



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง การพัฒนาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดทางยา (*Hericium erinaceus*, *Lignosus rhinocerus* and *Poria Cocos*) ด้วยวัตถุดิบทดแทนมันฝรั่งเพื่อกระตุ้นการเจริญของเส้นใยเห็ดและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยเห็ด

Development of a medicinal mushroom culture medium (*Hericium erinaceus*, *Lignosus rhinocerus* and *Poria Cocos*) with potato substitutes to stimulate mycelium growth and the biological activities of mycelium extract

หัวหน้าโครงการ

ดร.กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล

สังกัด ศูนย์บริการทางการศึกษาราชบุรี

โครงการวิจัยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ทุนสนับสนุนด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม พื้นฐาน

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์นี้เป็นการดำเนินโครงการการพัฒนาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดทางยา (*Hericium erinaceus*, *Lignosus rhinocerus* and *Poria Cocos*) ด้วยวัตถุดิบทดแทนมันฝรั่งเพื่อกระตุ้นการเจริญของเส้นใยเห็ดและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยเห็ด โดยโครงการวิจัยได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ทุนสนับสนุนด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ปีงบประมาณ พ.ศ.2565 ภายใต้รหัสโครงการ FRB640008/0164 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย 1 ปี ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินโครงการจนกระทั่งการดำเนินโครงการนี้สำเร็จเรียบร้อย และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีที่ได้อำนวยความสะดวกในการใช้พื้นที่และเครื่องมือต่างๆ สำหรับการศึกษาวิจัย

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ดร.กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล

กันยายน 2566

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและชนิดของพืชผลทางการเกษตรที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบทดแทนมันฝรั่งในอาหารเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดทางยา 3 สายพันธุ์ ได้แก่ เห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) ผลการวิจัยพบว่าการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดสายพันธุ์เดียวกันแต่ต่างสภาวะกัน (อุณหภูมิการบ่มเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง อาหารวันแข็ง-อาหารเหลว) ส่งผลให้การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดแตกต่างกัน การศึกษาการเจริญของเส้นใยในอาหารวันแข็งพบว่าเส้นใยไมซีเลียมของเห็ดนมเสือ เห็ดหัวลิง และเห็ดโป่งรากสน เจริญดีที่สุดในการอาหารที่มีถั่วเขียว เผือก และมันม่วง เป็นองค์ประกอบตามลำดับ การศึกษาการเจริญของเส้นใยในอาหารเหลวพบว่าเส้นใยไมซีเลียมของเห็ดนมเสือ เห็ดหัวลิง และเห็ดโป่งรากสน เจริญดีที่สุดในการอาหารที่มีมันฝรั่ง ถั่วเหลือง และมันม่วง เป็นองค์ประกอบตามลำดับ การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอน (วัตถุดิบทดแทนมันฝรั่ง) ต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยเห็ดทางยาพบว่าสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกันส่งผลให้ฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (วิธี DPPH) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (วิธี FRAP) ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Inhibition of BSA denaturation ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Proteinase inhibition ฤทธิ์ต้านมะเร็งปอด ฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมแตกต่างกัน ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้จึงนำไปสู่องค์ความรู้ทางด้านสภาวะที่เหมาะสมและสูตรอาหารจากวัตถุดิบทดแทนมันฝรั่งที่เหมาะสมเพื่อที่ช่วยให้เส้นใยเห็ดทางยาทั้ง 3 สายพันธุ์ มีการเจริญได้ดีและมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง อันจะช่วยลดต้นทุนของวัตถุดิบในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด รวมถึงเป็นประโยชน์ในด้านยาและอาหารเสริมสุขภาพต่อไปเนื่องจากฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูงของสารสกัดจากเส้นใยเห็ด

คำสำคัญ: เห็ดทางยา, ฤทธิ์ต้านมะเร็ง, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านการอักเสบ, เส้นใยไมซีเลียมเห็ด

Abstract

This research studied the appropriate conditions and types of agricultural crops to use as raw materials to replace potatoes in culture media for medicinal mushroom mycelium from three species: tiger's milk mushroom (*Lignosus rhinocerus*), monkey head mushroom (*Hericium erinaceus*), and Fu Ling mushroom (*Poria Cocos*). The research found that cultivating mushroom mycelium of the same species but under different conditions (incubation temperature, pH value, solid-liquid medium) results in different mushroom mycelium growth. A study of mycelium growth in solid agar revealed that the mycelium of tiger milk mushrooms, monkey head mushrooms, and Fu Ling mushrooms grow best on mediums including mung beans, taro, and purple sweet potatoes, respectively. According to research on the growth of mycelium in the liquid medium, the mycelium of tiger milk mushrooms, monkey head mushrooms, and Fu Ling mushrooms grow best on mediums containing potatoes, soybeans, and purple sweet potatoes, respectively. The influence of carbon sources (raw material substitutes for potatoes) on the biological activity of medicinal mushroom mycelium extracts was investigated. It was discovered that mycelium extracts obtained from cultures in a liquid medium with different carbon sources resulted in a variety of biological activities, including antioxidant (DPPH method), antioxidant (FRAP method), anti-inflammatory (the inhibition of BSA denaturation method), anti-inflammatory (the proteinase inhibition method), anti-lung cancer, and anti-breast cancer. The findings of this study provide information on optimum conditions and recipes that use potato substitute components to assist three species of medicinal mushroom mycelium grow well and have high biological activity. This will help to reduce the cost of raw materials for mushroom mycelium cultivation. Because of the high biological activity of mushroom mycelium extracts, it will be beneficial in medicine and health supplements.

Keywords: medicinal mushroom, anticancer activity, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, mycelium

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ข
บทคัดย่อ	ค
Abstract	ง
สารบัญเรื่อง	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขตของการศึกษา	3
1.4 วิธีการดำเนินการวิจัยโดยสรุป	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 เห็ดทางยา	6
2.2 ข้อมูลทั่วไปของเห็ดนมเสือ	7
2.3 คุณค่าทางอาหารของเห็ดนมเสือ	8
2.4 สรรพคุณทางยาของเห็ดนมเสือ	12
2.5 ข้อมูลทั่วไปของเห็ดหัวลิง	13
2.6 คุณค่าทางอาหารของเห็ดหัวลิง	13
2.7 สรรพคุณทางยาของเห็ดหัวลิง	14
2.8 ข้อมูลทั่วไปของเห็ดโป่งรากสน	15
2.9 คุณค่าทางอาหารของเห็ดโป่งรากสน	16
2.10 สรรพคุณทางยาของเห็ดโป่งรากสน	17
2.11 การเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมเห็ดในอาหารวุ้นแข็งและอาหารเหลว	18
2.12 การเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือ เห็ดหัวลิง และเห็ดโป่งรากสนในอาหารเหลว	20
บทที่ 3 ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย	24

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

	หน้า
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี	24
3.2 วิธีการทดลอง	26
บทที่ 4 ผลการวิจัย	33
4.1 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA)	33
4.2 การศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างของอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียม	35
4.3 การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนธรรมชาติต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารวุ้นแข็ง	36
4.4 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB)	38
4.5 การศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างของอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียม	40
4.6 การศึกษาผลของสภาวะการเขย่า-ไม่เขย่าขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม	41
4.7 การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลว	42
4.8 การศึกษาผลของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดทางยา	44
บทที่ 5 อภิปรายและวิจารณ์ผล	48
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	51
6.1 สรุปผลการวิจัย	51
6.2 ประโยชน์และการประยุกต์ใช้	53
6.3 ผลดำเนินงานของสิ่งส่งมอบ	53
บรรณานุกรม	56
ภาคผนวก ก ประวัติย่อของนักวิจัย	67

สารบัญตาราง

ตารางที่	ชื่อตาราง	หน้า
ตารางที่ 2.1	คุณค่าทางโภชนาการของเห็ดชนิดต่างๆโดยประมาณ	6
ตารางที่ 2.2	ปริมาณโทอะมิน ไรโบฟลาวิน และวิตามินซีของเห็ดชนิดต่างๆโดยประมาณ	7
ตารางที่ 2.3	ปริมาณแร่ธาตุของเห็ดชนิดต่างๆโดยประมาณ	7
ตารางที่ 2.4	ข้อมูลโภชนาการของเห็ดนมเสือในส่วนต่างๆ	9
ตารางที่ 2.5	ปริมาณกรดไขมันที่พบในส่วนต่างๆของเห็ดนมเสือ	9
ตารางที่ 2.6	ปริมาณวิตามินและเกลือแร่ที่พบในส่วนต่างๆของเห็ดนมเสือ	10
ตารางที่ 2.7	ข้อมูลโภชนาการของเห็ดหัวลิง	13
ตารางที่ 2.8	สารกลุ่มไตรเทอร์พีนที่พบในเห็ดโป่งรากสน	17
ตารางที่ 2.9	ฤทธิ์และกลไกทางเภสัชวิทยาของเห็ดโป่งรากสน	18
ตารางที่ 2.10	ส่วนประกอบของอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเห็ด (เส้นใยไมซีเลียม)	19
ตารางที่ 2.11	การเปรียบเทียบสารองค์ประกอบของส่วนดอก (fruiting body) และเส้นใยไมซีเลียมในเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ	21
ตารางที่ 3.1	สูตรอาหารเหลวและอาหารวุ้นสำหรับเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมเห็ด	27
ตารางที่ 3.2	ส่วนประกอบของอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเห็ด (เส้นใยไมซีเลียม)	27
ตารางที่ 4.1	ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ ค่า pH 9.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที	45
ตารางที่ 4.2	ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ ค่า pH 6.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที	46
ตารางที่ 4.3	ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ ค่า pH 8.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที	47
ตารางที่ 6.1	ปัจจัยทางชีวภาพและแหล่งคาร์บอนธรรมชาติที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารวุ้นแข็ง	53
ตารางที่ 6.2	ปัจจัยทางชีวภาพและแหล่งคาร์บอนธรรมชาติที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารเหลว	54

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	ชื่อตาราง	หน้า
ตารางที่ 6.3	แหล่งคาร์บอนธรรมชาติและปัจจัยทางชีวภาพที่เหมาะสมในการกระตุ้นฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารเหลว	54

สารบัญภาพ

ภาพที่	ชื่อภาพ	หน้า
ภาพที่ 2.1	ส่วนประกอบของเห็ดนมเสือ	8
ภาพที่ 2.2	ปริมาณบิต้า-กลูแคนที่พบในส่วนต่างๆของเห็ดนมเสือ	11
ภาพที่ 2.3	ลักษณะของเห็ดหัวลิง	13
ภาพที่ 2.4	ปริมาณแร่ธาตุองค์ประกอบที่พบในเห็ดหัวลิง	14
ภาพที่ 2.5	สูตรโมเลกุลของเอรีนาซีน A, เอรีซิโนเนส C และ D น้ำหนักโมเลกุล โครงสร้างทางเคมี โครงสร้างลักษณะเฉพาะ และปริมาณสารในน้ำหนักแห้งของเส้นใยไมซีเลียมและสปอโรฟอรัสแห้ง 1 กรัม	15
ภาพที่ 2.6	ส่วนต่างๆของเหง้าเห็ดโป่งรากสน	16
ภาพที่ 2.7	โครงสร้างของปีตากลูแคนซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์หลักในเห็ดโป่งรากสน	17
ภาพที่ 2.8	ขั้นตอนการเตรียมอาหารแข็ง potato dextrose agar (PDA) สำหรับเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเห็ด	19
ภาพที่ 4.1	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) เมื่อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ	33
ภาพที่ 4.2	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) เมื่อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ	34
ภาพที่ 4.3	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) เมื่อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ	34
ภาพที่ 4.4	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ที่มีค่า pH ต่างๆ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C	35
ภาพที่ 4.5	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ที่มีค่า pH ต่างๆ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C	35
ภาพที่ 4.6	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ที่มีค่า pH ต่างๆเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C	36
ภาพที่ 4.7	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในอาหารวุ้นแข็ง 12 สูตร ที่มีค่า pH 8.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C	37

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	ชื่อภาพ	หน้า
ภาพที่ 4.8	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงในอาหารวุ้นแข็ง 12 สูตร ที่มีค่า pH 9.0 เมื่อ บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C	37
ภาพที่ 4.9	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนในอาหารวุ้นแข็ง 12 สูตร ที่มีค่า pH 5.0 เมื่อ บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C	38
ภาพที่ 4.10	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) เมื่อ บ่มที่อุณหภูมิต่างๆในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที	38
ภาพที่ 4.11	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) เมื่อ บ่มที่อุณหภูมิต่างๆในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที	39
ภาพที่ 4.12	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) เมื่อ บ่มที่อุณหภูมิต่างๆในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที	39
ภาพที่ 4.13	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ที่มี ค่า pH ต่างๆ เมื่อ บ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที	40
ภาพที่ 4.14	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ที่มี ค่า pH ต่างๆ เมื่อ บ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที	40
ภาพที่ 4.15	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ที่มีค่า pH ต่างๆ เมื่อ บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/ นาที	41
ภาพที่ 4.16	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดทางยา 3 สายพันธุ์ในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เปรียบเทียบกับแบบไม่เขย่า	41
ภาพที่ 4.17	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในอาหารเหลว 12 สูตร ที่มีค่า pH 9.0 เมื่อ บ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที	42
ภาพที่ 4.18	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงในอาหารเหลว 12 สูตร ที่มีค่า pH 6.0 เมื่อ บ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที	43
ภาพที่ 4.19	การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนในอาหารเหลว 12 สูตร ที่มีค่า pH 8.0 เมื่อ บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที	43

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ด้วยปัญหาทางสุขภาพในปัจจุบัน ผู้บริโภคได้หันมาบริโภคอาหารเสริมจากธรรมชาติมากกว่าพวกวิตามินสังเคราะห์ เห็ดสมุนไพรจัดเป็นอาหารเสริมจากธรรมชาติอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความนิยม เนื่องจากเห็ดเป็นแหล่งโปรตีนจากธรรมชาติที่อุดมไปด้วยวิตามิน เกลือแร่ และโพลีแซคคาไรด์ เห็ดสมุนไพรที่เป็นที่นิยมในการบริโภค ได้แก่ ถั่งเช่า (Cordyceps) เห็ดหลินจือ (Lingzhi) ฯลฯ ถั่งเช่ามีสารออกฤทธิ์สำคัญคือ สารคอร์ไดเซปิน (Cordycepin) และสารอะดีโนซีน (Adenosine) งานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าสารสกัดจากถั่งเช่า *C. militaris* สามารถยับยั้งเซลล์ไลน์ของมะเร็งเต้านม มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ และมะเร็งปอดของคน และสามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ที่ก่อโรคในพืชได้ (Park et al., 2009) ส่วนของเห็ดหลินจือพบสารสำคัญคือ สารโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharides) และสารเยอรมาเนียม (Germanium) มีงานวิจัยพบว่าสารสกัดเห็ดหลินจือช่วยลดผลข้างเคียงของการฉายรังสีบำบัดในผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งโพรงจมูกได้ (Mo et al., 1999) อย่างไรก็ตามเห็ดสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาอาการหรือโรคต่างๆไม่ได้มีเพียง 2 ชนิดดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น แต่ยังคงมีเห็ดสมุนไพรที่น่าสนใจทำการศึกษาอีก 3 ชนิด ที่ยังมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับเห็ดเหล่านี้ไม่มากนัก ได้แก่ เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*), เห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) และเห็ดผีหลิง (*Poria cocos*)

เห็ดหัวลิงหรือเห็ดยามาบูชิตาเกะ (*Hericium erinaceus*) เป็นเห็ดที่มีก้อนกลมคล้ายหัวลิง มีขนสีขาวรอบดอก มีรายงานการวิจัยพบว่าเห็ดหัวลิงสามารถควบคุมระดับไขมันในเลือด ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ บำรุงกล้ามเนื้อและกระเพาะอาหาร กระตุ้นระบบประสาทในส่วน nerve growth factor (Phan et al., 2015) ลดอาการอัลไซเมอร์ (Tsai-Teng et al., 2016) พาคินสัน (Kuo et al., 2016) เห็ดนมเสือ หรือ tiger milk mushroom (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดชนิดนี้เป็นเห็ดที่พบมากในป่าดิบทางภาคใต้ของประเทศไทย บริเวณรอยต่อประเทศไทยกับประเทศมาเลเซีย อาทิ แถบป่าจังหวัดสตูล จังหวัดยะลา (อำเภอเบตง) ตามความเชื่อเมื่อเสือแม่ลูกอ่อนทำนํ้านมหยดลงบนพื้นดินแล้วเห็ดนมเสือจะเกิดขึ้น เห็ดนมเสือมีส่วนดอกเห็ดคล้ายดอกเห็ดหลินจือและมีส่วนหัวใต้ดิน (sclerotium) ฝังอยู่ในดิน โดยส่วนหัวใต้ดินนี้เกิดจากการที่เส้นใยของเห็ดรวมตัวกันเป็นก้อนและพบว่ามีสารสำคัญที่ใช้ในการรักษาโรคส่วนใหญ่อยู่ในส่วนหัวใต้ดินนี้ มีรายงานว่าท่านอดีตนายกรัฐมนตรีของประเทศไทย นพ.มหาธีร์ โมฮัมหมัด เคยใช้เห็ดนมเสือรักษาโรคไตเรื้อรังอีกเสบเรื้อรังของท่านจนหายสนิทในระยะเวลาอันสั้นมาก ประกอบกับมีงานวิจัยที่ให้ข้อมูลว่าเห็ดนมเสือสามารถรักษาโรคมะเร็งได้หลายชนิด โรคต่อมทอนซิลอักเสบ โรคหอบหืด โรคไตเรื้อรัง โรคเบาหวาน อาการไอเรื้อรัง และช่วยบำรุงร่างกาย

เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน รวมถึงมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบ ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและไวรัส (Nallathamby et al., 2018) เนื่องด้วยเพราะส่วนหัวใต้ดิน (sclerotium) ของเห็ดนมเสือมีสารสำคัญ ได้แก่ สารประกอบโพลีแซคคาไรด์ (แอลฟ่า-กลูแคน/บีต้า-กลูแคน) เป็นหลัก (Lau et al., 2013a) สารบีต้า-กลูแคนมีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกายเพื่อใช้ป้องกันโรคติดเชื้อจากจุลินทรีย์ต่างๆ ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ทั้งยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) และมีสรรพคุณในการป้องกันและรักษาโรคมะเร็งเพราะถ้าร่างกายได้รับบีต้า-กลูแคน แมคโครฟาจ (macrophage) จะได้รับการกระตุ้นให้เข้าทำลายสิ่งแปลกปลอมในร่างกาย (Chan et al., 2009; Valverde et al., 2015) ด้วยสรรพคุณทางยาที่หลากหลายและมีโอกาสหายากจึงทำให้เห็ดนมเสือมีราคาสูงมาก เห็ดที่สมบูรณ์ทั้งส่วนดอกและส่วนหัวใต้ดินราคาประมาณหลายพันถึงหมื่นบาทขึ้นไป เห็ดหูลิงหรือเห็ดโป่งรากสน (*Poria cocos*) เป็นที่เห็ดที่มีส่วนดอกเห็ดอยู่บนเนื้อพื้นดินและมีส่วนหัวใต้ดิน (sclerotium) ฝังอยู่ในดินคล้ายเห็ดนมเสือ เห็ดหูลิงมีรายงานทางการแพทย์พบว่ามีส่วนช่วยในการขับปัสสาวะ ช่วยให้ผู้รู้สึกผ่อนคลายจิตใจ บำรุงม้าม (Shu et al., 2013)

ในปัจจุบันมีผู้ประกอบการและเกษตรกรผู้เพาะเห็ดทั้งเห็ดที่เป็นอาหารและเห็ดทางยาเป็นจำนวนมาก วิธีการโดยทั่วไปที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณเส้นใยเห็ด คือเพาะเลี้ยงเห็ดบนอาหารวุ้น potato dextrose agar (PDA) และอาหารเหลว potato dextrose broth (PDB) ซึ่งมีมันฝรั่งและน้ำตาลเดกซ์โทรสเป็นองค์ประกอบ มันฝรั่งทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญแก่เห็ด มันฝรั่งส่วนใหญ่ในประเทศได้มาจากการนำเข้าจึงทำให้ต้นทุนของอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดสูงตามไปด้วย แต่กระนั้นยังมีพืชอาหารหลายชนิดที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง สามารถปลูกได้ภายในประเทศ และราคาไม่แพง อาทิเช่น มันฝรั่ง มันม่วง มันสำปะหลัง เผือก ฟักทอง ข้าวโพด ถั่วแดง ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง เป็นต้น และหลายครั้งหลายคราเกษตรกรผู้ปลูกพืชทางการเกษตรต้องประสบปัญหาสินค้าล้นตลาด จากเหตุผลดังกล่าวคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาชนิดของพืชผลทางการเกษตรที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบทดแทนมันฝรั่งในอาหารเลี้ยงเห็ดที่ช่วยให้เส้นใยเห็ดมีการเจริญได้ดี อีกทั้งมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง เพื่อที่จะลดต้นทุนของวัตถุดิบในการเพาะเห็ด สร้างรายได้ให้เกษตรกร และยังเป็นการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงเห็ดทางยาในอาหารเหลวให้มีปริมาณเพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภคและมีสารออกฤทธิ์ในปริมาณที่สูงเพื่อเป็นประโยชน์ในด้านยาและอาหารเสริมสุขภาพต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาชนิดของพืชผลทางการเกษตรที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบทดแทนมันฝรั่งในอาหารวุ้น (PDA) และอาหารเหลว (PDB) ในการกระตุ้นการเจริญของเส้นใยเห็ดทางยาเพื่อที่จะลดต้นทุนวัตถุดิบของอาหารเพาะเลี้ยง

1.2.2 เพื่อศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดทางยาบนอาหารวัตถุดิบทดแทนทั้งอาหารวุ้นและอาหารเหลว ได้แก่ อุณหภูมิ สภาพความเป็นกรด-ด่าง การเขย่า-ไม่เขย่า ฯลฯ

1.2.3 เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านมะเร็งปอด มะเร็งเต้านม, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดจากเส้นใยเห็ดทางยาที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ใช้วัตถุดิบทดแทน (submerge culture)

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

โครงการวิจัยนี้ดำเนินการชนิดของพืชผลทางการเกษตรที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบทดแทนมันฝรั่งในอาหารเลี้ยงเห็ดที่ช่วยให้เส้นใยเห็ดมีการเจริญได้ดี อีกทั้งมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงเพื่อที่จะลดต้นทุนของวัตถุดิบในการเพาะเห็ด สร้างรายได้ให้เกษตรกร และยังเป็นการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงเห็ดทางยาในอาหารเหลวให้มีปริมาณเพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภค และมีสารออกฤทธิ์ในปริมาณที่สูง เพื่อเป็นประโยชน์ในด้านยาและอาหารเสริมสุขภาพต่อไป โดยฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยเห็ดนมเสือที่ทำการศึกษานี้ ได้แก่ คุณสมบัติด้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง (ปอดและเต้านม) และต้านอนุมูลอิสระ

1.4 วิธีการดำเนินการวิจัยโดยสรุป

1.4.1 เตรียมตัวอย่างเห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) เห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) และเห็ดฟุหลิง (*Poria Cocos*) ในรูปของเส้นใยไมซีเลียมบนอาหาร PDA (Potato dextrose agar) เพื่อใช้ในการทำวิจัย

1.4.2 ศึกษาชนิดของพืชผลทางการเกษตรที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบทดแทนมันฝรั่งในอาหารวุ้น (PDA) อาทิเช่น มันฝรั่ง มันม่วง มันสำปะหลัง เผือก ฟักทอง ข้าวโพด ถั่วแดง ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง เป็นต้น และศึกษาปัจจัยทางกายภาพ อันได้แก่ อุณหภูมิ สภาพความเป็นกรด-ด่าง การเขย่า/ไม่เขย่า เป็นต้น ที่ส่งผลต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดในอาหารวุ้น โดยทำการวัดอัตราการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมด้วยวิธีการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในหน่วย มิลลิเมตร/วัน และน้ำหนักแห้งของเส้นใยไมซีเลียมด้วยการอบเส้นใยให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 ชั่วโมงก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก

1.4.3 ศึกษาชนิดของพืชผลทางการเกษตรที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบทดแทนมันฝรั่งในอาหารเหลว (PDB) อาทิเช่น มันฝรั่ง มันม่วง มันส้ม มันเหลือง มันสำปะหลัง เผือก ฟักทอง ข้าวโพด ถั่วแดง ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง เป็นต้น

และศึกษาปัจจัยทางกายภาพ อันได้แก่ อุณหภูมิ สภาวะความเป็นกรด-ด่าง การแช่เยือก/ไม่แช่เยือก เป็นต้น ที่ส่งผลต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดในอาหารเหลว โดยทำการวัดน้ำหนักแห้งของเส้นใยไมซีเลียมด้วยการอบเส้นใยไมซีเลียมให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 ชั่วโมงก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก

1.4.4 สกัดสารจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดทางยาที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ใช้วัตถุดิบทดแทน โดยวิธีประยุกต์จาก Huang et al. (2021) โดยนำเส้นใยไมซีเลียมเห็ดที่กรองได้จากอาหารเหลวมาทำให้แห้งด้วยวิธี freeze dry และบดให้เป็นผง จากนั้นนำผงเส้นใยไมซีเลียมเห็ดปริมาณ 1 กรัม มาสกัดด้วยน้ำร้อนปริมาณ 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ในเครื่องแช่ที่ความเร็วรอบ 150 rpm อุณหภูมิ 80 °C แล้วจึงปั่นเหวี่ยงสารละลายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 g เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วยการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.4 แล้วจึงนำสารละลายส่วนที่กรองได้ไประเหยแห้ง

1.4.5 ศึกษาฤทธิ์การต้านมะเร็งปอดและเต้านม, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดทางยาที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ใช้วัตถุดิบทดแทน

1.4.5.1 วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านมะเร็งปอดและเต้านมด้วย MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,3-diphenyl tetrazolium bromide) assay โดยวิธี ประยุกต์จาก Rossiana et al. (2018) แล้วจึงคำนวณเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์ (%cell viability) และความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์จะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ 50%

1.4.5.2 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี

- DPPH (2,2-diphenyl-1-hydrazyl-hydrate) assay ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีของ Islam et al. (2012) ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีของ Ferreira et al. (2009) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50%

- Ferric reducing-antioxidant power assay (FRAP assay) ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีของ Islam et al. (2012) ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีของ Benzie and Strain (1999) และแสดงผลเป็นค่าไมโครโมลาร์สมมูลของเฟอร์รัสในตัวอย่างสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียม 1 กรัม ($\mu\text{mol Fe}^{2+}$ equivalent/1 g extract)

1.4.5.3 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วยวิธี

- การยับยั้งการเสียสภาพของโปรตีน (Protein denaturation) โดยทำการวัดความสามารถของสารสกัดในการยับยั้งการเสียสภาพของโปรตีน ซึ่งวิธีดัดแปลงมาจากวิธีของ Williams et al. (2008) แล้วจึงคำนวณค่า % inhibition of protein denaturation และความสามารถในการยับยั้งการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนจะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่สามารถยับยั้งการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนได้ 50%

- การยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเนส (Proteinase inhibition assay) โดยทำการวัดความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Proteinase ซึ่งคือเอนไซม์ Trypsin ในการย่อยสารตั้งต้นที่เป็นโปรตีน casein ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Gunathilake et al. (2018) แล้วจึงคำนวณค่า % inhibition of proteinase activity และความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Proteinase จะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Proteinase ได้ 50%

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 สร้างองค์ความรู้ใหม่โดยใช้เห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เป็นตัวอย่างในการทดลอง

1.5.2 ทราบชนิดของพืชผลทางการเกษตรที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบทดแทนมันฝรั่งในอาหารวุ้น (PDA) และอาหารเหลว (PDB) ในการกระตุ้นการเจริญของเส้นใยเห็ดทางยาเพื่อที่จะลดต้นทุนวัตถุดิบของอาหารเพาะเลี้ยง รวมถึงการกระตุ้นฤทธิ์ทางชีวภาพ

1.5.3 ผลงานวิจัยที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาองค์ความรู้ในการเพาะเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) ซึ่งเป็นเห็ดทางยาให้มีปริมาณเพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภค

1.5.4 ช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับเห็ดนมเสือในท้องตลาดทั้งในและต่างประเทศ และสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ผู้บริโภคเนื่องจากมีงานวิจัยรองรับ

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) ด้วยคุณค่าทางโภชนาการดังกล่าวข้างต้นทำให้เห็ดเป็นที่นิยมของชาวมังสวิรัติในการเป็นอาหารทดแทนเนื้อสัตว์ และเป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน โรคหัวใจ รวมถึงโรคความดันโลหิต

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

Mushroom species	Moisture	Protein	Fat	Carbohydrate	Fiber	Ash	Calorie
<i>Agaricus bisporus</i>	90.1	2.9	0.3	5.0	0.9	0.8	36
<i>Pleurotus sajorcaju</i>	90.2	2.5	0.2	5.2	1.3	0.6	35
<i>Volvariella volvaca</i>	90.1	2.1	1.0	4.7	1.1	1.0	36
<i>Lentinus edodes</i>	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)
<i>Agaricus bisporus</i>	1.05±0.05	4.13±0.02	2.25±0.13
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	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
<i>Agaricus bisporus</i>	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
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	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

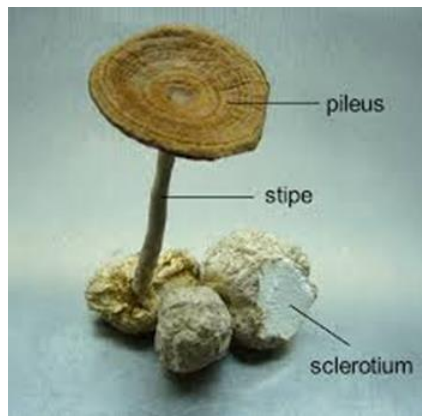
จากข้อมูลการวิจัยเห็ดตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบันในด้านสรรพคุณทางยาหรือทางโภชนาการทำให้เห็ดไม่ได้ถูกใช้เป็นเพียงอาหารเพื่อสุขภาพ แต่ถูกนำมาใช้เป็นยานานกว่าศตวรรษ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศแถบเอเชียที่ได้มีการศึกษาทางการแพทย์แล้วพบว่าสารสกัดจากเห็ดมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ลดความดันโลหิตและความเข้มข้นของคอเลสเตอรอล เสริมภูมิคุ้มกัน ต้านไวรัส คุณสมบัติด้านการอักเสบ การรักษาภาวะซ็อก ฤทธิ์ต้าน HIV และการเพิ่มขึ้นของการใช้ออกซิเจนและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น (Chang & Miles, 1996) เห็ดที่พบว่ามีสรรพคุณทางยา ได้แก่ เห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceous*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria cocos*) เป็นต้น

2.2 ข้อมูลทั่วไปของเห็ดนมเสือ

เห็ดนมเสือ (Tiger milk mushroom) เป็นเห็ดเป็นยาอีกชนิดหนึ่งที่คนพื้นเมืองทางมาเลเซียตะวันตก (Peninsular Malaysia) และคนในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนนิยมรับประทานเพื่อรักษาโรคเนื่องจากส่วนเหง้าของเห็ดนมเสือ (sclerotium) มีคุณสมบัติเป็นยา โดยฝานเหง้าเห็ดนมเสือเป็นแผ่นบางแล้วต้มร่วมกับสมุนไพร เช่น รากปลาไหลเผือก แล้วดื่มเพื่อแก้อาการไอและหอบหืด (Huang, 1999; Lee et al., 2009) ในประเทศมาเลเซียผู้หญิงที่คลอดบุตรมักจะดื่มน้ำขิงเหง้าเห็ดนมเสืออบเพื่อบำรุงร่างกายหลังคลอด บ้างก็ขูดเหง้าเห็ดนมเสือบนพื้นผิวที่แข็ง (แผ่นหินแกรนิต) ด้วยน้ำแล้วนำส่วนผสมที่ได้มาเจือจางด้วยน้ำก่อนบริโภค (Yap et

al., 2015) ในประเทศไทยมีการใช้เห็ดเห็ดนมเสือบดชงกับน้ำร้อนแล้วดื่มเพื่อบำรุงร่างกายและรักษาระบบทางเดินหายใจ เห็ดนมเสือนี้นักวิทยาศาสตร์ว่า *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 เห็ดชนิดนี้มักพบตามป่าดงดิบที่ที่มีเสือโคร่งอาศัยอยู่ทางภาคใต้ของประเทศไทย บริเวณรอยต่อประเทศไทยกับประเทศมาเลเซีย อาทิ แถบป่าจังหวัดสตูล จังหวัดยะลา (อำเภอเบตง) รวมถึงสามารถพบได้ในประเทศจีนตอนใต้ ไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ปาปัวนิวกินี นิวซีแลนด์ และออสเตรเลีย (Nallathamby et al., 2018)

เห็ดนมเสือนี้นั้นมีส่วนดอกเห็ด (Pileus) คล้ายดอกเห็ดหลินจือ มีก้านดอก (Stipe) และมีส่วนหัวใต้ดินหรือเหง้า (sclerotium) เป็นกระเปาะของน้ำนมเสือที่มีเนื้อในสีขาวบริสุทธิ์ฝังอยู่ในดิน (ภาพที่ 2.1) ส่วนของก้านดอกและดอกเห็ดจะเจริญจากส่วนเหง้า ไม่ได้เจริญขึ้นบนขอนไม้เหมือนเห็ดหลินจือหรือเห็ดชนิดอื่นๆ โดยส่วนเหง้านี้เกิดจากการที่เส้นใยของเห็ดรวมตัวกันเป็นก้อนอย่างหนาแน่นทำหน้าที่เป็นแหล่งอาหารสำรองและเป็นระยะพักตัวจนกว่าจะมีสภาวะการเจริญเติบโตที่ดีจึงเจริญเป็นส่วนก้านดอกและดอกเห็ด



ภาพที่ 2.1 ส่วนประกอบของเห็ดนมเสือ (Lau et al., 2015)

2.3 คุณค่าทางอาหารของเห็ดนมเสือ

สารอาหารและองค์ประกอบทางเคมีของเห็ดโดยทั่วไปจะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ และภายในเห็ดสายพันธุ์เดียวกันปริมาณสารอาหารและองค์ประกอบทางเคมียังแตกต่างกันไปตามระยะการเจริญ (developmental stages) เห็ดนมเสือเป็นเห็ดที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงในส่วนของดอกเห็ดและเหง้า แต่มีปริมาณโปรตีนและไขมันต่ำ (ตารางที่ 2.4) ในส่วนของปริมาณกรดไขมันพบว่าเห็ดนมเสือนี้นั้นมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acids) สูงกว่ากรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acids) และยังพบกรดไขมันจำเพาะ ได้แก่ กรดปาล์มิติก (palmitic acid, C16:0) กรดโอเลอิก (oleic acid, C18:1) ในปริมาณมากถึง 33.5–36.2% ในส่วนของดอกเห็ด

และเห้ง้า (33.5–36.2%) ในขณะที่ส่วนของก้านดอกและเส้ยใยไมซีเลียมพบกรดไขมันทั้งสองชนิดเพียง 13.9–17.8% และยังพบอีกว่าในทุกส่วนของเห็ดคนมเสื่อไม่มีกรดไขมันทรานส์ (trans-fatty acids) (ตารางที่ 2.5)

ตารางที่ 2.4 ข้อมูลโภชนาการของเห็ดคนมเสื่อในส่วนต่างๆ (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 2.5 ปริมาณกรดไขมันที่พบในส่วนต่างๆของเห็ดคนมเสื่อ (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

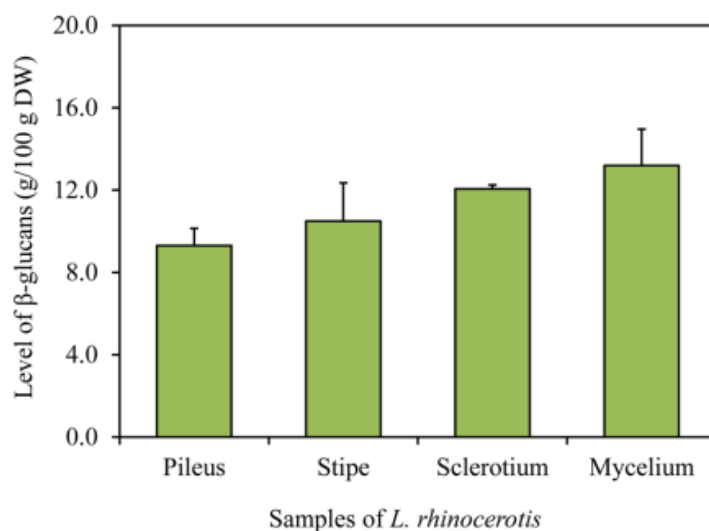
stearic	4.93	4.51	5.34	5.09
elaidic (trans)	0.00	0.00	0.00	0.00
oleic	33.47	17.74	34.44	17.02
linolelaidic (trans)	0.00	0.00	0.00	0.00
linoleic (cis)	0.00	33.92	0.00	26.79
arachidic	0.67	0.41	0.71	0.32
behenic	0.91	2.22	0.88	6.04
lignoceric	1.67	4.38	1.22	5.74
nervonic	0.72	4.32	3.07	6.83

แร่ธาตุโพแทสเซียมเป็นแร่ธาตุที่พบมากในเห็ดนมเสือ รองลงมาคือ ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แคลเซียม โซเดียม ตามลำดับ โดยแร่ธาตุเหล่านี้จะพบมากที่สุดในส่วนของเส้นใยไมซีเลียม ยกเว้นแคลเซียมที่พบมากในส่วน ก้านดอก (ตารางที่ 2.6) แร่ธาตุสังกะสีและซีลีเนียมเป็นแร่ธาตุที่พบมากในส่วนของเส้นใยไมซีเลียม ในขณะที่ธาตุ เหล็กจะพบมากในส่วนของดอกเห็ดและก้านดอก สำหรับวิตามินบี 2 (riboflavin) จะพบในทุกส่วนของของเห็ดนม เสือโดยพบปริมาณมากที่สุดในส่วนของเส้นใยไมซีเลียม วิตามินบี 3 (niacin) พบเฉพาะในส่วนของดอกเห็ดและ เส้นใยไมซีเลียม นอกจากนี้เห็ดนมเสื่อยังมีสารสำคัญที่ใช้ในการรักษาโรคคือโพลีแซคคาไรด์ (ปีต้า-กลูแคน) เป็น องค์ประกอบสำคัญ ปีต้า-กลูแคนพบปริมาณมากที่สุดในส่วนของเส้นใยไมซีเลียม รองลงมาคือส่วนเหง้า ก้านดอก และดอกเห็ด ตามลำดับ (ภาพที่ 2.2) Yap et al. (2014) พบว่าจีโนม *L. rhinoceros* มียีนที่เกี่ยวข้องในการ สังเคราะห์เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate metabolism) โดยเฉพาะอย่างยิ่งมียีนที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์สารในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids) และเซสควิเทอร์พีนอยด์ (sesquiterpenoids)

ตารางที่ 2.6 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 2.2 ปริมาณน้ำตาลกลูแคนที่พบในส่วนต่างๆของเห็ดคนมเสื่อ (ปริมาณกรัม/น้ำหนักแห้ง 100 กรัม) (Lau et al., 2013)

2.4 สรรพคุณทางยาของเห็ดนมเสือ

เห็ดนมเสือนอกจากแล้วานและใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านกันมานานหลายศตวรรษ ชาวชนเผ่าเซไม (Semai) มีความเชื่อและมักใช้ส่วนของเห้าเห็ดเป็นเหมือนเครื่องบูชาในระหว่างการทำนาและในพิธีอธิษฐานเพื่อให้การเก็บเกี่ยวข้าวดีขึ้น นอกจากนี้ชนเผ่าต่างๆในมาเลเซีย (Semai, Temuan และ Jakun) ใช้เห็ดนมเสือเพื่อบรรเทาอาการหอบหืด อาการไอ อาหารเป็นพิษ เต้านมบวม ปวดข้อ โรคตับ ส่วนของร่างกายที่บวม และใช้เป็นยาชูกำลังทั่วไป (Lee and Chang, 2007; Ismail, 2010) เห็ดนมเสือไม่เพียงได้รับความนิยมในชุมชนพื้นเมืองเท่านั้น แต่ยังรวมถึงประชากรในเมืองในมาเลเซียด้วย (Hattori et al., 2007) ท่านอดีตนายกรัฐมนตรีของประเทศมาเลเซีย นพ.มหาธีร์ โมฮัมหมัด ได้ออกมาเล่าในงาน the International Convention on Biotechnology 2002 ที่ กัวลาลัมเปอร์ ประเทศมาเลเซีย ว่าท่านเคยป่วยเป็นโรคไข้อี้อื้อรัง และปวดอักเสบ หมอจีนแนะนำให้ท่านรับประทานเห็ดนมเสือ ผลพบว่าเห็ดนมเสือช่วยรักษาโรคไข้อี้อื้อรังและปวดอักเสบของท่านจนหายสนิทในระยะเวลาอันสั้น 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 ได้ทำการทดสอบความเป็นในหนูด้วยการให้หนูรับประทานเห้าเห็ดนมเสือบดผงเป็นระยะเวลา 28 วัน ที่โดสสูงถึง 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักหนู พบว่า ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในด้านอัตราการเจริญเติบโต โลหิตวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมีคลินิก นอกจากนี้ในการศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อพบว่าการให้หนูรับประทานเห็ดนมเสือในโดส 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักหนู ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเนื้อเยื่อตับ ไต หัวใจ ม้าม ปอดของหนู Tan et al. (2021) รายงานการทดสอบระบบทางเดินหายใจและการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในคน 50 คนที่รับประทานเห็ดนมเสือบดปริมาณ 300 มิลลิกรัม วันละ 2 ครั้ง ว่าผู้ที่รับประทานเห็ดนมเสือเป็นอาหารเสริมมีอาการระบบทางเดินหายใจลดลง มีปริมาณสารสื่อการอักเสบ IL-1 β , IL-8 ลดลง และมีภูมิคุ้มกันชนิด IgA เพิ่มขึ้น การทดสอบความเป็นต่อเซลล์พบว่าสารสกัดเห็ดนมเสือน้ำไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เต้านมปกติมนุษย์ (184B5) และเซลล์ปอดปกติมนุษย์ (NL20) (Lee et al., 2012a) สารสกัดเห็ดนมเสือน้ำไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ลำไส้ปกติมนุษย์ (CCD-18co) เซลล์ไตปกติมนุษย์ (HEK293), เยื่อบุผิวโพรงจมูกปกติมนุษย์ (NP69), เซลล์ไตหนู (NRK52E), and เซลล์ไตลิงเซียแอฟริกา (vero cell) (Lau et al., 2013a; Suziana Zaila, 2013) ในประเทศมาเลเซียเห็ดนมเสือได้รับการจดทะเบียนในฐานะ Functional ingredient โดยหน่วยงาน National Pharmaceutical Control Bureau (NPCB) เมื่อปี พ.ศ. 2553

2.5 ข้อมูลทั่วไปของเห็ดหัวลิง

เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) มีการใช้กันทั่วไปทั่วเอเชียมานานหลายปีทั้งเป็นทั้งอาหารและอาหารเสริม ด้านบนของเห็ดมีขนาดใหญ่ สีขาว ฟู และดูคล้ายกับหัวลิง ด้วยลักษณะดังกล่าวจึงเป็นที่มาของชื่อเห็ดชนิดนี้ เห็ดนี้เรียกว่า Hou Tou Gu (เห็ดหัวลิง) ในประเทศจีนและ Yamabushitake ในญี่ปุ่น เห็ดหัวลิงเจริญเติบโตบนต้นไม้ใบกว้างที่แก่หรือตายแล้ว และสามารถรับประทานได้ทั้งแบบดิบ สุก แห้ง แช่เป็นชาหรือเป็นอาหารเสริม หลายคนเปรียบรสชาติของเห็ดหัวลิงว่าคล้ายกับรสชาติของปูหรือล็อบสเตอร์ ในการแพทย์แผนจีนเห็ดหัวลิงถูกใช้เป็นยาชูกำลังเพื่อบำรุงสุขภาพโดยรวมและช่วยให้อายุยืนยาว กล่าวกันว่าพระภิกษุใช้ผงเห็ดหัวลิงต้มเป็นชาดื่มเพื่อเพิ่มพลังสมองและเพิ่มสมาธิในระหว่างการทำสมาธิ



ภาพที่ 2.3 ลักษณะของเห็ดหัวลิง (<https://fungi.com>)

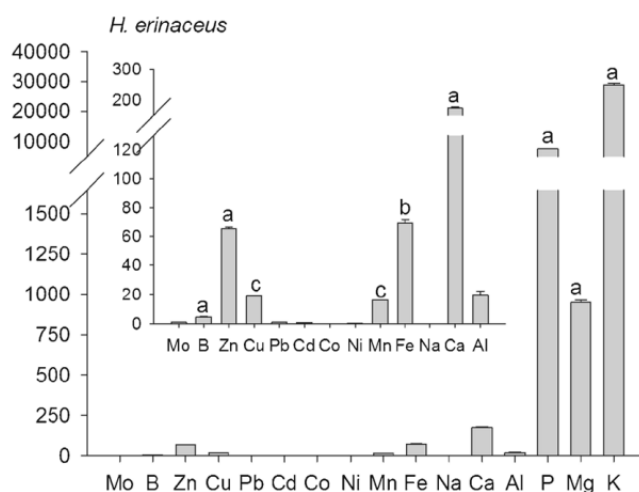
2.6 คุณค่าทางอาหารของเห็ดหัวลิง

เห็ดหัวลิงเป็นแหล่งอาหารเสริมที่ดีในด้านโภชนาการและอาหารทางการแพทย์ องค์ประกอบของเห็ดขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาพการเพาะปลูก (Badalyan 2003) เห็ดหัวลิงเป็นแหล่งสารอาหารหลายชนิดที่ค่อนข้างดี ได้แก่ น้ำตาล ไขมัน และโปรตีน (ตารางที่ 2.7) นอกจากนี้ Rodrigues et al. (2015) ยังพบว่าเห็ดหัวลิงเป็นแหล่งที่ดีของแร่ธาตุองค์ประกอบหลัก เช่น K, Mg และ P โดยที่ K ถูกพบในปริมาณมากที่สุด และยังมี Cu, Fe, Zn และแร่ธาตุอื่นที่เป็นองค์ประกอบรองที่บ่งบอกถึงศักยภาพทางโภชนาการในเห็ดหัวลิง (ภาพที่ 2.4)

ตารางที่ 2.7 ข้อมูลโภชนาการของเห็ดหัวลิง (Lau et al., 2013)

Parameter	Content
% Moisture (g/100g dry mushrooms)	10.11±0.5
% Total protein (g/100g dry mushrooms)	18.8±0.1

% Total sugars	61.3±0.0
% Total fat	2.9±0.1
Total phenolic content (mg Cathecol equiv./g dry mushrooms)	753±4
% Organic matter (g/100g dry mushrooms)	82.98±0.06
% Ash (g/100g dry mushrooms)	6.91±0.01

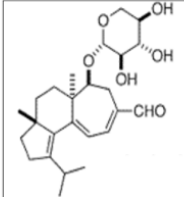
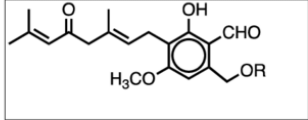
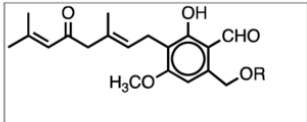


ภาพที่ 2.4 ปริมาณแร่ธาตุองค์ประกอบที่พบในเห็ดหัวลิง (Rodrigues et al., 2015)

2.7 สรรพคุณทางยาของเห็ดหัวลิง

เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) มีการนำไปใช้เป็นยาในประเทศจีนและญี่ปุ่นด้วยสรรพคุณด้านการบำรุงม้าม บำรุงลำไส้ และต้านมะเร็ง เห็ดหัวลิงได้รับการกล่าวขานว่าเป็นสารอาหารแก่อวัยวะภายในทั้งห้า อันได้แก่ ตับ ปอด ม้าม หัวใจและไต รวมถึงส่งเสริมระบบการย่อยอาหารที่ดี เห็ดหัวลิงประกอบไปด้วยสารสำคัญ ได้แก่ โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) ซึ่งมีเบต้า-กลูแคนเป็นหลัก และเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) ซึ่งได้แก่ สารเฮริซีนอน (hericenones) และอีรีนาซิน (erinacines) โดยมีรายงานว่าสารเฮริซีนอน (hericenones) และอีรีนาซิน (erinacines) ที่แยกได้จาก *H. erinaceus* มีคุณสมบัติในการป้องกันระบบประสาท การทดสอบทางคลินิกในหนูพบว่าหนูที่ทานเห็ดหัวลิงมีการพัฒนาหน่วยความจำระยะสั้นและการจดจำภาพดีขึ้น มีการกระตุ้นการเจริญหรือการงอกใหม่ของเซลล์ประสาทได้ด้วย รวมถึงพบว่าเห็ดหัวลิงมีฤทธิ์ต้านภาวะสมองเสื่อมในหนูเมาส์ จำลองโรคอัลไซเมอร์และพาร์กินสัน (Spelman et al., 2017; Zhang et al., 2016) เห็ดหัวลิงยังมีคุณสมบัติด้านการอักเสบที่อาจช่วยปกป้องสมองของคุณจากโรคต่างๆ เช่น โรคพาร์กินสันและโรคอัลไซเมอร์ (Chong et al., 2019)

มีรายงานการวิจัยพบว่าผู้ที่ เป็นโรคอัลไซเมอร์เมื่อรับประทานเห็ดหัวลิงเป็นอาหารเสริม 1 กรัมทุกวันเป็นเวลา เกือบหนึ่งปีจะมีประสิทธิภาพในการทดสอบความรู้ความเข้าใจ (cognitive tests) ได้ดีกว่าผู้ที่ไม่ได้รับประทานเห็ด หัวลิงเป็นอาหารเสริม (Li et al., 2020) เห็ดหัวลิงอาจใช้เป็นอาหารเสริมหรือทางเลือกอื่นสำหรับภาวะซึมเศร้าได้ เนื่องจากเห็ดมีคุณสมบัติต้านการอักเสบซึ่งอาจมีฤทธิ์ต้านอาการซึมเศร้า โดยการวิจัยยังชี้ให้เห็นว่าเห็ดหัวลิงมีผล ต่อการทำงานของสมองและการควบคุมระบบประสาทที่อาจช่วยลดภาวะซึมเศร้าได้ และยังเป็นประโยชน์ต่อ ความผิดปกติทางอารมณ์อื่นๆ รวมถึงความผิดปกติของการนอนหลับบางอย่าง Vigna et al. (2019) พบว่าการ รับประทานเห็ดหัวลิงเป็นอาหารเสริมเป็นเวลา 8 สัปดาห์ช่วยลดภาวะซึมเศร้า ความวิตกกังวลและปรับปรุง คุณภาพการนอนหลับของผู้ที่เป็นโรคอ้วนหรือมีน้ำหนักตัวสูงได้

	Molecular Formula	Molecular Weight (g/mol)	Chemical Structure	Characteristic Ions (m/z)	Content (µg/g)
Erinacine A	$C_{25}H_{36}O_6$	432.56		455 [M+Na] ⁺ 452 [2M+K+H] ²⁺ 668 [3M+K+H] ²⁺ 949 [2M+HCOOH+K] ⁺	150 in mycelium
Hericenone C	$C_{35}H_{54}O_6$	570.81	 R = Palmitoyl	571 [M+H] ⁺ 593 [M+Na] ⁺	500 in basidioma
Hericenone D	$C_{37}H_{58}O_6$	598.87	 R = Stearoyl	599 [M+H] ⁺ 621 [M+Na] ⁺	<20 in basidioma

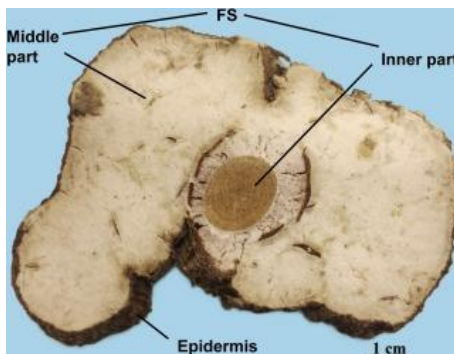
ภาพที่ 2.5 สูตรโมเลกุลของเอรินาซีน A, เฮอร์ซิโนเนส C และ D น้ำหนักโมเลกุล โครงสร้างทางเคมี โครงสร้าง ลักษณะเฉพาะ และปริมาณสารในน้ำหนักแห้งของเส้นใยไมซีเลียมและสปอร์โพร์แห้ง 1 กรัม (Ratto et al., 2019)

2.8 ข้อมูลทั่วไปของเห็ดโป่งรากสน

เห็ดโป่งรากสน (*Poria cocos*) หรือในประเทศจีนเรียกเห็ดฟูลิง "Fuling" เป็นเห็ดสมุนไพรที่กินได้เพื่อ การดูแลสุขภาพอยู่ในวงศ์ Polyporaceae และถูกใช้เป็นยาจีนโบราณที่มีชื่อเสียงมานานกว่า 2,000 ปี เห็ดโป่ง รากสนมีลักษณะเป็นเหง้า (sclerotium) ที่เติบโตบนรากของต้นไม้ที่แก่และตาย เหง้าเห็ดโป่งรากสนสามารถแบ่ง ออกเป็น 3 ส่วนตามลักษณะส่วนของเหง้าและกลุ่มอาการที่ต้องการรักษา ได้แก่ 1) ส่วนผิวนอกที่มีสีน้ำตาลหรือ น้ำตาลดำหรือ (fulingpi-epidermis) ช่วยกระตุ้นให้ขับปัสสาวะเพื่อบรรเทาอาการบวม น้ำ 2) ส่วนตรงกลางที่มี

ลักษณะสีขาว (baifuling-middle part) ช่วยบำรุงม้าม 3) ส่วนที่ติดกับไม้สน (Fushen-inner part) ช่วยทำให้จิตใจร่างกายสงบและหลับดีขึ้น (Feng et al., 2013; Zhu et al., 2017)

ด้วยคุณสมบัติทางยาที่โดดเด่น ผลข้างเคียงน้อย ทำให้เห็ดโป่งรากสนเป็นหนึ่งในส่วนผสมหลักในใบสั่งยาแบบผสมในการแพทย์แผนตะวันออก



ภาพที่ 2.6 ส่วนต่างๆของเห็ดเห็ดโป่งรากสน (Zhu et al., 2017)

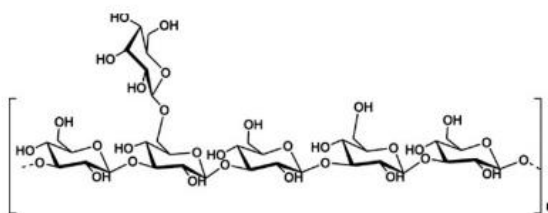
2.9 คุณค่าทางอาหารของเห็ดโป่งรากสน

Poria cocos ประกอบด้วยสารเคมีสองกลุ่มหลัก ได้แก่ กลุ่มไตรเทอร์พีน (Triterpenes) และกลุ่มโพลีแซ็กคาไรด์ (Polysaccharides) รวมถึงสารประกอบรองอื่นๆ เช่น สเตียรอยด์ กรดอะมิโน โคเลสเตอรอล ฮิสทิดีน และเกลือโพแทสเซียม (Rios, 2011) กลุ่มโพลีแซ็กคาไรด์คิดเป็น 70%-90% ของน้ำหนักแห้งของเห็ดโป่งรากสน น้ำตาลกลูโคส ฟิวโคส อะราบิโนส ไซโลส ถูกตรวจพบในเห็ดโป่งรากสน นอกจากนี้ยังมีบีต้ากลูแคน (β -Glucan) ที่เป็นโพลีแซ็กคาไรด์หลักในเห็ดโป่งรากสน (Li et al., 2018)

ตารางที่ 2.8 สารกลุ่มไตรเทอร์พีนที่พบในเห็ดโป่งรากสน (Rios, 2011)

Lanostane-type triterpenes	References
Trametenolic acid	[10]
Dehydrotrametenolic acid (4)	[18]
3-epi-Dehydrotrametenolic acid	[14]
16 α -Hydroxytrametenolic acid	[19]
3-O-Acetyl-16 α -hydroxytrametenolic acid (5)	[12]
3-O-Acetyl-16 α -hydroxydehydrotrametenolic acid	[12]
16 α -27-Dihydroxydehydrotrametenolic acid	[15]
Dehydrotrametenolic acid (12)	[20]
3 β ,16 α -Dihydroxylanosta-7,9(11),24-trien-21-oic acid	[19]
Eburicane-type triterpenes	
Eburic acid	[21]
Dehydroeburic acid (17)	[10]
16 α -25-Dihydroxydehydroeburic acid	[14]
Dehydroeburic acid (11)	[14]
16 α -Hydroxyeburic acid	[14]
16 α -25-Dihydroxydehydroeburic acid	[15]
Pachymic acid (1)	[21]
Dehydropachymic acid (14)	[9]
3-epi-Dehydropachymic acid	[12]
16 α -Hydroxydehydropachymic acid	[19]
25-Hydroxypachymic acid	[16]
Tumulolic acid (15)	[21]
Dehydrotumulolic acid (2)	[21]
3-epi-Dehydrotumulolic acid (16)	[11]
15 α -Hydroxydehydrotumulolic acid	[14]
25-Hydroxy-3-epi-tumulolic acid	[15]
25-Hydroxy-3-epi-hydroxytumulosic acid	[11]
3 β -Hydroxybenzoyldehydrotumulolic acid	[18]
5 α -8 α -Peroxidehydrotumulolic acid	[14]
Polyporenic acid C (13)	[21]
6 α -Hydroxypolyporenic acid C (18)	[22]
29-Hydroxypolyporenic acid C	[16]
Poriacosone A	[17]
Poriacosone B	[17]

seco-Lanostane-type triterpenes	
Poricoic acid B (3)	[8]
16-Deoxyporicoic acid B (8)	[14]
Poricoic acid E	[11]
Poricoic acid BM	[11]
Poricoic acid G (6)	[23]
Poricoic acid GM	[15]
seco-Eburicane-type triterpenes	
Poricoic acid A (7)	[8]
Poricoic acid C (9)	[14]
Poricoic acid D	[14]
Poricoic acid F	[11]
Poricoic acid H	[23]
Poricoic acid AM	[14]
Poricoic acid CM	[14]
Poricoic acid DM	[14]
Poricoic acid HM	[15]
6,7-Dehydroporicoic acid H	[15]
25-Hydroxyporicoic acid C	[15]
25-Hydroxyporicoic acid H	[14]
26-Hydroxyporicoic acid DM	[15]
25-Methoxyporicoic acid A (10)	[15]



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างของปิต้ากลูแคนซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์หลักในเห็ดโป่งรากสน (Li et al., 2018)

2.10 สรรพคุณทางยาของเห็ดโป่งรากสน

มีหลายรายงานการวิจัยพบว่าเห็ดโป่งรากสนมีผลทางเภสัชวิทยาที่น่าสนใจและมีกลไกที่ซับซ้อนทั้งการทดลองในหลอดทดลอง (in vitro) และการทดลองในร่างกาย (in vivo) ได้แก่ฤทธิ์การต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ การเสริมภูมิคุ้มกันให้ร่างกาย การปกป้องตับและไต เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9ฤทธิ์และกลไกทางเภสัชวิทยาของเห็ดโป่งรากสน

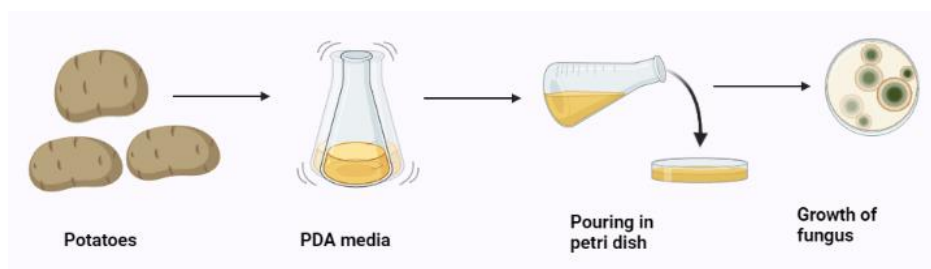
Pharmacological Effects	Chemical component	Mechanism	Cell Lines/Model	Dosage of Administration	Ref.
Anticancer	H11	Inhibiting growth	subcutaneous mouse sarcoma S180	4 and 8 mg·kg ⁻¹	(Kanayama et al., 1986)
	Pi-PCM0, Pi-PCM1 and Pi-PCM2	inhibiting proliferation	Sarcoma 180 grown in mice	20 mg·kg ⁻¹	(Huang et al., 2007)
	PCM3-II	Reducing proliferation and viability and inducing cell-cycle G1 arrest	human breast carcinoma MCF-7 cells	400 µg·ml ⁻¹	(Zhang et al., 2006)
	ac-PCM2 and wc-PCM2	inhibiting growth	Sarcoma 180 solid tumor grown in BALB/c mice	20 mg·kg ⁻¹	(Jin et al., 2003b)
	CS-PCS3-II	increasing necrosis and apoptosis and immunological responses in tumor cells	Sarcoma 180 solid tumor grown in BALB/c mice	20 mg·kg ⁻¹	(Chen et al., 2010)
	S1- S6	inducing and facilitating apoptosis	HepG2 and S-180 tumor cells	20 mg·kg ⁻¹	(Huang et al., 2006)
	WSP, WSP-1 and WSP-2	anti-proliferation	S180 tumor cells	100 and 200 mg·kg ⁻¹	(Bian et al., 2010)
	CMP33	inhibiting growth	MCF-7, A549, HepG-2 and SGC-7901 cells	1 mg·ml ⁻¹	(Liu et al., 2019)
	Dehydropachymic acid and Dehydroeburicoic acid	anti-proliferative activity	Molt 4 and HL 60 cells	—	(Lai et al., 2016)
	Pachymic acid	inducing apoptosis by resulting in mitochondria dysfunction inhibiting proliferation by activating caspase 3, up-regulating PTEN expression and reducing AKT phosphorylation	DU145 cells	40 mg·kg ⁻¹	(Zhang et al., 2005)
	Pachymic acid	Inhibiting proliferation and inducing apoptosis by up-regulating the expression of DNA damage-related proteins	primary osteosarcoma cells	10–50 µg·ml ⁻¹	(Wen et al., 2018)
	Pachymic acid	Decreased cell viability	NPC cells	10–30 µM	(Zhang et al., 2017)
Anti-Oxidant	PCP-H, PCP-U, PCP-E and PCP-M	reducing and scavenging hydroxyl and DPPH radicals	—	—	(Wang et al., 2016)
	PCP-1, PCP-2 and PCP-3	scavenging hydroxyl radicals, ABTS radicals and ferrous ions	—	—	
Anti-inflammatory	PC-II	inhibiting the production of IP-10 induced by IFN-γ	—	—	(Lu et al., 2010)
	CMP33	improving colitis by decreasing levels of pro-inflammatory cytokines and increasing levels of anti-inflammatory cytokines	mice with inflammatory bowel disease (IBD)	—	(Liu et al., 2018)
Immunomodulation	Pachymic acid, Trametenolic acid and Polyporenic acid C	inhibiting NO production and iNOS expression	RAW 264.7 cells	—	(Lee et al., 2017)
	PCWPW and PCWPS	inhibited T cell proliferation	PC12 cells	—	(Zhang et al., 2018)
Kidney protection	S-P, CMP and S-CMP	Increasing hemolysin antibody titer and antibody	implanted HepG2 tumor in BALB/c mice	—	(Wang W. et al., 2015)
	Poricoic acid ZL, ZI and ZK	down-regulating profibrotic protein expression	HK-2, NRK-52E and NRK-49F cells	—	(Chen L. et al., 2019)
Liver protection	Poricoic acid A	decreasing the elevated levels of creatinine and urea and improving renal fibrosis and podocyte injury	rats and renal NRK-52E cells	—	(Chen D. et al., 2019)
	PCPs	decreasing the levels of ALT, LD, TNF-α and IL-6	liver injury mice induced by APAP	—	(Wu et al., 2018)

2.11 การเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมเห็ดในอาหารวุ้นแข็งและอาหารเหลว

ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเห็ด (เส้นใยไมซีเลียม) ในอาหารแข็งส่วนใหญ่จะนิยมใช้อาหารวุ้น potato dextrose agar (PDA) ที่มีน้ำต้มจากมันฝรั่ง น้ำตาลเด็กซ์โทรส และผงวุ้น โดยมันฝรั่งจะให้สารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ด ในขณะที่น้ำตาลเด็กซ์โทรสเป็นแหล่งพลังงานของเชื้อเห็ด สำหรับการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเห็ดในอาหารเหลวจะนิยมใช้อาหาร potato dextrose broth (PDB) ซึ่งมีความต่างจากอาหาร PDA ตรงที่ไม่ใส่วุ้น

ตารางที่ 2.10 ส่วนประกอบของอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเห็ด (เส้นใยไมซีเลียม)

ส่วนประกอบ	อาหารแข็ง PDA	อาหารเหลว PDB
มันฝรั่ง	200 กรัม	200 กรัม
น้ำตาลเดกซ์โทรส	20 กรัม	20 กรัม
ผงวุ้น	20 กรัม	-
น้ำกลั่น	เติมจนได้ปริมาตร 1 ลิตร	เติมจนได้ปริมาตร 1 ลิตร



ภาพที่ 2.8 ขั้นตอนการเตรียมอาหารแข็ง potato dextrose agar (PDA) สำหรับเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเห็ด (www.chemistrynotes.com)

Kupradit et al. (2020) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยไมซีเลียม *Lentinus squarrosulus* (Mont.), *Lentinus polychrous* Lev., *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. and *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer ในอาหารเหลวและอาหารวุ้นแข็งที่มีแหล่งคาร์บอนและอุณหภูมิต่างกัน ผลการวิจัยพบว่าอาหารเหลวมันฝรั่งเดกซ์โทรส (Potato Dextrose Broth) เป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของ *P. ostreatus*, *V. volvacea* และ *L. squarrosulus* อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อ *V. volvacea*, *L. squarrosulus* และ *P. ostreatus* ให้ผลผลิตสูงสุด 8.47 ± 0.26 กรัม/ลิตร 6.44 ± 0.30 กรัม/ลิตร และ 3.76 ± 0.18 กรัม/ลิตร ตามลำดับ คือ 30 ± 2 °C หลังจากการเพาะเลี้ยง 7 วันในอาหารเหลว สำหรับ *L. polychrous* อาหารเหลวมันเทศเดกซ์โทรส (Sweet Potato Dextrose Broth) เป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเส้นใยไมซีเลียม (6.16 ± 0.69 กรัม/ลิตร) เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน สำหรับการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมเห็ดบนอาหารวุ้นแข็ง ผลพบว่าอาหารวุ้นแข็งที่มีเผือกเป็นส่วนประกอบ (Taro Dextrose Agar) มีการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมสูงที่สุดในงานเพาะเชื้อสำหรับเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าอุณหภูมิและแหล่งคาร์บอนมีอิทธิพลต่อการผลิตเส้นใยไมซีเลียมของเห็ด

2.12 การเพาะเลี้ยงเห็ดนมเลื้อย เห็ดหัวลิง และเห็ดโป่งรากสนในอาหารเหลว

การเพาะเห็ดโดยทั่วไปสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ การเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง (solid substrate cultivation) และการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว (submerged liquid cultivation) การเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง คือการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดบนพื้นผิวที่เป็นของแข็งซึ่งส่วนใหญ่เป็นกากอุตสาหกรรมเกษตร เช่น ข้าวสาลี ฟางข้าว ชี้อ้อย เนื่องจากเชื้อเห็ดมีความสามารถในการย่อยสลายโพลีเมอร์ชีวภาพ เช่น เซลลูโลส เพื่อให้ได้ผลผลิต (ส่วน fruiting body) ที่มีคุณค่าสำหรับใช้เป็นอาหารและยารักษาโรค (Pérez-Chávez et al. , 2019) อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งมักได้รับผลกระทบจากปัจจัยตัวแปร (เช่น ความเป็นกรดต่าง ความร้อน และการถ่ายโอนมวล แอคติวิตีของน้ำ และการเปลี่ยนแปลงของสารตั้งต้น) ซึ่งจนถึงทุกวันนี้ยังไม่ได้รับการควบคุมอย่างมีประสิทธิภาพ จึงนำไปสู่ความไม่สม่ำเสมอของคุณภาพผลผลิต (Letti et al., 2018; Singh nee'Nigam, 2009) ด้วยเหตุนี้การเพาะเลี้ยงเห็ดในรูปแบบไมซีเลียมในอาหารเหลวจึงมีความสำคัญเนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถควบคุมสภาวะในกระบวนการผลิตได้เช่น ปัจจัยทางกายภาพ (อุณหภูมิ การเติมอากาศ การกวน ฯลฯ) สารเคมี (pH องค์ประกอบปานกลาง ฯลฯ) และปัจจัยทางชีวภาพ (หัวเชื้อ สันฐานวิทยา ฯลฯ) (Fazenda et al., 2008) และยังสามารถเก็บผลผลิตได้เร็วในปริมาณมากด้วยการใช้พื้นที่ขนาดเล็ก สามารถทำซ้ำได้สำหรับการผลิตเส้นใยไมซีเลียม รวมทั้งสามารถควบคุมผลผลิตของสารเมตาบอไลต์หรือสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์ในด้านโภชนาการ ยา และเภสัชกรรม ได้ (Elisashvili, 2012; Fazenda et al., 2008) การเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลวจะทำให้เส้นใยไมซีเลียมเห็ดเจริญเติบโตอาหารที่เป็นของเหลวและมีเพิ่มปริมาณก๊าซออกซิเจนด้วยการเขย่าในตูบ่มที่ควบคุมอุณหภูมิ (incubator shaker) สำหรับการเลี้ยงในปริมาณน้อย (small scale) หรือเพิ่มปริมาณก๊าซออกซิเจนด้วยด้วยการกวนโดยใช้ไบปัดในถังหมัก (bioreactor) สำหรับการเลี้ยงในปริมาณมาก (large scale) Bakratsas et al. (2021) ได้ทำการเปรียบเทียบสารองค์ประกอบในส่วนดอก (fruiting body) และส่วนเส้นใยไมซีเลียมของเห็ดหลากหลายสายพันธุ์ดังแสดงในตารางที่ 2.11 ซึ่งจะพบว่าส่วนเส้นใยไมซีเลียมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเห็ดในอาหารเหลวมีปริมาณสารองค์ประกอบสูงกว่าในส่วนดอก (fruiting body) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเห็ดในอาหารแข็งเป็นส่วนใหญ่

ตารางที่ 2.11 การเปรียบเทียบสารองค์ประกอบของส่วนดอก (fruiting body) และเส้นใยไมซีเลียมในเห็ดสายพันธุ์ต่างๆ

Mushroom strain	Bioactive Compound	Fruiting body	Mycelium	Refs.
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Crude protein	36%	25.70%	(Manu-Tawiah and Martin, 1987)
	Total lipids	2%	3%	
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Non-Polar Lipids	1.50%	4%	(Papaspnyridi, 2013)
<i>Pleurotus ostreatus</i> No. 152	Crude protein	36%	40.10%	(Martin, 1992)
	Fat	1.90%	2.60%	
<i>P. ostreatoroseus</i>	Free sugars	26mg/g	58mg/g	(Corrêa et al., 2015)
	Total organic acids	212mg/g	91mg/g	
<i>Pleurotus</i> spp. (P-184)	Proteins	45.20%	15%	(Beltrán et al., 2005)
	Carbohydrates	27.70%	70.40%	
<i>Pleurotus</i> spp.	Proteins	24.30%	23.30%	(Hadar and Cohen-Arazi, 1986)
	Fatty acids	1.60%	1.50%	
<i>Pleurotus sajor-caju</i> PS-2001	Soluble carbohydrates	19.55%	4.10%	(Confortin et al., 2008)
	Proteins	36.36%	32.10%	
	Total fats	2.30%	10.20%	
<i>Agaricus campestris</i>	Proteins	46.30%	44.40%	(Kosaric et al., 1973)
	Fat	2.80%	2.80%	
<i>Agaricus bisporus</i>	Proteins	45.90%	47.10%	(Kurbanoglu et al., 2004)
	Fat	2.70%	5.80%	
<i>Lentinus edodes</i> (Berg)	Proteins	23-24%	17%	(Lobanok et al., 2003)
<i>Lentinula edodes</i>	Lipids	4%	20%	(Nikitina et al., 2007)
<i>Lentinula edodes</i>	Proteins	26.50%	52.80%	(Mizuno, 1995)
<i>Cordyceps militaris</i>	Proteins	18.47%	21.06%	(Gang et al., 2016)
	Total amino acids	18.57%	28.72%	
<i>Tuber sinense</i>	Total umami amino acids	1.5mg/g	9.0mg/g	(Tang et al., 2015)
	Sterol content	1883µg/g	5740.4 µg/g	
<i>Tuber indigum</i>	Total umami Amino acids	5.3mg/g	12.6mg/g	
	Sterol content	2204.2 µg/g	6638.1 µg/g	
<i>Tuber aestivum</i>	Total umami amino acids	7.1mg/g	11.6mg/g	
	Sterol content	3239.9 µg/g	5792.5 µg/g	

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยหลากหลายที่เกี่ยวข้องกับการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเห็ดทางยา (เห็ดนมเสือ เห็ดหัวลิง เห็ดโปรงรากสน) ในอาหารเหลว (submerged liquid cultivation) ได้แก่ การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือนำมาเพาะอาหารว่าเส้นใยไมซีเลียมเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ pH 6 และ 7 การเจริญเติบโตของเส้นใยเป็นไปอย่างรวดเร็วเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นที่มีกลูโคส-เปปโตนและอาหารวุ้นที่มีสารสกัดจากยีสต์-เปปโตน-เดกซ์โทรสเป็นองค์ประกอบและพบว่าแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเส้นใยไมซีเลียม ได้แก่ กลูโคสและโพแทสเซียมไนเตรต ตามลำดับ (Lai et al., 2011) Rahman et al. (2012) ได้ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนต่างๆพบว่าเส้นใยมีเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลแลคโตสเป็นองค์ประกอบ การใส่เกลือแอมโมเนียม เช่น แอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไนเตรต และแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย นอกจากนี้แหล่งไนโตรเจน อาทิเช่น เปปโตน สารสกัดจากยีสต์ มีผลช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเส้นใยอีกด้วย

Lai et al. (2014) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดนมเสือในอาหารเหลวพบว่าเส้นใยไมซีเลียมเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ pH 6 องค์ประกอบของอาหารเหลวที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณเส้นใยไมซีเลียมคือ น้ำตาลกลูโคส 80 กรัม/ลิตร โพแทสเซียมไนเตรต 4 กรัม/ลิตร ไอรอน (II) ซัลเฟต 0.4 กรัม/ลิตร แคลเซียมคลอไรด์ 0.1 กรัม/ลิตร และองค์ประกอบของอาหารเหลวที่เหมาะสมในการผลิตเอ็กโซพอลิแซ็กคาไรด์ (exopolysaccharide) คือ น้ำตาลกลูโคส 80 กรัม/ลิตร โพแทสเซียมไนเตรต 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 นอกจากนี้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารสำคัญแล้ว Ma and Yu (2017) ยังใช้สารสกัดสมุนไพรเหอโซหวู่ (*Radix Polygoni multiflora*) และคาโมมายล์ (*Chamomile*) ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตเส้นใยและกระตุ้นการสร้างสารไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoid) รวมถึงเอ็กตร้าเซลลูลาร์โพลีแซ็กคาไรด์ (extracellular polysaccharide)

Avtonomova et al. (2012) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) ในอาหารเหลว ผลการทดลองพบว่าปริมาณเส้นใยไมซีเลียมที่เป็นผลผลิตขึ้นอยู่กับแหล่งคาร์บอนเป็นหลัก ในขณะที่ปริมาณโพลีแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ขึ้นอยู่กับแหล่งไนโตรเจนเป็นหลัก

Wolters et al. (2015) รายงานว่าการเพาะเลี้ยงเห็ดหัวลิงในอาหารเหลวเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการผลิตสาร erinacine C โดยอัตราการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดในสัดส่วน 5:10 (ปริมาตร/ปริมาตร) ในสารละลายกรดไฮดรอกซีเอทิลไพเพอราซีนอีเพนซิลโฟนิค (HEPES) ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 7.5 ทำให้เกิดปริมาณสาร erinacine C สูงถึง 2.73 กรัม/ลิตร

Krzyczkowski et al. (2010) พบว่าส่วนผสมที่เหมาะสมที่สุดขององค์ประกอบสารอาหารที่ทำให้การผลิตสาร erinacine A สูงสุด ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 10 ลิตร คือ: กลูโคส 69.87 กรัม/ลิตร, เคซีน เปปโตน 11.17 กรัม/ลิตร, โซเดียมคลอไรด์ 1.45 กรัม/ลิตร, ซิงค์ซัลเฟต 55.24 มิลลิกรัม/ลิตร, โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.0 กรัม/ลิตร, และ pH 4.5 โดยภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนี้ปริมาณผลผลิตเส้นใยไมซีเลียม คือ 13.3 ± 2.6 กรัม/ลิตร ในขณะที่การผลิตสาร erinacine A อยู่ที่ 192 ± 42 มก./ลิตร เวลาที่เหมาะสมที่สุดเพื่อให้ได้ผลผลิตสาร erinacine A สูงสุดคือ 8 วัน

Cui et al. (2015) ได้ศึกษาผลกระทบของตัวพาออกซิเจน (oxygen carriers) ต่อระบบการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสน (*Poria cocos*) ในอาหารเหลว ผลพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการการเติมตัวพาออกซิเจน คือการเติม Tween-80 1% (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่ 48 ชั่วโมงหลังการลงหัวเชื้อ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่นี้ทำให้ได้น้ำหนักเซลล์แห้งของเห็ดโป่งรากสนอยู่ที่ 13.43 กรัม/ลิตร ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 10 ลิตร ในขณะที่ปริมาณเอ็กโซโพลีแซ็กคาไรด์และกรดปาคิมิก (pachymic acid) อยู่ที่ 8.58 กรัม/ลิตร และ 989.52 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งการเติม Tween-80 แสดงผลการส่งเสริมที่ชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่เติม Tween-80

Hu et al. (2017) แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงเห็ดโป่งรากสน (*P. cocos*) แบบสองขั้นตอน (เพาะเลี้ยงแบบเขย่าแล้วจึงเพาะเลี้ยงแบบคงที่ไม่เขย่า) อาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการผลิตเส้นใยไมซีเลียมและสารประกอบไตรเทอร์พีนอยด์ เส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนได้ขึ้นภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวแบบเขย่าอย่างต่อเนื่อง (น้ำหนักแห้ง 7.5 กรัม/ลิตร) และระดับสารประกอบไตรเทอร์พีนอยด์ที่สูงขึ้นถูกสะสมในการเพาะเลี้ยงสองขั้นตอน

(112 มิลลิกรัม/ลิตร, 2.03%) เวลาเริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดของการเพาะเลี้ยงแบบคงที่ (static culture) เพื่อให้ได้ผลผลิตสารประกอบไตรเทอร์พีนอยด์คือวันที่ 4 หลังจากการเพาะเลี้ยงแบบเขย่า (shaking culture)

ดังนั้นการเพิ่มปริมาณเส้นใยไมซีเลียมด้วยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวและในอาหารร่วนแข็งเกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมหลายประการ เช่น อุณหภูมิ, ความชื้น, ความเป็นกรด-ด่าง, สารอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน เป็นต้น ซึ่งเป็นปัจจัยที่เชื้อใช้ในการเจริญเติบโตและต้องมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตเส้นใยไมซีเลียม โดยทำให้เส้นใยไมซีเลียมมีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว คุณภาพดี และใช้ระยะเวลาในการผลิตสั้นลง ในปัจจุบันมีผู้ประกอบการและเกษตรกรผู้เพาะเห็ดทั้งเห็ดที่เป็นอาหารและเห็ดทางยาเป็นจำนวนมาก วิธีการโดยทั่วไปที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณเส้นใยเห็ด คือเพาะเลี้ยงเห็ดบนอาหารร่วน potato dextrose agar (PDA) และอาหารเหลว potato dextrose broth (PDB) ซึ่งมีมันฝรั่งและน้ำตาลเดกซ์โทรสเป็นองค์ประกอบ มันฝรั่งทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญแก่เห็ด มันฝรั่งส่วนใหญ่ในประเทศได้มาจากการนำเข้าจึงทำให้ต้นทุนของอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดสูงตามไปด้วย แต่กระนั้นยังมีพืชอาหารหลายชนิดที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง สามารถปลูกได้ภายในประเทศ และราคาไม่แพง อาทิเช่น มันฝรั่ง มันม่วง มันสำปะหลัง เผือก ฟักทอง ข้าวโพด ถั่วแดง ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง เป็นต้น และหลายครั้งหลายคราเกษตรกรผู้ปลูกพืชทางการเกษตรต้องประสบปัญหาสินค้าล้นตลาด จากเหตุผลดังกล่าวคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาชนิดของพืชผลทางการเกษตรที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบทดแทนมันฝรั่งในอาหารเลี้ยงเห็ดที่ช่วยให้เส้นใยเห็ดมีการเจริญได้ดี อีกทั้งมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง เพื่อที่จะลดต้นทุนของวัตถุดิบในการเพาะเห็ด สร้างรายได้ให้เกษตรกร และยังเป็นการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงเห็ดทางยาให้มีปริมาณเพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภค และมีสารออกฤทธิ์ในปริมาณที่สูง เพื่อเป็นประโยชน์ในด้านยาและอาหารเสริมสุขภาพต่อไปและช่วยสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ผู้บริโภคเนื่องจากมีงานวิจัยรองรับ

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 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
9. เครื่องชั่งสารความละเอียด 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) รุ่น ED224S ยี่ห้อ Sartorius ประเทศเยอรมนี
10. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น HARRIER 15/80 Bench top refrigerated centrifuge ยี่ห้อ Sanyo ประเทศญี่ปุ่น
11. เครื่องวัดความชื้นในดิน (Soil moisture meter) ยี่ห้อ Kandtek ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน
12. เครื่องระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) ยี่ห้อ Buchi รุ่น R-100 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
13. เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) ยี่ห้อ Vision รุ่น VS-38SIF-P

3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. หลอดทดลองชนิดฝาเกลียว (Screw cap tube)
2. ชั้นวางหลอดทดลอง (Rack)
3. แท่งแก้ว (stirring rod)
4. กรวยกรองสาร (Funnel)
5. ช้อนตักสาร (spatula)

6. ปีกเกอร์ (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. กระดาษกรอง (Filter paper) ยี่ห้อ Whatman No. 1 และ 4
15. ถุงซีปล็อก (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 เตรียมตัวอย่างหัวเชื้อเห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) เห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinoceros*) และ เห็ดฟุหลิง (*Poria Cocos*)

หัวเชื้อเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ถูกซื้อจากฟาร์มเห็ดในประเทศไทยในรูปแบบเส้นใยไมซีเลียมบนอาหาร PDA ในขวดแก้วแบน หัวเชื้อเห็ดจะถูกทำการต่อเชื้อลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร PDA ด้วยการใช้ลูปปลายงอเขี่ยขึ้นวุ้นที่มีเส้นใยไมซีเลียมแล้ววางไว้ตรงกลางจานเพาะเชื้อ จากนั้นนำหัวเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน

3.2.2 การเตรียมอาหารเหลวและอาหารวุ้นแข็งสำหรับการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมเห็ด

แหล่งคาร์บอนธรรมชาติทั้งหมด 12 แหล่ง ได้แก่ มันฝรั่ง มันสั้ม มันเหลือง มันม่วง มันสำปะหลัง ผือก ฟักทอง ข้าวโพด ถั่วแดง ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถูกซื้อจากตลาดท้องถิ่น เพื่อนำมาเตรียมเป็นอาหารเหลว 12 สูตร ดังตารางที่ 3.1 โดยมีขั้นตอนการเตรียมอาหารดังตารางที่ 3.2 กล่าวคือ นำแหล่งคาร์บอนธรรมชาติ 200 กรัม/แหล่งที่นำไปต้มในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 15 นาที ด้วยไฟอ่อนจนสุก กรองเอาแต่น้ำโดยใช้ผ้าขาวบาง แลวนำมาผสมกับน้ำตาลเดกซ์โทรส 20 กรัม ตมจนน้ำตาลละลาย ปรับปริมาตรอาหารให้ได้ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปรับค่า pH ของอาหารเป็น 5.6 เทใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาณขวดละ 200 มิลลิลิตร และนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที สำหรับการเตรียมอาหารวุ้นแข็งจะใช้สูตรอาหารเช่นเดียวกับการเตรียมอาหารเหลว แต่มีการใส่ผงวุ้น 20 กรัม ลงไป ตมจนผงวุ้นละลาย ปรับปริมาตรอาหารให้ได้ 1 ลิตร ปรับค่า pH ของอาหารเป็น 5.6 และนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที นำอาหารออกมาตั้งให้อุณหภูมิประมาณ 40°C แล้วจึงเทอาหารวุ้นที่เตรียมไว้ลงบนจานเพาะเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร/จานเพาะเชื้อ

ตารางที่ 3.1 สูตรอาหารเหลวและอาหารข้นสำหรับเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมเห็ด

แหล่งคาร์บอนธรรมชาติ	อาหารข้นแข็ง	อาหารเหลว	แหล่งคาร์บอนธรรมชาติ	อาหารข้นแข็ง	อาหารเหลว
มันฝรั่ง (Potato)	PDA	PDB	ฟักทอง (Pumpkin)	PKDA	PKDB
มันส้ม (Orange Sweet Potato)	OSPDA	OSPDB	ข้าวโพด (Corn)	CDA	CDB
มันเหลือง (Yellow Sweet Potato)	YSPDA	YSPDB	ถั่วแดง (Red Bean)	RBDA	RBDB
มันม่วง (Purple Sweet Potato)	PSPDA	PSPDB	ถั่วดำ (Black Bean)	BBDA	BBDB
มันสำปะหลัง (Casava)	CDA	CDB	ถั่วเขียว (Green Bean)	GBDA	GBDB
เผือก (Taro)	TDA	TDB	ถั่วเหลือง (Soybean)	SDA	SDB

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเห็ด (เส้นใยไมซีเลียม)

ส่วนประกอบ	อาหารข้นแข็ง	อาหารเหลว
แหล่งคาร์บอนธรรมชาติ	200 กรัม	200 กรัม
น้ำตาลเดกซ์โทรส	20 กรัม	20 กรัม
ผงวุ้น	20 กรัม	-
น้ำกลั่น	เติมจนได้ปริมาตร 1 ลิตร	เติมจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

3.2.3 การศึกษาผลของปัจจัยทางกายภาพต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA)

3.2.3.1 ดำเนินการศึกษาค้นคว้าของอุณหภูมิการบ่มเชื้อ (20 25 30 35 °C) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) โดยตัดชิ้นวุ้นหัวเชื้อเส้นใยไมซีเลียมที่เพาะเลี้ยงในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ขนาด 5x5 มิลลิเมตร มาใส่ในจานเพาะเชื้อใหม่ที่มีอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) แล้วบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 20 25 30 35 °C จากนั้นทำการวัดอัตราการเจริญของเส้นใยด้วยวิธีการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในหน่วย มิลลิเมตร/วัน เป็นเวลา 14 วัน

3.2.3.2 ดำเนินการศึกษาค้นคว้าของความเป็นกรด-ด่าง (pH 5.0-9.0) ของอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม โดยตัดชิ้นวุ้นหัวเชื้อเส้นใยไมซีเลียมที่เพาะเลี้ยงในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ขนาด 5x5 มิลลิเมตร มาใส่ในจานเพาะเชื้อใหม่ที่มีอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ที่ pH 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 แล้วบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิดจากผลการทดลองข้อ 3.2.3.1 จากนั้นทำการวัดอัตราการเจริญของเส้นใยด้วยวิธีการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในหน่วย มิลลิเมตร/วัน เป็นเวลา 14 วัน

3.2.4 การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารวุ้นแข็ง

ดำเนินการศึกษาค้นคว้าของแหล่งคาร์บอนธรรมชาติในอาหารวุ้นแข็งต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม โดยตัดชิ้นวุ้นหัวเชื้อเส้นใยไมซีเลียมที่เพาะเลี้ยงในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ขนาด 5x5 มิลลิเมตร มาใส่ในจานเพาะเชื้อใหม่ที่มีอาหารวุ้นแข็ง 12 สูตร ดังตารางที่ 3.1 โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารแต่ละสูตรให้เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิด (จากผลการทดลองข้อ 3.2.3.2) แล้วบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิดจากผลการทดลองข้อ 3.2.3.1 จากนั้นทำการวัดอัตราการเจริญของเส้นใยด้วยวิธีการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในหน่วย มิลลิเมตร/วัน เป็นเวลา 14 วัน

3.2.5 การศึกษาผลของปัจจัยทางกายภาพต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB)

3.2.5.1 ดำเนินการศึกษาค้นคว้าของอุณหภูมิการบ่มเชื้อ (20 25 30 35 °C) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) โดยตัดชิ้นวุ้นหัวเชื้อเส้นใยไมซีเลียมที่เพาะเลี้ยงในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ขนาด 5x5 มิลลิเมตร มาใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วบ่มขวดรูปชมพู่ที่อุณหภูมิ 20 25 30 35 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นทำการกรองเส้นใยด้วยกระดาษกรองแล้วอบเส้นใยให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ก่อนนำมาชั่งน้ำหนักวัดอัตราการเจริญของเส้นใย

3.2.5.2 ดำเนินการศึกษาค้นคว้าของความเป็นกรด-ด่าง (pH 5.0-9.0) ของอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม โดยตัดชิ้นวุ้นหัวเชื้อเส้นใยไมซีเลียมที่เพาะเลี้ยงในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา

7 วัน ขนาด 5x5 มิลลิเมตร มาใส่ในมาใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่ pH 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 แล้วบ่มขวดรูปชมพู่ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิดจากผลการทดลองข้อ 3.2.5.1 ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิดจากผลการทดลองข้อ 3.2.3.1 จากนั้นทำการกรองเส้นใยด้วยกระดาษกรอง แล้วอบเส้นใยให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ก่อนนำมาชั่งน้ำหนักวัดอัตราการเจริญของเส้นใย

3.2.5.3 ดำเนินการศึกษากลของสภาวะการเขย่า-ไม่เขย่าขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม โดยตัดชิ้นวันหัวเชื้อเส้นใยไมซีเลียมที่เพาะเลี้ยงในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ขนาด 5x5 มิลลิเมตร มาใส่ในมาใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่ pH เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิด (จากผลการทดลองข้อ 3.2.5.2) แล้วบ่มขวดรูปชมพู่ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิดจากผลการทดลองข้อ 3.2.5.1 ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับแบบไม่เขย่าขวด จากนั้นทำการกรองเส้นใยด้วยกระดาษกรองแล้วอบเส้นใยให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ก่อนนำมาชั่งน้ำหนักวัดอัตราการเจริญของเส้นใย

3.2.6 การศึกษากลของแหล่งคาร์บอนต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลว

ดำเนินการศึกษากลของแหล่งคาร์บอนธรรมชาติในอาหารเหลวต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม โดยตัดชิ้นวันหัวเชื้อเส้นใยไมซีเลียมที่เพาะเลี้ยงในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ขนาด 5x5 มิลลิเมตร มาใส่ในมาใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว 12 สูตร/ขวด ขวดละ 200 มิลลิลิตร ดังตารางที่ 3.1 โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารแต่ละสูตรให้เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิด (จากผลการทดลองข้อ 3.2.5.2) แล้วบ่มขวดรูปชมพู่ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิดจากผลการทดลองข้อ 3.2.5.1 เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นทำการกรองเส้นใยด้วยกระดาษกรองแล้วอบเส้นใยให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักแห้งคงที่ก่อนนำมาชั่งน้ำหนักวัดอัตราการเจริญของเส้นใย

3.2.7 การศึกษากลของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดทางยา

3.2.7.1 การสกัดสารจากเส้นใยไมซีเลียม

ทำการสกัดสารจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดทางยาที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวทั้ง 12 สูตรด้วยวิธีประยุกต์จาก Asatiani et al. (2007) โดยนำเส้นใยเห็ดที่กรองได้จากอาหารเหลวมาทำให้แห้งด้วยวิธี freeze dry และบดให้เป็นผง จากนั้นนำผงเส้นใยเห็ดปริมาณ 10 กรัม มาสกัดด้วยสารละลาย 80% ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ในเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 rpm อุณหภูมิ 30 °C แล้วจึงปั่นเหวี่ยงสารละลายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 g เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วยการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วจึงนำสารละลายส่วนที่กรองได้ไประเหยแห้ง

3.2.7.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านมะเร็งปอดและมะเร็งเต้านมด้วย MTT assay

ทำการตรวจวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านมะเร็งด้วยวิธี MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,3-diphenyl tetrazolium bromide) assay โดยวิธีของ Rossiana et al. (2018) ซึ่งจะมีการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมต่อเซลล์ไลน์มะเร็ง (มะเร็งปอดและมะเร็งเต้านม) เริ่มต้นทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์มะเร็งปอด (A549) และเซลล์เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านม (MDA-MB-231) จำ นวน 1×10^4 เซลล์ต่อหลุม ใน 96-well culture plate โดยมีกลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มที่ไม่ใส่เซลล์ (blank) นำไปบ่มในตู้บ่ม (CO_2 incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เตรียมสารละลายของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.47, 0.94, 1.88, 3.75, 7.5, และ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และใส่สารละลายดังกล่าวในปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปเลี้ยงในคาร์บอนไดออกไซด์ 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 formazan สีม่วงให้อยู่ในรูปสารละลาย ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้มาคำนวณ เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของเซลล์ (%cell viability) ดังสมการ

$$\text{cell viability (\%)} = (A1 / A0) \times 100$$

โดยที่ A0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A1 = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใส่สารสกัด

ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์จะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ 50%

3.2.7.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.2.7.3.1 วิธี DPPH radical scavenging assay

ตรวจวิเคราะห์ด้วยโดยวิธีของ Islam et al. (2012) ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีของ Ferreira et al. (2009) โดยนำสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร เติมนลงในสารละลาย 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

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = [(A0 - A1) / A0] \times 100$$

โดยที่ A0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใส่สารสกัด

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50%

3.2.7.3.2 วิธี Ferric reducing-antioxidant power assay

ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีของ Islam et al. (2012) ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีของ Benzie and Strain (1999) เริ่มต้นเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ (Acetate buffer) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ pH 3.6 สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ จากนั้นนำสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เติมนลงในสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) ความเข้มข้น 100, 200, 400, 600, 1000 ไมโครโมล/ลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่าไมโครโมลาร์สมมูลของเฟอร์รัสในตัวอย่างสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียม 1 กรัม ($\mu mol Fe^{2+}$ equivalent/1 g mushroom extract)

3.2.7.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ด้านการอักเสบ

3.2.7.4.1 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 ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 2850 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมนำสารสกัดจากเส้นใยความเข้มข้น 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

$$\text{inhibition of protein denaturation (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

โดยที่ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใส่สารสกัด

ความสามารถในการยับยั้งการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนจะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของสารสกัดแห้งที่การยับยั้งการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนได้ 50%

3.2.7.4.2 การยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเนส (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

$$\text{inhibition of proteinase activity (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

โดยที่ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใส่สารสกัดเห็ด

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

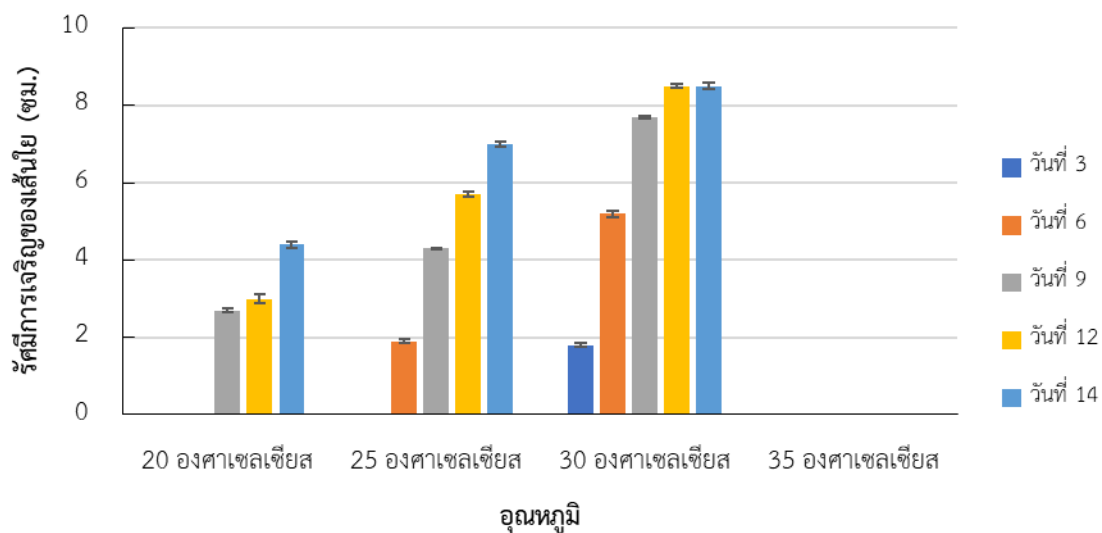
3.2.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการขั้นตอนของการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมทั้งในอาหารร่วนแข็งและในอาหารเหลวจะทำการเพาะเลี้ยง 3 ซ้ำต่อการทดลอง แล้วมีการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างด้วยโปรแกรม Minitab 18.0

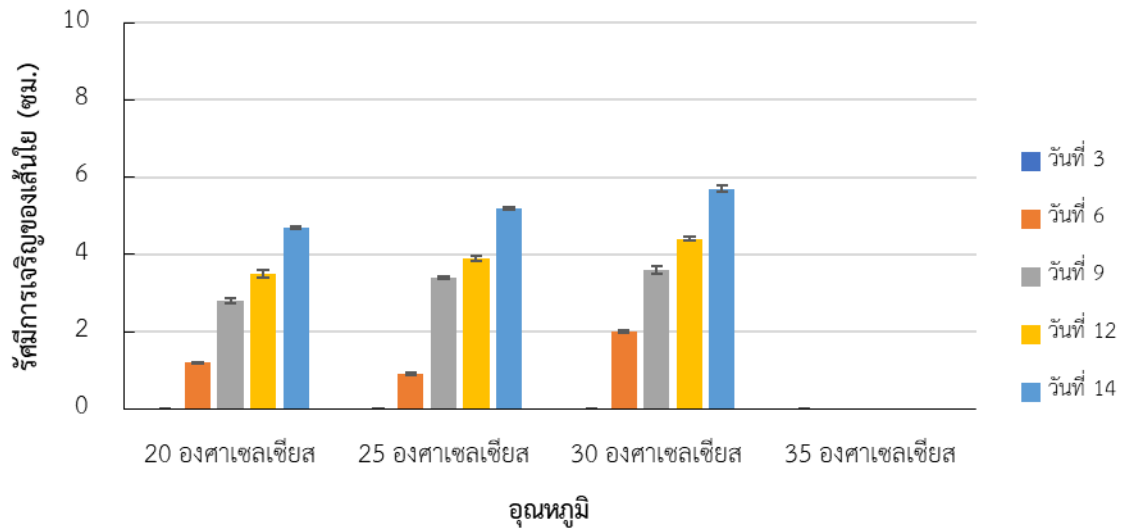
บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA)

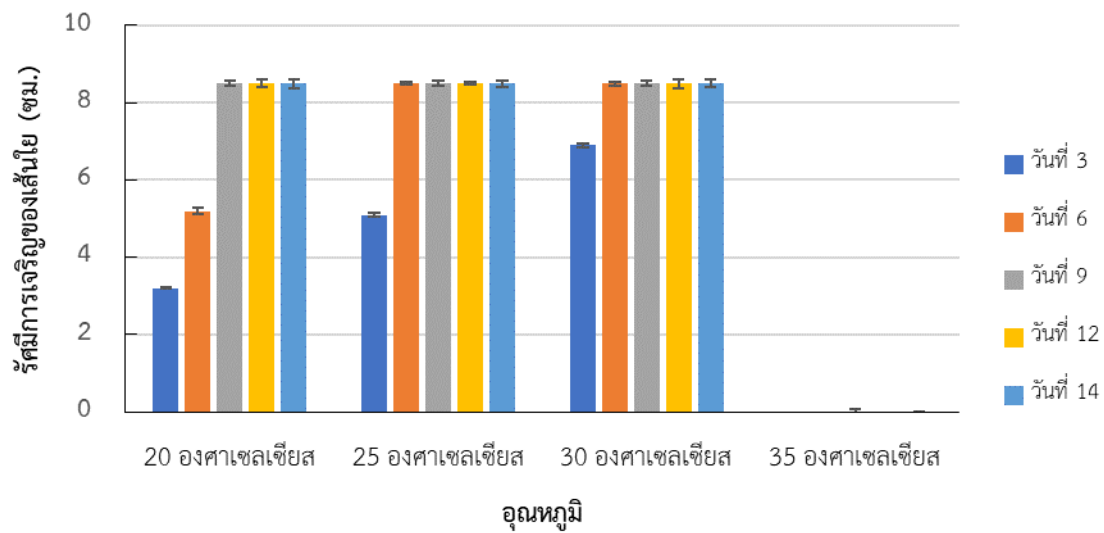
เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิการบ่มเชื้อ (20 25 30 35 °C) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) พบว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดทางยามีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดในเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) โดยพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมของเห็ดทั้ง 3 ชนิด คือที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งทำให้การเจริญของเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อในระยะเวลาอันสั้น (ภาพที่ 4.1-4.3)



ภาพที่ 4.1 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) เมื่อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ



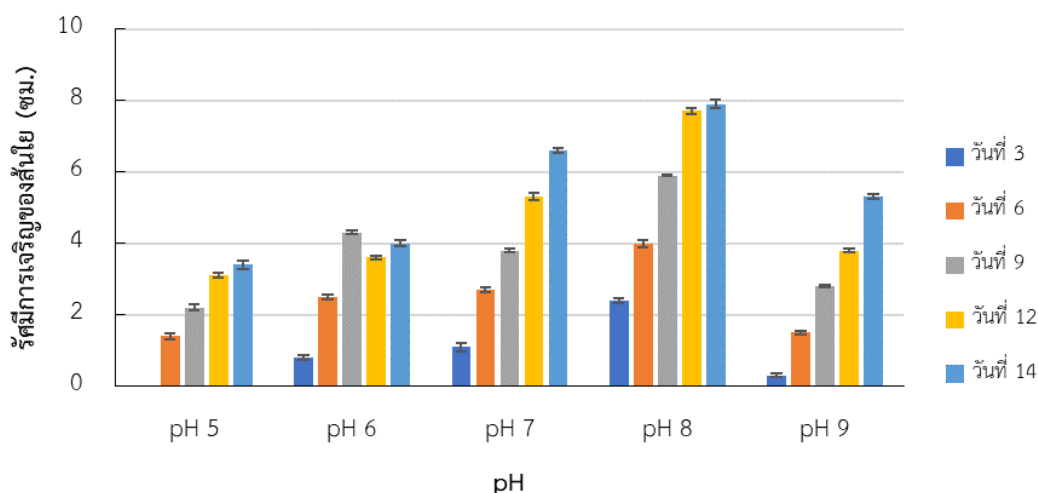
ภาพที่ 4.2 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) เมื่อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ



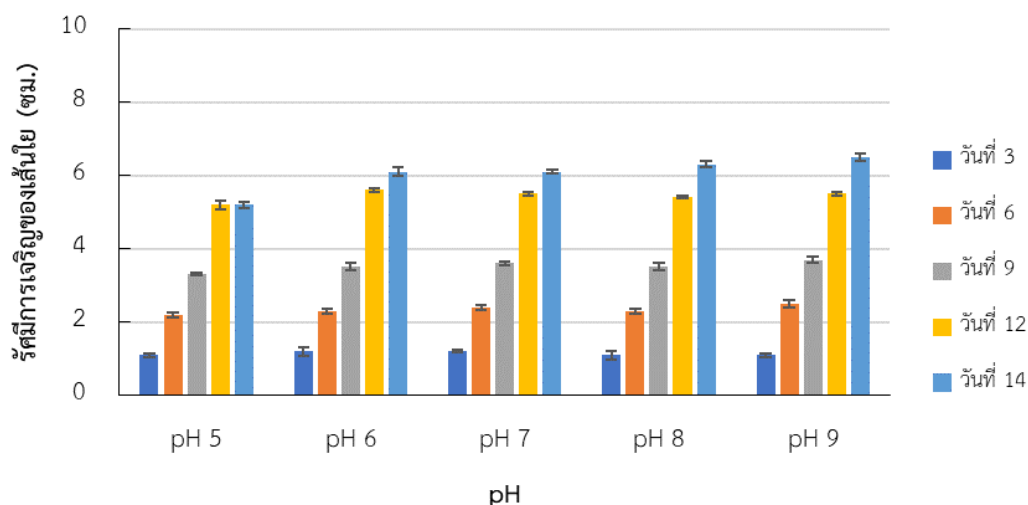
ภาพที่ 4.3 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) เมื่อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

4.2 การศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างของอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียม

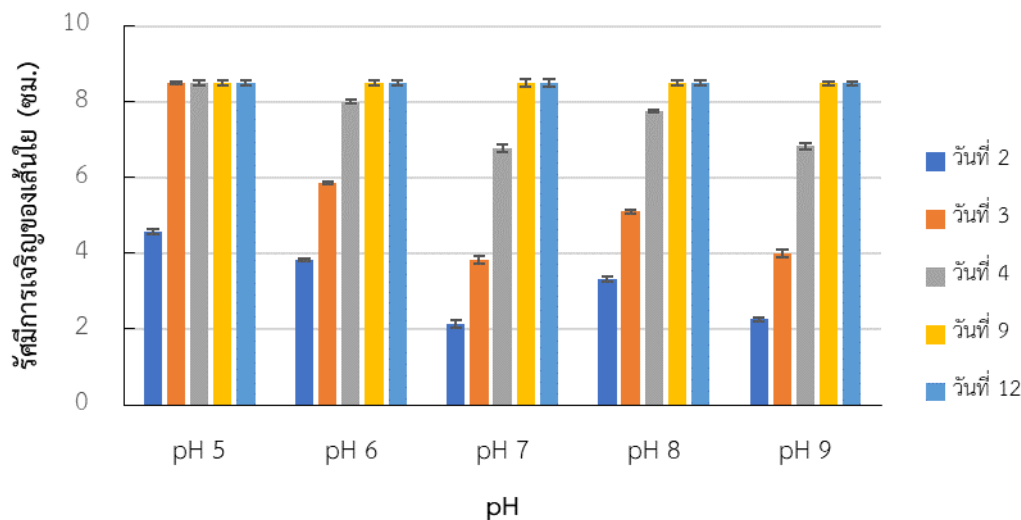
เมื่อศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH 5.0-9.0) ของอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าค่า pH ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดทางยามีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด ค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยในเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) คือที่ pH 8.0 pH 9.0 และ pH 5.0 ตามลำดับ ซึ่งทำให้การเจริญของเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อในระยะเวลาอันสั้น (ภาพที่ 4.4-4.6)



ภาพที่ 4.4 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ที่มีค่า pH ต่างๆ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C



ภาพที่ 4.5 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ที่มีค่า pH ต่างๆ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C

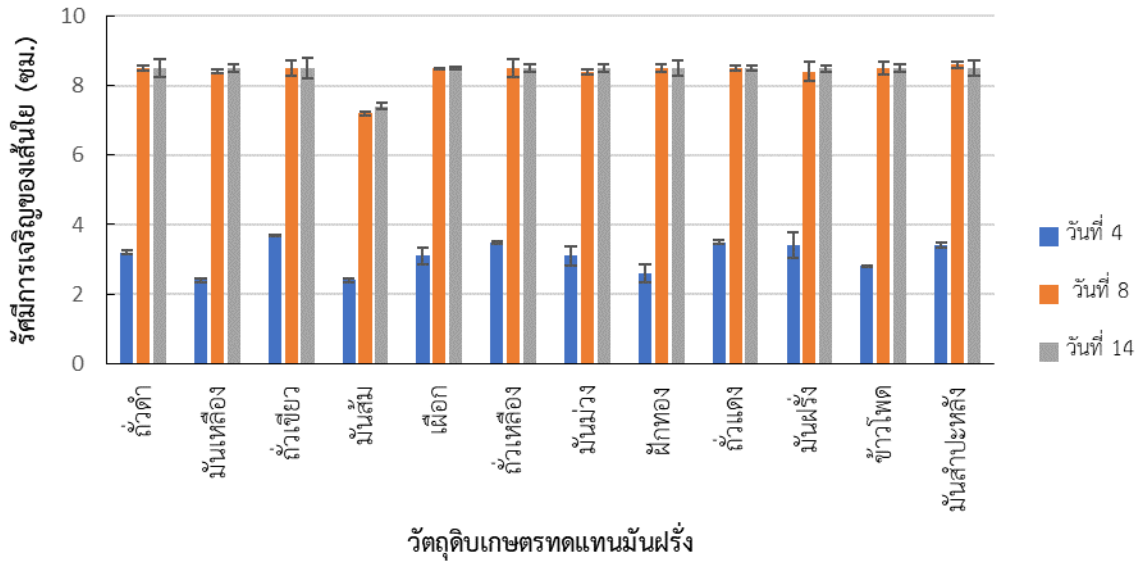


ภาพที่ 4.6 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ที่มีค่า pH ต่างๆเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C

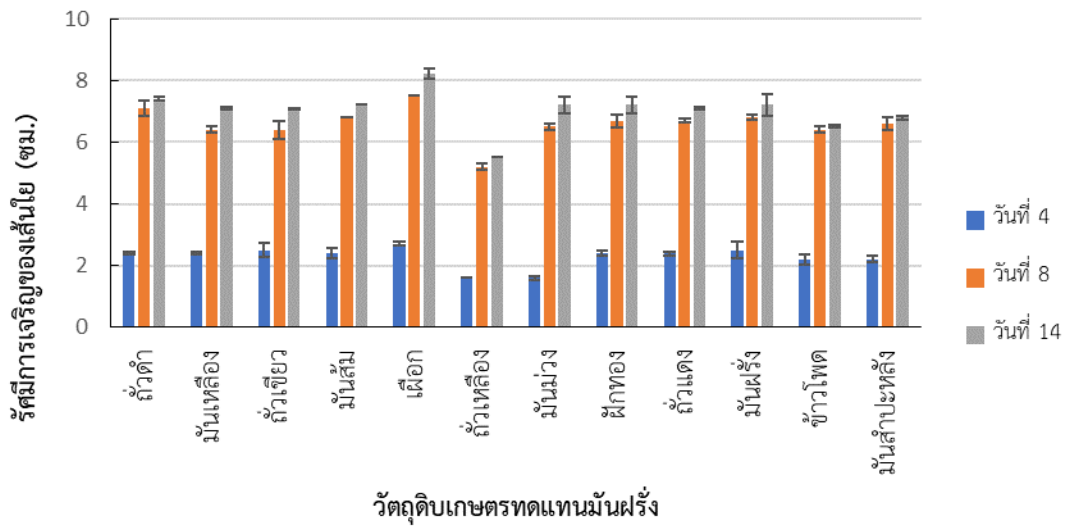
4.3 การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนธรรมชาติต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารวุ้นแข็ง

เมื่อศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนธรรมชาติ (วัตถุดิบทดแทนมันฝรั่ง) ในอาหารวุ้นแข็ง 12 สูตร ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าวัตถุดิบเกษตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารวุ้นแข็งมีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดดังนี้

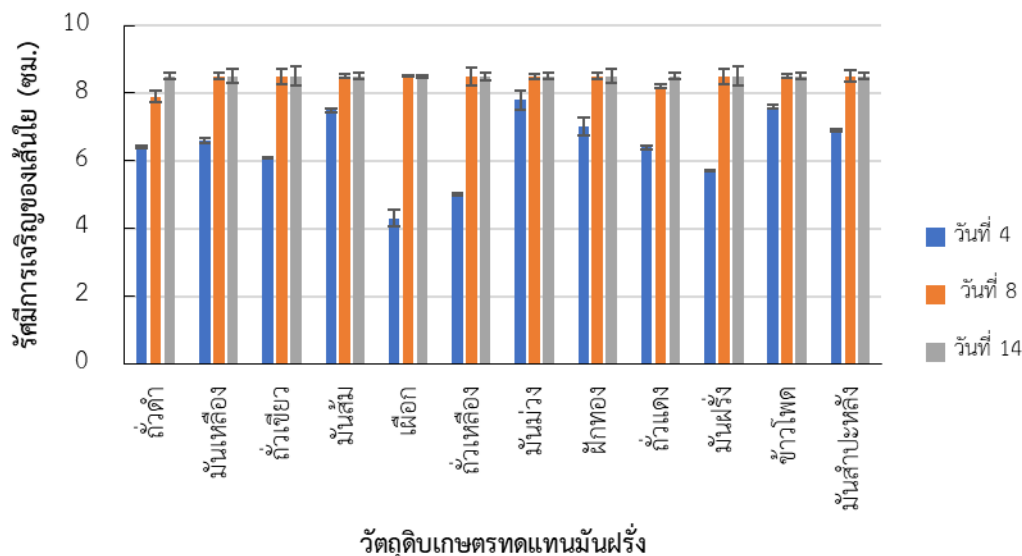
- 1) เห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) พบว่าวัตถุดิบการเกษตรต่างๆที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อในระยะเวลาสั้นไม่แตกต่างกันมาก โดยถั่วเขียวทำให้เส้นใยไมซีเลียมเจริญดีที่สุด ส่วนมันสำปะหลังทำให้มีการเจริญของเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อในระยะเวลาสั้นที่สุด
- 2) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) พบว่าวัตถุดิบการเกษตรที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อในระยะเวลาสั้นที่สุด ได้แก่ เผือก ส่วนถั่วเหลืองทำให้มีการเจริญของเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อในระยะเวลาสั้นที่สุด
- 3) เห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) พบว่าวัตถุดิบการเกษตรต่างๆที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อในระยะเวลาสั้น โดยมันม่วงทำให้เส้นใยไมซีเลียมเจริญดีที่สุด ส่วนถั่วดำและถั่วแดงที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อในระยะเวลาสั้นกว่า



ภาพที่ 4.7 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในอาหารวันแข็ง 12 สูตร ที่มีค่า pH 8.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C



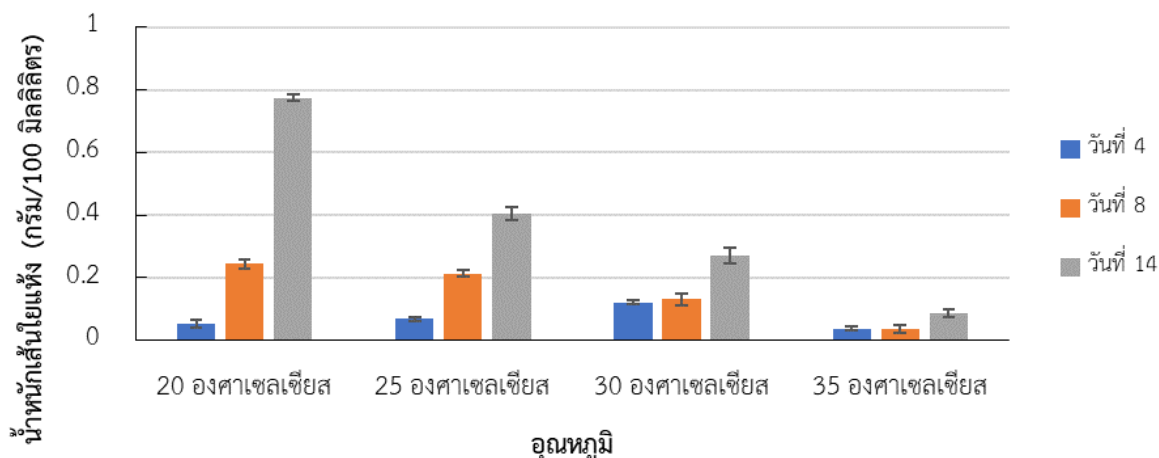
ภาพที่ 4.8 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงในอาหารวันแข็ง 12 สูตร ที่มีค่า pH 9.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C



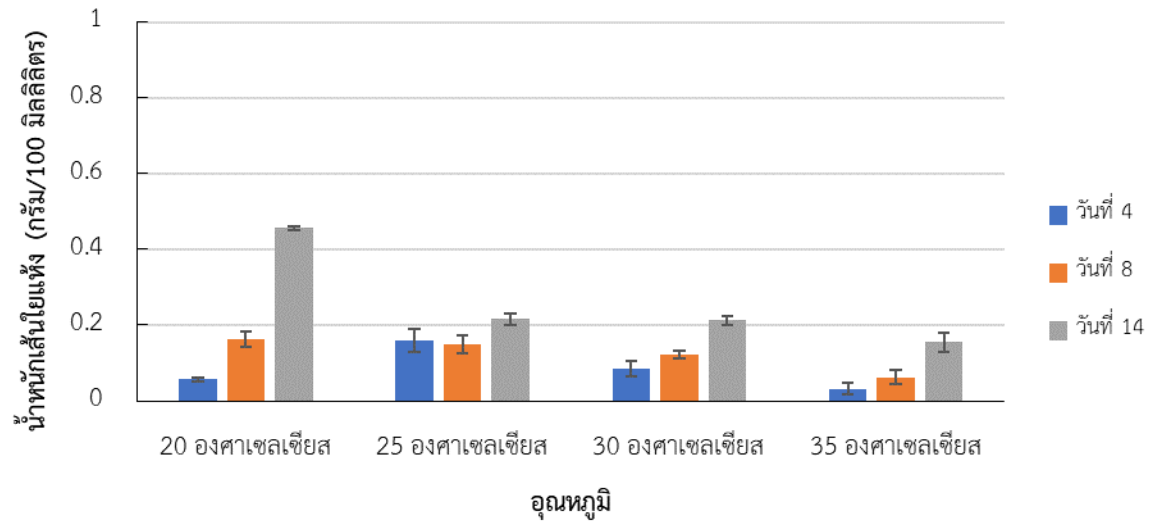
ภาพที่ 4.9 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนในอาหารวันแข็ง 12 สูตร ที่มีค่า pH 5.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C

4.4 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB)

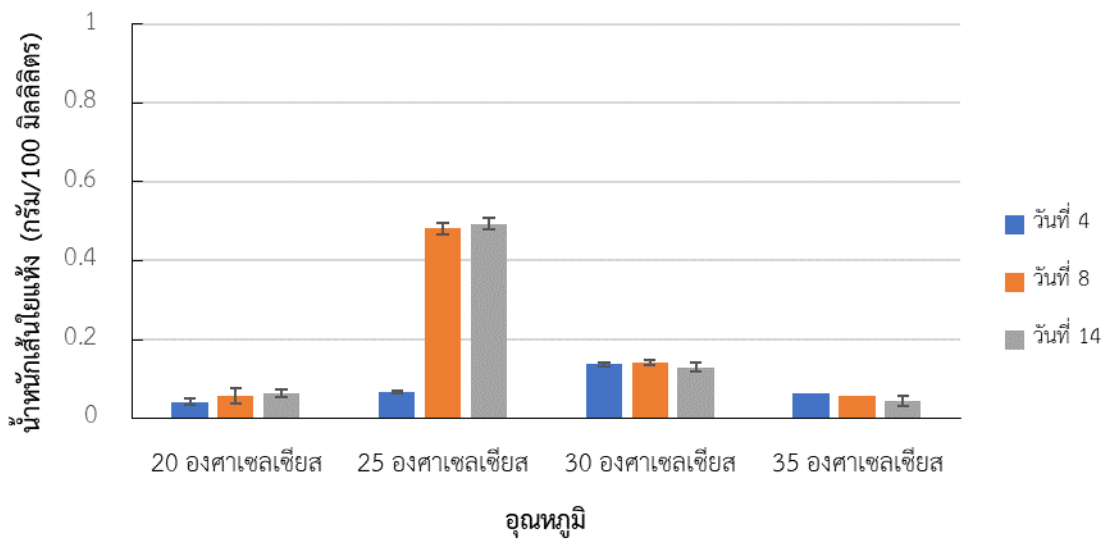
เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิการบ่มเชื้อ (20 25 30 35 °C) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) พบว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดทางยามีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมของเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinoceros*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) คือที่อุณหภูมิ 20 20 และ 25 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งทำให้การเจริญของเส้นใยมากในระยะเวลาอันสั้น (ภาพที่ 4.10-4.12)



ภาพที่ 4.10 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) เมื่อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที



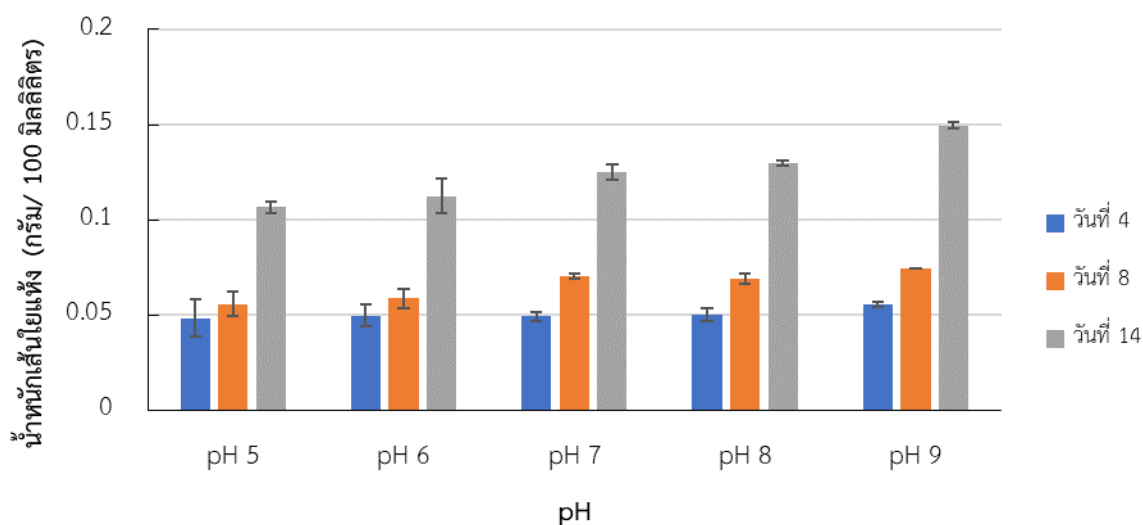
ภาพที่ 4.11 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) เมื่อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที



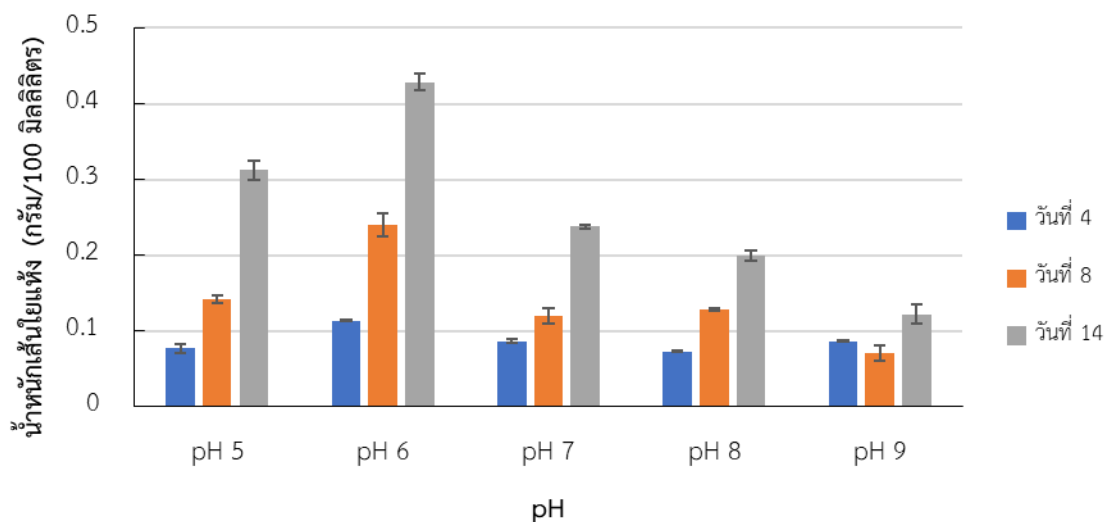
ภาพที่ 4.12 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) เมื่อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที

4.5 การศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างของอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียม

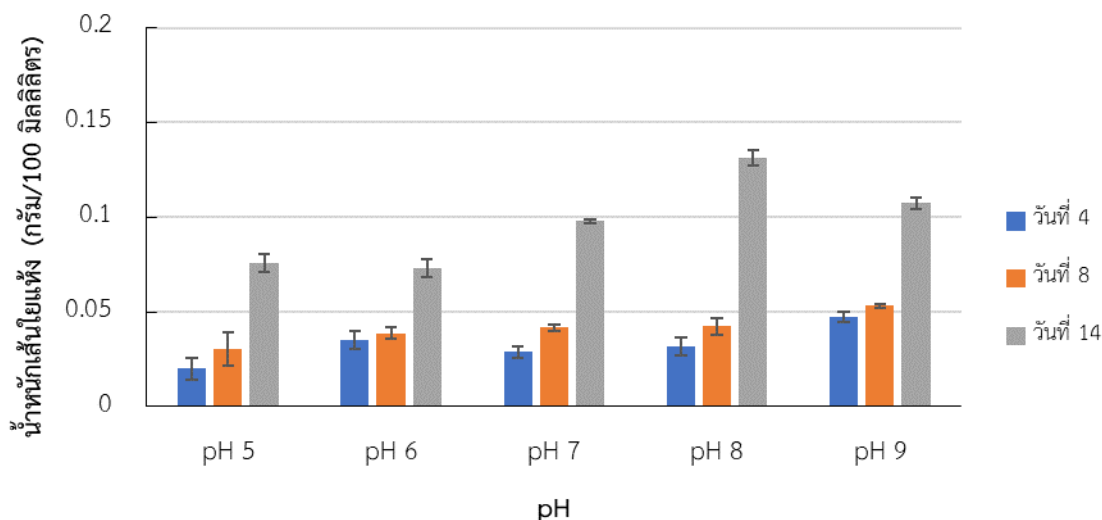
เมื่อศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH 5.0-9.0) ของอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าค่า pH ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดทางยามีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด ค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยในเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinoceros*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) คือที่ pH 9.0 pH 6.0 และ pH 8.0 ตามลำดับ ซึ่งทำให้การเจริญของเส้นใยมากในระยะเวลาอันสั้น (ภาพที่ 4.13-4.15)



ภาพที่ 4.13 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ที่มีค่า pH ต่างๆ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที



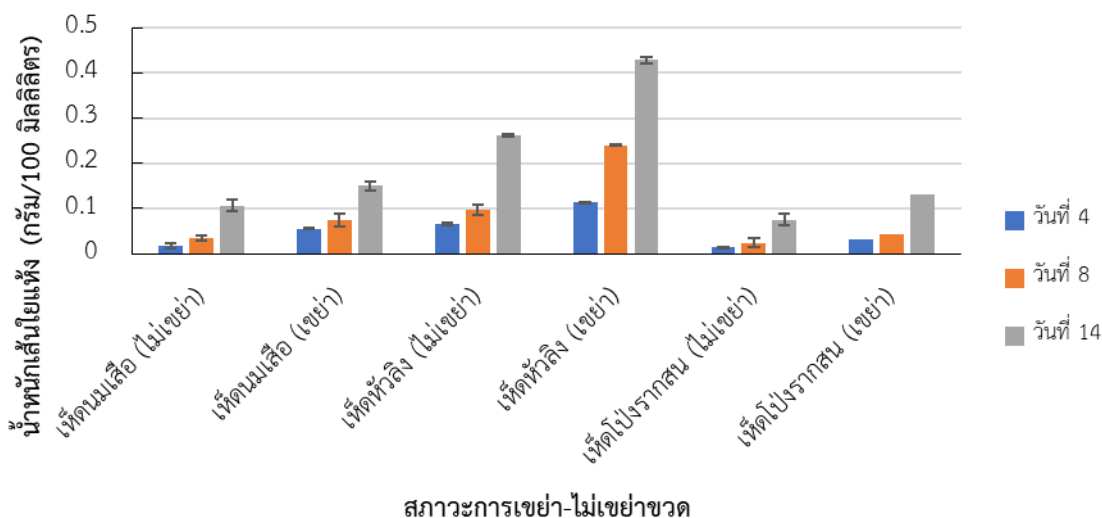
ภาพที่ 4.14 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ที่มีค่า pH ต่างๆ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที



ภาพที่ 4.15 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ที่มีค่า pH ต่างๆ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที

4.6 การศึกษาผลของสภาวะการเขย่า-ไม่เขย่าขบวนการหมักที่บรรจุอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม

เมื่อศึกษาผลของสภาวะการเขย่า-ไม่เขย่าขบวนการหมักที่บรรจุอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าการเขย่าขบวนการหมักระหว่างการเพาะเลี้ยงเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ส่งผลให้เส้นใยไมซีเลียมมีการเจริญดีกว่าการเพาะเลี้ยงแบบไม่เขย่า (ภาพที่ 4.16)

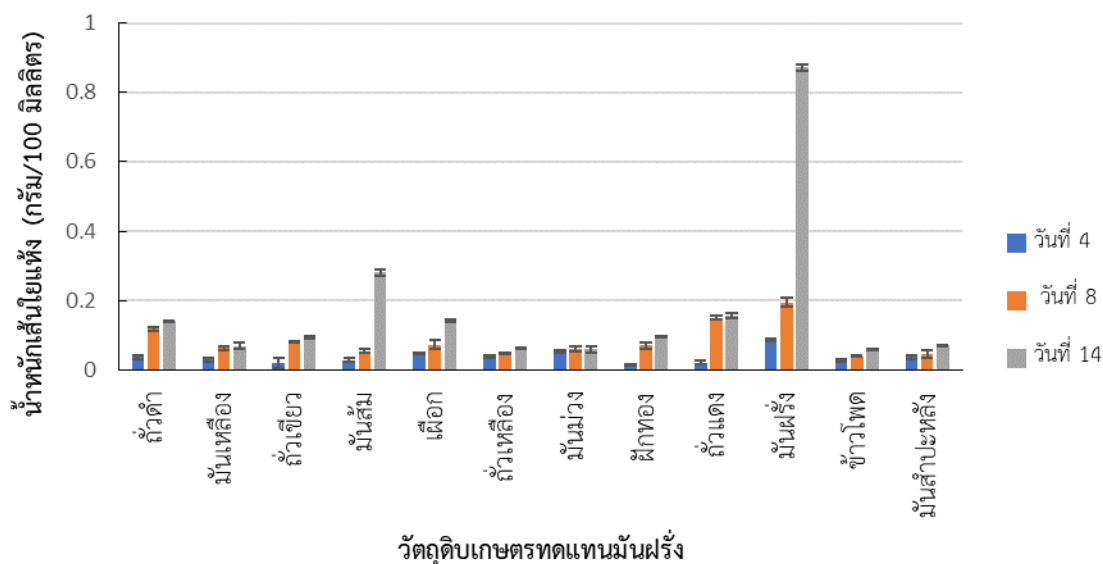


ภาพที่ 4.16 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดทางยา 3 สายพันธุ์ในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เปรียบเทียบกับแบบไม่เขย่า

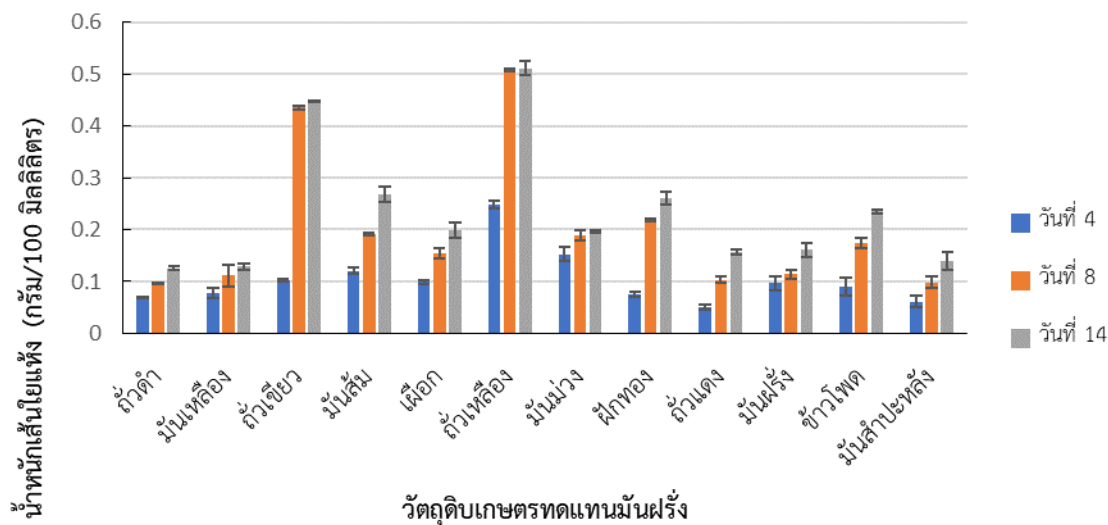
4.7 การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลว

เมื่อศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนธรรมชาติ (วัตถุดิบทดแทนมันฝรั่ง) ในอาหารเหลว 12 สูตร ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม ผลพบว่าวัตถุดิบเกษตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลวมีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดดังนี้

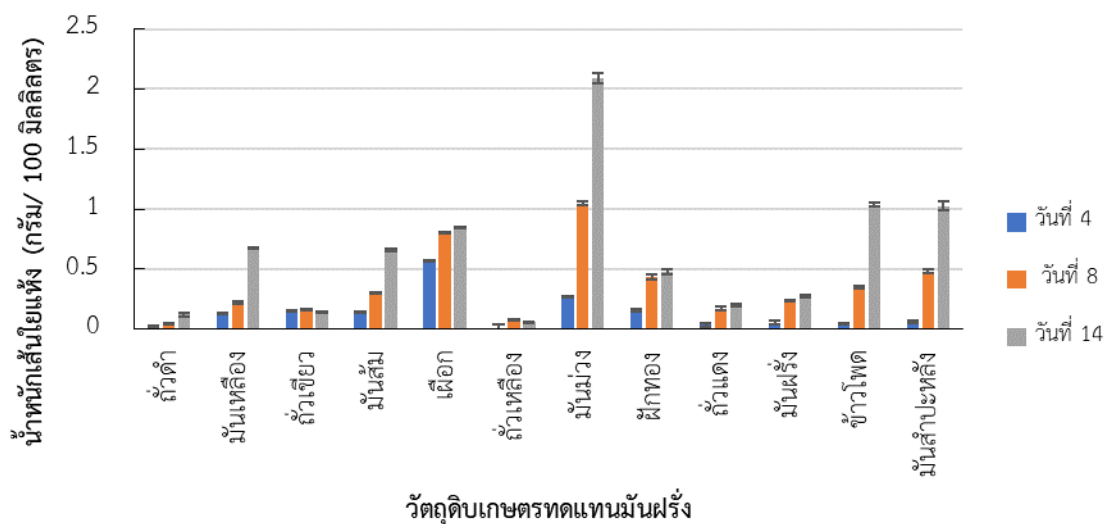
- 1) เห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) พบว่าวัตถุดิบเกษตรที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยในอาหารเหลวได้ดี ได้แก่ มันฝรั่ง มันสั้ม ถั่วแดง เผือก ถั่วดำ ตามลำดับ
- 2) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) พบว่าวัตถุดิบเกษตรที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยในอาหารเหลวได้ดี ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วเขียว มันสั้ม ฟักทอง ข้าวโพด เผือก มันม่วง ตามลำดับ
- 3) เห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) พบว่าวัตถุดิบเกษตรที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยในอาหารเหลวได้ดี ได้แก่ มันม่วง ข้าวโพด มันสำปะหลัง เผือก มันเหลือง มันสั้ม ฟักทอง มันฝรั่ง ตามลำดับ



ภาพที่ 4.17 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในอาหารเหลว 12 สูตร ที่มีค่า pH 9.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที



ภาพที่ 4.18 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงในอาหารเหลว 12 สูตร ที่มีค่า pH 6.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที



ภาพที่ 4.19 การเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโปรงากสนในอาหารเหลว 12 สูตร ที่มีค่า pH 8.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที

4.8 การศึกษาผลของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดทางยา

เมื่อศึกษาผลของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดทางยา พบว่าวัตถุดิบเกษตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลวมีผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมดังนี้

1) เห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) พบว่า สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีถั่วแดง ถั่วเหลือง ถั่วเขียวและถั่วดำเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity สูง (IC_{50} ต่ำ) ในขณะที่อาหารเหลวที่มีถั่วดำและเผือกเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP สูง สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่เจริญในอาหารเหลวที่มีมันม่วง ข้าวโพดและถั่วแดงมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Inhibition of BSA denaturation สูง อาหารเหลวที่มีถั่วเหลือง ถั่วแดงและมันฝรั่งทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Proteinase inhibition สูง อาหารเหลวที่มีเผือก มันม่วงและข้าวโพดทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดสูง ส่วนถั่วเหลือง มันฝรั่ง มันสั้มและเผือกทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมสูง

2) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) พบว่า สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีฟักทอง ถั่วเหลืองและข้าวโพดเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity สูง (IC_{50} ต่ำ) ในขณะที่อาหารเหลวที่มีถั่วแดง ถั่วดำเป็นมันเหลืองเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP สูง สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่เจริญในอาหารเหลวที่มีฟักทอง มันฝรั่งและมันสำปะหลังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Inhibition of BSA denaturation สูง อาหารเหลวที่มีถั่วเขียวและถั่วเหลืองทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Proteinase inhibition สูง อาหารเหลวที่มีมันสั้มและเผือกทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดสูง ส่วนถั่วแดงและข้าวโพดทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมสูง

3) เห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) พบว่า สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีถั่วแดงและถั่วเขียวเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity สูง (IC_{50} ต่ำ) ในขณะที่อาหารเหลวที่มีถั่วเขียวเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP สูง สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่เจริญในอาหารเหลวที่มีมันฝรั่ง ข้าวโพดและมันเหลืองมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Inhibition of BSA denaturation สูง อาหารเหลวที่มีถั่วเขียวและถั่วเหลืองทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Proteinase inhibition สูง อาหารเหลวที่มีฟักทอง มันสำปะหลังและมันเหลืองทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดสูง ส่วนมันสำปะหลัง ถั่วเขียวและฟักทองทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมสูง

ตารางที่ 4.1ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ ค่า pH 9.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที

สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือที่เพาะเลี้ยงในแหล่งคาร์บอนต่างๆ	DPPH scavenging activity (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	FRAP (มิลลิโมลาร์ Fe ²⁺ /กรัมสารสกัด)	Inhibition of BSA denaturation (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	Proteinase inhibition (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	Anticancer Lung cell line (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	Anticancer Breast cell line (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
ถั่วดำ	70.77±2.24	2461.07±19.60	155.53±4.37	75.86±2.90	12.08±0.96	14.30±0.28
มันเหลือง	160.06±5.78	935.29±10.38	277.59±5.99	176.00±4.23	35±0.74	27.65±0.59
ถั่วเขียว	67.18±4.33	1004.31±15.73	255.59±3.07	75.86±3.68	40.59±0.26	24.10±0.16
มันส้ม	98.55±3.50	1411.30±18.09	322.50±4.55	93.62±2.54	14.31±0.30	12.10±0.88
เผือก	166.78±5.08	2007.66±9.56	641.23±6.72	200.00±3.91	11.78±0.47	12.75±0.64
ถั่วเหลือง	66.25±4.69	842.28±12.80	214.58±3.05	61.97±4.32	13.77±0.53	11.96±0.81
มันม่วง	171.58±3.03	1611.05±11.22	126.62±3.02	220.00±4.94	11.38±0.67	13.03±0.65
ฝักทอง	95.40±2.66	1125.34±16.51	398.73±5.61	220.00±3.63	32.89±0.20	25.21±0.18
ถั่วแดง	54.70±2.41	1187.07±14.93	204.19±5.79	64.71±2.70	31.40±0.58	23.98±0.52
มันฝรั่ง	74.29±3.11	509.89±9.44	685.12±6.97	67.69±2.62	12.95±0.87	11.25±0.42
ข้าวโพด	107.43±5.17	1048.02±12.82	153.57±4.43	176.00±40.19	11.74±0.76	13.57±0.13
มันสำปะหลัง	112.50±4.95	534.64±6.36	188.40±6.21	162.96±3.31	37±0.71	29±0.49

ตารางที่ 4.2 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิงที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ ค่า pH 6.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 20 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที

สารสกัดจาก เส้นใยไมซี เลียมเห็ด หัวลิงที่เพาะ เลี้ยงในแหล่ง คาร์บอนต่างๆ	DPPH scavenging activity (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	FRAP (มิลลิโม ลาร์ Fe ²⁺ / กรัมสารสกัด)	Inhibition of BSA denaturation (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	Proteinase inhibition (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	Anticancer Lung cell line (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	Anticancer Breast cell line (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)
ถั่วดำ	90.00±0.15	2038.17±12.84	308.87±0.45	176.00±2.37	12.21±0.01	15.90±0.64
มันเหลือง	98.96±0.89	1986.73±10.25	702.88±6.90	440.00±3.63	11.90±0.47	15.54±0.18
ถั่วเขียว	73.61±2.77	925.43±6.12	223.32±7.75	68.75±3.60	12.13±0.86	13.38±0.61
มันส้ม	86.41±4.92	1500.67±11.48	235.81±5.54	118.92±4.09	10.35±0.16	15.90±0.69
เผือก	78.19±5.27	1384.18±8.57	246.96±3.83	231.58±5.44	10.98±0.55	16.02±0.30
ถั่วเหลือง	67.56±3.85	783.67±7.39	233.80±4.48	77.19±2.05	19.24±0.14	16.43±0.28
มันม่วง	80.30±4.46	1586.27±9.86	246.96±6.48	133.33±4.96	22.34±0.34	30.62±0.17
ฝักทอง	57.88±3.14	1814.94±10.62	142.59±3.36	112.82±3.77	11.86±0.35	26.34±0.58
ถั่วแดง	184.88±6.49	2121.06±12.99	190.03±5.59	191.30±3.65	12.32±0.78	8.74±0.91
มันฝรั่ง	130.32±4.75	1195.88±9.21	154.65±4.32	244.44±5.13	15.42±0.56	14.31±0.67
ข้าวโพด	71.62±3.34	1958.51±8.98	349.20±7.45	200.00±2.02	11.21±0.33	10.59±0.43
มันสำปะหลัง	90.00±4.29	1555.15±8.88	163.90±0.12	366.67±4.41	20.72±0.65	27.80±0.35

ตารางที่ 4.3ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ ค่า pH 8.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C ในเครื่องควบคุมแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที

สารสกัดจาก เส้นใยไมซี เลียมเห็ดโป่ง รากสนที่เพาะ เลี้ยงในแหล่ง คาร์บอนต่างๆ	DPPH scavenging activity (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	FRAP (มิลลิโม ลาร์ Fe ²⁺ / กรัมสารสกัด)	Inhibition of BSA denaturation (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	Proteinase inhibition (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	Anticancer Lung cell line (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)	Anticancer Breast cell line (IC ₅₀ : มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)
ถั่วดำ	76.93±5.04	198.53±6.38	884.27±0.93	122.22±5.74	19.16±0.81	21.20±0.77
มันเหลือง	107.91±3.53	1638.59±10.31	283.33±7.79	183.33±6.95	11.37±0.39	12.86±0.04
ถั่วเขียว	58.59±4.92	3107.85±17.24	1740.48±13.51	137.50±4.01	13.50±0.23	11.32±0.19
มันส้ม	105.06±4.73	359.69±7.46	668.60±9.84	1100.00±8.72	20.83±0.29	19.35±0.41
เผือก	123.57±5.20	384.75±6.40	1544.37±12.26	162.96±7.15	17.94±0.52	21.57±0.32
ถั่วเหลือง	77.18±3.94	382.68±8.11	3655.00±14.82	72.13±3.97	13.99±0.07	12.67±0.59
มันม่วง	90.00±3.27	590.80±7.71	382.06±5.49	258.82±6.26	13.78±0.38	41.57±0.87
ฝักทอง	152.88±7.76	832.72±10.57	1337.20±8.87	209.52±4.44	10.83±0.25	11.58±0.27
ถั่วแดง	54.20±4.08	560.45±6.68	357.17±5.98	63.77±2.61	14.46±0.82	12.27±0.42
มันฝรั่ง	76.19±5.23	332.74±5.89	207.28±3.66	74.58±3.10	12.25±0.03	23.65±0.18
ข้าวโพด	141.96±5.22	412.64±9.80	280.43±5.85	1100.00±6.49	18.14±0.80	16.90±0.26
มันสำปะหลัง	73.61±3.83	735.29±8.06	616.01±7.07	78.57±7.14	11.11±0.17	10.07±0.69

บทที่ 5 อภิปรายและวิจารณ์ผล

การศึกษาผลของอุณหภูมิการบ่มเชื้อและค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารวุ้นแข็งและอาหารเหลวต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) พบว่าอุณหภูมิและค่า pH ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดทั้งในอาหารวุ้นแข็งและอาหารเหลวมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์เห็ดและสภาวะการเลี้ยง (อาหารวุ้นแข็งหรืออาหารเหลว) จากการศึกษาผลของอุณหภูมิการบ่มเชื้อ (20 25 30 35 °C) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมของเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) คือที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH 5.0-9.0) ของอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยในเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) คือที่ pH 8.0 pH 9.0 และ pH 5.0 ตามลำดับ ซึ่งทำให้การเจริญของเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อในระยะเวลาอันสั้น โดยงานวิจัยของ Lai et al. (2011) ที่พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือ คือ 30 องศาเซลเซียส ค่า pH 6-7 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับเห็ดหัวลิง คือ 25 องศาเซลเซียส ค่า pH 4.0-6.0 (Gonkhom et al., 2022, Imtiaz et al., 2008) ในขณะที่ Jawala et al. (2022) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเห็ดหัวลิง คือ 25 องศาเซลเซียส ค่า pH 8.0 สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสน คือ 25-35 องศาเซลเซียส ค่า pH 4-7 (Jo et al., 2016)

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิการบ่มเชื้อ (20 25 30 35 °C) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมของเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) คือที่อุณหภูมิ 20 20 และ 25 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH 5.0-9.0) ของอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยในเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) คือที่ pH 9.0 pH 6.0 และ pH 8.0 ตามลำดับ ซึ่งทำให้การเจริญของเส้นใยมากในระยะเวลาอันสั้น ในขณะที่ผลการวิจัยของ Lai et al. (2014) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือ คือ 25 องศาเซลเซียส ค่า pH 6-7 สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิง คือ 25 องศาเซลเซียส ค่า pH 5 (Ehlers and Schnitzler, 1998)

จากการศึกษาผลของสภาวะการเขย่า-ไม่เขย่าขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าการเขย่าขวดรูปชมพู่ระหว่างการเพาะเลี้ยงเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ส่งผลให้เส้นใยไมซีเลียมมีการเจริญดีกว่าการเพาะเลี้ยงแบบไม่เขย่า ผลการวิจัยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sutthisa and

Sanoamuang (2014) ที่พบว่าการเพาะเลี้ยง *Cordyceps pseudomilitaris* BCC31665 ในอาหารเหลว PDB ในสภาวะเขย่าจะทำให้เส้นใยไมซีเลียมมีการเจริญดีกว่าการเลี้ยงในสภาวะไม่เขย่า (static) และยังพบว่าการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือในสภาวะเขย่าช่วยกระตุ้นฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (โดยวิธี DPPH TEAC FRAP CUPRAC) ได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงในสภาวะไม่เขย่า

การศึกษามูลของแหล่งคาร์บอนธรรมชาติ (วัตถุดิบทดแทนมันฝรั่ง) ในอาหารวุ้นแข็ง 12 สูตร และอาหารเหลว 12 สูตร ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเส้นใยเห็ดแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์เห็ด รวมทั้งสภาวะการเลี้ยง (อาหารวุ้นแข็งหรืออาหารเหลว) จากการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนธรรมชาติ (วัตถุดิบทดแทนมันฝรั่ง) ในอาหารวุ้นแข็ง 12 สูตร ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าเส้นใยไมซีเลียมของเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เจริญดีที่สุดในการอาหารที่มีถั่วเขียวเป็นองค์ประกอบ แต่เจริญได้ช้าที่สุดในอาหารที่มีมันส้มเป็นองค์ประกอบ เส้นใยไมซีเลียมของเห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) เจริญดีที่สุดในการอาหารที่มีเผือกเป็นองค์ประกอบ แต่เจริญได้ช้าที่สุดในอาหารที่มีถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบ เส้นใยไมซีเลียมของเห็ดโปรงากสน (*Poria Cocos*) เจริญดีที่สุดในการอาหารที่มีมันม่วงเป็นองค์ประกอบ แต่เจริญได้ช้าที่สุดในอาหารที่มีถั่วดำเป็นองค์ประกอบ การศึกษามูลของแหล่งคาร์บอนธรรมชาติ (วัตถุดิบทดแทนมันฝรั่ง) ในอาหารเหลว 12 สูตร ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าวัตถุดิบการเกษตรที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) ในอาหารเหลวได้ดี ได้แก่ มันฝรั่ง มันส้ม ถั่วแดง เผือก ถั่วดำ ตามลำดับ วัตถุดิบการเกษตรที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยเห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) ในอาหารเหลวได้ดี ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วเขียว มันส้ม ฟักทอง ข้าวโพด เผือก มันม่วง ตามลำดับ วัตถุดิบการเกษตรที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยเห็ดโปรงากสน (*Poria Cocos*) ในอาหารเหลวได้ดี ได้แก่ มันม่วง ข้าวโพด มันสำปะหลัง เผือก มันเหลือง มันส้ม ฟักทอง มันฝรั่ง ตามลำดับ

จากการศึกษามูลของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดทางยา พบว่าสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีถั่วแดง ถั่วเหลือง ถั่วเขียวและถั่วดำเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity สูง (IC_{50} ต่ำ) ในขณะที่อาหารเหลวที่มีถั่วดำและเผือกเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP สูง สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่เจริญในอาหารเหลวที่มีมันม่วง ข้าวโพดและถั่วแดงมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Inhibition of BSA denaturation สูง อาหารเหลวที่มีถั่วเหลือง ถั่วแดงและมันฝรั่งทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Proteinase inhibition สูง อาหารเหลวที่มีเผือก มันม่วงและข้าวโพดทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดสูง ส่วนถั่วเหลือง มันฝรั่ง มันส้มและเผือกทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมสูง

สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีฟักทอง ถั่วเหลืองและข้าวโพดเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity สูง (IC_{50} ต่ำ)

ในขณะที่อาหารเหลวที่มีถั่วแดง ถั่วดำและมันเหลืองเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP สูง สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่เจริญในอาหารเหลวที่มีฟักทอง มันฝรั่งและมันสำปะหลังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Inhibition of BSA denaturation สูง อาหารเหลวที่มีถั่วเขียวและถั่วเหลืองทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Proteinase inhibition สูง อาหารเหลวที่มีมันส้มและเผือกทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดสูง ส่วนถั่วแดงและข้าวโพดทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมสูง

สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีถั่วแดงและถั่วเขียวเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity สูง (IC_{50} ต่ำ) ในขณะที่อาหารเหลวที่มีถั่วเขียวเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP สูง สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่เจริญในอาหารเหลวที่มีมันฝรั่ง ข้าวโพดและมันเหลืองมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Inhibition of BSA denaturation สูง อาหารเหลวที่มีถั่วเขียวและถั่วเหลืองทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Proteinase inhibition สูง อาหารเหลวที่มีฟักทอง มันสำปะหลังและมันเหลืองทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดสูง ส่วนมันสำปะหลัง ถั่วเขียวและฟักทองทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมสูง

ผลการวิจัยครั้งนี้บ่งชี้ว่าพืชหัวที่ปลูกในท้องถิ่นจะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมทดแทนมันฝรั่ง อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นฤทธิ์ทางชีวภาพในเส้นใยไมซีเลียมได้

บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิการบ่มเชื้อ (20 25 30 35 °C) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมในอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมของเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) คือที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งทำให้การเจริญของเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อในระยะเวลาอันสั้น

จากการศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH 5.0-9.0) ของอาหารวุ้นแข็งมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDA) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยในเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) คือที่ pH 8.0 pH 9.0 และ pH 5.0 ตามลำดับ ซึ่งทำให้การเจริญของเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อในระยะเวลาอันสั้น

จากการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนธรรมชาติ (วัตถุดิบทดแทนมันฝรั่ง) ในอาหารวุ้นแข็ง 12 สูตร ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าเส้นใยไมซีเลียมของเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เจริญดีที่สุดในอาหารที่มีถั่วเขียวเป็นองค์ประกอบ แต่เจริญได้ช้าที่สุดในอาหารที่มีมันสำปะหลังเป็นองค์ประกอบ เส้นใยไมซีเลียมของเห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) เจริญดีที่สุดในอาหารที่มีเผือกเป็นองค์ประกอบ แต่เจริญได้ช้าที่สุดในอาหารที่มีถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบ เส้นใยไมซีเลียมของเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) เจริญดีที่สุดในอาหารที่มีมันม่วงเป็นองค์ประกอบ แต่เจริญได้ช้าที่สุดในอาหารที่มีถั่วดำเป็นองค์ประกอบ

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิการบ่มเชื้อ (20 25 30 35 °C) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมของเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) คือที่อุณหภูมิ 20 20 และ 25 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งทำให้การเจริญของเส้นใยมากในระยะเวลาอันสั้น

จากการศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH 5.0-9.0) ของอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยในเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) คือที่ pH 9.0 pH 6.0 และ pH 8.0 ตามลำดับ ซึ่งทำให้การเจริญของเส้นใยมากในระยะเวลาอันสั้น

จากการศึกษาผลของสภาวะการเขย่า-ไม่เขย่าขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารเหลวมันฝรั่งเด็กซ์โทรส (PDB) ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าการเขย่าขวดรูปชมพู่ระหว่างการเพาะเลี้ยงเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ส่งผลให้เส้นใยไมซีเลียมมีการเจริญดีกว่าการเพาะเลี้ยงแบบไม่เขย่า

จากการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนธรรมชาติ (วัตถุดิบทดแทนมันฝรั่ง) ในอาหารเหลว 12 สูตร ต่อการเจริญของเส้นใยไมซีเลียม พบว่าวัตถุดิบการเกษตรที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยเห็ดนมเสือ (*Lignosus*

rhinocerus) ในอาหารเหลวได้ดี ได้แก่ มันฝรั่ง มันสั้ม ถั่วแดง เหือก ถั่วดำ ตามลำดับ วัตถุดิบการเกษตรที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยเห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) ในอาหารเหลวได้ดี ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วเขียว มันสั้ม ฟักทอง ข้าวโพด เหือก มันม่วง ตามลำดับ วัตถุดิบการเกษตรที่ทำให้มีการเจริญของเส้นใยเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) ในอาหารเหลวได้ดี ได้แก่ มันม่วง ข้าวโพด มันสำปะหลัง เหือก มันเหลือง มันสั้ม ฟักทอง มันฝรั่ง ตามลำดับ

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดทางยา พบว่าสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีถั่วแดง ถั่วเหลือง ถั่วเขียวและถั่วดำเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity สูง (IC_{50} ต่ำ) ในขณะที่อาหารเหลวที่มีถั่วดำและเหือกเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP สูง สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่เจริญในอาหารเหลวที่มีมันม่วง ข้าวโพดและถั่วแดงมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Inhibition of BSA denaturation สูง อาหารเหลวที่มีถั่วเหลือง ถั่วแดงและมันฝรั่งทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Proteinase inhibition สูง อาหารเหลวที่มีเหือก มันม่วงและข้าวโพดทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดสูง ส่วนถั่วเหลือง มันฝรั่ง มันสั้มและเหือกทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมสูง

สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีฟักทอง ถั่วเหลืองและข้าวโพดเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity สูง (IC_{50} ต่ำ) ในขณะที่อาหารเหลวที่มีถั่วแดง ถั่วดำและมันเหลืองเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP สูง สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่เจริญในอาหารเหลวที่มีฟักทอง มันฝรั่งและมันสำปะหลังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Inhibition of BSA denaturation สูง อาหารเหลวที่มีถั่วเขียวและถั่วเหลืองทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Proteinase inhibition สูง อาหารเหลวที่มีมันสั้มและเหือกทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดสูง ส่วนถั่วแดงและข้าวโพดทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมสูง

สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีถั่วแดงและถั่วเขียวเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity สูง (IC_{50} ต่ำ) ในขณะที่อาหารเหลวที่มีถั่วเขียวเป็นส่วนประกอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP สูง สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมที่เจริญในอาหารเหลวที่มีมันฝรั่ง ข้าวโพดและมันเหลืองมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Inhibition of BSA denaturation สูง อาหารเหลวที่มีถั่วเขียวและถั่วเหลืองทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยวิธี Proteinase inhibition สูง อาหารเหลวที่มีฟักทอง มันสำปะหลังและมันเหลืองทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งปอดสูง ส่วนมันสำปะหลัง ถั่วเขียวและฟักทองทำให้สารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมมีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมสูง

6.2 ประโยชน์และการประยุกต์ใช้

6.2.1 ได้กระบวนการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมที่เหมาะสมสำหรับเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารวุ้นแข็ง

6.2.2 ได้กระบวนการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมที่เหมาะสมสำหรับเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารเหลว

6.2.3 ได้กระบวนการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมในอาหารเหลวที่เหมาะสมในการช่วยกระตุ้นฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด

6.2.4 ได้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดทางยา (*Hericium erinaceus*, *Lignosus rhinocerus* and *Poria Cocos*) ด้วยวัตถุดิบทดแทนมันฝรั่งเพื่อกระตุ้นการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยเห็ดจะช่วยส่งเสริมศักยภาพการเพาะเห็ดทางยาได้มากยิ่งขึ้น อีกทั้งลดต้นทุนค่าใช้จ่ายในการเพาะเห็ดลง โดยพัฒนาสูตรอาหารวุ้นที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยเห็ดได้ดีและได้สูตรอาหารเหลวสำหรับการเพาะเลี้ยงแบบ submerge culture ที่กระตุ้นการผลิตสารสำคัญทางยาเพื่อให้มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง

6.3 ผลดำเนินงานของสิ่งส่งมอบ

6.3.1 องค์ความรู้จากงานวิจัย

ปัจจัยทางชีวภาพและแหล่งคาร์บอนธรรมชาติส่งต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมของเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) เห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) ในอาหารวุ้นแข็ง โดยปัจจัยทางชีวภาพและแหล่งคาร์บอนธรรมชาติที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารวุ้นแข็ง มีดังตารางที่ 6.1

ตารางที่ 6.1 ปัจจัยทางชีวภาพและแหล่งคาร์บอนธรรมชาติที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารวุ้นแข็ง

สายพันธุ์เห็ด	เห็ดนมเสือ	เห็ดหัวลิง	เห็ดโป่งรากสน
อุณหภูมิ	30 °C	30 °C	30 °C
ค่า pH	8.0	9.0	5.0
แหล่งคาร์บอนธรรมชาติ	ถั่วเขียว	เผือก	มันม่วง

ปัจจัยทางชีวภาพและแหล่งคาร์บอนธรรมชาติส่งต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยไมซีเลียมและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเห็ดนมเสือ (*Lignosus rhinocerus*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) เห็ดโป่งรากสน (*Poria Cocos*) ในอาหารเหลว โดยปัจจัยทางชีวภาพและแหล่งคาร์บอนธรรมชาติที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารเหลว มีดังตารางที่ 6.2 และ 6.3

ตารางที่ 6.2 ปัจจัยทางชีวภาพและแหล่งคาร์บอนธรรมชาติที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใยไมซีเลียมเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารเหลว

สายพันธุ์เห็ด	เห็ดนมเสือ	เห็ดหัวลิง	เห็ดโป่งรากสน
อุณหภูมิ	20 °C	20 °C	25 °C
ค่า pH	9.0	6.0	8.0
การเขย่า-ไม่เขย่า	เขย่า	เขย่า	เขย่า
แหล่งคาร์บอนธรรมชาติ	มันฝรั่ง มันสั่ม ถั่วแดง เผือก ถั่วดำ	ถั่วเหลือง ถั่วเขียว มันสั่ม ฟักทอง ข้าวโพด	มันม่วง ข้าวโพด มัน สำปะหลัง เผือก มันเหลือง

ตารางที่ 6.3 แหล่งคาร์บอนธรรมชาติและปัจจัยทางชีวภาพที่เหมาะสมในการกระตุ้นฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเส้นใยไมซีเลียมเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารเหลว

ฤทธิ์ทางชีวภาพ	เห็ดนมเสือ (20 °C, pH 9.0, เขย่า)	เห็ดหัวลิง (20 °C, pH 6.0, เขย่า)	เห็ดโป่งรากสน (25 °C, pH 8.0, เขย่า)
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดย วิธี DPPH scavenging activity	ถั่วแดง ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วดำ	ฟักทอง ถั่วเหลืองและ ข้าวโพด	ถั่วแดงและถั่วเขียว
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดย วิธี FRAP	ถั่วดำและเผือก	ถั่วแดง ถั่วดำและมัน เหลือง	ถั่วเขียว
ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดย วิธี Inhibition of BSA denaturation	มันม่วง ข้าวโพดและถั่ว แดง	ฟักทอง มันฝรั่งและมัน สำปะหลัง	มันฝรั่ง ข้าวโพดและมัน เหลือง
ฤทธิ์ต้านการอักเสบโดย วิธี Proteinase inhibition	ถั่วเหลือง ถั่วแดงและมัน ฝรั่ง	ถั่วเขียวและถั่วเหลือง	ถั่วเขียวและถั่วเหลือง
ฤทธิ์ต้านมะเร็งปอด	เผือก มันม่วงและ ข้าวโพด	มันสั่มและเผือก	ฟักทอง มันสำปะหลังและ มันเหลือง
ฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม	ถั่วเหลือง มันฝรั่ง มันสั่ม และเผือก	ถั่วแดงและข้าวโพด	มันสำปะหลัง ถั่วเขียวและ ฟักทอง

6.3.2 ผลงานตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

อยู่ระหว่างร่างบทความ (manuscript) ขณะนี้ร่างได้ประมาณ 10% คาดว่าจะแล้วเสร็จภายใน 31 ธ.ค.

2566

บรรณานุกรม

- 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.
- Avtonomova, A.V., Bakanov, A.V., Shuktueva, M.I., Vinokurov, V.A., Popova, O.V., Usov, A.I., Krasnopol'skaia, L.M. 2012. Submerged cultivation and chemical composition of *Hericium erinaceus* mycelium. Antibiotics and Chemotherapy 57(7-8): 7-11.
- 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>.
- Badalyan, S.M. 2003. Edible and medicinal higher Basidiomycetes mushrooms as a source of natural antioxidants. International Journal of Medicinal Mushrooms 5: 153–163.
- 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 nutraceuticals 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.
- Chong, P.S., Fung, M.L., Wong, K.H., and Lim, L.W. 2019. Therapeutic potential of *Hericium erinaceus* for depressive disorder. International Journal of Molecular Sciences 21(1):163. doi:10.3390/ijms21010163
- 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 Sheikh, 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.
- Elisashvili, V. 2012. Submerged cultivation of medicinal mushrooms: bioprocesses and products. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 14(3): 211–239.
- 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.
- Fazenda, M.L., Seviour, R., McNeil, B., and Harvey, L.M., 2008. Submerged culture fermentation of “higher fungi”: the macrofungi. *Advances in Applied Microbiology* 63(7): 33–103.
- Feng, Y.L., Lei, P. Tian, T., Yin, L., Chen, D.Q., Chen, H., Mei, Q., Zhao, Y.Y., and Lin, R.C. 2013. Diuretic activity of some fractions of the epidermis of *Poria cocos*. *Journal of Ethnopharmacology* 150(3): 1114–1118.
- 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., Pękała, E., Kaczmarczyk, P., Piętko, J., and Jaszek, M. 2020. Medicinal potential of mycelium and fruiting bodies of an arboreal mushroom *Fomitopsis officinalis* in therapy of lifestyle diseases. *Scientific reports* 10(20081): 1-12.
- Gonkhom, D., Luangharn, T., Hyde, K.D., Stadler, M., and Thongklang, N. 2022. Optimal conditions for mycelial growth of medicinal mushrooms belonging to the genus *Hericium*. *Mycological Progress* 21: 82. doi: 10.1007/s11557-022-01829-6
- 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.
- Hu, G.S., Huang, C.G., Zhang, Y., Xiao, W., and Jia, J.M. 2017. Accumulation of biomass and four triterpenoids in two-stage cultured *Poria cocos* mycelia and diuretic activity in rats. Chinese Journal of Natural Medicines 15(4): 265–270.
- Huang, N. 1999. Identification of the scientific name of hurulingzhi. Acta Edulis Fungi 6: 32–34.
- Imtiaj, A., Jayasinghe, C., Lee, G.W., Shim, M.J., Rho, H.S., Lee, H.S., Hur, H., Lee, M.W., Lee, U.Y., and Lee, T.S. 2008. Vegetative growth of four strains of *Hericium erinaceus* collected from different habitats. Mycobiology 36(2): 88-92.
- 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.
- Jawala, S., Narender, S., Kumar, C.R., Yadav N.K., and Chauhan R.S. 2022. Effect of temperature and pH on mycelial growth of monkey head mushroom (*Hericium erinaceus*). Plant Disease Research 37(1): 64-69.

- Jo, W.S., Park, J.R., Oh, S.R., Kang, M.G., Kim, W.H., and Park, S.C. Culture conditions for mycelial growth of *Poria cocos*. *Journal of Mushrooms* 14(1): 6-13.
- 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.
- Krzyczkowski, W., Malinowska, E., and Herold, F. 2010. Erinacine A biosynthesis in submerged cultivation of *Hericium erinaceum*: quantification and improved cultivation. *Engineering in Life Sciences* 10: 446-457.
- 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., Salleh, S.M., Daud, F., Zainal, Z., Othman, A.M., and Saleh, N.M. 2014. Optimization of submerged culture conditions for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides from *Lignosus rhinocerus*. *Sains Malaysiana* 43(1): 73-80.
- Lai, W.H., Siti Murni, M.J., Daud, F., Othman, A.M., and Saleh, N.M. 2011. Optimal culture conditions for mycelial growth of *Lignosus rhinocerus*. *Mycobiology* 39(2): 92-95.
- 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.

- 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., Aminudin, N., Lee, H.B., Yap, K.C., and Sabaratnam, V. 2014. The potential of mycelium and culture broth of *Lignosus rhinocerotis* as substitutes for the naturally occurring sclerotium with regard to antioxidant capacity, cytotoxic effect, and low-molecular-weight chemical constituents. *PLoS One*. 9(7): e102509. doi: 10.1371/journal.pone.0102509
- 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.
- Letti, L.A., Vitola, F.M., Pereira, G.V., Karp, S.G., Medeiros, A.B., Costa, E.S., Bissoqui, L., and Soccol, C.R. 2018. Solid-state fermentation for the production of mushrooms. *Current advances in solid-state fermentation*. Ed. Pandey A., Larroche C., Soccol C.R. Elsevier, pp. 285-318.
- 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 defending system in sclerotia formation of *Polyporus umbellatus*. *Scientific Reports* 7(41283): 1-13.

- Li, I.C., Chang, H.H., Lin, C.H., Chen, W.P., Lu, T.H., Lee, L.Y., Chen, Y.W., Chen, Y.P., Chen, C.C., and Lin, D.P. 2020. Prevention of early alzheimer's disease by erinacine A-enriched *Hericium erinaceus* mycelia pilot double-blind placebo-controlled study. *Frontiers in Aging Neuroscience* 12:155. doi: 10.3389/fnagi.2020.00155
- Li, X., He, Y., Zeng, P., Liu, Y., Zhang, M., Hao, C., Wang, H., Lv, Z., and Zhang, L. 2018. Molecular basis for *Poria cocos* mushroom polysaccharide used as an antitumour drug in China. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 23(1): 4-20.
- 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 nasopharyngeal 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 and 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.
- Pérez-Chávez, A.M., Mayer, L., and Albertó, E.. 2019. Mushroom cultivation and biogas production: a sustainable reuse of organic resources. *Energy for Sustainable Development* 50: 50–60.
- 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.
- Ratto, D., Corana, F., Mannucci, B., Priori, E.C., Cobelli, F., Roda, E., Ferrari, B., Occhinegro, A., Di Iorio, C., De Luca, F., Cesaroni, V., Girometta, C., Bottone, M.G., Savino, E., Kawagishi, H., Rossi, P. 2019. *Hericium erinaceus* improves recognition memory and induces hippocampal and cerebellar neurogenesis in frail mice during aging. *Nutrients* 11(4):715. doi: 10.3390/nu11040715
- 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.
- Rios, J.L. 2011. Chemical Constituents and Pharmacological Properties of *Poria cocos*. *Planta Medica* 77(7): 681-91.
- Rodrigues, D.M.F., Freitas, A.C., Rocha-Santos, T.A.P., Vasconcelos, M.W., Roriz, M., Rodríguez-Alcalá, L.M., Gomes, A.M.P., and Duarte, A.C. 2015. Chemical composition and nutritive value of *Pleurotus citrinopileatus* var *cornucopiae*, *P. eryngii*, *P. salmoneo stramineus*, *Pholiota nameko* and *Hericium erinaceus*. *Journal of Food Science and Technology* 52: 6927–6939.
- 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>.
- Singh nee'Nigam, P. 2009. Production of bioactive secondary metabolites. In: Singh nee'Nigam, P., Pandey, A. (Eds.), for *Agro-Industrial Residues Utilization*. Springer, pp. 133–134.
- 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.
- Sutthisa, W., and Sanoamuang, N. 2014. Study of chemical compositions of *Cordyceps pseudomilitaris* pigments by Gas Chromatography- Mass Spectrometry (Gc-Ms). *International Journal of Agricultural Technology* 10(3): 583-593.

- 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. Effect 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. จาก <https://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.
- Vigna, L., Morelli, F., Agnelli, G.M., Napolitano, F., Ratto, D., Occhinegro, A., Di Iorio, C., Savino, E., Girometta, C., Brandalise, F., and Rossi, P. 2019. *Herichium erinaceus* improves mood and sleep disorders in patients affected by overweight or obesity: Could circulating pro-BDNF and BDNF be potential biomarkers? Evidence-based Complementary and Alternative Medicine 21: 1-12.
- 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.
- Wolters, N., Schembecker, G., and Merz, J. 2015. Erinacine C: a novel approach to produce the secondary metabolite by submerged cultivation of *Herichium erinaceus*. Fungal Biology 119: 1334–1344.
- 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.
- Zhu, L., Xu, J., Zhang, S., Huang, Q., Wang, R., Chen, H., Dong, X., and Zhao, Z. 2017. Qualitatively and quantitatively comparing secondary metabolites in three medicinal parts derived from *Poria cocos* (Schw.) Wolf using UHPLC-QTOF-MS/MS-based chemical profiling. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 150: 278-286.
- 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 สุนทรารักษ์กุล

ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) : Dr.Kanteera Soontharapirakkul

ตำแหน่งปัจจุบัน (ทางวิชาการ/ราชการ): อาจารย์

สังกัด/หน่วยงาน: ศูนย์บริการทางการศึกษาราชบุรี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี)

ที่อยู่: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี) เลขที่ 209 หมู่ 1 ตำบลรางบัว อำเภอบางแพ 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 อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี 70150

โทรศัพท์: 032-726-520 โทรสาร: -

โทรศัพท์มือถือ : 086 9002412 E-mail : thidaporn.the@mail.kmutt.ac.th