ได้ 10 มิลลิลิตร และเตรียมสารละลาย อะซิเตดบัฟเฟอร์ 300 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 3.6 โดยนำกรดอะ ซิติกแอซิด 4.5 มิลลิลิตรและโซเดียมอะซิเตด 6.15 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตรที่ pH 3.6 และเตรียมกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมลาร์ โดยละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.3147 มิลลิลิตร ในน้ำ ปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร และเตรียมสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ TPTZ โดยชั่ง TPTZ 0.1562 กรัม ละลายในกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมลาร์ ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร และเตรียมสารละลายเฟอร์ริกคอร์ไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งเฟอร์ริกคอร์ไรด์ 0.1622 กรัม ละลายใน น้ำปราศจากไอออนปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเตรียมสารละลาย FRAP โดยนำ 10 มิลลิโมลาร์ TPTZ เฟอร์ริกคอร์ไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ และอะซิเตดบัฟเฟอร์ 300 มิลลิโมลาร์ที่ pH 3.6 มาผสมกันในอัตราส่วน 1:1:10 และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสก่อนนำมาทำปฏิกิริยา เตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้โทรลอกซ์ 0.5 มิลลิโมลาร์ ผสมกับสารละลาย FRAP และอะซิเตด บัฟเฟอร์ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืน แสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน และทำเช่นเดียวกันกับสาร สกัดโดยใช้ตามความเข้มข้นที่เหมาะสม

3.3.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้งในทุกตัวอย่าง แล้วนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD) จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างด้วย one way ANOVA และเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชัน 21

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การเตรียมตัวอย่างเห็ดนางฟ้าภูฐาน

การเตรียมเห็ดนางฟ้าภูฐานทำโดยนำเห็ดนางฟ้าภูฐานสดมาล้าง โดยเห็ดนางฟ้าภูฐานก่อนนำไปอบมีลักษณะชื้นและขนาดใหญ่และมีน้ำหนักอยู่ที่ 1668 กรัม หลังจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักที่ได้คงที่ โดยหลังอบแล้วเห็ดนางฟ้าภูฐานจะมีลักษณะเล็กลงแห้งกรอบ และมีลักษณะสีที่เข้มขึ้น โดยมีปริมาณน้ำหนักของเห็ดนางฟ้าภูฐานหลังอบอยู่ที่ 205.16 กรัม คิดเป็นปริมาณของแข็งที่ได้เป็นร้อยละ 12.29 ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักก่อนอบ น้ำหนักหลังอบ และร้อยละน้ำหนักแห้งของเห็ดนางฟ้าภูฐาน

น้ำหนักเห็ดนางฟ้าภูฐาน ก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักเห็ดนางฟ้าภูฐาน หลังอบ (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
1668 ±7.13	205.16±5.14	12.29±0.34

4.2 การสกัดโพลีแซ็กคาไรด์

จากการทดลองสกัดโพลีแซ็กคาไรด์จากเห็ดนางฟ้าภูฐาน โดยด้วยวิธีใช้ความร้อน Hot Water Extract โดยใช้ผงเห็ดนางฟ้าภูฐานปริมาณ 5 กรัม นำมาสกัดในอัตราส่วน 1:100 กับน้ำปราศจากไอออน ลักษณะของสารสกัดที่ได้จะมีลักษณะเป็นผงแห้งสีน้ำตาลเข้ม ดังภาพที่ 4.1 และจากผลการทดสอบพบว่า การสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ให้ปริมาณที่ร้อยละ 5.76 ±0.15 โดยน้ำหนักดังตารางที่ 4.2 เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ และคณะ (2558) พบว่า การสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ด้วยการเขย่าในน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมงพบว่าเห็ดนางฟ้าภูฐานให้ผลผลิตอยู่ที่ ร้อยละ 9.07 ซึ่งมากกว่าที่ผู้ศึกษาสกัดได้ จะเห็นได้ว่าเนื่องจากระยะเวลาที่มากขึ้นจะช่วยทำลายพันธะและทำให้มีปริมาณโพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นหากมีการศึกษาเพิ่มเติมอาจทำการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ด้วยระยะเวลาที่มากขึ้นกว่าการศึกษารั้งนี้

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่ได้จากเห็ดนางฟ้าภูฐาน

สารสกัด	ร้อยละผลได้ (โดยน้ำหนัก)
สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์	5.76±0.15



ภาพที่ 4.1 สารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์

4.3 การเตรียมโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส

จากการทดลองสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจากสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์เห็ดนางฟ้าภูฐาน ด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส ในความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ได้แก่ 10, 20, และ 30 ยูนิต ตามลำดับ จากผลการทดสอบพบว่าในการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยเอนไซม์ ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยใช้โพลีแซ็กคาไรด์ปริมาณ 0.2 กรัม ในอัตราส่วน 1:100 กับบัฟเฟอร์ 0.2 โมลาร์ โซเดียมอะซิเตด ที่ pH 5.0 ผลปรากฏว่าการสกัดเอนไซม์ไม่มีผลต่อผลผลิต โดยโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่มีผลมากที่สุด คือ โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่เอนไซม์ 20 ยูนิต มีค่าอยู่ที่ ร้อยละ 68.33±3.3 โดยน้ำหนักและในส่วนผลน้อยที่สุด คือโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่เอนไซม์ 10 ยูนิต มีค่าอยู่ที่ ร้อยละ 16.67±2.8 ดังแสดงผลในตารางที่ 4.3 โดยเอนไซม์เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนสที่ใช้ในการสกัดนี้ เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะกับเบต้ากลูแคน และเมื่อศึกษาจาก Jung-Nam et al. (2014) พบว่า ในการสกัดเพื่อให้ได้เบต้ากลูแคนบริสุทธิ์ ทำโดยเริ่มทำการสกัดด้วยเบสก่อน จากนั้นนำไปแยกโปรตีนส่วนเกินออกด้วยโครมาโตกราฟีประจุลบ และต้องนำไปกำจัดแมนแนนด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบแอฟฟินิตี เพื่อให้ได้เบต้ากลูแคนบริสุทธิ์ และในสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีน้ำร้อนในขั้นตอนที่ 4.2 อาจมีสารอื่น ๆ นอกเหนือจากเบต้ากลูแคนด้วย ทำให้เมื่อทำการสกัดด้วยเอนไซม์แล้วนั้น สารที่ได้จึงมีหลากหลายชนิด หากทำการศึกษาต่อไปควรที่จะนำสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่ได้ไปทำสกัดสกัดให้ได้เบต้ากลูแคนที่บริสุทธิ์ก่อนที่จะนำมาสกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์ เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีที่สุด

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่ได้จากสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ในปริมาณ
เอนไซม์ต่าง ๆ

สารสกัด	ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ร้อยละผลได้ (โดยน้ำหนัก)
โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส	10	16.67±2.8 ^b
	20	18.67±1.15 ^b
	30	18.33±1.5 ^b
โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรท	10	66.83±4.6 ^a
	20	68.33±3.3 ^a
	30	68.16±2.7 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันเปรียบเทียบสารสกัดเดียวกันในแนวสมมุติ
ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$)

4.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติต่าง ๆ ของโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส

4.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคนจากโพลีแซ็กคาไรด์

การวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคนของสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน โดยทำการ
วัดจากปริมาณกลูแคนทั้งหมดหักลบกับปริมาณแอลฟากลูแคนที่ได้ โดยปริมาณกลูแคนทั้งหมดพบว่
มีปริมาณร้อยละ 17.74±2.3 และในส่วนของปริมาณแอลฟากลูแคนพบว่ามีปริมาณร้อยละ 0.55±0.4
และเมื่อนำมาคำนวณหักลบกันก็จะได้เป็นปริมาณเบต้ากลูแคน โดยปริมาณเบต้ากลูแคนที่ได้จากสาร
สกัดครูดโพลีโกแซ็กคาไรด์พบว่ามีปริมาณอยู่ที่ 17.19±2.8 และเมื่อเปรียบเทียบกับยีสต์มาตรฐาน
พบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนของยีสต์มาตรฐานเท่ากับร้อยละ 47.61±1.5 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกันแล้ว
ทำให้ทราบว่าเบต้ากลูแคนในยีสต์มีปริมาณที่มากกว่าในเห็ด ดังแสดงในตารางที่ 4.4 เมื่อเปรียบเทียบ
การศึกษาของ Lee and Kim (2005) โดยได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคนจากเห็ดกินได้พบว่า
ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนอยู่ที่ร้อยละ 31.14-49.29 และจากการศึกษาของ Kupradit et al. (2023)
พบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนของเห็ดนางฟ้า ฐานที่สกัดด้วยต่างให้ปริมาณเบต้ากลูแคนอยู่ที่ร้อยละ
23.08±0.56 ซึ่งมีปริมาณเบต้ากลูแคนมากกว่าการสกัดด้วยความร้อน จะเห็นได้ว่าหากต้องการให้มี
ปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้มากขึ้นอาจจะต้องเลือกวิธีในการสกัดที่เหมาะสมต่อไป

ตารางที่ 4.4 ปริมาณกลูแคนที่ได้จากสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์

สารสกัด	กลูแคน	ร้อยละผลได้ (โดยน้ำหนัก)
สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์	กลูแคนทั้งหมด	17.74±2.3
	แอลฟากลูแคน	0.55±0.4
	เบต้ากลูแคน	17.19±2.8
	กลูแคนทั้งหมด	47.86±1.3
เบต้ากลูแคนมาตรฐานจากยีสต์	แอลฟากลูแคน	0.25±0.16
	เบต้ากลูแคน	47.61±1.5

4.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี DNS (3,5-Dinitrosalicylic Acid)

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากสารสกัดที่ได้พบว่า สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่ทำการสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot Water Extract) พบว่า มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดคือ 28.66 ± 0.9 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด ดังตารางที่ 4.5 และในการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส พบว่าส่วนของโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่ใส่เอนไซม์ 10 ยูนิต มีค่าน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด คือ 25.79 ± 0.3 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่ใส่เอนไซม์ 30 ยูนิต พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุด คือ 2.82 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด ดังตารางที่ 4.5 โดยการศึกษาของ Nguyen (2021) ที่ศึกษาการสกัดเห็ดนางฟ้าภูฐานด้วยเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าเมื่อมีการเปลี่ยน pH อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดก็จะพบว่ามีค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้นด้วย โดยที่การสกัดอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดอยู่ที่ 17.78 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด ดังนั้นหากมีการศึกษาเพิ่มเติมอาจทำการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส ด้วยระยะเวลา pH และอุณหภูมิที่มากขึ้นหรือนำเอนไซม์ชนิดอื่นเข้ามาช่วยในการสกัดที่หลากหลายกว่าการศึกษาครั้งนี้ว่าการศึกษารั้งนี้

ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่สกัดได้ในปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ

สารสกัด	ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ผลที่ได้ (มก.น้ำตาลรีดิวซ์ ต่อสารสกัด 1 กรัม)
สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์		29.66 ± 0.9^a

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

สารสกัด	ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ผลที่ได้ (มก.น้ำตาลดิวิซ์ ต่อสารสกัด 1 กรัม)
โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเสท	10	25.79±0.3 ^b
	20	24.17±0.94 ^c
	30	24.3±0.75 ^c
โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเสทฟิลเตรท	10	4.24±0.20 ^d
	20	3.06±0.09 ^e
	30	2.82±0.09 ^e

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแนวสทมภ์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$)

4.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total Carbohydrate Content)

จากการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตพบว่าสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีสกัดด้วยน้ำร้อน Hot Water Extract มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเยอะที่สุดอยู่ที่ 340.17±2.55 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดดังตารางที่ 4.6 จากการศึกษาของ Rattanachan et al. (2020) สํารวจสารสกัดดิบจากเห็ดนางฟ้าภูฐานโดยใช้วิธีสกัดด้วยน้ำร้อน 70 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมงพบว่าได้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตอยู่ที่ 146.4 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดซึ่งไปในแนวทางเดียวกัน และ ในส่วนของโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเสท ที่สกัดด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส พบว่า โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเสทที่ใส่เอนไซม์ 30 ยูนิตมีค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดสูงที่สุด คือ 298.13±2.55 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเสทฟิลเตรทที่ใส่เอนไซม์ 20 ยูนิตพบปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดน้อยที่สุด คือ 3.84±0.07 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเสทที่สกัดได้ในปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ

สารสกัด	ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ผลที่ได้ (มก.กลูโคส ต่อสารสกัด 1 กรัม)
สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์		340.17±2.55 ^a

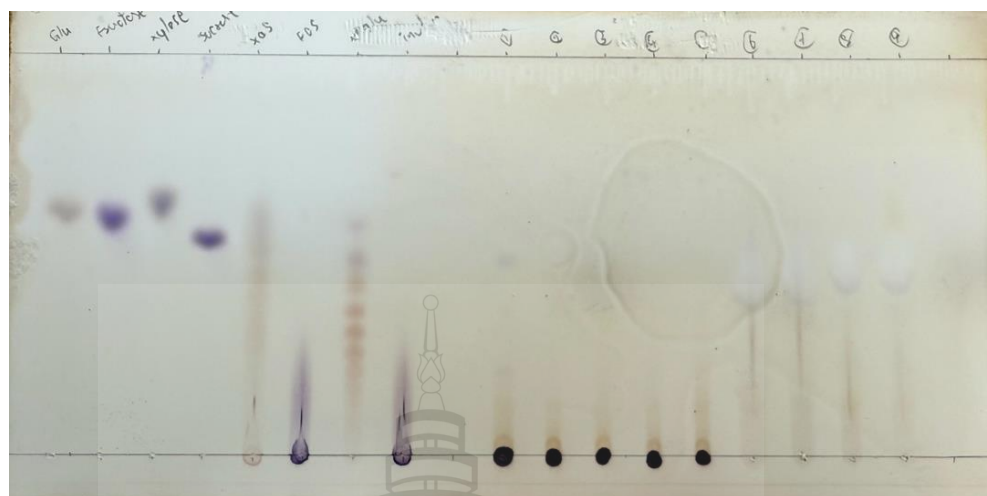
ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

สารสกัด	ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ผลที่ได้ (มก.กลูโคส ต่อสารสกัด 1 กรัม)
โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส	10	276.89±7.78 ^c
	20	296.85±6.74 ^b
	30	298.13±2.55 ^b
โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรท	10	4.49±0.05 ^d
	20	3.84±0.07 ^d
	30	4.63±0.21 ^d

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแนวสทมภ์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$)

4.4.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารสกัดด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีผิบบาง (Thin-layer Chromatography)

นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบสารสกัดด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีผิบบางโดยเทียบกับสารมาตรฐานกลูโคส ฟรุคโตส ไซโลส ซูโครส ไซโลโอลิโกแซ็กคาร์ไรด์ ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาร์ไรด์ เอลฟา-กลูแคน และ อินนูลินพบว่า สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน Hot Water Extract และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่สกัดด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส มีลักษณะการเคลื่อนที่ขึ้นได้น้อยเนื่องจากมีขนาดของโมเลกุลที่ใหญ่ โดยจะพบว่า โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจะมีขนาดของโมเลกุลที่ใหญ่กว่า ในขณะที่โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรทจะมีขนาดของโมเลกุลที่เล็กกว่า ซึ่งเป็นไปตามผลวิเคราะห์วัดปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่มีปริมาณค่าที่มาก อาจอนุมานได้ว่าสารสกัดที่ได้มีขนาดของโมเลกุลที่ใหญ่จากการที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่มาก



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17

หมายเหตุ 1= Glucose std., 2= Fructose std., 3= Xylose std., 4= Sucrose std., 5= XOS std., 6= FOS std., 7= α -glucan std., 8= inulin std., 9= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์., 10= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่ไม่ใส่เอนไซม์., 11= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่เอนไซม์ 10 ยูนิต., 12= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่เอนไซม์ 20 ยูนิต., 13= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่เอนไซม์ 30 ยูนิต., 14= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรทที่ไม่ใส่เอนไซม์., 15= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรทที่เอนไซม์ 10 ยูนิต., 16= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรทที่เอนไซม์ 20 ยูนิต., 17= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรทที่เอนไซม์ 30 ยูนิต

ภาพที่ 4.2 การเคลื่อนที่ของสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส

4.4.5 การวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

การวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน Hot Water Extract พบว่า มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ 11.51 ± 0.15 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด ดังตารางที่ 4.7 โดยจากการศึกษาของ Chirinang and Intarapichet (2009) ได้ทำสกัดสารจากเห็ดนางฟ้าภูฐานอบแห้งพบว่า มีค่าความสามารถต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 104.5 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด แต่เนื่องจากในการศึกษานี้ใช้วิธีสกัดเย็น แต่ผู้ศึกษาใช้วิธีสกัดด้วยน้ำร้อน โดยเมื่อมีการใช้น้ำอุณหภูมิที่สูงนั้นอาจทำลายสารบางชนิดจึงให้ค่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระลดลงได้ และในส่วนของโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่สกัดด้วยเอนไซม์เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส พบว่า ค่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่มากที่สุด คือโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่ใส่เอนไซม์ 30 ยูนิตมีค่า 5.63 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และน้อยที่สุดคือ โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรท

ที่เอนไซม์ 30 ยูนิตมีค่า 0.94 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด ดังแสดงในตาราง 4.7 โดยพบว่าค่าที่ได้ไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยการศึกษาของ Nguyen (2021) ที่ศึกษาการสกัดเห็ดนางฟ้าภูฐานด้วยเอนไซม์เซลลูเลสมีค่าการต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 165.50 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดด้วยอุณหภูมิ ระยะเวลา และ pH ที่เหมาะสมทำให้ได้ค่าการต้านอนุมูลอิสระที่สูง ดังนั้นหากมีการศึกษาเพิ่มเติมอาจทำการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส ด้วยระยะเวลา pH และอุณหภูมิที่มากขึ้นหรือนำเอนไซม์ชนิดอื่นเข้ามาช่วยในการสกัดที่หลากหลายกว่าการศึกษาครั้งนี้

ตารางที่ 4.7 ค่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่สกัดได้ในปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ

สารสกัด	ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ผลที่ได้ (มก.โทรลอกซ์ ต่อสารสกัด 1 กรัม)
สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์		11.51 ± 0.15^a
โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส	10	5.30 ± 0.03^c
	20	5.17 ± 0.09^d
	30	5.63 ± 0.03^b
โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรท	10	0.96 ± 0.02^e
	20	0.95 ± 0.05^e
	30	0.94 ± 0.01^e

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแนวสทมภ์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p > 0.05$)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการเตรียมและการทดสอบคุณสมบัติต่างๆของสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์จากเห็ดนางฟ้าภูฐานที่สกัดด้วยน้ำร้อน และการเตรียมการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจากโพลีแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการทางเอนไซม์ สามารถสรุปผลได้ดังนี้

จากการศึกษาการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์จากเห็ดนางฟ้าภูฐานด้วยน้ำร้อน Hot-Water Extract พบว่า มีผลผลิตสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์อยู่ที่ร้อยละ 5.76 ± 0.15 โดยน้ำหนัก และเมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์วัดปริมาณเบต้ากลูแคนด้วยชุดทดสอบวิเคราะห์ พบว่าสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์มีปริมาณเบต้ากลูแคนเท่ากับ ร้อยละ 17.19 ± 2.8 โดยน้ำหนัก จากนั้นจึงนำสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่ได้ไปทำการสกัดด้วยวิธีการทางเอนไซม์โดยใช้เอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส ในปริมาณเอนไซม์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ 10 ยูนิต, 20 ยูนิต และ 30 ยูนิต ตามลำดับ โดยจะได้สารสกัดแบ่งเป็นโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรท พบว่าปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้ในการสกัดนั้น ไม่มีผลต่อผลผลิตที่ได้ของโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรท โดยโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรทที่ใส่เอนไซม์ 20 ยูนิตมีปริมาณมากที่สุด อยู่ที่ร้อยละ 68.33 ± 3.3 โดยน้ำหนัก และหลังจากทำการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเรียบร้อยแล้ว ทางผู้ศึกษาได้นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์คุณสมบัติต่าง ๆ ดังนี้ วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าในส่วนของการสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ คือ 29.66 ± 0.9 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสใส่เอนไซม์ 10 ยูนิต มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มากที่สุด คือ 25.79 ± 0.3 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และน้อยที่สุด ได้แก่ โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรทที่ใส่เอนไซม์ 30 ยูนิต คือ 2.82 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด จากนั้นนำสารสกัดไปวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดพบว่า ส่วนของสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากที่สุดอยู่ที่ 340.17 ± 2.55 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และพบว่า โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่ใส่เอนไซม์ 30 ยูนิต มีค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดสูงที่สุด คือ 298.13 ± 2.55 มิลลิกรัมต่อกรัม และน้อยที่สุดอยู่ที่ โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรทที่ใส่เอนไซม์ 20 ยูนิต คือ 23.84 ± 0.07 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด โดยพบว่าทั้งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากนั้นนำสารสกัดไปวิเคราะห์องค์ประกอบ

สารสกัดด้วยโครมาโตกราฟีผิวบางพบว่า สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเซส มีลักษณะของโมเลกุลที่ใหญ่ในขณะที่โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเซสฟิเตรทจะมีขนาดของโมเลกุลที่เล็กกว่า และสุดท้ายนำสารสกัดทั้งหมดไปทำการทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยพบว่าในส่วนของสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่มากที่สุด คือ 11.51 ± 0.15 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และ โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเซสที่ใส่เอนไซม์ 30 ยูนิตมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่มากที่สุด คือ 5.63 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด โดยพบว่าสารสกัดที่ได้มีค่าที่ลดลงประมาณ 2 เท่าเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส

จากการทดลองคุณสมบัติต่าง ๆ ของสารสกัดเห็ดนางฟ้าภูฐานพบว่าสารสกัดที่ดีที่สุด คือ โพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน ทั้งในส่วนผลน้ำตาลรีดิวซ์ คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ มีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเซส และเมื่อเทียบกับการศึกษาของ Nguyen (2021) ที่ศึกษาการสกัดเห็ดนางฟ้าภูฐานด้วยเอนไซม์เซลลูเลส พบว่ามีค่าน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ที่ 17.78 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด แต่มีค่าการต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 165.50 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด โดยพบว่า การสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทำให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระที่สูงมากเมื่อเทียบกับเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส และเมื่ออ่านผลจากแผ่นโครมาโตกราฟีแผ่นบางทำให้เห็นคุณลักษณะของสารสกัดทำให้ทราบว่าการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเซสด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส สามารถสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเซสออกมาได้ปริมาณที่น้อยมาก อาจเนื่องจากปริมาณเบต้ากลูแคนของเห็ดนางฟ้าภูฐานที่ได้มานั้นมีปริมาณที่น้อยมากหรือได้เบต้ากลูแคนที่ไม่บริสุทธิ์ ทำให้เมื่อทำการสกัดด้วยเอนไซม์แล้วนั้นอาจจะไม่มีสารโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเซสที่เพียงพอในการออกฤทธิ์ต่าง ๆ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเซสอาจต้องเตรียมโพลีแซ็กคาไรด์ในปริมาณที่มากขึ้น และควรเตรียมเบต้ากลูแคนให้มีความบริสุทธิ์ เพื่อนำมาเตรียมสกัดด้วยวิธีการทางเอนไซม์ ในเงื่อนไขที่หลากหลายมากขึ้นอาจจะเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ หรือเพิ่มระยะเวลาในการสกัด อาจจะต้องมีการวัดระดับการย่อยของเอนไซม์ หรือเพิ่มเอนไซม์ชนิดอื่นเข้ามาช่วยในกระบวนการเพื่อให้ได้ปริมาณโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเซสที่มีมากเพียงพอ และควรจะนำผลที่ได้ไปทำการวัดความเป็นฟรีโอดีทิกของสารสกัดเพิ่มเติมด้วย แต่ถ้าศึกษาจากผลงานวิจัยนี้พบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบกับฤทธิ์ที่จะนำไปใช้ในทางเครื่องสำอางเบื้องต้นพบว่า ในส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำการ

ทดสอบมานั้น ยังคงพบว่าในส่วนของโพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน ยังคงมีความสามารถที่มากกว่า โดยจากผลของการทดสอบนี้จึงสามารถนำไปใช้เพื่อพัฒนาทางด้านเครื่องสำอางได้ต่อไป



รายการอ้างอิง

- เฉลิมขวัญ คำคำ และมัลลิกา ชมนาวัง. (2548). คุณรู้จักฟรีไบโอติกแล้วหรือยัง. *วารสารอาหาร*, 35(2), 96-102.
- ณัฐพงษ์ บุญป้อง. (2563). *เคมีเป็นพื้นฐานของสิ่งมีชีวิต*. <https://www.scimath.org/lesson-biology/item/10559-2019-08-28-02-42-02>
- คำเกิง ป้องพาล. (2547). *การผลิตเห็ด (mushroom product)*. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- ประกานต์ ฤทธิกุลธำรง และจารุณี ควรพิบูลย์. (2555). *ฟรีไบโอติก อาหารส่งเสริมสุขภาพ*. *ธรรมศาสตร์เวชสาร*, 12(2), 362-369.
- ปริญญญา จันทรศรี. (ม.ป.ป.). *เห็ดพิษ*. สืบค้นเมื่อ 14 กุมภาพันธ์ 2567. https://stri.cmu.ac.th/article_detail.php?id=59
- ผกากรอง วนไพศาล. (2563). *สุขภาพผิวดีกับไมโครไบโอม*. <https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/527/สุขภาพผิวดีกับไมโครสุขภาพ/>
- พรอริยา จิรินัง. (2548). การผลิตซอสเห็ดปรุงรสโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ ต่างและเอนไซม์ (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- พัทธพร จอมเมืองบุตร. (2557). ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดเบต้ากลูแคนจากข้าวเหนียวดำ. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 45(2), 153-156.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์. (ม.ป.ป.). *Polysaccharide*. สืบค้นเมื่อ 14 กุมภาพันธ์ 2567. <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1101/polysaccharide-พอลิแซ็กคาไรด์>
- ภาณุพงษ์ ไชวุฒิ, ปญญวัฒน์ ปินตาทอง และนิสากร แซ่วัน. (2558). *ฤทธิ์ทางชีวภาพของพอลิแซ็กคาไรด์ละลายน้ำจากเห็ดหูหนู เห็ดหูหนูขาว เห็ดฟาง และเห็ดนางฟ้า สำหรับประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ*. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน. (2556). *การเพาะเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าภูฐาน โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่องการนำเชื้อเห็ดและการเพิ่มผลผลิตเห็ดเป็นรายได้เสริมให้กับกลุ่มแม่บ้าน*. https://ppi.psu.ac.th/upload/forum/project_1324_5dbbb67205e7f5dbb.pdf
- ยุวศรี ต่ายคำ. (2555). *ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากจุลินทรีย์*. <https://biology.ipst.ac.th/?p=945>

- ลภัสสรดา มุ่งหมาย, มฤกร สายนาคำ, ธรรมณูญ รุ่งสังข์ และวีรยา ปรีดาลิขิต. (2563). การพัฒนาตำรับเอสเซนส์ที่มีสารต้านออกซิเดชันจากสารสกัดเห็ดนางรมดำ. *J Sci Technol MSU*, 39(5), 587-594.
- วิชมนิ ยืนยงพุทธกาล. (2558). *โครงการการพัฒนาผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวจากสาหร่ายผัดทอดทะเลสำหรับเด็กวัยเรียน : รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์*. มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ศูนย์เห็ดสิงห์บุรี. (2562). เห็ดนางฟ้าภูฐาน. <https://singburimushroomcenter.home.blog/2019/06/06/เห็ดนางฟ้าภูฐาน>
- สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.). (2564). *การรวบรวมข้อมูลการผลิตและการตลาดเห็ดเศรษฐกิจและเห็ดป่ากินได้ในประเทศไทย*. <https://waa.inter.nstda.or.th/stks/pub/2021/20210817-economic-mushroom-market.pdf>
- หมอชาวบ้าน. (2549). *เห็ดคุณค่าทางอาหาร*. <https://www.doctor.or.th/article/detail/1493>
- อานนท์ เอื้อตระกูล. (2527). เห็ดนางฟ้าภูฐาน. *เคหการเกษตร*, 3(103), 17-20.
- Abuajah, C. I. (2017). Functional components and medicinal properties of food. In *Bioactive Molecules in Food* (pp. 1-34). Springer, Cham.
- Chirinang, P., & Intarapichet, K.-O. (2009). Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. *ScienceAsia*, 35, 326-331.
- Go, S. J., You, C. H., & Park, Y. H. (1984). Effect of Temperature, pH, Carbon and Nitrogen Nutritions on Mycelial Growth of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. and *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Qu {acute {e}} l \$. *The Korean Journal of Mycology*, 12(1), 15-19.
- Goodridge, H. S., Wolf, A. J., & Underhill, D. M. (2009). β -glucan recognition by the innate immune system. *Immunological reviews*, 230(1), 38-50.
- Gutiérrez, A., Prieto, A., & Martínez, A. T. (1996). Structural characterization of extracellular polysaccharides produced by fungi from the genus *Pleurotus*. *Carbohydrate Research*, 281(1), 143-154.
- Keleş, A., Koca, I., & Gençcelep, H. (2011). Antioxidant properties of wild edible mushrooms. *J Food Process Technol*, 2(6), 2-6.
- Kubala, J. (2022). *What are Oligosaccharide? All you need to know*. <https://www.healthline.com/nutrition/oligosaccharides>

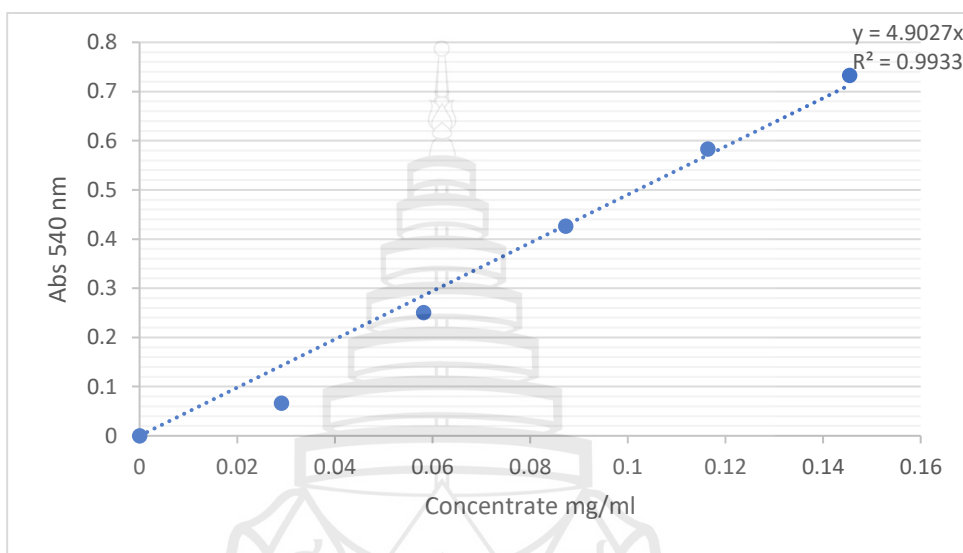
- Kupradit, C., Ranok, A., Mangkalan, S., Khongla, C., & Musika, S. (2023). β -glucan and antioxidant activities of four edible mushroom extracts from Thailand. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 2023(01).
- Lee, Y. T., & Kim, Y. S. (2005). Water-solubility of β -glucans in various edible mushrooms-research note. *Preventive Nutrition and Food Science*, 10(3), 294-297.
- Leow, K., & Rosma, A. (2016). *Resistance of Pleurotus pulmonarius water-soluble polysaccharides against gastric and pancreatic juices*. Research Gate. https://www.researchgate.net/profile/Kim-Teck-Leow/publication/309922960_Resistance_of_Pleurotus_pulmonarius_water-soluble_polysaccharides_against_gastric_and_pancreatic_juices/links/5826c0fa08ae5c0137ed6621/Resistance-of-Pleurotus-pulmonarius-water-soluble-polysaccharides-against-gastric-and-pancreatic-juices.pdf
- Manzi, P., & Pizzoferrato, L. (2000). Beta-glucans in edible mushrooms. *Food chemistry*, 68(3), 315-318.
- Nguyen, T. M. (2021). Effect of extraction conditions (temperature, pH and time) by cellulase on chemical properties of dried oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) extract. *Food Research*, 5(3), 351-358.
- Parhi, R., Sahoo, S. K., & Das, A. (2023). Applications of polysaccharides in topical and transdermal drug delivery: A recent update of literature. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, e20802.
- Rattanachan, S., Bunnajirakul, S., & Punyadarsaniya, D. (2020). Effect of pre-supplementation with *Pleurotus sajor-caju* crude extracts on body weight and consequence responses of leukocytes and immune organs in fancy carp following inoculation with *Aeromonas veronii*. *Veterinary World*, 13(5), 1010.
- Sangtong, S., Pintathong, P., Pongsua, P., Jirarat, A., & Chaiwat, P. (2022). Polysaccharides from *Volvariella volvacea* Mushroom: Extraction, Biological Activities and Cosmetic Efficacy. *Journal of Fungi*, 8(6), 572.

- Taofiq, O., González-Paramás, A. M., Martins, A., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. (2016). Mushrooms extracts and compounds in cosmetics, cosmeceuticals and nutricosmetics—A review. *Industrial Crops and Products*, 90, 38-48.
- Volman, J. J., Ramakers, J. D., & Plat, J. (2008). Dietary modulation of immune function by β -glucans. *Physiology & behavior*, 94(2), 276-284.
- Zrodowski, Z. (1995). The influence of washing and peeling of mushrooms *Agaricus bisporus* on the level of heavy metal. *Polish journal of food and nutrition sciences*, 4(1), 26-33.

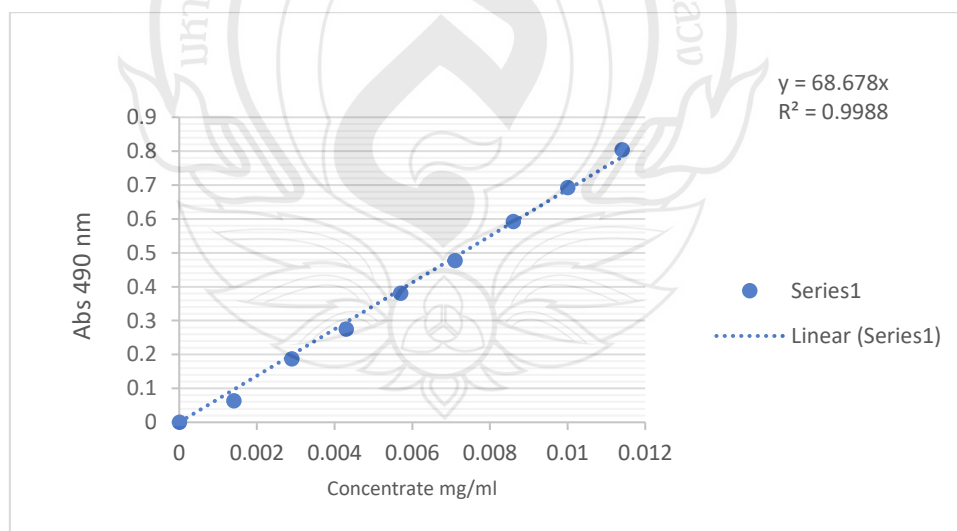


ภาคผนวก

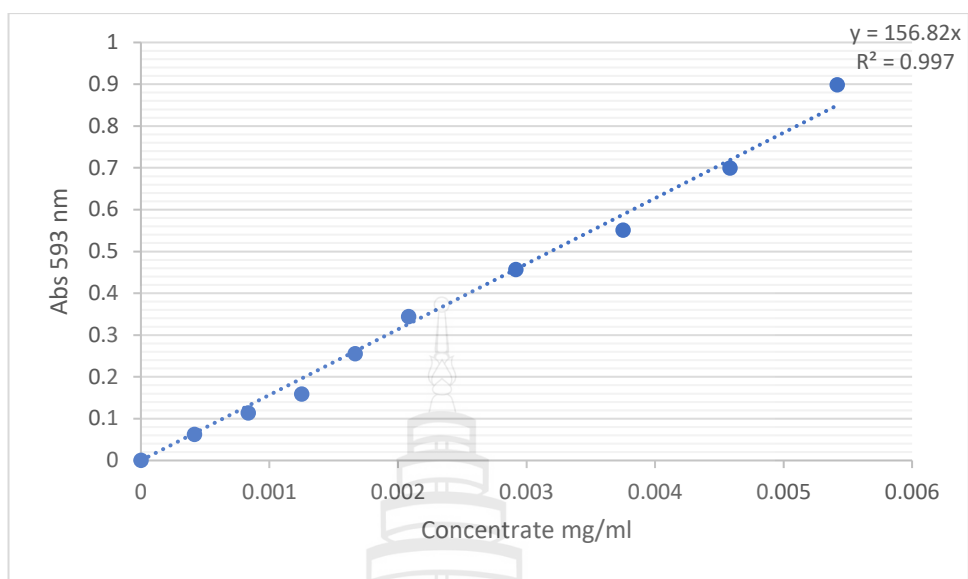
กราฟมาตรฐาน



ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ของสารมาตรฐาน กลูโคส



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร ของสารมาตรฐาน กลูโคส



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและค่าดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร ของสารมาตรฐาน โทรลอกซ์

