รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานี

Antioxidant activity and total phenolic content of wild edible mushroom extracts in Ubonratchathani Province

คณะผู้วิจัย สังกัด

ดร.สมจินตนา ทวีพานิชย์ คณะวิทยาศาสตร์

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงบประมาณ

ประจำปีงบประมาณ 2552

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย ม.อบ. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยอุบลราชธานีสำหรับการให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้ ในปีงบประมาณ 2553 ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ทุกท่าน ที่เอื้ออำนวยความสะดวกในเรื่องอุปกรณ์และสารเคมีตลอดระยะเวลาในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่เครื่อง Flexi-Dry ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ และคณะเภสัชศาสตร์ และเจ้าหน้าที่เครื่อง UV-spectrophotometer ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ในความอนุเคราะห์และแนะนำการใช้เครื่องมือสำหรับงานวิจัยนี้

ฝ่ายหอสมุด สำนักวิทยบริการ ม.อุบลฯ
ได้รับอนุมัติเงินทุนการจาก
โครงการศึกษาและส่งเสริมการวิจัย
๒๕ มิ.ย. ๒๕๕๕

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
สารบัญ	iv
สารบัญตาราง	vi
สารบัญรูปภาพ	viii
คำอธิบายและสัญลักษณ์ย่อ	x
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม	3
2.1 อนุมูลอิสระ (Free radicals)	3
2.2 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ	5
2.3 ความสำคัญของอนุมูลอิสระ	5
2.4 โรคที่มีสาเหตุมาจากสารอนุมูลอิสระ	6
2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)	6
2.6 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ	6
2.7 ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระ	7
2.8 สารจำพวกฟีนอล	9
2.9 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรด้วยวิธีต่างๆ	10
2.10 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ใช้ในงานวิจัย	11
2.11 ข้อมูลทั่วไปของเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	15
2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature Review)	28
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	33
3.1 การเก็บตัวอย่างเห็ดกินได้	33
3.2 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง	34

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบ จากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีเบื้องต้น โดยใช้วิธี DPPH Radical Scavenging Activity	34
3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบ จากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี โดยใช้วิธี ABTS Cation Radical Scavenging Activity	36
3.5 การหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเห็ดป่ากินได้ จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีโดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay	37
3.6 การหาปริมาณสารฟีนอลรวม (Total phenolic compound)	38
บทที่ 4 ผลและวิเคราะห์ผลการวิจัย	40
4.1 ผลการสกัดสารจากส่วนต่างๆ ของเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี	40
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากเห็ดป่ากินได้ จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี	41
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอลจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี	51
4.4 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay)	61
4.5 ผลการทดสอบการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม	65
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	68
เอกสารอ้างอิง	70
ภาคผนวก ก	72
ภาคผนวก ข	76
ภาคผนวก ค	98
ภาคผนวก ง	108
ภาคผนวก จ	109
ภาคผนวก ฉ	110

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างของอนุมูลอิสระและสัญลักษณ์	4
3.1 ข้อมูลเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี	33
3.1 ข้อมูลเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี (ต่อ)	33
4.1 น้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล ของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	40
4.1 น้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล ของสารตัวอย่าง 20 ชนิด (ต่อ)	41
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เฮกเซนของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	42
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เอทิลอะซิเตต ของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	45
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เอทานอลของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	48
4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เฮกเซนของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	52
4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เอทิลอะซิเตตของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	55
4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เอทานอลของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	58
4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระFRAP เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เอทิลอะซิเตตและเอทานอลของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	62
4.9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของเห็ดป่ากินได้จากสารสกัดเอทานอล จำนวน 5 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	66
ข.1 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้น ของส่วนสกัดหยาบเฮกเซนของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	77
ข. 2 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้น ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซีเตตของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	73
ข.3 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้น ของสารสกัดหยาบเอทานอลของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	74

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ข.4 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระABTS ของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากสารตัวอย่าง 20 ชนิด	77
ข.5 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระABTS ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากสารตัวอย่าง 20 ชนิด	76
ข.6 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสารตัวอย่าง 20 ชนิด	78
ข.7 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระFRAP เบื้องต้น ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	80
ข.8 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ FRAP เบื้องต้น ของสารสกัดหยาบเอทานอลของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	82
ข.9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของเห็ดป่ากินได้ที่สกัดจากเอทานอล 5 ชนิด	84

สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับชีวโมเลกุล เหนี่ยวนำให้เซลล์และอวัยวะ ได้รับความเสียหาย เกิดเป็นโรคต่างๆ	6
2.2 โครงสร้างของวิตามินอี (alpha - tocopherol)	8
2.3 โครงสร้างของสารมาตรฐาน Trolox และ ascorbic acid	9
2.4 โครงสร้างสารจำพวกฟีนอล	10
2.5 โครงสร้างของ ABTS (2, 2′–azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid))	13
2.6 โครงสร้าง Phosphotungstic และ Phophomolybdic acid	15
4.1 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเฮกเซน จากสารตัวอย่างแต่ละชนิดและชนิดของสารตัวอย่าง	44
4.2 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบ เอทิลอะซิเตดจากสารตัวอย่างแต่ละชนิดและชนิดของสารตัวอย่าง	47
4.3 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิดและชนิดของสารตัวอย่าง	50
4.4 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเฮกเซน จากสารตัวอย่างแต่ละชนิดและชนิดของสารตัวอย่าง	54
4.5 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบ เอทิลอะซิเตดจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด และชนิดของสารตัวอย่าง	57
4.6 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิด และชนิดของสารตัวอย่าง	60
4.7 ปริมาณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP ของสารสกัดเอทิลอะซิเตด เอทานอลและ ชนิดของสารตัวอย่าง	63
4.8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและ ชนิดของสารตัวอย่าง 5 ชนิด	67
ก.1 กราฟมาตรฐานของ Trolox ความเข้มข้น 200 150 100 และ 50 ppm โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 nm	73
ก.2 กราฟมาตรฐานของ Trolox ความเข้มข้น 200 150 100 และ 50 ppm โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 734 nm	73
ก.3 กราฟมาตรฐานของวิตามินซี ความเข้มข้น 1000 500 250 100 และ 50 μM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm	74

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
ก.4 กราฟมาตรฐานของวิตามินซี ความเข้มข้น 1000 500 250 100 และ 50 µM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm	74
ก.5 กราฟมาตรฐานของ Trolox ความเข้มข้น 1000 500 250 และ 100 µM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm	75
ก.6 กราฟมาตรฐานของ Tannic acid ความเข้มข้น 60 50 40 30 และ 20 µM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 nm	75

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

คำย่อ	คำเต็ม
DPPH	2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical
Trolox®	6-Hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2- carboxylic acid
TPTZ	2, 4, 6-Tris-(2-pyridyl)-1, 3, 5-triazine
ABTS	2, 2′ –azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
DPPH assay	DPPH Radical Scavenging activity assay
FRAP assay	Ferric Reducing Antioxidant Power assay
ABTS assay	ABTS Radical Cation Scavenging Activity assay
EtOAc	Ethyl Acetate
MeOH	Methanol
EtOH	Ethanol
nm	nanometer
ppm	part per million
mg	milligram
g	gram
h	hour
mL	milliliter
M	Morality
mM	millimolar
µL	microliter
µM	micromolar
N	Normal

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 20 ชนิดโดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล โดยศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity วิธี ABTS radical cation scavenging activity และวิธี reducing antioxidant power (FRAP) ตามลำดับ การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin – Ciocalteu โดยมีสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) และวิตามินซี (L-ascorbic) เป็นตัวควบคุม ผลการทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้ายมีค่าเท่ากับ 50.27±0.88 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบด้วยวิธี ABTS พบว่าสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด คือ สารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดก่อใหญ่ มีค่าเท่ากับ 57.61±0.71 เปอร์เซ็นต์ และผลการทดสอบเพื่อยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของเห็ดหำฟานมีค่า FRAP value มากที่สุด เท่ากับ 1558.20 มิลลิกรัมเทียบเท่ากับสารมาตรฐาน L-ascorbic (FRAP value =1470.97 มิลลิกรัม) และเมื่อนำมาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมพบว่าให้ผลสอดคล้องกับวิธี DPPH และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม มีค่าเท่ากับ 10.53 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Tannic acid ต่อกรัมของสารสกัด

Abstract

The 20 wild edible mushrooms were extracts by hexane, ethyl acetate and ethanol. The crude extracts were studied for their antioxidant activity using DPPH radical scavenging activity, ABTS radical cation scavenging and reducing antioxidant power (FRAP) respectively were performed. The total phenolic content was measured by Folin-Ciocalteu method using standard vitamin C and Trolox as positive control. The highest antioxidant value by DPPH assay were found in *Astraeus hygrometricus* (Pers) Morgan to be 50.27±0.88 in ethanol extract, whereas the highest antioxidant activity ABTS assay were 57.61±0.71 % for *Russula mairei* Sing in ethanol extract. For the reducing antioxidant power (FRAP) to confirm antioxidant activity, the highest value was found in *Alpova tappei* Fogel. (FRAP value =1558.20 mg L-ascorbic equivalent) (FRAP value =1470.97 mg). The total phenolic measurement was in good correlation with that of DPPH assay, and was 10.53 mg tannic acid equivalent per gram of crude extract.

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการวิจัย

ความเสี่ยงในการเกิดโรคอันเกิดจากการเสื่อมสภาพต่างๆของร่างกาย เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (Ischemic Heart Disease/IHD) เป็นสาเหตุร่วมในการเกิดโรคมะเร็ง (Cancer) โรคไขข้ออักเสบ (Rheumatism) โรคความจำเสื่อม (Alzheimer) เป็นต้น มีสาเหตุประการหนึ่งมาจากการที่ร่างกายมีการสะสม Reactive oxygen species (ROS) สูง ROS ได้แก่ Hydrogen peroxide, Superoxide radical และ Hydroxyl radical ROS เหล่านี้ก่อให้เกิดความเสียหายต่อสารชีวโมเลกุลต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ เช่น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต DNA และ RNA เป็นต้น โดยกระบวนการออกซิเดชัน (Oxidation) (นวลศรี และ อัญชนาม, 2545)

ความก้าวหน้าทางด้านวิทยาศาสตร์และการแพทย์ปัจจุบันเป็นปัจจัยหลักที่ก่อให้เกิดความเข้าใจและความสามารถในการดูแลสุขภาพและบำบัดรักษาอาการอันไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นกับประชากร นักวิจัยจำนวนมากจึงพยายามที่จะค้นคว้าเพื่อให้เกิดการพัฒนาศาสตร์ต่างๆ ทั้งทางด้านอุปกรณ์เครื่องมือที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพ ตลอดไปจนถึงยารักษาโรคต่างๆ โดยยารักษาโรคต้องให้ผลการบำบัดรักษาที่สูง ในขณะที่มีผลข้างเคียงจากการใช้ยารักษาโรคต่ำ การพัฒนายารักษาโรคจากพืชผักและสมุนไพรพื้นบ้านจึงเป็นทางเลือกที่มีประโยชน์อีกทางหนึ่ง

ในภาคอีสานของไทยมีเห็ดป่าหลายชนิด ซึ่งเห็ดจัดเป็นอาหารประเภทผักที่ปราศจากไขมัน มีปริมาณน้ำตาลและเกลือค่อนข้างต่ำ และยังเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีเมื่อเทียบกับผักอีกหลายชนิด อีกทั้งยังมีรสชาติและกลิ่นที่ชวนรับประทาน ซึ่งรสชาติที่โดดเด่นนี้มาจากการที่เห็ดมีกรดอะมิโนกลูตามิก (Amino glutamic acid) เป็นองค์ประกอบ โดยกรดอะมิโนตัวนี้จะทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นประสาทการรับรู้รสอาหารของลิ้นให้ไวกว่าปกติและทำให้มีรสชาติคล้ายกับเนื้อสัตว์ นอกจากนี้เห็ดยังอุดมไปด้วยวิตามิน โดยเฉพาะวิตามินบีรวม ไรโบฟลาวิน (Riboflavin) และไนอะซิน (Niacin) ซึ่งจะช่วยควบคุมการทำงานของระบบย่อยอาหาร ในส่วนของเกลือแร่ เห็ดจัดเป็นแหล่งเกลือแร่ที่สำคัญโดยมีเกลือแร่ต่างๆ เช่น ซิลิเนียม (Selenium) ทำหน้าที่ช่วยต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง (Cancer) โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน (Coronary thrombosis) โพแทสเซียม (Potassium) ทำหน้าที่ควบคุมจังหวะการเต้นของหัวใจ สมดุลของน้ำในร่างกายการทำงานของกล้ามเนื้อและระบบประสาทต่างๆ ลดการเกิดโรคความดันโลหิต (Hypertension) อัมพฤกษ์ และอัมพาต ส่วนทองแดง ทำหน้าที่ช่วยเสริมสร้างการทำงานของธาตุเหล็ก และที่สำคัญ เห็ดมีองค์ประกอบของพฤกษเคมีที่ ชื่อว่า โพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) จะทำงาน ร่วมกับแมคโครฟากจ์ (Macrophage) ซึ่งเป็นเซลล์คุ้มกันขนาดใหญ่ที่ออกจากหลอดเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อและจะไปจับกับโพลีแซคคาไรด์ที่บริเวณกระเพาะอาหารและนำไปส่งยังเซลล์คุ้มกันตัวอื่นๆ โดยจะช่วยกระตุ้นวงจรการทำงานของ

ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายเสริมและช่วยเพิ่มปริมาณและประสิทธิภาพของเซลล์คุ้มกันธรรมชาติ ให้ทำหน้าที่ทำลายเซลล์แปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย ชาวบ้านจึงนิยมรับประทานเห็ดป่าเป็นอาหารและนอกจากนี้เห็ดป่ายังสามารถใช้เป็นยาได้อีกด้วย ซึ่งสรรพคุณทางยาของเห็ดมีมากมาย เช่น ช่วยควบคุมการทำงานของอวัยวะสำคัญต่างๆ เช่น สมอง หัวใจ ปอด ตับ และระบบไหลเวียนของโลหิต เนื่องจากชาวจีนจัดเห็ดเป็นยาเย็น เพราะมีสรรพคุณช่วยลดไข้ เพิ่มพลังชีวิต ดับร้อนใน แก้ช้ำใน บำรุงร่างกาย ลดระดับน้ำตาลและคอเลสเตอรอล (Cholesterol) ในหลอดเลือด ลดความดัน ขับปัสสาวะ ช่วยให้หายหงุดหงิด บำรุงเซลล์ประสาท รักษาอาการอัลไซเมอร์ (Alzheimer) และที่สำคัญ คือ ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (ธีรวัฒน์, 2539)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระและทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานีจำนวน 20 ชนิด แล้วทำการคัดเลือกเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี นำมาพัฒนาศึกษาต่อไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาเพื่อใช้วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีต่อยอดความรู้เรื่องเห็ดซึ่งเป็นภูมิปัญญาท้องถิ่นและเกิดความเข้าใจที่ลึกซึ้งในความชำนาญเฉพาะทาง และเป็นการสนับสนุนเห็ดในท้องถิ่นให้มีคุณค่าต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานี โดยวิธี DPPH assay, ABTS assay และ FRAP assay

1.2.2 เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการวิจัย

ความเสี่ยงในการเกิดโรคอันเกิดจากการเสื่อมสภาพต่างๆของร่างกาย เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (Ischemic Heart Disease/IHD) เป็นสาเหตุร่วมในการเกิดโรคมะเร็ง (Cancer) โรคไขข้ออักเสบ (Rheumatism) โรคความจำเสื่อม (Alzheimer) เป็นต้น มีสาเหตุประการหนึ่งมาจากการที่ร่างกายมีการสะสม Reactive oxygen species (ROS) สูง ROS ได้แก่ Hydrogen peroxide, Superoxide radical และ Hydroxyl radical ROS เหล่านี้ก่อให้เกิดความเสียหายต่อสารชีวโมเลกุลต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ เช่น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต DNA และ RNA เป็นต้น โดยกระบวนการออกซิเดชัน (Oxidation) (นวลศรี และ อัญชนาม, 2545)

ความก้าวหน้าทางด้านวิทยาศาสตร์และการแพทย์ปัจจุบันเป็นปัจจัยหลักที่ก่อให้เกิดความเข้าใจและความสามารถในการดูแลสุขภาพและบำบัดรักษาอาการอันไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นกับประชากร นักวิจัยจำนวนมากจึงพยายามที่จะค้นคว้าเพื่อให้เกิดการพัฒนาศาสตร์ต่างๆ ทั้งทางด้านอุปกรณ์เครื่องมือที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพ ตลอดไปจนถึงยารักษาโรคต่างๆ โดยยารักษาโรคต้องให้ผลการบำบัดรักษาที่สูง ในขณะที่มีผลข้างเคียงจากการใช้ยารักษาโรคต่ำ การพัฒนายารักษาโรคจากพืชผักและสมุนไพรพื้นบ้านจึงเป็นทางเลือกที่มีประโยชน์อีกทางหนึ่ง

ในภาคอีสานของไทยมีเห็ดป่าหลายชนิด ซึ่งเห็ดจัดเป็นอาหารประเภทผักที่ปราศจากไขมัน มีปริมาณน้ำตาลและเกลือค่อนข้างต่ำ และยังเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีเมื่อเทียบกับผักอีกหลายชนิด อีกทั้งยังมีรสชาติและกลิ่นที่ชวนรับประทาน ซึ่งรสชาติที่โดดเด่นนี้มาจากการที่เห็ดมีกรดอะมิโนกลูตามิก (Amino glutamic acid) เป็นองค์ประกอบ โดยกรดอะมิโนตัวนี้จะทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นประสาทการรับรู้รสอาหารของลิ้นให้ไวกว่าปกติและทำให้มีรสชาติคล้ายกับเนื้อสัตว์ นอกจากนี้เห็ดยังอุดมไปด้วยวิตามิน โดยเฉพาะวิตามินบีรวม ไรโบฟลาวิน (Riboflavin) และไนอะซิน (Niacin) ซึ่งจะช่วยควบคุมการทำงานของระบบย่อยอาหาร ในส่วนของเกลือแร่ เห็ดจัดเป็นแหล่งเกลือแร่ที่สำคัญโดยมีเกลือแร่ต่างๆ เช่น ซิลิเนียม (Selenium) ทำหน้าที่ช่วยต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง (Cancer) โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน (Coronary thrombosis) โพแทสเซียม (Potassium) ทำหน้าที่ควบคุมจังหวะการเต้นของหัวใจ สมดุลของน้ำในร่างกายการทำงานของกล้ามเนื้อและระบบประสาทต่างๆ ลดการเกิดโรคความดันโลหิต (Hypertension) อัมพฤกษ์ และอัมพาต ส่วนทองแดง ทำหน้าที่ช่วยเสริมสร้างการทำงานของธาตุเหล็ก และที่สำคัญ เห็ดมีองค์ประกอบของพฤกษเคมีที่ ชื่อว่า โพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) จะทำงาน ร่วมกับแมคโครฟากจ์ (Macrophage) ซึ่งเป็นเซลล์คุ้มกันขนาดใหญ่ที่ออกจากหลอดเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อและจะไปจับกับโพลีแซคคาไรด์ที่บริเวณกระเพาะอาหารและนำไปส่งยังเซลล์คุ้มกันตัวอื่นๆ โดยจะช่วยกระตุ้นวงจรการทำงานของ

ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายเสริมและช่วยเพิ่มปริมาณและประสิทธิภาพของเซลล์คุ้มกันธรรมชาติ ให้ทำหน้าที่ทำลายเซลล์แปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย ชาวบ้านจึงนิยมรับประทานเห็ดป่าเป็นอาหารและนอกจากนี้เห็ดป่ายังสามารถใช้เป็นยาได้อีกด้วย ซึ่งสรรพคุณทางยาของเห็ดมีมากมาย เช่น ช่วยควบคุมการทำงานของอวัยวะสำคัญต่างๆ เช่น สมอง หัวใจ ปอด ตับ และระบบไหลเวียนของโลหิต เนื่องจากชาวจีนจัดเห็ดเป็นยาเย็น เพราะมีสรรพคุณช่วยลดไข้ เพิ่มพลังชีวิต ดับร้อนใน แก้ช้ำใน บำรุงร่างกาย ลดระดับน้ำตาลและคอเลสเตอรอล (Cholesterol) ในหลอดเลือด ลดความดัน ขับปัสสาวะ ช่วยให้หายหงุดหงิด บำรุงเซลล์ประสาท รักษาอาการอัลไซเมอร์ (Alzheimer) และที่สำคัญ คือ ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (ธีรวัฒน์, 2539)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระและทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานีจำนวน 20 ชนิด แล้วทำการคัดเลือกเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี นำมาพัฒนาศึกษาต่อไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาเพื่อใช้วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีต่อยอดความรู้เรื่องเห็ดซึ่งเป็นภูมิปัญญาท้องถิ่นและเกิดความเข้าใจที่ลึกซึ้งในความชำนาญเฉพาะทาง และเป็นการสนับสนุนเห็ดในท้องถิ่นให้มีคุณค่าต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานี โดยวิธี DPPH assay, ABTS assay และ FRAP assay

1.2.2 เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานี

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม

2.1 อนุมูลอิสระ (Free radical)

อนุมูลอิสระ (Radical หรือ free radical) หมายถึง สารซึ่งมีอิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่อยู่ในวงรอบของอะตอมหรือโมเลกุล โดยให้ความสำคัญกับสารซึ่งมีออกซิเจนเป็นศูนย์กลาง คือ Hydroxyl radical, Superoxide และ Oxides ของ Nitrogen

โดยปกติสารเหล่านี้เกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาในร่างกายอยู่แล้ว มักเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่และร่างกายก็จะมีระบบในการต้านอนุมูลอิสระ แต่ถ้าร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระจากภายนอกมากเกินไป ตัวอย่างเช่นได้รับจากขบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันทอดอาหารที่อุณหภูมิสูงๆมาใช้อีก หรือจากสิ่งแวดล้อม เช่น แสงอาทิตย์ซึ่งมีรังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet) การแผ่รังสี (Radiation) รังสีเอ็กซ์ (X-ray) นอกจากนี้ยังอาจได้รับจากมลพิษ เช่น ควันบุหรี่ ก๊าซจากท่อไอเสียรถยนต์ ถ้าสารเหล่านี้มีมากกว่า ความสามารถของระบบสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย หรือในภาวะที่จำนวนสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายลดลง เช่น ผู้สูงอายุ ก็จะทำให้มีสารอนุมูลอิสระและสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระเช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) ซึ่งมีออกซิเจนเป็นศูนย์กลางเช่นกัน โดยรวมเรียกว่า Reactive oxygen species (ROS) มากเกินไปก่อให้เกิดอันตรายได้ อนุมูลอิสระที่มากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อไขมัน (โดยเฉพาะ low density lipoprotein) โปรตีน หน่วยสารพันธุกรรม DNA และคาร์โบไฮเดรต ทำให้เพิ่มอัตราการเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิด โรคที่สำคัญและมีการศึกษากันมาก ได้แก่ โรคหลอดเลือดตีบ (Atherosclerosis) และแข็งตัว โรคมะเร็งบางชนิด Alzheimer's disease หรือโรคความจำเสื่อม (Alzheimer) โรคไขข้ออักเสบ (Rheumatism) โรคความแก่ เป็นต้น (http://variety.phuketindex.com/health) ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างของอนุมูลอิสระและสัญลักษณ์

อนุมูลอิสระ		สัญลักษณ์
Radical	Superoxide anion radical	$O_2^{\bullet -}$
	Hydroxyl radical	$HO^{\bullet}$
	Peroxide radical	$ROO^{\bullet}$
	Peroxyl radical	$LOO^{\bullet}$
	Hydroperoxyl radical	$HOO^{\bullet}$
	Hydrogen radical	$H^{\bullet}$
	Methyl radical	$CH_3^{\bullet}$
	Nitric oxide	$NO^{\bullet}$
	Nitrogen dioxide	$NO_2^{\bullet}$
	Alkyl radical	$R^{\bullet}$
	Alkoxyl radical	$RO^{\bullet}$
	Glutathiyl radical	$GS^{\bullet}$
Non-radical	Hydrogen peroxide	H_2O_2
	Ozone	O_3
	Singlet oxygen	$^1O_2$
	Peroxynitrite	$ONOO^-$
	Lipid hydroperoxide	LOOH

อนุมูลอิสระนั้นมีหลายชนิด แต่ที่พบมากและเป็นอันตรายในร่างกายคนเรา ได้แก่

1. $O_2^{\bullet -}$ (Superoxide) ส่วนมากเกิดจากออกซิเจนในร่างกายหรือโอโซน
2. $HO^{\bullet}$ (Hydroxyl radical) เกิดจากสภาวะที่เป็นมลพิษซึ่งจะมี H_2O_2 (Hydrogen peroxide)
3. $ROO^{\bullet}$ (Peroxide radical) เกิดจากสารประกอบพวก peroxide เช่น H_2O_2 (Hydrogen peroxide) หรือ RO-OR (Alkyl peroxide)
4. $NO^{\bullet}$ (Nitric oxide) พบในอากาศที่เป็นมลพิษ
5. $ONOO^{\bullet}$ (Peroxynitrile) เกิดจากการรวมกันของ Superoxide กับ Nitric oxide

2.2 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ เกิดได้ 2 ทาง ได้แก่

1. เกิดจากภายในตัวเอง คือ เกิดจากการเผาผลาญของร่างกาย คนเราเริ่มถูกความชราโจมตีตั้งแต่แรกเกิด แต่ตอนที่ยังไม่เติบโตเต็มที่จนถึงวัยหนุ่มสาว เรายังผลิตสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาได้มาก บางคนผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้น้อยก็แก่เร็ว

2. เกิดจากภายนอก คือ เกิดจากสิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษ หรือเกิดมลภาวะ เช่น จากยาฆ่าแมลง สารเคมี รังสีบางอย่าง ฯลฯ ซึ่งบางอย่างร่างกายก็สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้เหมือนกัน เช่น อนุมูลอิสระตัวที่ร้ายที่สุด ชื่อ ไฮดรอกซิล (Hydroxyl) อาจทำให้เกิดมะเร็งได้ ร่างกายก็ผลิตสาร ชื่อ กลูตาไธโอน (Glutathione) ขึ้นมาแก้ไข (http://mbccenter.net.www.readyplanet.com /_tps14/marticle.php?id=87321)

2.3 ความสำคัญของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระมีความสำคัญหลายประการ มีทั้งข้อดีและข้อเสีย ซึ่งในกระบวนการของร่างกาย ขึ้นอยู่กับระดับของ ROS ในร่างกาย กล่าวคือ

ข้อดี มีระดับของ ROS ในร่างกายต่ำและมีผลต่อร่างกาย ตัวอย่างเช่น

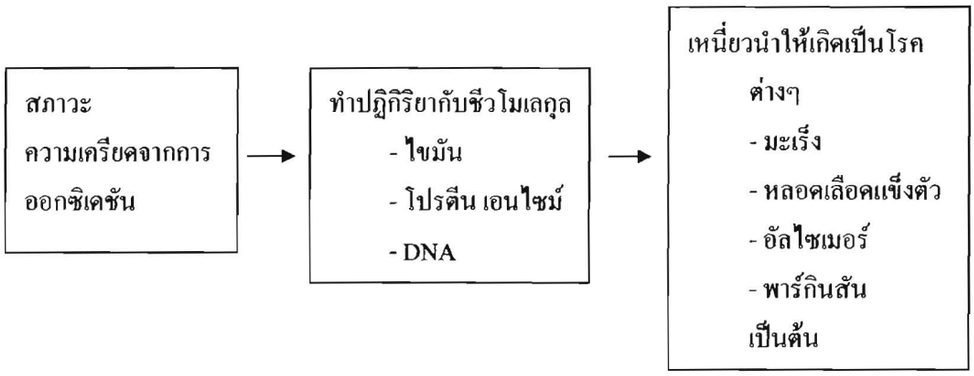
- ช่วยในกระบวนการเจริญเติบโตของร่างกาย เช่น เซลล์ของต่อมไทรอยด์จะมีการสร้าง Hydrogen peroxide เพื่อใช้จับอะตอมไอโอดีนเข้า Thyroglobulin ในกระบวนการสังเคราะห์ Thyroxine
- กระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของเซลล์
- ช่วยในกระบวนการภูมิคุ้มกันของร่างกาย เช่น Macrophages และ Neutrophil จะมีการสร้าง ROS เพื่อใช้กำจัดเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด โดยกระบวนการ Phagocytosis

ข้อเสีย มีระดับของ ROS ในร่างกายสูงและมีผลต่อร่างกาย ตัวอย่างเช่น

- ทำให้เกิดสภาวะความเครียดจากการออกซิเดชัน (Oxidative stress)
- รบกวนกระบวนการเผาผลาญของร่างกาย
- ทำลายชีวโมเลกุล เช่น โปรตีน ไขมัน และ DNA เป็นต้น

2.4 โรคที่มีสาเหตุมาจากสารอนุมูลอิสระ

เมื่อร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระ ทั้งเกิดจากกระบวนการต่างๆภายในร่างกายหรือจากปัจจัยอื่นๆ ภายนอกร่างกายในปริมาณมากเกินไป จะทำให้เกิดผลกระทบต่อเซลล์และเซลล์ได้รับความเสียหาย ส่งผลต่อการทำงานของอวัยวะในร่างกาย เช่น โรคมะเร็ง (Cancer) โรคหลอดเลือดแข็งตัว (Atherosclerosis) โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer) เป็นต้น



รูปที่ 2.1 อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับชีวโมเลกุล เหนี่ยวนำให้เซลล์และอวัยวะได้รับความเสียหาย เกิดเป็นโรคต่างๆ

2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ โมเลกุลของสารที่สามารถจับกับอนุมูลอิสระและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่นๆได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีเกี่ยวเนื่องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารอนุมูลอิสระ (Free radical) ซึ่งสารอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยถูกออกซิไดซ์ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ อาทิ ไทออล (Thiol) กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) และโพลีฟีนอล (Polyphenol)

2.6 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระยับยั้งอนุมูลอิสระโดยการให้หรือรับอิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ แล้วทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่สิ้นสุด เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระมีความคงตัวดังนั้นเมื่อทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้วสารต้านอนุมูลอิสระจึงไม่กลายเป็นอนุมูลอิสระต่อ ซึ่งกลไกการต้านอนุมูลอิสระแบ่งได้ 2 แบบ ตามลักษณะการออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระคือ

1. ฤทธิ์ป้องกันอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มนี้ จะป้องกันไม่ให้เกิดอนุมูลอิสระตั้งแต่เริ่มต้น โดยยับยั้งไม่ให้เกิดอนุมูลอิสระที่เหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen-peroxide) และการคีเลตโลหะทรานสิชัน สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์และโปรตีนในร่างกายที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น GSH CAT GPX เป็นต้น ดังสมการ

$$2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} 2\,H_2O + O_2$$

$$LOOH + 2GSH \xrightarrow{GPx} LOH + H_2O + GSSG$$

2. ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มนี้ จะกำจัดอนุมูลอิสระโดยการยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ขั้นเริ่มต้น (Chain initial) และทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ในขั้นเพิ่มจำนวนอนุมูลอิสระ (Chain propagation) สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ วิตามินอี (Alpha-tocopherol) วิตามินซี (Ascorbic acid) ยูบิควิโนน (Ubiquinone) แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นต้น (http://www.thai-linic.com/antioxidant.html)

2.7 ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระ

วิตามินอี (Alpha-tocopherol)

วิตามินอีเป็นสารที่ละลายในไขมัน พบในพืชเท่านั้น เช่น พบมากในน้ำมันจากดอกคำฝอย รำ เมล็ดฝ้าย เมล็ดข้าวโพด และถั่วเหลือง และพบในปริมาณน้อยในน้ำมันมะพร้าว น้ำมันมะกอก และพืชใบสีเขียวเกือบทุกชนิด วิตามินอีแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ โทโคฟีรอล (Tocopherol) และ โทโค-ไตรอีนอล (Tocotrienol) ซึ่งจะพบว่าแอลฟา-โทโคฟีรอล (Alpha-tocopherol) เป็นตัวที่มีฤทธิ์ของวิตามินอีแรงที่สุด ซึ่งโครงสร้างของวิตามินอีประกอบด้วยไอโซฟีนอยด์ (Isoprenoid) และ วงอะโร-มาติก (Aromatic ring) ซึ่งทั้งสองโครงสร้างนี้ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยส่วนที่เป็นวงอะโรมาติกจะไปจับกับอนุมูลอิสระและช่วยในการป้องกัน Peroxidation ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ส่วนไอโซฟีนอยด์จะช่วยทำให้เซลล์เมมเบรนมีความคงทนต่อปฏิกิริยา Fatty acyl chain ของ Polyunsaturated phospholipids กลไกในการป้องกันปฏิกิริยา Peroxidation ของกรดไม่อิ่มตัวเป็นดังสมการ

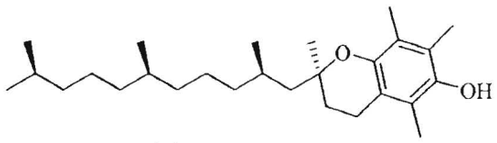
$$LH + R \longrightarrow L^{\cdot} + RH$$

$$L^{\cdot} + O_2 \longrightarrow LOO^{\cdot}$$

$$LOO^{\cdot} \longrightarrow LOOH + L^{\cdot}$$

$$LOO^{\cdot} \longrightarrow LOOH + A$$

(AH: Vitamin E A: oxidized vitamin E)



Alpha - tocopherol

รูปที่ 2.2 โครงสร้างของวิตามินอี (Alpha-tocopherol)

เมื่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวถูกออกซิไดซ์จะได้อนุมูลอิสระออกมา จากนั้นมีการเติมออกซิเจนเข้าไปทำให้เปลี่ยนไปเป็นเปอร์ออกไซด์ และเปอร์ออกไซด์จะไปทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่อไป ทำให้ได้อนุมูลอิสระออกมา ซึ่งปฏิกิริยาเหล่านี้จะเกิดขึ้นติดต่อกันไปเรื่อยๆ แต่ถ้าหากมีการเติมวิตามินอีลงไปจับกับอนุมูลอิสระ แล้วจึงเปลี่ยนเป็นสารที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์

วิตามินซี (Ascorbic acid)

วิตามินซีเป็นวิตามินที่พบมากในผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว เช่น ส้ม มะนาว มะขามป้อม เป็นต้น และนอกจากนี้ยังพบใน ลำไย มะเขือเทศ พริกหยวกและผักใบเขียว วิตามินซีเป็นสารที่มีฤทธิ์รีดิวซ์อย่างแรงจึงทำให้มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีผลต่อ Redox potential ของร่างกาย เมื่อกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) ถูกออกซิไดซ์เป็นดีไฮโดรแอสคอร์เบท (Dehydroascorbate) และเป็นอนุมูลอิสระ Ascorbate ที่เรียกว่า Monodehydroascorbic acid สารตัวนี้แม้ว่าจะเป็นอนุมูลอิสระแต่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ เนื่องจากจะไปทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยจะจับกับอนุมูลอิสระที่เกิดจากออกซิเจน ซึ่งปฏิกิริยาที่กรดแอสคอร์บิกทำกับอนุมูลอิสระเป็นไปดังสมการ

$$AH^{\cdot} + {}^{\cdot}OH \longrightarrow H_2O + A^{\cdot-}$$

$$AH^{\cdot} + O_2^{\cdot-} \longrightarrow H_2O_2 + A^{\cdot-}$$

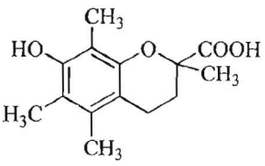
$$AH^{\cdot} + H_2O_2 + H^{+} \longrightarrow H_2O + A$$

($AH^{\cdot}$: Ascorbyl radical $A^{\cdot-}$: Monodehydroascorbic acid A : Dehydro ascorbic acid)

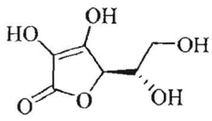
ปฏิกิริยาเหล่านี้ (Molyneux, 2004) จะเกิดได้ดีเมื่อมีตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) ชนิดอื่นอยู่ด้วยเช่น Gluta-thione และ NADH ที่จะช่วยเปลี่ยน $A^{\cdot-}$ เป็น $AH^{\cdot}$

โทรลอกซ์ (Trolox)

โทรลอกซ์เป็นรูปที่ละลายน้ำได้ของวิตามินอี โดยไฮโดรโฟบิกไซด์เชน (Hydrophobic side - chain) ถูกแทนที่ด้วยหมู่ไฮโดรฟิลิกคาร์บอกซิลิก (Hydrophilic Carboxylic group) จับกับ Peroxyl และอนุมูลอิสระ Alkoxyl ได้ดี ภายหลังทำปฏิกิริยาจะกลายเป็น Trolox radical แล้วจะกลับเป็น Trolox



Trolox



ascorbic acid

รูปที่ 2.3 โครงสร้างของสารมาตรฐาน Trolox และ Ascorbic acid

เบต้าแคโรทีน (Beta - carotene)

เบต้าแคโรทีนพบมากในพืชที่มีสีเหลืองและสีส้ม เช่น หัวแครอท หัวผักกาดแดง มะเขือเทศ เป็นต้น เบต้าแคโรทีนเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอ ซึ่งร่างกายมนุษย์สามารถเปลี่ยนเบต้าแคโรทีนไปเป็นวิตามินเอที่ตับและลำไส้ด้วยเอนไซม์ 15, 15 Beta-carotenoid deoxygenase เบต้าแคโรทีนสามารถยับยั้งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระที่มีพลังงานสูง (Singlet state, $^1O_2$) จะถ่ายเทพลังงานให้กับเบต้าแคโรทีนที่มีอิเล็กตรอนในโครงสร้างสูงและสามารถดูดกลืนพลังงานได้ดี ทำให้ได้ออกซิเจนที่มีพลังงานต่ำลง (Triplet state, $^3O_2$) และเบต้าแคโรทีนพลังงานสูง (Triplet state, 3Car*) แล้วจากนั้นเบต้าแคโรทีนจะคายพลังงานออกมาในรูปความร้อน ซึ่งการยับยั้งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระนี้จะเห็นได้ว่าโครงสร้างของเบต้าแคโรทีนไม่มีการเปลี่ยนแปลง เพราะใช้กลไกทางฟิสิกส์ไม่ใช่กลไกทางเคมี เป็นไปดังสมการ

$$^1O_2{}^* + {}^1Car \longrightarrow {}^3O_2 + 3Car^*$$

$$3Car^* \longrightarrow {}^1Car + heat$$

2.8 สารจำพวกโพลีฟีนอล (Polyphenol)

1. แทนนิน (Tannin)

แทนนินเป็นสารในกลุ่มฟีนอล แทนนินสามารถตกตะกอนโปรตีนได้ซึ่งถือว่าเป็นลักษณะเฉพาะของแทนนินที่แตกต่างจากสารฟีนอลตัวอื่นๆ แทนนินกำจัดอนุมูลอิสระโดยการให้อะตอมไฮโดรเจน แก่อนุมูลอิสระ และฤทธิ์ของแทนนินจะแปลผลโดยตรงกับจำนวนมอโนเมอร์ (Monomer) ที่มาจับกันเป็นโมเลกุล นั่นคือ ถ้าจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl) ยิ่งมากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระยิ่งสูง

2. โอลิโกเมอริค โปรแอนโธไซยานิดิน (Oligomeric proanthocyanidin)

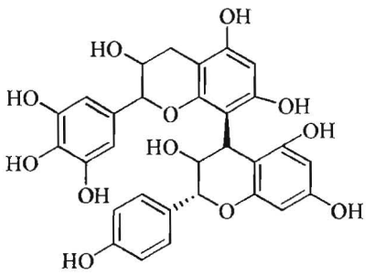
โอลิโกเมอริคโปรแอนโธไซยานิดิน ประกอบด้วย flavan-3-ol 2-3 โมเลกุล เป็นสารในกลุ่มพอลีฟีนอล (Polyphenol group) พบได้ในทุกส่วนของพืช เช่น ในเปลือกไม้สน เมล็ดองุ่นและชาเขียว เป็นต้น ซึ่งเป็นสารไม่มีสี ไม่เป็นพิษ ดูดซึมได้ดีและออกฤทธิ์ได้ดี

3. เคอร์คิวรัม (Curcurum)

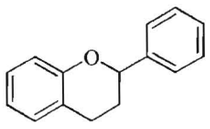
มีฤทธิ์ต้านการอักเสบและต้านมะเร็ง ออกฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระโดยการจับกับโลหะ และรักษาโรคผิวหนังจำพวกพุพองน้ำเหลืองเสีย เป็นสารที่พบในขมิ้น

4. ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)

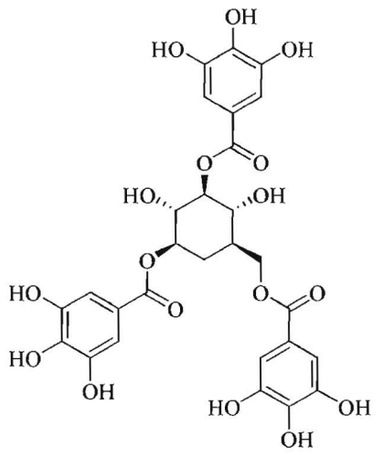
ฟลาโวนอยด์พบในพืชทั่วไปโดยเฉพาะพืชที่มีสี เช่น สีแดง สีม่วง สีเหลือง เป็นต้น เคยมีการศึกษาในถั่วเหลือง ข้าวบาร์เลย์ ชาดำ องุ่น กระเทียม เป็นต้นพบว่าฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีกลไก คือให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระทำให้ปฏิกิริยานั้นหยุดลงและออกฤทธิ์ โดยการจับโลหะจึงส่งผลให้ฟลาโวนอยด์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่แรง ภายหลังจากทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้วฟลาโวนอยด์จะกลายเป็นอนุมูลอิสระของฟลาโวนอยด์แต่เนื่องจากโมเลกุลประกอบด้วยวงเบนซีนซึ่งมีอิเล็กตรอนวิ่งวนอยู่ในโมเลกุล ส่งผลให้อนุมูลอิสระนั้นเสถียรจึงไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ร่างกาย (ธนวรรณ, 2549)



Oligomeric proanthocyanidin



Flavonoid



Tannin ($C_{27}H_{24}O_{18}$)

รูปที่ 2.4 โครงสร้างสารจำพวกฟีนอลิก

2.9 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรด้วยวิธีต่างๆ

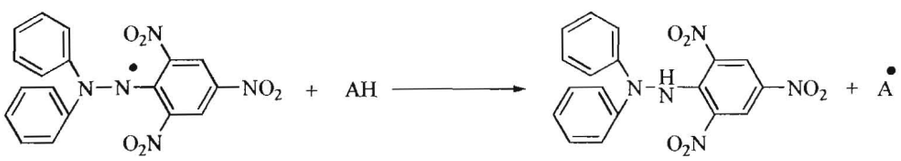
- ABTS assay
- DPPH assay
- FRAP assay
- ORAC assay
- Super oxide anion radical scavenging activity
- Hydroxyl radical scavenging activity

- Nitric oxide radical inhibition activity
- Xanthine oxidase method
- Inhibitory effects on erythrocyte hemolysis
- PCL assay
- TRAP method
- Cytochrome C test
- การทดสอบความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา Lipid peroxidation

2.10 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ใช้ในงานวิจัย

1. 2, 2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay

เป็นวิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยอาศัยหลักการแคลอรีเมตรี (Colorimetry) ที่เกิดจากสารอนุมูลอิสระ DPPH ในเมทานอลทำปฏิกิริยากับสารสกัดหยาบของเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานีที่ต้องการศึกษา ถ้าในสารสกัดนั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำให้สารอนุมูลอิสระ DPPH ที่มีสีม่วงเปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองของสาร DPPH ในสภาวะที่เป็นกลาง ในการหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทำได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm โดยมีหลักการทดลองดังสมการ



DPPH (สีม่วง) sample DPPHn (ไม่มีสี)

อนุมูลอิสระ DPPH เป็นสารประกอบที่มีอนุมูลอิสระในโตรเจนในโครงสร้างและมีความเสถียรจากโครงสร้างเรโซแนนซ์ (Resonance) ลักษณะทางกายภาพเป็นของแข็งที่มีสีม่วง ทำหน้าที่

เป็นสารอนุมูลอิสระตั้งต้นในปฏิกิริยา เมื่อมีสารต้านอนุมูลอิสระ คือสารสกัดหยาบของสารตัวอย่าง จะให้อิเล็กตรอนตัวหนึ่งแก่สารตั้งต้นและเปลี่ยนไปเป็น DPPH ในสภาวะที่เป็นกลางซึ่งจะไม่มีสี ดังนั้นเราสามารถใช้ประโยชน์จากการที่ DPPH มีสีที่แตกต่างกัน ในรูปของอนุมูลอิสระ (DPPH สีม่วง) และรูปที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ (DPPH ไม่มีสี) นั่นคือปฏิกิริยาถูกยับยั้งที่อยู่ในสารสกัดของเห็ดป่ากินได้นั้นๆ แล้ว

วิธีนี้เป็นวิธีการที่ง่ายและถูกต้องในการวัดความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ แต่วิธีการนี้จะเป็นวิธีที่บอกว่าสารนั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือไม่เท่านั้น แล้วควร

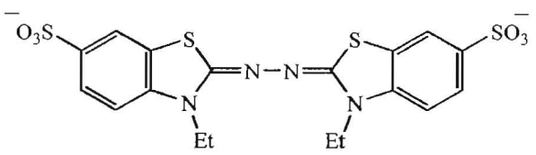
ทำการยืนยันฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีอื่นร่วมด้วย เนื่องจากอนุมูล DPPH มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาจึงไม่สามารถแยกแยะอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงได้ อีกทั้งโครงสร้างทางเคมีของ DPPH นั้น อิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3 วง และหมู่ไนโตร (Nitro group) ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีขนาดใหญ่บางชนิดไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลอิสระหรือเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าความเป็นจริง ทั้งที่สารต้านอนุมูลอิสระนั้นมีฤทธิ์ดีในการขจัดอนุมูลอิสระก็ตาม (Molyneux, 2004)

การแปลผล

EC_{50} = Effective concentration of sample at 50% inhibition ซึ่งหาได้จาก Linear regression analysis ของ %inhibition และ concentration โดยถือว่าพืชมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อ $EC_{50} \leq 100$ µg/ml

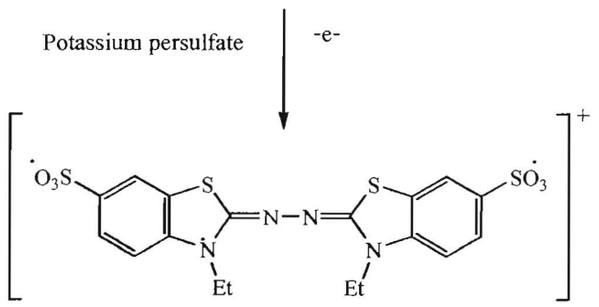
2. ABTS Radical Cation Scavenging Activity assay

วิธีนี้เป็นวิธีวัดทางอ้อมโดยใช้สาร 2, 2′-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) หรือ ABTS มีสูตรโมเลกุล $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$ มาทำให้เป็นอนุมูลอิสระโดยการถูกออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulphate) ให้กลายเป็น $ABTS^{+\cdot}$ ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีสีฟ้า-เขียว มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 734 และ 820 nm แต่จะนิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm โดยปรับค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น $ABTS^{+\cdot}$ ให้เป็น 0.700 ± 0.02 เมื่อเติมสารทดสอบที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำให้ $ABTS^{+\cdot}$ ลดลง ซึ่งทำให้สีจางลง ดังสมการ



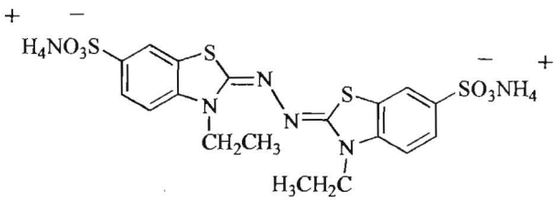
ABTS

(2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid))



$ABTS^{\cdot+}$

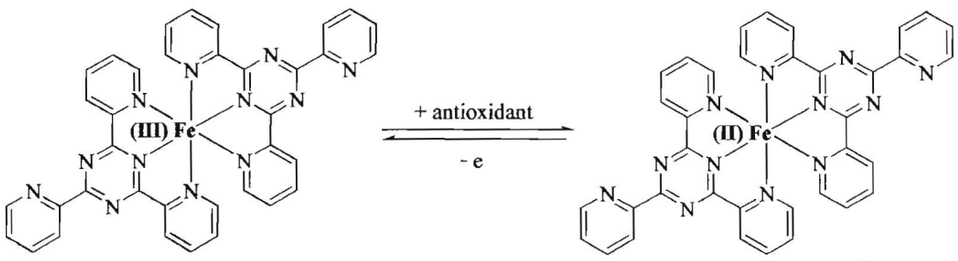
ข้อดีของวิธีนี้ คือ เป็นวิธีที่ง่าย อนุมูล $ABTS^{+\cdot}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านอนุมูลอิสระ อนุมูล $ABTS^{+\cdot}$ ละลายได้ทั้งในน้ำและสารทำละลายอินทรีย์ จึงทำให้ศึกษาได้ทั้งในสารที่ละลายในน้ำหรือละลายในไขมัน ส่วนข้อเสียของวิธีนี้ คือ ABTS ไม่เป็นสารตามธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอนุมูลในเซลล์หรือร่างกาย โดยโครงสร้าง $ABTS^{+\cdot}$ มีลักษณะโครงสร้างดังรูปที่ 2.5 (http://www.irpus .org/project_file/2547_2006-08-23_R10003-47.pdf)



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของ ABTS (2, 2′-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid))

3. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay

FRAP เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการวัดความสามารถของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยอาศัยกระบวนการ Reduction จาก 2, 4, 6-tripyridylstriazine complex (Fe^{3+} - TPTZ) ไปเป็น Ferrous form (Fe^{2+} - TPTZ) ในปฏิกิริยา Redox-linked colorimetric method ซึ่ง Ferrous form ในปฏิกิริยาจะมีสีน้ำเงิน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm (http://www.thapra.lib.su.ac.th-/object/thesis/fulltextext/snamcn/Preeyanan_Buasod/Chapter 1.pdf) ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะแปรผันตรงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างในเชิงเส้นตรง ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีทดสอบที่ง่าย ใช้เวลาน้อย ประหยัดค่าใช้จ่ายเนื่องจากสารเคมีที่ใช้มีราคาไม่แพงและเตรียมง่าย ที่สำคัญค่าที่วัดได้มีความถูกต้องแม่นยำ (http://www.irpus.org/project_file/2547_2006-08-23_R100 03-47.pdf)



Fe^{3+}- TPTZ (ไม่มีสี) Fe^{2+}- TPTZ (สีม่วงน้ำเงิน)

การแปลผล

FRAP Value เป็นการวัดค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพืชตัวอย่าง โดยคำนวณค่าเป็น μmol เมื่อเทียบกับวิตามินซี

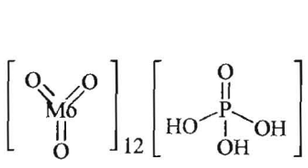
4. Total phenolic compound

สารประกอบฟีนอลิกรวมเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบมากในพืชผัก ผลไม้ สารประกอบฟีนอลิกรวมได้แก่ พวกโมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (Phenolic acid) ฟลาโว-นอยด์ (Flavonoids) จนถึงโครงสร้างพอลิเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน (Lignin) และแทนนิน (Tannin) เป็นต้น โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิกรวม ประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก (Aromatic ring) และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) โดยมากเป็นสารที่มีขั้วละลายในตัวทำละลายจำพวกแอลกอฮอล์ได้ดี กลไกของสารประกอบฟีนอลิกรวมที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ เมื่อมีอนุมูลอิสระมาดึงอิเล็กตรอนไป แต่ในโครงสร้างมีอิเล็กตรอนหนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (Delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไป ดังนั้นถ้าหากพืชมีองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกรวมเป็นปริมาณมากแสดงถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระนั้นได้

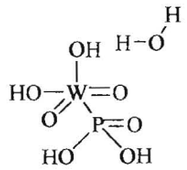
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method โดย Phenolic compound จะทำปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับ Phosphotungstic และPhosphomolybdic acid ที่มีอยู่ในสารเคมี วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 nm โดยใช้กรดแทนนิก (Tannic acid) เป็นสารมาตรฐาน แล้วคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในรูปมิลลิกรัมของ Tannic acid equivalent (TAE) ต่อสารสกัดพืชตัวอย่าง 1 กรัม (Pulido, 2000)

การแปลผล

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมคำนวณค่าในหน่วย มิลลิกรัมเทียบเท่า Tannic acid ต่อสารสกัดพืช 1 กรัม



Phosphomolybdic acid



Phosphotungstic acid hydrate

รูปที่ 2.6 โครงสร้าง Phosphotungstic และ Phosphomolybdic acid

2.11 ข้อมูลของเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานีที่นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

1. เห็ดผึ้งเหลือง

ชื่อสามัญ : เห็ดตับเต่า (ผึ้งคราม)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Boletus colossus* Heim sp.

ชื่อวงศ์ : BOLETACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : ลักษณะมีสีเหลืองรูปร่างแบบกรวยตื้น ไม่มีน้ำยาง ผิวมีลักษณะเป็นริ้วหรือจีบ เนื้อหมวกมีลักษณะแข็งหนา ครีบมีสีเหลืองอ่อนๆ ครีบเรียวยาวลงไม่ติดก้าน ครีบเรียงตัวแบบสั้น ขอบของครีบเรียบ ก้านสีเหลืองเป็นรูปทรงกระบอก ผิวก้านเป็นสันนูน ส่วนประกอบอื่นๆ มีปมราติดรากเทียม ก้านมีความเปราะ ไม่มีเยื่อหุ้มโคน และไม่มีวงแหวนรอบดอกเห็ด สีน้ำตาลใส ลักษณะพิเศษ มีสีเหลือง มีกลิ่นหอมเล็กน้อย รับประทานได้มักขึ้นบริเวณดินร่วนปนทรายและบริเวณโล่งที่มีไม้พุ่มขึ้นประปราย

ฤดูกาล : ในเดือน มิถุนายน - ตุลาคม

สรรพคุณทางยา : เป็นเห็ดที่นำมาต้มจะมีสารเมือกที่ออกมาจากเห็ด ซึ่งเป็นสารที่มีคุณค่าอย่างมาก เรียกสารนี้ว่า "พอลิแซคคาร์ไรด์" อันที่จริงสารนี้มีคุณสมบัติเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่ง คนทั่วไปก็อาจคิดว่าเป็นแป้งธรรมดาๆ เท่านั้นเองบำบัดอาการปวดหลัง ปวดข้อ ปวดเส้นเอ็นและกระดูก (http://www.dnp.go.th/foremic/fmo/ediblemushroom.htm)

2. เห็ดผึ้งนกยูง

ชื่อสามัญ : เห็ดนกยูง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Macrolepiota dolichaula* (Bedrk.& Br.) Pegler & Rayner.

ชื่อวงศ์ : AGARICACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : หมวกเห็ดมีรูปทรงโค้งคล้ายกระจกนูน ผิวปกคลุมไปด้วยสะเก็ด และตุ่มนูนเล็กๆ สีน้ำตาล ริมขอบเป็นแนวร่องละเอียด เนื้อเยื่อภายในสีขาว เมื่อผ่าออกจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ปลายครีบไม่แตะกับก้าน ภายในกลวง เปราะ สีน้ำตาลอ่อน เมื่อกรีดลงไปบนก้านจะเปลี่ยนเป็นสีแดง วงแหวนไม่ติดกับก้านแน่น ค่อนไปทางด้านบน โคนกลม

ฤดูกาล : พบในบริเวณที่ชื้น หลังฝนตก 2-3 วันแล้วมีแดดจัด อากาศร้อนอบอ้าว พบตลอดช่วงฤดูฝน

สรรพคุณ : แพทย์แผนโบราณของไทย นำเอามาปรุงเป็นยามาใช้ในการรักษาโรคได้ช้านาน โดยเห็ดมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรที่ใช้ในการบำรุงกำลัง บำรุงตับ และบำรุงปอด (http://www.dnp.go.th/foremic/fmo/ediblemushroom.htm)

3. เห็ดผึ้งข้าว

ชื่อสามัญ : เห็ดตับเต่าขนมปังกะโหลก

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Suillus tomentosus*

ชื่อวงศ์ : GOMPHIDAICEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : หมวกเห็ด รูปกระทะคว่ำสีน้ำตาลอ่อน ผิวเรียบหนืดมือเมื่อเปียกชื้น ด้านล่างมีรูเล็กยาวสีขาวนวล แล้วเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียวหรือเหลืองอมน้ำตาล ก้านสีขาวนวล

หรือน้ำตาลอ่อน โคนโป่งออกเป็นกระเปาะตอนบนมีผิวนูนเป็นลายตาขายสีขาวหรือสีเนื้อ เนื้อในเห็ดสีขาวก้านดอกเห็ดมีลักษณะอ้วนสั้นขึ้นเป็นดอกเดี่ยวและอยู่กันเป็นกลุ่มบนพื้นดิน กลุ่มละ 3-4 ดอก ในป่าแล้ง ป่าเบญจพรรณ

ฤดูกาล : พบในบริเวณที่ชื้น หลังฝนตกหนัก 2-3 วัน ร้อนอบอ้าวช่วงเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน

สรรพคุณ : แพทย์แผนโบราณของไทย นำเอามาปรุงเป็นยามาใช้ในการรักษาโรคได้ช้านาน เป็นสมุนไพรที่ใช้ในการบำรุงกำลัง บำรุงตับ และบำรุงปอดไปด้วยกันบำรุงร่างกาย กระจายโลหิตดับพิษร้อนภายในร่างกาย (http://www.dnp.go.th/foremic/fmo/ediblemush-room.htm)

4. เห็ดผึ้งขาลาย

ชื่อสามัญ : กระบองเพชรเหลือง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Boletellus ressellii* (Frost) Gilb.

ชื่อวงศ์ : BOLETACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : หมวกนูนเรียบแล้วปริตกเป็นเกล็ด น้ำตาลอมเหลือง ส้มอมแดงไปจนถึงเขียวมะกอกหรือน้ำตาล รูเมื่อแก่รูรอบก้านจะเปลี่ยนจากเหลืองเป็นเขียวมะกอกเมื่อดอกแก่ ปากรูใหญ่และเป็นรูปเหลี่ยม เหลืองแล้วเปลี่ยนเป็นเขียวมะกอก เนื้อเหลือง พบบริเวณบนพื้นดินในป่าผลัดใบ

ฤดูกาล : ฤดูฝน

มีสรรพคุณ : แพทย์แผนโบราณของไทย นำเอามาปรุงเป็นยามาใช้ในการรักษาโรคได้ช้านาน มีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรที่ใช้ในการบำรุงกำลัง บำรุงตับ และบำรุงปอดไปด้วยกันบำบัดอาการปวดหลัง ปวดข้อ ปวดเส้นเอ็นและกระดูก (http://www.biogang.net/content_detail.php? menu= biodiversity&uid=701&id=25417)

5. เห็ดผึ้งชาด

ชื่อสามัญ : ตับเต่าน้ำตาลลายกระ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Boletellus chrysenteroides* (Shell) Sing.

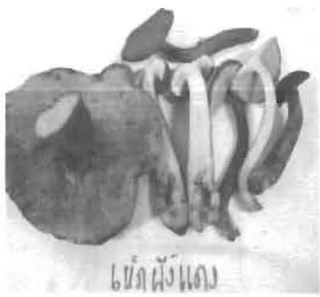
ชื่อวงศ์ : BOLETACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : หมวกนูนแห้ง น้ำตาลดำแล้วเป็นน้ำตาลเข้ม ดอกอ่อนมีขนกำมะหยี่ สีเดียวกัน เมื่อบานออกผิวปริแตกเห็นเนื้อเห็ดเหลืองอ่อน ปากรุกว้างเหลืองอ่อนถึงเหลืองอมเขียว เปลี่ยนเป็นน้ำเงินเมื่อช้ำก้านเรียวยาวลงไปที่โคนเล็กน้อย เหนียว น้ำตาลอ่อนตอนบนน้ำตาลแดงถึงน้ำตาลดำตอนล่างมีขนหรือเกล็ดตั้งขึ้นเนื้อ เหลืองอ่อน เปลี่ยนเป็นน้ำเงินเมื่อช้ำ เกิดกระจายบนไม้ผุบนพื้นดินและโคนต้นไม้ในป่าดิบ

ฤดูกาล : ฤดูฝน

มีสรรพคุณ : รับประทานแล้วเป็นยาบำรุงร่างกาย บำรุงกำลัง กระจายโลหิต ดับพิษร้อนภายในดีมาก บำบัดอาการปวดหลัง ปวดข้อ ปวดเส้นเอ็นและกระดูก (http://www.biogang.net/content_detail.php? menu=biodiversity&uid=701&id=25417)

6. เห็ดผึ้งแดง



ชื่อสามัญ : ตาทิพย์หรือตับเต่าทิเบต

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Aureoboletus thibetanus* (Pat.) Hongo and Nagasawa.

ชื่อวงศ์ : BOLETACEAE

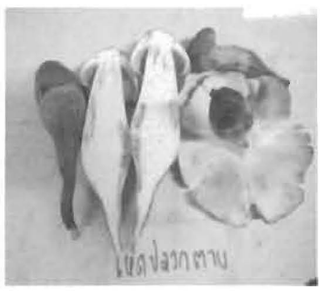
ชื่อวงศ์ : BOLETACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : หมวกนูนแล้วแบน เหนียวหนืดมือ น้ำตาลอมม่วงแดงปากรูเกือบกลม เหลืองสดแล้วเป็นเหลืองอมเขียวก้านโคนใหญ่กว่าตอนบน แดงอมชมพู มีรอยย่นและตาข่ายยาว บางเนื้อขาวแล้วเปลี่ยนเป็นขาวอมชมพูสปอร์ทรงรียาวเรียบผนังบาง น้ำตาลอมเขียวหม่น พบบนพื้นดินในป่าผลัดใบและป่าสน

ฤดูกาล : ฤดูฝน

มีสรรพคุณ : รับประทานแล้วเป็นยาบำรุงร่างกาย บำรุงกำลัง กระจายโลหิต ดับพิษร้อนภายในดีมาก บำบัดอาการปวดหลัง ปวดข้อ ปวดเส้นเอ็นและกระดูก (http://www.biogang.net/content_detail.php? menu =biodiversity&uid=701&id=25417)

7. เห็ดปลวกตาบ



ชื่อสามัญ : เห็ดปลวกตาบ เห็ดปลวกแม่หม้าย

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Termitomyces* sp.

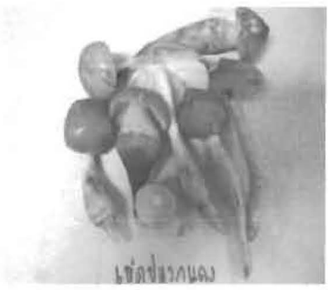
ชื่อวงศ์ : TRICHOLOMATACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : หมวกดอกมีสีน้ำตาลอ่อนหรือสีน้ำตาลอมครีม กลางหมวกดอกมีลักษณะนูนขึ้นเล็กน้อยและมีสีน้ำตาลเข้ม ผิวหมวกดอกมีลักษณะคล้ายเส้นใยเรียงตัวกันตามยาวจากกลางหมวกดอกถึงปลายขอบหมวกดอก ลักษณะเนื้อภายในก้านดอกคล้ายเส้นใยอัดตัวกันแน่นเรียงตัวตามยาว

ฤดูกาล : ฤดูฝน ช่วงเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนสิงหาคม

มีสรรพคุณ : ช่วยเจริญอาหาร บำรุงกำลัง แก้บิด แก้คลื่นไส้ อาเจียน แก้ไอ ละลายเสมหะ การทดลองทางเภสัชศาสตร์พบว่า น้ำที่สกัดจากเห็ดโคนสามารถยับยั้งเชื้อโรคบาง ชนิด เช่น เชื้อไทฟอยด์ (อนงค์, 2551)

8. เห็ดปลวกแดง



ชื่อสามัญ : โคนปลวกหมวกแหลม

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Termitomyces grobuslus* Heim et Grooss.

ชื่อวงศ์ : TRICHOLOMATACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : หมวกเห็ดสีน้ำตาลหม่นอมเหลือง เนื้อเป็นเส้นใยหยาบสีขาวประสานกันแน่น เหนียวและแข็ง โคนก้านใหญ่แล้วเรียวลงไปจนถึงรังปลวก ผิวรากสีน้ำตาลดำเป็นชั้นบางๆหุ้มอยู่ สปอร์รูปรีใส ผิวเรียบผนังบาง ลักษณะพิเศษ ก้านดอกยาวสั้น มีรากเทียมยาวบริเวณโคนเป็นกระเปาะขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับก้านดอก เมื่อสุกเนื้อแน่น มีรสหวาน นิเวศวิทยาบริเวณที่เก็บตัวอย่างเป็นป่าที่มีความชื้นสูงโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนเห็ดจะพบอยู่ใกล้ๆ กับจอมปลวก และมีใบไม้แห้งปกคลุม พืชยืนต้นที่อยู่ใกล้ๆได้แก่ ต้นเต็งรัง ชาด กุง เห็ดอยู่เป็นดอกเดี่ยวกระจาย

ฤดูกาล : เดือนสิงหาคม -พฤศจิกายน

มีสรรพคุณ : ช่วยเจริญอาหาร บำรุงกำลัง แก้บิด แก้คลื่นไส้ อาเจียน แก้ไอ ละลายเสมหะ การทดลองทางเภสัชศาสตร์พบว่า น้ำที่สกัดจากเห็ดโคนสามารถยับยั้งเชื้อโรคบาง ชนิด เช่น เชื้อไทฟอยด์ (อนงค์, 2551)

9. เห็ดปลวกข้าวดอ

ชื่อสามัญ : เห็ดโคน ชื่อพื้นเมือง เห็ดปลวกฟาน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Termitomyces clypeatus* Heim.

ชื่อวงศ์ : TRICHOLOMATACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : หมวกรูปกระดิ่งยอดแหลมแล้วนูน แต่ยังคงยอดแหลมไว้กลางหมวก เป็นมันเงาเรียบ ขอบงอลง เป็นคลื่นและมักฉีกขาด มีสีน้ำตาลอมเทาไปจนถึงน้ำตาลอมเหลือง สีจางลงไปที่ขอบหมวก เนื้อเป็นเส้นใยหยาบสีขาวประสานกันแน่น เหนียวและแข็ง โคนก้านใหญ่แล้วเรียวลงไปจนถึงรังปลวก ผิวรากสีน้ำตาลดำเป็นชั้นบาง ๆ หุ้มอยู่ สปอร์รูปรีใส ผิวเรียบผนังบาง ลักษณะพิเศษ ก้านดอกยาวสั้น มีรากเทียมยาว บริเวณโคนเป็นกระเปาะขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับก้านดอก เมื่อสุกเนื้อแน่น มีรสหวาน นิเวศวิทยา บริเวณที่เก็บตัวอย่างเป็นป่าที่มีความชื้นสูงโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนเห็ดจะพบอยู่ใกล้ๆ กับจอมปลวก และมีใบไม้แห้งปกคลุมพืชยืนต้นที่อยู่ใกล้ๆได้แก่ ต้นเต็ง รัง ชาด กุง เห็ดอยู่เป็นดอกเดี่ยวกระจาย

ฤดูกาล : เดือนสิงหาคม - พฤศจิกายน

สรรพคุณ : ช่วยเจริญอาหาร บำรุงกำลัง แก้บิด แก้คลื่นไส้ อาเจียน แก้ไอ ละลายเสมหะ การทดลองทางเภสัชศาสตร์พบว่า น้ำที่สกัดจากเห็ดโคนสามารถยับยั้งเชื้อโรคบาง ชนิด เช่น เชื้อไทฟอยด์ (อนงค์, 2551)

10. เห็ดหน้าแหล่

ชื่อสามัญ : เห็ดก่อหน้าม่วง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Russula cyanoxantha* Schaeff ex.

ชื่อวงศ์ : RUSSULACEA

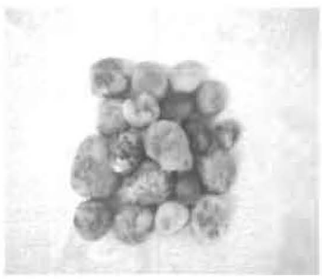
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: สีม่วง รูปร่างแบบกรวยตื้น ขอบหมวกเป็นคลื่นเมื่อมองจากด้านบน มองจากด้านล่างเห็นครีบงอขึ้น ผิวมีลักษณะเป็นเกล็ด เนื้อหมวกมีความเปราะ เมื่อช้ำหรือมีบาดแผลไม่เปลี่ยนสี ครีบสีเหลืองกลางครีบกว้างไม่ติดก้าน ครีบเรียงตัวแบบสั้น ครีบบาง ขอบครีบเรียบ ก้านเป็นรูปทรงกระบอก ผิวก้านเรียบ ก้านมีความเปราะ ไม่มีเยื่อหุ้มโคน และไม่มีวงแหวนรอบดอกเห็ด สปอร์ค่อนข้างกลมสีเขียว ลักษณะพิเศษ บริเวณหน้าเห็ดมีสีม่วง เวลาบานเต็มที่คล้ายกรวยก้นตื้น

ตรงกลางหมวกเว้าลงไปเล็กน้อย นิเวศวิทยา บริเวณที่เก็บตัวอย่างเป็นพื้นที่มีตอไม้ผุพัง หรือใบไม้หล่น มีความชื้นสูง ไม้ยืนต้นใกล้บริเวณนั้นได้แก่ ต้นเต็ง ต้นชาด

ฤดูกาล : ฤดูฝนพบในเดือนกรกฎาคม – สิงหาคม (อนงค์, 2551)

สรรพคุณทางยา : -

11. เห็ดเผาะฝ้าย



ชื่อสามัญ : เห็ดเผาะ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morgan.

ชื่อวงศ์ : ASTRAEACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : ดอกเห็ดอ่อนมีรูปร่างกลมผิวเรียบหรือขรุขระเล็กน้อย สีของดอกเห็ดไม่เปลี่ยนแปลงคงเป็นสีขาวตลอดไปหรืออาจคล้ำลงบ้างเล็กน้อยเห็ดชนิดนี้มีเปลือก 2 ชั้น เปลือกนอกเวลาแก่จะบานออกและจะเผยให้เห็นเปลือกชั้นในที่เป็นรูปกลมสีขาวเปลือกชั้นนอกและชั้นในจะบางกว่าเห็ดเผาะทั่วไปเล็กน้อยเปลือกชั้นนอกเมื่อแห้งจะแข็งแล้วจะมีรอยแตกตามขวางมากอาจมีกลีบดอกแตกแยกมากกว่า 9 แฉก เวลาแห้งแข็งปลายปิดงอโค้งเข้าแต่ถ้าถูกน้ำก็จะงอเข้าเห็ดเป็นก้อนกลมสีขาวมีเส้นใยคล้ายฝ้ายขึ้นเป็นดอกกลุ่มบนพื้นดินในป่าเต็งรัง(http://www.biogang.net/content_detail.php?menu=biodiversity&uid=701&id=25417)

ฤดูกาล : พบในบริเวณที่ค่อนข้างแห้ง หลังฝนตก 2-3 วัน อากาศร้อนอบอ้าว พบในช่วงเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน

สรรพคุณ : เห็ดสมุนไพร รสเย็นหวาน บำรุงกำลัง แก้ช้ำใน (http://www.thapra.lib.su.ac.th/object/thesis/ fulltextext/snamcn/Preeyanan_Buasod/Chapter 1.pdf)

12. เห็ดเผาะหนัง

ชื่อสามัญ : เห็ดเผาะ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Geastrum saccatum* Fr.

ชื่อวงศ์ : GEASTRACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : ดอกเห็ดอ่อนมีรูปร่างกลมผิวเรียบสีขาวหรือมีรอยเปื้อนดินผิวด้านนอกของเห็ดเผาะจะเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลอ่อนจนไปเป็นสีน้ำตาลแก่ มีเนื้อเหนียวและแข็งขึ้น เห็ดเผาะ มีเปลือก 2 ชั้น เปลือกชั้นนอกประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2-3 ชั้น เห็ดเป็นก้อนกลม เกิดเป็นกลุ่มบนพื้นดินในป่าเต็งรัง

ฤดูกาล : พบในบริเวณที่ชื้น หลังฝนตกหนัก 2-3 วัน และแดดร้อน อากาศร้อนอบอ้าว พบในช่วงเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน

สรรพคุณ : เห็ดสมุนไพร รสเย็นหวาน บำรุงกำลัง แก้ช้ำในหยุดการไหลของเลือด สมานแผล ลดอาการบวม ลดอาการคันนิ้วมือ นิ้วเท้า ลดไข้อาการร้อนใน (http://www.thapra.lib.su.ac.th/object/thesis/fulltextext/snamcn/Preeyanan_Buasod/Chapter 1.pdf)

13. เห็ดถ่าน

ชื่อสามัญ : เห็ดถ่าน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Russula* sp.

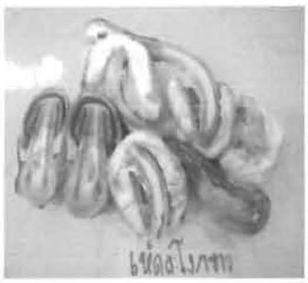
ชื่อวงศ์ RUSSULACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : หมวกเห็ดสีนวลขาว กลางหมวกเว้าตื้นผิวเรียบและหนืดมือเมื่อจับแล้วค่อยๆ แห้งไป เนื้อบางสีขาว ครีบสีขาวนวล บางและแคบ ยึดติดกับก้านและเรียงชิดกัน สีของดอกเห็ดจะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและสีดำ เมื่อฉีกขาดหรือช้ำเนื้อในเห็ดจะเปลี่ยนสีได้เร็วขึ้นดอกคล้ายกรวย เมื่อสัมผัสจะมีสีดำ เกิดเป็นดอกเดี่ยว หรือเกิดเป็นกลุ่มบนพื้นดิน ในป่าโปร่ง ป่าเต็งรัง ป่าดิบแล้ง ป่าเบญจพรรณ

ฤดูกาล : พบในบริเวณที่ชื้น หลังฝนตกหนัก 2-3 วัน อากาศร้อนอบอ้าวพบในช่วงเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน

สรรพคุณ : เห็ดถ่านใหญ่เป็นเห็ดที่รับประทานได้ รสชาติดีเป็นที่ดีเป็นที่นิยมบริโภคของชาวบ้านและขายได้ราคาแพง (http://www.dnp.go.th/foremic/fmo/ediblemushroom.htm)

14. เห็ดระโงกขาว



ชื่อสามัญ : เห็ดไข่

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Amanita* sp.

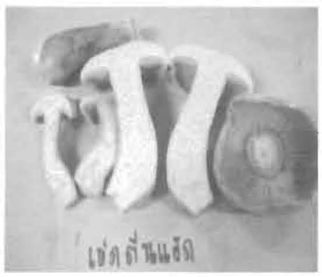
ชื่อวงศ์ : AMANITACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : ดอกเห็ดอ่อนมีเยื่อหุ้มหนารูปไข่ เมื่อเจริญขึ้นผิวด้านบนปริแตกออกเป็นรูปไข่ สีเหลืองอ่อนหรือขาวนวล เมื่อบานกางออกเป็นรูปกระทะคว่ำแล้วแบนราบ โดยรอบเห็นชัดเจนตั้งแต่เริ่มโผล่ออกจากเยื่อหุ้มดอกเห็ด บางดอกมีเยื่อหุ้มเป็นแผ่นใหญ่ติดอยู่บนหมวก หลุดง่าย ภายในสีขาว เนื้อเป็นเส้นใยหยาบๆ เปราะและหักง่าย กระจายทั่วไปบนพื้นดินในป่าเต็งรัง

ฤดูกาล : พบในบริเวณที่ชื้น หลังฝนตก 2-3 วันแล้วมีแดดจัด อากาศร้อนอบอ้าว ในช่วงเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน

สรรพคุณ : มีฤทธิ์ไปกระตุ้นการทำงานของระบบสร้างภูมิคุ้นกันให้กับร่างกาย ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันทำงานได้ดีขึ้น ก็เท่ากับช่วยให้ร่างกายแข็งแรงขึ้นเป็นยาอายุวัฒนะอย่างหนึ่ง (http://www.dnp.go.th/foremic/fmo/ediblemushroom.htm)

15. เห็ดตีนแรด, เห็ดคะน่องช้าง



ชื่อสามัญ : เห็ดจั่น

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Tricholoma crassum* Berk.

ชื่อวงศ์ : TRICHOLOMATACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : หมวกเห็ดสีขาวหม่นหรือขาวนวล รูปกระทะคว่ำ โคนใหญ่เป็นกระเปาะผิวหยาบเล็กน้อยเกิดดอกเดี่ยว หรือโคนติดกันเป็นกลุ่มตามดินใกล้โคนไม้ประดู่ ไม้กระบก ในป่าเบญจพรรณ ป่าดิบแล้ง

ฤดูกาล : พบในบริเวณที่ชื้น หลังฝนตกและอากาศร้อนอบอ้าว **พบตลอดฤดูฝน**

สรรพคุณ : ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ดูแลระบบการไหลเวียนของโลหิต ลดอาการขับเหงื่อที่มากเกินไปจากการใช้ยา ฟื้นฟูพลังบรรเทาอาการกระเพาะอักเสบ (http://www.music-parks.com/2857)

16. เห็ดระโงกแดง เห็ดระโงกฟาน

ชื่อสามัญ : เห็ดไข่แดง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Amanita caesarea* (Fr.) Schw.

ชื่อวงศ์ : AMANITACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : ดอกเห็ดอ่อนมีเยื่อหุ้มหนา รูปไข่ สีขาว เมื่อเจริญขึ้นผิวด้านบนปริแตกออกเป็นรูปถ้วยติดอยู่ที่โคนก้าน หมวกเห็ดรูปไข่ สีแดงหรือแดงอมส้ม เมื่อบานกางออกเป็นรูปกระทะคว่ำแล้วแบนราบ ผิวเป็นมัน โดยรอบเห็นชัดเจน

ฤดูกาล: ในประทศไทยพบทางภาคเหนือ ขึ้นบนพื้นดินในป่าก่อและป่าสน กินได้ ในต่างประเทศพบในอเมริกาและเม็กซิโก

สรรพคุณ:หยุดยั้งการเติบโตของเนื้อร้าย (http://www.dnp.go.th/foremic/fmo/ediblemushroom.htm)

17. เห็ดไคล

ชื่อสามัญ : เห็ดหล่มกระเขียว

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Rusula virescens* Fr.

ชื่อวงศ์ : RUSSULACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : ดอกเห็ดอ่อนสีขาวนวล ผิวหมวกเห็ดเรียบ เมื่อบานรูปร่างคล้ายกรวยตรงกลางหมวกเว้าลงเล็กน้อย สีน้ำตาลอ่อน หรือสีเนื้อ เนื้อหมวกหนาด้านล่างหมวกมีครีบเรียงกันเป็นรัศมี ก้านดอกมีลักษณะกลมใหญ่ โคนก้านดอกเรียวเล็กกว่าด้านบนเล็กน้อย ผิวด้านนอกสีขาวนวลและเรียบ เมื่อกระทบแสงไฟในตอนกลางคืนจะเรืองแสง

ฤดูกาล : ช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม

สรรพคุณ : รักษาโรคตาเพลีย ตาอ่อนล้า ขับความร้อนออกจากตับ กระจายพลังงานส่วนเกิน ระบบการไหลเวียนต่างๆของสตรี ระวังไม่กินมากจนเกินไปบำรุงสายตา บำรุงตับลดไข้ บำรุงร่างกาย และบำรุงเลือดลม (http://www.thapra.lib.su.ac.th/object/thesis/fulltextext/snamcn/Preeyanan_Buasod/Chapter 1.pdf)

18. เห็ดมันปูใหญ่

ชื่อสามัญ : เห็ดมันปู

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Cantharellus cibarius* Fr.

ชื่อวงศ์ : CANTHARELLACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : เห็ดมันปูใหญ่ มีสีเหลืองหรือสีเหลืองอมแสด มีรูปร่างคล้ายดอกบานบุรี ผู้ตั้งชื่อเห็ดชนิดนี้คงเห็นว่าเห็ดชนิดนี้มีสีคล้ายมันปู เห็ดมันปูมีขายตามท้องตลาดในฤดูฝนทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบเห็ดชนิดนี้มากในป่าไม้ผลัดใบและขึ้นเป็นดอกเดี่ยวรอบๆ ตอไม้

ฤดูกาล : ฤดูฝน

มีสรรพคุณ : แก้โรคตาขุ่นมัว ช่วยให้การทำงานของปอด ลำไส้ และกระเพาะอาหารดีขึ้นด้วย นำมาแกงผัด หรือลวกจิ้มน้ำพริก ประกอบด้วยวิตามินเอ และกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย (http://pineapple- eyes.snru. ac.th/ animal/ pupan/index.php?q=node/202)

19. เห็ดหำฟาน

ชื่อสามัญ : เห็ดหำฟาน (เห็ดขลำหมา)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Alpova tappei* Fogel.

ชื่อวงศ์ : MELANOGASRACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : ดอกเห็ดรูปกลมหรือค่อนข้างกลม สีเหลืองอมส้ม บางดอกมีรอยจีบย่นที่โคนเล็กน้อย โคนมีเส้นใยสีเหลืองอ่อนคล้ายเชือก ฝังลงไปในดิน ผิวดอกเห็ดบาง เมื่อแก่จะปริ

แตกหลุดปลิวไป ภายในดอกเห็ดเมื่อยังอ่อนสีขาว มองเห็นเป็นรัศมีออกจากโคน เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ดอกเห็ดทั้งอ่อนและแก่มีลักษณะนิ่มยืดหยุ่นคล้ายยางลบขึ้นดอกเดี่ยวกระจายกันอยู่ทั่วไปประมาณ 2-3 ดอก ตามพื้นดินในป่าเต็งรัง

ฤดูกาล : พบในบริเวณที่ชื้น หลังฝนตกหนักประมาณ 2-3 วัน มีแดดจ้า อากาศอบอ้าว ในช่วงเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน (http://www.dnp.go.th/foremic/fmo/ediblemushroom.htm)

มีสรรพคุณ : -

20. เห็ดก่อใหญ่

ชื่อสามัญ : สีแดงอมชมพู

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Russula* sp.

ชื่อวงศ์ : RUSSULACEAE

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : หมวกนูนกลางหมวกเป็นแอ่งเล็กน้อย แดง ใต้ผิวมีสีชมพู ครีบติดก้านกว้าง เรียงถี่ ขาวแล้วเปลี่ยนเป็นครีม ก้านทรงกระบอก เนื้อแน่น ขาว พบบนพื้นดินในป่าผลัดใบ

ฤดูกาล : ฤดูฝน (http://www.biogang.net/content_detail.php?menu=biodiversity&uid=701&id=25417)

มีสรรพคุณ : -

2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature Review)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องของสารสกัดจากเห็ดกินได้ (Edible mushroom extracts) และฤทธิ์ทางชีวภาพ เห็ดเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่เจริญเป็นเส้นใยก่อนแล้วจึงสร้างดอกเห็ดได้ ส่วนใหญ่ของเห็ดดำรงชีวิตเป็นผู้ย่อยสลายซากพืชให้เป็นสารอินทรีย์ขนาดเล็กเพื่อนำเข้าไปใช้ในการเจริญของตนเองและช่วยหมุนเวียนสารอาหารในระบบนิเวศ เช่น เห็ดฟาง เห็ดนางรมนางฟ้า เห็ดบด เห็ดขอนขาว เห็ดหอม เห็ดหูหนู เป็นต้น เห็ดบางชนิดดำรงชีวิตแบบพึ่งพาอาศัยกับพืช เช่น เห็ดขมิ้น เห็ดมันปู เห็ดผึ้งหรือเห็ดตับเต่า เห็ดเผาะ เห็ดไค เห็ดระโงก ฯ เห็ดบางชนิดดำรงชีวิตแบบพึ่งพาอาศัยกับปลวก คือ เห็ดปลวกหรือเห็ดโคน เห็ดบางชนิดดำรงชีวิตเป็นเชื้อโรคของพืชยืนต้น เช่น เห็ดหลินจือ

หรือเห็ดหมื่นปีซึ่งมีสรรพคุณทางยาที่แพร่หลายมานาน เห็ดมีประโยชน์ต่อระบบนิเวศในการสร้างสมดุลธรรมชาติ เนื่องจากเห็ดดำรงชีวิตได้โดยความสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ และสภาพแวดล้อมทั้งทางกายภาพและชีวภาพ ดังนั้นความหลากหลายของเห็ดจึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงความสมบูรณ์ของสภาพธรรมชาติในแหล่งนั้น ๆ ได้เป็นอย่างดี ทั้งในด้านความหลากหลายของชนิด (Species diversity) ความหลากหลายของพันธุกรรม (Genetic diversity) และความหลากหลายของระบบนิเวศ (Ecological diversity) ซึ่งข้อมูลพื้นฐานด้านต่างๆ ของเห็ดสามารถนำไปใช้ในการจัดการและอนุรักษ์สภาพธรรมชาติ นอกจากนี้เห็ดป่าที่กินได้ยังเป็นอาหารพิเศษและรายได้เสริมตามฤดูกาลของชาวบ้านภาคอีสานและภาคเหนืออีกด้วย (นองนิจ, 2546)

นักวิจัยทางชีววิทยาหลายกลุ่มศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดบ้านและเห็ดป่าในท้องถิ่น และนักวิจัยทางเคมีได้มีรายงานมากมายเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดที่รับประทานได้ในประเทศแถบเอเชีย เช่น จีน ไต้หวัน และอินเดีย

ปี 2002 Jeng-Leun Mau ได้ศึกษาเห็ด 4 ชนิดที่มีจำหน่ายในประเทศไต้หวัน ได้แก่ *Dictyophora indusiata* (Basket stinkhorn) *Grifola frondosa* (Maitake) *Hericium erinaceus* (Lion's mane) และ *Tricholoma giganteum* (White matsutake) จากสารสกัดเมทานอลของเห็ดทั้ง 4 ชนิด และมีการศึกษาคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งพบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 1.2 mg/ml ใน Basket stinkhorn Maitake Lion's mane และ White matsutake พบว่า Basket stinkhorn ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ1.09 ที่ความเข้มข้น 3 mg/ml และความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ ความเข้มข้น 6.4 mg/ml คือ 92.1% และเห็ดที่เหลือจะมี 63.2-67.8% ที่ ความเข้มข้น 40 mg/ml สำหรับ Basket stinkhorn และ Lion's mane มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 75 และ 69.4% ตามลำดับ ส่วน Maitake และ White matsutake 39.6 และ47.4% ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 24 mg/ml เห็ด Basket stinkhorn จะมีผลของการจับไอออนเหล็ก 91.9% และเห็ดอื่นๆจะมี 46.4-52% ส่วนค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเป็นส่วนประกอบสำคัญที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ และพบสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเมทานอลจากเห็ดเหล่านี้ (Mau, 2002)

ปี 2003 Cheung และคณะ ได้นำสารสกัดเมทานอลและน้ำของเห็ด 2 ชนิด คือ Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) และ Straw mushroom (*Volvariella volvacea*) ทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดน้ำของเห็ด Shiitake mushroom มีประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระสูง 75.9 % ที่ความเข้มข้น 20 mg/ml ด้วยวิธี β-carotene bleaching และ 55.4 % ที่ความเข้มข้น 6 mg/ml ด้วยวิธี DPPH radical scavenging และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดน้ำของเห็ดจะสูงกว่าสารสกัดเมทานอล ดังนั้นความสัมพันธ์จึงสอดคล้องกันระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดของเห็ดและฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ (Cheung, 2003)

ปี 2003 ศิริมา สิมมา ศึกษาปริมาณศักยภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเห็ด 4 ชนิด คือ เห็ดหูหนูดำ (AP-1, AP-2 และ AP-3) เห็ดหูหนูขาว (TF-1, TF-2 และ TF-3) เห็ดฟาง (VV-1,

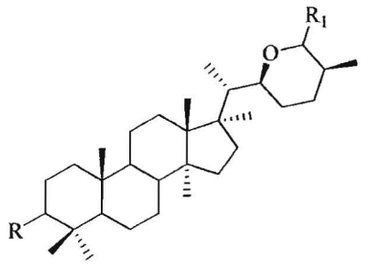
VV-2 และ VV-3) และเห็ดแครง (SC) โดยแหล่งในการเก็บตัวอย่างแตกต่างกัน ซึ่งได้ทดลองเกี่ยวกับ Reducing power total antioxidant activity Alpha-tocopherol และ Total phenolic compound พบว่าสารสกัดเห็ดทั้ง 10 ตัวอย่าง ให้ค่า Reducing power มากที่สุดเมื่อมีความเข้มข้น 5 mg/ml AP-3 มี total antioxidant activity มากที่สุดโดยวัดจากค่าดัชนีในการต้านสารอนุมูลอิสระ (17.43) ส่วน SC มีน้อยที่สุด (2.10) VV-2 และ SC มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและ Alpha-tocopherol มากที่สุด คือ 52.77 และ 4.70 mg/100 g ตามลำดับ ส่วน AP-2 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และ Alpha-tocopherol น้อยที่สุด และมีค่าดัชนีในการต้านสารอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด คือ 0.36, 2.17 mg/ 100 g และ 5.62 ตามลำดับ TF-2 และ TF-3 มีค่าดัชนีในต้านการสารอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกรวมและ Alpha-tocopherol น้อยที่สุด คือ 0.59 และ 1.09 ตามลำดับ ส่วน VV-1 มีค่าดัชนีของสารต้านอนุมูลอิสระของ Alpha-tocopherol มากที่สุด คือ 4.39 (ศิริมา, 2546)

ปี 2003 ปาริฉัตร เสาสูง วิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ คือ วิตามินอีในรูปของ Reducing power Total antioxidant activity Alpha-tocopherol และ Total phenolic compound ในเห็ดตัวอย่าง 5 ชนิด ได้แก่ เห็ดมันปู (*Cantharellus* spp.) เห็ดตะไคล (*Russula* spp.) เห็ดตีนแรด (*Tricholoma* crassum) เห็ดระโงก (*Amanita* spp.) และเห็ดโคน (*Termitomyces* sp.) จำนวน 11 ตัวอย่าง พบที่ความเข้มข้นของสารสกัดเห็ด 5 mg/ml เห็ดตะไค RU-2 มีค่า Reducing power สูงที่สุด (0.81) รองลงมา คือ เห็ดละโงก AM-2 (0.71) ส่วนเห็ดมันปู C2 มีค่า Reducing power ต่ำที่สุด (0.26)

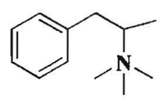
การวิเคราะห์หาปริมาณ Alpha-tocopherol และวัดค่า Antioxidant activity พบว่า เห็ดตีนแรด TC-2 มีปริมาณ Alpha-tocopherol มากที่สุด (28.84 mg/ 100 g) รองลงมาคือ เห็ดมันปู C2 (19.86 mg/ 100 g) ส่วนเห็ดตีนแรด TC-1 มีปริมาณน้อยที่สุด (1.98 mg/ 100 g) และเห็ดตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด มีค่าดัชนีในการต้านสารอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและวัดค่า Antioxidant activity พบว่า เห็ดตีนแรดมีปริมาณมากที่สุด และเห็ดมันปูมีปริมาณน้อยที่สุด แต่เห็ดมันปู C3 มีค่า Antioxidant indices มากที่สุด (3.00) รองลงมา คือ เห็ดตีนแรด (1.48) ส่วนเห็ดตีนแรด TC-1 มีค่าน้อยที่สุด (0.76) และวัดค่า total antioxidant activity พบว่าเห็ดตัวอย่างมีค่า Antioxidant indices มีค่าใกล้เคียงกัน โดยเห็ดมันปู C3 จะมีค่ามากที่สุด (6.30) รองลงมา เห็ดตีนแรด TC-2 (2.80) และเห็ดละโงก AM-1 มีค่าน้อยที่สุด (1.00) (ปาริฉัตร, 2546)

ปี 2006 Yu-Ling Lee และคณะ ได้นำสารสกัดเอทานอล น้ำเย็นและน้ำร้อนของเห็ด *Hypsizigus marmoreus* (Peck) Bigelow (Tricholomataceae) ทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดของเห็ด *Hypsizigus marmoreus* มีประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระสูง 38.6-65.2 % ที่ความเข้มข้น 5 mg/ml และค่า EC_{50} เท่ากับ 3.74–6.59 mg/ml ลำดับประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระเรียงจากมากไปน้อย คือ สารสกัดเอทานอล น้ำร้อนและน้ำเย็น (Lee, 2007)

ปี 2008 Rita Stanikunaite และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ของสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดในกลุ่มของเห็ดเผาะ (*Astraeus)* และทำการแยก แล้วได้สารบริสุทธิ์ทั้งหมด 6 ชนิด โดยเป็นกลุ่มลาโนสแตน (lanostane) ไตรเทอร์ปีน (triterpenes) และ ฟีนิลอะลานีน บีแทนี (phenylalanine betaine) (6) และได้นำสารทั้ง 6 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* พบว่ามีสารบริสุทธิ์ชนิดที่ 1 กับ 5 มีฤทธิ์ในการยับยั้งดีที่สุด



1. R=R1=O
2. R=O R1=α – OH
3. R=β -OH R1=α – OH
4. R=R1=α-OH
5. R=α – OH R1 = O



6

ส่วนเห็ดบ้านและเห็ดป่าในประเทศไทยนั้นมีจำนวนหนึ่งมีรายงานผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ซึ่งพบว่ามีเห็ดบ้านและเห็ดป่าบางชนิดที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระสูง เช่น เห็ดตีนแฮด เห็ดตับเต่า เห็ดผึ้ง เป็นต้น ซึ่งประเทศไทยมีเห็ดบ้านและเห็ดป่าในท้องถิ่นจำนวนมากมาย จึงคิดว่าเห็ดกินได้น่าจะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้อีกแหล่งหนึ่ง แต่งานวิจัยในด้านการศึกษาฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเห็ดกินได้ของไทยยังมีอยู่น้อยมาก (Stanikunaite, 2008)

ปี 2009 ประไพรัตน์ สีพลไกรและคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การต้านเชื้อมาลาเรีย ค่าความเป็นพิษ และฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเห็ด *Phellinus* linteus พบว่าสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีโดยมีค่า IC_{50}เท่ากับ 17.73±0.27 μg/ml และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 76.39 ± 0.07 EGA ซึ่งมีฤทธิ์ที่ดีเหมือนกับ L(+)ascorbic acid (P>0.05) (ค่า IC_{50} เท่ากับ 16.56±0.50 μg/ml) พบว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบมีค่าอยู่ระหว่าง 24.15± 0.50 ถึง 207.02±1.95 μg/ml และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก-รวมมีค่าอยู่ระหว่าง 68.11±0.06 ถึง 5.96±0.18 EGA และพบว่าสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายเมทานอล ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต แสดงความเป็นพิษต่อ MFC7 และ NCI- H187 ในเซลล์มะเร็ง และยังพบว่าสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายเมทานอล ไดคลอโรมีเทน มีฤทธิ์ในการต้านพิษ

มาลาเรีย ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.15 และ 3.08 µg/ml ตามลำดับ ไม่พบสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Samchai, 2009)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระและทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานีจำนวน 20 ชนิด แล้วทำการคัดเลือกเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี นำมาพัฒนาศึกษาต่อไป

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1. การเก็บตัวอย่างเห็ดกินได้

วัตถุดิบในการทดลองประกอบด้วยเห็ดป่ากินได้ 20 ชนิด รวบรวมจากตลาดสดเทศบาลวารินชำราบ ในจังหวัดอุบลราชธานี ในเดือนมิถุนายน – กรกฎาคม พ.ศ. 2553 โดยสรุปข้อมูลของเห็ดป่ากินได้แต่ละชนิดดังนี้

ตารางที่ 3.1 ข้อมูลเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี

ชื่อเห็ด	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อวงศ์
ผึ้งนกยูง	*Macrolepiota dolichaula* (Bedrk.& Br.) Pegler & Rayner	AGARICACEAE
ระโงกขาว	*Amanita princes* Coner et Bas.	AMANITACEAE
ระโงกแดง	*Amanita caesarea* (Fr.) Schw.	AMANITACEAE
เผาะฝ้าย	*Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morgan.	ASTRACEAE
ผึ้งเหลือง	*Boletus colossus* Heim sp.	BOLETACEAE
ผึ้งแดง	*Aureoboletus thibetanus* (Pat.) Hongo and Nagasawa	BOLETACEAE
ผึ้งชาด	*Boletellus chrysenteroides* (Shell) Sing.	BOLETACEAE
ผึ้งขาลาย	*Boletellus ressellii* (Frost) Gilb.	BOLETACEAE
มันปู	*Cantharellus cibarius* Fr.	CANTHARELLACEAE
เผาะหนัง	*Geastrum saccatum* Fr.	GEASTRACEAE
ผึ้งข้าว	*Suillus tomentosus* sp.	GOMPHIDAICEAE
ทำฟาน	*Alpova tappei* Fogel.	MELANOGASRACEAE
ไคล	*Rusula virescens* Fr.	RUSSULACEAE
ก่อใหญ่	*Russula mairei* Sing.	RUSSULACEAE
ถ่าน	*Russula densfolia* (Secr) Gill.	RUSSULACEAE
หน้าแหล่	*Russula cyanoxantha Schaeff ex.* Fr.	RUSSULACEAE
ปลวกข้าวคอ	*Termitomyces clypeatus* Heim sp.	TRICHOLOMATACEAE

ตารางที่ 3.1 ข้อมูลเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี (ต่อ)

ชื่อเห็ด	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อวงศ์
ปลวกตาบ	Termitomyces sp.	TRICHOLOMATACEAE
ปลวกแดง	Termitomyces grobuslus Heim et Grooss sp.	TRICHOLOMATACEAE
ตีนแรด	Tricholoma crassum Berk.	TRICHOLOMATACEAE

3.2. ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

3.2.1 นำทุกส่วนของเห็ดแต่ละชนิด จำนวน 20 ชนิด ที่พบในจังหวัดอุบลราชธานีมาสับอย่างละเอียด จากนั้นอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 - 45 °C ให้แห้งและนำไปบดให้ละเอียดโดยชั่งน้ำหนักมาชนิดละ 10 g

3.2.2 นำเห็ดแต่ละชนิดที่ชั่งแล้วมาแช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนปริมาตร 100 mL เป็นเวลา 7 วัน

3.2.3 เมื่อครบ 7 วัน นำมากรอง แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออก ด้วยเครื่อง Rotatory evaporator ให้เหลือประมาณ 5 mL เก็บไว้ใน vial ได้เป็นสารสกัดหยาบเฮกเซน (Hexane crude extract)

3.2.4 กากที่เหลือสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตดต่อ (ทดลองเหมือนข้อ 3.2.2 -3.2.3) ได้เป็นสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตด (Ethyl acetate crude extract)

3.2.5 กากที่เหลือจากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตด นำมาสกัดต่อด้วยเอทานอลต่อ (ทำการทดลองเหมือนข้อ 3.2.2 - 3.2.3) ได้เป็นสารสกัดหยาบเอทานอล (Ethanol crude extract)

3.2.6 นำสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตด และเอทานอลไปแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ-4°C ทำให้แห้งด้วยวิธี Freeze drying หรือนำไประเหยในตู้ดูดควัน

3.2.7 สารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตด และเอทานอลที่แห้งแล้วนำมาบันทึกน้ำหนัก

3.3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี เบื้องต้น โดยใช้วิธี DPPH Radical Scavenging Activity

3.3.1 เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 6.0 x 10^{-5} M

ชั่ง DPPH 0.0240 g ละลายด้วยสารละลายเมทานอล ปรับปริมาตร 1000 mL ใน volumetric flask เก็บไว้ไม่ให้โดนแสงโดยการใช้แผ่นอะลูมิเนียมฟอยด์หุ้มไว้

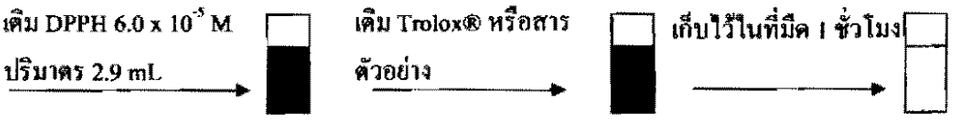
3.3.2 เตรียม Stock solution: Trolox® ความเข้มข้น 1000 ppm

ชั่ง Trolox® 0.0499 g ละลายด้วยเมทานอลปรับปริมาตร 50 mL ในขวดวัดปริมาตร เก็บไว้ไม่ให้โดนแสงโดยการใช้แผ่นอะลูมิเนียมฟอยด์หุ้มไว้

3.3.3 เตรียม Working standard solution: Trolox® ความเข้มข้น 200 150 100 และ 50 ppm

3.3.4 เตรียม Stock solution: ตัวอย่างสารสกัดหยาบแต่ละชนิด ความเข้มข้น 1000 ppm ชั่งตัวอย่างสารสกัดหยาบอย่างละ 1 mg ละลายด้วยเมทานอลปรับปริมาตร 1 mL ใน eppendorf tube เก็บไว้ไม่ให้โดนแสงโดยการใช้แผ่นอะลูมิเนียมฟอยด์หุ้มไว้

3.3.5 เตรียมสารละลายเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี เบื้องต้น โดยวิธี DPPH



ปิเปต DPPH 6 x 10^{-5} M ปริมาตร 2.90 mL ใน cuvette (glass) จากนั้นเติม 0.10 mL Trolox® หรือ สารตัวอย่างปริมาตร 0.10 mL เก็บไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง

ปิเปต DPPH 6 x 10^{-5} M ปริมาตร 2.90 mL ใน cuvette (glass) จากนั้นเติมเมทานอลปริมาตร 0.10 mL เก็บไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง เพื่อเป็นตัวควบคุม

3.3.6 ปิเปตเมทานอล ปริมาตร 3.00 mL ใน cuvette (glass) เป็น blank มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm โดยเทคนิค UV-Visible spectroscopy

3.3.7 นำ cuvette (glass) ที่ครบ 1 ชั่วโมง มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm

3.3.8 สร้างกราฟมาตรฐานของ Trolox® ความเข้มข้น 200 150 100 และ 50 ppm โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm แล้วเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่างๆ ของสารละลายมาตรฐาน (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน (แกน Y) จะได้กราฟมาตรฐาน (standard curve)

3.3.9 คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิด

$$\% \text{ DPPH Radical Scavenging Activity} = \left[\frac{(A_{control} - A_{std/sample})}{A_{control}} \right] 100$$

โดยที่

$A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

A_{std} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิด

3.3.10 วัดค่าการดูดกลืนแสงซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ได้มาเฉลี่ย เพื่อนำไปเขียนกราฟต่อไป

3.3.11 เขียนกราฟเพื่อหาค่า

เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิด (แกน Y) กับ ชนิดของสารตัวอย่าง (แกน X)

เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิด และคัดเลือกสารตัวอย่างที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำไปทำในขั้นตอนในขั้นต่อไป

3.4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี โดยใช้วิธี ABTS Cation Radical Scavenging Activity

3.4.1 เตรียมสารละลาย ABTS

ชั่ง ABTS 0.0999 g (1000 ppm) และ $K_2S_2O_8$ 0.0201 g (200 ppm) ละลายสารทั้งสองด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้เป็น 100 mL ใน volumetric flask เก็บไว้ไม่ให้โดนแสงโดยการใช้แผ่นอะลูมิเนียมฟอยด์หุ้มไว้

3.4.2 เตรียม stock solution: Trolox® ความเข้มข้น 1000 ppm

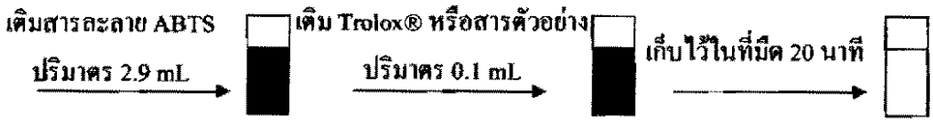
ชั่ง Trolox® 0.0499 g ละลายด้วยเมทานอล ปรับปริมาตร 50 mL ใน volumetric flask เก็บไว้ไม่ให้โดนแสงโดยการใช้แผ่นอะลูมิเนียมฟอยด์หุ้มไว้

3.4.3 เตรียม working standard solution: Trolox® ความเข้มข้น 200 150 100 และ50 ppm

3.4.4 เตรียม stock solution: ตัวอย่างสารสกัดหยาบแต่ละชนิด ความเข้มข้น 1000 ppm

ชั่งสารตัวอย่างสารสกัดหยาบอย่างละ 1 mg ละลายด้วยเมทานอล ปรับปริมาตร 1 mL ใน Eppendorf tube เก็บไว้ไม่ให้โดนแสงโดยการใช้แผ่นอะลูมิเนียมฟอยด์หุ้มไว้

3.4.5 เตรียมสารละลายเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS โดยวิธี ABTS assay



ปิเปตสารละลาย ABTS ปริมาตร 2.90 mL ใน cuvette (glass) จากนั้นเติม 0.10 mL Trolox® หรือ สารตัวอย่างปริมาตร 0.10 mL เก็บไว้ในที่มืด 20 นาที

ปิเปตสารละลาย ABTS ปริมาตร 2.90 mL ใน cuvette (glass) จากนั้นเติม 0.10 mL เมทานอล เก็บไว้ในที่มืด 20 นาที เพื่อเป็นตัวควบคุม

ปิเปตเมทานอล ปริมาตร 3.00 mL ใน cuvette (glass) เป็น blank มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm โดยเทคนิค UV-Visible spectroscopy

นำ cuvette (glass) ที่ครบ 20 นาที มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm

3.4.6 เขียนกราฟมาตรฐานการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ของ Trolox® ที่ความเข้มข้น 200 150 100 และ 50 ppm แล้วเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่างๆของสารละลายมาตรฐาน (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน (แกน Y)

3.4.7 คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตด และเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิดในหน่วยมิลลิกรัมของ Trolox®/กรัมของตัวอย่าง

$$\% \text{ ABTS Radical Cation Scavenging Activity} = \left[\frac{(A_{Control} - A_{std/sample})}{A_{Control}}\right] 100$$

$A_{Control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS/เมทานอล

A_{std} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตด และเอทานอลของสารตัวอย่าง

3.4.8 วัดค่าการดูดกลืนแสงซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ที่ได้มาเฉลี่ย เพื่อนำไปเขียนกราฟต่อไป

3.4.9 เขียนกราฟเพื่อหาค่า

เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตด และเอทานอลจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด (แกน Y) กับ ชนิดของสารตัวอย่าง (แกน X)

เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตด และเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิด

3.5. การหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี โดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay)

3.5.1 เตรียมสารละลายตัวอย่างสารสกัดหยาบแต่ละชนิด

ชั่งสารตัวอย่างสารสกัดหยาบแต่ละชนิดมา 5 mg ละลายด้วยน้ำ DI ปรับปริมาตร 1 mL ใน eppendorf tube

3.5.2 เตรียม Working FRAP reagent

เตรียม Working FRAP reagent โดยผสมสารละลายทั้ง 3 ชนิด ในอัตราส่วนผสม

ดังนี้ 300 mM Acetate buffer pH 3.6 : 10 mM TPTZ in 40 mM HCl : 20 mM $FeCl_3 . 6H_2O$ อัตราส่วน 10: 1: 1

เตรียม 300 mM Acetate buffer pH 3.6

ชั่ง Sodium acetate มา 0.1700 g ละลายด้วย Glacial acetic acid 1.60 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 100 mL

เตรียม 10 mM TPTZ in 40 mM HCl

ชั่ง TPTZ มา 0.0312 g ละลายด้วย 1M HCl 4.0 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 10 mL

เตรียม 20 mM $FeCl_3 . 6H_2O$

ชั่ง $FeCl_3 . 6H_2O$ มา 0.0540 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 10 mL

3.5.3 เตรียม Standard L-ascorbic acid (MW = 176.1) ที่ความเข้มข้น 1000 500 250 100 และ 50 µM

3.5.4 ปิเปต Blank (น้ำกลั่น) sample และ L-ascorbic acid 1000 500 250 100 และ 50 µM ที่ความเข้มข้นต่างๆ 25 µL

3.5.5 เติม Working FRAP reagent 1000 µL

3.5.6 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm

3.5.7 เขียนกราฟมาตรฐานของ L-ascorbic acid ความเข้มข้น 1000 500 250 100 และ50 µM โดยเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm (y-axis) กับความเข้มข้นต่างๆ ของสารมาตรฐาน (x-axis) จะได้กราฟมาตรฐาน

3.5.8 คำนวณค่า FRAP value โดยใช้สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานคำนวณจากสูตร $y = ax + b$ แทนค่า y ด้วยค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างแต่ละชนิด แล้วก็จะได้ค่า x ซึ่งก็คือค่า FRAP Value ของสารสกัดตัวอย่างแต่ละชนิด

3.6.การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic compound)

การเตรียมตัวอย่าง

3.6.1 เตรียม Folin-Ciocalteu reagent (1N)

ละลาย Folin-Ciocalteu reagent (2N) ในน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1: 1

3.6.2 เตรียม 20% Sodium acetate

ชั่ง Sodium carbonate 20 g ละลายในน้ำกลั่น 100 mL เขย่าให้ละลายจนเป็นเนื้อเดียวกัน

3.6.3 Standard Tannic acid

ชั่ง Tannic acid 25 mg ละลายในน้ำกลั่น 25 mL เป็น stock solution จากนั้นเจือจางด้วยน้ำให้ได้ความเข้มข้น 0.5 mg/mL

การวิเคราะห์

3.6.4 เตรียมสารละลายเพื่อทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic compound)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก (Tannic acid) ที่ความเข้มข้น 0.50 mg/mL ปริมาตร 20 30 40 50 และ 60 µL ตามลำดับ ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) 1250 µL Folin-Ciocalteu reagent 250 µL และเติมน้ำ จนครบปริมาตร 2.00 mL ในแต่ละหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 40 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 nm จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงมาเขียนกราฟกับปริมาณกรดแทนนิก (mg) (Tannic acid)

เตรียมสารละลายตัวอย่างจากสารสกัดแต่ละชนิด โดยการชั่งมา 5 mg ละลายในเมทานอล 1.00 mL โดยทำการวิเคราะห์เหมือนสารมาตรฐานกรดแทนนิก (Tannic acid) นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณค่าปริมาณกรดแทนนิก (Tannic acid) ในสารตัวอย่าง 1 g จากกราฟมาตรฐาน

บทที่ 4
ผลและวิเคราะห์ผลการวิจัย

4.1 ผลการสกัดสารด้วยตัวทำละลายเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี

เห็ดป่ากินได้ที่ทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระจำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี นำมาอบให้แห้ง แล้วบดให้ละเอียด จากนั้นใช้น้ำหนักแห้งของสารตัวอย่างแต่ละชนิดมาจำนวน 10 g นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตด และเอทานอล 100 mL เป็นเวลา 7 วัน กรองสารสกัดที่ได้ด้วยสำลีแล้วระเหยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตด และเอทานอล ด้วยเครื่อง Rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบปริมาณ 5 mL นำไปใส่ในตู้ดูดความชื้นเพื่อระเหยตัวทำละลายแต่ยังมีน้ำปะปนอยู่จึงนำสารสกัดหยาบทำให้แห้งอีกครั้งด้วยวิธี Freeze drying จะได้น้ำหนักของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตด และเอทานอล ของสารตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักแห้งและ % yield ของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตด และเอทานอลของสารตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับที่	ชื่อเห็ด	น้ำหนักของส่วนสกัดหยาบ (g)			% yield		
		เฮกเซน	เอทิลอะซิเตด	เอทานอล	เฮกเซน	เอทิลอะซิเตด	เอทานอล
1	เห็ดเผาะฝ้าย	0.8861	0.2475	0.2457	8.86	2.47	2.46
2	เห็ดเผาะหนัง	0.4669	0.1573	0.2111	4.67	1.57	2.11
3	เห็ดผึ้งขาลาย	0.4260	0.2080	0.3821	4.26	2.08	3.82
4	เห็ดถ่าน	0.2421	0.2259	0.2583	2.42	2.26	2.58
5	เห็ดระโงกแดง	0.8640	0.4201	0.4078	8.64	4.20	4.08
6	เห็ดผึ้งเหลือง	0.2349	0.3836	0.6747	2.35	3.84	6.75
7	เห็ดห่าฟ่าน	0.1499	0.1749	0.6908	1.49	1.75	6.91
8	เห็ดหลังแหล่	0.5846	0.5382	0.7689	5.85	5.38	7.70
9	เห็ดผึ้งแดง	0.3781	0.3817	0.7149	3.78	3.82	7.15
10	เห็ดบันปู่	0.1533	0.2830	1.2006	1.53	2.83	12.01
11	เห็ดผึ้งข้าว	0.3449	0.2055	0.2866	3.45	2.06	2.87
12	เห็ดผึ้งนกยูง	0.3690	0.2149	0.3221	3.69	2.15	3.22

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักแห้งและ % yield ของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอลของสารตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อเห็ด	น้ำหนักของส่วนสกัดหยาบ (g)			% yield		
		เฮกเซน	เอทิลอะซิเตต	เอทานอล	เฮกเซน	เอทิลอะซิเตต	เอทานอล
13	เห็ดก่อใหญ่	0.1148	0.1982	0.1184	1.15	1.98	1.18
14	เห็ดผึ้งชาด	0.2479	0.1734	0.3702	2.48	1.73	3.70
15	เห็ดปลวกข้าวคอ	0.6681	0.3406	0.3410	6.68	3.40	3.41
16	เห็ดปลวกตาบ	0.1881	0.1780	0.2018	1.88	1.78	2.02
17	เห็ดตีนแรด	0.2261	0.2273	0.2209	2.26	2.27	2.21
18	เห็ดปลวกแดง	0.1618	0.2205	0.3287	1.62	2.20	3.29
19	เห็ดไคล	0.4682	0.2550	0.2913	4.68	2.55	2.91
20	เห็ดระโงกขาว	0.8061	0.6838	0.3262	8.06	6.84	3.26

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีโดยใช้วิธี DPPH Radical Scavenging Activity ดังแสดงในวิธีการทดลองในข้อ 3 พบว่าสารสกัดหยาบ เฮกเซน จากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.2 สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.3 และสารสกัดหยาบเอทานอลจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.4

โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Trolox® ความเข้มข้น 200 150 100 และ 50 ppm โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ในภาคผนวก ก (รูปที่ ก.1)

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิด

สารสกัดหยาบเฮกเซนจากสารตัวอย่างแต่ละชนิดจะมีค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.2

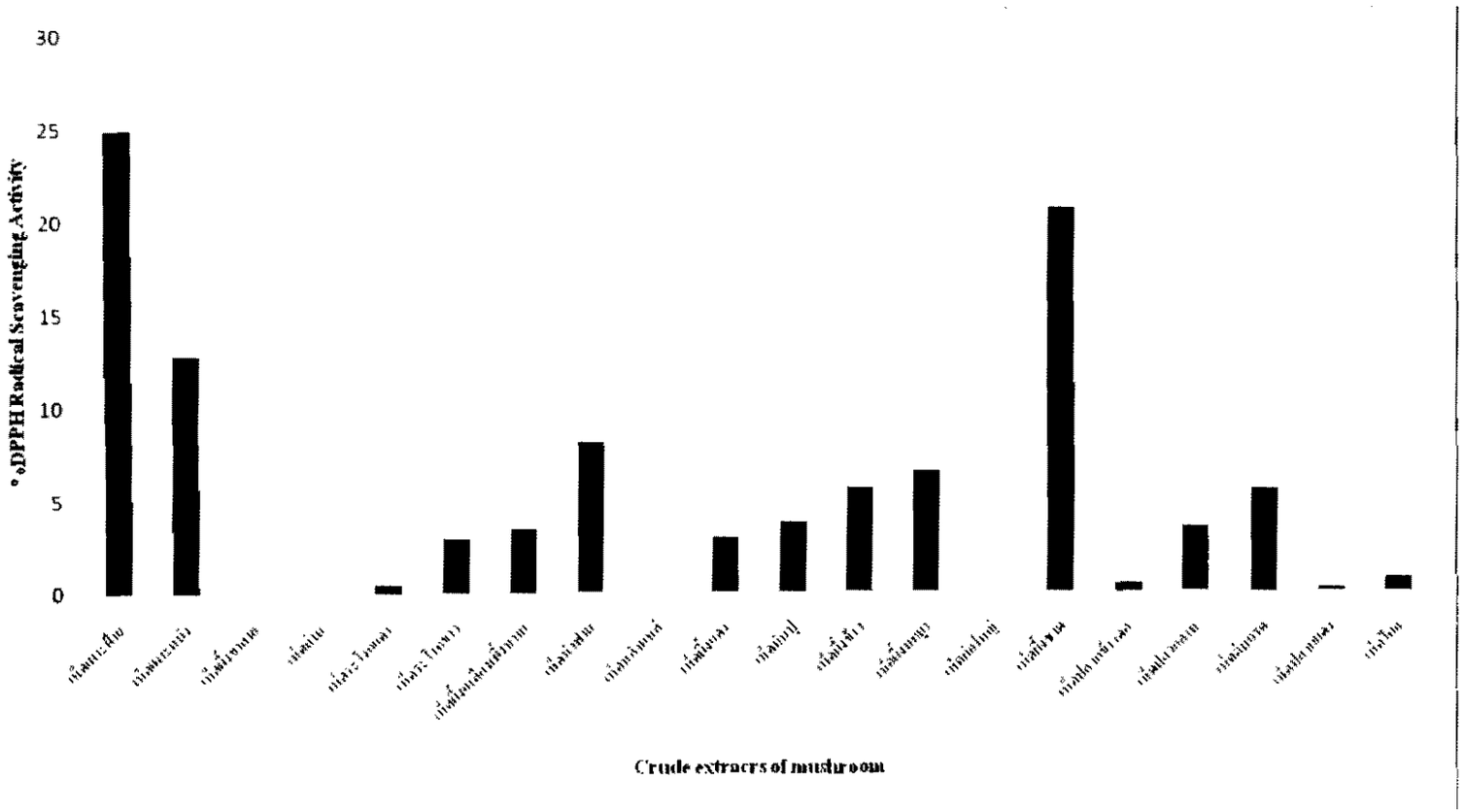
ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเฮกเซนของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับ	ชื่อเห็ด	%DPPH Radical Scavenging Activity (% DPPH±SD)
1	เห็ดเผาะฝ้าย	24.92±0.72
2	เห็ดเผาะหนัง	12.78±2.20
3	เห็ดผึ้งขาลาย	ND
4	เห็ดถ่าน	ND
5	เห็ดระโงกแดง	0.48±0.44
6	เห็ดระโงกขาว	2.89±1.58
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	3.44±0.36
8	เห็ดห้าฟาน	8.07±0.68
9	เห็ดหลังแหล่	ND
10	เห็ดผึ้งแดง	2.96±0.05
11	เห็ดบันปู่	3.81±0.29
12	เห็ดผึ้งข้าว	5.56±0.77
13	เห็ดผึ้งนกยูง	6.48±8.03
14	เห็ดก่อใหญ่	ND
15	เห็ดผึ้งชาด	20.64±4.09
16	เห็ดปลวกข้าวดอ	0.47±1.56
17	เห็ดปลวกตาบ	3.45±0.40
18	เห็ดตีนแรด	5.53±3.09
19	เห็ดปลวกแดง	0.16±0.50
20	เห็ดไคล	0.72±0.66
21	Trolox	96.95±0.05

*หมายเหตุ Not Detected (ND) คือ ไม่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

นำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 4.2 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด (y-axis) กับชนิดของสารตัวอย่าง (x-axis) ดังรูปที่ 4.1 และเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด

จากการทดลองดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.1 เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบเฮกเซนของเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิด มีเปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง -5.62±1.35 ถึง 24.92±0.72 และเห็ดกินป่าได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดของสารสกัดหยาบ เฮกเซน คือ เห็ดเผาะฝ้าย เห็ดผึ้งขาด และเห็ดเผาะหนัง โดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 24.92±0.72 20.64±4.09 และ12.78±2.20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยเทียบกับสารมาตรฐาน โทรลอกซ์ (Trolox) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 96.95±0.05 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.1 ค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากสารตัวอย่างแต่ละชนิดและชนิดของสารตัวอย่าง

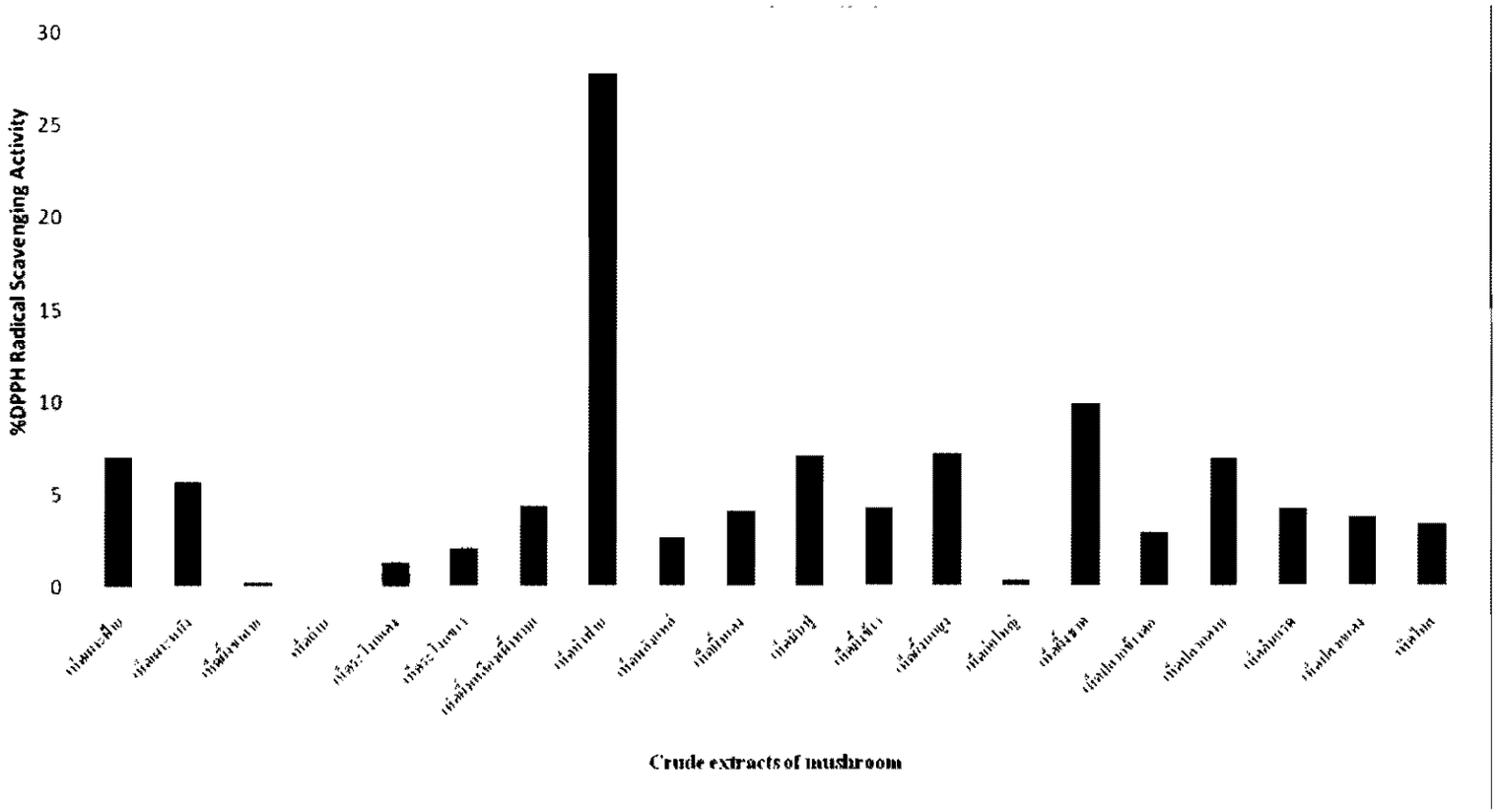
ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับ	ชื่อเห็ด	%DPPH Radical Scavenging Activity (% DPPH±SD)
1	เห็ดเผาะฝ้าย	7.01±0.96
2	เห็ดเผาะหนัง	5.70±0.33
3	เห็ดผึ้งขาลาย	0.23±0.50
4	เห็ดถ่าน	ND
5	เห็ดระโงกแดง	1.31±0.92
6	เห็ดระโงกขาว	2.08±0.12
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	4.34±0.94
8	เห็ดห้าฟาน	27.77±0.84
9	เห็ดหลังแหล่	2.62±1.59
10	เห็ดผึ้งแดง	4.04±0.38
11	เห็ดมันปู	7.03±0.34
12	เห็ดผึ้งข้าว	4.25±0.81
13	เห็ดผึ้งนกยูง	7.17±1.01
14	เห็ดก่อใหญ่	0.30±0.97
15	เห็ดผึ้งชาด	9.85±0.27
16	เห็ดปลวกข้าวคอ	2.89±0.23
17	เห็ดปลวกตาบ	6.84±1.05
18	เห็ดตีนแรด	4.15±1.40
19	เห็ดปลวกแดง	3.77±0.82
20	เห็ดไคล	3.35±1.26
21	Trolox	96.95±0.05

*หมายเหตุ Not Detected (ND) คือ ไม่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

นำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 4.3 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระDPPH ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด (y-axis) กับชนิดของสารตัวอย่าง (x-axis) ดังรูปที่ 4.2 และเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด

จากตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.2 เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิด มีเปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง -1.69 ± 0.11 ถึง 27.77±0.84 และเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดของสารสกัดหยาบ เอทิลอะซิเตต คือ เห็ดหำฟาน เห็ดผึ้งขาด และเห็ดเผาะฝ้าย โดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 27.77±0.84 9.85±0.27 และ 7.01±0.96 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 96.95±0.05 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.2 ค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากสารตัวอย่างแต่ละชนิดและ ชนิดของสารตัวอย่าง

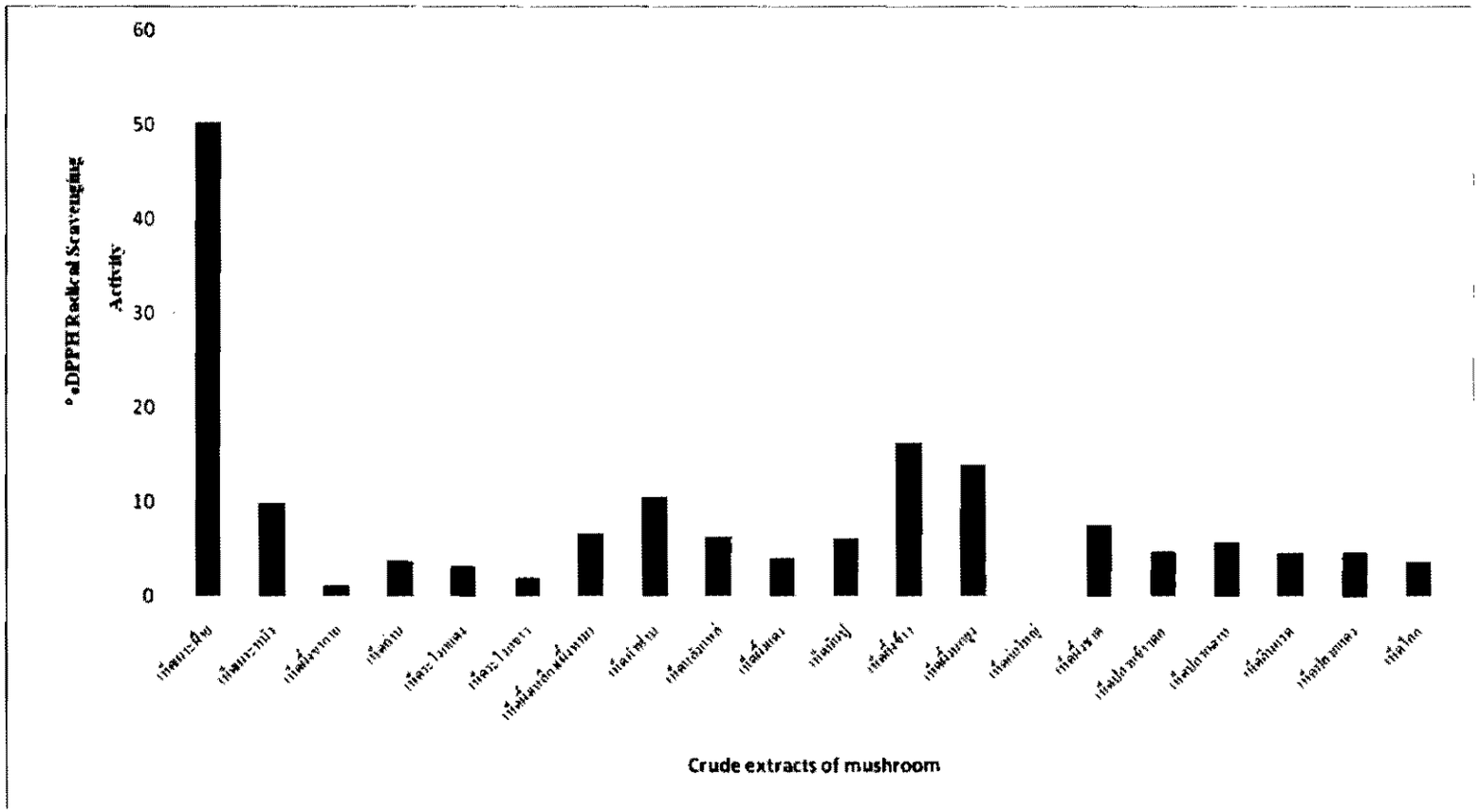
ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับ	ชื่อเห็ด	%DPPH Radical Scavenging Activity (% DPPH±SD)
1	เห็ดเผาะฝ้าย	50.27±0.88
2	เห็ดเผาะหนัง	9.75±3.12
3	เห็ดผึ้งขาลาย	1.07±2.35
4	เห็ดถ่าน	3.71±0.79
5	เห็ดระโงกแดง	3.08±0.43
6	เห็ดระโงกขาว	1.92±0.64
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	6.65±2.05
8	เห็ดหำฟาน	10.47±2.90
9	เห็ดหลังแหล่	6.39±1.17
10	เห็ดผึ้งแดง	4.03±1.92
11	เห็ดมันปู	6.08±3.24
12	เห็ดผึ้งข้าว	16.25±0.46
13	เห็ดผึ้งนกยูง	13.87±1.26
14	เห็ดก่อใหญ่	ND
15	เห็ดผึ้งชาด	7.55±0.10
16	เห็ดปลวกข้าวดอ	4.72±1.24
17	เห็ดปลวกตาบ	5.71±0.51
18	เห็ดตีนแรด	4.59±2.14
19	เห็ดปลวกแดง	4.61±0.53
20	เห็ดไคล	3.51±0.46
21	Trolox	96.95±0.05

*หมายเหตุ Not Detected (ND) คือ ไม่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

นำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 4.4 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด (y-axis) กับชนิดของสารตัวอย่าง (x-axis) ดังรูปที่ 4.3 และเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด

จากตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.3 เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิด มีเปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 0±0.54 ถึง 50.27±0.88และเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดของสารสกัดหยาบเอทานอล คือ เห็ดเผาะฝ้าย เห็ดผึ้งข้าว และเห็ดผึ้งนกยูง ตามลำดับ โดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 39.27±0.88 16.25±0.46 และ 13.87±1.26 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 96.95±0.05 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.3 ค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสารตัวอย่างแต่ละชนิดและชนิดของสารตัวอย่าง

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดเห็ดป่ากินได้ จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด เห็ดที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด คือ เห็ดเผาะฝ้ายจากสารสกัดเอทานอล โดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 39.27±0.8838 โดยเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 96.95±0.0547 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งวิธี DPPH ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอลจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีโดยใช้วิธี ABTS Cation Radical Scavenging Activity ดังแสดงในวิธีการทดลองในข้อ 3.4 พบว่าสารสกัดหยาบเฮกเซน จากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.5 สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.6 และสารสกัดหยาบเอทานอลจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.7 โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Trolox® ความเข้มข้น 200 150 100 และ 50 ppm โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิด

สารสกัดหยาบเฮกเซนจากสารตัวอย่างแต่ละชนิดจะมีค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.5

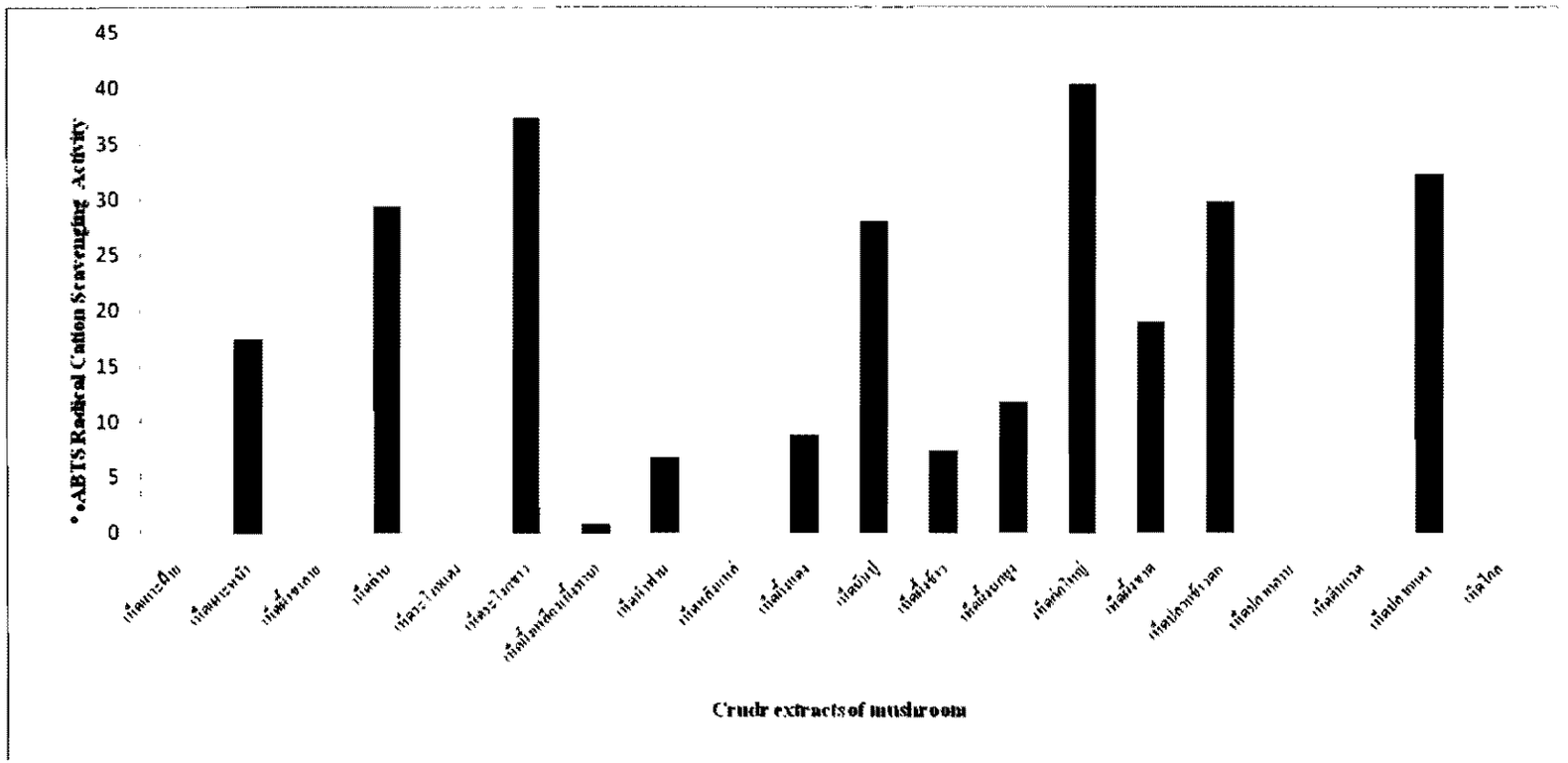
ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเฮกเซนของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับ	ชื่อเห็ด	%ABTS Radical Cation Scavenging Activity (% ABTS±SD)
1	เห็ดเผาะฝ้าย	ND
2	เห็ดเผาะหนัง	17.43±2.89
3	เห็ดผึ้งขาลาย	ND
4	เห็ดถ่าน	29.34±1.09
5	เห็ดระโงกแดง	ND
6	เห็ดระโงกขาว	37.36±0.73
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	0.76±2.71
8	เห็ดห้ำฟ้าน	6.76±2.81
9	เห็ดหลังแหล่	ND
10	เห็ดผึ้งแดง	8.80±0.97
11	เห็ดมันปู	28.00±1.16
12	เห็ดผึ้งข้าว	7.37±1.83
13	เห็ดผึ้งนกยูง	11.74±0.67
14	เห็ดก่อใหญ่	40.42±1.14
15	เห็ดผึ้งขาด	18.89±1.40
16	เห็ดปลวกข้าวคอ	29.72±0.24
17	เห็ดปลวกตาบ	ND
18	เห็ดตีนแรด	ND
19	เห็ดปลวกแดง	32.29±0.84
20	เห็ดไคล	ND
21	Trolox	99.82±0.00

*หมายเหตุ Not Detected (ND) คือ ไม่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

นำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 4.5 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด (y-axis) กับชนิดของสารตัวอย่าง (x-axis) ดังรูปที่ 4.4 และเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด

จากตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.4 เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบเฮกเซนของเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิด มีเปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง -8.51±1.99 ถึง 40.42±1.14 และเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดของสารสกัดหยาบเฮกเซน คือ เห็ดก่อใหญ่ เห็ดระโงกขาว และเห็ดปลวกแดง ตามลำดับ โดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 40.42±1.14 37.36±0.73 และ 32.29±0.84 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 99.82±0.00 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.4 ค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากสารตัวอย่างแต่ละชนิดและ ชนิดของสารตัวอย่าง

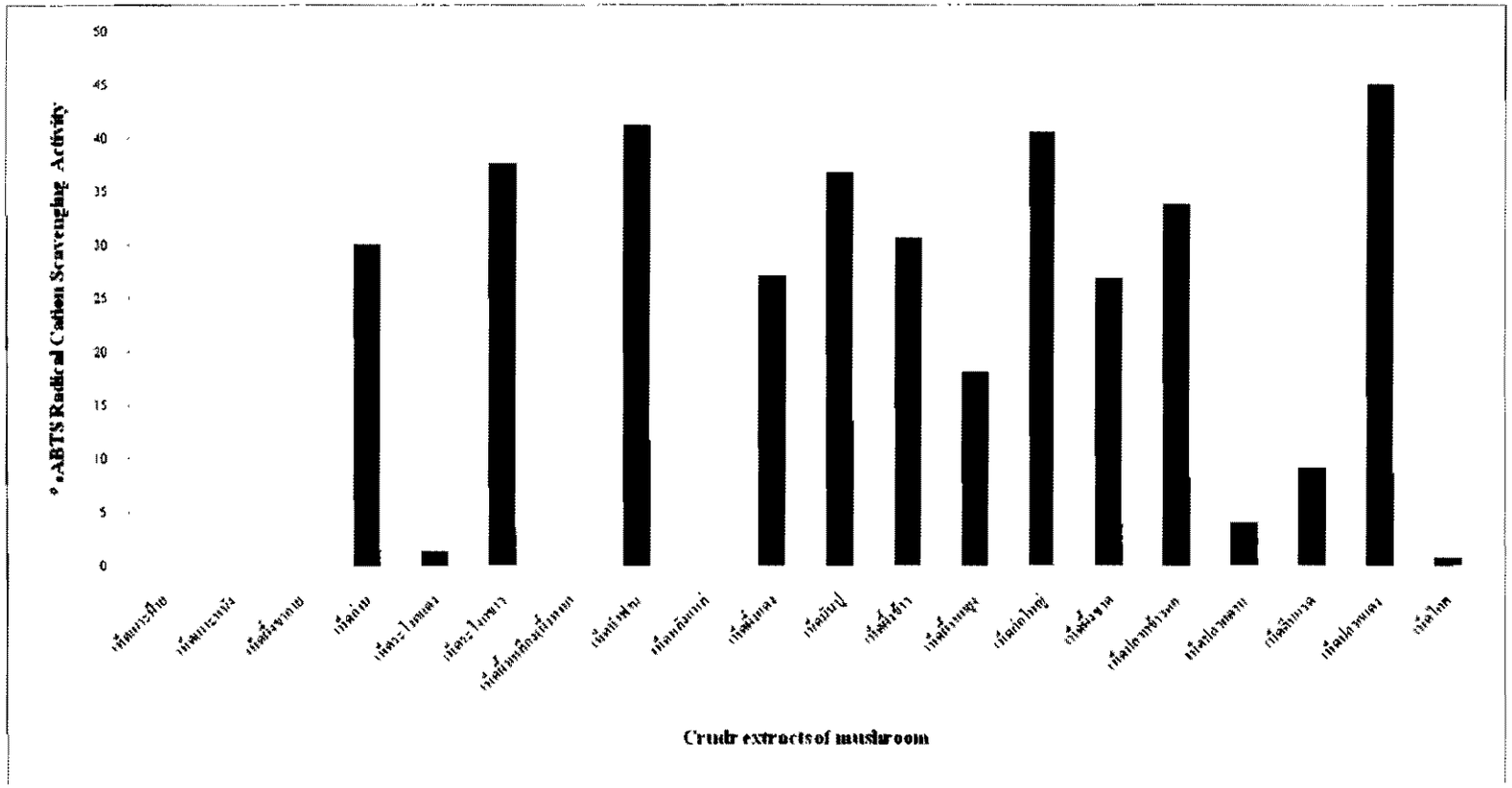
ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต ของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับ	ชื่อเห็ด	%ABTS Radical Cation Scavenging Activity (% ABTS±SD)
1	เห็ดเผาะฝ้าย	ND
2	เห็ดเผาะหนัง	ND
3	เห็ดผึ้งขาลาย	ND
4	เห็ดถ่าน	30.03±0.13
5	เห็ดระโงกแดง	1.42±3.97
6	เห็ดระโงกขาว	37.68±0.59
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	ND
8	เห็ดห้าฟ่าน	41.17±18.73
9	เห็ดหลังแหล่	ND
10	เห็ดผึ้งแดง	27.09±9.99
11	เห็ดมันปู	36.72±5.90
12	เห็ดผึ้งข้าว	30.60±14.90
13	เห็ดผึ้งนกยูง	18.10±4.29
14	เห็ดก่อใหญ่	40.47±0.99
15	เห็ดผึ้งชาด	26.86±6.00
16	เห็ดปลวกข้าวตอ	33.76±2.07
17	เห็ดปลวกตาบ	4.03±3.58
18	เห็ดตีนแรด	9.22±6.56
19	เห็ดปลวกแดง	44.96±2.82
20	เห็ดไคล	0.75±3.21
21	Trolox	99.82±0.00

*หมายเหตุ Not Detected (ND) คือ ไม่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

นำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 4.6 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตดจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด (y-axis) กับชนิดของสารตัวอย่าง (x-axis) ดังรูปที่ 4.5 และเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตดจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด

จากตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.5 เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตดจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตดของเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิด มีเปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง -5.72±0.72 ถึง 44.96±2.82 และเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS มากที่สุดของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต คือ เห็ดปลวกแดง เห็ดหำฟาน และเห็ดก่อใหญ่ตามลำดับ โดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 44.96±2.82 41.17±18.73 และ 40.47±0.99 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 99.82±0.00 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.5 ค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด และชนิดของสารตัวอย่าง

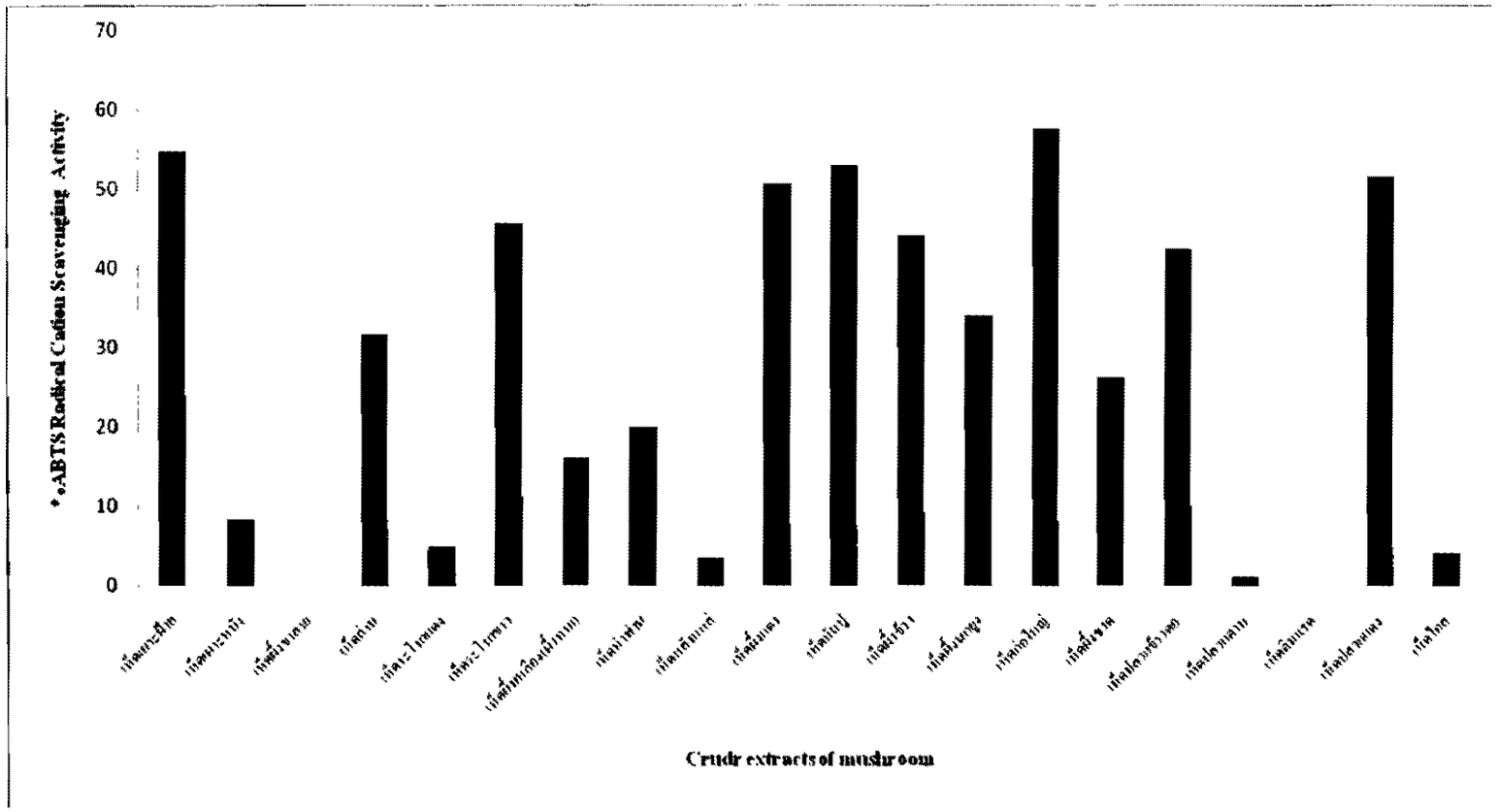
ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับ	ชื่อเห็ด	%ABTS Radical Cation Scavenging Activity (% ABTS±SD)
1	เห็ดเผาะฝ้าย	54.74±0.97
2	เห็ดเผาะหนัง	8.43±0.70
3	เห็ดผึ้งขาลาย	ND
4	เห็ดถ่าน	31.65±0.34
5	เห็ดระโงกแดง	4.91±1.01
6	เห็ดระโงกขาว	45.65±0.20
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	16.12±0.23
8	เห็ดห้าฟาน	19.98±3.48
9	เห็ดหลังแหล่	3.36±1.02
10	เห็ดผึ้งแดง	50.70±2.34
11	เห็ดมันปู	52.94±22.48
12	เห็ดผึ้งข้าว	44.12±1.64
13	เห็ดผึ้งนกยูง	34.12±2.87
14	เห็ดก่อใหญ่	57.61±0.71
15	เห็ดผึ้งชาด	26.20±0.31
16	เห็ดปลวกข้าวดอ	42.49±0.88
17	เห็ดปลวกตาบ	1.10±0.46
18	เห็ดตีนแรด	ND
19	เห็ดปลวกแดง	51.63±0.73
20	เห็ดไคล	4.08±1.93
21	Trolox	99.82±0.00

*หมายเหตุ Not Detected (ND) คือ ไม่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

นำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 4.7 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด (y-axis) กับชนิดของสารตัวอย่าง (x-axis) ดังรูปที่ 6 และเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด

จากตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.6 เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิด มีเปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง -1.63±3.43 ถึง 57.61±0.71 และเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ที่มีฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ มี 5 ชนิด คือ เห็ดก่อใหญ่ เห็ดเผาะฝ้าย เห็ดมันปู เห็ดปลวกแดง และเห็ดผึ้งแดง โดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 57.61±0.71 54.74±0.97 52.94±22.48 51.63±0.73 และ50.70±2.34 โดยเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 99.82±0.00 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.6 ค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด และชนิดของสารตัวอย่าง

จากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดเห็ดป่ากินได้ จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด พบว่าเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดคือ เห็ดก่อใหญ่ รองลงมาคือเห็ดเผาะฝ้าย ของสารสกัดเอทานอลโดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 57.61±0.71 และ 54.74±0.97 เปอร์เซ็นต์ โดยเทียบกับสารมาตรฐานโทลอกซ์ (Trolox) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 99.82±0.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งวิธี ABTS ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัด เอทานอลมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด

4.4 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay)

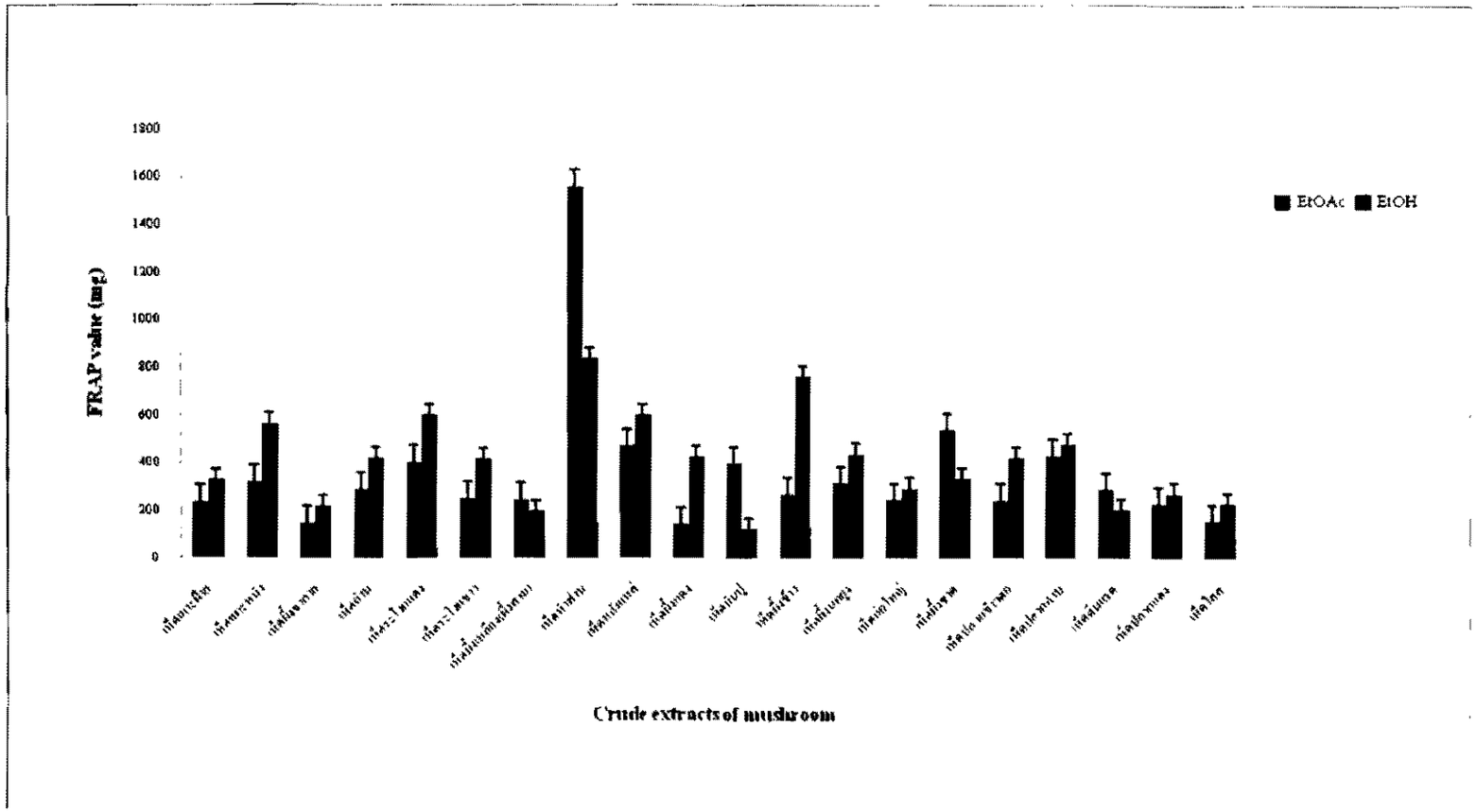
จากการทดสอบหาปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP assay ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากส่วนต่างๆของเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีโดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay) ดังแสดงในวิธีการทดลองในข้อ 3.5 พบว่าสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตดจากส่วนต่างๆของเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.8 และสารสกัดหยาบเอทานอล จากส่วนต่างๆของเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.9 โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ L-ascorbie ความเข้มข้น 1000 500 250 100 และ 50 µM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณหาปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (FRAP value) ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิด

สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต และเอทานอลจากสารตัวอย่างแต่ละชนิดจะมีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่างกันดังแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบหาปริมาณความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ FRAP เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต และเอทานอล ของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับ	ชื่อเห็ด	FRAP value (mg)	
		เอทิลอะซิเตต	เอทานอล
1	เห็ดเผาะฝ้าย	236.93	327.04
2	เห็ดเผาะหนัง	318.99	562.69
3	เห็ดผึ้งขาลาย	147.66	216.82
4	เห็ดถ่าน	290.30	418.50
5	เห็ดระโงกแดง	403.58	598.20
6	เห็ดระโงกขาว	248.53	416.84
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	246.61	197.19
8	เห็ดห้าฟ่าน	1558.20	835.02
9	เห็ดหลังแหล่	471.49	598.57
10	เห็ดผึ้งแดง	142.42	423.42
11	เห็ดมันปู	396.89	121.08
12	เห็ดผึ้งข้าว	266.39	761.58
13	เห็ดผึ้งนกยูง	313.24	435.50
14	เห็ดก่อใหญ่	243.50	291.10
15	เห็ดผึ้งชาด	537.17	331.59
16	เห็ดปลวกข้าวดอ	242.22	420.74
17	เห็ดปลวกตาบ	428.34	476.95
18	เห็ดตีนแรด	286.98	202.16
19	เห็ดปลวกแดง	228.05	269.34
20	เห็ดไคล	155.58	227.35
21	L- ascorbic acid	1470.97	1470.97



รูปที่ 4.7 ปริมาณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP ของสารสกัดเอทิลอะซิเตด เอทานอลและ ชนิดของสารตัวอย่าง

ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP โดยอาศัยหลักการวิเคราะห์หาความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่น ได้แก่ โลหะ (Fe) ในที่นี้ใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+} - TPTZ (Ferric tripyridyl triazine) เป็นสารทดสอบ อะตอมเหล็กในสารนี้จะถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระ ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์รัส Fe^{2+} - TPTZ ซึ่งมีสีน้ำเงินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm จากผลการทดลองดังแสดงใน ตารางที่ 4.8 เป็นการแสดงผลการทดสอบปริมาณความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ FRAP ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตและเอทานอล จากสารสกัดหยาบของเห็ดป่ากินได้ 20 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตมีค่า FRAP value อยู่ในช่วง 142.42 mg ถึง 1558.20 mg และสารสกัดเอทิลอะซิ-เตดหยาบของเห็ดหำฟ่านมีค่า FRAP value มากที่สุด คือ 1558.20 mg เทียบเท่ากับ สารมาตรฐานวิตามินซี (L-ascorbic) ซึ่งมีค่า FRAP value เท่ากับ 1470.97 mg และสารสกัดหยาบเอทานอลมีค่า FRAP value อยู่ในช่วง 121.08 ถึง 835.02 mg พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดหำฟ่านมีค่ามากที่สุด โดยมีค่า FRAP value เท่ากับ 835.02 mg เทียบเท่ากับ สารมาตรฐานวิตามินซี (L-ascorbic) ซึ่งมีค่า FRAP value เท่ากับ 1470.97 mg และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิดแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด

จากการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธีคือวิธี DPPH และวิธี ABTS และได้ทดสอบเพื่อยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay) ให้ผลการทดลองดังข้อสรุปนี้

1. สารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ซึ่งให้ผลที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสอดคล้องกันเนื่องจาก 2 เหตุผลที่น่าจะเป็นไปได้คือ

1.1. การที่ใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วสูง เช่น เอทานอล จะมีความสามารถในการละลายสารสำคัญที่มีขั้วสูงออกมาด้วย ซึ่งเป็นไปตามกฎ Like dissolves like คือ ตัวถูกละลายที่มีขั้วจะละลายในตัวทำละลายที่มีขั้ว เพราะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมีขั้วเป็นแรงไดโพล-ไดโพล (dipole-dipole) แต่จะไม่ละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วและสามารถที่จะเกิดพันธะไฮโดรเจนทั้งสองโมเลกุลได้จึงทำให้ละลายกันได้ ดังนั้นสารสกัดหยาบหยาบเอทานอล จะมีสารประกอบที่มีขั้วสูงที่พบในเห็ด เช่น Tyrosine Catechol Adenaline Noradenaline ซึ่งสารเหล่านี้ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ส่วนสารสกัดเอทิลอะซิเตตเป็นสารที่มีขั้วปานกลางและมีฤทธิ์ที่ต้านอนุมูลอิสระรองลงมา และสารสกัดหยาบเฮกเซนเป็นสารที่มีขั้วน้อยสามารถละลายได้ในสารจำพวกสารที่ไม่ขั้ว เช่นไขมัน ซึ่งพบในพืชน้อยและเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อย

1.2. ในการทดลองใช้ตัวทำละลายเมทานอลในการละลายสารสกัดทั้งสามชนิด จึงทำให้สารสกัดหยาบเอทานอลละลายได้ดีมากกว่า เนื่องจากสารสกัดหยาบเอทานอลและเมทานอลมีขั้วเหมือนกัน จึงทำให้ละลายกันได้ดี มากกว่าสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต และสารสกัดหยาบเฮกเซน

2. จากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และวิธี ABTS พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้ายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดและ สอดคล้องกันทั้งสองวิธี แต่ผลการทดสอบเพื่อยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay) พบว่าให้ผลที่ไม่สอดคล้องกัน เนื่องจากเหตุผลที่น่าจะเป็นไปได้คือวิธี DPPH และวิธี ABTS ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหรือกำจัดอนุมูลอิสระเหมือนกัน ดังนั้นในสารสกัดหยาบเอทานอลเห็ดเผาะฝ้าย น่าจะมีสารสำคัญที่มีความสามารถในการให้อนุมูลอิสระแก่ DPPH และ ABTS ได้ดี โดยโครงสร้างของสารนั้นต้องมีอิเล็กตรอนหนาแน่น เมื่อให้อนุมูลอิสระ จะเกิดอนุมูลอิสระใหม่สามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (Delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไป แต่วิธี FRAP ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่น ได้แก่ โลหะ (Fe) ในสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้าย อาจจะไม่มีสารสำคัญที่มีความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอนไปรีดิวซ์สารอื่นได้ ดังนั้นสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้ายจึงมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่น้อย

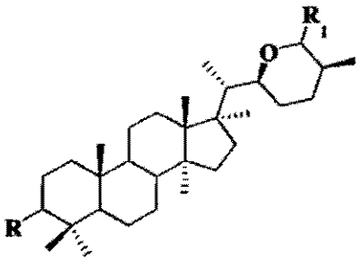
4.5 ผลการทดสอบการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้ Folin-Ciocalteu method ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจะขึ้นอยู่กับจำนวนของหมู่ฟีนอลของสารประกอบฟีนอลิกรวมแต่ละชนิดทำให้เกิดปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent แตกต่างกัน ซึ่งจากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตด และเอทานอล จากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด ด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS ได้คัดเลือกสารสกัดหยาบของเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ มาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม จากการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบของเห็ดป่ากินได้จากสารสกัดหยาบเอทานอล จำนวน 5 ชนิด ให้ผลแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของเห็ดป่ากินได้จากสารสกัดเอทานอลจำนวน 5 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Total phenolic content ในสารตัวอย่าง 1 g (mg)
1	เห็ดก่อใหญ่	2.04
2	เห็ดปลวกแดง	2.73
3	เห็ดเผาะฝ้าย	10.53
4	เห็ดผึ้งแดง	6.81
5	เห็ดมันปู	6.72

จากตารางที่ 4.9 พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้าย มีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10.53 mg เทียบเท่ากับ Tannic acid ต่อสารสกัด 1 g รองลงมา คือ สารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดผึ้งแดง และ เห็ดมันปู ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ ABTS โดยที่สารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้าย มีสารประกอบฟีนอลิกรวมเป็นองค์ประกอบสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยสนับสนุนจากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา พบว่า เห็ดเผาะเป็นเห็ดที่ใช้เป็นต้นตำรับในยาของจีน และจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีพบสารสารประกอบฟีนอลิกในเห็ดเผาะปีนสารในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids) มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Mycobacterium tuberculosis*



สารในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids)

ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเห็ดเผาะฝ้าย ซึ่งเป็นกลุ่มของเห็ดเผาะที่มีสารประกอบฟีนอลิกรวมเป็นองค์ประกอบสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี และนำไปฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เพื่อพัฒนาต่อไป

ภาพที่ 4.8 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากเห็ดชนิดต่างๆ

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดเฮกเซน เอทิล-อะซิเตต และเอทานอล จากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm พบว่าไม่มีเห็ดที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเกิน 50 เปอร์เซ็นต์ แต่เห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้าย มีค่า 50.27±0.88 และรองลงมา คือสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของเห็ดหำฟานมีค่า 27.77±0.84 ตามลำดับ โดยเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 96.95±0.05 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS assay โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Trolox® ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 99.82±0.00 เปอร์เซ็นต์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm พบว่ามีเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเกิน 50 เปอร์เซ็นต์ 5 ชนิด คือ สารสกัดจากเอทานอลของเห็ดก่อใหญ่ เผาะฝ้าย มันปู ปลวกแดง ผึ้งแดง ตามลำดับ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง -1.63±3.43 ถึง 57.61±0.71 สารสกัดเอทานอลของทั้งสองวิธีมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด และได้ทดสอบเพื่อยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay) พบว่า เห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ เห็ดหำฟานของสารสกัดเอทิลอะซิเตตโดยมีค่า FRAP Value เท่ากับ 1558.20 mg เทียบเท่ากับสารมาตรฐานวิตามินซี ซึ่งมีค่า FRAP value เท่ากับ 1470.97 mg และพบว่าสอดคล้องกับทั้งสองวิธี และได้คัดเลือกสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้จากวิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และABTS ที่มีฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระที่ดี พบว่ามี 5 ชนิด มาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด คือ สารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้าย มีค่าเท่ากับ 10.53 mg เมื่อเทียบกับ Tannic acid ต่อสารสกัด 1 g และพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกรวมเป็นองค์ประกอบสำคัญที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากว่าให้ผลสอดคล้องกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

หาวิธีการทดลองที่เหมาะสมสำหรับเห็ดบางชนิดเช่น เห็ดผึ้งแดง ผึ้งเหลือง ผึ้งนกยูง ผึ้งข้าว การทำตัวอย่างให้แห้ง ควรนำมา Freeze drying ตอนที่ยังสด เนื่องจากว่าเมื่อนำไปอบแล้วมักจะไม่แห้ง เห็ดบางชนิดมีหนอน เช่น เห็ดปลวก ระหว่างการอบแห้งควรนำมาใส่ตู้เย็น ควรคัดเลือกและจำแนก

ลักษณะของดอกเห็ดแต่ละชนิดก่อนนำไปวิเคราะห์ทางเคมี จากการศึกษาพบว่าเห็ดเผาะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด จึงควรที่จะนำเห็ดเผาะไปศึกษาพัฒนาฤทธิ์ทางชีวภาพ และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีต่อไป

เอกสารอ้างอิง

นวลศรี รักอริยธรรม และอัญชนา เจนวิถีสุข (2545) **แอนติออกซิแดนซ์: สารต้านมะเร็งในผักสมุนไพรไทย.** นพบุรีการพิมพ์.

ธนวรรณ ตุ่ยสิมมา เนาวรัตน์ ชูรัชฎ์ศิริกุล พลธรา วิชากุล (2549) **การศึกษาคุณสมบัติการต้านออกซิเดชั่นของพืชสมุนไพรพื้นบ้านอีสานบางชนิด.** สารนิพนธ์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

ธีรวัฒน์ บุญทวีคุณ (2539) **ความรู้เรื่องเห็ดรา: ฝ่ายวนวัฒนวิจัยและพฤกษศาสตร์, กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่า และพันธุ์พืช,** กรุงเทพฯ. 2546; 149 หน้า. เห็ดกินได้และเห็ดมีพิษในประเทศไทย. ฉบับราชบัณฑิตยสถาน. กรุงเทพฯ. 180 หน้า.

ปาริฉัตร เสาสูง (2546) **สารต้านอนุมูลอิสระในเห็ดมันปู (*Cantharellus cibarius* Fr.) เห็ดคะไคล (*Rusula virescens* Fr.) เห็ดตีนแรด (*Tricholoma crassum* Berk.) เห็ดระโงก (*Amanita* sp.) และเห็ดโคน (*Termitomyces clypeatus* Heim.)** : ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

ศิริมา สิมมา (2546) **สารต้านอนุมูลอิสระในเห็ดหูหนูดำ (*Aurcularia* polytricha) เห็ดหูหนูขาว (*Tremalla* fuciformis) เห็ดฟาง (*Volvariella* volacea) และเห็ดแครง (*Schizophylium* commune):** ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล และคณะ (2551) **ความหลากหลายของเห็ดและราขนาดใหญ่ในประเทศไทย:** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ. 514 หน้า

Benzie, I.F.F and Szeto, Y.T. *J.Agric.Food chem.* **1999**, *47*, 633-636.

Cheung, L. M and Peter, C. K. *J. Food Chem.* **2003**, *81*, 249-255.

Lee, L. Y.; Yen, T. M.; Mau, L. J. *J. Food Chem.* **2007**, *104*,1-9.

Mau, L. J; Lin, C. H; Song, F. S. *J.Food Research Internation.* **2002**, *35*, 519-526.

Molyneux P. *J. Sci Technol.* **2004**, *26(2)*, 211-219.

Pulido,R.;Bravo,L. and Calixto,F.S. *J.Agric Food chem.* **2000**, *48*, 3396-3402

Samchai, S.; Seephonkai, P.; Sangdee, A.; Puntumchai, A. and Klinhom, U. *J.Bio.Sci.* **2009**, 1727-3048.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Stanikunaite, R.; Radwan, M. M.; Trappe, M.J.; Fronczek. F. and Ross.; S.A. *J. Nat. Prod.* **2008,** *71,* 2077–2079

http://www.biogang.net/content_detail.php?menu=biodiversity&uid=701&id=25417

http://www.dnp.go.th/foremic/fmo/ediblemushroom.htm

http://www.irpus.org/project_file/2547_2006-08-23_R10003-47.pdf

http://mbccenter.net.www.readyplanet.com/_tps14/marticle.php?id=87321

http://www.music-parks.com/2857

http://pineapple-eyes.snru.ac.th/animal/pupan/index.php?q=node/202

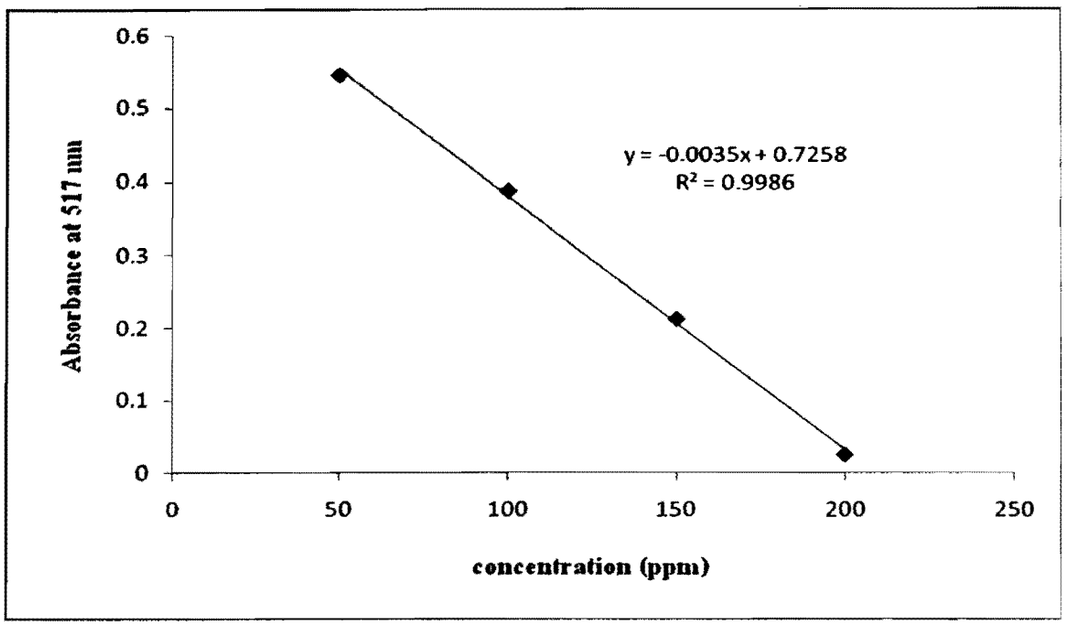
http://research.sci.ubu.ac.th/research/biodiversity/bio/job5.html

http://www.thailinic.com/antioxidant.html

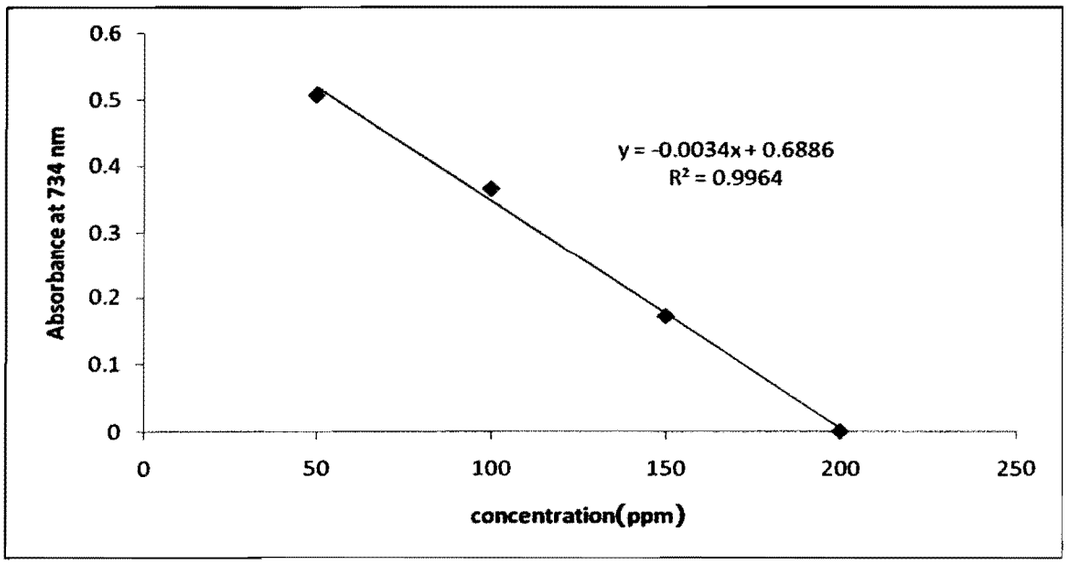
http://www.thapra.lib.su.ac.th/object/thesis/fulltextext/snamcn/Preeyanan_Buasod/Chapter 1.pdf

http://variety.phuketindex.com/health

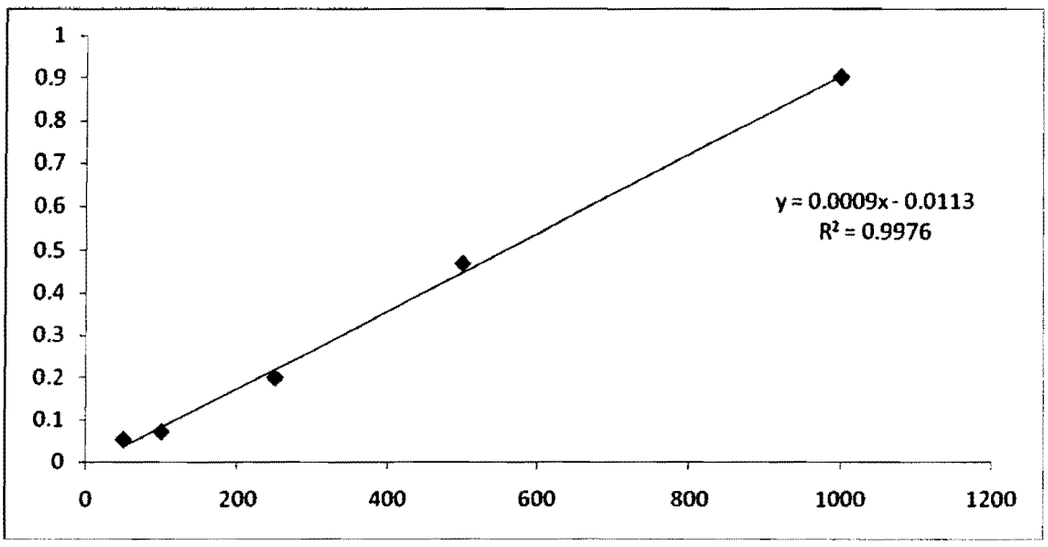
ภาคผนวก ก



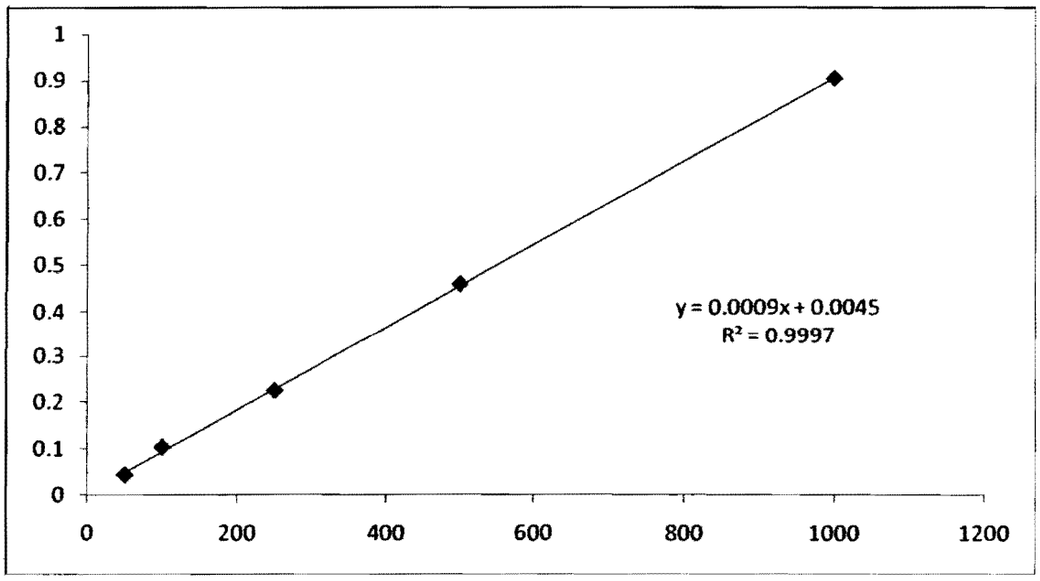
รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของ Trolox ความเข้มข้น 200 150 100 และ 50 ppm โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 nm



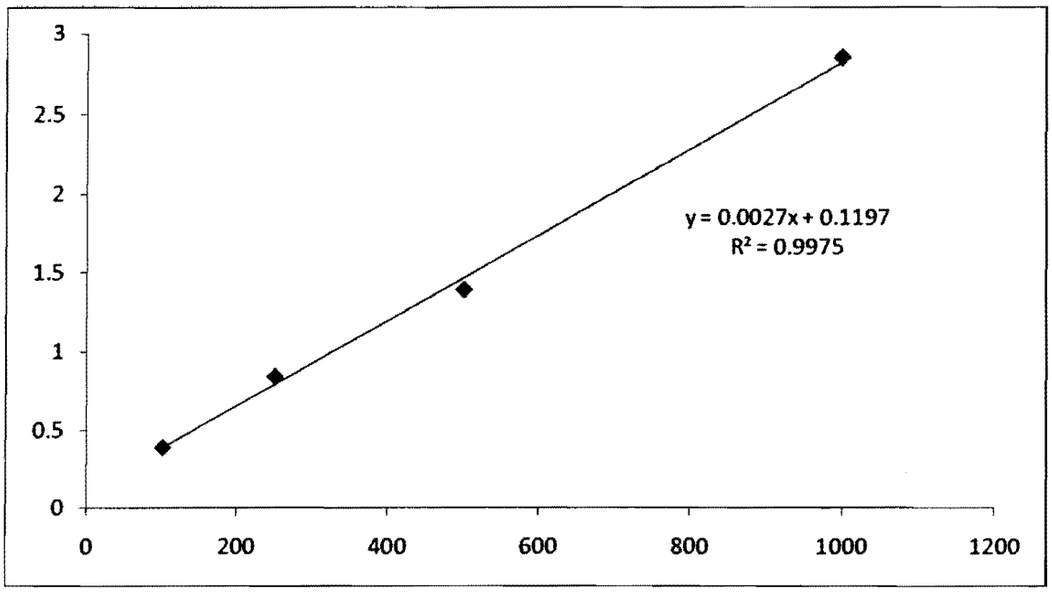
รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานของ Trolox ความเข้มข้น 200 150 100 และ 50 ppm โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 734 nm



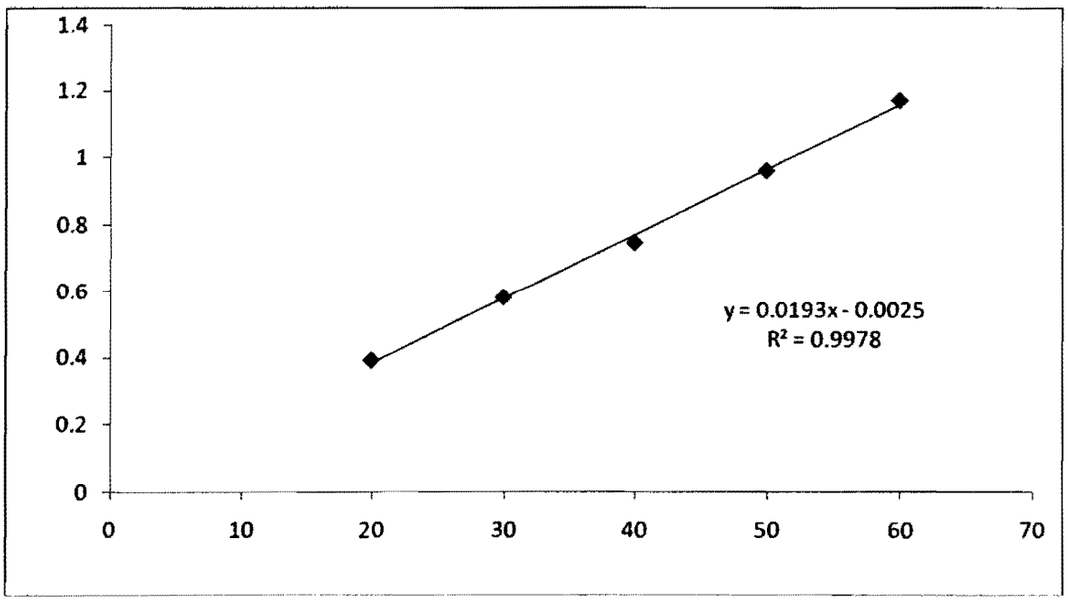
รูปที่ ก.3 กราฟมาตรฐานของวิตามินซี ความเข้มข้น 1000 500 250 100 และ 50 µM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm



รูปที่ ก.4 กราฟมาตรฐานของวิตามินซี ความเข้มข้น 1000 500 250 100 และ 50 µM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm



รูปที่ ก.5 กราฟมาตรฐานของ Trolox ความเข้มข้น 1000 500 250 และ 100 µM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm



รูปที่ ก.6 กราฟมาตรฐานของ Tannic acid ความเข้มข้น 60 50 40 30 และ 20 µM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 nm

ภาคผนวก ข

ตารางที่ ข.1 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของส่วนสกัดหยาบเฮกเซนของสารตัวอย่าง 20 ชนิด

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเฮกเซน 1000 ppm				%DPPH Radical Scavenging Activity
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
1	เห็ดเผาะฝ้าย	0.4702	0.4762	0.4792	0.4752±0.0037	24.92±0.72
2	เห็ดเผาะหนัง	0.5404	0.5676	0.5485	0.5521±0.0114	12.78±2.20
3	เห็ดผึ้งขาลาย	0.6348	0.6396	0.6402	0.6382±0.0024	-0.82±0.46
4	เห็ดถ่าน	0.6706	0.6760	0.6592	0.6686±0.0070	-5.62±1.35
5	เห็ดระโงกแดง	0.6331	0.6277	0.6290	0.6299±0.0023	0.48±0.44
6	เห็ดระโงกขาว	0.6166	0.6236	0.6038	0.6147±0.0081	2.89±1.58
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	0.6085	0.6125	0.6125	0.6112±0.0018	3.44±0.36
8	เห็ดหำฟาน	0.5869	0.5795	0.5792	0.5819±0.0035	8.07±0.68
9	เห็ดหลังแหล่	0.6358	0.6372	0.6270	0.6333±0.0045	-0.04±0.87
10	เห็ดผึ้งแดง	0.6139	0.6146	0.6141	0.6142±0.0002	2.96±0.05
11	เห็ดมันปู	0.6069	0.6106	0.6089	0.6089±0.0015	3.81±0.29
12	เห็ดผึ้งข้าว	0.5923	0.5997	0.6016	0.5978±0.0040	5.56±0.77
13	เห็ดผึ้งนกยูง	0.5843	0.5984	0.5041	0.5922±0.0415	6.48±8.03
14	เห็ดก่อใหญ่	0.6474	0.6451	0.6350	0.6425±0.0053	-1.50±1.04
15	เห็ดผึ้งชาด	0.5091	0.4737	0.5242	0.5023±0.0211	20.64±4.09

ตารางที่ ข.1 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเฮกเซนของสารตัวอย่าง 20 ชนิด (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเฮกเซน 1000 ppm				%DPPH Radical Scavenging Activity
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
16	เห็ดปลวกข้าวดอ	0.6360	0.6186	0.6356	0.6300±0.0081	0.47±1.56
17	เห็ดปลวกตาบ	0.6089	0.6139	0.6107	0.6111±0.0020	3.45±0.40
18	เห็ดตีนแรด	0.5758	0.6053	0.6129	0.5980±0.0160	5.53±3.09
19	เห็ดปลวกแดง	0.6309	0.6295	0.6356	0.6320±0.0026	0.16±0.50
20	เห็ดไคล	0.6242	0.6285	0.6326	0.6284±0.0034	0.72±0.66
21	Trolox	0.0191	0.0197	0.0191	0.0193±0.0547	96.95±0.05

ตารางที่ ข. 2 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของสารตัวอย่าง 20ชนิด

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซีเตต1000 ppm				%DPPH Radical Scavenging Activity
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
1	เห็ดเผาะฝ้าย	0.5865	0.5839	0.5955	0.5886±0.0049	7.01±0.96
2	เห็ดเผาะหนัง	0.5946	0.5973	0.5988	0.5969±0.0017	5.70±0.33
3	เห็ดผึ้งขาลาย	0.6322	0.6280	0.6343	0.6315±0.0026	0.23±0.50
4	เห็ดถ่าน	0.6432	0.6435	0.6446	0.6437±0.0006	-1.69±0.11
5	เห็ดระโงกแดง	0.6314	0.6222	0.6205	0.6247±0.0047	1.31±0.92
6	เห็ดระโงกขาว	0.6192	0.6207	0.6196	0.6198±0.0006	2.08±0.12
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	0.6117	0.5998	0.6052	0.6055±0.0048	4.34±0.94
8	เห็ดหำฟาน	0.4556	0.4528	0.4631	0.4572±0.0043	27.77±0.84
9	เห็ดหลังแหล่	0.6118	0.6280	0.6094	0.6164±0.0082	2.62±1.59
10	เห็ดผึ้งแดง	0.6049	0.6077	0.6097	0.6074±0.0019	4.04±0.38
11	เห็ดมันปู	0.5870	0.5875	0.5910	0.5885±0.0017	7.03±0.34
12	เห็ดผึ้งข้าว	0.6095	0.6086	0.6002	0.6061±0.0041	4.25±0.81
13	เห็ดผึ้งนกยูง	0.5825	0.5949	0.5856	0.5876±0.0052	7.17±1.01

ตารางที่ ข. 2 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของสารตัวอย่าง 20 ชนิด (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซีเตต1000 ppm				%DPPH Radical Scavenging Activity
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
14	เห็ดก่อใหญ่	0.6358	0.6335	0.6241	0.6311±0.0050	0.30±0.97
15	เห็ดผึ้งขาด	0.5697	0.5726	0.5695	0.5706±0.0014	9.85±0.27
16	เห็ดปลวกข้าวดอ	0.6131	0.6161	0.6149	0.6147±0.0012	2.89±0.23
17	เห็ดปลวกตาบ	0.5831	0.5964	0.5896	0.5897±0.0054	6.84±1.05
18	เห็ดตีนแรด	0.6084	0.5971	0.6147	0.6067±0.0072	4.15±1.40
19	เห็ดปลวกแดง	0.6113	0.6128	0.6031	0.6091±0.0042	3.77±0.82
20	เห็ดไคล	0.6028	0.6144	0.6181	0.6118±0.0065	3.35±1.26
21	Trolox	0.0191	0.0197	0.0191	0.0193±0.0547	96.95±0.05

ตารางที่ ข. 3 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลของสารตัวอย่าง 20 ชนิด

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเอทานอล 1000 ppm				%DPPH Radical Scavenging Activity
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
1	เห็ดเผาะฝ้าย	0.3781	0.3867	0.3886	0.3844±0.0045	39.27±0.88
2	เห็ดเผาะหนัง	0.5535	0.5927	0.5678	0.5713±0.0161	9.75±3.12
3	เห็ดผึ้งขาลาย	0.6400	0.6104	0.6283	0.6262±0.0121	1.07±2.35
4	เห็ดถ่าน	0.6104	0.6140	0.6041	0.6095±0.0040	3.71±0.79
5	เห็ดระโงกแดง	0.6154	0.6149	0.6104	0.6135±0.0022	3.08±0.43
6	เห็ดระโงกขาว	0.6186	0.6255	0.6182	0.6208±0.0033	1.92±0.64
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	0.5768	0.5934	0.6025	0.5909±0.0106	6.65±2.05
8	เห็ดหำฟาน	0.5508	0.5869	0.5625	0.5667±0.0150	10.47±2.90
9	เห็ดหลังแหล่	0.5972	0.5964	0.5839	0.5925±0.0060	6.39±1.17
10	เห็ดผึ้งแดง	0.6002	0.6216	0.6008	0.6075±0.0099	4.03±1.92
11	เห็ดมันปู	0.5709	0.6083	0.6042	0.5945±0.0167	6.08±3.24
12	เห็ดผึ้งข้าว	0.5300	0.5331	0.5272	0.5301±0.0024	16.25±0.46
13	เห็ดผึ้งนกยูง	0.5537	0.5440	0.5378	0.5452±0.0065	13.87±1.26
14	เห็ดก่อใหญ่	0.6291	0.6353	0.6348	0.6330±0.0028	0±0.54

ตารางที่ ข. 3 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลของสารตัวอย่าง 20 ชนิด (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเอทานอล 1000 ppm				%DPPH Radical Scavenging Activity
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
15	เห็ดผึ้งชาด	0.5851	0.5859	0.5846	0.5852±0.0005	7.55±0.10
16	เห็ดปลวกข้าวดอ	0.6090	0.5941	0.6061	0.6031±0.0064	4.72±1.24
17	เห็ดปลวกตาบ	0.5933	0.5977	0.5996	0.5968±0.0026	5.71±0.51
18	เห็ดตีนแรด	0.6100	0.5884	0.6135	0.6039±0.0111	4.59±2.14
19	เห็ดปลวกแดง	0.6000	0.6065	0.6048	0.6038±0.0027	4.61±0.53
20	เห็ดไคล	0.6136	0.6077	0.6111	0.6108±0.0024	3.51±0.46
21	Trolox	0.0191	0.0197	0.0191	0.0193±0.0547	96.95±0.05

ตารางที่ ข.4 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระABTSของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากสารตัวอย่าง 20 ชนิด

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเฮกเซน 1000 ppm				%ABTS Cation Radical Scavenging Activity
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
1	เห็ดเผาะฝ้าย	0.6788	0.6938	0.6689	0.6805±0.0102	-8.51±1.99
2	เห็ดเผาะหนัง	0.5083	0.5064	0.5388	0.5178±0.0148	17.43±2.89
3	เห็ดผึ้งขาลาย	0.6588	0.6768	0.6676	0.6677±0.0073	-6.47±1.43
4	เห็ดถ่าน	0.4357	0.4444	0.4492	0.4431±0.0055	29.34±1.09
5	เห็ดระโงกแดง	0.6588	0.6645	0.6259	0.6497±0.0170	-3.60±3.32
6	เห็ดระโงกขาว	0.3878	0.3939	0.3968	0.3928±0.0037	37.36±0.73
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	0.6198	0.6405	0.6067	0.6223±0.0139	0.76±2.71
8	เห็ดหำฟาน	0.5645	0.5929	0.5969	0.5847±0.0144	6.76±2.81
9	เห็ดหลังแหล่	0.6672	0.6688	0.6582	0.6647±0.0046	-5.99±0.91
10	เห็ดผึ้งแดง	0.5651	0.5734	0.5771	0.5719±0.0050	8.80±0.97
11	เห็ดมันปู	0.4550	0.4564	0.4431	0.4515±0.0059	28.00±1.16
12	เห็ดผึ้งข้าว	0.5935	0.5783	0.5710	0.5809±0.0093	7.37±1.83
13	เห็ดผึ้งนกยูง	0.5541	0.5574	0.5490	0.5535±0.0034	11.74±0.67

ตารางที่ ข. 4 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระABTSของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากสารตัวอย่าง 20 ชนิด (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเฮกเซน 1000 ppm				%ABTS Cation Radical Scavenging Activity
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
14	เห็ดก่อใหญ่	0.3653	0.3779	0.3775	0.3736±0.0058	40.42±1.14
15	เห็ดผึ้งชาด	0.5188	0.5040	0.5031	0.5086±0.0071	18.89±1.40
16	เห็ดปลวกข้าวดอ	0.4416	0.4389	0.4415	0.4407±0.0012	29.72±0.24
17	เห็ดปลวกตาบ	0.6359	0.6194	0.6544	0.6365±0.0142	-1.49±2.79
18	เห็ดตีนแรด	0.6413	0.6474	0.6257	0.6381±0.0091	-1.75±1.78
19	เห็ดปลวกแดง	0.3757	0.3862	0.3796	0.3807±0.0043	32.29±0.84
20	เห็ดไคล	0.6511	0.6616	0.6522	0.6573±0.0047	-4.81±0.92
21	Trolox	0.0012	0.0011	0.0011	0.0011±0.0092	99.82±0.00

ตารางที่ ข. 5 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระABTS ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากสารตัวอย่าง 20 ชนิด

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต1000 ppm				%ABTS Cation Radical Scavenging Activity
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
1	เห็ดเผาะฝ้าย	0.6466	0.6699	0.6726	0.6630±0.0116	-5.72±0.72
2	เห็ดเผาะหนัง	0.6539	0.6632	0.6556	0.6575±0.0040	-4.85±13.92
3	เห็ดผึ้งขาลาย	0.6695	0.6755	0.6428	0.6626±0.0142	-5.66±2.60
4	เห็ดถ่าน	0.4439	0.4354	0.4370	0.4388±0.0036	30.03±0.13
5	เห็ดระโงกแดง	0.6118	0.6090	0.6339	0.6182±0.0111	1.42±3.97
6	เห็ดระโงกขาว	0.3853	0.3952	0.3919	0.3908±0.0041	37.68±0.59
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	0.6244	0.6429	0.6318	0.6330±0.0076	-0.94±1.84
8	เห็ดหำฟาน	0.3841	0.3682	0.3546	0.3689±0.0120	41.17±18.73
9	เห็ดหลังแหล่	0.6467	0.6644	0.6639	0.6583±0.0080	-4.97±0.28
10	เห็ดผึ้งแดง	0.4584	0.4552	0.4580	0.4572±0.0014	27.09±9.99
11	เห็ดมันปู	0.4085	0.3932	0.3888	0.3968±0.0084	36.72±5.90
12	เห็ดผึ้งข้าว	0.4405	0.4424	0.4227	0.4352±0.0088	30.60±14.90
13	เห็ดผึ้งนกยูง	0.5094	0.5309	0.5004	0.5136±0.0127	18.10±4.29
14	เห็ดก่อใหญ่	0.3679	0.3769	0.3752	0.3733±0.0039	40.47±0.9989

ตารางที่ ข. 5 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระABTS ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากสารตัวอย่าง 20 ชนิด(ต่อ)

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต1000 ppm				%ABTS Cation Radical Scavenging Activity
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
15	เห็ดผึ้งชาด	0.4684	0.4520	0.4553	0.4586±0.0070	26.86±6.00
16	เห็ดปลวกข้าวดอ	0.4076	0.4213	0.4173	0.4154±0.0057	33.76±2.07
17	เห็ดปลวกตาบ	0.6098	0.6024	0.5931	0.6018±0.0068	4.03±3.58
18	เห็ดตีนแรด	0.5680	0.5703	0.5696	0.5693±0.0009	9.22±6.56
19	เห็ดปลวกแดง	0.3447	0.3431	0.3474	0.3451±0.0017	44.96±2.82
20	เห็ดไคล	0.6275	0.6109	0.6287	0.6224±0.0081	0.75±3.21
21	Trolox	0.0012	0.0011	0.0011	0.0011±0.0092	99.82±0.00

ตารางที่ ข. 6 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสารตัวอย่าง 20 ชนิด

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเอทานอล 1000 ppm				%ABTS Cation Radical Scavenging Activity
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
1	เห็ดเผาะฝ้าย	0.2821	0.2788	0.2906	0.2838±0.0049	54.74±0.97
2	เห็ดเผาะหนัง	0.5695	0.5782	0.5749	0.5742±0.0035	8.43±0.70
3	เห็ดผึ้งขาลาย	0.6451	0.6538	0.6129	0.6373±0.0175	-1.63±3.43
4	เห็ดถ่าน	0.4301	0.4260	0.4294	0.4285±0.0017	31.65±0.34
5	เห็ดระโงกแดง	0.5969	0.6024	0.5897	0.5963±0.0052	4.91±1.01
6	เห็ดระโงกขาว	0.3419	0.3412	0.3394	0.3408±0.0010	45.65±0.20
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	0.5276	0.5246	0.5259	0.5260±0.0012	16.12±0.23
8	เห็ดหำฟาน	0.5257	0.4828	0.4970	0.5018±0.0178	19.98±3.48
9	เห็ดหลังแหล่	0.6130	0.6048	0.6003	0.6060±0.0052	3.36±1.02
10	เห็ดผึ้งแดง	0.3259	0.3027	0.2986	0.3091±0.0120	50.70±2.34
11	เห็ดมันปู	0.3860	0.3667	0.1327	0.2951±0.1151	52.94±22.48
12	เห็ดผึ้งข้าว	0.3595	0.3392	0.3526	0.3504±0.0084	44.12±1.64
13	เห็ดผึ้งนกยูง	0.4319	0.3960	0.4113	0.4131±0.0147	34.12±2.87
14	เห็ดก่อใหญ่	0.2707	0.2619	0.2649	0.2658±0.0036	57.61±0.71

ตารางที่ ข. 6 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสารตัวอย่าง 20 ชนิด (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเอทานอล 1000 ppm				%ABTS Cation Radical Scavenging Activity
15	เห็ดผึ้งชาด	0.4645	0.4633	0.4606	0.4628±0.0016	26.20±0.31
16	เห็ดปลวกข้าวดอ	0.3544	0.3626	0.3649	0.3606±0.0045	42.49±0.88
17	เห็ดปลวกตาบ	0.6233	0.6196	0.6176	0.6202±0.0023	1.10±0.46
18	เห็ดตีนแรด	0.6283	0.6318	0.6389	0.6330±0.0044	-0.94±0.86
19	เห็ดปลวกแดง	0.3075	0.3039	0.2984	0.3033±0.0037	51.63±0.73
20	เห็ดไคล	0.5919	0.5918	0.6129	0.6015±0.0099	4.08±1.93
21	Trolox	0.0012	0.0011	0.0011	0.0011±0.0092	99.82±0.00

ตารางที่ ข. 7 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระFRAP เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของสารตัวอย่าง 20 ชนิด

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซีเตต1000 ppm				FRAP value (mg)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
1	เห็ดเผาะฝ้าย	0.1311	0.1390	0.1390	0.1363±0.0037	236.93
2	เห็ดเผาะหนัง	0.2164	0.2009	0.1926	0.2033±0.0098	318.99
3	เห็ดผึ้งขาลาย	0.0988	0.0669	0.0765	0.0807±0.0133	147.66
4	เห็ดถ่าน	0.1725	0.1957	0.1881	0.1854±0.0096	290.30
5	เห็ดระโงกแดง	0.2673	0.2196	0.2812	0.2560±0.0263	403.58
6	เห็ดระโงกขาว	0.1039	0.2074	0.1669	0.1594±0.0425	248.53
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งทาม)	0.1767	0.1573	0.0932	0.1424±0.0356	246.61
8	เห็ดหำฟ่าน	1.0588	0.9632	0.9050	0.9757±0.0634	1558.20
9	เห็ดหลังแหล่	0.3159	0.2858	0.2934	0.2983±0.0127	471.49
10	เห็ดผึ้งแดง	0.0916	0.0859	0.0549	0.0774±0.0161	142.42
11	เห็ดมันปู	0.2503	0.1927	0.2652	0.2360±0.0312	396.89
12	เห็ดผึ้งข้าว	0.1748	0.1569	0.1325	0.1547±0.0173	266.39
13	เห็ดผึ้งนกยูง	0.2078	0.1877	0.1563	0.1839±0.0211	313.24

ตารางที่ ข.7 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระFRAP เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของสารตัวอย่าง 20 ชนิด (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซีเตต1000 ppm				FRAP value (mg)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
14	เห็ดก่อใหญ่	0.1463	0.1671	0.1554	0.1562±0.0085	243.50
15	เห็ดผึ้งชาด	0.3576	0.2742	0.3387	0.3235±0.0357	537.17
16	เห็ดปลวกข้าวดอ	0.1448	0.1529	0.1687	0.1554±0.0099	242.22
17	เห็ดปลวกตาบ	0.2735	0.2249	0.316	0.2714±0.0372	428.34
18	เห็ดตีนแรด	0.1689	0.1907	0.1905	0.1833±0.0102	286.98
19	เห็ดปลวกแดง	0.1403	0.0966	0.1556	0.1308±0.0250	228.05
20	เห็ดไคล	0.1519	0.0296	0.0755	0.0856±0.0504	155.58

ตารางที่ ข.8 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ FRAP เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลของสารตัวอย่าง 20 ชนิด

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเอทานอล 1000 ppm				FRAP value (mg)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
1	เห็ดเผาะฝ้าย	0.2518	0.1815	0.1443	0.1925±0.0445	327.04
2	เห็ดเผาะหนัง	0.3829	0.3633	0.3194	0.3552±0.0265	562.69
3	เห็ดผึ้งขาลาย	0.1272	0.1378	0.1065	0.1238±0.0129	216.82
4	เห็ดถ่าน	0.2615	0.2569	0.2776	0.2653±0.0088	418.50
5	เห็ดระโงกแดง	0.3647	0.3776	0.3897	0.3773±0.0102	598.20
6	เห็ดระโงกขาว	0.2451	0.2917	0.2561	0.2643±0.0198	416.84
7	เห็ดผึ้งเหลือง(ผึ้งหาม)	0.1394	0.1467	0.0487	0.1116±0.0445	197.19
8	เห็ดหำฟาน	0.4446	0.5641	0.5661	0.5249±0.0568	835.02
9	เห็ดหลังแหล่	0.3494	0.3979	0.3854	0.3775±0.0205	598.57
10	เห็ดผึ้งแดง	0.2432	0.2504	0.2642	0.2526±0.0087	423.42
11	เห็ดมันปู	0.1084	0.0564	0.0277	0.0641±0.0334	121.08
12	เห็ดผึ้งข้าว	0.4971	0.4315	0.4615	0.4633±0.0268	761.58
13	เห็ดผึ้งนกยูง	0.2455	0.3157	0.2192	0.2601±0.0407	435.50
14	เห็ดก่อใหญ่	0.3152	0.0943	0.1483	0.1859±0.0940	291.10

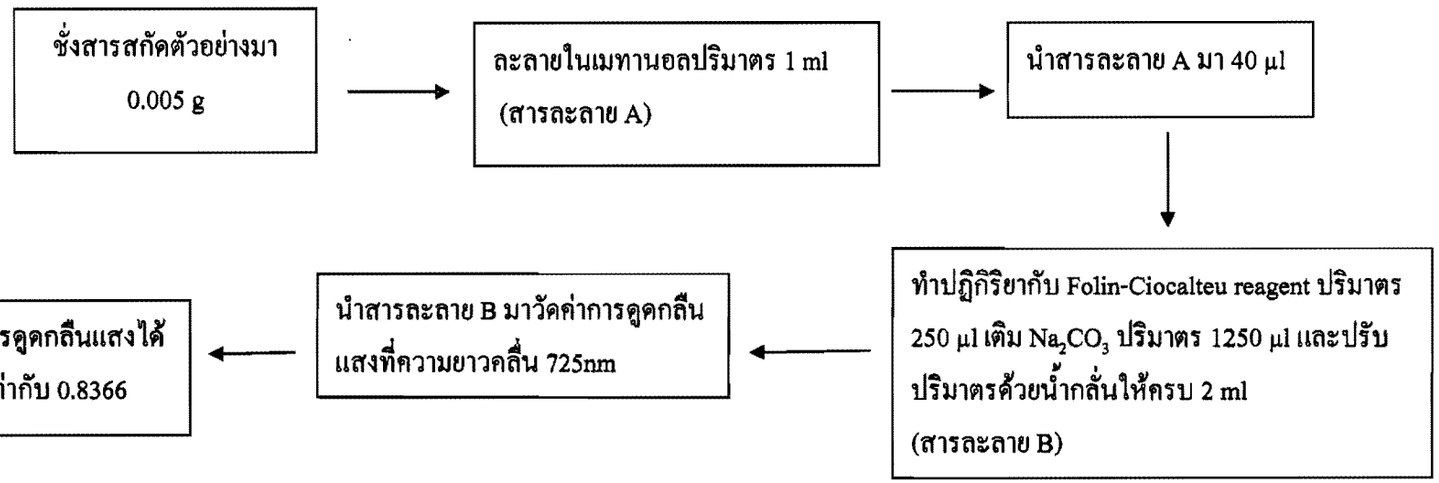
ตารางที่ ข.8 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ FRAP เบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลของสารตัวอย่าง 20 ชนิด (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อเห็ด	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของส่วนสกัดหยาบเอทานอล 1000 ppm				FRAP value (mg)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
15	เห็ดผึ้งชาด	0.2022	0.2143	0.1696	0.1953±0.0188	331.59
16	เห็ดปลวกข้าวดอ	0.2534	0.2507	0.2961	0.2667±0.0207	420.74
17	เห็ดปลวกตาบ	0.3480	0.2930	0.2643	0.3017±0.0347	476.95
18	เห็ดตีนแรด	0.1457	0.2018	0.0440	0.1305±0.0653	202.16
19	เห็ดปลวกแดง	0.1649	0.1423	0.1625	0.1565±0.0101	269.34
20	เห็ดไคล	0.1430	0.0892	0.1590	0.1304±0.0298	227.35

ตารางที่ ข.9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของเห็ดป่ากินได้ที่สกัดจากเอทานอล 5 ชนิด

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Total phenolic ในสารตัวอย่าง 1 g (mg)
1	เห็ดก่อใหญ่	2.04
2	เห็ดปลวกแดง	2.73
3	เห็ดเผาะฝ้าย	10.53
4	เห็ดผึ้งแดง	6.81
5	เห็ดมันปู	6.72

วิธีการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (mg of TAE/g sample) ในตัวอย่าง



จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารละลายมาตรฐาน Tannic acid (mg) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 nm ได้ความสัมพันธ์ดังสมการ $y = 0.036x + 0.084$

โดยที่ x = ปริมาตรของสารมาตรฐาน

y = ค่าการดูดกลืนแสง

แทนค่า จะได้ $x = \frac{0.8366 - 0.084}{0.036} = 20.91$

∴ จะมีปริมาณฟีนอลรวม 20.91 mg TAE/L และจากการคำนวณเดียวกันสามารถคำนวณหาปริมาณ ฟีนอลรวมในตัวอย่างอื่นๆ ได้ดังตารางที่ 4.7

วิธีการคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อวัดโดยวิธี FRAP assay

ตัวอย่างการคำนวณ

ชั่งสารสกัดตัวอย่างมา 0.005 g สกัดด้วยน้ำ 1000 µL

↓

ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 25 µL + working reagent 1000 µL

เพราะฉะนั้น dilution factor = 41

↓

นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm

ได้กราฟมาตรฐานคือ y = 0.001x + 0.016

↓

แทนค่า y ด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ (y = 1.781)

จะได้ x = vitamin C (µM) = 1765 µM

↓

คูณด้วย dilution factor ดังนั้น vitamin C = 1765 x 41 = 72365 µM = 0.072365 M

ในสารละลายตัวอย่าง 1000 ml มีปริมาณ vitamin C 0.072365 x 176.1 = 12.743 กรัม

ในสารละลายตัวอย่าง 1 ml มีปริมาณ vitamin C 12.743 x 1/1000 = 0.012743 กรัม

สารสกัดตัวอย่างหนัก 0.0052 กรัม มี vitamin C 12.743 mg

สารสกัดตัวอย่างหนัก 1.0 กรัม มี vitamin C 12.743 x 1.0/0.005 = 2548.6 mg

∴ สารสกัดจากพืชผักและสมุนไพรพื้นบ้านชนิดนี้มีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคิดเป็น 2548.6 mg ของ vitamin C และจากการคำนวณเดียวกันสามารถคำนวณหาปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างอื่นๆ ได้ดังตารางที่ 4.8

วิธีการคำนวณหาค่าเฉลี่ยของข้อมูล

ค่าเฉลี่ย คือ ค่ากลาง ซึ่งคำนวณจากผลบวกของข้อมูลและหารด้วยจำนวนของข้อมูล คำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean) โดยการใช้สูตร

$$\bar{X} = \frac{\Sigma X}{N}$$

โดยที่ = ค่าเฉลี่ย

= ผลรวมของข้อมูลทั้งหมด

= จำนวนข้อมูลทั้งหมด

วิธีการคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างของการวัด (Standard Deviation) คือ ปริมาณที่ใช้บอกการกระจายของข้อมูลที่วัดได้รอบค่าเฉลี่ย

คำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) โดยใช้สูตร

$$\text{S.D.} = \sqrt{\frac{\Sigma(X - \bar{X})^2}{N-1}}$$

โดยที่ S.D. = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

X = ข้อมูลแต่ละจำนวน

= ค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละจำนวน

= จำนวนข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่าง

แสดงวิธีการคำนวนค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH

ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง ซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และ เอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิด ดังสมการ

$$\text{\% DPPH Radical Scavenging Activity} = \left[\frac{(0.6330 - (0.3844 \pm 0.88))}{0.6330}\right]$$

$$= 39.27 \pm 0.88\ \%$$

ทำการคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของค่าการดูดกลืนแสง 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ย และคำนวณค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูล

แสดงวิธีการคำนวนค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS

ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง ซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และ เอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิด ดังสมการ

$$\text{\% ABTS Radical Scavenging Activity} = \left[\frac{(0.6271 - (0.2649 \pm 0.71))}{0.6271}\right]$$

$$= 57.61 \pm 0.71\ \%$$

ทำการคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของค่าการดูดกลืนแสง 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ย และคำนวณค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูล

ภาคผนวก ค

บทความสำหรับการเผยแพร่

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานี

*สมจินตนา ทวีพานิช ประภัสสร โลเตียะนันต์ และพัชรลี คุ้มคำ
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จ.อุบลราชธานี 34190
*E-mail: somjintana@yahoo.com

Antioxidant activity and total phenolic content of wild edible mushroom extracts in Ubonratchathani Province

*Somjintana Taveepanich, Prapatsorn Lootianan and Patchalee Tumkham
Faculty of Science, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani, Thailand, 34190
*E-mail: somjintana@yahoo.com. Fax: (66-45)353422

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 20 ชนิดโดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากนั้นศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity วิธี ABTS radical cation scavenging activity และวิธี reducing antioxidant power (FRAP) ตามลำดับ โดยมีสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) และวิตามินซี (L-ascorbic) เป็นตัวควบคุม การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin –Ciocalteu ผลการทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้ายมีค่าเท่ากับ 39.27±0.88 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบด้วยวิธี ABTS พบว่าสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด คือ สารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดก่อใหญ่ มีค่าเท่ากับ 57.61±0.71 เปอร์เซ็นต์ และผลการทดสอบเพื่อยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของเห็ดหำฟานมีค่า FRAP value มากที่สุด เท่ากับ 1558.20 mg เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน L-ascorbic (FRAP value =1470.97 mg) และเมื่อนำมาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมพบว่าให้ผลสอดคล้องกับวิธี DPPH และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม มีค่าเท่ากับ 10.53 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Tannic acid ต่อกรัมของสารสกัด

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เห็ดป่ากินได้ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

Abstract

The 20 wild edible mushrooms were extracts by hexane, ethyl acetate and ethanol. The crude extracts were studied for their antioxidant activity using DPPH radical scavenging activity, ABTS radical cation scavenging and reducing antioxidant power (FRAP) respectively were performed. The total

phenolic content was measured by Folin-Ciocalteu method using standard vitamin C and Trolox as positive control. The highest antioxidant value by DPPH assay were found in *Astraeus hygrometricus* (Pers) Morgan to be 39.27±0.88 % in ethanol extract, whereas the highest antioxidant activity ABTS assay were 57.61±0.71% for *Russula mairei* Sing in ethanol extract. For the reducing antioxidant power (FRAP) to confirm antioxidant activity, the highest value was found in *Alpova tappei* Fogel. (FRAP value =1558.20 mg L-ascorbic equivalent) (FRAP value =1470.97 mg).The total phenolic measurement was in good correlation with that of DPPH assay, and was 10.53 mg tannic acid equivalent per gram of crude extract.

Keywords: Antioxidant activity, Wild edible mushroom extracts, Total phenolic content

บทนำ

ภาคอีสานของไทยมีเห็ดป่าหลายชนิด ซึ่งเห็ดจัดเป็นอาหารประเภทผักที่ปราศจากไขมัน มีปริมาณน้ำตาลและเกลือค่อนข้างต่ำ และยังเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีเมื่อเทียบกับผักอีกหลายชนิด อีกทั้งยังมีรสชาติและกลิ่นที่ชวนรับประทาน ซึ่งรสชาติที่โดดเด่นนี้มาจากการที่เห็ดมีกรดอะมิโนกลูตามิก (Amino glutamic acid) เป็นองค์ประกอบ โดยกรดอะมิโนตัวนี้จะทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นประสาทการรับรู้รสอาหารของลิ้นให้ไวกว่าปกติและทำให้มีรสชาติคล้ายกับเนื้อสัตว์ นอกจากนี้เห็ดยังอุดมไปด้วยวิตามิน โดยเฉพาะวิตามินบีรวม ไรโบฟลาวิน (Riboflavin) และไนอะซิน (Niacin) ซึ่งจะช่วยควบคุมการทำงานของระบบย่อยอาหาร ในส่วนของเกลือแร่ เห็ดจัดเป็นแหล่งเกลือแร่ที่สำคัญโดยมีเกลือแร่ต่างๆ เช่น ซิลิเนียม (Selenium) ทำหน้าที่ช่วยต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง (Cancer) โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน (Coronary thrombosis) โพแทสเซียม (Potassium) ทำหน้าที่ควบคุมจังหวะการเต้นของหัวใจ สมดุลของน้ำในร่างกาย การทำงานของกล้ามเนื้อและระบบประสาทต่างๆ ลดการเกิดโรคความดันโลหิต (Hypertension) อัมพฤกษ์และอัมพาต ส่วนทองแดง ทำหน้าที่ช่วยเสริมสร้างการทำงานของธาตุเหล็ก และที่สำคัญ เห็ดมีองค์ประกอบของพฤกษเคมีที่ ชื่อว่า โพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) จะทำงาน ร่วมกับแมคโครฟากจ์ (Macrophage) ซึ่งเป็นเซลล์คุ้มกันขนาดใหญ่ที่ออกจากหลอดเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อและจะไปจับกับโพลีแซคคาไรด์ที่บริเวณกระเพาะอาหารและนำไปส่งยังเซลล์คุ้มกันตัวอื่นๆ โดยจะช่วยกระตุ้นวงจรการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายเสริมและช่วยเพิ่มปริมาณและประสิทธิภาพของเซลล์คุ้มกันธรรมชาติ ให้ทำหน้าที่ทำลายเซลล์แปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย ชาวบ้านจึงนิยมรับประทานเห็ดป่าเป็นอาหารและนอกจากนี้เห็ดป่ายังสามารถใช้เป็นยาได้อีกด้วย ซึ่งสรรพคุณทางยาของเห็ดมีมากมาย เช่น ช่วยควบคุมการทำงานของอวัยวะสำคัญต่างๆ เช่น สมอง หัวใจ ปอด ตับ และระบบไหลเวียนของโลหิต เนื่องจากชาวจีนจัดเห็ดเป็นยาเย็น เพราะมีสรรพคุณช่วยลดไข้ เพิ่มพลังชีวิต ดับร้อนใน แก้ช้ำใน บำรุงร่างกาย ลดระดับน้ำตาล และคอเลสเตอรอล (Cholesterol) ในหลอดเลือด ลดความดัน ขับปัสสาวะ ช่วยให้หายหงุดหงิด บำรุงเซลล์ประสาท รักษาอาการอัลไซเมอร์ (Alzheimer) และที่สำคัญ คือ ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

(ธีรวัฒน์, 2539) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระและทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานีจำนวน 20 ชนิด แล้วทำการคัดเลือกเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี นำมาพัฒนาศึกษาต่อไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาเพื่อใช้วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีต่อยอดความรู้เรื่องเห็ดซึ่งเป็นภูมิปัญญาท้องถิ่นและเกิดความเข้าใจที่ลึกซึ้งในความชำนาญเฉพาะทาง และเป็นการสนับสนุนเห็ดในท้องถิ่นให้มีคุณค่าต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

แหล่งที่มาของตัวอย่าง

วัตถุดิบในการทดลองประกอบด้วยเห็ดป่ากินได้ 20 ชนิด รวบรวมจากตลาดสดเทศบาลวารินชำราบ ในจังหวัดอุบลราชธานี ในเดือนมิถุนายน – กรกฎาคม พ.ศ. 2553 โดยสรุปข้อมูลของเห็ดป่ากินได้แต่ละชนิดดังนี้

ตารางที่ 1 ชื่อวิทยาศาสตร์ของเห็ดชนิดต่างๆ (อนงค์, 2551)

ชื่อเห็ด	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อวงศ์
ผึ้งนกยูง	*Macrolepiota dolichaula* (Bedrk.& Br.) Pegler & Rayner	AGARICACEAE
ระโงกขาว	*Amanita princes* Coner et Bas.	AMANITACEAE
ระโงกแดง	*Amanita caesarea* (Fr.) Schw.	AMANITACEAE
เผาะฝ้าย	*Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morgan.	ASTRACEAE
ผึ้งเหลือง	*Boletus colossus* Heim sp.	BOLETACEAE
ผึ้งแดง	*Aureoboletus thibetanus* (Pat.) Hongo and Nagasawa	BOLETACEAE
ผึ้งขาด	*Boletellus chrysenteroides* (Shell) Sing.	BOLETACEAE
ผึ้งขาลาย	*Boletellus ressellii* (Frost) Gilb.	BOLETACEAE
มันปู	*Cantharellus cibarius* Fr.	CANTHARELLACEAE
เผาะหนัง	*Geastrum saccatum* Fr.	GEASTRACEAE
ผึ้งข้าว	*Suillus tomentosus* sp.	GOMPHIDAICEAE
หำฟาน	*Alpova tappei* Fogel.	MELANOGASRACEAE
ไคล	*Rusula virescens* Fr.	RUSSULACEAE
ก่อใหญ่	*Russula mairei* Sing.	RUSSULACEAE
ถ่าน	*Russula densfolia* (Secr) Gill.	RUSSULACEAE
หน้าแหล่	*Russula cyanoxantha Schaeff ex.* Fr.	RUSSULACEAE
ปลวกข้าวตอ	*Termitomyces clypeatus* Heim sp.	TRICHOLOMATACEAE
ปลวกตาบ	*Termitomyces* sp.	TRICHOLOMATACEAE
ปลวกแดง	*Termitomyces grobushs* Heim et Grooss sp.	TRICHOLOMATACEAE
ตีนแรด	*Tricholoma crassum* Berk.	TRICHOLOMATACEAE

สารเคมีและเครื่องมือ

สารเคมี

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (Aldrich), 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Acros organic), 2,4,6-Tris-(2-pyridyl)-1,3,5-triazine (Fluka), Sodium acetate (Carlo Erba), Iron(III)Chloride Hexahydride (Carlo Erba), L-ascorbic acid (Carlo Erba), Acetic acid (Carlo Erba), 37% Hydrochloric acid (Carlo Erba), ABTS (2,2′-azino-bis (3-etlylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)) (Fluka), Hexane (Carlo Erba), Ethylacetate (Carlo Erba), Chloroform (Carlo Erba), Methanol (Carlo Erba), และ Ethanol (Aldrich)

เครื่องมือ

การระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary Vacuum Evaporator ของบริษัท EYELA และการทำให้สารสกัดแห้งด้วยเครื่อง Fexi-dry MP ของบริษัท Science engineer internatiomal GF_{254} และใช้เครื่อง UV-Vis spectrophotometer รุ่น Lambda 25 ของบริษัท Perkin Elmer.

วิธีการวิจัย

การเตรียมสารสกัด

นำทุกส่วนของเห็ดแต่ละชนิด จำนวน 20 ชนิด ที่พบในจังหวัดอุบลราชธานีมาสับอย่างละเอียด จากนั้นอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 °C และนำไปบดให้ละเอียด (ชนิดละ 10 g) สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ปริมาตร 100 mL ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน กรองแล้วระเหยตัวทำละลายเฮกเซนด้วยเครื่อง Rotatory evaporator และทำให้แห้งแห้งด้วยวิธี Freeze drying ทำการสกัดซ้ำด้วยการเปลี่ยนตัวทำละลายเป็นเอทิลอะซิเตตและเอทานอลตามลำดับ จะได้สารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตตและเอทานอลคิดเป็น% สารสกัดหยาบที่ได้ต่อน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 2 % สารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล ที่ได้ต่อน้ำหนักแห้ง

ชื่อเห็ด	น้ำหนักของส่วนสกัดหยาบ (g)			% yield		
	เฮกเซน	เอทิล อะซิเตต	เอทานอล	เฮกเซน	เอทิล อะซิเตต	เอทานอล
Astraeus hygrometricus (Pers.) Morgan.	0.8861	0.2475	0.2457	8.86	2.47	2.46
Geastrum saccatum Fr.	0.4669	0.1573	0.2111	4.67	1.57	2.11
Boletellus ressellii (Frost) Gilb.	0.4260	0.2080	0.3821	4.26	2.08	3.82
Russula densfolia (Secr) Gill.	0.2421	0.2259	0.2583	2.42	2.26	2.58
Amanita caesarea (Fr.) Schw.	0.8640	0.4201	0.4078	8.64	4.20	4.08
Boletus colossus Heim sp.	0.2349	0.3836	0.6747	2.35	3.84	6.75
Alpova tappei Fogel.	0.1499	0.1749	0.6908	1.49	1.75	6.91
Russula cyanoxantha Schaeff ex. Fr.	0.5846	0.5382	0.7689	5.85	5.38	7.70
Aureoboletus thibetanus (Pat.) Hongo and Nagasawa	0.3781	0.3817	0.7149	3.78	3.82	7.15
Cantharellus cibarius Fr.	0.1533	0.2830	1.2006	1.53	2.83	12.01
Suillus tomentosus sp.	0.3449	0.2055	0.2866	3.45	2.06	2.87

Macrolepiota dolichaula (Bedrk.& Br.) Pegler & Rayner	0.3690	0.2149	0.3221	3.69	2.15	3.22
Russula mairei Sing.	0.1148	0.1982	0.1184	1.15	1.98	1.18
Boletellus chrysenteroides (Shell) Sing.	0.2479	0.1734	0.3702	2.48	1.73	3.70
Termitomyces clypeatus Heim sp.	0.6681	0.3406	0.3410	6.68	3.40	3.41
Termitomyces sp.	0.1881	0.1780	0.2018	1.88	1.78	2.02
Tricholoma crassum Berk.	0.2261	0.2273	0.2209	2.26	2.27	2.21
Termitomyces grobustus Heim et Grooss sp.	0.1618	0.2205	0.3287	1.62	2.20	3.29
Rusula virescens Fr.	0.4682	0.2550	0.2913	4.68	2.55	2.91
Amanita princes Coner et Bas.	0.8061	0.6838	0.3262	8.06	6.84	3.26

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้วิธี DPPH Radical Scavenging Activity

ชั่งตัวอย่างสารสกัดหยาบอย่างละ 1 มิลลิกรัม ละลายด้วยสารละลายเมทานอล 95% (AR grade) ปริมาตร 1 mL จากนั้นเติมสารละลาย 2, 2diphenyl-1-picrylhylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น DPPH 6 x 10^{-5} โมลาร์ ปริมาตร 2.90 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารตัวอย่างปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ใช้ Trolox® เป็นมาตรฐานต้านอนุมูลอิสระและคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH Radical Scavenging Activity) ของสารสกัดหยาบจากสารสกัดหยาบแต่ละชนิด ดังสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ DPPH Radical Scavenging Activity} = [(A_o-A_s)/A_o] \times 100$$

โดยที่ A_o คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH และ A_s คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS โดยใช้วิธี ABTS Cation Radical Scavenging Activity

ชั่งตัวอย่างสารสกัดหยาบอย่างละ 1 มิลลิกรัม ละลายด้วยสารละลายเมทานอล 95% (AR grade) ปริมาตร 1 mL จากนั้นเตรียม 2, 2'-azinobis-3-ethylbonzothiazoline-6-sulphonate (ABTS) ในการทดลองต้องชั่ง ABTS 0.0999 g (1000 ppm) และ $K_2S_2O_8$ 0.0201 g (200 ppm) ละลายสารทั้งสองด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ในที่มืด 12-16 ชั่วโมง เจือจางด้วยเมทานอลให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น = 734 นาโนเมตร) อยู่ในช่วง 0.7 (+0.02) จากนั้นเติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 2.90 มิลลิลิตร เติมสารตัวอย่างปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืด 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ใช้ Trolox® เป็นมาตรฐานต้านอนุมูลอิสระและคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS (% ABTS Radical Cation Scavenging Activity) ของสารสกัดหยาบจากสารสกัดหยาบแต่ละชนิด ดังสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ ABTS Radical Cation Scavenging Activity} = [(A_o-A_s)/A_o] \times 100$$

โดยที่ A_o คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS และ A_s คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสรโดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay)

ชั่งสารตัวอย่างสารสกัดหยาบแต่ละชนิดมา 5 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร จากนั้นเตรียม FRAP reagent ในการทดลองประกอบด้วย 300 mM Acetate buffer pH 3.6: 10 mM TPTZ in 40 mM HCl :

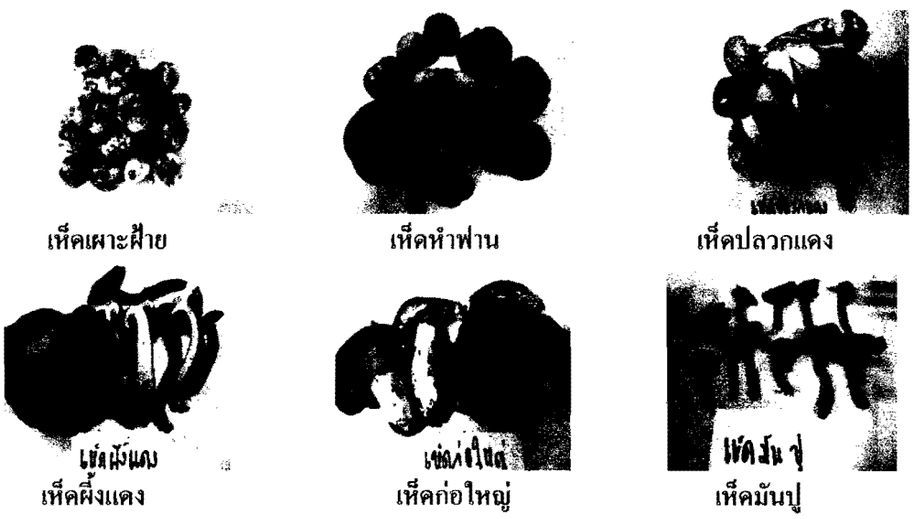
20 mM $FeCl_3 . 6H_2O$ อัตราส่วน 10: 1: 1 ในการทดลองเติม FRAP reagent 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารตัวอย่างปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 593 nm ใช้ L-ascorbic acid เป็นสารมาตรฐานต้านอนุมูลอิสระและน้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม คำนวณค่า FRAP value โดยใช้สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานคำนวณจากสูตร y = ax + b แทนค่า y ด้วยค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างแต่ละชนิด แล้วก็จะได้ค่า x ซึ่งก็คือค่า FRAP Value ของสารสกัดตัวอย่างแต่ละชนิด

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic compound)

ชั่งตัวอย่างสารสกัดหยาบอย่างละ 1 มิลลิกรัม ละลายด้วยสารละลายเมทานอล 95% (AR grade) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 1N Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารตัวอย่างปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร ใช้กรดแทนนิก (Tannic acid) เป็นสารมาตรฐาน คำนวณปริมาณสารฟีนอลรวมเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัม ของ Tannic acid equivalent (TAE) ต่อสารสกัดชั้น ethanol 1 กรัม (Pulido, 2000)

การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistic analysis)

ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลรวมทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (n= 3) และนำมาผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (+S.D.) ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลรวมมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของเห็ดป่ากินได้ชนิดต่างๆ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอลโดยการทดสอบความสามารถในการจับ DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่มีความคงตัวชนิดหนึ่ง (Williams, 1995) ของสารต้านอนุมูลอิสระหรือปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) รายงานผลเป็น % DPPH Radical Scavenging Activity พบว่าไม่มีเห็ดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเกิน 50 เปอร์เซ็นต์ โดยเห็ดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ สารสกัดเอทานอลเห็ดเผาะฝ้าย (39.27%) สารสกัดเอทิลอะซิเตตเห็ดหำฟาน (27.77%) และสารสกัดเฮกเซนเห็ดเผาะฝ้าย (24.92%) ตามลำดับ ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (% ABTS Radical Cation Scavenging Activity) เห็ดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเกิน 50% มี 5 ชนิด คือ สารสกัดจากเอทานอลของเห็ดก่อใหญ่ เผาะฝ้าย มันปู ปลวกแดง และผึ้งแดง (57.61±0.71 54.74±0.97 52.94±22.48 51.63±0.73 และ 50.70±2.34) ตามลำดับ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเห็ดก่อใหญ่ รองลงมาคือเห็ดเผาะฝ้าย การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่าให้ผลการทดสอบที่สอดคล้องกันคือสกัดหยาบเอทานอลของทั้งสองวิธีมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด Ferric Reducing (FRAP assay) เป็นการทดสอบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากสารสกัดเอทิลอะซิเตต และเอทานอล รายงานผลเป็นค่า FRAP Value (Benzi, 1996) ซึ่งสารสกัดเอทิลอะซิเตต และเอทานอลของเห็ดหำฟานมีค่าดีที่สุดคือ 1558.20 mg และ835.02 mg ตามลำดับ จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2 วิธีพบว่า วิธี DPPH และ ABTS เห็ดเผาะฝ้ายมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดสอดคล้องกัน เนื่องจากสารสกัดหยาบเอทานอลของทั้งสองวิธีมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและพบว่าเห็ดเผาะฝ้ายเป็นสารในกลุ่ม triterpenoids ซึ่งโครงสร้างมีอิเล็กตรอนหนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (Delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระส่วนวิธี FRAP พบว่าสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของเห็ดหำฟานมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดซึ่งแตกต่างจากวิธี DPPH และ ABTS เนื่องมาจากว่าสารสกัดหยาบของ ethyl acetate มีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กได้ดี อาจจะแสดงสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนที่ไม่ดี และสารสกัดเอทิลอะซิเตตเป็นสารที่มีขั้วปานกลางและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรองลงมาจากสารสกัดเอทานอล

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้ Folin-Ciocalteu method ได้คัดเลือกสารสกัดหยาบของเห็ด 5 ชนิด (เห็ดก่อใหญ่ เห็ดปลวกแดง เห็ดเผาะฝ้าย เห็ดผึ้งแดง และ เห็ดมันปู) จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH และABTS ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ มาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้าย มีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10.53 mg เทียบเท่ากับ Tannic acid ต่อสารสกัด 1 g รองลงมา คือ สารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดผึ้งแดง 6.81 mg และพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกรวมเป็นองค์ประกอบสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากว่าให้ผลสอดคล้องกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และวิธี ABTS ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เหมือนกัน พบว่า

ให้ผลการทดสอบที่สอดคล้องกัน เนื่องจากสารสกัดหยาบเอทานอลของทั้งสองวิธีมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด และได้ทดสอบเพื่อยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay) พบว่าให้ผลที่สอดคล้องกัน และได้คัดเลือกสารสกัดหยาบของเห็ดป่ากินได้ทั้ง 3 วิธี ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด มาหาปริมาณฟีนอลิกรวม พบว่าให้ผลที่สอดคล้องกันกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และมีรายงานจากการวิจัยที่ผ่านมา พบว่า เห็ดเผาะเป็นเห็ดที่ใช้เป็นต้นตำรับในยาของจีน และจากการศึกษาการแยกองค์ประกอบพบสารในเห็ดเผาะว่าเป็นสารในกลุ่ม triterpenoids มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* จากการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมพบว่า เห็ดเผาะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี โดยวิธี DPPH (%DPPH Radical Scavenging Activity) พบว่าไม่มีเห็ดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเกิน 50 เปอร์เซ็นต์ แต่เห็ดที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระดีที่สุดมีค่า %DPPH คือ สารสกัดเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้าย (39.27±0.88 เปอร์เซ็นต์) และสารสกัดเอทิลอะซิ-เตตของเห็ดหำฟาน (27.77±0.71 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ เทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (% ABTS Radical Cation Scavenging Activity) เทียบกับสารมาตรฐานของ Trolox® เห็ดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ สารสกัดเอทานอลเห็ดก่อใหญ่ (57.61±0.71 เปอร์เซ็นต์) และสารสกัดเอทิลอะซิเตตเห็ดเผาะฝ้าย (54.74±0.97 เปอร์เซ็นต์) พบว่าสารสกัดเอทานอลของวิธี DPPH และ ABTS มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ทดสอบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เพื่อยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าเห็ดที่มีค่า FRAP Value ดีที่สุดคือ สารสกัดเอทิลอะซิเตตของเห็ดหำฟาน (1558.20 mg) เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน L-ascorbic การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ได้คัดเลือกสารสกัดหยาบของเห็ด 5 ชนิด (เห็ดก่อใหญ่ เห็ดปลวกแดง เห็ดเผาะฝ้าย เห็ดผึ้งแดง และ เห็ดมันปู) จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH และABTS พบว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด คือ สารสกัดเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้าย (10.53 mg) เมื่อเทียบกับ Tannic acid ต่อสารสกัด 1 g และพบว่าสารประกอบฟีนอลิกรวมเป็นองค์ประกอบสำคัญที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และให้ผลสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH เห็ดเผาะฝ้ายมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด ดังนั้นควรที่จะนำไปพัฒนาฤทธิ์ทางชีวภาพ และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ธีรวัฒน์ บุญทวีคุณ. ความรู้เรื่องเห็ดรา: ฝ่ายวนวัฒนวิจัยและพฤกษศาสตร์, กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช, กรุงเทพฯ. 2546; 149 หน้า. เห็ดกินได้และเห็ดมีพิษในประเทศไทย. ฉบับราชบัณฑิตยสถาน. 2539. กรุงเทพฯ. 180 หน้า.

อนงค์ จันทร์ศรีกุลและคณะ.ความหลากหลายของเห็ดและราขนาดใหญ่ในประเทศไทย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ 2551. 514 หน้า

I. F. F. Benzi, and J. J. Starin, *Anal Biochem.* 239 **(1996)**, 70-76

Pulido,R.;Bravo,L. and Calixto,F.S. *J.Agric Food chem. 48* **(2000)**, 3396-3402

Stanikunaite, R.; Radwan, M. M.; Trappe, M.J.; Fronczek. F .; Ross.; S.A. *J. Nat. Prod. 71***(2008),** 2077–2079

W.Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, *Lennsm. Wiss. Technol. 28* **(1995)**, 25-30

http://www.biogang.net/content_detail.php?menu=biodiversity&uid=701&id=25417

http://www.dnp.go.th/foremic/fmo/ediblemushroom.htm

http://pineapple-eyes.snru.ac.th/animal/pupan/index.php?q=node/202

ภาคผนวก ง

ตารางเปรียบเทียบ กิจกรรมที่วางแผนไว้ กิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการ

กิจกรรมที่วางแผนไว้	ระยะเวลา	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่จะได้รับ/ตัวชี้วัด
รวบรวมข้อมูลสำหรับการทดลองและจัดซื้ออุปกรณ์เครื่องแก้วสารเคมี	1 เดือน	รวบรวมข้อมูลสำหรับการทดลองและจัดซื้ออุปกรณ์เครื่องแก้วสารเคมี	รวบรวมข้อมูลและอุปกรณ์สำหรับคัดเลือกสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไลเปส
เก็บตัวอย่างเห็ดต่างๆในภาคอีสานเตรียมตัวอย่างบดละเอียดสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	2 เดือน	เก็บตัวอย่างเห็ดต่างๆในภาคอีสานเตรียมตัวอย่างบดละเอียดสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	สามารถสกัดสารตัวอย่างหยาบจากเห็ดต่างๆในภาคอีสาน ได้
ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เบื้องต้น	3 เดือน	ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เบื้องต้น	สามารถทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไลเปสเบื้องต้น ได้
คัดเลือกสารที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี นำมาหาค่า IC_{50}	3 เดือน	คัดเลือกสารที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี นำมาหาค่า IC_{50}	สามารถคัดเลือกสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไลเปสที่ดี นำมาหาค่า IC_{50} ได้
หาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม	2 เดือน	หาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม	สามารถหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมได้
ทำรายงานและนำเสนอผลงานวิจัย	1 เดือน	ทำรายงานและนำเสนอผลงานวิจัย	รวบรวมและสรุปผลการทดลองได้

ภาคผนวก จ

รายการ	งบประมาณ (บาท)
หมวดค่าตอบแทน	
ค่าทำการนอกเวลาราชการ	7,000
หมวดค่าใช้สอย	
ค่าเก็บสารตัวอย่างเห็ดกินได้	5,000
หมวดค่าวัสดุและสารเคมี	
1. ค่าซื้อตัวอย่างเห็ดกินได้	3,000
1. ค่าอุปกรณ์เครื่องแก้ว	5,000
2. ค่าตัวทำละลายอินทรีย์สำหรับการสกัดแยกสาร	10,000
เช่น เมทานอล เอทิลอะซิเตดและไดคลอโรมีเทน	
3.ค่าอุปกรณ์และสารเคมีสำหรับทดสอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	10,000
4. ค่าวัสดุสำนักงานและวัสดุคอมพิวเตอร์	5,000
(ถ่ายเอกสาร ทำรายงานและนำเสนอผลงานวิจัย)	
รวม	45,000

∴ ถั่วเฉลี่ยทั้งสิ้นทุกรายการ

ภาคผนวก ฉ

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาว สมจินตนา ทวีพานิชย์

   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Somjintana Taveepanich

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 4302 00719 91 3

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)

   ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โทรศัพท์ 0-4528-8379

   e-mail: somjintana@yahoo.com

5. ประวัติการศึกษา

วท.บ. (เคมี)	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	1998
วท.ม. (เคมี)	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2001
ปร.ด.(เคมี)	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2009

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

- Natural product : ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรและจุลินทรีย์ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพ และนำสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป
- Biotransformation of bioactive compounds: ทำการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยกระบวนการทางเคมีและชีวภาพเพื่อศึกษาคุณสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารนั้นๆ

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัยหรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย *(ระบุในระยะเวลา 5 ปีย้อนหลัง 2553-2549)*

   7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : -

   7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย :

   1. ศักยภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไลเปสของสารสกัดจากผักพื้นบ้านและสมุนไพรภาคอีสานของไทย
   2. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมจากสารสกัดของเห็ดกินได้

   7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

- การเสนอผลงานวิจัยในที่ประชุม

- สมจิน ตนา ทวีพานิชย์, Robert Azerad, Michele Maurs, และ อมร เพชรสม 2549. การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโดยกระบวนการทางชีวภาพของอนุพันธ์ของ *ent*-manoyl oxide โดยใช้เชื้อรา บางชนิด, การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย วทท. 32, 10-12 ตุลาคม 2549, ณ ศูนย์ประชุมสิริกิตต์ กรุงเทพ.

- Somjintana Taveepanich, Juraluck akkabut and Sirintra Chaison 2010. Alpha-Glucosidase Inhibitory and Antioxidant Activities of Indigenous Plant Extracts in Northeastern of Thailand and Their Relationships with Polyphenol Contents, Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON2010), 21-23 January 2553, Sunee Grand Hotel and Convention Center, Ubon Ratchathani, Thailand.

- Somjintana Taveepanich, Pitchayaporn Suwanakood and Prapatsorn Lootianan 2010. Efficiency of indigenous plant extracts in northeastern of Thailand for inhibiting the growth of the pathogen *Colletotrichum* sp. , Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON2010), 21-23 January 2553, Sunee Grand Hotel and Convention Center, Ubon Ratchathani, Thailand. (ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน วช.53)

- Somjintana Taveepanich 2553. The Screening of Lipase Inhibitors from Indigenous Vegetables and Herbs in Northeastern of Thailand, การประชุมวิชาการมหกรรมสมุนไพรแห่งชาติครั้งที่ 7, 1-5 กันยายน 2553, ณ อิมแพ็ค Hall 7-8 เมืองทองธานี กรุงเทพ. (ทุนอุดหนุนการวิจัยของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

- Somjintana Taveepanich 2553. Chemical Constituents and Antioxidant Activity from Leaves of *Careya arboria* Roxb., การประชุมวิชาการมอบ. วิจัย ครั้งที่ 4, 9-10 สิงหาคม 2553, ณ โรงแรมลายทอง อุบลราชธานี.

- Somjintana Taveepanich and Pitchayaporn Suwanakood 2010. Controlling of phytopathogenic fungi *Fusarium* sp. using ten medicinal plant crude extracts, The 1st Kamphaengsaen International Natural Products Symposium, 23-24 October 2010, Swissotel Le Concorde Hotel Bangkok, Thailand. (ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน วช.53)

- Pitchayaporn Suwanakood and Somjintana Taveepanich 2553. Efficiency of indigenous plant extracts in Northeastern of Thailand for inhibiting the growth of the pathogen *Fusarium* sp. , การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย วทท. 36, 26-28 ตุลาคม 2553, ณ ศูนย์ประชุมไบเทค บางนา กรุงเทพ. (ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน วช.53)

- ผลงานตีพิมพ์ของผู้เสนอผลงาน

- Taveepanich, S., Muangsin, N., Saowanit, S., Pakawatchai, C., Roengsumran, S., Petsom, A., "Biotransformation of ent-kaur-16-en-19-oic acid by Absidia blakesleeana and Rhizopus oligosporus" Natural Product Research, 24 ,11(2010), 1050–1058. (ทุนโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก รุ่นที่ 6)

- Taveepanich, S., Petsom, A., Roengsumran, S., Chaichantipyuth C., Azerad R., Maurs, M., "Biotransformation of a natural *ent*-manoyl oxide derivative by filamentous fungi ", Planta medica (ทุนโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก รุ่นที่ 6) *(In press)*.

- Somjintana Taveepanich, Pitchayaporn Suwanakood and Prapatsorn Lootianan 2010. Efficiency of indigenous plant extracts in northeastern of Thailand for inhibiting the growth of the pathogen *Colletotrichum* sp., PACCON2010 Proceedings, February 2010, 154-156. (ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน วช.53)

- Somjintana Taveepanich 2553. Chemical Constituents and Antioxidant Activity from Leaves of *Careya arboria* Roxb., UBRC Proceedings, 104-112.

- Somjintana Taveepanich 2553. The Screening of Lipase Inhibitors from Indigenous Vegetables and Herbs in Northeastern of Thailand, เอกสารสืบเนื่องการประชุมวิชาการมหกรรมสมุนไพรแห่งชาติครั้งที่ 7, *(In press)*. (ทุนอุดหนุนการวิจัยของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

- Somjintana Taveepanich and Pitchayaporn Suwanakood 2010. Controlling of phytopathogenic fungi *Fusarium* sp. using ten medicinal plant crude extracts, KINS2010 Proceedings, *(In press)*. (ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน วช.53)

- Pitchayaporn Suwanakood and Somjintana Taveepanich 2553. Efficiency of indigenous plant extracts in Northeastern of Thailand for inhibiting the growth of the pathogen *Fusarium* sp., STT36 Proceedings, *(In press)*. (ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน วช.53)

- Somjintana Taveepanich, Patchalee Tumkhum and Prapatsorn Lootianan 2011. Antioxidant Activity and Total Phenolics of Edible Mushroom extracts , PACCON2011 Proceedings, February 2011. (ทุนนักวิจัยหน้าใหม่ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยไปแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

1. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมจากสารสกัดของเห็ดกินได้ (ทุนนักวิจัยหน้าใหม่ ของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ประจำปีงบประมาณ 2552) ได้ดำเนินการเสร็จสิ้นแล้ว