

การเตรียมโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจากเห็ดนางฟ้าภูฐาน

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

อลิศรา สมานประธาน

อีเมล: 6451701299@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ

อีเมล: phanuphong@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเตรียมโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยวิธีการทางเอนไซม์จากเห็ดนางฟ้าภูฐาน โดยเริ่มจากการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์จากเห็ดนางฟ้าภูฐานด้วยน้ำร้อนพบว่าได้ผลผลิต คือ ร้อยละ 5.76±0.15 โดยน้ำหนัก และเมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเบต้ากลูแคน ผลที่ได้อยู่ที่ร้อยละ 17.19±2.8 โดยน้ำหนัก และเมื่อนำสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่ได้ มาทำการย่อยด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส โดยใช้ปริมาณความเข้มข้นของยูนิตได้แก่ 10, 20 และ 30 ยูนิต ตามลำดับ โดยจะได้สารสกัดมาเป็น โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรท จากผลที่ได้นั้นพบว่า ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการสกัด ไม่มีผลต่อผลผลิตของโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรท ซึ่งผลที่ได้จะอยู่ในช่วงร้อยละ 16.67±2.8, ร้อยละ 18.67±1.15, ร้อยละ 66.83±4.6 และร้อยละ 68.33±3.30 โดยน้ำหนักตามลำดับ และหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์แล้ว ได้นำไปวิเคราะห์ โดยพบว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัด มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และผลทางโครมาโตกราฟีพบว่าสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสมีขนาดของโมเลกุลที่ใหญ่ ในขณะที่โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรทจะมีขนาดของโมเลกุลที่เล็กกว่า นอกจากนี้พบว่า ผลการวัดค่าความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดที่ได้มีค่าที่ลดลงประมาณ 2 เท่าหลังจากถูกย่อยด้วยเอนไซม์ โดยอย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาสำรองประกอบอื่น และฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นที่สำคัญเพิ่มเติม เพื่อแนวทางในการใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางต่อไป

คำสำคัญ: โพลีแซ็กคาไรด์, วิธีการทางเอนไซม์, โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเสท, โครมาโตกราฟีผิวบาง, สารต้านอนุมูลอิสระ

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 FRAP assay 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, Polysaccharide hydrolysates, Thin-layer chromatography, Antioxidant

บทนำ

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 พบว่าประเทศ

ไทยมีการเพาะเลี้ยงเห็ดเศรษฐกิจถึง 13 ชนิด ได้แก่ เห็ดนางฟ้าภูฐาน เห็ดนางรมฮังการี เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดหูหนู เห็ดกระด้าง เห็ดขอนขาว เห็ดหอม เห็ดโคนญี่ปุ่น เห็ดมิลค์กี้ เห็ดครง เห็ดหลินจือ และเห็ดถั่งเช่า (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ [สวทช.], 2564) นอกจากนี้ยังพบว่าเห็ดนางฟ้าภูฐานมีโพลีแซ็กคาไรด์ที่สำคัญ คือ เบต้ากลูแคน โดยปริมาณเบต้ากลูแคนที่พบในเห็ดนางฟ้าภูฐานมีปริมาณมากถึง 0.53 g/100 g on dry basis สูงสุดเมื่อเทียบกับ เห็ดนางรม เห็ดนางรมหลวง และเห็ดหอม (Manzi et al., 2000) โดยสารในกลุ่มโพลีแซ็กคาไรด์ถูกนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมทางเครื่องสำอาง ซึ่งมีส่วนประกอบสำคัญที่นำไปทำประโยชน์ได้แก่ เพื่อให้ความชุ่มชื้น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ลดริ้วรอย เป็นต้น (Wu et al., 2016)

เห็ดนางฟ้าภูฐานมีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) singer หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เห็ดแขก มีลักษณะดอกเป็นสีขาวนวลจนถึงสีน้ำตาลอ่อน ก้านดอกจะยึดติดกับตรงกลางหรือด้านข้างของหมวกดอกเป็นเนื้อเดียวกันดังภาพที่ 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 และจากงานวิจัยของ Gutierrez et al. (1996) ที่ได้ทำการศึกษาในเห็ดสกุล *Pleurotus* ส่วนของโพลีแซ็กคาไรด์ และส่วนที่ละลายน้ำได้ พบว่ามีส่วนที่เป็นโพลีแซ็กคาไรด์เป็นหลัก คิดเป็นร้อยละ 85 ของทั้งหมด และส่วนที่ละลายน้ำอื่น ๆ คิดเป็น 15% (Gutierrez et al., 1996)



ภาพที่ 1 ลักษณะของเห็ดนางฟ้าภูฐาน

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจการสกัดสารโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเสทในเห็ดนางฟ้าภูฐาน เพื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างเห็ดนางฟ้าภูฐานในรูปแบบผงแห้ง

เตรียมเห็ดนางฟ้าภูฐาน นำไปล้างด้วยน้ำให้สะอาด จากนั้นนำไปผึ่งให้แห้งและนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และนำไปบดให้ละเอียด

2. การสกัดสารโพลีแซ็กคาไรด์

การสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ด้วยน้ำร้อน โดยการนำผงเห็ดนางฟ้าภูฐานผสมกับน้ำปราศจากไอออน ในอัตราส่วน 1:100 (Sangthong et al., 2022) จากนั้นนำไปเขย่าในเครื่องเขย่าสารควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และนำส่วนของเหลวไปตกตะกอนด้วยเอทานอลที่มีอุณหภูมิเย็น จากนั้นนำส่วนตะกอนที่ได้ไปทำให้เป็นผงแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง

3. การเตรียมสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยวิธีการทางเอนไซม์

การเตรียมสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยวิธีการทางเอนไซม์ โดยนำเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส มาย่อยสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์โดยแบ่งเป็นความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ต่างกัน เป็น 10, 20 และ 30 ยูนิต ด้วยอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในโซเดียมอะซิเตดบัฟเฟอร์ที่ pH 5.0 ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จากนั้นหยุดการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส ด้วยการนำไปแช่ในน้ำร้อนด้วยอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส จากนั้นนำส่วนของเหลวที่เหลือไปตกตะกอนด้วยเอทานอลที่มีอุณหภูมิเย็น แล้วนำส่วนของเหลวและส่วนตะกอน ไปทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง

4. การวิเคราะห์คุณสมบัติของสารที่สกัดโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส

1) การวิเคราะห์หาปริมาณเบต้ากลูแคนด้วยชุดทดสอบวิเคราะห์

นำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบหาปริมาณเบต้ากลูแคน โดยใช้ชุดตรวจเฉพาะในการตรวจหาเบต้ากลูแคน

2) การวิเคราะห์หาน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (3,5-Dinitrosalicylic acid)

โดยนำ 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 และทำเช่นเดียวกันกับสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส

3) การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดด้วยวิธี Phenol- Sulfuric Acid

โดยเตรียมสารละลายฟีนอลร้อยละ 5 และกลูโคส 1 มิลลิกรัมในน้ำปราศจากไอออน 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้ทำการฟลูโคสมมาตรฐาน โดยผสมสารละลายกลูโคส สารละลายฟีนอลร้อยละ 5 และกรดซัลฟิวริก 2.5 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน จากนั้นนำไปแช่ที่อ่างน้ำร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 จากนั้นนำไปหยดปฏิกิริยาในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าความดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร และทำเช่นเดียวกันกับสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้โดยใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสม

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 ไซโลส ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ ไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ แอลฟา-กลูแคน และอินูลิน โดยการนำสารสกัดที่ได้จำนวน 5 มิลลิกรัมมาละลายในน้ำปราศจากไอออน ปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วนำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในโหลแก้ว และเตรียมสารช่วยมองเห็น (Visualizing agent) โดยนำ 1-เนปทอล จำนวน 1 กรัมละลายในเอทานอลปริมาตร 90 มิลลิลิตรแล้วนำไปผสมกับร้อยละ 50 ของกรดซัลฟิวริก ปริมาตร 6 มิลลิลิตร จากนั้นทำการจุดสารละลายมาตรฐานและสารสกัดลงบนแผ่นโครมาโตกราฟีผิวบาง แล้วนำไปแช่ไว้ในโหลแก้วที่เตรียมไว้ ทิ้งไว้จนสารละลายเคลื่อนที่ถึงจุดด้านบนระยะทางประมาณ 8 เซนติเมตร นำแผ่นโครมาโตกราฟีผิวบางออกมาแล้วนำไปจุ่มในสารช่วยมองเห็น (Visualizing agent) ที่เตรียมไว้ และนำไปให้ความร้อนประมาณ 5 นาที สังเกตสีที่เกิดขึ้น วัดระยะจากจุดเริ่มต้นถึงกึ่งกลางของจุดที่เห็นสี บันทึกแล้วนำไปเปรียบเทียบ

5) วัดความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

การวัดความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระ ทำโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ 0.5 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งโทรลอกซ์ปริมาณ 0.0013 กรัม ในเอทานอลโดยทำการปรับปริมาณให้ได้ 10 มิลลิลิตร และเตรียมสารละลาย อะซิเตดบัฟเฟอร์ 300 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 3.6 โดยนำกรดอะซิติกแอซิด 4.5 มิลลิลิตรและโซเดียมอะซิเตด 6.15 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตรที่ pH 3.6 และเตรียมกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมลาร์ โดยละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.3147 มิลลิลิตร ในน้ำปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร และเตรียมสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ TPTZ โดยชั่ง TPTZ 0.1562 กรัม ละลายในกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมลาร์ ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

และเตรียมสารละลายเฟอริกคอร์ไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งเฟอริกคอร์ไรด์ 0.1622 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออนปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเตรียมสารละลาย FRAP โดยนำ 10 มิลลิโมลาร์ TPTZ เฟอริกคอร์ไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ และอะซิเตดบัฟเฟอร์ 300 มิลลิโมลาร์ที่ pH 3.6 มาผสมกันในอัตราส่วน 1:1:10 และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสก่อนนำมาทำปฏิกิริยาเตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้ไทรอลอกซ์ 0.5 มิลลิโมลาร์ ผสมกับสารละลาย FRAB และอะซิเตดบัฟเฟอร์ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน และทำเช่นเดียวกันกับสารสกัดโดยใช้ตามความเข้มข้นที่เหมาะสม

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์หาค่าความแตกต่างด้วย one way ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชัน 21

ผลวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างเห็ดนางฟ้าภูฐาน

การเตรียมเห็ดนางฟ้าภูฐานทำโดยนำเห็ดนางฟ้าภูฐานสดมาล้าง โดยเห็ดนางฟ้าภูฐานก่อนนำไปอบมีลักษณะชื้นและขนาดใหญ่และมีน้ำหนักอยู่ที่ 1668 กรัม หลังจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักที่ได้คงที่ โดยหลังจากอบแล้วเห็ดนางฟ้าภูฐานจะมีลักษณะเล็กลงแห้งกรอบ และมีลักษณะสีที่เข้มขึ้น โดยมีปริมาณน้ำหนักของเห็ดนางฟ้าภูฐานหลังอบอยู่ที่ 205.16 กรัม คิดเป็นปริมาณของแห้งที่ได้เป็นร้อยละ 12.29 ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 น้ำหนักก่อนอบ น้ำหนักหลังอบ และร้อยละน้ำหนักแห้งของเห็ดนางฟ้าภูฐาน

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

2. การสกัดโพลีแซ็กคาไรด์

การสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ให้ปริมาณที่ร้อยละ 5.76 ±0.15 โดยน้ำหนัก และลักษณะของสารสกัดที่ได้จะมีลักษณะเป็นผงแห้งสีน้ำตาลเข้ม ดังภาพที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบจากการศึกษาของ ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ และคณะ (2558) พบว่า การสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ด้วยการเขย่าในน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมงพบว่าเห็ดนางฟ้าภูฐานให้ผลผลิตอยู่ที่ ร้อยละ 9.07 ซึ่งมากกว่าที่ผู้ศึกษาสกัดได้ จะเห็นได้ว่าเนื่องจากระยะเวลาที่มากขึ้นจะช่วยทำลายพันธะและทำให้มีปริมาณโพลีแซ็กคา

ไรต์ที่สกัดได้เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นหากมีการศึกษาเพิ่มเติมอาจทำการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ด้วยระยะเวลาที่มากขึ้นกว่าการศึกษาครั้งนี้



ภาพที่ 2 สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์

3. การเตรียมโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยวิธีการทางเอนไซม์

จากการทดลองสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจากสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์เห็ดนางฟ้าภูฐานด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส ในความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ได้แก่ 10, 20, และ 30 ยูนิต ตามลำดับ ผลปรากฏว่าการสกัดเอนไซม์ไม่มีผลต่อผลผลิต โดยโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่มีผลมากที่สุด คือ โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรทที่เอนไซม์ 20 ยูนิต มีค่าอยู่ที่ ร้อยละ 68.33 ± 3.3 โดยน้ำหนักและในส่วนผลน้อยที่สุด คือ โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่เอนไซม์ 10 ยูนิต มีค่าอยู่ที่ ร้อยละ 16.67 ± 2.8 ดังตารางที่ 2 โดยเอนไซม์เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนสที่ใช้ในการสกัดนี้เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะกับเบต้ากลูแคน และเมื่อศึกษาจาก Lee, Jung-Nam et al. (2014) พบว่า ในการสกัดเพื่อให้ได้เบต้ากลูแคนบริสุทธิ์ ทำโดยเริ่มทำการสกัดด้วยเบสก่อน จากนั้นนำไปแยกโปรตีนส่วนเกินออกด้วยโครมาโตกราฟีประจุลบ และต้องนำไปกำจัดเมเนนด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบแอฟฟินิตี เพื่อให้ได้เบต้ากลูแคนบริสุทธิ์ และในสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีนี้ร้อน อาจมีสารอื่น ๆ นอกเหนือจากเบต้ากลูแคนด้วย ทำให้เมื่อทำการสกัดด้วยเอนไซม์แล้วนั้น สารที่ได้จึงมีหลากหลายชนิด หากทำการศึกษาต่อไปควรที่จะนำสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่ได้ไปทำสกัดสกัดให้ได้เบต้ากลูแคนที่บริสุทธิ์ก่อนที่จะนำมาสกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์ เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีที่สุด

ตารางที่ 2 ปริมาณสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่ได้จากสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ในปริมาณเอนไซม์ต่าง 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

โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเฟิลเตรท	10	66.83±4.6 ^a
	20	68.33±3.3 ^a

ตารางที่ 2 (ต่อ) ปริมาณสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเฟิลเตรทที่ได้จากสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ในปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ

สารสกัด	ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ร้อยละผลได้ (โดยน้ำหนัก)
โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเฟิลเตรท	30	68.16±2.7 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันเปรียบเทียบกับสารสกัดเดียวกันในแนวสดมภ์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$)

4. การวิเคราะห์คุณสมบัติต่าง ๆ ของโพลีแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเฟิลเตรท

1) การวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคนจากโพลีแซ็กคาไรด์

ปริมาณกลูแคนทั้งหมดพบว่ามีปริมาณร้อยละ 17.74±2.3 และในส่วนของปริมาณแอลฟากลูแคนพบว่ามีปริมาณร้อยละ 0.55±0.4 และเมื่อนำมาคำนวณหักลบกันก็จะได้เป็นปริมาณเบต้ากลูแคน โดยปริมาณเบต้ากลูแคนที่ได้จากสารสกัดหยาบโพลีแซ็กคาไรด์พบว่ามีปริมาณอยู่ที่ 17.19±2.8 และเมื่อเปรียบเทียบกับยีสต์มาตรฐานพบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนของยีสต์มาตรฐานเท่ากับร้อยละ 47.61±1.5 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกันแล้วทำให้ทราบว่าเบต้ากลูแคนในยีสต์มีปริมาณที่มากกว่าในเห็ด เมื่อเปรียบเทียบการศึกษาของ Kupradit et al. (2023) พบว่าปริมาณเบต้ากลูแคนของเห็ดนางฟ้า ฐานที่สกัดด้วยต่างให้ปริมาณเบต้ากลูแคนอยู่ที่ร้อยละ 23.08±0.56 ซึ่งมีปริมาณเบต้ากลูแคนมากกว่าการสกัดด้วยความร้อน จะเห็นได้ว่าหากต้องการให้มีปริมาณเบต้ากลูแคนที่สกัดได้มากขึ้นอาจจะต้องเลือกวิธีในการสกัดที่เหมาะสมต่อไป

2) การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (3,5-Dinitrosalicylic Acid)

พบว่าสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่ทำการสกัดด้วยน้ำร้อน มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดคือ 28.66±0.9 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และในการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเฟิลเตรทด้วยเอนไซม์เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส พบว่าส่วนของโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเฟิลเตรทที่ใส่เอนไซม์ 10 ยูนิต มีค่าน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด คือ 25.79±0.3 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเฟิลเตรทที่ใส่เอนไซม์ 30 ยูนิต พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุด คือ 2.82±0.09 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดโดยการศึกษาของ Nguyen (2021) ที่ศึกษาการสกัดเห็ดนางฟ้าฐานด้วยเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าเมื่อมีการเปลี่ยน pH อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดก็จะพบว่ามีค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้นด้วย โดยที่การสกัดอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดอยู่ที่ 17.78

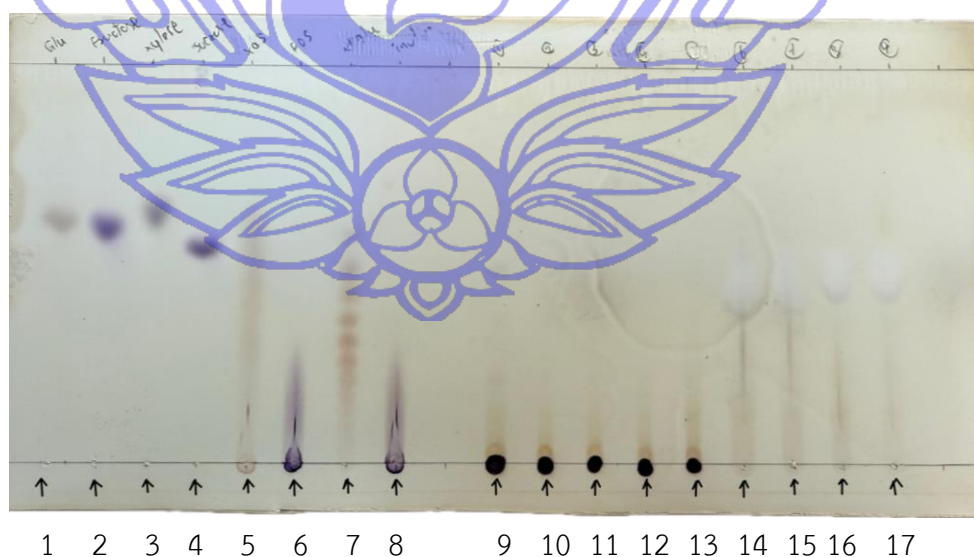
มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด ดังนั้นหากมีการศึกษาเพิ่มเติมอาจทำการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส ด้วยระยะเวลา pH และอุณหภูมิที่มากขึ้นหรือนำเอนไซม์ชนิดอื่นเข้ามาช่วยในการสกัดที่หลากหลายกว่าการศึกษารั้งนี้ว่าการศึกษารั้งนี้

3) การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total Carbohydrate Content)

พบว่าสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีสกัดด้วยน้ำร้อน มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเยอะที่สุดอยู่ที่ 340.17 ± 2.55 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด จากการศึกษาของ Rattanachan et al. (2020) สรรวจสารสกัดดิบจากเห็ดนางฟ้าภูฐานโดยใช้วิธีสกัดด้วยน้ำร้อน 70 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมงพบว่าได้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตอยู่ที่ 146.4 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดซึ่งไปในแนวทางเดียวกัน และ ในส่วนของโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส ที่สกัดด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส พบว่าโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่ใส่เอนไซม์ 30 ยูนิตมีค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดสูงที่สุด คือ 298.13 ± 2.55 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรทที่ใส่เอนไซม์ 20 ยูนิตพบปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดน้อยที่สุด คือ 3.84 ± 0.07 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด

4) การวิเคราะห์องค์ประกอบสารสกัดด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีผิวบาง (Thin-layer Chromatography)

พบว่าสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่สกัดด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส มีลักษณะการเคลื่อนที่ขึ้นได้น้อยเนื่องจากมีขนาดของโมเลกุลที่ใหญ่ โดยจะพบว่า โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสจะมีขนาดของโมเลกุลที่ใหญ่กว่า ในขณะที่โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิเตรทจะมีขนาดของโมเลกุลที่เล็กกว่า ซึ่งเป็นไปตามผลวิเคราะห์วัดปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่มีปริมาณค่าที่มาก อาจอนุมานได้ว่าสารสกัดที่ได้มีขนาดของโมเลกุลที่ใหญ่จากการที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่มากดังภาพที่ 3



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= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรทที่ไม่ใส่เอนไซม์, 15= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรทที่เอนไซม์ 10 ยูนิต, 16= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรทที่เอนไซม์ 20 ยูนิต, 17= สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรทที่เอนไซม์ 30 ยูนิต

ภาพที่ 3 การเคลื่อนที่ของสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส

5) การวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

พบว่าสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ 11.51 ± 0.15 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด โดยจากการศึกษาของ Chirinang and Intarapichet (2009) ได้ทำสกัดสารจากเห็ดนางฟ้าภูฐานอบแห้งพบว่า มีค่าความสามารถต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 104.5 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด แต่เนื่องจากการศึกษานี้ใช้วิธีสกัดเย็น แต่ผู้ศึกษาใช้วิธีสกัดด้วยน้ำร้อน โดยเมื่อมีการใช้น้ำอุณหภูมิที่สูงนั้นอาจทำลายสารบางชนิดจึงให้ค่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระลดลงได้ และในส่วนของโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่สกัดด้วยเอนไซม์เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส พบว่าค่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่มากที่สุด คือโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่ใส่เอนไซม์ 30 ยูนิต มีค่า 5.63 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และน้อยที่สุดคือ โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรทที่เอนไซม์ 30 ยูนิตมีค่า 0.94 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด โดยพบว่าค่าที่ได้ไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยการศึกษาของ Nguyen (2021) ที่ศึกษาการสกัดเห็ดนางฟ้าภูฐานด้วยเอนไซม์เซลลูเลสมีค่าการต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 165.50 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด ด้วยอุณหภูมิ ระยะเวลา และ pH ที่เหมาะสมทำให้ได้ค่าการต้านอนุมูลอิสระที่สูง ดังนั้นหากมีการศึกษาเพิ่มเติมอาจทำการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส ด้วยระยะเวลา pH และอุณหภูมิที่มากขึ้นหรือนำเอนไซม์ชนิดอื่นเข้ามาช่วยในการสกัดที่หลากหลายกว่าการศึกษาครั้งนี้

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์จากเห็ดนางฟ้าภูฐานด้วยน้ำร้อน พบว่ามีผลผลิตสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์อยู่ที่ร้อยละ 5.76 ± 0.15 โดยน้ำหนัก และเมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยปริมาณเบต้ากลูแคนด้วยชุดทดสอบวิเคราะห์ พบว่าสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์มีปริมาณเบต้ากลูแคนเท่ากับ ร้อยละ 17.19 ± 2.8 โดยน้ำหนัก จากนั้นจึงนำสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่ได้ไปทำการสกัดด้วยวิธีทางเอนไซม์โดยใช้เอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส ในปริมาณเอนไซม์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ 10 ยูนิต, 20 ยูนิต และ 30 ยูนิต ตามลำดับ โดยจะได้สารสกัดแบ่งเป็นโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรท พบว่าปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้ในการสกัดนั้นไม่มีผลต่อผลผลิตที่ได้ของโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรท โดยโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรทที่ใส่เอนไซม์ 20 ยูนิตมีปริมาณมากที่สุด อยู่ที่ร้อยละ 68.33 ± 3.3 โดยน้ำหนัก และหลังจากทำการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสเรียบร้อยแล้ว ทางผู้ศึกษาได้นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์คุณสมบัติต่าง ๆ ดังนี้ วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าในส่วนของสารสกัดสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ คือ 29.66 ± 0.9 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสใส่เอนไซม์ 10 ยูนิต มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มากที่สุด คือ 25.79 ± 0.3 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และน้อยที่สุด ได้แก่ โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรทที่ใส่เอนไซม์ 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 โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรทที่ใส่เอนไซม์ 20 ยูนิต คือ 23.84 ± 0.07 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด โดยพบว่าทั้งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากนั้นนำสารสกัดไปวิเคราะห์หองค์ประกอบสารสกัดด้วยโครมาโตกราฟีพบว่า สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลส มีลักษณะของโมเลกุลที่ใหญ่ในขณะที่โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสฟิลเตรทจะมีขนาดของโมเลกุลที่เล็กกว่า และสุดท้ายนำสารสกัดทั้งหมดไปทำการทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยพบว่าในส่วนของสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่มากที่สุด คือ 11.51 ± 0.15 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด และ โพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลสที่ใส่เอนไซม์ 30 ยูนิตมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่มากที่สุด คือ 5.63 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด โดยพบว่าสารสกัดที่ได้มีค่าที่ลดลงประมาณ 2 เท่าเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส

จากการทดลองคุณสมบัติต่าง ๆ ของสารสกัดเห็ดนางฟ้าภูฐานพบว่าสารสกัดที่ดีที่สุด คือ โพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน ทั้งในส่วนผลน้ำตาลรีดิวซ์ คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด และความสามารถ

ในการต้านอนุมูลอิสระ มีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเสท และเมื่อเทียบกับการศึกษาของ Nguyen (2021) ที่ศึกษาการสกัดเห็ดนางฟ้าภูฐานด้วยเอนไซม์เซลลูเลส พบว่ามีค่าน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ที่ 17.78 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด แต่มีค่าการต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 165.50 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด โดยพบว่า การสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสนั้นให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระที่สูงมากเมื่อเทียบกับเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส และเมื่ออ่านผลจากแผ่นโครมาโตกราฟีแผ่นบางทำให้เห็นคุณลักษณะของสารสกัดทำให้ทราบว่าการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเสทด้วยเอนไซม์ เอนโด 1,3 เบต้า-ดี-กลูคาเนส สามารถสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเสทออกมาได้ปริมาณที่น้อยมาก อาจเนื่องจากปริมาณเบต้ากลูแคนของเห็ดนางฟ้าภูฐานที่ได้มานั้นมีปริมาณที่น้อยมากหรือได้เบต้ากลูแคนที่ไม่บริสุทธิ์ ทำให้เมื่อทำการสกัดด้วยเอนไซม์แล้วนั้นอาจจะไม่มีสารโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเสทที่เพียงพอในการออกฤทธิ์ต่าง ๆ

ในการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเสทอาจต้องเตรียมโพลีแซ็กคาไรด์ในปริมาณที่มากขึ้น และควรเตรียมเบต้ากลูแคนให้มีความบริสุทธิ์ เพื่อนำมาเตรียมสกัดด้วยวิธีการทางเอนไซม์ ในเงื่อนไขที่หลากหลายมากขึ้นอาจจะเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ หรือเพิ่มระยะเวลาในการสกัด อาจจะต้องมีการวัดระดับการย่อยของเอนไซม์ หรือเพิ่มเอนไซม์ชนิดอื่นเข้ามาช่วยในกระบวนการเพื่อให้ได้ปริมาณโพลีแซ็กคาไรด์ไฮโดรไลเสทที่มีมากเพียงพอ และควรจะนำผลที่ได้ไปทำการวัดความเป็นฟรีไบโอติกของสารสกัดเพิ่มเติมด้วย แต่ถ้าศึกษาจากผลงานวิจัยนี้พบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบกับฤทธิ์ที่จะนำไปใช้ในทางเครื่องสำอางเบื้องต้นพบว่า ในส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำการทดสอบมานั้น ยังคงพบว่าในส่วนของโพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน ยังคงมีความสามารถที่มากกว่า โดยจากผลของการทดสอบนี้จึงสามารถนำไปใช้เพื่อพัฒนาทางด้านเครื่องสำอางได้ต่อไป

รายการอ้างอิง

ประกานต์ ฤติกุลธำรง และจารุณี ควรพิบูลย์. (2555). ฟรีไบโอติก อาหารส่งเสริมสุขภาพ.

ธรรมชาติศาสตร์เวชสาร, 12(2), 362-369.

ผกากรอง วนไพศาล. (2563). สุขภาพผิวดีกับไมโครไบโอม.

<https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/527> /สุขภาพผิวดีกับไมโคร
สุขภาพ/

ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ, ปัญญวัฒน์ ปินตาทอง และนิสสาร แซ่วัน. (2558). ฤทธิ์ทางชีวภาพของพอลิ

แซ็กคาร์ไรด์ละลายน้ำจากเห็ดหูหนู เห็ดหูหนูขาว เห็ดฟาง และเห็ดนางฟ้า สำหรับ

ประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

- สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.). (2564). *การรวบรวมข้อมูลการผลิตและการตลาดเห็ดเศรษฐกิจและเห็ดป่ากินได้ในประเทศไทย*
<https://waa.inter.nstda.or.th/stks/pub/2021/20210817-economic-mushroom-market.pdf>
- อานนท์ เอื้อตระกูล. (2527). เห็ดนางฟ้าภูฐาน. *เคหการเกษตร*, 3(103), 17-20.
- 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.
- 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.
- 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, Jung-Nam., Lee, Do-Youn., Ji, In-Hye., Kim, Gi-Eun., Kim, Hye-Nam., Shon, Jeongwon., Kim, Sangduk., & Kim, Chan-Wha. (2014). Purification of soluble beta-glucan with immune enhancing activity from the cell wall of yeast. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65:4, 837-841.
- 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.
- 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.

Wu, Y., Choi, M., Li, J., Yang, H., & Shinn, H. (2016). *Mushroom cosmetics: The present and future. Polysaccharide*. Switzerland: Springer International Publishing.

