

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ และฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระจากเห็ดบางชนิด

ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES FROM
SOME MUSHROOM CRUDE EXTRACTS



T117220



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 117220
วัน,เดือน,ปี. 19 ก.ค. 2554

b..... 1064.6
i.....

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

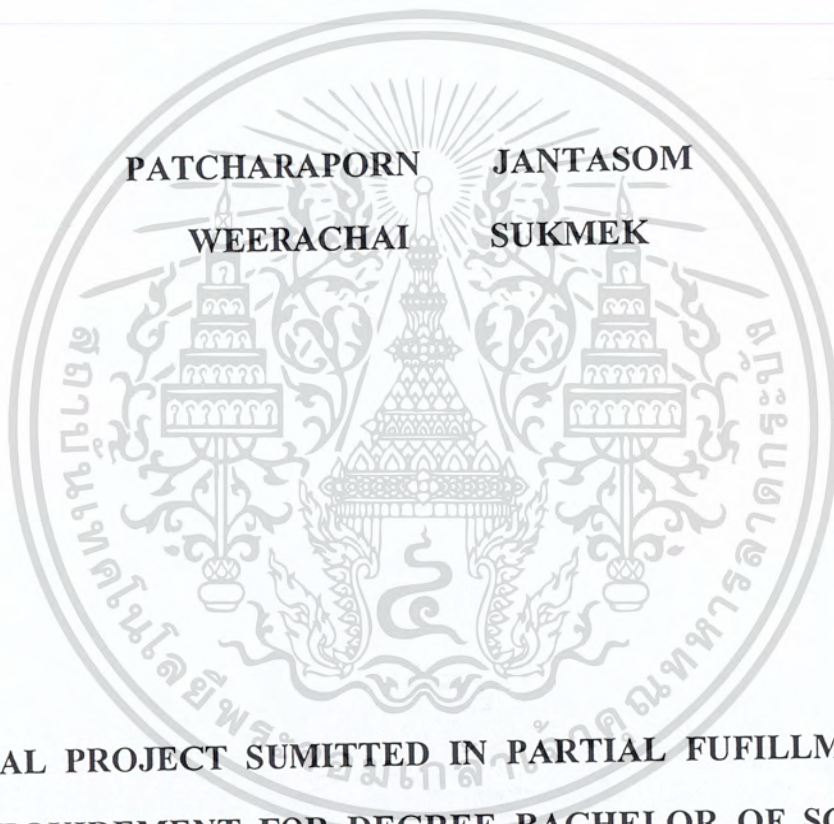
คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDATION PROPERTIES FROM
SOME MUSHROOM CRUDE EXTRACTS**



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FUFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR DEGREE BACHELOR OF SCIENCE
IN INDUSTRIA MICROBIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY
LADKRABANG ACADEMIC YEAR 2010**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์และฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระจากเห็ดบางชนิด
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพัชราภรณ์ จันทะโสม นายวีระชัย สุขเมฆ
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	พ.ศ. 2553
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ

บทคัดย่อ

ในการวิจัยครั้งนี้ ได้ทำการสกัดสารจากเห็ด 4 ชนิด คือ เห็ดตับเต่า เห็ดขอนขาว เห็ดลม เห็ดแครง โดยผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องกำจัดน้ำออก (Dehydrator) โดยศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอล ซึ่งประกอบไปด้วย ฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ในสารสกัดเห็ดแต่ละชนิดคือ เห็ดลม เห็ดแครง เห็ดขอนขาว และเห็ดตับเต่า จะเห็นว่าในเห็ดตับเต่าจะให้ปริมาณสารฟีนอลิกมากที่สุด คือ 0.75 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ส่วนปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ จะเห็นว่าในเห็ดแครงมีปริมาณสารมากที่สุด คือ 4.15 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด จากผลการทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระในเห็ดทั้ง 4 ชนิดด้วยวิธีการดักจับอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging method) โดยสารสกัดเห็ดทั้ง 4 ชนิด แสดงฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระในค่า IC_{50} พบว่า สารสกัดเห็ดแครงมีการแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 10×10^{-17} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเห็ดทั้ง 4 ชนิด ด้วยวิธี disc diffusion method โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบมีทั้งหมด 6 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida albicans* ATCC 10231 พบว่าสารสกัดจากเห็ดตับเต่า สามารถยับยั้งเชื้อได้มากที่สุดทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 และ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด 20 10 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antimicrobial and antioxdation properties from some mushroom crude extracts
Students	Patcharaporn Jantasom Werachai Sukmaek
Degree	Bachelor of Science
Major	Industrial Microbiology
Academic Year	2010
Advisor	Assis.Prof. MongkolPensaijai

ABSTRACT

In this study, 4 mushroom (*Thaeogyroporus porentosus*, *Lentinus polychrous* Lev, *Schizophyllum commune* Fr., *Lentinus squarrosulus*) were dried by dehydrator. The study of phenolic compounds and flavonoid of 4 mushroom extracts found that the highest amount of phenolic compound (0.75 mg.g^{-1}) was found in *T. porentosus* extract while the highest amount of flavonoid (4.15 mg.g^{-1}) was found in *S. commune* Fr. The DPPH radical-scavenging activity of 4 mushroom extract presenting lower IC_{50} values in all the antioxidant activity assays the highest amount of IC_{50} values ($10 \times 10^{-1.7} \text{ mg.ml}^{-1}$) was found *S. commune* Fr. Antimicrobial activities of the extract was tested on microbial by Disc diffusion method using microbial to study with 6 species is *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida albicans* ATCC 10231. The results showed that crude extract from *T. porentosus* were effective to *E.coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 at concentration of crude extract was 20, 10 and 50 mg.ml^{-1} respectively.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ซึ่งสำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ ที่คอยให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ ตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ผู้จัดทำ ทางคณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณในความกรุณาของอาจารย์เป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ลินจง สุขคำภู ประธานกรรมการสอบโครงการพิเศษ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล และผศ.มงคล เพ็ญสายใจ กรรมการสอบโครงการพิเศษ รวมทั้งให้คำแนะนำ ตรวจสอบชี้แนะในการแก้ไขโครงการพิเศษให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้ใช้สถานที่เพื่อปฏิบัติงานวิจัยและอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจและให้คำปรึกษาในการทำโครงการพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อน และพี่ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น กำลังใจและมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงการพิเศษฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้ หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ในโครงการพิเศษนี้

พัชราภรณ์ จันทะ โสม

วีระชัย สุขเมฆ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญรูป	X
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 อนุมูลอิสระ (Free Radical) หรืออนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว	4
2.2 การเกิดอนุมูลอิสระ	4
2.2.1 ความผิดปกติของระบบการทำงานของไมโทคอนเดรีย	5
2.2.2 เมตาบอลิซึมของสารสื่อประสาท	6
2.2.3 ภาวะขาดเลือด	7
2.3 อนุมูลอิสระกับกระบวนการเกิดโรค	8
2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ	9
2.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ (Natural Antioxidant)	11
2.4.1.1 สารประกอบฟีนอลิก	12
2.4.1.2 สารประกอบฟลาโวนอยด์	12
2.4.2 การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH	17
2.5 สารต้านการเจริญของจุลินทรีย์	17
2.6 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหาร	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1	แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคในอาหาร	20
2.6.1.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	21
2.6.1.2	<i>Esherichia coli</i>	22
2.6.1.3	<i>Micrococcus luteus</i>	24
2.6.1.4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
2.6.1.5	<i>Bacillus subtilis</i>	26
2.6.1.6	<i>Candida albicans</i>	26
2.7	เห็ด	27
2.7.1	วงจรชีวิตของเห็ดรา	27
2.7.2	สารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในเห็ด	28
2.7.2.1	สารโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide)	28
2.7.2.2	สารไตรเทอร์พีนอยด์ขม (Bitter Triterpenoid)	28
2.7.2.3	เออร์โกสเตอรอล (Ergosterol)	29
2.7.2.4	กลุ่มสารนิวคลีโอไทด์	29
2.7.2.5	สารประกอบเจอร์มาเนียม (Germanium, Ge content)	30
2.8	ยาด้านจุลชีพ	30
2.8.1	ประเภทของยาด้านจุลชีพ	32
2.8.1.1	แบ่งตามขอบเขตของการออกฤทธิ์ของยา	32
2.8.2	แบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ของยาที่มีต่อผนังเซลล์	32
2.8.2.1	Bactericidal	32
2.8.2.2	Bacteriostatic	32
2.8.3	แบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ของยาที่มีต่อเยื่อหุ้มเซลล์	33
2.8.3.1	กลุ่มที่มีฤทธิ์ขัดขวางการสร้างผนังเซลล์	33
2.8.3.2	กลุ่มที่มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์	33
2.8.3.3	กลุ่มที่มีผลขัดขวางการสร้างโปรตีน	33
2.8.3.4	กลุ่มที่มีผลทำให้ขบวนการสร้างโปรตีนของแบคทีเรียผิดปกติ	33
2.8.3.5	กลุ่มที่มีผลยับยั้งการสร้างกรดนิวคลีอิก	33
2.8.3.6	กลุ่มที่ขัดขวางขบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย	33

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	34
3.1 วัสดุอุปกรณ์	34
3.1.1 วัสดุคืบ	34
3.1.2 เครื่องมือ	34
3.1.3 สารเคมี	34
3.1.4 เชื้อจุลินทรีย์	35
3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อและยาปฏิชีวนะ	35
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	35
3.2.1 ตัวอย่าง	35
3.2.2 การเตรียมตัวอย่าง	36
3.2.3 การหาปริมาณของสารประกอบฟีนอล	36
3.2.3.1 การหาปริมาณของสาร phenolic compound	36
3.2.3.2 การหาปริมาณของสาร flavonoid	36
3.2.4 การหาฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยใช้ DPPH	36
3.2.5 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	37
3.2.5.1 การเตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์	37
3.2.5.2 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Disc diffusion method	38
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	39
4.1 การหาปริมาณของสารประกอบฟีนอล	39
4.1.1 ผลการหาปริมาณของสาร phenolic compound	39
4.1.2 ผลการหาปริมาณของสาร flavonoid	40
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยใช้ DPPH	41
4.2.1 ผลของสารสกัดเห็ดแต่ละชนิด	41
4.2.1.1 เห็ดลม	41

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.1.2 เห็นตรง	42
4.2.1.3 เห็นชอบขาว	43
4.2.1.4 เห็นตัดเต่า	44
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	45
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	51
เอกสารอ้างอิง	53
ภาคผนวก ก	57
ภาคผนวก ข	58
ภาคผนวก ค	63
ภาคผนวก ง	69



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า	
2.1	สถานะของอาการหรือโรคที่เกิดขึ้นอันเนื่องมาจาก ROS และ RNS	9
2.2	สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบบ่อยและแหล่งอาหารที่พบมา	14
2.3	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (TEAC,mM) ของสารกลุ่มกรดฟีนอลิก	16
2.4	แหล่งปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหาร	19
2.5	ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และยีสต์ที่พบในอาหาร	19
4.1	แสดงปริมาณของสารประกอบ phenolic compounds ในเห็ดแต่ละชนิด	39
4.2	แสดงปริมาณของฟลาโวนอยด์ในเห็ดแต่ละชนิด	40
4.3	ฤทธิ์การยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	46
4.4	ฤทธิ์การยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	47
4.5	ฤทธิ์การยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	48
4.6	ฤทธิ์การยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	49
5.1	แสดงค่าดูดกลืนแสงของเห็ดแต่ละชนิด ในการหาปริมาณ phenolic compound	58
5.2	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของเห็ดแต่ละชนิด ในการหาปริมาณ flavonoid	58
5.3	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของเห็ดลม โดยมีเมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร	59
5.4	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของเห็ดแครง โดยมีเมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร	60
5.5	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของเห็ดขอนขาว โดยมีเมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร	61
5.6	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของเห็ดตับเต่า โดยมีเมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร	62
5.7	การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร(ซ้ำครั้งที่ 1)	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
5.8	การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ซ้ำครั้งที่ 2)	64
5.9	การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ซ้ำครั้งที่ 3)	65
5.10	การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ซ้ำครั้งที่ 1)	66
5.11	การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ซ้ำครั้งที่ 2)	67
5.12	การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ซ้ำครั้งที่ 3)	68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่		หน้า
2.1	กลไกการเกิดพิษจากโคพามีน	6
2.2	วัฏจักรการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่	10
2.3	สารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย	11
2.4	โครงสร้างของฟลาเวน (flavan)	13
2.5	โครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์กลุ่มต่างๆ	13
2.6	อนุมูล DPPH	17
2.7	แสดงลักษณะของโคโลนีของ <i>S. aureus</i>	21
2.8	แสดงลักษณะโคโลนีของ <i>E. coli</i> ที่เจริญบนจานอาหาร SMAC	24
2.9	การเพาะเลี้ยงเชื้อ <i>Micrococcus luteus</i> (สัญลักษณ์ M) โดยภาพซ้ายเป็น การเพาะเลี้ยงแบบใช้ออกซิเจน และภาพขวาเป็นการเพาะเลี้ยงแบบไม่ใช้ออกซิเจน	25
2.10	ภาพซ้ายเป็นการเพาะเลี้ยงเซลล์ <i>P. aeruginosa</i> และภาพขวาเป็นเซลล์ของ <i>P. aeruginosa</i> ที่ต้องภายใต้กล้องจุลทรรศน์	25
2.11	แสดงถึงการย้อมสีของ <i>Bacillus subtilis</i> สร้าง endospore ซึ่งย้อมติดสีเขียว ส่วนเซลล์ติดสีแดง	26
2.12	แสดงเซลล์ของ <i>Candida albicans</i>	26
2.13	วงจรชีวิตของเห็ด	27
4.1	แสดงร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของเห็ดสด เมื่อเปรียบเทียบกับ สารมาตรฐาน BHA และ α -tocopherol	42
4.2	แสดงร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของเห็ดแครง เมื่อเปรียบเทียบกับ สารมาตรฐาน BHA และ α -tocopherol	43
4.3	แสดงร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของเห็ดขอนขาว เมื่อเปรียบเทียบกับ สารมาตรฐาน BHA และ α -tocopherol	44
4.4	แสดงร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของเห็ดตับเต่า เมื่อเปรียบเทียบกับ สารมาตรฐาน BHA และ α -tocopherol	45
ก1	แสดงกราฟมาตรฐาน Gallic acid ใช้เทียบกับปริมาณสารฟีนอลิก	57
ก2	แสดงกราฟมาตรฐานของ Catechin เทียบกับปริมาณของสารฟลาโวนอยด์	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
ง1	เห็ดลม	69
ง2	เห็ดขอนขาว	70
ง3	เห็ดคืบเต่า	71
ง4	เห็ดแครง	72



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

เซลล์ของสิ่งมีชีวิต จำพวกมนุษย์ สัตว์หรือ พืช มีการแสดงออกถึงการต่อสู้กับภาวะความเครียดออกซิเดชันอย่างต่อเนื่อง ภาวะดังกล่าวเกิดขึ้นจากการที่มีการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือจากการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระ หรือทั้งสองอย่าง บ่อยครั้งที่มีการชี้ชัดว่ามั่นเชื่อมโยงกับการเกิด reactive oxygen species (ROS) และการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งในทางพยาธิวิทยามันเป็นสาเหตุอันดับต้นๆ ของการเกิดโรคต่างๆ เช่น มะเร็ง โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ ตับแข็ง และเส้นเลือดอุดตัน รวมถึงเป็นสาเหตุของการเสื่อมถอยของร่างกายตามอายุที่มากขึ้นด้วย อนุมูลอิสระอาจเกิดขึ้นจากระบบภายในเซลล์ เช่น การทำงานธรรมดาของเซลล์ การสันดาปจากการหายใจระบบเมแทบอลิซึม หรืออาจเกิดจากสาเหตุภายนอก เช่น รังสี มลภาวะต่างๆ อนุมูลอิสระที่มาจากออกซิเจนสามารถทำการเข้าทำลายโมเลกุลอื่นๆ นำไปสู่การเกิดเนื้อเยื่อต่างๆเสียหายได้ (Ames และคณะ, 1993; Chevion และคณะ, 2000; Halliwell และ Gutteridge, 2003)

กระบวนการออกซิเดชันเป็นหนึ่งในสาเหตุที่สำคัญที่สุดต่อการเปลี่ยนแปลงในอาหารที่มีผลต่อความปลอดภัย รูปร่างลักษณะของอาหาร และรสชาติ

เซลล์มีระบบที่แตกต่างกันในการต่อต้านความเสียหายจากอนุมูลอิสระจำพวกเอนไซม์ออกซิเดชัน เช่น superoxide dismutase (SOD) และ catalase (CAT) หรือสารประกอบทางเคมี เช่น โทโคฟีรอล , กรดแอสคอร์บิก , แคโรทีนอยด์ , สารประกอบโพลีฟีนอล และกลูตาไธโอน ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ สามารถช่วยให้ร่างกายต่อต้านความเสียหายจากกระบวนการออกซิเดชัน และยังรักษาคุณภาพของอาหารจากการเสื่อมคุณภาพจากออกซิเดชันอีกด้วย (Elmastasa และคณะ, 2007; Halliwell และ Gutteridge, 2003)

เห็ดเป็นสิ่งมีชีวิตที่เคยจัดว่าเป็นพืชชั้นต่ำ แต่เมื่อมีเทคโนโลยีขั้นสูงในการศึกษาถึงระดับโมเลกุล จึงทำให้ทราบว่าพันธุกรรมของเห็ดมีความคล้ายคลึงกับสัตว์มากกว่าพืช และที่สำคัญเห็ดไม่มีคลอโรฟิลล์หรือสารสีเขียวที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง ดังนั้น นักวิทยาศาสตร์จึงจัดจำแนกเห็ดออกมาเป็นสิ่งมีชีวิตอีกกลุ่มหนึ่งที่แยกจากพืชและสัตว์ มนุษย์ได้รู้จักการใช้ประโยชน์จากเห็ด เชื่อว่าการกินเห็ดจะทำให้ร่างกายแข็งแรงกว่าคนปกติ มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ว่าเห็ดหลายชนิดมีคุณสมบัติเป็นยาปฏิชีวนะ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาระบายอย่างอ่อนๆ และใช้เห็ดเป็นยารักษาโรคต่างๆ ได้แก่ ท้องร่วง ไตพิการ โรคเรื้อน หอบหืด น้ำดีพิการ เป็นต้น สารสำคัญที่พบในเห็ด ได้แก่ เทอร์ปีนอยด์และบี

ดากลูแคน ที่เป็นตัวช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้ทำงานได้อย่างสมดุล นอกจากนี้ ยังพบว่าสารจากเห็ดมีผลต่อพรีไบโอติก (Probiotics) ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร ทำให้เกิดสารที่เรียกว่า “สารสร้างสมดุล” (adaptogens) สารนี้จะช่วยทำให้เกิดสมดุลในร่างกายเมื่อเกิดความเครียด เห็ดจึงเป็นแหล่งที่สำคัญของสารประกอบต่างๆ ข้างต้น (Barros และคณะ, 2007a; Barros และคณะ, 2007b; Valentao และคณะ, 2005a; Valentao และคณะ, 2005b) และในช่วงปีที่ผ่านมา มีรายงานหลายฉบับรายงานถึงการพบสารต้านอนุมูลอิสระจากเทคนิคการใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Barros และคณะ, 2007a; Barros และคณะ, 2007b; Ferreira และคณะ, 2007) ในโครงการพิเศษนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ จากเห็ดทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ เห็ดลม เห็ดแครง เห็ดขอนขาว เห็ดคืบเต่า โดยศึกษาจากวิธี DPPH radical scavenging ซึ่งเป็นการศึกษาอัตราการทำปฏิกิริยาของสารสกัดตัวอย่างต่อสาร DPPH นอกจากนี้ยังศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration : MIC) (วัชร, 2543) โดยทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ยับยั้งจุลินทรีย์ทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albican* โดยทดสอบด้วยวิธี Disc Diffusion Method

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด 2 ชนิด ดังนี้ phenolic compounds และ flavonoid
2. ศึกษาความสำคัญในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ด 4 ชนิด คือ เห็ดลม, เห็ดแครง, เห็ดขอนขาว, เห็ดคืบเต่า
3. ศึกษาความสามารถของสารสกัดในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้ง 6 ชนิด โดยทดสอบด้วยวิธี Disc Diffusion Method

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด 2 ชนิด และความสำคัญในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเห็ด 4 ตัวอย่าง รวมถึงศึกษาความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้ง 6 ชนิด ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการทดลองทำให้ทราบถึงประโยชน์ของเห็ดแต่ละชนิดในการยับยั้งจุลินทรีย์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด 2 ชนิดดังนี้ phenolic compound และ flavonoid
2. ทราบถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้ง 6 ชนิด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อนุมูลอิสระ (Free Radical) หรืออนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว

อนุมูล หรือ อนุมูลอิสระ คืออะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุด ที่มีระดับพลังงานสูง คำจำกัดความนี้หมายรวมถึงอะตอมของไฮโดรเจนและไอออนของโลหะทรานซิชันส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังรวมถึงโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งนับว่าเป็นอนุมูลเพราะมีอิเล็กตรอนจำนวน 2 อิเล็กตรอน แต่ละอิเล็กตรอนจะแยกกันอยู่เป็นอิเล็กตรอนเดี่ยวในแต่ละออร์บิทัล ทั้งนี้การสปินหรือการหมุนรอบตัวของอิเล็กตรอนทั้งสองจะสปินแบบคู่ขนานในทิศทางเดียวกัน อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสถานะเป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลในสถานะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูล หรืออนุมูลอิสระ คือ อิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลซึ่งจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล A^\cdot อนุมูล A^\ominus และ อนุมูล A^{\oplus} โดยเฉพาะอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีความเสถียรมีจำนวนน้อยชนิดมาก ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ($\text{O}_2^{\cdot-}$) อนุมูลไฮดรอกซี (OH^\cdot) อนุมูลอัลคอกซี (RO^\cdot) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี (HO_2^\cdot) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยามาก และขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) หรืออนุมูลไนตริกออกไซด์ (NO^\cdot) อนุมูลวิตามินอี และอนุมูลวิตามินซี เป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงรองลงมา

2.2 การเกิดอนุมูลอิสระ

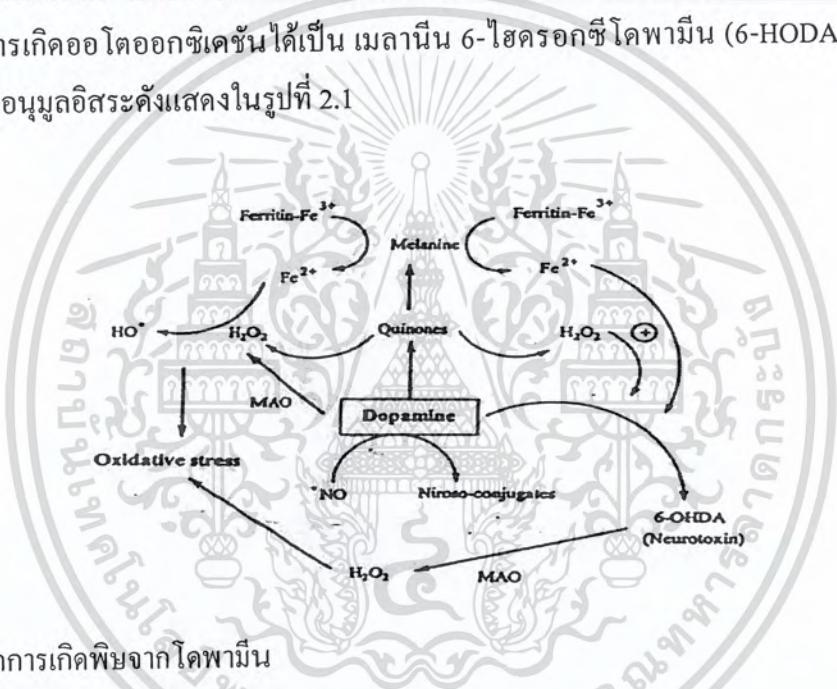
อนุมูลอิสระในระบบของสิ่งมีชีวิตเป็นผลผลิตจากการเผาผลาญของเซลล์โดยการใช้ออกซิเจน อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ($\text{O}_2^{\cdot-}$) และอนุมูลไฮดรอกซี (OH^\cdot) เป็นอนุมูลที่พบในเซลล์มากกว่าอนุมูลอื่นๆ ส่วน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเปอร์ออกซีไนไตรท (ONOO^\cdot) แม้ไม่เป็นอนุมูลอิสระ แต่จัดเป็นสารเกี่ยวข้องที่ความไวสูง (reactive species ,RS) มีบทบาทในปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นในเซลล์เป็นอย่างมาก อนุมูลอิสระเกิดได้จากหลายสาเหตุ ดังนี้

2.2.1 ความผิดปกติของระบบการทำงานของไมโทคอนเดรีย

RS เกิดขึ้นได้จากการเผาผลาญภายในไมโทคอนเดรีย โดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยกระบวนการเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชันและจากการเกิดออกโตออกซิเดชันภายในโมเลกุลปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเอนไซม์เกิดขึ้นในพลาสมาไซโตพลาสซึม นิวเคลียสมเมเบรอน เอนโดพลาสมิกรูทัมและเปอร์ออกซิโซม อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O_2^-) เป็นอนุมูลอิสระเริ่มต้นที่เป็นอันตรายและพบมากที่สุดเซลล์ อนุมูล O_2^- เกิดขึ้นจากการรั่วไหลของอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงจากกระบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรีย และจากเอนไซม์ทั้งชนิดที่อยู่ในไซโตซอลและเอนไซม์ที่อยู่ที่มีเมเบรอน เช่น แซนทินออกซิเดส ไซโตโครมพี 450 และพอสโพลีเลปเตอ-(PLA₂) อนุมูล O_2^- สามารถเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระที่มีอันตรายที่สุด ได้แก่ อนุมูลไฮดรอกซี (OH) และสารเกี่ยวข้องที่ไวต่อปฏิกิริยา คือ เปอร์ออกซิไนโตรท ($ONOO$) อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นระหว่างการเกิดกระบวนการเผาผลาญโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันจะไปทำลายเซลล์ไมโทคอนเดรีย ดีเอ็นเอ โดยเฉพาะ mDNA อนุมูลอิสระจะทำให้ mDNA ผิดปกติเสียหาย ความเสียหายจะเพิ่มขึ้นอย่างมากตามเวลา หรืออายุที่เพิ่มขึ้นแบบทวีคูณ mDNA ที่ผิดปกติจะมีรหัสที่ผิดไปทำให้โปรตีนที่สร้างขึ้นจากการถอดรหัสสั้นผิดปกติบกพร่องไปด้วย หากโปรตีนที่บกพร่องนั้นมีบทบาทและหน้าที่ที่สำคัญจะก่อให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ กรณีที่โปรตีนที่บกพร่องอยู่ในไมโทคอนเดรียจะทำให้กระบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรียบกพร่องทำงานได้ลดลง มีผลทำให้เกิดอนุมูลอิสระ O_2^- เพิ่มขึ้นมากมายเกินกว่าที่สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติที่มีอยู่ในเซลล์จะจัดการขจัด ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติในเซลล์ เช่น กลูตาไทโอน วิตามินเอ วิตามินซี และวิตามินอี มีปริมาณลดลงหรือหมดไป ภาวะออกซิเดชันในเซลล์ไม่สมดุลมีอนุมูลอิสระมากเกินไป ดังนั้นเซลล์ตกอยู่ในสภาวะบีบคั้นจากการถูกออกซิไดซ์ นอกจากนั้นอนุมูลไฮดรอกซีที่เกิดจากอนุมูล O_2^- ยังทำให้ไมโทคอนเดรียเสียหายรุนแรงมากขึ้น ความเสียหายดังกล่าวนำไปสู่การเกิดโรคความเสื่อมของระบบประสาท มีรายงานจำนวนมากตรวจพบว่าไมโทคอนเดรียในเนื้อเยื่อของผู้ป่วยโรคความจำเสื่อมของระบบประสาทมีความเสียหายอย่างมาก ซึ่งการตรวจพบดังกล่าวสนับสนุนสมมติฐานที่ว่า อนุมูลอิสระเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคความเสื่อมของระบบประสาท นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยโรคความเสื่อมของระบบประสาทมีภาวะบีบคั้นจากการถูกออกซิไดซ์อยู่ในระดับสูง โดยมีเหล็ก (Fe^{3+}) ที่ไม่ได้จับกับโปรตีนในน้ำไขสันหลังเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลจากการเกิดอนุมูลอิสระไฮดรอกซี (OH) จากปฏิกิริยา Haber-Weiss และ Fenton HO เป็นอนุมูลที่มีความไวในการทำปฏิกิริยาสูง สามารถทำให้เซลล์บาดเจ็บและตายได้

2.2.2 เมตาบอลิซึมของสารสื่อประสาท

เมตาบอลิซึมของโดพามีน และสารสื่อประสาทในสมองอื่นๆ ทำให้ได้ผลผลิตเป็นอนุมูลหรือสารที่เป็นอันตรายและเป็นพิษ โดพามีนส่วนใหญ่จะเก็บอยู่ในถุงเล็กๆ ในเซลล์ประสาทที่สร้างโดพามีน เซลล์ประสาทจะหลั่งโดพามีนออกมาจากถุงหรือเก็บโดพามีนกลับสู่ถุง ทำให้มีปริมาณโดพามีนที่เหมาะสมในไซโทพลาสซึมและบริเวณปลายประสาท ในภาวะของการเกิดโรค เช่น ในภาวะเนื้อเยื่อหรืออวัยวะขาดเลือด หรือภาวะที่มีระดับออกซิเจนต่ำจะพบว่าระดับของโดพามีนเพิ่มขึ้น ระดับโดพามีนที่เพิ่มขึ้นทั้งภายในและภายนอกเซลล์สามารถทำให้สมองถูกทำลายได้ พิษของโดพามีนเกิดจากโดพามีนถูกออกซิไดซ์ แล้วให้ผลผลิตได้แก่ อนุมูลอิสระ สารประกอบควิโนนที่เป็นพิษ และสารเมลานิน เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส (MAO) จะเปลี่ยนโดพามีนไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ไรด์ แม้ว่าจะปราศจากเอนไซม์ MAO โดพามีนยังสามารถเปลี่ยนไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ไรด์ และอนุมูลอิสระได้เช่นกัน จากการเกิดออกซิเดชันได้เป็น เมลานิน 6-ไฮดรอกซีโดพามีน (6-HODA) ไฮโดรเจนเปอร์ไรด์ และอนุมูลอิสระดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 กลไกการเกิดพิษจากโดพามีน
ที่มา : โอภา (2549)

บทบาทของเมลานินในเซลล์ประสาทมีสมมติฐานว่าเมลานินสามารถจับกับไอออนของธาตุเหล็กโดยการรีดิวซ์เหล็กที่อยู่ในโปรตีน ferritin (Fe^{3+}) ให้เป็น Fe^{2+} ทำให้เกิดไอออนเหล็ก และอนุมูลไฮดรอกซีเพิ่มขึ้น สำหรับ 6-OHDA จะทำลายเซลล์ประสาทที่สร้างโดพามีนเนื่องจากทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ไรด์และอนุมูลไฮดรอกซี โดย 6-OHDA จะจับกับเอนไซม์ MAO เช่นเดียวกับโดพามีนได้ไฮโดรเจนเปอร์ไรด์ นอกจากนี้โดพามีนยังสามารถทำปฏิกิริยาโดยตรงกับไนตริกออกไซด์ได้สารที่เป็นพิษ

อีพิเนฟริน และนอร์อีพิเนฟริน (EP และ NE) เป็นสารสื่อประสาทอีกชนิดหนึ่งที่สามารถทำให้เกิดความเสียหายให้แก่เซลล์ในร่างกายได้เมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน EP และ NE สามารถเกิดออกโตออกซิเดชันได้อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน และสารพิษต่อระบบประสาท สารประกอบเชิงซ้อนของ EP และทองแดงภายใต้สภาวะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำให้ดีเอ็นเอเสียหายหรือเสื่อมสภาพ นอกจากนี้อนุมูลไฮดรอกซิลยังทำปฏิกิริยากับสารสื่อประสาทเซโรโทนินทำให้ได้ tryptamine-4,5-dione ซึ่งเป็นสารพิษต่อระบบประสาท

2.2.3 ภาวะขาดเลือด (Ischemia)

ในปัจจุบันแม้ว่าไมโทคอนเดรียจะถือเป็นจุดเริ่มต้นของความผิดปกติในภาวะขาดเลือดเฉาะที่ทั้งนี้เพราะไมโทคอนเดรียในเซลล์มีความสำคัญทำหน้าที่ผลิต ATP สำหรับการฟื้นฟูเซลล์หรือการฟื้นคืนสู่สภาพเดิมของอวัยวะในร่างกาย อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่สามารถขยายความเสียหายให้เพิ่มขึ้นได้อย่างรวดเร็ว เช่น การเกิดอนุมูลอิสระ การปลดปล่อยธาตุเหล็กที่สะสมไว้ การอักเสบจากการกระตุ้นไซโตไคน์ และระบบคอมพลีเมนต์ และการแทรกซึมของเม็ดเลือดขาวในบริเวณที่เกิดอาการบาดเจ็บ ระหว่างเกิดภาวะขาดเลือด มีหลายปัจจัยที่ทำให้เกิด RS เพิ่มขึ้นในสมอง ได้แก่ ระดับของ ATP ในเซลล์จะลดลง เนื่องจากการผลิตลดลง และ ATP ยังถูกเปลี่ยนไปเป็น AMP อย่างรวดเร็ว โดยปฏิกิริยา dephosphorylation AMP จะถูกเปลี่ยนเป็นอะดีโนซีน และไฮโปแซนทีน ตามลำดับ

การที่ ATP ลดน้อยลงจะมีผลทำให้การควบคุมช่องทางผ่านเข้าออกของไอออนโดยอาศัยพลังงานจาก ATP เสียไป การเข้าออกของไอออนจะผิดไปโดยไอออนจะซึมผ่านเมมเบรนแบบ passive ตามความเข้มข้นจากเข้มข้นสูงไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำ ดังนั้นโปตัสเซียมและแมกนีเซียมจะซึมออกจากเซลล์ ในขณะที่โซเดียม แคลเซียม และโมเลกุลน้ำจะซึมผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ เป็นเหตุให้เซลล์ขยายโตขึ้นหรือบวม ระดับของแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นในเซลล์เป็นอันตรายต่อเซลล์ ซึ่งหนึ่งในผลที่ตามมาที่สำคัญที่สุดก็คือ แคลเซียมจะกระตุ้นเอนไซม์โปรตีนเอสให้ทำหน้าที่เปลี่ยนเอนไซม์แซนทีนดีไฮโดรจีเนสไปเป็นแซนทีนออกซีเดส ในขั้นต้นของภาวะขาดเลือดชั่วคราวและเซลล์หรือเนื้อเยื่อยังไม่ตายจะมีภาวะที่มีเลือดและออกซิเจนกลับมาเลี้ยงเซลล์ใหม่ ทำให้สารไฮโปแซนทีนออกซีเดสรวมอยู่ด้วยก็จะกระตุ้นการเกิดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ($O_2^{\cdot -}$) จึงเป็นที่เชื่อกันว่าอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนเป็นพิษโดยตรงต่อเซลล์ประสาท เพราะ $O_2^{\cdot -}$ ทำให้เกิดการเริ่มต้นของปฏิกิริยาถูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ

ดังนั้นเมื่อเกิดภาวะขาดเลือดชั่วคราวเนื่องจากเส้นเลือดอุดตัน สิ่งที่มาคืออนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนเกิดขึ้นในระหว่างขั้นตอนที่มีเลือดและออกซิเจนกลับมาเลี้ยงเซลล์ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนนี้จะทำปฏิกิริยากับไนตริกออกไซด์อย่างรวดเร็ว ได้เป็นสารพิษเปอร์ออกซีไนโตร (ONOO⁻) ซึ่งกระบวนการดังกล่าวนี้เป็นอันตรายอย่างยิ่งเมื่อเกิดขึ้นในเซลล์และเนื้อเยื่ออวัยวะที่สำคัญ คือ หัวใจ สมอง ตับ และ ปอด ภายใต้อาการเช่นนี้เมื่อทำการป้องกันการเกิด ONOO⁻ โดยยับยั้งชีวสังเคราะห์ของไนตริกออกไซด์ หรือทำให้ระดับของ O₂^{-•} ลดลงจะสามารถลดความเสียหายและอันตรายจากภาวะขาดเลือดลงชั่วคราวได้ โดยเห็นได้จากการลดลงของการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของปอดและการทำงานของหัวใจดีขึ้น จากหลักฐานต่างๆพิสูจน์ได้ว่าเปอร์ออกซีไนโตรและอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการเกิดการบาดเจ็บของเซลล์ประสาท และระบบสื่อประสาทร่วมกับภาวะขาดเลือดชั่วคราวในระบบประสาทส่วนกลาง

จากทฤษฎีและหลักฐานต่างๆ ที่แสดงให้เห็นว่าการบาดเจ็บจากภาวะขาดเลือดชั่วคราวในระบบประสาทส่วนกลางมีความเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นรีเซพเตอร์ NMDA ซึ่งทำให้เกิดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน และไนตริกออกไซด์ จึงสรุปได้ว่าเปอร์ออกซีไนโตรเป็นสารสำคัญที่ทำให้เกิดความเป็นพิษทำให้เซลล์ประสาทบาดเจ็บในขณะเส้นเลือดอุดตัน ปัจจุบันมีหลักฐานเพิ่มเติมชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างการรีเซพเตอร์ NMDA ถูกกระตุ้น และการเพิ่มขึ้นของอนุมูลไฮดรอกซีในสมอง ซึ่งเชื่อว่าอนุมูลไฮดรอกซีเกิดจากเปอร์ออกซีไนโตร ดังนั้นแนวทางในการปกป้องสมองจากอาการบาดเจ็บจึงมุ่งไปที่การควบคุมปริมาณ O₂^{-•} ด้วยสารต้านอนุมูล และการควบคุมปริมาณไนตริกออกไซด์ด้วยสารยับยั้งเอนไซม์ไนตริกออกไซด์ซินเทส

2.3 อนุมูลอิสระกับกระบวนการเกิดโรค

ความไม่สมดุลกันของการเกิดอนุมูลอิสระทำให้มีอนุมูลมากเกินไปและเกิดภาวะที่เซลล์และร่างกายถูกออกซิไดซ์ ภาวะดังกล่าวมีบทบาทในโรคต่างๆมากกว่า 100 โรค เช่นภาวะผื่นงูเส้นเลือดแดงหนาและความยืดหยุ่นน้อยลงเนื่องจากการสะสมไขมันที่ผนังหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดตีบตันเกิดภาวะขาดเลือดชั่วคราวที่สมอง และหัวใจ โรคซึ่งเกี่ยวกับการเสื่อมของประสาท โรคภูมิแพ้ และโรคมะเร็ง นอกจากนี้การมีปริมาณอนุมูลอิสระที่ไม่สมดุลยังสัมพันธ์กับลักษณะโรคหรืออาการผิดปกติอื่นๆดังนี้ โรคอัลไซเมอร์ โรคพาร์กินสัน อาการสมองและไขสันหลังอักเสบเนื่องจากโรคภูมิแพ้ โรคเนื้องอกเรื้อรัง Down's syndrome โรคตับอักเสบ โรคข้ออักเสบ การติดเชื้อเอชไอวี โรคแทรกซ้อนอันเนื่องมาจากเป็นโรคเบาหวาน โรคต่อกระจก แผลเปื่อย อนุมูลอิสระมีส่วนร่วมในโรคที่เกี่ยวข้องกับปอดหลายโรค เช่น โรคปอดที่เกิดจากการสูบบุหรี่ ในโตรเจนไดออกไซด์ โอโซน ยาฆ่าจัด

วัชพืช การรับอนุมูลอิสระหรือการขาดวิตามินหรือแร่ธาตุ นอกจากนี้ยังรวมถึงการมีออกซิเจนมากเกินไปในระบบร่างกาย เซลล์ที่มีหน้าที่คุ้มกันและกำจัดเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมมีความเกี่ยวข้องในการเกิดอนุมูลอิสระ เช่น ในกระบวนการอักเสบ และในภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไปไม่สมดุลจะทำให้โอกาสเกิดโรคหลายโรคสูงขึ้น เช่น โรคเนื่องจากปอดติดเชื้อไวรัสและไขหวัดใหญ่ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 สภาวะของอาการหรือโรคที่เกิดขึ้นอันเนื่องมาจาก ROS และ RNS

Category	Example
Ischemia-reflow states	Stroke, myocardial infarction, organ transplantation, Dupuytren's contractor, cocaine-induced fetal damage
Brain / nervous system disorders	Vitamin E deficiency, exposure to neurotoxin, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's chorea, stroke, amyotrophic lateral sclerosis (ALS), Guam dementia, Down's syndrome, neuronal ceroid lipofuscinoses, muscular dystrophy, multiple sclerosis
Heart & cardiovascular system	Alcohol cardiomyopathy, keshan disease (selenium deficiency), atherosclerosis, cardiac iron overload
Iron overload	Idiopathic haemochromatosis, thalassemia and other chronic anemias treated with multiple blood transfusions, alcoholism, cardiopulmonary bypass, alcoholism
Radiation injury	Consequences of nuclear explosions, radiotherapy or exposure to hypoxic cell sensitizers
Aging	Disorders of premature aging, age-related diseases, e.g. cancer
Inflammatory/immune injury	Glomerulonephritis, vasculitis, autoimmune diseases, hepatitis, rheumatoid arthritis
Red blood cell	Lead poisoning, malaria, anemia, chemotherapy
Respiratory tract	Effect of cigarette smoke, emphysema, hyperoxia, bronchopulmonary dysplasia, exposure to air pollutants (O ₃ , NO ₂ , SO ₂ , diesel exhaust), ARDS, asthma, cystic fibrosis
Kidney	Autoimmune nephrotic syndrome, heavy metal nephrotoxicity (Pb, Cd, Hg), haemodialysis
Gastrointestinal tract	Betel nut-related oral cancer, liver injury, pancreatitis
Eye	Cataract, ocular haemorrhage, retinopathy of prematurity, photic retinopathy
Skin	UV radiation, thermal injury, porphyria, contact dermatitis, baldness

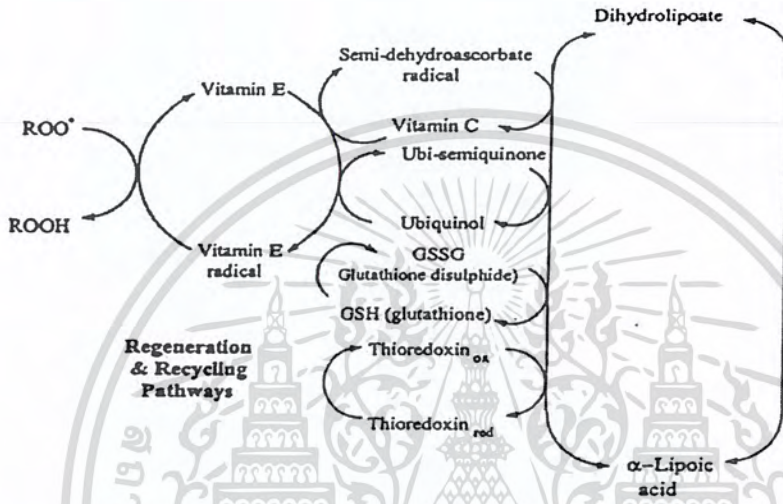
ที่มา : โอลกา (2549)

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรงเพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาถูกโซ่ไม่ให้เกิดอนุมูล สารขจัดอนุมูลที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เช่น กรดยูริก บิลิรูบิน จะกำจัดอนุมูล ส่วนวิตามินซี วิตามินอี กลูตาไทโอน เบตาแคโรทีน และยูบิควินอน จะหยุดปฏิกิริยาถูกโซ่ของการเกิดอนุมูล สารต้านอนุมูลอิสระประเภทหลังมีบทบาทสำคัญในการทำให้ลิวติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

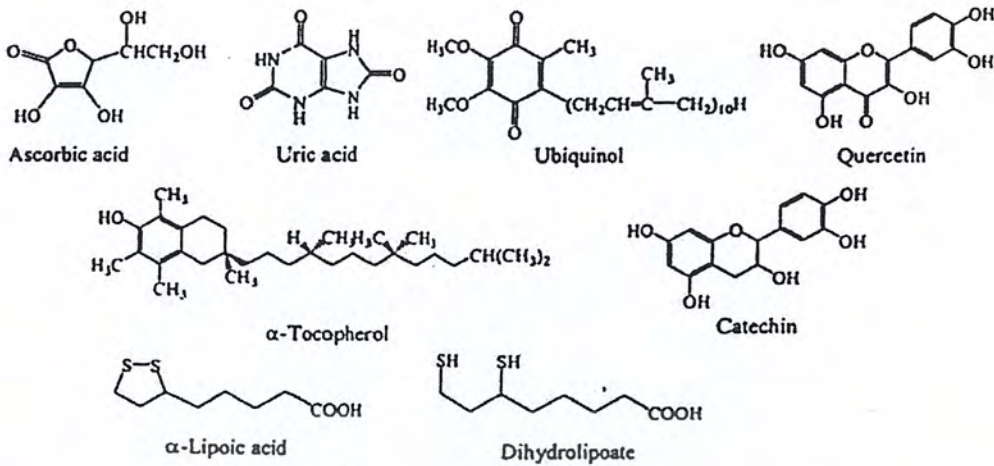
เปอร์ออกซิเดชันสิ้นสุดลง สารต้านอนุมูลอิสระที่กล่าวมามีโครงสร้างเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน เช่น วิตามินอีมีโครงสร้างเคมีที่ละลายไขมันได้ดี ดังนั้นจึงสามารถเข้าไปออกฤทธิ์ที่เมมเบรนได้ วิตามินอีจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์แรงสามารถหยุดปฏิกิริยาถูกโซ่ได้ วิตามินอีจะทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลลิพิดเปอร์ออกซิและได้เป็นอนุมูลวิตามินอี ($E-O^{\cdot}$) อนุมูล $E-O^{\cdot}$ เป็นอนุมูลที่มีความไวต่ำ ทำให้ไม่สามารถเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันต่อไปได้ วิตามินซีละลายน้ำได้ดีมีหน้าที่เปลี่ยน $E-O^{\cdot}$ ทำให้ได้วิตามินอีกลับคืน โดยการรับอิเล็กตรอนจากอนุมูล $E-O^{\cdot}$ ดังรูปที่ 2.2 อนุมูลวิตามินซีจะถูกขับออกทางปัสสาวะ



รูปที่ 2.2 วัฏจักรการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่
ที่มา : โอภา (2549)

สารต้านอนุมูลในอุดมคติควรมีคุณสมบัติที่สำคัญดังนี้ (ก) มีความเฉพาะเจาะจงสูงในการเข้าจับอนุมูลอิสระโดยตรงและกำจัดอนุมูลให้หมดสิ้นไป (quenching) (ข) สามารถเกิดทำปฏิกิริยาดีเลทกับโลหะได้ (ค) เป็นสารต้านออกซิเดชันและ (ง) ไม่มีผลกระทบต่อการแสดงออกของยีนส์

นอกจากนี้ในอาหาร เช่น ผลไม้ ผัก และสมุนไพร ที่มีสารโพลีฟีนอลเป็นองค์ประกอบสำคัญจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ กรดคาเฟอิกในกาแฟ resveratrol ในไวน์แดง เคอร์คูมินในขมิ้น แคปไซซินในพริกชี้หนู ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 สารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย
ที่มา : โอภา (2549)

นอกจากสารโพลีฟีนอลแล้ว สารฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ที่พบในพืชต่างๆมากกว่า 5,000 ชนิด ซึ่งแบ่งเป็นประเภทได้อย่างน้อย 10 กลุ่มในทางเคมี สารฟลาโวนอยด์ที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง ได้แก่ เควอร์ซิทิน (quercetin) และคาร์ทีซิน (catechin) เป็นต้น โครงสร้างทางเคมีของเควอร์ซิทินและคาร์ทีซิน มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้สารทั้งสองมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

2.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ (Natural Antioxidant)

ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับทั่วไปในวงการแพทย์ว่า พยาธิสภาพ พยาธิวิทยา รวมถึงพยาธิสรีรวิทยาของการเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด หรือโรคมะเร็ง ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับสัมพันธ์กับการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย ดังนั้น การทำลายหรือควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระ ดังกล่าวจะช่วยในการป้องกันหรือรักษาโรคต่างๆที่เกิดขึ้น จากการศึกษาทางระบาดวิทยา จำนวนมากขึ้นจนถึงการลดอัตราเสี่ยงและเพิ่มอัตราการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โรคเกี่ยวกับหลอดเลือดและหัวใจ รวมถึงโรคอื่นๆ ที่มีความสัมพันธ์กับอนุมูลอิสระจากการบริโภคผัก ผลไม้ ซึ่งผลดังกล่าวมาจากมีความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารประเภทวิตามินซี เบต้า-แคโรทีน (β -carotene) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) รวมถึงสารกลุ่มโพลีฟีนอลิก (polyphenolics) เช่น ฟลาโวนอยด์

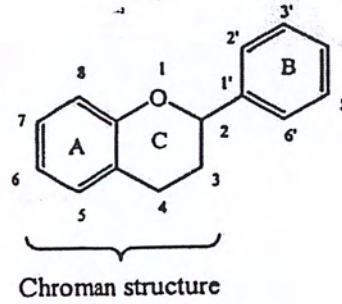
(flavonoid) ฟีนิล โพรพานอยด์ (phenylpropanoids) เป็นต้น โดยในปัจจุบันพบว่า สารประกอบในกลุ่ม โพลีฟีนอลิก เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ

2.4.1.1 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอกและพบได้มากในธรรมชาติอันได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ชอกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิดในธรรมชาตินับจากโมเลกุลอย่างง่าย เช่นกรดฟีนอลิก ฟีนิล โพรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลีเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น แม้ว่าปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน แต่พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวันจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัม – 1 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน สารโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ด้านไวรัส ด้านการอักเสบ ด้านการแพ้ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือดรวมไปถึงการเป็นสารต้านการก่อมะเร็งและสามารถลดความดันโลหิตจากฤทธิ์ขยายหลอดเลือดเหล่านี้ เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูล โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อย 1 หมู่ ถือเป็น secondary metabolites ของพืชผัก โดยในที่นี้จะกล่าวถึงคุณสมบัติทางโครงสร้างที่สัมพันธ์กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มนี้ โดยจะกล่าวเฉพาะสารกลุ่มที่สำคัญได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และกรดฟีนอลิกต่างๆ ที่สำคัญและพบบ่อย

2.4.1.2 ฟลาโวนอยด์

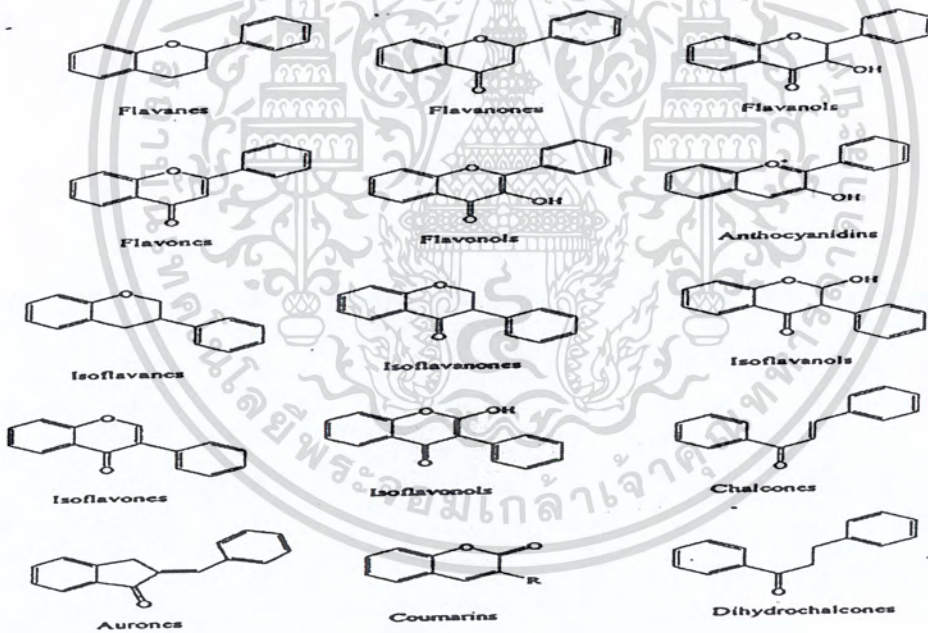
สารฟลาโวนอยด์พบอยู่ทั่วไปในพืชที่มีสีเขียว และพบในทุกส่วนของพืชไม่ว่าจะเป็นใบ ราก เนื้อเยื่อ เปลือกต้น ดอก ผล หรือเมล็ด ในสัตว์สามารถพบได้บ้าง โดยเชื่อว่ามาจากพืชที่บริโภคเข้าไปมากกว่าการเกิดชีวสังเคราะห์ในร่างกายของสัตว์เอง ฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารสำคัญของกลุ่มโพลีฟีนอลิก มีสูตรโครงสร้างหลักเป็นฟลาเวน (Flavan) หรือ 2-ฟีนิลเบนโซไพแรน (2-phenylbenzopyran) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม เรียงกันเป็นระบบ $C_6C_3C_6$ โดยมีวงเบนซีน 2 วง จับกันด้วยคาร์บอน 3 อะตอม ซึ่งอาจจัดเรียงเกิดเป็นวงที่ 3 ทำให้โครงสร้างหลักที่ได้เหมือนโครงสร้างหลักของวิตามินอี ที่เป็นโครงสร้างแบบโครแมน (chroman) หรือเบนโซไพแรน (benzopyran) ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของฟลาเวน (flavan)

ที่มา : โอภา (2549)

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่ม ตามความแตกต่างของสูตรโครงสร้าง โดยเฉพาะที่วงซี ซึ่งเป็นวงที่มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่างๆ เช่น อีเทอร์ คีโตน รวมทั้งการมีหมู่ไฮดรอกซีแทนที่บนวงอะโรมาติกในโมเลกุล ตัวอย่างของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 โครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์กลุ่มต่างๆ

ที่มา : โอภา (2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสูตรโครงสร้างหลักนี้จะมีหมู่แทนที่ที่คาร์บอนตำแหน่งต่างๆ โดยเฉพาะที่วง A และ B ส่วนใหญ่จะเป็นหมู่ไฮดรอกซี เมททอกซี และน้ำตาลต่างๆ (ในกรณีที่เป็นกลัยโคไซด์) การแทนที่ของหมู่ต่างๆเหล่านี้ที่ตำแหน่งต่างๆทำให้เกิดเป็นสารฟลาโวนอยด์ในธรรมชาติที่แตกต่างกันเป็นจำนวนมาก

ตารางที่ 2.2 สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบบ่อยและแหล่งอาหารที่พบบ่อย

โครงสร้างหลัก	ชื่อสาร	แหล่งที่พบ
Flavones	Epicatechin	ชาเขียว ชาดำ
	Catechin	ไวน์แดง
	Epigallocatechin	
	Epicatechin gallate	
	Epigallocatechin gallate	
Flavanones	Naringin	ผลของพืชตระกูลส้มมะนาว
	Taxfolin	เปลือกผลของพืชตระกูลส้มมะนาว
	Fisetin	
	Hesperetin	
Flavonols	Kaempferol	ผักถัถ (leek) บรอกโคลี ส้มเกรฟฟรุต ชาดำ แอปเปิล เบอร์รี่ โอลิฟ ชา ไวน์แดง
	Quercetin	ผลองุ่น ไวน์แดง แครนเบอร์รี่
	Myricetin	
Flavones	Chrysin	เปลือกผลไม้
	Apigenin	ขิงดำ (celery) ผักชีฝรั่ง
Anthocyanidins	Malvidin	ผลองุ่นแดง ไวน์แดง
	Cyanidin	ลูกเชอร์รี่ ผลราสเบอร์รี่ สตรอเบอร์รี่ ผลองุ่น
	Apigenidin	ผลไม้และเปลือกไม้ที่มีสี
Phenylpropanoids	Ferulic acid	ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว มะเขือเทศ ผักขม กะหล่ำปลี หน่อไม้ฝรั่ง
	Caffeic acid	ผลองุ่นขาว ไวน์ขาว ผักขม กะหล่ำปลี หน่อไม้ฝรั่ง กาแฟ
	p-coumaric acid	ผลองุ่นขาว ไวน์ขาว มะเขือเทศ ผักขม กะหล่ำปลี หน่อไม้ฝรั่ง
	Chlorogenic acid	แอปเปิล สาลี เชอร์รี่ ลูกพลัม มะเขือเทศ

ที่มา : โอภา (2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟลาโวนอยด์ในรูปอไกลโคน (aglycone) เป็นสารพวกฟีนอลิกหรือโพลีฟีนอลิก มันมีพิษต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และสามารถแยกได้จากเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว ซึ่งที่พบในธรรมชาติมักอยู่ในรูป กลัยโคไซด์ เนื่องจากการมีน้ำตาลเข้ามาจับในโมเลกุล ทำให้สารนั้นละลายได้ดีในน้ำและอยู่ในเซลล์แวคยูโอล ถ้าสารฟลาโวนอยด์ที่หมู่ไฮดรอกซิลถูกเติมหมู่เมทิลได้เป็นเมทอกซิล จะทำให้สามารถละลายได้ในไขมัน และอยู่ในส่วนของไซโตพลาสซึม ซึ่งพบในผลของพืชตระกูลส้ม โดยทั่วไปฟลาโวนอยด์กลัยโคไซด์มี 2 ชนิด คือ ฟลาโวนอยด์-โอ-กลัยโคไซด์ (flavonoid-O-glycosides) ซึ่งหมู่ น้ำตาลจะเข้าเกาะที่หมู่ไฮดรอกซิลและฟลาโวนอยด์-ซี-กลัยโคไซด์ (flavonoid-C-glycosides) ซึ่งหมู่ น้ำตาลจะเข้าเกาะที่อะตอมของคาร์บอนนิวเคลียสของฟลาโวนอยด์โดยตรง

กรดฟีนอลิก (phenolic acids)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารในกลุ่มของกรดฟีนอลิกและเอสเทอร์ของกรดฟีนอลิก จะขึ้นกับจำนวนหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลในโมเลกุล คุณสมบัติในการดึงอิเล็กตรอนของหมู่คาร์บอกซิลิกใน กรดเบนโซอิก จะส่งผลให้ความสามารถในการไฮโดรเจนของ hydroxybenzoate น้อยลง ดังนั้นจะพบว่า สารกลุ่มhydroxycinnamic acids จะมีฤทธิ์ที่ต่ำกว่า ความสัมพันธ์ของโครงสร้างและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก


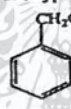

การมีไฮดรอกซีเพียงหมู่เดียวที่ตำแหน่ง o- และ p- จะทำให้สารไม่มีหรือมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยการให้ไฮโดรเจนน้อยมาก แต่หากวางอยู่ในตำแหน่ง m- จะให้ฤทธิ์ดีกว่า (TEAC = 0.84 mM) ทั้งนี้เนื่องมาจากอิทธิพลของหมู่คาร์บอกซิลิก (-COOH) ที่มีคุณสมบัติดึงอิเล็กตรอน โดยเฉพาะที่ตำแหน่ง o- และ p- จะได้รับผลนี้มากกว่าดังจะเห็นได้จากในกลุ่มของ phenylacetic acid ที่มีหมู่เมทิล (-CH₃-) แทรกระหว่างวงฟีนิล และหมู่คาร์บอกซิลิก การมีหมู่ไฮดรอกซิล ที่ตำแหน่ง o- และ m- จะให้TEACเกือบเท่ากับ 1 mM ในขณะที่การแทนที่ที่ตำแหน่ง p จะเพิ่มฤทธิ์เพียงเล็กน้อยดังตารางที่ 2.3

1. การมีหมู่ไฮดรอกซิล 2 หมู่ในตำแหน่ง m-,m-(3,5-OH) จะให้ฤทธิ์ดีกว่าที่ตำแหน่ง m-,o- และ m-,p- ตามลำดับ โดยการแทนที่ o-,p- หรือ o-,o- จะให้ฤทธิ์ต่ำ ดังจะเห็นได้จาก resorcylic (มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3,5) มีค่า TEAC เท่ากับ 2.15 mM ในขณะที่สารที่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 2,3- มีค่า TEAC ที่ใกล้เคียงกับสารที่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 2,5 (ตำแหน่ง o-,o-) มีฤทธิ์ต่ำสุด ทั้งนี้เนื่องจากอิทธิพลของการดึงอิเล็กตรอนของหมู่คาร์บอกซิลิกซึ่งทำให้วงฟีนิลได้รับอิทธิพลจากหมู่คาร์บอกซิลิกน้อยลง จึงส่งผลทำให้มีฤทธิ์เพิ่มขึ้น เช่น 3,4-dihydroxyphenylacetic acid ซึ่งมีค่า TEAC (2.19 mM) มากกว่า homoprotocatechuic acid (TEAC 1.19 mM) เกือบ 2 เท่า

2. การมีหมู่ไฮดรอกซิล 3 หมู่ จะทำให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีที่สุด เช่น กรดแกลลิก จะมีค่า TEAC สูง (3.0 mM) ในขณะที่การมีหมู่คาร์บอกซิลหรือไฮดรอกซิลถูกบดบังจะทำให้ฤทธิ์ลดลง เช่น เมทิลเอสเทอร์ของกรดแกลลิกจะมีค่า TEAC ลดลงเป็น 2.40 mM และถ้าหมู่ไฮดรอกซิลถูกบดบังในอนุพันธ์ 3,5-dimethoxy-4-hydroxyl จะมีค่า TEAC เพียง 1.36 mM

จากความสัมพันธ์ข้างต้น จะเห็นว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันหรือความสามารถในการให้ไฮโดรเจนเพื่อต้านอนุมูลอิสระ จะมีความสัมพันธ์กับจำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล อย่างไรก็ตามคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระนี้จะแตกต่างจากสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์โดยพบว่า สารในกลุ่มนี้ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งขบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชันที่เหนี่ยวนำให้เกิดโดยคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CC14) ซึ่งอาจเนื่องมาจากอนุมูลเปอร์ออกซิล มีความคงตัวต่ำ รวมทั้งมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีของสารกลุ่มนี้ที่ทำให้การผ่านเข้าสู่เซลล์ต่ำ

ตารางที่ 2.3 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (TEAC,mM) ของสารกลุ่มกรดฟีนอลิก

ตำแหน่งหมู่ OH	Hydroxybenzoic acids		Hydroxyphenylacetic acids		Hydroxycinnamic acids	
						
2	(salicylic)	0.04 ± 0.01		0.99 ± 0.09	(<i>o</i> -coumaric)	0.99 ± 0.15
3		0.84 ± 0.05		0.90 ± 0.11	(<i>m</i> -coumaric)	1.21 ± 0.02
4		0.08 ± 0.01		0.34 ± 0.10	(<i>p</i> -coumaric)	2.22 ± 0.06
2,3		1.46 ± 0.01				
3,4	(protocatechuic)	1.19 ± 0.03		2.19 ± 0.08	(caffeic)	1.26 ± 0.01
2,5		1.04 ± 0.03		0.91 ± 0.05		
3,5	(resorcylic)	2.15 ± 0.05				
4-OH, 3-OCH ₃		1.43 ± 0.05		1.72 ± 0.06	(ferulic)	1.90 ± 0.02
3,4,5	(gallic acid)	3.01 ± 0.05				
Pyrogallol		1.91 ± 0.02				
Gallic acid and methyl ester		2.40 ± 0.03				
3,5-diOMe, 4-HO	(syringic)	1.36 ± 0.01				

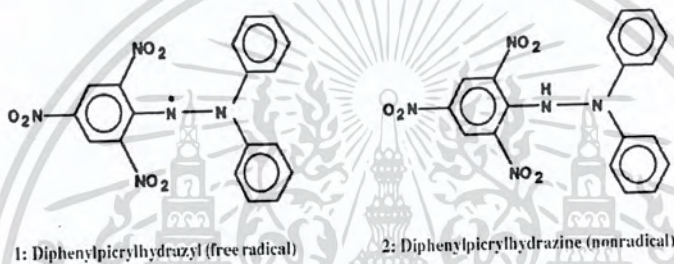
ที่มา : โอภา (2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.4.2 การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH (Scavenging effect on 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH))

DPPH คือ อนุภาคอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้อีก เพื่อเปลี่ยนเป็น โมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจาก โมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ ดังรูปที่ 2.6 ดังนั้นความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษานี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียรที่อยู่ในสารละลาย (นิยมใช้ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระมาก เพราะใช้งานง่าย) โดยในการทดสอบนี้จะให้ DPPH (มีสีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนด ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จะแปรผันกับความเข้มข้นของ DPPH ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของ DPPH (สีอ่อนลง) บ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ



รูปที่ 2.6 อนุมูล DPPH

ที่มา : <http://pirun.ku.ac.th/~b4755242/7.htm>

2.5 สารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (ที่มา; <http://elibrally.eduzones.com>)

สารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ หมายถึง สารเคมีที่เติมลงในอาหารเพื่อป้องกันหรือชะลอการเสื่อมเสียของอาหาร อันเนื่องมาจากจุลินทรีย์ ซึ่งอาจเป็นยีสต์ รา หรือแบคทีเรีย คุณสมบัติของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในอาหารนั้น ต้องเป็นสารที่ให้ผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีภายใต้เงื่อนไขกว้างขวาง มีช่วงในการทำงานอย่างพอเพียง มีความคงตัวในอาหารและไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆที่เติมลงไป หรือองค์ประกอบของอาหาร ไม่ก่อให้เกิดสี กลิ่น รส ที่ไม่ต้องการนอกจากนี้ ต้องไม่เป็นสารทำให้เกิดพิษต่อร่างกายด้วย การใช้สารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารต้องใช้ในปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดเท่านั้น ซึ่งประสิทธิภาพของสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น องค์ประกอบทางเคมี และความเป็นกรด-เบสของอาหารตัวอย่างสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารที่นิยมใช้กันทั่วไป เช่น เบนโซอิกและเบนโซเอทมิทใช้ในอาหารพวกมาการีน มายอง

เนส ผักดอง มารีเนต แยม เยลลี่ สารไนเตรตและไนไตรต์ นิยมใช้ในอาหารพวกเนื้อหมัก การผลิตเนยแข็ง และมีการใช้กรดซอร์บิกในการทำเนยแข็ง มาการีน ผลิตภัณฑ์ปลา และผักผลไม้ดอง เป็นต้น

2.6 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหาร

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น พบได้ทั่วไปทุกหนแห่ง ไม่ว่าจะเป็นดิน น้ำ อากาศ อาหาร ตามผิวหนังและลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ (ตารางที่ 2.4) มีบทบาทสำคัญต่อมนุษย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางด้านอาหารทั้งชนิดที่เป็นประโยชน์และโทษแก่ผู้บริโภค ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อรา เป็นต้น สำหรับบทบาทที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ การก่อให้เกิดอาหารหมักชนิดต่างๆ การยืดอายุการเก็บรักษาอาหารให้ได้นานยิ่งขึ้น สำหรับบทบาทที่เป็นโทษ ได้แก่ การทำให้อาหารเน่าเสีย การก่อให้เกิดโรคจากการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนจุลินทรีย์หรือสารพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณมากพอ จุลินทรีย์ต่างชนิดก็มีบทบาทในอาหารต่างชนิดกัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ดังแสดงในตารางที่ 2.5 (บุษกร, 2547)

ตารางที่ 2.4 แหล่งปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหาร

จุลินทรีย์	Staphylococcus	Escherichia
ดินและน้ำ		X
พืช		X
ทางเดินอาหาร	X	XX
ผู้สัมผัสอาหาร	XX	X
ขนและหนังสัตว์	X	

หมายเหตุ X : การพบเชื้อ XX : มีการพบเชื้อบ่อย

ที่มา : บุษกร(2547)

ตารางที่ 2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และยีสต์ที่พบในอาหาร

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ	แบคทีเรีย	ยีสต์
อาหาร	แบคทีเรียที่พบในอาหารเป็นพวก Chemoheterotroph คือ อาศัยแหล่งคาร์บอนจากสารอินทรีย์ ต้องการแหล่งไนโตรเจนจากแอมโมเนีย ไนเตรท กรดอะมิโน เปปไทด์ และโปรตีนต่างๆ แบคทีเรียบางชนิดไม่ต้องการอาหารที่สลับซับซ้อนในการเจริญ แต่บางชนิดต้องการสารอาหารต่างๆมากมายเรียกว่า Fastidious bacteria เช่น แบคทีเรียแลคติก	อาหารที่ดีที่สุด คือ น้ำตาล ได้แก่ กลูโคส และฟรุกโตส บางชนิดใช้น้ำตาลมอลโตส ซูโคส และแลคโตสได้ บางชนิดใช้แป้งได้ บางชนิดใช้กรดอินทรีย์ได้
ออกซิเจน	มีทั้งชนิดที่ต้องการออกซิเจน (aerobe), ไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobe), ต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (microaerobe) และชนิดที่สามารถเจริญได้ทั้งในที่ที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe)	ส่วนใหญ่เป็นพวก facultative anaerobe แต่เติบโตได้ดีในที่ที่มีออกซิเจน ในสภาพที่มีออกซิเจน จะใช้น้ำตาลโดยการ ออกซิเดชัน ได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ในสภาพไม่มีออกซิเจน จะใช้น้ำตาลโดยการหมัก ซึ่งจะได้เอทานอล
พีเอช	ส่วนใหญ่มีพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ระหว่าง 6.5-7.5 มีบางชนิดเท่านั้นที่สามารถเจริญได้ในพีเอชที่เป็นกรดมากๆ หรือด่างมากๆ	เจริญได้ในช่วงกว้าง พีเอชต่ำสุดที่เจริญได้ คือ 1.5 พีเอชสูงสุดที่เจริญได้คือ 8.0-8.5 พีเอชที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 4.0-4.5 ส่วนใหญ่เจริญได้ไม่ดีในสภาพที่เป็นด่าง และยังมีผลต่อการสร้างแอสโคสปอร์อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 (ต่อ) ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และยีสต์ที่พบในอาหาร

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ	แบคทีเรีย	ยีสต์
ความชื้น	ต้องการความชื้นสูงกว่ายีสต์ ยกเว้นเชื้อบางชนิด เช่น <i>staphylococcus aureus</i> สามารถเจริญได้ในที่มี Aw 0.75	ส่วนใหญ่เจริญได้ดีในสภาพที่มีความชื้นเพียงพอ มีหลายชนิดที่เจริญได้ในที่มีความเข้มข้นของเกลือหรือน้ำตาลสูง
อุณหภูมิ	เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิช่วงกว้างขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย มีทั้ง psychrophile มีอุณหภูมิที่เหมาะสม 15 องศาเซลเซียส ,psychrotroph ที่มีอุณหภูมิที่เหมาะสม 20-30 องศาเซลเซียส, mesophile มีอุณหภูมิที่เหมาะสม 25-40 องศาเซลเซียส และ thermophile มีอุณหภูมิที่เหมาะสมสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส	เจริญได้ดีที่อุณหภูมิแตกต่างกัน ส่วนใหญ่เป็นพวก mesophile โดยมีอุณหภูมิค่าสุดที่เจริญได้ 0-5 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุด 35-47 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมเป็น 20-30 องศาเซลเซียส บางชนิดเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส แต่ไม่พบในที่ที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส

ที่มา: บุญกร (2547)

2.6.1 แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคในอาหาร (ภัทรชัย,2549;นงลักษณ์,2548;บุญกร,2547;สุริย์,2549)

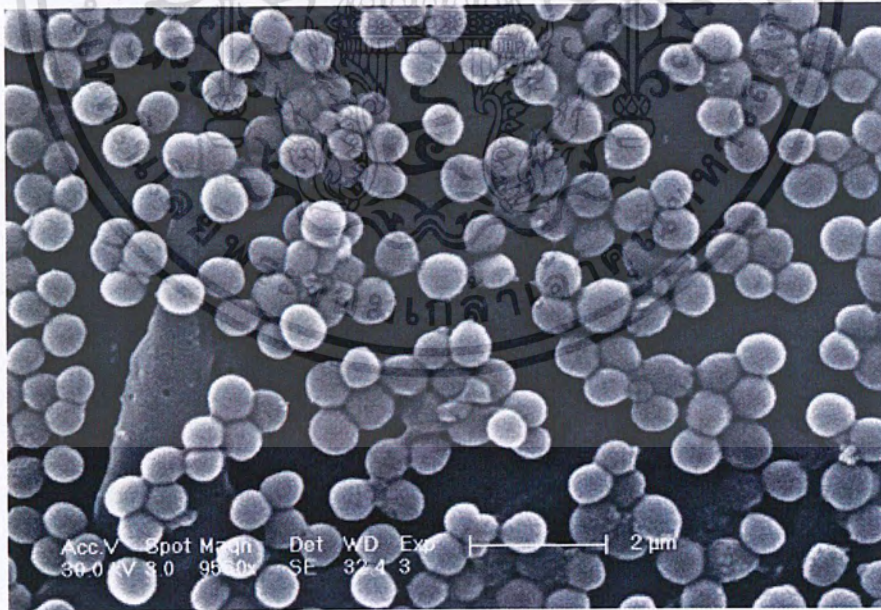
โรคที่เกิดจากการรับประทานอาหารซึ่งมีแบคทีเรียเป็นสาเหตุมี 3 ประเภท ได้แก่ โรคที่เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีสารพิษซึ่งสร้างจากแบคทีเรีย โดยผู้ป่วยไม่จำเป็นต้องได้รับเชื้อเข้าไป (food intoxication or food poisoning) เช่น โรคที่เกิดจากเชื้อ *staphylococcus aureus*, โรคที่เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อก่อโรคทางเดินอาหาร ซึ่งยังมีชีวิตเข้าไป (food infection) เช่น โรคที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* และโรคที่เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีแบคทีเรียซึ่งยังมีชีวิตและสามารถสร้างสปอร์และสารพิษได้เข้าไป (food toxicoinfection) เช่น โรคที่เกิดจากเชื้อ *Bacillus cereus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1.1 *Staphylococcus*

Staphylococcus เป็นเชื้อแบคทีเรียในแฟมิลี Micrococcaceae อาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปและเป็นเชื้อประจำถิ่นอยู่ตามผิวหนัง ได้แก่ *S. aureus* ซึ่งพบว่าเป็นเชื้อ staphylococci ที่ก่อโรคในคนได้บ่อยที่สุดและอาศัยบริเวณช่องจมูกส่วนหน้า

S. aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม (gram-positive cocci) ขนาดสั้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ประมาณ 0.5-1.5 ไมโครเมตร อาจพบอยู่เป็นคู่ ต่อกันเป็นสายสั้น หรือรวมกลุ่มกัน คล้ายพวงองุ่น ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ไม่สร้างสปอร์ โคโลนิที่มีลักษณะเป็นสีเหลือง เหลือง ทอง ส้ม และขาว (รูปที่ 2.2) เจริญได้ในทั้งสภาพที่มีและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) สร้างเอนไซม์ catalase และ coagulase ได้ ซึ่งเป็นคุณสมบัติสำคัญที่ใช้แยกเชื้อ *S. aureus* ออกจากเชื้อ staphylococci สปีชีส์อื่นๆ เนื่องจากว่าเชื้อ staphylococci สปีชีส์อื่นๆนั้น ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ coagulase ได้ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส ช่วงระดับ pH ต่ำสุด 4.2 สูงสุด 9.3 และช่วงที่เหมาะสมเป็น 7.0-7.5 เชื้อส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้ในที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 15 เปอร์เซ็นต์ สามารถพบบ่อยได้ในอาหาร คือ อาหารที่ทำด้วยแป้ง ขนมนึ่งที่มีครีมหรือคัสตาร์ด ขนมหวานต่างๆ แยม และสัตว์ปีก มีความไวต่อยา vancomycin, ceftazidime, penicillin G เป็นต้น



รูปที่ 2.7 แสดงลักษณะของโคโลนีของ *S. aureus*

ที่มา: <http://www.vcharkarn.com/include/vcafe/showkratoo.php?pid=136307>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

S. aureus ที่ผลิตสารพิษ ส่วนใหญ่มักเป็นพวกที่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ coagulase ได้ การปนเปื้อนของเชื้อเกิดจากการไอหรือจามลงในอาหาร หรือการได้รับเชื้อจากผิวหนัง หรือได้รับเชื้อภายหลังการพาสเจอไรส์ อาหารที่ไม่ผ่านการหุงต้มหรืออาหารสุกๆดิบๆเมื่อเชื้อปนเปื้อนในอาหารและมีอุณหภูมิกับระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญจะสร้างสารพิษ (enterotoxin) ภายในเซลล์ แล้วปล่อยออกนอกเซลล์สู่สารอาหาร ชนิดของสารพิษที่สร้างมี 5 ชนิดคือ A, B, C, D, และ E ซึ่งคุณสมบัติทนความร้อน (heat-stable toxin) ในระดับอุณหภูมิพาสเจอไรส์ คือ 72 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที และยังทนความร้อนระดับ 143.3 องศาเซลเซียส นาน 9 วินาที ซึ่งเป็นระดับความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อในน้ำนมแบบ ultra high temperature (UHT) สารพิษชนิดนี้ไม่ทำให้รูปสัมผัสของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงใดๆ ผู้บริโภคจึงไม่สามารถทราบได้ว่ามีสารพิษเกิดขึ้นในอาหาร สารพิษนี้จะไปออกฤทธิ์ที่เยื่อลำไส้ ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเดิน อาการป่วยจะดีขึ้นในเวลา 8-24 ชั่วโมง การป้องกันทำได้หลายวิธี โดยการทำอาหารให้มีความร้อนอย่างเพียงพอก่อนที่จะรับประทานอาหาร เช่น อาหารกระป๋อง เป็นต้น การรักษาความสะอาดและสุขอนามัยที่ดีของผู้สัมผัสอาหารและอุปกรณ์ที่ใช้ นอกจากนี้ ควรตรวจสอบสภาพผู้ที่ปรุงอาหาร หากพบว่าเป็นพาหะของเชื้อโรคก็ไม่ควรปรุงอาหาร

2.6.1.2 *Escherichia*

Escherichia เป็นเชื้อแบคทีเรียในแฟมิลี Enterobacteriaceae มีแหล่งที่อยู่สำคัญคือภายในทางเดินอาหารของคนและสัตว์ จึงอาจเรียกชื่อนี้ว่า enteric bacteria หรือ coliform เชื้อที่พบมาก่อนโรคในคนได้บ่อยที่สุดคือ *E.coli*

E.coli เป็นแบคทีเรียแกมลบรูปแท่ง (gram-negative bacilli) ขนาดประมาณ $0.3-10 \times 1-6$ ไมโครเมตร (รูปที่ 2.3) สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วย peritrichous flagella ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งสภาวะมีและไม่มีอากาศ สร้างกรดและก๊าซจากการสลายน้ำตาลกลูโคส สร้างกรดจากการสลายน้ำตาลแลคโตส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 37-41 องศาเซลเซียส เจริญได้ที่ระดับ pH ต่ำสุด 4.4 สูงสุด 9.0 และช่วงที่เหมาะสม 6.0-7.0 สามารถก่อโรคติดเชื้อที่สำคัญ ได้แก่ โรคติดเชื้อในทางเดินอาหารหรือโรคทางเดินอาหารอักเสบ โรคท้องร่วง โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ โรคติดเชื้อในทางเดินหายใจ โรคติดเชื้อในกระแสเลือด และโรคติดเชื้อของบาดแผล การป้องกันทำได้หลายวิธี ได้แก่ การรักษาความสะอาดและสุขอนามัยที่ดีของผู้สัมผัสอาหารและอุปกรณ์ที่ใช้ การปรุงอาหารให้สุกด้วยความร้อนที่สูงเพียงพอ การแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำเพียงพอ และการป้องกันการปนเปื้อนข้าม (cross contamination) ระหว่างอาหารเดิมและอาหารที่สุกแล้ว สามารถแบ่งแยกเชื้อ *E.coli* ที่ทำให้เกิดโรคในคนและสัตว์ได้ดังนี้

ก. Enteropathogenic *E.coli* (EPEC) เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงกับทารกโดยเฉพาะทารกที่ถูกเลี้ยงในสถานที่ที่มีสุขาภิบาลไม่สะอาด ไม่ทำให้เกิดโรคในผู้ใหญ่ กลไกการก่อโรคมักยังไม่ทราบแน่ชัด แต่ทราบว่าผู้ป่วยต้องรับประทานเชื้อเข้าไปในปริมาณมาก ประมาณ 10^6 - 10^8 เซลล์ต่อกรัม จึงจะมีอาการของโรค นั่นก็คือ ท้องร่วงแบบเป็นน้ำ (water diarrhea) ไม่มีเลือดปน มีไข้ คลื่นไส้ และอาเจียน

ข. Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC) เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงกับเด็กและผู้ใหญ่ โดยเชื้อจะสร้างสารพิษ enterotoxin ซึ่งเป็นสารที่ทนความร้อนหรือไม่ทนความร้อน ผู้ป่วยต้องรับประทานอาหารหรือดื่มน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อนประมาณ 10^8 - 10^9 เซลล์ต่อกรัม จึงจะก่อให้เกิดโรคได้ ซึ่งมีระยะฟักตัว 1-2 วัน (โดยเฉลี่ยใช้เวลา 3-4 วัน) อาการของโรคคล้ายกับอหิวาตกโรค (cholera) มีอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน และถ่ายเหลวเป็นน้ำ โดยทั่วไปอาการจะไม่รุนแรง

ค. Enteroinvasive *E.coli* (EIEC) เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงคล้ายโรคบิดที่เกิดจากเชื้อ Shigella เกิดได้ทุกวัยทั้งเด็กและผู้ใหญ่ เชื้อจะสร้างสารพิษชนิด polypeptide ที่สามารถบุกรุกเยื่อเมือกในลำไส้ออกมาแล้วก่อโรคได้ ผู้ป่วยต้องได้รับเชื้อเข้าไป 10^6 เซลล์ จึงจะเกิดโรคได้ โดยมีอาการประมาณ 7-12 วัน ได้แก่ เป็นตะคริวที่ท้อง ท้องเสีย ปวดศีรษะ หนาวสั่น มีไข้ และในอุจจาระที่ขับออกมาจะมีเชื้ออยู่เป็นจำนวนมาก

ง. Enterohemorrhagic *E.coli* (EHEC) เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงโดยมีเลือดปนออกมา (haemorrhagic colitis) และยังมีพิษภาวะเป็นเลือด (haemorrhagic uremic syndrome ; HUS) เชื้อจะเกาะและเพิ่มจำนวนที่ลำไส้ พร้อมทั้งสร้างสารพิษ enterotoxin ออกมา ผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อเพียง 10-100 เซลล์ ก็สามารถเกิดโรคได้ อาการจะเกิดขึ้นหลังจากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อเข้าไป 3-9 วัน และมีอาการอยู่ 4 วัน ได้แก่ เป็นตะคริวที่ท้อง ถ่ายเหลว (35-75 เปอร์เซ็นต์ อุจจาระเป็นเลือด) อาเจียน อาจมีหรือไม่มีไข้ ถ้าใส่ใหญ่มีเลือดออก สารพิษจะทำลายเม็ดเลือดแดง ทำให้เลือดจับตัวเป็นลิ่มในไต ไตจึงถูกทำลายและเกิดอาการไตวายในที่สุด โรคนี้สามารถเกิดได้กับคนทุกวัย พบมากในเด็กและทารก

E.coli มีความไวต่อยาหลายกลุ่ม เช่น β -lactams, fluoroquinolones, tetracyclines, aminoglycosides และ sulfonamides แต่ปัจจุบันมีอัตราการดื้อยาสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว และพบการดื้อยาต่อกลุ่ม extended-spectrum cephalosprins และ β -lactams (ยกเว้น cephamycins และ carbapenems)



รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะโคโลนีของ *E.coli* ที่เจริญบนจานอาหาร SMAC

ที่มา : http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_2_002c.asp?info_id=669

2.6.1.3 *Micrococcus luteus*

Micrococcus luteus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มักพบในเยื่อจมูก เยื่อปาก *M. luteus* อยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส มีรูปร่างกลม สร้างเม็ดสีทำให้มีสีต่างๆ เช่น สีชมพู สีแดง สีส้ม ไม่สร้างสปอร์ มีผนังเซลล์หนาและทนแรงดันออสโมติกได้สูง ทนเกลือและทนต่อการฉายรังสี *Micrococcus* เป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรค แต่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสียของอาหารหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ สัตว์ปีก อาหารทะเล ปลา หอย รวมทั้งผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก แฮม

2.6.1.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง สามารถเคลื่อนที่ได้โดยแฟลกเจลลา ปกติจะพบกระจายในดิน น้ำ ขยะ หรือในพืช ในลำไส้คน *P. aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้งสัตว์ แมลงและต้นไม้ได้บ้าง

P. aeruginosa เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อกับ ผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมากๆ หรือผู้ที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล บางทีจึงเรียกโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *P. aeruginosa* ว่าโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล *P. aeruginosa* เป็นสาเหตุส่วนใหญ่ในการก่อให้เกิดโรคปอดบวม ในห้อง ICU โรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* สามารถแพร่กระจายภายในโรงพยาบาลโดยบุคลากร อุปกรณ์การแพทย์ ผิวน้ำ น้ายาฆ่าเชื้อ และอาหาร โรคติดเชื้อนี้เป็นปัญหาที่รุนแรงมากในโรงพยาบาลมากเนื่องจากผู้ป่วยซึ่งมีอาการหนักอยู่แล้วจะเสียชีวิตเนื่องจากโรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* และ *Pseudomonas* คือ ต่อยาปฏิชีวนะมาก ทำให้ยากต่อการรักษา



รูปที่ 2.9 การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Micrococcus luteus* (สัญลักษณ์ M) โดยภาพซ้ายเป็นการเพาะเลี้ยงแบบใช้ออกซิเจน และภาพขวาเป็นการเพาะเลี้ยงแบบไม่ใช้ออกซิเจน

ที่มา : <http://www.technoinhome.com/front/webboard/show.php?tbl=tblwb03&id=12>

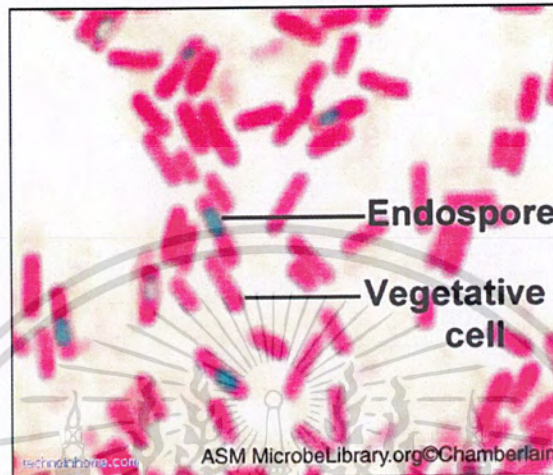


รูปที่ 2.10 ภาพซ้ายเป็นการเพาะเลี้ยงเซลล์ *P. aeruginosa* และภาพขวาเป็นเซลล์ของ *P. aeruginosa* ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ที่มา : http://medtech-enews.blogspot.com/2009_11_01_archive.html

2.6.1.5 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis เซลล์เป็นรูปท่อน ขนาด $0.3-2.2 \times 1.2-7.0$ ไมโครเมตร ส่วนใหญ่สามารถเคลื่อนที่ได้ ดิคสีแกรมบวก เป็นจุลินทรีย์ที่หายใจโดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย

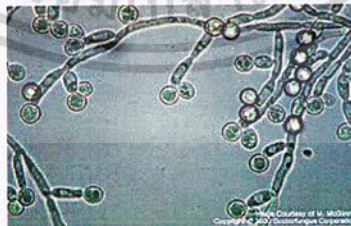


รูปที่ 2.11 แสดงถึงการย้อมสีของ *Bacillus subtilis* สร้าง endospore ซึ่งย้อมติดสีเขียว ส่วนเซลล์ติดสีแดง

ที่มา : <http://www.technoinhome.com/front/webboard/show.php?tbl=tblwb03&id=10>

2.6.1.6 *Candida albicans*

Candida albicans เป็นยีสต์เซลล์รูปกลมหรือรี มีการแตกหน่อระหว่างเซลล์ที่ต่อกัน *C. albicans* จัดเป็นสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคสูงที่สุด โดยก่อโรค Candidiasis ในคนซึ่งเกิดตามเยื่อในปาก ช่องคลอด ทางเดินอาหาร เชื้อที่ร้ายแรงขึ้นจะเกิดโรคในเยื่อหัวใจในเลือดและสมอง



Candida albicans

รูปที่ 2.12 แสดงเซลล์ของ *Candida albican*

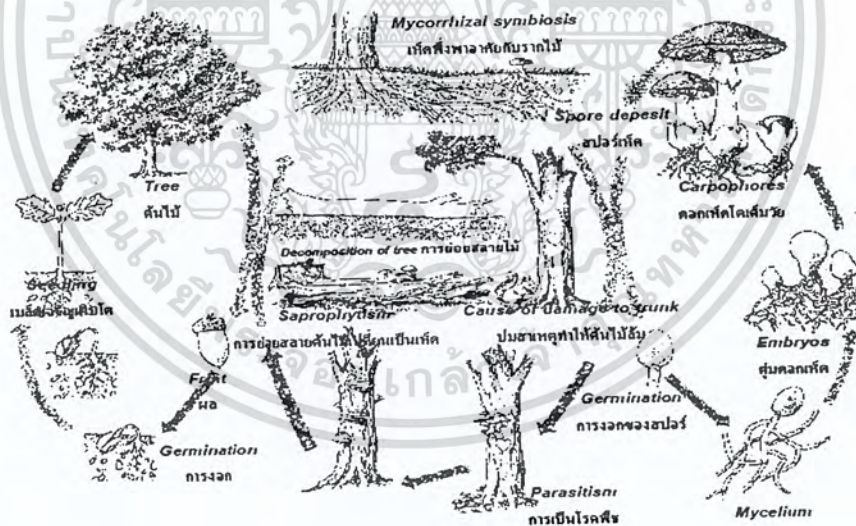
ที่มา : <http://www.optimalhealthnetwork.com/What-Does-Science-Say-About-Candida-Albicans-s/398.htm>

2.7 เห็ด

เห็ด เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ พบทั้งในน้ำ บนบกและในอากาศ มีลักษณะคล้ายสาหร่าย แต่ไม่มีคลอโรฟิลล์ เป็นเส้นใยเล็กๆ ซึ่งแต่ละเส้นเรียกว่า ไฮฟา เส้นเหล่านี้มักอยู่รวมกันเป็นกระจุก (ไมซีเลียม) บางชนิดมีเซลล์เดียว เช่น ยีสต์บางชนิดรวมเป็นดอกเห็ด เนื่องจากไม่มีคลอโรฟิลล์มันจึงต้องอาศัยการย่อยสลายอาหารจากภายนอก ได้แก่ อินทรีย์วัตถุทั่วไป อย่างไรก็ตาม บางชนิดอาจดำรงชีวิตแบบปรสิต หรืออยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นโดยอาศัยประโยชน์ซึ่งกันและกัน เช่น ไลเคนส์ (เห็ดคราอยู่ร่วมกับสาหร่าย)

2.7.1 วงจรชีวิตของเห็ดครา

วงจรชีวิตของเห็ดทุกชนิดมีลักษณะคล้ายกัน กล่าวคือเมื่อตุ่มดอกเห็ดมีขนาดใหญ่ขึ้น ผิวดอกจะปริแตกออกทำให้ “สปอร์” (Spores) จำนวนล้าน ๆ จากครีบ (Gills) ปลิวออกมา เมื่อดอกไปอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมก็จะงอกเป็นไฮรา (hypha) และเจริญต่อไปเป็นกลุ่มไฮรา (mycelium) แล้วรวมกันเป็นกลุ่มก้อนเกิดเป็นดอกเห็ด (fruiting body) เมื่อดอกเห็ดเจริญเติบโตขึ้นก็จะสร้างสปอร์ (spores) ซึ่งจะปลิวหรือหลุดไปงอกเป็นไฮรา (hypha) และเจริญต่อไปเป็นกลุ่มไฮรา (mycelium) ได้อีกหมุนเวียน เช่นนี้เรื่อยไปเป็น วัฏจักร โครงสร้าง พื้นฐานของเห็ดคราประกอบด้วย “เส้นใย” (hyphae) เส้นใยเหล่านี้จะถูกแบ่งออกเป็น ส่วน ๆ เราจะพบเห็นเส้นใยได้ ก็ต่อเมื่อเส้นใยเหล่านี้เจริญเติบโตบนพื้นผิวในลักษณะเป็น “กลุ่มก้อนของไฮรา” (mycelia) แล้วเท่านั้น ดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.13 วงจรชีวิตของเห็ด

ที่มา : <http://bbee09.212cafe.com/archive/2009-09-03/spores-gills-hypha-mycelium-fruiting-body-spores-hypha-mycelium-hyphae-mycelia/>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.2 สารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในเห็ด

2.7.2.1 สารโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide)

โพลีแซคคาไรด์เป็นโซ่ยาวของน้ำตาลซึ่งพบเป็นปกติในเห็ดบางชนิด ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอก โดยการกระตุ้นเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันมีพลังและทำลายเซลล์มะเร็งและไวรัส โดยเพิ่มจำนวน NK Cell (เซลล์เพชฌฆาต) รวมทั้งอินเตอร์เฟอรอน (Interferon) และอินเตอร์ลิวคิน (Interlukin)

อินเตอร์เฟอรอนเป็นกลุ่มของโปรตีนที่สังเคราะห์ขึ้นโดยเซลล์ในร่างกาย เพื่อที่จะตอบสนองต่อการติดเชื้อไวรัส เซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสจะปลดปล่อยอินเตอร์เฟอรอนปริมาณน้อยๆออกมา ซึ่งจะเร่งให้ตัวมันเองไปสัมผัสกับเซลล์ข้างเคียง เพื่อให้เริ่มผลิตเอนไซม์ต่างๆที่จะมาต้านไวรัสด้วยตัวของมันเอง จึงทำให้ไวรัสผู้รุกรานผิดปกติและไม่เพิ่มจำนวน อินเตอร์เฟอรอนยังมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็งอีกด้วย

อินเตอร์ลิวคินเป็นโปรตีนที่ผลิตโดยเซลล์แมโครฟาจ (Macrophage) และเซลล์เม็ดเลือดขาว ซึ่งทำงานร่วมกับเซลล์เม็ดเลือดขาวอื่นๆในระบบภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งภูมิคุ้มกันระบบเซลล์

ในทศวรรษที่ 1960 นักวิทยาศาสตร์พบว่า โพลีแซคคาไรด์มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง อย่างไรก็ตามโพลีแซคคาไรด์แต่ละชนิดจะมีความสามารถเฉพาะตัว และมีบทบาทแตกต่างกันไปในการต่อต้านมะเร็งแต่ละชนิด และต้องมีปริมาณเหมาะสมจึงจะได้ผลในการรักษา

หน้าที่สำคัญของสารประกอบโพลีแซคคาไรด์

2.7.2.1.1 โพลีแซคคาไรด์ไม่เพียงแต่ป้องกันการก่อมะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพเท่านั้นแต่ยังช่วยให้ฟื้นตัวจากมะเร็งได้เร็วอีกด้วย

2.7.2.1.2 โพลีแซคคาไรด์ช่วยบรรเทาผลข้างเคียงหรืออาการไม่สบายจากการใช้เคมีบำบัด

2.7.2.1.3 ผลการศึกษาหลายครั้งพบว่า โพลีแซคคาไรด์สามารถใช้รักษามะเร็งได้เลย แม้ผู้ป่วยจะยังไม่เคยได้รับการรักษาด้วยวิธีใดมาก่อน

2.7.2.2 สารไตรเทอร์พีนอยด์ชนิดขม (Bitter Triterpenoid)

สารไตรเทอร์พีนอยด์เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ใช่ไขมันแต่มีคุณสมบัติคล้ายไขมัน สารที่มีรสขมส่วนใหญ่จะอยู่ที่ดอกและก้าน ส่วนที่มีรสขมนี้นี้เป็นส่วนสำคัญของตัวยาที่จะใช้รักษาโรค สารไตรเทอร์พีนอยด์ชนิดขมเป็นกลุ่มของสารประกอบที่แตกต่างกันประมาณ 100 ชนิด แต่

ส่วนที่มีความสำคัญในการรักษาโรคคือ กรดกาโนเดอริก (Ganoderic acid A,B,C1,C2,D-K,R-Z) และ กรดลูซิเดนิค (Lucidenic acid) ส่วนกรดกาโนเดอริ่มิค (Ganodermic acid) กรดกาโนเดอเรนิก (Ganoderenic) ลูซิโดน (Lucidone) กาโนเดอราล (Ganoderal) กาโนเดอรอลส์ (Ganoderols) กรดกาโนลูซิติก (Ganolucidic acid) และอื่น ๆ พบได้ไม่มากนัก กลุ่มของสารเหล่านี้โดยเฉพาะ กรดกาโนเดอริกเป็นตัวยับยั้งการหลั่งของสารฮิสตามีน (Histamine-Release inhibition activity) ซึ่งเป็นตัวทำให้เกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้ชนิดหนึ่ง ช่วยลดความดันโลหิต (ACE-inhibitory activity) และช่วยลดไขมันในเลือด (Hypercholesterolemic activity) การลดไขมันนี้มีผลทั้งในด้านการป้องกันการอุดตันของไขมันในเส้นเลือด (Antiarterogenic) และการบำบัดรักษาหลังจากเกิดการอุดตันแล้ว (Antiarterosclerotic) นอกจากนี้ยังพบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในตับ (Antihepatotoxic) ได้อีกด้วย

2.7.2.3 เออร์โกสเตอรอล (Ergosterol)

มีปริมาณอยู่เพียงเล็กน้อยแต่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ที่ตรวจพบในเห็ดราทั่วไป ก็คือ เออร์โกสเตอรอล (Ergosterol) หรือโปรวิตามินดี 2 (Provitamin D₂) ร่างกายสามารถเก็บสะสมไว้ได้ผิวหนังเมื่อได้รับแสงอุลตราไวโอเล็ตจากแสงแดดก็จะสังเคราะห์เป็นวิตามินดี เพื่อช่วยในการดูดซึมของแคลเซียม ฟอสฟอรัสในลำไส้ และเสริมความแข็งแรงของกระดูกและฟัน ส่วนที่มีเฉพาะในเห็ดหลินจือก็คือ กาโนสเตอโรน (Ganosterone) หรือ กาโนโดสเตอโรน (Ganodosterone) มีฤทธิ์ในการลดพิษที่มีต่อดับ ในประเทศเกาหลีใช้เป็นยาบำรุงตับ สำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคตับแข็ง และโรคตับอักเสบ

2.7.2.4 กลุ่มสารนิวคลีโอไซด์

มีค้นพบสารอะดีโนซีน (Adenosine) ในเห็ดหลินจือซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่เป็นตัวเก็บพลังงานจากการหายใจ และพร้อมที่จะแตกตัวให้พลังงานในระดับสูงออกมาเมื่อร่างกายต้องการ จากการทดลองพบว่าสารอะดีโนซีน มีผลในการบรรเทาความเจ็บปวด (Analgesic) และมีฤทธิ์เช่นเดียวกับ กัวโนซีน (Guanosine) ซึ่งเป็นนิวคลีโอไซด์อีกตัวหนึ่งที่พบในเห็ดหลินจือ ในการยับยั้งการรวมกลุ่มของเกร็ดเลือด (Platelet aggregation inhibition) จึงมีสรรพคุณในการป้องกันการอุดตันจากลิ่มเลือดในเส้นเลือด (Antithrombotic activity) ทำให้ช่วยลดอัตราการเกิดโรคอัมพาต อัมพฤกษ์ลงได้ และยังค้นพบ สารอาร์เอ็นเอ (RNA) ชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติคล้ายอินเตอร์เฟอรอน (Interferon-like substance) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส (Antivirus) อัลคาลอยด์ (Alkaloids) เป็นสารอีกตัวหนึ่งที่พบว่า มีฤทธิ์กระตุ้นการไหลเวียนของเลือดในหัวใจ ลด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แรงต้านทานในผนังเส้นเลือดของหัวใจ ลดการใช้ออกซิเจนของกล้ามเนื้อหัวใจ และเพิ่มความคงทนต่อภาวะการขาดออกซิเจนเป็นเวลานานได้

2.7.2.5 สารประกอบเจอร์มาเนียม (Germanium, Ge content)

เจอร์มาเนียมเป็นธาตุแข็ง พบในโสมทั่วไป ในกระเทียม และพบมากในเห็ด

หลินจือ เป็นตัวส่งเสริมขบวนการทำงานของร่างกาย สามารถรวมตัวและช่วยกำจัดสารพิษและสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ มีการใช้ร่วมกับยาแผนปัจจุบันเพื่อกำจัดพิษและอาการไม่พึงประสงค์ และยังพบว่าสามารถลดความเจ็บปวดในผู้ป่วยโรคมะเร็งได้

ทั้งนี้ นอกจากสารออกฤทธิ์ที่กล่าวถึงข้างต้น 5 กลุ่มแล้ว ยังมีการค้นพบองค์ประกอบอื่น ๆ อีกหลายชนิดที่มีสรรพคุณทางยา เช่น กรดไขมันชนิดโอเลอิก (Oleic acid) และสารไซโคลอ็อกต้าซัลเฟอร์ (Cyclooctasulfur) ซึ่งมีฤทธิ์ด้านการหลังของฮีสตามีน สารไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) บางชนิดมีฤทธิ์ต่อต้านความพิการของทารก (Antimutagen) มีโปรตีนที่เป็นเอ็นไซม์จำพวกไลโซไซม์ (Lysozyme) โปรติเอส (Protease) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาปฏิชีวนะ ทำหน้าที่ย่อยสลายเชื้อแบคทีเรีย มีการค้นพบสารที่สามารถระงับอาการไอ ขับเสมหะในผู้ป่วยหลอดลมอักเสบเรื้อรัง สารที่ช่วยขยายหลอดลมในผู้ป่วยโรคหอบหืด สารที่ช่วยลอกฝ้ากระ และสารที่มีคุณสมบัติในการชะลอความแก่

2.8 ยาต้านจุลชีพ

ยาด้านจุลชีพ (Antimicrobial drugs) หมายถึง ยาที่มีฤทธิ์ทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพ ได้แก่ ไวรัส แบคทีเรีย ริกเกตเซีย เชื้อรา เชื้อปรสิต และโปรโตซัว ซึ่งมีทั้งสารสังเคราะห์ และสารที่ได้มาจากธรรมชาติ ยาใดที่ได้มาจากสารที่ผลิตโดยจุลชีพ (ได้แก่ เชื้อรา และแบคทีเรีย) มีฤทธิ์ฆ่า หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพชนิดอื่น มีชื่อเรียกเฉพาะว่า ยาปฏิชีวนะ (Antibiotics) ซึ่งรวมทั้งสารที่เกิดจากการกึ่งสังเคราะห์ (semisynthetic) ที่มีลักษณะคล้ายสารจากธรรมชาติด้วย ตัวอย่างเช่น ยากลุ่มเพนิซิลลิน ยากลุ่มเตตราไซคลิน ยากลุ่มแมกโครไลด์ (อีริโทรไมซิน) ยากลุ่มควิโนโลน (นอร์ฟลอกซาซิน) กลุ่มยามาเชื้อรา (คีโตโคนาโซล) เป็นต้น

(www.thailabonline.com/drug13.htm)

ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) หมายถึง สารต่อต้านการดำรงชีวิต โดยชื่อเท็จจริงหมายถึงสารที่ผลิตตามธรรมชาติโดยสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่เรียกว่า จุลินทรีย์ประเภทหนึ่ง แล้วมีอำนาจยับยั้งหรือทำลายชีวิตของจุลินทรีย์อีกประเภทหนึ่งอันเป็นลักษณะของการรักษาสมดุลระบบนิเวศน์ของสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ

เช่น ยาปฏิชีวนะชื่อว่าเพนิซิลลิน ผลิตโดยเชื้อราชนิดหนึ่งแล้วมีผลทำลายชีวิตของเชื้อแบคทีเรียอื่นที่อยู่ใกล้เคียง มนุษย์นำประโยชน์ตรงนี้มาประยุกต์เป็นยารักษาโรคติดเชื้อ โรคติดเชื้อ หมายถึงความเจ็บป่วยที่เกิดจากการรุกรานของเชื้อโรคเข้าสู่ร่างกาย มนุษย์จะคัดแยกสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต่อต้านการดำรงชีวิตของเชื้อต้นเหตุโรคมารุ่งแต่งเป็นยาในรูปแบบต่างๆ เช่น ยาเม็ด ยาแคปซูล ยาฉีด แล้วให้ผู้ป่วยเมื่อเกิดโรคติดเชื้อที่คาดว่าหรือพิสูจน์ว่าเกิดจากเชื้อต้นเหตุดังกล่าว ยาปฏิชีวนะที่นิยมใช้กันมักจะมีชื่อทั่วไปที่ลงท้ายด้วยคำว่า มัยซิน เช่น Erythromycin และ Gentamycin ลงท้ายด้วยคำว่า ซิลลิน เช่น Penicillin และ Ampicillin ลงท้ายด้วยคำว่า ซัยคลิน เช่น Tetracycline และ Doxycycline เป็นต้น แต่มียาปฏิชีวนะหลายตัวที่อยู่นอกเหนือกฎเกณฑ์นี้ เช่น Cholamphinicol Polymycin และ Vancomycin เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีศัพท์อีกหลายคำที่เรามาจะได้ยิน ได้ฟังหรือพูดกัน เช่น ยาต้านจุลชีพ ยาต้านแบคทีเรีย ยาต้านเชื้อรา ยาต้านไวรัส ยาฆ่าเชื้อ ยาแก้อักเสบ ศัพท์เหล่านี้เป็นคำที่มาจากจากมองยารักษาโรคติดเชื้อในแง่มุมที่ต่างกัน ยาต้านจุลชีพเป็นคำรวมที่หมายถึงยาต่อต้านการดำรงชีวิตของเชื้อโรคซึ่งได้มาจากแหล่งต่างๆ ไม่ว่าจะมาจากธรรมชาติหรือจากการสังเคราะห์ทางเคมีก็ตาม ยาต้านแบคทีเรีย ยาต้านเชื้อรา ยาต้านไวรัส หมายความว่ายาต่อต้านการดำรงชีวิตของเชื้อต้นเหตุโรคส่วนใหญ่ซึ่งแยกเป็นประเภทต่างๆ ตามที่ชื่อบ่งบอก

ยาฆ่าเชื้อ หมายถึง ยาต่อต้านการดำรงชีวิตของเชื้อโรคที่ใช้ในอกร่างกายและเป็นคำหนึ่งที่คนทั่วไปมักใช้เรียกแทนยารักษาโรคติดเชื้อ ยาแก้อักเสบเป็นอีกคำหนึ่งที่คนทั่วไปใช้เรียกแทนยาปฏิชีวนะ ซึ่งคำนี้สื่อความหมายที่ไม่ถูกต้อง เนื่องจากชื่อของโรคติดเชื้อส่วนใหญ่มักจะเรียกตามชื่อเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่มีการติดเชื้อแล้วตามด้วยคำว่าอักเสบ เช่น หลอดลมอักเสบ ปอดอักเสบ โพรงจมูกอักเสบ เป็นต้น ทำให้คนทั่วไปจึงเรียkyารักษาโรคติดเชื้อว่ายาแก้อักเสบ ทั้งที่โดยแท้จริงแล้วยาปฏิชีวนะไม่มีผลแก้ไขตรงจุดการอักเสบนี้ ยาเพียงแค่ทำลายเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุอย่างหนึ่งของการอักเสบ โดยชื่อแท้จริงแล้วการอักเสบจากการฉีกขาดของกล้ามเนื้อ ไขข้ออักเสบจากการสะสมของกรดยูริก เป็นต้น ดังนั้นคำว่ายาแก้อักเสบควรใช้กับยาที่รักษาอาการอักเสบดังกล่าวจริงๆ ไม่ควรใช้กับยารักษาโรคติดเชื้อเพราะจะทำให้เข้าใจจุดประสงค์ของการใช้ยาที่ผิดไปจากความเป็นจริง อย่างไรก็ตาม แม้การเรียกชื่อจะต่างกันแต่ยาเหล่านี้มีวัตถุประสงค์ในการใช้เหมือนกัน คือ ทำลายหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคที่รุกรานให้ลดน้อยอยู่ในวิสัยที่กลไกป้องกันตนเองของมนุษย์ เช่น ภูมิคุ้มกันสามารถกำจัดมันได้ และในบรรดาจุลินทรีย์ที่สามารถทำลายโดยการใส่ยาปฏิชีวนะนั้น ได้แก่แบคทีเรียส่วนใหญ่ เชื้อราหลายชนิดและไวรัสบางชนิด

(www.gotoknow.org/blog/bem493620/49968)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามหลักแล้ว ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial agent) เป็นกลุ่มยาที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์หรือทำลายจุลินทรีย์ สามารถนำมาใช้ใน 2 ลักษณะคือ

เพื่อควบคุมจุลินทรีย์ภายนอกร่างกาย

- Antiseptic
- Disinfectant

เพื่อรักษาโรคติดเชื้อภายในร่างกาย

- Antibacterial drugs/antibiotics

2.8.1 ประเภทของยาต้านจุลชีพ

2.8.1.1 แบ่งตามขอบเขตของการออกฤทธิ์ของยา

- ก. ออกฤทธิ์กับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คือ เชื้อแบคทีเรียที่ย้อมติดสีม่วงเนื่องจากผนังเซลล์มีส่วนประกอบของ peptidoglycan เช่น Penicillins
- ข. ออกฤทธิ์กับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ คือ เชื้อแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแดงเนื่องจากผนังเซลล์มีส่วนประกอบของ lipopolysaccharide เช่น Aminoglycosides
- ค. กลุ่มที่มีขอบเขตการออกฤทธิ์แคบ (Narrow spectrum) คือ ยาที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้งที่เป็นรูปกลมและรูปแท่ง เช่น Penicillin และ Vancomycin รวมทั้งยาที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย แกรมลบรูปแท่ง เช่น ยาในกลุ่ม Aminoglycosides
- ง. กลุ่มที่มีการออกฤทธิ์ปานกลาง (Intermediate spectrum) คือ ยาที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบบางชนิด เช่น Cephalosporins บางตัว
- จ. กลุ่มที่มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้าง (Broad spectrum) คือ ยาที่มีผลออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลมและแกรมลบรูปแท่ง เช่น Ampicillin และ Tetracycline

2.8.2 แบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ของยาที่มีต่อผนังเซลล์

2.8.2.1 Bactericidal : ยาออกฤทธิ์ต่อผนังเซลล์ เซลล์เมมเบรน DNA หรือยาที่ความเข้มข้นสูงทำให้มีฤทธิ์ฆ่าจุลชีพ (99.9% ของเซลล์แบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงถูกฆ่าในเวลาที่กำหนด)

2.8.2.2 Bacteriostatic : ยาออกฤทธิ์ต่อขบวนการสร้างโปรตีนหรือยาที่ความเข้มข้นต่ำทำให้ยับยั้งการเจริญเติบโต (reversible exchange) และจะต้องอาศัยกลไกในการต้านทานโรคของร่างกายมาช่วยในการกำจัดเชื้อร่วมด้วย

2.8.3 แบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ของยาที่มีต่อเยื่อหุ้มเซลล์

2.8.3.1 กลุ่มที่มีฤทธิ์ขัดขวางการสร้างผนังหุ้มเซลล์ ยากลุ่มนี้ประกอบด้วย

Penicillin, Cephalosporin, Vancomycin, Bacitracin และ Cycloserine ยากลุ่มนี้มีผลทำลายผนังหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแตกและตายทันที จึงจัดเป็นยากลุ่ม Bactericidal action

2.8.3.2 กลุ่มที่มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ยากลุ่มนี้มีผลทำให้ของเหลวภายในเซลล์ซึมผ่านออกนอกเซลล์และทำให้เซลล์ตายในที่สุด ยากลุ่มนี้อาจจัดได้ว่าเป็นยาที่มีพิษต่อคนมากที่สุดเพราะเยื่อหุ้มเซลล์ของคนสามารถถูกทำลายโดยยากลุ่มนี้ได้เช่นกันแต่ด้วยคุณสมบัติที่แตกต่างบางประการ จึงส่งผลให้ยาออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียได้ดีกว่าคน

2.8.3.3 กลุ่มที่มีผลขัดขวางการสร้างโปรตีน ยากลุ่มนี้มีผลยับยั้งการทำงานของไรโบโซมซึ่งเป็นกลไกที่สำคัญของเซลล์ในการสร้างโปรตีน จึงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยตรง ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องอาศัยการทำงานของภูมิคุ้มกันของร่างกายในการทำลายเชื้อที่เหลืออยู่ ยากลุ่มนี้แบ่งย่อยได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีผลต่อไรโบโซมชนิด 50s ได้แก่ Chloramphenicol, Clindamycin, Erythromycin และกลุ่มที่มีผลต่อไรโบโซมชนิด 30s ได้แก่ Tetracycline

2.8.3.4 กลุ่มที่มีผลทำให้ขบวนการสร้างโปรตีนของแบคทีเรียผิดปกติ เกิดจากการที่ยาจับกับไรโบโซมชนิด 30s และทำให้เกิดการสร้างโปรตีนที่ผิดปกติเป็นผลให้แบคทีเรียถูกทำลาย ยาจึงมีคุณสมบัติจัดเป็นยากลุ่ม Bactericidal action เช่น Streptomycin, Neomycin เป็นต้น

2.8.3.5 กลุ่มที่มีผลยับยั้งการสร้างกรดนิวคลีอิก ยากลุ่มนี้ทำให้เซลล์ไม่สามารถสร้าง DNA ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของแบคทีเรีย จึงมีฤทธิ์อยู่ในกลุ่ม Bacteriostatic action

2.8.3.6 กลุ่มที่ขัดขวางขบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย ได้แก่ ยาในกลุ่ม Sulphonamide และ Trimethoprim ซึ่งจะไปยับยั้งขบวนการเมตาบอลิซึมของกรดโฟลิก ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตและแบ่งตัวต่อไปได้ ยาจึงออกฤทธิ์เป็น Bacteriostatic action

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

ตัวอย่างเห็ด 4 ชนิด ได้แก่เห็ดหลุม เห็ดแครง เห็ดขอนขาว และเห็ดดั่งเต่า ที่มีระยะในการเจริญเติบโตเต็มที่

3.1.2 เครื่องมือ

- 3.1.2.1. เครื่องชั่งสารความละเอียด 4 ตำแหน่ง
- 3.1.2.2. เครื่องปั่นสาร
- 3.1.2.3. เครื่องดูดสารอัตโนมัติ
- 3.1.2.4. ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส
- 3.1.2.5. ชุดกรองสารและแผ่นกรองช่องผ่านขนาด 90 ไมโครเมตร
- 3.1.2.6. เครื่องผสมสาร
- 3.1.2.7. เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ
- 3.1.2.8. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง
- 3.1.2.9. เครื่องกำจัดน้ำ

3.1.3 สารเคมี

- 3.1.3.1. ฟอลิน ซีโอแคลตูรีเอเจนต์ (Folin and Ciocalteu's Reagent, Sigma, USA)
- 3.1.3.2. โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3 , Ajax finechem Pty)
- 3.1.3.3. โซเดียมไนไตรต์ (NaNO_2 , Ajax finechem Pty)
- 3.1.3.4. อะลูมิเนียมคลอไรด์ ($\text{AlCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Ajax finechem Pty)
- 3.1.3.5. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH , Ajax finechem Pty)
- 3.1.3.6. คาร์เตชิน (Catechin , Sigma , USA)
- 3.1.3.8. กรดแกลลิก (Gallic acid , Sigma, USA)
- 3.1.3.9. เมทานอล (Methanol AR Grade , Germany)
- 3.1.3.10. 2,2-ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดรราซิด (DPPH, D913-2, Sigma, USA)
- 3.1.3.15. เบต้าไฮดรอกซีเอซิด (BHA, 2-tert-butyl-4-metroxyphenol, Sigma, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3.16. โทโคฟีรอล (α -tocopherol, Sigma ,USA)

3.1.3.17 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

3.1.3.18 สารละลายมาตรฐาน McFarland

3.1.4 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.4.1 *Bacillus subtilis* ATCC 6633

3.1.4.2 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

3.1.4.3 *Micrococcus luteus* ATCC 9341

3.1.4.4 *Escherichia coli* ATCC 25922

3.1.4.5 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

3.1.4.6 *Candida albicans* ATCC 10231

3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อและยาปฏิชีวนะ

3.1.5.1 Tryptic Soy Agar (TSA)

3.1.5.2 Sabouraud's dextrose agar (SDA)

3.1.5.3 ยาปฏิชีวนะ Doxycycline

3.1.5.4 ยาปฏิชีวนะ Penicillin G

3.1.5.5 ยาปฏิชีวนะ Gentamicin

3.1.5.6 ยาปฏิชีวนะ Ceftazidime

3.1.5.7 ยาปฏิชีวนะ Ketokonazole

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 ตัวอย่าง

ทำการวิเคราะห์เห็ด ได้แก่ เห็ดลม เห็ดแครง เห็ดขอนขาว และเห็ดตับเต่า ซึ่งจัดเป็นเห็ดที่มีรสชาติรับประทานและมีการผลิตเพื่อใช้ในทางการค้าในประเทศไทย หลังจากนั้นทำการคัดแยกและจำแนกเห็ดแต่ละชนิดออกจากกัน ทำการศึกษาเห็ดในระยะที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว หลังจากที่ได้เก็บรวบรวมและจำแนกเห็ดแล้ว เห็ดทุกชนิดจะถูกนำมาทำแห้งด้วยเครื่องกำจัดน้ำ (Dehydrator)

3.2.2 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างแห้งที่ได้จากกรรมวิธีข้อ 3.2.1 มา 3 กรัม เติมน้ำตาลลงไป 100 มิลลิลิตร เพื่อทำการสกัดสารจากตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บ่มเข้าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 นำส่วนใสที่ได้มาเติมน้ำตาลอีก 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นต่อเข้ากับเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary evaporator laboratory) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำให้เป็นสารละลายอีกครั้งในอัตราส่วน 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Barros และคณะ, 2007a; Barros และคณะ, 2007b; Ferreira และคณะ, 2007)

3.2.3 การหาปริมาณของสารประกอบฟีนอล

3.2.3.1 การหาปริมาณของสาร phenolic compounds

นำสารสกัดที่ได้มา 1 มิลลิลิตร เติม Folin and Ciocalteu's ลงไป 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 นาที ทำให้อิ่มตัวด้วยโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงจากสารสีฟ้าที่ได้ที่ 725 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง shimadzu UV-VIS spectrophotometer เทียบกับสารมาตรฐานคือ กรดแกลลิก จำนวนปริมาณสารประกอบฟีนอลในรูปมิลลิกรัมของ gallic acid equivalents (GAE) ต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (Barros และคณะ, 2007a; Barros และคณะ, 2007b; Ferreira และคณะ, 2007)

3.2.3.2. การหาปริมาณของสาร flavonoid

นำสารสกัดจากเห็ด 250 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 1.25 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมด้วย NaNO_2 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 75 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที เติม $\text{AlCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 150 ไมโครลิตร ทิ้งไว้อีก 6 นาที เติม NaOH 1 โมล ปริมาณ 500 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้สารเป็นสีชมพู วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร โดยใช้คาร์เตชินเป็นสารมาตรฐาน จำนวนออกมาให้อยู่ในรูปของมิลลิกรัมคาร์เตชินต่อกรัมของสารสกัดที่ได้ (Barros และคณะ, 2007a; Barros และคณะ, 2007b; Ferreira และคณะ, 2007)

3.2.4 การหาฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระโดยใช้ DPPH

นำตัวอย่างสารสกัดเห็ดที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 10×10^{-1} ถึง 10×10^{-9} มา 0.3 มิลลิลิตร ในแต่ละความเข้มข้นเติม DPPH ที่ละลายด้วยเมทานอลปริมาณ 2.7 มิลลิลิตร เขย่าอย่างรุนแรง ทิ้งไว้ 60 นาทีในที่มืด วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร จำนวนค่าร้อยละของ RSA จากสูตร $[(A_{\text{DPPH}} - A_s)/A_{\text{DPPH}}] \times 100$ โดย A_s สามารถหาได้จากวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง และ A_{DPPH} สามารถหาได้จากการวัดค่าดูดกลืนแสงของ DPPH พร้อมทั้งหาค่า IC_{50} จากกราฟ

ร้อยละของ RSA เทียบกับความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่าง โดยมี BHA และ α -tocopherol เป็นสารมาตรฐาน และมีเมทานอลเป็น blank (Barros และคณะ,2007a;Barros และคณะ,2007b;Ferreira และคณะ,2007)

3.2.5 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

3.2.5.1 การเตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์

นำเชื้อทั้งที่ใช้ทดสอบมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารแข็ง Tryptic Soy Agar (TSA) และ Sabouraud's dextrose agar (SDA) สำหรับเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ตามลำดับ นำเชื้อทดสอบผสมกับสารละลาย NaCl เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่ปราศจากเชื้อ แล้วปรับให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 0.5 ซึ่งจะมีจำนวนเซลล์โดยประมาณเท่ากับ 1×10^8 CFU/ml ใช้ไม้ปั่นสำลีที่ปราศจากเชื้อ ชุบเชื้อแขวนลอยที่เตรียมไว้ทา (swap) ลงบนอาหารแข็งด้วยวิธีปลอดเชื้อ (Aseptic technique) ให้เชื้อทดสอบกระจายบนผิวอาหารอย่างสม่ำเสมอ เตรียมเมทานอล ไว้เป็น Negative(-) เตรียมยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ ไว้เป็น Positive(+) ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดจะใช้อย่างปฏิชีวนะที่แตกต่างกัน ดังนี้

1. *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ใช้ยาปฏิชีวนะ Doxycycline ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ใช้ยาปฏิชีวนะ Penicillin G (ที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และยาปฏิชีวนะ Gentamicin (ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในอัตราส่วน 1:1
3. *Micrococcus luteus* ATCC 9341 ใช้ยาปฏิชีวนะ Penicillin G ที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
4. *Escherichia coli* ATCC 25922 ใช้ยาปฏิชีวนะ Ceftazidime ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
5. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ใช้ยาปฏิชีวนะ Penicillin G ที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
6. *Candida albicans* ATCC 10231 ใช้ยาปฏิชีวนะ Ketokonazole ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.5.2 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี disc diffusion method

เตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบจากเห็ดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆที่เราต้องการ โดยเริ่มที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วหยดลงบนแผ่นทดสอบ (disc) รองนึ่งแห้งจากนั้นวางลงบนอาหารที่ได้ทำเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบไว้ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 สำหรับเชื้อยีสต์และ 37 องศาเซลเซียสสำหรับแบคทีเรีย เป็นเวลา 48 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ ตรวจสอบผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เชื้อไม่เจริญ (Inhibition zone) รวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นทดสอบด้วย ซึ่งผลที่ได้นี้จะแสดงความสามารถของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบแต่ละชนิด นำผลทดสอบของสารสกัดแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบเพื่อคัดเลือกสารสกัดที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งที่ดีที่สุดมาศึกษาต่อ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การหาปริมาณของสารประกอบฟีนอล

4.1.1 ผลการหาปริมาณของสาร phenolic compounds

ในการนำสารสกัดตัวอย่างของเห็ด 4 ชนิด คือ เห็ดลม เห็ดแครง เห็ดขอนขาว และเห็ดตับเต่า โดยมีสารมาตรฐานคือ gallic acid และใช้น้ำกลั่นเป็น blank โดยพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร จะเห็นว่าเห็ดตับเต่า มีปริมาณสาร phenolic compounds มากที่สุด คือ 0.75 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด เมื่อเทียบกับเห็ดชนิดอื่น ส่วนเห็ดขอนขาว เห็ดลม และเห็ดแครง มีปริมาณสาร phenolic compounds คือ 0.70 0.64 และ 0.54 ตามลำดับซึ่งแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณของสารประกอบ phenolic compounds ในเห็ดแต่ละชนิด

ชนิดของเห็ด	ปริมาณ phenolic compounds (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)
เห็ดลม	0.64
เห็ดแครง	0.54
เห็ดขอนขาว	0.70
เห็ดตับเต่า	0.75

4.1.2 ผลการหาปริมาณของสารฟลาโวนอยด์

จากการนำสารสกัดของตัวอย่างเห็ดแต่ละชนิดมาหาปริมาณของสารฟลาโวนอยด์โดยใช้สารมาตรฐานเป็น catechin ใช้น้ำกลั่นเป็น blank เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร จากผลการทดลองจะพบว่า เห็ดแครง มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงสุด คือ 4.15 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับเห็ดขอนขาว ซึ่งมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ คือ 3.94 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือเห็ดตับเต่าและเห็ดลมซึ่งมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ คือ 1.59 และ 1.48 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณของฟลาโวนอยด์ในเห็ดแต่ละชนิด

ชนิดของเห็ด	ปริมาณ flavonoid (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)
เห็ดลม	1.48
เห็ดแครง	4.15
เห็ดขอนขาว	3.94
เห็ดตับเต่า	1.59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการทดสอบหาฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระโดยใช้ DPPH

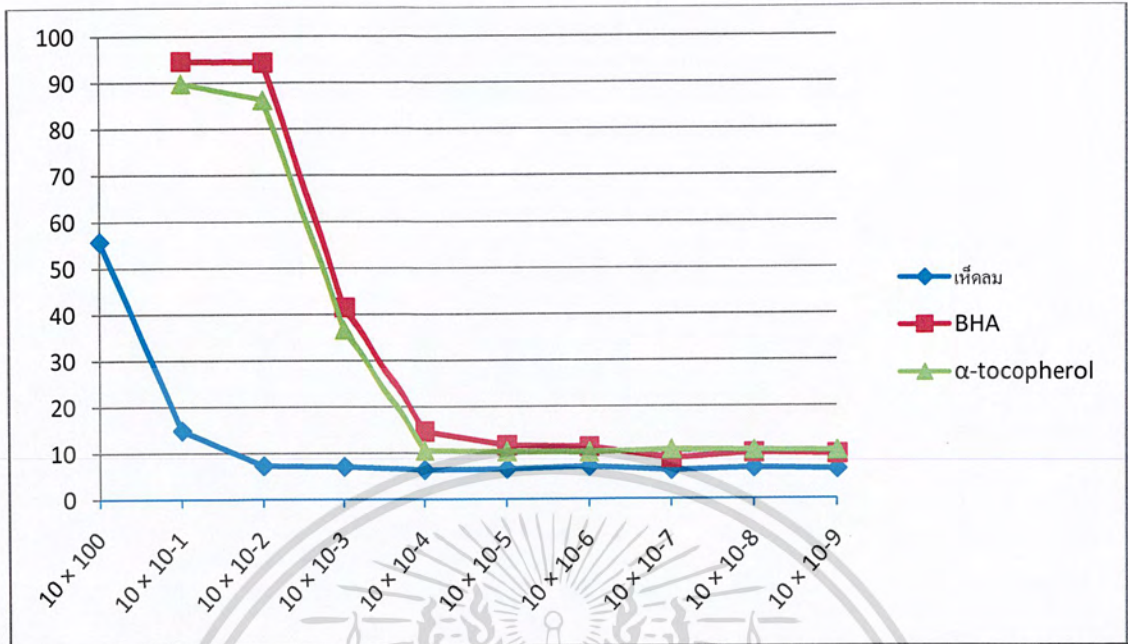
ในการนำสารสกัดเห็ดแต่ละชนิดมาทดลองโดยใช้ตัวทำละลายเมทานอลซึ่งเห็ดที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 4 ชนิด คือ เห็ดลม เห็ดแครง เห็ดขอนขาว และเห็ดคืบเต่า โดยนำสารสกัดแต่ละชนิดมาเจือจางความเข้มข้นด้วยเมทานอลให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ 10×10^{-1} และ 10×10^{-9} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ที่ละลายในเมทานอลเช่นเดียวกัน ในอัตราส่วนของสารตัวอย่างต่อสารละลาย DPPH เท่ากับ 0.3 : 2.7 จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยมีตัวควบคุมเชิงบวกเป็น BHA และ α -tocopherol และมีเมทานอลเป็นblank

4.2.1 ผลของสารสกัดเห็ดแต่ละชนิด

4.2.1.1 เห็ดลม

จากผลการทดลองสารสกัดของเห็ดลมที่ผ่านกรรมวิธีการทำแห้งแบบ dehydrator พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 10×10^{-1} แสดงค่าร้อยละของการดักจับสารอนุมูลอิสระเท่ากับ 14.88 และมีค่า IC_{50} ที่ระดับความเข้มข้น 10×10^0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงค่าร้อยละของการดักจับสารอนุมูลอิสระเท่ากับ 55.71 ในขณะที่ร้อยละของสารมาตรฐาน BHA จะมีค่า IC_{50} ที่ระดับความเข้มข้น $10 \times 10^{-3.2}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และร้อยละของสารมาตรฐาน α -tocopherol จะมีค่า IC_{50} ที่ระดับความเข้มข้น $10 \times 10^{-3.4}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนความเข้มข้นในระดับอื่นไม่สามารถหาค่า IC_{50} ได้เนื่องจากอัตราการยับยั้งสูงสุดในการทดลองให้ค่าร้อยละในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปแบบที่

4.1

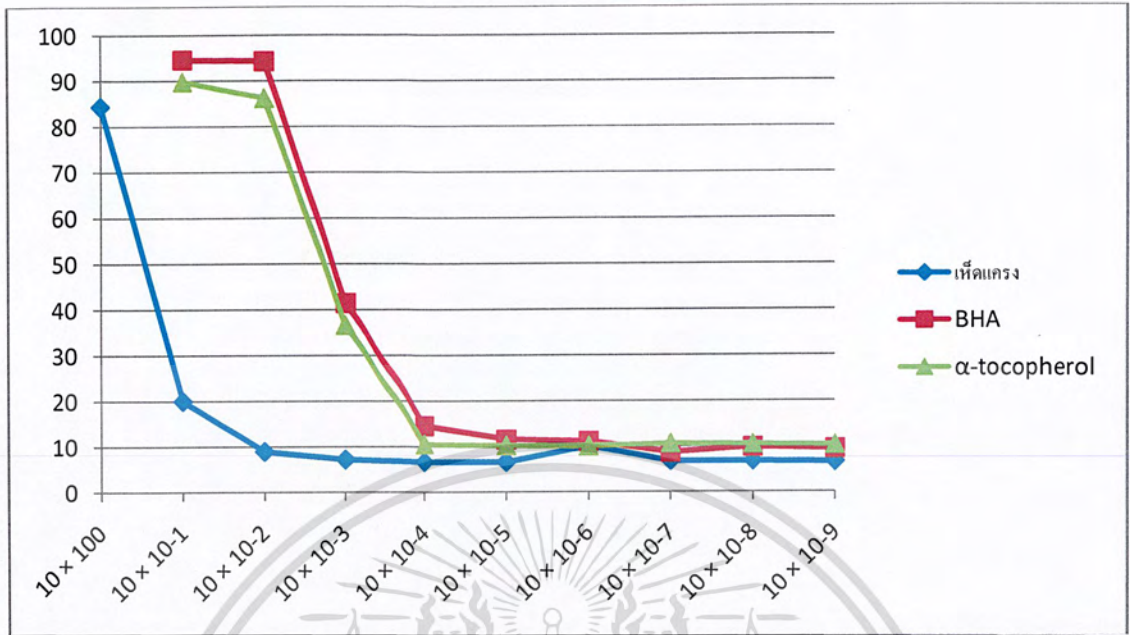


รูปที่ 4.1 แสดงร้อยละของการดักจับอนุโมลอิสระของเห็ดลม เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHA และ α -tocopherol

4.2.1.2 เห็ดแครง

จากผลการทดลองสารสกัดของเห็ดแครงที่ผ่านกรรมวิธีการทำแห้งแบบ dehydrator พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 10×10^{-1} แสดงค่าร้อยละของการดักจับสารอนุมูลอิสระเท่ากับ 12.57 และมีค่า IC_{50} ที่ระดับความเข้มข้น $10 \times 10^{-1.7}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงค่าร้อยละของการดักจับสารอนุมูลอิสระเท่ากับ 57.52 ในขณะที่ร้อยละของสารมาตรฐาน BHA จะมีค่า IC_{50} ที่ระดับความเข้มข้น $10 \times 10^{-3.2}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และร้อยละของสารมาตรฐาน α -tocopherol จะมีค่า IC_{50} ที่ระดับความเข้มข้น $10 \times 10^{-3.4}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนความเข้มข้นในระดับอื่นไม่สามารถหาค่า IC_{50} ได้เนื่องจากอัตราการยับยั้งสูงสุดในการทดลองให้ค่าร้อยละในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่

4.2

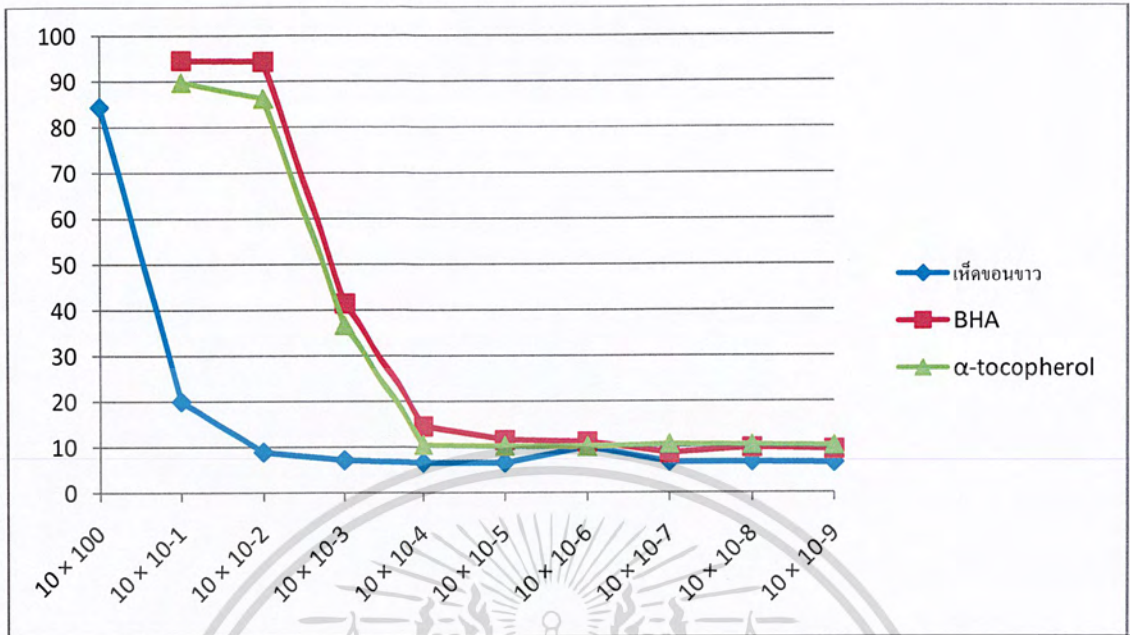


รูปที่ 4.2 แสดงร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของเห็ดเครง เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHA และ α -tocopherol

4.2.1.3 เห็ดขอนแก่น

จากผลการทดลองสารสกัดของเห็ดขอนแก่นที่ผ่านกรรมวิธีการทำแห้งแบบ dehydrator พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 10×10^{-1} แสดงค่าร้อยละของการดักจับสารอนุมูลอิสระเท่ากับ 20.22 และมีค่า IC_{50} ที่ระดับความเข้มข้น $10 \times 10^{-1.7}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงค่าร้อยละของการดักจับสารอนุมูลอิสระเท่ากับ 55.54 ในขณะที่ร้อยละของสารมาตรฐาน BHA จะมีค่า IC_{50} ที่ระดับความเข้มข้น $10 \times 10^{-3.2}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และร้อยละของสารมาตรฐาน α -tocopherol จะมีค่า IC_{50} ที่ระดับความเข้มข้น $10 \times 10^{-3.4}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนความเข้มข้นในระดับอื่นไม่สามารถหาค่า IC_{50} ได้เนื่องจากอัตราการยับยั้งสูงสุดในการทดลองให้ค่าร้อยละในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่

4.3

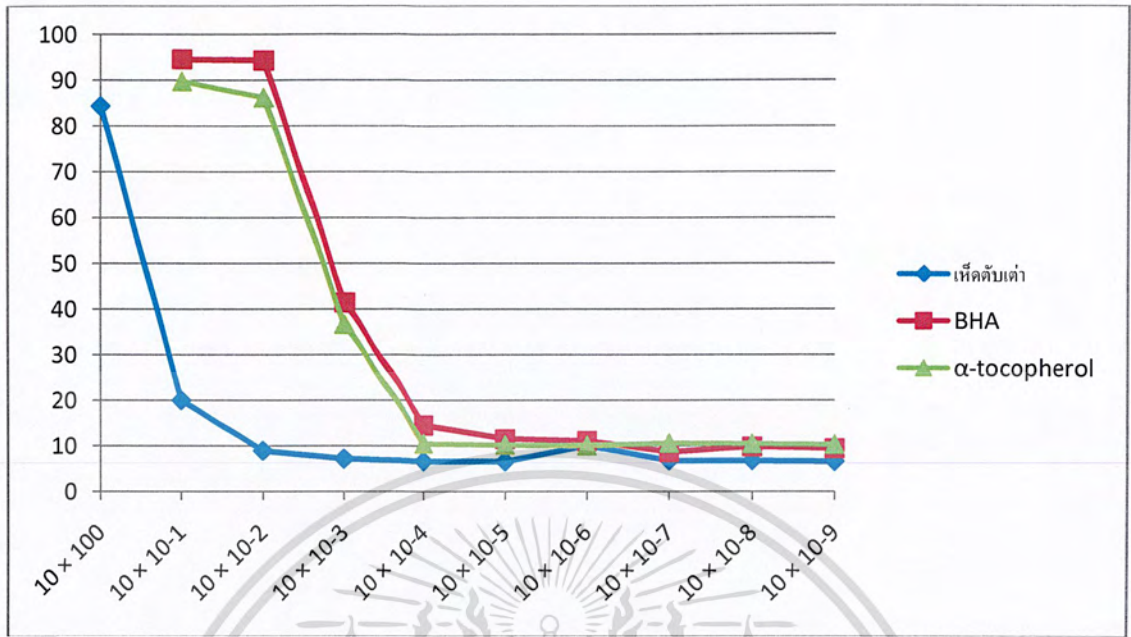


รูปที่ 4.3 แสดงร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของเห็ดขอนขาว เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHA และ α -tocopherol

4.2.1.4 เห็ดดับเต่า

จากผลการทดลองสารสกัดของเห็ดดับเต่าที่ผ่านกรรมวิธีการทำแห้งแบบ dehydrator พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 10×10^{-1} แสดงค่าร้อยละของการดักจับสารอนุมูลอิสระเท่ากับ 20.04 และมีค่า IC_{50} ที่ระดับความเข้มข้น $10 \times 10^{-1.7}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงค่าร้อยละของการดักจับสารอนุมูลอิสระเท่ากับ 55.00 ในขณะที่ร้อยละของสารมาตรฐาน BHA จะมีค่า IC_{50} ที่ระดับความเข้มข้น $10 \times 10^{-3.2}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และร้อยละของสารมาตรฐาน α -tocopherol จะมีค่า IC_{50} ที่ระดับความเข้มข้น $10 \times 10^{-3.4}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนความเข้มข้นในระดับอื่นไม่สามารถหาค่า IC_{50} ได้เนื่องจากอัตราการยับยั้งสูงสุดในการทดลองให้ค่าร้อยละในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่

4.4



รูปที่ 4.4 แสดงร้อยละของการดักจับอนุคลิอิสระของเห็ดคับเต่า เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHA และ α-tocopherol

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเห็ดทั้ง 4 ชนิด คือ เห็ดลม เห็ดแครง เห็ดขอนขาว และเห็ดคับเต่า ด้วยวิธี disc diffusion method โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบมีทั้งหมด 6 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 , *Micrococcus luteus* ATCC 9341 , *Escherichia coli* ATCC 25922 , *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida albicans* ATCC 10231 โดยการทดสอบนี้จะนำมาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) และตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) ซึ่งระดับที่ใช้ทดสอบได้แก่ 40 30 20 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อนำแผ่น disc ที่หยดสารสกัดหยาบจากเห็ดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่า สารสกัดหยาบจากเห็ดสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์การยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ชนิดของเชื้อที่ใช้ ทดสอบ	ฤทธิ์การยับยั้งของสารสกัดจากเห็ดแต่ละชนิด															
	เห็ดตับเต่า				เห็ดขอนขาว				เห็ดลม				เห็ดแครง			
	0.5	1	P	N	0.5	1	P	N	0.5	1	P	N	0.5	1	P	N
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
<i>M. luteus</i> ATCC 9344	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ

+ คือ มีฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อนั้นๆ

- คือ ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อนั้นๆ

P คือ Positive เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดใช้ Positive ที่ต่างชนิดกัน

N คือ Negative เป็นตัวควบคุมเชิงลบ ซึ่งเชื้อทุกชนิดใช้ Negative ที่เหมือนกัน คือ เมทานอล

จากตารางที่ 4.3 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งครั้งที่ 1 ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดจากเห็ดตัวอย่างทั้ง 4 ชนิด ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อทั้ง 6 ชนิดเลย ดังนั้นจึงทำการศึกษาต่อไปโดยเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดให้มีระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น คือ 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยผลของการศึกษาแสดงไว้ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์การยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ	ฤทธิ์การยับยั้งของสารสกัดจากเห็ดแต่ละชนิด															
	เห็ดตับเต่า				เห็ดขอนขาว				เห็ดลม				เห็ดแครง			
	50	100	P	N	50	100	P	N	50	100	P	N	50	100	P	N
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
<i>E.coli</i> ATCC 25922	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-
<i>M. luteus</i> ATCC 9344	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ

- + คือ มีฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อนั้นๆ
- คือ ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อนั้นๆ
- P คือ Positive เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดใช้ Positive ที่ต่างชนิดกัน
- N คือ Negative เป็นตัวควบคุมเชิงลบ ซึ่งเชื้อทุกชนิดใช้ Negative ที่เหมือนกัน คือ เมทานอล

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง ดังตารางที่ 4.4 ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดจากเห็ดตับเต่า สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 3 ชนิด ได้แก่ *E.coli* ATCC 25922 *S. aureus* ATCC 25923 และ *P. aeruginosa* ATCC 27853 สารสกัดจากเห็ดลม สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 2 ชนิด ได้แก่ *B. subtilis* ATCC 6633 และ *S. aureus* ATCC 25923 สารสกัดจากเห็ดแครง สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 2 ชนิด ได้แก่ *E.coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 และสารสกัดจากเห็ดขอนขาว สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้เพียงชนิดเดียว คือ *S. aureus* ATCC 25923 ผลที่กล่าวมาข้างต้นนี้ จะนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งที่ระดับความเข้มข้นต่อไป

โดยมีเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด ที่สารสกัดจากเห็ดตัวอย่างทั้ง 4 ชนิด ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งเลย ซึ่งจะไม่มีการนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งต่อไป ได้แก่ *M. luteus* ATCC 9344 และ *C. albicans* ATCC 10231

ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์การยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ	บริเวณการยับยั้งของสารสกัดจากเห็ดแต่ละชนิด (มิลลิเมตร)															
	เห็ดตับเต่า				เห็ดขอนขาว				เห็ดลม				เห็ดแครง			
	30	40	P	N	30	40	P	N	30	40	P	N	30	40	P	N
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	ไม่มีการทดสอบ				ไม่มีการทดสอบ				-	-	15.33	-	ไม่มีการทดสอบ			
<i>E.coli</i> ATCC 25922	7.67 ^{sta}	8 ^{sta}	9.67	-	ไม่มีการทดสอบ				ไม่มีการทดสอบ				8 ^{sta}	8.67 ^{sta}	9.5	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	7.75 ^{sta}	8.25 ^{sta}	26.33	-	7.75 ^{sta}	8.5 ^{sta}	37.67	-	8 ^{sta}	9.17 ^{sta}	26.67	-	9 ^{sta}	9.75 ^{sta}	26.33	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	ไม่มีการทดสอบ				ไม่มีการทดสอบ				ไม่มีการทดสอบ			

หมายเหตุ

- คือ ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อนั้นๆ
 - x คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbicidal โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
 - x^{sta} คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbistatic โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
 - P คือ Positive เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดใช้ Positive ที่ต่างชนิดกัน
 - N คือ Negative เป็นตัวควบคุมเชิงลบ ซึ่งเชื้อทุกชนิดใช้ Negative ที่เหมือนกัน คือ เมทานอล
- จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง ดังตารางที่ 4.5 ที่ระดับความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดจากเห็ดตัวอย่างทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* ATCC 25923 โดยสารสกัดจากเห็ดตับเต่า และเห็ดแครง มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ATCC 25922 สารสกัดจากเห็ดลมไม่มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* ATCC 6633 และสารสกัดจากเห็ดตับเต่า ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* ATCC 27853 จากนั้นนำผลที่มีฤทธิ์การยับยั้ง ไปทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์การยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ	บริเวณการยับยั้งของสารสกัดจากเห็ดแต่ละชนิด (มิลลิเมตร)															
	เห็ดตับเต่า				เห็ดขอนขาว				เห็ดลม				เห็ดแครง			
	10	20	P	N	10	20	P	N	10	20	P	N	10	20	P	N
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	8.5 ^{sta}	9.83	-	ไม่มีการทดสอบ				ไม่มีการทดสอบ				7.33 ^{sta}	8.67 ^{sta}	10.5	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	7.17 ^{sta}	7.83 ^{sta}	30.33	-	8 ^{sta}	8.25 ^{sta}	33.67	-	8.17 ^{sta}	9.83 ^{sta}	33.67	-	9.67 ^{sta}	10.17 ^{sta}	32.67	-

หมายเหตุ

- คือ ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อนั้นๆ
- x คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbicidal โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
- x^{sta} คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbistatic โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
- P คือ Positive เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดใช้ Positive ที่ต่างชนิดกัน
- N คือ Negative เป็นตัวควบคุมเชิงลบ ซึ่งเชื้อทุกชนิดใช้ Negative ที่เหมือนกัน คือ เมทานอล

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง ดังตารางที่ 4.6 ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดจากเห็ดตัวอย่างทั้ง 4 มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* ATCC 25923 โดยที่สารสกัดจากเห็ดตับเต่า ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ATCC 25922 เลข และที่ระดับความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ATCC 25922 ส่วนสารสกัดจากเห็ดแครง ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ATCC 25922 พบว่าสารสกัดจากเห็ดตัวอย่างทั้ง 4 ชนิด มีบริเวณการยับยั้งเป็นเส้นผ่านศูนย์กลางที่น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะที่ใช้เป็น Positive โดยสารสกัดมีฤทธิ์การยับยั้งแบบ Microbistatic ส่วนยาปฏิชีวนะ (Penicillin G) ที่นำมาทดสอบ มีฤทธิ์การยับยั้งแบบ Microbicidal ดังงานวิจัยโดย (ประพจน์ นนทรีย์ รัชพล ศรประเสริฐ และอนงค์ หัมพานนท์) ผลของสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) ต่อการเจริญของ *Escherichia coli* พบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย เอทานอล 95 % ยับยั้ง *E. coli* โดยมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เส้นผ่าศูนย์กลางวงใส 16.08 มิลลิเมตร และเมื่อสกัดด้วยเอซีโทนจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางวงใส 16.75 มิลลิเมตร การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบ พบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอธานอล 95 % และเอซีโทน ยับยั้ง *E. coli* มีค่าความเข้มข้นต่ำสุด 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดสอบหาสารประกอบฟีนอลซึ่งประกอบไปด้วย phenolic และ flavonoid ในสารสกัดเห็ดแต่ละชนิดคือ เห็ดลม เห็ดแครง เห็ดขอนขาว และเห็ดตับเต่า โดยพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร จะเห็นว่าในเห็ดตับเต่าจะให้ปริมาณสารฟีนอลิกมากที่สุด คือ 0.75 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด เมื่อเทียบกับเห็ดชนิดอื่น ส่วนปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร จะเห็นว่าในเห็ดแครงมีปริมาณสารมากที่สุด คือ 4.15 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

จากผลการทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระในเห็ดทั้ง 4 ชนิดโดยวิธีการดักจับอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging method) โดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยสารสกัดเห็ดทั้ง 4 ชนิด แสดงฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระในค่า IC_{50} พบว่า สารสกัดเห็ดแครงมีการแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $10 \times 10^{-1.7}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยตัวควบคุมเชิงบวกคือ BHA และ α -tocopherol มีค่า IC_{50} เท่ากับ $10 \times 10^{-3.2}$ และ $10 \times 10^{-3.4}$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไม่มีสารสกัดชนิดใดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารมาตรฐาน

จากการทดสอบสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระนี้ควรจะมีการศึกษาเพิ่มเติม โดยการทดสอบสารสกัดที่มีฤทธิ์ที่น่าสนใจ โดยนำสารสกัดเหล่านี้มาแยกหาสาระสำคัญโดยวิธีโครมาโตกราฟี เพื่อตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ในสารสกัดต่อไป ในการใช้วิธีดักจับอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging method) มีข้อด้อยคือ อนุมูล DPPH มีความคงตัวสูง ไม่ไวต่อปฏิกิริยา ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงได้ นอกจากนี้โครงสร้างทางเคมีของ DPPH ที่แสดงให้เห็นว่าอิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3 วงและหมู่ไนโตร ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์แรงแต่มีขนาดใหญ่บางสารไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาขจัดสารต้านอนุมูลอิสระได้ หรือช้ากว่าความเป็นจริง ทั้งๆที่สารมีฤทธิ์ดีในการขจัดอนุมูลเปอร์ออกไซด์ นอกจากนี้สารรีดิวซ์สามารถทำให้สี DPPH จางลงได้อีกด้วย

จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเห็ดทั้ง 4 ชนิด คือเห็ดลม เห็ดแครง เห็ดขอนขาว และเห็ดตับเต่า ด้วยวิธี disc diffusion method โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบมีทั้งหมด 6 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC 27853 , *Micrococcus luteus* ATCC 9341 , *Escherichia coli* ATCC 25922 , *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida albicans* ATCC 10231 โดยการทดสอบนี้จะนำมาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) และตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบได้แก่ 100 50 40 30 20 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดจากเห็ดคัตตา สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 3 ชนิด คือ สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดคือ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ATCC 25922 ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดคือ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดคือ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากเห็ดลมสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 2 ชนิด คือ สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดคือ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* ATCC 6633 ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดคือ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากเห็ดแครงสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 2 ชนิด คือ สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดคือ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ATCC 25922 ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดคือ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากเห็ดขอนขาวสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้เพียงชนิดเดียว คือ สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ที่ระดับความเข้มข้น ที่ต่ำที่สุด คือ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดจากเห็ดตัวอย่างทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดคือ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากเห็ดตัวอย่างทั้ง 4 ชนิด ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อยู่ 2 ชนิด คือ *M. luteus* ATCC 9344 และ *C. albicans* ATCC 10231 พบว่า สารสกัดจากเห็ดตัวอย่างทั้ง 4 ชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งที่น้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ ที่นำมาใช้ทดสอบกับเชื้อแต่ละชนิด ซึ่งสารสกัดจากเห็ดตัวอย่างทั้ง 4 ชนิดนั้นมีฤทธิ์การยับยั้งแบบ Microbistatic ส่วนยาปฏิชีวนะที่นำมาใช้ทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดนั้นมีฤทธิ์การยับยั้งแบบ Microbisidal

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- Aaby, K., Hvattum, E., and Skrede, G. 2004. Analysis of flavonoids and other phenolic compounds using high-performance liquid chromatography with coulometric array detection: Relationship to antioxidant activity. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*. 52, 4595-4603.
- Ames, B. M., Shigenaga, M. K., and Hagen, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy Science*. 90, 7915-7922.
- Barros, L, M.J, Ferreora, B, Queriros, I, C.F.R.Ferreira and P, Baptista. 2007a. Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food chemistry*. 103, 314-419
- Barros, L, P, Baptista and I, C.F.R.Ferreira 2007b. Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body Maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. *Food and chemical Toxicology*. 45, 1731-1737
- Barros, L., S, Falcao, P, Baptista, C., Freire, M., Vilas-Boas and I., C.F.R.Ferreira. 2008. Antioxidant activity of *Agaricus* sp. Mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food chemistry*. 111, 61-66.
- Bhaskar, N., Suresh, P.V, Sakhare, P.Z, and Sachindra, N.M. 2007. Shrimp biowaste fermentation with *Pediococcus acidolactici* CFR2182: optimization of fermentation conditions by response surface methodology and effect of optimization conditions on deprotenization / demineralization and carotenoid recovery. *Enzyme Microbial Technology*. 40, 1427-1434.
- Bunca, A, Andjelkovic, M, Socaciu, C., Bobis, O., Neacsu, M, and Verhe, R . 2008. Total and individual carotenoids and phenolic acids content in fresh, refrigerated and processed spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Food Chemistry*. 108, 649-656.
- Chevon. S ., Roberts, M. A, and Chevon, M. 2000. The use of cyclic voltammetry for the evaluation of antioxidant capacity. *Free Radical Biology and Medicine*. 28, 860-870.

- Choi, Y., S.M, Lee, J, Chun , H.B, Lee and J, Lee.2006. Influence of heat treatment on the Antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. Food Chemistry. 99, 381-387
- Djeridane, A., Yousfi, M, Nadjemi, B, Boutassouna, D, Stocker, P, and Vidal, N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry. 97, 654-660.
- Elmastasa, M, Isildaka, O, Turkekulb, I, and Temura, N. 2007. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. Journal of Food Composition and Analysis. 20, 337-345.
- Ferreira, I. C. F. R, Baptista, P, Vilas-Boas, M, and Barroa, L.2007. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal. Food Chemistry. 100, 1511-1516.
- Halliwell, B, and Gutteridge, J.M.C 2003. Free radicals in biology and medicine. Oxford, UK: Oxford University Press. London.
- Kähkönen, M. P, Hopia, A. I, Vuorela, H. J, Rauha, J.-P, Pihlaja, K, and Kujala, T.S.1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of the Agricultural and Food Chemistry. 47,3954-3962.
- Kim, S, and Mendis. E.2006. Bioactive compounds from marine processing byproducts A review. Food Research International. 39, 383-393.
- Kitzberger, C.E.G, R, C. Pedrosa, S.R.S, Ferreira. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. Journal of Food Engineering. 80, 631-638.
- Kusznierewicz, B, Smiechowska, A, Bartoszek, A, and Namiesnik, J.2008. The effect of heating and fermenting on antioxidant properties of white cabbage. Food chemistry. 108, 853-861.
- Podsedek, A 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. Lebensmittel-Wissenschaft and Technologies. 40, 1-11.
- Sachindra, N.M, and Mahendrakar, N.S.2005a. Extractability of carotenoids from shrimp waste in vegetable oils and process optimization. Bioresource Technology. 96,1195-1200.

- Sachindra, N.M, Bhaskar, N., and Mahendrakar, N.S.2005b. Carotenoids In different body components of Indian shrimps. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*. 85, 167-172.
- Sachindra, N.M, Hosokawa, M, and Miyashita, K. 2007. Biofunctions of marine carotenoids. In: Hou. C.T, Shaw, J. (Eds.), *Biocatalysis and biotechnology for functional foods and industrial products*. CRC Press, NY, pp.91-110.
- Sachindra, N.M. and N, Bhasker. 2008. In vitro antioxidant activity of liquor from fermented shrimp biowaste. *Bioresource Technology*. 99, 9013-9016.
- Shahidi, F, and Brown, J.A. 1998. Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture. *CRC Crit. Rev. Food Science*. 38, 1-67.
- Sikora, E, Cieslik, E, Leszczynska, T, Filipiak-Fiorkiewicz, A, and Pisulewski, P. M. 2008. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. *Food Chemistry*. 107, 55-59.
- Sun, Y.P, C.C, Chou and R.C, Yu. 2009. Antioxidant activity of lactic – fermented Chinese cabbage. *Food chemistry*. 115, 912-917.
- Valentao, P, Andrade, P. B, Rangel, J, Ribeiro, B, Silva, B, M., and Baptista, P. 2005a. Effect of the conservation procedure in the contents of phenolic compounds and organic acids in Chanterelle (*Cantharellus cibarius*) mushroom. *Journal of Agricultural and food Chemistry*. 53,4925-4931.
- Valentao, P, Lopes, G, Valente, M., Barbosa, P, Andrade, P. B, and Silva, B. M. 2005b. Quantification of nine organic acids in wild mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53,3626-3630.
- Wachtal-Galor, S, Wong. K. W, and Benzie, I.F.F. 2008. The effect of cooking on Brassica vegetables. *Food Chemistry*. 110, 706-710.
- Wojdylo, A, J, Oszminkowski and R, Czemerys.2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. 105, 940-949.
- โสภา วัชรอุปต์และคณะ. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : พี.เอส.พรินท์.
- [Online]. Available: <http://bbec09.212cafe.com/archive/209-09-03/inonotus-obliquus-xylitol-birch-xylitol-40-betulin-acid-hymenochaetaceae-3040-20-the-shen->

[Online].Available: http://www.doae.go.th/library/html/detail/vegetable/hedrom_index.html

[Online].Available:http://sswt.sci.ubu.ac.th/CD%20PHUJONG/MUSH_ROOM/EDIBEL_MUSHROOM.doc

[Online].Available: [http://www.mykoweb.com/CAF/photo/Pleurotus_ostreatus\(bk-02\).jpg](http://www.mykoweb.com/CAF/photo/Pleurotus_ostreatus(bk-02).jpg)

[Online].Available: http://klarod.blogspot.com/2007/11/blog-post_6774.html

[Online].Available: http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e_book/plant/herb_gar/mushroom4.pdf

[Online].Available: <http://www.phtnet.org/download/FullPaper/pdf/5thSeminaKMUTT/14.pdf>

[Online].Available:<http://www.technoinhome.com/vspcite/front/board/show.php?tbl=tblwb03&gid=20&id=331&PHPSESSID=9dfdbe4c11bbf534df25278656285934>

[Online].Available: http://www.coopthai.com/kbsamp/download/7_2.pdf

[Online].Available: <http://www.rakbankerd.com/agriculture/page.php?id=2044&s=tblplant&g=>

[Online].Available: <http://www.rakbankerd.com/agriculture/open.php?id=1327&s=tblplant>

[Online].Available: <http://www.agric-prod.mju.ac.th/web-veg/mushroom/chapter9a5.pdf>

[Online].Available: <http://mushroomwp.tripod.com/Untitled-2.htm>

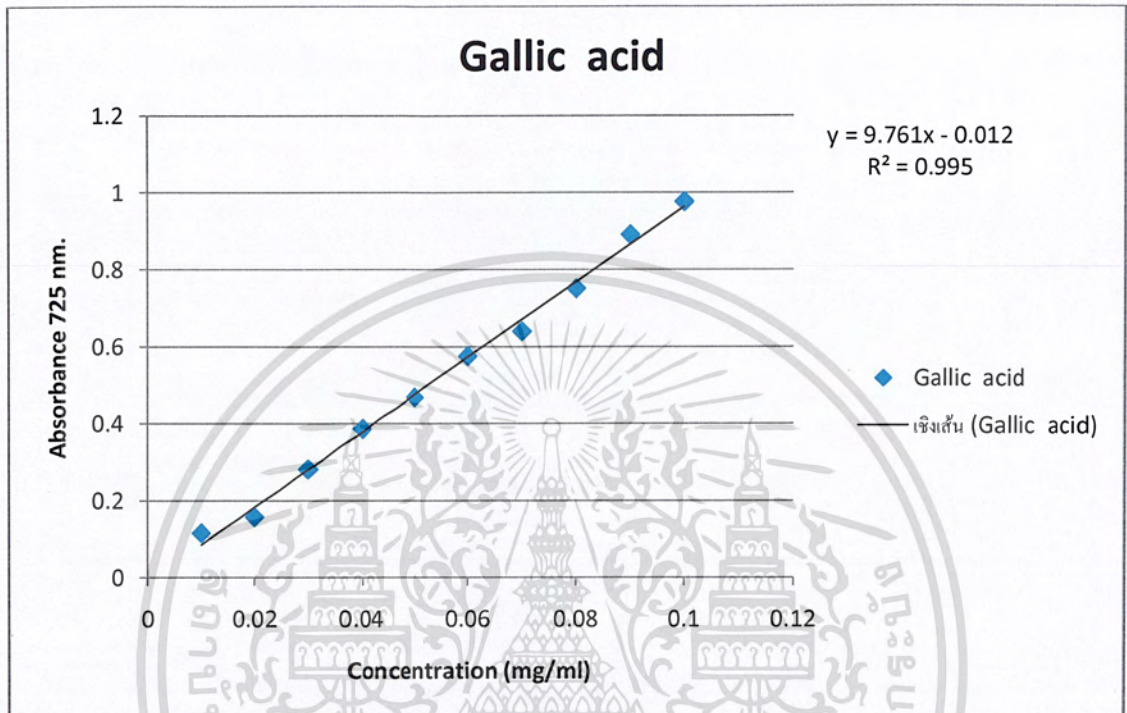
[Online].Available: <http://www.bloggang.com/viewblog.php?id=rb515&group=47>

[Online].Available:<http://www.technoinhome.com/vspcite/front/board/show.php?tbl=tblwb03&gid=20&id=326&PHPSESSID=d8196eeade00fbc963439f1df48a35ec>

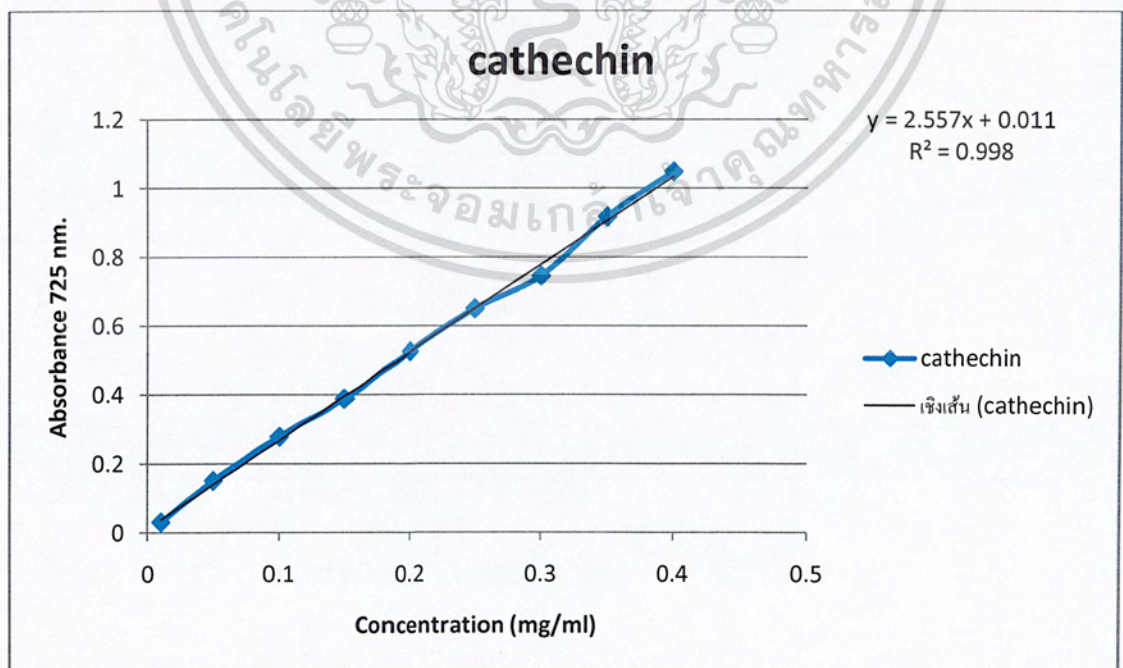
[Online].Available: <http://www.bloggang.com/mainblog.php?id=pimmy&month=23-02-2010&group=23&gblog=1>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก



รูปที่ ก1 แสดงกราฟมาตรฐาน Gallic acid ใช้เทียบกับปริมาณสารฟีนอลิก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก2 แสดงกราฟมาตรฐานของ Catechin เทียบกับปริมาณของสารฟลาโวนอยด์

ภาคผนวก ข

1. ผลการหาสารประกอบฟีนอลของสารสกัดเห็ด

ตารางที่ 5.1 แสดงค่าดูดกลืนแสงของเห็ดแต่ละชนิด ในการหาปริมาณ phenolic compound

ชนิดของเห็ด	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
เห็ดลม	0.605	0.558	0.679	0.614
เห็ดแครง	0.564	0.409	0.561	0.511
เห็ดขอนขาว	0.680	0.676	0.664	0.673
เห็ดตับเต่า	0.722	0.719	0.709	0.716

ตารางที่ 5.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของเห็ดแต่ละชนิด ในการหาปริมาณ flavonoid

ชนิดของเห็ด	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
เห็ดลม	0.141	0.152	0.147	0.146
เห็ดแครง	0.331	0.351	0.343	0.342
เห็ดขอนขาว	0.349	0.365	0.331	0.348
เห็ดตับเต่า	0.167	0.148	0.126	0.147

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ของการต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดแต่ละชนิด

ตารางที่ 5.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของเห็ดลมโดยมีเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ชนิดของเห็ด / ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				Percentage of DPPH reductio
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
DPPH	0.607	0.592	0.508	0.569	
10×10^0	0.250	0.253	0.253	0.252	55.71
10×10^{-1}	0.503	0.481	0.469	0.484	14.88
10×10^{-2}	0.544	0.530	0.509	0.528	7.21
10×10^{-3}	0.545	0.592	0.513	0.529	7.03
10×10^{-4}	0.550	0.532	0.517	0.533	6.33
10×10^{-5}	0.549	0.529	0.517	0.532	6.50
10×10^{-6}	0.548	0.522	0.516	0.529	7.03
10×10^{-7}	0.550	0.532	0.520	0.534	6.15
10×10^{-8}	0.545	0.530	0.517	0.531	6.68
10×10^{-9}	0.547	0.531	0.521	0.533	6.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของเห็ดแครงโดยมีเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ชนิดของเห็ด / ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				Percentage of DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
DPPH	0.523	0.527	0.525	0.525	
10×10^0	0.037	0.038	0.037	0.037	92.95
10×10^{-1}	0.456	0.452	0.470	0.459	12.57
10×10^{-2}	0.460	0.465	0.463	0.463	11.87
10×10^{-3}	0.473	0.478	0.471	0.474	9.71
10×10^{-4}	0.473	0.474	0.474	0.454	13.59
10×10^{-5}	0.471	0.475	0.473	0.473	9.90
10×10^{-6}	0.473	0.474	0.478	0.475	9.52
10×10^{-7}	0.477	0.478	0.476	0.477	9.14
10×10^{-8}	0.473	0.477	0.471	0.474	9.78
10×10^{-9}	0.476	0.472	0.481	0.476	9.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของเห็ดขอนขาวโดยมีเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ชนิดของเห็ด / ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				Percentage of DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
DPPH	0.607	0.592	0.508	0.569	
10×10^0	0.079	0.109	0.103	0.097	82.95
10×10^{-1}	0.464	0.455	0.444	0.454	20.22
10×10^{-2}	0.534	0.513	0.501	0.516	9.31
10×10^{-3}	0.541	0.530	0.511	0.527	7.38
10×10^{-4}	0.546	0.535	0.520	0.533	6.33
10×10^{-5}	0.544	0.532	0.519	0.532	6.52
10×10^{-6}	0.542	0.530	0.522	0.531	6.68
10×10^{-7}	0.545	0.515	0.516	0.525	7.73
10×10^{-8}	0.544	0.527	0.519	0.530	6.85
10×10^{-9}	0.548	0.534	0.520	0.534	6.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของเห็ดคัตบเต่าโดยมีเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ชนิดของเห็ด / ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				Percentage of DPPH reduction
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
DPPH	0.607	0.592	0.508	0.569	
10×10^0	0.066	0.108	0.094	0.089	84.36
10×10^{-1}	0.461	0.457	0.446	0.455	20.04
10×10^{-2}	0.530	0.520	0.504	0.518	8.96
10×10^{-3}	0.542	0.530	0.513	0.528	7.21
10×10^{-4}	0.540	0.535	0.518	0.531	6.68
10×10^{-5}	0.541	0.534	0.518	0.531	6.68
10×10^{-6}	0.541	0.535	0.519	0.532	10.19
10×10^{-7}	0.537	0.537	0.517	0.530	6.85
10×10^{-8}	0.538	0.534	0.517	0.530	6.85
10×10^{-9}	0.543	0.543	0.515	0.531	6.68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 5.7 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้น 30 mg/ml และ 40 mg/ml (ซ้ำครั้งที่ 1)

ชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ	ฤทธิ์การยับยั้งของเห็ดแต่ละชนิด (mg/ml)															
	เห็ดดับเต่า				เห็ดขอนขาว				เห็ดลม				เห็ดแครง			
	30	40	P	N	30	40	P	N	30	40	P	N	30	40	P	N
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0				0				-				0			
<i>E. coli</i> ATCC 25922	8 ^{sta}	8 ^{sta}	9	-	0				0				8 ^{sta}	9 ^{sta}	10	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	27	-	-	-	53	-	8 ^{sta}	9 ^{sta}	26	-	8 ^{sta}	8.5 ^{sta}	26	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	0				0				0			

หมายเหตุ

- 0 คือ ไม่มีการทดสอบ
- คือ ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อนั้นๆ
- x คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbicidal โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
- x^{sta} คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbistatic โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
- P คือ Positive ให้ผลเป็นบวก ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดใช้ Positive ที่ต่างชนิดกัน
- N คือ Negative ให้ผลเป็นลบ ซึ่งเชื้อทุกชนิดใช้ Negative ที่เหมือนกัน คือ เมทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.8 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้น 30 mg/ml และ 40 mg/ml (ซ้ำครั้งที่ 2)

ชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ	ฤทธิ์การยับยั้งของเห็ดแต่ละชนิด (mg/ml)															
	เห็ดตับเต่า				เห็ดขอนขาว				เห็ดลม				เห็ดแครง			
	30	40	P	N	30	40	P	N	30	40	P	N	30	40	P	N
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0				0				-				0			
<i>E.coli</i> ATCC 25922	7 ^{sta}	8 ^{sta}	10	-	0				0				8 ^{sta}	7 ^{sta}	8.5	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	7.5 ^{sta}	7.5 ^{sta}	27	-	7.5 ^{sta}	9 ^{sta}	30	-	8 ^{sta}	8.5 ^{sta}	26	-	-	-	26	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	0				0				0			

หมายเหตุ

- 0 คือ ไม่มีการทดสอบ
- คือ ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อนั้นๆ
- x คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbicidal โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
- x^{sta} คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbistatic โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
- P คือ Positive ให้ผลเป็นบวก ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดใช้ Positive ที่ต่างชนิดกัน
- N คือ Negative ให้ผลเป็นลบ ซึ่งเชื้อทุกชนิดใช้ Negative ที่เหมือนกัน คือ เมทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.9 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้น 30 mg/ml และ 40 mg/ml (ซ้ำครั้งที่ 3)

ชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ	ฤทธิ์การยับยั้งของเห็ดแต่ละชนิด (mg/ml)																			
	เห็ดตับเต่า				เห็ดขอนขาว				เห็ดลม				เห็ดแครง							
	30	40	P	N	30	40	P	N	30	40	P	N	30	40	P	N				
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0				0				-				-				0			
<i>E. coli</i> ATCC 25922	8 ^{sta}	8 ^{sta}	10	-	0				0				8 ^{sta}	10 ^{sta}	10	-				
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	8 ^{sta}	9 ^{sta}	25	-	8 ^{sta}	8 ^{sta}	30	-	8 ^{sta}	10 ^{sta}	28	-	10 ^{sta}	11 ^{sta}	27	-				
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	0				0				0							

หมายเหตุ

0 คือ ไม่มีการทดสอบ

- คือ ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อนั้นๆ

x คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbicidal โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

x^{sta} คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbistatic โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

P คือ Positive ให้ผลเป็นบวก ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดใช้ Positive ที่ต่างชนิดกัน

N คือ Negative ให้ผลเป็นลบ ซึ่งเชื้อทุกชนิดใช้ Negative ที่เหมือนกัน คือ เมทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.10 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้น 10 mg/ml และ 20 mg/ml (ซ้ำครั้งที่ 1)

ชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ	ฤทธิ์การยับยั้งของเห็ดแต่ละชนิด (mg/ml)															
	เห็ดตับเต่า				เห็ดขอนขาว				เห็ดลม				เห็ดแครง			
	10	20	P	N	10	20	P	N	10	20	P	N	10	20	P	N
<i>E.coli</i> ATCC 25922	-	9 ^{sta}	10	-	0				0				7 ^{sta}	8.5 ^{sta}	10.5	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	7 ^{sta}	8 ^{sta}	30	-	8 ^{sta}	7.5 ^{sta}	31	-	9 ^{sta}	10 ^{sta}	30	-	8 ^{sta}	9.5 ^{sta}	30	-

หมายเหตุ

0 คือ ไม่มีการทดสอบ

- คือ ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อนั้นๆ

x คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbicidal โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

x^{sta} คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbistatic โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

P คือ Positive ให้ผลเป็นบวก ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดใช้ Positive ที่ต่างชนิดกัน

N คือ Negative ให้ผลเป็นลบ ซึ่งเชื้อทุกชนิดใช้ Negative ที่เหมือนกัน คือ เมทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.11 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้น 10 mg/ml และ 20 mg/ml (ซ้ำครั้งที่ 2)

ชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ	ฤทธิ์การยับยั้งของเห็ดแต่ละชนิด (mg/ml)															
	เห็ดตับเต่า				เห็ดขอนขาว				เห็ดลม				เห็ดแครง			
	10	20	P	N	10	20	P	N	10	20	P	N	10	20	P	N
<i>E.coli</i> ATCC 25922	-	8.5 ^{sta}	10	-	0				0				7 ^{sta}	7.5 ^{sta}	10	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	7 ^{sta}	8.5 ^{sta}	30	-	8 ^{sta}	9 ^{sta}	35	-	9 ^{sta}	10 ^{sta}	37	-	10 ^{sta}	12 ^{sta}	35	-

หมายเหตุ

- 0 คือ ไม่มีการทดสอบ
 - คือ ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อนั้นๆ
 x คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbicidal โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
 x^{sta} คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbistatic โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
 P คือ Positive ให้ผลเป็นบวก ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดใช้ Positive ที่ต่างชนิดกัน
 N คือ Negative ให้ผลเป็นลบ ซึ่งเชื้อทุกชนิดใช้ Negative ที่เหมือนกัน คือ เมทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.12 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดเห็ดที่มีความเข้มข้น 10 mg/ml และ 20 mg/ml (ซ้ำครั้งที่ 3)

ชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ	ฤทธิ์การยับยั้งของเห็ดแต่ละชนิด (mg/ml)															
	เห็ดดับเต่า				เห็ดขอนแก่น				เห็ดกลม				เห็ดแครง			
	10	20	P	N	10	20	P	N	10	20	P	N	10	20	P	N
<i>E.coli</i> ATCC 25922	-	8 ^{sta}	9.5	-	0				0				8 ^{sta}	10 ^{sta}	11	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	7.5 ^{sta}	7 ^{sta}	31	-	8 ^{sta}	-	35	-	6.5 ^{sta}	9.5 ^{sta}	34	-	11 ^{sta}	9 ^{sta}	33	-

หมายเหตุ

- 0 คือ ไม่มีการทดสอบ
 - คือ ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งต่อเชื้อนั้นๆ
 x คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbicidal โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
 x^{sta} คือ มีบริเวณการยับยั้งเป็นแบบ Microbistatic โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร
 P คือ Positive ให้ผลเป็นบวก ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดใช้ Positive ที่ต่างชนิดกัน
 N คือ Negative ให้ผลเป็นลบ ซึ่งเชื้อทุกชนิดใช้ Negative ที่เหมือนกัน คือ เมทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

1.เห็ดที่ใช้ในการทดลอง

1.1 เห็ดลม

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Lentinus polychrous* Lev

ชื่อทั่วไป เห็ดบด เห็ดลม เห็ดกระด้าง

ลักษณะทั่วไป

หมวกเห็ดเป็นรูปกรวยลึกลำยพัด สีขาวนวลหรือสีน้ำตาลอ่อนปนเทา เส้นผ่าศูนย์กลาง 5-8 ซม. ขอบงอลงเล็กน้อย ผิวมีขนสั้นๆสีน้ำตาลรวมกันคล้ายเกล็ดเล็กๆปลายงอนขึ้นเล็กน้อย เกล็ดเรียงกันกระจายอยู่บริเวณขอบหมวก ได้ดอกมีครีบเป็นร่องสีน้ำตาล ดอกอ่อนมีขอบบางและม้วนงอลงเมื่อแห้งเนื้อจะแข็งและเหนียว และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงหรือสีน้ำตาลเข้ม

แหล่งที่พบ

เห็ดลมพบได้ตามธรรมชาติ บริเวณป่าตามภาคเหนือและภาคอีสาน ชอบขึ้นตามตอไม้ผุๆหรือขอนไม้เก่าๆ



รูปที่ ง1 เห็ดลม

ที่มา : <http://www.bedo.or.th/lcdb/biodiversity/view3.aspx?id=10617>

1.2 เห็ดขอนขาว

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Lentinus squarrosulus*

ชื่อทั่วไป เห็ดขอนขาว

ลักษณะทั่วไป

หมวกเห็ด รูปกรวยตื้น สีขาว ขอบงอลงเล็กน้อยเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร เมื่อเป็นเห็ดอ่อน ผิวมีเกล็ดสีเหลืองเล็กๆ สีน้ำตาลหม่น หรือสีเทา เรียงกระจายจากกลางหมวกออกไปยังขอบ เนื้อบางและเหนียวเล็กน้อย ครีบสีขาวแคบเรียงชิดกันยาวขนานกับกรวยลงไปยึดติดกับก้าน ก้านรูปทรงกระบอก สีขาวยาว 2-6 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร โคนก้านเรียบบนก้านมีเกล็ดเช่นเดียวกับหมวก เนื้อสีขาวแน่นและเหนียว

แหล่งที่พบ

พบได้ตามขอนไม้ในป่า พบในช่วงต้นฤดูฝนและปลายฤดูฝน



รูปที่ 2 เห็ดขอนขาว

ที่มา : <http://pineapple-eyes.snru.ac.th/animal/pupan/index.php?q=node/163>

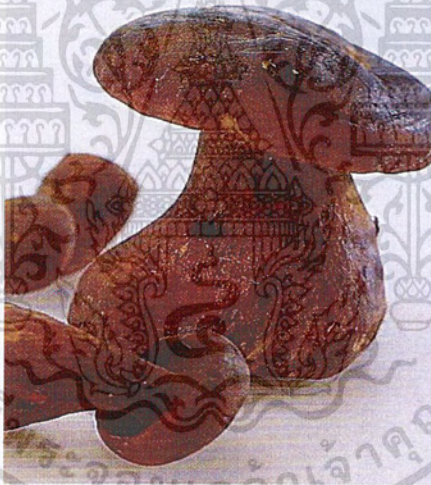
1.3 เห็ดตับเต่า

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Thaeogyroporus porentosus*

ชื่อทั่วไป เห็ดห้า เห็ดน้ำผึ้ง เห็ดผึ้งคราม

ลักษณะทั่วไป

หมวกเห็ด โค้งนูนรูปกระทะคว่ำ เส้นผ่าศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร มีขนละเอียดคล้ายกำมะหยี่สีน้ำตาลดำ เมื่อบานเต็มทีกลางหมวกเว้าเล็กน้อย ผิวสีน้ำตาลดำเมื่อถูกความชื้นจะลื่นมือ เนื้อสีเหลืองอ่อนหนาเมื่อฉีกขาดหรือชำไม่เปลี่ยนสี ด้านล่างของหมวกมีรูเล็กๆ สีเหลืองปากรูเชื่อมติดเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อดอกเห็ดบานเต็มทีจะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียวหรือเหลืองอมน้ำตาล ก้านสีน้ำตาลดำได้หมวกลงมาสีอ่อนกว่าเป็นสีน้ำตาลเหลืองอ่อนยาว 4-6 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 3-4 เซนติเมตร โคนก้านใหญ่เป็นกระเปาะผิวโปร่งนูนและเป็นร่องส่วนใหญ่บางส่วนมีลายสีน้ำตาลสานกันห่างๆ บนก้าน



รูปที่ 33 เห็ดตับเต่า

ที่มา : <http://pineapple-eyes.snru.ac.th/animal/pupan/index.php?q=node/18>

1.4 เห็ดแครง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Schizophyllum commune* Fr.

ชื่อทั่วไป เห็ดตีนตุ๊กแก

ลักษณะทั่วไป

เห็ดแครงมีขนาดเล็กรูปร่างคล้ายพัด ที่ฐานมีก้านยาวประมาณ 0.1-0.5 เซนติเมตร ดอกเห็ดกว้างประมาณ 1-3 เซนติเมตร ผิวด้านบนมีสีขาวปนเทาปกคลุมอยู่ทั่ว ด้านใต้ของดอกมีครีบเป็นร่องสีน้ำตาลอ่อน ขอบดอกหักคล้ายขอบเปลือกหอยแครง ซึ่งเป็นที่มาของชื่อเห็ดแครง

แหล่งที่พบ

ขึ้นตามท่อนไม้ยางพารา และกิ่งไม้จำพวกสะตอ มะม่วง และกฐินณรงค์ มีมากแถบภาคใต้ของประเทศไทย



รูปที่ ๓4 เห็ดแครง

ที่มา : <http://scratchpad.wikia.com/wiki>