คุณค่าทางอาหารและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือของประเทศไทย

นางสาวปาริชาติ บำรุง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

NUTRITIONAL VALUES AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WILD EDIBLE MUSHROOMS FROM NORTHERN THAILAND

Miss Parichart Bumroong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	คุณค่าทางอาหารและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือของประเทศไทย
โดย	นางสาวปาริชาติ บำรุง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร. ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ ดร. ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร. วิรัชนี โลหะชุมพล)

ปาริชาติ บำรุง : คุณค่าทางอาหารและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือของประเทศไทย (NUTRITIONAL VALUES AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WILD EDIBLE MUSHROOMS FROM NORTHERN THAILAND.)

อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อ. ดร. ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ผศ. ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์, 135 หน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณค่าทางอาหารและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน รวมถึงผลของกระบวนการแปรรูปเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือของประเทศไทย เห็ดป่าบริโภคได้ที่นำมาศึกษา มี 7 ชนิด ได้แก่ เห็ดหล่มขาว (*Russula delica* Fr.) เห็ดโคน (*Termitomyces sp.*) เห็ดไข่ห่านขาว (*Amanita princeps* Corner et Bas.) เห็ดไข่ห่านเหลือง (*Amanita calyptroderma* Ark. et Bal.) เห็ดแดง (*Russula lepida* Fr.) เห็ดห้า (*Phaeogyroporus braunii* [Bres.] Sing.) และเห็ดเผาะ (*Astreaus sp.*) การศึกษาองค์ประกอบเคมีของเห็ดป่าบริโภคได้พบว่า เห็ดป่าสดมีความชื้นสูงอยู่ ในช่วง 80.30-93.96 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด และประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ และเถ้า ในปริมาณ 49.50-59.74, 18.35-27.57, 1.47-5.85, 4.19-12.90 และ 4.03-10.74 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง เห็ดหล่มขาว มีปริมาณคาร์โบไฮเดรต (59.74 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) สูงที่สุด ส่วนเห็ดห้า มีปริมาณโปรตีน (27.57กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) สูงที่สุด เมื่อวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุหลักในเห็ด ได้แก่ เหล็ก แคลเซียม โพแทสเซียม และฟอสฟอรัส พบว่าเห็ดที่นำมาศึกษามีปริมาณแร่ธาตุโดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 3.43-15.35, 16.83-85.84, 577.32-3,169.50 และ 144.63-701.25 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดอยู่ในช่วง 6.14-20.63 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยเห็ดเผาะและเห็ดห้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด ผลการศึกษาชนิดและปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดป่าบริโภคได้พบกรดกลูทามิก (2.82-43.64 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และกรดแอสพาร์ติก (3.25-19.57 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) เป็นกรดอะมิโนที่มีมากที่สุดในเห็ด และกรดอะมิโนที่มีจำกัดในเห็ดคือ ซิสเทอีน เมไทโอนีน และไลซีน เห็ดป่าบริโภคได้ทุกชนิดมีค่า Amino Acid Score (AAS) ต่ำกว่า 100 ซึ่งคุณภาพโปรตีนของเห็ดเหล่านี้จัดเป็นอาหารที่มีโปรตีนไม่สมบูรณ์ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดรายงานในรูป EC_{50} ของวิธีวิเคราะห์ DPPH (2,2-diphenyl-l-picrylhydrazyl) radical scavenging activity และ reducing power ค่า EC_{50} ของเห็ดป่าบริโภคได้อยู่ในช่วง 5.00-50.00, 11.67-55.56 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่การวิเคราะห์ chelating effect on ferrous ions ของเห็ด 10 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง มีค่า chelating effect ร้อยละ 49.03-80.27 ส่วนค่า AEAC (ascorbic acid equivalent capacity) และค่า TE (trolox equivalent) ของเห็ดป่าบริโภคได้อยู่ในช่วง 19.38-77.40 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และ 6.52-42.23 ไมโครโมล trolox ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เห็ดป่าบริโภคได้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในด้านต่างๆ สูงกว่าเห็ดหอม (*Lentinus edodes*) ที่เพาะเพื่อการค้า ($p \leq 0.05$) และการอบแห้งเห็ดป่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง มีผลต่อองค์ประกอบเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดที่เลือกมาศึกษา กรดอะมิโนของเห็ดป่าอบแห้ง (เห็ดหล่มขาว เห็ดห้า และเห็ดเผาะ) มีปริมาณต่ำกว่าเห็ดสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เช่นเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (เห็ดหล่มขาวและเห็ดห้า)

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา 2553 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5172587423 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEYWORDS : WILD EDIBLE MUSHROOMS / AMINO ACID SCORE / ANTIOXIDANT ACTIVITY
PARICHART BUMROONG : NUTRITIONAL VALUES AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WILD EDIBLE MUSHROOMS FROM NORTHERN THAILAND.
ADVISOR : CHALEEDA BOROMPICHAICHARTKUL, Ph.D., CO-ADVISOR : ASST. PROF. KIATTISAK DUANGMAL, Ph.D., 135 pp.

This research was aimed to determine nutritional values and antioxidant activity of wild edible mushrooms from northern region of Thailand as well as effect of processing on their chemical compositions and antioxidant activity to extend the shelf life of wild mushroom. Seven wild edible mushrooms namely Hed Lom Kaw (*Russula delica* Fr.), Hed Kone (*Termitomyces sp.*), Hed Kai Han Kaw (*Amanita princeps* Corner et Bas.), Hed Kai Leung (*Amanita calyptroderma* Ark. et Bal.), Hed Daeng (*Russula lepida* Fr.), Hed Har (*Phaeogyroporus braunii* [Bres.] Sing.) and Hed Phor (*Astreaus sp.*) were used in the study. Fresh mushrooms had moisture content in the range of 80.30-93.96% fresh weight. Nutritional values of wild edible mushrooms in terms of carbohydrate, crude protein, crude fat, crude fiber and ash were in the range of 49.50-59.74, 18.35-27.57, 1.47-5.85, 4.19-12.90 and 4.03-10.74% dry weight, respectively. Hed Lom Kaw provides a highest amount of carbohydrate (59.74% dry weight) as well as Hed Har provides highest amount of protein (27.57% dry weight). Four major minerals in mushrooms such as Iron, calcium, potassium and phosphorus were in the range of 3.43-15.35, 16.83-85.84, 577.32-3,169.50 and 144.63-701.25 mg/100 g dry weight, respectively. Total phenolics content of the mushrooms were in the range of 6.14-20.63 mg GAE/g dry weight. Hed Phor and Hed Har had the highest content of total phenolics. The most abundance amino acid contents in all mushrooms were Glutamic acid (2.82-43.64 mg/g dry weight) and Aspatic acid (3.25-19.57 mg/g dry weight). Limiting amino acids in several mushrooms were Cysteine Methionine and Lysine. All mushrooms in this study had Amino Acid Score (AAS) lower than 100. Protein quality of wild edible mushrooms was incomplete protein. Antioxidant activity of methanol extractions from wild edible mushrooms was reported in term of EC_{50} values. The EC_{50} values of DPPH (2,2-diphenyl-l-picrylhydrazyl) radical scavenging activity and reducing power were range in 5.00-50.00 and 11.67-55.56 mg dry weight/ml, respectively. The chelating activity on ferrous ions of all mushrooms were range in 49.03-80.27 %. The AEAC (ascorbic acid equivalent capacity) and TE (trolox equivalent) values of wild edible mushrooms were range in 19.35-77.40 mg ascorbic acid/100 g dry weight and 6.52-42.23 μmol trolox/g dry weight. Wild edible mushroom had higher antioxidant activity than commercially shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) ($p \leq 0.05$). Drying mushrooms at 50°C for 8 h. had an impact on chemical compositions and antioxidative properties of selected mushrooms. Amino acid contents of dried mushrooms (Hed Lom Kaw, Hed Har and Hed Phor) lower than fresh mushrooms ($p \leq 0.05$) as well as total phenolics content and antioxidant activity (Hed Lom Kaw and Hed Har).

Department: Food Technology — Student's Signature : ……..……...
Field of Study: Food Technology — Advisor's Signature : ……..
Academic Year: 2010 — Co-advisor's Signature : ……..……..

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำชี้แนะและข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์ ตลอดจนมอบกำลังใจให้แก่ผู้วิจัยจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

กราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช และ ดร. วิรัชนี โลหะชุมพล ผู้ให้ความกรุณาสละเวลามาร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อีกทั้งมอบคำแนะนำอันเป็นประโยชน์และแนวทางปรับปรุงแก้ไขให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทความรู้ทั้งในด้านวิชาการ คุณธรรม และจริยธรรม ซึ่งเป็นรากฐานในการศึกษาค้นคว้างานวิจัยและการดำเนินชีวิต

ขอขอบคุณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการให้งบประมาณสนับสนุนโครงการวิทยาเพื่อพื้นถิ่นจังหวัดน่าน ซึ่งวิทยานิพนธ์เป็นส่วนหนึ่งของโครงการนี้

ขอบคุณเจ้าหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการทำวิจัย

ขอขอบคุณรุ่นพี่และเพื่อนนิสิตในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณปุณฑริกา วิไลพล คุณปัทมา ฤาชาฤทธิ์ คุณรพีพร ประสาท คุณทิฆัมพร พิมพ์แก้ว คุณวีรพล บวรวงศ์เสถียร และคุณสุภาภรณ์ คล้ายเครือญาติ ที่เป็นกำลังใจพร้อมทั้งคอยให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือตลอดมาจนกระทั่งงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วง

ท้ายที่สุดแล้วงานวิจัยฉบับนี้คงไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้หากผู้วิจัยไม่ได้รับการสนับสนุนจากบิดา มารดา พี่สาว และญาติมิตร ที่คอยให้ความช่วยเหลือตลอดจนมอบกำลังใจอันมีค่ายิ่งเสมอมา ผู้วิจัยมีความศรัทธาอย่างแรงกล้าในงานวิจัยนี้ว่าจะมีประโยชน์แก่ผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ต่อไป หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ผู้วิจัยขอน้อมรับข้อเสนอแนะและขออภัยมา ณ ที่นี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญภาพ..... ฎ

บทที่

1. บทนำ 1

2. วารสารปริทัศน์ 3

2.1 เห็ด..... 3

2.2 อนุมูลอิสระ..... 18

2.3 สารต้านออกซิเดชัน..... 21

2.4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ด..... 30

2.5 การยืดอายุการเก็บรักษาเห็ดโดยการอบแห้ง..... 34

3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย..... 36

3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการวิจัย..... 36

3.2 สารเคมี..... 36

3.3 อุปกรณ์..... 37

3.4 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย..... 38

3.4.1 ศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเห็ดป่าบริโภคได้..... 38

3.4.2 วิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของเห็ดป่าบริโภคได้..... 39

3.4.3 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของเห็ดป่าบริโภคได้..... 40

3.4.4 ประเมินคุณภาพโปรตีนจากเห็ดป่าบริโภคได้..... 42

3.4.5 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดป่าบริโภคได้..... 42

3.4.6 ศึกษาผลของการอบแห้งต่อองค์ประกอบเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ของเห็ดป่าบริโภคได้..... 44

บทที่	หน้า
4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	45
4.1 การศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเห็ดป่าบริโภคได้	45
4.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของเห็ดป่าบริโภคได้	48
4.3 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของเห็ดป่าบริโภคได้	54
4.4 การประเมินคุณภาพโปรตีนจากเห็ดป่าบริโภคได้	58
4.5 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้	60
4.6 ผลของการอบแห้งต่อองค์ประกอบเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้	67
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	72
5.1 สรุปผลการทดลอง	72
5.2 ข้อเสนอแนะ	73
รายการอ้างอิง	74
ภาคผนวก	81
ภาคผนวก ก	82
ภาคผนวก ข	103
ภาคผนวก ค	129
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	135

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ปริมาณกรดอะมิโนในเห็ด.....	16
3.1	อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ในระบบเกรเดียนต์ที่เวลาต่างๆ	41
4.1	ความสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธานของสกุลเห็ดที่นำมาวิจัย.....	47
4.2	ปริมาณความชื้น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เส้นใยหยาบ และเถ้า ของเห็ดป่าบริโภคได้.....	49
4.3	ปริมาณแร่ธาตุของเห็ดป่าบริโภคได้.....	51
4.4	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดป่าบริโภคได้.....	52
4.5	ปริมาณกรดอะมิโน 18 ชนิด ของเห็ดป่าบริโภคได้.....	55
4.6	กรดอะมิโนจำเป็นในโปรตีนจากเห็ดป่าบริโภคได้เปรียบเทียบกับโปรตีนจากถั่วเหลือง ข้าวเจ้า และไข่.....	57
4.7	ค่า Amino Acid Score ของกรดอะมิโนจำเป็นของเห็ดป่าบริโภคได้.....	59
4.8	ค่า EC_{50}, ค่า AEAC และค่า TE ของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน.....	65
4.9	ผลของการอบแห้งต่อปริมาณกรดอะมิโนของเห็ดหล่มขาว เห็ดห้า และเห็ดเผาะ.....	68
4.10	ผลของการอบแห้งต่อปริมาณสารปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดห้า และเห็ดหล่มขาว.....	70
ก.1	สภาวะของเครื่อง ICP emission spectrometer.....	88
ก.2	ปริมาณกรดอะมิโนอ้างอิง.....	96
ข.1	ปริมาณกรดอะมิโนของเห็ดสดและเห็ดอบแห้ง.....	103
ค.1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นของเห็ดป่าบริโภคได้.....	129
ค.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนของเห็ดป่าบริโภคได้.....	129
ค.3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเถ้าของเห็ดป่าบริโภคได้.....	129
ค.4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไขมันของเห็ดป่าบริโภคได้.....	129
ค.5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเส้นใยหยาบของเห็ดป่าบริโภคได้.....	130
ค.6	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเห็ดป่าบริโภคได้....	130
ค.7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดป่าบริโภคได้..	130

ตารางที่		หน้า
ค.8	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดของเห็ดป่าบริโภคได้	130
ค.9	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ด	132
ค.10	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า AEAC ของเห็ด	132
ค.11	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดของเห็ดป่าสดและเห็ดป่าอบแห้ง	132
ค.12	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดป่าสดและเห็ดป่าอบแห้ง	134

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	โครงสร้างของเห็ด.....	3
2.2	ลักษณะของหมวกของเห็ดแบบต่างๆ.....	7
2.3	ลักษณะของส่วนใต้หมวกเห็ด.....	8
2.4	ลักษณะการยึดติดของครีบ.....	9
2.5	ลักษณะของแอนูลัส.....	10
2.6	ลักษณะของสปอร์.....	12
2.7	โครงสร้างโมเลกุลสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์.....	22
2.8	การเกิด metal chelating ของ 5-hydroxy flavones และ flavanonones……..	25
2.9	โครงสร้างโมเลกุลและไอโซเมอร์ของโทโคฟีรอล.....	27
2.10	การกำจัดอนุมูลอิสระของโทโคฟีรอล.....	28
2.11	การกำจัดอนุมูลอิสระของอนุมูลโทโคฟีรอล.....	28
2.12	โครงสร้างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์.....	29
4.1	ค่า EC_{50} ของการวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity ในเห็ดชนิดต่างๆ.....	61
4.2	ค่า EC_{50} ของการวิเคราะห์ reducing power ในเห็ดชนิดต่างๆ.....	62
4.3	ค่า chelating effect (%)ของเห็ดชนิดต่างๆ	63
ก.1	กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก.....	89
ก.2	กราฟมาตรฐานของกรดกลูทามิก.....	93
ก.3	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA และปริมาณเห็ดไข่ห่านเหลือง	97
ก.4	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ดไข่ห่านเหลือง.....	99
ก.5	กราฟมาตรฐานของสารละลาย trolox.....	100
ก.6	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง chelating effect และปริมาณเห็ดไข่ห่านเหลือง.....	102
ข.1	กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %RSA เฉลี่ยและปริมาณเห็ด.....	104
ข.2	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ด.....	104
ข.3	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA และปริมาณเห็ดหล่มขาวอบแห้ง....	105

ภาพที่		หน้า
ข.4	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA และปริมาณเห็ดโคนอบแห้ง.....	105
ข.5	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA และปริมาณเห็ดไข่ห่านขาวอบแห้ง	106
ข.6	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA และปริมาณเห็ดไข่ห่านเหลืองอบแห้ง.....	106
ข.7	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA และปริมาณเห็ดแดงอบแห้ง.....	107
ข.8	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA และปริมาณเห็ดห้าอบแห้ง.....	107
ข.9	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA และปริมาณเห็ดเผาะอบแห้ง.....	108
ข.10	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA และปริมาณเห็ดหอมอบแห้ง.....	108
ข.11	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA และปริมาณเห็ดหล่มขาวสด.....	109
ข.12	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA และปริมาณเห็ดห้าสด.....	109
ข.13	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า %RSA เฉลี่ยและปริมาณกรดแกลลิกมาตรฐาน.....	110
ข.14	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ดหล่มขาวอบแห้ง.....	110
ข.15	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ดโคนอบแห้ง	111
ข.16	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ดไข่ห่านขาวอบแห้ง.....	111
ข.17	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ดไข่ห่านเหลืองอบแห้ง.....	112
ข.18	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ดแดงอบแห้ง	112
ข.19	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ดห้าอบแห้ง	113
ข.20	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ดเผาะอบแห้ง	113
ข.21	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ดหอมอบแห้ง	114
ข.22	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ดหล่มขาวสด	114
ข.23	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ดห้าสด.....	115
ข.24	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า chelating effect (%) และปริมาณเห็ดหล่มขาวอบแห้ง.....	115

ภาพที่ หน้า

ข.25 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า chelating effect (%) และปริมาณเห็ดโคนอบแห้ง..... 116
ข.26 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า chelating effect (%) และปริมาณเห็ดไข่ห่า.ขาวอบแห้ง..... 116
ข.27 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า chelating effect (%) และปริมาณเห็ดไข่ห่านเหลืองอบแห้ง..... 117
ข.28 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า chelating effect (%) และปริมาณเห็ดแดงอบแห้ง..... 117
ข.29 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า chelating effect (%) และปริมาณเห็ดห้าอบแห้ง..... 118
ข.30 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า chelating effect (%) และปริมาณเห็ดเผาะอบแห้ง..... 118
ข.31 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า chelating effect (%) และปริมาณเห็ดหอมอบแห้ง..... 119
ข.32 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า chelating effect (%) และปริมาณเห็ดหล่มขาวสด..... 119
ข.33 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า chelating effect (%) และปริมาณเห็ดห้าสด.... 120
ข.34 กราฟมาตรฐานของกรดแอสพาร์ติก..... 120
ข.35 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนซีรีน..... 121
ข.36 กราฟมาตรฐานของกรดกลูทามิก..... 121
ข.37 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนไกลซีน..... 122
ข.38 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนฮิสทิดีน..... 122
ข.39 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนอาร์จินีน..... 123
ข.40 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนทรีโอนีน..... 123
ข.41 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนแอลานีน..... 124
ข.42 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนโพรลีน..... 124
ข.43 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนซิสเทอีน..... 125
ข.44 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนไทโรซีน..... 125

ภาพที่		หน้า
ข.45	กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนแวลีน.....	126
ข.46	กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนเมไทโอนีน.....	126
ข.47	กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนไลซีน.....	127
ข.48	กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนไอโซลูซีน.....	127
ข.49	กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนลูซีน.....	128
ข.50	กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนฟีนิลแอลานีน.....	128
ข.51	กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างปริมาณฟีนอลิกและค่า chelating effect.....	128

บทที่ 1

บทนำ

เห็ดเป็นอาหารที่คนนิยมรับประทานเนื่องจาก มีกลิ่นรสเฉพาะตัว และ มีรสชาติ ที่ดี นอกจากนี้เห็ดยังประกอบด้วย โปรตีนและคาร์โบไฮเดรต สูง อีกทั้ง มีแร่ธาตุที่สำคัญ ได้แก่ โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แคลเซียม และเหล็ก (Turkekul, Elmastas and Tuzen, 2004; Kalac, 2009) ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกาย เห็ดส่วนมากเป็นแหล่งที่ดีขอ งกรดอะมิโน ฟีนิลแอลานีน ไทโรซีน ทริปโทเฟน และทรีโอนีน แต่มักพบว่าเห็ดมี คุณภาพโปรตีน ด้อยกว่าโปรตีนจากสัตว์ เนื่องจาก มีกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบในปริมาณต่ำ โดยเฉพาะ เมไทโอนีน และซิสเทอีน (สุนันท์ พงษ์สามารถ และคณะ, 2529) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงสมบัติของเห็ดในด้านต่างๆ พบว่าเห็ดมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidation activity) มีสมบัติต้านการเกิดเนื้องอก (antitumor) และต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial) การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดทั้งในหลอดทดลอง (*in vitro*) และในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) พบว่าเห็ดมีสารต้านออกซิเดชันหลายชนิด เช่น วิตามินซี (ascorbic acid) วิตามินอี (tocopherols) บีตา-แคโรทีน (β-carotene) และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) (Elmastas et al., 2007; Barros et al., 2008) จึงเป็นที่ยอมรับกันว่าเห็ดเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการโดยเป็นแหล่งของโปรตีนและสารต้านออกซิเดชัน

ปัจจุบันคนไทยนิยมบริโภคเห็ดมากขึ้น ซึ่งเห็ดในท้องตลาดส่วนมากเป็นเห็ดเพาะเลี้ยงหรือเห็ดนำเข้าที่มีราคาสูง ขณะที่ ทางภาคเหนือของประเทศไทยมีเห็ดป่าบริโภคได้ หลากหลายสายพันธุ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและยังพบว่ามีน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่น่าสนใจ เช่น D-sorbitol และ mannitol (Sanmee et al., 2003) แต่การบริโภคเห็ดป่าจากภาคเหนือยังมี อยู่ในวงจำกัด เนื่องจาก เห็ดป่ายัง ไม่เป็นที่รู้จักของผู้บริโภค อย่างกว้างขวาง และ ที่ผ่าน มา มีงานวิจัยน้อยมากที่ให้ความสำคัญเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ของ เห็ดป่าบริโภคได้ จากภาคเหนือของประเทศไทย อีกทั้งการกระจายสินค้าจากภาคเหนือที่ต้องใช้เวลานานอาจทำให้ เห็ดสดเน่าเสียได้ภายในช่วงเวลา 2-3 วัน ทำให้ผู้ประกอบการและผู้บริโภคมองข้ามความสำคัญของเห็ดป่าเหล่านี้ไป ซึ่งนำไปสู่การสูญเสียทรัพยากรและมูลค่าทางเศรษฐกิจของเห็ดป่าจากภาคเหนือ การอบแห้ง เห็ดอาจ เป็นวิธีหนึ่ง ที่เหมาะสมในการแปรรูป เห็ด ป่าบริโภคได้ เนื่องจากทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีน้ำหนักเบา สามารถขนส่งได้สะดวก และเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้น โดยการ ลดค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (a_w) และชะลออัตราการเสื่อมเสียที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีและจุลินทรีย์ ของเห็ด แต่ความร้อน ที่ใช้ในการอบแห้งอาจส่งผลต่อ การเปลี่ยนแปลง คุณค่าทางโภชนาการ รวมทั้งลักษณะเนื้อสัมผัส สี และกลิ่นรสของเห็ดได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาคุณค่าทางอาหาร ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน รวมทั้งผลของการยืดอายุการเก็บรักษาเห็ดด้วยการอบแห้ง ต่อองค์ประกอบเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือของประเทศไทย ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาผลิตภัณฑ์และการส่งเสริมการบริโภคเห็ดป่าจากภาคเหนือของประเทศไทยต่อไป

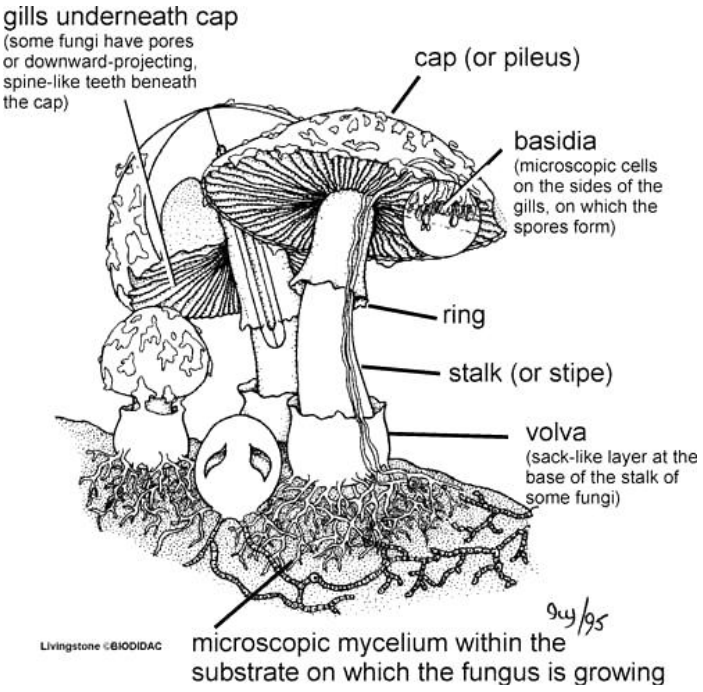
บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 เห็ด

เห็ดเป็นพืชชั้นต่ำประเภทราที่มีเส้นใยรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน และเกิดเป็นดอกเห็ดอยู่เหนือพื้นดินหรือสิ่งที่อาศัยอยู่ จัดอยู่ในอาณาจักรเห็ดราหรือฟังไจ (Fungi Kingdom) ซึ่งอยู่ใน 2 หมวดย่อย (Subdivision) คือหมวดย่อย Basidiomycotina ที่สร้างสปอร์บนเบซิเดียม (basidium) ในโครงสร้างเบซิดิโอคาร์ป (basidiocarp) และหมวดย่อย Ascomycotina ที่สร้างสปอร์ในแอสคัส (ascus) ในโครงสร้างแอสโคคาร์ป (ascocarp) ซึ่งเห็ดบริโภคได้ส่วนมากอยู่ในหมวดย่อย Basidiomycotina ทั้งนี้เห็ดอาจมีสีสันและโครงสร้างแตกต่างกัน ไปตามสายพันธุ์ (อนงค์ จันทร์ศรีกุล, 2541; ราชบัณฑิตยสถาน, 2550)

ลักษณะทางกายภาพของเห็ดโดยทั่วไปประกอบด้วยโครงสร้างดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของเห็ด

ที่มา: Buchanan (1996)

2.1.1 การจำแนกเห็ด

การจำแนกเห็ดแบ่งออกเป็นการจำแนกทางพืชสวน และทางพฤกษศาสตร์ (ฒาลิศา ยุวอมรพิทักษ์ และเกศสุคนธ์ มณีวรรณ์, 2541)

2.1.1.1 การจำแนกเห็ดทางพืชสวน

การจำแนกเห็ดทางพืชสวนสามารถแบ่งกลุ่มเห็ดได้ 2 กลุ่มตามแหล่งการเจริญเติบโต ดังนี้

- เห็ดป่าหมายถึงเห็ดที่มีการเจริญเติบโตในพื้นที่ป่าตามธรรมชาติ ได้แก่เห็ดในกลุ่ม เห็ดพิษ (poisonous mushroom) ซึ่งสายพันธุ์ที่พบมากในแถบยุโรป ได้แก่ สกุล *Amanita* spp. ส่วนเห็ดป่าบริโภคได้ (wild edible mushroom) หมายถึงเห็ดป่าที่สามารถบริโภคได้ โดยเห็ดป่าที่นิยมบริโภคและมีราคาสูงชนิดหนึ่งคือ เห็ด ทรัฟเฟิล (truffle) (*Tuber* spp.) ซึ่งเป็นเห็ดป่าที่พบมากในทวีปยุโรป และเห็ดป่าบริโภคได้อีกชนิดหนึ่งที่นิยมบริโภคในเอเชีย คือ เห็ดหอม (shiitake) (*Lentinula edodes*) ซึ่งพบมากในพื้นที่ป่าเขตร้อน นอกจากนี้เห็ดป่ายังรวมถึง เห็ดป่าที่ไม่นำมาบริโภค (inedible mushroom) จัดเป็นเห็ดไม่มีพิษแต่ไม่เป็นที่นิยมบริโภคเนื่องจากมีรูปร่างหรือรสชาติไม่เป็นที่นิยม (Macrae, Robinson and Sadier, 1993)
- เห็ดที่เพาะเพื่อการค้า หมายถึงเห็ดที่สามารถพัฒนาเชื้อขึ้นมาจากเห็ดป่าจนสามารถเพาะเลี้ยงได้เพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรม ใน ปี 1991-1994 อุตสาหกรรมการเพาะเห็ดได้เพิ่มขึ้นถึง ร้อยละ 30.5 ทั้งนี้มีเห็ดเพียง 10 ชนิดที่มีการเพาะกันมากถึง ร้อยละ 95 ของเห็ดทั้งหมด โดยเห็ดที่นิยมเพาะเลี้ยงมากที่สุด ได้แก่ เห็ดกระดุม หรือ button mushrooms (*Agaricus bisporus*) มีปริมาณการเพาะเลี้ยงประมาณ ร้อยละ 60 ของเห็ดเพาะเลี้ยงทั้งหมด นิยมเพาะปลูกและบริโภคในแถบยุโรปและอเมริกา รองลงมาคือ เห็ดหอม เห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) และเห็ดเป๋าฮื้อ (*Pleurolus ostreatus*) ซึ่งเห็ดเหล่านี้นิยมเพาะเลี้ยงและบริโภคกันมากในแถบเอเชีย (Macrae et al., 1993)

2.1.1.2 การจำแนกเห็ดทางพฤกษศาสตร์

การจำแนกเห็ดทางพฤกษศาสตร์เพื่อศึกษาอนุกรมวิธานของเห็ดมีหลายวิธี โดยวิธีที่นิยมปฏิบัติกันมากในระดับพื้นฐานและในกลุ่มของนักเก็บเห็ดคืออาศัยลักษณะทางกายภาพที่สังเกตหรือตรวจสอบได้ง่ายของดอกเห็ดในการจัดแบ่งเห็ดออกเป็นกลุ่มต่างๆ โดยวิธีการจำแนกเห็ดอาศัยการอ้างอิงจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ของโครงสร้างพื้นฐาน 2 ระดับได้แก่

- ระดับ มหทรรศน์ (macroscopic) หมายถึงการศึกษาลักษณะทางกายภาพที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ได้แก่ ลักษณะรูปร่าง ขนาด กลิ่น สี และพื้นผิวของ

หมวกเห็ด ครีบ ก้าน และเนื้อใน เป็นต้น รวมทั้งลักษณะการเปลี่ยนแปลงของดอกเห็ดเมื่อเปียกน้ำ หรือเมื่อเกิดบาดแผล นอกจากนี้ยังพิจารณาถึงโครงสร้างและลักษณะต่างๆของก้านดอกและส่วนประกอบอื่นๆ เช่น แอนนูลัส และเยื่อหุ้มดอกเห็ด เป็นต้น

- ระดับจุลทรรศน์ (microscopic) หมายถึงการศึกษาลักษณะทางกายภาพที่มองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ เป็นการศึกษาลักษณะของกลุ่มเส้นใย ลักษณะของเยื่อกำเนิดสปอร์ (hymenium) เบซิเดียม และรูปร่างของสปอร์ เป็นต้น

นอกจากนี้ยังอาศัยลักษณะแวดล้อมอื่นๆ เช่น รูปแบบการดำรงชีวิต ชนิดของแหล่งอาศัย เช่น ประเภทของป่า ทุ่งนา ทุ่งหญ้า หรือชายน้ำ การเจริญเติบโตที่ความสูงจากระดับน้ำทะเล ฤดูกาลที่พบ และชนิดของสารอาหารที่ใช้ เป็นต้น

2.1.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีววิทยาของเห็ด

2.1.2.1 อนุกรมวิธานของเห็ด

การจำแนกเห็ดทาง อนุกรมวิธานในระบบของ Alexopoulos, Mims และ Blackwell (1996) ได้แยกเห็ดราออกเป็น 3 หมวด (Division) คือหมวด Gymnomycota ได้แก่ พวกราเมือก หมวด Mastigomycota ได้แก่ เห็ดราที่มีเซนทริโอล (centriole) ทำหน้าที่ในขณะแบ่งเซลล์และสร้างเซลล์ที่มี flagellum และหมวด Amastigomycota เป็นเห็ดราที่ไม่มีเซนทริโอล ไม่พบเซลล์ที่เคลื่อนที่ได้เอง ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 หมวดย่อย ประกอบด้วย

- Zygomycotina ได้แก่ ราชั้นต่ำ สปอร์ของราจำพวกนี้จะสร้างอวัยวะที่เรียกว่าอับสปอร์ (sporangiospore) ซึ่งเป็น กลุ่มที่ เกิดสปอร์โดยไม่เกี่ยวข้องกับการใช้เพศ (asexual spore) ได้แก่ ราขนมปัง (bread mould) เป็นต้น
- Deuteromycotina เป็นราที่ไม่ใช้สปอร์สืบพันธุ์ โดยสปอร์จะถูกสร้างจากกลุ่มเส้นใยที่เป็นหมัน (sterile mycelium) หรือจากเส้นใยพิเศษ (specialized hyphae)
- Ascomycotina มีสปอร์บรรจุในเซลล์คล้ายถุงเรียกว่า แอสคัส ส่วนใหญ่เส้นใยมีผนังกั้นตามขวางและสามารถรวมตัวเป็นดอกเห็ดได้ เห็ดบริโภคได้ในหมวดย่อยนี้ที่สำคัญได้แก่ เห็ดมอเรล (morel) ชนิดต่างๆ ในสกุล Morchella
- Basidiomycotina มีสปอร์สืบพันธุ์อยู่ภายนอก เบซิเดียมที่ใช้เป็น ฐานชูสปอร์มีรูปร่างคล้าย กระบอง หรือ ใบพาย เส้นใยมีผนังกันเซลล์ตามขวาง และสามารถ ก่อตัวเป็นดอกเห็ดได้ โดยเห็ดส่วนมากในธรรมชาติอยู่ในชั้น (Class) Basidiomycetes ชั้นย่อย (Subclass) Holobasidiomycetidae ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Hymenomycetes ซึ่งประกอบด้วยเห็ดชนิดต่างๆ ที่รู้จักกันแพร่เหลาย เช่น อันดับ (Order) Agaricales ซึ่งส่วนใหญ่เป็น

เห็ดที่มีครีบใต้หมวก รวมถึงเห็ดที่บริโภคได้ส่วนมาก ได้แก่ เห็ดฟาง (*Volvariella volvaceae*) และเห็ดหอม เป็นต้น ส่วนเห็ดในอันดับ Boletales เห็ดกลุ่มนี้ ส่วนมากไม่มีครีบ แต่จะมีรู (pores) ขนาดเล็กสำหรับปล่อยสปอร์ ได้แก่ เห็ดตับเต่า (*Boletus edulis*) นอกจากนี้เห็ดในอันดับ Tulasnellales ซึ่งจัดเป็นกลุ่มของดอกเห็ดที่ดอกเห็ดมีลักษณะเป็นวุ้นยืดหยุ่น ได้แก่ เห็ดหูหนู ส่วนเห็ดในกลุ่ม Gasteromycetes มีลักษณะเฉพาะคือเบซิดิโอสปอร์จะถูกปิดอยู่ในส่วนของเบซิดิโอคาร์ปจนกว่าจะถึงระยะสืบพันธุ์ จากนั้นส่วนเพอริเดียม (peridium) จึงจะแตกออกและปล่อยสปอร์ออกมา เห็ดเหล่านี้ ได้แก่ เห็ดร่างแห (stinkhorn) เห็ดรังนก (bird's nest fungi) และเห็ดเผาะ (earthstar)

2.1.2.2 รูปร่างและโครงสร้างของเห็ด

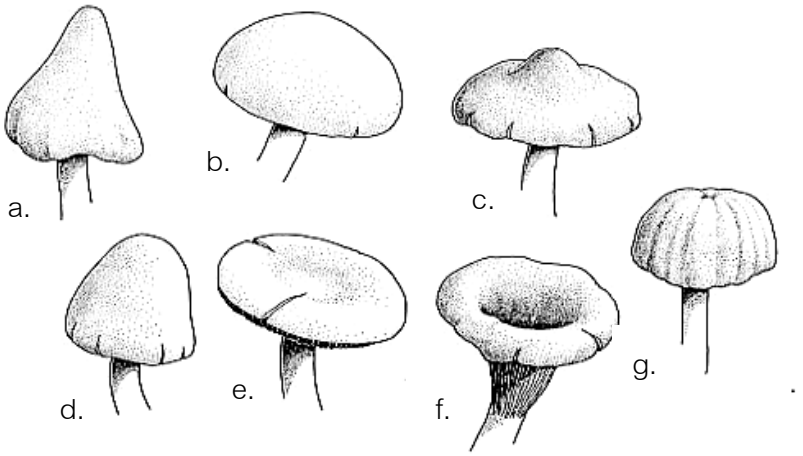
การอธิบายโครงสร้างของเห็ดนิยมใช้เห็ดมีครีบสกุล Amanita เป็นแบบตัวอย่าง (ฒาลิศา ยุวอมรพิทักษ์ และเกศสุคนธ์ มณีวรรณ์, 2541 ; ราชบัณฑิตยสถาน , 2550) ซึ่งมีส่วนประกอบของโครงสร้างดังนี้

- หมวกเห็ด (pileus หรือ cap)

หมวกเห็ดเป็นส่วนบนของดอกเห็ดที่เจริญเติบโตขึ้นไปในอากาศ เมื่อเห็ดเจริญเติบโตเต็มที่จะกางออกคล้ายร่ม อย่างไรก็ตามเห็ดต่างชนิดกันอาจมีลักษณะหมวกเห็ดแตกต่างกันไปดังภาพที่ 2.2 เช่น

- Conical หมวกเห็ดมียอดแหลม ความกว้างของหมวกเห็ดน้อยกว่าความสูงของหมวกเห็ด (ภาพที่ 2.2 a)
- Convex พบในเห็ดส่วนมาก มีลักษณะคล้ายชามคว่ำ หมวกดอกโค้งมน ความกว้างของหมวกเห็ดมากกว่าความสูงของหมวกเห็ด (ภาพที่ 2.2 b)
- Umbonate กึ่งกลางหรือส่วนยอดของหมวกเห็ดนูนขึ้น คล้ายหมวกจีน ความกว้างของหมวกเห็ดมากกว่าความสูงของหมวกเห็ด (ภาพที่ 2.2 c)
- Campanulate ส่วนยอดของหมวกเห็ดสูงขึ้นแต่ไม่แหลมเท่าแบบ conical ปลายของหมวกเห็ดบานออก รูปทรงคล้ายระฆังหรือกระดิ่ง (ภาพที่ 2.2 d)
- Flattened รูปทรงหมวกเห็ดแบนเรียบ (ภาพที่ 2.2 e)
- Infundibuliform หมวกเห็ดมีลักษณะเป็นรูปกรวยหงายขึ้น (ภาพที่ 2.2 f)

- Depressed ส่วนยอดของหมวกเห็ดคล้ายถูกกดทับเป็นหลุมกึ่งกลางหมวก (ภาพที่ 2.2 g)

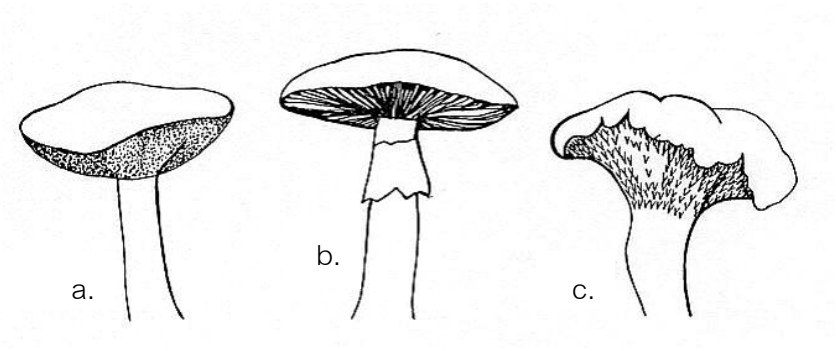


ภาพที่ 2.2 ลักษณะของหมวกเห็ด a.) Conical, b.) Convex, c.) Umbonate, d.) Campanulate, e.) Flattend, f.) Infundibuliform และ g.) Depressed
ที่มา: Kibby (1979)

นอกจากนี้ ผิวหมวกเห็ดด้านบนอาจจะเรียบ ขรุขระ มีเกล็ด หรือมีขน แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของเห็ด เกล็ดหรือขนเป็นเนื้อเยื่อที่ยังคงเหลือติดจากกลุ่มเนื้อเยื่อห่อหุ้มดอกเห็ดอ่อน (outer veil) เนื้อของดอกเห็ดมีความหนาบางต่างกัน อาจเหนียว หรือฉีกขาดได้ง่าย สีของเนื้อหมวกเห็ดภายในและภายนอกอาจเป็นสีเดียวหรือแตกต่างกัน ลักษณะขอบหมวกบางชนิดเรียบเสมอกัน บางชนิดหยักเป็นคลื่น หรือมีลายเส้นเป็นรัศมีโดยรอบ ลักษณะของหมวกเห็ดเมื่อมีการสัมผัส ช้ำ หรือฉีกขาด อาจเกิดการเปลี่ยนสี เปียกชื้น หรือมีเมือกลื่น เป็นต้น (ฒาลิศา ยุวอมรพิทักษ์ และเกศสุคนธ์ มณีวรรณ์, 2541)

- ครีบ (gill หรือ lamella)

ครีบเป็นแผ่นบาง เรียงเป็นรัศมีรอบก้าน อยู่ใต้หมวกเห็ด ครีบของเห็ดบางชนิดมีวิวัฒนาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจนมีลักษณะของส่วนใต้หมวกเห็ดเป็นรูพรุน (pores) ซี่ฟัน (teeth) เป็นสัน (ridges) หรือมีลักษณะคล้ายหนาม (spine) (ราชบัณฑิตยสถาน, 2550) ดังภาพที่ 2.3

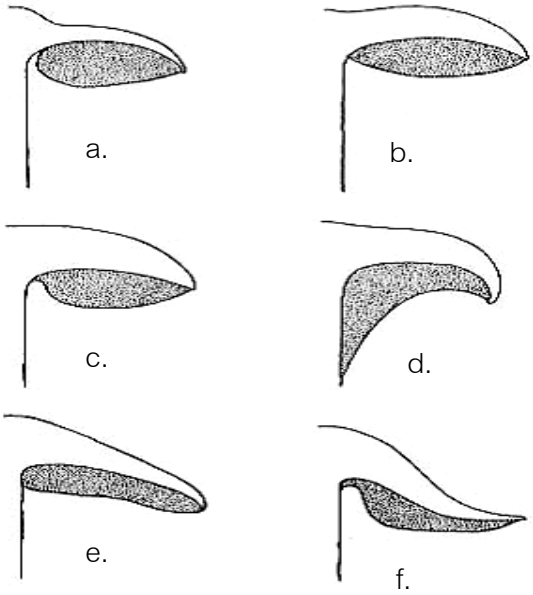


ภาพที่ 2.3 ลักษณะของส่วนใต้หมวกเห็ด
a.) ลักษณะเป็นรูพรุน, b.) ลักษณะเป็นครีบ และ c.) ลักษณะเป็นหนาม
ที่มา : Kibby (1979)

จากการศึกษาของ ฒาลิศา ยุวอมรพิทักษ์ และเกศสุคนธ์ มณีวรรณ์ (2541) ลักษณะของส่วนใต้หมวกเห็ด ใช้พิจารณาประกอบการจำแนกเห็ดด้วย เช่น เห็ดที่มีแผ่นครีบจัดอยู่ในสกุล Agaricus ส่วนเห็ดที่มีใต้หมวกเป็นรูพรุนจัดอยู่ในสกุล Boletus เห็ดแต่ละชนิดอาจมีลักษณะการยึดติดของครีบกับก้านแตกต่างกันไป ดังภาพที่ 2.4

- Free เป็นลักษณะที่ปลายครีบไม่ติดกับก้านดอก ทำให้เห็นช่องว่างเป็นวงแหวนเล็กๆรอบตำแหน่งที่ก้านดอกติดกับหมวกเห็ด (ภาพที่ 2.4 a)
- Adnexed เป็นลักษณะของส่วนแคบของครีบเชื่อมติดกับก้านดอกเล็กน้อย ทำให้เห็นเป็นแผ่นครีบห้อยอยู่ระหว่างก้านกับหมวกเห็ด (ภาพที่ 2.4 b)
- Emarginate แผ่นครีบเชื่อมระหว่างก้านกับขอบหมวกเห็ดและเห็นรอยบากของครีบก่อนตำแหน่งที่ติดกับก้านดอก (ภาพที่ 2.4 c)
- Decurrent มีลักษณะของปลายครีบติดกับก้านดอกและเรียงเป็นแถบยาวอยู่บนก้านดอก (ภาพที่ 2.4 d)
- Adnate ส่วนที่กว้างที่สุดของครีบ เชื่อมติดกับก้านและไม่โค้งลงหาก้าน (ภาพที่ 2.4 e)
- Sinuate เป็นลักษณะของครีบติดกับก้านดอกและเห็นรอยบากบริเวณก่อนที่แผ่นครีบจะบรรจบกับก้าน (ภาพที่ 2.4 f)

จำนวนครีบหมวกและความหนา ของครีบมัก แตกต่างกันในเห็ดแต่ละชนิด สีของครีบหมวกส่วนมากเป็นสีเดียวกับสปอร์ของเห็ด ซึ่งจัดเป็นลักษณะ จำเพาะที่บ่งบอกความแตกต่างของเห็ดแต่ละชนิด โดยปกติครีบเห็ดอาจมีสีขาว เหลือง ชมพู ม่วง น้ำตาล หรือดำ นอกจากนี้เห็ดบางชนิดสปอร์จะถูกฝังอยู่ในเนื้อเยื่อก้อนวุ้น เช่น เห็ดหูหนู หรือมีสปอร์อยู่ในเปลือกหุ้มที่เป็นก้อนกลม เช่น เห็ดเผาะ (ฒาลิศา ยุวอมรพิทักษ์ และเกศสุคนธ์ มณีวรรณ์, 2541)



ภาพที่ 2.4 ลักษณะการยึดติดของครีบ

a.) Free, b.) Adnexed, c.) Emarginate, d.) Decurrent, e.) Adnate และ f.) Sinuate

ที่มา : Kibby (1979)

- ก้าน (stalk หรือ stipe)

ก้านของเห็ดมีขนาดและความยาวแตกต่างกัน ลักษณะก้านของเห็ดส่วนมากเป็นรูปทรงกระบอกหรืออาจมีปลายก้านเรียวเล็ก ก้านตอนบนยึดติดกับหมวกเห็ดหรือครีบหมวกด้านใน ตอนล่างของก้านเห็ดบางชนิดอาจมีเส้นใยรวมตัวกันเป็นก้อนหรือเปลือกหุ้มโคน (volva) ซึ่งมีลักษณะคล้ายถ้วยชาหงายรองรับอยู่ นอกจากนี้บนก้านดอกตอนบนของเห็ดบางชนิด อาจมีวงแหวน (annulus) หรือ เส้นใยคล้ายม่าน (veil) หุ้มอยู่โดยรอบ เช่น เห็ดร่างแห ที่มีเส้นใยร่างแหสีขาวเป็นคล้ายลูกไม้ห้อยแขวนลงจากเนื้อเยื่อใต้หมวกเห็ดคลุมอยู่รอบก้านดอก ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษของเห็ดชนิดนี้ นอกจากนี้ก้านดอกเห็ดอาจมีผิวเรียบ ขรุขระ มีขน หรือมีเกล็ด และอาจเปลี่ยนสีได้เมื่อถูกสัมผัสด้วยมือหรือถูกอากาศ ในเห็ดบางชนิดเนื้อเยื่อภายในก้านดอกอาจสานกันแน่นทึบ มีลักษณะนิ่ม แข็ง เปราะ หรืออาจสานกันเป็นเส้นใยหลวมๆ คล้ายฟองน้ำ

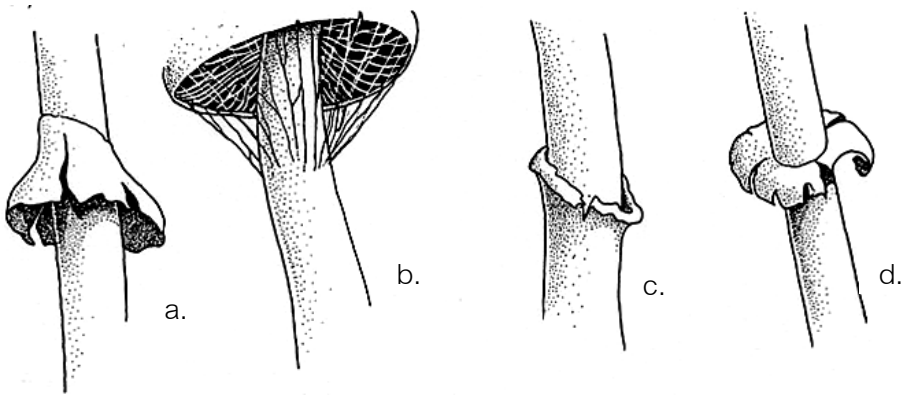
ก้านเห็ดบางชนิดอาจมีรูกลวงยาวตลอด หรือมีรูกลวงเป็นบางส่วน ซึ่งอาจเกิดจากการที่ก้านดอกเห็ดมีแมลงเข้าไปอาศัยอยู่ภายในจนเป็นรูพรุน เช่น ก้านดอกเห็ดหล่ม (ราชบัณฑิตยสถาน, 2550)

- แอนนูลัส (annulus หรือ ring)

แอนนูลัส เป็นเนื้อเยื่อบางๆ ยึดติดก้านดอก อยู่ใต้หมวกเห็ดลงมาเล็กน้อย แอนนูลัสเป็นส่วนของเนื้อเยื่อ ที่ห่อหุ้มครีบเมื่อดอกเห็ดยังอ่อน และเมื่อหมวกเห็ดบานขึ้น เยื่อดังกล่าวจะขาดแล้วแยกจากขอบหมวก คงเหลือส่วนที่ยึดติดกับก้านเป็นวงแหวน เรียกว่าเยื่อขอบหมวก (inner veil) ในเห็ดบางชนิดวงแหวนนี้อาจเลื่อนขึ้นลงได้ และไม่ยึดติดกับก้านดอก โดยลักษณะของแอนนูลัสแบบต่างๆแสดงในภาพที่ 2.5

แอนนูลัส สามารถแยกออกได้ 4 ลักษณะ ได้แก่

- Pendent แอนนูลัส มีลักษณะห้อยลง (ภาพที่ 2.5 a)
- Cortina แอนนูลัสมี ลักษณะเป็นเส้นใยบาง (ภาพที่ 2.5 b)
- Sheating แอนนูลัส มีลักษณะคล้ายถุงเท้า (ภาพที่ 2.5 c)
- Thick หรือ turn – back แอนนูลัสมีลักษณะหนาและม้วนงอลง (ภาพที่ 2.5 d)



ภาพที่ 2.5 ลักษณะของแอนนูลัส

a.) Pendent, b.) Cortina, c.) Sheating, d.) Thick หรือ turn – back

ที่มา : Kibby (1979)

- เยื่อหุ้มดอกเห็ด (volva หรือ outer veil)

เยื่อหุ้มดอกเห็ด เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอกสุดที่ห่อหุ้มดอกเห็ดทั้งดอกไว้ในระยะที่เป็นดอกอ่อน ซึ่ง พบในเห็ดบางชนิด เช่น เห็ดฟาง รวมทั้งเห็ดหลายชนิดในสกุล Amanita เมื่อดอกเห็ดขยายใหญ่ขึ้น เปลือกหุ้มตอนบนจะแตกออก เพื่อให้หมวกเห็ดและก้านดอกยืดตัวชูสูงขึ้นมาในอากาศ เหลือเยื่อ หุ้มดอกเห็ด อยู่ที่โคนก้าน คล้าย ถ้วย บางชนิดเยื่อหุ้มอาจเปลี่ยนเป็นเกล็ดรอบโคนก้าน

- สปอร์ (spore)

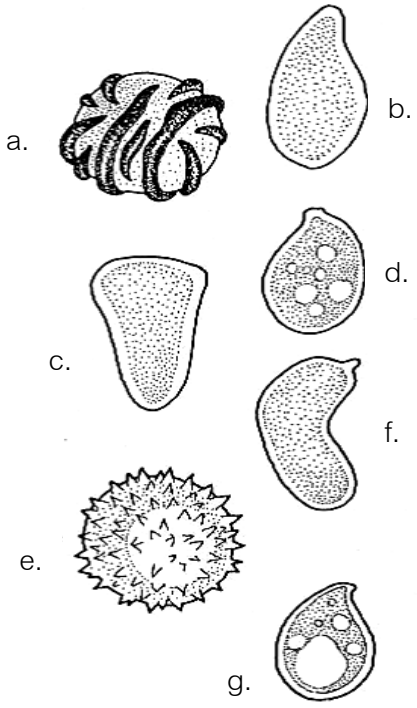
สปอร์เป็นโครงสร้างส่วนที่เล็กที่สุดของเห็ดไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า ดอกเห็ดแก่จะสร้างสปอร์จากเส้นใยที่พัฒนารูปร่างคล้ายกระบองเรียกว่าเบซิเดียม ซึ่งเป็นก้านชูสปอร์จำนวน 4 ก้านสำหรับยึดเกาะสปอร์ เมื่อเห็ดแก่จะปล่อยสปอร์ออกจากก้านชูสปอร์เมื่อสปอร์ตกอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะสามารถเจริญเป็นเส้นใยและพัฒนาต่อไปเป็นดอกเห็ด สปอร์ของเห็ด แต่ละสกุลจะมีรูปร่าง ขนาด พื้นผิว และสีของสปอร์แตกต่างกัน โดยลักษณะของสปอร์แบบต่างๆแสดงในภาพที่ 2.6

สปอร์ของเห็ดมีหลายลักษณะ ได้แก่

- Ornamented ในสกุล Russula และ Lactarius (ภาพที่ 2.6 a)
- Fusiform ในสกุล Boletus (ภาพที่ 2.6 b)
- Bullet-like ลักษณะคล้ายหัวกระสุน (ภาพที่ 2.6 c)
- Ovate มีลักษณะกลมรี (ภาพที่ 2.6 d)
- Globose ลักษณะทรงกลมมีหนาม (ภาพที่ 2.6 e)
- Sausage-like ลักษณะคล้ายไส้กรอก (ภาพที่ 2.6 f)
- Pip-shaped ลักษณะทรงกลมมีจุดกลมอยู่ที่ผิว (ภาพที่ 2.6 g)

2.1.3 เห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือของประเทศไทย

วัฒนธรรมการบริโภคเห็ดป่าในแถบเอเชียนิยมบริโภคเห็ดป่าเพื่อเป็นอาหาร และยังมีความเชื่อว่าเห็ดป่าบางชนิดมีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรคอีกด้วย (Choi et al., 2006) งานวิจัยจำนวนมากสนับสนุนให้มีการบริโภคเห็ดป่ า เนื่องจากการเปรียบเทียบ คุณค่าทางอาหาร และสารโภชนเภสัช หรือ สารอาหารออกฤทธิ์เชิงยา (nutraceutical) ของเห็ดป่าบริโภคได้ และเห็ดเพาะเพื่อการค้าพบว่า เห็ดป่าบริโภคได้ให้พลังงานสูง มีปริมาณโปรตีน โทโคฟีรอล และกรดฟีนอลิกสูง แต่มีไขมันต่ำกว่าเห็ดที่เพาะเพื่อการค้า (Barros et al., 2008)



ภาพที่ 2.6 ลักษณะของสปอร์

a.) Ornamented, b.) Fusiform, c.) Bullet-like, d.) Ovate,

e.) Globose, f.) Sausage-like และ g.) Pip-shaped

ที่มา : Kibby (1979)

ทั้งนี้ ทางภาคเหนือของประเทศไทยมีเห็ดป่าบริโภคได้ หลายชนิด ที่มีคุณค่าทางโภชนาการ โดยเห็ดป่าบริโภคได้ที่พบมากทางภาคเหนือของประเทศไทย ตามการจำแนกของราชบัณฑิตยสถาน (2539) ได้แก่

- เห็ดหล่มขาว (*Russula delica* Fr.) จัดอยู่ในวงศ์ Russulaceae ชื่อสามัญคือ shot stalk white russula หรือ milk white russula ชื่อพื้นเมืองคือเห็ดหล่มขาว หรือ เห็ดตะไคลขาว (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) มีแหล่งกระจายพันธุ์ในประเทศไทยทางภาคเหนือ มักขึ้นเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นกลุ่ม 2-3 ดอก สามารถพบได้ตามป่าสนและป่าเบญจพรรณ

- เห็ดห้า *(Phaeogyroporus braunii* [Bres.] Sing.) ชื่อพ้อง *Boletus portentosud* Berk.et Broome คนท้องถิ่นภาคเหนือนิยมเรียกว่า เห็ดห้า เพราะมักขึ้นบริเวณพุ่มต้นหว้าซึ่งชาวเหนือเรียกว่า ต้นห้ า เห็ดชนิดนี้มีเขตการกระจายพันธุ์ในภาคเหนือ มักขึ้นเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มที่มีโคนติดกัน 3-5 ดอก ชอบขึ้นตามพื้นที่ที่มีความชื้นเหมาะสมตามป่าเบญจพรรณและป่าเต็งรัง

- เห็ดแดง (*Russula lepida* Fr.) จัดอยู่ในวงศ์ Russulaceae ชื่อสามัญ rosy russula ชื่อพื้นเมืองคือ เห็ดแดงกุหลาบ เห็ดหน้าแดง หรือเห็ดแดง เป็นเห็ดมีพิษแต่สุกแล้วสามารถรับประทานได้ มักขึ้นเป็นดอกเดี่ยว มีการกระจายพันธุ์ในป่าเบญจพรรณและป่าสนที่เป็นดินร่วนปนดินทรายซึ่งมีใบไม้ทับถมและมีความชื้นสูง มักขึ้นอยู่บริเวณโคนไม้พุ่มเช่น ต้นก้นครกและต้นเพ็ก หรือต้นไม้ใหญ่ เช่น ต้นชาด และต้นกง

- เห็ดโคน (*Termitomyces sp.*) จัดอยู่ในวงศ์ Amanitaceae ชื่อพื้นเมืองคือ เห็ดปลวก หรือเห็ดโคนปลวก มักขึ้นเป็นดอกเดี่ยวอยู่รวมเป็นกลุ่มบนพื้นดินที่มีจอมปลวก

- เห็ดไข่ห่านเหลือง (*Amanita calyptroderma* Ark. et Bal.) และเห็ดไข่ห่านขาว (*Amanita princeps* Corner et Bas.) จัดเป็นเห็ดในสกุล Amanita วงศ์ Amanitaceae ชื่อพื้นเมืองคือ เห็ดระโงก เห็ดระโงกทั้งชนิดขาวและเหลืองเป็นเห็ดที่นิยมรับประทานเพราะมีรสชาติหวาน มีกลิ่นหอม และมีลักษณะเฉพาะคือเมื่อเห็ดถูกความร้อน โพลีแซกคาไรด์ที่อยู่ที่ผิวของเส้นใยจะพองตัวจนมีลักษณะเป็นเมือกรอบชิ้นส่วนของเห็ด

- เห็ดเผาะ (*Astreaus sp.*) ชื่อสามัญคือ barometer earthstars ชื่อพื้นเมืองคือ เห็ดถอบ (ภาคเหนือ) เห็ดเหียง เห็ดหนัง หรือ เห็ดดอกดิ น เห็ดเผาะเป็นเห็ดป่าที่รู้จักกันมากในภาคเหนือและภาคอีสาน เป็นเห็ดที่เกิดในช่วงเริ่มฤดูฝน ประมาณพฤษภาคม ถึงกรกฎาคม ชอบขึ้นตามดินร่วนปนทรายที่มีความชื้นเหมาะสมตามป่าสนและป่าเต็งรังทั่วทุกภาคยกเว้นภาคใต้ของไทย

เห็ดป่าบริโภคได้เหล่านี้พบมากช่วงฤดูฝน ประมาณเดือนมิถุนายนถึงตุลาคม และส่วนมากมีการบริโภคกันเฉพาะในท้องถิ่นเท่านั้น (Sanmee et al., 2003)

2.1.4 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ด

เห็ดเป็นอาหารที่คนนิยมรับประทานเนื่องจากมีรสชาติ กลิ่นรส และเนื้อสัมผัสที่ดี ปัจจุบัน มีการให้ความสำคัญเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการจากเห็ด มากขึ้น เนื่องจากเห็ดเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูงอีกทั้งมีปริมาณไขมันต่ำ โดยเห็ดส่วนมากมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าพืชผักทั่วไป และพบว่าเห็ดประกอบด้วยโปรตีนที่สามารถย่อยได้ง่ายถึงร้อยละ 70-90 ของโปรตีนทั้งหมด (Macrae et al., 1993) นอกจากนี้โปรตีนจากเห็ดยังเป็นแหล่งที่ดีของกรดอะมิโนจำเป็นบางชนิด เช่น ฟีนิลแอลานีน ไทโรซีน และทริปโทเฟน (สุนันท์ พงษ์สามารถ และคณะ, 2529) โดยทั่วไปเห็ดสดมีความชื้นสูงประมาณร้อยละ 70-90 ดังนั้นในการเปรียบเทียบข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของเห็ดชนิดต่างๆ จึงนิยมแสดงในหน่วยของน้ำหนักแห้ง (ฒาลิศา ยุวอมรพิทักษ์ และเกศสุคนธ์ มณีวรรณ์, 2541)

2.1.4.1 โปรตีน

จากการศึกษาของ Kalac (2009) พบว่าเห็ดมีโปรตีนหยาบร้อยละ 17 - 59 ต่อน้ำหนักแห้ง ซึ่งประกอบด้วยโปรตีน อัลบูมิน โกลบูลิน กลูเตลิน และโปรลามิน ปริมาณโปรตีนในเห็ดอาจแปรผันได้จากสภาพแวดล้อม ระยะการเจริญ และชนิดของเห็ด รวมทั้งวิธีการวิเคราะห์โปรตีน โดยที่วิธีการ วิเคราะห์โปรตีนหยาบจากเห็ดที่นิยมใช้ คือ Kjeldahl method โดยค่า conversion factor ที่เหมาะสมในการคำนวณปริมาณโปรตีนหยาบของเห็ดจะขึ้นอยู่กับปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ได้มาจากโปรตีน (non-protein nitrogen) ในเห็ดแต่ละชนิด โดยไนโตรเจนที่ไม่ได้มาจากโปรตีนของเห็ดส่วนใหญ่ได้จากไคตินและกรดนิวคลิอิก ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักที่อยู่ในผนังเซลล์และภายในเซลล์ของเห็ด ตามลำดับ ทั้งนี้เห็ดหลายชนิดมีปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ได้มาจากโปรตีนเฉลี่ยร้อยละ 33.4 จากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Petrovska, 2001) โดยค่า conversion factor สำหรับการคำนวณหาปริมาณโปรตีนของเห็ดอาจใช้ได้หลายค่า ได้แก่ 4.71 4.38 และ 4.17 ทั้งนี้ขึ้นกับปริมาณไนโตรเจนที่มาจากโปรตีนของเห็ดแต่ละชนิด และเนื่องจากเห็ดส่วนมากมีไนโตรเจนที่มาจากโปรตีนเพียงร้อยละ 60-77 ของไนโตรเจนทั้งหมด การใช้ค่า conversion factor เท่ากับ 6.25 ที่ใช้กันทั่วไปอาจมากเกินไปสำหรับการคำนวณปริมาณโปรตีนในเห็ด (Matila et al., 2002) นอกจากนี้ปริมาณโปรตีนในเห็ดอาจเปลี่ยนแปลงได้จากกระบวนการแปรรูปแบบต่างๆ เช่น การ ต้มสุก ส่วนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส หรือการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสไม่ทำให้ปริมาณโปรตีนลดลง (Kalac, 2009)

สุนันท์ พงษ์สามารถ และคณะ (252 8) ศึกษาคุณภาพโปรตีน จากเห็ดในประเทศไทย 13 สายพันธุ์ ผลการ วิเคราะห์โปรตีนในเห็ดบริโภคได้ของประเทศไทยพบว่า เห็ดประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิดโดย การคำนวณค่า Amino Acid Score (AAS) ของเห็ดแสดงให้เห็นว่าเห็ดส่วนมากเป็นแหล่งที่ดีของฟีนิลแอลานีน ไทโรซีน ทริปโทเฟน และทรีโอนีน เมื่อศึกษาคุณภาพโปรตีน ของเห็ด จากการวิเคราะห์ ความสามารถในการย่อย (digestibility) โดยวิธี multienzyme assay (*in vitro* test) พบว่าโปรตีนจาก เห็ดสดมีค่าความสามารถในการย่อยของโปรตีน เท่ากับ ร้อยละ 70 - 75 ส่วนโปรตีนจาก เห็ดต้มสุก สามารถย่อยได้ง่ายกว่า เนื่องจากมีค่าความสามารถในการย่อย สูงกว่า คือร้อยละ 80 -85 แสดงให้เห็นว่าโปรตีนจากเห็ดสามารถย่อยได้ง่ายขึ้นเมื่อผ่านความร้อนจากการหุงต้ม นอกจากนี้ยังพบว่า คุณภาพของโปรตีน จากเห็ดใกล้เคียงกับธัญพืชและถั่ว แต่เห็ดมีคุณภาพโปรตีนด้อยกว่าโปรตีนจากสัตว์ เช่น โปรตีนเคซีน เนื่องจากเห็ดมีกรดอะมิโนจำกัด (limiting amino acid) ได้แก่ เมไทโอนีน ซิสเทอีน ไลซีน และลูซีน โปรตีนของเห็ดจึงจัดเป็นพวกโปรตีนไม่สมบูรณ์ (incomplete protein)

กรดอะมิโนอิสระที่พบมากในเห็ด เช่น แอสพาร์ติก และกลูทามิก จัดได้ว่าเป็นสารชูรสตามธรรมชาติ (monosodium glutamate-like; MSG-like) ซึ่งพบได้ในเห็ดทั่วไป โดยกรดอะมิโนกลุ่มนี้มีคุณสมบัติให้รสชาติเฉพาะตัวของเห็ด และยังทำให้เกิดรสกลมกล่อม (umami taste) ในอาหารอีกด้วย นอกจากนี้ อาร์จินีน ฮิสทิดีน ไอโซลูซีน ลูซีน เมไทโอนีน ฟีนิลแอลานีน และแวลีน จัด เป็นกรดอะมิโนที่ ทำให้เกิดรสขมของเห็ด ส่วน แอลานีน ไกลซีน ซีรีน และทรีโอนีน จัด เป็นกรดอะมิโนที่ให้รสหวานของเห็ด จากงานวิจัยของ Tsai และคณะ (2009) ที่ศึกษาปริมาณกรดอะมิโนอิสระในเห็ด *Clitocybe maxima*, *Pleurotus ferulae* และ *Pleurotus ostreatus* แล้ววิเคราะห์หาปริมาณ สารประกอบ MSG-like โดยคำนวณจากผลรวมของกรดอะมิโนอิสระ แอสพาร์ติก และกลูทามิก พบว่าเห็ดมีสารประกอบ MSG-like อยู่ในช่วง 1.76-8.89 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง อีกทั้ง มีปริมาณ กรดอะมิโน ที่ให้รสหวานและรสขมอยู่ในช่วง 3.69-8.50 และ 4.27-17.0 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ทั้งนี้ปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดอาจแตกต่างกัน ไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และชิ้นส่วนของเห็ด โดย Tsai และคณะ (2009) พบว่ามีปริมาณกรดอะมิโนอิสระในชิ้นส่วนหมวกเห็ดมากกว่าส่วนก้านถึง 2 เท่า

กรดอะมิโนที่พบในเห็ดชนิดต่างๆ ของไทย จากงานวิจัยของ Chirinang และ Intarapichet (2009) รวมทั้ง สุนันท์ พงษ์สามารถ และคณะ (2529) แสดงในตารางที่ 2.1

2.1.4.2 คาร์โบไฮเดรต พอลิแซกคาไรด์ และโมโนแซกคาไรด์

เห็ดส่วนมากประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 30 - 65 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งพอลิแซกคาไรด์ในเห็ดที่พบมากที่สุดคือ ไกลโคเจน นอกจากนี้ยังพบพ อลิแซกคาไรด์ที่ทำหน้าที่สร้างความแข็งแรงให้กับโครงสร้างของเซลล์เห็ด ได้แก่ ไคติน ซึ่งพบมากในเห็ด ราในหมวดย่อย Ascomycetes และ Basidiomycetes โดยที่ผนังเซลล์ของเห็ด ส่วนใหญ่มีไคตินเป็นองค์ประกอบถึงร้อยละ 80-90 ของน้ำหนัก แห้ง นอกจากนี้เห็ดยังประกอบด้วยพอลิแซกคาไรด์ในกลุ่มของสารประกอบเพกติก และเฮมิเซลลูโลส เช่น β-glucan และ glucuronoxylomannan (Cheng, 1997; Vetter, 2007)

ตารางที่ 2.1 ปริมาณกรดอะมิโนในเห็ด (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

กรดอะมิโน	เห็ดนางรม [1] (*Pleurotus osttreatus)*	เห็ดฟาง [1] (*Volvariella volvacea*)	เห็ดหอม [1] (*Lentinula edodes*)	เห็ดโคน [2] (*Termitomyces sp.*)
Aspartic acid	2.04	2.09	11.79	2.68
Serine	1.09	1.16	6.66	1.72
Glutamic acid	5.01	4.29	22.69	11.52
Glycine	0.83	0.89	5.34	1.78
Histidine*	0.55	0.47	6.82	2.66
Arginine	3.26	1.07	8.17	1.40
Threonine*	1.01	1.37	8.16	2.55
Alanine	1.90	1.35	6.83	3.51
Proline	0.29	1.07	5.50	1.48
Cysteine*	-	0.20	1.90	0.41
Tyrosine*	0.15	0.40	3.02	1.05
Valine*	0.91	1.32	6.54	2.03
Methionine*	0.28	0.17	1.88	0.46
Lysine*	0.71	1.01	9.38	1.93
Isoleucine*	0.62	1.09	5.74	1.49
Leucine*	1.13	1.71	9.62	2.48
Phenylalanine*	0.73	0.93	18.48	10.56
Typtophan*	0.57	0.47	1.97	0.59

* หมายถึง กรดอะมิโนจำเป็น

ที่มา : ดัดแปลงจาก [1] Chirinang และ Intarapichet (2009), [2] สุนันท์ พงษ์สามารถ และคณะ (2529)

โมโนแซกคาไรด์ที่พบมากในเห็ด ได้แก่ glucose, mannitol และ α,α-trehalose (Kalac, 2009; Barros et al., 2007a) โดย mannitol เป็นโมโนแซกคาไรด์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของดอกเห็ด มักพบในเห็ดส่วนใหญ่ในปริมาณร้อยละ 1-13.9 ต่อน้ำหนักแห้ง (Barros et al., 2008) โดยองค์ประกอบของโมโนแซกคาไรด์ที่อยู่ในเห็ดมีผลต่อรสหวานของเห็ดด้วย ซึ่งเห็ดที่มีน้ำตาลที่ละลายน้ำและสารพอลิออลสูงจะทำให้เห็ดมีรสชาติหวานกว่าเห็ดที่มีสารเหล่านี้ต่ำ ทั้งนี้กระบวนการให้ความร้อนก็มีผลต่อปริมาณสาร

ให้ความหวานเช่นกัน โดยการต้มเห็ดจะทำให้เกิดการสูญเสียปริมาณน้ำตาล trehalose และ mannitol แต่การอบแห้งและการแช่แข็ง มีผลให้ปริมาณน้ำตาลเหล่านี้ลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Kalac, 2009)

การศึกษาโมโนแซกคาไรด์ในเห็ด 7 สายพันธุ์ทางภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ เห็ดเผาะ (*Astraeus hygrometricus*) เห็ดขมิ้นนาง (*Craterellus odoratus*) เห็ดข่า (*Lactarius glaucescens*) เห็ดห้า (*Phaeogyroporus portentosus*) เห็ดน้ำแป้ง (*Russula alboareolata*) เห็ดแดง (*Russula lepida*) และเห็ดลม (*Russula virescens*) พบว่าเห็ดเหล่านี้มีน้ำตาล D-glucose, D-fructose และ trehalose เป็นน้ำตาลที่พบมากที่สุด ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลแอลกอฮอล์พบว่า mannitol เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่มีมากที่สุด โดยมีปริมาณอยู่ในช่วง 15.0-21.8 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ น้ำตาลแอลกอฮอล์ ที่พบรองลงมาได้แก่ glycerol, myo-inositol, meso-erythritol, D-arabitol, dulcitol, xylitol และ D-sorbitol ตามลำดับ (Sanmee et al., 2003)

2.1.4.3 ใยอาหาร

ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในเห็ด (total dietary fibre) มาจากลิกนิน และคาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ (non-digestible carbohydrates) เช่น ไคติน สารประกอบเพกติก และเฮมิเซลลูโลส การวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารในเห็ดหลายชนิดพบว่าเห็ดมีใยอาหารสูง (Vetter, 2007) โดยมีงานวิจัยพบว่าเห็ดที่นิยมบริโภค 6 ชนิดในชั้น Basidiomycetes ได้แก่ *Agaricus bisporus* (Order Agaricales), *Auricularia auricula*, *Auricularia polytricha* (Order Auriculariales), *Tremella fuciformis* (Order Tremellates), *Ganoderma lucidum* และ *Poria cocos* (Order Aphyllophorales) มีปริมาณใยอาหารสูงอยู่ในช่วงร้อยละ 1.32-7.11 ต่อน้ำหนักแห้ง (Cheng, 1997) นอกจากนี้ จากรายงานของ Kalac (2009) พบว่าเห็ดในกลุ่ม *Boletus* spp. ส่วนมากประกอบด้วย ใยอาหารที่ละลายน้ำได้และละลายน้ำไม่ได้ ร้อยละ 4.2-9.2 และ 22.4-31.2 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

2.1.4.4 ไขมันและกรดไขมัน

เห็ดบริโภคได้ส่วนมากประกอบด้วยไขมันในปริมาณต่ำ Kalac (2009) รายงานปริมาณไขมันหยาบในเห็ดยุโรป 24 สายพันธุ์พบว่า ประกอบด้วยไขมันเพียงร้อยละ 2 - 6 โดยน้ำหนักแห้ง จากการวิเคราะห์กรดไขมันพบว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวส่วนใหญ่ที่พบในเห็ด คือ linoleic acid พบร้อยละ 20.3-15.6 ของกรดไขมันทั้งหมด ส่วน กรดไขมันที่พบรองลงมา ได้แก่ oleic acid, palmitic acid และ linolenic acid ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในหลายประเทศ Barros และคณะ (2007 a) ศึกษาปริมาณกรดไขมันในเห็ดที่ขึ้นทางตอนเหนือของโปรตุเกส 5 สายพันธุ์

(*Agaricus arvensis, Lactarius deliciosus, Leucopaxillus giganteus, Sarcodon imbricatus* และ*Tricholoma portentosum)* พบว่ากรดไขมันที่มีมากในเห็ดทั้ง 5 ชนิด คือ linoleic acid, oleic acid, และ palmitic acid ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Longvah และ Deosthale (1998) ที่ศึกษาปริมาณกรดไขมันในเห็ด *Schizophyllum commune* และ *Lentinus edodes* ของประเทศอินเดีย ประกอบด้วย linoleic acid (ร้อยละ 65) palmitic acid (ร้อยละ 20) และ oleic acid (ร้อยละ 10) ตามลำดับ linoleic acid นั้นเป็นที่ทราบกันดีว่าเป็นสารตั้งต้น (precursor) ของสารประกอบ 1-octen-3-ol ในเห็ด ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารอะโรมาติกที่ให้กลิ่นรสจำเพาะของเห็ดหลายชนิด เช่น กลิ่น almond-like และ fruity aroma โดยส่วนครีบของเห็ดเป็นอวัยวะสำคัญที่เกิดกระบวนการเปลี่ยนกรดไขมันไปเป็นสารประกอบอะโรมาติก (Maga, 1981)

2.1.4.5 เถ้าและแร่ธาตุ

เห็ดส่วนมากมีปริมาณเถ้าอยู่ร้อยละ 0.5 - 6 โดยน้ำหนักแห้ง และแร่ธาตุหลักที่เป็นส่วนประกอบในเห็ด ได้แก่ โพแทสเซียม แคลเซียม เหล็ก และ ฟอสฟอรัส อย่างไรก็ตามปริมาณแร่ธาตุอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับส่วนของเห็ด โดยงานวิจัยพบว่าบริเวณหมวกเห็ดมีแร่ธาตุสูงกว่าก้าน และสปอร์ ตามลำดับ (Kalac, 2009) นอกจากนี้ สายพันธุ์ของเห็ดและสภาพแวดล้อมทางระบบนิเวศที่เห็ดเจริญเติบโตก็มีส่วนที่ทำให้ปริมาณแร่ธาตุในเห็ดต่างกันด้วย (Turkekul et al., 2004; Rudawska and Leski, 2005)

2.1.4.6 วิตามิน

การศึกษาวิตามินในเห็ดพบว่าเห็ดมีวิตามินในปริมาณเล็กน้อย ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก วิตามินอี ไรโบฟลาวิน และไนอาซิน เป็นต้น (Kalac, 2009) ทั้งนี้วิตามินในเห็ดบางชนิด เช่น วิตามินอี และ กรดแอสคอร์บิก มีส่วนในการต้านออกซิเดชันและป้องกันการเกิดภาวะ oxidative stress ของร่างกาย ซึ่งงานวิจัยจำนวนมากให้ความสนใจเกี่ยวกับสารต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดบริโภคได้

2.2 อนุมูลอิสระและกลไกในการเกิดอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ โมเลกุลหรืออนุภาคที่มีอิเล็กตรอน เดี่ยว (unpaired electron) เป็นองค์ประกอบ เกิดจากโมเลกุลมีการรับหรือให้อิเล็กตรอนไปหนึ่งตัว ทำให้โมเลกุลนั้นไม่เสถียรและมีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาสูง ในระบบชีวภาพ เมื่อร่างกายมีสารต้านออกซิเดชันไม่เพียงพอ อนุมูลอิสระจะสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลโปรตีน หรือโมเลกุลไขมัน ในร่างกายโดยการดึงอิเล็กตรอนออกมา ทำให้โมเลกุลชีวภาพเหล่านั้นขาดอิเล็กตรอน และเป็นจุดเริ่มต้นของภาวะ

การเกิด oxidative stress ของร่างกาย ซึ่งก่อให้เกิดการทำลายเซลล์ และเป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็งและโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ (วัชรี หาญยิ่ง, 2549)

2.2.1 อนุมูลอิสระในระบบชีวภาพ

อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องในระบบชีวภาพ และมีส่วนสำคัญในการเกิดโรค สามารถแบ่งได้ 3 กลุ่ม (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2537)

2.2.1.1 กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (reactive oxygen species, ROS) ได้แก่ superoxide radical ($O_2^{-\bullet}$), hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$), hydroperoxyl radical ($HOO^{\bullet}$), lkoxyl radical ($RO^{\bullet}$) , peroxyl radical ($ROO^{\bullet}$)

2.2.1.2 กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (reactive nitrogen species, RNS) ได้แก่ nitric oxide radical ($NO^{\bullet}$), nitrogen dioxide radical ($NOO^{\bullet}$)

2.2.1.3 สารที่ไม่จัดเป็นอนุมูลอิสระ(reactive species, RS) เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งจัดเป็นสารที่ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ในระบบของสิ่งมีชีวิตมักพบอนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ อนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นอันตรายต่อระบบในร่างกาย เนื่องจากสามารถสร้างความเสียหายให้แก่กรดนิ วคลีอิก โปรตีน และไขมัน โดย เฉพาะอนุมูลอิสระที่สำคัญได้แก่ superoxide, nitric oxide และ hydroxyl radical จะมีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยาสูง (วัชรี หาญยิ่ง, 2549)

2.2.2 สาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาของ โอภา วัชระคุปต์ และคณะ (2537) อนุมูลอิสระมีโอกาสเข้าสู่ร่างกายได้ 2 ช่องทาง ดังนี้

2.2.2.1 แหล่งภายในร่างกาย (endogenous) อนุมูลอิสระเกิดขึ้นภายในร่างกายตามธรรมชาติ เช่น เกิดจาก ไมโตคอนเดรีย (mitochondria) ซึ่งมีกระบวนการเผาผลาญอาหารของ cytochrome P450 และกระบวนการกำจัดเชื้อโรคของเซลล์เม็ดเลือดขาว (neutrophils, eosinophils และ macrophages) โดย ไมโตคอนเด รียเป็นแหล่งที่ผลิตอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยเฉพาะ superoxide ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ข้างเคียงจากการที่ไมโตคอนเดรียใช้ออกซิเจนในการผลิตพลังงาน โดยพบว่าโมเลกุลออกซิเจนประมาณร้อยละ 4-5 จะถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุ มลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ

กลไกการเกิดอนุมูลอิสระกลุ่มนี้เริ่มจากปฏิกิริยารีดักชันของโมเลกุลออกซิเจนด้วยหนึ่งอิเล็กตรอน แล้วได้ผลิตภัณฑ์ เป็น superoxide (สมการที่ 2.1) จากนั้น superoxide สามารถรวมตัวกันเองเกิดเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยมีเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) เป็นตัวเร่ง ปฏิกิริยา (สมการที่ 2.2) ไฮโด รเจนเปอร์ออกไซด์ ที่เกิดขึ้น จะถูกออกซิไดซ์โดยโลหะในร่างกาย เช่น Fe(II) ให้กลายเป็น hydroxyl radical ปฏิกิริยานี้ เรียกว่า Fenton reaction (สมการที่ 2.3) ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายอย่างมาก เนื่องจากปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดขึ้นได้ในนิวเคลียสของเซลล์ และนำไปสู่การทำลายดีเอ็นเอ นอกจาก นี้ Fe(III) ที่เกิดขึ้นยังสามารถช่วยเร่งปฏิกิริยา Harber-Weiss reaction ระหว่าง superoxide radical และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้เกิดเป็น hydroxyl radical เพิ่มมากขึ้น (สมการที่ 2.4) โดยปฏิกิริยาดังกล่าวก็คือการรวมกันของปฏิกิริยา Fenton กับปฏิกิริยารีดักชันของ Fe(II) โดย superoxide radical ทำให้ Fe(II) กลับคืนมาในระบบพร้อมด้วยโมเลกุลออกซิเจน (สมการที่ 2.5)

$$O_2 + e^- \longrightarrow 2O_2^{\bullet-} \qquad (2.1)$$

$$2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2 \qquad (2.2)$$

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + {}^{\bullet}OH + {}^{-}OH \qquad (2.3)$$

$$2O_2^{\bullet-} + H_2O_2 \xrightarrow{Fe^{3+}} O_2 + {}^{\bullet}OH + {}^{-}OH \qquad (2.4)$$

$$Fe^{3+} + 2O_2^{\bullet-} \longrightarrow Fe^{2+} + O_2 \qquad (2.5)$$

2.2.2.2 แหล่ง ภายนอกร่างกาย (exogeous) โดยร่างกายอาจได้รับ สารเคมี และมลพิษจากสิ่งแวดล้อม ซึ่งสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในเซลล์ได้ทั้งโดยทางตรงและทางอ้อม สารเหล่านี้ได้แก่ มลพิษในอากาศ โอโซน ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ ฝุ่น ควันบุหรี่ แสงแดด ความร้อน รังสีเอกซ์ รังสีแกมมา ไอออนโลหะ อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว หรืออาหารที่มีธาตุเหล็กมากกว่าปกติ (วัชรี หาญยิ่ง, 2549)

2.3 สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant)

สารต้านออกซิเดชันเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ ได้โดย ทาง ตรง หรือ ทางอ้อม และทำหน้าที่ กำจัดอนุมูลให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ การเกิดออกซิเดชัน ไม่ให้ดำเนินต่อไปได้ (วัชรี หาญยิ่ง, 2549)

2.3.1 การแบ่งกลุ่มสารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชันสามารถแบ่งกลุ่มตามแหล่งที่มาได้ 2 กลุ่ม คือ สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ (natural antioxidant) และสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (synthetic antioxidant) (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2537; วัชรี หาญยิ่ง, 2549)

2.3.1.1 สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ เป็นสารต้านออกซิเดชันที่พบได้ในธรรมชาติ สารต้านออกซิเดชันบางชนิดร่างกายได้รับมาจากการบริโภคอาหารที่มีสารเหล่านี้เข้าไป โดยสารต้านออกซิเดชัน จากธรรมชาติสามารถแบ่งได้สองประเภท คือ ประเภทเอนไซม์ และไม่ใช่เอนไซม์ (วัชรี หาญยิ่ง, 2549)

1) เอนไซม์ต้านออกซิเดชัน (enzymatic antioxidants)

เอนไซม์ต้านออกซิเดชัน เป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในเซลล์ของร่างกาย ตามปกติ และพบมากใน ไมโตคอนเดรีย เนื่องจาก ไมโตคอนเดรีย เป็นแหล่งที่ มีการผลิตอนุมูลอิสระออกมา ได้แก่ superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) และ catalase เอนไซม์เป็นกลไกสำคัญขั้นแรกที่ทำหน้าที่ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุลในระดับเซลล์ (โอภา วัชระคุปต์และคณะ, 2537) เอนไซม์ที่สำคัญ ได้แก่ superoxide dismutase เอนไซม์นี้จะทำหน้าที่กำจัด superoxide radical ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระ เริ่มต้นที่เกิดขึ้นในร่างกาย โดยเร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนอนุมูลอิสระให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังสมการที่ 2.6

$$2 \quad O_2^{\bullet -} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} {}_2O_2 + O_2 \qquad (2.6)$$

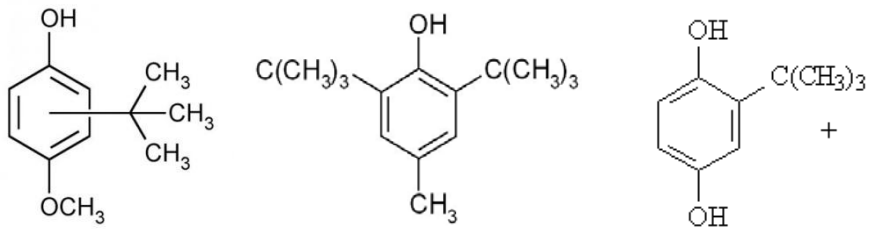
จากปฏิกิริยานี้ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะถูกกำจัดต่อโดยเอนไซม์ catalase และเอนไซม์ glutathione peroxidase ในร่างกาย ต่อไป แต่เอนไซม์ต่างๆ ที่ร่างกายใช้เพื่อต่อต้านออกซิเดชันนั้นมีปริมาณจำกัด ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องอาศัยสารต้าน ออกซิเดชันจากแหล่งภายนอกร่างกายเพื่อรักษาระบบสมดุลต่างๆ ในร่างกายให้ดำเนินต่อไปได้อย่างปกติ

2) สารต้านออกซิเดชันที่ไม่ใช่เอนไซม์ (non-enzymatic antioxidants)

สารต้านออกซิเดชันที่ไม่ใช่เอนไซม์ ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก โทโคฟีรอล คาโรทีนอยด์ (carotenoids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และกลูตาไทโอน (glutathione) เป็นต้น สารเหล่านี้มีบทบาทในการต้าน ออกซิเดชัน ในสิ่งแวดล้อมที่ต่างกัน เช่น กรดแอสคอร์บิก จะทำปฏิกิริยากับ speroxide ในสิ่งแวดล้อมที่เป็นน้ำ ในขณะที่โทโคฟีรอล จะทำปฏิกิริยาในชั้นไขมัน เป็นต้น (วัชรี หาญยิ่ง, 2549)

2.3.1.2 สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์

สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ส่วนใหญ่ถูกพัฒนาขึ้นจากโครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันในธรรมชาติ โดยพัฒนาให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง มีคุณสมบัติทางเคมีและมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีขึ้น โดยสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ส่วนมากมีโครงสร้างแบบสารประกอบฟีนอลิก เช่น BHA (butylated hydroxyanisole), BHT (butylated hydroxytoluene) และ TBHQ (*tert*-butyl hydroquinone) เป็นต้น (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 25 37) ทั้งนี้ BHA เป็นการเรียกรวมกันของโมเลกุล BHA 2 ไอโซเมอร์ คือ2- และ 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole (Madhavi, Singhal and Kulkarni, 1996) โครงสร้างโมเลกุลของ BHA, BHT และ TBHQ แสดงในภาพที่ 2.7



a. b. c.

ภาพที่ 2.7 โครงสร้างโมเลกุลสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ a.) BHA, b.) BHT และ c.) TBHQ
ที่มา : Madhavi et al. (1996)

2.3.2 กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชันสามารถแบ่งกลุ่มตาม กลไกการต้านออกซิเดชันได้ 3 กลุ่ม (Pokorny, Yanishlieva and Gordon, 2001) ดังนี้

2.3.2.1 chain-breaking antioxidant หรือ primary antioxidant

สารต้านออกซิเดชันกลุ่มนี้ มีกลไกต้านออกซิเดชันโดยตรงในกระบวนการเกิดออกซิเดชันของชีวโมเลกุล เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ เป็นต้น สารต้านออกซิเดชันกลุ่มนี้จะกำจัดอนุมูลอิสระผ่านการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่ lipid radical ($R^{\cdot}$) หรือ peroxyl radical

ทำให้เกิดสารประกอบของสารต้านออกซิเดชัน alkyl peroxy antioxidant (ROOA) ซึ่งเป็นสารประกอบที่เสถียรทำให้หยุดลูกโซ่การเกิดออกซิเดชันของชีวโมเลกุลลงได้

กลไกเริ่ม จากสารต้านออกซิเดชันกลุ่มนี้จะยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันในช่วงเริ่มต้นปฏิกิริยา (initiation step) โดยมีหลักการคือ สารต้านออกซิเดชัน หรือ radical scavengers (AH) จะเกิดปฏิกิริยา การกำจัดอนุมูลอิสระ (radical scavenging) โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมของสารต้านออกซิเดชันแก่อนุมูลอิสระ เช่น lipid radical ($R^{\cdot}$), peroxyl radical ($ROO^{\cdot}$) และ alkoxyl radical ($RO^{\cdot}$) จนเกิดเป็นอนุมูลสารต้านออกซิเดชัน ($A^{\cdot}$) ดังสมการที่ 2.7 ถึงสมการที่ 2.9 ตามลำดับ

$$AH + R^{\cdot} \longrightarrow A^{\cdot} + RH \quad (2.7)$$

$$AH + ROO^{\cdot} \longrightarrow A^{\cdot} + ROOH \quad (2.8)$$

$$AH + RO^{\cdot} \longrightarrow A^{\cdot} + ROH \quad (2.9)$$

จากนั้น อนุมูล ของ สารต้านออกซิเดชัน ที่เกิดขึ้นจะเข้ายับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันในช่วง ของปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain propagation step) โดยเกิดการรวมตัวกับอนุมูลอิสระ (radicals trapping) ด้วยการแบ่งอิเล็กตรอนวงนอกให้กับอนุมูลอิสระ เช่น peroxyl radical ($ROO^{\cdot}$) จนได้สารประกอบที่เสถียร ดังสมการที่ 2.10

$$A^{\cdot} + ROO^{\cdot} \longrightarrow ROOA \quad (2.10)$$

สารต้านออกซิเดชันที่จัดอยู่ในกลุ่ม chain-breaking antioxidants ซึ่งทำหน้าที่ให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ เหล่านี้ ได้แก่ กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ฟลาโวนอยด์ และโทโคฟีรอล เป็นต้น

2.3.2.2 preventive inhibitors

สารต้านออกซิเดชันกลุ่มนี้ ทำหน้าที่ชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันทางอ้อมโดยการเข้าแย่งทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นก่อนที่อนุมูลอิสระจะทำให้สารตั้งต้นเหล่านั้นเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้น ด้วยกลไกการกำจัดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxides decomposing) หรือการกำจัดโมเลกุล singlet oxygen (singlet oxygen quenching) สารในกลุ่มนี้ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก และแคโรทีนอยด์ เป็นต้น

สารต้านออกซิเดชัน preventive inhibitors จะทำหน้าที่ยับยั้งออกซิเดชันโดยผ่านกลไกต่างๆ ดังนี้

1) กลไกการกำจัดไฮโดรเปอร์ออกไซด์

สารต้านออกซิเดชัน จะเกิดปฏิกิริยาการให้หรือรับอะตอมไฮโดรเจนจาก hydroperoxide (ROOH) ทำให้เกิดเป็นสารที่มีความเสถียร จึงเป็นการลด ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ในระบบลง สารต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดอะมิโน และกรดฟอสฟอริก เป็นต้น (Pokorny et al., 2001) ตัวอย่างกลไกการกำจัดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ของกรดอะมิโนเป็นดังสมการที่ 2.11

$$R'\text{-}NH_2 + ROOH \longrightarrow R'\text{-}N(OH)R + H_2O \qquad (2.11)$$

2) การกำจัดโมเลกุล singlet oxygen

สารต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ทำหน้าที่กำจัด singlet oxygen ($^1O_2$) ซึ่งเป็นโมเลกุลออกซิเจนที่ได้รับพลังงานจนอยู่ในภาวะ กระตุ้น จนมีสมบัติเป็นสารออกซิไดซ์สูงและเป็นสาเหตุให้เกิด superoxide radical โดยสารต้านออกซิเดชัน กลุ่มนี้สามารถ รับพลังงานจาก singlet oxygen มาที่โมเลกุลจนทำให้ singlet oxygen กลับเป็นออกซิเจนในสภาวะพื้น (ground stage oxygen; $^3O_2$) ซึ่งมีความว่องไวต่ำลง (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2537; Pokorny et al., 2001) ดังสมการที่ 2.12

$$^1O_2 + \text{singlet oxygen quenching} \longrightarrow {}^3O_2 + \text{พลังงาน} \qquad (2.12)$$

สารต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ได้แก่ สารกลุ่ม แคโรทีนอยด์ เช่น บีตา-แคโรทีน และไลโคปีน (lycopene) โดยแคโรทีนอยด์มีกลไกในการกำจัด singlet oxygen โดยการรับพลังงานจาก singlet oxygen จนเกิดเป็นโมเลกุลแคโรทีนอยด์ในสภาวะถูกกระตุ้น (triplet excited carotenoid, $^3Car^*$) (สมการที่ 2.13) จากนั้นพลังงานที่ได้รับมาจะทำให้โมเลกุลเกิดการสั่นสะเทือนและส่งผ่านพลังงานสู่สารละลายแวดล้อม และกลับเป็นแคโรทีนอยด์ในสภาวะพื้น (Pokorny et al., 2001) ดังสมการที่ 2.14

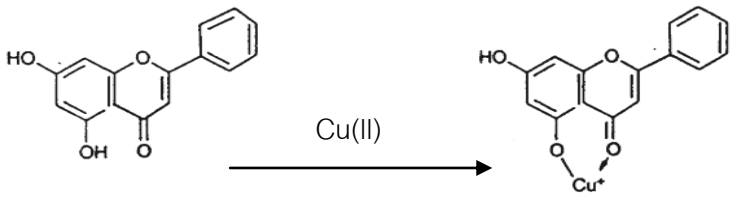
$$^1O_2 + Car \longrightarrow {}^3O_2 + {}^3Car^* \qquad (2.13)$$

$$^3Car^* \quad Car \longrightarrow \text{พลังงานความร้อน} \qquad (2.14)$$

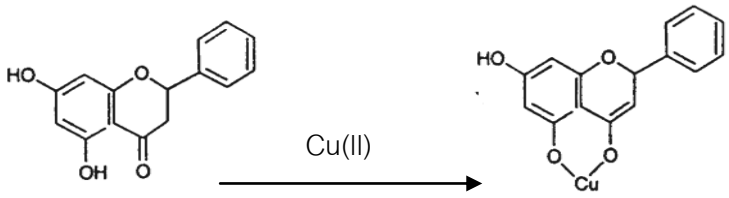
2) metal chelating

สารคีเลต (chelating agent) สามารถทำหน้าที่จับไอออนโลหะ เช่น Fe และ Cu ที่ก่อให้เกิด hydroxyl radicals เข้ามารวมไว้ในโครงสร้า งในรูปของสารประกอบเชิงซ้อน (ภาพที่ 2.8) ไอออนโลหะเหล่านี้ จึงไม่สามารถทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระได้ (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2537)

โดยสารที่ สามารถ ทำหน้าที่เป็นสารคีเลต โลหะ ได้ แก่ โปรตีน ทรานเฟอร์ริน (transferrin) อัลบูมิน (albumin) รวมทั้งสารในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ และ กรดอินทรีย์ เช่น กรดมาลิก (malic acid) เป็นต้น (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2537; Pokorny et al., 2001)



5-hydroxy flavones



flavanones

ภาพที่ 2.8 การเกิด metal chelating ของ 5-hydroxy flavones และ flavanones
ที่มา: ดัดแปลงจาก Pokorny และคณะ (2001)

2.3.2.3 synergism

สารต้านออกซิเดชันในกลุ่ม synergism เป็น สารต้านออกซิเดชันที่ สามารถทำงานร่วมกันในการเสริมฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก ที่ สามารถรีดิวซ์อนุมูลของโทโคฟีรอล ให้กลับมาอยู่ในภาพที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้อีก ทำให้สามารถหมุนเวียน สารต้านออกซิเดชันมาใช้ได้อย่างต่อเนื่อง

2.3.3 สารต้านออกซิเดชันในอาหาร

2.3.3.1 กรดแอสคอร์บิก

กรดแอสคอร์บิก หรือ วิตามินซี มีคุณสมบัติเป็นสารที่มีฤทธิ์รีดิวซ์สูง (สมทรง เลขะกุล และณรงค์ บุณยะรัตเวช, 2542) และจัดเป็นสารต้าน ออกซิเดชัน ประเภทที่ละลายในน้ำ (water-soluble antioxidants) จึงมีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระในพลาสมา อีกทั้งยังเป็นสารต้านออกซิเดชันในกลุ่ม synergism ที่สามารถรีดิวซ์อนุมูล แอลฟา-โทโคฟีรอล (α-tocopherol radical) ที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ และไลโพโปรตีน (lipoproteins) ในทำนองเดียวกัน กรดแอสคอร์บิก ก็สามารถถูกนำกลับมาใช้ใหม่ได้จากปฏิกิริยาของ glutathione (วัชรี หาญยิ่ง, 2549)

กรดแอสคอร์บิก ($AscH_2$) มีหมู่ไฮดร็อกซี 2 หมู่ที่แตกตัวให้ไฮโดรเจนได้ กรดแอสคอร์บิกที่ภาวะความเป็นกรดด่าง ของร่างกายเท่ากับ 7.4 ร้อยละ 99.9 จะอยู่ในรูป ของแอสคอร์เบต ($AscH^-$) ร้อยละ 0.05 อยู่ในรูป $AscH_2$ และร้อยละ 0.04 จะอยู่ในรูป Asc^{-2} การต้านอนุมูลของกรดแอสคอร์บิกในร่างกายที่อยู่ในรูป $AscH^-$ จะสามารถ ให้อิเล็กตรอน ได้ 1 ตัว หลังจากให้ อิเล็กตรอนไปแล้วจะอยู่ในรูป อนุมูลแอสคอร์เบ ต ($AscH^-$) ซึ่งสามารถ ให้ไฮโดรเจนอะตอมได้และเปลี่ยนไปอยู่ในรูปอนุมูลเซมิดีไฮโดรแอสคอร์เบท ($Asc^{\cdot}$) ที่เสถียรมากขึ้นเนื่องจากมีโครงสร้างที่ สามารถเกิด เรโซแนนซ์ ได้ ดังนั้น ปฏิกิริยา การกำจัดอนุมูลอิสระ โดยรวม ของกรดแอสคอร์บิก คือการให้อิเล็กตรอน และอะตอมไฮโดรเจน 1 อะตอมแก่อนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระที่สามารถรับอะตอมไฮโดรเจนจากกรดแอสคอร์บิก ได้แก่ hydroxyl radical, alkoxyl radical และ peroxyl radical

ทั้งนี้แหล่งของ กรดแอสคอร์บิกในธรรมชาติได้แก่ ผัก ผลไม้ต่างๆ เช่น ส้ม มะนาว มะกรูด สตรอเบอร์รี่ มะเขือเทศ และพริกหยวก เป็นต้น (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2537)

2.3.3.2 สารประกอบฟีนอลิก

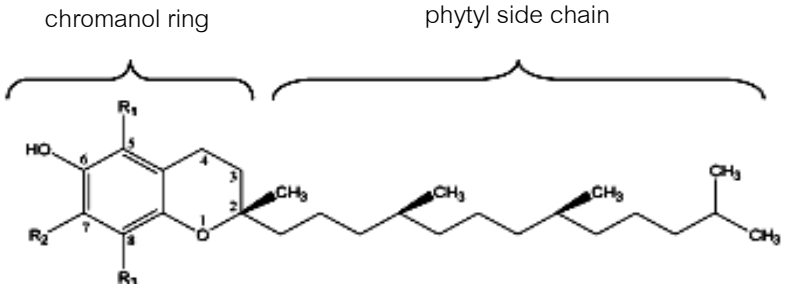
สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้าน ออกซิเดชัน ที่ได้รับจากภายนอก และพบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดงเป็นต้น ในปัจจุบัน พบสารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติมากกว่า 8,000 ชนิด ได้แก่ กรดฟีนอลิก และฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid) รวมทั้ง สาร พอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น ลิกนิน คาเทชิน (catechin) และแทนนิน (tannin) เป็นต้น แม้ว่าปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกันแต่พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวันจะอยู่ในช่วง 20 มิลลิกรัม ถึง 1 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน

ทั้งนี้ สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญต่อร่างกาย เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ต้านการอักเสบ ลดอาการแพ้ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมไปถึงการเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิต ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก (aromatic ring) และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อย 1 หมู่ ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกถือเป็นเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ของพืชผักทั่วไป โดยสารกลุ่มที่สำคัญและพบมากในธรรมชาติ ได้แก่ วิตามินอี ฟลาโวนอยด์ และกรดฟีนอลิก เป็นต้น (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2537)

1) วิตามินอี

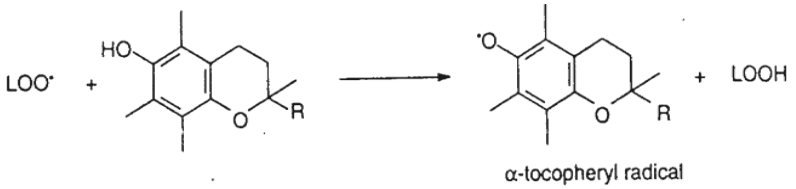
วิตามินอี สามารถแบ่งเป็นสองกลุ่มใหญ่ๆ คือ โทโคฟีรอล (tocopherols) และโทโคไทรอีนอล (tocotrienols) ซึ่งมีไอโซเมอร์ของทั้งสองกลุ่มเป็น α, β, γ และ δ ซึ่งในที่นี้จะขอกล่าวถึงโทโคฟีรอล เป็นหลัก โทโคฟีรอลเป็นสารต้านออกซิเดชัน ที่ละลายได้ในไขมัน (fat-soluble antioxidants) มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยส่วนมีขั้วคือ chromanol ring และส่วนไม่มีขั้วคือ phytyl side chain ดังภาพที่ 2.9



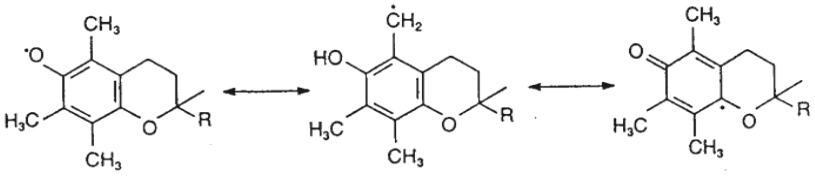
Isomer	R_1	R_2	R_3	Methyl group
α	CH_3	CH_3	CH_3	5,7,8-Trimethyl
β	CH_3	H	CH_3	5,8-Dimethyl
γ	H	CH_3	CH_3	7,8-Dimethyl
δ	H	H	CH_3	8-Monomethyl

ภาพที่ 2.9 โครงสร้างโมเลกุลและไอโซเมอร์ของโทโคฟีรอล
ที่มา: Marsin และคณะ (2005)

โทโคฟีรอล เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญในเยื่อหุ้มเซลล์ เนื่องจากมีโครงสร้างที่ละลาย ในไขมันได้ดี ซึ่งสามารถ ป้องกันการเกิด ออกซิเดชันของไขมันผ่านกลไกการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain-breaking antioxidant) โดยการให้ไฮโดรเจนแก่ lipid radical หรือ lipid peroxy radical ดังภาพที่ 2.10a เมื่อ แอลฟา-โทโคฟีรอล ให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระแล้วจะเกิดเป็นโครสร้างอนุมูล แอลฟา -โทโคฟีรอล ซึ่งมีความเสถียรสูงเนื่องจากสามารถเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (delocalised electron) วนรอบ hromanol ring ได้ (Pokorny et al., 2001) ดังภาพที่ 2.10b



a.) การให้ไฮโดรเจนอะตอมของโคฟีรอลแก่นุมูลอิสระ

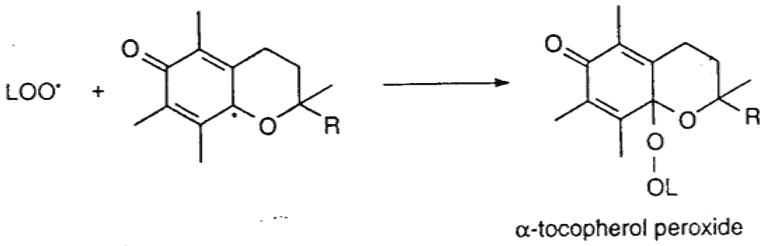


b.) โครงสร้างอนุมูลโทโคฟีรอลที่มีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน

ภาพที่ 2.10 การกำจัดอนุมูลอิสระของโทโคฟีรอล

ที่มา : Pokorny และคณะ (2001)

อนุมูลของโทโคฟีรอลที่เกิดขึ้น เป็นอนุมูลที่มีความไวต่ำลง แต่ยังสามารถเกิด radical trapping กับอนุมูลอิสระ อื่นๆต่อไป ได้ (ภาพที่ 2.1 1) ขณะที่วิตามินซีมีหน้าที่รับอิเล็กตรอนจาก อนุมูลของวิตามินอีจนสามารถเปลี่ยนกลับไปเป็น แอลฟา-โทโคฟีรอล เหมือนเดิมได้ และ อนุมูลวิตามินซี ที่เกิดขึ้น จะถูกขับออกทางปัสสาวะ ตามธรรมชาติ (โอภาวัชระคุปต์ และคณะ, 2537; Pokorny et al., 2001)



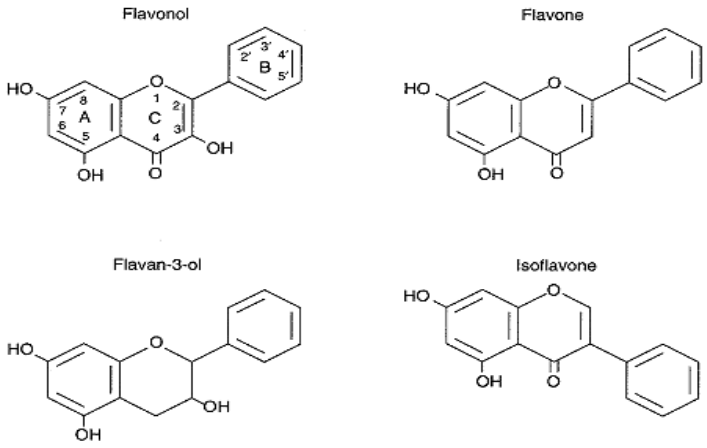
ภาพที่ 2.11 การกำจัดอนุมูลอิสระ (radical trapping) ของอนุมูลโทโคฟีรอล

ที่มา : Pokorny และคณะ (2001)

2) ฟลาโวนอยด์

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบ ฟีนอลิกในกลุ่ม พอลิฟีนอลที่มีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติมากกว่า 4,000 ชนิด พบในผัก ผลไม้ และเครื่องดื่มบางชนิดเช่น ชา กาแฟ เบียร์ ไวน์

และน้ำผลไม้ ความว่องไวในการเป็นสารต้าน ออกซิเดชันของฟลาโวนอยด์ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของโมเลกุล ทั้งนี้ฟลาโวนอยด์มีสูตรโครง สร้างหลักเป็นฟลาแวน (flavan) หรือ 2-phenylbenzopyran ที่ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอมเรียงกันเป็นระบบ $C_6C_3C_6$ โดยมีวงเบนซีน 2 วง คือวง A และ B จับกันด้วยคาร์บอน 3 อะตอม ซึ่งอาจจัดเรียงเกิดเป็นวงที่ 3 (วง C) ดังภาพที่ 2.12



ภาพที่ 2.12 โครงสร้างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์
ที่มา: Catherine และคณะ (1997)

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่มตามความแตกต่างของสูตรโครงสร้างที่ ตำแหน่งวง C ตัวอย่างของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาแวน (flanvanes) ไอโซฟลา แวน (isofavanes) ชาลโคน (chalcones) ฟลาวาโนน (flavanones) ไอโซฟลาวาโนน (isoflavonones) และไดไฮโดรชาลโคน (dihydrochalcones)

กลไกหลักในการออกฤทธิ์ ต้านออกซิเดชัน ของสาร ประกอบ ฟีนอลิ ก ประกอบด้วย 3 กลไก (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2537) ดังนี้

- เป็นสารคีเลต โลหะ โดยฟลาโวนอยด์ ที่มีโครงสร้างเป็น ortho- หรือ di-hydroxy phenolic จะสามารถสร้าง พันธะโควาเลนท์แบบ โคออร์ดิเนต (coordinated covalent bond) กับโลหะหนัก เช่น Cu(II) และ Fe(II) ซึ่งโลหะเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นปฏิกิริยาลูกโซ่การเกิดออกซิเดชันของไขมัน

- เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ในการยับยั้งหรือ กำจัดอนุมูลอิสระ เช่น lipid alkoxyl และ peroxyl radicals เป็นต้น โดยฟลาโวนอยด์ (Flavonoid-OH) จะทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ($R^{\cdot}$) หลังจากที่ฟลาโวนอยด์ถูกออกซิไดซ์แล้วจะได้อนุมูลของฟลาโวนอยด์ หรือ pheoxyl radical (Flavonoid-$O^{\cdot}$) (สมการที่ 2.15) ซึ่งมีความเสถียรสูง เนื่องจากโครงสร้าง เบนซีน ของฟลาโวนอยด์มีการ เคลื่อนย้าย อิเล็กตรอน ได้ตลอดเวลา

ฟลาโวนอยด์ที่มีโครงสร้าง ที่ทำให้เกิดการ เคลื่อนย้าย ของอิเล็กตรอนได้ดีจะมีฤทธิ์ ต้านออกซิเดชัน ดีกว่า (Pokorny et al., 2001)

$$\text{Flavonoid-OH} + R^{\cdot} \longrightarrow \text{Flavonoid-O}^{\cdot} + RH \qquad (2.15)$$

- เป็นสารต้านออกซิเดชันกลุ่ม synergism ทำหน้าที่ รีดิว ซ์อนุมูล โทโคฟีรอลดังสมการที่ 2.16 และ 2.17

$$\alpha\text{-tocopheryl-OH} + R^{\cdot} \longrightarrow \alpha\text{-tocopheryl-O}^{\cdot} + RH \qquad (2.16)$$

$$\alpha\text{-tocopheryl-O}^{\cdot} + \text{Flavonoid-OH} \longrightarrow \alpha\text{-tocopheryl-OH} + \text{Flavonoid-O}^{\cdot} \qquad (2.17)$$

2.4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ด

ที่ผ่านมา มีงานวิจัยสนับสนุนให้เห็ดเป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชัน เนื่องจาก ประกอบด้วยสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ เช่น สารประกอบฟีนอลิก กรดแอสคอร์บิก ไลโคปีน และบีตา-แคโรทีน (Cheung, Cheung and Ooi, 2003; Elmastas et al., 2007; Barros et al., 2008) ทั้งนี้สารต้านออกซิเดชันแต่ละชนิดอาจมีกลไกการต้านออกซิเดชันแตกต่างกันไป การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในเห็ด จึงใช้วิธีการ วิเคราะห์หลายวิธี เพื่อสามารถอธิบายกลไกต้านออกซิเดชันของเห็ดได้อย่างครอบคลุม (Antolovich et al., 2002) โดยวิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดที่นิยมใช้ ได้แก่ reducing power, free radical (DPPH) scavenging activity และ ferrous ion chelating ability รวมทั้งควรวิเคราะห์หาสารต้านออกซิเดชันในเห็ดด้วย ทั้งนี้การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ของเห็ดสามารถใช้วิธีวิเคราะห์ ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) แล้วเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดกับสารต้าน ออกซิเดชัน สังเคราะห์ต่างๆ เช่น กรดแกลลิก BHA หรือ BHT เป็นต้น (Elmastas et al., 2007)

2.4.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ด

การ ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ด จำเป็นวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันใน ด้านต่างๆ หลายวิธีร่วมกัน เพื่อให้สามารถคลอบคลุมกลไกการต้านออกซิเดชันของเห็ด ซึ่งมีวิธีที่นิยมใช้ในการการวิเคราะห์ดังนี้

2.4.1.1 Reducing power

reducing power เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็น ตัวรีดิวซ์ของสารต้านออกซิเดชัน จากการรีดิวซ์ Fe(III) เป็น Fe(II) ด้วยสารต้านออกซิเดชันที่มีสมบัติในการให้อิเล็กตรอน วิธีที่นิยมใช้กับการวิเคราะห์ reducing power ได้แก่

- ferric reducing antioxidant power (FRAP method) อาศัยหลักการที่สารต้านออกซิเดชันในตัวอย่าง สามารถรีดิวซ์สารประกอบ Fe(III)-2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ซึ่งไม่มีสี เปลี่ยนเป็นสารประกอบ Fe(II)-TPTZ ที่มีสี ภายใต้ภาวะที่เป็นกรด ถ้าตัวอย่างมีสารต้านออกซิเดชันที่มีสมบัติเป็น reducing agent จะทำให้เกิดสารประกอบที่มีสีน้ำเงินมากขึ้น เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร จะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงขึ้น
- reducing power ตามวิธีของ Oyaizu (1986) ซึ่งอาศัยหลักการที่สารต้านออกซิเดชันในตัวอย่างสามารถรีดิวซ์ Fe(III) ในสารประกอบ potassium ferricyanide ทำให้สีของสารประกอบนี้เปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองเป็นสีเขียว หรือสีฟ้า และมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร สูงขึ้น

2.4.1.2 DPPH radical scavenging activity

DPPH radical scavenging activity เป็นการวิเคราะห์สมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ซึ่งอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ คือ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) โดย DPPH เป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่มีสีม่วง ดูดกลืนแสงที่ 515 nm สารต้านออกซิเดชันที่มีสมบัติให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระจะสามารถเปลี่ยนอนุมูล DPPH เป็นสารประกอบเชิงซ้อน จึงมีค่าการดูดกลืนแสงต่ำลง โดยเกิดปฏิกิริยาดังสมการที่ 3.16

$$DPPH^{\cdot} + AH \rightarrow DPPH\text{-}H + A^{\cdot} \qquad (3.16)$$

โดยมีงานวิจัยพบว่าเห็ดมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในด้านการกำจัดอนุมูลอิสระสูง Elmastas และคณะ (2007) พบว่าสารละลาย DPPH ที่เติมสารสกัดจากเห็ดมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร และเมื่อนำมาคำนวณร้อยละของการกำจัดอนุมูลอิสระ (scavenging effect) พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ สูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ด ทั้งนี้ Williams , Cuvelier และ Berset (1995) อธิบายว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างอาจแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสารต้านออกซิเดชันในตัวอย่าง ที่มีโครงสร้างที่สามารถให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระได้

2.4.1.3 Metal chelating

metal chelating เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการสร้างพันธะกับไอออนโลหะของสารต้านออกซิเดชัน โดยไอออนโลหะที่นิยมใช้ทดสอบอาจเป็น Fe(II) หรือ Cu(II)

Elmastas และคณะ (2007) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในด้านการคีเลตโลหะของเห็ดป่าบริโภคได้ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Agaricus bisporus, Polyporus squamosus, Pleurotus ostreatus, Lepista nuda, Russula delica, Boletus badius* และ *Verpa conica* โดยใช้วิธีวิเคราะห์ chelating on ferrous ions ตามวิธีของ Dinis, Madeira และ Almeida (1994) ซึ่งอาศัยหลักการที่ สารต้านออกซิเดชัน ที่มีสมบัติคีเลตไอออนโลหะ สามารถสร้างพันธะกับ Fe(II) ในสารประกอบ Ferrozine-Fe(II) ทำให้สารประกอบ Ferrozine-Fe(II) ในระบบลดลง และมีผลให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ 550 นาโนเมตร มีค่าต่ำลง จากรายงานของ Elmastas และคณะ (2007) พบว่าเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์มีความสามารถในการคีเลตไอออน Fe(II) ได้ดี โดย *Russula delica, Boletus badius* และ *Verpa conica* มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในด้าน metal chelating สูงที่สุด

2.4.2 สารต้านออกซิเดชันในเห็ด

เนื่องจากปัจจุบันผู้บริโภคนิยมรับประทานเห็ดมากขึ้นทำให้มีการเพาะเลี้ยงเห็ดในเชิงอุตสาหกรรมสูงขึ้น Barros และคณะ (2008) ศึกษาสารอาหารและ สารโภชนเภสัชของ เห็ดเพาะเลี้ยง เพื่อการค้า ได้แก่ *Boletus edulis , Calocybe gambosa, Cantharellus cibarius, Craterellus cornucopioides* และ *Marasmius oreades* รวมทั้ง เห็ดป่า บริโภคได้ ได้แก่ *Agaricus bisporus, Agaricus silvatic* และ *Agaricus silvicola* สำหรับการศึกษาสารอาหารในเห็ดจากงานวิจัยพบว่าเห็ดป่าบริโภคได้ให้โปรตีนสูงกว่า แต่มีไขมัน น้ำตาล และพลังงาน ต่ำกว่าเห็ดเพาะเลี้ยงทางการค้า ส่วนการศึกษาปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่พบในเห็ด พบว่าเห็ดทั้ง 8 ชนิดมีสารต้านออกซิเดชันได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ไลโคปีน กรดแอสคอร์บิก และ โทโคฟีรอล ซึ่งประกอบด้วย แอลฟา-โทโคฟีรอล บีตา-โทโคฟีรอล และแกมมา-โทโคฟีรอล ตามลำดับ โดยที่เห็ดป่ามีปริมาณ ฟลาโวนอยด์ และโทโคฟีรอล สูง กว่าเห็ดเพาะ เพื่อการค้า แต่มีปริมาณ บีตา-แคโรทีน ไลโคปีน และกรดแอสคอร์บิก ต่ำกว่า

Barros และคณะ (2007 b) ศึกษาสารต้านออกซิเดชันที่พบในเห็ด 3 ชนิดคือ *Leucopaxillus giganteus*, *Sarcodon imbricatus* และ *Agaricus arvensis* จากการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านออกซิเดชันในเห็ดพบว่า สารกระกอบฟีนอลิก เป็นสารต้านออกซิเดชันที่พบมากที่สุด (2.83-6.29 mg/g) รองลงมาคือ กรดแอสคอร์บิก (0.13-0.35 mg/g)

Ribeiro และคณะ (2007) วิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกในเห็ดป่า *Cantharellus cibarius* Fr. พบว่าเห็ดป่ามีสารประกอบฟีนอลิก 6 ชนิดที่พบมากที่สุดคือ 3-,4- และ 5-*O*-caffeoylguinic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid และ rutin นอกจากนี้ยังพบกรดอินทรีย์ 5 ชนิด คือ citric, ascorbic, malic, shikimic และ fumaric acids

ทั้งนี้วิธีการสกัดสารต้านออกซิเดชันจากเห็ดเพื่อให้ได้สารต้านออกซิเดชันที่มีปริมาณและชนิดใกล้เคียงความเป็นจริงที่สุดเป็นสิ่งสำคัญ จึงได้มีงานวิจัยเปรียบเทียบตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารต้านออกซิเดชันจากเห็ด Cheung และคณะ (2003) ศึกษาผลการใช้ตัวทำละลายสกัดสารต้านออกซิเดชันจากเห็ด หอม (*Lentinus edodes*) และเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) เปรียบเทียบการสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย ปิโตรเลียมอีเทอร์ เอทิลอะซิเตท เมทานอล และน้ำ พบว่าการสกัดด้วย เมทานอล และการสกัดด้วยน้ำมี %yield ของสารสกัดมากกว่า การใช้เอทิลอะซิเตท และปิโตรเลียมอีเทอร์ แสดง ให้เห็นว่าเห็ดมีสารประกอบที่ละลายได้ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบมีขั้ว เมื่อนำสารที่สกัดได้แต่ละวิธีมาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน พบว่า การสกัดตัวอย่างด้วยน้ำ สารสกัดที่ได้ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่า การสกัดด้วยเมทานอล เนื่องจากสารสกัดที่ได้มีความเข้มข้นของปริมาณฟีนอลิกสูงกว่า

มีงานวิจัยศึกษาผลการใช้ตัวทำละลายสกัดสารต้านออกซิเดชันจากเห็ด *Hypsizigus marmoreus* โดยเปรียบเทียบการสกัดด้วย เอทานอล น้ำร้อน และน้ำเย็น โดย Lee, Yen, และ Mau (2007) พบว่าการใช้น้ำเย็นสกัดมีค่า reducing power และ metal chelating สูงแต่ DPPH radical scavenging ต่ำกว่าการใช้เอทานอล เนื่องจากน้ำไม่สามารถสกัดเอาสารต้านออกซิเดชัน โทโคฟีรอล และ บีตา-แคโรทีน ที่ละลายในไขมันออกจากตัวอย่างได้ และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารต้านออกซิเดชัน พบว่าการใช้เอทานอลสกัดจะมีสารต้านออกซิเดชันทุกชนิด ในสารสกัดจากเห็ด ขณะที่การใช้น้ำเย็นสกัด พบว่าสารสกัด จากเห็ดที่ได้ มีสารประกอบฟีนอลิก สูง แต่ไม่พบโทโคฟีรอล และบีตา-แคโรทีน ส่วนการใช้น้ำร้อน สกัดมีผลทำให้สูญเสีย กรดแอสคอร์บิก ระหว่างการสกัด

จากงานวิจัยที่รายงานข้างต้น แสดงให้เห็นว่า แอลกอฮอล์ และน้ำสามารถสกัดสารประกอบมีขั้วจากเห็ดได้ในปริมาณสูง โดยปริมาณ สารประกอบ ฟีนอลิกในสารที่สกัดได้มีผลต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ด ถึงแม้ว่าการสกัดโดยน้ำเย็นจะพบว่ามี สารประกอบฟีนอลิกสูง แต่ไม่สามารถสกัดสารต้านออกซิเดชันที่ละลายในไขมัน เช่น โทโคฟีรอล และบีตา-แคโรทีน ออกจากเห็ดได้ นอกจากนี้ การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ด อาจ พิจารณาถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชัน ในตัวอย่างเห็ดที่อาจแตกต่างกันตามระยะการเจริญของเห็ดหรือชิ้นส่วนของเห็ด (Ferreia et al., 2007; Soares et al., 2009) จากงานวิจัยของ Barros, Beptista และ Ferreira

(2007c) ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ *Lactarius piperatus* ในระยะการเจริญ เติบโต 4 ระยะ ได้แก่ ระยะหมวกปิด (immature) ระยะหมวกเปิด (mature) ระยะที่สปอร์เจริญเต็มที่ (mature with mature spore) และระยะเสื่อมสลาย (degraded) พบว่าเห็ดในระยะ หมวกปิดและระยะหมวกเปิดมี สารต้านออกซิเดชันสูงกว่าการเจริญ ในระยะที่สปอร์เจริญเต็มที่และระยะที่เห็ดเริ่มเสื่อมสลาย ทั้งนี้ เนื่องจากเมื่อเห็ดมี การพัฒนาการเจริญเติบโตมาก ขึ้น จะมีการสร้างอนุมูลอิสระ reactive oxygen species มากขึ้นด้วยทำให้สารต้านออกซิเดชันในเห็ดถูกทำลายจนมีปริมาณลดลง

2.5 ผลของการยืดอายุการเก็บรักษาเห็ดโดยการอบแห้ง

โดยทั่วไปแล้วเห็ดสดมีอายุการเก็บรักษา สั้น และเนื่องจากเห็ดมีความชื้นสูงจึงมักเสื่อมเสียได้จากปฏิกิริยาทางเคมี จุลินทรีย์ และกิจกรรมของเอนไซม์ เช่น protease และ polyphenol oxidase ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนและน้ำตาลในเห็ดลดลง เพื่อความสะดวกในการขนส่งและการเก็บรักษา จึงมีการแปรรูปเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเห็ดให้นานขึ้น ซึ่งการอบแห้งเป็นวิธีการแปรภาพที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย (Manzi et al., 2004; Barros et al., 2007d)

การอบแห้งเป็นการถนอมอาหารโดยอาศัยการนำน้ำออกจากเนื้อเยื่ออาหาร เพื่อลด a_w และชะลออัตราการเสื่อมเสียที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาเคมี ชีวเคมีและจุลทรีย์ในอาหาร ความร้อนในการอบแห้งอาจทำให้เกิดการสูญเสียสารระเหยที่ให้กลิ่นของอาหารบางส่วน และอาจเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งทำให้อาหารมีสีน้ำตาล และทำให้เกิดการออกซิเดชันของไขมันได้ ทั้งนี้การอบแห้งมีข้อได้เปรียบที่สำคัญ คือ เป็นวิธีการหนึ่งที่มีต้นทุนการผลิตและการขนส่งต่ำ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้มีน้ำหนักเบาง่ายต่อการขนส่ง ต้องการเนื้อที่ในการบรรจุน้อยลง รวมทั้งมีความคงตัวที่สภาวะการเก็บของอาหารอบแห้งที่ไม่จำเป็นต้องใช้ตู้เย็น (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, 2532; Manzi et al., 2004; Barros et al., 2007d)

นอกจากนี้การอบแห้งที่อุณหภูมิต่ำอาจมีส่วนเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเห็ด Barros และคณะ (2007d) เปรียบเทียบผลของกระบวนการแปรรูปเห็ด *Lactarius deliciosus*, *Macrolepiota mastoidea*, *Macrolepiota procera* และ *Sarcodon imbricatus* ต่อองค์ประกอบเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยพบว่าการอบแห้งเห็ดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เห็ดอบแห้งมีไขมัน โปรตีน และน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำกว่าเห็ดแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจากความร้อนระหว่างการอบแห้งทำให้ปริมาณน้ำในเห็ดลดลง มีผลให้สารละลายในเนื้อเยื่อเห็ดเข้มข้นขึ้น จึงทำให้องค์ประกอบเคมีในเห็ดเกิดปฏิกิริยาเคมีได้ง่ายและทำให้เกิดการสูญเสียสารอาหารในเห็ด แต่การศึกษาผลของการอบแห้งต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชันพบว่าสารสกัดจากเห็ดมี

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าเห็ดแช่แข็ง เนื่องจากความร้อนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผนังเซลล์ ทำให้สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้มากขึ้น ซึ่งส่งผลให้เห็ดอบแห้งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าเห็ดแช่แข็งด้วย

ทั้งนี้การอบแห้งที่อุณหภูมิสูงอาจมีผลให้เกิดการสูญเสียสารต้านออกซิเดชันในอาหารได้ โดยงานวิจัยของ Larrauri, Ruperez และ Suara-Calixto (1997) ที่ศึกษาการอบแห้งเปลือกองุ่นแดงที่ 60 100 และ140 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าปริมาณพอลิฟีนอลในสารสกัดลดลง การลดลงของพอลิฟีนอลในตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งด้วยอุณหภูมิสูง อาจเกิดจากการปลดปล่อย bound phenolic compounds หรือเกิดจากการสลายตัวของลิกนินซึ่งส่งผลให้เกิดการปลดปล่อยอนุพันธ์ของกรดฟีนอลิก และ/หรือ เกิดจากการสลายตัวเนื่องจากความร้อนของสารประกอบฟีนอลิก ทั้งนี้ในงานวิจัยพบว่าปริมาณสารพอลิฟีนอลของตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่ออบแห้งตัวอย่างด้วยอุณหภูมิสูงที่ 100 และ 140 องศาเซลเซียส ดังนั้นการสลายตัวเนื่องจากความร้อนจึงน่าจะเป็นกลไกหลักของการสูญเสียพอลิฟีนอลในตัวอย่าง

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการวิจัย

เห็ดป่า ที่นำมาวิเคราะห์ในงายวิจัยเป็นเห็ด ที่นิยมบริโภคและพบมากทางภาคเหนือของประเทศไทย จำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ เห็ดหล่มขาว (*Russula delica* Fr.) เห็ดโคน (*Termitomyces sp.*) เห็ดไข่ห่านขาว (*Amanita princeps* Corner et Bas.) เห็ดไข่ห่านเหลือง (*Amanita calyptroderma* Ark. et Bal.) เห็ดแดง (*Russula lepida* Fr.) เห็ดห้า *(Phaeogyroporus braunii* [Bres.] Sing.) และเห็ดเผาะ (*Astreaus sp.*) ตัวอย่างเห็ดป่าสดซื้อจากตลาดท้องถิ่นของจังหวัดลำปางในช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนตุลาคมในปี พ.ศ. 2552-2553

3.2 สารเคมี

Boric acid	Univar	Australia	A.R. grade
2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl	Sigma	Germany	A.R. grade
Di-sodium hydrogen phosphate	Univar	Australia	A.R. grade
Ferrozine	Sigma	Germany	A.R. grade
Folin-Ciocalteu phenol reagent	Carlo Erba	Italy	A.R. grade
Gallic acid	Sigma	Germany	A.R. grade
Hydrochloric acid	Mallinckrodt	USA	A.R. grade
Iron (II) chloride (tetrahydrate)	Merck	Germany	A.R. grade
Iron (III) chloride (anhydrous)	Sigma	Germany	A.R. grade
Methanol	Merck	Germany	A.R. grade
Petroleum ether	Lab Scan	Poland	A.R. grade
Potassium ferriccyanide	Merck	Germany	A.R. grade
Selenium reagent mixture	Merck	Germany	A.R. grade
Sodium acetate (trihydrate)	Merck	Germany	A.R. grade
Sodium carbonate	Univar	Australia	A.R. grade
Sodium hydroxide	Univar	Australia	A.R. grade
Sulfuric acid	Merck	Germany	A.R. grade

Trichloroacetic acid	Merck	Germany	A.R. grade
Acetonitrile	Fisher Scientific	UK	HPLC grade
Waters AccQ-Tag eluent A conc.	Waters	USA	HPLC grade
Waters AccQ.Fluor Reagent Kit	Waters	USA	HPLC grade
- AccQ.Fluor Borate Buffer			
- AccQ.Fluor Reagent Powder			
- AccQ.Fluor Reagent Diluent			
Amino acid hydrolysate standard	Waters	USA	HPLC grade

3.3 อุปกรณ์

ตู้อบลมร้อน (Memmert รุ่น W350, Germany)

ตู้อบลมร้อนแบบถาด (บริษัทเหยี่ยวเฮงจำกัด รุ่น HA-100S, ประเทศไทย)

เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)

อุปกรณ์วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนและไนโตรเจน (Protein and nitrogen analyzer)

- Digestion unit (BUCHI Labortechnik AG รุ่น K-424, Switzerland)
- Scrubber unit (BUCHI Labortechnik AG รุ่น B-414, Switzerland)
- Distillation Unit (VELP scientific รุ่น UDK 127, USA)

เตาเผา (Muffle furnace, Fisher Scientific รุ่น Isotemp, USA)

เครื่อง Soxhlet (Gerhardt รุ่น HC61, Germany)

เครื่องระเหยสุญญากาศ (Eyela รุ่น SB-651, Japan)

เครื่องปั๊มสุญญากาศ (GAST รุ่น G583X, Michigan, U.S.A.)

เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Waters, Milford, Massachusetts, USA) ประกอบด้วย

- Auto sampler (Waters รุ่น 2707, Milford, Massachusetts, USA)
- UV/Visible Detector (Waters รุ่น 2489, Milford, Massachusetts, USA)
- AccQ-Tag column ขนาด 3.9 x 150 มิลลิเมตร (Watersรุ่น WAT052885, Milford, Massachusetts, USA)

pH meter (Horiba รุ่น F-21, Kyoto, Japan)

Warring blender (OTTO รุ่น BE-120, Beijing, China)

อ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking Water Bath) (GFL รุ่น 1092, Burgwedel, Germany)

เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator) (Eyela รุ่น SB-651, Tokyo, Japan)

Spectrophotometer (Thermo Spectronic® รุ่น Genesys 10UV, Massachusetts, USA)

Vortex mixer (Labnet รุ่น VX100, Woodbridge, New Jersey, USA)

3.4 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

จำแนกสายพันธุ์ของเห็ดป่าสดตามขั้นตอนที่ 3.4.1 แล้วเก็บรักษาตัวอย่างโดยการนำเห็ดป่าสดมาล้างทำความสะอาด ตัดแต่งเอาส่วนที่เน่าเสียทิ้ง แล้วหั่นเห็ดตามแนวยาวของดอกเห็ดให้มีความหนา 0.5 เซนติเมตร เรียงเห็ดที่หั่นแล้วลงบนตะแกรงเหล็กที่มีถาดอะลูมิเนียมรองรับ จากนั้นนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด (บริษัทเหยี่ยวเฮงจำกัด รุ่น HA-100S, ประเทศไทย) โดยใช้อุณหภูมิการอบแห้ง 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง (พรพรรณ สังขวดี , 2531) บรรจุเห็ดป่าอบแห้งที่ได้ลงในถุงอะลูมิเนียมลามิเนต ถุงละ 100 กรัม และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่เกิน 30 วัน เพื่อใช้วิเคราะห์ต่อไป

3.4.1 ศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเห็ดป่าบริโภคได้

จำแนกสายพันธุ์เห็ดป่าสดที่ซื้อจากตลาดท้องถิ่นในจังหวัดลำปางตามขั้นตอนดังนี้

3.4.1.1 จำแนกเห็ดตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดป่าตัวอย่าง โดย พิจารณาจากโครงสร้างมหทรรศน์ของเห็ด ได้แก่ รูปร่างหมวกดอก ก้านดอก ครีบ ฟัน รู และลักษณะพื้นผิวของ ดอกเห็ด สีผิวภายนอก ขนาดของหมวกดอก ก้านดอก และ ลักษณะอื่นๆ เช่น เกล็ด ขน วงแหวน ปลอกหุ้ม ความเป็นเมือกของผิวเมื่อเปียกน้ำ เป็นต้น จากนั้น เปรียบเทียบกับข้อมูลลักษณะทางกายภาพ ที่รายงานโดย ฒาลิศา ยุวอมรพิทักษ์ และเกศสุคนธ์ มณีวรรณ์ (2541) เพื่อจำแนกเห็ดออกเป็นกลุ่มต่างๆ ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา

3.4.1.2 จำแนกเห็ดตามหลักอนุกรมวิธาน

จำแนกเห็ดตามหลักอนุกรมวิธานโดยใช้ระบบของ Alexopoulos และคณะ (1996) ตามที่รายงานในสารานุกรมเห็ดประเทศไทย (ราชบัณฑิตยสถาน , 2550) และหนังสือเห็ดเมืองไทย (อนงค์ จันทร์ศรีกุล, 2541) เพื่อจำแนกสายพันธุ์เห็ดป่าตัวอย่าง

3.4.2 วิเคราะห์ องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดป่าบริโภคได้

ตัวอย่างเห็ดป่าสดแต่ละชนิดใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ส่วนตัวอย่างเห็ดป่าอบแห้งที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.4 ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน เถ้า ไขมัน เส้นใยหยาบ แร่ธาตุ และคาร์โบไฮเดรต โดยมีวิธีวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

3.4 .2.1 ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC 934.01(2006) (ภาคผนวก ก.1)

3.4.2.2 ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AOAC 955.04 (2006) (ภาคผนวก ก.2)

3.4.2.3 ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC 942.05 (2006) (ภาคผนวก ก.3)

3.4.2.4 ปริมาณไขมัน ตามวิธีของ AOAC 920.39 (2006) (ภาคผนวก ก.4)

3.4.2.5 ปริมาณเส้นใยหยาบ ตามวิธีของ AOAC 962.09 (2006) (ภาคผนวก ก.5)

3.4 .2.6 ปริมาณธาตุ เหล็ก แคลเซียม โพแทสเซียม และฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC 984.27 (2006) (ภาคผนวก ก.6)

3.4 .2.7 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยการคำนวณ (ภาคผนวก ก.7)

ข้อ 3.4.2.1 – 3.4.2.7 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดอะมิโนระหว่างสายพันธุ์เห็ดป่าโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT)

3.4.2.8 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

นำตัวอย่างเห็ดป่าที่ผ่านการอบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ตามขั้นตอนที่ 3.4 มาสกัดด้วยเมทานอล ในสัดส่วนตัวอย่างอบแห้งต่อเมทานอล เท่ากับ 1 : 10

ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดจากเห็ด (ภาคผนวก ก.8) ดัดแปลงจากวิธีของ Elmastas และคณะ (2007) โดยปั่นเห็ดอบแห้งด้วย Waring blender ที่ความเร็วสูงสุดนาน 30 วินาที จากนั้นนำเห็ดที่ปั่นละเอียดแล้ว ร่อนผ่านตะแรงขนาด 20 mesh ชั่งน้ำหนักเห็ดปั่นละเอียดที่ได้ 10 กรัม บรรจุลงในขวดรูปชมพู่แล้วเติม เมทานอล ลงไป 100 มิลลิลิตร จากนั้นปิดปากภาชนะด้วยแผ่นพาราฟิล์ม แล้วนำไปเขย่าในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารสกัดที่ได้ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำสารสกัดมาระเหยเมทานอลออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดที่เข้มข้นขึ้น 20 เท่า บรรจุสารสกัดจากเห็ดที่ได้ในขวดสีชา แล้วเก็บที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่เกิน 7 วัน

วิเคราะห์ปริมาฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้ Folin-Ciocalteu phenol reagent ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Wrolstad (2005) (ภาคผนวก ก. 9) และแสดงผลในค่า gallic acid

equivalents (GAE) โดยคำนวณจากกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 นาโนเมตร กับปริมาณกรดแกลลิก (0.58-8.8 มิลลิโมลาร์)

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดระหว่างสายพันธุ์เห็ดป่าโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.4.3 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของ เห็ดป่าบริโภคได้

วิเคราะห์ ปริมาณกรดอะมิโน 17 ชนิด (ภาคผนวก ก.10) ในตัวอย่างเห็ดป่าที่ผ่านการอบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 ชั่วโมง กรดอะมิโนที่วิเคราะห์ ได้แก่ กรดแอสพาร์ติก กรดกลูทามิก ซีรีน ไกลซีน ฮิสทิดีน อาร์จินีน ทรีโอนีน แอลานีน โพรลีน ซิสเทอีน ไทโรซีน แวลีน เมไทโอนีน ไลซีน ไอโซลูซีน ลูซีน และฟีนิลแอลานีน โดยวิธีการย่อยด้วยกรดและ วิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Waters, Milford, Massachusetts, USA) ตามวิธี AccQ.-Tag method (Astephen, 1993) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.4.3.1 ย่อยตัวอย่างเห็ดป่าบริโภคได้ด้วยกรด

ย่อยตัวอย่างเห็ดป่าด้วยเทคนิคการย่อยด้วยกรด (vacuum hydrolysis) โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์ (ที่มีฟีนอล 0.1 % w/v ผสมอยู่) ย่อยที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปรับค่า pH ของสารสกัดจากเห็ดที่ผ่านการย่อยด้วยกรดให้ได้ค่า pH ประมาณ 2-3 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 6 โมลาร์ แล้วกรองสารสกัดที่ได้ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 สารสกัดจากเห็ดที่ได้สามารถเก็บที่อุณหภูมิ 6-10 องศาเซลเซียส ได้นาน 7 วัน

3.4.3.2 ผลิตอนุพันธ์ของกรดอะมิโนในสารสกัดจากเห็ด

ปิเปตสาร สกัดจากตัวอย่างที่ย่อยด้วยกรด จากข้อ 3.4.3.1 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วเติม Waters AccQ. fluor borate buffer (Waters, USA) 60 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติม Waters AccQ. reagent ที่เตรียมไว้ 20 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปิดปากหลอดทดลองด้วยแผ่นพาราฟินให้สนิท แล้ว ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 นาที จากนั้นนำหลอดทดลองที่บรรจุสารสกัดจากตัวอย่างไป ให้ความร้อน ด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 55.0 ± 0.1 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที สารละลาย ตัวอย่าง ที่ได้นำไปวิเคราะห์ หาปริมาณกรดอะมิโนด้วยเครื่อง HPLC ต่อไป

3.4.3.3 วิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโน 17 ชนิดของเห็ดป่าบริโภคได้

นำสารละลายในข้อ 3.4.3.2 ไป วิเคราะห์ หาปริมาณกรดอะมิโน 17 ชนิด ด้วยเครื่อง HPLC (Waters, Milford, Massachusetts, USA) โดยใช้ AccQ-Tag column ขนาด 3.9 x 150 มิลลิเมตร (Waters รุ่น WAT052885, Milford, Massachusetts, USA) ควบคุมอุณหภูมิการวิเคราะห์ที่ 37 องศาเซลเซียส โดย ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) คือ Eluent A (อัตราส่วนของ AccQ.Tag Eluent A Concentrate ต่อ น้ำ Milli-Q เท่ากับ 1:10) และ Eluent B (acetonitrile 60%, v/v) โดยมีอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และควบคุมการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ด้วยระบบเกรเดียนต์ (gradient) ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ในระบบเกรเดียนต์ที่เวลาต่าง ๆ

เวลา (นาที)	**วัฏภาคเคลื่อนที่**	
	Eluent A (สารละลายเจือจางของ AccQ.Tag Eluent A)	**Eluent B** (acetonitrile 60%, v/v)
0	100	0
0.5	98	2
15	93	7
19	90	10
28	80	20
30	72	28
35	68	32
40	60	40
45	0	100
50	100	0

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดอะมิโนระหว่างสายพันธุ์เห็ดป่าโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.4.3.4 วิเคราะห์หาปริมาณทริปโทเฟนในตัวอย่างเห็ดป่าบริโภคได้

นำตัวอย่างเห็ดป่าที่ผ่านการอบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ตามขั้นตอนที่ 3.4 มาวิเคราะห์หาปริมาณทริปโทเฟนในตัวอย่าง (ภาคผนวก ก.11)

3.4.4 ประเมินคุณภาพโปรตีนจากเห็ดป่าบริโภคได้ (ภาคผนวก ก.12)

ประเมินคุณภาพโปรตีนในตัวอย่างเห็ดจากค่า AAS โดยค่า AAS ของอาหารชนิดใดๆ มีค่าเท่ากับค่า AAS ของกรดอะมิโนจำเป็นที่มีน้อยที่สุดในอาหารชนิดนั้น ค่า AAS ของกรดอะมิโนจำเป็นคำนวณจากสมการที่ 3.1

$$AAS = \frac{\text{ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างต่อ 1 กรัมโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน)}}{\text{ปริมาณกรดอะมิโนอ้างอิงต่อ 1 กรัมโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน)}} \quad (3.1)$$

ปริมาณกรดอะมิโนอ้างอิงกำหนดโดย Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation (2002) ตัวอย่างเห็ดที่มีค่า AAS เท่ากับ 100 หมายถึงโปรตีนในตัวอย่างมีสัดส่วนของกรดอะมิโนจำเป็นในปริมาณเพียงพอกับความต้องการของร่างกาย และตัวอย่างอาหารชนิดนั้นจัดเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูง

3.4.5 วิเคราะห์ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดป่าบริโภคได้

เตรียมสารสกัดจากเห็ดตามวิธีในข้อ 3.4.2.8 นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้มาวิเคราะห์ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้

3.4.5.1 DPPH radical scavenging activity

วิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Blois (2002) (ภาคผนวก ก.1 3) และคำนวณความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (radical scavenging activity, %RSA) ตามสมการที่ 3.2

$$\%RSA = [(A_{DPPH} - A_S)/ A_{DPPH}] \times 100 \quad (3.2)$$

เมื่อ A_{DPPH} คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH เริ่มต้น

A_S คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH เมื่อเติมสารสกัดจากตัวอย่าง

จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA กับปริมาณสารสกัดจากเห็ด แล้วรายงานผลในค่า EC_{50} ซึ่งหมายถึงปริมาณของสารสกัดจากเห็ด ที่สามารถลดอนุมูลอิสระ DPPH เริ่มต้นลงได้ร้อยละ 50 หรือมี %RSA เท่ากับร้อยละ 50

เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดป่ากับสารมาตรฐานกรดแกลลิกโดยใช้ค่า EC_{50} และเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดป่ากับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก โดยคำนวณจากค่า AEAC (ascorbic acid equivalent antioxidant capacity) ตามวิธีของ Chan, Lim และ Chew (2007) ซึ่งแสดงถึงปริมาณของสารสกัดจากเห็ดที่

สามารถลดอนุมูลอิสระ DPPH เริ่มต้น ลงได้ร้อยละ 50 เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก โดยค่า AEAC คำนวณจากสมการที่ 3.3

AEAC (mg AA/100 g) = [EC_{50} ของ ascorbate / EC_{50} ของตัวอย่าง] x 10^5 (3.3)

เมื่อ ค่า EC_{50} ของ ascorbate เท่ากับ 0.00387 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Chan et al., 2007)

3.4.5.2 Reducing power

วิเคราะห์ความสามารถในการีดิวซ์ ไอออน Fe(III) ของสารสกัดจากเห็ด โดยวิธีวิเคราะห์ดัดแปลงจากวิธีของ Elmastas และคณะ (2007) (ภาคผนวก ก.14) จากนั้นนำผลการวิเคราะห์ reducing power ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงของสารละลายกับปริมาณสารสกัดจากเห็ด แล้วคำนวณหาค่า EC_{50} ซึ่งได้จากปริมาณสารสกัดจากเห็ด ณ จุดที่สารละลายมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.5 โดยค่า EC_{50} หมายถึง ความสามารถในการรีดิวซ์ Fe(III) ได้ร้อยละ 50 จากปริมาณไอออนเริ่มต้น

เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดกับสารมาตรฐาน trolox โดยคำนวณจากกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงของสารละลายที่ 700 นาโนเมตรกับปริมาณ trolox แล้วรายงานผลในรูปของ trolox equivalent (TE) ในหน่วยไมโครโมล trolox ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

3.4.5.3 Chelating on ferrous ions

วิเคราะห์ความสามารถในการคีเลต Fe(II) ของสารสกัดจากเห็ด โดยวิธีวิเคราะห์ดัดแปลงจากวิธีของ Elmastas และคณะ (2007) (ภาคผนวก ก.15) นำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณหาค่า chelating effect (%) ตามสมการที่ 3.4

Chelating effect (%) = [(A_0 - A_1)/ A_0] x 100 (3.4)

เมื่อ A_0 คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารประกอบ ferrozine-Fe(II) เริ่มต้น

A_1 คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายดังกล่าวเมื่อเติมสารสกัดจากเห็ด

สร้างกราฟระหว่างค่า chelating effect กับปริมาณสารสกัดจากเห็ด แล้วรายงานความสามารถในการคีเลต Fe(II) ของสารสกัดจากเห็ดด้วยค่า chelating effect ของเห็ดแต่ละชนิดที่ปริมาณเห็ดสารสกัดจากเห็ดเท่ากัน

ข้อ 3.4.5.1 - 3.4.5.3 วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติของค่า EC_{50}, AEAC, TE และ chelating effect (%) ระหว่างสายพันธุ์เห็ดป่าโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

3. 4.6 ศึกษาผลของการอบแห้งต่อองค์ประกอบเคมีและ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ด ป่าบริโภคได้

คัดเลือกสายพันธุ์เห็ดที่มีปริมาณโปรตีน กรดอะมิโน และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุดมา 3 ชนิด จากนั้นเตรียมตัวอย่างเห็ดอบแห้งตามขั้นตอนที่ 3.4 แล้วบรรจุเห็ดป่าอบแห้งที่ได้ลงในถุงอะลูมิเนียมลามิเนต ถุงละ 100 กรัม และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ค่าภายใน 30 วัน หลังการอบแห้ง

นำเห็ดป่าสดและเห็ดป่าอบแห้งมาวิเคราะห์องค์ประกอบเคมี และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ตามขั้นตอนดังนี้

3.4.6.1 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน

วิเคราะห์กรดอะมิโน 18 ชนิด ได้แก่ กรดแอสพาร์ติก กรดกลูทามิก ซีรีน ไกลซีน ฮิสทิดีน อาร์จินีน ทรีโอนีน แอลานีน โพรลีน ซิสเทอีน ไทโรซีน แวลีน เมไทโอนีน ไลซีน ไอโซลูซีน ลูซีน ฟีนิลแอลานีน และทริปโทเฟน ตามวิธีในข้อ 3.4.3 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดอะมิโนระหว่างตัวอย่างโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.4.6.2 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ตามวิธีในข้อ 3.4.2.8 โดยเตรียมสารสกัดจากตัวอย่างเห็ดป่าสดและเห็ดป่าอบแห้ง ในสัดส่วนของตัวอย่างเห็ดต่อเมทานอลเท่ากับ 1 : 10

3.4.6.3 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity (ตามวิธีในข้อ 3.4.5.1), reducing power (ตามวิธีในข้อ 3.4.5.2) และ chelating on ferrous ions (ตามวิธีในข้อ 3.4.5.3)

ข้อ 3.4.6.2-3.4.6.3 วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ค่า EC_{50}, AEAC, TE และ chelating effect (%) ระหว่างตัวอย่างโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเห็ดป่าบริโภคได้

เห็ดป่าที่บริโภคได้จากภาคเหนือที่ใช้ในการวิจัยจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ เห็ดหล่มขาว (*Russula delica* Fr.) เห็ดโคน (*Termitomyces sp.*) เห็ดไข่ห่านขาว (*Amanita princeps* Corner et Bas.) เห็ดไข่ห่านเหลือง (*Amanita calyptroderma* Ark. et Bal.) เห็ดแดง (*Russula lepida* Fr.) เห็ดห้า *(Phaeogyroporus braunii* [Bres.] Sing.) และเห็ดเผาะ (*Astreaus sp.*) เห็ดทั้งหมดเก็บในเดือนมิถุนายนถึงตุลาคมในปี พ.ศ. 2552-2553

4.1. 1 การจำแนกเห็ดตามลักษณะสัณฐานวิทยา

จากการจำแนกตามลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้นทำให้ทราบว่าเห็ดทั้ง 7 ชนิด สามารถแบ่งกลุ่ม ได้ 3 กลุ่ม ตามที่ฒาลิศา ยุวอมรพิทักษ์ และเกศสุคนธ์ มณีวรรณ์ (2541) อธิบายไว้ ดังนี้

4.1.1.1 กลุ่มเห็ดก้อน (Puff ball)

เป็นเห็ดที่มีรูปร่างค่อนข้างกลม เส้นใยและสปอร์เจริญอยู่ภายในก้อน เห็ดที่อยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ เห็ดเผาะ มีลักษณะทางกายภาพคือ **หมวกเห็ด** เป็นก้อนกลมขาวหม่น ขนาด 1.5-3.5 เซนติเมตร ภายในเป็นถุงกลมสีขาวหม่น ขนาด 1.3-3.4 เซนติเมตร ลักษณะคล้ายมีดอกตูมอยู่ภายใน

4.1.1.2 กลุ่มเห็ดครีบ (Gill fungi)

เป็นเห็ดที่มีรูปร่างคล้ายร่ม ใต้หมวกดอกมีลักษณะเป็นครีบซึ่งเป็นที่อยู่ของสปอร์ เห็ดที่อยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ เห็ดหล่มขาว เห็ดโคน เห็ดไข่เหลือง เห็ดไข่ห่านขาว และเห็ดแดง โดยมีลักษณะทางกายภาพ ดังนี้

เห็ดหล่มขาว (*Russula delica* Fr.) **หมวกเห็ด** รูปกระทะคว่ำ สีขาวนวลหรือน้ำตาลอ่อน เส้นผ่านศูนย์กลาง 8-20 เซนติเมตร กลางหมวกเป็นแอ่ง เมื่อเป็นดอกอ่อนขอบดอกม้วนงอลง มีผิวเรียบ **ครีบ** สีขาวหรือขาวนวล ยึดติดกับก้าน **ก้าน** มีสีขาวหรือสีขาวนวล ผิวเรีย บ ก้าน โค้งเรียวเล็กกว่าตอนบนเล็กน้อยยาว 2.5-6 เซนติเมตร เส้นผ่า นศูนย์กลาง 2-4 เซนติเมตร **เนื้อใน**เห็ดสีขาว เปราะและหักง่าย

เห็ดโคน (*Termitomyces sp.*) **หมวกเห็ด** แผ่ออกเกือบแบนราบ มีสีขาวนวล เส้นผ่านศูนย์กลาง 6-14 เซนติเมตร กลางหมวกมีสีน้ำตาลและนูนเล็กน้อย มีขนหรือเกล็ด

สีขาวนวลกระจายตัวออกไปยังขอบ **ครีบ**สีขาวนวลไม่ยึดติดกับก้าน **ก้าน**รูปทรงกระบอก สีขาวนวล ยาว 4-14 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2เซนติเมตร มีผิวเรียบ

เห็ดไข่ห่านหลือง (*Amanita calyptroderma*) **หมวกเห็ด**รูปไข่ สีน้ำตาลอมเหลือง เมื่อบานจะแผ่ออกเป็นทรงกระทะคว่ำ เส้นผ่านศูนย์กลาง 6-12 เซนติเมตร ผิวเรียบเป็นมัน มีเมือกที่ผิว ขอบหมวกเป็นริ้ว **ครีบ** สีขาวนวลไม่ยึดติดกับก้าน **ก้าน** สีขาวนวล ยาว 5-10 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 1-3 เซนติเมตร ภายในสีขาว มีรูกลวง มีแอนนูลัสเป็นแผ่นบางสีขาว

เห็ดไข่ห่านขาว (*Amanita princeps*) **หมวกเห็ด**รูปไข่ สีขาวนวล เห็ดที่บานจะแผ่ออกเป็นทรงกระทะคว่ำ เส้นผ่านศูนย์กลาง 6-20 เซนติเมตร ผิวเรียบเป็นมัน มีเมือกลื่น ขอบหมวกเป็นริ้ว **ครีบ**สีขาวนวลไม่ยึดติดกับก้าน **ก้าน**ทรงกระบอกสีขาวนวล ยาว 10-20 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 เซนติเมตร ภายในสีขาว มีรูกลวง มีแอนนูลัสเป็นแผ่นบางสีขาว

เห็ดแดง (*Russula lepida* Fr.) **หมวกเห็ด**รูปกระทะคว่ำสีแดงสด มีขนาด 3-10 เซนติเมตร ผิวด้านบนเรียบเป็นมันมีสีแดงเข้ม ตรงกลางเว้า **ครีบ**อยู่ใต้หมวกเรียงเป็นรัศมีรอบก้านค่อนข้างถี่ มีสีเหลืองอ่อนหรือขาวนวล **ก้าน** ดอกมีสีขาวปนชมพูยาวประมาณ 5-6 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร มีผิวเรียบ ก้านดอกสีขาว เมื่อดอกแก่ภายในก้านจะกลวงและเปราะหักง่าย

4.1.1.3 กลุ่มเห็ดผึ้ง (Bloetus)

เป็นเห็ดที่มีลักษณะหมวกดอกเหมือนร่มคล้ายเห็ดครีบ แต่ใต้หมวกดอกมีลักษณะเป็นรูคล้ายรังผึ้งซึ่งเป็นที่อยู่ของสปอร์ เห็ดที่อยู่ในกลุ่มนี้ คือ เห็ดห้า (*Phaeogyroporus braunii* [Bres.] Sing.) **หมวกเห็ด**เป็นรูปกระทะคว่ำ ขนาดเส้นผ่า นศูนย์กลาง 12-30 เซนติเมตร ตรงกลางหมวกเว้าเล็กน้อย ผิวมันสีน้ำตาลเข้มอมเหลือง ใต้หมวกมีปากรูสำหรับปล่อยสปอร์ เนื้อในเห็ดมีสีเหลืองเมื่อถูกตัดหรือถูกอากาศจะเปลี่ยนเป็นสี น้ำตาล **ก้าน**สีน้ำตาลอมเหลืองยาว 4-8 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 3-4 เซนติเมตร โคนก้านโป่งเป็นกระเปาะ ผิวก้านหยาบเป็นร่อง มีสีน้ำตาลเช่นเดียวกับหมวก

4.1.2 การจำแนกเห็ดตามหลักอนุกรมวิธาน

การจำแนกเห็ดตามหลักอนุกรมวิธานโดยใช้ระบบของ Alexopoulos และคณะ (1996) พบว่าเห็ดทั้งหมดจัดอยู่ในลำดับชั้นดังต่อไปนี้

อาณาจักร (Kingdom) Myceteae (Fungi)

หมวด (Division) Amastigomycota

หมวดย่อย (Subdivision) Basidiomycotina

ชั้น (Class) Basidiomycetes

ชั้นย่อย (Subclass) Holobasidiomycetidae

ลำดับชั้นทางอนุกรมวิธานของเห็ดทั้ง 7 ชนิดที่นำมาวิจัยแสดงในตารางที่ 4.1 โดยพบว่าเห็ดที่ใช้ในการวิจัยทั้งหมดจัดอยู่ในชั้นย่อย Holobasidiomycetidae นอกจากนี้ตามระบบของ Alexopoulos และคณะ (1996) สามารถแบ่งกลุ่มเห็ดในชั้นย่อยนี้ได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

4.1.2.1 Hymenomycetes

Hymenomycetes เป็นกลุ่มของเห็ดที่สามารถพบ hymenium เมื่อสปอร์เจริญเต็มที่แล้ว และส่วนห่อหุ้มสปอร์ (basidiocarp) มีโอกาสสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมภายนอกก่อนที่สปอร์จะเจริญเต็มที่ (Alexopoulos et al., 1996)

เห็ดป่าที่ใช้ในการวิจัยในกลุ่มนี้ ได้แก่ เห็ดหล่มขาว เห็ดโคน เห็ดไข่ห่านเหลือง เห็ดไข่ห่านขาว เห็ดแดง และเห็ดห้า โดยลำดับชั้นทางอนุกรมวิธานของเห็ดเหล่านี้แสดงในตารางที่ 4.1

4.1.2.2 Gasteromycetes

เห็ดในกลุ่ม Gasteromycetes จะไม่พบ hymenium เมื่อสปอร์เจริญเต็มที่แล้ว และส่วนห่อหุ้มสปอร์จะถูกเก็บอยู่ในเปลือกหุ้มภายในดอกเห็ดจนกว่าสปอร์จะเจริญเต็มที่ (Alexopoulos et al., 1996) โดยพบว่าเห็ดเผาะเป็นเห็ดป่าที่ใช้ในการวิจัยเพียงชนิดเดียวที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ อนุกรมวิธานของเห็ดเผาะแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ความสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธานของเห็ดที่นำมาวิจัย

ลำดับชั้นทางอนุกรมวิธาน	ชื่อวิทยาศาสตร์ [1]	ชื่อสามัญ [1]	ชื่อท้องถิ่น [1]
Hymenomycetes			
อันดับ Agricales			
วงศ์ Amanitaceae			
สกุล Amanita	*Amanita calyptroderma* Ark. et Bal.	Coccora	เห็ดไข่เหลือง
	Amanita princeps Corner. et Bas.	-	เห็ดไข่ห่านขาว
สกุล Termitomyces	*Termitomyces sp.*	-	เห็ดโคน, เห็ดโคนจอมปลวก

ตารางที่ 4.1 ความสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธานของเห็ดที่นำมาวิจัย (ต่อ)

ลำดับชั้นทางอนุกรมวิธาน	ชื่อวิทยาศาสตร์[1]	ชื่อสามัญ[1]	ชื่อท้องถิ่น[1]
วงศ์ Boletaceae			
สกุล Boletus	*Phaeogyroporus braunii* [Bres.]Sing.[2] (ชื่อพ้อง *Boletus portentosus*)	Bolete	เห็ดห้า, เห็ดตับเต่า
วงศ์ Russulaceae			
สกุล Russula	*Russula delica* Fr.	Milk White-Russula	เห็ดหล่มขาว
	Russula lepida Fr.[2]	-	เห็ดแดง
Gasteromycetes			
อันดับ Lycoperdales			
วงศ์ Astraeaceae			
สกุล Astreus	*Astreaus hygrometricus* [Pers.] Morg.	Earthstars	เห็ดเผาะ, เห็ดถอบ

[1] ราชบัณฑิตยสถาน (2550), [2] Sanmee และคณะ (2003)

4.2 การวิเคราะห์ องค์ประกอบเคมีของเห็ดป่าบริโภคได้

ตัวอย่างเห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือเป็นเห็ดที่มีการเจริญเติบโตตามธรรมชาติและสามารถเก็บเกี่ยวได้เฉพาะฤดูกาล เห็ดบางชนิดมีปริมาณน้อยในช่วงเวลาของการวิจัย ทำให้ไม่สามารถรวบรวมเห็ดป่ามาวิจัยได้ครบทุกชนิด ทั้งนี้การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีได้แก่ ความชื้น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เส้นใยหยาบ และเถ้า ของ เห็ดหล่มขาว เห็ดโคน เห็ดไข่ห่านเหลือง เห็ดแดง เห็ดห้า และเห็ดเผาะ แสดงในตารางที่ 4.2

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมี (ตารางที่ 4.2) พบว่าเห็ดป่าบริโภคได้แต่ละชนิดมีความชื้นสูง อยู่ในช่วง 80.37-93.96 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าและไขมันพบว่า เห็ดไข่ห่านเหลืองมีปริมาณเถ้าและไขมันสูงที่สุด คือ 5.85 และ 10.74 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณเถ้าและไขมันของเห็ดชนิดอื่นอยู่ในช่วง 4.03 - 9.13 และ 1.47 - 5.89 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเห็ดป่าบริโภคได้พบว่าอยู่ในช่วง 49.50-59.74 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยหยาบพบว่าเห็ดป่าบริโภคได้มีเส้นใยหยาบอยู่ในช่วง 4.19-12.90 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยที่เห็ดโคนจัดเป็นเห็ดป่าบริโภคได้ที่มีปริมาณเส้นใยหยาบสูงกว่าเห็ดชนิดอื่น

ตารางที่ 4.2 ปริมาณความชื้น (กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด) โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เส้นใยหยาบ และเถ้า (กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) ของเห็ดป่าบริโภคได้

ตัวอย่าง	องค์ประกอบทางเคมี					
	ความชื้น	โปรตีน	คาร์โบไฮเดรต	ไขมัน	เส้นใยหยาบ	เถ้า
เห็ดหล่มขาว	80.30 ^{d} ± 0.06	26.63^{b} ± 0.40	59.74^{a} ± 1.82	1.47^{b} ± 0.31	5.26^{b} ± 1.78	6.88^{b} ± 0.04
เห็ดโคน	91.52^{ab} ± 0.49	25.63^{c} ± 0.10	55.72^{a} ± 0.97	1.83^{b} ± 0.41	12.90^{a} ± 0.78	4.03^{c} ± 0.11
เห็ดไข่ห่านเหลือง	93.96^{a} ± 0.09	26.72^{b} ± 0.40	49.50^{b} ± 2.41	5.85^{a} ± 0.74	7.17^{b} ± 0.90	10.74^{a} ± 1.18
เห็ดแดง	87.47^{bc} ± 5.79	18.84^{d} ± 0.06	*	*	*	*
เห็ดห้า	90.55^{abc} ± 0.11	27.57^{a} ± 0.08	57.14^{a} ± 1.38	1.95^{b} ± 0.09	4.19^{b} ± 1.58	9.13^{a} ± 0.04
เห็ดเผาะ	86.97^{d} ± 0.19	18.35^{d} ± 0.23	*	*	*	*

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ค.1-ค.6)

* ไม่ได้นำมาวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างมีจำกัด

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของเห็ดป่าบริโภคได้ (ตารางที่ 4.2) พบว่าเห็ดป่ามีโปรตีนอยู่ในช่วง 18.35-27.57 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยเห็ดเผาะและเห็ดแดงมีปริมาณโปรตีนต่ำที่สุด ขณะที่เห็ดห้ามีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นพบว่า ปริมาณโปรตีนของเห็ดห้าและเห็ดแดงสูงกว่าปริมาณโปรตีนในเห็ด *Pleurotus portentosus* และ *Russula lepida* ที่ศึกษาโดย Sanmee และคณะ (2003) ซึ่งมีโปรตีนอยู่ร้อยละ 24.2 และ 18.3 โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ แต่จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และเถ้าของเห็ดที่นำมาวิจัยพบว่ามีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Kalac (2009) ที่ศึกษาองค์ประกอบเคมีของเห็ดป่าบริโภคได้ในแถบยุโรป 15 สายพันธุ์พบว่าเห็ดป่าเหล่านี้มีโปรตีนอยู่ในช่วง 16.5-59.4 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง มีปริมาณคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และเถ้าอยู่ในช่วง 16.4-75.0, 0.4-27.5 และ 3.5-12.1 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

ความหลากหลายของปริมาณองค์ประกอบเคมีของเห็ดอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ สายพันธุ์ สารอาหารในแหล่งที่เห็ดเจริญ ระยะเวลาการเก็บตัวอย่าง และฤดูกาล เป็นต้น (Barros et al., 2007a) นอกจากนี้ปริมาณโปรตีนอาจแตกต่างกันในเห็ดแต่ละสายพันธุ์ โดย Braaksma และ Schaap (1996) อธิบายว่าการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Kjeldahl method) ปริมาณโปรตีนที่ได้อาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) และปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ได้มาจากโปรตีน (non-protein nitrogen) ของเห็ดแต่ละชนิด

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเห็ดป่าที่นำมาวิจัย จัดได้ว่าเห็ดป่าเป็นอาหารที่มีโปรตีนใกล้เคียงกับพืชตระกูลถั่วที่นิยมนำมาบริโภค เช่น ถั่วลันเตา (pea; *Pisum sativum* L.) ถั่วแขก (common bean; *Phaseolus vulgaris* L.) ถั่วชิกพี (chickpea; *Cicer arietinum* L.) และถั่วเลนทิล (lentil; *Lens culinaris* Med.) ถั่วเหล่านี้มีปริมาณโปรตีนอยู่ร้อยละ 18.5- 21.9 โดยน้ำหนักแห้ง (Ermetice et al., 2006) และปริมาณโปรตีนของเห็ดป่าที่นำมาวิจัยพบว่ามีปริมาณสูงกว่าโปรตีนในธัญพืชบางชนิดที่รายงานโดย Shewry (2007) ซึ่งพบว่าธัญพืชที่ใช้เป็นอาหารหลัก เช่น ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ และข้าวเจ้า มีปริมาณโปรตีนอยู่ร้อยละ 7-22, 8-15 และ 5.8-7.7 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ นอกจากนี้เห็ดยังประกอบด้วยแร่ธาตุที่สำคัญหลายชนิด โดยแร่ธาตุที่เป็นส่วนประกอบหลักในเห็ดได้แก่ โพแทสเซียม แคลเซียม เหล็ก และฟอสฟอรัส (Turkekul et al., 2004) การวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุที่มีในเห็ด 5 ชนิด ได้แก่ เห็ดหล่มขาว เห็ดไข่ห่านขาว เห็ดไข่ห่านเหลือง เห็ดห้า และเห็ดเผาะ แสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณแร่ธาตุของเห็ดป่าบริโภคได้ (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

ชนิดตัวอย่าง	ปริมาณแร่ธาตุ			
	เหล็ก	แคลเซียม	โพแทสเซียม	ฟอสฟอรัส
เห็ดหล่มขาว	3.43	16.83	577.32	144.63
เห็ดไข่ห่านขาว	13.93	39.24	3,169.50	600.45
เห็ดไข่ห่านเหลือง	15.35	81.19	2,532.81	618.24
เห็ดห้า	7.42	48.06	2,175.33	596.47
เห็ดเผาะ	14.54	85.84	2,201.84	701.25

การวิเคราะห์แร่ธาตุในเห็ด ได้แก่ เหล็ก แคลเซียม โพแทสเซียม และฟอสฟอรัส (ตารางที่ 4.3) พบว่าเห็ดป่าบริโภคได้มีปริมาณธาตุโพแทสเซียมสูงที่สุด (577.32-3,169.50 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) ส่วนแร่ธาตุที่พบรองลงมาคือ ฟอสฟอรัส (144.63-701.25 มิลลิกรัมต่อ100 กรัมน้ำหนักแห้ง) แคลเซียม (16.83-85.84 มิลลิกรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) และเหล็ก (3.43-15.35 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ

ปริมาณแร่ธาตุที่พบสอดคล้องกับรายงานของ Bano และ Rajarathnam (1982) ที่ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของเห็ดในเขตร้อน 4 ชนิด ได้แก่ *Pleurotus ostreatus, Agaricus campestris, Volvariella diplasia* และ *Lentinus edodes* ซึ่งพบว่าเห็ดเหล่านี้มีปริมาณโพแทสเซียมสูงที่สุด (1,246-4,762 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และแร่ธาตุที่พบรองลงมาคือ ฟอสฟอรัส (650-1,429 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) แคลเซียม (23-118 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และเหล็ก (15.2-30.0 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ เช่นเดียวกับรายงานของ Kalac (2009) ที่พบว่าเห็ดป่าในแถบยุโรปมีปริมาณแร่ธาตุที่พบมากคือ โพแทสเซียม (2,000-4,000 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และแร่ธาตุที่พบรองลงมาคือ ฟอสฟอรัส (500-1,000 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) แคลเซียม (10-50 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และเหล็ก (3-15 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ

ทั้งนี้เห็ดโคนและเห็ดแดงได้มีรายงานการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุดังกล่าวอยู่ก่อนแล้ว โดย สุนันท์พงษ์สามารถ และคณะ (2528) รายงานว่าเห็ดโคน (*Termitomyces* sp.) มีปริมาณโพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แคลเซียม และเหล็ก ในปริมาณ 2,877.66, 898.48, 57.46 และ 20.22 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Sanmee และคณะ (2003) รายงานว่าเห็ดแดง (*Russula lepida*) มีธาตุโพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แคลเซียม และเหล็ก ในปริมาณ 3,530, 400, 10 และ 22.8 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุ 4 ชนิดที่พบมากในเห็ดแสดงให้เห็นว่าเห็ดป่าบริโภคได้เป็นแหล่งของโพแทสเซียมและฟอสฟอรัส ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่มีหน้าที่สำคัญในร่างกาย โดยโพแทสเซียมมีส่วนช่วยในการควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ ระบบประสาท และกล้ามเนื้อ ส่วนฟอสฟอรัสเป็นแร่ธาตุที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูกและฟัน (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549) การบริโภคเห็ดป่าเหล่านี้จึงทำให้ร่างกายได้รับแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกาย ทั้งนี้ปริมาณแร่ธาตุที่แตกต่างกันของเห็ดอาจเนื่องจากความแตกต่างทางสายพันธุ์และแหล่งอาหารที่เห็ดเจริญอยู่ (Kalac, 2009) โดยเห็ดที่มีปริมาณโพแทสเซียมและฟอสฟอรัสสูงมักพบได้ในเห็ดที่เจริญเติบโตโดยอาศัยอยู่บนซากขอนไม้ (Sanmee et al., 2003)

สารโภชนเภสัช (nutraceutical) ที่สำคัญชนิดหนึ่งในเห็ดคือสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งจัดเป็นสารเมแทบอไลท์ (secondary metabolite) ซึ่งมีหน้าที่ปกป้องผนังเซลล์พืชจากการทำลายของรังสียูวี เกลือ และเชื้อโรคต่างๆ ทั้งนี้สารประกอบฟีนอลิกมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์เนื่องจากมีส่วนในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โดยการปกป้องเซลล์จากการทำลายของอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันที่อาศัยการทำงานของเอนไซม์ เช่น superoxide dismutase และ catalase ในร่างกาย (Yaltirak et al., 2009)

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดป่าบริโภคได้ 7 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับเห็ดหอม (*Lentinus edodes*) ที่เพาะเพื่อการค้าซึ่งผลการวิเคราะห์รายงานในรูปกรดแกลลิก (Gallic Acid Equivalents; GAE) แสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดป่าบริโภคได้

ชนิดตัวอย่าง	**ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด** (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
เห็ดหล่มขาว	$17.91^{b} \pm 1.33$
เห็ดโคน	$12.15^{c} \pm 0.46$
เห็ดไข่ห่านขาว	$7.64^{de} \pm 0.72$
เห็ดไข่ห่านเหลือง	$8.11^{d} \pm 0.39$
เห็ดแดง	$6.14^{e} \pm 0.65$
เห็ดห้า	$19.81^{a} \pm 1.60$
เห็ดเผาะ	$20.63^{a} \pm 0.07$
เห็ดหอม	$6.97^{de} \pm 0.22$

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ค.7)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ตารางที่ 4.4) ของเห็ดป่าบริโภคได้และเห็ดหอมพบว่าอยู่ในช่วง 6.14 – 20.63 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ทั้งนี้เห็ดไข่ห่านขาว เห็ดไข่ห่านเหลือง และเห็ดแดง เป็นเห็ดป่าที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดต่ำที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดหอม ที่เพาะเพื่อการค้า พบว่าเห็ดป่าบางชนิด เช่น เห็ดไข่ห่านขาว เห็ดไข่ห่านเหลือง และเห็ดแดง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดใกล้เคียงกับเห็ดหอม ($p \geq 0.05$) นอกจากนี้พบว่าเห็ดเผาะและเห็ดห้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด คือ 20.63 และ19.81 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ งานวิจัยหลายฉบับพบว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันหลักของเห็ด (Cheung et al., 2003; Elmastas et al., 2007; Barros et al., 2007c)

Barros และคณะ (2008) ศึกษาเปรียบเทียบสารอาหารและ สารโภชนเภสัชของ เห็ดป่าบริโภคได้และเห็ดที่เพาะเพื่อการค้ารวม 8 สายพันธุ์พบว่าเห็ด ป่ามีสารต้านออกซิเดชัน สูงกว่าเห็ดเพาะเลี้ยง โดยสารต้านออกซิเดชันที่พบมากที่สุดคือสารประกอบฟีนอลิก (0.88-8.94 มิลลิกรัมต่อกรัม) สารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในเห็ด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (0.67-3.40 มิลลิกรัมต่อกรัม) และโทโคฟีรอล (0.18-10.65 ไมโครกรัมต่อกรัม) ส่วนสารต้านออกซิเดชันชนิดอื่นที่พบในเห็ด ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก (0.03-0.84 มิลลิกรัมต่อกรัม) บีตา-แคโรทีน (1.95-13.56 ไมโครกรัมต่อกรัม) และไลโคปีน (0.54-5.13 ไมโครกรัมต่อกรัม) ซึ่งพบในปริมาณเล็กน้อยในเห็ดบางชนิด จากงานวิจัยของ Ribeiro และคณะ (2007) ที่ศึกษากรดฟีนอลิกในเห็ด *Fistulina hepatica* หรือ beefsteak mushroom โดยการสกัดด้วยน้ำร้อนพบว่าสารสกัดจากเห็ดประกอบด้วยกรดเอลลาจิก (ellagic acid) สูงที่สุด คือร้อยละ 49.7 ของกรดฟีนอลิกทั้งหมด รองลงมาคือ กรดคาเฟอิก และ *p*-coumaric acids ที่พบร้อยละ 24.0 และ 26.7 ของกรดฟีนอลิกทั้งหมดตามลำดับ

Barros และคณะ (2009) ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดจากเห็ดป่า 16 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยเมทานอลที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง แล้ววิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกโดยใช้เครื่อง HPLC/DAD จากการวิเคราะห์พบว่าเห็ดป่าประกอบด้วยกรดฟีนอลิก ได้แก่ protocatechuic acid, *p*-hydroxybenzoic และ *p*-coumaric acids และไอโซเมอร์ของกรดวานิลลิก (vanillic acid isomer) อีก 2 ชนิด โดย *p*-hydroxybenzoic เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบในเห็ดส่วนใหญ่มีปริมาณอยู่ในช่วง 14.00-70.13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ทั้งนี้การใช้ตัวทำละลายสกัดต่างออกไปยังคงพบว่าเห็ดมีกรดฟีนอลิกในกลุ่มเดียวกับงานวิจัยของ Barros และคณะ (2009) โดย Vaz และคณะ (2011) ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดจากเห็ดป่า 17 สายพันธุ์ ซึ่งสกัดด้วยอะซิโตน (อะซิโตนต่อน้ำเท่ากับ 80 :20) ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง แล้ววิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกด้วยเครื่อง HPLC/DAD

พบว่าเห็ดป่าประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ protocatechuic acid, *p*-hydroxybenzoic acid และ *p*-coumaric acid โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเหล่านี้อยู่ในช่วง 1.38-67.62, 2.04-41.92 และ 8.65-79.34 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ทั้งนี้พบว่า *p*-hydroxybenzoic มีอยู่ในเห็ดส่วนใหญ่ ขณะที่ *p*-coumaric พบในเห็ด 2 สายพันธุ์เท่านั้น ความแตกต่างของชนิดสารประกอบฟีนอลิกที่พบในตัวอย่างเห็ดอาจขึ้นอยู่กับความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกหลังการเก็บตัวอย่าง ซึ่งอาจทำให้เกิดการสูญเสียสารประกอบฟีนอลิกได้จากปฏิกิริยาของเอนไซม์ และการเกิดออกซิเดชัน นอกจากนี้วิธีการสกัดและตัวทำละลายที่เลือกใช้ก็มีผลต่อชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ตรวจพบด้วยเช่นกัน (Vaz et al., 2011)

อาจสรุปได้ว่า เห็ดป่าบริโภคได้ เป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันที่สำคั ญ คือ สารประกอบฟีนอลิก จากการวิจัยหลายฉบับพบว่า สารประกอบฟีนอลิกที่ พบมากในเห็ดได้แก่ สารในกลุ่มกรดฟีนอลิก เช่น protocatechuic acid และ *p*-hydroxybenzoic acid สารในกลุ่ม hydroxycinnamic acid เช่น *p*-coumaric acid และกรดคาเฟอิก รวมทั้งสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นต้น

4.3 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของ เห็ดป่าบริโภคได้

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของเห็ดป่าบริโภคได้ ในตารางที่ 4.2 พบว่าเห็ดป่าเหล่านี้เป็นอาหารที่มีโปรตีนสูง ทั้งนี้คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนในอาหารขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของกรดอะมิโนจำเป็นที่อยู่ในโปรตีน ดังนั้นการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนจึงมีความสำคัญในการประเมินคุณภาพโปรตีนของตัวอย่างเห็ดป่า ผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด ของเห็ดหล่มขาว เห็ดไข่ห่านขาว เห็ดไข่ห่านเหลือง เห็ดแดง เห็ดห้า และเห็ดเผาะ ด้วยเครื่อง HPLC แสดงในตารางที่ 4.5

การวิเคราะห์ ชนิดและปริมาณ กรดอะมิโนทั้งหมด (ตารางที่ 4.5) พบว่ากรดกลูทามิกเป็นกรดอะมิโน ที่พบในเห็ดป่าบริโภคได้มากที่สุด รองลงมาคือกรดแอสพาร์ติก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหลายฉบับที่พบว่าเห็ดส่วนมากเป็นแหล่งของกรดกลูทามิกและกรดแอสพาร์ติก (Chirinang and Intarapichet, 2009; Matila et al., 2002; Manzi et al., 1999) กรดอะมิโนทั้งสองชนิดนี้จัดเป็นกรดอะมิโนที่ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ดีของเห็ด เมื่อเห็ดได้รับความร้อนในระหว่างการอบแห้งกรดอะมิโนทั้งสองชนิดนี้สามารถเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ทำให้ได้สารที่ให้กลิ่นรสในเห็ด (Hwang, Hartman and Ho, 1995)

กรดกลูทามิกและกรดแอสพาร์ติกยัง จัดเป็นสารชูรสตามธรรมชาติ (monosodium glutamate-like; MSG-like) ที่พบในเห็ดทั่วไป มีสมบัติให้รสชาติเฉพาะตัวของเห็ดและทำให้เกิดรสชาติกลมกล่อม (umami taste) ในอาหาร นอกจากนี้กรดอะมิโนอาร์จินีน ฮิสทิดีน ไอโซลูซีน

ลูซีน เมไทโอนีน ฟีนิลแอลานีน และแวลีน จัดเป็นกรดอะมิโนที่ให้รสขมของเห็ด ส่วนกรดอะมิโนแอลานีน ไกลซีน ซีรีน และทรีโอนีน เป็นกรดอะมิโนที่ให้รสหวานของเห็ด (Tsai et al., 2009)

ตารางที่ 4.5 ปริมาณกรดอะมิโน 18 ชนิด ของเห็ดป่าบริโภคได้ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

กรดอะมิโน	เห็ดหล่มขาว	เห็ดไข่ห่านขาว	เห็ดไข่ห่านเหลือง	เห็ดแดง	เห็ดห้า	เห็ดเผาะ
Asp	3.80 ^{d} ± 0.14	3.25 ^{e} ± 0.07	5.02 ^{c} ± 0.31	4.72 ^{c} ± 0.22	19.57 ^{a} ± 0.22	18.89 ^{b} ± 0.21
Ser	0.84 ^{d} ± 0.02	0.88 ^{d} ± 0.13	2.02 ^{c} ± 0.27	1.90 ^{c} ± 0.13	6.41 ^{a} ± 0.12	3.48 ^{b} ± 0.19
Glu	2.82 ^{e} ± 0.26	3.06 ^{e} ± 0.07	5.56 ^{d} ± 0.33	6.32 ^{c} ± 0.18	22.42 ^{b} ± 0.19	43.64 ^{a} ± 0.11
Gly	1.84 ^{e} ± 0.04	2.03 ^{e} ± 0.15	2.47 ^{d} ± 0.18	3.03 ^{c} ± 0.23	10.49 ^{a} ± 0.11	7.19 ^{b} ± 0.12
His	1.17 ^{e} ± 0.03	1.94 ^{d} ± 0.05	2.02 ^{d} ± 0.06	2.53 ^{c} ± 0.23	6.03 ^{a} ± 0.12	5.31 ^{b} ± 0.05
Arg	2.79 ^{e} ± 0.07	3.02 ^{e} ± 0.08	4.94 ^{d} ± 0.15	4.90 ^{c} ± 0.22	9.64 ^{a} ± 0.15	7.23 ^{b} ± 0.11
Thr	1.29 ^{e} ± 0.00	2.04 ^{d} ± 0.07	2.94 ^{c} ± 0.34	2.71 ^{c} ± 0.28	9.52 ^{a} ± 0.18	8.52 ^{b} ± 0.07
Ala	2.20 ^{d} ± 0.16	2.83 ^{c} ± 0.05	2.73 ^{c} ± 0.05	2.84 ^{c} ± 0.14	15.50 ^{a} ± 0.12	10.48 ^{b} ± 0.16
Pro	2.44 ^{c} ± 0.25	2.09 ^{e} ± 0.05	2.41 ^{d} ± 0.16	2.67 ^{c} ± 0.13	13.73 ^{a} ± 0.12	7.54 ^{b} ± 0.04
Cys	-	-	-	-	-	4.53 ± 0.13
Tyr	0.32 ^{d} ± 0.02	0.51 ^{d} ± 0.15	0.74 ^{d} ± 0.01	0.85 ^{c} ± 0.15	11.03 ^{a} ± 0.07	7.79 ^{b} ± 0.10
Val	1.59 ^{f} ± 0.11	2.03 ^{e} ± 0.02	2.34 ^{d} ± 0.21	2.64 ^{c} ± 0.15	11.04 ^{a} ± 0.19	5.89 ^{b} ± 0.10
Met	-	-	-	-	4.54 ^{a} ± 0.02	3.54 ^{b} ± 0.07
Lys	1.20 ^{e} ± 0.10	2.08 ^{d} ± 0.09	1.95 ^{d} ± 0.06	2.68 ^{c} ± 0.13	9.77 ^{a} ± 0.21	5.86 ^{b} ± 0.22
Ile	1.46 ^{e} ± 0.03	1.77 ^{d} ± 0.04	2.04 ^{c} ± 0.11	2.16 ^{c} ± 0.13	10.06 ^{a} ± 0.20	5.51 ^{b} ± 0.03
Leu	1.72 ^{e} ± 0.07	2.93 ^{d} ± 0.14	3.61 ^{c} ± 0.30	3.10 ^{d} ± 0.15	16.16 ^{a} ± 0.17	9.58 ^{b} ± 0.09
Phe	2.00 ^{e} ± 0.05	2.70 ^{d} ± 0.05	4.76 ^{c} ± 0.23	3.72 ^{c} ± 0.15	9.62 ^{a} ± 0.18	6.81 ^{b} ± 0.12
Trp	1.78 ^{e} ± 0.08	3.06 ^{b} ± 0.01	2.91 ^{d} ± 0.00	3.74 ^{a} ± 0.12	3.01 ^{c} ± 0.14	1.25 ^{e} ± 0.01
รวม	28.35	36.24	48.45	50.51	188.55	162.81

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ค.8), - หมายถึง ตรวจไม่พบปริมาณสารดังกล่าว

กรดอะมิโนบางชนิดที่มีหมู่ฟังก์ชันแบบ imidazole เช่น ฮิสทิดีน สามารถเกิดการคีเลตโลหะ (metal chelating) โดยใช้อิเล็คตรอนคู่โดดเดี่ยวของ อะตอมในหมู่ฟังก์ชันจับกับโลหะ ได้ ส่วนกรดอะมิโนที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็น thiol (R-SH), sulfide (R-S-R) และ free amine ($R\text{-}NH_2$) เช่น ซิสเทอีน เมไทโอนีน และกลูทามีน สามารถ กำจัด hydroperoxide ด้วยการให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนอะตอม (Elias, Kellerby and Decker, 2008; Pokorny et al., 2001) จากผลการ

ทดลอง (ตารางที่ 4.5) ชี้ให้เห็นว่าเห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือที่นำมาวิเคราะห์บางชนิด มีกรดอะมิโนที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ได้แก่ ฮิสทิดีน ซิสเทอีน และเมไทโอนีน เป็นต้น นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดพบว่า เห็ดห้า และเห็ดเผาะ มีปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดสูงที่สุด คือ 188.45 และ 165.99 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนเห็ดที่มีปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดรองลงมาคือ เห็ดแดง เห็ดไข่ห่านเหลือง เห็ดไข่ห่านขาว และเห็ดหล่มขาว ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดกับปริมาณโปรตีนของเห็ดป่าบริโภคได้พบว่า เห็ดห้ามีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดสอดคล้องกับปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด แต่เห็ดบางชนิดมีปริมาณโปรตีนไม่สอดคล้องกับปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด โดยเห็ดแดงและเห็ดเผาะพบว่ามีปริมาณโปรตีนต่ำที่สุด (18.84 และ 18.35 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) แต่มีปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดค่อนข้างสูง (50.51 และ 165.99 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) เมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดชนิดอื่น ขณะที่เห็ดหล่มขาวพบว่ามีปริมาณโปรตีนสูง (26.63 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) แต่มีปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดต่ำที่สุด (29.57 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ทั้งนี้การหาปริมาณโปรตีน ที่ได้จากการคำนวณด้วยปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) กับค่า conversion factor ในตัวอย่างเห็ด ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดส่วนหนึ่งจะได้จากไนโตรเจนที่ไม่ได้มาจากโปรตีน เช่น ไนโตรเจนจากไคติน และกรดนิวคลิอิก ซึ่งไนโตรเจนที่ไม่ได้มาจากโปรตีนเหล่านี้ อาจมีปริมาณแตกต่างกันไปในเห็ดแต่ละชนิด ทำให้การคำนวณปริมาณโปรตีนของเห็ดทุกชนิดด้วยค่า conversion factor เท่ากับ 4.38 เพียงค่าเดียวอาจส่งผลให้ปริมาณโปรตีนไม่สอดคล้องกับปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด โดยค่า conversion factor สำหรับเห็ดอาจใช้ได้หลายค่าทั้งนี้ขึ้นกับปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ได้มาจากโปรตีนของเห็ดแต่ละชนิด (Matila et al., 2002)

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนพบว่าเห็ดทุกชนิดมีกรดอะมิโนจำเป็นและไม่จำเป็นแตกต่างกันไป และเนื่องจากคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนในอาหารขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของกรดอะมิโนจำเป็น โดยโปรตีนที่มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นอยู่ในสัดส่วนที่เหมาะสมกับความต้องการของร่างกายจัดว่าเป็นโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนในอาหารจึงต้องพิจารณาโดยการเปรียบเทียบสัดส่วนของกรดอะมิโนจำเป็นต่อกรัมโปรตีนในอาหาร กับสัดส่วนของกรดอะมิโนจำเป็นต่อกรัมโปรตีนมาตรฐาน ที่แนะนำโดย Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation (2002) ในรูปของปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นต่อกรัมโปรตีน ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 กรดอะมิโนจำเป็นในโปรตีนจากเห็ดป่าบริโภคได้เปรียบเทียบกับโปรตีนจากถั่วเหลือง ข้าวเจ้า และไข่ (มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน)

กรดอะมิโน	เห็ดหล่มขาว	เห็ดไข่ห่านขาว	เห็ดไข่ห่านเหลือง	เห็ดแดง	เห็ดห้า	เห็ดเผาะ	ถั่วเหลือง[1]	ข้าวเจ้า[1]	โปรตีนไข่[1]	FAO/WHO pattern [2]
His	4.77	7.19	7.55	13.46	21.84	28.95	25	24	24	15
Ile	5.93	6.56	7.63	11.47	36.44	30.05	46	43	63	30
Leu	7.00	10.87	13.52	16.49	58.56	52.22	77	82	88	59
Lys	4.87	7.72	7.31	14.24	35.39	31.91	61	37	70	45
Cys + Met	-	-	-	-	16.43	43.94	29	38	93	22
Phe + Tyr	9.57	11.89	20.59	24.30	74.84	79.53	82	88	99	38
Thr	5.25	7.57	11.03	14.40	34.50	46.44	38	32	51	23
Val	6.47	7.51	8.76	14.06	39.99	32.08	46	66	69	39
Trp	7.24	11.33	10.9	19.89	10.91	6.81	12	13	17	6

[1] ข้อมูลตัวเลขดัดแปลงจาก Sridhar และ Seena (2006), [2] ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นที่แนะนำสำหรับผู้ใหญ่ (Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation, 2002)

- หมายถึง ตรวจไม่พบปริมาณสารดังกล่าว

จากการวิเคราะห์สัดส่วนกรดอะมิโนจำเป็น (ตารางที่ 4. 6) ชี้ให้เห็นว่าโปรตีนของเห็ดป่าบริโภคได้ มีกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบในปริมาณต่ำ เช่น กรดอะมิโนเมไทโอนีน และซิสเทอีน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุนันท์ พงษ์สามาตร และคณะ (2528) ที่รายงานว่า กรดอะมิโนทั้งสองชนิดนี้จัดเป็นกรดอะมิโนที่มีจำกัดในเห็ด (limiting amino acid) นอกจากนี้จากผลการทดลองพบว่าเห็ดเผาะเป็นเห็ดชนิดเดียวจากตัวอย่างทั้งหมดที่มีกรดอะมิโนครบทั้ง 18 ชนิด รองลงมาคือเห็ดห้าที่ขาดกรดอะมิโนเมไทโอนีนเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีนจากเห็ดเผาะและเห็ดห้ามีสัดส่วนของกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิด เช่น ฮิสทิดีน ไอโซลูซีน ซิสเทอีน+เมไทโอนีน และทรีโอนีน ในปริมาณใกล้เคียงกับถั่วเหลืองและข้าวเจ้า และเมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนของกรดอะมิโนจำเป็นกับโปรตีนจากไข่ (whole egg protein) พบว่าโปรตีนจากเห็ดเผาะและเห็ดห้ามีสัดส่วนของกรดอะมิโนจำเป็นในปริมาณต่ำกว่าโปรตีนจากไข่ นอกจากนี้การเปรียบเทียบสัดส่วนกรดอะมิโนจำเป็นของเห็ดป่าบริโภคได้กับสัดส่วนกรดอะมิโนที่เหมาะสมกับความต้องการของผู้ใหญ่ ซึ่งแนะนำโดย Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation (2002) (ตารางที่ 4.6) พบว่าเห็ดป่าบริโภคได้ทั้ง 6 ชนิดเป็นแหล่งที่ดีของกรดอะมิโน ทริปโทเฟน โดยมีสัดส่วนของกรดอะมิโนต่อกรัมโปรตีนสูงกว่ากรดอะมิโนอ้างอิง ขณะที่เห็ดห้าและเห็ดเผาะอาจจัดได้ว่าเป็นแหล่งของกรดอะมิโนฮิสทิดีน ไอโซลูซีน ฟีนิลแอลานีน+ไทโรซีน ทรีโอนีน และทริปโทเฟน โดยมีสัดส่วนของกรดอะมิโนเหล่านี้สูงกว่าที่ Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation (2002) กำหนด ซึ่งอาจแสดงให้เห็นว่าเห็ดดังกล่าวจัดเป็นเห็ดป่าบริโภคได้ที่มีคุณภาพโปรตีนสูงกว่าเห็ดป่าชนิดอื่น

4.4 การประเมินคุณภาพโปรตีนจากเห็ดป่าบริโภคได้

การประเมินคุณภาพโปรตีนในอาหารสามารถประเมินจากค่า Amino Acid Score (AAS) ของอาหาร โดยค่า AAS ของอาหารมีค่าเท่ากับ AAS ของกรดอะมิโนจำเป็นที่มีอยู่น้อยที่สุดในอาหารนั้น (Perter, Pellett and Vernorn, 1980)

จากตารางที่ 4. 7 ผลการ วิเคราะห์ค่า AAS ของเห็ดป่าบริโภคได้พบว่าเห็ดหล่มขาว เห็ดไข่ห่านขาว เห็ดไข่ห่านเหลือง และเห็ดแดง มีซีสเทอีน+เมไทโอนีน เป็นกรดอะมิโนจำกัด ส่วนเห็ดห้ามีกรดอะมิโนจำกัดคือ ซีสเทอีน+เมไทโอนีน และมีค่า AAS เท่ากับ 74.70 ขณะที่เห็ดเผาะมีกรดอะมิโนจำกัดคือ ไลซีน และมีค่า AAS เท่ากับ 70.91 ผลการวิเคราะห์ AAS ของเห็ดแต่ละชนิดแสดงให้เห็นว่าโปรตีนของเห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือจัดเป็นโปรตีนไม่สมบูรณ์ เนื่องจากมีค่า AAS ของเห็ดแต่ละชนิดต่ำกว่า 100 และยังพบว่าเห็ดป่าบริโภคได้เหล่านี้มีกรดอะมิโน ไลซีน และซิสเทอีน+เมไทโอนีน เป็นกรดอะมิโนที่มีอยู่อย่างจำกัด

ตารางที่ 4.7 ค่า Amino Acid Score ของกรดอะมิโนจำเป็นของเห็ดป่าบริโภคได้

กรดอะมิโน	เห็ดหล่มขาว	เห็ดไข่ห่านขาว	เห็ดไข่ห่านเหลือง	เห็ดแดง	เห็ดห้า	เห็ดเผาะ
His	31.80	47.95	50.33	89.71	145.63	192.97
Ile	19.77	21.85	25.43	38.25	121.47	100.17
Leu	11.86	18.42	22.92	27.95	99.26	88.51
Lys	10.82	17.16	16.25	31.65	78.65	70.91
Cys + Met	-	-	-	-	74.70	199.73
Phe + Tyr	25.18	31.29	54.18	63.95	196.95	209.29
Thre	22.83	32.92	47.95	62.59	150.01	201.91
Val	16.59	19.25	22.45	36.06	102.55	82.27
Trp	120.67	188.83	181.67	331.5	181.83	113.5

- หมายถึง ตรวจไม่พบปริมาณสารดังกล่าว

ชนิดของกรดอะมิโนจำกัดที่พบในเห็ด ป่าบริโภคได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ สุนันท์ พงษ์สามารถ และคณะ (2528) ที่ศึกษาคุณภาพของโปรตีนจากเห็ดในประเทศไทย 13 สายพันธุ์โดยการคำนวณหาค่า AAS และการวิเคราะห์ protein digestibility (in vitro test) ด้วยวิธี multienzyme system พบว่าเห็ดเผาะ (*Gaasters* sp.) มีกรดอะมิโนจำกัดคือ ไลซีน ขณะที่เห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) และเห็ดหล่ม (*Russula delica*) มีกรดอะมิโนจำกัดคือ ซิสเทอีน+เมไทโอนีน โดยค่า AAS ของเห็ดแต่ละชนิดมีค่าอยู่ในช่วง 33.6, 34.3 และ 49.1 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโปรตีนของเห็ดเหล่านี้จัดเป็นโปรตีนไม่สมบูรณ์

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพโปรตีนของเห็ดป่าบริโภคได้อาจสรุปได้ว่า เห็ดหล่มขาว เห็ดไข่ห่านขาว เห็ดไข่ห่านเหลือง เห็ดแดง เห็ดห้า และเห็ดเผาะ จัดอยู่ในกลุ่มของอาหารที่มีโปรตีนไม่สมบูรณ์ เนื่องจากเห็ดเหล่านี้ขาดกรดอะมิโนจำเป็นบางชนิด และมีค่า AAS ต่ำกว่า 100 ทั้งนี้ควรบริโภคเห็ดป่าร่วมกับอาหารประเภทอื่น เช่น ถั่วเหลือง ข้าวเจ้า หรือไข่ไก่ ซึ่งจะมีส่วนช่วยปรับสมดุลของกรดอะมิโน ลูซีน ไลซีน ซิสเทอีน+เมไทโอนีน ให้เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย

4.5 การวิเคราะห์ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้

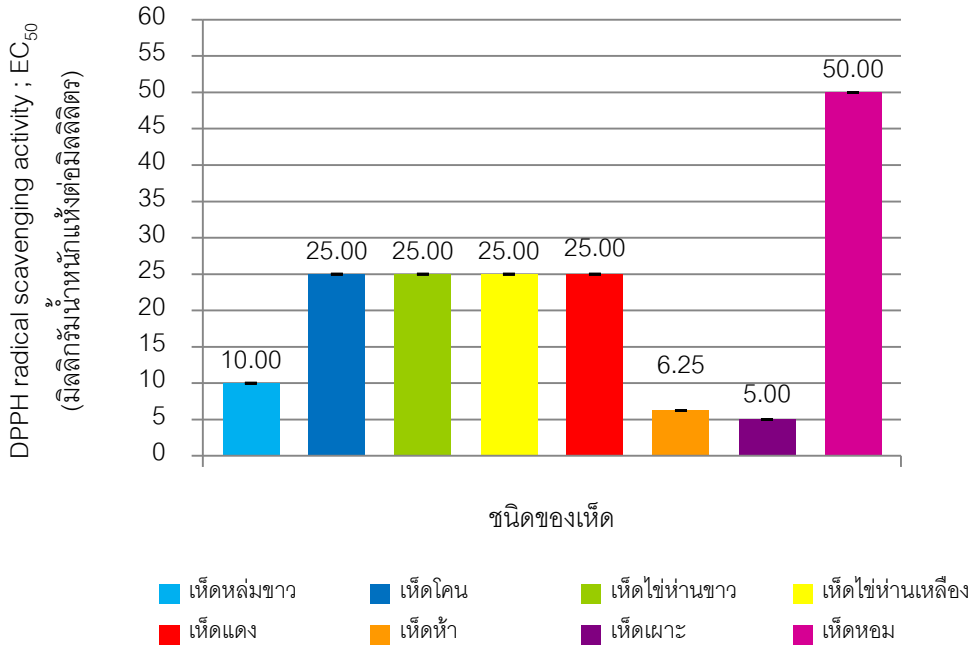
การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ เห็ดสามารถทำได้หลายวิธี โดยแต่ละวิธีใช้วิเคราะห์กลไกในการต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน ทั้งนี้การสกัดเห็ดด้วยแอลกอฮอล์มีผลให้ได้สารสกัดที่ประกอบด้วย สารต้านออกซิเดชันหลายชนิด เช่น กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ บีตา-แคโรทีน ไลโคปีน กรดแอสคอร์บิก และโทโคฟีรอล เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ผ่านกลไกในการต้านออกซิเดชันแตกต่างกันไป (Pokorny et al., 2001; Barros et al., 2008) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในสารสกัดจากเห็ด โดยการวิเคราะห์ ด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้

4.5.1 DPPH radical scavenging activity

ผลการ วิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity ของสารสกัดจากเห็ดรายงานด้วยค่า EC_{50} ซึ่งหมายถึงปริมาณของสารสกัดจากเห็ดที่มีผลให้อนุมูลอิสระ DPPH ลดลงร้อยละ 50 โดยค่า EC_{50} ของเห็ดแต่ละชนิดแสดงในภาพที่ 4.1

ผลการวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity ของสารสกัดจากเห็ด (ภาพที่ 4.1) แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากเห็ดป่าบริโภคได้ทั้ง 7 สายพันธุ์ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH โดยตัวอย่างเห็ดป่ามีค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 5.00-25.00 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร ซึ่งเห็ดเผาะมีค่า EC_{50} ต่ำที่สุด รองลงมาคือ เห็ดห้า เห็ดหล่มขาว เห็ดโคน เห็ดไข่ห่านขาว เห็ดไข่ห่านเหลือง และเห็ดแดง ส่วนกรดแกลลิกมาตรฐานมีค่า EC_{50} เท่ากับ 6.51 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่เห็ดหอมมีค่า EC_{50} เท่ากับ 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Barros และคณะ (2008) ที่ ศึกษาปริมาณ สารอาหารและ สารโภชนเภสัชใน เห็ดป่าบริโภคได้และเห็ดเพาะ เพื่อ การค้า ซึ่งพบว่าเห็ดป่าบริโภคได้มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในด้านการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าเห็ดที่เพาะเพื่อการค้า



ภาพที่ 4.1 ค่า EC_{50} ของการวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity ในเห็ดชนิดต่างๆ (มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร)

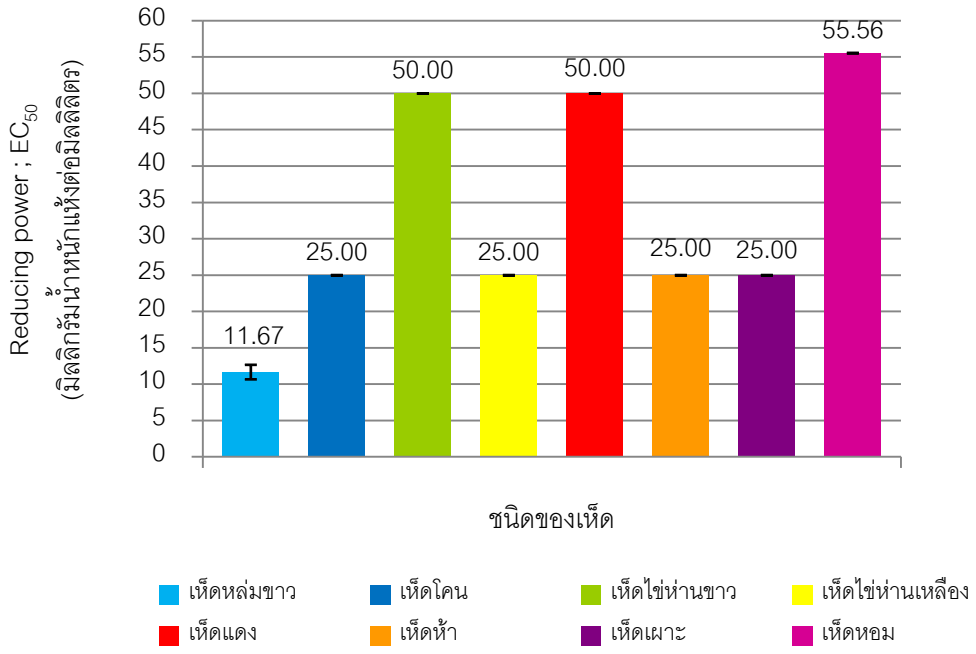
ทั้งนี้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสารต้านออกซิเดชันในตัวอย่างที่มีโครงสร้างที่สามารถให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระได้ โดย Antolovich และคณะ (2002) อธิบายว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านออกซิเดชันแต่ละชนิด ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของพันธะ (bond strength) ระหว่างโมเลกุลสารต้านออกซิเดชันกับอะตอมไฮโดรเจนในโครงสร้าง โดยพลังงานที่ใช้ในการให้อะตอมไฮโดรเจน (hydrogen donation) ของสารต้านออกซิเดชันจะสูงขึ้น ถ้าพลังงานพันธะ (bond dissociation energy) ระหว่างอะตอมไฮโดรเจนกับโมเลกุลของสารต้านออกซิเดชันมีค่าสูง โดยสารต้านออกซิเดชันที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารในกลุ่มของกรดฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ (Pokorny et al., 2001)

ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านออกซิเดชันจะมีส่วนในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของชีวโมเลกุลต่างๆ ในร่างกาย สารต้านออกซิเดชันเหล่านี้สามารถให้อะตอมไฮโดรเจนหรืออิเลกตรอนแก่อนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลไขมัน ทั้งในช่วงเริ่มต้นของปฏิกิริยาออกซิเดชัน และสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ alkoxyl และ peroxy ที่เกิดขึ้นในช่วงปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อเนื่อง (Pokorny et al., 2001)

จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้และเห็ดที่เพาะเพื่อการค้า อาจสรุปได้ว่า การบริโภคเห็ดป่าจะส่งผลต่อสุขภาพในด้านการต้านออกซิเดชันด้วยการกำจัดอนุมูลอิสระมากกว่าการบริโภคเห็ดหอมที่เพาะเพื่อการค้า

4.5.2 Reducing power

ผลการวิเคราะห์ reducing power ของสาร สกัดจากเห็ด รายงานด้วยค่า EC_{50} ซึ่งหมายถึงความสามารถในการรีดิวซ์ไอออน Fe(III) ได้ร้อยละ 50 จากปริมาณไอออนเริ่มต้น โดยค่า EC_{50} ของเห็ดแต่ละชนิดแสดงในภาพที่ 4.2



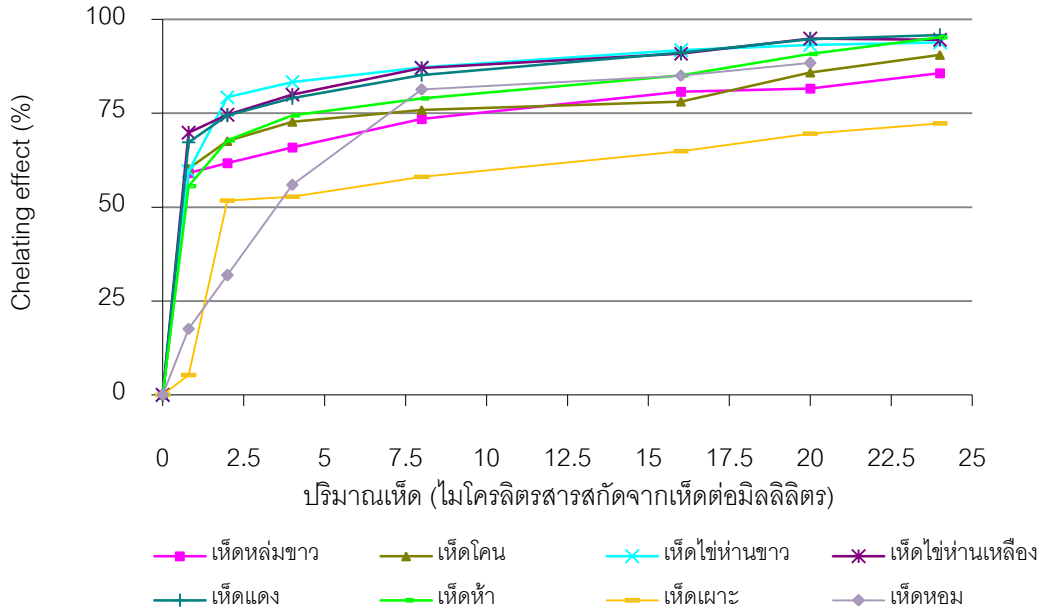
ภาพที่ 4.2 ค่า EC_{50} ของการวิเคราะห์ Reducing power ในเห็ดชนิดต่างๆ (มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร)

จากภาพที่ 4.2 เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดป่าบริโภคได้ทั้ง 7 สายพันธุ์พบว่า สารสกัดจากเห็ดป่าบริโภคได้มีความสามารถในการ รีดิวซ์ Fe(III) และมีค่า EC_{50} ของเห็ดป่าบริโภคได้ อยู่ในช่วง 11.67-55.56 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร โดยเห็ดหล่มขาวมีค่า EC_{50} ต่ำที่สุด รองลงมาคือ เห็ดโคน เห็ดไข่ห่านเหลือง เห็ดห้า เห็ดเผาะ เห็ดไข่ห่านขาว และเห็ดแดง ขณะที่เห็ดหอมที่เพาะเพื่อการค้ามีค่า EC_{50} สูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเห็ดป่าบริโภคได้มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยการเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดีกว่าเห็ดหอมที่เพาะเพื่อการค้า

ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านออกซิเดชันจะมีส่วนสำคัญในการรีดิวซ์โลหะที่เป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น Fe(III) ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยากับ hydroperoxide แล้วได้ผลิตภัณฑ์เป็น peroxyl radical ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในขั้นตอนการเกิดออกซิเดชันอย่างต่อเนื่องต่อไป นอกจากนี้สารต้านออกซิเดชันที่มีสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์ยังมีส่วนสำคัญในกลไกแบบการเสริมฤทธิ์ (synergism) ที่สามารถคืนสภาพสารต้านออกซิเดชันให้กลับไปทำงานได้อีกครั้ง โดยสารเหล่านี้ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และกรดแอสคอร์บิก เป็นต้น (Pokorny et al., 2001)

4.5.3 Chelating effect on ferrous ions

ผลการวิเคราะห์ chelating effect on ferrous ions ของสารสกัดจากเห็ด รายงานด้วยค่า chelating effect (%) ซึ่งหมายถึงความสามารถของตัวอย่างในการคีเลตโลหะ โดยค่า chelating effect ของเห็ดแต่ละชนิดแสดงในภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 ค่า chelating effect (%) ของสารสกัดจากเห็ดที่ความเข้มข้นต่างๆ

จาก การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเห็ดป่าบริโภคได้ทั้ง 7 สายพันธุ์ (ภาพที่ 4.3) ที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ด 0, 0.8, 2, 4, 8, 16, 20 และ 24 ไมโครลิตรสารสกัดต่อมิลลิลิตร พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นตัวอย่างจะมีค่า chelating effect สูงขึ้น โดยเห็ดหล่มขาว เห็ดโคน เห็ดไข่ห่านขาว เห็ดไข่ห่านเหลือง เห็ดแดง และเห็ดห้า มีค่า chelating effect สูงกว่าร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 0.8 ไมโครลิตรสารสกัดต่อมิลลิลิตร ขณะที่เห็ดเผาะและเห็ดหอมที่เพาะเพื่อการค้ามีค่า chelating effect ต่ำกว่าเห็ดชนิดอื่น

ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ทั้งนี้จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเห็ดป่าที่ใช้ในการทดลองทุกชนิดมีความสามารถในการคีเลตโลหะ โดยที่ค่า chelating effect ของสารสกัดจากเห็ดจะเริ่มคงที่เมื่อมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 4-24 ไมโครลิตรสารสกัดต่อมิลลิลิตร

ความสามารถในการคีเลตโลหะของสารต้านออกซิเดชันมีส่วนสำคัญในป้องกันการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันจากโลหะในระบบชีวภาพ เช่น Fe(II) และ Cu(II) ที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับ hydroperoxide ได้ผลิตภัณฑ์เป็น alkoxyl radical ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน สารต้านออกซิเดชันที่สามารถจับกับโลหะเหล่านี้ได้แก่ ฟลาโวน และฟลาวาโนน เป็นต้น (Pokorny et al., 2001)

จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันอาจสรุปได้ว่า สารสกัดจากเห็ดหล่มขาว เห็ดห้า และเห็ดเผาะ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันผ่านกลไกการกำจัดอนุมูลอิสระ และมีความเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดี เนื่องจากมีค่า EC_{50} ของการวิเคราะห์ DPPH radical scavenging และ reducing power สูงกว่าเห็ดชนิดอื่น ส่วนผลการวิเคราะห์ chelating effect on ferrous ions พบว่าสารสกัดจากเห็ดส่วนใหญ่มีค่า chelating effect สูงกว่าร้อยละ 50 ดังนั้นจึงใช้การรายงานผลด้วยค่า chelating effect ซึ่งเปรียบเทียบที่ปริมาณตัวอย่างเท่ากับ 10 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร โดยผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้และเห็ดหอมที่เพาะเพื่อการค้า รายงานในตารางที่ 4.8

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดจากเห็ดป่าโดยการเปรียบเทียบกับกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน พบว่าเห็ดแต่ละชนิดมีค่า AEAC อยู่ในช่วง 19.38-77.40 มิลลิ กรัมกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยพบว่าเห็ดเผาะมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือ เห็ดห้า และเห็ดหล่มขาว โดยมีค่า AEAC เท่ากับ 77.40, 51.60 และ 43.09 มิลลิ กรัมกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ด้านการวิเคราะห์ reducing power ของสารสกัดจากเห็ดป่าในรูปของสาร trolox ผลการวิเคราะห์พบว่าค่า TE ของเห็ดแต่ละชนิดอยู่ในช่วง 6.52-42.23 ไมโครโมล trolox ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยเห็ดหล่มขาว มีความสามารถในการรีดิวซ์ไอออนโลหะสูงกว่าเห็ดชนิดอื่น รองลงมาคือ เห็ดเผาะ และเห็ดห้า โดยมีค่า TE เท่ากับ 42.23, 20.83 และ 18.98 ไมโครโมล trolox ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

ตารางที่ 4.8 ค่า EC_{50} (มิลลิกรัม น้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร) ค่า AEAC (มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และค่า TE (ไมโครโมล trolox ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ของ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

ชนิดตัวอย่าง	DPPH radical scavenging		Reducing power		Chelating effect (%)[1]
	EC_{50}	AEAC	EC_{50}	TE	
เห็ดหล่มขาว	10.00 ± 0.00	43.09^{c} ± 2.40	11.67± 1.44	42.23^{a} ± 0.99	60.76^{d} ± 2.41
เห็ดโคน	25.00 ± 0.00	22.11^{e} ± 0.00	25.00 ± 0.00	17.80^{d} ± 0.19	64.53^{c} ± 1.34
เห็ดไข่ห่านขาว	25.00 ± 0.00	22.35^{e} ± 1.00	50.00 ± 0.00	9.75^{g} ± 0.16	80.27^{a} ± 3.24
เห็ดไข่ห่านเหลือง	25.00 ± 0.00	19.38^{f} ± 0.97	25.00 ± 0.00	16.29^{e} ± 0.56	75.30^{b} ± 2.21
เห็ดแดง	25.00 ± 0.00	25.82^{d} ± 0.86	50.00 ± 0.00	12.83^{f} ± 0.49	75.06^{b} ± 2.66
เห็ดห้า	6.25 ± 0.00	51.60^{b} ± 0.00	25.00 ± 0.00	18.98^{c} ± 0.41	68.08^{c} ± 2.21
เห็ดเผาะ	5.00 ± 0.00	77.40^{a} ± 0.00	25.00 ± 0.00	20.83^{b} ± 0.12	49.03^{e} ± 0.36
เห็ดหอม	50.00 ± 0.00	12.69^{g} ± 0.37	55.56 ± 0.00	6.52^{h} ± 0.04	60.00^{d} ± 0.00

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ค.9-ค.10)

[1] ค่า chelating effect (%) เมื่อเปรียบเทียบที่ปริมาณตัวอย่างเห็ดเท่ากับ 10 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากผลการทดลองในตารางที่ 4.4 และ 4. 8 พบว่าเห็ดเผาะและเห็ดห้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด คือ 20.63 และ 19.81 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดทั้งสองชนิดที่มีค่า EC_{50} ของการวิเคราะห์ DPPH radical scavenging และ reducing power ต่ำที่สุด แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระและความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ของสารสกัดจากเห็ดอาจมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเห็ด

งานวิจัยของ Barros และคณะ (200 7c) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกกับค่า EC_{50} ของการวิเคราะห์ DPPH radical scavenging และ reducing power ของเห็ด *Lactarius piperatus* โดยพบว่าเมื่อเห็ดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น ค่า EC_{50} ของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้งสองวิธีมีค่าต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination, r^2) ที่ได้จากกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างปริมาณฟีนอลิกกับค่า EC_{50} ของการวิเคราะห์ DPPH radical scavenging เท่ากับ 0.805 ส่วนการวิเคราะห์ reducing power มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.946 ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของการวิเคราะห์ chelating on ferrous ion และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากผลการทดลองในตารางที่ 4.4 และ 4. 8 พบว่าเห็ดไข่ห่านขาว เห็ดไข่ห่านเหลือง และเห็ดแดง มีค่า chelating effect สูงกว่าเห็ดชนิดอื่น โดยอยู่ในช่วงร้อยละ 75.30-80.27 ทั้งที่เห็ดเหล่านี้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยกว่าเห็ดชนิดอื่น (6.14-8.11มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ซึ่งผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และค่า chelating effect ของสารสกัดจากเห็ด พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและค่า chelating effect มีค่าค่อนข้างต่ำ โดยมีค่าเท่ากับ 0.386 (กราฟความสัมพันธ์, ภาพที่ ข.51) ทั้งนี้เห็ดอาจมีสารต้านออกซิเดชันในกลุ่มอื่นที่มีสมบัติในการเป็นสารคีเลตโลหะได้นอกเหนือจากสารประกอบฟีนอลิก เช่น กรดอะมิโน และเพปไทด์

Pokorny และคณะ (2001) รายงานว่า กรดอะมิโน และเพปไทด์ โดยเฉพาะเพปไทด์ที่มีฮิสทิดีน (histidine-containing peptides) เป็นองค์ประกอบจัดเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยกลไกการคีเลตโลหะ โดยฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของกรดอะมิโนและเพปไทด์ขึ้นอยู่กับปริมาณของกรดอะมิโนและเพปไทด์ ค่า pH ในอาหาร รวมทั้งตำแหน่งของกรดอะมิโนในสายเพปไทด์ (Arcan and Yemenicioglu, 2007; Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)

จากงานวิจัยหลายฉบับรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในเห็ดเป็นสารในกลุ่มของ hydroxycinnamic acid กรดฟีนอลิก ฟลาวาน ฟลาโวโนน และแทนนิน (Vaz et al.,

2011; Yaltirak et al., 2009; Barros et al., 2009; Ribeiro et al., 2007) โดยฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีสมบัติเป็นสารคีเลตโลหะ แต่ทั้งนี้ความสามารถในการคีเลตโลหะที่ดีของฟลาโวนอยด์ต้องอาศัยโครงสร้างที่มีหมู่ไดไฮดรอกซี่ที่ตำแหน่ง C3' และ C4' มีโครงสร้าง quinone ในตำแหน่ง C4 และมีหมู่ไฮดรอกซี่ที่ตำแหน่ง C3 หรือ C5 ซึ่งได้แก่สารในกลุ่ม ฟลาวาโนน (flavanones) ฟลาโวโนน และฟลาโวน แต่พันธะคู่ของคาร์บอนตำแหน่งที่ C2 และ C3 ในโมเลกุลฟลาโวโนน และฟลาโวน จะส่งผลให้ ฟลาโวโนน และฟลาโวน มีความสามารถในการคีเลตโลหะต่ำลง (Pokorny et al., 2001)

นอกจากนี้ รายงานของ Ribeiro และคณะ (2007) ศึกษากรดอินทรีย์ในเห็ด *Fistulina hepatica* หรือเห็ด beefsteak ด้วยเทคนิค HPLC/UV พบว่าเห็ดประกอบด้วยกรดอินทรีย์หลัก คือกรดออกซาลิก (oxalic acid) กรดอะโคนิติก (aconitic acid) กรดฟูมาร์ลิก (fumaric acid) กรดซิตริก กรดมาร์ลิก และกรดแอสคอร์บิก ซึ่งพบว่าเห็ดมีปริมาณกรดมาร์ลิกสูงที่สุด คือร้อยละ 57.9 ของกรดอินทรีย์ทั้งหมด โดย Pokorny และคณะ (2001) รายงานว่ากรดอินทรีย์บางชนิด เช่น กรดมาร์ลิก กรดซิตริก และกรดแอสคอร์บิก จัดเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีความสามารถในการคีเลตโลหะด้วยเช่นกัน

4.6 ผลของการอบแห้งต่อองค์ประกอบเคมี และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้ พบว่าเห็ดหล่มขาว เห็ดห้า และเห็ดเผาะ เป็นเห็ดป่าที่มีปริมาณโปรตีน และกรดอะมิโนสูงที่สุด จึงนำเห็ดเหล่านี้มาศึกษาผลของการอบแห้งต่อปริมาณกรดอะมิโนของเห็ดป่าบริโภคได้ โดยการอบแห้งเห็ดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสนาน 8 ชั่วโมง (ความชื้นของเห็ดอบแห้งอยู่ในช่วง 8.69 –23.19 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) จากนั้นวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของเห็ดที่ผ่านการอบแห้งเปรียบเทียบกับเห็ดสด โดยผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนของเห็ดที่ผ่านการอบแห้งและเห็ดสดแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ผลของการอบแห้งต่อปริมาณกรดอะมิโนของเห็ดหล่มขาว เห็ดห้า และเห็ดเผาะ (มิลลิกรัมต่อกรัมโดยน้ำหนักแห้ง)

	เห็ดหล่มขาว		% การลดลง	เห็ดห้า		% การลดลง	เห็ดเผาะ		% การลดลง
	เห็ดสด	เห็ดอบแห้ง		เห็ดสด	เห็ดอบแห้ง		เห็ดสด	เห็ดอบแห้ง	
His*	1.58 ± 0.05	1.17 ± 0.03	25.95	9.93 ± 0.13	6.03 ± 0.12	39.27	7.25 ± 0.35	5.31 ± 0.05	26.75
Ile*	1.60 ± 0.10	1.46 ± 0.03	8.75	12.87 ± 0.16	10.06 ± 0.20	21.83	7.17 ± 0.17	5.51 ± 0.03	23.15
Leu*	2.33 ± 0.19	1.72 ± 0.07	26.18	22.53 ± 0.14	16.16 ± 0.17	28.27	12.07 ± 0.20	9.58 ± 0.09	20.62
Lys*	1.43 ± 0.16	1.20 ± 0.10	16.08	13.67 ± 0.10	9.77 ± 0.21	28.53	9.15 ± 0.23	5.86 ± 0.22	35.96
Cys+Met*	-	-	-	6.82 ± 0.28	4.54 ± 0.02	33.43	10.73 ± 0.35	8.07 ± 0.13	24.79
Phe+Tyr*	2.90 ± 0.23	2.32 ± 0.03	20.00	27.93 ± 0.08	20.66 ± 0.11	26.03	16.86 ± 0.45	14.59 ± 0.09	13.46
Thr*	1.93 ± 0.11	1.29 ± 0.00	33.16	15.23 ± 0.21	9.52 ± 0.18	37.49	10.15 ± 0.10	8.52 ± 0.07	16.06
Val*	1.92 ± 0.39	1.59 ± 0.11	17.19	15.19 ± 0.11	11.04 ± 0.19	27.32	6.34 ± 0.29	5.89 ± 0.10	7.09
Trp*	1.78 ± 0.08	0.87 ± 0.03	51.12	3.07 ± 0.06	3.01 ± 0.13	1.95	1.25 ± 0.01	1.03 ± 0.02	17.60
รวม	14.90	11.62	22.01	127.23	90.79	28.64	80.97	64.36	20.51
Asp	4.27 ± 0.41	3.80 ± 0.14	11.01	22.00 ± 0.15	19.57 ± 0.22	11.04	20.58 ± 0.26	18.89 ± 0.21	8.21
Ser	1.59 ± 0.25	0.84 ± 0.02	47.17	10.04 ± 0.03	6.41 ± 0.12	36.15	5.30 ± 0.09	3.48 ± 0.19	34.34
Glu	4.47 ± 0.71	2.82 ± 0.26	36.91	28.22 ± 0.17	22.42 ± 0.19	20.55	47.88 ± 0.14	43.64 ± 0.11	8.85
Gly	2.29 ± 0.17	1.84 ± 0.04	19.65	15.78 ± 0.29	10.49 ± 0.11	33.52	8.04 ± 0.11	7.19 ± 0.12	10.57
Arg	4.36 ± 0.25	2.79 ± 0.07	36.01	13.12 ± 0.24	9.64 ± 0.15	26.52	8.16 ± 0.40	7.23 ± 0.11	11.39
Ala	2.46 ± 0.25	2.20 ± 0.16	10.57	20.77 ± 0.25	15.50 ± 0.12	25.37	12.23 ± 0.32	10.48 ± 0.16	14.31
Pro	2.71 ± 0.25	2.44 ± 0.25	9.96	18.22 ± 0.17	13.73 ± 0.12	24.64	9.71 ± 0.37	7.54 ± 0.04	22.35
รวม	22.15	16.73	24.47	128.15	97.76	23.71	111.90	98.45	12.09
รวมทั้งหมด	37.05	28.35	23.48	255.38	188.54	26.17	192.79	162.81	15.55

- หมายถึง ไม่สามารถตรวจพบปริมาณสารดังกล่าวได้, * หมายถึง กรดอะมิโนจำเป็น

ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน (ตารางที่ 4.9) แสดงให้เห็นว่าเห็ดอบแห้งมีปริมาณกรดอะมิโนต่ำกว่าเห็ดสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเห็ดห้า เห็ดเผาะ และเห็ดหล่มขาวสดมีปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดเท่ากับ 255.38, 192.79 และ 37.05 มิลลิกรัมต่อกรัมโดยน้ำหนักแห้ง ส่วนเห็ดที่ผ่านการอบแห้งมีปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดเท่ากับ 188.54, 162.81 และ 28.35 มิลลิกรัมต่อกรัมโดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งเห็ดห้าที่ผ่านการอบแห้งมีปริมาณกรดอะมิโนลดลงร้อยละ 26.17 ส่วนเห็ดเผาะและเห็ดหล่มขาวอบแห้งมีปริมาณกรดอะมิโนลดลงร้อยละ 23.48 และ 15.55 ตามลำดับ

ทั้งนี้การอบแห้งมีผลให้เกิดการสูญเสียน้ำออกจากอาหาร และส่งผลให้โมเลกุลสารต่างๆ ในอาหารมีโอกาสเคลื่อนที่เข้าใกล้กันมากขึ้น จึงเพิ่มความเป็นไปได้ในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารอาหาร นอกจากนี้การเคลื่อนย้ายน้ำออกจากวัตถุทำให้ออกซิเจนในอากาศสามารถเข้าถึงภายในอาหารได้โดยผ่าน microcapillaries ดังนั้นสารอาหารที่มีความไวต่อการทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศจึงมีโอกาสเกิดปฏิกิริยาได้สูงขึ้นเมื่อโมเลกุลของน้ำที่อยู่รอบสารเหล่านั้นถูกนำออกไป โดยไขมันในอาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบสามารถเกิดปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้ง่ายขึ้นเมื่ออยู่ในโครงสร้างอาหารอบแห้ง (Jadhav et al., 1995)

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ เช่น alkoxyl และ peroxyl ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับโปรตีนได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของสายพอลิเพปไทด์และโครงสร้างโปรตีน โดยที่การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนส่งผลให้มีการสูญเสียกรดอะมิโน หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดอะมิโนบางชนิดที่ไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้ได้แก่ ซีรีน แอลานีน ลูซีน ฮิสทิดีน ซิสเทอีน เมไทโอนีน และไลซีน เป็นต้น (Jadhav et al., 1995)

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้พบว่า เห็ดห้า และเห็ดหล่มขาว เป็นเห็ดป่าบริโภคได้ที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันผ่านกลไก DPPH radical scavenging , reducing power และ chelating effect สูงกว่าเห็ดหอมที่เพาะเพื่อการค้า จึงคัดเลือกเห็ดทั้งสองชนิดมาศึกษาผลของการอบแห้งต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 4. 10 จากตารางพบว่าเห็ดห้าและเห็ดหล่มขาวอบแห้งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำกว่าเห็ดสดอยู่ร้อยละ 26.35 และ 41.30 ตามลำดับ ผล การวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity ของสารสกัดจากเห็ดห้าและเห็ดหล่มขาวอบแห้ง พบว่าเห็ดห้าและเห็ดหล่มขาวอบแห้งมีค่า EC_{50} สูงกว่าเห็ดสด 2.66 และ 3.20 เท่า ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ reducing power พบว่าสารสกัดจากเห็ดห้าและเห็ดหล่มขาวอบแห้งมีค่า EC_{50} สูงกว่าเห็ดสด 3.50 และ 10.35 เท่า ตามลำดับ

ตารางที่ 4.10 ผลของการอบแห้งต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดห้าและเห็ดหล่มขาว

	เห็ดห้า		เห็ดหล่มขาว	
	เห็ดสด	**เห็ดอบแห้ง**	**เห็ดสด**	**เห็ดอบแห้ง**
Total phenols (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)	$26.90^{b} \pm 0.34$	$19.81^{c} \pm 1.60$	$30.51^{a} \pm 0.25$	$17.91^{c} \pm 1.33$
DPPH radical scavenging EC_{50} (มิลลิกรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร)	2.34 ± 0.06	6.25 ± 0.00	3.12 ± 0.00	10.00 ± 0.00
Reducing power EC_{50} (มิลลิกรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร)	7.14 ± 0.00	25.00 ± 0.00	5.37 ± 0.32	55.56 ± 1.44
Chelating effect (%)	63.33 ± 1.15^{1}	60.76 ± 2.21^{2}	74.33 ± 0.58^{1}	80.27 ± 2.41^{2}

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ค.12)

[1] ค่า chelating effect (%) เมื่อเปรียบเทียบที่ปริมาณตัวอย่างเห็ดเท่ากับ 1 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร

[2] ค่า chelating effect (%) เมื่อเปรียบเทียบที่ปริมาณตัวอย่างเห็ดเท่ากับ 10 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร

จากการวิเคราะห์ค่า Chelating effect ของสารสกัดจากเห็ดพบว่าเห็ดสดมีความสามารถในการคีเลตโลหะได้ดีกว่าเห็ดที่ผ่านการอบแห้ง โดยเห็ดห้าและเห็ดหล่มขาวสด 1 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร มีค่า Chelating effect สูงถึงร้อยละ 63.33 และ 74.33 ตามลำดับ ขณะที่เห็ดห้าและเห็ดหล่มขาวอบแห้ง 10 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร มีค่า Chelating effect เพียงร้อยละ 60.76 และ 80.27 ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์ ข้างต้นแสดงให้เห็นว่าเห็ดป่าที่ผ่านการอบแห้งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำกว่าเห็ดป่าสด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Miranda และคณะ (2010) ที่ศึกษาผลของการอบแห้งต่อคุณค่าโภชนาการ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ quinoa seeds (*Chenopodium quinoa*) โดยการอบแห้งตัวอย่างที่อุณหภูมิ 40, 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส นาน 150-420 นาที พบว่าตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดต่ำกว่าตัวอย่างสด ทั้งนี้เนื่องจากความร้อนระหว่างการอบแห้งส่งผลให้เกิดการสร้างพันธะของสารพอลิฟีนอลกับสารประกอบอื่นในอาหาร เช่น โปรตีน หรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสารพอลิฟีนอลจนไม่สามารถถูกสกัดออกมาจากเนื้อเยื่อได้ ดังนั้นเมื่อวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดของตัวอย่างจึงพบว่ามีสารประกอบฟีนอกลิกทั้งหมดลดลง (Miranda et al.,2010)

ถึงแม้ว่าการอบแห้งอาจส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเห็ดอบแห้งต่ำกว่าเห็ดสด แต่มีงานวิจัยพบว่าเห็ดที่ผ่านการอบแห้งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าเห็ดที่ผ่านกระบวนการแปรรูปบางวิธี โดยงานวิจัยของ Barros และคณะ (2007d) ที่ศึกษาผลของกระบวนการแปรรูปแบบดั้งเดิม (การอบแห้งที่ 40 องศาเซลเซียส การแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส และการผัดกับน้ำมันมะกอก) ต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้ 4 ชนิด (*Lactarius deliciosus*, *Macrolepiota mastoidea, Macrolepiota procera* และ *Sarcodon imbricatus*) พบว่าการอบแห้งเห็ดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีผลให้สารสกัดจากเห็ดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าเห็ดที่ผ่านกระบวนการแปรรูปด้วยวิธีอื่น ทั้งนี้เนื่องจากการที่ความร้อนระหว่างการอบแห้งมีผลทำลายโครงสร้างของผนังเซลล์เห็ด ทำให้เกิดการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกออกสู่สารสกัดได้มากยิ่งขึ้น

นอกจากนี้อาหารที่ผ่านการให้ความร้อนอาจมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการสร้างสารต้านออกซิเดชันชนิดใหม่ขึ้น โดย Nicoli และคณะ (1997) อธิบายว่าการให้ความร้อนแก่อาหารส่งผลให้ปริมาณสารต้านออกซิเดชันในอาหารลดลง แต่อาจพบว่าทำให้อาหารมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้นได้ เนื่องจากระหว่างการให้ความร้อนแก่อาหารน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารจะสามารถเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับกรดอะมิโน เพปไทด์ หรือโปรตีนแล้วสร้างผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction products) ซึ่งมีสมบัติต้านออกซิเดชันผ่านกลไกต่างๆ เช่น chain breaking, oxygen scavenger และการเป็นสารคีเลตโลหะ ทั้งนี้ปฏิกิริยาเมลลาร์ดสามารถเกิดขึ้นในอาหารที่มีการให้ความร้อนในระดับต่ำ (mild heat) ไปจนถึงการอบ การย่าง หรือการทอด ที่อุณหภูมิสูง โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ได้แก่ thiazoles, oxazoles และ 1-methylpyrrole เป็นต้น (Nicoli et al., 1997; Rajalakshmi and Narasimhan, 1996; Arnold, 1978)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการวิจัยพบว่าเห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีปริมาณโปรตีนสูงถึง 18.35-27.57 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และมีแร่ธาตุที่สำคัญต่อร่างกายคือ โพแทสเซียม (577.32-3,1669.50 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และฟอสฟอรัส (144.63-701.25 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) อีกทั้งมีกรดอะมิโนที่สำคัญหลายชนิด เช่น กรดกลูทามิก (2.82 -43.64 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และ กรดแอสพาร์ติก (3.25 -19.57 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ที่ทำให้เห็ดมีกลิ่นรสที่ดีและเป็นสารชูรสในอาหาร รวมทั้งมีกรดอะมิโนหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ได้แก่ ฮิสทิดีน ซิสเทอีน และเมไทโอนีน นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์คุณภาพโปรตีนของเห็ดป่าบริโภคได้จากค่า Amino Acid Score (AAS) พบว่าเห็ดจัดอยู่ในกลุ่มของอาหารที่มีโปรตีนไม่สมบูรณ์ เนื่องจากมีค่า AAS ต่ำกว่า 100 โดยกรดอะมิโนจำกัดของเห็ดหล่มขาว เห็ดไข่ห่านขาว เห็ดไข่ห่านเหลือง เห็ดแดง และเห็ดห้า คือ ซิสเทอีน+เมไทโอนีน ส่วนกรดอะมิโนจำกัดของเห็ดเผาะคือ ไลซีน นอกจากนี้การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดพบว่า เห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันผ่านกลไกการกำจัดอนุมูลอิสระ การเป็นตัวรีดิวซ์ และการเป็นสารคีเลตโลหะสูงกว่าเห็ดหอมที่เพาะเพื่อการค้า อีกทั้งเห็ดป่าบริโภคได้เหล่านี้มี สารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ คือ สารประกอบฟีนอลิก (6.14 – 20.63 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ในปริมาณสูงกว่าเห็ดหอมที่เพาะเพื่อการค้า

เห็ดป่าบริโภคได้เหล่านี้มีอยู่ชุกชุมในพื้นที่ป่าทางตอนเหนือของไทย แต่การบริโภคเห็ดป่ายังมีอยู่ในวงจำกัด เนื่องจากประชาชนส่วนมากไม่ทราบถึงคุณประโยชน์ของการบริโภคเห็ด จึงควรสนับสนุนให้มีการบริโภคเห็ดป่าเหล่านี้ในวงกว้างมากขึ้น รวมทั้งส่งเสริมให้มีการแปรรูปเห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือในเชิงอุตสาหกรรม โดยเฉพาะเห็ดห้าที่พบว่ามีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากมีปริมาณโปรตีน (27.57 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) สารประกอบฟีนอลิก (19.81มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และปริมาณกรดอะมิโน (188.45 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) สูงกว่าเห็ดชนิดอื่น นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ เห็ดป่าบริโภคได้พบว่าสารสกัดจากเห็ดห้ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันผ่านกลไกการกำจัดอนุมูลอิสระ และการเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดี อีกทั้งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันผ่านกลไกการเป็นสารคีเลตสูงกว่าเห็ดชนิดอื่น ทั้งนี้การอบแห้งเห็ดหล่มขาว เห็ด ห้า และเห็ดเผาะ ด้วยอุณหภู มิ 50 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง

ส่งผลให้ปริมาณกรดอะมิโน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

5.2 **ข้อเสนอแนะ**

จากผลการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าบริโภคได้ สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เห็ดป่าบริโภคได้ต่อไป เพื่อเป็นการส่งเสริมให้ประชาชนมีทางเลือกในการบริโภคอาหารที่มีประโยชน์ และเป็นการเพิ่มมูลค่าเห็ดป่าบริโภคได้จากภาคเหนือของประเทศไทย แม้ว่าการแปรรูปด้วยการอบแห้งอาจมีผลให้คุณค่าทางโภชนาการของเห็ดลดลง แต่การอบแห้งจัดว่าเป็นการแปรรูปที่มีต้นทุนต่ำ และสามารถทำได้ในอุตสาหกรรมขนาดเล็ก อีกทั้งมีงานวิจัยพบว่าการอบแห้งเห็ดด้วยอุณหภูมิต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียส สามารถชะลอการสูญเสียสารต้านออกซิเดชันของเห็ดอบแห้งได้ดีกว่าการอบแห้งที่อุณหภูมิสูง จึงอาจสนับสนุนให้มีการวิจัยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เห็ดป่าอบแห้ง โดยศึกษาสภาวะการอบแห้งที่เหมาะสม หรือเลือกใช้เครื่องอบแห้งชนิดอื่นซึ่งสามารถอบแห้งที่อุณหภูมิต่ำและใช้เวลาในการอบแห้งสั้นขึ้น เช่น เครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศ เครื่องอบแห้งแบบ heat pump หรือเครื่องอบแห้งแบบไมโครเวฟสุญญากาศ ที่มีผลให้ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ที่ดี รวมทั้งสามารถรักษาคุณค่าทางอาหารและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดป่าไว้ได้

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ฒาลิศา ยุวอมรพิทักษ์ และเกศสุคนธ์ มณีวรรณ์. 2541. อนุกรมวิธานและความหลากหลายของเห็ดกินได้บางจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. รายงานการวิจัย, มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. จังหวัดมหาสารคาม.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2549. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์.

พรพรรณ สังขวดี. 2531. การอบแห้งเห็ดหอม และข้อมูลพื้นฐานทางด้านซอพชันไอโซเทอร์ม. วิทยานิพนธ์ ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์.

ราชบัณฑิตยสถาน. 2550. เห็ดในประเทศไทย, พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ราชบัณฑิตยสถาน.

วัชรี หาญยิ่ง. 2549. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในกลไกของการเกิดมะเร็ง. วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น 3: 199-208.

สมทรง เลขะกุล และ ณรงค์ บุณยรัตเวช. 2542. ชีวเคมีของวิตามิน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : ศุภวนิชการพิมพ์.

สุนันท์ พงษ์สามารถ และคณะ. 2528. การสำรวจคุณภาพอาหารของเห็ด. รายงานการวิจัย. ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

สุนันท์ พงษ์สามารถ และคณะ. 2529. การสำรวจคุณภาพของโปรตีนในเห็ด. รายงานการวิจัย. ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2541. เห็ดเมืองไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ไทยวัฒนาพาณิชย์.

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์ และ มาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2537. สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพมหานคร: พี.เอส.พริ้นท์.

ภาษาอังกฤษ

Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., and Blackwell, M. 1996. Introductory Mycology. New York: John Wiley.

Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., and Robard, K. 2002. Method for testing antioxidant activity. The Analyst 127: 183-198.

AOAC. 2006. Official Methods of Analysis of AOAC International.17th ed. Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemists.

Arcan, I., and Yemenicioglu, A. 2007. Antioxidant activity of protein extracts from heat-treated or thermally processed chickpeas and white beans. Food Chemistry 103: 301–312.

Arnold, E.B. 1978. Food Science and Technology: A Series of Monographs. New York: Academic Press.

Astephen, N. 1993. Waters AccQ Tag method for hydrolysate amino acid analysis. Waters Application Notebook 3: 40. (Mimeographed)

Bano, Z., and Rajarathnam, S. 1982. Pleurotus mushroom as a nutritions food. In S. Chang and T. Quimio (eds), Tropical Mushrooms-Biological Nature and Cultivation Method. Hong Kong: Chinese University Press. 363-380.

Barros, L., Baptista, P., and Ferreira, I. 2007c. Effect of *Lactarus piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. Food and Cemical Toxicology 45: 1731-1737.

Barros, L., Baptista, P., Correia, D., Morais, J., and Ferreira, I. 2007d. Effect of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55: 4781-4788.

Barros, L., et al. 2007a. Fatty acid and sugar compositions and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal .Food Chemistry 105: 140–145.

Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, M.L., and Ferreira, I. 2008. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. Food and Chemical Toxicology 46: 2742-2747.

Barros, L., Dueñas, M., Ferreira, I., Baptista, P., and Santos-Buelga, C. 2009. Phenolic acids determination by HPLC–DAD–ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species. Food and Chemical Toxicology 47: 1076–1079.

Barros, L., Ferreira, M.J., Queiros, B., Ferreira, I., and Baptista, P. 2007b. Total phenols, ascorbic acid, β-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. Food Chemistry 103: 413-419.

Blois, M.S. 2002. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 26: 1199-1200.

Braaksma, A., and Schaap. D.J. 1996. Protein analysis of the common mushroom *Agaricus bisporus*. Postharvest Biology and Technology 7: 119-127.

Buchanan, P. 1996. Fungal Guide: Introducing New Zealand's Fungi [Online]. Available from: http://fungalguide.landcareresearch.co.nz/WebForms/FG_About.aspx.html. [2010, December 28]

Catherine, A., Evans, R.,Nicholas, J., and George, P. 1997. Antioxidant properties of phenolic compound: A reviews. Trend in Plant Science 2: 152-159.

Chan, E., Lim, Y., and Chew, Y. 2007. Antioxidant activity of Camellia sinensis leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. Food Chemistry 102: 1214–1222.

Cheng, P. 1997. Dietary fiber content and composition of some edible fungi determined by two method of analysis. Journal of the Science of Food and Agriculture 73: 255-260.

Cheung, L.M., Cheung P., and Ooi, V. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. Food Chemistry 81: 249-255.

Chirinang, P. and Intarapichet, K. 2009. Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, Pleurotus ostreatus and Pleurotus sajor-caju. Science Asia 35: 326-331.

Choi, Y., Lee, S.M., Chun, J., Lee, H.B., and Lee, J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities andpolyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. Food Chemistry 99: 318-387.

Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., and Almeida, L.M. 1994. Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salycilate and 5-aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics 315: 161–169.

Elias, R.J., Kellerby, S.S., and Decker, E.A. 2008. Antioxidant activity of proteins and peptides. Food Science and Nutrition 48: 430-441.

Elmastas, M., Isildak, O., Turkekul, I., and Temur, N. 2007. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushroom. Journal of Food Composition and Analysis 20: 337-345.

Ermetice, G., Queiroz-Monici, K., Pissini, S., Reis, M., and Costa, A. 2006. Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. Food Chemistry 94: 327–330.

Ferreia, I., Baptista, P., Vilas-Boas, M., and Barros, L. 2007. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stripe activity. Food Chemistry 100: 1511-1516.

Hwang, H.-I., Hartman, T.G., and Ho, C.T. 1995. Relative reactivities of amino acids in pyrazine formation. Journal of Agricultural and Food Chemistry 43: 179-184.

Jadhav, S., Nimbalker, S., Kulkarni, A., and Madhavi, D. 1995. Lipid oxidation in biological and food systems. In D. Madhavi, S. Deshamde and D.Salunkhe (eds.), Food Antioxidant .New York: Marcel Dekker,Inc. 29-32.

Joint FAO/WHO/UNU Expert consultation. 2002. Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. In World Health Organization technical report 935: 145.

Kalac, P. 2009. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. Food Chemistry 113: 9-16.

Kibby, G. 1979. Mushrooms and Toadstools: A field guide. New York: Oxford University Press.

Larrauri, J.A., Ruperez, P., and Suara-Calixto, F. 1997. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomance peel. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45: 1390-1393

Lee, Y., Yen, M., and Mau, J. 2007. Antioxidant properties of various extracts from *Hypsizigus marmoreus*. Food Chemistry 104: 1-9.

Longvah, T., and Deosthale, Y. G. 1998. Compositional and nutritional studies on edible wild mushroom from northeast India. Food Chemistry 63: 331–334.

Macrae, R., Robinson, R.K., and Sadier, M.J. 1993. Mushroom and truffles. Encyclopaedia of Food Science Food Technology and Nutrition. 5. London: Academic Press.

Madhavi, D.L., Singhal, R.S., and Kulkarni, P.K. 1996. Technological aspects of food antioxidants. In D.L. Madhavi, S.S. Deshpande, and D.K. Salunkhe (eds.), Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health Perspectives, pp.65-157. New York: Marcel Dekker.

Maga, J. A. 1981. Mushroom flavour. Journal of Agriculture and Food Chemistry 29: 1–4.

Manzi, P., Gambelli, L., Marconi, S., Vivanti, V., and Pizzoferrato, L. 1999. Nutrient in edible mushrooms: an inter-species comparative study. Food Chemistry 65: 477-482.

Manzi, P., Marconi, S., Aguzzi, A., and Pizzoferrato, L. 2004. Commercial mushrooms; nutritional quality and effect of cooking. Food Chemistry 84: 201-206.

Marsin S. M., See, H.H., Ibrahim, W.A., and Naim, A.A. 2005. Determination of carotene, tocopherols and tocotrienols in residue oil from palm pressed fiber using ressurized liquid extraction-normal phase liquid chromatography. Food Chemistry 538: 71-76.

Matila, P., Salo-Väänänen, P., Könkö, K.,Aro, H., and Jalava, T. 2002. Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in finland. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 6419-6422.

Miranda, M., et al. 2010. Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant capacity of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd). Indrustrial Crops and Product 32: 258-263

Nicoli, M.C., Aneseb, M., Parpinel, M.T., Franceschi, S., and Lericia, C.R. 1997. Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. Cancer Letters 114: 71-74.

Oyaizu, M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Japanese Journal of Nutrition 44: 307–315.

Perter, L.P., and Vernon, R.Y. 1980. Nutritional evaluation of protein foods. Japan: UNU Press.

Petrovska, B. 2001. Protein fractions in edible Macedonian mushrooms. European Food Research and Technology 212: 469–472.

Pokorny, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M. 2001. Antioxidants in Food: Plactical Applications. 1st ed. New York: CRC Press.

Rajalakshmi, D., and Narasimhan, S. 1996. Food antioxidants: Sources and methods of evaluation. In D.L. Madhavi, S.S. Deshpande, and D.K. Salunkhe (eds.), Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health Perspectives, pp.65-157. New York: Marcel Dekker.

Ribeiro, B., Valentâo, P., Baptista, P., Seabra, R.M., and Andrade, P.B. 2007. Phenolic compounds, organic acids profiles and antioxidative properties of beefsteak fungus (*Fistulina hepatica*). Food and Chemical Toxicology 45: 1805–1813.

Rudawska, M., and Leski, T. 2005. Macro- and microelement contents in fruiting bodies Of wild mushrooms from the Notecka forest in west-central Poland. Food Chemistry 92 : 499–506.

Sanmee, R., Dell, B., Lumyong, P., Izumori, K., and Lumyong, S. 2003. Nutritive value of popular wild edible mushrooms from northern Thailand. Food Chemistry 82: 527-532.

Shewry, P.R. 2007. Improving the protein content and composition of cereal grain. Journal of Cereal Science 46: 239–250.

Soares, A.A.,et al. 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. Food Chemistry 112: 775-781.

Sridhar, K.R., and Seena, S. 2006. Nutritiona and antinutritional significance of four unconventional legumes of the genus Canavalia: A comparative study. Food Chemistry 99: 267–288.

Tsai, S., et al. 2009. Flavour components and antioxidant properties of several cultivated mushrooms. Food Chemistry. 113: 578–584.

Turkekul, I., Elmastas, M., and Tuzen, M. 2004. Determination of iron, copper, manganese, zinc, lead and cadmium in mushroom sample. Food Chemistry 84: 389-392.

Vaz, J.A.,et al. 2011. Phenolic profile of seventeen Portuguese wild mushrooms. LWT - Food Science and Technology 44: 343-346

Vetter, J. 2007. Chitin content of cultivated mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*. Food Chemistry 102: 6–9.

Williams, W.B., Cuvelier, M.E., and Berset, C. 1995. Useof free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology 28: 25-30.

Wrolstad, R.E. 2005. Determination of total phenolics, In R.E. Wrolstad et al. (eds.), Handbook of Food Analytical Chemistry. London: Wiley inter science. 463-467.

Wu, H., Chen, H., and Shiau, C. 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). Food Research International 36: 949–957.

Yaltirak, T., Aslima, B., Ozturk, S., and Alli, H. 2009. Antimicrobial and antioxidant activities of *Russula delica* Fr. Food and Chemical Toxicology 47: 2052–2056.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

ก.1 การ วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธี AOAC 934.01 (2006)

อุปกรณ์

1. ตู้อบลมร้อน (Memmert รุ่น W350, Germany)
2. ถ้วยอะลูมิเนียม
3. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)
4. โถดูดความชื้น (desiccator)

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน 2-5 กรัม ใส่ในถ้วยอะลูมิเนียมซึ่งอบแห้ง แล้วและทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2. นำตัวอย่างเข้าอบแห้งในตู้อบโดยเปิดฝาถ้วยอะลูมิเนียมไว้โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 135.0 ± 0.5 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่
3. ปิดฝาภาชนะในขณะที่ยังอยู่ในตู้อบ แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก
4. คำนวณหาความชื้นจากสมการที่ ก.1

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{[\text{น้ำหนักก่อนอบแห้ง (กรัม)} - \text{น้ำหนักหลังอบแห้ง (กรัม)}]}{\text{น้ำหนักก่อนอบ (กรัม)}} \times 100 \qquad \text{(ก. 1)}$$

ก. 2 การ วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธี AOAC 955.04 (2006)

อุปกรณ์

1. Buchi digestion unit (รุ่น K-424, Switzerland)
2. Buchi scrubber (รุ่น B-414, Switzerland)
3. เครื่องกลั่นหาปริมาณไนโตรเจน (VELP scientific รุ่น UDK 127, USA)
4. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)

สารเคมี

1. กรดซัล ฟิวริกเข้มข้น (A.R. grade)
2. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก (A.R. grade) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์
3. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (A.R. grade) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์
4. สารละลายกรดบอริก (A.R. grade) ความเข้มข้น 4 % (w/v)
5. สารเร่งปฏิกิริยา (selenium reagent mixture) (A.R. grade)
6. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (A.R. grade) ความเข้มข้น 45% (w/v)
7. สารละลายอินดิเคเตอร์ เตรียมโดยการละลายเมธิลเรด 1 กรัม ในเมธานอล 100 มิลลิลิตร

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างให้มีน้ำหนักที่แน่นอน 0.25-1.00 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ใส่ลงใน Kjeldahl flask
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม และกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 20 มิลลิลิตร
3. ย่อยตัวอย่างด้วยเครื่อ ง Buchi Digestion Unit โดยใช้ความร้อนเบอร์ 8 แล้ว ปิด Kjeldahl flask ด้วยฝาแก้วที่ต่อเข้ากับเครื่องดูดไอกรด (scrubber) ย่อยตัวอย่างจนได้ของเหลวสีน้ำตาลใส และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. เทสารละลายกรดบอริกปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วหยดสารละลายอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ต่อ Kjeldahl flask เข้ากลับปลาย condenser ของเครื่องกลั่น (distillation unit)
5. นำ Kjeldahl flask ตัวอย่างที่ผ่านการย่อยต่อเข้ากลับเครื่องกลั่น แล้วตั้งโปรแกรม distillation ดังนี้

น้ำกลั่น	20	มิลลิลิตร
NaOH	50	มิลลิลิตร
Time	8	นาที

6. นำสารละลายที่กลั่นได้ในฟลาสก์ทั้งหมดมาไ ทเทรตด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จนถึงจุดยุติ (end point) ปรากฏสารละลายสีม่วงแดง
7. ทำ blank โดยเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง ทำตามขั้นตอนที่ 2-6
8. คำนวณหาปริมาณโปรตีนตามสมการที่ ก.2 และ ก.3

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} = \frac{(V_a - V_b) \times N \times 1.4}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)}} \quad \text{(ก.2)}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%)} = \text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} \times 4.38 \quad \text{(ก.3)}$$

เมื่อ V_a คือ ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่า

V_b คือ ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรต blank

N คือ ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธี AOAC 942.05 (2006)

<u>อุปกรณ์</u>

1. เตาเผา (Muffle furnace, Fisher Scientific รุ่น Isotemp, USA)
2. ครูซิเบิล (Crusible)
3. Hot plate
4. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)
5. โถดูดความชื้น

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 3-5 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ในครูซิเบิลที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว
2. เผาตัวอย่างโดยใช้ hot plate ในตู้ดูดควัน จนกระทั่งตัวอย่างหมดควัน
3. นำตัวอย่างไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีขาวหรือจนน้ำหนักคงที่
4. ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. ชั่งน้ำหนักเถ้าที่ได้และคำนวณหาปริมาณเถ้าตามสมการที่ ก.4

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)}} \quad \text{(ก. 4)}$$

ก. 4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ตามวิธี AOAC 920.39 (2006)

อุปกรณ์

1 . Soxhlet (Gerhardt รุ่น HC61, Germany)

2. เครื่อง evaporator (Eyela รุ่น SB-651, Japan)

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักแน่นอน 2 กรัม ห่อด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 ใส่ลงใน thimble

2. ประกอบ thimble ซึ่งมีตัวอย่างบรรจุอยู่เข้ากับขวดสกัดที่ทราบน้ำหนักแน่นอน

3. เติม Petroleum ether ซึ่งใช้เป็นตัวสกัด 250 มิลลิลิตร ลงในขวดสกัด

4. สกัดไขมันเป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้ การหยดของตัวทำละลาย ที่กลั่นจากคอนเดนเซอร์มีอัตราการหยดเท่ากับ 300-360 หยดต่อนาที

5. ระเหยส่วนของ Petroleum ether ออกจากส่วนไขมันที่สกัดได้ แล้วอบขวดสกัดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หรือจนน้ำหนักคงที่

6. ทำให้ให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักขวดสกัด จากนั้นคำนวณหาปริมาณไขมันตามสมการที่ ก.5

$$\text{ไขมัน (\%)} = \frac{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)}} \qquad \text{(ก.5)}$$

ก. 5 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยหยาบ ตามวิธี AOAC 962.09 (2006)

อุปกรณ์

1. ครูซิเบิล
2. ตู้อบลมร้อน (Memmert รุ่น W350, Germany)
3. เตาเผา (Muffle furnace, Fisher Scientific รุ่น Isotemp, USA)
4. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)
5. โถดูดความชื้น

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟิวริก (A.R. Grade) ความเข้มข้น 1.25% (v/v)
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (A.R. Grade) ความเข้มข้น 1.25% (w/v)
3. เอทิลแอลกอฮอล์ 95%

<u>วิธีทดลอง</u>

1. นำตัวอย่างที่ผ่านการสกัดไขมันแล้วใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายกรดซัลฟิ วริก ความเข้มข้น ร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ ต้มให้เดือดนาน 30 นาที โดยปรับปริมาตรให้คงที่ด้วยน้ำร้อน

3. กรองตัวอย่างที่ถูกย่อยด้วย Buchner funnel ที่รองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 โดยใช้ความดันสุญญากาศ 25 มิลลิลิตรปรอท ล้างกากด้วยน้ำ ร้อนจนกระทั่งค่าพีเอชเป็นกลาง ตรวจสอบค่าพีเอชโดยใช้กระดาษลิตมัส

4. นำกากมาย่อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.25% ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ต้มเดือดนาน 30 นาที โดยปรับปริมาตรให้คงที่ด้วยน้ำร้อน

5. กรองตัวอย่างที่ถูกย่อยด้วย Bucher funnel ที่กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน โดยใช้ความดันสุญญากาศ 25 มิลลิลิตรปรอท ล้างกากด้วยน้ำร้อนจนกระทั้งค่าพีเอชเป็นกลาง

6. ล้างกากที่ได้ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร 2 ครั้ง

7. นำกากที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่

8. ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักจะได้ตัวอย่างน้ำหนักก่อนเผา

9. นำตัวอย่างใส่ในครูซิเบิลที่ผ่านการเผา และทราบน้ำหนักที่แน่นอน

10.เผาตัวอย่างบน hot plate จนหมดควัน ก่อนนำเข้าเตาเผาที่ 550 องศาเซลเซียส จนได้เป็นเถ้าสีขาว

11.ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนัก จะได้น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา นำมาคำนวณหาปริมาณเส้นใยตามสมการที่ ก.6

$$\text{ปริมาณเส้นใยหยาบ (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้งที่ใช้ในการหาไขมัน (กรัม)}} \times 100 \qquad \text{(ก.6)}$$

ก. 6 การวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุ ตามวิธี AOAC 984.27 (2006)

ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่สถาบันอาหาร (national food institute; NFI) ซอยอรุณอมรินทร์ 36 ถ.อรุณอมรินทร์ แขวงบางยี่ขัน เขตบางพลัด กรุงเทพมหานคร 10700

<u>อุปกรณ์</u>

1. Inductively coupled plasma (ICP) emission spectrometer (รุ่น 975 Plasma Atom Comp, Jarrell-Ash Corp., Franklin, USA)

2. เครื่องปั๊ม (รุ่น Miniplus 2 peristaltic pump, Gilson Medical Electronics, Middleton, USA)
3. อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิและ acid scrubber (รุ่น Labconco 60301, Labconco, Kansas City, USA)
4. Kjeldahl flask
5. glass boiling
6. ice bath
7. digestion unit

สารเคมี

1. $HClO_4$ (G. Frederick Smith Chemical Co., Powell, USA) เจือจางโดยปิเปต $HClO_4$ มา 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร
2. สารมาตรฐาน $CaCO_3$, ผง Fe, KCl และ NH_4HPO_4

วิธีทดลอง

1. เตรียมสารมาตรฐาน Ca, Fe, K และ P ให้มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1.1 ชั่ง $CaCO_3$ 2.4973 กรัม ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร ที่มีน้ำกลั่นอยู่ 30 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 10 มิลลิลิตร รอจนกระทั่งไอก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หมด แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

1.2 ชั่งผง Fe 1.000 กรัม แล้วละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 20 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้น 5 โมลาร์ จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.3 ชั่ง KCl 1.9067 กรัม จากนนั้นละลายและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

1.4 ชั่ง NH_4HPO_4 4.263 กรัม จากนั้นละลายและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

2. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดแล้ว 1.5 กรัม ลงในหลอด Kjeldahl flask ขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย HNO_3.$HCLO_4$ (2:1) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร แล้วใส่ glass boiling 3-4 ชิ้น ลงในหลอด ทิ้งไว้หนึ่งคืน

3. ย่อยตัวอย่างในหลอดด้วย digestion unit ที่อุณหภูมิต่ำ จนกระทั่งได้สารละลายสีแดงส้ม จากนั้นนำหลอดตัวอย่างแช่ลงใน ice bath เพื่อหยุดการย่อยแล้วจึงเติม HNO_3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำหลอดตัวอย่างที่ได้ไปให้ความร้อนต่อที่อุณหภูมิปานกลาง

4. เทสารละลายตัวอย่างที่ย่อยเสร็จแล้วลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เขากันแล้วทิ้งไว้หนึ่งคืน

5. เตรียมเครื่อง ICP emission spectrometer เพื่อทำการ calibration ด้วยสารมาตรฐาน Ca, Fe, K และ P ตามตารางที่ ก.1

ตารางที่ ก.1 สภาวะของเครื่อง ICP emission spectrometer

แร่ธาตุ	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	Background correction [1]	ปริมาณสารมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
			ต่ำ	สูง
Ca	317.9	N	0	200
Fe	259.9	N	0	10
K	766.5	N	0	200
P	214.9	N	0	100

[1] N หมายถึง no correction

6. ทำการปรับมาตรฐาน (calibration) ของเครื่องด้วยสารมาตรฐาน Ca, Fe, K และ P ตามโปรแกรมคอมพิวเตอร์

7. วิเคราะห์ตัวอย่างตามโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ในสภาวะดังต่อไปนี้

สภาวะในการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุด้วยเครื่อง ICP emission spectrometer

warm up time	: 30 นาที
exposure time	: 5 วินาที
Integration cycle	: 1 รอบ (2 on line exposure, 1 off line exposure)
forward power	: 1.1 กิโลวัตต์
reflected power	: น้อยกว่า 5 วัตต์
analyte uptake rate	: 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที
เครื่องปั๊ม	: Miniplus 2 peristaltic pump (Gilson Medical Electronics, Middleton, USA)
อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิและ acid scrubber	: รุ่น Labconco 60301 (Labconco, Kansas City, USA)
Glassware	: แช่ใน 10% HNO_3 ข้ามคืนแล้วล้างด้วยน้ำ

8. คำนวณหาปริมาณแร่ธาตุตามสูตรที่ ก.7

$$C = A \times (50 \text{ มิลลิลิตร}/B) \quad (ก.7)$$

เมื่อ A คือ ปริมาณแร่ธาตุที่เครื่อง ICP emission spectrometer คำนวณได้ (ไมโครกรัมต่อมิลิลิตร)

B คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

C คือ ปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่าง (ไมโครกรัมต่อกรัม)

ก. 7 การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต

<u>วิธีการคำนวณ</u>

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (%โดยน้ำหนักแห้ง)

= 100 - (%โปรตีน + %เถ้า + %เส้นใยหยาบ + %ไขมัน) (ก.8)

ก.8 การสกัดเห็ดด้วยเมทานอล

<u>อุปกรณ์</u>

1 . Warring blender (OTTO รุ่น BE-120, Beijing, China)

2. Shaking Water Baths (GFL รุ่น 1092 , Burgwedel, Germany)

3. Rotary Evaporator (Eyela รุ่น SB-651, Tokyo, Japan)

<u>สารเคมี</u>

Methanol (A.R. grade) (Merck, Darmstadt, Germany)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. เตรียมสารสกัดจากตัวอย่างเห็ดป่าโดย ปั่นเห็ดให้ละเอียด ด้วยเครื่อง Warring blender เป็นเวลา 30 วินาที ร่อนเห็ดผ่านตะแกรงร่อนขนาด 20 mesh ใช้ตัวอย่างที่ผ่านตะแกรงร่อนไปสกัดด้วยเมทานอลต่อไป

2. สกัดตัวอย่างเห็ดที่ได้ด้วยเมทานอลในอัตราส่วนเห็ดต่อเมทานอลเท่ากับ 1 : 10โดยชั่งเห็ดป่าอบแห้งที่ปั่นละเอียดแล้ว 10 กรัม บรรจุลงในขวดรูปชมพู่ จากนั้นเติมเมทานอล 100 มิลลิลิตร ปิดปากขวดให้สนิทด้วยอะลูมิเนียมฟรอยด์

3. วางฟลาสก์ที่บรรจุตัวอย่างลงใน เครื่อง Shaking Water Baths สกัดตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องและจำกัดความเร็วรอบที่ 180 รอบต่อนาที นาน 24 ชั่วโมง

4. กรองสารละลายเห็ดที่สกัดแล้วด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้ไประเหยเมทานอลด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเหลือปริมาตรสารละลายหลังระเหยแล้วลดลงจากเดิม 20 เท่า

5. บรรจุสารสกัดจากเห็ดลงในขวดสีชา สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียสได้นาน 1 สัปดาห์

ก. 9 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compound) ดัดแปลงจากวิธีของ Wrolstad (2005)

<u>อุปกรณ์</u>

1. เครื่อง Spectrophotometer (Thermo Spectronic® รุ่น Genesys 10UV, Waltham, Massachusetts)
2. เครื่อง Vortex (Labnet รุ่น VX100, Woodbridge, New Jersey)

<u>สารเคมี</u>

1. Folin-Ciocalteu phenol reagent (A.R. grade) (Carlo Erba, Italy)
2. Gallic acid (A.R. grade) (Sigma, Germany)
3. Sodium carbonate (A.R. grade) (Univar, NSW, Australia)
4. Methanol (A.R. grade) (Merck, Darmstadt, Germany)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. สร้าง กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิคโดย ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของกรดแกลลิกมาตรฐาน 0.5 กรัม ละลายด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2. ปิเปตสารละลายจากข้อ 1 ปริมาตร 1, 2.5, 0.5, 7.5, 10 และ 15 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าจนสารละลายเข้ากัน

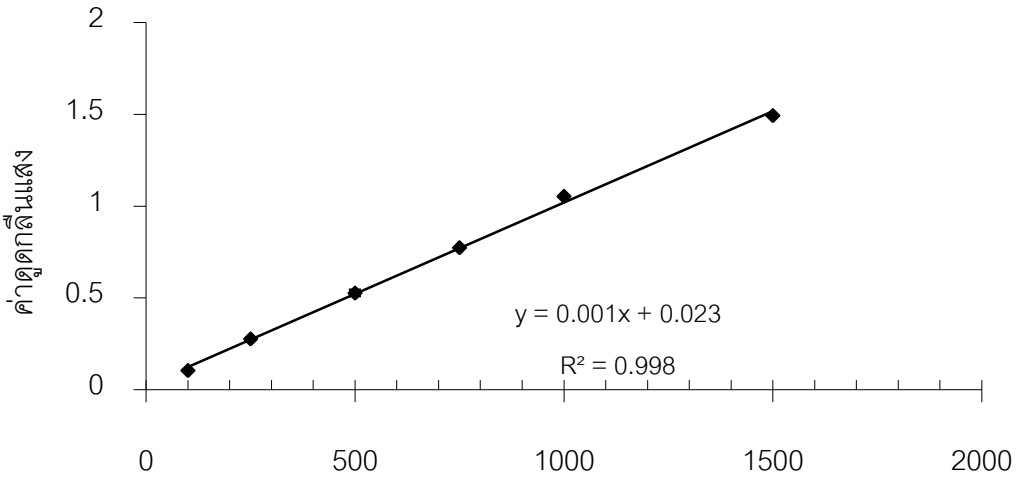
3. ปิเปตสารละลายจากข้อ 2 มา 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Folin-Ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 3 นาที

4. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัว 1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

5. เก็บสารละลายในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 90 นาที

6. วัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร

7. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณกรดแกลลิกกับค่าดูดกลืนแสงที่ 725 นาโนเมตร ได้กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นและสมการเชิงเส้น ($y = 0.001x + 0.0238$; $r^2 = 0.998$) ดังภาพที่ ก.1



ภาพที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

7. วิเคราะห์ หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ในสารสกัดจากเห็ด โดย เจือจางสารสกัดจากเห็ดด้วยเมทานอลให้มีความเข้มข้นร้อยละ 2-5 หรือให้มีปริมาณฟีนอลิกในสารละลายตัวอย่างอยู่ในช่วง 0.58 - 8.8 มิลลิโมลาร์ ทดลองตามวิธีในข้อ 3-6

8. จากค่าการดูดกลืนแสง ของสารละลายตัวอย่าง ที่ได้ นำไปอ่านค่าจากกราฟมาตรฐา น แล้วคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ดังสมการที่ ก.9

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมโดยน้ำหนักแห้ง)

$$= \frac{A \times (100/B) \times C \times 10^{-3}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ใช้สกัด (กรัม)}} \qquad (ก \quad .9)$$

เมื่อ A = ค่าที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน

(ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตรสารละลายตัวอย่าง)

B = %ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (v/v)

C = ปริมาตรสารสกัดที่ได้จากเห็ดทั้งหมด (มิลลิลิตร)

ก.10 การ วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน 17 ชนิด* ตามวิธี AccQ.-Tag method (Astephen,1993)

<u>อุปกรณ์</u>

1. ครูซิเบิล
2. ตู้อบลมร้อน (Memmert รุ่น W350, Germany)
3. เตาเผา (Muffle furnace, Fisher Scientific รุ่น Isotemp, USA)
4. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)
5. โถดูดความชื้น
6. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Waters, Milford, Massachusetts, USA) ประกอบด้วย

6.1 ระบบฉีดตัวอย่าง (Waters รุ่น 717, Milford, Massachusetts, USA)

6.2 คอลัมน์ Waters AccQ-Tag amino acid analysis column ขนาด 3.9 x 150 มิลลิเมตร (Waters, Milford, Massachusetts, USA)

6.3 UV/VIS Detector (Waters รุ่น 2487, Milford, USA)

7. เครื่องปั๊มสูญญากาศ (Pharmacia Biotech รุ่น P-1, Uppsala, Sweden)
8. Vortex mixer (Labnet รุ่น VX100, Woodbridge, New Jersey, USA)

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลายกรดซัลฟิวริก (A.R. Grade) ความเข้มข้น 1.25% (v/v)
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (A.R. Grade) ความเข้มข้น 1.25% (w/v)
3. เอทิลแอลกอฮอล์ 95%

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ย่อยตัวอย่างด้วยกรด

1. 1 ชั่งตัวอย่างเห็ดให้มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.001 กรัม ลงในหลอด vacuum hydrolysis แล้วเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์ (ที่มีฟีนอล 0.1% w/v) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร

1. 2 ผ่านก๊าซไนโตรเจนลงในหลอด vacuum hydrolysis นาน 10 นาที แล้วดูดอากาศออกจากหลอดด้วยเครื่องปั๊มสุญญากาศนาน 10 นาที

1. 3 ย่อยตัวอย่างในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

---

* *หมายเหตุ* กรดอะมิโนทั้ง 17 ชนิด ได้แก่ กรดแอสพาร์ติก กรดกลูทามิก ซีรีน ไกลซีน ฮิสทิดีน อาร์จินีน ทรีโอนีน แอลานีน โพรลีน ซีนเทอีน ไทโรซีน แวลีน เมไทโอนีน ไลซีน ไอโซลูซีน ลูซีน และฟีนิลแอลานีน

1. 4 ปรับค่า pH ของสาร สกัดจากตัวอย่างที่ย่อยได้ ให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 2-3 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 6 โมลาร์ แล้วปรับปริมาตร สารสกัดจากตัวอย่างที่ย่อยได้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.5 กรองสา รสกัด จากตัวอย่างที่ย่อยได้ ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 สารละลายตัวอย่างสกัดที่ได้ สามารถเก็บที่อุณหภูมิ 6-10 องศาเซลเซียส ได้นาน 7 วัน

2. เตรียมสารละลายกรดอะมิโนมาตรฐาน

2. 1 ปิเปต สารละลายกรดอะมิโนมาตรฐานปริมาตร 40 ไมโครลิตรลงในหลอดตัวอย่างขนาด 6 x 50 มิลลิเมตร จากนั้น ปิเปตน้ำ Milli-Q ปริมาตร 960 ไมโครลิตรลงในหลอด

2.2 เขย่าสารละลายให้เข้ากันด้วย vortex mixer สารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ จะประกอบด้วยกรดอะมิโน 17 ชนิดที่มีความเข้มข้นของกรดอะมิโนแต่ละชนิด 100 พิโคโมลต่อไมโครลิตร สามารถเก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส ได้นาน 1 เดือน

3. เตรียมสารละลาย Waters AccQ. reagent

3.1 เติม Water AccQ. fluor reagent diluents ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน Water AccQ. Fluor reagent powder แล้วเขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixer จากนั้นปิดฝาให้สนิทแล้วปิดทับด้วยแผ่นพาราฟิน

3.2 นำสารละลายไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 ± 0.01 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบลมร้อนนาน 10 นาที สารละลาย Waters AccQ. reagent ที่เตรียมได้สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 1 สัปดาห์

4. สร้าง กราฟมาตรฐาน

4.1 ปิเปต สารละลาย กรดอะมิโน มาตรฐาน ที่มีความ เข้มข้น 100 พิโคโมลต่อไมโครลิตร ปริมาตร 1, 2.5, 5, 10, 15 และ 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 6 x 50 มิลลิเมตร

4.2 ปิเปต Waters AccQ. fluor borate buffer ปริมาตร 75, 70, 65 และ 6 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่เติมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆตามลำดับ ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer

4.3 ปิเปต Waters AccQ. reagent 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอ ด ผสมให้เข้ากัน ปิดปากหลอดทดลองด้วยแผ่นพาราฟินให้สนิท แล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 นาที

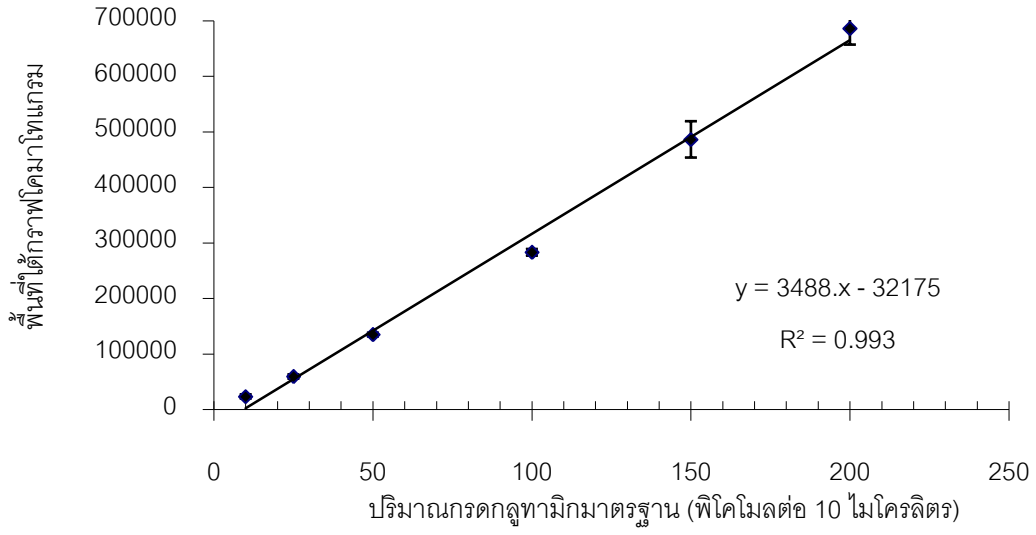
4.4 ให้ความร้อน สารละลายกรดอะมิโนมาตรฐาน ที่ได้ ด้วยตู้อบลมร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิ 55 ± 0.01 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

4.5 นำสารละลายกรดอะมิโนมาตรฐาน ที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ในภาวะของเครื่องดังต่อไปนี้

ภาวะในการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนด้วยเครื่อง HPLC

ปริมาณตัวอย่าง	: 10 ไมโครลิตร
สารละลายเฟสเคลื่อนที่	: Eluent A (AccQ. Tag Eluent A Concentrate: น้ำ Milli-Q เท่ากับ 1:10) Eluent B (acetonitrile 60% v/v)
คอลัมน์	: AccQ. Tag Amino Acid Analysis
เครื่องตรวจวัด	: Water 2487 Dual Absorbance detector
อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่	: 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
อุณหภูมิในการวิเคราะห์	: 37 องศาเซลเซียส
เวลาในการวิเคราะห์	: 50 นาทีต่อ 1 ตัวอย่าง

4.6 สร้างกราฟมาตรฐานระ หว่างพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโ ทแกรมกับปริมาณสารละลายกรดอะมิโนมาตรฐานแต่ละชนิด (ภาพที่ ก.2)



ภาพที่ ก.2 กราฟมาตรฐานของกรดกลูทามิก

5. สร้าง อนุพันธ์ของกรดอะมิโนในสารสกัดตัวอย่างที่ได้จากการย่อยด้วยกรด

5.1 ปิเปตสาร สกัดจากตัวอย่างที่ย่อยด้วยกรดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 6 x 50 มิลลิเมตร แล้วเติม Waters AccQ. fluor borate buffer (Waters, USA) 60 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixer

5.2 เติม Waters AccQ. reagent ที่เตรียมไว้ 20 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปิดปากหลอดทดลองด้วยแผ่นพาราฟินให้สนิท แล้ว ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 นาที จากนั้นนำหลอดทดลองที่บรรจุสารสกัดจากตัวอย่างไป ให้ความร้อนด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55.0 ± 0.1 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

5.3 นำหลอดตัวอย่างที่ให้ความร้อนแล้วไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ตามสภาวะในข้อ 4.5 แล้วคำนวณหาปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดจากกราฟมาตรฐานของกรดอะมิโน

ก.11 การ วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนทริปโทเฟน

ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ถนนพหลโยธิน เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

<u>วิธีทดลอง</u>

เตรียม *o*-phthal aldehyde reagent (OPA) เพื่อทำอนุพันธ์กับกรดอะมิโน tryptophan ที่แยกได้จากตัวอย่างด้วยเครื่อง HPLC

ชั่ง *o*-phthal aldehyde reagent 0.8 กรัม นำไปละลายด้วยเอทานอล 14 มิลลิลิตร จากนั้นเติม polyoxyethylene lauryl ether 0.4 กรัม และ n-acetyl-L-cysteine 1.0 กรัม นำสารละลายที่ได้ไปผสมกับสารละลาย alkaline buffer 1 ลิตร ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) 0.384 โมลาร์ กรดบอร์ริก (boric acid) 0.216 โมลาร์ และโปแทสเซียมซัลเฟต (potassium sulphate) 0.108 โมลาร์

ภาวะในการวิเคราะห์ปริมาณของกรดอะมิโน tryptophan ด้วยเครื่อง HPLC

ปริมาณตัวอย่าง	: 20 ไมโครลิตร
สารละลายเฟสเคลื่อนที่	: สารละลาย sodium citrate 0.6 โมลาร์ pH 9 (ที่มี boric acid 25mM ผสมอยู่)
อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	: 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที
คอลัมน์	: Shim-pack ISC-07/S 1504 Na
อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	: 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที
เครื่องตรวจวัด	: Fluorescence detector
อุณหภูมิในการวิเคราะห์	: 55 องศาเซลเซียส

ก.12 การคำนวณค่า Amino Acid Score (AAS)

วิธีการคำนวณ

1. คำนวณปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างต่อ 1 กรัมโปรตีน

2. นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า Amino Acid Score ตามสมการที่ ก. 10 โดยใช้ปริมาณกรดอะมิโนอ้างอิง ตามที่ Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation (2002) กำหนด (ตารางที่ ก.2)

$$AAS = \frac{\text{ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างต่อ 1 กรัมโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน)}}{\text{ปริมาณกรดอะมิโนอ้างอิงต่อ 1 กรัมโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน)}} \quad (ก.\ 10)$$

ตารางที่ ก.2 ปริมาณกรดอะมิโนอ้างอิง (มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน)

กรดอะมิโน	FAO/WHO[1] pattern
ฮิสทิดีน	15
ไอโซลูซีน	30
ลูซีน	59
ไลซีน	45
ซิสเทอีน + เมไทโอนีน	22
ฟีนิลแอลานีน + ไทโรซีน	38
ทรีโอนีน	23
แวลีน	39
ทริปโทเฟน	6

[1] Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation (2002)

ก.13 การวิเคราะห์ DPPH radical scavenging ดัดแปลงจากวิธีของ Blois (2002)

อุปกรณ์

1. Spectrophotometer (Thermo Spectronic® รุ่น Genesys 10UV, Waltham, Massachusetts, USA)

2. Vortex mixer (Labnet รุ่น VX100, Woodbridge, New Jersey, USA)

สารเคมี

1. 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (A.R. grade) (Sigma, Steinheim, Germany)
2. Gallic acid (A.R. grade) (Fluka Chemika, Buchs, Switzerland)
3. Methanol (A.R. grade) (Merck, Darmstadt, Germany)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. เตรียมสารสกัดจากเห็ดที่มีความเข้มข้น 1, 2.5, 5, 10, 20 และ 25 ไมโครลิตรสารสกัดต่อมิลลิลิตร ดังขั้นตอนต่อไปนี้

1.1 ปิเปตสารสกัดจากเห็ดมา 500 ไมโครลิตร แล้วเจือจางเห็ดด้วยเมทานอล จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล

1.2 ปิเปตสารละลายตัวอย่างในข้อ 1.1 มา 200 500 1000 2,000 4,000 5,000 และ 6,000 ไมโครลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลาย DPPH 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง Vortex จนสารละลายเข้ากัน แล้วเก็บสารละลายที่ได้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที

3. วัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

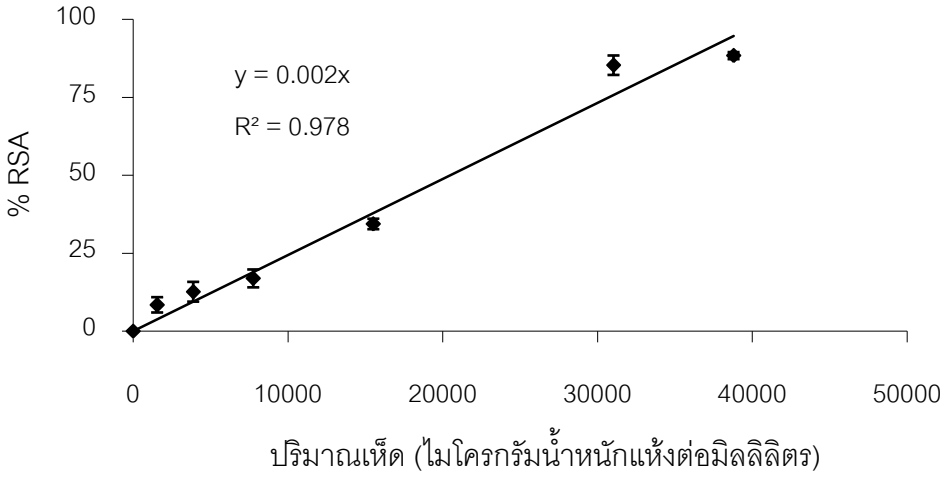
4. คำนวณความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (radical scavenging activity; %RSA) ตามสมการที่ ก.11

$$\%RSA = [(A_{DPPH} - A_S)/ A_{DPPH}] \times 100 \qquad (ก.11)$$

เมื่อ A_{DPPH} คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH เริ่มต้น

A_S คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH เมื่อเติมสารสกัดตัวอย่าง

5. สร้าง กราฟเส้นตรงระหว่างค่า %RSA กับปริมาณสารสกัดตัวอย่าง (ภาพที่ ก.3) โดยค่า EC_{50} ของตัวอย่างได้จากการแทนค่า y (% RSA) ของสมการเชิงเส้นเท่ากับ 50 เพื่อหาค่า x (ปริมาณเห็ด; ไมโครกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร)



ภาพที่ ก.3 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง %RSA และปริมาณเห็ดไข่ห่านเหลือง

6. เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดกับกรดแกลลิกมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 5 และ 7 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร ดังขั้นตอนต่อไปนี้

6. 1 เตรียมสารละลายกรดแกลลิก โดยชั่งกรดแกลลิกมาตรฐาน 25 มิลลิกรัม ละลายด้วยเมทานอลแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

6.2 ปิเปตสารละลายกรดแกลลิกจากข้อ 6.1 มา 20, 50, 100, 200, 400, 500 และ 600 ไมโครลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

6.3 จากนั้นทำตามขั้นตอนการทดลองข้อ 2-6 เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันระหว่างค่า EC_{50} ของสารสกัดจากเห็ด และค่า EC_{50} ของกรดแกลลิกมาตรฐาน

7. เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดกับกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน โดยคำนวณจากค่า AEAC (ascorbic acid equivalent antioxidant capacity) ดังสมการที่ ก.12

$$\text{AEAC (mg AA/100 g)} = (EC_{50} \text{ ของ ascorbate} / EC_{50} \text{ ของตัวอย่าง}) \times 10^5 \quad \text{(ก.12)}$$

เมื่อ ค่า EC_{50} ของ ascorbate เท่ากับ 0.00387 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Chan et al., 2007)

ก.14 การวิเคราะห์ค่า reducing power ดัดแปลงจากวิธีของ Elmastas และคณะ (2007)

อุปกรณ์

1. Spectrophotometer (Thermo Spectronic® รุ่น Genesys 10UV, Waltham, Massachusetts)
2. Vortex mixer (Labnet รุ่น VX100, Woodbridge, New Jersey)

สารเคมี

1. Ferrozine (A.R. grade) (Sigma, Germany)
2. Iron (III) chloride (A.R. grade) (Sigma, Germany) ความเข้มข้น 0.1% w/v
3. Potassium ferricyanide (A.R. grade)ความเข้มข้น 1% w/v
4. Potassium phosphate ; monobasic และ dibasic (A.R. grade)ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์
5. Trichloroacetic acid (A.R. grade) (Merck, Germany) ความเข้มข้น 10% w/v
6. Methanol (A.R. grade) (Merck, Darmstadt, Germany)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. เตรียมสารละลาย phosphate buffer ที่ค่า pH 6.6 ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

2. เตรียมสารละลายตัวอย่างที่มี ความเข้มข้นสารสกัดจากเห็ด 8, 16, 20, 24, 28 และ 32 ไมโครลิตรสารสกัดต่อมิลลิลิตร โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายดังขั้นตอนต่อไปนี้

1.1 ปิเปตสารสกัดจากเห็ด 400 ไมโครลิตร เจือจางสารสกัดจากเห็ดด้วยเมทานอล แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล

1.2 ปิเปตสารละลายตัวอย่างในข้อ 1.1 มา 2,000 4,000 5,000 6,000 7,000 และ 8,000 ไมโครลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

3. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย phosphate buffer (pH 6.6) 2.5 มิลลิลิตร เติม potassium ferricyanide 2.5 มิลลิลิตร แล้วเขย่า ด้วยเครื่อง vortex mixer

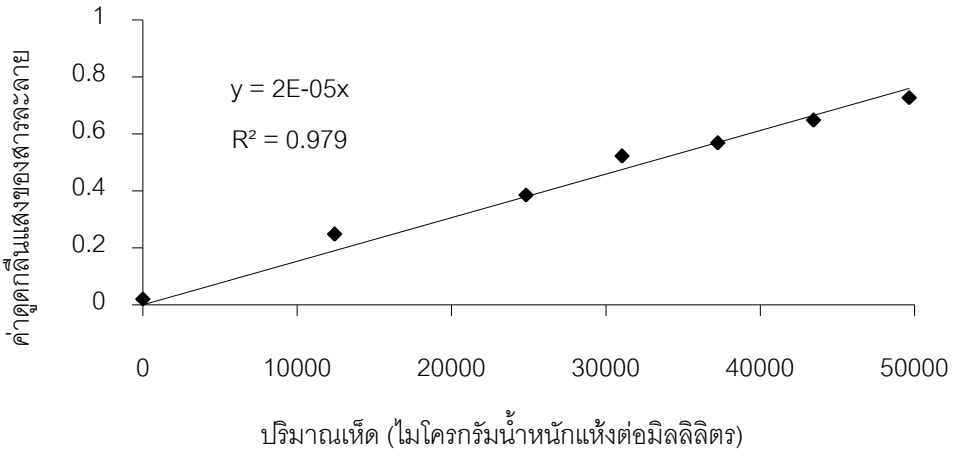
4. บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

5. เติม trichloroacetic acid 2.5 มิลลิลิตร เขย่าจนสารละลายเข้ากัน จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องcentrifuge ที่ความเร็ว 1000 g นาน 10 นาที

6. ปิเปตสารละลายส่วนบน 2.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และ $FeCl_3$ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าจนเข้ากัน

7. วัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

8. สร้างกราฟความสัมพันธ์ เชิงเส้น ระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณสารสกัด จากเห็ด (ภาพที่ ก.4) โดยค่า EC_{50} ของตัวอย่างได้จากการแทนค่า y (ค่าดูดกลืนแสง) ของสมการเชิงเส้นเท่ากับ 0.5 เพื่อหาค่า x (ปริมาณเห็ด; ไมโครกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร)



ภาพที่ ก.4 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณเห็ดไข่ห่านเหลือง

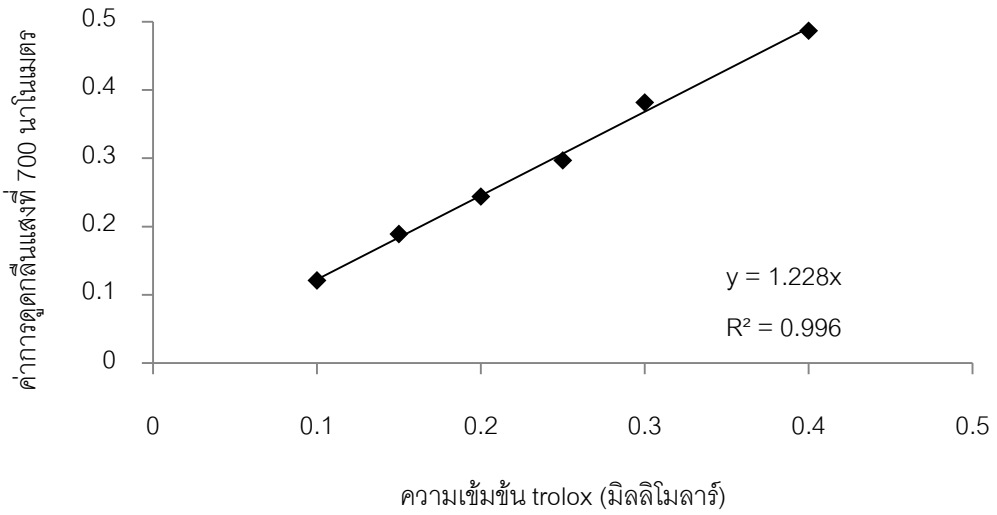
9. นำผลของการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย trolox (ภาพที่ ก.5) เพื่อคำนวณหาค่า trolox equivalent (TE) ที่มีในตัวอย่าง

10. การทำกราฟมาตรฐาน

10.1 ชั่งละลาย trolox 0.025 กรัม ในเมทานอล แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

10.2 ปิเปตสารละลายจากข้อ 1 มา 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 และ 3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลาย trolox ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25 และ 0.3 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ นำสารละลายแต่ละความเข้มข้นไปวิเคราะห์ reducing power ตามขั้นตอนที่ 3-6 เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ ก.5)

11. คำนวณหาค่า TE โดยแทนค่า y ในสมการเชิงเส้นด้วยค่าดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง เพื่อหาค่า x (TE; ไมโครโมล trolox ต่อกรัมน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง)



ภาพที่ ก.5 กราฟมาตรฐานของสารละลาย trolox

ก.15 การวิเคราะห์ chelating on ferrous ions ดัดแปลงจากวิธีของ Elmastas และคณะ (2007)

<u>อุปกรณ์</u>

1. เครื่อง Spectrophotometer (Thermo Spectronic® รุ่น Genesys 10UV, Waltham, Massachusetts)

2. เครื่อง Vortex (Labnet รุ่น VX100, Woodbridge, New Jersey)

สารเคมี

1. สารละลาย Ferrozine ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์
2. Iron (II) chloride tetrahydrate (A.R. grade) (Unilab, NSW, Australia) ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์
3. Methanol (A.R. grade) (Merck, Darmstadt, Germany)

วิธีทดลอง

1. เตรียมสารสกัดจากเห็ดที่มี ความเข้มข้น 0.8, 2, 4, 8, 16 และ 20 ไมโครลิตรสารสกัดต่อมิลลิลิตร ตามขั้นตอนต่อไปนี้

1.1 ปิเปตสารสกัดจากเห็ด 400 ไมโครลิตร เจือจางสารสกัดจากเห็ดด้วยเมทานอล จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล

1.2 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 200 500 1,000 2,000 4,000 และ 5,000 ไมโครลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลาย $FeCl_2$ ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปต ferrozine ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เขย่าด้วยเครื่อง Vortex จนสารละลายเข้ากัน

3. เก็บสารละลายในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที

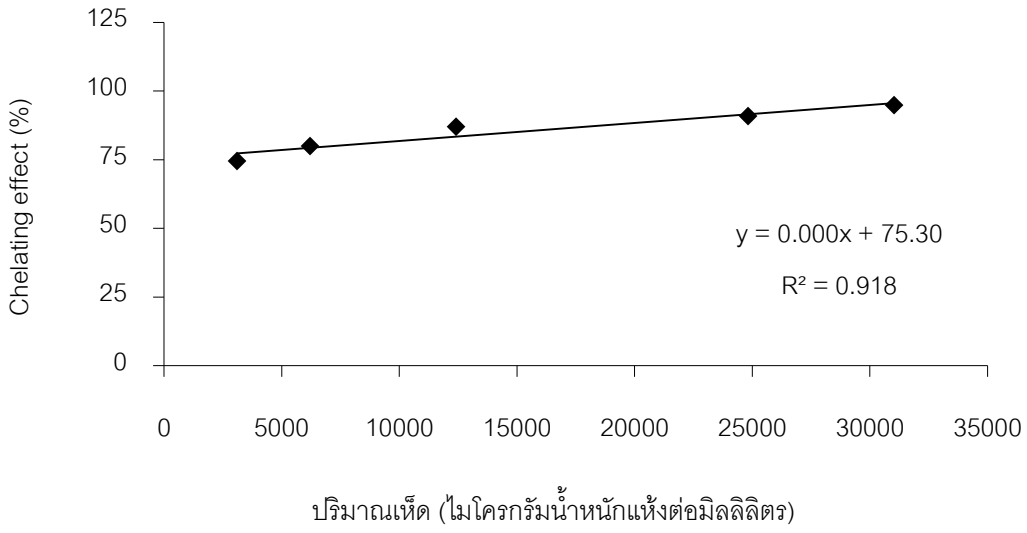
4. วัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่า chelating effect (%) ตามสมการที่ ก.13

$$\text{chelating effect (\%)} = [(A_0 - A_1)/ A_0] \times 100 \qquad \text{(ก.13)}$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายเริ่มต้น

A_1 คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายเมื่อเติมสารสกัดตัวอย่าง

5. สร้าง กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า chelating effect กับปริมาณตัวอย่าง ดัง (ภาพที่ ก.6) จากนั้นคำนวณหาค่า chelating effect ของตัวอย่างแต่ละชนิด โดย แทนค่า x ในสมการเชิงเส้น ด้วยปริมาณสารสกัดจากเห็ดเท่ากับ 10 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร เพื่อหาค่า y (chelating effect; %)



ภาพที่ ก.6 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง chelating effect และปริมาณเห็ดไข่ห่านเหลือง

ภาคผนวก ข

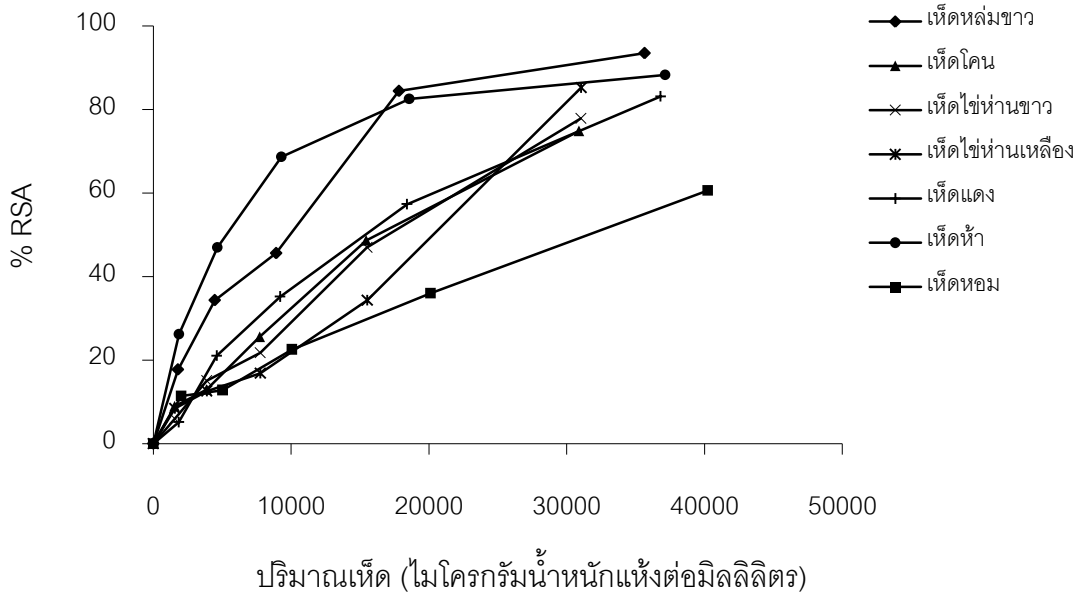
รูปภาพและตารางการทดลองเพิ่มเติม

ตารางที่ ข.1 ปริมาณกรดอะมิโนของเห็ดสดและเห็ดอบแห้ง (มิลลิกรัมต่อกรัมโดยน้ำหนักแห้ง)

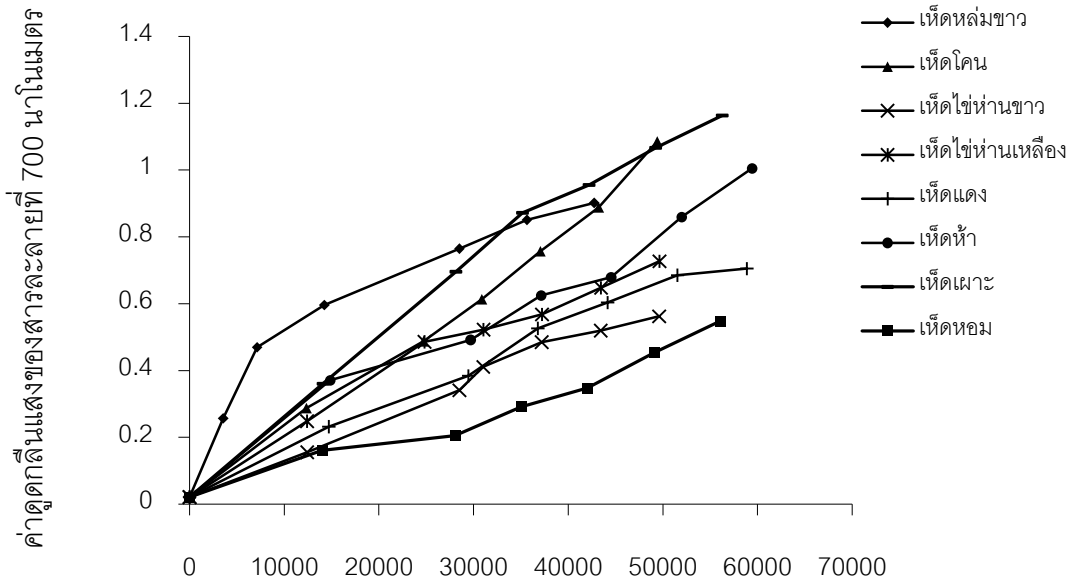
	เห็ดหล่มขาว		เห็ดห้า		เห็ดเผาะ	
	เห็ดสด	เห็ดแห้ง	เห็ดสด	เห็ดแห้ง	เห็ดสด	เห็ดอบแห้ง
Asp	4.27^{e} ± 0.41	3.80^{f} ± 0.14	22.00^{a} ± 0.15	19.57^{c} ± 0.22	20.58^{b} ± 0.26	18.89^{d} ± 0.21
Ser	1.59^{e} ± 0.25	0.84^{f} ± 0.02	10.04^{a} ±0.03	6.41^{b} ± 0.12	5.30^{c} ± 0.09	3.48^{a} ± 0.19
Glu	4.47^{e} ± 0.71	2.82^{f} ± 0.26	28.22^{c} ± 0.17	22.42^{d} ± 0.19	47.88^{a} ± 0.14	43.64^{b} ± 0.11
Gly	2.29^{e} ± 0.17	1.84^{f} ± 0.04	15.78^{a} ± 0.29	10.49^{b} ± 0.11	8.04^{c} ± 0.11	7.19^{d} ± 0.12
His	1.58^{e} ± 0.05	1.17^{f} ± 0.03	9.93^{a} ± 0.13	6.03^{c} ± 0.12	7.25^{b} ± 0.35	5.31^{d} ± 0.05
Arg	4.36^{e} ± 0.25	2.79^{f} ± 0.07	13.12^{a} ± 0.24	9.64^{b} ± 0.15	8.16^{c} ± 0.40	7.23^{d} ± 0.11
Thr	1.93^{e} ± 0.11	1.29^{f} ± 0.00	15.23^{a} ± 0.21	9.52^{c} ± 0.18	10.15^{b} ± 0.10	8.52^{d} ± 0.07
Ala	2.46^{e} ± 0.25	2.20^{f} ± 0.16	20.77^{a} ±0.25	15.50^{b} ±0.12	12.23^{c} ±0.32	10.48^{d} ± 0.16
Pro	2.71^{e} ± 0.25	2.44^{e} ± 0.25	18.22^{a} ± 0.17	13.73^{b} ± 0.12	9.71^{c} ± 0.37	7.54^{d} ± 0.04
Cys	-	-	-	-	5.66^{a} ± 0.09	4.53^{b} ± 0.13
Tyr	0.32^{d} ± 0.02	0.34^{d} ± 0.01	14.58^{a} ± 0.11	11.03^{b} ± 0.07	7.83^{c} ± 0.22	7.79^{c} ± 0.10
Val	1.92^{e} ± 0.39	1.59^{e} ± 0.11	15.19^{a} ± 0.11	11.04^{b} ± 0.19	6.34^{c} ± 0.29	5.89^{d} ± 0.10
Met	-	-	6.82^{a} ± 0.28	4.54^{c} ± 0.02	5.07^{b} ± 0.22	3.54^{d} ± 0.07
Lys	1.43^{e} ± 0.16	1.20^{e} ± 0.10	13.67^{a} ± 0.10	9.77^{b} ± 0.21	9.15^{c} ± 0.23	5.86^{d} ± 0.22
Ile	1.60^{e} ± 0.10	1.46^{e} ± 0.03	12.87^{a} ±0.16	10.06^{b} ± 0.20	7.17^{c} ± 0.17	5.51^{d} ± 0.03
Leu	2.33^{e} ± 0.19	1.72^{f} ± 0.07	22.53^{a} ± 0.14	16.16^{b} ± 0.17	12.07^{c} ± 0.20	9.58^{d} ± 0.09
Phe	2.56^{e} ± 0.24	2.00^{f} ± 0.05	13.35^{a} ± 0.06	9.62^{b} ± 0.18	13.35^{a} ± 0.06	9.62^{b} ± 0.18
Trp	1.78^{b} ± 0.08	0.87^{d} ± 0.03	3.07^{a} ± 0.06	3.01^{a} ± 0.14	1.25^{c} ± 0.06	1.03^{d} ± 0.14
Total	36.51	28.69	252.33	185.53	188.67	164.74

a,b,c,… ตัวเลขในแถวเดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ค.11)

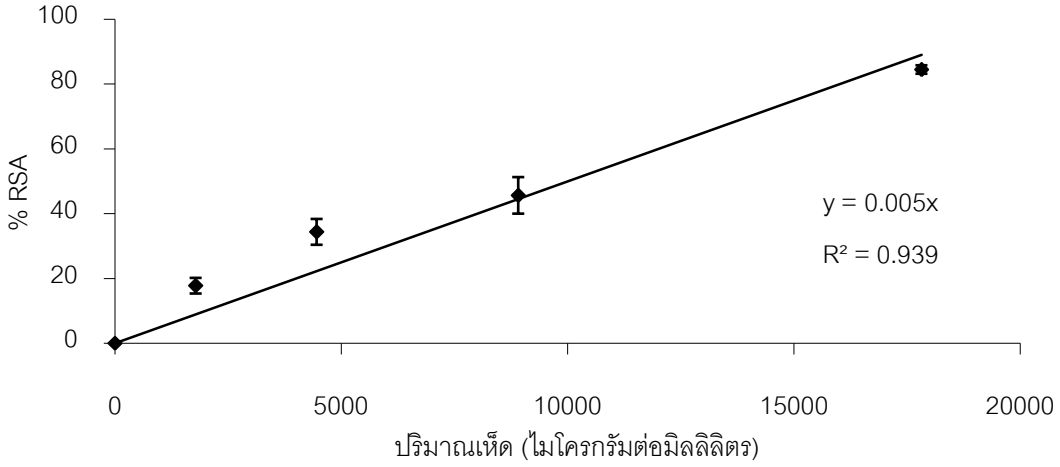
- หมายถึง ตรวจไม่พบปริมาณสารดังกล่าว



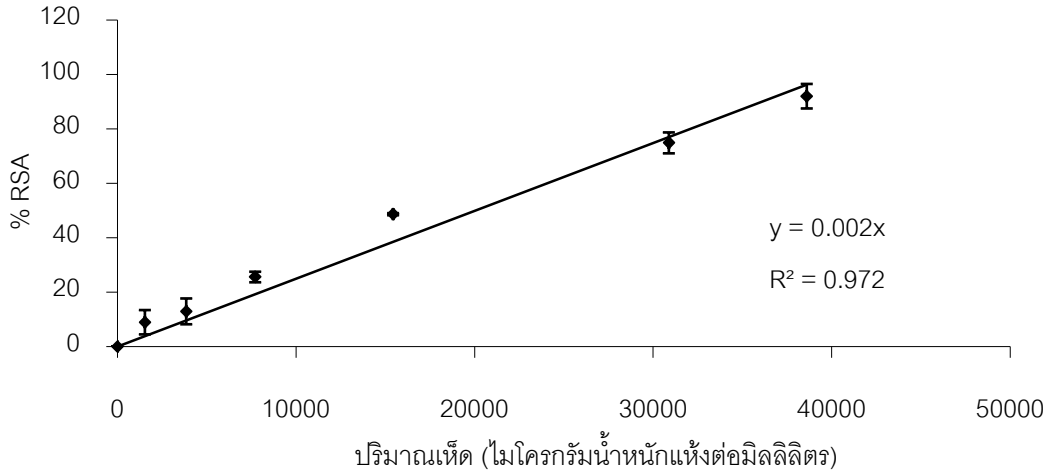
ภาพที่ ข.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า %RSA เฉลี่ยและปริมาณเห็ด



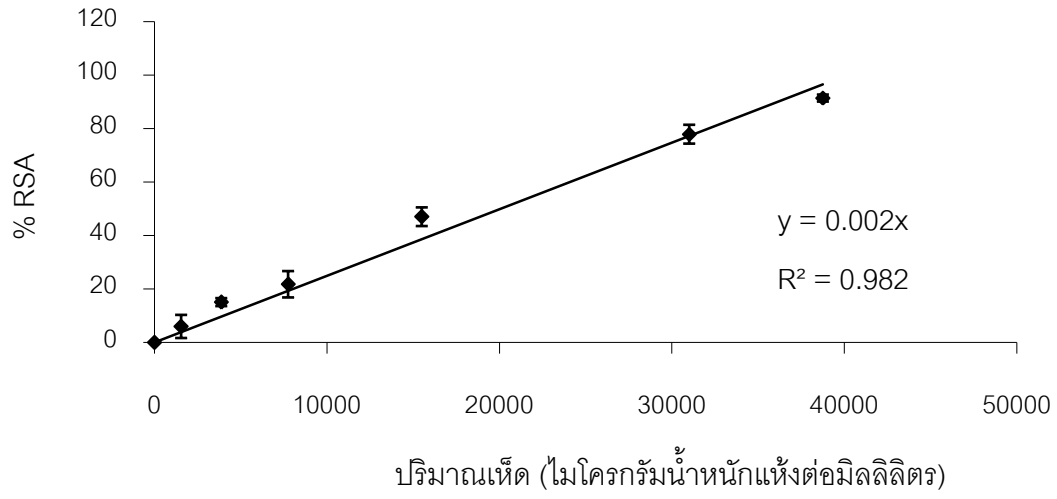
ภาพที่ ข.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ย และปริมาณเห็ด



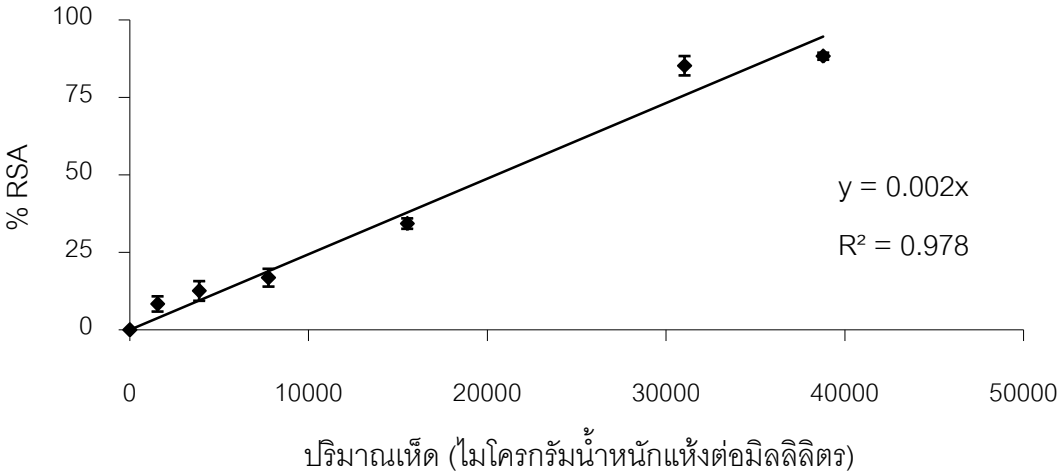
ภาพที่ ข.3 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า %RSA เฉลี่ย และปริมาณเห็ดหล่มขาวอบแห้ง



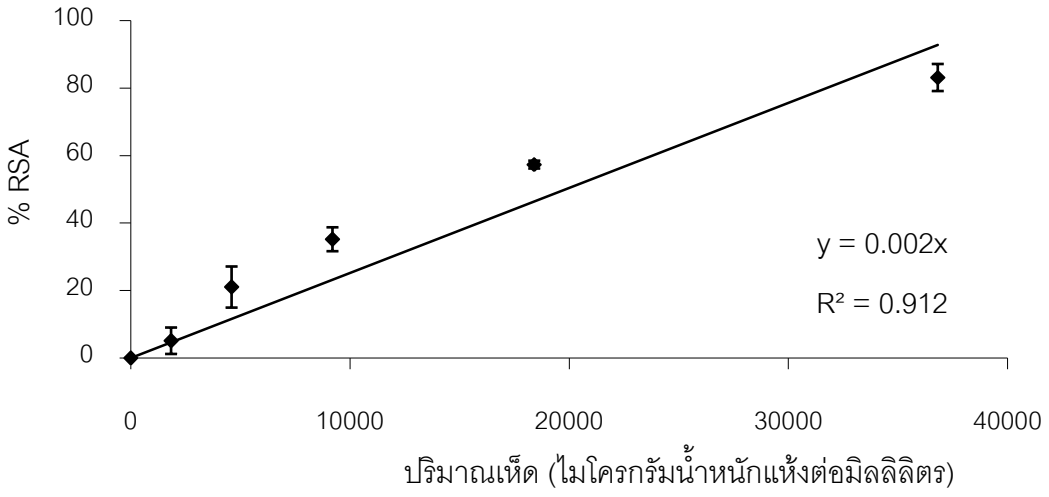
ภาพที่ ข.4 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า %RSA เฉลี่ย และปริมาณเห็ดโคนอบแห้ง



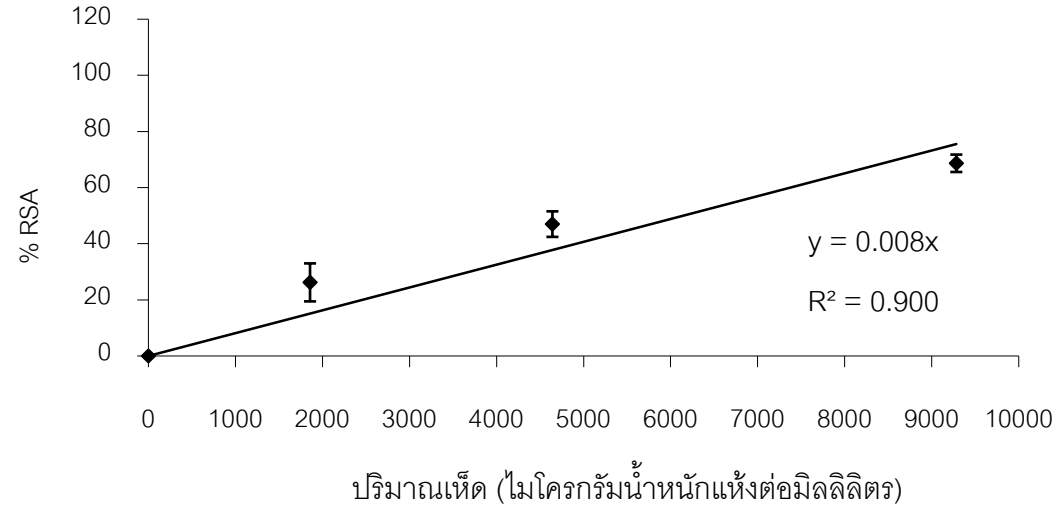
ภาพที่ ข.5 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า %RSA เฉลี่ย
และปริมาณเห็ดไข่ห่านขาวอบแห้ง



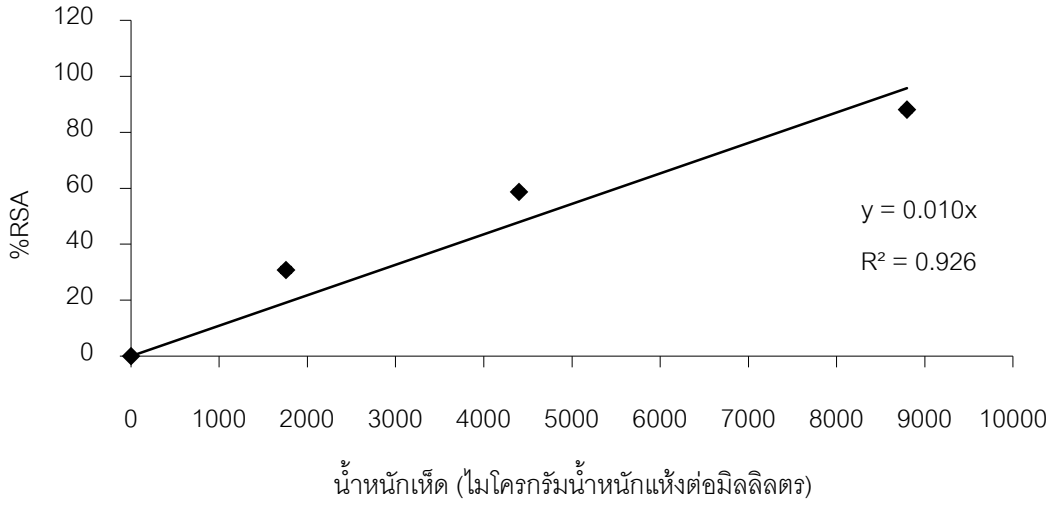
ภาพที่ ข.6 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า %RSA เฉลี่ย
และปริมาณเห็ดไข่ห่านเหลืองอบแห้ง



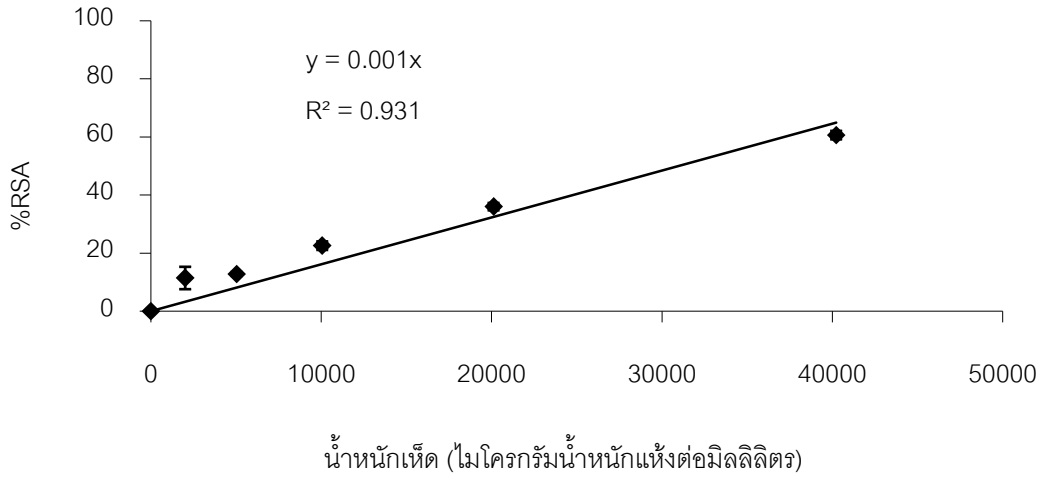
ภาพที่ ข.7 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า %RSA เฉลี่ย และปริมาณเห็ดแดงอบแห้ง



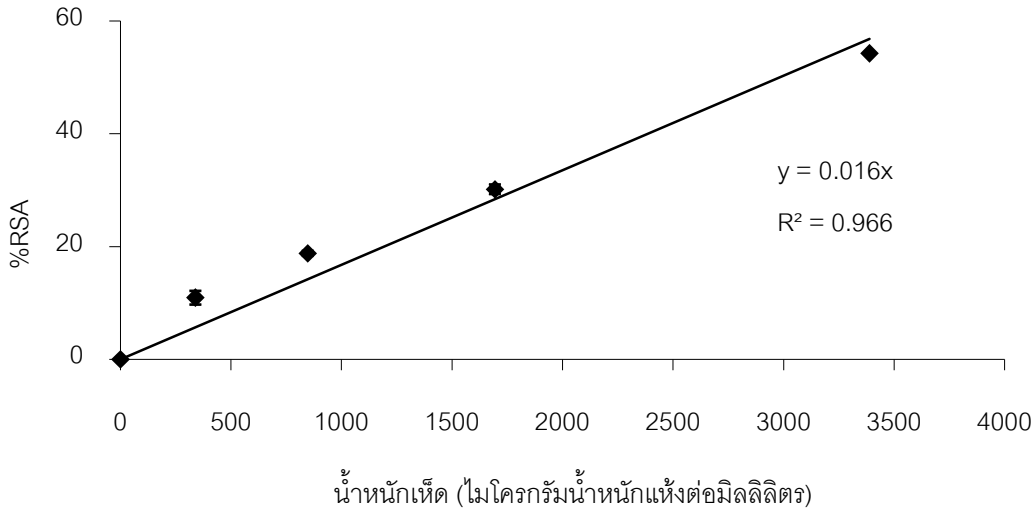
ภาพที่ ข.8 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า %RSA เฉลี่ย และปริมาณเห็ดห้าอบแห้ง



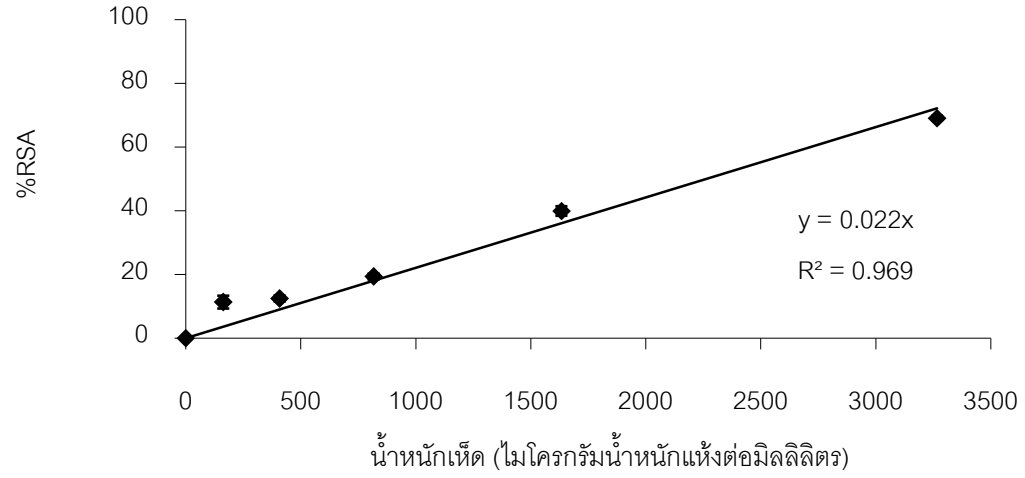
ภาพที่ ข.9 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า %RSA เฉลี่ย และปริมาณเห็ดเผาะอบแห้ง



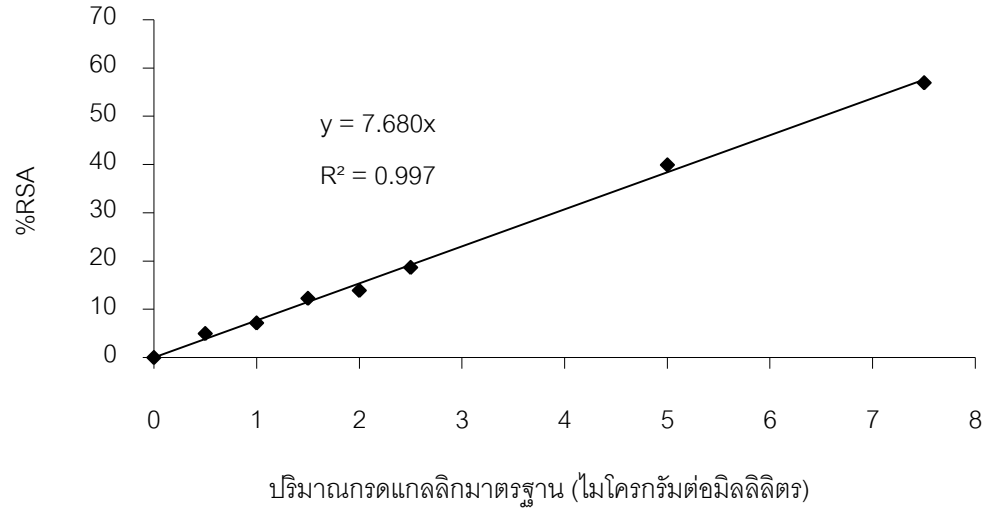
ภาพที่ ข.10 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า %RSA เฉลี่ย และปริมาณเห็ดหอมอบแห้ง



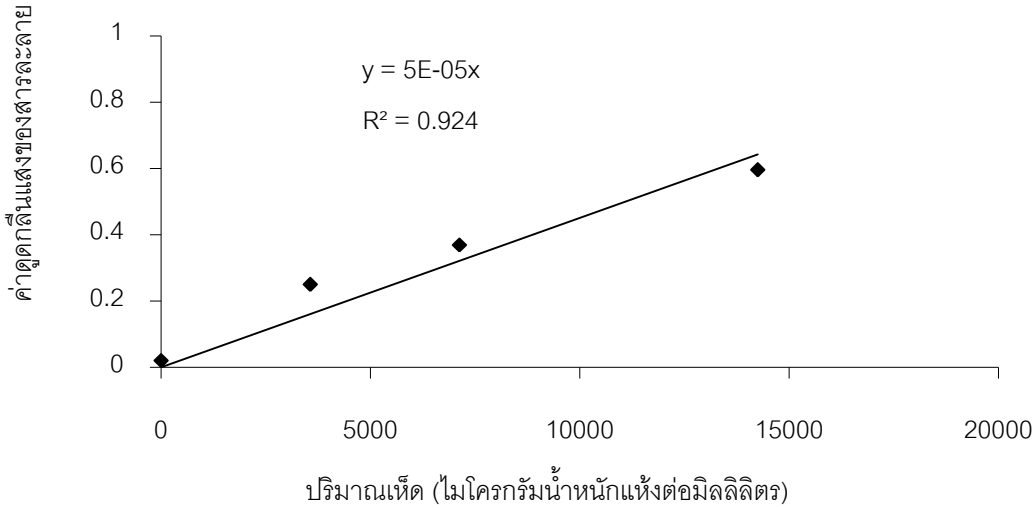
ภาพที่ ข.11 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า %RSA เฉลี่ย และปริมาณเห็ดหล่มขาวสด



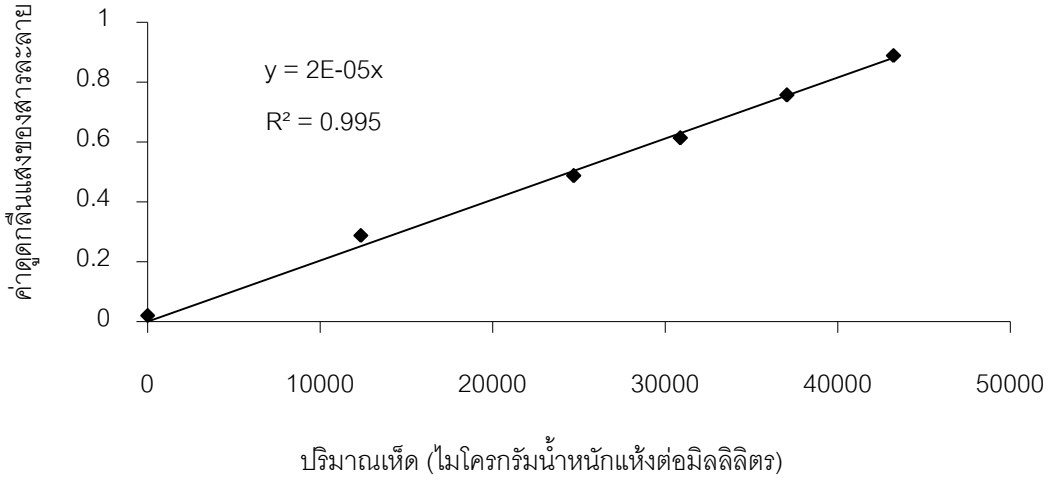
ภาพที่ ข.12 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า %RSA เฉลี่ย และปริมาณเห็ดห้าสด



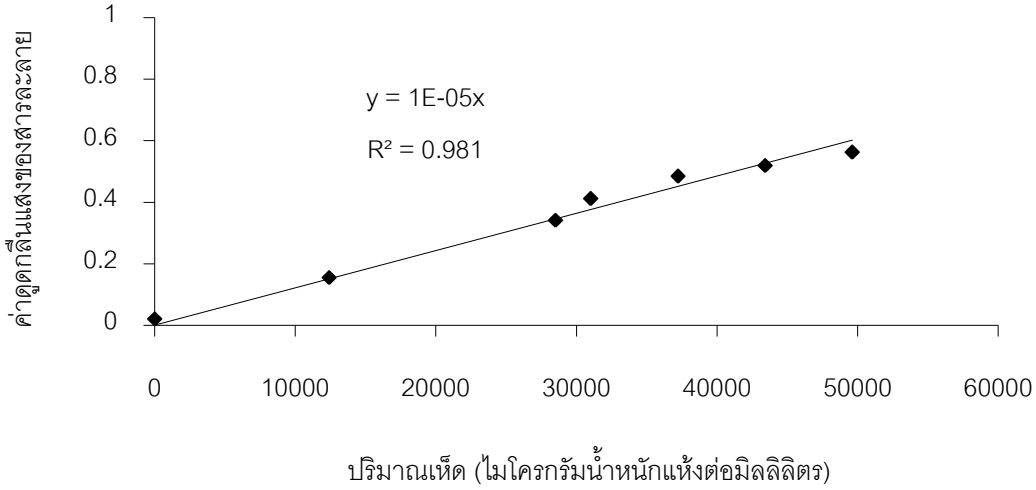
ภาพที่ ข.13 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า %RSA เฉลี่ย
และปริมาณกรดแกลลิกมาตรฐาน



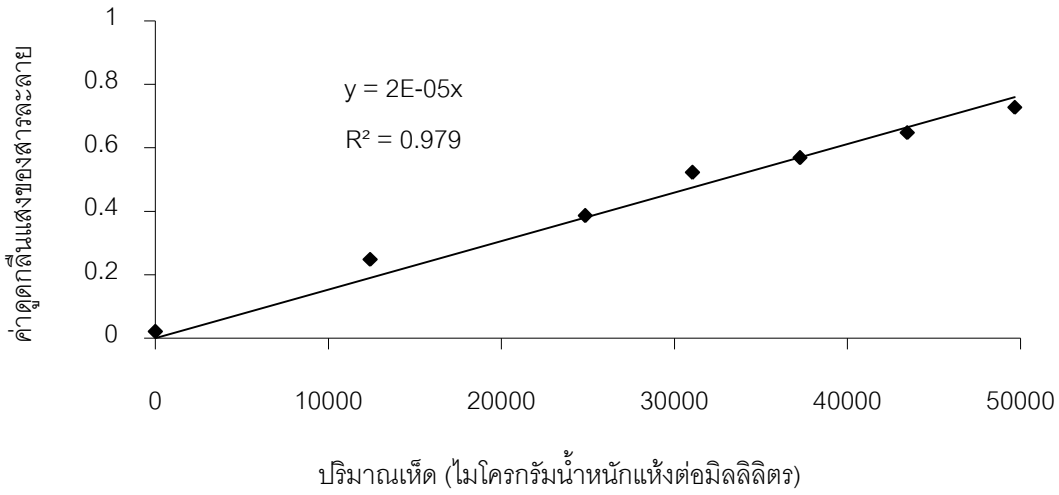
ภาพที่ ข.14 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสง
ที่ 700 นาโนเมตรและปริมาณเห็ดหล่มขาวอบแห้ง



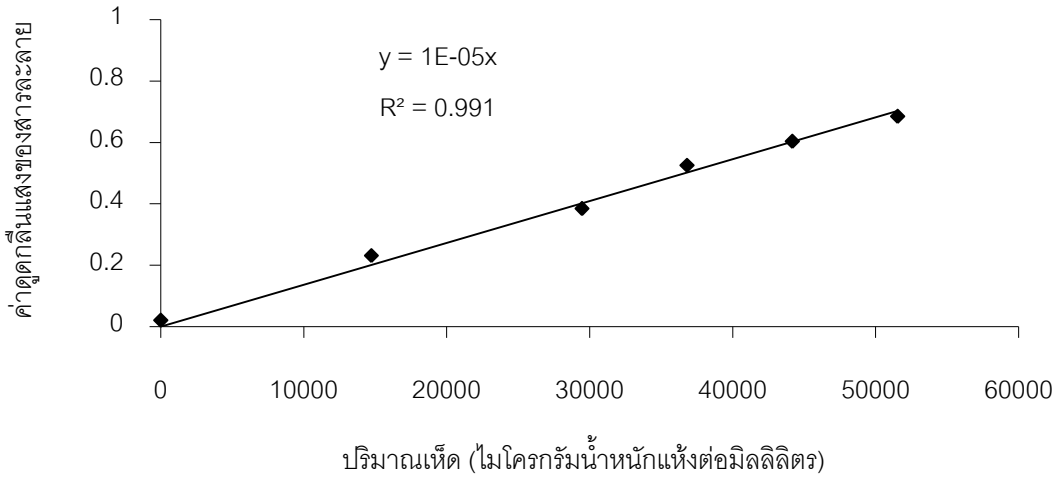
ภาพที่ ข.15 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสง
ที่ 700 นาโนเมตรและปริมาณเห็ดโคนอบแห้ง



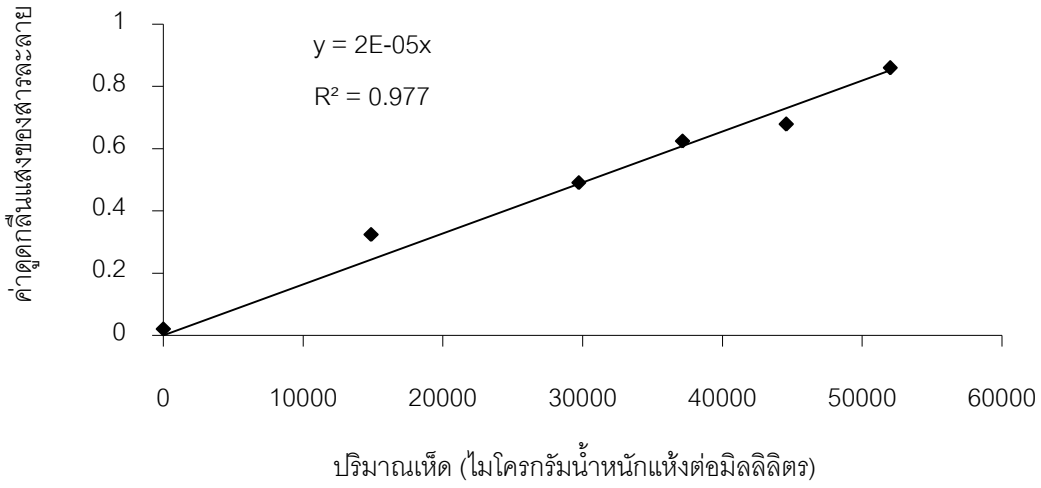
ภาพที่ ข.16 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสง
ที่ 700 นาโนเมตรและปริมาณเห็ดไข่ห่านขาวอบแห้ง



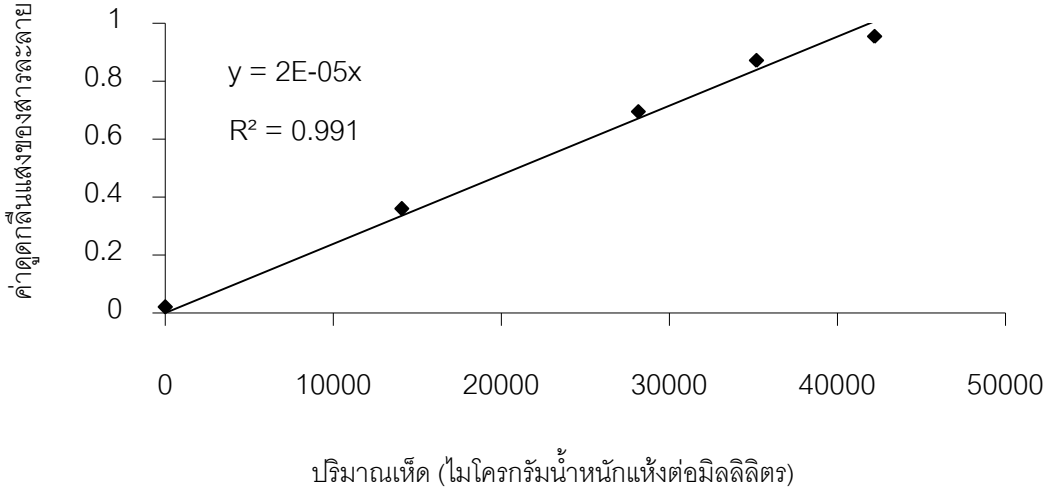
ภาพที่ ข.17 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสง
ที่ 700 นาโนเมตรและปริมาณเห็ดไข่ห่านเหลืองอบแห้ง



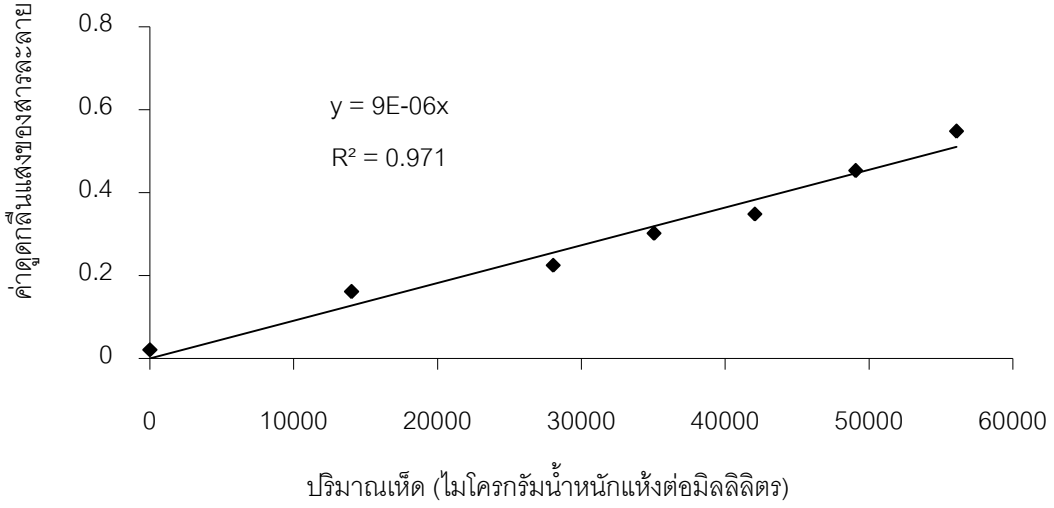
ภาพที่ ข.18 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสง
ที่ 700 นาโนเมตรและปริมาณเห็ดแดงอบแห้ง



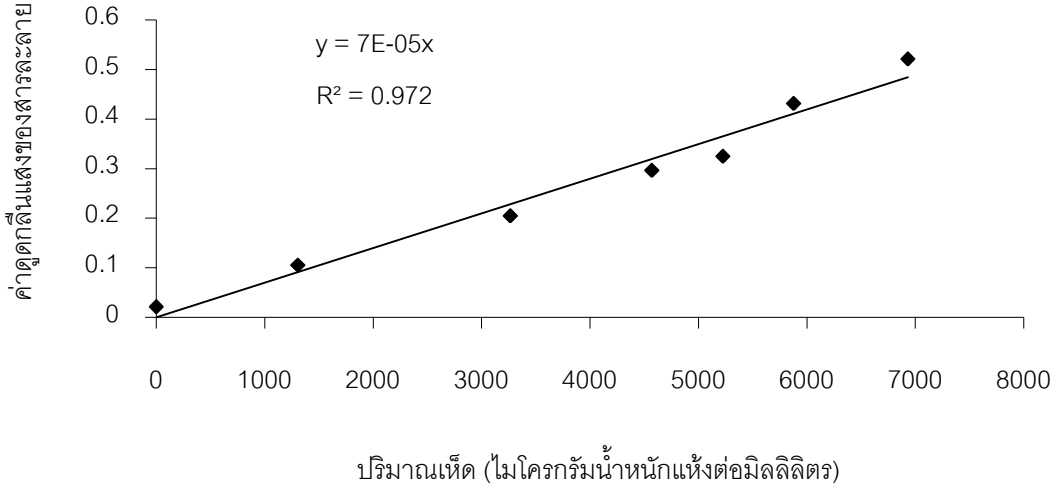
ภาพที่ ข.19 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสง
ที่ 700 นาโนเมตรและปริมาณเห็ดห้าอบแห้ง



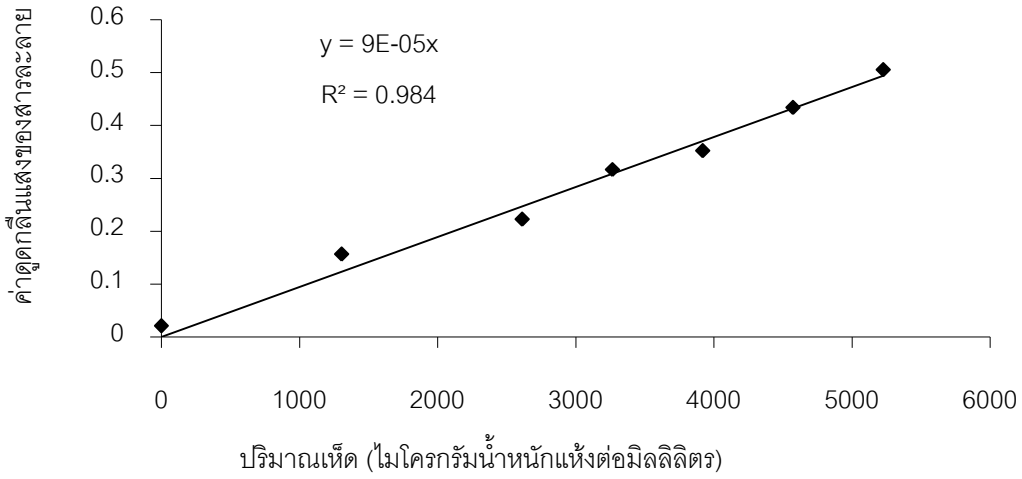
ภาพที่ ข.20 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสง
ที่ 700 นาโนเมตรและปริมาณเห็ดเผาะอบแห้ง



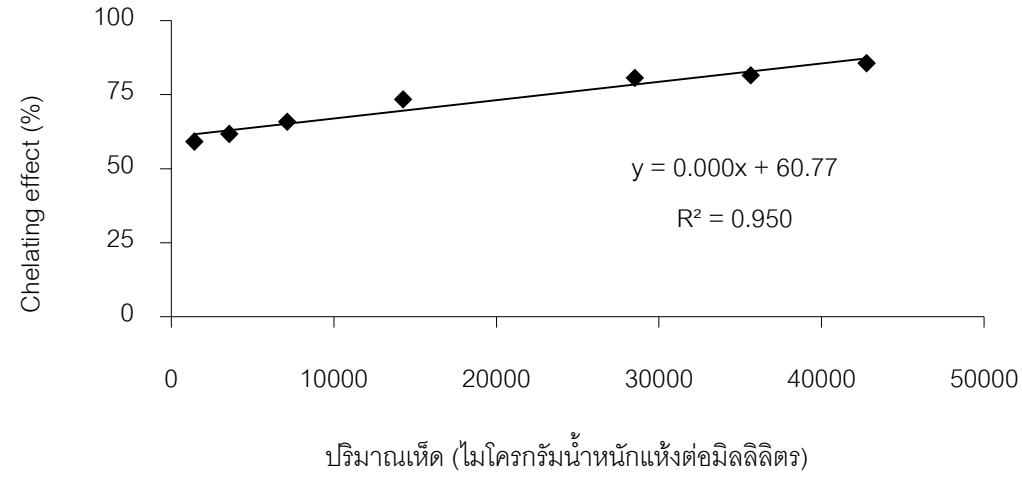
ภาพที่ ข.21 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสง
ที่ 700 นาโนเมตรและปริมาณเห็ดหอมอบแห้ง



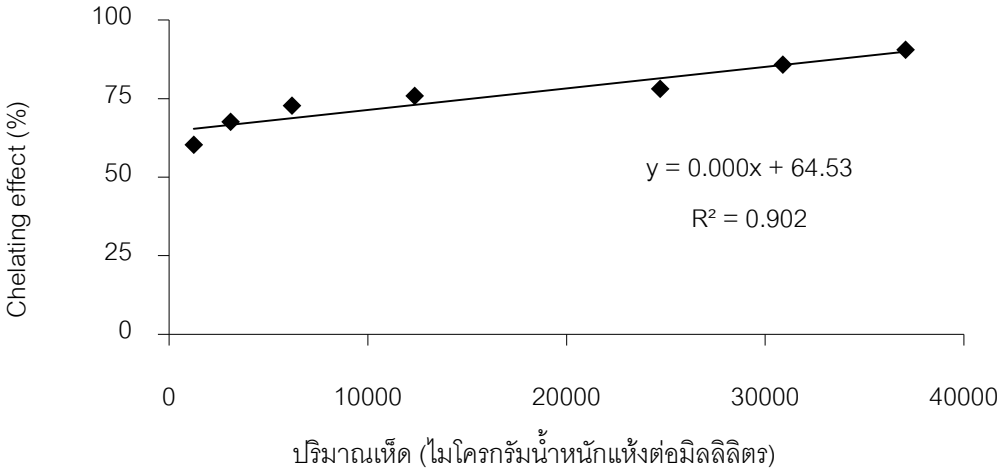
ภาพที่ ข.22 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสง
ที่ 700 นาโนเมตรและปริมาณเห็ดห้าสด



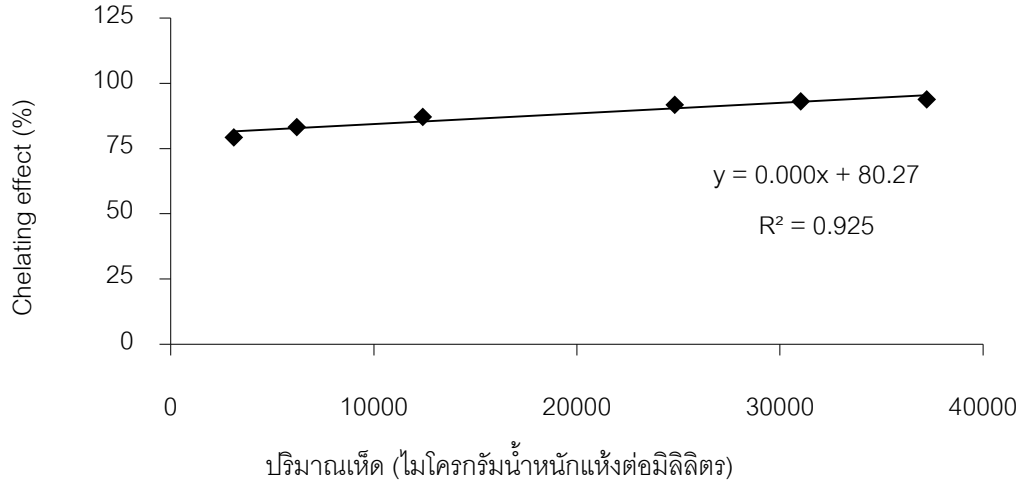
ภาพที่ ข.23 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสง
ที่ 700 นาโนเมตรและปริมาณเห็ดหล่มขาวสด



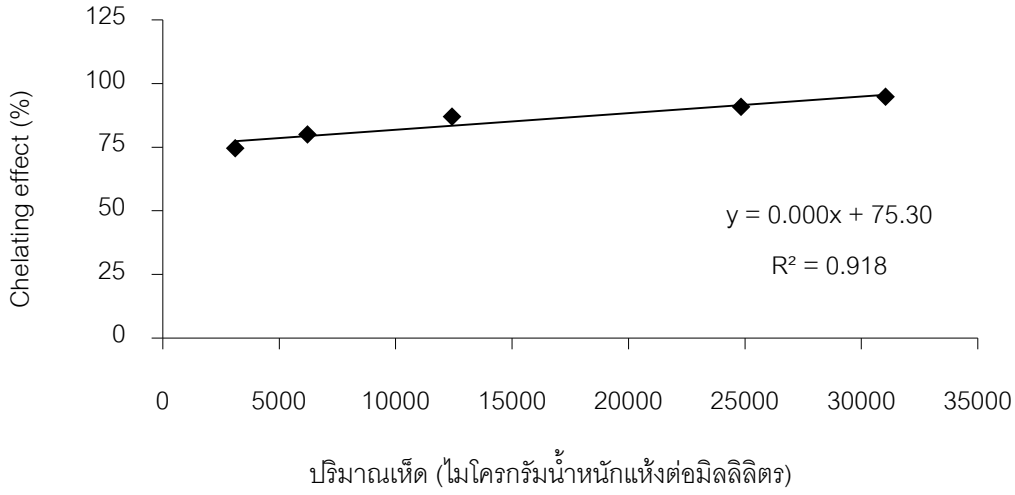
ภาพที่ ข.24 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างchelating effect (%)
และปริมาณเห็ดหล่มขาวอบแห้ง



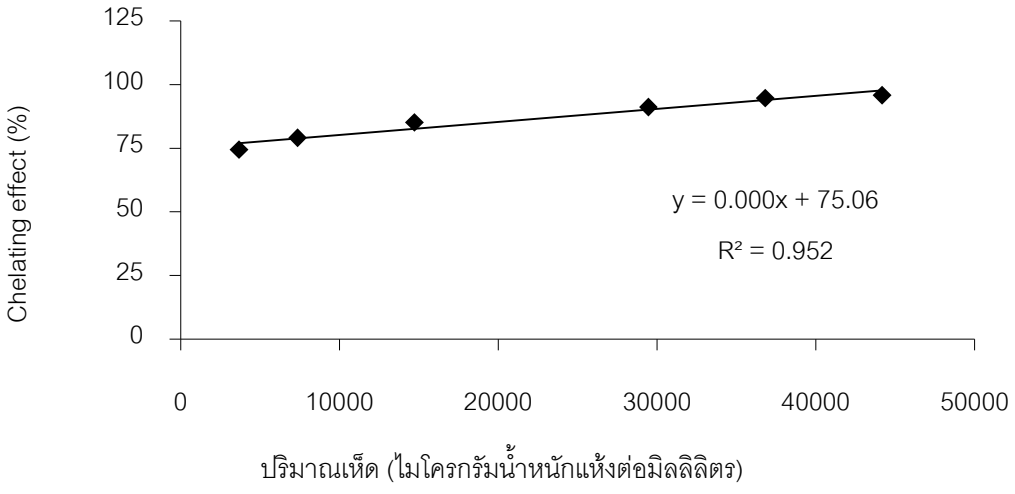
ภาพที่ ข.25 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างchelating effect (%) และปริมาณเห็ดโคนอบแห้ง



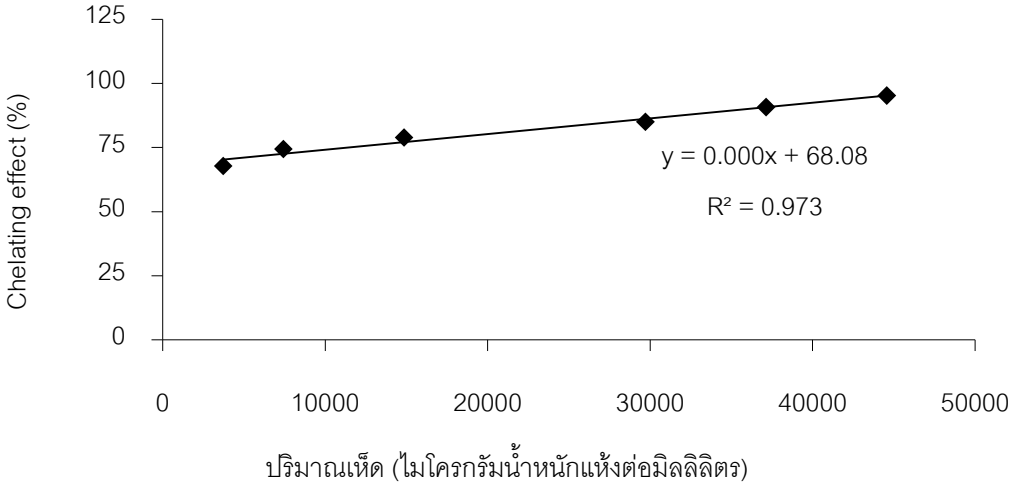
ภาพที่ ข.26 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างchelating effect (%) และปริมาณเห็ดไข่ห่านขาวอบแห้ง



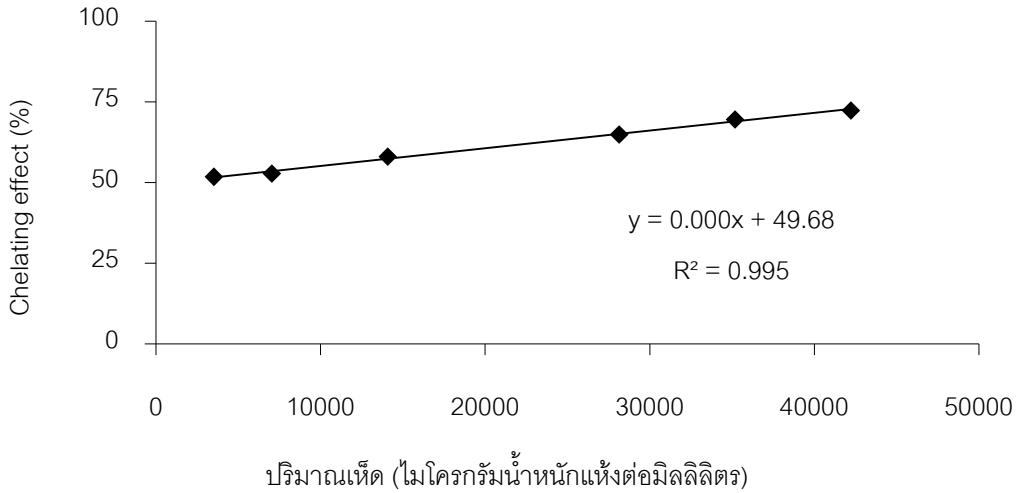
ภาพที่ ข.27 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างchelating effect (%) และปริมาณเห็ดไข่ห่านเหลืองอบแห้ง



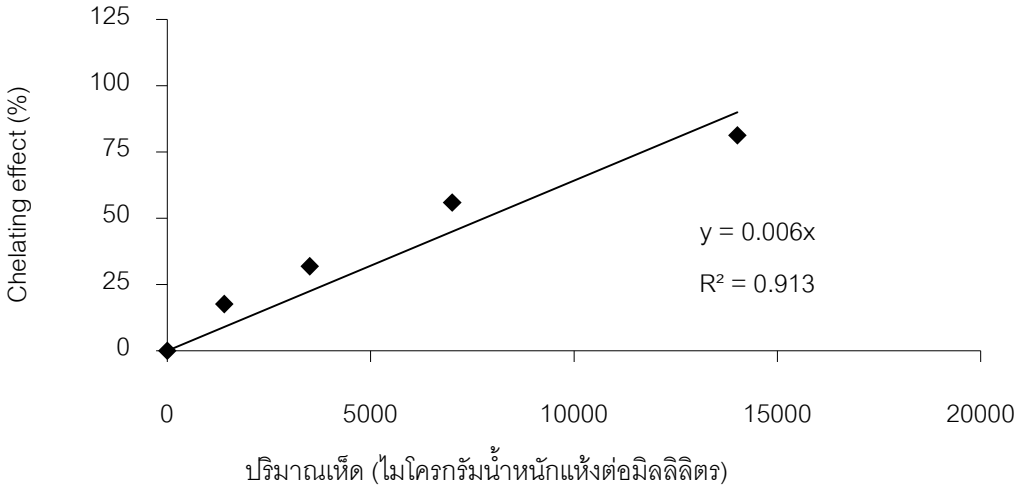
ภาพที่ ข.28 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างchelating effect (%) และปริมาณเห็ดแดงอบแห้ง



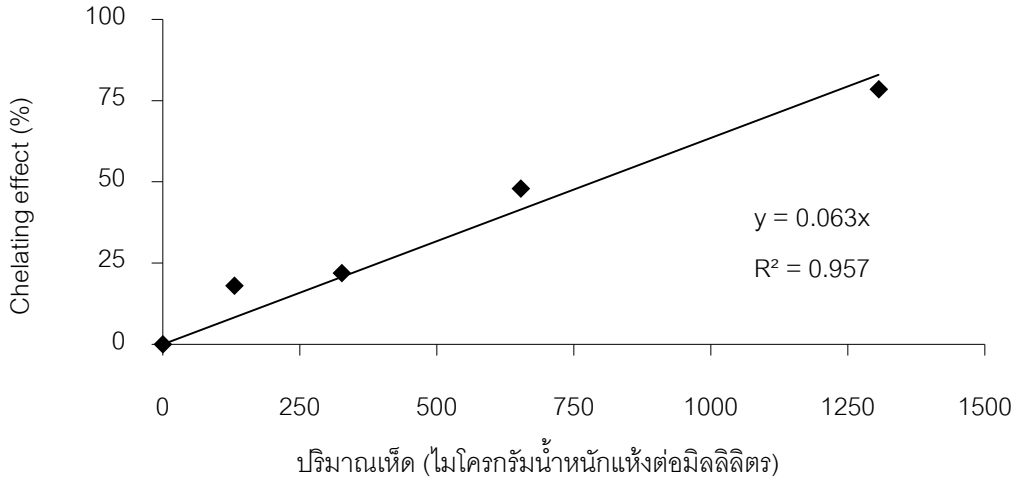
ภาพที่ ข.29 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างchelating effect (%) และปริมาณเห็ดห้าอบแห้ง



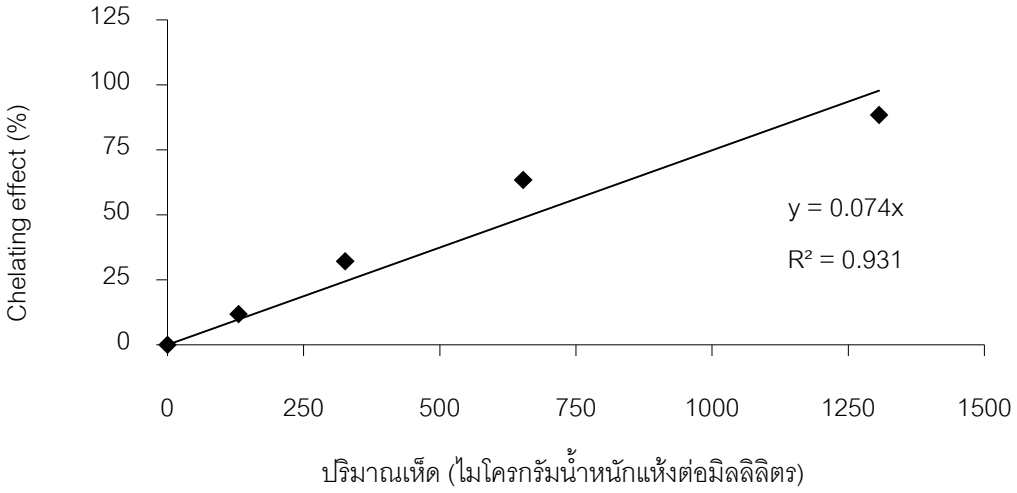
ภาพที่ ข.30 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างchelating effect (%) และปริมาณเห็ดเผาะอบแห้ง



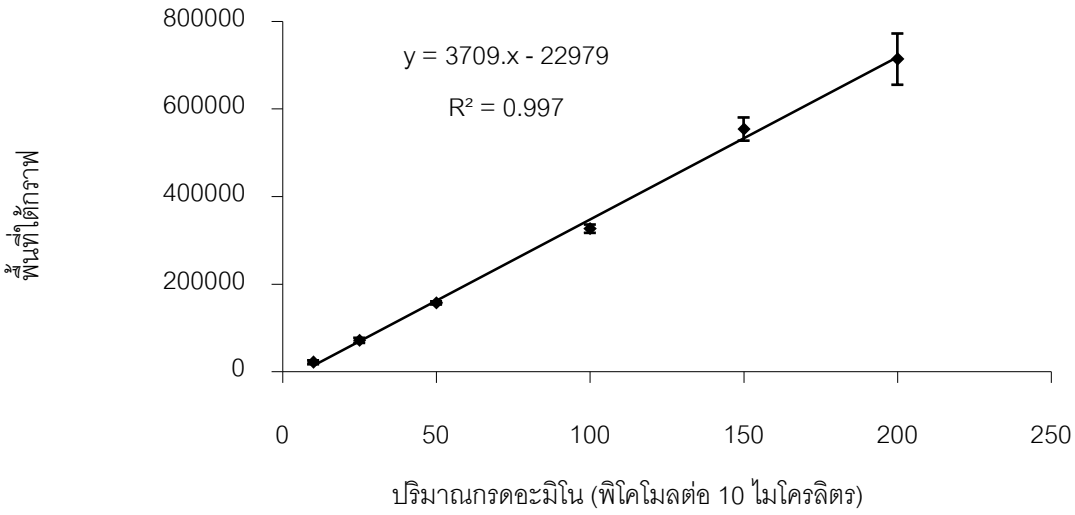
ภาพที่ ข.31 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง chelating effect (%) และปริมาณเห็ดหอมอบแห้ง



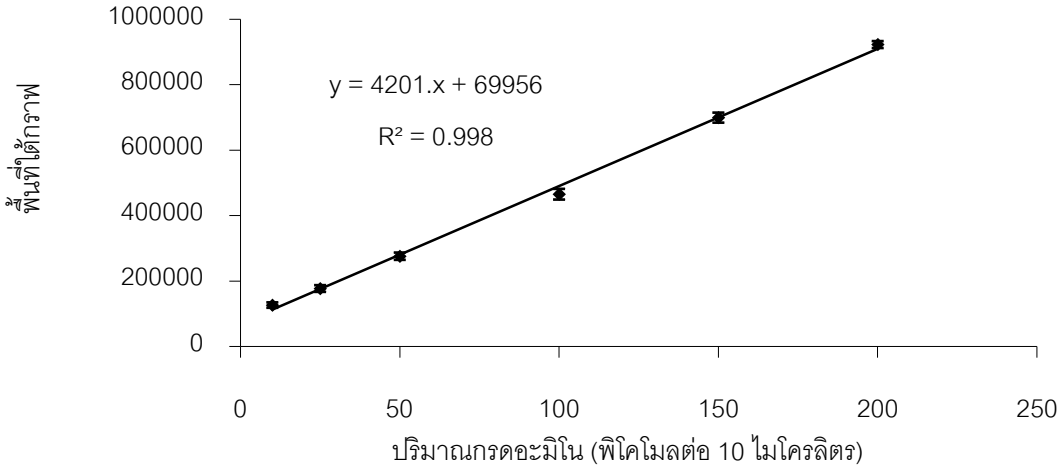
ภาพที่ ข.32 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง chelating effect (%) และปริมาณเห็ดห้าสด



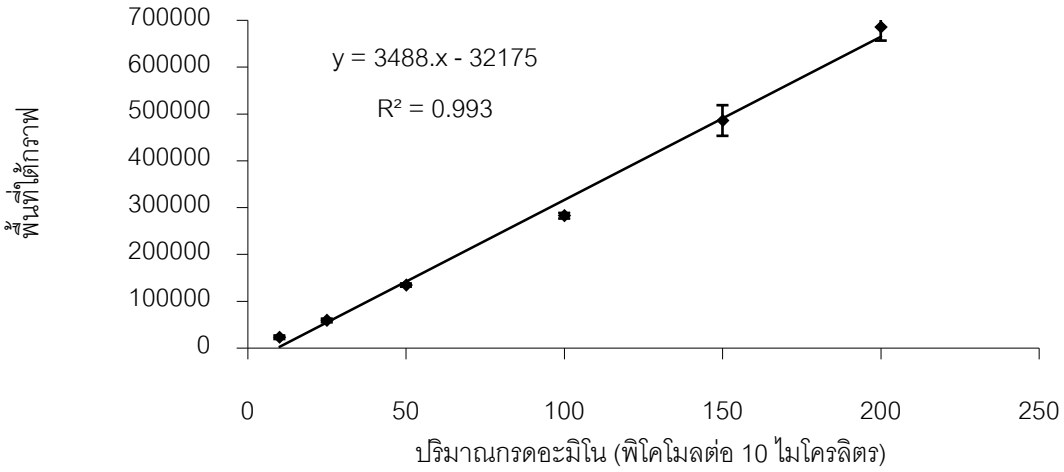
ภาพที่ ข.33 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค chelating effect (%) และปริมาณเห็ดหล่มขาวสด



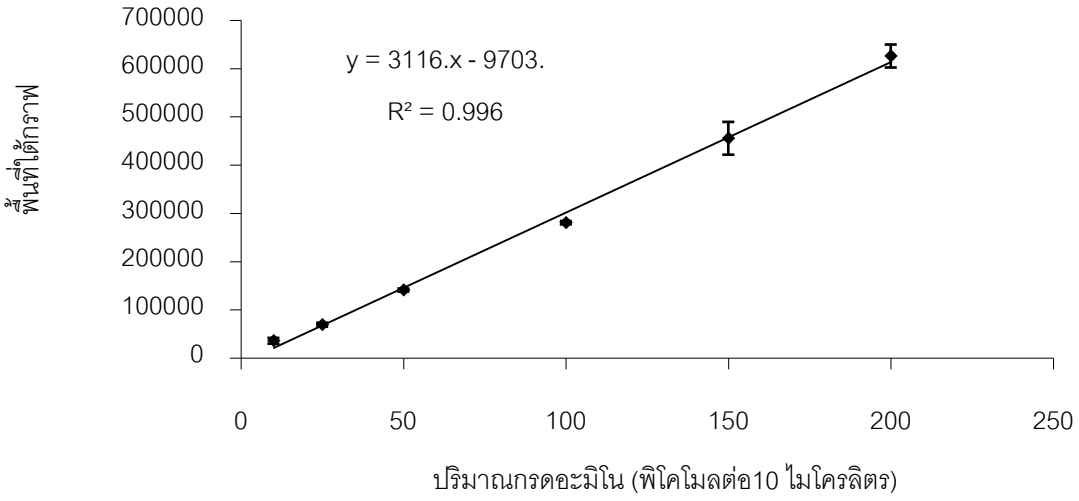
ภาพที่ ข.34 กราฟมาตรฐานของกรดแอสพาร์ติก



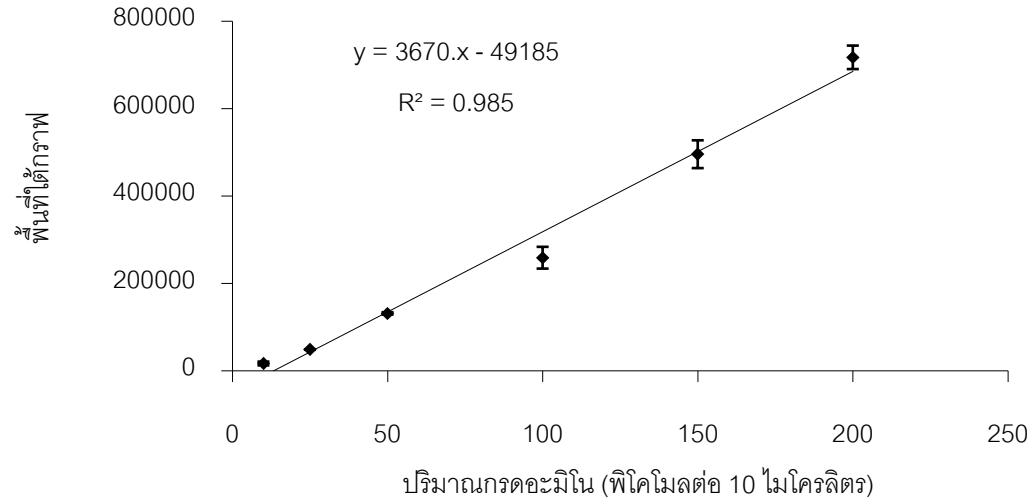
ภาพที่ ข.35 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนซีรีน



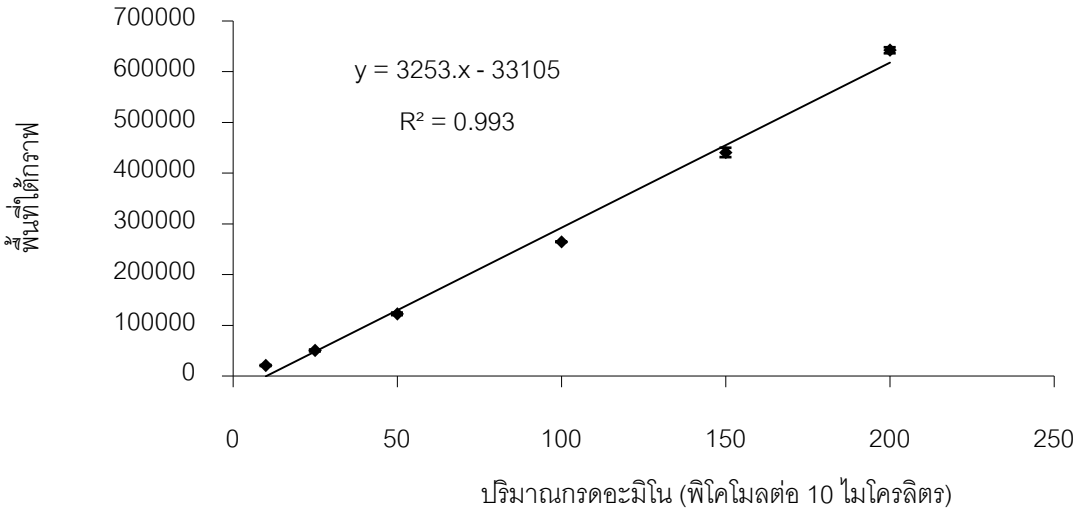
ภาพที่ ข.36 กราฟมาตรฐานของกรดกลูทามิก



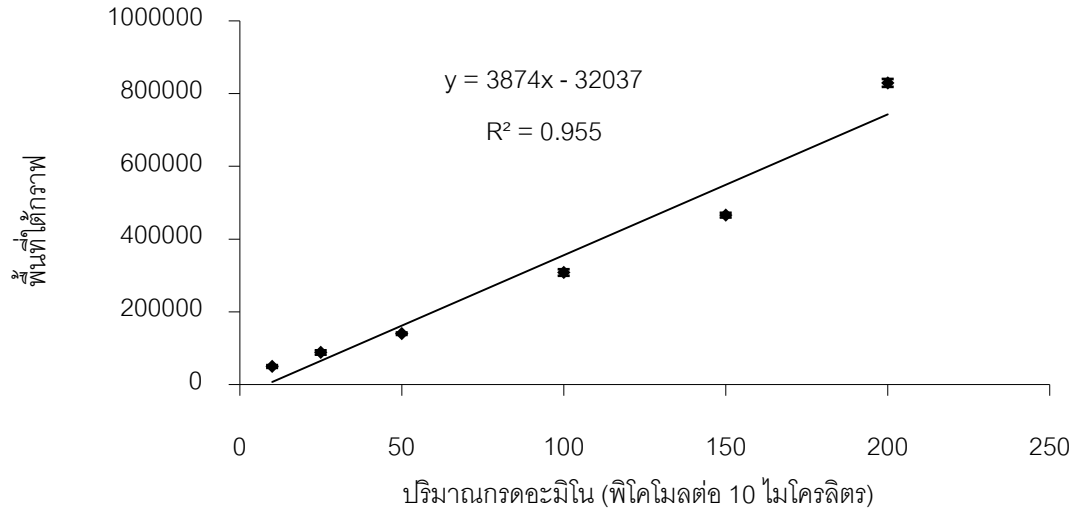
ภาพที่ ข.37 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนไกลซีน



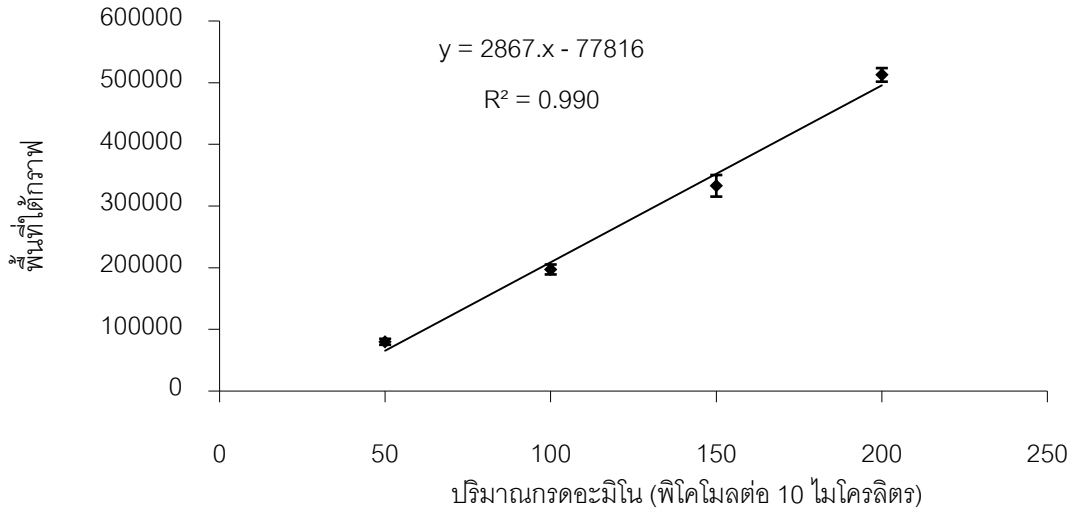
ภาพที่ ข.38 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนฮิสทิดีน



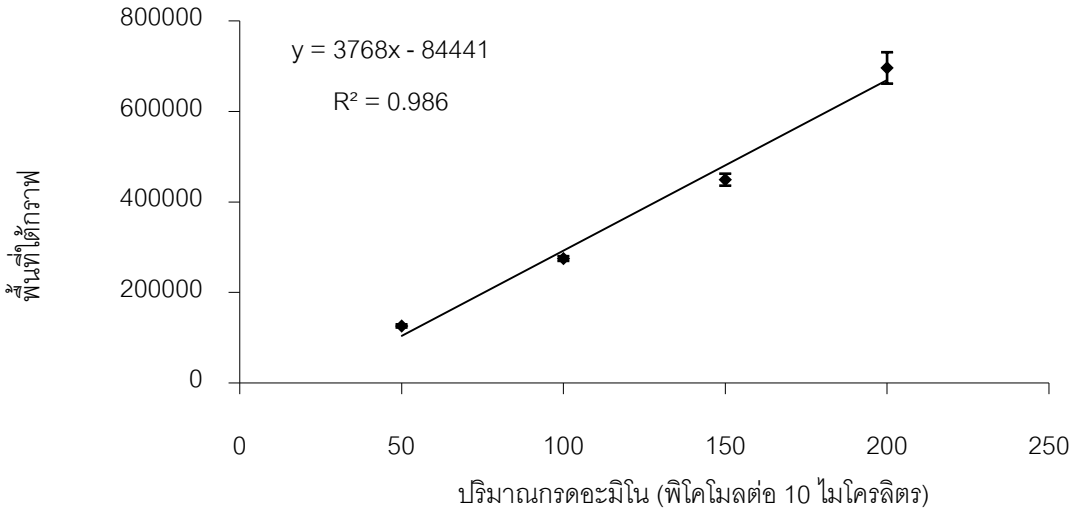
ภาพที่ ข.39 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนอาร์จินีน



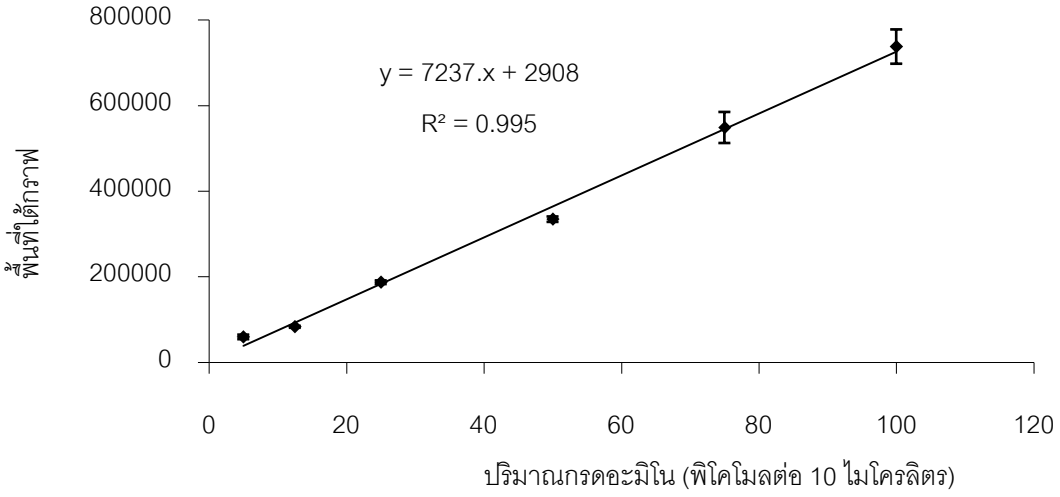
ภาพที่ ข.40 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนทรีโอนีน



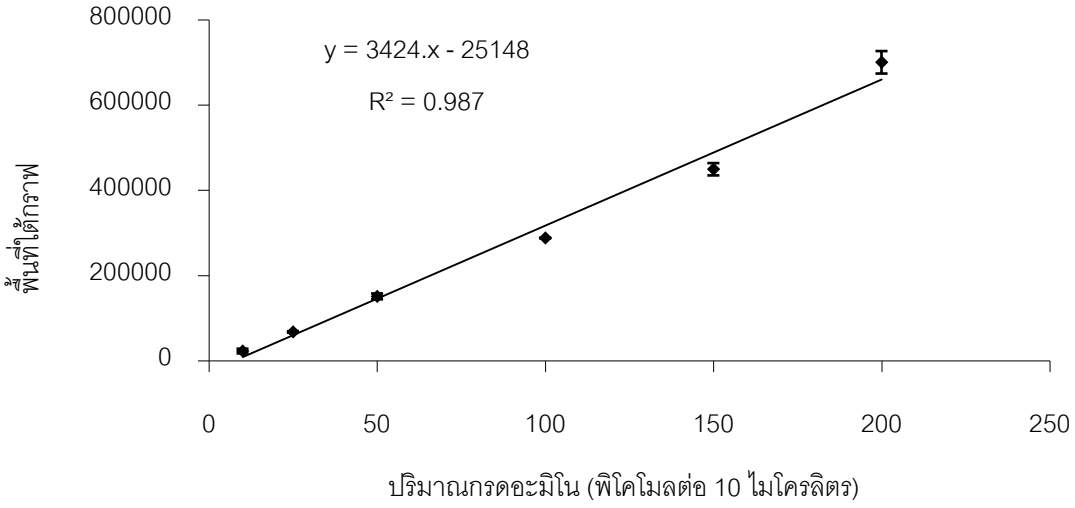
ภาพที่ ข.41 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนแอลานีน



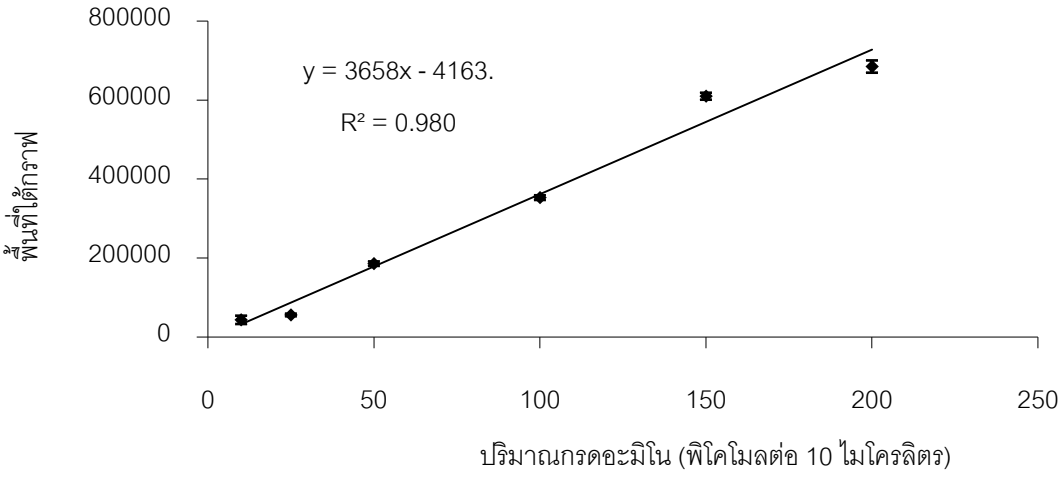
ภาพที่ ข.42 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนโพรลีน



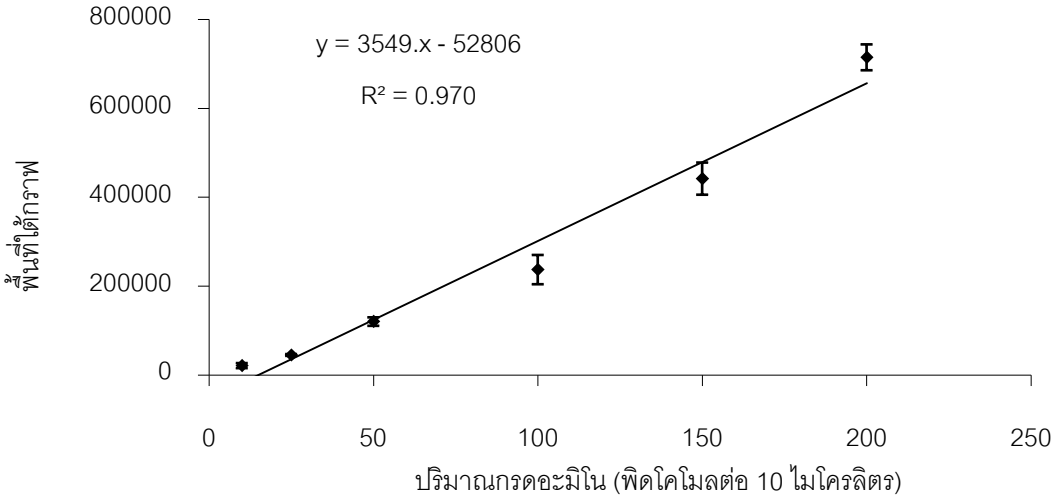
ภาพที่ ข.43 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนซิสเทอีน



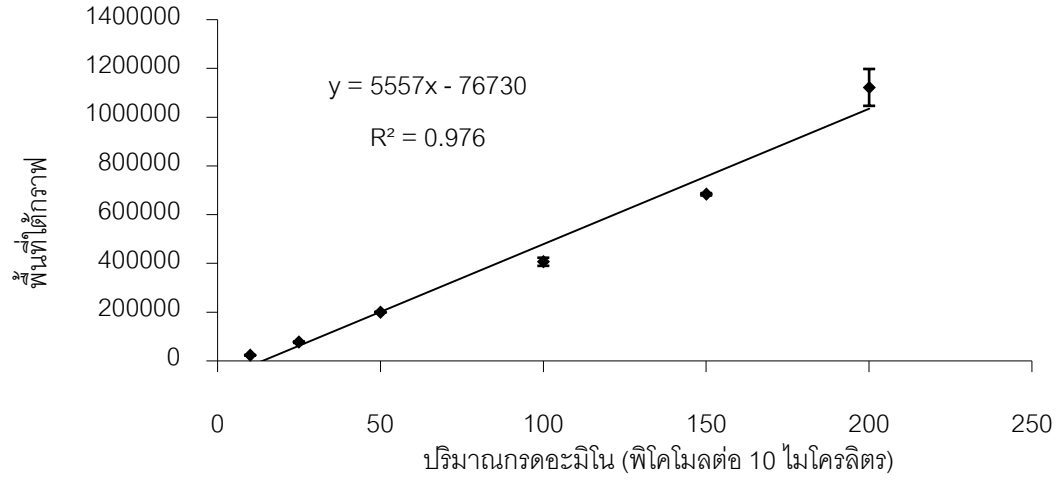
ภาพที่ ข.44 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนไทโรซีน



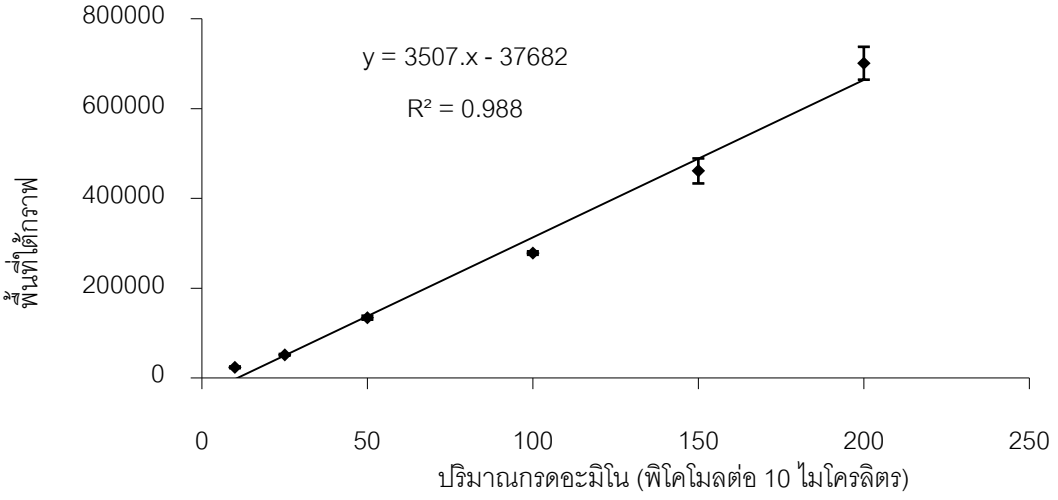
ภาพที่ ข.45 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนแวลีน



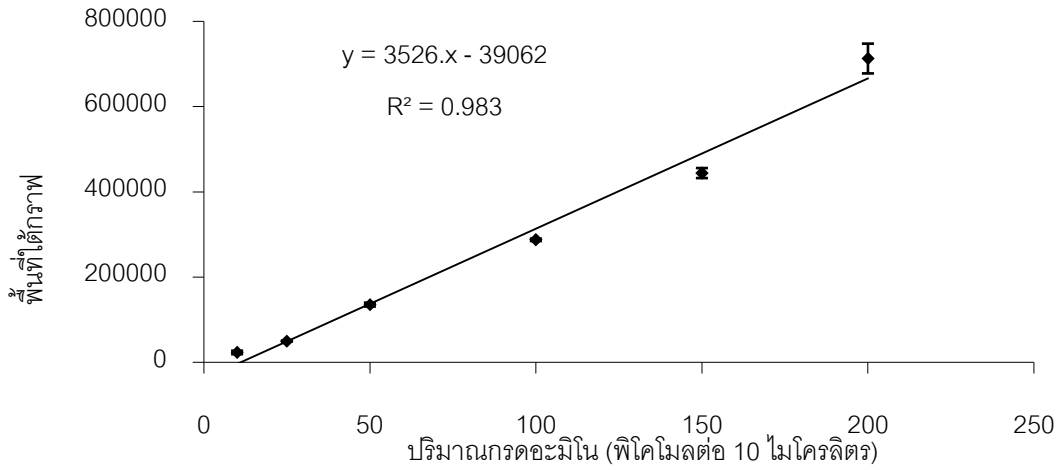
ภาพที่ ข.46 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนเมไทโอนีน



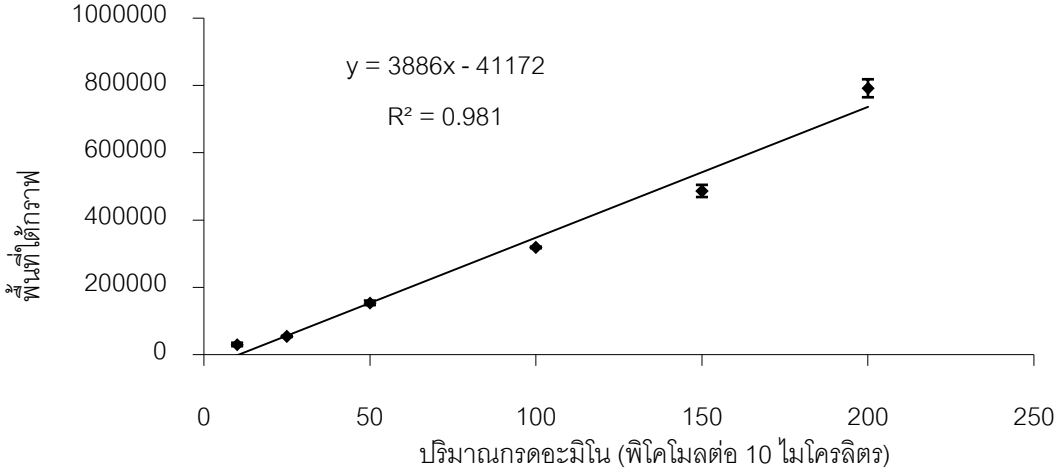
ภาพที่ ข.47 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนไลซีน



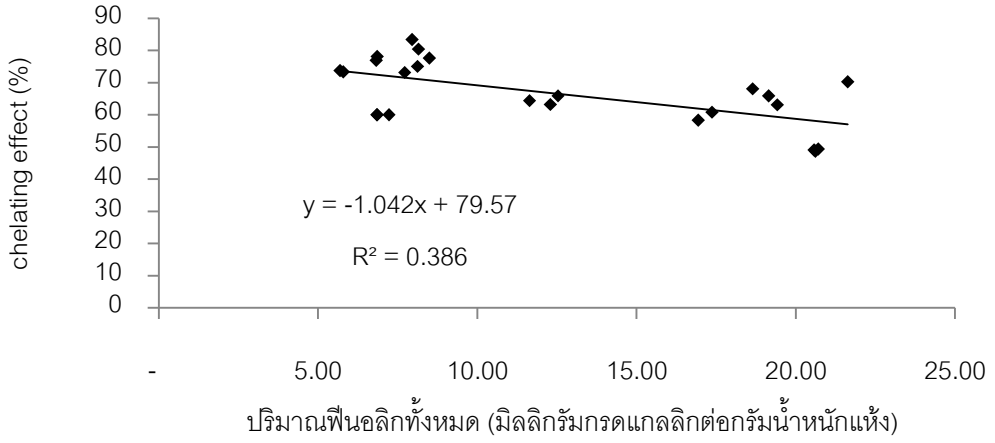
ภาพที่ ข.48 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนไอโซลูซีน



ภาพที่ ข.49 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนลูซีน



ภาพที่ ข.50 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนฟีนิลแอลานีน



ภาพที่ ข.51 กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างปริมาณฟีนอลิกและค่า chelating effect

ภาคผนวก ค

ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน

ตารางที่ ค.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นของเห็ดป่าบริโภคได้

SOV		df	MS
ปริมาณความชื้น	trt	6	56.575*
	error	14	4.839

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณปริมาณโปรตีนของเห็ดป่าบริโภคได้

SOV		df	MS
ปริมาณโปรตีน	trt	5	34.573*
	error	6	0.066

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเถ้าของเห็ดป่าบริโภคได้

SOV		df	MS
ปริมาณเถ้า	trt	3	16.970*
	error	4	0.353

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไขมันของเห็ดป่าบริโภคได้

SOV		df	MS
ปริมาณไขมัน	trt	3	8.494*
	error	4	0.205

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเส้นใยหยาบของเห็ดป่าบริโภคได้

SOV		df	MS
ปริมาณใยอาหาร	trt	3	29.219*
	error	4	1.770

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณคาร์โบไฮเดรตของเห็ดป่าบริโภคได้

SOV		df	MS
ปริมาณคาร์โบไฮเดรต	trt	3	32.392*
	error	4	2.327

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดป่าบริโภคได้

SOV		df	MS
ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	trt	7	112.761*
	error	16	0.709

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดของเห็ดป่าบริโภคได้

SOV		df	MS
Aspartic acid	trt	5	242.787*
	error	18	0.055
Serine	trt	5	22.512*
	error	18	0.028
Glutamic acid	trt	5	1059.651*
	error	18	0.052
Glycine	trt	5	50.043*
	error	18	0.030

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดของเห็ดป่าบริโภคได้ (ต่อ)

SOV		df	MS
Histidine	trt	5	15.996*
	error	18	0.017
Arginine	trt	5	27.944*
	error	18	0.075
Threonine	trt	5	50.689*
	error	18	0.052
Alanine	trt	5	124.288*
	error	18	0.018
Proline	trt	5	86.699*
	error	18	0.023
Cysteine	trt	5	19.343*
	error	18	0.011
Tyrosine	trt	5	89.676*
	error	18	0.008
Valine	trt	5	53.601*
	error	18	0.026
Methionine	trt	5	14.505*
	error	18	0.001
Lysine	trt	5	43.303*
	error	18	0.026
Isoleucine	trt	5	46.000*
	error	18	0.014
Leucine	trt	5	126.192*
	error	18	0.036
Phenylalanine	trt	5	33.138*
	error	18	0.169
Tryptophan**	trt	5	1.708*
	error	6	0.006

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

**ตัวอย่างส่งวิเคราะห์

ตารางที่ ค.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า AEAC (ascorbic acid equivalent antioxidant capacity) และค่า TE (trolox equivalent)

SOV		df	MS
ค่า AEAC	trt	7	1408.606*
	error	16	1.069
ค่า TE	trt	7	353.774*
	error	16	0.221

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า chelating effect (%) ของเห็ดแต่ละชนิด

SOV		df	MS
chelating effect	trt	7	311.556*
(%)	error	16	4.383

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดของเห็ดป่าอบแห้งและเห็ดป่าสด

SOV		df	MS
Aspartic acid	trt	5	285.286*
	error	18	0.070
Serine	trt	5	46.204*
	error	18	0.023
Glutamic acid	trt	5	1440.800*
	error	18	0.114
Glycine	trt	5	109.634*
	error	18	0.031
Histidine	trt	5	45.281*
	error	18	0.034

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดของเห็ดป่าอบแห้งและเห็ดป่าสด (ต่อ)

SOV		df	MS
Arginine	trt	5	54.966*
	error	18	0.066
Threonine	trt	5	112.794*
	error	18	0.021
Alanine	trt	5	213.527*
	error	18	0.059
Proline	trt	5	154.130*
	error	18	0.060
Cysteine	trt	5	26.248*
	error	18	0.006
Tyrosine	trt	5	131.264*
	error	18	0.017
Valine	trt	5	112.158*
	error	18	0.058
Methionine	trt	5	25.561*
	error	18	0.029
Lysine	trt	5	98.149*
	error	18	0.038
Isoleucine	trt	5	83.239*
	error	18	0.021
Leucine	trt	5	258.820*
	error	18	0.027
Phenylalanine	trt	5	76.574*
	error	18	0.028
Tryptophan	trt	5	1.913*
	error	6	0.005

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดป่าอบแห้งและเห็ดป่าสด

SOV		df	MS
ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	trt	3	2184.138*
	error	8	1.284

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว ปาริชาติ บำรุง เกิดวันที่ 18 กุมภาพันธ์ 2529 ที่กรุงเทพมหานคร มีภูมิลำเนาอยู่ที่จังหวัดนนทบุรี สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขา เทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ พระนครเหนือ เมื่อปีการศึกษา 2550 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2551

ผลงานวิจัย

1. นำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการ Food Innovation Asia Conference 2010: Indigenous Food Research and Development to Global Market ในหัวข้อ “Chemical compositions and antioxidant activity of wild edible mushrooms from northern region of Thailand.” ระหว่างวันที่ 17-18 มิถุนายน พ.ศ. 2553 ณ ศูนย์ประชุม BITEC กรุงเทพมหานคร

2. แสดงผลงานในรูปแบบโปสเตอร์ ในงาน Mathematics and Physical Sciences Graduate Congress ครั้งที่ 6 ในหัวข้อ “Chemical composition and nutritional quality of proteins of wild edible mushrooms from northern region of Thailand.” ระหว่างวันที่ 13-15 ธันวาคม พ.ศ. 2553 ณ University of Malaya ประเทศมาเลเซีย