การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของเห็ดกระดุมบราซิล (*Agaricus blaziliensis*) ในสภาวะอาหารเหลว

The optimum conditions for the polysaccharides production in liquid state fermentation of *Agaricus blaziliensis.*

กลิท ทับทิมใส

จิราภรณ์ พิมพ์ทอง

ตันติกร เติมแก้ว

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปีการศึกษา 2559

The optimum conditions for the polysaccharides production in liquid state fermentation of *Agaricus blaziliensis.*

KALIT TUBTIMSAI

JIRAPORN PIMTHONG

TUNTIKORN TEMKEAW

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENTOF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อสัมมนา	การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของเห็ดกระดุมบราซิล (*Agaricus blaziliensis*) ในสภาวะอาหารเหลว
ชื่อนักศึกษา	นายกลิท ทับทิมใส รหัสนักศึกษา 56050800
	นางสาวจิราภรณ์ พิมพ์ทอง รหัสนักศึกษา 56050812
	นายตันติกร เติมแก้ว รหัสนักศึกษา 56050839
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.อารี ฤทธิบูรณ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.สุทธิจิตร ศรีวัชรกุล

คณะวิทยาศาสตร์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ ประธานกรรมการ	
ดร.สุทธิจิตร ศรีวัชรกุล กรรมการ	
รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อสัมมนา	การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของเห็ดกระดุมบราซิล (*Agaricus blaziliensis*) ในสภาวะอาหารเหลว	
ชื่อนักศึกษา	นายกลิท ทับทิมใส	รหัสนักศึกษา 56050800
	นางสาวจิราภรณ์ พิมพ์ทอง	รหัสนักศึกษา 56050812
	นายตันติกร เติมแก้ว	รหัสนักศึกษา 56050839
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)	
ภาควิชา	ชีววิทยา	
ปีการศึกษา	2559	
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.อารี ฤทธิบูรณ์	

บทคัดย่อ

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิล (*Agaricus brasiliensis*) ภายใต้สภาวะอาหารเหลว พบว่าสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมกับการผลิตหัวเชื้อเหลว คือ อาหารสูตรที่มีองค์ประกอบ (เป็นกรัมต่อลิตร) ดังนี้คือ กล้วยหอม 140 สารสกัดยีสต์ 3 เปปโตน 3 กลูโคส 20 โดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน จากนั้นทำการศึกษาผลของน้ำมะพร้าวต่อการเจริญเติบโตและการสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ โดยการเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปริมาณแตกต่างกัน คือ ร้อยละ 5, 10 และ 15 จากนั้นทำการศึกษาผลของแหล่งเสริมวิตามินและแร่ธาตุ คือ หัวบีท และข้าวโพดอ่อน เปรียบเทียบกับกล้วยหอม จากการศึกษาพบว่า การเติมน้ำมะพร้าวปริมาณร้อยละ 5 ให้ผลของค่าปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ภายนอกเซลล์และปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพของเซลล์ที่สูงสุด เท่ากับ 0.668 และ 16.995 กรัมต่อลิตร หลังจากการเลี้ยงเชื้อ 10 วัน และทำการศึกษาผลของแหล่งเสริมวิตามินและแร่ธาตุ คือ กล้วยหอม หัวบีท และข้าวโพดอ่อน พบว่าเมื่อใช้กล้วยหอม จะให้ผลของค่าปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ภายนอกเซลล์และภายในเซลล์ที่สูงสุดในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 0.652 และ 0.442 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ เท่ากับ 16.213 กรัมต่อลิตร

คำสำคัญ: เห็ดกระดุมบราซิล พอลิแซ็กคาไรด์ภายในเซลล์ พอลิแซ็กคาไรด์ภายนอกเซลล์ การเพาะเลี้ยงในสภาวะอาหารเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The optimum conditions for the polysaccharides production in liquid state fermentation of *Agaricus blaziliensis*.
Students	Mr. Kalit Tubtimsai Student ID 56050800
	Miss. Jiraporn Pimthong Student ID 56050812
	Mr. Tuntikorn Termkaew Student ID 56050839
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Factory	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2016
Advisor	Assoc. Prof. Aree Rittiboon
Co Advisor	Dr. Suttijit Srivatcharakul

Abstract

Optimal conditions for culturing *Agaricus Blazei* Murrill under liquid state fermentation conditions. It was found that the formulation suitable for the production of liquid inoculum starter was the formula (g/L) were banana 140, yeast extract 3, peptone 3, glucose 20, cultured for 6 days, and then studied the effect of coconut water on growth and polysaccharide production. By 5, 10 and 15%, respectively of coconut water were added to the culture media. Then study effects of vitamin and mineral supplementation were beetroot and baby corn compare with banana According to studies, it has been found that addition of 5% coconut water after 10 days culture resulted that is 0.668 g / L of extracellular polysaccharide and 16.995 g / L of biomass dry weight. The study of vitamin and mineral supplements are banana, beetroot and baby corn. It was found that when using banana was gave the best result. The results showed that of extracellular and intracellular polysaccharides for 8 days were 0.652 and 0.442 g / L, respectively, and the biomass dry weight was 16.213 g / L.

Keywords: *Agaricus brazei*, extracellular polysaccharide, intracellular polysaccharide, liquid state fermentation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งได้สำเร็จด้วยความอนุเคราะห์และการช่วยเหลือจากผู้มีอุปการคุณทั้งหลายท่าน

ขอขอบพระคุณ รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆ เกี่ยวกับการทำงานตลอดจนการตรวจทาน ตลอดจนชี้แนะข้อบกพร่องต่างๆ ที่เกิดขึ้นพร้อมทั้งช่วยชี้แนะแนวทางการแก้ไขปัญหาปรับปรุงแก่คณะผู้จัดทำ เพื่อให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ ประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ และกรรมการสอบโครงงานพิเศษ และ ดร.สุทธิจิตร ศรีวัชรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่สละเวลาในการตรวจสอบ แก้ไขและให้คำแนะนำในการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆของโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนและถ่ายทอดความรู้ต่างๆ ที่ทำให้โครงงานพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ตลอดจน บุคลากร และพี่นักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาชีววิทยาทุกท่าน ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ อุปกรณ์วิทยาศาสตร์สำหรับการทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อบุคคลที่สนใจไม่มากก็น้อย หากมีข้อผิดพลาดประการใด ทางคณะผู้จัดทำต้องขออภัยมา ณ ที่นี้

กลิท ทับทิมใส
จิราภรณ์ พิมพ์ทอง
ตันติกร เติมแก้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ข
กิตติกรรมประกาศ.....ค
สารบัญ.....ง
สารบัญตาราง.....ช
สารบัญรูป.....ญ
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4
2.1 เห็ดกระดุมบราซิล.....4
2.2 ประโยชน์ของเห็ดกระดุมบราซิลในการรักษาโรค.....5
2.3 องค์ประกอบทางเคมี.....5
2.3.1 พอลิแซ็กคาไรด์.....5
2.3.2 เบต้ากลูแคน.....5
2.4 กล้วยหอม.....6
2.5 น้ำมะพร้าว.....7
2.6 ข้าวโพดอ่อน.....8
2.7 หัวบีท.....9
2.8 การทำแห้งแบบอบลมร้อน.....11
2.9 การทำแห้งแบบสุญญากาศ.....12
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....12
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....18
3.1 วัสดุและอุปกรณ์.....18
3.1.1 เห็ด.....18
3.1.2 สารเคมี.....18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ....18
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน....19
3.2.1 วิธีการทำเทคนิค Slide culture แบบตัดชิ้นวุ้น....19
3.2.2. การผลิตหัวเชื้อ....20
3.2.3 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ของการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารเหลว....20
3.2.4 การวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ โดยทดสอบปริมาณฮอร์โมนและวิตามิน....21
3.2.5 การสกัดตัวอย่าง เพื่อหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่อยู่ภายในเซลล์และที่ปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์....21
3.2.6 การหาปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์ภายในและภายนอกเซลล์....21
3.2.7 การวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ....22
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล....23
4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา....23
4.1.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา....23
4.2 ผลการศึกษาการผลิตหัวเชื้อเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารแข็ง....23
4.2.1 ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารแข็ง สำหรับการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อที่แตกต่างกัน เพื่อคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตหัวเชื้อเหลวของเห็ดกระดุมบราซิล....23
4.3 ผลการศึกษาระยะเวลาต่อการเจริญของเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารเหลว....24
4.3.1 ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของเห็ดกระดุมบราซิลจากน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพของเห็ดกระดุมบราซิล....24
4.4 ผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารเหลว....25
4.4.1 ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารที่มีปริมาณน้ำมะพร้าวและเวลาที่แตกต่างกันที่มีผลต่อปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์....25
4.4.2 ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารที่มีแหล่งแร่ธาตุและวิตามินและเวลาที่แตกต่างกันที่มีผลต่อปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์และอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์....26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.4.3 ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารที่มีปริมาณน้ำมะพร้าว
และเวลาที่แตกต่างกันที่มีผลต่อปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ.....27
4.4.4 ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารที่มีแหล่งแร่ธาตุและวิตามิน
และเวลาที่แตกต่างกันที่มีผลต่อปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ.....28
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....30
5.1 สรุปผลการวิจัย.....30
5.2 ข้อเสนอแนะ.....30
เอกสารอ้างอิง.....31
ภาคผนวก.....36
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ.....37
ภาคผนวก ข การเตรียมสารและการวิเคราะห์.....40
ภาคผนวก ค ข้อมูลผลการทดลองและการคำนวณทางสถิติ.....45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
2.4	คุณค่าทางโภชนาการของกล้วยหอมต่อ 100 กรัม	7
2.5	คุณค่าทางโภชนาการของน้ำมะพร้าวต่อ 100 กรัม	8
2.6	คุณค่าทางโภชนาการของข้าวโพดอ่อนต่อ 100 กรัม	9
2.7	คุณค่าทางโภชนาการของหัวบีทต่อ 100 กรัม	10
4.1	ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธีการหาน้ำตาลนอนรีดิวซ์ ในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวแตกต่างกันคือ ร้อยละ 5, 10 และ 15 ในวันที่ 6, 8, 10 และ12 ของการเพาะเลี้ยง	25
4.2	ปริมาณอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธีการหาน้ำตาลนอนรีดิวซ์ โดยการเติมแหล่งแร่ธาตุและวิตามินที่แตกต่างกัน คือ กล้วยหอม หัวบีท และข้าวโพดอ่อน ในวันที่ 6, 8, 10 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง	27
4.3	ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธีการ หาน้ำตาลนอนรีดิวซ์ โดยการเติมแหล่งแร่ธาตุและวิตามินที่แตกต่างกัน คือ กล้วยหอม หัวบีท และข้าวโพดอ่อน ในวันที่ 6, 8, 10 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง	27
4.4	ปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ เมื่อทำการเติมปริมาณน้ำมะพร้าวที่แตกต่างกัน คือ ร้อยละ 5, 10 และ 15 ในวันที่ 6, 8, 10 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง	28
4.5	ปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ เมื่อทำการเติมแหล่งของแร่ธาตุและวิตามินที่แตกต่างกัน คือ กล้วยหอม หัวบีท และข้าวโพดอ่อน ในวันที่ 6, 8, 10 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง	29
1ข	การเจือจางสารละลายกลูโคสมาตรฐานด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 0-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายเริ่มต้น ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	41
2ข	การเจือจางสารละลายกลูโคสมาตรฐานด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 20-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายเริ่มต้น ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	42
1ค	ปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ ของสูตรอาหาร 1 ที่เวลา 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 และ 18 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที	45
2ค	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพของอาหารเหลวสูตรที่ 1 เวลา 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 และ 18 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที	45
3ค	แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ(กรัมต่อลิตร) ของสูตรอาหาร 1 เวลา 2, 4, 6, 8, 10, 12,	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง หน้า

14, 16 และ 18 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10
อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที....46

4ค ปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 4 สูตร
ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10
อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที....47

5ค การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ
ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 4 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน
ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส
เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที....47

6ค แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของค่าเฉลี่ย
ปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ(กรัมต่อลิตร) ของสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร ที่เวลา 6, 8,
10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10
อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที....48

7ค ปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร
ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10
อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที....49

8ค การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ
ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน
ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส
เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที....49

9ค แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของค่าเฉลี่ย
ปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ(กรัมต่อลิตร) ของสูตรอาหารทั้ง 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10
และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลวที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส
เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที....50

10ค ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน
3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10
อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที....51

11ค การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนค่าเฉลี่ยปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์
ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
	ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที	51
12ค	ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตรที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที	52
13ค	ปริมาณอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลวที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที	53
14ค	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที	53
15ค	ปริมาณอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที	54
16ค	ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 4 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลวที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที	55
17ค	การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 4 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที	55
18ค	แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของค่าเฉลี่ยปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์(กรัมต่อลิตร) ของสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูป		หน้า
2.1	เห็ดกระดุมบราซิล	4
2.3	โครงสร้างโมเลกุลบีต้ากลูแคน 1,3 และบีต้ากลูแคน 1,6	6
2.6	ข้าวโพดอ่อน	9
2.7	หัวบีท	10
2.8	ตู้อบแบบถาด (tray dryer)	11
2.9	เครื่องอบ vacuum dryer แบบต่อเนื่อง	12
4.1	ลักษณะเส้นใยของเห็ดกระดุมบราซิลที่ย้อมด้วยสี Lactophenol cotton blue ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายภาพ 400 เท่า	23
4.2	การเปรียบเทียบลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดกระดุมบราซิลในจานเพาะเลี้ยงอาหารแข็ง ระหว่างอาหารแข็งสูตร PDA (ก) และอาหารแข็งสูตรที่ 1 (ข)	24
4.3	ค่าน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพเฉลี่ย ของอาหารเหลวสูตรที่ 1	25
1ข	กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร	42
2ข	กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้น 20, 30, 40 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เห็ดกระดุมบราซิล เป็นเห็ดที่พบทั่วไปในเขตอากาศร้อนชื้นและอบอุ่น จากหลักฐานพบว่าได้มีการค้นพบเห็ดชนิดนี้แล้วนำมาศึกษาวิเคราะห์วิจัย ซึ่งดำเนินการโดยนักชีววิทยาชาวอเมริกาชื่อ Dr. W.A.Murrill (A Mycologist and Assistant Director of the New York Botanical Garden) ในปี พ.ศ.2489 และได้จำแนกเห็ดชนิดนี้ว่าอยู่ในวงศ์ (Family) Agaricaceae วงศ์เดียวกับเห็ดกระดุมหรือเห็ดฝรั่งและเห็ดฟาง ซึ่งอยู่ในตระกูล (Genus) Agaricus และตั้งชื่อสายพันธุ์ (Varieties) Blazei Murill เพื่อเป็นเกียรติแก่ผู้ค้นพบคนแรก

เห็ดกระดุมบราซิล มีลักษณะทางพันธุกรรมและ DNA เช่นเดียวกับเห็ดกระดุมสีน้ำตาลที่พบกันทางแถบอากาศอบอุ่นในยุโรปและอเมริกา ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Agaricus subrufescens* Peck โดยธรรมชาติของเห็ดกระดุมบราซิลจะเกิดขึ้นตามพื้นที่ที่มีอินทรียวัตถุสูง พบมากอยู่ตามป่าที่มีการสะสมของอินทรียวัตถุมากในป่าใกล้เมืองเซาเปาโล เมืองเศรษฐกิจหลักของประเทศบราซิล เห็ดกระดุมบราซิลเดิมถูกค้นพบว่าเป็นยา (Mizuno, 1995) ซึ่งมีสารเฉพาะที่อยู่ในพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งสารเฉพาะดังกล่าวมีผลดีคือ ป้องกันและรักษาโรคมะเร็งได้ (Ebina และ Fujiyama, 1998) พอลิแซ็กคาไรด์ดังกล่าวยังมีฤทธิ์ยับยั้งเนื้องอกในหนูได้ดีกว่ายาชนิดอื่นๆ กว่า 180 ชนิด นอกจากนี้ยังมีรายงานระบุเอาไว้ว่า ดอกเห็ดกระดุมบราซิลมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Izawa และ Inoue, 2004; Soares และคณะ, 2009; Tsaiและ Mau, 2007) คุณสมบัติอื่นคือการป้องกันตับรวมทั้งรักษาโรคเบาหวาน และอื่นๆ (Barbisan และคณะ, 2002 และ Su และคณะ, 2008) ส่วนมากในการใช้ประโยชน์จากเห็ดกระดุมบราซิลจะไม่นิยมเพาะเลี้ยงในรูปของดอกเห็ด เนื่องจากการเก็บผลผลิตดอกเห็ดกระดุมบราซิลจะให้ผลได้ที่ต่ำและมีราคาแพง

ดังนั้นญี่ปุ่นจึงได้ส่งอาสาสมัครไปประจำที่นั่นเมื่อปี พ.ศ.2503 โดย Takatoshi Furumoto ได้ไปสำรวจหายาที่ดีที่สุดของประเทศนี้ พบว่าที่หมู่บ้านเล็กๆ บนเขาที่ชื่อว่า Piedade ในภาษาโปรตุเกสอ่านว่า พี-อะ-ดอท อยู่ที่เมือง Tauape ติดกับมหาสมุทรแอตแลนติกห่างจากกรุงเซาเปาโลประมาณ 280 กิโลเมตร ซึ่งมีสภาพอากาศร้อนชื้น เช่นเดียวกับภาคใต้ของเรา ในช่วงฤดูฝนจะมีเห็ดธรรมชาติเกิดขึ้นตามสนามหญ้าหรือชายป่าที่มีการสะสมของเศษกิ่งไม้ใบไม้นานๆ โดยเห็ดที่เกิดขึ้นนี้ชาวบ้านนิยมนำไปประกอบเป็นอาหารและเป็นยาชั้นเลิศ ซึ่งทำให้คนในหมู่บ้านนี้อายุยืน โดยแทบจะไม่พบผู้ป่วยเป็นโรคมะเร็ง เบาหวาน และโรคภูมิแพ้ ทำให้ Furumoto พยายามเก็บรวบรวมสายพันธุ์ของเห็ดชนิดนี้ตามสถานที่ต่างๆ แล้วส่งกลับไปยังประเทศญี่ปุ่น เพื่อทำการศึกษาวิจัยในปีพ.ศ.2508 แล้วส่งไปจำแนกที่ Belgian Botanish Heinemann เมื่อปี พ.ศ. 2510 ซึ่งสารที่มีประโยชน์เหล่านี้คือ บีต้ากลูแคน โดยบีต้ากลูแคนเป็นสารประกอบประเภทน้ำตาลหลายโมเลกุลหรือที่เรียกว่า พอลิแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติเป็นใยอาหาร ช่วยในระบบการย่อยอาหาร

เอกสารนี้มีไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และระบบขับถ่าย ซึ่งบีต้ากลูแคนประกอบขึ้นจากน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว กลูแคนหรือน้ำตาลกลูโคส ซึ่งแบ่งออกเป็นอัลฟากลูแคน และบีต้ากลูแคน โดยบีต้ากลูแคนมีคุณสมบัติมหัศจรรย์ที่สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ใช้ป้องกันโรคติดเชื้อจากจุลชีพต่างๆ ทั้งยังมีคุณสมบัติอื่นๆที่สำคัญในการลดระดับไขมันคอเลสเตอรอลในเลือด เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สำหรับประโยชน์ที่เหนือกว่าสารอาหารอื่นๆ คือ สรรพคุณในการป้องกันและต้านเซลล์มะเร็ง

กล้วย (Banana) ที่นิยมรับประทานกันในบ้านเรานั้นมีอยู่หลากหลายสายพันธุ์ เช่น กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ กล้วยหักมุก เป็นต้น แต่สำหรับต่างชาติแล้วกล้วยที่นิยมมากที่สุดคงหนีไม่พ้นกล้วยหอม เนื่องจากกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์ นอกจากนี้แล้วในกล้วยยังอุดมไปด้วยเส้นใยและกากอาหาร และยังมีวิตามินและแร่ธาตุนานาชนิดที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ซึ่งคุณค่าทางโภชนาการของกล้วยต่อ 100 กรัม มีดังนี้ ธาตุเหล็ก 0.26 มิลลิกรัม ธาตุฟอสฟอรัส 22 มิลลิกรัม ธาตุโพแทสเซียม 358 มิลลิกรัม ธาตุแมกนีเซียม 27 มิลลิกรัม คาร์โบไฮเดรต 22.84 มิลลิกรัม โปรตีน 1.09 มิลลิกรัม วิตามินซี 8.7 มิลลิกรัม วิตามินบี 6 0.4 มิลลิกรัม เป็นต้น

หัวบีทเป็นพืชเมืองหนาวและเป็นผักเพื่อสุขภาพ มีไลโคพีน (Lycopene) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระชั้นดี ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย โดยเฉพาะเซลล์ผิวหนังและช่วยบำรุงสายตา ป้องกันโรคต้อกระจก คุณค่าทางโภชนาการของหัวบีทรูทดิบต่อ 100 กรัม ประกอบด้วย พลังงาน 43 กิโลแคลอรี คาร์โบไฮเดรต 9.56 กรัม น้ำตาล 6.76 กรัม เส้นใย 2.8 กรัม วิตามินเอ 2 ไมโครกรัม บีต้าแคโรทีน 20 ไมโครกรัม วิตามินซี 4.9 มิลลิกรัม ธาตุแคลเซียม 16 มิลลิกรัม ธาตุฟอสฟอรัส 40 มิลลิกรัม ธาตุโพแทสเซียม 325 มิลลิกรัม ธาตุโซเดียม 78 มิลลิกรัม ธาตุสังกะสี 0.35 มิลลิกรัม เป็นต้น

ข้าวโพดอ่อนเป็นพืชพวกหญ้า นิยมปลูกกันมากในหลายจังหวัดทั่วประเทศไทย ซึ่งข้าวโพดอ่อนประกอบไปด้วย คาร์โบไฮเดรต บีต้าแคโรทีน วิตามินซี แคลเซียม เส้นใยอาหาร ฟอสฟอรัส โดยข้าวโพดอ่อน 100 กรัม ประกอบด้วย น้ำ 84.1 กรัม โปรตีน 1.9 กรัม ไขมัน 0.2 กรัม คาร์โบไฮเดรต 8.2 กรัม แคลเซียม 28 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 86 มิลลิกรัม เหล็ก 0.1 มิลลิกรัม ไทอะมิน 0.05 มิลลิกรัม วิตามินเอ 64 ไอยู ไนอะซิน 0.3 มิลลิกรัม และกรดแอสคอร์บิก 11 มิลลิกรัม

มะพร้าวเป็นผลไม้ที่นิยมกันอย่างมากในบ้านเรา เนื่องจากมะพร้าวมีคุณสมบัติเด่นๆหลายอย่าง โดยสามารถนำมาใช้ประกอบอาหาร รวมไปถึงการผลิตน้ำมันมะพร้าวพร้อมดื่ม น้ำตาล และกะทิ ซึ่งพบว่าในขั้นตอนของการผลิตกะทินั้นจะมีของเหลือทิ้งจากน้ำมะพร้าวแก่ จึงได้มีการนำน้ำมะพร้าวแก่มาใช้ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์

ซึ่งในโครงงานพิเศษนี้ จะกล่าวถึงการหาสภาวะในการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารเหลว โดยใช้น้ำมะพร้าวแก่รวมถึงข้าวโพดอ่อนและหัวบีท เพื่อให้ได้ผลผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณมาก และลดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง อีกทั้งการเพาะเลี้ยงในสภาวะอาหารเหลวจะช่วยประหยัดพื้นที่ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ระยะเวลา และลดต้นทุนในการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ทำการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิล การผลิตหัวเชื้อและการเพาะเลี้ยงในสภาวะอาหารเหลว โดยการหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง และการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์
2. ทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดกระดุมบราซิลทั้งภายในเส้นใยและในน้ำหมัก

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ทำการพัฒนาหัวเชื้อเห็ดกระดุมบราซิล โดยศึกษาระยะเวลาและอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง
2. ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดกระดุมบราซิล ด้วยวิธีการหมักในสภาวะอาหารเหลว
3. หาปริมาณน้ำหนักแห้งจากมวลชีวภาพของเส้นใยเห็ดกระดุมบราซิล
4. หาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้ทั้งในเส้นใยและในน้ำหมักของเห็ดกระดุมบราซิล

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเพื่อลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิล
2. สามารถสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดกระดุมบราซิลที่ผลิตขึ้นทั้งภายในเส้นใยและภายในน้ำหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เห็ดกระดุมบราซิล

เห็ดกระดุมบราซิลจัดอยู่ในอาณาจักรฟังไจ โดยทั่วไปเห็ดกระดุมบราซิลมีขนาดเล็กกลมคล้ายกับกระดุม มีสีที่แตกต่างกันไป ตั้งแต่สีขาวไปจนถึงน้ำตาลอ่อน มีขนาดตั้งแต่ 2.5 ถึง 30 เซนติเมตรแล้วแต่สายพันธุ์ ซึ่งเห็ดชนิดนี้สามารถเปลี่ยนสีได้จากขาวไปเป็นชมพูม่วงจนกระทั่งดำสนิทได้ภายในระยะเวลาเพียง 1 วัน เจริญเติบโตบนพื้นดิน มีสีของหมวกเห็ดที่แตกต่างกันไป มีทั้งสีขาวสีเทาตลอดจนสีน้ำตาลแดง ที่พื้นผิวมีไหมคล้ายเส้นใย มีการเจริญเติบโตช้า นอกจากนี้รูปร่างของหมวกมีลักษณะเป็นรูปซีกโลก ถ้าเจริญเติบโตขึ้นก็จะมีรูปร่างโค้งนูน ส่วนรสชาติเหมือนถั่วเขียวและมีกลิ่นเหมือนอัลมอนด์ ครีบของเห็ดจะอยู่ติดกันอย่างใกล้ชิด โดยระยะแรกเริ่มเป็นสีขาวและเมื่อเจริญเติบโตขึ้นจะเป็นสีชมพู และเมื่อมองสปอร์ที่มีอายุมากผ่านกล้องจุลทรรศน์จะพบเป็นลักษณะสีน้ำตาลดำ มีลักษณะกลวง ส่วนสปอร์ที่มีอายุน้อยจะมีลักษณะสีน้ำตาลแดงเป็นของแข็ง โดยพบว่าเห็ดกระดุมบราซิลเจริญได้ดีในดินที่อุดมสมบูรณ์และสามารถเจริญได้เป็นดอกเดียวหรือเป็นกระจุก แสดงดังรูปที่ 2.1

รูปที่ 2.1 เห็ดกระดุมบราซิล
ที่มา : อานนท์, 2548

ชื่ออื่นๆ : The princess mushroom, the sun mushroom
ชื่อวิทยาศาสตร์ : Agaricus blazei
ออเดอร์(oder) : Agariales
แฟมิลี่(family) : Agariaceaein
จีนัส(genus) : Agaricus, Conio agaricus และ Lan agaricus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า แสวงหากำไร ทั้งนี้ ยกเว้นได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ประโยชน์ของเห็ดกระดุมบราซิลในการรักษาโรค (อานนท์, 2548)

เห็ดสามารถนำมาประกอบอาหารให้อร่อยได้อย่างหลากหลาย เป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง จึงทำให้เห็ดเป็นที่นิยมในการบริโภค สำหรับเห็ดกระดุมบราซิลมีถิ่นกำเนิดในเมืองไพเดด ใกล้กับเมืองเซาเปาโล ประเทศบราซิล ชาวบราซิลตั้งชื่อที่มีความหมายว่าเป็นเห็ดของพระเจ้า โดยเป็นเห็ดที่มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายอย่าง อาทิ ช่วยต่อต้านการเกิดเนื้องอก ทำลายและป้องกันการก่อตัวของเซลล์มะเร็ง มีใยอาหารที่ไม่ย่อยสลาย มีการดูดซับสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งในร่างกายเอาไว้แล้วขับออกจากร่างกาย สามารถใช้ร่วมกับการรักษาของแพทย์แผนปัจจุบันที่ใช้ร่วมกับการฉายรังสี ลดการเกิดผลข้างเคียง ช่วยฟื้นฟูร่างกาย ลดความเครียด ช่วยลดภาวการณ์ขาดภูมิคุ้มกัน สารสกัดจากเห็ดชนิดนี้สามารถกำจัดเชื้อไวรัสเอชไอวีได้

นอกจากนี้ยังใช้บำบัดเกี่ยวกับโรคภูมิคุ้มกัน ได้แก่ รูมาตอยด์ เบาหวาน ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด และโรคอื่นๆ ช่วยสนับสนุนความแข็งแรงของกระดูก มีวิตามินบี 1 บี 2 และสารตั้งต้นของวิตามินดี ซึ่งมีผลทำให้ลดการเกิดโรคกระดูกพรุน ปรับสมดุลความดันของโลหิต ช่วยกระบวนการย่อยอาหาร บำรุงผิวพรรณ ชะลอความชรา มีสารประกอบอื่นที่ทำให้บาดแผลหายเร็วโดยเฉพาะอย่างยิ่งการรักษาอาการผื่นคัน ตุ่มบวม ผิวหนังถูกทำลาย และโรคผิวหนังอื่นๆ ที่สำคัญเห็ดกระดุมบราซิลมีคุณค่าทางอาหารสูง

2.3 องค์ประกอบทางเคมี (Firenzuoli และคณะ, 2007)

องค์ประกอบของเห็ดโดยทั่วไปจะมีน้ำร้อยละ 90 โปรตีนร้อยละ 2-40 ไขมันร้อยละ2-8 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 1-55 ไฟเบอร์ร้อยละ 3-32 และเถ้าร้อยละ 8-10 (เถ้าส่วนใหญ่ประกอบด้วยเกลือโลหะและอื่นๆ) สารเมแทบอไลต์ที่สำคัญสามารถแยกออกมาจากดอกเห็ดและเส้นใยโดยทำให้บริสุทธิ์เพื่อให้ได้สารที่ต้องการคือ พอลิแซ็กคาไรด์ ที่ประกอบไปด้วยแอลฟากลูแคน และบีต้ากลูแคน โดย Kawagishi เป็นคนแรกที่สามารถแยกสารต้านมะเร็งจากดอกเห็ด

2.3.1 พอลิแซ็กคาไรด์

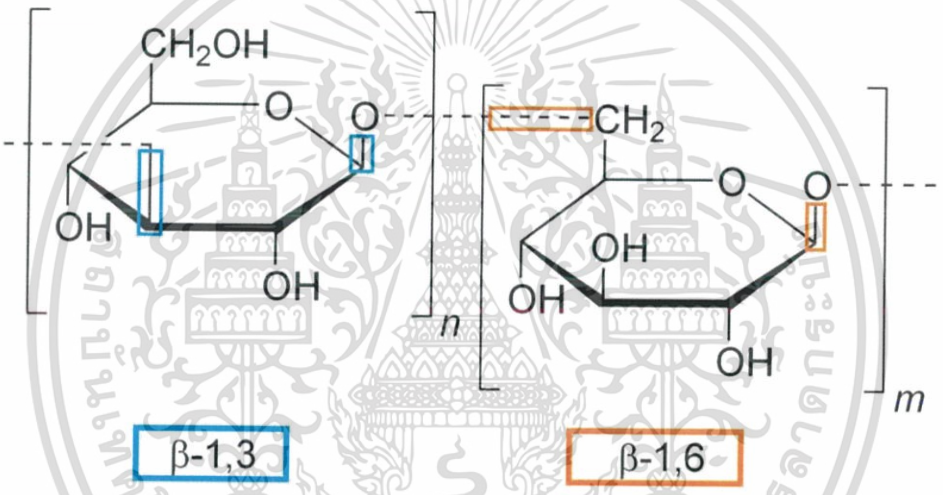
พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) เป็นสายโซ่ยาวของมอโนแซ็คคาไรด์หลายร้อยหน่วย ซึ่งอาจมีโครงสร้างเป็นแบบเส้น (linear) หรือเป็นโซ่กิ่ง (branched chain) โดยถ้าเป็นสายโซ่ที่ประกอบไปด้วยมอโนแซ็คคาไรด์ชนิดเดียว เรียกว่า โฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ (homopolysaccharide) หรือโฮโมไกลแคน (homoglycan) เช่น แป้งและเซลลูโลส แต่ถ้าสายโซ่ประกอบด้วยมอโนแซ็คคาไรด์ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป เรียกว่า เฮเตอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (heteropolysaccharide) หรือเฮเตอโรไกลแคน (heteroglycan) อาทิอย่างเช่น กรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid) ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ไม่มีรส ไม่ละลายน้ำ และมีน้ำหนักโมเลกุลสูง

2.3.2 บีต้ากลูแคน

บีต้ากลูแคนเป็นสารประกอบประเภทน้ำตาลหลายโมเลกุลหรือที่เรียกว่า พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ชนิดหนึ่งมีคุณสมบัติเป็นใยอาหาร ช่วยในระบบการย่อยอาหารและระบบขับถ่าย ซึ่งบีต้า-กลูแคนจะประกอบขึ้นจากน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว กลูแคนหรือน้ำตาลกลูโคสนั้นแบ่งออกเป็นอัลฟากลูแคนและบีต้ากลูแคน บีต้ากลูแคนมีคุณสมบัติที่สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยใช้ป้องกันโรคติดเชื้อจากจุลชีพต่างๆ ทั้งยังมีคุณสมบัติอื่นๆ ที่สำคัญคือ ลดระดับไขมันคอเลสเตอรอลในเลือด เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สำหรับประโยชน์ที่เหนือกว่าสารอื่นๆ คือสรรพคุณในการป้องกันและต้านเซลล์มะเร็ง โดยเมื่อร่างกายได้รับบีต้ากลูแคน ทำให้เม็ดเลือดขาวจะถูกกระตุ้นให้สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (อานนท์, 2548) ประวัติของบีต้ากลูแคนเริ่มตั้งแต่ ค.ศ. 1940 (พ.ศ.2483) เป็นต้นมา เมื่อนักวิทยาศาสตร์ชาวฝรั่งเศส ชื่อ ดร.หลุยส์ พิวลีเมอ (Louis Pillemer Ph.D) ได้ทำการศึกษาตัวยาผสมสารสกัดหยาบซึ่งมาจากผนังเซลล์ของยีสต์ โปรตีน ไขมัน และแป้ง มีชื่อเรียกวัตถุดิบนี้ว่า ไซโมซาน (Zymosan) และได้รายงานสรรพคุณไว้ว่าเป็นตัวยาที่สามารถเพิ่มอำนาจภูมิคุ้มกันของร่างกายอย่างไม่จำเพาะเจาะจง คือต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์และสิ่งแปลกปลอมทุกชนิด ไม่ว่าจะเป็นไวรัส แบคทีเรีย เชื้อรา และมะเร็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งบีต้ากลูแคน ชนิด 1,3 หรือ1,6 กลูแคน (แสดงดังรูปที่ 2.3) ซึ่งมีสรรพคุณต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ (สมศักดิ์, 2556)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลบีต้ากลูแคน 1,3 และบีต้ากลูแคน 1,6
ที่มา : BlogGang, 2011

2.4 กล้วยหอม

กล้วยหอม เป็นไม้ล้มลุกชนิดหนึ่ง มีอยู่หลากหลายสายพันธุ์ เช่น กล้วยหอมจันท์ กล้วยหอมทอง กล้วยหอมเขียว โดยกล้วยหอมเขียวหรือกล้วยหอมคาเวนดิชเป็นกล้วยหอมที่นิยมปลูกกันโดยทั่วไป จัดเป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยคุณค่าสารอาหารครบถ้วนตามหลักทางโภชนาการ เช่น มีวิตามิน ใยอาหารที่ช่วยในการขับถ่าย มีสารแทนนิน ซึ่งช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *Escherichia coli* เป็นต้น กล้วยหอมถูกจัดเป็นผลไม้เมืองร้อน สามารถปลูกได้เกือบทุกประเทศที่มีภูมิอากาศร้อนชื้นหลายแห่ง สำหรับประเทศไทย สามารถปลูกกล้วยหอมได้ทั่วทุกภาค

กล้วยมีบีต้าแคโรทีน ให้พลังงาน อุดมด้วยน้ำตาลธรรมชาติ 3 ชนิด คือ ซูโครส ฟรุกโทส กลูโคส รวมกับเส้นใยและกากอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้กล้วยยังมีคุณประโยชน์อีกหลากหลายชนิด มีทั้งไฟโตเคมิคัลและเอนไซม์ อีกทั้งในกล้วยนั้นจะมีวิตามินบี 1 และบี 2

ตารางที่ 2.4 คุณค่าทางโภชนาการของกล้วยหอมต่อ 100 กรัม

องค์ประกอบกล้วยหอมสุก		หน่วยวัด
พลังงาน	89	แคลอรี
โปรตีน	1.09	กรัม
ไขมัน	0.33	กรัม
คาร์โบไฮเดรต	22.84	กรัม
กากใย	2.6	กรัม
น้ำตาล	12.23	กรัม
ฟอสฟอรัส	22.0	มิลลิกรัม
เหล็ก	0.26	มิลลิกรัม
แมกนีเซียม	27	มิลลิกรัม
แมงกานีส	0.27	มิลลิกรัม
โพแทสเซียม	358	มิลลิกรัม
โซเดียม	1.0	มิลลิกรัม
สังกะสี	0.15	มิลลิกรัม
ฟลูออไรด์	2.2	ไมโครกรัม
วิตามินบี6	0.4	มิลลิกรัม
วิตามินซี	8.7	มิลลิกรัม

ที่มา : Weebly, 2015

2.5 น้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าว จัดเป็นเครื่องดื่มเกลือแร่จากธรรมชาติ (mineral water) ที่เต็มไปด้วยสารอาหารและคุณค่า เพราะในการผลิตน้ำมะพร้าวจะต้องผ่านการกลั่นกรองตามชั้นต่างๆ ของลำต้น โดยค่อยๆ เจริญเติบโตและสะสมอยู่ในลูกมะพร้าว

สารอาหารในน้ำมะพร้าวอุดมไปด้วยแร่ธาตุและสารอาหารมากมายที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย โดยเฉพาะในส่วนของน้ำมะพร้าว ซึ่งนอกจากพลังงานต่ำแล้ว น้ำมะพร้าวยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุมากมาย เช่น โพแทสเซียม เหล็ก โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส ทองแดง กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ และวิตามิน-บี รวมทั้งกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตามในการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ประหยัดต้นทุน จะใช้น้ำมะพร้าวแก่ที่เหลือทิ้งจากขั้นตอนการทำกะทิ เนื่องจากพบว่าในน้ำมะพร้าวแก่มีไซโทไคนิน (cytokinin) ซึ่งเป็นฮอร์โมนพืช ที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ จึงมีการใช้น้ำมะพร้าวผสมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ตารางที่ 2.5 คุณค่าทางโภชนาการของน้ำมะพร้าวต่อ 100 กรัม

องค์ประกอบน้ำมะพร้าว		หน่วยวัด
พลังงาน	19	กิโลแคลอรี
คาร์โบไฮเดรต	3.17	กรัม
น้ำตาลกลูโคส	2.61	กรัม
ใยอาหาร	1.1	กรัม
ไขมัน	0.2	กรัม
โปรตีน	0.72	กรัม
ไทอามีน	0.03	มิลลิกรัม
ไรโบฟลาวีน	0.057	มิลลิกรัม
ไนอาซีน	0.08	มิลลิกรัม
วิตามินบี 6	0.032	มิลลิกรัม
วิตามินซี	2.4	มิลลิกรัม
แคลเซียม	24	มิลลิกรัม
เหล็ก	0.29	มิลลิกรัม
แมกนีเซียม	25	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	20	มิลลิกรัม
โพแทสเซียม	250	มิลลิกรัม
สังกะสี	0.1	มิลลิกรัม

ที่มา : medthai, 2016

2.6 ข้าวโพดอ่อน

ข้าวโพดอ่อนเป็นผลผลิตทางการเกษตรของข้าวโพดที่เก็บเกี่ยวฝักในระยะฝักอ่อน โดยข้าวโพดเป็นพืชพวกหญ้า มีลำต้นแข็งแรง และตั้งตรงคล้ายต้นอ้อย ความสูงของลำต้นแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ อาจมีความสูงตั้งแต่ 30 เซนติเมตร ไปจนถึง 6 เมตร ลำต้นเป็นปล้องๆ อาจมีตั้งแต่ 8-20 ปล้อง ใบยาวเรียวเกาะติดกับต้น ฝักข้าวโพดจะเกิดตรงข้ออยู่ตรงส่วนกลางของลำต้น โดยมีเปลือกเป็นกลีบบางๆ สีเขียว มีหลายชั้นห่อหุ้มอยู่เปลือกชั้นนอกมีสีเขียวแก่กว่าชั้นใน ปลายฝักมีเส้นเล็ก ๆ สีเขียวอ่อนใสบางเหมือนเส้นผม เรียกว่า

เอกสารนี้จัดทำขึ้นเพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไหมข้าวโพด หรือฝอยข้าวโพด ข้าวโพดต้นหนึ่งอาจมีหลายฝักก็ได้และเมล็ดข้าวโพดที่เรารับประทานมีหลายสี เช่น สีนวล สีเหลือง สีม่วง ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ โดยจะเกาะติดอยู่ตรงส่วนที่เป็นแกนกลางเรียกว่า ซังข้าวโพด

โดยข้าวโพดอ่อนจะประกอบด้วย น้ำ ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก บีต้า-แคโรทีน ไทอะมีน ไนอาซีน และวิตามินซี

รูปที่ 2.6 ข้าวโพดอ่อน
ที่มา blogGang, 2013

ตารางที่ 2.6 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวโพดอ่อนต่อ 100 กรัม

องค์ประกอบข้าวโพดอ่อน		หน่วยวัด
น้ำ	91.80	กรัม
โปรตีน	2.30	กรัม
ไขมัน	0.30	กรัม
คาร์โบไฮเดรต	5.30	กรัม
แคลเซียม	4.00	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	25.00	มิลลิกรัม
เหล็ก	0.50	มิลลิกรัม
ไทอะมีน	0.13	มิลลิกรัม
ไนอะซีน	0.40	มิลลิกรัม
วิตามินซี	23.00	มิลลิกรัม
บีต้าแคโรทีน	12.00	ไมโครกรัม

ที่มา : puechkaset.com, 2015

2.7 หัวบีท

หัวบีทหรือบีทรูท เป็นผักเพื่อสุขภาพประจำเมืองหนาวที่ปลูกกันมากทางภาคเหนือของบ้านเรา โดยมีต้นกำเนิดในแถบเมดิเตอร์เรเนียน แถบยุโรป โดยมีรากหรือหัวพืชที่สะสมอาหารอยู่ใต้ดิน มีลักษณะทรงกลม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และมีลักษณะทรงป้อม โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 4-5 เซนติเมตร เนื้อด้านในอวบน้ำ มีสีแดง-เลือดหมู และสีม่วงแดง โดยแสดงดังรูปที่ 2.7

รูปที่ 2.7 หัวบีท

ที่มา : Bioveggie, 2005

หัวบีทรูท มีสารสีแดงที่มีชื่อว่า บีทานิน (Betanin) ซึ่งเป็นกรดอะมิโน นอกจากนี้ยังมีสารสีม่วงที่มีชื่อว่า แอนโทไซยานิน (Anthocyanin)

ตารางที่ 2.7 คุณค่าทางโภชนาการของหัวบีทต่อ 100 กรัม

องค์ประกอบหัวบีท		หน่วยวัด
พลังงาน	43	กิโลแคลอรี
คาร์โบไฮเดรต	9.56	กรัม
น้ำตาล	6.76	กรัม
เส้นใย	2.8	กรัม
ไขมัน	0.17	กรัม
โปรตีน	1.61	กรัม
น้ำ	87.58	กรัม
วิตามินเอ	2	ไมโครกรัม
บีต้าแคโรทีน	20	ไมโครกรัม
วิตามินบี 1	0.031	มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.04	มิลลิกรัม
วิตามินบี 3	0.334	มิลลิกรัม
วิตามินบี 5	0.155	มิลลิกรัม
วิตามินบี 6	0.067	มิลลิกรัม
วิตามินซี	4.9	มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

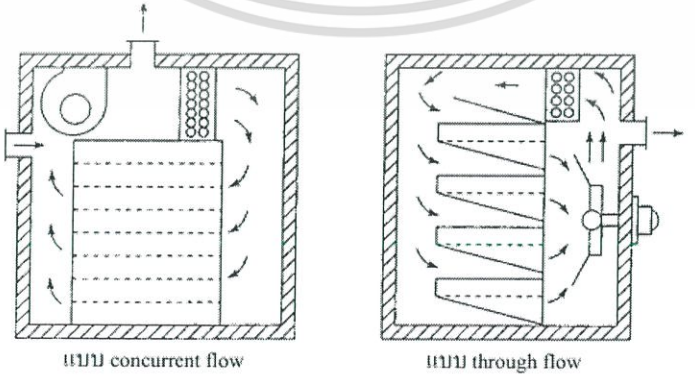
ตารางที่ 2.7 คุณค่าทางโภชนาการของหัวบีทต่อ 100 กรัม (ต่อ)

องค์ประกอบหัวบีท		หน่วยวัด
ธาตุแคลเซียม	16	มิลลิกรัม
ธาตุเหล็ก	0.8	มิลลิกรัม
ธาตุแมกนีเซียม	23	มิลลิกรัม
ธาตุแมงกานีส	0.329	มิลลิกรัม
ธาตุฟอสฟอรัส	40	มิลลิกรัม
ธาตุโพแทสเซียม	325	มิลลิกรัม
ธาตุโซเดียม	78	มิลลิกรัม
ธาตุสังกะสี	0.35	มิลลิกรัม
วิตามินบี 9	109	ไมโครกรัม

ที่มา : MedThai, 2016

2.8 การทำแห้งแบบอบลมร้อน

ตู้อบแบบนี้ จะนำวัตถุดิบวางไว้ในถาด ตะแกรง หรือแผ่นที่มีรูพรุน แล้วเป่าลมร้อนขนานไปกับผิวหน้าวัตถุดิบ หรือเป่าตั้งฉากกับก้นถาดที่ยอมให้ลมผ่านได้ ลมร้อนจะผ่านเข้าไปในชั้นวัตถุดิบ เนื่องจากจะใช้ลมร้อนที่มีความเร็วไม่สูงนัก วัตถุดิบจึงยังอยู่นิ่ง ไม่ก่อให้เกิดการสั่นสะเทือนหรือการกระแทกใดๆ ไม่เกิดความเสียหายจากการแตกหัก ตู้อบแบบนี้จะทำงานแบบกะ (batch) จึงเหมาะกับวัตถุดิบที่ต้องการอบด้วยการควบคุมภายใต้เงื่อนไขการอบเข้มงวด หรืออบวัตถุดิบหลายๆ ชนิดแต่จำนวนน้อยๆ หรือใช้กับการควบคุมแบบโปรแกรม ซึ่งค่อยๆ ปรับอุณหภูมิไปตามความเหมาะสม



รูปที่ 2.8 ตู้อบแบบถาด (tray dryer)

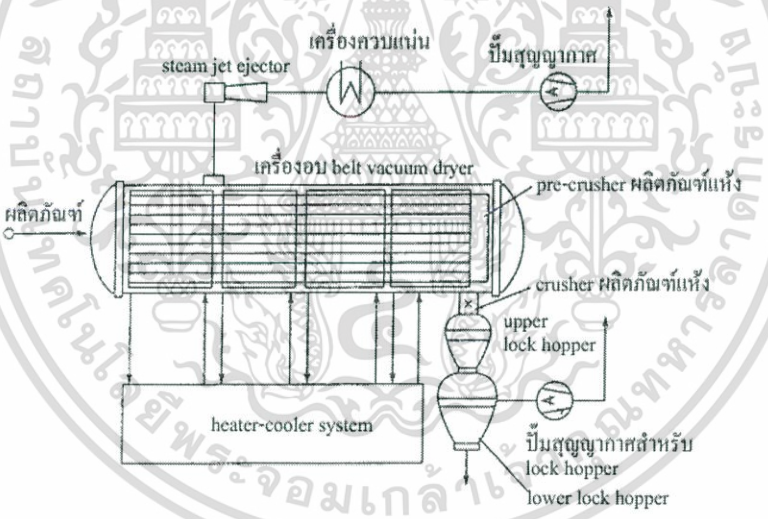
ที่มา : IEnergyGuru, 2015

เอกสารนี้มีไว้เพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 การทำแห้งแบบสุญญากาศ

เป็นการระเหยน้ำที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือดภายใต้บรรยากาศปกติ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีคุณภาพดี แต่กระบวนการนี้จำเป็นต้องมีค่าใช้จ่ายในการติดตั้งและดำเนินกระบวนการสูง จึงเหมาะสำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงหรือผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้มีความชื้นต่ำโดยไม่เกิดการทำลายของตัวผลิตภัณฑ์

Vacuum shelf dryer เป็นระบบที่ง่ายที่สุดสำหรับเครื่องอบแห้งสุญญากาศ เครื่องประกอบด้วยตู้สุญญากาศ ซึ่งภายในมีชั้นรองรับถาดวางผลิตภัณฑ์ ตัวชั้นอาจได้รับความร้อนจากไฟฟ้าซึ่งจะถ่ายเทความร้อนไปยังอาหารโดยการนำความร้อนหรือใช้อากาศร้อนเป็นตัวพาความร้อนไปยังชิ้นผลิตภัณฑ์ ตัวตู้สุญญากาศจะต่อกับอุปกรณ์สร้างระบบสุญญากาศที่อยู่ภายนอกตู้ ซึ่งอาจเป็นปั๊มสุญญากาศหรือ steam ejector อุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับระบบ คือคอนเดนเซอร์ซึ่งเป็นตัวเก็บไอน้ำอาจอยู่ภายในหรือนอกตู้ แต่ควรติดตั้งอยู่ก่อนหน้าปั๊มสุญญากาศเพื่อป้องกันไม่ให้ไอน้ำเข้าไปในปั๊ม เครื่องนี้จะเหมาะสำหรับการผลิตแบบ batch สามารถบำรุงรักษาได้ง่าย เหมาะสำหรับการใช้ระดับสุญญากาศสูงๆ สามารถใช้ได้กับ ผลิตภัณฑ์ในทุกรูปแบบ ตั้งแต่ในรูปของเหลว ของเหลวข้น ผง ชิ้นๆ



รูปที่ 2.9 เครื่องอบ vacuum dryer แบบต่อเนื่อง
ที่มา : พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, 2552

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Fei-Hong Zhai และคณะ, 2015 ทำการศึกษาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์หลายวิธีคือ สกัดด้วยน้ำร้อน สกัดด้วยเอนไซม์เพคติเนส สกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส สกัดด้วยเอนไซม์ปาเปน และสกัดด้วยเอนไซม์รวมกัน (เอนไซม์เซลลูเลสต่อเอนไซม์เพคติเนสต่อเอนไซม์ปาเปน) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยเอนไซม์รวมดีที่สุด แต่การสกัดด้วยน้ำร้อนก็เป็นอีกวิธีที่สะดวก และประหยัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Barbisan และคณะ, 2002 ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิล โดยทำการสกัดสารภายในเส้นใยและภายในน้ำหมัก ซึ่งพบว่าสารที่ได้จากเส้นใยและสารสกัดที่กรองได้จากเห็ด มีสารพอลิแซ็กคาไรด์หลายชนิด ซึ่งสารพอลิแซ็กคาไรด์ สามารถเรียกอีกชื่อหนึ่งได้ว่ากลูแคน (glycans) เป็นกลุ่มน้ำตาลที่จับกันอย่างเหนียวแน่น ด้วยน้ำตาลที่มีขนาดเล็ก เช่น กลูโคส หรือไซโลส ที่มีอยู่ในดอกเห็ดกระดุม-บราซิล ขณะเดียวกันพอลิแซ็กคาไรด์หรือกลูแคนนั้นมีอยู่มากในเส้นใยของเห็ดกระดุมบราซิล ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีส่วนประกอบได้แก่ อาหารเหลวที่มีน้ำตาลกลูโคส ยีสต์สกัด แร่ธาตุและน้ำ ทำการเพาะเลี้ยงในห้องควบคุมแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเอาเส้นใย ก่อนที่จะทำให้แห้งด้วยความร้อน จากนั้นจึงใส่เอทธิล-แอลกอฮอล์เข้าไปเพื่อสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ โดยพอลิแซ็กคาไรด์ได้มาจากหลายวิธีคือ สารที่สกัดได้จากดอกเห็ด สารที่ได้มาจากเส้นใยเห็ดกระดุมบราซิล และสารที่ได้จากการกรองเส้นใยเห็ดกระดุมบราซิล

Fei-Hong Zhai และคณะ, 2006 ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิลแบบอาหารแข็ง โดยใช้ธัญพืชต่างชนิดกันเป็นแหล่งคาร์บอนจำนวน 100 กรัม และแหล่งอนินทรีย์อื่นๆดังนี้ โพแทสเซียมได-ไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 กรัม แมกนิเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 0.5 กรัม เฟอร์ริคคลอไรด์ 0.05 กรัม แคลเซียม-คลอไรด์ไดไฮเดรต 0.1 กรัม และมีความชื้นร้อยละ 40 ปรับพีเอชเป็น 6.5 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ โดยทำในฟลาสก์ปิดด้วยจุกสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นใช้ cock นำเส้นใยจากหัวเชื้อในอาหารแข็งเป็นจำนวน 3 ดิสก์ ใส่ลงในแต่ละฟลาสก์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ใส่เชื้อ โดยทั้งหมดนำไปบ่มในที่มืด 25 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกวันที่ 5, 10, 15, 20 และ30 โดยนำตัวอย่างไปทำแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส และนำไปสกัดด้วยเอทานอล จากนั้นนำไปวิเคราะห์ส่วนประกอบของสารอาหารหลักๆ และวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งพบว่าข้าวสาลีมีอัตราการเพิ่มของค่าโปรตีนทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ได้สูงที่สุด เท่ากับชุดควบคุม 0.32 และ100.77 เท่า สอดคล้องกับความสามารถในการต้านอนุมูล 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ความสามารถในการรีดิวส์ และความสามารถในการจับกับไอออนของธาตุเหล็ก รวมทั้งความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระซุปเปอรอกไซด์แอนอิออน อีกทั้งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการรีดิวส์และความสามารถในการจับกับไอออนของธาตุเหล็กได้สูงที่สุด อาจเนื่องจากในข้าวสาลีมีวิตามินบีคอมเพล็กซ์ครบถ้วน มีแหล่งโปรวิตามินเอ ซี อี และเค สูง ถึงแม้จะมีสารอาหารหลักเช่นเดียวกับธัญพืชชนิดอื่น

Firenzuoli และคณะ, 2007 ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิลแบบอาหารเหลว โดยมีจุดมุ่งหมายคือ การประเมินคุณภาพของสารสกัดจากข้าวสาลี โดยนำมาใช้เป็นอาหารพื้นฐานสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Agaricus blazei* Murrill (ABM) และหาสภาวะที่เหมาะสมของอาหารรวมทั้งสภาวะการหมัก เพื่อให้ได้ผลผลิตคือ เซลล์กลุ่มเส้นใยและพอลิแซ็กคาไรด์ภายในเซลล์จากเชื้อเห็ดชนิดนี้ ซึ่งในอาหารพื้นฐานนี้ให้ผลผลิตเป็นเซลล์กลุ่มเส้นใยและพอลิแซ็กคาไรด์ภายในเซลล์ของเห็ดกระดุมบราซิลเป็น 2.01 กรัมต่อลิตร และ 93.42 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยใส่เปปโตนและน้ำตาลมอลโตสเสริมลงไปในอาหารพื้นฐานเพื่อช่วยเพิ่มเซลล์กลุ่มเส้นใยและพอลิแซ็กคาไรด์ภายในเซลล์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าพื้นผิวตอบสนองสำหรับสภาวะนี้โดยใช้สารสกัดจากข้าวสาลีในการเพาะเลี้ยงและอื่นๆ ดังนี้ โดยในอาหาร 1 ลิตรจะใช้สารสกัดข้าวสาลี 3.44 กรัม เปปโตน 43.00 กรัม น้ำตาลมอลโตส 1.00 กรัม โพแทสเซียมไดไฮโดรเจน-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอสเฟตและแมกนีเซียมซัลเฟตอย่างละ 0.50 กรัม ซึ่งทำการหาสภาวะที่เหมาะสมของการเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลอง โดยทำตามดังนี้ คือใช้ปริมาตรของหัวเชื้อเริ่มต้นที่ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตรของอาหารคือ 70 มิลลิลิตรต่อฟลาสก์และความเร็วในการหมุนเป็น 170 รอบต่อนาทีจากนั้นก็หาสภาวะที่เหมาะสมของอาหารและสภาวะการเลี้ยง พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้สูงสุดในเซลล์กลุ่มเส้นใยและในน้ำหมักคือที่ 16.02 กรัมต่อลิตร และ 1041.32 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

กิตติมาภรณ์, 2558 ทำการศึกษาการพัฒนาสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายวากาเมะ เพื่อเป็นสารให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวในเครื่องสำอาง ซึ่งการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายวากาเมะ จะทำโดยนำสาหร่ายวากาเมะแห้งมาบดให้เป็นผงละเอียด แล้วนำผงสาหร่ายวากาเมะผสมกับน้ำร้อนในอัตราส่วน 1 ต่อ 40 จากนั้นนำไปแช่ในอ่างน้ำร้อนแบบเขย่า ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ความเร็วในการเขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง นำของเหลวที่ได้มาตกตะกอนด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ทิ้งไว้ข้ามคืน แล้วนำตะกอนที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำตะกอนที่ได้มาทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ แล้วนำมาวิเคราะห์โดยวิธีฟีนอลซัลฟูริก พบว่าปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ คือ 379.17 มิลลิกรัมสมมูลกาแล็กโตสต่อกรัมสารสกัด

เกตุชุลี, 2555 ทำการศึกษาการสกัดน้ำตาลนอนรีดิวซ์จากขนุนในระดับห้องปฏิบัติการ ระดับโรงงานทดลอง และการประเมินคุณสมบัติการทนต่อการย่อยในสภาวะจำลองของระบบทางเดินอาหาร โดยพบว่าสารสกัดจากเนื้อขนุนประกอบด้วยสารกลุ่มโอลิโกแซ็คคาไรด์ที่มีน้ำตาลมอนอเมอร์มาต่อกัน (degree of polymerization, DP) จำนวน 6 หน่วย และสารดังกล่าวสามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ โดยมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก ซึ่งเมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารที่สกัดได้ (Percentage of extraction yield) วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar analysis) ด้วยวิธี Modified phenol sulfuric method และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar analysis) ด้วยวิธี Modified dinitrosalic acid คำนวณปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวซ์ตามสมการ คือ ปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวซ์ เท่ากับ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ลบ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งคาดว่ามีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก จากการสกัดน้ำตาลนอนรีดิวซ์พบว่า การอบแห้งด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ทำให้ความชื้นในเนื้อและซังขนุนลดลงร้อยละ 68.44 และ 63.41 ปริมาณสารที่สกัดได้จากตัวอย่างเนื้อขนุนสดมากกว่าตัวอย่างแห้งอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ความเข้มข้นของตัวทำละลายและลักษณะการกวน ไม่มีผลต่อปริมาณสารที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ผลการวิเคราะห์น้ำตาลนอนรีดิวซ์พบว่า เนื้อขนุนมีปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวซ์ที่สกัดได้สูงมากกว่าซังขนุน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 321.52 กรัมต่อกิโลกรัม และ 126.89 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค (High performance liquid chromatography (HPLC) พบว่าน้ำตาลนอนรีดิวซ์ที่สกัดได้จากเนื้อขนุนประกอบด้วยโอลิโกแซ็คคาไรด์ 2 ชนิด คือ โดยมีโอลิโกแซ็คคาร์ไรด์ที่มี DP เท่ากับ 4 และ DP เท่ากับ 6 ถึง 7 อยู่ร้อยละ 11.11 และ 2.18 ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดจากเนื้อขนุนยังประกอบด้วยน้ำตาลซูโครสซึ่งเป็น

เอกสารนี้มีไว้เพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอนรีดิวซ์ในปริมาณสูง คือ ร้อยละ 44.82 และประกอบด้วยน้ำตาลรีดิวซ์ 2 ชนิด คือ น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทส คิดเป็นร้อยละ 25.02 และ 16.87 ตามลำดับ เนื่องจากเนื้อขนุนมีปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวซ์สูงกว่าซังขนุน จึงคัดเลือกเนื้อขนุนไปศึกษาผลของ อุณหภูมิ เวลา และอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อตัวทำละลาย (เอทานอล) ซึ่งข้อมูลการสกัดที่ได้จากการทดลองพบว่า สภาวะที่สกัดน้ำตาลนอนรีดิวซ์ได้สูงสุด (414.50 กรัม-ต่อกิโลกรัมสารสกัด) คือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลาสกัด 60 นาที อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1 ต่อ 9 ซึ่งผลการทดลองซ้ำในห้องปฏิบัติการพบว่าสกัดน้ำตาลนอนรีดิวซ์ได้ 453.28 กรัมต่อกิโลกรัมสารสกัด จากการสกัดน้ำตาลนอนรีดิวซ์ด้วยเครื่องสกัดแบบกะขนาดโรงงานทดลองด้วยสภาวะเดียวกันพบว่า น้ำตาลนอนรีดิวซ์ที่สกัดได้มีค่า 57.58 กรัมต่อลิตร ซึ่งต่ำกว่าการสกัดในห้องปฏิบัติการ

Hamedi และคณะ, 2012 ทำการศึกษาผลของอาหารที่แตกต่างกันในการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุม-บราซิล ซึ่งมีผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาและมีความสัมพันธ์ในการผลิตเส้นใยชีวมวลและเอ็กซ์โซพอลิแซ็ค-คาไรด์(EPS) โดยงานวิจัยครั้งนี้ได้ดำเนินการเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมักเห็ดกระดุมบราซิล สายพันธุ์ Murill ในสภาวะอาหารเหลว ซึ่งมีแหล่งของคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และค่าความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกัน โดยทำการวัดค่าพารามิเตอร์ดังนี้คือ ความกลม (circularity) ความแน่น (compactness) และเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย (mean diameter) จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากแป้งเป็นแหล่งของคาร์บอนที่ดี ส่วนยีสต์เป็นแหล่งของไนโตรเจนที่ดี และยังให้ผลผลิตของเส้นใยรวมทั้ง EPS ได้ดี โดยทั้งสองทำให้ลักษณะของเม็ดเพลเลตมีขนาดเล็กและแน่น ซึ่งลักษณะสัณฐานวิทยาดังกล่าวเหมาะสมที่จะนำมาใช้ทำการเปรียบเทียบแหล่งไนโตรเจนทั้ง 5 ชนิด คือ ยูเรีย แอมโมเนียมคลอไรด์ ยีสต์สกัด ไฟตอนเปบโตน (phyton peptone) และไมโคโลจิคอลเปบโตน (mycological peptone) โดยแต่ละชนิดใช้ความเข้มข้นที่เหมือนกันคือร้อยละ 4 และใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และอีกชุดการทดลองทำการเปรียบเทียบเพื่อศึกษาผลของความเป็นกรดด่างในอาหารดังกล่าวในช่วง 4 ถึง 8 ซึ่งภายหลังการหมักจะทำการเก็บตัวอย่างโดยนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ เป็นเวลา 25 นาที และนำมากรองด้วยแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้มาผสมเอทานอล บริสุทธิ์ ร้อยละ 99 ในอัตราส่วน 4 เท่า นำไปแช่เป็นเวลาข้ามคืนที่ 4 องศาเซลเซียส โดยทำการกวนตลอดเวลาด้วยเครื่องกวน จากนั้นทำการแยก EPS โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ เป็นเวลา 25 นาที และทำให้แห้งเพื่อวัดน้ำหนัก EPS ที่ได้ ส่วนเส้นใยที่ได้จากการกรองนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วทำให้แห้งที่ 70 องศาเซลเซียสข้ามคืน ตัวอย่างเชื้อเห็ดกระดุมบราซิลถูกตรึงด้วยสารตรึงที่ประกอบด้วย ฟอร์มอลดีไฮด์ ร้อยละ 40 ปริมาตร 13 มิลลิลิตร กรดกลาเซียลอะซิติก ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเอทานอล ร้อยละ 50 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาตรของสารตรึงแต่ละตัวอย่าง อย่างละ 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนสไลด์แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นย้อมด้วยสีแลคโตฟีนอล คอตตอนบลู (โดยส่วนผสมต่อลิตร คือ ฟีนอล 200 กรัม คอตตอนบลู 0.5 กรัม กลีเซอรอล 400 มิลลิลิตร กรดแลคติก 200 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร) สังเกตลักษณะของเม็ดเพลเลตด้วยกล้องจุลทรรศน์ สำหรับการวัดตัวอย่างแต่ละตัวอย่างจะใช้ประมาณ 25 เพลเลต จากการศึกษาพบว่าแหล่งของไนโตรเจนเชิงซ้อนคือ ยีสต์ ไมโคโลจิคอลเปบโตน และไฟ-ตอนเปบโตน ดีกว่าแหล่งไนโตรเจนเชิงเดี่ยว คือ แอมโมเนียมคลอไรด์ และยูเรีย เนื่องจากเพลเลตมีส่วนที่แข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่กึ่งกลาง และบรรจุเส้นใยภายในเพลเลตหลวมๆ โดยเส้นใยมีความอ่อนนุ่ม ซึ่งเพลเลตที่ได้จากการใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าเส้นใยไฮฟามีความยาวมากขึ้นในบริเวณด้านนอกและมีลักษณะเพลเลตเหมือนกับปลาดาว โดยลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะที่พึงประสงค์สำหรับการนำเข้าของสารอาหารและออกซิเจน เพื่อผลิต EPS และเส้นใยชีวมวล ส่วนค่าความเป็นกรดด่างนั้นพบว่า ในช่วง 4 ถึง 8 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อีกทั้งพบว่าเส้นใยจะก่อตัวเป็นเพลเลตเพิ่มขึ้น เนื่องจากค่าความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามพบว่า องค์ประกอบของอาหาร อาจมีผลต่อค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นและกำหนดขอบเขตทิศทางของค่าความเป็นกรดด่างระหว่างการเจริญของเชื้อรา มีวิธีการหนึ่งที่จะลดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างระหว่างการเจริญในอาหารเหลวคือ ใช้ความแตกต่างของบัฟเฟอร์ แต่ไอออนต้องการที่จะเสถียรเช่นเดียวกันกับ ค่าความเป็นกรดด่างที่อาจมีผลต่อกิจกรรมทางชีวภาพของเชื้อราที่กำลังเจริญในอาหารเหลวตลอดจนคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของการเพาะเลี้ยงเช่นกัน

Alencar และคณะ, 2013 ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ด *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes* และ *Pleurotus ostreatus* โดยใช้อาหารเป็นน้ำมะพร้าวในการเลี้ยงแบบกึ่งเหลว (submerged) โดยทำการวัดองค์ประกอบทางเคมีของมวลชีวภาพ ของอาหาร residual และภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน กล่าวคือทำการวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณลิพิดทั้งหมด และโปรตีนหยาบ อีกทั้งยังทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเห็ดในการยับยั้ง โดยการนับโคโลนีของเชื้อ *Candida albicans* และทำการวัดพีเอชในน้ำมะพร้าว โดยทำการวัดทั้งก่อนและหลังนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ของอาหารเหลว residual ของมวลชีวภาพ และภายหลังการเพาะเลี้ยงในน้ำมะพร้าว 30 วัน ซึ่งพบว่าภายหลังเมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน พีเอชภายในอาหารเพาะเลี้ยงของเชื้อ *Ganoderma lucidum* และ *Pleurotus ostreatus* เพิ่มขึ้น เนื่องจากมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของมวลชีวภาพ จึงนำไปสู่การตายของเส้นใย ซึ่งเส้นใยเป็นสารอินทรีย์อาจนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของพีเอชในอาหาร ส่วนเมื่อทำการวัดลิพิด คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน พบว่ามีความแตกต่างกันในเห็ดทั้งสามสายพันธุ์ เนื่องจากมีความแตกต่างกันทางสรีรวิทยา ซึ่งน้ำมะพร้าวจากธรรมชาติช่วยลดต้นทุนการผลิต อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพในการผลิตมวลชีวภาพและสามารถดัดแปลงในการนำมาทำเป็นอาหารเพาะเลี้ยง ถึงแม้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติหรือสารสกัดที่ได้จากเห็ดนั้นมีประสิทธิภาพที่อาจจะไม่เทียบเท่ากับในยาปฏิชีวนะ แต่พบว่าสารสกัดที่ได้จาก *Lentinula edodes* และ *Pleurotus ostreatus* ก็สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ที่ก่อโรค candidiasis ได้

Carvajal และคณะ, 2011 ได้ทำการศึกษาโดยทำการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิก และกรดอินทรีย์รวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในดอกเห็ดและเส้นใยของเห็ดกระดุมบราซิล ในการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งเหลว โดยเริ่มต้นจากการนำหัวเชื้อที่ผ่านการเก็บรักษาในอาหาร malt extract-dextrose-agar (MDA) มากระตุ้นโดยนำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร MDA ที่เตรียมใหม่ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน และนำไปแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการ cock เชื้อเพื่อทำหัวเชื้อในรูปของอาหารเหลว โดยใช้ 5 ดิสก์ต่ออาหารเหลว 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ซึ่งจะทำการใส่หัวเชื้อเหลวลงในอาหาร ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ซึ่งอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงในขั้นต่อไปควรใช้สูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเหมือนกันกับหัวเชื้อก่อนหน้า ส่วนในขั้นตอนของการสกัดจะใช้ไฮโดรแอลกอฮอล์ในการสกัดดอกเห็ดและเส้นใยที่อยู่ในระยะ early stationary และระยะ late stationary ซึ่งจะพบสารประกอบฟีนอลอย่างน้อย 10 ชนิด และกรดอินทรีย์ 10 ชนิด ซึ่งสารประกอบฟีนอลิก 3 ชนิด ที่ระบุได้คือ กรดแกลลิก กรดไซรินจิก และไพโรแกลลอล ส่วนกรดอินทรีย์ 8 ชนิด ที่ระบุได้คือ กรดเบนโซอิก กรดออกซาลิก กรดมาลิก กรดอะซิติก กรดอัลฟาคีโตกลูตาลิก กรดซิตริก กรดฟูมาริก และกรดทรานส์อะโคนิติก และเมื่อทำการวัดคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS การคีเลทไอออนของธาตุเหล็ก และการยับยั้งลิพิดเพอรอกซิเดชัน พบว่าสารสกัดที่ได้จากดอกเห็ดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และการยับยั้งลิพิดเพอรอกซิเดชันมากกว่าสารสกัดที่ได้จากเส้นใย แต่เส้นใยมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการคีเลทไอออนของธาตุเหล็ก มากกว่าสารสกัดที่ได้จากดอกเห็ด สรุปว่าในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารกึ่งเหลวสามารถต้านอนุมูลอิสระได้เช่นเดียวกันกับในดอกเห็ด อีกทั้งการเพาะเลี้ยงในรูปของเส้นใยดังกล่าวสามารถควบคุมสภาวะได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงในรูปของดอกเห็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 เห็ด

3.1.1.1 หัวเชื้อเห็ดกระดุมบราซิล

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 สารละลายไดไนโตรซาลิไซลิค

3.1.2.2 สารละลายกลูโคสมาตรฐาน

3.1.2.3 เอทานอลร้อยละ 95

3.1.2.4 สารละลายฟีนอลร้อยละ 5

3.1.2.5 กรดซัลฟูริกร้อยละ 98

3.1.2.6 กลูโคส

3.1.2.7 เปปโตน

3.1.2.8 สารสกัดจากยีสต์

3.1.2.9 สีย้อม Lactophenol cotton blue

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.3.1 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

3.1.3.2 เครื่องผสมสาร

3.1.3.3 เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ

3.1.3.4 เครื่องชั่งสาร

3.1.3.5 กล้องจุลทรรศน์

3.1.3.6 ตะแกรงวางเครื่องมือ

3.1.3.7 ตู้ปลอดเชื้อ

3.1.3.8 เข็มเขี่ยเชื้อ

3.1.3.9 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.3.10 หลอดทดลอง

3.1.3.11 บีกเกอร์

3.1.3.12 ช้อนตักสารเคมี

3.1.3.13 ปิเปต

3.1.3.14 จานเพาะเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ (ต่อ)

3.1.3.15 ขวดรูปชมพู่

3.1.3.16 ตู้บ่ม

3.1.3.17 ตู้เย็น

3.1.3.18 ไมโครปิเปต

3.1.3.19 ทิปสำหรับไมโครปิเปต

3.1.3.20 ขวดสีชา

3.1.3.21 ขวดดูแรน

3.1.3.22 สำลี

3.1.3.23 ผ้าขาวบาง

3.1.3.24 มีด

3.13.25 เครื่องทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธีนึ่งด้วยไอน้ำ

3.13.26 cock borer

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.2.1 วิธีการทำเทคนิค Slide culture แบบตัดชิ้นวุ้น

3.2.1.1 การเตรียมจานเพาะเชื้อ โดยใช้จานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร นำทิชชูมาวางให้พอดีจานเพาะเชื้อ จากนั้นนำไม้จิ้มฟันวางลงบนกระดาษทิชชูแล้วนำสไลด์ที่สะอาดวางบนไม้จิ้มฟัน แล้วนำไปใส่ถุงพลาสติกเอาไปอบฆ่าเชื้อ

3.2.1.2 การเตรียมวุ้น จะใช้อาหาร potato dextrose agar เทลงจานเพาะเชื้อ ซึ่งจะต้องเทหนากว่าปกติ ทิ้งไว้จนวุ้นแข็งตัว จากนั้นตัดวุ้นให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดประมาณด้านละ 1 เซนติเมตร

3.2.1.3 การนำเชื้อราลงจานเพาะ นำแผ่นวุ้นสี่เหลี่ยมจัตุรัส วางลงบนสไลด์ที่ปลายด้านใดด้านหนึ่ง นำเชื้อที่ต้องการมาวางลงบนแผ่นวุ้นแล้วเกลี่ยให้ทั่วแผ่นวุ้น ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นนำน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อมาเทลงบนจานเพาะเชื้อประมาณ 11.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส คอยสังเกตจนเชื้อราเจริญและเริ่มมีเส้นใยเกือบถึงขอบสไลด์ (ประมาณ 14 วัน)

3.2.1.4 การถอดกระจกปิดสไลด์ไปตรวจสอบ ทำโดยถอดกระจกปิดสไลด์ออก แล้วล้างด้านบนของกระจกปิดสไลด์ด้วยแอลกอฮอล์ จากนั้นจับด้านล่างที่สัมผัสกับเชื้อหงายขึ้นแล้วหยดแอลกอฮอล์ 1 หยด ทิ้งไว้จนแห้ง จากนั้นเตรียมสไลด์อีกแผ่นหนึ่ง หยด lactophenal cotton blue 1 หยด ที่ปลายด้านหนึ่งของสไลด์ แล้วนำกระจกปิดสไลด์ที่สัมผัสเชื้อ วางลงบนสไลด์ที่หยดสี lactophenal cotton blue ระวังอย่าให้เกิดฟอง แล้วนำไปตรวจสอบลักษณะด้วยกล้องจุลทรรศน์ ส่วนสไลด์ที่มีวุ้นวางอยู่ให้ทิ้งวุ้น แล้วหยดแอลกอฮอล์ 1 หยด ทิ้งไว้จนแห้ง และล้างด้านหลังสไลด์ด้วยแอลกอฮอล์ นำมาหยด lactophenal cotton blue บริเวณที่เคยวาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผ่นวุ้น จากนั้นนำกระจกปิดสไลด์มาปิด ผึ่งจน lactophenal cotton blue ที่สไลด์หมาดลง จากนั้นนำน้ำยาทาเล็บมาทารอบกระจกปิดสไลด์ แล้วนำไปส่องกล้องจุลทรรศน์

3.2.2. การผลิตหัวเชื้อ

เตรียมอาหารแข็ง PDA (องค์ประกอบของอาหารแข็ง PDA แสดงดังภาคผนวก 1ก) เพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับทำการกระตุ้นหัวเชื้อเห็ดกระดุมบราซิลหลังจากการเก็บรักษา โดยใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 7 มิลลิลิตร จากนั้นนำหลอดอาหารมาเอียงรอจนแข็งตัว นำเชื้อบริสุทธิ์ของเห็ดกระดุมบราซิลที่ทำการละลายน้ำแข็งแล้ว ใส่ลงในหลอดอาหารเอียง PDA จากนั้นนำหลอดอาหารที่มีหัวเชื้อเห็ดกระดุมบราซิลไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน

3.2.2.1 การศึกษาและเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของหัวเชื้อ

เตรียมอาหารแข็งสูตร PDA และอาหารแข็งสูตร 1 (องค์ประกอบของอาหารแสดงดังภาคผนวก 2ก) เทลงในจานเพาะเลี้ยง จากนั้นถ่ายเชื้อจากหลอดเอียงลงในจานเพาะเลี้ยง แล้วทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เมื่อผ่านไป 21 วัน สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อ ทำการเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง เลือกสูตรที่ดีกว่าสำหรับการทำหัวเชื้อเหลว ทำโดยเตรียมฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่อาหารเหลวสูตรที่ 1 (องค์ประกอบของอาหารแสดงดังภาคผนวก 3ก) ปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อฟลาสก์ จากนั้นใช้ cock borer ตัดเส้นใยบางส่วนจากจานเพาะเลี้ยง แล้วถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลวสูตรที่ 1 เพื่อเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น (จำนวน 2 แผ่น ต่อฟลาสก์) ทำการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 14 วัน ในสภาวะอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที

3.2.2.2 การวิเคราะห์การเจริญเติบโต

ทำการสุ่มตัวอย่าง ทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน โดยนำตัวอย่างในฟลาสก์เทลงในหลอดปั่นเหวี่ยง ทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เทส่วนใสทิ้ง เติมน้ำกลั่นเพื่อทำการล้างเซลล์ แล้วปั่นเหวี่ยงอีกครั้งนำส่วนใสทิ้ง จากนั้นก็นำตะกอนเซลล์ที่ได้ไปทำแห้ง ด้วยเครื่องทำแห้งแบบอบลม-ร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ บันทึกผลและนำไปวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.2.3 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ของการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารเหลว

3.2.3.1 การทดสอบการใช้น้ำมะพร้าวเป็นฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโตของเชื้อ

เตรียมอาหารเหลวสูตร 1 ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 45 มิลลิลิตรต่อฟลาสก์ เป็นอาหารชุดควบคุม จากนั้นทำการหาสภาวะที่เหมาะสมโดยการเติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 5, 10 และ15 เป็นอาหารเหลวสูตรที่ 2, 3 และ4 ตามลำดับ แล้วนำหัวเชื้อเริ่มต้นที่มีอายุ 6 วัน ใส่ลงในอาหารแต่ละชนิด ปริมาตรที่ใช้คือร้อยละ 10 นำไปบ่มที่ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที โดยทำการวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ การสกัดตัวอย่าง และการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3.2 การเปรียบเทียบแหล่งของวิตามินและแร่ธาตุในพืชผัก ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อและการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ ที่ผลิตขึ้นภายในเซลล์และที่ปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ของการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดกระดุมบราซิล

เตรียมอาหารเหลวสูตรที่ 2 (องค์ประกอบของอาหารแสดงดังภาคผนวก 3ก) ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 45 มิลลิลิตรต่อฟลาสก์ เป็นอาหารชุดควบคุม จากนั้นทำการเตรียมอาหารเหลวสูตรที่ 5 และ 6 (องค์ประกอบของอาหารแสดงดังภาคผนวก 3ก) แล้วนำหัวเชื้อเริ่มต้นที่มีอายุ 6 วัน ใส่ลงในอาหารแต่ละชนิด ปริมาตรหัวเชื้อที่ใช้คือร้อยละ 10 นำไปบ่มที่ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที โดยทำการวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ การสกัดตัวอย่าง และวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.2.4 การวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ โดยทดสอบปริมาณฮอร์โมนและวิตามิน

ทำการเก็บตัวอย่าง วันที่ 6, 8, 10 และ12 ของการเลี้ยงเชื้อตามลำดับ ทำการวัดค่าความเป็นกรดด่าง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ออกจากน้ำหมัก โดยทำการปั่นเหวี่ยงที่ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เก็บส่วนใส (น้ำหมัก) จากนั้นทำการล้างตะกอนเซลล์ด้วยน้ำกลั่นและปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง เทส่วนใสทิ้ง จากนั้นนำตะกอนเซลล์ที่ได้ไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2.5 การสกัดตัวอย่าง เพื่อหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่อยู่ภายในเซลล์ และที่ปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์

3.2.5.1 ทำการสกัดสารจากน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ โดยนำมาบดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และสกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนตัวอย่างแห้ง 0.1 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใส ทำเช่นเดียวกันอีกครั้ง จากนั้นนำส่วนใสที่ได้รวมกันแล้วนำมาละลายในเอทานอล อัตราส่วนคือ ส่วนใส 1 มิลลิลิตร ต่อเอทานอล 4 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำตะกอนที่ได้ไปละลายน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร ซึ่งในส่วนของน้ำหมักก็ทำการสกัดเช่นเดียวกันกับส่วนใสของเส้นใย จากนั้นนำไปหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์

3.2.6 การหาปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์ภายในและภายนอกเซลล์

3.2.6.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีไดไนโตรซาลิไซลิค (Miller, 1959) ทำโดยปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ผสมสารละลายกรด 3-5 ไดไนโตรซาลิไซลิก ลงไป 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มที่น้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาแช่น้ำเย็น เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร จากนั้นเตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคส โดยเตรียมสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการวิเคราะห์แบบเดียวกันกับตัวอย่าง แล้วนำมาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส ส่วนการเตรียมแบลงค์ (blank) จะเตรียมโดยใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตรแทนสารละลายตัวอย่าง

3.2.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีฟีนอลซัลฟิวริก (Dubois, 1956) ทำโดยปิเปต

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมสารละลายฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นค่อยๆ หยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 98 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ค่าการดูดกลืนแสง 490 นาโนเมตร จากนั้นเตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคส โดยเตรียมสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 0, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการวิเคราะห์แบบเดียวกันกับตัวอย่าง แล้วนำมาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส ส่วนการเตรียมแบลงค์ (blank) จะเตรียมโดยใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตรแทนสารละลายตัวอย่าง

3.2.6.3 การคำนวณหาน้ำตาลนอนรีดิวซ์หรือพอลิแซ็กคาไรด์ ทำได้โดยนำค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมาแปลงหน่วยให้อยู่ในรูปของกรัมต่อลิตร แล้วนำค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมาหักลบด้วยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

3.2.7 การวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ทำการทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial Experiment in Completely Randomized Design (CRD) ปัจจัยที่ศึกษาคือองค์ประกอบของอาหารและเวลา ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตัวแปรที่ทำการศึกษาโดยวิธี Duncan Method และมาวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เวอร์ชั่น 20 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (แสดงดังภาคผนวก ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

4.1.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการทดลองศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเห็ดกระดุมบราซิลด้วยวิธี slide culture เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดบนอาหาร PDA ที่ตัดชิ้นวุ้น เป็นระยะเวลา 14 วัน เมื่อมองด้วยตาเปล่า จะเห็นเป็นกลุ่มเส้นใย มีลักษณะปุยสีขาวอยู่เกือบถึงขอบสไลด์ เมื่อนำไปย้อมด้วยสี lactophenol cotton blue แล้วนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พื้นหลังสว่างที่กำลังขยายภาพ 400 เท่า พบว่าเส้นใยของเชื้อเห็ดกระดุม-บราซิลมีลักษณะเรียวยาว มีผนังกั้น และเริ่มมีการสร้างสปอร์ (รูปที่ 4.1)

4.1.1.2 ลักษณะโครงสร้างของเส้นใยเห็ดกระดุมบราซิลภายใต้กล้องจุลทรรศน์

รูปที่ 4.1 ลักษณะเส้นใยของเห็ดกระดุมบราซิลที่ย้อมด้วยสี Lactophenol cotton blue ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายภาพ 400 เท่า ซึ่งพบว่าที่กำลังขยายดังกล่าวสามารถเห็นเส้นใยได้ชัดเจน เส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นเรียวยาว มีผนังกั้น

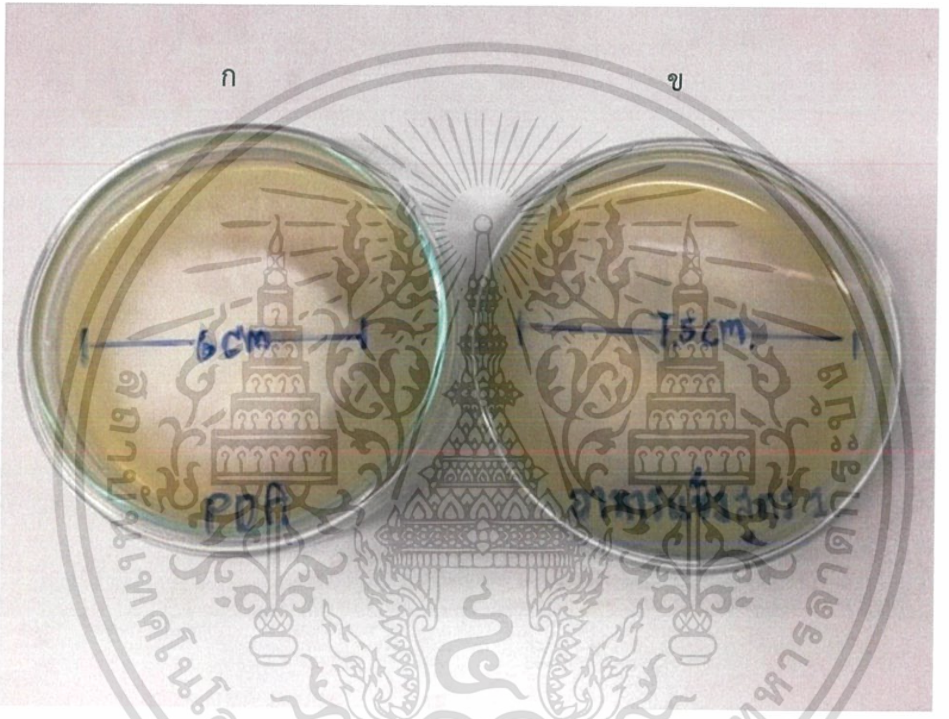
4.2 ผลการศึกษาการผลิตหัวเชื้อเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารแข็ง

4.2.1 ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารแข็ง สำหรับการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อที่แตกต่างกัน เพื่อคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตหัวเชื้อเหลวของเห็ดกระดุมบราซิล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาองค์ประกอบของอาหารแข็ง สำหรับการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อทั้ง 2 สูตร โดยควบคุมสภาวะ คือ ระยะเวลา อุณหภูมิ ปริมาณเชื้อที่เติมลงในอาหารที่เท่ากัน พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน จานเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเห็ดกระดุมบราซิลในอาหารแข็งสูตรที่ 1 มีการเจริญของเส้นใยมากกว่า คือ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7.5 เซนติเมตร ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Potato dextrose agar (PDA) มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 เซนติเมตร แสดงได้ดังรูปที่ 4.2 สาเหตุที่เป็นเช่นนั้น เนื่องจากการเติมกล้วยหอมลงไป มีแหล่งของแร่ธาตุ คือ โพแทสเซียม แมกนีเซียม และยังอุดมไปด้วยสารอาหาร ซึ่งอาจจะเหมาะสมแก่การเจริญของเห็ดกระดุมบราซิล (Weebly, 2015)

4.2.1.1 ลักษณะโครงสร้างของเส้นใยเห็ดกระดุมบราซิลเมื่อมองด้วยตาเปล่า



รูปที่ 4.2 การเปรียบเทียบลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดกระดุมบราซิลในจานเพาะเลี้ยงอาหารแข็ง ระหว่างอาหารแข็งสูตร PDA (ก) และอาหารแข็งสูตรที่ 1 (ข)

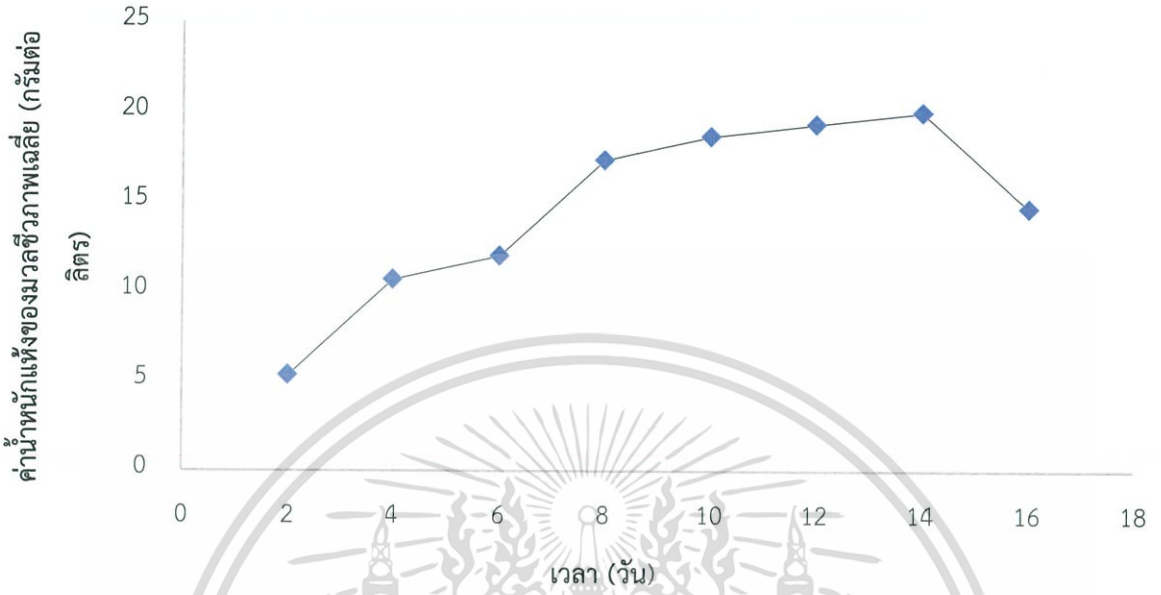
4.3 ผลการศึกษาระยะเวลาต่อการเจริญของเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารเหลว

4.3.1 ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของเห็ดกระดุมบราซิล จากน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพของเห็ดกระดุมบราซิล

ผลการศึกษาระยะเวลาต่อการเจริญของเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารเหลวโดยใช้ อาหารเหลวสูตรที่ 1 ที่มีการเติมกล้วยหอม และมีการควบคุมสภาวะ คือ อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที พบว่าลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดกระดุมบราซิล มีการเจริญดังรูปที่ 4.3 คือ จะมีระยะที่เชื้อแบ่งตัวได้อย่างรวดเร็วในอัตราคงที่ (log phase) ถึงวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ จากนั้นเชื้อจะเข้าสู่ช่วงระยะที่มีจำนวนสูงสุดและคงที่ (stationary phase) ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 19.334 กรัมต่อลิตร และเข้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สู่ช่วงระยะที่เชื้อตายอย่างรวดเร็ว (death phase) หลังจากวันที่ 14 จากผลการทดลองดังกล่าว จึงนำหัวเชื้อที่มีอายุ 6 วัน มาใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้นในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารเหลว



รูปที่ 4.3 ค่าน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพเฉลี่ย ของอาหารเหลวสูตรที่ 1

4.4 ผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารเหลว

4.4.1 ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารที่มีปริมาณน้ำมะพร้าวและเวลาที่แตกต่างกันที่มีผลต่อปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิลในสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบของปริมาณน้ำมะพร้าวที่แตกต่างกัน พบว่าที่น้ำมะพร้าวร้อยละ 5 ให้ปริมาณของเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง คือ 0.668 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหารที่ไม่เติมน้ำมะพร้าว และสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 ในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยงเลี้ยง ดังแสดงในตารางที่ 4.1 สาเหตุที่เป็นเช่นนั้น เนื่องจากน้ำมะพร้าวมีผลต่อการเร่งการเจริญเติบโตของเชื้อ ทำให้เข้าสู่ระยะที่เชื้อตายอย่างรวดเร็ว ซึ่งเส้นใยเป็นสารอินทรีย์ จึงทำให้สภาวะกรดด่างภายในอาหารเปลี่ยน (Alencar และคณะ, 2013) ดังนั้นความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวที่สูงขึ้น อาจทำให้เชื้อตายลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเชื้อมีความสำคัญในการผลิตเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ เมื่อไม่มีเชื้อจึงเหลือแต่อาหารที่เหลือจากเชื้อใช้ก่อนที่เชื้อจะตาย ซึ่งในอาหารมีกล้วยหอมที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลนอนรีดิวซ์ ดังนั้นเมื่อนำมาหักลบอาจทำให้มีค่าที่สูง (เกตุชุลี, 2555)

ตารางที่ 4.1 ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธีการหาน้ำตาลนอนรีดิวซ์ ในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวแตกต่างกันคือ ร้อยละ 5, 10 และ 15 ในวันที่ 6, 8, 10 และ 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของการเพาะเลี้ยง

เวลา (วัน)	ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ (กรัมต่อลิตร) ปริมาณน้ำมะพร้าว (ร้อยละ)			
	0	5	10	15
6	0.208^{g}	0.274^{fg}	0.267^{fg}	0.207^{g}
8	0.471^{bcd}	0.445^{cde}	0.284^{efg}	0.375^{cdef}
10	0.486^{bc}	0.668^{a}	0.319^{defg}	0.444^{cde}
12	0.675^{a}	0.615^{ab}	0.350^{cdefg}	0.698^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษรหลังตัวเลขแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.4.2 ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารที่มีแหล่งแร่ธาตุและวิตามินและเวลาที่แตกต่างกันที่มีผลต่อปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์และอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิลในสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบของแหล่งแร่ธาตุและวิตามินที่แตกต่างกัน คือ กล้วยหอม หัวบีท ข้าวโพดอ่อน พบว่าอาหารเหลวสูตรที่ 2 (ใส่กล้วยหอม) วันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง มีปริมาณของเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด คือ 0.652 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอาหารเหลวสูตรที่ 2 วันที่ 10 และวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง และพบว่าอาหารเหลวสูตรที่ 2 วันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง ยังให้ปริมาณของอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด คือ 0.442 กรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 สาเหตุที่เป็นเช่นนั้น เนื่องจากแหล่งของแร่ธาตุและวิตามิน เป็นส่วนหนึ่งขององค์ประกอบอาหาร ในการเลี้ยงเชื้อที่สำคัญ ซึ่งองค์ประกอบของอาหารที่แตกต่างกัน จะส่งผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเพลเลต อย่างในกรณีของข้าวโพดอ่อน พบว่าจะให้ลักษณะของเม็ดเพลเลตที่เล็กที่สุด รองลงมาคือหัวบีท และกล้วยหอม ที่ให้เม็ดเพลเลตที่ใหญ่ที่สุด ซึ่งจากงานวิจัยของ Hamedi, และคณะ, 2012 พบว่าลักษณะของเม็ดเพลเลตที่เหมาะสมคือเส้นใยควรจะมีลักษณะนุ่มๆ ซึ่งเมื่อบรรจุอยู่ภายในเพลเลตแล้วจะบรรจุอย่างหลวมๆ ไม่แน่น โดยลักษณะดังกล่าวจะมีผลต่อการดูดซึมสารอาหารเข้าสู่เซลล์ ดังนั้นกล้วยหอมอาจจะทำให้เพลเลตมีลักษณะที่เหมาะสมในการเจริญและการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ อีกทั้ง (Carvajal และคณะ, 2011) พบว่าการเพาะเลี้ยงควรใช้อาหารสูตรเดียวกันกับหัวเชื้อ ซึ่งในหัวเชื้อเราใช้กล้วยหอมในการเพาะเลี้ยง จึงอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อมาแล้วใช้กล้วยหอม อาจให้การเจริญเติบโตของเชื้อที่ดีกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ปริมาณอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธีการหาน้ำตาลนอนรีดิวซ์ โดยการเติมแหล่งแร่ธาตุและวิตามินที่แตกต่างกัน คือ กล้วยหอม หัวบีท และข้าวโพดอ่อน ในวันที่ 6, 8, 10 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง

เวลา (วัน)	ปริมาณอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ (กรัมต่อลิตร) ชนิดแหล่งแร่ธาตุและวิตามิน		
	กล้วย	หัวบีท	ข้าวโพดอ่อน
6	0.380^{e}	0.181^{e}	0.049^{de}
8	0.442^{a}	0.151^{cde}	0.272^{bc}
10	0.325^{ab}	0.210^{bcd}	0.147^{cde}
12	0.234^{bc}	0.135^{cde}	0.150^{cde}

หมายเหตุ : ตัวอักษรหลังตัวเลขแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.3 ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธีการหาน้ำตาลนอนรีดิวซ์ โดยการเติมแหล่งแร่ธาตุและวิตามินที่แตกต่างกัน คือ กล้วยหอม หัวบีท และข้าวโพดอ่อน ในวันที่ 6, 8, 10 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง

เวลา (วัน)	ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ (กรัมต่อลิตร) ชนิดแหล่งแร่ธาตุและวิตามิน		
	กล้วย	หัวบีท	ข้าวโพดอ่อน
6	0.477^{ab}	0.175^{c}	0.073^{c}
8	0.652^{a}	0.254^{b}	0.175^{c}
10	0.643^{a}	0.261^{bc}	0.300^{bc}
12	0.642^{a}	0.304^{bc}	0.225^{bc}

หมายเหตุ : ตัวอักษรหลังตัวเลขแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.4.3 ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารที่มีปริมาณน้ำมะพร้าวและเวลาที่แตกต่างกันที่มีผลต่อปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิลในสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบของปริมาณน้ำมะพร้าวที่แตกต่างกัน พบว่าปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพสูงสุดของการเลี้ยงเชื้อ คือ 16.995 กรัมต่อลิตร โดยการเติมน้ำมะพร้าว ปริมาณร้อยละ 5 ตามอาหารเหลวสูตรที่ 2 ในวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหารที่ไม่เติมน้ำมะพร้าว ตามอาหารเหลวสูตรที่ 1 ในวันที่ 12 ของการเลี้ยงเชื้อ(ดังตารางที่ 4.4) เนื่องจากสอดคล้องกับหัวข้อ 4.4.1 กล่าวคือ น้ำมะพร้าวมีความเข้มข้นที่เหมาะสม ไม่เร่งการเจริญของเชื้อมากจนเกินไปจนทำให้เชื้อตาย ซึ่งมีผลต่อสภาวะกรดด่างภายในอาหาร

ตารางที่ 4.4 ปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ เมื่อทำการเติมปริมาณน้ำมะพร้าวที่แตกต่างกัน คือ ร้อยละ 5, 10 และ 15 ในวันที่ 6, 8, 10 และ 12 ของการเพาะเลี้ยง

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ (กรัมต่อลิตร) ปริมาณน้ำมะพร้าว (ร้อยละ)			
	0	5	10	15
6	12.020^{g}	12.953^{f}	10.000^{j}	9.080^{m}
8	13.752^{e}	14.140^{d}	10.566^{h}	9.480^{k}
10	15.746^{c}	16.995^{a}	10.400^{i}	9.286^{l}
12	17.040^{a}	16.486^{b}	10.053^{j}	8.100^{n}

หมายเหตุ : ตัวอักษรหลังตัวเลขแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.4.4 ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารที่มีแหล่งแร่ธาตุและวิตามินและเวลาที่แตกต่างกันที่มีผลต่อปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิลในสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบของแหล่งแร่ธาตุและวิตามินที่แตกต่างกันคือ กล้วยหอม หัวบีท และข้าวโพดอ่อน และเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าอาหารเหลวสูตรที่ 2 ในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ ให้ปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพสูงสุด คือ 16.213 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอาหารเหลวสูตรที่ 2 ในวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อ ดังแสดงในตารางที่ 4.5 เนื่องจากสอดคล้องกับหัวข้อ 4.4.2 กล่าวคืออาหารเหลวสูตรที่ 2 อาจให้ลักษณะของเม็ดเพลเลตที่เหมาะสมในการนำอาหารเข้าสู่เซลล์เพื่อผลิตน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ อีกทั้งอาหารเหลวสูตรที่ 2 ใช้กล้วยหอมซึ่งเป็นแหล่งของแร่ธาตุและวิตามินเหมือนกันกับหัวเชื้อ อาจให้การเจริญเติบโตของเชื้อที่ดีกว่าข้าวโพดอ่อนและหัว-บีท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ เมื่อทำการเติมแหล่งของแร่ธาตุและวิตามินที่แตกต่างกัน คือ กล้วยหอม หัวบีท และข้าวโพดอ่อน ในวันที่ 6, 8, 10 และ 12 ของการเลี้ยงเชื้อ

เวลา	ปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ (กรัมต่อลิตร)		
	ชนิดแหล่งแร่ธาตุและวิตามิน		
(วัน)	กล้วย	หัวบีท	ข้าวโพดอ่อน
6	12.952[c]	8.086[g]	6.240[j]
8	16.213[a]	9.960[d]	8.066[g]
10	16.460[a]	9.546[e]	7.580[h]
12	15.026[b]	9.160[f]	6.812[i]

หมายเหตุ : ตัวอักษรหลังตัวเลขแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

องค์ประกอบของอาหารพื้นฐานเมื่อเสริมด้วยน้ำมะพร้าวและกล้วยหอม แสดงให้เห็นว่าให้ค่าของปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ และปริมาณอินตร้าเซลลูลาร์พอลิ-แซ็กคาไรด์ของเห็ดกระดุมบราซิลที่แปรผันกัน สอดคล้องกับทฤษฎีที่ว่าการเจริญเติบโตของเห็ดกระดุมบราซิลจะเพิ่มขึ้นและให้พอลิแซ็กคาไรด์ที่สูงขึ้นเมื่อเพิ่มสารอาหารในปริมาณที่เหมาะสม (Firenzuoli และคณะ, 2007) นอกจากนี้จากการทดลองทำให้เราทราบว่าความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวที่เหมาะสม ทำให้สภาวะอาหารเอื้อต่อการเจริญของเส้นใย ดังนั้นเมื่อทำการวัดน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ พบว่าความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวที่สูงกว่าร้อยละ 5 ให้น้ำหนักแห้งมวลชีวภาพที่ลดลง ซึ่งจากงานวิจัย (Barbisan และคณะ, 2002) กล่าวว่าพอลิแซ็กคาไรด์หรือกลูแคนนั้นมีอยู่มากในเส้นใยของเห็ดกระดุมบราซิล ดังนั้นจึงทำการวัดปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์เพียงอย่างเดียว ซึ่งพบว่าปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์สัมพันธ์กับน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ จึงทำให้สามารถพิจารณาต่อไปได้ว่าจะดำเนินการทดลองต่อไปอย่างไร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ในการศึกษาผลขององค์ประกอบสูตรอาหาร ที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดกระดุมบราซิล (*Agaricus brasiliensis*) พบว่าอาหารแข็งสูตรที่มีองค์ประกอบ (กรัมต่อลิตร) กลูโคส 20 เปปโตน 3 สารสกัดจากยีสต์ 3 กล้วยหอม 140 และผงวุ้น 20 มีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยง จากนั้นจึงนำอาหารสูตรดังกล่าวมาทำให้อยู่ในรูปของหัวเชื้อเหลว โดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารเหลว ซึ่งสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงมีองค์ประกอบ (กรัมต่อลิตร) คือ กลูโคส 20 เปปโตน 3 สารสกัดจากยีสต์ 3 และกล้วยหอม 140 แตกต่างที่ปริมาณน้ำมะพร้าว พบว่าที่ปริมาณน้ำมะพร้าวร้อยละ 5 ในวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อ ให้ค่าน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพและให้ค่าปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ คือ 16.995 และ 0.668 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การศึกษาผลของแหล่งแร่ธาตุและวิตามินคือกล้วยหอม หัวบีท และข้าวโพดอ่อน ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ โดยมีองค์ประกอบของอาหาร (กรัมต่อลิตร) คือ กลูโคส 20 เปปโตน 3 สารสกัดจากยีสต์ 3 แหล่งของแร่ธาตุและวิตามิน 140 และน้ำมะพร้าวร้อยละ 5 ซึ่งพบว่ากล้วยหอม ในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ ให้ค่าน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ ให้ผลของอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดและผลของเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด คือ 16.213 0.442 และ 0.652 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดกระดุมบราซิลในสภาวะอาหารเหลวเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการลดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ อินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์และเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ พบว่าการเพาะเลี้ยงที่เสริมด้วยแหล่งฮอร์โมน แร่ธาตุและวิตามิน ทำให้ได้ปริมาณน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ อินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์และเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์สูงขึ้น จึงมีความคิดว่า ในกระบวนการภายหลังการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยตัวทำละลาย ควรศึกษางานวิจัยเกี่ยวกับการละลายของพอลิแซ็กคาไรด์ในตัวทำละลายนั้น โดยนำไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator) เพื่อนำไปทดสอบการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีต่างๆ เช่น วิธี DPPH เนื่องจากการศึกษาพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ในเห็ดกระดุมบราซิลมีสารสำคัญคือ บีต้ากลูแคน ซึ่งมีคุณสมบัติในการการต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งยังสามารถป้องกันโรคต่างๆ ได้อีกด้วย นอกจากนี้ควรทำการปรับปรุงและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเชื้อเห็ดกระดุมบราซิล เช่น การทำผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กล่าวขวัญ ศรีสุข,ปรีดาวรรณ สาลี,เยาวลักษณ์ เจริญสุข และเอกรัฐ ศรีสุข. 2553. ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของส่วนสกัดจากเหง้าของว่านสาวหลง.คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 2: 143-150.

กิตติมาภรณ์ ชุมพงศ์. 2558. การพัฒนาสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายวากาเมะเพื่อเป็นสารให้ความชุ่มชื้นผิว.วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: postgrads.mfu.ac.th/ckfinder/userfiles/files/File22.pdf/ (วันที่สืบค้น 1 ธันวาคม 2559).

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. 2547. ตอนที่ 4 บทที่ 4 การอนุรักษ์พลังงานในระบบอื่นๆ. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://ienergyguru.com/2015/09/drying/ (วันที่สืบค้น 1 สิงหาคม 2559).

เกตุชุลี ถึงจอหอ. 2555. การสกัดน้ำตาลนอนรีดิวซ์ซิ่งจากขนุนในระดับห้องปฏิบัติการ ระดับโรงงานทดลองและการประเมินสมบัติการทนต่อการย่อยในสภาวะจำลองระบบทางเดินอาหารมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.[ออนไลน์].สืบค้นจากhttp://kb.psu.ac.th/psukb/handle/2010/8897/ (วันที่สืบค้น 1 ธันวาคม 2559).

ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2556. ตู้อบลมร้อน. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://home.kku.ac.th/chuare/12/hotairoven.pdf (วันที่สืบค้น 22 มกราคม 2560).

ดอเล๊าะ ดาลี. 2542. ชีววิทยาจุลินทรีย์. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา. ยะลา.

ดุษฎี อุตภาพ. 2556. เคมีของคาร์โบไฮเดต. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก:http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/chapter1.html (วันที่สืบค้น 1 ตุลาคม 2559).

ดนัย บุณยเกียรติ. 2004. สรีรวิทยาของพืช. [ออนไลน์]. สืบค้นจากhttp://web.agri.cmu.ac.th/hort/course/359311/PPHY10_hormone.htm (วันที่สืบค้น 23 ธันวาคม 2559).

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free radicals, Antioxidants and Antioxidant Activity Determination). วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีปีที่ 21(3) : หน้า 276-284.

รัชนี คงคาฉุยฉาย,ริญเจริญ ศิริสาร,อภิชาต วรรณวิจิตร และศิริพัฒน์ เรืองพยัคฆ์. 2550. สารต้านอนุมูลอิสระ. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก:http://dna.kps.ku.ac.th/index.php/articles-rice-rsc-rgdu-knowledge/36-free-radicle-antioxidant-anthrocyanidin (วันที่สืบค้น 24 สิงหาคม 2559).

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. 2552. เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2973/vacuum-drier (วันที่สืบค้น 6 สิงหาคม 2559).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ฝ่ายเทคโนโลยีอาหาร. 2556. ผลไม้อบแห้ง. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.arda.or.th/kasetinfo/north/processing/process_fruit_dry.html (วันที่สืบค้น 22 มกราคม 2560).

สุณัฏฐ์ณิชา บุญญาสถิต,สุดารัตน์ ประเสริฐไทย และอัจฉราภรณ์ เดือนกลาง. 2558. ผลขององค์ประกอบของสูตรอาหารที่มีผลต่อการผลิตบีต้ากลูแคนจากเห็ดกระดุมบราซิล (*Agaricus brasilliensis*) ด้วยวิธีการหมักในสภาวะอาหารเหลว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อานนท์ เอื้อตระกูล. 2548. เห็ดกระดุมบราซิล (*Agaricus blazei* Murrill). [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http:// www.greenclinic.in.th/agaricus-blazei.html. (วันที่สืบค้น 11 สิงหาคม 2559).

Alencar, U. D. and Clemente, E. 2013. Antifungal activity of residual medium and biomass of Basidiomycetes species cultivated in coconut water against *Candida albicans*. Jounal of Biotechnology. 1(2): 020-023

Barbisan LF, Miyamoto M, Scolastici C, Salvadori DM, Ribeiro LR, Eira AF, de Camargo JL. 2002. Influence of aqueous extract of *Agaricus blazei* on rat liver toxicity induced by different doses of diethyl nitrosamine. Journal of Ethno pharmacology. 83(1-2): 25–32.

BlogGang. 2013. การเพิ่มผลผลิตข้าวโพดอ่อน ตอนที่ 2. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=axiom&month=03-2013&date=08&group=3&gblog=165 (วันที่สืบค้น 21 ธันวาคม 2559).

BlogGang. 2011. เบต้ากลูแคน. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=ilovemaho&group=1&month=03-2011&date=18 (วันที่สืบค้น 25 ธันวาคม 2559).

Blumenkrantz, N., and Asboe-Hansen, G. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. Analytical Biochemistry. 54: 484-489.

Borchani, C., Besbes, S., Masmoudi, M., Blecker, C., Paquot, M., and Attia, H. 2011. Effect of drying methods on physico-chemical and antioxidant properties of date fibre concentrates. Food Chemistry. 125: 1194-1201.

Carvajal, A.E.S.S., Koehnlein, E.A., Soares, A.A., Eler, G.J., Bracht, A.T.A.N.A and Peralta, R.M. 2011. Bioactives of fruiting bodies and submerged culture mycelia of *Agaricus brasiliensis* (*A. blazei*) and their antioxidant properties. LWT - Food Science and Technology, Universidade Estadual de Maringa, Brazil. 46: 493–499.

Delmanto, R. D., de Lima, P. L. A., Sugui, M. M., da Eira, A. F., Salvadori, D. M. F, Speit, G., Ribeiro, L. R. 2001. Antimutagenic effect of *Agaricus blazei* Murrill mushroom on the

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

genotoxicity induced by cyclophosphamide. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 496: 15-21.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry. 28(3): 58-74.

Dreywood, R. 1946. Qualitative test for carbohydrate material. Industrial in Engineering Chemistry Analytical Edition. 18: 499.

Ebina T. and Fujiyama, Y. 1998. Antitumor effect of a peptide-glucan preparation extracted from *Agaricus blazei* in a double grafted tumor system in mice. Biotherapy. 11: 259–265.

Fan, L., Li, J., Deng, K., and Ai, L. 2012. Effects of drying methods on the antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Ganoder malucidum*. Carbohydrate Polymers 87(2): 58-74.

Fan, Y., Wu, X., Zhang, M., Zhao, T., Zhou, Y., Han, L. and Yang L. 2011. Physical characteristics and antioxidant effect of polysaccharides extracted by boiling water and enzymolysis from *Grifola frondosa*. International Journal of Biological Macromolecules. 48(5): 798-803.

Fei-Hong Zhai, Qi Wang and Jian-Rong Han. 2015. Nutritional components and antioxidant properties of seven kinds of cereals fermented by the basidiomycete *Agaricus blazei*. Journal of Cereal Science. 65: 202-208.

Fei-Hong Zhai and Jian-Rong Han. 2016. Mycelial biomass and intracellular polysaccharides yield of edible mushroom *Agaricus blazei* produced in wheat extract medium. Food Science and Technology. 66: 15-19.

Firenzuoli F., Gori L. and Lombardo G. 2007. The Medicinal Mushroom *Agaricus blazei* Murrill: Review of Literature and Pharmaco-Toxicological Problems. Center of Natural Medicine. Italy. 5(1): 3-15.

Giri, S., and Prasad, S. 2007. Drying kinetics and rehydration characteristics of microwave-vacuum and convective hot-air dried mushrooms. Journal of Food Engineering. 78(2): 512-521.

Ienergyguru. 2015. การทำแห้ง. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://ienergyguru.com/2015/09/drying/ (วันที่สืบค้น 24 กันยายน 2559).

Hamedi, A., Ghanati, F. and Vahidi, H. 2012. Study on the effects of different culture conditions on the morphology of *Agaricus blazei* and the relationship between morphology and

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

biomass or EPS production. Annals of Microbiology. 62(2): 699-707.

Himematsutake. 2016. *Agaricus blazei*. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก:http://www.medicalmushrooms.net /agaricus-blazei/ (วันที่สืบค้น 24 สิงหาคม 2559).

Izawa, S. and Inoue, Y. 2004. A screening system for antioxidants using thioredoxin-deficient yeast:discovery of thermostable antioxidant activity from *Agaricus blazei* Murill. Applied Microbiology and Biotechnology. 64(4): 537–542.

Jin L, Guan X, Liu W, Zhang X, Yan W, Yao W, Gao X. 2012. Characterization and antioxidant Activity of a polysaccharide extracted from *Sarcandrag labra*. Carbohydrate Polymers. 90(1): 524-32.

Kosem, N., Han, Y. H. and Moongkarndi, P. 2007. Antioxidant and crytoprotective activities of methanolic extract from *Garcinia mangostana* Hulls. Science Asia. 33: 283-292.

Ma, L., Chen, H., Zhu, W., and Wang, Z. 2011. Effect of different drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides extracted from mushroom *Inonotus obliquus*. Food Research International. 50(2): 633-640.

MedThai. 2016. มะพร้าว สรรพคุณและประโยชน์ของมะพร้าว. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B8%9E%E0%B8%A3%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7/ (วันที่สืบค้น 23ธันวาคม 2559).

Miller, G.L.1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry. 31: 426-428.

Mizuno, T. 1995. Bioactive biomolecules of mushrooms. Food function and medicinal effect of mushroom fungi. Food Review International. 11(1): 5-21.

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Annals of Biochemistry. 95(2): 351-358.

Puechkaset.com. 2015. ข้าวโพดฝักอ่อน. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://puechkaset.com/%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7%E0%B9%82%E0%B8%9E%E0%B8%94%E0%B8%9D%E0%B8%B1%E0%B8%81%E0%B8%AD%E0%B9%88%E0%B8%AD%E0%B8%99/ (วันที่สืบค้น 21 ธันวาคม 2559).

ThaiLoveHealth. 2013. ข้าวไรซ์เบอรี่ และสรรพคุณเพื่อสุขภาพ. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.thailovehealth.com/nutrient/health-18274.html (วันที่สืบค้น 21 ธันวาคม 2559).

Thongboonkerd, V., Chutipongtanate, S., and Kanlaya, R. 2006. Systematic evaluation of sample preparation methods for gel-based human urinary proteomics:

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

quantity, quality, and variability. Journal of Proteome Research. 5(1): 183-91.

Shu-Yao Tsai, Hui-Li Tsai and Jeng-Leun Mau. 2007. Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*. LWT -Food Science and Technology. 40(8): 1392-1402.

Soares, Andréia Assunção de Souza, Cristina Giatti Marques Daniel, Francielle Marina Ferrari, Gisele Pezente da Costa, Sandra Maria Gomes Peralta and Rosane Marina. 2009. Peralta Antioxidant activity and phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murrill) in two stages of maturity. Food Chemistry. 112(4): 775-781.

Songhai Wua, Feng Lia, ShaoyiJiaa, Haitao Rena, GuiliGonga, YanyanWanga, ZeshengLva and Yong liub. 2014. Drying effects on the antioxidant properties of polysaccharides obtained from *Agaricus blazei* Murrill. School of Chemical Engineering and Technology. China. 103: 414-417.

Su ZY, Hwang LS, Kuo YH, Shu CH, Sheen LY. 2008. Black soybean promotes the formation of active components with antihepatoma activity in the fermentation product of *Agaricus blazei*. Journal Agriculture Food Chemistry. 56(20): 9447-9454.

Wang, C., Chang, S., Inbaraj, B. S., and Chen, B. 2010. Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity. Food Chemistry. 120(1): 184–192.

Wang Jun Zhi, Hitoshilto, Keishiro Shimura. 2009. Observation on Treatment Effect of *Agaricus blazei* Murrill. Mie University. Japan. 33: 283-292.

Weebly. 2015. กล้วยอ่ะ. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://5700381imc.weebly.com/blog/4 (วันที่สืบค้น 12 มกราคม 2559)

Xu, J., Liu, W., Yao, W., Pang, X., Yin, D., and Gao, X. 2009. Carboxymethylation of a polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum* enhances its antioxidant activities in vitro. Carbohydrate Polymers. 78(2): 227–234.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ภาคผนวก 1ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Potato dextrose agar (PDA) เตรียม 1000 มิลลิลิตร

มันฝรั่งปอกเปลือกและหั่น	200	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
ผงวุ้น	20	กรัม

ต้มมันฝรั่งเป็นเวลา 20 นาที ในน้ำกลั่น จากนั้นกรองเอาน้ำใส เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำตาลกลูโคส และผงวุ้น คนให้เข้ากัน นำเข้าไมโครเวฟเพื่อให้วุ้นละลาย คนให้ทุกส่วนเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก 2ก การเตรียมอาหารเลี้ยงหัวเชื้อสูตร Potato dextrose broth (PDA) เตรียม 1000 มิลลิลิตร ดัดแปลงจาก carvajal และคณะ, 2011

อาหารแข็งสูตรที่ 1

กล้วยหอม	140	กรัม
สารสกัดยีสต์	3	กรัม
เปปโตน	3	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
ผงวุ้น	20	กรัม

ต้มกล้วยเป็นเวลา 20 นาที ในน้ำกลั่น จากนั้นกรองเอาน้ำใส เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำตาลกลูโคส สารสกัดยีสต์ เปปโตนและผงวุ้น คนให้เข้ากัน นำเข้าไมโครเวฟเพื่อให้วุ้นละลาย คนให้ทุกส่วนเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก 3ก การเตรียมอาหารเลี้ยงหัวเชื้อสูตร Potato dextrose broth (PDB) เตรียม 1000 มิลลิลิตร ดัดแปลงจาก สุณัฏฐ์ณิชา สุดารัตน์ และอัจฉราภรณ์, 2558

อาหารเหลวสูตรที่ 1

กล้วยหอม	140	กรัม
สารสกัดยีสต์	3	กรัม
เปปโตน	3	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลูโคส	20	กรัม

ต้มกล้วยเป็นเวลา 20 นาที ในน้ำกลั่น จากนั้นกรองเอาน้ำใส เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำตาลกลูโคส สารสกัดยีสต์ และเปปโตน คนให้ทุกส่วนเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

อาหารเหลวสูตรที่ 2

กล้วยหอม	140	กรัม
สารสกัดยีสต์	3	กรัม
เปปโตน	3	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
น้ำมะพร้าว	50	มิลลิลิตร

ต้มกล้วยเป็นเวลา 20 นาที ในน้ำกลั่น จากนั้นกรองเอาน้ำใส เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำตาลกลูโคส สารสกัดยีสต์ เปปโตนและน้ำมะพร้าว คนให้ทุกส่วนเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

อาหารเหลวสูตรที่ 3

กล้วยหอม	140	กรัม
สารสกัดยีสต์	3	กรัม
เปปโตน	3	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
น้ำมะพร้าว	100	มิลลิลิตร

ต้มกล้วยเป็นเวลา 20 นาที ในน้ำกลั่น จากนั้นกรองเอาน้ำใส เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำตาลกลูโคส สารสกัดยีสต์ เปปโตนและน้ำมะพร้าว คนให้ทุกส่วนเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

อาหารเหลวสูตรที่ 4

กล้วยหอม	140	กรัม
สารสกัดยีสต์	3	กรัม
เปปโตน	3	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
น้ำมะพร้าว	150	มิลลิลิตร

ต้มกล้วยเป็นเวลา 20 นาที ในน้ำกลั่น จากนั้นกรองเอาน้ำใส เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นเติมน้ำตาลกลูโคส สารสกัดยีสต์ เปปโตนและน้ำมะพร้าว คนให้ทุกส่วนเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

อาหารแข็งสูตรที่ 5

หัวบีท	140	กรัม
สารสกัดยีสต์	3	กรัม
เปปโตน	3	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
น้ำมะพร้าว	50	มิลลิลิตร

ต้มกล้วยเป็นเวลา 90 นาที ในน้ำกลั่น จากนั้นกรองเอาน้ำใส เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำตาลกลูโคส สารสกัดยีสต์ เปปโตนและน้ำมะพร้าว คนให้ทุกส่วนเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

อาหารแข็งสูตรที่ 6

ข้าวโพดอ่อน	140	กรัม
สารสกัดยีสต์	3	กรัม
เปปโตน	3	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
น้ำมะพร้าว	50	มิลลิลิตร

ต้มข้าวโพดอ่อนเป็นเวลา 60 นาที ในน้ำกลั่น จากนั้นกรองเอาน้ำใส เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำตาลกลูโคส สารสกัดยีสต์ เปปโตนและน้ำมะพร้าว คนให้ทุกส่วนเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารและการวิเคราะห์

1.เทคนิค Slide culture แบบตัดชิ้นวุ้น (ดอเล๊าะ, 2542)

1.1 การเตรียมจานเพาะเชื้อ ใช้จานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร นำกระดาษทิชชูวางไว้ในจานเพาะเชื้อ นำไม้จิ้มฟันวางลงแล้วนำสไลด์ที่สะอาดวางบนไม้จิ้มฟันแล้วนำไปอบเพื่อฆ่าเชื้อหรือทำให้ปราศจากเชื้อ

1.2 การเตรียมวุ้น วุ้นที่เตรียมคือ potato dextrose agar เทบนจานเพาะเชื้อซึ่งเทหนากว่าปกติ แล้วตัดวุ้นเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดประมาณด้านละ 1 เซนติเมตร หลายๆชิ้น

1.3 การนำเชื้อราลงเพาะ นำวุ้นที่ตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส วางบนสไลด์ที่ปลายด้ายหนึ่ง นำเชื้อที่ต้องการตรวจมาวางลงบนแผ่นวุ้น แล้วเกลี่ยให้ทั่วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นนำน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อเทลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 11.5 มิลลิลิตร เพื่อให้เกิดความชื้นแล้วนำไปเก็บในที่มิดชิดคอยสังเกตจนเชื้อราเจริญงอกงามเกือบถึงขอบของกระจกปิดสไลด์ (ประมาณ 2 สัปดาห์)

1.4 การถอด Slid culture ถอดกระจกปิดสไลด์ออกแล้วล้างด้านบนด้วยแอลกอฮอล์ จับด้านล่างที่ติดกับวุ้นหงายขึ้นแล้วหยดแอลกอฮอล์ 1 หยด ทิ้งไว้จนแห้ง หลังจากนั้นเตรียมสไลด์อีกแผ่นหนึ่ง หยด lactophenal cotton blue 1 หยด ที่ปลายด้านหนึ่งของสไลด์ แล้วนำกระจกปิดสไลด์ที่ปิดบนวุ้นแตะบน lactophenal cotton blue ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ แล้วนำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ส่วนสไลด์ที่มีวุ้นวางอยู่ให้เขี่ยวุ้นทิ้งไป ล้างสไลด์ด้านหลังด้วยแอลกอฮอล์ส่วนด้านบนที่ติดกับวุ้นหยดแอลกอฮอล์ลงไป 1 หยด ทิ้งไว้จนแห้งแล้วนำ lactophenal cotton blue มาหยดลงบริเวณที่เคยวางวุ้น นำกระจกปิดสไลด์ที่ปราศจากเชื้อมาปิดผึ่งสไลด์ที่อุณหภูมิห้องจน lactophenal cotton blue หมาดลง ทาขอบทั้งสี่ของกระจกปิดสไลด์ด้วยน้ำยาทาเล็บ นำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์

2.การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธีไดไนโตรซาลิไซลิค (Miller, 1959)

2.1 สารเคมี

1. การเตรียมสารละลายกรด 3-5 ไดไนโตรซาลิไซลิค (1000 มิลลิลิตร)

เตรียมโดยชั่งดีเอ็นเอส 10 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายด่างทีละน้อย (โซเดียม-ไฮดรอกไซด์ 16 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร) คนให้ละลายเข้ากันจนหมด นำไปอุ่นในอ่างน้ำร้อนจนกระทั่งได้สารละลายใส จากนั้นเติมโพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต (potassium sodium tartate) ลงไปทีละน้อยจนครบ 300 กรัม ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1000 มิลลิลิตร เก็บรักษาไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

2. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เตรียมโดยชั่งกลูโคสมา 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรดังนี้

ตารางภาคผนวกที่ 1ข การเจือจางสารละลายกลูโคสมาตรฐานด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 0-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายเริ่มต้น ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หลอดที่	สารละลายกลูโคส (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	0	10	0
2	1	9	0.1
3	2	8	0.2
4	3	7	0.3
5	4	6	0.4
6	5	5	0.5

2.2 วิธีการทดลอง

1. ดูดสารละลายตัวอย่าง (ที่ผ่านการหมุนเหวี่ยงแยกเซลล์ออกแล้ว) ในกรณีของน้ำหมักที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลแล้ว หรือสารละลายตัวอย่าง (จากการนำตะกอนเซลล์ที่ได้มาต้ม) ในกรณีของเส้นใยที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอล หรือสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (เข้มข้น 0-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ต้องการวิเคราะห์ 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

2. เติมสารละลายไดไนโตรซาลิไซลิคปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

3. นำหลอดทดลองไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที

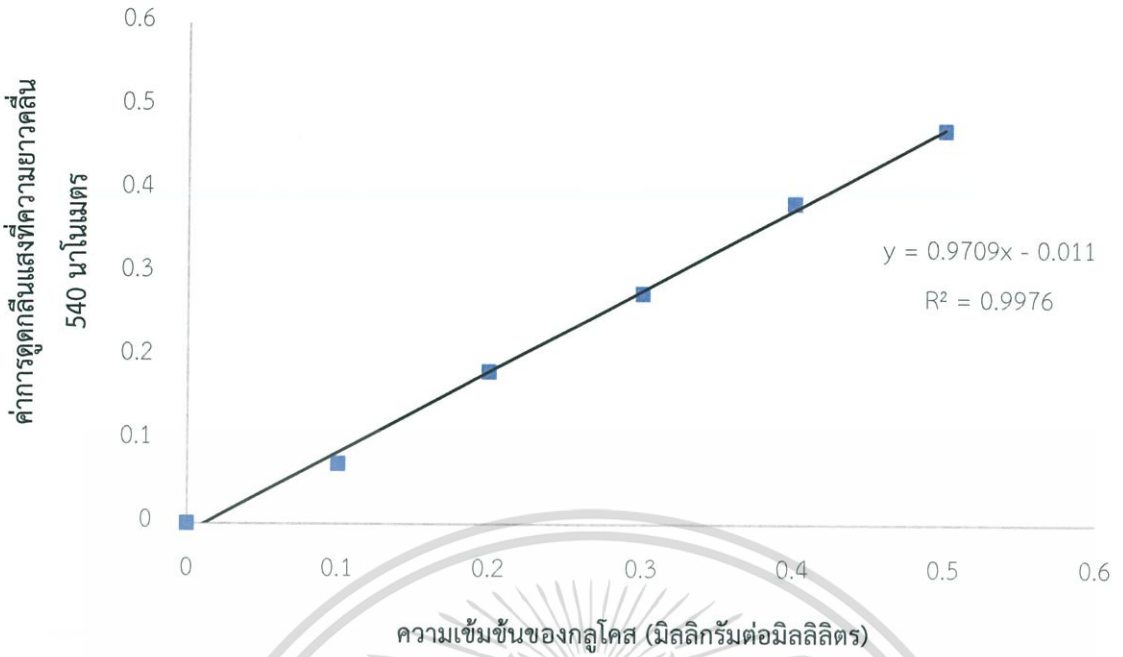
4. แช่หลอดทดลองในอ่างน้ำเย็น 5 นาที

5. เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

6. นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน (รูปภาคผนวกที่ 2ข) เพื่อหาความเข้มข้นของกลูโคสในสารละลายตัวอย่าง หรือคำนวณได้จาก

$$\text{ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{(ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร) x (อัตราการเจือจาง)}}{\text{(ความชันของกราฟมาตรฐาน)}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพผนวกที่ 1ข กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

3.การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีฟีนอลซัลฟิวริก (Dubois, 1956)

3.1 สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริก (reagent grade 98%, specific gravity 1.84)

2. ฟีนอลร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก เตรียมโดยชั่งกลูโคสมา 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 20-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้

ตารางภาคผนวกที่ 2ข การเจือจางสารละลายกลูโคสมาตรฐานด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 20-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายเริ่มต้น ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หลอดที่	สารละลายกลูโคส (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	2	8	20
2	3	7	30
3	4	6	40
4	5	5	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างหรือสารละลาย (ที่ผ่านการหมุนเหวี่ยงแยกเซลล์ออกแล้ว) ในกรณีของน้ำหมักที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอลแล้ว หรือสารละลายตัวอย่าง (จากการนำตะกอนเซลล์ที่ได้มาต้ม) ในกรณีของเส้นใยที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอล หรือสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (เข้มข้น 20-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมฟีนอลร้อยละ 5 ลงไป 0.5 มิลลิลิตร

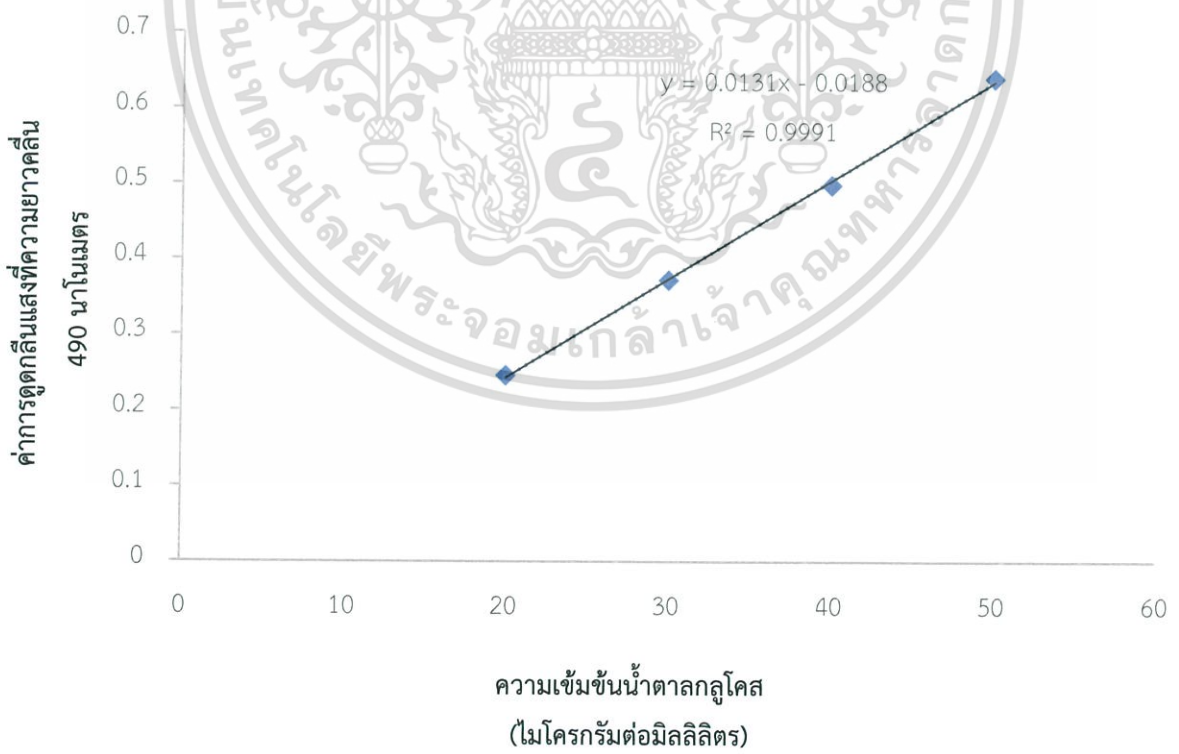
2. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตรลงไปอย่างรวดเร็ว โดยปล่อยกรดลงไปที่ผิวหน้าของเหลวโดยตรงจะทำให้การผสมเกิดขึ้นได้ดีกว่าการค่อยๆปล่อยลงที่ข้างหลอด

3.ตั้งหลอดทดลองของสารผสมนี้ไว้เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเขย่าแล้วนำมาบ่มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-20 นาที

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยถ้าเป็นน้ำตาลเฮกโซสวัดที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ส่วนน้ำตาลเพนโตสและกรดยูโรนิกนั้นวัดที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร

5. นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน (รูปภาคผนวกที่ 3ข) เพื่อหาความเข้มข้นของกลูโคสในสารละลายตัวอย่าง หรือคำนวณได้จาก

$$\text{ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{(ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร) x (อัตราการเจือจาง)}}{\text{(ความชันของกราฟมาตรฐาน) x (1000)}}$$



รูปภาพผนวกที่ 2ข กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้น 20, 30, 40 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การคำนวณหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์

ปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์ คำนวณได้จาก

ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ (กรัมต่อลิตร) เท่ากับ น้ำตาลทั้งหมด ลบ น้ำตาลรีดิวซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ข้อมูลผลการทดลองและการคำนวณทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 1ค ปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ ของสูตรอาหาร 1 ที่เวลา 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 และ 18 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที

Times(d)	Culture medium	Mean(g/L)	Std. Deviation	N
2	1	5.3333	.11547	3
4		10.6667	.11547	3
6		12.0000	.20000	3
8		17.3333	.11547	3
10		18.6667	.11547	3
12		19.3333	.30551	3
14		20.0000	.20000	3
16		14.6667	.11547	3
18		8.0000	.20000	3
Total		13.9259	.29020	27

ตารางภาคผนวกที่ 2ค การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ ของสูตรอาหาร 1 เวลา 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 และ 18 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Cell dry weight	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.630	8	.204	6.548	.000
Within Groups	.560	18	.031		
Total	2.190	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3ค แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ(กรัมต่อลิตร) ของสูตรอาหาร 1 เวลา 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 และ 18 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Times (d)	Culture medium	N	Subset				
			1	2	3	4	5
2	1	3	5.33334				
4		3	8.00000	8.00000			
6		3	10.66666	10.66666	10.66666		
8		3		12.00000	12.00000	12.00000	
10		3			14.66666	14.66666	14.66666
12		3				17.33334	17.33334
14		3				18.66666	18.66666
16		3				19.33334	19.33334
18		3					20.00000

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางภาคผนวกที่ 4ค ปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 4 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Times(d)	Culture medium	Mean(g/L)	Std. Deviation	N
6	1	12.0200	.00500	3
	2	12.9540	.00252	3
	3	10.0000	.00361	3
	4	9.0800	.00361	3
8	1	13.7540	.00351	3
	2	14.1400	.00529	3
	3	10.5660	.00306	3
	4	9.4800	.00436	3
10	1	15.7460	.00416	3
	2	16.9940	.00351	3
	3	10.4000	.00100	3
	4	9.2860	.00322	3
12	1	17.0400	.00200	3
	2	16.4860	.00306	3
	3	10.0540	.00208	3
	4	8.1000	.00400	3
Total		12.2560	.15049	48

ตารางภาคผนวกที่ 5ค การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 4 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Cell dry weight	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.064	15	.071	5655.867	.000
Within Groups	.000	32	.000		
Total	1.064	47			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 6ค แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ(กรัมต่อลิตร) ของสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Times (d)	Culture Medium	N	Subset													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
12	4	3	8.1000													
6	4	3		9.0800												
10	4	3			9.2866											
8	4	3				9.4800										
6	3	3					10.0000									
12	3	3					10.0534									
10	3	3						10.4000								
8	3	3							10.5666							
6	1	3								12.0200						
6	2	3									12.9534					
8	1	3										13.7534				
8	2	3											14.1400			
10	1	3												15.7466		
12	2	3													16.4866	
10	2	3														16.9934
12	1	3														17.0400

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางภาคผนวกที่ 7ค ปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Times(d)	Culture medium	Mean(g/L)	Std. Deviation	N
6	1	12.9540	.00907	3
	5	8.0860	.00416	3
	6	6.2400	.00100	3
8	1	16.2140	.00874	3
	5	9.9600	.00300	3
	6	8.0060	.00862	3
10	1	16.4600	.00200	3
	5	9.5460	.00929	3
	6	7.5800	.00436	3
12	1	15.0260	.00252	3
	5	9.1600	.00600	3
	6	6.814	.01801	3
Total		10.5040	.17939	36

ตารางภาคผนวกที่ 8ค การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Cell dry weight	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.125	11	.102	1666.464	.000
Within Groups	.001	24	.000		
Total	1.126	35			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 9ค แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำหนักแห้งของมวลชีวภาพ(กรัมต่อลิตร) ของสูตรอาหารทั้ง 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลวที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Times (d)	Culture medium	N	Subset									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
12	6	3	6.2400									
6	6	3		6.8134								
10	6	3			7.5800							
8	6	3				8.0066						
6	5	3				8.0866						
12	5	3					9.1600					
10	5	3						9.5466				
8	5	3							9.9600			
6	1	3								12.9534		
6	1	3									15.0266	
8	1	3										16.2134
8	1	3										16.4600

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางภาคผนวกที่ 10ค ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Times(d)	Culture medium	Mean(g/L)	Std. Deviation	N
6	1	.4768	.09642	3
	5	.1754	.02156	3
	6	.0729	.19029	3
8	1	.6524	.13146	3
	5	.2538	.04258	3
	6	.1747	.06786	3
10	1	.6432	.14865	3
	5	.2606	.03499	3
	6	.2997	.28266	3
12	1	.6419	.30969	3
	5	.3050	.01499	3
	6	.2245	.09045	3
Total		.3484	.23403	36

ตารางภาคผนวกที่ 11ค การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนค่าเฉลี่ยปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Non reduce sugar	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.363	11	.124	5.362	.000
Within Groups	.554	24	.023		
Total	1.917	35			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 12ค ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Times(d)	Culture medium	N	Subset		
			1	2	3
6	6	3	.07292		
8	6	3	.17466		
6	5	3	.17535		
12	6	3	.22450	.22450	
8	5	3	.25381	.25381	
10	5	3	.26063	.26063	
10	6	3	.29965	.29965	
12	5	3	.30498	.30498	
6	1	3		.47678	.47678
12	1	3			.64189
10	1	3			.64315
8	1	3			.65241

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 13ค ปริมาณอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลวที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Times(d)	Culture medium	N	Subset				
			1	2	3	4	5
6	5	3	.01807				
6	1	3	.03796				
6	6	3	.04875	.04875			
12	5	3	.13473	.13473	.13473		
10	6	3	.14696	.14696	.14696		
12	6	3	.14980	.14980	.14980		
8	5	3	.15136	.15136	.15136		
10	5	3			.21015	.21015	
12	1	3			.23429	.23429	
8	6	3			.27232	.27232	
10	1	3				.32477	.32477
8	1	3					.44174

ตารางภาคผนวกที่ 14ค การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Non reduce sugar	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.511	11	.046	6.016	.000
Within Groups	.185	24	.008		
Total	.696	35			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 15ค ปริมาณอินตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 3 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Times(d)	Culture medium	Mean(g/L)	Std. Deviation	N
6	1	.0380	.03222	3
	5	.0181	.13587	3
	6	.0488	.04760	3
8	1	.4417	.20929	3
	5	.1514	.04551	3
	6	.2723	.11560	3
10	1	.3248	.03289	3
	5	.2102	.03246	3
	6	.1470	.02430	3
12	1	.2343	.04729	3
	5	.1347	.01579	3
	6	.1498	.08030	3
Total		.1809	.14105	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 16ค ปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 4 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลวที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Times(d)	Culture medium	Mean(g/L)	Std. Deviation	N
6	1	.2081	.04130	3
	2	.2735	.08832	3
	3	.2667	.01441	3
	4	.2067	.00378	3
8	1	.4712	.17353	3
	2	.4446	.10716	3
	3	.2840	.03269	3
	4	.3750	.03847	3
10	1	.4858	.08730	3
	2	.6680	.12088	3
	3	.3189	.02328	3
	4	.4439	.07048	3
12	1	.6748	.11261	3
	2	.6155	.09882	3
	3	.3499	.12297	3
	4	.6984	.02594	3
Total		.4241	.17882	48

ตารางภาคผนวกที่ 17ค การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ของสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน 4 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Non reduce sugar	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.263	15	.084	11.243	.000
Within Groups	.240	32	.007		
Total	1.503	47			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 18ค แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของค่าเฉลี่ยปริมาณเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์(กรัมต่อลิตร) ของสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร ที่เวลา 6, 8, 10 และ 12 วัน ในสภาวะอาหารเหลว ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที

Times (d)	Culture medium	N	Subset						
			1	2	3	4	5	6	7
6	4	3	.20669						
6	1	3	.20805						
6	3	3	.26671	.26671					
6	2	3	.27352	.27352					
8	3	3	.28402	.28402	.28402				
10	3	3	.31889	.31889	.31889	.31889			
12	3	3	.34985	.34985	.34985	.34985	.34985		
8	4	3		.37502	.37502	.37502	.37502		
10	4	3			.44388	.44388	.44388		
8	2	3			.44455	.44455	.44455		
8	1	3				.47123	.47123	.47123	
10	1	3					.48584	.48584	
12	2	3						.61548	.61548
10	2	3							.66804
12	1	3							.67479
12	4	3							.69842

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง