

บทความวิจัย (Research Article)

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่หมักกับเห็ดแครง
Antioxidant property of riceberry fermented by *Schizophyllum commune*

อุรารักษ์ รมรื่น^{1*}, สุดาวรรณ วิเศษสิงห์¹, กษิตศ เต็ดขาด¹

¹ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม 73000

Urarux Romruen^{1*}, Sudawan Visetsing¹, Kasidid Dadhkad¹

¹ Department of Microbiology, Faculty of Science, Silpakorn University Sanam Chandra Palace Campus, Nakhon Pathom, 73000, Thailand

* Corresponding author

E-mail address: romruen_u@su.ac.th

Received: 05/11/2024; Revised: 20/01/2025; Accepted: 07/03/2025

คำสำคัญ

เห็ดแครง
ข้าวไรซ์เบอร์รี่
การหมักแบบอาหารแข็ง
สารประกอบฟีนอลิก
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดแครง *Schizophyllum commune* ที่เจริญบนข้าวไรซ์เบอร์รี่โดยกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง โดยศึกษาผลของการเติมกลูโคสและสารสกัดจากยีสต์เมื่อเห็ดแครงเจริญบนข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นเวลา 14 วัน จะถูกนำมาอบแห้งและสกัดหยาบด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทิลอะซิเตตและเมทานอล พบว่าสารสกัดเมทานอลมีปริมาณร้อยละของสารสกัดหยาบมากกว่าเอทิลอะซิเตต การลงเชื้อและการเติมกลูโคสและสารสกัดจากยีสต์ไม่มีผลต่อปริมาณร้อยละของสารสกัดหยาบ อย่างไรก็ตามการลงเชื้อ การเติมกลูโคสและสารสกัดจากยีสต์ช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดได้ แต่ชนิดของตัวทำละลายไม่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก นอกจากนี้เมื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าค่า IC₅₀ ในทุกการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

KEYWORDS

Schizophyllum commune
Riceberry
Solid state fermentation
Phenolic compound
Antioxidant activity

ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate bioactive compounds of *Schizophyllum commune* which are grown on Riceberry by solid state fermentation were studied. The effect of the addition of glucose and yeast extract was determined. When the mycelium of *S. commune* grows on Riceberry for 14 days, the fermented substrates are dried and extracted with two solvents: ethyl acetate and methanol. The result showed that methanol extract contains a higher yield of crude extract than ethyl acetate. Inoculation and addition of glucose and yeast extract had no effect on the yield of crude extract. However, inoculation, and the addition of glucose and yeast extract increased the total phenolic compounds in the extract. However, the type of solvent did not affect on the total phenolic compounds. In addition, when studying the antioxidant activity using the DPPH radical scavenging assay, it was found that the IC₅₀ values in every experiment were not significantly different.

1. บทนำ

เห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) จัดเป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ในประเทศไทยและประเทศแถบทวีปเอเชียมีการบริโภคเห็ดแครงกันมาอย่างยาวนาน โดยในประเทศไทยนิยมบริโภคกันมากในภาคใต้ และ ภาคอีสาน นิยมมาประกอบอาหารพื้นบ้าน เช่น หมก แกง น้ำพริก และไข่เจียว นอกจากนี้ในประเทศจีน เกาหลี และ ญี่ปุ่น นิยมบริโภคเห็ดเป็นอาหารเพื่อสุขภาพในรูปแบบต่าง ๆ เห็ดแครงประกอบไปด้วยสารเบตากลูแคน schizophyllan ที่มีคุณสมบัติทางยาในการยับยั้งการเจริญของเนื้องอกและมะเร็ง นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค และต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย (นฤมล, 2557)

ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (*Oryza sativa*) เป็นข้าวสายพันธุ์ที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ ในปี พ.ศ. 2545 โดยการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าหอมนิลกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 ทำให้ข้าวไรซ์เบอร์รี่มีสีม่วงเข้ม ทั้งยังอุดมไปด้วยสารอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระ แอนโทไซยานิน และสารที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ที่ช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้ (Settapramote et al., 2021)

กระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง (Solid state fermentation หรือ SSF) เป็นการเลี้ยงเชื้อบนสับสเตรทที่แข็งและมีความชื้นต่ำ แต่อย่างไรก็ตามควมชื้นเพียงพอสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ การหมักแบบอาหารแข็งได้รับความสนใจเนื่องจากทำให้เชื้อสร้างสารเมแทบอไลต์ได้ดีกว่าการหมักแบบอาหารเหลว (Submerged fermentation) ตัวอย่างเช่น เอนไซม์ สารปฏิชีวนะ กรดอินทรีย์ และสารประกอบอะโรมาติก เป็นต้น (Lizardi-Jiménez and Hernández-Martínez, 2017) นอกจากนี้การหมักแบบ SSF ยังเป็นกระบวนการที่ง่ายและค่าใช้จ่ายน้อย นิยมใช้วัสดุที่เหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร จึงถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเพิ่มคุณค่าให้ของเหลือใช้ (อาทิตย์วัฒน์, 2562) โดยก่อนหน้านี้มีการทดลองนำกากถั่วเหลืองมาหมักแบบอาหารแข็งกับเห็ดกินได้ 3 ชนิด ได้แก่ เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และ เห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes*) พบว่าการหมักช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหาร โดยเห็ดนางรมขาวให้ผลดีที่สุด และยังช่วยเพิ่มปริมาณกรดฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย (Wang et al., 2023) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อนำเชื้อรา *Aspergillus awamori* และ *Aspergillus oryzae* มาเลี้ยงบนรำข้าวสาลีด้วยกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง พบว่ารำข้าวสาลีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับรำข้าวสาลีที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการหมักร่วมกับเชื้อรา (Shin et al., 2019) โดยงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่ามีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อการหมักแบบอาหารแข็งของ *Aspergillus niger* บนกากใบชา เช่น การเติมสารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) พบว่าทำให้เชื่อมีการผลิตกรดกลูโคนิกเพิ่มขึ้น (Sharma et al., 2008)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาการเลี้ยงเห็ดแครงร่วมกับข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยการหมักแบบอาหารแข็ง โดยมีการศึกษาผลของการเติมกลูโคสหรือสารสกัดจากยีสต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมคือไม่เติมทั้งกลูโคสและสารสกัดจากยีสต์ จากนั้นทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือเอทิลอะซิเตตและเมทานอลแล้วนำสารสกัดที่ได้มาศึกษาปริมาณร้อยละของสารสกัดหายาบ (%Yield) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเลี้ยงเห็ดแครงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

เตรียม PDA โดยผสมกับน้ำกลั่น (ในอัตราส่วน PDA 39.0 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร) นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นเทอาหารลงในจานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อและทำการถ่ายเชื้อเห็ดแครงที่ได้จากฟาร์มเห็ดอรุณภูมิ จ.นครปฐม ลงในอาหาร PDA และนำไปบ่ม 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

2.2 การหมักแบบอาหารแข็ง

เตรียมสารละลายอาหาร (Nutrient solution) เข้มข้น 10X (ดัดแปลงจาก Xu et al., 2018) ดังนี้ KH_2PO_4 0.3 กรัม, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15 กรัม และ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.03 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร คนจนส่วนผสมทั้งหมดละลาย แล้วนำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนักข้าวไรซ์เบอร์รี่ 20 กรัม ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 27 มิลลิลิตร ปิดฟอยล์ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ทำการ

เจือจาง อาหารเหลว [10X] โดยดูมา 1 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร แล้วเติมกลูโคส 0.2 กรัม และสารสกัดจากยีสต์ 0.005 กรัม (Xu et al., 2018) คนจนส่วนผสมทั้งหมดละลาย แล้วดูดไปใส่ในพลาสติกที่แช่ข้าวไรซ์เบอร์รี่ไว้แล้ว ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ใช้ช้อนคลุกผสมให้เข้ากัน อุดจุกสำลี ห่อพอยล์ นำไปฆ่าเชื้อหม้อหนึ่ง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น ทำการถ่ายเชื้อเห็ดแครงจากอาหาร PDA โดยใช้มีดตัดชิ้นวุ้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ใส่ลงไปในพลาสติกละ 1 ชิ้น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน นำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้ง (น้ำหนักคงที่) บดให้ละเอียด แล้วเก็บไว้ในโถสุญญากาศ

2.3 การสกัดสารสกัดหยาบด้วยเอทิลอะซิเตตและเมทานอล

นำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการหมักมาสกัดด้วยวิธีใช้อัตราส่วนตัวอย่างแห้งบดละเอียด 50 กรัม (ใส่ในถุงตาข่าย) ต่อดัวทำละลายเอทิลอะซิเตต 250 มิลลิลิตร สกัดด้วยเครื่องซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) จำนวน 15 รอบ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และเบอร์ 4 นำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator) บันทึกน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบ และคำนวณหาปริมาณร้อยละของสารสกัดจากสูตร

$$\text{ปริมาณร้อยละของสารสกัด} = (\text{น้ำหนักแห้งสารสกัดหยาบ} \times 100) / 50$$

ในการสกัดสารสกัดหยาบด้วยเมทานอล จะใช้ตัวอย่างบดละเอียดที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตเสร็จแล้ว ผึ่งให้แห้ง แล้วนำมาสกัดด้วยเมทานอลด้วยวิธีเดียวกันกับการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต

2.4 การวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

นำสารสกัดที่ได้มาละลายด้วย Dimethyl sulfoxide (DMSO) โดยเตรียมสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร จากนั้นดูมาปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำ 50 ไมโครลิตรและ Folin Ciocalteu's phenol Reagent ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร ใน 96-well plate จากนั้นบ่มปฏิกิริยาในที่มืด เป็นเวลา 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำ Na_2CO_3 ปริมาตร 125 ไมโครลิตร และน้ำ 100 ไมโครลิตร บ่มปฏิกิริยาต่อในที่มืด เป็นเวลา 45 นาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้ Microplate Reader (ใช้กรดแกลลิกเข้มข้น 20 – 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เป็นสารมาตรฐาน) โดยใช้ DMSO แทนสารสกัดในการทำ Blank

2.5 การตรวจสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

นำสารสกัดที่ได้มาละลายด้วย DMSO เตรียมเป็นความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร จากนั้นทำการเจือจางสารสกัด (Two-fold dilution) ลงใน 96-well plate ด้วย DMSO แล้วผสมสารสกัดที่เจือจางได้ปริมาตร 66 ไมโครลิตร และ 0.15 mM DPPH radical (ละลายในเอทานอล) ปริมาตร 134 ไมโครลิตร ลงใน 96-well plate แล้วผสมให้เข้ากัน บ่มปฏิกิริยาในที่มืด เป็นเวลา 45 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader คำนวณค่าร้อยละของ scavenging activity (%SA) ที่มีต่อ DPPH radicals ได้จากสูตร

$$\%SA = [(Abs \text{ DPPH} - Abs \text{ sample}) / Abs \text{ DPPH}] \times 100$$

จากนั้นทำการสร้างกราฟระหว่างร้อยละ scavenging activity และความเข้มข้นของสารสกัดและหาค่า IC_{50} (ความเข้มข้นของสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50)

2.6 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ใช้โปรแกรม SPSS Statistics 18.0 โดยทดสอบ Normality test ถ้าข้อมูลแจกแจงแบบปกติใช้ One-way ANOVA และ Tukey test ในการทดสอบ

3. ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

ปริมาณสารสกัดหยาบ

เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครงบนข้าวไรซ์เบอร์รี่ โดยการหมักแบบอาหารแข็งเป็นเวลา 14 วันแล้ว นำมาอบแห้งและสกัดสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทิลอะซิเตตและเมทานอล ได้ผลดังตารางที่ 1 โดยในทุกการทดลอง สารที่สกัดโดยใช้

เมทานอลมีปริมาณร้อยละของสารสกัดหยาบมากกว่าเมื่อสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ยกเว้น ข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ได้ลงเชื้อเห็ดแครง ที่มีปริมาณร้อยละของสารสกัดจากเมทานอลน้อยกว่า แสดงว่าเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอลซึ่งมีขั้วสูง มีแนวโน้มได้ปริมาณร้อยละของสารสกัดมากกว่าตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำหรือเอทิลอะซิเตต สอดคล้องกับงานวิจัย ก่อนหน้านี้ได้ทำการหาค่าปริมาณร้อยละของสารสกัดหยาบ (%Yield) จากส่วนดอกของเห็ดถึงเชื้อรา พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัด โดยต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนมีค่าปริมาณร้อยละของสารสกัดมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเมทานอล และเอทานอล ตามลำดับ โดยมีแนวโน้มเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดถึงเชื้อรา (มลิธรา และคณะ, 2562)

อย่างไรก็ตาม การเติมอาหารเหลวที่มีกลูโคสเพียงอย่างเดียว การเติมสารสกัดจากยีสต์เพียงอย่างเดียว หรือการเติมสารทั้ง 2 ชนิด หรือไม่เติมเลย ไม่ส่งผลต่อปริมาณร้อยละของสารสกัด แต่การหมักแบบอาหารแข็งของเห็ดแครงบนข้าวไรซ์เบอร์รี่ช่วยเพิ่ม ปริมาณร้อยละของสารสกัดเมทานอลได้ สอดคล้องกับงานวิจัยที่มาก่อนหน้านี้คือการผลิตมิรินโดยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* โดยผลการศึกษาพบว่า การหมักกับเชื้อรามีปริมาณร้อยละของมิรินสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับมิรินที่ไม่ได้หมัก กับเชื้อรา (ประมวล และ สุเมธ, 2565)

ตารางที่ 1 ค่าปริมาณร้อยละของสารสกัดหยาบ

การทดลอง ¹	Yield (%) ²	
	Ethyl acetate	Methanol
เห็ดแครง + ข้าวไรซ์เบอร์รี่	4.12±0.50 ^b	30.41±7.84 ^c
เห็ดแครง + ข้าวไรซ์เบอร์รี่ + G	3.96±0.04 ^b	29.75±1.78 ^c
เห็ดแครง + ข้าวไรซ์เบอร์รี่ + Y	4.41±0.31 ^b	28.36±3.67 ^c
เห็ดแครง + ข้าวไรซ์เบอร์รี่ + G + Y	3.14±0.80 ^b	13.35±1.44 ^c
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ + G + Y	2.43±0.42 ^b	1.00±0.52 ^a

¹ G หมายถึงการทดลองที่มีการเติมกลูโคส; Y หมายถึง การทดลองที่มีการเติมสารสกัดจากยีสต์

² ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (P-value < 0.05)

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

เทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้งสองชนิด พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าชนิดของตัวทำละลายไม่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัด ในขณะที่ผลจากการกลูโคสและ สารสกัดจากยีสต์ พบว่าการเติมอาหารเหลวที่มีทั้งกลูโคสและสารสกัดจากยีสต์ทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดหยาบ

การทดลอง ¹	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (µg/ml) ²		IC ₅₀ (mg/ml) ²	
	Ethyl acetate	Methanol	Ethyl acetate	Methanol
เห็ดแครง + ข้าวไรซ์เบอร์รี่	192.41±37.76 ^{ab}	219.67±12.68 ^{ab}	4.45±1.02 ^b	7.75±0.44 ^b
เห็ดแครง + ข้าวไรซ์เบอร์รี่ + G	118.04±26.65 ^{ab}	303.26±15.43 ^{bc}	5.49±0.65 ^b	4.96±1.66 ^b
เห็ดแครง + ข้าวไรซ์เบอร์รี่ + Y	157.78±32.32 ^{ab}	218.44±33.04 ^{ab}	6.33±0.19 ^b	4.34±0.32 ^b
เห็ดแครง + ข้าวไรซ์เบอร์รี่ + G + Y	451.04±51.59 ^c	518.37±83.03 ^c	7.37±1.88 ^b	7.41±1.78 ^b
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ + G + Y	222.68±1.19 ^{ab}	210.58±63.97 ^{ab}	5.22±1.65 ^b	4.43±1.10 ^b
Trolox	0.013 ± 0.48 ^a			

¹ G หมายถึงการทดลองที่มีการเติมกลูโคส; Y หมายถึง การทดลองที่มีการเติมสารสกัดจากยีสต์

² ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (P-value < 0.05)

กลูโคสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่จุลินทรีย์ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ง่าย โดยก่อนหน้านี้มีงานวิจัยที่ศึกษาผลของการเติมกลูโคส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงไปเพิ่มในการหมักแบบอาหารแข็งของรา *Aspergillus oryzae* 2095 จากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้น ของกลูโคสมีผลต่อการสร้างเอนไซม์โปรตีนเอสของรา (Londoño-Hernández et al., 2024) แต่อย่างไรก็ตามในการหมักแบบอาหาร

แข่งในงานวิจัยนี้ การเติมกลูโคสเพียงอย่างเดียวลงไปเพิ่มไม่มีผลต่อการหมัก อาจเพราะเชื้อสามารถใช้แหล่งคาร์บอนจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ได้

ก่อนหน้านี้มีงานวิจัยที่ศึกษาการหมักแบบอาหารแข็งของเชื้อรา *Aspergillus niger* สายพันธุ์ ARNU-4 บนกากใบชา พบว่าเมื่อเติมสารสกัดจากยีสต์ลงไปร้อยละ 0.5 ช่วยให้เชื้อราผลิตกรดกลูโคนิกเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับไม่เติม โดยการเติมสารสกัดจากยีสต์เป็นการเพิ่มสารอาหาร แหล่งไนโตรเจน และวิตามิน ซึ่งอาจช่วยส่งเสริมการเจริญและสร้างเอนไซม์ glucose oxidase ของจุลินทรีย์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการผลิตกรดกลูโคนิก (Sharma et al., 2008) อย่างไรก็ตาม ในงานวิจัยนี้มีการเติมสารสกัดจากยีสต์คิดเป็นร้อยละ 0.01 ซึ่งพบว่าไม่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

นอกจากนี้ จากผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีการเติมทั้งกลูโคสและสารสกัดจากยีสต์เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างลงเชื้อและไม่ลงเชื้อ พบว่าการลงเชื้อเห็ดแครงช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดได้เมื่อเทียบกับข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ได้ลงเชื้อ ซึ่งโดยทั่วไปสารประกอบฟีนอลิกพบได้ในผัก ผลไม้ และธัญพืช สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อมีการหมักแบบอาหารแข็งเอนไซม์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น ทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกออกมา ดังนั้นการหมักแบบอาหารแข็งสามารถจึงช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้ (Sánchez-García et al., 2022) มีงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้ทำการศึกษาของเหลือที่ได้จากกระบวนการนึ่งตามไลเซชันในการเตรียมข้าวโพดแบบดั้งเดิม (Nejayote) ซึ่งมีสารประกอบ ฟีนอลิกอยู่ในรูปที่เกาะกับโมเลกุลอื่น (Bound form) มากถึงร้อยละ 85 เมื่อนำมาหมักกับราเกินได้ 3 ชนิดคือ *Aspergillus oryzae* เห็ดนางรม (*P. ostreatus*) และเห็ดหัวลิง (*H. erinaceus*) จากนั้นศึกษาปริมาณฟีนอลิกอิสระ (Free form) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบกับก่อนการหมัก พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกอิสระเพิ่มขึ้นมากที่สุดเมื่อหมักกับเห็ดนางรม และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าเมื่อหมักกับเห็ดนางรมและเห็ดหัวลิง (Acosta-Estrada et al., 2019)

อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ตารางที่ 2) พบว่าในทุกการทดลองมีค่า IC_{50} ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่า การหมักแบบอาหารแข็งของเห็ดแครงบนข้าวไรซ์เบอร์รี่ และการเติมกลูโคสและสารสกัดจากยีสต์ไม่ได้ช่วยเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจากผลการทดลองไม่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่พบว่าการหมักแบบอาหารแข็งของเห็ดแครงบนข้าวไรซ์เบอร์รี่ช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดได้เมื่อเทียบกับข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ได้ลงเชื้อ อาจเกิดจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเกิดจากสารในกลุ่มอื่น เช่น โพลีแซคคาไรด์ เป็นต้น

4. บทสรุป

การเลี้ยงเชื้อเห็ดแครงบนข้าวไรซ์เบอร์รี่ โดยการหมักแบบอาหารแข็ง และการเติมกลูโคสและสารสกัดจากยีสต์ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อปริมาณร้อยละของสารสกัดหยาบและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในขณะที่ชนิดของตัวทำละลายมีผลต่อปริมาณร้อยละของสารสกัดหยาบ โดยเมทานอลมีค่าสูงกว่าเอทิลอะซิเตต นอกจากนี้ยังพบว่าแนวโน้มของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่ได้มีทิศทางเดียวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จึงอาจกล่าวได้ว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้เป็นผลมาจากสารในกลุ่มอื่น

เอกสารอ้างอิง

- นฤมล มงคลธนวัฒน์. (2557). เห็ดแครง : เห็ดพื้นบ้านที่มากด้วยคุณค่า. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง*, 23(1), 1-10.
- ประมวล ทราญทอง และ สุนทร เทศกุล. (2565). การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ข้าวไทยเพื่อการผลิตมิริน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 30(1), 38-50.
- มลธิรา ศรีถาวร, พุทธวรรณ วาตะ, จิระดา พรหมลา และสาคร ชินวงศ์. (2562). ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนดอกและส่วนเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทอง. *Veridian E-Journal Science and Technology Silpakorn University*, 6(5), 33-47.

- อาทิตยาพัฒน์ กันนิกา. (2562). การศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงและกระบวนการอบแห้งเพื่อผลิตหัวเชื้อโปรไบโอติกด้วยกากกล้วยเหลือ [วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี]. Intellectual Repository at Rajamangala University of Technology Thanyaburi. <http://www.repository.rmutt.ac.th/xmlui/handle/123456789/3646>
- Acosta-Estrada, B. A., Villela-Castrejón, J., Perez-Carrillo, E., Gómez-Sánchez, C. E., & Gutiérrez-Urib, J. A. (2019). Effects of solid-state fungi fermentation on phenolic content, antioxidant properties and fiber composition of lime cooked maize by-product (nejayote). *Journal of Cereal Science*, 90, 102837. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102837>
- Lizardi-Jiménez, M. A., & Hernández-Martínez, R. (2017). Solid state fermentation (SSF): diversity of applications to valorize waste and biomass. *3 Biotech*, 7, 44. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0692-y>
- Londoño-Hernández, L., García-Gómez, M., Huerta-Ochoa, S., Polanía-Rivera, A. M., Aguilar, C. N., & Prado-Barragán, L. A. (2024). Effect of glucose concentration on the production of proteolytic extract by different strains of *Aspergillus* under solid state fermentation. *Fermentation*, 10, 97. <https://doi.org/10.3390/fermentation10020097>
- Sánchez-García, J., Asensio-Grau, A., García-Hernández, J., Heredia, A., & Andrés, A. (2022). Nutritional and antioxidant changes in lentils and quinoa through fungal solid-state fermentation with *Pleurotus ostreatus*. *Bioresources and Bioprocessing*, 9, 51. <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00542-2>
- Settapramote, N., Utama-ang, N., Petiwathayakorn, T., Settakorn, K., Svasti, S., Srichairatanakool, S., & Koonyosying, P. (2021). Antioxidant effects of anthocyanin-rich Riceberry™ rice flour prepared using dielectric barrier discharge plasma technology on iron-induced oxidative stress in mice. *Molecules*, 26(16), 4978. <https://doi.org/10.3390/molecules26164978>
- Sharma, A., Vivekanand, V., & Singh, P. R. (2008). Solid state fermentation for gluconic acid production from sugarcane molasses by *Aspergillus niger* ARNU-4 employing tea waste as the novel solid support. *Bioresource Technology*, 99(9), 3444-3450. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.006>
- Shin, H. Y., Kim, S. M., Lee, J. H., & Lim, S. T. (2019). Solid state fermentation of black rice bran with *Aspergillus awamori* and *Aspergillus oryzae*. *Food Chemistry*, 272, 235-241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.174>
- Wang, J., Jiang, Q., Huang, Z., Wang, Y., Roubik, H., Yang, K., Cai, M., & Sun, P. (2023). Solid state fermentation of soybean meal with edible mushroom mycelium to improve its nutritional, antioxidant capacities and physicochemical properties. *Fermentation*, 9, 322. <https://doi.org/10.3390/fermentation9040322>
- Xu, L., Guo, S., & Zhang, S. (2018). Effects of solid-state fermentation with three higher fungi on the total phenol contents and antioxidant properties of diverse cereal grains. *FEMS Microbiology Letters*, 365(16), 1-8. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny163>