



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง

สภาวะที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการเพิ่มการผลิตสารออกฤทธิ์ทางยาในกระบวนการ
เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

Optimize conditions for the production of bioactive compounds in
fruiting bodies of *Cordyceps militaris* cultivation

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ : การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองให้มีสารออกฤทธิ์ทางยาสูง
และมีประสิทธิภาพในการป้องกันและหรือบำบัดรักษาโรคในเชิงพาณิชย์

โดย

มงคล ธิรบุญยานนท์ และ วิจิตรา แดงปรก

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2564



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง สภาวะที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการเพิ่มการผลิตสารออกฤทธิ์ทางยาในกระบวนการเพาะเลี้ยงเห็ดถึงเช่าสีทอง

Optimize conditions for the production of bioactive compounds in fruiting bodies of *Cordyceps militaris* cultivation

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ : การเพาะเลี้ยงเห็ดถึงเช่าสีทองให้มีสารออกฤทธิ์ทางยาสูงและมีประสิทธิภาพในการป้องกันและหรือบำบัดรักษาโรคในเชิงพาณิชย์

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2563

จำนวน 424,400 บาท

หัวหน้าโครงการ นายมงคล ถิรบุญยานนท์

ผู้ร่วมโครงการ นางวิจิตรา แดงปรก

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

31 ธันวาคม 2563

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง สภาวะที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการเพิ่มการผลิตสารออกฤทธิ์ทางยาในกระบวนการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ได้ดำเนินการวิจัยเป็นไปด้วยดี โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2563 ผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์สถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ในการดำเนินการวิจัย

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทคัดย่อ	1
Abstract	3
คำนำ	5
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	6
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
การตรวจเอกสาร	7
อุปกรณ์และวิธีการ	10
ผลการวิจัย	16
วิจารณ์ผลการวิจัย	26
สรุปผลการวิจัย	28
เอกสารอ้างอิง	30

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดร้อยละผลผลิต ปริมาณคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน	24

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ผลของอาหารเสริมในสูตรอาหารหลักต่อผลผลิตน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดถึงเข้าสู่สีทอง	17
ภาพที่ 2 ผลของการบ่มในที่มืดและการกระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงินเพื่อให้เส้นใยเจริญ และทำการกระตุ้นต่อเนื่องให้เกิดดอกต่อผลผลิตน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดถึงเข้าสู่สีทอง ด้วยแสง LED	18
ภาพที่ 3 ผลของการบ่มในที่มืดเพื่อให้เส้นใยเจริญและทำการกระตุ้นต่อเนื่องให้ เกิดดอกต่อผลผลิตน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดถึงเข้าสู่สีทองด้วยแสง LED	19
ภาพที่ 4 ผลของการกระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงินเพื่อให้เส้นใยเจริญและทำการกระตุ้น ต่อเนื่องให้เกิดดอกต่อผลผลิตน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดถึงเข้าสู่สีทองด้วยแสง LED	20
ภาพที่ 5 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาคอร์ไดซิปีนในกลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงิน เพื่อให้เส้นใยเจริญและทำการกระตุ้นต่อเนื่องให้เกิดดอกเห็ดถึงเข้าสู่สีทองด้วยแสง LED	21
ภาพที่ 6 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาอะดีโนซีนในกลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงิน เพื่อให้เส้นใยเจริญและทำการกระตุ้นต่อเนื่องให้เกิดดอกเห็ดถึงเข้าสู่สีทองด้วยแสง LED	22
ภาพที่ 7 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาคอร์ไดเซปีนและอะดีโนซีนของสารสกัดหยาบด้วยน้ำจาก ดอกเห็ดถึงเข้าสู่สีทอง	25

สภาวะที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการเพิ่มการผลิตสารออกฤทธิ์ทางยาในกระบวนการเพาะเลี้ยง
เห็ดถั่งเช่าสีทอง

Optimize conditions for the production of bioactive compounds in fruiting bodies of
Cordyceps militaris cultivation

มงคล ธิรบุญยานนท์¹ และ วิจิตรา แดงปรก²

Mongkol Thirabunyanon¹ and Wichitra Daengprok²

¹คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

²คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อกระตุ้นการเพิ่มการผลิตสารออกฤทธิ์ทางยาของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยศึกษาสภาวะจากปัจจัยอาหารเสริมในสูตรอาหารอาหารพื้นฐานและการกระตุ้นด้วยแสง LED ทั้งในระยะเวลาเจริญของเส้นใยและระยะการออกดอกของเห็ดถั่งเช่าสีทอง ผลการทดลองพบว่าการใช้อาหารเสริมพิเศษที่มีผงดักแด่และดักบอบแห้ง 10 กรัมต่อลิตร ในสัดส่วน 1:1 ในสูตรอาหารที่มีข้าวกล้องหอมดอกมะลิเป็นอาหารพื้นฐาน โดยให้ผลผลิตที่เป็นน้ำหนักดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งมากที่สุด คือ 2.97 กรัม และมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มที่ใช้อาหารเสริมที่มีผงถั่วเหลืองอบแห้ง 10 กรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ได้ผลผลิตน้ำหนักดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งเท่ากับ 1.83 กรัม การกระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงินเพื่อให้เส้นใยเจริญและกระตุ้นต่อเนื่องให้สร้างดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยแสง LED สีต่าง ๆ พบว่ามีการเจริญของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองได้เร็วกว่าและสามารถเกิดดอกได้เร็วกว่าในกลุ่มที่บ่มในที่มืดเพื่อให้เส้นใยเจริญและกระตุ้นต่อเนื่องให้สร้างดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยแสง LED สีต่าง ๆ ประมาณ 5 - 7 วัน และยังพบว่าผลผลิตน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองในกลุ่มดังกล่าวนี้ ก็มีแนวโน้มให้ผลผลิตโดยรวมมากกว่าด้วย โดยกลุ่มที่กระตุ้นเพื่อให้เส้นใยเจริญด้วยแสง LED สีน้ำเงินและกระตุ้นต่อเนื่องให้สร้างดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยแสง LED สีชมพู ให้น้ำหนักดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งมากที่สุด คือ 5.32 กรัม ซึ่งมีน้ำหนักมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้หลอดไฟ LED หลอดยาว 4.44 กรัม และด้วยแสง LED แสงสีผสม 4.42 กรัม รองลงมาได้แก่ กลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีแดง 5.03 กรัม แสง LED สีขาวกลม 4.93 กรัม และแสง LED สีน้ำเงิน 4.98 กรัม ตามลำดับ ปริมาณคอร์ไดเซปินจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งในกลุ่มที่กระตุ้นเพื่อให้เส้นใยเจริญด้วยแสง LED สีน้ำเงินและกระตุ้นต่อเนื่องให้สร้างดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยแสง LED สีขาวกลมสามารถผลิตปริมาณคอร์ไดเซปินมากที่สุด คือ 713.33 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม สูงมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กระตุ้นด้วย LED สีชมพู 643.57 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และสีผสม 616.85 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม แต่ไม่

แตกต่างกันกับกลุ่มที่กระตุ้นด้วย LED สีน้ำเงิน 698.18 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ปริมาณอะดีโนซีนจากดอกเห็ดถึงเข้าสีทองอบแห้งในกลุ่มที่กระตุ้นเพื่อให้เส้นใยเจริญด้วยแสง LED สีน้ำเงินและกระตุ้นต่อเนื่องให้สร้างดอกเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีขาวกลม มีปริมาณอะดีโนซีนมากที่สุด คือ 41.58 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กระตุ้นด้วย LED สีน้ำเงิน 32.03 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และสีผสม 32.71 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม แต่ไม่แตกต่างกันกับกลุ่มที่กระตุ้นด้วย LED สีชมพู 34.80 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม การวิจัยครั้งนี้ ได้การเพาะเลี้ยงเห็ดถึงเข้าสีทองเพื่อทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและสำหรับประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยการเสริมอาหารเสริมที่มีส่วนผสมของผงอบแห้งจากดักแด่และตับในอัตราส่วน 1:1 ในปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร ในสูตรอาหารพื้นฐาน รวมทั้งทำการกระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงิน และกระตุ้นการเกิดดอกเห็ดถึงเข้าสีทองต่อเนื่องด้วยแสง LED หลอดกลมสีขาว ผลที่ได้พบว่าการผลิตเห็ดถึงเข้าสีทองดังกล่าวนี้ สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตของดอกเห็ดถึงเข้าสีทองได้เร็วขึ้นประมาณ 5 – 7 วัน ทั้งนี้ผู้วิจัยได้นำดอกเห็ดถึงเข้าสีทองนี้ไปสกัดแบบหยาดด้วยน้ำและวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางยา พบว่ามีปริมาณคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนเท่ากับ 834.6 และ 308.86 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ และได้ผลิตเห็ดถึงเข้าสีทองเพื่อนำไปสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาในกลุ่มโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์เพื่อนำสารสกัดดังกล่าวไปทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

คำสำคัญ : เห็ดถึงเข้าสีทอง การเพาะเลี้ยง สารออกฤทธิ์ทางยา

Abstract

The aims of this research were to optimize conditions for the production of bioactive compounds in fruiting bodies of *Cordyceps militaris* cultivation. Two factors of media supplement and LED light induction of both mycelia growth and fruiting body formation were investigated. The results showed that special media supplemented in brown Hom Dok Mali rice as the basal media with pupae and porcine liver dried powder by ratio of 1:1 as 10 g/L having the highest dried fruiting body weight at 2.97 g as significant higher than ($p < 0.05$) dried soybean powder group as 1.83 g. The blue LED light induction of mycelia growth and various LED light induction during fruiting body formation inducing developments of both mycelia growth and fruiting body formation, resulting in faster of harvest fruiting bodies as for 5 - 7 days. Also, the blue LED light induction of mycelia growth and pink LED light induction during fruiting body formation group had the highest dried fruiting body weight at 5.32 g as significant higher than ($p < 0.05$) normal white LED and mixed color LED light induction during fruiting body formation groups at 4.44 and 4.42 g, respectively. Cordycepin production of *C. militaris* fruiting bodies was the highest found in the blue LED light induction of mycelia growth and 1 W white LED light induction during fruiting body formation group at 713.33 mg/100 g as significant higher than ($p < 0.05$) pink and mixed color LED light induction during fruiting body formation groups at 643.57 and 616.85 mg/100 g, respectively. As well as, an adenosine production of *C. militaris* fruiting bodies was also the highest found in the blue LED light induction of mycelia growth and 1 W white LED light induction during fruiting body formation group at 41.58 mg/100 g as significant higher than ($p < 0.05$) blue and mixed color LED light induction during fruiting body formation groups at 32.03 and 32.71 mg/100 g, respectively. As suitable optimize conditions of media supplemented with pupae and porcine liver dried powder by ratio of 1:1 as 10 g/L and the blue LED light induction of mycelia growth and 1 W white LED light induction during fruiting body formation were applied in order to *C. militaris* cultivation for biological actions and commercial applications. This optimize *C. militaris* cultivation showing to had the rapid harvesting time as 5 – 7 days compared to the normal condition. As well as, cordycepin and adenosine from water crude extract of *C. militaris* fruiting body as 834.6 and 308.86 mg/100 g, respectively. Production of *C. militaris* was further

cultivated for bioactive compounds such as protein and polysaccharide extraction in order to the bioactivity investigation.

Keywords : *Cordyceps militaris*, Cultivation, Bioactive compounds

คำนำ

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) เป็นเชื้อราในกลุ่มเชื้อราแมลง จัดอยู่ในกลุ่ม Ascomycetes โดยเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสรรพคุณทางยามากมายหลายประการ อาทิเช่น กระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Liu *et al.*, 2016, Luo *et al.*, 2017) ด้านการอักเสบ (Jo *et al.*, 2010) ด้านโรคมะเร็ง (Park *et al.*, 2009, Yang *et al.*, 2015, Lin *et al.*, 2017) และกระตุ้นสมรรถภาพทางเพศ (Lim *et al.*, 2012) เป็นต้น ด้วยเหตุที่ถั่งเช่าสีทองมีสรรพคุณทางยาที่ดีหลาย ๆ ประการนั้น ในปัจจุบันจึงมีนักวิจัยที่ได้รายงานถึงสรรพคุณต่าง ๆ ของเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้น มีสรรพคุณเทียบเท่ากับเห็ดถั่งเช่าทิเบต (*Ophiocordyceps sinensis*) เช่นเดียวกัน (Das *et al.*, 2010, Hong *et al.*, 2010)

การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อใช้เป็นยานั้น มีการเพาะเลี้ยงและพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงมาอย่างต่อเนื่องในหลาย ๆ ประเทศ เช่น จีนและเกาหลีใต้ เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากเห็ดถั่งเช่าทิเบตตามธรรมชาติมีจำนวนลดน้อยลงและเพาะเลี้ยงได้ค่อนข้างยากเพราะมีข้อจำกัดหลาย ๆ ประการ (Huang *et al.*, 2009) ในขณะที่การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองจะเพาะเลี้ยงได้ง่ายกว่า โดยใช้เพาะในอาหารที่เป็นแมลง เช่น ดักแด้ไหม (Hong *et al.*, 2010) หรือดักแด้ไหมสายพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทย (Luerdara *et al.*, 2015) นอกจากนั้นยังสามารถเพาะเลี้ยงในอาหารเทียมอีกหลาย ๆ ชนิด เช่น ข้าว ถั่ว ข้าวโพด ข้าวสาลี ชูโครส และนม เป็นต้น (Kim *et al.*, 2010, Lim *et al.*, 2012, Ritdate *et al.*, 2015., Singpoonga *et al.*, 2016) ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองถือเป็นการเพาะเลี้ยงเห็ดเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยเรา ถึงแม้เห็ดดังกล่าวจะมีราคาแพง คือ น้ำหนักดอกเห็ดอบแห้งกิโลกรัมละ 40,000 – 60,000 บาท แต่ในปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดหรือข้อมาตรฐานว่าเห็ดถั่งเช่าดังกล่าวดีจริงเหมาะสมเพียงใด หรือมีสารออกฤทธิ์ทางยาในระดับที่เหมาะสมหรือไม่ หรือผู้บริโภคซื้อในราคาที่เหมาะสมหรือไม่ ทั้งนี้เนื่องปัจจัยต่าง ๆ เช่น อาหารและแสง (Dong *et al.*, 2012, Singpoonga *et al.*, 2016, Lin *et al.*, 2017) เป็นต้น ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองจะเป็นตัวควบคุมการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาให้มีปริมาณมากหรือน้อยแตกต่างกัน ซึ่งโดยปกติแล้วปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทางยาจากเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้น จะเป็นตัวชี้วัดว่าเห็ดถั่งเช่าดังกล่าวมีมาตรฐานหรือไม่ ซึ่งในเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสารออกฤทธิ์ทางยาที่สำคัญ คือ คอร์ดิเซปิน (cordycepin) โปรตีน (protein) โพลีแซคคาร์ไรด์ (polysaccharide) และอะดีโนซีน (adenosine) เป็นต้น

การวิจัยครั้งนี้คณะผู้วิจัยจะพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยศึกษาสภาพที่เหมาะสม เช่น แหล่งอาหารและชนิดหรือปริมาณของแสงให้เหมาะสม ทั้งนี้เพื่อให้เห็ดถั่งเช่าสีทองผลิตสารออกฤทธิ์ทางยามากที่สุด ต่อจากนั้น คณะผู้วิจัยจะทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากเห็ดถั่งเช่าแบบหยาบและแบบให้ได้สารบริสุทธิ์ที่ประกอบไปด้วยคอร์ดิเซปิน โปรตีน และโพลีแซคคาร์ไรด์ เพื่อนำไปให้โครงการอื่น ๆ ในชุดแผนโครงการวิจัยเดียวกัน โดยนำสารสกัดดังกล่าวไปทดสอบ เช่น พัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้เหมาะสมกับการประยุกต์ใช้กับผู้บริโภคตามช่วงอายุ และทดสอบสารออกฤทธิ์ทางยาทั้งแบบหยาบและแบบบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้น ไปทดสอบการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและการต้านมะเร็งทั้งในเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงและในหนูทดลอง เป็นต้น โดยคณะผู้วิจัยคาดหวังว่านอกจากเห็ดถั่งเช่าที่เพาะเลี้ยงได้

จะมีสารออกฤทธิ์ทางยาที่สูงแล้ว สารออกฤทธิ์ทางยาที่สกัดแบบหยาบและหรือที่สกัดแบบบริสุทธิ์นั้น จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารในรูปแบบอาหารฟังก์ชันได้ หรือนำไปประยุกต์ใช้ในการบริโภค เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันทำให้ร่างกายแข็งแรงต่อต้านโรคร้ายต่าง ๆ ได้ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ป้องกันและหรือบำบัดรักษาโรคมะเร็งในผู้ป่วยได้เช่นเดียวกัน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาสภาวะอาหารเสริมที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง
2. เพื่อหาสภาวะชนิดของแสง LED ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การวิจัยครั้งนี้คณะผู้วิจัยคาดหวังว่า การได้สภาวะที่เหมาะสมจากการประยุกต์ใช้อาหารเสริมสูตรพิเศษและการกระตุ้นโดยใช้แสง LED ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สามารถเพิ่มการผลิตสารออกฤทธิ์ทางยาในปริมาณสูงที่ได้นั้น จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้ได้ทั้งปริมาณและคุณภาพมากที่สุด

การตรวจเอกสาร

เมื่อกล่าวถึงถั่งเช่าแล้วโดยปรกติบุคคลโดยทั่ว ๆ ไปจะนึกถึงถั่งเช่าทิเบตที่มีอยู่ตามธรรมชาติตามเทือกเขาสูง และนอกจากนั้นโดยทั่ว ๆ ไปจะนึกถึงสรรพคุณด้านบำรุงสมรรถทางเพศแต่อย่างเดียว อย่างไรก็ตามหากได้ติดตามข่าวหรือค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับถั่งเช่าแล้วจะพบว่าถั่งเช่านี้มีอยู่หลายสายพันธุ์ และแต่ละสายพันธุ์ก็มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลาย ๆ ประการ ถั่งเช่าที่เด่น ๆ ที่ประชากรในบ้านเรารู้จักก็มีหลายชนิด ดังเช่น ถั่งเช่าทิเบต (*O. sinensis*) ถั่งเช่าสีทอง (*C. militaris*) ถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*) และถั่งเช่าจ๊กจั่น (*Isaria sinclairii*) แต่เนื่องจากราคาถั่งเช่าดังกล่าวนี้ราคาจะแพงมาก ๆ ดังนั้นบุคคลที่เคยรับประทานก็จะอยู่ในกลุ่มที่ค่อนข้างแคบ โดยในปัจจุบันนี้ถั่งเช่าทิเบตที่มีตามธรรมชาติจะมีปริมาณลดลงตามสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป ถึงแม้จะมีนักวิจัยพยายามเพาะเลี้ยงโดยจำลองสภาวะธรรมชาติดังกล่าวนี้ แต่ให้ถั่งเช่าทิเบตนั้นเพาะเลี้ยงได้ยากและมีจำกัดหลาย ๆ ประการ (Huang *et al.*, 2009) ดังนั้นให้ถั่งเช่าชนิดอื่น ๆ ก็จะถูกกล่าวถึงเพิ่มมากขึ้น

ให้ถั่งเช่าสีทอง (*C. militaris*) เป็นเชื้อราในกลุ่มเชื้อราแมลง จัดอยู่ในกลุ่ม Ascomycetes ซึ่งเชื้อราในกลุ่มคอร์โดเซฟ (*Cordyceps*) มีหลายร้อยชนิดและมีบางชนิดที่พบในแถบเอเชีย เช่น ทิเบต จีน เนปาล ญี่ปุ่น เกาหลี และไทย (Sung *et al.*, 2007) เป็นต้น โดยที่ในปัจจุบันนี้นักวิจัยที่ได้รายงานถึงสรรพคุณต่าง ๆ ของให้ถั่งเช่าสีทองมีสรรพคุณทางยาเทียบเท่ากับให้ถั่งเช่าทิเบตเช่นเดียวกัน (Das *et al.*, 2010, Hong *et al.*, 2010) ทั้งนี้เนื่องจากการเพาะเลี้ยงให้ถั่งเช่าสีทองจะเพาะเลี้ยงได้ง่ายกว่า โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เป็นแมลง เช่น ดักแด้ไหม (Hong *et al.*, 2010) หรือดักแด้ไหมสายพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทย (Luerdara *et al.*, 2015) นอกจากนั้นยังสามารถเพาะเลี้ยงในอาหารเทียมอีกหลาย ๆ ชนิด เช่น ข้าว ถั่ว ข้าวโพด ข้าวสาลี ชูโครส และนม เป็นต้น (Kim *et al.*, 2010, Lim *et al.*, 2012, Ritdate *et al.*, 2015., Singpoonga *et al.*, 2016)

สรรพคุณทางยาให้ถั่งเช่าสีทองมากมายหลายประการ และมีประสิทธิภาพครอบคลุมหลาย ๆ โรค โดยจากรายงานพบว่าให้ถั่งเช่าสีทองมีประสิทธิภาพ ดังเช่น กระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Liu *et al.*, 2016, Luo *et al.*, 2017) ด้านการอักเสบ (Jo *et al.*, 2010) ด้านโรคเมะเร็ง (Park *et al.*, 2009, Yang *et al.*, 2015, Lin *et al.*, 2017) และกระตุ้นสมรรถนะทางเพศ (Lim *et al.*, 2012) เป็นต้น ด้วยเหตุดังกล่าวนี้ในปัจจุบันนักวิจัยหลาย ๆ ประเทศได้ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้เพื่อให้ได้ดอกของให้ถั่งเช่าสีทองมากที่สุด และเมื่อเร็ว ๆ นี้ประเทศไทยของพวกเราก็รวมเอาให้ถั่งเช่าสีทองเป็นให้ถั่งเช่าชนิดหนึ่งเช่นเดียวกัน เนื่องจากสรรพคุณของให้ถั่งเช่าสีทองมีมากมายหลายประการ ดังนั้นราคาตามท้องตลาดก็จะแพงตามไปด้วย โดยพบว่าน้ำหนักดอกให้ถั่งเช่าแห้งกิโลกรัมละ 40,000 – 60,000 บาท แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนี้จะยังไม่มีข้อกำหนดหรือข้อมาตรฐานว่าให้ถั่งเช่าดังกล่าวดีจริงเหมาะสมเพียงใด หรือมีสารออกฤทธิ์ทางยาในระดับที่เหมาะสมหรือไม่ หรือผู้บริโภคซื้อในราคาที่เหมาะสมหรือไม่ ซึ่งโดยปรกติแล้วปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทางยาจากให้ถั่งเช่าจะเป็นตัวชี้วัดว่าให้ถั่งเช่าดังกล่าวมีมาตรฐานหรือไม่ โดยปรกติแล้วในให้ถั่งเช่าสีทองมี

สารออกฤทธิ์ทางยาที่สำคัญ คือ คอร์ดิเซปิน (cordycepin) โปรตีน (protein) โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) และอะดีโนซีน (adenosine) เป็นต้น

สารออกฤทธิ์ทางยาจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในบางชนิด เช่น คอร์ดิเซปิน โปรตีน หรือโพลีแซคคาไรด์นั้น ก็มีสรรพคุณที่ดีมากมายต่าง ๆ เช่นเดียวกัน เช่น คอร์ดิเซปินบริสุทธิ์ที่แยกออกมาจากเส้นใยเชื้อราเห็ดถั่งเช่าสีทองก็มีสรรพคุณต้านมะเร็งช่องปากทั้งในระดับเซลล์และระดับสัตว์ทดลอง (Lin *et al.*, 2017) โปรตีนชนิดใหม่ที่แยกมาจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีชื่อว่า *C. militaris* immunoregulatory protein (CMIP) มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น Hela, HepG2 และ 4T1 นอกสารออกฤทธิ์ในกลุ่มโปรตีนแล้ว สารออกฤทธิ์ทางยาประเภทโพลีแซคคาไรด์ที่แยกได้จากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองก็มีสรรพคุณกระตุ้นภูมิคุ้มกันในหนูทดลองเช่นเดียวกัน โดยกระตุ้นการทำงานของม้ามและต่อมไทมัส นอกจากนั้นยังกระตุ้นเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันให้ทำงานดีขึ้นอีกด้วย (Liu *et al.*, 2016)

กระบวนการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาให้สูงเพิ่มขึ้นนั้น นับว่ามีความสำคัญต่อการนำเอายา หรือสารบริสุทธิ์ในตัวเห็ดถั่งเช่าไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในการป้องกันและหรือบำบัดรักษาโรคมามากที่สุด โดยปัจจัยจากอาหารและชนิดของแสงนั้นจะเป็นปัจจัยสำคัญที่จะกระตุ้นการผลิตสารออกฤทธิ์ทางยาของเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งนักวิจัยได้ศึกษาปริมาณของสารสกัดจากตับสุกรและพบว่าสารสกัดจากตับสุกรดังกล่าวที่ความเข้มข้น 7.5 g/L สามารถกระตุ้นการสร้างคอร์ดิเซปินซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางยาสูงที่สุดในการเลี้ยงเส้นใยเชื้อราในอาหารเหลวเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากตับสุกรที่ความเข้มข้นอื่น ๆ (Lin *et al.*, 2017) นอกจากนั้นยังศึกษาถึงโปรตีนไฮโดรไลเซทจากถั่วเหลือง ซึ่งพบว่าโปรตีนดังกล่าวสามารถกระตุ้นการสร้างคอร์ดิเซปินได้มากกว่าข้าวและมอลต์ในการเลี้ยงเส้นใยเชื้อราในอาหารเหลว (Xie *et al.*, 2009) การศึกษาถึงผักตบชวานั้น พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงและกระตุ้นให้ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองสร้างสารออกฤทธิ์ทางยา โดยการเสริมด้วยอาหารที่มีผักตบชวเป็นส่วนประกอบ ซึ่งผักตบชวสามารถกระตุ้นการสร้างคอร์ดิเซปินได้มากกว่าอาหารที่มีส่วนประกอบจากข้าวสาลี (Guo *et al.*, 2016)

การศึกษาปัจจัยจากชนิดของแสงนั้น พบว่าแสงสีน้ำเงินสามารถกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยา คือ คอร์ดิเซปินสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่น ๆ เช่น แสงสีแดง สีชมพู และแสงสีขาว เป็นต้น ในกระบวนการเพาะเลี้ยงเส้นใยเชื้อราเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว (Dong *et al.*, 2012, Lin *et al.*, 2017) และจากการค้นคว้าเอกสารอ้างอิงตามฐานข้อมูลต่าง ๆ ไม่พบมีการใช้แสงสีอื่น ๆ นอกจากแสงสีขาวในการกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาในกระบวนการเพาะเลี้ยงดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองเลย ดังนั้นคณะผู้วิจัยคาดว่าแสงสีน้ำเงินน่าจะกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาตั้งแต่ระยะแรก ๆ ที่บ่มให้เส้นใยเชื้อราเจริญเต็มขวดเลี้ยงและสะสมสารออกฤทธิ์ดังกล่าวไว้ในดอกเห็ดในที่สุด หรือแสงสีน้ำเงินดังกล่าวอาจจะกระตุ้นให้ปมดอกสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาเพิ่มมากขึ้นก็ได้

ปัจจัยจากอาหารและชนิดของแสงนั้น จะเป็นปัจจัยสำคัญที่จะกระตุ้นการผลิตสารออกฤทธิ์ทางยาของเห็ดถั่งเช่าสีทอง Lin *et al.* (2017) ได้ศึกษาปริมาณของสารสกัดจากตับสุกรและพบว่าสารสกัดจากตับสุกรดังกล่าวที่ความเข้มข้น 7.5 g/L สามารถกระตุ้นการสร้างคอร์ดิเซปินซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางยาสูงที่สุดในการเลี้ยงเส้นใยเชื้อราในอาหารเหลว โปรตีนไฮโดรไลเซทจากถั่วเหลืองสามารถกระตุ้นการสร้างคอร์ดิเซปิน

มากกว่าข้าวและมอลต์ในการเลี้ยงเส้นใยเชื้อราในอาหารเหลว (Xie *et al.*, 2009) เช่นเดียวกันกับอาหารเพาะเลี้ยงที่กระตุ้นให้ดอกเห็ดถังเช่าสีทองสร้างสารออกฤทธิ์ทางยา โดยพบว่าในอาหารที่มีดักแด้ใหม่เป็นส่วนประกอบสามารถกระตุ้นการสร้างคอร์โดเซปินมากกว่าอาหารที่มีส่วนผสมของข้าวสาลี (Guo *et al.*, 2016) ดังนั้นในการศึกษาสารอาหารที่กระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาในครั้งนี้ คณะผู้วิจัยจึงเลือกเอาโปรตีนจากแหล่งต่าง ๆ กัน เช่น ดักแด้ใหม่ สารสกัดจากปลา สารสกัดจากตับ และโปรตีนจากถั่วเหลืองมากระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาเพื่อเปรียบเทียบกัน

ในขณะที่ปัจจัยจากชนิดของแสงนั้นพบว่าแสงสีน้ำเงินนั้นสามารถกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยา คือ คอร์โดเซปินสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแสงสีอื่นในกระบวนการเพาะเลี้ยงเส้นใยเชื้อราเห็ดถังเช่าสีทองในอาหารเหลว (Dong *et al.*, 2012, Lin *et al.*, 2017) แต่จากการค้นคว้าเอกสารอ้างอิงตามฐานข้อมูลต่าง ๆ ไม่พบมีการใช้แสงสีอื่น ๆ นอกจากแสงสีขาวในการกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาในกระบวนการเพาะเลี้ยงดอกเห็ดถังเช่าสีทองเลย ดังนั้นคณะผู้วิจัยคาดว่าแสงสีน้ำเงินน่าจะกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาตั้งแต่ระยะแรก ๆ ที่บ่มให้เส้นใยเชื้อราเจริญเต็มขวดเลี้ยงและสะสมสารออกฤทธิ์ดังกล่าวไว้ในดอกเห็ดในที่สุด หรือแสงสีน้ำเงินดังกล่าวอาจจะกระตุ้นให้ปุ่มดอกสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาเพิ่มมากขึ้นก็ได้ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงวางแผนการทดลอง โดยใช้อาหารสูตรที่ให้สารออกฤทธิ์ทางยาสูงที่สุดแล้วเลือกสูตรอาหารดังกล่าวมาทดลองต่อเนื่อง โดยวางแผนการทดลองกระตุ้นทั้ง 2 ระยะ คือ ใช้แสงกระตุ้นระยะบ่มเส้นใยและใช้แสงกระตุ้นระยะตอนเกิดปุ่มดอก

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 เชื้อราเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1.1.1. เชื้อราเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*C. militaris*) ที่นำมาวิจัยเพาะเลี้ยงเป็นถั่งเช่าสีทองที่มีแหล่งต้นกำเนิดมาจากประเทศจีน

1.2 เมล็ดพันธุ์ข้าวสาร

2.1.1. ข้าวสารสายพันธุ์ ข้าวหอมดอกมะลิ โดยใช้ในลักษณะที่เป็นข้าวกล้องหอมดอกมะลิ

1.3 อาหารที่ใช้สำหรับเชื้อราเห็ด

- | | |
|---|-----------------|
| 1.3.1 Potato dextrose agar (PDA) | (Difco, France) |
| 1.3.2 Potato dextrose broth (PDB) | (Difco, France) |
| 1.3.3 Peptone | (Difco, France) |
| 1.3.4 Yeast extract | (Difco, France) |
| 1.3.5 ดักแด้ไหม (พันธุ์เพชรบูรณ์ จากไร่ก้านจูล) | |
| 1.3.6 ถั่วเหลือง (พันธุ์เชียงใหม่ 60) | |
| 1.3.7 ตับสุกร (จากบริษัทเบทาโกร) | |
| 1.3.8 ปลานิล (ปลานิลสด) | |

1.4 สารเคมีและวัสดุวิทยาศาสตร์

- | | |
|--|-------------------|
| 1.4.1 Methanol | (BDH, England) |
| 1.4.2 Potassium dihydrogen phosphate | (Merck, Germany) |
| 1.4.3 Cordycepin | (Sigma, USA) |
| 1.4.4 Adenosine | (Sigma, USA) |
| 1.4.5 Magnesium sulphate | (Ajax, Australia) |
| 1.4.6 Di-Potassium hydrogen orthophosphate | (Ajax, Australia) |
| 1.4.7 D-Glucose monohydrate | (Merck, Germany) |

- 1.4.8 Emulsion oil (Merk, Germany)
- 1.4.9 Absolute ethanol (Merk, Germany)
- 1.4.10 Thiamine (vitamin B1) (Asian Union Laboratories Co.,Ltd, Thailand)

1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.5.1 ขวดแก้วเลี้ยงถึงเข้าขนาด 24 ออนซ์
- 1.5.2 ขวดแก้วแบนขนาด 180 มิลลิลิตร
- 1.5.3 จานแก้วเพาะเชื้อ
- 1.5.4 ลูบเปียเชื้อ
- 1.5.5 เข็มเปียเชื้อ
- 1.5.6 ปีกเกอร์ขนาด 100, 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 1.5.7 เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 และ 4 ตำแหน่ง
- 1.5.8 เครื่องเขย่า (Orbital shaker Model: OS-100)
- 1.5.9 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Hettich, Universal 320)
- 1.5.10 ตู้บ่ม (Standard Lab Oven, ยี่ห้อ Binder GMBH รุ่น ED240(E2))
- 1.5.11 ตู้บ่มเชื้อ (Standard Lab Oven, ยี่ห้อ Binder GMBH รุ่น ED115 (E2))
- 1.5.12 ตู้อบเครื่องแก้ว (High Performance Lab Oven, ยี่ห้อ Binder GMBH รุ่น ED240 (E2))
- 1.5.13 ตู้เปียเชื้อ (Horizontal type laminar flow, ยี่ห้อ Triwork 2000 รุ่น CLEAN H2-3)
- 1.5.14 ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส (Chest-type Ult Freezer, ยี่ห้อ Sanyo รุ่น MDF-592)
- 1.5.15 ตู้ฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Autoclave, ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HVE-50)
- 1.5.16 กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ (Compound Microscope, ยี่ห้อ Olympus รุ่น UM 500)
- 1.5.17 พีเอชมิเตอร์ (pH/Ion/Conductivity, ยี่ห้อ WTW รุ่น PP50)
- 1.5.18 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath/Unstirred digital bath, ยี่ห้อ Julabo Labortechnik GMBH รุ่น TW12)
- 1.5.19 High-Performance Liquid-Chromatography (HPLC) (Agilent, รุ่น 1100)
- 1.5.20 ไมโครปิเปต ปรับปริมาตรได้ขนาด 0-20, 20-200 และ 100-1,000 มิลลิลิตร
- 1.5.21 ตู้อบลมร้อน (อบเห็ดถั่งเช่า) Rew food dehydrator Model:SD-P9000
- 1.5.22 เครื่องทอดผึ่งแห้ง (Tefal, Model: BL309166)
- 1.5.23 เครื่องเพิ่มความชื้นในอากาศ (Deerma electrical, Model: DEM-FG40)

- 1.5.24 หลอดไฟกลม LED ขนาด 1 วัตต์ (ไทยอิเล็กทรอนิกส์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด)
- 1.5.25 หลอดไฟ LED สีขาว ยาว 60 ซม. ขนาด 9 วัตต์ (ไลต์ติ้ง แอนด์ อีควิเมนต์ จำกัด)
- 1.5.26 หลอดไฟ LED สีผสมสำหรับปลูกต้นไม้ ยาว 60 ซม. ขนาด 9 วัตต์
- 1.5.27 เครื่องส่งคลื่นความถี่สูง (Sonicator, Ultrasonic cleaner crest, Model CP1100-D)

2. วิธีการวิจัย

2.1 เชื้อราเห็ดถั่งเช่าสีทอง

โดยมาจากแหล่งต้นกำเนิดจากประเทศจีน โดยนำดอกสดของเห็ดถั่งเช่าสีทองมาเพาะเลี้ยงเส้นใย ในอาหาร potato dextrose agar (PDA) และขยายปริมาณเชื้อราในอาหาร potato dextrose broth (PDB) ตามลำดับ

2.2 อาหารเสริมที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

โดยใช้ผองอบแห้งจากผักตบชวา จากเนื้อปลา จากตับหมู และจากถั่วเหลืองมากระตุ้นการสร้าง ออกฤทธิ์ทางยา โดยมีวิธีการเตรียมดังนี้ นำผักตบชวา ปลาสด และตับหมูสด มาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ส่วนถั่วเหลืองโดยการนำถั่วเหลืองไปแช่น้ำและอบแห้งเช่นเดียวกัน จากนั้นนำตัวอย่างอบแห้งไปบดเป็นผงแห้งสำหรับการวิจัยต่อไป

2.3 การศึกษาปัจจัยจากอาหารเสริมที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

โดยทำการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้ข้าวกล้องหอมมะลิเป็นอาหารเพาะเลี้ยงหลักร่วมกับอาหารเสริมสูตรดัดแปลง โดยมีส่วนผสมประกอบด้วยมันฝรั่ง 200 g/L กลูโคส 10 g/L ยีสต์สกัด 10 g/L ไทอามีน 1 g/L, KH_2PO_4 10 g/L, MgSO_4 0.5 g/L ซึ่งเรียกอาหารดังกล่าวว่าเป็นอาหารพื้นฐาน (Gu *et al.*, 2007) และกระตุ้นการสร้างออกฤทธิ์ทางยาด้วยสารอาหารเสริมดังนี้

- (1). กลุ่มควบคุม (อาหารพื้นฐาน)
- (2). ผองอบแห้งจากผักตบชวาที่ความเข้มข้น 10 g/L
- (3). ผองอบแห้งจากเนื้อปลาที่ความเข้มข้น 10 g/L
- (4). ผองอบแห้งจากตับหมูที่ความเข้มข้น 10 g/L
- (5). ผองอบแห้งจากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 10 g/L
- (6). ผองอบแห้งจากผักตบชวาและปลา (1 : 1) ที่ความเข้มข้น 10 g/L
- (7). ผองอบแห้งจากผักตบชวาและตับหมู (1 : 1) ที่ความเข้มข้น 10 g/L
- (8). ผองอบแห้งจากผักตบชวาและจากถั่วเหลือง (1 : 1) ที่ความเข้มข้น 10 g/L
- (9). ผองอบแห้งจากเนื้อปลาและจากตับหมู (1 : 1) ที่ความเข้มข้น 10 g/L

- (10). ผงอบแห้งจากเนื้อปลาและจากถั่วเหลือง (1 : 1) ที่ความเข้มข้น 10 g/L
- (11). ผงอบแห้งจากตับหมูและจากถั่วเหลือง (1 : 1) ที่ความเข้มข้น 10 g/L
- (12). ผงอบแห้งจากตับไก่จากเนื้อปลา และจากตับหมู (1 : 1 : 1) ที่ความเข้มข้น 10 g/L
- (13). ผงอบแห้งจากตับไก่จากเนื้อปลา และจากถั่วเหลือง (1 : 1 : 1) ที่ความเข้มข้น 10 g/L
- (14). ผงอบแห้งจากเนื้อปลา จากตับหมู และจากถั่วเหลือง (1 : 1 : 1) ที่ความเข้มข้น 10 g/L
- (15). ผงอบแห้งจากตับไก่จากเนื้อปลา จากตับหมู และจากถั่วเหลือง (1 : 1 : 1 : 1) ที่ความเข้มข้น 10 g/L

2.4 การศึกษาปัจจัยจากแสงที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

โดยการประยุกต์ใช้แสงไฟ LED ประเภทหลอดกลม โดยทำการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ข้าวกล้องหอมมะลิเป็นอาหารเพาะเลี้ยงพื้นฐาน (Gu *et al.*, 2007) ประกอบด้วยมันฝรั่ง 200 g/L กลูโคส 10 g/L ยีสต์สกัด 10 g/L ไทเอมีน 1 g/L, KH_2PO_4 10 g/L, MgSO_4 0.5 g/L และเสริมด้วยเปปไทน์ 10 g/L แบ่งกลุ่มทดลองออกเป็นดังนี้

- (1). กลุ่มควบคุม 1 (หลอด LED แบบหลอดยาว 60 เซนติเมตร ขนาด 9 วัตต์)
- (2). กลุ่มควบคุม 2 (หลอดกลม LED ขนาด 1 วัตต์)
- (3). กลุ่มสีน้ำเงิน (หลอดกลม LED ขนาด 1 วัตต์)
- (4). กลุ่มสีชมพู (หลอดกลม LED ขนาด 1 วัตต์)
- (5). กลุ่มสีแดง (หลอดกลม LED ขนาด 1 วัตต์)
- (6). กลุ่มสีผสม (หลอดกลม LED แบบหลอดยาว 60 เซนติเมตร ขนาด 9 วัตต์)

โดยมีการออกแบบวิจัย 2 รูปแบบ คือ (1). บ่มในที่มืดเพื่อให้เส้นใยเจริญเต็มขวดจากนั้นจะกระตุ้นให้เกิดปมดอกด้วยแสงสีต่าง ๆ และ (2). บ่มด้วยแสงสีน้ำเงินเพื่อให้เส้นใยเจริญเต็มขวดจากนั้นจะกระตุ้นให้เกิดปมดอกด้วยแสงสีต่าง ๆ

2.5 กระบวนการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

การเพาะเลี้ยง โดยเริ่มจากการเตรียมข้าวกล้องหอมดอกมะลิน้ำหนัก 40 กรัมต่อขวด ที่ใช้เป็นอาหารพื้นฐานผสมร่วมกับอาหารเสริมที่เตรียมไว้ 60 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และทำการลงเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง 5 มิลลิลิตรต่อขวด ในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 24 ออนซ์ จากนั้นนำไปบ่มในที่มืด (หรือบ่มด้วยแสงสีน้ำเงินในการทดลองเรื่องปัจจัยจากแสง LED) ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 70 – 75% โดยบ่มไว้ให้เส้นใยเชื้อรากระจายไปเต็มอาหารแข็งที่ใช้เพาะเลี้ยง โดยใช้เวลาประมาณ 30 วัน (Ritdate *et al.*, 2015, Singpoonga *et al.*, 2016, Wu *et al.*, 2016)

การกระตุ้นให้เกิดปมดอก (fruiting stage) โดยการกระตุ้นดังกล่าวด้วยหลอดไฟ LED สีขาวแบบหลอดยาวในการศึกษาปัจจัยจากอาหารเสริมที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน และกระตุ้นโดยใช้แสง LED ในการศึกษาปัจจัยจากแสงที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อ

วันเช่นเดียวกัน โดยทำการกระตุ้นที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 – 75% โดยในระยะเวลาการเปิดดอกนั้น ระยะเวลาในการสร้างดอกเห็ดถึงเข้าสีทองใช้เวลาประมาณ 30 วัน (Ritdate *et al.*, 2015, Singpoonga *et al.*, 2016, Wu *et al.*, 2016)

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณของสารคอร์โดเซปินและอะดีโนซีน

การวิเคราะห์ปริมาณของสารคอร์โดเซปิน โดยดัดแปลงตามวิธีของ Lin *et al.* (2017) โดยมีวิธีการดังต่อไปนี้ ดอกเห็ดถึงเข้าสีทองนำไปอบแห้งและบดเป็นผง การวิเคราะห์ปริมาณคอร์โดเซปินและอะดีโนซีนนั้นจะนำผงเห็ดบดแห้งมาชั่งน้ำหนัก 0.5 กรัม และละลายในเอทานอล 50% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายไปสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในเครื่องส่งคลื่นความถี่สูง (sonicator) เป็นเวลา 60 นาที เพื่อสกัดคอร์โดเซปินที่อยู่ภายในเซลล์ให้ละลายออกนอกเซลล์ จากนั้นนำไปกรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน นำของเหลวที่กรองได้ไปวิเคราะห์ปริมาณคอร์โดเซปินด้วย HPLC โดยมีขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้ mobile phase ใช้สารละลายโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (50 mM) และเมทานอลในอัตราส่วน (85:15) โดยเจือจางสารละลายและ mobile phase ในอัตราส่วน (1:2) ฉีดตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร ปรับอุณหภูมิ column ที่ 20 องศาเซลเซียส flow rate 1,000 ไมโครลิตรต่อนาที และใช้ detector ที่ 242 nm (Xie *et al.*, 2009, Lin *et al.*, 2017)

สารละลายมาตรฐานทั้งคอร์โดเซปินและอะดีโนซีน โดยใช้เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 100 ppm

2.7 การเพาะเลี้ยงเห็ดถึงเข้าสีทองเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและสำหรับประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์

ผลจากการวิจัยทั้งปริมาณผลผลิตและสารออกฤทธิ์ทางยาจากดอกเห็ดถึงเข้าสีทอง อาทิ น้ำหนักสดและน้ำหนักอบแห้งหลังจากนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยหากกลุ่มทดลองหรือสูตรใดให้ผลผลิตคือน้ำหนักผลผลิตของดอกเห็ดที่มากและหรือมากที่สุด ก็จะนำดอกเห็ดถึงเข้าสีทองอบแห้งของกลุ่มดังกล่าวนี้ไปวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางยา คือ คอร์โดเซปินและอะดีโนซีน จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยปัจจัยจากอาหารเสริมและปัจจัยจากการกระตุ้นด้วยแสง LED ที่เหมาะสมที่สุด ทั้งนี้เพื่อผลิตเห็ดถึงเข้าสีทองในรูปแบบเชิงพาณิชย์ และผลิตเห็ดถึงเข้าสีทองเพื่อนำไปเสริมในผลิตภัณฑ์อาหาร หรือทดสอบในเซลล์และสัตว์ทดลองต่อไป

2.8 การศึกษาสภาวะในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดถึงเข้าสีทอง

นำเห็ดถึงเข้าสีทองผงมาทำการสกัดด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ในอัตราส่วนของเห็ดถึงเข้าสีทองผงต่อสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เท่ากับ 10 ต่อ 100 (กรัม ต่อ มิลลิลิตร) สกัดด้วยเครื่อง sonicator ที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 และ 2 ชั่วโมง แยกกากด้วยผ้าขาวบาง กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำสารละลายใส่ที่กรองได้ ไปทำแห้งแบบ freeze dry แล้วชั่งน้ำหนัก

สารสกัดที่ได้ คำนวณร้อยละของผลผลิตเปรียบเทียบกับน้ำหนักเห็ดถึงเชื้อสีทองผงเริ่มต้น วิเคราะห์ปริมาณ คอไรโบเลนและอะดีโนซีน

2.9 การสกัดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดถึงเชื้อสีทอง

ดอกเห็ดถึงเชื้อสีทองที่ผลิตเพาะเลี้ยงจากสภาวะที่เหมาะสมที่สุดจะนำไปอบ โดยใช้ตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างเห็ดที่อบแห้งไปปั่นเป็นผงโดยใช้เครื่องปั่น แล้วนำผงตัวอย่างมาทำการสกัดด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วนของเห็ดถึงเชื้อสีทองผงต่อน้ำกลั่น เท่ากับ 10 ต่อ 100 (กรัม ต่อ มิลลิลิตร) โดยใช้อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทำการแยกกาก ด้วยผ้าขาวบาง นำไปปั่นเหวี่ยงโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที กรองส่วนใสด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำสารละลายใสที่กรองได้ไปทำแห้งแบบ freeze dry

2.10 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้เก็บรวบรวมได้จะนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ One-way analysis of variance (ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS (version 17.0) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่ม โดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.05$

ผลการวิจัย

3.1 ปัจจัยจากอาหารเสริมที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ผลจากการใช้อาหารเสริมพิเศษในสูตรอาหารหลักที่มีข้าวกล้องหอมดอกมะลิเป็นอาหารพื้นฐาน โดยใช้อาหารเสริมในรูปผงอบแห้งของดักแด้ เนื้อปลา ตับสุกร และถั่วเหลือง โดยใช้ในสัดส่วน 10 กรัมต่อลิตรในสูตรอาหารเหลวพื้นฐาน และในสัดส่วนที่ผสมกันตามอัตราส่วนต่าง ๆ กัน ผลที่ได้พบว่ากลุ่มทดลอง (T7) ที่ใช้อาหารเสริมในสูตรผสมที่มีดักแด้และตับในสัดส่วน 1:1 และกลุ่มทดลอง (T15) ที่ใช้อาหารเสริมในสูตรผสมที่มีดักแด้ เนื้อปลา ตับ และถั่วเหลืองในสัดส่วน 1:1:1:1 ให้ผลผลิตที่เป็นน้ำหนักรดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งมากที่สุด คือ 2.97 และ 2.96 กรัม ตามลำดับ รองลงมาได้แก่กลุ่มทดลอง (T4) คือ กลุ่มทดลองที่ใช้อาหารเสริมที่มีผงตับอบแห้ง และกลุ่มทดลอง (T14) คือ กลุ่มทดลองที่ใช้อาหารเสริมที่มีส่วนผสมระหว่างผงตับอบแห้ง เนื้อปลา และถั่วเหลืองในสัดส่วน 1:1:1 ที่ให้ผลผลิตที่เป็นน้ำหนักรดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง 2.77 กรัม ในขณะที่กลุ่มที่เสริมอาหารเสริมอื่น ๆ มีน้ำหนักรดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งลดลงตามลำดับ ทั้งนี้ในกลุ่มควบคุม (T1) ที่เป็นอาหารพื้นฐานที่ไม่มีการเสริมอาหารใด ๆ พบว่าน้ำหนักรดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง 2.07 กรัม (ภาพที่ 1)

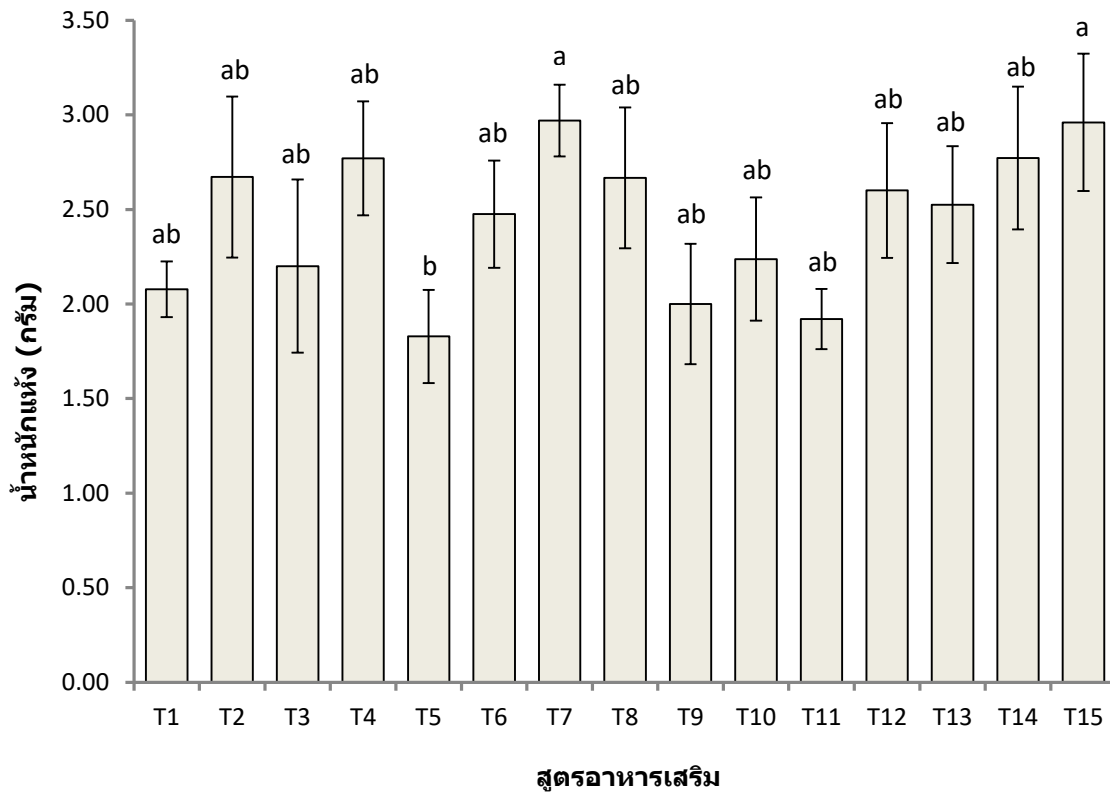
ในขณะที่กลุ่มทดลอง (T5) ที่ใช้อาหารเสริมที่มีผงถั่วเหลืองอบแห้งนั้น ให้ผลผลิตที่เป็นน้ำหนักรดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งน้อยที่สุด คือ 1.83 กรัม ซึ่งมีน้ำหนักรน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลอง (T7) ที่ใช้อาหารเสริมในสูตรผสมที่มีดักแด้และตับในสัดส่วน 1:1 และกลุ่มทดลอง (T15) ที่ใช้อาหารเสริมในสูตรผสมที่มีดักแด้ เนื้อปลา ตับ และถั่วเหลืองในสัดส่วน 1:1:1:1 (ภาพที่ 1)

3.2 ปัจจัยจากแสง LED ที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

การศึกษาปัจจัยจากแสง LED ที่กระตุ้นทั้งการเจริญและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางยาของเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้น มีการออกแบบการวิจัย 2 รูปแบบ คือ (1). บ่มในที่มืดเพื่อให้เส้นใยเจริญเต็มขวดจากนั้นจะกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาดอกด้วยแสง LED สีต่าง ๆ และ (2). บ่มด้วยแสง LED สีน้ำเงินเพื่อให้เส้นใยเจริญเต็มขวดจากนั้นจะกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาดอกด้วยแสง LED สีต่าง ๆ เช่นเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบโดยรวมของการเจริญของเส้นใยระหว่างกลุ่มที่บ่มในที่มืดและกลุ่มที่ให้แสง LED สีน้ำเงิน พบว่าในกลุ่มให้แสง LED สีน้ำเงินนั้น มีการเจริญของเส้นเห็ดถั่งเช่าสีทองกระจายเต็มขวดได้เร็วกว่าในกลุ่มที่บ่มในที่มืดประมาณ 5 - 7 วัน ซึ่งทำให้กลุ่มที่ให้แสง LED สีน้ำเงินสามารถกระตุ้นให้เกิดดอกได้เร็วกว่า โดยเหตุดังกล่าวนี้ทำให้สามารถประหยัดงบประมาณในการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองได้พอสมควร

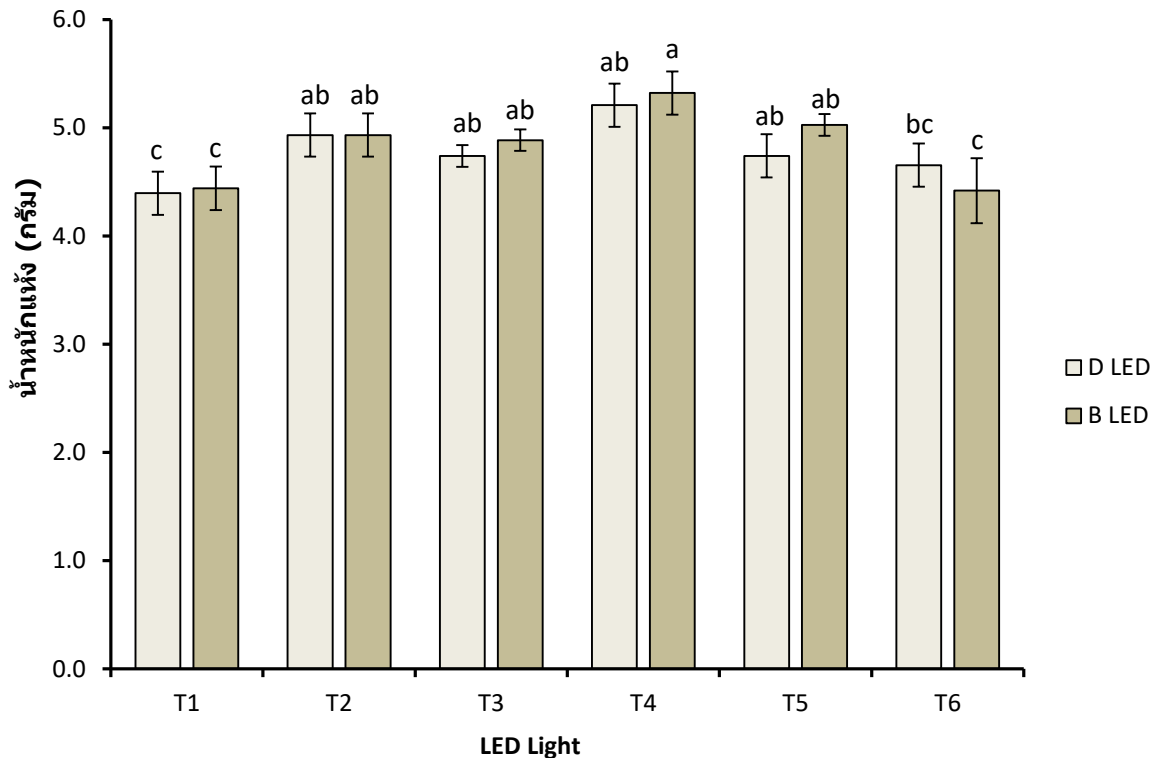
ผลผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในรูปแบบน้ำหนักรแห้ง (ภาพที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบโดยรวมพบว่ากลุ่มที่ให้แสง LED สีน้ำเงินในช่วงบ่มการเจริญของเส้นใยราเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้น พบว่าในกลุ่มให้แสง LED สีน้ำเงินดังกล่าวมีแนวโน้มให้น้ำหนักรแห้งของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยรวมมากกว่ากลุ่มที่บ่มในที่มืด ซึ่งน้ำหนักรของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มากกว่านี้ พบได้ในเกือบทุกกลุ่มการทดลอง คือ ทั้งในกลุ่มควบคุม (T1, T2) กลุ่มที่กระตุ้นด้วย LED สีน้ำเงิน (T3) กลุ่มที่กระตุ้นด้วย LED สีชมพู (T4) และกลุ่มที่กระตุ้นด้วย LED สีแดง (T5)

ดังนั้นปัจจัยที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงินตั้งแต่ในช่วงการเจริญของเส้นใยรากให้ถึงเข้าสู่สีทองนั้น มีแนวโน้มทำให้ผลผลิตน้ำหนักของดอกเห็ดถึงเข้าสู่สีทองสูงกว่าในกลุ่มที่บ่มในที่มืด (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 ผลของอาหารเสริมพิเศษในสูตรอาหารที่มีข้าวกล้องหอมดอกมะลิเป็นอาหารพื้นฐานต่อผลผลิตน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดถึงเข้าสู่สีทองของกลุ่มควบคุม (T1), กลุ่มเสริมผงดักแด้อบแห้ง (T2), กลุ่มเสริมผงเนื้อปลานิลอบแห้ง (T3), กลุ่มเสริมผงตับสุกรอบแห้ง (T4), กลุ่มเสริมผงถั่วเหลืองอบแห้ง (T5), กลุ่มเสริมผงดักแด้และเนื้อปลานิลอบแห้ง (T6), กลุ่มเสริมผงดักแด้และตับสุกรอบแห้ง (T7), กลุ่มเสริมผงดักแด้และถั่วเหลืองอบแห้ง (T8), กลุ่มเสริมผงเนื้อปลานิลและผงตับสุกรอบแห้ง (T9), กลุ่มเสริมผงเนื้อปลานิลและถั่วเหลืองอบแห้ง (T10), กลุ่มเสริมผงตับสุกรและถั่วเหลืองอบแห้ง (T11), กลุ่มเสริมผงดักแด้เนื้อปลานิล และผงตับสุกรอบแห้ง (T12), กลุ่มเสริมผงดักแด้ เนื้อปลานิล และถั่วเหลืองอบแห้ง (T13), กลุ่มเสริมเนื้อปลานิล ผงตับสุกร และถั่วเหลืองอบแห้ง (T14), และกลุ่มเสริมดักแด้ เนื้อปลานิล ผงตับสุกร และถั่วเหลืองอบแห้ง (T15) (Means $\pm$ SE, n = 10)

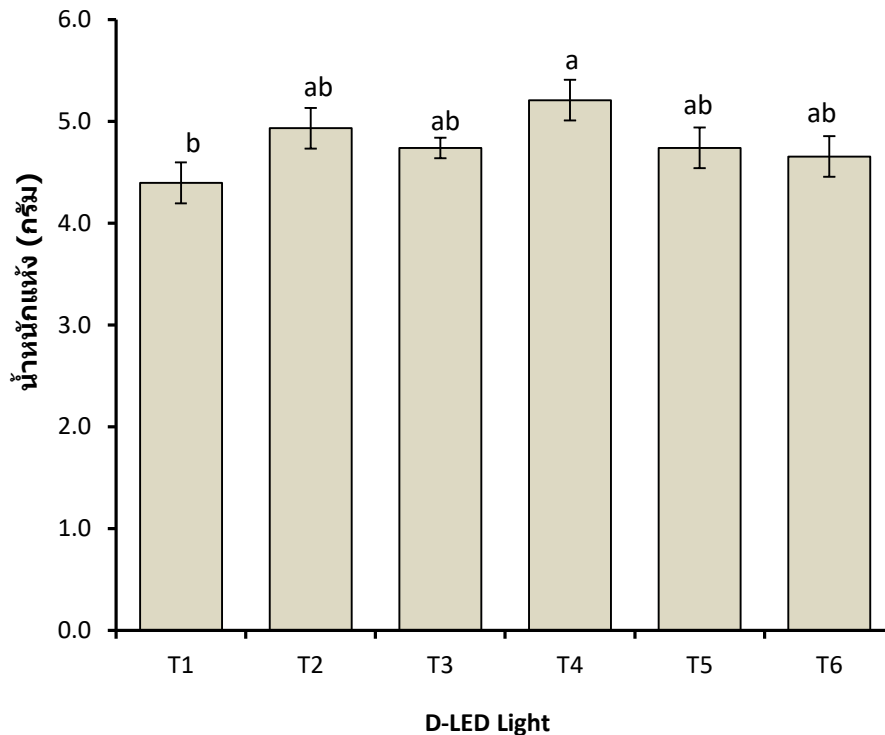
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติของค่าเฉลี่ย ($p < 0.05$)



ภาพที่ 2 ผลของการบ่มในที่มืด (D LED) และการกระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงิน (B LED) เพื่อให้เส้นใยเจริญเต็ม และทำการกระตุ้นต่อเนื่องให้เกิดดอกเห็ดถึงเข้าสีทองต่อผลผลิตน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีขาวหลอดยาว (T1), สีขาวหลอดกลม (T2), สีน้ำเงิน (T3), สีชมพู (T4), สีแดง (T5) และสีผสม (T6) (Means $\pm$ SE, n = 10)

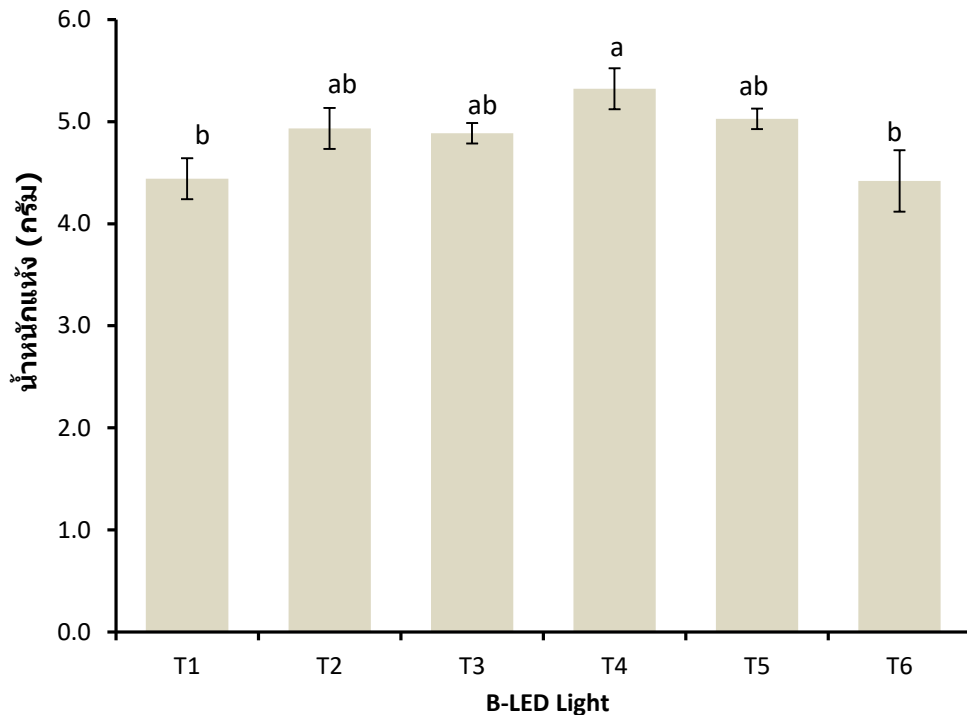
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติของค่าเฉลี่ย ($p < 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มที่บ่มการเจริญของเส้นใยเชื้อราเห็ดถึงเข้าสีทองในที่มืด และกระตุ้นการออกดอกด้วยแสง LED สีต่าง ๆ (ภาพที่ 3) พบว่าในกลุ่มที่กระตุ้นการออกดอกด้วยแสง LED สีชมพู (T4D) มีน้ำหนักดอกเห็ดถึงเข้าสีทองอบแห้งมากที่สุด คือ 5.21 กรัม ซึ่งมีน้ำหนักมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้หลอดไฟ LED หลอดยาว (T1) และมีแนวโน้มมากกว่ากลุ่มทดลองอื่น ๆ ที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีต่าง ๆ ทั้งนี้พบว่าน้ำหนักดอกเห็ดถึงเข้าสีทองที่มีแนวโน้มน้ำหนักมากในลำดับรองลงมา คือ กลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีขาวกลม (T2D) 4.93 กรัม กลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงิน (T3D) 4.74 กรัม กลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีแดง (T5D) 4.74 กรัม ในขณะที่กลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED แสงสีผสม (T6D) ให้น้ำหนักดอกเห็ดถึงเข้าสีทองค่อนข้างน้อย คือ 4.65 กรัมเท่านั้น (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ผลของการบ่มในที่มืด (D LED) เพื่อให้เส้นใยเจริญเต็มและทำการกระตุ้นต่อเนื่องให้เกิดดอกเห็ดถึงเข้าสีทองต่อผลผลิตน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีขาวหลอดยาว (T1), สีขาวหลอดกลม (T2), สีน้ำเงิน (T3), สีชมพู (T4), สีแดง (T5) และสีผสม (T6) (Means $\pm$ SE, $n = 10$)
 หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติของค่าเฉลี่ย ($p < 0.05$)

ในขณะที่เมื่อมีการเปรียบเทียบในกลุ่มที่ให้แสง LED สีน้ำเงินในช่วงบ่มการเจริญของเส้นใยราเห็ดถึงเข้าสีทองและทำการกระตุ้นต่อด้วยแสง LED สีต่าง ๆ นั้น พบว่าในกลุ่มที่กระตุ้นการออกดอกด้วยแสง LED สีชมพู (T4B) มีแนวโน้มให้น้ำหนักดอกเห็ดถึงเข้าสีทองอบแห้งมากที่สุด คือ 5.32 กรัม รองลงมากลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีแดง (T5B) 5.03 กรัม กลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงิน (T3B) 4.98 กรัม กลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีขาวกลม (T2B) 4.93 กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 4) ในขณะที่กลุ่มควบคุมที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีขาวหลอดยาว (T1B) 4.44 กรัม และกลุ่มที่กระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED แสงสีผสม (T6B) ให้น้ำหนักดอกเห็ดถึงเข้าสีทองเพียง 4.42 กรัม ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มทดลองดังกล่าวนี้มีน้ำหนักน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีชมพู (T4B) (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 ผลของการกระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงิน (B LED) เพื่อให้เส้นใยเจริญเต็มขนาดและทำการกระตุ้นต่อเนื่องให้เกิดดอกเห็ดถึงเข้าสีทองต่อผลผลิตน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีขาวหลอดยาว (T1), สีขาวหลอดกลม (T2), สีน้ำเงิน (T3), สีชมพู (T4), สีแดง (T5) และสีผสม (T6) (Means $\pm$ SE, n = 10)

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติของค่าเฉลี่ย ($p < 0.05$)

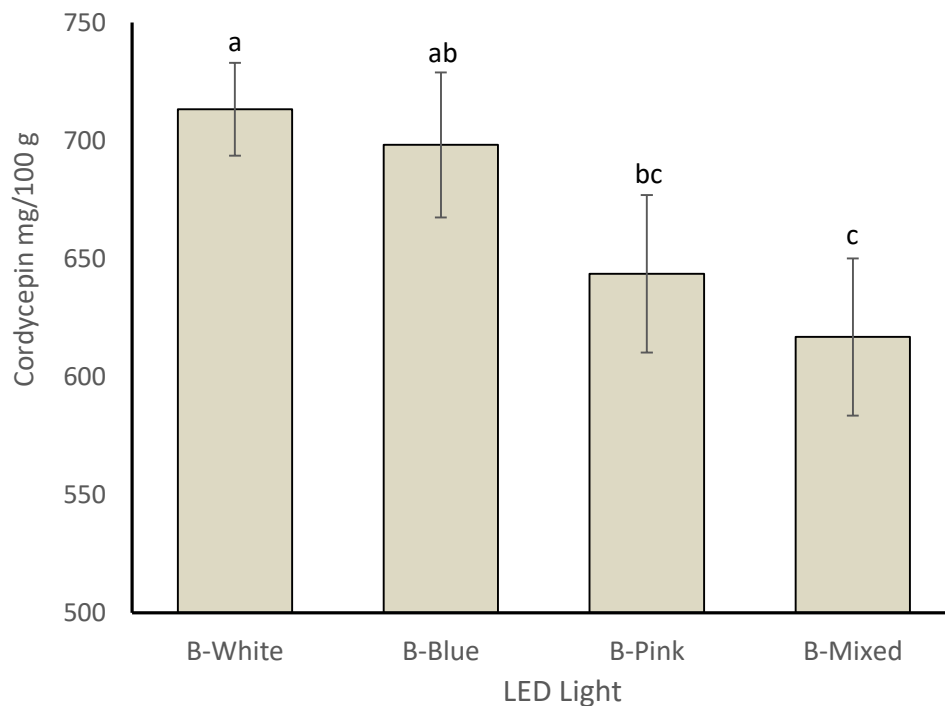
3.3 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาคอร์โดเซปินในดอกเห็ดถึงเข้าสีทอง

การวิจัยครั้งนี้ ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาคอร์โดเซปินเฉพาะในกลุ่มทดลองที่ให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งมากและมากที่สุดเท่านั้น เนื่องจากปัจจัยน้ำหนักผลผลิตนั้นเป็นปัจจัยหลักสำหรับการผลิตเห็ดถึงเข้าสีทอง ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงทำการคัดเลือกปัจจัยจากน้ำหนักผลผลิตของดอกเห็ดถึงเข้าสีทองประกอบเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญด้วย ซึ่งผู้วิจัยได้นำเฉพาะดอกเห็ดถึงเข้าสีทองจากการทดลองที่บ่มการเจริญของเส้นใยเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีน้ำเงิน และทำการกระตุ้นการเกิดดอกด้วยแสง LED หลอดกลมขนาด 1 วัตต์ 4 ชนิด คือ หลอดสีขาว สีน้ำเงิน สีชมพู และสีแดง

ผลจากการทดลองครั้งนี้ พบว่ากลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและต่อมาทำการกระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีขาว พบว่าสามารถผลิตปริมาณคอร์โดเซปินมากที่สุด คือ 713.33 mg/100 g รองลงมาได้แก่กลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและกระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเข้าสีทองต่อเนื่องด้วยแสง LED สีน้ำเงิน เท่ากับ 698.18 mg/100 g ในขณะที่กลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและต่อมาก็กระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีชมพู พบว่ามีปริมาณคอร์โดเซปินเท่ากับ 643.57 mg/100 g และกลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของ

เส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและต่อมาทำการกระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเช้าสีทองด้วยแสง LED สีผสม พบว่าสามารถผลิตปริมาณคอร์ไดเซปินได้ต่ำที่สุด คือ 616.85 mg/100 g (ภาพที่ 5)

โดยทั้งนี้พบว่าในกลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและต่อมาทำการกระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเช้าสีทองด้วยแสง LED สีขาวนั้น สามารถผลิตปริมาณคอร์ไดเซปินสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและต่อมากระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเช้าสีทองด้วยแสง LED สีชมพู และกลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและต่อมากระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเช้าสีทองด้วยแสง LED สีผสม แต่อย่างไรก็ตามพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและทำการกระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเช้าสีทองต่อเนื่องด้วยแสง LED สีน้ำเงิน (ภาพที่ 5)



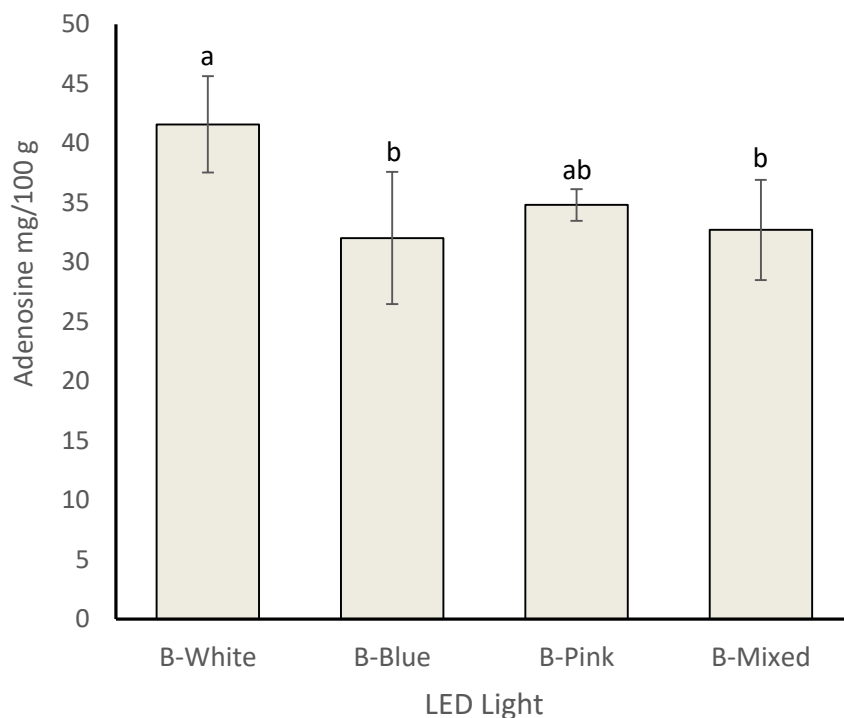
ภาพที่ 5 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาคอร์ไดเซปินในกลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงินเพื่อให้เส้นใยเจริญและทำการกระตุ้นต่อเนื่องให้เกิดดอกเห็ดถึงเช้าสีทองด้วยแสง LED หลอดกลมสีขาว (B-White), สีน้ำเงิน (B-Blue), สีชมพู (B-Pink) และสีผสม (B-Mixed) (Means $\pm$ SD, $n = 3$)

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติของค่าเฉลี่ย ($p < 0.05$)

3.4 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาอะดีโนซีนในดอกเห็ดถึงเข้าสู่สีทอง

โดยการวิจัยครั้งนี้ ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาอะดีโนซีนพร้อม ๆ กับวิเคราะห์ปริมาณคอร์ไดเซปิน โดยทำการวิเคราะห์เฉพาะในกลุ่มทดลองที่ให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งมากและมากที่สุดเท่านั้น ทั้งนี้ผู้วิจัยได้นำเฉพาะดอกเห็ดถึงเข้าสู่สีทองจากการทดลองที่บ่มการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงิน และทำการกระตุ้นการเกิดดอกของเห็ดถึงเข้าสู่สีทองด้วยแสง LED หลอดกลมขนาด 1 วัตต์ 4 ชนิด คือ หลอดสีขาว สีน้ำเงิน สีชมพู และสีแดง เท่านั้น

ผลจากการทดลองพบว่ากลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและต่อมาทำการกระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเข้าสู่สีทองด้วยแสง LED สีขาวนั้น พบว่าสามารถผลิตปริมาณอะดีโนซีนมากที่สุดคือ 41.58 mg/100 g รองลงมาได้แก่กลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและกระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเข้าสู่สีทองต่อเนื่องด้วยแสง LED สีชมพู เท่ากับ 34.8 mg/100 g ทั้งนี้ในกลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและต่อมาก็กระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเข้าสู่สีทองด้วยแสง LED สีน้ำเงิน พบว่ามีปริมาณอะดีโนซีนเท่ากับ 32.03 mg/100 g และกลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและต่อมาทำการกระตุ้นการออกดอกของเห็ดถึงเข้าสู่สีทองด้วยแสง LED สีผสม พบว่าสามารถผลิตปริมาณอะดีโนซีนได้เท่ากับ 32.71 mg/100 g (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาอะดีโนซีนในกลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงินเพื่อให้เส้นใยเจริญเต็ม ขวดและทำการกระตุ้นต่อเนื่องให้เกิดดอกเห็ดถึงเข้าสู่สีทองด้วยแสง LED หลอดกลมสีขาว (B-White), สีน้ำเงิน (B-Blue), สีชมพู (B-Pink) และสีผสม (B-Mixed) (Means $\pm$ SD, n = 3)
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติของค่าเฉลี่ย ($p < 0.05$)

กลุ่มการทดลองที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและต่อมาทำการกระตุ้นการออกดอกของเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยแสง LED สีขาวนั้น พบว่าสามารถผลิตปริมาณอะดีโนซีนสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและต่อมาก็กระตุ้นการออกดอกของเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยแสง LED สีน้ำเงิน และกลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและต่อมาก็กระตุ้นการออกดอกของเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยแสง LED สีผสม แต่อย่างไรก็ตามพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงินและทำการกระตุ้นการออกดอกของเห็ดถั่งเช่าสีทองต่อเนื่องด้วยแสง LED สีชมพู (รูปที่ 6)

3.5 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและสำหรับประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์

การวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยมีจุดหมายหลัก คือ การผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อให้มีสารออกฤทธิ์ยามากที่สุดตามปัจจัยของสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงได้แก่สภาวะอาหารเสริมและสภาวะแสง LED ที่กระตุ้นการผลิตสารออกฤทธิ์ โดยผลผลิตสุดท้ายของเห็ดถั่งเช่าสีทองก็เพื่อการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและสำหรับประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ โดยผู้วิจัยพิจารณาจาก 2 ปัจจัยหลัก ทั้งนี้เพื่อหาว่ากลุ่มการทดลองไหนเหมาะสำหรับการนำไปผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองตามจุดประสงค์ดังกล่าว โดยปัจจัยจากผลผลิตน้ำหนักแห้งและสารออกฤทธิ์ทางยาจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นปัจจัยหลักในครั้งนี้

สภาวะที่เหมาะสมจากปัจจัยอาหารเสริมในการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง ผู้วิจัยคัดเลือกกลุ่มที่มีการเสริมอาหารเสริมที่มีส่วนผสมของผงอบแห้งจากดักแด้และดักในอัตราส่วน 1:1 ในปริมาณ 10 g/L ทั้งนี้เนื่องจากกลุ่มการทดลองดังกล่าวให้ผลผลิตน้ำหนักดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งมากที่สุด และสภาวะที่เหมาะสมจากปัจจัยกระตุ้นจากแสง LED ผู้วิจัยคัดเลือกกลุ่มที่มีกระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงิน และทำการกระตุ้นการเกิดดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองต่อเนื่องด้วยแสง LED หลอดกลมสีขาว ขนาด 1 วัตต์ ซึ่งกลุ่มทดลองดังกล่าวช่วยลดระยะเวลาการเก็บผลดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองได้เร็วขึ้นประมาณ 5 – 7 วัน นอกจากนั้นยังสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางยา คือ ทั้งคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนมากที่สุดอีกด้วย

การผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองตามสภาวะที่เหมาะสมตามปัจจัยของอาหารเสริม คือ เสริมอาหารเสริมที่มีส่วนผสมของผงอบแห้งจากดักแด้และดักในอัตราส่วน 1:1 ในปริมาณ 10 g/L ในสูตรอาหารพื้นฐาน นอกจากนั้นแล้วทำการกระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงิน และกระตุ้นการเกิดดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองต่อเนื่องด้วยแสง LED หลอดกลมสีขาว ขนาด 1 วัตต์ ผลการทดลองที่ได้พบว่าการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองตามสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวนี้ สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองได้เร็วขึ้นประมาณ 5 – 7 วัน ทั้งนี้ผู้วิจัยได้นำดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองไปสกัดแบบหยาบด้วยน้ำและสกัดเอาสารบริสุทธิ์ไปทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและสำหรับประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

3.6 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ผลของสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดต่อร้อยละของผลผลิต ปริมาณคอร์ไดเซปิน และอะดีโนซีนในสารสกัดที่ได้ แสดงในตารางที่ 1 ซึ่งพบว่าสภาวะในการสกัดที่ได้ร้อยละผลผลิต ปริมาณคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนที่สูงที่สุดคือที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 47.5 มีปริมาณคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนเท่ากับ 263.02 และ 88.09 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ

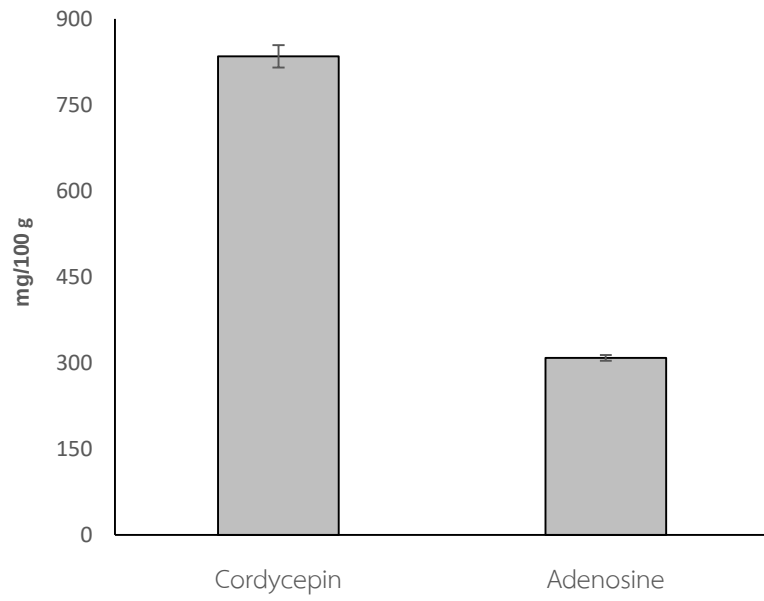
ตารางที่ 1 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดต่อร้อยละของผลผลิต ปริมาณคอร์ไดเซปิน และอะดีโนซีน
(Means $\pm$ SD, n = 3)

อุณหภูมิ ($^{\circ}$ C)	เวลา (ชม.)	ร้อยละผลผลิต	คอร์ไดเซปิน (มิลลิกรัม/100 กรัม)	อะดีโนซีน (มิลลิกรัม/100 กรัม)
50	1	43.9 $\pm$ 1.9	254.95 $\pm$ 9.38	95.65 $\pm$ 5.76
60	1	47.5 $\pm$ 6.9	263.02 $\pm$ 9.76	88.09 $\pm$ 5.87
50	2	39.8 $\pm$ 0.3	228.12 $\pm$ 9.37	71.10 $\pm$ 7.32
60	2	39.3 $\pm$ 1.0	227.75 $\pm$ 14.51	50.94 $\pm$ 1.97

3.7 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนของสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผลิตในสภาวะที่เหมาะสม

การวิจัยครั้งนี้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยา คือ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน โดยทำการวิเคราะห์จากสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองของกลุ่มทดลองที่มีสภาวะที่เหมาะสมที่สุด คือ กลุ่มทดลองที่บ่มการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงิน และทำการกระตุ้นการเกิดดอกของเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยแสง LED หลอดกลมสีขาว ขนาด 1 วัตต์

ผลจากการทดลองพบว่า อัตราผลผลิตของสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยน้ำมีอัตราผลผลิตเท่ากับ 60.77% นอกจากนั้นเมื่อนำสารสกัดหยาบดังกล่าวไปวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางยา พบว่ามีปริมาณคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนเท่ากับ 834.6 และ 308.86 mg/100 g ตามลำดับ (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนของสารสกัดหยาบด้วยน้ำจากดอกเห็ดถึงเช้า
สีทอง (Means $\pm$ SD, n = 3)

วิจารณ์ผลการวิจัย

โดยปกติแล้วการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อใช้เป็นยาและหรืออาหารเสริมสุขภาพนั้น มีการเพาะเลี้ยงและพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงมาอย่างต่อเนื่องในหลาย ๆ ประเทศ เช่น จีนและเกาหลีใต้ เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากเห็ดถั่งเช่าที่เบตตามธรรมชาติมีจำนวนลดน้อยลงและเพาะเลี้ยงได้ค่อนข้างยากเพราะมีข้อจำกัดหลาย ๆ ประการ (Huang *et al.*, 2009) โดยทั่วไปแล้วการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองจะเพาะเลี้ยงได้ง่ายกว่าโดยใช้เพาะในอาหารที่เป็นแมลง เช่น ดักแด้ไหม (Hong *et al.*, 2010) หรือดักแด้ไหมสายพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทย (Luerdara *et al.*, 2015) ทั้งยังสามารถเพาะเลี้ยงในอาหารเทียมอีกหลาย ๆ ชนิด เช่น ข้าว ถั่ว ข้าวโพด ข้าวสาลี ชูโครส และนม เป็นต้น (Kim *et al.*, 2010, Lim *et al.*, 2012, Ritdate *et al.*, 2015., Singpoonga *et al.*, 2016) อย่างไรก็ตามถึงแม้จะใช้อาหารสูตรใดก็ตามในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง แต่มีดัชนีที่สำคัญที่เป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้นมีคุณสมบัติต่อร่างกายมากน้อยเพียงใด ดัชนีดังกล่าวนี้ก็คือสารออกฤทธิ์ทางยาจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ประกอบไปด้วยคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน

ปัจจัยในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้น โดยมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหรือเป็นตัวควบคุมการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาให้มีปริมาณมากหรือน้อยแตกต่างกัน เช่น อาหารและแสง (Dong *et al.*, 2012, Singpoonga *et al.*, 2016, Lin *et al.*, 2017) เป็นต้น อย่างไรก็ตามปริมาณผลผลิตของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองก็เป็นปัจจัยหนึ่งในการพิจารณาที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ทั้งนี้เพราะในการจำหน่ายตามท้องตลาดหรือการสกัดเอาสารสกัดไปใช้ประโยชน์นั้นก็ใช้ประโยชน์จากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้งสิ้น ในการวิจัยครั้งนี้การใช่มงอบแห้งของดักแด้และตับสุกรในสัดส่วน 1:1 มีแนวโน้มให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดถั่งเช่าอบแห้งมากกว่ากลุ่มการทดลองอื่น ๆ รวมไปถึงกลุ่มที่ใช่มงอบแห้งของดักแด้หรือตับสุกรเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เนื่องจากทั้งดักแด้ไหมและตับนั้นมีสารอาหารต่าง ๆ ครบถ้วน ซึ่งเหมาะสำหรับเชื้อราเห็ดถั่งเช่าสีทองดังกล่าวนำสารอาหารจากดักแด้ไหมและตับไปกระตุ้นการสร้างดอกเห็ด เป็นต้น ทั้งนี้จำเป็นต้องมีสัดส่วนระหว่างดักแด้ไหมและตับที่เหมาะสมด้วยเช่นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่มีการนำดักแด้ไหมไปเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งได้ผลผลิตทั้งในแง่การเพิ่มผลผลิตของดอกเห็ดและการกระตุ้นการสร้างออกฤทธิ์ทางยาคอร์ไดเซปินจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอีกด้วย (Hong *et al.*, 2010, Guo *et al.*, 2016, Singpoonga *et al.*, 2016) เช่นเดียวกันกับการนำสารสกัดจากตับสุกรไปเลี้ยงเส้นใยราเห็ดถั่งเช่าสีทอง ทั้งนี้เพื่อการกระตุ้นการสร้างผลผลิตที่เป็นน้ำหนักของเส้นใย นอกจากนี้ยังสามารถกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาคอร์ไดเซปินอีกด้วย (Lin *et al.*, 2017)

การศึกษาปัจจัยจากชนิดของแสง LED ในการวิจัยครั้งนี้ ซึ่งการกระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงินเพื่อให้เส้นใยเจริญและกระตุ้นต่อเนื่องให้สร้างดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยแสง LED สีต่าง ๆ นั้น มีการเจริญของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองกระจายได้เร็วกว่า และยังสามารถเกิดดอกได้เร็วกว่าในกลุ่มที่บ่มในที่มืดเพื่อให้เส้นใยเจริญ และกระตุ้นต่อเนื่องให้สร้างดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยแสง LED สีต่าง ๆ ประมาณ 5 - 7 วัน ทั้งนี้แสดงว่าบทบาทของแสง LED สีน้ำเงินนั้น มีส่วนสำคัญในการกระตุ้นการเจริญของเส้นใยของราเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็น

อย่างมาก และจากการสังเกตการกระตุ้นด้วยแสง LED ดังกล่าวนี้อาจสามารถกระตุ้นการสร้างดอกเห็ดได้เช่นเดียวกัน

จากการเปรียบเทียบผลผลิตน้ำหนักแห้งของดอกเห็ดถึงเชื้อสีทองในการวิจัยครั้งนี้ โดยในกลุ่มที่กระตุ้นเพื่อให้เส้นใยเจริญด้วยแสง LED สีน้ำเงินและกระตุ้นต่อเนื่องให้สร้างดอกเห็ดถึงเชื้อสีทองด้วยแสง LED สีชมพูมีแนวโน้มให้น้ำหนักดอกเห็ดถึงเชื้อสีทองอบแห้งมากที่สุด ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าช่วงคลื่นแสง LED สีชมพูนี้เป็นช่วงคลื่นแสงที่เหมาะสมกับการสร้างผลผลิตของดอกเห็ดถึงเชื้อสีทองดีที่สุด แต่อย่างไรก็ตามช่วงคลื่นแสง LED สีชมพูดังกล่าวนี้อาจจะไม่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาที่ดีแต่อย่างใด กล่าวคือในกลุ่มที่กระตุ้นเพื่อให้เส้นใยเจริญด้วยแสง LED สีน้ำเงินและกระตุ้นต่อเนื่องให้สร้างดอกเห็ดถึงเชื้อสีทองด้วยแสง LED สีขาวกลมนั้นสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางยาทั้งปริมาณคอร์โดเซปินและอะดีโนซีนมากที่สุด และมากกว่าในกลุ่มที่กระตุ้นทั้งการสร้างเส้นใยและกระตุ้นการสร้างดอกเห็ดถึงเชื้อสีทองด้วยแสง LED สีน้ำเงินก็ตาม ถึงแม้ในงานวิจัยบางเรื่องที่ยังชี้ว่าแสงสีน้ำเงินสามารถกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาได้ (Dong *et al.*, 2012, Lin *et al.*, 2017) แต่ทั้งนี้ช่วงเวลาที่กระตุ้นจะต้องเหมาะสมด้วยเช่นเดียวกัน อาทิ การใช้แสง LED สีน้ำเงินกระตุ้นให้เส้นใยเห็ดถึงเชื้อสีทองสร้างสารคอร์โดเซปิน โดยช่วงเวลาที่กระตุ้น 16 ชั่วโมงต่อวันนั้น สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางยาดังกล่าวมากที่สุด แต่ปริมาณการสร้างสารนี้จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญมากหากทำการกระตุ้นตลอด 24 ชั่วโมงต่อวัน (Lin *et al.*, 2017) ทั้งนี้การกระตุ้นด้วยแสง LED ทั้งการกระตุ้นในระยะการสร้างเส้นใยและกระตุ้นในระยะการสร้างดอกเห็ดนั้น จะต้องให้แสง LED ที่เหมาะสมทั้งชนิดของแสง LED และช่วงระยะเวลาที่กระตุ้นด้วย

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาทั้งคอร์โดเซปินและอะดีโนซีนนั้น ที่สูงที่สุดคือที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยมีปริมาณคอร์โดเซปินและอะดีโนซีนเท่ากับ 263.02 และ 88.09 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ ซึ่ง ค่า adenosine จากการทดลองนี้มีค่าสูงกว่างานของ Wu *et al.* (2019) แต่มีปริมาณคอร์โดเซปินต่ำกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องจากวิธีการเพาะเลี้ยง วิธีการทำแห้งและอื่น ๆ ที่แตกต่างกัน (Wu *et al.*, 2019) และเมื่อนำดอกเห็ดถึงเชื้อสีทองไปสกัดแบบหยาดด้วยน้ำตามสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าว คือ สภาวะที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเมื่อนำสารสกัดหยาดดังกล่าวไปวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางยา พบว่ามีปริมาณคอร์โดเซปินและอะดีโนซีนเท่ากับ 834.6 และ 308.86 mg/100 g ตามลำดับ ซึ่งปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาที่ตรวจพบดังกล่าวนี้มีในปริมาณที่สูง ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับกรายงานของ Hur, (2008) ที่พบว่าในก้านดอกและดอกเห็ดถึงเชื้อสีทองมีปริมาณคอร์โดเซปิน 360 และ 970 mg/100 g ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับตรวจพบอะดีโนซีนในก้านดอกและดอกเห็ดถึงเชื้อสีทองเท่ากับ 60 และ 180 mg/100 g ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัย

1. การใช้อาหารเสริมพิเศษที่มีผงดักแด่และดักบอบแห้ง 10 g/L ในสัดส่วน 1:1 ในสูตรอาหารหลักที่มีข้าวกล้องหอมดอกมะลิเป็นอาหารพื้นฐานให้ผลผลิตที่เป็นน้ำหนักรดอกเห็ดถึงเข้าสีทองอบแห้งมากที่สุด คือ 2.97 กรัม และมีน้ำหนักรมากกว่ากลุ่มที่ใช้อาหารเสริมที่มีผงถั่วเหลืองอบแห้ง 10 g/L อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ได้ผลผลิตน้ำหนักรดอกเห็ดถึงเข้าสีทองอบแห้งเท่ากับ 1.83 กรัม

2. การกระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงินเพื่อให้เส้นใยเจริญและกระตุ้นต่อเนื้อให้สร้างดอกเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีต่าง ๆ พบว่าการเจริญของเส้นใยเห็ดถึงเข้าสีทองกระจายได้เร็วกว่าและสามารถเกิดดอกได้เร็วกว่าในกลุ่มที่บ่มในที่มืดเพื่อให้เส้นใยเจริญ และกระตุ้นต่อเนื้อให้สร้างดอกเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีต่าง ๆ ประมาณ 5 - 7 วัน

3. ผลผลิตน้ำหนักรแห้งของดอกเห็ดถึงเข้าสีทองในกลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงินเพื่อให้เส้นใยเจริญเต็มขนาดและกระตุ้นต่อเนื้อให้สร้างดอกเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีขาวหลอดยาว สีขาวหลอดกลม สีน้ำเงิน สีชมพู และสีแดง พบว่ามีแนวโน้มให้ผลผลิตโดยรวมมากกว่าในกลุ่มที่บ่มในที่มืดเพื่อให้เส้นใยเจริญ และกระตุ้นต่อเนื้อให้ดอกเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีเดียวกัน

4. ผลผลิตน้ำหนักรแห้งของดอกเห็ดถึงเข้าสีทองในกลุ่มที่กระตุ้นเพื่อให้เส้นใยเจริญในที่มืดและกระตุ้นต่อเนื้อให้สร้างดอกเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีต่าง ๆ พบว่ากลุ่มที่กระตุ้นการออกดอกด้วยแสง LED สีชมพูมีน้ำหนักรดอกเห็ดถึงเข้าสีทองอบแห้งมากที่สุด คือ 5.21 กรัม ซึ่งมีน้ำหนักรมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้หลอดไฟ LED หลอดยาว 4.40 กรัม รองลงมาได้แก่กลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีขาวกลม 4.93 กรัม กลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีน้ำเงิน 4.74 กรัม กลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีแดง 4.74 กรัม และกลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED แสงสีผสม 4.65 กรัม ตามลำดับ

5. ผลผลิตน้ำหนักรแห้งของดอกเห็ดถึงเข้าสีทองในกลุ่มที่กระตุ้นเพื่อให้เส้นใยเจริญด้วยแสง LED สีน้ำเงินและกระตุ้นต่อเนื้อให้สร้างดอกเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีต่าง ๆ พบว่าในกลุ่มที่กระตุ้นการออกดอกด้วยแสง LED สีชมพู มีแนวโน้มให้น้ำหนักรดอกเห็ดถึงเข้าสีทองอบแห้งมากที่สุด คือ 5.32 กรัม ซึ่งมีน้ำหนักรมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้หลอดไฟ LED หลอดยาว 4.44 กรัม และด้วยแสง LED แสงสีผสม 4.42 กรัม รองลงมาได้แก่ กลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีแดง 5.03 กรัม แสง LED สีขาวกลม 4.93 กรัม และแสง LED สีน้ำเงิน 4.98 กรัม ตามลำดับ

6. ปริมาณคอร์ไดเซปินจากดอกเห็ดถึงเข้าสีทองอบแห้งในกลุ่มที่กระตุ้นเพื่อให้เส้นใยเจริญด้วยแสง LED สีน้ำเงินและกระตุ้นต่อเนื้อให้สร้างดอกเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีต่าง ๆ พบว่าในกลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง LED สีขาวกลมสามารถผลิตปริมาณคอร์ไดเซปินมากที่สุด คือ 713.33 mg/100 g สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กระตุ้นด้วย LED สีชมพู 643.57 mg/100 g และสีผสม 616.85 mg/100 g แต่ไม่แตกต่างกันกับกลุ่มที่กระตุ้นด้วย LED สีน้ำเงิน 698.18 mg/100 g

7. ปริมาณอะดีโนซีนจากดอกเห็ดถึงเข้าสีทองอบแห้งในกลุ่มที่กระตุ้นเพื่อให้เส้นใยเจริญด้วยแสง LED สีน้ำเงินและกระตุ้นต่อเนื้อให้สร้างดอกเห็ดถึงเข้าสีทองด้วยแสง LED สีต่าง ๆ พบว่าในกลุ่มที่กระตุ้นด้วยแสง

LED สีขาวกลมมีปริมาณอะดีโนซีนมากที่สุด คือ 41.58 mg/100 g สูงมากกว่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กระตุ้นด้วย LED น้ำเงิน 32.03 mg/100 g และสีผสม 32.71 mg/100 g แต่ไม่แตกต่างกันกับกลุ่มที่กระตุ้นด้วย LED ชมพู 34.80 mg/100 g

8. การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ และสำหรับประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ โดยผู้วิจัยได้พิจารณาจากสภาวะที่เหมาะสมที่สำคัญ คือ ผลผลิตของน้ำหนักรดอกและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งก็คือวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยการเสริมอาหารเสริมที่มีส่วนผสมของผงอบแห้งจากผักและตับในอัตราส่วน 1:1 ในปริมาณ 10 g/L ในสูตรอาหารพื้นฐาน รวมทั้งการกระตุ้นการเจริญของเส้นใยด้วยแสง LED สีน้ำเงิน และกระตุ้นการเกิดดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองต่อเนื่องด้วยแสง LED หลอดกลมสีขาว ผลที่ได้พบว่าการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองดังกล่าวสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองได้เร็วขึ้นประมาณ 5 – 7 วัน

9. สภาวะในการสกัดที่ทำให้ได้ร้อยละผลผลิตและคอร์ไดเซปินสูงสุดคือสกัดด้วยสารละลายเอทานอลร้อยละ 50 และ sonication ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 47.5 มีปริมาณคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนเท่ากับ 263.02 และ 88.09 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ

10. มีอัตราผลผลิตของสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยน้ำมีอัตราผลผลิตเท่ากับ 60.77%

11. ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาของสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนเท่ากับ 834.6 และ 308.86 mg/100 g ตามลำดับ

12. ได้ผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อนำไปสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาในกลุ่มโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์เพื่อนำสารสกัดดังกล่าวไปทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Das SK, Masuda M, Sakurai A and Sakakibara. M. 2010. Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: Current state and prospects. *Fitoterapia*. 81: 961–968.
- Dong JZ, Liu MR, Lei C, Zheng XJ and Wang Y. 2012. Effects of Selenium and Light Wavelengths on Liquid Culture of *Cordyceps militaris* Link. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 166: 2030–2036.
- Gu YX, Wang ZS, Li SX and Yuan QS 2007. Effect of multiple factors on accumulation of nucleosides and bases in *Cordyceps militaris*. *Food Chemistry*. 102: 1304–1309.
- Guo M, Guo S, Huaijun Y, Bu N, and Dong CH. 2016. Comparison of Major Bioactive Compounds of the Caterpillar Medicinal Mushroom, *Cordyceps militaris* (Ascomycetes), Fruiting Bodies Cultured on Wheat Substrate and Pupae. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 18: 327-336.
- Hong IP, Kang PD, Kim KY, Nam SH, Lee MY, Choi YS, Kim NS, Kim HK, lee KG and Humber RA. 2010. Fruit Body Formation on Silkworm by *Cordyceps militaris*. *Mycobiology*. 38(2): 128-132.
- Huang L, Li Q, Chen Y, Wang X and Zhou X. 2009. Determination and analysis of cordycepin and adenosine in the products of *Cordyceps* spp.. *African Journal of Microbiology Research*. 3(12): 957-961.
- Hur H. 2008. Chemical ingredients of *Cordyceps militaris*. *Mycobiology*. 36(4): 233-235.
- Jo WS, Choi YJ, Kim HJ, Lee JY, Nam BH, Lee JD, Lee SW, Seo SY and Jeong MH. 2010. The Anti-inflammatory Effects of Water Extract from *Cordyceps militaris* in Murine Macrophage. *Mycobiology*. 38(1): 46-51.
- Kim SY, Shrestha B, Sung GH, Han SK and Sung JM. 2010. Optimum Conditions for Artificial Fruiting Body Formation of *Cordyceps cardinalis*. *Mycobiology*. 38(2): 133-136.
- Lim L, Lee C and Chang E. 2012. Optimization of solid state culture conditions for the production of adenosine, cordycepin, and D-mannitol in fruiting bodies of medicinal caterpillar fungus *Cordyceps militaris* (L.:Fr.) Link (Ascomyceter). *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 18(2): 181-187.
- Lin LT, Lai YJ, Wu SC, Hsu WH, Tai CJ. 2017. Optimal conditions for cordycepin production in surface liquid-cultured *Cordyceps militaris* treated with porcine liver extracts for suppression of oral cancer. *Journal of Food and Drug Analysis*. 26(1): 1-10.

- Liu JU, Feng CP, Li X, Chang MC, Meng JL. and Xu LJ. 2016. Immunomodulatory and antioxidative activity of *Cordyceps militaris* polysaccharides in mice. International Journal of Biological Macromolecules. 86: 594–598.
- Luerdara K, Kulsarin J, Buranapanichpan S and Tapingkae T. 2015. Growth of Gold Cordyceps (*Cordyceps militaris*) on Pupae of Nanglai Thai Native Silkworm and Eri Silkworm. Journal of Agriculture. 32(1): 95–102.
- Luo X, Duan Y, Yang W, Zhang H, Li C and Zhang J. 2017. Structural elucidation and immunostimulatory activity of polysaccharide isolated by subcritical water extraction from *Cordyceps militaris*. Carbohydrate Polymers. 157: 794–802.
- Park SE, Yoo HS, Jin CY, Hong SH, Lee YW, Kim BW, Lee SH, Kim WJ, Cho CK and Choi YH. 2009. Induction of apoptosis and inhibition of telomerase activity in human lung carcinoma cells by the water extract of *Cordyceps militaris*. Food and Chemical Toxicology. 47: 1667–1675.
- Ritdate J, Jansom A, Vinijsanun T, Tharawatcharasat N. and Sawhasan P. 2015. Effects of Culture Conditions on the Fruiting Body Production of *Cordyceps militaris*. Agricultural Science Journal. 46(3): 701-704.
- Singpoong N, Chaiprasart P and Sangon B. 2016. Effect of Artificial Culture Media on *Cordyceps militaris* Fruiting Body Formation and Bioactive Compound Production. Songklanakarin Journal of Plant Science. 3: 34-46.
- Sung GH, Hywet-Jones NL, Sung JM, Luangsaard JJ, Shrestha B and Spatafora JW. 2007. Phylogenetic classification of Cordyceps and the clavicitaceous fungi. Studies in Mycology. 57: 5–59.
- Wu CY, Liang ZC, Tseng CY, Hu SH. 2016. Effects of Illumination Pattern during Cultivation of Fruiting Body and Bioactive Compound Production by the Caterpillar Medicinal Mushroom, *Cordyceps militaris* (Ascomycetes). International Journal of Medicinal Mushrooms. 18: 589-597.
- Wu X, Zhang M and Li Z. 2019. Influence of infrared drying on the drying kinetics, bioactive compounds and flavor of *Cordyceps militaris*. LWT-Food Science and Technology. 111: 790-798.
- Xie GY, Gu ZX, Fan GJ, Gu FR, Han Yb and Chen ZG. 2009. Production of Cordycepin and Mycelia by Submerged Fermentation of *Cordyceps militaris* in Mixture Natural Culture. Applied Biochemistry and Biotechnology. 158: 483–492.

Yang Q, Yin Y, Yu G, Jin Y, Ye X, Shrestha A, Liu W, Yu W and Sun H. 2015. A novel protein with anti-metastasis activity on 4T1 carcinoma from medicinal fungus *Cordyceps militaris*. International Journal of Biological Macromolecules. 80: 385–391.