สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาผลของวิตามินที่มีต่อการเจริญของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*)

T047318

นางสาววิชพันธ์ พานิชสุข
นางสาววิมลิน ศิริพัฒนานนท์
นางสาวศิรินธร ตันติวัฒนวรกุล

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 47318
วัน, เดือน, ปี 27 มิ.ย. 2546

.b.....
.i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Studies on Effect of Vitamins on the Vegetative Growth and Fruitbody Formation of *Pleurotus sajor-caju*

Miss Wichapun Panitsuk

Miss Wimalin Siripattananont

Miss Sirinthron Tuntiwattanaworakul

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

2002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การศึกษาผลของวิตามินที่มีต่อการเจริญของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้า

นักศึกษา
1. นางสาววิชพันธ์ พานิชสุข รหัสประจำตัว 42050192
2. นางสาววิมลิน ศิริพัฒนานนท์ รหัสประจำตัว 42050193
3. นางสาวศิรินธร ตันติวัฒนวรกุล รหัสประจำตัว 42050198

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.พรรณี ฐิตาภิชิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	รศ.สุขใจ ชูจันทร์	.....
กรรมการ	รศ.ดร.พรรณี ฐิตาภิชิต	.....
กรรมการ	ผศ.อารี ฤทธิบูรณ์	.....

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การศึกษาผลของวิตามินที่มีต่อการเจริญของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้า

นักศึกษา
1. นางสาววิชพันธ์ พานิชสุข รหัสประจำตัว 42050192
2. นางสาววิมลิน ศิริพัฒนานนท์ รหัสประจำตัว 42050193
3. นางสาวศิรินธร ตันติวัฒนวรกุล รหัสประจำตัว 42050198

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.พรรณี ฐิตาภิชิต

ปีการศึกษา 2545

บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลของวิตามินที่มีต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) เมื่อทำโดยเลี้ยงเส้นใยเห็ดในอาหารที่เติมวิตามิน 8 ชนิด (ไทอะมิน (B_1) กรดนิโคทินิค กรดแพนโททินิค กรดโฟลิค ไรโบฟลาวิน (B_2) ไพริดอกซิน (B_6) อินโนซิทอล และไบโอติน) แยกกัน และอาหารอีก 3 สูตร (อาหารสูตรพื้นฐาน อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด และอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด) ซึ่งเป็นอาหารที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ ผลการศึกษาพบว่าเฉพาะไทอะมินที่มีผลต่อทั้งการเจริญของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title Studies on Effects of Vitamins on the Vegetative Growth and Fruitbody Formation of *Pleurotus sajor-caju*

Names
1. Miss Wichapun Panichsuk Student ID. 42050192
2. Miss Wimalin Siripattananont Student ID. 42050193
3. Miss Sirinthorn Tuntiwattanaworakul Student ID. 42050198

Department Applied Biology

Programme Biotechnology

Advisor Assoc. Prof. Dr. Pannee Dhitaphichit

Academic year 2002

ABSTRACT

The studies of effects of vitamins on vegetative growth and fruitbody formation in *Pleurotus sajor-caju* were done by growing the mycelia on media supplemented separately with 8 types of vitamin (thiamine (B_1), nicotinic acid, pantothenic acid, folic acid, riboflavin (B_2), pyridoxin (B_6), inositol and biotin) and on 3 controlled formulae (basic medium, basic medium with yeast extract and basic medium with all 8 types of vitamins). The results were that only thiamine was found effective for both vegetative growth and fruitbody formation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะวิจัยขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.พรรณี ฐิตาภิชิต อาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้การแนะนำปรึกษาและตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษ และขอขอบพระคุณ รศ.สุขใจ ชูจันทร์ ประธานกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ และ ผศ.อารี ฤทธิบูรณ์ กรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ ที่ช่วยตรวจสอบแก้ไขโครงงานพิเศษให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ บิดา มารดา คุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกคน ที่คอยให้กำลังใจและสนับสนุนการศึกษาของคณะผู้วิจัยด้วยดีตลอดมา

นางสาววิชพันธ์ พานิชสุข
นางสาววิมลิน ศิริพัฒนานนท์
นางสาวศิรินธร ตันติวัฒนวรกุล
มีนาคม 2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญภาพ	จ
สารบัญตาราง	ช
บทที่ 1 บทนำ	
วัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	
1. ลักษณะทางชีววิทยาของเห็ดนางฟ้า	2
2. ความต้องการวิตามินของเชื้อรา	5
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
1. อุปกรณ์และสารเคมี	15
2. วิธีการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
1. ผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า	19
2. ผลของวิตามินต่อการเกิดตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้า	23
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	30
บรรณานุกรม	31
ภาคผนวก	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ส่วนประกอบต่าง ๆ ของดอกเห็ดในสกุล Pleurotus	2
2.2 วงจรชีวิตของเห็ดนางฟ้า	3
2.3 โครงสร้างของไทอะมินไฮโดรคลอไรด์	7
2.4 โครงสร้างของไบโอติน	8
2.5 โครงสร้างของไพริดอกซีน (เป็นส่วนประกอบหนึ่งของวิตามินบี 6)	8
2.6 โครงสร้างของกรดนิโคทินิค	9
2.7 โครงสร้างของกรดแพนโททินิค	10
2.8 โครงสร้างของไรโบฟลาวิน	11
2.9 โครงสร้างของกรดโฟลิค	11
2.10 โครงสร้างของ myo-inositol	12
4.1 แผนภูมิแสดงผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 14 วัน	20
4.2 ผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 14 วัน ในอาหารเหลวที่มีการเติม ไทอะมิน (a) ยีสต์สกัด (b) วิตามินทั้ง 8 ชนิด (c)	21
4.3 แผนภูมิแสดงผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 21 วัน	23
4.4 ผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 21 วัน ในอาหารเหลวที่มีการเติม ไทอะมิน (a) ยีสต์สกัด (b) วิตามินทั้ง 8 ชนิด (c)	24
4.5 การเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบนจานอาหารแข็งที่มีการเติม อาหารพื้นฐาน (a) กรดนิโคทินิค (b) อินโนซิทอล (c) กรดแพนโททินิค (d)	25
4.5 (ต่อ) การเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบนจานอาหารแข็งที่มีการเติม กรดโฟลิค (e) ไพริดอกซิน (f) ไรโบฟลาวิน (g) ไบโอติน (h)	26
4.6 แสดงการเจริญของเส้นใยบนอาหารแข็งที่มีการเติมไทอะมิน เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 21 วัน	27
4.7 แสดงลำดับการเกิดตุ่มดอกเห็ดในสูตรอาหารที่มีการเติมวิตามินไทอะมิน	27
4.8 การเจริญของเส้นใยบนอาหารแข็งที่มีการเติมยีสต์สกัด เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 21 วัน	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.9 ลำดับระยะของการเกิดตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้าในสูตรอาหารที่มีการเติมยีสต์สกัด	28
4.10 การเจริญของเส้นใยบนอาหารแข็งที่มีการเติมวิตามิน 8 ชนิด เมื่อเลี้ยงเห็ดนางฟ้าเป็นเวลา 21 วัน	29
4.11 ลำดับระยะของการเกิดตุ่มดอกของเห็ดในสูตรอาหารที่มีการเติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงวิตามินที่ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์และปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง	5
3.1 ส่วนประกอบของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการศึกษาผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใย	16
3.2 ปริมาณวิตามินที่เติมลงในสูตรอาหาร	17
4.1 ผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 14 วัน	20
4.2 ผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 21 วัน	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ในปัจจุบันประชากรของโลกกำลังเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดปัญหาการขาดแคลนอาหาร โดยเฉพาะแหล่งโปรตีนซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อร่างกาย จึงมีการหาแหล่งโปรตีนที่สามารถทดแทนโปรตีนจากสัตว์ มีการศึกษาพบว่าเห็ดเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีโปรตีนสูง และยังมีสารอาหารที่จำเป็นอื่น ๆ เช่น วิตามินและเกลือแร่ ซึ่งเห็ดเป็นสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) จึงไม่สามารถสร้างอาหารเอง แต่เห็ดจัดเป็นสิ่งมีชีวิตพวกเฮทเทอโรโทรฟ (heterotroph) ที่สามารถเจริญได้ง่ายบนวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรและอุตสาหกรรม เช่น กระดาษ ฟางข้าว ขี้เลื่อย เป็นต้น โดยใช้แหล่งคาร์บอนจากลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) คาร์โบไฮเดรต และสารประกอบอื่น ๆ เป็นแหล่งพลังงาน นอกจากนี้เห็ดบางชนิดยังมีคุณสมบัติใช้เป็นยาได้อีกด้วย เช่น เห็ดหลินจือ เป็นต้น

เห็ดในสกุล Pleurotus มีมากมายหลายชนิด (species) ตัวอย่างเช่น เห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้าภูฐาน และเห็ดนางรมชนิดต่าง ๆ ซึ่งเป็นเห็ดที่นิยมนำมารับประทาน มีคุณค่าทางอาหารสูงโดยเฉพาะโปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน ซึ่งเห็ดชนิดนี้สามารถเกิดขึ้นได้ทุกสภาวะอากาศของเมืองไทยเรา โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาคอีสาน ซึ่งมีสภาพอากาศค่อนข้างร้อนอบอ้าว และจะเกิดขึ้นในช่วงที่มีความชื้นสูง เช่นในฤดูฝน แต่เมื่อมีประชากรเพิ่มมากขึ้น มีความต้องการแหล่งอาหารเพิ่มมากขึ้น เห็ดจึงมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงได้มีการดัดแปลงหาวิธีการเพาะเห็ดใหม่ ๆ ที่ง่ายและใช้เวลาในการเจริญเติบโตไม่มาก นอกจากนี้ยังมีการคิดค้นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการสร้างเส้นใยและการเกิดตุ่มของดอกเห็ด เพื่อให้มีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการที่เพิ่มมากขึ้น

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

1. ลักษณะทางชีววิทยาของเห็ดนางฟ้า

1.1 การจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน (Classification)

ชื่อวิทยาศาสตร์	*Pleurotus sajor-caju*
Class	Basidiomycetes
Order	Agaricales
Family	Tricholomataceae
Genus	Pleurotus
Species	sajor-caju

1.2 สัณฐานวิทยาของเห็ดในสกุล Pleurotus

เห็ดในสกุล Pleurotus จัดเป็นพวกทำลายเนื้อไม้ (wood-destroying fungi) ดำรงชีวิตด้วยการเจริญบนซากของสิ่งมีชีวิต (saprophytic fungi) มีกระจายทั่วไปตามเขตร้อน

ส่วนประกอบต่าง ๆ ของดอกเห็ดในสกุล Pleurotus (ปัญญา, 2538)

1.2.1 หมวก (cap หรือ pileus) หมวกมีลักษณะแบนราบไม่เหมือนเห็ดฟาง ลักษณะของหมวกจะเป็นเนื้อเดียวกับก้านดอก

1.2.2 ก้าน (stalk หรือ stipe) เป็นส่วนที่ชูก้านดอกขึ้นไปในอากาศ ก้านดอกค่อนข้างสั้นและเจริญเข้าหาแสงสว่าง

1.2.3 ครีบ (gills หรือ lamellae) มีลักษณะเป็นแผ่นบาง ๆ สีขาวหรือสีครีม ที่บริเวณครีบดอกเป็นบริเวณที่สร้างสปอร์

ภาพที่ 2.1 แสดงส่วนประกอบต่าง ๆ ของดอกเห็ดในสกุล Pleurotus

ที่มา : http://www.mykoweb.com/CAF/species /Pleurotus_ostreatus.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 วงจรชีวิตของเห็ดในสกุล Pleurotus

วงจรชีวิตของเห็ดนางฟ้าก็เป็นแบบเห็ดทำลายไม้ทั่ว ๆ ไป คือมีชีวิตอยู่ข้ามฤดูแห้งแล้งด้วยคลามัยโดสปอร์ (chlamydospore) ในท่อนไม้ พอถึงฤดูชุ่มชื้นก็งอกออกมาเป็นเส้นใยแล้วสร้างดอกเห็ดขึ้น ปล่อยสปอร์ลอยไป สปอร์งอกเป็นเส้นใยแล้วเจริญไปบนอาหารจนสร้างดอกเห็ดอีก วนเวียนไปอย่างนี้เป็นวัฏจักร

เห็ดนางฟ้าเติบโตดีที่พีเอช 5 - 5.2 (เป็นกรดเล็กน้อย) อุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยคือ 32 องศาเซลเซียส และสร้างดอกเห็ดได้ดีที่ 25 องศาเซลเซียส เส้นใยมีสีขาว และมีความสามารถเชื่อมต่อเส้นใยได้ดี ใช้น้ำตาลพวกคาร์โบไฮเดรตได้ดีกว่าพวกโพลีแซคคาไรด์

1) ดอกเห็ดนางฟ้าเมื่อโตเต็มที่จะสร้างสปอร์บริเวณครีบ โดยการปล่อยสปอร์เมื่อแก่ออกเป็นระยะ ๆ

2) เมื่อดอกเห็ดปล่อยสปอร์ออกมาแล้ว สปอร์ก็ปลิวไปตามกระแสลม

3) เมื่อสปอร์ปลิวไปตกในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ก็จะงอกออกมาเป็นเส้นใยขั้นต้น (primary mycelium) มี 1 นิวเคลียส

4) เส้นใยขั้นที่หนึ่งเมื่อเจริญเต็มที่แล้วก็จะมารวมตัวกัน ซึ่งอาจมาจากต่างสปอร์กัน การรวมตัวของเส้นใยขั้นที่หนึ่งจะเป็นการเชื่อมกันแล้วถ่ายทอดนิวเคลียสมาอยู่ในเซลล์เดียวกัน กลายเป็นเส้นใยขั้นที่สอง (secondary mycelium)

5) หลังจากเส้นใยขั้นที่หนึ่งรวมตัวกันเป็นเส้นใยขั้นที่สองแล้ว ก็จะเจริญเติบโตและสร้างเส้นใยเห็ดแทนเส้นใยขั้นที่หนึ่งอย่างรวดเร็วบนอาหาร

6) เมื่อเส้นใยขั้นที่สองเจริญบนอาหารและโตเต็มที่แล้ว จะสะสมอาหารแล้วรวมตัวกันอีกครั้งเพื่อสร้างดอกเห็ดต่อไป

7) ดอกเห็ดนางฟ้าที่เกิดจากการรวมตัวของเส้นใยเห็ดขั้นที่สอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.2 แสดงวงจรชีวิตของเห็ดนางฟ้า

ที่มา : http://www.doae.go.th/library/html/detail/nangfa/nangfa_2.htm

1.4 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเส้นใยและการเกิดดอกเห็ด มีดังนี้

1.4.1 **แสง** เห็ดไม่มีคลอโรฟิลล์ที่ช่วยในการสังเคราะห์แสง แต่แสงมีผลต่อการพัฒนาและการเจริญเติบโตของดอกเห็ดมาก เพราะแสงช่วยกระตุ้นการรวมตัวของเส้นใยและการพัฒนาเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ ซึ่งการเกิดดอกในสภาพที่มีแสงน้อยก้านดอกจะยาวและหนาแต่ดอกจะเล็ก ถ้าการระบายอากาศไม่ดีและมีแสงต่ำจะทำให้การเจริญของเห็ดลดลง แม้ว่าอากาศจะเป็นปัจจัยที่สำคัญกว่าแสง แต่จากการศึกษาผลของก๊าซต่าง ๆ พบว่าก๊าซจะไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญถ้าไม่มีแสง แสงเป็นปัจจัยที่ช่วยในการเกิดตุ่มดอก (primodia) อย่างน้อยจะต้องให้เห็ดได้รับแสง 15 นาทีต่อวัน ใน *Pleurotus floridia* ช่วงระยะเวลาที่ให้แสงและความเข้มแสงจะช่วยเพิ่มจำนวนตุ่มดอกเห็ด และใน *Pleurotus ostreatus* ความเข้มแสงที่เหมาะต่อการพัฒนาของดอกเห็ดคือ 10,000 ลักซ์ต่อชั่วโมง

1.4.2 **ความชื้นของบรรยากาศ** ในช่วงที่บ่มเชื้อหรือการเดินของเส้นใยในถุงเพาะเห็ดนั้น ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศไม่มีความจำเป็นมากนัก แต่ก็ควรให้มีความชื้นในช่วง 60-80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในช่วงออกดอกควรมีความชื้น 70-80 เปอร์เซ็นต์

1.4.3 **ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์** ตามปกติก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะมีผลในการเร่งการเจริญของเส้นใยในช่วงที่เห็ดพัฒนาเป็นดอก ถ้าที่มีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไม่เพียงพอหรือมากเกินไป จะทำให้ดอกเห็ดมีลักษณะผิดปกติ

1.4.4 **อุณหภูมิ** ช่วงของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสืบพันธุ์มักจะใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างสปอร์ก็อาจจะใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญเติบโต สำหรับเชื้อราที่มีอุณหภูมิเหมาะสมต่อการสืบพันธุ์จะใกล้เคียงกับอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เช่น *Piricularia oryzae* และ *Rhizopus* spp. ส่วนเชื้อราที่เหมาะสมต่อการสืบพันธุ์ต่ำกว่าการเจริญเติบโต ได้แก่ *Fusarium conglutinans* และเชื้อราที่อุณหภูมิเหมาะสมต่อการสืบพันธุ์สูงกว่าการเจริญเติบโต เช่น *Sphaerotheca pannosa* นอกจากนี้อุณหภูมิยังมีผลต่อสัณฐานวิทยา ซึ่งพบในเชื้อรา *Cerospora sesami* เมื่อมีอุณหภูมิไม่สูงและต่ำจนเกินไปจะสร้างโคนิเดียที่มีขนาดใหญ่

1.4.5 **อาหารเลี้ยงเชื้อ** ในการเจริญของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอกเห็ดจะต้องได้รับปริมาณธาตุอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเห็ด ซึ่งสารอาหารมีความสำคัญมากต่อการสืบพันธุ์ โดยพบว่าถ้าการเคลื่อนย้ายของสารอาหารต่ำจะทำให้การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเกิดขึ้นใกล้เคียงกับแบบไม่อาศัยเพศ นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารอาหารจะมีผลต่อการสร้างอวัยวะสำหรับการสืบพันธุ์มากกว่าที่จะนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต ความเข้มข้นของสารอาหารยังมีผลต่อการสร้างสปอร์ เช่น *Saprolegnia mixta* และ *Sporodinia grandis* เมื่อถึงช่วงการสร้างสปอร์แบบอาศัยเพศจะต้องการธาตุอาหารสูงกว่าช่วงการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ ส่วนความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนมีผลต่อการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศของ *Cytosporina ludibunda* สำหรับแหล่งไนโตรเจนในอาหารก็มีความสำคัญต่อการสืบพันธุ์เช่นกัน โดยทั่วไปเมื่อความเข้มข้นของไนโตรเจนสูงจะไปยับยั้งการสร้างสปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนวิตามินที่เชื้อราต้องการเพื่อการเจริญและสืบพันธุ์ พบว่าส่วนใหญ่เชื้อราต้องการไบโอตินหรือไทอะมินมากกว่าวิตามินชนิดอื่น สำหรับการสร้างสปอร์ เช่น *Sordaria fimicola* จะไม่สร้างเพอริทีเชียในอาหารที่ไม่มีไบโอติน

2. ความต้องการวิตามินของเชื้อรา

วิตามินเป็นสารอินทรีย์ที่เชื้อราต้องการในปริมาณน้อยและไม่ได้ใช้เป็นแหล่งพลังงานหรือเป็นส่วนโครงสร้างของโปรโตพลาสต์ ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตมีมากมายหลายชนิดรวมทั้งสารประกอบและอนุพันธ์ของวิตามิน วิตามินส่วนใหญ่ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ (coenzyme) หรือเป็นส่วนประกอบสำคัญของโคเอนไซม์ ซึ่งจะกระตุ้นปฏิกิริยาที่เฉพาะเจาะจง ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงวิตามินที่ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์และปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง

วิตามิน	โคเอนไซม์	ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง
ไทอะมิน	[1]TPP	ปฏิกิริยาดีคาร์บอกซีเลชันของกรดแอลฟาคีโต
ไรโบฟลาวิน	[2]FMN, [3]FAD	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน ต่าง ๆ
ไพริดอกซิน	Pyridoxal-5-phosphate	ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับกรดอะมิโน
นิโคทินิคแอซิด	[4]NAD^+, [5]$NADP^+$	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน ต่าง ๆ
แพนโททินิคแอซิด	Coenzyme A	ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้ายหมู่อะซิติล และกรดไขมัน
ไบโอติน	Enzyme-bound biotin	ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ การสังเคราะห์กรดไขมันจำเป็น ฯลฯ
โฟลิคแอซิด	Tetrahydrofolic acid	ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับสารประกอบคาร์บอน ตำแหน่งที่ 1

[1]TPP = Thiamine pyrophosphate [2]FMN = Flavin mononucleotide

[3]FAD = Flavin adenine dinucleotide [4]NAD^+ = Nicotinamide adenine dinucleotide

[5]$NADP^+$ = Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

ที่มา : Dube (1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิตามินมีความจำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต ตั้งแต่จุลินทรีย์จนกระทั่งมนุษย์ แม้กระทั่งพืชสีเขียวก็สามารถสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นได้ทุกชนิด

แบ่งเชื้อราตามความสามารถในการสังเคราะห์วิตามินออกเป็น 2 กลุ่ม

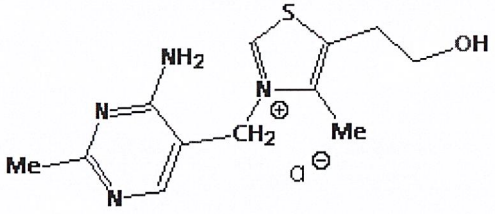
1. **auxoautotrophic spp.** เป็นเชื้อราที่สังเคราะห์วิตามินได้ทุกชนิดที่ต้องการ ถ้ามีน้ำตาล แหล่งไนโตรเจน และแร่ธาตุ อยู่อย่างครบถ้วน บางครั้งถ้าสังเคราะห์มากเกินความจำเป็นก็จะปล่อยออกมาในอาหาร เช่น *Ermothecium ashbyii* และ *Ashbya gossypii* จะปล่อยไรโบฟลาวิน (B_2) ในอาหารซึ่งสามารถใช้สำหรับการผลิตเป็นการค้า

2. **auxoheterotrophic spp.** เป็นเชื้อราที่มีลักษณะตรงข้ามกันกับชนิดแรก คือ ไม่มีความสามารถในการสังเคราะห์วิตามิน ซึ่งอาจเป็นเพียงบางส่วนหรือไม่สามารถสังเคราะห์ได้เลย ในกรณีที่ไม่สามารถสังเคราะห์ได้บางส่วนอาจมีผลเพียงไปจำกัดการเจริญเท่านั้นในกรณีที่ไม่มีวิตามินในอาหาร และจะเจริญเพิ่มขึ้นเมื่อเติมวิตามินชนิดนั้นลงไป สำหรับการขาดวิตามินอาจเกิดจากพันธุกรรมหรือสิ่งแวดล้อม เช่น *Pythium butleri* จะต้องการไทอะมินเมื่ออาหารมีความเข้มข้นของเกลือเกินระดับที่ต้องการ ส่วนเชื้อราที่ขาดวิตามินอย่างสมบูรณ์จะเกิดจากปัจจัยภายในเท่านั้น จากข้อมูลพันธุกรรมพบว่าเชื้อราจำพวก auxoheterotrophic มีต้นกำเนิดมาจาก auxoautotrophic โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากการผ่าเหล่า (mutation) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราไม่ต้องการวิตามินซี และวิตามินที่ละลายในไขมัน (วิตามินเอ ดี อี เค) มีเพียงวิตามินที่ละลายในน้ำ ซึ่งก็คือกลุ่มของวิตามินบี ได้แก่ วิตามินบี1หรือไทอะมิน (thiamine) วิตามินบี2หรือไรโบฟลาวิน (riboflavin) วิตามินบี3หรือกรดนิโคทินิค (nicotinic acid) วิตามินบี5หรือกรดแพนโททินิค (pantothenic acid) วิตามินบี6หรือไพริดอกซีน (pyridoxine) วิตามินบี7หรือไบโอติน(biotin) วิตามินบี12หรือไซยาโนโคบาลามิน (cyanocobalamine) และน้ำตาลอินโนซิทอล ซึ่งจะใช้เป็นทั้งปัจจัยในการเจริญเติบโตและวิตามิน

2.1 <u>ไทอะมิน (thiamine) หรือวิตามินบี1</u>

ไทอะมินจะอยู่ในรูปของ TPP (thiamine pyrophosphate) ซึ่งมีความจำเป็นต่อปฏิกิริยาดีคาร์บอกซีเลชัน (decarboxylation) ของกรดไพรูวิค (pyruvic acid) ให้เปลี่ยนไปเป็น acetaldehyde และ α-keto acids โดยส่วนใหญ่แล้วเชื้อราจะต้องการไทอะมิน เช่น ทุกสปีชีส์ของ Phytophthora และ *Phycomyces blakesleeanus* นอกจากนี้ยังมียีสต์บางชนิด และส่วนใหญ่ใน Basidiomycotina (เช่น *Boletus* , *Clitocybe* , *Coprinus* , *Exobasidium* , *Marasmius* , *Polyporus* , *Peniphora* เป็นต้น) ไทอะมินประกอบด้วย 2 ส่วน (moieties) คือ ไพริมิดีน (pyrimidine) และไทอะโซล (thiazole) ดังภาพที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 แสดงโครงสร้างของไทอะมินไฮโดรคลอไรด์

ที่มา : http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb1.html

การสังเคราะห์ไทอะมินจะเกี่ยวข้องกับส่วนประกอบ 2 ส่วน ซึ่งเป็นไปตามสมการข้างล่าง

ไพริมิดีน + ไทอะโซล ⟶ ไทอะมิน

บางครั้งเชื้อราที่ขาดไทอะมิน เช่น Phyomyces จะขาดไทอะมินถ้าส่วนประกอบ 2 ส่วน (พวกมันไม่สามารถสังเคราะห์ได้) ถูกใช้ไป ถ้าขาดเพียงส่วนเดียวและเมื่อขาดส่วนที่ใช้ไปพวกมันจะสามารถสังเคราะห์ไทอะมิน ซึ่งส่วนใหญ่มักขาดส่วนที่เป็นไพริมิดีน

2.2 ไบโอติน (biotin) หรือวิตามินเอช (vitamin H) หรือวิตามินบี7

ไบโอตินเป็นวิตามินในกลุ่มของวิตามินบีคอมเพล็กซ์ นอกจากไทอะมินแล้วไบโอตินเป็นวิตามินที่เชื้อราต้องการมากที่สุด ซึ่งยีสต์ส่วนใหญ่แล้วจะมีความต้องการไบโอติน สำหรับการสังเคราะห์ไบโอตินแสดงดังสมการข้างล่างและโครงสร้างของไบโอตินแสดงดังภาพที่ 2.4

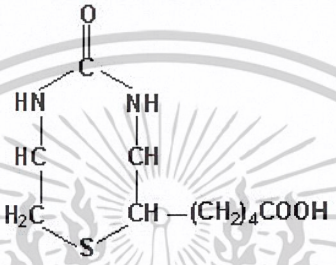
กรดพิมิลิค (pimilic acid) ⟶ เดสทิโอไบโอติน (desthiobiotin) ⟶ ไบโอติน

สำหรับไบโอตินมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบเอนไซม์หลายชนิดในการเคลื่อนย้ายหมู่คาร์บอนไดออกไซด์หรือหมู่คาร์บอกซิล ได้แก่ เอนไซม์ไพรูเวท คาร์บอกซีเลส (pyruvate carboxylase) เอนไซม์อะซิทิลโคเอ คาร์บอกซีเลส (acetylCoA carboxylase) และเอนไซม์ยูเรีย คาร์บอกซีเลส (urea carboxylase) ในรูปที่เหมาะต่อการทำปฏิกิริยา ไบโอตินจะจับกับกรดอะมิโนไลซีน (lysine) ที่อยู่ตรงบริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์คาร์บอกซีเลสด้วยพันธะโควาเลนท์ (covalent bond) เกิดเป็น biotin-lysine complex จากการศึกษาเชื้อราหลายชนิดยังพบว่าไบโอตินมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดแอสพาติค (aspartic acid) นอกจากนี้ยังมีหน้าที่ในการสังเคราะห์กรดไขมันที่จำเป็นของเชื้อรา โดยในธรรมชาติสามารถแบ่งเชื้อที่ต้องการไบโอตินในการเจริญได้ 2 กลุ่ม คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 พวกที่สามารถเจริญได้ถ้ามีปริมาณเดสทิโอไบโอตินอยู่ เนื่องจากสามารถเปลี่ยนรูปจากเดสทิโอไบโอตินไปเป็นไบโอตินได้ ซึ่งเชื้อราพวกนี้จะถูกจำกัดในขั้นตอนก่อนที่มีการสังเคราะห์เดสทิโอไบโอติน ตัวอย่างของเชื้อราพวกนี้ *Ceratostomella ips* *Neurospora crassa* และ *Blastomyces dermatitidis*

2.2.2 เป็นพวกที่ไม่สามารถใช้เดสทิโอไบโอตินและถูกจำกัดในช่วงการเปลี่ยนจากเดสทิโอไบโอติน เช่น *Ceratostomella pini* และ *Sordaria fimicola* เนื่องจากเชื้อราเหล่านี้ขาดเอนไซม์ในการเปลี่ยนจากเดสทิโอไบโอตินไปเป็นไบโอติน

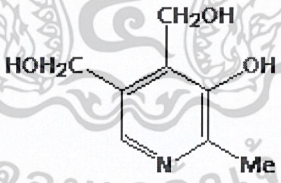


ภาพที่ 2.4 แสดงโครงสร้างของไบโอติน

ที่มา : http://www.med.monash.edu.au/biochem/thcme/vitamins.html

2.3 ไพริดอกซีน (pyridoxine) หรือวิตามินบี 6

ไพริดอกซีนมีสารอนุพันธ์ 2 ตัวที่ใกล้เคียงกัน คือ ไพริดอกซอล (pyridoxal) และไพริดอกซามีน (pryidoxamine) ซึ่งก็หมายถึงวิตามินบี 6 นั่นเอง ดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.5 แสดงโครงสร้างของไพริดอกซีน (เป็นส่วนประกอบหนึ่งของวิตามินบี 6)

ที่มา : http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb6.html

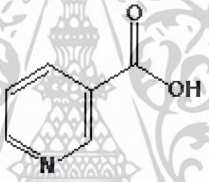
ส่วนประกอบทั้ง 3 ส่วนของไพริดอกซีนเป็นลักษณะพิเศษโดยมีแอลกอฮอล์ในไพริดอกซีน มีแอลดีไฮด์ในไพริดอกซอล และหมู่อะมิโนในไพริดอกซามีน สำหรับหน้าที่ของไพริดอกซีนเมื่อเป็นโคเอนไซม์จะอยู่ในรูป pyridoxal-5-phosphate ซึ่งเป็นโคเอนไซม์ของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในขบวนการเมแทบอลิซึมของกรดอะมิโน โดยเฉพาะดีคาร์บอกซีเลส (decarboxylase) ทรานอะมิเนส (transaminase) และราซีเมส (racemes) เมื่อเปรียบเทียบกับไทอะมินและไบโอตินแล้วไพริดอกซีนถือว่าเชื้อรามีความต้องการค่อนข้างน้อย ส่วนใหญ่พบในยีสต์ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* ในเชื้อราการขาดไพริดอกซีนพบบ้างในกลุ่มของ Ascomycotina และพวกเชื้อราชั้นต่ำ นอกจากนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใน Basidiomycotina มีเพียงชนิดเดียวคือ *Ustilago maydis* จากการทดลองสายพันธุ์กลายของ *Neurospora crassa* และ *N. sitophila* พบว่าจะเจริญได้ดีเมื่อความเข้มข้นของไพริดอกซีนมีอยู่อย่างจำกัด ถ้าในอาหารมีไทอะมินอยู่ด้วย ซึ่งจากความสัมพันธ์ของวิตามินทั้งสองชนิดนี้อธิบายได้ว่า ไทอะมินจะไปแข่งขันเพื่อยับยั้งการสลายไพริดอกซีน ในทางตรงกันข้ามไพริดอกซีนก็จะยับยั้งการสังเคราะห์ไทอะมินเช่นกัน โดยจะไปป้องกันการรวมตัวของส่วนไพริมิดีนในไทอะมิน

2.4 <u>กรดนิโคทินิค (nicotinic acid) ไนอะซิน (niacin) หรือ วิตามินบี3</u>

กรดนิโคทินิคได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของนิโคทิน (nicotine) ทำงานอยู่ในรูปของเอไมด์ (amide) และนิโคทินาไมด์ (nicotinamide) ดังภาพที่ 2.6 ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของโคเอนไซม์ NAD^+ (Nicotinamide adenine dinucleotide) และ $NADP^+$ (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) ของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenes) หลายชนิด ซึ่งจะมีความสำคัญต่อปฏิกิริยาการขนส่งพลังงาน



ภาพที่ 2.6 แสดงโครงสร้างของกรดนิโคทินิค
ที่มา : http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb3.html

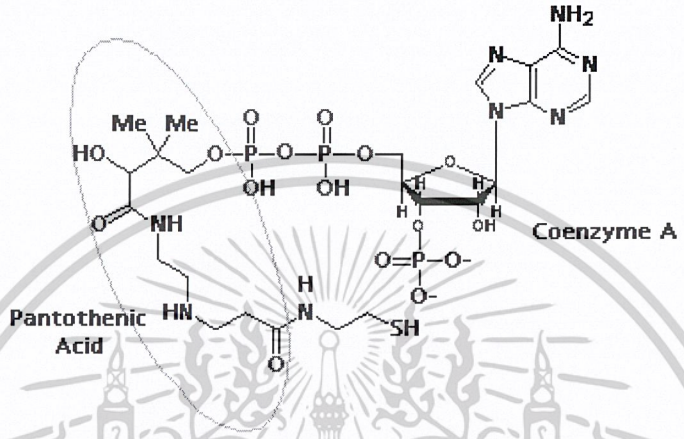
การขาดไนอะซินส่วนใหญ่มักพบในยีสต์ เช่น Torula Mycotorula Candida และ Saccharomyces โดย Rogosa (1943) ศึกษาการขาดไนอะซินของยีสต์ 114 สายพันธุ์ ส่วน Leonian และ Lilly (1942) รายงานถึงสายพันธุ์ของ *Saccharomyces cerevisiae* ว่ามีการสร้างไนอะซินที่แตกต่างกัน ส่วนในเชื้อราพบใน *Blasiocladia pringshheimii* , *B. ramosa* , *Venturia inaequalis* , *Trichophyton equinum* , *Glomerella cingulata* , *Microsporum audouini* เป็นต้น ส่วนใน Basidiomycotina ยังไม่พบ

2.5 <u>กรดแพนโททินิค (pantothenic acid) หรือวิตามินบี5</u>

สำหรับแพนโททินิคแอซิดถูกค้นพบครั้งแรกใน *Saccharomyces cerevisiae* ทำหน้าที่เป็นส่วนสำคัญของโคเอนไซม์เอ (นำหมู่อะซิทิลในปฏิกิริยาอะซิทิเลชัน) และเมแทบอลิซึมของกรดไขมัน คาร์โบไฮเดรท สเตอรอยด์ (steroids) และกรดอะมิโน กรดแพนโททินิคประกอบด้วย 2 ส่วนเช่นกัน คือ เบต้าอะลานีน (β-alanine) และกรดแพนโทนิค (pantonic acid) โดยมีเอไมด์เป็นตัวเชื่อม ดังภาพที่ 2.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการขาดกรดแพนโททินิคมักพบในยีสต์มากกว่าเชื้อรา ยีสต์ที่พบ เช่น Saccharomyces , Schizosaccharomyces , Zygosaccharomyces , Candida และ Torula มีเชื้อราเพียงชนิดเดียวที่ขาดแบบไม่สมบูรณ์ คือ *Polyporus texanus* การขาดกรดแพนโททินิคจะมีลักษณะเช่นเดียวกับไทอะมินซึ่งจะขาดเพียง 1 ใน 2 ส่วน และส่วนที่พบบ่อยคือเบต้าอะลานีน เมื่อเบต้าอะลานีนถูกใช้ไปจะไม่พบว่าเชื้อราขาดกรดแพนโททินิค

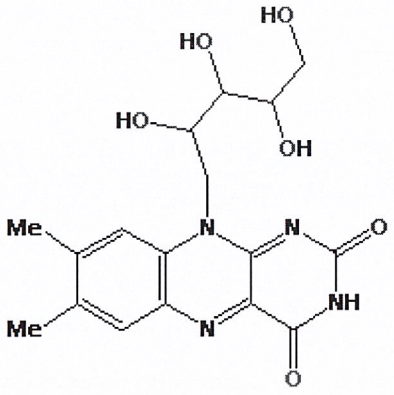


ภาพที่ 2.7 แสดงโครงสร้างของกรดแพนโททินิค
ที่มา : http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/pantothemic_acid.html

2.6 ไรโบฟลาวิน (riboflavin) หรือวิตามินบี 2

ในธรรมชาติมักพบว่าเชื้อราต้องการน้อย เชื้อราที่พบเป็นชนิดแรก คือ *Dictyostelium* spp. หน้าที่ของไรโบฟลาวินคือ ให้หมู่โพรสเตอริคของออกซิไดซิงเอนไซม์หรือฟลาวินเอนไซม์ (flavin enzyme) ซึ่งฟลาวินเอนไซม์ในเชื้อราจะรวมถึงเอนไซม์แอโรดีไฮโดรจีเนส (aerodehydrogenes) และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการการหายใจ นอกจากนี้ยังรวมถึงเอนไซม์ที่ใช้ในเมแทบอลิซึมของไนโตรเจน เช่น ไนเตรทรีดักเทส (nitrate reductase) ไนไตรท์รีดักเทส (nitrite reductase) ไฮดรอกซิลามีนรีดักเทส (hydroxylamine reductase) และอะมิโนแอซิดออกซิเดส (amino acid oxidase) นอกจากนี้ยังมีส่วนร่วมในการขนส่งอิเล็คตรอนและไฮโดรเจนอะตอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

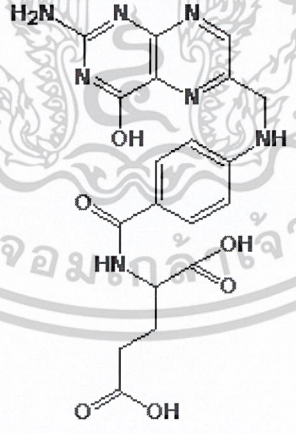


ภาพที่ 2.8 แสดงโครงสร้างของไรโบฟลาวิน

ที่มา : http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb2.html

2.7 กรดโฟลิค (folic acid)

เชื้อราที่เป็นพวก auxoautotrophic จะใช้กรดโฟลิคเป็นปัจจัยในการเจริญ (growth factor) ซึ่งกรดโฟลิคประกอบด้วยกรดกลูตามิค (glutamic acid) กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก (*p*-amino benzoic acid) และพีเทอริน (pterin) การทำงานของกรดโฟลิคมีรูปแบบขึ้นอยู่กับส่วนประกอบและตัวเชื่อม รูปแบบต่าง ๆ ในส่วนของคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ซึ่งเกิดขึ้นในเมแทบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับกรดอะมิโนจะถูกเก็บไว้เป็นคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ซึ่งเป็นรูปของสารอนุพันธ์ฟอร์มิลของกรดโฟลิค ซึ่งเชื้อราจะต้องการกรดพาราอะมิโนเบนโซอิกเพื่อใช้สังเคราะห์กรดโฟลิค



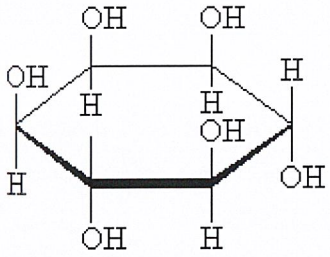
ภาพที่ 2.9 แสดงโครงสร้างของกรดโฟลิค

ที่มา : http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminbc.html

2.8 อินโนซิทอล (inositol)

การขาดอินโนซิทอลจะพบในยีสต์ โดยอินโนซิทอลเป็นคาร์โบไฮเดรทกับสูตรของโมโนแซคคาไรด์ อาทิเช่นสูตร $(CH_2O)_n$ อินโนซิทอลมี 3 รูปแบบคือ meso-inositol i-inositol และ myo-inositol เท่านั้นที่แสดงกิจกรรมของวิตามิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.10 แสดงโครงสร้างของ myo-inositol

ที่มา : http://www2.famille.ne.jp/~horio/text1/fig_inositols_natural.html

หน้าที่ของอินโนซิทอลในกรณีที่เป็นโคเอนไซม์ยังไม่ชัดเจนนัก แต่ทราบเพียงว่ามีหน้าที่หน่วย (โดยทำงานร่วมกับฟอสโฟลิปิด) เพื่อรักษาโครงสร้างผนังเซลล์เมมเบรนของไมโตรคอนเดรีย

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ยีสต์สกัด (yeast extract) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการผลิตเบียร์ ลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอ่อน มีรสเค็มเฝื่อน ๆ ประกอบด้วยสารอาหารต่าง ๆ ดังนี้คือ วิตามินบีรวม (วิตามินบี1 ไนอะซิน วิตามินบี2 กรดแพนโททินิค วิตามินบี6 ไบโอติน วิตามินบี12 และกรดโฟลิค) โครเมียม ธาตุเหล็ก แมกนีเซียม ฟอสฟอรัสและโปแตสเซียม นอกจากนี้ยังมีโปรตีนอีก โดยที่ยีสต์สกัด 1 ช้อนโต๊ะ จะให้โปรตีน 8 กรัม (เท่ากับนม 1 กล่อง) โดยให้พลังงานประมาณ 60 แคลอรี่ (http://www.anamai.moph.go.th/nutri/1675/old1675/Html/menu13/m1313.html)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความเป็นมาของการศึกษาความต้องการวิตามินของเชื้อราเริ่มจากในปี ค.ศ. 1934 Schoifer สังเกตว่าเชื้อรา Phycomyces เจริญได้ดีบนอาหารที่เตรียมด้วยมอลโตส และพบว่าเมื่อมีไทอะมินในอาหารเป็นสาเหตุให้เกิดความแตกต่างของอาหาร ดังนั้นเขาจึงทำการศึกษาต่อไปโดยเติมไทอะมินในอาหารที่ประกอบด้วยน้ำตาล แร่ธาตุ และแอสพาราจีน จากการทดลองพบว่า Phycomyces สามารถเจริญได้ดี ซึ่งนับว่าเป็นการศึกษาถึงผลของวิตามินต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราเป็นครั้งแรก

George (1950) ศึกษาความสัมพันธ์ของสารอาหารต่อการเจริญและสันฐานวิทยาของ *Trichophyton faviforme* ซึ่งการเพิ่มการเจริญของการสร้างสปอร์ของ *T. faviforme* ควรเติมสารอาหารให้ถึงระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญ โดยผลของการเติมไทอะมินลงในอาหารมีส่วนช่วยกระตุ้นการเจริญ สำหรับการศึกษาครั้งนี้ใช้อาหารสังเคราะห์ซึ่งทราบส่วนประกอบของอาหารแล้ว จากการทดลองพบว่าการเจริญเติบโตของ *T. faviforme* จะช้าและสร้างเส้นใยน้อยและสร้างคลามัยโดสปอร์ (chlamydospore) จำนวนมาก แต่ถ้าอาหารมีความเหมาะสมต่อการเจริญ จะสร้างเส้นใยปกติและสร้างคลามัยโดสปอร์จำนวนน้อย นอกจากนี้แอเรียลมัยซีเลียมจะสร้างไมโครคอนนิเดียจำนวนมาก และเมื่อใช้อาหารที่มีแอสพาราจีนเป็นแหล่งไนโตรเจนในการศึกษาความต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิตามิน พบว่าสายพันธุ์ 21 สายพันธุ์ ต้องการอินโนซิทอลและไทอะมิน ส่วน *T. discoides* ต้องการทั้งอินโนซิทอลและไทอะมิน ส่วน *T. album* และ *T. ochraceum* เป็นออกโซโทรบ

ในปี ค.ศ. 1951 Georg ได้ทำการศึกษาอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสปอร์ของ *Trichophyton violaceum* ซึ่งเป็นเชื้อราที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคผิวหนังในประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน พบว่า *T. violaceum* เจริญได้ช้าและน้อยบนอาหาร Sabouraud's dextrose agar โคโลนีมักจะเล็ก จำนวนเส้นใยน้อยและสร้างคลามัยโดสปอร์จำนวนมาก ส่วนการศึกษาผลของวิตามินที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตเรียงตามลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ ไทอะมิน ไบโอติน นิโคทินิคแอซิด นิโคทินิคเอไมด์ ไพริดอกซีน ไรโบฟลาวิน ไอโนซิทอล คลอรีนแพนโททิเนท พาราอะมิโนเบนโซอิก และโฟลิคแอซิด นอกจากนี้ยังศึกษา *T. violaceim* ทั้งหมด 11 สายพันธุ์ พบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อ *T. violaceum* ทั้ง 10 สายพันธุ์ จะได้รับการกระตุ้นจากไทอะมิน ส่วนอีก 1 สายพันธุ์ ได้รับการกระตุ้นจากกรดพาราอะมิโนเบนโซอิก

Swartz และ Georg (1955) ทำการศึกษาสารอาหารต่อการเจริญของ *T. tonsurans* เป็นสาเหตุสำคัญสำหรับการเกิดโรคผิวหนัง โดยมักพบในเด็กและวัยรุ่น จากการทดลองพบว่า *T. tonsurans* สายพันธุ์ที่สามารถสร้างสปอร์ มีความต้องการไทอะมินเพื่อช่วยในการเจริญเติบโต ส่วนสายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างสปอร์ (pleomorphic) ไทอะมินมีผลน้อยมาก คือไม่จำเป็นต้องมีไทอะมินในอาหารก็สามารถเจริญได้

Blumer และ Schpfer (1940) ศึกษาการเจริญของ *Ustilago scabiosae* ในอาหารต่าง ๆ พบว่า *U. scabiosae* ไม่เจริญบนอาหารที่มีสาละลายเด็กโทรสและแอสพาราจีน แต่เมื่อมีไทอะมินหรือส่วนผสมระหว่างไทอะซอลกับไพริมิดีนลงไป *U. scabiosae* สามารถเจริญได้ แต่ถ้าเติมเพียงไทอะซอลหรือไพริมิดีนเพียงชนิดเดียวจะไม่มีส่วนช่วยในการเจริญ

Melin และ Lindeberg (1939) พบว่าเมื่อเติมไทอะมินในอาหารจะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของ *Tricholoma pessundatum* ถึง 4 เท่า นอกจากไทอะมินแล้วยีสต์ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน และการเติมไบโอตินเมททิลเอสเทอร์และอินโนซิทอลอย่างใดอย่างหนึ่งหรือใช้ร่วมกันลงไปในอาหารที่มีแอมโมเนียทาร์เทรตจะไม่มีผลต่อการเจริญและไม่เพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของไทอะมิน ซึ่งใน *Tricholoma albobrunneum* และ *T. imbricatum* ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน

จากการศึกษา *Pleurotus corticatus* โดย Leonian และ Lily (1938) พบว่า *P. corticatus* ไม่สามารถเจริญบนอาหาร mineral-dextrose ที่มีแอมโมเนียมไนเตรทและวุ้น 2 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าเติมยีสต์สกัดลงไปจะทำให้การเจริญดี และเมื่อเติมไทอะมินลงไปจะไม่มีผลต่อการเจริญ นอกจากนี้ถ้าใส่ไทอะมินร่วมกับกรดอะมิโนก็จะทำให้การเจริญเติบโตดีเช่นกัน แต่ถ้าใช้ไทอะซอลตัวเดียวจะไม่มีผลต่อการเจริญ ส่วนใน *Lentinus tigrinus* สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีไทอะมินและกรดอะมิโน และไทอะซอลกับไพริมิดีนไม่มีผลต่อการเจริญเช่นเดียวกันกับไรโบฟลาวิน แต่ไพริมิดีนเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่มีส่วนในการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hashimoto และ Takahashi (1974) ศึกษาผลของไทอะมินความเข้มข้นต่าง ๆ และเมื่อใช้ร่วมกับวิตามินชนิดอื่นต่อการเจริญของเส้นใยของ *Pleurotus ostreatus* พบว่าความเข้มข้นของไทอะมิน 100 ไมโครกรัมต่อลิตรให้ผลดีต่อการเจริญของเส้นใยดีที่สุด และเมื่อใช้ไทอะมินร่วมกับวิตามินชนิดอื่นพบว่าเมื่อใช้ร่วมกับนิโคทินิคแอซิดจะมีผลต่อการเจริญของเส้นใยดีที่สุด

Okwujiako (1990) ศึกษาผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอกของเห็ด *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. พบว่าไทอะมินและยีสต์สกัด ต่างมีความจำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยและการเกิดตุ่มดอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

		บริษัทผู้ผลิต
1.	ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar air flow)	ISSCO รุ่น HS 123
2.	หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (autoclave)	TOMY รุ่น 3S-325
3.	ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (incubator)	SHEL LAB รุ่น 2020
4.	ไมโครปิเปต (micropipette)	LABSYSTEMS
5.	เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง (balance 2 decimal)	METTLER-TOLEDO รุ่น PG 5002
6.	เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (balance 4 decimal)	METTLER-TOLEDO รุ่น AG 204
7.	เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง ขวดรูปชมพู่ ฯลฯ	PYREX
8.	ตู้อบ (hot air oven)	MEMMERT
9.	อุปกรณ์ตัดเส้นใย (cork borer) เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร	
10.	มิลลิพอร์ฟิลเตอร์ (millipore filter)	Millpore

3.1.2 สารเคมี

		บริษัทผู้ผลิต
1.	ไทอะมินไฮโดรคลอไรด์	FLUKA
2.	ไบโอติน	SIGMA
3.	กรดโฟลิค	SIGMA
4.	อินโนซิทอล	SIGMA
5.	กรดแพนโททินิค	SIGMA
6.	ไรโบฟลาวิน	FLUKA
7.	ไพริดอกซีน	FLUKA
8.	กรดนิโคทินิค	SIGMA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การศึกษาผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใย

การศึกษาผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยใช้สูตรอาหารซึ่งมีส่วนประกอบดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของสูตรอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการศึกษาผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใย

ส่วนประกอบของอาหาร	ปริมาณ (หน่วย)
กลูโคส	25.0 กรัมต่อลิตร
แอสพาราจีน	1.0 กรัมต่อลิตร
KH_2PO_4	1.0 กรัมต่อลิตร
$MgSO_7.7H_2O$	0.5 กรัมต่อลิตร
กรดฟูมาริค	1.32 กรัมต่อลิตร
Na_2CO_3	1.12 กรัมต่อลิตร
$Fe_2(SO_4)_3$	0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร
$MnSO_4$	0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
$ZnSO_4$	0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ที่มา : Okwujiako (1990)

การทดลองจะแบ่งอาหารเป็น 4 การทดลอง ดังนี้

1. สูตรอาหารที่ 1 เป็นสูตรอาหารควบคุมหรือสูตรอาหารพื้นฐาน ที่ไม่เติมวิตามินชนิดใด ๆ ลงไป จัดเป็นการทดลองสูตรอาหารประเภท negative control

2. สูตรอาหารที่ 2 เป็นสูตรอาหารควบคุมประเภท positive control โดยสูตรอาหารนี้จะเติมวิตามินทั้ง 8 ชนิดได้แก่ ไบโอติน ไทอะมิน ไรโบฟลาวิน กรดแพนโททินิค กรดนิโคทินิค ไพริดอกซีน กรดโฟลิค และอินโนซิทอล โดยเติมลงไปในอาหารปริมาณต่าง ๆ ดังตารางที่ 3.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 3.2 ปริมาณวิตามินที่เติมลงในสูตรอาหาร

วิตามิน	ปริมาณที่เติมลงในอาหาร
ไบโอติน	5 มิลลิกรัมต่อลิตร
ไทอะมิน	100 ไมโครกรัมต่อลิตร
ไรโบฟลาวิน	100 ไมโครกรัมต่อลิตร
กรดแพนโททินิค	100 ไมโครกรัมต่อลิตร
กรดนิโคทินิค	100 ไมโครกรัมต่อลิตร
ไพริดอกซิน	100 ไมโครกรัมต่อลิตร
กรดโฟลิค	100 ไมโครกรัมต่อลิตร
อินโนซิทอล	5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ที่มา Okwujiako (1990)

3. สูตรอาหารที่ 3 เป็นสูตรอาหารควบคุมประเภท positive control โดยสูตรอาหารนี้จะเติมยีสต์สกัด (yeast extract) ลงในอาหารสูตรพื้นฐานปริมาณ 0.04 กรัมต่อลิตร

4. สูตรอาหารที่ 4 เป็นสูตรอาหารที่เติมวิตามินเพียงชนิดเดียว จึงแบ่งออกเป็นสูตรอาหารย่อย 8 สูตร ตามชนิดของวิตามินที่ใส่ลงในอาหาร โดยแต่ละสูตรจะใช้ปริมาณวิตามินตามตารางที่ 3.2

สำหรับการเตรียมอาหารสำหรับการทดลองนั้น ถ้าเป็นอาหารสูตรพื้นฐานจะนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที แต่ ยีสต์สกัด กลูโคส แอสพาราจีน และวิตามินจะทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองด้วยมิลลิพอร์ฟิลเตอร์ (millipore filter)

3.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ

ทำการเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าในอาหาร WA (water agar) เพื่อเป็นหัวเชื้อ จากนั้นเขี่ยเชื้อเห็ดจากหัวเชื้อ ลงในอาหารวุ้น WA ที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน 2 ครั้ง

3.2.1.2 การทดลองเพื่อศึกษาผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด

เขี่ยเชื้อเห็ดในอาหารวุ้น WA ที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน ลงในอาหารเหลวสูตรต่างๆที่บรรจุขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ในสภาพปลอดเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 14 และ 21 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
47318

การเก็บผลการทดลอง หลังจากเลี้ยงเชื้อนาน 14 และ 21 วัน จะทำการเก็บเกี่ยวเส้นใยโดยกรองเส้นใย จากนั้นนำไปหาน้ำหนักแห้งของเส้นใย (ภาคผนวก) ในแต่ละการทดลอง ทำการเปรียบเทียบผลการทดลองในแต่ละการทดลองเพื่อดูผลว่าวิตามินชนิดใด (รวมทั้งยีสต์สกัด) มีผลต่อการเจริญของเส้นใยหรือไม่

3.2.2 การศึกษาผลของวิตามินต่อการเกิดตุ่มดอก

การทดลองจะใช้สูตรอาหารตามการทดลองทั้ง 4 สูตร เช่นเดียวกับการศึกษาผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใย เพียงแต่เติมวุ้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ลงในสูตรอาหารแต่ละชนิด เพื่อทำให้เป็นอาหารแข็ง เทอาหารลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

การเก็บผลการทดลอง การศึกษาผลของวิตามินต่อการเกิดตุ่มดอกให้ดูจากการเกิดตุ่มดอกในจานอาหารเลี้ยงเชื้อของแต่ละการทดลอง และเปรียบเทียบดูว่ามีวิตามินใดบ้างที่มีผลต่อการเกิดตุ่มดอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 <u>การเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าในอาหารเหลวที่มีวิตามินชนิดต่าง ๆ</u>

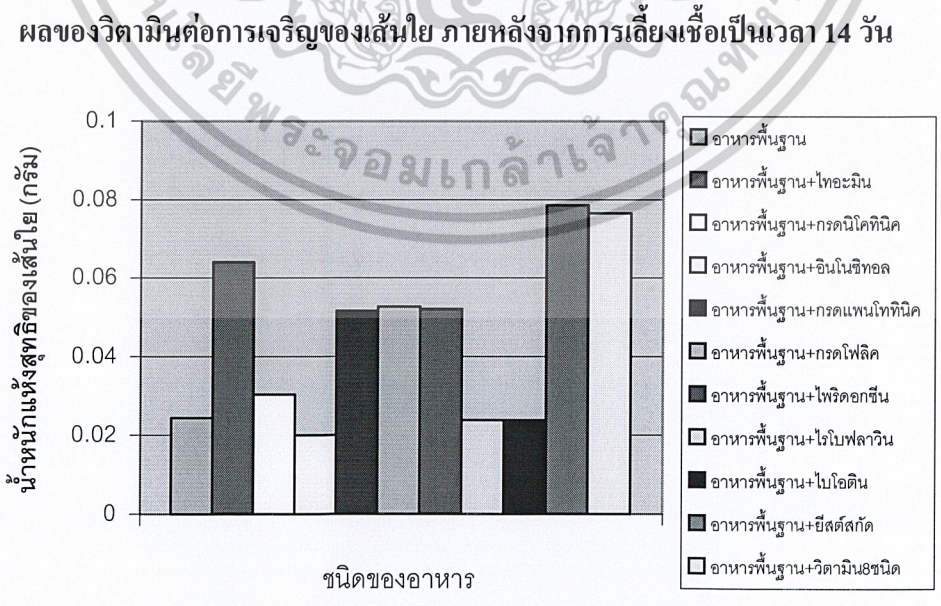
การศึกษาผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใย ซึ่งทำโดยเลี้ยงเส้นใยในสูตรอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมวิตามินชนิดต่างๆ แยกกันซึ่งได้แก่ ไทอะมิน กรดนิโคทินิค อินโนซิทอล กรดแพนโททินิค กรดโฟลิค ไพริดอกซิน ไรโบฟลาวิน และไบโอติน (8 สูตรอาหาร) รวมทั้งในอาหารอีก 3 สูตรคือ อาหารสูตรพื้นฐาน (ไม่เติมวิตามินชนิดใด ๆ) อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด และอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด รวมทั้งสิ้น 11 สูตร ทั้งนี้ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 14 วัน และทำการเก็บผลผลิตเป็นน้ำหนักแห้งของเส้นใย เพื่อหาชนิดของวิตามินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า

จากการทดลองพบว่าเมื่อเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้า 14 วัน ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1 กล่าวคือ เส้นใยจะเจริญได้ดีที่สุดในอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด โดยอาหารที่เติมยีสต์สกัดให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยต่ออาหารเหลว 50 มิลลิลิตร เท่ากับ 0.0785 กรัม สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยของเส้นใยต่ออาหารเหลว 50 มิลลิลิตร ในอาหารชนิดอื่นมีดังต่อไปนี้ อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมไทอะมินเท่ากับ 0.0641 กรัม อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมกรดนิโคทินิคเท่ากับ 0.0304 กรัม อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมอินโนซิทอลเท่ากับ 0.0201 กรัม อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมกรดแพนโททินิคเท่ากับ 0.0516 กรัม อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมกรดโฟลิคเท่ากับ 0.0527 กรัม อาหารสูตรพื้นฐานที่เติม ไพริดอกซินเท่ากับ 0.0521 กรัม อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมไรโบฟลาวินเท่ากับ 0.0238 กรัม และอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมไบโอตินเท่ากับ 0.0238 กรัม ส่วนอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิดเท่ากับ 0.0768 กรัม และอาหารสูตรพื้นฐานเท่ากับ 0.0244 กรัม และจะเห็นได้จากภาพที่ 4.2 ถึงการเจริญของเส้นใยเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 14 วัน ในสูตรอาหารพื้นฐานที่มีการเติมไทอะมิน ยีสต์สกัด และวิตามินทั้ง 8 ชนิด ซึ่งทั้ง 3 สูตรอาหารนี้เป็นสูตรอาหารที่ให้น้ำหนักของเส้นใยในปริมาณมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

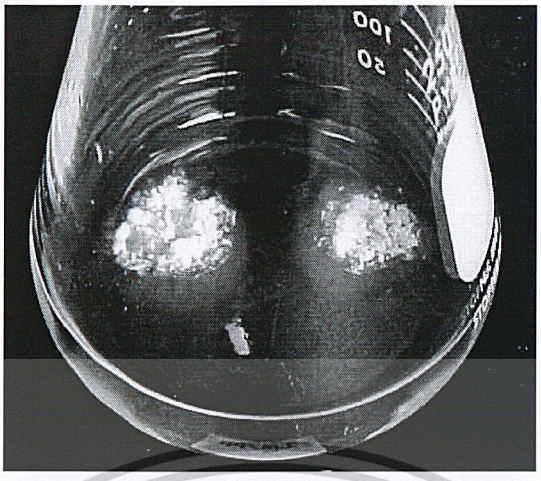
ตารางที่ 4.1 ผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 14 วัน

ลำดับ	การทดลอง	น้ำหนักเส้นใย ซ้ำที่1 (กรัม)	น้ำหนักเส้นใย ซ้ำที่ 2 (กรัม)	น้ำหนักเส้นใย ซ้ำที่ 3 (กรัม)	น้ำหนักเส้นใยเฉลี่ย (กรัม)
1	อาหารสูตรพื้นฐาน	0.0245	0.0237	0.0249	0.0244e
2	อาหารสูตรพื้นฐาน + ไทอะมิน	0.0620	0.0661	0.0642	0.0641b
3	อาหารสูตรพื้นฐาน + กรดนิโคทินิค	0.0322	0.0297	0.0293	0.0304d
4	อาหารสูตรพื้นฐาน + อินโนซิทอล	0.0197	0.0198	0.0208	0.0201f
5	อาหารสูตรพื้นฐาน + กรดแพนโททินิค	0.0533	0.0509	0.0506	0.0516c
6	อาหารสูตรพื้นฐาน + กรดโฟลิค	0.0522	0.0528	0.0530	0.0527c
7	อาหารสูตรพื้นฐาน + ไพริดอกซิน	0.0521	0.0518	0.0523	0.0520c
8	อาหารสูตรพื้นฐาน + ไรโบฟลาวิน	0.0238	0.0240	0.0236	0.0238e
9	อาหารสูตรพื้นฐาน + ไบโอติน	0.0241	0.0233	0.0239	0.0238e
10	อาหารสูตรพื้นฐาน + ยีสต์สกัด	0.0782	0.0777	0.0796	0.0785a
11	อาหารสูตรพื้นฐาน + วิตามิน 8 ชนิด	0.0765	0.0771	0.0768	0.0768a



ภาพที่ 4.1 แผนภูมิแสดงผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(a) ไทอะมิน

(b) ยีสต์สกัด

(c) วิตามิน 8 ชนิด

ภาพที่ 4.2 ผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 14 วัน ในอาหารเหลวที่มีการเติม ไทอะมิน (a) ยีสต์สกัด (b) วิตามิน 8 ชนิด (c)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 21 วัน พบว่าการเจริญของเส้นใยที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่เติมวิตามินชนิดต่าง ๆ ซึ่งได้แก่ ไทอะมิน กรดนิโคทินิค อินโนซิทอล กรดแพนโททินิค กรดโฟลิค ไพริดอกซิน ไรโบฟลาวิน และไบโอติน อาหารสูตรพื้นฐาน อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด และอาหารสูตรพื้นฐานที่มีวิตามินทั้ง 8 ชนิด จะเจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิดลงในอาหาร โดยมีน้ำหนักเส้นใยเท่ากับ 0.2052 กรัม ดังตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.3

สำหรับสูตรอาหารที่ให้ผลดีรองลงมาคือ สูตรอาหารพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัดซึ่งจะให้น้ำหนักแห้งของเส้นใย เท่ากับ 0.2034 กรัม ส่วนอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมวิตามินชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด พบว่าวิตามินที่มีผลต่อการเจริญมากที่สุด คือ ไทอะมิน ให้น้ำหนักแห้งเส้นใย เท่ากับ 0.2026 กรัม ส่วนสูตรอาหารที่เติมวิตามินที่ให้ผลดีรองลงมาคือ สูตรอาหารที่เติมกรดแพนโททินิคให้น้ำหนักแห้งเส้นใย เท่ากับ 0.1522 กรัม และจากการสังเกตการรวมตัวกันของเส้นใย พบว่าสูตรอาหารพื้นฐานที่เติมไทอะมิน ยีสต์สกัด และวิตามินทั้ง 8 ชนิด จะให้เส้นใยที่มีความหนาแน่นมากและเส้นใยรวมตัวกันดีกว่าอาหารสูตรอื่น ๆ (ภาพที่ 4.4)

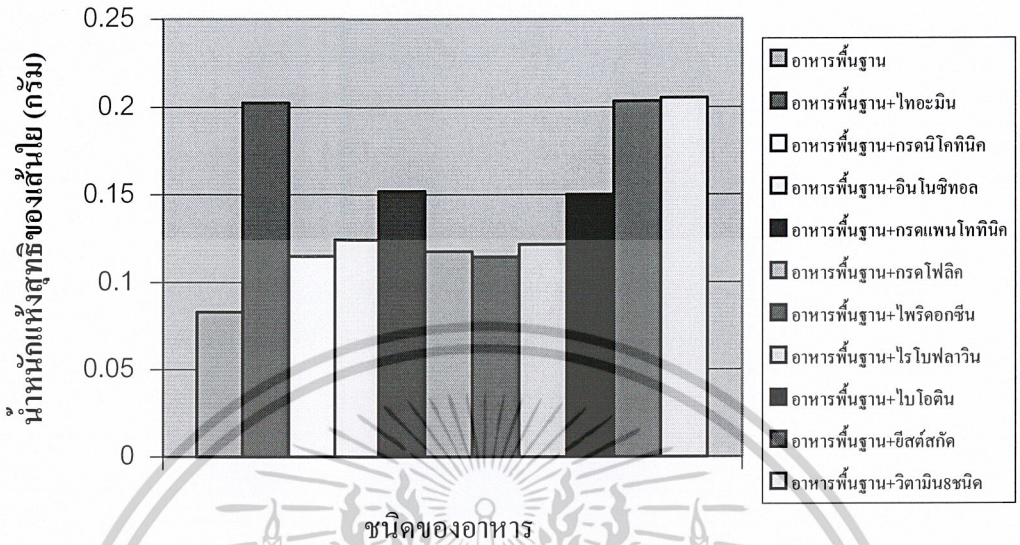
ตารางที่ 4.2 ผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 21 วัน

ลำดับ	การทดลอง	น้ำหนักเส้นใย ซ้ำที่1 (กรัม)	น้ำหนักเส้นใย ซ้ำที่ 2 (กรัม)	น้ำหนักเส้นใย ซ้ำที่ 3 (กรัม)	น้ำหนักเส้นใย เฉลี่ย (กรัม) *
1	อาหารสูตรพื้นฐาน	0.0825	0.0846	0.0822	0.0830e
2	อาหารสูตรพื้นฐาน + ไทอะมิน	0.2040	0.2015	0.2023	0.2026a
3	อาหารสูตรพื้นฐาน + กรดนิโคทินิค	0.1141	0.1162	0.1144	0.1149d
4	อาหารสูตรพื้นฐาน + อินโนซิทอล	0.1253	0.1244	0.1238	0.1245c
5	อาหารสูตรพื้นฐาน + กรดแพนโททินิค	0.1519	0.1517	0.1531	0.1522b
6	อาหารสูตรพื้นฐาน + กรดโฟลิค	0.1181	0.1148	0.1199	0.1176d
7	อาหารสูตรพื้นฐาน + ไพริดอกซิน	0.1122	0.1167	0.1149	0.1146d
8	อาหารสูตรพื้นฐาน + ไรโบฟลาวิน	0.1215	0.1216	0.1223	0.1218c
9	อาหารสูตรพื้นฐาน + ไบโอติน	0.1502	0.1513	0.1493	0.1503b
10	อาหารสูตรพื้นฐาน + ยีสต์สกัด	0.2044	0.2037	0.2021	0.2034a
11	อาหารสูตรพื้นฐาน + วิตามิน 8 ชนิด	0.2016	0.2050	0.2090	0.2052a

*** หมายเหตุ** การคำนวณทางสถิติ ดูได้จากภาคผนวก

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใย ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 21 วัน



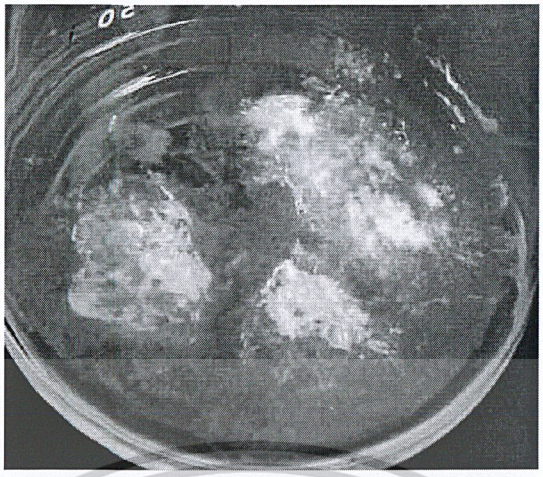
ภาพที่ 4.3 แผนภูมิแสดงผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า เมื่อเลี้ยงเส้นใยเป็นระยะเวลา 21 วัน

4.2 <u>ผลของวิตามินต่อการเกิดตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้า</u>

จากการทดลองเพื่อดูผลของวิตามินที่มีต่อการเกิดตุ่มดอกในอาหารที่มีวิตามินชนิดต่างๆ พบว่าอาหารที่มีการเติมไทอะมินเพียงชนิดเดียวมีผลทำให้เห็ดนางฟ้าเกิดตุ่มดอก (ภาพที่ 4.6) ส่วนวิตามินชนิดอื่นไม่มีผลต่อการเกิดตุ่มดอก แม้จะทำการเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 21 วันแล้ว ดังแสดงในภาพที่ 4.5

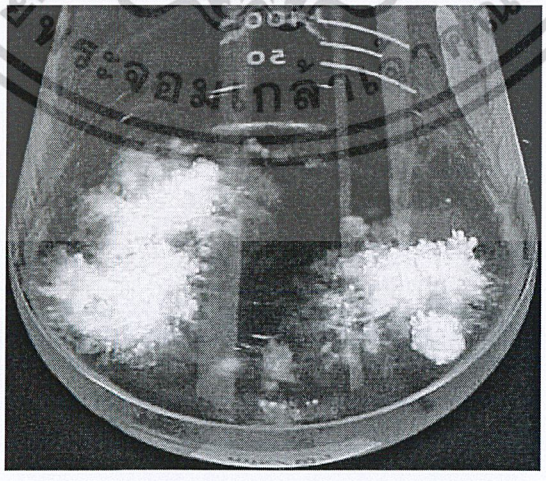
สำหรับการเกิดตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้าในสูตรอาหารที่มีการเติมไทอะมิน ยีสต์สกัด และวิตามินทั้ง 8 ชนิด เมื่อนำมาเปรียบเทียบกันแล้ว จะเห็นได้ว่าสูตรอาหารทั้ง 3 สูตรนั้น สามารถสร้างตุ่มดอกของเห็ดได้ ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลาประมาณ 25-30 วัน ดังจะเห็นได้จากภาพที่ 4.6-4.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(a) ไทอะมิน

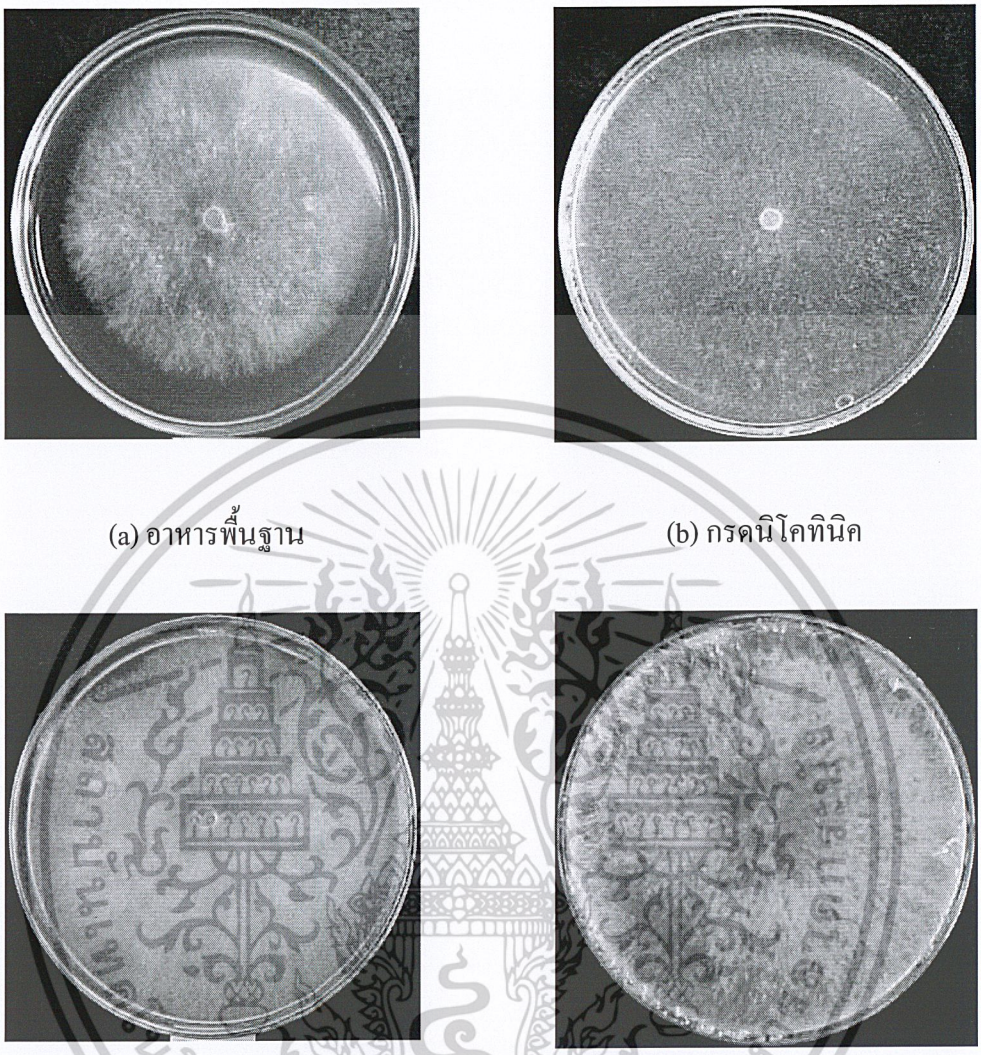
(b) ยีสต์สกัด



(c) วิตามิน 8 ชนิด

ภาพที่ 4.4 ผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 21 วัน ในอาหารเหลวที่มีการเติม ไทอะมิน (a) ยีสต์สกัด (b) วิตามิน 8 ชนิด (c)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

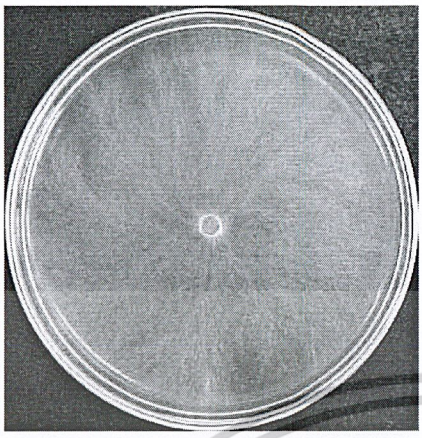


(a) อาหารพื้นฐาน (b) กรดนิโคทินิค

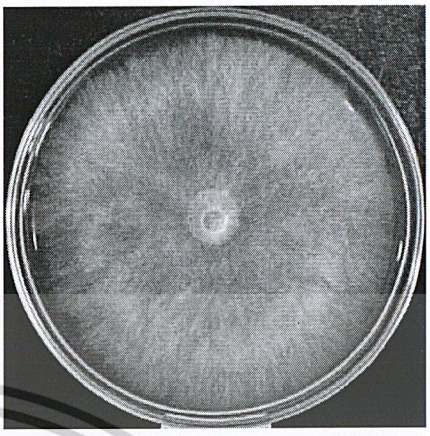
(c) อินโนซิทอล (d) กรดแพนโททินิค

ภาพที่ 4.5 การเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบนจานอาหารแข็ง (อายุ 21 วัน) ที่มีการเติม อาหารพื้นฐาน (a) กรดนิโคทินิค (b) อินโนซิทอล (c) กรดแพนโททินิค (d)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

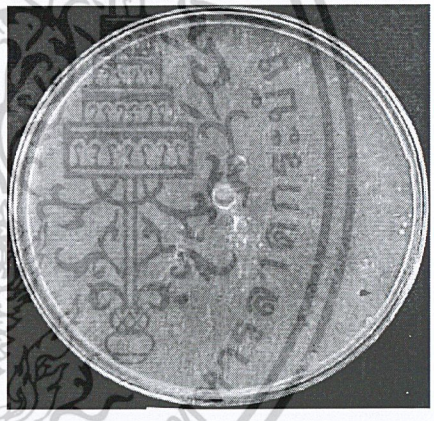


(e) กรดโฟลิค



(f) ไพริดอกซีน

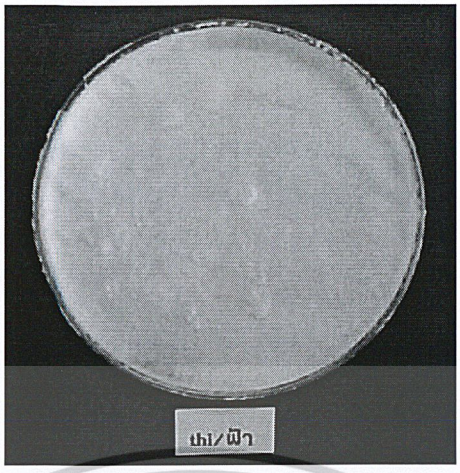
(g) ไรโบฟลาวิน



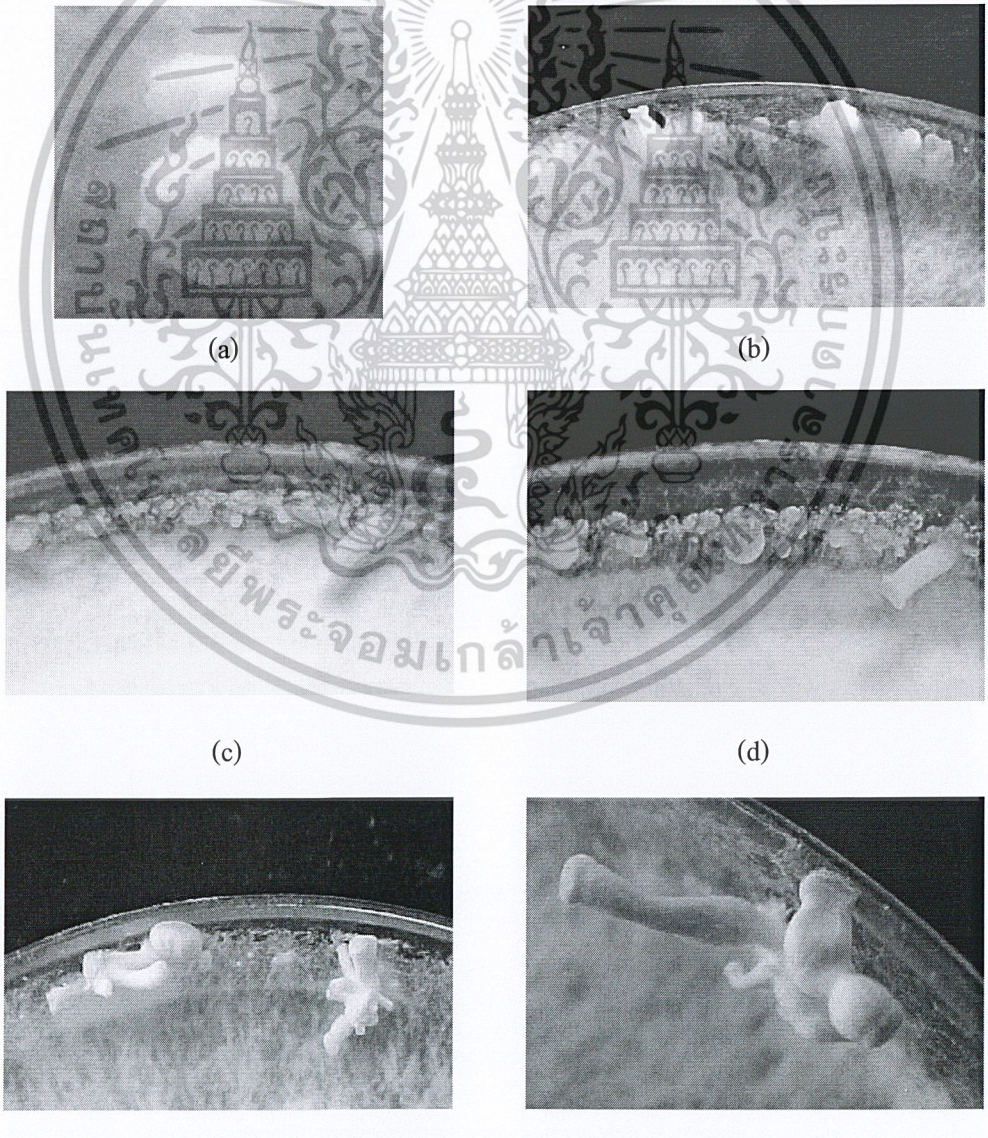
(h) ไบโอติน

ภาพที่ 4.5 (ต่อ) การเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบนจานอาหารแข็ง (อายุ 21 วัน) ที่มีการเติม กรดโฟลิค (e) ไพริดอกซีน (f) ไรโบฟลาวิน (g) ไบโอติน (h)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 การเจริญของเส้นใยบนอาหารแข็งที่เติมไทอะมิน เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 21 วัน



(a) (b)

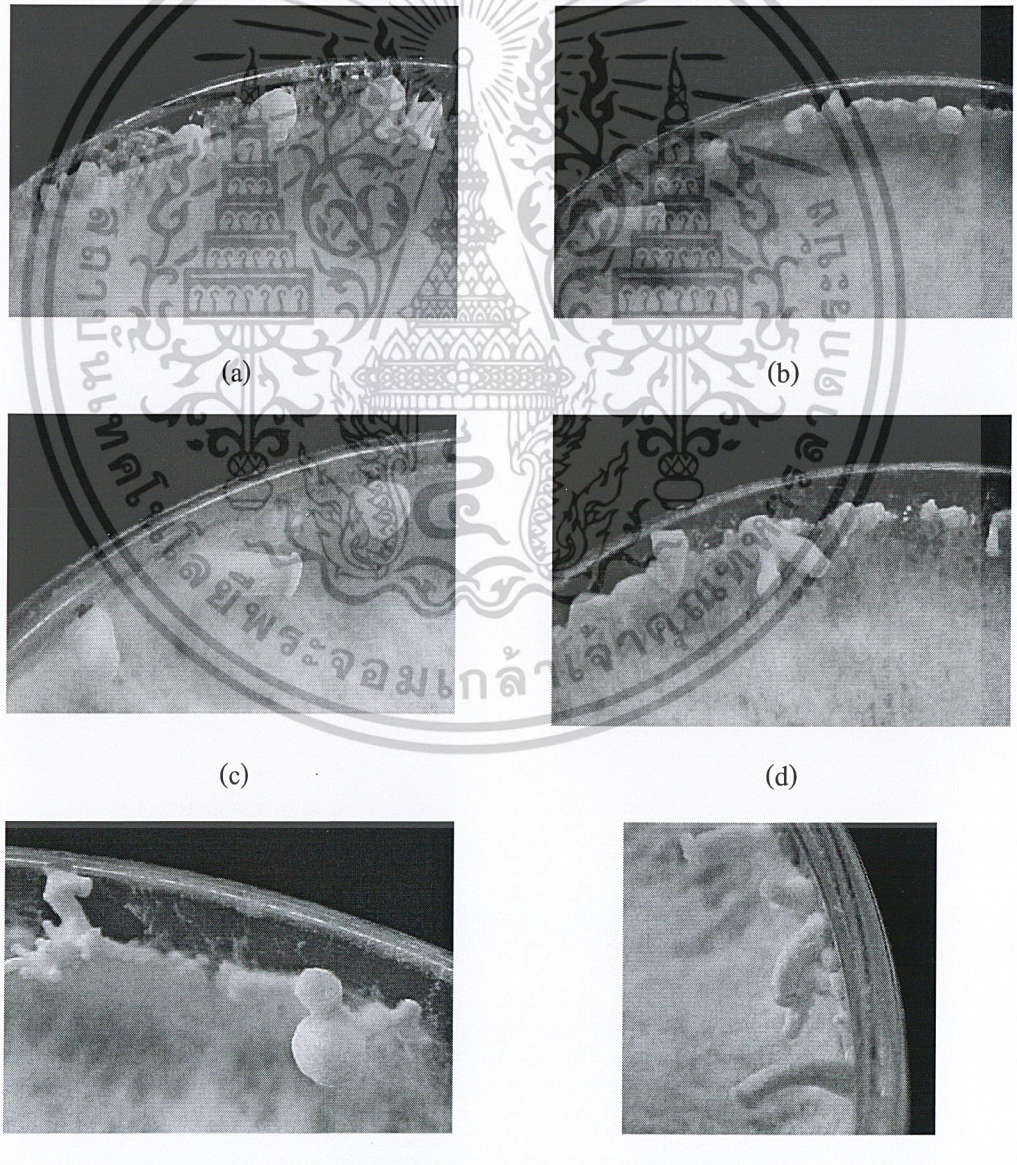
(c) (d)

(e) (f)

ภาพที่ 4.7 ลำดับระยะของการเกิดตุ่มดอกของเห็ดในสูตรอาหารที่มีการเติมวิตามินไทอะมิน

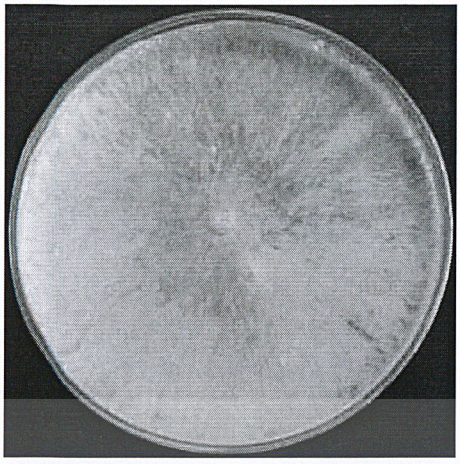
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.8 การเจริญของเส้นใยบนอาหารแข็งที่เติมยีสต์สกัด เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 21 วัน

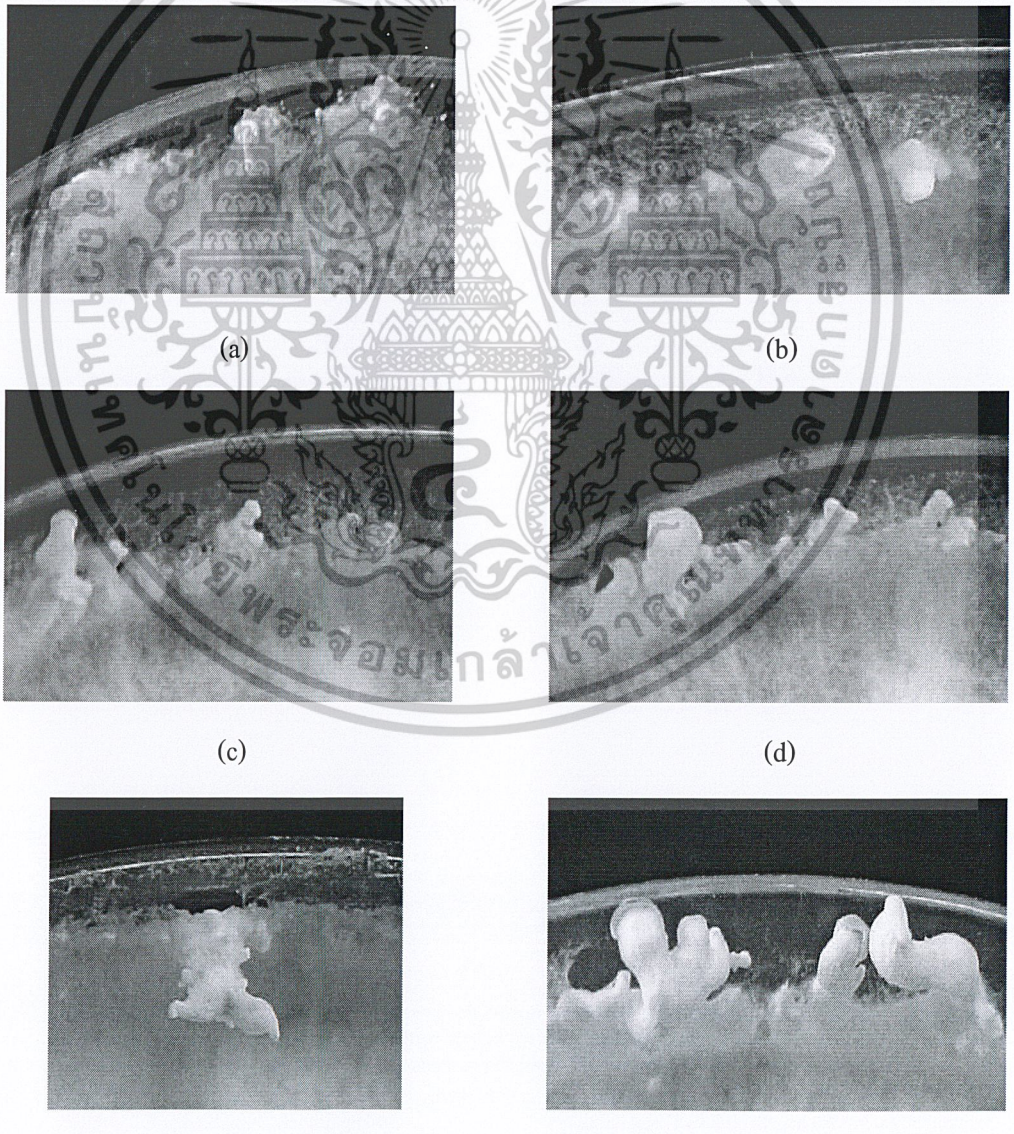


ภาพที่ 4.9 ลำดับการเกิดตุ่มดอกของเห็ดในสูตรอาหารที่เติมยีสต์สกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.10 การเจริญของเส้นใยบนอาหารแข็งที่มีการเติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 21 วัน



ภาพที่ 4.11 ลำดับการเกิดตุ่มดอกของเห็ดในสูตรอาหารที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลอง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเห็ดนางฟ้าในอาหารเหลวที่มีการเติมวิตามิน 8 ชนิด ซึ่งได้แก่ ไทอะมิน ไบโอติน กรดแพนโททินิค ไรโบฟลาวิน ไพริดอกซิน กรดนิโคทินิค อินโนซิทอล และกรดโฟลิค รวมทั้งอาหารสูตรพื้นฐาน อาหารสูตรพื้นฐานที่เติมยีสต์สกัด และอาหารสูตรพื้นฐานที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด ซึ่งสูตรอาหาร 3 ชนิดหลังนี้เป็นสูตรเปรียบเทียบ พบว่าเมื่อเส้นใยมีอายุ 14 วัน อาหารเหลวที่เติมยีสต์สกัดจะให้เส้นใยเจริญได้ดีที่สุด รองลงมาเป็นอาหารเหลวที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด และอาหารทั้ง 2 ชนิดจะมีอิทธิพลต่อการเจริญของเส้นใยมากกว่าไทอะมิน และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 21 วัน พบว่าอาหารเหลวที่เติมวิตามิน 8 ชนิดเส้นใยจะเจริญได้ดีที่สุด รองลงมาเป็นอาหารเหลวที่เติมยีสต์สกัด และไทอะมิน ตามลำดับ แต่วิตามินที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของเส้นใยมากที่สุดคือ ไทอะมิน และอาหารเหลวทั้ง 3 ชนิดนี้จะมีอิทธิพลต่อการเจริญเส้นใยของเห็ดนางฟ้าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ โดยที่วิตามินชนิดอื่น ๆ จะมีอิทธิพลต่อการเจริญของเส้นใยน้อยกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

สำหรับการศึกษาผลของวิตามินต่อการเกิดตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้า พบว่ามีเพียงอาหารแข็งที่เติมไทอะมิน ยีสต์สกัด และวิตามิน 8 ชนิดเท่านั้นที่ทำให้เห็ดนางฟ้าเกิดตุ่มดอก เมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเป็นเวลา 25-30 วัน เนื่องจากไทอะมินเป็นโคเอนไซม์ช่วยกระตุ้นให้เส้นใยเห็ดเกิดการสร้างตุ่มดอกในสภาวะที่มีแสงและอากาศเพียงพอ ซึ่งไทอะมินจะเป็นส่วนประกอบหนึ่งในยีสต์สกัดและวิตามิน 8 ชนิด ส่วนอาหารที่เติมวิตามินชนิดอื่นๆไม่มีผลต่อการเกิดตุ่มดอก

<u>วิจารณ์ผลการทดลอง</u>

จากการศึกษาผลของวิตามินต่อการเจริญของเส้นใยในอาหารเหลวที่เติมวิตามินไทอะมิน พบว่าจะมีการเจริญของเส้นใยแตกต่างจากวิตามินชนิดอื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับยีสต์สกัดและอาหารที่เติมทั้งวิตามิน 8 ชนิด นอกจากนี้อาจเกิดการสร้างเส้นใยได้น้อยถ้ามีการจมตัวของหัวเชื้อ WA ลงในอาหารเหลว

สำหรับการเกิดตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้า พบว่ามีเพียงอาหารที่เติมไทอะมิน ยีสต์สกัด และที่เติมวิตามินทั้ง 8 ชนิด เท่านั้น ที่มีการเกิดตุ่มดอก นอกจากนี้ตุ่มดอกของเห็ดอาจเกิดได้ช้า ถ้าได้รับแสงและอากาศไม่เพียงพอ ฉะนั้นในการทดลองจึงควรให้จานเพาะเลี้ยงอยู่ในพื้นที่ที่มีโอกาสรับแสงได้มากพอ เพื่อกระตุ้นการออกดอกของเห็ด และควรใช้จานเพาะเลี้ยงที่มีขนาดใหญ่ เพื่อให้เส้นใยของเห็ดได้รับอากาศอย่างเพียงพอในช่วงที่มีการรวมตัวกันของเส้นใยเพื่อเกิดเป็นดอกเห็ดและเพื่อป้องกันการเจริญของเส้นใยที่มากจนชนกับฝาจานเพาะเลี้ยง ซึ่งอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ปัญญา โพธิ์จิติรัตน์. 2538. เทคโนโลยีการเพาะเห็ด. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 421 หน้า.

Blumer, S. and W.H. Schopfer. 1940. Beitrage zur biologie und wirkstoffphysiologie von *Ustilago scabiosae* (Sowerby). Winter. Ber. Schewiz. Bot.Ges. 50 : 248-272.

Carlile, M.J. and S.C. Watkinsons. 1994. Fungal cells and vegetative growth, Academic Press, New York.

Chang, S.T., and W.A. Hayes. 1978. The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms. Academic Press, New York.

Dube, H.C. 1990. Vitamin requirements , P. 500-507. In an introduction to fungi. Cajendra Printing Press. Bhawnagar.

George, L.K. 1950. The relation of nutrition to the growth and morphology of *Trichophyton faviforme*. Mycologia. 42 : 693-715.

George, L.K. 1951. The relation of nutrition to the growth and morphology of *Trichophyton violaceum* Ⅰ. The vitamin and amino acid requirements of *T. violaceum* . Mycologia. 43 : 297-309.

Hashimoto, K. and Z. Takahashi. 1974. Studies on the growth of *Pleurotus ostreatus*. Mushroom Science ⅠX (partⅠ). 585-593.

Leonian, L.H. and V.G. Lilly. 1942. The effect of vitamins on ten strains of *Saccharomyces cerevisiae*. Amer.J.Bot. 29 : 459-464.

Melin, E. and G. Lindeberg. 1939. Uber den einfluss von aneurin und biotin auf das wachstum einiger mykorrhizenpilze. Bot.Not. 241-245.

Moore-Landecker, E. 1996. Fundamentals of fungi fourth edition. Prentice-Hall, Inc., New Jersey.

Okwujiako, I.A. 1990. The effect of vitamins on the vegetative growth and fruitbody formation of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. Mush. J. Tropics. 10 : 35-39.

Swartz, H.E., and L.K. Georg. 1955. The nutrition of *Trichophyton tonsurans*. Mycologia. 47 : 475-493.

Zadrazil, F. 1978. Cultivation of Pleurotus, P.521-554. In S.T. Chang and W.A. Hayes (eds.). The biology and cultivation of edible mushroom. Acedemic Press, New York.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม (ต่อ)

http://www.anamai.moph.go.th/nutri/1675/old1675/Html/menu13/m1313.html

http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminbc.html

http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb1.html

http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb2.html

http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb3.html

http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/vitaminb6.html

http://www.chem.ox.ac.uk/mom/vitamins/pantothemic_acid.html

http://www.doae.go.th/library/html/detail/nangfa/nangfa_2.htm

http://www.med.monash.edu.au/biochem/theme/vitamins.html

http://www.mykoweb.com/CAF/species/Pleurotus_ostreatus.html

http://www.vegemite.com.au/healthyhome.asp?area=2&pageid=1

http://www2.famille.ne.jp/~horio/text1/fig_inositols_natural.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์ โดยใช้ข้อมูลแต่ละช่วงการทดลอง ซึ่งเป็นแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มาทำการวิเคราะห์ในโปรแกรม SPSS for Windows ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. เปิดโปรแกรม SPSS for Windows
2. ใส่ข้อมูลและเลือกข้อมูลที่ต้องการวิเคราะห์
3. ไปที่เมนู Analyze
3. จากนั้นเลือก Compare Means
4. เลือกOne-Way ANOVA นำข้อมูลใส่ในช่อง Factor และ Dependent list ให้ครบ
5. เลือก Post Hoc : Duncan ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

Completely Randomized Design

Replication (r) = 3

Treatment (t) = 11

การทดลอง	ตัวแปร
อาหารสูตรพื้นฐาน	t1
อาหารสูตรพื้นฐาน + ไทอะมิน	t2
อาหารสูตรพื้นฐาน + กรดนิโคทินิค	t3
อาหารสูตรพื้นฐาน + อินโนซิทอล	t4
อาหารสูตรพื้นฐาน + กรดแพนโททินิค	t5
อาหารสูตรพื้นฐาน + กรดโฟลิค	t6
อาหารสูตรพื้นฐาน + ไพริดอกซิน	t7
อาหารสูตรพื้นฐาน + ไรโบฟลาวิน	t8
อาหารสูตรพื้นฐาน + ไบโอติน	t9
อาหารสูตรพื้นฐาน + ยีสต์สกัด	t10
อาหารสูตรพื้นฐาน + วิตามิน 8 ชนิด	t11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักแห้งของเส้นใยเมื่อเลี้ยงนาน 21 วัน

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*
t1	3	0.2493	0.0831e
t2	3	0.6078	0.2026d
t3	3	0.3447	0.1149d
t4	3	0.3735	0.1245d
t5	3	0.4567	0.1522c
t6	3	0.3528	0.1176c
t7	3	0.3438	0.1146b
t8	3	0.3654	0.1218b
t9	3	0.4508	0.1503a
t10	3	0.6102	0.2034a
t11	3	0.6156	0.2052a

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Treatment	0.04519	10	0.004519	3.830506	0.006485	2.41703
Error	0.021238	22	0.00118			
Total	0.066428	32				

CV = 17.59%

6. กรณีที่ข้อมูลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ต้องทำการวิเคราะห์ต่อไปเพื่อหาว่าข้อมูลกลุ่มใดมีความแตกต่างกันอย่างไร ซึ่งได้ผลดังตารางที่ 1ก.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1ก. ผลของค่า SSR และ LSR เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Test ของน้ำหนักแห้งเส้นใยเห็ดนางฟ้า เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน ในอาหารเหลวที่เติมวิตามินต่างๆ

ρ	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
SSR	2.97	3.12	3.21	3.27	3.32	3.35	3.37	3.39	3.41	3.43
LSR	0.0340	0.0360	0.0370	0.0374	0.0380	0.0384	0.0386	0.0388	0.0390	0.0393

อันดับที่	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
อาหาร	t1	t7	t3	t6	t8	t4	t9	t5	t2	t10	t11
ค่าเฉลี่ย	0.0831	0.1146	0.1149	0.1176	0.1218	0.1264	0.1503	0.1522	0.2026	0.2034	0.2052

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่อยู่บนเส้นตรงเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05