รหัสโครงการ SUT1-104-61-12-08

รายงานการวิจัย

การเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ในวุ้นระยะไข่ของเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ไทยและจีน กระโปรงสั้นและยาว(สีขาว)

Comparison the bioactive compounds of *Dictyopora* spp. found in China and Thailand from its gel during egg stage

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT1-104-61-12-08

รายงานการวิจัย

การเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ในวุ้นระยะไข่ของเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ไทยและจีน กระโปรงสั้นและยาว(สีขาว)

Comparison the bioactive compounds of *Dictyopora* spp. found in China and Thailand from its gel during egg stage

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ
ดร.ศิริลักษณ์ ชุมเขียว
สาขาวิชาชีววิทยา
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2561
ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กันยายน 2564

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัย “การเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ในวุ้นระยะไข่ของเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ไทยและจีน กระโปรงสั้นและยาว(สีขาว)” ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในปีงบประมาณ 2561 ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ได้การสนับสนุนงบประมาณ เครื่องมือ รวมถึงห้องปฏิบัติการในการดำเนินการวิจัย ขอขอบคุณที่ปรึกษาโครงการวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดวงกมล แม้นศิริ และ ดร.มัณฑนา แจ่มกลาง สำหรับความอนุเคราะห์ให้คำปรึกษาด้านระเบียบวิธีวิจัยและการออกแบบการทดลองในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณ นางสาวกัญญาภัค สาเขตรการณ์ นางสาวปรารถนา มาพร นางสาวนวพร พรมมาแข้ และสมาชิกห้องปฏิบัติการ AJTR Lab สำหรับความร่วมมือ ความช่วยเหลือในการดำเนินการทำวิจัยด้วยดีเสมอ

ดร.ศิริลักษณ์ ชุมเชียว
7 กันยายน 2564

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

การศึกษานี้จะมุ่งศึกษาเปรียบเทียบและวิเคราะห์ชนิดสารและปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในวุ้นของเห็ดเยื่อไผ่ เพื่อสร้างองค์ความรู้พื้นฐานสำหรับงานวิจัยต่อยอด สารสำคัญในวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ที่ผู้วิจัยมุ่งหาคือ สารจำพวกอัลลันโทอิน (allantoin) และกรดไฮยารูรอนิก (hyaluronic acid) ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ ลดการระคายเคือง กระทั่งช่วยฟื้นฟูเซลล์ผิวที่เสื่อมสภาพ ลดริ้วรอยและเร่งการผลิตเซลล์ผิวใหม่ วุ้นเห็ดจะถูกนำมาสกัดด้วยน้ำและตัวทำละลาย ตรวจสอบหาปริมาณอัลลันโทอิน และกรดไฮยารูรอนิกในวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ โดยสอบเทียบกับสารละลายมาตรฐานทั้งสองชนิด ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ผลการศึกษาพบสารออกฤทธิ์อัลลันโทอิน ในสารละลายตัวอย่างทั้งจากวุ้นเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์จีนและสายพันธุ์ไทย ซึ่งเมื่อคำนวณปริมาณ yield ของสารออกฤทธิ์ที่พบนั้นมีความแตกต่างกัน โดยสายพันธุ์ไทยพบปริมาณสารออกฤทธิ์สูงกว่าสายพันธุ์จีน 101.00 ug/g ของวุ้น และ 16.12 ug/g ของวุ้น ตามลำดับ ด้วย Chromatographic Conditions ของ HPLC chromatogram and UV spectra จาก Agilent instrument (Agilent 1260, Quat pump, DAD detector, auto sampler and injector) ที่อุณหภูมิ 30 °C, flow rate of 1 mL/นาที และ run time of 15 นาที ใช้ mobile phase ที่ 25mM KH_2PO_4 pH 3.0 ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ยิงเข้าเครื่องเพื่อตรวจวัด คือ 20µL ผู้วิจัยเลือกใช้ column ที่ 200 nm และ the reference wavelength 202 nm ในขณะที่ในการศึกษานี้ไม่สามารถหา condition ที่เหมาะสมเพื่อตรวจสอบหาปริมาณของ hyaluronic acid ได้ เนื่องจากสารสกัดวุ้นมีความหนืดสูงมากและมีความสามารถในการละลายต่ำ ดังนั้นการตรวจสอบปริมาณกรดไฮยารูรอนิก ในวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ด้วยการใช้ HPLC จึงไม่เหมาะสมกับสารสกัดวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ทั้งสองสายพันธุ์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Abstract

This study aimed to determine the differences of bioactive compounds including allantoin and hyaluronic acid from its gel during egg stage of Chinese and Thai strain bamboo mushroom (*Dictyophora* spp.). This study would provide new insight on the knowledge on the benefits of bamboo mushroom for cosmetics application. Previous studies have revealed the bamboo mush room bioactive activities including anti-inflammatory, irritating skin reduction, damaged skin revitalizing, and wound healing. Bamboo mushroom gel collected during egg stage and were extracted using water and solvent. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used for determination of the amount of allantoin and hyaluronic acid in the bamboo mushroom gel extractions. The results from HPLC have shown that the yield of allantoin in Thai bamboo mushroom (101.00 ug/g of gel) was higher than that of the China bamboo mushroom (16.12 ug/g of gel). The HPLC chromatogram and UV detection was performed using an Agilent instrument (Agilent 1260, USA) consisted of a degasser, a quaternary pump (P680 HPG), an autosampler (ASI-100T), an injector (TCC-100), and an UV-VIS detector (DAD). The autosampler was cooled to 4°C before injecting 20 µL volume of samples. The mobile phase was 25 mM KH_2PO_4 pH 3.0. The analytical columns tested were the reversed-phase column SB-C18 (250 mm × 4.6 mm i.d., 3.5µm particle size) with a guard pre-column (Zorbax SB-C18, 2.1 mm × 12.5 mm, Agilent Life Sciences, USA) with the column's temperature of 30 °C and the flow rate was set to 1 mL/min. The column effluent was simultaneously monitored at 200 nm with the reference wavelength of 202 nm. However, there was a limitation in finding the suitable condition to detect hyaluronic acid using HPLC in this study. These might have been the results from high viscosity and less soluble extracts, therefore, HPLC technique might not be an appropriate technique for detecting hyaluronic acid in high viscosity solution.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ระยะการพัฒนาของเห็ดเยื่อไผ่เริ่มจากการพัฒนาเชื้อเห็ดกระทั่งเปิดดอก A-H มีดังนี้ (A) ย่อยสลายซากและพัฒนาเชื้อเห็ดในดิน (B) พัฒนา rhizomorphs (C) พัฒนา primordium (D) พัฒนาไข่เห็ด (mushroom ball form) (E) ระยะ apical protrusion (F) ระยะเริ่มการเปิดดอก (apical breakage and opening) (G) ระยะยืดของลำต้น (stalk elongation) (H) เต็มวัย (mature fruiting body) (Chang and Miles, 1930) 4
รูปที่ 2 เห็ดเยื่อไผ่ในระยะไข่ (egg stage) หรือ ระยะดอกตูม (mushroom ball)) 5
รูปที่ 3 เห็ดเยื่อไผ่ในระยะเปิดดอก (Fruiting body)) 5
รูปที่ 4 สูตรโครงสร้างทางเคมีอัลลันโทอิน 6
รูปที่ 5 สูตรโครงสร้างทางเคมีกรดไฮยาลูรอนิค 7
รูปที่ 6 สูตรโครงสร้างทางเคมีดิกไทโอฟอรีน 7
รูปที่ 7 โครงสร้างพอลิแซคคาร์ไรด์ 8
รูปที่ 8 โครงสร้างแอลคาลอยด์ 8
รูปที่ 9 โครงสร้างไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล 9
รูปที่ 10 เห็ดเยื่อไผ่ระยะไข่สายพันธุ์จีนกระโปรงยาว และสายพันธุ์ไทย (ไทยธวัช) 10
รูปที่ 11 ตัวอย่างวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ก่อนการสกัด 10
รูปที่ 12 Calibration และ Standard curve ของสารละลายมาตรฐาน อัลลันโทอิน โดยเครื่อง HPLC 11
รูปที่ 13 ผลการตรวจหาสารออกฤทธิ์อัลลันโทอิน โดย a คือสารละลายตัวอย่างวุ้นเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ไทย b สารละลายตัวอย่างวุ้นเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์จีน 13
รูปที่ 14 ภาพรวมการดำเนินการทดสอบคุณสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อและการรักษาบาดแผล 16
รูปที่ 15 วิธีการทดสอบการต้านการเจริญของเชื้อ 18
รูปที่ 16 การทดสอบคุณสมบัติการต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัดวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ 18
รูปที่ 17 การทดสอบคุณสมบัติการสมานแผลของสารสกัดวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ 19

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญภาพ	จ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
การเก็บตัวอย่างวุ้นเห็ดเยื่อไผ่	11
การวิเคราะห์ปริมาณอัลลันโทอินในวุ้นเห็ดเยื่อไผ่	12
การวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮยารูรอนิกในวุ้นเห็ดเยื่อไผ่	12
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
ผลการวิจัย	13
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	14
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก การทดสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลชีพและการสมานแผล	16
บรรณานุกรม	20
ประวัติผู้วิจัย	22

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1.
บทนำ (Introduction)

ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

เห็ดเยื่อไผ่/เห็ดร่างแห (*Dictyophora* spp., Bamboo mushroom/stinkhorn) เป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีโปรตีน (Nx6.25) 15-18% มีรายงานการว่าพบกรดอะมิโนที่มนุษย์ต้องการถึง 20 ชนิด โดย 16 ชนิดเป็นกรดอะมิโนจำเป็น (Essential amino acid) และมีไรโบฟลาวิน (Riboflavin) ค่อนข้างสูง จากรายงานสารสำคัญทางเภสัชวิทยาพบว่าเห็ดชนิดนี้มีสารสำคัญที่พบ คือ โพลีแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) และสาร Dictyophorine A, B และ C ซึ่งเป็นสารที่พบได้ยากในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ซึ่งสารชนิดนี้เป็นตัวช่วยในการปกป้องเซลประสาทไม่ให้ถูกทำลายจากสารพิษและสามารถกระตุ้นการสร้างเซลประสาทและเซลสมองได้ (สุวลักษณ์ และคณะ, 2558; Hobbs, 1995; Kawagishi et al.,1997; Lee at al., 2002a; Wasser, 2002; Sánchez, 2017; Wang, 2017) ตำราจีนได้กล่าวไว้ว่า ส่วนบนสุดของเห็ดเยื่อไผ่สามารถนำไปผลิตเป็นยาบำรุงกำลังทางเพศของม้าได้ ช่วยให้ม้าผสมพันธุ์ได้ดีขึ้น (จิราวรรณ, 2549) สำหรับตำหรับยาที่ใช้ในคนตามตำรายาจีนนั้นพบว่า มีการใช้เห็ดชนิดนี้เป็นยาบำรุงร่างกายเมื่อร่างกายอ่อนแอ หรือมีอาการอ่อนเพลียจากการท้องเดิน รักษาความดันโลหิตสูง โรค Cholesterol ในเลือดสูง ตับอักเสบ โรคที่เกี่ยวข้องกับไต ตา ปอด และเป็นหวัด นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มในการรักษาโรคลำไส้อักเสบ ลดความอ้วนและเป็นอาหารสุขภาพ นอกจากนี้ยังพบสารอัลลันโทอิน (Allantoin) ที่ออกฤทธิ์ต่อต้านการอักเสบ และการระคายเคืองของผิว ช่วยฟื้นฟูเซลผิวที่เสื่อมสภาพ ลดริ้วรอยและเร่งการผลิตเซลผิวใหม่ เมือกของเห็ดเยื่อไผ่ยังอุดมไปด้วยกรดไกลโคลิก (Glycolic acid) ซึ่งเป็นสารช่วยกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนและอีลาสตินให้ความยืดยุ่นแก่ผิว ทำให้ผิวหนังมีความยืดยุ่นได้ดี ผิวหนังกระชับ เต่งตึงได้ดีกว่า ขจัดเซลผิวที่ตายแล้ว ส่วนใหญ่เห็ดเยื่อไผ่ที่ถูกนำมาทดสอบสารประกอบและสารอาหารนั้นเป็นเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์จีน

ชาวจีนใช้ประโยชน์จากเห็ดเยื่อไผ่มายาวนานกว่า 3,000 ปี และประเทศจีนเป็นประเทศเดียวในโลกที่มีการเพาะเลี้ยงเห็ดชนิดนี้ โดยสายพันธุ์ที่มีการเพาะเลี้ยงและจำหน่ายนั้นมี 2 สายพันธุ์คือ *Dictyophora indusiata* Fishch และ *D. echinovolvata* Zang เนื่องจากเห็ดชนิดนี้มีสรรพคุณหลากหลายจึงเป็นที่ต้องการของตลาดโลก โดยประเทศไทยนำเข้าเห็ดชนิดนี้ในรูปของเห็ดอบแห้งจากประเทศจีนกว่า 600 ตัน/ปี ซึ่งราคาในท้องตลาดของเห็ดชนิดนี้ราคาสูงถึง 3,000-5,000 บาทต่อกิโลกรัม (นิรนาม, 2551) ทั้งที่ประเทศไทยก็มีรายงานการพบเห็ดเยื่อไผ่ถึง 5 สายพันธุ์ คือ 1) เห็ดเยื่อไผ่กระโปรงยาวสีขาว (*D. indusiata* Fisch.) 2) เห็ดเยื่อไผ่กระโปรงสั้นสีขาว (*D. duplicate* Fisch.) 3) เห็ดเยื่อไผ่กระโปรงสีส้ม (*D. multicolor* (Berk) Broome var. *lacticolor* Reid) 4) เห็ดเยื่อไผ่กระโปรงสีแดง (*D. rubrovolvata* Zang) และ 5) เห็ดร่างแหกระโปรงสีเหลือง (*D. multicolor* Fisch.) เป็นที่น่าเสียดายว่าข้อมูลสารออกฤทธิ์ สารอาหาร หรือคุณประโยชน์ต่างๆ ของเห็ดเยื่อไผ่ที่มีการทดสอบและเผยแพร่ ส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์จีน ทั้งที่ในประเทศไทยก็มีรายงานการพบเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ที่สามารถบริโภคได้เช่นกัน แต่ข้อมูลเหล่านี้ยังมีน้อยมาก นอกจากนี้งานวิจัยส่วนใหญ่ทำการ

สกัดสารต่างๆ จากส่วนที่เรียกว่า Fruiting body ในขณะที่มีรายงานว่าวุ้นของเห็ดเยื่อไผ่ในระยะที่เรียกว่า Egg stage นั้นมีสารจำพวกอัลลันโทอินและกรดไฮยารูลอนิกสูงกว่าระยะอื่นๆ (อานนท์, 2541)

ดังนั้นการศึกษานี้จะมุ่งศึกษาเปรียบเทียบและวิเคราะห์ชนิดสารและปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในวุ้นของเห็ดเยื่อไผ่ สายพันธุ์จีนและเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ไทย ตัวอย่างเห็ดสายพันธุ์ที่เลือกทำการศึกษาสามารถปลูกและเจริญได้ในประเทศไทย เพื่อเป็นข้อมูลวิชาการที่สำคัญสำหรับการพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ทั้งยาและเวชสำอาง อาหารเป็นยา รวมไปถึงการส่งเสริมการเพาะเห็ดเยื่อไผ่เพื่อการเป็นสินค้าส่งออกของประเทศไทย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อให้ได้ข้อมูลชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ของเห็ดเยื่อไผ่สีขาวทั้งสายพันธุ์ไทยและสายพันธุ์จีน
2. สร้างความร่วมมือระหว่างมหาวิทยาลัยกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในเชิงการแลกเปลี่ยนข้อมูลและองค์ความรู้
3. สร้างองค์ความรู้พื้นฐานเพื่อวางแผนสำหรับงานวิจัยต่อยอด

ขอบเขตของงานวิจัย

การวิจัยครั้งนี้จะเป็นการศึกษาเปรียบเทียบและวิเคราะห์ชนิดสารและปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สำคัญที่น่าจะมีมูลค่าในเชิงพาณิชย์ในวุ้นของเห็ดเยื่อไผ่ สายพันธุ์ไทยและจีน คือสารอัลลันโทอิน (Allantoin) และ กรดไฮยาลูโรนิก (Hyaluronic acid) ตัวอย่างเห็ดที่ใช้ในการศึกษานี้ประกอบไปด้วยเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์จีน และเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ไทย ซึ่งตัวอย่างเห็ดที่เลือกทำการศึกษาสามารถเพาะและเจริญได้ในประเทศไทย และซื้อตัวอย่างเห็ดจากศูนย์เรียนรู้การเพาะเห็ดทฤษฎีใหม่และเครือข่าย วุ้นจากเห็ดเยื่อไผ่ ถูกนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับสารละลาย Standard ทั้งอัลลันโทอินและกรดไฮยาลูโรนิก โดยใช้ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยคาดหวังว่าผลการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในเชิงการพัฒนาต่อยอดของผลิตภัณฑ์ทางสุขภาพหรือเวชสำอาง รวมไปถึงจะเป็นประโยชน์ต่อการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงเห็ดชนิดนี้ในเชิงอุตสาหกรรมและส่งเสริมการผลิตเพื่อส่งออกเห็ดและอาหารเป็นยา

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

1. องค์ความรู้ใหม่ถึงสารออกฤทธิ์สำคัญทั้งอัลลันโทอินและกรดไฮยาลูโรนิก ในเชิงเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ของเห็ดเยื่อไผ่ทั้งสายพันธุ์ไทยและจีน เพื่อการวิจัยต่อยอดต่อไป
2. เกิดความร่วมมือระหว่างมหาวิทยาลัยกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในเชิงการแลกเปลี่ยนข้อมูลและองค์ความรู้ อาทิ กลุ่มเกษตรกรเพาะเลี้ยงเห็ดและกลุ่มผู้พัฒนาผลิตภัณฑ์จากวุ้นเห็ดเยื่อไผ่
3. การพัฒนาบุคลากรทางการวิจัยวิทยาศาสตร์ อาทิ นักศึกษาหรือนักเรียนที่ร่วมทำโครงการศึกษา
4. ข้อมูลทางวิชาการสำหรับเผยแพร่ทั้งในระดับชาติและระดับนานาชาติ

บทที่ 2.
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

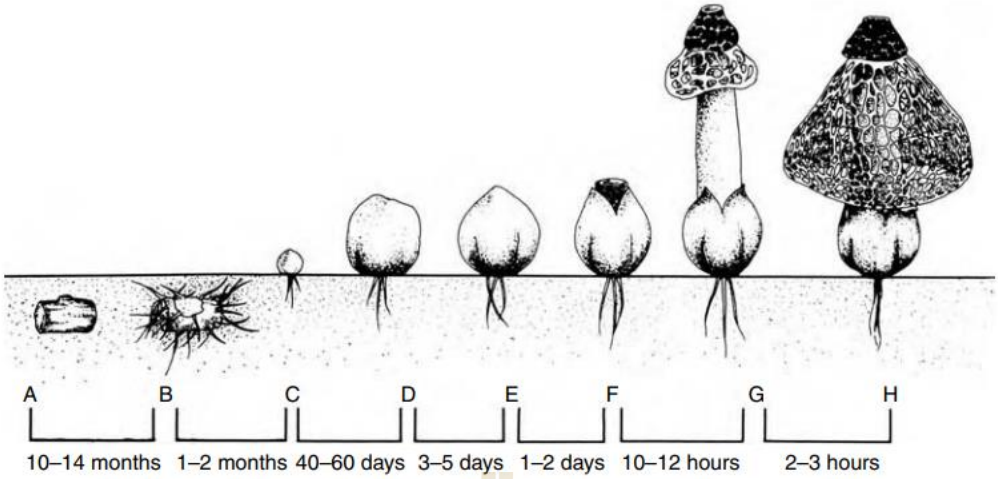
การทบทวนวรรณกรรม (Literature Review)

เห็ด (Mushroom) เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มเชื้อราหรือเห็ดรา (Fungi) มีการเจริญเป็นเส้นใย เมื่อถึงระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ จะสร้างโครงสร้างที่มีรูปร่างเป็นดอกเห็ด (Fruiting body) ที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ดอกเห็ดมีรูปร่างและสีแตกต่างกัน เกี่ยวข้องกับการบ่งบอกถึงชนิดของเห็ดรานั้น เห็ดหลายชนิดรับประทานได้ และจัดเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง (มีโปรตีน ไขมัน เกลือแร่ และวิตามิน ซึ่งมักพบว่ามีวิตามินบี 1 และบี 2 มากกว่าวิตามินชนิดอื่นๆ) เห็ดหลายชนิดมีสรรพคุณทางยา จากงานวิจัยจากประเทศจีนและญี่ปุ่นแสดงให้เห็นชัดเจนว่าเห็ดมีประโยชน์ในการใช้เป็นยารักษาโรค มีผลในการป้องกันรักษาโรคมะเร็ง รักษาโรคที่เกิดจากไวรัส โรคความดันโลหิตสูง โรคไขมัน (Cholesterol) ในเลือดสูง และสามารถช่วยป้องกันการจับตัวกันของเกล็ดเลือด (Wang et al., 1998; Yu et al., 1999)

เห็ดเยื่อไผ่/เห็ดร่างแห จัดอยู่ในอาณาจักรฟังไจ (Kingdom Fungi) ไฟลัมเบสิดิโอไมโคตา (Basidiomycota) วงศ์ Phallaceae สกุล *Dictyophora* มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษ คือ Basket Stinkhorn, Dancing Mushroom, Bamboo mushroom, Bamboo Fungus ชื่อสามัญไทย คือ เห็ดร่างแหยาว ร่างแหกระโปรงยาว ดางแหยาว จัดอยู่ในกลุ่มดอกเห็ดเขาเหม็น (stinkhorns) ในประเทศไทยพบเห็ดร่างแห 5 ชนิด คือ เห็ดร่างแหกระโปรงยาวสีขาว *(Dictyophora indusiata* (Vent. ; Pers.) Fisch.) เห็ดร่างแหกระโปรงสั้นสีขาว (*Dictyophora duplicata* (Bosc) Fisch.) เห็ดร่างแหเหลือง (*Dictyophora multicolor* Fisch.) เห็ดร่างแหส้ม (*Dictyophora multicolor* var. Boome) เห็ดร่างแหแดง (*Dictyophora rubrovolvata* Zang, & Liu) (ศูนย์วิจัยความหลากหลายทางชีวภาพ, 2552; Chandrasrikul, 2011; ศิริบุญ, 2561)

ระยะการพัฒนาของเห็ดเยื่อไผ่

เห็ดเยื่อไผ่มีถิ่นกำเนิดตามธรรมชาติในพื้นที่ที่มีสภาพภูมิอากาศแบบร้อนชื้น สามารถพบได้ในทวีปเอเชีย อเมริกาและทวีปแอฟริกา ในประเทศไทยสามารถพบเห็ดชนิดนี้ได้ทุกภาค โดยเห็ดจะเกิดตามพื้นดินที่มีเศษอินทรีย์วัตถุที่มีการทับถมเน่าเปื่อยผุพังและมีความชื้นสูง เช่น ในสวนมะพร้าว สวนยางพารา สวนมะม่วง ป่าไผ่ เป็นต้น โดยมีลำดับขั้นการพัฒนาการตั้งแต่การพัฒนาสายรากระทั่งเปิดดอกโดยใช้เวลานานประมาณ 1 ปี (การเกิดตามธรรมชาติ) จากนั้นเห็ดจะมีการสร้าง rhizomorphs ที่มีลักษณะคล้ายรากและพัฒนาดอกเห็ดตูมขนาดเล็ก ขยายขนาดเป็นดอกที่ใหญ่ขึ้นใช้เวลาประมาณ 2 เดือน จากนั้นจะเข้าสู่กระบวนการเปิดดอก สังเกตได้จากปลายของดอกตูมจะเริ่มมีลักษณะแหลม ภาพรวมของดอกมีลักษณะคล้ายดอกบัว จากนั้น 1-2 วัน ปลายดอกตูมจะปริออกและมีการเปิดดอกโดยก้านดอก หมวกดอก และกระโปรงเห็ดจะยืดออก เข้าสู่ระยะสมบูรณ์ (mature fruiting body) ภายในเวลา 2-3 ชั่วโมง (Chang and Miles, 2004) ปัจจุบันการเพาะเห็ดเยื่อไผ่ในฟาร์มเพาะเห็ดทั่วไปใช้เวลาประมาณ 2–3 เดือน (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ระยะการพัฒนาของเห็ดเยื่อไผ่เริ่มจากการพัฒนาเชื้อเห็ดกระทั่งเปิดดอก A-H มีดังนี้ (A) ย่อยสลายซากและพัฒนาเชื้อเห็ดในดิน (B) พัฒนา rhizomorphs (C) พัฒนา primordium (D) พัฒนาไข่เห็ด (mushroom ball form) (E) ระยะ apical protrusion (F) ระยะเริ่มการเปิดดอก (apical breakage and opening) (G) ระยะยืดของลำต้น (stalk elongation) (H) เต็มวัย (mature fruiting body) (Chang and Miles, 1930)

เห็ดร่างแหที่ยังเป็นดอกตูมจะมีเปลือกหุ้มด้านนอกลักษณะคล้ายไข่ ด้านในจะมีลักษณะเป็นเมือกคล้ายวุ้นช่วยป้องกันดอกอ่อนไม่ให้ถูกกระทบกระเทือนและช่วยรักษาความชื้นให้กับดอกเห็ด (รูปที่ 2) ต่อมาเมื่อเจริญส่วนของก้านดอกเห็ดจะค่อยๆ ดันเยื่อหุ้มแตกออกจนเห็นวุ้นได้ชัดเจน ส่วนของก้านสีขาว มีรูพรุนเป็นช่องๆ และนิ่มคล้ายฟองน้ำ ภายในก้านมีลักษณะกลวง ส่วนหมวกมีร่างแหคล้ายตาข่ายหรือกระโปรงตาข่ายคลุมก้านดอกเห็ด สีของร่างแหมีหลายสี เช่น สีชมพู สีแดง สีส้ม สีเหลือง และสีขาว ขึ้นอยู่กับชนิดของเห็ด (รูปที่ 3) จึงทำให้เห็ดร่างแหมีชื่อเรียกแตกต่างกันไป เช่น เห็ดร่างแหกระโปรงยาวสีขาว เห็ดร่างแหกระโปรงสั้นสีขาว และเห็ดร่างแหเหลือง ส่วนของร่างแหจะเจริญอย่างรวดเร็ว โดยใช้ระยะเวลาจากดอกที่กำลังแย้มบานจนกระทั่งบานเต็มที่ประมาณ 1-2 ชั่วโมง ส่วนด้านบนของเห็ดร่างแหจะมีหมวกลักษณะเป็นเมือกสีเข้มมีหลายสี เช่น น้ำตาล ดำ หรือเทา เป็นที่อยู่ของสปอร์ มักมีกลิ่นเหม็น ทำให้ดึงดูดแมลงมาตอมซึ่งช่วยให้สปอร์ของเห็ดร่างแหกระจายไปยังสถานที่ต่างๆ ซึ่งเป็นการอาศัยแมลงช่วยในการกระจายพันธุ์ (ไพรินทร์ และคณะ, 2555)

ที่มา (https://mgronline.com/smes/detail/9610000006605)

รูปที่ 2 เห็ดเยื่อไผ่ในระยะไข่ (egg stage) หรือ ระยะดอกตูม (mushroom ball)

Cr. Steve Fitzgerald

https://www.pinterest.com/pin/527976756307547417/

Cr. Tom Ballinger

http://plantjdx.com/dictyophora_lutea.htm

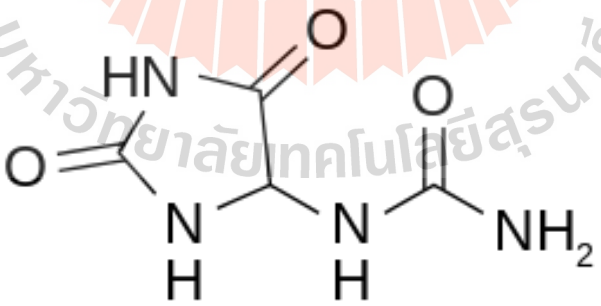
รูปที่ 3 เห็ดเยื่อไผ่ในระยะเปิดดอก (Fruiting body)

สรรพคุณและคุณค่าทางโภชนาการของเห็ดเยื่อไผ่

เห็ดเยื่อไผ่เป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยมีโปรตีนร้อยละ 20 ซึ่งมากกว่าเห็ดชนิดอื่น ไขมันร้อยละ 4-5 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 40-50 มีกรดอะมิโน 16 ชนิด ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายไม่สามารถสร้างเองได้ถึง 7 ชนิด และมีไรโบฟลาวิน หรือวิตามินบี 2 สูง บริเวณเปลือกหุ้มและ หมวกเห็ดจะมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง ซึ่งสามารถชะลอการเกิดกระบวนการออกซิเดชั่นได้หลายกระบวนการ และยังช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเรื้อรังได้หลายโรค เมือกหุ้มดอกเห็ด มีลักษณะเป็นเจลเข้มข้นที่มีกรดไฮยาลูรอนิคและอัลลันโทอิน ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ ลดการระคายเคืองของผิว เพิ่มความชุ่มชื้นฟื้นฟูเซลล์ผิวที่เสื่อมสภาพ กรดกลูโคนิค ที่สามารถเร่งการผลัดเซลล์ผิว กระตุ้นการสร้างคอลลาเจน ก้านและกระโปรง พบสารพอลิแซคคาไรด์จำพวกเบต้ากลูแคน ซึ่งเป็นสารที่ช่วยเพิ่มภูมิต้านทาน กระตุ้นและเพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้นกันในร่างกาย ยับยั้งมะเร็ง อีกทั้งยังพบสารดิกทิโอฟอรีน เอ และบี ซึ่งเป็นสารที่พบยากในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ มีคุณสมบัติในการลดการอักเสบและยังช่วยกระตุ้น การทำงานของระบบประสาท ป้องกันโรคสมองเสื่อม (Greenclinic, ม.ป.ป.)

สารออกฤทธิ์สำคัญในวุ้นและดอกเห็ดเยื่อไผ่

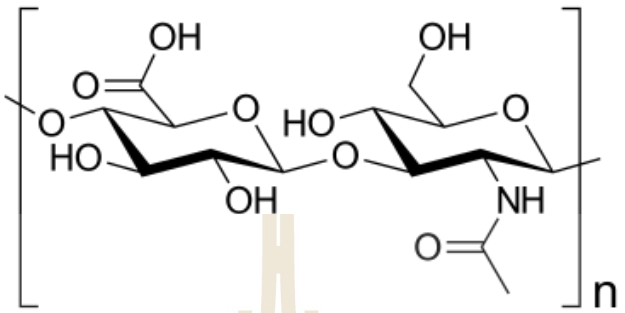
อัลลันโทอิน Allantoinเป็นสารเคมีที่มีสูตร $C_4H_6N_4O_3$ (รูปที่ 4) มีชื่อ IUPAC ว่า (2,5-Dioxo-4-imidazolidinyl) urea นอกจากนี้ยังมีชื่อเรียกอื่นๆ คือ 5-ureidohydantoin หรือ glyoxyldiureide (วิกิพีเดีย, 2020) ซึ่งอัลลันโทอินจะช่วยกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์อย่างรวดเร็ว มีคุณสมบัติพิเศษในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่เสียหายให้สมบูรณ์ ป้องกันอาการแพ้คันตามผิวหนัง ช่วยเก็บกักน้ำหล่อเลี้ยงผิวเพิ่มให้ผิวนุ่มชุ่มชื้นอยู่ตลอดเวลา ขจัดเซลล์ผิวที่ตายแล้ว และกระตุ้นให้เกิดเซลล์ผิวใหม่ (kovic, ม.ป.ป.) ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ของอัลลันโทอินจึงมีการนำไปผสมในผลิตภัณฑ์รักษาสิว ยาทาแผล และผลิตภัณฑ์บำรุงผิว เช่น โลชั่น เซรั่มบำรุงผิว เจลทาผิว (กรุงเทพเคมี, 2017)



รูปที่ 4 สูตรโครงสร้างทางเคมีอัลลันโทอิน (ที่มา: วิกิพีเดีย, 2020)

กรดไฮยาลูรอนิค หรือที่เรียกว่า hyaluronan มีสูตรทางเคมีคือ $(C_{14}H_{21}NO_{11})_n$ (รูปที่ 5) (วิกิพีเดีย, 2020) กรดนี้เป็นสารที่ร่างกายสามารถสร้างขึ้นมาได้เอง เป็นโมเลกุลของน้ำตาลชนิดหนึ่ง ที่เรียกว่า polysaccharide ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อของร่างกาย โดยปกติร่างกายมนุษย์จะมี กรดไฮยาลูรอนิคประมาณ 15 กรัม และจะอยู่ที่ชั้นผิวหนัง 50% และอยู่ที่กระดูกอ่อนและส่วนอื่นๆ อีก 50% ทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบหลักของน้ำไขข้อ หล่อเลี้ยงข้อต่อ น้ำเลี้ยงลูกตา น้ำหล่อลื่นบริเวณส่วนต่างๆ ของร่างกาย กรดไฮยาลูรอนิคจะถูกสร้างขึ้นบริเวณผิวชั้นล่าง (Dermis) และบริเวณผิวหนังชั้นบน

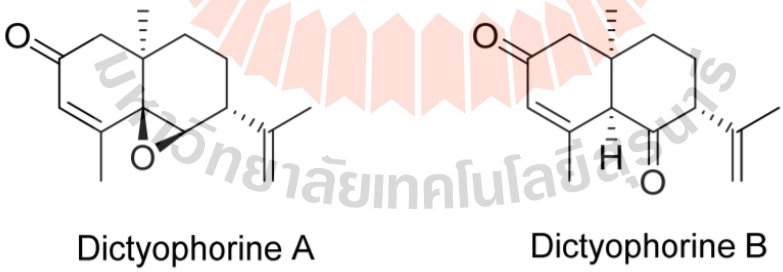
(Epidermis) โดยจะกระจายตัวอยู่ทั่วไปเป็นตัวประสาน ความเชื่อมต่อระหว่าง ชั้นผิวหนังแท้ (dermis) โปรตีนคอลลาเจน และ อีลาสติน เข้าด้วยกัน ทำให้ผิวหนัง มีความยืดหยุ่น เต่งตึง ปราศจากริ้วรอย ดูเรียบเนียน มีความอ่อนเยาว์ (Merthis, 2017) ด้วยคุณสมบัตินี้ จึงทำให้นิยมนำกรดไฮยาลูรอนิคมาใช้เป็นฟิลเลอร์ฉีดผิวและใช้เป็นส่วนหนึ่งในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว (Amproheaith, 2018)



รูปที่ 5 สูตรโครงสร้างทางเคมีกรดไฮยาลูรอนิค (ที่มา: วิกิพีเดีย, 2020)

ดิกไทโอฟอรีน

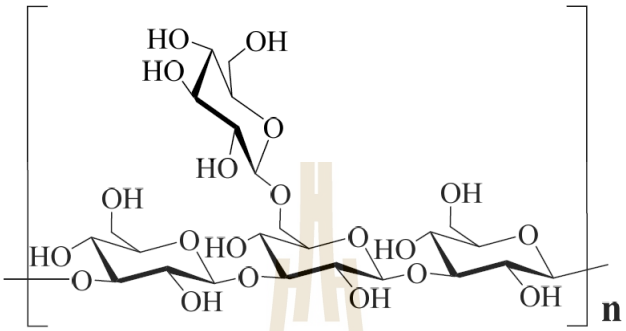
ดิกไทโอฟอรีน (Dictyophorines) มีสูตรทางเคมีคือ $C_{15}H_{20}O_2$ (ภาพที่ 6) (Habtemariam, 2019) จัดเป็นสารในกลุ่ม เลสคิเทอร์ปินส์ (Two novel eudesmane-type sesquiterpenes) ซึ่ง ดิกไทโอฟอรีนพบในเห็ดเยื่อไผ่ 2 ชนิด ได้แก่ ดิกไทโอฟอรีนเอ และบี (Dictyophorines A and B) (ธนชาติ, 2017) ดิกไทโอฟอรีนเอ และบี มีฤทธิ์ในการกระตุ้นเซลล์แอสโตรเจียสเพิ่มการสังเคราะห์ฮอร์โมนใยประสาท (Nerve growth factor) (Habtemariam, 2019)



รูปที่ 6 สูตรโครงสร้างทางเคมีดิกไทโอฟอรีน

พอลิแซคคาร์ไรด์

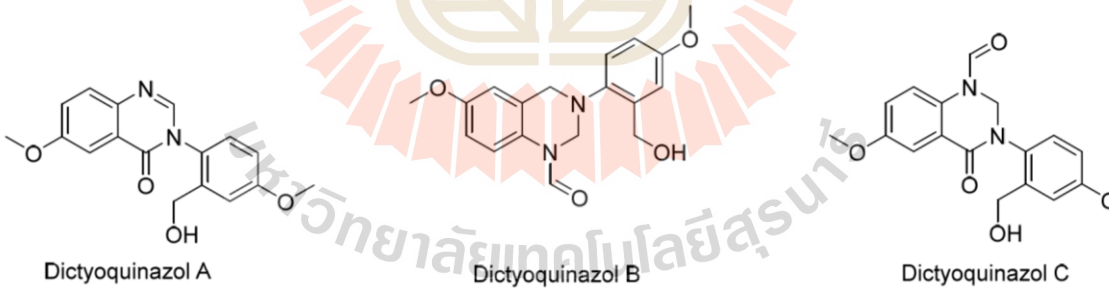
พอลิแซคคาร์ไรด์ที่สกัดได้จากดอกเห็ดเยื่อไผ่ คือ 1,3-เบต้า-กลูแคน (ภาพที่ 7) โดยพอลิแซคคาร์ไรด์มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 536 กิโลดอลตัน และมีปริมาณน้ำตาลสุทธิ 97.6% มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันอวัยวะ กระตุ้นระบบภูมิคุมกัน ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Habtemariam, 2019) ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์ ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (Li et al., 2012) ต้านเนื้องอก ป้องกันระบบประสาท ต้านภาวะไขมันในเลือดสูง (WA et al., 2020)



รูปที่ 7 โครงสร้างพอลิแซคคาร์ไรด์

แอลคาลอยด์

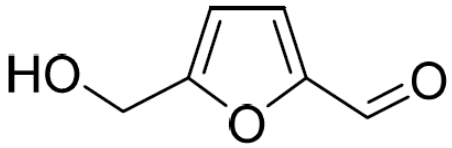
แอลคาลอยด์ คือสารประกอบอินทรีย์ที่มีธาตุไนโตรเจนประกอบอยู่ในโมเลกุล มีลักษณะเป็นด่าง ไม่ละลายในน้ำ ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ (สุภัตรา ทรัพย์อุปการ, 2018) ซึ่งจากสารสกัดเมทานอลของเห็ดเยื่อไผ่พบแอลคาลอยด์ 3 ชนิด (ภาพที่ 8) มีคุณสมบัติในการป้องกันระบบประสาท รวมถึงมีการอ้างอิงคุณสมบัติในโรคหลอดเลือดสมอง (Habtemariam, 2019)



รูปที่ 8 โครงสร้างแอลคาลอยด์

ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล

ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล หรือ 5-(hydroxymethyl)-2-furfural มีสูตรทางเคมีคือ $C_6H_6O_3$ (ภาพที่ 9) (NLST, 2011) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดจากการคายน้ำของน้ำตาลบางชนิด โมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนฟูแรนซึ่งมีทั้งหมู่ฟังก์ชันแอลดีไฮด์และแอลกอฮอล์ มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซมไทโรซิเนส (Habtemariam, 2019) และต้านอนุมูลอิสระ (Chen et al., 2014)



รูปที่ 9 โครงสร้างไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล

ถึงแม้ประเทศไทยจะมีการเพาะเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ไทยได้ และมีรายงานถึงชนิดของเห็ดเยื่อไผ่ในประเทศไทยหลายชนิด แต่รายงานถึงการเปรียบเทียบคุณสมบัติและปริมาณสารออกฤทธิ์ชนิดต่าง ๆ ของเห็ดเยื่อไผ่ระหว่างสายพันธุ์ไทยและจีนมีน้อยมาก เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์จึงเป็นส่วนสำคัญในการตัดสินใจสนับสนุนการเพาะเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ต่าง ๆ ในเชิงพานิชย์ หรือการพัฒนาต่อยอด การศึกษานี้มุ่งศึกษาเปรียบเทียบชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ของเห็ดเยื่อไผ่สีขาวทั้งกระโปรงสั้นและยาว สายพันธุ์ไทยและจีน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3.
วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างวุ้นเห็ดเยื่อไผ่

ตัวอย่างเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ไทยและจีนในการศึกษานี้ได้รับมาจากศูนย์เพาะพันธุ์เห็ดทฤษฎีใหม่ กรุงเทพมหานคร และจัดซื้อจากเครือข่ายดังกล่าว การเก็บตัวอย่างวุ้นเห็ดเยื่อไผ่และการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ ผู้วิจัยได้เริ่มวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์จากวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ระยะไข่สายพันธุ์จีนกระโปรงยาว และสายพันธุ์ไทย (ไทยธวัช) (รูปที่ 10 บน และล่าง ตามลำดับ)

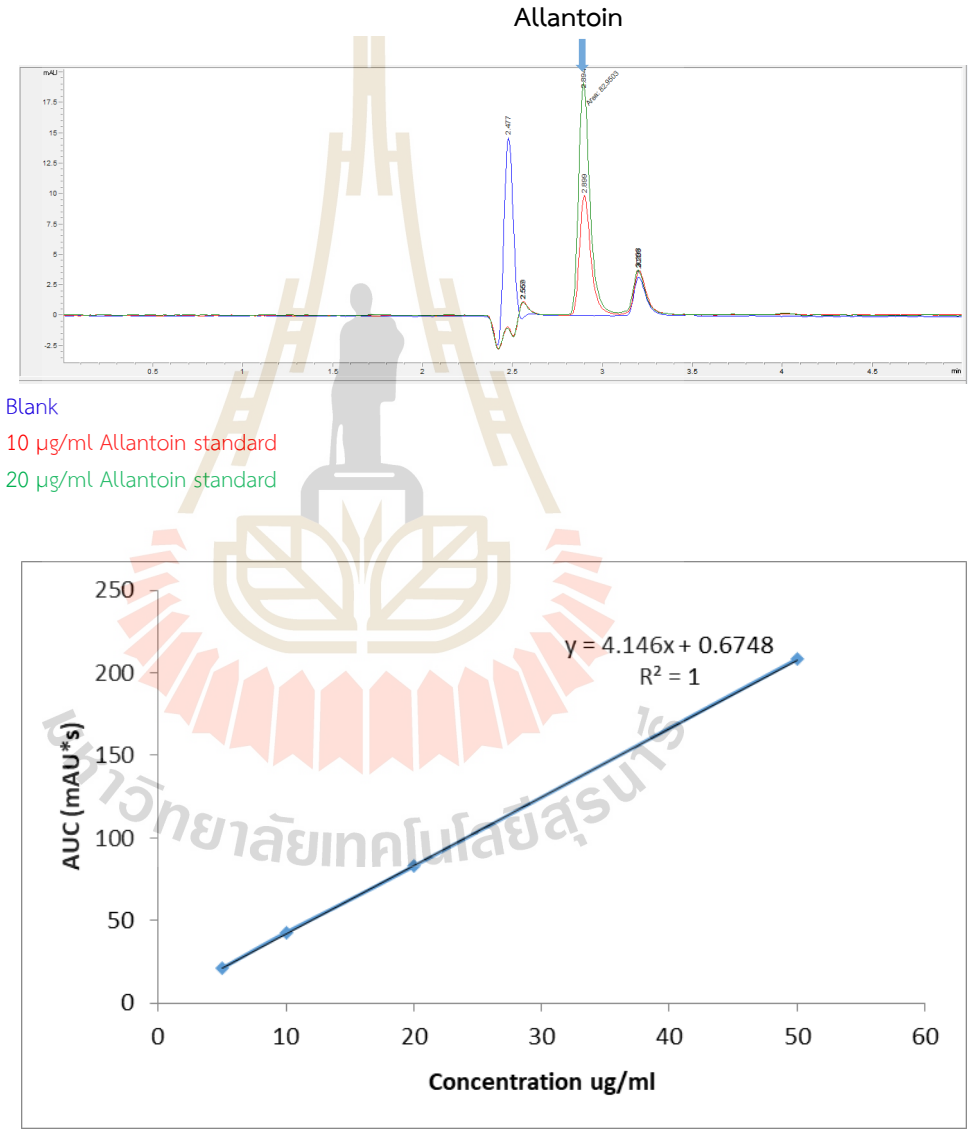
รูปที่ 10 เห็ดเยื่อไผ่ระยะไข่สายพันธุ์จีนกระโปรงยาว และสายพันธุ์ไทย (ไทยธวัช)

ทำความสะอาดภายนอกวุ้นเห็ด ปอกเปลือก และทำการขูดวุ้น โดยเก็บตัวอย่างและระบุชนิดของวุ้นไว้ในตู้รักษาความเย็นที่ -20 องศาเซลเซียส

รูปที่ 11 ตัวอย่างวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ก่อนการสกัด

การวิเคราะห์ปริมาณอัลลันโทอินในวุ้นเห็ดเยื่อไผ่

การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์อัลลันโทอิน Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) ถูกเลือกเป็นตัวทำละลายและอัลลันโทอิน (Sigma) เป็นสารออกฤทธิ์มาตรฐาน เพื่อใช้ในการสอบเทียบและตรวจหาอัลลันโทอิน ในวุ้นเห็ดตัวอย่าง การเตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อใช้ในการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ด้วยเครื่อง HPLC นั้น ผู้วิจัยได้เตรียมสารละลายมาตรฐานอัลลันโทอิน 1.0 mg/mL ใน KH_2PO_4 จำนวน 10mM. ผู้วิจัยได้แบ่งสารละลายมาตรฐานออกเป็น 5 ความเข้มข้น เพื่อเตรียมไว้สำหรับการทำ standard curve (5–50µg/mL) ขั้นตอนการทำ standard curve หรือ calibration curve นั้น ผู้วิจัยใช้สารสะลายมาตรฐานปริมาตร 20µL ต่อความเข้มข้น ตรวจวัดด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (รูปที่ 12)



รูปที่ 12 Calibration และ Standard curve ของสารละลายมาตรฐาน อัลลันโทอิน โดยเครื่อง HPLC

การเตรียมตัวอย่างวุ้นเห็ดเยื่อไผ่เพื่อวิเคราะห์หาสารอัลลันโทอิน ผู้วิจัยใช้อัตราส่วนวุ้นเห็ดจำนวน 1 g ละลายใน potassium phosphate buffer (pH 2.7; 10 mM) 10 mL จากนั้นให้ความร้อน 60 °C ใน เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ไปเขย่าด้วยเครื่อง Vortex เป็นเวลา 2 นาที และปล่อยให้สารละลายวุ้นเห็ดเยื่อไผ่เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับค่า pH ของสารละลายตัวอย่างให้มีค่า pH เท่ากับ 2.9 ด้วย 10 M KOH เพื่อแยกสารประกอบที่เป็นส่วนของไขมันที่ละลายน้ำออก จากนั้นใช้ตัวอย่างที่ได้ทำการปรับค่า pH แล้ว 2 mL ล้างด้วย hexane 2 mL จำนวน 2 ครั้ง และนำสารละลายดังกล่าวไปกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.22 µm

ขั้นตอนการทำ Chromatographic Conditions งานวิจัยนี้เลือกใช้ HPLC chromatogram and UV spectra จาก Agilent instrument (Agilent 1260, Quat pump, DAD detector, Autosampler and injector) ที่อุณหภูมิ 30 °C, flow rate of 1 mL/นาที และ run time of 15 นาที ผู้วิจัยใช้ mobile phase ที่ 25mM KH_2PO_4 pH 3.0 ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ยิงเข้าเครื่องเพื่อตรวจวัด คือ 20µL เลือกใช้ column ที่ 200 nm และ the reference wavelength 202 nm ในการทำการตรวจสอบ

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮยารูรอนิกในวุ้นเห็ดเยื่อไผ่

ใช้วิธีการเตรียมสารละลายวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ในลักษณะเดียวกันกับการวิเคราะห์ปริมาณสารอัลลันโทอิน จากนั้นนำสารละลายวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ไปตรวจสอบหา Condition ที่เหมาะสมสำหรับการทำ HPLC เพื่อตรวจหาปริมาณสารอัลลินโทอินในสารละลายวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

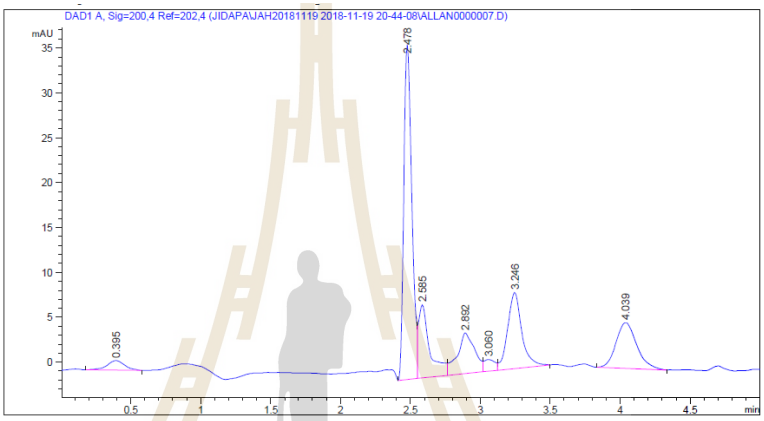
บทที่ 4.

ผลการวิจัย

การวิเคราะห์ปริมาณอัลลันโทอินในวุ้นเห็ดเยื่อไผ่

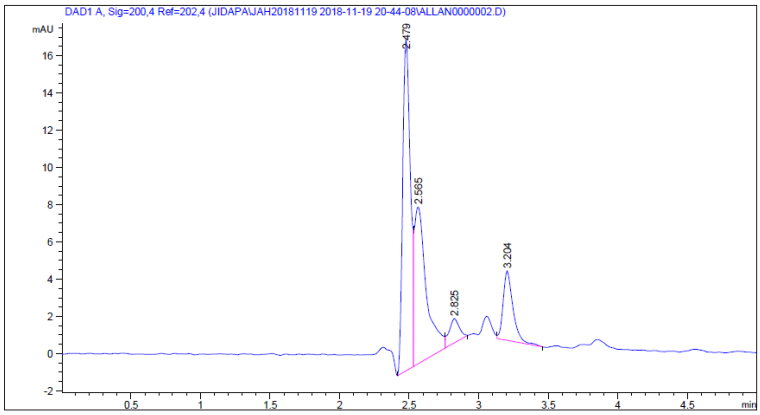
ผลการตรวจหาสารออกฤทธิ์ด้วยเครื่อง HPLC พบสารออกฤทธิ์อัลลันโทอิน ในสารละลายตัวอย่างทั้งจากวุ้นเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์จีนและสายพันธุ์ไทย ซึ่งเมื่อคำนวณปริมาณ yield ของสารออกฤทธิ์ที่พบนั้นมีความแตกต่างกัน โดยสายพันธุ์ไทยพบปริมาณสารออกฤทธิ์สูงกว่าสายพันธุ์จีน (101.00 ug/g ของวุ้น และ 16.12 ug/g ของวุ้น ตามลำดับ) (รูปที่ 13 a-b)

a




```
================================================================
                    Area Percent Report
================================================================

Sorted By             :      Signal
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs


Signal 1: DAD1 A, Sig=200,4 Ref=202,4

Peak RetTime Type  Width     Area      Height     Area
  #   [min]      [min]    [mAU*s]     [mAU]       %
----|-------|----|-------|----------|----------|--------|
   1   0.395 BB    0.1352   9.45188   1.06896   2.6189
   2   2.478 BV    0.0604 148.35277  37.32735  41.1053
   3   2.585 VV    0.0787  45.13725   8.13969  12.5066
   4   2.892 VV    0.1120  38.74384   4.52142  10.7351
   5   3.060 VV    0.0777   7.10190   1.30099   1.9678
   6   3.246 VB    0.1083  59.71420   8.46074  16.5455
   7   4.039 BB    0.1578  52.40688   5.10556  14.5208

Totals :                  360.90873  65.92471
```

b




```
======================================================================
                    Area Percent Report
======================================================================

Sorted By             :      Signal
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs


Signal 1: DAD1 A, Sig=200,4 Ref=202,4

Peak RetTime Type  Width     Area      Height     Area
  #   [min]        [min]   [mAU*s]     [mAU]       %
----|-------|----|-------|----------|----------|--------|
   1   2.479 BV    0.0587   68.18574   17.78894  47.3690
   2   2.565 VV    0.0861   50.61403    8.42360  35.1618
   3   2.825 VB    0.0767    6.75188    1.29853   4.6906
   4   3.204 VB    0.0756   18.39439    3.72508  12.7787

Totals :                    143.94605   31.23616
```

รูปที่ 13 ผลการตรวจหาสารออกฤทธิ์อัลลันโทอิน โดย a คือสารละลายตัวอย่างวุ้นเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ไทย b สารละลายตัวอย่างวุ้นเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์จีน

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮยารูรอนิกในวุ้นเห็ดเยื่อไผ่

ในการศึกษานี้ไม่สามารถหา condition ที่เหมาะสมเพื่อตรวจสอบหาปริมาณของกรดไฮยารูรอนิกได้ เนื่องจากสารสกัดวุ้นมีความหนืดสูงมากและมีความสามารถในการละลายต่ำ จึงไม่สามารถฉีดสารละลายวุ้นเห็ดเยื่อไผ่เข้าสู่ column ของ HPLC ได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5.

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ผลการพบสารอัลลันโทอินในสารละลายวุ้นเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ไทยและจีน โดยงานวิจัยชิ้นนี้พบว่าเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์ไทยมีปริมาณอัลลันโทอินในอัตราส่วนที่สูงกว่าเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์จีน ซึ่งเป็นรายงานทางวิชาการและเป็นการรายงานเชิงเปรียบเทียบผลงานแรก เนื่องจากงานวิจัยในการวิเคราะห์และตรวจสอบคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ในเห็ดเยื่อไผ่มักมีการศึกษาในเห็ดเยื่อไผ่สายพันธุ์จีน และจะเป็นการทำการศึกษาในส่วนของสารสกัดจากตัวดอกเห็ด (zhang et al., 2016; Liu et al., 2017)

ในการวิจัยชิ้นนี้ไม่สามารถตรวจสอบปริมาณกรดไฮยารูรอนิก ในวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ด้วยการใช้ HPLC ได้ เนื่องจากสารสกัดวุ้นมีความหนืดสูงมากและมีความสามารถในการละลายต่ำ เมื่อนำสารละลายกรดไฮยารูรอนิกไปฉีดเข้า column ของเครื่อง HPLC และเครื่องจะไม่สามารถดำเนินการต่อไปได้ และมีโอกาสูงในการทำให้ column อุดตันได้ ผู้วิจัยได้ทดลองทำการสกัดวุ้นเห็ดเยื่อไผ่หลากหลายวิธีเพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายและลดความหนืด ก็ไม่เป็นผล ดังนั้นผู้วิจัยจึงยุติวิธีการทดลองด้วยวิธีดังกล่าว

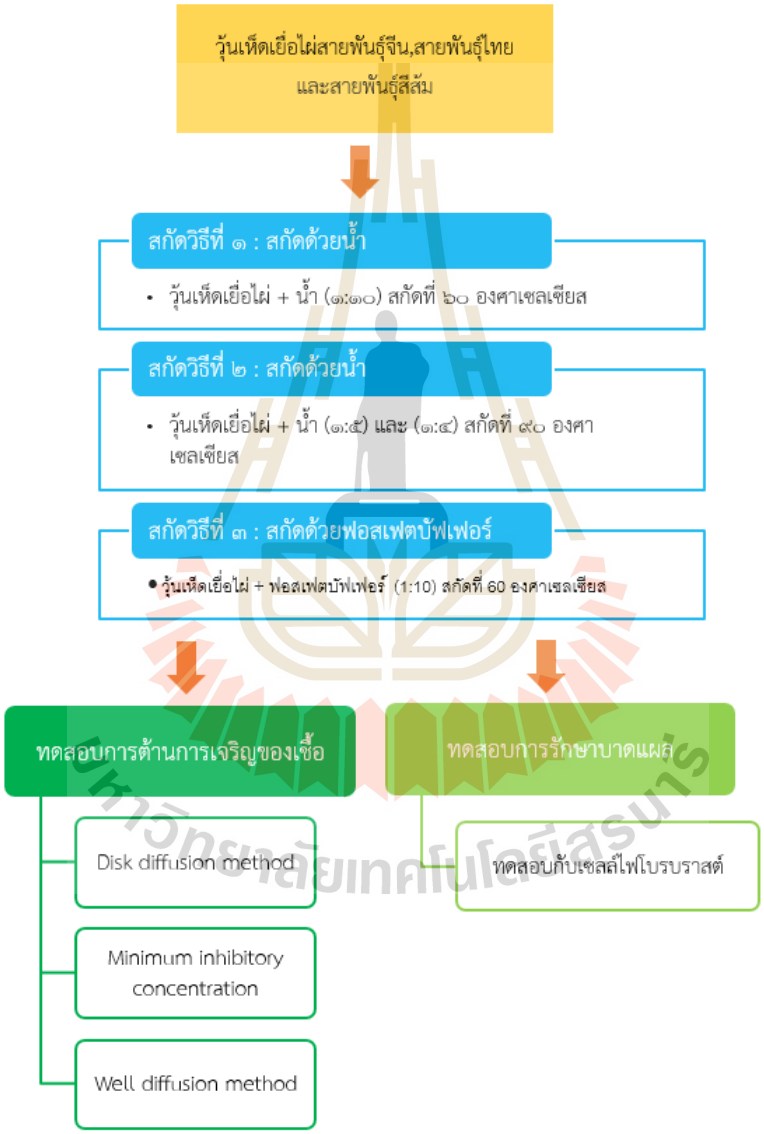
ผู้วิจัยทำการศึกษาเพิ่มเติมจากวัตถุประสงค์เนื่องจากพบสารอัลลันโทอินในการทดลองก่อนหน้า โดยการนำสารสกัดวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ไปทดสอบคุณสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อจุลชีพและทดสอบคุณสมบัติการรักษาบาดแผลด้วยสารสกัดจากวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ โดยการทำการสกัดวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ด้วยน้ำด้วยอัตราส่วน วุ้น:น้ำ เป็น 1:10 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ 1:4 90 องศาเซลเซียส รวมถึงการสกัดด้วยบัฟเฟอร์ วุ้น:บัฟเฟอร์ เป็น 1:10 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำสารสกัดไปทดสอบการต้านการเจริญของเชื้อ ด้วยวิธี disk diffusion method, minimum inhibitory concentration และ well diffusion method และทดสอบคุณสมบัติในการรักษาบาดแผลโดยทำการทดสอบกับเซลล์ไฟโบรบราสต์ ผลการศึกษาคือไม่พบคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลชีพ รวมถึงการรักษาบาดแผล (ภาคผนวก ก) เป็นไปได้ว่าด้วยคุณสมบัติการละลายที่ต่ำของตัววุ้นเห็ดเยื่อไผ่ทั้งสองสายพันธุ์เป็นข้อจำกัดในการละลายออกมาของสารออกฤทธิ์ เช่น อัลลันโทอิน จึงทำให้ผลการทดลองไม่เป็นไปตามที่คาดหวัง ดังนั้นการปรับเงื่อนไขของตัวทำละลายเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการละลายของสารออกฤทธิ์จึงเป็นความท้าทายในการทำการวิจัยในวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ต่อไป

เนื่องจากข้อจำกัดดังกล่าวผู้วิจัยจึงได้ดำเนินการทดลองเพิ่มเติมด้วยการทดสอบฤทธิ์ในการต้านมะเร็งตับและมะเร็งท่อน้ำดีจากสารสกัดเห็ดเยื่อไผ่ (ส่วน fruiting body) เนื่องด้วยมะเร็งทั้งสองชนิดเป็นโรคที่ส่งผลเสียต่อสุขภาพของคนไทยเป็นอันดับต้น ๆ และเนื่องจากมีรายงานถึงคุณสมบัติในการต้านมะเร็งของสารสกัดเห็ดเยื่อไผ่อย่างต่อเนื่อง โดยสารสกัดผู้วิจัยนำส่วนของ fruiting body ทำการสกัดด้วย 90% เอททานอล และนำไปทดสอบกับเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดในเบื้องต้น พบว่าสารสกัดจาก fruiting body ของเห็ดเยื่อไผ่ทั้งสายพันธุ์ไทยและจีน มีคุณสมบัติในการยับยั้งเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิด ซึ่งผู้วิจัยมีความสนใจจะดำเนินการวิจัยต่อยอดเพื่อทดสอบคุณสมบัติดังกล่าวในเชิงลึกต่อไป

ภาคผนวก ก

การทดสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลชีพและการสมานแผล

เนื่องจากการตรวจพบสารอัลลันโทอินในการทดลองก่อนหน้าดังนั้นด้วยคุณสมบัติของตัวสารอัลลันโทอิจควรจะมีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อจุลชีพและการสมานแผล ดังนั้นเพื่อทดสอบคุณสมบัติในการต้านการเจริญของเชื้อจุลชีพและคุณสมบัติในการสมานแผลของสารสกัดจากวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ จึงได้เกิดการทดลองเพื่อตรวจสอบฤทธิ์ดังนี้



รูปที่ 14 ภาพรวมการดำเนินการทดสอบคุณสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อและการรักษาบาดแผล

การเตรียมสารสกัดวุ้นเห็ดเยื่อไผ่

วิธีการสกัดสารในการทดลองนี้จะใช้ทั้งหมด 3 วิธีการสกัด โดยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 จะเป็นการสกัดโดยใช้น้ำที่อุณหภูมิแตกต่างกัน ในขณะที่วิธีที่ 3 จะสกัดโดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์

วิธีที่ 1 สกัดด้วยน้ำ ใช้อัตราส่วนระหว่างวุ้นเห็ดและน้ำ คือ 1g:10ml นำไปให้ความร้อนผ่านน้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ใช้เครื่องเขย่าสารเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองขนด 0.22 ไมโครเมตร

วิธีที่ 2 สกัดด้วยน้ำ โดยใช้อัตราส่วนระหว่างวุ้นเห็ดและน้ำ คือ 1g:5ml และ 1g:4ml ให้ความร้อนโดยตรงผ่านเครื่องกวนสารให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (Liu et al., 2017)

วิธีที่ 3 สกัดด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยใช้อัตราส่วนระหว่างวุ้นเห็ดและฟอสเฟตบัฟเฟอร์ คือ 1g:10ml ให้ความร้อนผ่านน้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นใช้เครื่องเขย่าสารเขย่าให้เข้ากัน และทิ้งไว้จนสารเย็นเท่าอุณหภูมิห้อง ปรับpHให้เท่ากับ 2.9 และล้างด้วยเฮกเซน 2 ครั้ง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร

การต้านการเจริญของเชื้อ

วิธีการทดสอบการต้านการเจริญของเชื้อจะใช้ทั้งหมด 3 วิธี โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* 25922, *Klebsiella pneumoniae*13440, *Staphylococcus aureus* 25923 ซึ่งในแต่ละวิธีจะมีการใช้ความเข้มข้นที่แตกต่างกันเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อของสารสกัดจากวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ในแต่ละวิธีการสกัด

วิธี Disk diffusion method ทดสอบโดยการวางแผ่นกระดาษกรองมาตรฐานที่มีสารที่ต้องการทดสอบในปริมาตรต่างๆ วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อที่ต้องการทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง เก็บผลการทดลองโดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางจากบริเวณโซนใสของการยับยั้ง (Clear zone inhibition)

วิธี Minimum inhibitory concentration (MIC) เป็นวิธีที่วัดปริมาณความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารที่ต้องการทดลอง ที่สามารถยับยั้งหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่งได้ โดยวิธีนี้จะทดสอบในไมโครเพลท 96 หลุม โดยจะบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง โดยหากสารสามารถยับยั้งหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้หลุมนั้นจะมีลักษณะใส

วิธี Well diffusion method เป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สามารถทดสอบกับตัวอย่างได้ครั้งละหลายตัวอย่าง โดยจะคล้ายกับวิธี Disk diffusion method แต่จะไม่ใช้กระดาษกรองวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อ จะให้วิธีเจาะอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อที่ต้องการทดสอบให้เป็นหลุมๆ จากนั้นใส่สารที่ต้องการทดสอบที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันในแต่ละหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บผลการทดลองโดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางจากบริเวณโซนใสของการยับยั้ง

Disk diffusion method | Minimum inhibitory concentration | Well diffusion method

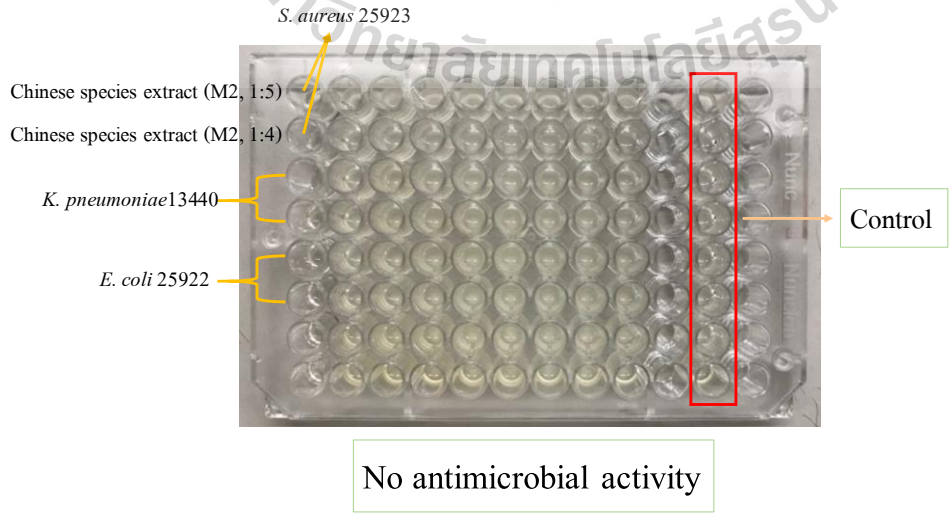
รูปที่ 15 วิธีการทดสอบการต้านการเจริญของเชื้อ

การทดสอบการรักษาบาดแผล

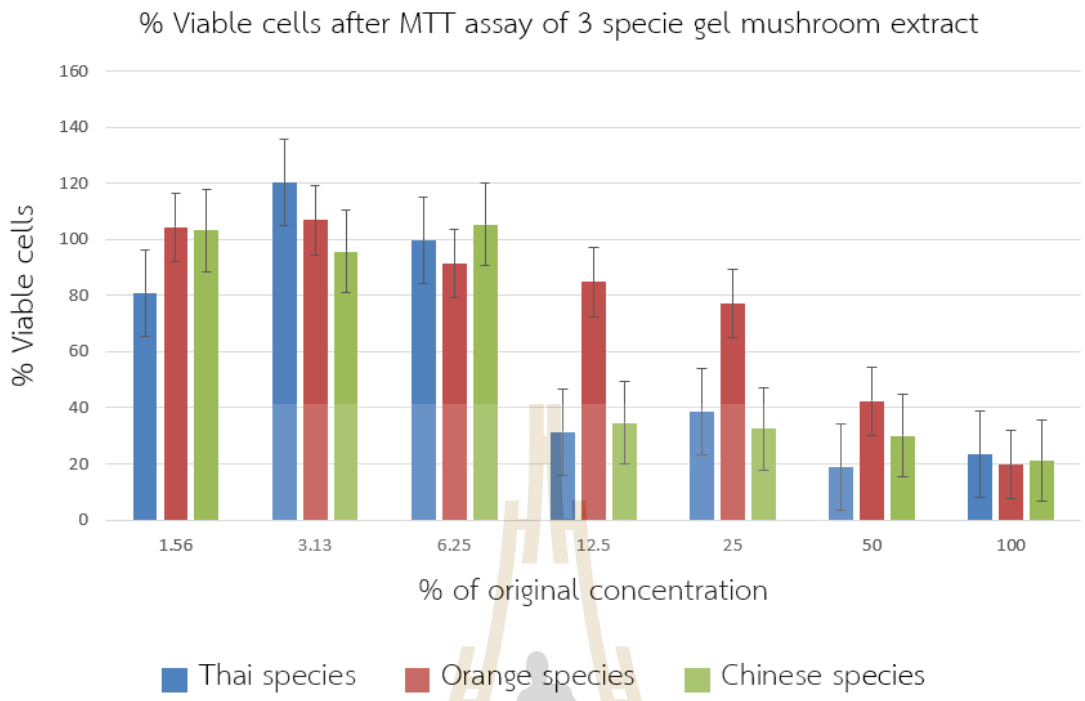
โดยในการทดลองนี้จะทดสอบกับเซลล์ไฟโบรบราสต์ ซึ่งก่อนจะทำการทดสอบการรักษาบาดแผลจะมีการทดสอบความเป็นพิษของสารจากวุ้นเห็ดที่ต้องการทดสอบกับเซลล์ไฟโบรบราสต์ก่อน เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยในการทดสอบการรักษาบาดแผลจะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบราสต์ลงใน 24 หลุมจานเพาะเลี้ยงเซลล์ จากนั้นจะใช้ปลายปิเปตทิปที่ปลอดเชื้อขีดลงบนเซลล์เพื่อให้เซลล์เกิดความเสียหายและเกิดช่องว่างระหว่างกลุ่มเซลล์ จากนั้นใส่สารจากวุ้นเห็ดที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ (ที่ผ่านทดสอบแล้วว่าไม่มีพิษต่อเซลล์) บ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Sarkhail et al., 2019) เพื่อดูความสามารถของเซลล์ในการเจริญขึ้นใหม่ และเคลื่อนตัวมาบรรจบกันอีกครั้ง เปรียบเทียบความสามารถของเซลล์ในการสมานรอยแยกนี้ ตามความเข้มข้นของวุ้นเห็ดที่ใส่ลงไป

ผลการทดสอบคุณสมบัติการการต้านการเจริญของเชื้อจุลชีพและการสมานแผล

ไม่พบคุณสมบัติของทั้งสองคุณสมบัติของสารสกัดวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ทั้งสายพันธุ์ไทยและจีน (รูปที่ 16 และรูปที่ 17)



รูปที่ 16 การทดสอบคุณสมบัติการต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัดวุ้นเห็ดเยื่อไผ่



รูปที่ 17 การทดสอบคุณสมบัติการสมานแผลของสารสกัดวุ้นเห็ดเยื่อไผ่

ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความสามารถในการละลายในตัวทำละลายที่ต่ำของวุ้นเห็ดเยื่อไผ่ จึงทำให้สารสกัดไม่ละลายออกมาในสารละลาย หรือมีสารออกฤทธิ์ที่เจอจางมาก จึงทำให้เมื่อทำการทดสอบคุณสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อหรือคุณสมบัติการสมานแผลไม่เห็นผล ดังนั้นความท้าทายต่อไปของการศึกษาคือการตรวจสอบหาตัวทำละลายที่เหมาะสม หรือสัดส่วนการทำการละลายวุ้นเห็ดเผื่อไผ่เพื่อให้ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ออกมาในสารละลาย หรือตัววุ้นมีการละลายและสามารถแสดงประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ตามคุณสมบัติได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บรรณานุกรม

กรุงเทพเคมี. (2017). อัลลันโทอิน. สืบค้นวันที่ 10 พฤษภาคม 2563 จากเว็บไซต์: https://xn--12cgi8d9atj3mva5fc.com

จิราวรรณ หาญวัฒนกุล. (2549). เห็ดร่างแหหรือเห็ดเยื่อไผ่. สำนักบริหารและรับรองห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.

นิรนาม. (2551). เยื่อไผ่คือเห็ดอาหารสมุนไพร. บทความมติชนสุดสัปดาห์.

ศิริบุญ พูลสวัสดิ์.เยื่อไผ่ที่กินได้. (Online) Available : http://siweb.dss.go.th/dss_doc/fulltext/radio/R56.pdf (Retrieved 1/05/2561).

ศูนย์วิจัยความหลากหลายทางชีวภาพ เฉลิมพระเกียรติ 72 พรรษา พระบรมราชินีนาถ. (2552). เห็ดป่าในหุบเขาลำพญา. ยะลา : มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา. 156 หน้า.

สุภัตรา ทรัพย์อุปการ. (2018). แอลคาลอยด์. สืบค้นวันที่ 17 มิถุนายน 2564 จากเว็บไซต์: https://www.scimath.org/article-chemistry/item/8661-2018-09-11-07-59-35

สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ และคณะ. (2558). โครงการวิจัยและพัฒนาเห็ดเศรษฐกิจสายพันธุ์ใหม่. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2558. สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ.กรมวิชาการเกษตร.

อานนท์ เอื้อตระกูล. (2541). ประวัติการเพาะเห็ดนางฟ้าภูฏาน. ชมรมเห็ดสากล (2306-2310 ถนนพหลโยธิน เขตจตุจักร) กรุงเทพ.

Amprohealth. (2018). กรดไฮยาลูรอนิค. สืบค้นวันที่ 10 พฤษภาคม 2563 จากเว็บไซต์: https://amprohealth.com/beauty-surgery/hyaluronic-acid/

Chandrasrikul A., et al., (2011).Checklist of Mushrooms (Basidiomycetes) in Thailand. 1st ed. Office of Natural Resource and Environmental Policy and Planning (ONEP), Thailand. 448 p.

Chang S.T. and Miles, P.G., (2004). Edible mushrooms and their cultivation (2nd ed). Boca Raton London New York Washington, D.C.

Chen, P.X., Tang, Y., Zhang, B., Liu, R., Marcone, M.F., Li, X., and Tsao, R. (2014). 5-Hydroxymethyl-2-furfural and Derivatives Formed during Acid Hydrolysis of Conjugated and Bound Phenolics in Plant Foods and the Effects on Phenolic Content and Antioxidant Capacity. J. Agric. Food Chem, https://doi.org/10.1021/jf500518r

Greenclinic. (ม.ป.ป.). เห็ดเยื่อไผ่ (Bamboo Mushroom). สืบค้นวันที่ 24 เมษายน 2563 จากเว็บไซต์: https://www.greenclinic.in.th/dictyophora.html

Habtemariam, S. (2019). The Chemistry, Pharmacology and Therapeutic Potential of the Edible Mushroom *Dictyophora indusiata* (Vent ex. Pers.) Fischer (Synn. *Phallus indusiatus*), 7(4), 98; https://doi.org/10.3390/biomedicines7040098

Hobbs C., (1995). Medicinal mushroom: An exploration of tradition, healing and culture. Santa Cruz, Botanica Press. 251 p.

Kawagishi H, Ishiyama D, Mori H., et al., (1997). Dictyophorines A and B, two stimulators of NGF-synthesis from the mushroom *Dictyophora indusiata*. Phytochem 45(6):1203–1205. doi:10.1016/S0031-9422(97)00144-1.

Lee I.K., Yun B., Kim Y., et al., (2002a). Two neuroprotective compounds from mushroom *Daldinia concentrica*. J Microbiol Biotechnol 12:692–694

Li. X, Wang, Z., Wang, L., Walid, E., Zhang, H. (2012). In vitro antioxidant and anti-proliferation activities of polysaccharides from various extracts of different mushrooms. National library of medicine national center for biotechnology information, doi: 10.3390/ijms13055801.

Merthis. (2017). กรดไฮยาลูรอนิค. สืบค้นวันที่ 25 เมษายน 2563 จากเว็บไซต์: https://www.merthis.com/hyaluronic-acid-is

Sánchez, C., (2017). Bioactives from Mushroom and Their Application. In Puri, M., (ed.). Food Bioactives. Springer International Publishing AG. 23-57 pp. DOI 10.1007/978-3-319-51639-4_2

Sarkhail, P., Navidpour, L., Rahimifard, M., Hosseini, N.M., Souri, E.. (2019). Bioassay-guided fractionation and identification of wound healing active compound from Pistacia vera L. hull extract. Journal of Ethnopharmacology, S0 3 7 8 - 8 7 4 1 (1 9) 3 0 7 8 2 - 2 . https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112335

WA, E., MO, E., PW, T., GM, D. (2020). *Trametes versicolor* and *Dictyophora Indusiata* champions of medicinal mushrooms. Medwin publishers committed to create value for researchers, DOI: 10.23880/oajpr-16000192

Wang, H., Ng, T.B., and Ooi, V.E.C. (1998). Lectin activity in fruiting bodies of the edible mushroom *Tricholoma mongolicum*. Biochemistry and Molecular Biology International. 44(1): 135-141.

Wang, Q., Wang, F., Xu, Z., Ding, Z., (2017). Bioactive Mushroom Polysaccharides: A Review on Monosaccharide Composition, Biosynthesis and Regulation. Molecules 22(6) 955.

Wasser, S.P., (2002). Medicinal mushroom as a source of antitumor and Immunodulating polysaccharide. Appl Microbiol Biotechnology (60) 258-274.

Yu, L.G., Fernig, D.G., White, M.R.H., Spiller, D.G., Appleton, P., Evans, R.C., Grierson, I., Smith, J.A. Davies, H., Geraimenkk, O.V., Peterson, O.H., Milton, J.D., and Rhodes, J.M. (1999). Edible mushroom (*Agaricus bisporus*) lectin, which reversibly inhibits epithelial cell proliferation, blocks nuclear localization sequence-dependent nuclear proteinx import. The Journal of Biological Chemistry. 274: 4890-4899.

แบบประวัติส่วนตัว
ชื่อ อาจารย์ ดร.ศิริลักษณ์ ชุมเขียว
การศึกษา/คุณวุฒิ:

- ปริญญาเอก: 2559 ปร.ด. (วิทยาศาสตร์เชิงคำนวณ) ปรัชญาดุษฎีบัณฑิตหลักสูตรนานาชาติ, มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
- ปริญญาตรี: 2552 วท.บ. (วิทยาศาสตร์เชิงคำนวณ) เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง, มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

ตำแหน่งปัจจุบัน: อาจารย์ประจำสาขาวิชาชีววิทยา

ประวัติการทำงาน:

2559-ปัจจุบัน: อาจารย์สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
2558–2559: นักวิจัย ศูนย์ความรู้เฉพาะด้านนิเวศวิทยาพยากรณ์และการจัดการ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

ผลงานทางวิชาการ/ผลงานวิจัย:

Books:

1) รศ.ดร.มัลลิกา เจริญสุธาสินี รศ.ดร.กฤษณะเดช เจริญสุธาสินี และคณะ. 2558. ***คู่มือการฟื้นฟูแนวปะการังด้วยหลักระบบนิเวศ***. เครือข่ายการวิจัยภูมิภาค: ภาคใต้ ภายใต้โครงการจัดการความรู้และถ่ายทอดเทคโนโลยีจากผลงานวิจัยและนวัตกรรม, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
2) รศ.ดร.มัลลิกา เจริญสุธาสินี รศ.ดร.กฤษณะเดช เจริญสุธาสินี และคณะ. 2559. ***Reef Diversity at Phangan Island***. โครงการการพัฒนาโปรแกรมสื่อความหมายและสื่อสังคมออนไลน์ในการนำเสนอผลิตภัณฑ์ทางการท่องเที่ยว อย่างยั่งยืนของเกาะพะงัน จังหวัดสุราษฎร์ธานี (โครงการย่อยที่ 3), สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

Referred Articles:

1) **Chumkiew, S**., Jaroensutasinee, M., Tina, F.W., Jaroensutasinee, K., Koad, P. **(2019).** Plagiarism physical factors affecting oyster diversity and distribution in southern Thailand. **Journal of Environmental Biology** 40(1):3-8
2) **Chumkiew S**, Jaroensutasinee M, Tina, F M, Jaroensutasinee, K; Koad, P **(2019)**. Physical factors affecting oyster diversity and distribution in Southern Thailand. **Journal of Environmental Biology**, 40(1): 3-8.
3) Jaroensutasinee M, Jaroensutasinee K, Tina, F M, **Chumkiew, S.**, Koad P, Kuhapong U **(2016)**. Coral restoration and growth performance at Samui Island,

Southern Thailand. **Kasetsart University Fisheries Research Bulletin**, 40(3): 10-18.

4) Noonsang P, Tina F M, Jaroensutasinee, M, Jaroensutasinee, K, **Chumkiew, S**, Kuhapong U **(2016)**. Diversity of coral reef fishes at Racha Yai Island, Thailand. **Kasetsart University Fisheries Research Bulletin**, 40(3): 19-34

National and International Conferences proceeding

1) Pungpa, S., Jamklang, M., Musika, J., Leelasakulchai, S. and **Chumkiew, S.** (2020). Biodiversity of Mushroom During Dry Season at Suranaree University of Technology. Proceedings of the SUT International Virtual Conference on Science and Technology (IVCST 2020), (pp. 335-341). Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, Thailand.
2) Rangdist, S., Pakdeesiriwong, N., **Chumkiew, S.**, Musika, J., Na Pombejra, S., Nantapong, N. and Jamklang, M. (2020). Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles from Filamentous Fungi Isolated from The Environment and Their Anti-microbial Activity Against Healthcare-Associated Bacterial Pathogens. Proceedings of the SUT International Virtual Conference on Science and Technology (IVCST 2020), (pp. 376-382). Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, Thailand.
3) Pakdeesiriwong, N., Rangdist, S., **Chumkiew, S.**, Jamklang, M. (2020). Hemolytic activity inhibition of Staphylococcus aureus hemolysins by secreted molecules from Enterococcus faecalis strains R1, R3, and R7. Proceedings of the SUT International Virtual Conference on Science and Technology (IVCST 2020), (pp. 450-455). Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, Thailand.
4) Boonsrirattana, K., Winaichatsak, W., Tosettee, M., Udomchalothorn, T., Musika, J., Jamklang, M., and **Chumkiew, S**. (2020). Anti-Cancer Activities of Bamboo Mushroom Crude Extract on HepG2 Cell Line. Proceedings of the SUT International Virtual Conference on Science and Technology (IVCST 2020), (pp. 462-466). Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, Thailand.