



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

สมบัติการเป็นพรีไบโอติกจากการสกัดเห็ดที่บริโภคได้

Prebiotic properties from edible mushroom extraction

ธรรณันท์ สว่างวรรณ

ทุนวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ประจำปีงบประมาณ 2559



Research Report

Prebiotic properties from edible mushroom extraction

Thornthan Sawangwan

Ramkhamhaeng University Research Grant

Fiscal year 2016

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยรามคำแหง สำหรับทุนสนับสนุนโครงการวิจัยนี้ และขอขอบคุณคณาจารย์ เพื่อนร่วมงาน และผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการทำวิจัยนี้ ที่ให้คำปรึกษา ชี้แนะ และให้การสนับสนุน สำหรับเทคนิคในการทำวิจัย มุมมองความคิด ความรู้ต่างๆ ที่ดีให้แก่ผู้วิจัย

ประโยชน์คุณความดีอันเกิดเนื่องมาจากการงานวิจัยนี้ จะพึงมีเพียงใด ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ และคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้เมตตาอบรมสั่งสอนและประศาสน์วิชาจนมีวันนี้ได้ ส่วนข้อผิดพลาดคำติเตียนใดๆ ผู้วิจัยขอน้อมรับไว้ด้วยความยินดี

ผู้วิจัย

ธันวาคม 2560

บทคัดย่อ

หัวข้อวิจัย สมบัติการเป็นพรีไบโอติกจากการสกัดเห็ดที่บริโภคได้

ชื่อผู้วิจัย ธรณ์ธัญย์ สว่างวรรณ

ปีงบประมาณ 2559

งานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาสัณฐานวิทยาโอลิโกแซคคาไรด์ จากเห็ดที่บริโภคได้ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ เห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดนางรมทอง เห็ดนางรมขาว เห็ดนางรม เห็ดนางรมอังกา และเห็ดนางรมภูพาน ด้วยการสกัดโดยใช้เอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที ผลการทดสอบปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ในสารสกัดจากเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ พบว่า ที่ระยะเวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ในระดับที่สูงกว่าช่วงเวลาอื่น โดยเฉพาะในสารสกัดจากเห็ดหอม เห็ดนางรม และเห็ดนางรมภูพาน เมื่อทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสกัดจากเห็ดทุกสายพันธุ์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง พบว่าเห็ดหอม เห็ดนางรม และเห็ดนางรมทอง มีปริมาณน้ำตาลแลคทูโลส และมอลโตไตรโอสสูงกว่าสารสกัดเห็ดชนิดอื่นๆ

เมื่อนำสารสกัดเห็ดมาทำการทดสอบสมบัติการเป็นพรีไบโอติก โดยการนำไปผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก 2 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus plantarum* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร เพื่อศึกษาการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกดังกล่าว เปรียบเทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า (FOS และ inulin) ผลการทดสอบพบว่าในสารสกัดเห็ดทุกชนิดมีผลกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ *L. plantarum* ในขณะที่สารสกัดจากเห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดนางรมทอง และเห็ดนางรมขาวแสดงผลการกระตุ้นการเจริญของ *L. acidophilus* ได้ดีกว่าสารสกัดจากเห็ดชนิดอื่นๆ เมื่อทำการศึกษาการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi* และ *Staphylococcus aureus* ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากเห็ดหอม

เห็ดนางรมทอง และเห็ดนางรมฮังการี ที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus* สามารถยับยั้ง *S. paratyphi* ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนใสวัดได้เท่ากับ 0.8750, 0.7500 และ 1.1500 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากเห็ดดังกล่าวในอาหารเลี้ยงเชื้อ *L. plantarum* สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้เกือบทุกสายพันธุ์ (*B. cereus*, *S. paratyphi* และ *S. aureus*)

เมื่อทำการศึกษาอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกทั้งสองสายพันธุ์ที่สามารถต้านทานการย่อยจากสภาวะในทางเดินอาหาร ได้แก่ alpha-amylase, bile extract และ HCl เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดชนิดต่างๆ ในระยะเวลาการบ่มตั้งแต่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง เมื่อทำการตรวจสอบจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก ที่ผ่านการบ่มในสภาวะต่างๆ ผลการทดสอบพบว่าอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* ทั้ง 2 สายพันธุ์เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ด และสารโปรไบโอติกทางการค้าชนิดต่างๆ ในทุกสภาวะทางเดินอาหาร มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกที่เจริญในสภาวะควบคุม โดยที่ระยะเวลาการบ่มที่ 3 ชั่วโมง ในสภาวะของ HCl จุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหูหนู และเห็ดนางรมฮังการี มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด คือ ร้อยละ 7.06 และ 3.65 ตามลำดับ และจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหูหนู และเห็ดนางรม มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด คือ ร้อยละ 5.59 และ 10.45 ตามลำดับ

จากศักยภาพของสารโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากเห็ด ซึ่งผ่านการทดสอบสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติก เปรียบเทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ดังที่กล่าวมาข้างต้นนั้น รวมทั้งวิธีในการสกัดเห็ดเพื่อให้ได้สารโอลิโกแซคคาไรด์เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และปลอดภัยต่อผู้บริโภค ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเห็ดที่บริโภคได้ มีสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกที่ดี สามารถนำมาพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าของสินค้าทางการเกษตรได้ และมีแนวโน้มที่จะนำมาประยุกต์พัฒนาในการใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้ต่อไป

Abstract

Topic Prebiotic properties from edible mushroom extraction
Researcher Thornthan Sawangwan
Fiscal year 2016

This research aims to study the potential of prebiotic properties from 7 edible mushrooms (*Auricularia auricula Judae*, *Lentinus edodoe*, *Pleurotus citrinopileatus*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kummer and *Pleurotus pulmonarius*) extraction by ethanol and distilled water in the ratio of 40:10 percent by volume at 80°C, 150 round per minute (rpm). The determination of total sugar and total reducing sugar in mushroom extraction of all mushroom strains showed that at 3 hour of extraction presented high total sugar and total reducing sugar especially the extraction from *Lentinus edodoe*, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius*. High performance liquid chromatography (HPLC) analysis for the determination of mushroom extraction component presented higher lactulose and maltotriose in *Lentinus edodoe*, *Pleurotus djamor*, *Auricularia auricula Judae* and *Pleurotus citrinopileatus* than the others mushroom.

All mushroom extraction were determined for the prebiotic properties by supplemented in the culture medium of 2 probiotic strains (*Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum*) at the concentration of 1% by volume in order to study a stimulation of probiotic compared with commercial prebiotic (FOS and inulin). The result showed that all mushroom extraction could stimulated *L. plantarum*, while only extraction from *Auricularia auricula Judae*, *Lentinus edodoe*, *Pleurotus citrinopileatus* and *Pleurotus djamor* could stimulated *L. acidophilus*. When determination of gastrointestinal pathogenic inhibition with 4 strains (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi* and

Staphylococcus aureus), the result presented that extraction from *Lentinus edodes*, *Pleurotus citrinopileatus* and *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kummer in the culture of *L. acidophilus* showed high capacity of *S. paratyphi* inhibition as displayed from wider inhibition zone of 0.8750, 0.7500 and 1.1500 centimeter, respectively. Whereas in the same strains of mushroom extraction when cultured with *L. plantarum* presented the ability of inhibition of all pathogenic strains.

The study of tolerance ability in three different gastrointestinal conditions (alpha amylase, bile extract and HCl) determined by the survival percentage of 2 probiotic strains when incubated with the culture medium that comprised with mushroom extraction at 0, 0.5, 1, 2 and 3 incubation hours then determined the survival of probiotic strains. The result showed that the survival of both probiotic in all culture medium with mushroom extraction and commercial prebiotic exhibited the tolerance ability of all gastrointestinal conditions compared with a control condition (medium culture without mushroom extraction). At 3 incubation hours in of HCl condition the culture which supplemented of *Auricularia auricula Judae* and *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kummer presented high survival of *L. acidophilus* (7.06 and 3.65 % survival) whereas in the same gastrointestinal condition (HCl), the culture medium with *Auricularia auricula Judae* and *Pleurotus ostreatus* showed high survival of *L. plantarum* (5.59 and 10.45 % survival).

From the potential of oligosaccharide from mushroom extraction which determined the prebiotic properties compared with commercial prebiotic as mention and the extraction method were practical and safety. Therefore, the extracted from edible mushroom have potential in prebiotic properties and may be applied and developed to become an efficient functional food in the coming future.

คำนำ

สารพรีไบโอติก มีโครงสร้างเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นๆ หรือสารโอลิโกแซคคาไรด์ ที่มีสมบัติต้านทานการย่อยในระบบทางเดินอาหาร โดยที่พรีไบโอติกนั้นจะต้องมีสมบัติในการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก และมีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารที่ผลิตจากจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าวในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ทำให้สารพรีไบโอติกมีศักยภาพในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน และต่อต้านการเกิดโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ ปัจจุบันมีการศึกษาหาสารโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีสมบัติเป็นสารพรีไบโอติกอย่างแพร่หลาย โดยสารพรีไบโอติกสามารถสังเคราะห์ได้ด้วยวิธีทางเคมี วิธีทางชีวภาพ และวิธีการสกัดได้จากพืชอาหารบางชนิดในธรรมชาติ จึงเป็นเหตุให้ผู้วิจัยเล็งเห็นถึงความสำคัญของการนำเห็ดที่บริโภคได้ในท้องตลาด ซึ่งเป็นสินค้าทางการเกษตรที่มีปริมาณมาก และมูลค่าต่ำ มาทำการสกัดสารโอลิโกแซคคาไรด์ และทำการตรวจสอบสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติก เพื่อสามารถนำมาใช้ในการพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าสินค้าทางการเกษตร และเพื่อเป็นแนวโน้มในการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นต่อไป

ผู้วิจัย

ธันวาคม 2560

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ง
คำนำ	ฉ
1. บทนำ (Introduction)	1
1.1 ความเป็นมาและสภาพปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	3
2. วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (LITERATURE REVIEW)	4
3. วิธีการดำเนินการวิจัย (METHODOLOGY)	12
3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	12
3.2 แหล่งที่ใช้ในการวิจัย	13
3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย	14
3.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย	14
3.5 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	16
3.6 สถิติที่ใช้ในการวิจัย	21

สารบัญ (ต่อ)	หน้า
4. ผลการวิจัย (RESULTS)	22
4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากการสกัดเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยวิธี total sugar phenol sulfuric acid	24
4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยวิธี DNS	24
4.3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยเทคนิคโครมา โตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	30
4.4 ผลการทดสอบการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกร่วมกับสารสกัดจาก เห็ดสายพันธุ์ต่างๆ	35
4.5 ผลทดสอบสมบัติในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในสภาวะทางเดินอาหารของจุลินทรีย์กลุ่มโปร ไบโอติกร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ	39
4.6 การทดสอบสมบัติต้านทานการย่อยของสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ร่วมกับ จุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกภายใต้สภาวะในทางเดินอาหาร	45
5. สรุปผลการวิจัย (CONCLUSION)	59
6. เอกสารอ้างอิง (REFERENCES)	62
ภาคผนวก ก ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดเห็ดด้วยวิธี HPLC	66
ภาคผนวก ข ผลวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี one way-ANOVA	71

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเห็ด	5
รูปที่ 2 การเปรียบเทียบน้ำตาลทั้งหมด ของสารสกัดจากเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 ชั่วโมง	23
รูปที่ 3 การเปรียบเทียบน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดจากเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ ที่ผ่านการสกัดด้วย เอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 ชั่วโมง	24
รูปที่ 4 HPLC โคโรมาโตแกรมของสารสกัดเห็ดหูหนูที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	31
รูปที่ 5 HPLC โคโรมาโตแกรมของสารสกัดเห็ดหอมที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	31
รูปที่ 6 HPLC โคโรมาโตแกรมของสารสกัดเห็ดนางรมทองที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	32
รูปที่ 7 HPLC โคโรมาโตแกรมของสารสกัดเห็ดนางรมขาวที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	32
รูปที่ 8 HPLC โคโรมาโตแกรมของสารสกัดเห็ดนางรมที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	33
รูปที่ 9 HPLC โคโรมาโตแกรมของสารสกัดเห็ดนางรมอังกาบที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	33

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 10 HPLC โครมาโตแกรมของสารสกัดเห็ดนางรมภูฐานที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง	34
รูปที่ 11 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที ที่เวลา 3 ชั่วโมง ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง	35
รูปที่ 12 การเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ <i>L. acidophilus</i> และ <i>L. plantarum</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ และสารพรีไบโอติกทางการค้า โดยผ่านการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 nm	38
รูปที่ 13 การเปรียบเทียบสมบัติการยับยั้งเชื้อก่อโรค <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. paratyphi</i> และ <i>S. aureus</i> ด้วยจุลินทรีย์ <i>L. acidophilus</i> (A) และ <i>L. plantarum</i> (B) ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เปรียบเทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า	43
รูปที่ 14 ส่วนใสที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อก่อโรค <i>S. paratyphi</i> โดยเชื้อจุลินทรีย์ <i>L. acidophilus</i> ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมกับสารสกัดจากเห็ด เปรียบเทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า และสภาวะควบคุม; เห็ดหอม (A), เห็ดนางรมทอง (B), เห็ดนางรมฮังการี (C), FOS (D) และสภาวะควบคุม (E)	44
รูปที่ 15 โคโลนีของจุลินทรีย์ <i>L. acidophilus</i> ที่ทนต่อสภาวะ HCl เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมกับสารสกัดจากเห็ดนางรมฮังการี หลังการบ่มเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง	44
รูปที่ 16 อัตราร้อยละการรอดชีวิตของ <i>L. acidophilus</i> ที่ทนต่อสภาวะในทางเดินอาหาร alpha-amylase เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มต่างๆ (0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง)	53
รูปที่ 17 อัตราร้อยละการรอดชีวิตของ <i>L. acidophilus</i> ที่ทนต่อสภาวะในทางเดินอาหาร bile extract เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมกับสารสกัดจากเห็ดชนิดต่างๆ เทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มต่างๆ (0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง)	54

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 18 อัตราย่อยและการรอดชีวิตของ <i>L. acidophilus</i> ที่ทนต่อสภาวะในทางเดินอาหาร HCl เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มต่างๆ (0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง)	55
รูปที่ 19 อัตราย่อยและการรอดชีวิตของ <i>L. plantarum</i> ที่ทนต่อสภาวะในทางเดินอาหาร alpha-amylase เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มต่างๆ (0.5, 1; 2 และ 3 ชั่วโมง)	56
รูปที่ 20 อัตราย่อยและการรอดชีวิตของ <i>L. plantarum</i> ที่ทนต่อสภาวะในทางเดินอาหาร bile extract เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มต่างๆ (0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง)	57
รูปที่ 21 อัตราย่อยและการรอดชีวิตของ <i>L. plantarum</i> ที่ทนต่อสภาวะในทางเดินอาหาร HCl เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดชนิดต่างๆ เทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มต่างๆ (0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง)	58
รูปที่ ก.1 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกลูโคส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC	67
รูปที่ ก.2 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานมอลโตส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC	67
รูปที่ ก.3 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานฟรุคโตส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC	68
รูปที่ ก.4 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกาแลคโตส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC	68
รูปที่ ก.5 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานมอลโตไตรโอส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC	69
รูปที่ ก.6 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานมอลโตเตตราโอส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC	69
รูปที่ ก.7 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานแลคทูโลส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC	70

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ปริมาณสารอาหารในเห็ดนางรมอินเดีย	5
ตารางที่ 2 ปริมาณธาตุอาหารและกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายในเห็ดนางฟ้า	6
ตารางที่ 3 เห็ดชนิดต่างๆ ที่มีสรรพคุณเป็นยารักษาโรค	8
ตารางที่ 4 น้ำหนักของเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ ที่อบแห้ง ด้วยอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง	23
ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี total sugar phenol sulfuric acid จากตัวอย่างเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่น ในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 ชั่วโมง	26
ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี dinitrosalicylic; DNS จากตัวอย่างเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 ชั่วโมง	27
ตารางที่ 7 ผลการตรวจสอบการเจริญของจุลินทรีย์ <i>L. acidophilus</i> และ <i>L. plantarum</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ และสารพรีไบโอติกทางการค้า โดยผ่านการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 nm	37
ตารางที่ 8 ผลการทดสอบสมบัติการยับยั้งเชื้อก่อโรค <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. paratyphi</i> และ <i>S. aureus</i> ด้วยจุลินทรีย์ <i>L. acidophilus</i> ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เปรียบเทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า	41
ตารางที่ 9 ผลการทดสอบสมบัติการยับยั้งเชื้อก่อโรค <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. paratyphi</i> และ <i>S. aureus</i> ด้วยจุลินทรีย์ <i>L. plantarum</i> ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เปรียบเทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า	42
ตารางที่ 10 ผลอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ <i>L. acidophilus</i> ที่ทนต่อเอนไซม์ alpha-amylase เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง	47
ตารางที่ 11 ผลอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ <i>L. acidophilus</i> ที่ทนต่อ bile extract เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมกับสารสกัดจากเห็ดชนิดต่างๆ เทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง	48

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 12 ผลอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ <i>L. acidophilus</i> ที่ทนต่อ HCl เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง	49
ตารางที่ 13 ผลอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ <i>L. plantarum</i> ที่ทนต่อเอนไซม์ alpha-amylase เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง	50
ตารางที่ 14 ผลอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ <i>L. plantarum</i> ที่ทนต่อ bile extract เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดชนิดต่างๆ เทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง	51
ตารางที่ 15 ผลอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ <i>L. plantarum</i> ที่ทนต่อ HCl เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดชนิดต่างๆ เทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง	52
ตารางที่ ก.1 การวิเคราะห์สารมาตรฐานด้วยวิธี HPLC	66

1. บทนำ

(INTRODUCTION)

1.1 ความเป็นมาและสภาพปัญหา (PROBLEM STATEMENT)

มนุษย์รู้จัก และบริโภคเห็ดเป็นอาหารมาเป็นเวลานาน เห็ดที่สามารถรับประทานได้มีมากมายหลายชนิด นิยมนำเห็ดมารับประทานเป็นอาหารมังสวิรัต เนื่องจากมีรสชาติที่แตกต่างจากอาหารประเภทผัก และเนื้อสัตว์ โดยเห็ดที่นำมาบริโภคนั้น มีทั้งแบบเห็ดสด เห็ดบรรจุกระป๋องหรือแม้แต่เห็ดตากแห้ง ปัจจุบันความนิยมในการบริโภคเห็ดมีมากขึ้น เนื่องจากมีหลักฐานงานวิจัยหลายชิ้นยืนยันว่าเห็ดมีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายนานาประการ

จากความเจริญก้าวหน้าทางเทคโนโลยีชีวภาพในการวิเคราะห์สารสกัดที่ได้จากเห็ดทำให้นักวิจัยสามารถศึกษาสารสำคัญที่ออกฤทธิ์เป็นยาในเห็ดได้มากยิ่งขึ้น จากงานวิจัยของ Wasser (2010) พบว่าสารออกฤทธิ์ โดยเฉพาะสารจำพวกโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) ซึ่งมีสมบัติเป็นสารพรีไบโอติก (prebiotic) สามารถช่วยกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์โปรไบโอติก (probiotic) ในทางเดินอาหาร นอกจากนี้สารดังกล่าวยังช่วยกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้

อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันความเจริญก้าวหน้าของวิวัฒนาการในการเพาะเห็ดทำได้ง่ายขึ้น ผู้ผลิตสามารถผลิตเห็ดได้ในปริมาณที่มากขึ้น ในระยะเวลาอันรวดเร็ว จึงเป็นเหตุให้เห็ดมีปริมาณมาก และล้นตลาด เห็ดจึงมีราคาถูกลง และไม่คุ้มค่าต่อการลงทุนของผู้ผลิต เป็นเหตุให้ผู้วิจัยเล็งเห็นถึงปัญหาดังกล่าว ในการเพิ่มมูลค่าของเห็ดที่บริโภคได้ โดยทำการศึกษาหาวิธีการสกัดเห็ดเพื่อให้ได้สารโอลิโกแซคคาไรด์ให้ได้ปริมาณมาก ด้วยวิธีที่ง่าย และสะดวก รวมทั้งทดสอบสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของสารโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ดที่บริโภคได้ โดยหาได้ทั่วไปตามท้องตลาด

งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาและผลิตสารจำพวกโอลิโกแซคคาไรด์จากเห็ดที่บริโภคได้ ซึ่งหาได้ตามท้องตลาด โดยวิธีการสกัดด้วยเอทานอล และน้ำในสภาวะต่างๆ รวมถึงการทดสอบสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของสารโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ

1.2 วัตถุประสงค์ (OBJECTIVE)

- 1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโอลิโกแซคคาไรด์จากเห็ดที่บริโภคได้
- 1.2.2 เพื่อวิเคราะห์สารโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ด ด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟี
- 1.2.3 เพื่อศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของสารโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ด โดยพิจารณาจากความสามารถในการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก ความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรค และความสามารถในการต้านทานการย่อยในระบบทางเดินอาหาร ร่วมกับจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก

1.3 ขอบเขตการวิจัย (SCOPE OF RESEARCH)

- 1.3.1 ทำศึกษาการสกัดเห็ดที่บริโภคได้ ด้วยเอทานอล และน้ำที่ระยะเวลาต่างกัน
- 1.3.2 ทำการวิเคราะห์สารโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ด ด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟี
- 1.3.2 ทำการศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของสารที่สกัดได้จากเห็ด โดยพิจารณาจากการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก ความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรค และความสามารถในการต้านทานการย่อยในสภาวะทางเดินอาหาร ร่วมกับจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก

1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ (DEFINITION)

- 1.4.1 สารโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) หมายถึง คาร์โบไฮเดรตที่ประกอบไปด้วยหน่วยของโมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide) ตั้งแต่ 2 – 10 โมเลกุล ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) มีลักษณะเป็นสายยาว โครงสร้างของสารโอลิโกแซคคาไรด์แต่ละชนิดจะมีสมบัติที่ต่างกัน ขึ้นอยู่กับโมโนแซคคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างนั้นๆ ตัวอย่างสารโอลิโกแซคคาไรด์

ได้แก่ เซลโลไบโอส (cellobiose) แลคโทส (lactose) มอลโตส (maltose) ทรีฮาโลส (trehalose) เป็นต้น

1.4.2 프리ไบโอติก (prebiotic) หมายถึง สารที่มีสมบัติต้านทานการย่อยในระบบทางเดินอาหาร มีผลกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก และการสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในทางเดินอาหาร ตัวอย่างพรีไบโอติก ได้แก่ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galactooligosaccharide) มอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (maltooligosaccharide) ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylooligosaccharide) และอินนูลิน (inulin) เป็นต้น

1.4.3 โปรไบโอติก (probiotic) หมายถึง กลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งเมื่อเข้าไปอยู่ในระบบร่างกายของมนุษย์ และสัตว์ จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกายของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ โดยทั่วไปจะเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactobacillus และ Bifidobacterium ซึ่งเจริญเติบโตอยู่ในระบบทางเดินอาหารตรงบริเวณลำไส้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1.5.1 ทราบสถานะที่เหมาะสมในการสกัดสารโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ดที่บริโภคได้

1.5.2 ทราบองค์ประกอบของสารโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ด

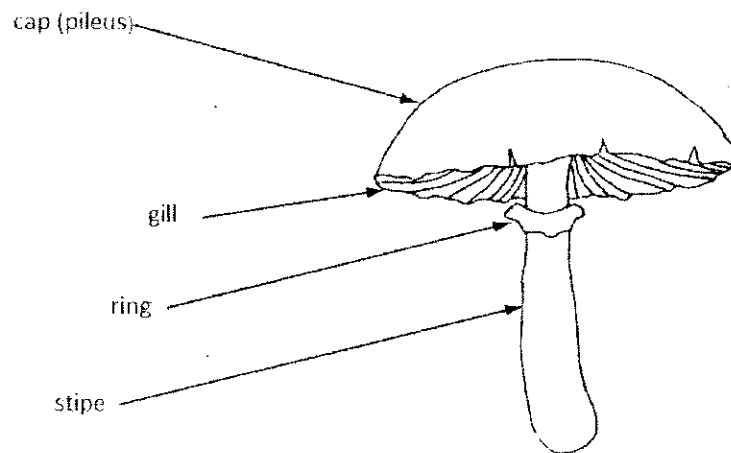
1.5.3 ทราบสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของสารที่สกัดได้จากเห็ด ซึ่งสามารถนำไปเพิ่มมูลค่า โดยการประยุกต์ใช้ในการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพในอุตสาหกรรมอาหารได้ต่อไป

2. วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

(LITERATURE REVIEW)

เห็ด (mushroom) เป็นฟังไจ (fungi) ชั้นสูงในชั้น Basidiomycetes ที่มีขนาดเส้นใย (hypha) รวมกันเป็นกลุ่มก้อน และมีขนาดใหญ่สามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่า เห็ดไม่สามารถสร้างอาหารเองได้ด้วยตนเอง เนื่องจากไม่มีคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) ในการสังเคราะห์แสง ดังนั้นจึงดำรงชีวิตด้วยการย่อยสลายซากพืชและซากสัตว์ให้ผุพัง (Moore, 2005) เห็ดมีรูปร่างลักษณะที่แตกต่างกัน (รูปที่ 1) โดยมีโครงสร้างหลักๆ แบ่งเป็น 4 ส่วน คือ

- 1) ส่วนหมวกเห็ด (cap หรือ pileus) ส่วนใหญ่มีรูปร่างคล้ายร่ม หมวกเห็ดมีหลายสี และหลายขนาดตั้งแต่เท่าเข็มหมุดถึงเท่ากับจาน หมวกเห็ดบางชนิดมีลักษณะแบนราบ บางชนิดมีลักษณะเว้าลงไป โดยลักษณะของหมวกเห็ดที่ต่างกันนี้จะใช้ในการจัดจำแนกเห็ดชนิดต่างๆ ได้
- 2) ส่วนครีบ (gill) คือส่วนที่อยู่ด้านล่างของหมวกเห็ด มีลักษณะเป็นแผ่นบางๆ เป็นส่วนที่มีความสำคัญในการสืบพันธุ์ โดยโครงสร้างภายในจะมีลักษณะอ่อนนุ่ม และชื้น ซึ่งเหมาะสมในการสร้างสปอร์ (spore) เพื่อใช้ในการสืบพันธุ์
- 3) ส่วนวงแหวน (ring) มีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อบางๆ เป็นส่วนที่ยึดส่วนของหมวกเห็ดให้ติดกับส่วนก้าน ลักษณะของวงแหวนสามารถนำไปจำแนกลักษณะของเห็ดได้
- 4) ส่วนก้าน (stipe) มีรูปร่างคล้ายกระบอง (clavate) ป่องโคน (bulbous) และโคนผอม (tapered) ก้านเห็ดเป็นส่วนสำคัญในการช่วยชูเห็ดให้สูงจากพื้น เพื่อให้สปอร์ปลิวกระจาย สามารถสืบพันธุ์ได้ในระยะไกล



รูปที่ 1 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเห็ด ([http:// www.toxinology.com/](http://www.toxinology.com/))

เห็ด มีคุณค่าทางโภชนาการมากมาย (ตารางที่ 1 และ 2) ให้พลังงานสูง ในขณะที่มีปริมาณไขมันต่ำ โดยมีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรต ไขมัน แร่ธาตุ และโปรตีน โดยเฉพาะกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย เช่น ไลซีน (lysine) ลิวซีน (leucine) ซิสทีน (cysteine) ฟีนีลอลานีน (phenylalanine) เมธไทโอนีน (methaionine) ทริปโตเฟน (tryptophan) และวาลีน (valine) เป็นต้น

ตารางที่ 1 ปริมาณสารอาหารในเห็ดนางรมอินเดีย (Manjunath, 2011)

สารอาหาร	ปริมาณ (%)
คาร์โบไฮเดรต	58.05 $\pm$ 0.01
โปรตีน	25.00 $\pm$ 0.01
เส้นใย	14.69 $\pm$ 0.01
เถ้า	5.14 $\pm$ 0.01
ไขมัน	1.54 $\pm$ 0.01
ความชื้น	12.51 $\pm$ 0.01
พลังงาน (กิโลแคลอรี; Kcal)	338.00

ตารางที่ 2 ปริมาณธาตุอาหารและกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายในเห็ดนางฟ้า (Akindahunsi และ Oyetayo, 2006)

รายการ	ปริมาณ
1. ปริมาณธาตุอาหาร (nutrients)	
แคลเซียม (Ca)	20 mg/100 g
ฟอสฟอรัส (P)	760 mg/100 g
โปแทสเซียม (K)	3260 mg/100 g
เหล็ก (Fe)	124 ppm
แคดเมียม (Cd)	0.3 ppm
สังกะสี (Zn)	12 ppm
ทองแดง (Cu)	12.2 ppm
ตะกั่ว (Pb)	3.2 ppm
2. ปริมาณกรดอะมิโน (amino acid)	
ไอโซลิวซีน (Isoleucine)	78 mg/g
ลิวซีน (Leucine)	68.1 mg/g
ไลซีน (Lysine)	73.5 mg/g
เมธไธโอนีน (Methionine)	62.5 mg/g
ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine)	137.8 mg/g
ทรีโอนีน (Threonine)	88 mg/g
ทริптоเฟน (Tryptophan)	91 mg/g
วาเลีน (Valine)	76.1 mg/g

จากตารางแสดงปริมาณสารอาหาร และธาตุอาหาร พบว่าเห็ดมีโปรตีนสูง จึงใช้ทดแทนโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์ได้ เห็ดส่วนใหญ่มีปริมาณไขมันต่ำ ปราศจากคอเลสเตอรอล มีธาตุโปแตสเซียมสูง ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยลดความดัน นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย ช่วยบำรุงผิวพรรณและการมองเห็น ช่วยควบคุมการทำงานของระบบย่อยอาหาร และระบบประสาท โดยเห็ดที่นิยมนำมารับประทานและรู้จักกันโดยทั่วไป ได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดหอม เห็ดหลินจือ เห็ดแชมปิญอง เห็ดสกุลนางรมต่างๆ เห็ดโคน และเห็ดหูหนู เป็นต้น นอกจากนี้แล้วในปัจจุบันได้มีการนำเห็ดชนิดใหม่ๆ ที่สามารถเพาะได้ เข้าสู่ตลาดและเริ่มเป็นที่นิยมบริโภคกันแพร่หลายมากขึ้น ได้แก่ เห็ดโคนน้อย เห็ดลม เห็ดขอนขาว และเห็ดนกยูง เป็นต้น นอกจากจะบริโภคเห็ดเป็นอาหารได้แล้ว ยังมีการนำเห็ดบางชนิดมาสกัดและทำเป็นอาหารเสริม (dietary supplement) อาหารเพื่อสุขภาพ (functional food) หรือแม้กระทั่งการนำเห็ดมาสกัดเพื่อใช้เป็นยารักษาโรค โดยเรียกผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากสารสกัดเห็ดบางชนิดซึ่งมีสรรพคุณเป็นยาว่า เห็ดทางการแพทย์ (medicinal mushroom)

สำหรับในประเทศไทยมีการนำเห็ดมาใช้เป็นยารักษาโรคมาตั้งแต่อดีตกาล โดยเป็นการนำองค์ความรู้ในระดับพื้นบ้านมารักษาโรคต่างๆ เช่น ท้องร่วง โรคเรื้อน โรคหอบหืด และไ้พิษการ เป็นต้น อย่างไรก็ตามในช่วง 10-20 ปีที่ผ่านมา มีความเจริญก้าวหน้าทางเทคโนโลยีชีวภาพ และเทคนิคต่างๆ ในการวิเคราะห์สารได้สะดวกและรวดเร็วขึ้น ทำให้นักวิทยาศาสตร์สามารถศึกษา และสกัดสารสำคัญในเห็ดที่ออกฤทธิ์ และมีสรรพคุณเป็นยาได้มากยิ่งขึ้น (Nuallaong, 2009) โดยเห็ดที่นิยมนำมาใช้สกัดเป็นยาได้แก่ เห็ดหอม เห็ดหลินจือ เห็ดขอนซ้อน เห็ดนางรม และเห็ดเข็มทอง เป็นต้น (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เห็ดชนิดต่างๆ ที่มีสรรพคุณเป็นยารักษาโรค (Hobbs, 1986)

ชนิดเห็ด	สรรพคุณ	ลักษณะที่ใช้	เอกสารอ้างอิง
เห็ดหอม (<i>Lentinula edodes</i>)	ควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน ระงับการเจริญของเนื้องอก ต่อต้านไวรัส/แบคทีเรีย	สด แห้ง	Bo and Yunsun, 1980
เห็ดหลินจือ (<i>Ganoderma lucidum</i>)	กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ระงับการเจริญของเนื้องอก ขับเสมหะ รักษาดับอักเสบ ลดความดันเลือด ลดอาการอ่อนเพลีย	แห้ง สารสกัด เม็ด	Ying et al., 1987 Chang and But, 1986 Huidi and Zhiyuan, 1982
เห็ดนางรม (<i>Pleurotus ostreotus</i>)	ระงับการเจริญของเนื้องอก ควบคุมไขมันในหลอดเลือด	สด แห้ง ผง	Yang and Jong, 1989 Opletal, 1993
เห็ดเข็มทอง (<i>Flammulina velutipes</i>)	รักษาโรคตับ รักษาแผลในกระเพาะอาหาร	สด แห้ง	Ying et al., 1987 Yoshioka et al., 1973

นอกจากสารออกฤทธิ์จากเห็ดที่มีสรรพคุณเป็นยารักษาโรค ดังที่กล่าวข้างต้นแล้วนั้น ยังมีสารออกฤทธิ์จากเห็ดที่มีสมบัติเป็นพรีไบโอติก ซึ่งเป็นสารประเภทโอลิโกแซคคาไรด์ ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตซึ่งมีองค์ประกอบของน้ำตาลสายสั้นๆ โดยมีกลูโคส (glucose) กาแลคโตส (galactose) และฟรุคโตส (fructose) และเอ็น อาเซทิลกลูโคซามีน (N-acetylglucosamine) เป็นองค์ประกอบ (Patel และ Goyal, 2011)

พรีไบโอติก (prebiotic) เป็นสารที่มีสมบัติต้านทานการย่อยในระบบทางเดินอาหาร (non-digestible) สารพรีไบโอติกจะถูกหมัก และถูกย่อยสลายในบริเวณลำไส้ใหญ่โดยจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก โดยที่สารพรีไบโอติกนั้นจะต้องมีสมบัติในการกระตุ้นการเจริญ และมีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารที่ผลิตจากจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกในลำไส้ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร องค์ประกอบของสารที่มีสมบัติเป็นพรีไบโอติกจะเป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนสายสั้นๆ หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) ได้แก่ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ไชโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylooligosaccharide; XOS) กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ (glucooligosaccharide; GOS) แมนโนโอลิโกแซคคาไรด์ (mannooligosaccharide; MOS) และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galactooligosaccharide) เป็นต้น

จากข้อมูลงานวิจัยที่กล่าวถึงประโยชน์ของสารพรีไบโอติกเพื่อเสริมสร้างสุขภาพที่แข็งแรงของผู้บริโภค นั้น สามารถอธิบายได้ดังต่อไปนี้

- 1) มีผลต่อระบบทางเดินอาหาร โดยสารพรีไบโอติกจะช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกในการผลิตสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในลำไส้ เช่น *Clostridium perfringens*, *Salmonella spp.* และ *E. coli* จึงช่วยในการป้องกันโรคท้องเสีย ท้องเดิน ที่เกิดจากการติดเชื้อดังกล่าว นอกจากนี้เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีลักษณะคล้ายเส้นใย ทำให้พรีไบโอติกมีส่วนช่วยในระบบขับถ่าย โดยพรีไบโอติกจะไปเพิ่มน้ำหนักของอุจจาระซึ่งจะส่งผลต่อการเคลื่อนไหวของลำไส้ทำให้ถ่ายได้ง่ายขึ้น
- 2) มีผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด โดยพรีไบโอติกที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นใยอาหารจะช่วยในการยับยั้งการปลดปล่อยแร่ธาตุที่บริเวณลำไส้เล็ก แต่จะทำให้แร่ธาตุดังกล่าวสามารถปลดปล่อย และถูกดูดซึมที่บริเวณลำไส้ใหญ่แทน จึงเป็นผลให้ร่างกายได้รับแร่ธาตุเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ นอกจากนี้ในลำไส้ใหญ่ที่มีสภาวะความเป็นกรดซึ่งเกิดจากการหมักสารพรีไบโอติก โดยจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกจะมีส่วนช่วยในการดูดซึมแคลเซียม (calcium) และแมกนีเซียม (magnesium) ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

- 3) มีผลต่อเมทาบอลิซึมของไขมัน โดยสารพรีไบโอติกที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกทำให้เกิดกรดไขมันสายสั้น เช่น กรดโพรไพโอนิก (propionic acid) ซึ่งกรดดังกล่าวจะไปยับยั้งการสังเคราะห์ไขมัน และคอเลสเตอรอลที่เป็นสาเหตุทำให้เส้นเลือดอุดตันได้

สารพรีไบโอติกมีสมบัติในการช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก เช่น จุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ของมนุษย์ และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยนักวิทยาศาสตร์เชื่อว่า หากมีการบริโภคสารพรีไบโอติก และจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกในปริมาณที่พอเหมาะ จะช่วยในการส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค โดยสารพรีไบโอติกจะเข้าไปช่วยกระตุ้นจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกให้มีการปรับสมดุลกับจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร อีกทั้งยังสามารถช่วยในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำให้ร่างกายสามารถต่อต้านการเกิดโรคต่างๆ ได้ (Wang และ Huang, 2014) สมบัติที่สำคัญของพรีไบโอติก นอกจากจะมีความสามารถในการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคแล้วนั้น สารพรีไบโอติกจะต้องมีความสามารถในการต้านทานการย่อยในระบบทางเดินอาหารตั้งแต่ในน้ำลาย กรดในกระเพาะอาหาร จนกระทั่งน้ำดีได้อีกด้วย เพื่อให้สารพรีไบโอติกได้เข้าไปถึงบริเวณที่จุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกเจริญอยู่ จึงจะเกิดการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้

Rao และคณะ (2009) ทำการศึกษาคุณภาพของผงเห็ดชิตาเกะ (*Lentinula edodes*) ที่ผ่านการแช่แข็งด้วยวิธี freeze-dried ในสารละลายเปปโตนซาลิน (peptone saline) ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในทางเดินอาหารได้เป็นอย่างดี ได้แก่ *Paenibacillus lentimorbus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas mevalonii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes faecalis* และ *E. coli* เป็นต้น

Gao และคณะ (2009) ได้ทำการศึกษาการสกัดแยกสารคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหาร (non digestible carbohydrate) จากเห็ดทางการแพทย์ 2 สายพันธุ์ คือ เห็ดฟุหลิง (*Poria cocos*) และเห็ดขอน (*Polyporus rhinoceros*) พบว่ามีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยร้อยละ 94.8 และ 100 โดยน้ำหนักตามลำดับ และเมื่อทำการทดสอบสมบัติการเป็นพรีไบโอติก พบว่าสารสกัดจากเห็ดทั้งสองชนิดสามารถกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก (*Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus brevis* และ *Clostridium celatum*) ได้เป็นอย่างดี

Ana และคณะ (2012) ได้ทำการรวบรวมลักษณะทางโครงสร้างและศึกษาสมบัติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ดที่กินได้ คือ *Agaricus bisporus*, *Boletus erythropus*, *Colocybe indica*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma atrum*, *Lentinus edodes*, *Pleurotus eryngii* และ *Pleurotus ostreatus* โดยพบว่าการสกัดสารโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดดังกล่าว สามารถสกัดได้โดยใช้ตัวทำละลาย การใช้คลื่นเสียง และการใช้คลื่นไมโครเวฟ เมื่อตรวจสอบโครงสร้างของสารโพลีแซคคาไรด์พบว่ามีโครงสร้างทั้งที่เป็น Homopolysaccharide และ Heteropolysaccharide เมื่อทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่ามีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเนื้องอก โดยสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้มีกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระ และมีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งถือเป็นสมบัติที่ดีของการเป็นสารพรีไบโอติก

Valverde และคณะ (2015) ได้ทำการสกัดเห็ดจำนวน 6 ชนิดคือ เห็ดแชมปิญอง (*Agaricus bisporus*) เห็ดหอม (*Lentinus edode*) เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) เห็ดออเรนจี (*Pleurotus eryngii*) เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) และเห็ดถั่วยักษ์ (*Pleurotus giganteus*) พบว่า เห็ดดังกล่าวนั้นประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ เบต้ากลูแคน (beta glucan) เลคติน (lectin) และ แอร์โกสเตอรอล (ergosterol) ที่สามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง ลดการอักเสบของเนื้อเยื่อต่างๆ ได้ดี

จากการที่ผู้บริโภคในปัจจุบันให้ความสำคัญในการดูแลสุขภาพ โดยเฉพาะการรับประทานอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีความปลอดภัย ส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สารพรีไบโอติกจากเห็ดที่บริโภคได้ ถือว่ากำลังได้รับความนิยมจากผู้บริโภค เนื่องจากมีสมบัติของสารดังกล่าวสามารถสนองความต้องการของผู้บริโภคได้ นอกจากนี้พรีไบโอติกยังเป็นงานวิจัยที่ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์ในปัจจุบันอีกด้วย จึงควรได้รับการส่งเสริมพัฒนาเพื่อให้ผู้บริโภคได้มีสุขภาพที่ดี และเป็นการเพิ่มมูลค่าของสินค้าทางการเกษตรได้ต่อไป

งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการสกัด และวิเคราะห์สารจำพวกโพลีฟีนอลจากเห็ดที่บริโภคได้และมีปริมาณมากในท้องตลาด นำมาศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกที่ดี โดยจะพิจารณาจากความสามารถในการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก ความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคและความสามารถในการต้านทานการย่อยในระบบทางเดินอาหาร ร่วมกับจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก

3. วิธีดำเนินการวิจัย

(METHODOLOGY)

3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- 3.1.1 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow cabinet)
- 3.1.2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)
- 3.1.3 ตู้บ่มเชื้อ (incubator)
- 3.1.4 โลบ์มเชื้อไร้ออกซิเจน (anaerobic jar) พร้อมอุปกรณ์
- 3.1.5 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
- 3.1.6 คิวเวท (cuvette)
- 3.1.7 เครื่องวิเคราะห์สารด้วยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
(high performance liquid chromatography; HPLC)
- 3.1.8 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)
- 3.1.9 หลอดสำหรับเครื่องหมุนเหวี่ยง (microcentrifuge tube)

- 3.1.10 เครื่องผสมสาร (vortex mixture)
- 3.1.11 เครื่องวัดค่ากรด-ด่าง (pH meter)
- 3.1.12 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- 3.1.13 เครื่องชั่ง (balance)
- 3.1.14 เครื่องตวงสารอัตโนมัติ (auto pipette)
- 3.1.15 ทิปสำหรับใส่เครื่องตวงอัตโนมัติ (tip)
- 3.1.16 อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- 3.1.17 อุปกรณ์เย็บเชื้อจุลินทรีย์

3.2 เห็ดที่ใช้ในการวิจัย

- 3.2.1 เห็ดหูหนู (*Auricularia auricula Judae*)
- 3.2.2 เห็ดหอม (*Lentinus edodes*)
- 3.2.3 เห็ดนางรมทอง (*Pleurotus citrinopileatus*)
- 3.2.4 เห็ดนางรมขาว (*Pleurotus djamor*)
- 3.2.5 เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*)
- 3.2.6 เห็ดนางรมอังกาบ (*Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kummer)
- 3.2.7 เห็ดนางรมภูฐาน (*Pleurotus pulmonarius*)

3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 จุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก

- *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1338
- *Lactobacillus plantarum* TISTR 1465

3.3.2 จุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร

- *Bacillus cereus* ATCC 11778
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Salmonella paratyphi* DMST 15673
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25922

3.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.4.1 สารที่ใช้ในการสกัดเห็ด

- เอทานอล (ethanol) ความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร
- น้ำกลั่น

3.4.2 สารที่ใช้ในการวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

- สารละลายฟีนอล (phenol solution) ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร
- กรดซัลฟูริก (sulfuric acid) ความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร

3.4.3 สารที่ใช้ในการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

- กรดไดไนโตรซาลิซิลิก (3,5 dinitrosalicylic acid; DNS)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide)
- ฟีนอล (phenol)
- โซเดียมซัลไฟต์ (sodium sulfite)
- โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรตเตตราไฮเดรต (potassium sodium tartrate tetrahydrate)
- สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตท pH 4.8

3.4.4 สารที่ใช้ในการทดสอบการย่อยภายใต้สภาวะในทางเดินอาหาร

- เอนไซม์แอลฟา อะไมเลส (alpha-amylase) 100 ยูนิต/มิลลิลิตร
- สารสกัดจากน้ำดี (bile extract) ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 น้ำหนัก/ปริมาตร
- กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) 0.1 โมลาร์ pH 4.0
- ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (phosphate buffer saline; PBS) pH 7.4

3.4.5 สารที่ใช้ในอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

- อาหารเอ็ม อาร์ เอส (Man Rogosa Sharpe; MRS)
- อาหารนิวเทรียน อาการ์ (Nutrient Agar; NA)
- อาหารนิวเทรียน บรอต (Nutrient Broth; NB)

- อาหารมูลเลอร์ ฮีลตัน (Mueller Hinton)
- ผงวุ้น (agar)

3.4.6 สารที่ใช้ในการวิเคราะห์โดย HPLC

- สารมาตรฐานกลูโคส (glucose)
- สารมาตรฐานมอลโตส (maltose)
- สารมาตรฐานฟรุคโตส (fructose)
- สารมาตรฐานกาแลคโตส (galactose)
- สารมาตรฐานฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide)
- สารมาตรฐานกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galactooligosaccharide)
- สารมาตรฐานมอลโตไตรโอส (maltotriose)
- สารมาตรฐานมอลโตเตตราโอส (maltotetraose)
- สารมาตรฐานแลคทูโลส (lactulose)

3.5 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.5.1 การสกัดเห็ด

นำเห็ดที่ต้องการทดสอบทั้ง 7 สายพันธุ์ มาทำความสะอาดโดยการล้างด้วยน้ำสะอาด และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นหั่นเป็นชิ้นเล็ก และนำไปบดให้ละเอียด

- ชั่งตัวอย่างเห็ดใส่ในหลอดทดลอง สายพันธุ์ละ 3 กรัม เติมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายปริมาณ 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
- นำหลอดทดลองที่มีสารดังกล่าวข้างต้นไปต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที ทำการเก็บตัวอย่างทุกครั้งชั่วโมงเป็นเวลานาน 4 ชั่วโมง (1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 และ 4.0 ชั่วโมง)
- นำตัวอย่างที่ได้หลังจากการต้มด้วยสภาวะดังกล่าวไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 15 นาที โดยเก็บส่วนใสไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากเห็ดชนิดต่างๆ ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงต่อไป

3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี total sugar phenol sulfuric acid (Dubois และ คณะ, 1956)

- นำตัวอย่างที่ได้หลังจากการปั่นเหวี่ยงมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม ในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำฟีนอล (ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร) ในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และกรดซัลฟูริก (ความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร) ในปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากัน และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลานาน 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร
- เตรียมตัวอย่างสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.5 – 6.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เพื่อใช้ในการคำนวณหากราฟมาตรฐาน โดยทำการผสมสารที่ใช้วิเคราะห์ (สารฟีนอล และกรดซัลฟูริก) ด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น หลังจากได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรแล้ว นำไปสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารตัวอย่างได้ต่อไป

3.5.3 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (Miller, 1959)

- นำตัวอย่างที่ได้หลังจากการปั่นเหวี่ยงมาเจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตท เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากัน และนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นระยะเวลา 15 นาที รอให้สารในหลอดเย็นลง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
- เตรียมตัวอย่างสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่มีความเข้มข้นต่างๆ (0.08 – 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เพื่อใช้ในการคำนวณหากราฟมาตรฐาน โดยทำการผสมสาร DNS ที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น หลังจากได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรแล้ว นำไปสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารตัวอย่างได้ต่อไป

3.5.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากเห็ดชนิดต่างๆ ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง

- ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น ultimate 3000 โดยการนำส่วนใสที่ได้จากการสกัดดังกล่าว มาทำการเจือจางตามความเข้มข้นที่เหมาะสม นำสารตัวอย่างผ่านลงในคอลัมน์วิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต (CARBO PAC; 4.6 x 250 nm) ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้สารละลายอะซิโตนไตรัท ที่อัตราส่วนต่อน้ำกลั่น 75 : 25 โดยปริมาตรเป็นตัวทำละลายที่อัตราเร็ว 1.4 มิลลิลิตร/นาที โดยใช้ตัวตรวจวัดปริมาณสารต่างๆ ด้วยเครื่อง RID (refractive index detector) รุ่น RefractoMax 520 จากนั้นทำการเปรียบเทียบปริมาณสารต่างๆ ที่ได้จากการสกัดเห็ดเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน (กลูโคส

มอลโตส ฟรุคโตส กาแลคโตส มอลโตไตรโอส มอลโตเตตราโอส และแลคทูโลส) เพื่อใช้ในการพิจารณาองค์ประกอบของสารที่สกัดได้จากเห็ดชนิดต่างๆ ที่ทำการศึกษา

3.5.5 การทดสอบการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกร่วมกับสารสกัดจากเห็ด

- ทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* ในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่สภาวะควบคุม (ไม่มีการเติมสารสกัดจากเห็ด) เปรียบเทียบกับสภาวะที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดที่ต้องการทดสอบ และสารพรีไบโอติกทางการค้า (ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร) ในปริมาณ 1 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไร้อากาศด้วยเทคนิคที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์หลังการบ่มด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร

3.5.6 การทดสอบสมบัติในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในทางเดินอาหารของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกที่เจริญร่วมกับสารสกัดจากเห็ด (Rousseau และคณะ, 2005)

- ทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* ในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่สภาวะควบคุม (ไม่มีการเติมสารสกัด) เปรียบเทียบกับสภาวะที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดที่ต้องการทดสอบ และสารพรีไบโอติกทางการค้า (ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร) ในปริมาณ 1 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไร้อากาศด้วยเทคนิคที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์หลังการบ่มด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร ให้เท่ากับ 1.0
- เก็บตัวอย่างจุลินทรีย์ที่ผ่านการบ่มดังกล่าว ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาปั่นเหวี่ยงที่ 8000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที แยกส่วนใส

(supernatant) ที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงออกจากส่วนเซลล์ (pellet) นำกระดาศกรอง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุ่มลงในส่วนใสดังกล่าว

- ทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ก่อโรค (*B. cereus*, *E. coli*, *S. paratyphi* และ *S. aureus*) ในอาหารเหลว NB และ Mueller Hinton ปริมาตรอาหารละ 10 มิลลิลิตร บ่มจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิคที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์หลังการบ่มด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร ให้เท่ากับ 1.0
- นำจุลินทรีย์ก่อโรคที่เจริญในอาหารเหลว NB และ Mueller Hinton ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ละเลงลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA และ Mueller Hinton จากนั้นนำกระดาศกรองที่ผ่านการจุ่มในส่วนใสของสารสกัดจากเห็ด มาวางบนจานเพาะเลี้ยง (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร) ที่ได้ทำการละเลงด้วยเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ดังกล่าว บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิคที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ตรวจสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรคด้วยจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณส่วนใส (clear zone) ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อก่อโรคบริเวณรอบๆ กระดาศกรอง

3.5.7 การทดสอบสมบัติการต้านทานการย่อยของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกที่เจริญร่วมกับสารสกัดจากเห็ดภายใต้สภาวะในทางเดินอาหาร (Kondepudi และคณะ, 2012)

- ทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* ในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่สภาวะควบคุม (ไม่มีการเติมสารสกัด) เปรียบเทียบกับสภาวะที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดที่ต้องการทดสอบ และสารฟรีไบโอติกทางการค้า (ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร) ในปริมาณ 1 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวที่อุณหภูมิ

37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไร้อากาศด้วยเทคนิคที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์หลังการบ่มด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร ให้เท่ากับ 1.0

เก็บตัวอย่างจุลินทรีย์ที่ผ่านการบ่มดังกล่าว ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาปั่นเหวี่ยงที่ 8000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที ทำการล้างเซลล์ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ PBS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 7.4 จากนั้นแช่เซลล์จุลินทรีย์ เพื่อทำการทดสอบเป็นระยะเวลา 0, 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะในทางเดินอาหารต่างๆ (alpha-amylase, bile extract และ HCl) ในปริมาตรสภาวะละ 1 มิลลิลิตร

เปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ที่ทนสภาวะในทางเดินอาหารต่างๆ ที่ระยะเวลา 0, 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 ชั่วโมง โดยทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ผ่านสภาวะดังกล่าวด้วยอาหารแข็ง MRS บ่มจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการนับจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต และคำนวณด้วยวิธีดังนี้

$$\text{ร้อยละอัตราการรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น}} \times 100$$

3.6 สถิติที่ใช้ในการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ ได้ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยการหาค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และประมวลผลทางสถิติแบบ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ด้วยโปรแกรม MINITAB® 17.1.0

4. ผลการวิจัย

(RESULTS)

ในการเตรียมสารสกัดเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ ที่อบแห้ง (แสดงในตารางที่ 4) มาทำการสกัดโดยใช้เอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วในการเขย่า 150 รอบ/นาที โดยในการวิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างสารสกัดจากเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ ที่ระยะเวลา คือ 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 ชั่วโมง รวมทั้งหมด 7 ช่วงเวลา โดยมีตัวอย่างเห็ด 7 สายพันธุ์ ที่ใช้ในการสกัดดังนี้ คือ

- 1) เห็ดหูหนู (*Auricularia auricula Judae*)
- 2) เห็ดหอม (*Lentinus edodes*)
- 3) เห็ดนางรมทอง (*Pleurotus citrinopileatus*)
- 4) เห็ดนางรมขาว (*Pleurotus djamor*)
- 5) เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*)
- 6) เห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kummer)
- 7) เห็ดนางรมภูฐาน (*Pleurotus pulmonarius*)

ตารางที่ 4 น้ำหนักของเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ ที่อบแห้งด้วยอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

สายพันธุ์	น้ำหนักกระดาศกรง (กรัม)	น้ำหนักเห็ดก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักเห็ดหลังอบ (กรัม)	น้ำหนักเห็ดแห้ง (กรัม)
1. เห็ดหูหนู	0.4837±0.0052	1.0028±0.0003	1.5868±0.0125	1.1030±0.0174
2. เห็ดหอม	0.4883±0.0166	1.0062±0.0024	1.5989±0.0220	1.1106±0.0307
3. เห็ดนางรมทอง	0.4936±0.0163	1.0007±0.0002	1.3788±0.0124	0.8853±0.0282
4. เห็ดนางรมขาว	0.4760±0.0110	1.0005±0.0023	1.4059±0.0138	0.9300±0.0239
5. เห็ดนางรม	0.4842±0.0221	1.0035±0.0023	1.5578±0.0290	1.0736±0.0260
6. เห็ดนางรมฮังการี	0.4811±0.0238	1.0006±0.0005	1.3952±0.0133	0.9141±0.0364
7. เห็ดนางรมภูฐาน	0.4857±0.0166	1.0006±0.0001	1.3670±0.0218	0.8813±0.0291

เมื่อทำการเก็บตัวอย่างสารสกัดจากเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ ตามระยะเวลาต่างๆ ที่กำหนดแล้ว จากนั้นนำมาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และการตรวจสอบสมบัติการเป็นพรีไบโอติกเปรียบเทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้าต่อไป

4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากการสกัดเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยวิธี total sugar phenol sulfuric acid

ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการสกัดเห็ดชนิดต่างๆ ด้วยวิธี total sugar phenol sulfuric acid จากตัวอย่างเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ ที่เวลาต่างๆ กัน เพื่อหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการสกัดเห็ด ตามสภาวะที่กล่าวไว้ข้างต้น เมื่อเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาต่างๆ กันตามที่กำหนด โดยทำการคำนวณปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นที่ความยาว 490 นาโนเมตร (ภาคผนวก ก) ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดแสดงในตารางที่ 5 และรูปที่ 2 โดยพบว่า ในช่วงระยะเวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้มากกว่าระยะเวลาในการสกัดอื่นๆ โดยเฉพาะเห็ดหอม เห็ดนางรม และเห็ดนางรมภูฐาน ที่ระยะเวลาในการสกัดที่ 3 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำตาลสูงกว่าเห็ดชนิดอื่นๆ

4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยวิธี DNS

ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการสกัดเห็ดชนิดต่างๆ ด้วยวิธี dinitrosalicylic (DNS) จากตัวอย่างเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ ที่เวลาต่างๆ กันเพื่อหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการสกัดเห็ด ตามสภาวะที่กล่าวไว้ข้างต้น เมื่อเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาต่างๆ กันตามที่กำหนด โดยทำการคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นที่ความยาว 540 นาโนเมตร ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 3 โดยพบว่าในช่วงระยะเวลาในการสกัด 3 – 4 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ได้มากกว่าระยะเวลาในการสกัดอื่นๆ โดยเฉพาะในระยะเวลาการสกัด 3 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดใน เห็ดหอม และเห็ดนางรม เช่นเดียวกันกับปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ดังงานวิจัยของ IKhalil และคณะ (2011) ได้ศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากการหมักแบบอาหารแข็งในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดยใช้ เห็ด 2 สายพันธุ์ คือเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) และเห็ดนางฟ้า

(*Pleurotus sajor-caju*) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ และศึกษาปริมาณธาตุอาหาร และน้ำตาลรีดิวซ์หลังจากการหมัก ผลการวิจัยพบว่า เห็ดนางรมให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงถึง 42.8 มิลลิกรัม/กรัม ซึ่งมากกว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเห็ดนางฟ้า (10.9 มิลลิกรัม/กรัม) นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Reis และคณะ (2012) ได้มีการศึกษาปริมาณธาตุอาหาร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเห็ด 5 สายพันธุ์ ได้แก่ เห็ดขาปิญอง (*Agaricus bisporus*), เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*), เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus eryngii*) ,เห็ดหอม (*Lentinula edodes*) และเห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes*) พบว่า เมื่อทำการสกัดเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยเอทานอล และน้ำ ที่อัตราส่วนร้อยละ 80:20 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พบว่าเห็ดเข็มทองมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าเห็ดสายพันธุ์อื่นๆ คือ 17.62 มิลลิกรัม/กรัม

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี total sugar phenol sulfuric acid จากตัวอย่างเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่น

ในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 ชั่วโมง (ระดับ

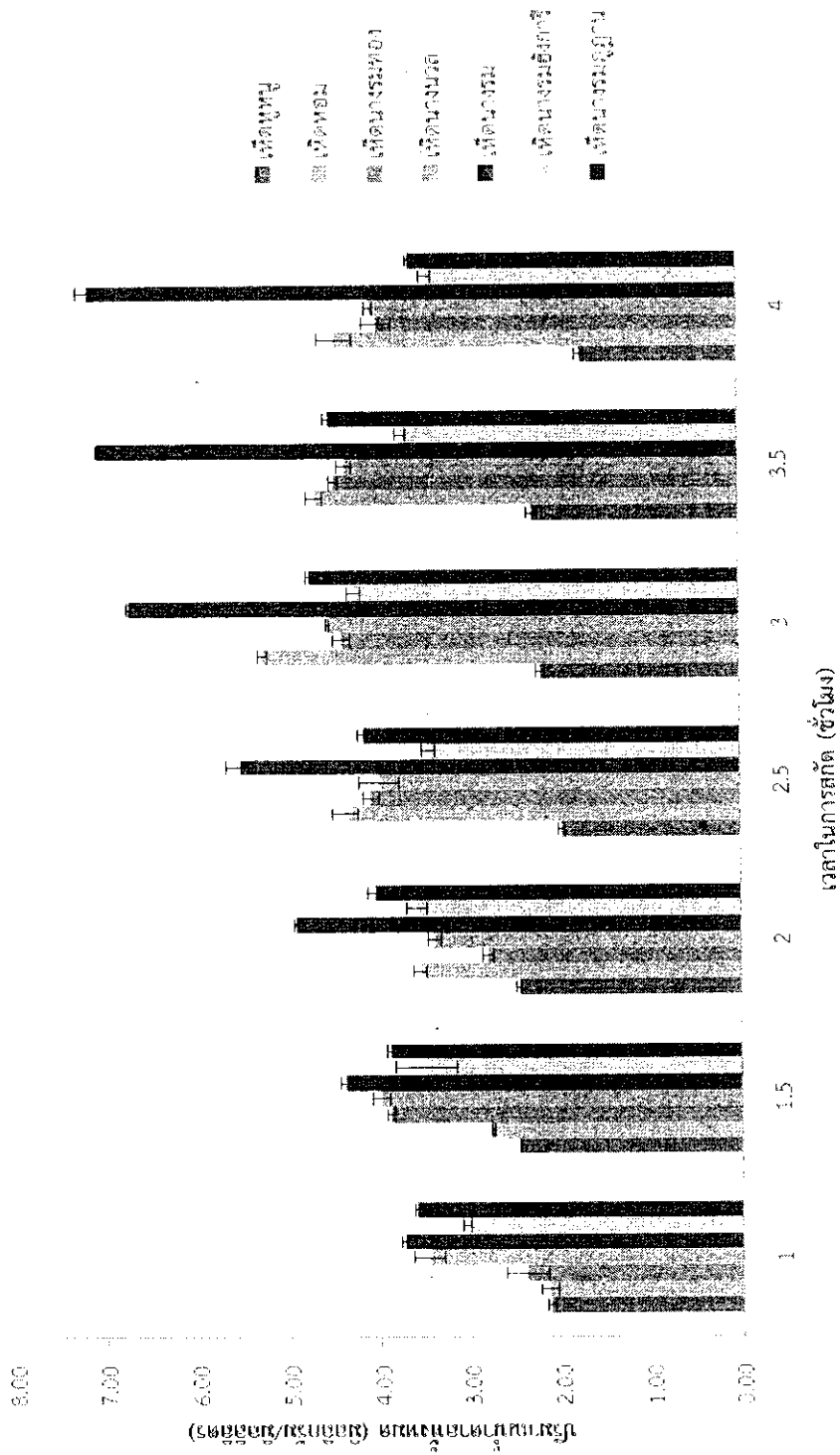
นัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$)

ตัวอย่างทดสอบ	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (มิลลิกรัม/กรัม)						
	ระยะเวลาการสกัด (ชั่วโมง)						
	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4
1. เห็ดหูหนู	2.1172±0.0448	2.4458±0.0111	2.4529±0.0323	1.9718±0.0370	2.1994±0.0563	2.2790±0.0575	1.7409±0.0460
2. เห็ดหอม	2.1367±0.0971	2.7933±0.0161	3.7435±0.0793	4.4239±0.1441	5.4039±0.0520	4.9022±0.0892	4.9218±0.1921
3. เห็ดนางรมทอง	2.3884±0.2363	3.8838±0.0390	3.6032±0.0574	4.0818±0.0880	4.4004±0.0940	4.4703±0.0501	3.9807±0.1639
4. เห็ดนางรมวล	3.4623±0.1712	3.9842±0.0923	3.3868±0.0729	3.9898±0.2173	4.5517±0.0163	4.3517±0.0769	4.0620±0.0449
5. เห็ดนางรม	3.8710±0.0313	3.9689±0.0564	3.8951±0.0320	3.9390±0.1619	4.8959±0.0261	4.5366±0.0069	3.8087±0.1188
6. เห็ดนางรมฮังการี	3.0434±0.0427	3.4904±0.3336	3.5869±0.1117	3.4502±0.0733	4.2620±0.0706	3.7320±0.0581	3.4453±0.0663
7. เห็ดนางรมภูฐาน	3.6025±0.0241	3.8838±0.0390	4.0368±0.0855	4.1687±0.0527	4.7472±0.0474	4.5312±0.0574	3.6338±0.0225

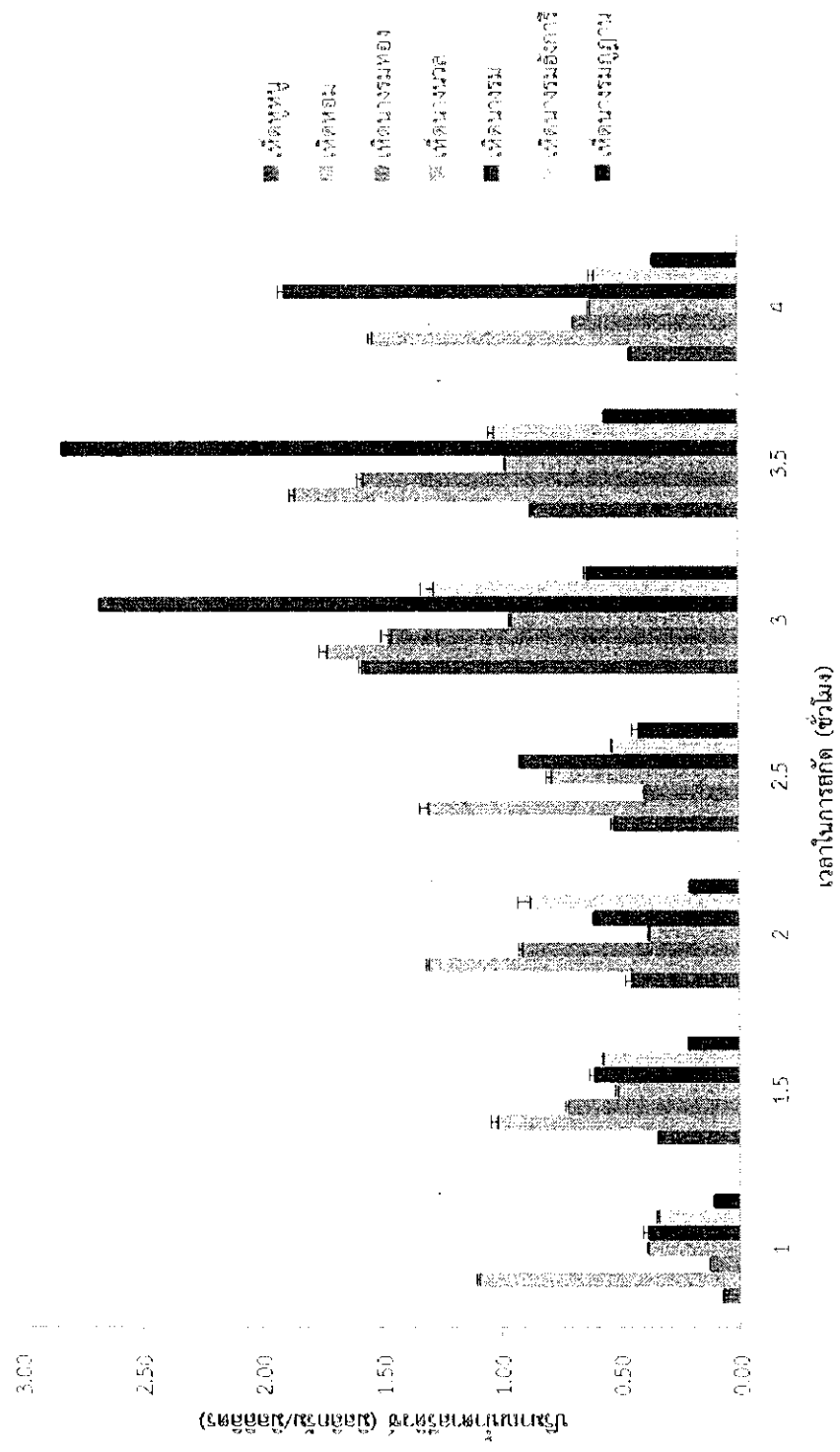
ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS จากตัวอย่างเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดย

ปริมาณที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 ชั่วโมง (ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$)

ตัวอย่างทดสอบ	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัม/กรัม)						
	ระยะเวลาการสกัด (ชั่วโมง)						
	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4
1. เห็ดหูหนู	0.0743±0.0016	0.3417±0.0038	0.4611±0.0150	0.5320±0.0086	1.5909±0.0078	0.8777±0.0009	0.4560±0.0072
2. เห็ดหอม	1.0971±0.0045	1.0303±0.0128	1.3086±0.0048	1.3234±0.0186	1.7457±0.0165	1.8749±0.0095	1.5434±0.0096
3. เห็ดนางรมทอง	0.1303±0.0009	0.7269±0.0061	0.9171±0.0018	0.4000±0.0018	1.4794±0.0219	1.5863±0.0139	0.6931±0.0404
4. เห็ดนางรมวล	0.3886±0.0021	0.5160±0.0056	0.3806±0.0041	0.7994±0.0101	0.9600±0.0046	0.9783±0.0040	0.6274±0.0069
5. เห็ดนางรม	0.3914±0.0140	0.6160±0.0147	0.6114±0.0032	0.9229±0.0051	2.6737±0.0027	2.8297±0.0031	1.9097±0.0183
6. เห็ดนางรมอังการิ	0.3451±0.0048	0.5731±0.0334	0.9046±0.0264	0.5360±0.0009	1.3097±0.0268	1.0389±0.0116	0.6154±0.0122
7. เห็ดนางรมภูพาน	0.1097±0.0017	0.2143±0.0038	0.2080±0.0023	0.4274±0.0225	0.6440±0.0066	0.5623±0.0026	0.3577±0.0060



รูปที่ 2 การเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งทั้งหมด ของสารสกัดจากเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 ชั่วโมง



รูปที่ 3 การเปรียบเทียบน้ำหนักสดของสารสกัดจากเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร

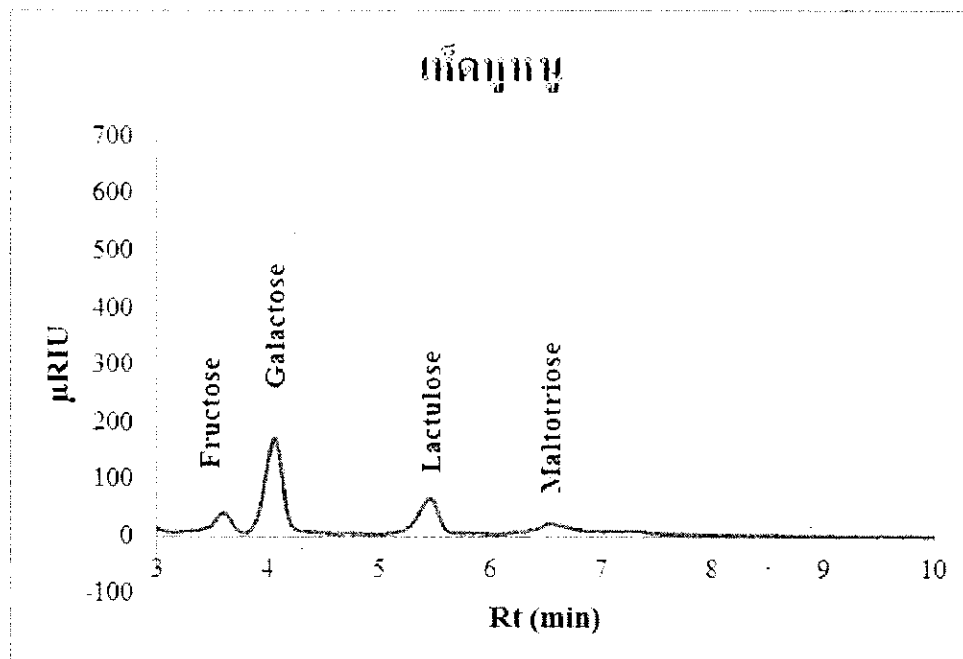
ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 ชั่วโมง

4.3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากเห็ดชนิดต่างๆ ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี

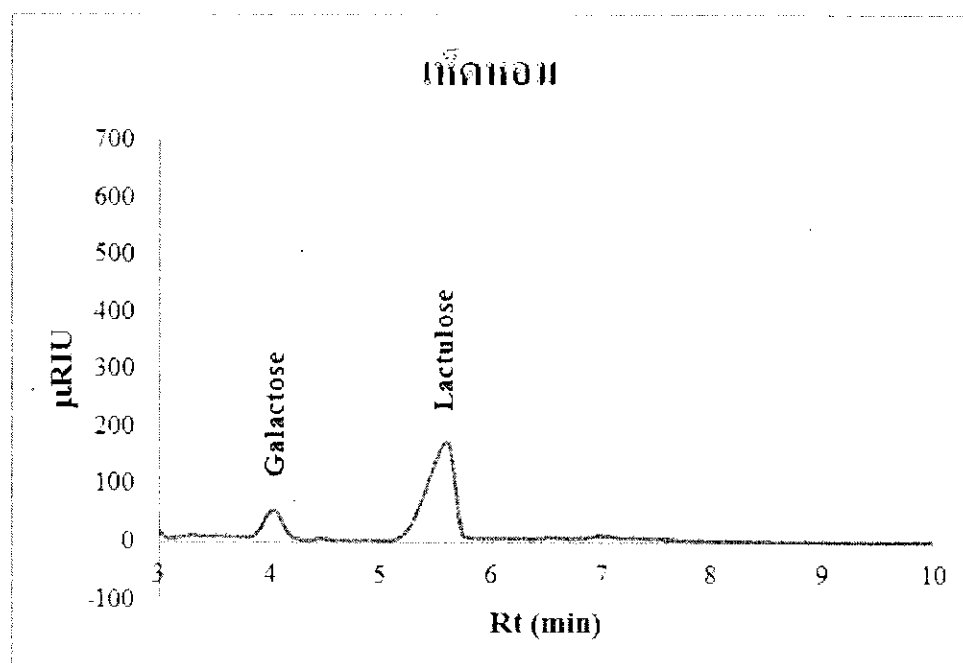
ของเหลวสมรรถนะสูง

หลังจากทำการคัดเลือกตัวอย่างสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แล้ว จึงนำตัวอย่างสารสกัดเห็ดที่คัดเลือกได้มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ด้วยวิธี HPLC โดยการนำส่วนใสที่ได้มาทำการปั่นเหวี่ยงสารสกัดดังกล่าว และมาทำการเจือจางตามความเข้มข้นที่เหมาะสม นำสารตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผ่านลงในคอลัมน์วิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต (CARBO PAC; 4.6 x 250 nm) ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้สารละลายอะซิโตนไตรท์ ที่อัตราส่วนต่อน้ำกลั่น 75 : 25 โดยปริมาตร เป็นตัวทำละลายที่อัตราเร็ว 1.4 มิลลิลิตร/นาที ทำการเปรียบเทียบปริมาณสารต่างๆ ที่ได้จากสารสกัดเห็ดเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน (กลูโคส, มอลโตส, ฟรุคโตส, กาแลคโตส, มอลโตไตรโอส, มอลโตเตตราโอส และแลคทูโลส) เพื่อใช้ในการพิจารณาองค์ประกอบของสารที่สกัดได้จากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ที่ทำการศึกษา (ภาคผนวก ก)

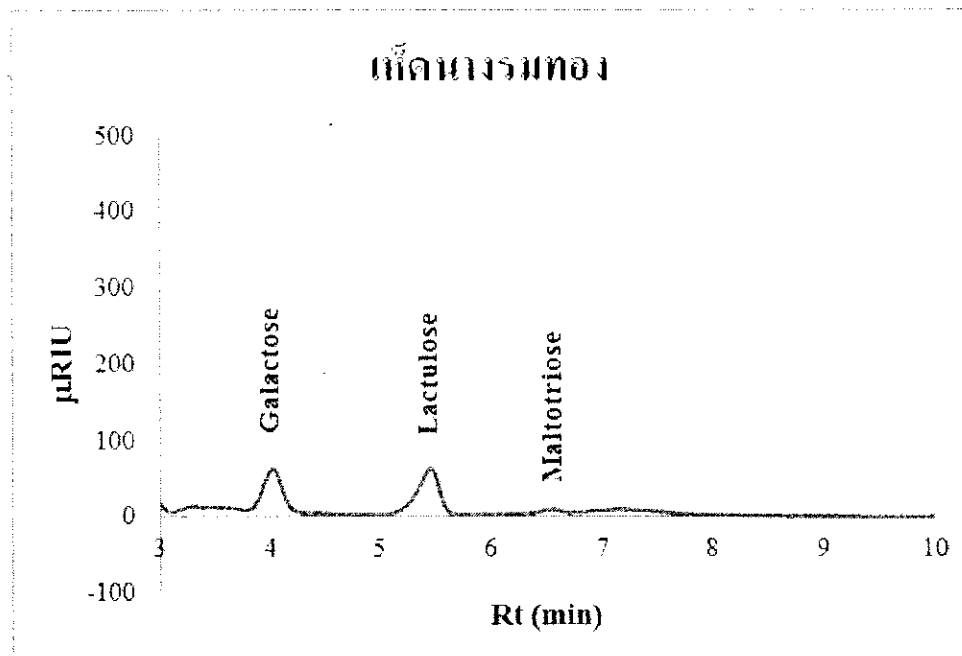
ผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสกัดเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ที่ได้ด้วยเทคนิค HPLC เมื่อพิจารณาจากพื้นที่ของโครมาโตแกรม (รูปที่ 4-10) และทำการคำนวณเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน สามารถสรุปได้ในรูปที่ 11 โดยพบว่า เห็ดหูหนูมีปริมาณกาแลคโตสสูงสุด คือ 928.26 มิลลิโมลาร์ (mM) เห็ดหอม และเห็ดนางรมมีปริมาณแลคทูโลสมากกว่าสารสกัดจากเห็ดชนิดอื่นๆ (229.64 และ 183.73 mM) อย่างไรก็ตามพบปริมาณมอลโตไตรโอสเพียงเล็กน้อยในเห็ดหูหนู และเห็ดนางรมทอง (112.59 และ 51.52 mM) โดยในการดูองค์ประกอบของสารสกัดเห็ดนี้ จะพิจารณาจากน้ำตาลที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่อาศัยอยู่บริเวณลำไส้เล็ก ซึ่งได้แก่ น้ำตาลแลคทูโลส และมอลโตไตรโอส ซึ่งเป็นน้ำตาลที่มีสมบัติในการช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก ดังในงานวิจัยของ Sekhar และคณะ (2013)



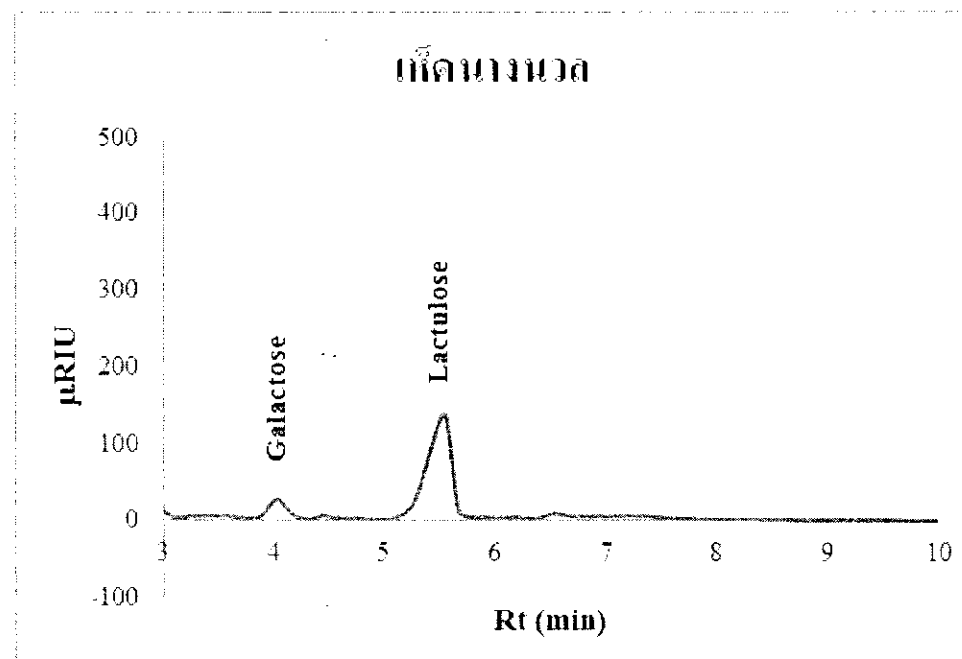
รูปที่ 4 HPLC โครมาโตแกรมของสารสกัดเห็ดหูหนู ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง



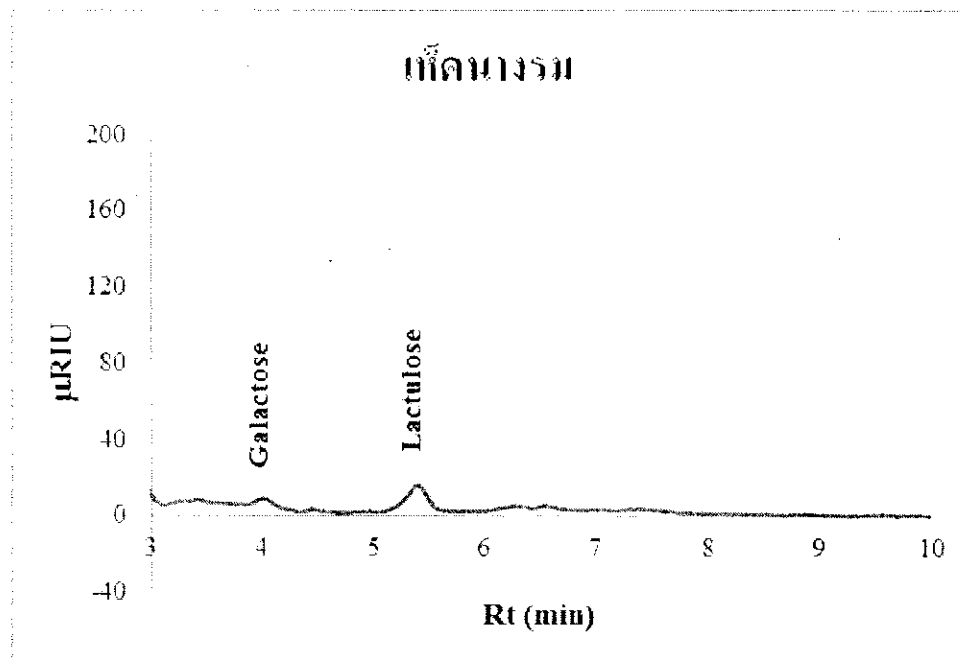
รูปที่ 5 HPLC โครมาโตแกรมของสารสกัดเห็ดหอม ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง



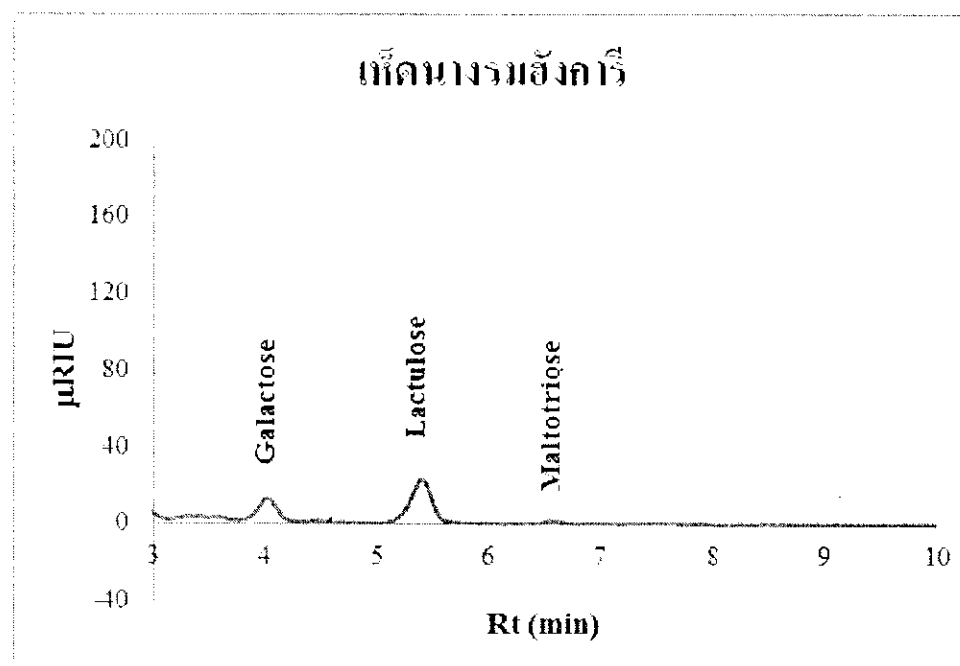
รูปที่ 6 HPLC โครมาโตแกรมของสารสกัดเห็ดนางรมทอง ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่น ในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง



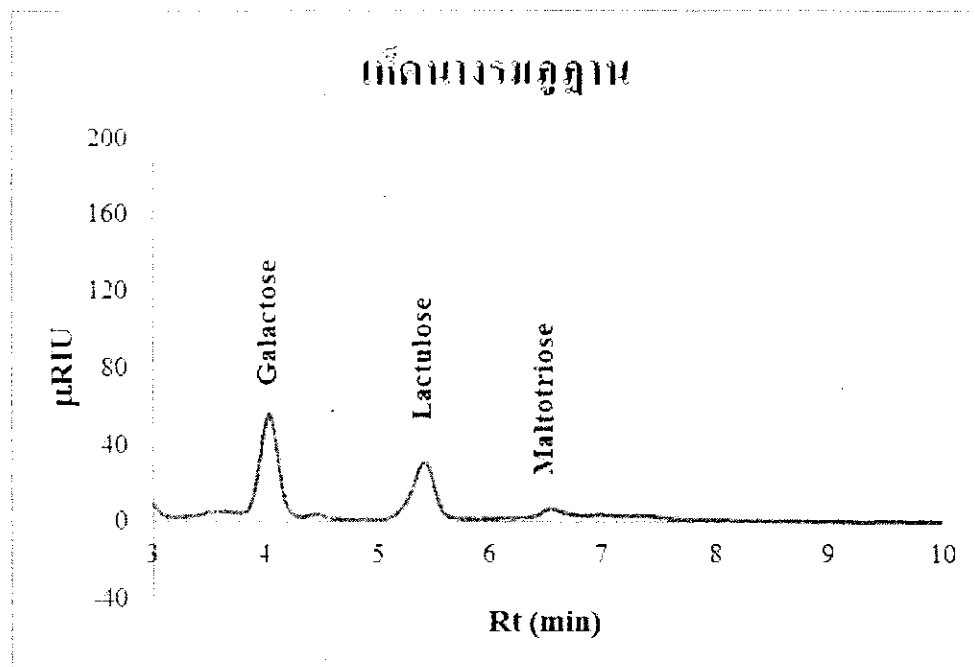
รูปที่ 7 HPLC โครมาโตแกรมของสารสกัดเห็ดนางรมขาว ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นใน อัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง



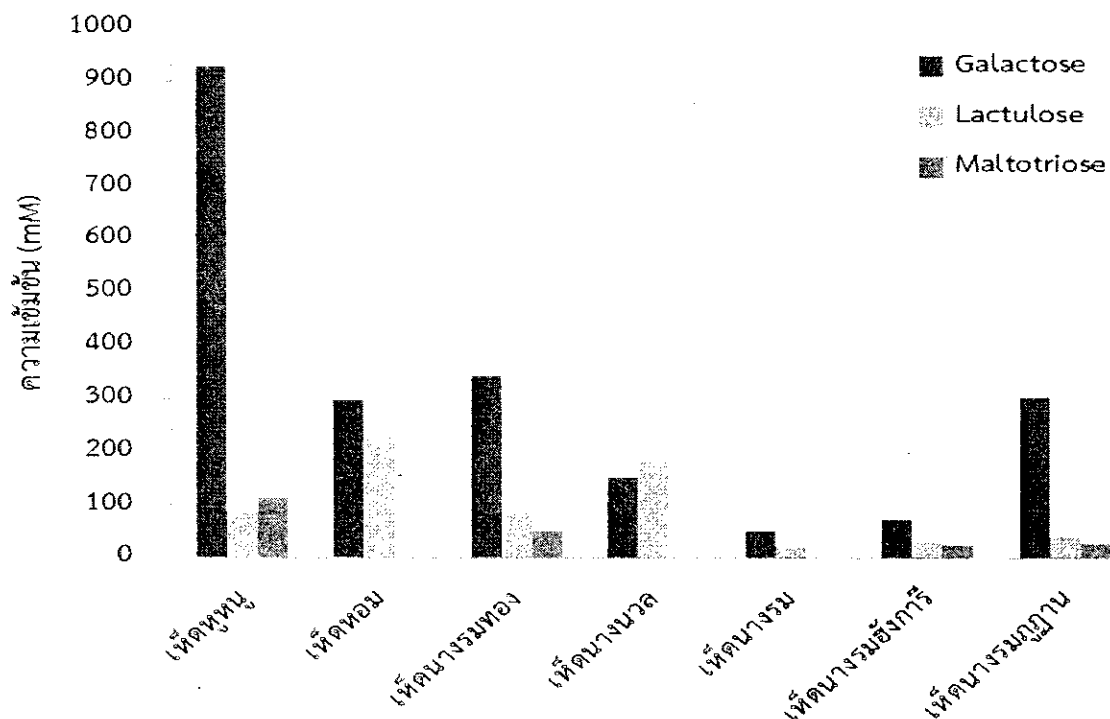
รูปที่ 8 HPLC โครมาโตแกรมของสารสกัดแก้दनगरม ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง



รูปที่ 9 HPLC โครมาโตแกรมของสารสกัดแก้दनगरมอังการี ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง



รูปที่ 10 HPLC โครมาโตแกรมของสารสกัดเห็ดนางรมภูฐาน ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำ
กลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง



รูปที่ 11 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลที่ผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วนร้อยละ 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที ที่เวลา 3 ชั่วโมง ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

4.4 ผลการทดสอบการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกร่วมกับสารสกัดจากเห็ดต่างๆ

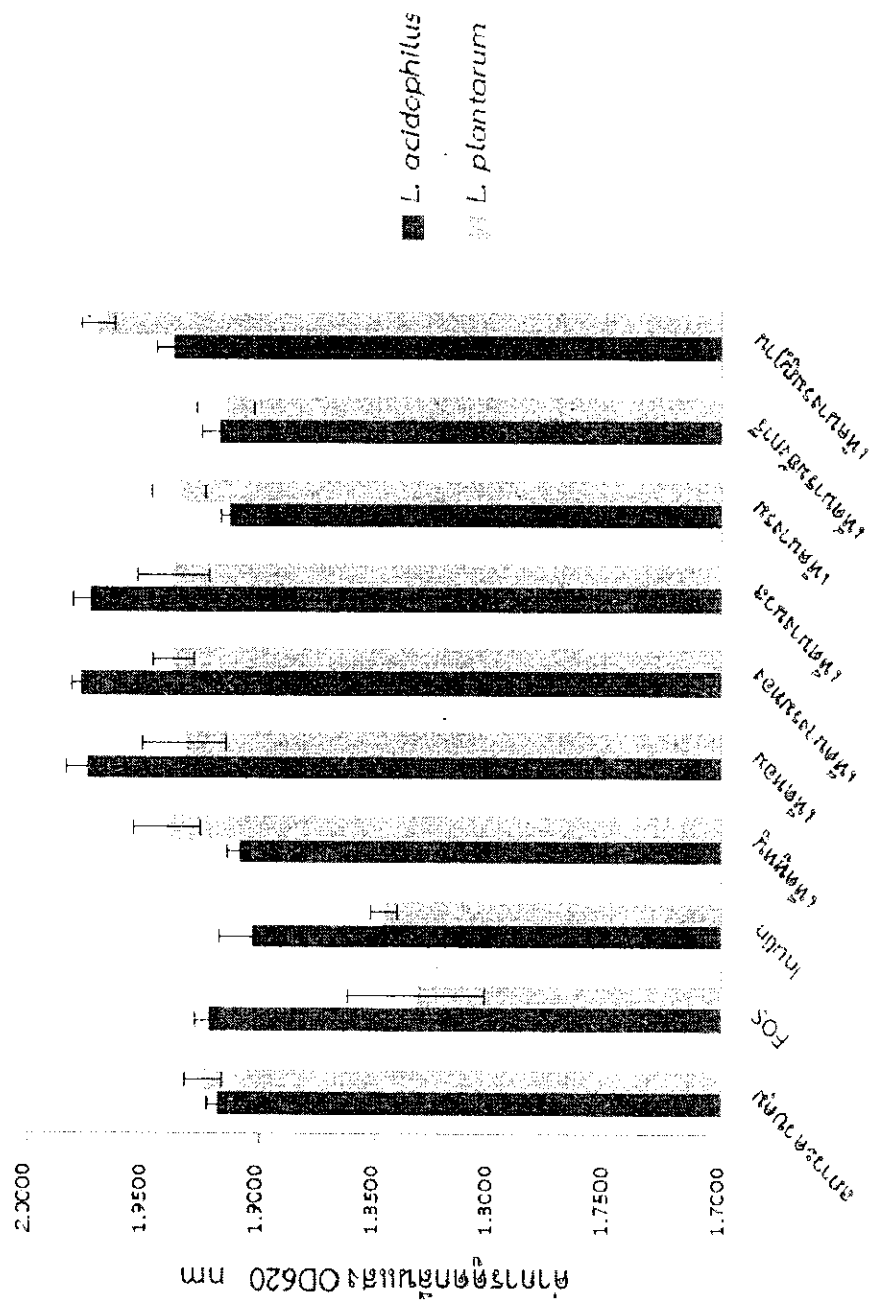
หลังจากทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* (*L. acidophilus* และ *L. plantarum*) ในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่สภาวะควบคุม (ไม่มีการเติมสารสกัดจากเห็ด) เปรียบเทียบกับสภาวะที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดที่ต้องการทดสอบ และสารพรีไบโอติกทางการค้า FOS และ inulin (ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) ในปริมาณ 1 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไร้อากาศด้วยเทคนิคที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์หลังการบ่มด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตรนั้น ผลการ

ทดลองแสดงในตารางที่ 7 และรูปที่ 12 พบว่าในทุกสภาวะของการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกที่มีการเติมสารสกัดเห็ดที่ต้องการทดสอบ และสารพรีไบโอติกทางการค้า ลงไปในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ MRS นั้นจะให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร ไม่แตกต่างจากสภาวะที่ไม่มีการเติมสารทดสอบลงไป (สภาวะควบคุม) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเห็ดที่ใช้เป็นส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์นั้น ไม่ได้ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก เป็นที่น่าสังเกตว่า *L. acidophilus* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดนางรมทอง และเห็ดนางรมขาวให้ผลค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร สูงกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันที่เติมสารพรีไบโอติกทางการค้า (FOS และ inulin) และอาหารเลี้ยงเชื้อในสภาวะควบคุม อย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่จุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารสกัดจากเห็ดทุกชนิด ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร สูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่เติมสารพรีไบโอติกทางการค้า (FOS และ inulin) และอาหารเลี้ยงเชื้อในสภาวะควบคุม อย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตั้งมีรายงานวิจัยของ Siqian และ Shah (2015) ได้ศึกษาผลของสารโพลีแซคคาไนด์จากสารสกัดเห็ดออริจิ (*Pleurotus eryngii*) ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *Streptococcus thermophilus* ASCC 1275 และ ASCC 1303 ในการหมักกับหางนม (skim milk) หลังจากการหมักนาน 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าว สามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีการเติมสารสกัดเห็ดออริจิลงไป เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะควบคุม

ตารางที่ 7 ผลการตรวจสอบการเจริญของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* และ *L. plantarum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดชนิดต่างๆ และสารฟรีไบโอติกทางการค้า โดยผ่านการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 nm (ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$)

ตัวอย่างทดสอบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร	
	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. plantarum</i>
1. สภาวะควบคุม	1.9185±0.0041	1.9149±0.0123
2. FOS	1.9226±0.0057	1.8321±0.0300
3. Inulin	1.9032±0.0146	1.8460±0.0058
4. เห็ดหูหนู	1.9093±0.0049	1.9402±0.0145
5. เห็ดหอม	1.9747±0.0084	1.9326±0.0180
6. เห็ดนางรมทอง	1.9779±0.0032	1.9378±0.0088
7. เห็ดนางรมขาว	1.9735±0.0067	1.9378±0.0155
8. เห็ดนางรม	1.9131±0.0041	1.9348±0.0116
9. เห็ดนางรมฮังการี	1.9180±0.0074	1.9247±0.0081
10. เห็ดนางรมภูฐาน	1.9374±0.0077	1.9702±0.0072



รูปที่ 12 การเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* และ *L. plantarum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ และสารฟรุ๊ไปโอติก ทางการค้า โดยผ่านการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 nm

4.5 ผลทดสอบสมบัติในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในสภาวะทางเดินอาหารของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก

ร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ

ทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนใส (clear zone) ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อก่อโรคในสภาวะทางเดินอาหาร 4 สายพันธุ์ (*B. cereus*, *E. coli*, *S. paratyphi* และ *S. aureus*) ในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง EMB , NA และ Mueller Hinton ที่ผ่านการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยเมื่อทำการจุ่มกระดาษกรองในส่วนใสของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก (*L. acidophilus* และ *L. plantarum*) ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่สภาวะควบคุม (ไม่มีการเติมสารสกัดจากเห็ด) เปรียบเทียบกับสภาวะที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ที่ต้องการทดสอบ และสารพรีไบโอติกทางการค้า FOS และ inulin (ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) วางบนเพลทอาหารต่างๆ ที่ละเลงด้วยจุลินทรีย์ก่อโรคในทางเดินอาหารทั้ง 4 สายพันธุ์ดังกล่าว เมื่อผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนในที่แสดงในรูปที่ 14 และแสดงผลการทดลองในตารางที่ 8 - 9 พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่เติมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus*, *S. paratyphi* และ *S. aureus* ได้ตัวอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ *L. plantarum* ที่เติมสารสกัดจากเห็ดชนิดต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสารสกัดเห็ดหอม เห็ดนางรมทอง และเห็ดนางรมฮังการี เมื่อนำไปผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ *L. acidophilus* สามารถยับยั้งเชื้อ *S. paratyphi* ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนใสวัดได้เท่ากับ 0.8750, 0.7500 และ 1.1500 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากเห็ดหูหนู และเห็ดหอม เมื่อนำไปผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ *L. plantarum* สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนใสวัดได้ เท่ากับ 1.1500 และ 0.9500 ตามลำดับ (รูปที่ 13)

จากผลการทดลองสามารถอธิบายเพิ่มเติมได้จากงานวิจัยของ Kitzberger และคณะ (2007) ซึ่งได้ทำการศึกษาสมบัติในการต้านแบคทีเรีย และการต้านอนุมูลอิสระของเห็ดหอมที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (เฮกเซน; n-hexane เอทิลอะซิเตท; ethyl acetate และไดคลอโรมีเทน; dichloromethane) และเอทานอล ผลการศึกษาพบว่าเห็ดหอมมีสมบัติในการต้านแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* MIP 200401 และ *Bacillus cereus* ATCC 11778 เมื่อทำการเติมสารสกัดเห็ดหอมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton และตรวจสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคง่ายด้วยวิธี agar diffusion

เป็นที่น่าสังเกตว่า ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนใสในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ (*L. acidophilus* และ *L. plantarum*) ที่มีการเติมสารพรีไบโอติกทางการค้า (FOS และ inulin) และสารสกัดจากเห็ดทุกสายพันธุ์ มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้มากกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากเห็ด (สถานะควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P < 0.05$)

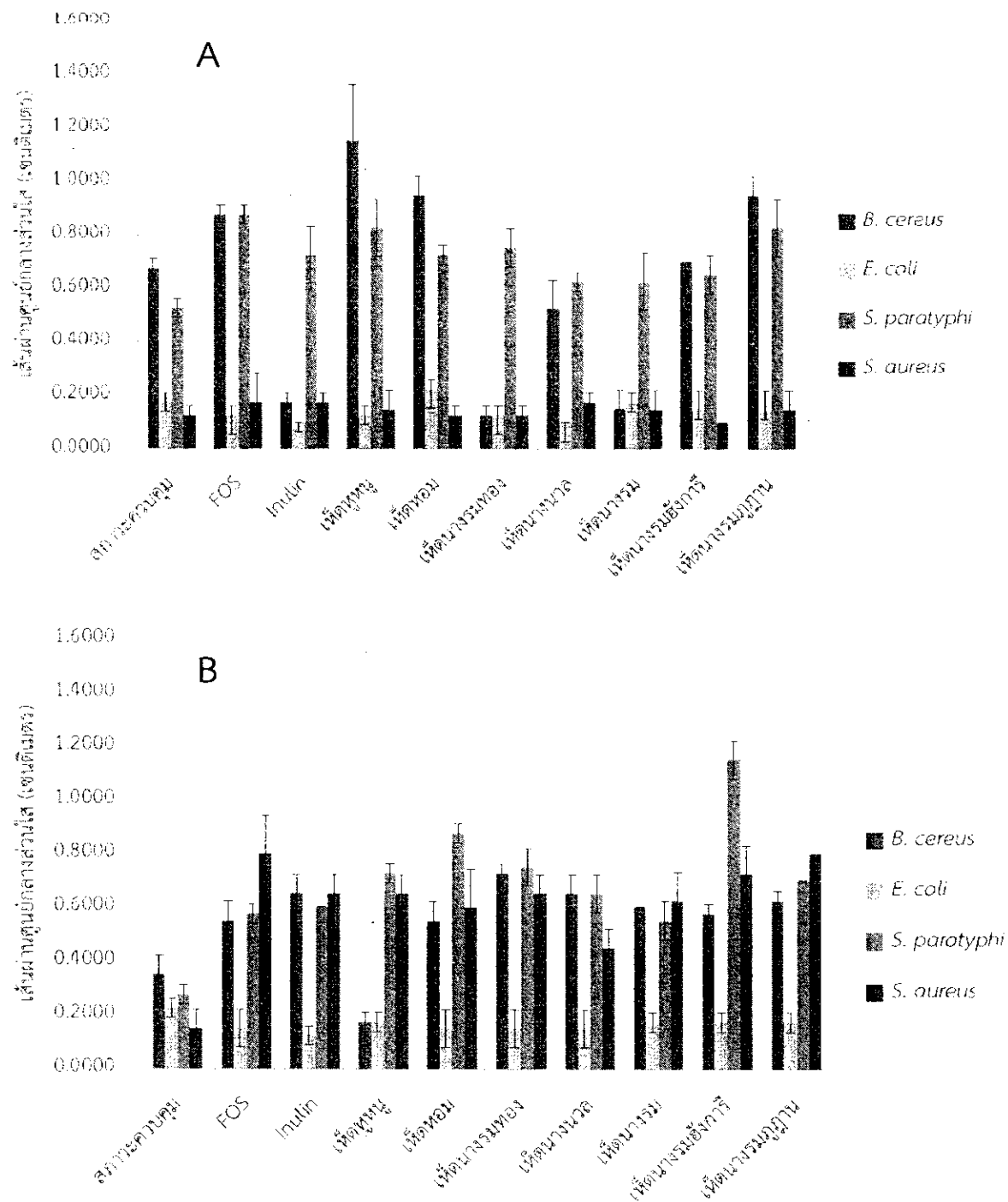
Tambekar และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาการสกัดเห็ดที่บริโภคได้ 2 สายพันธุ์ คือ เห็ดขาปญอง (*Agaricus bisporus*) และเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) โดยใช้ น้ำ และสารอินทรีย์ ได้แก่ เอทานอล (ethanol) เมทานอล (methanol) ไซลีน (xylene) เบนซีน (benzene) และอะซิโตน (acetone) ในกิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* 390, *Escherichia coli* 739, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Klebsiella pneumoniae* ผลการศึกษาพบว่าเห็ดนางฟ้าที่สกัดด้วยเอทานอล, เมทานอล และไซลีน มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรค *E. coli* 390, *E. coli* 739, *Enterobacter aerogenes*, *P. aeruginosa* และ *K. pneumoniae* ได้สูง ในขณะที่เห็ดขาปญองที่สกัดด้วยเอทานอล, เมทานอล และน้ำ มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อก่อโรค *E. coli* 390, *E. coli* 739, *Enterobacter aerogenes* และ *P. aeruginosa*

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบสมบัติการยับยั้งเชื้อก่อโรค *B. cereus*, *E. coli*, *S. paratyphi* และ *S. aureus* ด้วยจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เปรียบเทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า (ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$)

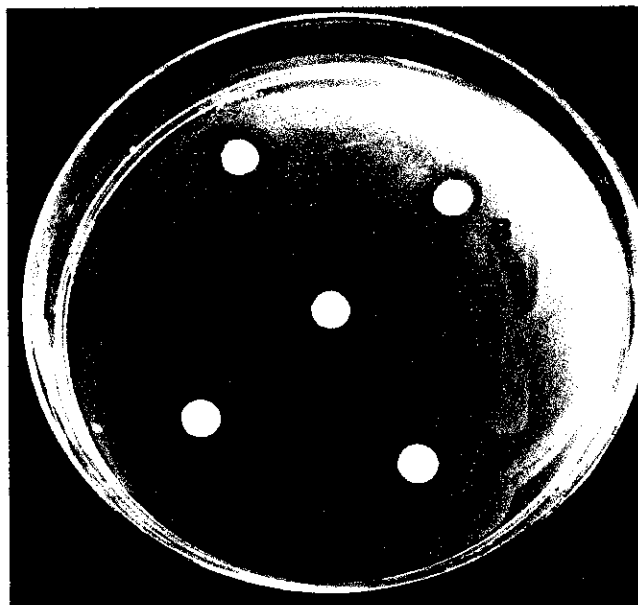
ตัวอย่างทดสอบ	เส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนใส (เซนติเมตร)			
	เชื้อก่อโรค			
	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. paratyphi</i>	<i>S. aureus</i>
1. สภาวะควบคุม	0.3500±0.0707	0.2250±0.0354	0.2750±0.0354	0.1500±0.0707
2. FOS	0.5500±0.0707	0.1500±0.0707	0.5750±0.0354	0.8000±0.1414
3. Inulin	0.6500±0.0707	0.1250±0.0354	0.6000±0.0000	0.6500±0.0707
4. เห็ดหูหนู	0.1750±0.0354	0.1750±0.0354	0.7250±0.0354	0.6500±0.0707
5. เห็ดหอม	0.5500±0.0707	0.1500±0.0707	0.8750±0.0354	0.6000±0.1414
6. เห็ดนางรมทอง	0.7250±0.0354	0.1500±0.0707	0.7500±0.0707	0.6500±0.0707
7. เห็ดนางรมวล	0.6500±0.0707	0.1500±0.0707	0.6500±0.0707	0.4500±0.0707
8. เห็ดนางรม	0.6000±0.0000	0.1750±0.0354	0.5500±0.0707	0.6250±0.1061
9. เห็ดนางรมฮังการี	0.5750±0.0354	0.1750±0.0354	1.1500±0.0707	0.7250±0.1061
10. เห็ดนางรมภูฐาน	0.6250±0.0354	0.1750±0.0354	0.7000±0.0000	0.8000±0.0000

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบสมบัตการยับยั้งเชื้อก่อโรค *B. cereus*, *E. coli*, *S. paratyphi* และ *S. aureus* ด้วยจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เปรียบเทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า (ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$)

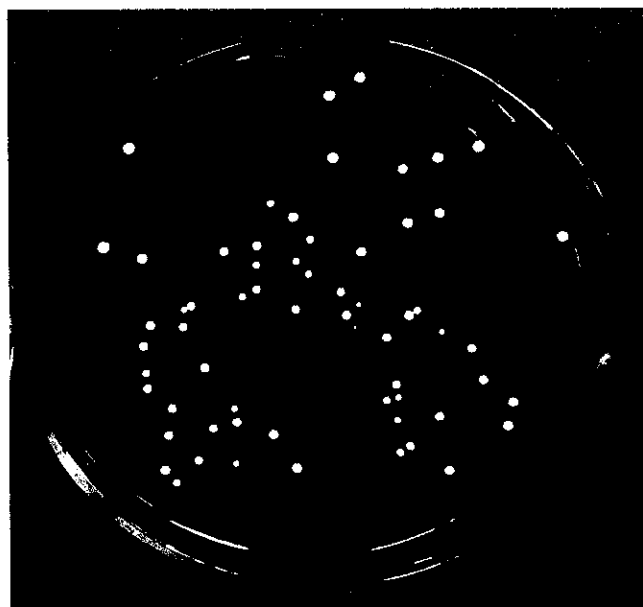
ตัวอย่างทดสอบ	เส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนใส (เซนติเมตร)			
	เชื้อก่อโรค			
	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. paratyphi</i>	<i>S. aureus</i>
1. สภาวะควบคุม	0.6750±0.0354	0.1750±0.0354	0.5250±0.0354	0.1250±0.0354
2. FOS	0.8750±0.0354	0.1250±0.0354	0.8750±0.0354	0.1750±0.1061
3. Inulin	0.1750±0.0354	0.1000±0.0000	0.7250±0.1061	0.1750±0.0354
4. เห็ดหูหนู	1.1500±0.2121	0.1250±0.0354	0.8250±0.1061	0.1500±0.0707
5. เห็ดหอม	0.9500±0.0707	0.2250±0.0354	0.7250±0.0354	0.1250±0.0354
6. เห็ดนางรมทอง	0.1250±0.0354	0.1250±0.0354	0.7500±0.0707	0.1250±0.0354
7. เห็ดนางรมวล	0.5250±0.1061	0.1000±0.0000	0.6250±0.0354	0.1750±0.0354
8. เห็ดนางรม	0.1500±0.0707	0.1750±0.0354	0.6250±0.1061	0.1500±0.0707
9. เห็ดนางรมฮังการี	0.7000±0.0000	0.1500±0.0707	0.6500±0.0707	0.1000±0.0000
10. เห็ดนางรมภูฐาน	0.9500±0.0707	0.1500±0.0707	0.8250±0.1061	0.1500±0.0707



รูปที่ 13 การเปรียบเทียบสมบัติการยับยั้งเชื้อก่อโรค *B. cereus*, *E. coli*, *S. paratyphi* และ *S. aureus* ด้วยจุลินทรีย์ *L. acidophilus* (A) และ *L. plantarum* (B) ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เปรียบเทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า



รูปที่ 14 ส่วนใสที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อก่อโรค *S. paratyphi* โดยเชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมกับสารสกัดจากเห็ด เปรียบเทียบกับสารปรับเอนไซม์ทางการค้า และสภาวะควบคุม; เห็ดหอม (A), เห็ดนางรมทอง (B), เห็ดนางรมฮังการี (C), FOS (D) และสภาวะควบคุม (E)



รูปที่ 15 โคโลนีของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่ทนต่อสภาวะ HCl เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมกับสารสกัดจากเห็ดนางรมฮังการี หลังจากการบ่มเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง

4.6 การทดสอบสมบัติต้านทานการย่อยของสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ร่วมกับจุลินทรีย์กลุ่มโปร

ไบโอดีทภายใต้สภาวะในทางเดินอาหาร

ทำการวัดอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* (*L. acidophilus* และ *L. plantarum*) ที่สามารถต้านทานการย่อยจากสภาวะในทางเดินอาหารทั้ง 3 สภาวะ ได้แก่ α -amylase, bile extract และ HCl เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MRS ที่มีการเติมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ และสารพรีไบโอติกทางการค้า (FOS และ inulin) เปรียบเทียบกับสภาวะควบคุม เมื่อทำการบ่มในสภาวะทางเดินอาหารที่ระยะเวลาการบ่มตั้งแต่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ทำการนับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต (รูปที่ 15) และคำนวณหาอัตราการรอดชีวิต โดยเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตที่ระยะเวลาการบ่มต่างๆ กับปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกก่อนการบ่มในสภาวะทางเดินอาหาร (0 ชั่วโมง) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 10-15 และรูปที่ 16-21 พบว่าอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* ทั้ง 2 สายพันธุ์ (*L. acidophilus* และ *L. plantarum*) ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารสกัดจากเห็ด และสารพรีไบโอติกชนิดต่างๆ ในทุกสภาวะทางเดินอาหาร (α -amylase, bile extract และ HCl) มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกที่เจริญในสภาวะควบคุม อย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยเมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการบ่มนาน 1 ชั่วโมง ในสภาวะ α -amylase จะมีอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหูหนู เห็ดหอม และเห็ดนางรมอังกาสูง คือ ร้อยละ 2.12, 1.89 และ 2.81 ตามลำดับ เมื่อพิจารณา *L. plantarum* ที่สภาวะทางเดินอาหารเดียวกัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหูหนู เห็ดนางรมทอง และเห็ดนางรม จะมีอัตราการรอดชีวิตสูง คือ ร้อย 2.70, 1.51 และ 1.62 ตามลำดับ

ในสภาวะทางเดินอาหาร bile extract ที่ระยะเวลาในการบ่ม 1 ชั่วโมง จุลินทรีย์ *L. acidophilus* มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเมื่อผสมสารสกัดจากเห็ดหอม เห็ดนางรม และเห็ดนางรม (ร้อยละ 2.50, 4.27 และ

2.73 ตามลำดับ) ในขณะที่ จุลินทรีย์ *L. plantarum* เมื่อผ่านการบ่มใน bile extract ที่ระยะเวลาการบ่มเท่ากัน มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเมื่อผสมสารสกัดจากเห็ดหอม และเห็ดนางรมทอง คือ ร้อยละ 1.40 และ 1.20 ตามลำดับ

อย่างไรก็ดีเมื่อพิจารณาอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* ในสภาวะที่มี HCl จะพบอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ระยะเวลาในการบ่มนานกว่าที่สภาวะในทางเดินอาหารอื่นๆ (3 ชั่วโมง) ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหูหนู และเห็ดนางรมอังกา มีอัตราการรอดชีวิตที่สูงระยะเวลาการบ่ม 3 ชั่วโมง คือ 7.06 และ 3.65 ตามลำดับ และจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหูหนู และเห็ดนางรม มีอัตราการรอดชีวิตที่ระยะเวลาการบ่มเท่ากัน (3 ชั่วโมง) คือ ร้อยละ 2.06 และ 1.86 ตามลำดับ

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเห็ดที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในสภาวะทางเดินอาหารได้นั้น สามารถอธิบายเพิ่มเติมได้จากงานวิจัยของ Chou และคณะ (2013) โดยได้ทำการวิเคราะห์สมบัติการเป็นโปรไบโอติกจากสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ด 3 ชนิด คือ เห็ดหอม (*Lentinula edodes*) เห็ดนางรมหลวง (*Pleurotus eryngii*) และเห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes*) เมื่อผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อที่อัตราความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.1 – 0.5 โดยน้ำหนัก ผลการศึกษาพบว่า เห็ดทั้งสามสายพันธุ์ดังกล่าว สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โปรไบโอติก คือ *L. acidophilus*, *L. casei* และ *Bifidobacterium longum* ได้สูง เมื่อเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกดังกล่าวในน้ำย่อย (gastric juice) และน้ำดี (bile extract)

ตารางที่ 10 ผลอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่ทนต่อเอนไซม์ alpha-amylase เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ

เทียบกับสารฟรู่โบอิติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง (ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ P<0.05)

ตัวอย่างทดสอบ	ระยะเวลาการบ่ม (ชั่วโมง)							
	0		0.5		1.0		2.0	
	CFU/mL		CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต
1. สกละควบคุม	1.35E+05		3.90E+03	2.89	6.20E+02	0.46	3.50E+02	0.26
2. FOS	1.60E+05		4.70E+03	2.94	1.60E+03	1.00	1.30E+02	0.08
3. Inulin	1.28E+05		5.20E+03	4.06	6.00E+02	0.47	2.80E+02	0.22
4. เห็ดหนู	1.70E+05		4.70E+03	2.76	3.60E+03	2.12	1.07E+03	0.63
5. เห็ดหอม	1.48E+05		6.80E+03	4.59	2.80E+03	1.89	1.90E+03	1.28
6. เห็ดนางรมทอง	1.12E+05		1.80E+03	1.61	6.30E+02	0.56	2.50E+02	0.22
7. เห็ดนางรมวล	1.10E+05		5.20E+03	4.73	6.20E+02	0.56	3.00E+02	0.27
8. เห็ดนางรม	1.50E+05		2.90E+03	1.93	1.20E+03	0.80	5.70E+02	0.38
9. เห็ดนางรมฮังการี	1.67E+05		6.60E+03	3.95	4.70E+03	2.81	3.20E+02	0.19
10. เห็ดนางรมภูฐาน	1.20E+05		2.00E+03	1.67	7.40E+02	0.62	2.30E+01	0.02

ตารางที่ 11 ผลอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่ทนต่อ bile extract เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารฟรี

ไปโรคทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง (ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$)

ตัวอย่างทดสอบ	ระยะเวลาการบ่ม (ชั่วโมง)									
	0		0.5		1.0		2.0		3.0	
	CFU/mL		CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต
1. สภาวะควบคุม	1.35E+05		4.80E+03	3.56	1.70E+03	1.26	8.50E+01	0.06	5.00E+00	0.00
2. FOS	1.60E+05		8.80E+03	5.50	3.60E+03	2.81	1.47E+02	0.09	2.70E+01	0.02
3. Inulin	1.28E+05		8.90E+03	6.95	2.80E+03	1.75	1.00E+02	0.08	3.00E+00	0.00
4. เห็ดหูหนู	1.70E+05		1.08E+04	6.35	3.00E+03	1.76	1.35E+03	0.79	6.80E+02	0.40
5. เห็ดหอม	1.48E+05		7.70E+03	5.20	3.70E+03	2.50	2.45E+03	1.66	7.50E+02	0.51
6. เห็ดนางรมทอง	1.12E+05		3.00E+03	2.68	2.00E+03	1.79	2.15E+02	0.19	1.00E+02	0.09
7. เห็ดนางรมวล	1.10E+05		7.00E+03	6.36	4.70E+03	4.27	3.00E+02	0.27	2.00E+02	0.18
8. เห็ดนางรม	1.50E+05		8.30E+03	5.53	4.10E+03	2.73	2.30E+03	1.53	4.20E+02	0.28
9. เห็ดนางรมฮังการี	1.67E+05		1.40E+04	8.38	3.50E+03	2.10	1.40E+03	0.84	7.50E+02	0.45
10. เห็ดนางรมภูฐาน	1.20E+05		6.50E+03	5.42	1.50E+03	1.25	2.76E+02	0.23	1.40E+01	0.01

ตารางที่ 12 ผลอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่ทนต่อ HCl เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารพรไบโอ

ดึกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง (ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$)

ตัวอย่างทดสอบ	ระยะเวลาการบ่ม (ชั่วโมง)							
	0		0.5		1.0		2.0	
	CFU/mL		CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต
1. สภาวะควบคุม	1.35E+05		1.30E+04	9.63	5.20E+03	3.85	5.20E+03	3.85
2. FOS	1.60E+05		2.10E+04	13.13	8.40E+03	5.25	8.40E+03	5.25
3. Inulin	1.28E+05		1.50E+04	11.72	6.90E+03	5.39	6.90E+03	5.39
4. เห็ดหูหนู	1.70E+05		1.71E+04	10.06	1.20E+04	7.06	1.35E+04	7.94
5. เห็ดหอม	1.48E+05		2.50E+04	16.89	1.00E+04	6.76	1.00E+04	6.76
6. เห็ดนางรมทอง	1.12E+05		1.90E+04	16.96	1.00E+04	8.93	1.00E+04	8.93
7. เห็ดนางรมขาว	1.10E+05		2.00E+04	18.18	1.50E+04	13.64	1.50E+04	13.64
8. เห็ดนางรม	1.50E+05		2.30E+04	15.33	1.10E+04	7.33	1.10E+04	7.33
9. เห็ดนางรมฮังการี	1.67E+05		1.76E+04	10.54	8.70E+03	5.21	8.70E+03	5.21
10. เห็ดนางรมภูฐาน	1.20E+05		1.00E+04	8.33	6.20E+03	5.17	6.20E+03	5.17

ตารางที่ 13 ผลอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่ทนต่อเอนไซม์ alpha-amylase เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบ

กับสารฟรีโอบีโอดีคทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง (ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$):

ตัวอย่างทดสอบ	ระยะเวลาการบ่ม (ชั่วโมง)							
	0		0.5		1.0		2.0	
	CFU/mL		CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต
1. สรณะควาคุม	1.48E+05		6.50E+03	4.39	1.00E+03	0.68	2.10E+02	0.14
2. FOS	1.56E+05		8.30E+03	5.32	2.30E+03	1.47	1.60E+02	0.10
3. Inulin	1.69E+05		1.40E+04	8.28	1.21E+03	0.71	3.70E+02	0.22
4. เห็ดหูหนู	1.41E+05		4.80E+03	3.40	3.80E+03	2.70	6.80E+02	0.48
5. เห็ดหอม	1.12E+05		8.80E+03	7.86	1.06E+03	0.95	9.00E+02	0.80
6. เห็ดนางรมทอง	1.52E+05		8.90E+03	5.86	2.30E+03	1.51	5.30E+02	0.35
7. เห็ดนางรมวล	1.88E+05		1.08E+04	5.74	1.90E+03	1.01	7.40E+02	0.39
8. เห็ดนางรม	1.67E+05		7.70E+03	4.61	2.70E+03	1.62	1.40E+02	0.08
9. เห็ดนางรมฮังการี	1.47E+05		3.00E+03	2.04	2.10E+03	1.43	4.40E+02	0.30
10. เห็ดนางรมภูฐาน	1.36E+05		7.00E+03	5.15	1.05E+03	0.77	5.90E+02	0.43

ตารางที่ 14 ผลอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่ทนต่อ bile extract เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารพรี

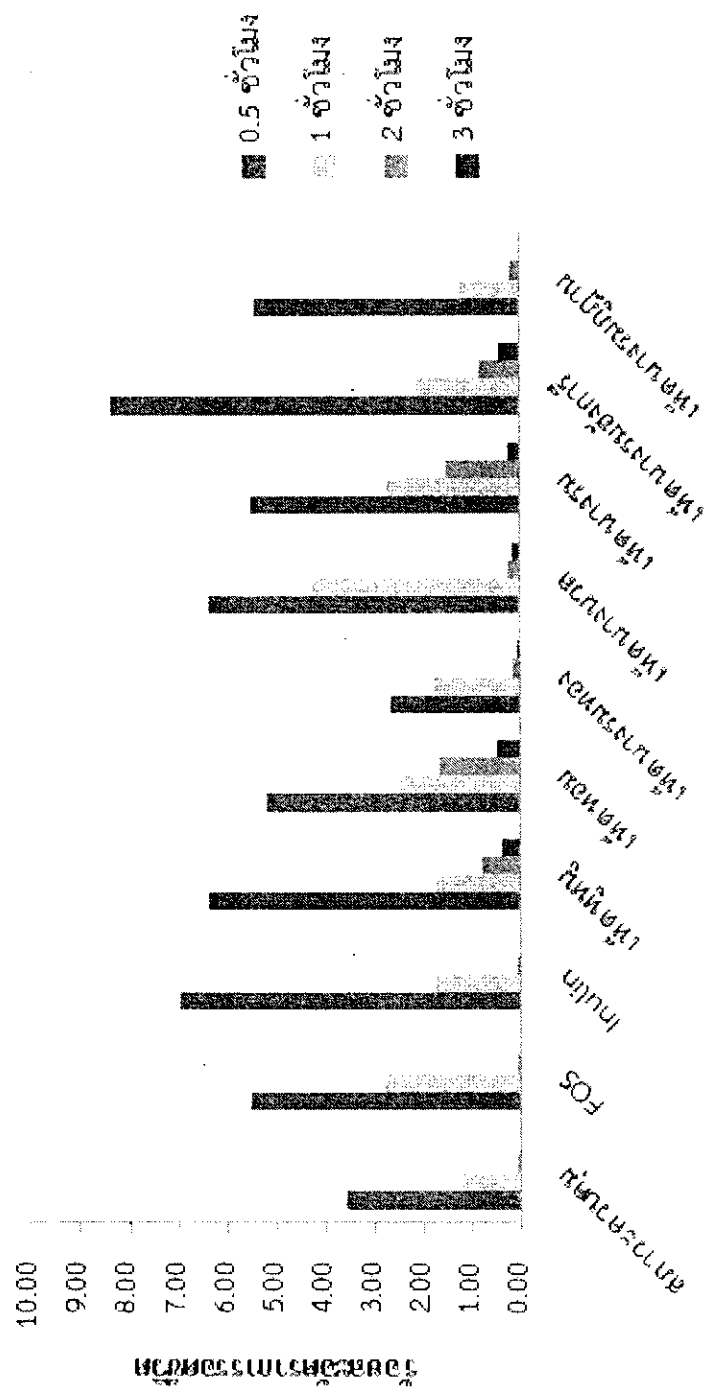
ไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง (ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$)

ตัวอย่างทดสอบ	ระยะเวลาการบ่ม (ชั่วโมง)									
	0		0.5		1.0		2.0		3.0	
	CFU/mL		CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต
1. สภาวะควบคุม	1.48E+05		3.60E+03	2.43	4.50E+02	0.30	1.20E+02	0.08	2.00E+00	0.00
2. FOS	1.56E+05		5.90E+03	3.78	6.80E+02	2.81	2.10E+02	0.13	3.00E+00	0.00
3. Inulin	1.69E+05		4.80E+03	2.84	8.50E+02	1.75	1.68E+02	0.10	1.00E+00	0.00
4. เห็ดหูหนู	1.41E+05		6.90E+03	4.89	3.50E+02	0.25	1.36E+02	0.10	1.00E+00	0.00
5. เห็ดหอม	1.12E+05		7.80E+03	6.96	1.57E+03	1.40	5.70E+02	0.51	1.30E+01	0.01
6. เห็ดนางรมทอง	1.52E+05		6.20E+03	4.08	1.82E+03	1.20	3.80E+02	0.25	1.00E+01	0.01
7. เห็ดนางรมขาว	1.88E+05		4.90E+03	2.61	1.03E+03	0.55	4.20E+02	0.22	2.00E+00	0.00
8. เห็ดนางรม	1.67E+05		5.20E+03	3.11	4.80E+02	0.29	1.86E+02	0.11	1.00E+01	0.01
9. เห็ดนางรมฮังการี	1.47E+05		3.50E+03	2.38	1.25E+03	0.85	5.90E+02	0.40	9.00E+00	0.01
10. เห็ดนางรมภูฐาน	1.36E+05		4.70E+03	3.46	1.36E+03	1.00	6.90E+02	0.51	7.00E+00	0.01

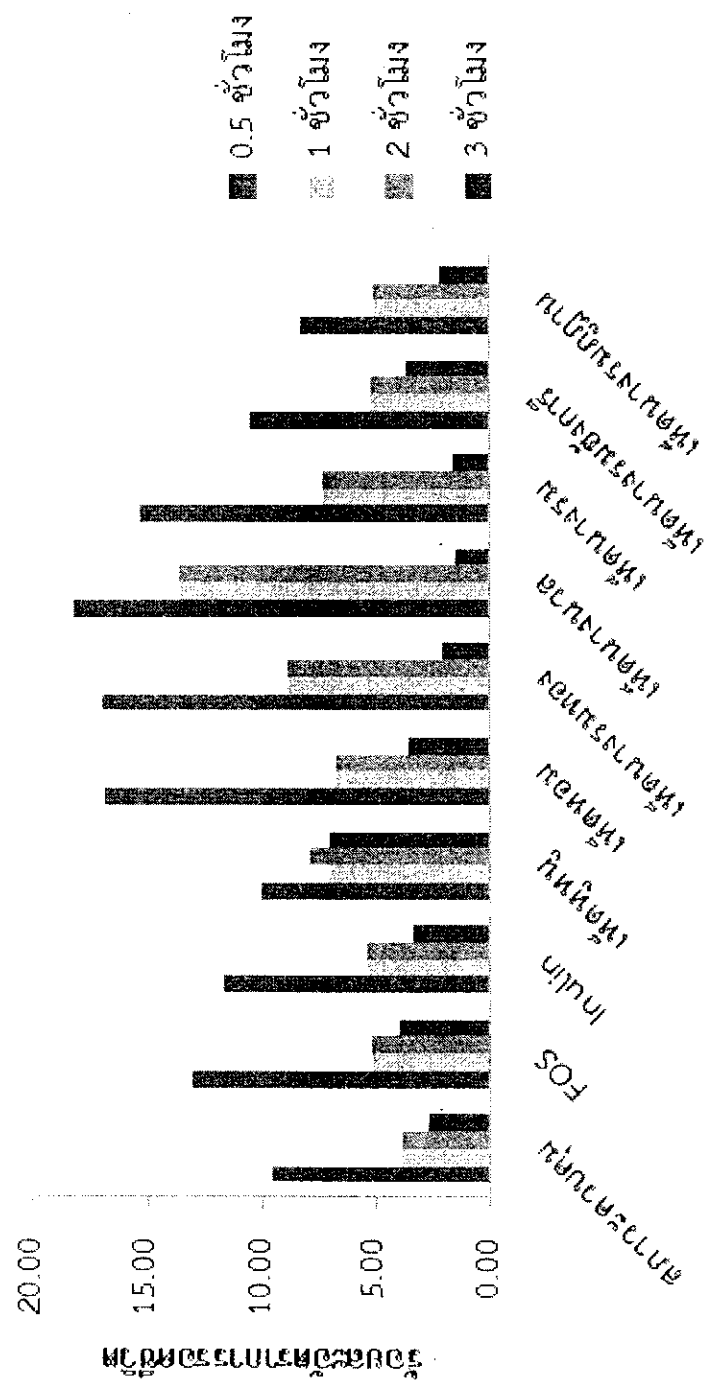
ตารางที่ 15 ผลอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่ทนต่อ HCl เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารฟรีไปโอ

ดึกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง (ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$)

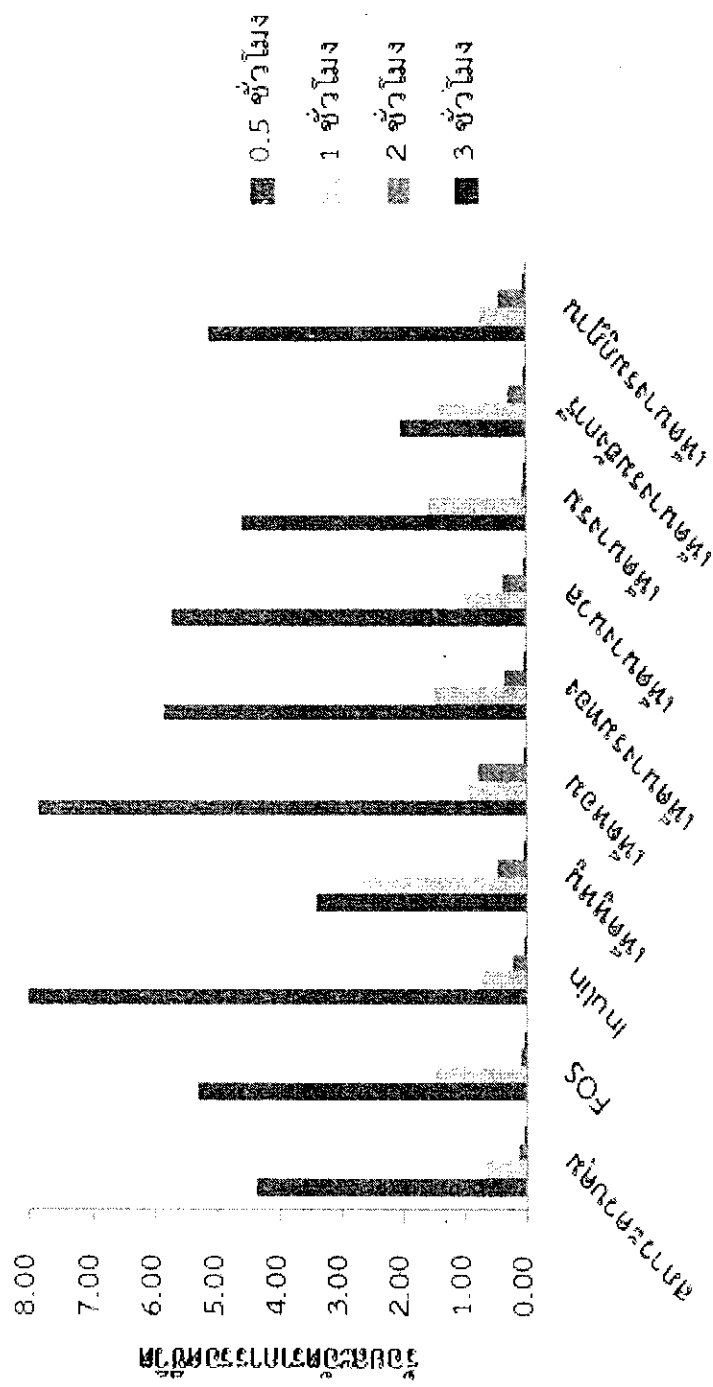
ตัวอย่างทดสอบ	ระยะเวลาการบ่ม (ชั่วโมง)									
	0		0.5		1.0		2.0		3.0	
	CFU/mL		CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต	CFU/mL	%รอดชีวิต
1. สภาวะควบคุม	1.48E+05		1.30E+04	8.78	5.20E+03	3.51	2.80E+03	1.89	1.60E+03	1.08
2. FOS	1.56E+05		1.70E+04	10.90	7.80E+03	5.00	5.30E+03	3.40	2.40E+03	1.54
3. Inulin	1.69E+05		2.10E+04	12.43	8.40E+03	4.97	4.20E+03	2.49	2.40E+03	1.42
4. เห็ดหูหนู	1.41E+05		1.85E+04	13.12	5.10E+03	3.62	4.80E+03	3.40	2.90E+03	2.06
5. เห็ดหอม	1.12E+05		1.76E+04	15.71	4.10E+03	3.66	3.90E+03	3.48	1.90E+03	1.70
6. เห็ดนางรมทอง	1.52E+05		1.62E+04	10.66	6.80E+03	4.47	3.60E+03	2.37	2.40E+03	1.58
7. เห็ดนางรมขาว	1.88E+05		1.82E+04	9.68	6.90E+03	3.67	4.30E+03	2.29	1.80E+03	0.96
8. เห็ดนางรม	1.67E+05		1.25E+04	7.49	7.50E+03	4.49	4.20E+03	2.51	3.10E+03	1.86
9. เห็ดนางรมฮังการี	1.47E+05		1.38E+04	9.39	6.10E+03	4.15	5.40E+03	3.67	1.70E+03	1.16
10. เห็ดนางรมภูฐาน	1.36E+05		1.42E+04	10.44	7.20E+03	5.29	3.40E+03	2.50	1.90E+03	1.40



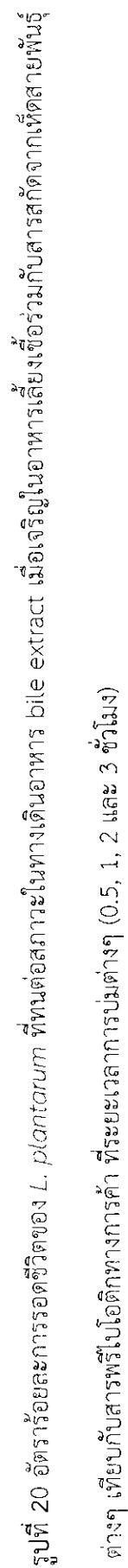
รูปที่ 17 อัตราการย่อยและการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* ที่ทนต่อสภาวะในทางเดินอาหาร bile extract เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารฟรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มต่างๆ (0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง)



รูปที่ 18 อัตราการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* ที่ทนต่อสภาวะในทางเดินอาหาร HCl เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารฟรีไบโอติกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มต่างๆ (0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง)



รูปที่ 19 อัตราร้อยละการอดชีวิตของ *L. pcontorum* ที่ทนต่อสภาวะในทางเดินอาหาร α -amylase เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ เทียบกับสารโปรโปดิกทางการค้า ที่ระยะเวลาการบ่มต่างๆ (0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง)



5. สรุปผลการวิจัย

(CONCLUSION)

การวิจัยนี้ได้ศึกษาสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของสารโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ด 7 สายพันธุ์ ได้แก่ เห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดนางรมทอง เห็ดนางรมขาว เห็ดนางรม เห็ดนางรมอังกาบ และเห็ดนางรมภูฐาน ทำการสกัดโดยใช้เอทานอล และน้ำในอัตราส่วน 40 : 10 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบ/นาที โดยในการทำการเก็บตัวอย่างสารสกัดจากเห็ดทั้ง 7 ชนิด ที่ระยะเวลา คือ 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดเห็ดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล พบว่าที่ระยะเวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง สารสกัดเห็ดทุกสายพันธุ์ มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าในช่วงระยะเวลาการสกัดอื่นๆ โดยเห็ดหอม และเห็ดนางรม ให้ผลปริมาณน้ำตาลทั้งสองชนิดสูงกว่าสารสกัดเห็ดชนิดอื่นๆ จากนั้นนำตัวอย่างสารสกัดเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ในช่วงเวลา และสภาวะในการสกัดดังกล่าว มาทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสกัดเห็ดด้วยวิธีโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง โดยพบว่าเห็ดหอม เห็ดนางรมขาว เห็ดหูหนู และเห็ดนางรมทอง มีปริมาณน้ำตาลแลคทูโลส และมอลโตไตรโอสสูงกว่าสารสกัดเห็ดสายพันธุ์อื่นๆ เมื่อนำสารสกัดเห็ดมาทำการทดสอบสมบัติการเป็นพรีไบโอติก โดยการนำไปผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก 2 สายพันธุ์ คือ (*L. acidophilus* และ *L. plantarum*) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร เพื่อศึกษาการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกดังกล่าว เปรียบเทียบกับสารพรีไบโอติกทางการค้า (FOS และ inulin) ผลการทดสอบพบว่าในสารสกัดเห็ดทุกสายพันธุ์มีผลกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกทั้ง 2 สายพันธุ์ ในขณะที่สารสกัดจากเห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดนางรมทอง และเห็ดนางรมขาวแสดงผลการกระตุ้นการเจริญของ *L. acidophilus* ได้ดีกว่าสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์อื่นๆ

เมื่อทำการศึกษาการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *B. cereus*, *E. coli*, *S. paratyphi* และ *S. aureus* โดยพิจารณาบริเวณส่วนใส (clear zone) ที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อก่อโรสดังกล่าวด้วยจุลินทรีย์

กลุ่ม *Lactobacillus* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดที่ต้องการทดสอบ ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากเห็ดหอม เห็ดนางรมทอง และเห็ดนางรมอังกาที่ ที่ผสมในอาหารเลี้ยง เชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus* สามารถยับยั้ง *S. paratyphi* ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนใสวัดได้เท่ากับ 0.8750, 0.7500 และ 1.1500 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดเห็ดหูหนู และเห็ดหอมที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ *L. plantarum* สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ *B. cereus* ได้ดี โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนใสวัดได้เท่ากับ 1.1500 และ 0.9500 เซนติเมตร ตามลำดับ

เมื่อทำการศึกษาอัตราการอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกทั้งสองสายพันธุ์ที่สามารถต้านทานการย่อยจากสภาวะในทางเดินอาหาร ได้แก่ alpha-amylase, bile extract และ HCl เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ ในระยะเวลาการบ่มตั้งแต่ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง เมื่อทำการตรวจสอบจำนวนโคโลนีที่รอดชีวิตของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก ที่ผ่านการบ่มในสภาวะต่างๆ ผลการทดสอบพบว่า อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* ทั้ง 2 สายพันธุ์เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ด และสารโปรไบโอติกทางการค้าชนิดต่างๆ ในทุกสภาวะทางเดินอาหาร (alpha-amylase, bile extract และ HCl) มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกที่เจริญในสภาวะควบคุม โดยเมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการบ่มนาน 1 ชั่วโมง ในสภาวะ alpha-amylase จะมีอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหูหนู เห็ดหอม และเห็ดนางรมอังกาที่สูง คือ ร้อยละ 2.12, 1.89 และ 2.81 ตามลำดับ ในขณะที่สภาวะทางเดินอาหารเดียวกัน จุลินทรีย์ *L. plantarum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหูหนู เห็ดนางรมทอง และเห็ดนางรม จะมีอัตราการรอดชีวิตสูง คือ ร้อยละ 1.22, 5.92 และ 1.47 ตามลำดับ ในสภาวะทางเดินอาหาร bile extract ที่ระยะเวลาในการบ่ม 1 ชั่วโมง จุลินทรีย์ *L. acidophilus* มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเมื่อเจริญในอาหารที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหอม เห็ดนางรม และเห็ดนางรม (ร้อยละ 2.50, 4.27 และ 2.73 ตามลำดับ) ในขณะที่ จุลินทรีย์ *L. plantarum* เมื่อผ่านการบ่มใน bile

extract ที่ระยะเวลาการบ่มเท่ากัน (1 ชั่วโมง) ให้ผลอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเมื่อเจริญในอาหารที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหอม และเห็ดนางรมทอง คือ ร้อยละ 2.87 และ 1.70 ตามลำดับ

อย่างไรก็ดีเมื่อพิจารณาอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* ในสถานะที่มี HCl จะพบอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ระยะเวลาในการบ่มนานกว่าที่สถานะในทางเดินอาหาร amylase และ bile extract ที่ระยะเวลาการบ่ม 3 ชั่วโมง ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหูหนู และเห็ดนางรมฮังการี มีอัตราการรอดชีวิตที่ระยะเวลาการบ่ม 3 ชั่วโมง คือ ร้อยละ 7.06 และ 3.65 ตามลำดับ และในระยะเวลาการบ่มที่เท่ากัน (3 ชั่วโมง) จุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหูหนู และเห็ดนางรม มีอัตราการรอดชีวิต คือ ร้อยละ 5.59 และ 10.45 ตามลำดับ

จากศักยภาพของสารโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากเห็ดที่บริโภคได้ทั้ง 7 สายพันธุ์ สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากเห็ดหอม เห็ดหูหนู และเห็ดนางรมทอง มีสมบัติที่ดีในการเป็นสารพรีไบโอติก โดยมีการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก การยับยั้งเชื้อก่อโรค และสมบัติการทนต่อสภาวะการย่อยในระบบทางเดินอาหารได้ดีกว่าสารสกัดเห็ดสายพันธุ์อื่นๆ และสารพรีไบโอติกทางการค้า โดยพิจารณาปริมาณสารพรีไบโอติกที่พบจากการวิเคราะห์โครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง ซึ่งมีปริมาณแลคทูโลส และมอลโตไตรโอสสูงกว่าสารสกัดเห็ดสายพันธุ์อื่นๆ โดยเป็นเหตุให้สารสกัดจากเห็ดดังกล่าว แสดงสมบัติการเป็นพรีไบโอติกโดดเด่นกว่าสารสกัดเห็ดสายพันธุ์อื่นๆ

นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาถึงวิธีในการสกัดเพื่อให้ได้สารโอลิโกแซคคาไรด์เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และปลอดภัยต่อผู้บริโภค แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเห็ดที่บริโภคได้ในท้องตลาด มีสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกที่ดีสามารถนำมาพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าของสินค้าทางการเกษตรได้ และมีแนวโน้มที่จะนำมาประยุกต์พัฒนาในการใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้ต่อไป

6. เอกสารอ้างอิง

(REFERENCES)

- Ana, V., Laura, M. V. and Eva, G. 2012. Structural features and healthy properties of polysaccharides occurring in mushrooms. *Agriculture*. 2: 452 – 471.
- Akindahunsi, A. A. and Oyetayo, F. L. 2006. Nutrient and antinutrient distribution of edible mushroom, *Pleurotus tuber-regium (fries) singer*. *LWT-Food Science and Technology*. 39: 548 – 553.
- Chou, W. T., Sheih, I. C. and Fang, T. J. 2013. The application of polysaccharides from various mushrooms wastes as prebiotic in different systems. *J. Food Sci.* 78 (7): M1041 – M1048.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28 (3): 350 – 356.
- Gao, S., Lai, C. K. M. and Cheung, P. C. K. 2009. Nondigestible carbohydrates isolated from medicinal mushroom *Sclerotia* as novel prebiotics. *Int. J. Med. Mushroom*. 11 (1): 1 – 8.
- Hobbs, C. 1986. *Medicinal Mushrooms: An exploration of tradition, healing and culture*, Botanica Press. (p. 96 – 107). Santa Cruz, Canada.

- Khalil, M. I., Hoque, M. M., Basunia, M. A., Alam, N. and Khan M. A. 2011. Production of cellulase by *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* in solid state fermentation of lignocellulosic biomass. Turk. J. Agric. For. 35: 333 – 341.
- Kitzberger, C. S. G., Artur S. J., Pedrosa, R. C. and Ferreira, S. R. S. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. J. Food Eng. 80: 631 – 638.
- Kondepudi, K. K., Ambalam, P., Nilsson, I., Wadström, T. and Ljungh, Å. 2012. Prebiotic-non-digestible oligosaccharides preference of probiotic bifidobacteria and antimicrobial activity against *Clostridium difficile*. Anaerobe. 18 (5): 489 – 497.
- Manjunath M., Mukta, N. C., Gopalakrishna, H. N. and Gokul, P. 2011. Evaluation of role of noradrenergic system in the antidepressant activity of tramadol using forced swim test in albino mice. Pharmacology. 3: 243 – 250.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31 (3): 426 – 428.
- Moore, D. 2005. Principles of mushroom developmental biology. Int. J. Med. Mushrooms. 7: 79 – 101.
- Nuallaong, S. 2009. Extraction of prebiotics from agricultural plants. Department of Chemical Engineering. Master thesis. Prince of Songkla University: Songkla, Thailand.
- Patel, S. and Goyal, A. 2011. Functional oligosaccharides: production, properties and applications. World J. Microbiol. Biotechnol. 27: 1119 – 1128.

- Rao, J. R., Smyth, T. J., Millar, B. C. and Moore, J. E. 2009. Antimicrobial properties of shitake mushrooms (*Lentinula edodes*). Int. J. Antimicrob. Agents. 33 (6): 591 – 592.
- Reis, F. S., Barros, L., Martins, A. and Ferreira, C. F. R. I. 2012. Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: An inter-species comparative study. Food Chem. Toxicol. 50: 191 – 197.
- Rousseau, V., Lepargneur, J. P., Roques, C., Remaud, S. M. and Paul, F. 2005. Prebiotic effects of oligosaccharides on selected vaginal lactobacilli and pathogenic microorganisms. Anaerobe. 11 (3): 145 – 153.
- Sekhar, M. S., Unnikrishnan, M. K., Rodrigues, G. S. and Mukhopadhyay, C. 2013. Synbiotic formulation of probiotic and lactulose combination for hepatic encephalopathy treatment: a realistic hope. Med. Hypotheses. 81 (2): 167 – 168.
- Siqian, L. and Shah, N. P. 2015. Effects of *Pleurotus eryngii* polysaccharides on bacterial growth, texture properties, proteolytic capacity, and angiotensin-I-converting enzyme-inhibitory activities of fermented milk. J. Dairy Sci. 2015. 98 (5): 2949 – 2961.
- Tambekar, D. H., Sonar, T. P., Khodke, M. V. and Khante, B. S. 2006. The novel antibacterials from two edible mushrooms. Int. J. Pharm. 2 (5): 584 – 587.
- Valverde, M. E., Hernandez-Perez, T. and Paredes-Lopez, O. 2015. Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. Int J Microbiol. Article ID 376387: 1 – 14.

- Wang, Y. H. and Huang, Y. 2014. Effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* supplementation to standard triple therapy on *Helicobacter pylori* eradication and dynamic changes in intestinal flora. World J. Microbiol. Biotechnol. 30: 847 – 853.
- Wasser, S. 2010. Medicinal mushroom science:history, current status, future trends and unsolved problem. Int. J. Med. Mushrooms. 12 (1): 1 – 16.
- Clinical Toxinology Resources. 2013. Mushroom Identification Guidelines, from <http://www.toxinology.com/>.

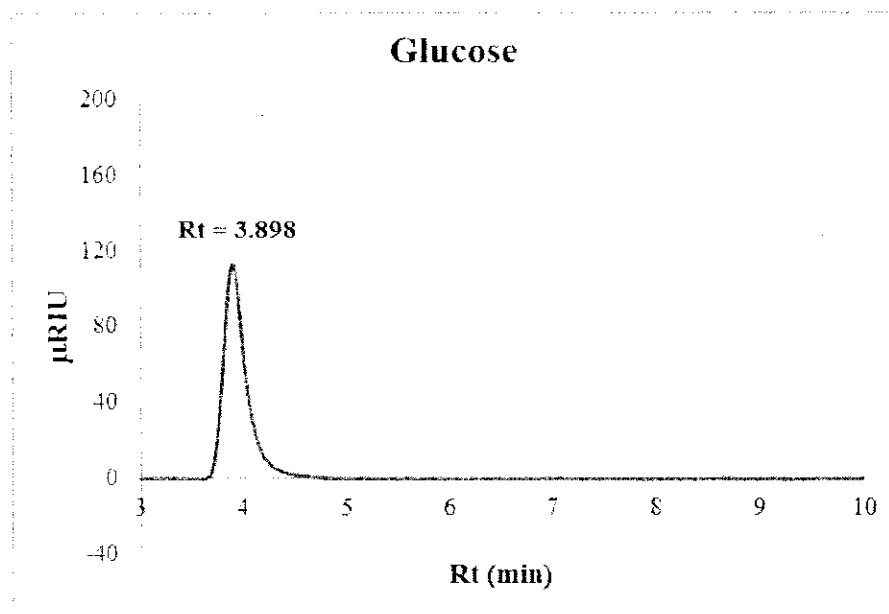
ภาคผนวก ก

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดเห็ดด้วยวิธี HPLC

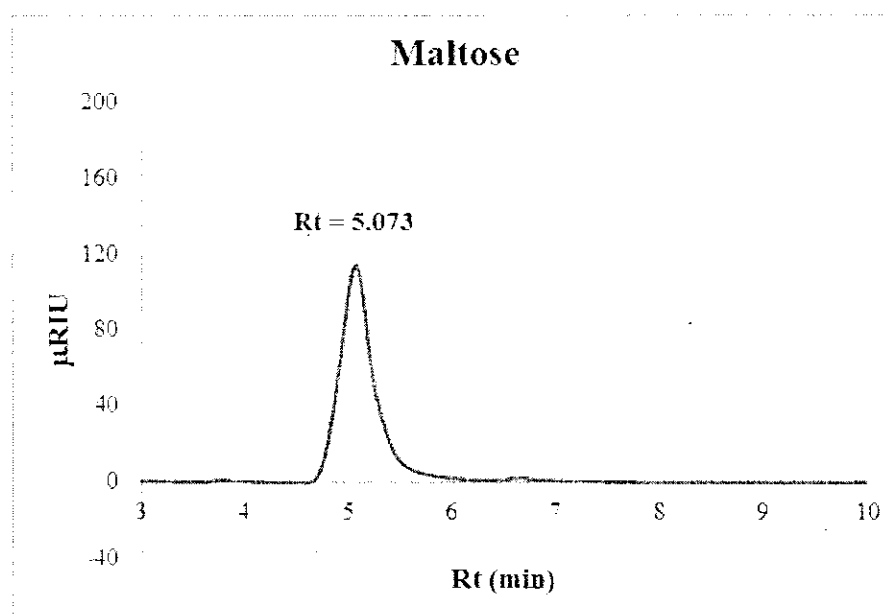
ตารางที่ ก.1 การวิเคราะห์สารมาตรฐานด้วยวิธี HPLC

สารมาตรฐาน	น้ำหนักโมเลกุล (กรัม/โมล)	Rt* (นาที)
กลูโคส (glucose)	180.16	3.898
มอลโตส (maltose)	342.30	5.073
ฟรุคโตส (fructose)	180.16	3.578
กาแลคโตส (galactose)	180.15	4.018
มอลโตไตรโอส (maltotriose)	540.44	6.867
มอลโตเตตราโอส (maltotetraose)	660.60	9.477
แลคทูโลส (lactulose)	342.29	5.372

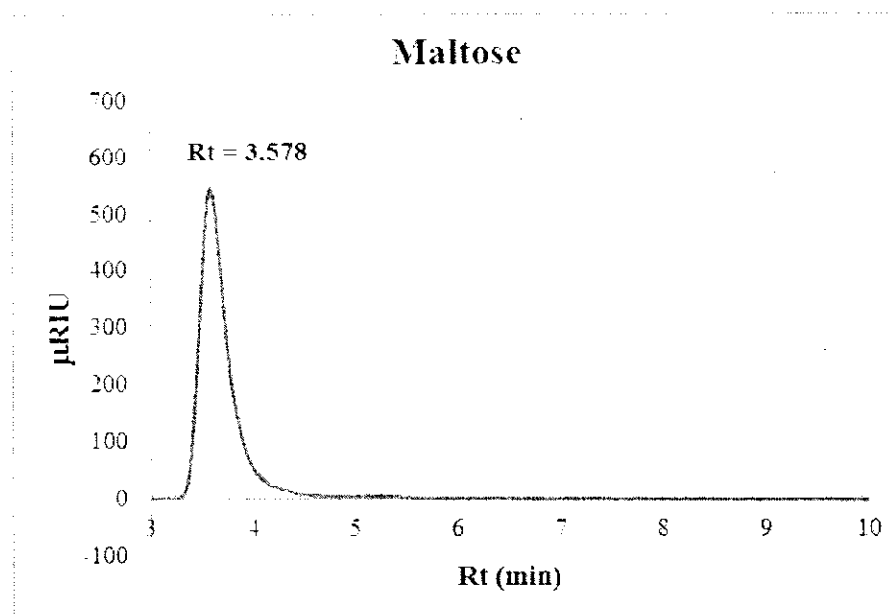
หมายเหตุ *Rt (retention time) หมายถึง เวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ในการเคลื่อนที่ในคอลัมน์ โดยนับจากเวลาเริ่มต้นของการวิเคราะห์จนถึงตำแหน่งเวลาที่สามารถตรวจจับสารที่ให้สัญญาณสูงสุด



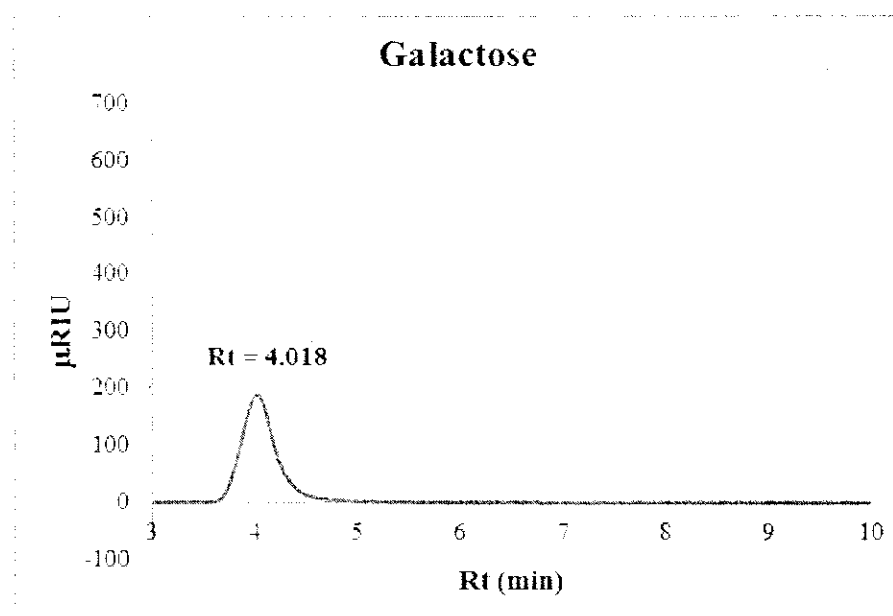
รูปที่ ก.1 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกลูโคส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC



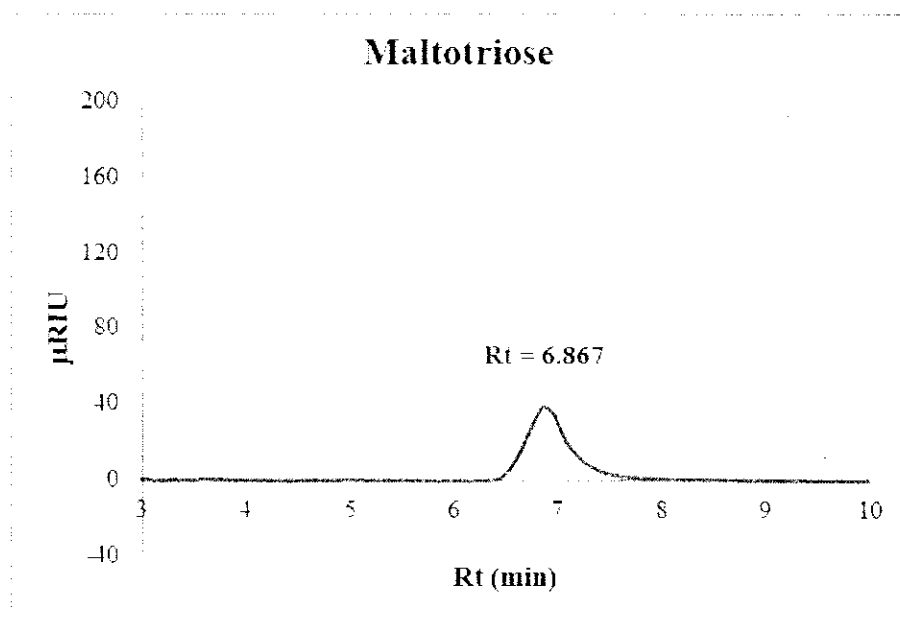
รูปที่ ก.2 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานมอลโตส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC



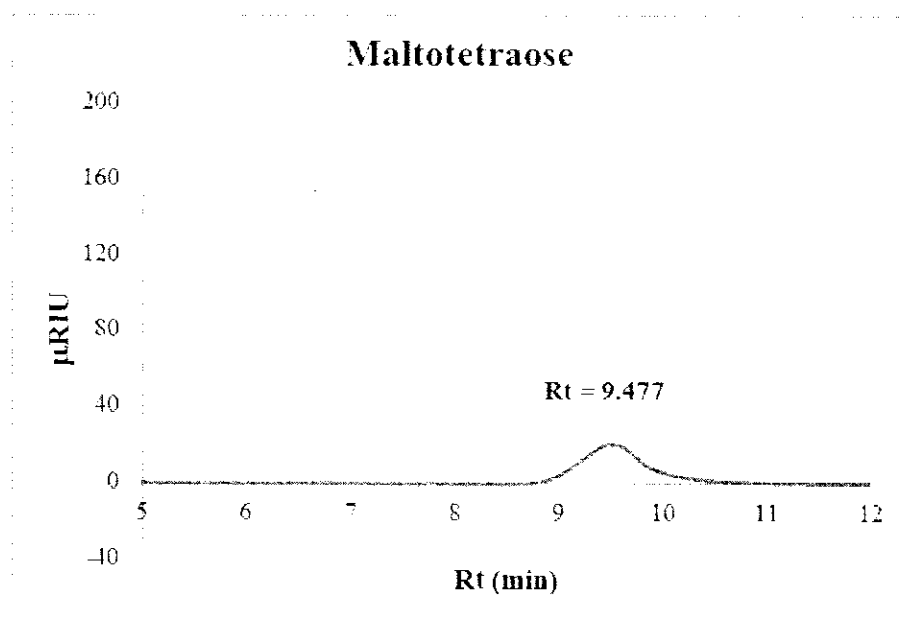
รูปที่ ก.3 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานฟรุคโตส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC



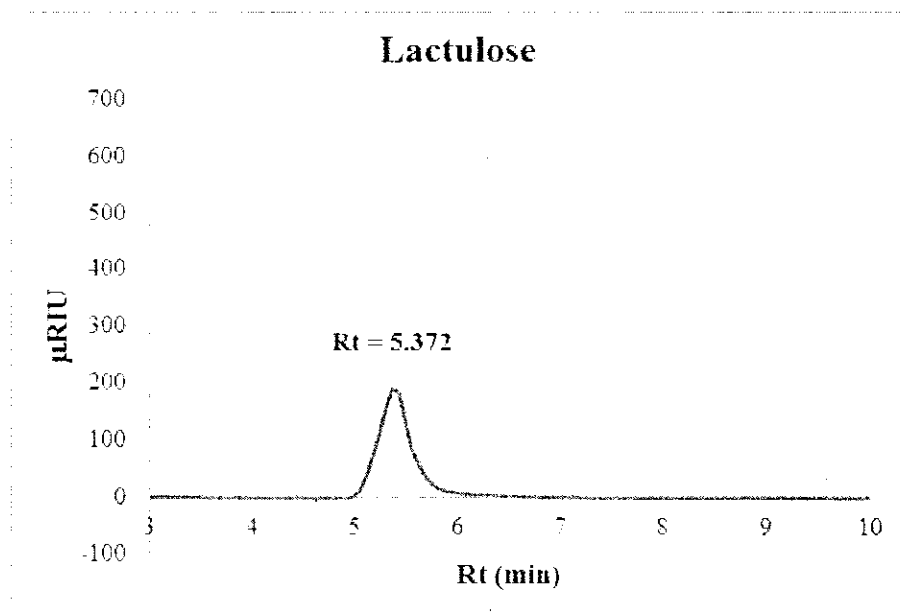
รูปที่ ก.4 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกาแลคโตส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC



รูปที่ ก.5 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานมอลโตไตรโอส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC



รูปที่ ก.6 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานมอลโตเตตราโอส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC



รูปที่ ก.7 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานแลคทูโลส จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี one way- ANOVA

Result for Table 5: total sugar

เห็ดหูหนู 1 2 0.044795 (*, *)

เห็ดหูหนู 1.5 2 0.011119 (*, *)

Test for Equal Variances: total sugar versus sample, time

Method

Null hypothesis All variances are equal

Alternative hypothesis At least one variance is different

Significance level $\alpha = 0.05$

95% Bonferroni Confidence Intervals for Standard Deviations

sample time N StDev CI

เห็ดนางรมขาว 1 2 0.171120 (*, *)

เห็ดนางรมขาว 1.5 2 0.092348 (*, *)

เห็ดนางรมขาว 2 2 0.072903 (*, *)

เห็ดนางรมขาว 2.5 2 0.217294 (*, *)

เห็ดนางรมขาว 3 2 0.016334 (*, *)

เห็ดนางรมขาว 3.5 2 0.076863 (*, *)

เห็ดนางรมขาว 4 2 0.044831 (*, *)

เห็ดนางรม 1 2 0.031254 (*, *)

เห็ดนางรม 1.5 2 0.056356 (*, *)

เห็ดนางรม 2 2 0.032032 (*, *)

เห็ดนางรม 2.5 2 0.161857 (*, *)

เห็ดนางรม 3 2 0.026163 (*, *)

เห็ดนางรม 3.5 2 0.006930 (*, *)

เห็ดนางรม 4 2 0.118794 (*, *)

เห็ดนางรมทอง 1 2 0.236315 (*, *)

เห็ดนางรมทอง 1.5 2 0.038962 (*, *)

เห็ดนางรมทอง 2 2 0.057417 (*, *)

เห็ดนางรมทอง 2.5 2 0.087964 (*, *)

เห็ดนางรมทอง 3 2 0.093974 (*, *)

เห็ดนางรมทอง 3.5 2 0.050134 (*, *)

เห็ดนางรมทอง 4 2 0.163978 (*, *)

เห็ดนางรมภูฐาน 1 2 0.024112 (*, *)

เห็ดนางรมภูฐาน 1.5 2 0.038962 (*, *)

เห็ดนางรมภูฐาน 2 2 0.085489 (*, *)

เห็ดนางรมภูฐาน 2.5 2 0.052679 (*, *)

เห็ดนางรมภูฐาน 3 2 0.047447 (*, *)

เห็ดนางรมภูฐาน 3.5 2 0.057417 (*, *)

เห็ดนางรมภูฐาน 4 2 0.022557 (*, *)

เห็ดนางรมอังกาบ 1 2 0.042709 (*, *)

เห็ดนางรมอังกาบ 1.5 2 0.333613 (*, *)

เห็ดนางรมอังกาบ 2 2 0.111652 (*, *)

เห็ดนางรมอังกาบ 2.5 2 0.073327 (*, *)

เห็ดนางรมอังกาบ 3 2 0.070640 (*, *)

เห็ดนางรมอังกาบ 3.5 2 0.058125 (*, *)

เห็ดนางรมอังกาบ 4 2 0.066327 (*, *)

เห็ดหอม 1 2 0.097121 (*, *)

เห็ดหอม 1.5 2 0.016122 (*, *)

เห็ดหูหนู 2 2 0.032279 (*, *)

เห็ดหูหนู 2.5 2 0.036932 (*, *)

เห็ดหูหนู 3 2 0.056215 (*, *)

เห็ดหูหนู 3.5 2 0.057588 (*, *)

เห็ดหูหนู 4 2 0.045962 (*, *)

individual confidence level = 99.8980%

Tests

Test

Method Statistic P-Value

Multiple comparisons 0.397

Levene

Result for Table 6: TRS

Test for Equal Variances: TRS versus sample, time

Method

Null hypothesis All variances are equal

Alternative hypothesis At least one variance is different

Significance level $\alpha = 0.05$

95% Bonferroni Confidence Intervals for Standard Deviations

sample	time	N	StDev	CI
เห็ดนางรม	1	3	0.0020648 (	*, *)
เห็ดนางรม	1.5	3	0.0056241 (	*, *)
เห็ดนางรม	2	3	0.0041073 (	*, *)
เห็ดนางรม	2.5	3	0.0101372 (	*, *)
เห็ดนางรม	3	3	0.0045640 (	*, *)
เห็ดนางรม	3.5	3	0.0039678 (	*, *)
เห็ดนางรม	4	3	0.0068826 (	*, *)
เห็ดนางรม	1	3	0.0140329 (	*, *)
เห็ดนางรม	1.5	3	0.0147215 (	*, *)
เห็ดนางรม	2	3	0.0032005 (	*, *)
เห็ดนางรม	2.5	3	0.0051248 (	*, *)
เห็ดนางรม	3	3	0.0026951 (	*, *)
เห็ดนางรม	3.5	3	0.0031374 (	*, *)
เห็ดนางรม	4	3	0.0183229 (	*, *)
เห็ดนางรมทอง	1	3	0.0003544 (	*, *)
เห็ดนางรมทอง	1.5	3	0.0060556 (	*, *)
เห็ดนางรมทอง	2	3	0.0092698 (	*, *)
เห็ดนางรมทอง	2.5	3	0.0018339 (	*, *)
เห็ดนางรมทอง	3	3	0.0219344 (	*, *)
เห็ดนางรมทอง	3.5	3	0.0140151 (	*, *)
เห็ดนางรมทอง	4	3	0.0014364 (	*, *)
เห็ดนางรมภูฐาน	1	3	0.0016823 (	*, *)
เห็ดนางรมภูฐาน	1.5	3	0.0037643 (	*, *)
เห็ดนางรมภูฐาน	2	3	0.0023029 (	*, *)
เห็ดนางรมภูฐาน	2.5	3	0.0225247 (	*, *)
เห็ดนางรมภูฐาน	3	3	0.0065653 (	*, *)
เห็ดนางรมภูฐาน	3.5	4	0.0004105 (0.0000242, 96.3325)	
เห็ดนางรมภูฐาน	4	3	0.0059685 (	*, *)
เห็ดนางรมอังกาวิ	1	3	0.0046003 (	*, *)
เห็ดนางรมอังกาวิ	1.5	3	0.0027647 (	*, *)
เห็ดนางรมอังกาวิ	2	3	0.0047843 (	*, *)
เห็ดนางรมอังกาวิ	2.5	3	0.0008505 (	*, *)
เห็ดนางรมอังกาวิ	3	3	0.0316862 (	*, *)
เห็ดนางรมอังกาวิ	3.5	3	0.0046669 (	*, *)
เห็ดนางรมอังกาวิ	4	3	0.0122479 (	*, *)
เห็ดหอม	1	3	0.0044147 (	*, *)
เห็ดหอม	1.5	3	0.0128012 (	*, *)
เห็ดหอม	2	3	0.0048294 (	*, *)
เห็ดหอม	2.5	3	0.0136346 (	*, *)
เห็ดหอม	3	3	0.0165198 (	*, *)
เห็ดหอม	3.5	3	0.0109500 (	*, *)

เห็ดหอม 4 3	0.0096241 (*	*)
เห็ดหูหนู 1 3	0.0015695 (*	*)
เห็ดหูหนู 1.5 3	0.0037687 (*	*)
เห็ดหูหนู 2 3	0.0149813 (*	*)
เห็ดหูหนู 2.5 3	0.0085676 (*	*)
เห็ดหูหนู 3 3	0.0077621 (*	*)
เห็ดหูหนู 3.5 3	0.0009000 (*	*)
เห็ดหูหนู 4 3	0.0071715 (*	*)

individual confidence level = 99.8980%

Tests

Method	Test	
	Statistic	P-Value
Multiple comparisons	---	0.000
Levene	0.87	0.697

Result for Table 7.1 : stimulation *L. acidophilus*

One-way ANOVA: OD620 versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis

Factor Information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมอังกา, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F Value	P-Value
--------	----	--------	--------	---------	---------

sample	9	0.015525	0.001725	31.67	0.000
--------	---	----------	----------	-------	-------

Error	10	0.000545	0.000054		
-------	----	----------	----------	--	--

Total	19	0.016070			
-------	----	----------	--	--	--

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0073806	96.61%	93.56%	86.44%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	2	1.91850	0.00410	(1.90687, 1.93013)
FOS	2	1.92255	0.00573	(1.91092, 1.93418)
inulin	2	1.9032	0.0146	(1.8915, 1.9148)
เห็ดนางรม	2	1.97345	0.00672	(1.96182, 1.98508)
เห็ดนางรม	2	1.91310	0.00410	(1.90147, 1.92473)
เห็ดนางรมทอง	2	1.97785	0.00318	(1.96622, 1.98948)
เห็ดนางรมภูฐาน	2	1.93735	0.00771	(1.92572, 1.94898)
เห็ดนางรมอังกา	2	1.91800	0.00735	(1.90637, 1.92963)
เห็ดหอม	2	1.97465	0.00841	(1.96302, 1.98628)
เห็ดหูหนู	2	1.90930	0.00495	(1.89767, 1.92093)

Pooled StDev = 0.00738058

Result for Table 7.2: stimulation_L. plantarum

One-way ANOVA: OD620 versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางรมฉ, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมอังกูรี, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
--------	----	--------	--------	---------	---------

sample	9	0.038089	0.004232	15.96	0.000
--------	---	----------	----------	-------	-------

Error	10	0.002651	0.000265		
-------	----	----------	----------	--	--

Total	19	0.040740			
-------	----	----------	--	--	--

Model Summary

S	R sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0162816	93.49%	87.64%	73.97%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	2	1.92885	0.00516	(1.90320, 1.95450)
FOS	2	1.8243	0.0379	(1.7986, 1.8500)
inulin	2	1.84570	0.00820	(1.82005, 1.87135)
เห็ดนางรมฉ	2	1.9399	0.0211	(1.9142, 1.9655)
เห็ดนางรม	2	1.92815	0.00035	(1.90250, 1.95380)
เห็ดนางรมทอง	2	1.94195	0.00544	(1.91630, 1.96760)
เห็ดนางรมภูฐาน	2	1.96720	0.00707	(1.94155, 1.99285)
เห็ดนางรมอังกูรี	2	1.90790	0.00255	(1.88225, 1.93355)
เห็ดหอม	2	1.9375	0.0223	(1.9119, 1.9632)
เห็ดหูหนู	2	1.94755	0.00955	(1.92190, 1.97320)

Pooled StDev = 0.0162816

Result for Table 8.1: Inhibition_L. acidophilus+B. cereus

One-way ANOVA: clear zone versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมหอม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมฮังการี, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
sample	9	0.47950	0.053278	17.76	0.000
Error	10	0.03000	0.003000		
Total	19	0.50950			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0547723	94.11%	88.81%	76.45%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	2	0.3500	0.0707	(0.2637, 0.4363)
FOS	2	0.5500	0.0707	(0.4637, 0.6363)
Inulin	2	0.6500	0.0707	(0.5637, 0.7363)
เห็ดนางรม	2	0.6500	0.0707	(0.5637, 0.7363)
เห็ดนางรม	2	0.6000	0.0000	(0.5137, 0.6863)
เห็ดนางรมทอง	2	0.7250	0.0354	(0.6387, 0.8113)
เห็ดนางรมภูฐาน	2	0.6250	0.0354	(0.5387, 0.7113)
เห็ดนางรมฮังการี	2	0.5750	0.0354	(0.4887, 0.6613)
เห็ดหอม	2	0.5500	0.0707	(0.4637, 0.6363)
เห็ดหูหนู	2	0.1750	0.0354	(0.0887, 0.2613)

Pooled StDev = 0.0547723

Result for Table 8.2: Inhibition_Lacidophilus+E.coli

One-way ANOVA: clear zone versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมอังกา, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
--------	----	--------	--------	---------	---------

sample	9	0.01300	0.001444	0.53	0.827
--------	---	---------	----------	------	-------

Error	10	0.02750	0.002750		
-------	----	---------	----------	--	--

Total	19	0.04050			
-------	----	---------	--	--	--

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0524404	32.10%	0.00%	0.00%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	2	0.2250	0.0354	(0.1424, 0.3076)
FOS	2	0.1500	0.0707	(0.0674, 0.2326)
Inulin	2	0.1250	0.0354	(0.0424, 0.2076)
เห็ดนางรม	2	0.1500	0.0707	(0.0674, 0.2326)
เห็ดนางรม	2	0.1750	0.0354	(0.0924, 0.2576)
เห็ดนางรมทอง	2	0.1500	0.0707	(0.0674, 0.2326)
เห็ดนางรมภูฐาน	2	0.1750	0.0354	(0.0924, 0.2576)
เห็ดนางรมอังกา	2	0.1750	0.0354	(0.0924, 0.2576)
เห็ดหอม	2	0.1500	0.0707	(0.0674, 0.2326)
เห็ดหูหนู	2	0.1750	0.0354	(0.0924, 0.2576)

Pooled StDev = 0.0524404

Result for Table 8.3: Inhibition_L.acidophilus+S.paratyphi

One-way ANOVA: clear zone versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels/Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมญี่ปุ่น, เห็ดนางรมอิตาลี, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
sample	9	0.93050	0.103389	41.36	0.000
Error	10	0.02500	0.002500		
Total	19	0.95550			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.05	97.38%	95.03%	89.53%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	2	0.2750	0.0354	(0.1962, 0.3538)
FOS	2	0.5750	0.0354	(0.4962, 0.6538)
Inulin	2	0.6000	0.0000	(0.5212, 0.6788)
เห็ดนางรม	2	0.6500	0.0707	(0.5712, 0.7288)
เห็ดนางรม	2	0.5500	0.0707	(0.4712, 0.6288)
เห็ดนางรมทอง	2	0.7500	0.0707	(0.6712, 0.8288)
เห็ดนางรมญี่ปุ่น	2	0.7000	0.0000	(0.6212, 0.7788)
เห็ดนางรมอิตาลี	2	1.1500	0.0707	(1.0712, 1.2288)
เห็ดหอม	2	0.8750	0.0354	(0.7962, 0.9538)
เห็ดหูหนู	2	0.7250	0.0354	(0.6462, 0.8038)

Pooled StDev = 0.05

Result for Table 8.4: Inhibition_L.acidophilus+S.aureus

One-way ANOVA: clear zone versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมอังกูรี, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F Value	P Value
sample	9	0.65550	0.072833	8.32	0.001
Error	10	0.08750	0.008750		
Total	19	0.74300			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0935414	88.22%	77.62%	52.89%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	2	0.1500	0.0707	(0.0026, 0.2974)
FOS	2	0.800	0.141	(0.653, 0.947)
Inulin	2	0.6500	0.0707	(0.5026, 0.7974)
เห็ดนางรม	2	0.4500	0.0707	(0.3026, 0.5974)
เห็ดนางรม	2	0.6250	0.1061	(0.4776, 0.7724)
เห็ดนางรมทอง	2	0.6500	0.0707	(0.5026, 0.7974)
เห็ดนางรมภูฐาน	2	0.8000	0.0000	(0.6526, 0.9474)
เห็ดนางรมอังกูรี	2	0.7250	0.1061	(0.5776, 0.8724)
เห็ดหอม	2	0.600	0.141	(0.453, 0.747)
เห็ดหูหนู	2	0.6500	0.0707	(0.5026, 0.7974)

Pooled StDev = 0.0935414

Result for Table 9.1: Inhibition_L.plantarum+B.cereus

One-way ANOVA: clear zone versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis

Factor Information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางนวล, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมอังกาบ, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
--------	----	--------	--------	---------	---------

sample	9	2.49112	0.276792	36.30	0.000
--------	---	---------	----------	-------	-------

Error	10	0.07625	0.007625		
-------	----	---------	----------	--	--

Total	19	2.56737			
-------	----	---------	--	--	--

Model Summery

S R-sq R-sq(adj) R-sq(pred)

0.0873212 97.03% 94.36% 88.12%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	2	0.6750	0.0354	(0.5374, 0.8126)
FOS	2	0.8750	0.0354	(0.7374, 1.0126)
Inulin	2	0.1750	0.0354	(0.0374, 0.3126)
เห็ดนางนวล	2	0.5250	0.1061	(0.3874, 0.6626)
เห็ดนางรม	2	0.1500	0.0707	(0.0124, 0.2876)
เห็ดนางรมทอง	2	0.1250	0.0354	(0.0126, 0.2626)
เห็ดนางรมภูฐาน	2	0.9500	0.0707	(0.8124, 1.0876)
เห็ดนางรมอังกาบ	2	0.7000	0.0000	(0.5624, 0.8376)
เห็ดหอม	2	0.9500	0.0707	(0.8124, 1.0876)
เห็ดหูหนู	2	1.150	0.212	(1.012, 1.288)

Pooled StDev 0.0873212

Result for Table 9.2: Inhibition_L.plantarum+E.coli

One-way ANOVA: clear zone versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level α 0.05

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมหอม, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมฮังการี, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
--------	----	--------	--------	---------	---------

sample	9	0.02700	0.003000	1.71	0.207
--------	---	---------	----------	------	-------

Error	10	0.01750	0.001750		
-------	----	---------	----------	--	--

Total	19	0.04450			
-------	----	---------	--	--	--

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0418330	60.67%	25.28%	0.00%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	2	0.1750	0.0354	(0.1091, 0.2409)
FOS	2	0.1250	0.0354	(0.0591, 0.1909)
Inulin	2	0.1000	0.0000	(0.0341, 0.1659)
เห็ดนางรม	2	0.1000	0.0000	(0.0341, 0.1659)
เห็ดนางรม	2	0.1750	0.0354	(0.1091, 0.2409)
เห็ดนางรมหอม	2	0.1250	0.0354	(0.0591, 0.1909)
เห็ดนางรมภูฐาน	2	0.1500	0.0707	(0.0841, 0.2159)
เห็ดนางรมฮังการี	2	0.1500	0.0707	(0.0841, 0.2159)
เห็ดหอม	2	0.2250	0.0354	(0.1591, 0.2909)
เห็ดหูหนู	2	0.1250	0.0354	(0.0591, 0.1909)

Pooled StDev = 0.0418330

Result for Table 9.3: Inhibition_L.plantarum+S.paratyphi

One-way ANOVA: clear zone versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมอังกูร์, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
--------	----	--------	--------	---------	---------

sample	9	0.21550	0.023944	3.99	0.021
--------	---	---------	----------	------	-------

Error	10	0.06000	0.006000		
-------	----	---------	----------	--	--

Total	19	0.27550			
-------	----	---------	--	--	--

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0774597	78.22%	58.62%	12.89%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	2	0.5250	0.0354	(0.4030, 0.6470)
FOS	2	0.8750	0.0354	(0.7530, 0.9970)
Inulin	2	0.7250	0.1061	(0.6030, 0.8470)
เห็ดนางรม	2	0.6250	0.0354	(0.5030, 0.7470)
เห็ดนางรม	2	0.6250	0.1061	(0.5030, 0.7470)
เห็ดนางรมทอง	2	0.7500	0.0707	(0.6280, 0.8720)
เห็ดนางรมภูฐาน	2	0.8250	0.1061	(0.7030, 0.9470)
เห็ดนางรมอังกูร์	2	0.6500	0.0707	(0.5280, 0.7720)
เห็ดหอม	2	0.7250	0.0354	(0.6030, 0.8470)
เห็ดหูหนู	2	0.8250	0.1061	(0.7030, 0.9470)

Pooled StDev = 0.0774597

Result for Table 9.4: Inhibition_L.plantarum+S.aureus

One-way ANOVA: clear zone versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level α 0.05

Equal variances were assumed for the analysis

Factor Information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมหอม, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมอังกูรี, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-value	P-Value
sample	9	0.01200	0.001333	0.41	0.902
Error	10	0.03250	0.003250		
Total	19	0.04450			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0570088	26.97%	0.00%	0.00%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	2	0.1250	0.0354	(0.0352, 0.2148)
FOS	2	0.1750	0.1061	(0.0852, 0.2648)
Inulin	2	0.1750	0.0354	(0.0852, 0.2648)
เห็ดนางรม	2	0.1750	0.0354	(0.0852, 0.2648)
เห็ดนางรมหอม	2	0.1500	0.0707	(0.0602, 0.2398)
เห็ดนางรมภูฐาน	2	0.1250	0.0354	(0.0352, 0.2148)
เห็ดนางรมอังกูรี	2	0.1500	0.0707	(0.0602, 0.2398)
เห็ดหอม	2	0.1000	0.0000	(0.0102, 0.1898)
เห็ดหูหนู	2	0.1250	0.0354	(0.0352, 0.2148)
เห็ดหูหนู	2	0.1500	0.0707	(0.0602, 0.2398)

Pooled StDev 0.0570088

Result for Table 10: Tolerance_L.acidophilus+amylase

One-way ANOVA: %survival versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมหอม, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมอังกูรี, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
--------	----	--------	--------	---------	---------

sample	9	7.890	0.8767	0.39	0.929
--------	---	-------	--------	------	-------

Error	30	67.102	2.2367		
-------	----	--------	--------	--	--

Total	39	74.992			
-------	----	--------	--	--	--

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
---	------	-----------	------------

1.49557	10.52%	0.00%	0.00%
---------	--------	-------	-------

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	4	0.920	1.323	(-0.607, 2.447)
FOS	4	1.010	1.363	(-0.517, 2.537)
Inulin	4	1.200	1.914	(-0.327, 2.727)
เห็ดนางรม	4	1.41	2.22	(-0.11, 2.94)
เห็ดนางรมหอม	4	0.855	0.749	(-0.672, 2.382)
เห็ดนางรมภูฐาน	4	0.643	0.667	(-0.885, 2.170)
เห็ดนางรมอังกูรี	4	0.580	0.781	(-0.947, 2.107)
เห็ดหอม	4	1.765	1.922	(0.238, 3.292)
เห็ดหูหนู	4	1.975	1.888	(0.448, 3.502)

Pooled StDev = 1.49557

Result for Table 11: Tolerance_L.acidophilus+bile extract

One-way ANOVA: %survival versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมอังกา, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	Df	Adj SS	Adj MS	F value	P-value
sample	9	13.01	1.446	0.21	0.990
Error	30	203.33	6.778		
Total	39	216.34			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
2.60337	6.01%	0.00%	0.00%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	4	1.220	1.664	(-1.438, 3.878)
FOS	4	2.11	2.61	(-0.55, 4.76)
Inulin	4	2.19	3.27	(-0.46, 4.85)
เห็ดนางรม	4	2.77	3.06	(-0.11, 5.43)
เห็ดนางรม	4	2.52	2.24	(-0.14, 5.18)
เห็ดนางรมทอง	4	1.188	1.264	(-1.471, 3.846)
เห็ดนางรมภูฐาน	4	1.73	2.52	(-0.93, 4.39)
เห็ดนางรมอังกา	4	2.94	3.69	(-0.28, 5.60)
เห็ดหอม	4	2.467	1.996	(-0.191, 5.126)
เห็ดหูหนู	4	2.32	2.74	(-0.33, 4.98)

Pooled StDev = 2.60337

Result for Table 12: Tolerance_L.acidophilus+HCl

One-way ANOVA: %survival versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis

Factor Information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมอังกูรี, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
sample	9	148.6	16.51	0.78	0.633
Error	30	632.0	21.07		
Total	39	780.5			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
4.58977	19.03%	0.00%	0.00%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	4	5.00	3.14	(0.31, 9.69)
FOS	4	6.91	4.19	(2.22, 11.59)
Inulin	4	6.49	3.61	(1.80, 11.17)
เห็ดนางรม	4	11.75	7.13	(7.07, 16.44)
เห็ดนางรม	4	7.90	5.64	(3.21, 12.58)
เห็ดนางรมทอง	4	9.24	6.06	(4.55, 13.93)
เห็ดนางรมภูฐาน	4	5.23	2.48	(0.54, 9.92)
เห็ดนางรมอังกูรี	4	6.15	3.02	(1.47, 10.84)
เห็ดหอม	4	8.50	5.79	(3.81, 13.18)
เห็ดหูหนู	4	8.030	1.415	(3.343, 12.710)

Pooled StDev 4.58977

Result for Table13: Tolerance_L.plantarum+amylase

One-way ANOVA: %survival versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางนวล, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมอังกูรี, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
sample	9	1353	150.3	0.84	0.585
Error	30	5363	178.8		
Total	39	6716			

Model Summary

S	R sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
13.3708	20.14%	0.00%	0.00%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	4	1.30	2.08	(-12.35, 14.96)
FOS	4	1.72	2.49	(-11.93, 15.38)
Inulin	4	2.30	3.99	(-11.35, 15.96)
เห็ดนางนวล	4	1.85	2.64	(-11.81, 15.50)
เห็ดนางรม	4	1.46	2.16	(-12.19, 15.11)
เห็ดนางรมทอง	4	1.93	2.69	(-11.72, 15.58)
เห็ดนางรมภูฐาน	4	1.59	2.39	(-12.06, 15.24)
เห็ดนางรมอังกูรี	4	1.388	1.505	(-12.266, 15.041)
เห็ดหอม	4	3.02	3.53	(-10.63, 16.67)
เห็ดหูหนู	4	21.2	41.5	(-7.5, 34.8)

Pooled StDev = 13.3708

Result for Table 14: Tolerance_L.plantarum+bile extract

One-way ANOVA: %survival versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, Inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมอังกา, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F Value	P-Value
--------	----	--------	--------	---------	---------

sample	9	7.380	0.8200	0.24	0.984
--------	---	-------	--------	------	-------

Error	30	100.696	3.3565		
-------	----	---------	--------	--	--

Total	39	108.076			
-------	----	---------	--	--	--

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1	6.83%	0.00%	0.00%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	4	0.703	1.159	(-1.168, 2.573)
FOS	4	1.680	1.907	(-0.191, 3.551)
Inulin	4	1.172	1.371	(-0.698, 3.043)
เห็ดนางรม	4	0.845	1.198	(-1.026, 2.716)
เห็ดนางรม	4	0.880	1.491	(-0.991, 2.751)
เห็ดนางรมทอง	4	1.270	1.898	(-0.601, 3.141)
เห็ดนางรมภูฐาน	4	1.245	1.531	(-0.626, 3.116)
เห็ดนางรมอังกา	4	0.910	1.038	(-0.961, 2.781)
เห็ดหอม	4	2.22	3.21	(-0.35, 4.09)
เห็ดหูหนู	4	1.31	2.39	(-0.56, 3.18)

Pooled StDev = 1.83208

Result for Table 15: Tolerance_L.plantarum+HCl

One-way ANOVA: %survival versus sample

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values

sample 10 control, FOS, inulin, เห็ดนางรม, เห็ดนางรม, เห็ดนางรมทอง, เห็ดนางรมภูฐาน, เห็ดนางรมถังแก้ว, เห็ดหอม, เห็ดหูหนู

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
sample	9	21.25	2.361	0.67	0.725
Error	30	104.99	3.500		
Total	39	126.24			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1.87078	16.83%	0.00%	0.00%

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
control	4	1.155	1.984	(-0.755, 3.065)
FOS	4	1.885	1.995	(-0.025, 3.795)
Inulin	4	0.475	0.549	(-1.435, 2.385)
เห็ดนางรม	4	2.17	2.15	(-0.26, 4.08)
เห็ดนางรม	4	0.545	0.392	(-1.365, 2.455)
เห็ดนางรมทอง	4	1.758	1.890	(-0.153, 3.668)
เห็ดนางรมภูฐาน	4	1.415	1.384	(-0.495, 3.325)
เห็ดนางรมถังแก้ว	4	1.043	1.121	(-0.868, 2.953)
เห็ดหอม	4	2.61	2.74	(-0.69, 4.52)
เห็ดหูหนู	4	2.58	2.78	(-0.57, 4.49)

Pooled StDev = 1.87078