รายงานการวิจัย

โครงการ

การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดทางยา (*Lignosus rhinocerus*) แบบฝังกลบเพื่อกระตุ้นการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ

Development of soil cultivation of medicinal mushrooms (*Lignosus rhinocerus*) to stimulate the growth and biological activity of tiger milk mushroom sclerotia

โดย

ดร.กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล และคณะ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2565

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์นี้เป็นการดำเนินโครงการการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดทางยา (*Lignosus rhinocerus*) แบบฝังกลบเพื่อกระตุ้นการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2564 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย 1 ปี คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติที่สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินโครงการและขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์อย่างมากในการดำเนินการวิจัยตั้งแต่การนำเสนอโครงการในรอบแรกและรายงานการวิจัยในรอบ 6 เดือน ทำให้การพัฒนาการวิจัยในโครงการเป็นไปในทิศทางที่มีประโยชน์อย่างสูงสุด จนกระทั่งการดำเนินโครงการนี้สำเร็จเรียบร้อย ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีที่ได้อำนวยความสะดวกในการใช้พื้นที่และเครื่องมือต่างๆสำหรับการศึกษาวิจัย รวมทั้งเกษตรกรผู้เพาะเห็ดนมเสือที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลที่เป็นประโยชน์แก่คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณน้องเจ้าหน้าที่จากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติทุกท่านที่คอยประสานงานให้ข้อมูลและรายละเอียดในการดำเนินโครงการ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ดร.กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล

พฤศจิกายน 2565

บทสรุปผู้บริหาร

ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดทางยา (*Lignosus rhinocerus*) แบบฝังกลบเพื่อกระตุ้นการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ

(ภาษาอังกฤษ) Development of soil cultivation of medicinal mushrooms (*Lignosus rhinocerus*) to stimulate the growth and biological activity of tiger milk mushroom sclerotia

คณะผู้วิจัย

1. นางกัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล
   สังกัดศูนย์บริการทางการศึกษาราชบุรี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
   หมายเลขโทรศัพท์ 086 6552080 email: kanteera.soo@kmutt.ac.th
2. นางธิดาพร โคตรพัฒน์
   สังกัดศูนย์บริการทางการศึกษาราชบุรี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
   หมายเลขโทรศัพท์ 086 9002412 email: thidaporn.the@mail.kmutt.ac.th

งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 งบประมาณที่ได้รับ 584,000 บาท
ระยะเวลาทำวิจัย ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2565

สรุปโครงการวิจัย

ความสำคัญและที่มาของปัญหาในการทำกิจกรรมวิจัย

เห็ดนมเสือหรือ tiger milk mushroom (*Lignosus rhinocerus*) เป็นเห็ดสมุนไพรหรือเห็ดทางยาอีกหนึ่งชนิดที่ส่วนเหง้าเห็ด (sclerotium) มีคุณสมบัติทางยาโดดเด่นในเรื่องของการรักษาโรคปอดและโรคระบบทางเดินหายใจ และยังสามารถรักษาโรคมะเร็งได้หลายชนิด จากการที่เห็ดนมเสือสามารถหาได้ยากในป่าทึบจึงทำให้มีปริมาณไม่เพียงพอต่อการบริโภคเป็นอาหารเสริมสุขภาพ การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือเลียนแบบธรรมชาติด้วยวิธีฝังกลบจึงเกิดขึ้น แต่ปัญหาในการเพาะเหง้าเห็ดนมเสือของเกษตรกรไทยคือ ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือเพื่อให้ได้เหง้านาน 6-8 เดือน อีกทั้งเกษตรกรมีวิธีการเพาะแบบฝังกลบที่หลากหลายในเรื่องของขนาดก้อนเห็ดที่ใช้ ลักษณะการจัดเรียงก้อนเห็ด และวัสดุที่ใช้ในการเพาะ ซึ่งเกษตรกรได้ทำการทดลองแบบลองผิดลองถูกโดยไม่ได้มีงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์รองรับ อีกทั้งเป็นการศึกษาเฉพาะในเรื่องขนาดและน้ำหนักของเหง้าเพราะเป็นสิ่งที่เกษตรกรสามารถสังเกตด้วยตาและวัดน้ำหนักได้ ในส่วนของฤทธิ์ทางชีวภาพไม่ได้มีการศึกษา

ด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้นคณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาวิธีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบโดยดูทั้งปัจจัยในการกระตุ้นการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ เพื่อที่จะเป็นแนวทางในการถ่ายทอดความรู้จากงานวิจัยสู่เกษตรกร ภาครัฐ ภาคเอกชน บุคคลที่สนใจเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือ และเป็นการสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ผู้บริโภคเนื่องจากมีงานวิจัยรองรับในฐานะอาหารเสริมสุขภาพ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของขนาดก้อนต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ
2. เพื่อศึกษาผลของการจัดเรียงก้อนเห็ดนมเสือต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ
3. เพื่อศึกษาผลของก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) และวัสดุฝังกลบต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ
4. เพื่อศึกษาผลของสารประกอบซีลีเนียม (selenium) ต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ
5. เพื่อศึกษาผลของกลีเซอรอล (glycerol) ต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ขอบเขตของการศึกษา

โครงการวิจัยนี้ดำเนินการศึกษาเพื่อพัฒนาการเพาะเห็ดนมเสือ (*L. rhinocerus*) แบบฝังกลบด้วยการศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ อันได้แก่ ขนาดก้อน วิธีการจัดเรียงก้อน ชนิดวัสดุฝังกลบ โดยเน้นการใช้ประโยชน์ร่วมจากก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) ที่เหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดที่อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี มาเป็นส่วนผสมของวัสดุฝังกลบ ผลของสารประกอบซีลีเนียม และผลของกลีเซอรอล ที่มีต่อการเจริญของเหง้าเห็ดนมเสือ (sclerotium) และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเหง้าเห็ดนมเสือ อันได้แก่ คุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง (ปอดและเต้านม) ต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ นอกจากนี้ยังทำการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ เห็ดนมเสือที่เก็บได้จากป่าธรรมชาติ และเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบจากฟาร์มเกษตรกร

ระเบียบวิธีวิจัย

1. เตรียมก้อนอาหารสำหรับเพาะเห็ดนมเสือด้วยสูตรอาหารเช่นเดียวกับก้อนอาหารสำหรับเพาะเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าภูฐาน โดยมีส่วนประกอบดังนี้ ได้แก่ ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 กิโลกรัม รำละเอียด 7

กิโลกรัม ปลายข้าว 1 กิโลกรัม ยิปซัม (แคลเซียมซัลเฟต) 0.5 กิโลกรัม ดีเกลือ (แมกนีเซียมซัลเฟต) 0.2 กิโลกรัม ปูนขาว 1 กิโลกรัม ภูไมท์ 2-3 กิโลกรัม และน้ำสำหรับปรับความชื้น 70-80 ลิตร จากนั้นนำวัสดุที่ผสมแล้วบรรจุลงในถุงพลาสติก อัดให้แน่น สวมคอขวด ใช้ยางรัด ปิดด้วยจุกสำลี แล้วนำถุงก้อนอาหารเห็ดไปนึ่งฆ่าเชื้อ ทำการหยอดหัวเชื้อเห็ดนมเสือในเมล็ดข้าวฟ่างลงในถุงก้อนอาหารเห็ดที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นบ่มก้อนอาหารที่มีเชื้อในโรงเรือนที่มีอุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส เส้นใยเห็ดใช้ระยะเวลาประมาณ 2 เดือน ในการเจริญเต็มก้อน หลังจากเชื้อเจริญเต็มก้อนทำการบ่มก้อนเชื้อต่อเป็นระยะเวลา 2 เดือนเพื่อให้เส้นใยเห็ดรัดตัวมากขึ้น แล้วจึงแกะถุงพลาสติกออกเพื่อนำไปใช้ในการทดลองการฝังกลบต่อไป

2. การศึกษาผลของวิธีการสกัดสารจากเหง้าเห็ดนมเสือต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ ก้อนเห็ดนมเสือถูกฝังกลบเป็นระยะเวลา 6 เดือนจากนั้นทำการขุดเหง้า นำเหง้ามาล้างทำความสะอาด ฝานเป็นแผ่นบาง อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำไปบดเป็นผง สกัดสารด้วยน้ำร้อน น้ำเย็น และแอลกอฮอล์ การสกัดด้วยน้ำเย็น (cold water extraction) ทำโดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติมน้ำเย็น 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง การสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) ทำโดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติมน้ำเดือด 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที การสกัดด้วยเอทานอล (ethanol) ทำโดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติม 95% เอทานอล 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากบ่มครบเวลาทำการกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 สารสกัดจากการสกัดด้วยน้ำร้อนถูกนำไปทำแห้งด้วยการฟรีซดรายและละลายกลับด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดจากการสกัดด้วยเอทานอลถูกนำไปทำแห้งด้วยการระเหยในเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และละลายกลับด้วยสารไดเมทิวซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide) ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ของสารสกัดเหง้าเห็ด ดังวิธีการวิจัยข้อ 9-13

3. การศึกษาผลของก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) และวัสดุเพาะ ได้แก่ ขุยมะพร้าว ดิน ฟางข้าว ขี้เลื่อย เป็นต้น ต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ ก้อนเห็ดนมเสือถูกฝังกลบเป็นระยะเวลา 6 เดือนจากนั้นทำการขุดเหง้า แล้วนับจำนวนเหง้า วัดขนาดเหง้า (ในหน่วยเซนติเมตร) วัดน้ำหนักเหง้า (ในหน่วยกรัม) วัดน้ำหนักแห้ง (ในหน่วยกรัม) บดเป็นผง สกัดสารด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ ดังวิธีการวิจัยข้อ 9-13

4. การศึกษาผลของขนาดก้อนเห็ดนมเสือต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ โดยมีการศึกษาขนาดก้อนเห็ด ได้แก่ 250 500 750 และ 900 ที่ส่งผลต่อลักษณะการเจริญและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ด ก้อนเห็ดนมเสือถูกฝังกลบเป็นระยะเวลา 6 เดือนจากนั้นทำการขุดเหง้าแล้วนับจำนวนเหง้า วัดขนาดเหง้า (ในหน่วยเซนติเมตร) วัดน้ำหนักเหง้า (ในหน่วยกรัม) วัดน้ำหนักแห้ง (ในหน่วยกรัม) บดเป็นผง สกัดสารด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ ดังวิธีการวิจัยข้อ 9-13

5. การศึกษาผลของการจัดเรียงก้อนเห็ดนมเสือต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ โด มีการศึกษาการจัดเรียงก้อนเห็ดแบบเดี่ยวและกลุ่ม ได้แก่ 1 2 3 4 และ 6 ก้อน ที่ส่งผลต่อลักษณะการเจริญและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ด ก้อนเห็ดนมเสือถูกฝังกลบเป็นระยะเวลา 6 เดือนจากนั้นทำการขุดเหง้า แล้วนับจำนวนเหง้า วัดขนาดเหง้า (ในหน่วยเซนติเมตร) วัดน้ำหนักเหง้า (ในหน่วยกรัม) วัดน้ำหนักแห้ง (ในหน่วยกรัม) บดเป็นผง สกัดสารด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ ดังวิธีการวิจัยข้อ 9-13

6. การศึกษาผลของสารประกอบซีลีเนียม (selenium) ได้แก่ sodium selenate (Na_2SeO_4) sodium selenite (Na_2Seo_3) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ ก้อนเห็ดนมเสือถูกฝังกลบเป็นระยะเวลา 6 เดือนจากนั้นทำการขุดเหง้า แล้วนับจำนวนเหง้า วัดขนาดเหง้า (ในหน่วยเซนติเมตร) วัดน้ำหนักเหง้า (ในหน่วยกรัม) วัดน้ำหนักแห้ง (ในหน่วยกรัม) บดเป็นผง สกัดสารด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ ดังวิธีการวิจัยข้อ 9-13

7. การศึกษาอิทธิพลของกลีเซอรอล (glycerol) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ ก้อนเห็ดนมเสือถูกฝังกลบเป็นระยะเวลา 6 เดือนจากนั้นทำการขุดเหง้าแล้วนับจำนวนเหง้า วัดขนาดเหง้า (ในหน่วยเซนติเมตร) วัดน้ำหนักเหง้า (ในหน่วยกรัม) วัดน้ำหนักแห้ง (ในหน่วยกรัม) บดเป็นผง สกัดสารด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ ดังวิธีการวิจัยข้อ 9-13

8. การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบและเห็ดนมเสือที่เก็บได้จากป่าธรรมชาติ โดยทำการเก็บเหง้าเห็ดนมเสือจากป่าทำธรรมชาติและนำมาบดเป็นผง สกัดสารด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ เปรียบเทียบกับเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการเพาะแบบฝังกลบ ดังวิธีการวิจัยข้อ 9-13

9. ศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็งและต้านอนุมูลอิสระ

9.1 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วยวิธี

9.1.1 การยับยั้งการเสียสภาพของโปรตีน (Protein denaturation)

ตรวจวิเคราะห์ความสามารถของสารสกัดในการยับยั้งการเสียสภาพของโปรตีนด้วยวิธีดัดแปลงมาจากวิธีของ Williams et al. (2008) โดยเตรียมสารละลาย BSA (bovine serum albumin) ในสารละลาย Tris-acetate buffer (pH 6.8) ให้มีความเข้มข้น 0.2% โดยมวล/ปริมาตร จากนั้นนำสารละลาย BSA ที่เตรียมไว้ปริมาตร 2850 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารสกัดเหง้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร โดยใช้ Diclofenac sodium เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ แล้วจึงคำนวณค่า % inhibition of protein denaturation ดังสมการ

inhibition of protein denaturation (%) = [(A0– A1)/ A0] x 100

โดยที่ A0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A1 = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใส่สารสกัดเห็ด

ความสามารถในการยับยั้งการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนจะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดเหง้าเห็ดที่สามารถยับยั้งการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนได้ 50%

9.1.2 การยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนส (Proteinase inhibition assay)

ตรวจวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Proteinase ซึ่งคือเอนไซม์ Trypsin ในการย่อยสารตั้งต้นที่เป็นโปรตีน casein ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Gunathilake et al. (2018) โดยเตรียมสารละลายเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin) ในสารละลาย Tris-HCl (25 mM, pH 7.4) ให้มีความเข้มข้น 0.06 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นนำเอนไซม์ทริปซิน ที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารสกัดเหง้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำมาแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำหลอดทดลองออกมาเติมสารละลายเคซีนความเข้มข้น 0.8% โดยมวล/ปริมาตร ผสมให้เข้ากันและบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติม Perchloric acid (70%) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที และนำสารละลายใสส่วนบนมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร แล้วจึงคำนวณค่า % inhibition of protein denaturation ดังสมการ

inhibition of proteinase activity (%) = [(A0– A1)/ A0] x 100

โดยที่ A0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A1 = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใส่สารสกัดเห็ด

ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Proteinase จะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดเหง้าเห็ดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Proteinase ได้ 50%

9.2 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านมะเร็งด้วยวิธี MTT (3,(4,5- dimethythiazol-2-yl)-2,3-diphenyl tetrazolium bromide) assay

ตรวจวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านมะเร็งด้วยวิธี MTT assay โดยวิธีของ Rossiana et al. (2018) ซึ่งจะมีการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือต่อเซลล์ไลน์มะเร็ง (มะเร็งปอดและมะเร็งเต้านม) เริ่มต้นทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์มะเร็งปอด (A549) และเซลล์เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) จำ นวน $1X10^4$ เซลล์ต่อหลุม ใน 96-well culture plate โดยมีกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มที่ไม่ใส่เซลล์ (blank) นำไปบ่มในตู้บ่ม (CO_2 incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ความสามารถในการยับยั้งการการเจริญเติบโตของเซลล์จะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดเหง้าเห็ดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ 50%

9.3 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี

9.3.1 DPPH (2,2-diphenyl-1-hydrazyl-hydrate) assay

ตรวจวิเคราะห์ด้วยโดยวิธีของ Islam et al. (2012) ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีของ Ferreira et al. (2009) โดยนำสารสกัดเหง้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ความเข้มข้น 0.024 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในเมทานอล ปริมาตร 2.7 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แล้วจึงคำนวณค่า % radical scavenging activity (RSA) ดังสมการ

DPPH radical scavenging activity (%) = [(A0– A1)/ A0] x 100

โดยที่ A0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A1 = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใส่สารสกัดเห็ด

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดเหง้าเห็ดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50%

9.3.2 Ferric reducing-antioxidant power assay (FRAP assay)

ตรวจวิเคราะห์ด้วยโดยวิธีของ Islam et al. (2012) ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีของ Benzie and Strain (1999) เริ่มต้นเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ (Acetate buffer) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ pH 3.6 สารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ จากนั้นนำสารสกัดเหง้าเห็ดความ

เข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) ความเข้มข้น 100, 200, 400, 600, 1000 ไมโครโมล/ลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่าไมโครโมลาร์สมมูลของเฟอรัสในตัวอย่างสารสกัดเห้าเห็ด 1 กรัม (µmol Fe2+ equivalent/1 g mushroom extract)

10. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocateu โดยวิธีของ Azieana et al. (2017) ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีของ Harbourne et al. (2009) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดถูกวิเคราะห์ด้วยการใช้ Folin-Ciocalteu Reagent โดยนำสารสกัดเห้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับสารละลาย Folin-Ciocalteu Reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 7.8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที แล้วจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid) ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกในตัวอย่างสารสกัดเห้าเห็ด 1 กรัม (mg gallic acid equivalent/1 g mushroom extract)

11. วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content)

ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดถูกวิเคราะห์โดยนำสารสกัดเห้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร จากนั้นผสมเข้ากับสารละลายโซเดียมไนเตรท ($NaNO_2$) เข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) เข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเควอซิทิน (Quercetin) ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80,100 มิลลิกรัม/ลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินในตัวอย่างสารสกัดเห้าเห็ด 1 กรัม (mg quercetin equivalent/1 g mushroom extract)

12. วิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide content)

ตรวจวิเคราะห์โดยวิธี phenol–sulfuric acid method วิเคราะห์โดยวิธีของ Ma and Yu (2017) ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีของ Dubois et al. (1955) โดยนำสารสกัดเห้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับกรดซัลฟิวริก (sulfuric acid) ปริมาตร 3.75 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล (phenol) เข้มข้นร้อยละ 6 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มในอ่างควบคุม

อุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกลูโคส (D-glucose) ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกลูโคสในตัวอย่างสารสกัดเหง้าเห็ด 1 กรัม (mg glucose equivalent/1 g mushroom extract)

13. วิเคราะห์ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ (Total triterpenoid content)

ตรวจวิเคราะห์โดยวิธีของ Fan & He (2006) โดยนำสารสกัดเหง้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับกรดเปอร์คลอริก (perchloric acid) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายวนิลลิน-กรดอะซิติก (vanillin-acetic acid) เข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร และกรดอะซิติก (acetic acid) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 548 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดยูโซลิก (ursolic acid) ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8, 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดยูโซลิกในตัวอย่างสารสกัดเหง้าเห็ด 1 กรัม (mg ursolic acid equivalent/1 g mushroom extract)

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

ในประเทศ/ต่างประเทศ	ชื่อประเทศ/จังหวัด	พื้นที่ที่ทำวิจัย	ชื่อสถานที่
ในประเทศ	ราชบุรี	ห้องปฏิบัติการกลางชีววิทยา	อาคารวิจัย ชั้น 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรี
ในประเทศ	กรุงเทพมหานคร	ห้องปฏิบัติการ Microbial Technology Service Center	ภาควิชาจุลชีววิทยา ชั้น 16 อาคารมหาวชิรุณหิศ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การรวบรวมข้อมูล

ทำการรวบรวมข้อมูลผลการวิจัยด้วยการทำการทดลองศึกษาสภาวะปัจจัยต่างๆในการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือใน อันได้แก่ ขนาดก้อน วิธีการจัดเรียงก้อน วัสดุเพาะที่เหมาะสมโดยเน้นการใช้ประโยชน์จากก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) ที่เหลือทิ้งจากการเพาะเห็ด ผลของสารประกอบซีลีเนียม และผลของกลีเซอรอลที่ส่งผลต่อการกระตุ้นปริมาณผลผลิต (จำนวนเหง้า ขนาดเหง้า น้ำหนักเหง้า) และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (คุณสมบัติ

ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด พอลิแซ็กคาไรด์ และไตรเทอพีนอยด์) โดยมีการดำเนินการทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์ข้อมูล (ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร) ด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

ผลการวิจัย

จากการศึกษาวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์จากเหง้าเห็ดนมเสือพบว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนให้ปริมาณสารสกัด กรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ และโพลีแซคคาไรด์มากที่สุด รวมถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ส่วนไตรเทอร์พีนอยด์พบปริมาณมากที่สุดในสารที่สกัดด้วยเอทานอล สารที่สกัดด้วยน้ำเย็นจะมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูงกว่าสารที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อน การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือพบว่าปัจจัยที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบแตกต่างกันย่อมส่งผลต่อลักษณะการเจริญของเหง้า ชนิดสารสำคัญ ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพให้มีความแตกต่างกันไป รายละเอียดดังตารางสรุปแนวทางการเก็บรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลตามวัตถุประสงค์

ตารางสรุปแนวทางการเก็บรวบรวม และวิเคราะห์ข้อมูลตามวัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์	ตัวแปร/ประเด็นที่ศึกษา	การวิเคราะห์ข้อมูล
เพื่อศึกษาผลของวิธีการสกัดต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของเห้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ	วิธีการสกัด ได้แก่ การสกัดด้วยน้ำร้อน น้ำเย็น และ 95%เอทานอล	การสกัดด้วยน้ำร้อนให้ปริมาณสารสกัด กรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ และโพลีแซคคาไรด์มากที่สุด รวมถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ส่วนไตรเทอร์พีนอยด์พบปริมาณมากที่สุดในสารที่สกัดด้วยเอทานอล สารที่สกัดด้วยน้ำเย็นจะมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูงกว่าสารที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อน
เพื่อศึกษาผลของขนาดก้อนต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเห้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ	ขนาดก้อนเห็ด ได้แก่ 250 500 750 และ 900 กรัม	การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือขนาด 900 กรัม จะทำให้เห้าน้ำหนักมากที่สุด (74.31 กรัม) แต่ปริมาณกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ โปรตีน และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และการต้านมะเร็งมีมากที่สุดในสารสกัดเห้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดขนาด 500 กรัม
เพื่อศึกษาผลของการจัดเรียงก้อนเห็ดนมเสือต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเห้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ	การจัดเรียงก้อนเห็ดแบบเดี่ยวและกลุ่ม ได้แก่ 1 2 3 4 และ 6 ก้อน	การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือแบบเรียง 3 ก้อน จะทำให้เห้าน้ำหนักมากที่สุด (100.13 กรัม) อีกทั้งมีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าการจัดเรียงแบบอื่นๆ แต่หากคำนวณน้ำหนักต่อการฝังกลบก้อนเดี่ยว 1 ก้อนจะพบว่าการฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยวให้น้ำหนักเห้ามากที่สุด ถึงแม้ว่าปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของการฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยวจะต่ำกว่าการฝังกลบแบบเรียง 3 ก้อน

วัตถุประสงค์	ตัวแปร/ประเด็นที่ศึกษา	การวิเคราะห์ข้อมูล
เพื่อศึกษาผลของก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) และวัสดุเพาะต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ	ก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) และวัสดุเพาะได้แก่ ขุยมะพร้าว ดิน ฟางข้าว ขี้เลื่อย เป็นต้น	วัสดุฝังกลบที่แตกต่างกันส่งผลให้ลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือแตกต่างกัน การฝังกลบด้วยขุยมะพร้าวให้น้ำหนักเหง้ามากที่สุด (96.53 กรัม) และมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบสูง การฝังกลบด้วยขุยมะพร้าว:ฟางข้าว (1:1) ให้ปริมาณไตรเทอร์พีนอยด์สูง การฝังกลบด้วยดินปลูกพืช:ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1) ให้ปริมาณสารสกัด ปริมาณโพลีแซคคาไรด์และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูง สูง ในขณะที่การฝังกลบด้วยดินปลูกพืชจะให้ปริมาณปริมาณสารสกัด กรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โปรตีน โพลีแซคคาไรด์และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูง
เพื่อศึกษาผลของสารประกอบซีลีเนียม (selenium) ต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ	สารประกอบซีลีเนียม (selenium) ได้แก่ sodium selenate (Na_2SeO_4) sodium selenite (Na_2SeO_3) ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 25, 50, 75 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	การใช้สารประกอบโซเดียมซีลีเนท 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะทำให้ได้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (76.93 กรัม) ส่วนการใช้สารประกอบโซเดียมซีลีไนท์จะทำให้ได้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (78.12 กรัม) เมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือพบว่าเหง้าที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดแล้วรดน้ำที่ไม่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนทและโซเดียมซีลีไนท์ (0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ให้ปริมาณสารสกัด ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด ความเข้มข้นของสารประกอบซีลีเนียมที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญต่างๆ รวมถึงประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง

วัตถุประสงค์	ตัวแปร/ประเด็นที่ศึกษา	การวิเคราะห์ข้อมูล
เพื่อศึกษาผลของกลีเซอรอล (glycerol) ต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเห้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ	กลีเซอรอล (glycerol) ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2.5, 5, 10% (w/v)	การศึกษาผลกลีเซอรอลต่อการเกิดเห้าเห็ดนมเสือพบว่าการกระตุ้นการเกิดเห้าด้วยกลีเซอรอลความเข้มข้น 1.0% โดยปริมาตร จะทำให้เห้าน้ำหนักมากที่สุด (87.46 กรัม) ในขณะที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอล 0% โดยปริมาตร จะให้ปริมาณสารสกัด ปริมาณสารสำคัญและประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด
เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเห้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ	ระยะเวลาฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือ ได้แก่ 2 3 4 6 เดือน	เห้าที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดเป็นเวลา 2 เดือน ให้ปริมาณสารสกัด (yield) สูงที่สุด 21.66±1.53 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังพบว่ากรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็งทั้งมะเร็งปอดและเต้านมมีปริมาณมากที่สุดในสารสกัดเห้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดเป็นระยะเวลา 2 เดือน การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือเป็นระยะเวลา 6 เดือนส่งผลให้ปริมาณไตรเทอร์พีนอยด์และโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นกว่าระยะเวลาอื่นๆ
เพื่อศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างสารสกัดเห้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบและแบบเก็บได้จากป่าธรรมชาติ	เหง้าเห็ดนมเสือจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ เหง้าเห้ดจากการเพาะเลี้ยงแบบฝังกลบโดยผู้วิจัย เกษตรกร และจากป่าธรรมชาติ	สารสกัดเห้าเห็ดนมเสือจากป่ามีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบสูงกว่าเห้าเห็ดนมเสือที่เพาะเลี้ยงแบบฝังกลบเมื่อทดสอบด้วยวิธี inhibition of BSA denaturation และ proteinase inhibition นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเห้าเห็ดจากป่าธรรมชาติและสารสกัดเห้าเห็ดที่เพาะแบบฝังกลบในดินปลูกพืชโดยเกษตรกรมีปริมาณสารสำคัญต่างๆ รวมถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็งต่ำกว่าสารสกัดจากเห้าเห็ดที่เพาะเลี้ยงฝังกลบในดินปลูกพืชและขุยมะพร้าว:ดินปลุกพืช (1:1) ที่ดำเนินการโดยผู้วิจัย

ผลสำเร็จและความคุ้มค่า

1. ได้กระบวนการสกัดสารสำคัญจากเหง้าเห็ดนมเสือที่เหมาะสมกับชนิดสารสำคัญที่ต้องการนำไปใช้งาน เช่น สารสำคัญกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ กรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ ไตรเทอร์พีนอยด์

2. ได้กระบวนการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือที่เหมาะสมกับลักษณะความต้องการนำไปใช้งาน เช่น กระบวนการเพาะเลี้ยงที่ช่วยส่งเสริมในเรื่องขนาดน้ำหนักเหง้าเห็ดหรือช่วยส่งเสริมในเรื่องชนิดสารสำคัญ ปริมาณสารสำคัญหรือการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ

3. ผลงานวิจัยที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาองค์ความรู้ในการเพาะเห็ดนมเสือ (*L. rhinocerus*) ซึ่งเป็นเห็ดทางยาให้มีปริมาณเพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภคและมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง

กลุ่มเป้าหมายผู้ใช้ประโยชน์:

1. เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงเห็ดเห็ดทางยาและเห็ดอาหารหรือประชาชนทั่วไปเนื่องจากวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบนี้เป็นวิธีที่ไม่มีขั้นตอนซับซ้อน

2. กลุ่มนักศึกษา อาจารย์ นักวิจัย ในสถาบันทางการศึกษาและศูนย์วิจัยต่างๆซึ่งเป็นผู้ใช้ประโยชน์จากงานวิจัยทางด้านการเรียนการสอน การทำวิจัยต่อยอด

บทคัดย่อ

เห็ดนมเสือ (*L. rhinocerus*) เป็นเห็ดทางยาที่มีส่วนดอกเห็ดคล้ายดอกเห็ดหลินจือและมีส่วนหัวใต้ดินหรือเหง้า (sclerotium) ฝังอยู่ในดิน โดยส่วนเหง้าเห็ดนี้เกิดจากการที่เส้นใยของเห็ดรวมตัวกันเป็นก้อนและมีสารสำคัญ อาทิเช่น โพลีแซคคาไรด์ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารประกอบฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ ไตรเทอพีนอยด์ เป็นต้น ด้วยคุณสมบัติทางยาที่ใช้ในการรักษาโรคมาแต่อดีตโดยเฉพาะโรคระบบทางเดินหายใจ ทำให้เห็ดนมเสือเป็นที่ต้องการ แต่บริเวณที่พบเห็ดนมเสืออยู่ในป่าลึกทึบและปัจจุบันหาได้ค่อนข้างยาก คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือที่มีเชื้อเดินเต็มด้วยวิธีการเลียนแบบธรรมชาติเพื่อกระตุ้นการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ โดยปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ วัสดุฝังกลบ ขนาดก้อนเห็ดที่ใช้ฝังกลบ ลักษณะการจัดเรียงก้อนเห็ด การใช้สารประกอบซีลีเนียมและกลีเซอรอลในการเป็นสารกระตุ้น รวมถึงวิธีการสกัดสารจากเหง้าเห็ดนมเสือ ผลการวิจัยพบว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนให้ปริมาณสารสกัด กรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ไตรเทอร์พีนอยด์พบปริมาณมากที่สุดในสารที่สกัดด้วยเอทานอล สารที่สกัดด้วยน้ำเย็นมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและต้านมะเร็งปอดและเต้านมสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อน นอกจากนี้ยังพบว่าปัจจัยที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบแตกต่างกันย่อมส่งผลต่อลักษณะการเจริญของเหง้า ชนิดสารสำคัญ ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพให้มีความแตกต่างกันไป การพัฒนาการเพาะเห็ดแบบฝังกลบเพื่อให้ได้เหง้าที่มีน้ำหนักมากควรจะเลือกใช้ขุยมะพร้าวในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 900 กรัม โดยฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยว เป็นระยะเวลา 6 เดือน แล้วรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนท โซเดียมซีลีไนท์หรือกลีเซอรอล การพัฒนาการเพาะเห็ดแบบฝังกลบเพื่อให้ได้เหง้าที่มีปริมาณโพลีแซคคาไรด์มากควรจะเลือกใช้ดินปลูกพืชหรือดินปลูกพืช:ฟาง:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1) ในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 500 กรัม โดยฝังกลบแบบ 3 ก้อนติดกัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน การพัฒนาการเพาะเห็ดแบบฝังกลบเพื่อให้ได้เหง้าที่มีปริมาณกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูงมากควรจะเลือกใช้ดินปลูกพืชในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 500 กรัม โดยฝังกลบแบบ 3 ก้อนติดกัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน เป็นต้น ผลการวิจัยที่ได้จะเป็นองค์ความรู้ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเพิ่มปริมาณผลผลิตเหง้าเห็ดนมเสือและเพิ่มประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้สูงขึ้นได้ อันจะเป็นการสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ผู้บริโภคเนื่องจากมีงานวิจัยรองรับในฐานะอาหารเสริมสุขภาพ

คำสำคัญ: เห็ดทางยา, เห็ดนมเสือ, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านการอักเสบ, ฤทธิ์ต้านมะเร็ง, เหง้าเห็ด

Abstract

Tiger's milk mushroom (*L. rhinocerus*) is a medicinal mushroom whose flowers resemble *Ganoderma lucidum* and has an underground head (sclerotium) embedded in the soil. The sclerotium contains important substances such as polysaccharides, phenolics, flavonoids, and triterpenoids. Due to the medicinal properties that have been used to treat diseases in the past, especially respiratory diseases. Therefore, tiger milk mushrooms are in demand. Nowadays, tiger milk mushrooms are rare medicinal mushrooms because they are often found in deep forests. This study aims to develop soil cultivation of tiger's milk mushroom to stimulate the growth and biological activity of mushroom sclerotia. The different factors including culture material, cube size, cube arrangement, selenium and glycerol compounds, and extraction methods were analyzed. Among extraction tested, hot water extraction resulted in the highest extraction yield, phenolics, flavonoids, polysaccharides, and antioxidant efficiency. Triterpenoids are found in the highest amounts in ethanol extracts. Cold water extract has higher anti-inflammatory and anti-lung and breast cancer efficacy than ethanol and hot water extraction. Moreover, it was found that different factors used in the cultivation of tiger milk mushrooms had different effects on the growth characteristics of the sclerotia, the type of active substance, the content of active substances, and the biological activity. To increase the weight of sclerotium, coconut coir should be used as culture material. A 900 g cube size of mushroom is buried for 6 months and then, watered with water containing sodium selenate, sodium selenite, or glycerol. To increase polysaccharide content, potting soil or potting soil:rice straw:rubber wood sawdust (1:1:1) should be used as culture material. The triple 500 g cube size of mushrooms are buried for 2 months. To increase the phenolics, flavonoids, antioxidant and anti-lung and breast cancer efficacy, the soil should be used as culture material. The triple 500 g cube size of mushroom are buried for 2 months etc. The experimental results obtained from this research will be knowledge that can be applied to increase the yield of tiger milk mushroom sclerotium and increase the efficiency of bioactive compounds. This will boost the confidence of consumers as there is research supporting it as a health food supplement.

Keywords: medicinal mushroom, tiger milk mushroom, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, anti-cancer activity, sclerotia

สารบัญเรื่อง

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ..... ข
บทสรุปผู้บริหาร ..... ค
บทคัดย่อ ..... ณ
Abstract ..... ด
สารบัญเรื่อง ..... ต
สารบัญตาราง ..... ท
สารบัญภาพ ..... น
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 หลักการและเหตุผล 1
1.2 วัตถุประสงค์ 3
1.3 ขอบเขตของการศึกษา 4
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 5
2.1 เห็ดทางยา 5
2.2 ข้อมูลทั่วไปของเห็ดนมเสือ 9
2.3 คุณค่าทางอาหารของเห็ดนมเสือ 11
2.4 สรรพคุณทางยาของเห็ดนมเสือ 14
2.5 การเพาะเลี้ยงเห็ดแบบฝังกลบ 15
2.6 การเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือ 17
2.7 แนวคิดและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 20
บทที่ 3 ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย 22
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี 22
3.2 วิธีการทดลอง 24
บทที่ 4 ผลการวิจัย 33
4.1 การเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบ 33
4.2 การศึกษาผลของวิธีการสกัดต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ 35

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

หน้า

4.3 การศึกษาผลของก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) และวัสดุฝังกลบ ได้แก่ ขุยมะพร้าว ดินปลูกพืช ฟางข้าว ขี้เลื่อยไม้ยางพารา เป็นต้น ที่มีต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ....37
4.4 การศึกษาผลของขนาดก้อนเห็ดนมเสือต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ....42
4.5 การศึกษาผลของการจัดเรียงก้อนเห็ดนมเสือต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ....45
4.6 การศึกษาผลของสารประกอบโซเดียมซีลีเนท (sodium selenate: Na_2SeO_4) ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ....48
4.7 การศึกษาผลของสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ (sodium selenite: Na_2Seo_3) ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ....51
4.8 การศึกษาผลของกลีเซอรอล (glycerol) ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ....54
4.9 การศึกษาผลของระยะเวลาฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ....57
4.10 การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบและแบบเก็บได้จากป่าธรรมชาติ....60
บทที่ 5 อภิปรายและวิจารณ์ผล....62
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ....66
6.1 สรุปผลการวิจัย....66
6.2 ข้อเสนอแนะ....67
6.3 ประโยชน์และการประยุกต์ใช้....68
บรรณานุกรม....70
ภาคผนวก ก ประวัติย่อของนักวิจัย....79
ภาคผนวก ข แบบฟอร์มสรุปผลงานวิจัย/โครงการวิจัย 1 หน้ากระดาษ A4 (สำหรับประชาสัมพันธ์), แบบฟอร์มสรุปผลงานวิจัย/โครงการวิจัย 5 บรรทัด และแบบฟอร์มประเมินผลการวิจัยในการนำไปใช้ประโยชน์อย่างเป็นรูปธรรมที่ได้รับการจัดสรรงบประมาณ....81

สารบัญตาราง

ตารางที่ ชื่อตาราง **หน้า**

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของเห็ดชนิดต่างๆโดยประมาณ....5

ตารางที่ 2.2 ปริมาณไทอะมีน ไรโบฟลาวิน และวิตามินซีของเห็ดชนิดต่างๆโดยประมาณ....6

ตารางที่ 2.3 ปริมาณแร่ธาตุของเห็ดชนิดต่างๆโดยประมาณ....6

ตารางที่ 2.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในเห็ดหลินจือ (*G. lucidum*) 7

ตารางที่ 2.5 การออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญในเห็ดถั่งเช่า (*C. sinensis*) 8

ตารางที่ 2.6 ข้อมูลโภชนาการของเห็ดนมเสือในส่วนต่างๆ 11

ตารางที่ 2.7 ปริมาณกรดไขมันที่พบในส่วนต่างๆของเห็ดนมเสือ 12

ตารางที่ 2.8 ปริมาณวิตามินและเกลือแร่ที่พบในส่วนต่างๆของเห็ดนมเสือ 13

ตารางที่ 2.9 สารอาหาร ปริมาณฟลาโวนอยด์และบีต้า-กลูแคนที่พบในส่วนเหง้าเห็ดที่ได้จากการ.... 19

ตารางที่ 3.1 การรดน้ำก้อนเห็ดนมเสือที่ถูกฝังกลบ....25

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ.... 36

ตารางที่ 4.2 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ฝังกลบใน วัสดุฝังกลบชนิดต่างๆ.... 37

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝัง กลบก้อนเห็ดนมเสือในวัสดุฝังกลบชนิดต่างๆ 41

ตารางที่ 4.4 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบ ก้อนเห็ดนมเสือขนาดต่างๆ 42

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝัง กลบก้อนเห็ดนมเสือขนาดต่างๆ 44

ตารางที่ 4.6 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบ ก้อนเห็ดนมเสือในในลักษณะการจัดเรียงแบบต่างๆ 46

ตารางที่ 4.7 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝัง กลบก้อนเห็ดนมเสือในลักษณะการจัดเรียงแบบต่างๆ 47

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ ชื่อตาราง **หน้า**

ตารางที่ 4.8 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนทความเข้มข้นต่างๆ 49
ตารางที่ 4.9 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนทความเข้มข้นต่างๆ 50
ตารางที่ 4.10 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ความเข้มข้นต่างๆ 52
ตารางที่ 4.11 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ความเข้มข้นต่างๆ 53
ตารางที่ 4.12 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีกลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆ 55
ตารางที่ 4.13 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีกลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆ 56
ตารางที่ 4.14 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบในระยะเวลาต่างๆ 58
ตารางที่ 4.15 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในระยะเวลาต่างๆ 59
ตารางที่ 4.16 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้ที่เพาะแบบฝังกลบและเห็ดนมเสือที่เก็บได้จากป่าธรรมชาติ 61

สารบัญภาพ

ภาพที่ ชื่อภาพ **หน้า**

ภาพที่ 2.1 ส่วนประกอบของเห็ดนมเสือ..... 10

ภาพที่ 2.2 การพัฒนาการเจริญของเห็ดนมเสือในระยะต่างๆ..... 10

ภาพที่ 2.3 ปริมาณบีต้า-กลูแคนที่พบในส่วนต่างๆของเห็ดนมเสือ..... 14

ภาพที่ 2.4 การเพาะเลี้ยงเห็ดแบบฝังกลบลงในวัสดุฝังกลบ..... 16

ภาพที่ 2.5 การเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือในถุงโดยการเปิดคอขวด..... 16

ภาพที่ 2.6 การเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมฮังการีในถุงโดยการเปิดคอขวด..... 16

ภาพที่ 2.7 ระยะการเจริญของส่วนเหง้าเห็ดนมเสือ..... 19

ภาพที่ 3.5 ก้อนเชื้อเห็ดนมเสือที่มีเชื้อเดินเต็มก้อน..... 24

ภาพที่ 4.1 การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือที่มีเชื้อเดินเต็มก้อนในวัสดุฝังกลบ..... 33

ภาพที่ 4.2 การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในวัสดุฝังกลบและบรรจุลงในกล่องพลาสติก..... 34

ภาพที่ 4.3 กล่องพลาสติกที่บรรจุก้อนเห็ดนมเสือถูกคลุมด้วยสแลนเพื่อควบคุมปริมาณแสง และกันแมลงรบกวน..... 34

ภาพที่ 4.4 ก้อนเห็ดนมเสือที่ล้างทำความสะอาดแล้วถูกนำมาฝานเป็นแผ่นบางแล้วจึงนำไปอบแห้งที่ 70 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง..... 34

ภาพที่ 4.5 เหง้าของเห็ดนมเสือที่ฝังกลบในวัสดุฝังกลบชนิดต่างๆ..... 39

ภาพที่ 4.6 เหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือขนาดต่างๆ..... 42

ภาพที่ 4.7 เหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในลักษณะการจัดเรียงแบบต่างๆ..... 45

ภาพที่ 4.8 เหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนทความเข้มข้นต่างๆ..... 48

ภาพที่ 4.9 เหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ความเข้มข้นต่างๆ..... 51

ภาพที่ 4.10 เหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีกลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆ..... 54

ภาพที่ 4.11 เหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในระยะเวลาต่างๆ..... 57

บทที่ 1 บทนำ

1.1 หลักการและเหตุผล

ปัจจุบันผู้คนหันมาดูแลตนเองด้วยการรับประทานอาหารเสริมประเภทต่างๆมากขึ้น เนื่องจากข้อมูลสนับสนุนบทบาทของอาหารเสริมในการส่งเสริมสุขภาพและป้องกันโรคผ่านการวิจัยมีเผยแพร่ออกมามากขึ้น โดยอาหารเสริมนั้นสามารถแบ่งออกได้เป็นอาหารเสริมประเภทวิตามินที่ได้จากพืชผักผลไม้ วิตามินสังเคราะห์ พืชสมุนไพร และประเภทเห็ดทางยา (เห็ดสมุนไพร) เห็ดทางยา (medicinal mushroom) จัดเป็นอาหารเสริมจากธรรมชาติอีกทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความนิยม เนื่องจากเห็ดเป็นแหล่งโปรตีนจากธรรมชาติที่อุดมไปด้วยวิตามิน เกลือแร่ และโพลีแซคคาไรด์ รวมทั้งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพมากมาย เห็ดนมเสือหรือ tiger milk mushroom (*Lignosus rhinocerus*) เป็นเห็ดสมุนไพรหรือเห็ดทางยาอีกหนึ่งชนิดที่น่าสนใจทำการศึกษาและยังมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับเห็ดชนิดนี้ไม่มากนัก เห็ดนมเสือเป็นเห็ดที่พบมากในป่าทึบทางภาคใต้ของประเทศไทย บริเวณรอยต่อประเทศไทยกับประเทศมาเลเซีย อาทิ แถบป่าจังหวัดสตูล จังหวัดยะลา (อำเภอเบตง) ตามความเชื่อเมื่อเสือแม่ลูกอ่อนทำน้ำนมหยดลงบนพื้นดินแล้วเห็ดนมเสือจะเกิดขึ้น เห็ดนมเสือมีส่วนดอกเห็ดคล้ายดอกเห็ดหลินจือและมีส่วนหัวใต้ดินหรือเหง้า (sclerotium) ฝังอยู่ในดิน โดยส่วนหัวใต้ดินนี้เกิดจากการที่เส้นใยของเห็ดรวมตัวกันเป็นก้อนและพบว่าสารสำคัญที่ใช้ในการรักษาโรคส่วนใหญ่อยู่ในส่วนหัวใต้ดินนี้ ส่วนเหง้าเห็ดมีโพลีแซคคาไรด์ (บีต้า-กลูแคน) เป็นองค์ประกอบสำคัญ มีไขมันต่ำ โปรตีนต่ำ และมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารประกอบฟีโนลิก สารประกอบไตรเทอพีนอยด์ สารประกอบเซสควิเทอพีนอยด์ เป็นต้น (Lau et al., 2015) คนพื้นเมืองทางมาเลเซียตะวันตก (Peninsular Malaysia) และคนในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนมีการใช้เห็ดนมเสือรักษาอาการต่างๆมาช้านานเป็นร้อยปี โดยฝานเหง้าเห็ดนมเสือเป็นแผ่นบางแล้วต้มร่วมกับสมุนไพร เช่น รากปลาไหลเผือก แล้วดื่มเพื่อแก้อาการไอและหอบหืด (Huang, 1999; Lee et al., 2009) ท่านอดีตนายกรัฐมนตรีของประเทศมาเลเซีย นพ.มหาธีร์ โมฮามัด ได้ออกมาให้ข้อมูลในเรื่องการใช้เห็ดนมเสือรักษาโรคไอเรื้อรังและปอดอักเสบของท่านจนหายสนิทในระยะเวลาอันสั้นในงาน the International Convention on Biotechnology 2002 ที่กัวลาลัมเปอร์ ประเทศมาเลเซีย ประกอบกับมีงานวิจัยที่ให้ข้อมูลว่าเหง้าเห็ดนมเสือมีคุณสมบัติทางยาโดดเด่นในเรื่องของการรักษาโรคปอดและโรคระบบทางเดินหายใจ ได้แก่ โรคหอบหืด อาการไอเรื้อรัง โรคต่อมทอนซิลอักเสบ โรคไซนัสอักเสบ โรคไทรอยด์ โรคตับอักเสบ และยังสามารถรักษาโรคมะเร็งได้หลายชนิด (มะเร็งเต้านม มะเร็งตับ มะเร็งกระเพาะอาหาร) โรคเบาหวาน อาหารเป็นพิษ และช่วยบำรุงร่างกาย เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน รวมถึงถูกนำมาใช้ในการรักษาบาดแผลเนื่องจากเห็ดนมเสือมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบและยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและไวรัส (Chang and Lee, 2004; Nallathamby et al., 2018; Lee et al., 2009) งานวิจัยของ Lee et al., 2011 ได้ทำการทดสอบความเป็นในหนูด้วยการให้หนูรับทาน

เหง้าเห็ดนมเสือบดผงเป็นระยะเวลา 28 วัน ที่โดสสูงถึง 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักหนู พบว่า ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในด้านอัตราการเจริญเติบโต โลหิตวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมีคลินิก นอกจากนี้ในการศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อพบว่าการให้หนูรับประทานเห็ดนมเสือในโดส 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักหนู ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเนื้อเยื่อตับ ไต หัวใจ ม้าม ปอดของหนู ในประเทศมาเลเซียเห็ดนมเสือได้รับการจดทะเบียนในฐานะ Functional ingredient โดยหน่วยงาน National Pharmaceutical Control Bureau (NPCB) เมื่อปี พ.ศ. 2553 ด้วยสรรพคุณทางยาที่หลากหลายและมีโอกาสหาได้ยากจึงทำให้เห็ดนมเสือมีราคาสูงมาก โดยเห็ดนมเสือมักถูกเก็บมาขายโดยพวกคนป่าซาไกหรือคนหาของป่า เห็ดที่สมบูรณ์ทั้งส่วนดอกและส่วนหัวใต้ดินราคาประมาณหลายพันถึงหมื่นบาทขึ้นไป ด้วยความที่เห็ดนมเสือหาพบได้ยากในป่าในปัจจุบันประกอบกับราคาแพง งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในเรื่องการเพาะเห็ดนมเสือในต่างประเทศส่วนใหญ่เป็นการศึกษาการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง (Solid state culture) และการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว (Submerge culture) ซึ่งเป็นวิธีการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสำหรับระดับห้องปฏิบัติการวิจัยหรือโรงงานอุตสาหกรรม สำหรับงานวิจัยด้านการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบในดินซึ่งเหมาะสำหรับเกษตรกรที่ไม่มีห้องปฏิบัติการวิจัยยังมีผู้ทำการศึกษาไม่มาก แนวคิดในการพัฒนาการเพาะเห็ดนมเสือแบบฝังกลบเพื่อเลียนแบบธรรมชาติจึงเกิดขึ้นในประเทศไทยการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบเริ่มมีมาประมาณ 2 ปีที่ผ่านมา แต่ยังเป็นกลุ่มเฉพาะเพราะเห็ดนมเสือยังไม่เป็นที่รู้จักของคนไทย เห็ดนมเสือเริ่มมีชื่อเสียงในไทยประมาณกลางปี 2563 ในช่วงที่เกิดวิกฤตการณ์โควิด 19 เนื่องจากเหง้าเห็ดนมเสือมีคุณสมบัติทางยาโดดเด่นในเรื่องของการรักษาโรคปอดและโรคระบบทางเดินหายใจ ประกอบกับราคาเหง้าเห็ดนมเสือดิบ อยู่ที่ 4,000-7,000 บาท ราคาเหง้าเห็ดนมเสือที่อบแห้งและบดเป็นนผงราคาสูงกิโลกรัมละ 10,000 บาท ซึ่งเป็นราคาที่ค่อนข้างสูง จึงทำให้หลายคนให้ความสนใจในการเพาะเห็ดชนิดนี้เพื่อรับประทานเองและจำหน่าย แต่ปัญหาในการเพาะเหง้าเห็ดนมเสือของเกษตรกรไทยคือ ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือเพื่อให้ได้เหง้านาน 6-8 เดือน อีกทั้งเกษตรกรมีวิธีการเพาะแบบฝังกลบที่หลากหลายในเรื่องของขนาดก้อนเห็ดที่ใช้ ลักษณะการจัดเรียงก้อนเห็ด และวัสดุที่ใช้ในการเพาะ ซึ่งเกษตรกรได้ทำการทดลองแบบลองผิดลองถูกโดยไม่ได้มีงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์รองรับ อาทิเช่น การฝังก้อนเห็ดติดกัน 3 ก้อนจะให้เหง้าที่มีขนาดใหญ่กว่าการฝังก้อนเดียว การใช้ขุยมะพร้าวอย่างเดียวในการฝังกลบจะช่วยให้ได้เหง้าที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งปัจจัยที่เหล่าเกษตรกรได้ทดลองล้วนเป็นการศึกษาดูเฉพาะปัจจัยในเรื่องขนาดของเหง้าเพราะเป็นสิ่งที่เกษตรกรสามารถวัดน้ำหนักได้ วัดขนาดได้ ในส่วนของฤทธิ์ทางชีวภาพไม่ได้มีการศึกษา

จากเหตุผลดังกล่าวคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาการพัฒนาการเพาะเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) ซึ่งเป็นเห็ดทางยาให้มีปริมาณเพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภคโดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงแบบฝังกลบเพื่อที่จะลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเหง้าเห็ด ได้ผลผลิตเหง้าในปริมาณมาก เหง้ามีขนาดใหญ่ และมีฤทธิ์ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงด้วยการศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ อันได้แก่ ขนาดก้อน วิธีการจัดเรียงก้อน ชนิดวัสดุฝังกลบที่เหมาะสมโดยเน้นการใช้ประโยชน์จากก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) ที่เหลือทิ้งจากการเพาะ

เห็ดที่อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรีมาเป็นส่วนผสมของวัสดุฝังกลบ ผลของสารประกอบซีลีเนียม และผลของกลีเซอรอล ซึ่งจะเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มของเห็ดนมเสือในท้องตลาดทั้งในและต่างประเทศหากผลการทดลองพบว่าการแปรเปลี่ยนปัจจัยช่วยกระตุ้นปริมาณผลผลิตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้สูงขึ้นได้ และเป็นการสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ผู้บริโภคเนื่องจากมีงานวิจัยรองรับในฐานะอาหารเสริมสุขภาพ รวมถึงมีการถ่ายทอดองค์ความรู้ให้แก่บุคคล ภาครัฐหรือภาคเอกชนที่สนใจที่จะพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือด้วยวิธีการฝังกลบนี้

เป้าหมายของงานวิจัย

1. สร้างองค์ความรู้ใหม่โดยใช้เห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เป็นตัวอย่างในการทดลอง

2. ทราบปัจจัยที่เหมาะสมในการกระตุ้นการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

3. ผลงานวิจัยที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาองค์ความรู้ในการเพาะเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) ซึ่งเป็นเห็ดทางยาให้มีปริมาณเพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภค

4. ช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับเห็ดนมเสือในท้องตลาดทั้งในและต่างประเทศ และสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ผู้บริโภคเนื่องจากมีงานวิจัยรองรับ

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของขนาดก้อนต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

2. เพื่อศึกษาผลของการจัดเรียงก้อนเห็ดนมเสือต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

3. เพื่อศึกษาผลของก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) และวัสดุฝังกลบต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

4. เพื่อศึกษาผลของสารประกอบซีลีเนียม (selenium) ต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

5. เพื่อศึกษาผลของกลีเซอรอล (glycerol) ต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

โครงการวิจัยนี้ดำเนินการศึกษาเพื่อพัฒนาการเพาะเห็ดนมเสือ (*L. rhinocerus*) แบบฝังกลบด้วยการศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ อันได้แก่ ขนาดก้อน วิธีการจัดเรียงก้อน ชนิดวัสดุฝังกลบ โดยเน้นการใช้ประโยชน์ร่วมจากก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) ที่เหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดที่อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี มาเป็นส่วนผสมของวัสดุฝังกลบ ผลของสารประกอบซีลีเนียม และผลของกลีเซอรอล ที่มีต่อการเจริญของเหง้าเห็ดนมเสือ (sclerotium) และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเหง้าเห็ดนมเสือ อันได้แก่ คุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง (ปอดและเต้านม) ต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ นอกจากนี้ยังทำการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ เห็ดนมเสือที่เก็บได้จากป่าธรรมชาติ และเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบจากฟาร์มเกษตรกร

บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 เห็ดทางยา

เห็ด (mushrooms) เป็นสิ่งมีชีวิตที่จัดอยู่ในกลุ่มที่เรียกว่า ฟังไจ (fungi) มนุษย์ทานเห็ดเป็นอาหารเพื่อสุขภาพตั้งแต่สมัยโบราณ ในทางโภชนาการเห็ดเป็นแหล่งอาหารเพื่อสุขภาพที่มีสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายหลากหลายชนิด มีแคลอรีต่ำ ไขมันต่ำและอุดมไปด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโนที่จำเป็น กรดไขมันไม่อิ่มตัว เส้นใย วิตามินและแร่ธาตุที่สำคัญ (วิตามินบี ธาตุเหล็ก โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม ซีลีเนียม และสังกะสี เป็นต้น) นอกจากนี้ยังมีสารไรโบฟลาวิน ไนอะซิน และวิตามินบี6 ในปริมาณสูง ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยควบคุมภาวะซึมเศร้า ไมเกรน และโรคหัวใจได้ (ตารางที่ 2.1-2.3) ด้วยคุณคุณค่าทางโภชนาการดังกล่าวข้างต้นทำให้เห็ดเป็นที่นิยมของชาวมังสวิรัติในการเป็นอาหารทดแทนเนื้อสัตว์ และเป็นอาหารที่เหมาะสมหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน โรคหัวใจ รวมถึงโรคความดันโลหิต

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของเห็ดชนิดต่างๆโดยประมาณ (ปริมาณกรัม/น้ำหนักสด 100 กรัม) (Lakhanpal and Rana, 2005)

Mushroom species	Moisture	Protein	Fat	Carbohydrate	Fiber	Ash	Calorie
Agaricus bisporus	90.1	2.9	0.3	5.0	0.9	0.8	36
Pleurotus sajorcaju	90.2	2.5	0.2	5.2	1.3	0.6	35
Volvariella volvacae	90.1	2.1	1.0	4.7	1.1	1.0	36
Lentinus edodes	90.0	0.1	0.1	5.0	0.8	0.8	21

ตารางที่ 2.2 ปริมาณไทอะมีน ไรโบฟลาวิน และวิตามินซีของเห็ดชนิดต่างๆโดยประมาณ (ปริมาณมิลลิกรัม/น้ำหนักสด-แห้ง 100 กรัม) (Goyal et al., 2020)

Mushroom variety	Thiamine (Dry weight basis)	Riboflavin (Dry weight basis)	Ascorbic acid (Fresh weight basis)
Agaricus bisporus	1.05±0.05	4.13±0.02	2.25±0.13
Pleurotus sajor-caju	1.12±0.01	3.71±0.01	4.34±0.27

ตารางที่ 2.3 ปริมาณแร่ธาตุของเห็ดชนิดต่างๆโดยประมาณ (ปริมาณมิลลิกรัม/น้ำหนักแห้ง 100 กรัม) (Goyal et al., 2020)

Mushroom variety	Iron	Calcium	Phosphorus	Zinc	Potassium	Copper	Manganese
Agaricus bisporus	10.05±0.13	47.00±2.52	1350±6.66	13.23±0.01	4015±4.02	5.02±0.14	4.90±0.01
Pleurotus sajor-caju	12.64±0.01	73.00±1.15	1246±1.53	12.77±0.01	3218±2.45	3.80±0.21	4.50±0.01

จากข้อมูลการวิจัยเห็ดตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบันในด้านสรรพคุณทางยาหรือทางโภชนาการทำให้เห็ดไม่ได้ถูกใช้เป็นเพียงอาหารเพื่อสุขภาพ แต่ถูกนำมาใช้เป็นยานานกว่าศตวรรษ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศแถบเอเชียที่ได้มีการศึกษาด้านการแพทย์แล้วพบว่าสารสกัดจากเห็ดมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ลดความดันโลหิตและความเข้มข้นของคอเลสเตอรอล เสริมภูมิคุ้มกัน ต้านไวรัส คุณสมบัติต้านการอักเสบ การรักษาภาวะช็อก ฤทธิ์ต้าน HIV และการเพิ่มขึ้นของการใช้ออกซิเจนและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น (Chang & Miles, 1996) เห็ดที่พบว่ามีสรรพคุณทางยา ได้แก่ เห็ดหลินจือ *Ganoderma lucidum* (Reishi), เห็ดหอม *Lentinus edodes* (Shiitake), เห็ดหัวลิง *Hericium erinaceous* (Lion's mane), เห็ดนางรม *Pleurotus ostreatus* (Oyster mushrooms), เห็ดไมตาเกะ *Grifola frondosa* (Maitake), เห็ดกระถินพิมาน (*Phellinus igniarius*) และเห็ดถั่งเช่า (*Cordyceps sinensis*) เป็นต้น

ตัวอย่างงานวิจัยเห็ดทางยาก่อนหน้านี้พบว่าเห็ดหลินจือ *G. lucidum* (Reishi) มีกลุ่มสารสำคัญคือ โพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharides) ไตรเทอพีนอยด์ (triterpenoids) โปรตีน (Proteins) ไกลโคโปรตีน (Glycoproteins) เปปทิโดไกลแคน (Peptidoglycans) ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านการต้านมะเร็ง ต้านเบาหวาน ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการเจริญของจุลชีพ ต้านไวรัส กระตุ้นภูมิคุ้มกัน แสดงดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในเห็ดหลินจือ (*G. lucidum*) (El Sheikha, 2022)

Bioactive Compounds	Biological Effects
Triterpenoids	
Ganoderic acids, lucidumol, lucialdehyde, lucidenic acids, ganodermic, ganolucidic acids, ganoderals, ganoderiols	Anticancer
Triterpenoids	Antidiabetic
Ganoderic acids T-Q and lucideinic acids A, D2, E2, and P	Anti-inflammatory
Triterpenes	Antioxidant
Ganoderic acids, ganodermin, ganoderic acid A, ganodermadiol, ganodermanondiol, lucidumol B, ganodermanontriol, ganoderic acid B, ganolucidic acid B	Antimicrobial
Triterpenoids, ganoderic acid, ganoderiol F, ganodermanontriol	Antiviral
Polysaccharides	
1⟶3, 1⟶4, and 1⟶6-linked β and α-D (or L)-glucans, GLP-2B	Anticancer
Polysaccharides	Antidiabetic, Antioxidant, Antimicrobial
Polysaccharides (ganopoly)	Cardiovascular problems
Proteins, Glycoproteins, and Peptidoglycans	
Glycopeptides and peptidoglycans	Anticancer
Protein Ling Zhi-8 (LZ-8), lectin, ribosome-inactivating proteins, antimicrobial proteins, glycopeptides/glycoproteins, peptidoglycans/proteoglycans, ganodermin A, ribonucleases, proteinases, metalloproteases, laccases	Immunomodulatory, anticancer, and antitumor

เห็ดถั่งเช่า *Cordyceps sinensis* มีสารออกฤทธิ์สำคัญคือ สารคอร์ไดซิปิน (Cordycepin) และสารอะดีโนซีน (adenosine) ส่วนสารสกัดจากถั่งเช่าพบว่าสามารถยับยั้งเซลล์ไลน์ของมะเร็งเต้านม มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ และมะเร็งปอดของคน และสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ที่ก่อโรคในพืชได้ (Park et al., 2009) และยังพบว่าอีกว่าสารสกัดจากถั่งเช่า *C. militaris* ช่วยปรับปริมาณน้ำตาลในเลือดให้เข้าสู่สมดุล ลดการเกิดโรคเบาหวานได้ (Chu et al., 2011) นอกจากนี้ยังมีการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญ อาทิ เช่น ออกฤทธิ์ต่อการทำงานของตับ ไต ระบบต่อมไร้ท่อ การทำงานของหัวใจและหลอดเลือด (ตารางที่ 2.5)

ตารางที่ 2.5 การออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญในเห็ดถั่งเช่า (*C. sinensis*) (Panda and Swain, 2011)

Hepatic function	Stimulation of energy metabolism
	Activation of Kupffer cell function: water-soluble fraction
	Reduction of post-hepatitic cirrhosis: unknown
Renal function	Reduction in aminoglycoside antibiotic-induced nephrotoxicity
	Reduction in hematuria and proteinuria in experimental IgA nephropathy (IgA N): low MW sterols (CS-HI-A)
Endocrine and steroid system	Stimulation of corticosteroid production in animals and cultured rat adrenal cells: water-soluble fraction
Cardiovascular function	Inhibition of platelet aggregation: adenosine and other related nucleosides
	Reduction in aconitine, $BaCl_2$, and ouabain-induced arrhythmia: low MW metabolites
Anticancer activities	Sterols and their glucosides, low MW metabolites other than cordycepin, modified nucleosides, antitumor function via immunopotentiation and cytokine production: polysaccharides
Immunomodulation	Immunopotentiation: polysaccharides
	Immunosuppression: cyclosporine-like metabolites and others hypoglycemic activity in STZ- induced diabetes polysaccharides
Erythropoiesis and hemopoiesis	Proliferation of fibroblast observed in vivo and in vitro, platelet hemopoiesis

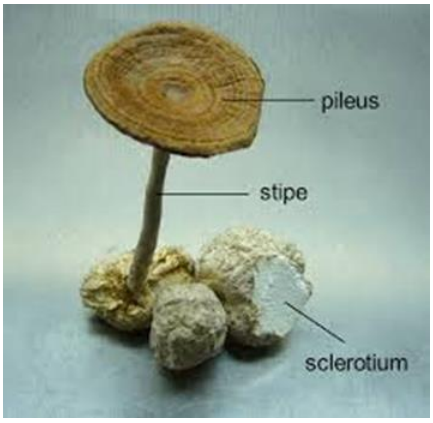
เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceous*) มีการนำไปใช้เป็นยาในประเทศจีนและญี่ปุ่นด้วยสรรพคุณด้านการบำรุงม้าม บำรุงลำไส้ และต้านมะเร็ง เห็ดหัวลิงได้รับการกล่าวขานว่าเป็นสารอาหารแก่อวัยวะภายในทั้งห้า อันได้แก่ ตับ ปอด ม้าม หัวใจและไต รวมถึงส่งเสริมระบบการย่อยอาหารที่ดี เห็ดหัวลิงประกอบไปด้วยสารสำคัญได้แก่ โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) ซึ่งมีเบต้า-กลูแคนเป็นหลัก และเทอพีนอยด์ (terpenoids) ซึ่งได้แก่ สารเฮริซีโนน(hericenones) และอีรินาซิน (erinacines) โดยมีรายงานว่าสารเฮริซีโนน(hericenones) และอีรินาซิน (erinacines) ที่แยกได้จาก *H. erinaceus* มีคุณสมบัติในการป้องกันระบบประสาท การทดสอบทางคลินิกในหนูพบว่าหนูที่ทานเห็ดหัวลิงมีการพัฒนาหน่วยความจำระยะสั้นและการจดจำภาพดีขึ้น มีการกระตุ้นการเจริญหรือการงอกใหม่ของเซลล์ประสาทได้ด้วย รวมถึงพบว่าเห็ดหัวลิงมีฤทธิ์ต้านภาวะสมองเสื่อมในหนูเมาส์จำลองโรคอัลไซเมอร์และพาร์คินสัน (Spelman et al., 2017; Zhang et al., 2016) นอกเหนือจากเห็ดทางยาที่กล่าวข้างต้นยังมีเห็ดทางยาอีกชนิดหนึ่งที่ยังมีรายงานทางการวิจัยไม่มากและยังไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลายในประเทศไทย เห็ดชนิดนั้น คือ เห็ดนมเสือหรือ tiger milk mushroom (*Lignosus rhinocerus*)

2.2 ข้อมูลทั่วไปของเห็ดนมเสือ

เห็ดนมเสือ (Tiger milk mushroom) เป็นเห็ดเป็นยาอีกชนิดหนึ่งที่คนพื้นเมืองทางมาเลเซียตะวันตก (Peninsular Malaysia) และคนในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนนิยมรับประทานเพื่อรักษาโรคเนื่องจากส่วนเหง้าของเห็ดนมเสือ (sclerotium) มีคุณสมบัติเป็นยา โดยฝานเหง้าเห็ดนมเสือเป็นแผ่นบางแล้วต้มร่วมกับสมุนไพร เช่น รากปลาไหลเผือก แล้วดื่มเพื่อแก้อาการไอและหอบหืด (Huang, 1999; Lee et al., 2009) ในประเทศมาเลเซียผู้หญิงที่คลอดบุตรมักจะดื่มน้ำชงเหง้าเห็ดนมเสือบดเพื่อบำรุงร่างกายหลังคลอด บ้างก็ขูดเหง้าเห็ดนมเสือบนพื้นผิวที่แข็ง (แผ่นหินแกรนิต) ด้วยน้ำแล้วนำส่วนผสมที่ได้มาเจือจางด้วยน้ำก่อนบริโภค (Yap et al., 2015) ในประเทศไทยมีการใช้เหง้าเห็ดนมเสือบดชงกับน้ำร้อนแล้วดื่มเพื่อบำรุงร่างกายและรักษาระบบทางเดินหายใจ เห็ดนมเสือมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Lignosus rhinocerus* หรือสามารถเรียกอีกชื่อได้ว่า *Lignosus rhinocerotis* เห็ดนมเสืออยู่ในอาณาจักร Fungi ไฟลัม Basidiomycota ชั้น Agaromycetes อันดับ Polyporales วงศ์ Polyporaceae สกุล *Lignosus* ชนิด *Lignosus rhinocerus* (Kirk et al., 2008) ตามความเชื่อเห็ดนมเสือเป็นเห็ดที่เกิดจากน้ำนมของเสือแม่ลูกอ่อนไหลลงสู่พื้นดิน เมื่อนานเข้าก็เกิดเห็ดนมเสือขึ้น โดยเห็ดมักจะงอกในช่วงกลางคืน พอถูกน้ำค้างในตอนเช้าเห็ดจะแข็งเป็นหินทันที เห็ดชนิดนี้มักพบตามป่าดงดิบทึบที่มีเสือโคร่งอาศัยอยู่ทางภาคใต้ของประเทศไทย บริเวณรอยต่อประเทศไทยกับประเทศมาเลเซีย อาทิ แถบป่าจังหวัดสตูล จังหวัดยะลา (อำเภอเบตง) รวมถึงสามารถพบได้ในประเทศจีนตอนใต้ ไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ปาปัวนิวกินี นิวซีแลนด์ และออสเตรเลีย (Nallathamby et al., 2018)

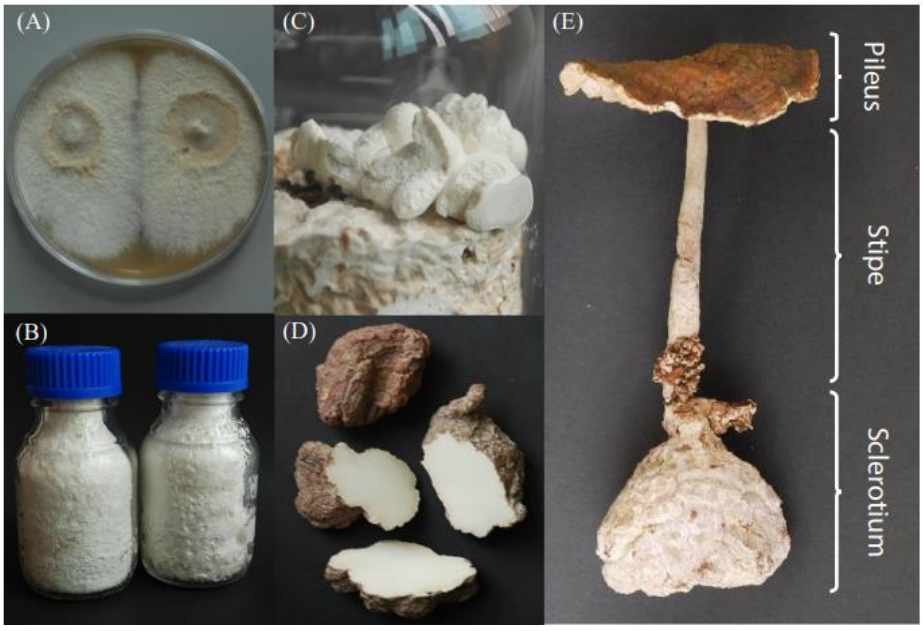
เห็ดนมเสือมีส่วนดอกเห็ด (Pileus) คล้ายดอกเห็ดหลินจือ มีก้านดอก (Stripe) และมีส่วนหัวใต้ดินหรือเหง้า (sclerotium) เป็นกระเปาะของน้ำนมเสือที่มีเนื้อในสีขาวบริสุทธิ์ฝังอยู่ในดิน (ภาพที่ 2.1) ส่วนของก้านดอก

และดอกเห็ดจะเจริญจากส่วนเหง้า ไม่ได้เจริญขึ้นบนขอนไม้เหมือนเห็ดหลินจือหรือเห็ดชนิดอื่นๆ โดยส่วนเหง้านี้เกิดจากการที่เส้นใยของเห็ดรวมตัวกันเป็นก้อนอย่างหนาแน่นทำหน้าที่เป็นแหล่งอาหารสำรองและเป็นระยะพักตัวจนกว่าจะมีสภาวะการเจริญเติบโตที่ดีจึงเจริญเป็นส่วนก้านดอกและดอกเห็ด



ภาพที่ 2.1 ส่วนประกอบของเห็ดนมเสือ (Lau et al., 2015)

เส้นใยเห็ดนมเสือ (mycelium) ใช้เวลาในการเจริญประมาณ 2 สัปดาห์ (A) ช่วง 1-2 เดือน เส้นใยจะเดินเต็มอาหารที่เพาะเลี้ยง เส้นใยจะเริ่มรัดตัว (B) หลังจาก 4-6 เดือนการเจริญเติบโตของเส้นใยที่แข็งแรงจะส่งเสริมให้เกิดการพัฒนาของส่วนเหง้า (sclerotium) แต่ยังคงเป็นเหง้าอ่อน (C) เมื่อระยะเวลามากขึ้นเหง้าจะเริ่มแก่โดยส่วนผิวของเหง้าจะเริ่มมีสีเข้มและแข็งเพื่อไม่ให้น้ำภายในเหง้าระเหยออกมาอันจะเป็นเหตุให้เหง้าแห้ง (D) ประมาณเดือนที่ 12 จะเกิดการเจริญของก้านดอกและส่วนดอกซึ่งเจริญออกมาจากส่วนเหง้า (E) ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 การพัฒนาการเจริญของเห็ดนมเสือในระยะต่างๆ (Yap et al., 2014)

2.3 คุณค่าทางอาหารของเห็ดนมเสือ

สารอาหารและองค์ประกอบทางเคมีของเห็ดโดยทั่วไปจะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ และภายในเห็ดสายพันธุ์เดียวกันปริมาณสารอาหารและองค์ประกอบทางเคมียังแตกต่างกันไปตามระยะการเจริญ (developmental stages) เห็ดนมเสือเป็นเห็ดที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงในส่วนของดอกเห็ดและเหง้า แต่มีปริมาณโปรตีนและไขมันต่ำ (ตารางที่ 2.6) ในส่วนของปริมาณกรดไขมันพบว่าเห็ดนมเสือมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acids) สูงกว่ากรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acids) และยังพบกรดไขมันจำเป็น ได้แก่ กรดปาล์มิติก (palmitic acid, C16:0) กรดโอเลอิก (oleic acid, C18:1) ในปริมาณมากถึง 33.5–36.2% ในส่วนของดอกเห็ดและเหง้า (33.5–36.2%) ในขณะที่ส่วนของก้านดอกและเส้ยใยไมซีเลียมพบกรดไขมันทั้งสองชนิดเพียง 13.9–17.8% และยังพบอีกว่าในทุกส่วนของเห็ดนมเสือไม่มีกรดไขมันทรานส์ (trans-fatty acids) (ตารางที่ 2.7)

ตารางที่ 2.6 ข้อมูลโภชนาการของเห็ดนมเสือในส่วนต่างๆ (ปริมาณกรัม/น้ำหนักแห้ง 100 กรัม) (Lau et al., 2013)

Parameter	Fruiting body		Sclerotium	Mycelium
	Pileus	Stripe		
Carbohydrates	81.03±0.13	80.09±0.69	82.60±0.01	73.01±0.04
Crude protein	9.85±0.14	5.67±0.22	7.02±0.20	7.87±0.01
Crude fat	0.98±0.02	0.42±0.02	0.49±0.00	2.30±0.06
Moisture	4.82±0.06	7.22±0.01	8.12±0.10	9.93±0.21
Total ash	3.33±0.09	6.62±0.46	1.79±0.09	6.90±0.11
Fiber	36.40±0.36	36.71±0.23	22.60±0.35	7.43±0.43
Energy value	372.28±0.22	346.76±1.70	362.83±0.76	344.20±0.71

ตารางที่ 2.7 ปริมาณกรดไขมันที่พบในส่วนต่างๆของเห็ดนมเสือ (ปริมาณเปอร์เซ็นต์ในไขมันทั้งหมด) (Lau et al., 2013)

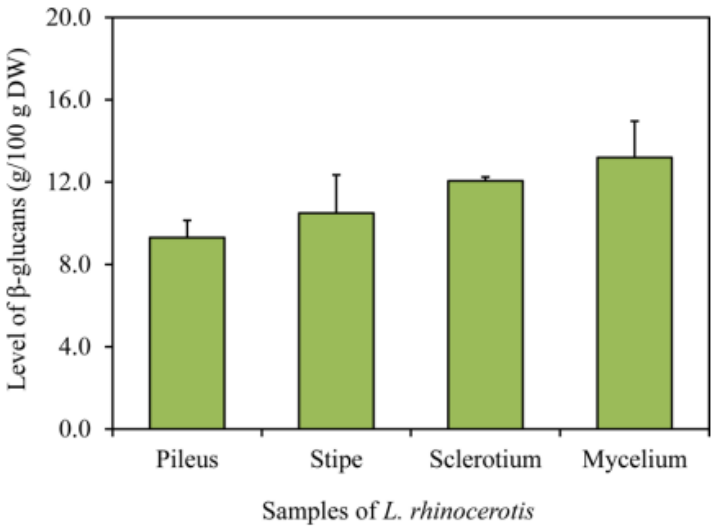
Fatty acid content (% in crude fat)	Fruiting body		Sclerotium	Mycelium
	Pileus	Stripe		
caprylic	0.36	0.11	0.35	0.10
capric	0.37	0.11	0.35	0.11
lauric	3.71	1.05	3.61	1.14
tridecanoic	0.02	0.00	0.02	0.05
myristic	2.75	0.96	2.57	0.68
palmitic	33.78	17.49	36.21	13.89
stearic	4.93	4.51	5.34	5.09
elaidic (trans)	0.00	0.00	0.00	0.00
oleic	33.47	17.74	34.44	17.02
linolelaidic (trans)	0.00	0.00	0.00	0.00
linoleic (cis)	0.00	33.92	0.00	26.79
arachidic	0.67	0.41	0.71	0.32
behenic	0.91	2.22	0.88	6.04
lignoceric	1.67	4.38	1.22	5.74
nervonic	0.72	4.32	3.07	6.83

แร่ธาตุโพแทสเซี่ยมเป็นแร่ธาตุที่พบมากในเห็ดนมเสือ รองลงมาคือ ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แคลเซียม โซเดียม ตามลำดับ โดยแร่ธาตุเหล่านี้จะพบมากที่สุดในส่วนของเส้นใยไมซีเลียม ยกเว้นแคลเซียมที่พบมากในส่วนก้านดอก (ตารางที่ 8) แร่ธาตุสังกะสีและซีลีเนียมเป็นแร่ธาตุที่พบมากในส่วนของเส้นใยไมซีเลียม ในขณะที่ธาตุเหล็กจะพบมากในส่วนของดอกเห็ดและก้านดอก สำหรับวิตามินบี 2 (riboflavin) จะพบในทุกส่วนของของเห็ดนมเสือโดยพบปริมาณมากที่สุดในส่วนของเส้นใยไมซีเลียม วิตามินบี 3 (niacin) พบเฉพาะในส่วนของดอกเห็ดและเส้นใยไมซีเลียม นอกจากนี้เห็ดนมเสือยังมีสารสำคัญที่ใช้ในการรักษาโรคคือโพลีแซคคาไรด์ (บีต้า-กลูแคน) เป็น

องค์ประกอบสำคัญ บีต้า-กลูแคนพบปริมาณมากที่สุดในส่วนของเส้นใยไมซีเลียม รองลงมาคือส่วนเหง้า ก้านดอก และดอกเห็ด ตามลำดับ (ภาพที่ 2.3) Yap et al. (2014) พบว่าจีโนม *L. rhinocerus* มียีนที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate metabolism) โดยเฉพาะอย่างยิ่งมียีนที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์สารในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids) และเซสควิเทอพีนอยด์ (sesquiterpenoids)

ตารางที่ 2.8 ปริมาณวิตามินและเกลือแร่ที่พบในส่วนต่างๆของเห็ดนมเสือ (ปริมาณมิลลิกรัม/น้ำหนักแห้ง 100 กรัม) (Lau et al., 2013)

Parameter	Fruiting body		Sclerotium	Mycelium
	Pileus	Stripe		
Macroelements potassium	178.10±6.35	118.73±7.44	225.00±6.92	1412.83±85.41
phosphorus	163.69 ± 8.39	67.17 ± 6.46	114.90 ± 2.13	1002.23 ± 63.60
magnesium	99.29 ± 2.74	42.00 ± 3.75	64.77 ± 6.13	171.75 ± 8.20
calcium	79.87 ± 0.93	195.15 ± 6.10	76.73 ± 2.38	55.64 ± 1.19
sodium	7.04 ± 0.33	4.40 ± 0.26	3.96 ± 0.47	104.25 ± 4.97
Microelements iron	31.91 ± 1.23	100.77 ± 2.55	12.93 ± 0.21	3.34 ± 0.18
zinc	4.73 ± 0.13	1.82 ± 0.08	1.19 ± 0.04	7.36 ± 0.44
manganese	0.48 ± 0.03	0.45 ± 0.00	0.24 ± 0.01	0.28 ± 0.01
copper	1.85 ± 0.04	0.83 ± 0.01	0.59 ± 0.06	4.73 ± 0.42
#selenium (μg/100 g)	11.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	9.00 ± 0.00	13.00 ± 0.00
Vitamins				
thiamine (vitamin B1)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
pantothenic acid (vitamin B5)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
pyridoxine (vitamin B6)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
folic acid (vitamin B9)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
riboflavin (vitamin B2)	0.61 ± 0.00	0.19 ± 0.00	0.06 ± 0.00	1.72 ± 0.01
niacin (vitamin B3)	23.54 ± 0.36	N.D.	N.D.	141.53 ± 1.92



ภาพที่ 2.3 ปริมาณบีต้า-กลูแคนที่พบในส่วนต่างๆของเห็ดนมเสือ (ปริมาณกรัม/น้ำหนักแห้ง 100 กรัม) (Lau et al., 2013)

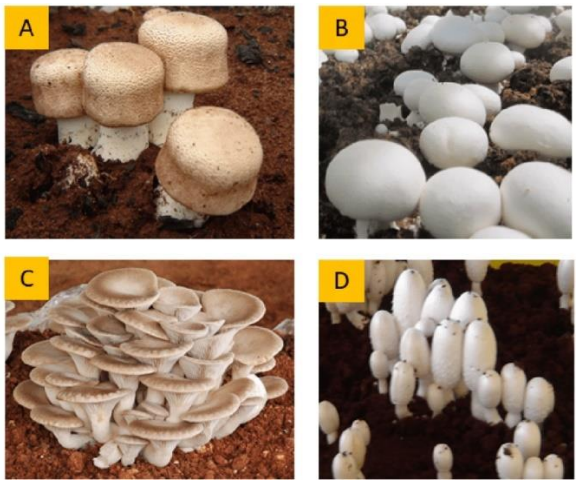
2.4 สรรพคุณทางยาของเห็ดนมเสือ

เห็ดนมเสือถูกกล่าวขานและใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านกันมานานหลายศตวรรษ ชาวชนเผ่าเซไม (Semai) มีความเชื่อและมักใช้ส่วนของเหง้าเห็ดเป็นเหมือนเครื่องบูชาในระหว่างการทำนาและในพิธีอธิษฐานเพื่อให้การเก็บเกี่ยวข้าวดีขึ้น นอกจากนี้ชนเผ่าต่างๆในมาเลเซีย (Semai, Temuan และ Jakun) ใช้เห็ดนมเสือเพื่อบรรเทาอาการหอบหืด อาการไอ อาหารเป็นพิษ เต้านมบวม ปวดข้อ โรคตับ ส่วนของร่างกายที่บวม และใช้เป็นยาชูกำลังทั่วไป (Lee and Chang, 2007; Ismail, 2010) เห็ดนมเสือไม่เพียงได้รับความนิยมในหมู่ชนพื้นเมืองเท่านั้น แต่ยังรวมถึงประชากรในเมืองในมาเลเซียด้วย (Hattori et al., 2007) ท่านอดีตนายกรัฐมนตรีของประเทศมาเลเซีย นพ.มหาธีร์ โมฮามัด ได้ออกมาเล่าในงาน the International Convention on Biotechnology 2002 ที่กัวลาลัมเปอร์ ประเทศมาเลเซีย ว่าท่านเคยป่วยเป็นโรคไอเรื้อรัง และปอดอักเสบ หมอจีนแนะนำให้ท่านรับประทานเห็ดนมเสือ ผลพบว่าเห็ดนมเสือช่วยรักษาโรคโรคไอเรื้อรังและปอดอักเสบของท่านจนหายสนิทในระยะเวลาอันสั้น และยังมีเรื่องเล่าว่าเห็ดนมเสือช่วยรักษาโรคตาแก่เจ้าหญิงแห่งประเทศอินเดีย Indra Bangsawan (Winstedt, 1922) ประกอบกับมีงานวิจัยที่ให้ข้อมูลว่าเห็ดนมเสือสามารถรักษาโรคมะเร็งได้หลายชนิด โรคต่อมทอนซิลอักเสบ โรคหอบหืด โรคไทรอยด์ โรคเบาหวาน อาการไอเรื้อรัง และช่วยบำรุงร่างกาย เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน รวมถึงมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบ ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและไวรัส (Chang and Lee, 2004; Nallathamby et al., 2018; Lee et al., 2009) งานวิจัยของ Lee et al., 2011 ได้ทำการทดสอบความเป็นในหนูด้วยการให้หนูรับทานเหง้าเห็ดนมเสือบดผงเป็นระยะเวลา 28 วัน ที่โดสสูงถึง 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักหนู พบว่า ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในด้านอัตราการเจริญเติบโต โลหิตวิทยา และคุณสมบัติทาง

ชีวเคมีคลินิก นอกจากนี้ในการศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อพบว่าการให้หนูรับประทานเห็ดนมเสือในโดส 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักหนู ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเนื้อเยื่อตับ ไต หัวใจ ม้าม ปอดของหนู Tan et al. (2021) รายงานการทดสอบระบบทางเดินหายใจและการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในคน 50 คนที่รับประทานผงเห็ดนมเสือบดปริมาณ 300 มิลลิกรัม วันละ 2 ครั้ง ว่าผู้ที่รับประทานเห็ดนมเสือเป็นอาหารเสริมมีอาการระบบทางเดินหายใจลดลง มีปริมาณสารสื่อการอักเสบ IL-1β, IL-8 ลดลง และมีภูมิคุ้มกันชนิด IgA เพิ่มขึ้น การทดสอบความเป็นต่อเซลล์พบว่าสารสกัดเห็ดนมเสือด้วยน้ำไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เต้านมปกติมนุษย์ (184B5) และเซลล์ปอดปกติมนุษย์ (NL20) (Lee et al., 2012a) สารสกัดเห็ดนมเสือด้วยเมทานอลพบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ลำไส้ปกติมนุษย์ (CCD-18co) เซลล์ไตปกติมนุษย์ (HEK293), เยื่อบุผิวโพรงจมูกปกติมนุษย์ (NP69), เซลล์ไตหนู (NRK52E), and เซลล์ไตลิงเขียวแอฟริกา (vero cell) (Lau et al., 2013a; Suziana Zaila, 2013) ในประเทศมาเลเซียเห็ดนมเสือได้รับการจดทะเบียนในฐานะ Functional ingredient โดยหน่วยงาน National Pharmaceutical Control Bureau (NPCB) เมื่อปี พ.ศ. 2553

2.5 การเพาะเลี้ยงเห็ดแบบฝังกลบ

ในขั้นตอนของการเพาะเห็ดนอกเหนือจากธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบของก้อนเห็ด คุณภาพของเส้นใยเห็ด สภาวะในการเจริญเติบโตของเห็ดแล้ว การเพิ่มชั้นของวัสดุฝังกลบเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อให้ได้ผลผลิตสูง แต่ไม่ใช่สำหรับเห็ดทุกชนิด (Pardo-Giménez et al., 2020a) วัสดุฝังกลบจะช่วยดูดซับน้ำ ช่วยให้การแลกเปลี่ยนก๊าซระหว่างพื้นผิวก้อนเห็ดและสิ่งแวดล้อม ช่วยป้องกันการแห้งของก้อนเห็ดที่จะออกดอก ป้องกันแมลงและศัตรูเห็ด รวมถึงส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อการออกดอกของก้อนเห็ด ซึ่งปัจจัยต่างๆนี้ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเห็ดจากระยะ vegetative phase (ไมซีเลียม) ไปเป็น reproductive phase (ดอกเห็ด) (Okhuoya and Okogbo, 1991; Pardo-Giménez et al., 2017; Navarro et al., 2020) การฝังกลบก้อนเห็ดที่มีเชื้อเดินเต็มโดยใช้วัสดุฝังกลบที่มีการดูดซับน้ำเพื่อให้ความชื้นจึงเป็นการกระตุ้นให้เห็ดออกดอก เห็ดที่ต้องมีการฝังกลบเนื่องจากต้องการความชื้นในการออกดอก ได้แก่ เห็ดกระดุม (*Agaricus bisporus*) เห็ดอัลมอนด์ (*Agaricus subrufescens*) เห็ดมิลค์กี้ (*Calocybe indica*) เห็ดถั่วฝรั่ง (*Coprinus comatus*) เห็ดนางรมหัว (*Pleurotus tuberregium*) เป็นต้น เห็ดที่สามารถเปิดดอกในถุงโดยการเปิดคอขวดหรือกรีดถุงได้เลยไม่จำเป็นต้องมีการฝังกลบ ได้แก่ เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus pulmonarius*) เห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus*) เห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) เห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) เป็นต้น



ภาพที่ 2.4 การเพาะเลี้ยงเห็ดแบบฝังกลบลงในวัสดุฝังกลบ (A: เห็ดอัลมอนด์ *Agaricus subrufescens*; B: เห็ดกระดุม *Agaricus bisporus*; C: เห็ดออรินจิ *Pleurotus eryngii*; D: เห็ดถั่วฝรั่ง *Coprinus comatus*) (Dias et al., 2021)

ภาพที่ 2.5 การเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือ (G*anoderma lucidum*) ในถุงโดยการเปิดคอขวด (Thaipublica, 2565)

ภาพที่ 2.6 การเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus*) ในถุงโดยการเปิดคอขวด (สำนักงาน กปร., 2565)

พีทมอส (Peatmoss) ที่เกิดจากการทับถมของซากพืชหรืออินทรียวัตถุเป็นเวลานานเป็นวัสดุที่นิยมใช้ในการฝังกลบเห็ดเนื่องจากสามารถอุ้มน้ำได้ดีเหมาะสำหรับรักษาความชื้นให้กับก้อนเห็ดที่นำมาฝังกลบ แต่ในบางพื้นที่หรือบางประเทศที่มีทรัพยากรพีทมอสอยู่อย่างจำกัดและราคาสูงทำให้มีการใช้พีทมอสผสมร่วมกับวัสดุฝังกลบอื่นๆหรือใช้วัสดุฝังกลบอื่นทดแทนพีทมอส เช่น ดินปลูกต้นไม้ ขุยมะพร้าว เวอร์มิคูไลท์ มูลสัตว์ เป็นต้น วัสดุฝังกลบก้อนเห็ดส่งผลต่อการออกดอกของเห็ดเนื่องจากคุณสมบัติทางเคมีของมัน (Hayes, 1981) ปัจจัยทางกายภาพและเคมี เช่น ขนาดอนุภาค การนำไฟฟ้า และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ถือเป็นปัจจัยกำหนดคุณภาพของวัสดุที่ใช้ฝังกลบ ขนาดอนุภาคและความพรุนมีผลโดยตรงต่อความสามารถในการกักเก็บน้ำและการเติมอากาศ (Colauto et al., 2010) การใช้ดินที่มีอนุภาคละเอียดในการฝังกลบก้อนเห็ดจะทำให้เห็ดออกดอกได้น้อยเนื่องจากเกิดสภาวะไร้อากาศ (Chapius and Courtieu ,1950) การใช้ดินที่มีความพรุนสูงจะทำให้เกิดผลผลิตเห็ดสูงเนื่องจากเกิดการถ่ายเทอากาศระหว่างพื้นผิวก้อนเห็ดที่ถูกฝังกลบกับสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าดินที่มีความพรุนน้อย วัสดุฝังกลบที่สามารถเก็บกักน้ำได้มากส่งผลให้ผลผลิตเห็ดมากตามไปด้วย (Bels-Koning, 1950) หากวัสดุฝังกลบมีค่าการนำไฟฟ้าสูงเนื่องจากการมีปริมาณไอออนของเกลือสูงเห็ดจะดูดซับน้ำออกมาใช้ได้ยากส่งผลให้การออกดอกของเห็ดถูกยับยั้งหรือลดลงอย่างมาก (Pardo-Giménez; De Juan; Pardo, 2002a) ในเรื่องของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) แม้ว่าเชื้อราสามารถเติบโตได้ในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดเล็กน้อย วัสดุฝังกลบที่เหมาะสมควรมีสภาวะเป็นกลางหรือด่างเนื่องจากสภาวะนี้ช่วยควบคุมเชื้อ *Trichoderma* ซึ่งเติบโตได้ดีที่สภาวะเป็นกรด (Pardo-Giménez; De Juan; Pardo, 2002a) นอกจากนี้ปริมาณและชนิดจุลินทรีย์ในวัสดุฝังกลบยังส่งผลต่อการออกดอกของเห็ดด้วย งานวิจัยของ Jarial และคณะ (2005) พบว่าเห็ดจะไม่ออกดอกหากมีการฝังกลบในวัสดุฝังกลบที่ปลอดเชื้อ งานวิจัยของ Cho และคณะ (2008) ซึ่งเพาะเห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus*) แบบฝังกลบพบว่าเชื้อ *Flavobacterium* มีปริมาณมากในวัสดุฝังกลบที่ปลอดเชื้อ ในขณะที่เชื้อ *Pseudomonas* มีปริมาณมากในวัสดุฝังกลบที่ไม่ปลอดเชื้อ และยังพบว่าเชื้อ *Pseudomonas* กระตุ้นให้เห็ดนางรมฮังการีออกดอกและช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตเห็ด งานวิจัยของ Okhuoya และ Okogbo (1991) พบว่าการเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมหัว (*Pleurotus tuberregium*) ด้วยการฝังกลบในดินปลูกต้นไม้ให้ปริมาณผลผลิต (yield) มากกว่าแบบไม่ฝังกลบประมาณ 1.5-3.0 เท่า

2.6 การเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือ

ด้วยสรรพคุณทางยาที่หลากหลายและมีโอกาสหาได้ยากในป่าจึงทำให้เห็ดนมเสือมีราคาสูงมาก เห็ดที่สมบูรณ์ทั้งส่วนดอกและส่วนหัวใต้ดินราคาประมาณหลายพันถึงหมื่นบาทขึ้นไป อีกทั้งเห็ดนมเสือจากป่ายังมีปริมาณไม่เพียงพอกับความต้องการ ดังนั้นนักวิจัยจึงเริ่มหาแนวทางในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือเพื่อให้มีปริมาณเพียงพอกับความต้องการในระยะเวลาอันรวดเร็ว วิธีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือจากรายงานการวิจัยพบอยู่หลักๆ 3 วิธี ได้แก่ 1) การเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว (submerge fermentation) 2) การเพาะเลี้ยงในอาหาร

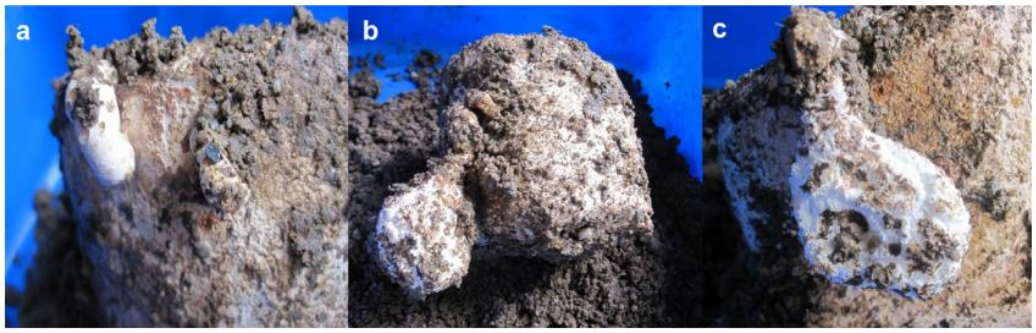
แข็งจำพวกข้าว (solid state fermentation) 3) การเพาะเลี้ยงแบบฝังกลบในดินโดยใช้ก้อนเชื้อที่มีเชื้อเดินเต็ม (casing method) ซึ่งแต่ละวิธีมีความแตกต่างกันในแง่ของต้นทุน เวลาและพื้นที่ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือบนอาหารวุ้นพบว่าเส้นใยไมซีเลียมเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ pH 6 และ 7 การเจริญเติบโตของเส้นใยเป็นไปอย่างรวดเร็วเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นที่มีกลูโคส-เปปโตนและอาหารวุ้นที่มีสารสกัดจากยีสต์-เปปโทน-เดกซ์โทรสเป็นองค์ประกอบและพบว่าแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเส้นใยไมซีเลียม ได้แก่ กลูโคส และโพแทสเซียมไนเตรต ตามลำดับ (Lai et al., 2011) Rahman et al. (2012) ได้ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนต่างๆผลพบว่าเส้นใยมีเจริญเติบโตดีที่สุดในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลแลคโตสเป็นองค์ประกอบ การใส่เกลือแอมโมเนียม เช่น แอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไนเตรต และแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต จะยับยั้งจะเจริญเติบโตของเส้นใย นอกจากนี้แหล่งไนโตรเจน อาทิเช่น เปปโตน สารสกัดจากยีสต์ มีผลช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเส้นใยอีกด้วย

Lai et al. (2014) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือในอาหารเหลวพบว่าเส้นใยไมซีเลียมเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ pH 6 องค์ประกอบของอาหารเหลวที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณเส้นใยไมซีเลียม คือ น้ำตาลกลูโคส 80 กรัม/ลิตร โพแทสเซียมไนเตรท 4 กรัม/ลิตร ไอรอน (II) ซัลเฟต 0.4 กรัม/ลิตร แคลเซียมคลอไรด์ 0.1 กรัม/ลิตร และองค์ประกอบของอาหารเหลวที่เหมาะสมในการผลิตเอ็กโซพอลิแซ็กคาไรด์ (exopolysaccharide) คือ น้ำตาลกลูโคส 80 กรัม/ลิตร โพแทสเซียมไนเตรท 4 กรัม/ลิตร ไอรอน (II) ซัลเฟต 1.4 กรัม/ลิตร แคลเซียมคลอไรด์ 1.1 กรัม/ลิตร จากสภาวะและองค์ประกอบของอาหารนี้ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณเส้นใยไมซีเลียมได้ถึง 6.3788 กรัม/ลิตร และสามารถผลิตเอ็กโซพอลิแซ็กคาไรด์ได้ถึง 1.2 กรัม/ลิตร นอกจากแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารสำคัญแล้ว Ma and Yu (2017) ยังใช้สารสกัดสมุนไพรเหอโชวหวู่ (Radix Polygoni multiflora) และคาโมมายล์ (Chamomile) ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตเส้นใยและกระตุ้นการสร้างสารไตรเทอพีนอยด์ (triterpenoid) รวมถึงเอ็กตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ (extracellular polysaccharide)

Kong et al. (2016) และ Lee et al. (2017) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือบนข้าวกล้อง (brown rice) เพื่อนำส่วนเหง้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงไปศึกษาความเป็นพิษและความปลอดภัยต่อไป โดยการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือบนข้าวกล้องจะใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง 3 เดือน ในที่มืดที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ในขณะที่การเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือบนข้าวหรือธัญพืชชนิดอื่นๆยังไม่พบรายงาน

Abdullah et al. (2013) ได้ศึกษาการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือที่มีเชื้อเดินเต็ม (อายุก้อน 3 เดือน หลังจากลงหัวเชื้อ) ในดิน ผลพบว่าเริ่มมีส่วนเหง้าเห็ดเกิดขึ้นหลังจากฝังกลบแล้ว 3-4 สัปดาห์ หลังจากนั้นส่วนเหง้าจะค่อยโตขึ้น (ภาพที่ 2.4) สำหรับส่วนของดอกเห็นและก้านดอกพบว่ามีการเจริญขึ้นเมื่อฝังกลบไปแล้วนาน 8-12 เดือน



ภาพที่ 2.7 ระยะการเจริญของส่วนเหง้าเห็ดนมเสือ a) ระยะส่วนเหง้าเริ่มเจริญออกมาจากก้อนเห็ด (initiation) b) ระยะที่ส่วนเหง้าเห็ดนมเสือบริเวณรอยต่อกับก้อนเห็ดเริ่มหดตัว (development) c) ระยะส่วนเหง้าเห็ดนมเสือเริ่มมีอายุมากขึ้นและเริ่มมีรอยสีน้ำตาล (maturation)

Jamil et al. (2018) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบโดยใช้ก้อนเห็ดที่มีองค์ประกอบของขี้เลื่อย 89% ปูนขาว 1% และรำข้าว 10% หลังจากมีการใส่หัวเชื้อเห็ดนมเสือและบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 3-4 สัปดาห์ เส้นใยไมซีเลียมจะเดินเต็มก้อน จากนั้นทำการฝังกลบในดินที่มีการผสมปูนขาว 1% ความชื้นประมาณ 50-70% เป็นระยะเวลา 3 เดือน เก็บส่วนเหง้ามาสกัดด้วยน้ำเดือด แล้ววัดปริมาณสารอาหารและปริมาณฟลาโวนอยด์ในส่วนเหง้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบเทียบกับเหง้าเห็ดจากธรรมชาติผลพบว่าส่วนเหง้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ฟลาโวนอยด์และบีต้า-กลูแคนสูงกว่าเหง้าเห็ดจากธรรมชาติ (ตารางที่ 2.9)

ตารางที่ 2.9 สารอาหาร ปริมาณฟลาโวนอยด์และบีต้า-กลูแคนที่พบในส่วนเหง้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบเทียบกับเหง้าเห็ดจากธรรมชาติ (Jamil et al., 2018)

	Wild tuber	Cultivated tuber
Total carbohydrate (mg/g)	513.0	748.0
Total protein (mg/g)	30.4	68.0
Total fat (mg/g)	4.6	4.0
Total flavonoid (mg/g)	110.84	136.92
Total β-D-glucan	40.52	63.51

การเพาะเลี้ยงแบบฝังกลบเป็นวิธีการเพาะเลี้ยงที่มีข้อจำกัดในด้านเวลาเนื่องจากใช้เวลานานกว่าจะได้เก็บส่วนเหง้าได้และใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงเยอะ ในขณะที่การเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสามารถควบคุมปัจจัยต่างๆในการเพาะเลี้ยงได้ง่าย ใช้พื้นที่ไม่มาก และสามารถเก็บเส้นใยได้ในระยะเวลาอันรวดเร็วประมาณ 2 สัปดาห์ แต่การ

เพาะเลี้ยงด้วยวิธีนี้ต้องอาศัยเทคโนโลยีทำให้เกษตรกรผู้เพาะเห็ดที่ไม่มีความพร้อมทางด้านเงินทุนและเทคโนโลยีไม่สามารถดำเนินการได้ การเพาะเลี้ยงแบบฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือที่มีเชื้อเดินเต็มลงในดินจึงยังคงเป็นที่สนใจของเกษตรกรในการพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ผลผลิตส่วนเหง้าเยอะและมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง

2.7 แนวคิดและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

ในการเพิ่มผลผลิตและฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ด รายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ในเห็ดหอมพบว่าการใช้ก้อนวัสดุเพาะขนาดเล็กลง เส้นใยเห็ดหอมสามารถเจริญได้เต็มก้อนวัสดุเพาะในระยะเวลาอันรวดเร็วในขั้นตอนการบ่มเชื้อ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการผลิตเห็ดหอมอย่างมาก เพราะเมื่อเส้นใยเห็ดหอมเจริญเต็มก้อนเชื้อได้เร็ว โอกาสที่เชื้ออื่นๆจะเข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ดได้ก็มีน้อยลง โอกาสในการปนเปื้อนเชื้อชนิดอื่นหรือแบคทีเรีย ราลดลง (สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ และคณะ, 2559) ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร (2548) พบว่าในเห็ดหอมพบว่าขนาดของก้อนเห็ด 500 และ 700 กรัม พบว่าให้ปริมาณผลผลิตได้ดีไม่ต่างจากก้อนเห็ดขนาด 900 กรัม อีกทั้งยังช่วยให้ก้อนเสียลดลงเพราะเชื้อเห็ดเดินถึงก้นถุงเร็วขึ้น) พิมพ์กานต์ และคณะ (2530) พบว่าขนาดก้อนเห็ดหอมที่เหมาะสมควรอยู่ระหว่าง 300-500 กรัม ต่อถุง และเปอร์เซ็นต์การให้ผลผลิตต่อวัสดุเพาะจะสูงกว่าการใช้ปริมาณอาหารเพาะในปริมาณสูง ก้อนเห็ดนางรมเหลือทิ้งเมื่อนำไปใช้เพาะเห็ดโคนญี่ปุ่นแทนขี้เลื่อยไม้ยางพาราสามารถเพิ่มผลเห็ดโคนญี่ปุ่นได้ถึง 135.63 กรัมต่อถุง จากปกติใช้ขี้เลื่อยยางพาราอย่างเดียว 56.64 กรัมต่อถุง (Noonsong et al., 2016) วัสดุเพาะและการใช้น้ำหมักจุลินทรีย์ชีวภาพสามารถช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตเห็ดนางรม (Oyster Mushroom) และช่วยกระตุ้นการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมได้ (Bajwa et al., 1999; Mapanao et al., 2016) การใส่ซีลีเนียมซึ่งเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกายแต่มีปริมาณน้อยในอาหารเหลวสำหรับการเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือ (*Ganoderma* sp.) พบว่าช่วยกระตุ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ประมาณ 2 เท่า (Milovanovic et al., 2015) สารประกอบซีลีเนียมมีส่วนช่วยกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์สำคัญหลายชนิด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ การหมักวัสดุเพาะเห็ดกระดุม เห็ดนางรมด้วยซีลีเนียมช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีโนลิก เพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเซลล์ไลน์มะเร็งปอดได้ (Bhatia, 2013a, 2013b; Bhatia et al. 2014) นอกจากนี้มีรายการวิจัยพบว่ากลีเซอรอลซึ่งปกติใช้ทั่วไปในการกระตุ้นผลผลิตทางการเกษตรสามารถช่วยกระตุ้นการเกิดเหง้าในเห็ดจู้หลิง (*Polyporus umbellatus*) ได้ที่ความเข้มข้น 1-5% (w/v) (Li et al., 2017)

จากแนวคิดและรายงายการวิจัยดังกล่าวข้างต้นคณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาการเพาะเห็ดนมเสือโดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงแบบฝังกลบเพื่อที่จะเพิ่มปริมาณผลผลิตเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนเหง้าเห็ดนมเสือให้สูงขึ้นด้วยการศึกษาผลของขนาดก้อน วิธีการจัดเรียงก้อน ศึกษาวัสดุฝังกลบเหมาะสมโดยเน้นการใช้ประโยชน์จากก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) ศึกษาผลของสารประกอบซีลีเนียม และกลีเซอรอล โดยองค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยนี้จะถูกนำไปถ่ายทอดแก่บุคคล ภาครัฐหรือภาคเอกชนที่สนใจต่อไป เพื่อที่จะได้มีเห็ดนมเสือซึ่งเป็นเห็ด

ทางยาเพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคและจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาเป็นส่วนผสมฟังก์ชัน (Functional ingredient) สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มเสริมสุขภาพ ยาต่อไป

บทที่ 3 ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมนี
2. ปิเปตต์อัตโนมัติ (Automatic pipette) ขนาด 0.5-10, 10-100, 20-200 และ 100-1000 ไมโครลิตร ยี่ห้อ Eppendorf ประเทศเยอรมนี
3. เครื่องปั่น (Blender) ยี่ห้อ Electrolux ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน
4. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) รุ่น G560E ยี่ห้อ Scientific Industries ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Genesys 10S UV-Vis ยี่ห้อ Thermo fisher sciencetific ประเทศสหราชอาณาจักร
6. เครื่องทำความร้อนพร้อมกวนสารละลาย (Hotplate Stirrer) รุ่น UC152D ยี่ห้อ Stuart ประเทศสหราชอาณาจักร
7. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมนี
8. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น FiveEasy ยี่ห้อ Mettler Toledo ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
9. เครื่องชั่งสารความละเอียด 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) รุ่น ED224S ยี่ห้อ Sartorius ประเทศเยอรมนี
10. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น HARRIER 15/80 Bbench top refrigerated centrifuge ยี่ห้อ Sanyo ประเทศญี่ปุ่น
11. เครื่องวัดความชื้นในดิน (Soil moisture meter) ยี่ห้อ Kandtek ประเทศประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน
12. เครื่องระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) ยี่ห้อ Buchi รุ่น R-100 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. หลอดทดลองชนิดฝาเกลียว (Screw cap tube)
2. ชั้นวางหลอดทดลอง (Rack)
3. แท่งแก้ว (stirring rod)
4. กรวยกรองสาร (Funnel)
5. ช้อนตักสาร (spatula)
6. บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 100, 200, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

7. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
8. หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง (Centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร
9. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
10. กระบอกตวง (Measuring cylinder)
11. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer) อุณหภูมิ 0-200 องศาเซลเซียส
12. คิวเวตต์ควอทซ์ (quartz cuvette) ขนาด 0.7 และ 1.4 มิลลิลิตร
13. คิวเวตต์พลาสติก (plastic cuvette) ขนาด 2.0 มิลลิลิตร
14. กระดากรอง (Filter paper) ยี่ห้อ Whatman No. 1 และ 4
15. ถุงซิปล็อค (Zip Lock Bags)

3.1.3 สารเคมี

1. Ascorbic acid ยี่ห้อ APS ประเทศออสเตรเลีย
2. Ethanol ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี
3. Methanol ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี
4. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ยี่ห้อ Sigma ประเทศเยอรมนี
5. Acetic acid ยี่ห้อ Carlo erba ประเทศเยอรมนี
6. Ferrous sulphate ยี่ห้อ Loba chemie ประเทศอินเดีย
7. Folin-Ciocalteu’s reagent ยี่ห้อ Carlo erba ประเทศเยอรมนี
8. Hydrochloric acid ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี
9. Sodium carbonate ยี่ห้อ Carlo erba ประเทศเยอรมนี
10. 2,4,6-Tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ยี่ห้อ Sigma ประเทศเยอรมนี
11. Potassium chloride ยี่ห้อ Carlo erba ประเทศเยอรมนี
12. Sodium acetate ยี่ห้อ Carlo erba ประเทศเยอรมนี
13. Sodium carbonate ยี่ห้อ Carlo erba ประเทศเยอรมนี
14. Sodium nitrite ยี่ห้อ Univar ประเทศเยอรมนี
15. Trichloroacetic acid ยี่ห้อ Labscan ประเทศไทย
16. D-Glucose ยี่ห้อ Univar ประเทศเยอรมนี
17. Sulfuric acid ยี่ห้อ Labscan ประเทศไทย
18. Phenol Detached Crystals ยี่ห้อ Loba chemie ประเทศอินเดีย
19. Vanillin ยี่ห้อ Sigma ประเทศเยอรมนี

20. Perchloric acid ยี่ห้อ Loba chemie ประเทศอินเดีย
21. Ursolic acid ยี่ห้อ Sigma ประเทศเยอรมนี
22. Gallic acid ยี่ห้อ Sigma ประเทศเยอรมนี
23. Catechine ยี่ห้อ Sigma ประเทศเยอรมนี
24. Bovine serum albumin ยี่ห้อ Sigma ประเทศเยอรมนี
25. Trypin from bovine pancrease ยี่ห้อ Sigma ประเทศเยอรมนี
26. Dimethyl sulfoxide ยี่ห้อ Loba chemie ประเทศอินเดีย

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 ก้อนเชื้อเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) สำหรับเพาะเลี้ยงแบบฝังกลบ

เตรียมก้อนอาหารสำหรับเพาะเห็ดนมเสือด้วยสูตรอาหารเช่นเดียวกับก้อนอาหารสำหรับเพาะเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าภูฐาน โดยมีส่วนประกอบดังนี้ ได้แก่ ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 กิโลกรัม รำละเอียด 7 กิโลกรัม ปลายข้าว 1 กิโลกรัม ยิปซัม (แคลเซียมซัลเฟต) 0.5 กิโลกรัม ดีเกลือ (แมกนีเซียมซัลเฟต) 0.2 กิโลกรัม ปูนขาว 1 กิโลกรัม ภูไมท์ 2-3 กิโลกรัม และน้ำสำหรับปรับความชื้น 70-80 ลิตร จากนั้นนำวัสดุที่ผสมแล้วบรรจุลงในถุงพลาสติก อัดให้แน่น สวมคอขวด ใช้ยางรัด ปิดด้วยจุกสำลี แล้วนำถุงก้อนอาหารเห็ดไปนึ่งฆ่าเชื้อ

ทำการหยอดหัวเชื้อเห็ดนมเสือในเมล็ดข้าวฟ่างลงในถุงก้อนอาหารเห็ดที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นบ่มก้อนอาหารที่มีเชื้อในโรงเรือนที่มีอุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส เส้นใยเห็ดใช้ระยะเวลาประมาณ 2 เดือน ในการเจริญเต็มก้อน หลังจากเชื้อเจริญเต็มก้อนทำการบ่มก้อนเชื้อต่อเป็นระยะเวลา 2 เดือนเพื่อให้เส้นใยเห็ดรัดตัวมากขึ้น (ภาพที่ 3.1) แล้วจึงแกะถุงพลาสติกออกเพื่อนำไปใช้ในการทดลองการฝังกลบต่อไป

ภาพที่ 3.1 ก้อนเชื้อเห็ดนมเสือที่มีเชื้อเดินเต็มก้อน

3.2.2 การศึกษาผลของวิธีการสกัดสารจากเหง้าเห็ดนมเสือ

ดำเนินการศึกษาโดยฝังกลบก้อนเห็ดขนาด 900 กรัม แบบฝังเดี่ยวลงในดิน:ขุยมะพร้าว (1:1) ทำการรดน้ำดังตารางที่ 3.1 และสังเกตการณ์ปริมาณความชื้นในดินด้วยเครื่องวัดความชื้นในดิน หลังการฝังกลบ 6 เดือน ทำการขุดเหง้า แล้วจึงนำเหง้ามาล้างทำความสะอาด ฝานเป็นแผ่นบาง อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำไปบดเป็นผง สกัดสารด้วยน้ำร้อน น้ำเย็น และแอลกอฮอล์ การสกัดด้วยน้ำเย็น (cold water extraction) ทำโดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติมน้ำเย็น 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง การสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) ทำโดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติมน้ำเดือด 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที การสกัดด้วยเอทานอล (ethanol) ทำโดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติม 95% เอทานอล 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากบ่มครบเวลาทำการกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 สารสกัดจากการสกัดด้วยน้ำร้อนถูกนำไปทำแห้งด้วยการฟรีซดรายและละลายกลับด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดจากการสกัดด้วยเอทานอลถูกนำไปทำแห้งด้วยการระเหยในเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และละลายกลับด้วยสารไดเมทิวซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide) ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ของสารสกัดเหง้าเห็ด ดังวิธีการวิจัยข้อ 3.2.10-3.2.14

ตารางที่ 3.1 การรดน้ำก้อนเห็ดนมเสือที่ถูกฝังกลบ

ช่วงเวลาฝังกลบ	การรดน้ำ
0-4 สัปดาห์	รดน้ำสัปดาห์ละ 2 ครั้ง (ความชื้นประมาณ 70%)
4-8 สัปดาห์	รดน้ำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง (ความชื้นประมาณ 60%)
8-24 สัปดาห์	รดน้ำ 1 ครั้งในสองสัปดาห์ (ความชื้นประมาณ 50%)

3.2.3 การศึกษาผลของก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) และวัสดุฝังกลบ ได้แก่ ขุยมะพร้าว ดินปลูกพืช ฟางข้าว ขี้เลื่อยไม้ยางพารา เป็นต้น ที่มีต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ดำเนินการศึกษาโดยฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือแบบเดี่ยวในวัสดุฝังกลบต่างๆ และทำการรดน้ำดังตารางที่ 3.1 และสังเกตการณ์ปริมาณความชื้นในดินด้วยเครื่องวัดความชื้นในดิน หลังการฝังกลบ 6 เดือน ทำการขุดเหง้า

แล้วนับจำนวนเหง้า วัดน้ำหนักเหง้าสด (ในหน่วยกรัม) วัดน้ำหนักแห้ง (ในหน่วยกรัม) แล้วจึงนำเหง้ามาล้างทำความสะอาด ฝานเป็นแผ่นบาง อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำไปบดเป็นผง สกัดด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) โดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติมน้ำเดือด 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ของสารสกัดเหง้าเห็ด ดังวิธีการวิจัยข้อ 3.2.10-3.2.14

3.2.4 การศึกษาผลของขนาดก้อนเห็ดนมเสือต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ดำเนินการศึกษาโดยฝังกลบก้อนเห็ดขนาดต่างๆ ได้แก่ 250 500 750 และ 900 กรัม แบบฝังเดี่ยวลงในดินปลูกพืช:ขุยมะพร้าว (1:1) ทำการรดน้ำดังตารางที่ 3.1 และสังเกตการณ์ปริมาณความชื้นในดินด้วยเครื่องวัดความชื้นในดิน หลังการฝังกลบ 6 เดือน ทำการขุดเหง้า แล้วนับจำนวนเหง้า วัดน้ำหนักเหง้าสด (ในหน่วยกรัม) วัดน้ำหนักแห้ง (ในหน่วยกรัม) แล้วจึงนำเหง้ามาล้างทำความสะอาด ฝานเป็นแผ่นบาง อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำไปบดเป็นผง สกัดด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) ทำโดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติมน้ำเดือด 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ของสารสกัดเหง้าเห็ด ดังวิธีการวิจัยข้อ 3.2.10-3.2.14

3.2.5 การศึกษาผลของการจัดเรียงก้อนเห็ดนมเสือต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ดำเนินการศึกษาโดยฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือแบบเดี่ยวและกลุ่ม (1 2 3 4 และ 6 ก้อน) ลงในดินปลูกพืช: ขุยมะพร้าว (1:1) ทำการรดน้ำดังตารางที่ 3.1 และสังเกตการณ์ปริมาณความชื้นในดินด้วยเครื่องวัดความชื้นในดิน หลังการฝังกลบ 6 เดือน ทำการขุดเหง้า แล้วนับจำนวนเหง้า วัดน้ำหนักเหง้าสด (ในหน่วยกรัม) วัดน้ำหนักแห้ง (ในหน่วยกรัม) แล้วจึงนำเหง้ามาล้างทำความสะอาด ฝานเป็นแผ่นบาง อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำไปบดเป็นผง สกัดด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) ทำโดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติมน้ำเดือด 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้าน

มะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ของสารสกัดเหง้าเห็ด ดังวิธีการวิจัยข้อ 3.2.10-3.2.14

3.2.6 การศึกษาผลของสารประกอบซีลีเนียม (selenium) ได้แก่ sodium selenate (Na_2SeO_4) sodium selenite (Na_2Seo_3) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ดำเนินการศึกษาโดยทำการฝังกลบก้อนเห็ดลงในดินปลูกพืช:ขุยมะพร้าว (1:1) แล้วรดน้ำดังตารางที่ 3.1 โดยรดน้ำที่มีสารประกอบ sodium selenate และ sodium selenite ในช่วง 4 สัปดาห์แรก (รดสัปดาห์ละ 2 ครั้ง) และหลังจาก 24 สัปดาห์ให้รดด้วยน้ำปกติ ความเข้มข้นของสารประกอบ sodium selenate และ sodium selenite ที่ใช้ คือ 0 10 25 50 75 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัมวัสดุฝังกลบ สังเกตการณ์ปริมาณความชื้นในดินด้วยเครื่องวัดความชื้นในดิน หลังการฝังกลบ 6 เดือน ทำการขุดเหง้า แล้วนับจำนวนเหง้า วัดน้ำหนักเหง้าสด (ในหน่วยกรัม) วัดน้ำหนักแห้ง (ในหน่วยกรัม) แล้วจึงนำเหง้ามาล้างทำความสะอาด ฝานเป็นแผ่นบาง อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำไปบดเป็นผง การสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) ทำโดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติมน้ำเดือด 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ของสารสกัดเหง้าเห็ด ดังวิธีการวิจัยข้อ 3.2.10-3.2.14

3.2.7 การศึกษาผลของกลีเซอรอล (glycerol) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ดำเนินการศึกษาโดยทำการฝังกลบก้อนเห็ดลงในดินดินปลูกพืช:ขุยมะพร้าว (1:1) แล้วรดน้ำดังตารางที่ 3.1 โดยรดน้ำที่มีกลีเซอรอลที่ความเข้มข้น 0 0.5 1 2.5 5 และ 10% โดยปริมาตร ในช่วง 4 สัปดาห์แรก (รดสัปดาห์ละ 2 ครั้ง) และหลังจาก 24 สัปดาห์ให้รดด้วยน้ำปกติ สังเกตการณ์ปริมาณความชื้นในดินด้วยเครื่องวัดความชื้นในดิน หลังการฝังกลบ 6 เดือน ทำการขุดเหง้า แล้วนับจำนวนเหง้า วัดน้ำหนักเหง้าสด (ในหน่วยกรัม) วัดน้ำหนักแห้ง (ในหน่วยกรัม) แล้วจึงนำเหง้ามาล้างทำความสะอาด ฝานเป็นแผ่นบาง อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำไปบดเป็นผง สกัดด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) ทำโดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติมน้ำเดือด 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ ของสารสกัดเหง้าเห็ด ดังวิธีการวิจัยข้อ 3.2.10-3.2.14

3.2.8 การศึกษาผลของระยะเวลาฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ดำเนินการศึกษาโดยทำการฝังกลบก้อนเห็ดลงในดินปลูกพืช/ขุยมะพร้าว (1:1) แล้วรดน้ำดังตารางที่ 3.1 สังเกตการณ์ปริมาณความชื้นในดินด้วยเครื่องวัดความชื้นในดิน หลังการฝังกลบ 2 3 4 6 เดือน ทำการขุดเหง้า แล้วนับจำนวนเหง้า วัดน้ำหนักเหง้าสด (ในหน่วยกรัม) วัดน้ำหนักแห้ง (ในหน่วยกรัม) แล้วจึงนำเหง้ามาล้างทำความสะอาด ฝานเป็นแผ่นบาง อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำไปบดเป็นผง สกัดด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) ทำโดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติมน้ำเดือด 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ ของสารสกัดเหง้าเห็ด ดังวิธีการวิจัยข้อ 3.2.10-3.2.14

3.2.9 การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบและเห็ดนมเสือที่เก็บได้จากป่าธรรมชาติ

ดำเนินการโดยเก็บเหง้าเห็ดนมเสือจากป่าธรรมชาติบาลาฮาลา จังหวัดยะลา นำเหง้ามาล้างทำความสะอาด ฝานเป็นแผ่นบาง อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำไปบดเป็นผง สกัดด้วยน้ำร้อน (Hot water extraction) ทำโดยเติมผงเหง้าเห็ดนมเสือในขวดรูปชมพู่ 10 กรัม เติมน้ำเดือด 300 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 กรัม/30 มิลลิลิตร) แล้วบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และทำการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ของสารสกัดเหง้าเห็ด ดังวิธีการวิจัยข้อ 3.2.10-3.2.14 เทียบกับสารสกัดเหง้าเห็ดเห็ดนมเสือที่เพาะเลี้ยงแบบฝังกลบในดิน:ขุยมะพร้าว (1:1) โดยคณะนักวิจัยและเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบจากฟาร์มเกษตรกร

3.2.10 ศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็งและต้านอนุมูลอิสระ

3.2.10.1 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วยวิธี

3.2.10.1.1 การยับยั้งการเสียสภาพของโปรตีน (Protein denaturation)

ตรวจวิเคราะห์ความสามารถของสารสกัดในการยับยั้งการเสียสภาพของโปรตีนด้วยวิธีดัดแปลงมาจากวิธีของ Williams et al. (2008) โดยเตรียมสารละลาย BSA (bovine serum albumin) ในสารละลาย Tris-acetate buffer (pH 6.8) ให้มีความเข้มข้น 0.2% โดยมวล/ปริมาตร จากนั้นนำสารละลาย BSA ที่เตรียมไว้ปริมาตร 2850 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารสกัดเหง้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร

150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร โดยใช้ Diclofenac sodium เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ แล้วจึงคำนวณค่า % inhibition of protein denaturation ดังสมการ

inhibition of protein denaturation (%) = [(A0– A1)/ A0] x 100

โดยที่ A0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A1 = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใส่สารสกัดเห็ด

ความสามารถในการยับยั้งการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนจะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดเหง้าเห็ดที่สามารถยับยั้งการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนได้ 50%

3.2.10.1.2 การยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนส (Proteinase inhibition assay)

ตรวจวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Proteinase ซึ่งคือเอนไซม์ Trypsin ในการย่อยสารตั้งต้นที่เป็นโปรตีน casein ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Gunathilake et al. (2018) โดยเตรียมสารละลายเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin) ในสารละลาย Tris-HCl (25 mM, pH 7.4) ให้มีความเข้มข้น 0.06 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นนำเอนไซม์ทริปซิน ที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารสกัดเหง้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำมาแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำหลอดทดลองออกมาเติมสารละลายเคซีนความเข้มข้น 0.8% โดยมวล/ปริมาตร ผสมให้เข้ากันและบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติม Perchloric acid (70%) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที และนำสารละลายใสส่วนบนมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร แล้วจึงคำนวณค่า % inhibition of protein denaturation ดังสมการ

inhibition of proteinase activity (%) = [(A0– A1)/ A0] x 100

โดยที่ A0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A1 = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใส่สารสกัดเห็ด

ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Proteinase จะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดเหง้าเห็ดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Proteinase ได้ 50%

3.2.10.2 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านมะเร็งด้วยวิธี MTT (3,(4,5- dimethythiazol-2-yl)-2,3-diphenyl tetrazolium bromide) assay

ตรวจวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านมะเร็งด้วยวิธี MTT (3,(4,5- dimethythiazol-2-yl)-2,3-diphenyl tetrazolium bromide) assay โดยวิธีของ Rossiana et al. (2018) ซึ่งจะมีการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือต่อเซลล์ไลน์มะเร็ง (มะเร็งปอดและมะเร็งเต้านม) เริ่มต้นทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์มะเร็งปอด (A549) และเซลล์

เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) จำ นวน $1X10^4$ เซลล์ต่อหลุม ใน 96-well culture plate โดยมีกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มที่ไม่ใส่เซลล์ (blank) นำไปบ่มในตู้บ่ม (CO_2 incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เตรียมสารละลายของสารสกัดเหง้าเห็ดที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 35, 70, 140, 300 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และใส่สารละลายดังกล่าวในปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำปเลี้ยงในคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมงแล้วทำการเติมสารละลาย 3, [4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปบ่มที่ 5% CO_2 incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และเติมสารละลายไอโซโพรพานอล-กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.04 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุมเพื่อใช้ละลายผลึก formozan สีม่วงให้อยู่ในรูปสารละลาย ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้มาคำนวณ เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์ (%cell viability) ดังสมการ

cell viability (%) = (A1/ A0) x 100

โดยที่ A0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A1 = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใส่สารสกัดเห็ด

ความสามารถในการยับยั้งการการเจริญเติบโตของเซลล์จะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดเหง้าเห็ดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ 50%

3.2.10.3 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.2.10.3.1 วิธี DPPH radical scavenging assay

ตรวจวิเคราะห์ด้วยโดยวิธีของ Islam et al. (2012) ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีของ Ferreira et al. (2009) โดยนำสารสกัดเหง้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ความเข้มข้น 0.024 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในเมทานอล ปริมาตร 2.7 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แล้วจึงคำนวณค่า % radical scavenging activity (RSA) ดังสมการ

DPPH radical scavenging activity (%) = [(A0– A1)/ A0] x 100

โดยที่ A0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A1 = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใส่สารสกัดเห็ด

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดเหง้าเห็ดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50%

3.2.10.3.2 วิธี Ferric reducing-antioxidant power assay

ตรวจวิเคราะห์ด้วยโดยวิธีของ Islam et al. (2012) ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีของ Benzie and Strain (1999) เริ่มต้นเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ (Acetate buffer) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ pH 3.6 สารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ จากนั้นนำสารสกัดเหง้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) ความเข้มข้น 100, 200, 400, 600, 1000 ไมโครโมล/ลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่าไมโครโมลาร์สมมูลของเฟอรัสในตัวอย่างสารสกัดเหง้าเห็ด 1 กรัม (µmol Fe2+ equivalent/1 g mushroom extract)

3.2.11 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocateu โดยวิธีของ Azieana et al. (2017) ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีของ Harbourne et al. (2009) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดถูกวิเคราะห์ด้วยการใช้ Folin-Ciocalteu Reagent โดยนำสารสกัดเหง้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับสารละลาย Folin-Ciocalteu Reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 7.8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที แล้วจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid) ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกในตัวอย่างสารสกัดเหง้าเห็ด 1 กรัม (mg gallic acid equivalent/1 g mushroom extract)

3.2.12 วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content)

ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดถูกวิเคราะห์โดยนำสารสกัดเหง้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร จากนั้นผสมเข้ากับสารละลายโซเดียมไนเตรท ($NaNO_2$) เข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) เข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเควอซิทิน (Quercetin) ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80,100

มิลลิกรัม/ลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของเควอซิทินในตัวอย่างสารสกัดเหง้าเห็ด 1 กรัม (mg quercetin equivalent/1 g mushroom extract)

3.2.13 วิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide content)

ตรวจวิเคราะห์โดยวิธี phenol–sulfuric acid method วิเคราะห์โดยวิธีของ Ma and Yu (2017) ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีของ Dubois et al. (1955) โดยนำสารสกัดเหง้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับกรดซัลฟิวริก (sulfuric acid) ปริมาตร 3.75 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล (phenol) เข้มข้นร้อยละ 6 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกลูโคส (D-glucose) ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกลูโคสในตัวอย่างสารสกัดเหง้าเห็ด 1 กรัม (mg glucose equivalent/1 g mushroom extract)

3.2.14 วิเคราะห์ปริมาณไตรเทอพีนอยด์ (Total triterpenoid content)

ตรวจวิเคราะห์โดยวิธีของ Fan & He (2006) โดยนำสารสกัดเหง้าเห็ดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับกรดเปอร์คลอริก (perchloric acid) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายวนิลลิน-กรดอะซิติก (vanillin-acetic acid) เข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร และกรดอะซิติก (acetic acid) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 548 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดยูโซลิก (ursolic acid) ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8, 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดยูโซลิกในตัวอย่างสารสกัดเหง้าเห็ด 1 กรัม (mg ursolic acid equivalent/1 g mushroom extract)

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 การเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบ

ทำการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือที่มีเชื้อเดินเต็มลงในถุงเพาะชำพลาสติกที่มีวัสดุฝังกลบเป็นระยะเวลา 6 เดือน (ภาพที่ 4.1) เพื่อศึกษาผลของขนาดก้อนเห็ด ผลของการจัดเรียงก้อนเห็ด ผลของก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) และวัสดุฝังกลบ ผลของสารประกอบซีลีเนียม (selenium) และผลของกลีเซอรอล (glycerol) ต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ ถุงเพาะชำพลาสติกจะถูกนำไปไว้ในกล่องพลาสติกเพื่อลดการชอนไชจากแมลงศัตรูพืชใต้ดินที่จะมากัดกินก้อนเห็ด จากนั้นคลุมกล่องพลาสติกด้วยสแลนบังแดดเพื่อลดปริมาณแสงและกันแมลงรบกวน หลังจากฝังกลบเหง้า 6 เดือน ทำการเก็บเหง้า ชั่งน้ำหนักสด (กรัม) ล้างทำความสะอาด ฝานเป็นแผ่นบาง อบในตู้อบที่อุณภูมิ ในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 $^{\circ}$C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำไปบดเป็นผงต่อไปเพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

ภาพที่ 4.1 การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือที่มีเชื้อเดินเต็มก้อนในวัสดุฝังกลบ

ภาพที่ 4.2 การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในวัสดุฝังกลบและบรรจุลงในกล่องพลาสติก

ภาพที่ 4.3 กล่องพลาสติกที่บรรจุก้อนเห็ดนมเสือถูกคลุมด้วยสแลนเพื่อควบคุมปริมาณแสงและกันแมลงรบกวน

ภาพที่ 4.4 ก้อนเห็ดนมเสือที่ล้างทำความสะอาดแล้วถูกนำมาฝานเป็นแผ่นบางแล้วจึงนำไปอบแห้งที่ 70 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

4.2 การศึกษาผลของวิธีการสกัดต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ผลการศึกษาวิธีการสกัดต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบแสดงดังตารางที่ 4.1 โดยพบว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนให้ปริมาณสารสกัด (yield) สูงที่สุด 17.41±1.62 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือสารที่สกัดด้วยน้ำเย็นและสารที่สกัดด้วยเอทานอล (13.57±1.01 และ 7.78±0.94 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ กรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์พบปริมาณมากที่สุดในสารที่สกัดด้วยน้ำร้อน ส่วนไตรเทอร์พีนอยด์พบปริมาณมากที่สุดในสารที่สกัดด้วยเอทานอล คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเหง้าเห็ดที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบว่าสารที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารที่สกัดด้วยน้ำเย็นและเอทานอล ตามลำดับ คุณสมบัติต้านการอักเสบของสารสกัดเหง้าเห็ดที่ทดสอบด้วยวิธี inhibition of BSA denaturation และ proteinase inhibition พบว่าสารที่สกัดด้วยน้ำเย็นมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบสูงกว่าสารที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำเย็น ตามลำดับ คุณสมบัติต้านมะเร็งของสารที่สกัดเหง้าเห็ดที่ทดสอบด้วยวิธี MTT พบว่าสารที่สกัดด้วยน้ำเย็นมีประสิทธิภาพในการต้านมะเร็งปอดและเต้านมสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการสกัด	Yield (มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง)	TPC (มิลลิกรัม กรดแกลลิก/กรัมสารสกัด)	TFC (มิลลิกรัมเควอซิทิน /กรัมสารสกัด)	DPPH scavenging activity (IC_{50}: มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	FRAP (ไมโครโมลาร์ Fe2+/ กรัมสารสกัด)	Inhibition of BSA denaturation (IC_{50}: ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	Proteinase inhibition (IC_{50}: ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	Total Polysaccharide (มิลลิกรัมกลูโคส/ กรัมสารสกัด)	Total triterpenoid (มิลลิกรัมกรดยูโซลิก/กรัม สารสกัด)	Total protein (มิลลิกรัม/กรัม สารสกัด)	Anticancer Lung cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	Anticancer Breast cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)
สารสกัดด้วยน้ำร้อน (HWE)	17.41±1.62	25.56±1.81	8.46±0.42	19.38±0.74	19.38±0.11	237.65±3.39	217.58±2.26	765.36±5.72	10.43±0.15	1.74±0.80	148.13±3.14	430.48±7.56
สารสกัดด้วยน้ำเย็น (HWE)	13.57±1.01	21.33±1.48	4.24±0.77	23.57±0.29	15.47±0.90	154.45±1.67	136.84±2.12	558.75±5.98	16.47±0.31	2.36±0.76	12.63±1.03	45.07±2.78
สารสกัดด้วย 95% เอทานอล (EE)	7.78±0.94	12.68±0.17	3.86±0.69	28.74±0.37	14.64±0.16	185.73±1.53	204.51±3.88	239.34±4.27	24.56±1.20	1.23±0.36	375.54±5.68	>500

4.3 การศึกษาผลของก้อนเห็ดเก่า (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม) และวัสดุฝังกลบ ได้แก่ ขุยมะพร้าว ดินปลูกพืช ฟางข้าว ขี้เลื่อยไม้ยางพารา เป็นต้น ที่มีต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ผลการศึกษาผลของวัสดุฝังกลบต่อการเกิดเหง้าเห็ดนมเสือพบว่าการฝังกลบด้วยขุยมะพร้าวให้น้ำหนักเหง้ามากที่สุด (96.53 กรัม) รองลงมาคือขุยมะพร้าว:ฟาง:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1) (74.91 กรัม) ขุยมะพร้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1) (68.22 กรัม) และขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช (1:1) (60.54 กรัม) ขุยมะพร้าว:ฟางข้าว (1:1) (58.59 กรัม) ตามลำดับ การใช้ฟางฝังกลบทำให้เหง้ามีน้ำหนักน้อยที่สุด 34.42 กรัม การใช้ดินฝังกลบทำให้ได้เหง้ามีน้ำหนัก 38.53 กรัม การใช้ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐานและก้อนเก่าเห็ดนางรมฮังการีทั้งแบบเดี่ยวและผสมกับวัสดุฝังกลบอื่นทำให้เกิดการเน่าของก้อนเห็ดนมเสือ การใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพาราทั้งแบบเดี่ยวและผสมกับวัสดุเพาะอื่นทำให้เกิดการเน่าของก้อนเห็ดนมเสือ เว้นแต่การใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพาราผสมกับขุยมะพร้าว (1:1) ที่ทำให้เกิดเหง้าดี (68.22 กรัม) ดังตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.5

ตารางที่ 4.2 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ฝังกลบในวัสดุฝังกลบชนิดต่างๆ

วัสดุฝังกลบ	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนเหง้า	หมายเหตุ
ขุยมะพร้าว	96.53	57.24	1	-
ดินปลูกพืช	38.53	22.62	1	-
ฟางข้าว	34.42	20.78	1	-
ขี้เลื่อยไม้ยางพารา	-	-	-	ก้อนเน่า
ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน	-	-	-	ก้อนเน่า
ก้อนเก่าเห็ดนางรมฮังการี	-	-	-	ก้อนเน่า
ขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช (1:1)	60.54	36.01	1	-
ขุยมะพร้าว:ฟางข้าว (1:1)	58.59	31.37	1	-
ขุยมะพร้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1)	68.22	38.51	1	-
ขุยมะพร้าว:ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน (1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ขุยมะพร้าว:ก้อนเก่าเห็ดนางรมฮังการี (1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ดินปลูกพืช:ฟางข้าว (1:1)	-	-	-	ไม่เกิดก้อน
ดินปลูกพืช:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1)	-	-	-	ไม่เกิดก้อน
ดินปลูกพืช:ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน (1:1)	-	-	-	ไม่เกิดก้อน
ดินปลูกพืช:ก้อนเก่าเห็ดนางรมฮังการี (1:1)	-	-	-	ไม่เกิดก้อน
ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า

วัสดุฝังกลบ	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนเหง้า	หมายเหตุ
ฟางข้าว:ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน (1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ฟางข้าว:ก้อนเก่าเห็ดนางรมฮังการี (1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ขี้เลื่อยไม้ยางพารา:ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน (1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ขี้เลื่อยไม้ยางพารา:ก้อนเก่าเห็ดนางรมฮังการี (1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน:ก้อนเก่าเห็ดนางรมฮังการี (1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช:ฟางข้าว (1:1:1)	47.31	25.79	1	-
ขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1)	-	-	-	ไม่เกิดก้อน
ขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช:ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน (1:1:1)	38.26	22.66	2	-
ขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช:ก้อนเก่าเห็ดนางรมฮังการี (1:1:1)	-	-	-	ไม่เกิดก้อน
ขุยมะพร้าว:ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1)	74.91	43.41	1	-
ขุยมะพร้าว:ฟางข้าว:ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน (1:1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ขุยมะพร้าว:ฟางข้าว:ก้อนเก่าเห็ดนางรมฮังการี (1:1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ขุยมะพร้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา:ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน (1:1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ขุยมะพร้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา:ก้อนเก่านางรมฮังการี (1:1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ขุยมะพร้าว:ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน:ก้อนเก่านางรมฮังการี (1:1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ดินปลุกพืช:ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1)	41.57	20.34	2	-
ดินปลูกพืช:ฟางข้าว:ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน (1:1:1)	-	-	-	ไม่เกิดก้อน
ดินปลูกพืช:ฟางข้าว:ก้อนเก่าเห็ดนางรมฮังการี (1:1:1)	-	-	-	ไม่เกิดก้อน
ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา:ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน (1:1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า
ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา:ก้อนเก่าเห็ดนางรมฮังการี (1:1:1)	-	-	-	ก้อนเน่า

 ขุยมะพร้าว	 ดินปลูกพืช
 ฟางข้าว	 ขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช (1:1)
 ขุยมะพร้าว:ฟางข้าว (1:1)	 ขุยมะพร้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1)
 ขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช:ฟางข้าว (1:1:1)	 ขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช:ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน (1:1:1)
 ขุยมะพร้าว:ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1)	 ดินปลูกพืช:ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1)

ภาพที่ 4.5 เหง้าของเห็ดนมเสือที่ฝังกลบในวัสดุฝังกลบชนิดต่างๆ

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในวัสดุฝังกลบชนิดต่างๆแสดงดังตารางที่ 4.3 โดยพบว่าเมื่อฝังกลบก้อนเห็ดด้วยดินปลูกพืช ขุยมะพร้าว:ฟางข้าว (1:1) จะให้ปริมาณกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์และโปรตีนสูง สารสกัดเหง้าเห็ดที่ฝังกลบในดินปลูกพืชและดินปลูกพืช:ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1) มีปริมาณสารสกัด (yield) ปริมาณโพลีแซคคาไรด์และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดเหง้าเห็ดที่ฝังกลบในวัสดุฝังกลบชนิดอื่น ไตรเทอร์พีนอยด์พบปริมาณมากในสารสกัดเหง้าเห็ดที่ฝังกลบขุยมะพร้าว:ฟางข้าว (1:1) และดินปลูกพืช:ขุยมะพร้าว (1:1) คุณสมบัติต้านการอักเสบของสารสกัดเหง้าเห็ดที่ทดสอบด้วยวิธี inhibition of BSA denaturation และ proteinase inhibition พบว่าสารสกัดเหง้าเห็ดที่ฝังกลบในขุยมะพร้าว ขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช:ฟางข้าว (1:1:1) ดินปลูกพืช:ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1) มีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบสูงกว่าสารสกัดเหง้าเห็ดที่ฝังกลบในวัสดุฝังกลบชนิดอื่น คุณสมบัติต้านมะเร็งของสารสกัดเหง้าเห็ดที่ทดสอบด้วยวิธี MTT พบว่าสารสกัดเหง้าเห็ดที่ฝังกลบในดินปลูกพืชและดินปลูกพืช:ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1) มีประสิทธิภาพในการต้านมะเร็งปอดและเต้านมสูงกว่าสารสกัดเหง้าเห็ดที่ฝังกลบในวัสดุฝังกลบชนิดอื่น โดยประสิทธิภาพในการยับยั้งมะเร็งปอดสูงกว่าการยับยั้งมะเร็งเต้านม

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในวัสดุฝังกลบชนิดต่างๆ

วัสดุฝังกลบ	Yield (มิลลิกรัม/ กรัมน้ำหนักแห้ง)	TPC (มิลลิกรัม กรดแกลลิก/กรัมสารสกัด)	TFC (มิลลิกรัมเควอซิทิน /กรัมสารสกัด)	DPPH scavenging activity (IC_{50}: มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	FRAP (ไมโครโมลาร์ Fe2+/ กรัมสารสกัด)	Inhibition of BSA denaturation (IC_{50}: ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	Proteinase inhibition (IC_{50}: ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	Total Polysaccharide (มิลลิกรัมกลูโคส/ กรัมสารสกัด)	Total triterpenoid (มิลลิกรัมกรดยูโซลิก/กรัม สารสกัด)	Total protein (มิลลิกรัม/กรัม สารสกัด)	Anticancer Lung cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	Anticancer Breast cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)
ขุยมะพร้าว	16.34±1.97	12.74±0.74	3.74±0.16	28.48±0.26	14.76±0.85	187.47±6.56	169.65±4.38	697.56.27±6.47	4.25±0.75	1.86±0.35	>500	>500
ดินปลูกพืช	24.58±0.46	26.63±0.86	8.85±0.74	20.59±1.47	23.75±0.86	289.58±5.28	321.75±5.57	925.43±6.26	6.46±0.37	2.37±0.41	127.49±4.85	367.54±7.48
ฟางข้าว	5.38±0.39	15.84±0.67	4.73±0.97	26.74±0.52	15.79±0.49	249.58±2.94	276.56±7.53	486.12±4.87	5.36±0.75	1.42±0.56	>500	>500
ขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช (1:1)	18.57±2.38	21.48±1.84	6.36±0.25	24.47±1.55	18.43±0.69	264.28±6.13	243.59±3.84	744.27±8.14	8.38±0.93	1.87±0.36	174.75±7.87	467.53±6.83
ขุยมะพร้าว:ฟางข้าว (1:1)	14.75±0.41	24.53±0.72	9.32±1.75	22.48±1.97	20.65±0.43	276.39±9.48	288.61±7.53	658.35±6.25	9.74±0.62	2.57±0.53	438.58±8.27	>500
ขุยมะพร้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1)	15.68±1.63	15.97±0.62	4.46±0.39	28.57±0.43	14.35±0.24	269.53±6.39	274.86±6.35	629.27±7.32	4.27±0.64	1.23±0.61	461.73±7.40	>500
ขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช:ฟางข้าว (1:1:1)	11.47±0.43	17.92±1.64	7.74±0.29	23.73±0.58	17.85±0.74	184.23±8.38	176.54±5.75	532.49±7.62	3.60±0.23	2.87±0.53	>500	>500
ขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช:ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน (1:1:1)	12.57±1.32	18.80±0.27	5.94±0.25	24.31±0.35	17.74±0.43	256.48±4.29	269.65±3.58	642.29±5.27	4.87±0.46	1.72±0.57	>500	>500
ขุย:ฟาง:ขี้เลื่อย (1:1:1)	13.28±0.69	20.64±0.38	5.89±0.86	26.37±0.34	15.88±1.47	231.39±3.20	220.68±3.97	642.57±9.47	4.24±0.25	2.15±0.68	439.52±11.72	>500
ดิน:ฟาง:ขี้เลื่อย (1:1:1)	22.49±1.46	18.63±0.64	7.85±0.74	19.46±1.57	19.34±0.64	205.48±4.28	188.96±4.64	836.42±8.36	6.12±0.32	2.25±0.56	158.37±9.65	395±5.81

4.4 การศึกษาผลของขนาดก้อนเห็ดนมเสือต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ผลการศึกษาผลของขนาดก้อนเห็ดนมเสือที่ฝังกลบในดินปลูกพืช:ขุยมะพร้าว (1:1) ต่อการเกิดเหง้าเห็ดนมเสือพบว่าการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือขนาด 250 กรัม จะให้เหง้าขนาดเล็กมากและฝ่อ การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือขนาด 900 กรัม จะทำให้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (74.31 กรัม) รองลงมาคือขนาดก้อน 750 กรัม (58.17 กรัม) และ 500 กรัม (21.33 กรัม) ตามลำดับ จำนวนเหง้า 8-10 เหง้า ดังตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.6

ตารางที่ 4.4 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือขนาดต่างๆ

ขนาดก้อนเห็ดนมเสือ	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนเหง้า	หมายเหตุ
250 กรัม	-	-	-	เหง้าขนาดเล็กมากและฝ่อ
500 กรัม	21.33	12.67	9	-
750 กรัม	58.17	32.67	8	-
900 กรัม	71.31	40.80	10	-

ก้อนเห็ดนมเสือขนาด 250 กรัม

ก้อนเห็ดนมเสือขนาด 500 กรัม

ก้อนเห็ดนมเสือขนาด 750 กรัม

ก้อนเห็ดนมเสือขนาด 900 กรัม

ภาพที่ 4.6 เหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือขนาดต่างๆ

ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือขนาดต่างๆ พบว่าเหง้าที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดขนาด 500 กรัม ให้ปริมาณสารสกัด (yield) สูงที่สุด 21.35±0.75 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือการฝังกลบก้อนเห็ดขนาด 750 กรัม และ 500 กรัม (18.42±0.59 และ 17.28±0.43 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ ปริมาณกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ โปรตีน และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และการต้านมะเร็งมีมากที่สุดในสารสกัดเหง้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดขนาด 500 กรัม โดยพบว่าสารสกัดเหง้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดขนาด 500 กรัม มีประสิทธิภาพในการต้านมะเร็งปอดสูงกว่ามะเร็งเต้านม (IC_{50} 118.25±4.33 และ 367.47±5.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือขนาดต่างๆ

ขนาดก้อนเห็ดนมเสือ	Yield (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)	TPC (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด)	TFC (มิลลิกรัมเควอซิทิน /กรัมสารสกัด)	DPPH scavenging activity (IC_{50}: มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	FRAP (ไมโครโมลาร์ Fe2+/กรัมสารสกัด)	Inhibition of BSA denaturation (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Proteinase inhibition (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Total Polysaccharide (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด)	Total triterpenoid (มิลลิกรัมกรดยูโซลิก/กรัม สารสกัด)	Total protein (มิลลิกรัม/กรัมสารสกัด)	Anticancer Lung cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Anticancer Breast cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
500 กรัม	21.35±0.75	24.79±0.86	7.49±0.29	15.73±1.37	21.42±0.69	176.39±4.32	158.96±3.85	841.34±7.42	11.36±1.74	2.54±0.57	118.25±4.33	367.47±5.31
750 กรัม	18.42±0.59	20.56±0.52	5.87±0.54	21.49±0.80	19.67±0.64	234.29±6.30	198.47±5.93	779.32±4.28	8.97±0.75	1.82±0.26	145.93±4.21	392.45±3.26
900 กรัม	17.28±0.43	22.49±0.62	5.72±0.46	23.84±1.35	20.45±0.13	258.33±4.29	264.39±5.31	728.58±8.47	8.53±0.21	1.57±0.62	192.12±6.39	447.71±4.82

4.5 การศึกษาผลของการจัดเรียงก้อนเห็ดนมเสือต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ผลการศึกษาผลของการจัดเรียงก้อนเห็ดนมเสือขนาด 900 กรัม ที่ฝังกลบในดินปลูกพืช:ขุยมะพร้าว (1:1) ต่อการเกิดเหง้าเห็ดนมเสือ พบว่าการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือแบบเรียง 3 ก้อน จะทำให้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (100.13 กรัม) รองลงมาคือการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือแบบเรียง 2 ก้อน และ 3 ก้อน ตามลำดับ การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือแบบเรียง 4-6 ก้อน จะทำให้ได้เหง้าน้ำหนักน้อย หากคำนวณน้ำหนักแห้งของเหง้าต่อการฝังกลบก้อนเดี่ยว 1 ก้อนพบว่าการฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยวให้ปริมาณผลผลิตเหง้าดีที่สุด ดังตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.7

<table>
<tr>
<td>
1 ก้อนเดี่ยว</td>
<td>
2 ก้อนติดกัน</td>
</tr>
<tr>
<td>
3 ก้อนติดกัน</td>
<td>
4 ก้อนติดกัน</td>
</tr>
<tr>
<td>
5 ก้อนติดกัน</td>
<td>
6 ก้อนติดกัน</td>
</tr>
</table>

ภาพที่ 4.7 เหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในลักษณะการจัดเรียงแบบต่างๆ

ตารางที่ 4.6 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในในลักษณะการจัดเรียงแบบต่างๆ

การจัดเรียงก้อนเห็ดนมเสือ	น้ำหนักสด (กรัม)/ก้อนเห็ดที่จัดเรียง	น้ำหนักแห้ง (กรัม) /ก้อนเห็ดที่จัดเรียง	น้ำหนักแห้ง (กรัม) /ก้อนเดี่ยว	จำนวนเหง้าทั้งหมด
1 ก้อนเดี่ยว	65.44	38.35	38.35	3
2 ก้อนติดกัน	71.96	40.67	20.34	3
3 ก้อนติดกัน	100.13	59.22	19.74	5
4 ก้อนติดกัน	5.64	2.09	0.52	2
5 ก้อนติดกัน	13.50	7.07	1.41	1
6 ก้อนติดกัน	24.67	13.58	2.26	1

ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในลักษณะการจัดเรียงแบบต่างๆพบว่าเหง้าที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดแบบ 3 ก้อนติดกัน ให้ปริมาณสารสกัด (yield) สูงกว่าการจัดเรียงแบบอื่นๆ โดยมีค่าเท่ากับ 21.68±0.31 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และการต้านมะเร็งมีมากในสารสกัดเหง้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดแบบ 3 ก้อนติดกัน โดยประสิทธิภาพในการต้านมะเร็งปอดสูงกว่ามะเร็งเต้านม (IC_{50} 126.21±4.63 และ 357.58±7.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ ส่วนปริมาณโปรตีนพบปริมาณมากที่สุดในสารสกัดเหง้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดแบบ 4 ก้อนติดกัน (2.36±0.74 มิลลิกรัม/กรัมสารสกัด) ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในลักษณะการจัดเรียงแบบต่างๆ

การจัดเรียงก้อนก้อนเห็ดนมเสือ	Yield (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)	TPC (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด)	TFC (มิลลิกรัมเควอซิทิน /กรัมสารสกัด)	DPPH scavenging activity (IC_{50}: มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	FRAP (ไมโครโมลาร์ Fe2+/กรัมสารสกัด)	Inhibition of BSA denaturation (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Proteinase inhibition (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Total Polysaccharide (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด)	Total triterpenoid (มิลลิกรัมกรดยูโซลิก/กรัม สารสกัด)	Total protein (มิลลิกรัม/กรัมสารสกัด)	Anticancer Lung cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Anticancer Breast cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
1 ก้อนเดี่ยว	18.42±1.72	20.48±0.47	5.38±0.29	21.57±1.93	19.46±0.56	276.35±5.32	312.64±5.64	712.57±5.36	9.14±0.32	1.63±0.37	189.62±3.38	478.48±9.64
2 ก้อนติดกัน	18.13±0.58	22.76±1.83	5.91±0.64	22.96±0.32	19.22±0.23	258.32±3.65	348.52±7.32	785.36±4.25	9.92±0.11	1.28±0.83	218.89±4.42	>500
3 ก้อนติดกัน	21.68±0.31	25.32±0.86	6.53±0.58	19.24±0.64	21.54±0.15	204.24±3.32	267.46±5.13	973.52±6.74	11.78±0.26	1.85±0.24	126.21±4.63	357.58±7.42
4 ก้อนติดกัน	19.45±0.63	24.39±0.43	6.12±0.05	20.15±1.71	19.35±0.21	312.57±7.47	296.48±4.25	742.47±5.35	7.32±0.64	2.36±0.74	292.45±3.52	>500
5 ก้อนติดกัน	18.71±1.46	21.49±2.65	5.81±0.72	23.59±0.33	18.64±0.14	300.46±6.38	326.46±6.42	834.64±9.33	7.74±0.43	1.74±0.32	299.03±3.63	>500
6 ก้อนติดกัน	19.32±0.47	19.38±0.44	5.27±1.23	25.42±0.67	17.56±0.63	328.25±10.34	318.53±6.26	813.63±7.75	8.15±0.24	1.92±0.46	304.28±6.58	>500

4.6 การศึกษาผลของสารประกอบโซเดียมซีลีเนท (sodium selenate: Na_2SeO_4) ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ผลการศึกษาสารประกอบโซเดียมซีลีเนทที่ความเข้มข้น 0 10 25 50 75 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัมวัสดุเพาะ ต่อการเกิดเหง้าเห็ดนมเสือที่ฝังกลบในดินปลูกพืช:ขุยมะพร้าว (1:1) พบว่าการกระตุ้นการเกิดเหง้าด้วยโซเดียมซีลีเนท 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะทำให้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (76.93 กรัม) การใช้โซเดียมซีลีเนท 75-100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะทำให้ได้เหง้าน้ำหนักน้อย (47.63 – 50.02 กรัม) ดังตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.8

 0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
 75 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ภาพที่ 4.8 เหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนทความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 4.8 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนทความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นโซเดียมซีลีเนท	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนเหง้า
0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	62.39	37.25	3
10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	60.77	33.10	3
25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	67.95	38.45	3
50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	76.93	42.82	5
75 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	47.63	26.05	1
100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	50.02	19.41	2

ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนทความเข้มข้นต่างๆพบว่าเหง้าที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดแล้วรดน้ำที่ไม่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนท (0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ให้ปริมาณสารสกัด (yield) สูงที่สุด 18.43±1.25 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังพบว่ากรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ โปรตีน ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และการต้านมะเร็งมีปริมาณมากที่สุดในสารสกัดเหง้าเห็ดที่ได้จากการรดน้ำที่ไม่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนท (0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ความเข้มข้นของสารประกอบโซเดียมซีลีเนทที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญต่างๆ รวมถึงประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง และสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือไม่มีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งเต้านมเมื่อรดน้ำด้วยสารประกอบโซเดียมซีลีเนท 75-100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนทความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นโซเดียมซีลีเนทที่ใช้ในการรดน้ำ	Yield (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)	TPC (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด)	TFC (มิลลิกรัมเควอซิทิน /กรัมสารสกัด)	DPPH scavenging activity (IC_{50}: มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	FRAP (ไมโครโมลาร์ Fe2+/กรัมสารสกัด)	Inhibition of BSA denaturation (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Proteinase inhibition (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Total Polysaccharide (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด)	Total triterpenoid (มิลลิกรัมกรดยูโซลิก/กรัม สารสกัด)	Total protein (มิลลิกรัม/กรัมสารสกัด)	Anticancer Lung cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Anticancer Breast cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	18.43±1.25	23.54±1.64	7.23±0.46	18.94±0.53	21.46±0.34	239.59±5.39	253.31±4.69	854.25±6.36	8.24±0.54	2.32±0.23	148.67±6.37	484.36±5.27
10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	16.65±1.21	20.33±0.47	5.37±0.37	22.46±0.25	18.58±0.26	286.74±5.53	386.58±7.48	825.68±5.38	6.36±0.36	1.75±0.14	348.22±5.26	>500
25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	16.74±0.53	20.86±0.55	5.92±0.83	23.57±0.97	19.45±0.75	314.58±7.57	359.27±6.43	757.33±6.32	6.97±1.26	1.84±0.43	268.09±9.32	>500
50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	14.23±0.24	21.24±2.69	6.36±0.31	25.24±0.46	19.61±0.62	385.49±10.29	375.39±8.46	646.36±7.49	7.02±0.29	1.53±0.12	>500	>500
75 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	15.05±1.57	19.62±0.42	5.48±0.22	24.52±0.42	18.82±0.59	360.63±6.66	382.53±5.98	694.39±7.31	6.51±0.13	1.61±0.26	>500	ไม่ยับยั้ง
100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	14.69±0.42	20.57±0.53	4.85±0.40	27.47±0.13	18.23±0.36	432.48±7.38	412.48±6.67	632.46±5.24	6.98±0.32	1.59±0.25	>500	ไม่ยับยั้ง

4.7 การศึกษาผลของสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ (sodium selenite: Na_2Seo_3) ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเห้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ผลการศึกษาสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ที่ความเข้มข้น 0 10 25 50 75 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัมวัสดุเพาะ ต่อการเกิดเห้าเห็ดนมเสือที่ฝังกลบในดินปลูกพืช:ขุยมะพร้าว (1:1) พบว่าการกระตุ้นการเกิดเห้าโซเดียมซีลีไนท์ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะทำให้เห้าน้ำหนักมากที่สุด (78.12 กรัม) การใช้สารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ 50-100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะทำให้ได้เห้าน้ำหนักน้อย ดังตารางที่ 4.10 และภาพที่ 4.9

<table>
<tr><td>
0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม</td><td>
10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม</td></tr>
<tr><td>
25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม</td><td>
50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม</td></tr>
<tr><td>
75 มิลลิกรัม/กิโลกรัม</td><td>
100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม</td></tr>
</table>

ภาพที่ 4.9 เห้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 4.10 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นโซเดียมซีลีไนท์	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนเหง้า
0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	62.26	37.25	3
10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	71.84	42.38	4
25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	78.12	47.36	4
50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	64.61	37.75	5
75 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	52.57	29.68	3
100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	28.30	16.70	2

ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ความเข้มข้นต่างๆพบว่าผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกับผลการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนท โดยเหง้าที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดแล้วรดน้ำที่ไม่มีสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ (0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ให้ปริมาณสารสกัด (yield) สูงที่สุด 18.43±1.25 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังพบว่ากรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ โปรตีน ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และการต้านมะเร็ง พบปริมาณมากที่สุดในสารสกัดเหง้าเห็ดที่ได้จากการรดน้ำที่ไม่มีสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ (0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ความเข้มข้นของสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญต่างๆ รวมถึงประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง สารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือไม่มีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งเต้านมเมื่อรดน้ำด้วยสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีไนท์ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นโซเดียมซีลีไนท์ที่ใช้ในการรดน้ำ	Yield (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)	TPC (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด)	TFC (มิลลิกรัมเควอซิทิน /กรัมสารสกัด)	DPPH scavenging activity (IC_{50}: มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	FRAP (ไมโครโมลาร์ Fe2+/กรัมสารสกัด)	Inhibition of BSA denaturation (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Proteinase inhibition (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Total Polysaccharide (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด)	Total triterpenoid (มิลลิกรัมกรดยูโซลิก/กรัม สารสกัด)	Total protein (มิลลิกรัม/กรัมสารสกัด)	Anticancer Lung cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Anticancer Breast cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	18.43±1.25	23.54±1.64	7.23±0.46	18.94±0.53	21.46±0.34	239.59±5.39	253.31±4.69	854.25±6.36	8.24±0.54	2.32±0.23	148.67±6.37	484.36±5.27
10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	18.27±2.64	20.43±1.47	4.35±0.32	20.32±0.35	20.35±0.45	304.36±4.36	264.35±6.48	797.38±7.37	7.43±0.47	1.65±0.23	387.21±7.42	>500
25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	15.84±0.34	19.41±0.12	4.79±0.54	22.98±0.38	20.41±0.13	289.38±6.54	295.43±8.54	742.37±5.38	6.46±0.25	1.34±0.14	>500	>500
50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	15.93±0.22	17.53±0.24	4.16±0.25	22.52±0.28	19.65±0.42	356.48±5.42	287.46±5.35	635.35±4.41	6.15±0.64	1.53±0.35	>500	>500
75 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	14.41±0.43	18.28±0.31	3.57±0.23	23.48±0.76	18.23±0.34	437.67±6.33	384.65±9.42	683.12±7.56	5.67±0.32	1.37±0.11	>500	>500
100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม	14.67±0.36	16.37±0.27	2.18±0.08	27.36±1.36	18.47±0.21	486.33±4.67	431.24±6.43	551.36±6.44	5.82±0.45	1.18±0.42	>500	ไม่ยับยั้ง

4.8 การศึกษาผลของกลีเซอรอล (glycerol) ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเห้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ผลการศึกษาสารกลีเซอรอลที่ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 2.5 5.0 และ 10.0% โดยปริมาตร ต่อการเกิดเห้าเห็ดนมเสือที่ฝังกลบในดินปลูกพืช:ขุยมะพร้าว (1:1) พบว่าการกระตุ้นการเกิดเห้าด้วยกลีเซอรอล 1.0% โดยปริมาตร จะทำให้เห้าน้ำหนักมากที่สุด (87.46 กรัม) การใช้กลีเซอรอล 2.5-5.0% โดยปริมาตร จะทำให้ได้เห้าน้ำหนักน้อย และเมื่อใช้กลีเซอรอล 10.0% โดยปริมาตร เห้าจะฝ่อ ดังตารางที่ 4.12 และภาพที่ 4.10

<table>
<tr><td>
0% กลีเซอรอล</td><td>
0.5% กลีเซอรอล</td></tr>
<tr><td>
1.0% กลีเซอรอล</td><td>
2.5% กลีเซอรอล</td></tr>
<tr><td>
5.0% กลีเซอรอล</td><td>
10.0% กลีเซอรอล</td></tr>
</table>

ภาพที่ 4.10 เห้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีกลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 4.12 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีกลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆ

กลีเซอรอล (% โดยปริมาตร)	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนเหง้า	หมายเหตุ
0%	59.34	33.78	4	-
0.5%	68.20	39.09	5	-
1.0%	87.46	48.28	3	-
2.5%	60.27	35.80	3	-
5.0%	49.19	27.43	3	-
10.0%	-	-	-	เหง้าฝ่อ

ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบกลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆพบว่าเหง้าที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดแล้วรดน้ำที่ไม่มีสารประกอบกลีเซอรอล (0% โดยปริมาตร) ให้ปริมาณสารสกัด (yield) สูงที่สุด 19.23±1.46 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังพบว่ากรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ โปรตีน และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณมากที่สุดในสารสกัดเหง้าเห็ดที่ได้จากการรดน้ำที่ไม่มีสารประกอบกลีเซอรอล (0% โดยปริมาตร) คุณสมบัติต้านการอักเสบของสารสกัดเหง้าเห็ดที่ทดสอบด้วยวิธี inhibition of BSA denaturation และ proteinase inhibition พบว่าสารสกัดเหง้าเห็ดที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบกลีเซอรอล (2.5% โดยปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบสูงกว่าความเข้มข้นอื่น คุณสมบัติต้านมะเร็งของสารสกัดเห็ดที่ทดสอบด้วยวิธี MTT พบว่าสารสกัดเหง้าเห็ดที่ได้จากการรดน้ำที่มีสารประกอบกลีเซอรอลมีประสิทธิภาพในการต้านมะเร็งปอดต่ำทุกความเข้มข้น (IC_{50} >500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) การรดน้ำที่มีสารประกอบกลีเซอรอลความเข้มข้น 0 และ 0.5% โดยปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการต้านมะเร็งเต้านมได้ดีกว่ามะเร็งปอด ดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการรดน้ำที่มีกลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นกลีเซอรอลที่ใช้ในการรดน้ำ	Yield (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)	TPC (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด)	TFC (มิลลิกรัมเควอซิทิน /กรัมสารสกัด)	DPPH scavenging activity (IC_{50}: มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	FRAP (ไมโครโมลาร์ Fe2+/กรัมสารสกัด)	Inhibition of BSA denaturation (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Proteinase inhibition (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Total Polysaccharide (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด)	Total triterpenoid (มิลลิกรัมกรดยูโซลิก/กรัม สารสกัด)	Total protein (มิลลิกรัม/กรัมสารสกัด)	Anticancer Lung cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Anticancer Breast cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
0% โดยปริมาตร	19.23±1.46	23.53±2.45	6.42±0.67	20.45±0.45	18.46±0.56	227.34±2.13	238.65±2.45	835.56±7.54	8.43±0.23	2.08±0.05	>500	418.96±6.26
0.5% โดยปริมาตร	16.47±1.38	20.34±1.56	6.23±0.34	24.24±0.08	18.16±0.37	196.35±1.54	227.43±4.73	644.54±10.43	8.35±0.09	1.87±0.44	>500	453.94±4.73
1.0% โดยปริมาตร	15.36±0.65	19.66±0.75	4.24±0.02	23.89±0.21	15.37±0.75	167.47±1.65	198.53±3.56	527.43±6.38	6.57±0.21	1.42±0.07	>500	>500
2.5% โดยปริมาตร	15.02±0.21	19.41±0.63	3.56±0.32	24.67±1.34	14.65±0.64	127.36±5.37	156.35±6.43	564.25±6.46	6.86±0.14	1.53±0.33	>500	>500
5.0% โดยปริมาตร	14.69±0.24	19.78±1.47	2.32±0.13	26.57±2.32	13.72±1.46	184.32±4.22	216.87±6.46	489.64±7.33	6.24±0.25	1.41±0.14	ไม่ยับยั้ง	>500

4.9 การศึกษาผลของระยะเวลาฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ

ผลการศึกษาระยะเวลาฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือต่อการเกิดเหง้าเห็ดนมเสือที่ฝังกลบในดินปลูกพืช:ขุยมะพร้าว (1:1) พบว่าการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือเป็นระยะเวลา 6 เดือน จะทำให้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (67.28 กรัม) การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือเป็นระยะเวลา 2 เดือน จะทำให้เหง้าน้ำหนักน้อยที่สุด (20.46 กรัม) ดังตารางที่ 4.14

2 เดือน	3 เดือน
4 เดือน	6 เดือน

ภาพที่ 4.11 เหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในระยะเวลาต่างๆ

ตารางที่ 4.14 ข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนเหง้าของเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบในระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลาฝังกลบ (เดือน)	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนเหง้า	หมายเหตุ
2 เดือน	20.46	11.96	5	-
3 เดือน	26.53	15.24	2	-
4 เดือน	43.47	25.37	1	-
6 เดือน	67.28	39.54	1	-

ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในระยะเวลาต่างๆพบว่าเหง้าที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดเป็นเวลา 2 เดือน ให้ปริมาณสารสกัด (yield) สูงที่สุด 21.66±1.53 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังพบว่ากรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็งทั้งมะเร็งปอดและเต้านมมีปริมาณมากที่สุดในสารสกัดเหง้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดเป็นระยะเวลา 2 เดือน การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือเป็นระยะเวลา 6 เดือนส่งผลให้ปริมาณไตรเทอร์พีนอยด์และโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นกว่าระยะเวลาอื่นๆ ดังตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเห้าเห็ดนมเสือที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือในระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลาในการฝังกลบ	Yield (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)	TPC (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด)	TFC (มิลลิกรัมเควอซิทิน /กรัมสารสกัด)	DPPH scavenging activity (IC_{50}: มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	FRAP (ไมโครโมลาร์ Fe2+/กรัมสารสกัด)	Inhibition of BSA denaturation (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Proteinase inhibition (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Total Polysaccharide (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด)	Total triterpenoid (มิลลิกรัมกรดยูโซลิก/กรัม สารสกัด)	Total protein (มิลลิกรัม/กรัมสารสกัด)	Anticancer Lung cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Anticancer Breast cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
2 เดือน	21.66±1.53	26.43±2.34	6.85±0.23	17.36±0.22	25.97±0.42	112.33±1.32	203.54±4.35	935.43±10.37	7.45±0.23	1.58±0.54	146.37±6.48	299.23±5.35
3 เดือน	18.59±1.64	24.61±1.64	5.97±0.53	19.34±0.31	23.76±0.34	174.32±2.86	236.58±5.38	749.32±6.42	8.72±0.09	1.94±0.65	163.48±4.57	346.37±6.41
4 เดือน	18.25±0.47	23.57±0.76	5.33±0.08	21.24±0.23	22.53±0.75	235.47±12.45	264.17±5.29	682.35±4.28	8.37±0.21	2.16±0.32	178.42±5.39	374.24±5.38
6 เดือน	17.36±0.23	22.42±0.32	4.68±0.12	20.57±1.35	21.37±0.13	256.21±4.37	286.36±7.43	638.21±7.49	10.35±0.14	2.42±0.31	213.27±9.38	457.28±4.76

4.10 การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบและแบบเก็บได้จากป่าธรรมชาติ

ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบและแบบเก็บได้จากป่าธรรมชาติพบว่าสารสกัดจากผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเห็ดนมเสือจากประเทศมาเลเซียให้ปริมาณสารสกัด (yield) สูงที่สุด 26.43±2.45 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากแหล่งอื่นๆ สารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือจากป่ามีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบมากที่สุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี inhibition of BSA denaturation และ proteinase inhibition นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเหง้าเห็ดจากป่าธรรมชาติและสารสกัดเหง้าเห็ดที่เพาะแบบฝังกลบในดินปลูกพืชโดยเกษตรกรมีปริมาณสารสำคัญต่างๆ รวมถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็งต่ำกว่าสารสกัดจากเหง้าเห็ดที่เพาะเลี้ยงฝังกลบในดินปลูกพืชและขุยมะพร้าว:ดินปลุกพืช (1:1) ที่ดำเนินการโดยผู้วิจัย ดังตารางที่ 4.16

ตารางที่ 4.16 ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่ได้ที่เพาะแบบฝังกลบและเห็ดนมเสือที่เก็บได้จากป่าธรรมชาติ

แหล่งของเหง้าเห็ดนมเสือ	Yield (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)	TPC (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด)	TFC (มิลลิกรัมเควอซิทิน /กรัมสารสกัด)	DPPH scavenging activity (IC_{50}: มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	FRAP (ไมโครโมลาร์ Fe2+/กรัมสารสกัด)	Inhibition of BSA denaturation (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Proteinase inhibition (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Total Polysaccharide (มิลลิกรัมกลูโคส/กรัมสารสกัด)	Total triterpenoid (มิลลิกรัมกรดยูโซลิก/กรัม สารสกัด)	Total protein (มิลลิกรัม/กรัมสารสกัด)	Anticancer Lung cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Anticancer Breast cell line (IC_{50}: ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
ดินปลูกพืช (วิจัย)	24.58±0.46	26.63±0.86	8.85±0.74	20.59±1.47	23.75±0.86	289.58±5.28	321.75±5.57	925.43±6.26	6.46±0.37	2.37±0.41	127.49±4.85	367.54±7.48
ขุยมะพร้าว:ดิน ปลูกพืช (1:1) (วิจัย)	18.57±2.38	21.48±1.84	6.36±0.25	24.47±1.55	18.43±0.69	264.28±6.13	243.59±3.84	744.27±8.14	8.38±0.93	1.87±0.36	174.75±7.87	467.53±6.83
เกษตรกร 1 (ดินปลูกพืช)	15.64±0.45	15.34±0.72	5.91±0.57	28.49±1.58	9.34±0.75	324.52±6.38	413.46±5.47	758.19±10.54	6.31±0.24	2.26±0.32	>500	>500
เกษตรกร 2 (ดินปลูกพืช)	14.42±1.28	21.82±2.33	5.02±0.48	27.13±2.45	13.68±3.24	364.28±5.31	297.43±10.46	655.35±7.54	5.16±1.43	1.58±2.39	>500	ไม่ยับยั้ง
ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเห็ดนมเสือจากประเทศมาเลเซีย	26.43±2.45	45.76±1.68	11.47±0.53	6.32±0.53	47.48±2.44	463.48±8.37	362.34±7.58	1,245.32±15.48	18.23±1.22	1.93±0.75	372.50±7.55	393.85±8.46
เห็ดนมเสือจากป่า	12.46±0.86	14.34±0.42	2.66±0.25	30.75±2.97	11.36±1.83	80.32±6.48	135.46±9.46	447.58±9.28	5.37±0.54	2.15±0.82	>500	>500

บทที่ 5 อภิปรายและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์จากเหง้าเห็ดนมเสือพบว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนให้ปริมาณสารสกัด กรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ และโพลีแซคคาไรด์มากที่สุด รวมถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ส่วนไตรเทอร์พีนอยด์พบปริมาณมากที่สุดในสารที่สกัดด้วยเอทานอล ผลการวิจัยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yap et al. (2014) ที่พบว่าเห็ดนมเสือสายพันธุ์ *L. tigris* มีปริมาณกรดฟีโนลิกมากในสารที่สกัดด้วยน้ำร้อน (8.07±0.51 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/สารสกัดเห็ด 1 กรัม) และมีปริมาณต่ำสุดในสารสกัดเมทานอล (6.25±0.18 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/สารสกัดเห็ด 1 กรัม) งานวิจัยของ Kittimongkolsuk et al. (2021) ได้พบข้อมูลอีกด้านว่าสารสกัดเห็ดนมเสือ *L. rhinocerus* TM02 ที่เพาะเลี้ยงบนข้าวกล้องมีปริมาณฟีโนลิกเมื่อสกัดด้วย 95%เอทานอลและน้ำร้อนเป็น 19.78±0.18 และ 4.75±0.06 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/สารสกัดเห็ด 1 กรัม ตามลำดับ ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์เมื่อสกัดด้วย 95%เอทานอลและน้ำร้อนเป็น 9.39±0.50 และ 63.61±0.57 มิลลิกรัมกรดแกลลิก/สารสกัดเห็ด 1 กรัม ตามลำดับ นอกจากนี้การศึกษาผลของวิธีการสกัดสารจากเหง้าเห็ดต่อประสิทธิภาพการต้านมะเร็งพบว่าสารที่สกัดด้วยน้ำเย็นจะมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูงกว่าสารที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อน ผลการวิจัยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Liu et al. (2017) ที่พบว่าการสกัดสารโพลีแซคคาไรด์ด้วยน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (การยับยั้ง 60%) จะช่วยยับยั้งมะเร็งตับของหนู (H22 cells) ได้ดีกว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส (การยับยั้ง 30%) เนื่องจากน้ำร้อนอาจทำลายฤทธิ์การต้านมะเร็ง

จากการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบทั้งด้านลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือพบว่าการฝังกลบด้วยวัสดุฝังกลบที่แตกต่างกันส่งผลให้ลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือแตกต่างกัน โดยอาจขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมี เช่น ปริมาณเซลลูโลส ปริมาณเฮมิเซลลูโลส ปริมาณลิกนิน ฯลฯ ของวัสดุฝังกลบที่ใช้ การฝังกลบด้วยขุยมะพร้าวให้น้ำหนักเหง้ามากที่สุด (96.53 กรัม) ส่วนฟางข้าวให้น้ำหนักเหง้าน้อยที่สุด (34.42 กรัม) ดินปลูกพืชให้น้ำหนักเหง้า 38.53 กรัม ดินปลูกพืช:ขุยมะพร้าว (1:1) ให้น้ำหนักเหง้า 60.54 กรัม การที่ขุยมะพร้าวให้น้ำหนักเหง้ามากที่สุดอาจเนื่องด้วยขุยมะพร้าวมีความสามารถในการอุ้มน้ำ (78.77%) มีความพรุน (89.70%) ในการช่วยระบายอากาศสูงกว่าดิน (ความสามารถในการอุ้มน้ำ 43.37% ความพรุน 59.84%) (Rangel et al., 2006) อีกทั้งขุยมะพร้าวยังเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญ (Lignocellulosic substrate) เพราะมีเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน เป็นองค์ประกอบหลัก ฟางเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญ (Lignocellulosic substrate) เช่นเดียวกันกับขุยมะพร้าวแต่มีความสามารถในการอุ้มน้ำเพียง 20% (Rashad and Hussien, 2013) จึงทำให้ความชื้นในวัสดุฝังกลบน้อยส่งผลให้ได้เหง้าที่น้ำหนักน้อย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Dong et al. (2022) ที่พบว่าเหง้าของ *Sclerotium rolfsii* จะไม่เจริญที่ความชื้นต่ำ คือ 0.20% แต่เหง้าจะเจริญที่ความชื้นในวัสดุฝังกลบประมาณช่วง 40-100% ดินปลูกพืชนอกจากจะมีความสามารถในการอุ้มน้ำและความพรุนปานกลาง ดินยังไม่ได้เป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญ (Lignocellulosic

substrate) ของเหง้าเห็ด ดินประกอบด้วยเพียงแร่ธาตุ สารอินทรีย์ จุลินทรีย์ อากาศ น้ำ ฯลฯ ดังนั้นดินจะไม่ได้เป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญ แต่จะทำหน้าที่เพียงให้ความชื้นและอาจจะมีการถ่ายเทแร่ธาตุจากดินสู่เหง้า Ramakrishna and Ravishankar (2011) ได้รายงานว่าดินมีบทบาทสำคัญต่อพืชในการผลิตผลิตสารสำคัญ (Primary and secondaty metabolites) Muscolo et al. (2019) พบว่าคุณสมบัติทางเคมีและชีวเคมีของดินส่งผลต่อประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงการผลิตสารคาโรทีนอยด์ (carotenoids) และกลูโคซิโนเลต (glucosinolates) ใน *Brassica rupestris* Raf ซึ่งเป็นผักในวงศ์ผักคะน้า กะหล่ำปลี ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าการฝังกลบด้วยดินถึงแม้จะให้เหง้าขนาดไม่ใหญ่ (38.53 กรัม) เพราะไม่มีแหล่งคาร์บอน แต่มีกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โปรตีน โพลีแซคคาไรด์และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูง เนื่องจากการกระตุ้นด้วยคุณสมบัติทางเคมีและชีวเคมีของดิน นอกจากนี้ Cao et al. (2021) ได้ทำการศึกษาการเกิดเหง้าของเห็ดโป่งรากสน (*Wolfiporia cocos*) ในระดับยีนและพบว่าการกระบวนการเกิดเหง้ามีการสังเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องมากมาย อาทิเช่น ยีนในการสังเคราะห์โพลีแซคคาไรด์ (α-1,3-glucan synthase และ β-1,3-glucan synthase) ยีนที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์ไตรเทอร์พีนอยด์ (กลุ่ม cytochrome P450) ยีนที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายโพลีแซคคาไรด์ (กลุ่ม CAZymes: Carbohydrate-active enzymes) เป็นต้น นอกจากนี้งานวิจัยของ Jarial และคณะ (2005) พบว่าเห็ดจะไม่ออกดอกหากมีการฝังกลบในวัสดุฝังกลบที่ปลอดเชื้อ งานวิจัยของ Cho และคณะ (2008) ซึ่งเพาะเห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus*) แบบฝังกลบพบว่าเชื้อ *Flavobacterium* มีปริมาณมากในวัสดุฝังกลบที่ปลอดเชื้อ ในขณะที่เชื้อ *Pseudomonas* มีปริมาณมากในวัสดุฝังกลบที่ไม่ปลอดเชื้อ และยังพบว่าเชื้อ *Pseudomonas* กระตุ้นให้เห็ดนางรมฮังการีออกดอกและช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตเห็ด จึงมีความเป็นไปได้ที่จุลินทรีย์ในวัสดุฝังกลบจะส่งผลต่อการเจริญของเหง้าและการออกดอกของเห็ดนมเสือ

การใช้ก้อนเก่าเห็ดนางฟ้าภูฐาน ก้อนเก่าเห็ดนางรมฮังการี และขี้เลื่อยทั้งแบบเดี่ยวและผสมกับวัสดุฝังกลบอื่นๆทำให้เกิดการเน่าของก้อนเห็ดนมเสืออาจเนื่องจากเหตุผลที่ว่าก้อนเห็ดเก่าและขี้เลื่อยเป็นแหล่งอาหารที่ดีของพวกแมลงพวกด้วง ตะเข็บ และหนอน ทำให้เกิดการชอนไชเข้าไปในวัสดุฝังกลบและกัดกินก้อนเห็ดนมเสือ ทำให้ก้อนเห็ดเน่า การศึกษาผลของขนาดก้อนเห็ดนมเสือที่ฝังกลบพบว่าการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือขนาด 900 กรัม จะทำให้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (74.31 กรัม) อาจเป็นเพราะก้อนเห็ดขนาดใหญ่ทำให้มีการเดินของเส้นใยไมซีเลียมได้พื้นที่มากและการรวมตัวของเส้นใยไมซีเลียมทำให้เกิดการเจริญเป็นเหง้า แต่ในส่วนผลการทดลองที่พบว่าปริมาณกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ โปรตีน และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และการต้านมะเร็งมีมากที่สุดในสารสกัดเหง้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดขนาด 500 กรัม ยังไม่มีข้อมูลรายการวิจัยที่มาสนับสนุนอาจต้องมีการศึกษาในเรื่องกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายวัสดุฝังกลบ (CAZymes) และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) อาทิเช่น catalase (CAT) glutathione reductase (GRd) glutathione peroxidase (GPx) เพิ่มเติมในส่วนของก้อนเห็ด

ข้อดีของการใช้ก้อนขนาดเล็กจะทำให้เส้นใยไมซีเลียมเจริญเต็มก้อนได้รวดเร็ว ลดโอกาศการปนเปื้อนของราเขียว ราดำซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของสุวลักษณ์ ชัยชูโชติ และคณะ (2559)

การศึกษาผลของการจัดเรียงก้อนเห็ดนมเสือฝังกลบพบว่าการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือแบบเรียง 3 ก้อน จะทำให้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (100.13 กรัม) อีกทั้งมีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าการจัดเรียงแบบอื่นๆ แต่หากคำนวณน้ำหนักต่อการฝังกลบก้อนเดี่ยว 1 ก้อนจะพบว่าการฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยวให้น้ำหนักเหง้ามากที่สุด ถึงแม้ว่าปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของการฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยวจะต่ำกว่าการฝังกลบแบบเรียง 3 ก้อน การที่ลักษณะการจัดเรียงแบบ 3 ก้อน มีผลให้ได้น้ำหนักเหง้ามากอาจเป็นเพราะเส้นใยไมซีเลียมของก้อนเห็ดทั้งสามก้อนมีการถ่ายเทสารอาหารระหว่างกัน รวมถึงสัดส่วนของวัสดุฝังกลบต่อปริมาณก้อนที่อาจจะเหมาะสม (วัสดุฝังกลบ 40 ลิตร/การฝังกลบ 3 ก้อน) การจัดเรียงก้อนแบบ 4 5 6 ก้อน ได้น้ำหนักเหง้าน้อยและฤทธิ์ทางชีวภาพน้อย อาจเกิดจากสัดส่วนของวัสดุฝังกลบที่ลดลง (วัสดุฝังกลบ 40 ลิตร/การฝังกลบ 4-6 ก้อน) จึงส่งผลสารอาหารที่ได้จากการย่อยวัสดุฝังกลบลดลง เหง้าจึงมีขนาดเล็ก

การศึกษาผลของสารประกอบซีลีเนียมต่อลักษณะการเจริญของเหง้าเห็ดนมเสือพบว่าสารประกอบโซเดียมซีลีเนท 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะทำให้ได้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (76.93 กรัม) ส่วนการใช้สารประกอบโซเดียมซีลีไนท์จะทำให้ได้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (78.12 กรัม) เมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือพบว่าเหง้าที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดแล้วรดน้ำที่ไม่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนทและโซเดียมซีลีไนท์ (0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ให้ปริมาณสารสกัด ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด ความเข้มข้นของสารประกอบซีลีเนียมที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญต่างๆ รวมถึงประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Xu et al. (2021) ที่ได้รายงานผลของสารประกอบซีลีเนียมไว้ว่าสารประกอบซีลีเนียมสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเห็ดและกระตุ้นระบบเมแทบอลิซึมของเห็ดหลินจือได้ที่ความเข้มข้นต่ำ แต่ถ้าความเข้มข้นสารประกอบซีลีเนียมสูงจะทำเกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตและระบบเมแทบอลิซึมของเห็ดหลินจือ รวมถึงยับยั้งการผลิตโพลีแซคคาไรด์ การศึกษาผลกลีเซอรอลต่อการเกิดเหง้าเห็ดนมเสือพบว่าการกระตุ้นการเกิดเหง้าด้วยกลีเซอรอลความเข้มข้น 1.0% โดยปริมาตร จะทำให้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (87.46 กรัม) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Li et al. (2017) ที่พบว่ากลีเซอรอลสามารถช่วยกระตุ้นการเกิดเหง้าในเห็ดจู้หลิง (*Polyporus umbellatus*) ได้ที่ความเข้มข้น 1-5% (w/v) ในขณะที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอล 0% โดยปริมาตร จะให้ปริมาณสารสกัด ปริมาณสารสำคัญและประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด อาจเนื่องจากว่าความเข้มข้นกลีเซอรอลที่เพิ่มขึ้นทำเกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตและระบบเมแทบอลิซึมของเห็ดนมเสือ ในขณะที่การศึกษาในเห็ดกระดุม เห็ดนางรมพบว่าการหมักวัสดุเพาะเห็ดด้วยซีลีเนียมช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีโนลิก เพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเซลล์ไลน์มะเร็งปอดได้ (Bhatia, 2013a, 2013b; Bhatia et al. 2014)

ในส่วนของการศึกษาระยะเวลาฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพเหง้าเห็ดนมเสือ พบว่าการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือเป็นระยะเวลา 6 เดือน จะทำให้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (67.28 กรัม) แต่การฝังกลบก้อนเห็ดเป็นเวลา 2 เดือนจะให้ปริมาณสารสกัด ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด ถึงแม้จะมีน้ำหนักเหง้าเพียง 20.46 กรัม ผลการทดลองเช่นนี้อาจเป็นเพราะการใช้ระยะเวลาในการฝังกลบนานเห็ดจะมีการนำสารอาหารที่ได้จากการย่อยสลายวัสดุฝังกลบไปใช้ในการเจริญเติบโตของเหง้าทำให้เหง้ามีขนาดใหญ่ ในส่วนของการศึกษาผลของอายุเหง้าต่อปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพยังไม่พบรายงานในเห็ดชนิดอื่น แต่จะพบการเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างส่วนดอก-ก้านดอก (fruiting body) กับเส้นใยไมซีเลียม ซึ่งผลการเปรียบเทียบพบว่าเส้ยใยไมซีเลียมมีปริมาณสาระสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าส่วนดอก-ก้านดอก (fruiting body) (Fijałkowska et al., 2020; Muna et al., 2015) จึงอาจเป็นไปได้ว่าเหง้าเห็ดนมเสือที่อายุน้อย 2 เดือน (เส้นใยไมซีเลียมมีการรวมตัวกันเป็นเหง้าแต่ยังไม่แก่) จะมีปริมาณสาระสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าเหง้าเห็ดนมเสือที่มีอายุ 6 เดือน (เหง้าเริ่มแก่)

การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ แบบผลิตภัณฑ์อาหารเสริมทางการค้าและแบบที่เก็บได้จากป่าธรรมชาติบาลาฮาลาพบว่าสารสกัดจากผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเห็ดนมเสือนำเข้าจากประเทศมาเลเซียมีปริมาณสารสกัด กรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ ไตรเทอร์พีนอยด์และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากแหล่งอื่นๆ อาจเนื่องจากความแตกต่างของวิธีการเพาะเลี้ยงที่ทางบริษัทผู้ผลิตมีการพัฒนาเพื่อให้เกิดสารสำคัญและสารออกฤทธิ์สูง โดยเห็ดนมเสือที่อยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมมีการเพาะเลี้ยงด้วยวิธี solid state fermentation บนข้าวกล้องในห้องปฏิบัติการ การศึกษาสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือจากป่าพบว่ามีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบมากที่สุด แต่มีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพต่ำกว่าสารสกัดจากเหง้าที่เพาะแบบฝังกลบ ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jamil et al. (2018) ที่พบว่าส่วนเหง้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตฟลาโวนอยด์และบีต้า-กลูแคนสูงกว่าเหง้าเห็ดป่าจากธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบว่ากรรมวิธีในการทำแห้งเหง้าเห็ดนมเสืออาจส่งผลให้สารสกัดจากเหง้าที่เพาะแบบฝังกลบในดินโดยเกษตรกรมีปริมาณสารสำคัญต่างๆ ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็งต่ำกว่าสารสกัดจากเหง้าเห็ดที่เพาะเลี้ยงฝังกลบในดินและขุยมะพร้าว:ดิน (1:1) ที่ดำเนินการโดยผู้วิจัย เนื่องจากการสัมภาษณ์เบื้องต้นเกษตรกรมีกรรมวิธีในการทำแห้งเหง้าเห็ดด้วยการอบที่อุณหูมิประมาณ 40-50 องศาเซลเซียส ในขณะที่ผู้วิจัยได้ทำการอบเหง้าเห็ดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (ข้อมูลจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าการคั่วไฟแรงและการอบที่อุณหภูมิสูงช่วยเพิ่มปริมาณสารสำคัญต่างๆและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ)

บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์จากเห้าเห็ดนมเสือพบว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนให้ปริมาณสารสกัด กรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ และโพลีแซคคาไรด์มากที่สุด รวมถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ส่วนไตรเทอร์พีนอยด์พบปริมาณมากที่สุดในสารที่สกัดด้วยเอทานอล สารที่สกัดด้วยน้ำเย็นจะมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูงกว่าสารที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อน

จากการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบทั้งด้านลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเห้าเห็ดนมเสือพบว่าการฝังกลบด้วยวัสดุฝังกลบที่แตกต่างกันส่งผลให้ลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเห้าเห็ดนมเสือแตกต่างกัน การฝังกลบด้วยขุยมะพร้าวให้น้ำหนักเห้าเห้ามากที่สุด (96.53 กรัม) และมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบสูง การฝังกลบด้วยขุยมะพร้าว:ฟางข้าว (1:1) ให้ปริมาณไตรเทอร์พีนอยด์สูง การฝังกลบด้วยดินปลูกพืช:ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1) ให้ปริมาณสารสกัด ปริมาณโพลีแซคคาไรด์และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูง ในขณะที่การฝังกลบด้วยดินปลูกพืชจะให้ปริมาณปริมาณสารสกัด กรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โปรตีน โพลีแซคคาไรด์และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูง การศึกษาผลของขนาดก้อนเห็ดนมเสือที่ฝังกลบพบว่าการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือขนาด 900 กรัม จะทำให้เห้าน้ำหนักมากที่สุด (74.31 กรัม) แต่ปริมาณกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ โปรตีน และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และการต้านมะเร็งมีมากที่สุดในสารสกัดเห้าเห็ดที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดขนาด 500 กรัม การศึกษาผลของการจัดเรียงก้อนเห็ดนมเสือฝังกลบพบว่าการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือแบบเรียง 3 ก้อน จะทำให้เห้าน้ำหนักมากที่สุด (100.13 กรัม) อีกทั้งมีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าการจัดเรียงแบบอื่นๆ แต่หากคำนวณน้ำหนักต่อการฝังกลบก้อนเดี่ยว 1 ก้อนจะพบว่าการฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยวให้น้ำหนักเห้ามากที่สุด ถึงแม้ว่าปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของการฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยวจะต่ำกว่าการฝังกลบแบบเรียง 3 ก้อน

การศึกษาผลของสารประกอบซีลีเนียมต่อลักษณะการเจริญของเห้าเห็ดนมเสือพบว่าสารประกอบโซเดียมซีลีเนท 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะทำให้ได้เห้าน้ำหนักมากที่สุด (76.93 กรัม) ส่วนการใช้สารประกอบโซเดียมซีลีไนท์จะทำให้ได้เห้าน้ำหนักมากที่สุด (78.12 กรัม) เมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเห้าเห็ดนมเสือพบว่าเห้าที่ได้จากการฝังกลบก้อนเห็ดแล้วรดน้ำที่ไม่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนทและโซเดียมซีลีไนท์ (0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ให้ปริมาณสารสกัด ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด ความเข้มข้นของสารประกอบซีลีเนียมที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญต่างๆ รวมถึงประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง การศึกษาผลกลีเซอรอลต่อการเกิดเห้าเห็ดนมเสือพบว่าการกระตุ้นการเกิดเห้าด้วยกลีเซอรอลความเข้มข้น 1.0% โดยปริมาตร จะทำให้เห้าน้ำหนักมากที่สุด (87.46 กรัม)

ในขณะที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอล 0% โดยปริมาตร จะให้ปริมาณสารสกัด ปริมาณสารสำคัญและประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ในส่วนของการศึกษาระยะเวลาฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือต่อการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพเหง้าเห็ดนมเสือพบว่าการฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือเป็นระยะเวลา 6 เดือน จะทำให้เหง้าน้ำหนักมากที่สุด (67.28 กรัม) แต่การฝังกลบก้อนเห็ดเป็นเวลา 2 เดือนจะให้ปริมาณสารสกัด ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด ถึงแม้จะมีน้ำหนักเหง้าเพียง 20.46 กรัม การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะแบบฝังกลบ แบบผลิตภัณฑ์อาหารเสริมทางการค้าและแบบที่เก็บได้จากป่าธรรมชาติบาลาฮาลาพบว่าสารสกัดจากผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเห็ดนมเสือจากประเทศมาเลเซียให้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุด (26.43±2.45 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) มีกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซคคาไรด์ ไตรเทอร์พีนอยด์และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากแหล่งอื่นๆ สารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือจากป่ามีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบมากที่สุด แต่มีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเหง้าเห็ดจากป่าธรรมชาติและสารสกัดจากเหง้าที่เพาะแบบฝังกลบในดินโดยเกษตรกรมีปริมาณสารสำคัญต่างๆ ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็งต่ำกว่าสารสกัดจากเหง้าเห็ดที่เพาะเลี้ยงฝังกลบในดินปลูกพืชและขุยมะพร้าว:ดิน (1:1) ที่ดำเนินการโดยผู้วิจัย และผลจากการศึกษาปัจจัยต่างๆดังกล่าวข้างต้นจะพบว่าสารสกัดจากเหง้าเห็ดนมเสือมีประสิทธิภาพในการต้านมะเร็งปอดสูงกว่ามะเร็งเต้านม

6.2 ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะเพื่อใช้ประโยชน์จากผลการวิจัย

วิธีการสกัดสารสำคัญจากเหง้าเห็ดนมเสือที่เหมาะสมขึ้นกับชนิดสารสำคัญ ปริมาณสารสำคัญ รวมถึงฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผู้ใช้งานต้องการเนื่องจากการสกัดแต่ละวิธีจะให้ชนิดสารสำคัญ ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่างกันไป ดังนี้

- การสกัดด้วยน้ำร้อนให้ปริมาณสารสกัดกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ และโพลีแซคคาไรด์มากที่สุด รวมถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ
- การสกัดด้วยเอทานอลให้ปริมาณสารสกัดไตรเทอร์พีนอยด์มากที่สุด
- การสกัดด้วยน้ำเย็นจะมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูงกว่าสารที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อน

ปัจจัยที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบแตกต่างกันก็ย่อมส่งผลต่อลักษณะการเจริญของเหง้าชนิดสารสำคัญ ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพให้มีความแตกต่างกันไปขึ้นกับลักษณะความต้องการว่าต้องการปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมในเรื่องขนาดน้ำหนักเหง้าเห็ดหรือปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมในเรื่องชนิดสารสำคัญ ปริมาณสารสำคัญหรือการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ อาทิเช่น

- หากต้องการได้เหง้าที่มีน้ำหนักมากควรจะเลือกใช้ขุยมะพร้าวในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 900 กรัม โดยฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยว เป็นระยะเวลา 6 เดือน
- หากต้องการได้เหง้าที่มีปริมาณไตรเทอร์พีนอยด์สูงควรจะเลือกใช้ขุยมะพร้าว:ฟางข้าว (1:1) ในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 500 กรัม โดยฝังกลบแบบ 3 ก้อนติดกัน เป็นระยะเวลา 6 เดือน
- หากต้องการได้เหง้าที่มีปริมาณโพลีแซคคาไรด์มากควรจะเลือกใช้ดินปลูกพืชหรือ ดินปลูกพืช:ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1) ในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 500 กรัม โดยฝังกลบแบบ 3 ก้อนติดกัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน
- หากต้องการได้เหง้าที่มีปริมาณสารสกัดกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงควรจะเลือกใช้ดินปลูกพืชหรือขุยมะพร้าว:ฟางข้าว (1:1) ในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 500 กรัม โดยฝังกลบแบบ 3 ก้อนติดกัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน
- หากต้องการได้เหง้าที่มีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบสูงควรจะเลือกใช้ขุยมะพร้าวหรือขุยมะพร้าว:ดินปลูกพืช:ฟางข้าว (1:1:1) ในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 500 กรัม โดยฝังกลบแบบ 3 ก้อนติดกัน แล้วรดน้ำที่มีกลีเซอรอล (2.5% โดยปริมาตร) เป็นส่วนประกอบ เป็นระยะเวลา 2 เดือน
- หากต้องการได้เหง้าที่มีประสิทธิภาพในการต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูงควรจะเลือกใช้ดินปลูกพืชในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 500 กรัม โดยฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยว เป็นระยะเวลา 2 เดือน

ข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยต่อไป

นอกจากการศึกษาผลของปัจจัยต่างๆต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือในเบื้องต้นแล้ว คณะผู้วิจัยเห็นแนวทางในการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของ 1) ชนิดสารประกอบฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ที่พบในสารสกัดเหง้าเห็ดนมเสือด้วยเทคนิค LC-MS GC-MS 2) ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการฝังกลบก้อนเห็ด (CAZymes และ antioxidant enzymes) ว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ใดเกี่ยวข้องบ้าง 3) ศึกษาอายุก้อนเห็ดที่เหมาะสมในการฝังกลบหลังจากเชื้อเดินเต็ม 4) ศึกษาชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ในวัสดุฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือแต่ชนิดว่ามีจุลินทรีย์ชนิดใดที่ส่งผลต่อการกระตุ้นการเกิดเหง้าเห็ดนมเสือ 5) ศึกษาทางเภสัชวิทยาในด้านความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ปกติและความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลองเพิ่มเติม

6.3 ประโยชน์และการประยุกต์ใช้

6.3.1 ได้กระบวนการสกัดสารสำคัญจากเหง้าเห็ดนมเสือที่เหมาะสมกับชนิดสารสำคัญที่ต้องการนำไปใช้งาน เช่น สารสำคัญกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ กรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ ไตรเทอร์พีนอยด์

6.3.2 ได้กระบวนการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือที่เหมาะสมกับลักษณะความต้องการนำไปใช้งาน เช่น กระบวนการเพาะเลี้ยงที่ช่วยส่งเสริมในเรื่องขนาดน้ำหนักเหง้าเห็ดหรือช่วยส่งเสริมในเรื่องชนิดสารสำคัญ ปริมาณสารสำคัญหรือการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ

6.3.3 ผลงานวิจัยที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาองค์ความรู้ในการเพาะเห็ดนมเสือ (*L. rhinocerus*) ซึ่งเป็นเห็ดทางยาให้มีปริมาณเพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภคและมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง

บรรณานุกรม

ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร. 2548. การทดสอบเทคโนโลยีการเพาะเห็ดหอมที่เหมาะสมในจังหวัดนครราชสีมา. รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี: 1-110.

พิมพ์กานต์ อร่ามพงษ์พันธ์, สมพงษ์ อังโขรัมย์ และอุทัย ทองมี. 2530. ปริมาณอาหารขี้เลื่อยที่เหมาะสมต่อการเพาะเห็ดหอมในสภาพธรรมชาติ. รายงานผลงานวิจัยกลุ่มงานจุลชีววิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร: 64-70.

สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ. 2558. ชุดโครงการวิจัยและพัฒนาเห็ด (โครงการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการใช้วัสดุและอาหารเสริมเพาะเห็ดเศรษฐกิจ). รายงานชุดโครงการวิจัย. กรมวิชาการเกษตร: 223-310.

สำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (สำนักงาน กปร.). 2565. ฐานข้อมูลการศึกษาทดลองและวิจัยของศูนย์ โครงการการศึกษาการเพาะเห็ดนางรมฮังการีกับวัสดุเพาะเปลือกถั่วเหลือง และขี้เลื่อยไม้ยางพารา. สืบค้นเมื่อ 23 `ตุลาคม 2565. จาก. https://shorturl.at/PST46

Abdullah, N., Haimi, M.Z.D., Lau, B.F., Annuar, M., and Suffian, M. 2013. Domestication of a wild medicinal sclerotial mushroom, *Lignosus rhinocerotis (Cooke) Ryvarden.* Industrial Crops and Products 47: 256–261.

Azieana, J., Zainon, M.N., Noriham, A., and Rohana, M.N. 2017. Total phenolic and flavonoid content and antioxidant activities of ten malaysian wild mushrooms. Open access library journal 4: e3987. https://doi.org/10.4236/oalib.1103987.

Bajwa, R., Majeed, S., and Javaid, A. 1999. Use of EM in mushroom cultivation. I: Yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on EM treated cotton waste and wheat straw. Proceedings of 2nd National Conference of Plant Pathology: 165-169.

Bels-Koning H.C. 1950. Experiments with casing soils, water supply and climate. Mushroom Science 1: 78-84.

Benzie, I.F.F., and Strain, J.J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods Enzymology 299: 15-27.

Bhatia, P., Aureli, F., D'Amato, M., Prakash, R., Cameotra, S.S., Nagaraja, T.P., and Cubadda, F. 2013a. Selenium bioaccessibility and speciation in biofortified *Pleurotus* mushrooms grown on selenium-rich agricultural residues. Food Chemistry 140: 225–230.

Bhatia, P., Prakash, R., and Prakash, N.T. 2013b. Selenium uptake by edible oyster mushrooms (*Pleurotus* sp.) from selenium-hyperaccumulated wheat straw. Journal of nutritional science and vitaminology 59: 69–72.

Bhatia, P., Prakash, R., and Prakash, N.T. 2014. Enhanced antioxidant properties as a function of selenium uptake by edible mushrooms cultivated on selenium-accumulated waste post-harvest wheat and paddy residues. International journal of recycling organic waste in agriculture 3: 127–132.

Cao, S., Yang, Y., Bi, G., Nelson, D., Hu, S., Makunga, N.P., Yu, B., Liu, X., Li, X., and Hu, X. 2021. Genomic and transcriptomic insight of giant sclerotium formation of wood-decay fungi. Front. Microbiol 12(746121): 1-15.

Chang, A.W., and Miles, P.G. 1996. Biomedical research and the application of mushrooms nutriceuticals from *Ganoderma lucidum*. In: Royse DJ (ed.) Mushroom Biology and Mushroom Products. Philadelphia: Pennsylvania State University, pp. 153 –159.

Chang, Y.S., and Lee, S.S. 2004. Utilisation of macrofungi species in Malaysia. Fungal Diversity 15: 15-22.

Chapuis, G., Courtieu, P. 1950. Le gobetage dans les cultures de champignons de couche. Mushroom Science 1: 85-86.

Cho, Y.S., Weon, H.Y., Joh, J.H., Lim, J.H., Kim, K.Y., Son, E.S., Lee, C.S., and Cho, B.G. 2008. Effect of casing layer on growth promotion of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. Mycobiology 36(1): 40-44.

Chu, H.L., Chien, J.C., and Duh, P.D. 2011. Protective effect of *Cordyceps militaris* against high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells. Food Chemistry 129: 871–876.

Colauto, N.B., Silveira, A.R., Eira, A.F., and Linde, G. 2010. Thermal treatments on lime schist casing layer for *Agaricus brasiliensis* cultivation. Ciência Rural 40(7): 1660-1663.

Dias, E.S., Zied, D.C., and Pardo-Gimenez, A. 2021. Revisiting the casing layer: Casing materials and management in *Agaricus* mushroom cultivation. Ciência e Agrotecnologia 45: 1-11.

Dong, X.L., Gao, C.Y., Li, P.L., Lian, S., Zhou, S.Y., and Li., B.H. 2022. Effects of temperature, moisture, substrates and soil coverage on sclerotium germination and hyphal growth of Southern blight of apple in China. European Journal of Plant Pathology 162: 477–487.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., et al. 1955. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28(3): 350-356.

El Sheikha, A.F. 2022. Nutritional profile and health benefits of *Ganoderma lucidum* "Lingzhi, Reishi, or Mannentake" as functional foods: Current scenario and future perspectives. Foods 11(1030): 1-29.

Fan, J.P., and He, C.H. 2006. Simultaneous quantification of three major bioactive triterpene acids in the leaves of Diospyros kaki by high-performance liquid chromatography method. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 41(3): 950–956.

Ferreira, I.C.F.R., Aires, E., Barreira, J.C.M., and Estevinho, L.M. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. Food Chemistry 114: 1438-1443.

Fijałkowska, A., Muszyńska, B., Sułkowska-Ziaja, K., Kała, K., Pawlik, A., Stefaniuk, D., Matuszewska, A., Piska, K., Pękala, E., Kaczmarczyk, P., Piętka, J., and Jaszek, M. 2020. Medicinal potential of mycelium and fruiting bodies of an arboreal mushroom *Fomitopsis ofcinalis* in therapy of lifestyle diseases. Scientific reports 10(20081): 1-12.

Goyal, R., Grewal, R., and Goyal, R.K. 2020. Vitamin and mineral content of *Agaricus bisporus* (white button) and *Pleurotus sajor-caju* (dhingri) mushrooms. International Journal of Food Science and Nutrition 5(3): 100-102.

Gunathilake, K.D.P.P., Ranaweera, K.K.D.S. and Rupasinghe, H.P.V. 2018. Influence of boiling, steaming and frying of selected leafy vegetables on the in vitro anti-inflammation associated biological activities. Plants 7(22): 1-10.

Harbourne, N., Marete, E., Jacquier, J.C., and O'Riordan, D. 2009. Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and Willow (*Salix alba*). LWT-Food Science and Technology 42: 1468-1473.

Hattori, T., Noraswati, M.N.R., and Ujang, S., 2007. Basidiomycota: diversity of Malaysian polypores. In: Jones, E.B.G., Hyde, K.D., Vikineswary, S. (Eds.), Malaysian Fungal Diversity. Mushroom Research Centre, University of Malaya and Ministry of Natural Resources and Environment, Malaysia, pp. 55–68.

Hayes, W.A. 1981. Interrelated studies of physical, chemical and biological factors in casing soils and relationships with productivity in commercial culture of *A. bisporus*. Mushroom Science 11: 103-129.

Huang, N. 1999. Identification of the scientific name of hurulingzhi. Acta Edulis Fungi 6: 32–34.

Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S.A. and Gan, S.H. 2012. Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. BMC Complementary and Alternative Medicine 12: 177.

Ismail, I., 2010. Magis Belantara: Herba Orang Asli. Department of Museums, Malaysia.

Jamil, N.A.M., Rashid, N.M.N., Hamid, M.H.A., Rahmad, N., and Al-Obaidi, J.R. 2018. Comparative nutritional and mycochemical contents, biological activities and LC/MS screening of tuber from new recipe cultivation technique with wild type tuber of tiger's milk mushroom of species *Lignosus rhinocerus*. World Journal of Microbiology and Biotechnology 34(1): 1-10.

Jarial, R.S., Shandilya, T.R., and Jarial, K. 2005. Casing in mushroom beds- A review. Agricultural Reviews 26(4): 261-271.

Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., and Stalpers, J.A., 2008. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. CABI International, UK.

Kittimongkolsuk, P., Roxo, M., Li, H., Chuchawankul, S., Wink, M., and Tencomnao, T. 2021. Extracts of the tiger milk mushroom (*Lignosus rhinocerus*) enhance stress resistance and extend lifespan in caenorhabditis elegans via the DAF-16/FoxO signaling pathway. Pharmaceuticals 14(93): 1-22.

Kong, B.H., Tan, N.H., Fung, S.Y., and Pailoor, J. 2016. Sub-acute toxicity study of tiger milk mushroom *Lignosus tigris* Chon S. Tan cultivar E sclerotium in spragued rats. Frontiers in Pharmacology 7(246): 1-10.

Lakhanpal, T.N., and Rana, M. 2005. Medicinal and nutraceutical genetic resources of mushrooms. Plant genetic resources 3(2): 288-303.

Lai, W.H., Loo, S.S., Rahmat, N., Shaharuddin, S., Daud, F., Zamri, Z., and Saleh, N.M. 2013. Molecular phylogenetic analysis of wild Tiger's milk mushroom (*Lignosus rhinocerus*) collected from Pahang, Malaysia and its nutritional value and toxic metal content. International Food Research Journal 20(5): 2301-2307.

Lai, W.H., Siti Murni, M.J. Fauzi, D., Abas Mazni, O., and Saleh, N.M. 2011. Optimal Culture Conditions for Mycelial Growth of *Lignosus rhinoceros.* Mycobiology 39(2): 92–95.

Lau, B.F., Abdullah, N., Aminudin, N., and Lee, H.B. 2015. Ethnomedicinal uses, pharmacological activities, and cultivation of *Lignosus* spp. (tiger's milk mushrooms) in Malaysia – A review. Journal of Ethnopharmacology 169: 441–458.

Lau, B.F., Abdullah, N., and Aminudin, N. 2013. Chemical Composition of the tiger's milk mushroom, *Lignosus rhinocerotis* (Cooke) Ryvarden, from different developmental stages. Journal of Agricultural and Food Chemistry 61(20): 4890–4897.

Lee, S.S., Tan, N.H., Pailoor, J., and Fung, H.Y. 2017. Safety Evaluation of sclerotium from a medicinal mushroom, *Lignosus cameronensis* (Cultivar): Preclinical Toxicology Studies. Frontiers in Pharmacology 8(594): 1-9.

Lee, M. L., Tan, N. H., Fung, S. Y., Tan, C. S., and Ng, S. T. 2012a. The antiproliferative activity of sclerotia of *Lignosus rhinocerus* (Tiger Milk Mushroom). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2012(697603): 1-6.

Lee, S.S., tan, N.H., fung, S.Y., Pailoor, J., and sim, S.M. 2011. Evaluation of the sub-acute toxicity of the sclerotium of *Lignosus rhinocerus* (Cooke), the Tiger Milk mushroom. Journal of Ethnopharmacology 138(1): 192-200.

Lee, S.S., Chang, Y.S., and Noraswati, M.N.R. 2009. Utilization of macrofungi by some indigenous communities for food and medicine in Peninsular Malaysia. Forest Ecology and Management 257(10): 2062-2065.

Lee, S.S., and Chang, Y.S. 2007. Ethnomycology. In: Jones, E.B.G., Hyde, K.D., Vikineswary, S. (Eds.), Malaysian Fungal Diversity. Mushroom Research Centre, University of Malaya and Ministry of Natural Resources and Environment, Malaysia, pp. 307–317.

Li, B., Tian, X., Wang, C., Zeng, X., Xing, Y., Ling, H., Yin, W., Tian, L., Meng, Z., Zhang, J., and Guo, S. 2017. SWATH label-free proteomics analyses revealed the roles of oxidative stress and antioxidant defensing system in sclerotia formation of *Polyporus umbellatus*. Scientific Reports 7(41283): 1-13.

Liu, L.A., Yu, J., Ji, H.Y., Zhang, H.C., Zhang, Y., and Liu, H.P. 2018. Extraction of a novel cold-water-soluble polysaccharide from *Astragalus membranaceus* and its antitumor and immunological activities. Molecules 23(62): 1-13.

Ma, Y., and Yu, X.B. 2017. Improvement of crude triterpenoid and extracellular polysaccharide production by fermentation of *Lignosus rhinocerus* under the inducement of different kinds of aqueous herbal extracts. Pharmaceutical Bioprocessing 5(1): 3–10.

Mapanao, K.M., Abella, E.A., Aquino, D.L., and Kalaw, S.P. 2016. Use of effective microorganisms on enhancing the mycelial growth of *Pleurotus florida* on unsterilized rice straw. Journal of biological engineering research and review 3(1): 30-36.

Milovanovic, I., Stajic, M., Stanojkovic, T., and Knezevic, A. 2015. Effects of selenium presence in mycelia of *Ganoderma* species (higher basidiomycetes) on their medicinal properties. International journal of medicinal mushrooms 17(1): 11–20.

Mo, H., Hong, M., Zhang, J., Chen, D., Ma, J., Su, Y., et al. 1999. Effect of Wuse-Lingzhi-Jiaonang on reducing side-effects of radiotherapy and improving immune function in patients with nasophrygeal cancer. Chinese Journal of Clinical Oncology 26: 216–218.

Muna, G.A., John, M., Benson, M., and Ogoyi, D. 2015. Antioxidant properties of cultivated edible mushroom (*Agaricus bisporus*) in Kenya. African Journal of Biotechnology 14(16): 1401-1408.

Muscolo, A., Sidari, M., Settineri, G., Papalia, T., Mallamaci, C., and Attinà, E. 2019. Influence of soil properties on bioactive compounds and antioxidant capacity of *Brassica rupestris* Raf. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 19: 808–815.

Nallathamby, N., Phan, C.W., Seow, S.L.S., Baskaran, A., Lakshmanan, H., Malek, S.N.A., and Sabaratnam, V. 2019. A Status Review of the Bioactive Activities of Tiger Milk Mushroom *Lignosus rhinocerotis* (Cooke) Ryvarden. Frontiers in Pharmacology 8(998): 1-15.

Navarro, M.J., Gea, F.J., Pardo-Giménez, A., Martínez, A., Raz, D., Levanon, D., and Danay, O. 2020. Agronomical valuation of a drip irrigation system in a commercial mushroom farm. Scientia Horticulturae 265: 1-4.

Noonsong, V., Puttakun, N, Tinsirisuk, M., and Seephueak, P. 2016. Recycling of spent *Pleurotus* compost for production of the *Agrocybe cylindracea.* Mycosphere 7(1): 36–43.

Okhuoya, J.A., and Okogbo, F.O. 1991. Cultivation of *Pleurotus tuber-regium* (Fr) Sing on various farm wastes. Proceedings of the Oklahoma Academy of Science 71: 1-3.

Panda, A.K., and Swain, K.C. 2011. Uses and medicinal potential of *C. sinensis* in Sikkim. Journal of Ayurveda and Integrative Medicine 2(1): 1-13.

Pardo-Giménez, A., Pardo, J.E., Zied, D.C. 2017. Casing materials ant techniques in Agaricus bisporus cultivation. In: ZIED, D. C.; PARDO GIMÉNEZ, A. (eds.). Edible and medicinal mushrooms: Technology and applications. First Edition. John Wiley & Sons: Chichester: 149-174.

Pardo-Giménez, A., Jaime, C., Pardo, J.E., Alvarez-Orti, M., and Zied, D.C. 2020a. Influence of substrate density and cropping conditions on the cultivation of sun mushroom. Spanish Journal of Agricultural Research 18: 1-11.

Pardo-Giménez, A., De Juan, J.A., and Pardo, J.E. 2002b. Factores que influyen en la iniciación de la fructificación del champiñón cultivado. II. Factores microbiológicos. ITEA Producción Vegetal 98(2): 87-94.

Park, B.T., Baker, D.D., Na, K.H., Jung, E.C., Park, J.W., and Kim, H.H. 2009. Antifungal and anticancer activities of a protein from the mushroom *Cordyceps militaris*. Korean Journal of Physiology and Pharmacology 13: 49-54.

Ramakrishna, A., and Ravishankar, G.A. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signaling and Behavior 6: 1720–1731.

Rangel, J.I., Leal, H., Palacios-Mayorga, S., Sánchez, S., Ramirez, R., and Méndez-García, T. 2006. Coconut fiber as casing material for mushroom production. Terra Latinoamericana 24(2): 207-213.

Rashad, R.T., and Hussien, R.A. 2013. Studying the use of cellulose, silica and lignin extracted from rice straw as sandy soil conditioners. International Journal of Agronomy and Agricultural Research 3(12): 21-35.

Rhaman, N.A., Daud, F., Kalil, M.S., and Ahmad, S. 2012. Tiger milk mushroom cultivation by using submerged culture technique. WSEAS Transactions on Biology and Biomedicine 9(3): 83-92.

Rossiana, N., Madihah, Nur, A.A., Mayawatie, B., and Andayaningsih, P. 2018. Cytotoxicity assay of ethyl acetate extract shimeji (*Lyophyllum shimeji* (Kawam.) Hongo) and white oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) against HCT-116 cell line. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 197:012007. https://doi.org/10.1088/1755-1315/197/1/012007.

Singleton, V.L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymology 299: 152–178.

Spelman, K., Sutherland, E., and Bagade, A. 2017. Neurological activity of lion's mane (*Hericium erinaceus*). Journal of Restorative Medicine 6: 1-19.

Suziana Zaila, C.F. 2013. Antiproliferative effect of *Lignosus rhinocerotis*, the Tiger Milk Mushroom on HCT 116 human colorectal cancer cells. The Open Conference Proceedings Journal 4: 65–70.

Tan, E.S.S., Leo, T.K., and Tan, C.K. 2021. Efect of tiger milk mushroom (*Lignosus rhinocerus*) supplementation on respiratory health, immunity and antioxidant status: an open-label prospective study. Scientific Reports 11(11781): 1-10.

ThaiPublica. 2022. ดีแทค-มูลนิธิชัยพัฒนา-เนคเทค ร่วมมือวิจัยเพาะ "เห็ดหลินจือ" ในฤดูหนาวเลขตัวเดียว สำเร็จด้วย 5G คลื่น 700 MHz, สืบค้นเมื่อวันที่ 20 ตุลาคม 2565. จากhttps://thaipublica.org/2022/05/dtac-chaipattana-foundation-and-nectec-reveal-major-breakthrough-on-lingzhi-cultivationvia-5g-on-700-mhz.

Tsujikura, Y., Higuchi, T., Miyamoto, Y., et al. 1992. Manufacture of ganoderic acid by fermentation of *Ganoderma lucidum*. Japanese Kokai Tokkyo Koho 78: 59-66.

Williams, L.A.D., O'Connar, A., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J.A., Conrad, J., Vogler, B., Rosner, H. and Kraus, W. 2008. The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat-treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. West Indian Medical Journal 57(4): 327-331.

Winstedt, R.O. 1922. Hikayat Indra Bangsawan. Journal of the Straits Branch of the Royal Asiatic Society 85: 58-61.

Xu, M., Zhu, S., Li, Y., Xu, S., Shi, G., and Ding, Z. 2021. Effect of selenium on mushroom growth and metabolism: A review. Trends in Food Science and Technology 118: 328–340.

Xu, M., Zhu, S., Wang, L., Wei, Z., Zhao, L., Shi, G., and Ding, Z. 2021. Influence of selenium biofortification on the growth and bioactive metabolites of *Ganoderma lucidum*. Foods 10 (1860): 1-15.

Yap, H.Y.Y., Chooi, Y.H., Fung, S.Y., Ng, S.T., Tan, C.S., and Tan, N.H. 2015. Transcriptome analysis revealed highly expressed genes encoding secondary metabolite pathways and small cysteineRich proteins in the sclerotium of *Lignosus rhinocerotis*. PLoS ONE 10(11): 1-25.

Yap, H.Y.Y., Chooi, Y.H., Firdaus-Raih, M., Fung, S.Y., Ng, S.T., Tan, C.S., and Tan, N.H., 2014b. The genome of the tiger milk mushroom, *Lignosus rhinocerotis*, provides insights into the genetic basis of its medicinal properties. BMC Genomics 15(635): 1-12.

Zhang, J., An, S., Hu, W., Teng, M., Wang, X., Qu, Y., Liu, Y., Yuan, Y., and Wang, D. 2016. The neuroprotective properties of *Hericium erinaceus* in glutamate-damaged differentiated PC12 cells and an alzheimer's disease mouse model. International Journal of Molecular Sciences 17(1810): 1-13.

Zied, D.C., Pardo-Giménez, A., de Almeida Minhoni, M.T., Boas, R.V., Alvarez-Orti, M., and Pardo-González, J.E. 2012. Characterization, feasibility and optimization of *Agaricus subrufescens* growth based on chemical elements on casing layer. Saudi Journal of Biological Sciences 19: 343–347.

ภาคผนวก ก
ประวัติย่อของผู้วิจัย

คณะนักวิจัย

หัวหน้าโครงการ

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย): ดร.กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) : Dr.Kanteera Soontharapirakkul
ตำแหน่งปัจจุบัน (ทางวิชาการ/ราชการ): อาจารย์
สังกัด/หน่วยงาน: ศูนย์บริการทางการศึกษาราชบุรี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี)
ที่อยู่: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี) เลขที่ 209 หมู่ 1 ตำบลรางบัว อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150
โทรศัพท์: 032-726-520 โทรสาร: -
โทรศัพท์มือถือ : 086 6552080 E-mail : kanteera.soo@kmutt.ac.th

ผู้ร่วมโครงการ

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย): นางธิดาพร โคตรพัฒน์
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) : Mrs.Thidaporn Kotpat
ตำแหน่งปัจจุบัน (ทางวิชาการ/ราชการ): นักวิจัย
สังกัด/หน่วยงาน: ศูนย์บริการทางการศึกษาราชบุรี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี)
ที่อยู่: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี) เลขที่ 209 หมู่ 1 ตำบลรางบัว อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150
โทรศัพท์: 032-726-520 โทรสาร: -
โทรศัพท์มือถือ : 086 9002412 E-mail : thidaporn.the@mail.kmutt.ac.th

ผู้ช่วยนักวิจัย

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย): นางสาวสุชีรา ต้มบัวทอง
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) : Miss Sucheera Tombuathong
ตำแหน่งปัจจุบัน (ทางวิชาการ/ราชการ): ผู้ช่วยนักวิจัย
สังกัด/หน่วยงาน: -
ที่อยู่: 44 หมู่3 ตำบลบ้านเกาะ อำเภอเมืองสมุทรสาคร จังหวัดสมุทรสาคร 75000
โทรศัพท์: - โทรสาร: -
โทรศัพท์มือถือ : 099 3535998 E-mail : bee_sucheera2532@hotmail.co.th

ภาคผนวก ข

แบบฟอร์มสรุปผลงานวิจัย/โครงการวิจัย 1 หน้ากระดาษ A4 (สำหรับประชาสัมพันธ์), แบบฟอร์มสรุปผลงานวิจัย/โครงการวิจัย 5 บรรทัด และแบบฟอร์มประเมินผลการวิจัยในการนำไปใช้ประโยชน์อย่างเป็นรูปธรรมที่ได้รับการจัดสรรงบประมาณ

แบบฟอร์มสรุปผลงานวิจัย/โครงการวิจัย 1 หน้ากระดาษ A4 (สำหรับประชาสัมพันธ์)

1. ชื่อผลงาน/โครงการ การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดทางยา (*Lignosus rhinocerus*) แบบฝังกลบเพื่อกระตุ้นการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ

Development of soil cultivation of medicinal mushrooms (*Lignosus rhinocerus*) to stimulate the growth and biological activity of tiger milk mushroom sclerotia

2. ชื่อ - นามสกุล นักวิจัย ดร.กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล (Dr.Kanteera Soontharapirakkul)

3. ที่อยู่ที่ติดต่อได้ ศูนย์บริการทางการศึกษาราชบุรี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี) เลขที่ 209 หมู่ 1 ตำบลรางบัว อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150

เบอร์โทรศัพท์ 086 6552080 **E-mail** kanteera.soo@kmutt.ac.th

4. ชื่อหน่วยงาน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

5. ปี พ.ศ. ที่ดำเนินการเสร็จ 2565

6. คำค้น keyword เห็ดทางยา, เห็ดนมเสือ, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านการอักเสบ, ฤทธิ์ต้านมะเร็ง, เหง้าเห็ด

7. อ้างอิง

8. รูปภาพ หรือภาพเคลื่อนไหว

9. คำอธิบาย 1 หน้ากระดาษ A4 (font Tahoma ขนาด 10 แบบ Regular)

เห็ดนมเสือหรือ tiger milk mushroom (*Lignosus rhinocerus*) เป็นเห็ดสมุนไพรหรือเห็ดทางยาอีกหนึ่งชนิดที่ส่วนเหง้าเห็ด (sclerotium) มีคุณสมบัติทางยาโดดเด่นในเรื่องของการรักษาโรคปอดและโรคระบบทางเดินหายใจและยังสามารถรักษาโรคมะเร็งได้หลายชนิด จากการที่เห็ดนมเสือสามารถหาได้ยากในป่าทึบจึงทำให้มีปริมาณไม่เพียงพอต่อการบริโภคเป็นอาหารเสริมสุขภาพ การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือเลียนแบบธรรมชาติด้วยวิธีฝังกลบจึงเกิดขึ้น แต่ปัญหาในการเพาะเหง้าเห็ดนมเสือของเกษตรกรไทยคือ ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือเพื่อให้ได้เหง้านาน 6-8 เดือน อีกทั้งเกษตรกรมีวิธีการเพาะแบบฝังกลบที่หลากหลายในเรื่องของขนาดก้อนเห็ดที่ใช้ ลักษณะการจัดเรียงก้อนเห็ด และวัสดุที่ใช้ในการเพาะ ซึ่งเกษตรกรได้ทำการทดลองแบบลองผิดลองถูกโดยไม่ได้มีงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์รองรับ ด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้นคณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาวิธีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบเพื่อที่จะเป็นแนวทางในการถ่ายทอดความรู้จากงานวิจัยสู่การใช้ประโยชน์โดยเกษตรกร ภาครัฐ ภาคเอกชน บุคคลที่สนใจเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือและเป็นการสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ผู้บริโภคเนื่องจากมีงานวิจัยรองรับในฐานะอาหารเสริมสุขภาพ งานวิจัยนี้ผู้วิจัยดำเนินการศึกษาผลของวัสดุฝังกลบ ขนาดก้อนเห็ดนมเสือที่จะฝังกลบ ลักษณะการจัดเรียงก้อนเห็ด สารประกอบซีลีเนียมและกลีเซอรอลต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ ก้อนเห็ดนมเสือถูกฝังกลบในวัสดุฝังกลบเป็นระยะเวลา 6 เดือน จึงเก็บส่วนเหง้า (sclerotium) มาชั่งน้ำหนักเหง้า ล้างทำความสะอาด ฝานเป็นแผ่นบาง อบในตู้อบที่อุณภูมิ ในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ บดเป็นผง สกัดสารด้วยน้ำร้อน น้ำเย็นและแอลกอฮอล์ ศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และปริมาณไตรเทอพีนอยด์ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติผลการศึกษาวิจัยพบว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนให้ปริมาณสารสกัด กรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ และโพลีแซคคาไรด์มากที่สุด รวมถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ส่วนไตรเทอร์พีนอยด์พบปริมาณมากที่สุดในสารที่สกัดด้วยเอทานอล สารที่สกัดด้วยน้ำเย็นจะมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูงกว่าสารที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อน การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือพบว่าปัจจัยที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือแบบฝังกลบแตกต่างกันย่อมส่งผลต่อลักษณะการเจริญของเหง้า ชนิดสารสำคัญ ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพให้มีความแตกต่างกันไป

ดังนั้นการเลือกสภาวะปัจจัยต่างๆในการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือจะขึ้นกับลักษณะความต้องการว่าต้องการปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมในเรื่องขนาดน้ำหนักเหง้าเห็ดหรือปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมในเรื่องชนิดสารสำคัญ ปริมาณสารสำคัญหรือการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ การพัฒนาการเพาะเห็ดนมเสือแบบฝังกลบเพื่อให้ได้เหง้าที่มีน้ำหนักมากควรจะเลือกใช้ขุยมะพร้าวในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 900 กรัม โดยฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยว เป็นระยะเวลา 6 เดือน แล้วรดน้ำที่มีสารประกอบโซเดียมซีลีเนท โซเดียมซีลีไนท์หรือกลีเซอรอล การพัฒนาการเพาะเห็ดนมเสือแบบฝังกลบเพื่อให้ได้เหง้าที่มีปริมาณโพลีแซคคาไรด์มากควรจะเลือกใช้ดินปลูกพืชหรือดินปลูกพืช:ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1) ในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 500 กรัม โดยฝังกลบแบบ 3 ก้อนติดกัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน การพัฒนาการเพาะเห็ดแบบฝังกลบเพื่อให้ได้เหง้าที่มีปริมาณกรดฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูงมากควรจะเลือกใช้ดินปลูกพืชในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 500 กรัม โดยฝังกลบแบบ 3 ก้อนติดกัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน เป็นต้น

แบบฟอร์มสรุปผลงานวิจัย/โครงการวิจัย 5 บรรทัด

(สำหรับเผยแพร่ในระบบ EXPLORE ผ่านทางเว็บไซต์ www.thai-explore.net)

1. ชื่อผลงาน/โครงการ การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดทางยา (*Lignosus rhinocerus*) แบบฝังกลบเพื่อกระตุ้นการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ

Development of soil cultivation of medicinal mushrooms (*Lignosus rhinocerus*) to stimulate the growth and biological activity of tiger milk mushroom sclerotia

2. ชื่อ - นามสกุล นักวิจัย ดร.กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล (Dr.Kanteera Soontharapirakkul)

3. ที่อยู่ที่ติดต่อได้ ศูนย์บริการทางการศึกษาราชบุรี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี) เลขที่ 209 หมู่ 1 ตำบลรางบัว อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150

เบอร์โทรศัพท์ 086 6552080 **E-mail** kanteera.soo@kmutt.ac.th

4. ชื่อหน่วยงาน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

5. ปี พ.ศ. ที่ดำเนินการเสร็จ 2565

6. คำค้น keyword เห็ดทางยา, เห็ดนมเสือ, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านการอักเสบ, ฤทธิ์ต้านมะเร็ง, เหง้าเห็ด

7. อ้างอิง

8. รูปภาพ หรือภาพเคลื่อนไหว

9. คำอธิบาย 5 บรรทัด (font Tahoma ขนาด 10 แบบ Regular)

ปัจจัยต่างๆ อาทิเช่น วัสดุฝังกลบ ขนาดก้อนเห็ดนมเสือที่จะฝังกลบ ลักษณะการจัดเรียงก้อนเห็ด ระยะเวลาการฝังกลบ สารประกอบซีลีเนียมและกลีเซอรอลส่งผลต่อลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือที่เพาะเลี้ยงแบบฝังกลบ ดังนั้นการเลือกสภาวะปัจจัยต่างๆในการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือจะขึ้นกับลักษณะความต้องการว่าต้องการปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมในเรื่องขนาดน้ำหนักเหง้าเห็ดหรือปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมในเรื่องชนิดสารสำคัญ ปริมาณสารสำคัญหรือการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

10. สรุปงานวิจัยในรูปแบบ info graphic โดยให้มีตราสัญลักษณ์ของ วช. และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

11. นำเข้าข้อมูลสรุปผลงานวิจัย/โครงการวิจัย 5 บรรทัด ในระบบ EXPLORE ผ่านทางเว็บไซต์ www.thai-explore.net

การเพาะเห็ดนมเสือแบบฝังกลบเพื่อกระตุ้นการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ

"เห็ดนมเสือ" มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า "Lignosus rhinocerus" ตามความเชื่อเห็ดนมเสือเป็นเห็ดที่เกิดจากน้ำนมของเสือแม่ลูกอ่อนไหลลงสู่พื้นดิน เมื่อนานเข้าก็เกิดเห็ดนมเสือขึ้น โดยเห็ดมักจะงอกในช่วงกลางคืน พอถูกน้ำค้างในตอนเช้าเห็ดจะแข็งเป็นหินทันที เห็ดนมเสือมีส่วนดอกเห็ด (pileus) คล้ายดอกเห็ดหลินจือ มีก้านดอก (stripe) และมีส่วนหัวใต้ดินหรือเหง้า (sclerotium) เป็นกระเปาะของน้ำนมเสือที่มีเนื้อในสีขาวบริสุทธิ์ฝังอยู่ในดิน ส่วนของก้านดอกและดอกเห็ดจะเจริญจากส่วนเหง้า สารสำคัญที่ใช้ในการรักษาโรคส่วนใหญ่อยู่ในส่วนหัวใต้ดินนี้ ได้แก่ โพลีแซคคาไรด์ (บีต้า-กลูแคน) และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารประกอบฟีโนลิก สารประกอบไตรเทอพีนอยด์ สารประกอบเซสควิเทอพีนอยด์ เป็นต้น

ผลจากงานวิจัย

จากการที่เห็ดนมเสือสามารถหาได้ยากในป่าทึบจึงทำให้มีปริมาณไม่เพียงพอต่อการบริโภคเป็นอาหารเสริมสุขภาพ การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือเลียนแบบธรรมชาติด้วยวิธีฝังกลบจึงเกิดขึ้นซึ่งผลการวิจัยพบว่าการฝังกลบด้วยวัสดุฝังกลบที่แตกต่างกันส่งผลให้ลักษณะการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือแตกต่างกัน

เหง้าเห็ดนมเสือจากการเพาะแบบฝังกลบ

การเตรียมก้อนเชื้อเห็ดนมเสือ

·เตรียมก้อนอาหารสำหรับเพาะเห็ดนมเสือด้วยสูตรอาหารเช่นเดียวกับก้อนอาหารสำหรับเพาะเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้าภูฐาน แล้วนำถุงก้อนอาหารเห็ดไปนึ่งฆ่าเชื้อ ทำการหยอดหัวเชื้อเห็ดนมเสือในเมล็ดข้าวฟ่างลงในถุงก้อนอาหารเห็ดที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นบ่มก้อนอาหารที่มีเชื้อในโรงเรือนที่มีอุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส เส้นใยเห็ดใช้ระยะเวลาประมาณ 2 เดือน ในการเจริญเต็มก้อน หลังจากเชื้อเจริญเต็มก้อนทำการบ่มก้อนเชื้อต่อเป็นระยะเวลา 2 เดือนเพื่อให้เส้นใยเห็ดรัดตัวมากขึ้น แล้วจึงแกะถุงพลาสติกออกเพื่อนำไปใช้ในการทดลองการฝังกลบต่อไป

การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือเพื่อให้ได้เหง้าที่มีน้ำหนักมาก

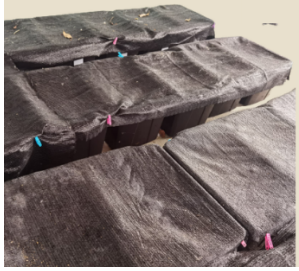
·ใช้ขุยมะพร้าวในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 900 กรัม โดยฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยว เป็นระยะเวลา 6 เดือน

การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือเพื่อให้ได้เหง้าที่มีปริมาณโพลีแซคคาไรด์สูง

·ใช้ดินปลูกพืชหรือดินปลูกพืช:ฟางข้าว:ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (1:1:1) ในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 500 กรัม โดยฝังกลบแบบ 3 ก้อนติดกัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน

การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือเพื่อให้ได้เหง้าที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูง

·ใช้ดินปลูกพืชหรือขุยมะพร้าว:ฟางข้าว (1:1) ในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 500 กรัม โดยฝังกลบแบบ 3 ก้อนติดกัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน



การฝังกลบก้อนเห็ดนมเสือเพื่อให้ได้เหง้าที่มีประสิทธิภาพในการต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมสูง

·ใช้ดินปลูกพืชในการฝังกลบขนาดก้อนเห็ดนมเสือ 500 กรัม โดยฝังกลบแบบ 1 ก้อนเดี่ยว เป็นระยะเวลา 2 เดือน

แบบฟอร์มประเมินผลการวิจัยในการนำไปใช้ประโยชน์อย่างเป็นรูปธรรม

ที่ได้รับการจัดสรรงบประมาณ

****

<u>ส่วนที่ 1</u> ข้อมูลทั่วไป

ชื่อโครงการวิจัย การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดทางยา (*Lignosus rhinocerus*) แบบฝังกลบเพื่อกระตุ้นการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ

ชื่อนักวิจัย ดร.กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล หน่วยงาน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

งบประมาณที่ได้รับการสนับสนุน 584,000 บาท ปีงบประมาณที่ได้รับการสนับสนุน 2564

วัน/เดือน/ปี ที่ดำเนินการวิจัยแล้วเสร็จ พฤศจิกายน 2565

เป้าหมายดำเนินการ การพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) แบบฝังกลบเพื่อกระตุ้นการเจริญและฤทธิ์ทางชีวภาพของเหง้าเห็ดนมเสือ

พื้นที่การใช้ประโยชน์ กลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเห็ดทางยาและเห็ดอาหารในภาคกลางของประเทศ

<u>ส่วนที่ 2</u> ผลการวิจัยและการนำไปใช้ประโยชน์อย่างเป็นรูปธรรม

2.1 การนำไปใช้ประโยชน์อย่างเป็นรูปธรรม (สามารถตอบได้มากกว่า 1 มิติ)

☐ **มิตินโยบาย** หมายถึง การมีเอกสารแสดงความสนใจ ความต้องการ หรือการนำข้อมูลและแนวทางแก้ไขซึ่งได้จากผลงานวิจัย สิ่งประดิษฐ์และนวัตกรรมมาใช้ประกอบการแก้ไขปัญหาสำคัญและปัญหาเร่งด่วนของประเทศในองค์กร หรือหน่วยงานภาครัฐและภาคเอกชน

- ปัญหาสำคัญ/ปัญหาเร่งด่วนของประเทศ คือ.....
  .....
- ชื่อองค์กร หรือหน่วยงานภาครัฐและภาคเอกชน ที่นำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์.....
  .....
- ช่วงเวลาที่นำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ (วัน/เดือน/ปี).....
- ลักษณะการนำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ (โปรดให้คำอธิบาย พร้อมแนบเอกสาร/ภาพประกอบ).....
  .....
  .....
- การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นต่อองค์กร หรือหน่วยงานภาครัฐและภาคเอกชน (โปรดให้คำอธิบาย พร้อมแนบเอกสาร/ภาพประกอบ).....
  .....
  .....

☑ **มิติวิชาการ** หมายถึง การมีเอกสารแสดงถึงการอ้างอิง (Citations) บทความวิจัย ที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ ซึ่งมี Peer-review
กำลังอยู่ในระหว่างดำเนินการจัดทำ manuscript

☐ **มิติเชิงสังคม/ชุมชน** หมายถึง การมีเอกสารแสดงความสนใจ หรือความต้องการเข้ารับการถ่ายทอดความรู้ของชุมชน ท้องถิ่น หรือองค์กร (ไม่ใช่หน่วยงานต้นสังกัดของนักวิจัย/หน่วยงานให้ทุน) ที่แสดงให้เห็นถึงการนำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ และรูปแบบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นต่อชุมชน ท้องถิ่น องค์กร

- ชื่อชุมชน ท้องถิ่น หรือองค์กร ที่นำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ กลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงเห็ดทางยา
- ช่วงเวลาที่นำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ (วัน/เดือน/ปี) ประมาณไตรมาสแรก ปี พ.ศ.2566
- ลักษณะการนำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์
  การเผยแพร่องค์ความรู้จากงานวิจัยสู่กลุ่มเกษตรกรผ่านรูปแบบการสัมมนา online
- การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นต่อชุมชน ท้องถิ่น องค์กร (โปรดให้คำอธิบาย พร้อมแนบเอกสาร/ภาพประกอบ).....

.....

☐ **มิติพาณิชย์** หมายถึง การมีเอกสารแสดงความสนใจ หรือความต้องการในการนำผลงานวิจัย สิ่งประดิษฐ์ และนวัตกรรมไปพัฒนา/ปรับปรุง กระบวนการผลิตและจำหน่ายในภาคการผลิตและภาคอุตสาหกรรม

- ภาคการผลิต/ภาคอุตสาหกรรม ที่นำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์.....
- ช่วงเวลาที่นำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ (วัน/เดือน/ปี).....
- ลักษณะการนำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ (โปรดให้คำอธิบาย พร้อมแนบเอกสาร/ภาพประกอบ).....

.....

.....

- การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นต่อภาคการผลิตและภาคอุตสาหกรรม (โปรดให้คำอธิบาย พร้อมแนบเอกสาร/ภาพประกอบ).....

.....

.....

2.2 ทรัพย์สินทางปัญญาที่เกิดจากงานวิจัย (โปรดระบุเดือน/ปี ที่ยื่นขอและได้รับ)

.....

.....

2.3 ผู้ได้รับผลประโยชน์อย่างเป็นรูปธรรม (โปรดระบุหน่วยงาน บุคคล หรือพื้นที่ที่นำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์)
กลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเห็ดทางยาภายในประเทศ

2.4 ปัญหาและอุปสรรคในการดำเนินงานวิจัย (งานวิจัยที่แล้วเสร็จ)

☑ **ไม่มีปัญหาและอุปสรรค**

☐ **มีปัญหาและอุปสรรค** (โปรดระบุสาเหตุ)

2.5 ผลกระทบจากการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ (งานวิจัยที่แล้วเสร็จ)

☑ **ไม่มีผลกระทบ**

☐ **มีผลกระทบ** (โปรดระบุสาเหตุ)

กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล

ลงชื่อ .....

(ดร.กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล)

ตำแหน่ง หัวหน้าโครงการวิจัย