

**STUDY ON MYCELIAL GROWTH OF *Ganoderma lucidum*
IN LIQUID MEDIA**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE PROGRAMME IN BIOTECHNOLOGY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

1998

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในห้องสมุดเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 1998

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษากาการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารเหลว
นักศึกษา	นางสาววิมลมาศ บุญมี
รหัสประจำตัว	38064209
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2541
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ดร. พวงเพชร พุนทรัพย์
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ. ดร. คุษณี ธนะบริพัทธ์

บทคัดย่อ

จากการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) ในอาหารเหลวสูตร Potato Dextrose Broth (PDB), Yeast-Malt Extract (YM) และ Glucose-Yeast Extract (YMK) ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายได้สภาวะที่ไม่มี การเขย่าและสภาวะที่มีการเขย่า พบว่า ภายได้สภาวะที่ไม่มี การเขย่า สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือคือ YM หรือ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร สำหรับสภาวะที่มีการเขย่า สามารถใช้อาหารได้ทุกสูตรที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร

การสกัดสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายได้สภาวะที่ไม่มี การเขย่า อายุ 28 วัน โดยใช้น้ำร้อน พบว่า ควรเลือกสกัดจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตรที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เมื่อนำผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนจากสารสกัดหยาบของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตร มาคำนวณหาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนจากเส้นใย พบว่า ในการคัดเลือกเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตรเพื่อนำไปใช้ในการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ ควรเลือกที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตรสำหรับการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB สำหรับการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร YM และ YMK ควรเลือกที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ส่วนการคัดเลือกเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตรเพื่อนำไปใช้ในการสกัดโปรตีน ควรเลือกที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Study on Mycelial Growth of <i>Ganoderma lucidum</i> in Liquid Media
Student	Wimonmat Boonmee
Student ID.	38064209
Degree	Master of Science
Programme	Biotechnology
Year	1998
Thesis Advisor	Dr. Pongpet Poonsapaya
Thesis Co-advisor	Assoc. Prof. Dr. Dusanee Thanaboripat

ABSTRACT

Mycelium of Ling Zhi mushroom (*Ganoderma lucidum*) was cultured in Potato Dextrose Broth (PDB), Yeast-Malt Extract (YM) and Glucose-Yeast Extract (YMK) supplemented with 20, 40 and 60 g/l glucose under static and shake flask conditions. In static condition, the suitable media for mycelium cultivation were YM or YMK supplemented with 20 g/l glucose. In shake flask condition, the mycelium could be cultured in PDB, YM or YMK supplemented with 20 g/l glucose.

Mycelia cultured in PDB, YM and YMK supplemented with 20, 40 and 60 g/l glucose for 28 days under static condition were extracted with hot water. The result showed that crude extract from mycelium cultured in each medium supplemented with 20 g/l glucose could be used. Total polysaccharide and protein contents from each crude extract were determined and calculated from dry weight of mycelium. It was found that polysaccharide extracted from mycelia cultured in PDB, YM and YMK at 60, 20 and 20 g/l glucose, respectively, should be selected. Protein extracted from mycelia cultured in all media at 20 g/l glucose should be selected.

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เพราะได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. พวงเพชร พุนทรัพย์ และ รศ. ดร. คุณฉวี ณะบริวัฒน์ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ซึ่งได้ให้คำปรึกษาและแนะนำผู้วิจัยมาโดยตลอด ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ดร. กฤษณา ไกรสินธุ์ ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา ที่ได้ให้โอกาสแก่ผู้วิจัย ศึกษาและทำงานวิจัย ณ สถาบันวิจัยและพัฒนา องค์การเกษตรกรรม ขอขอบพระคุณนักวิจัยทุกท่านและผู้ช่วยนักวิจัย จากสถาบันวิจัยและพัฒนา องค์การเกษตรกรรม ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสำนักงานวิจัยอุตสาหกรรมเทคโนโลยีชีวภาพ ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. วรารัตน์ เรืองรัตนเมธี ซึ่งได้กรุณาให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ผลทางสถิติ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ และเพื่อน ๆ ที่ได้ช่วยเหลือ เป็นกำลังใจ และให้ความร่วมมือในเรื่องต่าง ๆ เป็นอย่างดี และที่สำคัญขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ ที่ได้สนับสนุนการศึกษา เป็นห่วง และเป็นกำลังใจตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอบอบแด่ คุณพ่อและคุณแม่ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

วิมลมาศ บุญมี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	X
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ลักษณะทั่วไปของเห็ดหลินจือ.....	3
2.2 วงจรชีวิตและการสืบพันธุ์ของเห็ดหลินจือ.....	5
2.3 สารออกฤทธิ์และสรรพคุณทางยาของเห็ดหลินจือ.....	7
2.4 การเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือ.....	12
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	15
3.1 เห็ดหลินจือ.....	15
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	15
3.3 สารสำหรับเตรียมอาหารและเคมีภัณฑ์.....	16
3.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	17
3.4.1 การศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารเหลว.....	17
3.4.2 การสกัดสารสกัดหยาบ และการหาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ และโปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือ.....	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	22
4.1 ผลของอาหารเลี้ยงเส้นใยชนิดต่าง ๆ และปริมาณกลูโคสต่อการเจริญของ เส้นใยเห็ดหลินจือ ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....	22
4.2 ผลของอาหารเลี้ยงเส้นใยชนิดต่าง ๆ และปริมาณกลูโคสต่อการเจริญของ เส้นใยเห็ดหลินจือ ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า.....	42
4.3 ผลของการวิเคราะห์หาสารสกัดหยาบ ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์และ โปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือ.....	56
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์.....	68
บรรณานุกรม.....	75
ภาคผนวก.....	81
ภาคผนวก ก.....	82
ภาคผนวก ข.....	83
ประวัติผู้เขียน.....	86

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....23
4.2	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....24
4.3	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....25
4.4	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....28
4.5	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....29
4.6	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....30
4.7	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....33
4.8	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....34
4.9	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงใน วันที่ 7, 14, 21 และ 28 ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่าในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร.....	40
4.11 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 7, 14, 21 และ 28 ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า ในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK.....	41
4.12 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า.....	43
4.13 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า.....	43
4.14 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า.....	44
4.15 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า.....	46
4.16 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า.....	47
4.17 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า.....	47
4.18 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า.....	50

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.19	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า.....50
4.20	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า.....51
4.21	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 7 และ 14 ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่าในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร55
4.22	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีมีการเขย่า อายุ 28 วัน.....56
4.23	การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีมีการเขย่า อายุ 28 วัน.....58
4.24	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีมีการเขย่า อายุ 28 วัน.....59
4.25	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีมีการเขย่า อายุ 28 วัน.....60
4.26	การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีมีการเขย่า อายุ 28 วัน.....62
4.27	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีมีการเขย่า อายุ 28 วัน.....63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.28 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน.....	64
4.29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน.....	66
4.30 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน.....	67



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 วงจรชีวิตของเห็ดใน Class Basidiomycetes.....	6
4.1 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....	26
4.2 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....	26
4.3 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....	27
4.4 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....	31
4.5 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....	31
4.6 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....	32
4.7 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....	36
4.8 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....	36

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.9 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายได้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า.....	37
4.10 ลักษณะของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB YM และ YMK ภายได้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน.....	38
4.11 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 7, 14, 21 และ 28 ภายได้สภาวะที่ไม่มีการเขย่าในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK	41
4.12 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายได้สภาวะที่มีการเขย่า.....	44
4.13 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายได้สภาวะที่มีการเขย่า.....	45
4.14 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายได้สภาวะที่มีการเขย่า.....	45
4.15 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายได้สภาวะที่มีการเขย่า.....	48
4.16 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายได้สภาวะที่มีการเขย่า.....	48
4.17 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายได้สภาวะที่มีการเขย่า.....	49

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.18	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้อาหารที่มีการเขย่า.....51
4.19	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้อาหารที่มีการเขย่า.....52
4.20	น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้อาหารที่มีการเขย่า.....52
4.21	ลักษณะของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ภายใต้อาหารที่มีการเขย่า อายุ 7 วัน.....53
4.22	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้อาหารที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน.....59
4.23	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้อาหารที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน.....63
4.24	ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้อาหารที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน.....67
ข-1	กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหารที่ใช้เลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารสูตรต่าง ๆ.....83
ข-2	กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้อาหารที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน.....84

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

- ข-3 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine Serum Albumin (BSA) ที่ใช้ในการ
วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนจากสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือ
ในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20,
40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน.....85



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

เห็ดหลินจือหรือเห็ดหมื่นปี เป็นสมุนไพรที่รู้จักมานานในประเทศจีน มีสรรพคุณในการรักษาโรคได้หลายชนิด จึงถือว่าเป็นยาอายุวัฒนะ และได้มีการศึกษาทดสอบสารที่พบในเห็ดหลินจือจากหลายประเทศ พบว่าสารในเห็ดหลินจือมีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ในการรักษาโรคต่าง ๆ ได้แก่ ความดันโลหิตสูง ความดันโลหิตต่ำ โรคคอเลสเทอรอลสูง โรควิตกกังวล โรคนอนไม่หลับ โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง โรคหัวใจ โรคกระเพาะ โรคตับ โรคไต ลดระดับน้ำตาลในเลือด และโรคมะเร็งต่าง ๆ

ในเห็ดหลินจือมีสารสำคัญต่าง ๆ ซึ่งมีสรรพคุณทางยาที่แตกต่างกันไป เช่น สารพอลิแซ็กคาไรด์ ไตรเทอร์ปีนอยด์ สเตอรอยด์ กลุ่มสารนิวคลีโอไซด์ อัลคาลอยด์ กรดไขมัน และสารพวเคนไซม์ เป็นต้น และที่น่าสนใจคือมีรายงานที่สารพอลิแซ็กคาไรด์มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ลดการอักเสบ และป้องกันอันตรายจากการฉายรังสี ในงานวิจัยนี้จึงสนใจเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารเหลว ซึ่งการเจริญของเส้นใยเป็นขั้นตอนการเจริญก่อนที่จะพัฒนาไปเป็นดอกเห็ด การเจริญของเส้นใยใช้ระยะเวลาสั้นเมื่อเปรียบเทียบกับดอกเห็ด และอาจมีการหลั่งสารที่ต้องการออกมาในอาหารเหลวที่เพาะเลี้ยงเส้นใยได้ด้วย การเพาะเลี้ยงเส้นใยและการเก็บเกี่ยวผลผลิตทำได้ง่าย เมื่อเพาะเลี้ยงเส้นใยในอาหารที่เหมาะสมคือการเจริญของเส้นใย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารเหลวสูตรต่าง ๆ ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่าและสภาวะที่ไม่มีการเขย่า
2. เพื่อสกัดสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ด้วยน้ำร้อนและหาปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนจากสารสกัดหยาบที่ได้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ในงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารเหลว 3 ชนิดที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 3 ระดับ เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่ไม่มี การเขย่าและสภาวะที่มีการเขย่า วัดการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ จากการหาน้ำหนักแห้งของเส้นใย หาปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหารเลี้ยงเส้นใย และสกัดสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดหลินจือด้วยน้ำร้อน จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปหาปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นแนวทางในการคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ
2. เป็นแนวทางในการคัดเลือกเส้นใยที่เหมาะสมต่อการสกัดสารบริสุทธิ์
3. เป็นแนวทางในการผลิตเส้นใยเห็ดหลินจือในระดับอุตสาหกรรม
4. เป็นแนวทางในการพัฒนาตัวยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งต่อไป

บทที่ 2

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทั่วไปของเห็ดหลินจือ

เห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst.) มีสรรพคุณทางยาจัดเป็นสมุนไพร ซึ่งถูกจัดจำแนกชื่อและหมวดหมู่ทางวิทยาศาสตร์ไว้ดังนี้ (Alexopoulos, 1996)

Phylum	Basidiomycota
Class	Basidiomycetes
Order	Aphyllorphales
Family	Ganodermataceae
Genus	<i>Ganoderma</i>
Species	<i>lucidum</i>

เห็ดหลินจือมีชื่อเรียกในภาษาต่าง ๆ เช่น ภาษาจีนเรียก Ling Zhi มีความหมายถึงวิญญูณามชาวญี่ปุ่นเรียก Reishi หรือ Mannentake ซึ่งแปลว่า หมันปี ในภาษาอังกฤษเรียกว่า Lacquered mushroom และ Holy mushroom ส่วนใหญ่คนไทยรู้จักกันในชื่อ เห็ดคอมตะ เห็ดหลินจือ เห็ดจวักงู หรือ เห็ดหมันปี (สุทธพรธม, 2531)

ลักษณะโดยทั่วไปของเห็ดหลินจือ มีลักษณะเด่น คือ ได้หมวกเห็ดไม่มีครีบแต่มีรูเล็ก ๆ จำนวนมาก ภายในรูเป็นที่เกิดของสปอร์ ด้านบนของหมวกเห็ดมีสีน้ำตาลแดงหรือสีเชสนัท ไปจนถึงสีน้ำตาลม่วงและดำ ผิวหมวกมันเป็นเงาเหมือนเคลือบด้วยแลคเกอร์ มีก้านสั้น ๆ แต่ถ้าขึ้นยื่นออกจากโคนต้นไม้อาจไม่มีก้าน ดอกเมื่อเกิดมีลักษณะเป็นแท่งสีเหลืองจากยอดลงมา โคนเป็นสีขาว เหลือง และน้ำตาล ต่อมาส่วนบนเจริญแผ่กว้างออกเป็นหมวกคล้ายพัด ดอกเมื่ออ่อนมีขอบสีขาว เหลือง กลางดอกสีน้ำตาล ด้านใต้หมวกซึ่งเป็นรูเล็ก ๆ มีสีนวล เมื่อดอกเห็ดพัฒนาสมบูรณ์แล้วจะสร้างสปอร์จำนวนมากและร่วงหล่นออกมา สปอร์ส่วนหนึ่งลอยขึ้นปกคลุมที่ผิวบนของหมวกเห็ดเป็นผงสีน้ำตาล เมื่อตะขิมดูจะมีรสขม ดอกเห็ดที่แก่ขอบหมวกจะงุ้มลง สีหมวกเข้มขึ้นและอาจมีดอกใหม่งอกซ้อนกัน เนื่องจากเห็ดจำพวกนี้มีการเจริญแบบไม่จำกัด ถ้าเพาะเห็ดนี้ในที่อับอากาศและมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูง เห็ดจะมีก้านยาวแตกกิ่งคล้ายเขากวาง แต่ไม่สร้างหมวก (สุทธพรธม, 2531)

ไขมัน	4.50	เปอร์เซ็นต์
เส้นใย	0.10	เปอร์เซ็นต์

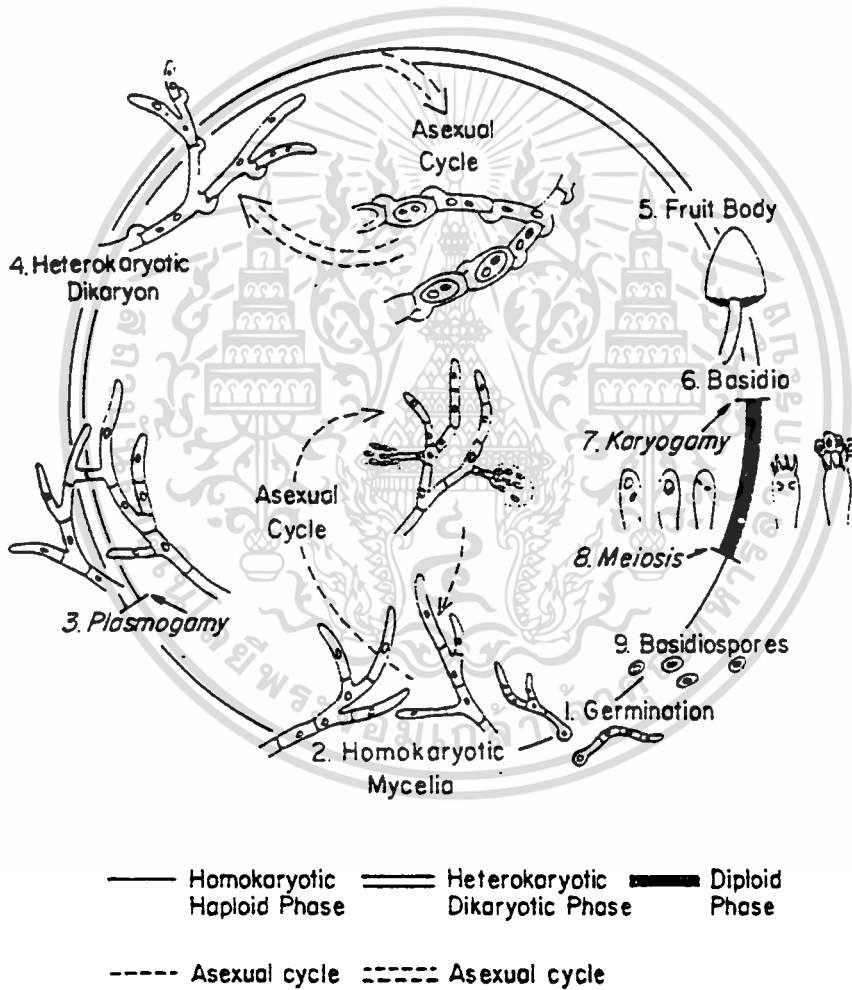
นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารอนินทรีย์ ได้แก่ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม โซเดียม และเหล็ก ส่วนวิตามิน ได้แก่ วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 6 โคลีน อินโนซิทอล และไนอาซิน โดยพบว่ามีสารพอลิแซ็กคาไรด์ 11.40 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาของ รัฐพล (2538) ซึ่งทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนในเส้นใยและดอกเห็ดของเห็ดหลินจือ พบว่า เส้นใยและดอกเห็ด มีปริมาณโปรตีน 17.80 และ 17.30 เปอร์เซ็นต์ และในเส้นใยมีกรดอะมิโนจำเป็นที่สูงกว่าดอกเห็ด คือมีไอโซลูซีน ลูซีน ไลซีน เมทไทโอนีน ทรีโอนีน ทริปโตเฟน และเวอลิน โดยพบในปริมาณ 5.50, 10.10, 7.01, 1.74, 7.53, 2.82, และ 7.32 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ กรดอะมิโนไม่จำเป็นที่มีปริมาณสูงกว่าในดอกเห็ด คือ อะลานีน อาร์จินีน แอสปาร์ติก กลูตามิก ฮิสติดีน โพรลีน เซรีน และไทโรซีน และเมื่อนำค่า Amino Acid Score ของกรดอะมิโนจำเป็นมาเปรียบเทียบ พบว่าเห็ดหลินจือเป็นแหล่งอาหารที่ดีของกรดอะมิโน เชนิลอะลานีน ไทโรซีน ทริปโตเฟน และเวอลิน และในเส้นใยของเห็ดหลินจือมีปริมาณเมทไทโอนีนสูงกว่าดอกเห็ด ซึ่งเมทไทโอนีนเป็นตัวจำกัดคุณค่าอาหารโปรตีนจากเห็ด

2.2 วงจรชีวิตและการสืบพันธุ์ของเห็ดหลินจือ

วงจรชีวิตของเห็ดใน Class Basidiomycetes (ภาพที่ 2.1) (Raper, 1978) รวมทั้งเห็ดหลินจือ มีทั้งหมด 9 ขั้นตอน ดังนี้ 1) เริ่มจากมีการงอกของสปอร์หรือเบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) เกิดขึ้น 2) เส้นใยมีการเจริญ เรียกเส้นใยที่เจริญอยู่ในระยะนี้ว่า homokaryotic mycelium ซึ่งในแต่ละเซลล์จะมีนิวเคลียสอันเดียวที่มีลักษณะที่เหมือนกัน เป็นชนิดแฮพลอยด์ นิวเคลียส (haploid nucleus) (n) หากเส้นใยที่เจริญในระยะนี้มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ จะมีการสร้างออยเดีย (oidia) หรือคลามาโยโคสปอร์ (chlamydospore) 3) เมื่อเส้นใยที่เจริญอยู่ในระยะ homokaryotic mycelium ที่มีเพศที่แตกต่างกันเจริญเติบโตมาพบกัน เกิดการรวมไซโทพลาสซึมเข้าด้วยกัน (plasmogamy) 4) เส้นใยที่เกิดการรวมกันจะมีขนาดของเซลล์ใหญ่ขึ้น ภายในเซลล์แต่ละเซลล์มีนิวเคลียส 2 นิวเคลียส โดยนิวเคลียสทั้งสองไม่ได้รวมกัน เรียกเส้นใยที่เจริญอยู่ในระยะนี้ว่า heterokaryotic mycelium หรือ heterokaryon หรือ dikaryon เส้นใยในระยะนี้จะตรวจพบ clamp connection อาจมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยมีการสร้างออยเดีย (oidia) หรือคลามาโยโคสปอร์ (chlamydospore) ได้เช่นเดียวกัน 5) เมื่อเส้นใยที่เจริญในระยะ heterokaryotic mycelium ได้รับอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมก็จะสามารถเจริญพัฒนาเป็นดอกเห็ดได้ในที่สุด 6) ภายใต้ออกเห็ดจะมีรูจำนวนมาก สปอร์จะถูกสร้างมาจากส่วนที่เรียกว่าเบสิดิอัม (basidium) ซึ่งมีรูปร่างคล้ายกระบอง เกิดจากส่วนปลายของเส้นใยเหนือผนังกันที่เป็น

clamp connection ในระยะแรกจะมีลักษณะยาวและแคบ ต่อมาจะขยายกว้างขึ้นที่บริเวณส่วนยอด
 7) นิวเคลียสทั้งสองอันในเบสิดิเทียมจะผสมกัน (karyogamy) เป็นดิพลอยด์นิวเคลียส (diploid nucleus) (2n) 8) หลังจากนั้นนิวเคลียสจะเกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสทันที ได้แฮพลอยด์นิวเคลียส 4 อัน ในขณะที่ส่วนยอดของเบสิดิเทียมจะสร้างสเตอริกมา (sterigma) ขึ้น ส่วนปลายของสเตอริกมาขยายใหญ่ขึ้นและเจริญเป็นเบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) แฮพลอยด์นิวเคลียส 4 อันจะเคลื่อนที่เข้าไปในเบสิดิโอสปอร์ได้เป็นเบสิดิโอสปอร์ 4 สปอร์ 9) เมื่อสปอร์แก่เต็มที่ จะปลิวหลุดออกจากดอกเห็ดไปตกในสิ่งแวดล้อม หากสภาวะแวดล้อมเหมาะสมก็จะสามารถงอกได้ต่อไป



ภาพที่ 2.1 วงจรชีวิตของเห็ดใน Class Basidiomycetes

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเห็ดหลินจือ *G. lucidum* เป็นแบบ heterothallic และเป็นแบบ tetrapolar (Adaskaveg และ Gilbertson, 1986)

จากการศึกษาของ Adaskaveg และ Gilbertson (1986) พบว่าในการเพาะเลี้ยงเส้นใยของเห็ดหลินจือ *G. lucidum* มีการสร้างคลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) แต่ในเห็ดหลินจือ *G. isugae* ไม่มีการสร้างคลาไมโดสปอร์ ซึ่งการสร้างคลาไมโดสปอร์นี้เป็นลักษณะของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ นั่นเอง

2.3 สารออกฤทธิ์และสรรพคุณทางยาของเห็ดหลินจือ

เห็ดหลินจือมีสารสำคัญ ซึ่งมีสรรพคุณทางยา สามารถจำแนกได้ดังต่อไปนี้ (สุรพลและชวลิต, 2538)

1. สารไตรเทอร์ปีนอยด์ชนิดขม (Bitter Triterpenoid) ส่วนใหญ่จะอยู่ที่ดอกและก้าน ใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ต่าง ๆ ของเห็ดหลินจือ สารที่มีความสำคัญในการรักษาโรคคือ กรดกาโนเดอริก (Ganoderic acid A,B, C₁,C₂, D-K, R-Z) และกรดลูซิเดนิค (Lucidenic acid) กรดกาโนเดอริก มีคุณสมบัติเป็นตัวยับยั้งการหลั่งของสารฮิสตามีน (Histamine release inhibition activity) ช่วยลดความดันโลหิต และช่วยลดไขมันในเลือด (Hypercholesterolemia activity)

จากการวิจัยของ Kohda และคณะ (1985) ซึ่งทำการสกัดสารจากเห็ดหลินจือ *G. lucidum* ด้วยเอทานอล พบว่าสารพวกไตรเทอร์ปีน คือ กรดกาโนเดอริก สามารถยับยั้งการหลั่งสารฮิสตามีนจาก mast cell ในหนู เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนได้ นอกจากนี้ Komoda และคณะ (1989) ยังพบว่า กรดกาโนเดอริกและอนุพันธ์ที่สกัดได้จากเห็ดหลินจือ *G. lucidum* สามารถยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล

2. พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) เป็นน้ำตาลโมลกุลใหญ่ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่อาจเกาะติดกับโปรตีน หรือสารอื่น ๆ ในเห็ดหลินจือ มีพอลิแซ็กคาไรด์หลายชนิดที่มีสรรพคุณทางยา ได้แก่ กาโนเดอแรนส์ (Ganoderans A, B, C) ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด (Hypoglycemic effect) สารเบต้าดีกลูแคน (β -D-Glucan) และพอลิแซ็กคาไรด์อีกหลายตัวมีผลต่อเนื่องในการต่อต้านสารแพ้ (Antiallergy) ต่อต้านเชื้อไวรัส (Antivirus) ต่อต้านโรคมะเร็ง (Antitumor) และลดภาวะแทรกซ้อนจากการใช้เคมีบำบัดและรังสีบำบัดในผู้ป่วยโรคมะเร็ง

จากการศึกษาของ Tomoda และคณะ (1986) และ Hikino และคณะ (1989) พบว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนจากดอกเห็ดหลินจือ *G. lucidum* มีสารประกอบประเภท glycan คือ กาโนเดอแรนส์ B และ C มีผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนู

3. สเตอรอยด์ (Steroids) ที่พบในเห็ดหลินจือ คือ เออร์โกสเตอรอล (Ergosterol) หรือ โปรวิตามินดี 2 (Provitamin D₂) กาโนสเตอโรน (Ganosterone) และกาโนโดสเตอโรน (Ganodosterone) มีฤทธิ์ในการลดพิษที่มีต่อดับ

4. กลุ่มสารนิวคลีโอไทด์ (Nucleotides) พบว่าสารอะดีโนซีน (Adenosine) มีผลในการบรรเทาความเจ็บปวด (Analgesic) และมีฤทธิ์เช่นเดียวกับกัวโนซีน (Guanosine) ซึ่งมีผลในการยับยั้งการรวมกลุ่มของเกล็ดเลือด (Platelet aggregation inhibition) มีสรรพคุณในการป้องกันการอุดตันจากลิ่มเลือดในเส้นเลือด (Antithrombotic activity) นอกจากนี้สารอาร์เอ็นเอชนิดหนึ่งมีคุณสมบัติคล้ายอินเตอร์เฟอรอน (Interferon-like substance) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส

จากการศึกษาของ Shimizu และคณะ (1985) พบว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนจากดอกเห็ดหลินจือ *G. lucidum* สามารถยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือด คือ อะดีโนซีน (adenosine) ซึ่งในผงเห็ดหลินจือแห้ง 100 กรัม มีปริมาณสารอะดีโนซีน อยู่ไม่ต่ำกว่า 40 มิลลิกรัม และจากการศึกษาของ Kawakishi และคณะ (1993) พบว่าสารสกัดจากดอกเห็ดหลินจือ *G. lucidum* ด้วยนิวทานอลได้สารที่เป็นอนุพันธ์ของสารอะดีโนซีน สามารถยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดได้เช่นกัน

5. อัลคาลอยด์ (Alkaloids) มีฤทธิ์กระตุ้นการไหลเวียนของเลือดในหัวใจ ลดแรงต้านทานในผนังเส้นเลือดของหัวใจ ลดการใช้ออกซิเจนของกล้ามเนื้อหัวใจ และเพิ่มความคงทนต่อภาวะการขาดออกซิเจนเป็นเวลานานได้

6. สารประกอบเจอร์มาเนียม (Germanium, Ge) เป็นตัวส่งเสริมกระบวนการทำงานของร่างกาย สามารถรวมตัวและช่วยกำจัดสารพิษและสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ

นอกจากนี้ยังมีการค้นพบสารอื่น ๆ ที่มีสรรพคุณทางยา เช่น กรดไขมันชนิดโอเลอิก (Oleic acid) และสารไซโคลออกตาซัลเฟอร์ (Cyclooctasulfur) สารไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) ไลโซไซม์ (Lysozyme) และ โปรติเอส (Protease)

มะเร็งเป็นโรคร้ายแรงและเป็นปัญหาที่สำคัญทางด้านสาธารณสุขของประเทศไทย จากรายงานของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ ฝ่ายแผนงานและสถิติ ในช่วงปี ค.ศ. 1988-1991 (Vatanasapt, 1993) แสดงให้เห็นว่า สถิติผู้ป่วยมะเร็งที่พบในผู้ชายเป็นอันดับหนึ่งคือ โรคมะเร็งตับ รองลงมาคือ โรคมะเร็งปอด โรคมะเร็งกระเพาะอาหาร โรคมะเร็งลำไส้ และโรคมะเร็งในช่องปาก ตามลำดับ ส่วนมะเร็งที่พบในผู้หญิงเป็นอันดับหนึ่ง คือ โรคมะเร็งปากช่องคลอด รองลงมาคือ โรคมะเร็งตับ โรคมะเร็งเต้านม โรคมะเร็งปอด และโรคมะเร็งรังไข่ ตามลำดับ

เซลล์มะเร็งเป็นเซลล์ที่มีความผิดปกติทางด้านโครงสร้างในระดับยีน (Gene) หรือดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในร่างกายไปเป็นเซลล์มะเร็งมีความเกี่ยวข้องกับสิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ การเกิดสารพิษจากการทำงานในร่างกาย การติดเชื้อไวรัสบางชนิดและความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกันโรค นอกจากนี้การบริโภคอาหารที่ไม่ถูกหลัก การมีวิถีชีวิตที่ไม่ถูกต้อง และความตึงเครียดทางจิตใจก็เป็นปัจจัยส่งเสริมให้เกิดโรคมะเร็งได้ง่ายขึ้น วิธีการรักษาในปัจจุบัน คือ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผ่าตัดเอาก่อนเนื้องอกออก การฉายรังสีขนาดสูงเพื่อฆ่าเซลล์มะเร็งที่คงเหลือหรือผ่าตัดออกไม่ได้ และการบำบัดด้วยสารเคมีที่มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งได้โดยตรงหรืออาจใช้หลายวิธีร่วมกัน แต่อัตราการเกิดโรคมะเร็งก็ยังไม่ลดลง นักมะเร็งวิทยาและนักวิทยาศาสตร์จึงสนใจมุ่งศึกษาด้านการป้องกันหรือการชะลอการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งควบคู่กับการรักษามากขึ้น จากการค้นคว้าวิจัยถึงสารออกฤทธิ์และสรรพคุณทางยา พร้อมทั้งการรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคทางคลินิกของพืชสมุนไพรพบว่า เห็ดสกุล *Ganoderma* เป็นสมุนไพรที่น่าสนใจ จากการทดลองใช้เห็ดหลินจือรักษาหนูที่เป็นโรคมะเร็งร่วมกับเคมีบำบัด (5-FU) พบว่าให้ผลได้ดีกว่าใช้ยารักษามะเร็งตัวอื่นเพียงอย่างเดียว ในประเทศไต้หวันมีการทดลองรักษาหนูที่เป็นมะเร็งได้ และมีรายงานว่าเมื่อให้เห็ดหลินจือร่วมกับการฉายรังสีพบว่าหนูที่ได้รับเห็ดหลินจือจะมีน้ำหนักตัวเป็นปกติและมีภาวะแทรกซ้อนจากรังสีน้อยกว่าหนูที่ไม่ได้ให้เห็ดหลินจือ ที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยแพทยศาสตร์ปักกิ่ง พบการเพิ่มของสารอินเตอร์ลิวคิน สารอิมมูโนโกลบูลิน ซึ่งเป็นตัวเสริมสร้างภูมิคุ้มกันโรค และหลายสถาบันของจีน พบการเพิ่มขึ้นของเซลล์ macrophage ที่ทำหน้าที่กำจัดสิ่งแปลกปลอมและการเพิ่มการทำงานของ natural killer cell ซึ่งทำหน้าที่เก็บกินเซลล์ผิดปกติอื่น ๆ ที่แผนภูมิคุ้มกันโรคในเมืองซานฟรานซิสโก สหรัฐอเมริกา พบว่าสารสกัดเห็ดหลินจือช่วยกระตุ้นการทำงานของสารไซโตไคน์ (cytokines) และเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ทำหน้าที่สร้างภูมิคุ้มกันโรค

สำหรับการรักษาโรคในผู้ป่วยที่มีรายงานในวารสารทางวิชาการ มีตัวอย่างการใช้เห็ดหลินจือร่วมกับยาอื่นในการรักษาโรคมะเร็งในไขกระดูกที่โรงพยาบาลแพทย์แผนจีนในเมืองเซี่ยงไฮ้ และการใช้ในผู้ป่วยโรคมะเร็งในกระเพาะอาหารในประเทศญี่ปุ่น

นอกจากนี้แพทย์จะแนะนำให้ผู้ป่วยรับประทานเห็ดหลินจือชนิดต้ม หรือชนิดที่สกัดเป็นยาสำเร็จรูปในการรักษาโรคมะเร็งควบคู่ไปกับการรักษาโดยยาจีนหรือยาแผนโบราณอย่างอื่นหรือร่วมกับการรักษาแผนปัจจุบัน เพื่อเป็นการเสริมฤทธิ์ในการรักษาโรคมะเร็ง ลดภาวะแทรกซ้อนหรืออาการไม่พึงประสงค์ เช่น อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร น้ำหนักลด คลื่นไส้ อาเจียน ผม่วจจากยารักษามะเร็งที่เป็นเคมีบำบัดทั้งชนิดรับประทาน ชนิดฉีดและการฉายรังสี หรือให้รับประทานเห็ดหลินจือที่ต้มหรือสกัดก่อนและหลังผ่าตัดเอาก่อนเนื้อร้ายออกไป นอกจากนี้คุณสมบัติในการช่วยกำจัดพิษภายในร่างกายและการช่วยเสริมภูมิคุ้มกันโรคของเห็ดหลินจือแล้วยังมีส่วนช่วยให้ผู้ป่วยโรคมะเร็งมีร่างกายแข็งแรงสมบูรณ์มากขึ้น จากการศึกษาทางด้านพิษวิทยาและการรักษาผู้ป่วยเป็นเวลาหลายปี ไม่พบอันตรายหรือภาวะแทรกซ้อนจากการใช้เห็ดหลินจือเป็นระยะเวลานาน และในกรณีของผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยวิธีการอื่น แต่ได้ใช้เห็ดหลินจือเพียงอย่างเดียวก็สามารถทำให้ร่างกายและจิตใจสบายขึ้น ทานอาหารได้ ไม่ค่อยทรมานจากอาการแทรกซ้อนต่าง ๆ นอกจากนี้ยังตรวจพบว่าก่อนเนื้องอกมีขนาดเล็กลงและสามารถยืดอายุไปได้อีกหลายปี (สุรพลและชวลิต, 2538)

ไม่ว่าการณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากงานวิจัยของ Sasaki และคณะ (1971) พบว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนจากดอกเห็ดของ *G. applanatum* คือ สาร G-Z ซึ่งเป็นสารพอลิกลูแคนที่มีโครงสร้าง β -(1-3), (1-4) linked D-glucose residue มีผลในการยับยั้งเนื้องอกกับเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังของหนู ซึ่งต่อมา Ito และคณะ (1977) ทำการแยกสารพอลิแซ็กคาไรด์ได้ 4 ชนิด ซึ่งมีโปรตีนเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วยในปริมาณเล็กน้อย จากส่วนของดอกเห็ดของ *G. lucidum* มีผลในการยับยั้งเนื้องอกชนิด Sarcoma 180 ในหนู และสารพอลิแซ็กคาไรด์ดังกล่าวไม่มีพิษ ในงานวิจัยของ Matsumoto และคณะ (1978) ได้ศึกษาสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยเอทานอลในส่วนของดอกเห็ด *G. applanatum* พบว่าไม่มีผลในการยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด Ehrlich's ascite ในหนู และไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ดังกล่าวด้วย ในปี ค.ศ. 1980 Kim และคณะ ทำการสกัดดอกเห็ด *G. lucidum* ได้ผงสีน้ำตาลดำ เมื่อนำไปทดสอบพบว่ามีผลในการยับยั้งเนื้องอกชนิด Sarcoma 180 ในหนู ซึ่งสารดังกล่าวนี้เป็นสารเชิงซ้อนของพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน จากการศึกษาของ Miyasaki และ Nishijima (1981) พบว่าสารสกัดจากดอกเห็ดหลินจือ *G. lucidum* เป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ ประกอบด้วย glucose, xylose และ arabinose ในอัตราส่วน 18.8:1.5:1.0 ตามลำดับ มีน้ำหนักโมเลกุล 40,000 มีผลในการยับยั้งเนื้องอกชนิด Sarcoma 180 ของหนู เท่ากับ 95.6-98.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวหนูทุกวันเป็นเวลา 10 วัน ในปี ค.ศ. 1981 Mizuno และคณะ ได้แยกส่วนที่สกัดได้จากดอกเห็ดของ *G. applanatum* ที่สกัดด้วยน้ำ พบว่าสารที่มีผลในการยับยั้งเนื้องอกคือสาร active β -D-glucan, inactive β -D-glucan (α -D-glucan) และ heterogalactan สารพอลิแซ็กคาไรด์ดังกล่าวมีน้ำหนักโมเลกุล 1.05×10^6 , 3.12×10^5 และ 2.43×10^3 ตามลำดับ โดยสารพอลิแซ็กคาไรด์ 2 ตัวแรกมีผลในการยับยั้งเนื้องอกชนิด Sarcoma 180 ในหนู ส่วนสาร heterogalactan ไม่มีผลในการยับยั้งเนื้องอก และขณะเดียวกัน Usui และคณะ (1981) ทำการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากดอกเห็ดหลินจือ *G. applanatum* ด้วยน้ำร้อน สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ คือ β -D-glucan มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 3.12×10^5 มีผลในการยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 ที่ทำการฉีดเข้าใต้ผิวหนังของหนู จากผลทดสอบมีค่า ID_{50} เท่ากับ 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยมาก จากการศึกษาของ Mizuno และคณะ (1982) ซึ่งทำการแยกและศึกษาคุณลักษณะของกลูแคนจากเส้นใยของ *G. applanatum* ที่สกัดด้วยน้ำร้อน พบว่าโครงสร้างของกลูแคนที่มีผลในการยับยั้งเนื้องอกชนิด Sarcoma 180 ในหนู เป็นกลูแคนที่มีโครงสร้างแกนเป็น β -(1-3)-glucoside และต่อมา Mizuno และคณะ (1984) ทำการแยกสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ 5 ส่วนจากดอกเห็ดของ *G. lucidum* ได้สาร α -glucan, β -glucan, fucogalactan, manofucogalactan และ acidic- β -glucan สารที่มีผลในการยับยั้งเนื้องอกชนิด Sarcoma 180 ในหนูคือ β -glucan มีโครงสร้างแกนเป็น β -(1-3)-D-glucan ซึ่งมีการแตกกิ่งด้วย β -(1-6) และมีน้ำหนักโมเลกุล 1.05×10^6 และสารอีกตัวคือ

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

acidic- β -glucan มีน้ำหนักโมเลกุล 4.50×10^5 ซึ่งประกอบด้วย D-glucose, D-mannose, D-glucuronic acid, D-galactose และ D-xylose จากการศึกษาของ Sone และคณะ (1985) พบว่า สารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหลินจือ *G. lucidum* ทั้งในส่วนของดอกเห็ดที่สกัดด้วยน้ำร้อน และในส่วนของอาหารเหลวที่ใช้เพาะเลี้ยงเส้นใยมีผลในการยับยั้งเซลล์เนื้องอกชนิด Sarcoma 180 โครงสร้างของสารพอลิแซ็กคาไรด์ดังกล่าวมีแกนของโครงสร้างเป็น β -(1-3)-glucan ต่อมา Maruyama และคณะ (1989) ทำการศึกษาส่วนต่าง ๆ ที่สกัดด้วยเมทานอลและน้ำ จากดอกเห็ดของ *G. lucidum* และตรวจสอบผลในการยับยั้งเนื้องอกชนิด Sarcoma 180 ในหนู โดยการฉีดเข้าทางช่องท้อง พบว่าส่วนที่สกัดด้วยเมทานอลไม่มีผลในการยับยั้งเนื้องอก ในขณะที่ส่วนที่สกัดด้วยน้ำมีผลในการยับยั้งเนื้องอก และต้องมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 1×10^4 แต่ส่วนที่สกัดด้วยน้ำที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 1×10^4 จะไม่มีผลในการยับยั้งเนื้องอก ส่วนงานวิจัยของ Wang และคณะ (1993) ได้ทำการสกัดและแยกสารจากดอกเห็ดหลินจือ *G. isugae* ด้วยน้ำร้อน พบว่าสารที่สกัดและแยกได้เป็นสาร (1-3)- β -D-glucan ซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 1.0×10^4 - 7.0×10^5 มีผลในการยับยั้งเนื้องอกชนิด Sarcoma 180 และจากการศึกษาของ Zhang และคณะ (1994) ได้ทำการสกัดจากเส้นใยเห็ดหลินจือ *G. isugae* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวในถังหมักขนาด 20 ลิตรเป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่า สารที่ได้เป็นคือกลูแคนซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย มีน้ำหนักโมเลกุล 10000 มีผลในการยับยั้งเนื้องอกชนิด Sarcoma 180 ในหนู แต่จะให้ผลการยับยั้งเนื้องอกต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากดอกเห็ดที่ได้จากงานวิจัยของ Wang และคณะ (1993) แต่มีผลคือสารสกัดที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือ มีค่าเฉลี่ยของวันในการมีชีวิตอยู่รอดสูงกว่าในดอกเห็ด ซึ่งจะทำให้ระยะเวลาในการมีชีวิตอยู่ของหนูนานขึ้น

จากศึกษาความเป็นพิษที่มีต่อเซลล์ของเห็ดหลินจือของ Lin และ Tome (1991) ได้ทำการศึกษาในระดับหลอดทดลอง โดยทดสอบสารสกัดที่ได้จากดอกเห็ด *G. lucidum* คือสาร 3β -hydroxy-26-oxo-5 α -lanosta-8,24-dien-11-one และสาร Ergosta-7,22-diene-2 β ,3 α ,9 α -triol มีผลในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด KB และเซลล์ human hepatoma PLC/PRF/5 โดยมีค่า ED₅₀ ของสาร 3β -hydroxy-26-oxo-5 α -lanosta-8,24-dien-11-one เท่ากับ 2.54 และ 1.17 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสาร Ergosta-7,22-diene-2 β ,3 α ,9 α -triol มีค่า ED₅₀ ของเท่ากับ 1.17 และ 0.89 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือ

เห็ดหลินจือนี้เป็นเห็ดที่ชาวจีนมีความเชื่อว่ามีสรรพคุณทางยา มาแต่โบราณนับพันปี และเป็นเห็ดมีค่าและราคาแพงเนื่องจากในธรรมชาติจะพบน้อยและมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการ ดังนั้นจึงมีการศึกษาเรื่องการเพาะเห็ดหลินจือ เพื่อให้มีปริมาณเพียงพอต่อการนำมาใช้ประโยชน์

การเพาะเห็ดหลินจือมีอยู่หลายสูตร (สุทธพรหม, 2531; สุกนิศย์, 2538; สาธิต, 2538; สาธิต, 2539; ศิพพร้อม, 2539) สามารถเพาะได้ในถุงซีลื้อหรืออาจเป็นการเพาะบนท่อนไม้ ซึ่งจะ สามารถเลือกใช้ได้ตามความเหมาะสมแล้วแต่สภาพพื้นที่ ภูมิอากาศ และวัตถุดิบ โดยต้องคำนึง ถึงคุณสมบัติของวัตถุดิบ อุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ สำหรับการเพาะเห็ดหลินจือใน ถุงซีลื้อนั้น นิยมใช้ซีลื้อไม้ยางพารา หรือไม้ฉำฉา หรือไม้เบญจพรรณ มีการเติมส่วน ประกอบอื่น ๆ ซึ่งได้แก่รำละเอียด หรือในบางสูตรมีการใส่ข้าวโพดป่น ข้างฟางป่น กากถั่ว เหลืองป่น หรือส่าเหล้าป่น เพื่อเป็นอาหารเสริม การใส่ยิบซัมช่วยทำให้เส้นใยแข็งแรง ปูนขาว ช่วยปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างให้มีค่าเป็นกลาง ดิเกลือช่วยทำให้เส้นใยกลายเป็นดอกเห็ดได้เร็ว ขึ้น และความชื้นช่วยทำให้เส้นใยมีการดูดซึมสารอาหารมาใช้ได้ดีขึ้น ในกรณีที่นำซีลื้อเก่ากลับมา ใช้ใหม่จะมีการเติมน้ำตาลลงไปประมาณ 1-2 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารตอนผสมซีลื้อ เนื่องจากอาหารและปริมาณน้ำตาลในซีลื้อจะลดน้อยลง นำเมล็ดข้าวฟ่างที่เต็มไปด้วยเส้นใยมาหยอด ลงในถุงก่อนซีลื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วประมาณ 20-30 เมล็ด นำไปบ่มที่อุณหภูมิปกติเป็นระยะเวลา ประมาณ 2-3 สัปดาห์ หรืออาจเป็นระยะเวลาประมาณ 1 เดือนแล้วแต่กรณี ซึ่งในขั้นตอนการบ่ม นี้ต้องมีการถ่ายเทของอากาศเพียงเล็กน้อย และแสงสว่างไม่จำเป็นต้องมีก็ได้ เมื่อก่อนเชื้อสมบูรณ์ เริ่มออกเป็นปุ่มออกมาให้เห็น ก็จะไปเปิดดอกเห็ดในโรงเรือนเพาะเห็ด ที่มีอุณหภูมิประมาณ 27-30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80-90 เปอร์เซ็นต์ มีแสงสว่างและอากาศถ่ายเท ได้ดี ดอกเห็ดจะใช้เวลาในการเจริญมากกว่า 1 เดือน และจะปล่อยให้ดอกเห็ดเจริญ เพื่อพัฒนา ในด้านคุณภาพของสารที่ต้องการโดยจะใช้ระยะเวลาประมาณ 1 เดือน จะเก็บดอกเห็ดเมื่อดอกเห็ด มีสีน้ำตาลทั้งดอก ส่วนการเพาะเห็ดหลินจือบนท่อนไม้ สามารถทำได้โดยใช้ไม้จำพวกต้นแค ต้นหางนกยูง หรือต้นยางพารา นำมาตัดให้เป็นท่อน เจาะรูให้ลึกประมาณ 1-2 นิ้ว โดยให้ทะลุ เปลือกไม้เข้าไปถึงเนื้อไม้ โดยให้แต่ละรูห่างกันประมาณ 1 ฝ่ามือ และเยื้องสลับกันเป็นฟันปลา จากนั้นเอาเชื้อเส้นใยเห็ดจากข้าวฟ่าง หรือจากก้อนซีลื้อ ใส่ในรูที่เจาะเตรียมไว้ แล้วอุดด้วยจุก ไม้หรือพลาสติก นำท่อนไม้ไปเก็บในที่ร่มเป็นเวลาประมาณ 1-2 เดือน เพื่อรอให้เส้นใยเจริญจน ทั่วบนท่อนไม้นั้น แล้วจึงนำไปเก็บไว้ในโรงเรือนเพาะเห็ด โดยวางพียงเอียง รดน้ำให้เปียกชุ่ม เป็นประจำ ดอกเห็ดจะเริ่มออกดอกใช้ระยะเวลาประมาณ 1-3 เดือน และจะสามารถเก็บดอกเห็ด ไปได้เรื่อย ๆ จนกว่าท่อนไม้จะถูกย่อยหมดสภาพไป หรืออาจฝังท่อนไม้ลงไปในดินตามแนวตั้ง ลึก 2 ฟุต ท่อนไม้จะอาศัยความชื้นจากดินทำให้เกิดดอกเห็ด หรือฝังท่อนไม้วางทางแนวนอนราบ ไม่ว่ากรณีใดทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับพื้นดินแล้วเอาน้ำเชื้อขลุ่ยให้มิด รดน้ำผ่านน้ำเชื้อ ดอกเห็ดจะแทงทะลุผ่านน้ำเชื้อขึ้นมา ซึ่งทั้งสองแบบนี้ไม่ใช่โรงเรือน

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงดอกเห็ดหลินจือใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตเป็นดอกนานและต้องมีการควบคุมสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม จึงมีผู้สนใจทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารเหลว เพื่อนำมาใช้ในการผลิตและสกัดสารสำคัญต่าง ๆ

Hirovani และคณะ (1986) และ Hirovani และคณะ (1987) ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ *G. lucidum* ในอาหารเหลว ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส 15 กรัมต่อลิตร soytone 1 กรัมต่อลิตร สารสกัดจากยีสต์ 0.5 กรัมต่อลิตร KH_2PO_4 0.5 กรัมต่อลิตร NaCl 0.1 กรัมต่อลิตร $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 กรัมต่อลิตร และ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.11 กรัมต่อลิตร มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 5.5 ในสภาวะที่ไม่มีการเขย่า อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในที่มืด เป็นเวลา 6 สัปดาห์ สามารถสกัดกรดกาโนเดอริก ซึ่งเป็นสารพวกไตรเทอร์ปีนได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยง ซึ่งต่อมา Hirovani และคณะ (1990) ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ *G. lucidum* ในอาหารเหลวสูตรเดิม ในสภาวะที่ไม่มีการเขย่า อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในที่มืด โดยเก็บผลการทดลองทุก ๆ 1 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยเมื่อเพาะเลี้ยงไปได้ระยะเวลา 2 และ 3 สัปดาห์ จะมีการเติมสารละลาย sodium $[1,2-^{13}\text{C}_2]$ acetate ลงไปในแต่ละฟลาस्कที่มีเส้นใยเจริญ เพื่อศึกษาการสังเคราะห์กรดกาโนเดอริก T และ S ส่วนงานวิจัยของ Shiao และคณะ (1987) ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ *G. lucidum* ในอาหารเหลว ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลเด็กซ์โทรส 30 กรัมต่อลิตร สารสกัดจากมอลต์ 20 กรัมต่อลิตร และเปปโตน 1 กรัมต่อลิตร มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 6.5 ในสภาวะที่ไม่มีการเขย่า อุณหภูมิ 28 ± 1.5 องศาเซลเซียส นาน 30 วัน สามารถสกัดกรดกาโนเดอริก ซึ่งเป็นสารพวกไตรเทอร์ปีนได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงด้วยเช่นกัน

Kino และคณะ (1989) ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ *G. lucidum* ในอาหารเหลว Potato Dextrose Broth (PDB) ในสภาวะที่มีการเขย่า ความเร็วรอบ 110 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน สามารถสกัดสาร Ling Zhi-8 (LZ-8) ซึ่งเป็นสารพวกโปรตีนที่มีคุณสมบัติช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

Sone และคณะ (1985) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ *G. lucidum* ในอาหารเหลว ซึ่งประกอบด้วย สารสกัดจากมอลต์ 4 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดจากยีสต์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ KH_2PO_4 0.05 เปอร์เซ็นต์ K_2HPO_4 0.05 เปอร์เซ็นต์ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 เปอร์เซ็นต์ และกลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะที่มีการเขย่า ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 จากการศึกษาของ สิริลักษณ์ (2536) ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ *G. lucidum* ในอาหารเหลว ในสภาวะที่ไม่มีการเขย่า เพื่อผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่า เส้นใยสามารถเจริญได้ดีในไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหาร Potato Dextrose Broth (PDB) สูตรอาหาร Yeast-Malt Extract ที่มีความเข้มข้นของ กลูโคส 6 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน และสูตรอาหารโมลาสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ที่ ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 6 เปอร์เซ็นต์ และ Zhang และคณะ (1994) ทำการเพาะเลี้ยง เส้นใยเห็ดหลินจือ *G. usugae* ในระดับด่างหมัก ในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยกลูโคส 30 กรัมต่อ ลิตร เปปโตน 3 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมไบฟอสเฟต 1.5 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟต 0.7 กรัมต่อลิตร และวิตามินบี 1 0.01 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7.0 เพาะเลี้ยง โดยมีการให้อากาศ ที่อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน เพื่อสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180

นอกจากนี้ยังมีการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดอื่น ๆ เพื่อผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยเช่นเดียวกัน จากการศึกษาของ Mizuno และคณะ (1992) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยของเห็ด *Polyporus confluens* ในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส พอลิเปปโตน สารสกัดจากยีสต์ โซเดียมไนเตรด โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต โพแทสเซียมคลอไรด์ และแมกนีเซียมซัลเฟต ในสภาวะที่มีการเขย่า ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 23-25 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 3-5 วัน และ Zhuang และคณะ (1994) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยของเห็ด *Grifola frondosa* ในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยน้ำต้มมันฝรั่ง กลูโคส สารสกัดจากยีสต์ และสารสกัด จากมอลต์ ในสภาวะที่มีการเขย่า เพื่อผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยเช่นกัน

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 เห็ดหลินจือ

เห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) ได้มาจากฝ่ายวิจัยและพัฒนา โครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา ซึ่งทางสถาบันวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม ให้รหัสเป็น L004

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ของ Beckman รุ่น J2-MC
2. เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) ของ Orion รุ่น 420A
3. เครื่องชั่งแบบหยาบ ของ Mettler รุ่น PJ3000
4. เครื่องชั่งแบบละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง ของ Mettler รุ่น AT200
5. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ของ Tomy รุ่น SS-320
6. ตู้อบแห้ง (Hot air oven) ของ Memmert รุ่น UL30
7. เครื่องผสม (Mixer) ของ Scientific Industries รุ่น Vortex Genie II
8. ปั๊มดูดอากาศ (Vacuum pump) ของ Gast รุ่น DOA-V232-DO
9. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow) ของ Bassaire รุ่น A4HB
10. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) ของ New Brunswick Scientific รุ่น G-27
11. เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ของ Hewlett Packard รุ่น HP8452
12. เครื่องกวนสาร (Magnetic stirrer) ของ Barnstead รุ่น 502C-2
13. เครื่องระเหยสุญญากาศ (Evaporator) ของ Buchii รุ่น RE111
14. เครื่องแก้ว ได้แก่ ฟลาสก์รูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร หลอดทดลอง ปิเปตต์ และ บีกเกอร์
15. เข็มเขี่ยเชื้อ

3.3 สารสำหรับเตรียมอาหารและเคมีภัณฑ์

1. Agar ของ Algas Marinas
2. 4-Aminoantipyrine ของ Sigma
3. Copper sulphate pentahydrate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ของ Merck
4. Absolute ethanol ของ Carlo Erba
5. Ethanol 95% ของ โรงงานสุรา กรมสรรพสามิต
6. Folin-Ciocalteu reagent ของ Sigma
7. Glucose (anhydrous) ของ Fluka
8. Glucose oxidase ของ Sigma
9. Glucose peroxidase ของ Sigma
10. Magnesium sulphate heptahydrate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ของ Merck
11. Malt extract ของ Difco
12. Phenol ของ Carlo Erba
13. Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) ของ Merck
14. Dipotassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4) ของ Merck
15. Sodium azide (NaN_3) ของ Merck
16. Sodium carbonate (Na_2CO_3) ของ Merck
17. Sodium dihydrogen phosphate monohydrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ของ Merck
18. Disodium hydrogen phosphate heptahydrate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ของ Merck
19. Sodium hydroxide (NaOH) ของ Merck
20. Sodium potassium tartrate ของ Merck
21. Sulfuric acid (H_2SO_4) ของ Carlo Erba
22. Yeast extract ของ Difco

3.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.4.1 การศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารเหลว

3.4.1.1 การเตรียมเส้นใยเห็ดหลินจือ สำหรับเลี้ยงในอาหารเหลว

นำเชื้อเส้นใยเห็ดหลินจือมาเพาะเลี้ยงบน PDA slant บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน นำเส้นใยเห็ดหลินจือที่เลี้ยงบน PDA slant อายุ 7 วัน มาเติมอาหารเหลวสูตรที่จะทำการศึกษา ปริมาตร 30 มิลลิลิตรต่อขวด PDA slant 1 ขวด จากนั้นจึงใช้เข็มเขี่ยเชื้อ เขี่ยเส้นใยจากผิวหน้าของ PDA slant แล้วจึงเทใส่ในพลาสติกที่ฆ่าเชื้อแล้ว ใช้เป็นเชื้อเส้นใยเห็ดเริ่มต้น (inoculum) โดยใช้ปริมาตร 2 มิลลิลิตรต่อพลาสติก

3.4.1.2 การศึกษาผลของสูตรอาหารและปริมาณกลูโคสต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ

อาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเส้นใย ได้แก่ Potato Dextrose Broth (PDB), Yeast-Malt Extract (YM) และ Glucose-Yeast Extract (YMK) (ภาคผนวก ก.) ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร เทอาหารที่เตรียมได้ในแต่ละสูตรลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรพลาสติกละ 75 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วจึงเติมเชื้อเส้นใยเห็ดหลินจือ เพื่อเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่ไม่มี การเขย่าและสภาวะที่มีการเขย่าต่อไป

3.4.1.2.1 สภาวะที่ไม่มี การเขย่า เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน เพื่อวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของเส้นใย ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร และปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหารเหลว โดยการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 2-4 วัน ในแต่ละตัวอย่างหาค่าเฉลี่ยจากการเก็บค่า 3 ครั้ง

3.4.1.2.2 สภาวะที่มีการเขย่า เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 14 วัน เพื่อวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของเส้นใย ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร และปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหารเหลว โดยการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 2-4 วัน ในแต่ละตัวอย่างหาค่าเฉลี่ยจากการเก็บค่า 3 ครั้ง

3.4.1.3 การหำน้ำหนักแห้งของเส้นใย

ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า โดยการใช้ปากคีบดึงแผ่นของเส้นใยออกจากพลาสติก ส่วนภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า โดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นนำเส้นใยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในแต่ละสภาวะไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่ได้

3.4.1.4 การวัดความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร

นำอาหารเหลวที่เหลือจากการเพาะเลี้ยงเส้นใยที่แยกเส้นใยออกแล้ว มาวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง โดยใช้เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง

3.4.1.5 การหาปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหารเหลวที่เลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ

หาปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ โดยใช้วิธีเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสและเปอร์ออกซิเดส (Kunst และคณะ, 1984) ดังนี้

ก. วิธีเตรียมสารเคมี

สารละลาย A เตรียมฟอสเฟตบัพเฟอร์ 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิตร ที่มีสาร 4-อะมิโนแอนติไพรีน (4-aminoantipyrine) 0.8 มิลลิโมลาร์ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 7.0 ละลายเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) 80 มิลลิกรัม เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) 0.25 มิลลิกรัม และโซเดียมเอไซด์ (sodium azide) 48.75 มิลลิกรัม เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส

สารละลาย B เตรียมสารละลายฟีนอล (phenol) 560 มิลลิโมลาร์

สารละลายผสม เตรียมโดยผสมสารละลาย A ต่อสารละลาย B อัตราส่วน 100 ต่อ 2 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

ข. วิธีทดสอบ

นำสารละลายที่ต้องการทดสอบ 0.3 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายผสม 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที สีของสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 505 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส ในช่วงความเข้มข้น 0.02-0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ข-1)

3.4.1.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติน้ำหนักแห้งของเส้นใย

นำผลการการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือภายใต้สภาวะที่ไม่มีมีการเขย่าและสภาวะที่มีการเขย่ามาวิเคราะห์ความแปรปรวน ใช้แผนการทดลองแบบ Factorial Experiment in RCBD (Randomized Complete Block Design) โดยมีปัจจัยคือสูตรอาหารและความเข้มข้นของกลูโคส แบ่งบล็อกตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเส้นใยดังนี้ การเพาะเลี้ยงเส้นใยภายใต้สภาวะที่ไม่มีมีการเขย่า มี 4 บล็อก คือ วันที่ 7, 14, 21 และ 28 ส่วนภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า มี 2 บล็อก คือ วันที่ 7 และ 14 หลังจากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (Gomez และ Gomez, 1984)

3.4.2 การสกัดสารสกัดหยาบ และการหาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือ

3.4.2.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดหลินจือ

สกัดเส้นใยเห็ดหลินจือ โดยคิดแปลงจากวิธีการสกัดของ Zhang และคณะ (1994) และสิริลักษณ์ (2536) มีขั้นตอนดังนี้

นำเส้นใยเห็ดหลินจืออบแห้งที่บดแล้ว มาชั่งน้ำหนัก 250 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง ปิดจุกและนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น กรองสารละลายที่สกัดได้ด้วยกระดาษกรองวัชแมนเบอร์ 1 กำจัดน้ำออกจากสารละลายประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ตกตะกอนสารละลายที่ได้ด้วยเอทานอล โดยใช้อัตราส่วนของสารละลายที่กำจัดน้ำออกแล้วต่อเอทานอลเท่ากับ 1 ต่อ 6 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และทำให้แห้งในสูญญากาศ

ในการทดลองสกัดสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดหลินจือ ในแต่ละตัวอย่างหาค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบจากการเก็บค่า 3 ครั้ง

3.4.2.2 การหาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดหยาบ

หาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ โดยวิธี Phenol-sulfuric acid (Dubois และคณะ, 1956) ดังนี้

เตรียมสารละลายฟีนอล 5 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่งฟีนอล 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ต้องการทดสอบ 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ใส่น้ำเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.5 มิลลิลิตร โดยเติมลงไปบนผิวหน้าของไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายโดยตรง เพื่อให้เกิดการผสมที่ดี ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นวางทิ้งไว้ 10-20 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส ในช่วงความเข้มข้น 0.02-0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ข-2)

ในการหาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดหยาบของเส้นใยเห็ดหลินจือ ในแต่ละตัวอย่างหาค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดหยาบของเส้นใยเห็ดหลินจือจากการเก็บค่า 3 ครั้ง

3.4.2.3 การหาปริมาณโปรตีนจากสารสกัดหยาบ

หาปริมาณโปรตีน โดยใช้ Lowry's method (Dunn, 1995)

ก. วิธีเตรียมสารเคมี

สารละลาย A เตรียมสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

1 เปอร์เซ็นต์

สารละลาย B เตรียมสารละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาทเรต (sodium potassium tartrate) 2 เปอร์เซ็นต์

สารละลาย C เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) 0.2 โมลาร์

สารละลาย D เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) 4 เปอร์เซ็นต์

เก็บสารละลาย A, B, C และ D ที่อุณหภูมิห้อง

สารละลาย E เตรียมโดยผสมสารละลาย C ต่อ D ต่อ A ต่อ B อัตราส่วน 49 ต่อ 49 ต่อ 1 ต่อ 1 (เตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนทดลอง)

สารละลาย F เจือจาง Folin-Ciocalteu reagent ด้วยน้ำกลั่น (อัตราส่วน 1 ต่อ 1)

ข. วิธีทดสอบ

นำสารละลายที่ต้องการทดสอบ 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย E 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ใส่สารละลาย F 0.25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine Serum Albumin (BSA) (ภาคผนวก ข-3) ในช่วงความเข้มข้น 0.05-0.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ในการหาปริมาณโปรตีนจากสารสกัดหยาบของเส้นใยเห็ดหลินจือ ในแต่ละตัวอย่างหาค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนจากสารสกัดหยาบของเส้นใยเห็ดหลินจือจากการเก็บค่า 3 ครั้ง

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติปริมาณน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบ ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน

นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้แผนการทดลองแบบ Factorial Experiment in CRD (Complete Randomized Design) โดยมีปัจจัยคือสูตรอาหารและความเข้มข้นของกลูโคส หลังจากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 หรือ 99 เปอร์เซ็นต์ (Gomez และ Gomez, 1984) ซึ่งได้แก่

- การเปรียบเทียบปริมาณน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด

หลินจือ

- การเปรียบเทียบปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยเห็ดหลินจือ
- การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือ



บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลของอาหารเลี้ยงเส้นใยชนิดต่าง ๆ และปริมาณกลูโคสต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

จากการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารเหลว Potato Dextrose Broth (PDB), Yeast-Malt Extract (YM) และ Glucose-Yeast Extract (YMK) ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า (static culture) ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ปรากฏผลการทดลองดังนี้

4.1.1 ผลของการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคสต่าง ๆ

จากการศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.1-4.3 และภาพที่ 4.1-4.3 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งของเส้นใยเริ่มคงที่ในวันที่ 17 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 และ 60 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งของเส้นใยยังคงเพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลาของการเพาะเลี้ยง 28 วัน และน้ำหนักแห้งของเส้นใยที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของกลูโคสสูงสุดในวันที่ 28 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 12.0231, 16.6373 และ 17.9791 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหาร พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร มีการใช้กลูโคสหมดในวันที่ 28 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 และ 60 กรัมต่อลิตร มีกลูโคสเหลืออยู่เท่ากับ 14.6517 และ 40.3073 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 5.95, 5.82 และ 5.74 และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงเส้นใยมีค่าเท่ากับ 4.81, 4.83 และ 4.67 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	18.0450	5.95
4	1.3444	18.2447	5.24
7	4.0089	17.6577	5.01
10	7.3280	15.9473	4.69
12	8.5418	13.4090	4.66
14	9.6911	10.7560	4.65
17	10.2347	7.7887	4.55
19	10.9378	6.3353	4.50
21	11.6387	3.0373	4.54
24	11.9649	2.0937	4.55
26	11.9907	0.6927	4.59
28	12.0231	0.0000	4.81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

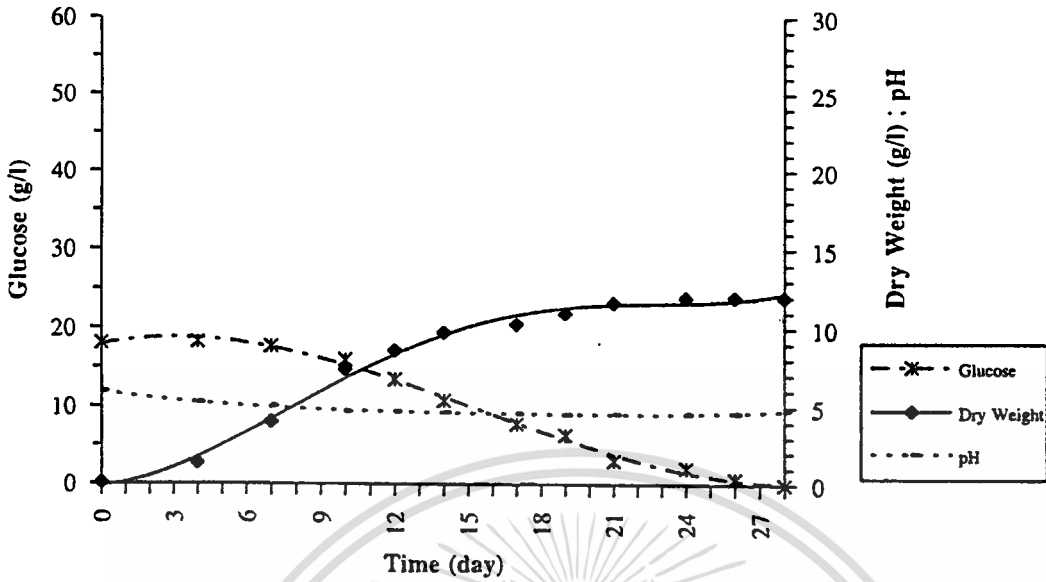
ตารางที่ 4.2 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	37.7450	5.82
4	1.4547	36.2060	5.17
7	5.3623	38.3790	4.98
10	8.9422	34.2367	4.93
12	10.0227	34.8923	4.91
14	11.0027	31.9623	4.78
17	12.3084	27.0927	4.70
19	12.8356	24.6970	4.61
21	14.0009	23.9273	4.59
24	14.6649	21.9733	4.42
26	15.2169	17.7957	4.52
28	16.6373	14.6517	4.83

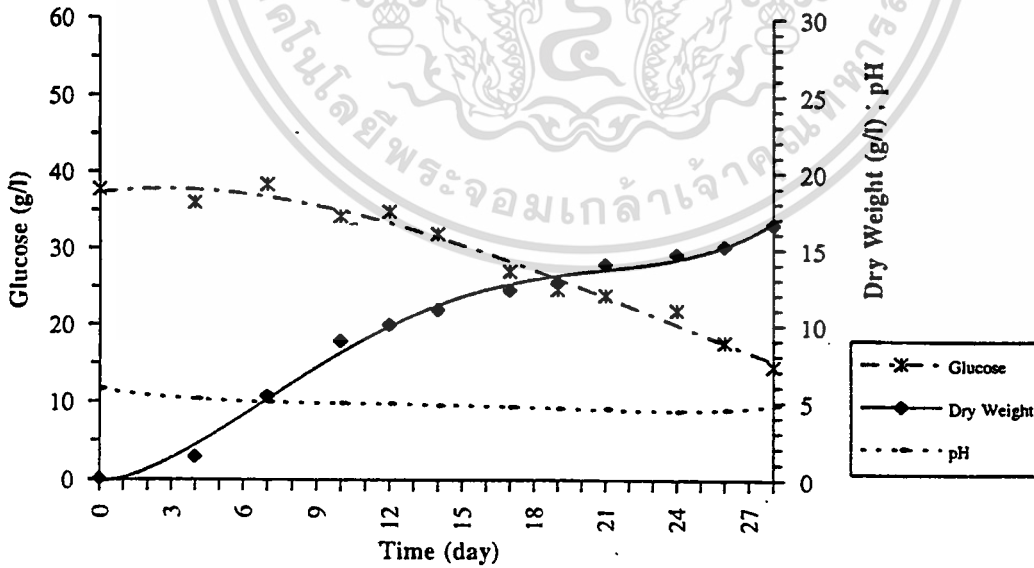
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

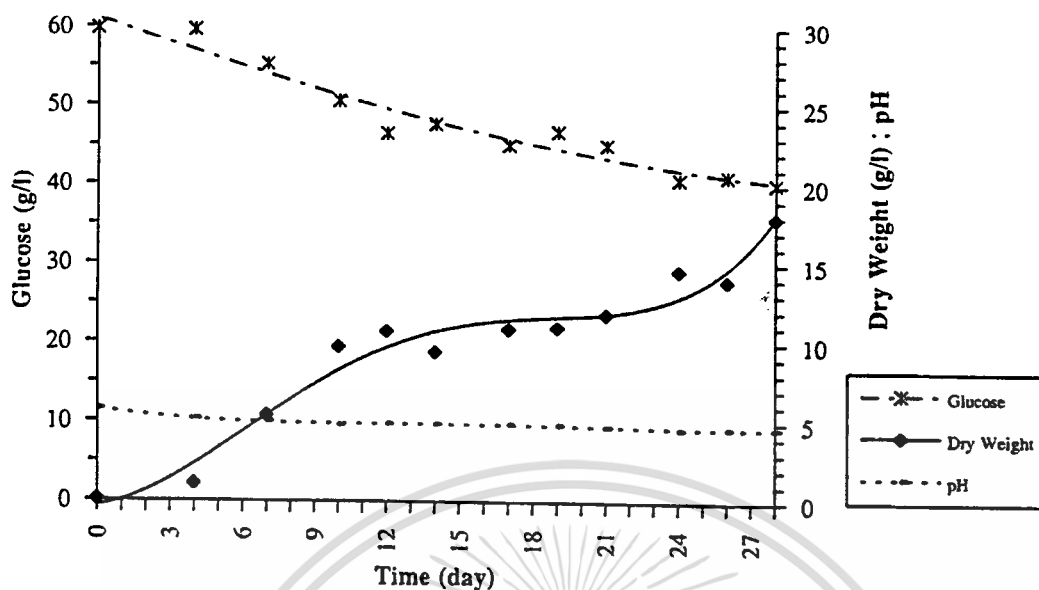
ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	59.8000	5.74
4	1.0844	59.6430	5.16
7	5.3885	55.4290	5.01
10	9.7142	50.6273	4.78
12	10.6960	46.5637	4.87
14	9.4044	47.7613	4.87
17	10.8529	45.1307	4.86
19	10.9734	46.8630	4.83
21	11.8151	45.1623	4.74
24	14.5915	40.8527	4.59
26	13.9631	41.2700	4.67
28	17.9791	40.3073	4.67



ภาพที่ 4.1 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีมีการเขย่า



ภาพที่ 4.2 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีมีการเขย่า



ภาพที่ 4.8 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

4.1.2 ผลของการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคสต่าง ๆ

จากการศึกษาการเจริญของเส้นใยในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.4-4.6 และภาพที่ 4.4-4.6 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 17 วัน น้ำหนักแห้งของเส้นใยเริ่มคงที่ ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 และ 60 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งของเส้นใยเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ โดยน้ำหนักแห้งของเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร มีค่าสูงสุดในวันที่ 21, 28 และ 28 ของการเพาะเลี้ยงตามลำดับ โดยมีค่าเท่ากับ 22.1630, 25.1470 และ 24.5500 กรัมต่อลิตร จากการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหาร พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร มีการใช้กลูโคสจนหมดเมื่อเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 21 วัน ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 และ 60 กรัมต่อลิตร มีกลูโคสเหลืออยู่เท่ากับ 1.7000 และ 34.1357 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 6.00, 5.80 และ 5.55 และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงเส้นใยมีค่าเท่ากับ 5.98, 4.83 และ 4.75 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	21.5000	6.03
4	1.3640	21.1795	5.40
7	5.4603	19.3541	5.09
10	10.4727	17.3072	5.06
12	14.6180	14.1948	4.60
14	16.3020	10.9719	4.87
17	19.3870	4.6722	4.55
20	21.3193	0.6296	4.84
21	22.1630	0.0000	4.65
24	19.8333	0.0000	5.28
28	19.8483	0.0000	5.98

ตารางที่ 4.5 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

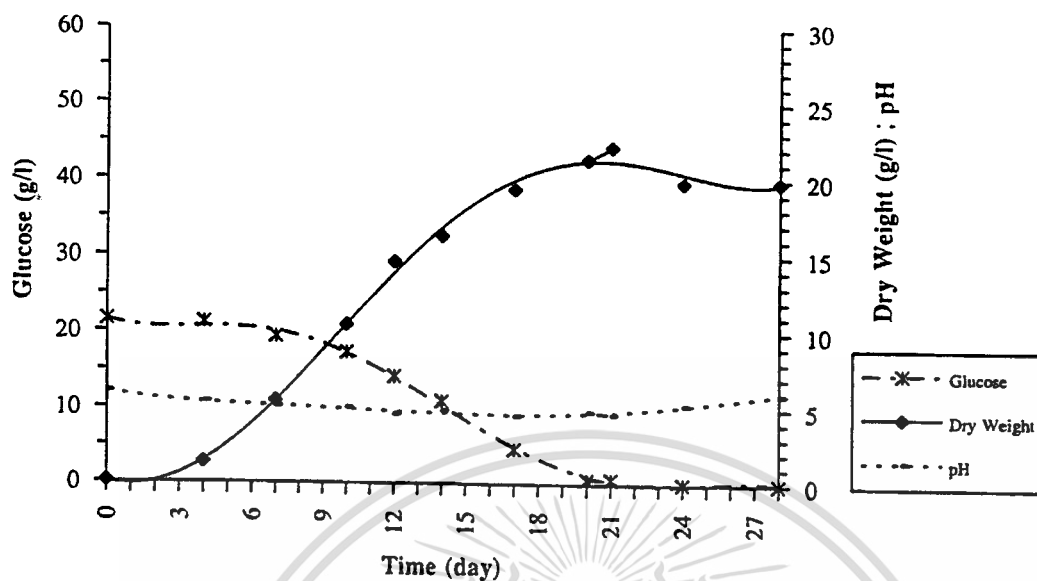
ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	39.8000	5.80
4	1.1777	37.5851	5.20
7	4.2087	35.5596	5.06
10	9.7340	29.0864	5.05
12	12.4110	33.4035	4.63
14	14.7573	25.2283	4.89
17	17.6733	24.8822	4.59
20	20.0360	21.6884	4.73
21	20.8580	17.6792	4.45
24	21.8557	10.7361	4.36
28	25.1470	1.7000	4.83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

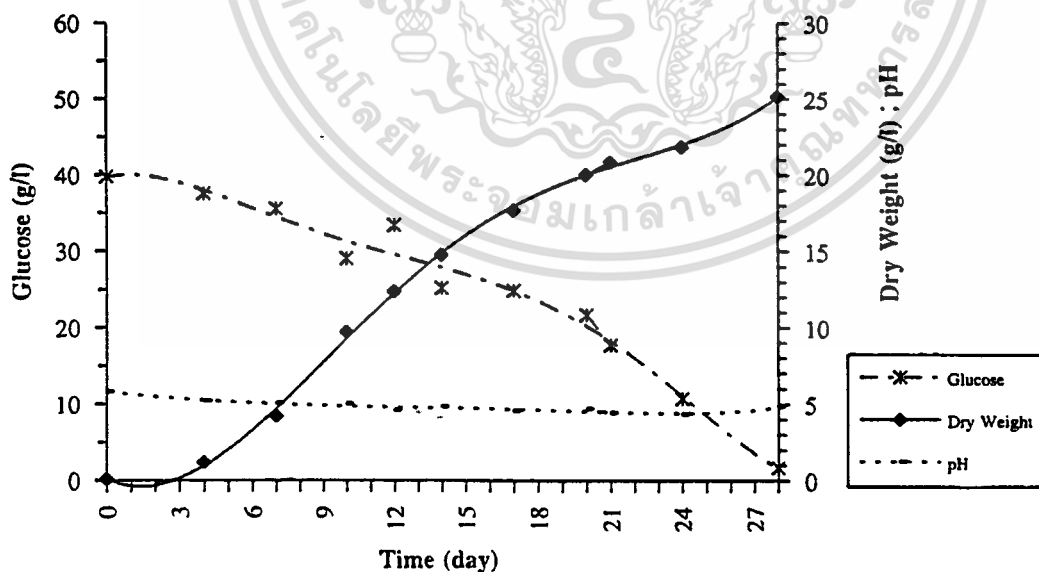
ตารางที่ 4.6 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	59.8500	5.55
4	0.8003	55.0865	5.20
7	2.6787	54.3046	5.12
10	5.6567	55.2934	5.04
12	8.4573	52.8187	5.00
14	11.2163	53.5359	4.82
17	14.5013	49.4564	4.78
20	17.7473	42.5652	4.66
21	17.2700	43.4381	4.53
24	21.9243	41.9089	4.52
28	24.5500	34.1357	4.75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



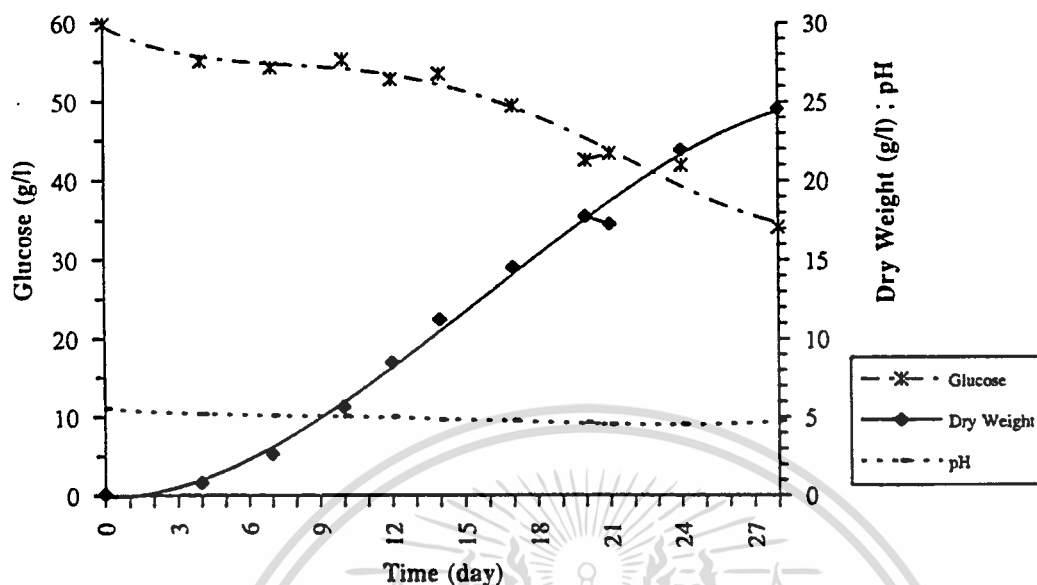
ภาพที่ 4.4 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า



ภาพที่ 4.5 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

4.1.3 ผลของการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคสต่าง ๆ

จากการศึกษาการเจริญของเส้นใยในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้น 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.7-4.9 และภาพที่ 4.7-4.9 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งของเส้นใยเริ่มคงที่ เมื่อเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 17 วัน ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 และ 60 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งของเส้นใยเริ่มคงที่เมื่อเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 21 วัน และให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยสูงสุดในวันที่ 28 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 17.6658, 18.2124 และ 17.0782 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในอาหาร พบว่า ปริมาณกลูโคสเริ่มต้นสูงกว่าที่เดิมลงไป และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงผ่านไป 28 วัน ปริมาณกลูโคสเหลืออยู่เท่ากับ 17.6399, 35.3404 และ 53.7099 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 6.14, 5.98 และ 5.73 และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงเส้นใยมีค่าเท่ากับ 4.40, 4.32 และ 4.39 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.7 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	25.4972	6.14
4	1.5529	26.5405	5.43
7	5.7542	25.4296	4.83
10	9.0546	25.3418	4.32
12	10.6133	23.4914	4.25
14	12.0822	24.8455	4.21
17	14.4467	23.1099	4.17
19	15.1000	21.7863	4.26
21	15.9698	21.5770	4.22
24	15.7187	19.2640	4.28
26	16.0631	18.5279	4.34
28	17.6658	17.6399	4.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

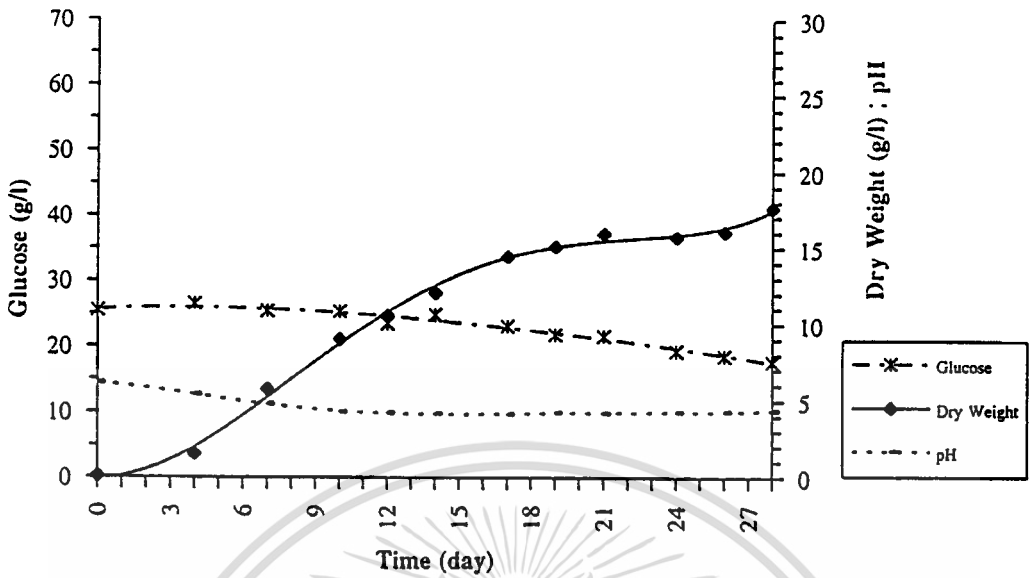
ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	46.5544	5.98
4	1.6925	44.7967	5.39
7	4.6791	43.4296	4.99
10	9.1178	42.2326	4.54
12	11.3561	42.5728	4.25
14	12.9169	40.5820	4.23
17	14.1720	40.7269	4.15
19	15.5898	41.9239	4.31
21	17.8729	41.8294	4.31
24	17.2640	40.8466	4.33
26	17.6573	39.6181	4.38
28	18.2124	35.3404	4.32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

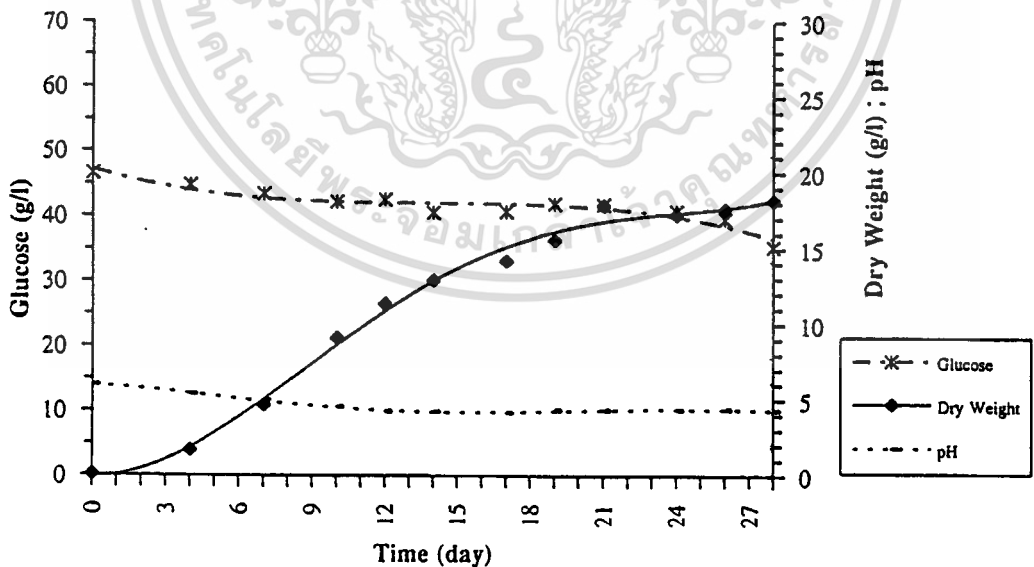
ตารางที่ 4.9 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	70.3136	5.73
4	1.3293	67.7243	5.40
7	4.2738	65.2389	5.10
10	8.5787	63.9065	4.61
12	10.4527	60.6273	4.32
14	12.6111	58.1986	4.22
17	14.2062	57.2347	4.19
19	13.0106	56.0535	4.23
21	15.4364	53.0909	4.23
24	15.8458	53.6248	4.32
26	16.5289	53.1050	4.24
28	17.0782	53.7099	4.39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

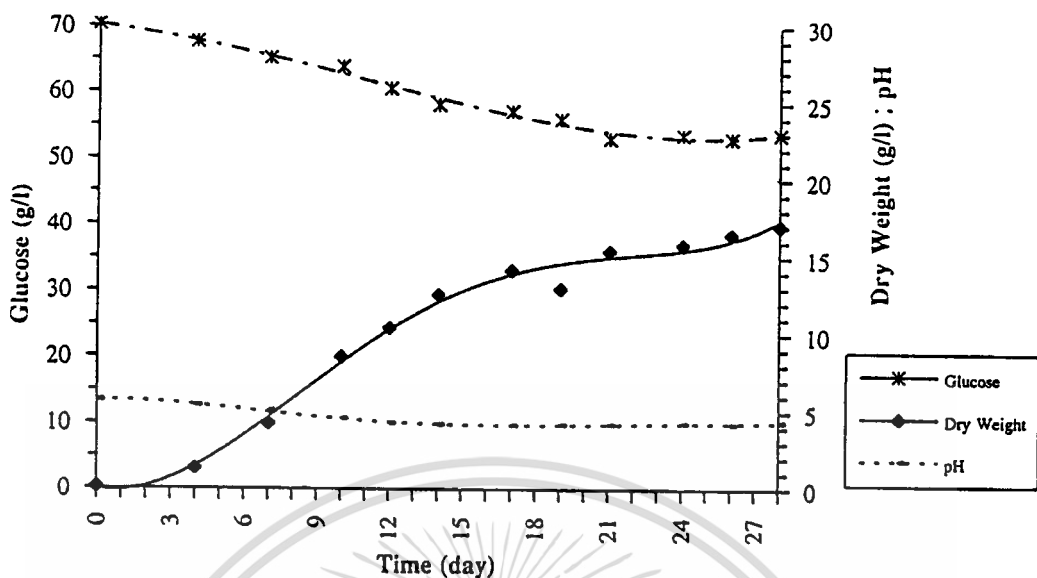


ภาพที่ 4.7 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีกรเพาะ



ภาพที่ 4.8 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารภายใต้สภาวะที่ไม่มีกรเพาะ การศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า

สำหรับลักษณะของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เจริญในอาหารเหลวแต่ละสูตรที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า (ภาพที่ 4.10) พบว่า เส้นใยที่เจริญในสูตรอาหารทั้งสามสูตรมีลักษณะเป็นแผ่นของเส้นใยเจริญบนผิวหน้าของอาหาร โดยในช่วงเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ เส้นใยจะมีสีขาว และเมื่ออายุมากขึ้นสีของเส้นใยจะค่อย ๆ เข้มขึ้นโดยมีสีออกเหลือง บางจุดมีสีน้ำตาล ในสูตรอาหาร YM พบว่า เส้นใยมีลักษณะฟู เป็นนุ่นมากกว่าในสูตรอาหาร PDB และ YMK และเมื่อเส้นใยในสูตรอาหาร PDB และ YMK อายุมากขึ้นเส้นใยจะเกิดการรวมตัวกันเป็นตุ่มขนาดเล็ก ๆ ที่บริเวณข้างฟลasks ในขณะที่สูตรอาหาร YM ไม่เกิดลักษณะดังกล่าว



ภาพที่ 4.10 ลักษณะของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน

4.1.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ

เมื่อนำน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 7, 14, 21 และ 28 ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่าในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน ได้ผลดังตารางที่ 4.10 พบว่า ปัจจัยทั้งสองคือสูตรอาหารและความเข้มข้นของกลูโคสไม่มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งหมายความว่า น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรหนึ่งสูตรใดไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของกลูโคส และความเข้มข้นของกลูโคสที่เติมในอาหารทั้งสามระดับคือ 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งหมายความว่า ความเข้มข้นของกลูโคสที่เติมในอาหารมีอิทธิพลต่อค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือไม่แตกต่างกัน แต่สูตรอาหารทั้งสามสูตรคือ PDB, YM และ YMK ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งหมายความว่า สูตรอาหารมีอิทธิพลต่อค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือแตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในอาหารแต่ละสูตร โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และภาพที่ 4.11 พบว่า ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารกลุ่มแรกคือ YM และ YMK ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และมีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารกลุ่มที่สองคือ YMK และ PDB ซึ่งทั้งสองสูตรให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ดังนั้น ควรเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร YM หรือ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 7, 14, 21 และ 28 ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่าในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร

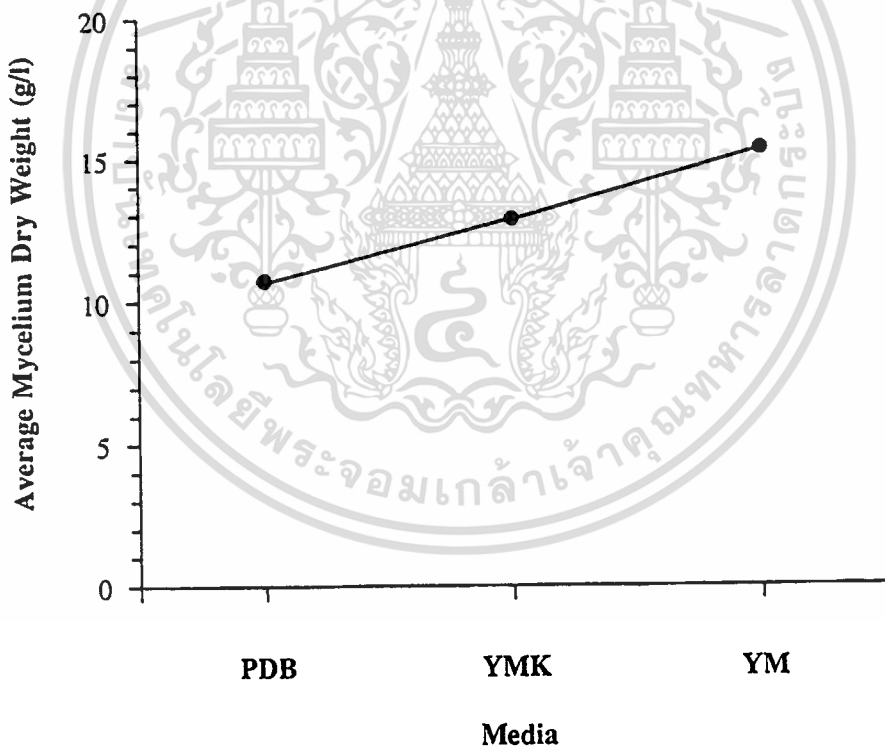
Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean of Square	F Value
Block	3	1035.8085	345.2695	
A	2	128.6360	64.3180	11.9842 ^{**}
B	2	12.0340	6.0170	1.1211 ^{ns}
AXB	4	15.5125	3.8781	0.7226 ^{ns}
Error	24	128.8059	5.3669	
Total	35	1320.7969		

หมายเหตุ Block ช่วงระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเส้นใย
 A สูตรอาหาร
 B ความเข้มข้นของกลูโคส
 ** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง
 ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 4.11 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 7, 14, 21 และ 28 ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า ในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK

สูตรอาหารที่ใช้	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ (กรัมต่อลิตร)
Yeast-Malt Extract (YM)	15.3716 ^a
Glucose-Yeast Extract(YMK)	12.8794 ^{ab}
Potato Dextrose Broth (PDB)	10.7460 ^b

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ DMRT



ภาพที่ 4.11 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 7, 14, 21 และ 28 ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่าในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK

4.2 ผลของอาหารเลี้ยงเส้นใยชนิดต่าง ๆ และปริมาณกลูโคสต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

จากการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า (shake flask culture) ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ปรากฏผลการทดลองดังนี้

4.2.1 ผลของการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคสต่าง ๆ

จากการศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.12-4.14 และภาพที่ 4.12-4.14 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 10 วัน น้ำหนักแห้งของเส้นใยเริ่มคงที่ ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 และ 60 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งของเส้นใยเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในช่วงระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 14 วัน โดยในสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 14 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 11.3871, 18.7347 และ 14.7671 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหาร พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 14 วัน ยังคงมีกลูโคสเหลืออยู่ในอาหารมีค่าเท่ากับ 8.9163, 31.0708 และ 50.4474 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 5.99, 5.47 และ 5.43 และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงเส้นใยมีค่าเท่ากับ 4.22, 3.69 และ 3.48 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.12 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	18.0453	5.99
3	0.5924	17.7072	4.47
7	3.9493	16.9600	4.33
10	9.1524	13.5112	4.21
12	10.6107	10.6305	4.28
14	11.3871	8.9163	4.22

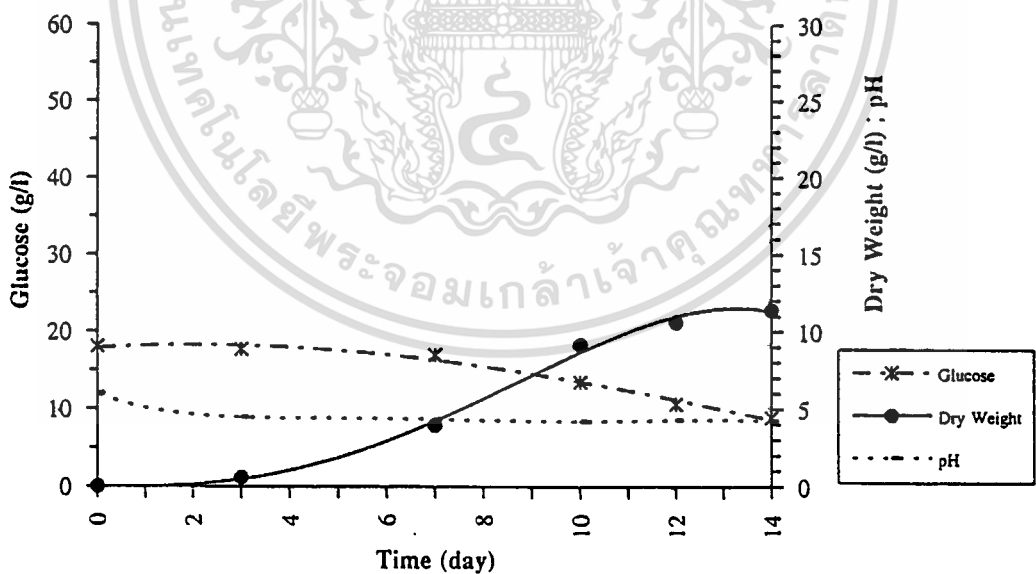
ตารางที่ 4.13 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	37.7454	5.47
3	0.4276	36.8219	5.05
7	3.8520	35.3873	3.75
10	11.1853	34.5675	3.66
12	15.4773	29.1608	3.63
14	18.7347	31.0708	3.69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

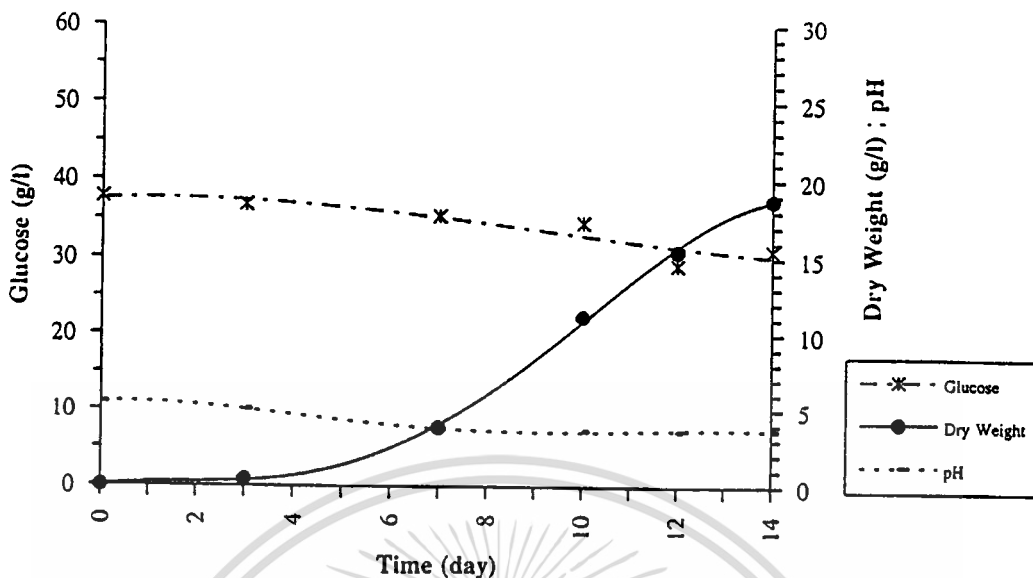
ตารางที่ 4.14 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	55.8254	5.43
3	0.4836	54.0464	5.21
7	1.4231	52.2246	4.14
10	5.9618	51.4033	3.91
12	10.9640	51.8311	4.01
14	14.7671	50.4474	3.48

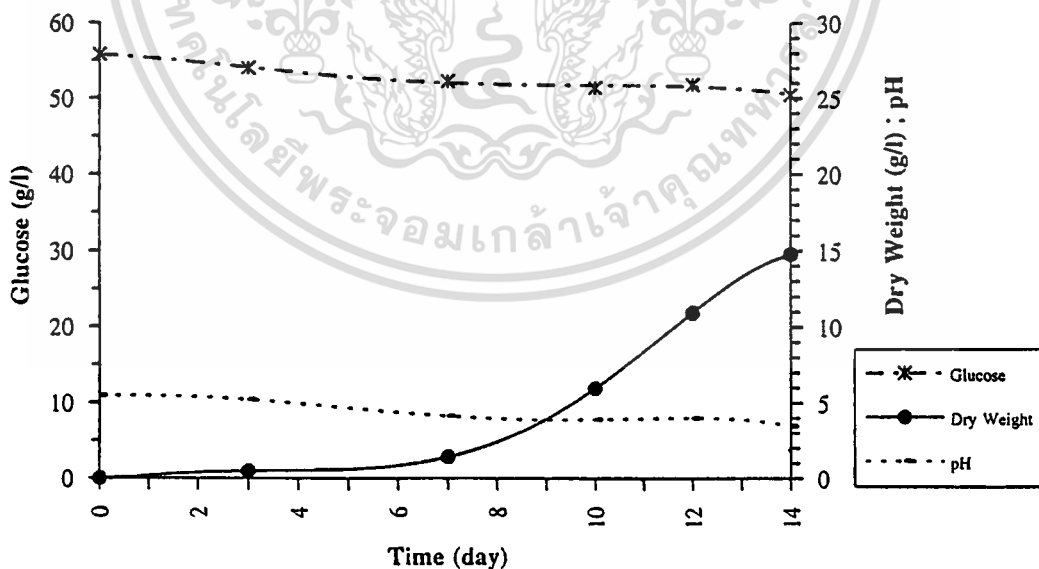


ภาพที่ 4.12 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.13 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า



ภาพที่ 4.14 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่าเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลของการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคสต่าง ๆ

จากการศึกษาการเจริญของเส้นใยในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.15-4.17 และภาพที่ 4.15-4.17 พบว่า น้ำหนักแห้งของเส้นใยในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เริ่มคงที่เมื่อเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 10 วัน ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งของเส้นใยเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในช่วงระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 14 วัน โดยน้ำหนักแห้งของเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 8.0404, 10.6596 และ 5.3196 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหาร พบว่า มีค่าเท่ากับ 6.9685, 26.0699 และ 53.2546 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 6.09, 5.88 และ 5.45 และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงเส้นใยมีค่าเท่ากับ 4.65, 4.61 และ 4.75 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.15 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	19.8827	6.09
3	0.5267	18.7455	5.90
7	5.4209	17.9174	4.67
10	7.0756	12.9550	4.63
12	7.2058	9.8006	4.70
14	8.0404	6.9685	4.65

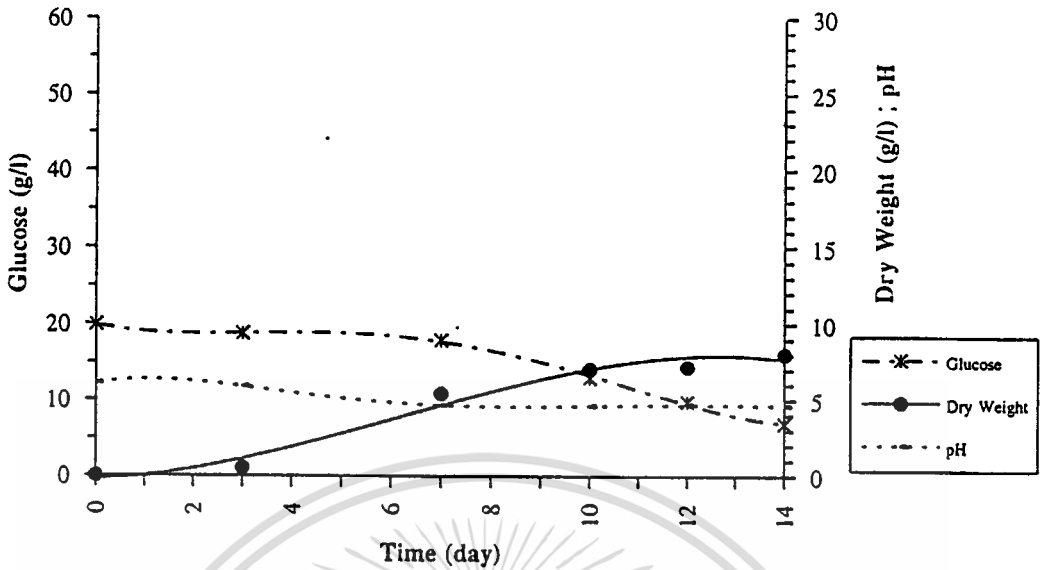
ตารางที่ 4.16 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	40.2938	5.88
3	0.4693	38.0257	5.60
7	4.3267	37.0722	4.84
10	7.3729	33.2703	4.80
12	8.0160	30.9440	4.70
14	10.6596	26.0699	4.61

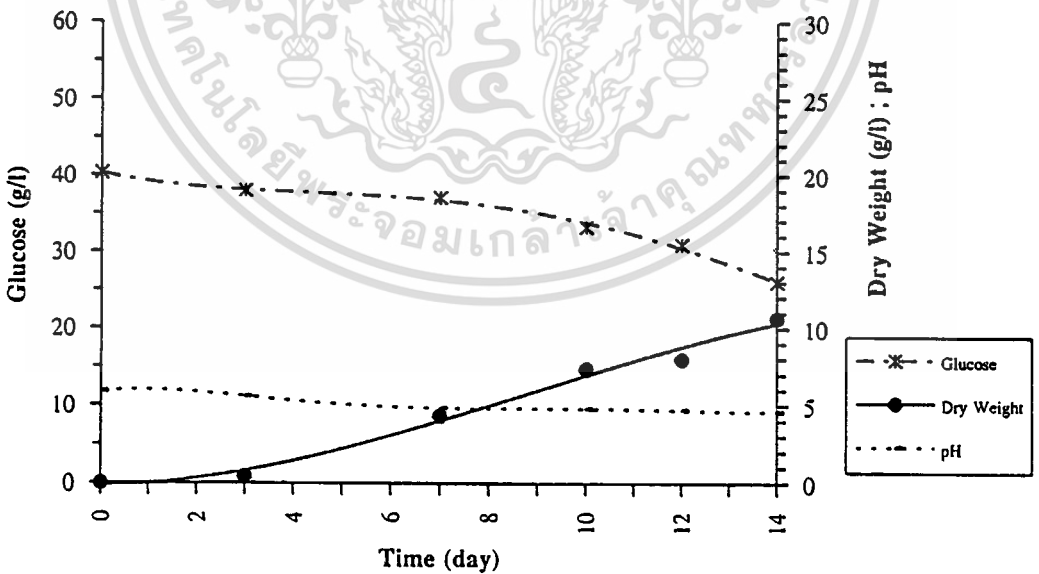
ตารางที่ 4.17 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	58.7110	5.45
3	0.4827	59.2338	5.43
7	3.3667	56.9022	4.97
10	4.3933	54.8889	4.92
12	5.0120	54.5084	4.88
14	5.3196	53.2546	4.75

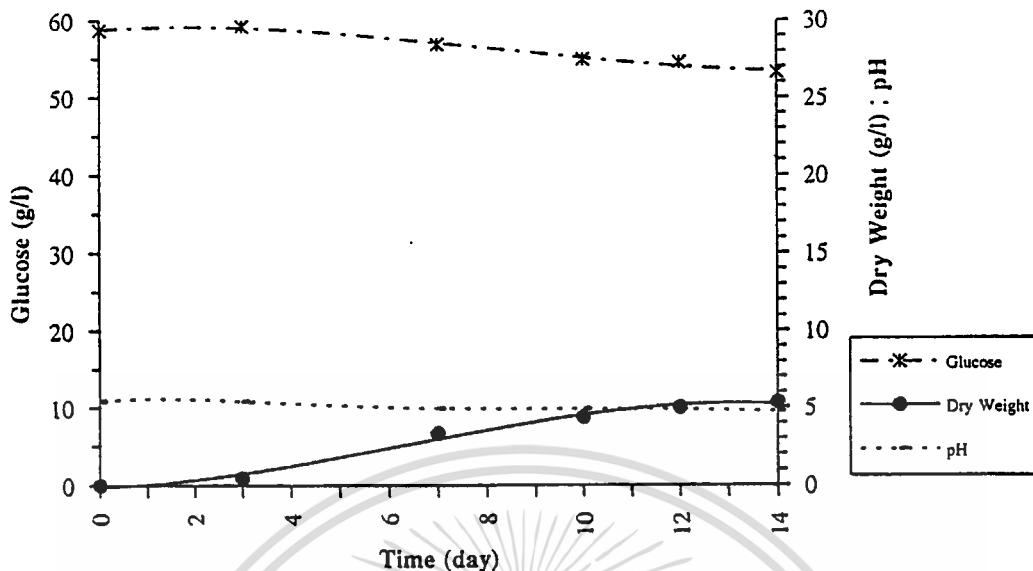
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.15 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า



ภาพที่ 4.16 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า



ภาพที่ 4.17 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

4.2.3 ผลของการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคสต่าง ๆ

จากการศึกษาการเจริญของเส้นใยในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.18-4.20 และภาพที่ 4.18-4.20 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งของเส้นใยเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในช่วงระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 14 วัน ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 และ 60 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งของเส้นใยเริ่มคงที่ในวันที่ 12 วันของการเพาะเลี้ยง ในสูตรอาหารที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักแห้งของเส้นใยสูงสุดในวันที่ 14, 14 และ 12 โดยมีค่าเท่ากับ 12.5524, 5.7053 และ 7.9458 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหาร พบว่า มีปริมาณกลูโคสในวันเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงสูงกว่าที่เติมลงไป และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 14 วัน ปริมาณกลูโคสจะคงที่หรือลดลงน้อยมาก โดยมีกลูโคสที่เหลืออยู่ในอาหารสูงกว่าที่เติมลงไปในอาหารซึ่งมีค่าเท่ากับ 26.2380, 49.9815 และ 72.3551 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 5.98, 5.78 และ 5.58 และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงเส้นใยมีค่าเท่ากับ 3.89,

เอกสารที่ 4.18 และ 4.29 ตามลำดับ การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	28.5270	5.98
3	0.5298	28.5403	4.55
7	3.3111	28.6213	3.67
10	5.9373	28.4893	3.73
12	10.4613	25.8760	3.80
14	12.5524	26.2377	3.89

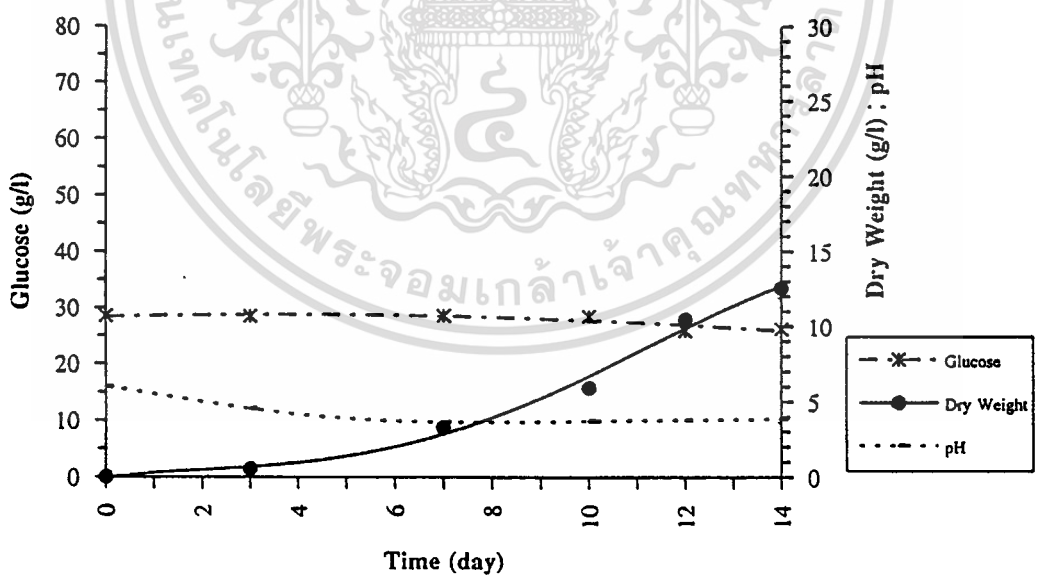
ตารางที่ 4.19 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	54.9351	5.78
3	0.4733	53.5801	5.63
7	1.1320	52.4258	4.44
10	1.6209	51.9250	3.89
12	5.5533	47.1791	4.27
14	5.7053	49.9815	4.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

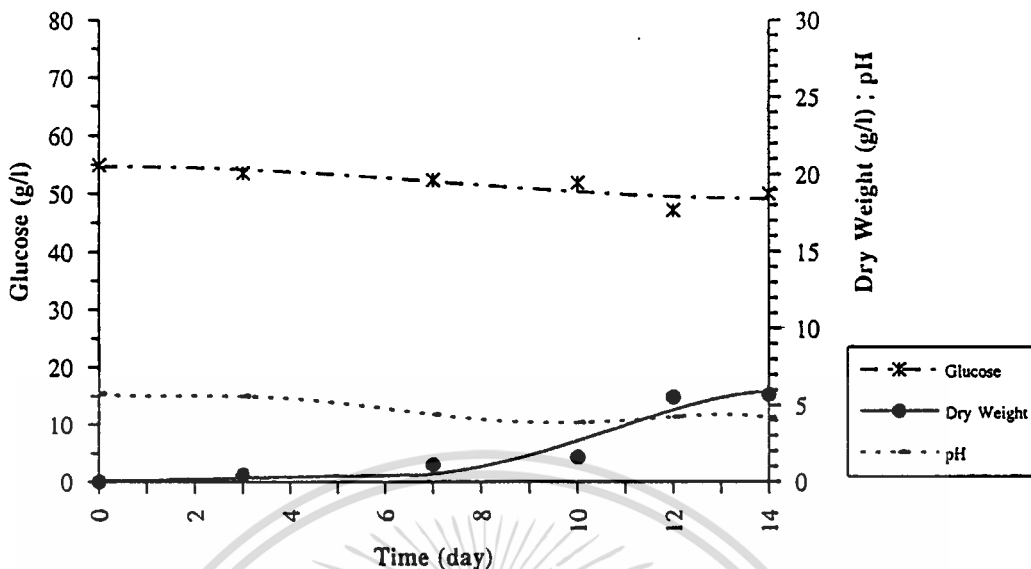
ตารางที่ 4.20 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง
0	0.0000	75.0764	5.58
3	0.5036	74.0860	5.55
7	1.1222	74.9040	4.42
10	2.2476	73.6906	4.39
12	7.9458	74.8548	4.22
14	7.2871	72.3551	4.29

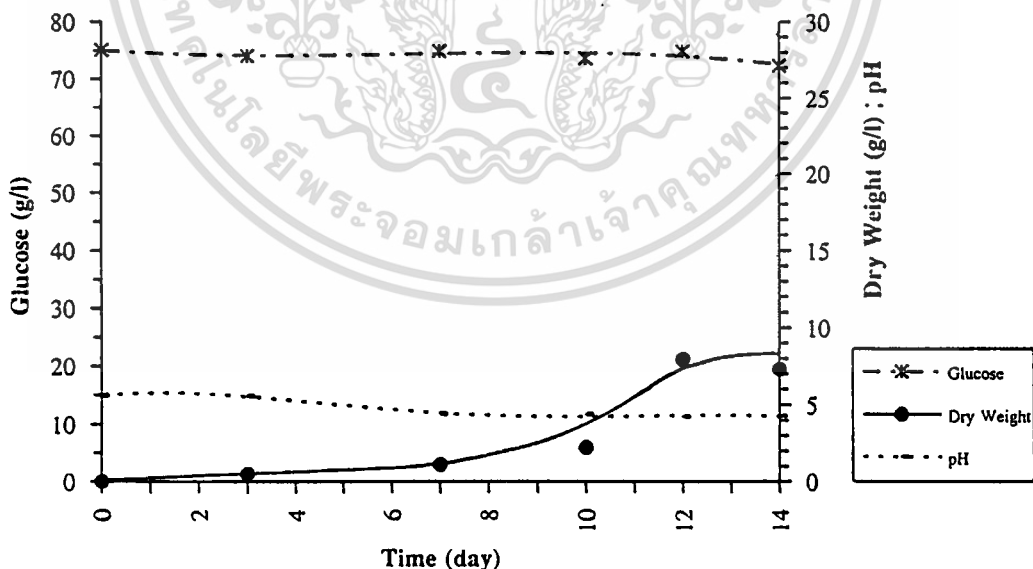


ภาพที่ 4.18 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



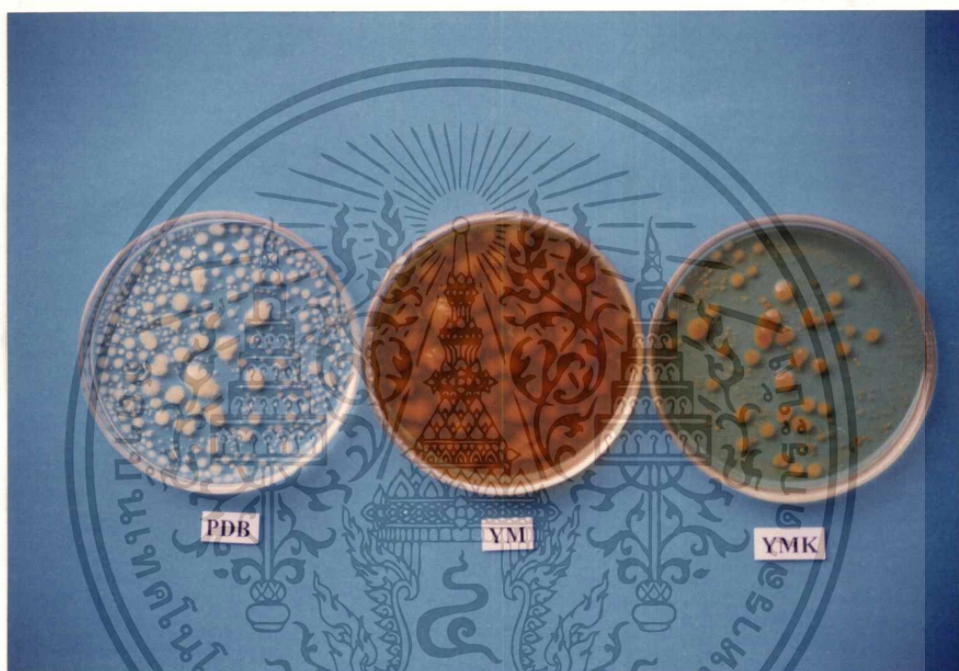
ภาพที่ 4.19 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า



ภาพที่ 4.20 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ ปริมาณกลูโคสและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร ในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารเหลว ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า เส้นใยเจริญยาวขึ้นและพันกัน เกิดเป็นลักษณะของ pellet ซึ่งจะแตกต่างกันขึ้นกับสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง โดย pellet ที่เจริญในระยะ 7 วันแรกของการเพาะเลี้ยง ในสูตรอาหาร PDB เส้นใยแตกแขนงและพันกันอย่างหลวม ๆ ส่วนเส้นใยที่เจริญในสูตรอาหาร YM มีการเจริญเติบโตเร็วมาก และพันกันอย่างหลวมกว่าเส้นใยที่เจริญในสูตรอาหาร PDB แต่เส้นใยจะเปราะและแตกหักง่าย และลักษณะของ pellet ที่เจริญในสูตรอาหาร YMK มีการพันกันของเส้นใยแน่นกว่า pellet ที่เจริญในสูตรอาหาร PDB และ YM (ภาพที่ 4.21)



ภาพที่ 4.21 ลักษณะของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า อายุ 7 วัน

4.2.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ

เมื่อนำน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 7 และ 14 ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า ในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน ได้ผลดังตารางที่ 4.21 พบว่า ปัจจัยทั้งสองคือสูตรอาหารและความเข้มข้นของกลูโคสไม่มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งหมายความว่า น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรหนึ่งสูตรใดไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของกลูโคส สำหรับสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเส้นใยทั้งสามสูตร คือ PDB, YM และ YMK ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งหมายความว่า สูตรอาหารมีอิทธิพลต่อค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือไม่แตกต่างกัน และความเข้มข้นของกลูโคสที่เติมในอาหารทั้งสามระดับคือ 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ นั่นคือ ความเข้มข้นของกลูโคสที่เติมในอาหารมีอิทธิพลต่อค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยไม่แตกต่างกันเช่นกัน ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า สามารถเลือกเพาะเลี้ยงเส้นใยในสูตรอาหารสูตรใดก็ได้ โดยเลือกใช้ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในวันที่ 7 และ 14 ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า ในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean of Square	F Value
Block	1	246.0450	246.0450	
A	2	47.4296	23.7148	2.4031 ^{ns}
B	2	14.0676	7.0338	0.7128 ^{ns}
AXB	4	35.6884	8.9221	0.9041 ^{ns}
Error	8	78.9460	9.8682	
Total	17	422.1765		

หมายเหตุ Block ช่วงระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเส้นใย
 A สูตรอาหาร
 B ความเข้มข้นของกลูโคส
 ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

4.3 ผลของการวิเคราะห์หาสารสกัดหยาบ ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน จากเส้นใยเห็ดหลินจือ

4.3.1 ปริมาณสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดหลินจือ

เมื่อนำเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้น 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน มาสกัดหาสารสกัดหยาบ พบว่า ลักษณะของสารสกัดหยาบจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB และ YMK มีสีครีมใกล้เคียงกัน ส่วนสารสกัดหยาบจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร YM มีสีน้ำตาล เนื่องจากสีของอาหาร และปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตร ให้ผลดังตารางที่ 4.22 โดยพบว่า ปริมาณสารสกัดหยาบจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK มีค่าสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60, 20 และ 20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.22 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน

ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบ (เปอร์เซ็นต์)		
	PDB	YM	YMK
20	5.7600	24.6133	10.5867
40	6.3600	17.2267	9.7600
60	7.8933	21.0933	7.9600

เมื่อนำผลน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบในตารางที่ 4.22 มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน ได้ผลดังตารางที่ 4.23 พบว่า ปัจจัยทั้งสองคือสูตรอาหารและความเข้มข้นของกลูโคสมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งหมายความว่า น้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรหนึ่งสูตรใดขึ้นกับความเข้มข้นของกลูโคส และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของกลูโคสในสูตรอาหารแต่ละสูตร โดยใช้วิธี DMRT ได้ผลดังตารางที่ 4.24 และภาพที่ 4.22 พบว่า ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB ในทุกระดับความเข้มข้นของกลูโคสให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 และ 60 กรัมต่อลิตรให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและมีค่าสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร และในสูตรอาหาร YMK ในทุกระดับความเข้มข้นของกลูโคสให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญด้วยเช่นกัน ดังนั้น ในการสกัดสารสกัดหยาบจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตร ควรเลือกที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร



ตารางที่ 4.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean of Square	F Value
A	2	1036.6373	518.3186	
B	2	29.0099	14.5049	
AXB	4	70.9794	17.7449	7.5884 **
Error	18	42.0917	2.3384	
Total	26	1178.7183		

หมายเหตุ

A สูตรอาหาร

B ความเข้มข้นของกลูโคส

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

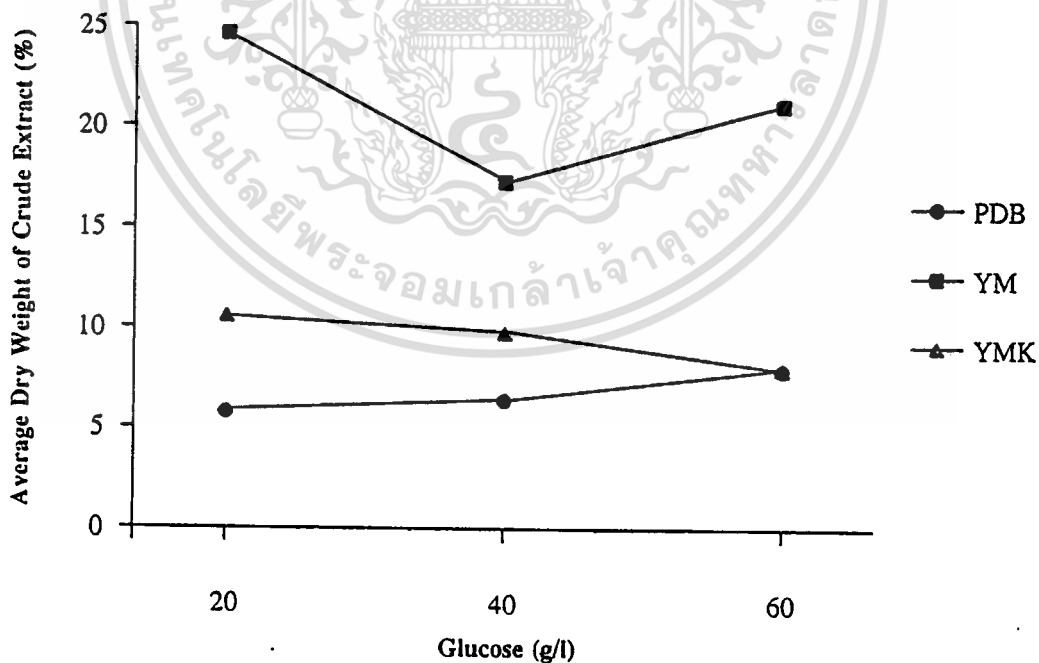
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.24 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้อุณหภูมิที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน

ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบ (เปอร์เซ็นต์)		
	PDB	YM	YMK
20	5.7600 ^a	24.6133 ^a	10.5867 ^a
40	6.3600 ^a	17.2267 ^b	9.7600 ^a
60	7.8933 ^a	21.0933 ^a	7.9600 ^a

หมายเหตุ

ในแต่ละคอลัมน์ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อใช้ DMRT



ภาพที่ 4.22 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ

60 กรัมต่อลิตร ภายใต้อุณหภูมิที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่... นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า...
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยเห็ดหลินจือ

เมื่อนำผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากสารสกัดหยาบของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน มาคำนวณหาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใย ได้ผลดังตารางที่ 4.25 พบว่า ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK มีค่าสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60, 20 และ 20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.25 ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน

ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ (เปอร์เซ็นต์)		
	PDB	YM	YMK
20	2.7772	6.5307	7.2135
40	2.6139	5.3816	6.1244
60	4.2740	6.3235	5.2760

เมื่อนำปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตร ในตารางที่ 4.25 มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน ได้ผลดังตารางที่ 4.26 พบว่า ปัจจัยทั้งสองคือสูตรอาหารและความเข้มข้นของกลูโคสมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งหมายความว่า ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรหนึ่งสูตรใด ขึ้นกับความเข้มข้นของกลูโคส และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของกลูโคสในสูตรอาหารแต่ละสูตร โดยใช้วิธี DMRT ได้ผลดังตารางที่ 4.27 และภาพที่ 4.23 พบว่า ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร มีค่าสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 และ 40 กรัมต่อลิตร ซึ่งทั้งสองระดับความเข้มข้นของกลูโคสให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในสูตรอาหาร YM ในทุกระดับความเข้มข้นของกลูโคสให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคสกลุ่มแรกคือ 20 และ 40 กรัมต่อลิตร ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และมีค่าสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคสกลุ่มที่สองคือ 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ซึ่งทั้งสองระดับความเข้มข้นของกลูโคสให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ดังนั้น ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหารแต่ละสูตร เพื่อนำไปใช้ในการสกัดแยกสารพอลิแซ็กคาไรด์ จึงควรเลือกที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตรสำหรับสูตรอาหาร PDB ส่วนในสูตรอาหาร YM และ YMK ควรเลือกที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยเห็ดหลินจือ
ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของ
กลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า
อายุ 28 วัน

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean of Square	F Value
A	2	51.2272	25.6136	
B	2	3.0876	1.5438	
AXB	4	9.8460	2.4615	3.4782 *
Error	18	12.7383	0.7077	
Total	26	76.8990		

หมายเหตุ

A สูตรอาหาร

B ความเข้มข้นของกลูโคส

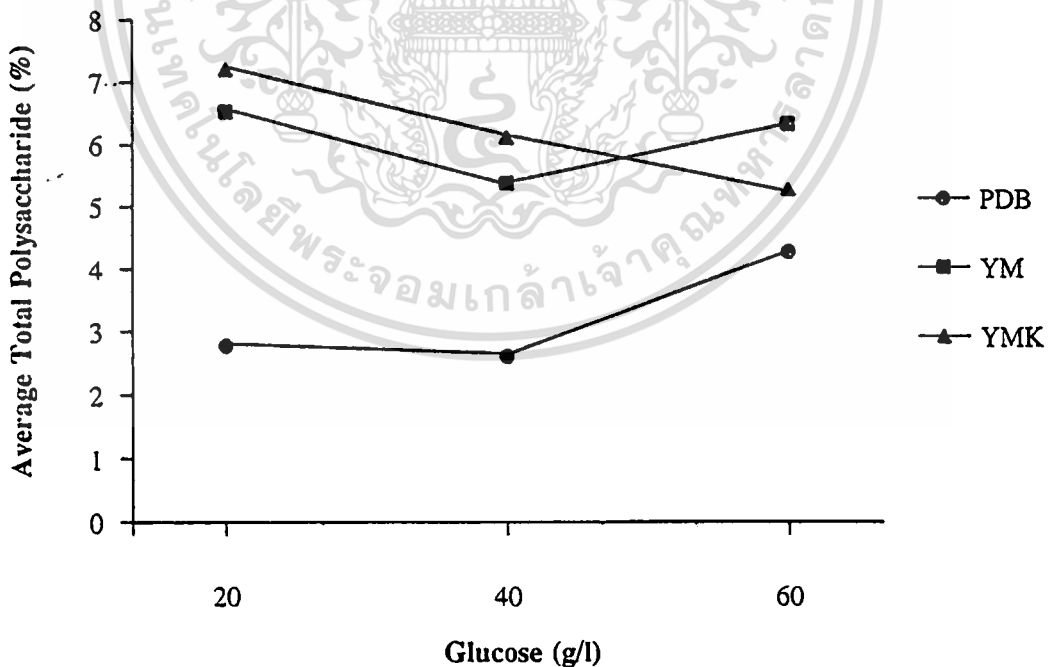
* แยกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.27 ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีคาร์บอนไดออกไซด์ อายุ 28 วัน

ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ (เปอร์เซ็นต์)		
	PDB	YM	YMK
20	2.7772 ^b	6.5307 ^a	7.2135 ^a
40	2.6139 ^b	5.3816 ^a	6.1244 ^{ab}
60	4.2740 ^a	6.3235 ^a	5.2760 ^b

หมายเหตุ ในแต่ละคอลัมน์ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ DMRT



ภาพที่ 4.23 ค่าเฉลี่ยปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60

กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีคาร์บอนไดออกไซด์ อายุ 28 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือ

เมื่อนำผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่ได้จากสารสกัดหยาบของเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีคาร์บอนไดออกไซด์ อายุ 28 วัน มาคำนวณหาปริมาณโปรตีนจากเส้นใย ได้ผลดังตารางที่ 4.28 พบว่า ปริมาณโปรตีนจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK มีค่าสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.28 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีคาร์บอนไดออกไซด์ อายุ 28 วัน

ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์)		
	PDB	YM	YMK
20	0.7306	4.8986	0.4343
40	0.6765	3.2450	0.3770
60	0.8885	5.3536	0.5146

เมื่อนำปริมาณโปรตีนจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตร ในตารางที่ 4.28 มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน ได้ผลดังตารางที่ 4.29 พบว่า ปัจจัยทั้งสองคือสูตรอาหารและความเข้มข้นของกลูโคสมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งหมายความว่า ปริมาณโปรตีนจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรหนึ่งสูตรใดขึ้นกับความเข้มข้นของกลูโคส และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของกลูโคสในสูตรอาหารแต่ละสูตร โดยใช้วิธี DMRT ได้ผลดังตารางที่ 4.30 และภาพที่ 4.24 พบว่า ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB ในทุกระดับความเข้มข้นของกลูโคสให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 และ 20 กรัมต่อลิตร ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและมีค่าสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร และในสูตรอาหาร YMK ในทุกระดับความเข้มข้นของกลูโคส ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกันกับสูตรอาหาร PDB ดังนั้น ในการคัดเลือกเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตรเพื่อนำไปใช้สกัดโปรตีน จึงควรเลือกที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร



ตารางที่ 4.29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยง
ในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20,
40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean of Square	F Value
A	2	91.7818	45.8909	
B	2	3.2979	1.6489	
AXB	4	4.2050	1.0513	20.3764 **
Error	18	0.9287	0.0516	
Total	26	100.2134		

หมายเหตุ

A สูตรอาหาร

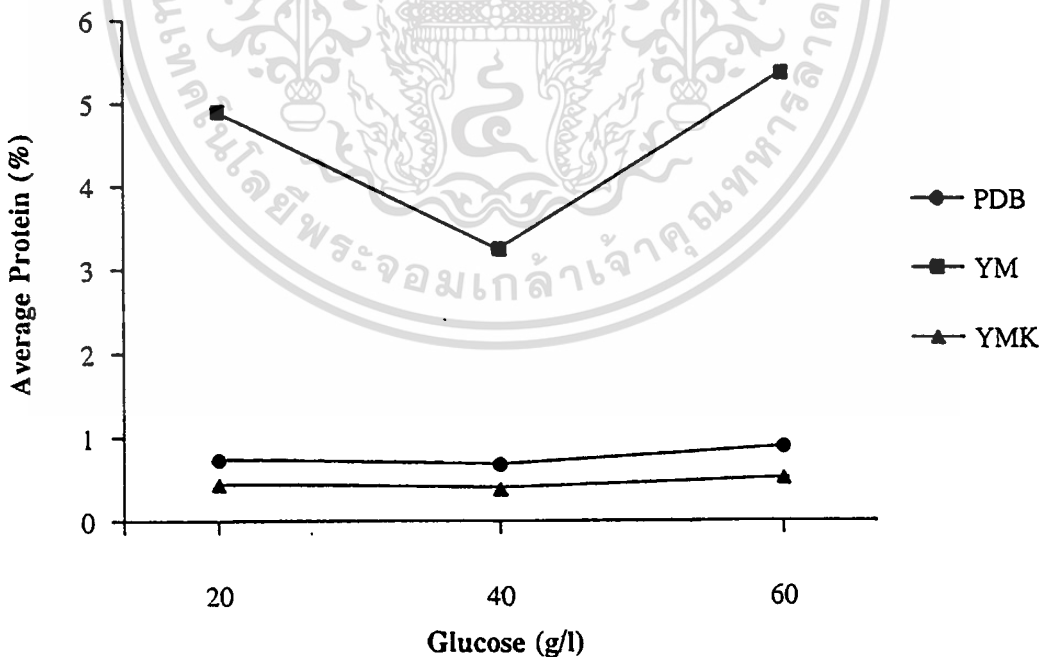
B ความเข้มข้นของกลูโคส

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางที่ 4.30 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน

ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของโปรตีน (เปอร์เซ็นต์)		
	PDB	YM	YMK
20	0.7306 ^a	4.8986 ^a	0.4343 ^a
40	0.6765 ^a	3.2450 ^b	0.3770 ^a
60	0.8885 ^a	5.3536 ^a	0.5146 ^a

หมายเหตุ ในแต่ละคอลัมน์ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อใช้ DMRT



ภาพที่ 4.24 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วันนั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

5.1 การศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเส้นใยชนิดต่าง ๆ และปริมาณกลูโคสต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่าและสภาวะที่มีการเขย่า

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ คือสูตรอาหาร YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เนื่องจากสูตรอาหารทั้งสองสูตรให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยสูงสุด และระดับความเข้มข้นของกลูโคสที่เติมในสูตรอาหารทั้งสามระดับ ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยน้ำหนักแห้งของเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร มีค่าสูงสุดเท่ากับ 22.1630 กรัมต่อลิตรในวันที่ 21 และ 17.6658 กรัมต่อลิตรในวันที่ 28 ตามลำดับ ส่วนภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า พบว่า ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ สามารถเลือกใช้อาหารสูตรใดก็ได้ ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เนื่องจากสูตรอาหารทั้งสามสูตรให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และความเข้มข้นของกลูโคสที่เติมในสูตรอาหารทั้งสามระดับความเข้มข้นให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญด้วยเช่นกัน โดยน้ำหนักแห้งของเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร มีค่าสูงสุดเท่ากับ 11.3871, 8.0404 และ 12.5524 กรัมต่อลิตรตามลำดับในวันที่ 14

จากการทดลองจะเห็นว่า การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร YM และ YMK ส่วนประกอบของสารสกัดจากมอลต์และสารสกัดจากยีสต์ ทำให้เส้นใยเห็ดหลินจือสามารถเจริญได้ดี ซึ่งจากการศึกษาของ Tseng และคณะ (1984) พบว่า เส้นใยเห็ดหลินจือเจริญได้ดีที่สุดในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยสารสกัดจากมอลต์ 10 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่า สารสกัดจากมอลต์จัดเป็นแหล่งคาร์บอนที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ และจากการศึกษาของสิริลักษณ์ (2536) ได้แปรผันปริมาณสารสกัดจากยีสต์ 3, 6 และ 10 กรัมต่อลิตรในสูตรอาหาร YME ดัดแปลงที่ไม่ใส่สารสกัดจากมอลต์ พบว่า สารสกัดจากยีสต์ 10 กรัมต่อลิตรทำให้เส้นใยมีการเจริญสูงสุด แสดงว่า การเพิ่มปริมาณสารสกัดจากยีสต์มีผลทำให้เส้นใยสามารถเจริญได้ดีขึ้น และจากการศึกษาของ Martin และคณะ (1984) ซึ่งเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดกระดุม (*Agaricus campestris*)

ในสูตรอาหาร peat extract พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดจากยีสต์ทำให้เส้นใยเจริญได้เพิ่มขึ้นเช่นกัน

จากการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในสูตรอาหาร YMK พบว่า ปริมาณกลูโคสเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงมีค่าสูงกว่าที่เติมลงไปในการเลี้ยง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในส่วนประกอบของสูตรอาหาร YMK มีสารสกัดจากมอลต์ 40 กรัมต่อลิตร ซึ่งสารสกัดจากมอลต์จัดเป็นแหล่งคาร์บอนมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็น แป้ง และน้ำตาล (Harris, 1962) และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากมอลต์ (Merck, 1996) พบว่า ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด ได้แก่ ซูโครส กลูโคส มอลโทส ฟรักโทส กลูโคไดฟรักโทส (Glucodifuctose) และมอลโทไทรโอส (Maltotriose) ดังนั้น ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเส้นใย ในขั้นตอนของการนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร ความร้อนที่เกิดขึ้นสามารถสกัดน้ำตาลออกจากสารสกัดของมอลต์ ทำให้สูตรอาหาร YMK มีปริมาณกลูโคสสูงกว่าที่เติมลงไปในการเลี้ยงนั่นเอง

ผลจากการวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารแต่ละสูตรในระหว่างการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ ทั้งภายใต้สภาวะที่ไม่มีเชื้อและสภาวะที่มีเชื้อพบว่า ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารในแต่ละสูตรลดลงเมื่อเส้นใยมีการเจริญเพิ่มขึ้น เนื่องจากในระหว่างการเจริญของเส้นใยมีการสร้างกรดบางชนิดและปล่อยออกมาในอาหารเลี้ยงเส้นใย หรือเกิดจากคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเส้นใยรวมตัวกับน้ำกลายเป็นกรดคาร์บอนิก จึงทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารลดลง (Landecker, 1996)

จากผลการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ ภายใต้สภาวะที่ไม่มีเชื้อพบว่า เส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB และ YMK เกิดตุ่มขนาดเล็กที่บริเวณข้างพลาสติก ขณะที่ในสูตรอาหาร YM ไม่เกิดลักษณะดังกล่าว เนื่องจากในสูตรอาหาร PDB และ YMK มีองค์ประกอบของอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนสูงกว่าแหล่งไนโตรเจน ซึ่งอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนจะมีอิทธิพลต่อการเกิดตุ่ม (Primordium formation) ของเห็ดใน Class Basidiomycetes (Hayes, 1978) ส่วนในสูตรอาหาร YM มีองค์ประกอบของอาหารที่เป็นแหล่งไนโตรเจนสูงกว่าแหล่งคาร์บอน จึงไม่เกิดการสร้างตุ่ม

จากผลการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ ภายใต้สภาวะที่มีเชื้อพบว่า การเจริญของเส้นใยในสูตรอาหารทุกสูตรมีลักษณะเป็น pellet โดยเส้นใยพันกันเป็นก้อนกลม ยกเว้นเส้นใยที่เจริญในสูตรอาหาร YM เมื่อเพาะเลี้ยงเส้นใยไปเป็นระยะเวลา 7 วัน pellet จะเริ่มยุ่ยและหักออกจากกันกลายเป็นเส้นใยสั้น ๆ เนื่องจากการขาดออกซิเจน (Braun และ Vecht-Lifshitz, 1991) เพราะเส้นใยมีการเจริญได้รวดเร็ว ทำให้มีการใช้ออกซิเจนมาก และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปเส้นใยที่มีขนาดสั้น จะค่อย ๆ บวมเต่ง แต่ไม่เกิดการพันกันเป็น pellet อีกต่อไป เนื่องจากในสูตรอาหาร YM มีส่วนประกอบของสารสกัดจากยีสต์ 40 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจน มีผล

ทำให้การเกิด pellet (Pellet formation) ได้น้อยลง ซึ่ง Braun และ Vecht-Lifshitz (1991) ได้รายงานว่าการจำกัดปริมาณแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยง ช่วยส่งเสริมการเจริญของเส้นใย ในลักษณะของ pellet ได้ดีขึ้น และจากผลการเพาะเลี้ยงเส้นใยในสูตรอาหาร PDB และ YMK มีการเจริญของเส้นใยในลักษณะที่เป็น pellet ตลอดระยะเวลาของการเพาะเลี้ยง

5.2 การศึกษาผลของการวิเคราะห์หาสารสกัดหยาบ ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนจาก เส้นใยเห็ดหลินจือ

จากผลการสกัดสารจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน โดยการสกัดด้วยน้ำร้อน สรุปได้ว่า ในการสกัดสารสกัดหยาบจากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตรควรเลือกใช้ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เนื่องจากสูตรอาหารและความเข้มข้นของกลูโคสมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สูตรอาหาร PDB และ YMK ในทุกระดับความเข้มข้นของกลูโคสให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบไม่แตกต่างกัน ส่วนสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 และ 60 กรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบไม่แตกต่างกันและให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบสูงสุด โดยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ 5.7600, 24.6133 และ 10.5867 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ในการเจริญของเส้นใยเห็ดและราจะสามารถสร้างและปล่อยสารพอลิแซ็กคาไรด์ออกมา นอกเซลล์ (Extracellular polysaccharide) (Landecker, 1996) และจากการศึกษาของ Sone และคณะ (1985) และสิริลักษณ์ (2536) พบว่า เส้นใยเห็ดหลินจือสามารถปล่อยสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งออกมาในอาหารเลี้ยงเส้นใยได้เมื่อเพาะเลี้ยงเส้นใยภายใต้สภาวะที่มีการเขย่าและสภาวะที่ไม่มีการเขย่าตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่า ในสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ได้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบน้อยซึ่งในสารสกัดหยาบมีสารพอลิแซ็กคาไรด์เป็นองค์ประกอบ อาจเนื่องมาจากที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสดังกล่าวเหมาะสมต่อการปล่อยสารพอลิแซ็กคาไรด์ออกมานอกเซลล์ ซึ่งจากการศึกษาของ Buck และคณะ (1968) ได้เพาะเลี้ยงเส้นใย *Claviceps fusiformis* ในอาหารเหลว เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการสร้างสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ปล่อยออกมานอกเซลล์ พบว่า เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสในอาหารถึงระดับที่เหมาะสม ทำให้เซลล์สามารถปล่อยสารพอลิแซ็กคาไรด์ออกมานอกเซลล์ได้สูงสุด แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสมากขึ้น จะไม่ทำให้มีปริมาณสารพอลิ-

เอกสารพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้นไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากสารสกัดหยาบของเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตร มาคำนวณหาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใย สรุปได้ว่าสูตรอาหารและความเข้มข้นของกลูโคสมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญ ในการคัดเลือกเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตร เพื่อนำไปใช้ในการสกัดแยกสารพอลิแซ็กคาไรด์ ควรเลือกที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 กรัมต่อลิตรสำหรับการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB เนื่องจากให้ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 4.2740 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร YM และ YMK ควรเลือกที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เนื่องจากในสูตรอาหาร YM ในทุกระดับความเข้มข้นของกลูโคส ให้ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ไม่แตกต่างกัน และในสูตรอาหาร YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 และ 40 กรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ไม่แตกต่างกันและให้ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด โดยปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ 6.5307 และ 7.2135 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

จากการศึกษาของ Badr-Eldin และคณะ (1994) โดยเพาะเลี้ยง *Aureobasidium pullulans* เพื่อผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่า แหล่งไนโตรเจนที่เดิมในอาหารมีอิทธิพลต่อมวลชีวภาพและการผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ โดยเมื่อปริมาณแหล่งคาร์บอนคงที่ การเพิ่มปริมาณแหล่งไนโตรเจนจะช่วยให้มวลชีวภาพเพิ่มขึ้น ในขณะที่เดียวกันจะมีการผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ลดลง และพบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ให้ได้ปริมาณสูง จะต้องมียอดราส่วนของแหล่งคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูง ทั้งนี้เพราะปริมาณไนโตรเจนที่ต่ำจะเป็นปัจจัยจำกัดการเพิ่มขึ้นของมวลชีวภาพ ขณะเดียวกันปริมาณคาร์บอนในอาหารที่มีปริมาณสูงกว่าจะช่วยส่งเสริมให้มีการผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ได้เพิ่มขึ้น และจากการศึกษาของ Sone และคณะ (1985) ซึ่งศึกษาชนิดของน้ำตาลที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในสูตรอาหาร YMK ได้แก่ มอลโทส แล็กโทส ซูโครส กาแล็กโทส กลูโคส แมนโนส ไซโลส และกลูซิทอล ในการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือที่มีผลต่อการผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่า การใช้กลูโคสให้ผลผลิตของสารพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด รองลงมาคือมอลโทสและซูโครส ตามลำดับ แสดงว่า การใช้น้ำตาลต่างชนิดกันเป็นแหล่งคาร์บอน มีผลต่อการผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ของเส้นใยเห็ดหลินจือ

จากผลการสกัดสารจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารต่าง ๆ พบว่า เส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด โดยในอาหารทั้งสองสูตรมีสารสกัดจากมอลด์ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอน ช่วยให้ผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ได้ดีกว่าสารสกัดจากมันฝรั่งในสูตรอาหาร PDB ส่วนการเพิ่มปริมาณกลูโคสในสูตรอาหารแต่ละสูตรไม่มีผลต่อการสร้างสารพอลิแซ็กคาไรด์ เนื่องจากส่วนประกอบในอาหารที่มีปริมาณกลูโคสต่ำ (20 กรัมต่อลิตร) มีแหล่งคาร์บอนในปริมาณที่เพียง

พอยู่แล้ว ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของศิริลักษณ์ (2536) ซึ่งพบว่า เส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร YME มีสารสกัดจากมอลต์ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอน มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์สูงกว่าในสูตรอาหาร PDB ด้วยเช่นกัน

จากการศึกษาคุณสมบัติของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดและทำให้บริสุทธิ์จากดอกเห็ดเส้นใยเห็ดและอาหารที่ใช้เลี้ยงเส้นใยของเห็ดหลินจือ พบว่า สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง ละลายได้ดีในน้ำร้อน (Sasaki และคณะ, 1971; Miyasaki and Nishigima, 1981; Usui และคณะ, 1981; Mizuno และคณะ, 1981; Mizuno และคณะ, 1982; Mizuno และคณะ, 1984; Sone และคณะ, 1985; Maruyama และคณะ, 1989; Wang และคณะ, 1993; Zhang และคณะ, 1994) แต่จากการศึกษาของ Matsumoto และคณะ (1978) พบว่า สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากดอกเห็ดหลินจือ (*G. applanatum*) ด้วยสารละลายเอทานอล ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด Ehrlich's ascite นอกจากนี้ Maruyama และคณะ (1989) พบว่า สารสกัดที่ได้จากการใช้เมทานอลสกัดสารจากดอกเห็ดหลินจือ (*G. lucidum*) ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 เช่นกัน และจากการศึกษาในเห็ดชนิดอื่น ๆ โดย Chihara และคณะ (1970) พบว่า ส่วนที่สกัดด้วยน้ำร้อนในเห็ดหอม (*Lentinus edodes*) มีสาร Lentinan (β -D-glucan) ซึ่งเป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 Mizuno และคณะ (1992) พบว่า สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากดอกเห็ดและเส้นใยของ *Polyporus confluens* จากการสกัดด้วยน้ำร้อน สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 ส่วน Zhuang และคณะ (1994) พบว่า สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนจากเส้นใยของ *Grifola frondosa* สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 ด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์สามารถสกัดได้จากพืชชั้นสูงหลายชนิด เห็ดอื่น ๆ ไส้เคนส์ และแบคทีเรีย ซึ่งให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้เช่นกัน (Whistler และคณะ, 1976)

เมื่อนำผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ได้จากสารสกัดหยาบของเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตร มาคำนวณหาปริมาณโปรตีนจากเส้นใย สรุปได้ว่า ในการคัดเลือกเส้นใยเห็ดหลินจือเพื่อนำไปใช้ในการสกัดโปรตีน ควรเลือกเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตรที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เนื่องจากสูตรอาหารและความเข้มข้นของกลูโคสมีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สูตรอาหาร PDB และ YMK ในทุกระดับความเข้มข้นของกลูโคสให้ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน ส่วนสูตรอาหาร YM ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 60 และ 20 กรัมต่อลิตรให้ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันและให้ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนสูงสุด โดยปริมาณโปรตีนที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ 0.7306, 4.8986 และ 0.4343 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองพบว่า เส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร YM มีปริมาณโปรตีนสูง เนื่องจากใน ส่วนประกอบของสูตรอาหาร YM มีสารสกัดจากยีสต์ 40 กรัมต่อลิตร ซึ่งจัดเป็นแหล่งไนโตรเจน ช่วยในการส่งเสริมให้มีการสะสมของโปรตีน ซึ่งจากการศึกษาของ Martin และคณะ (1984) โดยการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดกระดุมในสูตรอาหาร peat extract พบว่าการเพิ่มสารสกัดจากยีสต์ ทำให้เส้นใยเจริญได้ดีและผลิตโปรตีนได้มากขึ้น และจากการศึกษาของสิริลักษณ์ (2536) พบว่า การเพิ่มสารสกัดจากยีสต์ในสูตรอาหาร YME คัดแปลงที่ไม่ใส่สารสกัดจากมอลต์ ทำให้เส้นใยเจริญได้ดีและผลิตโปรตีนเพิ่มขึ้น แสดงว่า การเพิ่มสารสกัดจากยีสต์ ทำให้เส้นใยสามารถเจริญได้ดีขึ้นและผลิตโปรตีนได้มากขึ้น

นอกจากนี้จากการศึกษาของ Wang และคณะ (1993) และ Zhang และคณะ (1994) พบว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบในดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหลินจือ (*G. usgae*) ที่สกัดด้วยน้ำร้อน สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 ในหนูทดลองได้

จากผลการสกัดและวิเคราะห์สารจากเส้นใยเห็ดหลินจือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK พบว่า เส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารทุกสูตรให้สารพอลิแซ็กคาไรด์ เนื่องจากใน ส่วนประกอบผนังเซลล์ของเห็ดและรา จะประกอบด้วยสารพอลิแซ็กคาไรด์เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังมีโปรตีนซึ่งจะรวมอยู่กับสารพอลิแซ็กคาไรด์ และมีไขมันในปริมาณเล็กน้อย สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบในเห็ดและราโดยส่วนใหญ่เป็นสารกลูแคน ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคส นั่นเอง (Landecker, 1996) จากผลการทดลอง ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนที่ได้จากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารแต่ละสูตรมีปริมาณแตกต่างกัน เนื่องจากส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเส้นใยต่างกัน ในการพิจารณาคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือเพื่อผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ ควรคำนึงถึงคุณสมบัติของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากสูตรอาหารแต่ละสูตรที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งด้วย

5.3 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า

- 1) ความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้นในสูตรอาหาร YMK มีความเข้มข้นของกลูโคสสูงกว่าที่เดิมลงไปอาหาร และเมื่อเพาะเลี้ยงเส้นใยต่อไป ในอาหารเลี้ยงเส้นใยมีความเข้มข้นของกลูโคสเหลืออยู่มาก ทำให้สิ้นเปลืองโดยเปล่าประโยชน์ ซึ่งในการศึกษาต่อไปควรจะมีการตัดแปลงสูตรอาหาร YMK ให้เหมาะสมยิ่งขึ้น
- 2) ควรศึกษาการสกัดสาร การวิเคราะห์หาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนจากสารสกัดที่ได้จากเส้นใยที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีการเขย่า
- 3) ควรศึกษาวิธีการแยกสารพอลิแซ็กคาไรด์ให้บริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น
- 4) ควรศึกษาผลของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง
- 5) ควรศึกษาและพัฒนาการผลิตเส้นใยเห็ดหลินจือในระดับถึงหมัก เพื่อผลิตเส้นใยให้ได้ปริมาณมากขึ้นและนำมาใช้ในการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ต่อไป



บรรณานุกรม

- ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2539. การเพาะเห็ดหลินจือ. กรุงเทพฯ : อักษรสยามการพิมพ์.
- รัฐพล ศรประเสริฐ. 2538. “การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีน และกรดอะมิโนในเส้นใยเห็ด และดอกเห็ด.” อาหาร. 25(3) : 178-184.
- ศุภนิษฐ์ หิรัญประดิษฐ์. 2538. “การเพาะเห็ดหลินจือ.” หนังสือพิมพ์กสิกร. 68(5) : 473-474.
- สาธิต ไทยทัตกุล. 2539. การเพาะเห็ดหลินจือ. กรุงเทพฯ : ฟาอภัย.
- สาธิต ไทยทัตกุล. 2538. เห็ดหลินจือ เห็ดหมื่นปี เห็ดสมุนไพรรักษาโรค. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์วิชา.
- สาธิต ไทยทัตกุล. 2538. “เปิดสูตรเพาะเห็ดหลินจือ บ้านสวนเห็ดอรุญญา.” เมืองเกษตร. 7(83) : 7-17.
- สิริลักษณ์ ชัยจำรัส. 2536. “การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนและลักษณะการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากดอกและเส้นใยเห็ดหมื่นปี *Ganoderma lucidum*” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุทธพรรณ ดรีรัตน์. 2531. “เห็ดหมื่นปี.” วิทยาศาสตร์. 42(2) : 69-74.
- สุรพล รักปทุมและชวลิต สันตกิจรุ่งเรือง. 2538. เห็ดหลินจือ. กรุงเทพฯ : ที พี พีริ้น.
- อนงค์ จันทศรีกุล, ดร. รัตนาประภา, กัญญา ไปะเงิน, วิรัช ชูบำรุงและประสิทธิ์ ธนากลาง. 2528. “เห็ดบางชนิดในสกุล *Ganoderma* และสกุลใกล้เคียง.” วิชาการเกษตร. 3 : 119-123.
- Adaskaveg, J. E. and Gilbertson, R. L. 1986. “Cultural Studies and Genetics of Sexuality of *Ganoderma lucidum* and *G. tsugae* in Relation to the Taxonomy of the *G. lucidum* Complex.” *Mycologia*. 78(5) : 694-705.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W. and Blackwell, M. 1996. *Introductory Mycology*. 4th ed. New York : John Wiley & Sons.
- Badr-Eldin, S. M., El-Tayeb, O. M., El-Masry, H. G., Mohamad, F. H. A. and Abd El-Rahman, O. A. 1994. “Polysaccharide Production by *Aureobasidium pullulans* : Factors Affecting Polysaccharide Formation.” *World J. Microbiol. Biotech.* 10 : 423-425.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Braun, S. and Vecht-Lifshitz, S. E. 1991. "Mycelial Morphology and Metabolite Production." *Tibtech.* 9 : 63-68.
- Buck, K. W., Chen, A. W., Dickerson, A. G. and Chain, E. B. 1968. "Formation and Structure of Extracellular Glucans Produced by *Claviceps* Species." *J. Gen. Microbiol.* 51 : 337-352.
- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y. Y., Arai, Y. and Fukuoka, F. 1970. "Fractionation and Purification of the Polysaccharides with Marked Antitumor Activity, Especially Lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an Edible Mushroom)." *Can. Res.* 30 : 2776-2781.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P. A. and Smith, F. 1956. "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances." *Anal. Chem.* 28(3) : 350-356.
- Dunn, M. J. 1995. **Protein Purification Method., A Practical Approach.** 5th ed. Harris, E. L. V. and Angal, S. ed. England : Information Press.
- Gomez, K. A. and Gomez, A. A. 1984. **Statistical Procedures For Agricultural Research.** 2nd ed. Singapore : John Wiley & Sons.
- Harris, G. 1962. "The Structural Chemistry of Barley and Malt." **Barley and Malt** (Biology, Biochemistry, Technology). Cook, A. H. ed. London : Academic Press.
- Hayes, W. A. 1978. "Biological Nature." **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms.** Chang, S. T. and Hayes, W. A. ed. New York : Academic Press.
- Hikino, H., Ishiyama, M., Suzuki, Y. and Konno, C. 1989. "Mechanisms of Hypoglycemic Activity of Ganoderan B: a Glycan of *Ganoderma lucidum* Fruit Bodies." *Planta Medica.* 55 : 423-428.
- Hirotsu, M., Ino, C., Furuya, T. and Shiro, M. 1986. "Ganoderic Acid T, S and R, New Triterpenoids from the Cultured Mycelia of *Ganoderma lucidum*." *Chem. Pharm. Bull.* 34(5) : 2282-2285.
- Hirotsu, M., Asaka, I., Ino, C., Furuya, T. and Shiro, M. 1987. "Ganoderic Acid Derivatives and Ergosta-4,7,22-Triene-3,6-Dione from *Ganoderma lucidum*." *Phytochem.* 26(10) : 2797-2803.

- Hirotsu, M., Asaka, I and Furuya, T. 1990. "Investigation of the Biosynthesis of 3 α -Hydroxy Triterpenoids, Ganoderic Acids T and S, by Application of a Feeding Experiment using [1,2-¹³C₂] Acetate." *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.* 1 : 2751-2754.
- Ito, H., Naruse, S. and Shimura, K. 1977. "Studies on Antitumor Activity of Basidiomycetes Polysaccharides:VII. Antitumor Effect of the Polysaccharide Preparation from *Ganoderma lucidum* on Mouse Sarcroma 180." *Mie. Med. J.* 26 : 147-152.
- Kawagishi, H., Fukuhara, F., Sazuka, M., Kawashima, A., Mitsubori, T. and Tomita, T. 1993. "5-Deoxy-5-Methylsulphinyladenine, a Platelet Aggregation Inhibitor from *Ganoderma lucidum*." *Phytochem.* 32(2) : 239-241.
- Kim, B. K., Chung, H. S., Chung, K. S. and Yang, M. S. 1980. "Studies on the Antineoplastic Component of Korean Basidiomycetes." *Hanguk Kyunhakhoe Chi.* 8 : 107-113.
- Kino, K., Yamashita, A., Yamaoka, K., Watanabe, J., Tanaka, S., Ko, K., Shimizu, K. and Tsunoo, H. 1989. "Isolation and Characterization of a New Immunomodulatory Protein Ling-Zhi-8 (LZ-8), from *Ganoderma lucidum*." *J. Biol. Chem.* 264(1) : 472-478.
- Kohda, H., Tokumoto, W., Sakamoto, K., Fujii, M., Hirai, Y., Yamasaki, K., Komoda, Y., Nakamura, H., Ishihara, S. and Uchida, M. 1985. "The Biologically Active Constituents of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. Histamine Release-Inhibitory Triterpenes." *Chem. Pharm. Bull.* 33(4) : 1367-1374.
- Komoda, Y., Shimizu, M., Sonoda, Y. and Sato, Y. 1989. "Ganoderic Acid and Its Derivatives as Cholesterol Synthesis Inhibitors." *Chem. Pharm. Bull.* 37(2) : 531-533.
- Kunst, A., Draeger, B. and Ziegenhorn, J. 1984. "Colorimetric Method with Glucose Oxidase and Peroxidase." *Methods of Enzymatic Analysis.* vol. 6. 3rd ed., Bergmeyer, H. U. ed. Weinheim : Verlag Chemi.
- Landecker, E. M. 1996. *Fundamental of the Fungi.* 4th ed. New Jersey : Prentice-Hall International.
- Lin, C. and Tome, W. 1991. "Novel Cytotoxic Principles of Formosan *Ganoderma lucidum*" *J. Nat. Prod.* 54(4) : 998-1002.

- Martin, A. M., Bailey, V. I. and Hall D. E. 1984. "Nitrogen and Amino Acid Composition of *Agaricus campestris* in Peat Extracts" *Mush. J.* 42 : 356-359.
- Maruyama, H. M., Yamazaki, K., Murofushi, S., Konda, C. and Ikekawa, T. 1989. "Antitumor Activity of *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito and *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst." *J. Pharmacobiodyn.* 12 : 118-123.
- Matsumoto, Y., Onishi, M. and Yamagami, K. 1978. "An Antitumor Substance Extracted from Polyporaceae." *Acta. Med. Univ. Kagoshima.* 20 : 209-213.
- Merck KGaA. 1996. *Microbiology Manual.* Germany. Deutscher, Akkreditierungs Rat.
- Miyazaki, T. and Nishijima, M. 1981. "Studies on Fungal Polysaccharides. XXVII. Structural Examination of a Water-soluble, Antitumor Polysaccharide of *Ganoderma lucidum*." *Chem. Pharm. Bull.* 29(12) : 3611-3616.
- Mizuno, T., Hayashi, K., Arakawa, M., Shinkai, K. and Tanaka, M. 1981. "Host-mediated Antitumor Polysaccharides.III. Fractionation, Chemical Structure and Antitumor Activity of Water-soluble Homoglucans Isolated from Kofukisaruno-koshikake. the Fruit Body of *Ganoderma applanatum*." *Shizuoka Daigaku Nogakubu Kenkyu Hokoku.* 31 : 49-64.
- Mizuno, T., Ushiyama, M., Usui, T., Arakawa, M., Shinkai, K. and Shimizu, M. 1982. "Studies on the Host-mediated Antitumor Polysaccharides.VI. Isolation and Characterization of Antitumor Active β -D-glucan from Mycelial Cells of *Ganoderma applanatum*." *Shizuoka Daigaku Nogakubu Kenkyu Hokoku.* 32 : 41-58.
- Mizuno, T., Kato, N., Totsuka, A., Takenaka, K., Shinkai, K. and Shimizu, M. 1984. "Fractionation, Structural Features and Antitumor Activity of Water-soluble Polysaccharides from "Reishi", the Fruit Body of *Ganoderma lucidum*." *Nippon. Nogei. Kagaku. Kaishi.* 58 : 871-880.
- Mizuno, T., Ando, M., Sugie, R., Ito, H., Shimura, K., Sumiya, T. and Matsuura, A. 1992. "Antitumor Activity of Some Polysaccharides Isolated from an Edible Mushroom, *Ningyotake*, the Fruiting Body and the Cultured Mycelium of *Polyporus confluens*." *Biosci. Biotech. Biochem.* 56(1) : 34-41.

- Raper, C. A. 1978. "Sexuality and Breeding." **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms.** Chang, S. T. and Hayes, W. A. ed. New York : Academic Press.
- Sasaki, T., Arai, Y., Ikekawa, T., Chihara, G. and Fukuoka, F. 1971. "Antitumor Polysaccharides from Some Polyporaceae, *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat and *Phellinus linteus* (Berk. et Curt) Aoshima." **Chem. Pharm. Bull.** 19(4) : 821-826.
- Shiao, M-S, Lin, L-J, Yeh, S-F and Chou, C-S. 1987. "Two New Triterpenes of the Fungus *Ganoderma lucidum*." **J. Nat. Prod.** 50(5) : 886-890.
- Shimizu, A., Yano, T., Saito, Y. and Inada, Y. 1985. "Isolation of an Inhibitor of Platelet Aggregation from a Fungus, *Ganoderma lucidum*" **Chem. Pharm. Bull.** 33(7) : 3012-3015.
- Sone, Y., Okuda, R., Wada, N., Kishida, E. and Misaki, A. 1985. "Structures and Antitumor Activities of the Polysaccharides Isolated from Fruiting Body and the Growing Culture of Mycelium of *Ganoderma lucidum*." **Agric. Biol. Chem.** 49(9) : 2641-2653.
- Tomoda, M., Gonda, R., Kasahara, Y. and Hikino, H. 1986. "Glycan Structures of Ganoderans B and C, Hypoglycemic Glycans of *Ganoderma lucidum* Fruit Bodies." **Phytochem.** 25(12) : 2817-2820.
- Tseng, T. C., Shiao, M. S., Shieh, Y. S. and Hao Y. Y. 1984. "Studies on *Ganoderma lucidum* : 1. Liquid Culture and Chemical Composition of Mycelium." **Bot. Bull. Academia Sinica.** 25(2) : 149-157.
- Usui, T., Iwasaki, Y., Hayashi, K., Mizuno, T., Tanaka, M., Shinkai, K. and Arakawa, M. 1981. "Antitumor Activity of Water-Soluble -D-Glucan Elaborated by *Ganoderma applanatum*" **Biosci. Biotech. Biochem.** 45(1) : 323-326.
- Vatanasapt, V., Martin, N., Sriplung, H., Chindavijak, K., Sontipong, S., Sriamporn, S., Parkin, D. M., Ferlay, J. 1993. "Cancer in Thailand 1988-1991." **IARC Technical Report.** No. 16.
- Wang, G., Zhang, J., Mizuno, T., Zhuang, C., Ito, H., Mayazumi, H., Okamoto, H. and Li, J. 1993. "Antitumor Active Polysaccharides from the Chinese Mushroom Songshan Lingzhi, the Fruiting Body of *Ganoderma tsugae*." **Biosci. Biotech. Biochem.** 57(6) : 894-900.

- Whistler, R. L., Bushway, A. A. and Singh, P. P. 1976. "Noncytotoxic, Antitumor Polysaccharides." **Advance in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry** Vol.32. Tipson, R. S. and Horton, D. ed. New York : Academic Press.
- Zhang, J., Wang, G., Li, H., Zhuang, C., Mizuno, T., Ito, H., Mayazumi, H., Okamoto, H. and Li, J. 1994. "Antitumor Active Protein-containing Glycans from the Chinese Mushroom Songshan Lingzhi, *Ganoderma tsugae* Mycelium." **Biosci. Biotech. Biochem.** 58(7) : 1202-1205.
- Zhuang, C., Mizuno, T., Ito, H., Shimura, K., Sumiya, T. and Kawade, M. 1994. "Fractionation and Antitumor Activity of Polysaccharides from *Grifola frondosa* Mycelium." **Biosci. Biotech. Biochem.** 58(1) : 185-188.





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือ

1. สูตรอาหารเหลว Potato Dextrose Broth (PDB)

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

2. สูตรอาหารเหลว Yeast-Malt Extract (YM) (Sone และคณะ 1985)

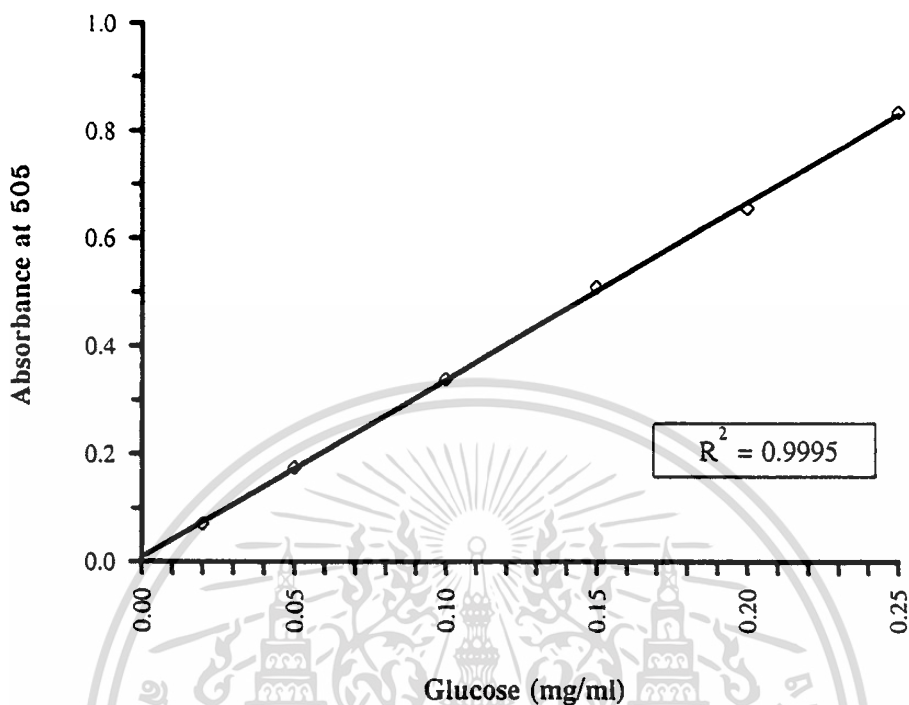
ยีสต์สกัด	40	กรัม
มอลท์สกัด	10	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

3. สูตรอาหารเหลว Glucose-Yeast Extract (YMK) (Sone และคณะ 1985)

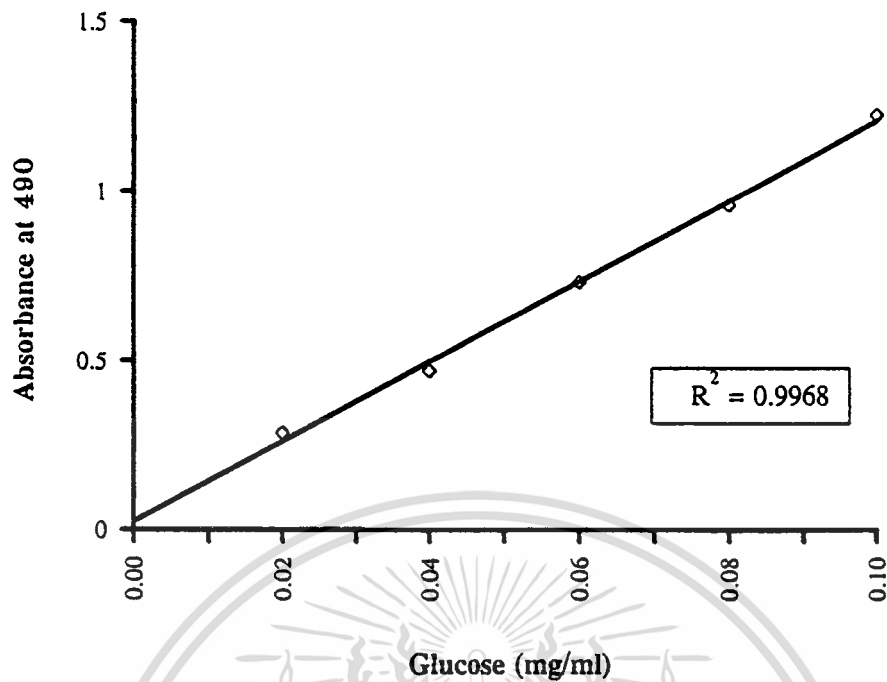
ยีสต์สกัด	1	กรัม
มอลท์สกัด	40	กรัม
KH_2PO_4	0.5	กรัม
K_2HPO_4	0.5	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

หมายเหตุ สูตรอาหารในหัวข้อ 1., 2. และ 3. มีความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร

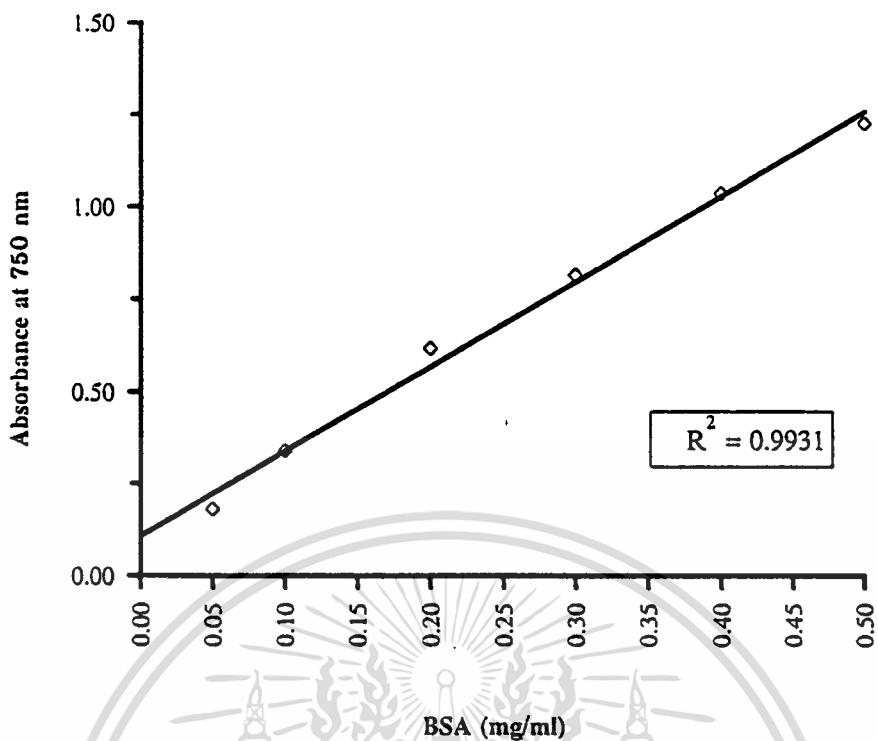
ภาคผนวก ข.



ภาพที่ ข-1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหารที่ใช้เลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารสูตรต่าง ๆ



ภาพที่ ข-2 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน



ภาพที่ ข-3 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine Serum Albumin (BSA) ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนจากสารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือในสูตรอาหาร PDB, YM และ YMK ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 20, 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า อายุ 28 วัน

ประวัติผู้เขียน

นางสาววิมลมาศ บุญมี เกิดวันที่ 22 พฤศจิกายน พ.ศ. 2515 ที่จังหวัดปัตตานี สำเร็จ การศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อปีการศึกษา 2537 และทำโครง งานพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต ในหัวข้อเรื่อง การแยกและการเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ของข้าว จากเซลล์แขวนลอย (Protoplast Isolation and Culture of Rice (*Oryza sativa* L.) from Cell Suspension Culture)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้