

ศักยภาพของสารสกัดหยาบจากเห็ดเสม็ดในการยับยั้งจุลินทรีย์ และต้านอนุมูลอิสระ

The Potential of Crude Extracts from *Boletus griseipurpureus* for Antimicrobial and Antioxidant Activities

นิภาราตี นะแด¹ และ พฤทธิกร ศุภพล^{2*}
Niparatee Nadae¹ and Preuttiporn Supaphon^{2*}

Received: 23 July 2025
Revised: 23 November 2025
Accepted: 30 January 2026

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเห็ดเสม็ด (*Boletus griseipurpureus*) สำหรับฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและทดสอบหาสารฟลักซ์เคมีเบื้องต้น นอกจากนี้วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดนำสารสกัดหยาบ 3 ชนิด (ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน) มาประเมินฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี colorimetric broth microdilution และ DPPH free radical scavenging ตามลำดับ จุลินทรีย์จำนวน 7 สายพันธุ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ประกอบด้วยแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) SK1, *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, ยีสต์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Candida albicans* ATCC90028, *Candida albicans* NCPF3153 และ *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากเอทานอลสามารถยับยั้งยีสต์ได้ทั้ง 3 สายพันธุ์ให้ค่า MIC 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดไดคลอโรมีเทนและเฮกเซนมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus*, MRSA และ *C. neoformans*

¹โรงพยาบาลสิโรสปัตตานี ปัตตานี ประเทศไทย 94000

¹Siros Hospital Pattani, Pattani, Thailand 94000

²คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ สงขลา ประเทศไทย 90000

²Faculty of Education, Thaksin University, Songkhla, Thailand 90000

*ผู้พันธ์ประสานงาน (Corresponding author) e-mail: preuttiporn@tsu.ac.th

ให้ค่า MIC 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและจากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบเพียงสารสกัดเอทานอลยับยั้งอนุมูลอิสระให้ค่า IC_{50} 15.5 ± 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทดสอบหาสารฟลักซ์เคมีของสารสกัดพบเบื้องต้นโดยวิธีมาตรฐาน พบสารประกอบฟีนอลิก อัลคาลอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน นอกจากนี้วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดด้วยวิธี Folin Ciocalteu พบปริมาณฟีนอลิกรวม 11.23 ± 0.10 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด

คำสำคัญ: เห็ดเสม็ด จุลินทรีย์ก่อโรค อนุมูลอิสระ สารฟลักซ์เคมี

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the efficiency of crude extracts from *Boletus griseipurpureus* for antimicrobial activity, antioxidant activity and phytochemical screening of crude extracts. In addition, the total phenolic contents of the extracts were analyzed. Three crude extracts (methanol, dichloromethane and hexane extracts) were evaluated for antimicrobial and antioxidant activities using a colorimetric broth microdilution method and DPPH free radical scavenging assay, respectively. Seven pathogenic microorganisms were used in the antimicrobial tests, including four bacteria strains, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) SK1, *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 and three yeast strains, *Candida albicans* ATCC90028, *Candida albicans* NCPF3153 and *Cryptococcus neoformans* ATCC90112. The results indicated that ethanol extract showed the strongest activity against yeasts, with MIC value of 512 $\mu\text{g/ml}$. The remaining extracts gave the antimicrobial activity against *S. aureus*, MRSA and *C. neoformans* with MIC value of 512 $\mu\text{g/ml}$. On the other hand, only ethanol extract had the best antioxidant activity with IC_{50} value of 15.5 ± 0.02 $\mu\text{g/ml}$. Phytochemical screening of the extracts using standard protocols revealed the presence of phenolic compounds, alkaloids, saponins, and tannins. Furthermore, the total phenolic content determined by the folin-ciocalteu method was 11.23 ± 0.10 mg gallic acid equivalent per gram of extract.

Keywords: *Boletus griseipurpureus*; Pathogenic Microorganisms; Free Radical; Phytochemical Compounds

บทนำ

โรคติดเชื้อไม่เพียงแต่เป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทยแต่ยังเป็นปัญหาสำคัญของคนทั่วโลก โดยนอกจากจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของประชากรโดยตรง ตลอดจนแสดงให้เห็นถึงปัญหาทางด้านสังคมและเศรษฐกิจของประเทศนั้นๆ อีกด้วย โดยรูปแบบของการรักษาโรคติดเชื้อเป็นการรักษาโดยใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งส่วนใหญ่มีราคาแพง ผู้ป่วยจึงต้องแบกรับค่าใช้จ่ายในการรักษามากขึ้น ปัจจุบันโรคติดเชื้อได้กลายมาเป็น

ปัญหาสำคัญทั่วโลกและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปีโดยเฉพาะโรคที่เกิดจากกลุ่มจุลินทรีย์คือยาปฏิชีวนะ [1] โดยยาปฏิชีวนะมีกลไกในการทำลายจุลินทรีย์ได้หลายกลไกด้วยกัน คือ กลไกในการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ยับยั้งการสร้างโปรตีน ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของแบคทีเรีย และยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึม โดยสาเหตุที่ส่งผลให้แบคทีเรียดื้อยามาจากหลายสาเหตุด้วยกัน เช่น การใช้ผิดวิธี เลือกยาผิด และใช้ยาไม่นานพอที่จะทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคนั้นๆ [2] ปัจจุบันหลายๆหน่วยงานให้ความสนใจและตระหนักถึงปัญหานี้จึงมีความจำเป็นเร่งด่วนที่จะต้องหาสารต้านจุลินทรีย์เหล่านี้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติแหล่งใหม่ๆ โดยเฉพาะจากกลุ่มจุลินทรีย์ ซึ่งมีรายงานศักยภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมาก่อนหน้านี้ [3, 4] เนื่องจากจุลินทรีย์มีความหลากหลายมากกว่าพืชและสัตว์และที่สำคัญสามารถเพิ่มจำนวนได้ง่าย นอกจากนี้ผู้ป่วยและประชากรทั่วโลกหันมาให้ความสนใจเกี่ยวกับสุขภาพมากขึ้นเนื่องจากปัญหาที่มีในปัจจุบันก่อให้เกิดความเครียดโดยส่งผลกระทบต่อสุขภาพด้านอื่นๆตามมา ความเครียดเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระคือสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวในอะตอมหรือโมเลกุลเป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่างๆ พบว่าโรคและอาการผิดปกติหลายอย่างมีความเชื่อมโยงกับการเกิดอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นในกระบวนการเผาผลาญหรือเมแทบอลิซึมของเซลล์ในร่างกาย ส่งผลต่อการทำลายเซลล์ และอาจทำให้การทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญเปลี่ยนแปลงไป มีงานวิจัยมากมายพบว่าอนุมูลอิสระมีผลต่อการเสื่อมของเซลล์ในร่างกายและมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ [5-7] ซึ่งหากกระบวนการนี้ไม่ถูกยับยั้งโดยสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อปล่อยทิ้งไว้จะทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์มากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นเซลล์ผิวหนัง หัวใจ สมอง และผนังหลอดเลือด เป็นต้น ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ เช่น โรคติดเชื้อ หลอดเลือดหัวใจอุดตัน ต้อกระจก มะเร็ง และความแก่ชราก่อนวัยอันควร [8] ปัจจุบันผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีความสำคัญต่อชีวิตประจำวันของมนุษย์เป็นอย่างมากเนื่องจากมีสารหลายกลุ่มที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพจนมีการนำไปพัฒนาเพื่อผลิตเป็นยารักษาโรคหรือเพื่อป้องกันการเกิดโรคบางชนิด เช่น สารที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติทางทะเลโดยมีศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้กว้างทั้งแบคทีเรีย รา และไวรัส นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง และด้านการอักเสบ [9]

เห็ดเป็นราชนิดหนึ่งซึ่งมีโครงสร้างขนาดใหญ่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า มีประโยชน์หลายด้านในระบบนิเวศโดยเฉพาะทำหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลาย (decomposer) หรือช่วยในการเจริญเติบโตของพืชอาศัยที่สำคัญคือใช้เป็นอาหารจนกระทั่งมีการเพาะเลี้ยงเป็นอุตสาหกรรมอาหาร เห็ดบางชนิดมีสรรพคุณทางยาจึงมีการศึกษาและประยุกต์ใช้ในการรักษาโรค โดยกลุ่มสารที่พบมีประโยชน์ต่อร่างกายและปลอดภัย เช่น เบต้า-กลูแคนโพลีแซคคาไรด์ ไกลโคโปรตีน เลคติน และเทอร์ปีนอยด์ [3] โดยสารเหล่านี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาสามารถต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านอนุมูลอิสระ ปรับสมดุลความดันโลหิต ลดระดับคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด และที่สำคัญคือช่วยเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันของร่างกาย ปัจจุบันได้มีการศึกษาสารสกัดจากเห็ดอย่างกว้างขวาง ที่ผ่านมามีงานวิจัยที่รายงานศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลากหลายชนิดด้วยกัน *Butyriboletus regius*, *Ganoderma lucidum*, *Lanmaoa fragrans*, *Suillellus luridus*, *Suillellus mendax*, *Xerocomus subtomentosus* พบว่าเห็ดเหล่านี้มีศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและยังช่วยต้านอนุมูลอิสระได้ดี [10]

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาศักยภาพของสารสกัดเห็ดจากเห็ด โดยเฉพาะเห็ดเสม็ดเนื่องจากเป็นเห็ดที่นิยมรับประทานทางภาคใต้ ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในมนุษย์ การต้านอนุมูลอิสระ ตรวจสอบหาสารพิษตกค้างเบื้องต้น และวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด ซึ่งเห็ดเสม็ดอาจเป็นแหล่งทางเลือกของการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและอาจสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอนาคต ซึ่งได้ทดสอบครอบคลุม

ทั้งจุลินทรีย์ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และยีสต์ ซึ่งงานวิจัยส่วนใหญ่ที่ผ่านมาเกี่ยวกับการศึกษาเฉพาะเจาะจงในกลุ่มแบคทีเรียบางสายพันธุ์เท่านั้น

วิธีดำเนินการวิจัย

1.การเตรียมสารสกัดหยาบ

นำตัวอย่างเห็ดเสม็ดที่ได้รับการอนุเคราะห์จากนางสาวเนตรนภา บัณนา สำหรับตัวอย่างเห็ดจากป่าเสม็ด ในพื้นที่จังหวัดสตูล มาบดให้ละเอียด จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกว่าจะแห้งสนิท จากนั้นชั่งตัวอย่างในปริมาณเท่าๆ กัน ใส่ลงในภาชนะจำนวน 3 ใบ และเติมตัวทำละลายลงไป โดยในการศึกษานี้ใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ เอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน ในอัตราส่วน 1:1 กรัมนต่อมิลลิลิตร (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการสกัดแบบแช่ (maceration) ปิดฝาภาชนะ และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เขย่าทุกวันวันละ 2 ครั้ง เมื่อครบกำหนด กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ขนาดรูกรอง 20-25 ไมโครเมตร นำส่วนของของเหลวไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิในช่วง 40-50 องศาเซลเซียส จากนั้นบรรจุสารสกัดที่ได้ในภาชนะละลายด้วย dimethylsulfoxide (DMSO) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเก็บรักษาสารสกัดที่ได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้ในการทดสอบ

2.การเตรียมจุลินทรีย์ทดสอบ

ในการศึกษานี้ใช้เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้งหมด 7 สายพันธุ์ ได้แก่ แบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) SK1, *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 และยีสต์ 3 สายพันธุ์ *Candida albicans* ATCC90028, *Candida albicans* NCPF3153 และ *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 เพาะเชื้อแบคทีเรียทดสอบลงบนอาหาร nutrient agar (NA) โดยใช้เทคนิค streak plate เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยวๆ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นเชี่ยโคโลนีของแบคทีเรียจำนวน 3-5 โคโลนีลงในอาหารเหลว nutrient broth (NB) และเขย่าที่ตู้บ่มเชื้อด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 ชั่วโมง ปรับความขุ่นของเชื้อด้วยน้ำเกลือ 0.85% ที่ปราศจากเชื้อให้ได้ระดับความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard (เชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/ml) จากนั้นปรับความขุ่นโดยการเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton Broth (MHB) ในอัตราส่วน 1:200 และสำหรับยีสต์ทำเช่นเดียวกับการเตรียมแบคทีเรีย แต่ streak ลงบนอาหาร Sabouraud dextrose agar (SDA) และบ่มจานอาหารที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และ 25 องศาเซลเซียส สำหรับ *C. albicans* และ *C. neoformans* ตามลำดับ เมื่อสังเกตเห็นโคโลนีเดี่ยวๆ บนจานอาหาร ให้เชี่ยโคโลนีของเชื้อจำนวน 3-5 โคโลนี ลงในอาหารเหลว Sabouraud dextrose broth (SDB) เขย่าที่ตู้บ่มเชื้อด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิสำหรับยีสต์แต่ละสายพันธุ์ที่กล่าวไว้ข้างต้น ปรับความขุ่นของเชื้อด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อที่ความเข้มข้น 0.85% ให้ได้ 2 McFarland standard (เชื้อประมาณ 6.0×10^8 CFU/ml) และเจือจางต่อด้วยอาหาร SDB ที่อัตราส่วน 1:20 ก่อนนำไปทดสอบ ดัดแปลงจาก [11, 12]

3.การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากเห็ดด้วยวิธี colorimetric broth microdilution

3.1 ทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดที่ความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

นำสารสกัดหยาบที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรดูดใส่ใน sterile 96-well microtiter plates หลุมละ 12 ไมโครลิตร จากนั้นดูดอาหาร MHB สำหรับแบคทีเรียและดูดอาหาร SDB

สำหรับยีสต์ลงไปหลุมละ 88 ไมโครลิตร และดูดเชื้อทดสอบที่เตรียมไว้ซึ่งปรับความเข้มข้นแล้วใส่ใน sterile 96-well microtiter plates ที่มีสารสกัดและอาหารอยู่หลุมละ 100 ไมโครลิตร โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 ชั่วโมงสำหรับแบคทีเรียและยีสต์ *C. albicans* และบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 45 ชั่วโมงสำหรับ *C. neoformans* หยด resazurin indicator (0.018%) ลงในหลุมทดสอบหลุมละ 30 ไมโครลิตร และนำไปบ่มต่อเป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดอ่านผลการทดสอบโดยสังเกตสีของ resazurin หากยังคงเห็นเป็นสีน้ำเงินให้ผลเป็นบวกแสดงว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อทดสอบได้และหากเปลี่ยนเป็นสีชมพูให้ผลเป็นลบแสดงว่าสารสกัดไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อทดสอบได้ดังแปลงจาก [13, 14] สำหรับชุดควบคุมเชิงบวกใช้ยาปฏิชีวนะ Vancomycin และ Gentamicin สำหรับแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบตามลำดับ Amphotericin B เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับยีสต์และรา

3.2 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ (Minimum inhibitory concentration; MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าแบคทีเรียทดสอบได้ (Minimum bactericidal concentration; MBC) หรือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่ายีสต์และราทดสอบได้ (Minimum fungicidal concentration; MFC)

นำสารสกัดที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบเบื้องต้นที่ความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจากการทดสอบก่อนหน้ามาทดสอบหาค่า MIC ในช่วงความเข้มข้น 512 – 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมสารสกัดให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นดูดอาหารเหลว MHB สำหรับแบคทีเรียและอาหารเหลว SDB สำหรับยีสต์ใส่ลงใน sterile 96-well microtiter plates หลุมละ 89.76 ไมโครลิตร แล้วดูดสารสกัดหยดใส่ sterile 96-well microtiter plates หลุมเดียวกันกับอาหารเหลวอยู่หลุมละ 10.24 ไมโครลิตร ทำทั้งหมด 3 หลุม ในแถวแรก จากนั้นดูดอาหารเหลวลงในแถวที่ 2-10 ของ sterile 96-well microtiter plates จากนั้นทำการเจือจางแบบ 2-fold dilution โดยดูดอาหารและสารสกัดจากหลุมแถวที่ 1 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร มายังหลุมแถวที่ 2 จากนั้นผสมให้เข้ากัน ทำแบบเดียวกันจนถึงหลุมแถวที่ 10 จากนั้นดูดอาหารและสารสกัดจากหลุมแถวที่ 10 ทั้ง 50 ไมโครลิตร จากนั้นดูดเชื้อทดสอบที่มีอัตราส่วน 1:200 สำหรับแบคทีเรียและเชื้อที่มีอัตราส่วน 1:20 สำหรับยีสต์ที่เตรียมไว้ก่อนหน้านี้ใส่ใน sterile 96-well microtiter plates หลุมละ 50 ไมโครลิตร จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดหยดอยู่ในช่วง 512-1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรียและยีสต์ *C. albicans* ทั้งสองสายพันธุ์และบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 45 ชั่วโมงสำหรับ *C. neoformans* จากนั้นหยด resazurin indicator (0.018 เปอร์เซ็นต์) ลงในหลุมทดสอบหลุมละ 30 ไมโครลิตรและนำไปบ่มต่อที่ 35 องศาเซลเซียส สำหรับแบคทีเรียและยีสต์ *C. albicans* ทั้งสองสายพันธุ์ และ 25 องศาเซลเซียสสำหรับ *C. neoformans* เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดอ่านผลการทดสอบบันทึกค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้เป็นค่า MIC จากนั้นนำผลที่ระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ในการทดสอบ MIC มา streak บนอาหาร NA สำหรับแบคทีเรียและ streak บนอาหาร SDA สำหรับยีสต์จากนั้นนำจานอาหารไปบ่มที่สภาวะเดียวกับการทดสอบข้างต้นอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เป็นค่า MBC และอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อยีสต์ได้เป็นค่า MFC

4.การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระโดยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH)

นำสารสกัดหยาบที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ละลายใน DMSO ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นเจือจางสารสกัดให้มีความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร-12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น DPPH ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ปริมาตร 50 ไมโครลิตร (ความเข้มข้นสุดท้าย 100 – 6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่อง microplate reader โดยใช้วิตามินซี (ascorbic acid) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) โดยทดสอบที่ระดับความเข้มข้นสุดท้าย 50 – 6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและใช้ DMSO เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) คัดแปลงจาก [15] จากนั้นคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระเพื่อหาค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้สูตรดังนี้ [15]

$$\% \text{ radical scavenging activity} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่มีสารสกัด

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่มีสารสกัด

5.การตรวจสอบหาสารฟลักซ์เคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบด้วยวิธีมาตรฐาน

5.1 การตรวจสอบหาสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร จากนั้นอุ่นเป็นเวลา 10 นาที รอให้เย็นและกรอง จากนั้นเติมน้ำกลั่น $FeCl_3$ ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3-4 หยด สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารผสม หากปรากฏสีน้ำเงินหรือสีดำแสดงว่ามีสารประกอบฟีนอลิก [16]

5.2 การตรวจสอบหาสารกลุ่มซาโปนิน (saponin)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ผ่านการกรองมาเติมน้ำกลั่น 150 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆ หากมีฟองและฟองที่เกิดขึ้นไม่หายไปแสดงว่าพบซาโปนิน [16]

5.3 การตรวจสอบหาสารกลุ่มแทนนิน (tannin)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นใน water bath นาน 3 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ผ่านการกรองมาหยดสารละลาย $FeCl_3$ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 2 หยดลงไป หากปรากฏสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำแสดงว่าพบแทนนิน [16]

5.4 การตรวจสอบหาสารกลุ่มอัลคาลอยด์ (alkaloid)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยสารละลาย H_2SO_4 ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร นำไปอุ่นเป็นเวลา 3 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ผ่านการกรองมาหยดน้ำยาตราเจนดอร์ฟ (dragendorff's reagent) จำนวน 5 หยด หากปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบสารอัลคาลอยด์ [16]

6.การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

นำสารสกัดมาเตรียมให้ได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นผสมสารสกัด ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น Folin-Ciocalteu ปริมาตร 2,500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและวางไว้ที่อุณหภูมิห้องที่มืดเป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบกำหนดเติมน้ำกลั่นโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ที่ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2,000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรด

แกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg of gallic acid equivalent/g extract) ตัดแปลงจาก [15]

ผลการวิจัย

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบโดยวิธี colorimetric broth microdilution

ผลจากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากเห็ดเสม็ดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิดประกอบด้วยเอทานอล (ethanol) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) และเฮกเซน (hexane) ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค 4 สายพันธุ์และยีสต์ 3 สายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดทั้ง 3 สารมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 2 สายพันธุ์ (*Staphylococcus aureus* ATCC25923 และ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) SK1) และยีสต์ 3 สายพันธุ์ (*Candida albicans* ATCC90028, *Candida albicans* NCPF3153 และ *Cryptococcus neoformans* ATCC90112) โดยให้ค่า MIC เท่ากับ 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ MBC หรือ MFC มากกว่า 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดทั้ง 3 สารไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli* ATCC25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853) ได้ (Table 1)

Table 1 Antimicrobial activity of crude extracts at final concentration range from 512-1 µg/ml

Samples	MIC/MBC or MFC (mg/mL)						
	SA	MRSA	EC	PA	CA28	CA53	CA12
Ethanol extract	512/>512	512/>512	-	-	512/>512	512/>512	512/>512
Dichloromethane extract	512/>512	512/>512	-	-	-	-	512/>512
Hexane extract	512/>512	512/>512	-	-	-	-	512/>512
Antibiotics							
Vancomycin	1/2	1/2					
Gentamicin			0.25/1	0.25/1			
Amphotericin B					0.5/1	0.5/1	0.5/1

Remark; - no activity at concentration range 512-1µg/ml, SA = *Staphylococcus aureus* ATCC25923, MRSA = methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) SK1, EC = *Escherichia coli* ATCC25922, PA = *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, CA28 = *Candida albicans* ATCC90028, CA53 = *Candida albicans* NCPF3153, CA12 = *Cryptococcus neoformans* ATCC90112

เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 สารในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ 7 สายพันธุ์ พบว่าสารสกัดทั้งหมดมีศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้จำนวน 5 สายพันธุ์ยกเว้น จุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ

2.การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระโดยวิธี 2, 2 diphenyl - 1- picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH)

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากเห็ดเสม็ดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 สาร คือ เอทานอล ไดคลอโรมีเทน และ เฮกเซน โดยใช้กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน ในการทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่าสารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ 70 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดไดคลอโรมีเทนและเฮกเซนไม่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าว ในขณะที่กรดแอสคอร์บิกมีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดทั้ง 3 สารคิดเป็น 93.01 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นหาค่าประสิทธิภาพของสารสกัดในการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) พบว่าสารสกัดเอทานอลมีค่า IC_{50} เท่ากับ 15.5 ± 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่กรดแอสคอร์บิกมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.005 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Table 2)

3.การตรวจสอบหาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นและปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดหยาบ

ผลการตรวจสอบหาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากเห็ดเสม็ดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน ในการตรวจสอบหาสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ซาโปนิน (saponin) แทนนิน (tannin) และอัลคาลอยด์ (alkaloid) พบว่าสารสกัดเอทานอลตรวจพบสารทั้ง 4 กลุ่มที่ทดสอบ คือ สารประกอบฟีนอลิก แทนนิน อัลคาลอยด์ และซาโปนิน และตรวจพบซาโปนินในสารสกัดเฮกเซนแต่ไม่พบสารประกอบฟีนอลิก โดยพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีความเข้มข้นมากกว่าสารกลุ่มอื่นๆ ดังนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดจากเอทานอลพบปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 11.23 ± 0.10 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (Table 2)

Table 2 The potential of extracts for antioxidant activity, phytochemical screening and total phenolic content from *B. griseipurpureus*.

Samples	Phytochemical screening				TPC mg GAE/ g sample	Antioxidant activity	
	P	S	T	A		% inhibition	IC_{50} (μ g/ml)
Ethanol extract	++	+	+	+	11.23 ± 0.10	70	15.5 ± 0.02
Dichloromethan extract	-	-	-	-	-	-	-
Hexane extract	-	+	-	-	-	-	-
Control							
Ascorbic acid						93.01	0.005 ± 0.01

Remark; - no activity/no detected; + moderate phylochemical content, ++ high phylochemical content; P = Phenolic, S = Saponin, T = Tannin, A = Alkaloids;

เนื่องจากปัญหาและแนวโน้มความรุนแรงของโรคติดเชื้อจุลินทรีย์และปัญหาของโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระของผู้ป่วยและประชากรทั่วโลกที่กำลังเพิ่มขึ้น นักวิจัยจึงมองหาแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพแหล่งใหม่ๆ โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระ โดยในการศึกษานี้สนใจสารสกัดจากเห็ด

โดยเฉพาะเห็ดเสม็ด เนื่องจากพบมากทางตอนใต้ของประเทศไทยและเป็นที่นิยมรับประทาน โดยเห็ดชนิดนี้มีปริมาณโปรตีนสูงและมีสรรพคุณทางยา จากผลการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเห็ดเสม็ดจำนวน 3 สาร ได้แก่ สารสกัดเอทานอล สารสกัดโคคโธโรไมเทน และสารสกัดเฮกเซน พบว่าสารสกัดจากเห็ดเสม็ดมีศักยภาพในการต้านจุลินทรีย์ได้ดี โดยสารสกัดจากเอทานอลมีศักยภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก 2 สายพันธุ์ (*S. aureus* ATCC25923 และ MRSA SK1) และยีสต์ 3 สายพันธุ์ (*C. albicans* ATCC90028, *C. albicans* NCPF3153 และ *C. neoformans* ATCC90112) โดยให้ค่า MIC เท่ากับ 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ MBC หรือ MFC มากกว่า 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดจากโคคโธโรไมเทนและเฮกเซนสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. aureus* ATCC25923, MRSA SK1 และ *C. neoformans* ATCC90112

ซึ่งต่างจากการศึกษาก่อนหน้าของ Sudjaroen และ Thongkao [17] รายงานศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดเสม็ดที่สกัดด้วยโคคโธโรไมเทนและเมทานอลในการยับยั้งแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดไม่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบ (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *C. albicans*) นอกจากนี้ Angaichariya, et al. [18] ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเมทานอลและเอทิลอะซิเตตของเห็ดเสม็ดในการยับยั้งแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ *P. aeruginosa* และ *Enterococcus faecalis* ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่อย่างไรก็ตามพบว่ามีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สายพันธุ์ของตัวอย่าง สถานที่เก็บตัวอย่าง ฤดูกาล อายุ และตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดสาร [19-21] โดยในการศึกษานี้พบว่าสารสกัดทั้ง 3 สาร ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ อาจเนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกซึ่งมีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ โปรตีน ฟอสโฟลิพิด และลิโปลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งช่วยป้องกันการซึมผ่านและการถูกทำลายของสารสกัด รวมทั้งมีความแข็งแรงและทนต่อสภาพอุณหภูมิหรือพีเอชที่ไม่เหมาะสมได้ดี เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบบางสายพันธุ์อาจมีโครงสร้างของแคปซูลหรือเยื่อเมือกห่อหุ้มภายนอกเยื่อหุ้มชั้นนอกอีกชั้น [22]

นอกจากนี้ในการศึกษานี้ยังศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเห็ดเสม็ดในการต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นพบว่าเฉพาะสารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ระดับ 70 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 15.5 ± 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งต่างกับการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่าสารสกัดจากเห็ดเสม็ดที่สกัดด้วยเมทานอล โคคโธโรไมเทน และเฮกเซนแสดงค่า % Radical scavenging ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ [17-18] นอกจากนี้มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH จากเห็ดชนิดอื่นๆ Taveepanich [23] ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานีจำนวน 20 ชนิด ได้แก่ เห็ดผึ้งนกยูง (*Macrolepiota dolichaula*) เห็ดระโงกขาว (*Amanita princes*) เห็ดระโงกแดง (*Amanita caesarea*) เห็ดเผาะฝ้าย (*Astraeus hygrometricus*) เห็ดผึ้งเหลือง (*Boletus colossus*) เห็ดผึ้งแดง (*Aureoboletus thibetanus*) เห็ดผึ้งชาด (*Boletellus chrysenteroides*) เห็ดผึ้งขาลาย (*Boletellus russellii*) เห็ดมันปู (*Cantharellus cibarius*) เห็ดเผาะหนัง (*Geastrum saccatum*) เห็ดผึ้งข้าว (*Suillus tomentosus*) เห็ดห้าพาน (*Alpova tappei*) เห็ดโคล (*Russula virescens*) เห็ดก่อใหญ่ (*Russula mairei*) เห็ดถ่าน (*Russula densifolia*) เห็ดหน้าแหล่ (*Russula cyanoxantha*) เห็ดปลวกข้าวตอก (*Termitomyces clypeatus*) เห็ดปลวกตาบ (*Termitomyces* sp.) เห็ดปลวกแดง (*Termitomyces grobuslus*) และเห็ดตีนแรด (*Tricholoma erassum*) โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือสารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ด

เพาะฝ้ายมีค่าเท่ากับ 50.27 ± 0.88 เปอร์เซ็นต์ และในปี 2558 Leejae, et al. [24] รายงานแหล่งของอาหารที่ใช้เลี้ยงเห็ดถั่งเช่า พบว่าแหล่งอาหารมีผลต่อการเจริญงอกประกอบของสารพิษของเชื้อเห็ดถั่งเช่าที่เพาะเลี้ยงบนอนุมูลอิสระ โดยเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงบนข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวหอมมะลิ จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงบนข้าวหอมมะลิมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงบนข้าวไรซ์เบอร์รี่ (IC_{50} ประมาณ $227.1-560.5$ ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และ $580.0-671.8$ ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมตามลำดับ) แต่อย่างไรก็ตามฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอาจแตกต่างกันขึ้นกับองค์ประกอบของสารพิษของเห็ดแต่ละชนิด [25-26] จากการตรวจสอบหาสารพิษของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน ในการตรวจสอบสารประกอบฟีนอลิก ซาโปนิน แทนนิน และอัลคาลอยด์ พบว่าสารสกัดไดคลอโรมีเทนและเฮกเซนตรวจพบสารกลุ่มซาโปนิน แต่ไม่พบสารประกอบฟีนอลิกและสารอื่นๆ ขณะที่สารสกัดเอทานอลตรวจพบสารทั้ง 4 กลุ่มที่ทดสอบ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกพบว่าสารสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองมีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 11.23 ± 0.10 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด โดยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารพิษของเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งมักใช้ในการออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระหลากหลายกลไก เช่น การจับกับโลหะ การดักจับอนุมูลอิสระ และการยับยั้งเอนไซม์ออกซิเดชัน ดังนั้นสารกลุ่มฟีนอลจึงมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ [27]

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในการยับยั้งจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระรวมทั้งหาองค์ประกอบของสารพิษของเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่าสารสกัดมีศักยภาพในการต้านจุลินทรีย์ได้ดีโดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกและยีสต์ให้ค่า MIC เท่ากับ 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม MBC หรือ MFC มากกว่า 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ซึ่งมีความยับยั้งดีกว่าการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้ แต่อย่างไรก็ตามมีเพียงสารสกัดเอทานอลที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ในระดับ 70 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50} 15.5 ± 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม) ซึ่งสัมพันธ์กับกลุ่มสารพิษของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ตรวจพบโดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถตรวจพบได้มากที่สุดและมีปริมาณเท่ากับ 11.23 ± 0.10 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด จากผลการศึกษาเห็นได้ว่าสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีศักยภาพทั้งสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีจึงอาจใช้เป็นแหล่งทางเลือกเพื่อนำไปศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคโดยเฉพาะกลุ่มที่ดีเยี่ยมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่นๆในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมการผลิต มหาวิทยาลัยทักษิณ สำหรับพื้นที่ในการศึกษา นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

References

- [1] Indrawattana, N., & Vanaporn, M. (2015). Nosocomial Infection. *Journal of Medicine and Health Sciences*, 22(1), 81-92. (in Thai)

- [2] Kunsanti, P. (2011). The Correct and Appropriate Use of Antibiotic Drugs. *Journal of Hematology and Transfusion Medicine*, 21(3), 193-196. (in Thai)
- [3] Chugh, R. M., et al. (2022). Fungal Mushrooms: A Natural Compound With Therapeutic Applications. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 925387.
- [4] Meesilp, M., et al. (2018). Efficiency of Bacteria Strain *Streptococcus thermophilus* for Producing Bacteriocin-Like Substance to Inhibit the Pathogenic Bacteria Growth. *UTK Research Journal*, 12(2), 79-90. (in Thai)
- [5] Pham-Huy, L. A., et al. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89-96.
- [6] Chaudhary, P., et al. (2023). Oxidative Stress, Free Radicals and Antioxidants: Potential Crosstalk in the Pathophysiology of Human Diseases. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1158198.
- [7] Tumilaar, S. G., et al. (2024). A Comprehensive Review of Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants: Overview, Clinical Applications, Global Perspectives, Future Directions, and Mechanisms of Antioxidant Activity of Flavonoid Compounds. *Journal of Chemistry*, 2024, 5594386.
- [8] Pinuphong, A. (2017). Free Radicals and Anti-oxidation Human Health. *PKRU SciTech Journal*, 1(2), 20–27. (in Thai)
- [9] Limmatavapirat, C. (2002). Marine Natural Products With Potential as Novel Drugs. *Thai Bulletin of Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 17-43. (in Thai)
- [10] Martin, T., et al. (2023). Antioxidant, Antimicrobial and Cosmeceutical Potential of Wild Mushroom Extracts. *Applied Microbiology*, 3(2), 562-579.
- [11] Clinical and Laboratory Standards Institute. (2002). *Reference Method for Broth Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically* (CLSI Document M7-A4).
- [12] Clinical and Laboratory Standards Institute. (2002). *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts* (CLSI Document M27-A2).
- [13] Sarker, S. D., et al. (2007). Microtiter Plate-Based Antibacterial Assay Incorporating Resazurin as an Indicator of Cell Growth, and Its Application in the In Vitro Antibacterial Screening of Phytochemicals. *Methods*, 42(4), 321-324.
- [14] Supaphon, P., et al. (2014). Diversity and Antimicrobial Activity of Endophytic Fungi Isolated From the Seagrass *Enhalus acoroides*. *Indian Journal of Marine Sciences*, 43(5), 785-797.
- [15] Ghafar, M. F. A., et al. (2010). Flavonoid, Hesperidine, Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities From Citrus Species. *African Journal of Biotechnology*, 9(3), 326-330.
- [16] Harborne, I. B. (1984). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of*

-
- Plant Analysis* (2nd ed.). Chapman and Hall.
- [17] Sudjaroen, Y., & Thongkao, K. (2017). Screening of Nutritive Values, In Vitro Antioxidant, Anticancer, and Antimicrobial Activities From *Boletus griseipurpureus* Corner. *International Journal of Green Pharmacy*, 11, 174-181.
 - [18] Angajchariya, A., et al. (2017). Mycelial Growth, Antioxidant and Antibacterial Properties of *Boletus griseipurpureus* From South Thailand. *International Journal of Agricultural Technology*, 13(4), 521-529.
 - [19] Hirasawa, M., et al. (1999). Three Kinds of Antibacterial Substances From *Lentinula edodes* (Berk.) Sing. (Shiitake, an Edible Mushroom). *International Journal of Antimicrobial Agents*, 11(2), 151-157.
 - [20] Ishikawa, N. K., et al. (2001). Antibacterial Activity of *Lentinula edodes* Grown in Liquid Medium. *Brazilian Journal of Microbiology*, 32, 206-210.
 - [21] Martins, T., et al. (2023). Antioxidant, Antimicrobial and Cosmeceutical Potential of Wild Mushroom Extracts. *Applied Microbiology*, 3(2), 562-579.
 - [22] Shan, B., et al. (2007). The In Vitro Antibacterial Activity of Dietary Spice and Medicinal Herb Extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 117(1-3), 112-219.
 - [23] Taveepanich, S. (2010). *Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Wild Edible Mushroom Extracts in Ubonratchathani Province* (Research report). Ubon Ratchathani: Ubon Ratchathani University. (in Thai)
 - [24] Leejae, S., et al. (2015). Antioxidant Activity of Caterpillar Fungus (*Cordyceps militaris*) Grown on Rice Berry and Jasmine Rice. In *RSU National Research Conference 2015* (p.210-217). 24 April, 2015, Phathumtahi, Thailand. (in Thai)
 - [25] Muniandy, S., et al. (2016). Active Compound, Antiproliferative and Effect on STZ Induced Zebrafish of Various Crude Extracts From *Boletus griseipurpureus*. *Malaysian Applied Biology*, 45(1), 69-80.
 - [26] Vamanu, E., & Voica, A. (2017). Total Phenolic Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Activity of Some Mushroom Tincture From Medicinal and Edible Species, by In Vitro and In Vivo Tests. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, 21, 318-324.
 - [27] Sanchez-Moreno, C., et al. (2000). Study of Low-Density Lipoprotein Oxidizability Indexes to Measure the Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols. *Nutrition Research*, 20(7), 941-953.