# ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเห็ดราทำลายไม้

# ANTIOXIDANT CAPACITY OF WOOD-DESTROYING FUNGI EXTRACTS

วันเพ็ญ ตรงต่อกิจ[1] เชาวลิต พึ่งแตง[2] นพรัตน์ วรรณเทศ[2] พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ[1]
เรืองวุฒิ ชุติมา[1] วีระ นาคผู้[1] สุฑามาศ จันทร์แจ่ม และ กีรติ ตันเรือน[1*]

Wanpen Trongtorkit[1], Chaowalit Phungtang[2], Nopparat Wannathes[2], Pisit Poolprasert[1], Ruangwut Chutima[1], Weera Nakphu[1], Suthamat Janjam[2], and Keerati Tanruean[1*]

[1]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
[2]สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
[1]Biology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University
[2]Microbiology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University
[*]corresponding author e-mail: keerati.t@psru.ac.th

(Received: 23 April 2022; Revised: 13 August 2022; Accepted: 13 August 2022)

**บทคัดย่อ**

งานศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดราทำลายไม้ จำนวน 13 ไอโซเลต (NK0001 NK0049 NK0182 NK0317 NW1820 NW1821 NW1826 NW1836 NW1838 NW1842 NW1847 NW1850 และ NW1851) ที่ได้รับจากศูนย์ความเป็นเลิศ ด้านความหลากหลายของจุลินทรีย์และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยเลี้ยงเห็ดราทำลายไม้ในอาหาร Potato Dextrose Broth; PDB เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นกรองเส้นใยและทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน (45 องศาเซลเซียส) และนำมาสกัดโดยการแช่ยุ่ยด้วยเอทานอล เป็นเวลา 48 ชั่วโมง กรองสารสกัด และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล เมื่อตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging capacity assay พบว่า สารสกัดเห็ดราทำลายไม้ (1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระในช่วง 5.47-90.06 % โดยเห็ดราทำลายไม้ที่มีศักยภาพสูงในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (ค่าการยับยั้งมากกว่า 50%) คือ NW1851 (90.06%) NK001 (78.86%) NW1836 (69.12%) NW1842 (67.48%) NW1826 (62.81%) และ NW1820 (59.68%) และพบว่า สารสกัดจาก NW1851 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยมีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 39.96 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้จากการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนินทั้งหมดในสารสกัดเห็ดราทำลายไม้ พบว่า เห็ดราทำลายไม้ไอโซเลต NW1851 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแทนนินทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 2.17 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และ 1.34 มิลลิกรัมสมมูลกรดแทนนิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ขณะที่เห็ดราทำลายไม้ไอโซเลต

NK0049 มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุดเท่ากับ 1.20 มิลลิกรัมสมมูลเคอซิทินต่อกรัมสารสกัด งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเห็ดราทำลายไม้มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีความเหมาะสมในการนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอาหาร ยา เครื่องสำอางได้ในอนาคต

**คำสำคัญ**: เห็ดราทำลายไม้ อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

## Abstract

This research study aimed to evaluate the antioxidant activity of wood destroying fungi extracts. The 13 wood destroying fungi (NK0001, NK0049, NK0182, NK0317, NW1820, NW1821, NW1826, NW1836, NW1838, NW1842, NW1847, NW1850, and NW1851) obtained from the Center of Excellence in Microbial Diversity and Suitable Utilization, Chiang Mai University, Chiang Mai. All fungal isolates were cultured on Potato Dextrose Broth (PDB) for 14 days, then the mycelium was filtered and dried in hot air oven (45 °C). Dry mycelium was separately extracted by maceration with ethanol for 48 hours, filtered and adjusted to 10 mL with ethanol. The antioxidant properties of extracts based on 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging capacity assay were analyzed. The result found that the wood destroying fungi extract (1000 ug/ml) could inhibit free radical among 5.47-90.06 %.The effective strains that indicated as high antioxidant activity (percent inhibition >50) were NW1851 (90.06%), NK001 (78.86%), NW1836 (69.12%), NW1842 (67.48%), NW1826 (62.81%), and NW1820 (59.68%). The highest antioxidant activity of the six isolates was NW1851 ($IC_{50}$ value = 39.96 µg/ml). Furthermore, Total phenolic, total flavonoid and total tannin contents were also determined. The highest total phenolic and total tannin contents were found in the extract of NW1851 (2.17 mg GAE/g extract and 1.34 mg TAE/g extract, respectively). Whereas, the extract of NK0049 exhibited the highest content of flavonoid (1.20 mg QE/g extract). This research indicates that wood-destroying fungi have antioxidant activity that could be used to develop products in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries in the future.

**Keywords:** Wood destroying fungi, Free radicals, Antioxidant, Bioactive compounds

## บทนำ

ในชีวิตประจำวันของมนุษย์ต้องเผชิญกับสารเคมี ฝุ่นละออง รวมถึงไปถึงเชื้อโรคต่างๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อร่างกายและสามารถทำให้เกิดอนุมูลอิสระอันเป็นสาเหตุของโรคภัยไข้เจ็บอีกด้วย อนุมูลอิสระเป็น สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว ซึ่งถูกสร้างขึ้นจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ อนุมูลอิสระเหล่านี้จะทำลายเซลล์และทำให้การทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญเปลี่ยนแปลงไปและก่อให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ ไขข้ออักเสบ และต้อกระจก เป็นต้น ขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Halliwell & Gutteridge, 2003) ช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ เช่น เซลล์เมมเบรนอันนำไปสู่การตายของเซลล์ สารต้านอนุมูลอิสระมีหลายชนิดทั้งที่เป็นสารจากการสังเคราะห์และจากธรรมชาติ ซึ่งปัจจุบันมีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมีสูงมาก ในพืช ผัก ผลไม้ จะพบสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น บีต้าแคโรทีน วิตามินซี วิตามินอี รวมถึงสารทุติยภูมิ อาทิ สารประกอบ Polyphenols อีกทั้งมีการศึกษาสารสกัดเมล็ดและเปลือกของลางสาด ซึ่งพบว่า มีสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (สุทธิดา, 2565)

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ อาทิ สารสกัดจากเส้นใยของเห็ดน้ำผึ้ง เห็ดระโงกขาว เห็ดถ่านใหญ่ เห็ดน้ำหมากและเห็ดตะไคล (น้ำฝน และถนอมนวล, 2556) เห็ดตับเต่า (พรพิมล, 2558) เห็ดออรินจิ เห็ดหูหนูดำ เห็ดนางฟ้า และเห็ดหอม (ภาวดี, 2561) เป็นต้น นอกจากเส้นใยเห็ดแล้ว เส้นใยจากเชื้อราทำลายไม้ก็มีความน่าสนใจโดยเฉพาะเชื้อราไวท์รอท โดยเห็ดราทำลายไม้อยู่ใน Class Basidiomycota บางชนิดจัดอยู่ใน Class Ascomycota ลักษณะทั่วไปของรากลุ่มนี้ คือ มีรูปร่างเป็นเส้นใย จากรายงานวิจัยที่ผ่านมาพบสารประกอบกลุ่ม Polyphenols ในราไวท์รอทซึ่งสารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Vaz et al., 2011) และมีศักยภาพในการใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้ อีกทั้งศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน (Hameed et al., 2017)

ดังนั้นการวิจัยนี้จึงสนใจนำเห็ดราทำลายไม้ที่ได้รับมาจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านความหลากหลายของจุลินทรีย์และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มาศึกษากลุ่มของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อเป็นแนวทางการในการพัฒนาและใช้ประโยชน์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อราไวท์รอทต่อไป

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การเก็บตัวอย่าง

เส้นใยบริสุทธิ์ของเห็ดราทำลายไม้ที่นำมาศึกษาได้รับมาจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านความหลากหลายของจุลินทรีย์และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ห้องปฏิบัติการวิจัยด้านการพัฒนาแบบยั่งยืนของทรัพยากรชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดบริสุทธิ์ของเห็ดราทำลายไม้ที่ได้รับบนอาหาร PDB บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เพื่อใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

### 2. การเตรียมสารสกัด

เลี้ยงเชื้อในอาหาร PDB บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน บนเครื่องบ่มแบบเขย่า 160 รอบ/นาที (Shaker incubator) เมื่อครบ 14 วัน กรองเส้นใยและทำให้แห้ง โดยนำไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ จากนั้นบดให้เป็นผงนำผงของเส้นใย 1 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมเอทานอลความเข้มข้น 95% 10 มิลลิลิตร แช่ยุ่ยที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 จนกระทั่งได้ส่วนใสที่ได้จากการกรอง ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยเอทานอล นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทดสอบในขั้นต่อไป

### 3. การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

#### 3.1 การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้น

ศึกษาความสามารถในการจับกับสารอนุมูลอิสระเพื่อคัดเลือกตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี 2,2–Diphenyl–1–picrylhydrazyl radical; DPPH โดยการผสมสารตัวอย่าง 0.50 มิลลิลิตร กับสารละลาย 1.50 มิลลิลิตร ของ DPPH ในเอทานอล (0.10 มิลลิโมลาร์) ส่วนตัวอย่างควบคุมจะประกอบด้วยเอทานอล 0.50 มิลลิลิตร กับสารละลาย 1.50 มิลลิลิตร ของ DPPH นำตัวอย่างมาเขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ใช้ Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน การคำนวณค่าการยับยั้งสารอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 1

$$\% \text{ Inhibition} = (A_{control} - A_{sample} / A_{control}) \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ A sample = absorbance ที่วัดได้ของสารสกัดตัวอย่างที่ผสมกับ DPPH radical

A control = absorbance ที่วัดจาก ตัวอย่างควบคุม

#### 3.2 การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

นำตัวอย่างที่ได้จากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นตามข้อ 3.1 ที่มีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดมาทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.10 มิลลิโมลาร์ ในเอทานอล

จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 1.50 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น 3.13 6.25 12.50 25.00 50.00 100.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 0.50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่มืด อุณหภูมิห้องไว้เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร และคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ 50% ($IC_{50}$) ดังสมการที่ 2

$$\% \text{ Inhibition} = (A_{control} - A_{sample} / A_{control}) \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ A sample = absorbance ที่วัดได้ของสารสกัดตัวอย่างที่ผสมกับ DPPH radical

A control = absorbance ที่วัดจาก DPPH radical

**4. การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ**

**4.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก**

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดหาจากการเติมตัวอย่าง 0.25 มิลลิลิตร ในน้ำ 2.50 มิลลิลิตร และสารละลาย Folin–Ciocalteu 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติม Sodium Carbonate ความเข้มข้น 20% ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร โดยมี Gallic acid เป็นสารมาตรฐานและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะแสดงออกมาในหน่วย มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง (mgGAE/g)

**4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารแทนนิน**

นำตัวอย่างจำนวน 0.05 กรัม มาละลายด้วยเอทานอลปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างที่ละลายด้วยเอทานอลมา 0.20 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำ 2.50 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย Folin–Ciocalteu ปริมาตร 0.20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดีและเติม Sodium Carbonateเข้มข้น 7% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ปริมาณแทนนินทั้งหมดแสดงออกมาในหน่วย มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mgTAE/g)

**4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์**

การตรวจหาปริมาณฟลาโวนอยด์จะใช้ Quercetin เป็นสารมาตรฐาน โดยใช้ตัวอย่าง 0.50 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอล 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Sodium nitrite (50 กรัมต่อลิตร) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติม Aluminium chloride (100 กรัมต่อลิตร) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดแสดงออกมาในหน่วย มิลลิกรัมเควอซิตินต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง (mgQE/g)

**5. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ**

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของแต่ละการทดลองโดยใช้โปรแกรม Statistical package for the social science; SPSS โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Dancan's new multiple range tests ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

## ผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาสารสกัดจากเห็ดราทำลายไม้ที่แยกได้จาก ศูนย์ความเป็นเลิศด้านความหลากหลายของจุลินทรีย์และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สกัดด้วยเอทานอล นำไปทดสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นด้วยวิธี DPPH รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ จากนั้นนำสารสกัดของเห็ดราทำลายไม้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ 50% ($IC_{50}$) จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน

**1. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้น ด้วยวิธี DPPH**

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นของสารสกัดเห็ดราทำลายไม้ด้วยวิธี DPPH ดังตารางที่ 1 โดยพบว่า สารสกัดเห็ดราทำลายไม้ ตัวอย่าง NW1851 NK0001 NW1836 NW1842 NW1826 และ NW1820 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดย NW1820 มีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงที่สุด เมื่อใช้ความเข้มข้นที่ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จึงใช้เป็นตัวแทนในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และรายงานเป็นค่า $IC_{50}$

**ตารางที่ 1** ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้น

| Samples | % Inhibition |
|---|---|
| NW1851 | 90.06±0.45[a] |
| NK0001 | 78.86±1.41[b] |
| NW1836 | 69.12±3.97[c] |
| NW1842 | 67.48±2.85[c] |
| NW1826 | 62.81±1.92[d] |
| NW1820 | 59.68±1.95[d] |
| NW1850 | 42.04±1.88[e] |
| NW1821 | 27.92±3.79[f] |
| NW1838 | 21.66±1.32[g] |

**ตารางที่ 1** (ต่อ)

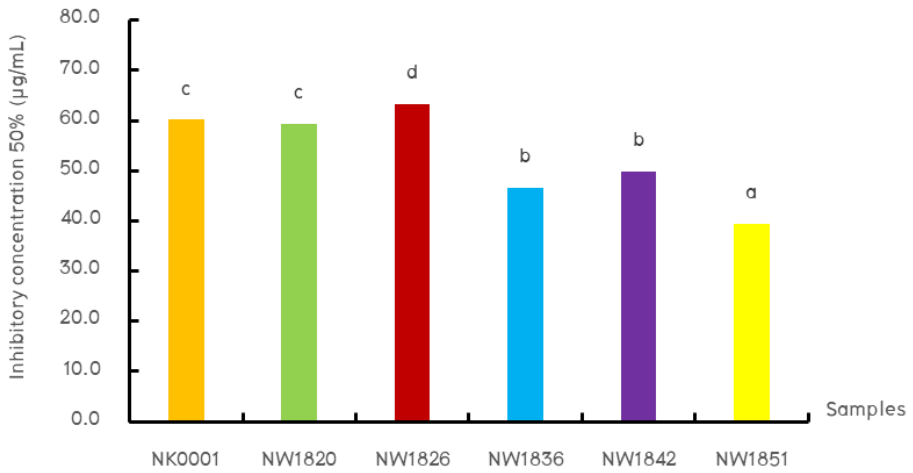
| Samples | % Inhibition |
|---|---|
| NK0317 | 21.10±0.63$^{g}$ |
| NW1847 | 11.79±1.32$^{h}$ |
| NK0049 | 11.76±0.82$^{h}$ |
| NK0182 | 5.47±0.36$^{i}$ |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

** ตัวเลขที่มีอักษรตัวพิมพ์เล็กกำกับแตกต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี Duncan's multiple comparison test ($P<0.05$)

### 2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ($IC_{50}$)

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดราทำลายไม้ที่ด้วยวิธี DPPH รายงานค่าเป็น $IC_{50}$ ที่แสดงถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ลดลง 50% เมื่อเปรียบเทียบในสารสกัดเห็ดราทำรายไม้ทั้ง 6 ตัวอย่าง ได้แก่ NW1851 NK0001 NW1826 NW1820 NW1842 และ NW1836 แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH เท่ากับ 39.96±0.21$^{a}$ 60.15±6.72$^{c}$ 63.26±0.46$^{c}$ 59.30±1.99$^{c}$ 49.93±0.24$^{b}$ และ 46.60±0.96$^{b}$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่า สารสกัดเห็ดราทำลายไม้ตัวอย่าง NW1851 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด เนื่องจากมีค่า $IC_{50}$ต่ำสุดเท่ากับ 39.96±0.21 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังภาพที่ 1




** ตัวเลขที่มีอักษรตัวพิมพ์เล็กกำกับแตกต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี Duncan's multiple comparison test ($P<0.05$)

**ภาพที่ 1** ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ($IC_{50}$)

**3. การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ**

ผลการทดสอบการวิเคราะห์ปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากสารสกัดเห็ดราทำลายไม้ 13 ตัวอย่าง ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid พบว่า สารสกัดราทำลายไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด คือ NW1851 NW1820 และ NW1842 ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 2.17±0.03 1.38±0.07 และ 1.27±0.02 mgGAE/g ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแทนนินทั้งหมด โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Tannic acid พบว่า สารสกัดราทำลายไม้ที่มีปริมาณแทนนินมากที่สุด คือ NW1851 NW1820 และ NK0001 ซึ่งมีปริมาณแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 1.34±0.11 1.07±0.02 และ 0.88±0.02 mgTAE/g ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Quercetin พบว่า สารสกัดราทำลายไม้ที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด คือ NK0049 NK0182 และ NW1851 ซึ่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1.26±0.06 0.87±0.05 และ 0.69±0.02 mgQE/g ตามลำดับ ดังตารางที่ 2

**ตารางที่ 2** ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเห็ดราทำลายไม้

| Samples | Bioactive compounds | | |
|---|---|---|---|
| | Total Phenolic contents (mgGAE/g) | Total Tannin contents (mgTAE/g) | Total Flavonoid contents (mgQE/g) |
| NW1838 | 0.38±0.02$^{h}$ | 0.29±0.01$^{g}$ | 0.26±0.02$^{e}$ |
| NK0049 | 0.41±0.01$^{h}$ | 0.26±0.02$^{g}$ | 1.26±0.06$^{a}$ |
| NK0182 | 0.36±0.01$^{i}$ | 0.21±0.01$^{h}$ | 0.87±0.05$^{b}$ |
| NW1826 | 1.09±0.07$^{d}$ | 0.85±0.02$^{d}$ | 0.19±0.04$^{f}$ |
| NW1820 | 1.38±0.07$^{b}$ | 1.07±0.02$^{b}$ | 0.18±0.03$^{f}$ |
| NK0317 | 0.44±0.03$^{g}$ | 0.34±0.01$^{f}$ | 0.08±0.01$^{g}$ |
| NW1821 | 0.30±0.01$^{i}$ | 0.26±0.02$^{g}$ | 0.07±0.00$^{g}$ |
| NW1850 | 0.57±0.02$^{f}$ | 0.41±0.03$^{e}$ | 0.04±0.01$^{g}$ |
| NW1847 | 0.29±0.00$^{i}$ | 0.24±0.02$^{g}$ | 0.03±0.01$^{g}$ |
| NW1842 | 1.27±0.02$^{c}$ | 0.96±0.03$^{c}$ | 0.63±0.03$^{d}$ |
| NW1851 | 2.17±0.03$^{a}$ | 1.34±0.11$^{a}$ | 0.69±0.02$^{c}$ |
| NW1836 | 1.00±0.02$^{e}$ | 0.81±0.04$^{d}$ | 0.18±0.01$^{f}$ |
| NK0001 | 1.02±0.04$^{e}$ | 0.88±0.02$^{d}$ | 0.26±0.02$^{e}$ |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

** ตัวเลขที่มีอักษรตัวพิมพ์เล็กกำกับแตกต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี Duncan's multiple comparison test ($P<0.05$)

## อภิปรายผล

จากการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากตัวอย่างเห็ดราทำลายไม้ที่ได้รับมาจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านความหลากหลายของจุลินทรีย์และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย จำนวน 13 ไอโซเลต ได้แก่ NK0001 NK0049 NK0182 NK0317 NW1820 NW1821 NW1826 NW1836 NW1838 NW1842 NW1847 NW1850 และ NW1851 ด้วยวิธี 2,2–Diphenyl–1–picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay; DPPH ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมของสารต้านอนุมูลอิสระแก่อนุมูลอิสระ DPPH ที่มีสีม่วง เกิดเป็นสาร Diphenyl picrylhydrazyl (DPPH : H) ที่มีสีเหลืองและมีความเสถียร (โอภา, บังอร, และศศิลักษณ์, 2550) การประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกต่อการทดสอบและนิยมใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านอนุมูลจากธรรมชาติ (บุหรัน, 2556) ในงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดเห็ดราทำลายไม้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ ไอโซเลต NW1851 มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50% ($IC_{50}$) เท่ากับ 39.96 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเป็นสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแทนนินทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 2.17 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และ 1.34 มิลลิกรัมสมมูลกรดแทนนิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเส้นใยของเชื้อรามีความสัมพันธ์กับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกฟลาโวนอยด์และแทนนินที่พบในสารสกัด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hameed et al., 2017 ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเส้นใยจาก *Mucor circinelloides* (WJ11) *M. circinelloides F. lusitanicus* (CBS 277.49) และ *M. circinelloides* (CBS 108.16) พบว่า สารสกัดเอทานอลของ *Mucor circinelloides* ทั้ง 3 สายพันธุ์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแทนนิน โดยสายพันธุ์ MC277.49 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าสายพันธุ์ MC108.16 และ WJ11 เช่นเดียวกับ Chandra et al. (2019) ที่ได้ประเมินศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระและการผลิตฮอร์โมนออกซิน (Indole acetic acid) จากเชื้อราย่อยสลายลิกนิน ได้แก่ *Phanerochaete chrysosporium, Phlebia brevispora* และ *Phlebia floridensis* และพบว่า เชื้อราทั้งสามชนิดผลิตสารประกอบฟีนอลิกตั้งแต่ 5.2 ถึง 16.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน อีกทั้งยังสามารถผลิตฮอร์โมน Indole acetic acid ได้ นั่นแสดงให้เห็นว่าในเห็ดราทำลายไม้ มีสารประกอบประเภทฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และแทนนิน ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ที่สามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ แต่การออกฤทธิ์

ต้านอนุมูลอิสระนั้นขึ้นอยู่กับศักยภาพในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดราที่แตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่า เส้นใยของเชื้อราอีกหลายชนิด โดย Tavares et al. (2018) ได้รายงานถึงการผลิตสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเชื้อราที่แยกได้จากถ้ำในประเทศบราซิล พบว่า เชื้อราทั้ง 8 ไอโซเลท ที่แยกได้มความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน โดยเชื้อรา *Penicillium flavigenum* CML2965 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เท่ากับ 98.2% 47.1% และ 72.2% เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH ABTS และ β–carotene–linoleic acid ตามลำดับ ที่สำคัญพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงถึง 201 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม และชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่พบ ได้แก่ Gallic acid Catechin Chlorogenic acid Caffeic acid และ Vanillin นอกจากนี้ยังมีการนำสารสกัดจากเชื้อราไปใช้ในการสังเคราะห์สารที่มีประสิทธิภาพสูงในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดย Ganesan et al. (2020) ได้ศึกษาคุณสมบัติในการเป็นสารต้านแบคทีเรียและสารต้านอนุมูลอิสระของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์จากสารสกัดเชื้อรา *Periconium* sp. โดยใช้เทคนิค Sol gel synthesis ZnO nanoparticles พบว่า สารสกัด ZnO nanoparticles จากเชื้อรามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staphylococcus aureus Escherichia coli* และ *Candida albicans* และยังมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีอีกด้วย จากที่ได้กล่าวมานี้จะเห็นได้ว่าการพัฒนาการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อรามีความน่าสนใจที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปในอนาคต อีกทั้งยังมีข้อดีในแง่ของความคงตัวและการควบคุมการผลิตรวมถึงสามารถผลิตในระดับอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง เช่น ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ หรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายต่อไป

## สรุปผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดราทำลายไม้พบว่า ไอโซเลต NW1851 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยมีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 39.96 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแทนนินทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 2.17 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และ 1.34 มิลลิกรัมสมมูลกรดแทนนิกต่อกรัมสารสกัด แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเห็ดราทำลายไม้เป็นสารสกัดจากธรรมชาติที่มีความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี และในอนาคตจะมีการศึกษาการระบุสายพันธุ์ สภาวะที่เหมาะสมและความคงตัวในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ตลอดจนการระบุชนิดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาและใช้ประโยชน์ในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อราในระดับอุตสาหกรรมต่อไปได้

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ กองทุนพัฒนาการวิจัยและบริหารจัดการงานวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณหลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา สาขาวิชาจุลชีววิทยา และศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่สนับสนุนเครื่องมือ อุปกรณ์และสถานที่สำหรับดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

น้ำฝน เบ้าทองคำ, และถนอมนวล พรหมบุญ. (2556). **การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดป่าจากป่าชุมชนบ้านน้ำจาง จังหวัดเพชรบูรณ์.** (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์, สาขาวิชาชีววิทยา.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 21**(3), 275–286.

พรพิมล กิจวิชา. (2558). **การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยของเชื้อเห็ดตับเต่า.** (ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต). โครงการจัดตั้งภาควิชาเคมี คณะศิลปะศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภาวดี ช่วยเจริญ. (2561). การศึกษาผลของการต้มต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิครวมในเห็ดออรินจิ เห็ดหูหนูดำ เห็ดนางฟ้า และเห็ดหอม. ใน **การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 6** (น.382–390). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุทธิดา วิทนาลัย. (2565). ฤทธิ์ทางชีวภาพและฟีนอลิกของสารสกัดเมล็ดของสารสกัดเมล็ดและเปลือกของลางสาด. **PSRU Journal of Science and Technology, 7**(1), 83–99.

โอภา วัชระคุปต์, บังอร วงศ์รักษ์, และศศิลักษณ์ ปยะสุวรรณ. (2550). **สารต้านอนุมูลอิสระ**. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: นิวไทยมิตรการพิมพ์.

Chandra, P., Arora, D.S., Pal, M., & Sharma, R.K. (2019). Antioxidant potential and extracellular auxin production by white rot fungi. **Appl. Biochem. Biotechnol., 187**(2), 531–539.

Ganesan, V., Hariram, M., Vivekanandhan, S., & Muthuramkumar, S. (2020). *Periconium* sp. (endophytic fungi) extract mediated sol–gel synthesis of ZnO nanoparticles for antimicrobial and antioxidant applications. **Mater. Sci. Semicond. Process., 105**, 104739.

Halliwell, B., & Gutteridge, J.M.C. (2003). **Free radicals in biology and medicine**. U.K : Oxford university Press.

Hameed, A., Hussain, S.A., Yang, J., Ijaz, M.U., Liu, Q., Suleria, H., & Song, Y. (2017). Antioxidants potential of the filamentous fungi (*Mucor circinelloides*). **Nutrients, 9**(10), 1101.

Tavares, D.G., Barbosa, B.V.L., Ferreira, R.L., Duarte, W.F., & Cardoso, P.G. (2018). Antioxidant activity and phenolic compounds of the extract from pigment–producing fungi isolated from Brazilian caves. **Biocatal. Agric. Biotechnol., 16**, 148–154.

Vaz, J.A., Barros, L., Martins, A., Morais, J.S., Vasconcelos, M.H., & Ferreira, I.C.F.R. (2011). Phenolic profile of seventeen Portuguese wild mushrooms. **LWT – Food Sci. Technol., 44**(1), 343–346.