ทบทวนวรรณกรรม

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง มีจำนวนพืชสมุนไพร และจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ผลิตเป็นยาสมุนไพร เครื่องสำอาง อาหารเสริม และเครื่องดื่มบำรุงสุขภาพ กันอย่างกว้างขวาง ขณะที่มีอีกหลายชนิดซึ่งยังมิได้มีข้อมูลในการนำมาใช้เป็นยารักษาโรคในร่างกายมนุษย์ จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษาความเป็นไปได้ในการนำมาประยุกต์ใช้กล่าวคือ ต้องทราบว่าสารสำคัญในการออกฤทธิ์ที่ต้องการคือสารใด สารดังกล่าวมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญอย่างไร รวมทั้งมีความเป็นพิษ หรือก่อโรคหรือไม่ ความอเนกประสงค์ของจุลินทรีย์เป็นที่ทราบกันดีอยู่นานแล้ว แต่ยังมีประโยชน์เชิงวิทยาศาสตร์ชีวภาพอีกหลายข้อที่ยังไม่ได้รับการพิสูจน์ การศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการวิจัยเพื่อเพิ่มมูลค่าของจุลินทรีย์เศรษฐกิจเพื่อนำมาใช้ประโยชน์เชิงการแพทย์ต่อไป

จุลินทรีย์เศรษฐกิจที่สำคัญคือเห็ด และแบคทีเรียชั้นสูงบางชนิด ซึ่งมีการกระจายมากในเขตร้อนและมีความหลากชนิด ปัจจุบันประเทศไทยพบเห็ดประมาณ 3,000 ชนิด และคาดว่าในประเทศจะมีเห็ดอยู่ไม่น้อย กว่าร้อยละ 50 ของชนิดเห็ดที่พบทั่วโลก โดยเฉพาะเห็ดในกลุ่ม Basidiomycota ที่มีจำนวนชนิดมาก (เกษม สร้อยทอง, 2537) และแบคทีเรียชั้นสูงที่ปะปนอยู่ในดินของป่าที่อุดมสมบูรณ์อีกจำนวนไม่น้อย โดยประโยชน์ของจุลินทรีย์เศรษฐกิจเหล่านี้ได้แก่การนำมารับประทาน การอนุรักษ์และการพัฒนาค้นคว้าสารสำคัญเพื่อใช้ทางยา และการเกษตรในพื้นที่ป่าของศูนย์การศึกษายังไม่ได้ทำการศึกษาถึงจุลินทรีย์ดังกล่าวเลย จึงมีความสนใจในการสำรวจและเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์นี้ด้วย

นอกจากนี้การสำรวจยังส่งผลให้เกิดประโยชน์ในการได้ทราบความหลากหลายของจุลินทรีย์เศรษฐกิจ ซึ่งมักเป็นพวกที่ไม่มีคลอโรฟิลล์แบบพืชจึงไม่สามารถสร้างอาหารได้เอง แต่สามารถผลิตเอ็นไซม์ออกมาย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ให้สลายเป็นปุ๋ยที่มีธาตุอาหารให้กับพืชและจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ จึงมีบทบาทที่สำคัญต่อระบบนิเวศวิทยาป่าไม้ กล่าวคือเป็นตัวการย่อยสลายเศษซากพืชซากสัตว์ซึ่งได้แก่ ไม้ล้ม ไม้ยืนต้นตายกิ่งไม้ ใบไม้ ผล เมล็ด และมูลสัตว์ต่างๆ ที่ร่วงหล่นลงบนพื้นดิน อินทรีย์วัตถุในดิน ซึ่ง 90% ของเศษซากพืชเหล่านี้เป็นเนื้อไม้ที่มีเซลลูโลส (cellulose) และลิกนิน (lignin) เป็นองค์ประกอบหลักที่ย่อยสลายยากทำให้เกิดวงจรธาตุอาหารที่สมบูรณ์ เห็ดราหลายชนิดเป็นแหล่งอาหารและแหล่งรายได้ที่สำคัญของผู้อาศัยในพื้นที่ป่า เช่น เห็ดเผาะ เห็ดโคน เห็ดเยื่อไผ่ เห็ดมันปู เห็ดตับเต่า เป็นต้น นอกจากนี้เห็ดรา และแบคทีเรียบางชนิดยังมีสารประกอบหลายชนิดที่ใช้เป็นยารักษาโรค หรือนำเอ็นไซม์มาใช้ประโยชน์เป็นต้น

เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดินมีอยู่อย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในป่า ทั้งเห็ดรา และแบคทีเรีย ในรูปของเชื้ออิสระ และเชื้อที่อาศัยพึ่งพากับรากพืช พบว่ามีเห็ดหลายชนิดถูกชาวบ้านนำมารับประทาน และบางชนิดกลายเป็นสินค้าสำคัญที่สร้างรายได้ให้กับชาวบ้านเช่น เห็ดเผาะ เห็ดหลายชนิดมีสีสันสวยงามเนื่องจากเห็ดชนิดนี้สามารถสร้างรงควัตถุขณะที่เกิดกระบวนการชีวเคมีของเห็ดซึ่งเชื่อว่าน่าจะสามารถแยกสกัดรงควัตถุดังกล่าวออกมาเป็นชีวรงควัตถุได้ และอาจเป็นสีจากธรรมชาติอีกหนึ่งชนิดได้เช่น เห็ดขมิ้น เห็ดอีกหลายชนิดมีรูปร่างใหญ่เป็นแหล่งสังเคราะห์ อาหารที่

สำคัญของพืชและเชื้ออื่นๆ รวมทั้งเห็ดหรือแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารต้านจุลชีพได้ เช่นแบคทีเรียในกลุ่มสเตร็ปโตไมซิส และแอคติโนมัยซิส เป็นต้น ในการศึกษาครั้งนี้มุ่งเน้นศึกษาหาเชื้อเห็ด หรือแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติดังกล่าวมาแยกเพาะ และประเมินฤทธิ์ที่สนใจ และเก็บสายพันธุ์ที่มีคุณค่าไปศึกษาต่อ

วารุณี และคณะ (2547) ได้ศึกษาสำรวจรวบรวมข้อมูลความหลากหลายของเชื้อราในป่าภาคเหนือตอนบนมุ่งเน้นในชนิดที่กินได้และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ รวมถึงการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของเห็ดในกลุ่มเอกโตมายคอไรซาที่ได้รับความนิยมในการรับประทาน 12 ชนิด จากนั้นจึงได้ทำการคัดเลือกเห็ดเอกโตมายคอไรซา เห็ดห้า และเห็ดเผาะ เพื่อทำการศึกษาหาสภาพที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญเติบโตของเห็ดทั้งสองชนิด ในการศึกษาหาคุณค่าทางอาหารและทางเศรษฐกิจของเห็ดเอกโตมายคอไรซาที่กินได้ พบว่า โดยรวมแล้วเห็ดมีองค์ประกอบของโปรตีน 14.0-24.2% ไขมัน 2.7-9.5% เส้นใย 8.3-16.8% และคาร์โบไฮเดรต 41.6-65.1% น้ำหนักแห้ง มีองค์ประกอบของน้ำตาล คือ D-glucose, D-fructose, trehalose, D-mannose, D-arabinose, D-xylose, D-fucose, L-rhamnose และ D-galactose และ พบองค์ประกอบของน้ำตาลแอลกอฮอล์ คือ mannitol, glycerol, myo-inositol, meso-erythritol, D-arabitol, dulcitol, xylitol และ D-sorbitol เห็ดเผาะหรือเห็ดถอบ เป็นเห็ดรับประทานได้ชนิดหนึ่งซึ่งพบทั่วไปในเขตภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยจะพบในต้นฤดูฝนเท่านั้น เห็ดเผาะเป็นเห็ดที่มีผู้นิยมรับประทานกันมากและมีราคาแพง เป็นเห็ดที่จัดอยู่ในอันดับ Lycoperdales วงศ์ Lycoperdaceae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Astrearus hygrometricus* โดยจะรับประทานเห็ดชนิดนี้ในขณะที่ยังอ่อนอยู่ เห็ดเผาะเป็นเห็ดที่ขึ้นอยู่ใต้ผิวดินเหมือนเห็ดโคน และมักจะพบในป่าที่เรียกว่า ป่าแพะ หรือป่าไม้เต็ง-รัง และพลวง โดยจะออกดอกในช่วงต้นฤดูฝนที่มีอากาศอบอ้าวอยู่หลายวันก่อนฝนตก ในภาคเหนือจะพบมากในช่วงเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน ดอกเห็ดที่พบอยู่ตามธรรมชาตินั้นจะโผล่ออกมาให้เห็นเพียงเศษหนึ่งส่วนสาม

เห็ดราวงศ์ Xylariaceae เป็นราที่อยู่ในกลุ่ม Ascomycotina ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายเศษซากพืชซากสัตว์ มีเอ็นไซม์ย่อยเซลลูโลสและลิกนิน มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผลต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคต่างๆ ของคนสัตว์และพืช บางชนิดเป็นสาเหตุของโรคไม้ผลเมืองหนาว เช่น โรครากเน่าของต้นแอปเปิ้ล นอกจากนี้บางชนิดยังมีส่วนเกี่ยวข้องหรือส่วนร่วมกับปลวกในขบวนการสร้างเห็ดโคน (Whalley, 1997) การศึกษาสำรวจเห็ดรากลุ่มนี้ในต่างประเทศ มีรายงานพบ 45 สกุล มากกว่า 800 ชนิด ในหลายประเทศของทวีปยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย และเอเชีย (Rogers, *et al.*, 1987; Ju & Rogers, 1996) เนื่องจากเห็ดรากลุ่มนี้พบได้ในทุกพื้นที่ ทั้งในสวนป่าปลูก และป่าธรรมชาติ เห็ดรากลุ่มนี้มีโครงสร้างค่อนข้างแข็งจนถึงแข็งมากเหมาะต่อการนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการและเก็บเป็นตัวอย่างแห้ง เห็ดราสามารถเพาะเลี้ยงได้บนอาหารเลี้ยงรา ซึ่งเหมาะต่อการศึกษาวิจัยการใช้ประโยชน์จากเอ็นไซม์ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เห็ดราเหล่านี้สร้างขึ้น รวมทั้งเหมาะต่อการศึกษาทางด้านชีวโมเลกุล

จุลินทรีย์หลายชนิดมีกลไกต้านจุลชีพก่อโรคด้วยการสร้างและหลั่งสารบางชนิดที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญรวมถึงฆ่าจุลชีพก่อโรคต่างๆ ได้แก่ กรดแลคติก อาทิ การศึกษาของ Jin และคณะ (Jin et al., 1996) ศึกษาแลคโตบาซิลลัสที่ผลิตกรดอินทรีย์ (organic acid) ต่างๆ ที่แยกได้จากลำไส้ของไก่ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Salmonella enteritidis*, *Salmonella pullorum* และ *Salmonella typhimurium* เป็นต้น กรดแอซิติก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hillier et al., 1992) และแบคเทอริโอซิน (Drider et al., 2006) ซึ่งเป็นสารจำพวกโปรตีนที่แลคโตบาซิลลัสผลิตและหลั่งออกมาภายนอกเซลล์เพื่อยับยั้งการเจริญรวมถึงฆ่าแบคทีเรีย (Servin, 2004) พบว่าโปรตีนแบคเทอริโอซินจะมีฤทธิ์ต้านจุลชีพได้มากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับชนิด โครงสร้าง ขนาดของโปรตีน และจุลชีพเป้าหมาย ในปี ค.ศ. 1993 (Klaenhammer, 1993) Klaenhammer ได้กำหนดชนิดของโปรตีนแบคเทอริโอซินได้ 3 class ได้แก่ class ที่ 1 bacteriocins ที่มีลักษณะเป็นสารเปปไทด์สายสั้น ขนาดไม่เกิน 5 กิโลดาลตัน ภายในสายเปปไทด์ประกอบด้วย lanthionine และ β-methylanthionine เช่น Acidocin B ที่แยกได้จาก *L. acidophilus* M46 (van der Vossen et al, 1994) เป็นต้น class ที่ 2 bacteriocins ที่มีลักษณะเป็นสายเปปไทด์สายสั้นขนาด 5-30 กิโลดาลตัน โดยไม่มี lanthionine และเป็นเปปไทด์ที่ทนความร้อน เช่น Plantaricin C ที่แยกได้จาก *L. plantarum* (Gonzalez et al, 1994) หรือ Curvaticin FS47 ที่แยกได้จาก *Lactobacillus curvatus* FS47 (Garver et al, 1994) เป็นต้น และ class ที่ 3 bacteriocins ที่มีลักษณะเป็นโปรตีนโมเลกุลใหญ่ ไม่ทนความร้อน ขนาดมากกว่า 30 กิโลดาลตัน เช่น Helveticin J ที่แยกได้จาก *L. helveticus* 481 (Joerger et al, 1986) กลไกการออกฤทธิ์ของแบคเทอริโอซินนั้น พบว่าออกฤทธิ์บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเป้าหมาย โดยใช้ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำของเปปไทด์ (hydrophobic peptide) แทรกผ่านชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ด้วยแรงเคลื่อนที่ประจุบวกของกรดอะมิโน เรียกว่า proton motive force (PMF) ที่ทำให้เกิดรูช่องว่างที่เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเป้าหมาย (Bruno et al, 1993) ทำให้แบคทีเรียเป้าหมายนั้นสูญเสียคุณสมบัติการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารที่เยื่อหุ้มเซลล์ (membrane permeability) โพแทสเซียมรั่วออกจากเซลล์ (potassium efflux) (Bruno et al, 1993) รวมถึงแบคทีเรียเป้าหมายสูญเสียพลังงานในการดำรงชีวิตและเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์สารพันธุกรรมทั้งดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และโปรตีน (Bruno et al, 1993) นอกจากนี้ยังมีกลไกในการแย่งเกาะพื้นผิวเนื้อเยื่อจากจุลชีพก่อโรค การแย่งใช้สารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญของเชื้อก่อโรค (Forestier et al, 2001) อีกด้วย

วัตถุประสงค์

1.เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ทางชีวภาพของจุลินทรีย์เศรษฐกิจ ที่พบในศูนย์การศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หริภุญชัย จังหวัดลำพูน

2.เพื่อพัฒนาเป็นวัตถุดิบทางยาและอาหารเสริมที่มีคุณภาพ