

การตรวจสอบทางพิษวิทยาและความเป็นพิษแบบเฉียบพลันต่อไรทะเลของสารสกัดจากเห็ดเรืองแสง
(*Neonothopanus nambi*)

Phytochemical Screening and Acute Toxicity Test of Luminescent Mushroom
(*Neonothopanus nambi*) Extracts on Brine Shrimp Model

สุกัญญา หลีแจ้^{1*} สุกัญญา พิวดำ² ปาอีชะ เจะหลง² สุนิสา เกื้อชาติ² รุ่งฤทัย นาวิชัย³ พรทิชา ชิมเชิด³
กฤษณะพัฒน์ คล้ายมาลี³ นันทพงศ์ ขำทอง¹ และ อัมพรรัตน์ ประไพวงศ์¹

Sukanlaya Leejae^{1*} Sukanya Piwdam² Paesah Cheklong² Sunisa Kueachat² Rungruthai Nawichai³
Porniticha Chimcherd³ Kritsanapat Khlaymalee³ Nanthaphong Khamthong¹ and Ampornrut Prapaiwong¹

^{1*,1} อาจารย์ประจำ หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต
ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

² นักศึกษาปริญญาตรี หลักสูตรแพทย์แผนไทยบัณฑิต วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต
ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

³ นักศึกษาปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต
ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

^{1*,1} Lecturer in Bachelor of Science, College of Oriental Medicine, Rangsit University,
Phahonyothin Rd., Lak-hok, Pathum Thani, Thailand 12000

² Student in Bachelor of Thai Traditional Medicine, College of Oriental Medicine, Rangsit University,
Phahonyothin Rd., Lak-hok, Pathum Thani, Thailand 12000

³ Student in Bachelor of Science, College of Oriental Medicine, Rangsit University,
Phahonyothin Rd., Lak-hok, Pathum Thani, Thailand 12000

*Corresponding author, E-mail: rhodomyrton_sl@yahoo.com

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพิษวิทยาเบื้องต้นและทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ต่อไรทะเล โดยเพาะเลี้ยงเห็ดเรืองแสงด้วยอาหาร potato dextrose broth บ่มที่อุณหภูมิห้องในสภาวะที่ไม่มีแสง เป็นระยะเวลาหนึ่งเดือน จากนั้นนำส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อมาสกัดด้วย ethyl acetate และส่วนของเส้นใยสกัดด้วย methanol แล้วนำสารสกัดทั้งสองส่วนไปตรวจสอบทางพิษวิทยาเบื้องต้นและทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันในไรทะเล จากการทดลองพบว่าน้ำหนักของสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อมีค่าเท่ากับ 758.10 mg/1 ส่วนเส้นใยมีปริมาณผลได้สารสกัดเท่ากับ 5.49 ผลการศึกษาพิษวิทยาเบื้องต้นของสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อพบกลุ่มสาร 3 กลุ่ม ได้แก่ flavonoid, saponin และ tannin แต่ไม่พบสารกลุ่ม anthraquinone, terpenoid, alkaloid และ cardiac glycoside นอกจากนี้สารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสงไม่มีความเป็นพิษต่อไรทะเล โดยมีค่า median lethal

concentration (LC_{50}) เท่ากับ 1,786.48 $\mu\text{g/ml}$ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเห็ดเรืองแสงมีคุณสมบัติและมีศักยภาพที่จะนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นยาได้ในอนาคต

คำสำคัญ: เห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* พฤษเคมีเบื้องต้น ความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน ไรทะเล

Abstract

Objectives of this research were to study phytochemical screening and to investigate toxicity of luminescent mushroom (*Neonothopanus nambi*) extracts on brine shrimp (*Artemia salina*). The mushroom was cultured in potato dextrose broth and incubated under dark condition at room temperature for 30 days. Culture filtrate and mycelia of the mushroom were extracted with ethyl acetate and methanol, respectively and the extracts were tested for phytochemical screening and toxicity testing. The results demonstrated that the amount of ethyl acetate extract from culture filtrate was 758.1 mg/l, and % yield of methanol extract from mycelia was 5.49% . Phytochemical screening of the extract from culture filtrate revealed the presence of bioactive substances including flavonoids, saponins and tannins, while anthraquinones, terpenoids, alkaloids and cardiac glycosides were not detected. In addition, the results demonstrated that ethyl acetate-extracted culture filtrate of *N. nambi* was not toxic to brine shrimp with median lethal concentration (LC_{50}) value of 1,786.48 $\mu\text{g/ml}$. Therefore, the results from this research will give the basic information on the biological properties of *N. nambi* and unwrap the way to develop this mushroom as a resource of starting material for drugs research.

Keywords: Luminescent mushroom, *Neonothopanus nambi*, phytochemical screening, acute toxicity test, brine shrimp

1. บทนำ

เห็ดเป็นอาหารของมนุษย์ที่นิยมรับประทานกันมาช้านาน เพราะเป็นอาหารที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางสารอาหาร โดยมีวิตามิน โปรตีนและเกลือแร่สูง นอกจากนี้ได้มีการใช้เห็ดบางชนิดเป็นยารักษาโรคจากสรรพคุณดังกล่าวจึงทำให้ปัจจุบันได้มีการตระหนักถึงคุณค่าทางโภชนาการ สรรพคุณทางยาของเห็ดและได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดชนิดต่าง ๆ มากยิ่งขึ้น

เห็ดเรืองแสง สายพันธุ์ *Neonothopanus nambi* อยู่ในวงศ์ Marasmiaceae เป็นเห็ดอีกชนิดหนึ่ง ที่ได้รับความสนใจในปัจจุบัน เป็นเห็ดพิษที่สามารถ

แปลงแสงได้ในที่มืด แสงที่เปล่งออกมาอาจมีสีเขียวอมฟ้า หรือเขียวอมเหลืองตามชนิดของเห็ด การแปลงแสงของเห็ดนั้นเพื่อดึงดูดแมลงที่หากินในเวลากลางคืนให้เข้ามากินดอกเห็ด เพื่อช่วยในการแพร่กระจายสปอร์ไปไกล ๆ จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดจากเห็ดเรืองแสงมีฤทธิ์ในการฆ่าไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปมในพืช (วิระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และคณะ, 2555) และมีฤทธิ์ฆ่าไรไข่ปลาสาเหตุของโรคเห็ดได้เช่นกัน (กันทรส วิชัยดิษฐ และคณะ, 2557) นอกจากนี้ สารสกัดจากเห็ดเรืองแสงมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* (กิริยา มุลทองขุน และคณะ, 2557) และมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ

Staphylococcus epidermidis ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังเป็นหนองได้อีกด้วย (เหมือนฝัน ช่อตรง และคณะ, 2557)

จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเห็ดเรืองแสงมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ แต่การที่จะนำสารสกัดจากเห็ดเรืองแสงมาใช้ประโยชน์นั้นควรทดสอบความเป็นพิษในสัตว์ทดลอง โดยปัจจุบันการตรวจสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของสารนิยมทดสอบในไรทะเล (*Artemia salina*) เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว มีความถูกต้อง ใช้สารปริมาณน้อย และสามารถทดสอบได้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป ส่วนการศึกษาทางพิษวิทยาเบื้องต้นของสารสกัดนั้นมีความจำเป็น เพื่อเป็นการประเมินกลุ่มของสารที่พบได้ในสารสกัดก่อนที่จะนำสารสกัดเหล่านี้ไปศึกษาวิจัยหรือพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในอนาคตต่อไป

2. วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจสอบทางพิษวิทยาเบื้องต้นและทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันต่อไรทะเลของสารสกัดจากเห็ดเรืองแสง

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือ/อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

autoclave, rotary evaporator, 96 wells plate, กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope และเครื่องชั่ง

3.2 กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาวิจัย

ไข่ไข่ของไรทะเล (*Artemia salina*) ในรูปแบบกระป๋อง (Lucky Extra™) มาเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลเทียมที่อุณหภูมิ 25-30°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.3 สมมติฐานการวิจัย

สารสกัดจากเห็ดเรืองแสงไม่มีความเป็นพิษต่อไรทะเล และมีกลุ่มสารประกอบทางเคมีที่น่าสนใจ

3.4 วิธีการเพาะเห็ดเรืองแสง

นำเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. namibi* ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์ร่วมสวนเห็ดบ้านอรัญญิก จ. นครปฐม มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ใช้ส่วนท้ายของ glass pasteur pipette ที่ผ่านการฆ่าเชื้อเจาะขึ้นรู้น้ำจำนวน 3-5 ขึ้นใส่ลงในอาหารเหลว potato dextrose broth (PDB) ปริมาตร 100 ml ที่เตรียมไว้ ปั่นที่อุณหภูมิห้องในสภาวะที่ไม่มีแสงเป็นเวลา 1 เดือน (Prapaiwong et al., 2014)

3.5 การสกัดสารจากเห็ดเรืองแสงโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์

กรองแยกน้ำเลี้ยงเชื้อและเส้นใยเห็ดเรืองแสงด้วยกรวยกรอง ทำการสกัดน้ำเลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสงโดยใช้ตัวทำละลาย ethyl acetate ส่วนเส้นใยเห็ดเรืองแสงนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แช่ด้วย methanol เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน ได้สารสกัดชั้น ethyl acetate และ methanol ตามลำดับ เก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ 4°C (Prapaiwong et al., 2014)

3.6 ตรวจสอบสารพิษเบื้องต้น

การตรวจสอบสารพิษเบื้องต้นของสารสกัดจากเห็ดเรืองแสง 7 กลุ่ม ได้แก่ anthraquinone, terpenoid, flavonoid, saponin, tannin, alkaloid และ cardiac glycoside จะใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน (Harborne, 1998; Trease and Evans, 2002; รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547) ดังนี้

3.6.1 การตรวจสอบ anthraquinone

ชั่งสารสกัด 0.1 g เติมสารละลาย 10% H_2SO_4 5 ml นำไปอุ่น 5 นาที กรองแล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง สกัดด้วย chloroform 2 ml เติมสารละลาย 10% NH_3 2 หยด สังเกตสีชมพูแดงที่เกิดขึ้นแสดงว่าพบ anthraquinone

3.6.2 การตรวจสอบ terpenoid โดยใช้การทดสอบซาลโควสกี (Salkowski test)

ชั่งสารสกัด 0.1 g สกัดด้วย hexane ครั้งละ 3 ml จำนวน 2 ครั้ง เติม chloroform 1 ml เขย่าแล้วค่อยๆ เติม H_2SO_4 เข้มข้น 2 หยด หากเกิดสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อของสารละลายแสดงว่าพบ terpenoid

3.6.3 การตรวจสอบ flavonoid

ชั่งสารสกัด 0.1 g ละลายสารสกัดด้วยสารละลาย 50% ethanol 1.5 ml ใส่หลอดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 3 ชิ้น นำไปต้มและหยด HCl เข้มข้น 2 หยด ให้สารละลายสีเหลือง ส้ม หรือแดง แสดงว่าพบ flavonoid

3.6.4 การตรวจสอบ saponin

ชั่งสารสกัด 0.1 g เติมน้ำกลั่น 2.5 ml นำไปต้มให้เดือดแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำของเหลวที่กรองได้มาเติมน้ำกลั่น 1.5 ml เขย่าอย่างแรง หากมีฟองเกิดขึ้นแสดงว่าพบ saponin

3.6.5 การตรวจสอบ tannin

ชั่งสารสกัด 0.1 g เติมน้ำกลั่น 2.5 ml นำไปอุ่นบน water bath แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำของเหลวที่กรองได้หยดสารละลาย $FeCl_3$ 2 หยดลงไป หากปรากฏสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำแสดงว่าพบ tannin

3.6.6 การตรวจสอบ alkaloid

ชั่งสารสกัด 0.1 g ละลายด้วยสารละลาย 2% H_2SO_4 7 ml นำไปอุ่น 3 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำของเหลวที่กรองได้ไปหยดน้ำยา Драเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) หากปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบ alkaloid

3.6.7 การตรวจสอบ cardiac glycoside

แบ่งการทดสอบออกเป็น 3 ส่วนตามโครงสร้างพื้นฐานของ cardiac glycoside คือส่วนสเตียรอยด์ ส่วนวงแหวนแอลกอฮอล์ไม่อิ่มตัวและส่วน

น้ำตาลดีออกซี การทดสอบทำดังนี้ ชั่งสารสกัด 0.1 g สกัดสีออกด้วย hexane 2 ครั้ง ละลายสารสกัดด้วย 80% ethanol 2 ml ทดสอบส่วนสเตียรอยด์ด้วยการทดสอบลิเบอร์แมน (Liebermann test) โดยเติม glacial acetic acid 2 หยด และ H_2SO_4 2 หยด ถ้าปรากฏสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียว แสดงว่าพบสเตียรอยด์ ทดสอบส่วนวงแหวนแอลกอฮอล์ไม่อิ่มตัวด้วยน้ำยาเคดเด (Kedde's reagent) จะให้สีม่วงและทดสอบส่วนน้ำตาลดีออกซีด้วยการทดสอบเคิลเลอร์-คิลยานี (Keller-Kiliani test) ซึ่งประกอบด้วย glacial acetic acid, สารละลาย $FeCl_3$ และ H_2SO_4 จะปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างสารสกัดกับ H_2SO_4

3.7 การทดสอบความเป็นพิษต่อไรทะเล

พักไข่ของไรทะเลที่อุณหภูมิ 25-30°C โดยมีการให้อากาศและแสงสว่าง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทดสอบการตายของไรทะเลโดยวิธีของ Meyer et al. (1982) โดยเตรียมสารสกัดเห็ดเรืองแสงเป็น stock solution ความเข้มข้น 100 mg/ml ซึ่งละลายด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO) จากนั้น ใช้ pasteur pipette คัดไรทะเลใส่ 96 wells plate หลุมละ 20 ตัว และเติมน้ำทะเลเทียมให้มีปริมาตรครบ 180 μ l แล้วจึงหยดสารสกัดลงไปในหลุม ๆ ละ 20 μ l ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายอยู่ในช่วง 125-4,000 μ g/ml โดยมีน้ำทะเลเทียมและ 4% DMSO เป็น negative control และ 100% DMSO เป็น positive control จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนไรทะเลที่รอดชีวิตหลังจากได้รับสารสกัดจากเห็ดเรืองแสงโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope จากนั้นคำนวณร้อยละการตายของไรทะเลดังสมการ ร้อยละการตาย = (จำนวนไรทะเลเริ่มต้น - จำนวนไรทะเลที่รอดชีวิต) / จำนวนไรทะเลเริ่มต้น $\times$ 100 นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟเพื่อหาค่า LC_{50} โดยระดับความเป็น

พิษของสารสกัดที่ใช้ทดสอบต่อไรทะเลใช้เกณฑ์
มาตรฐานดังนี้ (Finney, 1962)

$LC_{50} \square 1,000 \mu\text{g/ml}$ = ไม่เป็นพิษ

$LC_{50} 500-1,000 \mu\text{g/ml}$ = เป็นพิษต่ำ

$LC_{50} < 500 \mu\text{g/ml}$ = เป็นพิษสูง

4. ผลการวิจัย

4.1 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักของสารสกัด เห็ดเรืองแสง

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสงจำนวน
40 ขวด ๆ ละ 100 ml เป็นเวลา 1 เดือน เมื่อนำส่วนของ
น้ำเลี้ยงเชื้อสกัดด้วย ethyl acetate ได้น้ำหนักของ
สารสกัดเท่ากับ 3.03 g คิดเป็นน้ำหนักสารสกัดต่อ 1
ลิตร เท่ากับ 758.10 mg/l ส่วนเส้นใยมีน้ำหนักเปียก
เท่ากับ 68.16 g ซึ่งเมื่อนำไปสกัดด้วย methanol จะได้
น้ำหนักสารสกัด 3.74 g คิดเป็น % yield เท่ากับ 5.49
โดยสารสกัดที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อมีลักษณะเหนียว มีสี
น้ำตาล ส่วนสารสกัดจากเส้นใยมีสีน้ำตาลเข้ม แต่มี
ความเหนียวน้อยกว่าสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อ

4.2 ผลการตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นของ สารสกัดจากเห็ดเรืองแสงส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อ

จากการตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นทั้ง 7
กลุ่ม ได้แก่ anthraquinone, terpenoid, flavonoid,
saponin, tannin, alkaloid และ cardiac glycoside โดย
ใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน พบว่าตรวจพบสาร
จำนวน 3 กลุ่ม คือ flavonoid, saponin และ tannin
โดยสารกลุ่ม flavonoid จะให้สารละลายสีเหลือง กลุ่ม
saponin ให้สารละลายสีเหลือง เมื่อเขย่าแรง ๆ จะเกิด
ฟอง และกลุ่ม tannin ให้สารละลายสีเขียวดำ ดังแสดง
ในตารางที่ 1 และรูปที่ 1

4.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสาร

สกัดเห็ดเรืองแสงต่อไรทะเล

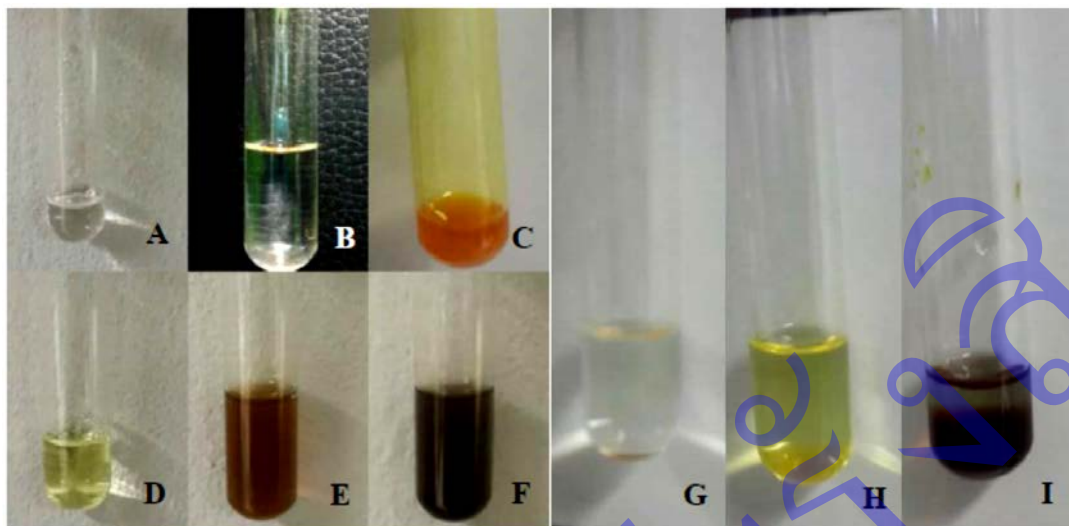
จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัด
จากน้ำเลี้ยงเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่สกัดด้วย ethyl
acetate ที่ความเข้มข้น 1,000, 1,500, 2,000 และ 3,000
 $\mu\text{g/ml}$ พบว่าไรทะเลมีร้อยละการตายเท่ากับ 2.68,
17.93, 67.75 และ 100 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 2
จากการคำนวณค่า LC_{50} พบว่าสารสกัดจากน้ำเลี้ยง
เชื้อเห็ดเรืองแสงมีค่า LC_{50} เท่ากับ 1,786.48 $\mu\text{g/ml}$ ดัง
แสดงในรูปที่ 3 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากน้ำเลี้ยง
เชื้อเห็ดเรืองแสงที่สกัดด้วย ethyl acetate ไม่ก่อให้เกิด
ความเป็นพิษต่อไรทะเล เนื่องจากค่า $LC_{50} \square 1,000$
 $\mu\text{g/ml}$ สอดคล้องตามมาตรฐานที่กำหนด (Finney,
1962)

ตารางที่ 1 การตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจาก
เห็ดเรืองแสงส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อ

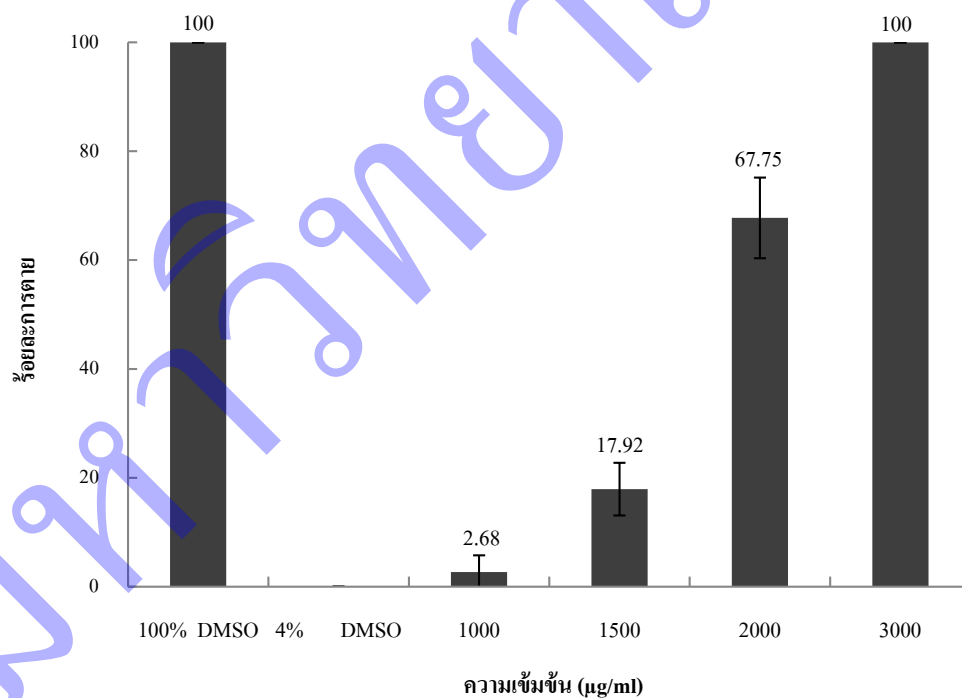
การทดสอบกลุ่ม สาร	ผลการทดสอบ	ลักษณะการเกิดสี
Anthraquinone	-	สีเหลืองอ่อน
Terpenoid	-	ไม่เกิดสี
Flavonoid	+	สีเหลือง
Saponin	+	สีเหลือง เกิดฟอง
Tannin	+	สีเขียวดำ
Alkaloid	-	สีดำ
Cardiac glycoside		
- สเตียรอยด์	-	ไม่เกิดสี
- วงแหวนแอลกอฮอล์	-	สีเหลืองใส
- น้ำตาลคือออกซิ	+	วงแหวนสีน้ำตาล

หมายเหตุ: + คือ ตรวจพบ

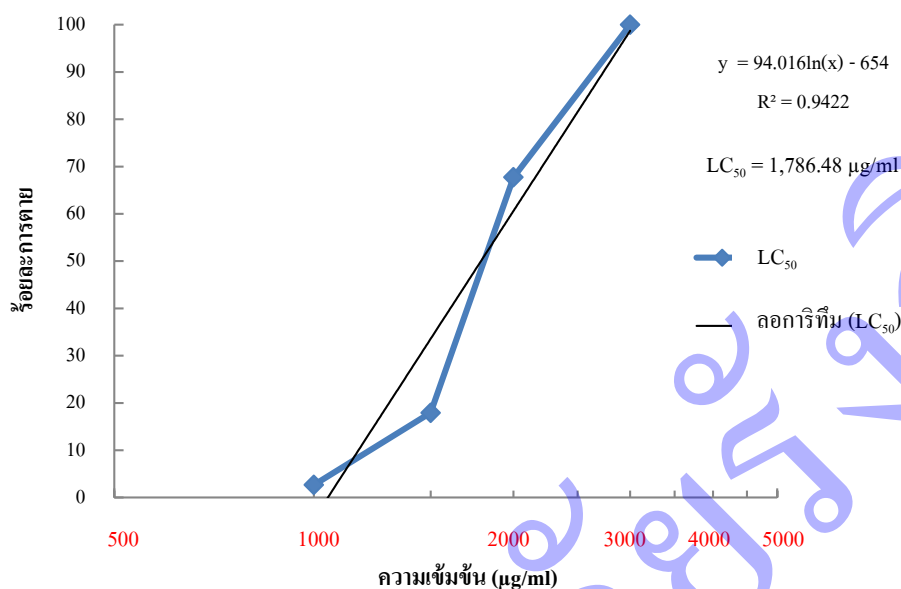
- คือ ตรวจสอบไม่พบ



รูปที่ 1 ปฏิกริยาการเกิดสีและตะกอนของสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสงตามคุณลักษณะการเกิดปฏิกิริยาเคมีของสารพฤกษเคมี 7 กลุ่ม ได้แก่ anthraquinone (A), terpenoid (B), flavonoid (C), saponin (D), tannin (E), alkaloid (F) cardiac glycoside ได้แก่ สเตียรอยด์ (G), วงแหวนเล็กโทนไม่อิ่มตัว (H) และน้ำตาลคีโอซิด (I)



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสงกับอัตราการตายของไรทะเล



รูปที่ 3 สมการเส้นตรงที่ใช้ในการคำนวณหา LC_{50} ของสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสงต่อร้อยละการตายของไรทะเล

5. การอภิปรายผล

จากผลการตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากเห็ดเรืองแสงส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อพบว่า สารสกัดดังกล่าวให้ผลบวกกับการทดสอบทางพฤษเคมีทั้งหมด 3 กลุ่ม ได้แก่ flavonoid, saponin และ tannin แต่เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยเรื่องการประเมินเห็ดเรืองแสงโดยการตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีของสารสกัดจากเส้นใยและน้ำเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี TLC pattern พบสาร 3 กลุ่ม ได้แก่ flavonoid, cardiac glycoside และ anthraquinone (นิชากร ศรีพุ่มบาง และมาณิกา ไพนรินทร์, 2557) เมื่อตรวจสอบด้วยวิธีการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีและตะกอนพบสารเพียง 1 กลุ่มที่สอดคล้องกัน คือ flavonoid แต่ไม่พบสารกลุ่ม anthraquinone และ cardiac glycoside เพราะอาจเกิดจากปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ชนิดของอาหารในการเลี้ยงเห็ดเรืองแสงที่ไม่เหมือนกัน (อาหาร PDB สำเร็จรูป และอาหาร PDB ที่เตรียมเอง) และจำนวนวันในการ

เลี้ยงเห็ดดังกล่าว (30 วันกับ 46 วัน) จึงทำให้ผลที่ออกมาแตกต่างกัน

ในธรรมชาติเห็ดเรืองแสงจัดเป็นเห็ดพิษ ซึ่งสารพิษที่เห็ดสร้างขึ้นมานั้นเพื่อปกป้องตัวเองจากแมลงและเชื้อโรคที่มากัดกินหรือทำลายดอกเห็ด จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการนำน้ำเลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. namibi* ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร yeast malt broth ที่อุณหภูมิ 28°C เขย่าด้วยความเร็ว 120 rpm เป็นระยะเวลา 10 วัน โดยสารพิษที่เห็ดสร้างขึ้นมานั้นมีฤทธิ์ในการฆ่าไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ในหลอดทดลองได้ (วิรัตน์ นามานุศาสตร์ และวีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์, 2554) แต่จากการทดลองในครั้งนี้พบว่าสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร PDB สำเร็จรูป บ่มที่อุณหภูมิห้อง ในสถานะที่ไม่มีแสง ไม่มีการเขย่า เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าไม่มีความเป็นพิษแบบเฉียบพลันต่อไรทะเล โดยค่า LC_{50} ของสารสกัดจาก

น้ำเลี้ยงเชื้อที่สกัดด้วย ethyl acetate ต่อไรทะเลมีค่าเท่ากับ 1,786.48 $\mu\text{g/ml}$ จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสภาวะและชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เพาะเลี้ยงนั้นมีผลต่อความเป็นพิษของเห็ดเรืองแสง

6. บทสรุป

จากการทดลองเลี้ยงเห็ดเรืองแสงด้วยอาหาร PDB เป็นเวลา 1 เดือนภายใต้สภาวะที่ไม่มีแสง จากนั้นนำมาสกัดสารในส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อด้วย ethyl acetate และส่วนเส้นใยด้วย methanol ได้ค่าน้ำหนักและค่า % yield ของสารสกัด คือ 758.10 mg/l และ 5.49% ตามลำดับ ส่วนการทดสอบพิษเคมีโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน พบว่าสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อของเห็ดเรืองแสงตรวจสอบสาร 3 กลุ่ม คือ flavonoid, saponin และ tannin โดยไม่พบสารในกลุ่ม anthraquinone, terpenoid, alkaloid และ cardiac glycoside และผลการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดดังกล่าวต่อไรทะเล พบว่าสารสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อมีค่า LC_{50} เท่ากับ 1,786.48 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อไรทะเล

7. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก และสถาบันวิจัยมหาวิทยาลัยรังสิต สำหรับอุปกรณ์และเงินทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้ (รหัสโครงการ 004/2557)

8. เอกสารอ้างอิง

กันทรส วิชัยดิษฐ, ปาริสา แดงบุตร และ สุชาวดี ภูมิรัตน์. (2557). การศึกษาฤทธิ์การฆ่าไรไข่ปลา (*Luciaphorus perniciosus* Rack) ของส่วนสกัดหยาบจากเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi* Speg.). ปรินญา

นิพนธ์ ปรินญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต, วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต.

ศิรยา มูลทองขุน, จินต์สุจิ รักจิตพินิจกุล และ อิศราภรณ์ วุฒิหิรัญวิทย์. (2557). การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเห็ดเรืองแสงต่อการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*. ปรินญา นิพนธ์ ปรินญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต, วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต.

ณิชากร ศรีพุ่มบาง และ มาณิกา ไพนรินทร์. (2557). การประเมินคุณภาพเห็ดเรืองแสง. ปรินญา นิพนธ์ ปรินญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต, วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต.

รัตนาน อินทรานุปกรณ์. (2547). การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วีรวัตร นามนุศาสตร์ และ วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์. (2554). การทดสอบวัสดุในการเพาะเลี้ยงและกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายของเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* Speg. แก่นเกษตร. 39: 202-207.

วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์, สุริย์พร บัวอาจ, สมเดช กนกเมธากุล, รัชมี เหล็กพรหม, วีรวัตร นามนุศาสตร์ และ อนันต์ หิรัญสาลี. (2555). การใช้ประโยชน์จากสารพิษของเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* Speg. ข่าวสารเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร. 4: 4-7.

เหมือนฝัน ช่อตรง, ฐานิกา กระจำฉาย และ รัตนานภรณ์ เทพธวัช. (2557). การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ของสารสกัดจากเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*). ปรินญา นิพนธ์ ปรินญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต,

ศาสตรบัณฑิต, วิทยาลัยการแพทย์แผน
ตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต.

Finney, D. J. (1962) . Probit analysis. London:
Cambridge University Press, UK.

Harborne, J.B. (1998). Phytochemical methods. A
guide to modern techniques of plant
analysis. 3rd Edition. London: Chapman
& Hall, UK.

Meyer, B. N. , Ferrigni, N. R. , Putnum, J. E. ,
Jacobsen, L. B. , Nichols, D. E. &
McLaughlin, J.L. (1982). Brine shrimp: a
convenient general bioassay for active
plant constituents. Planta Med. 45: 31-34.

Munoz, M., Cedeno, R., Rodriguez, J., Knapp Van
der knapp, W., Mialhe, E. & Bachere, E.
(2000) . Measurement of reactive oxygen
intermediate production in heamocytes of
the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*.
Aquaculture 191: 89-107.

Prapaiwong, A., Leejae, S., Sudsai, T., Phonkrathok,
S., Suksuwan, A., Tangyuenyongwatana, P.
& Kraisintu K. (2014) . *Neonothopanus*
nambi Speg., a new source of antibiotic and
anti-inflammatory agents. p. 257. Abstract
5th International Conference on Natural
Products for Health and Beauty, 6-8 May
2014. Phuket, Thailand.

Trease, G. E. & Evans, W. C. (2002) .
Pharmacognosy. 15th Edition. Edinburgh:
Saunders, W.B., UK.