

การศึกษาสีของแสงไฟที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองและ
ประสิทธิภาพของสาร Cordycepin ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*
The color of light that affects the growth of *Cordyceps militaris* and
the efficiency of Cordycepin in inhibiting *Escherichia coli*

โรงเรียนอุทัยวิทยาคม
จังหวัดอุทัยธานี

คณะผู้จัดทำโครงการ

1. นางสาวกานต์พิชชา ล้วนสมหวัง
2. นางสาวธัญชนก ยิ้มแจ้ง
3. นางสาวนัชชา ศรีกุล

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการสาขาวิชาชีววิทยา
การนำเสนอโครงงานของนักเรียนจากโรงเรียนในโครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์
เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม เครือข่ายภาคกลางตอนบน ประจำปีการศึกษา 2567

การศึกษสีของแสงไฟที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองและ
ประสิทธิภาพของสาร Cordycepin ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*
The color of light that affects the growth of *Cordyceps militaris* and
the efficiency of Cordycepin in inhibiting *Escherichia coli*

โรงเรียนอุทัยวิทยาคม
จังหวัดอุทัยธานี

คณะผู้จัดทำโครงการ

1. นางสาวกานต์พิชชา ล้วนสมหวัง
2. นางสาวธัญชนก ยิ้มแจ้ง
3. นางสาวนัชชา ศรีกุล

ครูที่ปรึกษาโครงการ

1. นายชัยเรศน์ ฉลาดธัญญกิจ
2. นางสาววีรณดา บางแบ่ง

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการสาขาวิชาชีววิทยา
การนำเสนอโครงการของนักเรียนจากโรงเรียนในโครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์
เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม เครือข่ายภาคกลางตอนบน ประจำปีการศึกษา 2567

บทคัดย่อ

โครงการสาขาชีววิทยานี้เพื่อศึกษาสีของแสงไฟที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อศึกษาการสกัดและตรวจสอบความเข้มข้นของสาร Cordycepin ได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง และเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสาร Cordycepin ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ของสารที่สกัดได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทองซึ่งแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนที่ 1 การศึกษาสีของแสงไฟที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยเริ่มจากการทำห้วเชื้อและนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วคลุมผ้าวางในที่มืด หลังจากนั้น 2 สัปดาห์จึงเปิดไฟให้เห็ดถั่งเช่าสีทองโดยแบ่งเป็นแสงไฟสีต่างกัน 5 สี ได้แก่ สีขาว สีม่วง สีนํ้าเงิน สีเขียวและสีแดง ขั้นตอนที่ 2 การสกัดสาร Cordycepin ที่ได้โดยทำการสกัดสารด้วยเอทานอล แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย Spectrophotometer แล้วทำการคัดเลือกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีสาร Cordycepin ความเข้มข้นมากที่สุดไปใช้ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ขั้นตอนที่ 3 การศึกษาประสิทธิภาพของสาร Cordycepin ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* โดยวัดจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone)

ผลการทดลองพบว่าการศึกษาสีของแสงไฟที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 5 สี ได้แก่ สีขาว สีม่วง สีนํ้าเงิน สีเขียวและสีแดง พบว่าเห็ดถั่งเช่าที่ให้แสงไฟสีเขียวมีการเจริญเติบโตและความเข้มข้นของสาร cordycepin มากที่สุด จึงได้ทำการคัดเลือกแล้วนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ต่อไป โดยสังเกตจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อ พบว่าบริเวณรอบกระดาศกรองเห็นเป็นบริเวณใสแสดงว่าเชื้อ *Escherichia coli* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า สาร Cordycepin ในเห็ดถั่งเช่าสีทองมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*

กิตติกรรมประกาศ

โครงการการศึกษาสีของแสงไฟที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองและประสิทธิภาพของสาร Cordycepin ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่าน จึงขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่ง ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบพระคุณ คุณครูชัยเรศน์ ฉลาดธัญญกิจ และคุณครูวีรญาดา บางแบ่ง คุณครูที่ปรึกษาโครงการที่กรุณาให้คำปรึกษาและแนะแนวทางการศึกษาและทดลอง เอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการทดลองตรวจสอบเนื้อหาและให้คำแนะนำในการจัดทำโครงการฉบับนี้จนสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ที่ให้คำปรึกษาและเป็นกำลังใจที่ดีให้เสมอมา และสุดท้ายนี้ขอขอบคุณเพื่อนๆที่ให้คำแนะนำที่ดีและให้ความช่วยเหลือในการทำโครงการฉบับนี้

คณะผู้จัดทำ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูปภาพ	จ
คำอธิบายสัญลักษณ์	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
ที่มาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์	2
ขอบเขตของการศึกษา	2
สมมติฐาน	2
ตัวแปรที่ศึกษา	2
นิยามเชิงปฏิบัติการ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
หัตถ์ถึงเชื้อสโง	4
การสกัดสารจากพืช	5
แบคทีเรีย <i>Escherichia coli</i>	5
เทคนิคปลอดเชื้อ	6
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	
วัสดุและอุปกรณ์	8
ขั้นตอนการดำเนินงาน	9
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
การเพาะเลี้ยงหัตถ์ถึงเชื้อสโง	12
การเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดจากหัตถ์ถึงเชื้อสโง	12
การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ <i>Escherichia coli</i>	13
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง	
สรุปและอภิปรายผล	15
ข้อเสนอแนะ	15
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	16
บรรณานุกรม	17
ภาคผนวก	19

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 4.1.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ใช้แสงไฟสีต่างกัน	12
ตารางที่ 4.3.1 ภาพผลการยับยั้งเชื้อ <i>Escherichia coli</i>	13
ตารางที่ 4.3.2 แสดงผลการยับยั้งเชื้อ <i>Escherichia coli</i> โดยใช้สารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง	14

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 2.1 ลักษณะของเห็ดถั่งเช่าสีทอง	4
ภาพที่ 2.2 เชื้อ <i>Escherichia coli</i>	6
ภาพที่ 4.2 สารสกัดที่ได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยไฟสีต่างกัน	12
ภาพที่ 4.3 กราฟการตรวจสอบสารจาก Spectrophotometer	13

คำอธิบายสัญลักษณ์

สัญลักษณ์	คำอธิบาย
Control +	ชุดการควบคุมบวกโดยเอทานอล
Control -	ชุดการควบคุมลบโดยน้ำกลั่น
-	ไม่พบการยับยั้งเชื้อ
Abs W	สารสกัดที่ได้จากเห็ดถังเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยไฟสีขาว
Abs G	สารสกัดที่ได้จากเห็ดถังเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยไฟสีเขียว
Abs P	สารสกัดที่ได้จากเห็ดถังเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยไฟสีม่วง
Abs R	สารสกัดที่ได้จากเห็ดถังเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยไฟสีแดง
Abs B	สารสกัดที่ได้จากเห็ดถังเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยไฟสีน้ำเงิน

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

มนุษย์จำเป็นที่จะต้องบริโภคอาหารเพื่อให้ร่างกายเจริญเติบโตและดำรงชีวิตอยู่อย่างปกติสุข ดังนั้นอาหารที่บริโภคจะต้องไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย แต่ปัจจุบันน้ำและอาหารที่รับประทานเข้าสู่ร่างกายมีสิ่งปนเปื้อนเป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถเข้าสู่ร่างกายผ่านทางปาก โดยเฉพาะเชื้อโรคต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย ไวรัสหรือพยาธิ ตลอดจนสารเคมีบางอย่าง ซึ่งเมื่อปนเปื้อนลงสู่อาหารแล้วจะทำให้ผู้บริโภคเกิดภาวะอาหารเป็นพิษ ทำให้มีอาการอย่างอาเจียน ท้องเสียหรือติดเชื้อจากเชื้อแบคทีเรียต่างๆ และอาจส่งผลให้เกิดปัญหาสุขภาพในระยะยาวอย่างมะเร็งและความผิดปกติทางระบบประสาทได้ โดยความรุนแรงของโรคจะแปรผันจากระดับความรุนแรงน้อยจนถึงรุนแรงมาก ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ปริมาณของเซลล์จุลินทรีย์หรือสารพิษ ที่ได้รับ อายุและระดับภูมิคุ้มกันต้านทานโรคของผู้ป่วย โดยเฉพาะเด็กเล็ก คนชรา จะมีความเสี่ยงสูงต่อการเจ็บป่วยที่รุนแรงและการเกิดโรคแทรกซ้อนได้

หนึ่งในแบคทีเรียหลักที่พบได้ทั่วไปได้แก่ เชื้อ *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียที่สามารถติดเชื้อได้ง่าย ซึ่งโดยปกติแล้วสามารถพบได้ในลำไส้ของมนุษย์ หากเชื้อรุกร่างเข้าสู่ระบบต่างๆ ของร่างกายจะทำให้เกิดการติดเชื้อ ซึ่งเชื้อมีกลไกการก่อโรคและความสามารถในการสร้างสารพิษ ทำให้เกิดอาการท้องร่วงเฉียบพลัน ถ่ายเหลว คลื่นไส้ มีไข้ต่ำและอาจรุนแรงถึงขั้นมีอาการถ่ายเป็นมูกเลือด ทั้งนี้อาการต่างๆ ขึ้นอยู่กับสภาพร่างกายของผู้ที่ได้รับเชื้อและปริมาณของเชื้อที่เข้าสู่ร่างกาย ในปัจจุบันจึงมีการคิดค้นยาปฏิชีวนะเพื่อต้านเชื้อ *Escherichia coli* พบว่าตัวยาปฏิชีวนะที่ได้มีความไม่ปลอดภัยและมีอันตรายต่อผู้บริโภค

คณะผู้จัดทำได้เล็งเห็นถึงความสำคัญของเห็ดถั่งเช่าสีทอง *Cordyceps Militaris* ซึ่งคณะผู้จัดทำได้สนใจเข้าร่วมชุมนุมเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและจากการศึกษางานวิจัยหลายเรื่องพบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้นมีสารที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ได้ คณะผู้จัดทำจึงได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* โดยทำการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองและศึกษาสีของแสงไฟกับการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง นำมาสกัดสารแล้วนำไปตรวจสอบความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยแสงไฟสีต่างๆ แล้วทำการคัดเลือกสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีความเข้มข้นมากที่สุดแล้วนำไปศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 เพื่อศึกษาสีของแสงไฟที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง
- 1.2.2 เพื่อศึกษาการสกัดและตรวจสอบความเข้มข้นของสาร Cordycepin ได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง
- 1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสาร Cordycepin ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

- 1.3.1 จุลินทรีย์ที่ใช้คือ *Escherichia coli*
- 1.3.2 สมุนไพรที่ใช้ศึกษาคือ เห็ดถั่งเช่าสีทอง
- 1.3.3 ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โรงเรียนอุทัยวิทยาคม
- 1.3.4 ระยะเวลาที่ใช้ พฤศจิกายน 2566 – สิงหาคม 2567

1.4 สมมติฐาน

1. ศึกษาสีของแสงไฟที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง
แสงไฟสีต่างกันมีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองแตกต่างกัน
2. เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้จากเห็ดถั่งเช่าที่เปิดไฟสีต่างๆ
สารสกัดที่ได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีปริมาณ Cordycepin แตกต่างกัน
3. การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*
สารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*

1.5 ตัวแปรที่ศึกษา

ตอนที่ 1 ศึกษาแสงสีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง
ตัวแปรต้น สีของแสงไฟที่เปิดให้ต้นเห็ดถั่งเช่าสีทอง
ตัวแปรตาม การเจริญเติบโตของต้นเห็ดถั่งเช่าสีทอง
ตัวแปรควบคุม ชนิดของอาหาร ขวดเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ ปริมาณเชื้อที่ใส่ ระยะเวลาที่ให้แสง

ตอนที่ 2 เปรียบเทียบความเข้มข้นของสาร Cordycepin ที่ได้จากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง
ตัวแปรต้น เห็ดถั่งเช่าสีทองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโดยเปิดไฟสีต่างกัน
ตัวแปรตาม ความเข้มข้นของ Cordycepin จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง
ตัวแปรควบคุม ระยะเวลาในการสกัด ความเข้มข้นของเอทานอล น้ำหนักเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ตอนที่ 3 การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*

ตัวแปรต้น สาร Cordycepin จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ตัวแปรตาม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone

ตัวแปรควบคุม ชนิดของอาหาร ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ อุณหภูมิในการบ่มเชื้อ ขนาดของกระดาดกรอง ปริมาณสารสกัด

1.6 นิยามเชิงปฏิบัติการ

1.6.1 สารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง หมายถึง ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองนำมาสกัดด้วยเอทานอล

1.6.2 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย หมายถึง การที่สารสกัดที่ได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

1.6.3 Inhibition zone หมายถึง บริเวณที่มีลักษณะใสรอบๆ บริเวณเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ ซึ่งสามารถบอกถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสารที่ทดสอบได้

บทที่ 2

เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โครงงานเรื่อง การศึกษาสีของแสงไฟที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองและประสิทธิภาพของสาร Cordycepin ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* คณะผู้จัดทำได้ทำการศึกษา ค้นคว้าข้อมูลและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

2.1 เห็ดถั่งเช่าสีทอง

ชื่อสามัญ Scarlet Caterpillar Fungus, Scarlet Caterpillarclub
ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cordyceps Militaris* (L.) Fr.
ชื่อวงศ์ Cordycipitaceae

2.1.2 ลักษณะทั่วไปของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

เห็ดถั่งเช่าสีทอง เป็นเชื้อราในกลุ่มเชื้อราแมลง จัดอยู่ในกลุ่ม Ascomycetes ซึ่งเป็นเห็ดตระกูลเดียวกับเห็ดถั่งเช่าทิเบต แต่ต่างเหล่าพันธุ์ ส่วนมากเกิดจากการเพาะเลี้ยงขึ้นมา โดยมีนักวิจัยได้รายงานถึงสรรพคุณต่างๆ ของเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสรรพคุณทางยาเทียบเท่ากับเห็ดถั่งเช่าทิเบตจึงทำให้เป็นที่นิยมมากในปัจจุบัน เห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นเห็ดที่พบอยู่ทั่วไปในระดับที่มีอุณหภูมิระหว่าง 10–28 องศาเซลเซียส เป็นเห็ดที่มีส่วนประกอบของสารอาหาร วิตามิน เกลือแร่และยาหลายชนิดที่สูงกว่าเห็ดถั่งเช่าแท้ๆ พบว่าส่วนของดอกเห็ดมี Cordycepin มากที่สุด เห็ดถั่งเช่าสีทองประกอบไปด้วยและสารอื่นเช่น Nucleoside, Adenine, Adenosine ,Thymine และ Deoxyuridine ซึ่งเกี่ยวข้องกับกลไกและการทำงานในกระบวนการสรีรศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทส่วนกลาง เห็ดถั่งเช่าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจะมีปริมาณ Nucleoside สูงกว่าในธรรมชาติ โดยปกติการวัดคุณภาพของเห็ดถั่งเช่าจะวัดจากความเข้มข้นของสารในเห็ดถั่งเช่าโดยเฉพาะ Adenine, Adenosine และ Cordycepin



ภาพที่ 2.1 ลักษณะของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2.2 การสกัดสารจากพืช

วิธีการสกัดสมุนไพรหลายวิธีดังนี้

2.2.1 การต้ม

คือ เทคนิคการสกัดสารที่ละลายได้ดีในน้ำและสามารถทนความร้อนได้ดีโดยการต้มสมุนไพรในน้ำจนเดือดแล้วต้มต่อไปอีกประมาณ 15 นาที

2.2.2 การคั้นน้ำสด

การบีบ การคั้น เพื่อแยกส่วนที่เป็นน้ำออก ใช้กับการคั้นน้ำผลไม้เพื่อแยกน้ำผลไม้ออกจากกาก เช่น การคั้นน้ำส้ม น้ำมะนาว น้ำองุ่น

2.2.3 การสกัดด้วยตัวทำละลาย

เป็นการแยกสารโดยอาศัยหลักการละลายระหว่างตัวทำละลายกับสารสำคัญในสมุนไพร ทั้งนี้จะอาศัยหลักการของการละลายความมีขั้ว (Polarity) ของทั้งตัวทำละลายและสารสำคัญ โดยสารสำคัญจะสามารถละลายในตัวทำละลายได้ก็ต่อเมื่อความเป็นขั้วของตัวสารสำคัญกับตัวทำละลายมีค่าใกล้เคียงกัน (Like Dissolves Like) คือตัวถูกละลายที่มีขั้วจะละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วเพราะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมีขั้วเป็นแรง Dipole-Dipole ในทางตรงข้ามตัวถูกละลายที่ไม่มีขั้วจะละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เพราะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลไม่มีขั้วเป็นแรง Van der Waals เหมือนกัน วิธีการนี้จะนิยมใช้สกัดสีจากธรรมชาติในสมุนไพร สกัดน้ำมันหอมระเหย เป็นวิธีการที่ประหยัดและปลอดภัย วิธีนี้จะควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการกลั่นที่ต้องใช้อุณหภูมิสูงทำให้องค์ประกอบทางเคมีเปลี่ยนแปลงและมีกลิ่นผิดไปจากธรรมชาติได้วิธีการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายจึงถูกนำมาใช้มากกว่า

2.3 แบคทีเรีย *Escherichia coli*

2.3.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ไม่สร้างสปอร์ อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) ประเภท fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำเป็นแบคทีเรียที่พบได้เป็นปกติในลำไส้ของคนและสัตว์บางชนิด เมื่ออยู่ในลำไส้จะช่วยย่อยอาหารที่เรารับประทานเข้าไป แต่หากเชื้อกระจายเข้าสู่ระบบต่างๆ ของร่างกาย จะทำให้เกิดโรคติดเชื้อรุนแรง โรคติดเชื้อระบบทางเดินอาหารและทางเดินปัสสาวะ โรคอุจจาระร่วง เกิดอาการท้องร่วงแบบเฉียบพลัน ถ่ายเหลวหรือ ถ่ายเป็นมูกเลือดได้ โดยผ่านการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารหรือน้ำดื่ม



ภาพที่ 2.2 เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*
ที่มา : <https://www.independent.co.uk/>

2.3.2 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของ *Escherichia coli*

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียพวก facultative anaerobe คือเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส แต่สามารถเจริญที่ 45 องศาเซลเซียส ได้ pH ที่เหมาะสมในการเจริญคือ 6.8 - 7.5

2.4 เทคนิคปลอดเชื้อ

เป็นเทคนิคที่ป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการปนเปื้อนลงไปในเชื้อจุลินทรีย์ที่กำลังทำการทดลองอยู่ นอกจากนั้นยังป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ที่กำลังทำการทดลองอยู่ออกมายังสิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อผู้ทดลองหรือผู้อื่นได้

1. ก่อนทำการทดลอง สวมเสื้อกาวน์ให้เรียบร้อย ผมต้องไม่รุงรัง นำของทุกอย่างที่ไม่เกี่ยวข้องกับ การทดลองออกไปจากโต๊ะปฏิบัติการ ล้างมือให้สะอาดและเช็ดโต๊ะปฏิบัติการด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์
2. หลังทำการทดลอง ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บนเครื่องใช้ทุกครั้งที่ใช้งานแล้วเช็ดโต๊ะปฏิบัติการด้วย น้ำยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ถอดเสื้อกาวน์ออกและล้างมือให้สะอาด
3. ขณะทำการทดลองเมื่อปากหลอดที่มีเชื้อจุลินทรีย์เปิดออก ต้องทำการทดลองใกล้เปลวไฟเพื่อ ป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นปนเปื้อนลงไปและป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ทดลองหลุดออกไปอยู่ตาม สิ่งแวดล้อม ต้องไม่พูดคุยกัน ไม่วางฝาหลอดทดลองหรือจุกสำลีไว้บนโต๊ะและทำงานอย่างรวดเร็ว

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

H X Wang และคณะ (2553) ได้กล่าวว่า *Cordyceps species* มีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ Cordycepin, Ergosterol, Polysaccharide, Glycoprotein และ Peptide ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านเนื้องอก ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ ลดไขมันและน้ำตาลใน เลือด ช่วยปรับภูมิคุ้มกัน ต้านการแพร่กระจายเชื้อและต่อต้านแบคทีเรีย

มลธิรา ศรีถาวร และคณะ (2562) ได้กล่าวว่า เห็ดถั่งเช่าสีทองมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สารสกัดส่วนดอกและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยสกัดด้วยตัวทำละลาย เอทานอล เมทานอล และน้ำกลั่นได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Staphylococcus epidermidis* TISTR518 และ *Escherichia coli* ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียพบว่าสารสกัดหยาบส่วนดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดโดยใช้ เมทานอลและ เอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC25923, *S. epidermidis* TISTR518 และ *E. coli* ได้

นันทีณี ศรีจุมปา และคณะ (2564) ได้กล่าวว่า จำนวนดอกเห็ดต่อขวดที่เจริญภายใต้ แสงสีต่าง ๆ มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยและพบว่าภายใต้แสงสีเขียวมีจำนวนดอกเห็ดต่อขวดน้อยกว่าแสงสีอื่นแต่มิมีน้ำหนักผลผลิตต่อขวดมากกว่าแสงสีอื่น โดยแสงสีเขียวมีน้ำหนักผลผลิตดอกเห็ดต่อขวดสูงที่สุด 10.95 กรัม/ขวด และมีประสิทธิภาพการผลิตสูงสุดถึง 68% แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับแสงสีขาว แต่แตกต่างจากแสงสีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ความยาวดอกเห็ดที่เจริญภายใต้แสงสีน้ำเงิน แสงสีเขียวและแสงสีขาวมีความยาวของดอกเห็ดมากกว่าแสงม่วงและแสงสีแดง

พรพรรณ รัตนะสัจจะ (2567) ได้ศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดหยาบจากดอกของถั่งเช่าสีทอง ต่อการยับยั้งแบคทีเรียในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ โดยสกัดสารจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.8 %(v/v) แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณ Cordycepin โดยใช้ HPCL พบว่ามีปริมาณ Cordycepin ในสารสกัดหยาบเท่ากับ $2,588.60 \pm 58.68$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อนำสารที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค จำนวน 11 ชนิด ด้วยวิธี paper disc diffusion method พบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ 9 ชนิด และให้วงใสการยับยั้งที่มีขนาด $10.06 \pm 0.04 - 13.67 \pm 1.97$ มิลลิเมตร ได้แก่ *Escherichia coli*, *Ent. Aerogenes*, *Pro. Vulgaris*, *Sal. Typhi*, *Sal. Typhimurium*, *Shi. Dysenteriae*, *K. pneumoniae*, *Ps. Aeruginosa* และ *S. aureus*

Qi jiang et al. (2562) ได้กล่าวว่า Cordycepin สามารถยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งได้ (MIC) คือ 2.5 และ 1.25 มก./มล. ต่อเชื้อ *Escherichia coli* และ *Bacillus subtilis* ตามลำดับ การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและแบบส่องผ่านยืนยันว่า Cordycepin ก่อให้เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มไซโทพลาสซึมของ *E. coli* และ *B. subtilis* ผลจากการวิเคราะห์บ่งชี้ว่า Cordycepin สามารถแทรกซึมเข้าไปในเบสของดีเอ็นเอจีโนมและสายคู่ ซึ่งทำให้โครงสร้างของดีเอ็นเอจีโนมผิดปกติ จากผลการศึกษาพบว่าการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียของ Cordycepin ต่อเชื้อ *Escherichia coli* และ *Bacillus subtilis* เป็นกลไกคู่ โดยทำลายเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียและจับกับดีเอ็นเอจีโนมของแบคทีเรียเพื่อบรบกวนการทำงานของเซลล์ ซึ่งจะทำให้เซลล์ตายในที่สุด

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

โครงการ เรื่อง การศึกษาสีของแสงไฟที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถังเช่าสีทองและประสิทธิภาพของสาร Cordycepin ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* มีวัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลองดังนี้

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 วัสดุอุปกรณ์

1. ปีกเกอร์	5	ใบ
2. ตะเกียงแอลกอฮอล์	2	ชุด
3. แท่งแก้วคนสาร	5	แท่ง
4. ช้อนตักสาร	5	ช้อน
5. กระบวยตวงสาร	1	อัน
6. เข็มเย็บเชื้อ	1	อัน
7. หัวงเย็บเชื้อ	3	อัน
8. Spreader	3	อัน
9. Forceps	1	อัน
10. ขวดรูปชมพู่	5	ขวด
11. ขวดเลี้ยงเชื้อขวดกลม	8	ขวด
12. ขวดเลี้ยงเชื้อขวดแบน	2	ขวด
13. จานเลี้ยงเชื้อ	20	จาน
14. กระดาษกรอง	15	แผ่น
15. สำลี	1	ห่อ
16. สำลีก้อน	15	อัน
17. ถุงพลาสติก	10	ใบ
18. ยาง	20	วง
19. เครื่องชั่งดิจิตอล	1	เครื่อง
20. Autopipette	1	อัน
21. เครื่องปั่น	1	เครื่อง
22. หลอดไฟ LED	10	หลอด
23. ไมโครเวฟ	1	เครื่อง

3.1.2 วัตถุดิบในอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Yeast Peptone
2. Yeast Extract
3. Mueller Hinton Broth
4. เกลือ
5. น้ำตาลทราย
6. โซเดียมไคโอเรต
7. ผงวุ้น
8. น้ำมันฝรั่ง

3.1.3 เชื้อที่ใช้

1. เชื้อ *Escherichia coli*

3.1.4 เครื่องมือพิเศษ

1. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
2. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
3. Spectrophotometer
4. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
5. เครื่องเขย่าสาร (Orbital shaker)
6. กล้องจุลทรรศน์

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

ตอนที่ 1 การศึกษาแสงสีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1. เตรียมเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง

- 1.1 ต้มน้ำมันฝรั่ง 200 กรัมต่อน้ำสะอาด 1 ลิตร แล้วผสมเข้ากับ

Yeast Peptone และ Yeast Extract อย่างละ 5 กรัม เกลือ 0.5 กรัมและน้ำตาล 20 กรัม แล้วเทแบ่งใส่ขวดประมาณ 3 ใน 4 ของขวด ปิดฝาด้วยสำลี ครอบด้วยถุงพลาสติก รัดด้วยยาง นำไปใส่ลงในเครื่อง Autoclave แล้วตั้งทิ้งไว้ให้ขวดเย็น

- 1.2 นำเข็มเย็บเชื้อจุ่มเอทานอลและนำไปปนไฟ ตัดเชื้อเห็ดเป็นสี่เหลี่ยม แล้วนำไปใส่ขวดในข้อ 1 ปิดฝาด้วยสำลี ห่อด้วยกระดาษ ครอบด้วยถุงพลาสติกและรัดด้วยยาง

- 1.3 นำขวดในข้อ 2 ไปเขย่าด้วยเครื่อง Orbital Shaker แล้วทิ้งไว้ 7 วัน

- 1.4 เมื่อครบ 7 วัน สังเกตการเปลี่ยนแปลงภายในขวดแล้วนำตัวอย่างเชื้อไปส่องกล้องจุลทรรศน์เพื่อดูเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2. เพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2.1 ต้มน้ำมันฝรั่ง 200 กรัมต่อน้ำสะอาด 1 ลิตร แล้วผสมเข้ากับ

Yeast Peptone และ Yeast Extract อย่างละ 5 กรัม เกลือ 0.5 กรัมและน้ำตาล 20 กรัม แล้วนำไปปั่นรวมกับไข่ไก่ 2 ฟอง

2.2 ตักข้าวใส่ขวด 1 กระบวย แล้วนำส่วนผสมในข้อที่ 1 เทใส่

ขวดละ 1 กระบวย ปิดฝาและเขย่าขวดเล็กน้อย ให้ส่วนผสมเข้ากัน

2.3 นำขวดใส่ลงในเครื่อง Autoclave เสร็จแล้วนำขวดออกมาพักไว้ให้เย็น

2.4 นำเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เตรียมไว้ เทใส่ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อให้ท่วม

อาหารเลี้ยงเชื้อ เขย่าเล็กน้อยแล้วปิดฝาขวด

2.5 นำขวดที่ใส่เชื้อแล้ววางเรียงบนชั้นในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ควบคุม

อุณหภูมิให้อยู่ที่ 25 องศาเซลเซียส คลุมผ้าและปิดไฟ เมื่อครบ 3 สัปดาห์แล้วจึงเริ่มเปิดไฟแสงไฟแต่ละสี

2.6 เมื่อครบ 2 เดือน ทำการเก็บเกี่ยวเห็ดถั่งเช่าสีทอง แล้วนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อ

วัดการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ตอนที่ 2 เปรียบเทียบสาร Cordycepin ที่ได้จากต้นเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1. เตรียมเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เลี้ยงด้วยแสงไฟสีเขียว 10 กรัมแล้วนำไปอบแห้ง

2. นำเห็ดถั่งเช่าสีทองมาบดและปั่นให้ละเอียด

3. สกัดสารจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยมีขั้นตอนดังนี้

3.1 นำเห็ดถั่งเช่ามา 10 กรัมใส่ลงในหลอดทดลองและใส่เอทานอล 95%(v/v)

ปริมาณ 30 มิลลิลิตร ตามลงไป

3.2 นำน้ำเปล่าเทใส่ปิกเกอร์ 150 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่เตรียมไว้ลงใน

ปิกเกอร์ จุดตะเกียงแอลกอฮอล์ให้น้ำเริ่มเดือด เป็นเวลา 5 นาที

3.3 นำสารสกัดที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง แล้วกรองสารสกัดไหลผ่าน

กระดาษกรองหมด

3.4 ทำซ้ำในขั้นตอนที่ 1-3 โดยเปลี่ยนเป็นดอกเห็ดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงด้วย

ไฟสีม่วง สีน้ำเงิน สีขาวและสีแดง ตามลำดับ

4. นำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer

5. นำค่าที่ได้จากเครื่อง Spectrophotometer ไปพล็อตกราฟ

ตอนที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*

1. การเลี้ยงเชื้อ *Escherichia coli*

1.1 นำเชื้อ *Escherichia coli* มา spread ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

Mueller Hinton Broth แล้วนำเข้าตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.2 แยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยนำห่วงเช็ชเชื้อจุ่มแอลกอฮอล์และเผาไฟจนห่วง

เป็นสีแดงแล้วรอ 20 วินาที

1.3 เชียโคโลนีมา 1-2 โคโลนี จากนั้นขีดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย

วิธี cross steak

1.4 นำจานบ่มเชื้อไปเข้าตูบ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.5 นำโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อมาย้อมแกรมแล้วส่องกล้องจุลทรรศน์

นำไปศึกษาโคโลนีและลักษณะของเชื้อ

2. การยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*

2.1 นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกไว้ มาเจือจางปรับความขุ่นโดยเทียบกับ

0.5 McFarland standard

2.2 นำไม้พินสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มเชื้อและถูให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.3 แบ่งจานเลี้ยงเชื้อเป็น 4 ส่วนสำหรับหัด control และสารสกัด

แล้วนำแผ่นกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร วางลงบนจานเลี้ยงเชื้อในตำแหน่งที่กำหนด

2.4 ดูดน้ำกลั่นและเอทานอลหยดใส่ลงบนแผ่นกระดาษกรอง

แผ่นละ 0.1 มิลลิลิตร เพื่อเป็นชุดควบคุมการทดลองแบบลบและชุดควบคุมการทดลองแบบบวก

2.5 ดูดสารสกัดใส่ลงในแผ่นกระดาษกรองบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

แผ่นละ 0.1 มิลลิลิตร

2.6 นำจานเพาะเชื้อไปเข้าตูบ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.7 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone และทำการทดลองใน

ข้อ 2.1-2.6 ซ้ำ 3 ครั้ง

บทที่ 4

ผลการทดลอง

โครงการเรื่อง การศึกษาสีของแสงไฟที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองและประสิทธิภาพของสาร Cordycepin จากเห็ดถั่งเช่าสีทองในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* มีผลการทดลอง ดังนี้

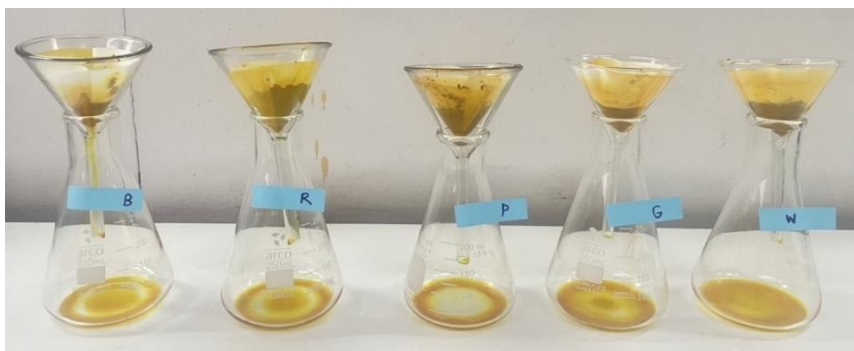
ตอนที่ 1 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ตารางที่ 4.1.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ใช้แสงไฟสีต่างกัน

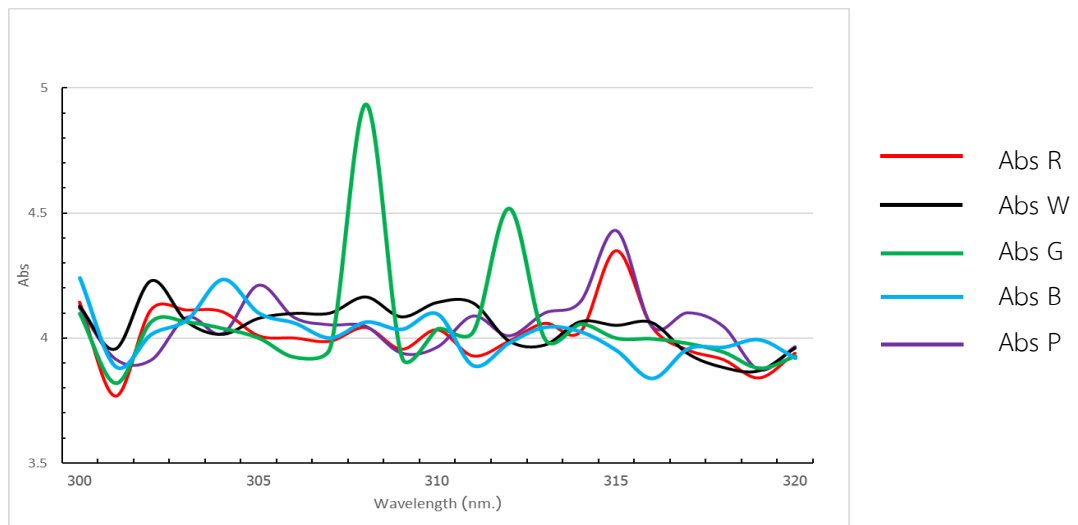
แสงที่ใช้เปิดให้ ต้นเห็ดถั่งเช่าสีทอง	น้ำหนักเฉลี่ยของเห็ดถั่งเช่าสีทอง แบบสดต่อ 5 ขวด (กรัม)	น้ำหนักเฉลี่ยของเห็ดถั่งเช่าสีทอง แบบแห้งต่อ 5 ขวด (กรัม)
สีม่วง	11.69	2.95
สีน้ำเงิน	12.51	3.12
สีแดง	9.65	2.44
สีเขียว	16.86	4.36
สีขาว	15.80	3.92

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่า เห็ดถั่งเช่าที่เพาะเลี้ยงด้วยไฟสีเขียวมีน้ำหนักผลผลิตดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองแบบสดเฉลี่ยต่อขวดสูงที่สุดคือ 16.86 กรัม และน้ำหนักผลผลิตแบบแห้งเฉลี่ยต่อขวดสูงที่สุดคือ 4.36 กรัม รองลงมาคือ เห็ดถั่งเช่าที่เพาะเลี้ยงด้วยไฟสีขาว ไฟสีน้ำเงิน ไฟสีม่วงและไฟสีแดง ตามลำดับ

ตอนที่ 2 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง



ภาพที่ 4.2 สารสกัดที่ได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยไฟสีต่างกัน



ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงการตรวจสอบสาร cordycepin จาก Spectrophotometer

จากการตรวจสอบสารสกัดจากเห็ดถึงเข้าสีทองโดยใช้ Spectrophotometer ความยาวคลื่นของสาร cordycepin ที่ 300-310 นาโนเมตร ได้ผลคือสารสกัดจากเห็ดถึงเข้าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยไฟสีเขียว มีสาร cordycepin มากที่สุด สารสกัดที่มีความเข้มข้นรองลงมาคือ สารสกัดจากเห็ดถึงเข้าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยไฟสีขาว สีนํ้าเงิน สีม่วงและสีแดง ตามลำดับ

ตอนที่ 3 การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*

ตารางที่ 4.3.1 ภาพผลการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*

สารสกัด	ผลการยับยั้งเชื้อ <i>Escherichia coli</i>			
	จานเพาะเชื้อที่ 1	จานเพาะเชื้อที่ 2	จานเพาะเชื้อที่ 3	จานเพาะเชื้อที่ 4
สารสกัดจากเห็ดถึงเข้าสีทอง				

ตารางที่ 4.3.2 แสดงผลการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* โดยใช้สารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ตัวทำละลาย	เส้นผ่านศูนย์กลาง Inhibition zone (mm.)				ค่าเฉลี่ย (mm.)
	จานเพาะเชื้อที่ 1	จานเพาะเชื้อที่ 2	จานเพาะเชื้อที่ 3	จานเพาะเชื้อที่ 4	
Control +	12.3	10	10.7	12.1	11.28
Control -	-	-	-	-	-
Cordycepin1	12.4	11.5	11.2	10.4	11.38
Cordycepin2	12.5	12.8	12.2	10.8	12.08
Cordycepin3	16	13.9	13.7	12.8	14.10
Cordycepin4	15.6	13.7	13.1	11.4	13.45

หมายเหตุ 1. Control + ชุดการควบคุมบวกโดยเอทานอล

Control - ชุดการควบคุมลบโดยน้ำกลั่น

2. สัญลักษณ์ - หมายถึง ไม่พบ inhibition zone เกิดในชุดทดลอง

3. Cordycepin1 หมายถึง เห็ดถั่งเช่าสีทอง 5 g ผสมเอทานอล 30 ml

Cordycepin2 หมายถึง เห็ดถั่งเช่าสีทอง 10 g ผสมเอทานอล 30 ml

Cordycepin3 หมายถึง เห็ดถั่งเช่าสีทอง 15 g ผสมเอทานอล 30 ml

Cordycepin4 หมายถึง เห็ดถั่งเช่าสีทอง 20 g ผสมเอทานอล 30 ml

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสาร Cordycepin ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* พบว่า สารสกัด Cordycepin จากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยเอทานอล สามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ได้ โดยเอทานอลมีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition zone) เท่ากับ 11.28 mm. และ Cordycepin1 ถึง Cordycepin4 มีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition zone) เท่ากับ 11.38, 12.08, 14.10 และ 13.45 mm. ตามลำดับ โดยพบว่า Cordycepin3 มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อดีที่สุด

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

โครงการเรื่อง การศึกษาสีของแสงไฟที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองและประสิทธิภาพของสาร Cordycepin จากเห็ดถั่งเช่าสีทองในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* สามารถสรุปและอภิปรายผลการทดลองได้ดังนี้

5.1 สรุปและอภิปรายผล

5.1.1 จากการศึกษาพบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงโดยใช้แสงไฟสีต่างกันแล้วทำการชั่งน้ำหนัก แสงไฟสีเขียวทำให้เห็ดถั่งเช่ามีน้ำหนักผลผลิตต่อขวดมากที่สุด โดยมีผลผลิตดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองแบบสดเฉลี่ยต่อขวดสูงที่สุดคือ 16.86 กรัม และน้ำหนักผลผลิตแบบแห้งเฉลี่ยต่อขวดสูงที่สุดคือ 4.36 กรัม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ นันทินี ศรีจุมปา และคณะ (2564) ที่รายงานว่าของ แสงจากหลอดไฟสีต่างๆ มีผลต่อผลผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยแสงสีเขียวจะกระตุ้นให้เห็ดถั่งเช่าสีทองมีผลผลิตสูงสุด แสงที่ให้ผลรองลงมาคือแสงสีขาวและแสงสีน้ำเงิน ตามลำดับ

5.1.2 จากการศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทองพบว่า สารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยไฟสีเขียวมีสาร cordycepin มากที่สุด เนื่องจากมีความเข้มข้นของสารมากที่สุดที่ความยาวคลื่นสูงสุดช่วง 310 นาโนเมตร สอดคล้องกับงานวิจัยของ นันทินี ศรีจุมปา และคณะ (2564) ได้กล่าวว่า การให้แสงสีเขียวในช่วงการกระตุ้นดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองจะให้ผลผลิตและสารสำคัญอย่าง cordycepin และ adenosine สูงกว่าแสงสีอื่น

5.1.3 จากการศึกษาพบว่าสารสกัดที่ใช้เห็ดถั่งเช่าสีทอง จำนวน 15 g ต่อเอทานอล 30 ml (Cordycepin3) สามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ได้มีประสิทธิภาพมากที่สุด โดยมีการยับยั้งแบคทีเรีย (Inhibition zone) เท่ากับ 14.10 mm. เนื่องจากในดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้นมี Cordycepin ที่ช่วยยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ มลธิรา ศรีถาวร และคณะ (2562) และ Qi jiang et al. (2562) และพรพรรณ รัตนะสังจะ (2567) ที่กล่าวว่าสารสกัดจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยวิธี paper disc diffusion method มีสาร Cordycepin ที่มีกลไกในการต่อต้านและสามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 นำสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ได้ไปพัฒนาเพื่อใช้ทำเป็นอาหารเสริมหรือผลิตภัณฑ์สำหรับช่วยป้องกันและยับยั้งอาการท้องเสียที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

5.2.2 ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในการยับยั้งเชื้อชนิดอื่น

5.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.7.1 ได้ศึกษาแสงไฟสีต่างๆที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง
- 1.7.2 ได้ศึกษาความเข้มข้นของ Cordycepin จากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยแสงไฟสีต่างกัน
- 1.7.3 ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* โดยใช้สาร Cordycepin ที่สกัดได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

บรรณานุกรม

- คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล. (2561). วิธีการสกัดสมุนไพร (ออนไลน์). สืบค้นจาก : <https://medplant.mahidol.ac.th/user/reply.asp?id=6868>. [12 มี.ค. 2567].
- คณาจารย์คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล. (ม.ป.ป.). โรคอุจจาระร่วงจากเชื้อ อีโคไล (*E. coli*) (ออนไลน์). สืบค้นจาก : <https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/>. [8 พ.ค. 2567].
- นันท์นี ศรีจุมปา และคณะ. (2564). อิทธิพลของไฟแอลออีดีสีต่างๆ ต่อผลผลิตและปริมาณสารคอร์โคซิปีนในเห็ดถั่งเช่าสีทอง (รายงานผลการวิจัย). เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- ปริญญ จันทศรี. (2563). สิ่งที่เราควรรู้ก่อนจะเพาะเห็ดถั่งเช่าเป็นอาชีพ (ออนไลน์). สืบค้นจาก : https://stri.cmu.ac.th/article_detail.php?id=75. [2 ก.พ. 2567].
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, และนิธิยา รัตนูปนนท์. (ม.ป.ป.). *Escherichia coli* / *E. coli* (ออนไลน์). สืบค้นจาก : <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1125/escherichia-coli-e-coli>. [7 ก.พ. 2567].
- พรพรรณ รัตนสัจจะ. (2567). ผลของสารสกัดหยาบจากดอกถั่งเช่าสีทองต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ (รายงานผลการวิจัย). พระนครศรีอยุธยา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.
- มลธิรา ศรีถาวร และคณะ. (2562).ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนดอกและส่วนเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (รายงานผลการวิจัย). นครปฐม: มหาวิทยาลัยศิลปากร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (ม.ป.ป.). วิธีการสกัดสมุนไพรเข้มข้นทำได้อย่างไร? (ออนไลน์). สืบค้นจาก : <https://www.beautycosmet.com/cream-supplements/how-to-herbalextraction-method>. [14 มี.ค. 2566].
- ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม. (ม.ป.ป.). การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร : การสกัดด้วยตัวทำละลาย (ออนไลน์). สืบค้นจาก : https://www3.rdi.ku.ac.th/cl/knowledge/2564/solvent_extraction.pdf. [10 พ.ค. 2567].
- สมาคมพืชสวน. (2562). ถั่งเช่า...ควรรู้สู่สถานการณ (ออนไลน์). สืบค้นจาก : <http://hsst.or.th/wp-content/uploads/journal/journal2-62.pdf>. [17 พ.ค. 2567].
- สุรพงษ์ รัตน. (2555). เทคนิคปลอดเชื้อ (ออนไลน์). สืบค้นจาก : <https://www.gotoknow.org/posts/83965>. [15 มี.ค. 2567].
- ไอยฤทธิ ไทยพิสุทธิกุล. (2562). มารูจัก...เชื้ออีโคไล (ออนไลน์). สืบค้นจาก : <https://www.si.mahidol.ac.th/th/healthdetail.asp?aid=1399>. [19 ก.พ. 2567].

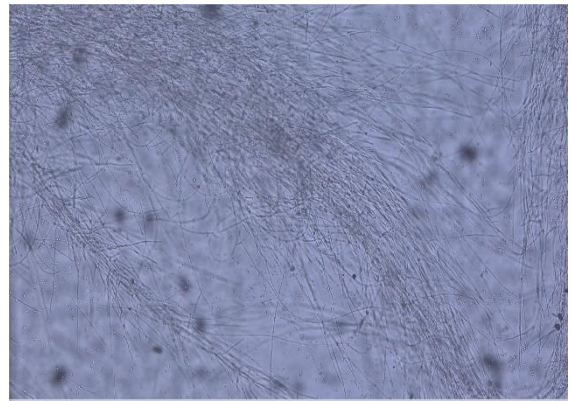
- Atcharaporn Ontawong et al. (2567). A randomized controlled clinical trial examining the effects of *Cordyceps militaris* beverage on the immune response in healthy adults (online). Available : <https://www.nature.com/>.
- Choi, M. A., Lee, W. K., and Kim, M. S. (2542). Identification and antibacterial activity of volatile flavor components of *Cordyceps militaris* (online). Available : <https://koreascience.kr/article/JAKO199911920125814.pdf>.
- H X Wang. (2553). Pharmacological actions of *Cordyceps*, a prized folk medicine (online). Available : <https://academic.oup.com/jpp/article-abstract/57/12/1509/6147429?redirectedFrom=fulltext&login=false>.
- Qi Jiang et al. (2562). Antimicrobial effect and proposed action mechanism of cordycepin against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* (online). Available : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>.

ภาคผนวก

รูปภาพประกอบการทดลอง



ภาพที่ 1 การเตรียมเชื้อเห็ดถึงเชื้อสีทอง



ภาพที่ 2 การดูเส้นใยเห็ดถึงเชื้อสีทองภายใต้กล้องจุลทรรศน์



ภาพที่ 3 การใส่เชื้อเห็ดถึงเชื้อสีทอง

รูปภาพประกอบการทดลอง



ภาพที่ 4 เปิดไฟให้เห็ดถั่งเช่าสีทอง

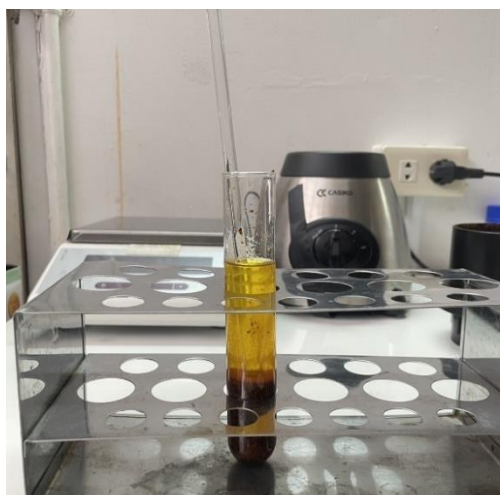


ภาพที่ 5 การเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้แสงไฟสีต่างๆ

รูปภาพประกอบการทดลอง

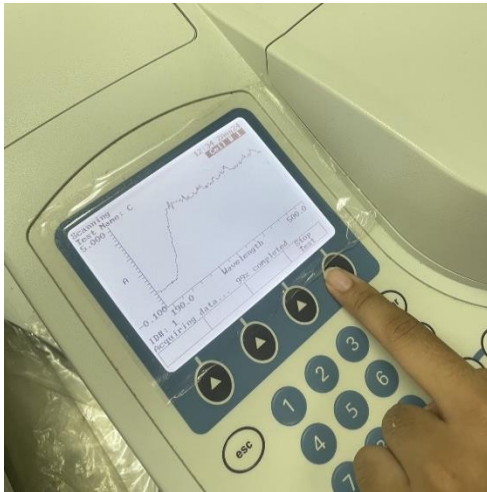


ภาพที่ 6 เก็บเกี่ยวเห็ดถึงเช้าสีทอง

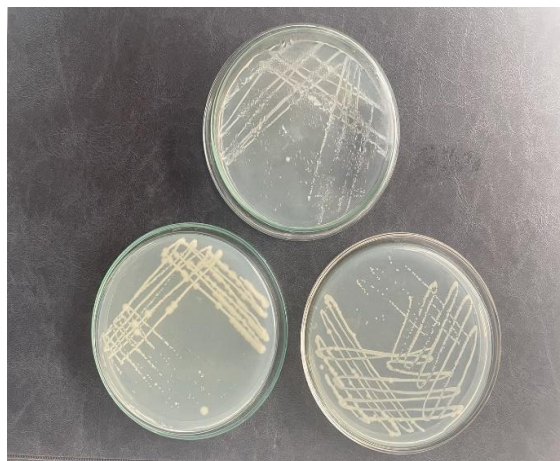


ภาพที่ 7 สกัดสารจากเห็ดถึงเช้าสีทอง

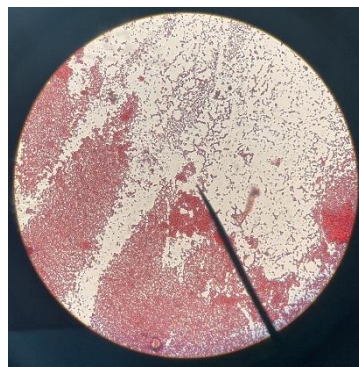
รูปภาพประกอบการทดลอง



ภาพที่ 7 นำสารสกัดไปตรวจสอบด้วย Spectrophotometer



ภาพที่ 8 แยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธีการ cross streak



ภาพที่ 9 ย้อมแกรมและศึกษาเชื้อ *Escherichia coli* โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

รูปภาพประกอบการทดลอง



ภาพที่ 10 การหยดสารสกัดเพื่อยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*