

การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบของเห็ดทางการแพทย์ชนิด

Phellinus gilvus (Schwein.) Pat.

Determination of Antioxidant Activity from Medicinal Mushroom

Phellinus gilvus (Schwein.) Pat. Crude Extract

อรทัย เสริฐศรี (Orathai Sertsri)* ดร.ขวัญเรือน นาคสุวรรณกุล (Dr.Khwanyuruan Naksuwankul)^{1**}

(Received: August 29, 2022; Revised: November 14, 2022; Accepted: November 16, 2022)

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์การวิจัยครั้งนี้เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบเห็ดทางการแพทย์ชนิด *Phellinus gilvus* (Schwein.) Pat. จากตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ได้แก่ เมทานอล เอทานอลร้อยละ 95 และต้มด้วยน้ำร้อนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการทดสอบด้วยวิธี ABTS DPPH และ FRAP assay การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์เพื่อหาค่าสหสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบของเห็ด *P. gilvus* ที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP assay มีค่าเท่ากับ $280,394.12 \pm 334.00$ มิลลิกรัมเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมสารสกัดหยาบ ส่วนการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS assay พบว่าสารสกัดเห็ดด้วย เมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0688 ± 0.0003 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม และ 0.0373 ± 0.0004 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ พบว่าสารสกัดหยาบจากเห็ดที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบทั้ง 2 ชนิดสูงที่สุด เท่ากับ $1,224.26 \pm 1.98$ มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ และ 308.41 ± 2.53 มิลลิกรัมเคอเลตินต่อกรัมสารสกัดหยาบ การวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์อย่างง่ายระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเห็ด *P. gilvus* พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP assay แต่มีความสัมพันธ์เชิงลบกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS assay

ABSTRACT

This study aims to determine antioxidant activity with medicinal mushroom crude extract of *Phellinus gilvus* (Schwein.) Pat. The crude extracts were maceration with 2 solvents such as methanol, 95% ethanol, and with boiling water for 1 hr., determined by using three different assays; ABTS, DPPH, and FRAP. In addition, to analyze total phenolic and flavonoid contents from a crude extract for correlation with antioxidant activity. The results showed higher antioxidant activities with ethanolic crude extract using FRAP assay was found to higher FRAP value = $280,394.12 \pm 334.00$ mg FeSO₄/g extract. While DPPH and ABTS assay were found higher value from methanolic crude extract with IC_{50} = 0.0688 ± 0.0003 mg/mL and 0.0373 ± 0.0004 mg/mL, respectively. On other hand, the ethanolic crude extract presented the highest value of total phenolic and flavonoid contents at $1,224.26 \pm 1.98$ mg GAE/g Extract and 308.41 ± 2.53 mg QE/g Extract. The correlation analysis between antioxidant activities with total phenolic and flavonoid contents value showed a positive correlation in FRAP assay, but DPPH and ABTS assay showed results in negative correlation.

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เห็ดทางการแพทย์ พอลิฟีนอล

Keywords: Antioxidant, Medicinal mushroom, Polyphenol

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

*นักศึกษาระดับปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

**รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยาและหน่วยวิจัยเห็ดและไลเคนส์เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

บทนำ

เห็ดสกุล *Phellinus* จัดจำแนกอยู่ในวงศ์ Hymenochaetaceae ไฟลัมเบสิดิโอไมโคตา (Phylum Basidiomycota) อาณาจักรเห็ดรา (Kingdom Fungi) เห็ดในสกุลนี้ส่วนใหญ่เป็นเห็ดหึ่ง เจริญบนต้นไม้ และขอนไม้ ลักษณะเหนียวและแข็ง สามารถแพร่กระจายได้ทั้งในทวีปยุโรป อเมริกา และเอเชีย [1] มีรายงานการใช้ประโยชน์ในประเทศจีน เกาหลีใต้ ญี่ปุ่น มองโกเลีย และประเทศอื่น ๆ รวมทั้งประเทศไทยรู้จักเห็ดสกุลนี้ในชื่อเห็ดหึ่งพิมาน มีลักษณะแข็งเหมือนไม้ เจริญบนต้นไม้ที่มีชีวิต และมีรายงานการใช้ประโยชน์ทางยารักษาโรคโดยภูมิปัญญาพื้นบ้าน [2] เห็ดหึ่งสกุลนี้ได้รับความนิยมและรู้จักกันดีในรูปสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางยาของชาวจีนมานานกว่า 2,000 ปี ในประเทศเกาหลีใต้เรียกว่า Sunghoung ประเทศญี่ปุ่นเรียกว่า Meshimakobu มีหลักฐานการนำเห็ดหึ่งสกุล *Phellinus* ไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ด้วยภูมิปัญญาท้องถิ่นหลายอย่าง ได้แก่ นำมาใช้รักษาบาดแผล รักษาโรคกระเพาะอักเสบ อาการปวดเข้า โรคลำไส้ บรรเทาอาการบวมแดง เนื้ออกต่าง ๆ และโรคเกี่ยวกับท่อน้ำเหลือง เห็ดหึ่งพิมานน้ำตาลเทา (*P. igniarius*) มีสรรพคุณรักษาอาการเป็นหนอง ท้องอืดท้องเฟ้อ โรคเกี่ยวกับช่องท้อง โรคหนองใน มะเร็งกระเพาะและลำไส้ โรคหลอดเลือดหัวใจ วัณโรค โรคตับ โรคหัวใจ และโรคเบาหวาน [3] นอกจากนี้ในรายงานทางวิชาการพบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญของเห็ดสกุล *Phellinus* คือ สารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์โดยเฉพาะเบต้ากลูแคน สารสกัดหยาบของเห็ดสกุล *Phellinus* หลายชนิดมีบทบาทสำคัญในการลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรังหลายชนิด รวมทั้งโรคมะเร็งและโรคหัวใจ มีรายงานการสกัดเห็ดหึ่งด้วยสารละลายเมทานอลและสารสกัดจากน้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้อีกด้วย [4] เห็ดหึ่งชนิด *P. gilvus* ชื่อภาษาไทยคือ เห็ดตอจิก เห็ดหึ่งขอบเหลืองมีสตาร์ด (ภาพที่ 1) ลักษณะทั่วไปเจริญเป็นหึ่งเรียงซ้อนกัน รูปร่างโค้งงอเป็นแผ่นครึ่งวงกลม สีน้ำตาลเหลืองถึงเหลืองสนิมสดแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลสนิมเข้มหรือน้ำตาลอมเหลือง ขอบด้านนอกมีสีเหลืองมีสตาร์ด มีขนละเอียดบนผิวหมวกเห็ดขณะอ่อน เมื่อแก่ผิวเรียบ เนื้อหนา เหนียวเหมือนไม้คอร์ก ได้หมวกเห็ดมีรูปกลมสีน้ำตาลอมเทาถึงน้ำตาลอมแดงหรือน้ำตาลเข้ม ไม่มีก้านดอกเห็ด แหล่งที่พบเห็ดเจริญบนต้นไม้ใหญ่ที่ตายแล้ว โดยเฉพาะตอต้นจิกหรือตอต้นเต็ง ในป่าโคก ป่าเบญจพรรณ และป่าดิบแล้ง [5]

นอกจากคุณสมบัติที่น่าสนใจของเห็ดหึ่งสกุล *Phellinus* ดังที่กล่าวมาข้างต้นแล้วเห็ดหึ่งชนิดนี้ยังสามารถพบได้ในป่าทั่วไปในประเทศไทยอีกทั้งยังมีชาวบ้านนำเห็ดชนิดนี้ไปต้มเพื่อดื่ม และต้องเหล้าเพื่อใช้เป็นยาบำรุงสุขภาพ ทำให้ผู้วิจัยสนใจการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารกลุ่มพอลิฟีนอลที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดี [6] โดยการศึกษาครั้งนี้ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีที่ต่างกัน 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) วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu phenol method และวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminium Chloride Colorimetric จากเห็ดหึ่งตอจิก (*P. gilvus*) ในป่าชุมชนอำเภอนางรองสูง จังหวัดมุกดาหาร และวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์อย่างง่ายระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเห็ด *P. gilvus*



ภาพที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเห็ดหึ่งตอจิกหรือเห็ดหึ่งเหลืองมัสตาร์ด ดอกเห็ดรูปร่างครึ่งวงกลม สีน้ำตาล เรียงเป็นวงซ้อนกัน ขอบมีสีเหลืองมัสตาร์ดสีอ่อนกว่ากลางดอก

วัตถุประสงค์การวิจัย

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบของเห็ดหึ่งตอจิก (*P. gilvus*) ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เมทานอล และเอทานอลร้อยละ 95 และการต้มด้วยน้ำ 1 ชั่วโมง ด้วยวิธีที่ต่างกันได้ ได้แก่ ABTS, DPPH และ FRAP assay และวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์เพื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์

วิธีการวิจัย

1. ตัวอย่างเห็ดหึ่งตอจิก (*P. gilvus*)

เก็บเห็ดหึ่งตอจิก (*P. gilvus*) จากป่าชุมชนในอำเภอนางรองสูง จังหวัดมุกดาหาร ในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2564 และนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โครงสร้างภายในของเส้นใย เบสิเดียม เบสิดีโอสปอร์ เพื่อเปรียบเทียบลักษณะที่สำคัญและเทียบกับเอกสารอ้างอิงที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ และหนังสือที่เขียนรายละเอียดของเห็ดหึ่งสกุล *Phellinus* [5, 7] เก็บรักษาตัวอย่างอ้างอิงไว้ในพิพิธภัณฑ์เห็ดที่มีฤทธิ์ทางยา (MSUT) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

2. การเตรียมสารสกัดเห็ดหึ่งตอจิก (*P. gilvus*)

นำตัวอย่างเห็ดหึ่งตอจิกมาสับให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 1-2 ซม. และนำไปอบให้แห้งในตู้อบด้วยอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการสกัดแบบหมัก (maceration) ด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เมทานอล และเอทานอลร้อยละ 95 จากนั้นกรองเก็บสารละลายด้วยกระดาษกรอง กากในขวดที่เหลือเติมตัวทำละลาย และทำซ้ำเหมือนเดิมอีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้ทั้ง 3 ครั้งมารวมกัน เติมน้ำที่ซังแล้วอีกหนึ่งส่วนนำไปสกัดแบบต้มด้วยน้ำ (boiling water) จากนั้นกรองเก็บสารละลายด้วยกระดาษกรอง กากที่เหลือเติมน้ำไปต้มกับน้ำกลั่นและทำซ้ำเหมือนเดิมอีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้ทั้ง 3 ครั้งมารวมกัน สารละลายทั้ง 3 ครั้งมารวมกันในถัง 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. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเห็ดหึ่งตอจิก (*P. gilvus*)

3.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay (ดัดแปลงวิธีของนิรมล ปัญญาบุญกุล และคณะ) [8] เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 mM และสารละลาย Potassium persulfate ความเข้มข้น 2.45 mM ผสมกันด้วยอัตราส่วน 1:2 บ่มทิ้งไว้ 12-16 ชั่วโมง (stock solution) เตรียมสารสกัดหยาบเห็ดหึ่งตอจิกความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายที่สกัดตัวอย่างแล้วปิเปตมาปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงใน 96 well microtiter plate จากนั้นปิเปตสารละลาย stock solution ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ผสมลงไปในสารสกัดเห็ดบ่มทิ้งที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader เทียบกับสารมาตรฐาน Trolox คำนวณหาร้อยละ radical scavenging activity จากสมการ

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

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS

3.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay (ดัดแปลงวิธีของธีรวิภา วรรณเวศน์ และปฐมพงศ์ เทียงเพชร) [9] เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 mM ในเอทานอลปริมาตร 200 มิลลิลิตร และเตรียมสารสกัดหยาบตัวอย่างเห็ดหึ่งตอจิกที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ในเอทานอล ปิเปตมา 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม DPPH ลงไปในสารละลายที่เตรียมไว้ 3 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 514 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer เทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid คำนวณหาร้อยละ radical scavenging activity จากสมการ

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

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

3.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay (ดัดแปลงวิธีของสภาพร สัตย์ซื่อ และคณะ) [10] 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 เตรียมสารสกัดหยาบเห็ดหึ่งตอจิกความเข้มข้น 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 (ดัดแปลงจากวิธีของสุรพงศ์ รัตนะ และบันลือ สังข์ทอง) [11] เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 7.5 เตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent เข้มข้นร้อยละ 10 เตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0.005, 0.010, 0.015, 0.020, 0.025, และ 0.030 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทำได้โดยปิเปตสารละลายปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ที่เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่นโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายผสมกันตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่

ความยาวคลื่น 740 นาโนเมตร (A_{740}) ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยนำค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid มาเขียนกราฟมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบของเห็ดต่อไป การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบของเห็ดต่อจิกโดยเตรียมสารละลายตัวอย่างเห็ดความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำสารละลายมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0.01, 0.02 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทำได้โดยปิเปตสารละลายมา 1 มิลลิลิตร ทำตามขั้นตอนเหมือนกับสารมาตรฐาน Gallic acid ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

5. การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminium Chloride Colorimetric

วิธีการทดสอบดัดแปลงจากวิธีของฮาซัน ดอปอ และคณะ [12] เตรียมเตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2 เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำกลั่น ปิเปตปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเป็น 0.005, 0.010, 0.015, 0.020, 0.025 และ 0.030 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมอะลูมิเนียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยนำค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินมาเขียนกราฟมาตรฐานและหาค่าความชันเพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบของเห็ดต่อไป การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดด้วยเห็ดต่อจิกนำสารละลายตัวอย่างเห็ดความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำสารละลายมาเจือจางด้วยตัวทำละลายที่ใช้สกัดให้มีความเข้มข้นเป็น 0.01, 0.02 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร และทำวิธีเหมือนกับสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

6. 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) ของสารสกัดหยาบเห็ดต่อจิก (*P. gilvus*)

การสกัดด้วยวิธีการหมักด้วยเมทานอล เอทานอลร้อยละ 95 และต้มด้วยน้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดหยาบของเห็ดต่อจิกด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณร้อยละของผลผลิตมากที่สุดเท่ากับ 2.37 รองลงมา คือ สารสกัดด้วยเมทานอล และสารสกัดด้วยน้ำร้อน ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

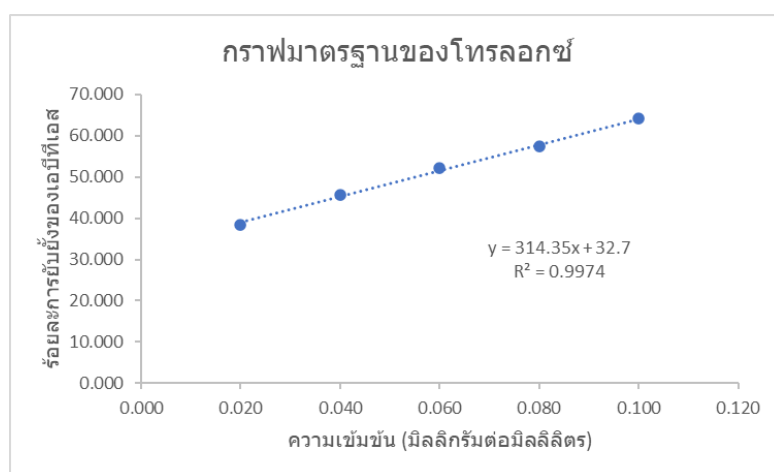
ตารางที่ 1 ปริมาณร้อยละของผลผลิต (% yield) ของสารสกัดหยาบเห็ดหังตอจิกด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ชนิดของเห็ด	ตัวทำละลาย	วิธีการสกัด	ลักษณะของตัวอย่าง	ร้อยละของผลผลิต
เห็ดหังตอจิก	เมทานอล	หมัก	สารสกัดผงสีน้ำตาลเข้ม	2.03
	เอทานอลร้อยละ 95	หมัก	สารสกัดเป็นผงสีน้ำตาลแดงเข้ม	2.37
	น้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส	ต้ม	สารสกัดผงสีน้ำตาลเขียวอ่อน	1.68

2. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

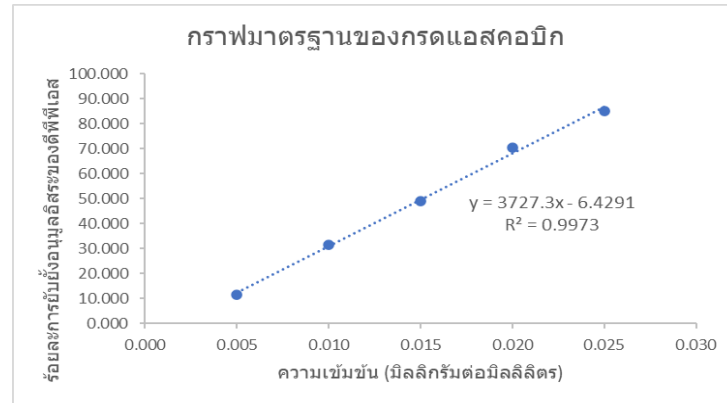
ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และสารสกัดด้วยน้ำร้อนตามลำดับ (ตารางที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐาน Trolox โดยมีค่า $IC_{50} = 0.055$ mg/mL จากสมการ $y = 314.35x + 32.7$ ค่า $R^2 = 0.9974$ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 กราฟของสารมาตรฐาน Trolox

2.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

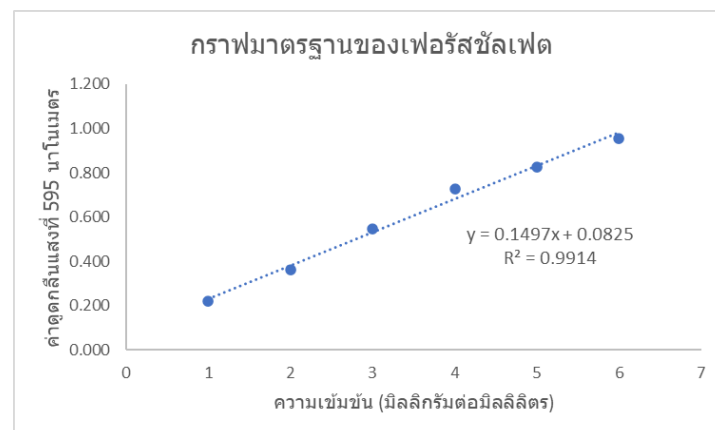
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid (มีค่า $IC_{50} = 0.015$ mg/mL) จากสมการ $y = 3727.3x - 6.4291$ ค่า $R^2 = 0.9973$ (ภาพที่ 3) พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดใกล้เคียงกันคือ สารสกัดหยาบด้วยเมทานอล และเอทานอลร้อยละ 95 ส่วนสารสกัดด้วยน้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด (ตารางที่ 2)



ภาพที่ 3 กราฟของสารมาตรฐาน ascorbic acid

2.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay รายงานเป็นค่า FRAP value ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเฟอร์รัสซัลเฟตต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (mg ferrous sulfate equivalents, mg FeSO₄/g extract) จากสมการ $y = 0.1497x + 0.0825$ ค่า $R^2 = 0.9914$ (ภาพที่ 4) ของสารสกัดหยาดเห็ดหังตอจิก พบว่ามีค่า FRAP value ใกล้เคียงกันในสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และเมทานอล (ตารางที่ 2) สารสกัดหยาดด้วยน้ำร้อนมีค่า FRAP value น้อยที่สุด



ภาพที่ 4 กราฟของสารมาตรฐาน Ferrous sulfate

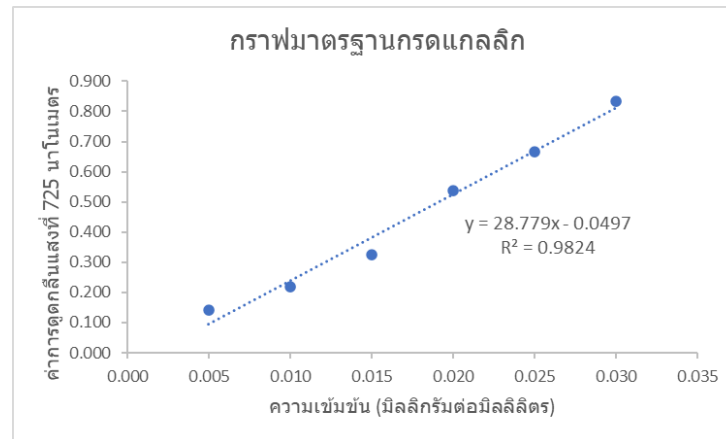
ตารางที่ 2 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาดเห็ดหังตอจิก ด้วยวิธี ABTS, DPPH และ FRAP assay

ชนิดเห็ด/ตัวทำละลาย	ABTS	DPPH	FRAP
	(IC ₅₀ mg/mL)	(IC ₅₀ mg/mL)	(mg FeSO ₄ /g extract)
เมทานอล	0.037±0.00 ^a	0.069±0.00 ^a	279,726.12±1.65 ^b
เอทานอลร้อยละ 95	0.049±0.00 ^b	0.073±0.00 ^b	280,394.12±334.00 ^b
น้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส	0.453±0.00 ^c	0.289±0.00 ^c	1,033.00±20.41 ^a
Ascorbic acid	-	0.015±0.00	-
Trolox	0.055±0.00	-	-

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

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content; TPC)

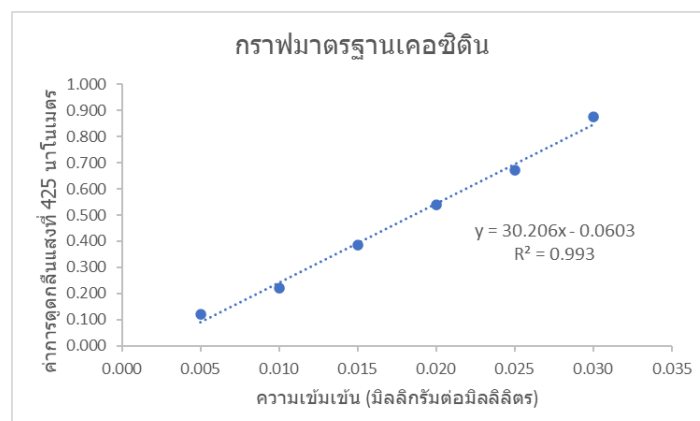
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu phenol และเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมกับกราฟสารมาตรฐาน gallic acid จากสมการ $y = 28.779x - 0.0497$ ค่า $R^2 = 0.9824$ (ภาพที่ 5) รายงานในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid/g extract (mg GAE/g extract) พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมพบปริมาณมากที่สุดในสารสกัดหยาบเห็ดตอจิกด้วยเอทานอลร้อยละ 95 รองลงมา คือ สารสกัดด้วยเมทานอล ส่วนสารสกัดด้วยน้ำร้อนพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมน้อยที่สุด (ตารางที่ 3)



ภาพที่ 5 กราฟของสารมาตรฐาน Gallic acid

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total flavonoid content; TFC)

การวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminium Chloride Colorimetric และเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์กับกราฟสารมาตรฐาน Quercetin จากสมการ $Y = 30.206x - 0.0603$ ค่า $R^2 = 0.993$ (ภาพที่ 6) รายงานในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Quercetin equivalents, mg QE/g extract) พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด คือ สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 รองลงมา คือ สารสกัดด้วยเมทานอล และสารสกัดด้วยน้ำร้อน ตามลำดับ ซึ่งปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์คล้ายกับการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวมที่พบปริมาณมากที่สุดไปน้อยที่สุดเป็นลำดับเหมือนกัน (ตารางที่ 3)



ภาพที่ 6 กราฟของสารมาตรฐาน Quercetin

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบเห็ดหังตอจิก (*P. gilvus*)

ชนิดเห็ด/ตัวทำละลาย	TPC (mg GAE/g extract)	TFC (mg QE/g extract)
เมทานอล	1,146.66±3.45 ^b	244.40±1.65 ^b
เอทานอลร้อยละ 95	1,224.26±1.98 ^c	308.41±2.53 ^c
น้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส	13.90±0.35 ^a	4.56±0.16 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษร^{a-c} แสดงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแนวดิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95

5. การวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอล

จากการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี FRAP assay พบว่ามีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.796 และ 0.837 ตามลำดับ และมีค่า sig. เท่ากับ 0.010 ซึ่งน้อยกว่าระดับนัยสำคัญที่ 0.05 และมีค่า sig. เท่ากับ 0.005 ซึ่งน้อยกว่าระดับนัยสำคัญที่ 0.01 แสดงว่ามีความสัมพันธ์เชิงบวกต่อกัน หมายถึง เมื่อปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์มากขึ้น ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี FRAP assay จะมีฤทธิ์ดีขึ้นด้วย ส่วนการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH assay เป็นไปในทิศทางเดียวกันคือ มีความสัมพันธ์เชิงลบ โดยพบว่ามีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ -0.897 เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH assay กับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม มีค่า sig. เท่ากับ 0.001 ซึ่งน้อยกว่าระดับนัยสำคัญที่ 0.01 ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เปรียบเทียบกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH assay พบว่ามีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ -0.920 มีค่า sig. เท่ากับ 0.000 ซึ่งน้อยกว่าระดับนัยสำคัญที่ 0.01 แสดงว่าเมื่อปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์มากขึ้นจะทำให้ค่าวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH assay ลดลง ซึ่งในการทดลองนี้ทดสอบระดับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยค่า IC₅₀ ซึ่งถ้าค่า IC₅₀ ยิ่งน้อยมากยิ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีมากเช่นกัน (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเห็ดหังตอจิก (*P. gilvus*)

		TPC	TFC	ABTS	DPPH	FRAP
TPC	Pearson correlation	1	.977**	-.897**	-.897**	.796*
	Sig. (2-tailed)		.000	.001	.001	.010
	N	9	9	9	9	9
TFC	Pearson correlation	.977**	1	-.920**	-.920**	.837**
	Sig. (2-tailed)	.000		.000	.000	.005
	N	9	9	9	9	9

หมายเหตุ: ** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากผลทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเห็ดหังตอจิก (*P. gilvus*) พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในการทดสอบด้วยวิธี FRAP assay ซึ่งมีค่า FRAP value มากที่สุด แต่อย่างไรก็ตาม จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่า FRAP value จากสารสกัดเอทานอลร้อยละ 95 มีค่าใกล้เคียงกับสารสกัดด้วยเมทานอล ซึ่งแตกต่างจากสารสกัดด้วยน้ำร้อนที่มีค่า FRAP value น้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของชลดา จัดประกอบ และคณะ [13] ที่รายงานผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay จากสารสกัดหยาบเห็ดหังตอจิก (*P. rimosus*) ด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อน ส่วนผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเห็ดหังตอจิกด้วยวิธี ABTS assay พบว่าสารสกัดด้วยเมทานอล และเอทานอลมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารมาตรฐาน Trolox ที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.055 ± 0.00 mg/mL ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอล และเอทานอล มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.037 ± 0.00 mg/mL และ 0.049 ± 0.00 mg/mL ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bang et al จากตัวอย่างเห็ดหังตอจิกในประเทศเนปาล [14] พบว่าสารสกัดเห็ดหังตอจิกด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ และจากรายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเอทานอลของสารสกัดเห็ดหังตอจิก (*P. gilvus*) มีฤทธิ์ดีกว่าเห็ดสกุล *Phellinus* ชนิดอื่นเช่น *P. conchatus* เห็ดหลินจือ สกุล *Ganoderma* (*G. australe*, *G. carnosum*, *G. lingzhi*) ทดสอบด้วยวิธี ABTS และวิธี DPPH assay [14]

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay จากสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนมากถึง 4 เท่า และสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และสารสกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic acid (ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.015 ± 0.00 mg/mL) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของสารสกัดจากดอกเห็ดในประเทศเกาหลีใต้โดย Yoon and Jang [15] ซึ่งรายงานว่าสารสกัดจากดอกเห็ดด้วยเมทานอลมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT (butylatedhydroxytoluene) รวมทั้งการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Chelating activity of ferrous iron และวิธี Reducing power assay จากตัวอย่างเห็ดหังตอจิกจากประเทศเกาหลีแสดงผลการทดสอบในทิศทางเดียวกันคือ สารสกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อน [15] ส่วนการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเห็ดหังตอจิกตัวอย่างจากประเทศกาบอง (Gabon) [16] แสดงผลที่แตกต่างกับการทดลองครั้งนี้ คือ สารสกัดด้วยน้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดด้วยเอทานอล (มีค่า IC_{50} เท่ากับ 85.88 ug/mL และ 136.62 ug/mL ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Vitamin C (ค่า IC_{50} เท่ากับ 3.48 ug/mL) และสารมาตรฐาน BHT (ค่า IC_{50} เท่ากับ 6.30 ug/mL) ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ในเห็ดหังตอจิกเดียวกัน เช่น *P. pini* ตัวอย่างจากประเทศจีน และทำการสกัดด้วยเมทานอลก็แสดงผลใกล้เคียงกันคือ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 74.37 ug/mL [16]

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบเห็ดหังตอจิก พบว่าสารสกัดด้วยเมทานอล และเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนถึง 82-88 เท่าในสารประกอบฟีนอลิกรวม ส่วนฟลาโวนอยด์มีปริมาณสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนถึง 53-67 เท่า ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจาก *P. gilvus* ตัวอย่างจากประเทศเกาหลีใต้พบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อน [15] ตัวอย่างจากประเทศเนปาลสารสกัดด้วยเอทานอลก็มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำเช่นกัน [14] แต่รายงานปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ผลการทดลองที่ได้แตกต่างจากงานวิจัยครั้งนี้ คือ รายงานตัวอย่างจากประเทศเกาหลีใต้สกัดด้วยน้ำร้อนมีปริมาณฟลาโวนอยด์มากกว่า (27.46 ± 1.87 ug QEs/mg extract) สาร

สกัดด้วยเมทานอล (15.29 ± 0.56 ug QEs/mg extract) [15] ส่วนงานวิจัยครั้งนี้พบปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดด้วยเมทานอลมากกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อน ส่วนการเปรียบเทียบสารสกัดด้วยเอทานอลและสารสกัดน้ำร้อนจากตัวอย่างเห็ด *P. gilvus* จากประเทศกาบอง (Gabon) [16] พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์ในสารสกัดด้วยน้ำร้อนมากกว่าสารสกัดด้วยเอทานอล ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยในครั้งนี้นี้ที่พบปริมาณสารประกอบกลุ่มฟอลิฟีนอลในสารสกัดด้วยเอทานอลมากกว่าในสารสกัดด้วยน้ำร้อน และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ศึกษาในครั้งนี้จากสารสกัดด้วยเมทานอลและสารสกัดด้วยน้ำร้อนผลการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยที่ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเห็ดสกุลเดียวกันนี้ คือ *P. abuamii* [16] พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดด้วยเมทานอล (33.3 mg/ 100 mL) มากกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อน (20.7 mg/ 100 mL)

ดังนั้นจากข้อมูลการวิจัยครั้งนี้สรุปได้ว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเห็ดของเห็ดต่อจิก (*P. gilvus*) ที่เก็บได้จากจังหวัดมุกดาหารและทำการสกัดสารสำคัญด้วยวิธีการหมักด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และเมทานอล และสกัดด้วยการต้มด้วยน้ำร้อน การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS DPPH และ FRAP assay พบว่าสารสกัดเห็ดของเห็ดต่อจิกด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในการทดสอบด้วยวิธี FRAP assay ส่วนการทดสอบด้วยวิธี ABTS และ DPPH assay พบว่าสารสกัดเห็ดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด แต่อย่างไรก็ตาม ผลการทดสอบที่ได้จากสารสกัดด้วยเอทานอล และเมทานอลมีค่า IC_{50} ใกล้เคียงกันในการทดสอบด้วยวิธี ABTS และ DPPH assay ส่วนวิธี FRAP assay มีค่า FRAP value ที่ใกล้เคียงกันเช่นกัน ส่วนสารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์พบว่ามีปริมาณมากที่สุดในสารสกัดเห็ดต่อจิกด้วยเอทานอลร้อยละ 95 จากการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณของสารประกอบกลุ่มฟอลิฟีนอลพบว่าเมื่อค่า FRAP value เพิ่มขึ้นและปริมาณของสารประกอบกลุ่มฟอลิฟีนอลจะเพิ่มสูงขึ้นเช่นกันแสดงว่ามีความสัมพันธ์เชิงบวกต่อกัน การทดสอบด้วยวิธี ABTS และ DPPH พบว่ามีค่า IC_{50} น้อยเมื่อปริมาณของสารประกอบกลุ่มฟอลิฟีนอลเพิ่มสูงขึ้นแสดงว่ามีความสัมพันธ์เชิงลบต่อกัน ซึ่งปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์สูงขึ้นในสารสกัดเห็ดจะทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีขึ้น โดยสารประกอบกลุ่มฟอลิฟีนอลที่พบได้ในธรรมชาติเป็นสารที่ช่วยต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดการอักเสบ ป้องกันการเสื่อมของเซลล์ในร่างกาย ดังนั้นเห็ดทางการแพทย์ชนิดเห็ดต่อจิก (*P. gilvus*) เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือเป็นอาหารฟังก์ชัน (Functional food) หรือผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพในเชิงพาณิชย์ได้ต่อไปในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

1. ควรวิเคราะห์หาปริมาณฟอลิแซคคาไรด์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณฟอลิแซคคาไรด์ร่วมด้วย
2. ควรศึกษาสารที่สกัดจากเส้นใยและดอกเห็ด เพื่อนำมาเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระระหว่างเส้นใยและดอกเห็ด
3. ควรศึกษาสารสำคัญเพิ่มมากขึ้นซึ่งอาจทำให้พบสารออกฤทธิ์ชนิดอื่นๆ เพิ่มเติมอีก

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา) สนับสนุนค่าใช้จ่ายบางส่วนสำหรับรายวิชา Special problem และอุปกรณ์ในการทำงานวิจัย และขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือในการปฏิบัติการทดลองทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Sliva D. Medicinal mushroom *Phellinus linteus* as an alternative cancer therapy (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2010; (1): 407-411.
2. Thai Traditional Medical Knowledge Fund, Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ministry of Public Health. Mushroom for health of food, medicine and economy accepts by indigenous knowledge medicine. The Agricultural Cooperative Federation of Thailand, Limited, Publishing. Bangkok, 2013; 1-115 pp.
3. Chanboonyasitt F, Noophung S, Thongprakob K, Suthiklom N, Klinhom W, Klinhom U. Traditional Uses of Phiman or Sang Hwang Mushroom in Health Care. 2020; 18(1), 245-258.
4. Seephonkai P, Sangdee A, Klinhom W, Handee J, Waree N, Sophon N. Antioxidant and Antipathogenic Bacterial Activities from Crude Extracts of Mushroom in genus *Phellinus* Collected from Northeast of Thailand. *NRCT J.* 2009; 41(2), 103-116.
5. Insumran Y, Pramual P. Biodiversity of mushroom genus *Phellinus* and utilization. *Advanced Agriculture*, 2014; 27(1), 9-17.
6. Maingam C, Seephonkai P, Chutiman N, Loutchanwoot P, Srivilai P. Total contents of polysaccharide, phenol and flavonoid, and antioxidant activity of crude hot boiling-water extract from cultured mycelia of *Phellinus linteus*. *MSU J.* 2017; 36(6), 792-805.
7. Sanoamuang N. Wild mushroom of Thailand: biodiversity and utilization. Bangkok, Universal graphic and trading. 2010; 424 pp.
8. Punbusayakul N, Banterngsook K, Padthong S. Antimicrobial activity of soybean residue extract. *Agricultural Sci. J.*, 2018; 49(2)(Suppl.), 153-156.
9. 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.
10. Sutsue S, Thapphasaraphong S, Damrongrungraung T. Antioxidant and Collagen Stimulating Activities in Human Gingival Fibroblast Cell of Plant Extract. *IJPS.* 2014; 9(Suppl.) 38-43.
11. Rattana S, Sungthong B. Antioxidant activities and total phenolic contents of methanolic extract from five fragrant flowers. The 12th Mahasarakham University Research Conference, Proceeding, Masarakham University, Maha Sarakham, 2016.
12. 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.
13. Judpragob C, Laowachirasuwan P, Phadungjit M. Antioxidant and antimutagenic from *Phellinus rimosus* extract. *IJPS.* 2015; 10(Suppl.), 175-179.



14. Bang TH, Suhara H, Doi K, Ishikawa H, Fukami K, Parajuli GP et al. Wild Mushroom in Nepal: Some Potential Candidates as Antioxidant and ACE-Inhibition Sources. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2014; 1-11.
15. Yoon KN, Jang HS. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Fruiting Bodies of *Phellinus gilvus* Collected in Korea. Korean J Clin Lab Sci, 2016; 48(4), 355-364.
16. Juliette-Ornely OB, Calixte ENH, Rick-Leonid NMM, Cedric SO, Prudence Y, Joseph-Privat O, et al. Phytochemical Screening, Antioxidant and Antiangiogenic activities of *Daedaleopsis nitida*, *Pycnoporus sanguineus* and *Phellinus gilvus* Medicinal Mushroom from Gabon. The Pharmaceutical and Chemical Journal, 2019; 6(2), 71-80.