Research Article

Received: February 13, 2019; Accepted: May 18, 2019

ผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส แอลฟาแอมิเลส และแอลฟากลูโคซิเดสของสารสกัดเห็ดหอมในหลอดทดลอง

In vitro Inhibitory Effects on the Activities of Lipase, Alpha-Amylase and Alpha-Glucosidase Enzymes of Shiitake Mushroom Extracts

รังสิตา จันทร์หอม, กานต์สุดา วันจันทึก* และทวีศักดิ์ เตชะเกรียงไกร

ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาเกษตรศาสตร์

วิทยาเขตบางเขน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

สมศรี เจริญเกียรติกุล

สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล ตำบลศาลายา อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม 73170

Rangsita Chunhom, Kansuda Wunjuntuk* and Taweesak Techakriengkrai

Department of Home Economics, Faculty of Agriculture, Kasetsart University,

Bangkhen Campus, Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900

Somsri Charoenkiatkul

Institute of Nutrition, Mahidol University, Salaya, Phutthamonthon, Nakhon Pathom 73170

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของเห็ดหอม [*Lentinus edodes* (Berk.) Sing.] ที่สกัดด้วยน้ำร้อน 80 % (v/v) เอทานอล และเฮกเซน ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส แอลฟาแอมิเลส และแอลฟากลูโคซิเดส ด้วย UV-VIS spectrophotometer ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเห็ดหอมด้วยน้ำร้อน เอทานอล และเฮกเซน สามารถยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไลเปส โดยมีค่า IC_{50} 621.31, 8.85 และ 23.11 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาแอมิเลสของสารสกัดเห็ดหอมด้วยน้ำร้อน เอทานอล และเฮกเซน มีค่า IC_{50} 656.60, 183.87 และ 127.42 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส มีค่า IC_{50} 400, 20.38 และ 12.91 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และยังพบว่าสารสกัดเห็ดหอมด้วยเอทานอลและเฮกเซนสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสดีกว่าแอลฟาแอมิเลส ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเห็ดหอมมีศักยภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส แอลฟาแอมิเลส และแอลฟากลูโคซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการย่อยไขมันและคาร์โบไฮเดรต ดังนั้นจึงน่าจะสามารถช่วยชะลอการดูดซึมไขมันและกลูโคสเข้าสู่ร่างกาย

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** fagrkdw@ku.ac.th **doi:** 10.14456/tstj.2020.99

คำสำคัญ : เอนไซม์; ไลเปส; แอลฟาแอมิเลส; แอลฟากลูโคซิเดส; เห็ดหอม

Abstract

The objectives of the present study were to investigate the *in vitro* inhibitory effects of Shiitake mushroom [*Lentinus edodes* (Berk.) Sing.] extracts on lipase, α-amylase and α-glucosidase. The Shiitake mushroom extracts were prepared using hot water, 80 % (v/v) ethanol and hexane. Shiitake mushroom extracts of varying concentrations were subjected to inhibition assays for lipase, α-amylase and α-glucosidase, and quantified using UV-VIS spectrophotometer. Hot water extract, ethanol extract and hexane extract of Shiitake mushroom exerted lipase inhibitory activity with IC_{50} values of 621.31, 8.85 and 23.11 mg/mL, respectively. They exerted alpha-amylase inhibitory activity with IC_{50} values of 656.60, 183.87 and 127.42 mg/mL, respectively. They also exerted alpha-glucosidase inhibitory activity with IC_{50} values of 400, 20.38 and 12.91 mg/mL, respectively. The ethanol and hexane extracts of Shitake mushroom showed stronger inhibitory activity on alpha-glucosidase than on alpha-amylase. These results showed the inhibition of Shiitake mushroom extracts on the activities of lipase, alpha-amylase and alpha-glucosidase enzymes, which are lipid and carbohydrate digestive enzymes. Therefore, Shiitake mushroom may alleviate postprandial blood lipid and glucose levels.

Keywords: enzyme; lipase; alpha-amylase; alpha-glucosidase; Shiitake mushroom

1. บทนำ

โรคอ้วน (obesity) คือ ภาวะที่ร่างกายมีการสะสมไขมันมากกว่าปกติ สาเหตุเกิดจากพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่มีพลังงานและไขมันสูง ทำให้มีการสะสมพลังงานที่เหลือไว้ในรูปของไขมันตามอวัยวะต่าง ๆ [1] โรคอ้วนมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคเบาหวานประเภทที่ 2 (diabetes type II) ปริมาณของกรดไขมันอิสระที่สะสมในร่างกายมากกว่าปกติและการเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินจากการรับประทานอาหารที่มีน้ำตาลสูงเป็นระยะเวลานาน ซึ่งจะไปยับยั้งการนำน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่เซลล์ ทำให้ระดับกลูโคสในเลือดสูงขึ้นผิดปกติ [2] การรักษาโรคอ้วนและโรคเบาหวานมียาหลายชนิด เช่น กลุ่มยายับยั้งเอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อน อาทิ ยาออริสแตท (Orlistat) และกลุ่มยายับยั้งเอนไซม์แอลฟาแอมิเลสและแอลฟากลูโคซิเดส อาทิ ยาอะคาร์โบส (Acarbose) แต่การใช้ยารักษาโรคทั้ง 2 ชนิดนี้ก่อให้เกิดผลข้างเคียง ได้แก่ ความดันโลหิตสูง หัวใจเต้นเร็ว อาเจียน ปวดท้อง และถ่ายเหลว เป็นต้น [3,4] ดังนั้นจึงมีการศึกษาการใช้สารสกัดจากธรรมชาติซึ่งมีผลข้างเคียงต่ำมาใช้ร่วมกับการใช้ยา โดยเห็ดหอมมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. จัดอยู่ในอาณาจักรฟังไจ มีรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ว่าสามารถลดระดับไขมันและน้ำตาลในเลือด งานวิจัยของ Handayani และคณะ [5] พบว่าหนูทดลองที่มีภาวะไขมันในเลือดสูงเมื่อได้รับผงเห็ดหอมพร้อมกับอาหารไขมันสูงเป็นระยะเวลานาน 6

สัปดาห์ ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดลดลงถึงร้อยละ 55 เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับแต่อาหารไขมันสูงเพียงอย่างเดียว และงานวิจัยของ Islam และ Pramanik [6] พบว่าสารสกัดเห็ดหอมด้วย 50 % (v/v) เอทานอล สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูทดลองที่มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จึงมีการศึกษากลไกการลดระดับไขมันและน้ำตาลในเลือดโดยผ่านกลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส แอลฟาแอมิเลส และแอลฟากลูโคซิเดส ซึ่งพบว่าเห็ดหอมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ได้ เช่น สารสกัดเห็ดหอมในประเทศสเปนด้วย 50 % (v/v) เมทานอล สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสร้อยละ 86.10 [7] สารสกัดเห็ดหอมในประเทศปากีสถานด้วยน้ำ สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส (IC_{50} = 39.96 0.74 µM) [8] และสารสกัดเห็ดหอมด้วย 80 % (v/v) เอทานอลและน้ำร้อน สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาแอมิเลส (IC_{50} = 591.1 และ 231.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และแอลฟากลูโคซิเดส (IC_{50} = 44.9 และ 28.6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) [9] ซึ่งการศึกษาที่ผ่านมาในเห็ดหอมเป็นการเปรียบเทียบและศึกษาในสารสกัดเห็ดหอมด้วยเมทานอล เอทานอล และน้ำ อย่างไรก็ตาม การศึกษาของ Afieroho และ Ugoeze [10] พบว่าสารสกัดด้วยเฮกเซนจากเห็ดตระกูล Lentinus มีปริมาณของสารจำพวก phytosterol สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง stigmasterol ซึ่งการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้พบว่าสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส [11]

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส แอลฟาแอมิเลส และแอลฟากลูโคซิเดสของสารสกัดเห็ดหอมที่เพาะปลูกในประเทศไทย ด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน ได้แก่ น้ำร้อน 80 % (v/v) เอทานอล และเฮกเซน เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับผู้ป่วยโรคอ้วน ผู้ป่วยโรคเบาหวาน และประชาชนทั่วไปที่สามารถเลือกบริโภคเห็ดที่มีศักยภาพในการช่วยลดการดูดซึมไขมันและน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่ร่างกาย

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การคัดเลือกและเตรียมตัวอย่างเห็ดหอม

จัดซื้อตัวอย่างเห็ดหอมโดยวิธีการสุ่มซื้อจากตลาด 3 แห่ง ในกรุงเทพมหานคร แห่งละ 2 กิโลกรัม นำมาผสมรวมกัน แล้วคัดเลือกดอกเห็ดหอมที่มีสภาพสมบูรณ์ นำตัวอย่างมาล้างให้สะอาด คัดเลือกและตัดแต่งเอาเฉพาะส่วนที่บริโภคได้ ปั่นตัวอย่างให้ละเอียด นำไปทำให้แห้งในตู้อบลมร้อน (Eureka, Thailand) ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วนำมาปั่นให้ละเอียดอีกครั้ง ชั่งน้ำหนักผงแห้ง หาร้อยละปริมาณผลผลิต (% yield) และวิเคราะห์ปริมาณความชื้นแบบเปียกและแห้ง

2.2 การสกัดเห็ดหอมในตัวทำละลายที่ต่างกัน

2.2.1 การสกัดเห็ดหอมด้วยน้ำร้อน

วิธีการดัดแปลงจาก Ren และคณะ [12] นำผงเห็ดหอม 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ผสมกับน้ำปราศจากไอออน (deionized water) 200 มิลลิลิตร วางลงในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (WNB 22, Memmert, Germany) ให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้มาปั่นแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (X-15R, Beckman Coulter, USA) ความเร็ว 8,400 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แล้วนำสารละลายส่วนใสที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 4 กากที่ได้จากการกรองนำมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง ครั้งละ 200 และ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ จนได้ส่วนใส 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) ด้วย

เครื่องทำแห้งโดยการแช่เยือกแข็ง (freeze dryer) (4KBTXL-75, VirTis, USA) จากนั้นชั่งน้ำหนักสารสกัดและหาร้อยละปริมาณผลผลิตของสารสกัดหยาบ (% yield)

2.2.2 การสกัดเห็ดหอมด้วย 80 % (v/v) เอทานอล

วิธีการดัดแปลงจาก Lee และคณะ [13] ใช้วิธีสกัดด้วยการแช่ยุ่ย (Maceration) โดยชั่งผงเห็ดหอม 20 กรัม ผสมกับ 80 % (v/v) เอทานอล 400 มิลลิลิตร (1 : 20) เขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (incubator shaker) (Model-120, Thermo scientific, USA) ความเร็ว 100 รอบต่อนาที นาน 20 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้ไปแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที นำสารละลายส่วนใสที่ได้กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) (N-1000, Eyela, Japan) จากนั้นนำสารละลายที่เหลือไปทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง แล้วชั่งน้ำหนักสารสกัดและหาร้อยละปริมาณผลผลิตของสารสกัดหยาบ

2.2.3 การสกัดเห็ดหอมด้วยเฮกเซน

การสกัดเห็ดหอมด้วยเฮกเซน สกัดด้วยวิธีแช่ยุ่ย ดัดแปลงวิธีการจาก Su และคณะ [14] โดยชั่งผงเห็ดหอม 20 กรัม ผสมกับสารละลายเฮกเซน 400 มิลลิลิตร (1 : 20) แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ความเร็ว 100 รอบต่อนาที นาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำสารสกัดหยาบที่ได้มาแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใสที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศจนแห้ง ละลายกลับด้วยเฮกเซน 2 มิลลิลิตร และทำแห้งอีกครั้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบแช่เยือกแข็ง (speed vac) (Scan speed 32, Scanvac, Denmark) ชั่งน้ำหนักสารสกัดและหาร้อยละปริมาณสารสกัดหยาบ

2.3 การวิเคราะห์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

2.3.1 การวิเคราะห์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส

การวิเคราะห์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสดัดแปลงวิธีของ Cai และคณะ [15] โดยวัดอัตราการปลดปล่อย *p*-nitrophenol จาก *p*-nitrophenyl laurate (Sigma-Aldrich, Belgium) ด้วยวิธี colorimetric method ซึ่ง *p*-nitrophenyl laurate ทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยา แล้วจะไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ไลเปส (pancreas lipase type II) (Sigma-Aldrich, USA) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น *p*-nitrophenol และกรดไขมัน Laurate [16] ตรวจสอบผลิตภัณฑ์โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 นาโนเมตร ด้วย microplate reader (Spectrostar nano, BMG Labtech, Germany) โดยมีออริสแตท (Xenical, Thailand) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก

2.3.2 การวิเคราะห์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาแอมิเลส

วิเคราะห์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาแอมิเลส โดยดัดแปลงวิธีของ Telagari และ Hullatti [17] ด้วยวิธี colorimetric method ซึ่งมีแป้ง (starch) (Sigma-Aldrich, USA) เป็นสารตั้งต้น ซึ่งจะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์แอลฟาแอมิเลส (porcine pancreatic α-amylase) (Sigma-Aldrich, USA) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลมอลโตส สามารถตรวจสอบปฏิกิริยารีดิวซ์ด้วย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) (Sigma-Aldrich, China) [18] วัดค่าการ

ดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร โดยมีอะคาร์โบส (Glucobay 50, Germany) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก

2.3.3 การวิเคราะห์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส

วิเคราะห์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส ดัดแปลงวิธีของ Telagari และ Hullatti [17] และ Yamaki และ Mori [19] โดยการวัดอัตราการปลดปล่อย *p*-nitrophenol จาก *p*- nitrophenyl- α- D- glucopyranoside (pNPG) (Sigma-Aldrich, Belgium) ด้วยวิธี colorimetric method ซึ่ง *p*NPG จะถูกไฮโดรไลซ์โดยเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส (1 Unit/mL *Saccharomyces cerevisiae* α-glucosidase) (Sigma-Aldrich, USA) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลกลูโคส และ *p*-nitrophenol อิสระ ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร โดยมีอะคาร์โบสเป็นตัวควบคุมเชิงบวก แล้วรายงานผลเป็นร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ดังสมการ ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ = $[(Abs_{control} - Abs_{test\ sample}) \div Abs_{Control}] \times 100$ เมื่อ $Abs_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายชุดควบคุม; Abs_{sample} = ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างทดสอบ

2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (mean ± S.E.M) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan' s new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และค่า IC_{50} สามารถคำนวณจากค่าเฉลี่ยของความชันที่ได้จากข้อมูลอย่างน้อย 5 จุด โดยใช้โปรแกรม SigmaPlot version 12.0

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลการคัดเลือกและเตรียมตัวอย่างเห็ดหอม

ผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นแบบเปียกคือ ร้อยละ 89.25±1.38 และปริมาณความชื้นแบบแห้งคือ ร้อยละ 12.37±0.08 สอดคล้องกับรายงานของ USDA [20] ที่รายงานว่าความชื้นของเห็ดหอมสดมีค่าร้อยละ 89.74 และความชื้นแบบแห้งมีค่าร้อยละ 9.50-15.8 ทั้งนี้ความชื้นของเห็ดหอมขึ้นอยู่กับสปีชีส์ การเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษาระหว่างการทดลอง [21] และเมื่อคำนวณหาร้อยละปริมาณผลผลิต (% yield) ของเห็ดหอม พบว่ามีค่าร้อยละ 13.54 ดังตารางที่ 1

Table 1 Yield and moisture content of Shiitake mushroom

Properties	Shiitake mushroom
Yield (%, dry weight)	13.54
Moisture	
Wet (% wet weight)	89.25±1.38
Dry (% dry weight)	12.37±0.08

Data are expressed as mean ± standard deviation (S.D.).

3.2 ผลการศึกษาปริมาณของสารสกัดจากเห็ดหอมในตัวทำละลายและวิธีการที่ต่างกัน

การสกัดเห็ดหอมด้วยน้ำร้อน โดยใช้อัตราส่วนผงเห็ดหอม : น้ำ อัตราส่วน 1 : 50 แล้วให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง สกัดซ้ำ 3 ครั้ง โดยใช้น้ำปราศจากไอออนปริมาณ 200, 200 และ100 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นนำมาทำแห้งและชั่งน้ำหนักสารสกัด ได้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดหยาบร้อยละ 34.19 การสกัดด้วยน้ำจะสกัดสารที่มีขั้วออกมา ทำให้กลุ่มของพอลีแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นองค์

ประกอบหลักของเห็ดที่ผนังเซลล์ประมาณร้อยละ 50-90 ละลายออกมา [22]

การสกัดด้วย 80 % (v/v) เอทานอล ใช้อัตราส่วนผงเห็ดหอม : 80 % (v/v) เอทานอล อัตราส่วน 1 : 20 สกัดด้วยวิธีแช่ยุ่ยนาน 20 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก แล้วนำไปทำแห้ง ได้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดหยาบร้อยละ 12.95

การสกัดด้วยเฮกเซน ใช้อัตราส่วนผงเห็ดหอม : เฮกเซน อัตราส่วน 1 : 20 สกัดด้วยวิธีแช่ยุ่ยนาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก ได้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดหยาบร้อยละ 0.44 ซึ่งเฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่สกัดสารที่ไม่มีขั้วในเห็ดออกมา คือ สารประเภทไขมัน [23] ซึ่งผลผลิตที่ได้จากเฮกเซนมีปริมาณค่อนข้างน้อย สอดคล้องกับองค์ประกอบของเห็ดหอมที่มีไขมันเพียงร้อยละ 0.49 [20]

Table 2 Yields of Shiitake mushroom extracts

Samples	Solvents	Yields (%, dry weight)
Lentinus edodes (Berk.) Sing.	Hot water	34.19
	80 % (v/v) Ethanol	12.95
	Hexane	0.44

3.3 ผลการยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไลเปสของเห็ดหอมในตัวทำละลายที่ต่างกัน

ผลการยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไลเปสของเห็ดหอมแสดงในตารางที่ 3 พบว่าที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่พบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสของสารสกัดเห็ดหอมทั้ง 3 ตัวทำละลาย ขณะที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าสารสกัดเห็ดหอมด้วย 80 % (v/v) เอทานอล มีฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส (ร้อยละ 7.22± 0.16) สูงกว่าเฮกเซน (ร้อยละ 3.32±0.37) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบฤทธิ์ในสารสกัดเห็ดหอมด้วยน้ำร้อน นอกจากนี้ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สารสกัดเห็ดหอมด้วย 80 % (v/v) เอทานอล มีค่าร้อยละยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไลเปสสูงกว่าเฮกเซนและน้ำร้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไลเปสของสารสกัดเห็ดหอมด้วย 80 % (v/v) เอทานอล มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น

เมื่อวิเคราะห์ค่า IC_{50} พบว่าออริสแตท ซึ่งเป็นยารักษาโรคอ้วนมีค่าดีที่สุด (IC_{50} = 0.94 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ตามด้วยสารสกัดเห็ดหอมด้วย 80 % (v/v) เอทานอล (ค่า IC_{50} = 8.85 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เฮกเซน (IC_{50} = 23.11 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และน้ำร้อน (IC_{50} = 621.31 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ตามลำดับ ดังตารางที่ 4 ผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดเห็ดหอมทุกตัวทำละลายสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสของสารสกัดเห็ดหอมก่อนหน้านี้ เช่น การศึกษาของ Palanisamy และคณะ [7] ที่ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสของเห็ดที่กินได้ในประเทศสเปน พบว่าสารสกัดเห็ดหอมด้วย 50 % (v/v) เมทานอลที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสร้อยละ 86.10 และการศึกษาของ Lee และคณะ [13] ที่ศึกษาการสกัดและฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากสารสกัดเห็ดหอมด้วยเมทานอลที่ระดับความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้ถึงร้อยละ 45.3 โดยฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของตัวทำละลายสูงขึ้น ซึ่งสารสำคัญที่ละลายในเมทานอลจะเป็นกลุ่มสารออกฤทธิ์ทาง

ชีวภาพที่มีขั้วใกล้เคียงกับสารละลายในตัวทำละลายเอทานอลของการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารพวก polyphenol สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส [24]

นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าสารสกัดเห็ดหอมด้วยเฮกเซนสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส สอดคล้องกับ Afieroho และ Ugoeze [10] ที่พบว่าการสกัดเห็ดตระกูล Lentinus ด้วยเฮกเซนมีองค์ประกอบของ phytosterol หลายชนิด เช่น anthraergostatetraenol, ergostenol และ stigmasterol ซึ่งสารกลุ่มนี้มีรายงานว่าสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส [11]

Table 3 Lipase inhibitory activities of Shiitake mushroom extracts at 0.05-1 mg/mL concentrations

Samples	Solvents	% inhibition				
		Concentrations (mg/mL)				
		0.05	0.1	0.25	0.5	1
Lentinus edodes (Berk.) Sing.	Hot water	ND	ND	4.72±0.35^{c}	9.53±0.83^{c}	13.85±1.44^{d}
	80 % (v/v) Ethanol	ND	7.22±0.16^{b}	9.38±0.28^{b}	16.73±1.23^{b}	31.08±1.95^{b}
	Hexane	ND	3.32±0.37^{c}	5.71±0.09^{c}	15.42±0.32^{b}	20.92±0.43^{c}
Orlistat	-	24.82±1.02	30.44±0.77^{a}	38.64±0.35^{a}	43.47±0.36^{a}	51.37±0.53^{a}

Data are expressed as mean ± standard error of mean (S.E.M.). Superscripts are expressed as significantly different in the same column according to Duncan's new multiple range test (DMRT) ($p \leq 0.05$). ND are expressed as not detected. % inhibition = percentage of lipase inhibition.

3.4 ผลการยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟาแอมิเลสของเห็ดหอมในตัวทำละลายที่ต่างกัน

ผลการยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟาแอมิเลสของเห็ดหอมดังแสดงในตารางที่ 5 งานวิจัยนี้ใช้อะคาร์โบสซึ่งเป็นยารักษาโรคเบาหวานเป็นตัวควบคุม ผลการทดลองไม่พบฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาแอมิเลสของสารสกัดเห็ดหอมที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่ความเข้มข้นที่ 0.25, 0.5 และ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าสารสกัดเห็ดหอมด้วย 80 % (v/v) เอทานอลและเฮกเซนมีค่าร้อยละการยับยั้งการทำงานเอนไซม์ไลเปสที่สูงกว่าสารสกัดเห็ดหอมด้วยน้ำร้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟาแอมิเลสของสารสกัดเห็ดหอมด้วย 80 % (v/v) เอทานอลและเฮกเซนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น

นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ค่า IC_{50} พบว่าอะคาร์โบสมีค่าดีที่สุด (IC_{50} = 0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ซึ่งสอดคล้องกับค่า IC_{50} ของอะคาร์โบสจากการศึกษาที่ผ่านมา (0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) [9] ตามด้วยสารสกัดเห็ดหอมด้วยเฮกเซน (IC_{50} = 127.42 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) 80 % (v/v) เอทานอล (IC_{50} = 183.87 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และน้ำร้อน (IC_{50} = 656.60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ตามลำดับ ดังตารางที่ 6

Table 4 Inhibition concentration 50 (IC_{50}) values of Shiitake mushroom extracts on lipase inhibition activity

Samples	Solvents	IC_{50} (mg/mL)
Lentinus edodes (Berk.) Sing.	Hot water	621.31
	80 % (v/v) Ethanol	8.85
	Hexane	23.11
Orlistat	-	0.94

Table 6 Inhibition concentration 50 (IC_{50}) values of Shiitake mushroom extracts on α-amylase inhibition activity

Samples	Solvents	IC_{50} (mg/mL)
Lentinus edodes (Berk.) Sing.	Hot water	656.60
	80 % (v/v) Ethanol	183.87
	Hexane	127.42
Acarbose	-	0.01

Table 5 α-Amylase inhibitory activities of Shiitake mushroom extracts at 0.05-1 mg/mL concentrations

Samples	Solvents	% inhibition				
		Concentrations (mg/mL)				
		0.05	0.1	0.25	0.5	1
Lentinus edodes (Berk.) Sing.	Hot water	ND	ND	0.30±0.30^{c}	4.42±0.50^{c}	8.70±0.32^{c}
	80 % (v/v) Ethanol	ND	ND	4.03±0.35^{b}	7.48±0.61^{b}	13.44±1.04^{b}
	Hexane	ND	ND	2.72±0.10^{b}	8.39±0.76^{b}	13.85±0.12^{b}
Acarbose	-	61.87±1.98	84.57±1.14	92.69±0.72^{a}	94.99±0.53^{a}	97.58±0.70^{a}

Data are expressed as mean ± standard error of mean (S.E.M.). Superscripts are expressed as significantly different in the same column according to Duncan's new multiple range test (DMRT) ($p \leq 0.05$). ND are expressed as not detected. % inhibition = percentage of α-amylase inhibition.

3.5 ผลการยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสของเห็ดหอมในตัวทำละลายที่ต่างกัน

ผลการยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสของเห็ดหอมดังแสดงในตารางที่ 7 พบว่าที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สารสกัดเห็ดหอมด้วยเฮกเซน มีฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส (ร้อยละ 5.98±0.18) สูงกว่า 80 % (v/v) เอทานอล (ร้อยละ 0.70±0.33) และไม่พบฤทธิ์ในสารสกัดเห็ดหอมด้วยน้ำร้อน นอกจากนี้ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5 และ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าสารสกัดเห็ดหอมทั้ง 3 ตัวทำละลาย สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสโดยสารสกัดเห็ดหอมด้วยเฮกเซนและ 80 % (v/v) เอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเข้มข้นที่ 0.1, 0.5 และ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร อย่างไรก็ตาม สารสกัดเห็ดหอมด้วยเฮกเซนและ 80 % (v/v) เอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

แอลฟากลูโคซิเดสสูงกว่าสารสกัดเห็ดหอมด้วยน้ำร้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่เคยรายงานไว้ก่อน คือ เห็ดตระกูล Lentinus 4 ชนิด ได้แก่ *Lentinus edodes*, *Lentinus polychrous*, *Lentinus sajor-caju* และ *Lentinus squarrosulus* ที่สกัดด้วย 80 % (v/v) เอทานอล สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส โดย *Lentinus polychrous* มีฤทธิ์ในการยับยั้งมากที่สุด โดยมีความสัมพันธ์กับปริมาณของฟลาโวนอยด์ [25]

เมื่อวิเคราะห์ค่า IC_{50} พบว่าอะคาร์โบสมีค่า IC_{50} ดีที่สุด (7.33 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rouzbehan และคณะ [26] ที่พบว่าค่า IC_{50} ของอะคาร์โบส คือ 7 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองลงมา คือ สารสกัดเห็ดหอมด้วยเฮกเซน 80 % (v/v) เอทานอล และน้ำร้อน (IC_{50} = 12.91, 20.38 และ 400 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) ดังตารางที่ 8

Table 7 α-Glucosidase inhibitory activities of Shiitake mushroom extracts at 0.05-1 mg/mL concentrations

Samples	Solvents	% inhibition				
		Concentrations (mg/mL)				
		0.05	0.1	0.25	0.5	1
Lentinus edodes (Berk.) Sing.	Hot water	ND	0.04±0.44^{c}	3.14±0.52^{d}	8.99±0.56^{c}	14.04±0.59^{c}
	80 % (v/v) Ethanol	0.70±0.33^{c}	4.25±0.22^{b}	8.14±0.19^{c}	15.58±1.58^{b}	28.13±1.70^{b}
	Hexane	5.98±0.18^{b}	7.70±0.20^{b}	17.29±0.11^{b}	19.42±0.78^{b}	31.79±0.54^{b}
Acarbose	-	17.65±1.66^{a}	20.16±1.27^{a}	24.35±0.52^{a}	29.68±1.74^{a}	39.20±1.98^{a}

Data are expressed as mean ± standard error of mean (S.E.M.). Superscripts are expressed as significantly different in the same column according to Duncan's new multiple range test (DMRT) ($p \leq 0.05$). ND are expressed as not detected. % inhibition = percentage of α-glucosidase inhibition.

Table 8 Inhibition concentration 50 (IC_{50}) values of Shiitake mushroom extracts on α-glucosidase inhibition activity

Samples	Solvents	IC_{50} (mg/mL)
Lentinus edodes (Berk.) Sing.	Hot water	400
	80 % (v/v) Ethanol	20.38
	Hexane	12.91
Acarbose	-	7.33

ผลการทดลองฤทธิ์การต้านโรคเบาหวานโดยผ่านการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาแอมิเลสและแอลฟากลูโคซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลกลูโคสนั้น เห็นได้ว่าสารสกัดเห็ดหอมสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสดีกว่าแอลฟาแอมิเลส เนื่องจากเห็ดมีองค์ประกอบของ Nojirimycin ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของยาปฏิชีวนะและสร้างขึ้นโดย *Streptomyces* หลายชนิด [27] เช่น α-homonojirimycin และ 7-o-β-D-glucopyranosyl-α-homonojirimycin [28] โดยมี

การศึกษาว่า Nojirimycin ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสได้ดี [29]

นอกจากนี้ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของแอลฟากลูโคซิเดสของสารสกัดเห็ดหอมที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน 3 ชนิด เห็นได้ว่าสารสกัดเห็ดหอมด้วยเฮกเซนมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ดี สอดคล้องกับ Su และคณะ [14] ที่พบว่าองค์ประกอบหลักของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดที่ส่งผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสเป็นสารประกอบแบบไม่มีขั้วหรือไขมัน ได้แก่ oleic acid และ Linoleic acid ซึ่งสารเหล่านี้ละลายได้ดีในตัวทำละลายเฮกเซน

ผลการทดลองครั้งนี้สามารถนำมาแนะนำผู้บริโภคในการเลือกประกอบอาหาร เพื่อให้ได้สารสำคัญจากเห็ดหอมที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส แอลฟาแอมิเลส และแอลฟากลูโคซิเดส โดยการประกอบอาหารด้วยการผัดหรือการใช้น้ำมัน การอบและการนึ่ง สำหรับการต้มควรใช้ระยะเวลาสั้น ๆ เพื่อลดการละลายสารสำคัญออกมากับน้ำ หรือแนะนำให้รับประทานน้ำที่ใช้ในการต้มเห็ดหอมด้วย จึงจะได้รับสารสำคัญที่มีคุณประโยชน์

4. สรุป

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเห็ดหอมมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส แอลฟาแอมิเลส และแอลฟากลูโคซิเดสได้ ถึงแม้ว่าฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส แอลฟาแอมิเลส และแอลฟากลูโคซิเดสจะต่ำกว่าออริสแตทซึ่งเป็นยารักษาโรคอ้วน และต่ำกว่าอะคาร์โบสซึ่งเป็นยารักษาโรคเบาหวาน อย่างไรก็ตาม การบริโภคเห็ดหอมเป็นประจำน่าจะเป็นอีกหนึ่งหนทางในการช่วยควบคุมโรค เพราะน่าจะสามารถช่วยชะลอการดูดซึมกรดไขมันและกลูโคสเข้าสู่ร่างกาย จึงเป็นการช่วยส่งเสริมคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย อีกทั้งยังเป็นการป้องกันการเกิดโรคอ้วนและโรคเบาหวานของประชาชนทั่วไปได้อีกด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โครงการสนับสนุนทุนวิจัยเพื่อพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ ประจำปี 2560 ขอขอบคุณ นายกรกช จันทร นักวิชาการโรคพืชชำนาญการ กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

6. References

[1] Hawkesworth, S., 2013, Obesity: Definition, Etiology, and Assessment, Encyclopedia Human Nutr. 3: 350-353.

[2] Al-Goblan, A.S., Al-Alfi, M.A. and Khan, M.Z., 2014, Mechanism linking diabetes mellitus and obesity, Diabetes Metab. Syndr. Obes. 7: 587-591.

[3] Heck, A.M., Yanovski, J.A. and Calis, K.A., 2000, Orlistat, a new lipase inhibitor for the management of obesity, Pharmaco therapy 20: 270-279.

[4] Clissold, S.P. and Edwards, C., 1988, Acarbose, Drugs 35: 214-243.

[5] Handayani, D., Chen, J., Meyer, B.J. and Huang, X. F., 2011, Dietary Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) prevents fat deposition and lowers triglyceride in rats fed a high-fat diet, J. Obes. 2011: 1-8.

[6] Islam, S.I. and PramaniK, M.M.U., 2014. Antihyperglycemia activity of Edible mushroom, *Lentinus edodes* in Allon

Induced Diabetic Swiss Albino mice, Int. J. Pharm. Clin. Res. 6: 121-126.

[7] Palanisamy, M. , Gil- Ramírez, A. , Ruiz-Rodríguez, A., Marín, F.R., Reglero, G. and Soler- Rivas, C. , 2012, Testing edible mushrooms to inhibit the pancreatic lipase activity by an *in vitro* digestion model, Int. J. Food Sci. 47: 1004-1010.

[8] Sharif, S., Asia, A., Huma, T., Shah, A.A., Afzal, G., Rashid, S., Shahid, M. and Mustafa, G., 2018, Anticanner, antithrombotic, antityrosinase, and anti- α- glucosidase activities of select wild commercial mushrooms from Pakistanม Food Sci. Nutr. 6: 2170-2176.

[9] Wichaidit, T. and Baikadem, W., 2011, *In vitro* Inhibitory Effect of Edible Mushroom Extracts on Alpha Amylase and Alpha Glucosidase Enzymes, Master Thesis, Rangsit University, Pathum Thani. (in Thai)

[10] Afieroho, O. and Ugoeze, K., 2014, Gas chromatography-mass spectroscopic (GC-MS) analysis of n-hexane extract of *Lenti nus tuber-regium* (Fr) Fr (Polyporaceae) Syn *Pleurotus tuber regium* Fr sclerotia, Trop. J. Pharm. Res. 13: 1911-1915.

[11] Chaicharoenpong, C., 2014, Synthesis of Derivatives of Carpesterol and Theirs Lipase Inhibitory Activity, Research Report, Chulalongkorn University, Bangkok. (in Thai)

[12] Ren, L., Hemar, Y., Perera, C.O., Lewis, G., Krissanse, G.W. and Buchanan, P.K., 2014, Antibacterial and antioxidant activities of aqueous extracts of eight edible mushrooms, Bioact. Carbohydr. Diet. Fibre. 3: 41-51.

[13] Lee, J.K., Jang, J.H., Lee, J.T. and Lee, J.S., 2010, Extraction and characteristic of anti-obesity lipase inhibitor from *Phellinus linteus*, Mycobiology 38: 52-57.

[14] Su, C.H., Lai, M.N. and Ng, L.T., 2013, Inhibitory effects of medicinal mushrooms on α-amylase and α-glucosidase-enzymes related to hyperglycemia, Food Funct. 4: 644-649.

[15] Cai, S., Wang, O., Wang, M., He, J., Wang, Y., Zhang, D., Zhou, F. and Ji, B., 2012, *In vitro* inhibitory effect on pancreatic lipase activity of subfractions from ethanol extracts of fermented oats (*Avena sativa* L.) and synergistic effect of three phenolic acids, J. Agric. Food Chem. 60: 7245-7251.

[16] Zhai, H., Gunness, P. and Gidley, M.J., 2016, Effects of cereal soluble dietary fibers on hydrolysis of *p*- nitrophenyl laurate by pancreatin, Food Funct. 7: 3382-3389.

[17] Telagari, M. and Hullatti, K., 2015, *In vitro* α- amylase and α- glucosidase inhibitory activity of *Adiantum caudatum* Linn. and *Celosia argentea* Linn. extracts and fractions, Indian J. Pharma. 47: 425-429.

[18] Worthington, V. , Worthington Enzyme Manual Freehold: Alpha Amylase, Assay, Available Source: http://www.worthington-biochem.com/AA/default.html, February

12, 2019.

[19] Yamaki, K. and Mori, Y., 2006, Evaluation of alpha-glucosidase inhibitory activity in colored foods: A trial using slope factors of egression curves, J. Jpn. Soc. Food Sci. 53: 229-231.

[20] United States Department of Agriculture Agricultural Research Service, Basic Report: 11238, Mushrooms, Shiitake, Raw. Available Source: https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list?fgcd=&manu=&lfacet=&count=&max=35&sort=&qlookup=Mushrooms%2C+shiitake%2C+raw&offset=&format=Abridged&new=&measureby=&ds=&order=&qt=&qp=&qa=&qn=&q=&ing=, February 10, 2019.

[21] Manzi, P., Gambelli, L., Marconi, S., Vivanti, V. and Pizzoferrato, L., 1999, Nutrients in edible mushrooms: An inter- species comparative study, Food Chem. 65: 477-482.

[22] Synytsya, A., Míčková, K., Synytsya, A., Jablonský, I., Spěváček, J., Erban, V., Kovářříková, E. and Čopíková, J., 2009, Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity, Carbohydr. Polym. 76: 548-556.

[23] Venturi, G., Formisano, F., Cuello, G.J., Johnson, M.R, Pellegrini, E., Bafile, U. and Guarini, E., 2009, Structure of liquid n-hexane, J. Chem. Phys. 131: 034508.

[24] Gulua, L., Nikolaisshvili, L., Jgenti, M., Turmanidze T. and Dzneladze, G., 2018, Polyphenol content, anti- lipase and antioxidant activity of teas made in Georgia, Ann. Agrar. Sci. 16: 357-361.

[25] Rungprom, W., 2018, Antioxidant and antihyperglycemic activities of four edible Lentinus mushrooms, CAST 18(2): 75-82.

[26] Rouzbehan, S., Moein, S., Homaei, A. and Moein, M.R., 2017, Kinetics of α-glucosidase inhibition by different fractions of three species of Labiatae extracts: A new diabetes treatment model, Pharm. Biol. 55: 1483-1488.

[27] Inouye, S., Tsuruoka, T., Ito, T. and Niida, T., 1968, Structure and synthesis of nojirimycin, Tetrahedron 24: 2125-2144.

[28] Ohuchi, K. and Aoyagi, Y., 2010, Inhibitory effect of mushroom extract on α- amylase and α-glucosidase, J. Jpn. Soc. Food Sci. 57: 532-538.

[29] Niwa, T., Inouye, S., Tsuruoka, T., Koaze, Y. and Niida, T., 1970. Nojirimycin as a potent inhibitor of glucosidase, Agric. Biol. Chem. 34: 966-968.