

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์ และแทนนินจากสารสกัดหยาบของ เห็ดผึ้งทามและเห็ดผึ้งชมด้วยตัวทำละลายหลายชนิด

Antioxidant Activity, Total Phenolic, Flavonoid, and Tannin Contents from *Phlebopus colossus* (R.Heim) Singer and *Boletus griseipurpureus* Corner Crude Extract with Various Solvents

ดร.ขวัญเรือน นาคสุวรรณกุล (Dr.Khwanyuruan Naksuwankul)^{1*} นุจรี ชำนาญทัฬห (Nucharee Chamnantap)**

อารีรัตน์ ไส่สอง (Areerat Saisong)** กฤษฎา จำปาทาสี (Kritsada Champatasi)**

(Received: January 27, 2022; Revised: March 31, 2022; Accepted: March 31, 2022)

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์ และแทนนินจากสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งทาม (*Phlebopus colossus* (R. Heim) Singer) และเห็ดผึ้งชม (*Boletus griseipurpureus* Corner) ที่หมักด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เมทานอล เอทานอลร้อยละ 95 และต้มด้วยน้ำร้อน 1 ชั่วโมง ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP พบว่าสารสกัดหยาบจากน้ำร้อนของเห็ดผึ้งชมมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดวิธี DPPH มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.09 ± 0.04 mg/mL ส่วนวิธี ABTS คือ สารสกัดหยาบจากน้ำร้อนของเห็ดผึ้งทาม มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.03 ± 0.03 mg/mL ส่วนวิธี FRAP คือ สารสกัดหยาบจากเอทานอลของเห็ดผึ้งชม มีค่า FRAP value เท่ากับ 3608.89 ± 120.68 mg $FeSO_4$ /g extract การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวมและ ฟลาโวนอยด์พบว่าสารสกัดหยาบจากเอทานอลของเห็ดผึ้งทามมีปริมาณสูงที่สุดเท่ากับ 34.00 ± 0.17 mg GAE/g extract และ 316.62 ± 6.16 mg QE /g extract ส่วนสารประกอบแทนนินสูงที่สุดในสารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อนของเห็ดผึ้งชม มีค่าเท่ากับ 14.73 ± 0.34 mg Tannic /g extract สารประกอบฟีนอลิกที่พบในสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งทั้งสองชนิดมีปริมาณที่ต่างกันแต่แสดงผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี

ABSTRACT

This study aims to evaluate antioxidant activity, to analyze total phenolic, flavonoid, and tannin contents from a crude extract of *Phlebopus colossus* (R. Heim) Singer and *Boletus griseipurpureus* Corner. The crude extracts were maceration with 2 solvents such as methanol, 95% ethanol, and with boiling water for 1 hr. The results showed higher antioxidant activities by DPPH assay with $IC_{50} = 0.09 \pm 0.04$ mg/mL from boiling water crude extract of *B. griseipurpureus*, ABTS assay showed higher from boiling water crude extract of *P. colossus* with $IC_{50} = 1.03 \pm 0.03$ mg/mL, while FRAP assay was found higher FRAP value = 3608.89 ± 120.68 mg $FeSO_4$ /g extract from an ethanolic crude extract of *B. griseipurpureus*. Total phenolic and flavonoid contents were showed the highest value from an ethanolic crude extract from *P. colossus* at 34.00 ± 0.17 mg GAE/g extract and 316.62 ± 6.16 mg QE /g extract. Whereas, tannin content was found higher from *B. griseipurpureus* with boiling water extract at 14.73 ± 0.34 mg Tannic /g extract. While, polyphenol content from boletes mushroom crude extract was found amount different, but show high valuable antioxidant properties.

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เห็ดผึ้ง พอลิฟีนอล

Keywords: Antioxidant, Boletes mushroom, Polyphenol

¹Corresponding author: khwanruan.p@msu.ac.th

*รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยาและหน่วยวิจัยเห็ดและไลเคนส์เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

**นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

บทนำ

เห็ดผึ้ง เห็ดตับเต่าหรือเห็ดโบลีท (Boletes mushroom) เป็นกลุ่มเห็ดที่จัดจำแนกอยู่ในวงศ์ Boletaceae ไฟลัมเบสิดีโอไมโคตา (Phylum Basidiomycota) ในอาณาจักรเห็ดรา (Kingdom Fungi) ส่วนใหญ่เห็ดกลุ่มนี้เป็นเห็ดรับประทานได้ มีบางชนิดเป็นพิษ พบเจริญในฤดูฝนในป่าสน ป่าเต็งรัง ป่าโคก และป่าสาธารณะในชุมชน ชาวบ้านมักเก็บมาจำหน่ายในฤดูฝนในตลาดชุมชน [1] เห็ดผึ้งเป็นเห็ดกลุ่มไมคอร์ไรซาที่เจริญแบบพึ่งพาอาศัยกับรากของต้นไม้ พบเจริญได้ในทุกภาคของประเทศไทย เห็ดผึ้งมีรูปร่างหมวกเห็ดคล้ายรูปร่ม ได้หมวกเห็ดมีรูพรุนคล้ายฟองน้ำ สร้างสปอร์ในรูได้ หมวกเห็ด บางชนิดเมื่อเป็นรอยหรือฉีกขาดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาล [2] แต่บางชนิดมีครีบได้หมวกเห็ด เช่น เห็ดผึ้งครีบ เห็ดผึ้งเป็นเห็ดกลุ่มหนึ่งที่นิยมรับประทานโดยการ ต้ม แกลบ นึ่ง ผัด และอีกหลากหลายวิธีในการปรุงอาหาร ขึ้นอยู่กับท้องถิ่นนั้น ๆ

เห็ดผึ้งทาม (*Phlebopus colossus* (R. Heim) Singer) หรือชื่ออื่น เห็ดตับเต่าทาม เห็ดตับเต่าดำ เห็ดน้ำผึ้ง หมวกเห็ดมีสีน้ำตาล รูปร่างคล้าย มีลักษณะแข็งและหนา ดอกอ่อนมีขนละเอียดคล้ายกำมะหยี่สีน้ำตาล เมื่อดอกเห็ดบานเต็มที กลางหมวกเว้าเล็กน้อย ผิวสีน้ำตาลเข้มอมเหลืองอ่อน รูได้หมวกเห็ดมีรูปร่างกลมเล็ก ๆ สีเหลือง เนื้อเห็ดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียวหม่นและเขียวหม่นอมน้ำตาล ผิวหมวกเห็ดจะมีลักษณะลื่นเมื่อได้รับความชื้นหรือเปียกน้ำ ก้านดอกเห็ดอวบใหญ่สีน้ำตาลอมเหลือง โคนใหญ่กว่าส่วนปลาย เมื่อตัดหรือฉีกขาดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมเขียว เบลีเดียมรูประบอง ขนาด 10-12 x 6-7.5 ไมโครเมตร เบสิดีโอสปอร์สีน้ำตาลอ่อน รูปร่างค่อนข้างกลม ผิวเรียบ ขนาด 6-7.5 x 5-7 ไมโครเมตร (ภาพที่ 1 ก-ข) แหล่งที่พบพบตามโคนต้นไม้ใหญ่ในป่าดิบแล้ง ป่าเต็งรัง ป่าโคก และป่าเบญจพรรณในฤดูฝน [3] การใช้ประโยชน์จากเห็ดตามภูมิปัญญาหมอพื้นบ้าน [4] นอกจากเป็นอาหารชาวบ้านทางภาคอีสานนิยมนำมาทำให้แห้งแล้วต้มดื่ม แก้โรคทางเดินอาหาร เช่น กระเพาะอาหารอักเสบ แก้ไข้ บำรุงตับ บำรุงร่างกาย ป้องกันมะเร็งได้ เห็ดเป็นอาหารที่มีสารอาหารที่สำคัญหลายชนิด เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโน เส้นใย วิตามิน เกลือแร่ เป็นต้น [5] นอกจากนี้ยังพบรายงานว่าเห็ดมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย ที่มีคุณด้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง ป้องกันภาวะไขมันในเลือดสูง ลดระดับน้ำตาลในเลือด ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกัน มีฤทธิ์ยับยั้งสารพิษ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น [6]

เห็ดผึ้งขม (*Boletus griseipurpureus* Comer) หรือชื่ออื่น เห็ดเสม็ด เห็ดยูคา หมวกเห็ดเป็นทรงร่ม รูปร่างโค้งนูนคล้ายรูปกระโถน ดอกอ่อนมีขนละเอียดคล้ายกำมะหยี่ปกคลุม มีสีเทาอมม่วงหรือสีม่วงอ่อน เมื่อกุดหรือฉีกขาดจะไม่เปลี่ยนสี รูได้หมวกเห็ดมีขนาดเล็ก สีขาวนวล เมื่อดอกบานเต็มทีรูจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนอมน้ำตาล ก้านดอกมีสีเทาอมม่วงเหมือนสีของหมวกเห็ด เนื้อเยื่อสีขาว โคนมีลักษณะป่องเป็นกระเปาะ เบลีเดียมรูปร่างกระบองขนาด 24-40 x 8-10 ไมโครเมตร เบสิดีโอสปอร์ รูปร่างทรงกระบอก สีชมพูอมน้ำตาลอ่อน ผิวเรียบ ขนาด 3-4 x 7-10 ไมโครเมตร (ภาพที่ 1 ค-ง) แหล่งที่พบ บนพื้นดินในป่าดิบแล้ง ป่าเต็งรัง ป่าโคก สวนป่ากระถินเทพา สวนป่ายูคาลิปตัส และป่าเบญจพรรณในฤดูฝน [3] การใช้ประโยชน์จากเห็ดตามภูมิปัญญาหมอพื้นบ้าน [7] เป็นเห็ดที่ชาวบ้านรัฐเกแลนด์ ประเทศมาเลเซียใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน มะเร็งปากมดลูก และมะเร็งเต้านม

จากคุณสมบัติของเห็ดที่กล่าวมาข้างต้นทำให้เห็ดผึ้งขม และเห็ดผึ้งทามเป็นเห็ดที่น่าสนใจสำหรับทำการศึกษา ด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน ซึ่งเป็นสารกลุ่มพอลิฟีนอลที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดี [8] โดยการศึกษาครั้งนี้ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม และแทนนิน ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu phenol method และวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminium Chloride Colorimetric จากเห็ดผึ้งขม และเห็ดผึ้งทามที่ซื้อจากตลาดชุมชนอำเภอวาปี จังหวัดมหาสารคาม



ภาพที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเห็ด ก. เห็ดผึ้งทาม (*Phlebopus colossus* (R. Heim) Singer) หมวกเห็ดรูปกระทะคว่ำ ก้านดอกเห็ดโคนโป่งพองออก รูใต้หมวกเห็ดมีสีเหลืองเข้ม ข. เห็ดผึ้งทามเมื่อผ่าดอกเห็ดเนื้อเห็ดมีสีเหลือง ค. เห็ดผึ้งชม (*Boletus griseipurpureus* Corner) หมวกดอกเห็ดรูปกระทะคว่ำ ก้านดอกเห็ดมีสีม่วง โคนก้านดอกโค้งงอเล็กน้อย รูใต้หมวกเห็ดสีชมพูอ่อน และ ง. เห็ดผึ้งชมเมื่อผ่าดอกเห็ดเนื้อเห็ดมีสีขาว

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งทาม และเห็ดผึ้งชม ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP
2. เพื่อวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์ และแทนนินในสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งทาม และเห็ดผึ้งชม

วิธีการวิจัย

1. ตัวอย่างเห็ดผึ้งทาม และเห็ดผึ้งชม

เห็ดเห็ดผึ้งทาม และเห็ดผึ้งชมซื้อจากตลาดชุมชนในอำเภอลำปาง จังหวัดมหาสารคาม ในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2563 และนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โครงสร้างภายในของเส้นใย และเบสิดิออสปอร์ เพื่อเปรียบเทียบลักษณะที่สำคัญของเห็ดทั้ง 2 ชนิด เทียบกับเอกสารอ้างอิงที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ และหนังสือที่เขียนรายละเอียดของเห็ดทั้งสองชนิด [1-2, 4-5, 9-11] เก็บรักษาตัวอย่างอ้างอิงไว้ในพิพิธภัณฑ์เห็ดที่มีฤทธิ์ทางยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

2. การเตรียมสารสกัดเห็ดผึ้งทาม และเห็ดผึ้งชม

นำตัวอย่างเห็ดทั้งสองชนิดล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก และนำไปอบให้แห้งในตู้อบด้วยอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการสกัดแบบหมัก (maceration) ด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เมทานอล และเอทานอลร้อยละ 95 โดยนำเห็ดที่อบแห้งแล้วซึ่งชนิดละ 10 กรัม จำนวน 3 ครั้ง นำไปใส่ในขวดแก้วและเติมเมทานอล ปริมาตร 300 มิลลิลิตร และอีกขวดใส่เอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้สนิทและตั้งทิ้งไว้ที่

อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองเก็บสารละลายด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 กรอกในขวดที่เหลือเดิมตัวทำละลาย และทำซ้ำเหมือนเดิมอีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้ทั้ง 3 ครั้งมารวมกัน เติมน้ำที่ขุ่นแล้วอีกหนึ่งส่วนนำไปสกัดแบบต้มด้วยน้ำ (boiling water) นำให้ตอบแห้งใส่ในเหยือกสแตนเลสเติมน้ำกลั่นปริมาตร 300 มิลลิลิตร นำไปต้มบน hotplate โดยให้น้ำเดือดที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองเก็บสารละลายด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 กรอกที่เหลือน้ำไปต้มกับน้ำกลั่นและทำซ้ำเหมือนเดิมอีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้ทั้ง 3 ครั้งมารวมกัน สารละลายทั้ง 3 ครั้งนี้รวมกันในทั้ง 3 สารละลายนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ยี่ห้อ IKA รุ่น RV 8 จากนั้นเก็บไว้ในขวดเก็บสารและนำไปแช่ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จากนั้นทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer และเก็บสารสกัดหยาบในขวดปิดมิดชิดเพื่อนำไปทดสอบต่อไป

$$\text{ร้อยละของผลผลิต} = \left[\frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังการสกัด}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้งก่อนการสกัด}} \times 100 \right]$$

3. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ดัดแปลงวิธีของ Wannawet และ Thiangphet) [12] เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 mM ในเอทานอลปริมาตร 200 มิลลิลิตร และเตรียมสารสกัดหยาบตัวอย่างแห้งที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ในเอทานอล ปิเปตมา 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม DPPH ลงไปในสารละลายที่เตรียมไว้ 3 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 514 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer สารมาตรฐาน ascorbic acid คำนวณหาร้อยละ radical scavenging activity จากสมการ

$$\text{ค่าร้อยละ radical scavenging activity} = \left[\frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100 \right]$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

3.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (ดัดแปลงวิธีของ Lertcanawanichakul และคณะ) [13] เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 mM และสารละลาย Potassium persulfate ความเข้มข้น 2.45 mM ผสมกันด้วยอัตราส่วน 1:2 บ่มทิ้งไว้ 12-16 ชั่วโมง (stock solution) เตรียมสารสกัดหยาบของแห้งทั้งสองชนิดความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายที่สกัดตัวอย่างแล้วปิเปตมาปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงใน 96 well microtiter plate จากนั้นปิเปตสารละลาย stock solution ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ผสมลงไปในสารสกัดแห้งที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader สารมาตรฐาน Trolox คำนวณหาร้อยละ radical scavenging activity จากสมการ

$$\text{ค่าร้อยละ radical scavenging activity} = \left[\frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100 \right]$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS

3.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (ดัดแปลงวิธีของ Lertcanawanichakul และคณะ) [13] เตรียมสารละลาย FRAP reagent จาก Acetate buffer pH 3.6 ความเข้มข้น 300 mM ผสมกับ Ferric chloride solution ความเข้มข้น 20 mM และ 2,4,6-tri-2-pyridyl-2-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 mM ผสมในอัตราส่วน 10:1:1 แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที เตรียมสารสกัดหยาบของแห้งทั้งสองชนิดความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายที่สกัดตัวอย่างเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง และเติม FRAP reagent 1 มิลลิลิตร ทุกหลอด บ่มทิ้งไว้เป็นเวลา

4 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer สารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO_4) จากนั้นคำนวณหาค่า FRAP value ($n=3$) เทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน

4. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu phenol method

วิธีการทดสอบสารประกอบฟีนอลิกรวม (ดัดแปลงจากวิธีของ Rattana และ Sungthong) [14] เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 7.5 เตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent เข้มข้นร้อยละ 10 เตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0.002, 0.004, 0.006, 0.008, 0.010, 0.012, 0.014, 0.016 และ 0.018 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทำได้โดยปิเปตสารละลายปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ที่เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายผสมกันตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 740 นาโนเมตร (A_{740}) ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยนำค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid มาเขียนกราฟมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบของเห็ดต่อไป การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งตาม และเห็ดผึ้งชมโดยเตรียมสารละลายตัวอย่างเห็ดผึ้งความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำสารละลายมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0.1, 0.2 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทำได้โดยปิเปตสารละลายมา 1 มิลลิลิตร ทำตามขั้นตอนเหมือนกับสารมาตรฐาน Gallic acid ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

5. การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminium Chloride Colorimetric

วิธีการทดสอบดัดแปลงจากวิธีของ Daupor และคณะ [15] เตรียมเตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2 เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปิเปตปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเป็น 0.005, 0.010, 0.020, 0.040 และ 0.080 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมอะลูมิเนียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยนำค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินมาเขียนกราฟมาตรฐานและหาค่าความชันเพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบของเห็ดต่อไป การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดตัวอย่างเห็ดผึ้ง นำสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำสารละลายมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเป็น 0.1, 0.2 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร และทำวิธีเหมือนกับสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

6. การหาปริมาณสารประกอบแทนนินด้วยวิธี Folin-Ciocalteu phenol method

วิธีการทดสอบดัดแปลงจากวิธีของ Cham และคณะ [16] เตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7 เตรียมสารละลายมาตรฐาน Tannic acid ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร นำสารละลายมาตรฐาน Tannic acid มาเจือจางด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้นเป็น 0, 0.040, 0.080, 0.120, 0.160 และ 0.200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปในการละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้ 2.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปในสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent เข้มข้นร้อยละ 10 และเติมโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 7 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้สารผสมกัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30

นาที่ แล้วนำไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในช่วงความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย เขียนกราฟมาตรฐานและหาค่าความชันเพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณแทนนิน การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบของเห็ดทั้งสองชนิด นำสารสกัดตัวอย่างมาตัวอย่างละ 0.01 กรัม มาละลายด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่เตรียมได้มาเจือจางด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดให้มีความเข้มข้นเป็น 0, 0.4, 0.8 และ 1.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตปริมาตร 0.2 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นทำวิธีเหมือนกับการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Tannic acid ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

7. สถิติสำหรับวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติพื้นฐาน ได้แก่ การหาร้อยละ (%) การหาค่าเฉลี่ย (mean) การหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel และคำนวณค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้ One-way ANOVA ในโปรแกรม SPSS version 26 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

ผลการวิจัย

1. ปริมาณร้อยละของผลผลิต (% yield) ของสารสกัดหยาบเห็ดผึ้งตาม และเห็ดผึ้งขม

จากการสกัดด้วยวิธีการหมักด้วยเมทานอล เอทานอลร้อยละ 95 และต้มด้วยน้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งตาม มีปริมาณร้อยละของผลผลิตจากทุกตัวทำละลายมากกว่าสารสกัดหยาบจากเห็ดผึ้งขม โดยพบว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนมีปริมาณร้อยละของผลผลิตมากที่สุดเท่ากับ 32.04 ร้อยละ คือ สารสกัดด้วยเมทานอล และสารสกัดด้วยเอทานอล ตามลำดับ สารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งขมเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดทั้ง 3 แบบ พบปริมาณร้อยละของผลผลิตในการทำนองเดียวกับสารสกัดจากเห็ดผึ้งตาม คือ มีปริมาณร้อยละของผลผลิตมากที่สุดในการสกัดด้วยน้ำร้อนเช่นกัน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ปริมาณร้อยละของผลผลิต (% yield) ของสารสกัดเห็ดผึ้งด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ชนิดของเห็ด	ตัวทำละลาย	วิธีการสกัด	ลักษณะของตัวอย่าง	ร้อยละของผลผลิต
เห็ดผึ้งตาม	เมทานอล	หมัก	สารสกัดชั้นหนืดสีน้ำตาลดำ	30.32
	เอทานอลร้อยละ 95	หมัก	สารสกัดชั้นหนืดสีน้ำตาลเหลือง	13.08
	น้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส	ต้ม	สารสกัดชั้นหนืดสีดำ	32.04
เห็ดผึ้งขม	เมทานอล	หมัก	สารสกัดชั้นหนืดสีน้ำตาล	24.53
	เอทานอลร้อยละ 95	หมัก	สารสกัดชั้นหนืดสีน้ำตาลส้ม	6.69
	น้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส	ต้ม	สารสกัดชั้นหนืดสีน้ำตาลดำ	28.23

2. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid (มีค่า $IC_{50} = 0.02$ mg/mL) พบว่าสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งขมที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่า $IC_{50} = 0.09 \pm 0.04$ mg/mL รองลงมาคือเมทานอล และเอทานอลร้อยละ 95 ตามลำดับ เช่นเดียวกับสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งตาม

พบว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดถัดมา คือ สารสกัดด้วยเมทานอล และเอทานอลร้อยละ 95 (ตารางที่ 2) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งขมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่า และเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐาน ascorbic acid พบว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนของเห็ดผึ้งขมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐาน 4.5 เท่า ส่วนเห็ดผึ้งขมมีค่าน้อยกว่าสารมาตรฐาน 24.5 เท่า

2.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า ผลการทดสอบคล้ายกับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH คือ สารสกัดด้วยน้ำร้อนของเห็ดทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดด้วยเมทานอล และเอทานอลร้อยละ 95 ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบของเห็ดทั้งสองชนิดพบว่า สารสกัดหยาบเห็ดผึ้งขมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดหยาบจากเห็ดผึ้งขมเล็กน้อย (ตารางที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐาน ascorbic acid ให้ผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่า 51.5 เท่า (เห็ดผึ้งขม) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่า 58.5 เท่า (เห็ดผึ้งขม)

2.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ของสารสกัดเห็ด รายงานเป็นค่า FRAP value ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเฟอร์รัสซัลเฟตต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (mg ferrous sulfate equivalents, mg FeSO₄/g extract) พบว่าสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งขมที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดด้วยเมทานอล และน้ำร้อน (ตารางที่ 2) ส่วนสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งขมที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเช่นกัน

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเห็ดผึ้งขม และเห็ดผึ้งขม ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP

ชนิดเห็ด/ตัวทำละลาย	DPPH (IC ₅₀ mg/mL)	ABTS (IC ₅₀ mg/mL)	FRAP (mg FeSO ₄ /g extract)
เห็ดผึ้งขม			
เมทานอล	2.31±0.06 ^c	1.27±0.03 ^c	1843.24±135.554 ^e
เอทานอลร้อยละ 95	2.68±0.15 ^e	1.41±0.04 ^d	2131.57±76.19 ^c
น้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส	0.49±0.08 ^b	1.03±0.03 ^a	397.69±9.8 ^b
เห็ดผึ้งขม			
เมทานอล	2.32±0.03 ^d	1.45±0.03 ^e	2330.02±49.43 ^d
เอทานอลร้อยละ 95	2.90±0.05 ^f	1.52±0.01 ^f	3608.89±120.68 ^f
น้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส	0.09±0.04 ^a	1.17±0.05 ^b	373.01±16.22 ^a
Ascorbic acid	0.02±0.00	0.02±0.00	-

หมายเหตุ ตัวอักษร^{a-f} แสดงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแนวนอน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 (P<0.05)

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content; TPC)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu phenol และเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมกับกราฟสารมาตรฐาน gallic acid จากสมการ $y = 50.478x + 0.0082$ ค่า $R^2 = 0.9978$ (ภาพที่ 2 A) รายงานในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid/g extract (mg GAE/g extract) พบว่าสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งขมที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดด้วยน้ำร้อน และเมทานอล ตามลำดับ

ส่วนสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุดในสารสกัดด้วยน้ำร้อน รองลงมาคือ สารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และเมทานอลตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งแตกต่างจากสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งตาม

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total flavonoid content; TFC)

การวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminium Chloride Colorimetric และเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์กับกราฟสารมาตรฐาน Quercetin จากสมการ $Y = 11.027x + 0.0144$ ค่า $R^2 = 0.9978$ (ภาพที่ 2 B) รายงานในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Quercetin equivalents, mg QE/g extract) จากการวิเคราะห์พบว่า ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดในสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งตามลำดับที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 รองลงมา คือ สารสกัดด้วยเมทานอล และน้ำร้อน ตามลำดับ ซึ่งคล้ายกับการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวมที่พบปริมาณมากในสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งตามลำดับที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 (ตารางที่ 3)

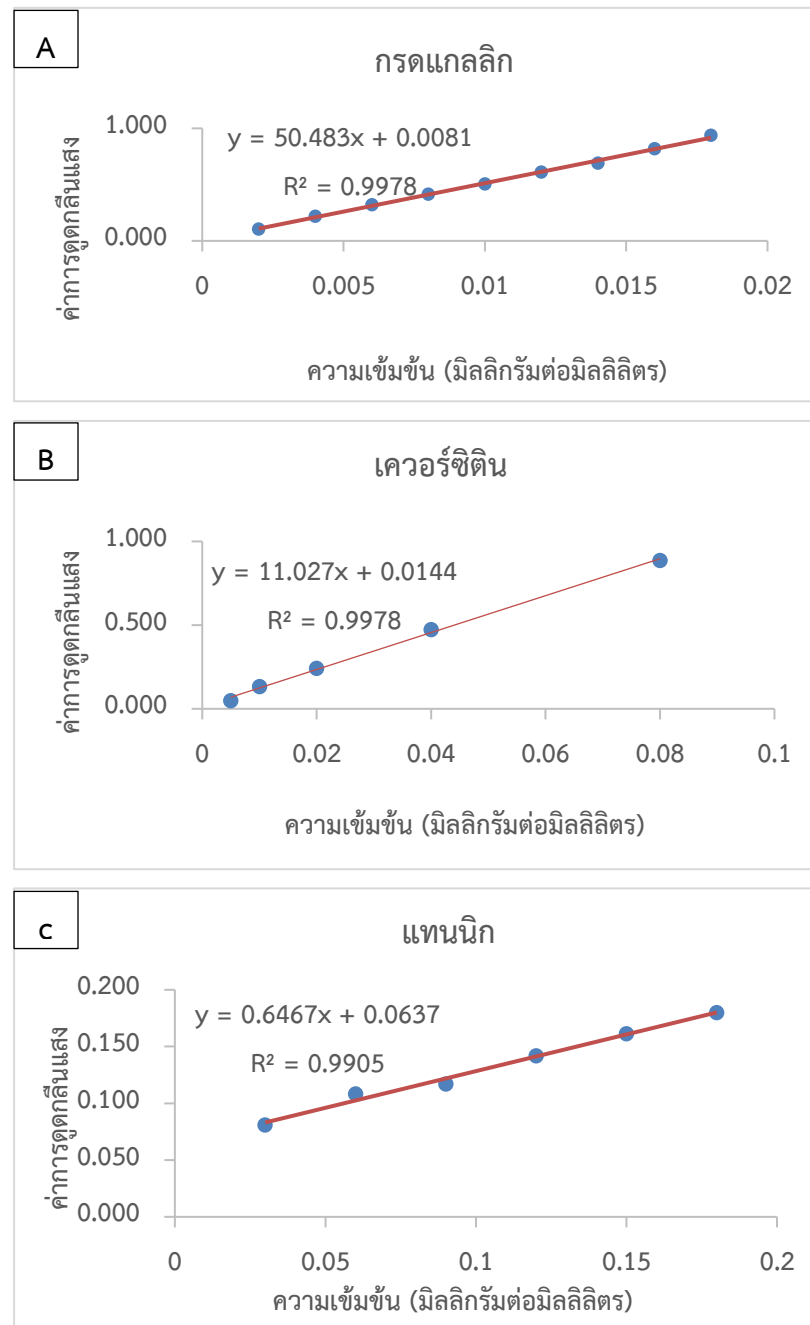
5. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนิน (Tannin content; TNC)

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินด้วยวิธี Folin-Ciocalteu phenol และเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบแทนนินกับกราฟสารมาตรฐาน tannic acid จากสมการ $Y = 6.4667x + 0.0637$ ค่า $R^2 = 0.9905$ (ภาพที่ 2 C) รายงานในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ tannic acid/g extract (mg tannin/g extract) พบว่าสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีปริมาณสารประกอบแทนนินมากที่สุด รองลงมาคือ เมทานอล และเอทานอลร้อยละ 95 ตามลำดับ และสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งตามลำดับที่ให้ผลวิเคราะห์ในทำนองเดียวกัน (ตารางที่ 3) ซึ่งแตกต่างจากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมที่พบปริมาณมากในสารสกัดหยาบของเห็ดที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์ และแทนนินในสารสกัดเห็ดผึ้ง และเห็ดผึ้งตาม

ชนิดเห็ด/ตัวทำละลาย	TPC (mg GAE/g extract)	TFC (mg QE/g extract)	TNC (mg tannic/g extract)
เห็ดผึ้งตาม			
เมทานอล	15.93±0.39 ^e	243.16±6.19 ^c	9.19±0.90 ^e
เอทานอลร้อยละ 95	34.00±0.17 ^a	316.62±6.16 ^a	8.11±0.98 ^f
น้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส	24.58±1.11 ^d	76.85±0.91 ^e	13.73±0.34 ^b
เห็ดผึ้งชม			
เมทานอล	14.78±2.28 ^f	187.54±11.03 ^d	12.02±0.34 ^c
เอทานอลร้อยละ 95	26.12±0.36 ^c	273.84±4.56 ^b	10.13±0.64 ^d
น้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส	29.66±0.25 ^b	73.94±4.99 ^f	14.83± 0.78 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษร^{a-f} แสดงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแนวนอน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95



ภาพที่ 2 กราฟสารมาตรฐานและสมการ A. สารมาตรฐาน Gallic acid B. สารมาตรฐาน Quercetin และ C. สารมาตรฐาน Tannic acid

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบของเห็ดผึ้งขม และเห็ดผึ้งทามที่ซื้อจากตลาดชุมชนใกล้ป่าสาธารณะโคกหินลาด อำเภอบ้านโป่ง จังหวัดมหาสารคาม และทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ด้วยวิธีการหมัก (maceration) ในเมทานอล และเอทานอลร้อยละ 95 และอีกวิธีคือ ต้มด้วยน้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีต่าง ๆ ได้แก่ วิธี DPPH ABTS และ FRAP พบว่า การทดสอบด้วยวิธี DPPH

และวิธี ABTS ให้ผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสอดคล้องกันเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid คือ สารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดในสารสกัดด้วยน้ำร้อนเหมือนกัน และมากกว่าสารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล และเมทานอล โดยสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และ FRAP ส่วนวิธี ABTS สารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด เพียงเล็กน้อย สารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด ที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าประมาณ 19.8 เท่า และสารสกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าประมาณ 1.7 เท่าเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบจากรายงานของ Muniandy และคณะ [7] ซึ่งสารสกัดเห็ดทั้ง 2 ชนิด มีค่า $IC_{50} = 1.79$ mg/mL และ ค่า $IC_{50} = 3.98$ mg/mL เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH เหมือนกัน

ส่วนสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS ที่สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Seekhaw และคณะ [8] ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเห็ดทั้ง 4 ชนิด คือ เห็ดผึ้งเหลือง (*Boletus* sp.) เห็ดผึ้งน้ำครำ (*Boletellus* cf. *emodensis*) เห็ดผึ้งไข่ (*Pulveroboletus* sp.) และเห็ดผึ้งแฉะ (*Tylopilus* sp.) จากตลาดชุมชนในจังหวัดเลย และสกัดด้วยเอทานอลมีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง $0.26 \pm 0.01 - 2.61 \pm 0.11$ mg/mL (วิธี DPPH) และมีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง $1.33 \pm 0.07 - 3.10 \pm 0.07$ mg/mL (วิธี ABTS) ส่วนการทดสอบด้วยวิธี FRAP ในสารสกัดด้วยเอทานอลเมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเห็ดทั้ง 4 ชนิด จากจังหวัดเลย [8] พบว่าสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด และเห็ดผึ้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดเห็ดทั้ง 4 ชนิด

สารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด ที่สกัดด้วยเมทานอลให้ผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกันในการทดสอบด้วยวิธี DPPH แต่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าเห็ดป่าในสกุลอื่น ๆ ที่ทดสอบด้วยวิธีเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Arthan และคณะ [17] เห็ดแดง ($IC_{50} = 70.0$ mg/mL) เห็ดตาโล่ (ไม่สามารถวัดค่าได้) เห็ดฟานน้ำตาลแดง ($IC_{50} = 190.0$ mg/mL) เห็ดโคน ($IC_{50} = 18.5$ mg/mL) เห็ดระโงกเหลือง ($IC_{50} = 25.5$ mg/mL)

ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด และเห็ดผึ้งจากการวิจัยครั้งนี้เห็ดทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกันในการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล และเมทานอล เมื่อเปรียบเทียบกับค่า IC_{50} ในทั้งการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด คือ สารสกัดด้วยน้ำร้อนแสดงว่ามีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนได้ดีกว่าสารสกัดจากเอทานอล และเมทานอล แต่เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเห็ดในสกุลอื่น สารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า ส่วนการทดสอบด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดด้วยเมทานอล และน้ำร้อน อาจเนื่องมาจากสารสกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถดึงตัวได้ดีกว่าสารสกัดจากตัวทำละลายอีกสองชนิด

การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด และเห็ดผึ้งในการครั้งนี้พบปริมาณมากที่สุดในสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ส่วนเห็ดผึ้งพบปริมาณมากในสารสกัดด้วยน้ำร้อน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Seekhaw และคณะ [8] ที่ทำการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมจากเห็ดทั้ง 4 ชนิด จากตลาดในจังหวัดเลย พบว่าเห็ดผึ้งเหลือง และเห็ดผึ้งแฉะที่พบปริมาณฟีนอลิกรวมมากกว่าเห็ดผึ้ง และเห็ดผึ้งไข่ โดยพบปริมาณ 61.69 ± 0.35 และ 57.12 ± 0.70 mg GAE/g extract ส่วนเห็ดผึ้งอีก 2 ชนิด คือ เห็ดผึ้งน้ำครำ (4.82 ± 0.04 mg GAE/g extract) และเห็ดผึ้งไข่ (4.25 ± 0.09 mg GAE/g extract) มีปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยกว่าเห็ดผึ้ง และเห็ดผึ้งไข่ ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ก็เช่นกันในสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด และเห็ดผึ้งที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 พบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากกว่าในสารสกัดอื่น โดยพบสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงกว่าเห็ดผึ้งเล็กน้อย ซึ่งข้อมูลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Seekhaw และคณะ [8] พบปริมาณฟลาโวนอยด์สูงในเห็ดผึ้งเหลือง และเห็ดผึ้งแฉะคล้ายกับปริมาณ

ของสารประกอบฟีนอลิกรวม ส่วนปริมาณของสารประกอบแทนนินพบว่ามีในสารสกัดด้วยน้ำร้อนของเห็ดทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณใกล้เคียงกัน และมีมากกว่าสารสกัดจากเอทานอลและเมทานอล

ดังนั้นจากข้อมูลการวิจัยครั้งนี้สรุปได้ว่าแม้ว่าสารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์รวมจะพบในปริมาณที่น้อยกว่าสารประกอบแทนนิน แต่แสดงผลการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าในสารสกัดด้วยน้ำร้อนของเห็ดผึ้งขม และเห็ดผึ้งทามที่พบในจังหวัดมหาสารคาม ดังนั้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดผึ้งทั้งสองชนิดอาจได้มาจากสารประกอบแทนนินซึ่งเป็นสารประกอบกลุ่มพอลิฟีนอลเช่นกันที่มีฤทธิ์ตามธรรมชาติในการต้านอนุมูลอิสระ และช่วยป้องกันการอักเสบ แต่อย่างไรก็ตามการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP พบว่าสารสกัดเห็ดผึ้งทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี และพบปริมาณของสารประกอบกลุ่มฟีนอลได้แม้จะพบในปริมาณที่แตกต่างกัน ดังนั้นหากชาวบ้านในชุมชนที่มีความสนใจรับประทานเห็ดผึ้งขม และเห็ดผึ้งทามในการประกอบอาหารด้วยการต้มหรือแกงโดยใช้ความร้อนจึงได้รับสารประกอบแทนนิน สารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์รวมที่จำเป็นต่อร่างกายในการช่วยต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดการอักเสบ ป้องกันการเสื่อมของเซลล์ในร่างกายจากอาหารตามฤดูกาล และอาจมีประโยชน์ต่อการนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับอาหารด้านอื่น ๆ ต่อไปเชิงพาณิชย์ได้ รวมทั้งการนำสารสกัดเห็ดไปยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค หรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางชนิดเพื่อประโยชน์ของผู้บริโภคต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม สนับสนุนทุนสำหรับโครงการงานทางชีววิทยา และอุปกรณ์ในการทำงานวิจัยประจำปี พ.ศ. 2563 และขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือกลางมหาวิทยาลัยมหาสารคามที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือในการปฏิบัติการทดลองทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Chandrasrikul A, Sontirat P, Phitakpraiwan P. The boletes mushroom group in Thailand. Thai Agricultural Research Journal. 1986; (4): 78-84.
2. Seehanan S, Petcharat V, Te-chato S. Some Boletes of Thailand. Songklanakarin Journal Science Technology, 2007; 29(3), 737-754.
3. Seehanan S, Petcharat V. Some species of wild Boletes in Thailand. Journal of Agricultural Technology, 2008; 4(1): 109-118.
4. Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ministry of public health. Medicinal mushroom for healthy: with traditional knowledge of folk healer, 2011; 120 pp.
5. Naksuwankul K, Parnmen S, Sikaphan S, Leudang S, Nooron N, Thongbor A, Chantharasena C. Handbook of study on morphological characteristics of mushroom, poisonous mushroom and surveillance. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. 2019; 214 pp.
6. Kumar K. Role of edible mushrooms as functional foods-A review. South Asian Journal of Food Technology and Environment, 2015; 1(3&4): 211-218.
7. Muniandy S, Daud F, Senafi S, Noor MM, Kunaran M, Alwi ANAM, et al. Active compound, antioxidant, antiproliferative and effect on stz induced zebrafish of various crude extracts from *Boletus griseipurpureus*. Appl. Biol., 2016; 45: 69-80.



8. Seekhaw P, Rachinta S, Thurnkul N, Surayot P. Determination of total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antibacterial activities of four wild edible mushrooms from the community market in Loei Province. *PSRU Journal of Science and Technology*, 2020; 5(3): 60-73.
9. Sanoamuang N. Wild mushroom of Thailand: biodiversity and utilization. Bangkok, Universal graphic and trading. 2010; 424 pp.
10. Royal Academy. Edible and poisonous mushrooms in Thailand. The 1st publish, Bangkok, Royal Academy. 1996; 180 pp.
11. Sangwanit U, Suwanarit P, Payappanon A, Laungsa-ard J, Jandrasrikul A, Sakolrak B. Checklist of biodiversity of mushroom. Biodiversity-Based Economy Development Office (Public Organization), Bangkok, 2013; 374 pp.
12. Wannawet R, Thiangphet P. Determination antioxidant activity and total phenolic compounds of Bean sprouts. Proceeding National conference 4th Research institute, Ratchapat Kamphangphet University, 2017; 1035-1040.
13. Lertcanawanichakul M, Chawawisit K, Hiransai P. Biological activities of extracts from some local plants in Pakpanang, Nakhon Si Thammarat Province: Antioxidant and antibacterial activity. *Rajamangala University of technology srivijaya*, 2019; 11(2):279-289.
14. Rattana S, Sunghthong B. Antioxidant activities and total phenolic contents of methanolic extract from five fragrant flowers. The 12th Mahasarakham University Research Conference, Proceeding. 2016.
15. Daupor H, Saha, A, Chelong A, Meechai A, Waema S. Determination of Total Flavonoid Content from Propolis Stingless Bee and Bacterial Inhibition of *Escherichia coli* in Soap Product. The 6th Science and Technology Conference, Proceeding, Fatoni University Yala. 2017.
16. Cham P, Poonsri W, Lichanporn I, Lapsongphon N. Effects of Ripening Stages and Extraction Conditions on Tannin Content of “Namwa” Banana Peel Powder. The 20th National Graduate Research Conference, Proceeding. 2019; 689-695.
17. Arthan S, Kutrasaeng N, Chaisiri P, Chaichuang L. Antibacterial and antioxidant activities of some local edible mushrooms in Sakon Nakhon Province. Proceeding national conference 13th Kasetsart University, Kamphangsan. 2016; 1791-1799.