



การสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดหัวลิงด้วยกระบวนการอัลตราซาวด์ร่วมกับความร้อนและผลต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก

สุดารัตน์ อิศำ^{1*}, เพ็ญภา ทะวะดี², ศิริวรรณ ใจสีคำ² และ วรณพร คลังเพชร¹

¹สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50100

²ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

*Corresponding author: sudaratthikham@gmail.com

(Received March 12, 2021; Revised April 8, 2021; Accepted May 5, 2021)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของกระบวนการอัลตราซาวด์ร่วมกับความร้อนต่อการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดหัวลิงและศึกษาผลของโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้ต่อการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก เริ่มจากนำผงเห็ดหัวลิงมาสกัดโพลีแซคคาไรด์ด้วยกระบวนการอัลตราซาวด์ที่กำลังไฟฟ้า 100, 200 และ 300 วัตต์ ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20, 40 และ 60 นาที จากนั้นนำสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด จากผลการทดลอง พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดมีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น โดยการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่กำลังไฟฟ้า 200 วัตต์ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงสุดเท่ากับร้อยละ 25.9 โดยน้ำหนัก และน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ ร้อยละ 11.4 โดยน้ำหนัก เมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยการกำจัดแป้งและโปรตีน ตามด้วยนำไปผ่านเยื่อเลือกผ่านโดยวิธีไดอะไลซิส และทดสอบการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus bulgaricus*, *L. brevis*, *L. johnsonii* และ *L. plantarum* พบว่าสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดหัวลิงสามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *L. bulgaricus*, และ *L. brevis* ได้อย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญ: เห็ดหัวลิง, โพลีแซคคาไรด์, อัลตราซาวด์, พรีไบโอติก, โปรไบโอติก

Extraction of Polysaccharides from *Hericium erinaceus* by Ultrasound Combined with Heat Treatment and Effect on the Growth of Lactic Acid Bacteria

Sudarat Thikham^{1*}, Pennapha Tawadee², Siriwan Jaisrikam² and Wannaporn Klangpetch¹

¹Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Chiang Mai University, Chiang Mai 50100

²Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok

*Corresponding author: sudaratthikham@gmail.com

(Received March 12, 2021; Revised April 8, 2021; Accepted May 5, 2021)

Abstract

The objective of this research was to study the effect of ultrasound combined with heat treatment on the extraction of polysaccharides from the *Hericium erinaceus* and to study the growth promotion effect of the products on lactic acid bacteria. Firstly, the *Hericium erinaceus* in powder form was subjected to ultrasound process at 100, 200, and 300 W under 50, 60, and 70 degree celsius for 20, 40, and 60 minutes. Then the crude extracts were analyzed for reducing sugar and total sugar. The result showed that the maximum total sugar and reducing sugar content were exhibited at 25.9 % (w/w) and 11.4 % (w/w), respectively, at an ultrasound power of 200 W at 70 degree celsius for 60 minutes. After purified by de-starch and deprotein followed by dialysis, the polysaccharide was analyzed for growth promotion of 4 strains of *Lactobacillus* spp. i.e. *L. bulgaricus*, *L. brevis*, *L. johnsonii*, and *L. plantarum*. The results showed that the polysaccharide from *Hericium erinaceus* could significantly promote the growth of *L. bulgaricus* and *L. brevis*.

Keywords: *Hericium erinaceus*, Polysaccharide, Ultrasound process, Prebiotic, Probiotic



บทนำ

เห็ดหัวลิง หรือเห็ดยามาบูชิตาเกะ (*Hericium erinaceus*) เป็นเห็ดที่มีลักษณะคล้ายเส้นไหมสีขาว ยาวประมาณ 5-20 เซนติเมตร มีประโยชน์ในการช่วยป้องกันและรักษาแผลในกระเพาะอาหาร และโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหารอื่น ๆ โดยทั่วไปแล้วเห็ดหัวลิงจะพบโพลีแซคคาไรด์เป็นส่วนประกอบทางชีวภาพที่สำคัญ ซึ่งมีคุณสมบัติในการส่งเสริมสุขภาพหลายประการ เช่น ต้านมะเร็ง สารต้านอนุมูลอิสระ เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน ต้านเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น (Wu et al, 2015; Khan et al., 2018) มีรายงานการศึกษาโพลีแซคคาไรด์จากไมซีเลียมและฟรุตติงบอดีของเห็ดหลินจือและโป่งรากสน (ผีหลิง) พบว่า มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกโดยสามารถช่วยส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์ในลำไส้ได้ (Khan et al., 2018) ผู้เขียนจึงมีความสนใจในการศึกษาการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดหัวลิงสำหรับการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์พรีไบโอติกโดยใช้เทคนิคอัลตราซาวด์ในการสกัด

เทคนิคการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัด โดยอาศัยหลักการคาวิตชันที่เกิดขึ้นในตัวกลางที่ได้รับคลื่นอัลตราซาวด์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและทางกายภาพ ซึ่งประกอบด้วยช่วงอัดตัวของคลื่นเสียงมีผลทำให้โมเลกุลถูกบีบเข้าหากันและช่วงขยายของคลื่นเสียงทำให้โมเลกุลแยกตัวจากกัน โดยมีการเปลี่ยนแปลงเป็นจังหวะต่อเนื่องคล้ายกับการกวนอย่างรุนแรง ทำให้การแพร่ของตัวทำละลายในตัวอย่งดีขึ้นเนื่องจากการเพิ่มพื้นที่สัมผัสระหว่างตัวทำละลายและตัวอย่ง ส่งผลให้อัตราการสกัดเร็วขึ้น และเวลาในการสกัดลดลง (สุภาชิต และคณะ, 2556; วงศ์เทเวศน์ และคณะ, 2559) ดังนั้นเทคนิคการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ จึงเป็นทางเลือกที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการสกัดสารสำคัญต่าง ๆ จากแหล่งทางธรรมชาติได้ ปัจจัยสำคัญของกระบวนการที่มีผลต่อปริมาณสารสกัดและฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ กำลังไฟฟ้า และระยะเวลาในการสกัด นอกจากนี้การให้ความร้อนยังมีส่วนช่วยให้การสกัดเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดหัวลิงและศึกษาคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกของโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอย่างเห็ดหัวลิง

เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) ที่ใช้ในงานวิจัยได้รับความอนุเคราะห์มาจาก ฟาร์มเส้นทางเห็ด อ.บางระกำ จ.พิษณุโลก การเตรียมตัวอย่างเริ่มจากนำเห็ดหัวลิงมากำจัดความชื้นด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนกระทั่งมีปริมาณความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 10 จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่อง Hammer mill ร่อนให้ได้ขนาด 40 mesh แล้วนำไปบรรจุในถุงสุญญากาศและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณความชื้นด้วยเครื่องวิเคราะห์ความชื้นอัตโนมัติ วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl วิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยวิธี Soxhlet (AOAC, 2000) วิเคราะห์ปริมาณเถ้าด้วยความร้อนสูง และวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยประเภทละลายได้ (Soluble dietary fiber) และละลายไม่ได้ (Insoluble dietary fiber) โดยวิธีทางเอนไซม์ตามมาตรฐาน AOAC (Prosky และคณะ, 1988)

การแยกโพลีแซคคาไรด์และการทำให้บริสุทธิ์

นำตัวอย่างผงเห็ดมาศึกษาการสกัดโพลีแซคคาไรด์ด้วยกระบวนการอัลตราซาวด์ร่วมกับความร้อนที่ กำลังไฟฟ้า 100, 200 และ 300 วัตต์ อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20, 40 และ 60 นาที เปรียบเทียบกับการต้มที่อุณหภูมิและเวลาเท่ากัน จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ 6,000 รอบต่อนาที ที่ 4 องศา

เซลล์เชื้อ เป็นระยะเวลา 10 นาที นำส่วนในสมาดกตะกอนข้ามคั้นด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และนำไปปั่นเหวี่ยง เพื่อนำตะกอนไปทำให้แห้งโดยการอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นทำการกำจัดแป้งและโปรตีนโดยบ่มร่วมกับ α -amylase (1:500 v/v) ที่ pH 7 เป็นระยะเวลา 30 นาที เพื่อกำจัดแป้ง จากนั้นทำการกำจัดโปรตีนที่เหลือในตัวอย่างด้วย Sevag reagent (อัตราส่วน chloroform:butanal คือ 1:4) นำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้อง ถ่ายส่วนใสชั้นบนลงในหลอดใหม่และทำการสกัดซ้ำด้วย Sevag อีกครั้งหนึ่ง

นำสารละลายที่ได้ข้างต้นมากรองเบื้องต้นโดยเครื่องกรองระบบสุญญากาศ ใช้กระดาษกรอง Whatman No.4 จากนั้นทำการแยกสารผ่านเยื่อ (dialysis) ที่มี molecular weight cut off อยู่ที่ 10 kDa จนกระทั่งปริมาตรของตัวอย่างไม่เปลี่ยนแปลง สุดท้ายนำตัวอย่างที่ได้ไปทำให้แห้ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนกระทั่งตัวอย่างแห้ง และชั่งน้ำหนักเพื่อหาปริมาณผลผลิต นำตัวอย่างที่ได้ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์หองค์ประกอบและปริมาณน้ำตาลชนิดต่าง ๆ และปริมาณโปรตีน เป็นลำดับถัดไป

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในวัตถุดิบ

การวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้

ทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยเริ่มจากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธี Modified phenol-sulfuric acid colorimetric method (Fox & Robyt, 1991) วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) colorimetric (Miller, 1959) โดยใช้ D-glucose เป็นน้ำตาลมาตรฐาน

การทดสอบผลของโพลีแซคคาไรด์ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก

เตรียมหัวเชื้อ *Lactobacillus* spp. 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. bulgaricus*, *L. brevis*, *L. johnsonii* และ *L. plantarum* ที่เก็บรักษาอยู่ในกลีเซอรอล ณ -18 องศาเซลเซียส มากระตุ้นโดยการเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS จากนั้นนำไปแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยวิธีการขีดเชืบนอาหารเลี้ยงเชื้อและบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมงนำโคโลนีเดียวไปเลี้ยงในอาหารใหม่ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้ววัดความเข้มข้นของเชื้อให้มีค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1

ทดสอบผลของโพลีแซคคาไรด์ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกโดยการนำหัวเชื้อที่เตรียมไว้ไปเพาะเลี้ยงในอาหาร 3 สูตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในไมโครเพลท ได้แก่ สูตรอาหาร i) Modified MRS ที่เติมโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ดหัวลิงความเข้มข้น 2% (w/v) แทนน้ำตาลกลูโคส โดยมีชุดควบคุม ได้แก่ ii) Modified MRS ที่ไม่ได้เติมกลูโคส (ชุดควบคุมผลลบ) และ MRS ที่เติมอินูลินความเข้มข้น 2% (w/v) (ชุดควบคุมผลบวก) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ติดตามผลการเจริญของเชื้อด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วย Microplate reader

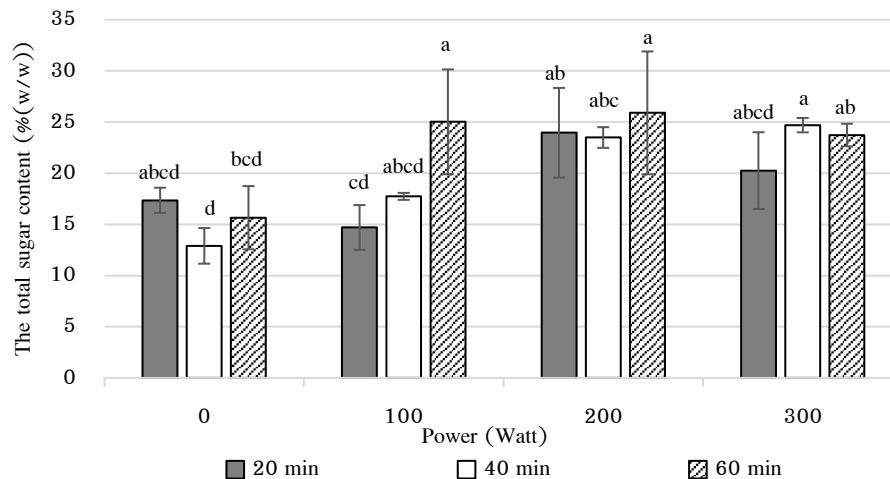
การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้แผนการทดลองแบบ Factorial in CRD วิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผล

การสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดหัวลิงด้วยกระบวนการอัลตราซาวด์ร่วมกับความร้อน

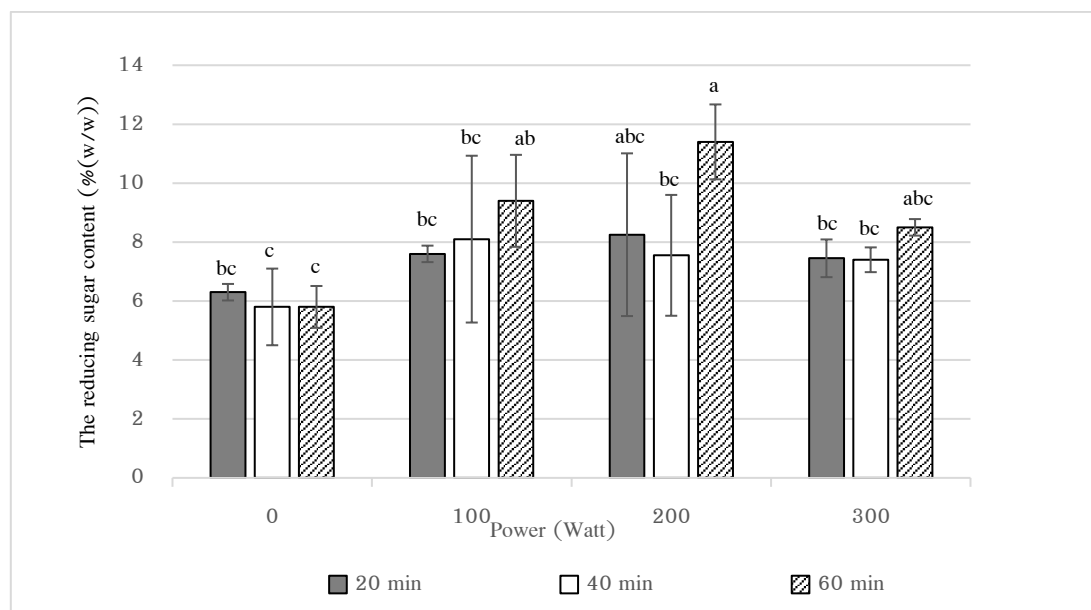
จากการทดลองการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดหัวลิงด้วยกระบวนการอัลตราซาวด์ที่ กำลังไฟฟ้า 100, 200 และ 300 วัตต์ ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20, 40 และ 60 นาทีพบว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงขึ้นเมื่อเพิ่มกำลังไฟฟ้าและอุณหภูมิ เมื่อสกัดโดยการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียวที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 15.6 โดยน้ำหนัก เมื่อเพิ่มกำลังไฟฟ้าเป็น 100, 200 และ 300 วัตต์ ทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เป็นร้อยละ 25.0, 25.9 และ 23.7 โดยน้ำหนักตามลำดับ (Figure 1) และทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากร้อยละ 5.8 โดยน้ำหนัก เป็นร้อยละ 9.4, 11.4 และ 8.5 โดยน้ำหนักตามลำดับ เมื่อเพิ่มกำลังไฟฟ้าในการสกัดเป็น 100, 200 และ 300 วัตต์ (Figure 2)



*Different letters indicate the mean values of total sugar were significantly different ($p < 0.05$)

Figure 1 The total sugar content of polysaccharides extracted from *Hericium erinaceus* by ultrasound at different power and time at 70 degree celsius

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ โดยวิธีการของ Fisher ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยพิจารณาจากปริมาณผลผลิตสูงสุด พบว่า จะได้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงสุดเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ที่กำลังไฟฟ้า 100 และ 200 วัตต์ และจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเมื่อสกัดด้วยกำลังไฟฟ้า 200 วัตต์ที่อุณหภูมิและเวลาเดียวกัน



*Different letters indicate the mean values of reducing sugar were significantly different ($p < 0.05$)

Figure 2 The reducing sugar content of polysaccharides extracted from *Hericium erinaceus* by ultrasound at different power and time at 70 degree Celsius

ดังนั้น การสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่กำลังไฟฟ้า 200 วัตต์ ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จะให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ ร้อยละ 25.9 และ 11.4 โดยน้ำหนักตามลำดับ และการสกัดโพลีแซคคาไรด์ในสภาวะดังกล่าว มีผลทำให้ร้อยละผลผลิตของน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น เท่ากับ ร้อยละ 61.18 และ ร้อยละ 50.88 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว

ผลของการสกัดต่อการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก

จากการศึกษาคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกของโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้ที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก พบว่า เชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ใช้สารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้เป็นแหล่งคาร์บอน มีการเจริญเติบโตบางสายพันธุ์ เมื่อบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง คือ *L. bulgaricus* และ *L. brevis* (Table 1) โดยพบการเจริญของเชื้อสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนจากอินูลินซึ่งเป็นตัวแทนพรีไบโอติกทางการค้าเป็นชุดควบคุมผลบวก ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ใช้สารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่ได้ช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญอย่างหนึ่งของสารพรีไบโอติก

Table 1 Growth of lactic acid bacteria cultured in different media for 48 hours

Lactic Acid Bacteria	Growth of Lactic Acid Bacteria		
	mMRS	Inulin	2% Polysaccharide
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	(+)	(++)	(+++)
<i>Lactobacillus brevis</i>	(+)	(++)	(+++)
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	(-)	(+)	(-)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	(-)	(+)	(-)

*mMRS = MRS without carbon source (negative control), Inulin = MRS base added innulin (positive control) and 2% Polysaccharide = MRS base added polysaccharides extracted from *Hericium erinaceus*; (+) = Increased bacterial growth at 37 degree celsius for 48 hours., (-) = No growth of bacteria increased

วิจารณ์ผล

จากการศึกษาการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดหัวลิงด้วยกระบวนการอัลตราซาวด์ร่วมกับความร้อนพบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดด้วยกระบวนการอัลตราซาวด์ร่วมกับความร้อนมีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการให้ความร้อนเพียงอย่างเดียว เนื่องจากการอัดตัวของคลื่นเสียงจากกระบวนการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ทำให้โมเลกุลของตัวอย่างถูกบีบอัดและขยายตัวสลับกันคล้ายการกวนอย่างรุนแรงและเมื่อเพิ่มระยะเวลาการสกัดจะทำให้ตัวทำละลายมีเวลาแพร่เข้าสู่ตัวอย่างได้เต็มที่ทำให้ปริมาณตัวถูกละลายที่ชะได้จากตัวอย่างเพิ่มขึ้น (วงศ์เทวัญ และคณะ, 2559) โดยการสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่ กำลังไฟฟ้า 200 วัตต์ เป็นเวลา 60 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ ร้อยละ 25.9 โดยน้ำหนัก และ ร้อยละ 11.4 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของวงศ์เทวัญ และคณะ (2559) ที่ได้ศึกษาการสกัดสารพอลิแซคคาไรด์โดยการใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับการให้ความร้อน พบว่า การใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการสกัดมีผลทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดได้ดีขึ้นและช่วยลดระยะเวลาในการสกัดลงได้ และรายงานวิจัยของ อัครเกียรติและศุภกาญจน์ (2563) ที่ได้ศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรำข้าวโดยการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ รายงานว่าการสกัดด้วยวิธีดังกล่าวจะช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในการสกัด เนื่องจากการให้ความร้อนจะช่วยทำลายผนังเซลล์ของพืชและการใช้คลื่นอัลตราซาวด์มีผลทำให้ผนังเซลล์แตกออก ทำให้สารที่อยู่ภายในได้มีวิวัฒนาการของพืชถูกปลดปล่อยออกสู่ตัวทำละลายและคลื่นเสียงจากอัลตราซาวด์ส่งผลให้เกิดคลื่นฟองอากาศขนาดเล็กของตัวทำละลายสามารถเข้าไปชะสารที่ต้องการในตัวอย่งพืชได้ดีขึ้น

เมื่อได้โพลีแซคคาไรด์ที่บริสุทธิ์จากเห็ดหัวลิงแล้วจึงนำมาทดสอบคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกพบว่า สารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่ใช้แทนที่น้ำตาลกลูโคสสูตรอาหาร Modified MRS ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Lactobacillus* ได้บางสายพันธุ์ อาจสรุปได้ว่า สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้มีศักยภาพในการเป็นพรีไบโอติก เนื่องจากสามารถกระตุ้นการทำงานและส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จำเพาะได้ (ชยาภรณ์, 2560) โดยจะพบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้สารสกัดโพลีแซคคาไรด์เป็นแหล่งคาร์บอนและมีประสิทธิภาพสูงกว่าพรีไบโอติกทางการค้า(อินูลิน) มีรายงาน

การศึกษาของ Chou et al. (2013) ที่ได้ศึกษาการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากก้านเห็ดเหลือทิ้ง พบว่า โพลีแซคคาไรด์ที่ได้จะช่วยให้อัตราการรอดชีวิต *L. acidophilus*, *L. casei* และ *Bifidobacterium longum* ในระหว่างการเก็บรักษาในโยเกิร์ตและปกป้องเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้จากสภาวะจำลองของกระเพาะอาหารและน้ำดี ก้านเห็ดจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ใช้สกัดสารที่มีคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติก เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Khan et al. (2018) ที่ศึกษาสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากไมซีเลียมและฟรุตติงบอดีของเห็ดหลินจือและโป่งรากสน (เผือก) ช่วยส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์ที่ดีในลำไส้ คือ *B. choerinum*, *Eubacterium rectale*, *L. johnsonii* และ *L. lactis* และยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคโดยพบว่าการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอ้วน เช่น *Barnesiella* spp. และ *Dehalobacterium* spp. ลดลง เมื่อทดสอบในหนู ซึ่งเห็นว่าสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นพรีไบโอติกได้

สรุป

จากการศึกษาการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดหัวลิงด้วยกระบวนการอัลตราซาวด์ร่วมกับการให้ความร้อน พบว่า การสกัดด้วยอัลตราซาวด์ที่กำลังไฟฟ้า 200 วัตต์ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ ร้อยละ 25.9 โดยน้ำหนัก และ ร้อยละ 11.4 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และเมื่อนำไปทดสอบความเป็นพรีไบโอติก พบว่า สารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดหัวลิงสามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus* ได้บางสายพันธุ์ คือ *L. bulgaricus* และ *L. brevis* นั่นคือ สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้มีคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติก

เอกสารอ้างอิง

- ชยาภรณ์ วงศ์ศิริเดชชัย. (2560). สมบัติการเป็นพรีไบโอติกของโพลิแซคคาไรด์ที่ผลิตจากกากกาแฟด้วยแมนนาเนส จาก *Bacillus* sp. GA2 (1) (ปริญญาานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- วงศ์เทวัญ แสนไชย, สมเกียรติ จตุรงค์ล้ำเลิศ, ชนวัฒน์ นิทัศน์วิจิตร และ จตุรภัทร วาฤทธิ์. (2559) การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลีแซคคาไรด์จากสาหร่ายเตาโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วม. ใน *การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 40* (หน้า 388-395). สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
- สุภาษิต ชุกกลิน, ฌานิกา แซ่แง ชุกกลิน, กุลนิษณ์ มานะจิตร และ สุชิตา กลับดี. (2556) การใช้อัลตราซาวด์ส่งเสริมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากข้าวกล้องงอกสังขยุดพัลลึง. ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51* (หน้า 96-103). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- อัศรเกียรติ พวงแสง และ ศุภกาญจน์ รัตนกร. (2563). การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรำข้าวโดยการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์. ใน *การประชุมทางวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 21* (BMO6-8). ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- A.O.A.C. (2000). *Official method of analysis of association of official analysis chemist* (17th Edition). Virginia: The Association of Official Analysis Chemist. Inc.
- Chou, W.T., Sheih, I.C. & Fang, T.J. (2013). The applications of polysaccharides from various mushroom wastes as prebiotics in different systems. *Journal of Food Science*, 78(7), M1041– M1048.

- Fox, J. D. & Robyl, J.F. (1991). *Miniaturization of three carbohydrate analysis using a microplate reader. Analytical Biochemistry*, 195, 93-96.
- Khan, I., Huang, G., Li, X., Leong, W., Xia, W. & Hsiao, W.L.W. (2018). *Mushroom polysaccharides from Ganoderma lucidum and Poria cocos reveal prebiotic functions. Journal of Functional Foods*, 41, 191-201.
- Miller, G. L., (1959). *Design and analysis of Experiment* (3rd Edition). John Wiley and Sons.
- Prosky, L., Asp, N.G., Schweitzer, T.F., DeVries, W.J. & Furda, I. (1988). Determination of Insoluble, Soluble and Total Dietary Fiber in Foods and Food Products: Interlaboratory. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 71, 1017-1024.
- Wu, D. T., Li, W. Z., Chena, J., Zhong, Q. X., Jua, Y. J., Zhaoa, J., Bzhelyansky, A., & Li, S.P. (2015). An evaluation system for characterization of polysaccharides from the fruiting body of *Hericium erinaceus* and identification of its commercial product. *Carbohydrate Polymers*, 124, 201-207.