การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตหัวเชื้อและการผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*)

Optimization of the inoculum and bioactive compounds production in *Cordyceps militaris*

นางสาวแกมกาญจน์ กล้าหาญ
นางสาวจิตศิริ ไชยะโท
นางสาวจุฑารัตน์ หมอเมือง

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตหัวเชื้อและการผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*)

Optimization of the inoculum and bioactive compounds production in *Cordyceps militaris*

นางสาวแกมกาญจน์ กล้าหาญ
นางสาวจิตศิริ ไชยะโท
นางสาวจุฑารัตน์ หมอเมือง

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Optimization of the inoculum and bioactive compounds production in *Cordyceps militaris*

KAEMKAN KLAHARN
JITSIRI CHAIYATHO
JUTARUT MHOMUANG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตหัวเชื้อและการผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) Optimization of the inoculum and bioactive compounds production in *Cordyceps militaris*		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวแกมกาญจน์	กล้าหาญ	รหัสนักศึกษา 56050805
	นางสาวจิตศิริ	ไชยะโท	รหัสนักศึกษา 56050809
	นางสาวจุฑารัตน์	หมอเมือง	รหัสนักศึกษา 56050818
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์อารี ฤทธิบูรณ์		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ ประธานกรรมการ	
ดร.สมพิศ สอนโยธา กรรมการ	
รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตหัวเชื้อและการผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*)		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวแกมกาญจน์	กล้าหาญ	รหัสนักศึกษา 56050805
	นางสาวจิตศิริ	ไชยะโท	รหัสนักศึกษา 56050809
	นางสาวจุฑารัตน์	หมอเมือง	รหัสนักศึกษา 56050818
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์อารี ฤทธิบูรณ์		

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้ได้ทำการศึกษาเพื่อหาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตหัวเชื้อ จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของหัวเชื้อ พบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองจะเข้าสู่ระยะเจริญแบบทวีคูณในชั่วโมงที่ 72 และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ ไข่ไก่ แทนการใช้เปปโตนยีสต์สกัดพบว่าการใช้ไข่ไก่ทำให้เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าการใช้เปปโตนยีสต์สกัด การใช้ไข่ไก่สามารถให้ปริมาณคอร์ไดเซปินได้มากกว่าการใช้เปปโตนยีสต์สกัดเท่ากับ 101.13 และ 71.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณอะดีโนซีนในไข่ไก่และเปปโตนยีสต์สกัดมีค่าเท่ากับ 217.16 และ 218.33 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณพอลิแซคคาไรด์ในไข่ไก่และเปปโตนยีสต์สกัดมีค่าเท่ากับ 5.15 และ 5.17 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงเราสามารถใช้ไข่ไก่แทนการใช้เปปโตนยีสต์สกัดในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อลดต้นทุนในการผลิต เนื่องจากการใช้ไข่ไก่เป็นแหล่งไนโตรเจนสามารถให้ปริมาณสารสำคัญของเห็ดถั่งเช่าสีทองได้ใกล้เคียงกับการใช้เปปโตนยีสต์สกัด

คำสำคัญ : ไข่ไก่ คอร์ไดเซปิน พอลิแซกคาไรด์ เห็ดถังเช่าสีทอง อะดีโนซีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Optimization of the inoculum and bioactive compounds production in *Cordyceps militaris*			
Student	Miss Kaemkan	Klaharn	Student ID	56050805
	Miss Jitsiri	Chaiyatho	Student ID	56050809
	Miss Jutarut	Mhomuang	Student ID	56050818
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)			
Department	Biology			
Faculty	Science			
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)			
Academic	Year 2016			
Advisor	Assoc. Prof. Aree Rittiboon			

Abstract

This special project has been studied the inoculum production. The study of growth rate of *Cordyceps militaris* strain was entered the exponential in the 72 hr and cultivated *Cordyceps militaris* with nitrogen sources, egg instead of use peptone and yeast extracts. It was found that egg made *Cordyceps militaris* leaven better than the use of peptone and yeast extract. The use of egg can provide more cordycepin than use peptone and yeast extract were 101.13 and 71.56 µg/ml, respectively. The amount of adenosine in egg and peptone and yeast extract were 217.16 and 218.33 µg/ml, respectively. The amount of polysaccharide in egg and peptone and yeast extract were 5.15 and 5.17 g/L, respectively. Therefore, in the culture can use egg instead of using peptone and yeast extract to cultivated *Cordyceps militaris* to reduce the cost of production. Due to the use of egg as a source of nitrogen can provide the bulk of important compounds in *Cordyceps militaris* is close to the use of peptone and yeast extract.

Keyword : egg, cordycepin, polysaccharide, *Cordyceps militaris*, adenosine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จได้ด้วยดี ด้วยความกรุณาจาก รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำ คำปรึกษา ข้อคิดเห็นต่างๆ และให้ความช่วยเหลือในทุกๆด้าน ตลอดจนชี้แนะแนวทางการแก้ปัญหาต่างๆ อันเป็นประโยชน์อย่างมากในการทำงานโครงงานพิเศษเล่มนี้ ทางคณะผู้จัดทำจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ และ ดร.สมพิศ สอนโยธา ที่กรุณาเป็นประธานกรรมการ และกรรมการ อีกทั้งยังคอยให้คำแนะนำ ปรับปรุง แก้ไขในการทำโครงงานพิเศษรวมไปถึงการทำเล่มโครงงานพิเศษจนประสบผลสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ รศ.สายชล สินสมบูรณ์ทอง ที่ให้คำปรึกษาแนะนำในเรื่องของการใช้โปรแกรม Miniteb 16 และข้อมูลอันเป็นประโยชน์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณ นางสาวศันสุนีย์ ภู่ประกิจ และนายกิจสิทธิ์ พรหมสุทธิ์ ที่คอยให้คำปรึกษาแนะนำในเรื่องของเครื่องมือและข้อมูลอันเป็นประโยชน์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา นักศึกษาปริญญาโท และเพื่อนๆ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพประจำห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงราที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ จนโครงงานพิเศษสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณพ่อ แม่ ผู้ปกครอง ที่สนับสนุน คอยรับฟังปัญหา และให้กำลังใจคณะผู้จัดทำเสมอมาจนกระทั่งโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

นางสาวแกมกาญจน์ กล้าหาญ
นางสาวจิตศิริ ไชยะโท
นางสาวจุฑารัตน์ หมอเมือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ฌ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 เห็ดถั่งเช่า 3
2.1.1 อนุกรมวิธาน 3
2.1.2 ประวัติและความเป็นมา 4
2.2 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่า 5
2.2.1 การเพาะด้วยตัวหนอน 5
2.2.2 การเพาะด้วยอาหาร 5
2.2.3 แหล่งอาหาร 5
2.2.3.1 แหล่งคาร์บอน 5
2.2.3.2 แหล่งไนโตรเจน 5
2.2.3.3 แหล่งเกลือแร่ 6
2.2.4 อุณหภูมิ 6
2.2.5 ค่าพีเอช 6
2.2.6 อายุของหัวเชื้อ 6
2.2.7 อากาศและความชื้น 6
2.2.8 แสง 7
2.2.9 แสงไฟแอลอีดี 7
2.3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในเห็ดถั่งเช่าสีทอง 7
2.3.1 อะดีโนซีน (adenosine) 7
2.3.2 คอร์ไดเซปิน (cordycepin) 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.3.3 พอลิแซกคาไรด์ (polysaccharide) 8
2.3.4 แคโรทีนอยด์ (carotenoid) 9
2.3.4.1 การสังเคราะห์และสกัดแคโรทีนอยด์ 9
2.3.4.2 ประโยชน์ที่ได้รับจากแคโรทีนอยด์ 10
2.3.5 กรดไขมัน (fatty acid) 10
2.4 ฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง 11
2.4.1 กรณีศึกษาฤทธิ์ต่อการกระตุ้นสมรรถภาพทางเพศ 11
2.4.2 กรณีศึกษาฤทธิ์กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย 11
2.4.3 กรณีศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด 12
2.4.4 กรณีศึกษาฤทธิ์ต่อการฟื้นฟูระบบการทำงานของไต 12
2.5 ข้อควรระวังเกี่ยวกับถั่งเช่า 12
2.6 เทคนิคการอบแห้ง 13
2.6.1 การทำแห้ง (Drying) 13
2.6.1.1 ความสำคัญของการทำแห้ง 13
2.6.2 เครื่องอบแห้ง 14
2.7 เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) 14
2.7.1 ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC 15
2.7.2 การวิเคราะห์ทดสอบด้วยเครื่อง HPLC 15
2.7.3 การเตรียมเครื่องก่อนใช้งาน 16
2.7.4 การเตรียมตัวทำละลายของเฟสเคลื่อนที่ 16
2.7.5 การฉีดสารตัวอย่าง 16
2.8 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorption Spectrophotometer) 16
2.8.1 ชนิดของเครื่องวัดการดูดกลืนแสง 17
2.8.2 วิธีใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสง 18
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 19
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 22
3.1 วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี 22
3.1.1 วัตถุดิบ 22
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ 22
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาคผนวก ก) 22
3.1.4 อุปกรณ์ และเครื่องมือ 22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1.5 สารเคมี 23
3.2 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น การหาแหล่งไนโตรเจนและเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญของหัวเชื้อ 23
3.2.1 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารแข็ง PDA 23
3.2.2 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว PDB 24
3.3 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อผลิตดอกโดยใช้ข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่เสริมด้วยแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 24
3.3.1 การวิเคราะห์สารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC) 24
3.3.1.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ 24
3.3.1.2 ขั้นตอนการสกัด 25
3.3.1.3 การวิเคราะห์สารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน 25
3.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณพอลิแซกคาไรด์ 25
3.3.2.1 ขั้นตอนการสกัด 25
3.3.2.2 การวิเคราะห์พอลิแซกคาไรด์ด้วยวิธีฟีนอล – ซัลฟูริกและวิธีดีเอนเอส (3,5-dinitro salicylic acid) 26
3.3.3 การเปรียบเทียบราคาเปปโตนยีสต์สกัดและราคาไข่ไก่ต่อปริมาตร 1 ลิตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง 26
3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ 26
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 27
4.1 ผลของการเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น การหาแหล่งไนโตรเจนและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญของหัวเชื้อ 27
4.1.1 การศึกษาระยะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้น 27
4.2 ผลของการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อผลิตดอกโดยใช้ข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่เสริมด้วยแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 29
4.2.1 การหาน้ำหนักก่อนอบและน้ำหนักหลังอบของเห็ดถั่งเช่าสีทอง 29
4.2.2 การหาปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC) 30
4.2.3 การหาปริมาณพอลิแซกคาไรด์ 30
4.2.4 ผลการเปรียบเทียบราคาเปปโตนยีสต์สกัดและราคาไข่ไก่ต่อปริมาตร 1 ลิตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 33
เอกสารอ้างอิง 34
ภาคผนวก 41
ภาคผนวก ก สูตรอาหาร 42
ภาคผนวก ข ขั้นตอนการเพาะเลี้ยง 46
ภาคผนวก ค วิธีการวิเคราะห์และการคำนวณ 51
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ทางสถิติ 60
ภาคผนวก จ ผลการทดลอง 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงผลน้ำหนักแห้งของเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองในสภาวะความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียสในที่มืด 28
ตารางที่ 4.2 น้ำหนักก่อนอบและน้ำหนักหลังอบของ Fruiting body ในสภาวะอุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 – 80 ภายใต้หลอดแอลอีดีแสงสีส้ม 29
ตารางที่ 4.3 ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟี ในสภาวะอุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 – 80 ภายใต้หลอดแอลอีดีแสงสีส้ม 31
ตารางที่ 4.4 ปริมาณพอลิแซกคาไรด์ที่ได้จากการเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีการใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นเปปโตนยีสต์สกัดเปรียบเทียบกับไข่ไก่ ในสภาวะอุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 – 80 ภายใต้หลอดแอลอีดีแสงสีส้ม 31
ตารางภาคผนวกที่ ก-1 สูตรอาหารแข็ง PDA เสริมเปปโตนยีสต์สกัด 42
ตารางภาคผนวกที่ ก-2 สูตรอาหารแข็ง PDA เสริมไข่ไก่ 42
ตารางภาคผนวกที่ ก-3 สูตรอาหารแข็ง PDB เสริมเปปโตนยีสต์สกัด 43
ตารางภาคผนวกที่ ก-4 สูตรอาหารแข็ง PDB เสริมไข่ไก่ 43
ตารางภาคผนวกที่ ก-5 น้ำหนักข้าวไรซ์เบอร์รี่กรัมต่อขวด 44
ตารางภาคผนวกที่ ก-6 สูตรอาหารแข็ง PDB เสริมเปปโตนยีสต์สกัด 44
ตารางภาคผนวกที่ ก-7 สูตรอาหารแข็ง PDB เสริมไข่ไก่ 45
ตารางภาคผนวกที่ ค-1 ตารางแสดงค่าพื้นที่ใต้กราฟโครมาโตแกรมของอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยการใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นเปปโตนยีสต์สกัดและไข่ไก่ 53
ตารางภาคผนวกที่ ค-2 ปริมาณน้ำตาล 57
ตารางภาคผนวกที่ ค-3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการวิเคราะห์ตัวอย่างของเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยวิธี DNS 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

รูปที่ 2.1 เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) 4
รูปที่ 2.2 วงจรชีวิตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง 4
รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของอะดีโนซีน 8
รูปที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของคอร์ไดเซปิน 8
รูปที่ 2.5 รูปร่างของเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบอะนาล็อก (ก) แบบดิจิตอลชนิดตั้งโต๊ะ (ข,ง,จ,ฉ,ช) และแบบดิจิตอลชนิดมือถือ (ค) 17
รูปที่ 2.6 องค์ประกอบหลักของเครื่องวัดความเข้มของแสงโดยการวัดการดูดกลืนแสง (ก) วัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ (ข) และวัดการเปล่งแสงโดยเปลวไฟ (ค) 18
รูปที่ 4.1 ลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA 27
รูปที่ 4.2 กราฟระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เลี้ยงในอาหารเหลว PDB ที่เสริมด้วยเปปโตนยีสต์สกัดและเสริมด้วยไข่ไก่ ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน 28
รูปที่ 4.3 แสดงระยะการเจริญของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารแข็งที่ใช้ข้าวไรซ์เบอร์รี่ เสริมด้วยแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกันคือ เปปโตนยีสต์สกัดและไข่ไก่เป็นระยะเวลา 45 วัน 29
รูปภาคผนวกที่ ข-1 ตัด fruiting body ฆ่าเชื้อด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 3 เป็นเวลา 5 นาทีและล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง 46
รูปภาคผนวกที่ ข-2 ตัดหัวท้ายของ fruiting body ให้เป็นชิ้นมีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร 46
รูปภาคผนวกที่ ข-3 นำมาวางบน plate ที่มีอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เก็บในที่มืด 47
รูปภาคผนวกที่ ข-4 นำหัวเชื้อเริ่มต้นจากอาหาร PDA มาค๊อกจำนวน 3 ชิ้น 47
รูปภาคผนวกที่ ข-5 เลี้ยงในฟลาส์กขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลว PDB เสริม 47
รูปภาคผนวกที่ ข-6 บ่มที่เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที เป็นเวลา 216 ชั่วโมง 48
รูปภาคผนวกที่ ข-7 เก็บตัวอย่างหัวเชื้อ สุ่มตัวอย่างหัวเชื้อมาซ้ำละ 5 มิลลิลิตร 48
รูปภาคผนวกที่ ข-8 นำไปปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที 48
รูปภาคผนวกที่ ข-9 เทส่วนใสทิ้งเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง 49
รูปภาคผนวกที่ ข-10 เทส่วนใสทิ้งนำเข้าตู้อบลมร้อนที่มีอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง 49
รูปภาคผนวกที่ ข-11 ครบ 14 วันหลังจากลงหัวเชื้อในข้าวไรซ์เบอร์รี่ 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

รูปภาคผนวกที่ ข-12 ครบ 45 วัน ในการเก็บเกี่ยว fruiting body 50
รูปภาคผนวกที่ ค-1 กราฟมาตราฐานอะดีโนซีน ในการวิเคราะห์ด้วยการใช้ HPLC ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 54
รูปภาคผนวกที่ ค-2 กราฟมาตรฐานคอร์ไดเซปิน ในการวิเคราะห์ด้วยการใช้ HPLC ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 55
รูปภาคผนวกที่ ค-3 กราฟมาตรฐานกลูโคสที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร 56
รูปภาคผนวกที่ ค-4 กราฟมาตรฐานกลูโคสที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร 58
รูปภาคผนวกที่ จ-1 สารมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 63
รูปภาคผนวกที่ จ-2 สารมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 40 63
รูปภาคผนวกที่ จ-3 สารมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 60 64
รูปภาคผนวกที่ จ-4 สารมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 80 64
รูปภาคผนวกที่ จ-5 สารมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 65
รูปภาคผนวกที่ จ-6 สารมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 65
รูปภาคผนวกที่ จ-7 สารมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้นร้อยละ 40 66
รูปภาคผนวกที่ จ-8 สารมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้นร้อยละ 60 66
รูปภาคผนวกที่ จ-9 สารมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้นร้อยละ 80 67
รูปภาคผนวกที่ จ-10 สารมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 67
รูปภาคผนวกที่ จ-11จากการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ไข่ไก่เป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งค่าโครมาโตแกรมของอะดีโนซีนพบในนาทีที่ 8.995 และพบคอร์ไดเซปินในนาทีที่ 11.551 68
รูปภาคผนวกที่ จ-12 จากการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้เปปโตนยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนซึ่งค่าโครมาโตแกรมของอะดีโนซีนพบในนาทีที่ 8.963 และพบคอร์ไดเซปินในนาทีที่ 11.482 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

เห็ดถั่งเช่าสีทองกำลังเป็นที่นิยมของคนในปัจจุบัน เนื่องจากในเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญทางชีวภาพ คือสารคอร์ไดเซปินที่สามารถทำลายและยับยั้งอนุมูลอิสระของแบคทีเรียและไวรัส ช่วยลดน้ำตาลในเลือดและช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็ง ส่วนสารอะดีโนซีนที่พบในเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นสารที่อยู่ภายนอกเซลล์ของมนุษย์เมื่อได้รับเข้าไปในกล้ามเนื้อหัวใจมีส่วนช่วยในการเผาผลาญพลังงานของกล้ามเนื้อหัวใจ ช่วยในการขยายตัวของหลอดหัวใจ การไหลเวียนของเลือดที่เพิ่มขึ้น มีบทบาทที่ชัดเจนทางสรีรวิทยาที่สำคัญในระบบหัวใจ หลอดเลือด และในระบบอื่นๆของร่างกายอีกมากมาย ด้วยเหตุที่มีสรรพคุณทางยามากมายทำให้มีการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นจำนวนมาก เพื่อใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพและใช้เป็นยาชูกำลัง ปริมาณคอร์ไดเซปินมีปริมาณแตกต่างกันไปขึ้นกับอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ข้าวไรซ์เบอร์รี่ถือเป็นข้าวที่อุดมไปด้วยแหล่งอาหาร วิตามิน แร่ธาตุและสารอาหารที่มีคุณค่า จึงเหมาะกับการนำมาเป็นอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง นอกจากแหล่งคาร์บอนแล้วยังต้องมีแหล่งไนโตรเจนเพื่อช่วยในการเจริญของเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยทั่วไปจะใช้เปปโตนยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่เราสามารหาแหล่งไนโตรเจนอื่นๆมาทดแทนเปปโตนยีสต์สกัดได้เพื่อลดต้นทุนในการผลิต โดยใช้ไข่ไก่เป็นแหล่งไนโตรเจนทดแทนการใช้เปปโตนยีสต์สกัด ซึ่งการใช้ไข่ไก่อาจส่งผลต่อการเจริญของเส้นใยและการผลิตปริมาณสารของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาแหล่งไนโตรเจนโดยใช้ไข่ไก่ เปรียบเทียบกับแหล่งไนโตรเจนที่ใช้เปปโตนยีสต์สกัด ในการผลิตหัวเชื้อเพื่อศึกษาว่าแหล่งไนโตรเจนใดสามารถผลิตเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองได้มากกว่า เมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนที่ต่างกันจะทำให้ปริมาณสารอะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน และพอลิแซกคาไรด์ที่ได้ในเห็ดถั่งเช่าสีทองต่างกันหรือไม่ จึงได้ทำการศึกษาปริมาณสารที่อยู่ในเห็ดถั่งเช่าสีทองว่าแหล่งไนโตรเจนใดผลิตปริมาณสารดังกล่าวได้มากกว่ากัน

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของหัวเชื้อในอาหารแข็งและอาหารเหลวที่ใช้ไข่ไก่เป็นแหล่งไนโตรเจนเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้เปปโตนยีสต์สกัดและศึกษาระยะเวลาที่มีผลต่อการผลิตหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2. ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ไข่ไก่และเปปโตนยีสต์สกัดว่าแหล่งไนโตรเจนใดให้การเจริญเติบโตดีที่สุด

3. ศึกษาปริมาณสารอะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน และพอลิแซกคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่าสีทองว่าแหล่งไนโตรเจนใดสามารถให้ปริมาณสารดังกล่าวมากกว่า

4. เปรียบเทียบต้นทุนการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง เมื่อใช้เปปโตนยีสต์สกัดกับการใช้ไข่ไก่เป็นแหล่งไนโตรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1. ทำการทดสอบหาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารแข็งและอาหารเหลว

2. ทำการทดสอบแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารอะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน และพอลิแซกคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยทำการศึกษาแหล่งไนโตรเจนจากไข่เปรียบเทียบกับการใช้ยีตส์สกัดร่วมกับเปปโตน

3. ทำการเปรียบเทียบต้นทุนในการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง เมื่อใช้เปปโตนยีสต์สกัดกับการใช้ไข่ไก่เป็นแหล่งไนโตรเจน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อลดต้นทุนในการผลิตหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2. เพื่อทราบปริมาณสารว่าแหล่งไนโตรเจนใดที่มีผลต่อการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีปริมาณสารอะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน และพอลิแซกคาไรด์ที่มากกว่า

3. เพื่อทราบต้นทุนของแหล่งไนโตรเจน เมื่อใช้เปปโตนยีสต์สกัดกับการใช้ไข่ไก่ในการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เห็ดถั่งเช่า

เห็ดถั่งเช่า จัดเป็นพวกราแมลงในกลุ่ม *Ascomycetes* เห็ดชนิดนี้มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างสูง ด้วยสรรพคุณทางยาที่คนจีนเชื่อว่าเป็นเห็ดอายุวัฒนะ รับประทานแล้วจะช่วยให้ร่างกายแข็งแรงรักษาได้สารพัดโรค จากงานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์มากมายทั่วโลกพบว่า ถั่งเช่ามีสารคอร์ไดเซปิน ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการไหลเวียนของเลือด และต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิด เพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเม็ดเลือดขาว ทำให้ร่างกายไม่เป็นโรคติดเชื้อได้ง่าย สารอะดีโนซีนต้านการแข็งตัวของเลือด ต้านการเกิดลิ่มเลือดในร่างกาย กรดคอร์ไดเซปิกเพิ่มเมแทบอลิซึมของร่างกาย ทำให้ร่างกายมีพลัง แข็งแรง ไม่เหนื่อยง่าย และฟื้นตัวเร็ว ป้องกันเลือดออกในสมอง ลิ่มเลือด โรคหัวใจขาดเลือด และหอบหืด ต้านอนุมูลอิสระ ทำให้แก่ช้า และต้านการอักเสบมีพอลิแซกคาไรด์ เพิ่มภูมิคุ้มกันแก่ร่างกาย และช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด และโคเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ (ไขมันในเลือด) ช่วยเพิ่มพลังทางเพศชาย และมีความน่าจะเป็นในการช่วยลดการเจริญเติบโตของเนื้องอก และเซลล์มะเร็ง

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (รูปที่ 2.1) หรือเห็ดถั่งเช่าแท้ (*Ophiocordyceps sinensis* หรือชื่อเดิม *Cordyceps sinensis*) ในภาษาจีนจะเรียกว่า “ตงฉงเซี่ยเฉ่า (Dong chong xia cao)” หากเรียกว่า “ฉงเฉ่า (Chong cao)” อาจเป็นถั่งเช่าสีทอง ถั่งเช่าหิมะ (เกาหลี) หรือตัวอื่นๆ ก็ได้ “เห็ดสกุลถั่งเช่า” ซึ่งมีอยู่หลายจีนัส เช่น *Ophiocordyceps* sp., *Cordycep* ssp., *Paecilomyces* sp., *Isaria* sp. เป็นต้น เห็ดสกุลถั่งเช่าเป็นเชื้อรากินแมลงในกลุ่ม Ascomycetes มีการศึกษา รวบรวม จำแนก เพาะเลี้ยง ปรับปรุงสายพันธุ์ และผลิตเป็นการค้าในจีน เกาหลี ไต้หวัน อินเดีย สหรัฐอเมริกา มาเลเซีย และสิงคโปร์ โดยมีการใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรคต่างๆ และเป็นอาหารเสริมสุขภาพ

2.1.1 อนุกรมวิธาน

เห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นเชื้อราที่มีอนุกรมวิธานดังต่อไปนี้

Kingdom : Fungi
Phylum : *Ascomycota*
Sub-phylum : *Ascomycotina*
Class : *Ascomycetes*
Order : *Hypocreales*
Family : *Clavicipitaceae*
Genus : *Cordyceps*
Species : *militaris*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 ประวัติและความเป็นมา

รูปที่ 2.1 เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*)
ที่มา : http://www.smeleader.com/อาชีพเพาะเห็ด-farmloongyood

"ถั่งเช่า" (ถั่ง = หนอน, เช่า = หญ้า) หรือที่เรียกว่า "หญ้าหนอน" ก็เพราะว่าในฤดูหนาวเป็นหนอน ในฤดูร้อนเป็นหญ้า บนที่ราบสูงทิเบต ตัวหนอนของผีเสื้อค้างคาวหรือผีเสื้อกะโหลก (*Hepialus armoricanus*) จะเจริญเติบโตอยู่ใต้ผิวดินบนภูเขาที่ปกคลุมด้วยหิมะ โดยมีสปอร์ของเชื้อเห็ดรา (*Ophiocordyceps sinensis*) กระจายอยู่ทั่วไป เมื่อหิมะละลายสปอร์จะไหลไปกับน้ำและซึมลงใต้ผิวดิน เมื่อหนอนกินสปอร์ของเชื้อเห็ดชนิดนี้เข้าไป สปอร์ก็จะงอกเป็นเส้นใยเจริญเติบโตบนตัวหนอน เมื่อฤดูใบไม้ผลิมาถึงอุณหภูมิสูงขึ้น เส้นใยรวมตัวหนาแน่นขึ้นก็จะแทงออกจากปากตัวหนอนที่ตายแล้วแข็งเป็นมัมมี่ ออกเป็นดอกเห็ดมีลักษณะเหมือนหญ้างอก โผล่เหนือพื้นดินเพราะต้องการแสง กลายเป็นขุมทองของชาวทิเบต (รูปที่ 2.2)

ทั้งนี้เพราะว่ายาสมุนไพรชนิดนี้ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นตัวหนอน คือ ตัวหนอนของผีเสื้อ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hepialus armoricanus* oberthiir และบนตัวหนอนมีเห็ดชนิดหนึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cordyceps sinensis* (Berk.) Saec. เห็ดถั่งเช่าพบในทิเบต มณฑลชิงไห่ มณฑลเสฉวน มณฑลกานซู มณฑลยูนนาน และแถบเทือกเขาหิมาลัยในอินเดีย ภูฏาน และเนปาล

รูปที่ 2.2 วงจรชีวิตของเห็ดถั่งเช่า
ที่มา : https://www.goodhealth1999.com/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เห็ดถั่งเช่าสีทอง หรือหญ้าหนอน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cordyceps militaris* เห็ดถั่งเช่าเป็นที่รู้จักมาตั้งแต่อดีตกาล ชาวจีนเชื่อว่าเป็นยาอายุวัฒนะ มีสรรพคุณช่วยปรับสมดุลของร่างกาย เป็นสมุนไพรธาตุร้อน ในสมัยโบราณเห็ดถั่งเช่าถูกจำกัดการใช้เฉพาะจักรพรรดิ และเชื้อพระวงศ์ชั้นสูงของจีนเท่านั้น คนธรรมดาสามัญไม่มีสิทธิ์บริโภค เป็นของที่หายาก และมีค่าดั่งทอง ตำราการแพทย์ทิเบตมีการบันทึกไว้ว่า เห็ดถั่งเช่าถูกใช้เป็นยาชูกำลัง ใช้รักษาสารพัดโรค

2.2 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่า

2.2.1 การเพาะด้วยตัวหนอน

เป็นวิธีการที่เลียนแบบธรรมชาติ โดยทำการใส่เชื้อลงไปในตัวหนอนสกุล (*Thitarodes hepialus*) โดยที่ตัวหนอนนั้นยังมีชีวิตอยู่ เมื่อได้รับเชื้อ หนอนจะค่อยๆอ่อนแอและตายในที่สุด เส้นใยเห็ดก็จะงอกออกมาจากตัวหนอน หนอนที่ใช้เพาะเชื้อ อาจเก็บมาจากธรรมชาติ โดยเก็บรังไหมมาแล้วทำการผ่าเอาดักแด้ตัวหนอนออกมาใช้ หรืออาจทำการเก็บไข่ผีเสื้อมาทำการเพาะจนได้ตัวหนอนก็ได้การเพาะด้วยตัวหนอนทำได้ทั้งในสภาพปลอดเชื้อโดยเลี้ยงในขวดแก้ว หรืออาจเพาะในโรงเรือนที่สะอาด และสามารถควบคุมสภาพแวดล้อมภายในได้ โดยการเพาะในกระบะ

2.2.2 การเพาะด้วยอาหาร

เห็ดถั่งเช่าแต่ละชนิดต้องการอาหารที่ไม่เหมือนกัน ควรทำการเลือกใช้สูตรอาหารที่เหมาะสมกับเชื้อเห็ดชนิดนั้นๆ อาหารที่ใช้เพาะเชื้อเห็ดนั้นอาจเป็นอาหารวิทยาศาสตร์ ได้มาจากการผสมสารเคมีหลายๆ ชนิด หรืออาจเป็นวัตถุดิบตามธรรมชาติก็ได้

2.2.3 แหล่งอาหาร

อาหารในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสูตรอาหารมากมาย โดยหลักแล้วจะประกอบด้วยแหล่งคาร์บอน ได้แก่ เมล็ดธัญพืช น้ำตาล และแป้ง แหล่งไนโตรเจน ได้แก่ หนอนไหม ไข่ ดักแด้ ยีสต์สกัด เปปโตน บัฟเฟอร์ กรดซิตริก และวิตามินบี 1 (ธัญญา, 2555)

2.2.3.1 แหล่งคาร์บอน

เป็นแหล่งอาหารที่ให้พลังงานแก่เซลล์ ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและเมแทบอลิซึมของเชื้อจุลินทรีย์ จากการทดลองเพาะเลี้ยงในแหล่งคาร์บอน เช่น กลูโคส ฟรุกโตส กาแล็กโทส มอลโทส ซูโครส เด็กซ์โทรส สตาร์ช และเซลล์ลูโลส พบว่าใช้เด็กซ์โทรสในการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวให้เส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองให้ปริมาณคอร์ไดเซปินมากที่สุด รองลงมาคือ สตาร์ช ซูโครส และมอลโทส นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่าการใช้เด็กซ์โทสร้อยละ 4 ในอาหารเหลวจะให้ปริมาณคอร์ไดเซปินสูงสุด (Tuli และคณะ, 2014) ในการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งพบว่าการใช้กลูโคสจะให้คุณภาพดอกเห็ดที่ดีที่สุด หมายถึงรวมน้ำหนักแห้งปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินรองลงมาคือ ซูโครสและมอลโทส (Wen และคณะ, 2014)

2.2.3.2 แหล่งไนโตรเจน

เป็นแหล่งของกรดอะมิโนที่จำเป็นในการสังเคราะห์โปรตีนภายในเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ จากการทดลองเปรียบเทียบระหว่างแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์กับแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์พบว่าแหล่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนโตรเจนอินทรีย์ให้ปริมาณคอร์ไดเซปินมากกว่าซึ่งก็คือ ยีสต์สกัด โดยยีสต์สกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.8 ในอาหารเหลวเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้สารคอร์ไดเซปินมากที่สุด (Tuli และคณะ, 2014) ในการเพาะเลี้ยงดอกเห็ดได้มีการทำงานวิจัยพบว่า การใช้เปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนในการเพาะเลี้ยงแบบอาหารแข็งจะให้ปริมาณน้ำหนักแห้ง สารอะดีโนซีนและสารคอร์ไดเซปินที่สูง แต่การใช้น้ำมันถั่งเหลืองจะทำให้ได้ปริมาณคอร์ไดเซปินในดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองมากที่สุด (Wen และคณะ, 2014) การใช้ยีสต์สกัดและเปปโตนรวมกันในการเพาะเลี้ยงช่วยในการสังเคราะห์กัวนีน อะดีโนซีน และคอร์ไดเซปิน โดยใช้อัตราส่วนทั้งเปปโตนและยีสต์สกัดร้อยละ 0.3 การใช้แหล่งไนโตรเจนที่ต่างกันส่งผลต่อการสังเคราะห์นิวคลีโอไซด์และสารเมแทบอไลท์อื่นๆ (Gu และคณะ, 2007)

2.2.3.3 แหล่งเกลือแร่

เกลือแร่ช่วยในการเจริญและพัฒนาของเชื้อราชนิดต่างๆดังนั้นแล้วเกลือแร่จึงเป็นสิ่งที่จำเป็นต้องใส่ในอาหารเพาะเลี้ยง จากงานวิจัยการหาเกลือแร่ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตและผลิตสารของเห็ดถั่งเช่าสีทองพบว่า โพแทสเซียมซัลเฟตและแมกนีเซียมซัลเฟตช่วยให้มีดอกเห็ดและสารคอร์ไดเซปินในปริมาณที่สูง (Wen และคณะ, 2014)

2.2.4 อุณหภูมิ

เป็นสิ่งที่มีความสำคัญต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ เนื่องจากเอนไซม์ของเชื้อแต่ละชนิดจะทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่จำเพาะต่อการเจริญของเชื้อนั้นๆ จากการทดลองเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวพบว่าอุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ดีที่สุดในการเจริญของเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง (Zhi-Li Yi และคณะ, 2014) และจากการทดลองเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อที่ดีที่สุดคืออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Byung-Joo Lee และคณะ, 2013)

2.2.5 ค่าพีเอช

พีเอชเป็นสิ่งสำคัญต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์โดยเฉพาะกับเชื้อเรากลุ่มแอสโคไมซีสและเบซิโดไมซีส โดยทั่วไปแล้วพีเอชที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดถั่งเช่าจะอยู่ในช่วง 4 ถึง 7 พีเอชที่ต่างกันจะส่งผลต่อการเผาผลาญสารอาหารและการเจริญของเส้นใย ดังนั้นเมื่อทดลองเพาะเลี้ยงในช่วงพีเอช 4-7 แล้วพบว่าพีเอชที่ให้ปริมาณคอร์ไดเซปินมากที่สุดเป็นช่วงพีเอชที่ 5.5

2.2.6 อายุของหัวเชื้อ

อายุของหัวเชื้อเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญในการผลิตคอร์ไดเซปินและสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ จากการทดลองการเลี้ยงหัวเชื้อเหลวชั่วโมงที่ 24 ถึง 144 พบว่าหัวเชื้อที่ชั่วโมงที่ 72 จะให้ปริมาณคอร์ไดเซปินมากที่สุดเมื่อนำหัวเชื้อเหลวมาเลี้ยงในอาหารเหลว (Tuli และคณะ, 2014)

2.2.7 อากาศและความชื้น

อากาศเป็นปัจจัยสำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตสารทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉพาะจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้อากาศ มีงานวิจัยที่แสดงว่าออกซิเจนเป็นสิ่งที่สำคัญในการเจริญของเส้นใยและการผลิตสารทางชีวภาพของเชื้อราให้มีปริมาณสูง (Shih และคณะ, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความชื้นร้อยละ 70-80 เป็นความชื้นตามธรรมชาติที่เชื้อราเจริญเติบโตได้ดีหากไม่ควบคุมความชื้นภายในขวดเพาะเลี้ยงที่เป็นอาหารแข็งทำให้อาหารแห้งอย่างรวดเร็วส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ

2.2.8 แสง

ในที่มืดเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองจะมีสีขาว แสงจะไปกระตุ้นให้มีการสร้างเม็ดสีและทำให้เกิดการรวมกันของเส้นใยกลายเป็นดอก ช่วยในการปรับปรุงสี เพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ คอร์ไดเซปิน แคโรทีนอยด์ และพอลีแซกคาไรด์ โดยแคโรทีนอยด์จะทำให้ดอกเห็ดมีสีทองเข้ม ซึ่งเป็นสิ่งที่บ่งบอกถึงคุณภาพทางการค้า นอกจากนี้แสงยังเป็นปัจจัยสำคัญที่จะกำหนดความหนาแน่น เนื้อสัมผัส และสีของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง แสงสีแดงส่งผลให้เกิดการเจริญของเส้นใยและเพิ่มปริมาณอะดีโนซีน ในขณะที่แสงสีฟ้าช่วยในการสังเคราะห์คอร์ไดเซปินของเส้นใย แสงสีชมพู (1/3 สีฟ้า + 2/3 สีแดง) ช่วยเพิ่มน้ำหนักแห้งและช่วยให้เกิดการสะสมของแคโรทีนอยด์และคอร์ไดเซปิน ขณะที่แสงสีแดงช่วยเพิ่มปริมาณอะดีโนซีนในดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง แสดงให้เห็นว่าการให้แสงในการเพาะเลี้ยง นอกจากจะเพิ่มร้อยละผลได้แล้วยังส่งผลต่อคุณภาพของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2.2.9 แสงไฟแอลอีดี

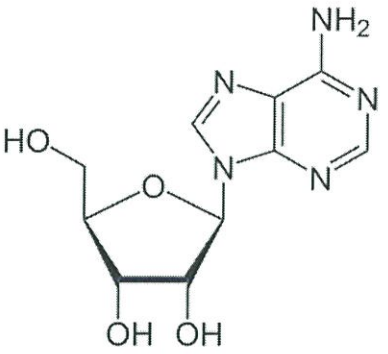
เป็นอุปกรณ์จำพวกไดโอดที่สามารถเปล่งแสงได้ในช่วงสเปกตรัมที่แคบ เปล่งแสงได้ในช่วงอัลตราไวโอเลตและในช่วงแสงที่มองเห็นได้ ไฟแอลอีดีสามารถปล่อยแสงสีขาว (ความยาวคลื่นหลายความยาวคลื่นผสมกัน) หรือแสงช่วงความยาวคลื่นใดคลื่นหนึ่งได้ขึ้นกับการผลิตทำให้สามารถเลือกใช้ความยาวคลื่นที่ต้องการในการเพาะเลี้ยงราหรือพืชได้ หลอดไฟแอลอีดียังช่วยลดการใช้พลังงานลงร้อยละ 70 และปล่อยความร้อนเพียงเล็กน้อยทำให้ลดค่าใช้จ่ายในการควบคุมอุณหภูมิหลอดไฟแอลอีดีมีอายุการใช้งานถึง 50000 ชั่วโมงขึ้นไป เมื่อเทียบกับหลอดไฟธรรมดาที่ไส้เป็นปรอทมีอายุการใช้งานเพียง 200 ชั่วโมง

2.3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2.3.1 อะดีโนซีน (adenosine)

เป็นนิวคลีโอไซด์ที่พบได้โดยทั่วไปในเซลล์ของร่างกายมีสูตรทางเคมีดังนี้ 6-amino-9-beta-D-ribofuranosyl-9-H-purine อะดีโนซีนเกิดจากการจับของอะดีนีนกับน้ำตาลไรโบสพันธะที่เกิดขึ้นระหว่างอะดินีนและน้ำตาลไรโบส เรียกว่าพันธะ β-N_9-glycosidic โครงสร้างทางเคมีแสดงดังรูปที่ 2.3 อะดีโนซีนช่วยในการถ่ายโอนพลังงานภายในเซลล์ในรูปของอะดีนีนไตรฟอสเฟต (ATP) และอะดินีนไดฟอสเฟต (ADP) นอกจากนี้อะดิโนซีนจะฟอร์มตัวเป็นไซคลิกอะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต (cAMP) ซึ่งจะเป็นตัวส่งสัญญาณในหลายๆ วิถีเมแทบอลิซึมของร่างกาย อะดีโนซีนช่วยเพิ่มการเปลี่ยนไกลโคเจนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสภายในตับ ภายในสมองสภาวะปกติอะดีโนซีนช่วยในการนอนหลับ ลดการถูกกระตุ้นทางอารมณ์ในระบบหมุนเวียนเลือด อะดีโนซีนช่วยให้กล้ามเนื้อหัวใจมีแรงมากขึ้นช่วยขยายหลอดเลือด ดังนั้นอะดีโนซีนจึงถูกใช้เป็นยารักษาโรคเกี่ยวกับกล้ามเนื้อหัวใจ ช่วยให้หัวใจเต้นเป็นปกติ อะดีโนซีนมีลักษณะตรงข้ามกับอะดรีนารีนทำให้ต้านการแข็งตัวของเลือดและลิ่มเลือด (Ling และคณะ, 2009)

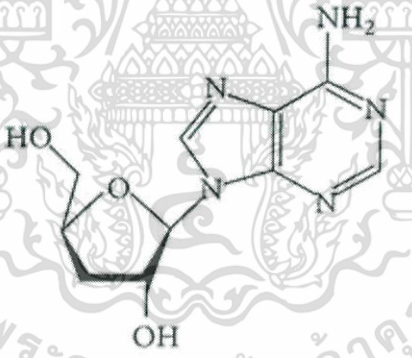
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของอะดีโนซีน
ที่มา : http://www.klugg.it/2014/03/01/dipendenza-dalla-caffeina/

2.3.2 คอร์ไดเซปิน (cordycepin)

คอร์ไดเซปินเป็นสารสำคัญของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายมีลักษณะเป็นอนุพันธ์ของอะดีโนซีนโครงสร้างโมเลกุลเหมือนกับอะดีโนซีนแต่ขาดหมู่ไฮดรอกซิล (3'-hydroxyl group) โครงสร้างทางเคมีแสดงดังรูปที่ 2.4 ซึ่งทำให้โครงสร้างโมเลกุลของคอร์ไดเซปินมีความแข็งแรงมาก สามารถเข้าไปรบกวนกระบวนการทางชีวเคมีของร่างกายได้ เช่น การสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอ็นเอ (RNA) เป็นต้น (Tuli และคณะ, 2013)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของคอร์ไดเซปิน
ที่มา : www. BlogGang.com

2.3.3 พอลิแซกคาไรด์ (polysaccharide)

เป็นสารเบต้า-กลูแคนในเห็ดที่มีสรรพคุณการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อต้านอนุมูลอิสระให้ร่างกายได้เป็นอย่างดี เป็นผลให้ร่างกายสมดุลเป็นปกติ และยังทำให้เซลล์มะเร็งตายได้ ช่วยทำให้ผู้ป่วยมะเร็งมีชีวิตยืนยาวต่อได้ไปอีก นอกจากนี้สารเบต้า-กลูแคนในเห็ดยังไปส่งเสริมให้ร่างกายกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนให้แก่เซลล์ผิวหนัง ทำให้บริเวณผิวหนังมีความยืดหยุ่น มีการสร้างเซลล์ใหม่เกิดขึ้น มีความเต่งตึงและลดการเหี่ยวย่นของผิวหนังได้ แต่ในเห็ดแต่ละชนิดมีสารเบต้า-กลูแคนที่แตกต่างกันจึงมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันและการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันด้วย (พรพจน์, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 แคโรทีนอยด์ (carotenoid)

เป็นรงควัตถุ (pigment) สีเหลือง ส้ม แดง และส้ม-แดง พบทั่วไปในพืช และสิ่งมีชีวิตที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ ทำงานร่วมกับคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) ซึ่งเป็นรงควัตถุที่มีสีเขียว ทำหน้าที่ ดูดซับพลังงานจากแสงอาทิตย์ เพื่อการสังเคราะห์แสงและช่วยการเจริญเติบโตของพืช และป้องกันอันตรายจากแสง (photoprotective agents) ในอุตสาหกรรมอาหาร ใช้เป็นสีผสมอาหารจากธรรมชาติ เป็นกลุ่มสารที่มีมีประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกาย ช่วยต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และเป็นสารสีของเห็ดที่ทำให้เห็ดถั่งเช่าสีทองมีสีเหลืองส้ม (พิมพ์เพ็ญ และคณะ, 2556)

แคโรทีนอยด์ เป็นสารพฤกษาเคมีที่ทรงพลัง มีคุณสมบัติเป็นทั้งสารต้านอนุมูลอิสระ และสารต้านมะเร็งที่ยอดเยี่ยม แคโรทีนอยด์ คือ เม็ดสีชนิดละลายในไขมัน พบมากในผักและผลไม้ที่มีสีส้ม เหลือง แดง และเขียว ทำหน้าที่ปกป้องพืชจาก รังสีอัลตราไวโอเลต (UV) ในแสงแดด และสารก่อมะเร็งในสิ่งแวดล้อม ช่วยป้องกันการก่อตัวของอนุมูลอิสระที่เป็นอันตราย ในปัจจุบันมีการค้นพบแคโรทีนอยด์ถึง 600 ชนิด และประมาณ 50 ชนิด พบได้ในผักและผลไม้ ที่เรารับประทาน แคโรทีนอยด์ 6 ชนิดที่กลายมาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระดาวเด่นแห่งศตวรรษที่ 21 คือ แอลฟาแคโรทีน เบต้าแคโรทีน คริบโตแซนทิน ไลโคปีน ลูทีน และซีแซนทิน

แคโรทีนอยด์ เป็นสารสีที่พบได้ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด เป็นสารที่มีความสำคัญหลายประการ อาทิ เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยในพัฒนาการของตัวอ่อน และระบบการสืบพันธุ์ ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน รวมถึงเป็นสารที่ทำให้เกิดสีในสิ่งมีชีวิต

แคโรทีนอยด์จะพบมากในผัก และผลไม้ ซึ่งไม่แสดงสีให้เห็น เนื่องจากถูกสีเขียวของคลอโรฟิลล์บดบังไว้ แต่เมื่อผัก และผลไม้แก่ตัว คลอโรฟิลล์จะสลายตัวไป แล้วสารสีแคโรทีนอยด์จึงจะปรากฏสีให้เห็น เช่น สีเหลือง สีส้ม สีแดง เป็นต้น

แคโรทีนอยด์ เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว (Unsaturated hydrocarbon) มีคาร์บอน 40 อะตอม ประกอบด้วย 8 ไอโซพรีน ที่เชื่อมติดกันด้วยพันธะโควาเลนต์ที่เป็นพันธะคู่สายยาว มีคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงอัลต้าไวโอเลต และแสงสีขาวได้ดี ทำให้สารแคโรทีนอยด์มีคุณสมบัติเป็นสารสีในสิ่งมีชีวิต นอกจากนั้นยังมีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสีของแคโรทีนอยด์จะเปลี่ยนแปลงไปตามจำนวนพันธะคู่ในโมเลกุล หากมีจำนวนพันธะคู่มากจะให้สีแดงเข้ม หากมีจำนวนพันธะคู่น้อยจะให้สีจาง จำนวนพันธะคู่ของแคโรทีนอยด์ที่มีน้อยที่สุดจะมีจำนวน 7 คู่ ให้สีออกเหลือง และพันธะคู่อาจอยู่ในรูปของซิส (cis) ที่ให้สีอ่อน และหากมีพันธะคู่ในรูปของซิสจะยิ่งให้สีจางลง ส่วนพันธะคู่ในรูปทราน (trans) จะให้สีเข้ม และเข้มขึ้นเมื่ออยู่ในรูปของทรานมาก ทั้งนี้แคโรทีนอยด์ส่วนมากมักพบอยู่ในรูปของทรานที่โมเลกุลมักรวมกันเป็นกลุ่มทำให้มีคุณสมบัติในการละลาย และดูดซึมได้น้อยกว่าในรูปของซิส

2.3.4.1 การสังเคราะห์และสกัดแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์ที่มีการสังเคราะห์ และสกัดจากธรรมชาติที่นิยมมี 2 ชนิด คือ เบต้าแคโรทีนที่ใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับรับประทาน และแอสตาแซนทินที่ใช้เป็นอาหารเสริมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ การเสริมในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มคุณสมบัติของเนื้อในด้านสี และรสสัมผัส รวมถึงช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโตของสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.สังเคราะห์ทางเคมี

ปัจจุบันมีหลายบริษัทที่ผลิตแคโรทีนและแอสตาแซนทินจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี แต่ปัจจุบัน แคโรทีนอยด์ที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีมีแนวโน้มการได้รับความนิยมลดลง เนื่องจากผู้คนส่วนใหญ่เริ่มให้ความระมัดระวังในการบริโภคอาหารที่ได้จากการสังเคราะห์หรืออาหารที่เลี้ยงจากอาหารที่เสริมสารสังเคราะห์มากขึ้น

2. การสกัดจากธรรมชาติ

แคโรทีน และแอสตาแซนทินสามารรถสกัดได้จากธรรมชาติ โดยเฉพาะพืชผัก และผลไม้ชนิดต่างๆ ที่มีสีเหลือง สีแดง เขียว น้ำตาล น้ำเงิน เป็นต้น รวมถึงการสกัดจากสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น ไข่ปลา และเปลือกกุ้ง เป็นต้น

2.3.4.2 ประโยชน์ที่ได้รับจากแคโรทีนอยด์

1. เบต้าแคโรทีนช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน

2. สารอาหารเหล่านี้ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งช่วยในการรวมตัวเองเข้ากับเยื่อบุเซลล์เหมือนกับวิตามินอี

3. เบต้าแคโรทีน มีส่วนช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งปอด มะเร็งคอมดลูก มะเร็งผิวหนัง มะเร็งมดลูก มะเร็งในช่องปาก และมะเร็งลำไส้

4. เบต้าแคโรทีน ในปริมาณสูงช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจได้ถึงร้อยละ 40

5. เบต้าแคโรทีนในระดับสูง สามารถช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคต้อกระจก และโรคจอประสาทตาเสื่อมได้

6. ลูทิน และซีแซนทิน เป็นแคโรทีนอยด์ที่สะสมอยู่บริเวณเรตินาของดวงตา เม็ดสี จะทำหน้าที่ปกป้องเรตินา และจอประสาทตา จากกระบวนการออกซิไดซ์เกินสมดุล (oxidative stress) ซึ่งนั่นหมายความว่า มันจะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคจอประสาทตาเสื่อมได้

7. เบต้าแคโรทีน และแคโรทีนอยด์ อีกหลายประเภทจะถูกเปลี่ยนเป็นวิตามินเอ หากร่างกายต้องการ ดังนั้น จึงมีความปลอดภัยต่อการบริโภค ซึ่งจะสามารถช่วยให้ร่างกายได้รับวิตามินเอได้อย่างเพียงพอในยามที่ต้องการ

8. แคโรทีนอยด์รวม สามารถเพิ่มการต่อต้านไม่ให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นกับโคเลสเตอรอลชนิด (LDL) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.3.5 กรดไขมัน (fatty acid)

Seth และคณะ (2014) พบว่าสายพันธุ์เห็ดถั่งเช่า ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว พบว่าประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวร้อยละ 57.84 พบกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) สูงที่สุดถึงร้อยละ 38.44 และยังประกอบด้วยกรดโอเลอิก (oleic acid) ร้อยละ 17.9 พบกรดไขมันอิ่มตัวร้อยละ 42.16 พบว่ามีกรดปาล์มมิติก (palmitic acid) และกรดออกตะเดคาโนอิก (octadecanoic acid) สูงที่สุดถึงร้อยละ 21.86 และ 15.78 ตามลำดับ กระไขมันไม่อิ่มตัวช่วยลดระดับปริมาณไขมันในเส้นเลือด และช่วยป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ถึงแม้ว่าถั่งเช่ามีการใช้อย่างแพร่หลายและมีราคาสูงแต่ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่ศึกษาในคนอย่างเป็นระบบมีน้อยมากส่วนใหญ่เป็นกรณีศึกษา ตัวอย่างเช่น

2.4.1 กรณีศึกษาฤทธิ์ต่อการกระตุ้นสมรรถภาพทางเพศ

คอร์ไดเซปินสารสำคัญในถั่งเช่าที่สามารถออกฤทธิ์ได้เท่าฮอร์โมนเพศชายหรือ testosterone ทำให้คอร์ไดเซปินมีผลโดยตรงในการควบคุมสมรรถภาพทางเพศชายทั้งระบบให้ทำงานได้อย่างเต็มที่ จึงเสริมสมรรถภาพทางเพศให้กับผู้ที่มีปัญหานกเขาไม่ขันได้ในระดับฮอร์โมน โดยที่ตัวคอร์ไดเซปินเองไม่ได้เป็นฮอร์โมนจึงไม่รบกวนสมดุลฮอร์โมนภายในร่างกาย สามารถใช้ได้อย่างปลอดภัย ให้ผลเพิ่มเสริมสมรรถภาพทางเพศ รักษานกเขาไม่ขันได้ครบวงจรตั้งแต่เสริมอารมณ์ทางเพศ เพิ่มการตอบสนอง สั่งการให้องคชาติเกิดการแข็งตัวได้สมบูรณ์และรวดเร็วฉับไว มีผลต่อขนาดขององคชาติ และลักษณะอื่นๆที่แสดงออกถึงความเป็นชาย ที่สำคัญ จะยิ่งเห็นผลชัดเจนมากในผู้ที่อาการนกเขาไม่ขันที่ค่อนข้างอายุมากเพราะจะเริ่มมีปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนต่ำลง ฉะนั้นการได้รับสารคอร์ไดเซปินเท่ากับได้สารที่ทำงานในระบบสมรรถภาพทางเพศแทนฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน

ผลของถั่งเช่าในการเพิ่มเสริมและดูแลสุขภาพร่างกายโดยรวม ซึ่งจัดเป็นการเพิ่มสมรรถภาพเสริมสมรรถภาพแก้นกเขาไม่ขันทางอ้อมที่สำคัญไม่แพ้กลไกอื่นๆ สุขภาพร่างกายที่แข็งแรงส่งผลอย่างมากต่อสมรรถภาพทางเพศที่ดียิ่งขึ้น และมีสมรรถภาพที่ดีอย่างยั่งยืน ถั่งเช่ามีผลต่อการเพิ่มเสริมสมรรถภาพทางเพศอย่างมาก เช่น ป้องกันการแข็งตัวของเลือดและผนังหลอดเลือด ผลในการเพิ่มสารอะดรีนาลีนให้กับร่างกายซึ่งช่วยเพิ่มพลังงาน ลดอาการอ่อนเพลีย ช่วยให้หลับสนิท ซึ่งการนอนหลับสนิทจะทำให้กระบวนการสังเคราะห์ฮอร์โมนเพศชายทำงานเต็มที่ ชะลอความเสื่อมส่วนต่างๆของร่างกายรวมไปถึงส่วนที่เกี่ยวข้องกับสมรรถภาพทางเพศด้วย อื่นๆ เช่น รักษาโรคภูมิแพ้และหอบหืด เป็นต้น

พบว่าการวิจัยในผู้ชาย 22 คน ใช้ถั่งเช่าเป็นอาหารเสริม พบว่าช่วยเพิ่มจำนวนของสเปิร์มในอสุจิได้ร้อยละ 33 และมีผลลดปริมาณของสเปิร์มที่ผิดปกติลงร้อยละ 29 และมีอีกกรณีศึกษาในผู้ป่วยทั้งชายและหญิง 189 คน ที่มีความต้องการทางเพศลดลง พบว่าถั่งเช่าสามารถช่วยทำให้อาการและความต้องการทางเพศสูงขึ้นร้อยละ 66 นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยสนับสนุนว่าการรับประทานถั่งเช่าจะช่วยปกป้องและช่วยให้การทำงานของต่อมหมวกไต ฮอร์โมนจากต่อมไทมัส และจำนวนของสเปิร์มที่สามารถปฏิสนธิได้เพิ่มขึ้นร้อยละ 300 และช่วยเพิ่มความต้องการทางเพศของผู้หญิงได้ร้อยละ 86

2.4.2 กรณีศึกษาฤทธิ์กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

โดยทำการศึกษาในผู้ชาย 5 คน (อายุเฉลี่ย 35 ปี) ที่ถุงลมคงเดิมอักเสบด้วย lipopolysaccharide (LPS) พบว่าถั่งเช่ามีฤทธิ์ลดการสร้างสารที่ทำให้เกิดการอักเสบ เช่น interlukin-1beta (IL-1beta), interlukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), interleukin-10 (IL-10) และ tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) ได้ จึงส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันทำงานดีขึ้น

การลดกระบวนการสร้าง Immunoglobulin (IgE) ที่มากเกินไปในผู้ป่วยโรคภูมิแพ้และหอบหืด ซึ่งเป็นสารเคมีที่ร่างกายสร้างขึ้นเมื่อได้รับสารก่อภูมิแพ้ เป็นตัวกระตุ้นให้อาการโรคภูมิแพ้และหอบหืดกำเริบ เนื่องจาก IgE จะเหนี่ยวนำให้มีการสร้างและปลดปล่อย histamine, leukotrienes

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ Interleukins ที่ทำให้ร่างกายแสดงอาการ อีกทั้งทำให้ผนังหลอดเลือดหลวมผิดปกติและปล่อยให้สารเคมีที่เป็นตัวร้านเหล่านี้รั่วไหลเข้าสู่เนื้อเยื่อต่างๆภายในร่างกายได้อย่างมากและเกิดอาการอักเสบและตอบสนองเป็นอาการต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับโรคภูมิแพ้และหอหืด เช่น หลอดลมหดตัว คัดจมูก น้ำมูกไหล คันตา ผื่นคัน ฯลฯ

มีฤทธิ์ในการควบคุมสมดุลของ Allergen-reactive helper T cells Type I และ Type II ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของการตอบสนองต่อสารก่อภูมิแพ้ที่ร่างกายได้รับ และก่อให้เกิดอาการ ผู้ป่วยโรคภูมิแพ้และโรคหอบหืดมักมีการทำงานของ Type II มากเกินปกติทำให้สมดุลระหว่าง Type I/II เสียไปเป็นต้นเหตุของการตอบสนองต่อสิ่งต่างๆไปในกระบวนการที่ทำให้เกิดอาการโรคภูมิแพ้หอบหืด ถั่งเช่าจะช่วยปรับสภาพสมดุลนี้ให้ปกติ เป็นจุดที่มีความสำคัญมากต่อการรักษาภูมิแพ้ หอบหืด

2.4.3 กรณีศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด

โดยการให้ผู้ป่วยเบาหวานรับประทานถั่งเช่าปริมาณ 3 กรัมต่อวัน พบว่าสามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ถึงร้อยละ 95 ในขณะที่กลุ่มที่รักษาด้วยยาแผนปัจจุบันสามารถควบคุมระดับน้ำตาลได้เพียงร้อยละ 54

เมื่อนำเห็ดถั่งเช่าผสมกับเห็ดหลินจือและจมูกข้าว จะสามารถออกฤทธิ์ได้ดีกับผู้ป่วยมะเร็งในตับและลำไส้ จากการทดสอบกับผู้ป่วยที่สมัครใจ ทั้งมะเร็งและเบาหวานจำนวน 100 คน พบว่า ผู้ที่รับการรักษากินสารอาหารที่มีเห็ดถั่งเช่าเสริมเข้าไปด้วย ทานวันละ 4 เม็ด 2-3 เดือนก็เห็นผลโดยเฉพาะผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานถึงขั้นต้องตัดขาทิ้งกลับพบว่าแผลดีขึ้นและหายเป็นปกติได้ (นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และ ธิดารัตน์ จันทร์ดอน , 2556)

2.4.4 กรณีศึกษาฤทธิ์ต่อการฟื้นฟูระบบการทำงานของไต

โดยให้ผู้ป่วยภาวะไตวายเรื้อรังรับประทานถั่งเช่าปริมาณ 3-5 กรัมต่อวัน พบว่าถั่งเช่าทำให้การทำงานของไตมีประสิทธิภาพดีขึ้น และพบว่าหลังจากให้ผู้ป่วยรับประทานถั่งเช่าต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 1 เดือน สามารถช่วยลดอาการแทรกซ้อนต่างๆ ที่เกิดจากภาวะไตวาย ได้แก่ ลดความดันโลหิต ลดระดับโปรตีนในปัสสาวะ ลดการเกิดภาวะโลหิตจาง และช่วยเพิ่มเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และมีรายงานว่าการให้ผู้ป่วยที่การทำงานของไตบกพร่องจากการใช้ยาเจนตามัยซิน (gentamicin) รับประทานถั่งเช่า 4.5 กรัมต่อวัน มีผลทำให้ระบบการทำงานของไตดีขึ้นเป็นปกติร้อยละ 89 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมหลังจากรับประทานถั่งเช่าภายใน 6 วัน

2.5 ข้อควรระวังเกี่ยวกับถั่งเช่า

ปัจจุบันนี้หาทานถั่งเช่าได้ง่ายขึ้น เพราะมีการผลิตถั่งเช่าสกัดแบบแคปซูลออกมา แต่แม้ว่าถั่งเช่าจะมีสรรพคุณในการดูแลสุขภาพและบรรเทาอาการเจ็บป่วย ก็ยังมีสิ่งที่ควรระมัดระวังในการรับประทานถั่งเช่าอยู่ไม่น้อย โดยเฉพาะผู้ป่วยโรคเบาหวาน การรับประทานถั่งเช่าสามารถลดน้ำตาลในเลือดได้ แต่ถ้าหากใช้ควบคู่ไปกับยาลดน้ำตาลอาจจะทำให้น้ำตาลในเลือดต่ำจนเป็นอันตรายได้เช่นกัน ผู้ที่ใช้ยากลุ่มป้องกันการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด และผู้ที่ใช้ยากดภูมิคุ้มกันก็ไม่ควรรับประทาน เพราะถั่งเช่ามีฤทธิ์ต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน หากใช้แล้วอาจจะเกิดอันตรายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 เทคนิคการอบแห้ง

การอบแห้งเป็นการทำให้น้ำระเหยกลายเป็นไอออกไปจากเนื้อเยื่อของผักผลไม้ (นิธิยา, 2544) อุปกรณ์และวิธีการหลายแบบ เช่นการอบแห้งโดยใช้แสงแดด นิยมใช้กับกล้วย พรุน องุ่น และอินทผาลัม ส่วน atmospheric dehydration process นิยมใช้กับแอปเปิล พรุน และผักชนิดต่างๆ การอบแห่งแบบต่อเนื่อง เช่น แบบอุโมงค์ สายพาน และ fluidized bed นิยมใช้กับผัก ส่วนการอบแห่งแบบพ่นฝอย (spray drying) นิยมใช้กับน้ำผลไม้เข้มข้นเพื่อทำเป็นน้ำผลไม้ผงและการอบแห้งแบบสุญญากาศจะใช้กับผลไม้ที่มีความชื้นต่ำและน้ำตาลสูง

ปัจจัยที่ใช้พิจารณาในการเลือกเครื่องอบแห้งและวิธีการอบแห้งแบบใด จะขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุ ส่วนประกอบทางเคมี สมบัติของวัตถุดิบคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ภาวะที่ใช้ในการอบแห้ง การอบแห้งที่นิยมใช้มี 3 วิธี ได้แก่

1.การอบแห้งโดยใช้แสงแดดหรือพลังงานอาทิตย์

2.การอบแห้งโดยใช้เตาอบที่บรรยากาศปกติเป็น batch และการอบแห้งแบบต่อเนื่อง

3.การอบแห้งที่ภาวะต่ำกว่าบรรยากาศ เช่น vacuum shelf /drum และ freeze dryers ปัจจุบันมีการพัฒนารูปแบบใหม่ๆ เช่น การทำ osmotic dehydration

2.6.1 การทำแห้ง (Drying)

การทำแห้งคือ การลดความชื้นของอาหารจนถึงระดับที่สามารถระงับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ คือ มีค่าของวอเตอร์แอคติวิตี้ (water activity, aw) ต่ำกว่า 0.07 ทำให้สามารถเก็บอาหารไว้ได้นาน อาหารแต่ละชนิดมีระดับความชื้นที่ปลอดภัยไม่เท่ากัน เช่น ผลไม้แช่อิ่ม เก็บไว้ที่ความชื้นร้อยละ 15 -20 แต่ถ้าเป็นเมล็ดธัญพืชเก็บที่ความชื้นนี้จะเกิดราได้

จากการศึกษาพบว่า ปริมาณน้ำหรือความชื้นที่สามารถป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ได้โดยทั่วไปควรจะมีความชื้นเหลือในอาหารนั้นต่ำกว่าร้อยละ 10 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารเป็นสำคัญ

การทำแห้งนั้นมีวิธีการทำหลายวิธี จึงมีชื่อเรียกต่างกันตามลักษณะของการอบแห้งนั้นๆ เช่น การตกค้าง การอบแห้ง การผึ่งแดด การทำแห้ง (drying) และดึงน้ำกลับ (dehydration) โดยความหมายแล้วการทำแห้งหมายถึง การถ่ายเทของเหลว (สมบัติ, 2529)

2.6.1.1 ความสำคัญของการทำแห้ง

การทำแห้งคือกระบวนการลดความชื้นซึ่งส่วนใหญ่ใช้การถ่ายเทความร้อนไปยังวัสดุที่ชื้นเพื่อไล่ความชื้นออกโดยการระเหย โดยใช้ความร้อนที่ได้รับเป็นความร้อนแฝงของการระเหย

กรณีของเมล็ดพืชเกษตรกรสามารถเก็บเกี่ยวเมื่อเมล็ดพืชยังมีความชื้นสูงอยู่ทำให้ลดการสูญเสียของเมล็ดพืชอันเนื่องมาจากการร่วงหล่นในระหว่างก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว การเก็บเกี่ยวที่เร็วขึ้น อาจช่วยให้เกษตรกรสามารถปลูกพืชครั้งที่สองอย่างได้ผล การอบแห้งที่ถูกหลักช่วยให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูง สามารถนำไปเพาะปลูกได้ง่ายและประสิทธิภาพของเมล็ดพืชที่อบแห้งจะมีคุณภาพสูง และสามารถเก็บไว้ได้นาน (อรวสุ, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 เครื่องอบแห้ง

เครื่องมือที่ใช้ในการอบอาหารจำนวนมากในคราวเดียวกันให้แห้งนั้นมีหลายแบบหลายขนาด เช่น

1) ตู้อบหรือโรงอบที่ใช้ความร้อนจากแสงอาทิตย์ โดยมีหลักการทำงานคือ ตู้หรือโรงอบประกอบด้วยแผงรับแสงอาทิตย์ ซึ่งทำด้วยวัสดุใส เมื่อแสงอาทิตย์ส่วนใหญ่เป็นรังสีคลื่นสั้นตกลงบนแผงรับแสงนี้แล้วจะทะลุผ่านไปยังวัสดุสีดำ ภายในตู้และเปลี่ยนเป็นรังสีความร้อน

2) เครื่องอบแห้งที่ใช้ความร้อนจากแหล่งอื่น ความร้อนที่ใช้กับเครื่องอบประเภทนี้ส่วนมากจะใช้กับกระแสไฟฟ้า หรือแก๊ส ส่วนมากใช้ในระดับอุตสาหกรรมซึ่งมีหลายแบบหลายขนาดโดยใช้หลักการที่แตกต่างกันแล้วแต่ประโยชน์ของการใช้สอย

3) เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย การทำงานของเครื่องอบแบบนี้คือ ต้องฉีดของเหลวที่ต้องการทำให้การอบแห้งพ่นเป็นละอองเข้าไปในตู้ที่มีลมร้อนผ่านเข้ามาเช่น ไข่ผง ซุปผง น้ำผลไม้ผง เป็นต้น

4) เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง เครื่องทำแห้งแบบนี้ให้ความร้อนแบบนำความร้อนซึ่งประกอบด้วยลูกกลิ้งทำด้วยเหล็กปลอดสนิม อาหารที่จะทำแห้งต้องมีลักษณะข้นและป้อนเข้าเครื่องตรงผิวนอกของลูกกลิ้งเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ ความร้อนจะถ่ายเทจากลูกกลิ้งไปยังอาหาร

5) เครื่องอบแห้งแบบเยือกแข็ง ประกอบด้วยเครื่องที่ทำให้อาหารเย็นจัด (freezer) แผ่นให้ความร้อนและตู้สุญญากาศ หลักการในการทำแห้งแบบนี้คือ การไล่น้ำจากอาหารออกไปในสภาพสุญญากาศ การถ่ายเทความร้อนเป็นแบบการนำความร้อน

6) ตู้อบแบบใช้ไมโครเวฟ ขณะนี้ได้มีการใช้ไมโครเวฟคลื่นความถี่ 13x106 ไซเกิล เพื่อลดความชื้นของผัก เช่น กะหล่ำปลี และผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีคุณภาพดี สีสวย (ไพบูลย์, 2532)

7) เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum dryer) เป็นตู้ปิดสนิทมีชั้นวางอาหารเป็นแผ่นให้ความร้อนมีระบบดูดอากาศออกจากตู้การทำแห้งผักและผลไม้ที่มีความดันต่ำกว่าปกติ ทำให้น้ำระเหยออกจากอาหารที่อุณหภูมิต่ำ น้ำที่ระเหยออกไปจะกลั่นตัวในเครื่องควบแน่น อาหารที่มีคุณภาพสูง ปัญหาการเกิดออกซิเดชันเกิดได้น้อย จึงป้องกันการเกิดสีน้ำตาลแต่ค่าใช้จ่ายสูงเหมาะกับผักผลไม้แห้งที่ต้องการลดความชื้นให้ต่ำลงมากๆ และไม่ทนต่ออุณหภูมิสูงๆ หรืออาหารที่มีราคาแพงซึ่งคุ้มกับการใช้วิธีนี้

ข้อดีของเรื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum dryer)

1. ไม่มีออกซิเจนจึงลดการเกิดสีน้ำตาล
2. การระเหยของน้ำภายใต้สุญญากาศเกิดเร็วและอยู่ในอุณหภูมิต่ำ

2.7 เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

เครื่อง HPLC เป็นเครื่องมือใช้สำหรับแยกสารประกอบที่สนใจที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง โดยกระบวนการแยกสารประกอบที่สนใจจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสคงที่ (column) กับ เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งสารจะถูกแยกออกมาในเวลาที่ต่างกัน โดยสารผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้น ขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับเฟส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เคลื่อนที่หรือเฟสคงที่ สารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเฟสเคลื่อนที่จะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ได้เร็วสารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับเฟสเคลื่อนที่หรือเข้ากันได้ดีกับเฟสคงที่จะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ได้ช้า ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด สัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่า โครมาโตแกรมโดย HPLC สามารถทดสอบได้ทั้งเชิงคุณภาพ และทดสอบเชิงปริมาณ โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเนื่องจากเครื่อง HPLC เป็นเครื่องที่ต้องอาศัยความชำนาญ

ดังนั้นการใช้งานเพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุดโดยไม่เกิดความเสียหายหรือขัดข้อง ประการแรกสุดที่ผู้ใช้เครื่องควรกระทำ คือ การศึกษาส่วนประกอบต่างๆ จากคู่มือ ซึ่งนอกจากจะบอกวิธีใช้งานโดยละเอียดแล้วยังบอกข้อจำกัด ข้อพึงระวัง และการบำรุงรักษาเครื่อง HPLC แต่ละยี่ห้อจะมีรายละเอียดแตกต่างกัน

2.7.1 ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC

1. เฟสเคลื่อนที่หรือตัวทำละลาย : หรือตัวทำละลายที่ใช้ในการชะหรือแยกตัวอย่าง เป็นเฟสเคลื่อนที่ มีลักษณะเป็นของเหลว ทำหน้าที่ในการนำสารตัวอย่างและตัวทำละลายเข้าสู่เฟสคงที่ (ในที่นี้คือ คอลัมน์) เพื่อให้เกิดกระบวนการแยกภายในคอลัมน์

2. ดีแก๊สเซอร์ (degaser) : ทำหน้าที่กำจัดฟองอากาศ อากาศที่มีอยู่ในเฟสเคลื่อนที่เพื่อไม่ให้ฟองอากาศเข้าสู่คอลัมน์และดีเทคเตอร์

3. ปั๊ม : ทำหน้าที่ดึงตัวทำละลาย (mobile phase) เข้าสู่ระบบ HPLC เนื่องจากในการแยกสารผสมในเทคนิค HPLC จะอาศัยหลักการไหลของเฟสเคลื่อนที่ผ่านเฟสอยู่กับที่ ที่มีขนาดอนุภาคเล็กมาก จึงทำให้เกิดความต้านทานการไหล ระบบปั๊มจึงมีความสำคัญมากในการที่จะทำให้เกิดความดันสูงเพื่อที่จะเอาชนะแรงต้านทาน

4. หัวฉีด : ทำหน้าที่ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าระบบ HPLC

5. คอลัมน์ : หรือจะเรียกว่าเฟสคงที่มีลักษณะเป็นของแข็งหรือเจล เป็นเฟสอยู่กับที่ ทำหน้าที่ให้เกิดกระบวนการแยกของสารที่สนใจ โดยการบวนการแยกเกิดขึ้นระหว่างเฟสเคลื่อนที่กับเฟสคงที่

6. ดีเทคเตอร์ : คือ ตัวตรวจวัดสัญญาณ ทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณของสารที่สนใจที่ได้จากกระบวนการแยก มีหลายชนิดด้วยกัน การเลือกใช้ขึ้นกับตัวอย่างที่สนใจว่าสามารถตอบสนองกับดีเทคเตอร์ชนิดไหนได้ดี

2.7.2 การวิเคราะห์ทดสอบด้วยเครื่อง HPLC

HPLC สามารถวิเคราะห์สารได้หลายชนิด เช่น สารอินทรีย์ สารประกอบทางชีวภาพ โพลีเมอร์ คู่อิแนนทิโอเมอร์ สารประกอบที่เสียสภาพได้ง่าย สารประกอบที่ระเหยยาก ไอออนขนาดเล็ก ไมโครโมเลกุลตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ต้องเป็นของแข็งหรือของเหลว ต้องละลายได้ร้อยเปอร์เซ็นต์ (กรองด้วย) การแยกสารจะประสบความสำเร็จได้ก็ต่อเมื่อสารมีอัตราการเคลื่อนที่ที่แตกต่าง กันภายในคอลัมน์ สารประกอบที่ถูกแยกนั้นจะเคลื่อนที่ไปตามความยาวทั้งหมดของคอลัมน์ โดยมีเฟส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เคลื่อนที่เป็นตัวพาไป ตัวอย่างการทดสอบด้วย HPLC เช่น หาปริมาณวิตามินซี ในเลือด น้ำผลไม้ วิตามินอีในอาหารสัตว์ น้ำตาลในน้ำผลไม้ กลีเซอไรด์ในน้ำมัน และอื่นๆ

2.7.3 การเตรียมเครื่องก่อนใช้งาน

ผู้ใช่ควรทราบก่อนว่าในเครื่อง HPLC ขณะที่จะเริ่มทำการทดลองมีตัวทำละลายชนิดใดอยู่ หากเป็นชนิดที่สามารถละลายได้ในเฟสเคลื่อนที่ ที่กำลังจะใช้ก็ให้ปั้มตัวทำละลายใหม่ไล่ที่ของเดิมออกได้ทันที หากเป็นตัวทำละลายที่ไม่ละลายกัน เช่น เฮกเซน (hexane) กับ เมทานอล (methanol) ก็ให้ใช้ตัวทำละลายตัวกลาง เช่น คลอโรฟอร์ม (chloroform) ละลายตัวทำละลายเดิมออกก่อนที่จะปั้มตัวทำละลายใหม่เข้าไปหลังจากนั้นจึงติดคอลัมน์เข้าไปและปั้มตัวเฟสเคลื่อนที่ผ่านเข้าไปจนสังเกตเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงคงที่ จึงจะทำการฉีดสารเข้าไป

2.7.4 การเตรียมตัวทำละลายของเฟสเคลื่อนที่

ตัวทำละลายที่ใช้ควรเป็นเอชพีแอลซีเกรดซึ่งผลิตมาให้ใช้กับเครื่อง HPLC โดยเฉพาะ ตัวทำละลายที่ใช้จำเป็นต้องกรองก่อน ด้วยกระดาษกรองด้วยเมมเบรนขนาด 0.45 – 0.5 ไมครอน โดยเฉพาะเมื่อมีบัฟเฟอร์ผสมอยู่ด้วย ทั้งนี้เพื่อกำจัดฝุ่นผงที่จะเข้าไปอุดตันในคอลัมน์ทำให้เกิดความเสียหายได้ พีเอชที่ใช้ต้องปรับให้อยู่ในระหว่างพีเอช 2-8 สำหรับใช้กับคอลัมน์ชนิดซิลิก้า เบส (silica base) ทั้งนี้เพื่อรักษาสภาพเดิมของแพ็คกิ้ง (packing) ของคอลัมน์ การใช้ดีแก๊ส เมื่อผสมตัวทำละลายตามสัดส่วนที่ต้องการแล้ว หากต้องการใช้ในทันทีจำเป็นต้องดีแก๊สก่อนเพื่อกำจัดบับเบิ้ล (bubble) ที่เกิดขึ้นขณะผสมให้หมดไป

2.7.5 การฉีดสารตัวอย่าง

สารตัวอย่างที่จะฉีดเข้าเครื่อง HPLC จำเป็นต้องกรองด้วยเมมเบรนขนาดเล็กว่า 0.5 ไมครอน ก่อนทุกครั้ง และตัวทำละลายที่ใช้ละลายตัวอย่างหลังสุดควรเป็นเฟสเคลื่อนที่ ทั้งนี้เพื่อป้องกันว่าจะไม่เกิดการเร่งรัดหลังการฉีดเข้าไปในระบบแล้ว

2.8 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorption Spectrophotometer)

การหาปริมาณสารใดสารหนึ่งโดยวิธีการทางห้องปฏิบัติการมีอยู่หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้มาก คือการวัดความเข้มของสี (colorimetry) หรือการวัดความเข้มของแสง โดยการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน (standard solution) ที่ทราบค่า ในระยะแรก ๆ การเปรียบเทียบความเข้มของสีอาศัยสายตา (visual colorimetry) ซึ่งมีความถูกต้องและแม่นยำต่ำ ต่อมาได้มีการนำตัวไวแสง (photosensor) มาใช้แทนการเปรียบเทียบด้วยสายตา จึงเรียกเครื่องมือที่ใช้ตัวไวแสงว่า “photoelectric colorimeter” หรือ “photometer” เนื่องจากสารหรือสีที่จะวัดมีความสามารถในการดูดกลืนแสง หรือ ปล่อยแสงที่มีช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน ดังนั้นเพื่อให้การวัดมีความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) สูง จึงได้พัฒนาเครื่องมือที่สามารถวัดความเข้มของแสงช่วงความยาวคลื่นแคบ ๆ ได้อย่างต่อเนื่องตามต้องการ และใช้ตัวไวแสงที่มีประสิทธิภาพสูง เครื่องมือดังกล่าวถูกเรียกว่า “สเปกโทรโฟโตมิเตอร์” (spectrophotometer) ซึ่งในปัจจุบันได้มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การพัฒนาไปมากมีทั้งแบบอะนาล็อก แบบดิจิตอล รวมทั้งแบบดิจิตอลที่ทำงานโดยอัตโนมัติที่มีระบบไมโครโพรเซสเซอร์ควบคุมการทำงาน (รูปที่ 2.5)

เครื่องวัดความเข้มของแสง (spectrophotometer) แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ การวัดแสงที่เปล่งออกมา(emission light) การวัดแสงที่ถูกดูดกลืน(absorption light) และการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence light) ที่เปล่งออกมา

เครื่องวัดการดูดกลืนแสงและเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ มีองค์ประกอบที่คล้ายกันแต่ตำแหน่งการวางอุปกรณ์ต่างกัน กล่าวคือ เครื่องวัดการดูดกลืนแสงมีหลอดไฟกำเนิดแสง (light source) ส่องแสงผ่านไปยังตัวแยกแสง (monochromator) ผ่านสารตัวอย่าง (sample) ผ่านตัวไวแสง (photo sensor) แล้วจึงอ่านค่าออกมา ส่วนเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ หลอดไฟกำเนิดแสงจะส่องแสงผ่านสารตัวอย่างเพื่อทำให้เกิดแสงฟลูออเรสเซนซ์ แล้วให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นส่องผ่านไปสู่ตัวแยกแสงและอุปกรณ์ อื่นๆ ตามลำดับ ส่วนเครื่องวัดการเปล่งแสงโดยเปลวไฟมีอุปกรณ์ต่างๆ เหมือนกับเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแต่ต่างกันตรงที่ไม่มีหลอดไฟกำเนิดแสง (รูปที่ 2.6)

รูปที่ 2.5 รูปร่างของเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบอะนาล็อก (ก) แบบดิจิตอลชนิดตั้งโต๊ะ (ข,ง,จ,ฉ,ช) และแบบดิจิตอลชนิดมือถือ (ค)

2.8.1 ชนิดของเครื่องวัดการดูดกลืนแสง

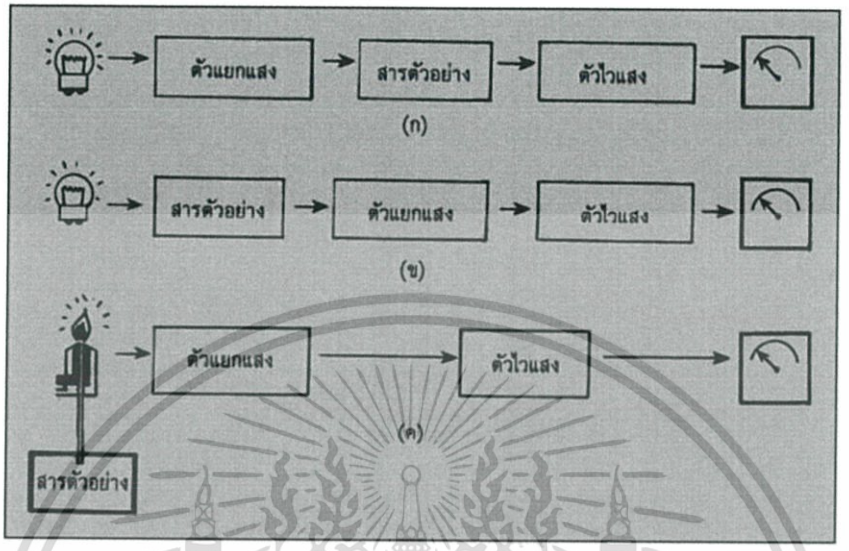
เครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบ่งตามระบบทางเดินแสงเป็น 2 ชนิด คือ

1. ชนิดลำแสงเดี่ยว (single beam type) ใช้ลำแสงอันเดียวกันสำหรับวัดสารอ้างอิง (reference หรือ blank) และวัดสารตัวอย่าง(sample)มีข้อเสียตรงที่มีเสถียรภาพในการอ่านค่าต่ำและค่าเปลี่ยนแปลงได้ง่าย

2. ชนิดลำแสงคู่ (double beam type) วัดความเข้มของแสงโดยการสะท้อนแสงที่ผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกมาจากตัวแยกแสงให้ผ่านสารอ้างอิงและสารตัวอย่างสลับกัน ทำให้ความเข้มของแสงที่ผ่านสารตัวอย่างลดลงครึ่งหนึ่ง วงจรขยายจะขยายสัญญาณที่ได้จากการเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้รับจากสารตัวอย่างกับสารอ้างอิงอยู่ตลอดเวลาจึงมีเสถียรภาพในการวัดความเข้มของแสงดีมาก



รูปที่ 2.6 องค์ประกอบหลักของเครื่องวัดความเข้มของแสงโดยการวัดการดูดกลืนแสง (ก) วัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ (ข) และวัดการเปล่งแสงโดยเปลวไฟ (ค)

2.8.2 วิธีใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

เครื่องวัดการดูดกลืนแสงแต่ละแบบอาจมีเทคนิคการใช้และวิธีการใช้แตกต่างกันบ้าง ซึ่งผู้ใช้ควรศึกษาคู่มือการใช้งานโดยละเอียดก่อนใช้งาน สำหรับวิธีใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงโดยทั่วไปมีดังนี้

1. ถอดถุงคลุมเครื่องมือออก
2. เปิดสวิทช์ไฟฟ้าเพื่ออุ่นเครื่องนาน 10-20 นาที
3. ปิดแสงจากภายในหรือภายนอกไม่ให้ตกกระทบตัวไวแสง โดยการปิดฝาครอบช่องใส่คิวเวทท์และปิดช่องแสงออก
4. ปรับ 0%T ด้วยปุ่มปรับศูนย์ ค่าความเข้มของแสงควรจะคงที่ ถ้าไม่คงที่อาจเกิดจากการอุ่นเครื่องไม่พอ หรือเครื่องมือมีความผิดปกติ
5. เลือกความยาวคลื่นแสงที่ต้องการวัดโดยหมุนปุ่มเลือกความยาวคลื่น
6. เลือกตัวกรองตัดแสงรบกวนที่เหมาะสม
7. ใส่รีเอเจนต์อ้างอิง (reagent blank) ลงในช่องในคิวเวทท์ ปิดฝาช่องใส่คิวเวทท์
8. ปรับ 100%T หรือ 0A ด้วยปุ่มควบคุมการปรับ ในขั้นตอนนี้ต้องกระทำทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนความยาวคลื่นแสงที่ใช้วัด
9. ใส่สารตัวอย่างลงในช่องใส่คิวเวทท์ ปิดฝาช่องใส่คิวเวทท์
10. อ่านค่า %T หรือ A
11. ปิดสวิทช์ไฟฟ้าปล่อยให้เครื่องเย็นก่อนคลุมเครื่องด้วยถุงคลุมเครื่องมือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อควรปฏิบัติในการใช้งาน

เพื่อให้การใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงมีความผิดพลาดน้อยที่สุดควรปฏิบัติดังนี้

1. เลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม
2. เลือกสารตัวอย่างที่เหมาะสม (ไม่ขุ่นหรือมีสีอื่น ๆ เจือปนมาก)
3. ปฏิบัติตามคำแนะนำในคู่มือการใช้งาน (operating manual) อย่างเคร่งครัด
4. ตั้งเครื่องมือในที่มีฝุ่นน้อย ความชื้นต่ำอุณหภูมิไม่สูง และควรตั้งห่างจากผนังเพื่อให้ความร้อนระบายออกได้ดี
5. ใช้เครื่องควบคุมโวลต์ (voltage stabilizer) ถ้าโวลต์ของกระแสไฟฟ้าที่จ่ายให้กับเครื่องมือมีค่าเปลี่ยนแปลงเกิน 10% (198-242 โวลต์)
6. อุ่นเครื่องให้พอเพียงก่อนใช้งาน
7. ตรวจดูความเสื่อมสภาพของหลอดไฟกำเนิดแสงเป็นระยะๆ พร้อมกับดูตำแหน่งที่ถูกต้องด้วย
8. ปิดหลอดไฟกำเนิดแสงเมื่อไม่ได้ใช้งาน
9. ปิดช่องแสงออกเมื่อไม่ได้วัดความเข้มของแสง เพื่อกันการล้า
10. ใช้ความกว้างของช่องแสงออกแคบ เพื่อสร้างแสงสีเดียวที่มีช่วงความยาวคลื่นแคบ
11. ควรอ่านค่าความเข้มของแสงในช่วง 15-80 %T เนื่องจากการตอบสนองของตัวไวแสงส่วนใหญ่เป็นเส้นตรง
12. ใช้คิวเวทท์ที่สะอาดและมีค่าความแตกต่างของ %T ต่ำ
13. ในกรณีที่มีคิวเวทท์น้อยจำเป็นต้องใช้ร่วมกันควรวัดสารละลายที่มีความเข้มข้นน้อยก่อนสารละลายที่มีความเข้มข้นมากตามลำดับ
14. ตรวจสอบความไวของตัวไวแสงเป็นระยะ ๆ
15. ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลง 100%T หรือ 0A เป็นระยะๆ ในขณะที่ใช้งานเครื่องมือ
16. มีการบำรุงรักษาเครื่องมือเป็นระยะ ๆ และสม่ำเสมอ

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Xian-Bing Mao และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนในการผลิตสารคอร์ไดเซปินของเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสภาวะเขย่า จากการทดสอบในแหล่งคาร์บอนพบว่ากลูโคสเป็นแหล่งพลังงานที่ดีที่สุดต่อการผลิตสารคอร์ไดเซปิน ขณะที่เซลล์มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในน้ำตาลกาแล็กโทส และพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลกลูโคสในช่วง 25-70 กรัมต่อลิตร มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งและสามารถผลิตสารคอร์ไดเซปินได้ถึง 245.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร จากนั้นได้ทำการศึกษาอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนต่อไนโตรเจนในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลวโดยใช้การออกแบบพื้นที่ผิวตอบสนอง จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของกลูโคส 42.0 กรัมต่อลิตร และเปปโตน 15.8 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตสารคอร์ไดเซปินได้สูงที่สุดที่ 345 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Park และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของสภาวะในการเพาะเลี้ยงแบบอาหารเหลวสำหรับการเจริญเติบโตของเส้นใยและการผลิต exo-biopolymer โดยเห็ดถั่งเช่าสีทอง : จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมและพีเอชเริ่มต้นสำหรับการเจริญเติบโตของเส้นใยและการผลิต exo-biopolymer โดยเห็ดถั่งเช่าสีทอง ในสภาวะแบบเขย่าพบว่ามีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และมีพีเอช 6.0 ตามลำดับ ซูโครส (40 กรัมต่อลิตร) และแป้งข้าวโพด (10 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเจริญเติบโตของเส้นใยและการผลิต exo-biopolymer

Shih และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลวและการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง จำนวนเส้นใยสูงสุดและการผลิต extracellular polysaccharide (EPS) ที่ได้ เมื่อใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้ยีสต์สกัด (YE) ร้อยละ 1 เป็นแหล่งไนโตรเจน น้ำมันพืชทั้งหมดที่เพิ่มการผลิตจำนวนเส้นใยและ EPS อย่างไรก็ตาม นอกเหนือจากน้ำมันพืชที่ไม่เคยมีการสนับสนุนที่ชัดเจนในการผลิตสารคอร์ไดเซปินและสารอะดีโนซีน ในสภาวะแบบเขย่า จำนวนเส้นใยจะสูงและ EPS ที่ได้ เมื่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 20:1 การผลิตสารคอร์ไดเซปินสูงสุดที่ได้เมื่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 5:1 คือ 45.15 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการสกัดสารที่ออกฤทธิ์จากเส้นใยและดอกเห็ด ด้วยการเขย่าแบบอัลตราโซนิกตามมาด้วยการสกัดในน้ำร้อนเพื่อปรับการสลายตัวของสารคอร์ไดเซปินและสารอะดีโนซีน สารอะดีโนซีนของเส้นใยและดอกเห็ดบนอาหารแข็งลดลงที่เวลาในการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการผลิตสารคอร์ไดเซปินจะเพิ่มขึ้นที่เวลาในการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นด้วย

Dagley และคณะ (1950) ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของระยะเริ่มต้นการเจริญของเชื้อ *Aerobacter aerogenes* พบว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อจะเจริญได้ดีถ้าใช้สารอาหารที่ใช้เลี้ยงหัวเชื้อและอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเดียวกัน นอกจากนี้แล้วอายุของเชื้อก็เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญ การใช้เชื้อในช่วงระยะเริ่มต้นเข้าสู่การเจริญทวีคูณจะช่วยให้เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดี เนื่องจากอยู่ในช่วงที่เชื้อจะเริ่มแบ่งเซลล์และสร้างสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต

Li และคณะ (2015) ทำการศึกษาผลของการหุงต้มต่อปริมาณอะดีโนซีน และคอร์ไดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยใช้ ZORBAX SB-C18 (5 ไมโครเมตร และ 4.6×150 มิลลิเมตร) เฟสเคลื่อนที่ของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงประกอบด้วยเมทานอลและน้ำบริสุทธิ์ในอัตราส่วน (16:84) ที่มีอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที อุณหภูมิของคอลัมน์ 27 องศาเซลเซียส และปริมาณการโหลดตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร มีการใช้ช่วงแสงอัลตราไวโอเลตที่ 260 นาโนเมตร พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะแก่การสกัดสารอะดีโนซีนและคอร์ไดซิปิน อยู่ที่ 20-40 องศาเซลเซียส ถ้าสูงไปกว่านี้สารอะดีโนซีนจะลดลงอย่างรวดเร็วทำให้เสียสรรพคุณทางยาของเห็ดถั่งเช่าสีทองเมื่อนำไปประกอบอาหารแต่ในทางกลับกันอุณหภูมิยิ่งสูงกลับทำให้สารคอร์ไดเซปินเพิ่มขึ้น

Zhi-Li Yi และคณะ (2014) ทำการศึกษาการใช้แสงแอลอีดีที่ทำให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของดอกเห็ดเพิ่มขึ้นโดยการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองพบว่าผลการทดลองของแสงแอลอีดีแสงสีแดง แสงสีแสด และแสงสีฟ้าหรือการรวมกันของพวกมันในการทำให้เกิดการเจริญเติบโตและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ทำการทดสอบโดยเห็ดถั่งเช่าสีทองการรวมตัวของแสงแอลอีดีถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ในที่มืด การทดลองแสงแอลอีดีสีขาวและแสงสีแดงพบว่าสารคอร์ไดเซปินเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 62 การทดลองของแอลอีดีแสงสีฟ้าพบว่าแสงสีฟ้าทำให้เกิดสารแคโรทีนอยด์ (carotenoids) เพียงแสงเดียว ส่วนสารพอลิแซกคาไรด์ (polysaccharides) ไม่มีผลต่อการทดลองและควบคุมแสงฟลูออเรสเซนต์ใดๆทั้งสิ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของดอกเห็ดในเห็ดถั่งเช่าสีทอง การรวมกันของแสงแอลอีดีแสงสีแดงต่อแสงสีฟ้าในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 กับร้อยละ 10 ของแสงสีแสดถือเป็นแหล่งกำเนิดแสงที่ดีที่สุดในการเจริญเติบโตและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Dong และคณะ (2013) ศึกษาองค์ประกอบและการกระจายของสารออกฤทธิ์สำคัญในดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่าแร่ธาตุต่างๆ ซึ่งได้แก่ ซีลีเนียม (Se; selenium) สังกะสี (Zn; zinc) เหล็ก (Fe; iron) และสารออกฤทธิ์หลักอย่างอะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน และแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ส่วนใหญ่จะแพร่กระจายอยู่ในส่วนหัวของดอกเห็ด ส่วนฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมแพร่กระจายอยู่ทั่วดอกเห็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 ข้าวไรซ์เบอร์รี่

3.1.1.2 ไข่ไก่

3.1.1.3 หนอนไหม

3.1.1.4 มันฝรั่ง

3.1.1.5 ข้าวโพดอ่อน

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.2.1 เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*)

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาคผนวก ก)

3.1.3.1 Potato Dextose Agar เสริมเปปโตนยีสต์สกัด

3.1.3.2 Potato Dextose Agar เสริมไข่ไก่

3.1.3.3 Potato Dextose Broth เสริมเปปโตนยีสต์สกัด

3.1.3.4 Potato Dextose Broth เสริมไข่ไก่

3.1.3.5 สูตรอาหารลุงหยุด

3.1.4 อุปกรณ์ และเครื่องมือ

3.1.4.1 ตู้ปลอดเชื้อ

3.1.4.2 ตู้บ่มเชื้อแบบควบคุมอุณหภูมิ

3.1.4.3 เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ

3.1.4.4 เครื่องชั่งสาร

3.1.4.5 เครื่องโครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

3.1.4.6 ตู้เย็น

3.1.4.7 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave)

3.1.4.8 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

3.1.4.9 เครื่องเขย่าคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic Sonicater)

3.1.4.10 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectro photometer)

3.1.4.11 ตู้อบความร้อนแบบสุญญากาศ (Vaccuum oven)

3.1.4.12 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

3.1.4.13 ขวดแก้วสำหรับเพาะเลี้ยงขนาด 16 ออนซ์

3.1.4.14 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 และ 50 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4 อุปกรณ์ (ต่อ)

3.1.4.15 ขวดแก้วแบน

3.1.4.16 บีกเกอร์

3.1.4.17 หลอดทดลอง

3.1.4.18 กระบอกตวง

3.1.4.19 เข็มเขี่ยเชื้อ

3.1.4.20 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.4.21 จานเพาะเชื้อ

3.1.4.22 เตาแก๊ส

3.1.4.23 ผ้าขาวบาง

3.1.4.24 มีด

3.1.4.25 หม้อ

3.1.4.26 ตะแกรง

3.1.4.27 เขียง

3.1.5 สารเคมี

3.1.5.1 สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)

3.1.5.2 เปปโตน (Peptone)

3.1.5.3 กลูโคส

3.1.5.4 ผงวุ้น (Agar)

3.1.5.5 น้ำบริสุทธิ์สูง (Ultrapure)

3.1.5.6 น้ำยาปรับพีเอช

3.1.5.7 เอทานอลร้อยละ 95

3.1.5.8 ฟีนอลร้อยละ 5

3.1.5.9 กรดซัลฟูริกเข้มข้น

3.1.5.10 สารละลายดีเอนเอส (DNS)

3.1.5.11 สารละลายเมทานอล

3.1.5.12 สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 3 (Hydrogen peroxide)

3.2 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น การหาแหล่งไนโตรเจนและเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญของหัวเชื้อ

3.2.1 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารแข็ง PDA

fruiting body ที่ได้จากการเลี้ยงในหนอนไหมนำมาทำการตัด fruiting body แล้วนำมาฆ่าเชื้อด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้นร้อยละ 3 เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำมาซับบนกระดาษทิชชู นำมาตัดหัวท้ายของ fruiting

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

body แล้วตัดให้เป็นชิ้นมีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำมาวางบนเพลทที่มีอาหาร PDA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ในที่มืดเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์

3.2.2 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว PDB

หัวเชื้อเริ่มต้นที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.2.1 นำมาค๊อกจำนวน 3 ชิ้น มาเลี้ยงในฟลาส์กขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลว PDB เสริมเปปโตนยีสต์สกัด (แสดงดังภาคผนวก ก) ปริมาณ 100 มิลลิลิตร บ่มที่เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ 22 หรือ 25 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที (Zhi-Li Yi และคณะ, 2014) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วทำการเก็บตัวอย่างหัวเชื้อเพื่อนำไปหาน้ำหนักแห้งทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 216 ชั่วโมง แล้วทำการบันทึกน้ำหนักแห้งของหัวเชื้อโดยสุ่มตัวอย่างมาซ้ำละ 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง แล้วทำการเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง นำเข้าตู้อบลมร้อน ที่มีอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาไว้ในเดซิเคเตอร์ประมาณ 30 นาที แล้วนำไปชั่งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง จดบันทึกแล้วนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

3.3 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อผลิตดอกโดยใช้ข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่เสริมด้วยแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

การเตรียมหัวเชื้อเหลวลงในข้าวไรซ์เบอร์รี่ เริ่มโดยทำตามขั้นตอนที่ 3.2.1 หลังจากนั้นนำมาค๊อกจำนวน 3 ชิ้น ลงในฟลาส์กที่มีอาหารเหลว PDB เสริมเปปโตนยีสต์สกัดและสูตร PDB เสริมไข่ไก่ (แสดงดังภาคผนวกที่ ก-4) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง (ผลที่ได้จากหัวข้อ 3.2.2) จากนั้นดูดตัวอย่างมา 5 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในข้าวที่เตรียมไว้ (สูตรแสดงดังภาคผนวก ก) ใส่ลงไปตรงกลางของขวด จากนั้นบ่มในที่มืด 18 องศาเซลเซียส บ่มจนภายในขวดมีเส้นใยสีขาวเจริญเต็มผิวหน้าอาหาร เป็นระยะเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ แล้วนำมาให้แสงไฟแอลอีดีแสงสีส้ม เพื่อให้แสงกระตุ้นให้เกิดเส้นใย ปรับอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 18-20 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60 – 80 รอจนเกิดเป็น fruiting body เป็นระยะเวลาประมาณ 45 วัน จึงทำการเก็บเกี่ยวและทำการวิเคราะห์สารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ อะดีโนซีน คอร์ไดเซปินและพอลิแซกคาไรด์

3.3.1 การวิเคราะห์สารอะดีโนซีนและสารคอร์ไดเซปินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC)

3.3.1.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์

นำ fruiting body ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาตัดเอาเฉพาะส่วนที่เป็น fruiting body นำไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักก่อนอบ แล้วนำไปอบในเครื่องอบความร้อนแบบสุญญากาศ (Vacuum oven) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดโดยใช้โกร่งให้เป็นผงละเอียด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1.2 ขั้นตอนการสกัด

การสกัดโดยใช้น้ำบริสุทธิ์สูงเป็นตัวทำละลายในอัตราส่วน 1:9 (เส้นใยเห็ดถั่งเช่า : น้ำบริสุทธิ์สูง) ชั่งเส้นใยเห็ดถั่งเช่า จำนวน 1 กรัม เติมน้ำบริสุทธิ์สูงจำนวน 9 มิลลิลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่าคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic Sonicator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำสารสกัดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แยกตะกอนกับส่วนใส จากนั้นนำส่วนใสไปกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอน ใส่ลงในขวดเก็บสารละลาย (vial) ขนาด 2 มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปฉีดหาสารคอร์ไดเซปิน และสารอะดีโนซีนด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (ดัดแปลงจาก Li และคณะ, 2015)

3.3.1.3 การวิเคราะห์สารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้นด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง โดยใช้คอลัมน์ C18 (ขนาด 3.5 ไมโครเมตร×250 มิลลิเมตร×4.6 มิลลิเมตร) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิคอลัมน์ 40 องศาเซลเซียส ฉีดตัวอย่างเข้าคอลัมน์ 0.1 ไมโครลิตร เฟสเคลื่อนที่ใช้ เมทานอลต่อน้ำบริสุทธิ์อัตราส่วน 15:85 (ดัดแปลงจาก Li และคณะ, 2015) แล้วทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารจากพื้นที่ใต้กราฟมาทำโครมาโตแกรมจะได้กราฟมาตรฐานสมการเส้นตรงของสารคอร์ไดเซปินมาตรฐาน จะได้สมการเส้นตรง คือ $Y=mX+c$ (รายละเอียดดังภาคผนวก ค)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดเซปิน และอะดีโนซีนจากตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนการสกัดหัวข้อที่ 3.4.2 ของอาหารที่มีแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนต่างๆ โดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณสารจากพื้นที่ใต้กราฟ โดยการนำค่าพื้นที่ใต้กราฟของสารคอร์ไดเซปินที่วัดได้แทนในสมการเส้นตรง ดังสมการข้างต้นที่กล่าวไป โดยกำหนด Y คือ ค่าที่วัดได้จากพื้นที่ใต้กราฟ และ X คือ ค่าปริมาณสารคอร์ไดเซปิน และอะดีโนซีน

3.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณพอลิแซกคาไรด์

3.3.2.1 ขั้นตอนการสกัด

ชั่งตัวอย่างเห็ดที่ได้จากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างข้อที่ 3.3.1.1 มา 2 กรัม เติมน้ำกลั่น 18 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (vortex) แล้วใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พอครบเวลานำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสที่ได้มาตกตะกอนเพื่อเพิ่มความเข้มข้นโดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 4 เท่าของปริมาตรตัวอย่าง ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดัดแปลงจาก Xiao-Cui Liu และคณะ, 2016 หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เทส่วนใสทิ้งนำตะกอนที่ได้เข้าเครื่องอบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (จนกว่าตะตอนจะแห้ง) แล้วนำไปชั่งน้ำหนักตะกอนที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.2 การวิเคราะห์พอลิแซคคาไรด์ด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริก (Chaplin&Kennedy, 1986) และวิธีดีเอนเอส (3,5-dinitro salicylic acid) (นันทิกา, จรัญและ เพ็ญจิตร, 2557)

รายละเอียดแสดงดังภาคผนวก ค

3.3.3 การเปรียบเทียบราคาเปปโตนยีสต์สกัดและราคาไข่ไก่ต่อปริมาตร 1 ลิตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

การเปรียบเทียบสูตรอาหารที่ใช้แหล่งไนโตรเจนที่ต่างกันคือ เปปโตนยีสต์สกัดและไข่ไก่ เพื่อศึกษาว่าสูตรอาหารที่ใช้แหล่งไนโตรเจนใดสามารถลดต้นทุนในการผลิต ซึ่งการคำนวณดังภาคผนวก ค

3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Minitab 16 ในหัวข้อที่ 3.2.2 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว PDB โดยใช้วิธี Factorial design เพื่อหาช่วงการเจริญเติบโตที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการทำหัวเชื้อเริ่มต้น โดยวิธีที่ใช้จะประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ เวลาและชนิดของอาหาร ซึ่งปัจจัยแรกจะมี 9 ระดับ คือ 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 และ 192 ส่วนปัจจัยที่ 2 มี 2 ระดับ คือ PDA และ PDB เสริมเปปโตนยีสต์สกัดและเสริมไข่ไก่ และการวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธีการทดลองที่มีแผนแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design:CRD) ในหัวข้อที่ 3.3.1.3 การวิเคราะห์สารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง และ 3.3.2.2 การวิเคราะห์พอลิแซกคาไรด์ด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริก และวิธีดีเอนเอส (3,5-dinitro salicylic acid) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

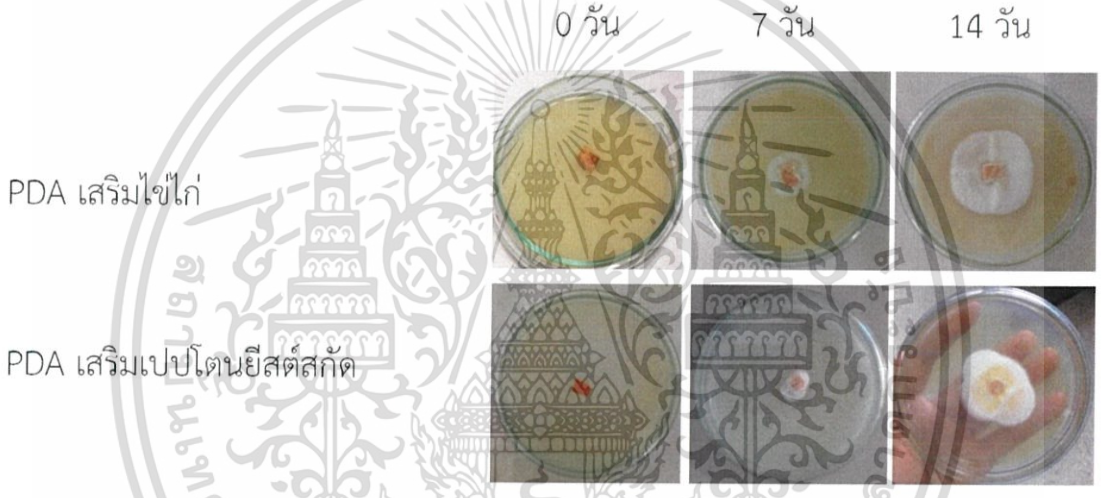
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของการเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น การหาแหล่งไนโตรเจนและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญของหัวเชื้อ

4.1.1 การศึกษาระยะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้น

ระยะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อและลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA ดังแสดงในรูปที่ 4.1 พบว่าลักษณะการเจริญของเส้นใยในสูตรอาหาร PDA เสริมไข่ไก่มีการเจริญที่มากกว่าสูตร PDA เสริมเปปโตนยีสต์สกัด



รูปที่ 4.1 ลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA

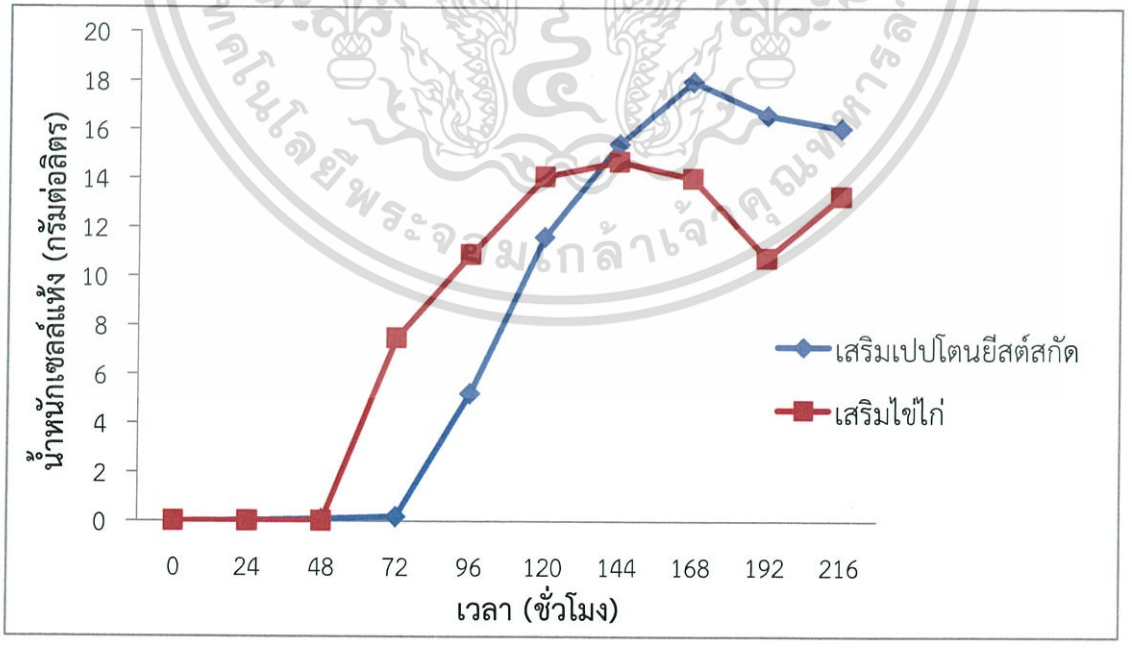
การศึกษาระยะการเจริญเติบโตของเชื้อเริ่มต้นเป็นระยะเวลา 216 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที โดยทำการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ไข่ไก่เปรียบเทียบกับแหล่งไนโตรเจนที่ใช้เปปโตนยีสต์สกัด ผลการทดลองพบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ใช้ไข่ไก่เป็นแหล่งไนโตรเจนเริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญแบบทวีคูณในชั่วโมงที่ 48 และแหล่งไนโตรเจนที่ใช้เปปโตนยีสต์สกัดเริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญแบบทวีคูณในชั่วโมงที่ 72 ดังแสดงในรูปที่ 4.2 ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกศึกษาชั่วโมงที่ 72 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tuli และคณะ, 2014 จากงานวิจัยการหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตคอร์ไดเซปินโดยใช้ *Cordyceps militaris* 3936 จากผลการทดลองพบว่าชั่วโมงที่ 72 จะให้ปริมาณคอร์ไดเซปินมากที่สุด และแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ไข่ไก่แทนเปปโตนยีสต์สกัดเลือกชั่วโมงที่ 72 เนื่องจากชั่วโมงที่ 72 ยังอยู่ในระยะการเจริญแบบทวีคูณ

เมื่อนำน้ำหนักแห้งที่เก็บจากตัวอย่างหัวเชื้อเริ่มต้นในอาหารเหลวทุกๆ 24 ชั่วโมงนำมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Minitab 16 ผลการวิเคราะห์พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ไข่ไก่แทนเปปโตนยีสต์สกัดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (แสดงดังตารางที่ 4.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงผลน้ำหนักแห้งของเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองในสภาวะความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียสในที่มืด

	PDB เสริมเปปโตนยีสต์สกัด	PDB เสริมไข่ไก่
ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
0 ชั่วโมง	0	0
24 ชั่วโมง	0.02	0
48 ชั่วโมง	0.08	0
72 ชั่วโมง	0.18	7.46
96 ชั่วโมง	5.22	10.88
120 ชั่วโมง	11.60	14.08
144 ชั่วโมง	15.42	14.68
168 ชั่วโมง	17.98	14.00
192 ชั่วโมง	16.60	10.74
216 ชั่วโมง	16.06	13.28



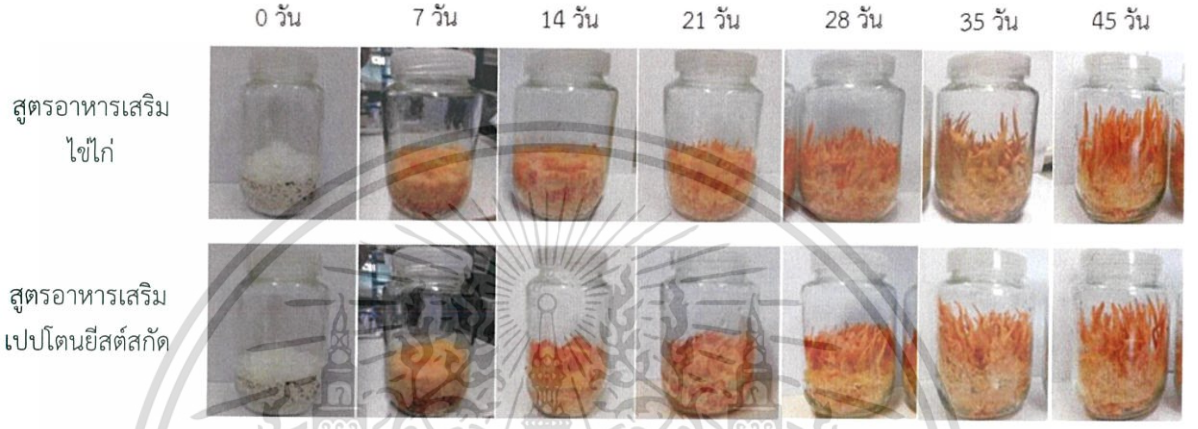
รูปที่ 4.2 กราฟระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เลี้ยงในอาหารเหลว PDB ที่เสริมด้วยเปปโตนยีสต์สกัดและเสริมด้วยไข่ไก่ ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อผลิตดอกโดยใช้ข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่เสริมด้วยแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

4.2.1 การหาน้ำหนักก่อนอบและน้ำหนักหลังอบของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

เมื่อทำการบ่มหัวเชื้อเหลวในข้าวไรซ์เบอร์รี่จนเกิดเป็น fruiting body เป็นระยะเวลาประมาณ 45 วัน ดังแสดงในรูปที่ 4.3 หลังจากนั้นทำการเก็บเกี่ยวแล้วนำมาชั่งเพื่อหาน้ำหนักก่อนอบและน้ำหนักหลังอบดังตารางที่ 4.2



รูปที่ 4.3 แสดงระยะการเจริญของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารที่ใช้ข้าวไรซ์เบอร์รี่ เสริมด้วยแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกันคือ เปปโตนยีสต์สกัดและไข่ไก่ เป็นระยะเวลา 45 วัน

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักก่อนอบและน้ำหนักหลังอบของ fruiting body ในสภาวะอุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 – 80 ภายใต้หลอดแอลอีดีแสงสีส้ม

สูตรอาหาร	น้ำหนักก่อนอบ (กรัมต่อขวด)	น้ำหนักหลังอบ (กรัมต่อขวด)
เสริมเปปโตนยีสต์สกัด	25.220^{a}	4.856^{b}
เสริมไข่ไก่	21.258^{a}	7.773^{a}

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

จะเห็นได้ว่าน้ำหนัก fruiting body ก่อนอบของสูตรอาหารเสริมเปปโตนยีสต์สกัดมีมากกว่าสูตรอาหารเสริมไข่ไก่ แต่เมื่อหลังอบสูตรอาหารเสริมไข่ไก่มีน้ำหนัก fruiting body มากกว่าสูตรอาหารเสริมเปปโตนยีสต์สกัด และให้ค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจาก fruiting body ของสูตรอาหารเสริมไข่ไก่มีน้ำเป็นองค์ประกอบน้อยกว่าทำให้หลังอบมีปริมาณเนื้อของ fruiting body มากกว่าสูตรอาหารเสริมเปปโตนยีสต์สกัด ซึ่งสอดคล้องกับหลักการของงานวิจัยของ วิชมณี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยืนยงพุทธกาล, 2556 ซึ่งรายงานว่าการดึงน้ำออกด้วยวิธีออสโมซิสจะทำให้ปริมาณน้ำในผักผลไม้ลดลง ปริมาณของแข็งเพิ่มขึ้น และทำให้น้ำหนักสุทธิลดลงด้วย แต่จากผลการทดลองพบว่าหลังอบไม่เป็นไปตามทฤษฎีของงานวิจัยที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น เนื่องจากปริมาณของน้ำและเนื้อสารของ fruiting body ในแต่ละสูตรอาหารมีปริมาณที่แตกต่างกันจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำหนักหลังอบไม่เป็นไปตามงานวิจัยข้างต้น

4.2.2 การหาปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC)

จากผลการทดลองเมื่อนำสารสกัดตัวอย่างที่ได้ไปฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูงพบว่าสูตรอาหารเสริมไข่ไก่ให้ปริมาณคอร์ไดเซปินสูงกว่าสูตรอาหารเสริมเปปโตนยีสต์สกัดมีค่าเท่ากับ 101.13 และ 71.555 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และให้ค่าที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่าที่ได้มากกว่าและไม่สอดคล้องกับงานวิจัยการปรับปรุงการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีข้าวเป็นองค์ประกอบพบว่าได้ปริมาณสารคอร์ไดเซปินในสูตรอาหารเสริมไข่ไก่และสูตรอาหารเสริมเปปโตนเท่ากับ 30.96 และ 54.37 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ชุรีพร, ธนัชพร และธีรนัย, 2559) จะเห็นได้ว่าปริมาณคอร์ไดเซปินที่พบในงานวิจัยดังกล่าวได้ปริมาณน้อยกว่าผลการทดลองซึ่งมีผลมาจากในขั้นตอนการเลี้ยงหัวเชื้อเหลวเริ่มต้น เนื่องจากกลุ่มของผู้วิจัยใช้สภาวะอุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที ซึ่งในงานวิจัยดังกล่าวใช้สภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ส่วนปริมาณอะดีโนซีนที่พบในสูตรอาหารเสริมไข่ไก่ และสูตรอาหารเสริมเปปโตนยีสต์สกัดมีปริมาณอะดีโนซีนเท่ากับ 217.261 และ 218.325 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากงานวิจัยการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยน้ำมันถั่วเหลืองพบว่าได้ปริมาณสารอะดีโนซีนน้อยกว่าที่เพาะเลี้ยงด้วยเปปโตนยีสต์สกัด (Wen และคณะ, 2014) สารอาหารก็ส่งผลต่อการผลิตสารของเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยซีลิเนียมซึ่งพบในไข่ไก่จะเพิ่มผลผลิตของกรดอะมิโน อะดีโนซีน (Dong และคณะ, 2012) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งผลโครมาโตแกรมแสดงดังภาคผนวก ง และเมื่อนำปริมาณสารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินที่ได้มาทำการวิเคราะห์สถิติแบบวันเวย์ (One-way) โดยใช้โปรแกรม Minitab 16 พบว่าทั้งสูตรอาหารเสริมเปปโตนยีสต์สกัดและสูตรอาหารเสริมไข่ไก่ ผลที่ได้ของปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) แสดงวิธีคำนวณดังภาคผนวก ค

4.2.3 การหาปริมาณพอลิแซกคาไรด์

ผลการทดลองที่ได้จากตารางที่ 4.4 พบว่าสูตรอาหารเสริมไข่ไก่และสูตรอาหารเสริมเปปโตนยีสต์สกัดมีปริมาณพอลิแซกคาไรด์เท่ากับ 5.152 และ 5.169 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Minitab 16 พบว่าปริมาณพอลิแซกคาไรด์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากรายงานการวิจัยของ Liu และคณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2014) รายงานว่าปริมาณพอลิแซกคาไรด์ในส่วนของเส้นใย (mycelia) ของเห็ดถั่งเช่าสีทองสูงกว่าในส่วนของดอกโดยมีปริมาณพอลิแซกคาไรด์ เท่ากับ 5.36 และ 4.32 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในภาคผนวก ค ซึ่งพบว่าปริมาณพอลิแซกคาไรด์ที่ได้ทำการทดลองมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยดังกล่าว และแสดงถึงการหาปริมาณพอลิแซกคาไรด์ไม่ว่าจะในอาหารแข็งหรืออาหารเหลวสามารถได้ปริมาณพอลิแซกคาไรด์ที่ใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4.3 ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง ในสภาวะอุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 – 80 ภายใต้หลอดแอลอีดีแสงสีส้ม

สูตรอาหาร	ปริมาณอะดีโนซีน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณคอร์ไดเซปิน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
เสริมเปปโตนยีสต์สกัด	218.325[a]	71.555[b]
เสริมไข่ไก่	217.261[a]	101.132[a]

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณพอลิแซกคาไรด์ที่ได้จากการเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีการใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นเปปโตนยีสต์สกัดเปรียบเทียบกับไข่ไก่ ในสภาวะอุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 – 80 ภายใต้หลอดแอลอีดีแสงสีส้ม

สูตรอาหาร	ปริมาณพอลิแซกคาไรด์ (กรัมต่อลิตร)
เสริมเปปโตนยีสต์สกัด	5.169[a]
เสริมไข่ไก่	5.152[a]

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

4.2.4 ผลการเปรียบเทียบราคาเปปโตนยีสต์สกัดและราคาไข่ไก่ต่อปริมาตร 1 ลิตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ผลการทดลองพบว่าไข่ไก่สามารถลดต้นทุนในการผลิตได้จริง เนื่องจากไข่ไก่ 1 ฟอง ราคา 5 บาท เปปโตนและยีสต์สกัดมีราคาต่อกรัมเป็น 4.16 และ 4.38 บาท ตามลำดับ ซึ่งในสูตรใช้เปปโตนและยีสต์สกัดอย่างละ 10 กรัมต่อปริมาตร 1 ลิตร แสดงให้เห็นว่าใน 1 ลิตรต้องใช้เปปโตนราคา 41.6 บาท และใช้ยีสต์สกัดราคา 43.8 บาท เมื่อนำราคาเปปโตนและยีสต์สกัดมารวมกันพบว่าในปริมาตร 1 ลิตร ใช้ต้นทุนในการผลิตเท่ากับ 85.4 บาท แต่ไข่ไก่ 1 ฟองมีน้ำหนักประมาณ 48 – 50 กรัม ซึ่งใช้ต้นทุนในการผลิตเท่ากับ 5 บาทต่อปริมาตร 1 ลิตร ซึ่งถูกกว่า 80.4 บาท เมื่อคิดเป็นเท่าไข่ไก่ถูกกว่าถึง 17 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นในการทดลองเราจึงเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ไข่ไก่ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง เนื่องจากไข่ไก่มีต้นทุนในการผลิตที่ถูกกว่าและสามารถหาซื้อได้ง่ายกว่าเปปโตนยีสต์สกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

หลังจากที่ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยมีสูตรอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นไข่ไก่และเปปโตนยีสต์สกัด พบว่าปริมาณน้ำหนักก่อนอบสูตรเสริมเปปโตนยีสต์สกัดมากกว่าสูตรไข่ไก่เท่ากับ 25.220 และ 21.258 กรัมต่อขวด ตามลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และน้ำหนักหลังอบสูตรเสริมไข่ไก่มากกว่าสูตรเสริมเปปโตนยีสต์สกัดเท่ากับ 7.773 และ 4.856 กรัมต่อขวด ตามลำดับ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อนำมาหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูงผลที่ได้จากการทดลองพบว่าในสูตรอาหารเสริมไข่ไก่ให้ปริมาณคอร์ไดเซปินสูงที่สุดคือ 101.13 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าทั้งสองสูตรอาหารให้ปริมาณอะดีโนซีนและปริมาณพอลิแซกคาไรด์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Minitab 16 ดังนั้นจากผลการทดลองสรุปได้ว่าไข่ไก่สามารถนำมาใช้ทดแทนเปปโตนยีสต์สกัดได้ และยังช่วยลดต้นทุนในการผลิต เนื่องจากไข่ไก่มีราคาต้นทุนในการผลิตที่ถูกกว่าราคาต้นทุนเปปโตนยีสต์สกัดเท่ากับ 80.4 บาท ซึ่งถูกกว่าถึง 17 เท่าผู้ทดลองจึงเลือกใช้ไข่ไก่เป็นแหล่งไนโตรเจนซึ่งสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆของเห็ดถั่งเช่าสีทอง เช่น แคโรทีนอยด์ กรดคอร์ไดเซปิค และคอร์ไดเซปส์ สเตอรอล
2. ศึกษาการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ เช่น เครื่องดื่มชูกำลัง และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่างๆ
3. ศึกษาสารที่ใช้ในการเร่งเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง
4. ศึกษาการนำฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองไปใช้ประโยชน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

การใช้และการดูแลรักษาเครื่อง HPLC. [Online].Available:
http://www.geocities.ws/chem_friend_club/use.html (สืบค้นวันที่ 2 ตุลาคม 2559)

เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง. [Online].Available:
http: // science. skru. ac. th/ ShowToolCame. php?id_skru= skru1234567890. (สืบค้นวันที่ 2 ตุลาคม 2559)

ชุรีพร ดวงแก้ว, ธนัชพร หวานชะเอม และธีรนัย เปลี่ยนสกุล. 2558. การปรับปรุงการเพาะเลี้ยง *Cordyceps militaris* โดยการใช้อาหารเพาะเลี้ยงที่มีข้าวเป็นองค์ประกอบ [วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี]. กรุงเทพฯ:สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2556. เครื่องมือวิทยาศาสตร์. [Online].Available
https://home.kku.ac.th/chuare/12/spectrophotometer.pdf. (สืบค้นวันที่ 1 เมษายน 2560)

ธนารัตน์ สานนท์. สรรพคุณของเห็ดถั่งเช่าสีทอง. [Online].Available
: http: / / www. tangchaotongkham. com/ ?pid= 2f8c9d29-1b2c-4382-a533-92f3563ff400. (สืบค้นวันที่ 1 ตุลาคม 2559)

ธนัชยา เกณฑ์ขุนทด, ศุภทา ไชยพัฒน์ และเสาวรส กองศรี. 2559. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจากเห็ดถั่งเฉ้าสีทอง. การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต. 1: 460-467.

ธัญญา ทะพิงค์แก. 2555. เห็ดถั่งเช่า. [Online].Available
:http://www.facagri.cmru.ac.th/2013/wp-content/uploads/2015/02/poster-cordyceps.pdf (สืบค้นวันที่ 5 ตุลาคม 2559)

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, ธิดารัตน์ จันทร์ดอน. 2556. ถั่งเช่าช่วยเพิ่มสมรรถภาพ. [Online].Available :http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/153/ถั่งเช่า-ช่วยเพิ่มสมรรถภาพ-ได้จริงหรือ/. (สืบค้นวันที่ 1 ตุลาคม 2559)

นันทิกา คล้ายชม, จรัญ ฉัตรมานพและ เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ. 2557. การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากซางข้าวฟ่างหวานโดยกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรด. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 6. (สืบค้นวันที่ 3 เมษายน 2560)

นิธิยา รัตนาปนนท์, กุลยา ลิ้มรุ่งเรืองรัตน์ และ วิชมณี ยืนยงพุทธกาล. 2544. ผลของสภาวะการทำแห้งต่อคุณภาพลำไยผง. Agricultural Science Journal. 42(2)(Suppl.): 473-476.

(นิรนาม). มปป. อาชีพเพาะเห็ดฟาร์มลุงหยุด. [Online].Available
: http://www.smeleader.com/อาชีพเพาะเห็ด-farmloongyood/. (สืบค้นวันที่ 5 ตุลาคม 2559)

(นิรนาม). มปป. เห็ดถั่งเช่าต่างๆ. [Online].Available
:https://www.goodhealth1999.com/มาทำความรู้จักเห็ดถั่งเช่าต่างๆกันเถอะ. (สืบค้นวันที่ 5 ตุลาคม 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, เกียรติคุณ และนิธิยา รัตนปนนท์. 2556. carotenoid/แคโรทีนอยด์. [Online].Available:http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1228/carotenoid-แคโรทีนอยด์. (สืบค้นวันที่ 5 ตุลาคม 2559)

พรพจน์ ศรีสุขชยะกุล. 2556. บีตา-กลูแคนสารมหัศจรรย์จากธรรมชาติ. [Online]. Available :http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1088/beta-glucan. (สืบค้นวันที่ 5 ตุลาคม 2559)

พัชร. 2013. งานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์ของถั่งเช่า ตอนที่ 2. [Online].Available :https://thungchao.wordpress.com/2013/03/18/ถั่งเช่าเพิ่มประสิทธิภาพ/. (สืบค้นวันที่ 2 ตุลาคม 2559)

พัชร. 2013. งานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์ของถั่งเช่า ตอนที่ 1. [Online].Available :https://thungchao.wordpress.com/2013/03/18/งานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์/. (สืบค้นวันที่ 2 ตุลาคม 2559)

พัชร. 2013. งานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์ของถั่งเช่า ตอนที่ 3. [Online].Available :https://thungchao.wordpress.com/2013/03/18/ถั่งเช่าเพิ่มประสิทธิภาพ2/. (สืบค้นวันที่ 2 ตุลาคม 2559)

พัชรพง ศิลมัฐ. 2557. โครงสร้างทางเคมีของคอร์ไดเซปิน. [Online].Available :http://takenrayong.blogspot.com/. (สืบค้นวันที่ 5 ตุลาคม 2559)

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. กรรมวิธีแปรรูปอาหาร. (หนังสือ). กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์, 2532. (สืบค้นวันที่ 5 ตุลาคม 2559)

เย็นจิตร เตชะเภสัช. 2557. ถั่งเช่าสรรพคุณและงานวิจัย. [Online].Available :http://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=disthaid&month=05-2017&date=18&group=1&gblog=5. (สืบค้นวันที่ 13 พฤษภาคม 2560)

วิกิพีเดีย. 2011. [Online].Available:https://en.wikipedia.org/wiki/Cordycepin. (สืบค้นวันที่ 5 ตุลาคม 2559)

วิชมณี ยืนยงพุทธกาล. 2556. ปัจจัยที่มีผลต่อการดึงน้ำออกด้วยวิธีออสโมซิสของผักและผลไม้. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 1: 226-233.

สมบัติ ขอทวีวัฒนา. 2529. กรรมวิธีการอบแห้ง. (หนังสือ). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์. (สืบค้นวันที่ 5 ตุลาคม 2559)

หลักการของ HPLC. [Online].Available: http://www.thaitechno.net/t1/knowledge_detail.php?id=1231&uid=41046. (2 ตุลาคม 2559)

อภัย ราษฎรวิจิตร. 2015. อะดีโนซีน (Adenosine).[Online].Available : http://haamor.com/th/อะดีโนซีน (สืบค้นวันที่ 5 ตุลาคม 2559)

อรวสุ นพพรรค์. 2542. ขนมไทย. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. (หนังสือ). กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alberto Tommasi. 2014. Adenosine. [Online].Available: http://www.klugg.it/2014/03/01/dipendenza- dalla-caffeina/ (สืบค้นวันที่ 5 ตุลาคม 2559)

Byung-Joo Lee, Mi-Ae Lee, Yong-Gyun Kim, Kwang-Won Lee, Young-Sang Choi, Byung-Eui Lee and Ho-Yeon Song. 2013. Cultural characteristics of *Cordyceps militaris* strain 'Yedang 3'on various media and nutritional conditions. Journal of Mushroom Science and Production. 11(3): 124-130.

Chaplin, M. F., & Kennedy, J. F. (Eds.). (1986). Carbohydrate analysis. A practical approach. (p. 3). Oxford, IRL Press.

Che, Z. M., Wang, Y., Zhou, L. L., and Tang, C. L. 2004. Study on the breeding of a new variety of *Cordyceps militaris* by mutated with ultraviolet radiation. Food and Fermentation Industries. 30: 35-38.

Choi, I. Y., Choi, J. S., Lee, W. H., Yu, Y. J., Joung, G. T., Ju, I. O. and Choi, Y. K. 1999. The condition of production of artificial fruiting body of *Cordyceps militaris*. The Korean Journal of Mycology. 27: 243-248.

Choi, Y. S., Kim, H. K., Lee, B. J., and Kim, Y. G. 2009. Characteristics and breeding of a new variety *Cordyceps militaris* 'Yedang 3'. Journal of Mushroom Science and Production. 7: 182-186.

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

Dagley, S., Dawes, E. A. & Morrison, G. A. (1950). Factors influencing the early phases of growth of *Aerobacter aerogenes*. Microbiology. 4: 437.

De Julian-Ortiz, J. V., Galvez, J., Munoz-Collado, C., Garcia-Domenech, R., and Gimeno-Cardona, C. 1999. Virtual combinatorial syntheses and computational screening of new potential anti-herpes compounds. Journal of Medicinal Chemistry. 42: 3308-3314.

Dong, J.Z., Ding, J., Yu, Z.P., Lei, C., Zheng, J.X. and Wang, Y. 2013 Composition and distribution of the main active components inselenium-enriched fruit bodies of *Cordyceps militaris* link. Food Chemistry. 137: 164-167.

Dong, J. Z., Lei, C., Ai, X. R., and Wang, Y. 2012. Selenium enrichment on *Cordyceps militaris* Link and analysis on its main active components. Applied Biochemistry and Biotechnology. 166: 1215-1224.

Du, A. L., Zhang, X., and Zhang, H. Z. 2010. A new high cordycepin *Cordyceps militaris* cultivar 'Haizhou 1'. Acta Horticulture Sinica. 37: 1373-1374.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fan, L., Pan, H., Scoccol, A. T., Pandey, A., and Soccol, C. R. 2006. Advances in mushroom research in the last decade. Food Technology and Biotechnology. 44: 303-311.

Gao, X. H. 2008. Mating system of *Cordyceps militaris*. Acta Edulis Fungi. 15: 6-10.

Gu, Y.X., wang, Z.S., Li, S.X., Yuan Q.S. 2007. Effect of multiple factors on accumulation of nucleoside and bases in *Cordyceps militaris*. Food Chemistry. 102: 1304-1309.

Gui, Z. Z. and Zhu, Y. H. 2008. Advance on cultivation, bioactive compound and pharmacological mechanism of *Cordyceps militaris*. Science of Sericulture. 34: 178-184.

Guo, H. P. and Yang, Z. M. 1999. Progress in research of pharmacological of *Cordyceps sinensis*. Traditional Herbal Drugs. 30: 231-233.

Hung, L. T., Keawsompong, S., Hanh, V. T., Sivichai, S., and Hywel-Jones, N. L. 2009. Effect of temperature on cordycepin production in *Cordyceps militaris*. Thai Journal of Agricultural Science. 42: 219-225.

Jiang, X. L. and Sun, Y. 1999. The determination of active components in various *Cordyceps militaris* strains. Acta Edulis Fungi 6: 47-50.

Jiang, Y. and Yao, Y. J. 2003. Anamorphic fungi related to *Cordyceps sinensis*. Mycosystema. 22: 161-176.

Li, M. F. 2007. Molecular biology studies on the different phenotypes of fruiting-body forming of *Cordyceps militaris*. Master Thesis. Guizhou University., Guiyang, China.

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

Liang, Z. Q. 2001. Current situation and ponderation of *Cordyceps* Fr. research and exploitation in China. Acta Edulis Fungi. 8: 53-62.

Ling, J.Y., Zhang, G.Y., Lin, J.Q., Cui, Z.J., Zhang, C.K. 2009. Supercritical fluid extraction of cordycepin and adenosine from *Cordyceps kyushuensis* and purification by high-speed counter-current chromatography. Separation and Purification Technology. 66: 625-629.

Liu, X. M., Cheng, Y. H., and Tian, D. 1999. Progress in the research of pharmacological *Cordyceps* in China. National Product Research and Development. 11: 87-91.

Liu Z. Y. 1999. Studies on relationship between *Cordyceps* spp. and their anamorphs. PhD dissertation. Huazhong Agricultural University., China.

Ma, T. Feng, Y., Wu, X. P., Zhang, Y. H., Ma, Y., and Wang, Z. L. 2007. Primary investigation of a host insect of *Cordyceps militaris* and analysis of its main ingredients. Forest Research-Chinese Academy of Forestry. 20: 63-67.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mao, X. B., Eksriwong, T., Chauvatcharin, S., and Zhong, J. J. 2005. Optimization of carbon source and C:N ratio for cordycepin production by submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. Process Biochemistry. 40: 1667-1672.

Mao, X. B. and Zhong, J. J. 2004. Hyperproduction of cordycepin by two-stage dissolved oxygen control in submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris* in bioreactors. Biotechnology Progress. 20: 1408-1413.

Mao, X. B. and Zhong, J. J. 2006. Significant effect of $NH4^+$ on cordycepin producton by submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. Enzyme and Microbial Technology. 38: 343-350.

Masuda, M., Urabe, E., Honda, H., Sakurai, A., and Sakakibara, M. 2007. Enhanced production of cordycepin by surface culture using the medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. Enzyme and Microbial Technology. 40: 1199-1205.

Oh, S. W., Kim, S. H., Song, H. N., and Han, D. S. 2003. Comparative chemical compositions of four kinds of Tochkaso. Korean Journal of Food Science Technology. 35: 15-22.

Park, J. P., Kim, S. W., Hwang, H. J., and Yun, J. W. 2001. Optimization of submerged culture conditions for the mycelial growth and exo-biopolymer production by *Cordyceps militaris*. Letters in Applied Microbiology. 33: 76-81.

Patel, K. J. and Ingalhalli, R. S. 2013. *Cordyceps militaris* (L.: Fr.) Link An important medicinal mushroom. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2: 315-319.

Sato, H. and Shimazu, M. 2002. Stroma production for *Cordyceps militaris* (*Clavicipitales: Clavicipitaceae*) by injection of hyphal bodies to alternative host insects. Applied Entomology and Zoology. 37: 85-92.

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.

Shih, I.L., Tsai, K.L., and Hsieh, C.Y. 2007. Effects of culture conditions on the mycelial growth and bioactive metabolite production in submerged culture of *Cordyceps militaris*. Biochemical Engineering Journal. 33: 193-201.

Shrestha, B., Lee, W. H., Han, S. K, and Sung, J. M. 2006. Observations on some of the mycelial growth and pigmentation characteristics of *Cordyceps militaris* isolates. Mycobiology. 34: 83-91.

Stensrud, Ø, Hywel-Jones, N. L., and Schumacher, T. 2005. Towards a phylogenetic classification of Cordyceps: ITS nrDNA sequence data confirm divergent lineages and paraphyly. Mycological Research. 109: 41-56.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sun, J. D., Xiong, S. T., and Wang, P. 2009. Study on biological and cultivated characters of *Cordyceps militaris* SN3. Journal of Fungal Research. 7: 148-152.

Sung, G. H., Hywel-Jones, N. L., Sung, J. M. Luangsa-Ard, J. J., Shrestha, B., and Spatafora, J. W. 2007.Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. Studies in Mycology. 57: 50-59.

Sung, J. M., Choi, Y. S., Shrestha, B., and Park, Y. J. 2002. Investigation on artificial fruiting of *Cordyceps militaris*. Korean Journal of Mycology. 30: 6-10.

Sung, J. M., Park, Y. J., Lee, J. O., Han, S. K., Lee, W. H., Choi, S. K., and Shrestha, B. 2006. Effect of preservation periods and subcultures on fruiting body formation of *Cordyceps militaris* in vitro. Mycobiology. 34: 196-199.

Tan, Q., Cai, T., Wei, J., Feng, A. P., Mao, W. J., and Bao, D. P. 2011. Molecular identification of mating type genes in asexual spores of *Cordyceps militaris*. Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP7): 52-56.

Tong, Y. K., Kuang, T., Wu, Y. X., Zhang, Q. Y., and Ren, J. 1997. Comparison of components of Cordyceps mycelium and natural *Cordyceps sinensis*. Shi Pin Yan Jiu Yu Kai Fa. 18: 40-42.

Tuli, H.S., Sharma, A.K., Sandhu, S.S., Kashyap, D .2013. Cordycepin: A bioactive metabolite with therapeutic potential. Life Sciences. 93: 863-869.

Tuli, H.S., Sharma, A.K., Sandhu, S.S., Kashyap, D .2014. Optimization of fermentation conditions for Cordycepin production using *Cordyceps militaris* 3936. Journal of Biological and Chemical Sciences (JBCS). 1: 35-47.

Turgeon, B. G., and Yoder, O. C. 2000. Proposed nomenclature for mating type genes of filamentous ascomycetes. Fungal Genetics and Biology. 31: 1-5.

Wang, L, Zhang, W. M., Hu, B., Chen, Y. Q., and Qu, L. H. 2008. Genetic variation of *Cordyceps militaris* and its allies based on phylogenetic analysis of rDNA ITS sequence data. Fungal Diversity. 31: 147-155.

Wang, X. Y., Rong, Y. W., Xu, L., Zhang, N. S., Li, C. R., and Fan, M. Z. 2010. Electrophoretic karyotype analysis of *Paecilomyces militaris*, the anamorph of *Cordyceps militaris*. Journal of Anhui Agricultural University. 37: 716-719.

Wen, T. C., Li, M. F., Kang, J. C., and He, J. 2012. A molecular genetic study on fruiting-body formation of *Cordyceps militaris*. African Journal of Microbiology Research. 6: 5215-5221.

Wen, T. C., Li, M. F., Kang, J. C., Kevin, D.H. 2014. Optimization of Solid-state Fermentation of fruiting body growth and cordycepin production by *Cordyceps militaris*. Chiang Mai Journal of Science. 41(4): 858-872.

Wong, Y. Y., Moon, A., Duffin, R., Barthet-Barateig, A., Meijer, H. A., Clemens, M. J., and De Moor, C. H. 2010. Cordycepin inhibits protein synthesis and cell adhesion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

through effects on signal transduction. Journal of Biological Chemistry. 285: 2610-2621.

Wu, F. Y., Yan, H., Ma, X. A., Jia, J. Q., Zhang, G. Z., Guo, X. J., and Gui, Z. Z. 2011. Structural characterization and antioxidant activity of purified polysaccharide from cultured *Cordyceps militaris*. African Journal of Microbiology Research. 5: 2743-2751.

Xian-Bing Maoa, Titiporn Eksriwongb, Somchai Chauvatcharinb, Jian-Jiang Zhonga. 2005. Optimization of carbon source and carbon/nitrogen ratio for cordycepin production by submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. Process Biochemistry. 40: 1667–1672.

Xiao-Cui Liu., Zhen-Yuan Zhu, Ya-Li Tanga, Ming-fei Wang, Zheng Wang, An-Jun Liu, Yong-Min Zhang. (2016). Structural properties of polysaccharides from cultivated fruit bodies and mycelium of *Cordyceps militaris*. Carbohydrate Polymers. 142: 63–72.

Yokoyama, E., Yamagishi, K., and Hara, A. 2004. Development of a PCR-based mating-type assay for *Clavicipitaceae*. FEMS Microbiological Letter. 237: 205-212.

Yokoyama, E., Yamagishi, K., and Hara, A. 2003. Structures of the mating-type loci of *Cordyceps takaomontana*. Applied and Environmental Microbiology. 69: 5019-5022.

Yoo, H. S., Shin, J. W., Cho, J. H., Son, C. G., Lee, Y. W., Park, S. Y., and Cho, C. K. 2004. Effects of *Cordyceps militaris* extract on angiogenesis and tumor growth. Acta Pharmacological Sinica. 25: 657-665.

Yu, H. M., Wang, B. S., Huang, S. C., and Duh, P. D. 2006. Comparison of preventive effects between cultured *Cordyceps militaris* and natural *Cordyceps sinensis* against oxidative damage. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 54: 3132-3138.

Zheng, P., Xia, Y. L., Xiao, G. H., Xiong, C. H., Hu, X., Zhang, S. W., Zheng, H. J., Huang, Y., Zhou, Y., Wang, S. Y., Zhao, G. P., Liu, X. Z., St Leger, R. J., and Wang, C. S. 2011. Genome sequence of the insect pathogenic fungus *Cordyceps militaris*, a valued traditional Chinese medicine. Genome Biology. 12: R116.

Zhi-Li Yi, Wen-Fang Huang, Yan Ren, Eugen Onac, Guo-Fu-Fu Zhou, Sheng Peng, Xiao-Jing Wang. Hai-Hang Li. 2014. LED lights increase bioactive substances at low energy costs in culturing fruiting bodies of *Cordyceps militaris*. Scientia Horticulturae. 175: 139–143.

Zhou, X. W., Gong, Z. H., Su, Y., Lin, J., and Tang, K. X. 2009. Cordycepin fungi: natural products, pharmacological functions and developmental products. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 61: 279-291.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สูตรอาหาร

1. สูตรอาหารแข็ง PDA เพื่อบ่มหัวเชื้อเริ่มต้น (ดัดแปลงจากสูตรลุงหยุด)

ตารางภาคผนวก ก-1 สูตรอาหารแข็ง PDA เสริมเปปโตนยีสต์สกัด

วัตถุดิบ	ปริมาณ
มันฝรั่ง	200 กรัม
ข้าวโพดอ่อน	50 กรัม
เปปโตน	10 กรัม
ยีสต์สกัด	10 กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20 กรัม
ผงวุ้น	20 กรัม
น้ำกลั่น	ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

ตารางภาคผนวก ก-2 สูตรอาหารแข็ง PDA เสริมไข่ไก่

วัตถุดิบ	ปริมาณ
มันฝรั่ง	200 กรัม
ข้าวโพดอ่อน	50 กรัม
ไข่ไก่	10 กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20 กรัม
ผงวุ้น	20 กรัม
น้ำกลั่น	ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

ขั้นตอนการทำอาหารเพาะเลี้ยง

1. นำมันฝรั่งไปล้างน้ำให้สะอาดและปอกเปลือก นำมาหั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ชั่งมันฝรั่งที่หั่นแล้วให้ได้ 200 กรัม
2. นำข้าวโพดอ่อนมาปอกเปลือกและหั่นเป็นชิ้นเล็กหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ชั่งข้าวโพดอ่อนที่หั่นแล้วให้ได้ 50 กรัม
3. ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร เมื่อน้ำเดือดให้ใส่มันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนที่ชั่งไว้ลงไปจับเวลา 20 นาที
4. กรองเอาแต่น้ำด้วยผ้าขาวบาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. หากเป็นสูตร PDA เสริมเปปโตนยีสต์สกัดให้ใส่น้ำตาลกลูโคส เปปโตน ยีสต์สกัดและผงวุ้นรวมกันในน้ำมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อน หากเป็นสูตร PDA เสริมไข่ไก่ ให้ใส่น้ำตาลกลูโคส ไข่ไก่และผงวุ้นลงไปแล้วคนส่วนผสมให้เข้ากัน

6. ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ทั้ง 2 สูตร

7. ใส่ในขวดดูแรนและปิดฝาโดยคลายเกลียวฝาเล็กน้อยเพื่อนำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ

8. เมื่อนำออกจากหม้อนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำเข้าตู้ปลอดเชื้อเพื่อเทอาหารลงเพลท

2. สูตรอาหารเหลว PDB เพื่อบ่มหัวเชื้อ (ดัดแปลงจาหกสูตรลุงหยุด)

ตารางภาคผนวก ก-3 สูตรอาหารแข็ง PDB เสริมเปปโตนและยีสต์สกัด

วัตถุดิบ	ปริมาณ
มันฝรั่ง	200 กรัม
ข้าวโพดอ่อน	50 กรัม
เปปโตน	10 กรัม
ยีสต์กัด	10 กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20 กรัม
น้ำกลั่น	ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

ตารางภาคผนวก ก-4 สูตรอาหารแข็ง PDB เสริมไข่ไก่

วัตถุดิบ	ปริมาณ
มันฝรั่ง	200 กรัม
ข้าวโพดอ่อน	50 กรัม
ไข่ไก่	10 กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20 กรัม
น้ำกลั่น	ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

ขั้นตอนการทำอาหารเพาะเลี้ยง

1. นำมันฝรั่งไปล้างน้ำให้สะอาดและปอกเปลือก นำมาหั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ชั่งมันฝรั่งที่หั่นแล้วให้ได้ 200 กรัม

2. นำข้าวโพดอ่อนมาปอกเปลือกและหั่นเป็นชิ้นเล็กหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ชั่งข้าวโพดอ่อนที่หั่นแล้วให้ได้ 50 กรัม

3. ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร เมื่อน้ำเดือดให้ใส่มันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนที่ชั่งไว้ลงไปจับเวลา 20 นาที

4. กรองเอาแต่น้ำด้วยผ้าขาวบาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. หากเป็นสูตร PDB เสริมเปปโตนยีสต์สกัดให้ใส่น้ำตาลกลูโคส เปปโตนและยีสต์สกัดรวมกันในน้ำมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อน หากเป็นสูตร PDB เสริมไข่ไก่ ให้ใส่น้ำตาลกลูโคสและไข่ไก่ลงไปแล้วคนส่วนผสมให้เข้ากัน

6. ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ทั้ง 2 สูตร

7. เทอาหารลงฟลาสก์ ฟลากส์ละ 50 มิลลิลิตร และนำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ

3. สูตรอาหาร PDB เพื่อเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองให้เกิดเป็น fruiting body (ดัดแปลงจากสูตรลุงหยุด)

อาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ข้าวไรซ์เบอร์รี่และสูตรอาหาร PDB โดยจะเตรียมทั้ง 2 ส่วนแยกออกจากกัน

ส่วนที่ 1

ตารางภาคผนวก ก-5 น้ำหนักข้าวไรซ์เบอร์รี่กรัมต่อขวด

วัตถุดิบ	ปริมาณ
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	60 กรัมต่อขวด

ส่วนที่ 2

ตารางภาคผนวก ก-6 สูตรอาหารเหลว PDB เสริมเปปโตนยีสต์สกัด

วัตถุดิบ	ปริมาณ
มันฝรั่ง	200 กรัม
ข้าวโพดอ่อน	50 กรัม
เปปโตน	10 กรัม
ยีสต์กัด	10 กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20 กรัม
ดักแด้	50 กรัม
น้ำกลั่น	ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก-7 สูตรอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่

วัตถุดิบ	ปริมาณ
มันฝรั่ง	200 กรัม
ข้าวโพดอ่อน	50 กรัม
ไข่ไก่	10 กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20 กรัม
ดักแด้	50 กรัม
น้ำกลั่น	ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

ขั้นตอนการทำอาหารเพาะเลี้ยง

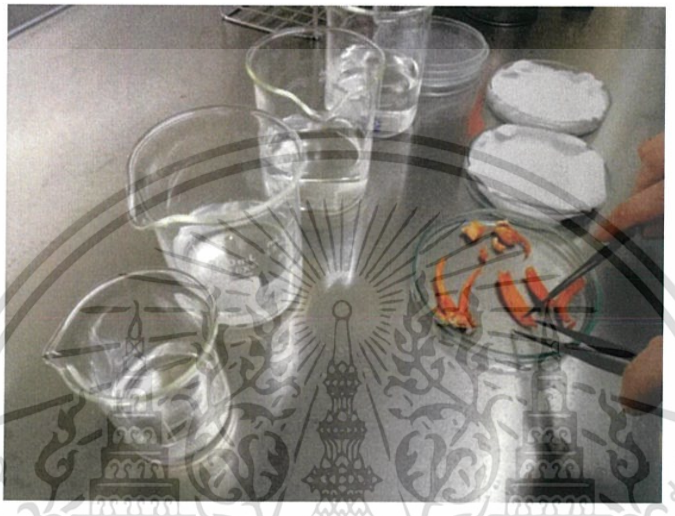
1. นำมันฝรั่งไปล้างน้ำให้สะอาดและปอกเปลือก นำมาหั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ชั่งมันฝรั่งที่หั่นแล้วให้ได้ 200 กรัม
2. นำข้าวโพดอ่อนมาปอกเปลือกและหั่นเป็นชิ้นเล็กหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ชั่งข้าวโพดอ่อนที่หั่นแล้วให้ได้ 50 กรัม
3. ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร เมื่อน้ำเดือดให้ใส่มันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนที่ชั่งไว้ลงไปจับเวลา 20 นาที
4. กรองเอาแต่น้ำด้วยผ้าขาวบาง
5. นำดักแด้ 50 กรัม มาปั่นให้ละเอียด
6. หากเป็นสูตร PDB เสริมเปปโตนยีสต์สกัดให้ใส่น้ำตาลกลูโคส เปปโตน ยีสต์สกัดและดักแด้ที่ปั่นละเอียดแล้วรวมกันในน้ำมันฝรั่งและข้าวโพดอ่อน หากเป็นสูตร PDB เสริมไข่ไก่ ให้ใส่น้ำตาลกลูโคส ไข่ไก่และดักแด้ที่ปั่นละเอียดแล้วลงไป คนส่วนผสมให้เข้ากัน
7. ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ทั้ง 2 สูตร
8. ชั่งข้าวไรซ์เบอร์รี่ลงในขวดเพาะเลี้ยง ขวดละ 60 กรัม แล้วนำส่วนผสมตามข้อ 7 ใส่ลงไปในแต่ละขวด ขวดละ 40 มิลลิลิตร
9. นำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
ขั้นตอนการเพาะเลี้ยง

การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น และการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของหัวเชื้อ

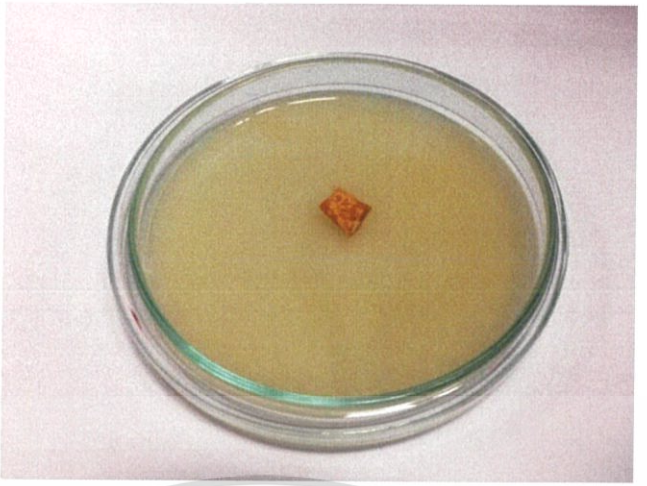
การเตรียมหัวเชื้อในอาหารแข็ง PDA



รูปภาคผนวกที่ ข-1 ตัด fruiting body ฆ่าเชื้อด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 3 เป็นเวลา 5 นาทีและล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง

รูปภาคผนวกที่ ข-2 ตัดหัวท้ายของ fruiting body ให้เป็นชิ้นมีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



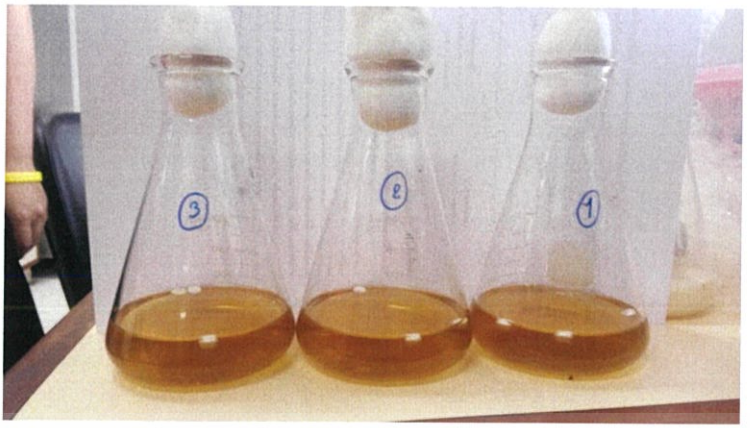
รูปภาคผนวกที่ ข-3 นำมาวางบน plate ที่มีอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียสเก็บในที่มืด

การเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว PDB

รูปภาคผนวกที่ ข-4 นำหัวเชื้อเริ่มต้นจากอาหารแข็ง PDA มาค๊อกจำนวน 3 ชิ้น

รูปภาคผนวกที่ ข-5 เลี้ยงในฟลาส์กขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลว PDB เสริม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

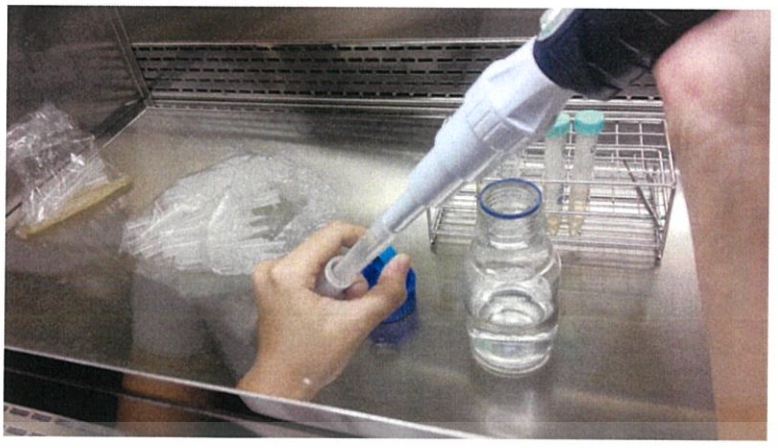


รูปภาคผนวกที่ ข-6 บ่มที่เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที เป็นเวลา 216 ชั่วโมง

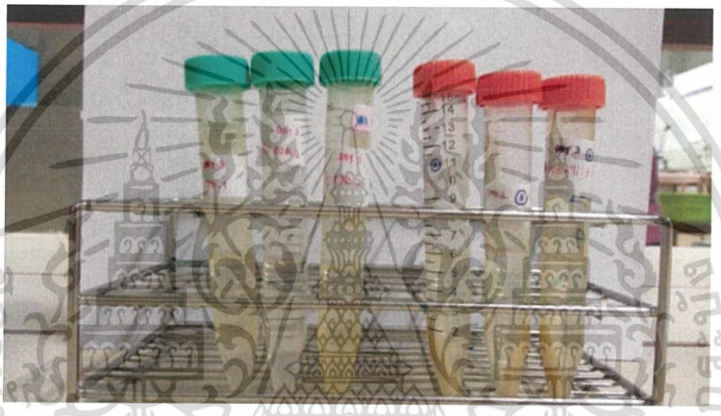
รูปภาคผนวกที่ ข-7 เก็บตัวอย่างหัวเชื้อ สุ่มตัวอย่างหัวเชื้อมาซ้ำละ 5 มิลลิลิตร

รูปภาคผนวกที่ ข-8 นำไปปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ ข-9 เทส่วนใสทิ้งเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง



รูปภาคผนวกที่ ข-10 เทส่วนใสทิ้งนำเข้าตู้อบลมร้อนที่มีอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อผลิตดอกโดยใช้ข้าวไรซ์เบอร์รี่

รูปภาคผนวกที่ ข-11 ครบ 14 วันหลังจากลงหัวเชื้อในข้าวไรซ์เบอร์รี่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาคผนวกที่ ข-12 ครบ 45 วัน ในการเก็บเกี่ยว fruiting body

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
วิธีการวิเคราะห์และการคำนวณ

วิธีการคำนวณน้ำหนักแห้ง

1. ชั่งน้ำหนักหลอดเปล่าที่อบแล้วบันทึกค่า
2. เก็บตัวอย่างและชั่งน้ำหนัก (น้ำหนักหลอดเปล่าและน้ำหนักเซลล์)
3. นำไปอบแห้งแล้วบันทึกค่า
4. นำค่าที่ได้มาคำนวณตามสมการดังนี้

น้ำหนักแห้ง = น้ำหนักหลอดที่มีเซลล์แห้งหลังอบ – น้ำหนักหลอดเปล่าหลังอบ

วิธีการคำนวณร้อยละความชื้น

1. ชั่งกระดาษฟรอยด์เปล่าหลังอบแล้วบันทึกค่า
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างก่อนนำไปอบแห้ง บันทึกค่าและนำไปอบแห้ง
3. ชั่งน้ำหนักฟรอยด์พร้อมตัวอย่างหลังอบแห้ง
4. นำค่าที่ได้มาคำนวณตามสมการดังนี้

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

วิธีคำนวณสารละลายเข้มข้น (Stock Solution)

การคำนวณสารละลายเข้มข้น (Stock Solution) ถ้าต้องการสารมาตรฐานคอร์ไดเซปินเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร สามารถคำนวณได้ดังนี้

เตรียมสารละลายมาตรฐานคอร์ไดเซปิน 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยการชั่งสารมาตรฐานคอร์ไดเซปินมา 0.002 กรัม ละลายในน้ำบริสุทธิ์สูง (Ultrapure Water) 2 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 0.001 กรัมต่อมิลลิลิตร

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

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานคอร์ไดเซปินความเข้มข้น 0.001 กรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

$$V_1 = 200 \text{ ไมโครลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานคอร์ไดเซปินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 200 ไมโครลิตร และเติมน้ำบริสุทธิ์สูงปริมาณ 1800 ไมโครลิตร

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

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

$$V_1 = 200 \text{ ไมโครลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานคอร์ไดเซปินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 160 ไมโครลิตร และเติมน้ำบริสุทธิ์สูงปริมาตร 1840 ไมโครลิตร

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

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

$$V_1 = 120 \text{ ไมโครลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานคอร์ไดเซปินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 120 ไมโครลิตร และเติมน้ำบริสุทธิ์สูงปริมาตร 1880 ไมโครลิตร

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

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

$$V_1 = 80 \text{ ไมโครลิตร}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานคอร์ไดเซปินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 80 ไมโครลิตร และเติมน้ำบริสุทธิ์สูงปริมาตร 1920 ไมโครลิตร

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

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x V_1 = 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร x 2000 ไมโครลิตร

$$V_1 = 40 \text{ ไมโครลิตร}$$

ดังนั้นถ้าต้องการความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานคอร์ไดเซปินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 40 ไมโครลิตร และเติมน้ำบริสุทธิ์สูงปริมาตร 1960 ไมโครลิตร

การคำนวณสารละลายมาตรฐานอะดีโนซีนใช้วิธีคำนวณเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐานคอร์ไดเซปินความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การหาปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน

จากผลการทดสอบปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินมาตรฐาน โดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูงจะได้สมการเส้นตรง $y = ax+b$ (ดังรูปภาคผนวกที่ ค-1 และภาคผนวกที่ ค-2) เมื่อนำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากตารางภาคผนวกที่ ค-1 แทนลงในสมการที่ 1 และสมการที่ 2 เพื่อหาค่าปริมาณคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน

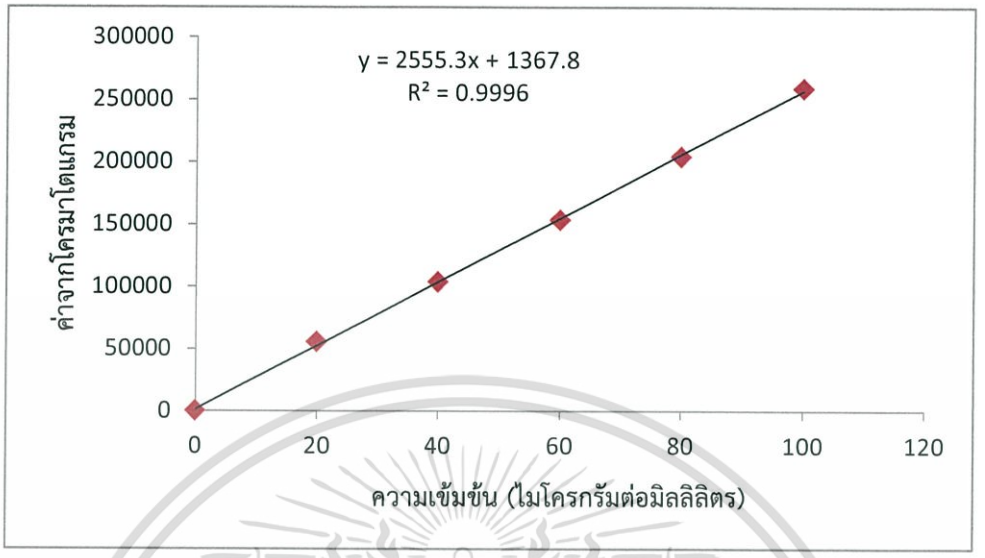
ตารางภาคผนวกที่ ค-1 ตารางแสดงค่าพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโตแกรมของอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยการใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นเปปโตนยีสต์สกัดและไข่ไก่

สูตรอาหาร	ซ้ำ	พื้นที่ใต้กราฟ	
		อะดีโนซีน	คอร์ไดเซปิน
เสริมเปปโตนยีสต์สกัด	1	535532	439583
	2	546005	231317
	3	596221	177901
เสริมไข่ไก่	1	553058	150242
	2	529475	467960
	3	587068	581430

*** ค่าโครมาโตแกรมที่อ่านได้จากเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูงของปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินดูได้จากภาคผนวก จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการคำนวณปริมาณอะดีโนซีน



รูปภาคผนวกที่ ค-1 กราฟมาตรฐานอะดีโนซีน ในการวิเคราะห์ด้วยการใช้ HPLC ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0, 20, 40, 60, 80 และ100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

นำค่าโครมาโตแกรมที่ได้จากการสกัดตัวอย่างมาคำนวณหาปริมาณอะดีโนซีนโดยใช้สมการ ดังนี้

$$X = \frac{Y - 1367.8}{2555.3} \qquad (1)$$

โดย Y = ค่าจากโครมาโตแกรม

X = ความเข้มข้นของอะดีโนซีน

ตัวอย่างเช่น

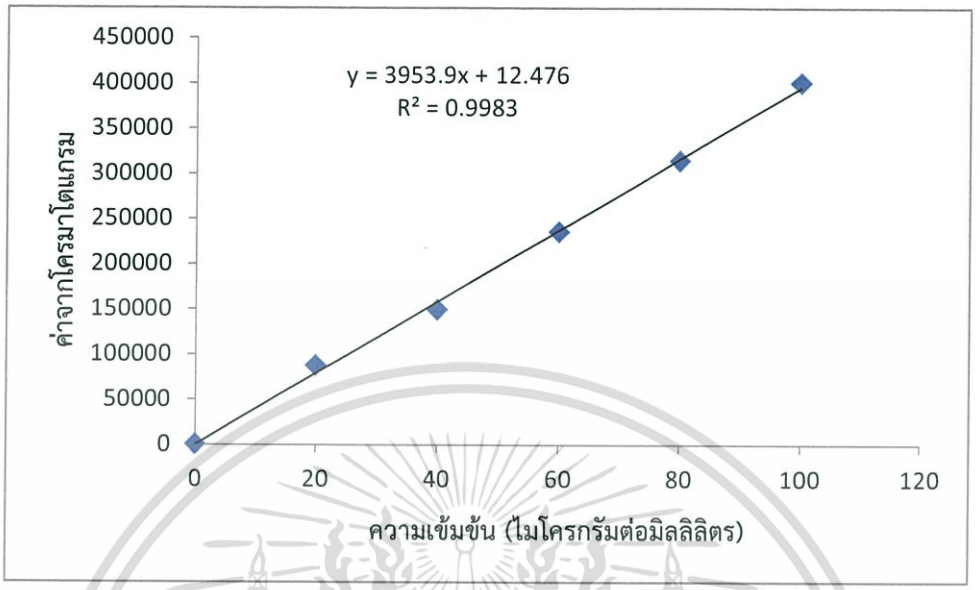
$$X = \frac{535532 - 1367.8}{2555.3}$$

X = 209.042 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้นปริมาณอะดีโนซีนที่ได้จากสูตรเปปโตนยีสต์สกัดซ้ำที่ 1 มีปริมาณอยู่ที่ 209.042 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการคำนวณปริมาณคอร์ไดเซปิน



รูปภาคผนวกที่ ค-2 กราฟมาตรฐานคอร์ไดเซปิน ในการวิเคราะห์ด้วยการใช้ HPLC ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0, 20, 40, 60, 80 และ100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

นำค่าโครมาโตแกรมที่ได้จากการสกัดตัวอย่างมาคำนวณหาปริมาณคอร์ไดเซปินโดยใช้สมการ ดังนี้

$$X = \frac{Y - 12.476}{3953.9} \qquad (2)$$

โดย Y = ค่าจากโครมาโตแกรม

X = ความเข้มข้นของคอร์ไดเซปิน

ตัวอย่างเช่น

$$X = \frac{439583 - 12.476}{3953.9}$$

X = 111.174 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้นปริมาณคอร์ไดเซปินที่ได้จากสูตรเปปโตนยีสต์สกัดซ้ำที่ 1 มีปริมาณอยู่ที่ 111.174 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์พอลิแซกคาไรด์ด้วยวิธีฟีนอล – ซัลฟูริก

การเตรียมกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

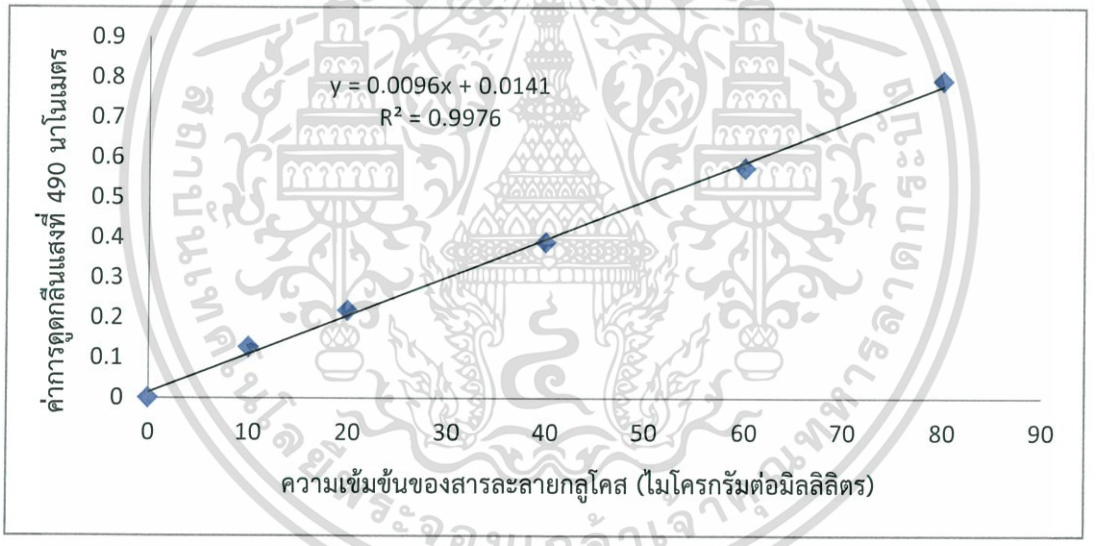
ชั่งกลูโคส 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1. การทดสอบด้วยฟีนอล-ซัลฟูริก

นำสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่เตรียมไว้ข้างต้น ทำการเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดูดสารละลายที่เจือจางแล้วในแต่ละความเข้มข้นมา 1 มิลลิลิตร และเติมสารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยหยดช้าๆ ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

จากการตรวจสอบปริมาณกลูโคส โดยนำค่าพื้นที่ใต้กราฟจากรูปภาคผนวกที่ ค-3 มาแทนค่าในสมการที่ 4

$$y = 0.0096x + 0.0141 \quad (4)$$



รูปภาคผนวกที่ ค-3 กราฟมาตรฐานกลูโคสที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

การคำนวณหาปริมาณพอลิแซกคาไรด์ด้วยวิธีฟีนอล – ซัลฟูริกจากตัวอย่าง

โดยการนำสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานกลูโคส $y = 0.0096x + 0.0141$ มาคำนวณ โดยที่สูตรอาหารเสริมเปปโตนยีสต์สกัดและสูตรอาหารเสริมไข่ไก่ มีค่าวัดการดูดกลืนแสงที่อยู่ในช่วง 0.2-0.8 วัดได้ที่ระดับความเจือจาง 100 เท่าดังตารางภาคผนวกที่ ค-2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-2 ปริมาณน้ำตาล

สูตรอาหาร	ค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับความเจือจาง 100 เท่า	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
เสริมเปปโตนยีสต์สกัด	0.556	5644.792
	0.563	5717.708
	0.542	5498.958
เสริมไข่ไก่	0.584	5936.458
	0.592	6019.792
	0.470	4748.958

วิธีการคำนวณ

$$y = 0.0096x + 0.0141$$

$$x = \frac{y - 0.0141}{0.0096}$$

นำค่าที่ระดับความเจือจาง 100 เท่า มาแทนในค่า y จะได้ค่าปริมาณน้ำตาลในตารางด้านบน และเมื่อได้ค่าปริมาณน้ำตาลแล้วให้นำไปคูณกับค่าระดับความเจือจาง 100 เท่า จะได้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

2. การทดสอบด้วยวิธี DNS (3,5-dinitro salicylic acid)

นำสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่เตรียมไว้ข้างต้น ทำการเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 0, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดูดสารละลายที่เจือจางแล้วในแต่ละความเข้มข้นมา 1 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย DNS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิดฝาแล้วต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ทำการแช่หลอดทดลองในอ่างน้ำเย็นทันที รอจนหลอดทดลองเย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

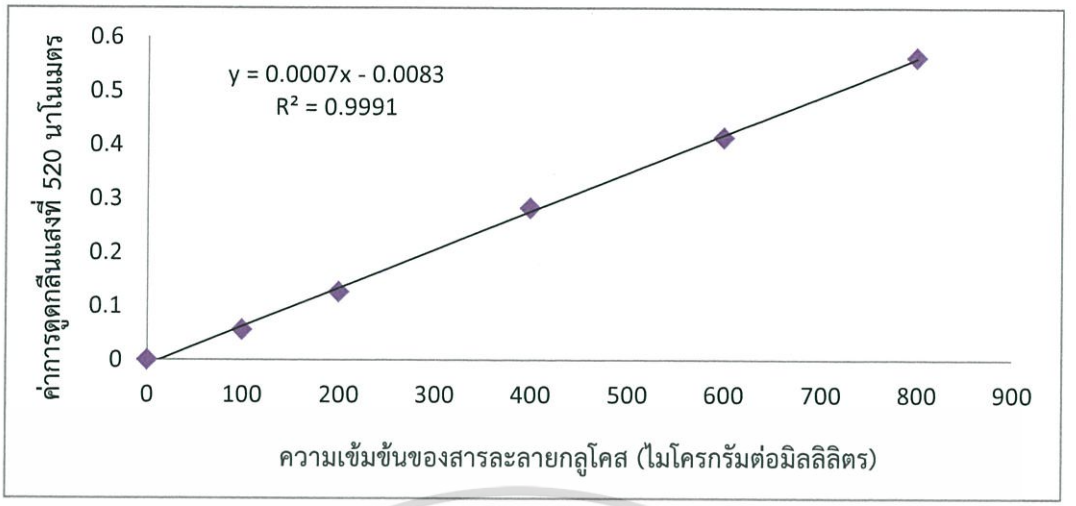
จากการตรวจสอบปริมาณกลูโคส โดยนำค่าพื้นที่ใต้กราฟจากรูปภาคผนวกที่ ค-4 มาแทนค่าในสมการที่ 3

$$y = 0.0007x - 0.0083 \quad (3)$$

การคำนวณหาปริมาณพอลิแซกคาไรด์ด้วยวิธี DNS จากตัวอย่าง

โดยการนำสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานกลูโคส $y = 0.0007x + 0.0083$ มาคำนวณ โดยที่สูตรอาหารเสริมเปปโตนยีสต์สกัดและสูตรอาหารเสริมไข่ไก่ มีค่าวัดการดูดกลืนแสงที่อยู่ในช่วง 0.2-0.8 วัดได้ที่ระดับความเจือจาง 1 เท่าซึ่งแสดงดังตารางภาคผนวกที่ ค-3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ ค-4 กราฟมาตรฐานกลูโคสที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

วิธีการคำนวณ

$$y = 0.0007x + 0.0083$$

$$x = \frac{y - 0.0083}{0.0007}$$

นำค่าที่ระดับความเจือจาง 1 เท่า มาแทนในค่า y จะได้ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตารางด้านล่างและเมื่อได้ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แล้วให้นำไปคูณกับค่าระดับความเจือจาง 1 เท่าจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่แท้จริง

ตารางภาคผนวกที่ ค-3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการวิเคราะห์ตัวอย่างของเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยวิธี DNS

สูตรอาหาร	ค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับความเจือจาง 1 เท่า	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่แท้จริง (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
เสริมเปปโตนยีสต์สกัด	0.376	549.000
	0.271	399.000
	0.276	406.143
เสริมไข่ไก่	0.255	376.143
	0.301	441.857
	0.294	431.857

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการคำนวณหาปริมาณพอลิแซกคาไรด์

เมื่อคำนวณได้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริก และได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่แท้จริงด้วยวิธี DNS แล้วให้นำมาลบกันแล้วจะได้ปริมาณพอลิแซกคาไรด์ที่แท้จริง

ตัวอย่างเช่น

ปริมาณพอลิแซกคาไรด์ = ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด – ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่แท้จริง

= 5644.792 - 549.000

= 5095.792 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

= 5.096 กรัมต่อลิตร

ดังนั้นปริมาณพอลิแซกคาไรด์ที่ได้จากสูตรเปปโตนยีสต์สกัดซ้ำที่ 1 มีปริมาณอยู่ที่ 5.096 กรัมต่อลิตร

วิธีคิดการเปรียบเทียบราคาเปปโตนยีสต์สกัดและราคาไข่ไก่ต่อปริมาตร 1 ลิตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

การคำนวณเปรียบเทียบราคาเปปโตนยีสต์สกัดและราคาไข่ไก่ต่อปริมาตรอาหาร 1 ลิตร โดยเปปโตน 1 ขวด มีปริมาณ 500 กรัม ยีสต์สกัด 1 ขวด มีปริมาณ 500 กรัม และไข่ไก่ 1 ฟอง มีปริมาณประมาณ 50 กรัม

ถ้าต้องการเทียบราคาเปปโตนต่อ 1 ลิตร สามารถคำนวณได้ดังนี้

เปปโตน 500 กรัม ราคา 2080 บาท

เปปโตน 1 กรัม ราคา 4.16 บาท

1 ลิตร ใช้เปปโตน 10 กรัม แสดงให้เห็นว่า 10x4.16 = 41.6 บาท

ถ้าต้องการเทียบราคายีสต์สกัดต่อ 1 ลิตร สามารถคำนวณได้ดังนี้

ยีสต์สกัด 500 กรัม ราคา 2190 บาท

ยีสต์สกัด 1 กรัม ราคา 4.38 บาท

1 ลิตร ใช้ยีสต์สกัด 10 กรัม แสดงให้เห็นว่า 10x4.38 = 43.8 บาท

ถ้าต้องการเทียบราคาไข่ไก่ต่อ 1 ลิตร สามารถคำนวณได้ดังนี้

ไข่ไก่ 1 ฟอง ≈ 50 กรัมต่อ 1 ลิตร มีราคา 5 บาทต่อฟอง

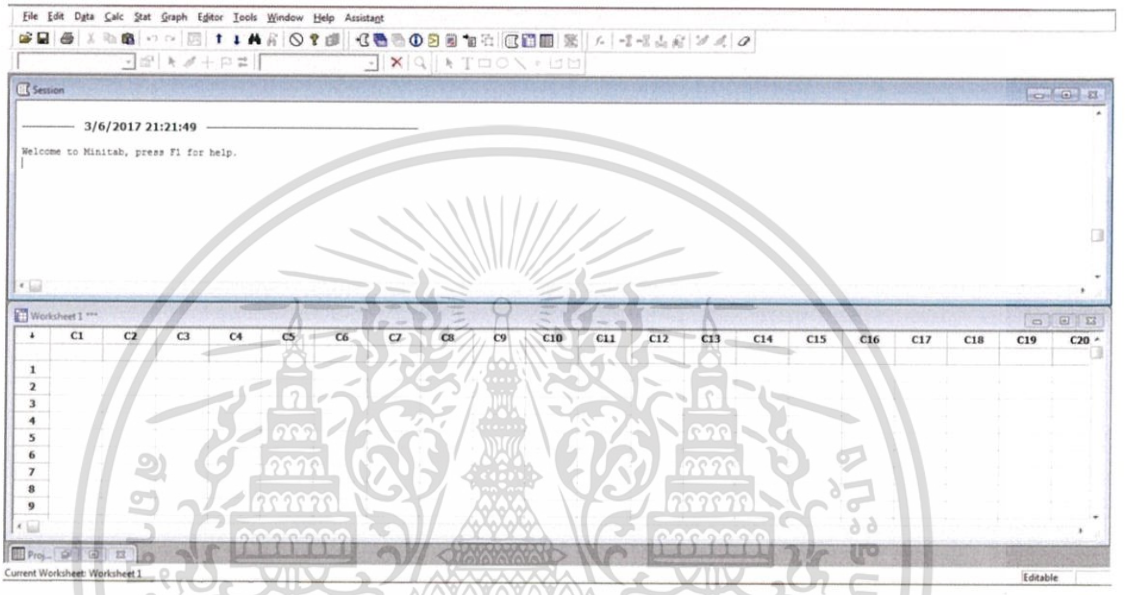
ดังนั้นการใช้เปปโตนยีสต์สกัดต่อปริมาตรอาหาร 1 ลิตร เป็นเงินจำนวน 85.4 บาท และการใช้ไข่ไก่ต่อปริมาตรอาหาร 1 ลิตร เป็นจำนวนเงิน 5 บาท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

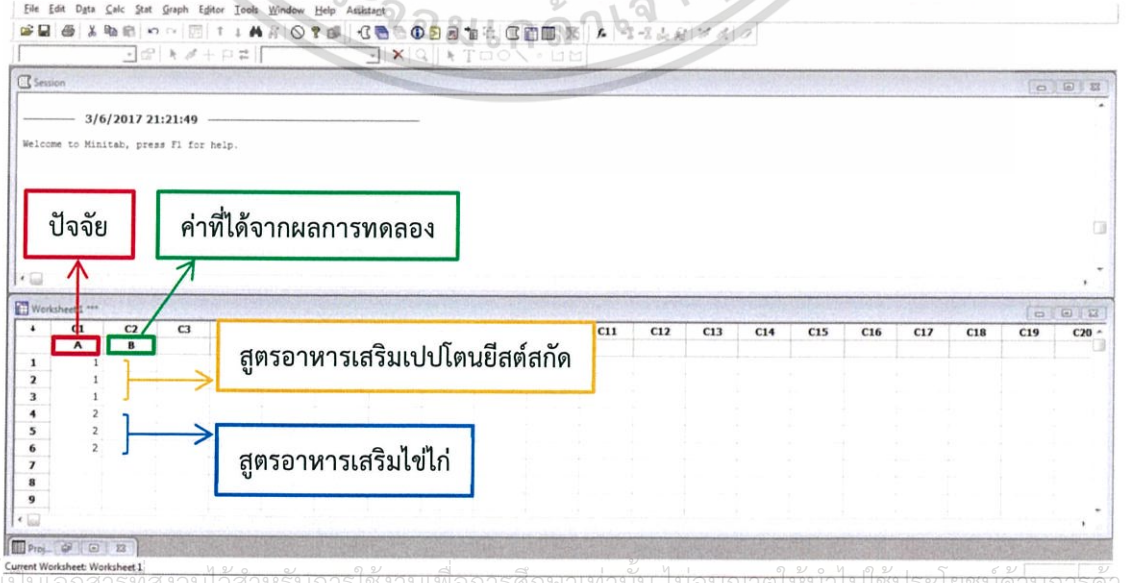
ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม Minitab 16

1. เปิดโปรแกรม Minitab 16

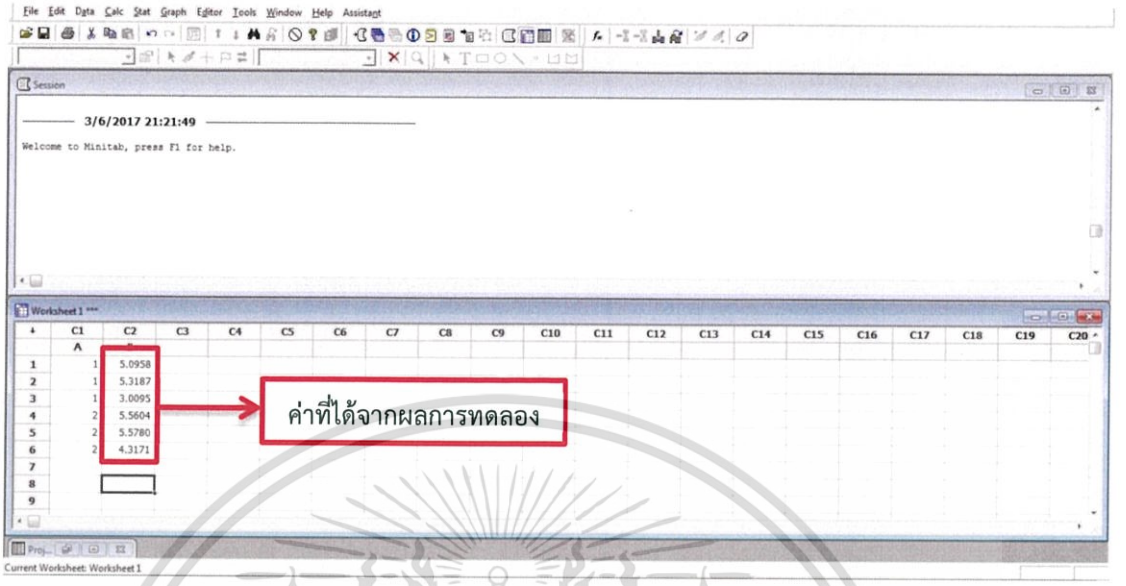


2. กำหนดตัวแปรในตารางโดยให้ A เป็นปัจจัย และ B เป็นค่าที่ได้จากผลการทดลองในรูปนี้จะกำหนดให้ A มี 2 ปัจจัย คือสูตรอาหารเสริมเปปโตนยีสต์สกัด (1) และสูตรอาหารเสริมไข่ไก่ (2) ซึ่งจะทำการทดลอง 3 ซ้ำดังรูป

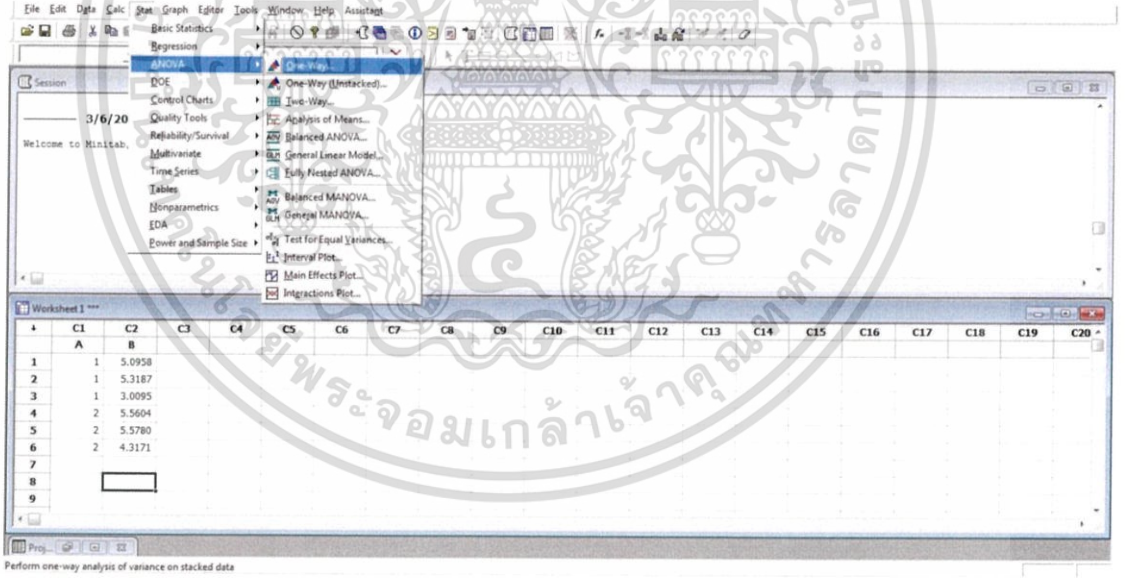


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. หลังจากนั้นใส่ค่าผลการทดลองที่ได้ในแต่ละซ้ำลงไปดังแสดงดังรูป

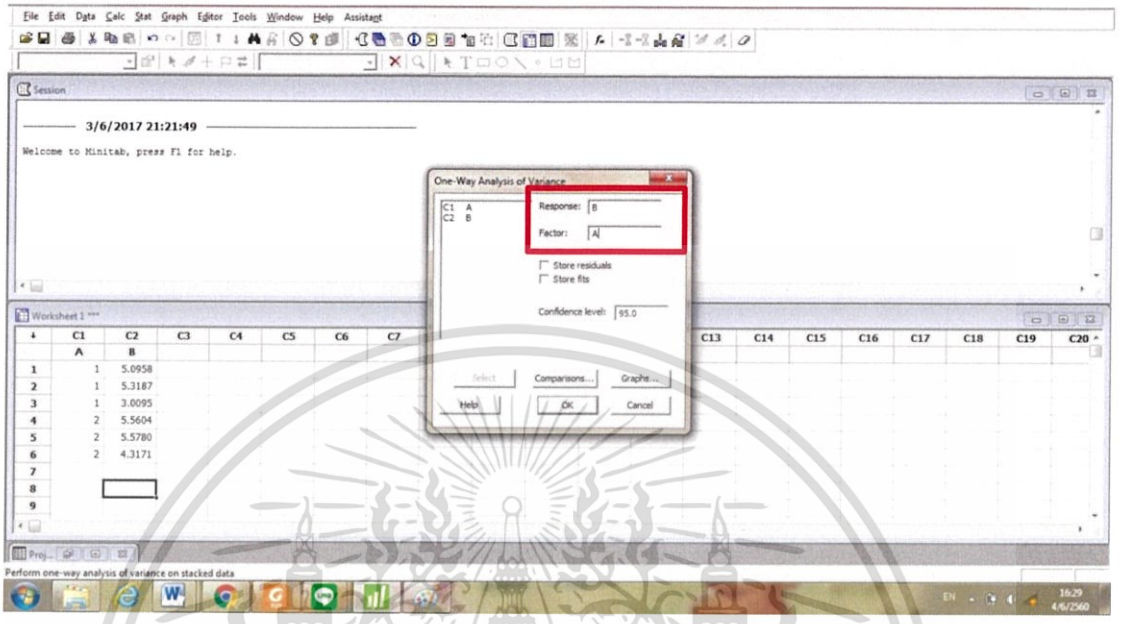


4. กด Stat → ANOVA → One – Way ตามลำดับ

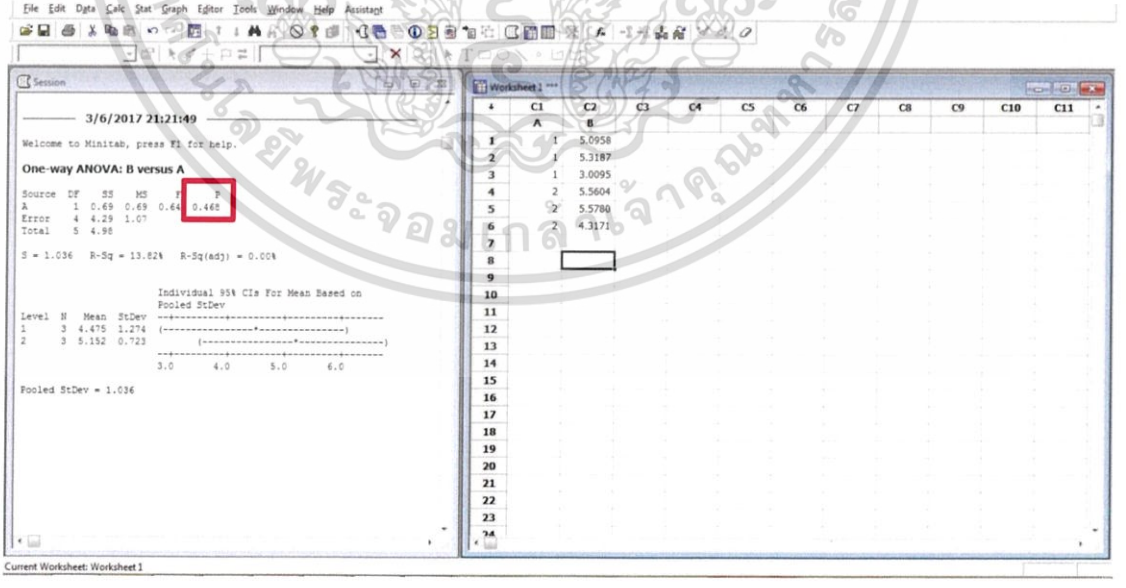


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. เมื่อขึ้นดังรูปให้ใส่ A ในช่อง Factor และใส่ B ในช่อง Response หลังจากนั้นกดตกลง



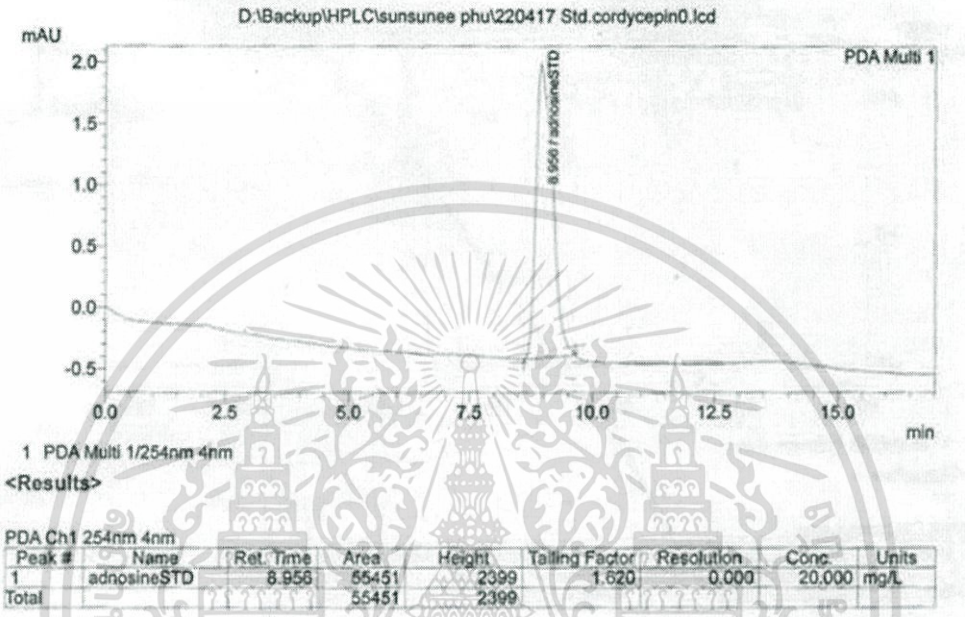
6. จะได้ค่าที่คำนวณได้จากโปรแกรม Minitab 16 ดังรูป ให้สังเกตจากค่า P ถ้าหากค่า P ≤ 0.05 แสดงว่าผลการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

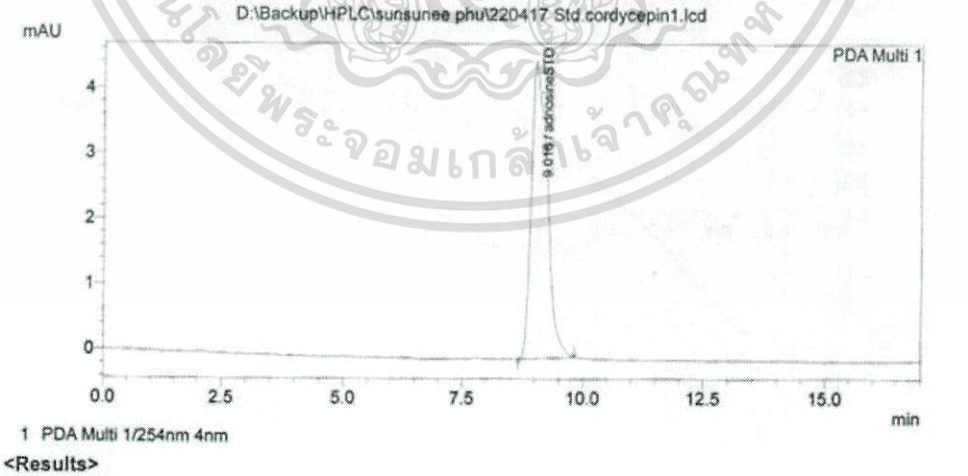
ภาคผนวก จ
ผลการทดลอง

1. โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้นต่างๆ



Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1	adnosineSTD	8.956	55451	2399	1.620	0.000	20.000	mg/L
Total			55451	2399				

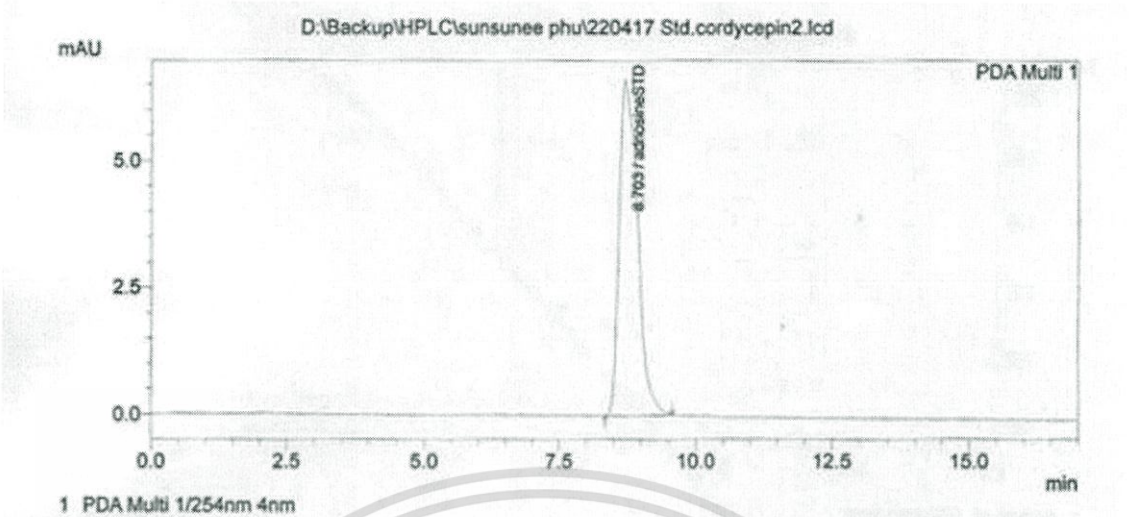
รูปภาคผนวกที่ จ-1 สารมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 20



Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1	adnosineSTD	9.016	103533	4557	1.707	0.000	40.000	mg/L
Total			103533	4557				

รูปภาคผนวกที่ จ-2 สารมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



1 PDA Multi 1/254nm 4nm

<Results>

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1	adnosineSTD	8.703	153163	6626	1.684	0.000	60.106	mg/L
Total			153163	6626				

รูปภาคผนวกที่ จ-3 สารมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 60

1 PDA Multi 1/254nm 4nm

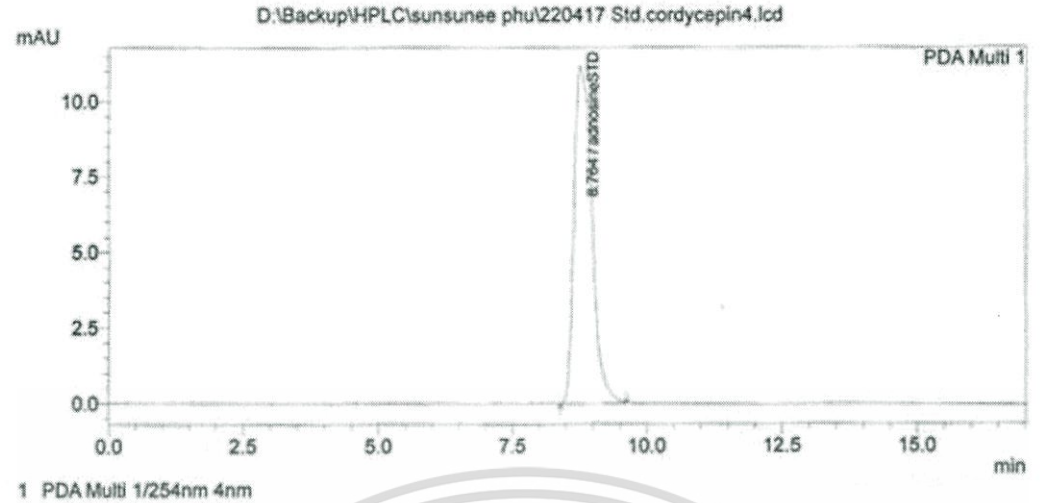
<Results>

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1	adnosineSTD	8.638	203911	8776	1.653	0.000	80.261	mg/L
Total			203911	8776				

รูปภาคผนวกที่ จ-4 สารมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



1 PDA Multi 1/254nm 4nm

<Results>

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1	adnosineSTD	8.764	258741	11187	1.600	0.000	100.943	mg/L
Total			258741	11187				

รูปภาคผนวกที่ จ-5 สารมาตรฐานอะดีโนซีนที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

1 PDA Multi 1/254nm 4nm

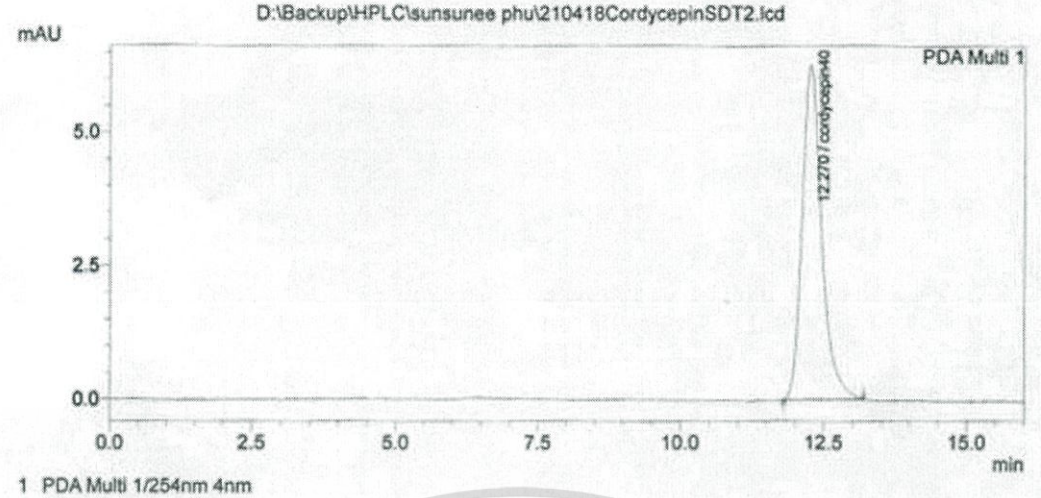
<Results>

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1	cordycepin20	12.115	87347	3736	1.356	0.000	0.000	mg/L
Total			87347	3736				

รูปภาคผนวกที่ จ-6 สารมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้นร้อยละ 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



1 PDA Multi 1/254nm 4nm

<Results>

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1	cordycepin40	12.270	149224	6283	1.346	0.000	0.000	mg/L
Total			149224	6283				

รูปภาคผนวกที่ จ-7 สารมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้นร้อยละ 40

1 PDA Multi 1/254nm 4nm

<Results>

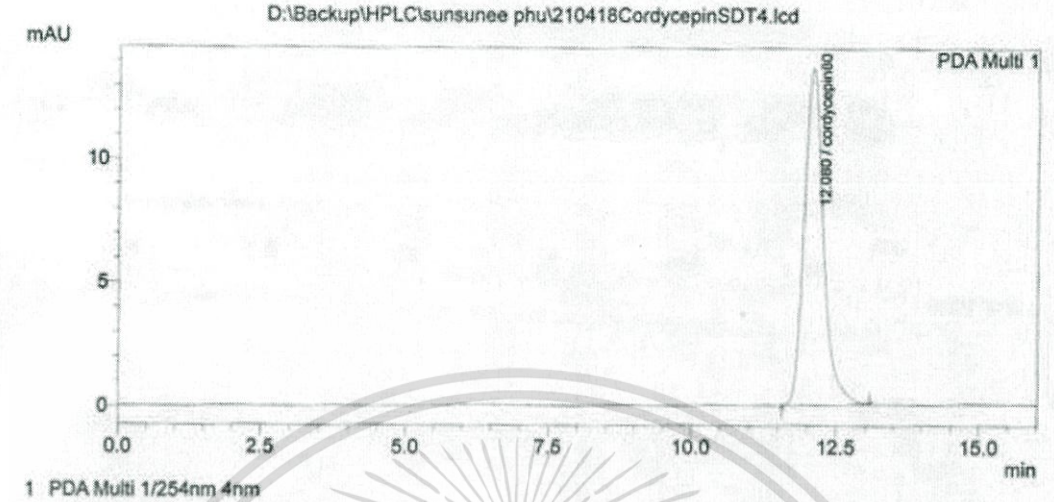
PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1	cordycepin60	12.259	235493	10076	1.335	0.000	0.000	mg/L
Total			235493	10076				

รูปภาคผนวกที่ จ-8 สารมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้นร้อยละ 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<Chromatogram>



1 PDA Multi 1/254nm 4nm

<Results>

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1	cordycepin80	12.080	313696	13690	1.336	0.000	0.000	mg/L
Total			313696	13690				

รูปภาคผนวกที่ จ-9 สารมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้นร้อยละ 80

1 PDA Multi 1/254nm 4nm

<Results>

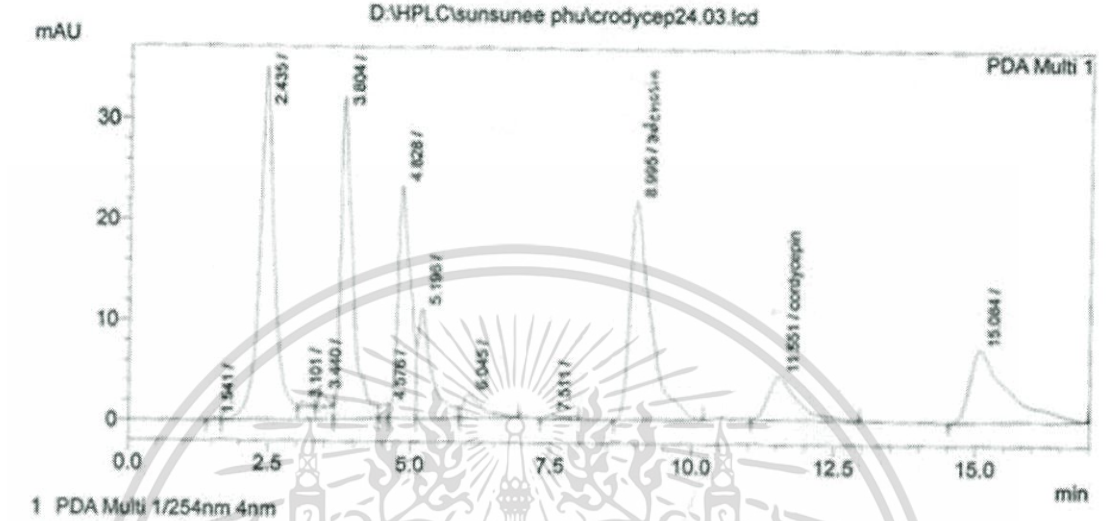
PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1	Cordycepin	11.818	400481	17389	1.273	0.000	134.804	mg/L
Total			400481	17389				

รูปภาคผนวกที่ จ-10 สารมาตรฐานคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. โครมาโทแกรมแสดงพีคอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินของตัวอย่าง ในผลการทดลองหัวข้อที่ 4.2.2 การหาปริมารอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC)



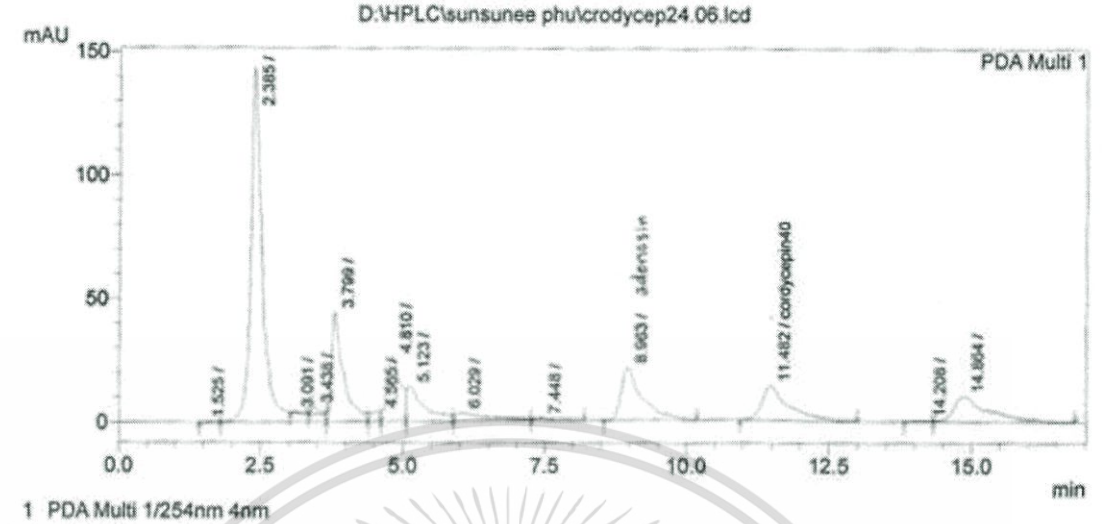
<Results>

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1		1.541	1526	170	0.000	0.000	0.000	
2		2.435	683739	35148	1.231	2.412	0.000	
3		3.101	3051	409	1.955	2.020	0.000	
4		3.440	12387	1410	1.733	1.452	0.000	
5		3.804	468420	32034	2.465	1.119	0.000	
6		4.576	15464	1452	0.000	0.321	0.000	
7		4.828	355871	23151	0.000	0.103	0.000	
8		5.196	190720	10901	0.000	0.754	0.000	
9		6.045	53930	2411	0.000	1.545	0.000	
10		7.511	6935	395	1.794	2.782	0.000	
11		8.995	553058	21799	2.249	2.871	0.000	
12	cordycepin	11.551	150242	4314	1.878	3.596	57.506	mg/L
13		15.084	332977	7213	2.559	4.059	0.000	
Total			2828318	140807				

รูปภาคผนวกที่ จ-11 จากการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ไข่ไก่เป็นแหล่งไนโตรเจนซึ่งค่าโครมาโตแกรมของอะดีโนซีนพบในนาทีที่ 8.995 และพบคอร์ไดเซปินในนาทีที่ 11.551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



1 PDA Multi 1/254nm 4nm

<Results>

PDA Ch1 254nm 4nm

Peak #	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Resolution	Conc.	Units
1		1.525	1456	138	0.000	0.000	0.000	
2		2.385	2087843	143551	1.521	2.711	0.000	
3		3.091	3053	448	2.542	2.665	0.000	
4		3.438	19930	2685	1.863	1.831	0.000	
5		3.799	639079	44349	0.000	1.435	0.000	
6		4.565	48756	3736	0.000	0.178	0.000	
7		4.810	395638	25955	0.000	0.056	0.000	
8		5.123	291266	13940	0.000	0.447	0.000	
9		6.029	125342	3347	0.000	0.987	0.000	
10		7.448	22829	929	0.000	1.970	0.000	
11		8.963	535532	21314	2.416	2.706	0.000	
12	cordycepin40	11.482	439583	13847	2.082	4.398	171.342	mg/L
13		14.208	5980	288	0.000	0.000	0.000	
14		14.864	430149	10228	2.208	0.000	0.000	
Total			5046438	284754				

รูปภาคผนวกที่ จ-12 จากการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้เปปโตนยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งค่าโครมาโตแกรมของอะดีโนซีนพบในนาทีที่ 8.963 และพบคอร์ไดเซปินในนาทีที่ 11.48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้