การตรวจวัดปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดโดยตัวทำละลายที่แตกต่างกันจากเห็ดปลูก

Investigation of phytochemical and antioxidant activity of cultivated mushroom extracts by different solvents

วีระพล บุญทวี[1], ประสงค์ สีหานาม[2*]

Weeraphol Boontawee[1], Prasong Srihanam[2*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม คอนเดนส์แทนนินรวม และซาโปนินรวม และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดปลูก 3 ชนิด ได้แก่ เห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes* (Curt. ex Fr.) Sing) เห็ดขอนขาว (*Lentinus squarrosulas* Mont.) และเห็ดฟาง (*Volvariella vovacea* (Bull. Ex. Fr.) Sing) โดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วแตกต่างกัน ผลการทดลอง พบว่า สารสกัดเอธานอลเห็ดขอนขาวมีปริมาณสารฟีนอลิกสูงที่สุด ในขณะที่สารสกัดเมธานอลมีปริมาณสารคอนเดนส์แทนนินและซาโปนินสูงที่สุด ฟลาโวนอยด์พบปริมาณมากที่สุดในสารสกัดของเห็ดฟางด้วยน้ำ เมื่อตรวจสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ด พบว่า สารสกัดเอธานอลเห็ดขอนขาวมีฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS สูงที่สุด แต่สารสกัดเห็ดฟางด้วยน้ำมีฤทธิ์การรีดิวซ์โลหะสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่า เห็ดขอนขาวและเห็ดฟาง ประกอบด้วยสารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพและอาจจะนำไปพัฒนาสารสกัดจากเห็ดเพื่อผลิตเป็นอาหารเสริมสุขภาพที่ดีได้

คำสำคัญ: สารพฤกษเคมี สารสกัด เห็ด อนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

Abstract

The objectives of this work are to investigate total phenolic content (TPC), flavonoid (TFC), condensed-tannin (CDT) and saponin (SPC) as well as antioxidation activity of 3 cultivated mushroom extracts including golden needle (*Flammulina velutipes* (Curt. ex Fr.) Sing), white log (*Lentinus squarrosulas* Mont.) and straw (*Volvariella vovacea* (Bull. Ex. Fr.) Sing) mushroom by using different polarity solvent extracts. The results found that ethanolic extract of white log mushroom had the highest TPC, while methanolic extracts of white log composed the highest of CDT and SPC. The highest of TFC was found in water extract of straw mushroom. Antioxidant activity of all extracts were investigated. The results indicated that ethanolic extract of white log mushroom had the highest scavenging activity on DPPH and ABTS radicals. The water extract of straw mushroom showed the highest metal

---

[1] นิสิตปริญญาโท, สาขาเคมีศึกษา, [2] รองศาสตราจารย์, ภาควิชาเคมีและหน่วยวิจัยเคมีสร้างสรรค์และนวัตกรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150 ประเทศไทย

[1] Master student (Education Chemistry), [2] Assoc. Prof., Department of Chemistry and Creative and Innovation Chemistry Research Unit, Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantharawichai District, Maha Sarakham 44150, Thailand.

*Corresponding author: Prasong Srihanam, Department of Chemistry and Creative and Innovation Chemistry Research Unit, Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantharawichai District, Maha Sarakham 44150, Thailand. E-mail: psrihanam@gmail.com

reducing power. This work indicated that both white log and straw mushrooms composed of health benefit substances and might be developed their extracts for good health supplement.

Keywords: phytochemical, extract, mushroom, free radical, antioxidant activity

บทนำ

อนุมูลอิสระ (free radical) เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรจึงมีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาเคมี อนุมูลอิสระส่งผลให้ส่วนประกอบต่างๆของเซลล์เสียหาย และเซลล์อาจถูกทำลายได้ในที่สุด[1] และยังส่งผลให้ร่างกายอยู่ในสภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งนำไปสู่ความผิดปกติของร่างกายและโรคเสื่อมหลายชนิด เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ ระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง และความชรา[2] การอักเสบเรื้อรัง เบาหวาน ความดัน ต้อกระจก ข้อต่ออักเสบ มาลาเลีย สะเก็ดเงิน และสมองเสื่อม[3] สภาวะเครียดออกซิเดชันยังก่อให้เกิดความไม่สมดุลและมีผลกระทบต่อสารชีวโมเลกุล โดยเฉพาะดีเอ็นเอและโปรตีนและก่อให้เกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับสารทั้งสองชนิด[4] ปัจจุบัน มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารที่ช่วยป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระเรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งเป็นสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระโดยที่โครงสร้างยังคงเสถียร พบทั้งในธรรมชาติและจากได้การสังเคราะห์[5] อย่างไรก็ตาม สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้มาจากธรรมชาติ ได้รับความนิยมมากกว่าสารสังเคราะห์ เนื่องจากเชื่อว่ามีความปลอดภัยกว่า แหล่งที่พบสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติที่สำคัญคือ พืช โดยเฉพาะผัก ผลไม้และสมุนไพร สารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แอนโธไซยานินแคโรทีนอยด์[6] เป็นต้น มีชื่อเฉพาะว่า พฤกษเคมี (phytochemical) สารเหล่านี้ยังพบว่ามีประโยชน์ต่อสุขภาพอื่นๆ อีกด้วย เช่น ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เหนี่ยวนำการเกิดมะเร็ง[7] ต้านการอักเสบ เหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์[8,9]

เห็ด (mushroom) นิยมนำมารับประทานเป็นอาหารมาตั้งแต่อดีตของผู้คนทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย สามารถนำมาทำเป็นอาหารได้ทั้งเห็ดป่าและเห็ดปลูก[10] เห็ดประกอบด้วยสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยเฉพาะกรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรต เส้นใย วิตามิน เกลือแร่ และไขมันเพียงเล็กน้อย[11] นอกจากนี้ เห็ดยังประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อร่างกาย โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่เชื่อว่าช่วยชะลอความแก่และเป็นยาอายุวัฒนะหากรับประทานเป็นประจำ[12,13] ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยมีเห็ดหลายชนิดที่ผู้คนนิยมนำมารับประทานโดยเฉพาะเห็ดที่เพาะขาย อย่างไรก็ตาม รายงานที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเห็ดที่มีจำหน่ายในท้องตลาด มีไม่มากนัก ดังนั้น งานวิจัยนี้ จึงทำการตรวจสอบปริมาณสารพฤกษเคมีบางชนิดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดบางชนิดที่มีจำหน่ายในท้องตลาด โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัด

สารเคมีและวิธีการทดลอง

สารเคมีและตัวอย่าง

สารที่ใช้ตรวจสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ได้แก่ ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazolin-6-sulphonic acid), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), TPTZ (2,4,6-Tri (2-pyridyl)-s-triazine) ซื้อจากบริษัท Sigma-Aldrich (USA), ferric chloride hexahydrate, Folin-Ciocalteu's reagent ซื้อจากบริษัท Carlo Erba (Italy), hydrochloric acid, perchloric acid, potassium persulfate, sodium acetate, sodium carbonate, sodium hydroxide, sodium nitrite, sulfuric acid, glacial acetic acid, ethanol ซื้อจากบริษัท Merck (USA), gallic acid, ursolic acid, vanillin, aescin ซื้อจากบริษัท Sigma-Aldrich (USA)

ตัวอย่างเห็ดที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes* (Curt. ex Fr.) Sing) เห็ดฟาง (*Volvariella vovacea* (Bull. Ex. Fr.) Sing) และเห็ดขอนขาว (*Lentinus squarrosulas* Mont.)

วิธีการทดลอง

การเตรียมตัวอย่างเห็ด

นำตัวอย่างเห็ดทั้งหมด มาล้างน้ำทำความสะอาด แล้วนำไปหั่นเป็นชิ้นบางๆ ตากแดดให้แห้งแล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำไปบดเป็นผง แล้วนำผงเห็ดไปเก็บไว้ในขวดพลาสติกจนกว่าจะทำการสกัด

การสกัดสารพฤกษเคมี

ทำการสกัดสารพฤกษเคมี โดยเติมตัวทำละลายที่แตกต่างกัน คือ น้ำ เมธานอล และเอธานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในผงเห็ดตัวอย่าง 5 กรัม แล้วแช่ไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการกรองเอากากออก จะได้สารสกัดหยาบ นำกากจากการกรองมาสกัดซ้ำอีกครั้งที่สภาวะเดียวกัน นำสารสกัดทั้งสองครั้งมารวมกันจะได้สารสกัดปริมาตรประมาณ 200 มิลลิลิตร แล้วนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสารแบบควบคุมความดัน (rotary evaporator) จะได้สารสกัดแห้ง สำหรับใช้วิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

การตรวจวัดสารพฤกษเคมี

ปริมาณฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม (total phenolic content; TPC) ในสารสกัดตัวอย่างตรวจวัดด้วยวิธี Folin-Ciocateu โดยดัดแปลงวิธีของ Gutfinger (1981)[14] โดยนำสารสกัดมา 1 มิลลิลิตร ผสมกับ 10% (w/v) Folin-Ciocalteu reagent (เจือจางด้วยน้ำกลั่น 10 เท่า) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติม 7.5% (w/v) Na_2CO_3 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร จากนั้นเขย่าและตั้งสารผสมไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สุดท้ายนำสารผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งแล้วนำไปหาค่าเฉลี่ย ปริมาณสารฟีนอลิกรวมแสดงค่าเป็นมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mg GAE/100 g DW)

ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid content; TFC) ในสารสกัดตัวอย่าง ตรวจวัดโดยดัดแปลงวิธีของ Jia และคณะ (1999)[15] โดยนำสารสกัดมา 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำปราศจากไอออน 0.4 มิลลิลิตร สารละลาย 5% (w/v) $NaNO_2$ ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร และ 10% (w/v) $Al(NO_3)$ ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร จากนั้นตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที แล้วเติม 4% (w/v) NaOH ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ปล่อยให้สารผสมทำปฏิกิริยากันที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที ก่อนที่จะนำสารละลายผสมไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโน-เมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis-spectrophotometer ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งแล้วนำไปหาค่าเฉลี่ย ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม แสดงในหน่วยมิลลิกรัมของเคอซิตินต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mg QE/100 g DW)

ปริมาณคอนเดนส์แทนนิน

ปริมาณคอนเดนส์แทนนิน (condensed tannin, CDT) ในสารสกัดตัวอย่าง ตรวจวัดโดยดัดแปลงวิธีของ Chupin และคณะ (2013)[16] ทำได้โดยนำ 4% vanillin (เจือจางด้วยเมธานอล) ปริมาตร 3 มิลลิลิตรและกรด HCl เข้มข้นปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เติมลงในสารสกัดหยาบ 0.5 มิลลิลิตร เก็บส่วนผสมไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis-spectrophotometer การทดลองซ้ำ 3 ครั้งแล้วนำไปหาค่าเฉลี่ย ปริมาณคอนเดนส์แทนนิน แสดงในหน่วยมิลลิกรัมของคาร์ทิชินต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mg CE/100g DW)

ปริมาณซาโปนินรวม

ตรวจวัดปริมาณซาโปนินรวม (total saponin content, TSC) ในสารสกัดตัวอย่าง โดยดัดแปลงวิธีของ Hiai, Oura, Nakajima (1976)[17] ทำได้โดยนำ 8% vanillin (เจือจางด้วยเมธานอล) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรและกรด H_2SO_4 เข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมลงในสารสกัด 0.5 มิลลิลิตร นำสารผสมไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำให้เย็นด้วยการแช่ในอ่างน้ำจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วนำส่วนผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis-spectrophotometer ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งแล้วนำไปหาค่าเฉลี่ย ปริมาณซาโปนินรวมที่ได้แสดงในหน่วยมิลลิกรัมของเอสซินต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mg Aes/100g DW)

การตรวจสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

ฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระ

ฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrythydrazyl (DPPH) ของสารสกัดจากเห็ด โดยดัดแปลงวิธีของ Thaipong และคณะ (2012)[18] ทำได้โดยนำสารสกัดจากเห็ดปริมาตร 1 มิลลิลิตรมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย 0.1 mM DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร หลังจากผสมเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis-spectrophotometer ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำค่าเฉลี่ยไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจากสมการ

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{[(\text{A517 of control} - \text{A517 of sample})}{[\text{A517 of control}]} \times 100$$

และรายงานผลเป็นฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระเทียบกับโทรลอกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด (mg TE/100g DW)

ฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระประจุบวก

ฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดจากเห็ดตรวจสอบด้วยวิธี Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) โดยดัดแปลงวิธีของ Berg และคณะ (1999)[19] โดยเตรียมอนุมูลอิสระก่อนจากการผสมระหว่าง 7 mM ABTS และ 2.45 mM $K_2S_2O_8$ ทิ้งไว้เป็นเวลา 16 ชั่วโมง แล้วทำการเจือจางสารละลายผสมให้มีค่าการดูดกลืนแสง 0.70±0.02 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร จากนั้นนำสารสกัดจากเห็ดปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายอนุมูลอิสระเจือจางปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis-spectrophotometer ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดแสดงด้วยค่ามิลลิกรัมโทรลอกซ์ต่อน้ำหนักแห้งของสารสกัด (mg TE/100g DW)

ฤทธิ์การรีดิวซ์โลหะ

ฤทธิ์การรีดิวซ์โลหะของสารสกัดตรวจสอบด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) โดยดัดแปลงวิธีของ Zhang และคณะ (2013)[20] โดยนำสารสกัดจากเห็ด 100 ไมโครลิตร ผสมกับ 3 มิลลิลิตรของสารละลาย FRAP ที่ประกอบด้วยสารละลาย 10 mM 4,6-tripryridyls-triazine (TPTZ), 300 mM acetate buffer pH 3.6, 20 mM ferric chloride ใน 40 mM HCl (อัตราส่วน 1:10:1) นำสารละลายผสมกับน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ปล่อยให้สารทำปฏิกิริยากันที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis-spectrophotometer ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ฤทธิ์การรีดิวซ์เหล็กของสารสกัดแสดงด้วยค่ามิลลิกรัมโทรลอกซ์ต่อน้ำหนักแห้งของสารสกัด (mg TG/g DW)

ผลและอภิปรายผล

Table 1 แสดงปริมาณฟีนอลิกรวมที่ตรวจวัดได้จากสารสกัดเห็ดโดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน คือ น้ำ เมธานอล และเอธานอล จากตารางจะเห็นว่า ปริมาณฟีนอลิก รวมจะแตกต่างกันตามชนิดของเห็ดและตัวทำละลายที่ใช้สกัด โดยเห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes* (Curt. ex Fr.) Sing) ที่สกัดด้วยเอธานอลมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด คือ 78.90±11.79 mg GAE/100g DW ส่วนเห็ดขอนขาว (*Lentinus squarrosulas* Mont.) Sing) ที่สกัดด้วยเอธานอลพบปริมาณสูงสุด คือ 131.25±45.42 mg GAE/100g DW และ เห็ดขอนขาว ที่สกัดด้วยเมธานอล พบปริมาณ 113.33±10.03 mg GAE/100g DW ซึ่งใกล้เคียงกับการสกัดด้วยเอธานอล ในขณะที่เห็ดฟาง (*Volvariella vovacea* (Bull. Ex. Fr.) Sing) ที่สกัดด้วยเมธานอล พบปริมาณสูงสุด คือ 100.56±5.92 mg GAE/100g DW และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างเห็ดที่นำมาทดลอง จะเห็นว่าเห็ดขอนขาว มีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าเอธานอลและเมธานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสำหรับสกัดสารฟีนอลิก

Table 2 แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่าฟลาโว-นอยด์รวมของเห็ดเข็มทอง ที่สกัดด้วยน้ำพบปริมาณสูงสุด คือ 371.62±35.10 mg QE/100g DW และสารสกัดด้วยเมธานอลและเอธานอล มีปริมาณฟลาโวนอยด์ใกล้เคียงกัน ส่วนเห็ดขอนขาว พบปริมาณฟลาโวนอยด์ค่อนข้างสูงในทุกตัวทำละลาย และพบสูงสุดในสารสกัดด้วยเมธานอล คือ 615.26±24.48 mg QE/100g DW รองลงมา คือ น้ำ (343.85±3.28 mg QE/100g DW) และเอธานอล(283.45±55.13 mg QE/100g DW) ตามลำดับ ส่วนเห็ดฟาง พบปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุดในสารสกัดด้วยน้ำ คือ 865.42±95.65 mg QE/100g DW และพบปริมาณต่ำในสารสกัดเอธานอลและเมธานอล ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างเห็ดที่นำมาทดลอง จะเห็นว่าเห็ดฟางมีปริมาณฟลาโว-นอยด์สูงที่สุดและน้ำเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัด ทั้งนี้น่าจะมาจากความมีขั้วของสารกลุ่มฟลาโว-นอยด์ ซึ่งในโครงสร้างจะมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) จำนวนมาก[21]

Table 1 total phenolic content of cultivated mushroom extracts by different solvents.

Solvents	Total phenolic content (mg GAE/100g DW)		
	Flammulina velutipes ((Curt. ex Fr.) Sing)	*Lentinus squarrosulas* Mont.	*Volvariella vovacea* ((Bull. Ex. Fr.) Sing)
Water	40.61±11.31	18.85±6.24	99.62±19.42
Ethanol	78.90±11.79	131.25±45.42	41.61±6.22
Methanol	58.58±1.90	113.33±10.03	100.56±5.92

ปริมาณคอนเดนส์แทนนินที่ตรวจพบในสารสกัดเห็ด แสดงดัง Table 3 โดยเห็ดเข็มทอง พบปริมาณสูงสุดในสารสกัดเอธานอล คือ 233.49 ± 38.86 mg CE/100g DW รองลงมา คือ สารสกัดเมธานอลและน้ำ ตามลำดับ เห็ดขอนขาว พบปริมาณคอนเดนส์แทนนินสูงสุดในสารสกัดเมธานอล คือ 351.75 ± 31.21 mg CE/100g DW ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่ตรวจพบในสารสกัดเอธานอล (346.62 ± 8.95 mg CE/100g DW) ส่วนเห็ดฟาง พบปริมาณสูงสุดในสารสกัดเมธานอล คือ 340.88 ± 67.86 mg CE/100g DW ส่วนสารสกัดเอธานอลและน้ำพบปริมาณคอนเดนส์แทนนินใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างเห็ดที่นำมาทดลอง จะเห็นว่าเห็ดขอนขาว มีปริมาณคอนเดนส์แทนนินสูงที่สุด

Table 4 แสดงปริมาณซาโปนินรวมจากสารสกัดจากเห็ดที่แตกต่างกัน เห็ดเข็มทอง ตรวจพบปริมาณสารซาโปนินรวมสูงสุดในสารสกัดเมธานอล คือ 3296.15 ± 108.76 mg Aes/100g DW รองลงมา คือ สารสกัดเอธานอล (2696.69 ± 5.49 mg Aes/100g DW) เห็ดขอนขาว พบปริมาณซาโปนินรวมสูงสุดในสารสกัดเมธา-นอล คือ 6542.94±376.39 mg Aes/100g DW รองลงมา คือ สารสกัดเอทานอล (4746.60±203.91 mg Aes/100g DW) ในขณะที่เห็ดฟาง พบปริมาณซาโปนินรวมสูงสุดในสารสกัดเมธานอล คือ 4475.30 ± 363.90 mg Aes/100g DW รองลงมา คือ สารสกัดเอธานอล (2595.56 ± 108.76 mg Aes/100g DW) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างเห็ดที่นำมาทดลอง พบว่า เห็ดขอนขาวมีปริมาณซาโปนินรวมสูงสุด รองลงมา คือ เห็ดฟางและเห็ดเข็มทอง ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องมาจากความมีขั้วของตัวทำละลายที่แตกต่างกัน น้ำมีสภาพขั้วสูงสุด ตามด้วยเมธานอล และเอธานอล แสดงว่าสารฟีนอลิกรวม คอน-เดนส์แทนนินรวมและซาโปนินรวมมีสภาพขั้วใกล้เคียงกับเอธานอล และเมธานอล จึงเป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเห็ด เพื่อตรวจสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวม คอนเดนส์แทนนินรวมและซาโปนินรวมได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sati และคณะ[22] ที่ทำการสกัดใบแปะก๊วย และ Lai และคณะ[23] ที่ทำการสกัดข้าวป่า ก็ให้ผลของตัวทำละลายในทำนองเดียวกัน ส่วนสารฟลาโว

นอยด์รวมมีความเป็นขั้วใกล้เคียงกับน้ำ จึงพบในปริมาณมากที่สุดเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

Table 2 total flavonoid content of cultivated mushroom extracts by different solvents.

Solvents	Total flavonoid content (mg GAE/100g DW)		
	Flammulina velutipes ((Curt. ex Fr.) Sing)	*Lentinus squarrosulas* Mont.	*Volvariella vovacea* ((Bull. Ex. Fr.) Sing)
Water	371.62±35.10	343.85±3.28	865.42±95.65
Ethanol	213.19±43.97	283.45±55.13	183.68±48.66
Methanol	220.93±29.32	615.26±24.48	143.91±72.92

Table 3 Total condensed tannin content of cultivated mushroom extracts by different solvents.

Solvents	Total condensed tannin content (mg GAE/100g DW)		
	Flammulina velutipes ((Curt,ex Fr.) Sing)	*Lentinus squarrosulas* Mont.	*Volvariella vovacea* ((Bull. Ex. Fr.) Sing)
Water	82.15±0.03	60.74±32.81	140.19±25.43
Ethanol	233.49±38.86	346.62±8.95	141.27±20.90
Methanol	188.96±6.59	351.75±31.21	340.88±67.86

Table 4 Total saponin content of cultivated mushroom extracts by different solvents.

Solvents	Total saponin content (mg GAE/100g DW)		
	Flammulina velutipes ((Curt,ex Fr.) Sing)	*Lentinus squarrosulas* Mont.	*Volvariella vovacea* ((Bull. Ex. Fr.) Sing)
Water	411.09±64.45	323.33±13.85	611.59±121.28
Ethanol	2696.69±5.49	4746.60±203.91	2595.56±65.00
Methanol	3296.15±108.76	6542.94±376.39	4475.30±363.90

การตรวจฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน

Table 5 แสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน จะเห็นว่าสารสกัดจากเห็ดขอนขาวด้วยเอธานอล มีฤทธิ์ดักจับอนุมูล DPPH สูงกว่าสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น รองลงมาคือสารที่สกัดด้วยเอธานอล

Table 5 Antioxidation activity of cultivated mushroom extracts.

Solvents	*Flammulina velutipes* ((Curt. ex Fr.) Sing)	*Lentinus squarrosulas* Mont.	*Volvariella vovacea* ((Bull. Ex. Fr.) Sing)
DPPH radical scavenging activity (mg TE/100 g DW)			
Water	0.09 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.06 ± 0.01
Ethanol	0.27 ± 0.01	1.75 ± 0.32	0.17 ± 0.02
Methanol	0.21 ± 0.04	0.34 ± 0.03	0.19 ± 0.02
ABTS radical scavenging activity (mg TE/100 g DW)			
Water	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.05	0.11 ± 0.01
Ethanol	0.25 ± 0.02	2.03 ± 0.54	0.15 ± 0.04
Methanol	0.16 ± 0.02	0.21 ± 0.09	1.10 ± 0.27
Ferric reducing antioxidant power (mM Fe_2SO_4/ g DW)			
Water	5.16 ± 0.25	3.40 ± 1.13	11.56 ± 1.48
Ethanol	1.02 ± 0.05	0.06 ± 0.01	3.11 ± 0.25
Methanol	3.29 ± 0.51	0.71 ± 0.08	4.95 ± 0.66

โดยภาพรวม ฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากเห็ดขอนขาวดีกว่าเห็ดเข็มทองและเห็ดฟาง ซึ่งเห็ดสองชนิดหลังมีฤทธิ์ใกล้เคียงกัน ทั้งในสารสกัดเมธานอลและน้ำ ผลการทดสอบฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระประจุบวก ABTS พบว่า สารสกัดเอธานอลจากเห็ดขอนขาวมีฤทธิ์สูงสุด รองลงมา คือ สารสกัดเมธานอลจากเห็ดฟาง ในขณะที่สารสกัดเอธานอลจากเห็ดเข็มทอง มีฤทธิ์การดักจับอนุมูล ABTS ใกล้เคียงกับสารสกัดเมธานอลจากเห็ดขอนขาว ดังนั้น จึงกล่าวได้ว่าสารสกัดจากเห็ดขอนขาวมีฤทธิ์ดักจับอนุมูลอิสระประจุบวกสูงกว่าเห็ดฟางและเห็ดเข็มทอง ทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดด้วย ซึ่งจาก งานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า ความมีขั้วของตัวทำละลายและชนิดของสารต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกันจะมีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดที่ได้[24,25]

เมื่อตรวจสอบฤทธิ์การรีดิวซ์โลหะ ด้วยวิธี FRAP พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากเห็ดทั้งสามชนิดมีฤทธิ์สูงกว่าแอลกอฮอล์ โดยสารสกัดจากเห็ดฟางมีฤทธิ์สูงสุด รองลงมา คือ เห็ดเข็มทองและเห็ดขอนขาว ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเห็ดที่นำมาตรวจสอบ พบว่าเห็ดฟางมีฤทธิ์ในการรีดิวซ์โลหะสูงกว่าเห็ดชนิดอื่นในทุกสารสกัด

สรุปผลการทดลอง

เห็ด ประกอบด้วยสารพฤกษเคมีหลายชนิด ซึ่งปริมาณจะแตกต่างไปตามชนิดของเห็ดและตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ในบรรดาเห็ดปลูกที่มีจำหน่ายในท้องตลาดที่ศึกษาในครั้งนี้ เห็ดขอนขาวมีปริมาณฟีนอลิกรวม คอนเดนส์แทนนินรวมและซาโปนินรวมสูงที่สุด ในขณะที่เห็ดฟางมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวทำละลายที่ใช้สกัด เอธานอล คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพฤกษเคมีได้ปริมาณมากที่สุด อย่างไรก็ตาม เมธานอล ก็เป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารพฤกษเคมีจากเห็ดได้ดีเช่นกัน นอกจากนี้ สารสกัดเอธานอลและเมธานอลมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ดี ยกเว้น ฤทธิ์การรีดิวซ์โลหะ เนื่องจากสารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ดีที่สุด ดังนั้น การรับประทานเห็ดจึงมีประโยชน์ต่อร่างกายและอาจสามารถนำสารสกัดจากเห็ดไปประยุกต์ใช้เพื่อสุขภาพที่ดีได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำการวิจัย รวมทั้งขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการที่ให้คำปรึกษาในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. Lionis C, Faresjo A, Skoula M, Kapsoke-falou M, Faresjo T. Antioxidant effects of herbs in Crete. The Lancet 1998;352:1987-1988.
2. Al-Shoaibi Z, Al-Mamary MA, Al-Habori MA, Al-Zubairi A, Abdelwahab SI. *In vivo* antioxidative and hepatoprotective effects of palm deat fruits (Phoenix dactylifera). Int J Pharmacol 2012;8:185-191.
3. Tsao R, Deng Z. separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemical. J Chromatogr B 2004;812:85-99.
4. Alam B, Hossain S, Habib R, Rea J, Islam A. Antioxidant and analgesic activities of *Lannea coromandelica* Linn. bark extract. Int J Pharmacol 2012;8:224-233.
5. Suhaj M. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: A review. J Food Compos Anal 2006;19:513-537.
6. Alghazeer R, El-Saltain H, Saleh N, Al-Najjar A, Hebail F. Antioxidant and antibacterial properties of five medicinal Libyan plants extracts. Nat Sci 2012;4:324-335.
7. Hasaniya N, Youn K, Xu M, Hernaez J, Dashwood R. Inhibitory activity of green and black tea in a free radical-generation system using 2-amino-3-methylimidazoquinolone as substrate. JPN J Cancer Res 1997;88:553-558.
8. Floegel A, kimb DO, Chung SJ, Koo SI Chun OK. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. J Food Compos Anal 2011;24:1043-1048.
9. Mäkynen K, Jitsaardkul S, Tachasamran P, Sakai N, Puranachoti S, Nirojsinlapachai N, Chattapat V, Caengprasath N, Ngamukote S, Adisakwattana S. Cultivar variations in antioxidant and antihyperlipidemic properties of pomelo pulp (*Citrus grandis* [L.] osbeck) in Thailand. Food Chem 2013;139:735-743.
10. Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. Food Chem 2003;81(2):249-255.
11. Ferreira ICFR, Barros L, Abreu RMV. Antioxidant in wild mushrooms. Curr Med Chem 2009;16: 1543-1560.
12. Lin S, Ching LT, Chen J, Cheung PCK. Antioxidant and anti-angiogenic effects of mushroom phenolics-rich fractions. J Funct Foods 2015;17:802-815.
13. Gutfinger T. Polyphenols in olive oils. JAOCS 1981;58(11): 966-968.
14. Jia Z, Tang MC, Wu JM. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem 1999;64(4):555-559.
15. Chupin CF, Motillona EB, Charrier A, Pizzi B Charrier. Characterisation of maritimepine (Pinuspinaster) bark tannins extracted under different conditions by spectroscopic methods, FTIR and HPLC. Ind Crop Prod 2013;49:897-903.
16. Hiai S, Oura H, Nakajima T. Color reaction of some sapogenins and saponins with vanillin and sulfuric acid. Planta Medica 1976;29:116–122.
17. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. J Food Compos Anal 2012;19:669-675.
18. Berg R, Haenen G, Berg H, Bast A. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity

measurements of mixtures. Food Chem 1999;66:511-517.

19. Zhang R, Zeng Q, Deng Y, zang M, Wei Z, Zhang Y, Tang X. Phenolic profiles and antioxidant activity of litchi pulp of different cultivars cultivated in Southern China. Food Chem 2013;136:1169-1176.
20. Jia Z, Tang MC, Wu JM. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem 1999;64(4):555-559
21. Sati P, Pandey A, Rawat S, Rani A. Phytochemicals and antioxidants in leaf extracts of Ginkgo biloba with reference to location, seasonal variation and solvent system. J Philos Res 2013;7:804-809.
22. Lai P, Li KY, Lu S, Chen H. Phytochemical and antioxidant properties of solvent extracts from Japonica rice bran. Food Chem 2009;117:538-544.
23. Lafka TI, Sinanoglou V, Lazos ES. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. Food Chem 2007;104:1206-1214.
24. Pinelo M, Rubilar M, Jerez M, Sineiro J, Núñez MJ. Effect of solvent, temperature, and solvent-to solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace, J Agr Food Chem 2005;53:2111–2117.