NU Science Journal 2008; 5(2): 240 - 247

สารกลิ่นจากเห็ดหล่มขาว

สมบัติ โนพิชัย[1]* ยุทธพงษ์ อุดแน่น[2] ปริญญา มาสวัสดิ์[2] และ สุรัตน์ บุญผ่อง[2]

Volatile compounds from *Russula delica* Fr.

Sombat Nopichai[1]*, Yuthapong Udnan[2], Prinya Masawat[2] and Surat Boonphong[2]

[1]ศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

[2]ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

Corresponding author. E-mail: sombatno@nu.ac.th

บทคัดย่อ

ทำการสกัดสารระเหยง่ายจากเห็ดหล่มขาวด้วยเทคนิค headspace solid phase microextraction (HS-SPME) โดยใช้ไฟเบอร์ 2 ชนิด คือ polyacrylate (PA) และ divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) และวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปคโตรมิเตอร์ (GC-MS) พบสารระเหยง่าย จำนวน 8 ชนิด คือ benzaldehyde, 2-amylfuran, benzenemethanol, isoamyl-2-methyl butyrate, benzeneethanol, dihydro-5-pentyl-2(3H)-furanone, ethyl dodecanoate และ ethyl hexadecanoate โดยสารระเหยง่ายหลัก เป็นสารให้กลิ่นหอมของเห็ดหล่มขาวมี 3 ชนิด คือ benzaldehyde, 2-amylfuran และ benzenemethanol

คำสำคัญ: เห็ดหล่มขาว สารระเหยง่าย แก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปคโตรมิเตอร์

Abstract

Volatile compounds were extracted from *Russula delica* Fr. by headspace solid phase microextraction (HS-SPME) with two types of fiber: polyacrylate (PA) and divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) followed by analysis using gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS). It was found that there are eight volatile compounds: benzaldehyde, 2-amylfuran, benzenemethanol, isoamyl-2-methyl butyrate, benzeneethanol, dihydro-5-pentyl-2(3H)-furanone, ethyl dodecanoate and ethyl hexadecanoate. The major volatile

compounds in *R. delica* Fr. are benzaldehyde, 2-amylfuran and benzenemethanol which give pleasant odor.

Keywords: Russula delica Fr., volatile compound, gas chromatography-mass spectrometer

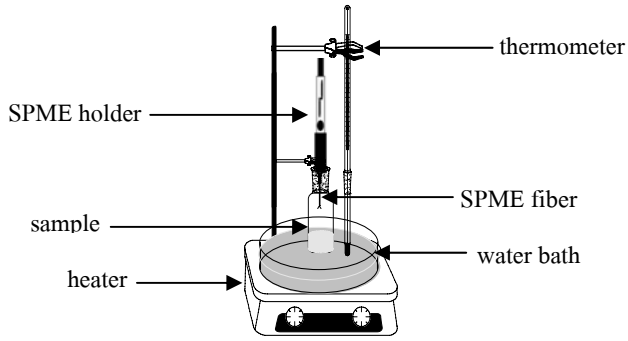
บทนำ

เห็ดหล่มขาว (*Russula delica* Fr.) ชื่ออื่นๆ เรียกว่า เห็ดตะไคล หรือเห็ดไคล เห็ดหล่มขาว มีผู้นิยมรับประทานกันมาก เห็ดหล่มขาวขึ้นในป่าหรือภูเขาเตี้ยๆ บนพื้นดิน โดยเกิดเป็นดอกเดี่ยวๆ แต่พบอยู่เป็นกลุ่มๆ ใกล้ๆ กัน ลักษณะดอกเห็ดหล่มขาวอ่อนมีสีขาวนวล ผิวหมวกเห็ดเรียบ หมวกเห็ดหล่มขาวมีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 3-15 เซนติเมตร ก้านดอกเห็ดหล่มขาวยาวประมาณ 3.5-5.5 เซนติเมตร มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-2 เซนติเมตร ก้านดอกกลมและมีขนาดใหญ่ สปอร์รูปร่างกลมขนาด 7.5 x 7.5 ไมครอน ผิวมีหนามละเอียดโดยรอบและมีสีขาว เห็ดหล่มขาว จัดเป็นเห็ดในสกุล *Russula* ซึ่งมีลักษณะตรงกับเห็ด *R. delica* Fr. เวลาดมดอกเห็ดหล่มขาวสด มีกลิ่นหอม จากการศึกษาข้อมูลคุณค่าอาหารของเห็ด พบว่า เห็ดหล่มขาว มีน้ำเป็นองค์ประกอบ 87.99 กรัม ให้พลังงาน 36.39 แคลลอรี่ ไขมัน 0.32 กรัม คาร์โบไฮเดรต 4.88 กรัม โปรตีน 3.49 กรัม กากอาหาร 1.46 กรัม เถ้า 1.33 กรัม นอกจากนี้ ยังประกอบไปด้วยเกลือแร่และวิตามินหลายชนิด ได้แก่ แคลเซียม 3.98 มิลลิกรัม เหล็ก 2.07 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 59.01 มิลลิกรัม วิตามินบี2 0.64 มิลลิกรัม ไนอะซิน 10.98 มิลลิกรัม และวิตามินซี 1.76 มิลลิกรัม (สุนันท์ พงษ์สามารถ และคณะ, 2526) องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดหล่มขาวพบสารกลุ่มเทอร์พีน คือ stearoyldelicone plorantione A-C และ russulanonol (Clericuzio *et al.*, 1997a; Clericuzio *et al.*, 1997b และ Yaoita *et al.,* 2003) ในสปอร์ของเห็ดหล่มขาวมีกรดไขมันชนิด 9-*cis*-octadecenoic acid (C18:1) 71.6% และมีปริมาณ 9,11-*cis*-octadecenoic acid (C18:2) 14.8% (Brondz *et al.*, 2004) เห็ดหล่มขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยทำการตรวจวัดด้วยเทคนิค DPPH assay IC_{50}= 207.09 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Türkoglu *et al*., 2007) จากการศึกษาข้อมูลยังไม่พบว่ามีการศึกษาสารกลิ่นจากเห็ดหล่มขาว ในการวิจัยเกี่ยวกับสารกลิ่นเทคนิค headspace solid phase microextraction (HS-SPME) ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษา เช่นการศึกษากลิ่นที่คุณลักษณะคล้ายกลิ่นข้าวหอมมะลิในดอกชำมะนาดโดยใช้ HS-SPME จากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าการสกัดแบบ HS-SPME เป็นอีกทางเทคนิคหนึ่งในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อหาสารกลิ่นข้าวหอมมะลิในดอกชำมะนาด (Wongpornchai *et al.*, 2003) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทำการสกัดสารระเหยง่ายในเห็ดหล่มขาวด้วยเทคนิค HS-SPME ซึ่งวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีสารระเหยง่าย เพื่อเป็นข้อมูลในการพัฒนาหรือแปรรูป

ผลิตภัณฑ์อาหาร โดยใช้เห็ดหล่มขาวมาเป็นเครื่องปรุงกลิ่นในอาหาร ซึ่งจะเป็นส่วนที่ช่วยผลักดันและส่งเสริมให้เห็ดหล่มขาวมีมูลค่าสูงขึ้น

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

การสกัดสารระเหยง่ายของเห็ดหล่มขาว ด้วยเทคนิค HP-SPME ใช้ไฟเบอร์สองชนิดคือ PA (Supelco, 85 μm, USA) และ DVB/CAR/PDMS (Supelco, 50/30 μm, USA) และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS (Agilent Technologies, 6890N, USA) ตัวอย่างเห็ดหล่มขาวเก็บในเดือนตุลาคม พ.ศ. 2549 จากตำบลแม่ก๊วะ อำเภอสบปราบ จังหวัดลำปาง โดยนำตัวอย่างเห็ดหล่มขาวที่บานเต็มที่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหมวกเห็ดประมาณ 5-10 เซนติเมตร มาล้างน้ำทำความสะอาด ทำให้เป็นชิ้นเล็กๆ ปริมาณ 100 กรัม ใส่ในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นจัดอุปกรณ์ในการสกัดแบบ HS-SPME ดังรูป 1 ให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สกัดด้วยไฟเบอร์ชนิด polyacrylate (PA) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปฉีดที่เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปคโตรมิเตอร์ โดยใช้เวลา 10 นาที ในการไล่สารออกจากไฟเบอร์ ใช้อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส จากนั้นสกัดด้วยไฟเบอร์ชนิด DVB/CAR/PDMS โดยวิธีการและสภาวะในการทดลองเหมือนกัน



รูป 1 การจัดตั้งอุปกรณ์ในการเตรียมตัวอย่างแบบ HS-SPME

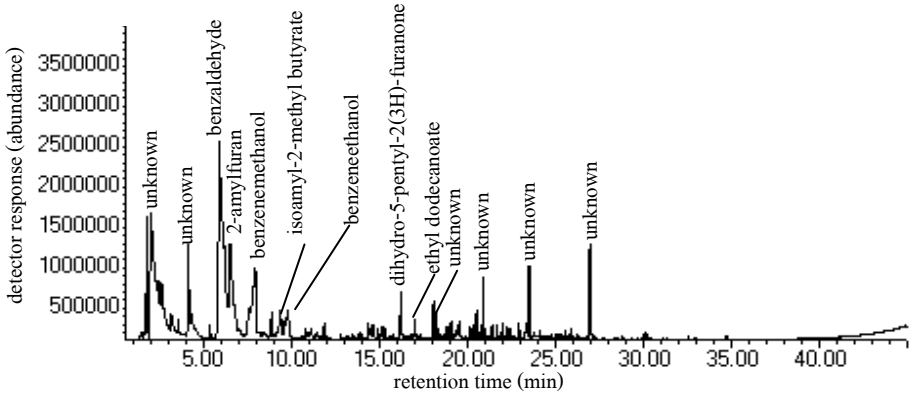
สภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปคโตรมิเตอร์

ชนิดของแก๊สที่ใช้เป็นตัวพา คือ ฮีเลียม (99.999%, TIG, Thailand) อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ชนิดของคอลัมน์ที่ใช้ คือ HP-5MS (30 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร i.d. x 0.25 ไมโครเมตร, Agilent Technologies, USA) อุณหภูมิของคอลัมน์ เริ่มต้นที่ 60 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 280 องศาเซลเซียส อุณหภูมิบริเวณที่ฉีดตัวอย่างของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิบริเวณระหว่าง เครื่องแก๊ส

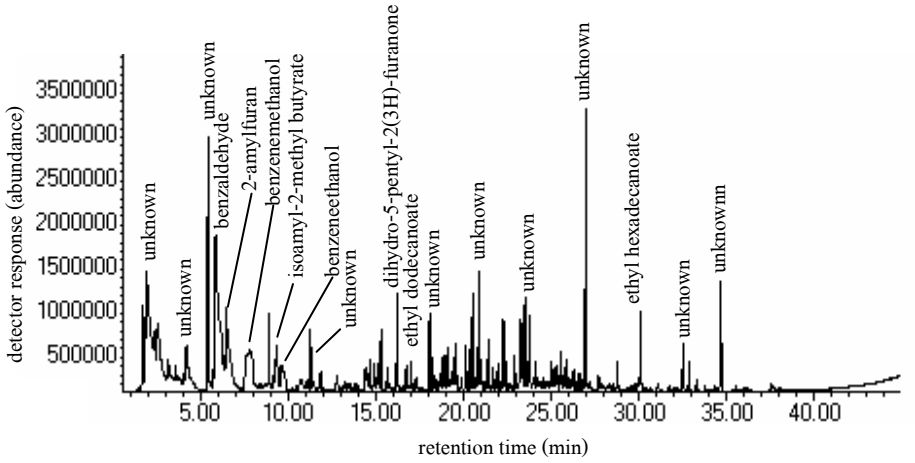
โครมาโตกราฟีกับแมสสเปคโตรมิเตอร์ (interface) 280 องศาเซลเซียส ในส่วนของแมสสเปคโตรมิเตอร์ อุณหภูมิแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอน (ion source) 230 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิส่วนคัดแยกไอออน (quadrupole) 150 องศาเซลเซียส ใช้พลังงานของอิเล็กตรอนที่จะไปชนกับโมเลกุลของสาร 70 อิเล็กตรอนโวลต์ ช่วงของขนาดโมเลกุลที่วิเคราะห์ คือ 50-500 อะตอมแมสยูนิค (atom mass unit; amu) โดยจะนำข้อมูลของแมสเฟคเมนท์ (mass fragments) มาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของ Wiley (scientific instrument services, version 7, USA) โดยจะวิเคราะห์เฉพาะที่มีความเชื่อมั่นที่ไม่น้อยกว่า 90% เมื่อเทียบกับฐานข้อมูล และหาค่า Kovats retention index (KI) กับสารอัลเคนมาตรฐาน (C8-C20, Fluka, Switzerland) เพื่อเป็นยืนยันชนิดสารอีกครั้งหนึ่ง โดยจะเปรียบเทียบกับค่า KI ของสารนั้นๆ ที่ได้มีการรายงานในหนังสือ (Adams, 2001) และ งานวิจัย (Pino *et al.*, 2005)

ผลการทดลองและวิจารณ์

องค์ประกอบของเห็ดหล่มขาว โดยการเตรียมตัวอย่างแบบ HS-SPME ได้ผลดังรูป 2 และ รูป 3



รูป 2 โครมาโทแกรมของสารระเหยที่สามารถตรวจพบเมื่อใช้ไฟเบอร์ชนิด PA



รูป 3 โครมาโทแกรมของสารระเหยที่สามารถตรวจพบเมื่อใช้ไฟเบอร์ชนิด DVB/CAR/PDMS

พบว่าไฟเบอร์ชนิด CAR/DVB/PDMS สามารถจับสารได้หลากหลายกว่าชนิด PA และจากผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS พบว่าสารที่วิเคราะห์สามารถจำแนกเป็นกลุ่ม ๆ ได้ 4 กลุ่ม คือ สารกลุ่มอัลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ เอสเทอร์ และ ฟูแรน ซึ่งประกอบด้วยสารทั้งหมด 8 ชนิดที่สามารถบ่งบอกถึงองค์ประกอบเคมีได้ คือ benzaldehyde, 2-amylfuran, benzenemethanol, isoamyl-2-methyl butyrate, benzeneethanol, dihydro-5-pentyl-2(3H)-furanone, ethyl dodecanoate และ ethyl hexadecanoate และ เมื่อดูผลของ KI ของสารแต่ละตัว พบว่าค่า KI ที่ได้จากการทดลองของสารแต่ละตัวจะมีค่า KI สอดคล้องกับค่า KI ที่มีการรายงานมาก่อน โดยค่า KI จากการทดลองจะมีค่าต่ำกว่าคาดว่าเป็นผลอันเนื่องจากการฉีดสารตัวอย่างที่แตกต่างกัน กล่าวคือ สารมาตรฐานวิเคราะห์โดยใช้ระบบการฉีดสารอัตโนมัติของเครื่อง แต่เนื่องจากการเตรียมตัวอย่างแบบ SPME ไม่สามารถฉีดสารแบบอัตโนมัติได้ จึงต้องทำการฉีดสารตัวอย่างด้วยผู้ปฏิบัติการ ทำให้ความเร็วของการฉีดสารช้ากว่าแบบระบบการฉีดสารอัตโนมัติ ซึ่งค่า KI ที่มีงานวิจัยได้ยอมรับ $\pm$ 1 % (Szafranek *et al*., 2001)

ตาราง 1 สารระเหยง่ายในเห็ดหล่มขาวที่ตรวจพบจากการใช้เทคนิค HS-SPME GC-MS

R_t(min)	[a]$KI_{cal.}$	$KI_{ref.}$	ชื่อสาร	พื้นที่ใต้กราฟสัมพันธ์ (%)	
				PA	DVB/CAR/PDMS
5.76	966	960[b]	benzaldehyde	28.49	14.01
6.53	997	992[c]	2-amylfuran	6.83	6.91
7.96	1044	1032[b]	benzenemethanol	9.59	4.79
9.34	1110	1103[b]	isoamyl-2-methyl butyrate	1.12	1.62
9.82	1121	1107[b]	benzeneethanol	2.33	1.87
16.21	1369	1361[b]	dihydro-5-pentyl-2(3H)-furanone	1.82	1.85
16.98	1397	1396[b]	ethyl dodecanoate	0.34	0.47
30.12	1995	1993[b]	ethyl hexadecanoate	-	1.31

[a]KI = Kováts' retention index

(สำหรับ *n*-nonane (R_t = 2.91 min) และ *n*-eicosane (R_t = 33.22 min) โดยใช้คอลัมน์ชนิด HP-5 MS)

[b](Adams, 2001)

[c](Pino *et al.*, 2005)

จากตาราง 1 พบว่า สารระเหยจากเห็ดหล่มขาวว่ามีสาร 3 ชนิดที่มีปริมาณมากที่สุดได้แก่ benzaldehyde (mass fragment 51(29), 77(86), 105(97) และ106(100) m/z), 2-amylfuran (mass fragment 41(6), 53(12), 81(100), 82(24), 95(6) และ138(21) m/z) และ benzenemethanol (mass fragment 51(20), 77(60), 79(100), 91(27), 107(67) และ 108(95) m/z) พบว่าเปอร์เซ็นต์ของสาร benzenemethanol ที่ได้จากการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปคโตรเมตรี โดยใช้ไฟเบอร์ชนิด PA จะมีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าที่เตรียมโดยไฟเบอร์ชนิด CAR/DVB/PDMS คาดว่า benzenemethanol สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน กับไฟเบอร์ชนิด PA ดังนั้นจึงสามารถเกาะจับได้ดีกว่า 2-amylfuran และจากรายงานการวิจัยไฟเบอร์ชนิด PA เหมาะสำหรับในการสกัดสารประเภทฟีนอล (Alpendurada, 2000)

ในการสืบค้นคุณสมบัติทั่วไปของสารระเหยง่ายทั้งสามชนิดพบว่าจะมีกลิ่นเฉพาะตัว โดย benzaldehyde จะมีกลิ่นเหมือนอัลมอลด์ (Benzaldehyde, 2008) 2-amylfuran มีกลิ่นผลไม้ (2-pentylfuran, 2008) และ benzenemethanol (Material safety data sheet benzyl alcohol MSDS, 2008) มีกลิ่นหวานเบาๆ กลิ่นของสารดังกล่าวนั้นเป็นกลิ่นที่ดี จากรายงานการวิจัย สาร benzaldehyde และ benzenemethanol ตรวจพบในผลของพืชกลุ่มเสาวรส (Jordán *et al.*, 2000) ส่วนสาร 2-amylfuran

ตรวจพบในมะม่วง (Pino *et al.*, 2005) ข้อมูลดังกล่าวสนับสนุนข้อมูลของเห็ดหล่มขาวที่มีกลิ่นหอม ชาวบ้านจึงนิยมนำเห็ดมารับประทาน

สรุปผลการทดลอง

สารระเหยง่ายในเห็ดหล่มขาวที่สามารถวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค HS-SPME GC-MS นั้นมีทั้งหมด 8 ชนิด คือ benzaldehyde, 2-amylfuran, benzenemethanol, isoamyl-2-methyl butyrate, benzeneethanol, dihydro-5-pentyl-2(3H)-furanone, ethyl dodecanoate และ ethyl hexadecanoate สารระเหยง่ายหลักของเห็ดหล่มขาวคือ benzaldehyde, 2-amylfuran และ benzenemethanol กลิ่นที่ให้จะเป็นกลิ่นหอม การวิเคราะห์สารระเหยง่ายของเห็ดหล่มขาวจึงเป็นข้อมูลสนับสนุนในการเรื่องกลิ่นของเห็ดหล่มขาวที่ชาวบ้านนิยมรับประทาน

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่สนับสนุนงบประมาณการวิจัยประจำปี 2550 และขอบคุณศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ขั้นสูงในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

สุนันท์ พงษ์สามารถ, สุรางค์ อัศวมั่นคง, ปิยวรรณ สุรินทร์รัฐ, ลำดวน เศวตมาลย์, ธิติรัตน์ ปานม่วง, จงดี ว่องพินัยรัตน์, นรานินทร์ มารคแมน, พันธุ์ทวี ภักดีดินแดน และ ประเสริฐ วุฒิคัมภีร์. (2526). การสำรวจคุณค่าอาหารของเห็ด. ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Adams, P. R. (2001). *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. Wheaton: Allured Publishing.

Alpendurada, M. F. (2000). Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*., *889*, 3–14

Brondz, I., Hoiland, K. and Ekeberg, D. (2004). Multivariate analysis of fatty acids in spores of higher basidiomycetes: a new method for chemotaxonomical classification of fungi. *Journal of chromatography B*., *800*(1), 303-307.

Benzaldehyde. (2008). Retrieved July 22, 2008, from http://en.wikipedia.org/wiki/Benzaldehyde

Clericuzio, M., Pan, F., Han, F., Pangb, Z. and Sterner, O. (1997a). Stearoyldelicone an unstable protoilludane sesquiterpenoid from intact fruit bodies of *Russula delica*. *Tetrahedron Letters, 38* (47), 8237-8240.

Clericuzio, M., Pan, F., Han, F., Pangb, Z. and Sterner, O. (1997b). Structure and absolute configuration of protoilludane sesquiterpenes from *Russula delica*. *Tetrahedron Letters*, *53*(28), 9753-9740.

Jordán, M. J., Goodner, K. L. and Shaw, P. E. (2000). Volatile components in tropical fruit essences: yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims F. *Flavicarpa degner*) and banana (*Musa sapientum* L.) *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, *113*, 284-286.

Material Safety Data Sheet Benzyl alcohol MSDS. (2008). Retrieved July 22, 2008, from http:// www.sciencelab.com /xMSDS-Benzyl_alcohol-9927099. *2-pentyl furan*. (2008). Retrieved July 22, 2008, from http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1028621.

Pino, A. J., Mesa, J., Mun, Y., Martia, P. M. and Marbot, R. (2005). Volatile Components from Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars. *Journal of Agriculture and Food Chemistry, 53*(6), 2213-2223.

Szafranek, B., Maliñski, E., Nawrot, J., Sosnowska, D., Ruszkowska, M., Pihlaja, K., Trumpakaj, Z. and Szafranek, J. (2001). In Vitro effects of cuticular lipids of the aphids *Sitobion avenae, Hyalopterus pruni* and *Brevicoryne brassicae* on growth and sporulation of the *Paecilomyces fumosoroseus* and *Beauveria bassiana*. *Archive for Organic Chemistry, 3*, 81-94.

Türkoglu, A., Duru, M. E. and Mercan, N. (2007). Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Russula delica* Fr.: An Edidle Wild Mushroom. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, *2*(1), 54-66.

Wongpornchai, S., Sriseadka, T. and Choonvisase, S. (2003). Identification and Quantitation of the Rice Aroma Compound, 2-acetyl-1-pyrrolin, in Bread flowers (*Vallaris glabra* Ktze.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *51*(2), 457-462.

Yaoita, Y., Ono, H. and Kikuchi, M. (2003). A New Norsesquiterpenoid from *Russula delica* Fr. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, *51*(8), 1003-1005.