

## บทความวิจัย (Research Article)

**ปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์ และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเห็ดกระด้างที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในท้องถิ่นจังหวัดนครพนม**ชนาพร รัตนมาลี<sup>1\*</sup>, อริสรา โพธิ์สนาม<sup>2</sup>, ปาริชาติ ราชมณี<sup>3</sup>, นันทวรรณ คณะวาปี<sup>1</sup> และ กรรณิการ์ สุขะดีทัต<sup>1</sup>**Total phenolic flavonoids contents and antioxidant of *Lentinus polychrous* Lev. a local cultivated mushroom in Nakhon Phanom Province**Chanaporn Rattanamalee<sup>1\*</sup>, Arissara Phosanam<sup>2</sup>, Parichat Ratmanee<sup>3</sup>, Nantawan Kanawapee<sup>1</sup> and Kannika Sukadeetad<sup>1</sup><sup>1</sup> Department of Biology, Faculty of science Nakhon Phanom University, Nakhon Phanom 48000, Thailand<sup>2</sup> Department of Food Technology and Nutrition, Faculty of Natural Resources and Agro-Industry, Kasetsart University Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province Campus, Sakon Nakhon 47000, Thailand<sup>3</sup> Department of Food technology, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand

\* Corresponding author, E-mail: chanawiw@npu.ac.th

Health Science, Science and Technology Reviews. 2026;19(1):84-96.

Received: 2 October 2025; Revised: 17 April 2026; Accepted: 20 April 2026

**บทคัดย่อ**

เห็ดกระด้าง (*Lentinus polychrous* Lev.) เป็นเห็ดป่ากินได้พบทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และมีรายงานสำรวจพบในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว เห็ดกระด้างมีลักษณะเฉพาะ มีรสชาติดีเป็นที่นิยมนำมาประกอบอาหาร มีคุณค่าทางโภชนาการ ดอกเห็ดกระด้างและเส้นใยเห็ดกระด้างมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านไวรัส ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และช่วยปรับภูมิคุ้มกันของร่างกาย กลุ่มเกษตรกรผู้ผลิตเห็ดในพื้นที่จังหวัดนครพนมมีกระบวนการผลิตเห็ดในโรงเรือนรวมถึงจำหน่ายดอกเห็ดและก้อนเห็ดในท้องตลาดเกิดรายได้ตลอดปีในการศึกษานี้ได้วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์ ของสารสกัดเห็ดกระด้างที่เพาะเลี้ยงในท้องถิ่นจังหวัดนครพนม จากการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง 60 และ 80 องศาเซลเซียส และสกัดด้วย 75% เอทานอล ในส่วนก้อนเห็ดกระด้างและส่วนหมวกเห็ดกระด้าง ผลวิเคราะห์พบว่าสารสกัดเห็ดจากส่วนก้อนเห็ดกระด้างและส่วนหมวกเห็ดกระด้างให้ปริมาณสารฟีนอลิกและปริมาณสารฟลาโวนอยด์ต่อกรัมเห็ดแห้ง (DW) ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สารสกัดที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ จากทั้งส่วนหมวกเห็ดและส่วนก้อนเห็ดให้ปริมาณสารสกัดสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอล มีค่าปริมาณสารสกัดเห็ดอยู่ระหว่าง 57.53 mg crude extract / g DW ถึง 254.80 mg crude extract / g DW เห็ดกระด้างมีปริมาณฟีนอลิกอยู่ระหว่าง 43.34 mg GAE/g crude ถึง 145.29 mg GAE/g crude สารสกัดเห็ดกระด้างจากส่วนหมวกเห็ดที่สกัดด้วยน้ำอุณหภูมิห้องให้ปริมาณสารฟีนอลิก

<sup>1</sup> สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครพนม จังหวัดนครพนม 48000 ประเทศไทย<sup>2</sup> ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาการคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร 47000 ประเทศไทย<sup>3</sup> สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม 44000 ประเทศไทย

รวมต่อกรัมสารสกัดหยาบสูงมากกว่ากรรมวิธีอื่น ปริมาณฟลาโวนอยด์ในเห็ดกระด้างอยู่ระหว่าง 58.37 mg QE/g crude extract ถึง 379.08 mg QE/g crude extract สารสกัดเห็ดกระด้างจากส่วนก้านเห็ดที่สกัดด้วยน้ำอุณหภูมิห้องให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ต่อกรัมสารสกัดหยาบสูงมากกว่ากรรมวิธีอื่น การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดทั้งส่วนก้านเห็ดและหมวกเห็ดที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำที่อุณหภูมิแตกต่างกันมีค่า  $IC_{50}$  ที่สูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) จากผลวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดกระด้างนี้ถือเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ในการส่งเสริมกระบวนการผลิตการพัฒนาคุณภาพของเห็ดกระด้างท้องถิ่นจังหวัดนครพนม การวิเคราะห์ค่าทางชีวภาพอื่นๆ สำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เห็ดกระด้างเพื่อสุขภาพต่อไป

**คำสำคัญ:** ฟีนอลิกรวม, ฟลาโวนอยด์, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, เห็ดกระด้าง, จังหวัดนครพนม

## Abstract

*Lentinus polychrous* Lev. is an edible wild mushroom found in the northeastern region of Thailand, and surveys have reported its presence in the Lao People's Democratic Republic. *L. polychrous* has distinctive characteristics and a good taste, making it popular for culinary use. Fruiting bodies and mycelium of *L. polychrous* have been reported to possess bioactivities such as antioxidant, anti-cancer, antiviral, anti-inflammatory and immunomodulating properties. A group of mushroom growers in Nakhon Phanom province operates mushroom production in mushroom houses and sells their products in local markets, generating income throughout the year. In this study, the total phenolic and flavonoid contents of local cultivated mushroom extracts, locally found in Nakhon Phanom province, were analyzed. Extractions were carried out using water at different temperatures (RT, 60 and 80 °C) and 75% ethanol, separately for the mushroom stalks and caps. The results showed that the extracts from both of stalks and the caps of the hardy mushroom contained significantly different contents of total phenolic and flavonoid contents per gram of dried mushroom ( $p < 0.05$ ). The extracts obtained using water at different temperatures from both mushroom caps and stalks yielded higher amounts of crude extract compared to those obtained using ethanol. The crude extract yields ranged from 57.53 to 254.80 mg per gram of dry weight with total phenolic content ranging from 43.34 mg GAE/g crude to 145.29 mg GAE/g crude. *L. polychrous* extract obtained from the mushroom cap using water at room temperature yielded a significantly higher total phenolic content per gram of crude extract compared to the other extraction methods. The flavonoid content in the mushroom ranged from 58.37 mg QE/g crude extract to 379.08 mg QE/g crude extract. The extract obtained from the mushroom stalks using water at room temperature yielded a significantly higher flavonoid content per gram of crude extract compared to the other extraction methods. Antioxidant activity showed that the extracts of both stalk and cap extracted with ethanol and water at different temperatures had significantly higher  $IC_{50}$  values than standard antioxidants ( $p < 0.05$ ). The analysis of total phenolic flavonoid contents and antioxidant activity in *L. polychrous* extracts provides fundamental data valuable for enhancing the production process and improving the quality of local mushrooms in Nakhon Phanom province. Additionally, it serves as a foundation for further investigation into other bioactive properties to support the development of health-related products or functional foods from *L. pochrous*.

**Keywords:** Total phenolic content, Flavonoid, Antioxidant activity *Lentinus polychrous* Lev., Nakhon Phanom Province

## บทนำ

ในสภาพสังคมปัจจุบันมนุษย์ต้องเผชิญกับมลพิษ โรคอุบัติใหม่ ภาวะเศรษฐกิจและสังคมที่มีการเปลี่ยนแปลงที่รวดเร็ว ส่งผลต่อแนวความคิด การปรับตัว พฤติกรรมและรูปแบบการดำเนินชีวิตของมนุษย์ที่เปลี่ยนแปลงไปอย่างมาก การดูแลสุขภาพ อาหารและโภชนาการ ตลอดจนความเครียดมีผลต่อระบบร่างกายและการทำลายระบบภูมิคุ้มกันอันเป็นสาเหตุของโรคภัยต่างๆ ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกัน โรคเบาหวาน ตลอดจนโรคเรื้อรังที่เกิดจากการอักเสบภายในร่างกาย และโรคเหล่านี้กำลังมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น [1] ปัจจุบันมีการวิจัยและพัฒนาสมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมาใช้เป็นทางเลือกในการป้องกัน ช่วยลดผลข้างเคียง และส่งเสริมการรักษาควบคู่กับยาแผนปัจจุบัน นำมาซึ่งการค้นพบยารักษาโรคแผนปัจจุบันทั้งในประเทศไทยและทั่วโลก [2] ข้อมูลจากสำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์การค้า (สนค.) กระทรวงพาณิชย์ ปี พ.ศ.2566 ไทยส่งออกสินค้าอาหารแห่งอนาคต คิดเป็นมูลค่า 4,107.72 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (142,958.80 ล้านบาท) เป็นสินค้าอาหารฟังก์ชันและสารประกอบเชิงฟังก์ชันมากที่สุด 3,684.50 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (128,248.02 ล้านบาท) มีสัดส่วนร้อยละ 89.7 ของการส่งออกอาหารแห่งอนาคตทั้งหมด สำหรับปี พ.ศ. 2567 (มกราคม – เมษายน) ประเทศไทยส่งออกสินค้าอาหารแห่งอนาคตเป็นมูลค่า 1,437.26 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (51,674.74 ล้านบาท) ขยายตัวร้อยละ 11.0 โดยยังคงส่งออกอาหารฟังก์ชันและสารประกอบเชิงฟังก์ชันมากที่สุด 1,305.35 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (46,935.06 ล้านบาท) สัดส่วนร้อยละ 90.8 [3] ประเทศไทยมีความอุดมสมบูรณ์ด้านทรัพยากรและมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง รวมถึงภูมิปัญญาท้องถิ่นในด้านการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรไทยจากอดีตและพัฒนาจนถึงปัจจุบัน การค้นหาสารสำคัญ องค์ประกอบทางเคมีฤทธิ์ทางชีวภาพจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจึงเป็นข้อมูลสำคัญของสารที่ออกฤทธิ์ที่เฉพาะเจาะจงเพื่อนำไปใช้ประโยชน์อย่างสูงสุด ปัจจุบันมีการศึกษาทั้งในพืชสมุนไพรและเห็ดหลากหลายชนิด เช่น การวิเคราะห์ฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฟลาโวนอยด์ หรือการวิเคราะห์ทางด้านโปรตีน วิเคราะห์เอนไซม์ เป็นต้น [2], [4] การศึกษาสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่ๆ โดยการเพาะเลี้ยงในสภาวะต่างๆ เพื่อให้เห็ดผลิตสารที่สำคัญหรือให้คุณค่ามากขึ้นเป็นประโยชน์ในการวิจัยต่อยอดนวัตกรรมตลอดจนผลิตภัณฑ์ต่างๆ เห็ดกินได้ในธรรมชาติเมืองไทยนอกจากมีรสชาติที่ดี ให้คุณค่าทางโภชนาการเนื่องจากมีคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนสูง และยังมีสารออกฤทธิ์ที่มีผลเชิงบวกต่อร่างกาย เห็ดจึงเป็นอาหารฟังก์ชัน การบริโภคเห็ดจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการดูแลสุขภาพหรือกล่าวได้ว่าเห็ดเป็นทั้งอาหารและยาได้ [5] เห็ดกระด้าง (*Lentinus polychrous* Lev.) [6] เห็ดกระด้างหรือเรียกว่าเห็ดขอน เห็ดบด (ภาคอีสาน) หรือเห็ดลม (ภาคเหนือ) เป็นเห็ดพื้นเมืองกินได้ อยู่ในวงศ์ Polyporaceae เป็นเห็ดท้องถิ่นที่พบมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือของประเทศไทย และสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว [7], [8] เห็ดกระด้างเป็นเห็ดที่นิยมบริโภคทางภาคอีสาน มีรสชาติ ออกดอกในฤดูร้อน และสามารถเพาะเลี้ยงในโรงเรือนได้ ทำให้เกษตรกรสามารถผลิตและขายในท้องตลาดได้ตลอดปี สร้างรายได้ให้เกษตรกรในท้องถิ่นได้ เห็ดกระด้างมีสรรพคุณเป็นยาบำรุงร่างกาย บำรุงกำลัง แก้พิษไข้ได้ดี [5] ทั้งนี้พบว่าเห็ดกระด้างมีสารกลุ่มสารโพลีแซคคาไรด์ที่มีขนาดโมเลกุลสูงคล้ายคลึงกับสารสำคัญในเห็ดชนิดอื่นๆ ที่มีการรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์ในหลายด้าน ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม [9] ฤทธิ์ต้านการอักเสบ [10] ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ด้านเบาหวาน ด้านไวรัส ด้านแบคทีเรีย ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน [5] และปัจจุบันมีรายงานการศึกษาข้อมูลด้านฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและนำสารสำคัญจากเห็ดกระด้างมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในหลายรูปแบบ ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้าวิจัยจึงสนใจศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบส่วนหมวกและส่วนก้านของเห็ด ในเรื่องอุณหภูมิและสารที่ใช้ในการสกัด วิเคราะห์เปรียบเทียบค่าสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolics) สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เห็ดกระด้างเพื่อสุขภาพต่อไป

## วัสดุและวิธีการ

### 1. ตัวอย่างเห็ดกระด้าง

เก็บตัวอย่างเห็ดกระด้างที่เพาะเลี้ยงจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนผลิตเห็ดดองครามในเดือนเมษายน 2566 ในพื้นที่ตำบลธาตุพนม อำเภอธาตุพนม จังหวัดนครพนม โดยเก็บดอกเห็ดสมบูรณ์ที่มีอายุการเจริญ 2 วัน ภายหลังจากเปิดหน้าก้อนเห็ดกระด้าง และมีขนาดเห็ดที่ใกล้เคียงกัน ชั่งน้ำหนักสด ล้างทำความสะอาดเตรียมตัวอย่างเห็ดกระด้างโดยตัดแยกส่วนของหมวกและส่วนก้านของดอกเห็ด นำมาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง และนำหนักแห้งจากนั้นบดให้เป็นผงละเอียด แยกเก็บผงเห็ดส่วนหมวกและส่วนก้านเห็ดในถุงซิปล็อคและเก็บไว้ในโถสุญญากาศความชื้นในห้องปฏิบัติการเพื่อการนำไปใช้ในขั้นตอนการสกัดต่อไป

### 2. การสกัดเห็ดกระด้าง

นำผงเห็ดกระด้างทั้งส่วนของหมวกเห็ดและส่วนก้านดอกเห็ดมาแช่ด้วย 75% เอทานอล อุณหภูมิห้อง ( $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส) และแช่ด้วยน้ำที่ อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ อุณหภูมิห้อง 60 องศาเซลเซียส และ 80 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราส่วนปริมาณเห็ด (กรัม) ต่อปริมาตรตัวทำละลาย (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1:10 คือปริมาณเห็ดบด 5 กรัม ในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด (น้ำ, เอทานอล 75%) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทำการแช่ไว้เป็นเวลา 30 นาที ตามอุณหภูมิที่กำหนด (ตลอดการทดลอง) จากนั้นกรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำสารละลายตัวอย่างเห็ดกระด้างที่ได้ใส่ลงขวดกลั่นขนาด 50 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องระเหยแห้งแบบหมุน (rotary evaporator) เพื่อระเหยแห้งสารละลายให้ได้ปริมาณเป็นครึ่งหนึ่งจากเดิมเพื่อให้ได้สารสกัดที่เข้มข้นสำหรับศึกษาและเก็บในขวดสีชาพร้อมปิดฝาให้สนิท เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $-20$  องศาเซลเซียส เพื่อการนำไปใช้ในขั้นตอนการวิเคราะห์ต่อไป

### 3. การวัดปริมาณน้ำหนักรสสกัดหยาบ

เปิดสารสกัดเห็ดกระด้าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในถ้วยกระดาษฟรอยล์ จากนั้นนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักสารสกัดทั้งก่อนและหลังอบแห้ง คำนวณหาปริมาณน้ำหนักรสสกัดหยาบในหน่วยมิลลิกรัมสารสกัดหยาบต่อกรัมเห็ด (mg crude extract/g DW) จากสูตร

$$\text{น้ำหนักรสสกัดหยาบ} = \text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ}$$

### 4. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic content)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมด้วยวิธี Folin – Ciocalteu Reagent's method [11] ตามวิธีการของ Hou, et al. [12] นำสารสกัดจากส่วนของก้านเห็ดและหมวกเห็ดที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 60 และ 80 องศาเซลเซียส และสกัดด้วย 75% เอทานอล ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ลงในไมโครเพลทขนาด 96 หลุม เติมน้ำละลาย Folin – Ciocalteu ความเข้มข้น 10 % (v/v) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน พักไว้ในที่มืดนาน 3 นาที จากนั้นเติมน้ำละลาย  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ความเข้มข้น 7.5% (w/v) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน พักไว้ในที่มืดนาน 30 นาที และนำไปวิเคราะห์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 731 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Microplate Readers (BioTek Instruments รุ่น 270544, USA) โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Gallic Acid Equivalent : GAE) ที่ระดับความเข้มข้น 70, 80, 90, 100, 110 และ 120 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง จากนั้นคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก และรายงานในหน่วย mg GAE/g DW และ mg GAE/g crude extract

### 5. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids content)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วย Aluminium chloride colorimetric method โดยดัดแปลงจากวิธีของ Chang et al. [13] เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลทขนาด 96 หลุม เติมน้ำสกัดจากส่วนของก้านเห็ดและหมวกเห็ดที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 60 และ 80 องศาเซลเซียส และสกัดด้วย 75% เอทานอล ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เติมน้ำละลาย  $\text{NaNO}_2$  ความเข้มข้น 5% (w/v) ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ผสมให้เข้า

กันและพักไว้ในที่มืด 5 นาที จากนั้น เติมสารละลาย  $\text{AlCl}_3$  เข้มข้น 10% (w/v) ปริมาตร 12 ไมโครลิตร และพักไว้ในที่มืด 6 นาที เติมสารละลาย  $\text{NaOH}$  ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 22 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและพักไว้ในที่มืด 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Microplate Readers (BioTek Instruments รุ่น 270544, USA) จากนั้นโดยคำนวณค่าฟลาโวนอยด์ของตัวอย่างสารสกัด โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานสารเคอซีทิน (quercetin) ที่ระดับความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากกราฟมาตรฐานของสารเคอซีทิน และรายงานในหน่วย quercetin equivalent (mg QE/g DW และ mg QE/g crude extract)

## 6. การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

การวัดประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging activity ; FRSA) ด้วย 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Free radical method โดยเจือจางตัวอย่างสารสกัดให้มีความเข้มข้น 2 เท่า 4 เท่า 8 เท่า และ 16 เท่า โดยการทำการละลายสกัดด้วยตัวทำละลายที่ใช้สกัด วิธีการวิเคราะห์เริ่มจากปิเปตสารสกัดให้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลทขนาด 96 หลุม โดยทำการความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 180 ไมโครลิตร (เตรียมสารละลาย DPPH โดยการละลาย DPPH ด้วยเอทานอลความเข้มข้น 80%) จากนั้นผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น Blank เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน วิตามินซี (L-ascorbic acid) คำนวณหาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของการสกัดโดยใช้สมการดังนี้

$$\text{Free radical scavenging activity (\%)} = (A_0 - A_i) / A_0 \times 100$$

โดย  $A_0$  และ  $A_i$  คือค่าดูดกลืนแสงของชุดควบคุม (ใช้น้ำกลั่นและเอทานอลความเข้มข้น 75% แทนตัวอย่าง) และตัวอย่างสารสกัดให้ตามลำดับ จากนั้น คำนวณหาค่า  $\text{IC}_{50}$  (ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50) สารสกัดที่ได้แต่ละสภาวะการทดลองเปรียบเทียบกับค่า  $\text{IC}_{50}$  ของวิตามินซี (L-ascorbic acid)

## 7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองนี้ทำการวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ซ้ำ วิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวน (one-way ANOVA) และการทดสอบเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยภายหลัง (post hoc test) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ IBM SPSS Statistics v.14

## ผลการศึกษา

### 1. ปริมาณน้ำหนักรสสารสกัดหยาบ

พิจารณาจากน้ำหนักของสารสกัดหยาบทั้งหมดต่อน้ำหนักผงแห้ง (dried weight, DW) แยกขึ้นส่วนคือส่วนของก้านเห็ดและหมวกเห็ด พบว่าปริมาณของสารสกัดหยาบส่วนของก้านเห็ดที่สกัดในสภาวะที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยการสกัดส่วนก้านเห็ดที่ปริมาณสารสกัดหยาบสูงคือสารสกัดที่อุณหภูมิห้อง (111.37 mg crude extract/g DW) และสารสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (104.27 mg crude extract/g DW) รองลงมาคือสารสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (57.533 mg crude extract/g DW) และเอทานอล (4.61 mg crude extract/g DW) ตามลำดับ และปริมาณของสารสกัดหยาบส่วนของหมวกเห็ดที่สกัดในสภาวะที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยการสกัดส่วนหมวกเห็ดที่ปริมาณสารสกัดหยาบสูงคือสารสกัดที่อุณหภูมิห้อง (254.80 mg crude extract/g DW) และสารสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (237.55 mg crude extract/g DW) รองลงมาคือสารสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (102.10 mg crude extract/g DW) และการสกัดด้วย 75% เอทานอล (5.13 mg crude extract/g DW) ตามลำดับ ดังตารางที่ 1

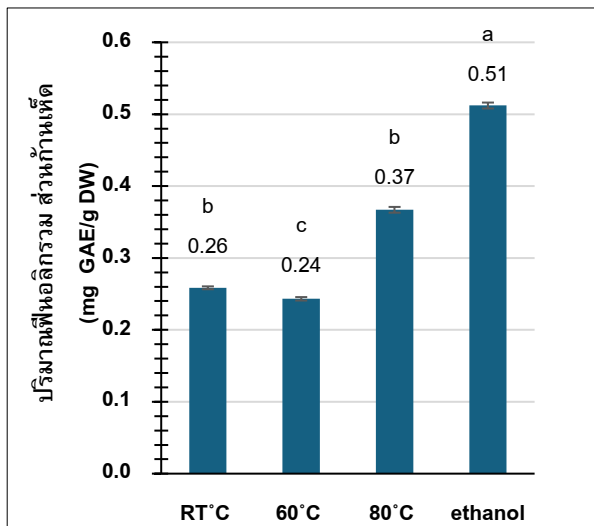
ตารางที่ 1 ปริมาณน้ำหนักรสสกัดหยาบทั้งหมดต่อกรัมของผงเห็ดแห้งส่วนก้านเห็ดและส่วนหมวกเห็ด (mg crude extract/g DW)

| ส่วนของเห็ด<br>กระด้างที่สกัด | ปริมาณน้ำหนักรสสกัดหยาบต่อกรัมผงเห็ดแห้ง (mg crude extract/g DW) |              |              |             |
|-------------------------------|------------------------------------------------------------------|--------------|--------------|-------------|
|                               | อุณหภูมิห้อง                                                     | 60 °C        | 80 °C        | 75% ethanol |
| ส่วนก้านเห็ด                  | 111.37±0.01a                                                     | 57.53±0.04b  | 104.27±8.92a | 4.06±0.24c  |
| ส่วนหมวกเห็ด                  | 254.80±0.04a                                                     | 237.55±0.03a | 102.10±7.00b | 5.13±1.84c  |

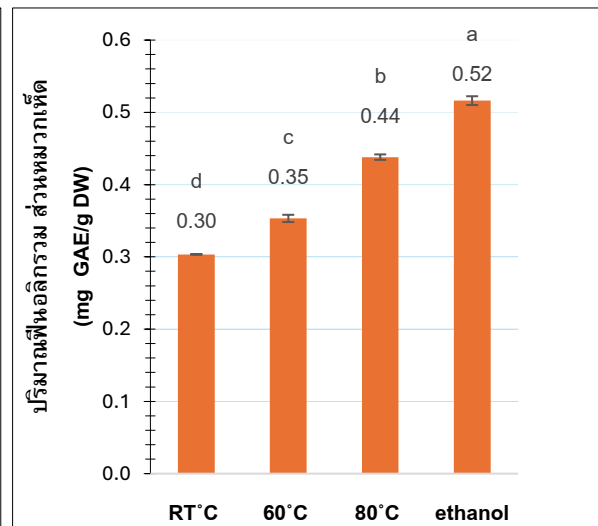
หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ±SD (n=3) ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทดสอบด้วย Duncan's multiple range test เปรียบเทียบเฉพาะส่วนของเห็ดกระด้างที่สกัด (ก้านเห็ด, หมวกเห็ด) ในสภาวะต่างๆ ภายในแถวเดียวกัน

## 2. ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม (total phenolic content) โดยวิธี Folin Ciocalteu method และใช้สาร gallic acid เป็นสารมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดเห็ดกระด้างจากส่วนก้านเห็ดและหมวกเห็ดที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส และสกัดด้วย 75% เอทานอล รายงานเป็นหน่วยปริมาณฟีนอลิกรวมต่อกรัมน้ำหนักผงเห็ดแห้ง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ปริมาณฟีนอลิกรวมจากสารสกัดส่วนก้านเห็ดที่สกัดด้วย 75% เอทานอล (0.51 mg GAE/g DW) มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงสุด รองลงมาคือการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส (0.37 mg GAE/g DW) อุณหภูมิห้อง (0.26 mg GAE/g DW) และอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส (0.24 mg GAE/g DW) ตามลำดับ (ดังภาพที่ 1A) เมื่อพิจารณาสารสกัดจากส่วนหมวกเห็ด พบว่าการสกัดด้วย 75% เอทานอล (0.52 mg GAE/g DW) ให้ปริมาณสารฟีนอลิกมากที่สุด รองลงมาคือการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (0.44 mg GAE/g DW) อุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส (0.35 mg GAE/g DW) และอุณหภูมิห้อง (0.30 mg GAE/g DW) ตามลำดับ (ดังภาพที่ 1B)



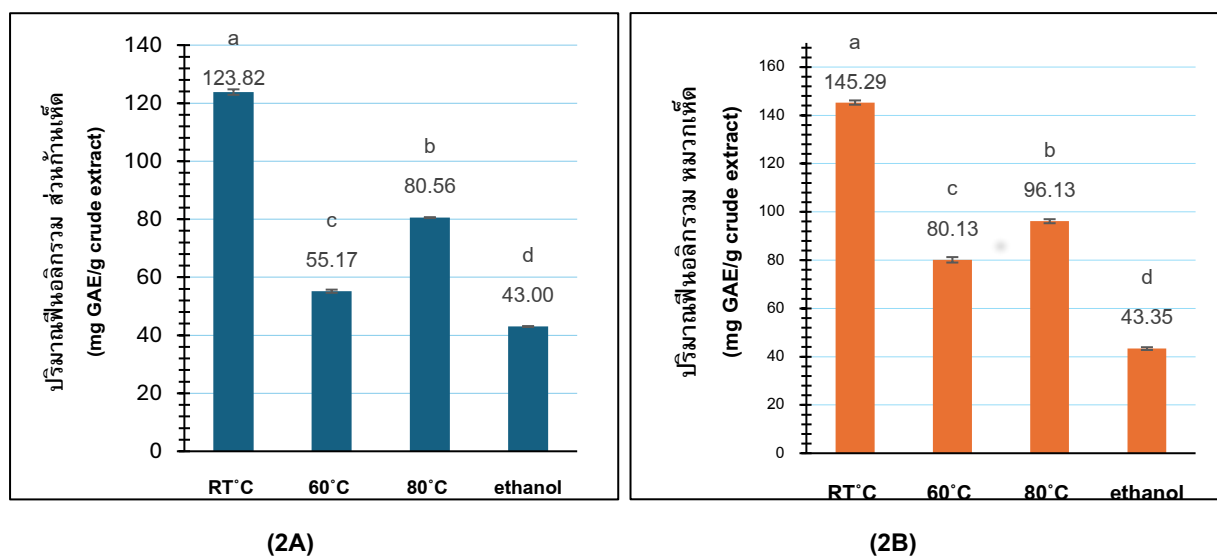
(1A)



(1B)

ภาพที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกรวมหน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลต่อแกลลิก (GAE) ต่อกรัมผงเห็ดแห้ง (DW) ของส่วนก้านเห็ด (1A) และส่วนหมวกเห็ด (1B) โดยอักษร a, b, c และ d หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทดสอบด้วย Duncan's multiple range test เปรียบเทียบเฉพาะส่วนของเห็ดกระด้างที่สกัด (ก้านเห็ด, หมวกเห็ด) ในสภาวะต่างๆ ภายในแถวเดียวกัน

เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมต่อกรัมสารสกัดหยาบพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยปริมาณสารฟีนอลิกรวมต่อกรัมสารสกัดหยาบส่วนของก้านเห็ดที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง ( $123.82 \text{ mg GAE/g crude extract}$ ) มีปริมาณสารฟีนอลิกสูงที่สุด รองลงมาคือการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ  $80^{\circ}\text{C}$  องศาเซลเซียส ( $80.56 \text{ mg GAE/g crude extract}$ ) การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ  $60^{\circ}\text{C}$  องศาเซลเซียส ( $55.17 \text{ mg GAE/g crude extract}$ ) และการสกัดด้วยเอทานอล ( $43.00 \text{ mg GAE/g crude extract}$ ) ตามลำดับ (ดังภาพที่ 2A) เมื่อพิจารณาปริมาณสารฟีนอลิกรวมต่อกรัมสารสกัดหยาบในส่วนของหมวกเห็ดพบว่าการสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิห้อง ( $145.29 \text{ mg GAE/g crude extract}$ ) ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมต่อกรัมสารสกัดหยาบสูงที่สุด รองลงมาคือการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ  $80^{\circ}\text{C}$  องศาเซลเซียส ( $96.13 \text{ mg GAE/g crude extract}$ ) การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ  $60^{\circ}\text{C}$  องศาเซลเซียส ( $80.13 \text{ mg GAE/g crude extract}$ ) และการสกัดด้วย 75% เอทานอล ( $43.34 \text{ mg GAE/g crude extract}$ ) ตามลำดับ



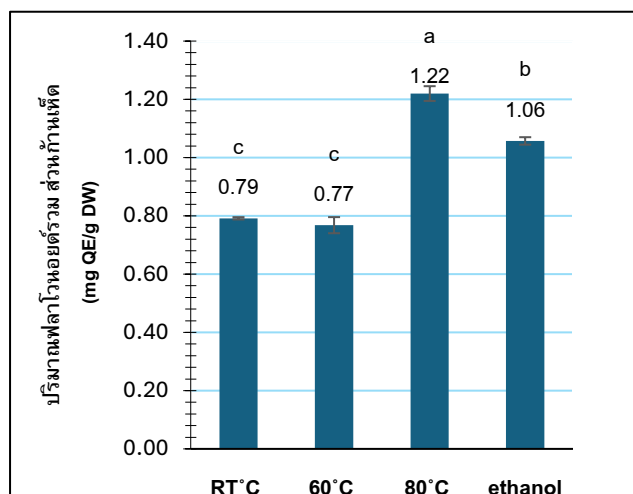
**ภาพที่ 2** ปริมาณฟีนอลิกรวมหน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลต่อแกลลิก (GAE) ต่อกรัมสารสกัดหยาบ (g crude extract) ของส่วนก้านเห็ด (1A) และ ส่วนหมวกเห็ด (2B) โดยอักษร a, b, c และ d หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทดสอบด้วย Duncan's multiple range test เปรียบเทียบเฉพาะส่วนของเห็ดกระด้างที่สกัด (ก้านเห็ด, หมวกเห็ด) ในสภาวะต่างๆ ภายในแถวเดียวกัน

### 3. ปริมาณสารฟลาโวนอยด์

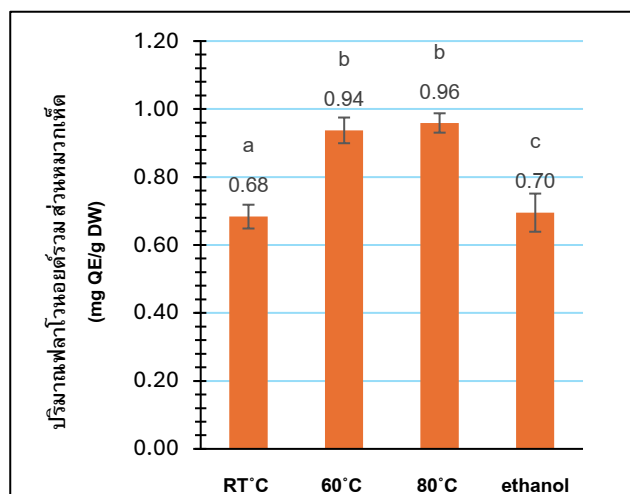
จากการวัดปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid content) โดยใช้วิธี colorimetric assay และใช้ (quercetin, Q) เป็นสารมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบปริมาณของสารฟลาโวนอยด์รวมของเห็ดกระด้างส่วนก้านเห็ดและหมวกเห็ดที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ  $60^{\circ}\text{C}$  องศาเซลเซียส อุณหภูมิ  $80^{\circ}\text{C}$  องศาเซลเซียส และสกัดด้วย 75% เอทานอล พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์รวมต่อกรัมน้ำหนักแห้งเห็ดแห้งที่สกัดด้วยสารสกัดและอุณหภูมิที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

สารสกัดส่วนก้านเห็ดพบว่าการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ  $80^{\circ}\text{C}$  องศาเซลเซียส ( $1.22 \text{ mg QE/g DW}$ ) พบปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงที่สุด รองลงมาคือการสกัดด้วยเอทานอล ( $1.06 \text{ mg QE/g DW}$ ) การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง ( $0.79 \text{ mg QE/g DW}$ ) และการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ  $60^{\circ}\text{C}$  องศาเซลเซียส ( $0.77 \text{ mg QE/g DW}$ ) ตามลำดับ (ดังภาพที่ 3A) สำหรับสารสกัดจากส่วนของหมวกเห็ดพบว่าการสกัดที่อุณหภูมิ  $80^{\circ}\text{C}$  องศาเซลเซียส ( $0.96 \text{ mg QE/g DW}$ )

มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงที่สุด รองลงมาคือการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส (0.94 mg QE/ g DW) การสกัดด้วย 75% เอทานอล (0.70 mg QE/ g DW) และการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง (0.68 mg QE/ g DW) ตามลำดับ (ดังภาพ 3B)



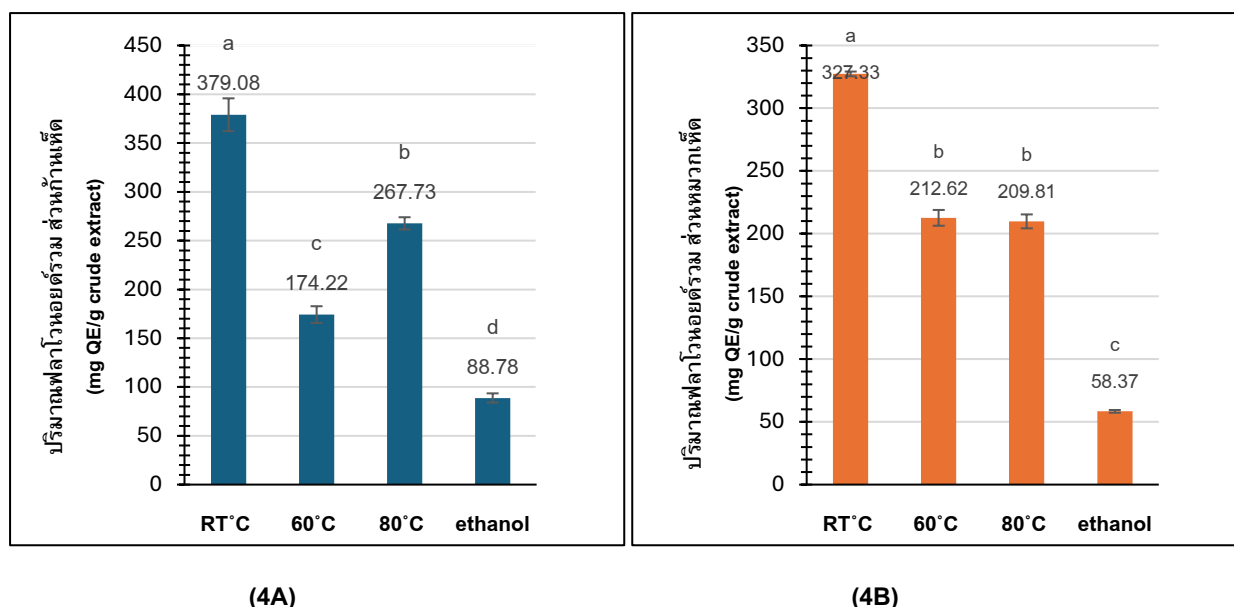
(3A)



(3B)

**ภาพที่ 3** ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมหน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีทิน (QE) ต่อกรัมผงแห้ง (DW) ของส่วนก้านเห็ด (3A) และส่วนหมวกเห็ด (3B) โดยอักษร a, b, c และ d หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทดสอบด้วย Duncan's multiple range test เปรียบเทียบเฉพาะส่วนของเห็ดกระด้างที่สกัด (ก้านเห็ด, หมวกเห็ด) ในสภาวะต่างๆ ภายในแถวเดียวกัน

เมื่อพิจารณาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมต่อกรัมสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส และสกัดด้วย 75%เอทานอล พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยสารสกัดหยาบส่วนก้านเห็ดพบว่าอุณหภูมิห้อง (379.08 mg QE/g crude extract) มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงที่สุด รองลงมาคือการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (267.73 mg QE/g crude extract) การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (174.22 mg QE/g crude extract) และการสกัดด้วยเอทานอล (88.78 mg QE/ g crude extract) ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4A) สำหรับสารสกัดจากส่วนของหมวกเห็ดพบว่าการสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิห้อง (327.33 mg QE/g crude extract) การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (212.62 mg QE/g crude extract) การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (209.81 mg QE/g crude extract) และการสกัดด้วย 75% เอทานอล (58.37 mg QE/g crude extract) (ดังภาพที่ 4B)



**ภาพที่ 4** ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมหน่วยเป็นมิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีทินต่อกรัมสารสกัดหยาบ (g crude extract) ของส่วนก้านเห็ด (4A) และ ส่วนหมวกเห็ด (4B) โดยอักษร a, b, c และ d หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทดสอบด้วย Duncan's multiple range test เปรียบเทียบเฉพาะส่วนของเห็ดกระด้างที่สกัด (ก้านเห็ด, หมวกเห็ด) ในสภาวะต่างๆ ภายในแถวเดียวกัน

#### 4. ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ

จากการวัดประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging activity ; FRSA) ด้วยวิธีการ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Free radical method โดยใช้สารสกัดเห็ดกระด้างส่วนก้านเห็ดและหมวกเห็ดที่สกัดที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส และ 75% เอทานอล เปรียบเทียบกับค่า  $IC_{50}$  ของวิตามินซี (ascorbic acid) ผลการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของส่วนก้านเห็ดพบว่าการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ( $0.29 \pm 0.01$  mg/L) มีประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด รองลงมาคือสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ( $0.30 \pm 0.04$  mg/L) สกัดด้วย 75% เอทานอล ( $0.34 \pm 0.18$  mg/L) และสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิห้อง ( $0.52 \pm 0.10$  mg/L) ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลการศึกษพบว่าประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของส่วนหมวกเห็ดพบว่าการสกัดหมวกเห็ดที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ( $0.003 \pm 0.00$  mg/L) มีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด รองลงมาคือสกัดด้วย 75% เอทานอล ( $0.013 \pm 0.01$  mg/L) สกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ( $0.039 \pm 0.04$  mg/L) และสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิห้อง ( $0.120 \pm 0.12$  mg/L) ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

**ตารางที่ 1** ปริมาณประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดส่วนของก้านเห็ดและปริมาณส่วนของหมวกเห็ด

| ส่วนของเห็ด<br>กระด้างที่สกัด | ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ค่า $IC_{50}$ เปรียบเทียบกับวิตามินซี (ascorbic acid) |                   |                   |                   |                  |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
|                               | อุณหภูมิห้อง                                                                        | 60 °C             | 80 °C             | ethanol           | Vitamin C        |
| ก้านเห็ด                      | $0.52 \pm 0.10b$                                                                    | $0.30 \pm 0.04b$  | $0.29 \pm 0.01b$  | $0.34 \pm 0.18b$  | $4.35 \pm 3.12a$ |
| หมวกเห็ด                      | $0.12 \pm 0.12b$                                                                    | $0.039 \pm 0.04b$ | $0.003 \pm 0.00b$ | $0.013 \pm 0.01b$ | $4.35 \pm 3.12a$ |

หมายเหตุ : ค่า  $IC_{50}$  ของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดส่วนของก้านเห็ดและหมวกเห็ดในหน่วยมิลลิกรัมสารสกัดหยาบต่อลิตร (mg/L) เปรียบเทียบกับวิตามินซี โดยแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  SD ( $n=3$ ) โดยอักษร a, b, c และ d หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทดสอบด้วย Duncan's multiple range test เปรียบเทียบเฉพาะส่วนของเห็ดกระด้างที่สกัด (ก้านเห็ด, หมวกเห็ด) ในสภาวะต่างๆ ภายในแถวเดียวกัน

## วิจารณ์

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดเห็ดกระด้าง (*Lentinus polychrous* Lev.) โดยการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์ โดยใช้สารสกัดเห็ดกระด้างอบแห้งจากส่วนก้านเห็ดและส่วนหมวกเห็ดที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 60 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และสกัดด้วย 75% เอทานอลที่อุณหภูมิห้อง ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดเห็ดกระด้างทั้งหมดต่อกรัมเห็ดแห้ง พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ จากทั้งส่วนหมวกเห็ดและส่วนก้านเห็ดนั้นให้ปริมาณสารสกัดเห็ดกระด้างสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอล มีค่าปริมาณสารสกัดเห็ดกระด้างอยู่ระหว่าง 57.53 mg crude extract/g DW ถึง 254.80 mg crude extract/g DW สอดคล้องกับ Thetsrimuang et al. [5] สกัดเห็ดกระด้างด้วยน้ำร้อนได้ปริมาณสารสกัดเห็ดกระด้างต่อกรัมน้ำหนักเห็ดแห้งสูงเช่นกัน โดยสารสกัดเห็ดที่สกัดจากส่วนเส้นใย (5.9%) ให้ปริมาณสารสกัดเห็ดกระด้างต่อกรัมน้ำหนักเห็ดแห้งมากกว่าสกัดจากส่วนดอกเห็ดแห้ง (5.8%) และดอกเห็ดสด (5.2%) ตามลำดับ ชนิดเห็ด อุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งสารสกัดเห็ด และวิธีการสกัดที่แตกต่างกันมีผลให้ปริมาณสารสกัดเห็ดกระด้างที่แตกต่างกัน การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ และการสกัดด้วยเอทานอลให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมต่อกรัมน้ำหนักเห็ดแห้งพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยการสกัดด้วยเอทานอลให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมต่อกรัมน้ำหนักเห็ดแห้งสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากสารกลุ่มฟีนอลิกในเห็ดเป็นสารประกอบออกฤทธิ์ (active compounds) ที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในสารอินทรีย์ ดังนั้นการสกัดด้วยเอทานอลจึงมีประสิทธิภาพที่ดีและช่วยทำลายคุณสมบัติของผนังเซลล์ได้ดีกว่าจึงสกัดให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ โดยตัวทำละลายน้ำสกัดสารกลุ่มฟีนอลิกได้ดีกว่า สอดคล้องกับชนิดา และคณะ [14] ศึกษาฟีนอลิกรวมในเห็ดฟาง เห็ดหอม และเห็ดเหี่ยวไผ่สายพันธุ์ไทยในสภาวะก่อนและหลังกระบวนการให้ความร้อนในระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าเห็ดทุกชนิดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมลดลง ดังนั้นสารสกัดเห็ดที่ได้จากกระบวนการต้มหรือความร้อนจะให้ปริมาณฟีนอลิกรวมลดลงตามระยะเวลาในการให้ความร้อนที่เพิ่มขึ้น เห็ดกระด้างในรูปแบบดอกเห็ดแห้งจึงมีปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยกว่าเห็ดกระด้างสดหรือในสภาพเส้นใย เนื่องจากการผ่านกระบวนการให้ความร้อนมีผลต่อโครงสร้างสภาพเซลล์และการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในเซลล์ [5] สำหรับปริมาณฟีนอลิกรวมจากเห็ดกระด้างส่วนหมวกและส่วนก้าน พบว่าให้ปริมาณฟีนอลิกรวมที่ใกล้เคียงกันมีค่าอยู่ระหว่าง 26 - 52 mg GAE/ 100g DW สอดคล้องกับ ธารทิพย์ และธนากร [15] ศึกษาผลของเห็ดกระด้างป่าสะแกราชต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโพรไบโอติก กลุ่ม *Lactobacillus* sp. พบว่า ปริมาณฟีนอลิกรวมของเส้นใยเห็ดกระด้างที่เลี้ยงในอาหาร MRS ที่เลี้ยงเชื้อ *L. casei* TISTR 1463 และ *L. plantarum* TISTR 1465 โดยเห็ดกระด้างส่วนหมวกและส่วนก้านของเชื้อทั้งสองชนิดให้ปริมาณฟีนอลิกรวมที่ใกล้เคียงกัน สอดคล้องกับ นิภาพร และคณะ [9] ศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดจากเห็ดกระด้างกับเห็ดหลินจือทั้งรูปแบบเส้นใยและดอกเห็ดอายุ 1 - 6 เดือน พบว่าเห็ดกระด้างมีปริมาณฟีนอลิกรวมเพิ่มสูงขึ้นเมื่อตัวอย่างมีอายุมากขึ้น ปริมาณฟีนอลิกรวมระหว่าง 10.42-116.57 mg GAE/ 100g DW ซึ่งปริมาณฟีนอลิกรวมในเห็ดกระด้างไม่แตกต่างจากเส้นใยเห็ดหลินจือ เห็ดทั้งสองชนิดพบสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเป็นองค์ประกอบ ทั้งนี้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของดอก เส้นใย อุณหภูมิที่ทำให้แห้ง และอายุการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด เป็นต้น สำหรับปริมาณฟลาโวนอยด์เมื่อพิจารณาผลจากภาพ 4A พบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดด้วยน้ำให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอล มีปริมาณฟลาโวนอยด์อยู่ระหว่าง 68 - 122 mg QE/100g DW การสกัดเห็ดกระด้างด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องให้ปริมาณฟลาโวนอยด์มากกว่าสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 60 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Maingam (2017) โดยสภาวะอุณหภูมิในการสกัดสารที่แตกต่างกันมีผลต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ซึ่งการสกัดที่อุณหภูมิต่ำจะให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงกว่าการสกัดภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง [16] อย่างไรก็ตามในการวิจัยครั้งนี้พบว่าเมื่อสกัดตัวอย่างเห็ดส่วนก้านเห็ดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ต่ำกว่าการสกัดที่ 80 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้อาจเนื่องจากโครงสร้างของเส้นใยของส่วนประกอบก้านเห็ดนั้นมีความหนาแน่นสูง การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิสูงกว่า (80 องศาเซลเซียส) จึงทำลายเส้นใยได้ดีกว่าและสกัดสารออกมา

ได้มากกว่าการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิต่ำกว่า (60 องศาเซลเซียส) การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากกลุ่มเชื้อรา (Fungi) ในส่วนประกอบต่างๆ ได้แก่ ส่วนของสปอร์ ส่วนของโครงสร้างการสืบพันธุ์ (fruiting body) หรือจากการเพาะเลี้ยงเส้นใย ปัจจุบันเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเส้นใยจากแหล่งของสารอาหารที่สำคัญส่งผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ มีรายงานพบสารฟีนอลิกในเห็ดกระด้างที่สกัดได้จากทั้งส่วนดอกเห็ดและเส้นใย รวมทั้งพบสารคาเทชิน (catechin) กรดแทนนิก (tannic acid) กรดแกลลิก (gallic acid) เควอร์ซีทิน (quercetin) ไอโซเควอร์ซีทิน (isoquercetin) และแคมป์เฟอร์อล (kaempferol) [9], [17], [18] ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเห็ดกระด้างทั้งส่วนก้านและส่วนหมวกเห็ดที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิที่แตกต่างกันและสกัดด้วย 75% เอทานอลมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระได้ดีมากกว่าวิตามินซี โดยเปรียบเทียบกับค่า  $IC_{50}$  ของวิตามินซี (ascorbic acid) พบว่าเห็ดกระด้างทั้งส่วนก้านเห็ดและส่วนหมวกเห็ดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าวิตามินซี ( $IC_{50}$  ของวิตามินซี มีค่า 4.35 mg/L) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ชารทิพย์ และ ธนากร [15] การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระจากน้ำเลี้ยงเส้นใยเห็ดกระด้างป่า (*Lentinus polychrous* Lev.) พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า เห็ดระโงกขาว (*Amanita princeps* Corner & Bas.) เห็ดระโงกเหลือง [*A. hemibapha* (Berk. et Br.) Sacc. subsp. javanica Corner et Bas.] เห็ดขมิ้นเล็ก (*Cantharellus minor* Peck.) เห็ดขมิ้นใหญ่ [*Craterellus oderatus* (Schw.) Fr.] โดยมีค่า  $IC_{50}$  เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นของเห็ดแต่ละชนิด 15, 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml) พบว่าเห็ดที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุดทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น คือเห็ดกระด้างที่ 47.89, 49 และ 49.56 mg/ml ตามลำดับ มีความเข้มข้นมากกว่าค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของ Trolox ที่ 50 % ที่มีค่าเท่ากับ 36.41 mg/ml [15] และสารสกัดเห็ดกระด้างหรือเห็ดบดเป็นเห็ดกินได้ของไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงไม่แตกต่างจากสารสกัดเห็ดหลินจือ [9] มีรายงานวิจัยเห็ดกระด้างรองรับเรื่องความปลอดภัยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ และปรับภูมิคุ้มกัน [5] โพลีแซคคาไรด์ที่สำคัญพบในเส้นใยเห็ดกระด้าง คือ สารเบต้ากลูแคน ( $\beta$ -glucans) ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง และช่วยลดคอเลสเตอรอล [19], [20], [21] มีรายงานกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูงมากในสารสกัดเห็ดกระด้างทั้งส่วนดอกเห็ดและเส้นใย โดยประกอบด้วยสารฟีนอลิกหลายตัวดังกล่าว สารเบต้ากลูแคนมีผลต่อการเพิ่มกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระให้สูงอีกด้วย [22] มีการศึกษาเกี่ยวเบต้ากลูแคนและมีการตรวจสอบสารคุณสมบัติบางประการของสารโภชนาการในห้องปฏิบัติการพบว่ากรรมวิธี Blanching Process ในเห็ดกระด้างสามารถเพิ่มปริมาณสารเบต้ากลูแคนได้ซึ่งเบต้ากลูแคนมีส่วนเพิ่มคุณประโยชน์ทางโภชนาการได้จากการประกอบอาหาร [23] เมื่อทดสอบด้านความปลอดภัยมีรายงานทดสอบสารสกัดจากดอกและเส้นใยของเห็ดกระด้างในหนูแรทโดยให้ในปริมาณสูงสุดที่สามารถบ้วนได้ เป็นระยะเวลาสองสัปดาห์พบว่าไม่มีความเป็นพิษ ไม่มีผลต่อพฤติกรรม ค่าทางชีวเคมีไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ผลต่ออวัยวะต่างๆ ไม่พบการมีพยาธิสภาพ ค่าเลือดไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งสารสกัดจากเห็ดกระด้างทั้งส่วนดอกและเส้นใยมีความปลอดภัย [5] ด้วยคุณสมบัติทั้งสารที่เป็นส่วนประกอบและฤทธิ์ทางชีวภาพตลอดจนเรื่องความปลอดภัยเห็ดกระด้างจึงมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นโภชนเภสัชภัณฑ์หรืออาหารฟังก์ชันได้ เป็นที่น่าสนใจในการใช้ประโยชน์จากเห็ดกระด้างเห็ดกินได้ในท้องถิ่นทางภาคอีสานของประเทศไทยและสามารถเพิ่มผลผลิตเพาะเลี้ยงในโรงเรือน ตลอดจนพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในอนาคตได้ [24]

## สรุปผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดเห็ดกระด้าง (*Lentinus polychrous* Lev.) ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดยับยั้งหมดต่อกรัมเห็ดแห้ง พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง 60 และ 80 องศาเซลเซียส จากทั้งส่วนก้านเห็ดและหมวกเห็ดนั้นให้ปริมาณสารสกัดยับยั้งสูงกว่าการสกัดด้วย 75% เอทานอล ปริมาณฟีนอลิกรวมจากเห็ดกระด้างส่วนก้านเห็ดและส่วนหมวกเห็ด มีปริมาณใกล้เคียงกันมีค่าอยู่ระหว่าง 0.26 – 0.52 mg GAE/g DW สำหรับปริมาณฟลาโวนอยด์พบว่าเห็ดกระด้างที่สกัดด้วยน้ำให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงกว่าการสกัดด้วย 75% เอทานอล

มีค่าอยู่ระหว่าง 0.68 – 1.22 mg QE/g DW และผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนก้านเห็ดและหมวกเห็ดกระด้างมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระได้ดีมากกว่าวิตามินซี ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าจึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่น่าสนใจในการต่อยอดการวิเคราะห์ค่าอื่นๆ เพิ่มเติม เช่น การศึกษาด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล การศึกษาสารเบต้ากลูแคน ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สำคัญ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ตลอดจนฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ เพื่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ และการใช้ประโยชน์จากเห็ดกระด้างให้สูงสุด อย่างไรก็ตามในการศึกษาค้นคว้าในขั้นตอนการอบแห้งสารสกัดเห็ดโดยใช้อุณหภูมิที่สูงและใช้เวลาอบแห้งสารสกัดเห็ดถึง 48 ชั่วโมง ซึ่งอาจทำให้สารบางชนิดเสื่อมหรือระเหยไปได้ ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งนี้ ในการอบแห้งสารสกัดเห็ดควรใช้อุณหภูมิที่ไม่สูงจนเกินไป อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 40 - 60 องศาเซลเซียส เพื่อคงไว้ซึ่งสารบางชนิดและฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี และในการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระนั้น ใช้วิธี DPPH เพียงวิธีเดียว การเพิ่มวิธีวิเคราะห์อื่นเพิ่มเติมมาเปรียบเทียบ เช่น ATBS จะช่วยยืนยันความถูกต้องของข้อมูล

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยนครพนม ที่ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการทำวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2566 และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครพนม เอื้อเฟื้อด้านเครื่องมือและห้องปฏิบัติการทดลองทำให้การดำเนินการวิจัยได้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

- [1] Ao-ong T, Charukamjon K, Chatupomprasert W. Effects of antioxidant systems and oxidative stress on the development of diabetes. *Isan J Pharm Sci.* 2013;9(1):1-14.
- [2] Thai Traditional Medicine Office, Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ministry of Public Health. Medicinal mushrooms for health according to folk healers' wisdom. 1<sup>st</sup> ed. Bangkok: War Veterans Organization Printing House; 2011.
- [3] Trade Policy and Strategy Office. Thai future food trade association joins in promoting future food trade [Internet]. 2024 [cited 2025 Mar 2]. Available from: <https://tpso.go.th/news/2407-0000000010>.
- [4] Thetsrimuang C, Khammuang S, Chiablaem K, Srisomsap C. Antioxidant properties and cytotoxicity of crude polysaccharides from *Lentinus polychrous* Lev. *Food Chem.* 2011;128:634-9.
- [5] Sriphanitchkulchai B, Fangkratok N, Chulatan S. Nutritional value of the fruiting body and mycelium of *Daedalea dickinsii* (hard mushroom) [Internet]. Faculty of Agricultural Technology, Sakaeo Campus, Burapha University; 2020 [cited 2025 Mar 20]. Available from: [https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article\\_detail&subpage=article\\_detail&id](https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id).
- [6] Fangkratok N. Chemical composition and pharmacological activities of *Daedalea dickinsii* (hard mushroom). *Fac Agric Technol J Burapha Univ.* 2019;15(1):49-57.
- [7] Rattanamalee S, Rattanamalee C. The biology of *Lentinus polychrous* Lev. in Nakhon Phanom Province, Thailand and Kwaeng Kham Muan, Laos. *Int J Environ Rural Dev.* 2012;3(2):121-6.
- [8] Sysouphanthong P, Taliam W, Wannasawang N, Thongklang N. The genus *Lentinus* in Thailand: taxonomy, cultivation tests, nutritional analysis and screening for the biological activity of wild strains. *Curr Res Environ Appl Mycol.* 2023;13(1):136-61.

- [9] Amassa N, Puangchompoo A, Rayun S, Leethong S, Weerapriyakoon N, Machana S. Antioxidant and cytotoxic activities against breast cancer cells of *Lentinus polychrous* extracts compared with *Ganoderma lucidum*. *Isan J Pharm Sci*. 2009;5(3):243-50.
- [10] Fangkrathok N, Junlatat J, Sripanidkulchai B. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Lentinus polychrous* extract. *J Ethnopharmacol*. 2013;147(3):631-7.
- [11] Pijac J, Martinez S, Valek L, Ganic KK. A comparison of methods used to define the phenolic content and antioxidant activity of Croatian wines. *Food Technol Biotechnol*. 2005;43:687-95.
- [12] Hou X, Chen S, Pu Y, Wang T, Xu H, Li H, et al. Effect of winemaking on phenolic compounds and antioxidant activities of Msalais wine. *Molecules*. 2023;28:1250.
- [13] Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal*. 2002;10(3):178-82.
- [14] Paiboon N, Thani M, Phromraksa B, Lailom W, Chumkhiew S, Jamklang M, et al. Total phenolic content of Thai bamboo mushroom, shiitake, and straw mushroom, and the loss of total phenolics during boiling. *Thai Herb Med J*. 2021;7(1):85-100.
- [15] Rattana T, Saengsanga T. Antioxidant and prebiotic properties of wild Sangre mushroom. *Fac Sci Technol J Nakhon Ratchasima Rajabhat Univ*. 2016;24(4):539-50.
- [16] Maingam C, Seepolkrai P, Chutiman N, Lauchanwut P, Sriwilai P. Polysaccharide, phenolic, and total flavonoid contents and antioxidant activities of crude extracts from cultivated Hing Piman mushroom mycelium using hot water extraction. *Mahasarakham Univ J Sci Technol*. 2017;36(6):793-805.
- [17] Attarat J, Thamisa R. Anticancer PSP and phenolic compounds in *Lentinus squarrosulus* and *Lentinus polychrous*. In: *Proceedings of the 5<sup>th</sup> International Conference on Natural Products for Health and Beauty*; 6-8 May 2014; Phuket, Thailand. p. 263-7.
- [18] Attarat J, Phemthai T. Bioactive compounds in three edible *Lentinus* mushrooms. *World J Sci Technol*. 2015;12(6):491-504.
- [19] Nicolosi R, Bell SJ, Bistrain BR, Greenberg I, Forse RA, Blackburn GL. Plasma lipid changes after supplementation with  $\beta$ -glucan fiber from yeast. *Am J Clin Nutr*. 1999;70(2):208-12.
- [20] Sima P, Vannucci L, Vetvicka V.  $\beta$ -Glucan and cholesterol: a review. *Int J Mol Med*. 2018;41(4):1799-808.
- [21] Vannucci L, Krizan J, Sima P, Stakheev D, Caja F, Rajsiglova L. Immunostimulatory properties and antitumor activities of glucans. *Int J Oncol*. 2013;43(2):357-64.
- [22] Inpad C, Songkrut N, Attarat J. Comparison of  $\beta$ -glucan content and antioxidant activity in *Lentinus polychrous* and *Pleurotus djamor*. In: *Proceedings of Burapha University International Conference*; 12-15 July 2015; Chonburi, Thailand. p. 410-5.
- [23] Manzi P, Marconi S, Aguzzi A, Pizzoferrato L. Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chem*. 2004;84:201-6.
- [24] Banyongwimonnut N, Burakorn J, Jindawutikul S, Somrit A. Enhancing the nutritional value of oyster mushrooms using coffee grounds waste. *Bull Appl Sci*. 2019;8(8):97-105.