Published Online: 24 JUL 2023

การเตรียมสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมที่เพาะเลี้ยงในประเทศไทย

Preparation of Crude Polysaccharide Extracts from *Lentinula edodes* (Shiitake) Cultivated in Thailand

ธนภรณ์ ยงพิศาลภพ

อีเมล์: 6251701265@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญวัฒณ์ ปินตาทอง

อีเมล์: punyawatt.pin@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

เห็ดหอม (*Lentinula edodes)* เป็นเห็ดบริโภคเชิงเศรษฐกิจที่มีคุณค่าทั้งเชิงโภชนาการ สุขภาพและความงาม ปัจจุบันประเทศไทยมีการส่งเสริมงานวิจัยในการพัฒนาเห็ดหอมที่เพาะปลูกได้ภายในประเทศ เพื่อลดการนำเข้าเห็ดหอมราคาสูงจากต่างประเทศ การศึกษาครั้งนี้มุ่งเน้นเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิและรูปแบบของเห็ดหอมที่มีผลต่อปริมาณผลผลิต ลักษณะทางกายภาพและเคมี ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากเห็ดหอมที่เพาะปลูกในพื้นที่ภาคเหนือของไทย เห็ดหอมแห้งและเห็ดหอมสดจะถูกนำมาสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ ต้มเดือด 50 °C และอุณหภูมิห้อง ผลการศึกษาพบว่า พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมละลายได้ในน้ำ สารสกัดจากเห็ดหอมแห้งด้วยวิธีต้มเดือดให้ปริมาณผลผลิตและเบต้ากลูแคนสูง ในขณะที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำ สารสกัดจากเห็ดหอมสดที่ 50 °C ให้ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง อุณหภูมิสกัดและรูปแบบของเห็ดจึงส่งผลต่อปริมาณผลผลิต คุณสมบัติและฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนั้นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากเห็ดหอมที่เพาะเลี้ยงในไทยจึงมีคุณสมบัติที่เหมาะสมแก่การนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

คำสำคัญ: เห็ดหอม, พอลิแซ็กคาไรด์, การสกัด, เบต้ากลูแคน

Published Online: 24 JUL 2023

Abstract

Shiitake (*Lentinula edodes)* is an economically edible mushroom that can provide nutritional value toward health and beauty. At present, Thailand has promoted research in the development of shiitake strain that can be cultivated within the country to reduce the expensive importation of shiitake from abroad. This study aimed to compare the effect of temperature and shiitake form on yield, physical chemical properties and the biological activities of crude polysaccharide extracts from shiitake cultivated in the northern of Thailand. Dry and fresh shiitake were extracted in water at different temperatures including boiling point, 50 °C and room temperature. The result showed the extracts were soluble in water. The extract from dry mushroom by boiling water displayed the highest yield and beta glucan content, while total phenolic content and antioxidants activities were seemed to be low. The extracted from fresh mushrooms at 50 °C showed high total sugar, protein content and antioxidant activities. Therefore, the yield, properties and biological activities were influenced by temperature and form. So, the extracts of shiitake cultivated in Thailand have potential to be useful in cosmetic products.

Keywords: Shiitake, Polysaccharides, Extraction, Beta Glucan

บทนำ/หลักการและเหตุผล

เห็ด เป็นสิ่งมีชีวิตประเภทเชื้อราที่มีการนำมาประโยชน์อย่างมากมายทั้งทางอาหาร ยา และเครื่องสำอาง เนื่องจากเห็ดประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น เซราไมด์ เบต้ากลูแคน เลนติแนน ฟลาโวนอยด์และเทอร์ปินอยด์ เป็นต้น (Wu et al., 2016) เห็ดหอมเป็นเห็ดที่นิยมเพาะปลูกเป็นอันดับสองของโลกรองจากเห็ดแชมปิญอง (*Mushroom market size, share & COVID-19 impact analysis, by type (button, shiitake, oyster, and others), by form (fresh, frozen, dried, and canned), and regional forecast 2021-2028*, 2022) สำหรับประเทศไทยมีการผลิตเห็ดประมาณ 120,000 ตันต่อปี (ชาญยุทธ์ ภาณุทัต, 2561) สร้างรายได้แต่ละปีไม่ต่ำกว่า 7,000 ล้านบาท (ศูนย์วิจัยธนาคารกสิกรไทย, 2557)

เห็ดหอม (Shiitake Mushroom) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Lentinula edodes* (Berk.) Sing. เป็นเห็ดที่นิยมนำมารับประทานทั้งในรูปแบบสดและแห้ง เนื่องจากรสชาติดีและมีกลิ่นหอม (ผาณิต พระดาเวชช, 2557) ประเทศไทยมีการนำเข้าเห็ดหอมมาจากประเทศจีนและประเทศญี่ปุ่น

จำนวนมาก จึงทำให้เห็ดหอมมีราคาสูงกว่าเห็ดชนิดอื่นๆ ปัจจุบันจึงเริ่มมีการเพาะเห็ดหอมในประเทศไทยอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะกลุ่มจังหวัดภาคเหนือตอนบนและภาคอีสาน ส่งผลให้เห็ดหอมกลายเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย (มหาวิทยาลัยแม่โจ้, ม.ป.ป.) เห็ดหอมถูกพบว่ามีองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ โดยเฉพาะเบต้ากลูแคนและเลนติแนน จากการศึกษาพบว่าเห็ดหอมมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Taofiq et al., 2016) ในประเทศไทยมีข้อมูลการนำสารสกัดจากเห็ดหอมมาใช้ในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ซึ่งมีทั้งในรูปแบบงานวิจัยและผลิตภัณฑ์ที่ขายในท้องตลาด แต่ยังไม่เป็นที่แพร่หลาย เนื่องจากมีข้อจำกัดด้านปริมาณและต้นทุนการผลิต (บุษกร ภู่แส, 2558)

จากการศึกษาก่อนหน้าของ Huang et al. (2022) ได้รวบรวมข้อมูลของวิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ โดยวิธีที่นิยมใช้ คือ การสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำร่วมกับการใช้ความร้อน (Hot Water Extraction) โดยมีขั้นตอน คือ เตรียมพืชที่ต้องการสกัดและบดให้เป็นผง กำจัดไขมันในตัวอย่างพืช สกัดด้วยน้ำ ตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์จากนั้นนำสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ไปทำให้แห้ง ความร้อนสูง (50 – 100 °C) และระยะเวลาการสกัด (1.5 - 5 ชั่วโมง) ที่เหมาะสมจะได้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำ (Leong et al., 2020) การสกัดด้วยวิธีนี้มีข้อดีคือมีประสิทธิภาพในการสกัดสูง สะดวกรวดเร็วและง่ายต่อการสกัด (Rao et al., 2021)

Finimundy et al. (2013) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็งในสารสกัดจากเห็ดหอมและเห็ดนางฟ้าที่สกัดด้วยน้ำ โดยเปรียบเทียบการสกัดที่อุณหภูมิ 4 °C 22 °C และ 50 °C พบว่าสารสกัดจากเห็ดหอมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลได้สูงกว่าในเห็ดนางฟ้า ในสภาวะสกัดที่อุณหภูมิ 22°C สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพิ่มขึ้นและสูงกว่าสารสกัดจากเห็ดนางฟ้า แต่อุณหภูมิที่แตกต่างกันไม่ส่งผลต่อปริมาณพอลิฟีนอลิก จากงานวิจัยของ Zou et al. (2015) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหูหนู พบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ อัตราส่วนของของเหลวต่อของแข็งที่ใช้ในการสกัด เท่ากับ 38.77 มิลลิลิตรต่อกรัม อุณหภูมิ 93.98 °C และเวลา 3.41 ชั่วโมง

การศึกษาของ Thetsrimuang et al. (2011) ได้เปรียบเทียบการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมสดและเห็ดหอมแห้งต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ตัวอย่างเห็ดหอมสายพันธุ์ RJ-2 ซึ่งเพาะปลูกในจังหวัดกาฬสินธุ์ ประเทศไทย พบว่าเห็ดหอมสดและเห็ดหอมแห้งให้ปริมาณผลผลิต 11.58 เปอร์เซ็นต์และ 9.37 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและน้ำตาลรีดิวซ์ในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมแห้ง มีค่าต่ำกว่าค่าวิเคราะห์ในเห็ดหอมสดเล็กน้อย ยกเว้นค่าปริมาณโปรตีน เมื่อพิจารณาผลของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS, DPPH และ FRAP Assay พบว่าทั้งเห็ดหอมสดและเห็ดหอมแห้งมีฤทธิ์ไม่แตกต่างกัน

งานวิจัยของ Gaitán-Hernández et al. (2020) ได้ศึกษาปัจจัยของสายพันธุ์ของเห็ดหอมและวัสดุในการเพาะ ซึ่งมีผลต่อปริมาณผลผลิตและสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากสารสกัดเห็ดหอมที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ พบว่า สารสกัดจากเห็ดหอมสายพันธุ์ IE-256 จากประเทศสหรัฐอเมริกาที่เพาะเลี้ยงบนซังข้าวฟ่าง ให้ปริมาณผลผลิตและมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดเห็ดหอมสายพันธุ์จากสหรัฐอเมริกาที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุชนิดอื่น และสูงกว่าเห็ดหอมสายพันธุ์ IE-40 ที่มาจากเขตบริหารพิเศษฮ่องกงแห่งสาธารณรัฐประชาชนจีน

การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากการสกัดด้วยเห็ดหอมรูปแบบสดและแห้ง โดยใช้ตัวอย่างจากเห็ดหอมที่เพาะในประเทศไทยนำมาสกัดในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ ซึ่งการศึกษาวิจัยส่วนมากมักใช้ตัวอย่างเห็ดหอมจากต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศจีนซึ่งเป็นแหล่งเพาะปลูกเห็ดหอมอันดับหนึ่งของโลก (Tridge, 2023) การศึกษาโดยใช้เห็ดหอมที่เพาะปลูกในประเทศไทยจึงยังไม่แพร่หลาย การวิเคราะห์ข้อมูลจะคำนึงถึงปริมาณผลผลิตที่ได้ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพ แตกต่างจากงานวิจัยอื่นที่มักจะคำนึงถึงเพียงประสิทธิภาพในการสกัดและฤทธิ์ทางชีวภาพเท่านั้น การศึกษาในครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาสำหรับนำไปประยุกต์ใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอางและเพิ่มมูลค่าให้กับเห็ดหอมที่เพาะเลี้ยงในประเทศไทยต่อไป

ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

1. การเตรียมตัวอย่างเห็ดหอม

ดอกเห็ดหอมสดระยะบานสมบูรณ์ เก็บผลผลิตช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงมีนาคม ปี พ.ศ. 2564 จากสยามเห็ดฟาร์ม จังหวัดเชียงใหม่ นำล้างให้สะอาด ซับให้แห้ง และหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แบ่งเห็ดหอมออกเป็นสองกลุ่ม คือ เห็ดหอมสดนำมาบดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า แล้วนำไปสกัดทันที และเห็ดหอมแห้งที่อบที่อุณหภูมิ 70 °C จนน้ำหนักคงที่ และนำไปบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าเพื่อนำไปสกัดต่อไป

2. การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอม

ดัดแปลงวิธีการสกัดจาก Finimundy et al. (2013) และ Boonsong et al. (2016) โดยนำเห็ดหอมรูปแบบสดและแห้ง มาสกัดโดยใช้อัตราส่วน 1:50 โดยน้ำหนัก แบ่งวิธีการสกัดเห็ดหอมทั้งสองรูปแบบออกเป็น 3 กลุ่มตามอุณหภูมิในการสกัด ได้แก่ สกัดด้วยการแช่น้ำอุณหภูมิห้อง (มีค่าประมาณ 30 °C) แช่ในน้ำอุณหภูมิ 50 °C และต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 3.5 ชั่วโมง กรองเอากากเห็ดออก นำสารละลายที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที แยกสารสกัดที่เป็นส่วนใสออกมา นำมาตกตะกอนด้วยเอทานอลที่แช่เย็น ในอัตราส่วน 1:5 โดยปริมาตร

ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 ℃ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นรินส่วนใสออกและนำส่วนตะกอนไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 ℃ (Wang et al., 2014) จนน้ำหนักคงที่

3. การวิเคราะห์

1) ศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์ โดยบันทึกลักษณะสีและกลิ่นของของสารสกัดหยาบที่ได้

2) ทดสอบความสามารถในการละลายในน้ำ โดยชั่งสารสกัดหยาบครั้งละ 1 มิลลิกรัม ละลายในน้ำ 1 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิห้อง บันทึกน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่เติมทั้งหมดจนสารละลายอิ่มตัว

3) วัดค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ โดยเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วัดค่าด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดด่าง

4) วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ด้วยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก ดัดแปลงวิธีจาก Abd Razak et al. (2020) โดยใช้สารละลายกลูโคสเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

5) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ด้วยวิธีลาวรี ดัดแปลงจากวิธีของ Satpathy et al. (2020) โดยใช้สารละลาย Bovine Serum Albumin เป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

6) วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric ดัดแปลงวิธีจาก พรพิมล มูลแก้ว (2561) โดยใช้สารละลายกรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร

7) ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ดัดแปลงจากวิธีของพรพิมล มูลแก้ว (2561) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร คำนวณร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (% Inhibition)

8) ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ดัดแปลงวิธีจาก Thetsrimuang et al. (2011) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายโทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน

9) วิเคราะห์หาปริมาณเบต้ากลูแคน อ้างอิงวิธีวิเคราะห์จากพรพิมล มูลแก้ว (2561) ใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปยี่ห้อ Megazyme® โดยวิเคราะห์ปริมาณกลูแคนทั้งหมดแล้วหักออกด้วยปริมาณของแอลฟากลูแคน

ผลวิจัย

1. ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอม

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดเห็ดหอมสดที่อุณหภูมิห้องและน้ำอุณหภูมิ 50 °C มีสีน้ำตาลเข้มจนถึงสีดำ พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมแห้งที่สกัดในสภาวะอุณหภูมิห้องและน้ำอุณหภูมิ 50 °C ให้สารสกัดที่มีสีน้ำตาลแดง ส่วนพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมสดและเห็ดหอมแห้งที่ได้จากการสกัดในสภาวะน้ำต้มเดือด ให้สารสกัดสีเหลืองอ่อน ดังแสดงในภาพที่ 1

เมื่อนำสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ไปละลายน้ำ สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ทุกตัวอย่างไม่มีกลิ่น ยกเว้นสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากเห็ดหอมสดด้วยวิธีเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 50 °C จะมีกลิ่นหอมอ่อนๆคล้ายเห็ดหอมต้ม

2. ความสามารถในการละลายในน้ำ

สารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมแห้งที่สกัดด้วยวิธีเขย่าที่อุณหภูมิห้องมีสามารถการละลายน้ำได้ปริมาณสูงที่สุด (ร้อยละ 2.23 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) รองลงมาคือ พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมแห้งที่สกัดด้วยวิธีต้มในน้ำเดือด สามารถละลายได้ความเข้มข้นร้อยละ 1.82 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมแห้งที่สกัดด้วยวิธีเขย่าในน้ำอุณหภูมิ 50 °C สามารถละลายได้ความเข้มข้นร้อยละ 1.58 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมสดที่สกัดด้วยวิธีต้มในน้ำเดือดสามารถละลายได้ความเข้มข้นร้อยละ 0.22 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แต่พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมสดที่สกัดด้วยวิธีวิธีเขย่าที่อุณหภูมิห้องและเขย่าในน้ำอุณหภูมิ 50 °C ไม่ละลายในน้ำที่อุณหภูมิห้อง (ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เมื่อนำสารละลายของสกัดทั้งสองให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C พบว่าสามารถละลายได้ทั้งหมด

หมายเหตุ ก. พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมสดที่สกัดด้วยการเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิห้อง
ข. พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมสดที่สกัดด้วยการเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
ค. พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมสดที่สกัดด้วยการต้มในน้ำเดือด
ง. พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมแห้งที่สกัดด้วยการเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิห้อง
จ. พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมแห้งที่สกัดด้วยการเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
ฉ. พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมแห้งที่สกัดด้วยการต้มในน้ำเดือด

ภาพที่ 1 ลักษณะของพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมสดและแห้งที่สกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายด้วยวิธีต่างๆ

3. ความเป็นกรดด่างของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์

ความเป็นกรดด่างของสารละลายอยู่ในช่วง 6.51 – 7.60 สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากเห็ดหอมแห้งด้วยวิธีการเขย่าในน้ำอุณหภูมิ 50 °C มีค่าความเป็นกรดด่างสูงที่สุด เท่ากับ 7.58±0.02 และสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมสดที่สกัดด้วยวิธีต้มในน้ำเดือด มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำสุด คือ 6.53±0.02

4. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากตัวอย่าง 6 กลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดเห็ดหอมแห้งด้วยวิธีการเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 544.58±6.69 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดแห้ง และสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดเห็ดหอมสดด้วยวิธีการเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดต่ำที่สุดเท่ากับ 190.34±9.93 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดแห้ง ยกเว้นการสกัดเห็ดหอมสดด้วยวิธีการต้มในน้ำเดือดและการสกัดเห็ดหอมแห้งด้วยวิธีเขย่าในน้ำอุณหภูมิ 50 °C พบว่าให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอม

ตัวอย่าง	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดแห้ง)		
	อุณหภูมิห้อง	50 °C	ต้มเดือด
เห็ดหอมสด	190.34±9.93^{e}	297.80±11.06^{d}	377.08±13.73^{c}
เห็ดหอมแห้ง	544.58±6.69^{a}	386.48±9.61^{c}	478.56±8.06^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ตัวอักษร a – e แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ โดยวิธีของ Tukey) เมื่อเปรียบเทียบในแถวเดียวกัน

5. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนทั้งหมด

ปริมาณโปรตีนจากตัวอย่าง 6 กลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมสดที่สกัดด้วยวิธีเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิ 50 °C มีปริมาณโปรตีนมากที่สุด เท่ากับ 13.48±0.12 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดแห้ง และสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมแห้งที่สกัดด้วยวิธีการต้มในน้ำเดือดมีปริมาณโปรตีนน้อยที่สุด เท่ากับ 5.13±0.07 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณโปรตีนของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอม

ตัวอย่าง	ปริมาณโปรตีนในสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดแห้ง)		
	อุณหภูมิห้อง	50 °C	ต้มเดือด
เห็ดหอมสด	6.96±0.06^{b}	13.48±0.12^{f}	8.60±0.19^{d}
เห็ดหอมแห้ง	7.71±0.16^{c}	10.20±0.17^{e}	5.13±0.07^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ตัวอักษร a – f แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ โดยวิธีของ Tukey) เมื่อเปรียบเทียบในแถวเดียวกัน

6. การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม

สารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดเห็ดหอมสดด้วยวิธีการเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิ 50 °C มีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด เท่ากับ 3.61±0.75 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดแห้ง แตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนเห็ดหอมแห้งที่สกัดในสภาวะอุณหภูมิที่แตกต่างกันทั้ง 3 สภาวะ มีปริมาณฟีนอลิกรวมไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบผลของรูปแบบเห็ดที่นำมาสกัดต่อปริมาณฟีนอลิกรวมพบว่า ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากเห็ดหอมสดและเห็ดหอมแห้ง มีค่าไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอม

ตัวอย่าง	ปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์ (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดแห้ง)		
	อุณหภูมิห้อง	50 °C	ต้มเดือด
เห็ดหอมสด	2.26±0.21^{Aa}	3.61±0.75^{Ab}	1.37±0.16^{Aa}
เห็ดหอมแห้ง	2.09±0.09^{Aa}	2.51±0.53^{Aa}	1.71±0.57^{Aa}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ตัวอักษร A ในแนวสดมภ์แสดงถึงความแตกต่างกันในแต่ละรูปแบบของเห็ดหอมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ โดยวิธีของ Tukey)

ตัวอักษร a, b ในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันในแต่ละอุณหภูมิสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ โดยวิธีของ Tukey)

7. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

สารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดเห็ดหอมสดด้วยวิธีการเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิ 50 ℃ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 71.28±10.92 แตกต่างจากตัวอย่างในกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดเห็ดหอมแห้งด้วยการต้มในน้ำเดือด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 18.72±2.82 สารสกัดหยาบจากเห็ดหอมแห้งที่สกัดในอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 50 °C มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากสภาวะต้มเดือด เมื่อเปรียบเทียบผลของรูปแบบเห็ดต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าเห็ดหอมสดและเห็ดหอมแห้งที่สกัดในแต่ละอุณหภูมิมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4

8. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

สารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดเห็ดหอมสดด้วยวิธีการเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิ 50 ℃ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เท่ากับ 21.49±4.19 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัดแห้ง แตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดเห็ดหอมสดด้วยวิธีต้มในน้ำเดือด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด เท่ากับ 9.10±2.96 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัดแห้ง สารสกัดจากเห็ดหอมแห้งที่สกัดในสภาวะอุณหภูมิที่แตกต่างกันทั้ง 3 สภาวะ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบผลของรูปแบบเห็ดที่ใช้สกัดพบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเห็ดหอมสดและเห็ดหอมแห้งในสภาวะอุณหภูมิห้องไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมของการ ทดสอบด้วยวิธี ABTS และ FRAP

ตัวอย่าง	อุณหภูมิ	ทดสอบด้วยวิธี ABTS (%Inhibition)	ทดสอบด้วยวิธี FRAP (mg TEAC/g extract)
เห็ดหอมสด	อุณหภูมิห้อง	26.12 ± 8.06^{CD}	12.75 ± 2.82^{bc}
	50 °C	71.28 ± 10.92^{A}	21.49 ± 4.19^{a}
	ต้มเดือด	19.70 ± 4.53^{D}	9.10 ± 2.96^{c}
เห็ดหอมแห้ง	อุณหภูมิห้อง	45.44 ± 5.17^{BC}	12.78 ± 2.65^{bc}
	50 °C	51.13 ± 14.94^{AB}	15.99 ± 5.01^{bc}
	ต้มเดือด	18.72 ± 2.82^{D}	14.14 ± 3.59^{bc}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ตัวอักษร A – D และตัวอักษร a,b ในแนวสดมภ์เดียวกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ โดยวิธีของ Tukey) เมื่อเปรียบเทียบในแถวเดียวกัน

9. การวิเคราะห์หาปริมาณเบต้ากลูแคน

สารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากเห็ดหอมแห้งด้วยวิธีการต้มในน้ำเดือดให้ปริมาณเบต้ากลูแคนมากที่สุด เท่ากับ 50.00±1.59 กรัมต่อ 100 กรัมสารสกัด แตกต่างจากตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากเห็ดหอมสดด้วยวิธีเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณเบต้ากลูแคนน้อยที่สุด เท่ากับ 6.71±0.38 กรัมต่อ 100 กรัมสารสกัดแห้ง เมื่อพิจารณาผลของรูปแบบของเห็ดต่อปริมาณเบต้ากลูแคน พบว่าสารสกัดหยาบจากเห็ดหอมแห้งให้ปริมาณเบต้ากลูแคนสูงกว่าสารสกัดจากเห็ดหอมสดทุกกลุ่มอุณหภูมิ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอม

ตัวอย่าง	ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (กรัมต่อ 100 กรัมสารสกัดแห้ง)		
	อุณหภูมิห้อง	50 °C	ต้มเดือด
เห็ดหอมสด	6.71 ± 0.38^{Bc}	9.92 ± 0.79^{Bb}	24.67 ± 1.54^{Ba}
เห็ดหอมแห้ง	35.32 ± 1.92^{Ab}	34.69 ± 0.28^{Ab}	50.00 ± 1.59^{Aa}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ตัวอักษร A,B ในแนวสดมภ์แสดงถึงความแตกต่างกันในแต่ละรูปแบบของเห็ดหอมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ โดยวิธีของ Tukey)

ตัวอักษร a, b, c ในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันในแต่ละอุณหภูมิสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ โดยวิธีของ Tukey)

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

สารสกัดหยาบของพอลิแซ็กคาไรด์มีสีแตกต่างกันไปตามอุณหภูมิที่ใช้สกัด เนื่องจากปฏิกิริยา Enzymatic Browning Reaction จากสารประกอบฟีนอลิกซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ในสภาวะที่ถูกเร่งด้วยเอนไซม์ Polyphenoloxidase เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเอนไซม์จะเสื่อมสภาพลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นการสกัดเห็ดหอมสภาวะที่ต้มเดือด จะทำให้เอนไซม์ถูกทำลายได้มากที่สุด (Li et al.,2019) จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้น้อยและได้สารสกัดที่มีสีอ่อนที่สุด ส่วนเห็ดหอมสดที่สกัดในสภาวะ 50 °C และอุณหภูมิห้อง เอนไซม์ยังมีความสามารถในการทำงานอยู่มาก ทำให้ได้สารสกัดหยาบเป็นสีน้ำตาลเข้มไปจนถึงดำ

การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมในการศึกษานี้ มีการใช้ความร้อนในขั้นตอนอบเห็ดหอมสดให้แห้งและบดด้วยเครื่องบดอาหาร ส่งผลให้ผนังเซลล์แตก เมื่อนำมาสกัดวิธีการเขย่าและต้มในน้ำ ทำให้พอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบในเซลล์ผ่านจากผนังเซลล์ที่ถูกทำลายและละลายในน้ำ ซึ่งเป็นตัวทำละลายสกัด (Rao et al., 2021; Xu et al., 2013) ดังนั้นวิธีการสกัดที่ใช้ความร้อนทั้งกระบวนการอบเห็ดหอมและการสกัดในน้ำร้อนจะทำให้มีปริมาณผลผลิต ปริมาณน้ำตาลและปริมาณเบต้ากลูแคนสูงกว่าวิธีการสกัดด้วยวิธีเขย่าในน้ำอุณหภูมิ 50 °C และเขย่าในน้ำที่อุณหภูมิห้อง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gong et al. (2020) และ Leong et al. (2021) ซึ่งพบว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณสารสกัด อุณหภูมิสูงและระยะเวลาในการสกัดที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด

การสกัดด้วยน้ำนอกจากจะได้พอลิแซ็กคาไรด์แล้ว ยังทำให้ได้สารอื่นที่สามารถละลายน้ำได้ร่วมด้วย ได้แก่ ไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) และสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีนและ

พอลิแซ็กคาไรด์ (Protein-polysaccharide Complex) (Bisen et al., 2010; Muñoz-Castiblanco et al., 2022; Wasser, 2004)

จากผลการศึกษาพบว่ารูปแบบของเห็ดที่นำมาสกัดไม่ส่งผลต่อปริมาณฟีนอลิกรวม แต่เมื่อสกัดเห็ดด้วยความร้อนปริมาณฟีนอลิกจะมีค่าลดลง สอดคล้องกับการศึกษาวิจัยของ Thetsrimuang et al. (2011) ซึ่งเกิดจากอุณหภูมิที่สูงจะทำลายสารประกอบฟีนอลิกจำพวก Simple Phenol หรือ Phenolic Acid ในเห็ดหอม นอกจากนี้พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหอมมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS และ FRAP พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีความสัมพันธ์เชิงบวกระดับปานกลางกับปริมาณฟีนอลิกรวม แสดงให้เห็นว่าในสารสกัดหยาบมีสารประกอบอื่นที่อาจจะส่งผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ใช้เห็ดหอมส่วนดอกสมบูรณ์เป็นตัวอย่างในการสกัด นอกเหนือจากส่วนดอกแล้ว ยังมีส่วนของเส้นใยเห็ดและเศษเห็ดหอมที่เหลือจากการตัดจำหน่ายที่เป็นตัวอย่างที่น่าสนใจในการนำมาศึกษาเพื่อสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ได้ และเมื่อพิจารณาจากคุณสมบัติของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ พบว่ามีลักษณะทางเคมีกายภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพที่เหมาะสม จึงสมควรแก่การนำไปต่อยอดเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบในการตั้งตำรับเครื่องสำอาง และพัฒนาสูตรตำรับเครื่องสำอางจากสารสกัดเห็ดหอมที่เพาะเลี้ยงในประเทศไทยต่อไป

รายการอ้างอิง

ชาญยุทธ์ ภาณุทัต. (2561). *สถานการณ์เห็ดของประเทศไทย.* สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. https://www3.rdi.ku.ac.th/wp-contents/uploads/2018/02/สถานการณ์การผลิตเห็ด.pdf

ดำเกิง ป้องพาล. (2547). *การผลิตเห็ด Mushroom production*. สำนักหอสมุดมหาวิทยาลัยแม่โจ้. http://mdc.library.mju.ac.th/ebook/335131.pdf

บุษกร ภู่แส. (2558). *เห็ดหอม ขยับสู่สกินแคร์* (หน้า 9) . กรุงเทพธุรกิจ.

ผาณิต พระดาเวชช. (2557). *ประโยชน์มหัศจรรย์: เห็ด.* อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.

พรพิมล มูลแก้ว. (2561). *การสกัดสารเบต้ากลูแคนจากเห็ดนางฟ้าภูฐานด้วยคลื่นไมโครเวฟ.* (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

มหาวิทยาลัยแม่โจ้. (ม.ป.ป.). *เห็ดหอม.* ฐานการเรียนรู้การผลิตเห็ดเศรษฐกิจ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. https://sm.mju.ac.th/Search_Detail.aspx?CODE=0002

มหาวิทยาลัยแม่โจ้. (ม.ป.ป.). *การเพาะเห็ดหอม.* ฐานการเรียนรู้การผลิตเห็ดเศรษฐกิจ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. https://sm.mju.ac.th/1.News/เห็ดหอม.pdf

ศูนย์วิจัยธนาคารกสิกรไทย. (2557). *ธุรกิจฟาร์มเพาะเห็ด*. ธนาคารกสิกรไทย. http://www.ksmestartup.com/fileUploadCorentDownload/1209303275115.pdf

Abd Razak, D. L., Jamaluddin, A., Abd Rashid, N. Y., Sani, N. A., & Abdul Manan, M. (2020). Assessment of cosmeceutical potentials of selected mushroom fruitbody extracts through evaluation of antioxidant, anti-hyaluronidase and anti-tyrosinase activity. *J-Multidisciplinary Scientific Journal*, *3*(3), 329-342.

Bisen, P. S., Baghel, R. K., Sanodiya, B. S., Thakur, G. S., & Prasad, G. B. K. S. (2010). *Lentinus edodes*: a macrofungus with pharmacological activities. *Current medicinal chemistry*, *17*(22), 2419-2430.

Bisen, P. S., Baghel, R. K., Sanodiya, B. S., Thakur, G. S., & Prasad, G. B. K. S. (2010). *Lentinus edodes*: a macrofungus with pharmacological activities. *Current Medicinal Chemistry*, *17*(22), 2419-2430.

Finimundy, T. C., Dillon, A. J. P., Henriques, J. A. P., & Ely, M. R. (2014). A review on general nutritional compounds and pharmacological properties of the *Lentinula edodes* mushroom. *Food and Nutrition Sciences*, 5(12), 1095-1105.

Finimundy, T. C., Gambato, G., Fontana, R., Camassola, M., Salvador, M., Moura, S., . . . Roesch-Ely, M. (2013). Aqueous extracts of Lentinula edodes and Pleurotus sajor-caju exhibit high antioxidant capability and promising in vitro antitumor activity. *Nutrition Research*, *33*(1), 76-84.

Gaitán-Hernández, R., Aquino-Bolaños, E. N., Herrera, M., & Salmones, D. (2020). Yield, and phenolic content of shiitake mushrooms cultivated on alternative substrates. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 32(3), 188-197. http://doi.org/10.9755/ejfa.2020.v32.i3.2076

Gong, P., Wang, S., Liu, M., Chen, F., Yang, W., Chang, X., . . . Chen, X. (2020). Extraction methods, chemical characterizations and biological activities of mushroom polysaccharides: A mini-review. *Carbohydrate Research, 494*(2020), 108037. http://doi.org/10.1016/j.carres.2020.108037

Huang, X., Ai, C., Yao, H., Zhao, C., Xiang, C., Hong, T., & Xiao, J. (2022). Guideline for the extraction, isolation, purification, and structural characterization of polysaccharides from natural resources. *eFood*, *3*(6), e37.

Lee, Y. T., & Kim, Y. S. (2005). Water-solubility of β -Glucan in various edible mushrooms. *Journal of Food Science & Nutrition, 10,* 294-297.

Leong, Y. K., Yang, F. C., & Chang, J. S. (2020). Extraction of polysaccharides from edible mushrooms: emerging technologies and recent advances. *Carbohydrate Polymers, 251*, 117006. http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020. 117006

Li, Y., Ding, S., & Yang, J. (2019). Extraction of polyphenol oxidase in shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*) and its enzymatic characteristics. *Journal of Research in Agriculture and Animal Science*, *6*, 30-34.

Muñoz-Castiblanco, T., Mejía-Giraldo, J. C., & Puertas-Mejía, M. Á. (2022). *Lentinula edodes*, a novel source of polysaccharides with antioxidant power. *Antioxidants*, *11*(9), 1770.

Mushroom market size, share & COVID-19 impact analysis, by type (button, shiitake, oyster, and others), by form (fresh, frozen, dried, and canned), and regional forecast 2021-2028. (2022). Fortune business insights. http://www. fortunebusinessinsights.com/industry-reports/mushroom-market-100197

Rao, Z., Dong, Y., Zheng, X., Tang, K., & Liu, J. (2021). Extraction, purification, bioactivities and prospect of lentinan: A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *37*, 102163.

Satpathy, L., Dash, D., Sahoo, P., Anwar, T. N., & Parida, S. P. (2020). Quantitation of total protein content in some common edible food sources by lowry protein assay. *Letters in Applied Nanobioscience, 9*(3), 1275 – 1283. http://doi.org/10.33263/LIANBS93.12751283

Taofiq, O., González-Paramás, A. M., Martins, A., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Mushrooms extracts and compounds in cosmetics, cosmeceuticals and nutricosmetics-a review. *Industrial Crops and Products*, *90*, 38-48. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.06.012

Taofiq, O., Heleno, S. A., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Barros, L., Barreiro, M. F., . . . Ferreira, I. C. (2016). Development of mushroom-based cosmeceutical formulations with anti-inflammatory, anti-tyrosinase, antioxidant, and antibacterial properties. *Molecules*, *21*(10), 1372.

Thetsrimuang, C., Khammuang, S., & Sarnthima, R. (2011). Antioxidant activity of crude polysaccharides from edible fresh and dry mushroom fruiting bodies of Lentinus sp. strain RJ-2. *International Journal of Pharmacology*, *7*(1), 58-65.

Tridge. (2023). *Shiitake mushroom.* http://www.tridge.com/ntelligences/shiitake-mushroom/TH

Wasser, S. P. (2004). Shiitake (*Lentinus edodes*). In Coates P. M., Paul M. C., Blackman M., & Blackman M. R. (Eds.), *Encyclopedia of dietary Supplements.* (vol. 1, pp. 653-664). CRC press.

Wu, Y., Choi, M. H., Li, J., Yang, H., & Shin, H. J. (2016). Mushroom cosmetics: The present and future. *Cosmetics*, *3*(3), 22.

Zou, Y., Jiang, A., & Tian, M. (2015). Extraction optimization of antioxidant polysaccharides from Auricularia auricula fruiting bodies. *Food Science and Technology*, *35*(3), 428-433.