

สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเส้นใยชีวมวลและพอลิแซคคาไรด์จาก  
เห็ดถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*)

OPTIMIZATION OF MYCELIAL BIOMASS AND POLYSACCHARIDES  
PRODUCTION BY *Isaria tenuipes*



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ปีการศึกษา 2559  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OPTIMIZATION OF MYCELIAL BIOMASS AND POLYSACCHARIDES  
PRODUCTION BY *Isaria tenuipes*



THUNYALUK RATCHAPATH  
THANYAPORN KARAWEK  
THERAPONG KAEOWONG

A SPECIAL PROJECT IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE  
IN BIOTECHNOLOGY  
DEPARTMENT OF BIOLOGY  
FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อเผยแพร่ขึ้นเว็บไซต์จะถือว่ามีการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัด ACADEMIC YEAR 2016 ของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเส้นใยชีวมวลและผลิตสารพอลิแซคคาไรด์จากเห็ดถั่งเช่าหิมะ ( <i>Isaria tenuipes</i> )
ชื่อนักศึกษา	นางสาวธัญญลักษณ์ ราชพัฒน์ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 56050844 นางสาวธัญญาภรณ์ การะเวก นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 56050845 นายธีรพงศ์ แก้ววงษ์ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 56050847
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์อารี ฤทธิบูรณ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการ	ลายเซ็น
มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ ประธานกรรมการ	
คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ กรรมการ	
รองศาสตราจารย์อารี ฤทธิบูรณ์ กรรมการ และอาจารย์ที่ปรึกษา	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์ อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเส้นใยชีวมวลและผลิตสารพอลิแซคคาไรด์จากเห็ดถั่งเช่าหิมะ ( <i>Isaria tenuipes</i> )
ชื่อนักศึกษา	นางสาวธัญญลักษณ์ ราชพัฒน์ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 56050844 นางสาวธัญญาภรณ์ การระเวก นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 56050845 นายธีรพงศ์ แก้ววงษ์ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 56050847
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์อารี ฤทธิบุรณ์

### บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้เป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเส้นใยชีวมวลและพอลิแซคคาไรด์ (EPS, IPS) จากเห็ดถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*) ในอาหารเหลว การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อโดยใช้ความเร็วรอบในการปั่นกวน 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าการเจริญเส้นใยสูงสุดที่ 96 ชั่วโมง โดยมีปริมาณน้ำหนักเส้นใยแห้งเท่ากับ 22.47 กรัม/ลิตร จากการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ การผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์และอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ พบว่าแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดคือ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีน้ำหนักแห้งของเส้นใยชีวมวลได้เท่ากับ 28.82 กรัม/ลิตร ผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์และอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ได้เท่ากับ 1.05 และ 0.82 กรัม/ลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดคือ ไข่ไก่ ปริมาณความเข้มข้น 10 กรัม/ลิตร ให้น้ำหนักเส้นใยชีวมวลเท่ากับ 27.12 กรัม/ลิตร การผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์เท่ากับ 2.36 กรัม/ลิตร และอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์เท่ากับ 0.12 กรัม/ลิตร

**คำสำคัญ :** *Isaria tenuipes* เฮกโซพอลิแซคคาไรด์ อินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ การเจริญของเส้นใย แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Optimization of mycelial biomass and polysaccharides production by <i>Isaria tenuipes</i>
Students	Miss Thunyaluk Ratchapath Student ID 56050844 Miss Thanyaporn Karawek Student ID 56050845 Mr.Therapong Kaeowong Student ID 56050847
Degree	Bachelor of Science in Biotechnology
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2016
Advisor	Prof. Aree Rittiboon

### Abstract

This special project aimed to study the optimum conditions for mycelial biomass, extracellular polysaccharide (EPS) and intracellular polysaccharide (IPS) production of *Isaria tenuipes* in liquid culture. The cultural conditions were incubated in orbital shaker at 150 rpm for 25°C. The highest of dryable mycelia was 22.47 g/L at 96 h. The optimization of carbon source for mycelial biomass, extracellular polysaccharide and intracellular polysaccharide production were riceberry that produce 28.82 g/L of biomass, 1.05 and 0.82 g/L of extracellular polysaccharide (EPS) and intracellular polysaccharide (IPS), respectively. The concentration of nitrogen source (10g/L) was egg that produces 27.12 g/L of biomass, 2.36 g/L of extracellular polysaccharide (EPS), 0.12 g/L of intracellular polysaccharide (IPS), respectively.

**Keywords:** *Isaria tenuipes*, Exo-polysaccharide, intracellular polysaccharide, mycelial growth, Carbon source, Nitrogen source

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ ซึ่งสำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือและสนับสนุนจากหลายบุคคล

ข้าพเจ้าหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงการพิเศษเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจศึกษา และขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์อารี ฤทธิบุรณ์ รองศาสตราจารย์ ดร.มาริสสา จาตุพรพิพัฒน์ และ ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าให้ความรู้ คำปรึกษา และข้อคิดเห็นในด้านต่างๆ อีกทั้งท่านยังช่วยตรวจทาน แก้ไขข้อบกพร่องของรูปเล่มโครงการพิเศษนี้ด้วยความใส่ใจให้เสร็จสมบูรณ์ และเป็นผู้ให้การสนับสนุน ให้กำลังใจตลอดระยะเวลาการทำโครงการพิเศษนี้ จนทำให้รายงานนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ซึ่งนอกจากจะเป็นเนื้อหาวิชาการ แล้วยังสอนให้รู้จักหน้าที่และความรับผิดชอบต่องานที่ทำ

ขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการและนักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่อำนวยความสะดวก จัดเตรียมอุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือต่างๆสำหรับการทดลองครั้งนี้

ขอบคุณครอบครัว พี่ๆ เพื่อนๆ ที่คอยให้กำลังใจ ให้ความช่วยเหลือในทุกๆ เรื่องที่ปรึกษาและดูแลกันอย่างดีมาโดยตลอดโดยเฉพาะในช่วงเวลาที่ยากลำบากและมีปัญหา

นางสาวธัญญลักษณ์ ราชพัฒน์

นางสาวธัญญาภรณ์ การะเวก

นายธีรพงศ์ แก้ววงษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์ .....	ณ
<b>บทที่ 1 บทนำ.....</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์โครงการพิเศษ.....	1
1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ.....	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....</b>	<b>3</b>
2.1 เห็ดถั่งเช่า.....	3
2.1.1 ถั่งเช่าที่มีชื่อเสียงมีอยู่ 4 ชนิด.....	3
2.2 สารสำคัญจากเห็ดถั่งเช่า.....	5
2.2.1 พอลิแซคคาไรด์.....	7
2.2.1.1 ประเภทของพอลิแซคคาไรด์.....	7
2.2.1.2 วิธีการตรวจสอบพอลิแซคคาไรด์.....	7
2.2.1.3 ประโยชน์ของสารพอลิแซคคาไรด์.....	7
2.2.2 คอร์โดเซปิน.....	8
2.2.3 กรดคอร์โดเซปิก.....	9
2.2.4 อะดีโนซีน.....	9
2.2.5 กรดไขมัน.....	10
2.2.6 ธาตุโลหะ.....	10
2.2.7 กรดนิวคลีอิก.....	10
2.3 ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยชีวมวลและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์... 10	
2.3.1 ผลของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน.....	10
2.3.2 สภาพการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดถั่งเช่า.....	11
2.4 แหล่งสารอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่า.....	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.1 ข้าวไรซ์เบอร์รี่.....	13
2.4.1.1 ต้นกำเนิดข้าวไรซ์เบอร์รี่.....	13
2.4.1.2 ลักษณะข้าวไรซ์เบอร์รี่.....	13
2.4.1.3 รงค์วัตถุดิบของข้าวไรซ์เบอร์รี่.....	14
2.4.1.4 ส่วนประกอบของข้าวไรซ์เบอร์รี่.....	14
2.4.1.5 สรรพคุณและประโยชน์ข้าวไรซ์เบอร์รี่.....	14
2.4.1.6 ค่าการต้านอนุมูลอิสระในข้าวไรซ์เบอร์รี่.....	16
2.4.1.7 สารต้านอนุมูลอิสระในข้าวไรซ์เบอร์รี่.....	16
2.4.2 ไข่ไก่.....	17
2.5 การเจริญเติบโตของเห็ดรา.....	19
2.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	20
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....</b>	<b>24</b>
3.1 เชื้อจุลินทรีย์.....	24
3.1.1 วัตถุดิบ.....	24
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์.....	24
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	24
3.2.1 สูตรอาหาร PDB เสริม.....	24
3.2.2 สูตรอาหาร PDA เสริม.....	24
3.2.3 สูตรอาหาร YMP.....	24
3.3 สารเคมีและอุปกรณ์.....	24
3.4 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเส้นใยเห็ดถึงเข้าหิมะภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	25
3.5 วิธีการเตรียมหัวเชื้อ.....	25
3.5.1 หัวเชื้อจุลินทรีย์และการเก็บรักษา.....	25
3.5.2 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นในอาหารแข็ง PDA เสริม และตัวนอนใหม่.....	26
3.5.3 การเตรียมหัวเชื้ออาหารเหลว YMP และ PDB.....	26
3.6 การเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดในสภาวะอาหารเหลว.....	26
3.6.1 การหาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อเส้นใยและการผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ในอาหารเหลว.....	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การเขียนโดยผู้จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่สามารถนำเอกสารนี้ไปเผยแพร่หรือใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งหากมีข้อผิดพลาดหรือข้อสงสัยใดๆ กรุณาแจ้งผู้จัดทำเอกสารทุกครั้งที่มีโอกาส

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.7 การวิเคราะห์ผลการทดลอง.....	27
3.7.1 การวิเคราะห์หาน้ำหนักเส้นใยแห้ง.....	27
3.7.2 การวิเคราะห์พอลิแซคคาไรด์.....	27
3.7.2.1 การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริก.....	27
3.7.2.2 การวัดน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยปฏิกิริยาของกรด 3, 5-ไดไนโตรซาลิไซลิก... ..	27
3.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	28
<b>บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....</b>	<b>29</b>
4.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยและลักษณะดอกเห็ดภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	29
4.1.1 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	29
4.2 การศึกษาระยะเวลาในการเจริญเติบโตของหัวเชื้อในอาหารเหลว.....	29
4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ในสภาวะอาหารเหลว.....	30
4.3.1 การแปรผันแหล่งคาร์บอน.....	30
4.3.1.1 ผลการแปรผันแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตเส้นใยชีวมวลและสารพอลิแซคคาไรด์.....	30
4.3.2 การแปรผันแหล่งไนโตรเจน.....	33
4.3.2.1 ผลการแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเส้นใยชีวมวลและสารพอลิแซคคาไรด์.....	33
4.3.2.2 การแปรผันปริมาณของแหล่งไนโตรเจน.....	35
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....</b>	<b>37</b>
เอกสารอ้างอิง.....	38
ภาคผนวก.....	43
ภาคผนวก ก สูตรอาหารและการเพาะเลี้ยง.....	44
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์.....	47
ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์.....	48
ภาคผนวก ง วิธีการคำนวณ.....	50
ภาคผนวก จ ผลการทดลอง.....	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวไรซ์เบอร์รี่.....	14
ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณสารอาหารและประโยชน์ของข้าวไรซ์เบอร์รี่.....	15
ตารางที่ 2.3 คุณค่าทางโภชนาการของไข่ไก่ต่อน้ำหนัก 100กรัม.....	17
ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะในการเพาะเลี้ยงที่สภาวะ อาหารเหลวที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	30
ตารางที่ 4.2 การเจริญของเส้นใยชีวมวลจากการแปรผันแหล่งคาร์บอนในสภาวะอาหารเหลว ที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	31
ตารางที่ 4.3 การผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันแหล่งคาร์บอนในสภาวะอาหารเหลว ที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	32
ตารางที่ 4.4 การผลิตอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันแหล่งคาร์บอน ในอาหารเหลวที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	32
ตารางที่ 4.5 การเจริญของเส้นใยชีวมวลจากการแปรผันชนิดแหล่งไนโตรเจนที่สภาวะอาหารเหลว ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	33
ตารางที่ 4.6 เฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่สภาวะอาหารเหลว ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	34
ตารางที่ 4.7 อินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันชนิดแหล่งไนโตรเจนในสภาวะ อาหารเหลวความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	34
ตารางที่ 4.8 ค่าน้ำหนักเส้นใยแห้งของเส้นใยในการแปรผันปริมาณแหล่งไนโตรเจน ในอาหารเพาะเลี้ยงเหลวที่สภาวะอาหารเหลวความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	35
ตารางที่ 4.9 เฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันปริมาณของแหล่งไนโตรเจน ในสภาวะอาหารเหลวที่สภาวะอาหารเหลวความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	36
ตารางที่ 4.10 อินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันปริมาณแหล่งไนโตรเจน สภาวะอาหารเหลวที่สภาวะอาหารเหลวความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 2.1 <i>Isaria tenuipes</i> BCC 31640 ในสามรูปแบบที่แตกต่างกัน (A) ตัวอย่างธรรมชาติ บนดักแด้ผีเสื้อ (B) การเพาะเลี้ยงบนข้าว <i>Synnemata</i> (C) การเพาะเลี้ยงในอาหาร ที่มีเกลือเล็กน้อย.....	4
รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของปีตากลูแคน.....	6
รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของสารอะดีโนซีน.....	9
รูปที่ 4.1 ลักษณะเส้นใยของเห็ดถังเช่าหิมะ ( <i>Isaria tenuipes</i> ) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่า เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 96 ชั่วโมง (A) และ 168 ชั่วโมง (B).....	29



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
EPS	สารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ (exo-polysaccharide)
IPS	สารอินตราเซลล์ลูลาพอลิแซคคาไรด์ (intracellular polysaccharide)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

หลายปีที่ผ่านมาได้มีการค้นพบสารพอลิแซคคาไรด์หลายชนิดในธรรมชาติและพบว่าโมเลกุลของสารพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ดถั่งเช่านั้นมีโครงสร้างเป็นโปรตีนที่ซับซ้อน (polysaccharide protein complex) ถั่งเช่าในแต่ละสายพันธุ์ จะมีองค์ประกอบของสารแต่ละชนิดแตกต่างกันและเป็นประโยชน์สำหรับการนำมาใช้ทางยา เช่น สามารถพัฒนาเป็นตัวนำหรือสารสกัดเพื่อป้องกันการเกิดเนื้องอก มีกิจกรรมจำเพาะในการต้านเซลล์มะเร็งและเนื้องอกต่างๆ สามารถใช้เสริมฤทธิ์ร่วมกับการรักษาทางเคมีบำบัดและยังมีผลต่อการป้องกันการกระจายตัวของเซลล์เนื้องอก ช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกายเสริมสร้างความแข็งแรง ใช้ในการป้องกันและรักษาโรค เช่น โรคหอบหืด วัณโรค โรคหลอดเลือดอักเสบเรื้อรัง โรคไต และโรคหัวใจ เป็นต้น เห็ดถั่งเช่าหิมะสายพันธุ์ *Isaria tenuipes* จัดเป็นเชื้อราที่เจริญบนแมลงซึ่งจัดอยู่ในคลาส Ascomycetes และพบว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายในหลายๆด้าน เช่น มีคุณสมบัติในการต้านมะเร็ง ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันของเซลล์ และมีกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ แต่เนื่องจากผลผลิตจากดอกเห็ดถั่งเช่ามีข้อจำกัดและการเพาะเลี้ยงดอกเห็ดจากเส้นใยในอาหารทำได้ค่อนข้างยากลำบากจึงมีการทดลองใช้อาหารและสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มความเป็นไปได้ในการเพิ่มผลผลิตของเส้นใยและโมเลกุลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในพื้นที่ที่จำกัด นอกจากนี้ยังช่วยลดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงทำให้มีโอกาสการปนเปื้อนได้น้อยลง อย่างไรก็ตามแม้ว่ามีการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าในสภาวะอาหารเหลวเพื่อการผลิตโมเลกุลสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกันอย่างแพร่หลาย แต่ในปัจจุบันพบว่าการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะสายพันธุ์ *Isaria tenuipes* ในสภาวะอาหารเหลวไม่ได้รับความนิยมมากนัก เนื่องจากปัจจัยด้านแหล่งของสารอาหาร เช่น แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน ซึ่งโดยทั่วไปมีบทบาทต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์และการสังเคราะห์สารเมแทบอไลต์อย่างมีนัยสำคัญ รวมทั้งองค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงล้วนมีความสำคัญต่อค่าผลได้ของเซลล์ในกระบวนการเพาะเลี้ยงทั้งสิ้น Jong และคณะ (2013)

### 1.2 วัตถุประสงค์

1. ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
2. ทำการศึกษาลักษณะการเจริญของหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะในสภาวะอาหารเหลว
3. ทำการศึกษาสภาวะอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดถั่งเช่าหิมะเพื่อการผลิตเส้นใยชีวมวลและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาดูเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกเห็ดถั่งเช่าหิมะภายใต้กล้องจุลทรรศน์
2. ทำการศึกษาลักษณะการเจริญของหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะในสภาวะอาหารเหลว โดยเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นจากอาหารที่เป็นตัวหน 3. ทำการศึกษาสภาวะอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม โดยทำการแปรผันแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะเพื่อการเจริญของเส้นใยชีวมวลและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าหิมะภายใต้กล้องจุลทรรศน์
2. ทราบถึงลักษณะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะในสภาวะอาหารเหลว
3. ทราบถึงสภาวะอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยชีวมวลและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ของเห็ดถั่งเช่าหิมะ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 เห็ดถั่งเช่า

#### 2.1.1 ถั่งเช่าที่มีชื่อเสียงมีอยู่ 4 ชนิด ได้แก่

1. เห็ดถั่งเช่าทิเบต (*Ophiocordyceps sinensis* หรือชื่อเดิม *Cordyceps sinensis*) เป็นเห็ดที่ขึ้นอยู่บนเทือกเขาหิมาลัย สรรพคุณของถั่งเช่าทิเบตถูกค้นพบโดยบังเอิญซึ่งเล่ากันว่าสมัยโบราณคนเลี้ยงสัตว์บนที่ราบสูงทิเบตสังเกตเห็นว่าสัตว์ที่ไปกินเห็ดดอกเล็กที่มีลักษณะคล้ายๆ ใบหญ้าแล้วมีสุขภาพแข็งแรง ไม่เป็นโรค และในสัตว์ตัวที่มีอายุมากพบว่ามียาทางกระฉับกระเฉงเหมือนเป็นหนุ่มสาวจึงเก็บมากิน หลังจากทานแล้วพบว่าดีต่อสุขภาพจึงจัดเป็นยาบำรุงชั้นเลิศ

2. เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) มีการเพาะเลี้ยงทางการค้ามาหลายสิบปีในประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี มาเลเซีย และอเมริกา พบการรายงานหลายฉบับยืนยันว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองมีคุณสมบัติเทียบเท่าเห็ดถั่งเช่าทิเบต

3. เห็ดถั่งเช่าจ๊กจั่น (ว่านจ๊กจั่น) (*Isaria sinclairii* หรือชื่อเดิม *Paecilomyces cicadae*) เป็นดอกเห็ดที่ขึ้นบนตัวอ่อนของจ๊กจั่น มีสรรพคุณช่วยลดความดัน บำรุงสายตา ป้องกันต่อหิน การติดเชื้อไวรัสลงตา (งูสวัด) รักษาโรคสะเก็ดเงิน โรคลมชักในเด็ก และโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาท

4. เห็ดถั่งเช่าหิมะ (ถั่งเช่าเกาหลี) (*Isaria tenuipes* หรือ *Paecilomyces japonica*) มีสรรพคุณลดความอ้วน ลดคลอเรสเตอรอล ไขมัน น้ำตาลในเลือด ลดฝ้าทำให้หน้าขาว นิยมเพาะเลี้ยงโดยใช้หนอนไหม ขาวเกาหลีนิยมบริโภคเพื่อป้องกันโรคมะเร็ง

เห็ดถั่งเช่า หรือที่เรียกว่า หนูก่อนเพราะว่าในฤดูหนาวเป็นหนอน ในฤดูร้อนเป็นหญ้าบนที่ราบสูงทิเบต ตัวหนอนของผีเสื้อค่างดาวจะเจริญเติบโตอยู่ใต้ผิวดินบนภูเขาที่ปกคลุมด้วยหิมะ โดยมีสปอร์ของเชื้อเห็ดรากระจายอยู่ทั่วไป เมื่อน้ำแข็งเริ่มละลาย สปอร์เห็ดจะพัดไปกับน้ำแข็งที่ละลาย แล้วไปตกที่พื้นดิน จากนั้นตัวหนอนเหล่านี้ก็จะกินสปอร์ และเมื่อฤดูร้อนสปอร์ก็เริ่มเจริญเติบโตเป็นเส้นใยโดยอาศัยการดูดสารอาหารและแร่ธาตุจากตัวหนอนนั้น เส้นใยงอกออกจากท้องของตัวหนอน และงอกออกจากปากของมัน เห็ดเหล่านี้ต้องการแสงอาทิตย์มันจึงงอกขึ้นสู่พื้นดิน รูปลักษณะภายนอกคล้ายไม้กระบอก ส่วนตัวหนอนเองก็จะค่อยๆ ตายไป อยู่ในลักษณะของหนอนตายซาก ฉะนั้นถั่งเช่าจัดว่าเป็นยาสมุนไพรที่มีการใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในประเทศจีนนานนับศตวรรษ ซึ่งมีสรรพคุณทางยาแผนโบราณที่ใช้กันแพร่หลายในเรื่องของการกระตุ้นสมรรถภาพทางเพศ ใช้เป็นยาบำรุงร่างกาย และบำรุงอวัยวะภายใน เช่น ปอด ตับ และไต เป็นต้น เห็ดที่มีฤทธิ์ทางยาหลายตัว เช่น เห็ดถั่งเช่าทิเบต (*Ophiocordyceps sinensis*) หรือชื่อเดิม *Cordyceps sinensis* เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) ถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes* หรือ

เอกสา *Paecilomyces japonica*) และเห็ดถั่งเช่าจ๊กจั่น (*Paecilomyces cicadae* หรือ *Isaria sinclairii*) จัดเป็นพวกราแม่ลงในกลุ่มแอสโคไมัยซีท มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างแพร่หลายโดยเฉพะอย่าง

ยั้งราแมลงในกลุ่มคอร์ไดเซฟ ซึ่งมีการจำแนกไว้มากกว่า 750 สายพันธุ์ทั่วโลก ประมาณ 400 สายพันธุ์ ค้นพบที่เอเชีย (เนปาล ญี่ปุ่น จีน เกาหลี เวียดนาม และไทย) มีความหลากหลายในสภาพชื้นและป่าเขตร้อน เชื้อราสกุลคอร์ไดเซฟอยู่ในวงศ์ Clavicipitaceae ที่มีความหลากหลายของชนิด และพบว่าเป็นแมลงเจ้าบ้านที่มีแมลงหลายชนิดอาศัยมากที่สุดของราสกุลนี้ โดยทั่วไปราแมลงจะมีความจำเพาะกับแมลงเจ้าบ้านชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้นหรือใกล้เคียงกับแมลงเจ้าบ้านชนิดนั้นๆ และไม่เป็นอันตรายกับคน อย่างไรก็ตามมีเชื้อราแมลงเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่สามารถรับประทานได้และในผู้ที่เป็นภูมิแพ้อาจเกิดอาการแพ้ได้

ราแมลง คือ เชื้อราที่เจริญเติบโตในตัวแมลง (อาจเกิดจากการที่สปอร์เชื้อราตกลงบนตัวแมลง หรือหลังจากที่แมลงกินอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อราเข้าไป) เส้นใยของราจะฝังตัวเข้าสู่อวัยวะภายในและเจริญเติบโตอยู่ในตัวแมลงจนแมลงตายด้วยการกินอาหารจากตัวแมลง จากนั้นราที่เป็นปรสิตจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนสามารถเข้าไปแทนที่อยู่ในลำตัวของแมลงนั้นทั้งตัว และแทงก้านออกมาเป็นรูปร่างต่างๆ เช่น ก้านสปอร์ราที่เหมือนกิ่งไม้ หรือเหมือนตาข่ายปกคลุมแมลง ดังรูปที่ 2.1 (A) ก้านสปอร์นี้พร้อมกระจายลงไปในแมลงตัวอื่นต่อไป และกลายเป็นกลุ่มเส้นใยของราหรือไมซีเลียม (mycelium) เส้นใยของราแมลงเมื่อเจริญเติบโตรวมตัวกันเกิดเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่เรียกว่า ดอกเห็ด (fruiting body) ดังรูปที่ 2.1 (B) มีรูปร่างและสีที่แตกต่างกันไป รวมถึงการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะในสภาวะอาหารเหลวภายในขวดทดลอง ดังรูปที่ 2.1 (C) เพื่อศึกษาสารถีทางชีวภาพต่างๆคอร์ไดเซฟและคอร์ไดเซฟที่มีระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) มีสารถีทางชีวภาพและมีคุณสมบัติที่น่าสนใจทางเภสัชวิทยามากมาย โดยเป็นที่รู้จักกันมานานว่าเป็นเห็ดสมุนไพรใช้รักษาโรคมานานนับพันปีและมีการบันทึกในตำราการแพทย์ทิเบตว่านำมาใช้เป็นยาชูกำลัง รักษาสารพัดโรคโดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นยาบำรุงกำลัง สารสกัดจากเส้นใยและดอกเห็ดของถั่งเช่าทิเบต ถั่งเช่าสีทอง และชนิดอื่นๆ ยังสามารถต้านการทำงานของเซลล์มะเร็ง (ธัญญา, 2555)



A

B

C

รูปที่ 2.1 *Isaria tenuipes* BCC 31640 ในสามรูปแบบที่แตกต่างกัน (A) ตัวอย่างธรรมชาติบนดักแด้

ผีเสื้อ (B) การเพาะเลี้ยงบนข้าว Synnemata (C) การเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีเกล็ดเล็กน้อย

ที่มา: Sumalee และคณะ (2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือเป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์โดยผู้จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำเนื้อหาไปใช้ในการค้า  
ไม่ว่าในรูปแบบใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่หรือแปลลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถั่งเช่าหิมะ (*Paecilomyces japonica* หรือ *Isaria tenuipes*) เป็นเชื้อราแมลงอยู่ในไฟลัม Ascomycotina คลาส Pyrenomycetes ลำดับ Clavicipitales มีฤทธิ์ทางยาประกอบด้วย สารสำคัญหลายชนิด เช่น โมโนแซคคาไรด์ โดแซคคาไรด์ พอลิแซคคาไรด์ (เบต้า-กลูแคน) คอร์โดเซปิน กรดคอร์โดเซปิก อะดีโนซีน กรดอะมิโน วิตามิน และแร่ธาตุที่สำคัญหลายชนิด Ascomycetes หลายชนิดได้มีการนำมาใช้เป็นแหล่งผลิตภัณฑ์ธรรมชาติทางชีวภาพที่สำคัญเพื่อรักษาโรค รวมถึงด้านเภสัชวิทยาและกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน ในอดีตเชื้อราชนิดนี้ได้นำมาใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพสำหรับบำรุงเลือด อากาศเมื่อยล้าและอาการเบื่ออาหารในประเทศเกาหลี ญี่ปุ่น และจีน เมื่อไม่นานมานี้มีการค้นพบองค์ประกอบบางอย่างที่มีคุณค่าและฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์จากเห็ดถั่งเช่าหิมะคือ สารพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) ซึ่งมีโครงสร้างเป็น พอลิเมอร์ของคาร์โบไฮเดรตและพบได้ในสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ เช่น จุลินทรีย์ พืช และสัตว์ ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น ควบคุมภูมิคุ้มกัน สารต้านอนุมูลอิสระ ชะลอความเสื่อมของเซลล์ มีฤทธิ์ป้องกันมะเร็ง และกิจกรรมลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังพบสารคอร์โดเซปินซึ่งมีฤทธิ์ช่วยบำรุงไต เพิ่มประสิทธิภาพการไหลเวียนของโลหิต และต้านแบคทีเรียก่อโรค กรดคอร์โดเซปินมีฤทธิ์ช่วยเพิ่มเมแทบอลิซึมของร่างกาย ป้องกันเลือดออกสมอง โรคหัวใจขาดเลือด และหอบหืด สารอะดีโนซีนช่วยด้านการแข็งตัวของเลือดและต้านลิ่มเลือด พอลิแซคคาไรด์ที่ได้จากดอกเห็ดของเชื้อราสายพันธุ์ *Isaria tenuipes* เป็นพอลิแซคคาไรด์รูปแบบใหม่ของ *Cordyceps* spp โดยมีกิจกรรมและกลไกต้านและยับยั้งการเจริญของเซลล์รวมถึงกระตุ้นให้เกิดการอะพอโทซิส (apoptosis) ของเซลล์มะเร็ง (ธัญญา, 2555)

## 2.2 สารสำคัญจากเห็ดถั่งเช่า

### 2.2.1 พอลิแซคคาไรด์

พอลิแซคคาไรด์เกิดจากกระบวนการการดึงพลังงานจากพืชมาใช้เป็นสารอาหารของเห็ด ซึ่งมีการสะสมของน้ำตาลบางอย่างที่เรียกว่า บีตา-กลูแคนจับตัวกันเป็นโมเลกุลสายยาวโดยมีโซ่หลักที่จับกันเป็นแบบ 1-3 ส่วนโซ่รองจับกันแบบ 1-6 ที่เรียกว่า 1-3,1-6 ดังรูปที่ 2.2 สารบีตา-กลูแคนในเห็ดถั่งเช่ามีสรรพคุณในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันและต้านอนุมูลอิสระให้แก่ร่างกายเป็นอย่างดีมีผลทำให้ร่างกายมีความสมดุลเป็นปกติ ทำให้เซลล์มะเร็งเกิดการตาย และช่วยทำให้ผู้ป่วยมะเร็งมีชีวิตยืนยาวต่อไปได้อีก นอกจากนี้สารบีตา-กลูแคนยังช่วยส่งเสริมให้ร่างกายกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนให้แก่เซลล์ผิวหนัง ทำให้บริเวณผิวหนังมีความยืดหยุ่น มีการสร้างเซลล์ใหม่เกิดขึ้น มีความเต่งตึง และลดการเหี่ยวย่นของผิวหนังได้ แต่เนื่องจากเห็ดแต่ละชนิดมีสารบีตา-กลูแคนที่แตกต่างกันจึงมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันและการต่อต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันออกไป บีตา-กลูแคนเป็นไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloid) ไม่ละลายในน้ำแต่ดูดน้ำได้ดี ในอุตสาหกรรมอาหารใช้บีตา-กลูแคนเพื่อเป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) เพื่อปรับปรุงคุณลักษณะการทำหน้าที่ (functional properties) ของอาหาร เช่น ใช้เป็นสารให้ความหนืด (thickening agent) ใช้เป็นสารที่ทำให้

อิมัลชันคงตัว (emulsifier) นอกจากนี้ยังมีสมบัติเป็นฟังก์ชันนัลฟู้ด (functional food) เป็นเส้นใยอาหาร (dietary fiber) ที่เป็นพรีไบโอติก (prebiotic) ช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ เป็นสารที่ยอมรับทั่วไปว่าปลอดภัย (Generally Recognized as Safe, GRAS) (พรพจน์, 2556)

Linna และคณะ (2012) พอลิแซคคาไรด์โดยส่วนใหญ่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ของคาร์โบไฮเดรตและพบในสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ เช่น จุลินทรีย์ พืช และสัตว์ ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น ควบคุมภูมิคุ้มกัน สารต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์มะเร็ง และมีกิจกรรมลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Jong และคณะ (2013) พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ดกลุ่ม *Ascomycetes* โดยเฉพาะ *Paecilomyces japonica* มีคุณสมบัติมากมายต่อร่างกาย โดยมีโครงสร้างเป็นโพรตีนที่ซับซ้อน (polysaccharide protein complex) มีประโยชน์สำหรับการนำมาใช้ในทางยา เช่น สามารถพัฒนาเป็นตัวยาหรือสารสกัดเพื่อป้องกันการเกิดเนื้องอก มีกิจกรรมโดยตรงในการต้านเซลล์มะเร็งและเนื้องอกต่างๆ สามารถใช้เสริมฤทธิ์ร่วมกับการรักษาทางเคมีบำบัด และป้องกันการกระจายตัวของเซลล์เนื้องอก เป็นต้น

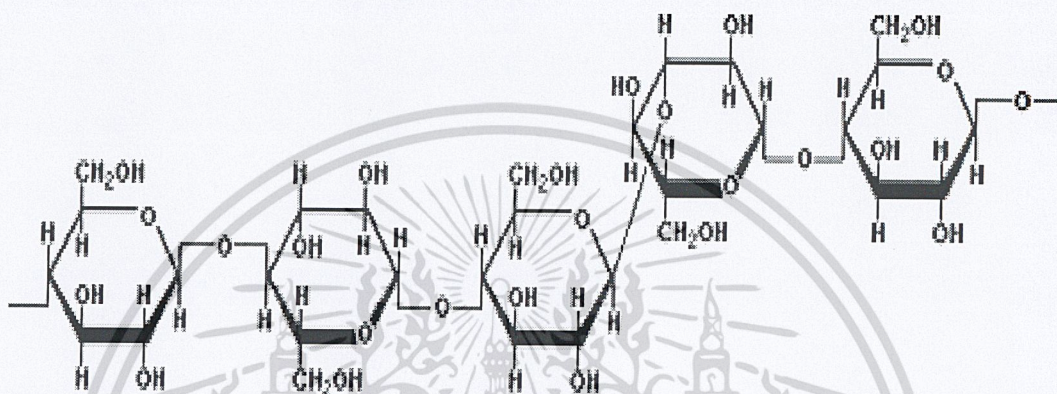
Li และคณะ (2009) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเห็ดถั่งเช่าที่เก็บได้จากธรรมชาติ และที่ได้จากเส้นใยจากการเพาะเลี้ยงเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยทำการทดสอบ 3 ชนิด ได้แก่ สารยับยั้งการสร้างแชนธินซึ่งเป็นสารตั้งต้นของกรดยูริก สารยับยั้งการเหนี่ยวนำให้เม็ดเลือดแดงแตก และการย่อยสลายไขมัน ซึ่งผลปรากฏว่าเห็ดถั่งเช่าตามธรรมชาติและเห็ดถั่งเช่าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการให้ผลดีในทดสอบการทำงานทั้ง 3 กรณี โดยผลที่ได้ใกล้เคียงกันมาก และยังพบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ที่แยกได้จากเห็ดถั่งเช่าที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีประสิทธิภาพเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น 10-30 เท่า

Das และคณะ (2010) พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์เป็นสารช่วยในการต้านการอักเสบ ต้านสารอนุมูลอิสระ ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง สร้างภูมิคุ้มกัน ลดน้ำตาลในเลือดสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน เพิ่มระดับการสร้างของฮอร์โมน และรักษาระดับไขมันในเส้นเลือดช่วยให้ไขมันอยู่ในสภาพที่ดี

Wong และคณะ (2011) ได้ทำการทดสอบสารสกัดพอลิแซคคาไรด์ที่ได้จากเห็ดถั่งเช่าในการป้องกันเซลล์ผิวหนังของมนุษย์จากการทำลายของรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UVB 290-320 นาโนเมตร) โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนัง (fibroblast) แล้วแบ่งเป็น 2 ชุด ชุดแรกชุบด้วยสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่า ส่วนชุดที่สองชุบด้วยน้ำอุ่นเพื่อเป็นกลุ่มเปรียบเทียบแล้วนำมาฉายรังสี UVB (302 นาโนเมตร) จากนั้นทำการตรวจสอบ DNA ที่เสียหายหรือเปลี่ยนแปลงไป ผลปรากฏว่าสารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสามารถป้องกันผิวหนังจากรังสี UVB ไม่ให้เกิดมะเร็งผิวหนังได้อย่างมีนัยสำคัญ

Zhen และคณะ (2016) พอลิแซคคาไรด์จากเห็ดถั่งเช่า *Cordyceps gunnii* ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่จะแสดงถึงกิจกรรมต้านเซลล์เนื้องอกที่ดีและแข็งแรงกว่าพอลิแซคคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ซึ่งพบว่าน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้นร้อยละ 3.5 สามารถผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนัก

โมเลกุลการกระจายขนาดใหญ่ที่สุดร้อยละ 89.54 ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งอัตราการเจริญของเซลล์เนื้องอก S180 ได้สูงสุดถึงร้อยละ 87 ที่ความเข้มข้น 100-400 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากการทดสอบโดยวิธี MTT test ภายในหลอดทดลอง เช่นเดียวกับผลของอัตราส่วนแหล่งคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) ที่ต่างกัน เมื่อใช้อัตราส่วน 10:1.5 พบว่ามีการผลิตพอลิแซคคาไรด์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดร้อยละ 79.42 และยังเป็นอัตราส่วนที่มีการยับยั้งการเจริญของเซลล์เนื้องอก S180 ได้สูงถึงร้อยละ 85 ที่ความเข้มข้น 200 และ 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร



รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของบีตา-กลูแคน

ที่มา : Tuli และคณะ (2010)

### 2.2.1.1 ประเภทของพอลิแซคคาไรด์ (สาโรจน์, 2559)

พอลิแซคคาไรด์เป็นสายโซ่ยาวของมอนอแซคคาไรด์หลายร้อยหน่วย ซึ่งอาจมีโครงสร้างเป็นแบบเส้นหรือเป็นโซ่กิ่ง ถ้าสายโซ่ประกอบด้วยมอนอแซคคาไรด์ชนิดเดียว เรียกว่า โฮโมพอลิแซคคาไรด์ หรือโฮโมไกลแคน เช่น แป้งและเซลลูโลส แต่ถ้าสายโซ่ประกอบด้วยมอนอแซคคาไรด์ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป เรียกว่า เฮเทอโรพอลิแซคคาไรด์หรือเฮเทอโรไกลแคนเช่น กรดไฮยาลูโรนิก พอลิแซคคาไรด์ไม่มีรส ไม่ละลายน้ำ และมีน้ำหนักโมเลกุลสูงแบ่งได้ 2 ประเภท คือ

1. โฮโมพอลิแซคคาไรด์ (Homopolysaccharide) เป็นพอลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยมอนอแซคคาไรด์เพียงชนิดเดียวมาเชื่อมต่อกัน ได้แก่ แป้ง ไกลโคเจน เซลลูโลส เดกซ์แทรน เป็นต้น
2. เฮเทอโรพอลิแซคคาไรด์ (Heteropolysaccharide) เป็นพอลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยมอนอแซคคาไรด์ที่มากกว่าหรือเท่ากับสองชนิดมาเชื่อมต่อกันได้แก่ เพกติน อินูลิน กัม และวุ้น เป็นต้น

### 2.2.1.2 วิธีการตรวจสอบพอลิแซคคาไรด์ (รุจิรา, 2556)

การวิเคราะห์พอลิแซคคาไรด์นิยมทำการวัดด้วยเครื่องยูวีและ HPLC ขึ้นอยู่กับลักษณะของตัวอย่าง และผลที่ต้องการจากการวิเคราะห์ ตัวอย่างการใช้ยูวีในการวิเคราะห์พอลิแซคคาไรด์ เช่น การวัดน้ำตาลรีดิวซ์ด้วย Dinitrosalicylic colorimetric method ส่วน HPLC เหมาะสำหรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการแจ้งขึ้นทะเบียนลิขสิทธิ์ เมื่อผู้ยืมหนังสือฉบับนี้จะป้อนหนังสือคืน  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่เป็นสารผสมของพอลิแซคคาไรด์หลายๆ ชนิดและต้องการทราบชนิดและปริมาณของสารที่ผสมกันอยู่ วิธีการวิเคราะห์ด้วย HPLC มีให้เลือกด้วยกัน 3 โหมด

1. การแยกด้วยขนาดเหมาะกับการวิเคราะห์แซคคาไรด์ น้ำตาลแอลกอฮอล์และ โพลีไฮดริคแอลกอฮอล์ที่มีมวลโมเลกุลประมาณ 1000 หรือน้อยกว่าและสามารถแยกด้วยความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล
2. การแยกปกติเหมาะกับการแยกสารเป็นชนิดๆ สำหรับแซคคาไรด์ น้ำตาลแอลกอฮอล์และโพลีไฮดริคแอลกอฮอล์
3. การแลกเปลี่ยนไอออนเหมาะกับการแยกสารตัวอย่างที่มีองค์ประกอบเป็นพวกน้ำตาลรีดิวซ์

การเลือกว่าจะใช้โหมดใดในการวิเคราะห์ให้พิจารณาจากชนิดของตัวอย่างเพื่อให้ได้การแยกที่ดีที่สุด เช่นเดียวกับการเลือกดีเทคเตอร์ที่จะต้องเลือกให้เหมาะสมกับลักษณะของตัวอย่าง โดยปกติการวิเคราะห์พอลิแซคคาไรด์ด้วย HPLC มักจะใช้ Refractive index detector ในการวัด แต่ในบางครั้งเช่นการวิเคราะห์ พอลิแซคคาไรด์ในตัวอย่างทางชีวภาพหรือตัวอย่างธรรมชาติต้องการวัดที่เฉพาะ และความจำเพาะที่สูงกว่าเพราะตัวอย่างมักจะมีสิ่งปนเปื้อนจำนวนมากและปริมาณของพอลิแซคคาไรด์ที่ต้องการวิเคราะห์ก็มักจะมีปริมาณต่ำ เพื่อเพิ่มความจำเพาะได้มีการออกแบบคอลัมน์ตัวอย่างเช่น ระบบ Shimadzu HPLC reducing sugar เป็นระบบ post-column fluorometric detection method ซึ่งจะใช้อัลลาร์จินีนเป็นตัวทำปฏิกิริยาซึ่งทำปฏิกิริยากับน้ำตาลที่ 150 องศาเซลเซียส

### 2.2.1.3 ประโยชน์ของสารพอลิแซคคาไรด์ (สารโอรัน, 2559)

มีงานวิจัยจากต่างประเทศจำนวนมาก กล่าวถึงคุณสมบัติเด่นของพอลิแซคคาไรด์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาปฏิชีวนะต้านไวรัส แบคทีเรีย ช่วยในการรักษาโรคติดเชื้อไขหวัด โรคเอดส์มีความสามารถในการลดความดันโลหิตและไขมันในเลือด และน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวาน การทำงานของสารพอลิแซคคาไรด์ มีประโยชน์ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเนื่องจากมีนักวิจัยเยอรมันได้แสดงให้เห็นว่า โมเลกุลของพอลิแซคคาไรด์ มีลักษณะคล้ายกับเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียไวรัส ทำให้ภูมิคุ้มกันในร่างกายเกิดการตอบสนอง “หลอก” ระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายว่ามีเชื้อโรครุกราน ทำให้ภูมิคุ้มกันเกิดการตื่นตัวถึงเป็นการตอบสนองของเซลล์ภูมิคุ้มกันของร่างกาย ตั้งแต่เฮเทอโรพอลิแซคคาไรด์เหล่านี้ถือว่าเป็นหนึ่งในสิ่งที่สำคัญที่สุดของสารที่ใช้งานอยู่ในเห็ดหลินจือและเห็ดถั่งเช่า

ในการทดลองทางคลินิกในมนุษย์ดำเนินการในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา พอลิแซคคาไรด์ในเห็ดได้ถูกนำมาใช้ในการรักษาความหลากหลายของความผิดปกติของร่างกายหลากหลาย ในหัวใจและปอด ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจและไขมันในเลือดสูง บรรเทาอาการเช่นใจสั่นหายใจลำบาก (ความ

ยากลำบากในการหายใจอย่างฉับพลัน) ลดอาการบวม น้ำ ลดคอเลสเตอรอลในเลือดและความดัน ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โลหิต พอลิแซคคาไรด์ยังได้รับการใช้ในการรักษาภาวะหัวใจรวมถึงโรคหอบหืดหลอดลมยังได้รับรายงานว่าตอบสนองดีต่อการรักษาด้วยเห็ดหลินจือ เช่นเดียวกับหลายโรคภูมิแพ้อื่น ๆ นักวิทยาศาสตร์ได้แสดงให้เห็นว่า พอลิแซคคาไรด์ ยับยั้งการปล่อยของฮีสตามีนลดอาการบวมอักเสบและเกิดอาการแพ้ต่าง ๆ และรักษาโรคประสาทอ่อน เวียนหัว นอนไม่หลับ โรคจมูกอักเสบและแผลในลำไส้เล็กส่วนต้น โรคทางจิตที่เกิดจากความเครียดสิ่งแวดล้อม โรคอัลไซเมอร์ โรคเบาหวาน โรคไวรัสตับอักเสบและอาการที่เกี่ยวข้องกับอาการเบื่ออาหาร

### 2.2.2 คอร์ไดเซปิน (Cordycepin)

Tuli และคณะ (2010) สารคอร์ไดเซปินหรือรู้จักกันในชื่อ 3'-ดีออกซีอะดีโนซีน (9-(3-ดีออกซี-บีตา-ดี-ไรโบฟูราโนซิล) อะดีนีน) มีสูตรโครงสร้างทางเคมี คือ  $C_{10}H_{13}N_5O_3$  น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 251.24 มีคุณสมบัติเป็นเบส รูปร่างคล้ายเข็มหรือเกล็ดคริสตัล มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 228-231 องศาเซลเซียส สามารถดูดกลืนคลื่นแสงที่มีความยาวคลื่นสูงสุด 259 นาโนเมตร เป็นอนุพันธ์ของนิวคลีโอไซด์ที่มีโครงสร้างคล้ายอะดีโนซีน โครงสร้างของสารคอร์ไดเซปินประกอบด้วยพิวรีน (อะดีนีน) กับโมเลกุลของนิวคลีโอไซด์ประกอบด้วยน้ำตาลไรโบส (ไรโบฟูราโนส) เชื่อมกันพันธะ  $\beta$ -N9-ไกลโคซิดิก การสังเคราะห์ทางเคมีของสารคอร์ไดเซปินส่วนใหญ่มาจากการแทนที่หมู่ไฮดรอกซิลในตำแหน่งที่ 3 ในโมเลกุลของไรโบฟูราโนซิลด้วยไฮโดรเจน ซึ่งเป็นการนำออกซิเจนออกจากอนุพันธ์ของอะดีโนซีน สารคอร์ไดเซปินสามารถประพฤติตัวเป็นเดนเทเลลิแกนด (dentateligand) ได้ 4 ตำแหน่ง เนื่องจากอะตอมของไนโตรเจนตำแหน่งที่ 5 และออกซิเจนตำแหน่งที่ 3 สามารถจับกับโลหะทรานซิชันได้ โครงสร้างที่แตกต่างกันตรงตำแหน่งที่ 3 ของสารคอร์ไดเซปิน ที่ไม่มีหมู่ไฮดรอกซิลจะช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้โครงสร้าง และเป็นหมู่ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการทางชีวเคมีและชีวโมเลกุล เช่น การสังเคราะห์พิวรีน การสังเคราะห์ดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอ การส่งสัญญาณของโปรตีน mTOR (mammalian target of rapamycin) ที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้สารคอร์ไดเซปินยังยับยั้งวัฏจักรเซลล์อะพอโตซิส ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการรวมตัวของเกล็ดเลือดในเซลล์มะเร็ง และเป็นสารสื่อกลางในการอักเสบของวิถี

Li และคณะ (2009) สารคอร์ไดเซปินเป็นสารที่ใช้อย่างกว้างขวางในการศึกษาเมแทบอลิซึมของอาร์เอ็นเอในยูคาริโอตเซลล์ ซึ่งกระบวนการเมแทบอลิซึมจะใช้ธิบายในเซลล์แบคทีเรียและเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมรวมถึงการขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์ใหม่ของพิวรีน การสังเคราะห์ดีเอ็นเอ การสังเคราะห์โปรตีน และกระบวนการเมแทบอลิซึมของอาร์เอ็นเอ นอกจากนี้สารคอร์ไดเซปินยังต้านเชื้อรา ป้องกันมะเร็งเม็ดเลือดขาว ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Clostridium* เป็นสารฆ่าแมลง ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์ของโปรตีนใหม่ในไวรัส และเป็นสารยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง

Choi และคณะ (2011) ได้ศึกษาการเหนี่ยวนำของสารคอร์ไดเซปินจากเห็ดถึงเข้าในการเหนี่ยวนำการตายและการกินตัวเองของเซลล์มะเร็งเต้านมในห้องปฏิบัติการ โดยทำการทดสอบกับไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ 2 ชนิด คือ MDA-MB-231 และ MCF-7 ผลปรากฏว่าสารคอร์ไดเซปินสามารถทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมทั้ง 2 ชนิดได้เป็นอย่างดี

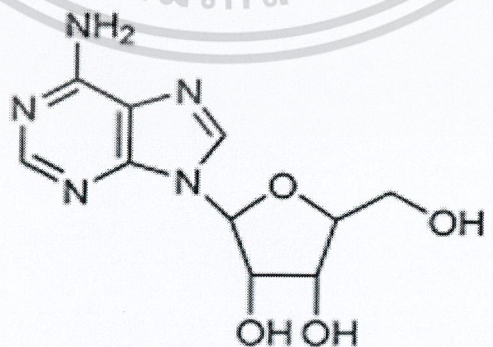
Lee และคณะ (2009) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารคอร์ไดเซปินในการยับยั้งผลกระทบจากแสงแดดที่มีต่อผิวทำให้ผิวเสีย (anti-skinphotoaging effects) ในห้องปฏิบัติการ โดยทำการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ 2 ชนิดที่มีอยู่ในเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ ได้แก่ metalloproteinase-1 (MMP-1) และ metalloproteinase-3 (MMP-3) ผลการทดลองพบว่าสารคอร์ไดเซปินสามารถป้องกันรังสี UVB ไม่ให้เกิดการเหนี่ยวนำการสร้าง MMP จึงสามารถป้องกันการเสื่อมของผิวหนังจากรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่มีในแสงแดดได้

### 2.2.3 กรดคอร์ไดเซปิก (Cordycepic Acid)

กรดของเห็ดถั่งเช่าเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการเผาผลาญสารอาหาร (เพิ่มเมแทบอลิซึมของร่างกาย) จึงทำให้ร่างกายแข็งแรงผู้ป่วยจะฟื้นตัวได้รวดเร็วไม่เหน็ดเหนื่อย (เหมาะกับการใช้บำรุงนักกีฬาอย่างยิ่ง) ป้องกันเลือดออกในสมอง ละลายลิ่มเลือด ป้องกันโรคหัวใจขาดเลือด และรักษาอาการหอบ Seth และคณะ (2014) พบว่ากรดคอร์ไดเซปิกเป็นไอโซเมอร์ของกรดควินิกและเป็นหนึ่งในสารกระตุ้นทางการแพทย์ มีโครงสร้างทางเคมี คือ 1,3,4-เตตระไฮดรอกซีไซโคลเฮกเซน (1,3,4-tetrahydroxycyclohexane) พบกรดคอร์ไดเซปิกในปริมาณร้อยละ 7-29 ในส่วนต่างๆของเห็ดที่เจริญเติบโตในช่วงต่างๆ นอกจากนี้กรดคอร์ไดเซปิกยังใช้เป็นส่วนผสมในยาชนิดอื่นๆ

### 2.2.4 อะดีโนซีน (Adenosine)

บทบาทของอะดีโนซีน คือ ช่วยต้านการแข็งตัวของเลือด และต้านการเกิดลิ่มเลือด jing และคณะ (2014) พบว่าสารอะดีโนซีนมีบทบาทสำคัญในการเป็นตัวกลางในสารสื่อประสาท และมีส่วนเกี่ยวข้องในระบบสรีรวิทยา เช่น ควบคุมอารมณ์และการนอนหลับ การตื่นตัว และระบบความจำ ใน C6 ของเซลล์เนื้อเยื่อสมอง สารอะดีโนซีนขัดขวางการเพิ่มจำนวนของเซลล์ในปริมาณและเวลาที่กำหนด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับ **รูปที่ 2.3** โครงสร้างทางเคมีของสารอะดีโนซีนให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลง **ที่มา** : Ling และคณะ (2009) เอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.2.5 กรดไขมัน (Fatty acid)

Jing และคณะ (2014) ในเห็ดถั่งเช่าสายพันธุ์ *Cordyceps* ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัว และกรดไขมันไม่อิ่มตัว พบว่าประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวถึงร้อยละ 57.84 พบกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) สูงที่สุดถึงร้อยละ 38.44 และยังประกอบด้วยกรดโอเลอิก (oleic acid) ร้อยละ 17.9 พบกรดไขมันอิ่มตัวถึงร้อยละ 42.16 พบว่ามีกรดปาล์มมิติก (palmitic acid) และกรดออกตะเดคาโนอิก (octadecanoic acid) สูงที่สุดถึงร้อยละ 21.86 และ 15.78 ตามลำดับ กรดไขมันไม่อิ่มตัวช่วยลดระดับปริมาณไขมันในเส้นเลือดและช่วยป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด

### 2.2.6 ธาตุโลหะ (Trace element)

Jing และคณะ (2014) ธาตุโลหะที่พบในเห็ดถั่งเช่าสายพันธุ์ *Cordyceps* ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเห็ดและธาตุโลหะ แต่โดยมากจะประกอบด้วยธาตุสังกะสีและแมกนีเซียมในปริมาณสูงซึ่งมีบทบาทสำคัญในเรื่องของโรคไตและช่วยฟื้นฟูไต

Tuli และคณะ (2010) พบว่ามีผลธาตุเซเลเนียม (selenium) เป็นสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในสารต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ ยับยั้งเนื้องอก กระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน และขัดขวางเชื้อเอชไอวี (HIV) เป็นต้น และพบว่าในเห็ดถั่งเช่ามีองค์ประกอบของเซเลเนียมอยู่จำนวนมาก นอกจากนี้ยังพบเซเลเนียมบริเวณพืดตั้งบอดที่อยู่จำนวนมาก พบว่าสารประกอบของเซเลเนียมที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าเรียกว่า SeMet (selenomethionine) และสารประกอบเซเลเนียมที่จับพันธะกับโปรตีนเรียกว่า SeMet และ SeCys (methylselenocysteine)

### 2.2.7 กรดนิวคลีอิก (Nucleic acid)

Choi และคณะ (2011) พบองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิกที่เกี่ยวข้องที่พบได้ใน *Cordyceps militaris* นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยบางฉบับไม่สามารถระบุสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในเห็ดถั่งเช่าได้ ยกตัวอย่างเช่น Lee และคณะ (2009) ได้ทำการสกัดสารจาก *Cordyceps sinensis* ด้วยแอลกอฮอล์แล้วนำไปแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยโครมาโตกราฟีคอลัมน์โดยใช้ซิลิกาเจล ได้ 15 ชนิด จากนั้นได้ทดสอบในการยับยั้งเซลล์เนื้องอกในห้องปฏิบัติการ ซึ่งพบว่ามีสาร 2 ชนิด จากทั้งหมด 15 ชนิด สามารถยับยั้งการขยายตัวของเซลล์เนื้องอกชนิดต่างๆ ได้แก่ K562, Vero, Wish, Calu-1, และ Raji ซึ่งปรากฏว่าสารสกัดทั้ง 2 ชนิดนั้นไม่ใช่สารพอลิแซคคาไรด์ เพราะได้ถูกแยกออกไปตั้งแต่แรก และโครงสร้างก็ไม่ใช่สารคอร์โดเซปิน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่ายังมีสารสำคัญชนิดอื่นๆ ในเห็ดถั่งเช่าที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง

## 2.3 ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยชีวมวลและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์

### 2.3.1 ผลของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน

Zhen และคณะ (2016) ศึกษาผลจากอาหารเพาะเลี้ยงต่อการสร้างสารพอลิแซคคาไรด์และกิจกรรมด้านเซลล์เนื้องอกจาก *Cordyceps gunnii* โดยทำการตรวจสอบผลองค์ประกอบอาหารคาร์บอนและไนโตรเจน เพาะเลี้ยงเส้นใย แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่มีบทบาทสำคัญ โดยทั่วไปคาร์โบไฮเดรตจัดเป็น

คาร์บอนและแหล่งพลังงานที่สำคัญที่สุดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา ดังนั้นจึงมีการศึกษาถึงผลของแหล่งคาร์บอนเหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเส้นใยของ *C. gunnii* โดยทดลองใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ เช่น กลูโคส ซูโครส และน้ำแป้ง โดยเมื่อใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าได้ค่าผลได้ของเส้นใยสูงสุดคือ  $14.98 \pm 0.43$  กรัม/ลิตร และเรียงลำดับความสามารถการใช้แหล่งคาร์บอนทั้งสามชนิดได้เป็น ซูโครส > กลูโคส > น้ำแป้ง นอกจากนี้ยังพบว่าผลผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ (Intracellular polysaccharides; IPS) สูงสุดเท่ากับ  $93.00 \pm 6.84$  มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร เมื่อใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารและค่าผลได้ต่ำสุดเมื่อใช้แหล่งคาร์บอนเป็นน้ำแป้ง งานวิจัยนี้พบว่าการผลิตเส้นใยและผลผลิตสารพอลิแซคคาไรด์มีความสัมพันธ์เชิงบวกสำหรับความต้องการสารอาหารที่คล้ายคลึงกันจากการเพาะเลี้ยง *Cordyceps* สปีชีส์อื่นๆ ในสภาวะอาหารเพาะเลี้ยงเหลว

Zhen และคณะ (2016) ผลจากซูโครสที่ความเข้มข้นต่างๆ (ร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 และ 5.0) มวล/ปริมาตร ต่อการเจริญของเส้นใยและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์จาก *Cordyceps gunnii* ในสภาวะอาหารเหลว เมื่อใช้ซูโครสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มวล/ปริมาตร สามารถให้ค่าผลได้ของเส้นใยสูงถึง  $15.94 \pm 1.26$  กรัม/ลิตร แต่กลับให้ค่าผลได้ของสารพอลิแซคคาไรด์ในปริมาณต่ำ อย่างไรก็ตามเมื่อทดลองเพิ่มความเข้มข้นซูโครสเป็นร้อยละ 4.5 มวล/ปริมาตร พบค่าผลได้ของสารพอลิแซคคาไรด์เพิ่มขึ้นสูงถึง  $138.78 \pm 3.89$  มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นถึงความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนมีผลกระทบต่อค่าผลได้ของเส้นใยและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์จาก *C. gunnii* โดยแหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้นสูงนำไปสู่ค่าผลได้ของสารพอลิแซคคาไรด์ที่สูงด้วยเช่นกัน ข้อมูลดังกล่าวจึงเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงผลผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ในอนาคต แต่อย่างไรก็ตามการเจริญของเส้นใยไม่อาจเป็นปัจจัยกำหนดการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ในปริมาณสูงได้ และแหล่งไนโตรเจนซึ่งเป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ โดยนำแหล่งไนโตรเจนสามชนิด (peptone, beef extract และ yeast extract) มาใช้ในการทดสอบเพื่อคัดเลือกแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด ผลการทดสอบพบว่าเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นยีสต์สกัดให้ค่าผลได้ของเส้นใยสูงที่สุดคือ  $12.37 \pm 0.46$  กรัม/ลิตร แต่อย่างไรก็ตามการใช้ยีสต์สกัดและเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนนั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าเปปโตนนั้นให้ค่าผลได้การผลิตสารพอลิแซคคาไรด์สูงสุดเท่ากับ  $98.87 \pm 4.77$  มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร รวมถึงในอาหารเพาะเลี้ยงที่ใช้เปปโตนเป็นส่วนประกอบยังให้ค่าผลได้ที่สูงกว่าอาหารที่ใช้ยีสต์สกัด สอดคล้องกับผลการทดลองที่เกี่ยวข้องกับ *Cordyceps* ก่อนหน้านี้ ดังนั้นเปปโตนจึงถูกเลือกใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดเนื่องจากสามารถจัดหาได้ง่ายและราคาค่อนข้างถูก

Sapan และคณะ (2015) ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่เหมาะสมต่อการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อราแมลง 2 ชนิด คือ *I. sinclairii* และ *I. tenuipes* ภายใต้การประเมินผลการศึกษาโดยใช้วิธีประเมินหนึ่งปัจจัย ณ เวลาใดๆ การจัดกลุ่มปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ได้ในปริมาณสูงจากเชื้อราทั้งสองชนิด โดยแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และแหล่งแร่ธาตุล้วนมีผลต่อการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ จากการทดสอบ

สารพอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตขึ้นจากภายในเซลล์ (EPS) และถูกผลิตขึ้นภายนอกเซลล์ (IPS) ภายในห้องปฏิบัติการ (In vitro) พบว่าเชื้อราทั้งสองชนิดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญรวมถึงอัตราการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชัน (peroxidation) ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้สูง

### 2.3.2 สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดถั่งเช่า

Lan และคณะ (2015) ทดลองค่าพารามิเตอร์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเส้นใยของเชื้อรา *Cordyceps sinensis* UM01 เช่น พีเอชเริ่มต้น อุณหภูมิ ความเร็วรอบในการเขย่า ปริมาตรหัวเชื้อ และปริมาณของอาหาร ทำการทดลองโดยใช้อาหาร PDB และใช้แหล่งคาร์บอนแหล่งไนโตรเจน และแหล่งแร่ธาตุที่เหมาะสม อาหารที่ใช้ในการทดสอบเป็นอาหารสูตรพื้นฐาน (กรัม/ลิตร) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส 20 เปปโตน 2  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.5  $\text{MgCl}_2$  1.0 และ  $\text{CaCl}_2$  0.5

นอกจากนี้หลักการทดลองค่าพารามิเตอร์เดียวมีการนำ orthogonal experiment  $L_{25}$  ( $5^6$ ) มาใช้เพื่อประเมินผลของพารามิเตอร์ทั้งหกในการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมถึงค่าตัวแปรอิสระของอาหารเพาะเลี้ยงเส้นใยรวมทั้งกลูโคส ซูโครส สารสกัดจากยีสต์  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $\text{MgCl}_2$  และ  $\text{CaCl}_2$  ผลของค่าพีเอชเริ่มต้นของการเจริญของเส้นใย พบว่าในพลาสติกอาหาร PDB ที่มีพีเอชเริ่มต้นต่างกันตั้งแต่ 4.0-8.0 น้ำหนักแห้งของเส้นใยสูงสุดได้จากพีเอชเริ่มต้นที่ 6.0 ที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ว่าเชื้อรา *Cordyceps* ต้องการสภาวะที่เป็นกรดอ่อนระหว่างการเพาะเลี้ยง โดยค่าพีเอชที่เป็นกลางส่งผลต่อการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและโครงสร้างของเซลล์ การดูดซึมสารอาหารที่แตกต่างกัน และการสังเคราะห์ทางชีวภาพ นอกจากนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมพบว่าเชื้อราที่เพาะเลี้ยงด้วยอุณหภูมิต่างๆ ตั้งแต่ 15 ถึง 25 องศาเซลเซียส ผลที่ได้พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Cordyceps sinensis* UM01 คือ 15 องศาเซลเซียส ซึ่งแสดงว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย UM01 มากที่สุด

Wai และคณะ (2013) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากเชื้อรา *Beauveria bassiana* BCC 2692, *Ophiocordyceps dipterigena* BCC 2073 และ *Paecilomyces tenuipes* BCC 2656 โดยใช้แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมคือ กาแลกโตส กลูโคส แล็กโตส มอลโตส แมนโนส ซูโครส และฟรุคโตส 20 กรัม/ลิตร และใช้แหล่งไนโตรเจนคือ โมโนแอมโมเนียมฟอสเฟต ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ) แอมโมเนียมซัลเฟต ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) มอลต์สกัด เพปโตน ยีสต์สกัด เนื้อสกัด คอร์น สตีป โซลิด (corn steep solid) โซเดียมไนเตรท ( $\text{NaNO}_3$ ) แอมโมเนียมไนเตรท ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) และทริปโตน 10 กรัม/ลิตร ผสมในอาหารสูตรพื้นฐานได้แก่ โปแทสเซียม ไดไฮโดรเจน ฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0.5 กรัม/ลิตร ไดโปแทสเซียมฟอสเฟต ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) 0.2 กรัม/ลิตร แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 0.2 กรัม/ลิตร แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 0.14 กรัม/ลิตร และสารละลายวิตามิน 1 มิลลิกรัม/ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yin และคณะ (2013) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเส้นใย *Cordyceps sinensis* ในอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส 30 กรัม เปปโตน 15 กรัม โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 3.0 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต 1.73 กรัม และมันฝรั่ง 200 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร เลี้ยงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร จะได้เส้นใยชีวมวลเท่ากับ 25.0 กรัม/ลิตร และมีค่าผลได้เท่ากับ 2.8 กรัม/ลิตร

ผลของความเร็วในการเขย่า (100, 150 และ 200 รอบ/นาที) ในการเจริญของเส้นใย การเขย่าเป็นตัวแปรที่สำคัญสำหรับสารตั้งต้น ความร้อนและออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (OD) และจะเพิ่มแรงเชียร์ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา และยังมีผลสำคัญต่อการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ มวลชีวภาพของ UM01 เพิ่มขึ้นจากการเพิ่มความเร็วยกเว้นในการหมัก (100, 150 และ 200 รอบ/นาที) อย่างไรก็ตามผลผลิตของเส้นใยจะลดลงอย่างรวดเร็วที่ความเร็วในการหมัก 200 รอบ/นาที ซึ่งอาจเกิดจากผลเชิงลบของแรงเชียร์ที่เพิ่มขึ้นต่อกลุ่มของเส้นใย

Jong และคณะ (2013) ศึกษาสภาวะการเลี้ยงและองค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อ *P. japonica* เพื่อเพิ่มความสามารถในการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ (EPS) และการเจริญเติบโตของเส้นใยชีวมวล พบว่าองค์ประกอบของอาหารที่ดีที่สุดคือการใช้แหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลกลูโคส 30 กรัม/ลิตร แหล่งไนโตรเจนเป็นยีสต์สกัด 20 กรัม/ลิตร  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5 กรัม/ลิตร และ  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.1 กรัม/ลิตร สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการปั่นกวน 400 รอบ/นาที อัตราการเติมอากาศ 1.0 (ปริมาตร/ปริมาตร/นาที) ไม่มีการควบคุมพีเอชเริ่มต้น โดยใช้สภาวะและอาหารเพาะเลี้ยงสูตรดัดแปลงที่เหมาะสมซึ่งให้ค่าการเจริญเติบโตของเส้นใยและการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์สูงสุดคือ 23.10 กรัม/ลิตร และ 2.50 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ในถังหมักแบบกวนปริมาตรความจุ 5 ลิตร

Hwang และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสำหรับการผลิตชีวมวลของเส้นใยและเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ โดย *Cordyceps militaris* C738 อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ค่าชีวมวลของเส้นใยและการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์อยู่ที่ 20 องศาเซลเซียส และ 25 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ดีที่สุดพบว่าใช้ 9 และ 6 ตามลำดับ องค์ประกอบของอาหารที่ผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ มีดังนี้คือ ซูโครส พอลิเปปโตน และโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ได้ทำการเพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร คุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาเปรียบเทียบจากเพลเลทชี้ให้เห็นว่า เพลเลทที่มีขนาดใหญ่จะเหมาะสมสำหรับการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ วิธีการวิเคราะห์ผลโดยตัวอย่างที่เก็บได้ในช่วงเวลาต่างๆจากการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าในฟลาสก์ ทำการหมักเหวี่ยงที่ 9000 g เป็นเวลา 15 นาที และนำส่วนใสที่ได้กรองผ่านเมมเบรนพิวเทรซันขนาด 0.45 ไมโครเมตร นำมาผสมกับสารละลายเอทานอล 4 เท่าของปริมาตร จากนั้นกวนและทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการตกตะกอนของเฮกโซพอลิแซคคาไรด์โดยการหมักเหวี่ยงที่ 9000 g เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งส่วนใส ทำแห้งตะกอนเฮกโซพอลิแซคคาไรด์บริสุทธิ์และจะได้น้ำหนักแห้งโดยประมาณ จากนั้นหาน้ำหนักแห้งของเส้นใยได้จาก การนำตะกอนของเส้นใยล้างด้วยน้ำกลั่นและอบแห้งข้ามคืนที่ 70 องศาเซลเซียส

## 2.4 แหล่งสารอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่า

### 2.4.1 ข้าวไรซ์เบอร์รี่

#### 2.4.1.1 ต้นกำเนิดข้าวไรซ์เบอร์รี่

ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (ภาษาอังกฤษ: Rice Berry) เป็นผลงานการปรับปรุงสายพันธุ์ของ รศ.ดร. อภิชาติ และทีมนักวิจัยจาก ศูนย์วิจัยพันธุ์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และความร่วมมือจาก คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) โดยเป็นการผสมข้ามสายพันธุ์ ระหว่าง ข้าวเจ้าหอมนิล ซึ่งเป็นสายพันธุ์พ่อ และข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นสายพันธุ์แม่ ทำให้ได้ลักษณะที่ดีและคุณสมบัติเด่นๆ ออกมา ซึ่งพันธุ์ข้าวนี้ได้รับการจดทะเบียนเป็นพันธุ์พืชใหม่ ห้ามมีการนำไปขยายพันธุ์ในเชิงการค้าต่อ โดยไม่ได้รับอนุญาตจาก วช. และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (อภิชาติ, 2550)

#### 2.4.1.2 ลักษณะข้าวไรซ์เบอร์รี่

ข้าวไรซ์เบอร์รี่มีลักษณะเรียวยาว ผิวมันวาว เป็นข้าวเจ้าสีม่วงเข้มคล้ายกับลูกเบอร์รี่ที่มีสีม่วงเข้มเมื่อสุก หากเป็นข้าวกล้องจะมีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว อีกทั้งยังมีรสชาติหอมมัน เนื้อสัมผัสเหนียวนุ่ม เนื่องจากผ่านการขัดสีเพียงแค่บางส่วนเท่านั้น จึงยังทำให้คงคุณค่าทางโภชนาการไว้ได้อย่างครบถ้วน ข้าวสายพันธุ์พิเศษสีม่วงนี้สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี มีอายุเก็บเกี่ยว 130 วัน ให้ผลผลิตปานกลาง มีความสามารถในการต้านทานต่อโรคไหม้ แต่ไม่ต้านทานโรคหาลาว จึงแนะนำให้เปลี่ยนเมล็ดพันธุ์ทุกรอบของการปลูก ถึงแม้ว่าจะมีข้อดีอยู่มากในการปลูกข้าวสายพันธุ์นี้ แต่ยังไม่เป็นที่นิยมเพาะปลูกในหมู่เกษตรกรมากนัก เนื่องจากเป็นพันธุ์ข้าวที่ดูแลรักษายากต้องได้รับการเอาใจใส่เป็นพิเศษ อีกทั้งยังต้องปลูกแบบเกษตรอินทรีย์ รวมทั้งต้องปลูกในสภาพอากาศเย็น ไม่เช่นนั้นอาจส่งผลต่อสีของเมล็ดข้าว และจะทำให้คุณค่าทางโภชนาการที่มีอยู่ในข้าวไรซ์เบอร์รี่ไม่ครบถ้วนสมบูรณ์ (อภิชาติ, 2550)

#### 2.4.1.3 รงค์วัตถุสีม่วงของข้าวไรซ์เบอร์รี่

สีม่วงเข้มที่พบในข้าวไรซ์เบอร์รี่ เกิดขึ้นตามธรรมชาติเนื่องจากมีส่วนประกอบเป็น “สารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin)” ซึ่งก็คือรงควัตถุหรือสารสี สามารถละลายน้ำได้ดี และจัดอยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (flavonoid) หรือสาร “ต้านอนุมูลอิสระ” ที่มีประสิทธิภาพสูง (อภิชาติ, 2550)

#### 2.4.1.4 ส่วนประกอบของข้าวไรซ์เบอร์รี่

เมล็ดข้าวมีส่วนประกอบหลักคือ เปลือก (แกลบ) รำ (bran) จมูกข้าว (germ) และแบ่งที่เป็นเมล็ดข้าว (endosperm) โดยจมูกข้าวคือส่วนที่มีคุณค่าทางโภชนาการมาก ซึ่งประกอบด้วยวิตามินอี และวิตามินบี ที่ใช้ในการเผาผลาญแป้งในข้าวเพื่อให้เกิดพลังงาน ส่วนถัดมาคือปลายข้าว คือ ข้าวในส่วนที่เป็นเมล็ดข้าวแต่แตกหัก นิยมนำมาทำอาหาร ปลายข้าวประกอบด้วยเศษข้าวที่หักและส่วนของจมูกข้าว โดยทั่วไปมีโปรตีนประมาณร้อยละ 8 มีไขมัน และเส้นใยต่ำ ปลายข้าวมี 3 ขนาด คือขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ หรือที่เรียกกันว่าข้าวท่อน ปลายข้าวขนาดเล็กมักมีส่วนของจมูกข้าว

ซึ่งเป็นต้นอ่อนที่มีโปรตีน ไขมัน ไวตามิน และแร่ธาตุมากกว่าส่วนอื่นของเมล็ดจึงมักมีราคาแพงและหาซื้อได้ยากกว่าปลายข้าวขนาดกลาง และขนาดใหญ่ และส่วนสุดท้ายคือรำข้าว เป็นส่วนที่ได้จากการขัดข้าวให้เป็นข้าวสาร ซึ่งประกอบด้วยชั้นเยื่อหุ้มเมล็ดและคัพภะเป็นส่วนใหญ่ ได้มาจากการกระบวนการสีข้าว โดยทั่วไปจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ รำหยาบ ซึ่งได้จากการขัดผิวเมล็ดข้าว และรำละเอียดที่ได้จากการขัดขาวและขัดมัน รำข้าวมีคุณค่าทางอาหารประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ต่างๆ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวไรซ์เบอร์รี่ (อภิชาติ, 2550)

คุณค่าทางโภชนาการส่วนต่างๆของข้าวไรซ์เบอร์รี่ (ในตัวอย่าง 100 กรัม)			
คุณค่าทางโภชนาการ	ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่	รำข้าวไรซ์เบอร์รี่	ปลายข้าวและจมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่
ธาตุเหล็ก (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	13-18	2.3	1.80
ธาตุสังกะสี (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	31.9	1.7	31.9
โอเมก้า 3 (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	25.51	0	25.51
วิตามิน อี (ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม)	678	4.47	678
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	0.42	0	0.13
โฟเลต (ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม)	48.1	0	0
เบต้า-แคโรทีน (ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม)	63	36.8	63
โพสเฟีนอล (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	113.5	752.1	0
แทนนิน (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	89.33	0	89.33
แกมมาโอไรซานอล (ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม)	462	0	642
แอนโทไซยานิน (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	250.36	0	0

#### 2.4.1.5 สรรพคุณและประโยชน์ข้าวไรซ์เบอร์รี่

ข้าวไรซ์เบอร์รี่ เป็นข้าวสายพันธุ์ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง ได้แก่ เบต้าแคโรทีน แกมมาโอไรซานอล วิตามินอี แทนนิน สังกะสี และโฟเลตสูง มีดัชนีน้ำตาลต่ำ-ปานกลาง นอกจากนี้ รำข้าวและน้ำมันรำข้าว ทั้งยังมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่ดี ข้าวไรซ์เบอร์รี่จึงมีสรรพคุณในการช่วยบำรุงร่างกาย ใ้รับประทานเพื่อเสริมสร้างสุขภาพที่ดี ทำให้เกิดการสร้างคอลลาเจน ลดการอักเสบที่ผิวหนัง ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคร้ายแรงต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง และโรคสมองเสื่อม หากผู้สูงวัยรับประทานก็จะช่วยทำให้ระบบไหลเวียนโลหิตมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น และช่วยบำรุงสายตาและระบบประสาทต่างๆ ส่วนสตรีมีครรภ์หากรับประทานข้าวชนิดนี้ก็จะช่วยทำให้เด็กในครรภ์มีสุขภาพแข็งแรง ช่วยป้องกันไม่ให้เกิดเป็นโรคปาก

แหว่งเพดานโหว่ นอกจากนี้ข้าวไรซ์เบอร์รี่ยังมีสรรพคุณช่วยควบคุมน้ำตาลและควบคุมน้ำหนักได้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หากรับประทานข้าวชนิดนี้เป็นประจำก็จะทำให้ได้ธาตุเหล็กซึ่งเป็นแร่ธาตุที่สำคัญต่อระบบเลือด และช่วยบำรุงโลหิต เพราะนอกจากแร่ธาตุต่างๆ ที่สำคัญต่อร่างกายแล้ว ข้าวชนิดนี้ยังมีไฟเบอร์สูง ซึ่งช่วยลดระดับไขมัน ช่วยทำให้ระบบขับถ่ายทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (อภิชาติ, 2550)

ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณสารอาหารและประโยชน์ของข้าวไรซ์เบอร์รี่

สารอาหาร	ปริมาณ	ประโยชน์ต่อร่างกาย
โอเมก้า 3	25.51 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	เป็นกรดไขมันมีส่วนสำคัญต่อโครงสร้างและการทำงานของสมอง ตับและระบบประสาทลดระดับโคเลสเตอรอล
ธาตุสังกะสี	31.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	ช่วยสังเคราะห์โปรตีน สร้างคอลลาเจน รักษาผิวป้องกันผมร่วงกระตุ้นรากผม
ธาตุเหล็ก	13-18 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	ช่วยเสริมสร้างพลังงานในร่างกาย เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง และเอนไซม์ซึ่งเกี่ยวข้องกับการใช้ออกซิเจนในร่างกายและสมอง
วิตามินอี	678 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม	ช่วยชะลอความแก่ บำรุงผิวพรรณลดโอกาสเกิดโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดสมองและหัวใจทำให้ปอดทำงานดีขึ้น
วิตามินบี 1	0.42 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	มีความจำเป็นต่อการทำงานของสมอง ระบบประสาท ระบบย่อยอาหาร ป้องกันเหน็บชา
เบต้าแคโรทีน	63 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม	ช่วยชะลอความแก่ ลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง ช่วยบำรุงสายตา
ลูทีน	84 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม	ป้องกันจอประสาทตาเสื่อม บำรุงการไหลเวียนของเลือดในเส้นเลือดฝอยที่หล่อเลี้ยงตา
โพลีฟีนอล	113.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	ทำลายฤทธิ์ของอนุมูลอิสระป้องกันโรคมะเร็ง
แทนนิน	89.33 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	แก้ท้องร่วง แก้บิด สมานแผล
แกมมา โอโรซานอล	462 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม	ลดระดับคอเรสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในหลอดเลือด ทำให้เลือดหมุนเวียนไปเลี้ยงอวัยวะส่วนต่างๆ ของร่างกายได้
เส้นใยอาหาร	มีอยู่ปริมาณมาก	ช่วยในการขับถ่าย
สารต้านอนุมูลอิสระ	เป็นสารที่พบมากในข้าวไรซ์เบอร์รี่	ช่วยลดโอกาสการเกิดโรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคหลอดเลือด และโรคมะเร็ง

ที่มา: กองบรรณาธิการการเกษตร, 2557, หน้า 40-47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานที่เฉพาะเจาะจงเท่านั้น ไม่อนุญาตให้แก้ไขหรือใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 2.4.1.6 ค่าการต้านอนุมูลอิสระในข้าวไรซ์เบอร์รี่

สำหรับประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่พบในข้าวไรซ์เบอร์รี่ ซึ่งมีสีม่วงเข้มมากตามธรรมชาติ อยู่ที่ 229–304.7 ไมโครโมล/กรัม การศึกษานี้ทำด้วยวิธี ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) เรียกได้ว่าเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลไม้หรือเครื่องดื่มชาเขียวที่ได้รับการยกย่องในด้านสรรพคุณที่ช่วยต้านสารอนุมูลอิสระแล้ว ในข้าวชนิดนี้มีคุณค่าในการป้องกันสูงมากเกือบ 100 เท่า ประสิทธิภาพสารต้านอนุมูลอิสระหลังการหุงต้ม กระบวนการหุงข้าวหรือต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า ปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระลดลงประมาณร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับในข้าวดิบ แต่หากเทียบกับผักผลไม้บางชนิด น้ำชาเขียวในท้องตลาด หรือน้ำผลไม้แล้ว เมล็ดข้าวสีม่วงชนิดนี้ก็ยิ่งให้ผลในการป้องกันสารอนุมูลอิสระได้สูงกว่าอยู่ดี จึงถือว่าเป็นพันธุ์ข้าวที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ และเป็นแหล่งอาหารชั้นเลิศที่คุ้มค่าอย่างยิ่ง ในเมื่อสารต้านอนุมูลอิสระไม่ได้ถูกทำลายไปทั้งหมด เมื่อเรารับประทานข้าวไรซ์เบอร์รี่เข้าไป ร่วมกับสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายที่มีอยู่จากอาหารชนิดอื่นๆ ด้วยแล้ว จัดว่าเพียงพอที่จะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ ได้อย่างมากมาย โดยเฉพาะโรคมะเร็งและโรคหัวใจ (อภิชาติ, 2550)

#### 2.4.1.7 สารต้านอนุมูลอิสระในข้าวไรซ์เบอร์รี่

โอเมก้า 3 พบในปลาทะเลและข้าวไรซ์เบอร์รี่ โอเมก้า 3 เป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย และต้องได้จากอาหารเท่านั้นเพราะร่างกายของเราไม่สามารถผลิตเองได้ โอเมก้า 3 สำคัญมากต่อโครงสร้างและการทำงานของสมอง ตับ รวมไปถึงระบบประสาทที่เกี่ยวกับการพัฒนาเรียนรู้ อีกทั้งยังช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล และไตรเอซิลกลีเซอรอล ควบคุมระดับไลโปโปรตีน และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและหน้าที่ของเกล็ดเลือด ช่วยลดอันตรายของโรคทางเดินหายใจ โรคไขมันในเส้นเลือด โรคหัวใจ และโรคซึมเศร้า

โพลีฟีนอล เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยยับยั้งการเสื่อมสภาพของเซลล์ให้ผิวดูสดใส ช่วยชะลอความแก่ ที่สำคัญคือสารโพลีฟีนอลช่วยควบคุมความดันโลหิตสูง ทำหน้าที่เข้าไปยับยั้งสาร angiotensin-I converting enzyme (ACE) ที่เป็นสาเหตุหลักของโรคความดัน ลดไขมันไม่ดีในเลือด และช่วยปรับสมดุลในร่างกาย นอกจากนั้นแล้วโพลีฟีนอลยังช่วยกระตุ้นให้ร่างกายสร้างความร้อนได้ดีขึ้น ทำให้ระบบเผาผลาญพลังงานในร่างกายทำงานได้ดีมากขึ้น

โอรีซานอล เป็นสารธรรมชาติที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และพบในข้าวที่ไม่ผ่านการขัดสีมากที่สุด รวมทั้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วย โอรีซานอลมีคุณสมบัติเช่นเดียวกับวิตามินอี โดยสถาบันวิจัยโภชนาการแห่งสหรัฐอเมริกาทำการวิจัยและพบว่า โอรีซานอลสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าวิตามินอีถึง 6 เท่า ช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชันที่เป็นสาเหตุของโรคมะเร็ง และโรคที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือด

นอกจากนั้นยังมีคุณสมบัติช่วยลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในตับ และลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลของร่างกาย แล้วยังช่วยปรับสมดุลของระดับฮอโมนในสตรีวัยทองได้อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากสารต้านอนุมูลอิสระข้างต้น ในข้าวสีม่วงนี้ยังอุดมไปด้วย เบต้าแคโรทีน วิตามินอี แทนนิน สังกะสี เหล็ก และโฟเลตสูง เต็มไปด้วยคุณประโยชน์ทำให้ร่างกายแข็งแรง (สุขใจ, 2558)

#### 2.4.2 ไข่ไก่ (egg)

ไข่ไก่อุดมไปด้วยวิตามินและเกลือแร่ที่จำเป็นต่อสุขภาพและรักษาสสมดุลของร่างกาย คุณค่าทางโภชนาการของไข่ไก่แสดงดังตารางที่ 2.6 ในไข่ไก่เราสามารถพบ วิตามินเอ ช่วยในการมองเห็น และระบบภูมิคุ้มกัน วิตามินบี2 เซลล์เม็ดเลือดแดง การมองเห็นและระบบประสาท วิตามินบี12 วิตามินบี5 วิตามินดี วิตามินอี ไบโอดีนช่วยในการเผาผลาญพลังงาน ผิวหนัง เส้นผม และระบบภูมิคุ้มกัน โคลีน (choline) ช่วยในกระบวนการเมทาบอลิซึมของไขมัน ไอโอดีน ธาตุเหล็ก ฟอสฟอรัส ซีลีเนียมช่วยในการปกป้องเซลล์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันรักษาระบบภูมิคุ้มกันและต่อมไทรอยด์ ในไข่ไก่ยังอุดมไปด้วยโปรตีนกว่าร้อยละ 12.6 นอกจากนี้ยังมีกรดไขมันสายยาวโอเมก้าสาม (omega-3) ช่วยระบบประสาทและการมองเห็น แต่ไข่ไก่ก็อุดมไปด้วยคอเลสเตอรอลในไข่ไก่น้ำหนัก 44 กรัม อุดมไปด้วยคอเลสเตอรอล 164 มิลลิกรัม ซึ่งคอเลสเตอรอลจะเพิ่มโอกาสเสี่ยงที่จะเป็นโรคหัวใจ (McIntosh, 2015)

ตารางที่ 2.3 คุณค่าทางโภชนาการของไข่ไก่ต่อน้ำหนัก 100 กรัม

สารอาหาร	ปริมาณสารต่อหนึ่งหน่วย (100 กรัม)
<b>การวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มสาร</b>	
น้ำ	74.62 กรัม
พลังงาน	155 กิโลแคลอรี / 649 กิโลจูล
โปรตีน	12.58 กรัม
ไขมันทั้งหมด	10.61 กรัม
เถ้า	1.08 กรัม
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	1.12 กรัม
เส้นใย	0 กรัม
น้ำตาลทั้งหมด	1.12 กรัม
<b>แร่ธาตุแต่ละชนิด</b>	
แคลเซียม	50 มิลลิกรัม
เหล็ก	1.19 มิลลิกรัม
แมกนีเซียม	10 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	172 มิลลิกรัม
โพแทสเซียม	126 มิลลิกรัม
โซเดียม	124 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปรษณีย์หรือการคัดลอกโดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สังกะสี	1.05 มิลลิกรัม
ทองแดง	0.013 มิลลิกรัม
แมงกานีส	0.026 มิลลิกรัม
ซีลีเนียม	30.8 ไมโครกรัม
ฟลูออไรด์	4.8 ไมโครกรัม
<b>วิตามินแต่ละชนิด</b>	
วิตามินซี	0 มิลลิกรัม
วิตามินบี 1 (ไทอะมีน)	0.066 มิลลิกรัม
วิตามินบี 2 (ไรโบฟลาวิน)	0.513 มิลลิกรัม
วิตามินบี 3 (ไนอะซิน)	0.064 มิลลิกรัม
วิตามินบี 5 (กรดแพนโทเทนิค)	1.398 มิลลิกรัม
วิตามินบี 6	0.121 มิลลิกรัม
ปริมาณโฟเลตรวม	44 ไมโครกรัม
กรดโฟลิก	0 ไมโครกรัม
โฟเลต	44 ไมโครกรัม
ปริมาณโคลีนรวม	293.8 มิลลิกรัม
เบตาอิน	0.6 มิลลิกรัม
วิตามินบี 12	1.11 ไมโครกรัม
วิตามินเอ	149 ไมโครกรัม RAE หรือ 520 IU
เรตินอล	148 ไมโครกรัม
เบต้าแคโรทีน	11 ไมโครกรัม
แอลฟาแคโรทีน	0 ไมโครกรัม
เบต้าคริปโตแซนทีน	10 ไมโครกรัม
ไลโคปีน	0 ไมโครกรัม
ลูทีนและซีแซนทีน	353 ไมโครกรัม
วิตามินอี (อัลฟาโทโคฟีรอล)	1.03 มิลลิกรัม
วิตามินดี (ดี 2 และ 3)	2.2 ไมโครกรัม
วิตามินดี3	2.2 ไมโครกรัม
วิตามินดี	87 IU
วิตามินเค1 (ฟิลโลควิโนน)	0.3 ไมโครกรัม
<b>ไขมัน</b>	
กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด	3.267 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยกเว้นกรณีที่ผู้จัดทำเอกสารได้ขออนุญาตและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4:00	0 กรัม
6:00	0 กรัม
8:00	0.003 กรัม
10:00	0.003 กรัม
12:00	0.003 กรัม
14:00	0.035 กรัม
16:00	2.349 กรัม
18:00	0.828 กรัม
<b>กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด</b>	<b>4.077 กรัม</b>
16:1	0.31 กรัม
18:1	3.725 กรัม
20:01	0.03 กรัม
22:1	0.003 กรัม
<b>กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด</b>	<b>1.414 กรัม</b>
18:2	1.188 กรัม
18:3	0.035 กรัม
18:04	0 กรัม
20:4	0.149 กรัม
20:5 n-3 (EPA)	0.005 กรัม
22:5 n-3 (DPA)	0 กรัม
22:6 n-3 (DHA)	0.038 กรัม
คลอเรสเตอรอล	373 มิลลิกรัม
<b>กรดอะมิโน</b>	
ทริปโตแฟน	0.153 กรัม
ทรีโอนีน	0.604 กรัม
ไอโซลิวซีน	0.686 กรัม
ลิวซีน	1.075 กรัม
ไลซีน	0.904 กรัม
เมไทโอนีน	0.392 กรัม
ซิสทีน	0.292 กรัม
ฟีนิลอะลานีน	0.668 กรัม
ไทโรซีน	0.513 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการเรียนการสอนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วาเลิน	0.767 กรัม
อาร์จินีน	0.755 กรัม
ฮิสทีดีน	0.298 กรัม
อะลานีน	0.7 กรัม
กรดแอสพาร์ติก	1.264 กรัม
กรดกลูตามิก	1.644 กรัม
ไกลซีน	0.423 กรัม
โพรลีน	0.501 กรัม
ซีรีน	0.936 กรัม

ที่มา : USDA National Nutrient Database, 2016

## 2.5 การเจริญเติบโตของเห็ดรา

การเจริญเติบโตของเห็ดรา มีการเจริญเติบโตได้โดยการเพิ่มจำนวน จากการแบ่งเซลล์ในเชื้อราประเภทยีสต์ การแบ่งเซลล์ด้วยวิธีการแตกหน่อจะได้เซลล์ลูกออกมามากมาย เป็นวิธีการเพิ่มจำนวนวิธีหนึ่งและเซลล์ลูกที่ได้ค่อยๆขยายใหญ่ขึ้นจนเป็นเซลล์ที่แก่เต็มวัยพร้อมจะรับจำนวนได้ต่อไปอีก ส่วนรากที่เป็นเส้นสายราจะมีการเจริญออกทางปลายยอด (apical growth) ได้เรื่อยๆ เท่าที่มีอาหารสมบูรณ์อยู่การวัดอัตราการเจริญเติบโตหรือเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อเลี้ยงสายรบนอาหารวุ้น ราจะสร้างโคโลนีบนวุ้นเป็นวงกลม และขยายออกในแนวรัศมีใหญ่ขึ้นนอกจากนี้การชั่งน้ำหนักแห้งวัดความชื้น และการดูกลืนคลื่นแสงก็เป็นวิธีที่สามารถวัดอัตราการเจริญเติบโตของราได้ในกรณีที่เป็นยีสต์สามารถใช้วิธีวัดอัตราการเจริญเติบโตได้เช่นเดียวกับที่ใช้ในแบคทีเรียลักษณะของการเจริญเติบโตของเห็ดราแบ่งออกเป็น 6 ช่วง ได้แก่

1. Lag phase เป็นช่วงที่ยีสต์ยังไม่แบ่งตัวแต่ละเซลล์เริ่มสะสมอาหารเพื่อเตรียมเซลล์ให้สมบูรณ์ก่อนที่จะมีการแบ่งตัว
2. Acceleration phase มีการแบ่งตัวของยีสต์เซลล์บางเซลล์ที่พร้อมเจริญเติบโตได้ที่เซลล์ในอาหารเหลวเริ่มมีจำนวนมากขึ้น
3. Exponential phase ระยะนี้เซลล์ทุกเซลล์แบ่งตัวพร้อมๆกันทำให้มีการเพิ่มความหนาแน่นมากขึ้นเป็นการเพิ่มจำนวนอย่างทวีคูณ
4. Deceleration phase เซลล์บางตัวเริ่มหยุดการแบ่งตัวเนื่องจากมาจากหนึ่งมาจากสารอาหารเริ่มไม่พอเพียงและของเสียที่ได้จากกระบวนการ metabolism มีมากขึ้น pH เปลี่ยนแปลงไปสภาวะแวดล้อมไม่เอื้ออำนวยต่อการแตกหน่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. Stationary phase ช่วงนี้อัตราการตายของเซลล์เท่ากับอัตราการเกิดใหม่ทำให้ปริมาณเซลล์คงที่

6. Decline phase เป็นระยะที่เซลล์ตายลงอย่างมากมีการสลายตัวโดยอัตโนมัติมากเนื่องจาก metabolic products ที่ถูกปลดปล่อยจากการสลายตัวของเซลล์จึงทำให้อาหารเหลวเริ่มกลับมาใส

การเจริญของราประเภทเส้นสายเทียบกับเวลาจะพบว่ามีเพียง 3 ระยะเท่านั้นคือ

1. Lag phase เช่นเดียวกับ lag phase ของยีสต์ ไฮฟาจะเจริญแตกกิ่งก้านและยืดยาวออกอย่างช้าๆ เพื่อเตรียมความพร้อมในการเพิ่มจำนวน

2. Linear phase เป็นการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วบางครั้งเพียงช่วงเวลาข้ามคืนอาจพบว่าไฮฟาเจริญงอกงามเต็มพื้นที่บนจานเพาะเลี้ยง

3. Decline phase เซลล์เริ่มหยุดการเจริญเติบโตคงเหลือแต่ซากของไฮฟามีการสลายตัวบ้างเล็กน้อยแต่ส่วนใหญ่ยังคงมวลของไฮฟาหลงเหลืออยู่ (พุทธิกร, 2554)

## 2.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Zhen และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาผลของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการสร้างสารพอลิแซคคาไรด์และกิจกรรมต้านเซลล์มะเร็งจาก *Cordyceps gunnii* โดยการศึกษาผลขององค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยง (เช่น แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน) ต่อการเจริญเติบโตของเส้นใย การกระจายน้ำหนักโมเลกุลและกิจกรรมการต้านเซลล์เนื้องอกจากสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ (IPS) จาก *Cordyceps gunnii* พบว่าน้ำตาลซูโครสและเปปโตนเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ดีที่สุดและเหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยและการผลิตอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ โดยทดลองใช้แหล่งคาร์บอน เช่น กลูโคส ซูโครส และน้ำแป้ง พบการเจริญของเส้นใยเท่ากับ  $14.98 \pm 0.43$   $11.15 \pm 0.52$  และ  $10.72 \pm 0.41$  กรัม/ลิตร และพบการผลิตสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ (IPS) สูงสุดเท่ากับ  $93.00 \pm 6.84$  และ  $83.25 \pm 4.03$  มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร เมื่อทดลองใช้แหล่งไนโตรเจนคือ เปปโตน และยีสต์สกัด ในอาหารเพาะเลี้ยงพบการเจริญของเส้นใยชีวมวลเท่ากับ  $11.58 \pm 0.23$  และ  $12.37 \pm 0.46$  ตามลำดับ และพบการผลิตสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์เท่ากับ  $98.87 \pm 4.77$  และ  $56.05 \pm 4.47$  มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ

Wai และคณะ (2013) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากเชื้อรา *Beauveria bassiana* BCC 2692, *Ophiocordyceps dipterigena* BCC 2073 และ *Paecilomyces tenuipes* BCC 2656 ในส่วนประกอบอาหารที่มีฟรุกโตส 60 กรัม/ลิตร มอลต์สกัด 10 กรัม/ลิตร เพปโตน 10 กรัม/ลิตร ยีสต์สกัด 10 กรัม/ลิตร และสารละลายแร่ธาตุ 1.0 มิลลิตร/ลิตร สามารถผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ได้ 4.7 กรัม/ลิตร ขณะที่เชื้อ *O. dipterigena* BCC 2073 สามารถผลิตผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ได้ 41.2 กรัม/ลิตร ในอาหารที่มีกลูโคส 60 กรัม/ลิตร และ

มอลต์สกัด 14 กรัม/ลิตร และเชื้อ *P. tenuipes* BCC 2656 สามารถผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ ได้ 28.1 กรัม/ลิตร ในแหล่งอาหารที่มีกลูโคส 60 กรัม/ลิตร คอรัน สที่ป โซลิต 15 กรัม/ลิตร และ สารละลายแร่ธาตุ 1.0 มิลลิตร/ลิตร โดยพบว่ากลูโคสเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ในปริมาณสูงขึ้นไปในระดับถึงหมักขนาด 5 ลิตร

Kim และคณะ (2002) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *P. sinclairii* การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยและการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ โดยใช้แหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร พบว่า เดกซ์โทรส ฟรุคโทส มอลโตส แมนนิทอล และน้ำตาลซูโครส กระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นใยสูงที่สุดถึง 12.6 กรัมต่อลิตร และผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ได้ ปริมาณสูงที่สุดถึง 1.3 กรัมต่อลิตร และการศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 10 กรัม/ลิตร พบว่า แป้งข้าวโพด มีทเปปโติน ยีสต์สกัด และเปปโตินจากถั่วเหลือง กระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. sinclairii* ได้ดี อย่างไรก็ตาม เมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นแป้งข้าวโพดจะส่งผลให้เกิดการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ได้ปริมาณสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์อื่นๆ ส่วนแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์นั้นจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย และยับยั้งการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ สำหรับผลของแร่ธาตุ พบว่าแร่ธาตุทางชีวภาพในปริมาณเล็กน้อยจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใย และการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ จากการทดลองได้ศึกษาแร่ไอออนต่างๆ ได้แก่ แคลเซียม คาร์บอนไดออกไซด์ เหล็ก โพแทสเซียม แมงกานีส พบว่าแร่ธาตุสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเส้นใยได้ดี และกระตุ้นการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อรา *P. sinclairii* โดยแร่ธาตุโพแทสเซียมจะส่งเสริมการเจริญเติบโตของเส้นใยและผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ได้ปริมาณมาก

Tuli และคณะ (2014) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเห็ดถึงเช่าหิมะในแหล่งคาร์บอนดังนี้ กลูโคส ฟรุคโตส กาแลกโตส มอลโทส ซูโครส เด็กโตส สตาร์ช และเซลลูโลส พบว่าเด็กโตสในการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวส่งผลให้เส้นใยของเห็ดถึงเช่าหิมะมีปริมาณคอร์โดเซป็นมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญรองลงมาคือ สตาร์ช ซูโครส และมอลโตส นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่าการใช้เด็กโตสร้อยละ 4 ในอาหารเหลวจะให้ปริมาณคอร์โดเซป็นสูงสุด

Linna และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการเพาะเลี้ยง *Paecilomyces tenuipes* N45 ในอาหารเหลวเพื่อเพิ่มอัตราการผลิตของเส้นใยชีวมวล อะดีโนซีนพอลิแซคคาไรด์ และคอร์โดเซป อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงคือ กลูโคส 40 กรัมต่อลิตร บีฟสกัด 10 กรัมต่อลิตร ซอยเปปโติน 10 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.688 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 1 กรัมต่อลิตร วิตามินบีหนึ่ง 0.201 กรัมต่อลิตร วิตามินบีสิบสอง 0.130 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองที่ได้พบว่าสามารถผลิตสารชีวมวลได้ 16.230 กรัมต่อลิตร อะดีโนซีน 0.0724 กรัมต่อลิตร พอลิแซคคาไรด์ 0.723 กรัมต่อลิตร และสารคอร์โดเซป 2.137 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานานับ ไม่นับถาดหน้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chun และคณะ (2006) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของพารามิเตอร์ทางกายภาพการผลิตเฮกโซไบโอพอลิเมอร์ในกระบวนการเพาะเลี้ยงเส้นใยเชื้อราระหว่าง *Paecilomyces japonica* และ *Paecilomyces tenuipes* อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงประกอบด้วย มอลโทส 30 กรัม ยีสต์สกัด 6 กรัม พอลิเปปโตน 2 กรัม ไดโทพแทสเซียมฟอสเฟต 0.2 กรัม โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 กรัม แมงกานีสซัลเฟตเพนตะไฮเดรต 0.2 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 0.2 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผลการทดลองพบการผลิตเฮกโซไบโอพอลิเมอร์ของ *P. japonica* ได้สูงสุด 34.5 กรัม/ลิตร และ *P. tenuipes* สามารถผลิตได้สูงสุดที่ 3.4 กรัม/ลิตร

Shuang และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการเพาะเลี้ยง *Cordyceps militaris* และกิจกรรมต้านมะเร็งของสารพอลิแซคคาไรด์ในหลอดทดลอง โดยนำ *C. militaris* มาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วย ซูโครส 25 กรัมต่อลิตร เบปโตน 10 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัดผง 20 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 3 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต 3 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 10 กรัมต่อลิตร ซิงค์คลอไรด์ 0.01 กรัมต่อลิตร และวิตามินบีหนึ่ง 0.24 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน โดยใช้เครื่องเพาะเลี้ยงแบบเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที วิธีการสกัดสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ (IPS) ทำได้โดยนำเส้นใยแห้งที่เป็นผงแล้วมาผสมกับเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ทิ้งไว้ข้ามคืนและนำมาทำแห้งที่อุณหภูมิห้อง แห่สารที่เหลืออยู่ด้วยน้ำกลั่นเพื่อล้างในอัตราส่วน 1 ต่อ 20 (สารที่เหลือต่อน้ำกลั่น) ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำเป็นเวลา 3.5 ชั่วโมง จากนั้นนำมาหมუნเหวี่ยงที่ 8000 g เป็นเวลา 10 นาทีเก็บส่วนใสนำไปแช่แข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาทำละลายอย่างช้าที่อุณหภูมิห้องและไปหมუნเหวี่ยงที่ 10000 g เพื่อนำตะกอนออก นำส่วนใสมาทำการถูกสกัดแยกโปรตีนโดยวิธี Sevag method จากนั้นนำส่วนใสที่เหลือไปทำการไดอะไลซิส (dialysis) อีกครั้งในน้ำเป็นเวลา 3 วัน และทำให้เข้มข้นเป็น 1/5 เท่าของปริมาตรทั้งหมด สารละลายพอลิแซคคาไรด์อย่างหยาบนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งในแวคิวโอ (vacuo) จะได้น้ำหนักแห้งของพอลิแซคคาไรด์โดยประมาณ

Lan และคณะ (2015) ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์จาก *Cordyceps sinensis* fungus UM01 พบว่าสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยคือ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส พีเอชเริ่มต้น 6.0 ความเร็วรอบที่ใช้เพาะเลี้ยง 150 รอบต่อ นาที ปริมาตรความจุของอาหารในแต่ละฟลาสก์ในอัตราส่วน 2/5 ปริมาตร/ปริมาตร และหัวเชื้อร้อยละ 3 โดยทำการวัดเส้นใยชีวมวลด้วยการเก็บตัวอย่างน้ำหนักไปหมუნเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 15 นาที ล้างตะกอนเส้นใยด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง จากนั้นนำไปทำแห้งแบบสุญญากาศเพื่อให้น้ำหนักคงที่ จากนั้นเติมเอทานอลร้อยละ 95 ลงไปและทำให้ความเข้มข้นสุดท้าย

เป็นร้อยละ 80 ปริมาตรต่อปริมาตร เพื่อทำการตกตะกอนของสารละลายพอลิแซคคาไรด์อย่างหยาบไม่ผ่านการใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำตะกอนที่ได้มาละลายอีกครั้งด้วยน้ำ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มให้ความร้อน 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง 4000 g รอบต่อนาที เก็บส่วนของสารละลายใสและส่วนที่นำไปทำแห้งโดยการแช่เยือกแข็ง ทำการวัดปริมาณ พอลิแซคคาไรด์ทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอลซัลฟูริกและเปรียบเทียบกับกลูโคสมาตรฐาน

Luis และคณะ (2003) ไซโก้ (ไซ้แดง) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 จะสามารถผลิตเส้นใยแห้ง ของ *Furia sp.* มีค่าเท่ากับ 7 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร Ing และคณะ (2007) พบว่าการใช้ปริมาณแหล่ง ไนโตรเจน ที่ความเข้มข้น 10, 15 และ 30 กรัม/ลิตร ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่าแหล่ง ไนโตรเจนที่ 10 กรัม/ลิตร ให้ปริมาณเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองสูงสุด รองลงมา คือ 15 และ 30 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

วรารัตน์ (2551) แยกเชื้อแบคทีเรียแลกติก *W.confusa* จากไส้กรอกอีสาน พบว่า เชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ได้ดีในอาหาร MRS ที่ประกอบด้วยซูโครส 40 กรัม/ ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน และทริปโตน 10 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าการผลิตพอลิแซคคาไรด์มีความสัมพันธ์กับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยมีการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ได้สูงในช่วง 12 ชั่วโมงแรกเช่นเดียวกับการเจริญของเชื้อได้เท่ากับ 18.08 กรัม/ลิตร

Park และคณะ (2002) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพสภาวะการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเพื่อ การเจริญเติบโตของเชื้อราและการผลิตไบโอพอลิเมอร์จาก *Cordyceps militaris* เมื่อทดลองใช้ แหล่งไนโตรเจนคือ ทริปโตน ยีสต์สกัด และแป้งคอร์น สตีป ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 พบการผลิตเส้น ใยชีวมวลเท่ากับ 14.57, 17.00 และ 9.75 กรัม/ลิตร ตามลำดับ และเฮกโซไบโอพอลิเมอร์เท่ากับ 0.68, 0.48 และ 1.97 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

ลดาวัลย์ (2553) ที่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ของ *Bacillus amyloliquefaciens* CNEP003 โดยเลี้ยงในอาหาร YPM ที่มีการเจริญอย่าง รวดเร็วในชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเป็น 1.17 กรัม/ลิตร จากนั้นการเจริญจะเริ่มช้าลง และเข้าสู่ระยะคงที่ระยะคงที่ และเชื้อจะผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ได้สูงสุด 3.15 กรัม/ลิตร ใน ชั่วโมงที่ 96 ส่วน Shih และคณะ (2005) รายงานว่าพบการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ของ *B. subtilis* สูงสุดในอาหารที่มีซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนเมื่อเซลล์เจริญเข้าสู่ระยะคงที่

Tallon และคณะ (2003) ศึกษาการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากเชื้อ *Lactobacillus plantarum* EP56 พบว่าพอลิแซคคาไรด์มี 2 รูปแบบ คือ เฮกโซพอลิแซคคาไรด์และอินตรา เซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ โดยพอลิแซคคาไรด์ทั้ง 2 รูปแบบจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อการเจริญของ เชื้ออยู่ในระยะ stationary phase โดยในช่วง 25 ชั่วโมงแรกที่เชื้อมีการเจริญพบการผลิตอินตรา เซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์สูงถึง 73.6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และลดลงหลังจาก 25 ชั่วโมง เท่ากับ 44.6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าการณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

# วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.1 เชื้อจุลินทรีย์

#### 3.1.1 วัตถุดิบ

ข้าวไรซ์เบอร์รี่ จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่ รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ และไขไก่

#### 3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

เห็ดถั่งเช่าหิมะสายพันธุ์ *Isaria tenuipes*

### 3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาคผนวก ก)

3.2.1 สูตรอาหาร PDB เสริม

3.2.2 สูตรอาหาร PDA เสริม

3.2.3 สูตรอาหาร YMP

### 3.3 สารเคมีและอุปกรณ์

#### อุปกรณ์

1. ตู้ปลอดเชื้อ
2. ตู้เย็น
3. เครื่องเขย่า
4. เครื่องชั่งสาร
5. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
6. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรค
7. ขวดรูปชมพู่
8. ขวดแก้วแบน
9. ปีกเกอร์
10. หลอดทดลอง
11. กระจกบอทวง
12. ลูบเปียเชื้อ
13. ขวดแก้วสำหรับเพาะเลี้ยง
14. ตะเกียงแอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็น 15. งานที่เพาะเชื้อสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณี 16. ผู้วิจัยห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17. เครื่องหมุนปั่นเหวี่ยง
18. ไมโครปิเปต
19. ตู้ดูดควัน
20. ขวดสีชา

#### สารเคมี

1. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)
2. สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)
3. เปปโตน (Peptone)
4. กลูโคส ( $C_6H_{12}O_6$ )
5. ผงวุ้น (Agar Powder)
6. แอลกอฮอล์ร้อยละ 70
7. แอลกอฮอล์ร้อยละ 95
8. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ )
9. กลีเซอรอล (Glycerol)
10. ฟีนอล (Phenol)
11. โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต ( $KNaC_4H_4O_6$ )
12. โซเดียมซัลเฟต ( $Na_2SO_4$ )
13. กรดซัลฟิวริก ( $H_2SO_4$ )
14. น้ำบริสุทธิ์สูง (Ultrapure)

### 3.4 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าหิมะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (พลอยไพลิน และคณะ, 2558)

เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะโดยวิธี Slide culture บนอาหารแข็ง PDA เสริม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ทำการเตรียมวุ้น PDA เสริม บนจานเพาะเชื้อ จากนั้นตัดวุ้นเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร วางลงบนสไลด์ และนำเห็ดถั่งเช่าหิมะที่เพาะเลี้ยงวางลงบนแผ่นวุ้นเกลี่ยให้ทั่ว ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ จากนั้นนำน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อเทลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 11.5 มิลลิลิตร เพื่อให้เกิดความชื้นแล้วนำไปเก็บในที่มืดซิด คอยสังเกตจนเชื้อราเจริญเกือบถึงขอบของกระจกปิดสไลด์ (ประมาณ 2 สัปดาห์) วิเคราะห์รูปร่างของเส้นใยด้วยการย้อมสีแลคโตฟีนอล คอตทอลบลู ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบประกอบที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การเชิงพาณิชย์เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นประโยชน์ในการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.5 วิธีการเตรียมหัวเชื้อ

#### 3.5.1 หัวเชื้อจุลินทรีย์และการเก็บรักษา

เก็บรักษาหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะจากการเพาะเลี้ยงในหนอนไหมจนเกิดเป็นเส้นใยและดอกเห็ด (fruiting body) จากนั้นตัดชิ้นส่วนของหัวเชื้อดอกเห็ด 1-2 ชิ้น เก็บในกลีเซอรอลร้อยละ 10 และ เปปโตน ร้อยละ 0.1 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 จากนั้นเติม แล้วเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บหัวเชื้อไว้ใช้ในครั้งถัดไป

#### 3.5.2 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นในอาหารแข็ง PDA เสริม และตัวหนอนไหม

หัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าที่เพาะเลี้ยงในตัวหนอนนำมาทำการเพาะเลี้ยงในงานเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA เสริม เป็นเวลา 5-6 วัน ในที่มีอุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส จนเกิดเป็นเส้นใยสีขาวเต็มงานเพาะเลี้ยง จากนั้นคือกเป็นชิ้นจำนวน 3 ชิ้น (ต่อฟลasks) มาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร PDB เสริม (ดังแสดงในภาคผนวก ก ) และทำการถ่ายหัวเชื้อเพาะเลี้ยงในตัวหนอน โดยเตรียมในขวดโหลแก้ว (16 ออนซ์) ใส่ตัวหนอน 30-50 กรัม หรือใช้ข้าวธัญพืช 40 กรัม แล้วใส่อาหารเหลว PDB เสริม ปริมาตร 60 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที และทำการเพาะเลี้ยงในที่มืดโดยบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเส้นใยราเจริญเต็มโหลแก้ว จึงนำมาทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงเพื่อทำการเปิดดอก

#### 3.5.3 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว YMP และ PDB

หัวเชื้อเริ่มต้นดอกเห็ดจากอาหารตัวหนอนนำมาทำการเพาะเลี้ยงในงานเพาะเลี้ยงที่มีอาหาร PDA เสริม จนเกิดเป็นเส้นใยสีขาว จากนั้นคือกเป็นชิ้นจำนวน 3 ชิ้น (ต่อฟลasks) ด้วยสภาพปลอดเชื้อแล้วย้ายลงในฟลaskขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลว PDB เสริม และอาหาร YMP ปริมาตร 75 มิลลิลิตร (ดังแสดงในภาคผนวก ก ) บ่มเชื้อในเครื่องเขย่า 150 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยทำการทดลองสูตรอาหารละ 3 ซ้ำ (ฟลอยไพลิน และคณะ, 2557) เพื่อศึกษาการเจริญของเส้นใยในระยะต้น กลาง และปลายของเอกโพเนนเชียล โดยสุ่มตัวอย่างทุกๆวัน วันละ 5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 6 วัน เพื่อหาน้ำหนักแห้งโดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5000 g เวลา 15 นาที (Lan และคณะ, 2015) แล้วล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง จากนั้นนำตะกอนเซลล์ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-24 ชั่วโมงเพื่อหาน้ำหนักแห้งของเส้นใย

### 3.6 การเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดในสภาวะอาหารเหลว

#### 3.6.1 การหาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อเส้นใยและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ในอาหารเหลว

สภาวะและอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว PDB เสริม โดยทำการแปรผันชนิดของแหล่งอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารตัวอย่างสำหรับงานใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อินทรีย์คาร์บอน คือ จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่ ไร่ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ ใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 20 กรัมต่อลิตร (Wai และคณะ, 2013) จากนั้นทำการศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด โดยใช้แหล่งไนโตรเจน คือ ทริปโตน และไข่ไก่ ที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร และแปรผันปริมาณความเข้มข้นที่ร้อยละความเข้มข้น 5 10 และ 15 กรัม/ลิตร จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างทุกวันเป็นเวลา 7 วัน และทำการวิเคราะห์หาไนโตรเจนและสารพอลิแซคคาไรด์โดยใช้ชุดควบคุมเป็นอาหารเหลวสูตร PDB เสริม และใช้ความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมคือ 150 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Shuang และคณะ, 2014)

### 3.7 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

#### 3.7.1 การวิเคราะห์หาน้ำหนักเส้นใยแห้ง

น้ำหนักแห้งเส้นใย (กรัม) = น้ำหนักหลังอบ - น้ำหนักหลอด

#### 3.7.2 การวิเคราะห์พอลิแซคคาไรด์

##### 3.7.2.1 การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) ด้วยวิธีฟินอลซัลฟูริก

ตัวอย่างสารละลายส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงตามวิธีของ Lan และคณะ (2015) นำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยทำการเจือจางความเข้มข้นที่เหมาะสมและเจือจางความเข้มข้นสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายกลูโคสมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นและตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นมาอย่างละ 1 มิลลิลิตร เติมฟีนอลร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 15 นาที แล้วเขย่า จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน พร้อมคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ดัดแปลงจาก ชัยวัฒน์, 2556)

ตัวอย่างตะกอนเส้นใยแห้ง (400 มิลลิกรัม) นำมาทำการสกัดการสกัดสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ (IPS) โดยทำการแช่เส้นใยในน้ำกลั่นปริมาตร 8 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำสองซ้ำ (สารสกัดจะรวมอยู่ในภาชนะ) จากนั้นทำการสกัดโดยเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (ปริมาตร/ปริมาตร) 4 เท่าของปริมาตร โดยทำการตะกอนเอทานอลที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 5000 g เป็นเวลา 20 นาทีและเก็บตะกอนของอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์เพื่อนำมาวัดอัตราค่าผลได้ของพอลิแซคคาไรด์โดยการวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ด้วยวิธี phenol sulfuric acid และทำการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวส์จากพอลิแซคคาไรด์ภายในเซลล์โดยวิธี DNS method ปริมาณสารพอลิแซคคาไรด์ภายในเซลล์หาได้จากปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลบปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (Zhen และคณะ, 2016) ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.7.2.2 การวัดน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยปฏิกิริยาของกรด 3, 5-ไดไนโตรซาลิไซลิก

น้ำตาลรีดิวซ์สามารถวัดได้ด้วยวิธีของกรด 3, 5-ไดไนโตรซาลิไซลิก (3, 5-dinitro salicylic acid, DNS) ซึ่งเป็นการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ในตัวอย่างสารสกัด โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างหมู่ไนโตร 1 หมู่ของ DNS ถูกรีดิวซ์โดยหมู่แอลดีไฮด์ของน้ำตาลซึ่งมีความร้อนและสารละลายต่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเกิดเป็นสีส้ม-แดง และสามารถดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 520-540 นาโนเมตร โดยทำการเจือจางความเข้มข้นที่เหมาะสมและเจือจางความเข้มข้นสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายกลูโคสมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นและสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นมาอย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง และเติมสารละลาย DNS 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิดฝาแล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการแช่หลอดทดลองในน้ำเย็นทันทีเพื่อหยุดปฏิกิริยาการเกิดสีเป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เตรียมแบลงก์ได้โดยการใช้ น้ำกลั่นแทนสารตัวอย่างและดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลอง ค่าที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟกลูโคสมาตรฐานและคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Neureiter, 2002)

### 3.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลโดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment) และวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธีทางสถิติ ANOVA โดยใช้โปรแกรม Minitab ในการสร้างความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ ) ทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยและลักษณะดอกเห็ดภายใต้กล้องจุลทรรศน์

##### 4.1.1 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA เสริม บ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 และ 168 ชั่วโมง นำมาสังเกตลักษณะของเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเส้นใยของเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะมีรูปร่างเป็นเส้นสาย แดกแขนงเป็นกิ่งก้านและภายในเส้นใยมีผนังกันเป็นช่วงๆ (septate hyphae) ในชั่วโมงที่ 96 ดังรูปที่ 4.1 (A) และเมื่อใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงมากขึ้น พบว่าเส้นใยมีการเจริญเติบโตหนาแน่นมากขึ้น เส้นใยแตกแขนงเป็นกิ่งก้าน และภายในเส้นใยมีผนังกันเป็นช่วงๆชัดเจนแต่ยังไม่พบการสร้างสปอร์ของเชื้อในชั่วโมงที่ 168 ดังรูปที่ 4.1 (B)



A

B

รูปที่ 4.1 ลักษณะเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าหิมะ (*Isaria tenuipes*) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 96 ชั่วโมง (A) และ 168 ชั่วโมง (B)

#### 4.2 การศึกษาระยะเวลาในการเจริญเติบโตของหัวเชื้อในอาหารเหลว

การวิเคราะห์การเจริญเติบโตของน้ำหมักเส้นใยแห้งในการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อใน

อาหาร PDB เสริม และอาหาร YMP ที่สภาวะเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในเวลาที่ต่างกัน คือ ชั่วโมงที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองพบว่าเส้นใยมีการเจริญสูงสุดที่ 96 ชั่วโมง โดยในอาหารเหลว PDB เสริม มีปริมาณ น้ำหนักเส้นใยแห้งเท่ากับ 22.47 กรัม/ลิตร และอาหารเหลว YMP มีการเจริญของเส้นใยสูงสุด เท่ากับ 16.16 กรัม/ลิตร ซึ่งให้ผลการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) แสดง ตารางที่ 4.1

จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมทางสถิติ Minitab พบว่าชั่วโมงที่ 72, 96 และ 120 มี ปริมาณน้ำหนักเส้นใยแห้งเท่ากับ 17.26, 22.47 และ 13.54 กรัม/ลิตร ตามลำดับ มีความแตกต่าง กันอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Dagley และคณะ (1950) ศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อ การเจริญของเชื้อ *Aerobacter aerogenes* ระยะเริ่มต้นการเจริญที่วิฤณพบว่าในระยะนี้เซลล์จะเริ่ม แบ่งตัวอย่างรวดเร็วและเริ่มสร้างสารที่จำเป็นต่อการเจริญดังนั้นจึงเหมาะแก่การใช้เป็นหัวเชื้อที่สุด

ดังนั้นการศึกษาระยะเวลาที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยจึงเลือกที่ 72 ชั่วโมงมาทำการ ทดลองในขั้นตอนถัดไป เนื่องจากเป็นช่วงระยะเจริญของเซลล์แบบทวีคูณ เพื่อเป็นการประหยัดเวลา และพลังงานที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อ

ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะในการเพาะเลี้ยงที่สภาวะอาหารเหลวที่ ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	24	48	72	96	120	144	168
ชนิดอาหาร (กรัม/ลิตร)							
PDB เสริม	0.32 <sup>h</sup>	11.07 <sup>e</sup>	17.26 <sup>b</sup>	22.47 <sup>a</sup>	13.54 <sup>cde</sup>	11.96 <sup>de</sup>	7.40 <sup>fs</sup>
YMP	0.02 <sup>h</sup>	8.05 <sup>f</sup>	11.90 <sup>de</sup>	16.16 <sup>bc</sup>	14.48 <sup>cd</sup>	12.64 <sup>de</sup>	5.39 <sup>g</sup>

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่พบการเจริญของเส้นใยหรือการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ และตัวอักษร ภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

### 4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ ในสภาวะอาหารเหลว

#### 4.3.1 การแปรผันแหล่งคาร์บอน

##### 4.3.1.1 ผลการแปรผันแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตเส้นใยชีวมวลและสารพอลิแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นจากผลการศึกษาชนิดแหล่งอินทรีย์คาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ (IPS และ EPS) ของเห็ดถั่งเช่าหิมะ โดยใช้สภาวะเชิงยาวความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที บ่ม

ในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้แหล่งคาร์บอน คือ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่ และรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ พบว่าน้ำหนักแห้งของเส้นใยชีวมวลที่ดีที่สุด คือ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีค่าเท่ากับ 28.82 กรัม/ลิตร รองลงมาคือ จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีค่าเท่ากับ 27.04 กรัม/ลิตร รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีค่าเท่ากับ 25.94 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 144 ชั่วโมง และ PDB เสริม (ตัวควบคุม) มีค่าเท่ากับ 25.89 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 96 ชั่วโมง จากการวิเคราะห์เส้นใยชีวมวลด้วยโปรแกรมทางสถิติ พบว่า ข้าวไรซ์เบอร์รี่ให้ผลการทดลองไม่แตกต่างกับจมูกข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.2 เนื่องจากข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นส่วนที่ได้จากข้าวทั้งเมล็ดจึงทำให้มีคุณค่าทางโภชนาการ วิตามินและแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยและการสร้างสารสำคัญในเห็ดถึงเข้าหิมะได้ดีกว่าจมูกข้าวและรำข้าว จากงานวิจัยของ Yin และคณะ (2013) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเส้นใย *Cordyceps sinensis* ในอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส 30 กรัม จะได้เส้นใยชีวมวลเท่ากับ 25.0 กรัม/ลิตร ซึ่งได้ปริมาณน้อยกว่าการใช้แหล่งคาร์บอนจากธัญพืช (ข้าวไรซ์เบอร์รี่ จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่ และรำข้าวไรซ์เบอร์รี่) เนื่องจากในการทดลองแหล่งคาร์บอนจากธัญพืชที่นำมาใช้เป็นองค์ประกอบในสูตรอาหารนั้นเกิดเป็นตะกอน เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะเขย่าตะกอนอาจเข้าไปติดรวมอยู่ในเพลทของเซลล์ส่งผลให้น้ำหนักแห้งของเซลล์เพิ่มมากขึ้น

ตารางที่ 4.2 การเจริญของเส้นใยชีวมวลจากการแปรผันแหล่งคาร์บอนในสภาวะอาหารเหลวที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)							
แหล่งคาร์บอน ร้อยละ 2	24	48	72	96	120	144	168
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	-	4.16 <sup>m</sup>	18.80 <sup>i</sup>	24.09 <sup>defg</sup>	26.34 <sup>bc</sup>	28.82 <sup>a</sup>	22.26 <sup>gh</sup>
จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่	-	1.53 <sup>n</sup>	15.86 <sup>j</sup>	22.64 <sup>fgh</sup>	24.80 <sup>cde</sup>	27.04 <sup>ab</sup>	26.06 <sup>bcd</sup>
รำข้าวไรซ์เบอร์รี่	-	7.46 <sup>l</sup>	19.28 <sup>i</sup>	23.10 <sup>efgh</sup>	24.60 <sup>cdef</sup>	25.94 <sup>bcd</sup>	24.51 <sup>cdef</sup>
PDB เสริม	0.40 <sup>n</sup>	3.53 <sup>n</sup>	22.96 <sup>efgh</sup>	25.89 <sup>bcd</sup>	21.44 <sup>h</sup>	18.23 <sup>i</sup>	12.23 <sup>k</sup>

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่พบการเจริญของเส้นใยหรือการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

จากการทดลองพบการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ (EPS) สูงสุดจากแหล่งคาร์บอน คือ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีค่าเท่ากับ 1.05 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 96 ชั่วโมง รองลงมาคือ PDB เสริม มีค่าเท่ากับ 0.77 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 96 ชั่วโมง จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีค่าเท่ากับ 0.70 กรัม/ลิตร และรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีค่าเท่ากับ 0.56 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 120

ชั่วโมง จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมทางสถิติพบว่าเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแหล่งคาร์บอน ข้าวไรซ์เบอร์รี่ให้ผลการทดลองแตกต่างกันจากแหล่งคาร์บอนแต่ละชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.3 และพบการผลิตอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ (IPS) สูงสุดในแหล่งคาร์บอน คือ รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ เท่ากับ 1.09 กรัม/ลิตร รองลงมาคือ จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่ เท่ากับ 0.92 กรัม/ลิตร ข้าวไรซ์เบอร์รี่ เท่ากับ 0.82 กรัม/ลิตร และ PDB เสริม เท่ากับ 0.76 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 96 ชั่วโมง ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.4 จากงานวิจัยของ Jong และคณะ (2013) ศึกษาสภาวะและองค์ประกอบอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยชีวมวลและผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ของ *P. japonica* ในสภาวะอาหารเหลว YMP โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบการเจริญของเส้นใยชีวมวลและการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์สูงสุดเท่ากับ 23.10 กรัม/ลิตร และ 2.50 กรัม/ลิตร ตามลำดับ Zhen และคณะ (2016) แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยและการผลิตพอลิแซคคาไรด์ของ *Cordyceps gunnii* เมื่อใช้ซูโครส กลูโคส และน้ำแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน สามารถผลิตสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์สูงสุดเท่ากับ  $93.00 \pm 6.84$ ,  $83.25 \pm 4.03$  และ  $81.47 \pm 3.97$  มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ซึ่งพบว่าการผลิตพอลิแซคคาไรด์ได้ใกล้เคียงกันกับการใช้แหล่งคาร์บอนจากธัญพืช แต่อาจเนื่องมาจากการใช้ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน รวมถึงสภาวะการเพาะเลี้ยงและสูตรอาหารที่แตกต่างกัน จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยชีวมวลและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ได้ไม่เท่ากัน

ตารางที่ 4.3 การผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันแหล่งคาร์บอนในสภาวะอาหารเหลวที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)							
แหล่งคาร์บอน ร้อยละ 2	24	48	72	96	120	144	168
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	0.06 <sup>jk</sup>	0.40 <sup>fgh</sup>	0.89 <sup>6ab</sup>	1.05 <sup>a</sup>	0.45 <sup>f<sub>g</sub></sup>	0.49 <sup>ef<sub>g</sub></sup>	0.03 <sup>k</sup>
จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่	0.35 <sup>ghi</sup>	0.48 <sup>ef<sub>g</sub></sup>	0.41 <sup>2f<sub>g</sub>h</sup>	0.54 <sup>def<sub>g</sub></sup>	0.70 <sup>bcd</sup>	0.43 <sup>f<sub>g</sub></sup>	0.00 <sup>6k</sup>
รำข้าวไรซ์เบอร์รี่	0.23 <sup>hij</sup>	0.17 <sup>ijk</sup>	0.40 <sup>0f<sub>g</sub>h</sup>	0.42 <sup>f<sub>g</sub></sup>	0.56 <sup>def</sup>	0.18 <sup>ijk</sup>	0.02 <sup>k</sup>
PDB เสริม	-	0.15 <sup>jk</sup>	0.67 <sup>3cde</sup>	0.77 <sup>bc</sup>	0.65 <sup>cde</sup>	0.39 <sup>f<sub>g</sub>h</sup>	0.00 <sup>5k</sup>

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่พบการเจริญของเส้นใยหรือการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ และตัวอักษร

ภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การผลิตอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันแหล่งคาร์บอนในอาหารเหลวที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)							
แหล่งคาร์บอน ร้อยละ 2	24	48	72	96	120	144	168
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	0.19 <sup>hijk</sup>	0.16 <sup>klm</sup>	0.34 <sup>e</sup>	0.82 <sup>c</sup>	0.28 <sup>f</sup>	0.02 <sup>op</sup>	0.007 <sup>p</sup>
จุกข้าวไรซ์เบอร์รี่	0.07 <sup>n</sup>	0.22 <sup>ghi</sup>	0.24 <sup>fg</sup>	0.92 <sup>b</sup>	0.22 <sup>gh</sup>	0.01 <sup>p</sup>	0.008 <sup>p</sup>
รำข้าวไรซ์เบอร์รี่	0.18 <sup>ijklm</sup>	0.18 <sup>ijkl</sup>	0.24 <sup>fg</sup>	1.09 <sup>a</sup>	0.15 <sup>lm</sup>	0.02 <sup>op</sup>	0.01 <sup>p</sup>
PDB เสริม	0.14 <sup>m</sup>	0.28 <sup>f</sup>	0.21 <sup>ghij</sup>	0.76 <sup>d</sup>	0.28 <sup>f</sup>	0.05 <sup>no</sup>	0.02 <sup>op</sup>

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่พบการเจริญของเส้นใยหรือการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

#### 4.3.2 การแปรผันชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน

##### 4.3.2.1 ผลการแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเส้นใยชีวมวลและสารพอลิแซคคาไรด์

จากผลการศึกษาน้ำหนักแห้งของเส้นใยชีวมวลและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ของเห็ดถั่งเช่าหิมะ โดยการแปรผันแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน คือ ไข่ไก่ และทรีปโตน ที่สภาวะการเพาะเลี้ยงความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมทางสถิติพบว่า แหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดสำหรับการเจริญของเส้นใยชีวมวล คือ ไข่ไก่ มีค่าเท่ากับ 28.66 กรัม/ลิตร รองลงมาคือ ทรีปโตน มีค่าเท่ากับ 27.18 กรัม/ลิตร ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 144 ชั่วโมง และอาหาร PDB เสริม มีค่าเท่ากับ 24.65 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 96 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าการใช้ไข่ไก่เป็นแหล่งไนโตรเจนให้ชีวมวลเส้นใยไม่แตกต่างจากการใช้ทรีปโตนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.5

จากการทดลองพบการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากแหล่งไนโตรเจนสูงที่สุด คือ ไข่ไก่ เท่ากับ 2.30 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 72 ชั่วโมง รองลงมาคือ ทรีปโตน เท่ากับ 1.89 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 72 ชั่วโมง และ PDB เสริม เท่ากับ 1.37 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 96 ชั่วโมง จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมทางสถิติพบว่า เฮกโซพอลิแซคคาไรด์ที่จากแหล่งไนโตรเจนแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

( $P \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การเจริญของเส้นใยชีวมวลจากการแปรผันชนิดแหล่งไนโตรเจนที่สภาวะอาหารเหลว ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	24	48	72	96	120	144	168
แหล่งไนโตรเจน ร้อยละ 1							
ไข่ไก่	13.47 <sup>i</sup>	17.58 <sup>gh</sup>	19.70 <sup>efgh</sup>	23.28 <sup>cde</sup>	24.52 <sup>bcd</sup>	28.66 <sup>a</sup>	25.43 <sup>abc</sup>
ทริปโตน	13.44 <sup>i</sup>	17.20 <sup>h</sup>	19.12 <sup>fgh</sup>	21.82 <sup>cde</sup>	24.83 <sup>bc</sup>	27.18 <sup>ab</sup>	24.94 <sup>bc</sup>
PDB เสริม	4.01 <sup>j</sup>	6.95 <sup>j</sup>	18.83 <sup>fgh</sup>	24.65 <sup>bcd</sup>	21.89 <sup>cdef</sup>	20.97 <sup>defg</sup>	20.72 <sup>efgh</sup>

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่พบการเจริญของเส้นใยหรือการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

จากการทดลองพบการผลิตอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์สูงที่สุดจาก PDB เสริม เท่ากับ 0.13 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 72 ชั่วโมง รองลงมาคือ ไข่ไก่ เท่ากับ 0.12 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 96 ชั่วโมง และทริปโตน เท่ากับ 0.07 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 72 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตจาก PDB เสริมกับไข่ไก่ ให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.7 จากงานวิจัยของ Kim และคณะ (2002) ผลจากสภาวะอาหารเพาะเลี้ยงต่อการเจริญของเส้นใยชีวมวลและการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์จาก *Paecilomyces sinclairii* โดยใช้แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่คล้ายกันกับงานวิจัยนี้ พบว่าสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. sinclairii* ได้เป็นอย่างดี และจากการใช้คอร์น สตีป โซลิด มีการเจริญของเส้นใยชีวมวลและการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์สูงสุดเท่ากับ 26.2 และ 4.01 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งการใช้ไข่ไก่เป็นแหล่งไนโตรเจนจะให้ผลผลิตเส้นใยชีวมวลมากกว่าจึงส่งผลต่อการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์และอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ด้วย จากงานวิจัยของ Zhen และคณะ (2016) ศึกษาผลของอาหารต่อการเจริญเส้นใยและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ของ *Cordyceps gunnii* เมื่อใช้แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน คือ เปปโตนและยีสต์สกัดในอาหารเพาะเลี้ยง พบว่าสามารถผลิตสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ได้สูงสุดเท่ากับ  $98.87 \pm 4.77$  และ  $56.05 \pm 4.47$  มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสามารถผลิตสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ได้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกับงานวิจัยนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ วรรัตน์ (2551) แยกเชื้อ

แบคทีเรียแลคติก *W. confusa* จากไส้กรอกอีสาน พบว่าการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์มีความสัมพันธ์  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
กับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยสามารถผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ได้สูงในช่วง 12 ชั่วโมงแรกของ  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ Mao และคณะ (2006) พบว่ากรดอะมิโน ไกลซีน ซีรีน และซีสทีน ที่พบในไขไก่จะสามารถเพิ่มการผลิตเส้นใยและผลิตสารสำคัญของเห็ดถั่งเช่า Park และคณะ (2002) การกระตุ้นการผลิตไบโอโพลีเมอร์ของน้ำมันพืชและกรดไขมันต่อ *Cordyceps militaris* พบว่าน้ำมันพืชและกรดไขมันหลายชนิดที่พบในไขไก่มีคุณสมบัติสำหรับ กระตุ้นการผลิตเฮกโซไบโอโพลีเมอร์และการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราเห็ดถั่งเช่าสีทอง *C. militaris* โดยเฉพาะกรดไลโนเลอิก กรดโอเลอิก และกรดปาล์มมิติก เป็นต้น

ตารางที่ 4.6 เฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากการแปรรูปชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่สภาวะอาหารเหลว ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	24	48	72	96	120
แหล่งไนโตรเจน ร้อยละ 1					
ไข่ไก่	-	0.93 <sup>d</sup>	2.30 <sup>a</sup>	0.91 <sup>d</sup>	-
ทรีปโตน	-	0.92 <sup>d</sup>	1.89 <sup>b</sup>	0.48 <sup>e</sup>	-
PDB เสริม	-	-	0.10 <sup>fs</sup>	1.37 <sup>c</sup>	-

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่พบการเจริญของเส้นใยหรือการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

ตารางที่ 4.7 อินตราเซลล์ลูลาร์พอลิแซคคาไรด์จากการแปรรูปชนิดแหล่งไนโตรเจนในสภาวะอาหารเหลวที่สภาวะอาหารเหลวความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	24	48	72	96	120
แหล่งไนโตรเจน ร้อยละ 1					
ไข่ไก่	-	0.10 <sup>b</sup>	0.10 <sup>b</sup>	0.12 <sup>a</sup>	0.12 <sup>a</sup>
ทรีปโตน	-	0.04 <sup>e</sup>	0.07 <sup>d</sup>	0.06 <sup>d</sup>	0.04 <sup>e</sup>
PDB เสริม	-	0.03 <sup>e</sup>	0.13 <sup>a</sup>	0.12 <sup>a</sup>	0.08 <sup>c</sup>

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่พบการเจริญของเส้นใยหรือการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

#### 4.3.2.2 การแปรผันปริมาณของแหล่งไนโตรเจน

จากการศึกษาแปรผันปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ของเห็ดถั่งเช่าหิมะ โดยแปรผันปริมาณความเข้มข้นของแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่ดีที่สุดคือ ไข่ไก่ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 1.5 ในสภาวะการเพาะเลี้ยงความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจากการศึกษาน้ำหนักแห้งของเส้นใยชีวมวลด้วยโปรแกรมทางสถิติ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นที่ดีที่สุดคือ การใช้ไข่ไก่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีค่าน้ำหนักแห้งเท่ากับ 27.12 กรัม/ลิตร รองลงมาคือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีค่าเท่ากับ 25.86 กรัม/ลิตร และความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มีค่าเท่ากับ 23.10 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 144 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 ให้ผลการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ค่าน้ำหนักเส้นใยแห้งของเส้นใยในการแปรผันปริมาณแหล่งไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดที่สภาวะอาหารเหลวความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	24	48	72	96	120	144	168
ปริมาณแหล่งไนโตรเจน (ร้อยละ)							
ไข่ไกร้อยละ 0.5	9.33 <sup>op</sup>	14.14 <sup>lm</sup>	18.18 <sup>hij</sup>	19.40 <sup>efghi</sup>	22.40 <sup>cde</sup>	25.86 <sup>ab</sup>	16.68 <sup>kl</sup>
ไข่ไกร้อยละ 1.0	7.47 <sup>o</sup>	10.78 <sup>o</sup>	13.70 <sup>mn</sup>	17.42 <sup>ijk</sup>	22.65 <sup>cd</sup>	27.12 <sup>a</sup>	20.76 <sup>cdefgh</sup>
ไข่ไกร้อยละ 1.5	9.90 <sup>op</sup>	14.07 <sup>lm</sup>	15.46 <sup>klm</sup>	19.48 <sup>fghi</sup>	21.03 <sup>cdefgh</sup>	23.10 <sup>c</sup>	21.46 <sup>cdef</sup>

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่พบการเจริญของเส้นใยหรือการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

จากผลการทดลองพบการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์สูงสุดจากการใช้ปริมาณความเข้มข้นคือ ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีค่าเท่ากับ 2.36 กรัม/ลิตร รองลงมาคือความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มีค่าเท่ากับ 2.11 กรัม/ลิตร และความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีค่าเท่ากับ 1.59 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 72 ชั่วโมง ซึ่งมีการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.9 และพบการผลิตอินทราเซลล์ลูลาร์พอลิแซคคาไรด์สูงสุดจากความเข้มข้นคือ ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีค่าเท่ากับ 0.12 กรัม/ลิตร รองลงมาคือความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีค่าเท่ากับ 0.09 กรัม/ลิตร และความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มีค่าเท่ากับ 0.04 กรัม/ลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 96 ชั่วโมง ซึ่งพบการผลิตอินทราเซลล์ลูลาร์พอลิแซคคาไรด์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.10 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Luis และคณะ (2003) พบว่าไซไ้ (ไซ้แดง) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 สามารถผลิตเส้นใยชีวมวลของ *Furia sp.* ได้เท่ากับ 7 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร Ing และคณะ (2007) พบว่าการใช้ปริมาณแหล่งไนโตรเจนในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ความเข้มข้น 10, 15 และ 30 กรัม/ลิตร พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 10 กรัม/ลิตร สามารถผลิตปริมาณเส้นใยชีวมวลของเห็ดถั่งเช่าสีทองได้สูงที่สุด รองลงมา คือ 15 และ 30 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าปริมาณความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่มากเกินไปอาจส่งผลต่อการผลิตเส้นใยชีวมวลและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์จากเห็ดถั่งเช่าได้ลดลง

ตารางที่ 4.9 เฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันปริมาณของแหล่งไนโตรเจนในสภาวะอาหารเหลว ที่สภาวะอาหารเหลวความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	24	48	72	96	120
ปริมาณแหล่งไนโตรเจน (ร้อยละ)					
ไซไ้ร้อยละ 0.5	-	0.99 <sup>e</sup>	1.59 <sup>c</sup>	1.57 <sup>c</sup>	-
ไซไ้ร้อยละ 1.0	-	0.93 <sup>e</sup>	2.36 <sup>a</sup>	0.91 <sup>e</sup>	-
ไซไ้ร้อยละ 1.5	-	1.37 <sup>d</sup>	2.11 <sup>b</sup>	0.96 <sup>e</sup>	-

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่พบการเจริญของเส้นใยหรือการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

ตารางที่ 4.10 อินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันปริมาณแหล่งไนโตรเจนสภาวะอาหารเหลวที่สภาวะอาหารเหลวความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	24	48	72	96	120
ปริมาณแหล่งไนโตรเจน (ร้อยละ)					
ไซไ้ร้อยละ 0.5	-	0.02 <sup>g</sup>	0.06 <sup>e</sup>	0.09 <sup>cd</sup>	0.08 <sup>d</sup>
ไซไ้ร้อยละ 1.0	-	0.10 <sup>bc</sup>	0.10 <sup>b</sup>	0.12 <sup>a</sup>	0.12 <sup>a</sup>
ไซไ้ร้อยละ 1.5	-	0.002 <sup>h</sup>	0.03 <sup>fg</sup>	0.04 <sup>ef</sup>	0.01 <sup>h</sup>

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่พบการเจริญของเส้นใยหรือการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าหิมะ *Isaria tenuipes* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าเส้นใยเห็ดถั่งเช่ามีรูปร่างเป็นเส้นสาย แยกแขนงเป็นกิ่งก้านและเส้นใยมีผนังกันเป็นช่วงๆ (septate hyphae) และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 168 ชั่วโมง พบว่าเส้นใยมีปริมาณหนาแน่นมากขึ้น แยกแขนงเป็นกิ่งก้าน และภายในเส้นใยมีผนังกันเป็นช่วงๆชัดเจนมากขึ้น

จากการศึกษาลักษณะการเจริญของหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าหิมะ *Isaria tenuipes* ในสภาวะอาหารเหลว พบว่าหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหาร PDB เสริม มีการเจริญของเส้นใยชีวมวลสูงสุดเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยมีปริมาณน้ำหนักเส้นใยแห้งเท่ากับ 22.47 กรัม/ลิตร และลดลงที่ 120 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำหนักเส้นใยแห้งเท่ากับ 13.54 กรัม/ลิตร ดังนั้นจึงเลือกการเจริญเติบโตของเส้นใยที่ 72 ชั่วโมง เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการทดลอง

จากการศึกษาอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยชีวมวลและการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ โดยแปรผันแหล่งคาร์บอน พบว่าแหล่งคาร์บอนเหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยชีวมวล คือ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ มีค่าเท่ากับ 28.82 กรัม/ลิตร พบการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ เท่ากับ 1.05 กรัม/ลิตร และอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ เท่ากับ 0.82 กรัม/ลิตร

จากการทดลองแปรผันชนิดแหล่งไนโตรเจน พบการเจริญของเส้นใยชีวมวลสูงสุด คือ ไข่ไก่ มีค่าเท่ากับ 28.66 กรัม/ลิตร พบการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ เท่ากับ 2.30 กรัม/ลิตร และอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ เท่ากับ 0.12 กรัม/ลิตร และจากการแปรผันปริมาณแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนจากไข่ไก่ พบการเจริญของเส้นใยชีวมวลสูงสุด คือ ความเข้มข้นร้อยละ 1 มีค่าเท่ากับ 27.12 กรัม/ลิตร พบการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ เท่ากับ 2.36 กรัม/ลิตร และอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ เท่ากับ 0.12 กรัม/ลิตร

### ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาถึงโครงสร้างพอลิแซคคาไรด์ (ปีตา-กลูแคน) ซึ่งอาจใช้วิธีการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพอลิแซคคาไรด์ด้วยวิธีอื่นๆ เช่น การใช้เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) โดยใช้ Refractive index detector ในการวัดวิเคราะห์ เพื่อให้ได้พอลิแซคคาไรด์ที่จำเพาะมากยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ควรมีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสาระสำคัญชนิดอื่นๆที่ได้จากเห็ดถั่งเช่าหิมะ เช่น อะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน และกรดคอร์ไดเซปิก เป็นต้น เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับเห็ดถั่งเช่าทั้งด้านการผลิตและการค้าในเชิงพาณิชย์

3. ควรมีการนำเห็ดถั่งเช่าหิมะไปประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปในอนาคตเนื่องจากสารสำคัญหลายๆชนิดให้คุณประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์อย่างยิ่ง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ลดาวัลย์ ช่วยชาติ. 2553. การคัดเลือกและการผลิตเชื้อโชนพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียจากทะเล.

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สารโรจน์ รัตนชาติ. 2559. พอลิแซ็กคาไรด์. [ออนไลน์] Available: [http://www.mwit.ac.th/~](http://www.mwit.ac.th/~T2040113/data/Biochemistry)

T2040113/data/Biochemistry. (สืบค้นวันที่ 25 มีนาคม 2560)

สุขใจ สุพรรณพจน์. 2558. 10 คุณประโยชน์จากน้ำมันรำข้าว. [ออนไลน์] Available: [https://](https://health.kapook.com/view161729.html)

health.kapook.com/view161729.html (สืบค้นวันที่ 25 มีนาคม 2560)

อรอนงค์ นัยวิกุล. 2526. เอกสารประกอบการสอนวิชา วทอ.412 (ชีวเคมีอาหาร). ภาควิชา

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

152 น.

อภิชาติ วรรณวิจิตร. 2550. ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวสายพันธุ์ใหม่ ัญพืชเพื่อสุขภาพ. [ออนไลน์].

Available: <http://health.kapook.com/view99263.html> (สืบค้นวันที่ 22 ธันวาคม 2559)

Choi, S. Lin, M.H. Kim, K.M. Jeon, B.H. Song, W.O. and Kim, T. (2011). Cordycepin induced apoptosis and autophagy in breast cancer cells are independent of the estrogen receptor. *Toxicology Apply Pharmacology*. 257(2): 165-173.

Chun, X.J. Sinha, J. Bae, S.W. and Kim, J.W. (2006). Optimization of physical parameters for exo-biopolymer production in submerged mycelial cultures of two entomopathogenic fungi *Paecilomyces japonica* and *Paecilomyces tenuipes*. *Letters in Applied Microbiology*. 42: 501-506.

Dagley, S. Dawes, E.A. and Morrison, G.A. 1950. Factors Influencing the Early Phases of Growth of *Aerobacter aerogenes*. *Department of Biochemistry, School of Medicine, Lees*. 1: 437-443.

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

Hwang, H.J. Kim, S.W. Xu, C.P. Sung, J.M. Choi, J.W. and Yun, J.W. (2003). Optimization of submerged culture process for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Cordyceps militaris* C738. *Journal of Applied Microbiology*. 94: 120-126.

Ing, L. Shih, K.L. and Tsai, C.H. (2007). Effects of culture conditions on the mycelial

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- growth and bioactive metabolite production in submerged culture of *Cordyceps militaris*. *Biochemical Engineering Journal*. 33: 193–201
- Jing, W.C. Hong, E.K. Lee, J.S. Lee, K.E. Park, S.J. and Shin, W.C. (2014). Culture conditions and medium components for the production of mycelial biomass and exo-polysaccharides with *Paecilomyces japonica* in liquid culture. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 115: 433-437.
- Jong, S. Lee, W.C. Jung, S.J. Park, K.E. Lee, W.C. and Shin, E.K. (2013). Culture conditions and medium components for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides with *Paecilomyces japonica* in liquid culture. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 115(4): 433-437.
- Kim, S.W. Hwang, H.J. Xu, C.P. Na, Y.S. Song, S.K. and Yun, J.W. (2002). Influence of nutritional conditions on the mycelial growth and exopolysaccharide production in *Paecilomyces sinclairii*. *Letters in Applied Microbiology*. 34: 389–393.
- Lan, Y.W. Kit, C.D. Lan, M.J. and Zhao, S.P. (2015). Fermentation optimization for the production of bioactive polysaccharides from *Cordyceps sinensis* fungus UM01. *International Journal of Biological Macromolecules*. 79: 180-185.
- Lee, Y.C. Lin, C.Y. Tsai, W.J. WU, C.L. Chen, C.F. and Shiao, M.S. (2009). Growth inhibitors against tumor cells in *Cordyceps sinensis* other than cordycepin and polysaccharides. *Cancer Investigation*. 12(6): 611-615.
- Li, S.P. Li, P. Dong, T.X. and Tsin, K.W. (2009). Anti-oxidant activity of different type of natural *Cordyceps sinensis* and cultured *Cordyceps* mycelia. *Phytomedicine*. 8: 207-212.
- Ling, Y.R. Noh, E.M. Jeong, E.Y. Yun, S.K. Jeong, Y.J. Kim, J.H. Kwon, K.B. and Kim, J. (2009). Cordycepin inhibits UVB-induced matrix metalloproteinase expression by suppressing the NF-KB pathway in human dermal fibroblast. *Experimental and Molecular Medicine* 41(8): 548-554.
- Linna, D. Wenting, W.P. Chen, S.J. Lu, Q. and Meng, L.T. (2012). Optimizing the Conditions for Polysaccharides Ultrasonic-assisted Extraction in Mycelium of *Paecilomyces tenuipes* Pt196 Using Statistical Approach. *Advanced Materials Research*. 13: 756-759

- Luis, G. LEITE, S.B. ALVES, A.B. FILHO, and Donald, W.R. (2003). Effect of salts, vitamins, sugars and nitrogen sources on the growth of three genera of Entomophthorales: *Batkoa*, *Furia* and *Neozygites*. *The British Mycological Society*. 107(7): 872–878.
- Mao, X.B. and Zhong, J.J. (2006). Significant effect of  $\text{NH}_4^+$  on cordycepin production by submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Enzyme and Microbial Technology*. 38: 343–350.
- Mcintosh, J. 2015. Eggs: health Benefits, Nutrition information Risk. [online] available: <http://www.medicalnewstoday.com/articles/283659.php> (สืบค้นวันที่ 25 มีนาคม 2560)
- Neureiter, M. Danner, H. Thomasser, C. Saidi, B. and Braun, R. (2002). Dilute-acid hydrolysis of sugarcane bagasse at varying condition. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 98: 49-58.
- Park, J.P., Kim, S.W., Wang, H.J., Cho, Y.J., and Yun, J.W. (2002). Stimulatory effect of plant oils and fatty acids on the exo-biopolymer production in *Cordyceps militaris*. *Enzyme and Microbial Technology*. 31: 250–255.
- Sapan, K.S. (2015). Optimized Extraction and Antioxidant Activities of Polysaccharides from Two Entomogenous Fungi. Department of Plant Pathology, CSK, Himachal Pradesh Agriculture University. India.
- Seth, R. Haider, S.Z. and Mohan, M. (2014). Pharmacology, phytochemistry and traditional uses of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc: A recent update for future prospects. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 13(3): 551-556.
- Shuang, Y.L. Jin, X. Ren, J. and Lu, Q.M. (2014). Optimization of fermentation process of *Cordyceps militaris* and antitumor activities of polysaccharides in vitro. *Journal of Food and Drug Analysis*. 13: 468-476.
- Sumalee, S. Urrat, S. Sutichai, N. Kanoksri, T.J. and Jennifer, L. (2011). Beauvericin production by the Lepidoptera pathogenic fungus *Isaria tenuipes*: Analysis of natural specimens, synnemata from cultivation, and mycelia from liquid-media fermentation. *Natural Products and Bioprospecting*. 1: 112–115.
- Tallon, R., Bressollier, P. and Urdaci, M.C. (2003). Isolation and characterization of two exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* EP56. *Microbiology*. 154: 705-712.

- Tuli, H.S. Sharma, A.K., Sandhu, S.S. and Kashyap, D. (2014). Optimization of fermentation conditions for cordycepin production using *Cordyceps militaris* 3936. *Journal of Biological Science*. 1: 35-47.
- Tuli, Y. Chen, Y.C. Lin, Y.T. Huang, S.H. and Wang, S.M. (2010). Cordycepin induces apoptosis of CGTH W-2 thyroid carcinoma cells through the calcium-calpain-caspase 7-PARP pathway. *Journal Food Chemistry*. 58(22): 11645-11652.
- USDA National Nutrient Database. 2559. Egg. [online]. Available :<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/118?fgcd&man&facet&count&max=35&sort&qlookup=egg+whole+boiled&offset&format=Full&new&measureby> (สืบค้นวันที่ 9 เมษายน 2560)
- Wai, P. Pranee, R. Sutamat, K. Jean, S. Pariyada, T. and Pawadee, M (2013). Optimization, characterization and in vitro evaluation of entomopathogenic fungal exopolysaccharides as prebiotic. *Science Publishing Group*. 1(2): 13-21.
- Wong, K.L. Meng, L. Shao, P.Z. Wang, L.Y. Wu, D.T. and Zhao, J. (2011). Fermentation optimization for the production of bioactive polysaccharide from *Coedyceps sinensis* fungus UM01. *International Journal of biological Macromolecules*, 79: 180-185.
- Yin, H. Qiao, C. Qin, S. Tang, W. and Jia, S. (2013). Optimization of fermentation Medium for *Cordyceps sinensis*. *Food Reserce and Deverlopment*. 34: 5-8.
- Zhen, Y.Z. Xiao, C.L. Ya, L.T. Feng, Y.D. Hui, Q. Sun, L. and Chen, Y.M. (2016). Effects of cultural medium on the formation and antitumor activity of polysaccharides by *Cordyceps gunnii*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 11: 1-5.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

## สูตรอาหารและการเพาะเลี้ยง

## 1. สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะ

## ตารางที่ 1 สูตรอาหาร YMP (Jong, 2013)

สิ่งที่ใช้	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
ยีสต์สกัด	10
เปปโตน	10
น้ำตาลกลูโคส	10
มอลต์สกัด	15

## ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะ

1. ชั่งสาร (ยีสต์สกัด เปปโตน น้ำตาลกลูโคส และมอลต์สกัด) แล้วนำมาละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำมาพักทิ้งไว้ 1 คืน หรือ 12 ชั่วโมง

## ตารางที่ 2 สูตรอาหาร PDB (ดัดแปลงจาก ลุงหยุด, 2556)

สิ่งที่ใช้	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
ยีสต์สกัด	5
เปปโตน	5
น้ำตาลกลูโคส	20
มันฝรั่ง	200
ข้าวโพดอ่อน	50
น้ำกลั่น	1

## ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะ

1. เตรียมมันฝรั่งล้างน้ำให้สะอาดปอกเปลือกหั่นแบบเลย์ซีฟความหนาประมาณ 3 มิลลิเมตร

2. เตรียมข้าวโพดอ่อนปอกเปลือกสะอาดผ่าครึ่งตามยาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการขงในลิขสิทธิ์ที่ขอใช้เท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ต้มมันฝรั่ง (200 กรัม) และข้าวโพดอ่อน (50 กรัม) ในน้ำกลั่น 1 ลิตร เมื่อน้ำเดือดให้จับเวลา 20 นาที กรองเอาแต่น้ำด้วยผ้าขาวบาง

4. นำส่วนผสมอื่น (กลูโคส เปปโตน ยีสต์สกัด) มาใส่รวมกันในน้ำมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อน คนจนส่วนผสมเข้ากันดี

5. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำมาพักทิ้งไว้ 1 คืน หรือ 12 ชั่วโมง

ตารางที่ 3 สูตรอาหาร PDB เสริม (ดัดแปลงจาก ลุงหยุด, 2556)

สิ่งที่ใช้	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
ธัญพืช (รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่)	40 กรัมต่อขวด
ผงดักแด้/ตัวหนอน	30/50
เปปโตน	5
น้ำตาลกลูโคส	20
มันฝรั่ง	200
ข้าวโพดอ่อน	50
น้ำกลั่น	1.2
ยีสต์สกัด	5

#### ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าหิมะ

1. เตรียมมันฝรั่งล้างน้ำให้สะอาดปอกเปลือกหั่นแบบเลย์ซีฟความหนาประมาณ 3 มิลลิเมตร
2. เตรียมข้าวโพดอ่อนปอกเปลือกสะอาดผ่าครึ่งตามยาว
3. ต้มมันฝรั่ง (200 กรัม) และข้าวโพดอ่อน (50 กรัม) ในน้ำกลั่น 1 ลิตร เมื่อน้ำเดือดให้จับเวลา 20 นาที กรองเอาแต่น้ำด้วยผ้าขาวบาง
4. นำส่วนผสมอื่น (กลูโคส เปปโตน ยีสต์สกัด) มาใส่รวมกันในน้ำมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อน คนจนส่วนผสมเข้ากันดี
5. นำดักแด้ 50 กรัมมาปั่นกับส่วนผสมทั้งหมด แล้วคนจนส่วนผสมเข้ากันดี
6. เตรียมข้าวกล็องใส่ขวดแก้วประมาณ 40 กรัม และนำส่วนผสมตามข้อ 6 ใส่ลงในขวด

ประมาณ 60 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 สูตรอาหาร PDA เสริม (ดัดแปลงจาก ลุงหยุด, 2556)

สิ่งที่ใช้	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
ยีสต์สกัด	5
เปปโตน	5
น้ำตาลกลูโคส	20
มันฝรั่ง	200
ข้าวโพดอ่อน	50
น้ำกลั่น	1
ผงวุ้น	20

#### ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถึงเข้าหิมะ

1. เตรียมมันฝรั่งล้างน้ำให้สะอาดปอกเปลือกหั่นแบบเลย์ซีฟความหนาประมาณ 3 มิลลิเมตร
2. เตรียมข้าวโพดอ่อนปอกเปลือกสะอาดผ่าครึ่งตามยาว
3. ต้มมันฝรั่ง (200 กรัม) และข้าวโพดอ่อน (50 กรัม) ในน้ำกลั่น 1 ลิตร เมื่อน้ำเดือดให้จับเวลา 20 นาที กรองเอาแต่น้ำด้วยผ้าขาวบาง
4. นำส่วนผสมอื่น (กลูโคส เปปโตน ยีสต์สกัด และผงวุ้น) มาใส่รวมกันในน้ำมันฝรั่ง และข้าวโพดอ่อน คนจนส่วนผสมเข้ากันดี
5. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำมาพักทิ้งไว้ 1 คืน หรือ 12 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ภาคผนวก ข**  
**ขั้นตอนการเพาะเลี้ยง**

ขั้นตอน	สภาพแวดล้อม	ข้อสังเกต	ระยะเวลา
1. เพาะเลี้ยงหัวเชื้อในอาหาร PDA เสริม	แสง : มีด อุณหภูมิ : 18-22 องศาเซลเซียส ความชื้น : ร้อยละ 60-65	ลักษณะเส้นใยเจริญเต็ม	7 วัน
2. เพาะเลี้ยงหัวเชื้อเหลวในอาหาร PDB เสริม โดยตัดชิ้นวุ้นจากอาหาร PDA เสริม 3 ชิ้น ชิ้นละ 1x1 เซนติเมตร	แสง : มีด อุณหภูมิ : 25 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่า : 150 รอบต่อนาที	ลักษณะเส้นใยเป็นก้อน กระจายทั่วอาหาร PDB	3-4 วัน
3. เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง (ตัวหนอน และข้าวธัญพืช)	แสง : มีด อุณหภูมิ : 18-22 องศาเซลเซียส ความชื้น : ร้อยละ 60-65	ลักษณะเส้นใยสีขาว กระจายทั่วอาหารแข็ง	14 วัน
4. กระตุ้นโดยใช้แสง เพื่อทำการเปิดดอก	แสง : 180 ลักซ์ อุณหภูมิ : 18-22 องศาเซลเซียส ความชื้น : ร้อยละ 70-75	เส้นใยราเจริญเต็มโหล แก้ว	7 วัน
5. เจริญเติบโตเต็มที่	แสง : 180 ลักซ์ อุณหภูมิ : 20-22 องศาเซลเซียส ความชื้น : ร้อยละ 80-85	ลักษณะเส้นใยเจริญเป็น ดอกเห็ดและสปอร์	14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

### วิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์หาน้ำหนักเส้นใยแห้ง

น้ำหนักแห้งเส้นใย (กรัม) = น้ำหนักหลอดที่มีเซลล์แห้งหลังอบ - น้ำหนักหลอดเปล่าหลังอบ

วิเคราะห์สารละลายกลูโคสมาตรฐาน

#### 1. การวิเคราะห์สารละลายกลูโคสมาตรฐานของฟีนอลซัลฟิวริก

1.1 เจือจางความเข้มข้นสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 1000 ไมโครกรัม

1.2 นำสารละลายกลูโคสมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นและตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นมาอย่างละ 0.5 มิลลิลิตร เติมฟีนอลร้อยละ 5 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 15 นาที แล้วเขย่า

1.3 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร และค่าที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน และคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

#### 2. การวิเคราะห์สารละลายกลูโคสมาตรฐานของกรด 3, 5-ไดไนโตรซาลิไซลิก

2.1 เจือจางความเข้มข้นสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 1000 ไมโครกรัม

2.2 นำสารละลายกลูโคสมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นและสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นมาอย่างละ 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

2.3 เติมสารละลาย DNS 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิดฝาแล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการแช่หลอดทดลองในน้ำเย็นทันทีเพื่อหยุดปฏิกิริยาการเกิดสีเป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

2.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ค่าที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน และคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

การวิเคราะห์พอลิแซคคาไรด์

#### 1. การสกัดการสกัดสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ (IPS)

1.1 ตัวอย่างตะกอนเส้นใยแห้ง 400 มิลลิกรัม มาแช่ในน้ำกลั่นปริมาตร 8 มิลลิลิตร

เอกซอสที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำสองซ้ำ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าการณ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ทำการสกัดโดยเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (ปริมาตร/ปริมาตร) 4 เท่าของ ปริมาตร โดยทำการตะกอนเอทานอลที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง และนำไป หมุนเหวี่ยงที่ 5000 g เป็นเวลา 20 นาที

1.3 เก็บตะกอนของอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ด้วยวิธี phenol sulfuric acid และปริมาณน้ำตาลรีดิวส์จากพอลิแซคคาไรด์ภายในเซลล์โดยวิธี DNS method

## 2. การสกัดการสกัดสารพอลิแซคคาไรด์ที่อยู่ภายนอกเซลล์ (EPS)

2.1 ส่วนใสของตัวอย่างที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง มาทำการสกัดโดยเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (ปริมาตร/ปริมาตร) 4 เท่าของปริมาตร โดยทำการตะกอนเอทานอลที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง

2.2 นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 5000 g เป็นเวลา 20 นาที เพื่อตกตะกอนสารสารพอลิแซคคาไรด์

2.3 เก็บตะกอนของพอลิแซคคาไรด์ที่สร้างขึ้นภายนอกเซลล์ เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ด้วยวิธี phenol sulfuric acid และปริมาณน้ำตาลรีดิวส์จากพอลิแซคคาไรด์ภายในเซลล์โดยวิธี DNS method

ปริมาณสารพอลิแซคคาไรด์ (กรัม/ลิตร) = ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด - ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง

### วิธีการคำนวณ

#### วิธีคำนวณน้ำหนักแห้ง

1. ชั่งน้ำหนักหลอดเปล่าที่อบในเตาซีเคเตอร์แล้วบันทึกค่า
2. เก็บตัวอย่างและชั่งน้ำหนัก (น้ำหนักหลอดเปล่าและน้ำหนักเซลล์) นำไปอบแห้งบันทึกค่า
3. นำค่าที่ได้มาคำนวณตามสมการนี้

$$\text{น้ำหนักแห้งเส้นใย (กรัม)} = \text{น้ำหนักหลอดที่มีเซลล์แห้งหลังอบ} - \text{น้ำหนักหลอดเปล่าหลังอบ}$$

#### วิธีการคำนวณปริมาณไนโตรเจนในไข่

โดยใช้หลักการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในอาหารโดยวิธี Kjeldahl Method (Determination of Protein in Foods by Kjeldahl Method, 1800) จากการเทียบหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด จากหลักการที่ว่าโปรตีนจะมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 16

ไข่ไก่ 100 กรัม จะมีปริมาณโปรตีนอยู่ 12.3 กรัม ดังนั้น

ในปริมาณโปรตีน 100 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนอยู่ 16 กรัม

$$\text{ถ้าปริมาณโปรตีน 12.3 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนอยู่ } \frac{12.3 \times 16}{100} = 1.97 \text{ กรัม}$$

แหล่งไนโตรเจน	ปริมาณไนโตรเจน(กรัม/100กรัม)
เปปโติน	11.0
ยีสต์สกัด	19.6

ตารางภาคผนวกที่ ง-1 แสดงปริมาณไนโตรเจนของยีสต์สกัดและเปปโติน

ที่มา : Becto, Dickinson and Company, 2015

จากตารางที่ ง-1 สามารถคำนวณการใช้ปริมาณไนโตรเจน ดังนี้

ปริมาณเปปโติน 100 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนอยู่ 11 กรัม

$$\text{ในการทดลองจริงใช้ปริมาณเปปโติน 5 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนอยู่ } \frac{5 \times 11}{100} = 0.55 \text{ กรัม}$$

ปริมาณยีสต์สกัด 100 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนอยู่ 19.6 กรัม

$$\text{ไม่ว่ากรณีใดในการทดลองใช้ปริมาณยีสต์สกัด 5 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนอยู่ } \frac{5 \times 19.6}{100} = 0.98 \text{ กรัม}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์ การนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย

ดังนั้นค่าปริมาณไนโตรเจนจากการใช้เปปโติน และยีสต์สกัดอย่างละ 5 กรัมต่อลิตร คือ  
 $0.55 + 0.98 = 1.53$  กรัม

ดังนั้นวิธีการคำนวณปริมาณไข่ไก่ที่จะใช้แทนยีสต์สกัดและเปปโติน มีวิธีการคำนวณ ดังนี้

ปริมาณไข่ไก่ที่จะนำไปใช้ทดแทนยีสต์สกัดและเปปโติน คือ ร้อยละ 0.5, 1 และ 1.5 จากการใช้ยีสต์สกัดและเปปโตินในปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร พบว่ายีสต์สกัดและเปปโตินมีปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 1.53 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจะใช้ปริมาณไข่ไก่จากการคำนวณ ดังนี้

ไข่ไข่ไก่แทนร้อยละ 1

การใช้ไข่ไก่แทนร้อยละ 1 จะต้องมีปริมาณไนโตรเจน คือ  $\frac{1.53 \times 1}{100} = 0.015$  กรัม

ดังนั้น โปรตีนที่มาจากไข่มีไนโตรเจน 1.97 กรัม ซึ่งไข่ 1 ฟองมีน้ำหนักประมาณ 40.6 กรัม

ถ้าไนโตรเจนที่มาจากยีสต์สกัดและเปปโติน 0.015 กรัม จะใช้ไข่ไก่ทดแทน

$$\frac{0.015 \times 40.6}{1.97} = 0.311 \text{ กรัม}$$

ไข่ไข่ไก่แทนร้อยละ 0.5

การใช้ไข่ไก่แทนร้อยละ 0.5 จะต้องมีปริมาณไนโตรเจน คือ  $\frac{1.53 \times 0.5}{100} = 0.008$  กรัม

ดังนั้นปริมาณไนโตรเจนจากไข่ไกร้อยละ 1 มีไนโตรเจน 0.015 กรัม จะมีไข่ไก่ที่ใช้ทดแทน 0.311 กรัม

ปริมาณไนโตรเจนจากไข่ไกร้อยละ 0.5 มีไนโตรเจน 0.008 กรัม จะมีไข่ไก่ที่ใช้ทดแทน

$$\frac{0.008 \times 0.311}{0.015} = 0.16 \text{ กรัม}$$

ไข่ไข่ไก่แทนร้อยละ 1.5

การใช้ไข่ไก่แทนร้อยละ 1.5 จะต้องมีปริมาณไนโตรเจน คือ  $\frac{1.53 \times 1.5}{100} = 0.023$  กรัม

ดังนั้นปริมาณไนโตรเจนจากไข่ไกร้อยละ 1 มีไนโตรเจน 0.015 กรัม จะมีไข่ไก่ที่ใช้แทน 0.311 กรัม

ปริมาณไนโตรเจนจากไข่ไกร้อยละ 1.5 มีไนโตรเจน 0.023 กรัม จะมีไข่ไก่ที่ใช้ทดแทน

$$\frac{0.023 \times 0.311}{0.015} = 0.47 \text{ กรัม}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### วิธีการคำนวณปริมาณไนโตรเจนจากทริปโตน

ทริปโตน 100 กรัมจะมีปริมาณไนโตรเจนร้อยละ 13.9 (Bacto Dickinson and company)

#### ใช้ทริปโตนร้อยละ 1

ทริปโตน 100 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนเป็น 13.9 กรัม

ในการทดลองจริงใช้ 10 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนเป็น  $\frac{10 \times 13.9}{100} = 1.39$  กรัม

ดังนั้นมีปริมาณไนโตรเจน 1.39 กรัม จากยีสต์สกัดและเปปโตน 10 กรัม

ทริปโตนมีปริมาณไนโตรเจน 1.39 กรัม จะใช้ทริปโตน  $\frac{1.39 \times 10}{1.53} = 9.08$  กรัม

#### ใช้ทริปโตนร้อยละ 0.5

ทริปโตน 100 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนเป็น 13.9 กรัม

ในการทดลองจริงใช้ 5 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนเป็น  $\frac{5 \times 13.9}{100} = 0.695$  กรัม

ดังนั้นมีปริมาณไนโตรเจน 0.695 กรัม จากยีสต์สกัดและเปปโตน 10 กรัม

ทริปโตนมีปริมาณไนโตรเจน 0.695 กรัม จะใช้ทริปโตน  $\frac{0.695 \times 10}{1.53} = 4.54$  กรัม

#### ใช้ทริปโตนร้อยละ 1.5

ทริปโตน 100 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนเป็น 13.9 กรัม

ในการทดลองจริงใช้ 15 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนเป็น  $\frac{15 \times 13.9}{100} = 2.085$  กรัม

ดังนั้นมีปริมาณไนโตรเจน 2.085 กรัม จากยีสต์สกัดและเปปโตน 10 กรัม

ทริปโตนมีปริมาณไนโตรเจน 2.085 กรัม จะใช้ทริปโตน  $\frac{2.085 \times 10}{1.53} = 13.62$  กรัม

### วิธีการคำนวณสารละลาย (Stock Solution)

การคำนวณสารละลายเข้มข้น (Stock Solution) ถ้าต้องการสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ด้วยปฏิกิริยาของกรด 3, 5-ไดไนโตรซาลิไซลิก สามารถคำนวณได้ดังนี้ เตรียมโดยการชั่งกลูโคส 0.1 กรัม ละลายน้ำบริสุทธิ์สูงปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 0.001 กรัมต่อมิลลิลิตร

1 กรัม เท่ากับ 1000 มิลลิกรัม

0.001 กรัม เท่ากับ 1 มิลลิกรัม

1 มิลลิกรัม เท่ากับ 1000 ไมโครกรัม

ดังนั้นสารละลายกลูโคสมาตรฐานเข้มข้น 0.001 กรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 1000 ไมโครกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของกรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์ หากมีผู้ใดนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต หรือมีการดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

$$\text{คำนวณจากสูตร } C_1V_1 = C_2V_2$$

$$1000 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} \times V_1 = 100 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} \times 5 \text{ มิลลิลิตร}$$

$$V_1 = 0.5 \text{ มิลลิลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายกลูโคสมาตรฐาน ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรและเติมน้ำบริสุทธิ์สูง ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร

สารละลายความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

$$\text{คำนวณจากสูตร } C_1V_1 = C_2V_2$$

$$1000 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} \times V_1 = 200 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} \times 5 \text{ มิลลิลิตร}$$

$$V_1 = 1 \text{ มิลลิลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายกลูโคสมาตรฐาน ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตรและเติมน้ำบริสุทธิ์สูง ปริมาตร 4 มิลลิลิตร

สารละลายความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

$$\text{คำนวณจากสูตร } C_1V_1 = C_2V_2$$

$$1000 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} \times V_1 = 400 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} \times 5 \text{ มิลลิลิตร}$$

$$V_1 = 2 \text{ มิลลิลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายกลูโคสมาตรฐาน ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตรและเติมน้ำบริสุทธิ์สูง ปริมาตร 3 มิลลิลิตร

สารละลายความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

$$\text{คำนวณจากสูตร } C_1V_1 = C_2V_2$$

$$1000 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} \times V_1 = 600 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} \times 5 \text{ มิลลิลิตร}$$

$$V_1 = 3 \text{ มิลลิลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายกลูโคสมาตรฐาน ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตรและเติมน้ำบริสุทธิ์สูง ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

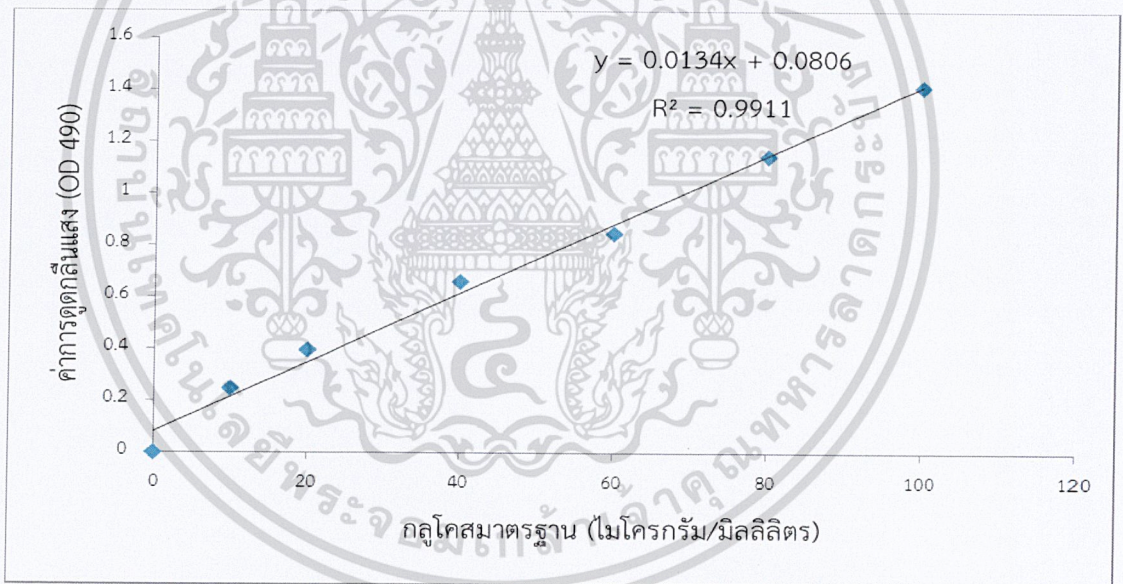
$$1000 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} \times V_1 = 800 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} \times 5 \text{ มิลลิลิตร}$$

$$V_1 = 4 \text{ มิลลิลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายกลูโคสมาตรฐาน ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 4 มิลลิลิตรและเติมน้ำบริสุทธิ์สูง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

การคำนวณสารละลายกลูโคสมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) ด้วยวิธีฟินอลซัลฟูริก ใช้วิธีคำนวณเช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ด้วยปฏิกิริยาของกรด 3, 5-ไดไนโตรซาลิไซลิก ที่ความเข้มข้น 20 40 60 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

**วิธีคำนวณสารละลายกลูโคสมาตรฐานของวิธีฟินอลซัลฟูริก**



รูปที่ ง-1 กราฟสารละลายกลูโคสมาตรฐานของวิธีฟินอลซัลฟูริก

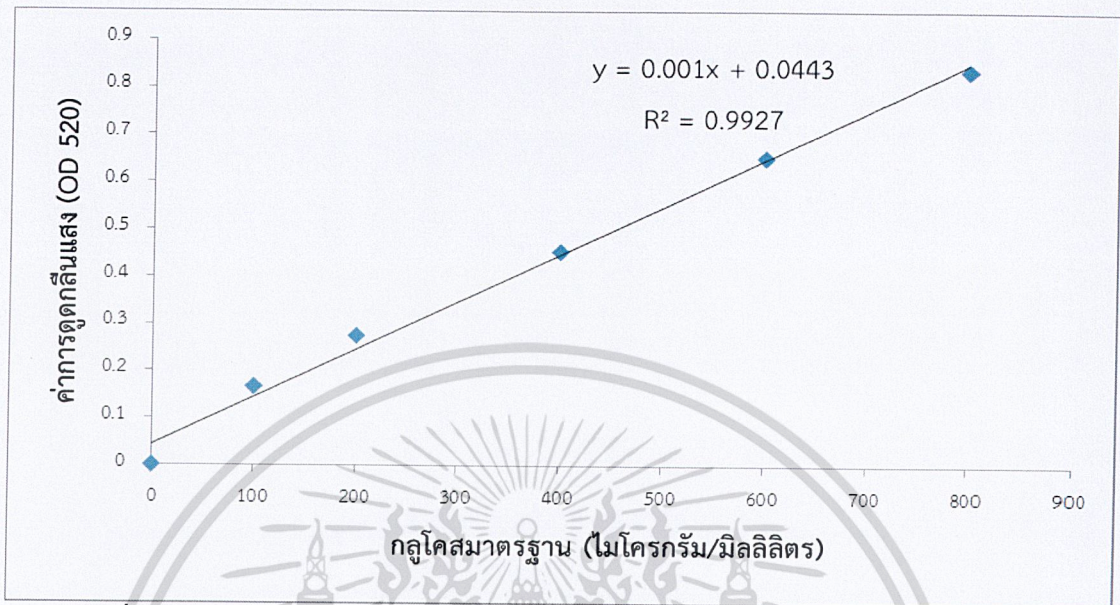
นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากสารตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) มาคำนวณจากสมการ ดังนี้

$$X = \frac{Y - 0.0806}{0.0134}$$

โดย Y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็น X คือ สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### วิธีคำนวณสารละลายกลูโคสมาตรฐานด้วยปฏิกิริยาของกรด 3, 5-ไดไนโตรซาลิไซลิก



รูปที่ ง-2 กราฟสารละลายกลูโคสมาตรฐานวิธีปฏิกิริยาของกรด 3, 5-ไดไนโตรซาลิไซลิก

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากสารตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) มาคำนวณจากสมการ ดังนี้

$$X = \frac{Y - 0.0443}{0.001}$$

โดย Y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร

X คือ สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก จ

### ผลการทดลอง

การวิเคราะห์ค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-1 ค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งเพื่อใช้ในการคัดเลือกชนิดหัวเชื้ออาหารและเวลาที่ใช้ในการทดลอง

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Medium	1	46.06	46.060	38.35	0.000
Time	7	2016.00	288.000	239.81	0.000
Medium*Time	7	77.86	11.123	9.26	0.000
Error	32	38.43	1.201		
Total	47	2178.35			

S = 1.09589 R-sq = 98.24% R-sq(adj) = 97.41% R-sq(pred) = 96.03%

ตารางที่ จ-2 แสดงปัจจัยของชนิดอาหารที่มีผลต่อการผลิตหัวเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

Medium	N	Mean	Grouping
PDB	24	10.5050	A
YMP	24	8.5458	B

ตารางที่ จ-3 แสดงปัจจัยของเวลาที่มีผลต่อการผลิตหัวเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

Time	N	Mean	Grouping
96 hr.	6	19.3167	A
72 hr.	6	14.5833	B
120 . hr.	6	13.8667	B C
144 hr.	6	12.3033	C
48 hr.	6	9.5633	D
168 hr.	6	6.3967	E
24 hr.	6	0.1733	F

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิใช่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-4 แสดงปัจจัยของชนิดอาหารและเวลาที่มีผลต่อการผลิตหัวเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

Medium	Time	N	Mean	Grouping
PDB	96 hr.	3	22.4733	A
PDB	72 hr.	3	17.2600	B
YMP	96 hr.	3	16.1600	B C
YMP	120 hr.	3	14.1867	B C D
PDB	120 hr.	3	13.5467	C D
YMP	168 hr.	3	12.6400	D
PDB	168 hr.	3	11.9667	D
YMP	72 hr.	3	11.9067	D
PDB	24 hr.	3	11.0733	D E
PDB	168 hr.	3	8.0533	E F
YMP	168 hr.	3	7.4000	F
PDB	24 hr.	3	5.3933	F
YMP	24 hr.	3	0.3200	G
PDB	24 hr.	3	0.0267	G
PDB	0 hr.	3	0.0000	G
YMP	0 hr.	3	0.0000	G

ตารางที่ จ-5 เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยชีวมวลของหัวเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงเหลว

ชนิดอาหาร	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัม/ลิตร)
PDB เสริม	22.473 <sup>a</sup>
YMP	16.160 <sup>bc</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

ตารางที่ จ-6 ค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ เพื่อใช้ในการคัดเลือกแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมและเวลาที่ใช้ในการทดลอง

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Carbon source	3	0.3758	0.125282	36.34	0.000
Time	7	6.1569	0.879554	255.12	0.000

Carbon source * Time	21	1.5648	0.074512	21.61	0.000
Error	64	0.2206	0.003448		
Total	95	8.3181			

S = 0.0587166 R-sq = 97.35% R-sq(adj) = 96.06% R-sq(pred) = 94.03%

ตารางที่ จ-7 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์

Carbon source	N	Mean	Grouping
Rice Grain	24	0.424218	A
Rice Germ	24	0.368364	B
PDB	24	0.332310	B
Rice Bran	24	0.251830	C

ตารางที่ จ-8 แสดงปัจจัยของเวลาที่มีผลต่อการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์

Time	N	Mean	Grouping
96 hr.	12	0.699256	A
72 hr.	12	0.595891	B
120 hr.	12	0.595251	B
144 hr.	12	0.376309	C
48 hr.	12	0.306351	C
24 hr.	12	0.163191	D
168 hr.	12	0.017196	E

ตารางที่ จ-9 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งคาร์บอนและเวลาที่มีผลต่อการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์

Carbon source	Time	N	Mean	Grouping
Rice Grain	96 hr.	3	1.05016	A
Rice Grain	72 hr.	3	0.89663	A B
PDB	96 hr.	3	0.77723	B C
Rice Germ	120 hr.	3	0.70952	B C D
PDB	72 hr.	3	0.67376	C D E
PDB	120 hr.	3	0.65046	C D E
Rice Bran	120 hr.	3	0.56907	D E F

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานี้ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่มีการเผยแพร่สิ่งอื่นใดที่มิได้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องขออนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rice Germ	96 hr.	3	0.54400	D E F G
Rice Grain	144 hr.	3	0.49496	E F G
Rice Germ	48 hr.	3	0.48698	E F G
Rice Grain	120 hr.	3	0.45196	F G
Rice Germ	144 hr.	3	0.43272	F G
Rice Bran	96 hr.	3	0.42564	F G
Rice Germ	72 hr.	3	0.41225	F G H
Rice Grain	48 hr.	3	0.40156	F G H
Rice Bran	72 hr.	3	0.40091	F G H
PDB	144 hr.	3	0.39165	F G H
Rice Germ	24 hr.	3	0.35489	G H I
Rice Bran	24 hr.	3	0.23572	H I J
Rice Bran	144 hr.	3	0.18590	I J K
Rice Bran	48 hr.	3	0.17718	I J K
PDB	48 hr.	3	0.15969	J K
Rice Grain	24 hr.	3	0.06215	J K
Rice Grain	168 hr.	3	0.03632	K
Rice Bran	168 hr.	3	0.02022	K
Rice Germ	168 hr.	3	0.00655	K
PDB	168 hr.	3	0.00569	K

ตารางที่ จ-10 เปรียบเทียบการเจริญของเฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากการแปรรูปแหล่งคาร์บอนในอาหารเพาะเลี้ยงเหลว

ชนิดอาหาร	เฮกโซพอลิแซคคาไรด์ (กรัม/ลิตร)
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	1.050 <sup>a</sup>
จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่	0.709 <sup>b</sup>
รำข้าวไรซ์เบอร์รี่	0.569 <sup>b</sup>
PDB เสริม	0.777 <sup>b</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-11 ค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ เพื่อใช้ในการคัดเลือกแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมและเวลาที่ใช้ในการทดลอง

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Carbon source	3	0.00611	0.00204	12.35	0.000
Time	7	7.23512	1.03359	6264.38	0.000
Carbon source * Time	21	0.29223	0.01392	84.34	0.000
Error	64	0.01056	0.00016		
Total	95	7.54401			

S = 0.0128450 R-sq = 99.86% R-sq(adj) = 99.79% R-sq(pred) = 99.69%

ตารางที่ จ-12 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการผลิตสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์

Carbon source	Time	Mean	Grouping
Rice Bran	24	0.236879	A
Rice Grain	24	0.231200	A B
PDB	24	0.222020	B C
Rice Germ	24	0.216260	C

ตารางที่ จ-13 แสดงปัจจัยของเวลาที่มีผลต่อการผลิตสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์

Time	N	Mean	Grouping
96 hr.	12	0.903930	A
72 hr.	12	0.265355	B
120 hr.	12	0.237985	C
48 hr.	12	0.216094	D
24 hr.	12	0.147750	E
144 hr.	12	0.029066	F
168 hr.	12	0.012536	G

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการวิจัยเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-14 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งคาร์บอนและเวลาที่มีผลต่อการผลิตสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์

Carbon source	Time	N	Mean	Grouping
Rice Bran	96 hr.	3	1.09174	A
Rice Germ	96 hr.	3	0.92756	B
Rice Grain	96 hr.	3	0.82905	C
PDB	96 hr.	3	0.76736	D
Rice Grain	72 hr.	3	0.34538	E
PDB	120 hr.	3	0.28711	F
Rice Grain	120 hr.	3	0.28537	F
PDB	48 hr.	3	0.28471	F
Rice Germ	72 hr.	3	0.24843	F G
Rice Bran	72 hr.	3	0.24818	F G
Rice Germ	120 hr.	3	0.22891	G H
Rice Germ	48 hr.	3	0.22562	G H I
PDB	72 hr.	3	0.21944	G H I J
Rice Grain	24 hr.	3	0.19453	H I J K
Rice Bran	24 hr.	3	0.18663	I J K L
Rice Bran	24 hr.	3	0.18190	J K L M
Rice Grain	48 hr.	3	0.16742	K L M
Rice Bran	120 hr.	3	0.15055	L M
PDB	24 hr.	3	0.14068	M
Rice Germ	24 hr.	3	0.07389	N
PDB	144 hr.	3	0.05314	N O
Rice Bran	144 hr.	3	0.02573	O P
PDB	168 hr.	3	0.02371	O P
Rice Grain	144 hr.	3	0.02013	O P
Rice Germ	144 hr.	3	0.01727	O P
Rice Bran	168 hr.	3	0.01030	P
Rice Germ	168 hr.	3	0.00841	P
Rice Grain	168 hr.	3	0.00772	P

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-15 เปรียบเทียบการเจริญของอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันแหล่งคาร์บอนในอาหารเพาะเลี้ยงเห็ด

ชนิดอาหาร	อินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ (กรัม/ลิตร)
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	0.829 <sup>c</sup>
จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่	0.927 <sup>b</sup>
รำข้าวไรซ์เบอร์รี่	1.091 <sup>a</sup>
PDB เสริม	0.767 <sup>d</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

ตารางที่ จ-16 ค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยเพื่อใช้ในการคัดเลือกแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมและเวลาที่ใช้ในการทดลอง

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Carbon source	3	90.32	30.11	79.83	0.000
Time	7	10688.25	1526.89	4048.71	0.000
Carbon source * Time	21	590.53	28.12	74.56	0.000
Error	64	24.14	0.38		
Total	95	11393.23			

S = 0.614110 R-sq = 99.79% R-sq(adj) = 99.69%

ตารางที่ จ-17 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของเส้นใย

Carbon source	N	Mean	Grouping
Rice Bran	24	15.6133	A
Rice Grain	24	15.5613	A
Rice Germ	24	14.7442	B
PDB	24	13.2125	C

ตารางที่ จ-18 แสดงปัจจัยของเวลาที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของเส้นใย

Time	N	Mean	Grouping
144 hr.	12	25.0117	A
120 hr.	12	24.3000	A B
96 hr.	12	23.9333	B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำออกจำหน่ายหรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสาร

168 hr.	12	21.5167	C
72 hr.	12	19.2267	D
48 hr.	12	4.1743	E
24 hr.	12	0.1000	F

ตารางที่ จ-19 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งคาร์บอนและเวลาที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของเส้นใย

Carbon source	Time	N	Mean	Grouping
Rice Grain	144	3	28.8267	A
Rice Germ	144	3	27.0467	A B
Rice Grain	120	3	26.3467	B C
Rice Germ	186	3	26.0600	B C D
Rice Bran	144	3	25.9400	B C D
PDB	96	3	25.8933	B C D
Rice Germ	120	3	24.8067	C D E
Rice Bran	120	3	24.6000	C D E F
Rice Bran	186	3	24.5133	C D E F
Rice Grain	96	3	24.0933	D E F G
Rice Bran	96	3	23.1067	E F G H
PDB	72	3	22.9600	E F G H
Rice Germ	96	3	22.6400	F G H
Rice Grain	186	3	22.2600	G H
PDB	120	3	21.4467	H
Rice Bran	72	3	19.2800	I
Rice Grain	72	3	18.8000	I
PDB	144	3	18.2333	I
Rice Germ	72	3	15.8667	J
PDB	186	3	13.2333	K
Rice Bran	48	3	7.4667	L
Rice Grain	48	3	4.1640	M
PDB	48	3	3.5333	N
Rice Germ	48	3	1.5333	N
PDB	24	3	0.4000	N

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่สามารถได้ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-20 เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยชีวมวลจากการแปรรูปแหล่งคาร์บอนในอาหารเพาะเลี้ยงเหลว

ชนิดอาหาร	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัม/ลิตร)
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	28.826 <sup>a</sup>
จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่	27.046 <sup>ab</sup>
รำข้าวไรซ์เบอร์รี่	25.940 <sup>bc</sup>
PDB เสริม	25.893 <sup>c</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

ตารางที่ จ-21 ค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์เพื่อใช้ในการคัดเลือกแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมและเวลาที่ใช้ในการทดลอง

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Nitrogen source	2	1.8795	0.93977	486.15	0.000
Time	5	16.4028	3.28055	1697.04	0.000
Nitrogen source * Time	10	9.2650	0.92650	479.28	0.000
Error	36	0.0696	0.00193		
Total	53	27.6169			

S = 0.0439670 R-sq = 99.75 % R-sq(adj) = 99.63% R-sq(pred) = 99.43 %

ตารางที่ จ-22 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์

Nitrogen source	N	Mean	Grouping
Egg	18	0.693241	A
Tryptone	18	0.552447	B
PDB	18	0.246331	c

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-23 แสดงปัจจัยของเวลาที่มีผลต่อการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์

Time	N	Mean	Grouping
72 hr.	9	1.43586	A
96 hr.	9	0.92654	B
48 hr.	9	0.62163	C

ตารางที่ จ-24 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งไนโตรเจนและเวลาที่มีผลต่อการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์

Nitrogen source	Time	N	Mean	Grouping
Egg	72 hr.	3	2.30673	A
Tryptone	72 hr.	3	1.89646	B
PDB	96 hr.	3	1.37360	C
Egg	48 hr.	3	0.93518	D
Tryptone	48 hr.	3	0.92972	D
Egg	96 hr.	3	0.91754	D
Tryptone	96 hr.	3	0.48850	E
PDB	72 hr.	3	0.10439	F

ตารางที่ จ-25 เปรียบเทียบเฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยงเหลว

ชนิดอาหาร	เฮกโซพอลิแซคคาไรด์ (กรัม/ลิตร)
ไข่ไก่	2.306 <sup>a</sup>
ทริปโตน	1.896 <sup>b</sup>
PDB เสริม	1.373 <sup>c</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-26 ค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ เพื่อใช้ในการคัดเลือกแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมและเวลาที่ใช้ในการทดลอง

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Nitrogen source	2	0.015172	0.007586	508.89	0.000
Time	5	0.107186	0.021437	1438.12	0.000
Nitrogen source * Time	10	0.017352	0.001735	116.40	0.000
Error	36	0.000537	0.000015		
Total	53	0.140246			

S = 0.0038609 R-sq = 99.62 % R-sq(adj) = 99.44% R-sq(pred) = 99.14 %

ตารางที่ จ-27 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์

Nitrogen source	N	Mean	Grouping
Egg	18	0.0776821	A
PDB	18	0.0636442	B
Tryptone	18	0.0372490	C

ตารางที่ จ-28 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์

Time	N	Mean	Grouping
96 hr.	9	0.106373	A
72 hr.	9	0.103193	A
120 hr.	9	0.086330	B
48 hr.	9	0.061254	C

ตารางที่ จ-29 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งไนโตรเจนและเวลาที่มีผลต่อการผลิตสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์

Nitrogen source	Time	N	Mean	Grouping
PDB	72 hr.	3	0.132499	A
Egg	96 hr.	3	0.129489	A
PDB	96 hr.	3	0.128161	A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่สามารถนำออกไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่สามารถได้ลิขสิทธิ์อื่น อีกทั้งห้ามเผยแพร่และดัดแปลงเนื้อหาและข้อมูลใดๆ ในเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Egg	120 hr.	3	0.127035	A
Egg	72 hr.	3	0.106812	B
Egg	48 hr.	3	0.102756	B
PDB	120 hr.	3	0.085318	C
Tryptone	72 hr.	3	0.070269	D
Tryptone	96 hr.	3	0.061469	D
Tryptone	120 hr.	3	0.046637	E

ตารางที่ จ-30 เปรียบเทียบการผลิตอินตราเซลล์ลาร์พอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยงเห็ด

ชนิดอาหาร	อินตราเซลล์ลาร์พอลิแซคคาไรด์ (กรัม/ลิตร)
ไข่ไก่	0.129 <sup>a</sup>
ทริปโตน	0.070 <sup>b</sup>
PDB เสริม	0.132 <sup>a</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ จ-31 ค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใยเพื่อใช้ในการคัดเลือกแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมและเวลาที่ใช้ในการทดลอง

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Nitrogen source	2	268.46	134.23	96.26	0.000
Time	7	4950.78	707.25	507.19	0.000
Nitrogen source * Time	14	297.19	21.23	15.22	0.000
Error	48	66.93	1.39		
Total	71	5583.36			

S = 1.18087 R-sq = 98.80% R-sq(adj) = 98.23%

ตารางที่ จ-32 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของเส้นใย

Nitrogen source	N	Mean	Grouping
Egg	24	19.0833	A
Tryptone	24	18.5708	A
PDB	24	14.7550	B

ตารางที่ จ-33 แสดงปัจจัยของเวลาที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของเส้นใย

Time	N	Mean	Grouping
144 hr.	9	25.6067	A
120 hr.	9	23.7511	B
168 hr.	9	23.6978	B
96 hr.	9	23.2556	B
72 hr.	9	19.2222	C
48 hr.	9	13.9133	D
24 hr.	9	10.3111	E

ตารางที่ จ-34 แสดงปัจจัยของชนิดแหล่งไนโตรเจนและเวลาที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของเส้นใย

Nitrogen source	Time	N	Mean	Grouping
Egg	144 hr.	3	28.6600	A
Tryptone	144 hr.	3	27.1867	A B
Egg	168 hr.	3	25.4333	A B C
Tryptone	168 hr.	3	24.9400	B C
Tryptone	120 hr.	3	24.8333	B C
PDB	96 hr.	3	24.6533	B C D
Egg	120 hr.	3	24.5267	B C D
Egg	96 hr.	3	23.2867	C D E
PDB	120 hr.	3	21.8933	C D E F
Tryptone	96 hr.	3	21.8267	C D E F
PDB	144 hr.	3	20.9733	D E F G
PDB	168 hr.	3	20.7200	E F G H
Egg	72 hr.	3	19.7067	E F G H
Tryptone	72 hr.	3	19.1267	F G H
PDB	72 hr.	3	18.8333	F G H
Egg	48 hr.	3	17.5800	G H
Tryptone	48 hr.	3	17.2067	H
Egg	24 hr.	3	13.4733	I
Tryptone	24 hr.	3	13.4467	
PDB	48 hr.	3	6.9533	

เอกสารนี้เป็น Tryptone ที่สงวนไว้สำหรับใช้งาน 3 เพื่อการศึกษาค้นคว้าวิจัย ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่มีการตีพิมพ์ PDB งบเงิน อีกทั้งห้ามคัดลอกและเผยแพร่ข้อมูลไปยังผู้อื่นโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-35 เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยชีวมวลจากการแปรรูปแหล่งไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยงเห็ด

ชนิดอาหาร	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัม/ลิตร)
ไข่ไก่	28.660 <sup>a</sup>
ทรีปโตน	27.186 <sup>ab</sup>
PDB เสริม	24.653 <sup>c</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกััน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

ตารางที่ จ-36 ค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์ เพื่อใช้ในการคัดเลือกปริมาณไนโตรเจนจากที่เหมาะสมและเวลาที่ใช้ในการทดลอง

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Egg	2	0.0230	0.01152	4.58	0.000
Time	5	32.2627	6.45254	2567.66	0.000
Egg * Time	10	2.0499	0.20499	81.57	0.000
Error	36	0.0905	0.00251		
Total	53	34.4260			

S = 0.0501299 R-sq = 99.74% R-sq(adj) = 99.61% R-sq(pred) = 99.41%

ตารางที่ จ-37 แสดงปัจจัยของปริมาณไนโตรเจนจากไข่ที่มีผลต่อการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์

Egg	N	Mean	Grouping
Egg 1.5 %	18	0.741099	A
Egg 1.0 %	18	0.703606	B
Egg 0.5 %	18	0.692931	C

ตารางที่ จ-38 แสดงปัจจัยของเวลาที่มีผลต่อการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์

Time	N	Mean	Grouping
72 hr.	9	2.02349	A
96 hr.	9	1.15140	B
48 hr.	9	1.10038	B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-39 แสดงปัจจัยของปริมาณแหล่งไนโตรเจนจากไข่และเวลาที่มีผลต่อการผลิตสารเฮกโซพอลิแซคคาไรด์

Egg	Time	N	Mean	Grouping
Egg 1.0 %	72 hr.	3	2.36892	A
Egg 1.5 %	72 hr.	3	2.11018	B
Egg 0.5 %	72 hr.	3	1.59136	C
Egg 0.5 %	96 hr.	3	1.57136	C
Egg 1.5 %	48 hr.	3	1.37109	D
Egg 0.5 %	48 hr.	3	0.99487	E
Egg 1.5 %	96 hr.	3	0.96532	E
Egg 1.0 %	48 hr.	3	0.93518	E
Egg 1.0 %	96 hr.	3	0.91754	E

ตารางที่ จ-40 เปรียบเทียบการผลิตเฮกโซพอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันปริมาณแหล่งไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยงเห็ด

ชนิดอาหาร	เฮกโซพอลิแซคคาไรด์ (กรัม/ลิตร)
ไข่ไก่ร้อยละ 0.5	1.591 <sup>c</sup>
ไข่ไก่ร้อยละ 1.0	2.368 <sup>a</sup>
ไข่ไก่ร้อยละ 1.5	2.110 <sup>b</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

ตารางที่ จ-41 ค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ เพื่อใช้ในการคัดเลือกปริมาณไนโตรเจนจากที่ที่เหมาะสมและเวลาที่ใช้ในการทดลอง

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Egg	2	0.040020	0.020010	1379.50	0.000
Time	4	0.044889	0.011222	773.68	0.000
Egg * Time	8	0.014102	0.001763	121.52	0.000
Error	30	0.000435	0.000015		
Total	44	0.099446			

S = 0.0038086 R-sq = 99.56 % R-sq(adj) = 99.36 % R-sq(pred) = 98.02 %

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-42 แสดงปัจจัยปริมาณไนโตรเจนจากไข่ที่มีผลต่อการผลิตอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์

Egg	N	Mean	Grouping
Egg 1.0 %	15	0.0932185	A
Egg 0.5 %	15	0.0537332	B
Egg 1.5 %	15	0.0202529	C

ตารางที่ จ-43 แสดงปัจจัยของเวลาที่มีผลต่อการผลิตอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์

Time	N	Mean	Grouping
72 hr.	9	0.0904824	A
96 hr.	9	0.0752376	B
48 hr.	9	0.0685703	C
24 hr.	9	0.0443841	D

ตารางที่ จ-44 แสดงปัจจัยของปริมาณแหล่งไนโตรเจนจากไข่และเวลาที่มีผลต่อการผลิตสารอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์

Egg	Time	N	Mean	Grouping
Egg 1.0 %	72 hr.	3	0.129489	A
Egg 1.0 %	96 hr.	3	0.127035	A
Egg 1.0 %	48 hr.	3	0.106812	B
Egg 1.0 %	24 hr.	3	0.102756	B C
Egg 0.5 %	72 hr.	3	0.092424	C D
Egg 0.5 %	96 hr.	3	0.087607	D
Egg 0.5 %	48 hr.	3	0.060310	E
Egg 1.5 %	72 hr.	3	0.049534	E F
Egg 1.5 %	48 hr.	3	0.038589	F G
Egg 0.5 %	24 hr.	3	0.028325	G
Egg 1.5 %	96 hr.	3	0.011071	H

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-45 เปรียบเทียบการผลิตอินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์จากการแปรผันปริมาณแหล่งไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยงเห็ด

ชนิดอาหาร	อินตราเซลลูลาร์พอลิแซคคาไรด์ (กรัม/ลิตร)
ไข่ไก่ร้อยละ 0.5	0.129 <sup>a</sup>
ไข่ไก่ร้อยละ 1.0	0.092 <sup>b</sup>
ไข่ไก่ร้อยละ 1.5	0.049 <sup>c</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

ตารางที่ จ-46 ค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเส้นใย เพื่อใช้ในการคัดเลือกปริมาณไนโตรเจนจากที่เหมาะสมและเวลาที่ใช้ในการทดลอง

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Egg	3	181.40	60.47	89.02	0.000
Time	7	5098.48	728.35	1072.34	0.000
Egg * Time	21	584.59	27.84	40.98	0.000
Error	64	43.47	0.68		
Total	95	5907.94			

S = 0.824149 R-sq = 99.26% R-sq(adj) = 98.91%

ตารางที่ จ-47 แสดงปัจจัยของปริมาณไนโตรเจนจากไข่ที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของเส้นใย

Egg	N	Mean	Grouping
Egg 0.5 %	24	15.8600	A
Egg 1.5 %	24	15.5658	A B
Egg 1.0 %	24	14.9908	B
PDB	24	12.3808	C

ตารางที่ จ-48 แสดงปัจจัยของเวลาที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของเส้นใย

Time	N	Mean	Grouping
144 hr.	12	22.5833	A
120 hr.	12	21.5933	A
96 hr.	12	20.0633	B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่วารณใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

168 hr.	12	17.5450	C
72 hr.	12	16.4667	D
48 hr.	12	11.7417	E
24 hr.	12	7.6017	F

ตารางที่ จ-49 แสดงปัจจัยของปริมาณแหล่งไนโตรเจนจากไข่และเวลาที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของเส้นใย

Egg	Time	N	Mean	Grouping
Egg 1.0 %	144 hr.	3	27.1267	A
Egg 0.5 %	144 hr.	3	25.8600	A B
PDB	96 hr.	3	23.4133	B C
Egg 1.5 %	144 hr.	3	23.1067	C
Egg 1.0 %	120 hr.	3	22.6533	C D
Egg 0.5 %	120 hr.	3	22.4000	C D E
Egg 1.5 %	168 hr.	3	21.4667	C D E F
Egg 1.5 %	120 hr.	3	21.0333	C D E F G
Egg 1.0 %	168 hr.	3	20.7667	C D E F G H
PDB	120 hr.	3	20.2867	D E F G H
Egg 0.5 %	96 hr.	3	19.9400	E F G H I
Egg 1.5 %	96 hr.	3	19.4800	F G H I
PDB	72 hr.	3	18.5200	G H I J
Egg 0.5 %	72 hr.	3	18.1800	H I J
Egg 1.0 %	96 hr.	3	17.4200	I J K
Egg 0.5 %	168 hr.	3	16.6800	J K L
Egg 1.5 %	72 hr.	3	15.4600	K L M
PDB	144 hr.	3	14.2400	L M
Egg 0.5 %	48 hr.	3	14.1467	L M
Egg 1.5 %	48 hr.	3	14.0733	L M
Egg 1.0 %	72 hr.	3	13.7067	M N
PDB	168 hr.	3	11.2667	N O
Egg 1.0 %	48 hr.	3	10.7800	O
Egg 1.5 %	24 hr.	3	9.9067	P

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า  
 ไม่หากมีการใช้งานอื่น อี้อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีกา P ไปใช้

Egg 0.5 %	24 hr.	3	9.3333	OP
PDB	48 hr.	3	7.9667	P
Egg 1.0 %	24 hr.	3	7.4733	Q
PDB	24 hr.	3	3.6933	R

ตารางที่ จ-50 เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยชีวมวลจากการแปรผันปริมาณแหล่งไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยงเห็ด

ชนิดอาหาร	น้ำหนักแห้งของเส้นใย (กรัม/ลิตร)
ไข่ไก่ร้อยละ 0.5	25.860 <sup>a</sup>
ไข่ไก่ร้อยละ 1.0	27.126 <sup>a</sup>
ไข่ไก่ร้อยละ 1.5	23.106 <sup>b</sup>

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้