ทดสอบสายพันธุ์เห็ดตีนแรดที่ผลิตสารโพลีแซคคารายด์ที่เป็นประโยชน์

Screening of *Macrocybe Crassa* Strains Lhich Produce Useful Polysaccharide

อัจฉรา พยัพพานนท์[1/] *จิรเวท เจตน์จันทร์*[2/]

บทคัดย่อ

เห็ดที่รับประทานได้มักมีคุณค่าทางโภชนาการ สามารถเป็นอาหาร อาหารเสริม และมีสรรพคุณทางยาที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์ เห็ดตีนแรดเป็นเห็ดพื้นเมืองที่กำลังส่งเสริมให้เป็นเห็ดเศรษฐกิจ และเป็นที่ต้องการของตลาดมากขึ้น จึงได้ศึกษาชนิดของน้ำตาลในดอกเห็ด โดยการสกัดโพลีแซคคารายด์จากดอกเห็ดตีนแรด ซึ่งเพาะจากเชื้อพันธุ์เห็ดตีนแรดกรมวิชาการเกษตร สายพันธุ์ DOA-1, DOA-3, DOA-4, DOA-5, DOA-7, DOA-8 และ DOA-10 สกัดด้วยน้ำร้อนผสมเอทิลแอลกอฮอล์ ที่อุณหภูมิ 95 ^{o}ซ และจำแนกชนิดของน้ำตาล ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ดำเนินการที่กรมวิชาการเกษตรและภาควิชาอุตสาหกรรมคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร ระยะเวลา ตุลาคม 2550 - กันยายน 2552

ผลการสกัดและจำแนกโพลีแซคคารายด์ของดอกเห็ดตีนแรด 7 สายพันธุ์ จากดอกเห็ดสด ได้น้ำตาลหลักเป็นทรีฮาโรส ในปริมาณ 64 - 350 มิลลิกรัม/10 กรัมเห็ดสด แมนโนส 165 - 370 มิลลิกรัม/10 กรัมเห็ดสด และจากดอกเห็ดแห้ง ได้น้ำตาลทรีฮาโรส 64 - 158 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง กลูโคส 4 - 35 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง ไซโลส 5 - 22.4 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง จากสายพันธุ์ DOA-3, DOA-5, DOA-7 และกาแลคโตส 8.50 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง จากสายพันธุ์ DOA-10

1/ กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

2/ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คำนำ

การใช้ประโยชน์เห็ดไม่ว่าจะเป็นเห็ดป่าพื้นบ้านหรือเห็ดปลูกในต่างประเทศแล้วนอกจากเพื่อการบริโภคแล้ว ยังใช้เห็ด เป็นอาหารเสริม สมุนไพร และยา โดยเฉพาะประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนได้มีมานานกว่า 100 ปีแล้ว ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยพัฒนาการใช้ประโยชน์เห็ดเพิ่มขึ้นอย่างกว้างขวาง เช่นมีงานวิจัยในประเทศเกาหลีที่สกัดสารจากเห็ดป่า *Polyozellus multiplex* เพื่อใช้ในการเป็นเคมีบำบัดต่อต้านมะเร็งในกระเพาะอาหาร (Lee and Nishikawa, 2003) มีการวิจัยใช้ประโยชน์สารสกัดของ เห็ดปลูกจาก เห็ดหอม เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) เพื่อเป็นสารยับยั้งกลุ่มแบคทีเรียก่อโรค (Hearst and *et al*, 2009)

ได้มีการจดสิทธิบัตรการผลิตโพลีเซคคารายด์ซึ่งสกัดจากเห็ดหูหนูขาว (*Tremella fruciformis*) ด้วยการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ที่มีคุณสมบัติลดรอยด่างดำบนผิวหนังและให้ความชุ่มชื้นบนผิวหน้า (http;//WWW.freshpatent.com/Edible-tremella-polysaccharide –for-skin-care-dt…2/12/2552)

ในประเทศไทยมีการศึกษาวิเคราะห์สารสกัดจากเห็ด อาทิ ไพรินทร์และ ปกขวัญ (2544) ได้สกัดและศึกษาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากสายพันธุ์เห็ดบางชนิดในป่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และมีการวิเคราะห์ โพลีเซคคารายด์ของเห็ดเอกโตไมคอไรซาร์ ในป่าภาคเหนือ (Sanmee. e*t al* . 2003)

จากที่ได้สำรวจรวบรวมศึกษาเห็ดตีนแรด(*Macrocybe crassa* (Berk.) sacc.) จำนวนไม่น้อยกว่า10สายพันธุ์ ระหว่าง ปีพ.ศ. 2549-2550 พบว่าต่างมีความแตกต่างกัน (อัจฉราและนันทินี, 2551) เห็นว่านอกจากใช้บริโภคเป็นอาหารแล้ว มีแนวโน้มสามารถนำสู่การใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆได้มูลค่าที่สูงกว่าเช่น อัจฉรา (2549) ได้รายงานว่าดอกเห็ดตีนแรดมีสารซีลีเนียม (Selenium - Se) อยู่ระหว่าง 35 -180 ไมโครกรัมต่อดอกเห็ดหนึ่งกิโลกรัม ซึ่ง ซีลีเนียม สามารถป้องกันและลดความเสี่ ยงการเกิดมะเร็งโดยเฉพาะมะเร็งต่อมลูกหมาก และจากการวิเคราะห์ดอกเห็ดตีนแรดพบว่ามีน้ำตาลรวมเฉลี่ยประมาณ 2-5 กรัม ต่อ น้ำหนักดอกเห็ดสด 100 กรัม (อัจฉราและนันทินี,2551) ได้มีการสกัดโพลีเซคคารายด์แล้วทำการแยก น้ำตาลทรีฮาโรส(Trehalose) ออกจากเห็ด *Pleurotus eringii* ,*P. cystidiosus* และ *P.sajor-caju* และนำไปสู่การจดสิทธิบัติโดยกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ไทเป ประเทศไต้หวัน ซึ่งทรีฮาโรสเป็นน้ำตาลใช้ประโยชน์ ในอุตสาหกรรมเก็บรักษาอาหารช่วยให้พืชผักผลไม้ คงความสดได้ยาวนาน

ดังนั้นแล้ว วัตถุประสงค์ในการศึกษาโพลีเซคคารายด์ และชนิดน้ำตาล ที่มีอยู่ในดอกเห็ดตีนแรดในครั้งนี้ เพื่อ ใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร อุตสาหกรรม เภสัชกรรม และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เป็นช่องทางการเพิ่มมูลค่าเห็ด เพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร และขยายให้เป็นประโยชน์กับองค์การต่าง ๆ

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์

1 อาหารเลี้ยงเชื้อเห็ด พีดีเอ พีดีบี น้ำตาลกลูโคส(Glucose) กาแลกโตส(Galectose) ไซโลส(Xylose) อะราบิโนส (Arabinose) เซลโลไบโอส(Cellobiose) มอลโตส(Maltose) ทรีฮาโลส(Trehalose) ฟลุคโตส (Fructose) และแมนโนส (Mannose) บิวทานอล(Butanol) ไอโซโพรพานอล(Isopropanol) เอทธานอล(Ethanol)

2 อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ: เครื่อง High performance liquid chromatography ของบริษัทShimadzu (Class LC10) ประเทศญี่ปุ่น เครื่องเขย่า เครื่องเหวี่ยงความเร็วสูง แทงค์แก้ว แผ่นTLC (Kieselgel 60 (Merck)) ไมโครไปเปต อ่างน้ำร้อนตั้งอุณหภูมิได้

3 วัสดุสำหรับใช้ในการเพาะเห็ดตีนแรดได้แก่ ฟางข้าว ขี้เลื่อย มูลสัตว์ ดิน ถุงพลาสติกทนร้อน ตะกร้าพลาสติก

4 หม้อนึ่งอัดความดัน หม้อนึ่งไม่อัดความดัน โรงเรือนเปิดดอก

วิธีการ

1. เตรียมเส้นใยเห็ดตีนแรด สกัดโพลีเซคคารายด์

1.1 ขยายเส้นใยเห็ดตีนแรดจำนวน 5 สายพันธุ์ บนพีดีเอ เมื่อเส้นใยเจริญเต็มจานแก้ว ย้ายเส้นใยลงเลี้ยงในอาหารเหลวที่บรรจุในขวดแก้ว วางบนเครื่องเขย่าความเร็ว120รอบต่อนาที

1.2 กรองเอาเส้นใยไว้พร้อมล้างทิ้งอาหารที่ปนอยู่กับเส้นใยออกด้วยน้ำกลั่น

2.เตรียมดอกเห็ดตีนแรด

เพาะเห็ดตีนแรด 7 สายพันธุ์ในฟางข้าวหมักด้วยระบบถุง (อัจฉราและนันทินี 2551) ทำให้เกิดดอก โดยวิธีการเปลือยถุงใส่ตะกร้าคลุมผิวหน้าก้อนเชื้อด้วยดินที่นึ่งด้วยหม้อนึ่งชนิดไม่อัดความดัน ไว้ในห้องเปิดดอก เมื่อเกิดดอกนำดอกเห็ดหั่นเป็นชิ้นบาง อบให้แห้งด้วยความร้อนในตู้อบอุณหภูมิ 50^{O}ซ

เก็บตัวอย่างไว้วิเคราะห์ โพลีแซคคาไรด์ วางแผนการทดลองแบบ CRD 7 กรรมวิธี (ตีนแรด 7สายพันธุ์)

3.สกัดโพลีเซคคารายด์

3.1 บดเส้นใยเห็ดตีนแรดด้วยโกร่งบด ย้ายลงหลอดทดลอง เติมสารละลายน้ำผสมกับแอลกอฮอล์ นำไปต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 60^{o}ซ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง....

3.2 นำหลอดทดลองที่บรรจุส่วนผสมผ่านการต้มแล้ว เข้าเครื่องเหวี่ยง เหวี่ยงแยกน้ำสกัดออกมานำไปเข้าเครื่องระเหยน้ำออกเก็บตัวอย่างไว้ วิเคราะห์โพลีเซคคารายด์

3.3 นำดอกเห็ดตีนแรดสด10 กรัม สับย่อยเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่โกร่งบดเมื่อบดจนละเอียดแล้ว เติมน้ำกลั่นผสมแอลกอฮอล์ 30 มิลลิลิตร (น้ำกลั่นผสมแอลกอฮอล์ สัดส่วน 40:10) ถ่ายลงหลอดพลาสติกทนร้อน (ขนาด 50 มล) นำไปแช่ในอ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 95 ^{0}ซ บ่มไว้ 4 ชั่วโมง แล้ว เข้าเครื่องเหวี่ยง(centrifuge) ความเร็ว 1400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้ว แยกส่วนใส โดยดูดส่วนใส ลงหลอดเก็บ ตัวอย่างไว้ใช้วิเคราะห์ โพลีแซคคาไรด์

3.4 นำดอกเห็ดตีนแรด 2-5 กรัม ที่ผ่านการอบแห้งด้วยความร้อนอุณหภูมิ 50 ^{0}ซ สับย่อยเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่โกร่งบด เมื่อบดจนละเอียดแล้ว เติมน้ำกลั่นผสมแอลกอฮอล์ 30 มิลลิลิตร ผสมแอลกอฮอล์ ถ่ายลงหลอดพลาสติกทนร้อน(ขนาด 50 มล) นำไปแช่ในอ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 95 ^{0}ซ บ่มไว้ 4 ชั่วโมง แล้ว เข้าเครื่องเหวี่ยง (centrifuge) ความเร็ว1400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้ว แยก ส่วนใส โดยดูดส่วนใส ลงหลอดเก็บตัวอย่างไว้วิเคราะห์ โพลีแซคคาไรด์

3.วิเคราะห์หาน้ำตาล(โพลีเซคคารายด์)ของสารสกัด จากทั้งเส้นใยและดอกเห็ด

วิเคราะห์น้ำตาล ที่สกัดจากดอกเห็ด โดย TLC ด้วย การ ดัดแปลงจากวิธีการ ของ Akiyama et al (1996) ร่วมกับการทำให้เกิดสีกับตัวอย่างโดยรมด้วยไอโอดีน

4.วิเคราะห์โพลีเซคคารายด์ของสารสกัดด้วยเครื่อง HPLC

นำตัวอย่างของเหลว(สารละลายสกัดจากเห็ด)กรองผ่านเซลลูโลสอะซิเตตเมมเบรนขนาดรู(pore size) 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นบรรจุสารตัวอย่างลงในขวด (vial) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปฉีดวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่องHPLC ซึ่งมีสภาวะต่างๆดังนี้

เครื่อง: High performance liquid chromatography ของบริษัทShimadzu (Class LC10) ประเทศญี่ปุ่น

คอลัมน์: Aminex HPX-87C column (Bio-Rad)

Detector:Refractive index (RI) detector

Mobile phase: น้ำดีไอออน

Injection volume: 20 ไมโครลิตร

สภาวะที่ใช้: อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

อัตราการไหล: 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที

วิธีการวิเคราะห์: การคำนวณค่าแบบexternal standard โดยมีน้ำตาลกลูโคส(Glucose) กาแลกโตส(Galectose) ไซโลส(Xylose) อะราบิโนส (Arabinose) มอลโตส(Maltose) ทรีฮาโลส(Trehalose) และแมนโนส (Mannose) เป็นมาตรฐานในการอ้างอิง

การคำนวณ:

$$\text{ความเข้มข้นของน้ำตาล (แต่ละชนิดในตัวอย่าง มีหน่วยเป็น mg /L)} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลแต่ละชนิด}}{\text{ค่าความชัน(M)ของน้ำตาลแต่ละชนิดในcalibration curve}}$$

ตารางที่ 1 แสดงค่าประมาณ Retention time ของน้ำตาลแต่ละชนิด

ชนิดของน้ำตาล	ค่าประมาณ Retention time (นาที)
ทรีฮาโรส	10.36
มอลโตส	10.81
กลูโกส	12.37
ไซโลส	13.42
กาแลกโตส	14.44
อะลาบิโนส	15.78
แมนโนส	16.44

4. การบันทึกข้อมูล

บันทึก ชนิดและปริมาณ โพลีแซคคาไรด์ ของเห็ดตีนแรดแต่ละสายพันธุ์

ระยะเวลา (เริ่มต้น - สิ้นสุด)

ดำเนินการทดลองเริ่มตั้งแต่ ตุลาคม 2550 - กันยายน 2552

สถานที่ดำเนินการ

สถานที่ดำเนินการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

คณะอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการทดลอง และวิจารณ์

1.วิเคราะห์โพลีเซคคารายด์ของสารสกัด จากทั้งของเส้นใย และของดอกเห็ด

ผลการวิเคราะห์น้ำตาล ที่สกัดจากดอกเห็ด โดย TLC ด้วย การดัดแปลงจากวิธีการ ของ Akiyama *et al* (1996) ร่วมกับการทำให้เกิดสีกับตัวอย่างโดยรมด้วยไอโอดีน พบสายพันธุ์ ที่ สารสกัดจากดอกเห็ด เกิด SPOT สีน้ำตาลบนTLC ได้เพิ่มเวลาสกัดด้วยน้ำร้อนที่100 องศาเซลเซียส เพิ่มเวลาสกัดเป็น 4 ชั่วโมง วิเคราะห์สารสกัด โดยTLC พบว่ามี สองสายพันธุ์ ที่สารสกัดจากดอกเห็ด เกิด SPOT บน TLC แต่แยกไม่ชัดเจนเมื่อเทียบกับน้ำตาลอ้างอิง Arabinose Cellobiose ซึ่งไม่สามารถอ่านผลได้ เนื่องจากสารสกัดเป็นส่วนผสมทั้งโปรตีนและอื่นๆที่นอกเหนือน้ำตาลในโพลีเซคคารายด์ ซึ่งไม่อาจจะเคลื่อนที่ไปกับตัวพาที่เป็นทั้งแอลกอฮอล์และน้ำ นอกจากนั้นได้สารประกอบจากเส้นใยเห็ดตีนแรดซึ่งสกัดด้วยน้ำร้อนที่ 100 องศาเซลเซียสทุกการทดลองนาน4 ชั่วโมง มีลักษณะเป็น เจลลาติน ซึ่ง ต่างกับที่สกัดจากเนื้อดอกเห็ด การวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี TLC ควรจะต้องสกัด ย่อย และแยกด้วยวิธีการจำเพาะ ให้ได้โพลีเซคคารายด์ที่บริสุทธิ์ (Ranganatan and Pushpa, 2002)

2.วิเคราะห์โพลีเซคคารายด์ของสารสกัดด้วยวิธี HPLC

จากการสกัด ดอกเห็ดตีนแรดสดและแห้ง 7 สายพันธุ์ ได้แก่เห็ดตีนแรด สายพันธุ์ DOA-1, DOA-3, DOA-4. DOA-5, DOA-7, DOA-8 และ DOA-10 ด้วยน้ำร้อน และน้ำร้อนผสมแอลกอฮอล์ แล้ววิเคราะห์ด้วยด้วยเครื่อง HPLC เปรียบเทียบกับน้ำตาลอ้างอิง 7 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์พบพีค (peak) ที่เกิดขึ้นมีไม่น้อยกว่า 5 ชนิด น้ำตาลทรีฮาโรส เป็นหลักทุกการทดลองมี แมนโนส กลูโกส กาเลคโตส และ ไซโลส (ตารางที่ 2,3) จากดอกเห็ดสดได้น้ำตาลทรีฮาโรส ในปริมาณ 64-350 มิลลิกรัม/10กรัมเห็ดสด แมนโนส 165-370 มิลลิกรัม/10กรัมเห็ดสด และจากดอกเห็ดแห้ง ได้น้ำตาลทีฮาโรส 64-158 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง กลูโกส 4-35 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง ไซโลส 5-22.4 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง จากสายพันธุ์DOA-3, DOA-5 ,DOA-7 และ กาแลคโตส 8.50 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง จากสายพันธุ์DOA-10 นอกจากนั้น พบพีกอื่นๆ หากมีน้ำตาลอ้างอิงเพิ่มขึ้นคาดว่าจะได้ชนิดน้ำตาลเพิ่มขึ้น

การใช้ปริมาณตัวอย่างเพื่อการสกัด ต้องเป็นสัดส่วนเหมาะกับปริมาตรน้ำที่จะสกัด เช่น เห็ดแห้ง 5 กรัม หากใช้น้ำ 30 มล. การสกัดจะได้สารละลายโพลีเซคคารายด์ปริมาตรน้อยมาก เมื่อแยกน้ำตาล ด้วย HPLC ได้น้ำตาลแมนโนส แต่ปริมาณต่ำ (ข้อมูลมิได้รายงาน) เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เห็ดสด10 กรัม หรือใช้เห็ดแห้งเพียง1-2 กรัม

วิธีการสกัด การแยกส่วน(Fractionation) การทำให้บริสุทธิ์ จะได้ชนิดน้ำตาลเพิ่มขึ้นเช่น
จากการทดสอบสายพันธุ์เห็ดตีนแรดที่ผลิตโพลีเซคคารายด์ที่เป็นประโยชน์เห็นได้ว่า
เช่น Hearst (2009) สกัด เห็ดหอม เห็ดสกุลนางรม ด้วยน้ำร้อน พบว่าได้ active compound ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย น้ำตาลมีคุณสมบัติการละลายต่างกัน น้ำตาลบางชนิดละลายน้ำ บางชนิดไม่ละลายน้ำ บางชนิดละลายในน้ำร้อน Lin, *et al* (2002) สกัดดอกเห็ดแห้ง *A. blazei* ด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

ตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ แยกโปรตีนออกด้ว ยเอนไซม์โพรเนส และแยก ชั้นส่วนของโพลีเซคคารายด์โดย ผ่านคอลัมน์ของDEAE –cellulose Sepharose และSephadex นำไปตรวจน้ำตาลด้วย HPLC พบ Rhamnose Xylose Galactose Mannose และ Glucose ปริมาณต่างกันตามการแยกให้บริสุทธิ์

ทั้งชนิดเห็ด อายุดอกเห็ด ส่วนที่เป็ นหมวกดอก ก้านดอก หรือจะเป็นเส้นใยเห็ดที่นำมาสกัดโพลี เซคคารายด์ จะมีชนิดน้ำตาลปริมาณน้ำตาลและสารแตกต่างกัน

เช่นCheung (1996) ศึกษาโพลีเซคคารายด์จากเส้นใยเห็ดหอม นางฟ้า ฟาง และเห็ดชิเมจิ (*Lycophyllum shimeji*) พบว่าน้ำตาลซึ่ง สกัดจากเส้นใยเห็ดชิเมจิ หนึ่ งในสามจะเป็นน้ำตาล กาแลคโตส และจากการ สกัดเส้นใยเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) ด้วยแอลกอฮอล์ ที่ Lakshmi และคณะ (1995) วิจัย ได้รายงาน ว่าพบสาร anti peroxidative จากการศึกษาสารสกัดเห็ด *Agaricus bisporus* ของ Wannet และคณะ (1998) พบ เอนไซม์ trehalose phosphorylase ที่สามารถสังเคราะห์(synthesis)และหรือย่อยสลาย(degradation) ทรีฮาโรส Wim และคณะ (2000) ศึกษาสารละลายโพลีเซคคารายด์ของเห็ด*Agaricus bisporus* ได้ทั้งน้ำตาล แมนนิทอล (Mannitol) และทรีฮาโรส

การสกัดโพลีเซคคารายด์จากเห็ดตีนแรดครั้งนี้ แยกได้น้ำตาลทรีฮาโรสเป็นหลักซึ่งเป็นน้ำตาลเชิงคู่ (ประกอบด้วยกลูโกส 2 ตัว) ต่างประเทศมักผลิตน้ำตาลทรีฮาโรสจาก แป้งมันสำปะหลัง นิยมใช้เป็นตัว ปกป้องเซลล์เนื้อเยื่อ มิให้ถูกทำลายจากการแช่แข็ง (anti-freezing agent) ในอุตสาหกรรม อาหาร ผลิตภัณฑ์ เครื่องสำอาง ยา เป็นต้น การผลิตน้ำตาลจากดอกเห็ดตีนแรด หรือเส้นใยเห็ด ไม่ว่าจะเป็นน้ำตาลทรีฮาโรส น้ำตาลชนิดอื่นๆ หรือน้ำตาลที่เกาะติดกับโปรตีน ที่จะเป็นประโยชน์กับสุขภาพ มีความเป็นไปได้สูง ดังนั้น แล้วจึงน่าจะเป็นโอกาสดีต่อการเพิ่มรายได้สู่ เกษตรกรในการเพาะเห็ดตีนแรด เมื่อตลาดขยายมากขึ้น

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณน้ำตาล(มิลลิกรัม/10กรัมดอกเห็ดสด) จากดอกเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆ (ค่าเฉลี่ย 2 ซ้ำ)

สายพันธุ์เห็ดตีนแรด	**mg / 10g ดอกเห็ดสด**	
	Trehalose	**Mannose**
DOA-1	**64.09**	**289.135**
DOA-3	**252.90**	**-**
DOA-4	**348.22**	**165.4**
DOA-5	**117.90**	**268.88**
DOA-7	**89.13**	**190.38**
DOA-8	**-**	**-**
DOA-10	**198.05**	**378.72**

ตารางที่3 ชนิดและปริมาณน้ำตาล(มิลลิกรัม/กรัมดอกเห็ดแห้ง) จากดอกเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆ(ค่าเฉลี่ย 2 ซ้ำ)

สายพันธุ์เห็ดตีนแรด	**mg / g ดอกเห็ดแห้ง**			
	Trehalose	**Glucose**	**Galactose**	**Xylose**
DOA-1	**66.46**	**34.64**	**-**	**15.35**
DOA-3	**97.53**	**4.62**	**-**	**-**

DOA-4	**158.40**	**6.85**	**-**	**22.4**
DOA-5	**99.36**	**5.70**	**-**	**4.25**
DOA-7	**63.90**	**27.48**	**-**	**5.01**
DOA-8	**107.53**	**3.76**	**-**	**-**
DOA-10	**102.63**	**4.47**	**8.50**	**-**

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาชนิดของน้ำตาลในดอกเห็ด โดยการสกัดโพลีเซ คคารายด์จากดอกเห็ดตีนแรด 7 สายพันธุ์ ด้วยน้ำร้อน และด้วยน้ำผสมเอทิลแอลกอฮอล์ ที่อุณหภูมิ 95 °ซ และจำแนกชนิดของน้ำตาลโดย การใช้ HPLC ได้น้ำตาลหลักเป็น ทรีฮาโรส แมนโนส และ กลูโกส มีไซโลสและกาแลคโตสบ้าง สมควรมีการวิจัยวิธีการสกัด รวมทั้งทำให้สารส กัดบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น เพื่อให้ได้ชนิดน้ำตาลที่เป็นประโยชน์มากยิ่งขึ้น ที่จะได้ใช้เป็นข้อมูล เพิ่ม การบริโภค และส่งเสริมการผลิตให้กับเกษตรกร ส่งไปใช้ประโยชน์ด้านเกษตรกรรม-อุตสาหกรรมเพิ่มมูลค่าเห็ดได้อีก.

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

โพลีเซคคารายด์ที่สกัดได้จากเส้นใยเห็ดตีนแรดและดอกเห็ดตีนแรดจำนวน7สายพันธุ์ด้วยน้ำร้อนเมื่อจำแนกได้น้ำตาลหลักเป็น ทรีฮาโรส มี กลูโคส แมนโนส ไซโลส และกาแลคโตส ซึ่งนิยมใช้ประโยชน์ด้านอุตสาหกรรม เภสัชกรรมในต่างประเทศ จึงเป็นช่องทางที่นักวิจัยจะได้เพิ่มการศึกษาโพลีเซคคารายด์จากเห็ดตีนแรดและเห็ดพื้นเมือง เพื่อเพิ่มมูลค่าเห็ดไทยให้มากยิ่งขึ้น.

เอกสารอ้างอิง

ไพรินทร์ กปิลานนท์ และ ปกขวัญ หุตางกูร. 2544. การสกัดผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากสายพันธุ์เห็ดบางชนิดในป่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยคณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนคร

อัจฉรา พยัพพานนท์ . 2549. ซีลีเนียม ในเห็ดป้องกัน มะเร็งต่อมลูกหมาก . ข่าวสารเพื่อเพาะผู้เห็ด. ปีที่ 11 ฉบับที่ 3 หน้า1-6.

อัจฉรา พยัพพานนท์ และ นันทินีศรีจุมปา . 2551. รวบรวมคัดเลือกพันธุ์เห็ดตีนแรดจากแหล่งต่างๆเพื่อเป็นพันธุ์ทางการค้า. หน้า 513-520 *ใน* การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 46 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วันที่ 29 มกราคม – 1 กุมภาพันธ์ 2551 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร.

Akiyama,T.,H.Kaku and N. Shibuya. 1996.Purification and partial characterization of an endo-(1-3,1-4)-B-glucanase from rice ,*Oryza sativa* L. Biosci.Biochem.,60(12):2078-2080.

Cheung,P.C.K. 1996. Dietary fiber content and composition of some cultivated edible mushroom fruiting bodies and mycelia. J.Agric. Food Chem., 44(2): 468-471.

Hearst, R., D. Nelson, G. McCollum, B. C. Miller,Y.Maeda, C.E. Goldsmmith, P.J. A.Loughrey, J.R.Rao and J.E.Moore. 2009.An examination of antibacterial and antifungal properties of constituents of shiitake (*Lentinula edodes*) and oyster (*P. ostreatus*) mushroom. Complementary therapies in clinical practice. 15(1):5-7.

Lee,IS and A.Nishikawa. 2003. Polyozellus multiplex , a Korean wild mushroom , as a potent chemopreventive agent against stomach cancer. Life Sci. 73(25):3225-34.

Lin ,Y., Z.Ye, Y.Huang and H. Xie. 2002.Fractionation and characterization of water soluble polysaccharides from culinary-medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murril (Agaricomycetidae).International Journal of Medicinal mushrooms.Vol.4:313-319.

Ranganatan ,T.V. and Pushpa, R. Kulkarni. 2002. A simple method for the analysis of trehalose using HPTLC. Food Chemistry ,Vol.77 (2):263-265.

Sanmee,R.,R.B.Dell,P.Lumyong,K.Izmori and S.Lumyong. 2003. Nutritive value of popular wild edible mushroom Northern Thailand. Food Chemistry , 82(4): 527-532.

Saosoong ,P. , S. Simma, W. Butlak and C. Pukahuta . 2003. Antioxidant activity of some Thai edible mushroom. p. 57. *In* Abstract Bio Thailand for life. 17-20 July 2003.

Wannet,WJ., CH.Opden,HW.Wisselink,DC.,Van,GL.,Van, and J.Vogels DD. 1998.Purification and characterization of trehalose phosphorylase from the commercial mushroom *Agaricus bisporus* Biochem Biophys Acta. 1452(1):177-88.

Wim J.B. Wannet, John H.M.Hermans, Chivas van der Drift and Huub J.M.Op den Camp .2000. HPLC detection of soluble carbohydrates involved in mannitol and trehalose metabolism in the edible mushroom *Agaricus bisporus* . J.Agric. Food Chem., Vol.48(2): 287-291.

.