

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานผลการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2548

เรื่อง

การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวน์โดยใช้เห็ดในการหมักทดแทนเชื้อยีสต์  
สำหรับเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ

Research and Development on Wine Product by Mushroom Fermentation  
Substituted for using Yeast being as Health Food



โดย

RCH รองศาสตราจารย์สุขใจ ชูจันทร์

TP  
548

๗435

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 64350

วัน,เดือน,ปี 1 1 ก.ย. 2549

b.....	1164213
i.....	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธวัชชัย ภิรมย์กุล

## ABSTRACT

The mushroom was used for study as, *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidium*, *Pleurotus sajorcaju* and *Tricholoma crassum*. The results showed that wine production produced the highest alcoholic of 3.65 % by using 15 pellets of *Pleurotus ostreatus* per 30ml of grape juice with 30 days. On the other hand, wine production by using 5 pellets of *Pleurotus sajorcaju* on 30 ml of grape juice gave the lowest alcoholic of 0.56 %. The medical property analysis showed that the amount of Inulin in wine production from 15 pellets of *Pleurotus sajorcaju* and 5 pellets of *Pleurotus ostreatus* in 30ml of grape juice presented 37.2 mg/ml and 20.4 mg/ml

### บทคัดย่อ

เห็ดที่ใช้เพื่อการศึกษา คือ เห็ดสายพันธุ์ *Pleurotus ostreatus* (เห็ดนางรม) *Ganoderma lucidium* (เห็ดหลินจือ) *Pleurotus sajorcaju* (เห็ดนางฟ้า) และ *Tricholoma crassum* (เห็ดตีนแรด) ไวน์ที่ผ่านการหมักด้วยเส้นใยเห็ดนางรมปริมาณ 15 เพลเล็ตต่อน้ำผลไม้ 30 มิลลิลิตรในวันที่ 30 มีปริมาณแอลกอฮอล์มากที่สุด คือ ร้อยละ 3.65 ส่วนไวน์ที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าปริมาณ 5 เพลเล็ตต่อ น้ำผลไม้ 30 มิลลิลิตรมีปริมาณแอลกอฮอล์น้อยที่สุด คือ ร้อยละ 0.56 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านเภสัชศาสตร์พบสารพอลิแซคคาไรด์ชนิดอินนูลินในปริมาณต่างกัน ไวน์ที่หมักด้วยเส้นใยของเห็ดนางฟ้า 15 เพลเล็ตต่อน้ำผลไม้ 30 มิลลิลิตร ให้ปริมาณอินนูลินมากที่สุด คือ 37.2 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร ไวน์ที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางรมที่ปริมาณ 5 เพลเล็ตต่อน้ำผลไม้ 30 มิลลิลิตรให้ปริมาณอินนูลินน้อยที่สุด 20.4 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทนำ

ปัจจุบันไวน์เป็นเครื่องดื่มที่นิยมบริโภคกันอย่างกว้างขวางทั่วโลก ไวน์สามารถช่วยบำรุงรักษาสุขภาพได้ การผลิตไวน์จะผลิตจากผลองุ่นที่มีรสชาติดีจากแถบยุโรปเป็นส่วนใหญ่ แต่ในปัจจุบันนี้มีการคิดค้นนำผลไม้ชนิดต่าง ๆ เช่น สับปะรด ลิ้นจี่ สตอเบอร์รี่ มาทำการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์นำมาดื่มแทนไวน์จากผลองุ่นได้ การผลิตไวน์โดยทั่วไปนิยมใช้เชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อหมักให้ได้แอลกอฮอล์ (ประดิษฐ์ คุรุวัฒนา, 2544)

ในการศึกษาได้นำเห็ดซึ่งเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่อยู่ในกลุ่ม ฟังไจ (Fungi) เช่นเดียวกับยีสต์ จัดอยู่ในชั้น Basidiomycetes สปอร์ของเห็ดในชั้นนี้เกิดติดอยู่บนก้านไม้พ่ายที่เรียกว่า Basidium ซึ่งเรียงกันอยู่บนครีบ (Gills) หรือในรู (Pores) หรือบนฟันเลื่อย (Teeth) ของดอกเห็ดหรือฝังอยู่ในวุ้นแต่มีเห็ดหลายชนิดที่จัดอยู่ในชั้น Ascomycetes เพราะสปอร์เกิดในถุงที่เรียกว่า Ascus เรียงอยู่ในดอกเห็ด (อนงค์ จันทศรีกุล, 2530)

เห็ดมีคุณสมบัติพิเศษหลายประการ คือ เห็ดบางชนิดมีความสามารถผลิตเอนไซม์ alcohol dehydrogenase (ADH) เพื่อเปลี่ยนอะซีตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) เป็นเอทานอล เช่น เห็ดสายพันธุ์ *Pleurotus ostreatus* (เห็ดนางรม) *Tricholoma crassum* (เห็ดตีนแรด) และ *Ganoderma lucidum* (เห็ดหลินจือ) (พรทิพย์ ภูมิแกดำ, 2546 ; Okamura et al. 2001) เห็ดบางชนิดมีสรรพคุณทางเภสัชศาสตร์เช่นในเห็ดหลินจือพบว่ามีสารออกฤทธิ์และสรรพคุณทางยา คือ สารไตรเทอร์พีนอยด์ชนิดขม กรดกาโนเดอริค และกรดลูซิเดนิค ช่วยลดความดันโลหิต และช่วยลดไขมันในเลือด ป้องกันการอุดตันของไขมันในเส้นเลือด และยังพบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในตับ และการต้านสารพิษที่มีต่อตับอีกด้วย สารพอลิแซคคาไรด์ ได้แก่ กาโนเดอแรนส์ ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด สารเบต้าดีกลูแคนมีฤทธิ์ในการเพิ่มการสังเคราะห์โปรตีนในเลือดไขกระดูกและในตับ ช่วยลดการอักเสบ ช่วยกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาวชนิด บี – เซลล์ และ ที – เซลล์ สารสเตอรอยด์ คือ กาโนสเตอโรน หรือ กาโนโคสเตอโรน มีฤทธิ์ในการลดพิษที่มีในตับ (Chung et al. 2001) มีการพบสารพอลิแซคคาไรด์ชนิดอินูลิน (Inulin) ในเห็ดซึ่งจากการย่อยสลายอินูลินจะได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลฟรุคโตส (มาลี จีรวงศ์ศรี, 2000) ปี 1905 ได้มีการแนะนำให้ผู้ป่วยเบาหวานบริโภคอินูลินปริมาณ 40 – 100 กรัม / วัน ซึ่งเกิดผลดีต่อผู้ป่วยคือทำให้ปริมาณน้ำตาลในเลือดลดลง (Leon. 1999)

เห็ดสายพันธุ์ *Pleurotus ostreatus* (เห็ดนางรม) และ *Agaricus blasie* (เห็ดเข็มทอง) มีส่วนช่วยในการจับตัวของเลือดข้างทำให้ไม่เกิดการอุดตันของเส้นเลือด นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการสลายลิ่มเลือด (Okamura et al. 2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยปกติคนส่วนใหญ่นิยมบริโภคเห็ดในลักษณะที่เป็นดอกเห็ดทั้งแบบสดและแบบที่แปรรูปแล้ว แต่จากการศึกษาและวิจัยพบว่าส่วนของเห็ดที่มีกิจกรรมทางเภสัชศาสตร์ และ การผลิตเอนไซม์ ADH สูง คือส่วนที่เป็นเส้นใยหรือไมซีเลียม (สิริลักษณ์ ชัยจำรัส. 2536)

จากคุณสมบัติของเห็ดที่กล่าวมานี้จึงเป็นเหตุจูงใจให้ทำการศึกษาวิจัยเพื่อนำเส้นใยหรือไมซีเลียมของเห็ดมาหมักโพรไบโอติก ซึ่งผู้บริโภคนอกจากจะได้ประโยชน์จากการดื่มโพรไบโอติกคือ ใช้ดื่มก่อนอาหารเพื่อเป็นตัวกระตุ้นการหลั่งน้ำย่อยและช่วยให้อาหารอื่นดูดซึมง่าย ยังใช้โพรไบโอติกควบคุมความเจ็บปวดอาการที่ไม่รุนแรง ใช้เป็นยาระงับความตื่นเต้น กังวล ช่วยให้เส้นเลือดขยายตัวในคนไข้ที่เป็นความดันต่ำ ช่วยให้ขับถ่ายปัสสาวะสะดวกและทำให้ผู้บริโภคโพรไบโอติกได้ประโยชน์ในลักษณะเป็นอาหารบำรุงสุขภาพอีกด้วย (วันชัย สุทธิบุญ. 2541)

ดังนั้นโพรไบโอติกที่ผลิตจากไมซีเลียมของเห็ดจึงน่าจะเป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่มีประโยชน์มากกว่าการบริโภคเฉพาะส่วนที่เป็นดอก นอกจากนี้ยังเป็นแนวทางพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกออกมาในรูปแบบอาหารเพื่อสุขภาพอีกทางหนึ่ง เป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกและเป็นแนวทางขยายตลาดไปสู่ผู้บริโภคให้มากยิ่งขึ้น

### ตรวจเอกสาร

เห็ดสดทั่วไปมีองค์ประกอบคือ ความชื้นร้อยละ 90 โปรตีนประมาณร้อยละ 3 ซึ่งเป็นโปรตีนที่สมบูรณ์มีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่ครบ คือมีกรดอะมิโนจำเป็นเท่ากับร้อยละ 72 - 98 ของเนื้อสัตว์ และมีกรดนิวคลีอิกค่อนข้างสูง มีคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 3 - 28 เส้นใยร้อยละ 3 - 32 และให้พลังงานน้อยเพียง 60 - 90 แคลอรีต่อปอนด์ น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในเห็ดมีหลายชนิด ความหวานของเห็ดเกิดจากน้ำตาลพิเศษ เช่น trehalose เรียกเฉพาะว่าเป็นน้ำตาลเห็ด น้ำตาลนี้จะพบมากในเห็ดอ่อน เมื่อเห็ดโตเต็มที่น้ำตาล trehalose นี้จะถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสที่มีความหวานลดลง (ราชบัณฑิตยสถาน. 2539)

เห็ดทั่วไปมีไขมันต่ำมากประมาณร้อยละ 2 - 8 เห็ดหลายชนิดจะมีเออโกสเตอรอล (ergosterol) สูง 0.2 - 270 มิลลิกรัมต่อร้อยละของน้ำหนักแห้ง เห็ดเป็นแหล่งที่ดีของวิตามินบี 1 บี 2 ไนอะซิน ไบโอติน วิตามินซีและวิตามินดี เห็ดบางชนิดจะมีเบต้าแคโรทีนด้วย ส่วนเกลือแร่ที่พบมากในเห็ดคือ ฟอสฟอรัส โซเดียมและโพแทสเซียม รองลงมาคือ แคลเซียมและเหล็ก (ราชบัณฑิตยสถาน. 2539)

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของเห็ดหลายชนิดพบว่า เห็ดจัดว่าเป็นอาหารที่มีองค์ประกอบของโปรตีนค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพืชผักต่าง ๆ นอกจากนี้เห็ดยังมีกรดอะมิโน (amino acid) เป็นส่วนประกอบมากกว่า 20 ชนิด ในปริมาณที่แตกต่างกัน กรดอะมิโนเหล่านี้มีอยู่ 9 ชนิดที่มีความสำคัญต่อการสร้างโปรตีนในร่างกายมนุษย์ ได้แก่ typtophane threonine valine leucine isoleucine cystine เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

lysine methionine และ phenylalanine ตามปกติแล้วโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์จะมีปริมาณสูงกว่าพืช ในเมล็ดธัญพืชจะมีกรดอะมิโนพวก lysine ในปริมาณที่น้อยมากส่วนในพืชตระกูลถั่วมักจะมีกรดอะมิโนพวก methionine และ tryptophane แต่ในเห็ดจะมีกรดอะมิโนที่สำคัญต่อร่างกายมนุษย์ครบทั้ง 9 ชนิด นอกจากนี้เห็ดยังมีคุณค่าทางอาหารอีกหลายอย่าง ได้แก่ ไขมัน ฟอสฟอรัส เหล็ก Thiamine (B<sub>1</sub>) Riboflavin (B<sub>2</sub>) และ Niacine เห็ดจัดเป็นอาหารที่มีปริมาณของแคลอรี คาร์โบไฮเดรต และแคลเซียมต่ำ (ราชบัณฑิตยสถาน. 2539)

ในอดีตมีการใช้เห็ดเป็นสมุนไพรมีมานานมากกว่า 4000 ปีแล้วในประเทศจีน ญี่ปุ่น ไต้หวัน และเกาหลี ตัวอย่างเห็ดสมุนไพรที่ใช้ เช่น เห็ดหอม เห็ดหลินจือ เห็ดไมตาเกะ และเห็ดอื่น ๆ สำหรับเห็ดสมุนไพรที่ใช้กันมานานและแพร่หลายมากที่สุดในประเทศจีนและญี่ปุ่น คือ เห็ดหลินจือ ซึ่งต่อมาประมาณ ปี ค.ศ. 1960 มีการขยายตลาดไปยังยุโรปและอเมริกา และมีการนำเห็ดสมุนไพรบางชนิดมาใช้เป็นอาหาร เช่น เห็ดหอม (ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2520)

ในประเทศไทยแพทย์พื้นบ้านมักจะใช้เห็ดงูเห่าซึ่งขึ้นตามเชิงป่าเขา เห็ดไม้แดง เห็ดไม้รั้วและเห็ดกระถินพิมาน ที่ขึ้นตามตอไม้ที่ผุแล้วมาผสมเป็นยากิน เช่น ยาจักรวาลฟ้าครอบกินแก้ไขกาทุกชนิด หรือใช้ทาภายนอกแก้โรคไฟลามทุ่ง สามารถทำให้น้ำเหลืองแห้งได้ดี นอกจากนี้ยังมีการนำเห็ดร่างแห มาผสมกับตัวยาอื่นเพื่อใช้เป็นยารักษาแผล รวมทั้งใช้เห็ดตากแห้งนำมาผสมกับของเมาอย่างอื่นและจันทร์หอมทำเป็นรูป หรือทำเป็นยาชุดจุดไฟเอาควันรมทำให้ผู้ถูกควั่นมีนเมาและหลับหมดสติไป นอกจากนี้ยังมีสมุนไพรอื่น ๆ อีก (ศิริวรรณ สุทธิจิตต์ และไมตรี สุทธิจิตต์. 2546) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดและสรรพคุณของเห็ดที่ใช้เป็นยาสมุนไพร

ชื่อ	สรรพคุณ
เห็ดขิง	แก้หวัด ปวดตามข้อ
เห็ดแครง	แก้อ่อนเพลีย รักษาโรคสัตว์
เห็ดช่องเขาเขียว	บำบัดอาการผื่นคัน ปวดแสบปวดร้อนในโรคเรื้อรัง
เห็ดจวกู	ลดไข้ คนญี่ปุ่นใช้รักษาโรคกระเพาะอาหาร
เห็ดจาวมะพร้าว	ใช้บำรุงร่างกาย กระจายโลหิต
เห็ดจิก	ใช้เป็นยาถ่ายพยาธิ เช่น พยาธิตัวดี
เห็ดดับเต่า	แก้หวัด ปวดในข้อ รักษาตกขาว
เห็ดนมเสือ	แก้หืด ปวดหู ปวดแสบปวดร้อน
เห็ดเป่าฮื้อ	ช่วยให้หายใจสะดวกขึ้น ระวังอาการปวดข้อ ยับยั้งมะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ชนิดและสรรพคุณของเห็ดที่ใช้เป็นยาสมุนไพร (ต่อ)

ชื่อ	สรรพคุณ
เห็ดเผาะ	ต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวก ต่อต้านมะเร็ง
เห็ดมันปูใหญ่	ระงับอาการแพ้ คัน บวม หายใจไม่สะดวก ใช้ห้ามเลือด
เห็ดสน	แก้โรคตาชุนมัว ช่วยการทำงานของปอด กระเพาะลำไส้
เห็ดหูหนูขาว	ใช้ช่วยย่อยอาหาร รักษาฝี ช่วยละลายเสมหะ ทำให้หายใจสะดวก
เห็ดหูหนูดำ	แก้ร้อนใน หายใจไม่สะดวก แก้ไข้ ลดความดันโลหิต ห้ามเลือด
เห็ดหิงห้อย	แก้การหายใจไม่สะดวก แก้ริดสีดวงทวาร ต่อต้านมะเร็ง

ที่มา : ศิริวรรณ สุทธิจิตต์ และไมตรี สุทธิจิตต์ (2546)

ดังนั้นในปัจจุบันจึงเป็นที่ยอมรับกันว่า เห็ดเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและเป็นแหล่งของโปรตีนที่มีคุณภาพ ราคาถูก มีรสและกลิ่นดี มีความหลากหลายให้เลือกได้มาก เห็ดพื้นบ้าน เช่น เห็ดโคน เห็ดเผาะ เห็ดไข่ห่านและเห็ดเพาะเลี้ยง เช่น เห็ดฟาง เห็ดหอม เห็ดหูหนู จึงเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารเพื่อสุขภาพ เป็นแหล่งของโปรตีนและสารซูลในอาหารมังสะวิรัติและอาหารเจ รวมทั้งเป็นวัตถุดิบในการเตรียมผลิตภัณฑ์อาหารเสริมหลายชนิด

เป็นที่น่าสังเกตว่าเห็ดมีปริมาณ กรดนิวคลีอิกต่อหน่วย 100 กรัม (กรัมร้อยละ) สูงมากรองจากยีสต์ เช่น เห็ดฟางมีกรดนิวคลีอิก 8.8 กรัมร้อยละ เห็ดแชมปิญอง 7.4 กรัมร้อยละ และเห็ดเป่าฮื้อ 6.2 กรัมร้อยละ ในขณะที่พืช เนื้อสัตว์ใหญ่ เนื้อปลามีเพียง 1.1 – 6.2 กรัมร้อยละ กรดนิวคลีอิกเป็นพอลินิวคลีโอไทด์ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมของพืชและสัตว์ทั่วไป อาจนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ยากระตุ้นภูมิคุ้มกันและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเด็ก โดยเปลี่ยนแปลงโมเลกุลกรดนิวคลีอิกให้เล็กลงเป็นกรดนิวคลีโอไทด์ นิวคลีโอไซด์ และสารเบสไนโตรเจน แล้วนำไปเติมในนมและอาหารเด็กเพื่อกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันในเด็กได้ นอกจากนี้ยังมีเห็ดบางชนิดที่มีสารชีวภาพพิเศษมากพอที่จะนำมาวิจัยและพัฒนาใช้เป็นยาและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้ เช่น เห็ดขมิ้นซึ่งมีสารโปรวิตามินเอ หรือเบต้าแคโรทีนสูงถึง 54.94 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม เมื่อเปรียบเทียบกับผักใบเขียว มะละกอสุกและแครอท ถือว่าเห็ดขมิ้นมีเบต้าแคโรทีนสูงมาก อาจใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพได้ดีเช่นเดียวกับผักและผลไม้ ดังนั้นควรมีการวิจัยระดับพื้นฐานในทุก ๆ ด้านและมีการพัฒนาเห็ดสมุนไพรชนิดอื่น ๆ ภายในประเทศให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ดีมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เพื่อเพิ่มมูลค่าของเห็ดให้มากขึ้นต่อไป (ศิริวรรณ สุทธิจิตต์ และ ไมตรี สุทธิจิตต์. 2546)

จากการศึกษาวิจัยฤทธิ์ทางชีววิทยาของเห็ดสมุนไพรหลายชนิด มีรายงานว่าเห็ดบางสายพันธุ์ประกอบด้วยสารซึ่งป้องกันหรือบรรเทาโรคมะเร็ง โรคหัวใจ และโรคที่เกิดจากการติดเชื้อจากไวรัส ซึ่งโรคทั้ง 3 ชนิดนี้ทำอันตรายต่อมนุษย์มากที่สุด ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นในการศึกษาคุณค่าทางยาของเห็ดและเป็นการพัฒนาของอุตสาหกรรมเห็ด เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การต่อต้านมะเร็ง

เห็ดหลายชนิด เช่น เห็ดหลินจือ เห็ดหอม เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดเป่าฮื้อ เห็ดเข็มทอง เห็ดหูหนู เห็ดแชมปิญอง เห็ดตับเต่า มีสารซึ่งช่วยป้องกันมะเร็ง สืบเนื่องมาจากกลไกในการเพิ่มภูมิคุ้มกันและมีความวิจัยมากมายในด้านผลการยับยั้งเนื้องอกของเห็ดหรือสารสกัดจากเห็ด ส่วนใหญ่จะทำการศึกษาในประเทศญี่ปุ่น

ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ ไมตรี สุทธจิตต์. (2546) ทำการศึกษาและรายงานว่าสถาบันมะเร็งแห่งชาติมีการศึกษาสารต้านทานเนื้องอกในเห็ดชิตาเกะ (shitake) เมื่อแยกและทำให้บริสุทธิ์ นำมาทดสอบกิจกรรมการต้านทานเนื้องอก เรียกว่าเลนทิแนน (lentinan) ยับยั้งการเจริญของเซลล์ Sarcoma 180 ในหนู ซึ่งชักนำให้เกิดผลการเสื่อมถอยของเนื้องอกอย่างสมบูรณ์ เมื่อให้ในปริมาณ 10 โดส (dose) ของ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและไม่มีผลข้างเคียง เลนทิแนนเป็นสาร B-(1-3)-glucan เลนทิแนนทำงานผ่านระบบภูมิคุ้มกันซึ่งตอบสนองของโฮสต์ที่เป็นสัตว์ โดยการชักนำของอินเทอร์เฟอรอน (interferon) ซึ่งเป็นสารโปรตีนชนิดหนึ่งจากเซลล์ที่ถูกเชื้อไวรัสสุกรานมีฤทธิ์ป้องกันการแพร่พันธุ์ของไวรัส

การลดไขมันในเลือด

เห็ดกินได้หลายชนิด เช่น เห็ดฟาง เห็ดหอม เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม มีสารสกัดมีฤทธิ์ในการลดไขมันในเลือดยกเว้นเห็ดหูหนูสายพันธุ์ที่มีไขมันและเห็ดเข็มทอง สารสกัดจากพวกเห็ดเป่าฮื้อทำให้ความดันโลหิตในหนูเพศชายและหนูแฮมสเตอร์ลดลง และสารสกัดหลายชนิดมีฤทธิ์ลดไขมันอาจเกิดโดยสารจำพวกเส้นใยที่มีปริมาณสูงในเห็ดช่วยดูดซับและขัดขวางการดูดซึมไขมันในทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังพบในหนูทดลองอีกว่าสารสกัดจากเห็ดบางชนิดช่วยเพิ่มการนำสารไขมันบางชนิดไปใช้ (ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ ไมตรี สุทธจิตต์. 2546)

การต่อต้านไวรัส

สารสกัดจากเห็ดหลายชนิดที่กินได้ เช่น เห็ดหอม เห็ดตับเต่า และเห็ดหัวก้าน ช่วยยับยั้งไวรัสที่ทำให้เกิดไข้หวัดใหญ่ทั้งในหนูทดลองและในหลอดทดลอง เห็ดหัวก้านมีสารออกฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของไวรัสได้ ซึ่งอาจไปกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้สร้างสารภูมิคุ้มกัน ชื่ออินเทอร์เฟอรอนก็ได้ มีรายงานพบว่าสารสกัดจากเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ HIV โดยการศึกษาในระดับหลอดทดลอง (Mukkawy et al. 1998)

ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และ ไมตรี สุทธจิตต์. (2546) รายงานผลการทดสอบสารสกัดจากพืชและเห็ดราหลายชนิดต่อผลการยับยั้งไวรัสไข้หวัดใหญ่ในหลอดทดลองและในหนู พบว่าสารสกัดจากแอปเปิ้ล ถั่ว และผักขมไม่สามารถมีกิจกรรมการยับยั้งไวรัสได้ แต่ในเห็ดชิตาเกะพบว่ามีกิจกรรมการยับยั้งไวรัสไข้หวัดใหญ่ได้ และมีรายงานว่าของเหลวสกัดจากเห็ดชิตาเกะยังมีผลป้องกันไวรัสโรคโปลิโอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในช่วงปี พ.ศ. 2534 - 2537 อุตสาหกรรมการเพาะเห็ดได้เพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 30.5 โดยเห็ด 6 ชนิดแรกที่มีการเพาะกันมากได้แก่ เห็ดกระดุม เห็ดหอม เห็ดกลุ่มนางรม เห็ดเป่าฮื้อ เห็ดหูหนู เห็ดฟางและเห็ดเข็มทอง ซึ่งส่วนใหญ่ใช้บริโภคเป็นอาหารเมื่อมีความเจริญก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพมากขึ้น ทำให้ทราบว่าเห็ดมีประโยชน์มากกว่านั้นโดยสามารถนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคได้ (ราชบัณฑิตยสถาน, 2539)

สารโพลีแซคคาไรด์ที่แยกได้จากเห็ดชนิดต่าง ๆ เช่น *Lentinus edodes* *Schizophyllum commune* และ *Coriolus versicolor* เป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เห็ดมีคุณสมบัติทางยา โดยมีผลช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย ยับยั้งการเกิดโรคมะเร็งลดระดับคอเลสเตอรอลและป้องกันเลือดจับตัวกันเป็นลิ่มทำให้เกิดการอุดตันเส้นโลหิต (thrombosis) (Okamura et al. 2001)

Moss (2002) ได้พบเอกสารของประเทศแคว้นเวีย ที่กล่าวว่าเห็ดเขาเหม็น (stinkhorn) สามารถใช้ในการป้องกันโรคมะเร็งในแถบประเทศในยุโรปตะวันออก โดยนำมาทำเป็นน้ำเห็ด ซึ่งในน้ำเห็ดจะอุดมไปด้วย Polysaccharide Phenol – Carbohic Acid และสารอาหารอื่นอีกหลายชนิด มีการทดลองโดยให้หนูที่มีอาการของเนื้องอกได้ดื่มน้ำเห็ดเหล่านี้พบว่ามีการยับยั้งการเจริญเติบโตของก้อนเนื้องอกในหนูได้ร้อยละ 68 – 82 และรายงานของศูนย์มะเร็งแห่งชาติญี่ปุ่นพบว่าเนื้องอกหรือมะเร็งสามารถลดลงได้เมื่อมีการใช้สาร Krestin (PSK) ซึ่งเป็นสารที่สกัดจากเห็ดของประเทศญี่ปุ่นคือ เห็ดไมตาเกะ และเห็ดหลินจือซึ่งจะมีคุณสมบัติในการเพิ่มความสามารถของ Killer cell ในส่วนของภูมิคุ้มกันและเพิ่มความสามารถของแอนติบอดี (antibody)

มหาวิทยาลัยเมซซาชูเซตในประเทศสหรัฐอเมริกาได้ทดลองใช้สารสกัดจากเห็ดสายพันธ์ *Grifola frondosa* (เห็ดไมตาเกะ) รักษาโรคมะเร็งปากมดลูกและโรคลูคีเมีย (Mushroom and Health. 1998) มีเห็ดหลายชนิดที่ใช้ในการรักษาโรคชนิดต่าง ๆ ได้ แสดงดังตารางที่ 2

มาลี จีรวงศ์ศรี (2000) รายงานว่าสารพอลิแซคคาไรด์เช่น อินูลิน เป็นสาร ที่พืชเก็บไว้เป็นอาหารพบในพืชมากกว่า 36,000 ชนิด เช่น หัวชิโครี เห็ดหัวหอม หัวกระเทียม กัลวย อินูลินย่อยไม่ได้โดยน้ำย่อยในลำไส้ แต่สามารถย่อยได้โดยอาศัยจุลินทรีย์ใน ลำไส้ใหญ่ จากการย่อย อินูลินจะได้น้ำตาลฟรุกโตส ปี 1905 มีการแนะนำให้ผู้ป่วยเบาหวานบริโภคอินูลินและพบว่าปริมาณ อินูลิน 40-100 กรัม/วัน มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลในเลือดลดลง

ตามขนาดของโครงสร้างอินูลินมีค่า DP (Degree of Polymerization) ประมาณ 10 และตามโครงสร้างจะมีโอลิโกฟรุกโตส (oligofructose) ประกอบอยู่เป็นโครงสร้างกลุ่มย่อยในพืชต่างชนิดกันจะมีปริมาณอินูลิน และโอลิโกฟรุกโตสที่แตกต่างกัน ดังแสดงตามตารางที่ 3



ตารางที่ 2 แสดงสรรพคุณของเห็ดหลายชนิดที่ใช้ในการรักษาโรคชนิดต่าง ๆ

ตัวอย่างเห็ดและการรักษาโรค						
Mushroom / Uses	<i>Cordyceps sinensis</i>	<i>Lentinula edodes</i> Shiitake	<i>Ganoderma lucidum</i> Reishi	<i>Grifola frondosa</i> Maitake	<i>Tremella fuciformis</i> Silver - Ear	<i>Poria cocos</i> Hoelen
Anti-Viral	+	+	+			+
Anti-Tumor	+	+	+	+	+	+
Immune						
Enhancer	+	+	+	+	+	+
Anti -						
Inflammatory			+	+	+	
Blood Pressure	+	+	+		+	
Cardio -						
Vascular	+	+	+		+	
Lower						
Cholesterol	+	+	+		+	
Increase Libido	+	+				
Kidney Tonic	+		+			
Asthma /						
Bronchial	+		+		+	
Stress	+					
Reduction						
Diabetes				+	+	
Liver /						
Hepatitis	+	+	+	+	+	+
Chitin	+	+	+	+	+	+

\* แสดงความสามารถของเห็ดที่นำมาทำยารักษาโรคต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มา : Mushroom and Health (1998)

ตารางที่ 3 ปริมาณอินูลิน และโอลิโกฟรุคโตสในอาหารชนิดต่าง ๆ

อาหารชนิดต่าง ๆ	ปริมาณ Inulin (%)	ปริมาณ Oligofructose (%)
Onion (หัวหอม)	2 - 6	2 - 6
Jerusalem artichoke	16 - 20	16 - 20
Chicory (ชิโครี)	15 - 20	5 - 10
Asparagus (แอสปารากัส)	1 - 30	1 - 20
Leek (ต้นกะเทียม)	3 - 10	2 - 5
Garlic (กระเทียม)	9 - 16	3 - 6
Artichoke	3 - 10	< 1
Banana (กล้วย)	0.3 - 0.7	0.3 - 0.7
Wheat (ข้าวสาลี)	1 - 4	1 - 4
Rye (ข้าวไรย์)	0.5 - 1	0.5 - 1
Barley (ข้าวบาเลย์)	0.5 - 1.5	0.5 - 1.5
Dandelion	12 - 15	NA
Burdock	3.5 - 4	NA

ที่มา : มาลี จีรวงศ์ศรี (2000)

อินูลินและโอลิโกฟรุคโตสจัดเป็นพรีไบโอติก (prebiotic) เป็นส่วนประกอบของอาหารที่ไม่ย่อยและดูดซึมในระบบทางเดินอาหารตอนบนและสามารถเพิ่มปริมาณแบคทีเรียชนิดเฉพาะเจาะจงที่มีอยู่ตามปกติในลำไส้ใหญ่ เช่น Bifidobacteria และ Lactobacilli ส่งผลต่อสุขภาพมีการทดลองบริโภคอินูลินและโอลิโกฟรุคโตส 5-20 กรัม/วัน เป็นเวลา 15 วัน สามารถเพิ่มปริมาณแบคทีเรียชนิด Bifidobacteria และ Lactobacilli ในลำไส้ได้ (มาลี จีรวงศ์ศรี. 2000) ในกรณีที่มีการรับประทานอินูลิน และโอลิโกฟรุคโตสในปริมาณที่มากกว่า 30 กรัม/วัน จะมีอาการท้องอืด มีแก๊สในกระเพาะมาก แต่อย่างไรก็ตามปริมาณของอินูลิน และโอลิโกฟรุคโตสให้ผลแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาวะของแต่ละบุคคลอินูลินและโอลิโกฟรุคโตสยังมีผลช่วยในการดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียมของร่างกาย (มาลี จีรวงศ์ศรี. 2000) จากคุณสมบัติที่อินูลิน และโอลิโกฟรุคโตสละลายน้ำได้และมีความคงตัวที่อุณหภูมิสูง ไม่มีผลข้างเคียงกับระบบประสาทสัมผัสรสชาติหวานเล็กน้อย จึงมีการพัฒนานำไปใช้ในทางอุตสาหกรรมอาหารในลักษณะต่าง ๆ เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 1) สารทดแทนไขมันในครีม สลัดครีม มูส (Mousses) เนยแข็ง ไอศกรีม
- 2) สารทดแทนน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ช็อกโกแลต
- 3) เพิ่มใยอาหารในผลิตภัณฑ์นม เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์ขนมอบ
- 4) ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

Okamura et al. (2001) ทำการศึกษาพบว่าเห็ดบางชนิดสามารถผลิตแอลกอฮอล์และสามารถนำมาใช้ในการหมักไวน์แทนการใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ซึ่งในการทดลองใช้เห็ด 3 สายพันธุ์คือ *Pleurotus ostreatus* *Agaricus blazei* และ *Flammulina velutipes* ซึ่งเป็นเห็ดที่รับประทานได้และยังอุดมไปด้วยไฟเบอร์ โปรตีน และวิตามินหลายชนิด เช่น thiamine riboflavin และมีคุณสมบัติป้องกันโรคมะเร็งและเลือดจับตัวเป็นลิ่ม ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตจากเห็ดสายพันธุ์ *Pleurotus ostreatus* จะมีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 12.2 ความเข้มข้น 2.6 โมลาร์ ถือว่าเป็นปริมาณที่มากกว่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตจากเห็ดสายพันธุ์ *Agaricus blazei* จะมีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 8 ความเข้มข้น 1.7 โมลาร์ มีปริมาณแอลกอฮอล์ที่ค่อนข้างน้อย ไวน์ที่ได้จาก *Agaricus blazei* จะมีปริมาณของ เบต้า-ดี-กลูแคน ( $\beta$ -D-glucan) ร้อยละ 0.68 ซึ่ง  $\beta$ -D-glucan มีคุณสมบัติป้องกันการเกิดมะเร็งได้ ส่วนแอลกอฮอล์ที่ผลิตจากเห็ดสายพันธุ์ *Flammulina velutipes* สามารถป้องกันการจับตัวของเลือดช่วยให้มีการยืดระยะเวลาการเกาะตัวเป็นก้อนของเลือดได้มากกว่าไวน์ธรรมดาทั่วไปถึง 2.2 เท่า ดังนั้นไวน์ที่ผลิตจากเห็ดสามารถที่จะนำมาใช้เป็นอาหารของคนที่ต้องการการดูแลเรื่องของสุขภาพเพราะสามารถป้องกันการเกิดโรคมะเร็งและโรคเส้นเลือดอุดตัน

อิสรา เจียนิวัดต์ และเอกชนก เทียนทอง (2546) นำเส้นใยเห็ดนางฟ้ามาเลี้ยงในอาหารเหลว PDB ที่ผสม Malt Extract ร้อยละ 10 แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน นำสารละลายออกมาวัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง Ebulliometer พบว่ามีปริมาณ แอลกอฮอล์ร้อยละ 2 เส้นใยเห็ดนางฟ้าที่เลี้ยงในสารละลาย Malt Extract ร้อยละ 10 และเส้นใยเห็ดนางฟ้าที่เลี้ยงในน้ำกลั่นวัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 0

ด้วยเหตุนี้จึงมีการผลิตไวน์จากเห็ด คาดว่าจะเป็นเครื่องดื่มอีกชนิดหนึ่งที่สามารถป้องกันโรคมะเร็งได้ดีเหมือนกับเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพชนิดอื่น ๆ ได้

## วิธีดำเนินการ

### 1. เห็ดที่ใช้ในการศึกษา

การทดลอง ใช้เห็ด 4 สายพันธุ์คือ เห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) เห็ดตีนแรด (*Tricholoma crassum*) และเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดบนอาหารวุ้น

นำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเส้นใยเห็ดเจริญเติบโตจากขวดหัวเชื้อด้วยเทคนิคปลอดเชื้อลงบนจานอาหาร PDA (ภาคผนวก) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน เพื่อให้เส้นใยเจริญเติบโตฟูเต็ม จานเพาะเชื้อ

## 3. การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดในอาหารเหลวเพื่อเตรียมสารสกัดเซลล์เห็ด (Okamura et al. 2000)

นำเส้นใยเห็ดที่เพาะเลี้ยงในข้อ 2 มาเจาะบริเวณปลายโคโลนีโดยใช้คอร์ก บอยเลอร์เบอร์ 3 ที่ฆ่าเชื้อแล้ว นำชิ้นวุ้นจำนวน 6 ชิ้นเลี้ยงในอาหารเหลว PDB ผสม Malt Extract ร้อยละ 2 ปริมาตร 75 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีให้ชิ้นวุ้นลอยอยู่บนผิวหน้าอาหารเหลว นำไปเพาะที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 8 11 14 17 และ 21 วัน

## 4. การเตรียมสารสกัดจากเส้นใยเห็ดที่เพาะเลี้ยง

ทำการเก็บเส้นใยเห็ดที่เพาะเลี้ยงในข้อ 3 ที่อายุ 5 8 11 14 17 และ 21 วัน ล้างเส้นใย 2 ครั้งด้วย น้ำเกลือปราศจากเชื้อเข้มข้นร้อยละ 0.85 (Saline Solution) ที่แช่เย็น 10 องศาเซลเซียสเทน้ำเกลือทิ้งแล้ว ใช้ปากคีบคีบแผ่นเส้นใยเห็ดวางลงบนกระดาษกรองฆ่าเชื้อ นำไปวางบนกรวยกรองลดความดัน ฉีดล้างเส้นใยเห็ดด้วยน้ำเกลือในกระบอกฉีด พร้อมทั้งเปิดเครื่องดูดอากาศใช้ปากคีบ คีบแผ่นเส้นใยเห็ดที่สะอาด น้ำ บนเส้นใยเห็ดในโถงที่แช่เย็นเต็มไนโตรเจนเหลวระหว่างบดเพื่อป้องกันเอนไซม์เสียสภาพจากความ ร้อน ใช้ข้อตักเศษเซลล์ที่ได้จากการบดเก็บลงใน eppendorf เติม Extraction Buffer (0.06 M Tris – HCl, พีเอช 6.8, กลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 10) 100 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อ นาทีเป็นเวลา 20 นาที ใช้ไมโครปิเปตดูดส่วนใสที่แยกออกจากเศษเซลล์ใส่ลงใน eppendorf อันใหม่แล้ว นำไปเก็บที่อุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียส

## 5. การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry (Lowry et al., 1951)

นำเซลล์สกัดของเห็ดแต่ละชนิดจากข้อ 4 มาหาปริมาณโปรตีนโดยใช้วิธีของ Lowry แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานสารละลาย BSA

## 6. วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสโดยวิธีทางเคมี (Okamura et al. 2000)

ทำโดยการใส่ Control Solution ปริมาณ 950 ไมโครลิตร ในคิวเวตขนาด 1 มิลลิลิตร เป็นคิวเวต ที่ 1 ใส่ Sample Solution ปริมาณ 950 ไมโครลิตร ในคิวเวตขนาด 1 มิลลิลิตรอันที่ 2 เติมสารสกัดเซลล์ เห็ดจากข้อ 4 ลงไปคิวเวตละ 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำคิวเวตที่ 1 ใส่ลงในเครื่องสเปกโตรโฟโต มิเตอร์ที่ตำแหน่ง blank และใส่คิวเวตที่ 2 ลงที่ตำแหน่ง sample วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ทุก ๆ 30 วินาทีติดต่อกันเป็นเวลา 5 นาที บันทึกค่าการดูดกลืนแสงของเห็ดแต่ละชนิดที่อายุ ต่าง ๆ นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 7. การเลี้ยงและเตรียมเส้นใยเห็ดเพื่อทำการหมัก

ให้นำเส้นใยเห็ดที่เพาะเลี้ยงในข้อ 2 มาเจาะบริเวณปลายโคโลนีโดยใช้คอร์กบอยเลอร์ เบอร์ 3 ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ใช้เข็มเขี่ยเชื้อลงไฟฆ่าเชื้อแล้วแทงขึ้นวันที่เจาะไว้ด้วยคอร์กบอยเลอร์จำนวน 5, 10, 15 ชิ้น เลี้ยงเชื้อเห็ดในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร โดยใช้อาหารในการเพาะเลี้ยง PDB ที่มีการเพิ่ม malt extract ลงไปด้วยที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 (พิเศษ 5.6) 200 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลา ตามระยะเวลาต่าง ๆ คือ เห็ดนางรมใช้เวลา 17 วัน เห็ดหลินจือใช้เวลา 21 วัน เห็ดนางฟ้าใช้เวลา 8 วัน เห็ดตีนแรดใช้เวลา 14 วัน ภายใต้สภาวะแบบมือออกซิเจนเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบ/นาที เก็บเกี่ยวเส้นใยเห็ดด้วยวิธีการกรอง แล้วล้างด้วยสารละลายน้ำเกลือที่แช่เย็น 2 ครั้ง

## 8. การวิเคราะห์หาเอนไซม์ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (พิณฑิพย์ รื่นวงษา. 2538)

นำสารสกัดเซลล์เห็ด 10 ไมโครลิตร ต่อการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส 1 ตัวอย่างโดยผสมการสกัดเซลล์เห็ดกับ Sample buffer 5 ไมโครลิตรก่อนใส่ในช่องบนเจล หยอดตัวอย่างลงบนเจลแต่ละช่อง ๆ ละ 1 ตัวอย่าง จำนวน 15 ไมโครลิตร ระวังอย่าให้ฟุ้งกระจายผ่านกระแสไฟฟ้า 70 มิลลิแอมแปร์ โดยควบคุมความต่างศักย์ที่ 100 โวลต์ และควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียสใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง รอจนตัวอย่างเคลื่อนที่มาจากขอบล่าง 1 เซนติเมตร จึงหยุดกระแสไฟฟ้าแล้วนำตัวอย่างออกจากอิเล็กโทรโฟรีซิส เดิมสี่ย้อมเอนไซม์

## 9. การย้อมสีเพื่อวิเคราะห์ Alcohol Dehydrogenase (ประเสริฐ วุฒิคัมภีร์. 2539)

เดิมสี่ย้อมให้ท่วมเจลตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงในที่มืด เมื่อเกิดแถบสีน้ำเงินแล้วเทสี่ย้อมทิ้งแล้วเติมสารละลาย Destrain ให้ท่วมเจลเพื่อล้างสีที่ส่วนเกินออกตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วเท Destrain ออกทำซ้ำอีก 2 ครั้งโดยครั้งสุดท้ายไม่ต้องเท Destrain ออก ทิ้งไว้ข้ามคืนจึงเท Destrain ทิ้ง จากนั้นเติม Glycerol ความเข้มข้นร้อยละ 10 แช่ไว้เป็นเวลา 30 นาทีและนำกระดาษแก้วแช่ใน Glycerol ความเข้มข้นร้อยละ 10 นาน 10 นาที นำเจลมาห่อด้วยกระดาษแก้วรัดเอาฟองอากาศออกให้หมด ซึ่งไว้กับกระจกให้ตั้งโดยใช้คิรปหนีบขอบไว้ทิ้งไว้จนเจลแห้ง

## 10. การวิเคราะห์หาเอนไซม์ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไซเดียมโดดีซิลซัลเฟตโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (ชนิษฐา พรเจริญโรจน์. 2543)

โดยการทำให้เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสชนิดไซเดียมโดดีซิลซัลเฟต โพลีอะคริลาไมด์เจลเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน (SDS-PAGE Low Molecular Weight Calibration Kit) ของบริษัท Amercham Biosciences ซึ่งมีช่วงน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนคือ 14,400 ถึง 97,000 ดาลตัน ประกอบด้วยโปรตีน 6 ชนิด คือ แอลฟา-แลคตอลบูมิน ( $\alpha$  - Lactalbumin), ทริปซิน อินฮิบิเตอร์ (Trypsin Inhibitor), คาร์บอนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอนไฮเดรส (Carbonic Anhydrase), โอวอลบูมิน (Ovalbumin), โบวีนซีรัมอัลบูมิน (Bovin Serum albumin) และฟอสโฟไรเลส บี (phosphorylase) น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 14,400 20,100 30,000 45,000 66,000 97,000 ดาลตัน ตามลำดับ

#### 11. การผลิตไวน์ (วันชัย สุทธิบุญ. 2541)

เตรียมองุ่นเพื่อทำไวน์องุ่น โดยล้างองุ่นและเด็ดองุ่นออกจากขั้ว คั้นเอาน้ำองุ่นออกมาให้ได้มากที่สุดให้ได้ปริมาณ 4,000 มิลลิลิตร แล้วต้มให้เดือดเติมน้ำตาลปรับความหวานเท่ากับ 11 องศาบริกซ์ ปรับค่าพีเอชเท่ากับ 5.8 ด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ต้มจนเดือดเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เติมแอมโมเนียมซัลเฟต ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (1 กรัมต่อน้ำองุ่น 1 ลิตร) เติมเส้นใยของเห็ดที่เตรียมได้จากข้อ 2 ลงไป 5 10 15 เพลเลท ต่อน้ำผลไม้ 30 มิลลิลิตร แล้วหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน ตูดไวน์ส่วนที่ใสมาทำการพาสเจอร์ไรส์ที่ 65 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที บรรจุไวน์ในขวดปิดฝาให้แน่น

#### 12. การหาปริมาณแอลกอฮอล์ (A.O.A.C. 1990)

ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในชุดหลอดกลั่น เติมน้ำกลั่นลงไปจำนวนหนึ่งกลั่นจนสารละลายในขวดรองรับที่ใส่สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตไว้ 25 มิลลิลิตร จนได้ปริมาตรในขวดรองรับ 40 มิลลิลิตร ใส่น้ำกลั่นล้างปลายหลอดควบแน่นลงขวดรองรับแล้วนำไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ถ่ายสารละลายทั้งหมดลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร หยดสารละลาย 1, 10 – พีแวนโทโรลีนเฟอร์รัสซัลเฟต 7-10 หยด จากนั้นไทเทรตด้วยสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต จนได้จุดยุติเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเขียวเป็นเขียวเทาหรือสีน้ำตาล การทำแบลงก์ทำเช่นเดียวกับวิธีการข้างต้นแต่ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง

#### 13. การหาปริมาณโพลีแซคคาไรด์โดยวิธี Anthrone test (สิริลักษณ์ ชัยจำรัส. 2536)

เตรียมสารละลายแอนโทรนโดยชั่งสารแอนโทรน 0.2 กรัม ละลายในกรดซัลฟูริกเข้มข้น 100 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที จึงนำมาใช้ทดสอบหาปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์โดยผสมสารละลายที่ต้องการทดสอบ 0.5 มิลลิลิตร ให้เข้ากันดีกับสารละลายแอนโทรน 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เวลานาน 3-5 นาที สีของสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเงิน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 625 นาโนเมตร ชุดควบคุมคือน้ำองุ่นที่ยังไม่ได้เติมเส้นใยเห็ด

#### 14. การหาปริมาณสารอินูลิน

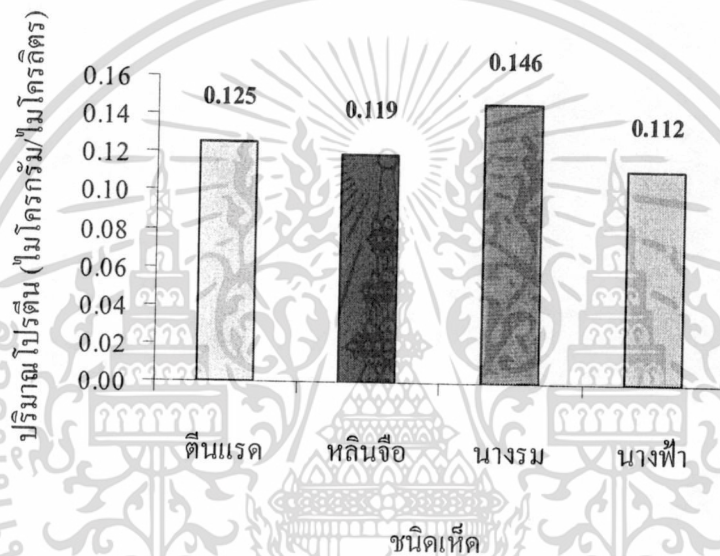
วิเคราะห์ด้วยวิธี High-Performance Liquid Chromatography โดยศูนย์ทดสอบและมาตรฐานวิทยาศาสตร์สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ผลการทดลอง

### ผลของการหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry

นำเซลล์สกัดของเห็ดแต่ละชนิด (เห็ดนางรม เห็ดหลินจือ เห็ดตีนแรด และเห็ดนางฟ้า) มาทำการหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีของ Lowry (Lowry et al., 1951) พบว่า เห็ดนางรมมีปริมาณโปรตีนมากที่สุด คือ 0.146 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร รองลงมา คือ เห็ดตีนแรด 0.125 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ส่วนเห็ดหลินจือ และเห็ดนางฟ้ามีปริมาณโปรตีน 0.119 และ 0.112 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตรตามลำดับ ดังรูปที่ 1



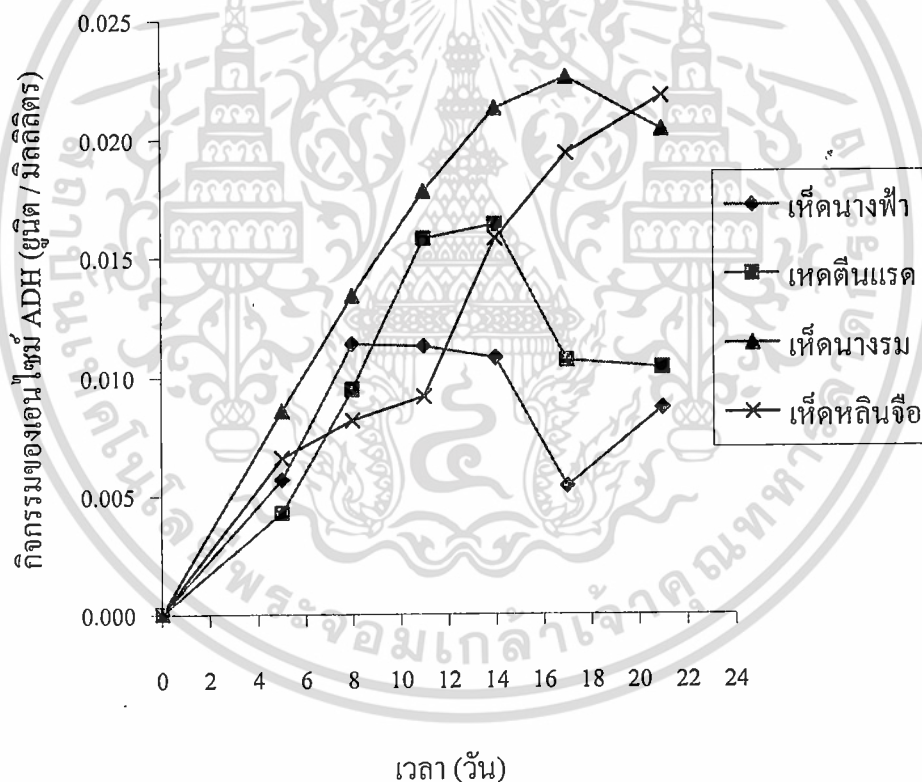
รูปที่ 1 แสดงปริมาณโปรตีนที่วัดโดยนำเซลล์สกัดของเห็ดแต่ละชนิดมาหาปริมาณโปรตีนโดยใช้วิธีของ Lowry แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตรเทียบกับกราฟมาตรฐานสารละลาย BSA

### ผลการวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์ ADH ด้วยวิธีการทางเคมี

เมื่อเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดบนอาหารเหลว PDB ที่ผสม Malt Extract ร้อยละ 2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน และนำสารสกัดเซลล์เห็ดที่ได้มาวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์ ADH ด้วยวิธีการทางเคมี พบว่าเห็ดชนิดต่าง ๆ มีกิจกรรมของเอนไซม์แตกต่างกันดังนี้ เห็ดนางรมมีกิจกรรมของเอนไซม์ ADH สูงที่สุดวันที่ 17 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ 0.0226 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เห็ดหลินจือมีกิจกรรมของเอนไซม์ ADH สูงที่สุดวันที่ 21 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ 0.0218 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เห็ดนางฟ้ามีกิจกรรมของเอนไซม์ ADH สูงที่สุดวันที่ 8 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ 0.0114 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เห็ดตีนแรดมีกิจกรรมของเอนไซม์ ADH สูงที่สุดวันที่ 14 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ 0.0164 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Okamura *et al.* (2001) ที่ทำการวิเคราะห์หา กิจกรรมของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (ADH) โดยใช้วิธีการทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานซึ่งสารผสมที่ใช้ประกอบด้วย เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 200 ไมโครโมล NAD + ความเข้มข้น 1 ไมโครโมล Tris - HCl buffer พีเอช 7.5 ความเข้มข้น 200 ไมโครโมล เซลล์สกัดของเห็ด 4 ชนิด คือ *Agaricus blazei* *Flammulina velutipes* *Pleurotus ostreatus* และ *Tricholoma matsutake* ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใน ส่วนผสมที่ใช้เป็นแบลงค์จะใช้น้ำกลั่นแทนการเติมสารตั้งต้น บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในคิวเวท ขนาด 1 เซนติเมตร วัดค่าการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ซึ่งผลการทดลองจะได้กิจกรรมของเอนไซม์ออกมา คือ เห็ดสายพันธ์ *Agaricus blazei* *Flammulina velutipes* *Pleurotus ostreatus* และ *Tricholoma matsutake* ได้กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ออกมาเป็นยูนิตต่อ มิลลิกรัมของโปรตีน คือ 98.0 15.6 4.6 และ 2.5 ตามลำดับ



รูปที่ 2 แสดงค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Alcohol dehydrogenase โดยแสดงออกมาในหน่วยของ ยูนิตต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



### ผลการวิเคราะห์หาเอนไซม์ ADH ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟเรซิสแบบโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟเรซิส

เมื่อนำสารสกัดเซลล์เห็ดชนิดต่าง ๆ ตามวันที่ได้ทำการทดลองหากิจกรรมของเอนไซม์ ADH มาวิเคราะห์หาเอนไซม์คือ เห็ดนางรมใช้สารสกัดของวันที่ 17 เห็ดหลินจือใช้สารสกัดของวันที่ 21 เห็ดนางฟ้าใช้สารสกัดของวันที่ 8 เห็ดตีนแรดใช้สารสกัดของวันที่ 14 ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟเรซิสที่ 100 โวลต์ 70 มิลลิแอมแปร์ แล้วนำเจลที่ได้ไปทำปฏิกิริยากับสารละลายที่ประกอบด้วย NAD ความเข้มข้นร้อยละ 1 PMS ความเข้มข้นร้อยละ 1 NBT ความเข้มข้นร้อยละ 1 MTT ความเข้มข้นร้อยละ 1 เททธานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95  $MgCl_2$  0.5 โมล พบว่าเห็ดทุกชนิดมีแถบสีน้ำเงินของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส ดังรูปที่ 3 และ 4

จากการทดลองของ Okamura et al. (2001) ทำการวิเคราะห์เอนไซม์ ADH โดยใช้วิธีเจลอิเล็กโทรโฟเรซิส ชนิดพอลิอะคริลาไมด์เจลร้อยละ 7.5 (Polyacrylamide gel 7.5 %) ใช้เอนไซม์ 2 ไมโครกรัมกระแสไฟฟ้า 2.5 มิลลิแอมแปร์ แล้วย้อมดูกิจกรรมของเอนไซม์ ADH ในสารละลายประกอบด้วย Tris-HCl buffer พีเอช 7.5 ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ NAD + ความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ Phenazine methosalphate (PMS) ความเข้มข้น 0.4 มิลลิโมลาร์ Nitroblue tetrazolium (NBT) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ผลการทดลองเมื่อวิเคราะห์อิเล็กโทรโฟเรซิส (Polyacrylamide gel electrophoresis ; PAGE) ของเอนไซม์ ADH ที่มีการย้อมสีดูกิจกรรมของเอนไซม์จะแสดงลักษณะแถบสีน้ำเงินของแถบเอนไซม์ ADH ของเห็ดสายพันธุ์ *P. ostreatus*



รูปที่ 3 แสดงแถบสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นจากการทำเจลอิเล็กโทรโฟเรซิสและย้อมสีเอนไซม์ โดยช่องที่ 1 และ 2 เป็นเห็ดตีนแรด ช่องที่ 4 และ 5 เป็นเห็ดนางรม ช่องที่ 6 และ 7 เป็นเห็ดหลินจือ ช่องที่ 8 และ 9 เป็นเห็ดนางฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ผลการวิเคราะห์หามวลโมเลกุลของเอนไซม์ ADH ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไซเดียมโดดีซิล ซัลเฟตโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

เมื่อนำสารสกัดเซลล์เห็ดมาหาขนาดมวลโมเลกุลของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสโดยใช้สารสกัดเซลล์เห็ดที่อายุต่าง ๆ กันคือ เห็ดนางรมใช้สารสกัดของวันที่ 17 เห็ดหลินจือใช้สารสกัดของวันที่ 21 เห็ดนางฟ้าใช้สารสกัดของวันที่ 8 เห็ดตีนแรดใช้สารสกัดของวันที่ 14 มาหามวลโมเลกุลของเอนไซม์ ADH ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไซเดียมโดดีซิลซัลเฟตโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสผ่านกระแสไฟฟ้าที่ 70 มิลลิแอมแปร์ ความต่างศักย์ 100 โวลต์ โดยใช้ชุดทดสอบ LMW marker kit เป็น marker แล้วนำเจลที่ได้แช่ในสีย้อมโปรตีน พบว่าจะเกิดแถบสีน้ำเงินเกิดขึ้นเป็นช่วง ๆ แสดงถึงมวลโมเลกุลของโปรตีนของเห็ดแต่ละชนิด คือ เห็ดนางรมจะมีมวลโมเลกุลของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสอยู่ในช่วงประมาณ 50 กิโลดาลตัน เห็ดนางฟ้ามีมวลโมเลกุลของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสอยู่ในช่วงประมาณ 47 กิโลดาลตัน เห็ดตีนแรดมีมวลโมเลกุลของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสอยู่ในช่วงประมาณ 44 กิโลดาลตัน เห็ดหลินจือมีมวลโมเลกุลของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสอยู่ในช่วงประมาณ 37 กิโลดาลตัน ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 แสดงแถบสีที่เกิดขึ้นจากการทำเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสและย้อมสีโปรตีนช่องที่ 1, 10 Marker 2, 3 เห็ดนางรม 4,5 เห็ดนางฟ้า 6,7 เห็ดตีนแรด 8,9 เห็ดหลินจือ

จากการวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ ADH โดยวิธีของ Okamura et al. (2001) ด้วยวิธีการกรองผ่านเจล (gel filtration) ในคอลัมน์ TSK gel G3000 SW ขนาด 0.75 x 30 เซนติเมตรอัตราการไหล 700 ไมโครลิตรต่อนาที สภาพที่ใช้คือ เบต้า-เมอแคปโตเอทานอล (- mercaptoethanol) ร้อยละ 0.01 เป็นเฟสเคลื่อนที่และกรีเซอรอล (glycerol) ร้อยละ 10 เป็นเฟสหยุดนิ่ง จากนั้นเปรียบเทียบกราฟกับโปรตีนมาตรฐาน 5 ชนิดที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลแน่นอนคือกลูตาเมตดีไฮโดรจีเนส (glutamate dehydrogenase) 290 กิโลดาลตัน แลคเตตดีไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase) 142 กิโลดาลตัน อีโนเลส (enolase) 67 กิโลดาลตัน อะดีนิลเลทไคเนส (adenylate kinase) 32 กิโลดาลตันและ ไซโตโครมซี (cytochrome c) 12.4 กิโลดาลตัน ได้ค่าน้ำหนักโมเลกุลของเห็ดสายพันธุ์ *Agaricus blazei* *Flammulina velutipes* *Pleurotus ostreatus* และ *Tricholoma matsutake* เป็น 59 90 70 และ 30 กิโลดาลตัน ตามลำดับ

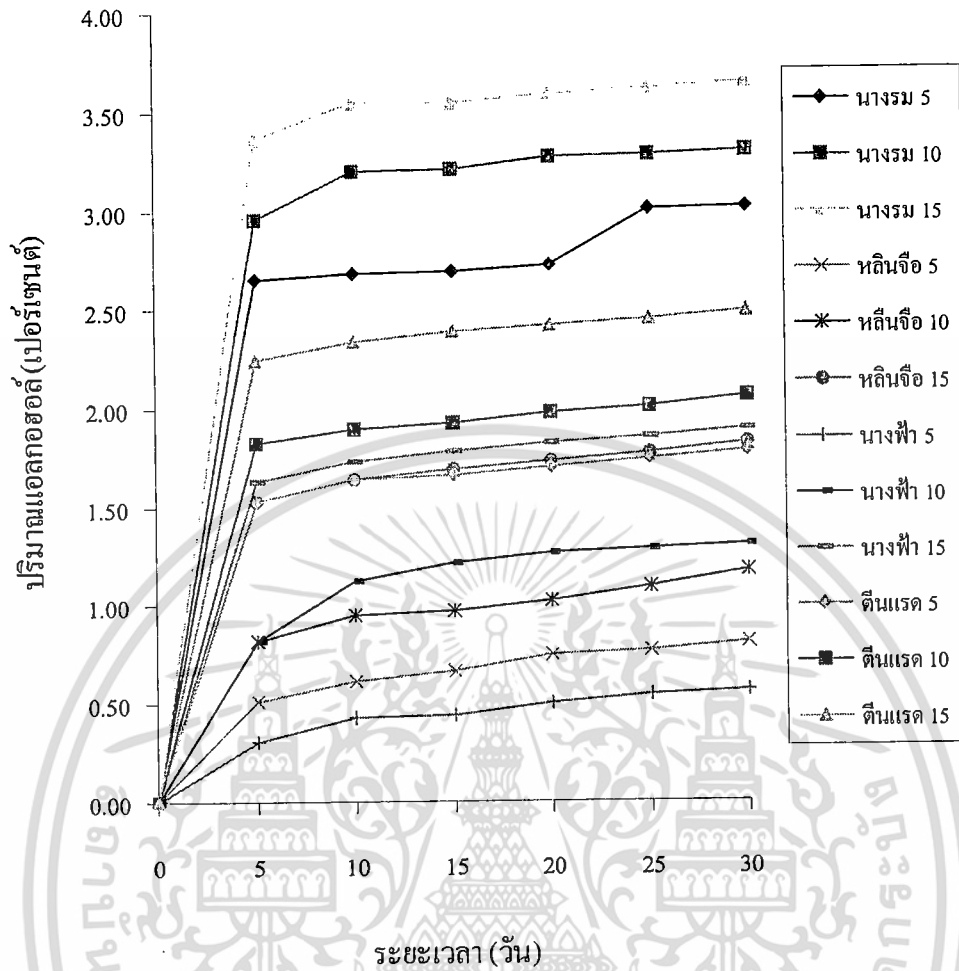
### ผลของปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการใช้เส้นใยของเห็ดหมัก

หลังจากที่ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดให้เป็นลักษณะก้อนใยเห็ด ตามอายุเส้นใยต่าง ๆ กันคือ เห็ดนางรมใช้เส้นใยของวันที่ 17 เห็ดหลินจือใช้เส้นใยของวันที่ 21 เห็ดนางฟ้าใช้เส้นใยของวันที่ 8 เห็ดตีนแรดใช้เส้นใยของวันที่ 14 แล้วนำไปหมักในน้ำผลไม้โดยทำการเปรียบเทียบปริมาณเส้นใยเห็ดที่เติมลงไป 5 10 15 เพลตต่อน้ำผลไม้ 30 มิลลิลิตร แล้วหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นดูไวน์ส่วนที่ใสมาทำการพาสเจอร์ไรส์ที่ 65 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาทีบรรจุไวน์ในขวดปิดฝาให้แน่น แล้วทำการหาปริมาณแอลกอฮอล์พบว่าเห็ดนางรมที่ใช้เส้นใย 15 เพลตให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดในวันที่ 30 ของการหมักคือ 3.65 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเห็ดที่ให้ปริมาณแอลกอฮอล์น้อยที่สุดคือเห็ดนางฟ้าที่ใช้ปริมาณเส้นใย 5 เพลตให้ปริมาณแอลกอฮอล์ 0.031 เปอร์เซ็นต์ ดังรูปที่ 5

Okamura et al. (2002) ทำการทดลองหมักเบียร์จากเส้นใยเห็ดสายพันธุ์ *Agaricus blazei* *Flammulina velutipes* *Pleurotus ostreatus* และ *Tricholoma matsutake* พบว่าความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในเบียร์สูงสุดได้จากเบียร์ที่ผลิตได้จากเส้นใยเห็ดสายพันธุ์ *Tricholoma matsutake* มีปริมาณร้อยละ 4.6 มีความเข้มข้น 1069 มิลลิโมลาร์ ส่วนใน *Flammulina velutipes* มีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ต่ำสุดมีปริมาณร้อยละ 3.0 มีความเข้มข้น 651 มิลลิโมลาร์ กลิ่นรสของเบียร์ที่ผลิตได้จากเส้นใยเห็ดสายพันธุ์ *Tricholoma matsutake* มีกลิ่นคล้ายเส้นใยเห็ด *Tricholoma matsutake*

ในการทดลองหมักสาเก Okamura et al. (2002) พบว่าความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในสาเกสูงสุดได้จากสาเกที่ผลิตจากเส้นใยเห็ดสายพันธุ์ *Agaricus blazei* มีปริมาณร้อยละ 8.0 มีความเข้มข้น 1736 มิลลิโมลาร์ ส่วนในสาเกที่ผลิตจากเส้นใยเห็ดสายพันธุ์ *Tricholoma matsutake* มีปริมาณร้อยละ 3.0 มีความเข้มข้น 651 มิลลิโมลาร์ และสาเกที่ผลิตจากเส้นใยเห็ดสายพันธุ์ *Flammulina velutipes* มีความเข้มข้นแอลกอฮอล์ต่ำสุด มีปริมาณร้อยละ 2.9 มีความเข้มข้น 629 มิลลิโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



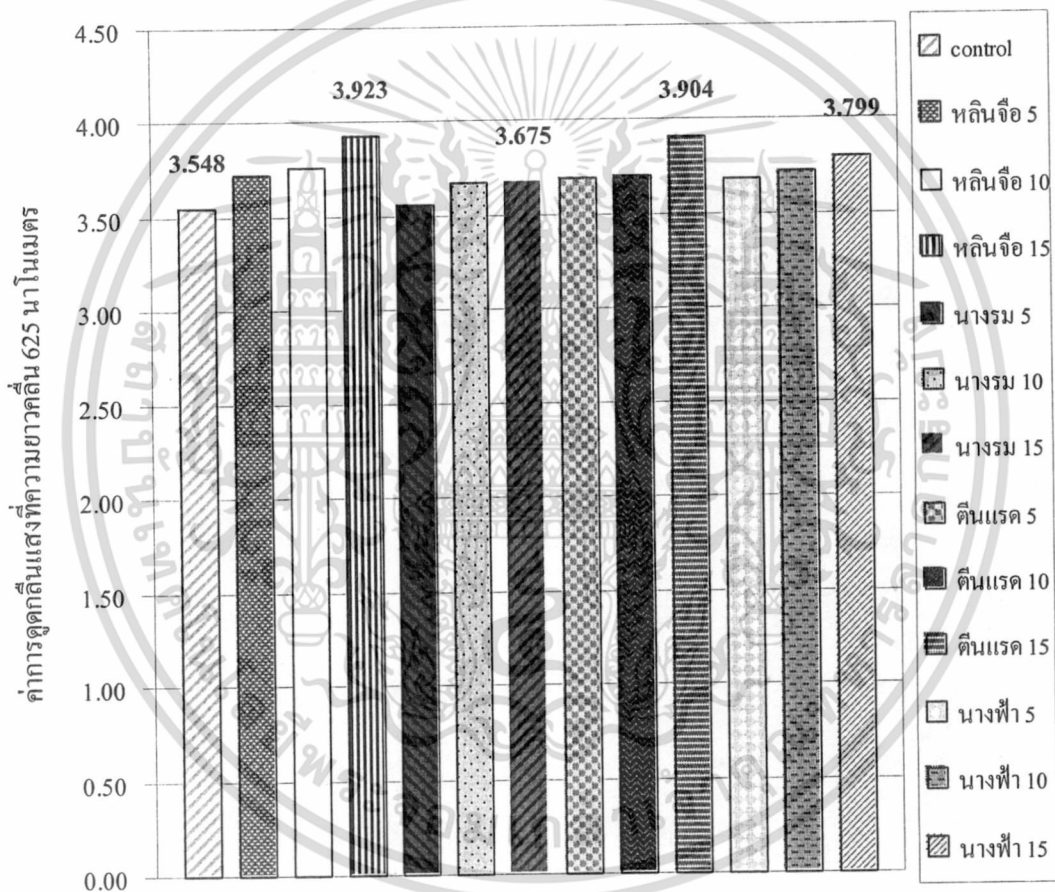
รูปที่ 5 แสดงปริมาณแอลกอฮอล์ที่ในไวน์ที่ได้จากการใช้เส้นใยเห็ดปริมาณต่าง ๆ การหมักเป็นเวลา 30 วัน

**ผลการหาปริมาณพอลิแซคคาไรด์ในน้ำไวน์ที่ผ่านการหมักด้วยเส้นใยเห็ด**

ปริมาณพอลิแซคคาไรด์ในน้ำไวน์ที่ผ่านการหมักด้วยเส้นใยเห็ดจนครบ 30 วันแล้วนำมาวิเคราะห์โดยใช้วิธี Antrone test พบว่าเห็ดทั้ง 4 ชนิดมีปริมาณสารพอลิแซคคาไรด์ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน ไวน์ที่ได้จากการใช้เส้นใยของเห็ดหลินจือหมักมีปริมาณสารพอลิแซคคาไรด์มากที่สุดโดยได้ค่าการดูดกลืนแสง 3.923 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร รองลงมาคือไวน์จากเส้นใยของเห็ดดินแรดที่ได้ค่าการดูดกลืนแสง 3.904 เห็ดนางฟ้าได้ค่าการดูดกลืนแสง 3.799 และเห็ดนางรมตามลำดับได้ค่าการดูดกลืนแสง 3.675 ส่วนชุดควบคุมได้ผลของค่าการดูดกลืนแสงที่ 3.548 ดังรูปที่ 6

### ผลการหาปริมาณสารอินูลินในน้ำไวน์ที่ผ่านการหมักด้วยเส้นใยเห็ด

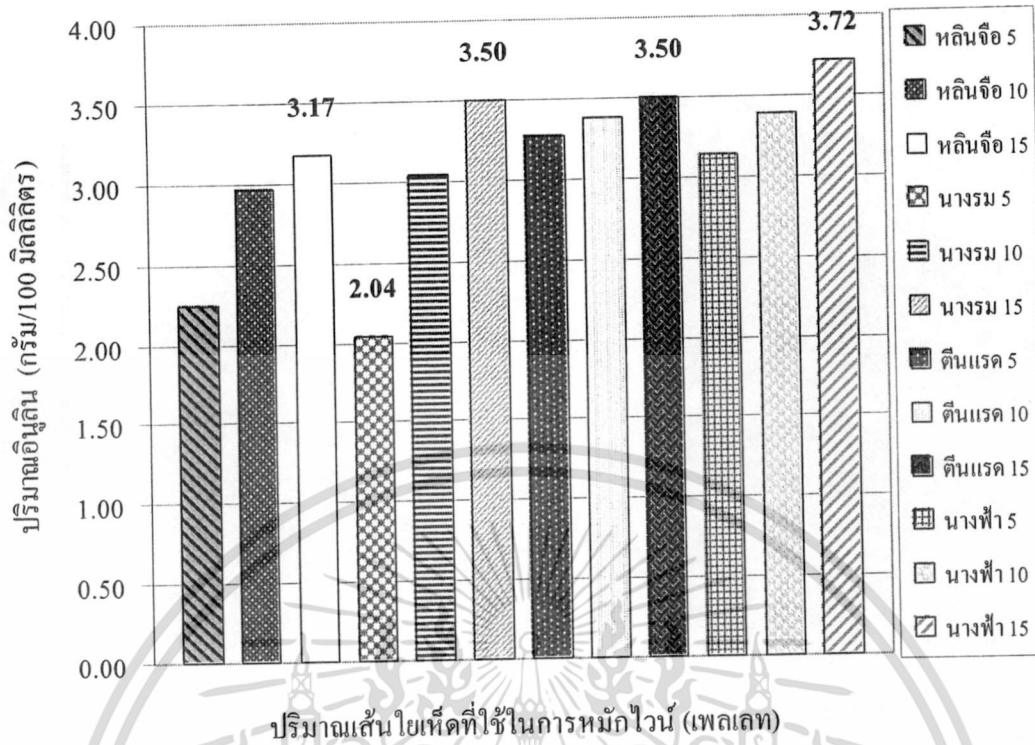
ปริมาณสารอินูลินในน้ำไวน์ที่ได้จากการหมักด้วยเส้นใยเมื่อครบ 30 วันแล้วนำมาวิเคราะห์หัดด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography โดยศูนย์ทดสอบและมาตรวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.) จะได้ว่า ไวน์ที่หมักด้วยเส้นใยของเห็ดนางฟ้า 15 เพลทเลตต่อน้ำผลไม้ 30 มิลลิลิตร ให้ปริมาณอินูลินสูงที่สุดคือ 37.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไวน์ที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางรมที่ปริมาณ 5 เพลทเลตต่อน้ำผลไม้ 30 มิลลิลิตร ให้ปริมาณอินูลิน 20.4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดังรูปที่ 7



ปริมาณเส้นใยเห็ดที่ใช้ในการหมักไวน์ (เพลทเลต)

รูปที่ 6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของไวน์ที่ได้จากการใช้เส้นใยเห็ดในการหมักเพื่อทำการค่าปริมาณสารพอลิแซคคาไรด์ ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร ที่ปริมาณเส้นใยต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 แสดงผลการวิเคราะห์สารพอลิแซคคาไรด์ชนิดอินูลินในไวน์ที่ใช้เส้นใยเห็ดในการหมักที่ปริมาณเส้นใยต่างๆ

### สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการเลี้ยงเส้นใยเห็ดบนอาหารเหลว PDB ที่ผสม Malt Extract ร้อยละ 2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และนำสารสกัดเซลล์เห็ดที่ได้มาวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์ ADH ด้วยวิธีทางเคมี พบว่าเห็ดชนิดต่าง ๆ มีกิจกรรมของเอนไซม์แตกต่างกันดังนี้ เห็ดนางรมมีกิจกรรมของเอนไซม์ ADH สูงที่สุดวันที่ 17 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ 0.0226 หน่วยต่อมิลลิลิตร เห็ดหลินจือมีกิจกรรมของเอนไซม์ ADH สูงที่สุดวันที่ 21 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ 0.0218 หน่วยต่อมิลลิลิตร เห็ดนางฟ้ามีกิจกรรมของเอนไซม์ ADH สูงที่สุดวันที่ 8 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ 0.0114 หน่วยต่อมิลลิลิตร เห็ดตีนแรดมีกิจกรรมของเอนไซม์ ADH สูงที่สุดวันที่ 14 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ 0.0164 หน่วยต่อมิลลิลิตร

จากการวิเคราะห์หาเอนไซม์ Alcohol dehydrogenase (ADH) ด้วยวิธีโพลีอะคริลาไมด์ เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสพบว่า เมื่อนำสารสกัดเซลล์เห็ดชนิดต่าง ๆ ตามวันที่ได้ทำการทดลองหากิจกรรมของเอนไซม์ ADH มาวิเคราะห์หาเอนไซม์มาวิเคราะห์ที่ 100 โวลต์ 70 มิลลิแอมแปร์ แล้วนำเจลที่ได้ไปทำปฏิกิริยากับสารละลายที่ประกอบด้วย NAD เข้มข้นร้อยละ 1 PMS เข้มข้นร้อยละ 1 NBT เข้มข้นร้อยละ 1 MIT ความเข้มข้นร้อยละ 1 เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95  $MgCl_2$  0.5 โมล พบว่าเห็ดทั้งสี่ชนิดคือ เห็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดหลินจือ และเห็ดตีนแรด มีแถบสีน้ำเงินของเอนไซม์ Alcohol dehydrogenase (ADH)

ผลการศึกษานหาขนาดมวลโมเลกุลของเอนไซม์ ADH โดยใช้สารสกัดเซลล์เห็ดที่อายุต่างกันตามวันที่ได้ทำการทดลองหากิจกรรมของเอนไซม์ ADH มาวิเคราะห์หาเอนไซม์ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบโซเดียมโดดีลซัลเฟตโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสผ่านกระแสไฟฟ้าที่ 70 มิลลิแอมแปร์ ความต่างศักย์ 100 โวลต์ โดยใช้ LMW marker kit เป็น marker พบว่าจะเกิดแถบสีน้ำเงินเกิดขึ้นเป็นช่วง ๆ แสดงถึงมวลโมเลกุลของโปรตีนของเห็ดแต่ละชนิดคือ เห็ดนางรมจะมีมวลโมเลกุลของเอนไซม์ ADH อยู่ในช่วงประมาณ 50 กิโลดาลตัน เห็ดนางฟ้ามีมวลโมเลกุลของเอนไซม์ ADH อยู่ในช่วงประมาณ 47 กิโลดาลตัน เห็ดตีนแรดมีมวลโมเลกุลของเอนไซม์ ADH อยู่ในช่วงประมาณ 44 กิโลดาลตัน เห็ดหลินจือมีมวลโมเลกุลของเอนไซม์ ADH อยู่ในช่วงประมาณ 37 กิโลดาลตัน

จากการศึกษาหาปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากหมักไวน์ด้วยเส้นใยเห็ดทั้งสี่ชนิดเมื่อใช้เส้นใยเห็ดตามอายุต่าง ๆ กันตามวันที่ได้ทำการทดลองหากิจกรรมของเอนไซม์ ADH มาหมักในน้ำผลไม้โดยการเปรียบเทียบปริมาณเส้นใยเห็ดที่เติมลงไป 5 10 15 เพลตต่อผลไม้ 30 มิลลิลิตร หมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่าไวน์จากเห็ดนางรมที่ใช้เส้นใย 15 เพลตที่มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุดในวันที่ 30 ของการหมักคือ 3.65 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไวน์จากเห็ดที่มีให้ปริมาณแอลกอฮอล์น้อยที่สุดคือ เห็ดฟางที่ใช้ปริมาณเส้นใย 5 เพลตที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 0.031 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาหาปริมาณพอลิแซคคาไรด์ในน้ำไวน์ที่ผ่านการหมักด้วยเส้นใยเห็ดจนครบ 30 วัน แล้วนำมาวิเคราะห์โดยใช้วิธี Antrone test พบว่าไวน์ที่ได้จากการใช้เส้นใยของเห็ดหลินจือหมักมีปริมาณสารพอลิแซคคาไรด์มากที่สุด โดยได้ค่าการดูดกลืนแสง 3.923 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร รองลงมาคือไวน์จากเส้นใยของเห็ดตีนแรดที่ได้ค่าการดูดกลืนแสง 3.904 เห็ดนางฟ้าได้ค่าการดูดกลืนแสง 3.799 และเห็ดนางรมได้ค่าดูดกลืนแสง 3.675 ตามลำดับ

จากการศึกษาหาปริมาณสารพอลิแซคคาไรด์ชนิดอินูลินในน้ำไวน์ที่ได้จากหมักด้วยเส้นใยเมื่อครบ 30 วันแล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography โดยศูนย์ทดสอบและมาตรฐานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.) พบว่าไวน์ที่หมักด้วยเส้นใยของเห็ดนางฟ้า 15 เพลตต่อผลไม้ 30 มิลลิลิตร ให้ปริมาณอินูลินมากที่สุดคือ 37.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไวน์ที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางรมที่ปริมาณ 5 เพลตต่อผลไม้ 30 มิลลิลิตร ให้ปริมาณอินูลินน้อยที่สุด 20.4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงสาธารณสุข. 2522. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522. กรุงเทพฯ : ม.ป.ท.
- กระทรวงสาธารณสุข. 2541. ฉลากโภชนาการ. กรุงเทพฯ : ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 182.
- กำเนิด สุภักด์วงษ์. 2532. จุลชีวอุตสาหกรรม. เชียงใหม่ : ภาคชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน้า 215 – 224.
- ขนิษฐา พรเจริญโรจน์. 2543. การปรับปรุงพันธุ์เห็ดนางฟ้าโดยการผสมพันธุ์. เชียงใหม่ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ชาญยุทธ์ ภาณุทัต, นงนุช แต่งทรัพย์ และสวัสดิ์ เชียงแข็ง. 2543. การศึกษาการเพาะเห็ดตีนแรดร่วมกับ การปลูกผัก. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2520. การเพาะเห็ดบางชนิดในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : อักษรสยามการพิมพ์.
- นวลพรรณ ณ ระนอง. 2540. ปฏิบัติการเอนไซม์. กรุงเทพฯ : ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ประดิษฐ์ ครุวัฒน์. 2544. "การผลิตไวน์จากพืชสมุนไพร" บทความวิชาการวารสาร Food อาหาร. ฉบับที่ 3 ปีที่ 31. กรุงเทพฯ : สถาบันคั้นคั่วและพัฒนามลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ประเสริฐ วุฒิคัมภีร์. 2539. การศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและ ผลผลิตของเห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้าภูฐานและเห็ดนางรมสีเทา. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ประเสริฐ สายสิทธิ์. 2518. การทำไวน์เป็นงานอดิเรก. กรุงเทพฯ : หจก. เสรีภัณฑ์.
- ปริญญา รัตนพิमान. 2535. การผลิตสารที่มีฤทธิ์ต่อต้านมะเร็งของเห็ดหมื่นปี (*Ganoderma lucidum*). กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปรีชา กลิ่นเกษร. 2530. "เห็ดสกุล *Ganoderma lucidum* ในประเทศไทย" บทความวิชาการประชุมวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 13. สงขลา : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
- ปัญญา โพธิ์ศิริรัตน์ และกิตติพงษ์ ศิริวานิชกุล. 2538. เทคโนโลยีการเพาะเห็ด. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ รั้วเขียว.
- พรทิพย์ ภูมิแก้ว. 2546. การศึกษาความแปรผันของลักษณะพันธุกรรมของเห็ดตีนแรดด้วยเทคนิคไอโซไซม์. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- พัชรา วีระกะลัส. 2541. เอนไซม์. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พนทวิ ภัคคีดินแดน. 2519. "การศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับการเพาะเห็ดตีนแรด". หน้า 35-43. วารสารเห็ด สยาม. กรุงเทพฯ : ม.ป.ท.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



พินทิพย์ รื่นวงษา. 2538. การแยกโปรตีนโดยวิธีการทำเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส. หน้า 4.1-4.12. กรุงเทพฯ : ม.ป.ท.

มาลี จีรวงศ์ศรี. 2000. Carbohydrate : Inulin, Oligofructose Ingredient ปี 2000. กรุงเทพฯ : บริษัท จาร์พาเทคเซ็นเตอร์ จำกัด.

ราชบัณฑิตยสถาน. 2539. เห็ดกินได้และเห็ดมีพิษในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.

วสันต์ เพชรรัตน์ และวิจัย รักริทยาศาสตร์. 2530. "การงอก basidiospore ของเห็ดตีนแรด". หน้า 14-29 วารสารโรคพืช. ฉบับที่ 7. กรุงเทพฯ : ม.ป.ท.

วันชัย สุทธิบุญ. 2541. เอกสารผลิตไวน์. กรุงเทพฯ : ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ศิริวรรณ สุทธิจิตต์ และไมตรี สุทธิจิตต์. 2546. "เห็ดสมุนไพรร : จากอดีต สู่ปัจจุบันและอนาคต" เอกสารอัดสำเนา. กรุงเทพฯ : ศูนย์รวมสวนเห็ดบ้านอรุณภูมิ.

สามารถ พรหมศิริ. 2539. การทำไวน์. กรุงเทพฯ : โครงการหนังสือเกษตรชุมชน.

สิริลักษณ์ ชัยจำรัส. 2536. การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนและลักษณะการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารโพลีแซคคาไรด์. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุทธพรรณ ดรีรัตน์, รศ.. 2533. "เห็ดหมื่นปี". หน้า 69-74. วารสารวิทยาศาสตร์. ฉบับ 42(2). กรุงเทพฯ : ม.ป.ท.

สุมาลี เหลืองสกุล. 2535. จุลชีววิทยาทางอาหาร. หน้า 203-206. กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์ มศว. ประสานมิตร.

อาภัสสรา ชมิดท์. 2538. เทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส. กรุงเทพฯ : คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์ร่วมเขียว.

อิสรา เจียนิวัตต์ และเอกชนก เพียนทอง. 2546. การวิเคราะห์หาเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสจากเห็ดที่กินได้. กรุงเทพฯ : โครงการพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อนงค์ จันทรศรีกุล. 2530. เห็ดเมืองไทย. กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.

A. Blandino, I. Caro, D. Cantero. 1997. "Comparative Study of Alcohol Dehydrogenase Activity in Flor Yeast Extracts". 651-654. Biotechnology Letters, 19(7). n. p.

A.O.A.C. 1990. "Office Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15<sup>th</sup> ed". The Association of Official Analytical Chemists. Virginia : Arlington,

Alexopoulos, C.J. 1962. Introductory Mycology, Tokyo : Toppen Printing Company..

Alexopoulos, C.J. & Mims, C.W. 1996. Introductory Mycology. 4<sup>th</sup> ed. New York : John Wiley & Sons.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Astrup, T. and Mullertz, S. 1952. "The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity" 346-351. Arch. Biochem. Biophys, 40.
- Ayres, C.J., Mundit, O.J., and Sandine, E.W. 1980. Microbiology of foods. 147-179. W.H. Freeman, San Francisco. n.p.
- Bakalinsky, T.A. and Penner, H.M. 1993. Encyclopediad of Food Science, Food Technology and Nutrition. 89-101. London. Macrae, R., robinson, K. R., and Sadler, J.M., academic Press,
- Chung, W.T., Lee, S.H., Kim, J.D., Park, Y.S., Hwang, B., Lee, S.Y. and Lee, H.Y. 2001. "Effect Of Mycelium Culture Broth of Ganoderma lucidum on the Growth Characteristics of Human Cell Lines"., 550-555. Journal of Bioscience and Bioengineering. Vol 92. No. 6.
- Davis, J.B., Disc electrophoresis-II ; 1964. "Method and application to human serum protein". 404-427. Ann. NY Acad. Sci. 121.
- Glenn R. Gibson, Carroline L. Wills and Ian Van Loo. 1994. "Non Digestible Oligosaccharide and Bifidobacteria Implications for Health". Int Sugar J. Vol. 96 No. 1150. n.p.
- Glenn R. Gibson & Marcel B. Robertfroid. 1995. "Critical reiew, Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota : Introducing the Concept of Prebiotics". 1401-1412. J. Nutr. 125.
- Hirasawa, R., Goto, I., Okamura, T., Horie, N., Kiyohara, T., and Ohusugi, M. 1997. "Screening Of fibrinolytic enzymes derived from basidiomycetes". 13-17. Mushroom Sci.and Biotech., 5.
- Kinnoshita, A. and Horie, N. 1993. "Inhibitory activity of green tea chatechins on thrombin". 417-422. Jpn. J. Thromb. Hemost., 4.
- Lin, J.M., Lin, C.C., Chen, M.F., Ujiie, T., and Takada, A. 1995. "Radical scavenger and antiheptotoxic activity of Ganoderma formosanum Ganoderma lucideum and Ganodermaneojaponicum". 33-41. Journal of Ethno-Phamacology. Vol 47.
- Leon, P. 1999. "Inulin and Oligofructose are part of the Dietary Fiber Complex". J. AOAC Int. vol. 82 No. 2.
- Lowry, H.O., Rosebrough, J.N., Farr, L.A., and Randall, J.R. 1951. "Protein measurement with The folin phenol reagent". 193, 265-275. J. Biol. Chem..
- Marcel B. Robertfroid, Jan A.E. Van Loo and Glenn R. Gibson. 1998. "The Bifodogenic Nature Of Chicory Inukine and Its Hydrolysis Products", 128 : 11-19. Crt. Rev.J.Nutr.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Mizuno T., Kato N., Totsuka A., Takenaka K., Shinkai K. and Shimizu M. Fractiona. 1984. Structural Features and Antitumor Activity of Water Soluble Polysaccharide from "Reish", the fruiting Body of Ganoderma lucidum. Nippon Nogeikagaku Kaishi. n.p.
- Mukkawy, S.E., Messelhy, M.R., Nakamura, N., Tezuka, y., Hattori, M., Kakiuchi, N., Shimotonho, K., Kawahata, T., and Otake. T. 1998. Anti-HIV and Anti-Hiv-1- Peotese Substances from Ganoderma lucidum. Pp 1651-1657. Phatochemistry. Vol 49, No.6.
- Mushroom and Health. [Online]. Available : hyyp : //www.health.pon.net/healthref. Html, 1998.
- Moss, R. 2002. Stinkhorn Mushroom Juice : Latvian Folk Remedy Shows Promise Against Cancer. Expert guidance for smart decision, July 11. n.p.
- Nelson, David L., Cox, Michael M. Lehninger. 2000. "Principles of Biochemistry 3<sup>rd</sup> edition". Worth Publishers. New York. n.p.
- Ninfa, Alexander J., Ballou, David P. 1998. Fundamental Laboratory Approaches for Biochemistry and Biotechnology. Maryland : Fitzgerald Science Press, Inc.
- Okamura, T., Horie, N., Miyuzaki, y., and Ohsugi, M. 1997. "Fumaric acid, anti-thrombin substance from Rhizopus javanicus". 241-247. J.Nutr. Sci. Vitamino. 43.
- Okamura, T., Okata, T., Minaminoto, N., Takeno, T., Noda, H., Fukuda, S., and Ohsuki, M. 2001. "Characteristics of Wine Produced by Mushroom Fermentation. Biosci, Biotechnol". 1596-1600. Biochem., 65(7).
- Okamura, T., Takeno, T., Dohi, M., Yasumasa, I., Hayashu, T., Toyoda, M., Noda, H., Fukuda, S., Horie, N. and Ohsugi, M. 2002 : "Development of Mushroom for Thrombosis Prevention by Protoplast Fusion. Biosci". Bioengineering. Vol. 89.
- Paul A.A. Coussement. 1999. "Nutritional and Health Benefits of Inuline and Oligofructose" . 1412s – 1417s. J. Nurt. 129.
- Pirjo Mattila, Karoliina Suonaa, and Vieno Piironen. Functional Properties of Eible Mushroom. 694-696. Nutrition, Chemistry, Microbiology, vol.16.
- Pongsamat S, Assawamunkong S, Markman N, et al. 1986. Biochemical and Biological Evaluation of Nutritional Quality of Mushrooms. Bangkok : Faculty of Pharmacology, Chulalongkorn University.
- Skoog, Douglas A., Holler, E., James, Nieman, Timothy, A. 1998. Principles of Instrumental Anlysis 5<sup>th</sup> edition. Philadelphia : Harcourt Brace & Company.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sone, Y., Okuda, R., Wada, N., Kishida, E., and Misaki, A., 1985. "Structures and Antitumor Activity of the Polysaccharide Isolated from Fruiting body and the Growing culture of Mycelium of *Ganoderma lucidum*". Pp. 2641-2653. *Agric. Biol. Chem.*, 49(9).
- Whistler, L.S., Bushway, A.A., Singh, P.P., Nakahara, W., and Tokuzen, R. 1976. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. Pp. 235-275. New York : Academic Press. 32.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้