การใช้เทคนิคมาเซอเรชั่น (maceration) เพื่อเพิ่มสารประกอบฟีนอลิกในไวน์แดงที่เสริมด้วยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

Using of maceration technique for phenolic compounds increasing in red wine, with *Cordyceps militaris* addition

ศิรัส ฌานปัญญาชน

สวรส ปานฉิม

สิริวรินทร์ เจริญจิตร

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Using of maceration technique for phenolic compounds increasing in red wine, with *Cordyceps militaris* addition

SIRAS CHANPANYACHON

SAWAROT PANCHIM

SIRIWARIN CHAROENCHIT

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การใช้เทคนิคมาเซอเรชั่น (maceration) เพื่อเพิ่มสารประกอบฟีนอลิกในไวน์แดงที่เสริมด้วยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

Using of maceration technique for phenolic compounds increasing in red wine with *Cordyceps militaris* addition

ชื่อนักศึกษา นายศิรัส ฌานปัญญาชน รหัสนักศึกษา 58050819

นางสาวสวรส ปานฉิม รหัสนักศึกษา 58050824

นางสาวสิริวรินทร์ เจริญจิตร รหัสนักศึกษา 58050828

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์อารี ฤทธิบูรณ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ ประธานกรรมการ	
รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ กรรมการ	
รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ การใช้เทคนิคมาเซอเรชั่น (maceration) เพื่อเพิ่มสารประกอบฟีนอลิกในไวน์แดงที่เสริมด้วยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ชื่อนักศึกษา นายศิรัส ฌานปัญญาชน รหัสนักศึกษา 58050819
นางสาวสวรส ปานฉิม รหัสนักศึกษา 58050824
นางสาวสิริวรินทร์ เจริญจิตร รหัสนักศึกษา 58050828

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์อารี ฤทธิบูรณ์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้จะทำการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเชาสีทอง จากนั้นนำมาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและวิเคราะหสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในดอกเห็ดถั่งเชาสีทองดวยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถภาพสูง ผลที่ได้จากการทดลองพบวามีปริมาณคอรไดเซปนเทากับ 9.91 มิลลิกรัมตอ 1 กรัมน้ำหนักแห้ง จากนั้นทำการศึกษาเกี่ยวกับกับการยับยั้งเชื้อของเห็ดถั่งเช่าสีทองกับยีสต์ *saccharomyces cerevisiae* โดยการนำทั้งสองไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง PDA และนำไปบ่ม ซึ่งผลคือถั่งเช่าสีทองไม่สามารถสามารถยับยั้งเชื้อ *saccharomyces cerevisiae* ได้ จากนั้นเราจึงไปสู่การศึกษาต่อไปนั้นคือการนำเห็ดถั่งเช่าสีทองในปริมาณที่แตกต่างกันที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 และตัวอย่างชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง นำมาหมักร่วมกับองุ่นในกระบวนการหมักไวน์แดงโดยวิธีการหมักแบบมาเซอเรชั่น เพื่อต้องการศึกษาความสามารถในการเพิ่มสารสำคัญจากเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้นคือ สารคอร์ไดเซปินและรวมถึงความสามารถในการเพิ่มสารประกอบฟีนอลิกในไวน์แดงโดยใช้เวลาในการหมักเป็นเวลา 20 วันที่ อุณภูมิห้องและเก็บตัวอย่างทุกๆ 5 วันเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีอื่นๆนั้นคือ แอลกอฮอล์ ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และ ค่า pH เพื่อดูแนวโน้มในกระบวนการหมักไวน์แดง ผลปรากฏว่าไวน์แดงที่ไม่ได้ใส่เห็ดถั่งเช่าสีทองลงไปมีค่าแอลกอฮอล์สูงตั้งแต่วันที่ 5 คือ 12.5±0.4 ในส่วนของสารคอร์ไดเซปินและฟีนอลิกพบว่าในส่วนของคอไดเซปินค่าดีที่สุดคือวันที่ 15 ในตัวอย่างที่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าร้อยละ 1.2 มีปริมาณคอไดเซปินอยู่ที่ 5.1±1.05 มิลลิกรัม/กรัมและปริมาณฟีนอลิกค่าดีที่สุดคือวันที่ 20 ในตัวอย่างที่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าร้อยละ 1.6 มีปริมาณอยู่ที่ 2,319.78±325.62 มิลลิกรัม/ลิตร โดยทั้งคู่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระยะเวลาในการหมักและปริมาณในการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองในไวน์แดงอื่นๆ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 และหลังจากพาสเจอไรซ์แล้ว พบว่าสารคอร์ไดเซปินได้สูญเสียไปในขณะพาสเจอไรซ์ แต่สารประกอบฟีนอลิกมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อย และสุดท้ายเราได้ทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยมี สีความใส กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำสำคัญ : ไวน์ เห็ดถั่งเช่าสีทอง maceration สารประกอบฟีนอลิก สารคอร์ไดเซปิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Using of maceration technique for phenolic compounds increasing in red wine with *Cordyceps militaris* addition
Students	Mr. Siras Chanpanyachon Student ID 58050819
	Miss Sawarot Panchim Student ID 58050824
	Miss SIRIWARIN Charoenchit Student ID 58050828
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2018
Advisor	Assoc. Prof. Aree Rittiboon

Abstract

In this study, Fruiting bodies of C. militaris were cultivated. Then, their bioactive compounds were extracted and analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). It was found that the amount of cordycepin was 9.91 mg/g (D.W.). Then, we studied whether Cordyceps militaris and Saccharomyces cerevisiae inhibited each other's growth on a Potato-Dextrose-Agar medium and found that they did not. Then, we added 0.8% ,1.2%, 1.6% of C. militaris to grapes, macerated them for 20 days at room temperature into red wine, then collected the samples every 5 days and analyzed the amount of cordycepin and other phenolic compounds in the control and each treatment sample. We also monitored the trends of alcoholic content, total soluble solids, and pH of the macerated samples. The red wine with no cordyceps added contained 12.5 ± 0.4% high alcoholic content on the 5th day. The highest cordycepin content at 5.1±1.05 mg/g was obtained on the 15th day of maceration of 1.2% added cordyceps treatment. The highest phenolic compound content at 2319.78 ± 325.62 mg/l was obtained on the 20th day of maceration of 1.6% added cordyceps treatment. No significant relationships were found between the number of fermentation time and amount of C. militaris filling in other redwines in any treatments at $p > 0.05$. Furthermore, some cordycepin was lost during pasteurization but the content of phenolic compounds decreased only slightly. Finally, we tested the color, clarity, smell, taste of the control and treatment samples and the overall preference of 30 tasters and found that there were no significant differences among all of these aspects.

Keywords: wine, C. militaris, maceration, cordycepin, phenolic compounds

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ให้คำแนะนำ คำปรึกษา และข้อคิดเห็นต่างๆ ในทุกๆด้านให้ความร่วมมือ ให้ความช่วยเหลือ เกื้อกูลในด้านต่างๆตลอดจนแนวทางการแก้ปัญหาต่างๆ อันเป็นประโยชน์อย่างมากในการทำงานโครงงานพิเศษเล่มนี้ ทางคณะผู้จัดทำจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ และ รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ ที่กรุณาเป็นประธานกรรมการ และกรรมการ อีกทั้งยังคอยให้คำแนะนำ ปรับปรุง แก้ไขในการทำโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณ นายตันติกร เติมแก้ว และนางสาวจิราภรณ์ พิมพ์ทอง ที่คอยให้คำปรึกษาแนะนำเรื่องของเครื่องมือในการใช้งานต่างๆ และข้อมูลต่างๆ ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา นักศึกษาปริญญาโท และเพื่อนๆ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพประจำห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงราที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ จนโครงงานพิเศษสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณกำลังใจจากแดนไกล ที่คอยเป็นกำลังใจอยู่ห่างๆ ทำให้ผู้วิจัยมีแรงที่จะต่อสู้กับความเหนื่อยล้าและพร้อมที่จะดำเนินการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ท้ายสุดขอขอบคุณครอบครัวผู้ปกครอง ตลอดจนญาติพี่น้องทุกคนสำหรับความห่วงใย กำลังใจและสนับสนุนส่งเสริมมาโดยตลอดซึ่งเป็นแรงสำคัญจนทำให้การทำวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ศิรัส ฌานปัญญาชน
สวรส ปานฉิม
สิริวรินทร์ เจริญจิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ข
กิตติกรรมประกาศ.....ค
สารบัญ.....ง
สารบัญตาราง.....ฌ
สารบัญรูป.....ญ
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....3
2.1 ไวน์ (wine).....3
2.1.1 ชนิดไวน์.....3
2.1.1.1 การจำแนกสีของไวน์.....3
2.1.1.2 จำแนกตามปริมาณแอลกอฮอล์ที่มีในไวน์.....4
2.1.1.3 จำแนกตามความหวาน.....4
2.1.1.4 จำแนกตามปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์.....4
2.1.1.5 จำแนกตามการเติมกลิ่นสมุนไพร.....5
2.1.1.6 จำแนกตามโอกาสที่ดื่ม.....5
2.1.1.7 อื่น ๆ.....5
2.1.2 ประโยชน์และโทษของไวน์.....5
2.1.3 กระบวนการหมักไวน์.....6
2.1.3.1 วิธีการทั่วไปในกระบวนการหมักไวน์ผลไม้ไทย.....6
2.2 เห็ดถั่งเช่า (cordycepin).....9
2.2.1 ถั่งเช่าที่มีชื่อเสียง มีอยู่ 4 ชนิด.....9
2.2.2 สรรพคุณของสาระสาคัญในถั่งเช่า.....10
2.3 เห็ดถั่งเช่าสีทอง (Cordyceps militaris).....11
2.3.1 อนุกรมวิธานของเห็ดถั่งเช่าสีทอง.....12
2.3.2 ประโยชน์ของเห็ดถั่งเช่าสีทอง.....13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.3.3 ข้อมูลทางการตลาดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง....13
2.3.4 การเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทอง....14
2.4 maceration....15
2.4.1 คำนิยามศัพท์เฉพาะ....15
2.4.2 เทคนิค maceration ในการหมักไวน์....15
2.5 สาระสำคัญในไวน์....16
2.5.1 สารประกอบฟีนอลิก....16
2.5.2 คอร์ไดเซปิน....17
2.5.3 อะดีโนซีน....17
2.6 มาตรฐานการผลิตไวน์ผลไม้....18
2.6.1 ขอบข่าย....18
2.6.2 บทนิยาม....16
2.6.3 คุณลักษณะที่ต้องการ....19
2.6.4 สุขลักษณะ....20
2.6.5 การบรรจุ....20
2.6.6 เครื่องหมายและฉลาก การบรรจุ....20
2.6.7 การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน....20
2.6.8 การทดสอบ....21
2.6.8.1 การทดสอบคุณลักษณะทางเคมี....21
2.6.8.2 การทดสอบคุณลักษณะทางกายภาพ....21
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....23
บทที่ 3 วิธีการดาเนินงานวิจัย....24
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี....27
3.1.1 วัตถุดิบ....27
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์....27
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ....27
3.1.4 อุปกรณ์ และเครื่องมือ....27
3.1.5 สารเคมี....28
3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าสีทอง....29
3.2.1.1 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยหนอนในขวดแก้ว....29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.1.2 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารแข็ง PDA เสริม....29
3.2.1.3 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว PDB....29
3.2.1.4 การถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารเหลว PDB เสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่คาร์บอน....29
3.2.2 การเพาะเลี้ยงสายพันธุ์ของเห็ดถั่งเช่าสีทอง....30
3.2.3 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าสีทอง....30
3.2.3.1 การเตรียมตัวอย่าง....30
3.2.3.2 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ....30
3.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารคอไดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง....30
3.2.4.1 การเตรียมตัวอย่าง....30
3.2.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารคอไดเซปิน....30
3.3 การทดสอบการยับยั้งระหว่างเชื้อ *Cordyceps militaris.* และ *Staphylococcu aureus*....31
3.4 ขั้นตอนการหมักไวน์....34
3.4.1 การเตรียมกล้าเชื้อในการหมัก....31
3.4.2 กระบวนการหมักไวน์....31
3.4.3 การศึกษาการแปรผันปริมาณการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไวน์....32
3.5 วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในไวน์แดง....32
3.6 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค....32
3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ....33
บทที่ 4 ผลการทดลอง....35
4.1 ผลของการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง....35
4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าสีทอง....37
4.3 การศึกษาการยับยั้งของเชื้อยีสต์และเห็ดถั่งเช่าสีทอง....37
4.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพของไวน์....38
4.5 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีของไวน์....38
4.6 การศึกษาการเพิ่มขึ้นของสารคอไดเซปินและสารประกอบฟีนอลิก....41
4.7 ผลที่เกิดขึ้นหลังจากพาสเจอรไรซ์....42
4.8 การทดสอบความชอบและความพึงพอใจ....43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ....47
5.1 สรุปผลการวิจัย....47
5.2 ข้อเสนอแนะ....48
เอกสารอ้างอิง....49
ภาคผนวก....53
ภาคผนวก ก สูตรอาหาร....54
ภาคผนวก ข รูปภาพระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง....57
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์และการคำนวณ....61
ภาคผนวก ง วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแอลกฮอล์ด้วยเครื่องอีบูลลิโอมิเตอร์....69
ภาคผนวก จ วิธีการการใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC)....71
ภาคผนวก ฉ ผลการทดลอง....75
ภาคผนวก ช วิธีใช้โปรแกรม minitap....77
ภาคผนวก ช ข้อมูลผลการทดลองและการคำนวณทางสถิติ....83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 องค์ประกอบที่พบในไวน์.....6
2.2 หลักเกณฑ์การให้คะแนนในการทดสอบ ความใส สี กลิ่น รสชาติ และคุณภาพโดยรวม ของไวน์ผลไม้.....23
4.1 ตารางแสดงค่า ร้อยละแอลกอฮอล์ TSS และค่า pH ของชุดควบคุมและชุดที่เพิ่มด้วยเห็นถังเช่าสีทองปริมาณแตกต่างกันที่ร้อยละ0.8, 1.2และ 1.6ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 20.....43
4.2 ร้อยละปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของชุดควบคุมไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองและ ชุดที่เติมด้วยเห็นถั่งเช่าสีทองปริมาณแตกต่างที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 20 43
4.3 ปริมาณสารคอร์ไดเซปินของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองและชุดที่เติมด้วย เห็ดถั่งเช่าสีทองปริมาณแตกต่างกันที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 20.....44
4.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองและชุดที่เติม ด้วยเห็ดถั่งเช่าสีทองปริมาณแตกต่างกันที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 20.....45
4.5 ค่าเฉลี่ยของแบบสารวจความพึงพอใจของไวน์แดงของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่า สีทองและชุดตัวอย่างที่เติมเห็ดถังเช่าสีทองที่ปริมาณแตกต่างกันที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ทั้งในเรื่องของสี ความใส กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม.....46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 ไวน์ (wine) 3
2.2 สมการปฏิกิริยาการหมัก.....7
2.3 กระบวนการผลิตไวน์.....
10
2.4 วงจรชีวิตของตัวหนอนผีเสื้อ (a) และเห็ดถั่งเช่า (b).....11
2.5 เห็ดถั่งเช่าชนิดต่างๆ ที่มีความสาคัญทางการแพทย์.....11
2.6 เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*).....12
2.7 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกโดยทั่วไปเช่าสีทอง.....16
2.8 โครงสร้างทางเคมีของคอร์ไดเซปิน และกรดคอร์ไดเซปิน.....18
2.9 โครงสรางทางเคมีของอะดีโนซีน.....18
4.1 ลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA.....35
4.2 ลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญในอาหารเหลว PDB.....35
4.3 ลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญบนอาหารแข็งข้าวไรซ์เบอรี่และเสริม
ด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่.....36
4.4 ลักษณะของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว PDB เสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์
เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่เป็นระยะเวลา 60 วัน.....36
4.5 ลักษณะของการยับยั้งระหว่างเชื้อ *Cordyceps militaris*. และ *Staphylococcus aureus*.บน
อาหารแข็ง PDA ใน 2 สภาวะ (ก) สภาวะของยีสต์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ (ข) สภาวะ
ของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....37
4.6 ลักษณะของสีไวน์เมื่อทาการหมักครบ 20 วัน ในแต่ละตัวอย่าง.....38
4.7 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณร้อยละแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวน
การหมักไวน์ในแต่ละตัวอย่าง.....40
4.8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) ในแต่ละตัวอย่าง.....40
4.9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในกระบวนการหมักไวน์แดงในแต่ละตัวอย่าง.....42
4.10 การฟแสดงการเปรียบเทียบค่าสารประกอบฟีนอลิกในไวน์แดงระหว่างวันที่ 20 ของการ หมักกับ
หลังการพาสเจอไรซ์อุณหภูมิ65 องศาเซลเซียส 15 นาที.....45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เห็ดถั่งเช่าสีทอง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cordyceps militaris* เห็ดถั่งเช่าเป็นที่รู้จักมาตั้งแต่อดีตกาล ชาวจีนเชื่อว่าเป็นยาอายุวัฒนะ มีสรรพคุณช่วยปรับสมดุลของร่างกาย ตำราการแพทย์ทิเบตมีการบันทึกไว้ว่า เห็ดถั่งเช่าถูกใช้เป็นยาชูกำลัง ใช้รักษาสารพัดโรค (Winkler, 2008) เห็ดถั่งเช่าสีทองอุดมไปด้วยสารสำคัญหลายชนิดที่มีผลทางชีวภาพ เช่น โมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์ โพลีแซคคาไรด์ (เบต้า-กลูแคน) แมนนิทอล กาแล็กโตส อะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน กรดคอร์ไดเซปิก กรดอะมิโน โปรตีน สเตอรอล วิตามิน และแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์หลายชนิด เห็ดถั่งเช่าสีทองประกอบไปด้วย นิวคลีโอไซด์ (nucleosides) มากกว่า 10 ชนิด นิวคลีโอไซด์เกี่ยวข้องกับกลไกและการทำงานของกลไกในกระบวนการทางสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทส่วนกลาง (Gu และคณะ, 2007) ต้านการเกิดเนื้องอก (Muller และคณะ, 1977) พอลีแซคคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่าสีทองช่วยต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มภูมิคุ้มกันและชะลอความชรา (Yu และคณะ, 2007) มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ (Yu และคณะ, 2004) และส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน สารคอร์ไดเซปิน กรดคอร์ไดเซปิก และอะดีโนซีน ในเห็ดถั่งเช่าช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกาย นำมาใช้ในการเพิ่มความแข็งแรงของนักกีฬา (Parcell และคณะ, 2004) ใช้ในการป้องกันและรักษาสารพัดโรค เช่น โรคหอบหืด วัณโรค โรคหลอดลมอักเสบเรื้อรัง โรคตับอักเสบเฉียบพลันและเรื้อรัง โรคไต โรคหัวใจ รวมถึงโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบไหลเวียนโลหิต ความดันโลหิตสูง ภาวะที่เม็ดเลือดขาวต่ำกว่าปกติ ลดระดับน้ำตาลในเลือด อาการอ่อนล้า เครียด นอนไม่หลับ โรคระบบประสาท โรคเบาหวาน เพิ่มภูมิคุ้มกัน เพิ่มความแข็งแรงของร่างกายให้ต้านทำงานต่อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อเอชไอวี ต้านเซลล์มะเร็งและเซลล์เนื้องอก แก้ความผิดปกติทางเพศทั้งในเพศชายและหญิง (Kodama และคณะ, 2000; Lin และคณะ, 2007; Das และคณะ, 2010) ซึ่งในปัจจุบันนี้การเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองกำลังเป็นที่นิยมอย่างมากเนื่องจากมีราคาแพงและมีผู้ต้องการเป็นอย่างมากในตลาดซึ่งในอนาคตมีแนวโน้มว่าราคาของเห็ดถั่งเช่าอาจจะลดลงเนื่องจากมีความนิยมในการเพาะเลี้ยงกันมากขึ้น จึงทำให้เกิดงานวิจัยนี้ขึ้นโดยได้นำเห็ดถั่งเช่าสีทองมาเสริมลงในไวน์แดงเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญในไวน์เช่น คอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน และพอลิแซคคาไรด์เป็นต้น อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการสำหรับไวน์แดงและยังช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับเห็ดถังเช่าสีทองและอีกด้วย ซึ่งในงานวิจัยครั้งนี้จะใช้เทคนิค maceration ในการหมักไวน์แดง ซึ่งเป็นเทคนิคที่ส่งผลให้ไวน์แดงมีสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากเทคนิคนี้จะมีการบีบคั้นผลองุ่นทำให้สีและสารสำคัญในผลองุ่นออกมาและเป็นการเพิ่มความเข้มข้นให้กับไวน์แดง (Kekelidze และคณะ, 2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองและการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของการยับยั้งของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์

1.2.3 เพื่อศึกษาสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เหมาะสมต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในไวน์แดง

1.2.4 ทราบกระบวนการหมักไวน์ โดยเทคนิคมาเซอเรชั่นที่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองในกระบวนการหมัก

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1.3.1 ศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองและการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1.3.2 ศึกษาผลของการยับยั้งของถั่งเช่าสีทองที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์

1.3.3 เพื่อหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในไวน์แดงที่บ่มในระยะเวลาแตกต่างที่ต่างกัน

1.3.4 การแปรผันปริมาณการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีผลต่อการผลิตแอลกอฮอล์และปริมาณสารสำคัญในไวน์แดง

1.3.5 การศึกษาคุณภาพของไวน์แดงทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น รสชาติ และทางเคมี เช่น แอลกอฮอล์ pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และสารสำคัญในไวน์ เป็นต้น

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงปริมาณของสารสกัดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลเหมาะสมที่สุดในไวน์แดง

1.4.2 สามารถหาค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้น

1.4.3 เพื่อเพิ่มมูลค่าของเห็ดถั่งเช่าสีทองและไวน์แดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไวน์ (wine)

ไวน์ (wine) ดังแสดงในรูปที่ 2.1 เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากการหมักน้ำองุ่นจะเป็นองุ่นแดง หรือขาวก็ได้ ทำให้ได้ ไวน์แดง (red wine) และไวน์ชมพู (rose'wine) หรือไวน์ขาว (white wine) รวมเรียกว่า table wine ไวน์ยังมีอีกหลากหลายชนิด ได้แก่ ไวน์ชนิดแก๊ส (sparkling wine) ไวน์เสริมเอทิลแอลกอฮอล์ (fortified wine) หรือไวน์แต่งกลิ่น (aromatized wine) ไวน์ดังกล่าวอาจจะมีรสชาติแตกต่างกัน เช่น ไวน์หวาน (sweet wine) ไวน์กึ่งหวาน (medium wine) และไวน์ไม่หวาน (dry wine) ไวน์ เหล่านี้จะมีปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ หรือความแรงของแอลกอฮอล์อยู่ในช่วงร้อยละ 5.5 – 14 โดย ปริมาตร (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2546) ไวน์ที่ผลิตจากผลไม้ชนิดอื่นที่ไม่ใช่องุ่น เรียกว่า ไวน์ผลไม้ หรือ fruit wine ต้องระบุชื่อผลไม้ไว้บนฉลาก เช่น ไวน์สับปะรด ไวน์ลิ้นจี่ ไวน์มะเกี๋ยง เป็นต้น ไวน์ นอกจากจะผลิตจากองุ่นและผลไม้แล้วยังผลิตได้จากวัตถุดิบอื่นๆ เช่น ใบไม้ ดอกไม้ พืช สมุนไพร เครื่องเทศ ข้าว น้ำตาลสด น้ำผลไม้เข้มข้น และน้ำผึ้งเป็นต้น (ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2546)

รูปที่ 2.1 ไวน์ (wine)

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/uploaded/imagesCAZO5RUJ.jpg

2.1.1 ชนิดไวน์ สามารถจำแนกได้หลายชนิด คือ

2.1.1.1 จำแนกตามสีของไวน์ แบ่งได้ 3 กลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) ไวน์แดง (red wine) ทำจากองุ่นหรือผลไม้สีแดง ไวน์แดงจะมีตั้งแต่สีอ่อน เช่น สีแดงเข้มจนถึงสีทับทิม หรือสีม่วงเข้ม ซึ่งขึ้นกับประเภทขององุ่นที่นำมาทำไวน์ ไวน์แดงจะมีรสชาติความฝาด

กลิ่นและความเข้มข้นมากกว่าไวน์ชนิดอื่นๆ แต่ความหวานน้อยกว่า

2) ไวน์ขาว (white wine) ทำจากองุ่นเขียวหรือผลไม้อื่นๆ สีของไวน์จะมี ระดับต่างๆ กัน ตั้งแต่สีเหลืองซีดจนถึงสีเหลืองทองใส ไวน์ขาวมีรสชาติอ่อน

3) ไวน์โรเซ่ (rose′ หรือ pink wine) ได้จากการหมักน้ำองุ่นเขียวและองุ่นแดงรวมกัน จะมีสีชมพูที่ระดับแตกต่างกันไปตั้งแต่สีชมพูซีดๆ จนถึงเกือบแดง มีลักษณะและรสชาติ คล้ายไวน์ขาว

2.1.1.2 จำแนกตามปริมาณแอลกอฮอล์ที่มีในไวน์

1) table wine คือไวน์ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ระหว่างร้อยละ 9-14 โดย ปริมาตร และมีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพียงเล็กน้อย ซึ่งได้จากการหมักตามธรรมชาติโดยไม่ มีการเติมสิ่งใดสิ่งหนึ่งลงไป นิยมใช้ดื่มก่อนอาหารเพื่อเรียกน้ำย่อย หรือดื่มในระหว่างรับประทานอาหาร

2) fortified wine คือไวน์ที่มีการเติมแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ ที่ได้จากการกลั่น เหล้าองุ่นหรือบรั่นดี (brandy) หรือเหล้าชนิดอื่นๆ (spirit) ที่มีรสชาติจัดจ้านเข้มข้นลงไป เพื่อเพิ่ม ปริมาณแอลกอฮอล์ให้สูงขึ้น ประมาณร้อยละ 12-14 โดยปริมาตร จึงสามารถเก็บไว้ได้นานกว่า table wine โดยทั่วไปไวน์ชนิดนี้จะเป็นไวน์ที่มีรสหวาน และมีรสชาติจัดจ้าน นิยมใช้รับประทาน หลังอาหาร หรือเรียกว่าเป็นไวน์ย่อยอาหาร เช่น port wine และ sherry แบ่งได้ 2 ชนิด

2.1) aperitif wine เป็นไวน์ที่มีการเติมแอลกอฮอล์ และการเติมสีกลิ่น รส ราก ไม้ ยาและเครื่องเทศที่มีกลิ่นหอมลงไปด้วย

2.2) dessert wine เป็นไวน์ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงมีการเพิ่มแอลกอฮอล์เข้าไปในไวน์เพียงอย่างเดียว แต่มีลักษณะแตกต่างจากไวน์ธรรมดา คือ มีรสหวาน กลิ่น และแอลกอฮอล์มากกว่า นิยมดื่มหลังอาหารเพื่อย่อยอาหาร

2.1.1.3) จำแนกตามความหวาน (ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2546) แบ่งได้เป็น

1) ไวน์ไม่หวาน (dry wine) จะมีน้ำตาลรีดิวซ์ไม่เกินร้อยละ 1

2) ไวน์หวานเล็กน้อย (semi dry wine) จะมีน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 2 - 5

3) ไวน์หวาน (sweet wine) จะมีน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าร้อยละ 5

2.1.1.4) จำแนกตามปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ได้แก่

1) ไวน์ไม่มีฟอง หรือไวน์นิ่ง (still wine) คือไวน์ที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพียงเล็กน้อยซึ่งเกิดจากการหมักตามธรรมชาติ โดยทั่วไปหมายถึง table wine มี ปริมาณแอลกอฮอล์อยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระหว่างร้อยละ 9 - 14

2) ไวน์มีฟอง (sparkling wines) คือไวน์ที่มีการเติมก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ หลังการหมักหรือไวน์ที่มีการหมักซ้ำ (refermentation) ในขวดอีกครั้งหนึ่ง เช่น แชมเปญ (champagne) มีรสซ่า

เนื่องจากมีก๊าซบรรจุในขวด ปกติมีแอลกอฮอล์บรรจุร้อยละ 10 - 13 โดยปริมาตร

2.1.1.5) จำแนกจากการเติมกลิ่นสมุนไพร (ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2546)

1) ไวน์ที่มีการเติมกลิ่นสมุนไพร (herbs) เปลือกไม้ รากไม้ พืชต่างๆ เครื่องเทศ (exotic spices) หรือสารสกัดให้กลิ่น เพื่อแต่งเติมปรับปรุงสีสัน และกลิ่นหอม ปรับปรุง รสชาติให้กลมกล่อมขึ้น เช่น เวอร์มูท (vermouth) และ มาร์ตินี (matini) เป็นต้น บางตำราเรียกว่า ไวน์กลุ่มนี้ว่า aromatized wine

2) ไวน์ที่ไม่มีการเติมกลิ่นสมุนไพร เครื่องเทศ หรือสารสกัดให้กลิ่น เช่น sherry, port, madiera เป็นต้น

2.1.1.6) จำแนกตามโอกาสที่ดื่ม

1) ไวน์ดื่มก่อนอาหาร (aperitif wine) เป็นไวน์หวานที่มีแอลกอฮอล์สูง ใช้ดื่มก่อนรับประทานอาหารเพื่อเรียกน้ำย่อย ปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงถึงร้อยละ 20 ได้มาจาก การเติมแอลกอฮอล์ซึ่งอาจเติมในรูปของวิสกี้ หรือบรั่นดี หรือวอดก้าหรือเอทิลแอลกอฮอล์ชนิดทาน ได้ตัวอย่างของไวน์ชนิดนี้ ได้แก่ sherry

2) ไวน์ดื่มระหว่างอาหารหรือดื่มพร้อมอาหาร ไวน์ชนิดนี้ส่วนมากไม่ หวาน มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 9-14) ไวน์ดื่มหลังอาหารได้แก่ พอร์ท (pcrt) ครีมเชอรรี่ (cream sherry) โทเก (tokay) และมาลากา (malaka)

2.1.1.7) อื่น ๆ

1) ไวน์แอลกอฮอล์ต่ำ มีแรงแอลกอฮอล์ต่ำกว่าร้อยละ 8 โดยปริมาตร ไวน์คูลเลอร์อาจจัดอยู่ในประเภทนี้

2) ไวน์ที่ถูกกำจัดหรือแยกแอลกอฮอล์ออกไป (dealcoholised wines) อาจมีแรงแอลกอฮอล์ในไวน์บ้าง แต่ไม่เกินร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร เป็นไวน์ที่ผลิตขึ้นสำหรับ ผู้อยากดื่มไวน์แต่แพ้แอลกอฮอล์หรือสำหรับผู้ที่นับถือศาสนาอิสลามหรือศาสนาอื่นๆ ซึ่งมีบทบัญญัติ ห้ามดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์

2.1.2 ประโยชน์และโทษของไวน์ (ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2546)

ไวน์มีสารฮีสตามีน ช่วยให้ร่างกายไม่เครียด หรือเป็นไมเกรนด้วย มีการศึกษาวิเคราะห์ ว่าไวน์หรือเหล้าองุ่นประกอบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ น้ำตาล คาร์โบไฮเดรต วิตามินและแร่ธาตุต่างๆ ไม่น้อยกว่า 15-20 ชนิดดังแสดงตารางที่ 2.1 นอกจากนี้ยังมีกรดอินทรีย์มากกว่า 22 ชนิด จึงทำให้ไวน์มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รส หวาน รสเปรี้ยวและรสฝาด ไวน์ 1 แก้ว ให้พลังงาน 113 แคลอรี่ และไวน์ 1 ขวด (840 ซีซี) ให้พลังงาน 864 แคลอรี่ ซึ่งมีค่าพลังงานเท่ากับน้ำมันพืช 1 และ 2 ช้อนโต๊ะ ตามลำดับ

โทษของไวน์เหมือนเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ทั่วไป คือ ดื่มมากขาดสติ ก้าวร้าวและเกิด อุบัติเหตุง่าย หากดื่มมากเป็นประจำทุกวัน มีโอกาสเป็นโรคตับแข็ง โรคพิษสุราเรื้อรัง เป็นต้น

2.1.3 กระบวนการหมักไวน์ ดังแสดงในรูปที่ 2.3 (พนิตตา และคณะ, 2558)

การหมัก (Fermentation) เป็นกระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) ของเซลล์ที่ก่อให้เกิดพลังงานจากการสลายสารอาหาร ซึ่งเกิดขึ้นในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในเซลล์ สารอาหารที่สำคัญ คือ น้ำตาลกลูโคส โดยมีผลิตภัณฑ์หลัก คือ เอทิลแอลกอฮอล์ ดังแสดงปฏิกิริยาการหมักในรูปที่ 2.2

2.1.3.1) วิธีการทั่วไปในกระบวนการหมักไวน์ผลไม้ไทย

1) การเตรียมน้ำผลไม้ ผลไม้ที่ใช้ แล้วแต่ฤดูกาล ที่นิยมใช้ทั่วไป คือ องุ่น สับปะรด

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบที่พบในไวน์

องค์ประกอบ	Dry table wines (%)		Sweet wines (%)	
	white	red	white	red
น้ำ	83.5	83.5	76.5	76.0
แอลกอฮอล์	11.0	11.0	11.5	11.7
สารระเหยอื่นๆ	0.04	0.04	0.05	0.05
สารสกัด (dry extract)	2.30	2.60	2.80	3.00
น้ำตาล	0.58	0.01	7.00	7.00
เพกตินและสารประกอบ	0.30	0.30	0.32	0.32
กลีเซอรอลและสารประกอบ	1.10	1.10	0.90	0.90
กรด (total acidity)	0.70	0.60	0.50	0.50
เถ้า	0.20	0.20	0.20	0.20
สารประกอบฟีนอล	0.01	0.28	0.01	0.01
กรดอะมิโนและสารประกอบ	0.25	0.25	0.20	0.20
ไขมันเทอร์ฟีนอยด์	0.01	0.02	0.01	0.02
วิตามิน	0.01	0.01	0.01	0.01

ที่มา : Sharp (1995) อ้างโดย ธนนันต์ อยู่หว่าง, 2548

กระเจี๊ยบ

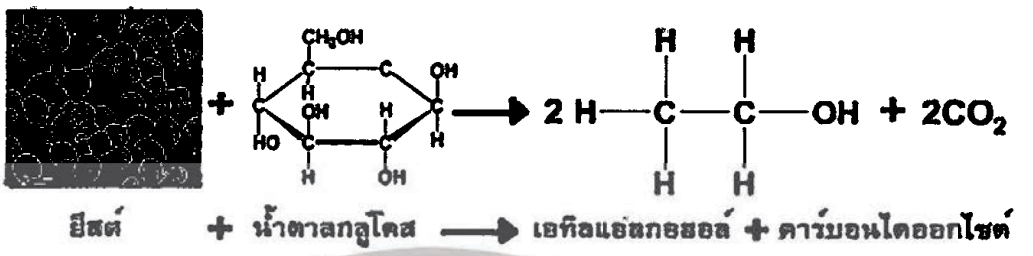
1.1) องุ่น ล้างน้ำให้สะอาด เลือกเอาลูกที่เน่าทิ้ง ใช้มือบีบให้ผลแตก เอาเมล็ดออกให้มากที่สุดเติมน้ำ เท่าตัวกรองด้วยผ้าขาวบาง (หรืออาจจะหมักทั้งเปลือกและเนื้อองุ่น)

1.2) สับปะรด เลือกสับปะรดที่มีผลแก่เต็มที่ ปอกเปลือก คว้านเอาตา ตัดแกนและส่วนที่เสียออก หั่น และสับเป็นชิ้นเล็กๆ ปั่นกับน้ำในอัตราส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนัก ด้วยและส่วนที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เสียออก หั่น และสับเป็นชิ้นเล็กๆ ปั่นกับน้ำในอัตราส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนัก ด้วยเครื่องปั่น กรองด้วยผ้าขาวบาง (หรืออาจจะหมัก ทั้งเนื้อสับปะรด)

1.3) กระเจี๊ยบ ใช้กระเจี๊ยบแห้ง 50 กรัม ต้มกับน้ำประมาณ 2 ลิตร กรองด้วยผ้าขาวบาง (หรือ อาจจะหมักทั้งที่มีดอกกระเจี๊ยบ



รูปที่ 2.2 สมการปฏิกิริยาการหมัก

ที่มา : https://il.mahidol.ac.th/emedia/enzyme/chapter1/picch1/alcoholic_fermentation.jpg

2) การปรับปรุงน้ำตาลในน้ำผลไม้

เป็นปัจจัยหนึ่งที่ควบคุมปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักไวน์ คือ ปริมาณน้ำตาลในน้ำผลไม้ ถ้ามีปริมาณน้ำตาลสูง ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ได้ปริมาณสูงด้วย แต่เมื่อปริมาณแอลกอฮอล์สูงถึงจุดหนึ่ง จะเกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ (Endproduct Inhibition) ยีสต์จึงไม่สามารถหมักน้ำตาลต่อไปได้อีกทำให้ยังมีน้ำตาลเหลือในไวน์ สำหรับน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์จะมีค่าประมาณ 22 องศาบริกซ์

3) การปรับความเป็นกรด – เบส

ของน้ำผลไม้ pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์อยู่ในช่วง 4.0 – 4.5 ซึ่งช่วงนี้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางจำพวกชะงักได้ด้วย การปรับ pH จะใช้กรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 10 เปอร์เซ็นต์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

4) การเติมสารอาหาร

ในน้ำผลไม้บางชนิด เช่น น้ำกระเจี๊ยบ น้ำมะขามเปียก มีปริมาณไนโตรเจนเล็กน้อยไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ จึงจำเป็นต้องเติมสาร Ammcnium Sulphate หรือ Ammonium Hydrogen Phosphate ลงไปในปริมาตรร้อยละ 0.1 (น้ำหนัก/ปริมาตร) สำหรับน้ำองุ่นและน้ำสับปะรดที่เจือจางด้วยน้ำจำนวนเล็กน้อยไม่จำเป็นต้องเติมสารอาหารนี้

5) การฆ่าเชื้อในน้ำผลไม้

เปลือกของผลไม้มักมีจุลินทรีย์หลายชนิดปนเปื้อนอยู่ บางชนิดสามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ได้เช่นกัน แต่กลิ่นและรสที่ได้อาจจะไม่ดีเท่า บางชนิดอาจสร้างสารชนิดอื่น เช่น น้ำผลไม้ที่ไม่ สะอาด เมื่อนำมาหมัก มักพบเสมอว่าได้ไวน์ที่มีรสเปรี้ยว เนื่องจากมีแบคทีเรียแลกติกเจริญและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างกรดแลกติกขึ้น ดังนั้นเพื่อป้องกันปัญหาดังกล่าวจึงต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่เดิมในน้ำผลไม้ ซึ่งทำได้ 2 วิธี คือ

5.1) นำน้ำผลไม้จากข้อ 4 ไปต้มที่อุณหภูมิ 180 – 190 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที วิธีการนี้รายงานกล่าวว่าจะทำให้รสของไวน์เสียไป

5.2) นำน้ำผลไม้จากข้อ 4 ใส่โพแทสเซียมเมทาไบซัลไฟต์ (potassium metabisulfite, KMS) หรือโซเดียมเมทาไบซัลไฟต์ (sodium metabisulfite, NaMS) ลงไปประมาณ 150 – 200 ส่วนในล้านส่วน หรือประมาณ 0.15 – 0.2 กรัมต่อลิตร ถ้าใช้สารเคมีเหล่านี้จำเป็นต้องทิ้งน้ำผลไม้นี้ไว้ไม่น้อยกว่า 12 ชั่วโมง ก่อนจะใส่ยีสต์ (starter) ทั้งนี้เพราะ sulfite ที่ระเหยออกมาถ้ายังคงมีหลงเหลืออยู่ในน้ำผลไม้จะทำลายยีสต์ที่ใส่ลงไป ซึ่งมีผลให้ไม่เกิดปฏิกิริยาการหมัก

6) การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น

starter หมายถึง เชื้อยีสต์ที่ใส่ลงในน้ำผลไม้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ เพื่อให้ปฏิกิริยาการหมักดำเนินไปอย่างรวดเร็วและมีปริมาณยีสต์จำนวนมากพอที่จะเจริญเติบโตทันเชื้ออื่นๆ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องใส่ยีสต์ลงไปปริมาณมาก คือ ปริมาณ 2 – 5 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำผลไม้ที่เตรียมได้

7) การเกิดแอลกอฮอล์

เติม starter ลงในน้ำผลไม้ใน ภาชนะที่ใช้ในการหมักควรจะมีปริมาตรพอกับปริมาตรของน้ำผลไม้ที่ต้องการหมัก เพราะในการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์นั้นยีสต์ไม่ต้องการออกซิเจนเพราะฉะนั้นในการหมักจึงต้องปิดภาชนะให้แน่น แต่ต้องมีท่อต่อสายยางเพื่อให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกมาได้ ทิ้งไว้จนกระทั่งปฏิกิริยาสิ้นสุด (สังเกตจากฟองก๊าซหมดไป) น้ำตาลจะถูกใช้ไปหมด ใช้เวลาประมาณ 7 – 10 วัน และอุณหภูมิการหมักไม่ควรสูงกว่า 34 องศาเซลเซียส ถ้าปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งปฏิกิริยาสิ้นสุด น้ำตาลจะถูกใช้หมดไปไวน์ที่ได้จะมีปริมาณแอลกอฮอล์สูงและไม่มีรสหวาน (dry wine) สำหรับผู้ที่ชอบรับประทานไวน์ที่มีรสหวานและมีเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ต่ำ (sweet wine) จึงสามารถจะหยุดปฏิกิริยาการหมักได้ก่อนที่น้ำตาลจะถูกใช้หมดไป

8) การแยกเอาไวน์ส่วนที่ใสออกจากตะกอน (racking)

เมื่อเสร็จสิ้นการหมัก ไวน์ที่ได้จะขุ่นและมีตะกอนมาก ซึ่งอาจจะเป็นตะกอนของกากผลไม้หรือเซลล์ ยีสต์ การแยกเอาไวน์ส่วนที่ใสออกจากตะกอนเหล่านี้ ทำได้โดยวิธีการกาลักน้ำ สายยางที่ใช้ควรฆ่าเชื้อด้วย การแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ หรือต้มในน้ำเดือด

9) พาสเจอร์ไรส์ การฆ่าเชื้อในน้ำไวน์ส่วนที่ใสทำได้ 2 วิธี

9.1) ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 – 70 องศาเซลเซียส ประมาณ 15 นาที

9.2) สารเคมีเช่น KMS 200 ส่วนในล้านส่วน เมื่อหยุดปฏิกิริยาการหมักของยีสต์ บรรจุลงในขวดที่ฆ่าเชื้อหรือลวกน้ำร้อนแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10) การตกตะกอนไวน์

การตกตะกอนไวน์เพื่อกำจัดเซลล์ยีสต์และสารที่ทำให้เกิดความขุ่นต่าง ๆ เช่น โปรตีน แทนนิน แต่สิ่งจำเป็นที่ต้องกำจัด คือ เซลล์ยีสต์ เพราะยีสต์ที่ตายแล้วจะเกิดกระบวนการย่อยสลายตัวเองของเหลวภายในเซลล์ยีสต์ไหลออกมาอยู่ในไวน์ ทำให้ไวน์มีสภาวะเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ก่อให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดีอีกประการหนึ่ง เซลล์ยีสต์มีสารแอนติเจน (Antigen) บางชนิด ในกรณีที่บางคนไม่

คุ้นเคย เมื่อดื่มไวน์ที่มีเซลล์ยีสต์จะมีการบีบตัวของทางเดินอาหาร เกิดอาการท้องร่วงได้ วิธีการตกตะกอนจะใช้ Fining Agents ต่าง ๆ ตัวอย่าง เช่น

10.1) bentonite 200 ส่วนในล้านส่วน แช่ไว้ค้างคืน

10.2) ไข่ขาว (Albumin) ในอัตราส่วนไวน์ 15 – 20 ลิตร ต่อไข่ขาว 1 ฟอง ทำได้โดยแบ่งไวน์เป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำไปตีกับไข่ขาวจนขึ้นฟู อีกส่วนหนึ่งนำไปอุ่นจนอุณหภูมิ 60 – 63 องศาเซลเซียส เทไวน์ที่ผสมกับไข่ขาวลงไป รักษาอุณหภูมิไว้นาน 30 นาที ทิ้งให้เย็น ดูดเอาส่วนใสใส่ในขวดที่ฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นจึงนำไวน์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วไปบ่ม

11) การบ่ม (aging)

การนำไวน์ไปบ่มควรใช้อุณหภูมิค่อนข้างต่ำจะทำให้ไวน์ใสขึ้น และมีการสร้างกลิ่นรสของไวน์สำหรับกลิ่นและรสของไวน์มาจากสารเอสเทอร์ (ester) การบ่มเป็นระยะเวลานาน จะทำให้ไวน์มีรสดีขึ้น

2.2 เห็ดถั่งเช่า (วิโรจน์ แก้วเรือง, 2556)

"ถั่งเช่า"(ถั่ง = หนอน, เช่า = หญ้า) หรือที่เรียกว่า"หญ้าหนอน"ก็เพราะว่าในฤดูหนาวเป็นหนอน ในฤดูร้อนเป็นหญ้าบนที่ราบสูงทิเบต ตัวหนอนของผีเสื้อค้างคาวหรือผีเสื้อกะโหลกจะเจริญเติบโตอยู่ใต้ผิวดินบนภูเขาที่ปกคลุมด้วยหิมะ โดยมีสปอร์ของเชื้อเห็ดรา (Ophiocordyceps sinensis) กระจายอยู่ทั่วไป

เมื่อหิมะละลายสปอร์จะไหลไปรวมกับน้ำและซึมลงใต้ผิวดิน เมื่อหนอนกินสปอร์ของเชื้อเห็ดชนิดนี้เข้าไปสปอร์ก็จะงอกเป็นเส้นใยเจริญเติบโตบนตัวหนอน เมื่อฤดูใบไม้ผลิมาถึงอุณหภูมิสูงขึ้น เส้นใยรวมตัวหนาแน่นขึ้นก็จะแทงออกจากปากตัวหนอนที่ตายแล้วแข็งเป็นมัมมี่ออกเป็นดอกเห็ดมีลักษณะเหมือนหญ้างอกโผล่เหนือพื้นดินเพราะต้องการแสงเป็นวงจรชีวิตของเห็ดถั่งเช่าดังแสดงในรูปที่ 2.4 และกลายเป็นขุมทองของชาวทิเบต

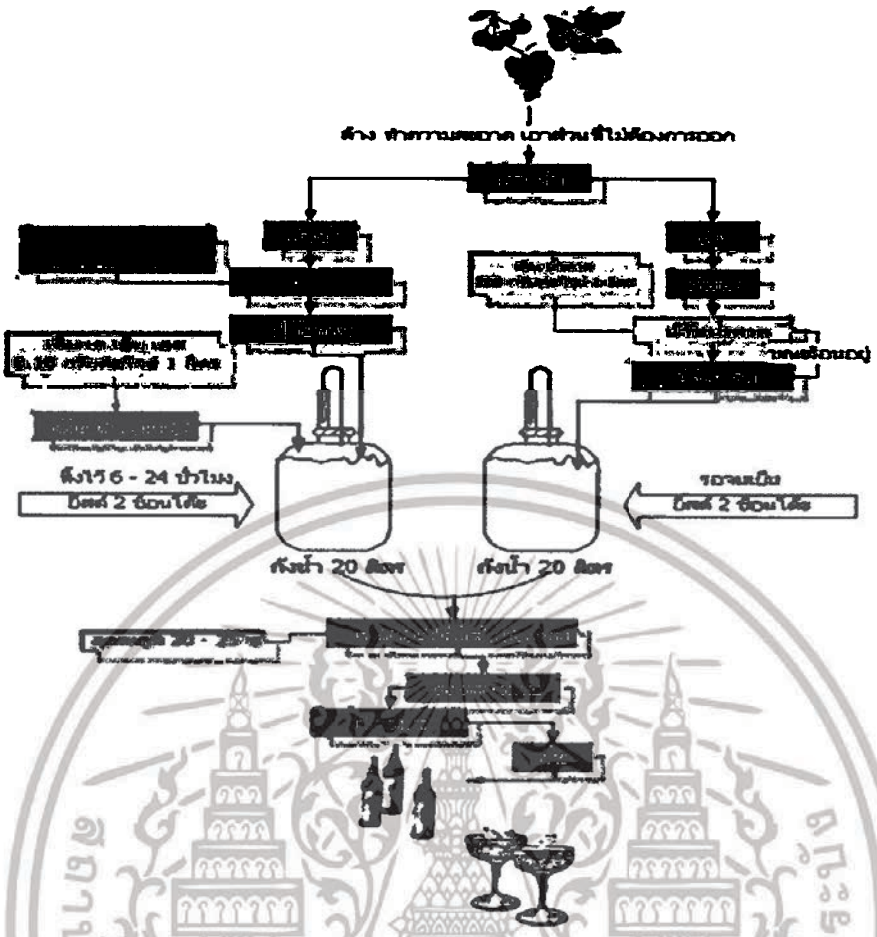
2.2.1 ถั่งเช่าที่มีชื่อเสียง มีอยู่ 4 ชนิด แสดงในรูปที่ 2.5 ได้แก่

1) เห็ดถั่งเช่าทิเบต (*Ophiocordyceps sinesis*) หรือชื่อเดิม *cordyceps sinesis*

2) เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*)

3) เห็ดถั่งเช่าหิมะ (ถั่งเช่าเกาหลี) (*Isaria tenuipes*) หรือชื่อเดิม *Paecilomyces*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น การอ้างอิงหรือสำเนาเอกสารนี้ต้องได้รับอนุญาตจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ก่อนเท่านั้น



รูปที่ 2.3 กระบวนการผลิตไวน์

ที่มา : http://agro-industry.rmutsv.ac.th/agro/alcoholic/unit4/prodwine.htm

tenuipes

4) เห็ดถั่งเช่าจักจั่น (ว่านจักจั่น) (*Isaria sinclairii*) หรือชื่อเดิม *Paecilomyces cicadae*

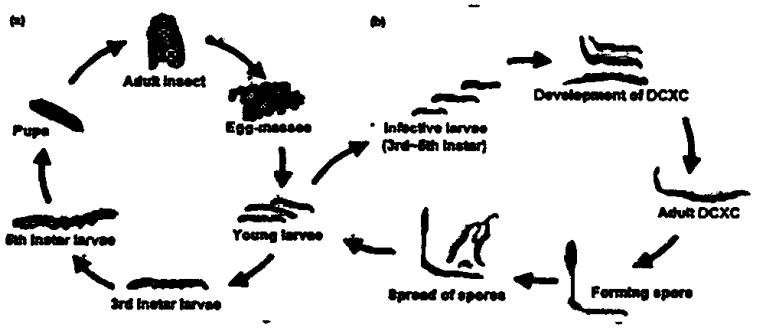
เห็ดถั่งเช่าเป็นราแมลงในกลุ่ม Ascomycetes ที่มีฤทธิ์ทางยาจากการวิจัยค้นคว้าทางเภสัชวิทยาพบว่า เห็ดถั่งเช่า ประกอบด้วยสาระสำคัญหลายชนิด เช่น โมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์โพลีแซคคาไรด์ (เบต้า-กลูแคน) คอร์ไดเซปิน กรดคอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน กรดอะมิโน วิตามิน และแร่ธาตุหลายชนิด

2.2.2 สรรพคุณของสารสำคัญในถั่งเช่า เช่น

1) โพลีแซคคาไรด์ (เบต้า-กลูแคน : β-Glucan) ช่วยต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มภูมิคุ้มกัน ลดระดับน้ำตาลในเลือด มีความน่าจะเป็นในการลดการโตของเนื้องอกและเซลล์มะเร็ง ยืดอายุและชะลอความเสื่อมของเซลล์

2) คอร์ไดเซปิน (cordycepin) มีฤทธิ์บำรุงไต เพิ่มประสิทธิภาพการไหลเวียนของโลหิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 วงจรชีวิตของตัวหนอนผีเสื้อ (a) และเห็ดถั่งเช่า (b)

ที่มา : Zhou และคณะ, 2014

ถั่งเช่าธิเบต ถั่งเช่าสีทอง ถั่งเช่าหิมะ ถั่งเช่าจักจั่น

รูปที่ 2.5 เห็ดถั่งเช่าชนิดต่างๆ ที่มีความสำคัญทางการแพทย์

ที่มา : ธัญญา ทะพิงค์แก, 2555

ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

3) กรดคอร์ไดเซปิก (cordycepic acid) ช่วยเพิ่มเมตาโบริซึมของร่างกาย ป้องกันเลือดออกในสมองเกิดลิ่มเลือด โรคหัวใจขาดเลือดและหอบหืด

4) อะดีโนซีน (adenosine) ช่วยต้านการแข็งตัวของเลือด ต้านการเกิดลิ่มเลือด

2.3 เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) แสดงในรูปที่ 2.6

เห็ดถั่งเช่าสีทองจัดว่าเป็นราแมลงในสกุลคอร์ไดเซพ [Cordyceps (Fr.) Link] เห็ดเกิดจากการที่เชื้อราแมลงได้ล่วงล้ำเข้าไปในวงจรชีวิตของแมลง เส้นใยของรา (hypha) ได้แผ่เข้าไปในลำตัวของแมลง และเจริญแตกแขนงออกไป ด้วยการกินอาหารจากลำตัวของแมลงนั้น หลังจากนั้นราที่เป็นปรสิตนี้จะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จนสามารถเข้าไปแทนที่อยู่ในลำตัวของแมลงนั้นทั้งตัว และกลายเป็นกลุ่มเส้นใยของราหรือไมซีเลียม (mycelium) เส้นใยของราแมลงเมื่อเจริญเติบโตรวมตัวกันเกิดเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่คือ ดอกเห็ด มีรูปร่างและสีที่แตกต่างกัน ก้านสปอร์นี้พร้อมที่จะกระจายไปตกบนแมลงเป้าหมายตัวต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อราสกุลคอร์ไดเซพอยู่ในวงศ์ Clavicipitaceae ที่มีความหลากหลายของจำนวนชนิด และแมลงอาศัยมากที่สุด แมลงเจ้าบ้านของราแมลงสกุลนี้ (*Cordyceps Fr. host*) มีมากมายหลายชนิด เช่น ไหมป่า (*Bombyx pithyocampa, B. caja, B. rubi, Euprepia caja, Gastropacha rubi, G. quercus, Phalera bucephala* และ *Syntypistis punctatella*) นอกจากนี้ยังพบในด้วง (*Coleopteran*) เช่น หนอนนก (*Tenebrio moliter*) ในต่อแตน (*Hymenopteran*) เช่น ต่อฟันเลื่อย (*Cimbex similis*) และในแมลงวัน (*Dipteran*) เช่น แมลงวันแมงมุม หรือยุงรักษา (*Tipula paludosa*) โดยทั่วไปราแมลงจะมีความจำเพาะกับแมลงเจ้าบ้านชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้น หรือใกล้เคียงแมลงเจ้าบ้านชนิดนั้นๆ และไม่เป็นอันตรายกับคน แต่อย่างไรก็ตามมีเชื้อราเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่สามารถรับประทานได้ และในผู้ที่เป็นภูมิแพ้ก็อาจเกิดอาการแพ้เชื้อราเหล่านี้ได้ (Sung และคณะ, 2007)

รูปที่ 2.6 เห็ดถั่งเช่าสีทอง

ที่มา : http://www.raltong.com/uploaded/2018/images/resize_Depositphotos_133798400_xl-2015.png

2.3.1 อนุกรมวิธานของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

อนุกรมวิธาน (Linnaeus และ Fries, 1818)

อาณาจักร	Fungi
ไฟลัม	Ascomycota
ชั้น	Sordariomycetes
อันดับ	Hypocreales
วงศ์	Cordycipitaceae
สกุล	Cordyceps
ชนิด	militaris
ชื่อวิทยาศาสตร์	*Cordyceps militaris*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เห็ดถั่งเช่าสีทองมีการเพาะกันเป็นการค้ามานานหลายสิบปีแล้วที่ประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี มาเลเซียและอเมริกา เห็ดถั่งเช่าสีทองสามารถทำาการเพาะได้โดยใช้ตัวหนอนเพาะหรือใช้อาหารสังเคราะห์ สามารถชักนำให้เป็นดอกเห็ดได้โดยใช้อากาศเย็น ถั่งเช่าที่วางขายทั่วไปในขณะนี้โดยมากเป็นถั่งเช่าสีทอง มีรายงานหลายฉบับยืนยันว่า ถั่งเช่าสีทองมีคุณสมบัติเทียบเท่าถั่งเช่าทิเบต (ธัญญา ทะพิงค์แก, 2555)

2.3.2 ประโยชน์ของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

เห็ดถั่งเช่าสีทองอุดมไปด้วยสารสำคัญหลายชนิดที่มีผลทางชีวภาพ เช่น โมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์ (เบตา-กลูแคน) แมนนิทอล กาแล็กโตส อะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน กรดคอร์เซปิก กรดอะมิโน โปรตีน สเตอรอล วิตามิน และแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์หลายชนิด เช่น ไบโอติน กรดโฟลิก ไนอาซิน กรดแพนโทธีนิก ซิลีเนียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก คอปเปอร์ สังกะสี แมงกานีส และซิลีเนียม เป็นต้น (ธัญญา ทะพิงค์แก, 2555)

เห็ดถั่งเช่าสีทองประกอบไปด้วยนิวคลีโอไซด์ (nucleosides) มากกว่า 10 ชนิด นิวคลีโอไซด์เกี่ยวข้องกับกลไกและการทำงานของกลไกในขบวนการสรีรศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทส่วนกลาง (Gu และคณะ, 2007) และต้านการเกิดเนื้องอก (Muller และคณะ, 1977) ยิ่งไปกว่านี้โพลีแซคคาไรด์ในเห็ดชนิดนี้ยังช่วยต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มภูมิคุ้มกัน และชะลอความชรา (Yu และคณะ, 2007) ต้านการเกิดเนื้องอกและเซลล์มะเร็ง (Wasser และคณะ, 2002) มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ (Yu และคณะ, 2004) และส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันในหนูทดลอง (Wu และคณะ, 2012)

2.3.3 ข้อมูลทางการตลาดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

มีรายงานการสำรวจตลาดของถั่งเช่าสีทองในปี 2008 (Market Survey of Cordyceps militaris 2008) โดยศูนย์ติดตามการตลาดของจีน (China Market Monitoring Center) ระบุว่า ความต้องการเห็ดถั่งเช่าของตลาดนานาชาติอยู่ที่ 1,000 ตันต่อปี ขณะที่ตลาดภายในจีนอยู่ที่ 500 ตันต่อปี อัตราการเจริญของตลาดอยู่ที่ 13% มีผลผลิตในจีนประมาณ 50 ราย มีกำลังการผลิตรวมกันประมาณ 250 ตันต่อปี บริษัทข้ามชาติหลายบริษัทได้เข้าไปผลิตและจำหน่ายเห็ด ถั่งเช่าสีทองในประเทศจีน บริษัท Nutrastar ของสหรัฐอเมริกาถือครองการตลาดเห็ดถั่งเช่าใน จีนถึง 19 เปอร์เซ็นต์ และเป็นผู้ผลิตรายใหญ่ที่สุดของโลก นอกจากนี้ยังมีผู้ผลิตที่ประเทศญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน และมาเลเซีย

ตลาดโลก (Global Markets) ของเห็ดถั่งเช่าสีทองหลักอยู่ที่ชุมชนคนเอเชีย ในสหรัฐฯ คานาดา ญี่ปุ่น เกาหลี ฮ่องกง และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตลาดยุโรป และออสเตรเลียก็กำลังเกิดขึ้น ในประเทศไทยการขายถั่งเช่าสีทองจะขายในรูปเห็ดอบแห่ง ราคาขายกิโลกรัมละ 1.5 แสนบาท หาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขายเป็นดอกสดอยู่ในขวดเพาะเลี้ยงขนาด 24 ออนซ์ ราคาขวดละ 700– 1,000 บาท (น้ำหนักดอกสดประมาณ 2 กรัม) และขายในระยะที่เป็นเส้นใยไมซีเลียมนำไปทำอาหารเสริมสุขภาพ (แคปซูล)

เห็ดถั่งเช่าสีทองมีการเพาะกันเป็นการค้ามานานหลายสิบปีแล้วที่ประเทศจีน มาเลเซีย สิงคโปร์ และสหรัฐอเมริกา โดยแต่ละบริษัทผลิตกันออกมาเดือนละหลายตัน เห็ดถั่งเช่าสีทองสามารถทำการเพาะได้โดยใช้ตัวหนอนเพาะ และใช้อาหารสังเคราะห์ สามารถชักนำให้เป็นดอกเห็ดได้โดยใช้อากาศเย็น เห็ดถั่งเช่าบรรจุแคปซูลที่วางขายตามท้องตลาดในขณะนี้โดยมากเปนเห็ดถั่งเช่าสีทอง มีรายงานยืนยันว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองมีคุณสมบัติเทียบเท่าถั่งเช่าทิเบต (Das และคณะ, 2010) การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองทำได้ง่ายกว่าเห็ดถั่งเช่าทิเบต สามารถขึ้นได้ในแมลงหลากหลายชนิดดังที่กล่าวไว้ข้างต้น

2.3.4 **การเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทอง**

วิธีการเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองทำได้ 2 วิธี คือ การเพาะด้วยดักแด้ไหม และการเพาะด้วย

อาหารเมล็ดธัญพืชการเพาะด้วยดักแด้ไหม

1) การเพาะด้วยดักแด้ไหม

ทำได้โดยทำการเก็บรังไหมมาแกะเอาตัวดักแด้ออกมา จากนั้นทำการฆ่าเชื้อดักแด้ด้วยการเช็ดด้วยแอลกอฮอล์เพื่อฆ่าเชื้อที่อาจติดมากับตัวดักแด้ จากนั้นใส่เชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองเข้าไปในตัวดักแด้ สกุล Thitarodes (Hepialus) โดยที่หนอนนั้นยังมีชีวิตอยู่อาจทำโดยการสเปรย์หัวเชื้อลงบนตัวดักแด้ หรือป้ายหัวเชื้อบนตัวดักแด้ เป็นการเลียนแบบธรรมชาติให้เชื้อเข้าไปแบบสัมผัส หรืออาจใช้เข็มฉีดหัวเชื้อเขาในตัวดักแดโดยตรงเลย หรือกรีดตัวดักแดเพื่อยัดหัวเชื้อเขาไป เชื้อเห็ดจะเจริญในตัวดักแด้ๆ จะ คอยๆ ตายไปในที่สุด ดอกเห็ดจะงอกออกมาให้เห็นเมื่อได้รับความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสม เมื่อดอกเห็ดสมบูรณดีแล้วสามารถนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นบดเปนผงเพื่อบรรจุแคปซูล หรือแปรรูปในลักษณะต่างๆ เชน กาแฟถั่งเช่า น้ำสมุนไพรถั่งเชา สารสกัดเขมขน เปนตน

2) การเพาะเห็ดถั่งเชาสีทองดวยอาหารเมล็ดธัญพืช

เห็ดถั่งเชาแตละชนิดต่องการสารอาหารที่ไมเหมือนกัน แตสามารถใช่อาหารสูตรพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงได การเลือกใช่สูตรอาหารฐ่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดชนิดนั้นๆจะทำให เห็ดเจริญเติบโต และผลิตสารออกฤทธิ์ได้ดีอาหารที่ใช่เพาะเชื้อเห็ดนั้นอาจเปนอาหารวิทยาศาสตรได้มาจากการผสมสารเคมีหลายๆชนิด หรืออาจเป นวัตถุดิบตามธรรมชาติวัตถุดิบแตละชนิดที่นำมาทำอาหารมีคุณคาทางโภชนาการตางกัน อาหารอาจอยู่ในรูปอาหารแข็ง อาหารเหลว และอาหารกึ่งเหลวก็ได้แลวแตลักษณะการใช่งาน โดยมากหากจะทำไหเกิดดอกจะเพาะด่วยอาหารแข็ง สวนอาหาร

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหลวจะใชทำหัวเชื้อ หรือเลี้ยงเพื่อเอาเส้นใยเห็ด ในขณะที่อาหารกึ่งเหลวจะใชเพื่อเพาะเสนใยเปนแผนหรือเรียกวา “รก” (ธัญญา ทะพิงค์แก, 2555) แบงตามลักษณะของอาหารเปน 2 แบบ ดังนี้

2.1) อาหารแข็ง

อาหารแข็งอาจเปนวุนหรือเมล็ดธัญพืชก็ได โดยจะนำหัวเชื้อเห็ดมาวางบนอาหาร แลวนำไปบมที่อุณหภูมิ 20 – 25 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 – 45 วัน โดยใน 2 สัปดาหแรกบมในที่มืด จากนั้นใหไดรับแสง 14 – 16 ชั่วโมง/วัน ความเข่มของแสง 1,000 – 3,000 ลักซ การเพาะเห็ดถั่งเชาสีทองดวยอาหารแข็งสามารถทำการเพาะ ดวยภาชนะแบบตางๆ เชน ขวดแก่ว กลองพลาสติก ถุงพลาสติก เปนตน

2.2) อาหารเหลว

โดยปกติในการเพาะดวยอาหารเหลว ผลผลิตเห็ดถั่งเชาจะเก็บลักษณะเปนเส้นใย การเพาะดวยอาหารเหลว จำเปนตองใชเทคนิคพิเศษในการเพาะเลี้ยง เชน การเลี้ยงแบบเขยา (Shaking culture) การเลี้ยงแบบจมในอาหาร (Submerged culture) การเพาะเลี้ยงบนผิวหนาอาหารเหลว (Surface liquid culture) และการเลี้ยงแบบตอเนื่อง (Continuous culture or repeated batch culture) (ธัญญา ทะพิงค์แก, 2555)

2.4 maceration

2.4.1 คำนิยามศัพท์เฉพาะ

การแชยุย (maceration) หมายถึง เปนกระบวนการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีการหมัก

พืชกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปด เชน ขวดปากกวาง ขวดรูปชมพู หรือโถเปนตน ทิ้งไว 5-7 วัน หมั่นเขยาหรือคนบอยๆ เมื่อครบตามกำหนดเวลาจึงคอยๆรินเอาสารสกัดออก พยายามบีบสารละลายออกจากกากใหมากที่สุด รวมสารสกัดที่ไดนำไปกรอง การสกัดถาจะสกัดใหหมดจดอาจจำเปนตองสกัดหลายๆ ครั้ง วิธีนี้มีขอดีที่สารไมถูกความรอน แตเปนวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

2.4.2 เทคนิค maceration ในการหมักไวน์

maceration เป็นเทคนิควิธีหนึ่งที่มีความสำคัญในการหมักไวน์ โดยเทคนิคนี้จะเป็นการทำการบีบคั้นวัถตุดิบหรือผลไม้ที่ต้องการนำมาหมัก เพื่อเป็นการสกัดสารสำคัญในวัถตุดิบหรือผลไม้นั้นๆออกมา เช่น สารประกอบฟีนอลลิก รวมถึงทำให้สีที่เข้มขึ้น แล้วทำการหมักผลไม้ไปทั้งผล ซึ่งสามารถทำเทคนิค maceration ได้ทั้งก่อนการหมักและหลังการหมัก

การหมักวิธี Maceration เป็นกระบวนการผลิตไวน์ที่สำคัญอย่างหนึ่งเนื่องจากจะต้องมีสัมผัสของวัตถุดิบคือ (เมล็ดองุ่นและเปลือก) ซึ่งจะทำให้เกิดสารฟีนอลิก, โพลีแซคคาไรด์, สารประกอบไนโตรเจน, แร่ธาตุและสารประกอบระเหยที่สกัดออกมาได้ ดังนั้นไวน์จึงมีโครงสร้างที่มีกลิ่นหอมมีรสชาติดีเป็นตัวแปรที่สำคัญ (Violeta และคณะ, 2014)

เอกสารนี้ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ... ของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Maceration เป็นขั้นตอนที่สำคัญมากในการผลิตไวน์แดงคุณภาพสูงซึ่งนำไปสู่ความเสถียรของสีที่เพิ่มขึ้นและ การปรับปรุงรสชาติและสัมผัสรวมถึงคุณภาพไวน์โดยรวมที่ดีขึ้น ในช่วงการหมักแบบ Maceration ปริมาณของสารประกอบจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีการสกัดของส่วนประกอบที่มีกลิ่นหอมจากผิวองุ่น ในทางกลับกันในระหว่างการหมัก Maceration การหมักของแอลกอฮอล์จะดำเนินการโดยยีสต์ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้สารประกอบระเหยในไวน์เพิ่มขึ้น (Francisco และคณะ, 2019)

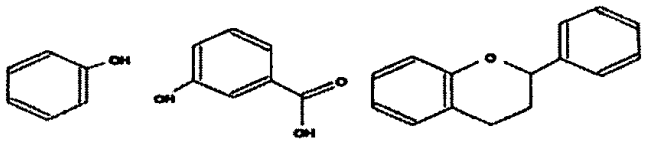
2.5 สารสำคัญในไวน์

2.5.1 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารที่พบได้ในพืชซึ่งปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในอาหารและเครื่องดื่มที่มาจากพืชผักและผลไม้จะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของพืช วิธีการปลูก ระดับความสุก กระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษา การใช้ความร้อนในกระบวนการแปรรูปที่มีส่วนทำให้สารประกอบฟีนอลิกลดลง และสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มหนึ่งที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วย ซึ่งจะส่งผลกระทบต่างๆ ต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและเกิดการทำลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S-H และเยื่อหุ้มเซลล์ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์และการทำลายเซลล์ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่ (aging) และรุนแรงไปถึงการเกิดเป็น โรคภัยไข้เจ็บต่างๆ เช่นเส้นเลือดตีบโรคเกี่ยวกับ ชราภาพภูมิคุ้มกัน (autoimmune disease) โรค ที่เกิดจากการที่เลือดกลับไปเลี้ยงอวัยวะที่เคยมีการ ตีบตันของเส้นเลือดในระยะสั้นๆ มาก่อน รวมไป ถึงโรคมะเร็งเป็นต้น

สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารที่ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้พวกอนุมูลอิสระก่อตัวขึ้น โดยจะทำการยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ และหยุดการก่อตัวใหม่ของอนุมูลอิสระ ช่วยซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากตัวอนุมูลอิสระที่ไปทำลายเซลล์ต่างๆ ในร่างกายรวมทั้งช่วยกำจัดและแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลาย

โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิกดังแสดงในรูที่ 2.7 เป็นสารประกอบที่เป็นวงแหวนอะโรมาติก และมีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่ รวมไปถึงอนุพันธุ์ของสารประกอบฟีนอล ซึ่งมีการแทนที่ด้วยหมู่ฟังก์ชันต่างๆ เช่น ฟลาโวนอยด์ ลิกนิน กรดซินนามิก และโคเอ็นไซม์คิว



Phenols Phenolic acids Flavonoids

รูปที่ 2.7 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกโดยทั่วไป

ที่มา : เนตรนภา เมยกลางและคณะ, 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิกไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือจะเป็นสารประกอบฟีนอลกับสารสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ และเทอร์พีนอยด์ เป็นต้น (เนตรนภา เมยกลาง, 2557)

2.5.2 คอร์ไดเซปิน

สารคอร์ไดเซปิน [Cordycepin (3'-deoxyadenosine)] เป็นสารประกอบสำคัญในเห็ดถั่งเช่าที่มีมาตามธรรมชาติและเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญมีคุณสมบัติทางยาที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยสารตัวนี้
พบมากในเห็ดถั่งเช่า และเป็นคุณสมบัติเด่นของเห็ดถั่งเช่าและสามารถช่วยให้ร่างกายแข็งแรงและสุขภาพดีในหลายๆ ด้าน

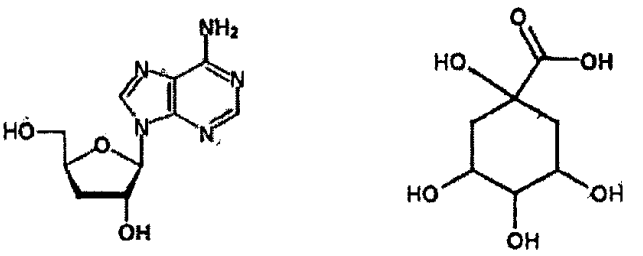
โครงสร้างสารคอร์ไดเซปิน [Cordycepin (3'-deoxyadenosine)] และกรดคอร์ไดเซปินดังแสดงในรูปที่ 2.8 ซึ่งจะช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกาย ถูกใช้ในการเพิ่มความแข็งแรงของนักกีฬา ใช้ในการป้องกันและรักษาสารพัดโรค เช่น โรคหอบหืด วัณโรค โรคหลอดลมอักเสบ เรื้อรัง โรคตับอักเสบเฉียบพลันและเรื้อรัง โรคไต โรคหัวใจ รวมถึงโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบ ไหลเวียนโลหิต ความดันโลหิตสูง ภาวะที่เม็ดเลือดขาวต่ำกว่าปกติ ลดระดับน้ำตาลในเลือด อาการอ่อนล้า เครียด นอนไม่หลับ โรคระบบประสาท โรคเบาหวาน เพิ่มภูมิคุ้มกัน เพิ่มความ แข็งแรงของร่างกายให้ต้านทานต่อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อเอชไอวี ต้านเซลล์มะเร็งและเซลล์เนื้องอก แก้ความผิดปกติทางเพศทั้งในเพศชายและหญิง

2.5.3 อะดีโนซีน

อะดีโนซีน (adenosine) ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 2.9 เป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญอีกตัวหนึ่งที่รองจากสารคอร์ไดเซปินในเห็ดตระกูลถั่งเช่า ซึ่งมีคุณสมบัติกระตุ้นการจับออกซิเจนในกระแสเลือด ช่วยเรื่องระบบหายใจ โรคหอบหืดและภูมิแพ้ รวมถึงอะดีโนซีนยังช่วยในการสลายลิ่มเลือดไม่ให้เกิดการแข็งตัว เพิ่มการไหลเวียนของโลหิตให้ดีขึ้น และควบคุมการเต้นของหัวใจให้ทำงานเป็นปกติ

ในปัจจุบันได้มีการใช้เห็ดถั่งเช่าในทางเวชภัณฑ์เครื่องสำอาง เนื่องเห็ดถั่งเช่ามีสารอะดีโนซีนที่เป็นอนุพันธ์ของนิวคลีโอไซด์ (nucleoside) เป็นสารชนิดหนึ่งในกระบวนการทำงานของเซลล์ และเป็นตัวตั้งต้นที่ไปกระตุ้นการทำงานของ DNA ในการสร้างโปรตีนของเซลล์ผิว (Maconi และคณะ,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้



Cordycepin Cordycepic acid

รูปที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของคอร์ไดเซปิน และกรดคอร์ไดเซปิก

ที่มา : Kai และคณะ, 2013.

2002) จึงทำให้ผิวคงสภาพและอ่อนเยาว์ และเสริมสร้างให้ผิวขาวกระจ่างใส และทำให้ผิวหน้ากระชับตึง และลดเลือนริ้วรอยได้อย่างมีประสิทธิภาพ

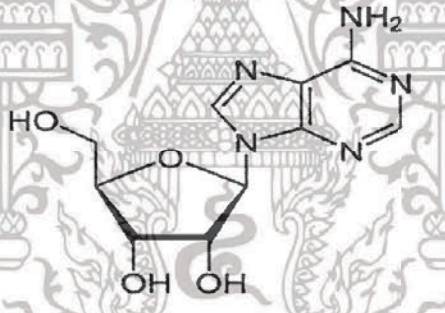
2.6 มาตรฐานการผลิตไวน์ผลไม้

2.6.1 ขอบข่าย

2.6.1.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ไม่ครอบคลุมถึงสุราแช่ชนิดเบียร์ และสุราแช่อื่นที่ได้มีการกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนขึ้น

2.6.2 บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้



รูปที่ 2.9 โครงสรางทางเคมีของอะดีโนซีน

ที่มา : https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e8/Adenosin.svg/12..px-Adenosin.svg.png

2.6.2 บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้

2.6.2.1 ไวน์ผลไม้ หมายถึง สุราแช่ชนิดหนึ่ง ซึ่งทำจากการนำวัตถุดิบจำพวกผลไม้หรือน้ำผลไม้มาผ่านกรรมวิธีการผลิตไวน์ผลไม้ มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน ๑๕ ดีกรี/ร้อยละโดยปริมาตร หากมีการผสมสุรากลั่นต้องมีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน ๑๕ ดีกรี/ร้อยละโดยปริมาตร

2.6.2.2 สุราแช่ หมายถึง สุราที่ไม่ได้กลั่น และให้หมายรวมถึงสุราแช่ที่ได้ผสมกับสุรากลั่นแล้วแต่ยังมีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน ๑๕ ดีกรี/ร้อยละโดยปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2.3 กรรมวิธีการผลิตไวน์ผลไม้ หมายถึง การหมักผลไม้และ/หรือน้ำผลไม้ด้วยยีสต์เพื่อ

เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งหมักไว้ระยะหนึ่งจะเป็นสุราแช่ หากมีการบ่มหมักต่ออีกระยะหนึ่งจะให้รสชาติที่นุ่มละมุนในการผลิตอาจมีการเติมน้ำตาลทรายขาวเพื่อเพิ่มความหวานให้เหมาะกับการหมักสุราแช่ เพื่อให้ได้แรงแอลกอฮอล์ตามต้องการ

2.6.2.4 ยีสต์ หมายถึง จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ใช้ในการหมักสุราแช่ มีหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลในผลไม้และ/หรือน้ำผลไม้ ให้เป็นแอลกอฮอล์ และยังทำหน้าที่ผลิตสารระเหยบางชนิดออกมาทำให้ได้กลิ่นและรสชาติที่เฉพาะกลมกล่อม ยีสต์ส่วนใหญ่ที่ใช้หมักเป็น *Saccharomyces spp.* และอาจมีการใช้ยีสต์หลายสายพันธุ์ผสมกันเพื่อใช้หมักก็ได้ทำให้รสชาติ คุณภาพ ดีขึ้น

2.6.2.5 ผลไม้และ/หรือน้ำผลไม้ หมายถึง ผลไม้และ/หรือน้ำผลไม้ทุกชนิดที่นำมาผลิตให้กลิ่น สี รสชาติ และคุณภาพตามที่ต้องการ

2.6.3 คุณลักษณะที่ต้องการ

2.6.3.1 คุณลักษณะทางเคมี

1. แรงแอลกอฮอล์ต้องไม่เกิน ๑๕ ดีกรี/ร้อยละโดยปริมาตร และมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนจากที่ระบุไว้ที่ฉลากได้ไม่เกิน ± ๑ ดีกรี/ร้อยละโดยปริมาตร
2. เมทิลแอลกอฮอล์ ต้องไม่เกิน ๔๒๐ มิลลิกรัมต่อลิตร
3. ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน ๓๐๐ มิลลิกรัมต่อลิตร
4. กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก(คำนวณเป็นกรดซอร์บิก) ต้องไม่เกิน ๒๐๐ มิลลิกรัมต่อลิตร
5. กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก (คำนวณเป็นกรดเบนโซอิก) ต้องไม่เกิน ๒๕๐ มิลลิกรัมต่อลิตร
6. ทองแดง ต้องไม่เกิน ๕ มิลลิกรัมต่อลิตร
7. เหล็ก ต้องไม่เกิน ๑๕ มิลลิกรัมต่อลิตร
8. ตะกั่ว ต้องไม่เกิน ๐.๒ มิลลิกรัมต่อลิตร
9. สารหนู ต้องไม่เกิน ๐.๑ มิลลิกรัมต่อลิตร
10. เฟอร์โรไซยาไนด์ ต้องไม่พบ

2.6.3.2 คุณลักษณะทางกายภาพ

1. ความใส ใสตามลักษณะของไวน์ผลไม้
2. สี มีสีเป็นไปตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ และเป็นไปตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก
3. กลิ่น ต้องมีกลิ่นหอมของผลไม้หรือน้ำผลไม้ที่นำมาผลิตไวน์ผลไม้ตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก และไม่มีกลิ่นน้ำส้มสายชูหรือกลิ่นอื่นๆ ที่ไม่พึงประสงค์ปรากฏเด่นชัด
4. รสชาติมีความเป็นกรด หวาน ฝาด เฝื่อน และกลมกล่อม ตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ
5. คุณภาพโดยรวมของไวน์ผลไม้ มีความใส สี กลิ่น และรสชาติ เป็นที่ยอมรับเมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ ๘.๒ แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทุกคนไม่น้อยกว่าร้อยละ ๖๐ และไม่มีลักษณะใดได้น้อยกว่าร้อยละ ๓๐ ของคะแนนเต็ม จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

2.6.3.3 สิ่งแปลกปลอม ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่วัตถุดิบที่ใช้ทำ

2.6.3.4 ความเสถียร ต้องไม่ปรากฏฟองในภาชนะบรรจุอันเนื่องมาจากการหมักซ้ำ

2.6.4 สุขลักษณะ

2.6.4.1 สุขลักษณะในการทำไวน์ผลไม้ ให้เป็นไปตามคำแนะนำตามภาคผนวก ก.

2.6.5 การบรรจุ

2.6.5.1 ให้บรรจุไวน์ผลไม้ในในภาชนะบรรจุที่เหมาะสม สะอาด แห้ง ปิดได้สนิท และไม่ทำปฏิกิริยากับไวน์ผลไม้ที่บรรจุอยู่

2.6.5.2 ขนาดบรรจุของไวน์ผลไม้ในแต่ละภาชนะบรรจุต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

2.6.6 เครื่องหมายและฉลาก

2.6.6.1 ที่ภาชนะบรรจุไวน์ผลไม้ทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมี เลข อักษร หรือเครื่องหมาย แจ้งรายละเอียดต่อไปนี้
ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน

(1) ชื่อเรียกผลิตภัณฑ์ เช่น ไวน์องุ่น ไวน์มังคุด ไวน์เม่า

(2) แรงแอลกอฮอล์ เป็นดีกรี หรือ ร้อยละโดยปริมาตร

(3) ขนาดบรรจุ

(4) ส่วนประกอบหลัก หรือวัตถุดิบที่ใช้ทำ

(5) คำเตือนตามกฎหมายที่เกี่ยวข้องกำหนด เช่น การดื่มสุราทำให้ความสามารถในการขับขี่ยานพาหนะลดลง

(6) วัน เดือน ปีที่บรรจุ

(7) ชื่อผู้ทำ หรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน ในกรณีที่ใช้
ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น ยกเว้นข้อ (5) ต้องเป็นภาษาไทย

2.6.7 การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

2.6.7.1 รุ่น ในที่นี้ หมายถึง ไวน์ผลไม้ที่ทำจากวัตถุดิบและกรรมวิธีเดียวกัน ที่ทำหรือซื้อขายหรือส่งมอบในระยะเวลาเดียวกัน

2.6.7.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

1. การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบคุณลักษณะทางเคมี สิ่งแปลกปลอม ความเสถียร การบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดียวกันจำนวน 3 หน่วย ภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 2.6.1 และ 2.6.3 – 2.6.6 จึงจะถือว่าไวน์ผลไม้รุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

2. การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบคุณลักษณะทางกายภาพ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันจำนวน 5 หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.2 จึงจะถือว่าไวน์ผลไม้รุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

2.6.7.3 เกณฑ์ตัดสินตัวอย่างไวน์ผลไม้ต้องเป็นไปตามข้อ 7.2.1 และข้อ 7.2.2 ทุกข้อ จึงจะถือว่าไวน์ผลไม้รุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

2.6.8 การทดสอบ

2.6.8.1 การทดสอบคุณลักษณะทางเคมี และขนาดบรรจุ ให้ปฏิบัติตามวิธีวิเคราะห์ที่หน่วยตรวจสอบใช้ปฏิบัติอยู่เป็นประจำ

2.6.8.2 การทดสอบคุณลักษณะทางกายภาพ

1. ให้แต่งตั้งคณะผู้ตรวจสอบ ๑๐ คน และแต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ

2. คุณสมบัติของคณะผู้ตรวจสอบ ให้เป็นไปตามภาคผนวก ข.

3. หลักเกณฑ์การให้คะแนน ให้เป็นไปตามภาคผนวก ค.8.3 การทดสอบสิ่งแปลกปลอม ความเสถียร ภาชนะบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก ให้ตรวจพินิจ

ภาคผนวก ก.

สุขลักษณะ

(ข้อ 2.6.4)

ก.1 สถานที่ตั้งและอาคารผลิต

ก.1.1 สถานที่ตั้งตัวอาคารและที่ใกล้เคียง ควรอยู่ในที่ที่จะไม่ทำให้ไวน์ผลไม้ที่ผลิตเกิดการปนเปื้อนได้ง่ายโดย

ก.1.1.1 สถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบ สะอาด ไม่มีน้ำขังแฉะและสกปรก

ก.1.1.2 ควรอยู่ห่างจากบริเวณหรือสถานที่ที่มีฝุ่นมากผิดปกติ

ก.1.1.3 ไม่ควรอยู่ใกล้เคียงกับสถานที่น่ารังเกียจ

ก.1.2 อาคารผลิตมีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบและก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงรักษา การทำความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงาน โดย

ก.1.2.1 พื้น ฝาผนัง และเพดานของอาคารสถานที่ผลิต ควรก่อสร้างด้วยวัสดุที่คงทน ทำความสะอาดและซ่อมแซมให้อยู่ในสภาพที่ดีตลอดเวลา

ก.1.2.2 ควรแยกบริเวณผลิตไวน์ผลไม้ออกเป็นสัดส่วน ไม่ควรอยู่ใกล้ห้องสุขา ไม่ควรมีสิ่งของที่ไม่ใช้แล้วหรือไม่เกี่ยวข้องกับการผลิตอยู่ในบริเวณผลิต

ก.1.2.3 พื้นที่ปฏิบัติงาน ควรมีบริเวณเพียงพอ แสงสว่าง และการระบายอากาศที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.2 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการผลิต

ก.2.1 ภาชนะหรืออุปกรณ์ในการผลิตที่สัมผัสกับไวน์ผลไม้ ทำจากวัสดุมีผิวเรียบ ไม่เป็นสนิม ไม่กัดกร่อนหรือทำปฏิกิริยากับไวน์ผลไม้ ล้างทำความสะอาดได้ง่าย

ก.2.2 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ สะอาด และเหมาะสมกับการใช้งาน ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนติดตั้งได้ง่าย มีปริมาณเพียงพอ รวมทั้งสามารถทำความสะอาดได้ง่ายและทั่วถึง

ก.3 การควบคุมกระบวนการผลิต

ก.3.1 วัตถุดิบและส่วนผสมในการผลิตไวน์ผลไม้ สะอาด มีคุณภาพดี มีการล้างหรือทำความสะอาดก่อนนำไปใช้

ก.3.2 น้ำที่ใช้ในการผลิต สะอาด มีคุณภาพดี ให้ผ่านการต้มหรือกรองก่อนนำมาใช้ในการผลิตไวน์ผลไม้

ก.3.3 การผลิต การเก็บรักษา ขนย้าย และขนส่งไวน์ผลไม้ มีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของไวน์ผลไม้

ก.4 การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด

ก.4.1 น้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์ และมือผู้ประกอบไวน์ผลไม้เป็นน้ำสะอาดและมีปริมาณเพียงพอ

ก.4.2 มีวิธีการป้องกันและกำจัดสัตว์นำเชื้อ แมลงและฝุ่น ไม่ให้เข้าในบริเวณผลิตตามความเหมาะสม

ก.4.3 มีการกำจัดขยะ สิ่งสกปรก และน้ำทิ้ง อย่างเหมาะสม เพื่อไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับลงสู่ไวน์ผลไม้

ก.4.4 สารเคมีที่ใช้ล้างทำความสะอาด และใช้กำจัดสัตว์นำเชื้อและแมลง ควรใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และเก็บแยกจากบริเวณที่ผลิตไวน์ผลไม้ เพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่ไวน์ผลไม้ได้

ก.5 บุคลากรและสุขลักษณะผู้ปฏิบัติงาน ผู้ทำไวน์ผลไม้ทุกคนต้องรักษาความสะอาดส่วนบุคคลให้ดี เช่น สวมเสื้อผ้าที่สะอาด มีผ้าคลุมผมเพื่อป้องกันไม่ให้เส้นผมหล่นลงในอาหาร ไม่ไว้เล็บยาว และล้างมือให้สะอาดก่อนสัมผัสไวน์ผลไม้ทุกครั้ง

ภาคผนวก ข.

หลักเกณฑ์การให้คะแนนในการทดสอบ ความใส สี กลิ่น รสชาติ และคุณภาพโดยรวมของไวน์ผลไม้ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ภาคผนวก ค.

คุณสมบัติของคณะผู้ตรวจสอบ

(ข้อ 8.2.2)

ค.1 คุณสมบัติของคณะผู้ตรวจสอบ

ค1.1 มีความชำนาญในการตรวจสอบไวน์ผลไม้

ค.1.2 ประกอบด้วยผู้แทนจากกลุ่มบุคคลต่างๆ จำนวน 10 คน ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 หลักเกณฑ์การให้คะแนนในการทดสอบ ความใส สี กลิ่น รสชาติ และคุณภาพโดยรวมของไวน์ผลไม้

ลักษณะทดรวจสอบ	เกณฑ์ทกำหนด	คะแนนเต็ม
ความใส	ใสตามลักษณะของไวน์ผลไม้	10
สี	สีเป็นไปตามธรรมชาตของวัตถุดิบที่ใช้ทำ และเป็นไปตามทระบุไว้ที่ฉลาก	10
กลิ่น	มีกลิ่นหอมของผลไม้หรือฐ์ผลไม้ที่นำมาผลิตไวน์ผลไม้ตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก และไม่มีกลิ่นฐ์ส้มสายชูหรือกลิ่นอื่นๆที่ไม่พึงประสงค์ปรากฏเด่นชัด	30
รสชาติ	มีความเป็นกรด หวาน ฝาด เผื่อน และกลมกล่อมตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ	30
คุณภาพโดยรวมของไวน์ผลไม้	มีความใส สี กลิ่น และรสชาติ เป็นที่ยอมรับ	20

ที่มา : http://tcps.tisi.go.th/pub/tcps2_46.pdf.

ค.1.2.1 ผู้ผลิต 2 คน

ค.1.2.2 นักวิชาการ/ผู้ทรงคุณวุฒิ 3 คน

ค.1.2.3 ผู้บริโภค 4 คน

ค.1.2.4 ภาครัฐที่เกี่ยวข้อง 1 คน

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปรานอม ธรรมศิริ (2555) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในสมุนไพรประกอบยาดองและยาดองเหล้า ซึ่งทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยวิเคราะห์การดูดกลืนแสงตามวิธี Folin-Ciocalteu method ทำการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid โดยปิเปตสารละลาย gallic acid ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร เติมในหลอดทดลอง 10 เปอร์เซ็นต์ Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งพักไว้ 5 นาที จากนั้นเติม 7.5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 1.6 มิลลิตร พักไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที นำสารที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมพบว่า สารสกัดจากสมุนไพรประกอบยาดองแต่ละชนิดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมแตกต่างกัน ส่วนมากมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดเมื่อดองเหล้าเป็นเวลา 3 -14 วัน และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจะลดลงหลังจากดอง เหล้าเป็นเวลา 14 วัน สอดคล้องกับยาดองเหล้าสูตรต่างๆ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเพิ่มขึ้นมากในช่วง 3 วันแรก ของการดอง โดยจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดเมื่อดองเหล้าเป็นเวลา 3-7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิลาวัลย์ และคณะ (2559) ได้ศึกษาการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์ โดยใช้วิธีการทดสอบแบบ 9 point Hedonic scale จากผู้บริโภคจำนวน 30 คน ที่สามารถรับประทานเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้ ซึ่งทำการทดสอบในเรื่องของ สี กลิ่น ความใส รสชาติ และความชอบรวม เพื่อหาสูตรไวน์ที่ได้รับความยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด

อำพรรณ และคณะ (2548) ศึกษาปริมาณกล้าเชื้อและอัตราส่วนของน้ำมะม่วงต่อน้ำที่เหมาะสมในการหมักไวน์มะม่วง โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักไวน์มะม่วง คือ อัตราส่วนน้ำมะม่วงต่อน้ำเป็น 1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปรับปริมาณความหวาน (ของแข็งที่ละลายได้) เท่ากับ 22 องศาบริกซ์ โดยใช้ปริมาณกล้าเชื้อร้อยละ 5 ของปริมาตรน้ำหมัก และหมักไวน์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถหมักไวน์ได้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดร้อยละ 11.6 โดยปริมาตร ในเวลา 22 วัน

Francisco และคณะ (2019) ได้ทำการศึกษาผลที่ได้จากการหมักแบบ maceration โดยใช้เมล็ดขององุ่นที่สุกเพื่อดูความเสถียรของสีในไวน์แดง โดยสารประกอบฟีนอลลิกจะแสดงให้เห็นการเพิ่มขึ้นที่แตกต่างในไวน์ที่ใช้เมล็ดองุ่นที่สุกและหมักแบบ maceration ซึ่งมีสารคาเทชิน, เอพิเคทชิน, กรดแกลลิคและ โปรไซยานิลิน บี1 และ บี2 ซึ่งหลังการหมักแบบ maceration ที่มีการเติมผลองุ่นซ้ำจะทำให้เกิดสารฟีนอลลิกในไวน์ได้ดีกว่าการหมักแบบธรรมดา นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงสัดส่วนโคพิกเมนต์เทชัน, หลีกเลี่ยงการย่อยสลายแอนโทไซยานิน (โดยกระบวนการโคพิกเมนต์เทชันและพอลิเมอไรเซชัน) และนำไปสู่กระบวนการที่เหมาะสมในยืดอายุไวน์

Kekelidze และคณะ (2018) ได้ทำการศึกษาการเพื่อเพิ่มสารประกอบฟีนอลิกในไวน์แดงโดยการใช้เทคนิคต่างๆในการหมักไวน์ ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกเป็นหนึ่งในลักษณะสำคัญของไวน์แดง ที่มีส่วนในการทำให้เกิดของโครงสร้าง, สี, ความใส และเสถียรภาพของไวน์และสารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งการพัฒนาอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในร่างกายมนุษย์, ลดโรคหัวใจและหลอดเลือดได้อย่างมาก, โรคเบาหวาน 2, มะเร็งชนิดต่างๆและความหลากหลายของความเสี่ยงในการพัฒนาโรคอื่น ๆ โดยหนึ่งในเทคนิคที่เลือกใช้คือ maceration ซึ่งเป็นเทคนิคที่ช่วยเพิ่มสารประกอบฟีนอลิกในไวน์ได้มากที่สุดเพราะพบสารประกอบฟีนอลิกรวมถึง 185.453 มิลลิกรัมต่อลิตร และในการเปรียบเทียบกับตัวควบคุมการเพิ่มขึ้นของสารฟีนอลิกชนิดต่างๆพบว่า: (-)-epicatechin, quercetin-3-glucoside และ กรด caffeic เพิ่มขึ้น 5 เท่า, กรด ellagic เพิ่มขึ้น 4 เท่า, กรด t-caftaric เพิ่มขึ้น 2 เท่า, กรด syringic เพิ่มขึ้น โดยประมาณ 65 เปอร์เซ็นต์ และ (+)-catechin เพิ่มขึ้น โดยประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์

Li และคณะ (2015) ทำการศึกษาผลของการหุงต้มต่อปริมาณอะดีโนซีนและคอรไดเซปนในเห็ดถั่ง เชาสีทอง โดยใช้วิธีโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของ adenosine และ cordycepin ซึ่งวิธีการคือ: HPLC ของ mobile phase ประกอบด้วยเมทานอลและน้ำบริสุทธิ์ (16:84) ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที อุณหภูมิของคอลัมน์เท่ากับ 27 องศาเซลเซียสและปริมาตรในการโหลดตัวอย่างคือ 10 ไมโครลิตร และตรวจจับรังสี UV ที่ 260 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่เรียบง่ายและมีเสถียรภาพและความแม่นยำสูง โดยพบวาอุณหภูมิที่เหมาะสำหรับการสกัดสารอะดีโนซีนและคอรไดซิปนอยู่ที่ 20-40 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นกว่านี้สารของ adenosine ใน *Cordyceps militaris* จะลดลงอย่างมาก แต่ในทางกลับกันสารของ cordycepin ค่อนข้างคงที่ ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า adenosine มีความไม่เสถียรทางความร้อน

Mohd Adnan และคณะ (2017) ได้ทำการศึกษาผลของสภาวะต่างๆที่ใช้ในการหมัก เช่น พีเอช, อุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มเชื้อและการหมักบนอาหารแข็งโดยใช้ซับเสตทเป็นข้าวสาลี, ข้าวโอ๊ต และข้าวจ้าว ในการผลิตสารคอร์ไดเซปิน ซึ่งอุณหภูมิ, พีเอชและเวลาในการบ่มเชื้อมีผลโดยตรงต่อการผลิตสาร คอร์ไดเซปิน โดยค่าที่ดีที่สุดของอุณหภูมิ, พีเอชและเวลาในการบ่มเชื้อคือ 25 องศาเซลเซียส , pH 5.5 และ 21 วัน ตามลำดับ ซึ่งผลิตสารคอร์ไดเซปิน ได้มากสุด และวิธีการเพาะบนอาหารแข็ง (SSF) โดยใช้สับเสตทแบบแข็งจะนำมาใช้ในการผลิตสารคอร์ไดเซปิน โดยในบรรดาซับเสตทที่เป็นของแข็ง พบว่าข้าวสารสามารถผลิตสารคอร์ไดเซปิน ได้ถึง 814.60 มิลลิกรัม/กรัม รองลงมาคือข้าวโอ๊ตและข้าวสาลีที่ผลิตได้ 638.85 และ 565.20 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ วิธีนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตสารคอร์ไดเซปิน ได้ในปริมาณมาก

Shuang-jie และคณะ (2013) ได้ทำการศึกษาการเปรียบเทียบการเพิ่มภูมิคุ้มกันของ *Cordyceps militaris* แบบสดและแห้งในร่างกายและหลอดทดลอง โดยเป็นการนำ *Cordyceps militaris* มาทดสอบทั้งแบบสด (ฟรีสไดร์) และแบบแห้ง (อบแห้ง) โดยจะทดสอบกิจกรรมภูมิคุ้มกัน, การวิเคราะห์การเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือดขาว, การตรวจวัดค่า phagocytic และการตรวจ cytokines ทั้งในหนูและหลอดทดลองโดยใช้เซลล์สัตว์ และยังมีการเปรียบเทียบปริมาณ cordycepin, adenosine, total flavone, และ total phenol ของ *Cordyceps militaris* ทั้งสองแบบ ซึ่งผลคือ *Cordyceps militaris* แบบสดมีความสามารถในการเพิ่มภูมิคุ้มกันดีกว่าแบบแห้งและในส่วนของปริมาณสารสำคัญแบบสดก็ให้ปริมาณของสารมากกว่าแบบแห้ง โดยผลของค่าฟีนอลิกรวมของ *Cordyceps militaris* ทั้งแบบสดและแบบแห้งอยู่ 25.74 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 16.34 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ผลของ total flavone ยังสามารถเพิ่มภูมิกันได้

Violeta และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการหมักแบบ Maceration และวิธีการทำไวน์องุ่นที่มีต่อกลิ่นของไวน์ Vranec โดยในการศึกษานี้ไวน์ Vranec ที่ผลิตจะใช้ระยะเวลาการหมักแบบ maceration ที่แตกต่างกัน (4, 7, 14 และ 30 วัน) โดยในระหว่างการหมักจะมีการศึกษาอิทธิพลเพื่อกำหนดสภาวะการหมักไวน์ที่มีผลต่อกลิ่นของไวน์ และได้ให้คำนิยามของ maceration ว่าเป็นขั้นตอนที่สำคัญมากในการผลิตไวน์แดงคุณภาพสูงซึ่งนำไปสู่ความเสถียรของสีที่เพิ่มขึ้นและการปรับปรุงรสชาติและสัมผัสรวมถึงคุณภาพไวน์โดยรวมที่ดีขึ้น ในช่วงการหมักแบบ maceration ปริมาณของสารประกอบจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีการสกัดของส่วนประกอบที่มีกลิ่นหอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผิวองุ่น และในทางกลับกันในระหว่างการหมัก maceration นั้นการหมักของแอลกอฮอล์จะดำเนินการโดยยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 ข้าวไรซ์เบอร์รี่

3.1.1.2 ไข่ไก่

3.1.1.3 หนอนไหม

3.1.1.4 มันฝรั่ง

3.1.1.5 ข้าวโพดอ่อน

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.2.1 *Cordyceps militaris*

3.1.2.2 *Staphylococcus aureus*

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.3.1 Potato Dextrose Agar เสริมไข่ไก่

3.1.3.2 Potato Dextrose Broth เสริมไข่ไก่

3.1.3.3 Mueller Hinton Agar (MHA)

3.1.3.4 Nutrient Agar (NA)

3.1.3.5 Nutrient Broth (NB)

3.1.4 อุปกรณ์ และเครื่องมือ

3.1.4. ตู้ปลอดเชื้อ

3.1.4.2 ตู้บ่มเชื้อแบบควบคุมอุณหภูมิ

3.1.4.3 เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ

3.1.4.4 เครื่องชั่งสาร

3.1.4.5 เครื่องโครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

3.1.4.6 ตู้เย็น

3.1.4.7 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave)

3.1.4.8 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

3.1.4.9 เครื่องเขย่าคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic Sonicater)

3.1.4.10 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Microplate Reader)

3.1.4.11 ตู้อบความร้อนแบบสุญญากาศ (Vacuum oven)

3.1.4.12 ขวดแก้วสำหรับเพาะเลี้ยงขนาด 16 ออนซ์

3.1.4.13 ขวดแก้วหมักไวน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4.14 จุกสำลี

3.1.4.15 ผ้าขาวบาง

3.1.4.16 อิบูลลิโอมิเตอร์

3.1.4.17 เครื่องวัดความหวาน Brix Refractometer

3.1.4.18 หลอดสำหรับปนเหวี่ยง ขนาด 50 มิลลิลิตร

3.1.4.19 ขวดเก็บสารละลาย (vial) ขนาด 2 มิลลิลิตร

3.1.4.17 บีกเกอร

3.1.4.18 หลอดทดลอง

3.1.4.19 กระบอกตวง

3.1.4.20 เข็มเขี่ยเชื้อ

3.1.4.21 ตะเกียงแอลกอฮอล

3.1.4.22 จานเพาะเชื้อ

3.1.4.23 เตาแกส

3.1.4.24 ผาขาวบาง

3.1.4.25 มีด

3.1.4.26 หมอ

3.1.4.27 ตะแกรง

3.1.4.28 ขวดรูปชมพูขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.4.29 Micropipette

3.1.4.30 เทอรโมมิเตอร

3.1.4.31 กระดาษกรอง

3.1.4.32 กรวยแกวกรอง

3.1.4.33 เขียง

3.1.4.34 ชอนตักสาร

3.1.5 สารเคมี

3.1.5.1 สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)

3.1.5.2 เปปโตน (peptone)

3.1.5.3 กลูโคส

3.1.5.4 ผงวุ้น (agar)

3.1.5.5 น้ำบริสุทธิ์สูง (ultrapure)

3.1.5.6 เอทานอลร้อยละ 95

3.1.5.7 โซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 (Na_2CO_3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.5.8 สารโฟลิน ซิโอแคลทู รีเอเจนต์ความเข้มข้นร้อยละ 10 (folin ciocalteu reagent)

3.1.5.9 กรดแกลลิก (Gallic acid)

3.1.5.10 โพแทสเซียมเมตาไดซัลไฟต์

3.1.5.11 กรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 10

3.1.5.12 เมทานอล

3.1.5.13 ไฮโดรเจน

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3.2.1 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3.2.1.1 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยหนอนในขวดแก้ว

เริ่มต้นจากการเพาะเลี้ยงเส้นใยในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีหนอนไหม จนเกิดเป็นดอกเห็ด (ดัดแปลงจากลุงหยุด, 2556)

3.2.1.2 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารแข็ง PDA เสริม

นำดอกเห็ดที่ได้มาทำการฆ่าเชื้อด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วอีก 2 ครั้ง จากนั้นตัดเป็นชิ้นๆ ความยาวประมาณ 0.5 - 1 เซนติเมตร นำชิ้นส่วนที่ตัดแล้วไปวางบนจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหาร PDA ซึ่งมีส่วนประกอบเป็นกรัมต่อลิตร ดังนี้ คือ มันฝรั่ง 200 ข้าวโพดอ่อน 50 กลูโคส 20 ไข่ไก่ 50 และผงวุ้น 20 จากนั้นนำไปบ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน (ดัดแปลงจากลุงหยุด, 2556)

3.2.1.3 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว PDB

นำหัวเชื้อเริ่มต้นจากอาหารแข็ง PDA เสริม มาค็อกจำนวน 3 ชิ้นนำไปใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว PDB ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ซึ่งมีส่วนประกอบเป็นกรัมต่อลิตร ดังนี้คือ มันฝรั่ง 200 ข้าวโพดอ่อน 50 และกลูโคส 20 จากนั้นนำไปเลี้ยงในที่มืดในเครื่องบ่มแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน (ดัดแปลงจากจากลุงหยุด, 2556)

3.2.1.4 การถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารเหลว PDB เสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอน

ทำการถ่ายหัวเชื้อในอาหารเหลว PDB เสริม ในหัวข้อ 3.2.3 ร้อยละ 5 ลงไปตรงกลางขวดอาหารแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอน จากนั้นนำไปบ่มในที่มืดโดยใช้ผ้าดำคลุมที่ขวดเพาะเลี้ยงอีกทีที่อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 14 วัน เส้นใยจะเจริญเต็มขวดเพาะเลี้ยง (เส้นใยมีสีขาว) จากนั้นทำการเปิดดอกโดยให้แสงกับเส้นใย รอจนเกิดเป็นดอกเห็ดมีความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร จากนั้นทำการฉีดฮอร์โมนและนำไปเลี้ยงต่อจนครบเวลาประมาณ 45 - 60

เอกสารนี้เป็นสิ่งที่ได้รับการคุ้มครองตามกฎหมายลิขสิทธิ์ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

วัน นับตั้งแต่วันที่ทำการเปิดดอก โดยสูตรอาหารแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอน มีส่วนประกอบเป็นกรัมต่อลิตร ดังนี้คือ มันฝรั่ง 200 ข้าวโพดอ่อน 50 กลูโคส 20 ไขไก่ 50 ดักแด้ 30 และข้าวไรซ์เบอรี่ 40 กรัมต่อขวดเพาะเลี้ยง

3.2.2 การเพาะเลี้ยงสายพันธุ์ของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ทำการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง 2 ได้แก่ สายพันธุ์ดั้งเดิม และสายพันธุ์ไทย ในสภาวะเดียวกัน เพื่อทำการทดสอบหาปริมาณสารสำคัญเช่น คอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนในแต่ละสายพันธุ์ โดยหาสายพันธุ์ที่ให้สารสำคัญของเห็ดถั่งเช่าสีทองมากที่สุด

3.2.3 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3.2.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

ทำการตัดแบ่งเห็ดถั่งเช่าสีทองออกเป็นสองส่วนคือส่วนดอกและฐานนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วันหรืออบจนกว่าจะมีความชื้นเท่ากับร้อยละ 7 -10 จากนั้นบดเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้โกร่ง

3.2.3.2 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำตัวอย่างผงเห็ดถั่งเช่าสีทองมาชั่งน้ำหนัก 0.1 กรัม ใส่ในหลอดสำหรับปั่นเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาสกัดด้วยอัลตราโซนิคเป็นเวลา 45 นาที

3.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3.2.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

เมื่อตัวอย่างในข้อ 3.3.2 ครบ 45 นาทีแล้ว นำตัวอย่างมากรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอน ใส่ลงในขวดเก็บสารละลาย (vial) ขนาด 2 มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และทำการเตรียมเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) โดยนำน้ำบริสุทธิ์สูง (ultrapure) และเมทานอล นำไปเข้าเครื่องเขย่าคลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasonic sonicator) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 - 45 นาที จากนั้นนำมากรองผ่านตัวกรอง 0.45 ไมครอนก่อนการวิเคราะห์ (ดัดแปลงจาก Li และคณะ, 2015)

3.2.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดเซปิน

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดเซปินและสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้นด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ C18 (ขนาด 3.5 ไมโครเมตร × 250 มิลลิเมตร × 4.6 มิลลิเมตร) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 40 องศาเซลเซียส ฉีดตัวอย่างเข้าคอลัมน์ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร โดยใช้เมทานอลต่อน้ำบริสุทธิ์สูงใน อัตราส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วน 15:85 (ปริมาตร/ปริมาตร) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (ดัดแปลงจาก Li และคณะ, 2015) และทำการวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดเซปินจากพื้นที่ใต้กราฟ โดยการนำค่าพื้นที่ใต้กราฟของสารคอร์ไดเซปินที่วัดได้แทนในสมการเส้นตรง คือ Y = mX+c ของสารคอร์ไดเซปินมาตรฐาน โดยกำหนด Y คือ ค่าที่วัดได้จากพื้นที่ใต้กราฟ และ X คือ ค่าปริมาณสารคอร์ไดเซปิน

3.3 การทดสอบการยับยั้งระหว่างเชื้อ *Cordyceps militaris.* และ *Staphylococcus aureus.*

ตัดดอกเห็ดถั่งเช่า (fruiting boy) ทำการฆ่าเชื้อด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นเวลา 5 นาที ตัดเป็นชิ้นขนาด 0.5 - 1 เซนติเมตร 1 ชิ้น นำชิ้นส่วนที่ตัดแล้วไปวางตำแหน่งกลางจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหาร PDA เพาะเลี้ยงในที่มืดอุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นทำ

การเลี้ยงเปิดแสง 5 วันที่ตู้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำมาลงเชื้อยีสต์ *Staphylococcus aureus.* ให้ครบ 4 ด้าน นำไปเลี้ยงต่อใน 2 สภาวะคือ สภาวะยีสต์อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 1 สัปดาห์ และเลี้ยงในสภาวะของเห็ดถั่งเช่าสีทองอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 1 สัปดาห์ สังเกตการยับยั้งของเชื้อในจานเพาะเลี้ยงที่เกิดขึ้น

3.4 ขั้นตอนกระบวนการหมักไวน์

3.4.1 การเตรียมกล้าเชื้อในการหมัก

ทำการเพาะเลี้ยงยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* บนอาหาร Potato dextrose agar slant บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นใส่เชื้อที่เจริญแล้วจำนวน 2 ลูป ในขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำองุ่นเข้มข้นร้อยละ 100 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วโดยใช้ autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที แล้วนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่า (shaker) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จนได้หัวเชื้อเพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.4.2 กระบวนการหมักไวน์

โดยเตรียมผลองุ่นแดงผสมกับน้ำต้มอัตราส่วน 1:1 (องุ่นแดงสด 350 มิลลิลิตร:น้ำต้ม 350 มิลลิลิตร) จากนั้นทำการบดขยี้ผลองุ่นด้วยมือที่สวมถุงมือที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งเป็นการหมักโดยวิธีการ มาเซอเรชั่น นำน้ำองุ่นที่ได้รวมทั้งเปลือกและเมล็ดบรรจุใส่โหลหมัก และจากนั้นปรับให้มีความหวาน 22 องศาบริกซ์ ด้วยน้ำตาลทราย และปรับ pH ให้ได้ 4.0 โดยใช้สารละลายกรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 10 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วเติมโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 200 ส่วนในล้านส่วน เพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในน้ำองุ่น ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 - 30 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมกล้าเชื้อร้อยละ 5 ของปริมาตรน้ำหมัก ลงในถังหมัก หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 วัน โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 5 วัน การหมักโดยวิธีการมาเซอเรชั่น (มาเซอเรชั่น คือ การหมักโดยใช้องุ่นเป็นผลมาบดขยี้ โดยไม่แยกส่วนของน้ำและเนื้อ แอลกอฮอล์ในองุ่นที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติที่ได้มาจากการบ่มหมักอยู่ในถังหมัก ในระหว่างทำการหมักยีสต์จะทำปฏิกิริยากับน้ำตาลทำให้เกิดแอลกอฮอล์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยใช้เครื่องอินูลลิโอมิเตอร์ วัด pH โดยใช้เครื่อง pH meter วัดองศาบริกซ์ โดยใช้เครื่อง refractometer และวิเคราะห์สารสำคัญในไวน์แดง

3.4.3 การศึกษาการแปรผันปริมาณการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไวน์

นำส่วนของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญเติบโตสมบูรณ์มาอบแห้ง จากนั้นทำการเติมลงในไวน์หลังจากเติมกล้าเชื้อแล้ว ตามในหัวข้อ 3.3.2 โดยทำการแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ตัวอย่าง คือ ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตัวอย่างที่ 1 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 0.8 ตัวอย่างที่ 2 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.2 และ ตัวอย่างที่ 3 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.6 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยมีจุดประสงค์เพื่อทำการทดสอบหาปริมาณของเห็ดเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เหมาะสมที่สุดในเพิ่มสารสำคัญในไวน์แดง

3.5 วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในไวน์แดง

วิเคราะห์โดยใช้ Folin-Ciocalteu method ตามวิธีของ Chidambara (2002) ทำการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก โดยปิเปตสารละลาย gallic acid ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตรเติมในหลอดทดลอง เติม Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งพักไว้ 5 นาที จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร พักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำสารที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง microplatereader แล้วสร้างกราฟมาตรฐานการดูดกลืนแสงของสารละลายกรดแกลลิกที่รู้ความเข้มข้นแล้ว

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในตัวอย่างสารสกัด โดยนำตัวอย่างไวน์มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นดูดส่วนใสด้านบนปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ทำการทดลองเช่นเดียวกับการสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐาน ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมจากค่าการดูดกลืนแสง โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงของสารฟีนอลิกรวมที่วัดได้แทนในสมการเส้นตรง คือ Y=mX+c ของสารฟีนอลิกรวมมาตรฐาน โดยกำหนด Y คือ ค่าที่วัดได้จากการดูดกลืนแสง และ X คือ ค่าปริมาณสารฟีนอลิกรวม

3.6 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

ทำการทดสอบโดยการประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสทางด้านความชอบของผู้บริโภคโดยใช้วิธี Hedonic scale 9 point

3.8.1 สี มีสีที่เป็นไปตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ โดยการรินไวน์ 1 ใน 3 ของแก้ว แล้วยกแก้วขึ้นเพื่อส่องดูกับแสง Daylight หรือแสงสว่างแบบดวงอาทิตย์ เพื่อดูความเข้มของสี

3.8.2 ความใส มีความขุ่นความใสของสีไวน์มากน้อยเพียงใด มีตะกอนขุ่นลอยหรือไม่

3.5.4.3 กลิ่น มีกลิ่นหอมของผลไม้ที่นำมาผลิตไวน์ และไม่มีกลิ่นอื่นๆ ที่ไม่พึงประสงค์ โดยทำการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

แกว่งแก้วเบาๆ 3 – 4 ครั้ง เพื่อให้กลิ่นไวน์ฟุ้งกระจายสัมผัสกับอากาศและอบอวลอยู่ในแก้ว แล้วลดจมูกของลงไปในแก้ว

3.8.3 รสชาติ มีความเป็นกรด หวาน ฝาด และกลมกล่อม ตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ โดยการค่อยๆดื่มและกลั้วคอให้ทั่ว เพื่อให้ประสาทลิ้นรับรู้รส เปรี้ยว หวาน และฝาด จากนั้นให้เคี้ยวเหมือนกับเคี้ยวข้าว สัก 2 – 3 ครั้ง แล้วสูดลมเข้าปากเพื่อให้กลิ่นแอลกอฮอล์พุ่งเข้าโพรงจมูก

3.8.4 กลิ่น ไม่มีกลิ่นแปลกปลอม มีกลิ่นของแอลกอฮอล์ในปริมาณที่พอเหมาะ รวมทั้งมีกลิ่นของผลไม้ที่ใช้ในการหมัก ทำการดมกลิ่นของไวน์โดยการนำตัวอย่างไวน์ขึ้นมาดมก่อนที่จะชิมรสชาติของไวน์

3.8.5 ความชอบโดยรวม ประเมินความโดยรวมของไวน์แต่ละตัวอย่าง ทั้งกลิ่น สี รสชาติ และความใส

แบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์: ไวน์แดงที่มีส่วนผสมของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบตัวอย่างตามหมายเลขรหัส 832, 635, 350 และ 128 ตามลำดับ แล้วให้คะแนน ความชอบของสี ความใส กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม ที่มีต่อตัวอย่าง ด้วย Hedonic scale 9 ระดับ ได้แก่

คะแนนระดับ 1 คือไม่ชอบมากที่สุด คะแนนระดับ 2 คือไม่ชอบมาก

คะแนนระดับ 3 คือ ไม่ชอบปานกลาง คะแนนระดับ 4 คือไม่ชอบเล็กน้อย

คะแนนระดับ 5 คือเฉยๆ คะแนนระดับ 6 คือ ชอบเล็กน้อย

คะแนนระดับ 7 คือชอบปานกลาง คะแนนระดับ 8 คือ ชอบมาก

คะแนนระดับ 9 คือชอบมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง	คุณลักษณะที่ใช้ประเมิน				
	สี	ความใส	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
832					
635					
350					
128					

3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม minitap และใช้แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล โดยจะประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือปริมาณดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เติมลงในไวน์และระยะเวลาในการบ่มที่มีผลต่อปริมาณสารฟีนอลิกรวม สารคอร์ไดเซปิน และปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยทำการแปรผันปริมาณดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งจะมี 4 ระดับ คือ ชุดควบคุมไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง, ตัวอย่างที่ 1 เติมเห็ดร้อยละ 0.8 , ตัวอย่างที่ 2 เติมเห็ดร้อยละ 1.2 และตัวอย่างที่ 3 เติมเห็ดร้อยละ 1.6 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยค่า $p \leq 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลของการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเชาสีทอง

จากการศึกษาระยะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้นและลักษณะเส้นใยของเห็ดถั่งเชาสีทองที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA ดังแสดงในรูปที่ 4.1 พบวาเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในที่มืดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 2 สัปดาห์หรือ 14 วัน พบว่า ลักษณะของเส้นใยมีสีขาวมีการแผ่กระจาย เป็นวงกลมคล้ายสำลีรอบชิ้นสวนของหัวเชื้อเริ่มต้นเห็ดถั่งเชาสีทอง

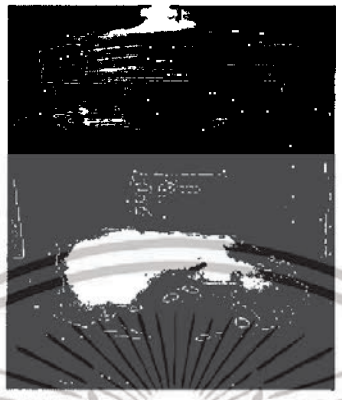
รูปที่ 4.1 ลักษณะเสนใยเห็ดถั่งเชาสีทองที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA

การศึกษาระยะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้นในอาหารเหลว PBD เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ทำการเพาะเลี้ยงในที่มืดอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บนเครื่องบ่มแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบ ตอนาที ดังแสดงในรูปที่ 4.2 พบวาอาหารเหลว PDB มีลักษณะของมีเส้นใยและขุ่นขึ้น เนื่องจากเสนใยของเห็ดถั่งเชาสีทองมีการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณมากขึ้น จึงทำใหอาหารมีลักษณะที่แตกตางจากอาหารเริ่มตน

รูปที่ 4.2 ลักษณะเสนใยเห็ดถั่งเชาสีทองที่เจริญในอาหารเหลว PDB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาระยะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้นเห็ดถั่งเชาสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซเบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ ที่ทำการเพาะเลี้ยงในที่มืดอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 2 สัปดาห์หรือ 14 วัน ดังแสดงในรูปที่ 4.3 พบว่า มีเส้นใยสีขาวของเห็ดถั่งเช่าสีทองเจริญเติบโตปกคลุมอย่างหนาแน่นบนข้าวไรซ์เบอรี่



รูปที่ 4.3 ลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเชาสีทองที่เจริญบนอาหารแข็งข้าวไรซเบอรี่และเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเชาสีทองเพื่อผลิตดอกในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์ เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ พบว่าเมื่อนำมาเปิดดอกในที่ที่มีแสง สว่างอุณหภูมิ 22 - 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 - 7 วัน เส้นใยจะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีสมทอง จากนั้นเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็น ระยะเวลาประมาณ 14 วันจะมีดอกเล็กๆแทงขึ้นมา และเมื่อครบเวลาประมาณ 60 วัน เห็ดถั่งเชาสีทองจะมีการเจริญเติบโตเต็มที่ ดอกของเห็ดถั่งเช่าสีทองจะมีลักษณะสูงยาวเป็นทรงกระบอก อวบ และมีสีสมทอง ดังแสดงในรูปที่ 4.4

รูปที่ 4.4 ลักษณะของเห็ดถั่งเชาสีทองในอาหารเหลว PDB เสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซเบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ เป็นระยะเวลา 60 วัน

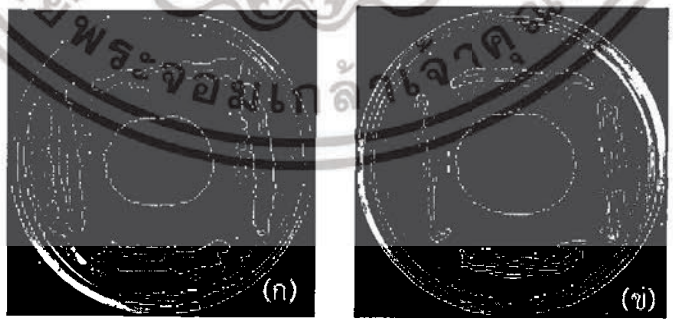
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเชาสีทอง

จากการศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเชาสีทอง โดยการนำสารสกัดที่ได้จากเห็ดถั่งเชาสีทองมาวิเคราะห์หาปริมาณสารคอร์ไดเซปิน ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญทางชีวภาพในเห็ดถั่งเชาสี ทองด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถภาพสูง พบวาสารคอรไดเซปินใน Retention Time (Rt) ที่เวลา 12.5 นาที มีปริมาณสารคอร์ไดเซปินเท่ากับ 9.91 มิลลิกรัมตอ 1 กรัมน้ำหนักแหง ซึ่งปริมาณสารคอรไดเซปนที่ไดจากการวิจัยครั้งนี้มีปริมาณที่ค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยการตรวจสอบและวิเคราะหปริมาณสารอะดีโนซีนและสารคอรไดเซปนในเห็ดถั่งเชาสีทอง พบวาดอกของเห็ดถั่งเชาสีทองที่เพาะเลี้ยงโดยใชข่าวเปนแหลงคารบอนนั้น มีปริมาณสารคอรไดเซปนเทากับ 3.41 มิลลิกรัมตอ 1 กรัมน้ำหนักแหง (Lei และคณะ, 2009) จะเห็นไดวามีปริมาณสารคอรไดเซปนนอยกวา อยางไรก็ตามปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของดอกเห็ดถั่งเชาสีทองจะมากหรือนอยขึ้นอยูกับหลายปจจัย เชน สายพันธุเริ่มต้นของเห็ดถั่งเช่าสีทอง อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง ค่า pH อาหาร อุณหภูมิ แสงสว่าง ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง ระยะเวลาการเก็บผลผลิต และวิธีการสกัดสาร (Mohd และคณะ, 2017) เป็นตน

4.3 การศึกษาการยับยั้งของเชื้อยีสต์และเห็ดถั่งเช่าสีทอง

จากการทดสอบการยับยั้งกันระหว่างเชื้อ *Cordyceps militaris.* และ *Staphylococcus aureus.* บนอาหารแข็ง PDA ใน 2 สภาวะ คือ สภาวะของยีสต์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ดังแสดงในรูปที่ 4.5 (ก) พบว่าไม่เกิดการยับยั้งกันของเชื้อยีสต์และเห็ดถั่งเช่าสีทอง เนื่องจากไม่มีการสร้าง clear zone เพื่อยับยั้งกัน รวมไปถึงเชื้อทั้ง 2 สามารถเจริญเติบโตอยู่บนจานอาหารแข็ง PDA เดียวกันได้ และในสภาวะของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนั้น ดังแสดงในรูป 4.5 (ข) พบว่าไม่เกิดการยับยั้งกันของเชื้อยีสต์และเห็ดถั่งเช่าสีทองเช่นกัน แตเชื้อยีสต์นั้นไม่สามารถที่จะเจริญในสภาวะที่ 25 องศาเซลเซียสได้



รูปที่ 4.5 ลักษณะของการยับยั้งระหว่างเชื้อ *Cordyceps militaris.* และ *Staphylococcus aureus.* บนอาหารแข็ง PDA ใน 2 สภาวะ (ก) สภาวะของยีสต์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ (ข) สภาวะของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพของไวน์

จากการสังเกตทางกายภาพพบว่าไวน์ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองลงไป เมื่อครบการหมัก 20 วัน จะมีสีชมพูขุ่น มีกลิ่นแอลกอฮอล์ รสชาติขมฝาด ส่วนไวน์ตัวอย่างที่ 1, ตัวอย่างที่ 2 และตัวอย่างที่ 3 ซึ่งเป็นไวน์ที่ทำการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ตามลำดับ โดยพบว่าเมื่อครบ 20 วันตัวอย่างที่ทำการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้นมีสีชมพูอมส้มเข้ม ในตัวอย่างที่ 1 ไวน์จะมีสีชมพูเข้มอมส้ม ส่วนไวน์ตัวอย่างที่ 2 และ ตัวอย่างที่ 3 มีสีใกล้เคียงกันคือมีสีชมพูอมส้มเข้ม ซึ่งสีไวน์ในตัวอย่างที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองลงไปนั้นสีที่ได้จะมีสีที่เข้มกว่าไวน์ชุดควบคุมเป็นอย่างมาก เนื่องจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งมีสัมดังนั้นเมื่อเติมลงไปในไวน์จึงทำให้ไวน์มีสีที่เข้มขึ้นดังแสดงที่รูป 4.6 รวมถึงมีกลิ่นแอลกอฮอล์และกลิ่นเปรี้ยวเล็กน้อย และรสชาติเปรี้ยวมากทั้ง 3 ตัวอย่าง

รูปที่ 4.6 ลักษณะของสีไวน์เมื่อทำการหมักครบ 20 วัน ในแต่ละตัวอย่าง (ก) ตัวอย่างชุดควบคุมไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง (ข) ตัวอย่างที่ 1 เติมเห็ดถั่ง.ช่าสีทองร้อยละ 0.8 (ค) ตัวอย่างที่ 2 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.2 และ (ง) ตัวอย่างที่ 3 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.6

4.5 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีของไวน์

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีของไวน์ทั้ง 4 ตัวอย่าง ในระหว่างการหมักทุก 5 วัน ใช้เวลาในการหมัก 20 วัน โดยพิจารณาจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณแอลกอฮอล์ การลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และค่า pH

1. ปริมาณแอลกอฮอล์

ในกระบวนการหมักไวน์ทั้ง 4 ตัวอย่างจะมีปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นในทุกตัวอย่าง ดังรูปที่ 4.7 ทั้งนี้ เนื่องจากในระหว่างกระบวนการหมักเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มาจากวัตถุดิบที่นำมาทำการ

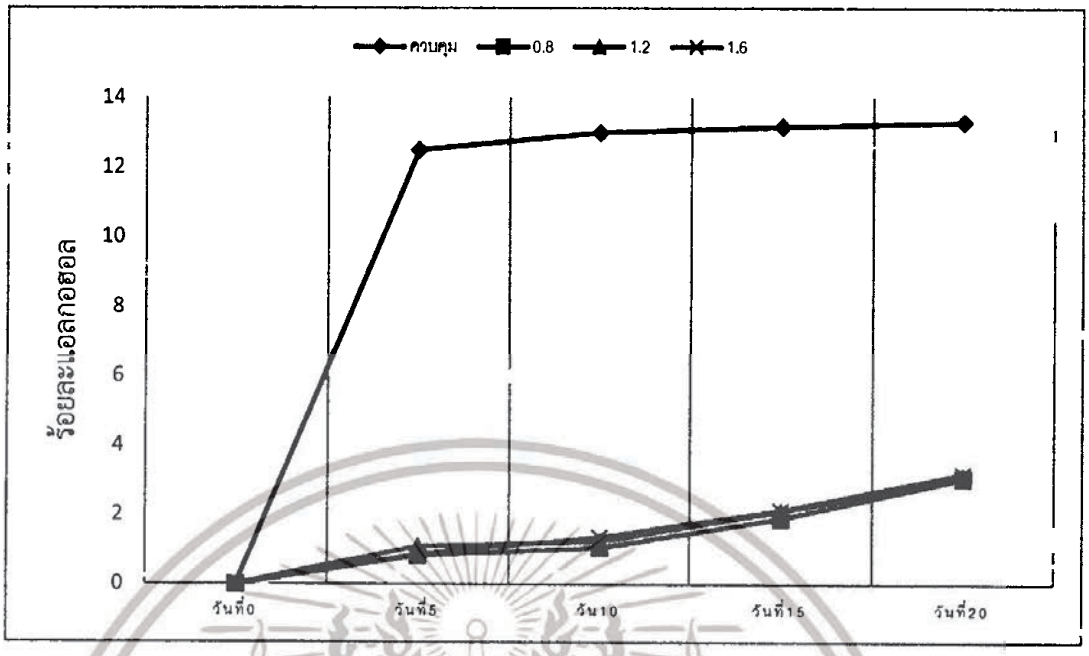
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมักและเชื้อยีสต์ที่เติมลงในไวน์จะทำการใช้น้ำตาลเพื่อเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ซึ่งแอลกอฮอล์สามารถเปลี่ยนเป็นกรดได้จากจุลินทรีย์ในธรรมชาติตัวอื่นๆ (ศุภสิทธ์ ดีรักษา, 2548)โดยตัวอย่างไวน์ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้นจะให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดในทุกช่วงเวลาการหมัก และตัวอย่างไวน์ที่ 1, 2 และ 3 ที่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ตามลำดับ จะให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงขึ้นเพียงเล็กน้อยในทุกช่วงการหมักเมื่อเทียบกับตัวอย่างไวน์ชุดควบคุม เมื่อเข้าสู่กระบวนการหมักในวันที่ 5 ไวน์ในตัวอย่างชุดควบคุมมีการเพิ่มขึ้นของแอลกอฮอล์อย่างมากเมื่อเทียบกับวันที่ 0 คือมีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 12.5±0.4 ส่วนในตัวอย่างที่ 1, 2 และ 3 ที่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ตามลำดับจะมีปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย คือ 0.83±0.35, 1.1±0.2 และ 0.86±0.46 ตามลำดับซึ่งทางสถิติแล้ววันที่ 0 ในทุกตัวอย่างที่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองในปริมาณที่ต่างกันนั้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับค่าของวันและปริมาณในการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 ซึ่งแสดงให้เห็นกระบวนการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มาจากวัตถุดิบที่นำมาทำการหมักและเชื้อยีสต์ที่เติมลงในไวน์นั้นมีกระบวนการทำงานในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงมีความเป็นไปได้ว่าเมื่ออยู่ในสภาวะการหมักเห็ดถั่งเช่าสีทองเกิดการยับยั้งกระบวนการทำงานของยีสต์ จึงทำให้ยีสต์ไม่สามารถทำงานได้หรือได้เพียงเล็กน้อยและส่งผลทำให้ในตัวอย่างที่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 มีปริมาณร้อยละแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยเมื่อสิ้นสุดการหมักในวันที่ 20 พบว่า ตัวอย่างชุดควบคุมมีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 13.3±0.2 ตัวอย่างเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 0.8 มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 3.07±0.2 ตัวอย่างที่เห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.2 มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 3.13±0.23 และตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.6 มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 3.2±0.17 ดังรูปที่ 4.7 ซึ่งในอย่างชุดควบคุมนั้นมีปริมาณร้อยละของแอลกอฮอล์เป็นไปตามทฤษฎี คือแอลกอฮอล์อยู่ในช่วงร้อยละ 5.5 – 14 โดยปริมาตร (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2546) แต่ในชุดตัวอย่างที่ทำการเติมเห็ดนั้นมีปริมาณร้อยละแอลกอฮอล์ที่น้อยกว่าตามทฤษฎี

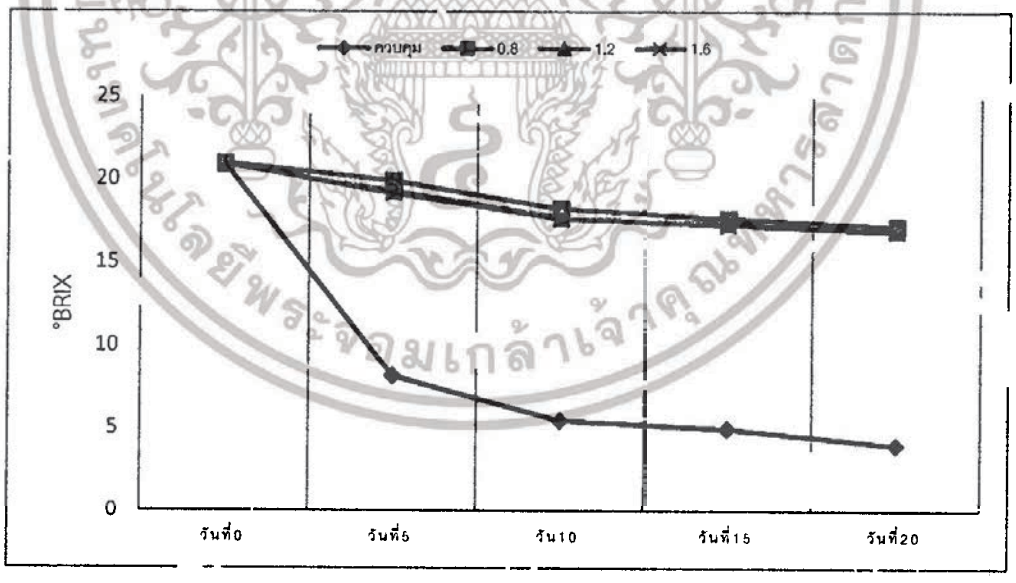
2. ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS)

จากการศึกษาพบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในขณะที่ทำการหมักไวน์แดงทั้ง 4 ตัวอย่างมีค่าลดลงในทุกๆตัวอย่าง ดังรูปภาพ 4.8 โดยเกิดมาจากการที่จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักนำน้ำตาลที่เติมลงไปในไวน์และที่มีอยู่ในวัตถุดิบไปใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซึมต่างๆ โดยพบว่าในวันที่ 20 ของการหมักไวน์ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดมีการลดลงของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้อย่างมาก โดยมีค่าลดลงเหลือเพียง 4 องศาบริกซ์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับระยะเวลาในการหมักและปริมาณในการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองในไวน์แดงอื่นๆ ดัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณร้อยละแอลกอฮอล์ที่เกิดในระหว่างกระบวนการหมักไวน์ในแต่ละตัวอย่างคือ ตัวอย่างชุดควบคุมไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตัวอย่างที่ 1 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 0.8 ตัวอย่างที่ 2 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.2 และ ตัวอย่างที่ 3 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.6 ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 20



รูปที่ 4.8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) ในแต่ละตัวอย่าง คือ ตัวอย่างชุดควบคุมไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตัวอย่างที่ 1 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 0.8 ตัวอย่างที่ 2 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.2 และ ตัวอย่างที่ 3 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.6 ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงในตารางที่ 4.2 แต่ในส่วนของตัวอย่างที่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 จะมีการลดของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้เพียงเล็กน้อย เท่ากับ 17.5±0.25, 17.2±0.2 และ 16.93±0.4 องศา บริกซ์ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้ออกมานั้นสอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ดังรูป 4.7 นั้นเพราะว่าในระหว่างกระบวนการหมักไวน์อาจจะเกิดการยับยั้งเชื้อในตัวอย่างที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองในปริมาณที่แตกต่างกันจนทำให้ปริมาณจุลินทรียที่ใช้ในการระบวนการหมักลดลงเพราะใช้น้ำตาลเปลี่ยนแอลกอฮอล์ได้น้อยลงและจุลินทรีย์ในธรรมชาติสามารถเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นสารตัวอื่นที่นอกเหนือจากแอลกอฮอล์ได้ (วิบูลย์ และคณะ, 2558)

3. ค่า pH

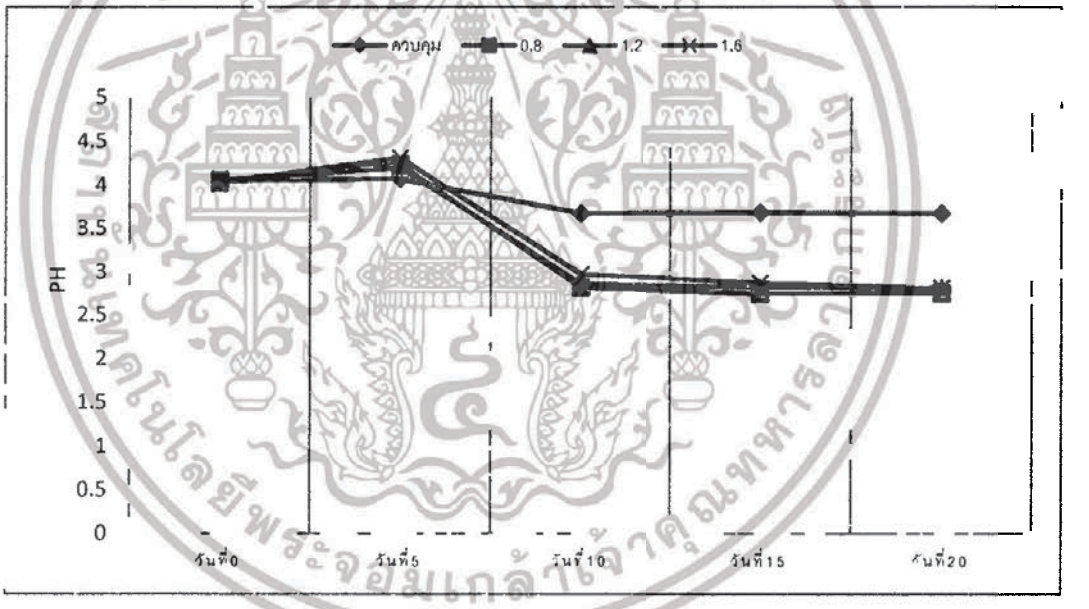
โดยค่า pH ที่ลดลงเกิดจากการสะสมของกรดที่ทำให้เกิดรสเปรี้ยวและยังทำให้เกิดรสฝาดอีกทั้งยังทำให้เกิดกลิ่นอีกด้วย โดยในการทดลองนี้ในชุดตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมเห็ดลงไปและชุดตัวอย่างที่เติมเห็ดลงไปร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 พบว่าในวันที่ 20 ค่า pH ที่เกิดขึ้นมีค่าใกล้เคียงกันคือ 3.67±0.06, 2.75±0.18, 2.8±0.08 และ 2.81±0.19 ตามลำดับ โดยพบว่ามีค่าลดลงมาจากวันที่ 0 คือ 4.05±0.02, 4.05±0.04, 4.02±0.02 และ 4.02±0.02 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับของวันและปริมาณในการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยแสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจนในรูปที่ 4.9 ถึงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH และจะสังเกตเห็นว่าในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้นจะมีค่า pH ที่ลดลงน้อยกว่าชุดตัวอย่างที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง ดังนั้นค่า pH ที่น้อยลดลงมากจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้รสชาติที่เกิดขึ้นในชุดตัวอย่างที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองมีความเปรี้ยวมากกว่าในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง (ศุภสิทธิ์ ดีรักษา, 2548) และอาจจะการที่เห็ดถั่งเช่าสีทองเกิดการยับยั้งยีสต์ ซึ่งการที่ยีสต์ถูกยับยั้งนั้นจะมีผลทำให้ยีสต์เสียสภาพหรือตายได้ ซึ่งจะมีผลต่อความสามารถในการทนแอลกอฮอล์ของยีสต์ลดลงและชักนำทำให้เกิดกรดมากขึ้น รวมถึงการระเหยของแอลกอฮอล์ (ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน, 2554) ซึ่งในตัวอย่างที่ทำการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้นมี pH ต่ำทำให้มีความเป็นกรดสูงและมีปริมาณแอลกอฮอล์เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

4.6 การศึกษาการเพิ่มขึ้นของสารคอร์ไดเซปินและสารประกอบฟีนอลิก

จากการศึกษาการเพิ่มสารสำคัญในไวน์แดงโดยการเติมเห็ดถังเช่าสีทองลงไปในปริมาณที่แตกต่างกันที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 20 เพื่อดูว่าที่เห็ดปริมาณเท่าใดจะสามารถเพิ่มสารออกฤทธิ์ธรรมชาติในไวน์แดงได้มากที่สุดโดยค่าที่ได้แสดงในตารางที่ 4.3-4.4 และจากการคำนวณด้วยวิธีการทางสถิติแล้วพบว่าปัจจัยทั้งระยะเวลาในการหมักและร้อยละของเห็ดที่เติมลงไปไม่มีความสัมพันธ์กันในการเพิ่มปริมาณของคอร์ไดเซปินและฟีนอลิกที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยในการศึกษาจะพบว่าในส่วนของคอร์ไดเซปินนั้นระยะเวลาในการหมักและร้อยละของเห็ดที่เติมลงในไวน์แดงที่ดีที่สุดคือวันที่ 20 และตัวอย่างที่เติมเห็ดร้อยละ 1.2 มีปริมาณคอร์ไดเซปินอยู่ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1±1.05 มิลลิกรัม/กรัม โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับระยะเวลาในการหมักและปริมาณในการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองในไวน์แดงอื่นๆที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เพราะฉะนั้นในอุตสาหกรรมแล้วควรเลือกใช้วันและปริมาณเห็ดที่น้อยที่สุดเพื่อลดค่าใช้จ่ายในการผลิต และปริมาณฟีนอลิกนั้นระยะเวลาในการหมักและร้อยละของเห็ดที่เติมลงในไวน์แดงที่ดีที่สุดคือวันที่ 20 และตัวอย่างที่เติมเห็ดร้อยละ 1.6 มีปริมาณอยู่ที่ 2,319.78±325.62 มิลลิกรัม/ลิตร โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับระยะเวลาในการหมักและปริมาณในการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองในไวน์แดงอื่นๆ เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยการตรวจสอบและวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในไวน์แดงที่หหมักด้วยกระบวนการหมัก maceration พบวามีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกเทากับ 185.453 มิลลิกรัมตอลิตร (Kekelidze และคณะ, 2018) จะเห็นได้ว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยกว่า ทั้งนี้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างกันไปในแต่ละประเภทของไวน์ขึ้นอยู่กับพันธุ์องุ่น, ดินและสภาพบรรยากาศ, ปัจจัยแวดล้อมในไร่องุ่น, กระบวนการเจริญเติบโตของผลไม้, ความสมบูรณ์ของผลองุ่น, เทคนิคการผลิตไวน์ (Lachman และคณะ, 2007)



รูปที่ 4.9 ค่า pH ในกระบวนการหมักไวน์แดงในแต่ละตัวอย่างคือ ตัวอย่างชุดควบคุมไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตัวอย่างที่ 1 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 0.3 ตัวอย่างที่ 2 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.2 และ ตัวอย่างที่ 3 เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.6 ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 20

4.7 ผลที่เกิดขึ้นหลังจากพาสเจอรไรซ์

หลังจากนำไวน์ที่เสร็จสิ้นกระบวนการหมักแล้วไปเข้าขั้นตอนการพลาสเจอร์ไรซ์และนำไปวิเคราะห์สารคอร์ไดเซปินและฟินอนลิก พบว่าสารคอร์ไดเซปินสูญเสียไปหมด ซึ่งในความเป็นจริงแล้วสารคอร์ไดเซปินสามารถคงสถานะได้ที่อุณภูมิ 40 - 80 องศาเซลเซียส (Lei และคณะ, 2009) ดังนั้นการสูญเสียสารคอร์ไดเซปินหลังการพาสเจอไรซ์นั้นอาจเกิดจากความไม่คงที่ของอุณหภูมิในระหว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การพาสเจอร์ไรซ์ ส่วนสารประกอบฟีนอลิกยังคงมีสารเหลืออยู่แต่มีปริมาณลดลงเพียงเล็กน้อย เมื่อเทียบกับปริมาณสารของวันที่ 20 ซึ่งจะแสดงรูปที่ 4.10

ตารางที่ 4.1 ร้อยละแอลกอฮอล์ของชุดควบคุมไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองและชุดที่เติมด้วยเห็ดถั่งเช่าสีทองปริมาณแตกต่างกันที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 20

ปัจจัย \ เวลา (วัน)		ชุดควบคุม	ร้อยละปริมาณเห็ด		
			0.8	1.2	1.6
แอลกอฮอล์	0	0^{g}	0^{g}	0^{g}	0^{g}
	5	$12.85^{b}\pm0.4$	$0.83^{f}\pm0.35$	$1.1^{f}\pm0.2$	$0.87^{f}\pm0.42$
	10	$13^{ab}\pm0.2$	$1.1^{f}\pm0.31$	$1.2^{ef}\pm0.25$	$1.4^{def}\pm0.25$
	15	$13.17^{ab}\pm0.15$	$1.9^{de}\pm0.3$	$2.1^{d}\pm0.36$	$2.13^{d}\pm0.40$
	20	$13.3^{a}\pm0.2$	$3.07^{c}\pm0.21$	$3.13^{c}\pm0.23$	$3.2^{c}\pm0.17$

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.2 ร้อยละปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของชุดควบคุมไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองและชุดที่เติมด้วยเห็ดถั่งเช่าสีทองปริมาณแตกต่างกันที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 20

ปัจจัย \ เวลา (วัน)		ชุดควบคุม	ร้อยละปริมาณเห็ด		
			0.8	1.2	1.6
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งทั้งหมด	0	$20.93^{a}\pm0.12$	$21^{a}\pm0.1$	$20.9^{a}\pm0.17$	$21^{a}\pm0.06$
	5	$8.17^{e}\pm0.76$	$19.93^{ab}\pm0.90$	$19.3^{bc}\pm0.36$	$19.17^{bc}\pm0.29$
	10	$5.47^{f}\pm0.50$	$18.23^{cd}\pm0.87$	$17.7^{d}\pm0.36$	$17.63^{d}\pm0.49$
	15	$5^{fg}\pm0$	$17.73^{d}\pm.0.31$	$17.4^{d}\pm0.36$	$17.37^{d}\pm0.55$
	20	$4^{g}\pm0$	$17.23^{d}\pm0.25$	$17^{d}\pm0.2$	$16.93^{d}\pm0.40$

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.8 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

จากการสำรวจความชอบและความพึงพอใจของผู้บริโภคโดยใช้วิธี Hedonic scale 9 point

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อไวน์แดงของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองและชุดตัวอย่างที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองในปริมาณที่แตกต่างกันที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 จากผู้สำรวจ 30 ในคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบในเรื่องสีในไวน์ที่มีการเติมเห็ดลงไปร้อยละ 0.8 มากที่สุดมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 7.77±1.19 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดตัวอย่างอื่นๆที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ยกเว้นตัวอย่างที่เติมเห็ดร้อยละ 1.2 และความมีความชอบของสีของไวน์รองลงมาคือตัวอย่างที่เติมเห็ดร้อยละ 1.2, ตัวอย่างที่ไม่เติมเห็ด และตัวอย่างที่เติมเห็ดร้อยละ 1.6 ตามลำดับ ตารางที่ 4.5 เป็นเพราะเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เติมลงไปทำให้สีของไวน์เข้มและดูสดมากขึ้นยิ่งมีปริมาณมากก็จะให้สีที่เข้มขึ้น

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารคอร์ไดเซปินของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองและชุดที่เติมด้วยเห็ดถั่งเช่าสีทองปริมาณแตกต่างกันที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 20

ปัจจัย \ เวลา(วัน)		ร้อยละปริมาณเห็ด		
		0.8	1.2	1.6
คอร์ไดเซปิน (มก./กรัม)	0	0^{d}	0^{d}	0^{d}
	5	0^{d}	0^{d}	0^{d}
	10	$2.07^{cd}\pm0.14$	$2.79^{abc}\pm0.18$	$3.42^{abc}\pm0.78$
	15	$2.45^{bcd}\pm0.36$	$5.46^{a}\pm3.24$	$3.48^{abc}\pm0.43$
	20	$4.25^{abc}\pm0.33$	$5.1^{ab}\pm1.05$	$3.51^{abc}\pm1.56$

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

* ชุดควบคุม คือ ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ผลการทดสอบความพึงพอใจและชื่นชอบในส่วนของความใสจากการสำรวจ พบว่าตัวอย่างไวน์แดงที่ไม่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองนั้นมีความชอบในเรื่องของความใสมากที่สุดมีค่าเฉลี่ยที่ 6.80±1.16 รองลงมาเป็นชุดที่เติมเห็ดในปริมาณที่แตกต่างกันที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ตามลำดับซึ่งค่าเฉลี่ยเหล่านี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดสอบความพึงพอใจและชื่นชอบในส่วนของกลิ่นจากการสำรวจ พบว่ามีผู้ชื่นชอบกลิ่นของไวน์แดงมากที่สุดคือ ตัวอย่างไวน์แดงที่ไม่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองลงไป โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 6.17±2.01 รองลงเป็นชุดที่เติมเห็ดในปริมาณที่แตกต่างกันที่ร้อยละ 1.6, 1.2 และ 0.8 ตามลำดับโดยค่าสูงสุดไม่มีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ยกเว้นชุดที่เติมเห็ดร้อยละ 0.8 ดังตารางที่ 4.5

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ

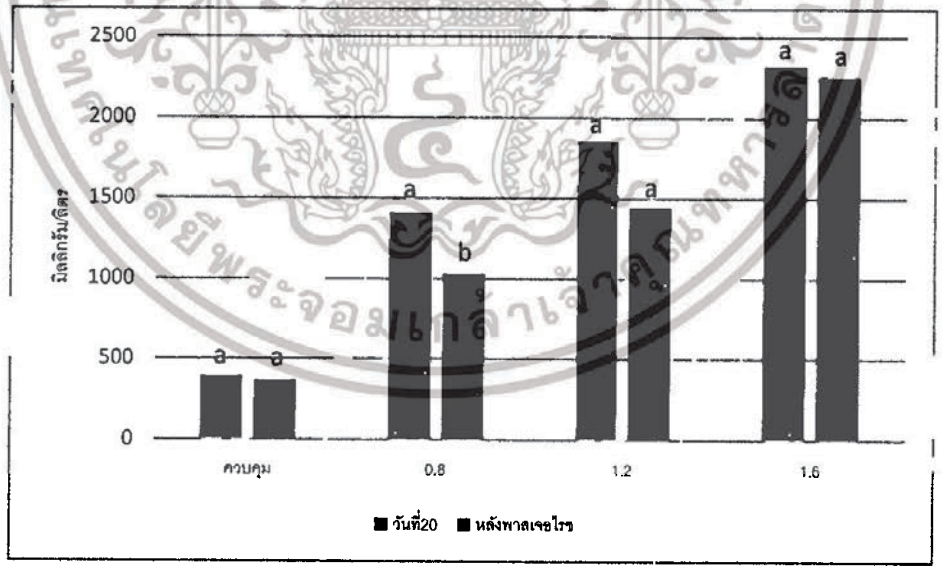
ด้านของรสชาติ จากการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคกับไวน์ที่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ลงไปพบว่ารสชาติไวน์แดงที่ชอบมากที่สุดคือไวน์แดงที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.6 โดยมีค่าเฉลี่ย 5.46 (ชื่นชอบเพียงเล็กน้อย) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อย

ตารางที่ 4.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองและชุดที่เติมด้วยเห็ดถั่งเช่าสีทองปริมาณแตกต่างกันที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 20

ปัจจัย \ เวลา (วัน)		ชุดควบคุม	ร้อยละปริมาณเห็ด		
			0.8	1.2	1.6
ฟีนอลิก (กรัม/ลิตร)	0	1046.18^{fgh} ±104.39	1126.7^{fgh} ±18.47	1280.65^{efg} ±73.40	1392.94^{cdef} ±172.76
	5	791.95^{ghi} ±40.86	1335.0^{def} ±203.55	1530.51^{bcdef} ±199.69	1901.70^{abc} ±59.77
	10	621.04^{hi} ±9.79	1355.51^{def} ±55.53	1535.59^{bcdef} ±34.10	1938.42^{ab} ±61.74
	15	627.40^{hi} ±43.44	1390.82^{cdef} ±98.43	1792.16^{bcde} ±200.35	2295.76^{a} ±339.86
	20	395.05^{i} ±22.45	1409.18^{cdef} ±89.32	1853.67^{abcd} ±377.91	2319.77^{a} ±325.62

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.10 การฟแสดงการเปรียบเทียบค่าสารประกอบฟีนอลิกในไวน์แดงระหว่างวันที่ 20 ของการหมักกับหลังการพาสเจอไรซ์ที่อุณภูมิ 65 องศาเซลเซียส 15 นาที

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละ 95 กับค่าอื่นๆยกเว้นชุดควบคุม โดยรองลงมาจะเป็นที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.2, 0.8 และไม่เติมเห็ดถังเช่าสีทองตามลำดับ ตารางที่ 4.5

จากผลการสำรวจความชอบโดยรวมของตัวอย่างชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองและตัวอย่างของไวน์ที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองในปริมาณที่แตกต่างกัน พบว่าไวน์แดงที่ความชอบโดยรวมมากที่สุดคือ ไวน์แดงที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.6 มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 5.77±1.77 รองลงมาด้วยไวน์แดงที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.2±0.8 และไวน์แดงที่ไม่เติมเห็ดถังเช่าสีทองตามลำดับ ซึ่งทุกค่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.5 ค่าเฉลี่ยของแบบสำรวจความพึงพอใจของไวน์แดงของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเห็ดถั่งเช่าสีทองและชุดตัวอย่างที่เติมเห็ดถังเช่าสีทองที่ปริมาณแตกต่างกันที่ร้อยละ 0.8, 1.2 และ 1.6 ทั้งในเรื่องของ สี ความใส กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม

ตัวอย่าง	สี	ความใส	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
ควบคุม	6.43^{b}±1.55	6.80^{a}±1.45	6.17^{a}±1.98	3.53^{b}±1.68	4.93^{a}±1.70
0.8%	7.77^{a}±1.19	6.67^{a}±1.42	4.6^{b}±1.91	4.13^{ab}±2.3	5.1^{a}±2.07
1.2%	6.93^{ab}±1.01	6.53^{a}±1.37	5.03^{ab}±1.97	5.43^{a}±1.89	5.73^{a}±1.68
1.6%	6.37^{b}±1.38	6.30^{a}±1.43	5.37^{ab}±1.94	5.47^{a}±2.01	5.77^{a}±1.78

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงมความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การเพาะเลี้ยงเห็ดถังเช่าสีทองด้วยวิธีการข้างต้นสามารถให้ผลผลิตดอกเห็ดหรือ fruiting body ได้ในปริมาณที่มากและยังได้สารคอร์ไดเซปินในปริมาณมากอีกด้วย

การศึกษาการยับยั้งเชื้อของเห็ดถังเช่าสีทองกับยีสต์ *saccharomyces cerevisiae* บนอาหารแข็ง PDA พบว่าเห็ดถั่งเช่าสทองไม่สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ *saccharomyces cerevisiae* ได้

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของไวน์แดงทางกายภาพของไวน์แดงแล้วพบว่าเมื่อหมักเป็นเวลา 20 วันแล้ว พบว่าสีของชุดควบคุมนั้นมีสีที่สว่างและใสกว่าชุดตัวอย่าง ซึ่งชุดตัวอย่างจะมีสีที่เข้มกว่าชุดควบคุมมาก และกลิ่นที่ได้รับในชุดควบคุมจะกลิ่นแอลกอฮอล์ออกมาชัดเจน แต่ในส่วนชุดตัวอย่างจะให้กรดที่ชัดเจนกว่า รสชาติที่ได้รับในชุดควบคุมจะมีความฝาดขมอมเปรี้ยว แต่ในส่วนของชุดตัวอย่างจะให้รสเปรี้ยวปริมาณมากและให้รสแอลกอฮอล์น้อย

การวิเคราะห์สารประกอบทางเคมีในไวน์แดงพบว่าในชุดควบคุมสามารถเกิดแอลกอฮอล์ได้มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับไวน์ชุดตัวอย่างที่เติมปริมาณเห็ดถั่งเช่าสีทองแตกต่างกัน และในส่วนของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ พบว่าในชุดควบคุมค่าของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงอย่างมากและชุดตัวอย่างไวน์แดง พบว่าค่าของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงเพียงเล็กน้อย ส่วนของ pH พบว่าในชุดควบคุม pH มีค่าเปลี่ยนไปเพียงเล็กน้อยแต่ในส่วนของชุดไวน์ตัวอย่างที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 3 ปริมาณมีค่า pH ลดลงมากกว่าชุดตัวอย่าง

การศึกษาการเพิ่มขึ้นของสารคอร์ไดเซปินและสารประกอบฟีนอลิกพบว่าเมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางเคมีแล้ว พบว่าวันและปริมาณที่ดีที่สุดสำหรับสารคอร์ไดเซปินคือ วันที่ 20 และปริมาณเห็ดที่เติมร้อยละ 1.2 จะให้สารคอร์ไดเซปินมากที่สุดแต่ค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับค่าอื่นๆที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และสำหรับสารประกอบฟีนอลิกคือ ใช้เวลาในการหมัก 20 วัน และเติมเห็ดในปริมาณร้อยละ 1.6 ซึ่งค่าที่ได้ก็ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับค่าอื่นๆที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยหลังจากผ่านการพาสเจอไรซ์แล้วพบว่าสารคอร์ไดเซปินได้เสียสภาพไปหมดในขณะเดียวสารประกอบฟีนอลิกได้รับผลกระทบจากการพาสเจอไรซ์เพียงเล็กน้อย

การศึกษาการทดสอบประสาทสัมผัสของไวน์ชุดควบคุมและชุดไวน์แดงตัวอย่างพบว่าในชุดควบคุมความใสและกลิ่นมีค่ามากที่สุด โดยความใสไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และในเรื่องของสีชุดตัวอย่างที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 0.8 ได้ค่ามากที่สุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถิติ ส่วนในเรื่องของเป็นรสชาติค่าที่ได้มากที่สุดคือชุดตัวอย่างที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.6 และสุดท้ายนี้คือความชอบโดยรวมพบว่าไวน์แดงที่เติมเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 1.6 มีค่ามากที่สุด

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าปริมาณเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เติมลงไปในไวน์แดงที่ต่างกันมีผลทำให้สารสำคัญที่อยู่ในไวน์แดงเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอีกทั้งรสชาติกลิ่นยังมีการเปลี่ยนแปลงไปอีกด้วยและยังทำให้เราได้เห็นว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองสามารถเพิ่มสรรพคุณหรือสารสำคัญให้กับไวน์แดงได้และยังช่วยในเรื่องของสีที่เกิดขึ้นอีกนั้นทำให้สามารถเพิ่มมูลค่าให้กับตัวไวน์แดงและตัวเห็ดถังเช่าสีทองอีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้ยังมีความจำเป็นในการปรับปรุงวิธีการในการหมักไวน์เนื่องจากเห็ดถังเช่าสีทองมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทำให้ไม่ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ต้องการอาจจะจำเป็นต้องหมักไวน์ให้ครบเวลาแล้วจึงเติมเห็ดถังเช่าสีทองลงไปภายหลัง อีกทั้งยังต้องปรับหรือเปลี่ยนแปลงวิธีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อเพื่อที่จะคงสภาพสารสำคัญเอาไว้ให้ได้มากที่สุดโดยจะต้องลดอุณภูมิลงและใช้เวลานานขึ้นและสุดท้ายนี้เราจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องปรับปรุงในเรื่องชาติให้เป็นที่ยอมรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กมล บุษบา. 2557. การวิเคราะห์การทดลองเชิงสถิติด้วย SPSS, 57(3): 167-198.

กระบวนการผลิตไวน์. 2562. (ออนไลน์). Available : http://agroindustry.rmutsv.ac.th/agro/alcoholic/unit4/prodwine.htm (สืบคนวันที่ 9 มีนาคม 2562).

โครงสร้างทางเคมีของอะดีโนซีน 2562. (ออนไลน์). Available : http://upload.wikimedia.org/wikimedia.org/Wikipedia/commons/thumb/e/e8/Adenosin.svg/1200px-Adenosin.svg.png (สืบคนวันที่ 9 มีนาคม 2562).

ธัญญา ทะพิงค์แก. 2555. การเพาะเห็ดถั่งเช่าเป็นอาชีพ. กรุงเทพฯ. ทูโฟร์ พริ้นติ้ง.

ธัญญา ทะพิงค์แก. 2555. รู้จักกับเห็ดสกุลถั่งเช่า. เคหการเกษตร. 36(4): 113-117.

ธนชัยา เกณฑ์นุทด, ศุภทา ไชยพฒัน์, และเสาวรส กองศรี. 2559. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจากเห็ดถั่งเฉ้าสีทอง. การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต. 1: 460-467.

ธนนันต์ อยู่หว่าง. 2548. การทำให้ไวน์สับปะรดและไวน์กระเจี๊ยบแดงใสด้วยเครื่องกรองแบบเยื่อแผ่นสังเคราะห์. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. บัณฑิตวิทยามหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 116 น.

ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน. 2554. การทำไวน์ผลไม้. (ออนไลน์). Available : http://surathai.wordpress.co (สืบคนวันที่ 21 มิถุนายน 2562).

เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรืองวิริยะชัย. 2557. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้. นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีสำหรับครู คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 14(4): 69-79.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2546. น่ารู้เรื่องไวน์. กรุงเทพฯ. โรงพิมพ์ โอ.เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์. 118 น.

ประดิษฐ์ ครุวัณณา. 2546. ไวน์:ศาสตร์และศิลป์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 167 น.

ประภาพรรณ ซอหะซัน, เนติยา การะเกตุ และธีรพงษ์ เที่ยงสมพงษ์. 2560. โครงการฝึกอบรมและถ่ายทอดเทคโนโลยี เรื่องการอบรมเชิงปฏิบัติการและการเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทอง. มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตกาญจนบุรี. 9 น.

ปรานอม ธรรมศิริ. 2555. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรประกอบยาดองและยาดองเหล้า. งานวิจัยจากสารนิพนธ์ สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 9 น.

พนิตตา ปัญญาดลิก, เรืองศักดิ์ อยู่ชา และเพ็ญธนา สมานพันธุ์. 2558. กระบวนการหมักไวน์. กองวิชาเคมี. โรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า. 37 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ไวน์. 2546. (ออนไลน). Available : http://tcps.tisi.go.th/pub/tcps2_46.pdf (สืบคนวันที่ 5 มิถุนายน 2562).

รัตนะ ยศเมธากุล และณัฐพงษ์ สิงห์ภูงา. 2561. การผลิตสารคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนในเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งธัญพืช. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์. 4 น.

ไวน์. 2562. (ออนไลน์). Available : http://www.foodnetworksolution.com/uploaded/imagesCaZO5RUJ.jpg (สืบคนวันที่ 9 มีนาคม 2562).

วิบูลย์ เหรียญสง่าวงศ์ และศรีเวียง ทิพกานนท์. 2558. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวน์ข้าวสีทองด้วยแกลบ. ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตรและการจัดการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ วิทยาเขตปราจีนบุรีปราจีนบุรี. 43(4): 613-622.

วิโรจน แกวเรือง. 2556. ถั่งเฉาไหมไทย. (ออนไลน). Available : http://www.gotoknow.org/Posts/552691. (สืบคนวันที่ 9 มีนาคม 2562).

วิลาวัลย์ บุณย์ศภา, กรกนก บัวใหญ่รักษา, จินตนา ศรีประเสริฐ, นรเศรษฐ์ ปาสาจัง, พิชัยยุทธ ขุนปากดี, สิทธิพล สุคณา, สุงามใจ ภูต้อม และอัมรินทร์ ผิวอ่อน. 2559. การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี ทางประสาทสัมผัสและสารต้านอนุมูลอิสระของไวน์ที่ทำจากมะม่วง 4 สายพันธุ์ (สายพันธุ์น้ำดอกไม้ โชคอนันต์ อกร่อง และแรด). วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม. 11(1): 38-46.

ศุภสิทธิ์ ดีรักษา. 2548. การเปรียบเทียบคุณภาพไวน์มังคุดที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติและเชื้อยีสต์บริสุทธิ์. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการอาหาร. มหาลัย วิทยาลัยแม่โจ้. 131 น.

สมการปฏิกิริยาการหมัก. 2562. (อนนไลน์). Available : https://il.mahidol.ac.th/emedia/enzyme/chapter1/picch1/alcoholic_fermentation.jpg (สืบคนวันที่ 9 มีนาคม 2562).

เห็ดถั่งเช่าสีทอง. 2562. (ออนไลน์). Available : http://www.altong.com/uploaded/2018/images/resize_Depositphotos_133798400_xl-2015.png (สืบคนวันที่ 9 มีนาคม 2562).

หยุด แชมประเสริฐ. 2556. การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเชาสีทอง. การนำเสนอการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเชาสีทอง. สระบุรี.

อำพรรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์ และปิยมาศ วงษ์ประยูร. 2548. การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวน์มะม่วง. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม. 2(1): 28-35.

อำพรรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์ และ สุนันทดิา สิงหพล. 2559. การผลิตไวน์สับปะรดผสมแครอท. วารสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทคโนโลยีกรอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม. 47(2): 165-169.

Bhandari A.K., Negi J.S., Bisht V.K., Rana C.S., Bharti M.K. and Singh N. 2010. Chemical constituent, inorganic elements and properties of Cordyceps sinensis – a review. Nature and Science. 8(9): 253-256.

Chidambara, M.K., Jayaprakasha, and G.K. Singh, R.P. 2002. Studies on Antioxidant Activity of Pomegranate (Punica granatum) Peel Extract Using in vivo Models. Journal of Agricultural Food Chemistry. 50(7): 4791-4795.

Das S.K., Masuda M., Sakurai A. and Sakakibara M. 2010. Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: current state and prospects. Fitoterapia. 81: 961-968.

Francisco J. Rivero, M. José Jara-Palacios, Belén Gordillo, Francisco J. Heredia, M. Lourdes and González-Miret. 2019. Impact of a post-fermentative maceration with overripe seeds on the color stability of red wines. Food Chemistry. 272: 329-336.

Gu Y.X., Wang Z.S. and Li S.X. 2007. Effect of multiple factors on accumulation of nucleosides anbases in Cordyceps militaris. Food Chemistry. 102: 1304–1309.

Kai Y., Yea M., Zhoua Z., Sunb W. and Linb X. 2013. The genus Cordyceps : a chemical and pharmacological review. Royal Pharmaceutical Society Journal of Pharmacy and Pharmacology. 65: 474–493.

Kekelidze I., Ebelashvili N., Japaridze M., Chankvetadze B. and Chankvetadze L. 2018. Phenolic antioxidants in red dessert wine produced with innovative technology. Annals of Agrarian Science. 16: 34-38.

Kodama E.N., Caffrey R.P., Yusa K. and Mitsuya H. 2000. Antileukemic activity and mechanism of action of cordycepin against terminal deoxynucleotidyl transferase-positive (TdT+) leukemic cells. Biochemical Pharmacology. 59: 273-281.

Lei H., Li Q., Chen Y., Wang X. and Zhou X. 2009. Determination and analysis of cordycepin and adenosine in the products of Cordyceps spp. African Journal of Microbiology Research. 3: 957–961.

Linnaeus and Fries. 1818. Cordyceps militaris. (ออนไลน). Available : https://inpn.mnhn.fr/Espece/cd_nom/46486/tab/taxo?lg=en. (สืบคนวันที่ 9 มีนาคม 2562).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lin W.H., Tsai M.T., Chen Y.S., Hou R.C., Hung H.H., Li C.H., Wang H.K., Lai M.N. and Jeng K.C. 2007. Improvement of sperm production in subfertile boars by *Cordyceps militaris* supplement. American Journal of Chinese Medicine. 35: 637-647.

Li Yi., Guan M. and Li J. 2015. Effects of cooking on the contents of adenosine and cordycepin in *Cordyceps militaris*. Procedia Engineering. 102: 485–491.

Maconi G., Sampietro G.M., Cristaldi M., Cervato G., Danelli P., Cervellione R., Rovati M., Bianchi Porro G., Cestaro B. and Taschieri A.M. 2002. Oxidative stress, vitamin A and vitamin E behaviour in patients submitted to conservative surgery for complicated Crohn's disease., Digestive and Liver Disease. 34: 696-701.

Mohd Adnan, Syed Amir Ashraf, Saif Khan, Eyad Alshammari. and Amir Mahgoub Awadelkareem. 2017. Effect of pH, temperature and incubation time on cordycepin production from *Cordyceps militaris* using solid-state fermentation on various substrates. Journal of Food. 15(4): 617-621.

Müller, We G., Seibert G., Beyer R., Breter H.J., Maidhof A. and Zahn R.K. 1977. Effect of cordycepin on nucleic acid metabolism in L5178Y cells and onnucleic acid-synthesizing enzyme systems. Cancer Research. 37: 3824–3833.

Parcell A.C., Smith J.M., Schulthies S.S., Myrer J.W. and Fellingham G. 2004. Cordyceps Sinensis (CordyMax Cs-4) supplementation does not improve endurance exercise performance. International Journal Sport Nutrition Exercise Metabolism. 14: 236–242.

Shuang-jie Zhu, Jian Pan, Bin Zhao, Juan Liang, Ze-yu Wu and Jun-jie Yang. 2013. Comparisons on enhancing the immunity of fresh and dry *Cordyceps militaris* in vivo and in vitro. Journal of Ethnopharmacology. 149: 713-719.

Sung, G.H., Hywel-Jones, N.L., Sung, J.M., Luangsaard, J.J., Shrestha B. and Spatafora J.W. 2007. Phylogenetic classification of Cordyceps and the clavicipitaceous fungi. Studies in Mycology. 57: 5-59.

Violeta Ivanova Petropulos, Elena Bogeva, Trajce Stafilov, Marina Stefova, Barbara Siegmund, Nicole Pabi and Ernst Lankmayre. 2014. Study of the influence of maceration time and oenological practices on the aroma profile of Vranec wines. Food Chemistry. 165: 506-514.

Wasser Klaus, Christian Fink, Heiko Lüdemann and Stefan Delormea. 2002. Incidental

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

finding of a mucinous carcinoma of the breast by dynamic MRI in a patient with a history of breast trauma (horse bite): Incidental mucinous carcinoma after breast trauma. Clinical Imaging. 26: 254-257.

Wen T.C., Li M.F., Kang J.C. and Kevin D.H. 2014. Optimization of Solid - state Fermentation of fruiting body growth and cordycepin production by *Cordyceps militaris*. Chiang Mai Journal of Science. 41: 858-872.

Winkler D. and Yartsa Gunbu. 2008. Cordyceps sinensis and the fungal commodification of the economy in Tibet AR. Economic Botany. 63: 291–305.

Wu Xiuli, Ming Yang, Youyou Yan, Mingli Fang, Min Wan, Xiaoling Zhang, Tiesuo Zhao, Hongfei Wei, Dandan Song, Liying Wang and Yongli Yu. 2012. MF59 formulated with CpGODN as a potent adjuvant of recombinant HSP65-MUC1 for inducing anti-MUC1+ tumor immunity in mice. International Immunopharmacology. 13: 408-416.

Yu R., Song L., Zhao Y., Bin W., Wang L., Zhang H., Wu Y., Ye W. and Yao X. 2004. Isolation and biological properties of polysaccharide CPS-1 from cultured *Cordyceps militaris*. Fitoterapia. 75: 465–472.

Yu, Yang R., Song W., Yan L., Zhang C. and Zhao Z. 2007. Structural characterization and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of cultured *Cordyceps militaris*. Carbohydrate Polymers. 70: 430-437.

Zhou X.W., Li L.J., and Tian E.W. 2014. Advances in research of the artificial cultivation of Ophiocordyceps sinensis in China. Critical Reviews in Biotechnology. 34: 233–243.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหาร

1. สูตรอาหารแข็ง Potato Dextrose Agar เสริมไข่ไก่ (ดัดแปลงจากสูตรลุงหยุด)

ตารางภาคผนวก ก-1 สูตรอาหารแข็ง PDA

วัตถุดิบ	(ปริมาณ)กรัม/ลิตร
น้ำกลั่น	800
มันฝรั่ง	200
ข้าวโพดอ่อน	50
กลูโคส	20
ยีสต์สกัด	10
เปปโตน	10
วุ้นบริสุทธิ์	20

ขั้นตอนการทำอาหารเพาะเลี้ยง

1. นำมันฝรั่งไปล้างน้ำให้สะอาดและปอกเปลือก นำมาหั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ชั่งมันฝรั่งที่หั่นแล้วให้ได้ 200 กรัม
2. นำข้าวโพดอ่อนมาปอกเปลือกออกล้างให้สะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ชั่งข้าวโพดอ่อนที่หั่นแล้วให้ได้ 50 กรัม
3. ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 800 กรัม/ลิตร เมื่อน้ำเดือดให้ใส่มันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนที่ชั่งไว้ลงไปจับเวลา 20 นาที
4. กรองเอาแต่น้ำด้วยผ้าขาวบาง
5. ใส่น้ำตาลกลูโคส และผงวุ้นในน้ำมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อน แล้วคนส่วนผสมให้เข้ากัน
6. ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร
7. เทอาหารลงขวดรูปชมพู่ ขวดละ 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

2. สูตรอาหาร Potato Dextrose Broth (ดัดแปลงจากสูตรลุงหยุด)

ขั้นตอนการทำอาหารเพาะเลี้ยง

1. นำมันฝรั่งไปล้างน้ำให้สะอาดและปอกเปลือก นำมาหั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ชั่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มันฝรั่งที่หั่นแล้วให้ได้ 200 กรัม

2. นำข้าวโพดอ่อนมาปอกเปลือกออกล้างให้สะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ชั่งข้าวโพดอ่อนที่หั่นแล้วให้ได้ 50 กรัม

ตารางภาคผนวก ก-2 สูตรอาหารแข็ง PDB

วัตถุดิบ	(ปริมาณ)กรัม/ลิตร
น้ำกลั่น	1
มันฝรั่ง	200
กลูโคส	20
ยีสต์สกัด	10
เปปโตน	10
ข้าวโพดอ่อน	50

3. ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร เมื่อน้ำเดือดให้ใส่มันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนที่ชั่งไว้ลงไปจับเวลา 20 นาที

4. กรองเอาแต่น้ำด้วยผ้าขาวบาง

5. ใส่น้ำตาลกลูโคส ในน้ำมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อน แล้วคนส่วนผสมให้เข้ากัน

6. ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

7. เทอาหารลงขวดรูปชมพู่ ขวดละ 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

3. สูตรอาหาร Potato Dextrose Broth เสริมไข่ไก่ในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอน (ดัดแปลงจากสูตรลุงหยุด)

อาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ข้าวไรซ์เบอร์รี่และสูตรอาหาร PDB เสริมไข่ไก่ โดยจะเตรียมทั้ง 2 ส่วนแยกออกจากกัน ดังนี้

ส่วนที่ 1

ตารางภาคผนวก ก-3 น้ำหนักข้าวไรซ์เบอร์รี่กรัมต่อขวด

วัตถุดิบ	(ปริมาณ)กรัม/ลิตร
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนที่ 2

ตารางภาคผนวก ก-4 สูตรอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่

วัตถุดิบ	(ปริมาณ)กรัม/ลิตร
น้ำกลั่น	1
มันฝรั่ง	200
ข้าวโพดอ่อน	50
หนอนดักแด้	40
ไข่ไก่	50
กลูโคส	20

ขั้นตอนการทำอาหารเพาะเลี้ยง

1. นำมันฝรั่งไปล้างน้ำให้สะอาดและปอกเปลือก นำมาหั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ชั่งมันฝรั่งที่หั่นแล้วให้ได้ 200 กรัม
2. นำข้าวโพดอ่อนมาปอกเปลือกออกล้างให้สะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ชั่งข้าวโพดอ่อนที่หั่นแล้วให้ได้ 50 กรัม
3. ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร เมื่อน้ำเดือดให้ใส่มันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนที่ชั่งไว้ลงไปจับเวลา 20 นาที
4. กรองเอาแต่น้ำด้วยผ้าขาวบาง
5. ใส่น้ำตาลกลูโคส ไข่ไก่และดักแด้ รวมกันในน้ำมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อน แล้วคนส่วนผสมให้เข้ากัน
6. ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร
7. ชั่งข้าวไรซ์เบอร์รี่ลงในขวดเพาะเลี้ยง ขวดละ 40 กรัม แล้วนำส่วนผสมตามข้อ 6 ใส่ลงไปในแต่ละขวด ขวดละ 40 มิลลิลิตร
8. จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
รูปภาพระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1. การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเริ่มต้นเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารแข็ง PDA

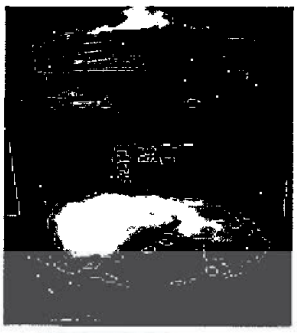
1.1 ระยะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้นเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารแข็ง PDA หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 14 วัน

2. การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว PDB

2.1 ระยะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้นเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว PDB หลังจากการเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าในที่มืดเป็นเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีขาวไรซเบอรี่เป็นแหลงคารบอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่

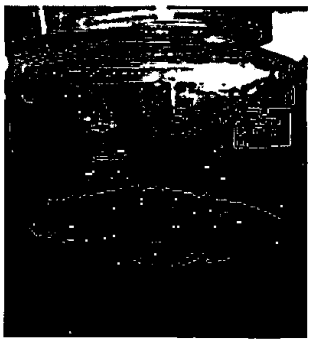


3.1 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซเบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 14 วัน

3.2 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซเบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มีแสงหรือเปิดดอกเป็นเวลา 5 วัน

3.3 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซเบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มีแสงหรือเปิดดอกเป็นเวลา 15 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

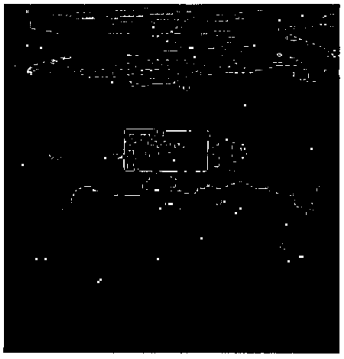


3.4 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซเบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มีแสงหรือเปิดดอกเป็นเวลา 30 วัน

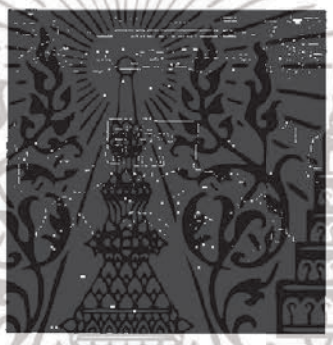
3.5 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซเบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มีแสงหรือเปิดดอกเป็นเวลา 35 วัน

3.6 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซเบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มีแสงหรือเปิดดอกเป็นเวลา 45 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



3.7 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซเบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มีแสงหรือเปิดดอกเป็นเวลา 55 วัน



3.8 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซเบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มีแสงหรือเปิดดอกเป็นเวลา 60 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การวิเคราะหและการคำนวณ

1.วิธีการคำนวณน้ำหนักแหง

1.ชั่งน้ำหนักถาดเปล่าที่อบแลว และบันทึกค่า

2.เก็บตัวอย่างเห็ดใส่ถาดและนำไปชั่งน้ำหนักแล้วบันทึกค่า (น้ำหนักถาดเปล่าและน้ำหนักเห็ด)

3.นำไปอบแห้งและบันทึกค่า

4.นำค่าที่ได้มาคำนวณตามสมการดังนี้

น้ำหนักแห้ง = น้ำหนักถาดที่มีเห็ดแห้งหลังอบ – น้ำหนักถาดเปล่าหลังอบ

2.วิธีการคำนวณรอยละความชื้น

1.พับกระดาษฟรอยด์เป็นกระทงและนำไปอบ

2.ชั่งกระดาษฟรอยด์เปล่าหลังอบและบันทึกค่า

3.ชั่งน้ำหนักตัวอย่างข้าวก่อนนำไปอบแห้ง บันทึกค่าและนำไปอบแหง

4.ชั่งน้ำหนักฟรอยด์พร้อมตัวอย่างข้าวหลังอบแห้ง

5.นำคาที่ได้มาคำนวณตามสมการดังนี้

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ}}{\text{น้ำหนักก่อนอบ}} \times 100$$

3.การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-เบส

1.ชั่งตัวอย่างข้าวประมาณ 1 – 2 กรัม ใส่หลอดเซนติฟิวพลาสติก เติมน้ำกลั่นประมาณ 5 – 10 มิลลิลิตร

2.ใช้ช้อนบดข้าวให้ละเอียด คนให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ 3 นาที

3.วัดค่าพีเอชด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter) ลงไปในบริเวณน้ำใสๆ อย่าจุ่มลงไปให้โดนตะกอนด้านล่าง รอจนค่าหยุดนิ่ง แล้วอ่านค่าพีเอช

4.เมื่อวัดค่าพีเอชเสร็จแล้วใช้น้ำกลั่นล้างตัววัดพีเอชบริเวณส่วนที่สัมผัสกับตัวอย่างให้สะอาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้วใช้กระดาษทิชชูซับให้แห้ง

4.วิธีคำนวณสารละลายเข้มข้นคอร์ไดเซปิน (Stock Solution)

เตรียมสารละลายมาตรฐานคอรไดเซปิน 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยการชั่งสารมาตรฐานคอรไดเซปินมา 0.002 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 0.001 กรัมต่อมิลลิลิตร

1	กรัม	เท่ากับ	1000	มิลลิกรัม
0.001	กรัม	เท่ากับ	1	มิลลิกรัม
1	มิลลิกรัม	เท่ากับ	1000	ไมโครกรัม

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานคอรไดเซปินความเข้มข้น 0.001 กรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ถ้าต้องการสารละลายความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร สามารถเตรียมโดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

$$V_1 = 200 \text{ ไมโครลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานคอรไดเซปินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 200 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาณ 1800 ไมโครลิตร

ถ้าต้องการสารละลายความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร สามารถเตรียมโดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

$$V_1 = 160 \text{ ไมโครลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานคอรไดเซปินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 160 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาณ 1840 ไมโครลิตร

ถ้าต้องการสารละลายความเข้มข้น 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร สามารถเตรียมโดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

V_1 = 120 ไมโครลิตร

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานคอรไดเซปินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 120 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาณ 1880 ไมโครลิตร

ถ้าต้องการสารละลายความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร สามารถเตรียมโดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

V_1 = 80 ไมโครลิตร

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานคอรไดเซปินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 80 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาณ 1920 ไมโครลิตร

ถ้าต้องการสารละลายความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร สามารถเตรียมโดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

V_1 = 40 ไมโครลิตร

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานคอรไดเซปินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 40 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาณ 1960 ไมโครลิตร

5.การหาปริมาณคอรไดเซปิน

จากผลการทดสอบหาค่าปริมาณคอรไดเซปินมาตรฐาน โดยใชเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถภาพสูงจะได้สมการเส้นตรง y = ax + b (ดังรูปภาคผนวกที่ ฉ-1) จากนั้นนำคาพื้นที่ใตกราฟที่ได้จากตารางภาคผนวกที่ ฉ-1 มาแทนลงในสมการเพื่อหาคาปริมาณคอรไดเซปิน

ตารางภาคผนวกที่ ค-1 ตารางแสดงคาพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโตแกรมของคอรไดเซปินในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

จำนวนซ้ำ	คาพื้นที่ใตกราฟของโครมาโตแกรมของคอรไดเซปิน
1	53115
2	52683
3	50413

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

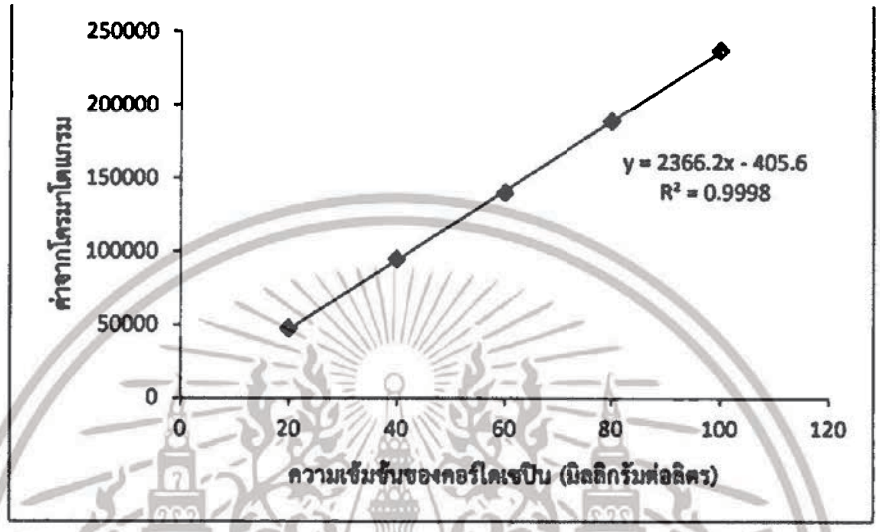
วิธีการคำนวณปริมาณคอรไดเซปิน

นำค่าโครมาโตแกรมที่ได้จากการสกัดตัวอย่างมาคำนวณหาปริมาณคอรไดเซปินโดยใชสมการ ดังนี้

$$Y = 1421x - 4261$$

โดย Y = ค่าจากโครมาโตแกรม

X = ความเข้มข้นของคอรไดเซปิน



รูปภาคผนวกที่ ค-1 กราฟมาตรฐานคอรไดเซปินในการวิเคราะห์ด้วยการใช้ HPLC ที่ความเข้มข้นที่แตก ต่างกันคือ 0, 20, 40, 60, 80 และ100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตัวอย่างเช่น

$$X = \frac{53115 + 4261}{1421}$$

X = 40.337 มิลลิกรัมต่อลิตร

ใชตัวอย่างเห็ดตอน้ำบริสุทธิ์สูง 0.1 กรัม : 25 มิลลิลิตร (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ความเข้มข้นของสารคอรไดเซปินที่ได้ 40.337 มิลลิกรัมต่อลิตร

ดังนั้น ใน 1000 มิลลิลิตร มีสาร 40.337 มิลลิกรัม

ถ้า 25 มิลลิลิตร มีสาร 1.008 มิลลิกรัม

ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 0.1 กรัม มีสาร 1.008 มิลลิกรัม

ถาตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มีสาร 10.08 มิลลิกรัม

ดังนั้นความเข้มข้นของสารคอรไดเซปินในเห็ด 1 กรัม เท่ากับ 5.03 มิลลิกรัม

6.วิธีคำนวณสารละลายเข้มข้นกรดแกลลิก (Stock Solution)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยการชั่งสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานกรดแกลลิกมา 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 0.001 กรัมต่อมิลลิลิตร

1 กรัม เท่ากับ 1000 มิลลิกรัม

0.001 กรัม เท่ากับ 1 มิลลิกรัม

1 มิลลิกรัม เท่ากับ 1000 ไมโครกรัม

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 0.001 กรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ถ้าต้องการสารละลายความเข้มข้น 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร สามารถเตรียมโดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

$$V_1 = 300 \text{ ไมโครลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 300 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาณ 1700 ไมโครลิตร

ถ้าต้องการสารละลายความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร สามารถเตรียมโดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

$$V_1 = 200 \text{ ไมโครลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 200 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาณ 1800 ไมโครลิตร

ถ้าต้องการสารละลายความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร สามารถเตรียมโดยใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

$$V_1 = 100 \text{ ไมโครลิตร}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 100 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาณ 1900 ไมโครลิตร

7.การหาปริมาณฟีนอลิก

จากผลการทดสอบหาค่าปริมาณฟีนอลิกมาตรฐาน โดยใชเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์จะได้สมการ เส้นตรง y = ax + b (ดังรูปภาคผนวกที่ ฉ-2) จากนั้นนำค่าวัดการดูดกลืนแสงที่ได้จากตารางภาคผนวกที่ ฉ-2 มาแทนลงในสมการเพื่อหาค่าปริมาณฟีนอลิก

ตารางภาคผนวกที่ ค-2 ตารางแสดงค่าวัดการดูดกลืนแสงของสารประกอบฟีนอลิกมาตราฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ

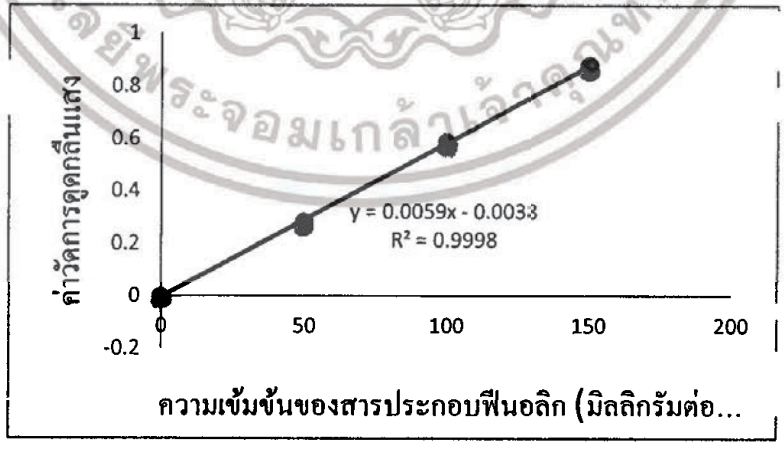
จำนวนซ้ำ	ค่าวัดการดูดกลืนแสง (5 เท่า)
1	0.429
2	0.438
3	0.432

หมายเหตุ : ชุดควบคุมเท่ากับ 0.049

วิธีการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

นำค่าวัดการดูดกลืนแสงที่ได้จากการสกัดตัวอย่างมาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยใช้สมการ ดังนี้

$$Y = 0.0059x - 0.0038$$



รูปภาคผนวกที่ ค-2 กราฟมาตรฐานสารประกอบฟีนอลิกในการวิเคราะห์ด้วยการใช้เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 50, 100 และ150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดย Y = ค่าจากการวัดการดูดกลืนแสง

X = ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิก

ตัวอย่างเช่น

การเจือจางที่ 5 เท่า

ตัวอย่าง - ควบคุม = 0.429 – 0.049

= 0.38 x 5 เท่า = 1.9

แทนค่า

$$X = \frac{1.9 + 0.0038}{0.0059}$$

X = 322.678 มิลลิกรัมต่อลิตร

ดังนั้นความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่การเจือจาง 5 เท่ากับ 322.678 มิลลิกรัมต่อลิตร

7. การเตรียมสารเคมีความเข้มข้นต่างๆที่ใช้ในการทดลอง

7.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 7.5 กรัม ละลายในน้ำและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นคนให้เข้ากัน

7.2 การเตรียมสารละลายสารโฟลินซิโอแคลทูรีเอเจนต์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ปิเปตสารโฟลินซิโอแคลทูรีเอเจนต์ 10 มิลลิลิตร ละลายในน้ำและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นจากนั้นคนให้เข้ากัน

7.3 การเตรียมสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งกรดซิตริก 10 กรัม ละลายในน้ำและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นจากนั้นคนให้เข้ากัน

7.4 การเติมสารโพแทสเซียมเมตาไดซัลไฟต์ 200 ส่วนในล้านส่วนของปริมาตรน้ำหมัก

ชั่งสารโพแทสเซียมเมตาไดซัลไฟต์ 0.14 กรัม เติมลงในน้ำองุ่น 700 มิลลิลิตร จากนั้นคนให้เข้ากัน

7.5 การเติมกล้าเชื้อร้อยละ 5 ของปริมาตรน้ำหมัก

ปิเปตกล้าเชื้อ 35 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำหมักปริมาตร 700 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.6 การเตรียมสารละลายไฮโดรเจรความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

ตวงสารละลายไฮโดรเจน 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นคนให้เข้ากัน

7.7 การเตรียมสารละลายแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70

ตวงสารละลายแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 มา 70 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่องอีบูลลิโอมิเตอร์

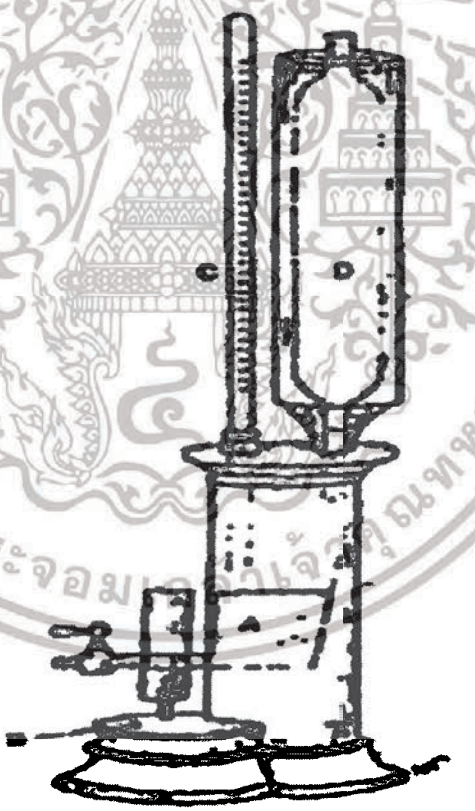
1. การวัดจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์

1.1 เตรียมตะเกียงแอลกอฮอล์

1.2 ล้าง Boiler ให้ทั่วแล้วเทน้ำออกผ่านทางท่อ

1.3 ตวงน้ำกลั่นให้ถึงขีด EAU (น้ำ) หรือปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง (A) ใส่เทอร์โมมิเตอร์ (C) ให้ปลายอยู่เหนือน้ำ

1.4 จุดตะเกียงวางแอลกอฮอล์ (B) ทำการต้มจนจุดเดือดมีอุณหภูมิคงที่ อ่านค่าอุณหภูมิของน้ำบริสุทธิ์จากเทอร์โมมิเตอร์ นำค่าที่ได้ไปตั้งในแผ่นอ่านค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ โดยตั้งจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ที่อ่านได้ (สเกลด้านใน) ให้ตรงกับ 0.0% แอลกอฮอล์ (สเกลด้านนอก)



รูปภาคผนวกที่ ง-1 ลักษณะของเครื่องอีบูลลิโอมิเตอร์ (Ebulliometer) มีส่วนประกอบคือ (A) ช่องใส่ตัวอย่าง (B) ตะเกียงแอลกอฮอล์ (C) เทอร์โมมิเตอร์ และ (D) ส่วนควบแน่น

2. การวัดปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 เปิดก๊อกให้น้ำออกให้หมด ล้างด้วยไวน์ที่ต้องการทดสอบอีกครั้งแล้วเทไวน์ที่ล้างออกให้

หมด

2.2 เติมไวน์ที่ทดสอบประมาณ 50 mL ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง แล้วใส่เทอร์โมมิเตอร์

2.3 เติมน้ำเย็นลงไปในส่วนที่ควบแน่น (D)

2.4 จุดตะเกียงเพื่อต้มตัวอย่าง อ่านค่าจุดเดือดของไวน์ที่ทดสอบ

2.5 อ่านค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ของไวน์ (ดูสเกลด้านนอก; แผ่นล่าง) ที่อยู่ตรงกับจุดเดือดของไวน์ (ดูสเกลดฺานใน; แผ่นบน) จากแผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

2.6 ตัวอย่างเช่น ถ้าอ่านจุดเดือดไวน์ 90.7 องศาเซลเซียส ให้ดูแผ่นวงกลมบนตรงกับ 90.7 องศาเซลเซียส จะตรงกับแผ่นล่าง 13.5% แอลกอฮอล์

รูปภาคผนวกที่ ง-2 แผ่นอ่านแอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

วิธีการการใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC)

1. ต่อคอลัมน์ตามแนวลูกศร (สายพลาสติกทั้งบนล่าง)

2. การเตรียมเฟสเคลื่อนที่

กำหนด A คือ น้ำ 85

กำหนด B คือ เมทานอล 15

ล้างเข็มด้วยเมทานอล (ข่างแนะนำให้ล้างด้วยน้ำ)

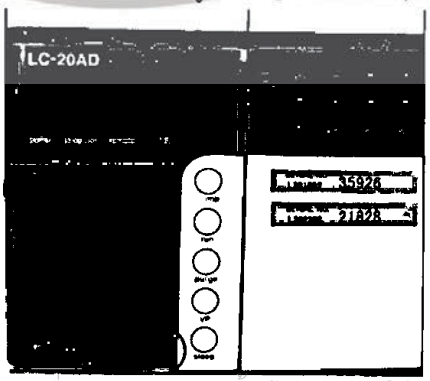
3. การเปิดเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

เปิดตามหมายเลข 4 6 8 และ10

รูปภาคผนวกที่ จ-1 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถภาพสูง

4. การเตรียมเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (Purge Mobile phase)

กดที่วงกลมสีแดง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

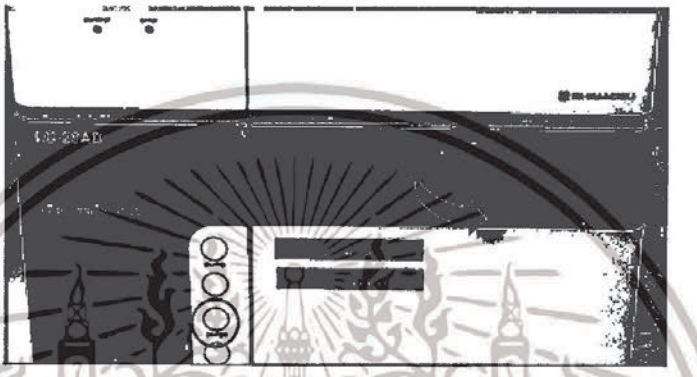
กด back 2 ครั้ง จะขึ้น 0.000 SYSTEM

กด enter จากนั้นเปลี่ยน 0 เป็น 1 กด enter

กด cone

ทำการล้าง A โดยปรับ A ให้เป็น 100 ส่วน B C D เป็น 0 และ enter ที่ line B C D ตามลำดับ

จากนั้นเปิดวาล หมุนทางด้าน open 90 องศา (ปิดวาล หมุนไปทางด้าน close 90 องศา) จากแนวตั้งให้เป็นแนวนอน (หมุนตามลูกศร)



กดปุ่ม purge ที่ pump (วงกลมสีแดง) รอจน purge เสร็จ ประมาณ 3 นาที กดปุ่ม cone

ทำการล้างสาย B โดยปรับ ให้เป็น 100 ส่วน A C D เป็น 0 กดปุ่ม Enter

กดปุ่ม purge รอจน Purge เสร็จ ประมาณ 3 นาที จึงทำการปิดวาล

กด back 2 ครั้ง (0.000 SYSTEM)

กด enter (0.000 Local) จากนั้นเปลี่ยนจาก 1 เป็น C กด enter

5. การ purge auto sample

กด purge ของ SIL–20A (วงกลมสีแดง) ประมาณ 25 นาที

6. การเปิดโปรแกรม

เปิด CPU และเปิดหน้าจอ คลิกที่โปรแกรม LC solution คลิกอันที่ 1 ไม่ต้องใส่รหัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การเปิด method

กด file และ open เลือกชื่อไฟล์

กด download เปลี่ยน total flow ให้เป็น 0

กดที่ Instrument รอให้อุณหภูมิถึง 40 องศาเซลเซียส ตรง LC จะขึ้นคำว่า ready

หลังจากนั้น ปรับ B cone เท่ากับ 100% เป็นเวลาประมาณ 30 นาที หากคนก่อนหน้าฉีดสารตัวอยางที่แตกต่างจากเรา ควรใช้เวลาประมาณ 45-60 นาที พร้อมปรับ total flow ทีละ 0.2 จนถึง 1.0

พอครบเวลา 30 นาที ปรับ B cone เท่ากับ 15%

กด plote ที่ + และ – ดูว่าเส้นคงที่หรือไม่

กด plote อีกครั้งเพื่อหยุดการ plote

8. การฉีดสารแบบ batch

คลิก window จากนั้น show window จากนั้น batch table

new batch file

edit จากนั้น table easy setting

ใส่ตัวอย่าง viral และ ชื่อไฟล์ กด OK นอกนั้นกด 1

เปลี่ยน sample name

save atch file AS เลือกที่อยู่เดียวกับ method

batch start

9. การเปิดข้อมูลและสั่งพิมพ์ข้อมูล

กดเลือกข้อมูลที่ต้องการจากโฟลเดอร์ dream เลือกข้อมูลที่ต้องการจะปรากฏหน้าด้านข้าง

เลือก blackup/HPLC/report จากนั้นเลือก LC peak Table (PDA)

กดไอออนด้านล่าง เพื่อเลือกไฟล์งานขึ้นมา จากนั้นจะปรากฏหน้าจอด้านล่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กด edit เพิ่มสารที่ต้องการ เปลี่ยน name และ ret time จากนั้น view

กดหน้า report จากนั้นปริ้นข้อมูลออกมา

10. การปิดเครื่อง

เปลี่ยน b cone เท่ากับ 100% รอ 30 นาที ขึ้นไป

ค่อยๆลด total flow ลงที่ละ 0.2 จาก 1.0 จนเหลือ 0.0

กด Instrument

File จากนั้นกด exit จากนั้นกด OK

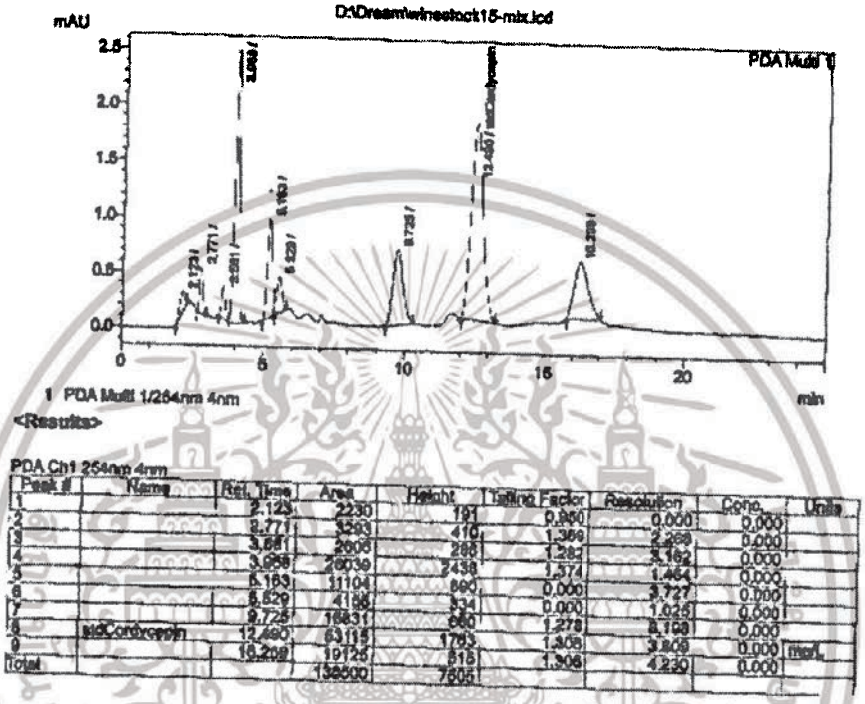
ปิดเครื่อง จากหมายเลข 10 8 6 และ4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

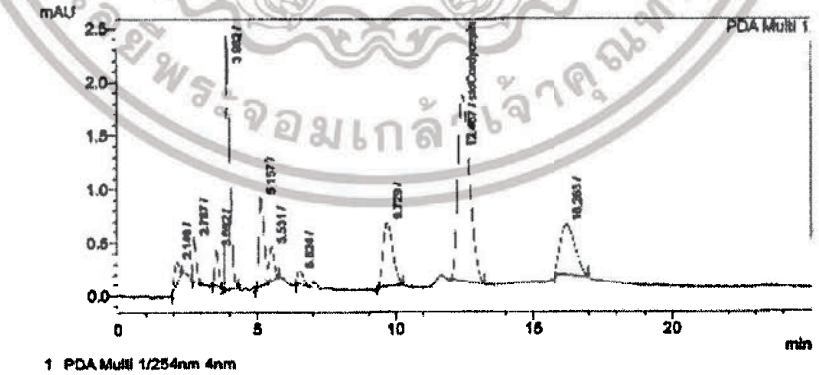
ผลการทดลอง

1. โครมาโทแกรมแสดงพีคคอรไดเซปินของตัวอย่าง ในผลการทดลองหัวข้อที่ 4.2 การหาปริมารคอรไดเซปินดวยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC)



Peak #	Name	Rel. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1		2.123	2230	191	0.900	0.000	0.000	
2		2.771	3293	410	1.369	2.268	0.000	
3		3.661	2008	288	1.282	3.192	0.000	
4		3.958	20039	2438	1.374	1.464	0.000	
5		5.163	11104	860	0.000	3.727	0.000	
6		5.529	4186	334	0.000	1.025	0.000	
7		9.726	16831	660	1.278	8.159	0.000	
8	stdCordycepin	12.490	63115	1793	1.308	3.809	0.000	mg/L
9		16.269	19125	815	1.306	4.230	0.000	
Total			135690	7805				

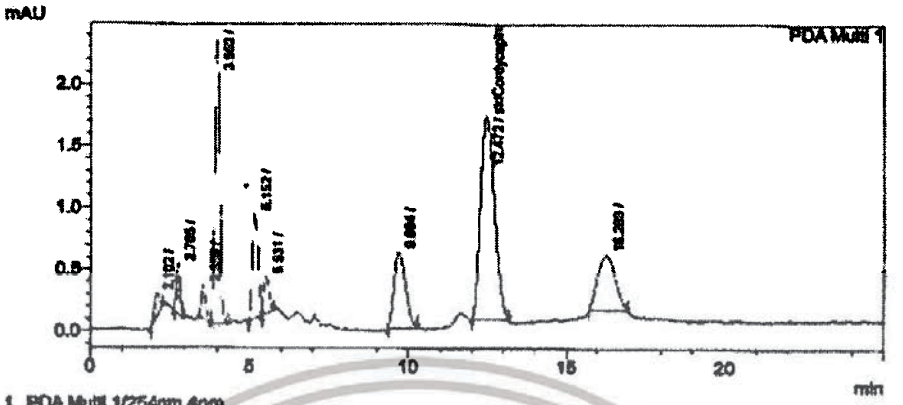
รูปภาคผนวกที่ ฉ-1 จากการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนซึ่งค่า retention time ของโครมาโตแกรมของคอรไดเซปินในนาทีที่ 12.490



Peak #	Name	Rel. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1		2.149	2364	191	0.844	0.000	0.000	
2		2.767	3433	418	1.641	2.213	0.000	
3		3.552	3068	342	1.371	3.179	0.000	
4		3.952	26778	2382	1.433	1.484	0.000	
5		5.157	10632	834	0.000	3.662	0.000	
6		5.531	4004	320	0.000	1.040	0.000	
7		6.524	1781	118	1.617	2.615	0.000	
8		9.729	14753	599	1.222	8.121	0.000	
9	stdCordycepin	12.457	52683	1738	1.302	3.730	0.000	mg/L
10		16.263	17306	474	1.251	4.235	0.000	
Total			135894	7416				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาคผนวกที่ ฉ-2 จากการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนซึ่งค่า retention time ของโครมาโตแกรมของคอรไดเซปินในนาทีที่ 12.457



1 PDA Multi 1/254nm 4nm

<Results>

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1		2.102	2082	182	1.003	0.000	0.000	
2		2.766	3333	401	1.459	2.379	0.000	
3		3.659	2342	290	1.291	3.159	0.000	
4		3.982	24547	2259	1.371	1.432	0.000	
5		5.152	10040	846	0.000	3.611	0.000	
6		5.531	3643	302	0.000	1.023	0.000	
7		9.664	15384	817	1.334	7.880	0.000	
8	Cordycepin	12.472	80413	1045	1.253	3.099	0.000	mg/L
9		16.283	16855	450	1.109	4.139	0.000	
Total			160940	7002				

รูปภาคผนวกที่ ฉ-3 จากการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนซึ่งค่า retention time ของโครมาโตแกรมของคอรไดเซปินในนาทีที่ 12.472

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

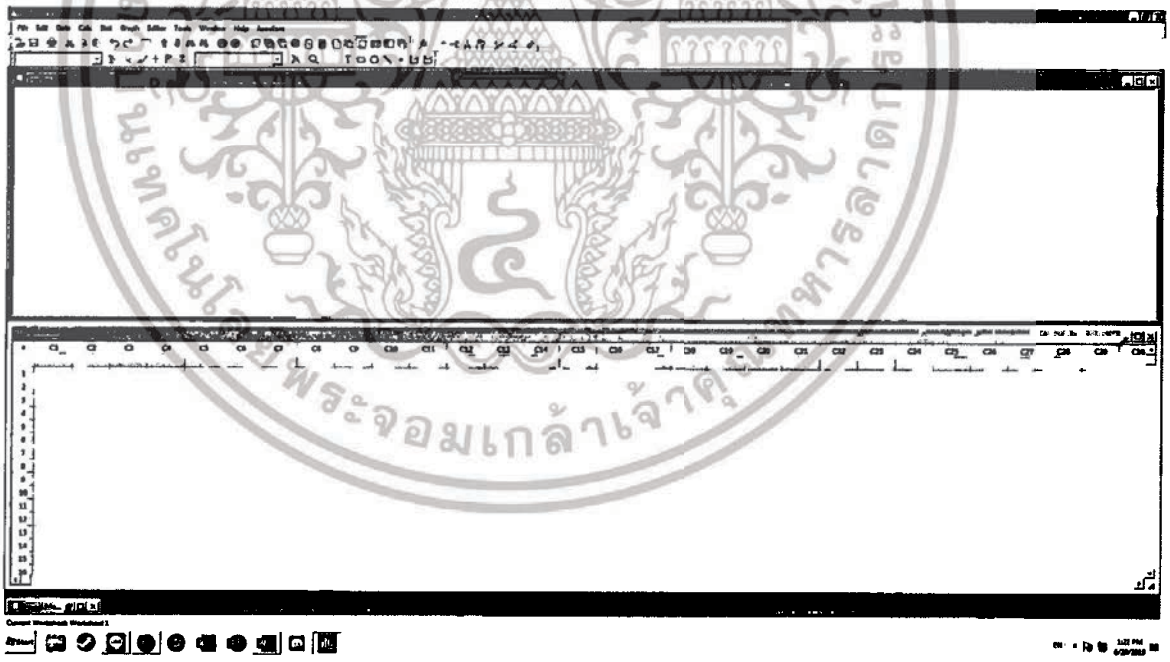
ภาคผนวก ช

วิธีใช้โปรแกรม Minitap

1.เปิดโปรแกรม minitap

รูปภาคผนวกที่ ช-1 โปแกรม minitap

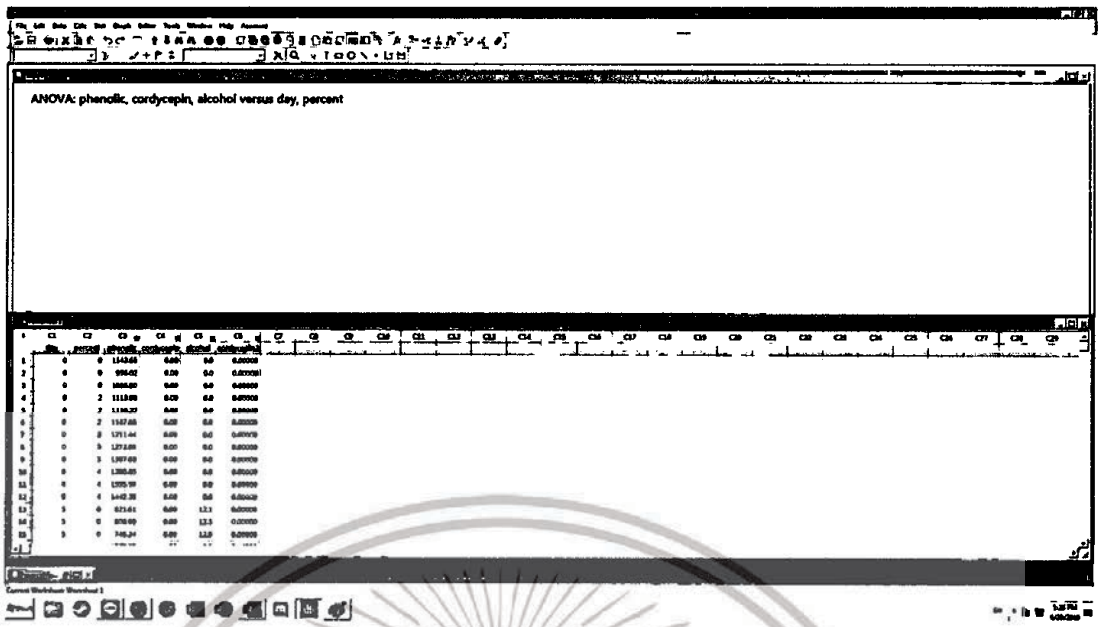
2.หลังจากเปิดโปรแกรม minitap แล้วจะมี 2 วินโดว์เปิดขึ้นคือ session และ worksheet ดังรูปที่ 2 ช โดยจะ worksheet จะเป็นส่วนในการป้อนข้อมูลที่ต้องการคำนวน ส่วน session จะเป็นส่วนใช้ในการแสดงผล



รูปภาคผนวกที่ ช-2 วินโดว์เมื่อเปิดโปรแกรม minitap คือ session และ worksheet

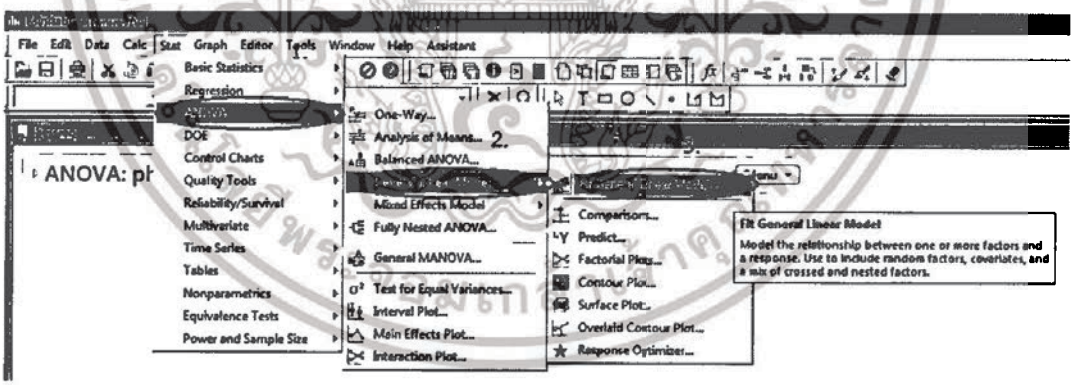
3.กรองข้อมูลลงใน worksheet โดยเริ่มจากตัวแปรและข้อมูลที่เราตามลำดับตั้งแต่ C1 จนครบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



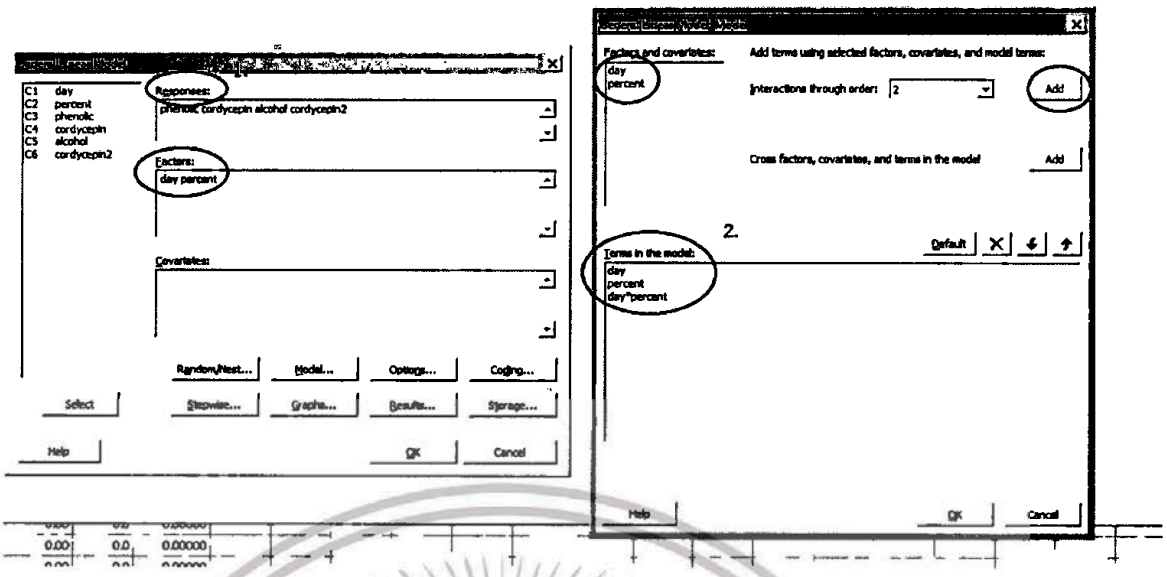
รูปภาคผนวกที่ ช-3 การป้อนข้อมูลลงในโปรแกรม

4. หลังจากนั้นวิธีการคำนวนกดไปที่ stat จากนั้นเลื่อนไปที่ ANOVA แล้วเลือก General Linear Modelจากนั้นคลิก fit General Linear Model ดังรูป 4ช จากนั้นเลือกตัวอย่างที่เราต้องการคำนวนลงใน responses คือ Phenolic cordycepin และ alcohol และ ปัจจัย(day percent)ให้ใส่ในช่อง Factor จากนั้นคลิกที่ model และ add ปัจจัยดังรูป 5ช จากนั้นกด Ok จากนั้นกดตกลงอีกครั้งค่าก็จะแสดงในวินโดว์ session ดังรูปที่ 6ช

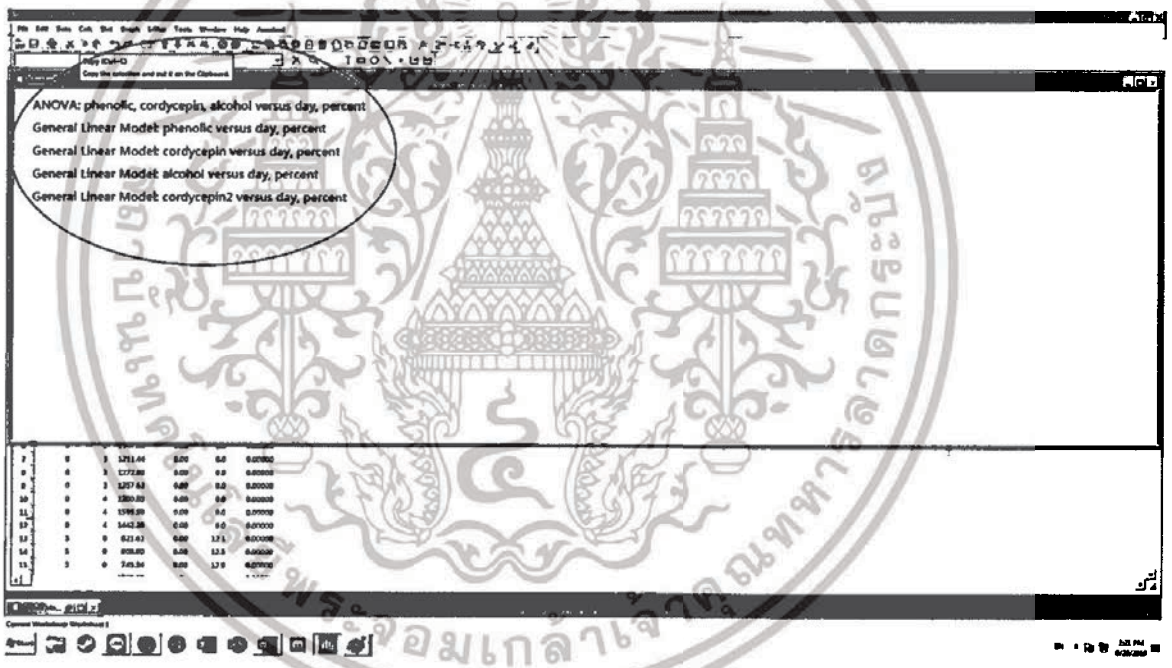


รูปภาคผนวกที่ ช-4 การเข้าการคำนวนทางสถิติแบบ factorial

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



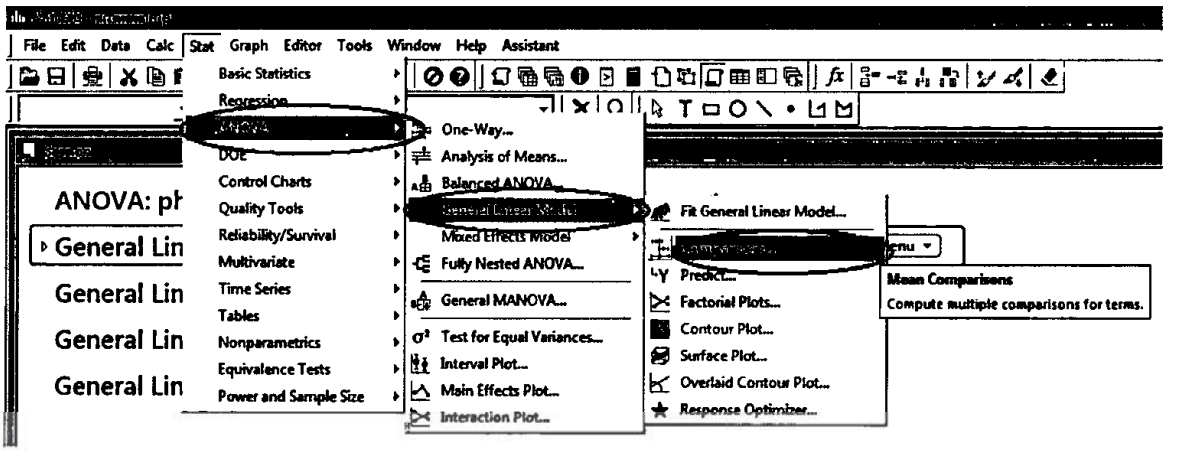
รูปภาคผนวกที่ ช-5 การตั้งค่าในการคำนวนค่าทางสถิติ



รูปภาคผนวกที่ ช-6 รูปแบบการแสดงผลทางสถิติ

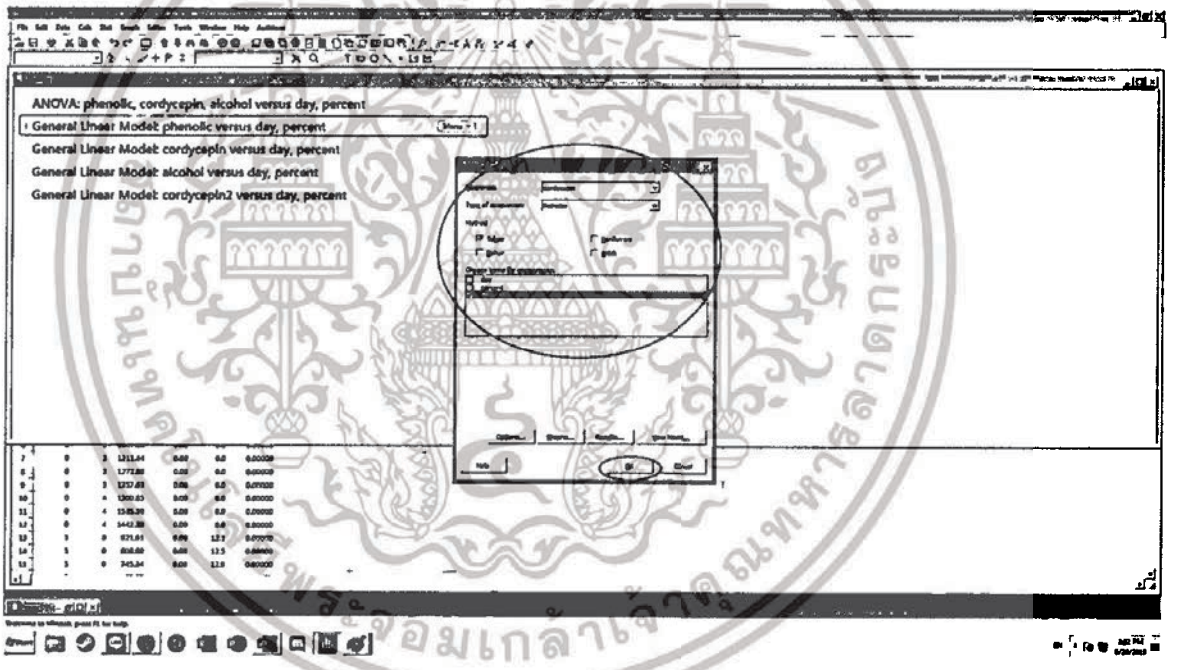
5. จากนั้นถ้าต้องการดูการเปรียบกันของตัวอย่างให้เลือก stat จากนั้นเลื่อนไปที่ ANOVA แล้วเลือก General Linear Modelจากนั้นคลิก mean comparisons ดังรูป ที่ 7ช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



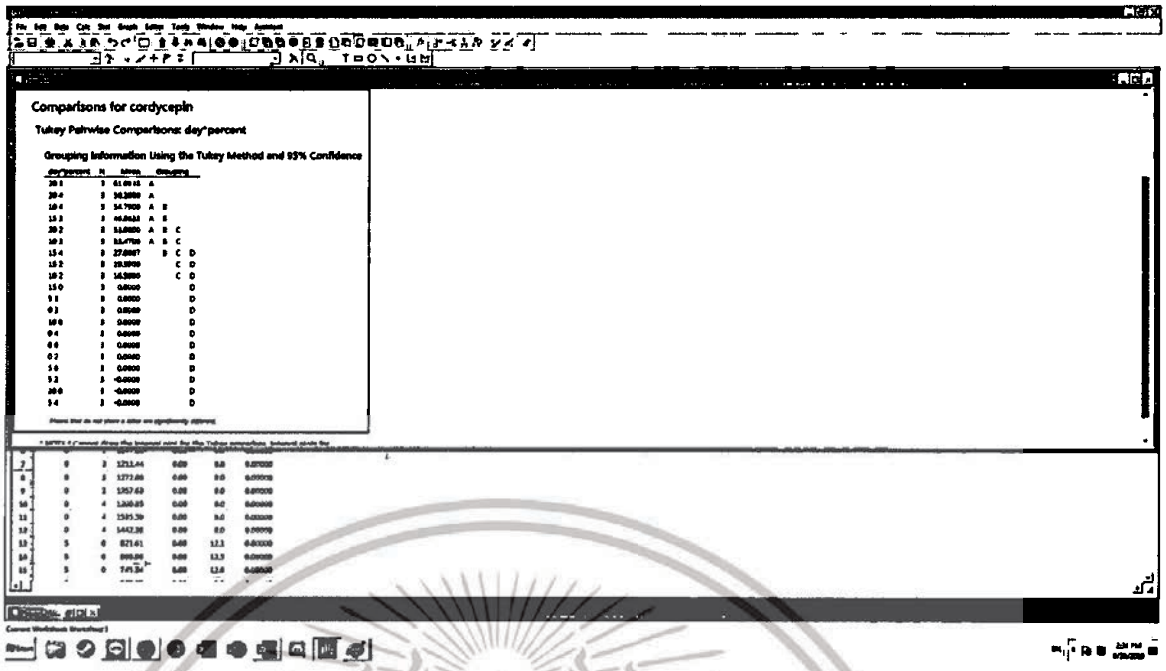
รูปภาคผนวกที่ ช-7 การเข้าเพื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ

จากนั้นเลือกตัวอย่างที่เราต้องการเปรียบเทียบ ในช่อง response (cordycepin) จากนั้นคลิ๊ก turkey และเลือกปัจจัยที่ต้องการ แล้วกด Ok ดังรูปที่ 8ช จะได้ค่าออกมาดังรูปที่ 9ช ในวินโดว์ session



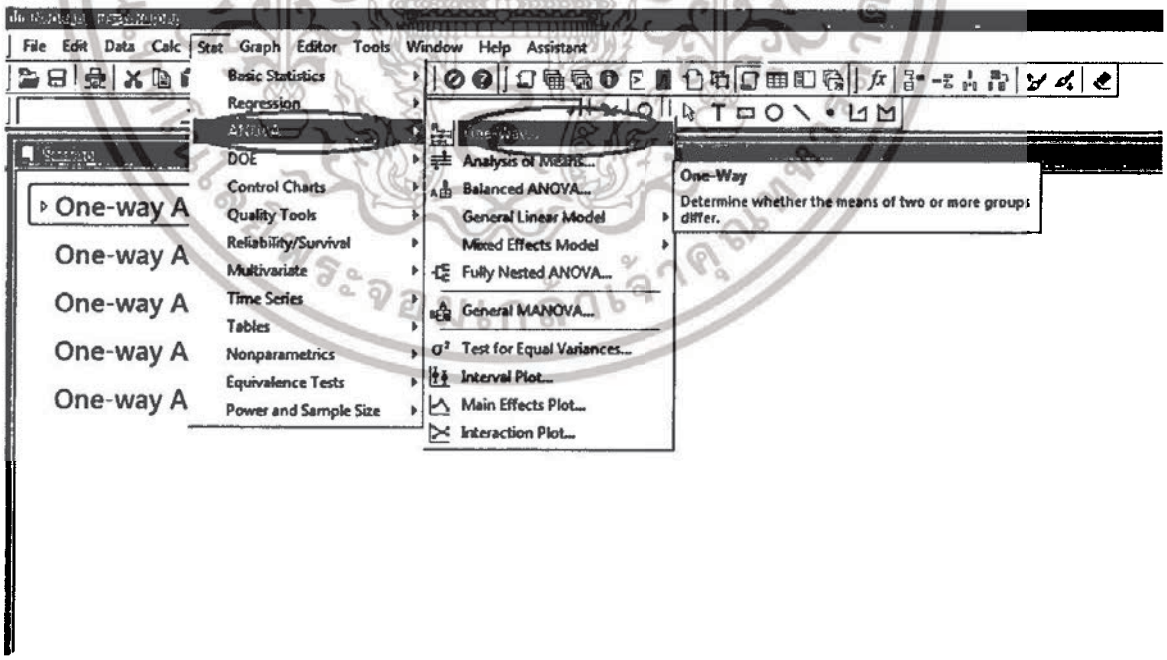
รูปภาคผนวกที่ ช-8 รูปการตั้งค่าเพื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



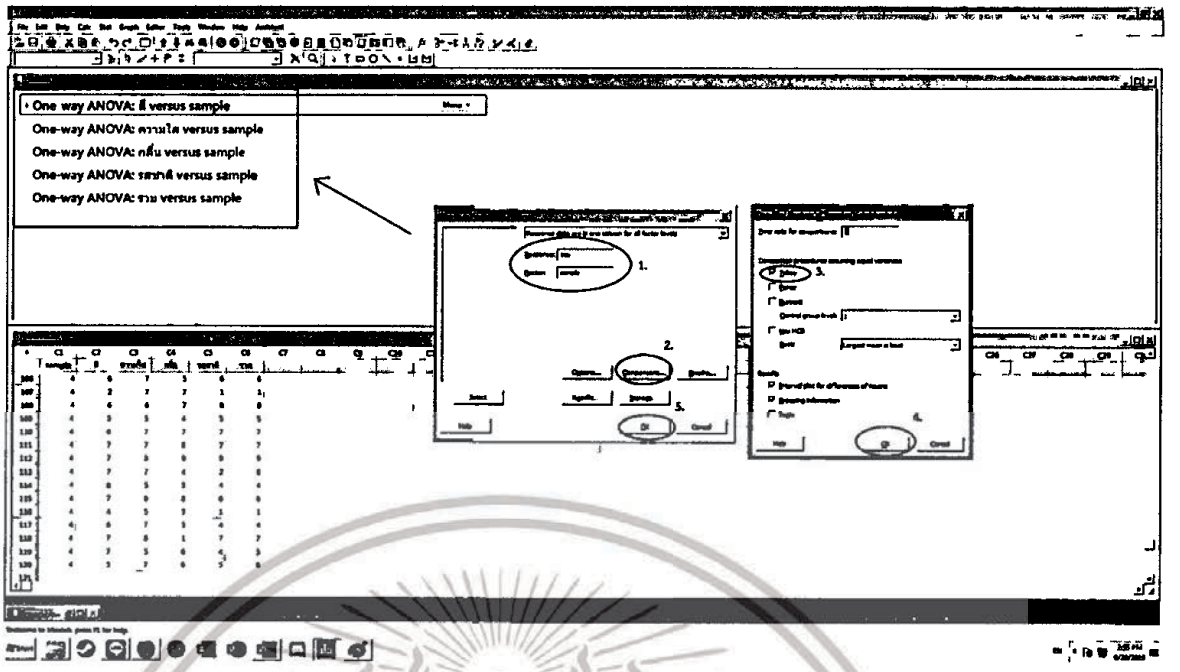
รูปภาคผนวกที่ ช-9 ผลของการเปรียบเทียบค่าทางสถิติ

6. ในกรณีที่เป็นการคำนวนทางสถิติแบบ CRD ให้เข้าที่ stat จากนั้นลากไปที่ ANOVA แล้วเลือก one way ANOVA ดังรูป 10ช จากนั้นเลือกข้อมูลเราลง response และปัยจัยลง factor จากนั้นกด comparison แล้วเลือก turkey จากนั้นกด ok แล้วกด ok อีกครั้ง ผลก็จะแสดงขึ้นที่วินโดว์ ดังรูป 11 ช



รูปภาคผนวกที่ ช-10 การเข้าเพื่อคำนวนค่าสถิติแบบ CRD

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ ช-11 รูปวิธีการตั้งค่าเพื่อคำนวณทางสถิติและการการแสดงผลของโปรแกรม minitap

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ

ข้อมูลผลการทดลองและการคำนวนทางสถิติ

ตารางภาคผนวก ซ-1 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของสารคอร์ไดเซปินที่มีปัจจัยคือ วันและปริมาณของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เติมลงไป

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	4	113.87	28.4669	37.60	0.000
percent	3	59.29	19.7624	26.11	0.000
day*percent	12	52.06	4.3380	5.73	0.000
Error	40	30.28	0.7570		
Total	59	255.49			

ตารางภาคผนวก ซ-2 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของสารประกอบฟีนอลิกที่มีปัจจัยคือ วันและปริมาณของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เติมลงไป

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	4	713821	178455	6.31	0.000
percent	3	12929273	4309758	152.36	0.000
day*percent	12	2437098	203091	7.18	0.000
Error	40	1131442	28286		
Total	59	17211634			

ตารางภาคผนวก ซ-3 แสดงการเปรียบค่าทางสถิติว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของสารคอร์ไดเซปิน

Comparisons for cordycepin2

Tukey Pairwise Comparisons: day*percent

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

day*percent	N	Mean	Grouping
15 3	3	5.45572	A
20 3	3	5.09043	A B
20 2	3	4.24752	A B C
20 4	3	3.50632	A B C
15 4	3	3.48332	A B C
10 4	3	3.42429	A B C
10 3	3	2.78899	A B C
15 2	3	2.44908	B C D
10 2	3	2.06999	C D
5 3	3	0.00000	D
0 0	3	0.00000	D
5 2	3	0.00000	D
10 0	3	0.00000	D
0 3	3	0.00000	D
20 0	3	-0.00000	D
15 0	3	-0.00000	D
0 2	3	-0.00000	D
5 0	3	-0.00000	D
5 4	3	-0.00000	D
0 4	3	-0.00000	D

Means that do not share a letter are significantly different.

*** NOTE * Cannot draw the interval plot for the Tukey procedure. Interval plots for comparisons are illegible with more than 45 intervals.**

ตารางภาคผนวก ซ-4 แสดงการเปรียบค่าทางสถิติว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของสารประกอบฟีนอลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Comparisons for phenolic

Tukey Pairwise Comparisons: day*percent

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

day*percent	N	Mean	Grouping
20 4	3	2319.78	A
15 4	3	2295.76	A
10 4	3	1938.42	A B
5 4	3	1901.70	A B C
20 3	3	1853.67	A B C D
15 3	3	1754.24	B C D E
10 3	3	1535.59	B C D E F
5 3	3	1530.51	B C D E F
20 2	3	1409.18	C D E F
0 4	3	1392.94	C D E F
15 2	3	1390.82	C D E F
10 2	3	1355.51	D E F
5 2	3	1335.03	D E F
0 3	3	1280.65	E F G
0 2	3	1126.69	F G H
0 0	3	1046.19	F G H
5 0	3	791.95	G H I
15 0	3	627.40	H I
10 0	3	621.05	H I
20 0	3	395.06	I

Means that do not share a letter are significantly different.

*** NOTE * Cannot draw the interval plot for the Tukey procedure. Interval plots for comparisons are illegible with more than 45 intervals.**

ตารางภาคผนวก ซ-5 แสดงการเปรียบค่าทางสถิติว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยเรียงลำดับจาก สี ความใส กลิ่น รสชาติ และ ความชอบโดยรวมตามลำดับ

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

sample	N	Mean	Grouping
2	30	7.767	A
3	30	6.933	A B
1	30	6.433	B
4	30	6.367	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

sample	N	Mean	Grouping
1	30	6.800	A
2	30	6.667	A
3	30	6.533	A
4	30	6.300	A

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

sample	N	Mean	Grouping	
1	30	6.167	A	
4	30	5.367	A	B
3	30	5.033	A	B
2	30	4.600		B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

sample	N	Mean	Grouping	
4	30	5.467	A	
3	30	5.433	A	
2	30	4.133	A	B
1	30	3.533		B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

sample	N	Mean	Grouping
4	30	5.767	A
3	30	5.733	A
2	30	5.100	A
1	30	4.933	A

Means that do not share a letter are significantly different.

หมายเหตุ sample คือ ชุดการทดลองโดย

1 คือ ชุดควบคุมไวน์แดงที่ไม่ได้เติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2 คือ ชุดตัวอย่างไวน์ที่เติมเห็ดถังเช่าสีทองร้อยละ0.8

3 คือ ชุดตัวอย่างไวน์ที่เติมเห็ดถังเช่าสีทองร้อยละ 1.2

4 คือ ชุดตัวอย่างไวน์ที่เติมเห็ดถังเช่าสีทองร้อยละ 1.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ช-6 แสดงค่าความแปรปรวนของการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยเรียงลำดับจาก สี ความใส กลิ่น รสชาติ และ ความชอบโดยรวมตามลำดับ

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
1	30	6.433	1.547	(5.969, 6.898)
2	30	7.767	1.194	(7.302, 8.231)
3	30	6.933	1.015	(6.469, 7.398)
4	30	6.367	1.326	(5.902, 6.831)

Pooled StDev = 1.28508

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
1	30	6.800	1.448	(6.382, 7.218)
2	30	6.667	1.093	(6.248, 7.085)
3	30	6.533	0.937	(6.115, 6.952)
4	30	6.300	1.088	(5.882, 6.718)

Pooled StDev = 1.15681

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
1	30	6.167	1.984	(5.461, 6.872)
2	30	4.600	1.905	(3.895, 5.305)
3	30	5.033	1.974	(4.328, 5.739)
4	30	5.367	1.938	(4.661, 6.072)

Pooled StDev = 1.95046

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
1	30	3.533	1.676	(2.817, 4.250)
2	30	4.133	2.300	(3.417, 4.850)
3	30	5.433	1.888	(4.717, 6.150)
4	30	5.467	2.013	(4.750, 6.183)

Pooled StDev = 1.98218

Means

sample	N	Mean	StDev	95% CI
1	30	4.933	1.701	(4.277, 5.589)
2	30	5.100	2.074	(4.444, 5.756)
3	30	5.733	1.680	(5.077, 6.389)
4	30	5.767	1.775	(5.111, 6.423)

Pooled StDev = 1.81422

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ sample คือ ชุดการทดลองโดย

1 คือ ชุดควบคุมไวน์แดงที่ไม่ได้เติมเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2 คือ ชุดตัวอย่างไวน์ที่เติมเห็ดถังเช่าสีทองร้อยละ 0.8

3 คือ ชุดตัวอย่างไวน์ที่เติมเห็ดถังเช่าสีทองร้อยละ 1.2

4 คือ ชุดตัวอย่างไวน์ที่เติมเห็ดถังเช่าสีทองร้อยละ 1.6

ตารางภาคผนวก ช-7 ตารางแสดงการเปรียบค่าทางสถิติว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่มีความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของ pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้และแอลกอฮอล์

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

วัน* เปอร์เซน	N	Mean	Grouping
0 0	3	4.05333	A
0 2	3	4.05000	A
0 4	3	4.02667	A
0 3	3	4.02000	A
5 0	3	3.96000	A
5 4	3	3.72000	A
5 2	3	3.68000	A
15 0	3	3.68000	A
10 0	3	3.67000	A
20 0	3	3.67000	A
5 3	3	3.64000	A
10 4	3	2.97000	B
15 4	3	2.87000	B
10 3	3	2.86333	B
15 3	3	2.82000	B
10 2	3	2.81333	B
20 3	3	2.81333	B
20 4	3	2.81000	B
20 2	3	2.75000	B
15 2	3	2.74667	B

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tukey Pairwise Comparisons:
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

วัน* เปอรเซน	N	Mean	Grouping
0 0	3	21.0000	A
0 2	3	21.0000	A
0 4	3	20.9667	A
0 3	3	20.9000	A
5 2	3	19.9333	A B
5 3	3	19.3000	B C
5 4	3	19.1667	B C
10 2	3	18.2333	C D
15 2	3	17.7333	D
10 3	3	17.7000	D
10 4	3	17.6333	D
15 3	3	17.4000	D
15 4	3	17.3667	D
20 2	3	17.2333	D
20 3	3	17.0000	D
20 4	3	16.9333	D
5 0	3	8.1667	E
10 0	3	5.4667	F
15 0	3	5.0000	F G
20 0	3	4.0000	G

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tukey Pairwise Comparisons:
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

วัน*เปอรเซน	N	Mean	Grouping
20 0	3	13.3000	A
15 0	3	13.1667	A B
10 0	3	13.0000	A B
5 0	3	12.5000	B
20 4	3	3.2000	C
20 3	3	3.1333	C
20 2	3	3.0667	C
15 4	3	2.1333	D
15 3	3	2.1000	D
15 2	3	1.9000	D E
10 4	3	1.3667	D E F
10 3	3	1.2333	E F
5 3	3	1.1000	F
10 2	3	1.0667	F
5 4	3	0.8667	F
5 2	3	0.8333	F
0 4	3	0.0000	G
0 2	3	-0.0000	G
0 3	3	-0.0000	G
0 0	3	-0.0000	G

Means that do not share a letter are significantly different.

ตารางภาคผนวก ช-8 ตารางแสดงค่าความแปรปรวนของค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้และแอลกอฮอล์

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
วัน	4	11.0288	2.75720	151.33	0.000
เปอรเซน	3	3.6579	1.21928	66.92	0.000
วัน*เปอรเซน	12	1.4284	0.11904	6.53	0.000
Error	40	0.7288	0.01822		
Total	59	16.8439			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
วัน	4	408.98	102.245	531.60	0.000
เปอรเซน	3	1090.83	363.608	1890.51	0.000
วัน*เปอรเซน	12	278.96	23.247	120.87	0.000
Error	40	7.69	0.192		
Total	59	1786.46			

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
วัน	4	229.08	57.269	861.19	0.000
เปอรเซน	3	896.66	298.885	4494.52	0.000
วัน*เปอรเซน	12	227.76	18.980	285.41	0.000
Error	40	2.66	0.066		
Total	59	1356.15			

ตารางภาคผนวก ช-9 ตารางแสดงการเปรียบค่าทางสถิติว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่มีความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของสารประกอบฟีนอลิกที่กระบวนการหมักวันที่20กับหลังผ่านกระบวนการพาสเจอไรซ์แล้ว

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

day	N	Mean	Grouping
20	3	395.1	A
0	3	367.86	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

day	N	Mean	Grouping
20	3	1409.2	A
0	3	1030.8	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

day	N	Mean	Grouping
20	3	1854	A
0	3	1336	A

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้