

การตรวจหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของเห็ดป่าบริโภคได้
สี่ชนิดจากตลาดชุมชนในจังหวัดเลย

DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC AND FLAVONOID
CONTENTS, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF
FOUR WILD EDIBLE MUSHROOMS FROM THE COMMUNITY
MARKET IN LOEI PROVINCE

พัทวัฒน์ สีขาว* โสธิดา ราชนินตา นฤมล เกื่อนกุล และ ปณิตาน สุระยศ
Pattawat Seekhaw*, Sothida Rachinta, Naruemol Thurnkul, and Panitan Surayot
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University
*corresponding author e-mail: pattawat_apsc@hotmail.com

(Received: 16 April 2020 ; Revised: 26 June 2020 ; Accepted: 26 July 2020)

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เพื่อตรวจหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม (TPC และ TFC) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากสารสกัดเอทานอลของเห็ดป่ากินได้ 4 ชนิดที่ซื้อจากตลาดชุมชนในจังหวัดเลย ได้แก่ เห็ดผึ้งเหลือง (*Boletus* sp.) เห็ดผึ้งน้ำคราม (*Boletellus* cf. *emodensis*) เห็ดผึ้งไซ (*Pulveroboletus* sp.) และเห็ดผึ้งแยะ (*Tylopilus* sp.) วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu และ Aluminum chloride colorimetric ตามลำดับ ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดจากเห็ดผึ้งเหลืองมีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 61.69 ± 0.35 mg GAE/g และ 54.45 ± 0.93 mg RUE/g ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตรวจสอบด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) พบว่าสารสกัดเห็ดผึ้งเหลืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยวิธี DPPH และ ABTS มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.26 ± 0.01 และ 1.33 ± 0.07 mg/ml ตามลำดับ ส่วนวิธี FRAP มีค่าการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 33.14 ± 0.29 FeSO₄/g extract นอกจากนี้ยังทำการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion พบว่า สารสกัดเห็ดผึ้งเหลืองแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* *Staphylococcus aureus* *Escherichia coli* และ *Proteus vulgaris* ที่ความเข้มข้น 5.0 mg/ml จึงสามารถกล่าวโดย

สรุปได้ว่าเห็ดผึ้งป่าทั้ง 4 ชนิดนี้เป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์และเป็นอาหารมีคุณค่าทางโภชนาการ

คำสำคัญ: เห็ดป่ากินได้ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

Abstract

The present study determines the total phenolic and flavonoid contents (TPC and TFC), antioxidant and antibacterial activities from the ethanol extract of four wild edible mushrooms bought from the community market in Loei Province: *Boletus* sp., *Boletellus* cf. *emodensis*, *Pulveroboletus* sp. and *Tylopilus* sp. The total phenolic and flavonoid contents were evaluated by using Folin–Ciocalteu and aluminum chloride colorimetric methods, respectively. The result indicated that the extract of *Boletus* sp. extract showed the highest of TPC and TFC, which was 61.69 ± 0.35 mg GAE/g extract and 54.45 ± 0.93 mg RUE/g extract, respectively. The antioxidant activities of the extracts were investigated by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods. It was found that *Boletus* sp. extract exhibited the highest antioxidant activities. The IC_{50} value by DPPH and ABTS assay were 0.26 ± 0.01 and 1.33 ± 0.07 mg/ml, respectively and the FRAP assay exhibited antioxidant value of 33.14 ± 0.29 FeSO₄/g extract. In addition, the antibacterial activity was tested by disc diffusion method. The *Boletus* sp. extract inhibited *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Proteus vulgaris* at concentration of 5 mg/ml. In conclusion, four selected wild bee mushroom will be considered as a source of beneficial bioactive compounds and nutritious food.

Keywords: Wild edible mushroom, Phenolic, Flavonoid, Antioxidant activity, Antibacterial activity

บทนำ

เห็ด เป็นทรัพยากรชีวภาพที่มีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศป่าไม้ จัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในอาณาจักรรา และมีความสำคัญต่อวิถีชีวิตชุมชนของคนไทยมาช้านาน เนื่องจากถูกนำมาใช้เป็นอาหารและยารักษาโรค เห็ดเป็นอาหารที่อุดมไปด้วยสารอาหารที่สำคัญหลายชนิด เช่น

คาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโน เส้นใย วิตามิน เกลือแร่ เป็นต้น (Bernas et al., 2006; Valverde et al., 2014) ปัจจุบันเห็ดได้รับความนิยมนิยมจากผู้บริโภคเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะกลุ่มผู้รักสุขภาพ เนื่องด้วยรสชาติที่เฉพาะตัวของเห็ดและคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย จากคุณสมบัติอันโดดเด่นของเห็ดได้มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น คุณสมบัติต้านมะเร็ง ป้องกันภาวะไขมันในเลือดสูง ฤทธิ์ยับยั้งสารพิษ ลดระดับน้ำตาลในเลือด ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ภูมิคุ้มกันบำบัด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น (Kumar et al., 2015) โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นฤทธิ์ที่มีความสำคัญในการช่วยป้องกันและรักษาโรคได้หลากหลายชนิด ซึ่งก่อนหน้านี้อีกมีการรายงานแหล่งของพืชที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่ว่าจะเป็นผัก ผลไม้ รวมถึงข้าว (กุลวดี และคณะ, 2562) ที่เป็นอาหารหลักของคนไทย เห็ดที่มีจำหน่ายในท้องตลาดส่วนมากเป็นเห็ดเพาะเลี้ยงหรือเป็นเห็ดที่นำเข้ามาจากต่างประเทศมีราคาค่อนข้างสูง ในขณะที่ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทยยังมีเห็ดป่าบริโภคได้หลากหลายสายพันธุ์ ซึ่งเป็นที่นิยมบริโภคตามภูมิกษณภูมิภาคนั้นๆ แต่การบริโภคและจำหน่ายก็ยังมีอยู่ในวงจำกัด เนื่องจากเห็ดป่ายังไม่เป็นที่รู้จักของผู้บริโภคมากนัก และบริโภคได้เฉพาะบางฤดูกาลเท่านั้น

เห็ดผึ้ง (Bolete mushroom) เป็นเห็ดป่าที่รู้จักกันอย่างกว้างขวางทั่วทุกภาคของประเทศไทย จัดอยู่ในวงศ์ Boletaceae เป็นเห็ดที่ทรงร่ม สร้างสปอร์ในรูใต้หมวกเห็ด ดอกเห็ดมีลักษณะอ่อนนุ่ม ก้านดอกติดกับหมวกเห็ดบริเวณกลางหมวกเห็ด ใต้ก้านหมวกดอกจะเป็นฟองน้ำ มีรูพรุนคล้ายรังผึ้ง (สิริลักษณ์ และคณะ, 2553) ลักษณะพิเศษของเห็ดผึ้งทุกชนิด คือ เมื่อนำไปทำอาหาร ฆ่าเห็ดจะออกหวานกรูบกรอบ ส่วนดอกเห็ดจะออกยุ่ย นุ่มลิ้น และมีรสชาติหวาน เห็ดผึ้งไม่มีกลิ่น ชอบออกในป่ารกที่ใบไม้โคนต้นไม้เป็นกลุ่มหรือเป็นหมู่ ที่ผ่านมามีงานวิจัยหลายฉบับได้มีการสำรวจความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดป่าในแต่ละพื้นที่ในประเทศไทย เช่น การศึกษาของ เทพอัปสร (2560) รายงานว่าพบเห็ด 25 ชนิดในพื้นที่วนอุทยานภูเขาไฟกระโดง ของจังหวัดบุรีรัมย์ มลธิรา และคณะ (2549) ทำการสำรวจในบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าดอยเวียงหล้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน พบเห็ดตราถึง 200 ตัวอย่าง เป็นต้น ในพื้นที่ของประเทศไทยที่จึงเป็นแหล่งของเห็ดป่าบริโภคได้ที่สำคัญ แต่รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดป่าก็ยังไม่แพร่หลาย ก่อนหน้านี้มีการรายงานเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดป่าในประเทศไทย เช่น น้ำฝน และถนอมมณฑล (2557) ศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม (วิธี Folin-Ciocalteu) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (วิธี DPPH) ของเห็ดป่า 5 ชนิด ได้แก่ เห็ดตับเต่า (*Thaeogyroporus porentosus*) เห็ดไข่ (*Amanita princeps*) เห็ดไคไล (*Russula virescens*) เห็ดถ่านใหญ่ (*Russula nigricans*) และเห็ดแดงน้ำหมาก (*Russula emetica*) โดยทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย น้ำเมทานอล และเอทิลอะซิเตท พบว่าสารจากเห็ดไข่ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 0.01 mg/ml โดยคุณสมบัติการยับยั้งอนุมูลอิสระ

เป็นไปในทิศทางเดียวกับค่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงสุด มีค่าเท่ากับ 67.91 mg GAE/g extract นอกจากนี้พบว่าเห็ดป่าจากพื้นที่สงวนชีวมณฑลสะแกกราช 9 ชนิด ได้แก่ เห็ดระโงกขาว (*Amanita princeps* Corner & Bas.) เห็ดระโงกเหลือง [*A. hemibapha* (Berk. et Br.) Sacc. subsp. *javanica* Corner et Bas.] เห็ดน้ำแป้ง (*Russula alboareolata* Hongo) เห็ดตะไคล (*R. delica* Fr.) เห็ดน้ำหมาก (*R. luteotacta* Rea.) เห็ดหล่มหมวกเขียว (*R. aeruginea* Lindbl.) เห็ดขมมันเล็กหรือเห็ดมันปูเล็ก (*Cantharellus minor* Peck.) เห็ดขมมันใหญ่ [*Craterellus oderatus* (Schw.) Fr.] และเห็ดบดหรือเห็ดกลมหรือเห็ดกระด้าง (*Lentinus polychrous* Lev.) พบสารไลโคปีน บีต้า-แคโรทีน คลอโรฟิลล์ และฟีนอลิก ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ และยังพบว่าเห็ดเหล่านี้ยังสามารถช่วยเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์โปรไบโอติกให้มีจำนวนเพิ่มขึ้นอีกด้วย (চারতিথ্য และธนากร, 2559)

ด้วยคุณประโยชน์ของเห็ดป่าที่ได้กล่าวมาเบื้องต้น งานวิจัยครั้งนี้จึงสนใจศึกษาเห็ดป่าบริเวณใต้ที่พบในพื้นที่ประเทศไทย คือ เห็ดผึ้งป่า จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เห็ดผึ้งเหลือง (*Boletus* sp.) เห็ดผึ้งน้ำคราม (*Boletellus* cf. *emodensis*) เห็ดผึ้งไซ (*Pulveroboletus* sp.) และเห็ดผึ้งแยม (*Tylopilus* sp.) ซึ่งมีวางจำหน่ายในพื้นที่ตลาดหมู่บ้านน้ำเย็น ตำบลกกสะทอน อำเภอด่านซ้าย จังหวัดเลย เพื่อหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) และฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เพื่อจะเป็นข้อมูลเบื้องต้นทางด้านโภชนาการที่เป็นประโยชน์แก่ผู้นิยมบริโภคเห็ดป่าได้ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างเห็ดผึ้ง

ชื่อตัวอย่างเห็ดผึ้งป่า จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เห็ดผึ้งเหลือง (*Boletus* sp.) เห็ดผึ้งน้ำคราม (*Boletellus* cf. *emodensis*) เห็ดผึ้งไซ (*Pulveroboletus* sp.) และเห็ดผึ้งแยม (*Tylopilus* sp.) ในวันที่ 17 พฤษภาคม พ.ศ. 2560 จากตลาดหมู่บ้านน้ำเย็น ตำบลกกสะทอน อำเภอด่านซ้าย จังหวัดเลย โดยลักษณะของเห็ดตัวอย่างทั้ง 4 ชนิด ดังภาพที่ 1 จากนั้นนำตัวอย่างเห็ดสดมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 °C แล้วบดให้ละเอียด

น้ำกลั่น) 12.5 μ l ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายความเข้มข้น 7.5% w/v ของโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 125 μ l เติมน้ำกลั่น 100 μ l ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 90 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท คำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (Milligram gallic acid equivalent/gram of extract, mg GAE/g extract) ซึ่งคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกที่สร้างจากสมการถดถอยเชิงเส้น (linear regression)

5. การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Phattayakon et al. (2016) โดยปิเปตต์สารสกัดตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1.00 mg/mL 125 μ l ใส่ลงในไมโครเพลท 96 หลุม เติมน้ำกลั่นความเข้มข้น 5% w/v ของโซเดียมไนไตรต์ (NaNO_2) 12.5 μ l ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที และเติมน้ำกลั่นความเข้มข้น 10% w/v ของอะลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl_3) 37.5 μ l จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของรูทีนต่อกรัมของสารสกัด (Milligram rutin equivalents/gram of extract, mg RUE/g extract) ซึ่งคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารรูทีนที่สร้างจากสมการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression)

6. การศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้วิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี ดังนี้

6.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazylradical (DPPH) เป็นอนุมูลอิสระ ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Vararat et al. (2010) โดยปิเปตต์สารสกัดตัวอย่าง 100 μ l ใส่ลงในไมโครเพลท 96 well เติมน้ำกลั่น 0.2 mM DPPH 100 μ l ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับเห็ดฝ้าที่สามารรถต้านอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) จากกราฟ

6.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) เป็นอนุมูลอิสระ ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Pang et al. (2018) โดยปิเปตต์สารสกัดตัวอย่าง 20 μ l ใส่ลงในไมโครเพลท 96 well เติมน้ำกลั่น ABTS เข้มข้น 7 mM 180 μ l ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับเห็ดฝ้าที่สามารรถต้านอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) จากกราฟ

6.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing ability power (FRAP) ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Kaur et al. (2017) โดยบีเบดสารสกัดตัวอย่าง 20 μ l ใส่ลงในไมโครเพลท เติม FRAP reagent 180 μ l ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ซึ่งคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต ที่สร้างจากสมการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression)

7. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากเห็ดผึ้งในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากเห็ดผึ้งในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Bhargava et al. (2012) โดยเพาะเลี้ยง *Bacillus subtilis* *Staphylococcus aureus* *Escherichia coli* และ *Proteus vulgaris* ในอาหาร nutrient broth (NB) แล้วนำไปปั่นด้วยตุ้มเพาะเชื้อแบบเขย่า (shaking incubator) อุณหภูมิ 37 °C ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปปรับความขุ่นให้มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland standard No.0.5 ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากเห็ดผึ้งในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคโดย Swab แบคทีเรียทดสอบบนผิวหน้าอาหาร Mueller–Hinton agar (MHA) วางแผ่น Paper disc บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA หยดสารสกัดหยาบจากเห็ดผึ้งความเข้มข้น 5.0 mg/ml ปริมาตร 20 μ l ลงบนกระดาษ Paper disc โดยมี Negative control คือ 98% ethanol และ Positive control คือ 1.25 mg/ml Chloramphenicol นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (Inhibition zone)

8. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลผลการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (n=3) ทำการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าทางสถิติ ซึ่งข้อมูลที่ได้รับมีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (ANOVA) และความแตกต่างระหว่างตัวอย่างถูกกำหนดด้วยการทดสอบด้วยวิธี Multiple range ของ Duncan โดยใช้โปรแกรม SPSS version 22 ซึ่งค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มที่มีตัวอักษรต่างกัน (a-d) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$

ผลการวิจัย

1. ผลการเตรียมสารสกัดหยาบเห็ด

จากการสกัดเห็ดผึ้งป่าทั้ง 4 ชนิด ด้วยตัวทำละลายเอทานอลและนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบสุญญากาศโดยลดความดันได้สารสกัดหยาบ

เอทานอลของเห็ดผึ้ง ได้แก่ เห็ดผึ้งเหลือง เห็ดผึ้งน้ำคราม เห็ดผึ้งไซ และเห็ดผึ้งแยะ (หน้า 5.48 5.33 4.41 และ 1.97 g ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็น 10.96 10.66 8.82 และ 3.94% ของน้ำหนักเห็ดแห้ง

2. ผลการศึกษาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม

ผลการหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมของสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดผึ้งป่า 4 ชนิด ได้แก่ เห็ดผึ้งเหลือง เห็ดผึ้งน้ำคราม เห็ดผึ้งไซ และเห็ดผึ้งแยะ ซึ่งสามารถคำนวณได้จาก สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกและสารมาตรฐานรูทีน โดยสมการเส้นตรงที่ได้ คือ $y = 4.1663x + 0.0199$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.998 และ $y = 1.6015x + 0.0256$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.999 ตามลำดับ โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่าง ความเข้มข้น 1.00 mg/mL พบว่าสารสกัดเห็ดผึ้งป่าทั้ง 4 ชนิด มีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ รวมอยู่ในช่วง $4.25 \pm 0.09 - 61.69 \pm 0.35$ mg GAE/g extract และ $15.67 \pm 1.03 - 54.45 \pm 0.93$ mg RUE/g extract ตามลำดับ โดยเห็ดผึ้งเหลืองมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด รองลงมา คือ เห็ดผึ้งแยะ เห็ดผึ้งน้ำคราม และเห็ดผึ้งไซ ตามลำดับ ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่าสารสกัดเห็ดผึ้ง เหลืองมีปริมาณสูงที่สุด รองลงมา คือ เห็ดผึ้งแยะ เห็ดผึ้งไซ และเห็ดผึ้งน้ำคราม ตามลำดับ ดังตาราง ที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมจากสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดผึ้ง 4 ชนิด

| สารสกัดหยาบเอทานอล ของเห็ดผึ้งป่า | ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g extract) | ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mg RUE/g extract) |
|--------------------------------------|--|---|
| เห็ดผึ้งเหลือง | 61.69 ± 0.35^d | 54.45 ± 0.93^d |
| เห็ดผึ้งน้ำคราม | 4.82 ± 0.04^c | 15.67 ± 1.03^d |
| เห็ดผึ้งไซ | 4.25 ± 0.09^d | 22.19 ± 2.12^c |
| เห็ดผึ้งแยะ | 57.12 ± 0.70^b | 27.30 ± 1.26^b |

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกันในแนวตั้ง หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดผึ้งป่าทั้ง 4 ชนิด ด้วยวิธีที่แตกต่างกันทั้ง 3 วิธี คือ DPPH ABTS และ FRAP ที่ให้ค่าการทดสอบที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 2 เมื่อพิจารณาข้อมูลจากตารางพบว่า การทดสอบด้วยวิธี DPPH สารสกัดเห็ดผึ้งป่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งรายงานอยู่ในรูปของ IC_{50} มีค่าอยู่ในช่วง $0.26 \pm 0.01 - 2.61 \pm 0.11$ mg/ml โดยสารสกัดเห็ดผึ้งเหลืองมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.26 ± 0.01 mg/ml รองลงมา คือ สารสกัดจากเห็ดผึ้งแยะ เห็ดผึ้งไซ และเห็ดผึ้งน้ำคราม ตามลำดับ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ซึ่งรายงานในรูปของ IC₅₀ เช่นเดียวกับการทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดเห็ดผึ้งป่าทั้ง 4 ชนิด มีค่า IC₅₀ อยู่ในช่วง 1.33±0.07–3.10±0.07 mg/ml โดยสารสกัดเห็ดผึ้งเหลืองมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 1.33±0.07 mg/ml รองลงมา คือ สารสกัดจากเห็ดผึ้งแยะ เห็ดผึ้งไซ และเห็ดผึ้งน้ำคราม ตามลำดับ ส่วนความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP รายงานค่าโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ FeSO₄ โดยสมการเส้นตรงที่ได้ คือ $y = 12.836x + 0.04$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.995 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่างความเข้มข้น 1.00 mg/ml พบว่าสารสกัดเห็ดผึ้งป่าทั้ง 4 ชนิด มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 8.71±0.02–33.14±0.29 mg FeSO₄/g extract โดยเห็ดผึ้งเหลืองมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 33.14±0.29 mg/ml รองลงมา คือ สารสกัดจากเห็ดผึ้งแยะเห็ดผึ้งไซและเห็ดผึ้งน้ำคราม ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดผึ้ง 4 ชนิด ด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP

| สารสกัดหยาบเอทานอล ของเห็ดผึ้งป่า | DPPH assay IC ₅₀ (mg/ml) | ABTS assay IC ₅₀ (mg/ml) | FRAP assay (mg FeSO ₄ /g extract) |
|--------------------------------------|--|--|---|
| เห็ดผึ้งเหลือง | 0.26±0.01 ^d | 1.33±0.07 ^c | 33.14±0.29 ^a |
| เห็ดผึ้งน้ำคราม | 2.61±0.11 ^a | 3.10±0.07 ^o | 8.71±0.02 ^d |
| เห็ดผึ้งไซ | 2.01±0.06 ^b | 3.00±0.05 ^o | 12.50±0.03 ^c |
| เห็ดผึ้งแยะ | 0.63±0.01 ^c | 2.31±0.06 ^b | 19.09±0.27 ^b |

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกันในแนวตั้ง หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p > 0.05)

4. ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดหยาบเอทานอลจากเห็ดผึ้ง จำนวน 4 ชนิด ที่มีความเข้มข้น 5.00 mg/ml บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยวิธี Disc diffusion method พบว่าสารสกัดเห็ดผึ้งเหลืองสามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด คือ เห็ดผึ้งเหลืองสามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* *Staphylococcus aureus* *Escherichia coli* และ *Proteus vulgaris* เห็ดผึ้งน้ำครามสามารถยับยั้ง *Bacillus subtilis* *Proteus vulgaris* และ *Staphylococcus aureus* เห็ดผึ้งไซสามารถยับยั้ง *P. vulgaris* ส่วนเห็ดผึ้งแยะไม่ออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดเหยาบเอทานอลของเห็ดผึ้ง 4 ชนิด

| สารสกัดเหยาบเอทานอล ของเห็ดผึ้ง (5.0 mg/ml) | เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (mean±SD; มิลลิเมตร) | | | |
|--|---|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | <i>B. subtilis</i> | <i>S.aureus</i> | <i>E.coli</i> | <i>P. vulgaris</i> |
| 1.25 mg/ml | 26.30±1.25 ^a | 33.00±0.00 ^a | 36.00±0.00 ^a | 35.50±0.00 ^a |
| Chloramphenicol | | | | |
| 98% ethanol | 8.00±0.50 ^c | 7.50±1.00 ^c | 8.00±0.00 ^c | 8.30±0.25 ^d |
| เห็ดผึ้งเหลือง | 12.50±1.00 ^b | 10.00 ±0.00 ^b | 9.50±0.50 ^b | 11.00±0.00 ^b |
| เห็ดผึ้งน้ำคราม | 11.00±0.00 ^b | 8.75±0.75 ^{bc} | 8.00±0.00 ^c | 9.00±0.00 ^c |
| เห็ดผึ้งไซ | 8.00±0.00 ^c | 7.50±0.0 ^c | 8.00±0.00 ^c | 9.75±0.75 ^c |
| เห็ดผึ้งแฉ้ | 8.00±0.00 ^c | 7.50±0.0 ^c | 8.25±0.25 ^c | 8.00±0.00 ^d |

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกันในแนวตั้ง หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

อภิปรายผล

การศึกษาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดเห็ดผึ้งป่า 4 ชนิด จากจังหวัดเลย โดยสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล คิดเป็นร้อยละผลผลิต (%yield) ของน้ำหนักสารสกัดเหยาบจากน้ำหนักเห็ดผึ้งแห้งแต่ละชนิด พบว่าเห็ดผึ้งเหลือง ได้ %yield สูงสุด (10.96%) รองลงมา คือ เห็ดผึ้งน้ำคราม (10.66%) เห็ดผึ้งไซ (8.82%) และเห็ดผึ้งแฉ้ (3.94%) ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดเหยาบที่ได้ไปหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม พบว่าเห็ดผึ้งป่าทั้ง 4 ชนิด มีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมที่แตกต่างกัน โดยเห็ดผึ้งเหลืองมีปริมาณสูงสุดเมื่อเทียบกับเห็ดผึ้งอีก 3 ชนิด การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทดสอบที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ DPPH ABTS และ FRAP พบว่าสารสกัดจากเห็ดผึ้งทั้งหมดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันเช่นกัน โดยพบว่าสารสกัดเห็ดผึ้งเหลืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดเห็ดผึ้งอีก 3 ชนิด จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า เห็ดผึ้งทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวเป็นแหล่งของสารกลุ่มฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และยังแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีอีกด้วย เมื่อปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระก็สูงตามไปด้วยสอดคล้องกับ Choi et al. (2005) รายงานว่า สารสกัดเหยาบเอทานอลของเห็ดบริโภคได้ 8 ชนิดในประเทศเกาหลี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH และ ABTS) ที่ดี โดยสารสกัดเห็ด *Ganoderma lucidum* และ *Pleurotus eryngii* แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพมากที่สุด และยังพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งให้เห็นว่าฟีนอลิกในสารสกัดจากเห็ดมีบทบาทสำคัญในการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่นเดียวกับ Rahimah et al.

(2019) รายงานว่าสารสกัดเห็ดทานอของเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) สดและแห้งตรวจพบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิก แทนนิน ซาโปนิน แอลคาลอยด์ และสเตอรอยด์ มีปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ABTS และ H_2O_2) ที่สูง แสดงถึงแนวโน้มว่าเห็ดชนิดนี้จะมีคุณสมบัติในการบำบัดรักษาโรคได้ Gan et al. (2013) ก็ยังพบว่าสารสกัดของเห็ดกระดุมหรือเห็ดแชมปิยอง (*Agaricus bisporus*) และเห็ดบราซิล (*Agaricus brasiliensis*) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์เชิงบวกของการออกฤทธิ์ต่อปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม และ Azieana et al. (2017) ได้ตรวจหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเห็ดป่าของประเทศมาเลเซีย 10 ชนิด (DPPH และ FRAP) มีปริมาณฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วง 0.015–0.075 mgGAE/g extract และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมอยู่ในช่วง 0.025–0.131 mg QE/g extract มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในช่วง 2–57%) และ FRAP มีค่าในช่วง 0.859–2.929 μ M TE/g extract ทั้งยังแสดงให้เห็นความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดผึ้งป่าครั้งนี้ ใช้วิธีทดสอบที่มีกลไกแตกต่างกันได้ให้ผลการแสดงฤทธิ์ที่มีแนวโน้มสอดคล้องเป็นไปในแนวทางเดียวกันทั้ง 3 วิธี และยังแสดงให้เห็นว่าสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์จากเห็ดผึ้งทั้ง 4 ชนิดนี้ มีบทบาทสำคัญต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ผลการวิจัยยังพบว่า เห็ดผึ้งเหลืองสามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* *Staphylococcus Escherichia coli* และ *Proteus vulgaris* เห็ดผึ้งน้ำครามสามารถยับยั้ง *Bacillus subtilis* *Proteus vulgaris* และ *Staphylococcus aureus* เห็ดผึ้งไซสามารถยับยั้ง *P. vulgaris* ส่วนเห็ดผึ้งแฉ้ไม่ออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด และยังพบว่าเห็ดผึ้งเหลืองที่มีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมสูง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสูงสุดด้วยเช่นกัน สอดคล้องกับผลการศึกษาของ มลธิรา และคณะ (2562) ที่พบว่าสารสกัดหยาบของดอกเห็ดถั่งเช่ามีปริมาณสารฟีนอลิก และฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง ส่งผลให้ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนดอกยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากเส้นใย เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์กับฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียพบว่า มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือ สารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มากจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อได้ดี สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mercan et al. (2006) พบว่าสารสกัดเห็ดทานอของเห็ด *Lepista nuda* (Bull.) Cooke แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 7 ชนิด ได้แก่ *Micrococcus flavus* *Micrococcus luteus* *Bacillus cereus* *Yersinia enterocolitica* *Staphylococcus aureus* *Salmonella enteritidis* และ *Escherichia coli*. แต่ไม่ได้แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *Candida albicans* โดยแสดงผลให้เห็นความสัมพันธ์เชิงบวกของฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีต่อปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์จากการศึกษาของ Turkoglu et al. (2007) พบว่าสารสกัดเห็ดทานอของเห็ดหล่มขาว (*Russula*

delica Fr.) แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก 6 ชนิด แกรมลบ 7 ชนิด และยีสต์อีก 1 ชนิด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่สูงเช่นกัน ก่อนหน้านี้ Stojković et al. (2015) ได้รายงานว่ามีสารสกัดเห็ดของเห็ดผึ้ง (*Boletus aereus* Bull.) ในประเทศเซอร์เบียมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *E. coli* (ATCC 35210) *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311) *Enterobacter cloacae* (ATCC 35030) *S. aureus* (ATCC6538) *Bacillus cereus* (clinical isolate) *Micrococcus flavus* (ATCC 10240) และ *Listeria monocytogenes* (NCTC 7973) และมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* (1022) *A. ochraceus* (ATCC12066) *A. versicolor* (ATCC 11730) *A. niger* (ATCC 6275) *Penicillium funiculosum* (ATCC36839) *P. ochrochloron* (ATCC 9112) *P. aurantiogriseum* และ *Trichoderma viride* (IAM 5061) จากการรวบรวม เปรียบเทียบข้อมูลที่ได้รายงานก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่พบในสารสกัดเห็ดผึ้งมีบทบาทสำคัญต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ดังนั้นเห็ดผึ้งทั้ง 4 ชนิด จึงมีศักยภาพที่เหมาะสมในการเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและยังสามารถที่จะพัฒนาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและการแพทย์ต่อไป

สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบข้อมูลพื้นฐานของสารสกัดเห็ดจากเห็ดของเห็ดผึ้งป่าบริเวณใต้ทั้ง 4 ชนิด เป็นแหล่งของสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยพบว่าสารสกัดจากเห็ดผึ้งเหลืองเป็นเห็ดที่มีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดในทุกวิธีที่ใช้ในการทดสอบ (DPPH ABTS และ ABTS) รวมถึงยังสามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* *Staphylococcus aureus* *Escherichia coli* และ *Proteus vulgaris* ซึ่งจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในการบริโภคเพื่อสุขภาพได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาเคมีและสาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือในการศึกษาวิจัย จนสำเร็จจนลุล่วงได้ด้วยดี ขอขอบคุณ ดร.สันฐิติ วัฒนราชฎ์ ศูนย์วิจัยด้านความหลากหลายของจุลินทรีย์และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ระบุชนิดตัวอย่างเห็ดที่ใช้ในการทดลอง และขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพรัตน์ วรรณเทศ อาจารย์ประจำสาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ให้ความอนุเคราะห์แนะนำให้คำปรึกษาข้อมูลการเกี่ยวกับเห็ดที่ใช้ในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- กาญจนา เสือมัน, สไมพร ปักยี, อภิญญา อาบสุวรรณ, รพีกร ฉลองสัพพัญญู, ภรภัทร สำอางค์, ปนัดดา จันทร์เนย, และกุลวดี ปิ่นวัฒนะ. (2562). การวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวหอมดอกมะลิ 105. *PSRU Journal of Science and Technology*, 4(3), 95–108.
- เทพอัฟสร แสนสุข. (2560). ภูมิปัญญาท้องถิ่นและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดที่พบในเขตพื้นที่วนอุทยานภูเขไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.*, 45(2), 434–353.
- ธารทิพย์ รัตน์, และธนากร แสงสง่า. (2559). สมบัติต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ไบโอติกของเห็ดป่าสะแกราช. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 24(4), 538–550.
- น้ำฝน เบ้าทองคำ, และณอมนวล พรหมบุญ. (2557). สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดป่าจากชุมชนบ้านน้ำจาง จังหวัดเพชรบูรณ์. *Rajabhat Journal of Sciences, Humanities and Social Sciences*, 15(2), 96–103.
- มลธิรา จันทร์โอภาส, วารุณี จันทร์โอภาส, ชัชดรณิน จงจิตวิมล, อัญชลี เชียงกุล, และปริญญานันท์ แสนโกชน. (2549). การสำรวจชนิดของเห็ดราขนาดใหญ่บริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าดอยเวียงหล้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน. *NU Science Journal*, 2(2), 175–181.
- มลธิรา ศรีถาวร, พุทธวรรณ วาตะ, จิระดา พรหมลา, และสาคร ชินวงศ์. (2562). ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนดอกและส่วนเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทอง. *วารสาร Veridian E-Journal สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 6(5), 33–47.
- สิริลักษณ์ สีหะนันท์, วสันต์ เพชรรัตน์, และสมปอง เตชะโต. (2550). เห็ดโปลีทส์บางชนิดในประเทศไทย. *Songklanakarin Journal Science Technology*, 29(3), 737–754.
- Azieana, J., Zainon, M.N., Noriham A. & Rohana, M.N. (2017). Total phenolic and flavonoid content and antioxidant activities of ten Malaysian wild mushrooms. *Open Access Library Journal*, 4, 1–9.
- Bemas, E., Jaworska, G. & LisiewskaZ. (2006). Edible mushroom as a source of valuable nutritive constituents. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 5(1), 5–10.
- Bhargava, S., Dhabhai, K., Batra, A., Sharma, A., & Malhotra, B. (2012). Zingiberofficinale: Chemical and phytochemical screening and evaluation of its antimicrobial activities. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4, 360–64.
- Choi, Y.M., Ku, J.B., Chang, H.B. & Lee, J. (2005) Antioxidant activities and total phenolics of ethanol extracts from several edible mushrooms produced in Korea. *Food Science Biotechnology*, 14(5), 700–703.
- Gan, C.H., Nurul Amira, B. & Asmah, R. (2013). Antioxidant analysis of different types of edible mushrooms (*Agaricus bisporous* and *Agaricus brasiliensis*). *International Food Research Journal*, 20(3), 1095–1102.
- Kaur, M., Asthir, B. & Mahajan, G. (2017). Variation in antioxidant, bioactive compounds and antioxidant capacity in germinated and ungerminated grains of ten rice cultivars. *Rice Science*, 24(6), 349–359.

- Kumar, K. (2015). Role of edible mushrooms as functional foods—A review. **South Asian Journal of Food Technology and Environment**, 1(3&4), 211–218.
- Mergan, N., Duru, M.E., Turkoglu, A., Gerzer, K., Kivrak, I. & Turkoglu, H. (2006). Antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extract from *Lepista nuda* (Bull.) Cooke. **Annals of Microbiology**, 56(40), 339–344.
- Pang, Y., Ahmed, S., Xu, Y., Beta, T., Zhu, Z., Shao, Y. & Bao, J. (2018). Bound phenolic compounds and antioxidant properties of whole grain and bran of white, red, and black rice. **Food Chemistry**, 240, 212–221.
- Phattayakom, K. Pajanyor, P., Wongtecha, S., Prommakool, A. & Savebowon, W. (2016). Effect of germination on total phenolic content and antioxidant properties of “Hang” rice. **International Food Research Journal**, 23(1), 406–409.
- Rahimah, S.B., Djunaedi, D.D., Soeroto, A.Y. & Bisri, T. (2019). The phytochemical screening, total phenolic contents and antioxidant activities *in vitro* of white oyster mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) preparations. **Open Access Macedonian Journal of Medical Science**, 7(15), 2404–2412.
- Stojković, D.S., Reis, F.S., Ćirić, A., Barros, L., Glamočlija, J., Ferreira, I.C.F.R. & Soković, M. (2015). *Boletus aereus* growing wild in Serbia: chemical profile, *in vitro* biological activities, inactivation and growth control of food-poisoning bacteria in meat. **Journal of Food Science and Technology**, 52(11), 7385–7392.
- Turkoglu, A., Duru, A.M., & Mercan, N. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of *Russula delica* Fr: an edible wild mushroom. **Eurasian Journal of Analytical Chemistry**, 2(1), 54–67.
- Valverde, M.E., Hernández-Pérez, H. & Paredes-López, O. (2014). Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. **International Journal of Microbiology**, 2015, 1–14.
- Vararat, S., Managi, C., Iamthanakul, L., Soparat, W. & Kamkean, N. (2010). Examination of antioxidant activity and development of rice bran oil and gamma-oryzanol microemulsion. **Journal Health Research**, 24(2), 67–72.
- Vichit, W. & Saewan, N. (2015). Antioxidant activities and cytotoxicity of Thai pigmented rice. **International Journal of Pharmaceutical Science**, 7(7), 329–334.