ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนดอกและส่วนเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

Antibacterial and antioxidant activities of fruiting body and mycelium crude extracts from *Cordyceps militaris*

Received:	*June*	*11, 2019*
Revised:	*October*	*21, 2019*
Accepted:	*October*	*28, 2019*

มลธิรา ศรีถาวร (Moltira Srithaworn)[*]
พุทธวรรณ วาตะ (Puthawan Wata)[**]
จิระดา พรมลา (Chirada Promla)[**]
สาคร ชินวงค์ (Sakhon chinnawong)[***]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล เมทานอล และน้ำปราศจากไอออน ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Staphylococcus epidermidis* TISTR518 และ *Escherichia coli* TISTR780 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียพบว่าสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดโดยใช้เมทานอลและเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC25923, *S. epidermidis* TISTR518 และ *E. coli* TISTR780 ได้ ส่วนผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบถั่งเช่าโดยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด (IC_{50} เท่ากับ 0.48 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด เท่ากับ 208.63±0.03 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จากผลการทดลองสรุปได้ว่าทั้งสารสกัดหยาบส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง

คำสำคัญ : เห็ดถั่งเช่าสีทอง, ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

[*] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประจำภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Associate Professor Dr., Department of Microbiology, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Corresponding Author, E-mail: faasmtr@ku.ac.th
[**] นักศึกษาปริญญาตรี สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
B.S. (Microbiology), Department of Microbiology, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus
[***] นักวิชาการเกษตรชำนาญการ ดร., สำนักส่งเสริมและฝึกอบรมกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Agricultural Research Officer Professional Level Dr., National agricultural extension and training center, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus

Abstract

The aims of this research was to study antibacterial activity, antioxidant activity and total phenolic contents of fruiting body and mycelium part of *Cordyceps militaris* extracted with ethanol, methanol and deionized water. Antibacterial activity was evaluated against *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Staphylococcus epidermidis* TISTR518 and *Escherichia coli* TISTR780.The crude extracts of fruiting body and mycelium part of *C. militaris* extracted with ethanol and methanol had antibacterial activity against *S. aureus* ATCC25923, *S. epidermidis* TISTR518 and *E. coli* TISTR780. Furthermore, antioxidant activities of crude extracts from *C. militaris* were determined using DPPH assay. Deionized water crude extract of fruiting body part of *C. militaris* showed the highest antioxidant potency (IC_{50}= 0.48 mg/ml) and the highest total phenolic content at 208.63±0.03 mg GAE/gram crude extract. In conclusion, both fruiting body and mycelium part of *C. militaris* crude extracts obtained antibacterial activity, high antioxidant activities and high total phenolic compound contents.

Keywords: *Cordyceps militaris*, Antibacterial activity, Antioxidant activity

บทนำ

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) จัดเป็นเห็ดเมืองหนาวและอยู่ในกลุ่มของเห็ดที่เป็นยา มีประวัติการใช้งานทางการแพทย์แผนโบราณของจีนมาเป็นเวลายาวนานนับพันปี ในปัจจุบันเห็ดถั่งเช่าสีทองได้รับความนิยม และได้มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดถั่งเช่าสีทองในรูปแบบต่าง ๆ กันอย่างแพร่หลายเพื่อให้เข้าถึงกลุ่มผู้บริโภค จึงส่งผลให้เห็ดชนิดนี้มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างสูง จากการวิจัยพบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสารสำคัญหลายชนิดที่มีผลทางชีวภาพ เช่น คอร์ไดซิปิน (Cordycepin) ช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกายเหมือนกับในเห็ดถั่งเช่าทิเบต (*Cordyceps sinensis*) ทั้งยังมี อะดีโนซีน โปรตีน สเตอรอล โพลีแซคคาไรด์เบต้ากลูแคน (Beta 1,3 และ Beta 1,6 D-glucan) ที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันโรคในร่างกาย ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด และยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ต่าง ๆได้เป็นอย่างดี (Lin et al., 2012) อีกทั้งยังมีสารแลนติแนนที่ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (Lee et al., 2012) ชะลอการแพร่ของเซลล์มะเร็ง (Bhandari et al., 2010) และมีนิวคลีโอไซด์มากกว่า 10 ชนิดที่เกี่ยวข้องกับกลไกการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง โดยมีจะมีสารคอร์ไดซิปินทำหน้าที่หลัก ทำให้เซลล์มะเร็งเจริญเติบโตช้า หรือหยุดการเจริญเติบโต และยังสามารถช่วยในเรื่องของการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Kim et al., 2010) ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล (Kiho et al.,1996) สารคอร์ไดซิปินในเห็ดถั่งเช่าพบมากที่สุดในส่วนของดอกเห็ด (Fruiting body) รองลงมาคือ ในส่วนเส้นใยเห็ด (Mycelium) (Huang et al., 2009) จึงได้มีนำเห็ดถั่งเช่าสีทองไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่าง ๆ เช่นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในแบบแคปซูล ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มกึ่งสำเร็จรูปที่ผสมกับกาแฟ อีกทั้งยังมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการนำส่วนของฐานเห็ดไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์เพื่อลดการใช้

ยาปฏิชีวนะ (ชัยวัฒน์ และคณะ, 2559) จากประโยชน์และสรรพคุณที่หลากหลายจึงทำให้เห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นที่ต้องการของตลาด

จากสรรพคุณของเห็ดถั่งเช่าสีทอง และองค์ประกอบของสารต่าง ๆ ที่มีความสำคัญสามารถพบได้ในทุกส่วนของเห็ดถั่งเช่าสีทองดังที่กล่าวมาข้างต้น เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับส่วนเส้นใยซึ่งเป็นส่วนที่เหลือจากการผลิตโดยจะมีการทำวิจัยในส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองควบคู่กันไปเพื่อเป็นการเปรียบเทียบ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะการทำศึกษาการใช้ประโยชน์ของสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่า โดยได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างจากชมรมผู้เพาะเห็ดเศรษฐกิจมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยจะงานวิจัยนี้เน้นการศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียในกลุ่มแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังได้แก่ *Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus aureus* ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากสารสกัดหยาบส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เมทานอล เอทานอล และน้ำปราศจากไอออน เพื่อนำผลการวิจัยนี้ไปต่อยอดพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในเชิงพาณิชย์ได้

วิธีวิจัย

1. การสกัดสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ตัวอย่างส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองบดละเอียด ได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์สุวิท คำกองแก้ว ชมรมผู้เพาะเห็ดเศรษฐกิจ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ปริมาณ 4 กรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล เอทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร สำหรับเห็ดถั่งเช่าที่สกัดโดยต้มด้วยน้ำปราศไอออน โดยเติมน้ำปราศไอออน ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ต้มเป็นเวลา 15 นาที กรองด้วยกระดาษ Whatman No.4 ส่วนสารสกัดหยาบเห็ดถั่งเช่าที่สกัดโดยเมทานอล และเอทานอล นำไปบ่มแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 เป็นเวลา 3 วัน กรองด้วยกระดาษ Whatman No.4 จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ทำการชั่งบันทึกน้ำหนักแห้งของสารที่สกัด ละลายกลับโดยใช้ 10% Dimethyl Sulfoxide (DMSO) เมทานอล เอทานอล และน้ำปราศจากไอออน ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดสอบต่อไป

2. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีรีย Agar well diffusion method (ดัดแปลงจาก Rauha et al., 2000)

นำเชื้อแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *S. aureus* ATCC25923, *S. epidermidis* TISTR518 และ *E. coli* TISTR780 ที่จะใช้ทดสอบเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar นำไปบ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบการเขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียมาเพาะเลี้ยงในอาหาร Mueller Hinton Broth (MHB) นำไปบ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบการเขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับความขุ่นเท่ากับ McFarland เท่ากับ 0.5 โดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ค่า OD อยู่ในช่วง 0.08-0.10 ใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อชุบสารละลายเชื้อแบคทีเรีย จุ่มลงในเชื้อที่อยู่อาหาร MHB นำมา swab เป็น 3 ระนาบ (3-way swab technique) ให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที เพื่อให้ส่วนผิวหน้าของ

Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University
Volume 6 Number 5 September – October 2019 ISSN 2408 - 1248

อาหารแห้ง และใช้ cork borer เบอร์ 4 เจาะหลุมอาหาร MHA จากนั้นดูดสารสกัดหยาบส่วนดอก และเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง (50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ที่ผ่านการกรองด้วยหัวกรอง 0.45 ไมครอน หยดลงไปในหลุม โดยใช้สารตัวทำละลายของสารสกัด คือ DMSO เมทานอล เอทานอล และน้ำปราศจากไอออน เป็นตัวควบคุมผลลบในทำการทดสอบ 3 ซ้ำ นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้หน่วยในการวัดเป็นมิลลิเมตร โดยในการทดลองจะใช้ยาปฏิชีวนะ Clindamycin disc (Oxiod) 2 ไมโครกรัมต่อ disc เป็นตัวยามาตรฐานเปรียบเทียบในการทดลอง

3. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ MIC (Minimal Inhibition Concentration) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ MBC (Minimal bactericidal concentration) โดย Broth dilution method (ดัดแปลงจาก Nanasombat and Teekchuen, 2009)

เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth บ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบการเขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสารละลายเชื้อมาวัดความขุ่นที่ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง 600 นาโนเมตร และเจือจางให้ความขุ่นมีค่าเท่ากับ 0.08-0.10 จากนั้นนำสารสกัดหยาบจากเส้นใยและดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองมาทำการเจือจางแบบ 2-fold serial dilution ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth ที่ความเข้มข้น 50-0.7813 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดหยาบที่ใช้ทดสอบเท่ากับ 25-0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ และเติมเชื้อทดสอบปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองบ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสที่ความเร็วรอบการเขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมงอ่านผลโดยการสังเกตหลอดที่มีความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์คือ ค่า MIC และนำไปวัดค่าความขุ่นที่ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง 600 นาโนเมตร จากนั้นนำเชื้อทดสอบในแต่ละหลอดมาทำการ streak ลงบนอาหาร Nutrient agar ดูการเจริญของเชื้อบนอาหารเพื่อหาค่า MBC ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยไม่มีการเจริญของเชื้อบนอาหาร Nutrient agar

4. การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay)

วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเส้นใยและดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดโดยเมทานอล เอทานอล และน้ำปราศไอออนที่ผ่านการต้ม โดยใช้วิธี DPPH ทำการเจือจางสารสกัดหยาบส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองแบบ 2-fold serial dilution ที่ความเข้มข้น 50-0.7813 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ นำตัวอย่างปริมาตร 550 ไมโครลิตร ผสมกับ DPPH ปริมาตร 550 ไมโครลิตรใส่ลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันวางไว้ในที่มืด 30 นาที และตัวอย่างชุดควบคุม (Control) หรือสารละลาย DPPH ที่ไม่มีตัวอย่างสารสกัดหยาบโดยใช้เมทานอล 550 ไมโครลิตร แทนตัวอย่างสารสกัดหยาบส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองวิเคราะห์ตามวิธีการเดียวกัน เมื่อครบ 30 นาที นำสารตัวอย่างและตัวอย่างควบคุมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร รายงานผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition) ในการทดลองใช้กรดแอสคอบิกเป็นตัวควบคุมผลบวก (Shimada et al., 1992)

$$\% \text{ การยับยั้ง} = \frac{OD_{\text{ชุดควบคุม}} - OD_{\text{ตัวอย่าง}}}{OD_{\text{ชุดควบคุม}}} \times 100$$

เมื่อ OD ชุดควบคุม คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารเคมี DPPH

เมื่อ OD ตัวอย่าง คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างสารสกัดหยาบส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

5. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยวิธี Folin-ciocalteu colorimetric

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยการเติมสารสกัดปริมาตร 400 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลอง และเติมสารละลาย Folin-ciocalteu phenol reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยมวลต่อปริมาตร ลงไป 1.600 มิลลิลิตร ปิดปากหลอดด้วยพาราฟิล์ม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 ชั่วโมง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) รายงานผลเป็นมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบ (mg GAE/crude extract) (Tsai et al., 2005)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ร้อยละของสารสกัดหยาบเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดได้

จากการหาค่าร้อยละผลได้ของสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองพบว่าสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดโดยต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนมีค่าร้อยละผลได้ของสารสกัดมากที่สุด เท่ากับ 35.24% รองลงมาคือสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเมทานอล เท่ากับ 32.14% และสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเอทานอล เท่ากับ 25.14% ส่วนสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดโดยต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนมีค่าร้อยละผลได้ของสารสกัดมากที่สุด เท่ากับ 33.13% รองลงมาคือสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเมทานอลเท่ากับ 22.27% และสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเอทานอล เท่ากับ 17.01%

2. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดหยาบเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยวิธี agar well diffusion

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดหยาบเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยตัวทำละลายเอทานอล เมทานอล และต้มด้วยน้ำปราศจากไอออน ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC25923, *S. epidermidis* TISTR518 และ *E. coli* TISTR780 โดยใช้วิธี agar well diffusion วิเคราะห์ผลการทดลองจากขนาดของบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้น (Inhibition zone) จากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเมทานอลและละลายกลับด้วย DMSO สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR780, *S. epidermidis* TISTR518 และ *S. aureus* ATCC25923 ได้ดีที่สุดโดยมีค่าบริเวณการยับยั้งเฉลี่ย ตามตารางที่ 1 เท่ากับ 16.83±0.76, 15.17±1.15 และ 11.17±2.89 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเอทานอลและละลายกลับด้วย DMSO สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR780, *S. epidermidis*

Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University
Volume 6 Number 5 September – October 2019 ISSN 2408 - 1248

TISTR518 และ *S. aureus* ATCC25923 ได้ดีที่สุด โดยมีค่าบริเวณการยับยั้งเฉลี่ยเท่ากับ 15.17±0.29, 15.67±0.29 และ 12.50±1.44 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดหยาบทั้งส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยน้ำปราศจากไอออนไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทุกเชื้อ จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล โดยละลายกลับด้วย DMSO สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* TISTR780 และ *S. epidermidis* TISTR518 ได้ดีที่สุด โดยในการทดลองจะใช้ยาปฏิชีวนะ Clindamycin disc (Oxiod) 2 ไมโครกรัมต่อ disc เป็นตัวยามาตรฐานเปรียบเทียบในการทดลอง พบว่ามีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งต่อเชื้อ *S. aureus* ATCC25923 และ *S. epidermidis* TISTR518 เท่ากับ 23.33±1.52 และ 25.67±0.57 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR780 ได้ จากผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับงานที่ผ่านมา Pooja and Anand (2014) รายงานว่าสารสกัดจาก *C. militaris* ที่สกัดด้วยเมทานอล สามารถต้านแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวกและจากผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เหลือจากการใช้งานเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อทั้งสามเชื้อได้ โดยสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด สอดคล้องกับผลวิจัยของสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดแครงต่อการยับยั้งเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* เมื่อสกัดด้วยเอทานอล (ประพจน์ และคณะ, 2551) งานวิจัยก่อนหน้าก็พบว่าดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเมทานอลก็มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ (Dong et al., 2014) โดยสารออกฤทธิ์หลักของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองได้แก่ cordycepin adenosine ergosterol และ nucleosides ซึ่งออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านการอักเสบได้ (Chiu, et al., 2016) และจากงานวิจัยของ ธัญญา และคณะ (2557) ที่ได้วิเคราะห์องค์ประกอบของฐานเห็ด (Corpus) หรือวัสดุเพาะที่เหลือหลังจากเก็บดอกเห็ดออกไปแล้วพบว่ามียังคงมีปริมาณสาร cordycepin 3,285 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง จะเห็นได้ว่าสาร cordycepin ซึ่งเป็นสารสำคัญ สามารถพบได้ทุกส่วนของเห็ดถั่งเช่าสีทอง และจากการศึกษาตัวทำลายในการสกัดสาร cordycepin จากเห็ดถั่งเช่าสีทองพบว่าสามารถสกัดได้ปริมาณสูงด้วยเอทานอลและเมทานอล (Soltani et al., 2017)

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบเห็ดถั่งเช่าสีทองต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี agar well diffusion

เห็ดถั่งเช่าสีทอง	สารสกัด	ตัวทำละลาย	บริเวณที่มีการยับยั้ง (มิลลิเมตร)±SD		
			E. coli TISTR780	*S. epidermidis* TISTR518	*S. aureus* ATCC25923
ดอก	เอทานอล	DMSO	14.33±0.29^{c}	13.33±0.58^{b}	11.67±0.58^{b}
	เมทานอล	DMSO	16.83±0.76^{d}	15.17±1.15^{b}	11.17±2.89^{b}
	น้ำปราศจากไอออน	DMSO	8.00±0.00^{a}	8.00±0.00^{a}	8.00±0.00^{a}
	เอทานอล	เอทานอล	10.83±0.58^{b}	11.33±0.29^{b}	11.33±0.58^{b}
	เมทานอล	เมทานอล	10.50±1.00^{b}	14.17±0.29^{b}	10.67±0.58^{b}
	น้ำปราศจากไอออน	น้ำปราศจากไอออน	8.00±0.00^{a}	8.00±0.00^{a}	8.00±0.00^{a}
เส้นใย	เอทานอล	DMSO	15.17±0.29^{c}	15.67±0.29^{c}	12.50±1.44^{b}
	เมทานอล	DMSO	14.17±0.57^{c}	13.50±1.00^{b}	10.50±0.58^{a}
	น้ำปราศจากไอออน	DMSO	8.00±0.00^{a}	8.00±0.00^{a}	8.00±0.00^{a}
	เอทานอล	เอทานอล	11.67±1.44^{b}	11.17±1.53^{b}	12.00±0.50^{b}
	เมทานอล	เมทานอล	8.00±0.57^{a}	11.18±1.00^{b}	11.17±0.80^{b}
	น้ำปราศจากไอออน	น้ำปราศจากไอออน	8.00±0.00^{a}	8.00±0.00^{a}	8.00±0.00^{a}
ควบคุมผลลบ (DMSO)			12.33±0.58^{b}	8.00±0.00^{a}	9.83±0.58^{b}
ควบคุมผลลบ (เอทานอล)			10.00±0.50^{b}	9.83±0.58^{a}	9.33±1.04^{a}
ควบคุมผลลบ (เมทานอล)			10.50±1.00^{b}	8.00±0.00^{a}	8.83±0.76^{a}
ควบคุมผลลบ (น้ำปราศจากไอออน)			8.00±0.00^{a}	8.00±0.00^{a}	8.00±0.00^{a}

หมายเหตุ ข้อมูลในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (รวมขนาดหลุม 8 มิลลิเมตร) ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a, b และ c) แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูล (แนวคอลัมน์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (Minimal Inhibitory Concentration: MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (Minimum Bactericidal Concentration: MBC) โดยวิธี broth micro dilution

จากผลการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดีกว่าสกัดโดยต้มด้วยน้ำปราศจากไอออน จึงทำการศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล ต่อเชื้อ *E. coli* และ *S. epidermidis* โดยวิธี micro dilution จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าที่สีทองที่สกัดด้วยเมทานอลและละลายกลับด้วย DMSO มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ และสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ ที่ความเข้มข้นต่ำ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งเชื้อได้ที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น (ตารางที่ 2) และสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเอทานอล เมทานอล และละลายกลับด้วย DMSO มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเมทานอลและละลายกลับด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เทียบกับสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยตัวทำละลายอื่น (ตารางที่ 3) และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อและสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียระหว่างสารสกัดหยาบส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่าสารสกัดหยาบส่วนดอกมีประสิทธิภาพการยับยังเชื้อแบคทีเรียที่ดีกว่าส่วนเส้นใย โดยจากงานวิจัยก่อนหน้าที่มีการสกัดส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเมทานอล พบว่าค่า MIC ต่อเชื้อ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 2.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Reis et al., 2013) และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Joshi et al., 2019) ซึ่งที่ค่าต่ำกว่างานวิจัยนี้และไม่ได้มีผลการศึกษาในส่วนเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองควบคู่กัน

ตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งสีทองเช่าที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

ตัวอย่างสารสกัด สารทดสอบหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง		เชื้อแบคทีเรีย	ความเข้มข้นสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
สารสกัด	ตัวทำละลายกลับ		MIC	MBC
เอทานอล	DMSO	*S. epidermidis*	3.125	25
		E. coli	3.125	25
เมทานอล	DMSO	*S. epidermidis*	3.125	12.5
		E. coli	3.125	12.5

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ตัวอย่างสารสกัด สารทดสอบหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง		เชื้อแบคทีเรีย	ความเข้มข้นสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
สารสกัด	ตัวทำละลายกลับ		MIC	MBC
เอทานอล	เอทานอล	*S. epidermidis*	25	>25
		E. coli	25	>25
เมทานอล	เมทานอล	*S. epidermidis*	25	>25
		E. coli	6.25	12.5

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

ตัวอย่างสารสกัด สารทดสอบหยาบส่วนเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง		เชื้อแบคทีเรีย	ความเข้มข้นสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
สารสกัด	ตัวทำละลายกลับ		MIC	MBC
เอทานอล	DMSO	*S. epidermidis*	6.25	>25.0
		E. coli	6.25	>25.0
เมทานอล	DMSO	*S. epidermidis*	6.25	>25.0
		E. coli	6.25	>25.0
เอทานอล	เอทานอล	*S. epidermidis*	12.5	>25.0
		E. coli	12.5	>25.0
เมทานอล	เมทานอล	*S. epidermidis*	12.5	25.0
		E. coli	12.5	25.0

Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University
Volume 6 Number 5 September – October 2019 ISSN 2408 - 1248

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay จากตารางที่ 4 พบว่าสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดโดยการต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนและละลายกลับด้วยน้ำปราศจากไอออน สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.48 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเมทานอลและละลายกลับด้วยเมทานอล มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบจากส่วนดอกด้วยตัวทำละลายอื่นจะมีค่าการต้านอนุมูลอิสระ IC_{50} ระหว่าง 3.32-5.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบส่วนเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดโดยต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนและละลายกลับด้วยน้ำปราศจากไอออนสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้สูงสุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเมทานอลและละลายกลับด้วยเมทานอลมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในการทดลองใช้ กรอแอสคอบิกเป็นสารมาตรฐานในการทดสอบ ซึ่งมีค่า IC_{50} 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดลองสอดคล้องกับจากงานวิจัยของ Zhang *et al*. (2006) ได้ทำการสกัดดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยการต้มในน้ำกลั่น เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์การยับยั้งสูงถึงร้อยละ 70-80 ที่ความเข้มข้น 3.0-10.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยกรดแอสคอบิกที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน

ตารางที่ 4 ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

เห็ดถั่งเช่า	สารที่ใช้สกัด	ตัวทำละลาย	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ดอก	เอทานอล	DMSO	4.73
	เมทานอล	DMSO	5.63
	น้ำปราศจากไอออน	DMSO	3.32
	เอทานอล	เอทานอล	3.32
	เมทานอล	เมทานอล	2.28
	น้ำปราศจากไอออน	น้ำปราศจากไอออน	0.48
เส้นใย	เอทานอล	DMSO	4.10
	เมทานอล	DMSO	3.79
	น้ำปราศจากไอออน	DMSO	4.10
	เอทานอล	เอทานอล	4.06
	เมทานอล	เมทานอล	1.50
	น้ำปราศจากไอออน	น้ำปราศจากไอออน	1.15

5. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง

การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทั้งหมดของสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่าสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดโดยต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนและละลายกลับด้วยน้ำปราศจากไอออนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุดเท่ากับ 208.63±0.03 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดโดยต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนและละลายกลับด้วย DMSO (181.75±0.01) สารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าที่สกัดด้วยเอทานอลและละลายกลับด้วยเอทานอล (179.19±0.10) (ตารางที่ 5) ส่วนสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดโดยต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนและละลายกลับด้วยน้ำปราศจากไอออนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด 90.70±3.70 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่ารองลงมาสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเมทานอลและละลายกลับด้วยเมทานอล (61.40±1.50) (ตารางที่ 5) จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบจากส่วนดอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทั้งหมดสูงกว่าส่วนของสารสกัดจากเส้นใย ซึ่งสอดคล้องกับค่าการต้านอนุมูลอิสระที่มีค่าสูงในสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดโดยต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนและละลายกลับด้วยน้ำปราศจากไอออน จากผลการทดลองค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทั้งหมดสูงกว่างานวิจัยก่อนหน้าที่สกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเอทานอลและพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 15.04 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งสารสกัดหยาบ (Reis *et al*.,2013)

ตารางที่ 5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง

เห็ดถั่งเช่าสีทอง	สารสกัด	ตัวทำละลาย	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
ดอก	เอทานอล	DMSO	75.04±0.04[a]
	เมทานอล	DMSO	88.64±0.04[c]
	น้ำปราศจากไอออน	DMSO	181.75±0.01[d]
	เอทานอล	เอทานอล	179.19±0.10[d]
	เมทานอล	เมทานอล	79.99±0.03[b]
	น้ำปราศจากไอออน	น้ำปราศจากไอออน	208.63±0.03[e]
เส้นใย	เอทานอล	DMSO	60.80±7.70[b]
	เมทานอล	DMSO	53.80± 8.96[a]
	น้ำปราศจากไอออน	DMSO	51.40±5.80[a]
	เอทานอล	เอทานอล	51.40 ±1.80[a]
	เมทานอล	เมทานอล	61.40±1.50[c]
	น้ำปราศจากไอออน	น้ำปราศจากไอออน	90.70±3.70[c]

หมายเหตุ ข้อมูลในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a, b และ c) แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูล (แนวคอลัมน์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดหยาบส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดโดยการต้มด้วยน้ำปราศจากไอออนมีผลได้ร้อยละสูงที่สุด เท่ากับ 35.24% และ 36.90% ตามลำดับ สารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเมทานอลและละลายกลับด้วย DMSO สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR780, *S. epidermidis* TISTR518 และ *S. aureus* ATCC25923 ได้ดีที่สุดโดยมีค่าบริเวณการยับยั้งเฉลี่ย ตามตารางที่ 1เท่ากับ 16.83±0.76, 15.17±1.15 และ 11.17±2.89 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเอทานอลและละลายกลับด้วย DMSO สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* TISTR780, *S. epidermidis* TISTR518 และ *S. aureus* ATCC25923 ได้ดีที่สุด โดยจะให้บริเวณยับยั้ง15.17±0.29, 15.67±0.29 และ 12.50±1.44 มิลลิเมตร ตามลำดับ ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบถั่งเช่าสีทองโดยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดหยาบทั้งส่วนดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด (IC_{50} เท่ากับ 0.48 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด เท่ากับ 208.63±0.03 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดถั่งเช่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์ในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง แต่อย่างไรก็ตาม สารสกัดหยาบเส้นใยเห็ดถั่งเช่าที่เหลือใช้จากการผลิต ยังคงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และยังคงมีสารต้านอนุมูลอิสระที่สูง และสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระทางธรรมชาติเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางหรือผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในเชิงพาณิชย์ต่อไปในอนาคตได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณทุนสนับสนุนการทำวิจัยประจำปีงบประมาณ 2561จากโครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

References

Arjin, C., Yachai, M., Tapingkae, T., Udnoon, P., & Tapingkae, W. (2559). phon khō̜ng kān sœ̄mwatsadu phō̜ het thang chao sī thō̜ng nai ʻāhān tō̜ samatthaphāp kānphalit læ čhulinsī nai sai tan khō̜ng kai khai [Effects of dietary spent mushroom (*Cordyceps militaris*) substrate supplementation on productive performance and cecal microflora of laying hens]. Khon Kaen Agricultural Journal, 44(2). 647-653.

Bhandari, A.K., Negi, J.S., Bisht, V.K., Rana, C.S., Bharti, M.K., & Sing, N. (2010). Chemical constituent, inorganic element and properties of *Cordyceps militaris* a review. Nature and Science, 8(9). 253-256.

Chiu, C.P., Hwang, T.L., Chan, Y., Shazly, M.E., Wu, T.Y., Lo, I.W., Hsu, Y.M., Lai, K.H., Hou, M.F., Yuan, S.S., Chang, F.R., & Wu, Y.C. (2016). Research and development of *Cordyceps* in Taiwan. Food Science and Human Wellness, 5. 177-185.

Dong, C., Yang, T., & Lian, T. (2014). A Comparative Study of the Antimicrobial, Antioxidant, and Cytotoxic Activities of Methanol Extracts from Fruit Bodies and Fermented Mycelia of Caterpillar Medicinal Mushroom *Cordyceps militaris* (Ascomycetes). International Journal of Medicinal Mushrooms, 16(5). 485-495.

Huang, L., Li, Q., Chen, Y., Wang, X., & Zhou, X. (2009). Determination and analysis of cordycepin and adenosine in the products of *Cordyceps* spp. African Journal of Microbiology Research, 3(12). 957-961.

Joshi, M., Sagar, A., Kanwar, S.S., & Singh, S. (2017). Anticancer, antibacterial and antioxidant activities of *Cordyceps militaris*. Indian Journal of Experimental Biology, 57. 15-20

Kiho, T., Yamane, A., Hui, J., Usui, S., & Ukai, S. (1996). Polysaccharide in fungi. Hypoglycemic activity of a polysaccharide (CS-F 30) from the cultural mycelium of *Cordyceps sinensis* and its effect on glucose metabolism in mouse liver. Biology and Pharmaceutical Bulletin, 19(1996). 294-296.

Kim, H.S., & Kang, J.S. (2010). Cordlan Polysaccharide isolated from mushroom *Cordyceps militaris* induce dendritic cell maturation through toll-like receptor 4 signalings. Food and Chemical Toxicology, 48. 1926-1933.

Lee, H.J., Burger Vogel, P.M., Friese, K., & Brüning, A. (2012). The nucleoside antagonist cordycepin causes DNA double strand breaks in breast cancer cells**.** Invest New Drugs, 30. 1917–1925.

Lin, R., Liu, H., & Wu., S. (2012). Production and in vitro antioxidant activity of exopolysaccharide by a mutant, *Cordyceps militaris*. International Journal of Biological Macromolecules, 51. 53-157.

Nanasombat, S., & Teekchuen, N. (2009). Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of Thai local vegetables. Journal of Medicinal Plants Research, 3. 443-449.

Nonsee, P., Sornprasert, R., & Hambananda, A. (2551). phon khoṇng sān̄sakat yān̄ cha̍k sēnyai het khrǣng (Schizophyllum commune) toṛ kān̄ charœ̄n khoṇng Bacillus subtilis læ Escherichia coli [Effect of crude extract from mycelia of Hed Krang (*Schizophyllum commune*) on the against of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* growth]. Faculty of Science Chandrakasem Rajabhat University, Bangkok.

Pooja, P., & Sagar, A. (2014). Studies on antibacterial activity of *Cordyceps militaris* (L.) Link. Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences, 5(4). 61-68.

Rauha, J., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kahaonen, M., & Kujala, T. (2000). Antimicrobial effects of finished plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. International Journal of Food Microbiology, 56(1). 3-12.

Reis, F.S., Barros, L., Calhelha, R.C., C´iric, A., Griensven, L.V., Sokovic´, M., & Ferreira, I. (2013). The methanolic extract of *Cordyceps militaris* (L.) Link fruiting body shows antioxidant, antibacterial, antifungal and antihuman tumor cell lines properties. Food and Chemical Toxicology, 62. 91-98.

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative Properties of anthans on the Autoxidation of Soybean Oil in Cyclodextrin Emulsion. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40(6). 945-948.

Soltani, M., Malek, R.A., Ware, I., Ramli, S., Elsayed, E.A., Aziz, R., & El-Enshasy, H.A. (2017). Optimization of Cordycepin Extraction from *Cordyceps militaris* Fermentation Broth. Journal of Scientific & Industrial Research, 76. 355-361.

Tapingkae, T., Yachai, M., Sithiwong, S., Upalasin, K., Phonpannawit, A., Thongthap, A., & Tapingkae, W. (2557). kān̄suksā kān̄ phoṛ liāng het samunphrai thang chao sī thoṇng læ kān̄nam pai chai prayōt̄ [Study on Cultivation and Utilization of Medicinal Mushroom Cordyceps militaris]. Chiang Mai Rajabhat University, Chiangmai.

Tsai, T.H., Tsai, P.J., & Ho, S.C. (2005). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Several Commonly Species. Journal of Food Science, 70(1). 93-97.

Zhan, Y., Dong, C.H., & Yao, Y.J. (2006). Antioxidant Activities of Aqueous Extract from Cultivated Fruit-bodies of *Cordyceps militaris* (L.) Link *In Vitro*. Journal of Integrative Plant Biology, 48(11). 1365-1370.