โครงการย่อยที่ 1 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของสารสกัดจากเห็ดพื้นบ้านที่พบบริเวณพื้นที่วนอุทยาน ภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

Antibacterial activity of Edible Mushrooms Folk at the KhaoKra-dong Volcano Forest Park on Samed Sub District, Muang District, Buriram Province.

ภายใต้การบริหารชุดโครงการ การพัฒนาองค์ความรู้อย่างยั่งยืนจากฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดพื้นบ้านในบริเวณพื้นที่วนอุทยาน ภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

The Development Study of Biodiversity on Edible Mushrooms Folk at the KhaoKra-dong Volcano Forest Park on Samed Sub District, Muang District, Buriram Province.

สันธยา บุญรุ่ง

เทพอัปสร แสนสุข

โครงการวิจัยนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

พ.ศ. ๒๕๕๙

(ลิขสิทธ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์)

เลขที่สัญญาทุนวิจัย 37/2558

รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยเรื่อง

โครงการย่อยที่ 1 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของสารสกัดจากเห็ดพื้นบ้านที่พบบริเวณพื้นที่วนอุทยาน ภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

Antibacterial activity of Edible Mushrooms Folk at the KhaoKra-dong Volcano Forest Park on Samed Sub District, Muang District, Buriram Province.

ภายใต้การบริหารชุดโครงการ การพัฒนาองค์ความรู้อย่างยั่งยืนจากฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดพื้นบ้านในบริเวณพื้นที่วนอุทยาน ภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

The Development Study of Biodiversity on Edible Mushrooms Folk at the KhaoKra-dong Volcano Forest Park on Samed Sub District, Muang District, Buriram Province.

โดย

สันธยา บุญรุ่ง

เทพอัปสร แสนสุข

โครงการวิจัยนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
พ.ศ. ๒๕๕๙

(ลิขสิทธ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเนื่องจากผู้วิจัยได้รับความช่วยเหลือดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดีจากหลายๆฝ่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ที่ให้การสนับสนุนเรื่องทุนวิจัย และยังดำเนินการต่าง ๆเพื่อให้คณะผู้วิจัยมีความสะดวกในการปฏิบัติงาน ขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา และศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ที่สนับสนุนทั้งสถานที่ทำวิจัย เครื่องมือและครุภัณฑ์ต่าง ๆในการทำวิจัยครั้งนี้ รมถึงทางผู้วิจัยต้องขอขอบคุณ คุณรณภพ ณรงค์ หัวหน้าวนอุทยาภูเขาไฟกระโดง ที่เอื้อเฟื้อข้อมูล อีกทั้งยังร่วมสำรวจความหลากหลายในครั้งนี้ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ในเขตวนอุทยานและชาวบ้านทุกท่านเป็นอย่างยิ่ง ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและความปรารถนาดีของทุกท่านเป็นอย่างยิ่งจึงกราบขอบพระคุณและขอบคุณไว้ในโอกาสนี้

คณะผู้วิจัย

หัวข้อวิจัยเรื่อง ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของสารสกัดจากเห็ดพื้นบ้านที่พบบริเวณพื้นที่วนอุทยาน ภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

ผู้วิจัย สันธยา บุญรุ่ง และ เทพอัปสร แสนสุข

หน่วยงาน สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

ปีวิจัยสมบูรณ์ 2559

เลขที่สัญญารับทุน 37/2558

บทคัดย่อ

จากงานวิจัยเรื่องการสำรวจความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดพื้นบ้านที่รับประทานได้ในเขตวนอุทยานภูเขาไฟกระโดง ของ เทพอัปสรและคณะ (2558) พบว่าที่วนอุทยานภูเขาไฟกระโดงมีเห็ดพื้นบ้านรับประทานได้หลากหลายสายพันธุ์ จึงทำให้ชาวบ้านที่อาศัยอยู่ทั้งในพื้นที่และต่างพื้นที่เข้ามาเก็บเพื่อการบริโภคและจำหน่าย โดยการนำเห็ดมารับประทานนั้นเพื่อเป็นแหล่งโปรตีน และเป็นยาสมุนไพร ซึ่งการใช้เห็ดพื้นบ้านเป็นยาสมุนไพรนั้นมีสืบทอดกันมาอย่างช้านาน ไม่ว่าจะเป็นในประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลีหรือแม้แต่ในประเทศไทยเอง เห็ดที่นิยมนำมาใช้เป็นสมุนไพรได้แก่ เห็ดหอม เห็ดฟาง เห็ดแครง เป็นต้น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดส่วนใหญ่ถูกนำมาใช้ในการช่วยเสริมและเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันของร่างกายช่วยให้ร่างกายสามารถต่อสู้หรือป้องกันโรคได้ดียิ่งขึ้น อีกทั้งปัจจุบันพบว่าเกิดการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียที่เป็นปัญหาใหญ่ที่ส่งผลกระทบไปทั่วโลกในขณะนี้ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารสกัดทางชีวภาพจากเห็ดป่าบางชนิดในเขตวนอุทยานภูเขาไฟกระโดงด้วยตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ เอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และเพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเห็ดป่าทั้ง 3 ชนิด คือ เห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ พบว่าสารสกัดที่สกัดได้จากเห็ดป่านี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการทดสอบออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้คือ 1) กลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก (*B. cereus*, *S. aureus*) 2) กลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) และ 3) กลุ่มยีสต์ (*C. albicans*) พบว่าสารสกัดหยาบของเห็ดแบบสดและแบบแห้งนั้นมีผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อเป็นไปในแนวทางเดียวกัน โดยพบว่าสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาในสารละลายเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อในลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก (*B. cereus*, *S. aureus*) ได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดหยาบจากเห็ดน้ำหมากในตัวทำละลายน้ำร้อนจะยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ได้ดีและในกลุ่มยีสต์ (*C.*

albicans) นั้นจะถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากเห็ดเผาะในตัวทำละลายน้ำร้อนยับยั้งได้ดี จากผลการศึกษานี้ควรนำไปทดลองในตัวสัตว์และส่งเสริมการนำเห็ดสมุนไพรเหล่านี้มาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ในทางคลินิกต่อไป

คำสำคัญ: ฤทธิ์ทางชีวภาพ, เห็ดป่า, การนำมาใช้ประโยชน์, วนอุทยานภูเขาไฟกระโดง

Research Title	Antibacterial activity of Edible Mushrooms Folk at the KhaoKra-dong Volcano Forest Park on Samed Sub District, Muang District, Buriram Province.
Researcher	SanthayaBoonrung Tepupsornsaensuk
Organization	Biology department, Faculty of Science, Buriram Rajabhat University
Academic Year	2016
No.	37/2558

Abstract

Key word:, Edible mushrooms, Usefulness, KhaoKra-dong Volcano Forest Park

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ทฤษฎี สมมุติฐานและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 โครงสร้างของเห็ด	5
2.2 การจำแนกเห็ดรา	6
2.3 วงจรชีวิตของเห็ด	23
2.4 ความหลากหลายทางชีวภาพของป่าชุมชน	25
2.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	25
2.6 การสกัดด้วยตัวทำละลาย	27
2.7 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	29
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
3.1 วัสดุอุปกรณ์	33
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ	34
3.3 สารเคมี	34
3.4 วิธีการทดลอง	34
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
4.1 น้ำหนักของสารสกัด	37
4.2 ทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	39
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล	
5.1 สรุปผลการทดลอง	53
5.2 อภิปรายผล	54

บรรณานุกรม 55

ภาคผนวก 60

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	ผลของอัตราส่วนระหว่างเห็ดกับตัวทำละลายต่าง ๆ ต่อปริมาณสารสกัดหยาบเห็ดทั้งแบบสดและแบบแห้ง	37
4.2	แสดงชนิดตัวทำละลาย น้ำหนักเห็ด ปริมาณสารสกัดหยาบ และร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบจากเห็ดสด	38
4.3	แสดงชนิดตัวทำละลาย น้ำหนักเห็ด ปริมาณสารสกัดหยาบ และร้อยละผลผลิต ของสารสกัดหยาบจากเห็ดอบแห้ง	39
4.4	ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ แบบสดจากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *E. coli*	40
4.5	ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ แบบสดจากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *S. aureus*	41
4.6	ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ แบบสดจากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *B. cereus*	42
4.7	ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ แบบสดจากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *C. albicans*	43
4.8	ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ แบบแห้ง จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *E. coli*	44

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.9	ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ แบบแห้ง จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำ อุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *S. aureus*	45
4.10	ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ แบบแห้ง จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำ อุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *B. cereus*	46
4.11	ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ แบบแห้ง จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำ อุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *C. albicans*	47

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.1	กรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัย	3
2.1	ส่วนประกอบต่าง ๆ ของเห็ด	11
2.2	ขั้นตอนการจัดจำแนกเห็ดจากโครงสร้างภายนอก	12
2.3	รูปร่างทางด้านบนและด้านข้างของหมวกเห็ด	16
2.4	ขอบหมวกแบบต่างๆ	16
2.5	ลักษณะของก้าน	17
2.6	ประเภทของถ้วยโวลวา	17
2.7	ลักษณะยอดหมวกเห็ด	18
2.8	นิสัยในการเจริญ การติดของดอกเห็ดกับสิ่งที่เห็ดเจริญอยู่	18
2.9	สิ่งประดับที่พบบนผนังสปอร์	20
2.10	รูปร่างซิสติเดีย (cystidia)	21
2.11	รูปเนื้อส่วนที่ให้กำเนิดสปอร์	21
3.1	การวางแผ่นทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพบนจานอาหาเลี้ยงเชื้อ	35
2.12	ลักษณะของผิว (pellis)	22
4.1	เห็ดที่ใช้ในงานวิจัย เห็ดระโงกขาว *(Amanita princeps)* เห็ดน้ำหมาก (*Russula emetic*) เห็ดเผาะ (*Geastrum saccatum*)	37

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

จากงานวิจัยเรื่องการสำรวจความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดพื้นบ้านที่รับประทานได้ในเขตวนอุทยานภูเขาไฟกระโดง ของ เทพอัปสรและคณะ (2558) พบว่าที่วนอุทยานภูเขาไฟกระโดงมีเห็ดพื้นบ้านรับประทานได้หลากหลายสายพันธุ์ ซึ่งชาวบ้านที่อาศัยอยู่ทั้งในพื้นที่และต่างพื้นที่เข้ามาเก็บเพื่อการบริโภคและจำหน่าย โดยการนำเห็ดมารับประทานนั้นเพื่อเป็นแหล่งโปรตีน และเป็นยาสมุนไพร ซึ่งการใช้เห็ดพื้นบ้านเป็นยาสมุนไพรนั้นมีสืบทอดกันมาอย่างช้านาน ไม่ว่าจะเป็นในประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลีหรือแม้แต่ในประเทศไทยเอง เห็ดที่นิยมนำมาใช้เป็นสมุนไพรได้แก่ เห็ดหอม เห็ดฟาง เห็ดแครง เป็นต้น ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดส่วนใหญ่ถูกนำมาใช้ในการช่วยเสริมและเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันของร่างกายช่วยให้ร่างกายสามารถต่อสู้หรือป้องกันโรคได้ดียิ่งขึ้น ปัจจุบันพบว่าเกิดการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียเป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบไปทั่วโลก ทางเลือกที่มีทางเป็นไปได้อีกทางหนึ่งก็คือการหาสารสกัดชีวภาพที่จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเหล่านั้นได้ และเห็ดพื้นบ้านก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งเช่นเดียวกัน (วีรวรรณ, 2006)

แต่เนื่องจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารสกัดทางชีวภาพของเห็ดพื้นบ้านของไทยยังมีน้อย ทำให้ประชาชนโดยทั่วไปบริโภคเห็ดเพียงเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนเท่านั้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกอัตราส่วนของเห็ดพื้นบ้านต่อสารละลายที่สามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและเพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดเห็ดพื้นบ้านเพื่อนำผลที่ได้มาทำการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่า อีกทั้งยังช่วยเพิ่มมูลค่าของสินค้าเกษตรของชาวบ้านอีกด้วย นอกจากนี้ยังสามารถนำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ไปต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ได้อีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาอัตราส่วนของเห็ดพื้นบ้านต่อสารละลายที่สามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพได้
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของสารสกัดเห็ดพื้นบ้านทั้งแบบสดและแบบแห้ง
3. เพื่อนำผลงานวิจัยไปพัฒนารูปแบบการเรียนการสอนในรายวิชาต่าง ๆที่เกี่ยวข้องต่อไป

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. พื้นที่การทดลอง

1.1 การทดลองระดับห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาชีววิทยา สาขาวิชาเคมี และศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

1.2 การทดลองระดับภาคสนามวนอุทยานภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

2. ขอบเขตด้านเนื้อหา

2.1 ทำการสกัดสารสกัดชีวภาพจากเห็ดพื้นบ้านที่มีการเจริญในเขตวนอุทยานภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์จำนวน 3 ชนิดทั้งที่เป็นเห็ดพื้นบ้านแบบสดและแบบแห้ง ซึ่งได้แก่ เห็ดน้ำหมาก เห็ดระโงก และเห็ดเผาะ เนื่องจากเห็ดทั้ง 3 ชนิดนี้มีปริมาณมากและมีการซื้อขายในราคาที่สูงและพบว่ามีการนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรในชุมชน

2.2 สารละลายที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย เอทานอล 95% น้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้อง และน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 100 °C ในอัตราส่วน 1:10

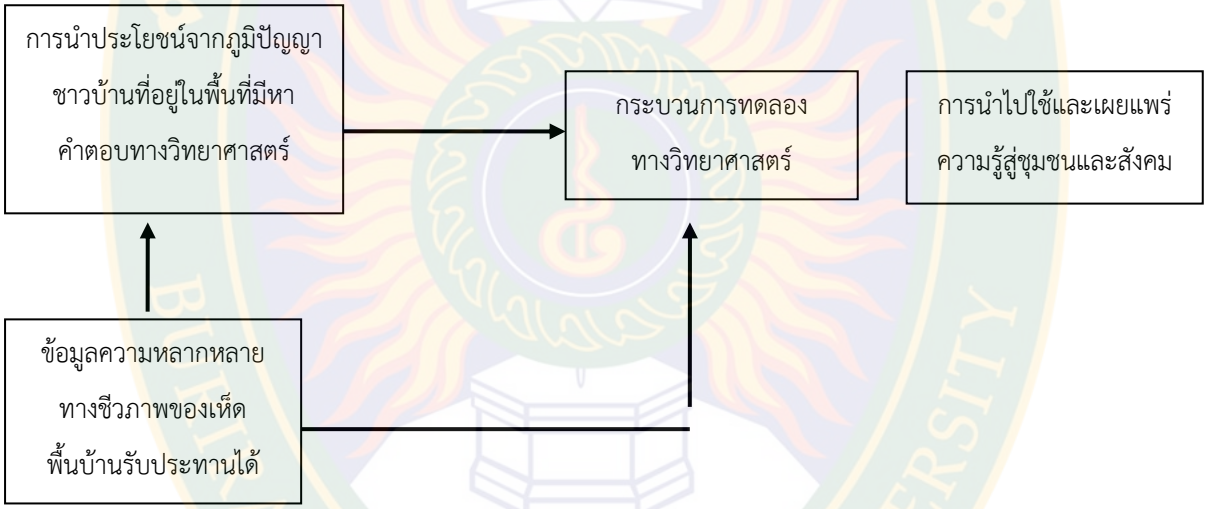
2.3 ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 2 ชนิดคือ *Escherichia coli* TISTR 780 และ *Staphylococcus aureus* *Bacillus cereus* และ *Candida albicans* ด้วยวิธีการ Agar disc diffusion (Bauer *et al*., 1966) โดยทำการปรับระดับความเข้มข้นของสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆอย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น

3 ระยะเวลาในการวิจัย

ระยะเวลาทำการวิจัยเดือนธันวาคม 2558 ถึง กรกฎาคม 2559 เริ่มการดำเนินงานตั้งแต่ทำสัญญาวิจัยกับหน่วยงานเจ้าของทุนวิจัย

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ความหลากหลายของเห็ดพื้นบ้านที่รับประทานได้และเห็ดสมุนไพรของประชาชนที่อาศัยอยู่รอบเขตวนอุทยานภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์นั้นมีเห็ดจำนวนมาก อันเป็นแหล่งทั้งอาหารในครัวเรือน เป็นยารักษาโรค ซึ่งมีการจัดการรวบรวมเป็นฐานข้อมูลน่าจะช่วยให้ประชาชนมีการบริโภคเห็ดได้อย่างปลอดภัย โดยการศึกษารวบรวมองค์ความรู้ภูมิปัญญาในการใช้ประโยชน์จากเห็ดทั้งทางด้านอาหารและยา น่าจะเป็นองค์ความรู้ฐานรากสำคัญที่สามารถนำไปใช้ในการเสริมสร้างสุขภาพที่ดีให้แก่คนในชุมชน และอาจนำไปสู่การศึกษาพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่อไปในอนาคต และการที่คนในชุมชนทั้งเยาวชน นักเรียน นักศึกษา และบุคคลทั่วไป ได้รับทราบคุณค่าคุณประโยชน์ของเห็ดพื้นบ้านน่าจะก่อให้เกิดความตระหนักถึงคุณค่าทางทรัพยากรที่มีอยู่ในท้องถิ่นและรวมกันรักษาทรัพยากรนั้นให้คงอยู่อย่างยั่งยืน



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัย

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1 ประโยชน์และการสร้างคุณค่าต่อสถาบัน

โครงการวิจัยฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของสารสกัดจากเห็ดพื้นบ้านที่พบบริเวณพื้นที่วนอุทยาน ภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ เป็นการนำองค์ความรู้เกี่ยวกับ

การนำเห็ดพื้นบ้านรับประทานได้มาสร้างประโยชน์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งเป็นประโยชน์และคุณค่าต่อสถาบัน 2 ด้าน ดังนี้

1) การสร้างองค์ความรู้เพื่อการศึกษาวิจัยต่อยอด ผลจากการดำเนินโครงการนี้ทำให้เกิดองค์ความรู้เกี่ยวกับฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของสารสกัดจากเห็ดพื้นบ้านในเขตพื้นที่วนอุทยานภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ ซึ่งผลผลิตจากโครงการได้แก่ สารสกัดของเห็ดพื้นบ้านรับประทานได้ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค และกระบวนการสกัดที่สามารถทำได้ทั้งในห้องทดลองและในครัวเรือน การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของสารสกัดจากเห็ดพื้นบ้านนั้นจะเป็นสิ่งที่แสดงให้เห็นถึงความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เป็นอย่างดี ซึ่งสามารถนำมาบูรณาการเกี่ยวกับการเรียนการสอนได้

2) การเผยแพร่และประชาสัมพันธ์มหาวิทยาลัย การดำเนินงานโครงการวิจัยนี้นั้นจะทำให้ชาวบ้านในเขตพื้นที่เขากระโดงได้รู้จักมหาวิทยาลัยมากขึ้น รวมทั้งได้รู้จักศักยภาพที่มีความหลากหลายของมหาวิทยาลัย และยังเป็นการบริการวิชาการที่เป็นประโยชน์กับชุมชนอีกด้วย

2. ผลกระทบที่เกิดประโยชน์และสร้างคุณค่าต่อชุมชนหรือสังคม ผลผลิตที่สำคัญจากการดำเนินงานวิจัยโครงการนี้คือสารสกัดของเห็ดพื้นบ้านรับประทานได้ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค และกระบวนการสกัดที่สามารถทำได้ทั้งในห้องทดลองและในครัวเรือน ซึ่งยังประโยชน์ต่อชุมชนชาวบ้านที่อยู่ใกล้เคียง ทำให้ชาวบ้านรวมถึงเยาวชนและนักเรียนได้เรียนรูและตระหนักถึงความสำคัญของทรัพยากรที่มีคุณค่าของชุมชน

3. ความยั่งยืนกับชุมชนหรือสังคม โครงการวิจัยนี้จะทำให้ชุมชนได้ตระหนักถึงคุณค่าทรัพยากรในท้องถิ่น นอกจากนี้การเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการ รวมถึงภูมิปัญญาท้องถิ่นเกี่ยวกับเห็ดให้กับเยาวชนและนักเรียน ทำให้เยาวชนและนักเรียนในท้องถิ่นได้รับรู้และเห็นความสำคัญของทรัพยากร ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ทำให้เกิดความหวงแหนและนำไปสู่การอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ทรัพยากรอย่างยั่งยืนต่อไป

4. ความเข้มแข็งและความสามารถพึ่งตนเองได้ของชุมชน โดยการเพิ่มมูลค่าเพิ่มให้กับเห็ดพื้นบ้านรับประทานจึงเป็นองค์ความรู้สำหรับการใช้ประโยชน์ทรัพยากรอย่างยั่งยืนในอนาคต

5. การนำไปใช้ในการเรียนการสอน จากโครงการวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ประกอบการเรียนการสอนในรายวิขาเห็ดรา และโครงงานวิจัยทางชีววิทยา สำหรับนักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยา และสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เห็ด (Mushrooms) เป็นพืชชั้นต่ำจำพวกเห็ดรา (Fungi) ชอบขึ้นตามป่าที่มีความชุ่มชื้น โดยเฉพาะในช่วงหน้าฝนป่าไม้เขียวชอุ่มทำให้อาหารในป่ามีความอุดมสมบูรณ์อาทิหน่อไม้ผักป่าต่างๆ และเห็ดหลากหลายชนิดในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมที่มีความชื้นและอุณหภูมิที่พอเหมาะก้อนเห็ดอ่อนจะเติบโตมีขนาดใหญ่ขึ้นแล้วปริแตกยืดยาวออกไปในอากาศเผยให้เห็นส่วนต่างๆของดอก

เกษมสร้อยทอง (2547) อธิบายความหมายของเห็ดหมายถึงราที่มีขนาดใหญ่และรวมไปถึงเห็ดที่มีพิษหรือเห็ดเมาจัดอยู่ในกลุ่มย่อยอะการิคาเลส (Order Agaricalas)เท่านั้นเห็ดมีลักษณะอ่อนนุ่มบางครั้งเหนียวมีลักษณะคล้ายร่มด้านใต้ดอกเห็ดจะมีส่วนของครีบยกเว้นในพวก Boletas ซึ่งอยู่ในเห็ดกลุ่มนี้ที่ด้านใต้ดอกเห็ดมีลักษณะเป็นรูเป็นท่อซึ่งอาจเกิดหรือตื้น

ราชบัณฑิตยสถาน (2550) กล่าวว่าเห็ดเป็นพืชชั้นต่ำประเภทราที่มีเส้นใยรวมกันเป็นกลุ่มก้อนเกิดเป็นดอกเห็ดอยู่เหนือพื้นดินหรือสิ่งที่อาศัยอยู่มีเนื้อในเห็ด (Cortext) และมีครีบ (Gill) คำว่าเห็ดมิได้หมายถึงดอกเห็ดที่มีครีบเพียงอย่างเดียวแต่ยังหมายถึงราอีกหลายชนิดในหมวด Amastigomycota ที่ออกเป็นกลุ่มก้อนดอกเห็ดซึ่งอาจมีเนื้อนุ่มแข็งเหนียวมีครีบหรือไม่มีครีบก็ได้

เห็ดเมื่อมีขนาดโตเต็มที่จะประกอบด้วยส่วนต่าง ๆดังต่อนี้

1. หมวกเห็ด (Cap) เป็นส่วนปลายสุดของดอกที่เจริญเติบโตขึ้นไปในอากาศเมื่อดอกบานเต็มที่ก็จะกางออกมีลักษณะเหมือนร่มกาง

2. ด้านล่างของหมวกเห็ดจะมีครีบ (Gills) หรือซี่หมวกเห็ดเรียงเป็นรัศมีรอบก้านดอกซึ่งห้อยแขวนมาจากเนื้อหมวกเห็ด

2.1 โครงสร้างของเห็ด

โครงสร้างของเห็ดประกอบด้วย 6 ส่วนคือ

1. หมวกเห็ด (Pileus หรือ Cap) เป็นส่วนบนของดอกเห็ดที่เจริญเติบโตขึ้นไปในอากาศเมื่อเห็ดเจริญเติบโตเต็มที่จะกางออกคล้ายร่มหรือมีรูปร่างอื่นๆเช่นรูปกรวยรูประฆังเป็นต้นส่วนผิวหมวก

เห็ดด้านบนอาจจะเรียบขรุขระมีเกล็ดหรือมีขนแตกต่างกันแล้วแต่ชนิดของเห็ดเนื้อหมวกเห็ดหนาบางต่างกันอาจจะเหนียวหรือฉีกขาดได้ง่ายเนื้อเยื่อของหมวกเห็ดบางชนิดอาจเปลี่ยนสีได้เมื่อถูกอากาศ

2. ครีบหรือซี่หมวกเห็ด (Lamella gill) เป็นแผ่นบางๆที่อยู่ด้านล่างของหมวกเรียงเป็นรัศมีดอกไปรอบก้านครีบมีความหนาบางและการเรียงระยะถี่ห่างแตกต่างกันจำนวนครีบและความยาวแตกต่างกันในเห็ดแต่ละชนิดครีบเป็นแหล่งกำเนิดของสปอร์และจำนวนของครีบหมวกจึงใช้เป็นลักษณะประกอบการจำแนกเห็ดด้วยสีของครีบหมวกส่วนมากจะเป็นสีเดียวกับสปอร์ของเห็ดซึ่งจัดเป็นลักษณะแตกต่างของเห็ดแต่ละชนิด

3. ก้านดอก (Stalk) เป็นส่วนที่ยึดติดกับหมวกหรือยึดติดกับครีบมีขนาดรูปร่างและสีสันแตกต่างกันอาจอยู่กึ่งกลางหรือเยื้องไปข้างใดข้างหนึ่งเห็ดบางชนิดไม่มีก้านส่วนมากเป็นรูปทรงกระบอกก้านดอกเห็ดมีผิวเรียบขรุขระหรือมีขนหรือมีเกล็ด

4. แอนนูลัส (Annulus หรือ Ring) เป็นวงแหวนหรือม่าน (Vein) ที่ยึดก้านดอกและขอบหมวกไว้เมื่อเป็นดอกอ่อนเมื่อหมวกบานเยื่อดังกล่าวจะขาดแยกจากขอบหมวกเหลือส่วนที่ยึดติดกับก้านเป็นวงแหวนเรียกเยื่อขอบหมวก (Partial veil)

5. เยื่อหุ้มดอกเห็ด (Universal veil) เป็นเยื่อชั้นนอกที่หนาหรือบางเมื่อดอกเห็ดเจริญขึ้นตอบนของเยื่อจะแตกออกเพื่อให้หมวกและก้านยืดตัวสูงขึ้นทำให้เยื่อหุ้มคงค้างเป็นรูปถ้วย (ทองสุข โพนเงิน, 2551)

6. กลุ่มเส้นใยบริเวณที่ดอกเห็ดจะขึ้นปรากฏเส้นใยราสีขาวขึ้นอยู่ก่อนเส้นใยนี้จะก่อตัวหรือรวมตัวกันเป็นก้อนใหญ่เห็ดบางชนิดจะมีเส้นใยรวมตัวกันเป็นก้อนแข็งอยู่ที่โคนก้านดอกหรือเป็นเส้นหยาบมองเห็นด้วยตาเปล่าแต่เห็ดบางชนิดมีเส้นใยละเอียดเล็กมากมองไม่เห็นลักษณะดังกล่าวโดยปกติเส้นใยของเห็ดจะเป็นสีขาวนวลแทรกซึมอยู่ตามที่บริเวณที่จะเกิดดอกเห็ด (ราชบัณฑิตสถาน, 2550 และอนงค์ จันทร์ศรีสกุล, 2551)

2.2 **การจำแนกเห็ดรา**

วงจรชีวิตเห็ดทุกชนิดมีลักษณะคล้ายคลึงกันเริ่มจากสปอร์ซึ่งเมื่อตกไปอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะงอกเป็นใยราและกลุ่มใยรา (Mycelium) แล้วรวมเป็นกลุ่มก้อนเกิดเป็นดอกเห็ดเมื่อดอก

เห็ดเจริญเติบโตขึ้นจะสร้างสปอร์ซึ่งจะปลิวหรือหลุดไปงอกเป็นใยราได้อีกหมุนเวียนเช่นนี้เรื่อยไป รูปร่างเป็นดอกเห็ดที่เรารู้จักกันลักษณะต่างๆที่มองเห็นได้จากภายนอกแตกต่างกันออกไปดังต่อไปนี้

1) รูปร่างของดอกเห็ดดอกเห็ดจะมีรูปร่างสวยงามแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดบางชนิดมีรูปร่างคล้ายร่มกางบางชนิดเหมือนปะการังบางชนิดเหมือนรังนก
2) ขนาดมีขนาดแตกต่างกันออกไปมีทั้งขนาดเล็กเท่าหัวไม้ขีดไฟไปจนถึงขนาดใหญ่เท่าลูกฟุตบอล
3) สีมีทั้งสีสวยสะดุดตาและกลมกลืนไปกับสภาพแวดล้อม
4) กลิ่นบางชนิดมีกลิ่นหอมชวนรับประทานแต่บางนิดมีกลิ่นเหม็นเวียนศีรษะ

แหล่งกำเนิดเห็ดแต่ละชนิดมีแหล่งกำเนิดแตกต่างกันบางอย่างเกิดขึ้นในป่าบนภูเขาบนพื้นดินตามทุ่งนาบนพื้นดินที่มีปลวกบนตอไม้บนพืชหรือบนเห็ดด้วยกันเห็ดบางชนิดใช้รับประทานได้ บางชนิดเป็นเห็ดพิษและหากเป็นชนิดมีพิษมากถ้าเก็บมารับประทานอาจถึงตายได้เพราะพิษของเห็ดเข้าไปในระบบเลือดแล้วกระจายไปทั่วทั้งร่างกายไม่ตกค้างในกระเพาะเหมือนเห็ดพิษชนิดมึนเมาและอาเจียนซึ่งเห็ดพิษชนิดมึนเมาจะแก้ไขได้โดยทำให้อาเจียนโดยเร็วและไม่ถึงกับเสียชีวิตเห็ดมีพิษอีกกลุ่มหนึ่งคือเห็ดโอสถลวงจิตเห็ดในกลุ่มนี้จะมีสารเคมีไปบังคับประสาทให้เกิดจินตนาการเป็นภาพหลอนใช้รับประทานแต่น้อยหรือเคี้ยวอมไว้ในปากในพิธีไสยศาสตร์ของชาวพื้นเมืองเม็กซิกันส่วนมากเป็นเห็ดในสกุล Pcilocybe บางชนิดใช้เป็นยาสมุนไพรเช่นเห็ดจิกหรือตีนตุ๊กแกที่มีสรรพคุณขับถ่ายพยาธิตัวตืดในคนบางชนิดเป็นปาราสิตของพืชด้วยกันเช่นเห็ดขอน (*Fomeslignosus*) ซึ่งทำให้รากยางพาราผุเปื่อยต้นตายเห็ดที่มีเนื้อแห้งและแข็งเหมือนไม้หรือเหนียวคล้ายหนังจะไม่มีคนนำมารับประทานแต่ชนิดที่อ่อนนุ่มหรือกรอบกรุบจะน่ารับประทานกว่าเห็ดจัดเป็นอาหารจำพวกพืชผักแม้จะมีคุณค่าทางโภชนาการน้อยกว่าผักเพราะดอกเห็ดสดมีน้ำมากอยู่ถึง 90 % นอกจากนั้นจะมีโปรตีนไขมันเกลือแร่ธาตุวิตามิน (มีวิตามินบี 1 และบี 2 มากกว่าวิตามินอื่นยกเว้นเห็ดที่มีสีเหลืองจะมีวิตามินเอมาก) จัดเป็นอาหารกลุ่มที่ย่อยยากเพราะมีเยื่อใยสูงผู้ที่มีโรคประจำตัวเกี่ยวกับระบบย่อยไม่ควรรับประทานมากจนเกินควรจึงควรเลือกรับประทานเฉพาะเห็ดที่ช่วยชูรสอาหารซึ่งใช้แต่น้อยก็เพียงพอเช่นเห็ดหอมเห็ดบางชนิดมีรสชาติอร่อยมากเช่นเห็ดโคน (Termitemushroom: *Termitomyces* sp.) อย่างไรก็ตามผู้ที่ดื่มเหล้าหรือของมึนเมาจะทำให้เห็ดย่อยยากขึ้นเพราะแอลกอฮอล์ทำให้สารอัลบูมินในเห็ดแข็งตัวมากขึ้นเห็ดทั่วไปชอบขึ้นบนอินทรีย์วัตถุที่เน่าเปื่อยผุพังเช่นตามพื้นดินในป่าที่มีการผุพังของใบไม้เศษไม้หรือตามกองปุ๋ยคอกปุ๋ยหมักหรือทุ่งนาที่มีหญ้าผุ

เปื่อยยกเว้นเห็ดบางชนิดที่ขึ้นได้เฉพาะแห่งและต้องมีอาหารพิเศษด้วยเช่นเห็ดโคนจะขึ้นเฉพาะที่ที่มีรังปลวกอยู่ใต้ดินเท่านั้นเห็ดส่วนมากสามารถนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่สังเคราะห์ขึ้นได้ยกเว้นในเห็ดชนิดนี้เพราะต้องมีอาหารพิเศษจากปลวกหรืออาจเป็นเพราะเรายังไม่ทราบสูตรอาหารหรือสภาพแวดล้อมที่แท้จริงของเห็ดนี้การศึกษาการเพาะเลี้ยงจึงเป็นเรื่องที่ควรแก่การติดตามสิ่งมีชีวิตจัดออกเป็น 5 อาณาจักรคืออาณาจักรโมบีรา(แบคทีเรีย) โพรทีสตา (เซลล์เดียว) ฟังไจ (เห็ดรา) พืช และสัตว์ในอาณาจักรฟังไจมีการจำแนกคล้ายคลึงกับอาณาจักรพืชโดยมีลำดับชั้นการจำแนก (Taxonomic category) ดังนี้

Kingdom (อาณาจักร): Fungi

Division (จำพวก)

Class (ชั้น)

Order (อันดับ)

Family (วงศ์)

Genus (สกุล)

Specie (ชนิด)

และมีลำดับชั้นย่อยที่มีคำว่า “Sub” เติมข้างหน้าเช่น Subdivision, Subclass เป็นต้น

2.2.1 การจำแนกทางพืชสวน

1) ตามความสามารถในการรับประทาน

แบ่งออกเป็น

1.1 เห็ดรับประทานได้ (Edible mushroom) ได้แก่เห็ดที่เพาะเลี้ยงเป็นการค้าเช่นเห็ดฟางเห็ดสกุลนางรมเห็ดหอมและเห็ดป่าบางชนิดที่ไม่มีสารพิษเช่นเห็ดเผาะเห็ดหล่มเห็ดลมเห็ดโคน

1.2 เห็ดรับประทานไม่ได้หรือเห็ดพิษ (Toadstools หรือ Poisonous mushroom) ได้แก่เห็ดพิษชนิดต่างๆเช่นเห็ดระโงกหินเห็ดกระโดงตีนต่ำเป็นต้น

2) ตามสภาพธรรมชาติที่ขึ้นอยู่

เป็นการแบ่งโดยอาศัยความสามารถในการใช้อาหารหรือตามวัสดุที่ใช้เพาะแบ่งเป็น

2.1 เห็ดที่เจริญได้ดีบนส่วนของพืชหรือพืชสด (Parasitic fungi) เช่นท่อนไม้ขี้เลื่อยได้แก่เห็ดสกุลนางรมเห็ดหูหนูเห็ดหูหนูขาวเห็ดหอมเห็ดหลินจือ

2.2 เห็ดที่เจริญได้ดีบนวัสดุเพาะที่ผ่านการหมักเพียงบางส่วน (Saprophytic fungi) ได้แก่เห็ดฟางเห็ดถั่วเห็ด Stropharia เป็นต้น

2.3 เห็ดที่เจริญได้ดีบนวัสดุเพาะที่ต้องผ่านการหมักอย่างสมบูรณ์เจริญได้ดีบนปุ๋ยหมัก (saprophytic fungi) เช่น เห็ดแชมปิญอง

2.4 เห็ดที่เจริญอยู่ร่วมกับรากไม้บางชนิดในลักษณะที่เป็นมัยคอร์ไรซา (Symbiotic fungi) ได้แก่ เห็ดตับเต่า เห็ดมอเรล เห็ดmatsutake เห็ดทรัฟเฟิล เป็นต้น

2.5 เห็ดที่ขึ้นอยู่บนรังปลวก (Symbiotic fungi) ได้แก่เห็ดโคนเป็นต้น

3) ตามอุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญเติบโต

3.1 เห็ดที่ชอบอุณหภูมิสูงเป็นเห็ดเขตร้อน (Tropical mushrooms) ได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดหูหนู เห็ดนางลม เป็นต้น

3.2 เห็ดที่ชอบอุณหภูมิต่ำเป็นเห็ดเขตหนาว (Temperate mushrooms) ได้แก่ เห็ดแชมปิญอง เห็ดหอม เห็ดเข็มทอง เป็นต้น

4) ตามการใช้ประโยชน์

4.1 ใช้เป็นอาหารประเภทพืชผักได้แก่เห็ดที่รับประทานได้ทั่วไป

4.2 ใช้เป็นยารักษาโรคหรือสมุนไพรได้แก่ เห็ดหอม เห็ดหูหนูขาว เห็ดหลินจือ เห็ดเข็มทอง เป็นต้น

4.3 ใช้สำหรับปรุงอาหารหรือเป็นเครื่องเทศเช่น เห็ดหอม

4.4 ใช้เป็นเห็ดประดับเช่นเห็ดในสกุล เห็ดหลินจือ ได้แก่ *Ganodermaneo japonicum*

2.2.2 **การจำแนกทางพฤกษศาสตร์**

เห็ดราสามารถจำแนกได้เป็น 2 division ใหญ่ๆคือ

1. Division Myxomycota ได้แก่ ราเมือก (Slime molds) ทั้งหมด

2. Division Eumycota ได้แก่ เห็ดราที่เหลือทั้งหมด (True fungi) ได้แก่ ราชั้นต่ำ (Lower fungi) ราชั้นสูง (Higher fungi) และเห็ดต่างๆใน division นี้ ยังแบ่งออกเป็น 5 subdivision คือ Mastigomycotina, Zygomycotina, Ascomycotina, Basidiomycotinaและ Deuteromycotina เห็ดราชั้นสูงหรือราที่มีขนาดใหญ่ส่วนใหญ่จัดอยู่ในSubdivision Basidiomycotina มีเป็นส่วนน้อยที่อยู่ใน Ascomycotina ในที่นี้จะกล่าวเฉพาะเห็ดที่อยู่ใน 2 Subdivision นี้เท่านั้นซึ่งแยกออกเป็น 2 กลุ่มคือเห็ดที่นำมาเพาะเลี้ยงและเห็ดที่ไม่มีการเพาะเลี้ยงดังต่อไปนี้

1. ความสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธานของสกุลเห็ดที่นำมาเพาะเลี้ยง (Taxonomic of fungi)
2. ความสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธานของเห็ดสกุลที่ไม่เพาะเลี้ยง

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีววิทยาของเห็ดรา (Morphology and Biology of Mushroom)

จากการจำแนกเห็ดทางพฤกษศาสตร์ทำให้ทราบว่าสามารถแยกเห็ดราออกเป็น 2 จำพวก (Division) กล่าวคือ Division Myxomycota ได้แก่ราเมือก (Slime mold) Division Eumycota ได้แก่เห็ดราที่เรียกว่า true fungi และยังแบ่งออกได้เป็น 5 subdivision ประกอบด้วย

1. Mastigomycotina และ 2. Zygomycotina ซึ่งได้แก่ราชั้นต่ำสปอร์ของราจำพวกนี้จะสร้างอวัยวะที่เรียกว่าอับสปอร์ (sporangia) ซึ่งเป็น asexual spore คือเกิดสปอร์โดยไม่เกี่ยวข้องกับการใช้เพศได้แก่ราน้ำ (Water mould) ราขนมปัง (Breadmould) pin mould และ downy mildew ฯลฯ

3. Deuteromycotina เป็นราที่ไม่สมบูรณ์หรือ imperfect fungi ไม่ใช้สปอร์สืบพันธุ์สปอร์จะถูกสร้างจากกลุ่มเส้นใยที่เป็นหมัน (sterile mycelium) หรือจากเส้นใยพิเศษ (Specialized hyphae) แต่ในอีก 2 subdivision ที่มีความสำคัญในแง่ของการนำมาใช้ประโยชน์หรือนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตเห็ด

4. Ascomycotina หรือ Ascomycetes มีสปอร์สืบพันธุ์บรรจุในเซลล์พิเศษคล้ายถุงเรียกว่า ascusสามารถสร้างหรือก่อตัวเป็นลำต้นที่เรียกว่า fruiting body ขึ้นมาได้นอกจากเห็ดราแล้วไลเคนส์ยังถูกจัดไว้ในจำพวกนี้เห็ดราใน subdivision นี้ที่สำคัญได้แก่

4.1 Subclass Discomycetes : กลุ่ม cup fungi ทั้งหมดมีหลายพันชนิด Order Pezizales : เห็ดในกลุ่ม cup fungi เช่น เห็ดมอเรล Helotiales : earthtongues และราที่เป็นโรคพืช

4.2 Class Pyrenomycetes : กลุ่ม flask fungi ส่วนมากมีโครงสร้างแข็งOrder Sphaeriales : -Hypocreales : -

4.3 Class Pletomycetes :ราแป้ง (powdery mildew)ราดำ (black mould) bluemouldและpenicilliumOrderHemiascomycete : ยีสต์ (yeast) ฯลฯLoculoasmycetes : sooty mould, plantscabฯลฯ

5. Basidiomycotina หรือ Basidiomycetes มีสปอร์สืบพันธุ์อยู่ภายนอกเซลล์หรืออยู่ด้านนอกของอวัยวะที่เรียกว่า Basidium หรือฐานที่มีรูปร่างคล้ายใบพายแล้วจะก่อตัวเป็นดอกเห็ดหรือ fruiting body แบ่งออกเป็น

5.1 Subclass Holobasidiomycetes : เห็ดราที่เบสิเดียมไม่แบ่งตัว(Simple basidia) Order Agaricales : agarics หรือเห็ดราที่มีครีบใต้หมวก (Gill fungi) ทั้งหมดจะรวมถึงเห็ดที่รับประทานและเห็ดพิษ Boletales : ส่วนมากไม่มีครีบและจะมีรูขนาดเล็ก(pore) สำหรับปล่อยสปอร์สปอร์จะถูกสร้างขึ้นในชั้นของ hymenium แทนครีบเห็ดตับเต่าหรือ cep (*Boletus edulis*) ถือว่ามีรสชาติดีชนิดหนึ่งในโลก Aphyllophorales : เห็ดที่ขึ้นอยู่ตามต้นไม้ท่อนไม้เช่นพวกpolyporesและbrackets รวมทั้งชนิดอื่นที่ใกล้เคียงกันเห็ดมันปู (สกุล Cantharellus) สกุล

Thelephora (fan) สกุล Hydnum เห็ดหัวลิง (hedgehog) เห็ดในวงศ์ Gomphaceae (coral fungi) เห็ดในวงศ์ Clavariaceae หรือ club fungi

5.2 Class Gasteromycetes : Stomach fungi เป็นเห็ดราที่มีความแตกต่างไปจาก ClassHolobasidiomycetesทั้งรูปร่างและการสร้างสปอร์ที่สร้างได้นอกผิว (Peridium) ของดอกเห็ด เห็ดในกลุ่มนี้ได้แก่เห็ดร่างแห (Stinkhorn) เห็ดรังนก (Bird's nestfungi) เห็ดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดหรือGiant puffball รวมทั้งเห็ดเผาะถูกจัดไว้ในกลุ่มนี้

5.3 Subclass Phragmobasidiomycetes: เห็ดที่ฐาน basidium แบ่งตัวจากกันเช่น วงศ์Tremellales ได้แก่เห็ดหูหนูขาววงศ์ Auriculariales ได้แก่เห็ดหูหนู

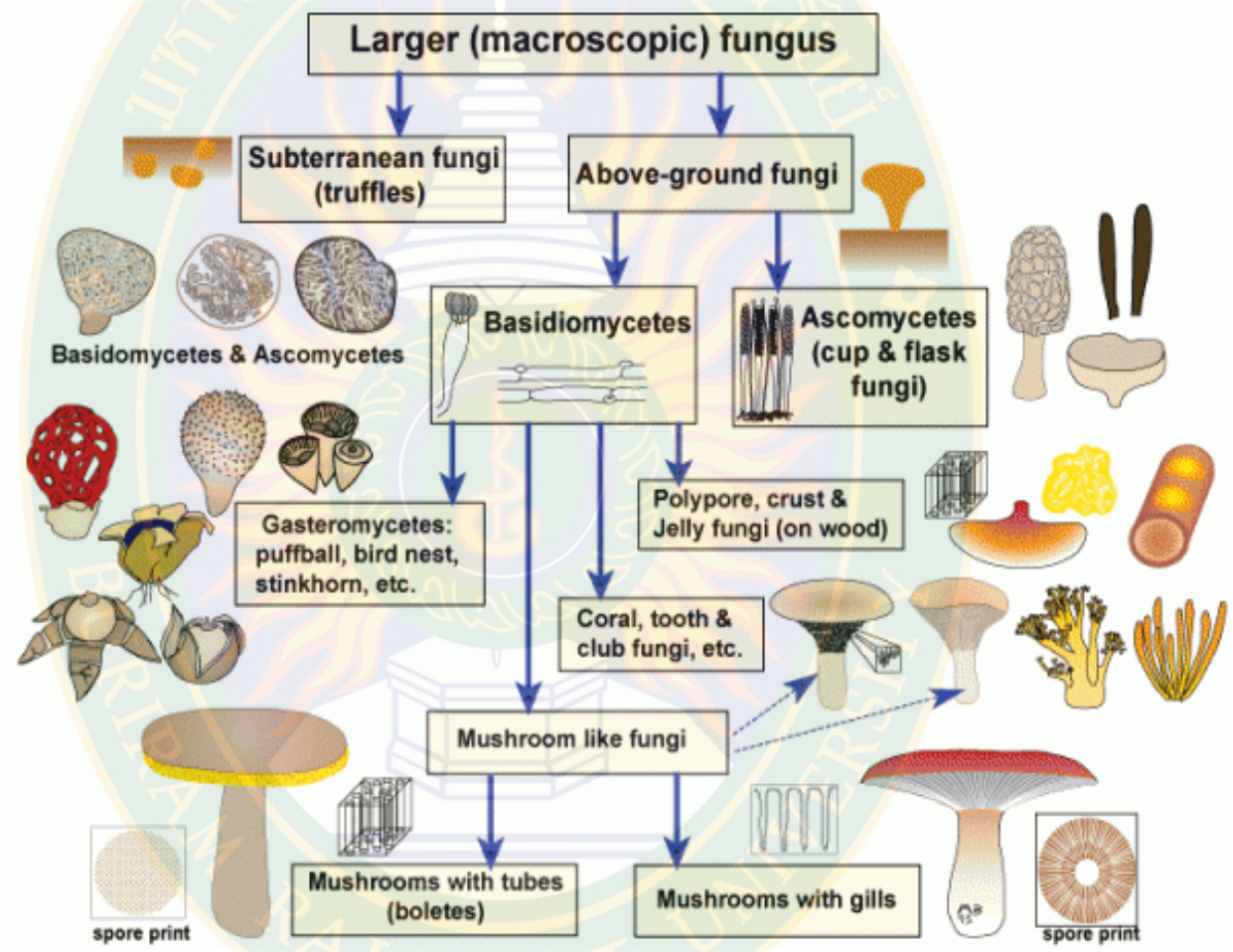
5.4 Class Teliomycetes ได้แก่ พวกราสนิม (Rust) และราเขม่า (Smut)

ภาพที่ 2.1 ส่วนประกอบต่าง ๆ ของเห็ด

ที่มา : วนิดาผ่องมณี , 2542

2.2.3 ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจัดจำแนกเห็ด

รูปวิธานที่ใช้ในการจำแนกเห็ดในการจัดจำแนกชนิดของเห็ดป่าโดยโครงสร้างที่มองเห็นด้วยตาเปล่ามักสังเกตจากขนาด (Size) รูปร่าง (Shape) และสี (Color) ของโครงสร้างต่างๆซึ่งจะมีความแตกต่างกันไปในเห็ดแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมอายุยีนของเห็ดนั้นๆลักษณะภายนอกที่ในการจำแนกได้แก่ หมวกเห็ดครีบก้านดอกวงแหวนและเปลือกหุ้มโดยรูปวิธานโดยใช้หลักเกณฑ์ในการจำแนกชนิดเห็ดของ อนงค์ จันทร์ศรีสกุล (2551) , เกษม สร้อยทอง (2547) ,สุมาลี พิชญางกูร (2541) และหนังสือตาราอื่นๆ



ภาพที่ 2.2ขั้นตอนการจัดจำแนกเห็ดจากโครงสร้างภายนอก

ที่มา :วนิดาผ่องมณี , 2542

ลักษณะภายนอกที่ในการจำแนก

เห็ดมีส่วนประกอบและรูปร่างแตกต่างกันไปโดยทั่วไปเห็ดจะมีโครงสร้างประกอบไปด้วยส่วนประกอบต่างๆดังนี้ได้แก่

1. หมวกเห็ด (Cap หรือ Pilleus)

เป็นส่วนที่อยู่ด้านบนสุดของเห็ดที่บานออกโดยทั่วไปมีลักษณะคล้ายร่มมีรูปร่างต่างๆกันเช่นโค้งนูนรูปกรวยรูปปากแตรรูประฆังเป็นต้นผิวบนหมวกต่างกันเช่นผิวเรียบผิวขรุขระมีทั้งผิวแห้งหรือมีเมือกบางชนิดมีขนมีเกล็ดมีสีแตกต่างกันหมวกเห็ดบางชนิดอ่อนนุ่มฉีกขาดง่ายบางชนิดแข็งกระด้างเหนียวอาจยึดติกับก้านแน่นหรือหลุดง่ายและอาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ขนาดของดอกเห็ดจะมีความแปรผันมากเนื่องจากปัจจัยสภาพแวดล้อมความอุดมสมบูรณ์ของสิ่งที่เห็ดเจริญอยู่ดอกเห็ดยังเป็นสิ่งสำคัญที่ใช้ในการจำแนกชนิด

2. ครีบ (Gill หรือ Lamelta)

ด้านล่างของหมวกเห็ดมีครีบหรือซี่เรียงเป็นรัศมีรอบก้านดอกห้อยแขวนลงมาจากเนื้อของหมวกเห็ดที่อยู่ตอนบนเห็ดบางชนิดมีครีบหมวกด้านในยึดติดหรือไม่ยึดติดกับก้านดอกด้านนอกเชื่อมติดกับขอบหมวกสองข้างของครีบหมวกเป็นที่เกิดสปอร์ของดอกเห็ดครีบหมวกนั้นอาจถูกย่อยให้ละลายเป็นของเหลวในเห็ดบางชนิดเห็ดแต่ละชนิดมีจานวนครีบหมวกแตกต่างกันและความหนาบางไม่เท่ากันจานวนครีบหมวกจึงใช้เป็นลักษณะประกอบการจำแนกเห็ดด้วยสีของครีบหมวกส่วนมากเป็นสีเดียวกับสปอร์ของเห็ดซึ่งจัดเป็นลักษณะแตกต่างของเห็ดแต่ละชนิดโดยปกติมีสีขาวเหลืองชมพูม่วงน้าตาลและดา

3. ก้านดอก (Stalk หรือ Stipe)

มีลักษณะที่ปลายข้างหนึ่งของก้านยึดติดกับดอกหรือหมวกเห็ดมีขนาดรูปร่างสีและความยาวแตกต่างกันในแต่ละชนิดเห็ดส่วนมากเป็นรูปทรงกระบอกบางชนิดมีโคนหรือปลายเรียวเล็กตอนบนยึดติดกับหมวกเห็ดหรือครีบหมวกด้านในตอนล่างของเห็ดบางชนิดอาจมีเส้นใยหยาบรวมกันเป็นก้อน

หรือเปลือกหุ้มโคน (Volva) ซึ่งมีลักษณะคล้ายถ้วยชาหงายรองรับอยู่เช่นบนก้านดอกตอนบนของเห็ด บางชนิดมีวงแหวน (Ring) หรือเยื่อบางม่าน (Annulus) เป็นเนื้อเยื่อบางๆยึดติดก้านดอกใต้หมวกเห็ด ลงมาเล็กน้อยเป็นส่วนของเนื้อเยื่อห่อหุ้มครีบเมื่อดอกเห็ดยังอ่อนที่เรียกว่า inner veil วงแหวนนี้อาจเลื่อนขึ้นลงได้ไม่ยึดติดกับก้านดอกในเห็ดบางชนิดก้านดอกเห็ดมีผิวเรียบขรุขระหรือมีขนหรือมีเกล็ด เมื่อถูกสัมผัสด้วยมือหรืออากาศอาจทาให้เปลี่ยนสีไปเห็ดบางชนิดไม่มีก้านเช่นเห็ดหูหนูเห็ดเผาะเป็นต้น

4. เปลือกหุ้มดอกเห็ด (Volva หรือ Universal veil)

เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอกสุดที่ห่อหุ้มดอกเห็ดทั้งดอกไว้ในขณะที่เป็นดอกตูมหรือในระยะที่เป็นดอกอ่อนเรียกว่า outer veil นั่นเองซึ่งมีในเห็ดพิษหลายชนิดในสกุล Amanita เมื่อดอกเห็ดขยายใหญ่ขึ้นเปลือกหุ้มตอนบนจะแตกออกเมื่อดอกเริ่มบานเพื่อให้หมวกเห็ดและก้านดอกยืดตัวชูสูงขึ้นมาในอากาศทิ้งให้ส่วนของเปลือกหุ้มอยู่ที่โคนก้านมองดูเหมือนก้านดอกเห็ดอยู่ในถ้วย

5. วงแหวน Ring หรือ Annulus)

เป็นส่วนที่เกิดจากเยื่อบางๆที่ยึดขอบหมวกกับก้านดอกไว้ในขณะยังเป็นดอกอ่อนเมื่อหมวกบานเยื่อจะขาดออกจากขอบหมวกเห็ดยังคงเหลือบางส่วนที่ยังยึดติดกับก้านเป็นวงแหวนหรือที่เรียกว่าเยื่อขอบหมวก (Inner veil หรือ Partial veil) เห็ดบางชนิดไม่มีวงแหวน

6. กลุ่มเส้นใย (Mycelium)

เป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ใต้ผิวหมวกและเนื้อในก้านก่อนที่จะเป็นดอกเห็ดจะเห็นบริเวณนั้นมีเส้นใยราสีขาวก่อตัวรวมกันเป็นก้อนใหญ่เราเรียกว่า mycelium โดยปกติเส้นใยของเห็ดจะเป็นสีขาวนวลแทรกซึมตามที่มันอาศัยอยู่ตามอินทรียวัตถุกองปุ๋ยหมักมูลสัตว์ซากพืชที่ตายแล้วตามป่าทุ่งหญ้าพื้นดินขอนไม้ต้นไม้บางชนิดขึ้นบนจอมปลวก (ราชบัณฑิตสถาน, 2550 และอนงค์ จันทร์ศรีสกุล, 2551)

การศึกษาความหลากหลายของเห็ดจาเป็นต้องรู้จักส่วนต่างๆของเห็ดทั้งส่วนที่เป็นโครงสร้างภายนอกและโครงสร้างภายในเพราะเป็นสิ่งสำคัญที่ใช้ในการพิจารณาจัดจำแนกชนิดของเห็ด

Brundrett และคณะ (1996) ได้เสนอขั้นตอนในการจัดจำแนกชนิดของเห็ดต่างๆจากโครงสร้างที่สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าโดยพิจารณาทีละลักษณะแบบ 2 ทางเลือกการจัดจำแนกมักสังเกตจากขนาด (Size) รูปร่าง (Shape) และสี (Color) ของโครงสร้างต่างๆซึ่งจะมีความแตกต่างกันไปในเห็ดแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมอายุและยีนของเห็ดนั้นๆ

ลักษณะที่มองเห็นด้วยตาเปล่าได้แก่

1. หมวกเห็ด (Cap)
2. ลักษณะใต้หมวกเห็ดเช่นครีบรูท่อ
3. ผิวของหมวกเห็ด (Cap surface)
4. ขอบหมวก (Cap edge)
5. ครีบ (Gill)
6. ก้าน (Stalk)
7. สีของพิมพ์สปอร์ (Spore print) สามารถดูสีของสปอร์ลักษณะของครีบและจานวนครีบต่อเซนติเมตรได้และอาจนาสปอร์ไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

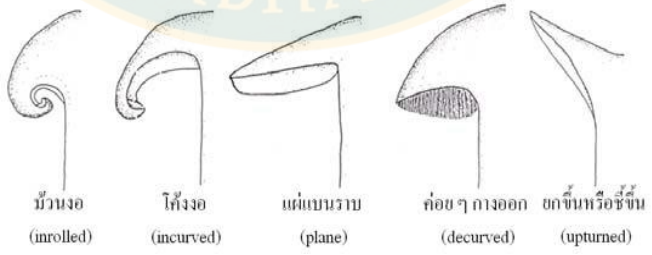
เฉลิมยศและคณะ (2552) สามารถจำแนกรูปร่างลักษณะของแหล่งกำเนิดสปอร์สามารถแบ่งได้ 14 กลุ่มดังนี้

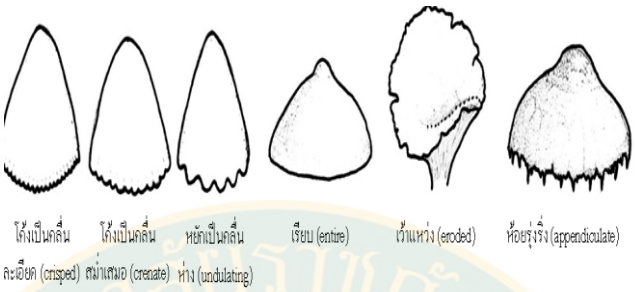
1. กลุ่มเห็ดที่มีครีบ (Agarics or Gilled mushroom) มีหมวกมีหรือไม่มีก้าน
2. กลุ่มเห็ดมันปู (Chanterelles) มีหมวกก้านรูปร่างคล้ายแตรหรือแจกันบาน
3. กลุ่มเห็ดตับเต่า (Boletes) มีหมวกมีก้านเนื้ออ่อนนิ่ม
4. กลุ่มเห็ดหิ้ง (Polypores and Bracket fungi) คล้ายชั้นหรือหิ้งหรือพัด
5. กลุ่มเห็ดแผ่นหนัง (Leather bracket fungi) คล้ายเครื่องหมายวงเล็บหรือพัด
6. กลุ่มเห็ดหูหนู (Jelly fungi) ดอกเห็ดมีรูปร่างแบบหูเนื้อบางคล้ายยางนิ่มเป็นเมือก
7. กลุ่มเห็ดที่เป็นแผ่นราบไปกับท่อนไม้ (Crust and Parch fungi) ดอกเห็ดแข็งเหนียว
8. กลุ่มเห็ดฟันเลื่อย (Tooth fungi) มีหมวกมีก้านด้านล่างหมวกมีลักษณะคล้ายซี่เลื่อย
9. กลุ่มเห็ดปะการังและเห็ดกระบอง (Coral and Club fungi) ดอกเห็ดแตกแขนงเป็นกิ่ง
10. กลุ่มเห็ดรูปร่มหุบ (Gastroid Agarics) ดอกเห็ดรูปร่างคล้ายร่มหุบ
11. กลุ่มเห็ดลูกฝุ่นและเห็ดดาวดิน (Puffballs and Earthstars) ดอกรูปไข่หรือผลสาลี่

12. กลุ่มเห็ดลูกฝุ่นก้านยาว (Stalked Puffballs) ดอกคล้ายกลุ่มเห็ดลูกฝุ่นแต่ก้านยาว
13. กลุ่มเห็ดรังนก (Bird’s nest fungi) ดอกมีรูปร่างคล้ายรังนกมีเม็ดเล็กอยู่ภายใน
14. กลุ่มดอกเห็ดเขาเหม็น (Stinkhorns) ดอกคล้ายไข่มีร่างแหปกคลุมก้านคล้ายลูกตะกร้อ

ภาพที่ 2.3 รูปร่างทางด้านบนและด้านข้างของหมวกเห็ด

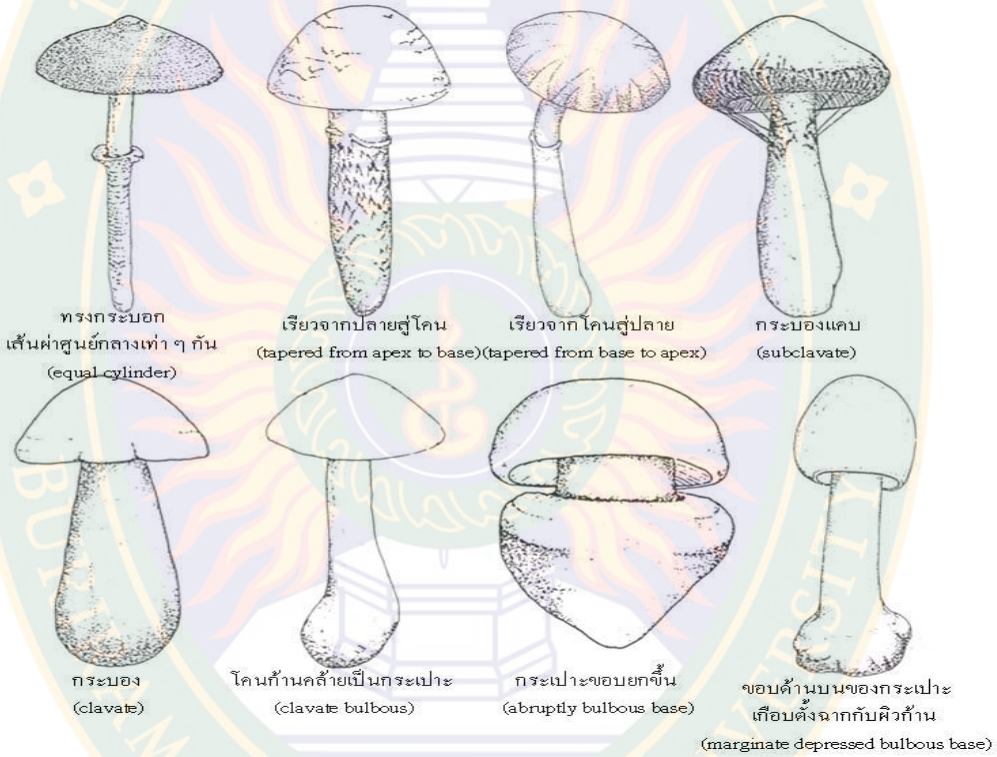
ที่มา : วนิดาผ่องมณี , 2542





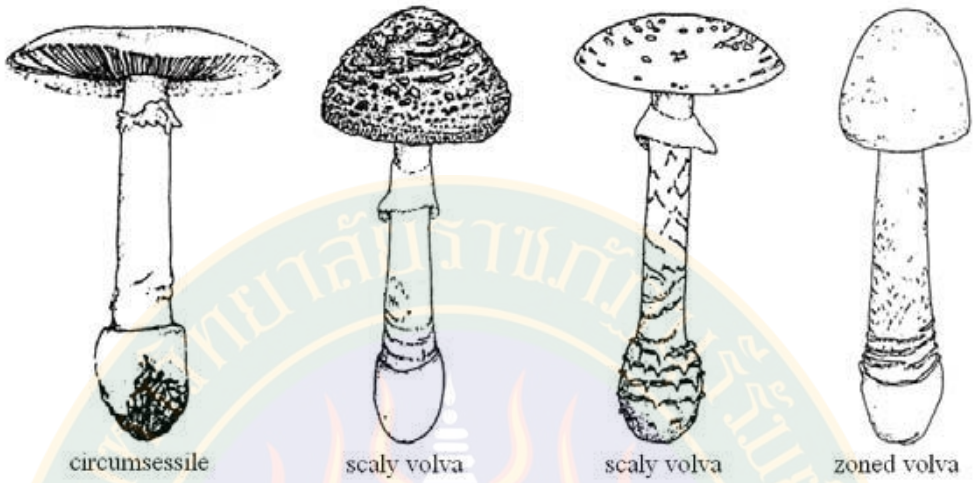
ภาพที่ 2.4 ขอบหมวกแบบต่างๆ

ที่มา : Largent , 1973



ภาพที่ 2.5 ลักษณะของก้าน

ที่มา : Largent , 1973

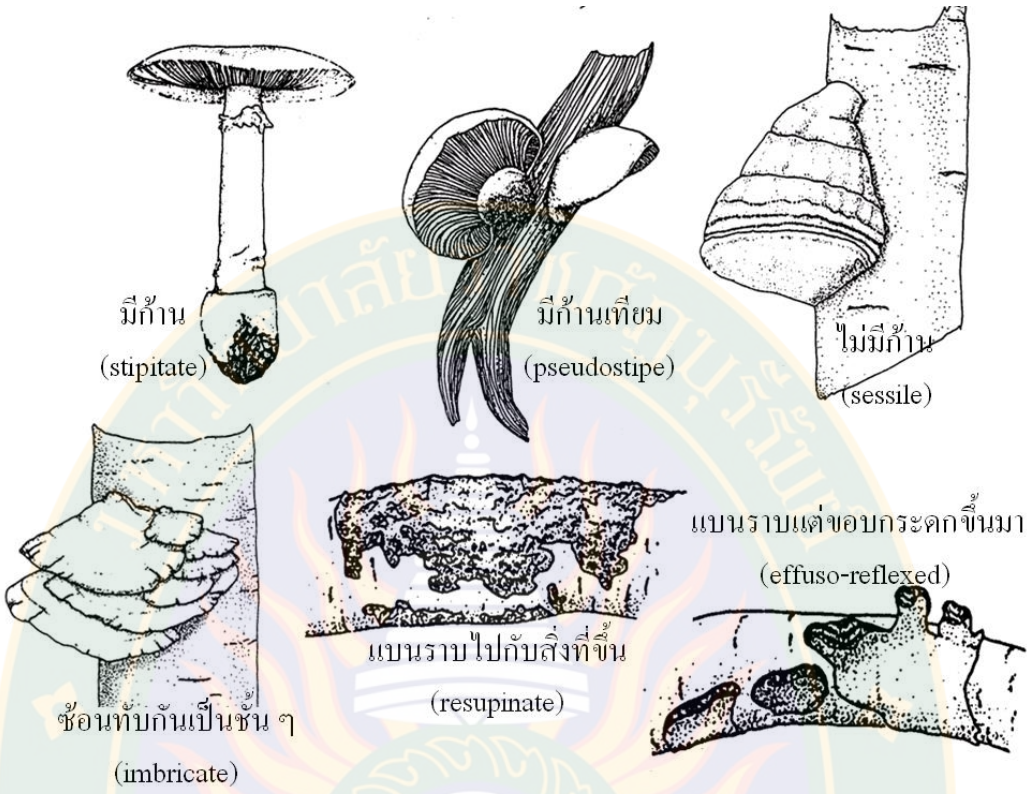


ภาพที่ 2.6 ประเภทของถ้วยโวลวา

ที่มา : วนิดาผ่องมณี , 2542

ภาพที่ 2.7 ลักษณะยอดหมวกเห็ด

ที่มา : Largent , 1973



ภาพที่ 2.8 นิสัยในการเจริญการติดของดอกเห็ดกับสิ่งที่เห็ดเจริญอยู่

ที่มา : วนิดา ผ่องมณี, 2542

ดีพร้อม ไชยวงศ์ (2528) และอนงค์ จันทร์ศรีสกุล (2551) กล่าวถึงความรู้ในเรื่องของเห็ดกินได้และเห็ดมีพิษในประเทศไทยการบริโภคเห็ดในชุมชนบางกลุ่มอาศัยความเชื่อที่มีมาแต่บรรพบุรุษปัจจุบันจึงมีการรวบรวมเห็ดป่ามาศึกษาจัดอนุกรมวิธานและเผยแพร่เห็ดที่กินได้หรือเห็ดมีพิษมากขึ้นโดยทั่วไปแล้วยังไม่มีวิธีการใดที่สามารถแยกได้ว่าเห็ดชนิดใดมีพิษหรือเห็ดชนิดใดไม่มีพิษหรือการได้รับพิษจากการรับประทานเห็ดในแต่ละคนแตกต่างกันแต่วิธีการโดยทั่ว ๆไปที่สามารถสังเกตได้คือ

1. เมื่อนำเห็ดที่จะทดสอบมาต้มกับข้าวสารในขณะที่ต้มหรือแกงให้ใส่ข้าวสารลงไปถ้าเป็นเห็ดพิษหรือเห็ดเมาข้าวสารจะสุกๆดิบๆถ้าเห็ดไม่มีพิษข้าวสารจะสุกเป็นปกติ

2. ในขณะที่นำเห็ดมาปรุงอาหารให้ใส่หัวหอมลงไปถ้าเป็นเห็ดเมาหรือเห็ดพิษหัวหอมจะเปลี่ยนเป็นสีดา

3. ในขณะที่นำเห็ดมาต้มให้ทดสอบการใช้ช้อนเงินลงไปกวนถ้าเป็นเห็ดพิษหรือเห็ดเมาช้อนเงินจะเปลี่ยนเป็นสีดา

4. ถ้าเอามือถูเห็ดจนกระทั่งเป็นรอยแผลเมื่อรอยแผลถูกกับอากาศจะเปลี่ยนเป็นสีดำถือว่าเป็นเห็ดพิษหรือเห็ดเมา

5. การสังเกตดูดอกเห็ดถ้าพบว่ามีแมลงกัดกินแสดงว่าไม่เป็นพิษนามารับประทานได้

6. คนส่วนใหญ่เชื่อว่าเห็ดที่ขึ้นนอกฤดูกาลจะเป็นเห็ดพิษหรือเห็ดเมา

7. คนบางคนเชื่อว่าพิษของเห็ดอยู่ที่ผิวหมวกดอกถ้าลอกผิวของหมวกเห็ดออกจะไม่เป็นพิษ

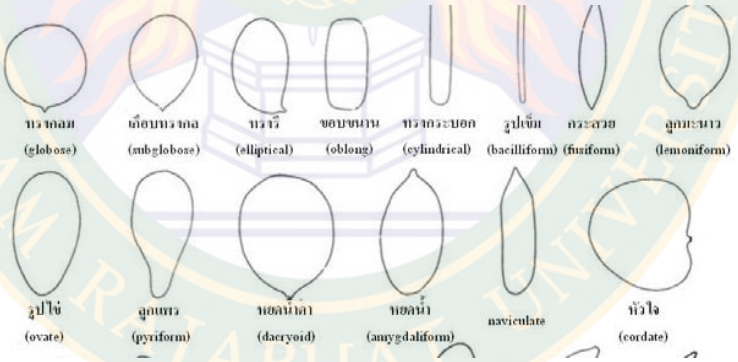
8. คนบางคนทดสอบเห็ดพิษโดยการใช้ปูนกินหมากป้ายที่บริเวณหมวกดอกแล้วทิ้งไว้ถ้าเป็นเห็ดพิษปูนกินหมากจะเปลี่ยนเป็นสีดาถ้าเห็ดไม่มีพิษปูนกินหมากไม่เปลี่ยนสี

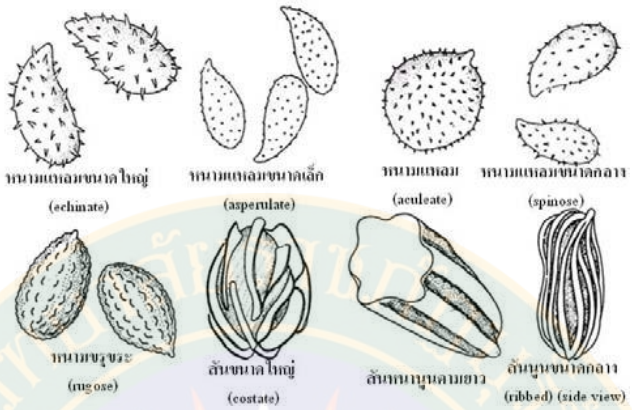
ดีพร้อมไชยวงศ์เกียรติ (2528) กล่าวถึงเห็ดที่จัดว่าเป็นพิษที่ร้ายแรงที่สุดได้แก่เห็ดสกุล *Amanita* และเห็ดสกุล *Helvella* ส่วนสกุลอื่นๆเป็นอันตรายไม่มากนักเพียงแต่มึนเมาเท่านั้น

ลักษณะที่มองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (microscopic features)

1. เบซิดิโอสปอร์ (Basidiospores)

เบซิดิโอสปอร์ หรือสปอร์ ต้องบันทึกทั้ง ขนาด รูปร่าง สิ่งประดับ (Ornamentation) และปฏิกริยาที่ทำกับ Melzer’s solution



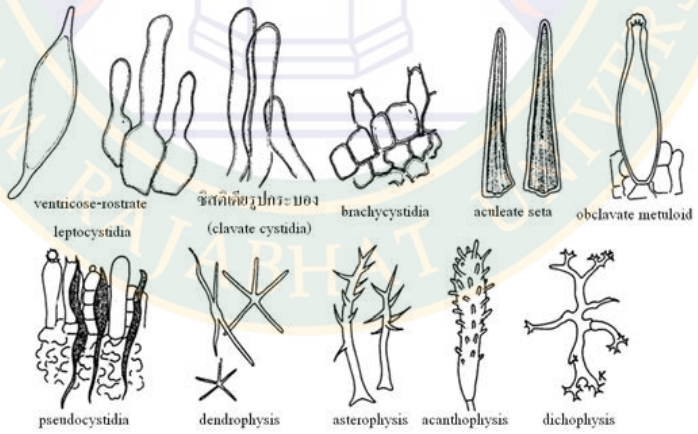


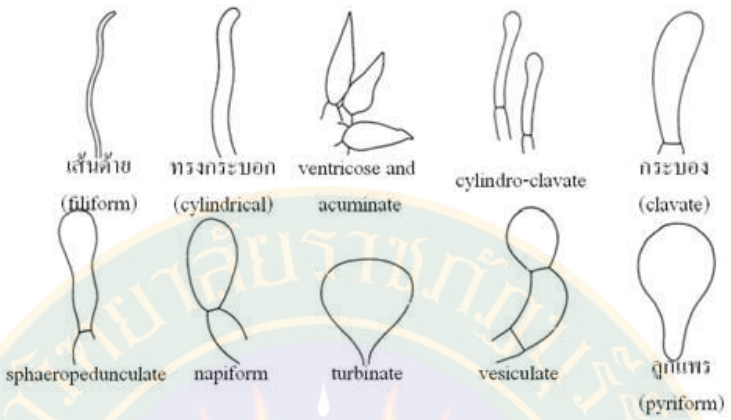
ภาพที่ 2.9 สิ่งประดับที่พบบนผนังสปอร์

ที่มา : วนิดา ผ่องมณี, 2542

2. ซิสติเดีย (Cystidia)

ซิสติเดีย คือ เซลล์ที่เป็นหมันซึ่งพบอยู่ที่ปลายเส้นใยของส่วนที่ให้กำเนิดสปอร์ (Hymenium) หรือพบที่ปลายเส้นใยที่อยู่บริเวณผิวของดอกเห็ด บริเวณที่พบซิสติเดียมีอยู่ด้วยกัน 3 บริเวณ คือ บริเวณผิวของหมวกเห็ดและผิวของก้าน (Dermatocystidia) บริเวณผิวของแหล่งกำเนิดสปอร์ (Hymenialcystidia) และอยู่ในเนื้อหมวกและเนื้อของแหล่งกำเนิดสปอร์ (Endocystidia or Tramalcystidia) นอกจากบริเวณที่พบแล้ว ประเภทของซิสติเดียที่ดูจากความหนาบางของผนัง องค์ประกอบภายในซิสติเดีย การทำปฏิกริยากับสารเคมี และรูปร่างของซิสติเดีย ยังมีความสำคัญอย่างมาก



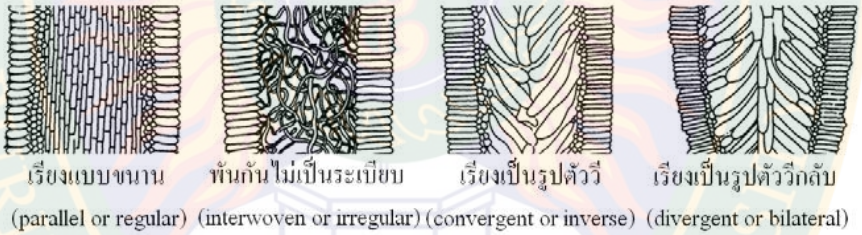


ภาพที่ 2.10 รูปร่างซิสติเดีย (Cystidia)

ที่มา : วนิดา ผ่องมณี, 2542

3. เนื้อส่วนที่ให้กำเนิดสปอร์ (Hymenophoraltrama)

เป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ใต้ชั้นที่ให้กำเนิดสปอร์ (Hymenium) เนื้อเยื่อนี้รวมตัวกันเป็นครีบ (Gill) หรือเป็นท่อ (Tube) จึงอาจเรียกเนื้อเยื่อส่วนนี้ว่า gill trama หรือ tube trama ก็ได้ การเรียงตัวของเนื้อเยื่อนี้มีอยู่ 4 รูปแบบ



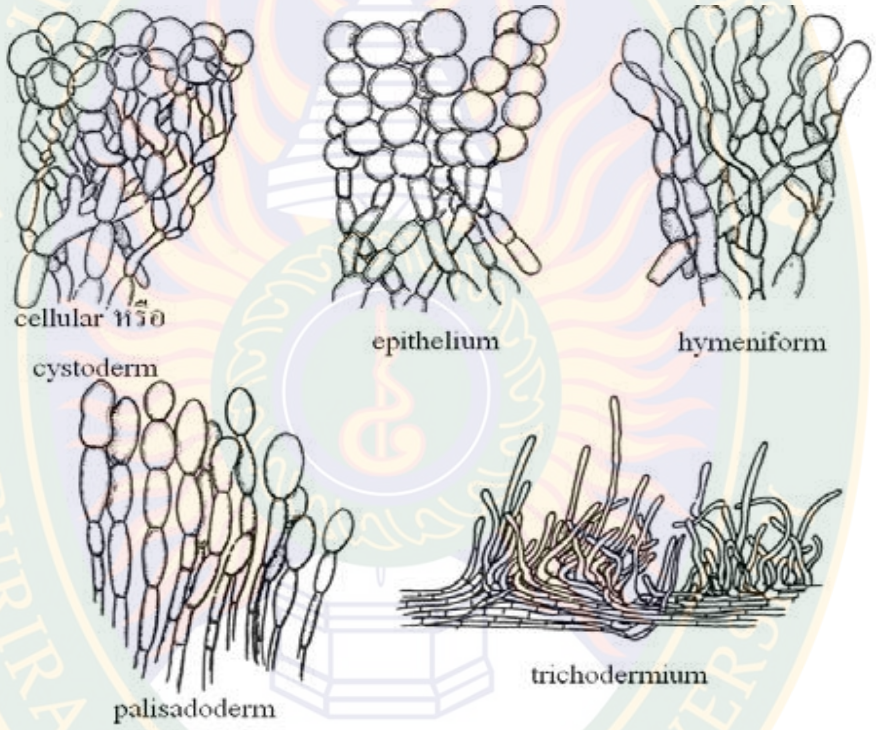
ภาพที่ 2.11 รูปเนื้อส่วนที่ให้กำเนิดสปอร์

ที่มา : วนิดา ผ่องมณี, 2542

4. เส้นใยที่ประกอบกันเป็นดอกเห็ด แบ่งได้เป็น 3 ระบบ คือ monomitic, dimiticและ trimitic สำหรับ monomitic ประกอบด้วยเส้นใย generative hyphae เพียงประเภทเดียว โดยเส้นใย generativehyphaeคือเส้นใยที่มีผนังบาง แตกแขนง และภายในมีผนังกั้นตามขวาง ระบบ dimiticประกอบด้วยเส้นใย generative hyphae และเส้นใย skeletal hyphae ซึ่งเป็นเส้นใยที่มีผนังหนา ไม่แตกแขนง ภายในเส้นใยไม่มีผนังกั้นตามขวาง อาจมีลักษณะเป็นเส้นตรงหรือคดงอเล็กน้อย และระบบ trimitic ประกอบด้วยเส้นใย generative hyphae เส้นใย skeletal hyphae

และเส้นใย binding hyphae ซึ่งเป็นเส้นใยที่มีผนังหนาแตกกิ่งก้านชัดเจนและคดเคี้ยว และไม่พบรูกลวงภายใน

5. ผิว (Pellis) สามารถเรียกได้แตกต่างกันตามตำแหน่งที่พบ คือ ผิวของก้านเรียก stipitipellisและผิวของหมวกเรียก pileipellis โดยการศึกษาเน้นศึกษาไปที่ผิวด้านนอกสุด ซึ่งมีศัพท์ที่ใช้บรรยายด้วยกัน 3 รูปแบบ ใหญ่ ๆ ผิวที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างออกจากเนื้อได้อย่างชัดเจน (Undifferentiated supratellis) ผิวที่เส้นใยซึ่งประกอบกันเป็น ผิวตั้งฉากหรือชูขึ้นมาจากผิว (Derm) และผิวที่เส้นใยซึ่งประกอบกันเป็นผิวราบไปกับเนื้อ (Cutis)



ภาพที่ 2.12 ลักษณะของผิว (Pellis)

ที่มา : วนิดา ผ่องมณี, 2542

2.3 วงจรชีวิตของเห็ด (อนงค์ จันทร์ศรีสกุล, 2542)

วงจรชีวิตของเห็ดราทุกชนิดมีลักษณะคล้ายคลึงกันเมื่อสปอร์ตกอยู่สภาพที่เหมาะสมก็จะงอกเป็นใยราและกลุ่มใยรา (mycelium) แล้วรวมเป็นกลุ่มก้อนเกิดเป็นดอกเห็ดเมื่อดอกเห็ดเจริญเติบโต

จะสร้างสปอร์ซึ่งจะปลิวหรือหลุดไปสามารถงอกเป็นใยราได้อีกวงจรชีวิตของเห็ดแยกได้ 2 แบบ (ราชบัณฑิตยสถาน, 2550)

1. แบบต่างเพศร่วมทัลลัส (Homothallic) เกิดขึ้นได้จากใยราปฐมภูมิพัฒนาเจริญจนครบวงจรถึงขั้นเป็นดอกเห็ดและผลิตสปอร์ใหม่ได้

2. แบบต่างเพศต่างทัลลัส (Heterothallic) เกิดจากใยราปฐมภูมิต่างเพศที่เข้ากันได้ผสมกันพัฒนาไปเป็นใยราทุติยภูมิเสียก่อนจึงมีการเจริญต่อไปจนครบวงจรชีวิตถึงขั้นเป็นดอกเห็ดและสร้างสปอร์ใหม่

วงจรชีวิตของเห็ดเริ่มจากสปอร์เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสปอร์จะงอกเป็นเส้นใยขั้นที่ 1 (Primary mycelime) แต่ละเซลล์ภายในเส้นใยมี 1 นิวเคลียสต่อมาเส้นใยนี้จะพัฒนาเป็นเส้นใยขั้นที่ 2 (Secondary mycelime) เมื่อเจริญมาพบกับเส้นใยขั้นที่ 1 เกิดการรวมตัวกันเซลล์บริเวณปลายเส้นใยได้เซลล์ใหม่ภายในเซลล์ประกอบด้วย 2 นิวเคลียสเจริญเป็นเส้นใยขั้นที่ 2 อาจเรียกเส้นใยขั้นที่ 2 นี้ว่าไดคาริโอติดไมซีเลียม (Dikaryoticmycelime) และเส้นใยระยะนี้จะพบมากที่สุดในธรรมชาติเป็นเส้นใยอาหารสาหรับการเกิดเส้นใยขั้นที่ 2 นี้จะแตกต่างกันไปตามชนิดของเห็ด ในเห็ดบางชนิดเซลล์สามารถรวมและถ่ายทอดนิวเคลียสกันได้ต้องมาจากเส้นใยขั้นที่ 1 ที่สารพันธุกรรมต่างกัน 2 เส้นคืองอกมาจากสปอร์ต่างชนิดกันหรือต่างเพศกันที่สามารถรวมกันได้เท่านั้น (Compatible) ลักษณะเช่นนี้เรียกว่าเป็นพวก heterothallic ส่วนพวกที่เซลล์สามารถรวมกันได้โดยไม่คำนึงว่าเป็นเส้นใยจากสปอร์เดียวกันหรือไม่เรียกว่าเป็นพวก heterothallic เส้นใยขั้นที่ 2 จะเจริญต่อไปจนกระทั่งสภาพแวดล้อมเช่นอุณหภูมิความชื้นและแสงเหมาะสมต่อการสร้างดอกเห็ดเส้นใยจะเพิ่มจานวนมากขึ้นและอัดตัวรวมกันสร้างเป็นดอกเห็ดและเจริญเพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์คือสปอร์ต่อไป (อนงค์ จันทร์ศรีสกุล. 2551)

เห็ดเป็นสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีคลอโรฟิลล์มักพบทั่วไปในฤดูฝนโดยทั่วไปเห็ดชอบขึ้นบนวัตถุที่เน่าเปื่อยผุพังเช่นตามพื้นดินที่มีอินทรียวัตถุสูงในป่าที่มีใบไม้ผุเปื่อยหรือตามกองปุ๋ยหมักปุ๋ยคอกตามทุ่งนาฟางที่ผุผังและขอนไม้ผุจึงจัดได้ว่าเห็ดเป็นพวกเฮทเทอโรโทรฟ (Heterotroph) ซึ่งหมายถึงสิ่งมีชีวิตที่ไม่สามารถสังเคราะห์อาหารได้เองจาเป็นต้องได้รับอาหารซึ่งมีอินทรีย์สารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นแล้ว

การดำรงชีวิตของเห็ดจำแนกออกเป็น 4 ประเภทคือ

1) แบบปรสิต (Parasite) เป็นเห็ดที่เป็นสาเหตุของโรคพืชและสัตว์มีการดารงชีวิตโดยอาศัยอาหารจากสิ่งมีชีวิตอื่นโดยเฉพาะต้นไม้ที่ยังไม่ตายตัวอย่างเช่นเห็ดหิ้งเห็ดบางชนิดทาให้เกิดโรคไส้เน่าโรครากเน่า (Root Rot) ซึ่งพบว่าเห็ดบางชนิดทาให้เกิดโรคกับแมลงได้เช่น *Cordyceps* spp.

2) แบบแซโพรไฟต์ (Saprophyte) เป็นเห็ดที่ทาหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลายอินทรีย์สารเห็ดกลุ่มนี้จะพบเจริญขึ้นโดยตรงจากเศษซากของสิ่งมีชีวิตมีการดารงชีวิตแบบอาศัยอาหารจากสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้วซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการหมุนเวียนของธาตุอาหารในระบบนิเวศตัวอย่างเช่นเห็ดฟางเห็ดหอม

3) แบบปรสิตตามโอกาส (Facultative parasite) เป็นการดารงชีวิตโดยอาศัยอาหารจากสิ่งมีชีวิตและสิ่งที่ตายแล้วตัวอย่างเช่นเห็ดกระด้าง

4) แบบซิมไบโอซิส (Symbiosis) เป็นเห็ดที่มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยมีการดารงชีวิตอยู่รวมกันระหว่างเห็ดกับสิ่งมีชีวิตอื่นโดยต่างฝ่ายต่างได้รับประโยชน์ซึ่งกันและกันเส้นใยเห็ดจะดูดซึมธาตุอาหารและความชื้นภายในดินให้แก่รากพืชขณะเดียวกันก็จะได้รับคาร์โบไฮเดรตโปรตีนและน้าจากรากพืชตัวอย่างเช่นเห็ดโคน (*Termitomyces* spp.)จะขึ้นร่วมกับรังปลวกใต้ดินเห็ดตับเต่าเห็ดเผาะเห็ดเสม็ด

ประเภทของเห็ด

เห็ดแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มดังนี้

1) เห็ดที่รับประทานได้ (Edible mushroom)

เห็ดที่รับประทานได้มักมีรสและกลิ่นหอมเนื้ออ่อนนุ่มหรือกรุบกรอบเช่นเห็ดหูหนูเห็ดฟางเห็ดนางรมเห็ดภูฏานเห็ดโคนเห็ดตับเต่าบางชนิดเพาะเลี้ยงได้บางชนิดเพาะเลี้ยงไม่ได้

2) เห็ดมีพิษ (Poisonous mushroom)

เห็ดมีพิษมีหลายชนิดบางชนิดมีพิษร้ายแรงถึงตายเช่นเห็ดระโงกหินบางชนิดมีพิษทาให้เกิดอาการอาเจียนมึนเมาเช่นเห็ดร่างแหเห็ดปลวกฟานเห็ดหัวกรวดครีบเขียวอ่อนเห็ดขี้ควายเป็นต้น

การจำแนกเห็ดพิษเป็นไปได้ยากเนื่องจากเห็ดในสกุลเดียวกันบางชนิดรับประทานได้บางชนิดเป็นพิษถึงตายเช่นเห็ดในสกุล *Amnita* และเห็ดในสกุล *Lepiota* ดังนั้นการเก็บเห็ดที่ไม่รู้จักมารับประทานจึงไม่ควรทาควรเก็บเห็ดรับประทานเฉพาะเห็ดที่รู้จักเท่านั้นเนื่องจากความเป็นพิษของเห็ดบางชนิดรุนแรงถึงตายบางชนิดทาให้เกิดอาการอาเจียนหรือท้องร่วงพิษของเห็ดจะเข้าไปทาลายระบบประสาทตับไตและประสาทตา

2.4 ความหลากหลายทางชีวภาพของป่าชุมชน

ในปัจจุบันความเจริญก้าวหน้าทางด้านเศรษฐกิจและสังคมอย่างมากนั้นประเทศที่พัฒนาแล้วและที่กาลังพัฒนากาลังประสบปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งสภาพแวดล้อมที่เป็นแหล่งที่เกี่ยวข้องกับแหล่งที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตที่อุดมสมบูรณ์ด้วยความหลากหลายทางชีวภาพอย่างมากมายมหาศาลในบริเวณร้อนสภาพป่าเขาป่าไม้ชายเลนแม่น้าลาคลองหนองบึงต่างๆซึ่งเป็นแหล่งสะสมทรัพยากรชีวภาพ

ความหมายทางชีวภาพหรือ Biological diversity หรือเขียนย่อว่า Biodiversity มีความหมายง่ายๆว่าเป็นสภาพโดยรวมของสิ่งมีชีวิตและพันธุกรรมทั้งหมดที่ปรากฏอยู่ในโลกนี้มีความหมายครอบคลุมถึงทุกสิ่งทุกอย่างที่เกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิตในโลกกล่าวโดยสรุปว่าความหลากหลายมี 3 ประเด็น

1) ความหลากหลายของชนิดหรือสปีชีส์ (Species diversity) ของสิ่งมีชีวิตทั้งหมดไม่ว่าจะเป็นพวกโปรคาริโอตจุลินทรีย์พืชสัตว์รวมทั้งมนุษย์ด้วย

2) ความหลากหลายทางพันธุกรรม (Genetic diversity) ที่มีอยู่ในแต่ละหน่วยสิ่งมีชีวิตที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มประชากรหรือเป็นกลุ่มของประชากร

3) ความหลากหลายทางนิเวศวิทยา (Ecological diversity) ตามแหล่งที่อยู่อาศัยต่างๆกันของสิ่งมีชีวิต

ดังนั้นความหลากหลายทางชีวภาพ (Biological diversity หรือ Biodiversity) หมายถึงคุณสมบัติของสังคมของสิ่งมีชีวิตที่หลากหลายของกลุ่มสิ่งมีชีวิตเชิงนิเวศวิทยา (Ecological

community) สรรพสิ่งมีชีวิตทั้งหลายนี้เป็นผลพวงมาจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการตามกาลเวลาและตามสภาวะสมดุลของธรรมชาติอันประกอบด้วยถิ่นอาศัยหลายประเภท

2 5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) คือ สารจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์ และพืช สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต้องเป็นสารที่มีผลจำเพาะเจาะจง เช่น มีฤทธิ์จำเพาะต่อเซลล์ของมะเร็งเต้านม มีฤทธิ์จำเพาะต่อเชื้อวัณโรค เป็นต้น และสารนั้นจะต้องไม่มีผลทางลบต่อร่างกาย หรือมีผลข้างเคียงน้อยมาก เพราะเมื่อสารนั้นถูกนำมาแปรรูปให้เป็นส่วนประกอบของยา ย่อมไม่ต้องการให้ยามีผลกับส่วนที่ดีของร่างกาย ยกเว้น เชื้อโรค หรือส่วนเกิน (มะเร็ง) ที่เราต้องการขจัดเท่านั้น สารใดก็ตามถ้ามีผลข้างเคียงที่ไม่ต้องการ เราก็จะจัดสารนั้นให้อยู่ในพวกสารพิษ (Toxic substance) ในการคัดหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จะต้องอาศัยเครื่องมือในการทดสอบฤทธิ์ และวิธีการต่างๆ ดังนี้

2.5.1 วิธี paper disc diffusion

หลักการคือ ใช้สำลีพันก้านป้ายเชื้อที่ต้องการลงบนอาหารที่เตรียมไว้ หยดสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายลงในแผ่น paper disc แล้ววางลงบนอาหารที่ป้ายเชื้อไว้แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ของบริเวณที่ยับยั้ง (Inhibition zone) มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากเป็นวิธีซึ่งสะดวก และรวดเร็ว สามารถให้ผลที่แน่นอนและถูกต้อง การทดสอบวิธีนี้ใช้หลักการแพร่ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบนกระดาษกรอง (Filter paper disc) ในปริมาณทดสอบที่กำหนดไว้ และวัดผลการยับยั้งจุลินทรีย์ได้จากขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยั้บยั้ง (Inhibition zone)

2.5.2 การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบต่อดัชนีการแบ่งเซลล์โดย Mitotic index (MTT)

เพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์ P388 ในอาหาร RPMI-1640 ที่มีFBS 8% ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37ºC ที่มี CO2 5% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 50 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มต่ออีก 24 ชั่วโมง ก่อนครบเวลาทำการเติมสาร colcemidความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อครบเวลานำเซลล์ มาปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ออก และทำให้เซลล์บวม (hypotonic

treatment) โดยสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) ความเข้มข้น 0.075 M และตรึงเซลล์ เตรียมสไลด์และย้อมสีโครโมโซมด้วยสี giemsaนับจำนวน โครโมโซมและศึกษาอัตราการแบ่งเซลล์ ซึ่งได้จากการสุ่ม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์จากจำนวนเซลล์เมทาเฟส 2000 เซลล์ ของกลุ่มทดลองเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมบริเวณยับยั้ง (clear zone) มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร (ณัฐพรและคณะ, 2013)

2.5.3 การทดสอบหาค่า Minimum Inhibitory concentration โดย Broth Dilution Technique

ใช้วิธีการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ และทำการเจือจางสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจากการทดสอบวิธี Broth Dilution แบบลำดับสอง (2-fold dilution) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้ความเข้มข้นชนิดละ 10 ความเข้มข้น และนำไปบ่มกับเชื้อจุนทรีย์ที่เตรียมไว้ จากนั้นทำการอ่านผลการหา Minimum Inhibitory Concentration (MIC) เมื่อบ่มเชื้อจนครบ 18-24 ชั่วโมง แล้ว สังเกตหลอดสุดท้ายที่ไม่มีจุลินทรีย์เจริญหรืออาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดไม่ขุ่น อ่านปริมาณของสารทดสอบของหลอดนี้เป็นค่า MIC ของการทดลองค่า MIC คือ ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดที่ใช้ทดสอบที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้อย่างสมบูรณ์ (Lorian, 1991)

2.5.4 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

Escherichia coli (*E. coli*)

ลักษณะทั่วไป : เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำทำให้เกิดโรค**อาหารเป็นพิษ** อาการทั่วไปคือ ท้องร่วง ปวดท้อง ไข้ต่ำ คลื่นไส้ และ อ่อนเพลียแหล่งที่พบคือน้ำที่ปนเปื้อน แล้วไปปนเปื้อนต่อในอาหาร (Food Network Solution, 2015)

Staphylococcus aureus (*S. aureus*)

ลักษณะทั่วไป : เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในอาหาร ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างเป็นทรงกลมอยู่รวมกันเป็นพวงคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนไหว และในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะสลายน้ำตาลกลูโคสให้กรดอินทรีย์เจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่เจริญได้ดีกว่าในสภาวะที่มีอากาศสร้างสารพิษ (Toxin) ชนิดเอนทีโรทอกซิน (Enterotoxin) สารพิษที่สร้างมีสมบัติพิเศษ คือ ทนความร้อนทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ อาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและ

อ่อนเพลีย ผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการปวดศีรษะ เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติ ซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหาร และปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อด้วย (Food Network Solution, 2015)

2.6 การสกัดสารด้วยตัวทำละลาย

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีหนึ่งที่มีประโยชน์มากในการแยกสารและทาสารให้บริสุทธิ์ เช่นการสกัดแยกสารประกอบบางชนิดออกจากแหล่งที่เกิดในธรรมชาติเช่นใบไม้ดอกไม้การสกัดแยกสารผลิตภัณฑ์ออกจากของผสมหลังทาปฏิกิริยาหลักการของการสกัดคือ การใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมการสกัดพอจะแบ่งได้คร่าวๆเป็น 3 วิธีดังนี้

Solid/Liquid Extraction เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมซึ่งเป็นของแข็งการสกัดแบบนี้มีหลักการไม่แตกต่างจากการหาตัวทำละลายเพื่อตกผลึกสาร

Liquid/Liquid Extraction เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมซึ่งเป็นของเหลว

Acid/Base Extraction เป็นการใช้ปฏิกิริยากรดเบสเพื่อแยกสารอินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นกรดแก่กรดอ่อนกลางและเบสออกจากกัน

Solid/Liquid Extraction

การสกัดวิธีนี้ทำได้โดยแช่ของแข็งที่ต้องการสกัดในตัวทำละลายที่ต้องการเป็นเวลานานโดยใช้ภาชนะที่เหมาะสมเครื่องมือสกัดแบบซ็อกเล็ต (Soxhlet extractor) เป็นอุปกรณ์ที่ออกแบบมาสาหรับสกัดสารให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดซึ่งนิยมใช้ในกรณีที่สารที่จะสกัดละลายได้ไม่ดีนักในตัวทาละลายอินทรีย์ที่จะสกัดการจัดตั้งอุปกรณ์การสกัดทำโดยอาศัยหลักการการให้ตัวทาละลายระเหยกลายเป็นไอจากนั้นกลั่นตัวเป็นของเหลวผ่านลงไปในสาร (ของแข็งหรือของเหลว) จากนั้นตัวทำละลายที่ได้สัมผัสกับสารจะไหลลงสู่ขวดรองรับตัวทาละลายที่พาสารลงมาในขวดนี้จะถูกระเหยกลับขึ้นไป (ทิ้ง

สารที่สกัดออกมาไว้ในขวดรองรับ) แล้วกลั่นตัวลงบนสารซ้ำแล้วซ้ำอีกดังนี้ไปเรื่อยๆการกระทำเช่นนี้จะทำให้ได้สารที่ต้องการสกัดในขวดรองรับในที่สุด

Liquid/ Liquid Extraction

ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดควรมีสมบัติเช่นเดียวกับตัวทำละลายที่เลือกสำหรับตกผลึกสารตัวทำละลายที่ดีควรละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดีมีจุดเดือดไม่สูงนักเพื่อที่จะกำจัดออกไปจากสารที่ต้องการได้ง่ายหลังการสกัดต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารหรือกับตัวทำละลายอื่นที่จะใช้ร่วมกันไม่ควรติดไฟง่ายไม่ควรมีพิษและราคาไม่แพงตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารในห้องปฏิบัติการได้แก่ diethyl ether, dichloromethane, ethyl acetate และ 1-butanol ในทางปฏิบัติมักจะนิยมสกัดสารอินทรีย์ซึ่งอาจละลายหรือแขวนลอยอยู่ในวัฏภาคน้ำด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำเมื่อตั้งทิ้งไว้จะเกิดการแยกชั้นสารทั้งหลายที่มีอยู่ในของผสมจะละลายอยู่ทั้งในชั้นตัวทาละลายอินทรีย์และชั้นน้ำมากน้อยตามความสามารถในการละลายของมันในตัวทาละลายแต่ละชนิดหลักเกณฑ์การละลายของสารโดยทั่วไปคือสารที่แตกตัวเป็นไอออนได้หรือสารที่มีพันธะไฮโดรเจนกับน้าได้จะอยู่ในชั้นน้ำมากในขณะที่สารที่ไม่มีขั้วจะอยู่ในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ (ส่วนใหญ่มีขั้วน้อย) โดยมีค่าคงที่ซึ่งเรียกว่าสัมประสิทธิ์การแจกแจง (distribution coefficient) หรือสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วน (partition coefficient)ซึ่งมักใช้อักษรย่อว่า K เป็นค่าคงที่ซึ่งบ่งให้ทราบว่าสารที่สนใจละลายในตัวทำละลายแต่ละชั้นของตัวทาละลายคู่หนึ่งๆมากน้อยเท่าไร ณ ภาวะสมดุลที่อุณหภูมิคงที่โดยสามารถเขียนสมการแสดงความสัมพันธ์ได้ดังนี้

Acid/Base Extraction

การสกัดด้วยปฏิกิริยากรด/เบสนี้สามารถใช้แยกสารที่เป็นกรดแก่กรดอ่อนกลางและเบสออกจากกันได้หลักการคือสารเหล่านี้อยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวจะละลายได้ดีในตัวทาละลายอินทรีย์แต่เมื่อมันทำปฏิกิริยากับกรดหรือเบสที่เหมาะสมก็จะเกิดเป็นเกลือซึ่งอยู่ในรูปของไอออนจึงละลายน้ำได้ดีทำให้สามารถแยกออกจากสารที่ไม่แตกตัวอื่นๆได้โดยง่ายในที่นี้จะอธิบายโดยใช้ตัวอย่างของของผสมที่มีกรดเบนโซอิก (กรดแก่) ฟีนอล (กรดอ่อน) แนพทาลีน (เป็นกลาง) และอะนิลีน (เบสอ่อน) ผสมกันอยู่เมื่อเริ่มต้นสารทั้งสี่ละลายอยู่ในอีเทอร์เมื่อเติมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (เบสอ่อน) ลงไปในสารละลายมันจะทาปฏิกิริยาเฉพาะกับกรดแก่ซึ่งในที่นี้คือกรดเบนโซอิกได้ผลิตภัณฑ์เป็นโซเดียมเบน

โซเอตซึ่งเป็นเกลือจึงละลายน้ำได้ดีทาให้แยกจากชั้นอีเทอร์ไปสู่ชั้นน้ำได้ชั้นน้ำที่สกัดได้นี้สามารถทำให้ได้กรดเบนโซอิกตกผลึกออกมาโดยทำให้เป็นกรด

2.7 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Iwalokunและคณะ (2007) ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเห็ดนางรม *P. ostreastus* ต่อเชื้อ *B. subtilis, E. coli* ,*Saccharomyces cerevisae*, *Samonella typhi* จากการทดสอบด้วยวิธี agar well diffusion method พบว่าวิธีการสกัดด้วย petroleum ether สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าสารสกัดที่ได้จากการใช้ acetone ขณะที่การใช้ acetone จะได้สารที่มีคุณสมบัติเป็น antioxidant มากกว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial)

Ishikawa และคณะ (2001) ทำการเพาะเลี้ยงเส้นในเห็ดหอมจำนวน 35 isolates ในอาหารเหลว malt extract broth พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมคือที่ 25 C ไม่มีการเขย่า หลังจากเลี้ยงครบ 30 วัน สกัดเส้นใยด้วย ethyl acetate และน้ำ นำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบกับเชื้อก่อโรคในคนและเป็นเชื้อที่มักพบว่ามีการปนเปื้อนในอาหารบ่อย พบว่าสารสกัดหยาบจาก *L. edodes* isolate Le1 มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 8 ชนิด จากจำนวน 20 ชนิด โดยมีประสิทธิภาพดีกับแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *B. cereus, B. subtilis, Listeria innocuo, L.monocytogenes, Staphylococcus aureus, S. epidermidis*

Hirasawa และคณะ (1990) ทดลองใช้สารเคมี 3 ชนิด ในการสกัดจากดอกเห็ดหอมแห้ง ได้แก่ chloroform, ethyl acetate และน้ำ พบว่าสารสกัดหยาบจากทั้ง 3 ชนิด ทั้งหมดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus* spp. และ เชื้อรากลุ่ม *Actinomyces* spp. , *Lactobacillus* spp., *Prevotella* sppและ *Porphyromonas* spp. แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia* spp., *Bacillus* spp. และ *Canida* spp. สารสกัดที่ได้จากการใช้ chloroform สามารถยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutants* และ *P. intermedia* ได้ดีที่สุด

รัชดาภรณ์ เบญจวัฒนานนท์และคณะ (2551) ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดและแนวทางพัฒนาการจำแนกเห็ดมีพิษอย่างบูรณาการ กรณีศึกษา: ตำบลท่าลี่ อำเภอท่าลี่ จังหวัด

เลยการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดและแนวทางพัฒนาการ จำแนกเห็ดมีพิษอย่างบูรณาการกรณีศึกษาตำบลท่าลี่ อำเภอท่าลี่ จังหวัดเลย การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ 3 ข้อคือ 1) ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ด 2) จำแนกเห็ดกินได้และเห็ดมีพิษ โดยวิธีทางวิทยาศาสตร์และภูมิปัญญาท้องถิ่น และ 3) สร้างแบบจำแนกเห็ดมีพิษอย่างง่าย จากการวิจัยพบว่าเห็ดที่พบทั้งหมด 30 ชนิด จัดอยู่ใน 14 วงศ์ เห็ดที่พบมากที่สุดอยู่ในวงศ์ Agaricaceae พบ 9 ชนิด รองลงมาคือ Ressulaceae พบ 7 ชนิด วงศ์ Cantharellaceae และ Polyporaceae พบอย่างละ 2 ชนิด เห็ดมีนิเวศวิทยาสิ่งแวดล้อม ที่อุณหภูมิ 30-31 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 74-90% วิธีทดสอบเห็ดพิษเบื้องต้นโดยนำเห็ดที่สงสัยต้มกับข้าวสาร หากเห็ดมีพิษข้าวสารจะไม่สุก หรือเมื่อใส่หัวหอมลงในหม้อต้มเห็ด หากเห็ดมีพิษน้ำต้มเห็ดเปลี่ยนเป็นสีดำเมื่อใช้ช้อนสัมผัสน้ำต้มเห็ดพิษช้อนเปลี่ยนเป็นสีดำและใช้มือทำให้เห็ดเกิดรอยหากรอยแผลเปลี่ยนเป็นสีดำส่วนใหญ่เป็นเห็ดพิษที่ประชาชนสับสนกินผิดบ่อยอันตรายถึงชีวิตคือเห็ดระโงกขาว Amanita citrine var citrine และเห็ดระโงกเหลือง *A. vaginta* ไม่มีพิษส่วน *A. phalloides* มีพิษ เมื่อนำเห็ดพิษ 6 ตัวอย่างทดสอบระดับดีเอ็นเอ พบว่า MRI1 ได้แถบดีเอ็นเอขนาด 750 bp และ MR2,MR3 และ MR4 ได้แถบดีเอ็นเอขนาดเท่ากัน 780 bp MR5 ได้แถบดีเอ็นเอ 2 แถบขนาด 800 bp และ 1,000 bp และ MR6 ได้แถบดีเอ็นเอขนาด 700 850 1,100 bp สามารถใช้วิทยาศาสตร์ขั้นสูงในการจัดจำแนกเห็ดตระกูล Amanita ได้อย่างดีที่สุดเพราะบ่งชี้ได้ถึงความแตกต่างระดับโมเลกุลของชนิดนั้นๆ

พรรณพร และคณะ (2554) ได้เปรียบเทียบลักษณะสัณฐานของเห็ดระโงกหิน (เห็ดพิษ) กับเห็ดไข่ขาว (เห็ดรับประทานได้) พบว่าในระยะอ่อน เห็ดระโงกหินจะมีลักษณะเนื้อแน่น เหนียวคล้ายยางพาราก้านและโคนตัน เมื่อลอกเปลือกหุ้มออกจะเห็ดหมวกสีขาวสว่าง ขอบหมวกเรียบ ในระยะโตเต็มวัย (ดอกบาน) เห็ดระโงกหินจะมีลักษณะ เนื้อแข็ง หมวกสีขาวสว่าง ขอบหมวกมีริ้วคล้ายชายกระโปรง ก้านและโคนตัน เปลือกหุ้มโคนแนบชิดติดก้าน

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์เชียงใหม่ (2550) ได้การสำรวจและศึกษาเบื้องต้นเพื่อรวบรวมและจัดการความรู้เรื่องเห็ดพิษของภาคเหนือ ในพื้นที่เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน และน่าน (อ.ท่าวังผา จ.น่าน) พบว่า เกิดจากการรับประทานเห็ดที่มีรูปร่างคล้ายเห็ดไข่ห่านในสกุล Amanita ซึ่งเห็ดพิษมีการกระจายตัวมากเท่าๆกับเห็ดรับประทานได้ และมีลักษณะใกล้เคียงกับเห็ดรับประทานได้จนแยกออกจากกันได้ยากทั้งนี้จากการสำรวจทุกพื้นที่จะพบเห็ดพิษในสกุลนี้ในพื้นที่จังหวัดน่านมากที่สุด จำนวน

4 สายพันธุ์ คือ *Amanita phalloides*, *Amaitavirosa*, *Amanita verna* และ *Amanita bisporigera*

Pithai และคณะ, 2003 การหาแหล่งของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสมุนไพรเพื่อนำมาใช้ทดแทนสารปฏิชีวนะ ได้มีการศึกษาเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในงานหลายสาขา เช่น จากรายงานของ ประสาทพรและคณะ (2005) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล 2 ชนิดคือ เชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus agalactiae* ของสารสกัดสมุนไพรไทย 3 ชนิด ได้แก่กระเจี๊ยบแดง ใบคูน และกล้วย พบว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงและใบคูนที่สกัดด้วยน้ำและด้วยแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อและฆ่าทั้ง 2 ชนิดได้ดี ขณะที่สารสกัดจากกล้วยมีฤทธิ์ค่อนข้างต่ำ สารสกัดจาก *Hibiscus sabdariffa* Linn. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*F18^{+} ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในสุกรที่ป่วยเป็นโรคท้องร่วง สารสกัดนี้มีค่า Minimum inhibitory concentration เท่ากับ 4.7 และค่า Minimum bactericidal concentration เท่ากับ 9.4 มก./มล.

อรวัสสาและคณะ, (2555) ได้ทำการศึกษาการเตรียมสารสกัดจากเห็ดฟางเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและหาปริมาณฟีนอลิกรวมเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางได้ทำการสกัดเห็ดฟางโดยใช้สารละลาย 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลายพบว่าการสกัดที่ 6 hrของทั้ง 2 อุณหภูมิคือ 25 °C และ 50 °C ให้ปริมาตรของน้ำหนักรวมสูงที่สุดคือ 4.79 g และ 4.91 gตามลำดับและมีร้อยละผลผลิตของน้ำหนักแห้ง (% yield w/w in dry mushroom) เท่ากับ 31.93% และ 32.73% ตามลำดับแสดงให้เห็นว่าความร้อนไม่ได้มีผลต่อปริมาณของสารสกัดเนื่องจากทั้ง 2 อุณหภูมิของการสกัดให้ผลไม่แตกต่างกันและสามารถนำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดเห็ดฟางที่สกัดด้วย 95% เอทานอลที่อุณหภูมิห้องมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงแสดงให้เห็นว่าความร้อนไม่ได้มีผลต่อปริมาณของสารสกัดดังนั้นฤทธิ์ของสารสกัดจากเห็ดฟางจึงมีประโยชน์ในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในเครื่องสำอางต่อไป

น้ำฝน (2556) ได้ศึกษาตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทสามารถละลายสารประกอบฟีนอลิกได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้าและเมทานอลสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาวในชั้นตัวทาละลายเอทิลอะซิเตทมีสมบัติการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุดมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดด้วยเช่นกัน

สุวิทย์ และศิริวรรณ (2553) ได้ศึกษาเห็ดสมุนไพรที่มีปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์สูงและมีศักยภาพในการผลิตน้ำเห็ดสกัดสมุนไพรพร้อมดื่มได้แก่เห็ดนางรมฮังการี เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดหอม และเห็ดหลินจือเมื่อทดลองผลิตน้ำเห็ดสมุนไพรสกัด พบว่าในสูตรธรรมชาติและสูตรผสมน้ำผึ้งใช้สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดที่อัตราส่วนของเห็ดต่อน้ำ 1:15 โดยน้ำหนักใช้อุณหภูมิในการสกัดที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที ผลิตภัณฑ์มีปริมาณ β-1,3-glucan31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในสูตรธรรมชาติ และในสูตรผสมน้ำผึ้งร้อยละ 9 มี β-1,3-glucan42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเมื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 7 วันพบว่าแบคทีเรียทั้งหมด และยีสต์ รา ในผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดอยู่ในช่วง $1x10^{-1}.5x10$ และ $1x10^{-6}.5x10$โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำเห็ดหลินจือที่ประกาศโดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พ.ศ. 2547 จากผลการทดลองเห็นได้ว่าน้ำเห็ดสมุนไพรสกัดพร้อมดื่มสามารถผลิตได้จากเห็ดที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่ายในท้องถิ่น มีราคาถูก และมีกระบวนการผลิตที่ไม่ซับซ้อน จึงสามารถผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพที่ช่วยเพิ่มมูลค่าของผลิตผลทางการเกษตรได้ นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติที่สำคัญในการป้องกันโรคและเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันร่างกายอีกด้วย

ประพจน์และคณะ (2552) ได้ศึกษาสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดแครงที่สกัดด้วยเอทานอล 95 % และแอซีโทนสามารถยับยั้ง *B. subtilis* และ *E. coli* ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 100, 6.25 มก./มล. ตามลำดับและเมื่อแยกองค์ประกอบของสารสกัดหยาบโดยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบางพบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอธานอล 95 % ใช้ไดคลอโรมีเทน : เอธานอล 95 % ในอัตราส่วน 7 : 3 ปริมาตร/ปริมาตรเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่จะแยกสารได้ 2 แถบที่มีค่า R_f 0.42 และ 0.88 ตามลำดับส่วนสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยแอซีโทนใช้ไดคลอโรมีเทน : เอธานอล 95 % ในอัตราส่วน 3 : 7 ปริมาตร/ปริมาตรจะแยกสารได้ 4 แถบที่มีค่า R_f 0.46, 0.64, 0.84 และ 0.90 ตามลำดับ

ชลดา และคณะ (2556) ได้สกัดเห็ดหิ้งเกือกม้าด้วยวิธีสกัดแอลคาลอยด์ได้ %yield สูงสุด (20.82) รองลงมาคือการสกัดด้วยเอทานอล (18.5%) และการสกัดด้วยน้ำ (14.5%) ตามลาดับซึ่งการสกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพดีมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ Ascorbic acid ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐานซึ่งเป็นที่น่าสนใจในการนาไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1 เครื่องชั่งแบบหยาบ (Triple beam balance; Tanita)

3.1.2 เครื่องชั่งแบบละเอียด (Analytical balance; Mettler Toledo PB 303)

3.1.3 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave; Hirayama HV-85)

3.1.4 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Oven; Memmert UM 600)

3.1.5 เตาอุ่นความร้อน (Hot plate; stuart scientific SM 22)

3.1.6 ตู้ถ่ายเชื้อ (Lamima flow; MDH contamination control)

3.1.7 กล้องถ่ายรูปดิจิตอล (Fujifilm; Fine Pix A 101)

3.1.8 เครื่องบด (Foulinex; A327R7)

3.1.9 โถดูดความชื้น

3.1.10 เครื่องผสมสาร (Vortex)

3.1.11 กล้องจุลทรรศน์

3.1.12 จานเพาะเชื้อ (Petridish)

3.1.13 หลอดทดลอง (Testube)

3.1.14. ที่วางหลอดทดลอง (Rack)

3.1.15 บีกเกอร์ (Beaker)

3.1.16 แท่งแก้วงอ (Spreader)

3.1.17 ปิเปตต์ (Pipette)

3.1.18 ปิเปตต์ปั๊ม

3.1.19 ขวดรูปชมพู่

3.1.20 กระดาษกรอง (Paper disc)

3.1.21 ปากคีบผ่าตัด (Forceps)

3.1.22 สไลด์

3.1.23 อุปกรณ์ทางจุลชีววิทยา เช่น เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle) ตะเกียง (Turnel) ห่วงถ่ายเชื้อ (Loop) สำหรับใช้ในการแยกเชื้อแบคทีเรีย

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 Nutrient agar (NA)

3.2.2 MHB

3.2.3 Plate count agar (PCA)

3.2.4 MHA

3.3 สารเคมี

3.3.1 คริสตัล ไวโอเลต (crystal violet)

3.3.2 ไอโอดีน (iodine)

3.3.3 เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (ethyl alcohol 95 percent)

3.3.4 ซาฟรานินโอ (safranin o)

3.3.5 BariumSulphate

3.3.6 แอลกอฮอล์ 95 %

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 คัดเลือกเห็ดพื้นบ้านรับประทานได้

จากแผนงานวิจัยเรื่อง การสำรวจและจัดทำฐานข้อมูลคุณค่าของความหลากหลายทางชีวภาพเห็ดพื้นบ้านที่รับประทานได้ ในเขตพื้นที่วนอุทยาน ภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ โดยมีโครงการย่อย 2 โครงการคือการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดพื้นบ้านที่รับประทานได้ บริเวณพื้นที่วนอุทยาน ภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์และ การจัดทำระบบฐานข้อมูล ความหลากหลายของชนิดพันธุ์การแพร่กระจาย กับการ

ประยุกต์ใช้เชิงเศรษฐกิจของเห็ดพื้นบ้านที่รับประทานได้ บริเวณพื้นที่วนอุทยานภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ทำให้ผู้วิจัยได้ทราบถึงความหลากหลายและความชุกของเห็ดพื้นบ้านรับประทานได้รวมถึงภูมิปัญญาชาวบ้านที่มีการนำเห็ดมารับประทานอีกด้วย ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงคัดเลือกเห็ดพื้นบ้านจำนวน 3 ชนิดที่พบและมีการใช้เป็นยาสมุนไพรมาทำการสกัดสารสกัดชีวภาพ ได้แก่ เห็ดระโงก เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ

3.4.2 การเตรียมเห็ดพื้นบ้านรับประทานได้

งานวิจัยนี้ผู้วิจัยจะทำการเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากเห็ดส่วนที่เป็นเห็ดสดและเห็ดแห้งผง โดยมีวิธีการเตรียมดังนี้

3.4.2.1 เห็ดพื้นบ้านสด

นำเห็ดพื้นบ้านทั้ง 3 ชนิดมาทำการตัดดินบริเวณปลายออกจากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดเบาๆ ก่อนจะผึ่งให้สะเด็ดน้ำ หั่นเห็ดเป็นชิ้นขนาด 2x2 ซม. และชั่งเพื่อใช้ในการสกัดขั้นต่อไป

3.4.2.2 เห็ดแห้งผง

นำเห็ดพื้นบ้านทั้ง 3 ชนิดมาทำการตัดดินบริเวณปลายออกจากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดเบาๆ ก่อนจะผึ่งให้สะเด็ดน้ำ หั่นเห็ดเป็นชิ้นขนาด 2x2 ซม. จากนั้นนำเข้าไปอบที่ตู้อบที่อุณหภูมิ 60 C เป็นเวลา 6 ช.ม. จนน้ำหนักเห็ดคงที่ จากนั้นนำเห็ดที่ได้มาปั่นให้ละเอียดและนำมาร่อนเอาเฉพาะส่วนที่เป็นผงเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.4.3 การสกัดสารสกัดชีวภาพจากเห็ดพื้นบ้านรับประทานได้ (ดัดแปลงจาก Ejikeme Nwachukwu and Henrietta O. Uzoeto, 2010)

นำเห็ดพื้นบ้านรับประทานได้ทั้ง 3 ชนิด ทั้งแบบที่เป็นเห็ดสดและเห็ดแห้งผงมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ เอทานอล (95%) น้ำที่อุณหภูมิ 100 °C และน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่อุณหภูมิปกติในอัตราส่วน 1:10 (เห็ด 10 g.ต่อตัวทำละลาย 100 ml) โดยทำการแช่สารสกัดพร้อมตัวอย่างเป็นเวลา 36 ช.ม. ที่อุณหภูมิห้อง (25$\pm$2 °C) จากนั้นนำมากรองเอาเฉพาะส่วนสารละลายมาทำการระเหยตัวทำละลายออก สำหรับเห็ดแห้งผงนั้นก่อนจะนำมาละเหยตัวสารละลายให้นำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman filter paper No.1 เก็บสารสกัดที่ได้ในที่แห้งและอุณหภูมิต่ำ จากนั้นนำมาละเหย

ตัวทำละลายออกจนได้สารละลายกึ่งแข็งกึ่งเหลวแล้วทำให้แห้ง นำมานั่งหาน้ำหนักแห้งที่ได้ แล้วจึงเก็บไว้ใช้ในการทดสอบต่อไป

3.4.4. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (Disc diffusion techniques)

เขียนรายละเอียดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อระบุตำแหน่งที่จะวางแผ่นกระดาษกรองขนาด 6 มม. ดังภาพ

ภาพที่ 3.1 การวางแผ่นทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพบนจานอาหาเลี้ยงเชื้อ

นำสำลีพันก้านที่ปลอดเชื้อจุ่มเชื้อจากอาหาร MHB จนทั่วสำลีพันก้านแล้วบิดให้แห้งพอหมาดๆ กับข้างหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อป้ายเชื้อจากสำลีพันก้านลงอาหาร MHA plate จนทั่วผิวหน้าแล้วหมุนจานเพาะเชื้อไปประมาณ 60 องศาแล้วป้ายเช่นกันทำเช่นนี้ 3 ครั้ง เพื่อให้แบคทีเรียกระจายสม่ำเสมอทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาทีเพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้งใช้ปากคีบ คีบแผ่น paper disc วางบนจานเพาะเชื้อที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วหยดตัวอย่างสารละลายเห็ดแต่ละความเข้มข้น 10 µL. หยดลงแผ่น paper disc แล้ววางลงบนจานอาหารที่ป้ายเชื้อ นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมงทำการทดลอง 3 ซ้ำและเปรียบเทียบกับชุดควบคุม)และนำผลการทดลองที่ได้เปรียบเทียบค่าแตกต่างทางสถิติ

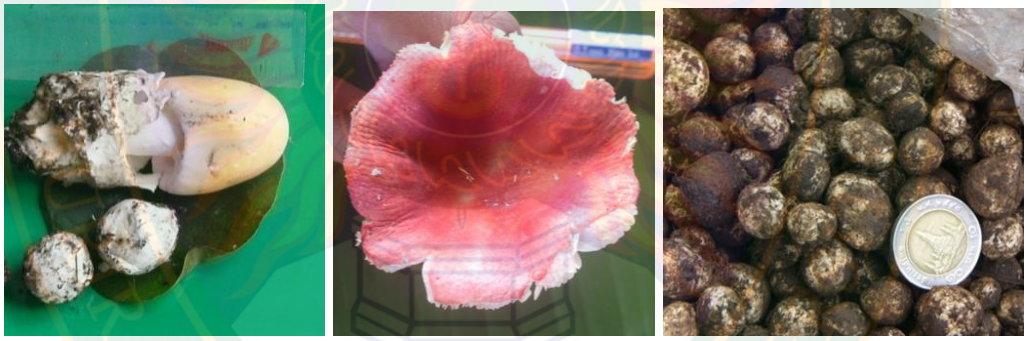
3.4.5.การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการจัดจำแนกประเภทของเห็ดพื้นบ้านที่รับประทานได้และเห็ดสมุนไพรความสัมพันธ์ของเห็ดกับวิถีชุมชนและถ่ายภาพเก็บไว้วิเคราะห์ข้อมูลเชิงพรรณนาแล้วนาเสนอข้อมูลในรูปของการเขียนบรรยายตารางกราฟแผนภูมิและรูปภาพจัดทารายงานฉบับสมบูรณ์

บทที่ 4

ผลการทดลอง

โครงการวิจัยเรื่องฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของสารสกัดจากเห็ดพื้นบ้านที่พบบริเวณพื้นที่วนอุทยาน ภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ เป็นโครงการวิจัยที่ทำภายใต้แผนงานวิจัย การพัฒนาองค์ความรู้อย่างยั่งยืนจากฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดพื้นบ้านในบริเวณพื้นที่วนอุทยาน ภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ ซึ่งได้ทำการหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดหยาบจากเห็ดที่เจริญในเขตวนอุทยานภูเขาไฟกระโดง 3 ชนิดคือ เห็ดระโงกขาว *(Amanita princeps)* เห็ดน้ำหมาก (*Russula emetic*) เห็ดเผาะ (*Geastrum saccatum*) เป็นงานวิจัยที่มีการต่อยอดจากงานวิจัยการสำรวจความหลายหลายทางชีวภาพของเห็ดในเขตพื้นที่วนอุทยานภูเขาไฟกระโดงเมื่อปี พ.ศ. 2558 (เทพอัปสร, 2558) ที่ผ่านมามีผลการศึกษาดังนี้



ภาพที่ 4.1 เห็ดที่ใช้ในงานวิจัย เห็ดระโงกขาว *(Amanita princeps)* เห็ดน้ำหมาก (*Russula emetic*) เห็ดเผาะ (*Geastrum saccatum*)

ที่มา : เทพอัปสร แสนสุข; 2558

4.1 สารสกัดหยาบ

สำหรับการสกัดหาสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 3 ชนิด คือ เห็ดระโงกขาว *(A. princeps)* เห็ดน้ำหมาก (*R. emetic*) และเห็ดเผาะ (*G. saccatum*) ทั้งแบบแห้ง และแบบสด ทำการหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดพบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมนั้นคืออัตราส่วนน้ำหนักเห็ดต่อสารละลาย 1:10

โดยอัตราส่วนนี้ใช้ปริมาณตัวทำละลายน้อยและยังให้น้ำหนักของสารสกัดหยาบมากดังแสดงในตารางที่ 4.1

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
BURIRAM RAJABHAT UNIVERSITY

เมื่อได้อัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดแล้ว จึงนำมาวิเคราะห์หาปริมาณของสารสกัดที่มี จากการสกัดเห็ดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เอทานอล น้ำร้อน และน้ำอุณหภูมิห้องพบว่า หากนำเห็ดแบบสดมาทำการสกัดสารสกัดหยาบนั้น ในเห็ดระโงกขาวจะได้สารสกัดที่มีปริมาณสูงที่สุดเมื่อสกัดด้วยเอทานอล คือมีปริมาณสารสกัด 2.87 กรัม คิดเป็น 28.7 % ในเห็ดน้ำหมากปริมาณสารสกัดหยาบที่มากที่สุดคือเมื่อใช้สารสกัดเป็นน้ำร้อน โดยมีปริมาณ 2.5 กรัมคิดเป็น 25 % และในเห็ดเผาะได้สารสกัดหยาบสูงที่สุดเมื่อสกัดด้วยน้ำร้อน คือได้ปริมาณสารสกัดหยาบ 3.51 กรัม คิดเป็น 35.1 % ดังตารางที่ 4.2 ในการสกัดโดยใช้เห็ดแบบสดนี้ ทางคณะผู้วิจัยพบปัญหาการเน่าเสียและส่งกลิ่นเหม็นขณะที่ทำการสกัดดังนั้นจึงไม่เหมาะกับการศึกษาเพราะสารสกัดที่เราใช้เป็นตัวสกัดนั้นเป็นน้ำโดยส่วนใหญ่จะปนเปื้อนเชื้อได้ง่ายกว่าตัวทำละลายทางเคมีอื่น ๆ

ตารางที่ 4.2 แสดงชนิดตัวทำละลาย น้ำหนักเห็ด ปริมาณสารสกัดหยาบ และร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบจากเห็ดสด

ชนิดเห็ด	ชนิดตัวทำละลาย	น้ำหนักเห็ด (กรัม)	สารสกัดหยาบ (กรัม)	ผลผลิต (ร้อยละ)
เห็ดระโงกขาว	เอทานอล	10.00	2.87	28.70
	น้ำกลั่น	10.00	1.27	12.70
	น้ำร้อน	10.00	1.97	19.70
เห็ดน้ำหมาก	เอทานอล	10.00	2.30	23.00
	น้ำกลั่น	10.00	2.35	23.50
	น้ำร้อน	10.00	2.50	25.00
เห็ดเผาะ	เอทานอล	10.00	2.24	22.40
	น้ำกลั่น	10.00	2.44	24.40
	น้ำร้อน	10.00	3.51	35.10

ดังนั้นหากนำเห็ดแบบแห้งมาทำการสกัดสารสกัดหยาบนั้น ในเห็ดระโงกขาวจะได้สารสกัดที่มีปริมาณสูงที่สุดเมื่อสกัดด้วยเอทานอล คือมีปริมาณสารสกัด 2.63 กรัม คิดเป็น 26.3 % ในเห็ดน้ำหมากปริมาณสารสกัดหยาบที่มากที่สุดคือเมื่อใช้สารสกัดเป็นน้ำร้อน โดยมีปริมาณ 3.25 กรัมคิดเป็น 32.5 % และในเห็ดเผาะได้สารสกัดหยาบสูงที่สุดเมื่อสกัดด้วยน้ำร้อน คือได้ปริมาณสารสกัดหยาบ 3.57 กรัม คิดเป็น 35.7 % ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และเมื่อเปรียบเทียบชนิดของตัวอย่างจะพ 40 ควรใช้เห็ดแบบแห้งในการสกัดด้วยตัวทำละลายเหล่านี้เพราะนอกจากจะให้ปริมาณสารสกัดหยาบที่ม ปริมาณไม่แตกต่างกับแบบสดแล้ว ยังไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ ด้วย

ตารางที่ 4.3 แสดงชนิดตัวทำละลาย น้ำหนักเห็ด ปริมาณสารสกัดหยาบ และร้อยละผลผลิต ของ

ชนิดเห็ด	ชนิด ตัวทำละลาย	น้ำหนักเห็ด(กรัม)	สารสกัดหยาบ (กรัม)	ผลผลิต(ร้อยละ)
เห็ดระโงกขาว	เอทานอล	10.00	2.63	26.30
	น้ำกลั่น	10.00	1.72	27.20
	น้ำร้อน	10.00	2.40	24.00
เห็ดน้ำหมาก	เอทานอล	10.00	3.10	31.00
	น้ำกลั่น	10.00	2.79	27.90
	น้ำร้อน	10.00	3.25	32.50
เห็ดเผาะ	เอทานอล	10.00	3.59	35.90
	น้ำกลั่น	10.00	3.57	35.70
	น้ำร้อน	10.00	3.57	35.70

สารสกัดหยาบจากเห็ดอบแห้ง

4.2 การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ในการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพนี้ คณะผู้วิจัยได้ทำการแบ่งกลุ่มจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการทดสอบออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้คือ 1) กลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก (*B. cereus*, *S. aureus*) 2) กลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) และ 3) กลุ่มยีสต์ (*C. albicans*) นำมาทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

โดยใช้วิธี Agar disc diffusion การทดสอบวิธีนี้ใช้หลักการแพร่ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบนกระดาษกรอง (Filter paper disc) ในปริมาณทดสอบที่กำหนดไว้ และวัดผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้จากขนาดของบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) ของเห็ดแต่ละชนิดทั้งแบบสดและแบบแห้งที่ป้ายเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

ในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากเห็ดแบบสดทั้ง 3 ชนิดได้แก่เห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดหยาบเห็ดระโงกขาวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ โดยคุณสมบัตินี้จะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้น คือ ที่ระกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 0.51 2 และ 3 µg/ml. คือ 11.00±0.00, 13.66±1.15, 19.66±1.61, และ 20.00±1.81mm. ตามลำดับ และพบว่าความสามารถในการยับยั้งนี้เทียบเท่ากับการใช้ Gentamicin 3 µg/ml ที่ยับยั้งได้บริเวณยับยั้ง ที่ 15.12±0.42 mm. รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเห็ดน้ำมากในตัวทำละลายน้ำร้อน และ ในเอทานอลตามลำดับ แต่ไม่พบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ในเห็ดเผาะในทุกตัวทำละลาย ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ

ตัวอย่างเห็ด	ตัวทำละลาย	บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone; mm.)

แบบสดจากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *E. coli*

		E. coli (µg/ml.)			
		0.5	1	2	3
เห็ดระโงกขาว (*Amanita princeps*)	เอทานอล	11.00±0.00	13.66±1.15	19.66±1.61	20.00±1.81
	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.50±0.00	6.50±0.00	6.66±0.28	7.02±4.01
	น้ำร้อน	6.50±0.00	6.83±0.28	8.66±0.57	9.66±1.15
เห็ดน้ำหมาก (*Russula emetic*)	เอทานอล	10.20±1.00	14.00±3.60	15.00±1.00	16.23±3.46
	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.50±0.00	6.66±0.28	6.83±0.2	7.66±0.57
	น้ำร้อน	9.67±0.50	13.66±1.15	19.66±2.61	20.70±3.81
เห็ดระโงกขาว (*Geastrum saccatum*)	เอทานอล	10.00±0.00	14.33±1.15	16.33±1.15	19.33±2.31
	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.50±0.00	6.50±0.28	7.66±1.28	7.82±1.25
	น้ำร้อน	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Gentamicin (3 µg/ml)	-	15.12±0.42			
Nysatatin (20 µg/ml)	-	-			

ตัวอย่างเห็ด บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) (mm.) *S. aureus* (µg/ml.)

ตารางที่ 4.5 ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะแบบสดจากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *S. aureus*

princeps)	น้ำร้อน	6.50±0.00	6.83±0.28	7.66±0.50	8.16±1.07
เห็ดน้ำหมาก	เอทานอล	6.50±0.00	7.00±0.60	7.00±1.00	6.63±1.06
(*Russula*	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.50±0.00	6.50±0.00	6.66±0.28	7.33±1.15
emetic)	น้ำร้อน	6.67±0.00	7.56±1.50	7.66±1.61	8.70±2.21
เห็ดเผาะ	เอทานอล	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.13±0.30
(*Geastrum*	น้ำอุณหภูมิห้อง	0.00±0.00	0.16±0.00	0.25±0.28	0.33±0.18
saccatum)	น้ำร้อน	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Gentamicin (3 µg/ml)	-	18.56±0.12			
Nysatatin (20 µg/ml)	-	-			

เมื่อทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* นั้นพบว่ามีเฉพาะสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาวในตัวทำละลายเอทานอลเท่านั้นที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อ ดังแสดงในตารางที่ 4.6 ซึ่งพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1 2 และ 3 µg/ml. มีบริเวณยับยั้งดังนี้ คือ 13.00±0.00, 14.33±1.15, 16.33±1.15, และ 19.00±2.71 ตามลำดับ และพบว่ามีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เทียบเท่ากับ Gentamicin 3 µg/ml. และพบว่าในสารสกัดหยาบของเห็ดชนิดอื่นในตัวทำละลายอื่น ๆ ไม่ว่าจะเป็นเห็ดน้ำหมากหรือเห็ดเผาะนั้นยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้น้อย

ตารางที่ 4.6 ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะแบบสดจากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *B. cereus*

ตัวอย่างเห็ด	ตัวทำละลาย	บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone; mm.)			
		B. cereus (µg/ml.)			
		0.5	1	2	3
เห็ดระโงกขาว (*Amanita princeps*)	เอทานอล	8.30±0.00	13.33±1.85	16.53±0.15	20.00±0.81
	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.50±0.00	7.00±1.00	7.33±1.08	7.33±1.15
	น้ำร้อน	6.50±0.00	6.43±0.26	7.16±0.80	7.16±1.15
เห็ดน้ำหมาก (*Russula emetic*)	เอทานอล	4.50±0.00	6.00±0.60	6.76±1.00	7.63±1.06
	น้ำอุณหภูมิห้อง	5.50±0.00	6.50±0.00	7.66±0.28	7.93±1.15
	น้ำร้อน	6.07±0.00	7.21±1.50	7.56±1.51	7.70±1.21

cereus

เห็ดเผาะ (*Geastrum saccatum*)	เอทานอล	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.25±0.10
	น้ำอุณหภูมิห้อง	0.00±0.00	1.06±0.00	1.26±0.24	1.33±0.48
	น้ำร้อน	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Gentamicin (3 µg/ml)	-	19.34±0.32			
Nysatatin (20 µg/ml)	-	-			

ตัวอย่างเห็ด	ตัวทำละลาย	บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone; mm.)			
		C. albicans (µg/ml.)			
		0.5	1	2	3

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากเห็ดทั้ง 3 ชนิดมาทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพใน *B. cereus* นั้น พบว่า สารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาวแบบสดในตัวทำละลายเอทานอลมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่ระดับความเข้มข้น 2 และ 3 µg/ml. ซึ่งพบบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเป็น 16.53±0.15 และ 20.00±0.81 mm. ตามลำดับ อีกทั้งยังพบว่าสารสกัดหยาบจากเห็ดชนิดอื่นในตัวทำละลายเอทานอล น้ำร้อนและน้ำอุณหภูมิห้องนั้นยับยั้งการเจริญของเชื้อได้แต่ผลการยับยั้งน้อยกว่าการใช้ Gentamicin ที่ 3 µg/ml.ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.7 ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะแบบสดจากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *C. albicans*

ตัวอย่างเห็ด	ตัวทำละลาย	บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone; mm.)			
เห็ดระโงกขาว (*Amanita princeps*)	เอทานอล	6.20±0.00	6.17±0.00	7.46±1.01	7.76±0.18
	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.00±0.00	6.06±0.00	6.26±0.54	7.33±1.48
	น้ำร้อน	6.00±0.00	6.00±0.00	6.21±0.10	6.31±0.40
เห็ดน้ำหมาก (*Russula emetic*)	เอทานอล	6.50±0.00	6.40±0.60	6.56±1.00	6.63±1.06
	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.50±0.00	6.58±0.00	6.66±0.28	6.98±1.12
	น้ำร้อน	6.37±0.00	6.21±1.50	6.56±1.50	6.70±1.20
เห็ดเผาะ (*Geastrum saccatum*)	เอทานอล	9.28±1.00	12.00±1.60	14.65±1.40	16.53±1.16
	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.50±0.00	6.36±1.28	6.88±0.24	6.76±1.52
	น้ำร้อน	9.69±0.50	14.56±1.05	19.76±1.61	22.78±1.01
Gentamicin (3 µg/ml)	-	-			
Nysatatin (20 µg/ml)	-	20.12±1.65			

สำหรับผลการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* นั้นกลับพบว่า มีเพียงสารสกัดหยาบจากเห็ดเผาะในตัวทำละลายน้ำร้อนและเอทานอลเท่านั้นที่พบการยับยั้งการเจริญของเชื้อซึ่งมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อดังนี้ ในสารสกัดหยาบเห็ดเผาะในตัวทำละลายน้ำร้อนพบการยับยั้งสูงที่สุดในความเข้มข้นทุกระดับ คือ 9.69±0.50, 14.56±1.05, 19.76±1.61 , และ 22.78±1.01 mm. ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดหยาบเห็ดเผาะในตัวทำละลายเอทานอลที่พบบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเป็น 9.28±1.00, 12.00±1.60, 14.65±1.40, และ 16.53±1.16 mm. ตามลำดับ ซึ่งผลของบริเวณยับยั้งนี้ยังมีค่าน้อยกว่าการใช้ Nysatatin

ตารางที่ 4.8 ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะแบบแห้ง จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *E. coli*

		E. coli (µg/ml.)			
		0.5	1	2	3
เห็ดระโงกขาว (*Amanita princeps*)	เอทานอล	10.00±0.15	12.45±1.20	20.68±1.32	20.15±1.72
	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.32±0.00	6.47±0.00	6.56±0.29	6.66±1.01
	น้ำร้อน	6.50±0.00	6.43±0.18	8.76±027	9.46±1.05
เห็ดน้ำหมาก (*Russula emetic*)	เอทานอล	11.25±1.80	15.06±1.30	18.00±1.00	21.24±1.26
	น้ำอุณหภูมิห้อง	5.50±0.00	5.46±1.28	6.13±0.24	6.86±0.17
	น้ำร้อน	9.77±0.10	12.56±1.45	18.68±2.14	21.72±1.82
เห็ดเผาะ (*Geastrum saccatum*)	เอทานอล	0.00±0.00	0.02±0.00	0.14±0.00	0.34±0.30
	น้ำอุณหภูมิห้อง	0.00±0.00	0.51±0.00	0.68±0.24	0.84±0.12
	น้ำร้อน	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Gentamicin (3 µg/ml)	-	15.12±0.42			
Nysatatin (20 µg/ml)	-	-			

ในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากเห็ดแบบแห้งทั้ง 3 ชนิดได้แก่เห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดหยาบเห็ดระโงกขาวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลยังคงมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* โดยคุณสมบัตินี้จะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้น คือ ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 0.5, 1, 2, และ 3 µg/ml. คือ 10.00±0.15, 12.45±1.20, 20.68±1.32 , และ 20.15±1.72 mm. ตามลำดับ และพบว่าความสามารถในการยับยั้งนี้เทียบเท่ากับการใช้ Gentamicin 3 µg/ml ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้บริเวณยับยั้งที่ 15.12±0.42 mm. รองลงมาคือสารสกัดหยาบเห็ดน้ำมากในตัวทำละลายน้ำร้อนและ ในเอทานอลตามลำดับ แต่ไม่พบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ในเห็ดเผาะในทุกตัวทำละลาย ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.9 ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะ แบบแห้ง จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง

ตัวอย่างเห็ด	ตัวทำละลาย	บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone; mm.)			
		S. aureus (µg/ml.)			
		0.5	1	2	3
เห็ดระโงกขาว (*Amanita princeps*)	เอทานอล	12.42±0.12	14.63±0.15	17.63±1.25	20.02±0.31
	น้ำอุณหภูมิห้อง	5.48±0.00	5.64±0.18	7.63±1.12	7.12±0.45
	น้ำร้อน	6.25±0.00	6.13±0.12	6.18±0.25	6.86±1.17
เห็ดน้ำหมาก (*Russula emetic*)	เอทานอล	6.18±0.00	6.70±0.16	7.15±1.02	7.64±1.26
	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.50±0.00	6.50±0.00	6.56±0.18	7.43±1.14
	น้ำร้อน	5.67±0.00	6.65±1.20	7.16±1.31	7.70±1.41

S. aureus

เห็ดเผาะ (*Geastrum saccatum*)	เอทานอล	0.00±0.00	0.00±0.00	0.23±0.12	0.53±0.10
	น้ำอุณหภูมิห้อง	0.00±0.00	0.23±0.10	0.34±0.16	0.65±0.12
	น้ำร้อน	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Gentamicin (3 µg/ml)	-	18.56±0.12			
Nysatatin (20 µg/ml)	-	-			

เมื่อทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* นั้นพบว่ามีเฉพาะสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาวในตัวทำละลายเอทานอลเท่านั้นที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อ ดังแสดงในตารางที่ 4.9 ซึ่งพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1 2 และ 3 µg/ml. มีบริเวณยับยั้งดังนี้ คือ 12.42±0.12, 14.63±0.15, 17.63±1.25, และ 20.02±0.31 mm. ตามลำดับ และพบว่ามีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เทียบเท่ากับ Gentamicin 3 µg/ml. และพบว่าในสารสกัดหยาบของเห็ดชนิดอื่น ในตัวทำละลายอื่น ๆ ไม่ว่าจะเป็นเห็ดน้ำหมากหรือเห็ดเผาะนั้นยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้น้อยและเป็นไปในทางเดียวกับการใช้สารสกัดแบบสด

ตารางที่ 4.10 ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะแบบแห้ง จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง

ตัวอย่างเห็ด	ตัวทำละลาย	บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone; mm.)			
		B. cereus (µg/ml.)			
		0.5	1	2	3
เห็ดระโงกขาว (*Amanita princeps*)	เอทานอล	9.38±0.20	12.39±1.15	18.13±0.14	19.98±0.61
	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.45±1.30	7.20±1.03	7.23±0.08	7.33±0.15
	น้ำร้อน	6.25±0.50	6.48±0.24	7.36±0.82	7.86±1.05
เห็ดน้ำหมาก (*Russula emetic*)	เอทานอล	5.50±0.20	6.20±0.64	6.78±1.20	8.23±0.06
	น้ำอุณหภูมิห้อง	5.52±0.00	6.53±0.00	7.69±0.24	8.91±1.45
	น้ำร้อน	6.27±0.00	7.42±1.52	8.51±1.01	8.70±1.01

B. cereus

เห็ดเผาะ (*Geastrum saccatum*)	เอทานอล	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.15±0.80
	น้ำอุณหภูมิห้อง	0.00±0.00	4.08±0.90	5.46±0.54	5.63±0.65
	น้ำร้อน	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Gentamicin (3 µg/ml)	-	19.34±0.32			
ตัวอย่างเห็ด	ตัวทำละลาย	บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone; mm.)			
		C. albicans (µg/ml.)			
Nysatatin (20 µg/ml)	-	-	0.5	1	2	3
เห็ดระโงกขาว	เอทานอล	7.23±0.00	7.17±0.60	7.49±1.51	7.86±0.58

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากเห็ดทั้ง 3 ชนิดมาทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพใน *B. cereus* นั้น พบว่า สารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาวแบบสดในตัวทำละลายเอทานอลมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่ระดับความเข้มข้น 0.5 , 1, 2 และ 3 µg/ml. ซึ่งพบบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเป็น 9.38±0.20, 12.39±1.15, 18.13±0.14 และ 19.98±0.61mm. ตามลำดับ มีลักษณะการยับยั้งเป็นไปในทางเดียวดับสารสกัดในเห็ดแบบสด ดังแสดงในตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.11 ผลการยับยั้งเฉลี่ยของสารสกัดหยาบจากเห็ดระโงกขาว เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเผาะแบบแห้ง จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล น้ำอุณหภูมิห้อง และน้ำร้อน ต่อการยับยั้ง *C. albicans*

(*Amanita princeps*)	น้ำอุณหภูมิห้อง	7.05±0.00	7.46±0.60	7.76±0.64	7.83±1.08
	น้ำร้อน	6.14±0.23	6.28±0.20	6.48±0.12	6.84±0.43
เห็ดน้ำหมาก (*Russula emetic*)	เอทานอล	6.52±0.00	6.82±1.60	6.86±1.20	7.23±1.11
	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.85±0.70	7.18±0.00	7.68±1.28	7.97±1.02
	น้ำร้อน	6.47±0.10	6.71±1.40	6.86±1.52	7.76±1.23
เห็ดเผาะ (*Geastrum saccatum*)	เอทานอล	10.24±1.04	12.89±1.00	18.62±1.13	20.54±1.10
	น้ำอุณหภูมิห้อง	6.50±0.00	6.06±1.18	6.18±0.23	6.26±1.12
	น้ำร้อน	10.96±0.54	13.86±1.75	18.15±1.01	21.88±1.08
Gentamicin (3 µg/ml)	-	-			
Nysatatin (20 µg/ml)	-	20.12±1.65			

สำหรับผลการยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* นั้นกลับพบว่า มีเพียงสารสกัดหยาบจากเห็ดเผาะในตัวทำละลายน้ำร้อนและเอทานอลเท่านั้นที่พบการยับยั้งการเจริญของเชื้อซึ่งมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อดังนี้ ในสารสกัดหยาบเห็ดเผาะในตัวทำละลายน้ำร้อนพบการยับยั้งสูงที่สุดในความเข้มข้นทุกระดับ คือ 10.96±0.54, 13.86±1.75, 18.15±1.01 และ 21.88±1.08 mm. ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดหยาบเห็ดเผาะในตัวทำละลายเอทานอลที่พบบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเป็น 10.24±1.04, 12.89±1.00, 18.62±1.13 และ 20.54±1.10mm. ตามลำดับ ซึ่งผลของบริเวณยับยั้งนี้ยังมีค่าน้อยกว่าการใช้ Nysatatin และมีลักษณะไปในทางเดียวกับสารสกัดหยาบจากเห็ดแบบสด

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล

การสกัดหาสารสกัดหยาบของเห็ดทั้ง 3 ชนิด คือ เห็ดระโงกขาว (*A. princeps*) เห็ดน้ำหมาก (*R. emetic*) และเห็ดเผาะ (*G. saccatum*) ทั้งแบบแห้ง และแบบสด ทำการหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดพบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมนั้นคืออัตราส่วนน้ำหนักเห็ดต่อสารละลาย 1:10 โดยอัตราส่วนนี้ใช้ปริมาณตัวทำละลายน้อยและยังให้น้ำหนักของสารสกัดหยาบมาก รวมทั้งปริมาณของสารสกัดที่มีจากการสกัดเห็ดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เอทานอล น้ำร้อน และน้ำอุณหภูมิห้อง พบว่า หากนำเห็ดแบบสดมาทำการสกัดสารสกัดหยาบนั้น ในเห็ดระโงกขาวจะได้สารสกัดที่มีปริมาณสูงที่สุดเมื่อสกัดด้วยเอทานอล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Soforowa (1992) ที่พบว่าการใช้เอทานอลนั้นสามารถละลายสารที่มีอยู่ในเห็ดบางชนิดออกมาได้ดีกว่าการใช้น้ำเป็นตัวสกัด แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยของเรานั้นพบอีกว่าในเห็ดน้ำหมากปริมาณสารสกัดหยาบที่มากที่สุดคือเมื่อใช้สารสกัดเป็นน้ำร้อน และในเห็ดเผาะได้สารสกัดหยาบสูงที่สุดเมื่อสกัดด้วยน้ำร้อน ซึ่งก็มีผู้ทำงานวิจัยไว้เช่นเดียวกันว่า ในน้ำร้อนนั้นให้สารสกัดหยาบปริมาณมากกว่าการใช้น้ำเย็นเป็นตัวสกัด (Ijeh *et al*., 2005) แต่สำหรับในพืชนั้นกลับพบว่าหากสกัดด้วยเอทานอลจะสามารถสกัดสารสกัดหยาบได้ดีกว่าในน้ำ (Ibrahim *et al*.,2001) แต่อย่างไรก็ตามการใช้น้ำที่อุณหภูมิห้องและการใช้น้ำเย็นเป็นตัวสกัดสารสกัดหยาบก็ยังคงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการเตรียมยาได้ดีกว่าการใช้ตัวทำละลายอื่น ๆ (Ejikeme Nwachukwu and Henrietta O. Uzoeto, 2010)

เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับคือ 0.5, 1, 2 และ 3 µg/ml. ในเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่าในสารสกัดหยาบทั้งแบบสดและแบบแห้งนั้นมีผลการยับยั้งในแต่ละตัวทำละลายไปในทิศทางเดียวกัน นั่นคือไม่ว่าจะเป็นแบบสดหรือแห้งก็สามารถที่จะละลายเอาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพออกมาได้เช่นเดียวกัน อีกทั้งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะที่มีการใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แบบกว้างคือ Gentamicin ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 2 ชนิดและพบว่าสารสกัดหยาบในตัวทำละลายบางชนิดสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้คล้ายกับการใช้ Gentamicin อีกทั้งทางคณะผู้วิจัยยังพบว่าในสารสกัดหยาบจากเห็ดเผาะที่ใช้น้ำร้อนเป็นตัวสกัดนั้นมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของยีสต์ *C. albicans* ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับ Nysatatin ที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อ

กลุ่มนี้อย่างกว้าง อีกทั้งยังพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งคล้ายกับสมุนไพรบางชนิด ได้แก่ กระเทียมและหอมหัวใหญ่ พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้ง *C. albicans* ได้ (อารินี และคณะ 2546) จากผลการศึกษานี้ควรนำไปทดลองในตัวสัตว์และส่งเสริมการนำเห็ดสมุนไพรเหล่านี้มาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ในทางคลินิกต่อไป

นอกจากนั้นงานวิจัยนี้ยังมีผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ishikawa และคณะ (2001) ที่ทำการเพาะเลี้ยงเส้นในเห็ดหอมจำนวน 35 isolates ในอาหารเหลว malt extract broth พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมคือที่ 25 C ไม่มีการเขย่า หลังจากเลี้ยงครบ 30 วัน สกัดเส้นใยด้วย ethyl acetate และน้ำ นำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบกับเชื้อก่อโรคในคนและเป็นเชื้อที่มักพบว่ามีการปนเปื้อนในอาหารบ่อย พบว่าสารสกัดหยาบจาก *L. edodes* isolate Le1 มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 8 ชนิด จากจำนวน 20 ชนิด โดยมีประสิทธิภาพดีกับแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *B. cereus, B. subtilis, Listeria innocuo, L. monocytogenes, S. aureus, S. epidermidis* เป็นต้น

และยังพบว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบจากเห็ดก็มีผลต่อการละลายเอาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพออกมาเช่นเดียวกัน งานวิจัยนี้พบว่าในเห็ดระโงกขาว และในเห็ดน้ำหมากนั้นจะใช้เอทานอล 95% ในการสกัดสารได้ดีและมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและลบ ซึ่งก็สอดคล้องกับงานวิจัยของ ประพจน์และคณะ (2552) ได้ศึกษาสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดแครงที่สกัดด้วย เอทานอล 95 % และแอซีโทนสามารถยับยั้ง *B. subtilis* และ *E. coli* ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 100, 6.25 มก./มล. รวมทั้งในงานวิจัยของ ชลดา และคณะ (2556) ที่ได้สกัดเห็ดหิ้งเกือกม้าด้วยวิธีสกัด แอลคาลอยด์ได้ %yield สูงสุด (20.82) รองลงมาคือการสกัดด้วยเอทานอล (18.5%) และการสกัดด้วยน้ำ (14.5%) ตามลำดับซึ่งการสกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพดีมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ Ascorbic acid ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐานซึ่งเป็นที่น่าสนใจในการนาไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป

การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่าเห็ดป่าที่ชาวบ้านนำมารับประทานนอกจากจะเป็นอาหารแล้วยังมีสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆได้ซึ่งเป็นข้อมูลเบื้องต้นของประโยชน์จากการนำเห็ดมาบริโภคดังนั้นผู้วิจัยเสนอแนะให้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารที่ มีอยู่ในเห็ดเพื่อผลประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรม ศึกษาวิธีการนำเห็ดมาบริโภคให้เกิดประโยชน์สูงสุด และการหาแนวทางเพื่อการอนุรักษ์เห็ดป่าให้ยังคงมีอยู่ต่อไปในธรรมชาติ

บรรณานุกรม

กฤติกา ณ เชียงใหม่. (2541). **ผลยับยั้งของสารสกัดจากเห็ดรับประทานได้ต่อเชื้อแบคทีเรียบางชนิด.** วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เกษม พวงผกา แก้วกรม และคณะ. (2556). **การศึกษาการขยายพันธุ์จากสปอร์ ก้านดอก และครีบเห็ดป่าในอาหารพีดีเอและการใช้ประโยชน์ของเห็ดป่า.** คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

เกษม สร้อยทอง. (2547). **เห็ดและราขนาดใหญ่ในประเทศไทย.**สำนักพิมพ์ศิริธรรมออฟเซ็ท. อุดรธานี.

ชลดา จัดประกอบ และคณะ. (2556). **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดเห็ดหิ้งเกือกม้า.** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ดวงจันทร์ ก้อนทรัพย์. (2541). **ความหลากหลายของเห็ดอการิกที่ห้วยคอกม้าอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เทพอัปสร แสนสุข.(2558). **รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่อง การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดพื้นบ้านที่รับประทานได้ บริเวณพื้นที่วนอุทยาน ภูเขาไฟกระโดง ตำบลเสม็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์**. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

ธนาวรรณ สุขเกษม และคณะ. (2556). **การศึกษาความหลากชนิดของเห็ดป่าในชุมชนพัฒนวรพงษ์ จังหวัดเพชรบูรณ์.** คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

ธีรวัฒน์ บุญทวีคุณและธวัชชัย วงศ์ประเสริฐ. (2541). **เห็ดราสมุนไพร**. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้สำนักวิชาการป่าไม้กรมป่าไม้กรุงเทพฯ. 24 หน้า.

ธีรวัฒน์ บุญทวีคุณ. (2545). **เห็ดกินได้และเห็ดพิษในประเทศไทย**. วารสารราชบัณฑิตยสถานปีที่27 ฉบับที่ 4 ต.ค.-ธ.ค. 2545. 1151-1164.

ธีรวัฒน์ บุญทวีคุณ. (2546). **ความรู้เรื่องเห็ดรา**. กลุ่มพฤกษศาสตร์ป่าไม้ฝ่ายวนวัฒนวิจัยและพฤกษศาสตร์กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืชกรุงเทพฯ. 149 หน้า.

นุภาษ สันตยานนท์. (2550). **การเพาะเห็ด.** เดลินิวส์ปีที่ 43 หน้า 14 วันที่ 9 ตุลาคม.

เนตรชนก จันทร์สว่าง. (2550). **การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพและการใช้ประโยชน์ของเห็ดพื้นบ้านสภาพทางกายภาพและเคมีของดินที่เกิดเห็ดเพื่อสร้างบทเรียนวิทยาศาสตร์ท้องถิ่นและแหล่งเรียนรู้ธรรมชาติของป่าหนองโนอำเภอเมืองจังหวัดมหาสารคาม**. มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม. มหาสารคาม.

นัยนา ทองเจียม. (2545). **การเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์เห็ดป่ากินได้ในสูตรอาหารชนิดต่างๆ.** รายงานการประชุมวิชาการป่าไม้ ประจำปี 2545.

น้ำฝน เบ้าทองคำ และ ถนอมนวล พรหมบุญ. (2556). **ศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลลิกทั้งหมดของเห็ดป่ากิน ได้ 5 ชนิดจากป่าชุมชนบ้านน้ำจางในเขตพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์.** คณะครุศาสตร์คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

บารมี สกลรักษ์. (2549). **ความหลากหลายของเห็ดในสถานีเกษตรหลวงอ่างขางจังหวัดเชียงใหม่**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 15

ประพจน์ นนทรี และคณะ. (2555). **ผลของสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดแครงต่อการเจริญของ *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli*.** คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทร์

มาลินี ตันติยาภรณ์. (2520). **ศึกษาสารปฏิชีวนะจากเห็ดบางชนิดในธรรมชาติ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

รักฤดี สารธิมา. (2555). **เห็ด: อาหารอันโอชะและโอสถอันวิเศษ.** คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ราชบัณฑิตยสถาน. (2539). **เห็ดกินได้และเห็ดมีพิษในประเทศไทย ฉบับราชบัณฑิตยสถาน.** พิมพ์ครั้งที่ 1. ราชบัณฑิตยสถาน. กรุงเทพฯ. 180 หน้า.

วนิดาผ่องมณี. 2542. ความหลากหลายของเห็ดที่ขึ้นบนดินบริเวณป่าดิบเขาในอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ- ปุยจังหวัดเชียงใหม่. การค้นคว้าแบบอิสระเชิงวิทยานิพนธ์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วิสุทธิ์ ใบไม้. (2548). **ความหลากหลายทางชีวภาพ วัฒนธรรม และสังคมไทย.** คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สุวิทย์สุวรรณโณและศิริวรรณมากสุวรรณ์. (2553). **การผลิตน้ำเห็ดสมุนไพรสกัดพร้อมดื่ม.** คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.

หนึ่งเตีย อารุง. (2542).**ความหลากหลายของเห็ดที่บริโภคได้ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย.**สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตรมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

นิคม พุทธิมา. (2542). **การเก็บรวบรวมและเพาะเลี้ยงเห็ดจากอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เสน่ห์ ชุมแสน. (2540). **ความหลากหลายของแมคโครฟังไจในวงศ์ Polyporaceae ในอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อนงค์ จันทร์ศรีสกุล. (2551). **ความหลากหลายของเห็ดราขนาดใหญ่ในประเทศไทย.**สานักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. (2544). **เห็ดน้ำหมาก.** ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. กรุงเทพมหานคร.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. (2544). **เห็ดระโงกขาว.** ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. กรุงเทพมหานคร.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. (2544). **เห็ดเผาะ.** ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. กรุงเทพมหานคร.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. (2546). **การศึกษาสำรวจเห็ดในวนอุทยานภูเรือภูหลวงและจังหวัดเลย**. ข่าวสารเพื่อผู้เพาะเห็ด 8(1): 23-25.

อนิวรรต เฉลิมพงษ์ และธีรวัฒน์ บุญทวีคุณ. (2524). **การสำรวจเชื้อราไมคอร์ไรซาที่สัมพันธ์กับราก ต้นไม้ในระบบนิเวศวิทยาป่าเต็งรังท้องที่ป่าสะแกราชฝ่ายปราบศัตรูพืชป่าไม้** .กองบำรุง กรมป่าไม้กรุงเทพฯ. 20 หน้า.

อุราภรณ์ สะอาดสุด.(2542). **เห็ดป่า-พื้นเมืองบริเวณอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย**. วารสารเห็ดไทย

อรวัสสา เผือกสุข และคณะ. (2554). **ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเห็ดฟางเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง.** มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย.

อารินี ชัชวาลชลธีระ นพมาศ ตระการรังสี รวมพร โอนธรรม ละอองทิพย์ ประภากร สุทธิประภา หลวงศรี. 2546. ผลของสารสกัดกระเทียมและหอมหัวใหญ่ในการยับยั้งเชื้อ Candida albicans . วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 13(2) : 16-23.

Akpata, E.S., Akinrinmisi, E.O. (1977). **Antibacterial activity of extracts of some African chewing sticks**.Hos Surg. 44:717 – 722.

Alade, P.I. and Irobi, O.N. (1993). **Antimicroobial activities of crude extract of *Acalyphawikesiana***. J. Erthnophamacol. 39: 171 – 174.

Cheung, L.M. & Peter, C. (2005). **Mushroom extracts with antioxidant activity Again stlipid peroxidation**. Food Chemistry, 89, 403-409.

CIFOR. (2002). Exploring biological diversity, environment and local people's perspectives in forestlandscapes. Center for International Forestry Research, Bogar Barat, Indonesia.94 pp.

Ejikeme Nwachukwu and Henrietta O. Uzoeto .(2010). **Antimicrobial activity of some local mushrooms on pathogenic isolates**. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 4(23), pp. 2460-2465

Gbolagade, J.S., and Ishola, O.F. (2005). Antimicrobial activity of some selected nigerial mushrooms. African J. Biomedical Research. 8: 83 – 87.

Halpern and A. H. Miller. (2002). Medicinal Mushroom Ancient Remedies for Modern Ailments, New York: M. Evans and Company,Inc.

Hassegawa, R.H., Maria, C.M.K, Maria, C.D.V.(2005). **Growth and antibacterial activity of Lentinulaedodes in liquid media supplemented with agricultural wastes**. J. Biotechnology. 8(2) : 212 – 217.

Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C. and Pegler, D.N.. (1995). **Ainsworth &Bisby's Dictionary of the Fungi**. 8th eds. CAB International, Wallingford, UK.616 pp.

Hjortstam, K. and L. Ryvarden.(1982). Aphyllophorales from northern Thailnad. Nord.J. Bot.2: 273 – 281.

Hirasawa, M., Naoto, S., Tomotake, N., Kazuo, F., Kazuko, T. (1999).**Three kinds of antibacterial substances from Lentinusedodes (Berk.) Sing. (Shiitake, an edible mushroom)**.International J. Antimicrobial Agents. 11: 151 – 157.

Iwalokun, B.A., Usen, U.A, Otunba, A.A. and Olukoya, D.K. (2007).**Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of Pleurotusostreatus**.African J. Biotechnology. 6(15): 1733 -1739.

Ishikawa, N.K., Maria, C.M.K., Maria, C.D.V. (2001).**Antibacterial activity of Lentinulaedodes grown in liquid medium**.Brazillian J. microbiology. 32: 206 – 210.

Rolf, S. (1986). The Agaricales in Modern Taxonomy.Koeltz Scientific Books, Federal Republic ofGermany. 981 pp.__

Sanmee, R., Z.L. Yang, P. Lumyong and S. Lumyong. (2003). ***Amanita siamensis*a**

new species of *Amanita* from Thailand. Mycotaxon 88: 225-228.

Yitzhak, H., Ephraim, C.A. (1986). **Chemical composition of the edible mushroom Pleirotusostreatus produced by fermentation**. Appl. Environ. Microbiol. 51: 1352-1354.

Soforowa EA (1992). **Medicinal Plant and Traditional Medicine in Africa**. John Wiley, Chichester. pp. 23-36

Ijeh II, Omodamiro OD, Nwanna IJ (2005). **Antimicrobial effects of aqueous and ethanolic fractions of two spices; Ocimum gratissimum and Xylopia aethiopica.** Afri. J. Biotechnol. 4(9): 953 – 956.

Ibrahim MB, Owonubi, MO, Onadapu JA (2001). **Antimicrobial effects of extracts of leaf, stem, and root bark of Anogiessus leicarpus on *Staphylococcus aureus* (NCTC 8198), *E. coli* (NCTC 10418) and *Proteus vulgaris* (NCTC 4636)**. J. Pharma. Res. Dev. 2: 20-26.

Hobbs. (1998). **Medicinal Mushroom: an exploration of tradition healing and culture**. Summertown: Botanica Press

Jordan, P. (1999). **Illustrated Encyclopedia : Mushroom identifier**. Lorenz Books, London. 132 p.

Konemann, V. (1999).**The Great Encyclopedia of Mushrooms**. Germany. 240 p.

Krebs, C.J. (1989). **Ecological Methodology.Harper Collins Publishers**. New York. 16 Kalimantan, Indonesia, pp. 179-181.

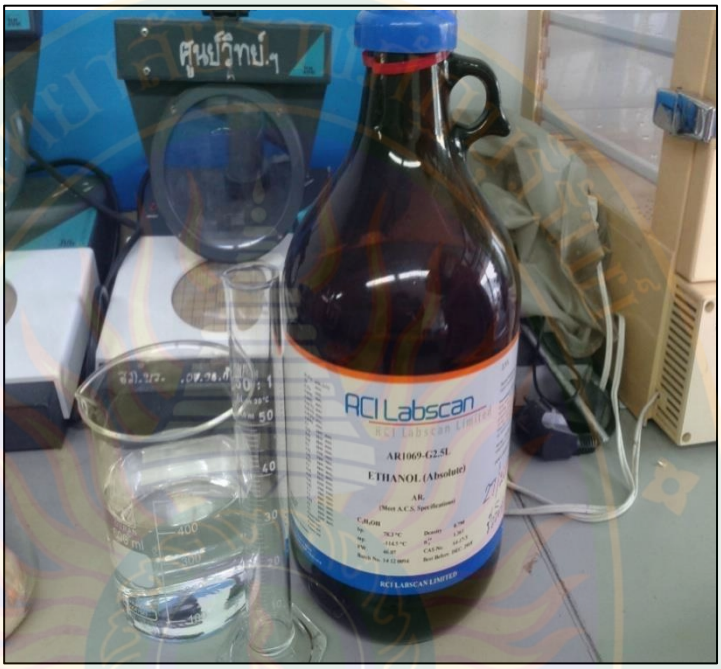
Laessoe, T. 1998. Eyewitness Handbooks : Mushrooms. Dorling Kindersley Limited, London. 304 p.

Largent, D. 1973. How to Identify Mushroom (to genus) Using Only Macroscopic Features.Mad River Press.46 pp.

Moser, M. 1973. Keys to Agarics and Boleti.Whitefriars Press, Ltd. Germany.535 p.

ภาคผนวก ก

สารเคมีที่ใช้



ภาพที่ ก-1 เอทานอล

ภาพที่ ก-2 น้ำกลั่น

ภาพที่ ก-3 การสกัดหยาบ

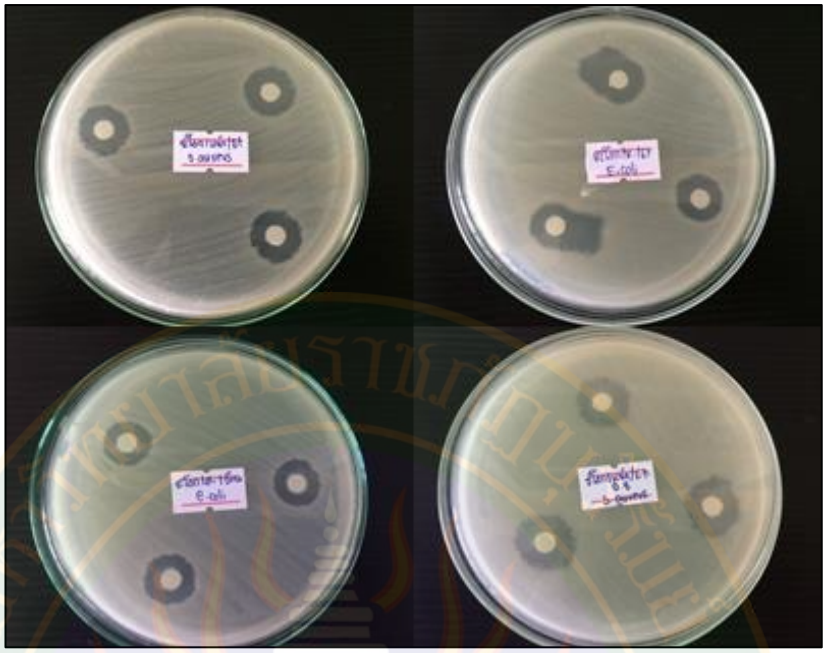
ภาพที่ ก-4 สารสกัดที่ได้

ภาพที่ ก-5 กรองสารสกัด

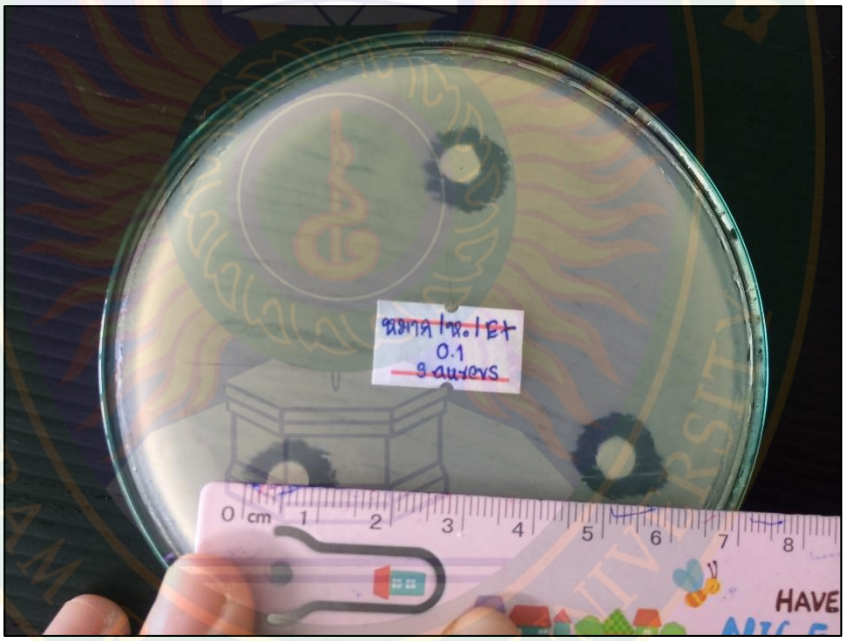
ภาพที่ ก-6 การระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

ภาคผนวก ข

ผลการทดลอง



ภาพที่ ข-1 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย



ภาพที่ ข-2 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณเคลียร์โซน แล้วบันทึกผล

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
BURIRAM RAJABHAT UNIVERSITY