

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือในรูปของเส้นใย
ในวัตถุดิบทางการเกษตรต่าง ๆ



นางสาว ธัญญวัฒน์ สิงห์รุ่งเรือง
นางสาว ปิยะพร ธรรมชาติ

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2540

ปพ.
ช 211ก
2540
เลขหมึ.....
เลขทะเบียน...30623
วัน, เดือน, ปี 28 ก.ค. 2541

**Study of Chinese mushroom (LingZhi) cultivation in the form of
mycelium in various agricultural commodities**

Miss Thananyawat Singrungruang

Miss Piyaporn Thammachart

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

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1997

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้


หัวข้อโครงการพิเศษ : การศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือในรูปแบบของเส้นใยใน
วัตถุติบทางการเกษตรต่าง ๆ
นักศึกษา : น.ส. ธัญวิวัฒน์ สิงห์รุ่งเรือง
น.ส. ปิยะพร ธรรมชาติ
อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร. คุณณี ชนะบริพัฒน์
ภาควิชา : ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา : 2540

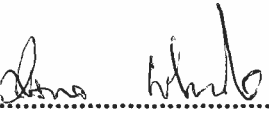
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นำโครงการพิเศษฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการ
ศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต


..... หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
(รศ.ดร. พรรมณ์ ชูตาภิชาติ)

คณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ


..... ประธานกรรมการ
(ผศ.ดร. นวลพรรณ ฒ ะนอง)


..... กรรมการ
(รศ.ดร. คุณณี ชนะบริพัฒน์)


..... กรรมการ
(อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ : การศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือในรูปแบบของเส้นใยใน
 วัตถุดิบทางการเกษตรต่าง ๆ

นักศึกษา : น.ส. ธนัญวัฒน์ สิงห์รุ่งเรือง
 น.ส. ปิยะพร ธรรมชาติ

อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร. คุณณี ธนะบริพัฒน์

ภาควิชา : ชีววิทยาประยุกต์

ปีการศึกษา : 2540

บทคัดย่อ

จากงานวิจัยต่าง ๆ พบว่า ในขณะที่เห็ดหลินจือกำลังเจริญเติบโตในรูปแบบเส้นใยนั้นจะสามารถผลิตสารต่าง ๆ ได้เช่นเดียวกับสารที่สกัดออกมาจากดอกเห็ด ดังนั้นในงานวิจัยนี้ได้ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือบนวัตถุดิบทางการเกษตรต่าง ๆ จากการศึกษาพบว่า การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในข้าวฟ่างนึ่งที่ระดับความชื้นเริ่มต้น 35% จะทำให้เส้นใยเจริญได้ดีและเร็ว และมีปริมาณโปรตีน 5.16% ของน้ำหนักสดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ที่อุณหภูมิห้อง

Project title : Study of Chinese mushroom (LingZhi) cultivation in the form of mycelium in various agricultural commodities

Student name : Miss Thananyawat Singrungruang

Miss Piyaporn Thammachart

Advisor : Assoc.Prof.Dr. Dusanee Thanaboripat

Department : Applied Biology

Academic year : 1997

ABSTRACT

A number of reports show that mycelium of Ling Zhi mushroom has the same composition as the fruiting body. The present study was undertaken in order to cultivate Ling Zhi mushroom in the form of mycelium on various agricultural commodities. The best substrate for high growth was sorghum at initial moisture content of 35%. When the mycelium was cultivated for 2 weeks at room temperature, the maximum protein content was 5.16% (wet weight).

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ในการนี้ขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. คุณณี ณะบริพัฒน์ อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ ผศ.ดร. นवलพรรณ ณ ระนอง และผศ วรรัตน์ เรืองรัตนเมธี ที่ให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์ในระหว่างการทำโครงการพิเศษ คุณศรายุทธ คำหริ่ม ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์โปรตีน รวมทั้งเพื่อน ๆ น้อง ๆ ที่ช่วยให้กำลังใจจนโครงการพิเศษเสร็จสมบูรณ์

20 เมษายน 2541



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร	
2.1 เห็นคหลินจือ	3
2.2 ลักษณะทั่วไปของเห็นคหลินจือ	3
2.3 การจำแนกเห็นคหลินจือ	4
2.4 ส่วนประกอบของเห็นคหลินจือ	5
2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเห็นคหลินจือ	10
2.6 สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็นคหลินจือ	13
2.7 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์	14
2.8 การวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมี	18
2.9 คุณสมบัติทางยาของเห็นคหลินจือ	19
2.10 การเพาะเลี้ยงเห็นคหลินจือ	20
บทที่ 3 การทดลอง	
3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่จำเป็น	23
3.2 การเพิ่มปริมาณเส้นใยเห็นคหลินจือในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA	27
3.3 การศึกษาวิธีการถ่ายเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็นคหลินจือ โดยใช้ Cork borer เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มม.และการทำสารละลายเชื้อ	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.4 การศึกษาการเจริญของเส้นใยบนวัตถุดิบทางการเกษตรชนิดต่าง ๆ ที่ ความชื้น 35% และ 50%	28
3.5 การวัดการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ	29
3.6 การหาปริมาณ crude protein ในเส้นใยเห็ดหลินจือ	29
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
4.1 ผลการศึกษาถึงวิธีถ่ายเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย เห็ดหลินจือในข้าวฟ่างลาย ที่ระดับความชื้น 35%	30
4.2 ผลการศึกษาถึงชนิดของวัตถุดิบทางการเกษตรและความชื้น ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ	32
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	39
เอกสารอ้างอิง	40
ภาคผนวก ก	42
ภาคผนวก ข	43

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงองค์ประกอบของเห็ดหลินจือ	3
ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบทางเคมีในเห็ดหลินจือ	18
ตารางที่ 4.1 ผลการวัดการเจริญของเชื้อเห็ดหลินจือ <i>Ganoderma lucidum</i>	30
ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณ crude protein (%) ของเชื้อเห็ดหลินจือ <i>Ganoderma lucidum</i> จากวิธีการถ่ายเชื้อทั้ง 2 วิธี (น้ำหนักสด)	30
ตารางที่ 4.3 ผลการวัดการเจริญของเชื้อเห็ดหลินจือ <i>Ganoderma lucidum</i> ในวัตถุดิบทางการเกษตรที่ระดับความชื้น 35%และ 50%	32
ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณ crude protein (%) ของเชื้อเห็ดหลินจือ <i>Ganoderma lucidum</i> ในวัตถุดิบทางการเกษตรต่าง ๆ (น้ำหนักสด)	33
ตารางที่ 4.5 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ crude protein (%) ของเชื้อเห็ดหลินจือ <i>Ganoderma lucidum</i> เมื่อใช้วัตถุดิบทางการเกษตรที่ระดับความชื้นต่าง ๆ	36

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 2.1 เห็ดหลินจือ <i>Ganoderma lucidum</i> บนยอดต้นยางนา (<i>Dipterocarpus alatus</i>)	7
รูปที่ 3.1 เชื้อเห็ดหลินจือ <i>Ganoderma lucidum</i>	25
รูปที่ 3.2 ตู้บลมร้อน	25
รูปที่ 3.3 เครื่องย่อย (digestor)	26
รูปที่ 3.4 เครื่องกลั่น (distiller)	26
รูปที่ 4.1 การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในวัตถุคิบทางการเกษตร 4 ชนิด ในสัปดาห์ที่ 2	33
รูปที่ 4.2 การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในวัตถุคิบทางการเกษตร 4 ชนิด ในสัปดาห์ที่ 3	33
รูปที่ 4.3 การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในวัตถุคิบทางการเกษตร 4 ชนิด ในสัปดาห์ที่ 4	34

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการพิเศษ

เห็ดหลินจือ เป็นเห็ดที่รู้จักกันมาเป็นเวลานาน มีการนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางในประเทศต่างๆ ได้แก่ ประเทศจีน ญี่ปุ่น อินเดีย เกาหลี เป็นต้น โดยเชื่อว่า เห็ดชนิดนี้เป็นเห็ดพิเศษที่สามารถใช้รักษาโรคต่างๆได้ เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง โรคคอเรสเทอรอล โรคความดันโลหิตไม่ปกติ ใช้เป็นยาเกี่ยวกับเลือดตกยางออก แก้พิษจากการกินของที่เป็นพิษเข้าไป มีการนำมาใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ บำรุงประสาท อีกทั้งยังอาจนำไปผสมกับยาสมุนไพรชนิดอื่น เพื่อรักษาโรคต่างๆได้อีกด้วย

ในปัจจุบันได้มีการศึกษา วิเคราะห์ วิจัยเกี่ยวกับเห็ดหลินจือกันอย่างกว้างขวาง ทั้งทางด้านสรรพคุณทางยา วิธีการใช้ วิธีการปลูก (อาานนท์ , 2541) เห็ดหลินจือ หรือเห็ดหมื่นปี จัดเป็นเห็ดในสกุล *Ganoderma* ที่มีสรรพคุณทางยา จึงจัดเป็นเห็ดสมุนไพรตัวหนึ่ง มีชื่อเรียกทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst ซึ่งดอกเห็ดมีโครงสร้างคล้ายเนื้อไม้ พบอยู่ทั่วไปตามต้นไม้ผู้ที่มีความชื้นพอสมควร มักพบเห็นเป็นประจำในเขตร้อนชื้น และพบในบริเวณที่มีฝนตกชุก ซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 24 - 32 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาพบว่าเห็ดหลินจือสามารถผลิตสารประกอบหลายชนิดที่มีคุณสมบัติทางยา อาทิเช่น สารในกลุ่มสเตียรอยด์ (steroid) เช่น Cholestan, Ergosterol, Ganosterone สารจำพวกคาร์โบไฮเดรต เช่น Ganoderans A,B,C และ Polysaccharide อื่นๆที่มีคุณสมบัติต่อต้านเนื้องอก ได้แก่ (1-3)- β -D-glucan, Ganodermediol, Ganoderenic, Lucidone และ Lucidenic acid

เนื่องจากเห็ดหลินจือจะเจริญเติบโตช้ามากอาจใช้เวลาเป็นปี ทำให้เห็ดชนิดนี้มีราคาแพง จึงได้มีการศึกษาและพัฒนาเกี่ยวกับสรรพคุณ วิธีการสกัดสารจากเห็ดหลินจือ เพื่อที่จะนำมาใช้ในการรักษาได้อย่างถูกต้อง รวมทั้งวิธีการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตให้สูงขึ้นได้อีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์

- 1). เพื่อศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือในรูปของเส้นใยในวัตถุดิบทางการเกษตรต่าง ๆ
- 2). เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดหลินจือในรูปของเส้นใยได้

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

- 1). เพื่อเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือในวัตถุดิบทางการเกษตรชนิดต่าง ๆ
- 2). เพื่อศึกษาถึงปัจจัยที่เหมาะสมในการเจริญของเห็ดหลินจือในรูปของเส้นใย
- 3). เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเส้นใย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1). สามารถเปรียบเทียบแหล่งวัตถุดิบทางการเกษตรต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดหลินจือในรูปของเส้นใย
- 2). สามารถใช้วัตถุดิบทางการเกษตรที่มีราคาถูก เป็นแหล่งผลิตสารต้านมะเร็งจากเห็ดหลินจือได้
- 3). เป็นการพัฒนาวัตถุดิบทางการเกษตรที่มีราคาถูกมาใช้ในงานวิจัยได้
- 4). เป็นการพัฒนางานทางด้านวิจัย เพื่อช่วยประหยัดเวลา และลดค่าใช้จ่ายในการเพาะเห็ดหลินจือ

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 เห็ดหลินจือ

เห็ดหลินจือจัดเป็นเชื้อราชนิดหนึ่ง ที่ขึ้นอยู่ตามต้นไม้ที่เน่าเปื่อยผุพังซึ่งมีความชื้นสูงพอสมควร พบอยู่ทั่วไป ตั้งแต่เส้นศูนย์สูตร จนกระทั่งถึงเส้นขนานทั้งทางเหนือและทางใต้ ประมาณ 10 องศา ระดับความสูงตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนกระทั่งสูงกว่า 1,000 เมตร อุณหภูมิระหว่าง 8-38 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เส้นใยจะชะงักหรือหยุดการเจริญเติบโต แต่พออากาศอุ่นขึ้น เส้นใยเห็ดหลินจือก็จะเจริญเติบโตใหม่ เมื่อเส้นใยแก่จัดจะรวมตัวกันเพื่อสร้างดอกเห็ดซึ่งมีลักษณะแข็งคล้ายเนื้อไม้ ซึ่งจะมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามภาษาเรียกของแต่ละประเทศ เช่น

ภาษาจีน เรียกชื่อเห็ดชนิดนี้ว่า หลิงจี้หรือหลินจือ แปลว่า สุกยอดของไม้วัวเศษ ซึ่งสามารถแบ่งแยกไปตามชนิดของเห็ดอย่างกว้างๆ โดย นพ.ชวลิต สันตกิจรุ่งเรือง ได้แปลเรื่องเห็ดหลินจือจากคัมภีร์ยาจีน ชื่อ เส้นหนังเป็นเขา มีข้อมูลที่น่าสนใจ ดังแสดงในตารางที่ 2.1 (สาริต , 2539)

ตารางที่ 2.1 แสดงองค์ประกอบของเห็ดหลินจือ

ลำดับ	ชื่อเห็ดหลินจือ	สีของเห็ด	พิษ	รส	สรรพคุณทางยา
1	ชิงจื่อ หลงจื่อ	เขียว	-	เปรี้ยว	บำรุงตับ สายตา และประสาท
2	ชือจื่อ ดันจื่อ	แดง	-	ขม	บำรุงหัวใจ ปอด และสติปัญญา
3	หวงจื่อ จินจื่อ	เหลือง	-	หวาน	บำรุงม้าม ประสาท
4	ไปจื่อ วิจื่อ	ขาว	-	เผ็ด	บำรุงตับ ปอด ขวัญ และจิตใจ
5	เฮยจื่อ เอ้าจื่อ	ดำ	-	เค็ม	บำรุงไต ทางเจริญ บีสสาวะ
6	จื่อจื่อ มู่จื่อ	ม่วง	-	หวานอุ่น	บำรุงกระดูก จิตใจ ริดสีดวงทวาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาษาญี่ปุ่น เรียกชื่อเห็ดชนิดนี้แตกต่างกันไป กล่าวคือ

- แมนเนน ตากะ (Mannen -Take) แปลว่า เห็ดหมื่นปี
- ซะไว ตากะ (Saiwai - Take) แปลว่า เห็ดนำโชค
- ซารุนาวิชิตากะ (Sarunouchi - Take) แปลว่า เห็ดที่นั่งลิง
- ริชิตากะ (Reishi - Take) หมายถึง เห็ดวิเศษ หรือ เห็ดที่เป็นอายุวัฒนะ

ภาษาทิเบต และประเทศภูฐาน เรียก โอมะชามู (Oma - shamu)

ภาษาไทย เรียกได้หลายชื่อ แล้วแต่ท้องถิ่น เช่น เห็ดกระด้าง เห็ดหิ้งขอ เห็ดนางกวัก เห็ดแม่เบ็ญจเห่า เห็ดมะพร้าว (เพราะเห็ดชนิดนี้ มักขึ้นอยู่ตาม โคนต้นมะพร้าว)

ภาษาอังกฤษ มักเรียกตามชื่อของภาษาจีน หรือญี่ปุ่น คือ Reishi , Ling Zhi mushroom , Monkey's seat mushroom, Artist's conk, Holly , Lacquered mushroom

2.2 การจำแนกชนิดเห็ดหลินจือ

เห็ดหลินจือถูกจัดจำแนกทางวิทยาศาสตร์ ดังนี้

Subdivision	: Basidiomycetes
Class	: Hymenomycetes
Order	: Polypores
Family	: Ganodermataceae
Genus	: <i>Ganoderma</i>
Species	: <i>applanatum</i> หรือ <i>lucidum</i> (Fr.)karst
แต่ญี่ปุ่นจัดเป็น	: <i>japonicum</i>

2.3 ลักษณะทั่วไปของเห็ดหลินจือ (ฮานนท์ , 2541)

จัดเป็นพวกโพลีพอร์(Polypore) มีลักษณะที่สำคัญคือ ได้หมวกเห็ดไม่มีก้าน(non agarics) แต่มีรูเล็กจำนวนมากเรียงกันอยู่อย่างเป็นระเบียบ ภายในรูจะมีการสร้างสปอร์ (spore) ด้านบนของหมวกมีสีน้ำตาลแดง ไปจนถึงสีน้ำตาลม่วงและดำ ผิวหมวกเห็ดมีลักษณะเป็นมันเงาเหมือนเคลือบด้วยแลคเกอร์ มีก้านสั้นๆ ซึ่งอาจจะอยู่กลางดอก แต่บางครั้งอาจจะไม่มีก้านก็ได้

ดอกที่เกิดใหม่จะมีลักษณะเป็นก้านรูขี้ฉี่ ปลายหน่อจะมีสีเขียวหม่นดอกเห็ดเจริญเติบโต ขนานไปกับพื้นโลกขึ้นอยู่กับบริเวณที่เกิด เมื่อดอกเห็ดโตจะแผ่ออก มีรูปร่างคล้ายรูปวาดไตของ มนุษย์ ถ้าดอกยังอ่อนจะมีขอบนอกขาวและค่อยๆ เหลืองเข้ามาด้านในจนเป็นสีน้ำตาลและน้ำตาล แดงในที่สุด ความยาวของก้านและขนาดของดอกเห็ดจะใหญ่หรือเล็กขึ้นอยู่กับสถานที่เกิดและ แหล่งอาหาร โดยเห็ดชนิดนี้สามารถเติบโตข้ามปีได้ และบางครั้งพบว่าเห็ดชนิดนี้มีอายุหลายปี

เห็ดหลินจือที่ใช้ทำยาได้จะมีหมวกสีม่วงดำ สีน้ำตาล และสีน้ำตาลแดง แต่ทุกชนิด ได้ห้องต้องมีสีเหลือง ซึ่งตามธรรมชาติอาจจะมีได้หมวกดอกสีเขียวหม่นขึ้นกับอายุของเห็ด

2.4 ส่วนประกอบของเห็ดหลินจือ

เห็ดหลินจือมีส่วนประกอบที่สำคัญ (อานนท์ , 2541) ดังนี้

2.4.1 หมวกของดอกเห็ด

เป็นส่วนบนสุดของดอกเห็ด ส่วนใหญ่จะแผ่ขนานราบไปกับพื้นดิน มีลักษณะแข็งคล้าย เนื้อไม้ ผิวมัน ทำหน้าที่ป้องกันส่วนที่สร้างสปอร์ที่อยู่ด้านใต้ ซึ่งเป็นส่วนที่อ่อนแอที่สุด หมวกของดอกเห็ดสามารถทนแดด ทนฝน ทนหิมะ น้ำและความชื้นจะระเหยออกจากส่วนนี้ได้ยาก อีกทั้งยังมีสีแตกต่างกันไปตามลักษณะของสายพันธุ์ เช่น สีแดง สีน้ำตาลแดง สีน้ำตาลแดงดำ สีเขียว สีขาว สีเทา สีม่วง สีเหลือง เป็นต้น

สีของดอกเห็ดจะเข้มมากขึ้น เมื่อได้รับแสงที่มีความเข้มสูง หรือถูกลมที่มีความชื้นต่ำ พัดผ่าน ในขณะที่ดอกเห็ดเกิดขึ้นใหม่ๆ จะยังไม่สามารถแยกออกได้ว่าส่วนไหนจะเป็นส่วนของ หมวกดอก จนกระทั่งเห็ดเจริญไประดับหนึ่งแล้ว ดอกเห็ดจะพยายามเบนเข้าหาแสง ส่วนงอที่อยู่ ข้างบนจะถูกสร้างให้เป็นหมวกของดอกเห็ด ส่วนล่างจะเป็นส่วนที่สร้างสปอร์ แต่ถ้าดอกเห็ดเจริญ ออกมาขนานกับพื้นโลกส่วนบนจะทำหน้าที่เป็นหมวกดอก ส่วนล่างก็จะเป็นที่สร้างสปอร์ ดอกเห็ดที่ยังไม่เจริญเต็มที่ก็จะสังเกตได้จากขอบของหมวกดอก โดยยังมีส่วนด้านล่างโผล่ออกมาให้ เห็น เมื่อจับดูแล้วจะนิ่ม หากเจริญเต็มที่แล้ว ตรงขอบจะเป็นสีเขียวกับหมวกดอกมีลักษณะแข็ง และไม่ขยายตัวต่อไปอีก ขนาดของดอกจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ อาหาร และการดูแลรักษา แต่ส่วน ใหญ่จะมีขนาดประมาณ 6-14 ซม.

2.4.2 รูปร่างสปอร์

เป็นรูเล็กอยู่ได้หมวกดอก ในขณะที่ดอกเห็ดยังมีขนาดเล็กอยู่ บริเวณนี้จะอัดแน่นติดอยู่ด้วยกัน มีสีแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิด หรือสายพันธุ์ ที่พบส่วนใหญ่ ได้แก่ สีขาว สีเหลือง สีเทา เป็นต้น ขนาดของรูพอจะมองเห็นได้ชัด และเมื่อดอกเห็ดเจริญเติบโตเต็มที่ ก็จะปล่อย สปอร์ ออก ลักษณะของรูหากใช้กล้องจุลทรรศน์ส่องดู จะมีลักษณะคล้ายรูกลมๆของรังพญาปลวก ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ภายในรูจะเป็นที่สร้างสปอร์ของดอกเห็ด และปล่อยออกมาเมื่อ สปอร์แก่เต็มที่ ซึ่งในพื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตร จะมีรูสร้างสปอร์มากกว่า 2,000 รู

2.4.3 สปอร์ของเห็ดหลินจือ

โดยทั่วไป พบว่า สปอร์ของเห็ดหลินจือจะมีสีน้ำตาลและสีน้ำตาลแดงจาง สปอร์มีรูปทรงกลมรี ปลายบนมีคิวหน้าตัดลักษณะคล้ายมะละกอพันธุ์ฮาวาย ซึ่งแต่ละสายพันธุ์จะมีลักษณะแตกต่างกัน โดยปลายด้านหนึ่งจะเหมือนแฉ่งหายไป ขนาด 9-12 x 5.5-5.8 ไมครอน มีผนังสองชั้น และมีช่องว่างตรงกลางมีรูเชื่อมระหว่างผิวชั้นนอกและชั้นใน (รูปที่ 2.1) สำหรับการเจริญเติบโตเป็นเส้นใยในระยะแรก ผนังทั้งสองถูกค้ำด้วยก้านเล็กๆ เปลือกด้านนอกจะเรียบ โปร่งใส เปลือกชั้นในหยาบ และมีรอยปุ่มอยู่ทั่วไป มีสีน้ำตาลอ่อนๆ และมีก้านเล็กๆ ยื่นออกมาค้ำยันผนังชั้นนอกไว้ สปอร์ถูกสร้างตั้งฉากออกมาจากผนังของรูที่อยู่ใต้หมวกดอก เบซิเดียม (basidia) จะคล้ายกระบอง ด้านบนกว้าง ด้านล่างแคบ มี 4 สเตอริกมา (sterigma) ส่วนซีสตีเดีย (cystidia) จะไม่ค่อยพบ เส้นใยที่โตเต็มที่จะมีท่อเชื่อมระหว่างเซลล์ และพบว่ามีการสร้างคลามีโดสปอร์ (chlamydospore) ด้วย (อนุวงศ์และคณะ , 2528)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4 ก้านดอกเห็ด

ก้านดอกเห็ดมีหน้าที่ชูส่วนหมวกและรูปร่างสปอร์ให้ขึ้นสูงอยู่เหนือพื้น เป็นทางลำเลียงอาหารไปหล่อเลี้ยงหมวกดอกและส่วนที่สร้างสปอร์ ขนาดและความยาว ตลอดจนสีล้วนขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของดอกเห็ดและสภาพแวดล้อม กล่าวคือ เห็ดหลินจือบางชนิดก้านสั้น แต่มีขนาดโต บางชนิดมีขนาดเรียวยาว บางชนิดไม่มีก้านเลย สีของก้านส่วนใหญ่ จะเป็นสีเดียวกับหมวกดอกเห็ด นอกจากนี้ ถึงแม้จะเป็นดอกเห็ดสายพันธุ์เดียวกัน แต่เจริญในสภาพแวดล้อมที่ต่างกันลักษณะของก้านดอกเห็ดก็จะแตกต่างกันด้วย สิ่งที่สำคัญที่สุดคือความบริสุทธิ์ของอากาศและความชื้น กล่าวคือ หากบรรยากาศมีความชื้นและมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูง ก้านของดอกเห็ดก็จะยาว บางครั้งไม่มีหมวกดอก หรือที่สร้างสปอร์เลย ก้านดอกจะยาว แตกกิ่งก้านสาขา บางครั้งจะมีลักษณะคล้ายเขากวาง ลักษณะเช่นนี้ไม่ใช่ลักษณะประจำพันธุ์ อาจจะเป็นลักษณะของดอกเห็ดที่ผิดปกติ อันเนื่องมาจากการขาดอากาศ ความชื้นสูงเกินไปหรืออุณหภูมิไม่เหมาะสมแก่การเกิดดอกเห็ดก็ได้ แต่เชื่อกันว่า น่าจะมีคุณสมบัติทางยามากกว่า เพราะไม่ได้สร้างสปอร์ ทำให้มีการสะสมสรรพคุณทางยาเอาไว้และ บางสายพันธุ์มีโอกาสเพาะให้เป็นแบบเขากวางได้สูงมาก

2.4.5 ฐานก้านดอก

เป็นจุดศูนย์รวมของเส้นใยเห็ดที่มารวมกันเพื่อที่จะสร้างดอก เมื่อมีการพัฒนาจนกระทั่งเจริญเต็มที่แล้ว จะเกิดเป็นตุ่มเล็กๆ ขึ้นแล้วชูขึ้นจากพื้นกลายเป็นก้านชูดอก ลักษณะของฐานเมื่อดอกเห็ดเจริญเต็มที่แล้วก็มีลักษณะเดียวกับโคนต้นไม้ทั่วไป กล่าวคือ ส่วนฐานจะบานแผ่เล็กน้อย เพื่อความแข็งแรงเพื่อยึดเหนี่ยวส่วนก้านให้แข็งแรงยิ่งขึ้น

2.4.6 เส้นใยของเห็ด

เส้นใยของเห็ดหลินจือ มีสีขาวคล้ายเส้นด้ายเล็กๆ โดยแบ่งระบบเส้นใยเป็น 3 ระยะ คือ (สาริต , 2539)

ระยะเริ่มแรก เป็นระยะที่เส้นใยเกิดขึ้นใหม่ จะมีผนังเซลล์บางๆ และแขนเชื่อมต่อกับเซลล์ (clamp connection) ผนังบาง โปร่งใส แดกกิ่งก้านออกไป เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3.5 - 4.5 ไมโครมิเตอร์ การเจริญค่อนข้างเร็ว

ระยะที่สอง เป็นระยะที่เส้นใยแก่ เกิดขึ้นจากการรวมตัวกันของเส้นใยที่เกิดขึ้นใหม่ จะมีสีหม่นๆ โปร่งแสง จนมีสีน้ำตาลทอง ไม่มีผนังกันเซลล์ เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 - 5 ไมโครมิเตอร์ จะมีกิ่งก้านแยกออกไป แต่ปลายกิ่งก้านนี้จะแคบเข้าดูเป็นปลายแหลมเหมือนเส้น โดยอาจเกิดขึ้นเป็นบางจุด หรือเกิดโดยทั่วทั้งหมด บางครั้งอาจจะมีกลุ่มของเส้นใยรวมกันเป็นกระจุก

ระยะที่สาม เป็นระยะที่เส้นใยเกิดการรวมตัวกันเป็นเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของดอกเห็ด ตรงจุดผนังของรู พวกนี้จะไม่มียีส ผนังเซลล์จะหนา มักจะโค้งงอ มีกิ่งก้านและเส้นผ่านศูนย์กลางทั่วไปประมาณ 1.5 - 2 ไมโครมิเตอร์ เส้นใยตรงแถบหลังหมวกดอกจะเป็นเซลล์ที่ค่อนข้างหนา ด้านหน้าจะมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 -30 ไมโครมิเตอร์ ซึ่งมีผนังหนามาก อีกปลายของเซลล์จะมีลักษณะคล้ายเป็ดกตะกอนจับอยู่ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7 - 11 ไมโครมิเตอร์ โปร่งแสง เหลือๆ ผนังเซลล์หนา ไม่มีผนังกันเซลล์ เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 - 3.5 ไมโครมิเตอร์ เส้นใยบางส่วนจะพอมบาง แดกกิ่งก้านเหมือนกิ่งไม้ ผนังเซลล์หนา โปร่งแสง ส่วนเส้นใยที่มีการรวมกันเป็นเนื้อเยื่อที่โคนดอกติดกับก้านดอกจะออกสีน้ำตาลอมเขียว โดยผนังกันเซลล์ เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 - 1.5 ไมโครมิเตอร์

เมื่อเส้นใยของเห็ดแผ่เต็มอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วเส้นใยจะรวมตัวกันหนาขึ้นและมีสีน้ำตาลเข้ม เกิดขึ้นเป็นบางจุด หรือเกิดขึ้นโดยทั่วทั้งหมด (อานนท์ , 2541) บางครั้งอาจจะมีกลุ่มของเส้นใยรวมกันเป็นกระจุก คล้ายกับว่าจะพยายามที่จะสร้างดอกเห็ด เช่นเดียวกัน เมื่อนำเอาเส้นใยเข้าไปเลี้ยงในหัวเชื้อที่ทำจากเมล็ดธัญพืช ปรากฏว่า เส้นใยของเห็ดจะเจริญได้อย่างรวดเร็ว และถ้าปล่อยให้มีการเจริญเพิ่มขึ้นเส้นใยจะรวมกันและเหนียวมากขึ้น ซึ่งยากที่จะทำให้มันกระจายตัวได้ โดยในระยะแรกเส้นใยจะมีขาว เมื่อเจริญเต็มอาหารเลี้ยงเชื้อและเมื่อภายนอกมีอากาศและความชื้นสูง เส้นใยจะรวมตัวกันเพื่อเกิดดอกทันที ลักษณะของเส้นใยเห็ดหลินจือเมื่อนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะพบว่ามีลักษณะคล้ายเส้นใยของเห็ดหอม หรือเห็ดนางรม สามารถมองเห็นปมตรงที่ข้อต่อระหว่างเซลล์ (clamp connection) โดยเส้นใยของดอกเห็ดจะถูกแบ่งเป็นห้อง แต่ละ

เซลล์จะยาวประมาณ 15 - 23 ไมครอน ในสภาพเส้นใยเห็ดชั้นที่ 2 จะเจริญในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม มันจะสร้างผนังเซลล์ให้หนาขึ้นเรียกว่า คลามีโดสปอร์ เพื่อลดการระเหยของน้ำและการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเห็ดหลินจือ (อานนท์ , 2541)

2.5.1 อาหาร

เห็ดหลินจือเป็นเห็ดที่อาศัยซากพืช เช่น ตอไม้ ไม้ล้ม หรือไม้ที่ถูกฝังอยู่ใต้ดิน อีกทั้งสามารถเจริญอยู่บนเปลือกไม้ของต้นไม้ที่มีชีวิตอยู่ได้เช่นกัน และอาจเป็นสาเหตุให้ต้นไม้ตายได้ ถ้าสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติเสียสมดุลไป ซึ่งเห็ดหลินจือพบว่าโดยปกติแล้วจะเจริญบนซากต้นไม้ได้หลายชนิด เช่น หมากเขี้ยว (*Ptychosperma macarthurii* Nichols) กุน (*Cassia fistula*- Linn.) มะม่วง (*Mangifera indica* L.) นกยูงฝรั่ง (*Belonix regia* Rafin) ยางนา (*Dipterocarpus alatus* Roxb.) และยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) เป็นต้น

2.5.2 ภูมิประเทศ

เห็ดชนิดนี้พบมากบริเวณรอยต่อของป่าดิบชื้นกับป่าโปร่ง โดยเฉพาะในเขตร้อนชื้น สำหรับเห็ดหลินจือที่มีได้ดอกเป็นสีเหลืองซึ่งมีคุณสมบัติที่ดี เหมาะแก่การทำยา มักพบในพื้นที่ที่มีความสูง เห็ดพวกนี้ชอบสภาวะที่มีความชื้นสูง มีการถ่ายเทอากาศที่ดี มีแสงที่พอเหมาะกับการเจริญเติบโต มักพบในช่วงเดือนพฤษภาคมไปถึงต้นเดือนพฤศจิกายน ตั้งแต่เส้นศูนย์สูตร จนกระทั่งถึงเส้นขนานทั้งทางเหนือและใต้ประมาณ 10 องศา ที่ระดับความสูงตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนกระทั่งสูงกว่า 1,000 เมตร พบทั่วทุกภาคของประเทศไทย

2.5.3 ความชื้น

โดยปกติในวัสดุที่เพาะอยู่ในถุงนั้นมีความชื้นสูงอยู่แล้วจึงไม่จำเป็นต้องให้ความชื้นเพิ่ม ซึ่งถ้ามีการรดน้ำเข้าไปในถุงอาจเป็นสาเหตุทำให้ดอกเห็ดเกิดมีการปนเปื้อนจากราสีเขียวสูงมาก ในระยะที่สร้างดอกเห็ด จะมีความต้องการความชื้นทั้งจากวัสดุเพาะและสภาพแวดล้อม แต่ขณะเดียวกันก็ต้องการอากาศที่บริสุทธิ์ด้วย ดังนั้นการรดน้ำเข้าไปในถุงหรือรดดอกเห็ดโดยตรงนั้น

ถึงแม้จะได้ความชื้นที่สูง แต่ความชื้นที่สูงเกินไปจากการรดน้ำถูกดอกเห็ดโดยตรงนั้นจะไปอุดตันระบบการหายใจ ทำให้การเจริญเติบโตของดอกเห็ดหลินจือหยุดชะงักลงได้ ด้วยเหตุนี้จึงนิยมใช้วิธีการฉีดน้ำไปยังส่วนต่างๆของโรงเรือน เช่น ตามฝาผนัง พื้น เพดาน ด้านหลังของฉาง ขณะที่ทำการรดน้ำ อาจจะมีน้ำบางส่วนกระเด็นใส่ดอกเห็ด ซึ่งต้องพยายามหลีกเลี่ยงการรดน้ำให้ถูกดอกเห็ดโดยตรง อาจใช้ระบบการพ่นฝอยอัตโนมัติ โดยความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมที่สุด ควรอยู่ระหว่าง 80 -85 เปอร์เซ็นต์ ไม่ควรจะสูงหรือต่ำกว่านั้น ซึ่งเราสามารถอ่านค่าด้วยเทอร์โมมิเตอร์แบบกระเปาะเปียกหรือกระเปาะแห้ง ถ้าอากาศแห้งมาก เห็ดหลินจือจะมีการระเหยของน้ำมาก ถ้ามีระดับความชื้นสัมพัทธ์ปานกลางหรือต่ำไปเล็กน้อย คือประมาณ 69 เปอร์เซ็นต์ ควรทำการเพิ่มความชื้นให้แก่บรรยากาศโดยการรดน้ำเพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้ามถ้ามีระดับความชื้นสัมพัทธ์สูงประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพเช่นนี้ไม่ควรทำการรดน้ำ แต่ให้หาทางระบายอากาศ เนื่องจากอาจเป็นสาเหตุให้เห็ดขาดอากาศได้ ซึ่งจะทำให้ดอกเห็ดหลินจือมีแต่ก้าน ไม่มีหมวกดอก ส่วนมากมักจะเจอปัญหาในฤดูฝนที่มีฝนตกนานๆติดต่อกัน หากอากาศไม่มีการเคลื่อนไหวเลยควรใช้พัดลมช่วยพัด ให้อากาศภายในโรงเรือนเคลื่อนไหว

2.5.4 แสง

ดอกเห็ดหลินจือที่สมบูรณ์จะมีส่วนที่เป็นก้านเล็ก ยาวพอสมควร คือ ยาวประมาณ 10-15 ซม. ส่วนหมวกดอกเห็ดจะแผ่ตามแนวนานกับพื้นผิวโลก ซึ่งแสงจะมีผลต่อความยาวของก้านดอก ขนาดของหมวกดอก รวมทั้งความเข้มของสีดอก โดยแสงที่ส่องเข้าไปในช่วงที่ดอกเห็ดเจริญเติบโตควรมีความเข้มของแสงที่พอเหมาะ คือ ความเข้มที่อยู่ระหว่าง 1,200 - 2,000 ลักซ์ หากแสงน้อยกว่านี้ ก้านดอกเห็ดจะยาว ดอกเห็ดจะไม่สมบูรณ์ หรือไม่มีส่วนที่เป็นดอกแบนๆ แต่จะเป็นการแตกกิ่งก้านสาขาไป คล้ายเขากวาง (ถือว่าเป็นดอกที่ไม่สมบูรณ์ แต่เชื่อว่า ดอกเห็ดหลินจือแบบเขากวาง มีคุณค่าทางยาสูงกว่า แต่ก็ยังไม่ีผลพิสูจน์ยืนยัน) ในกรณีที่แสงมากเกินไป ไม่เป็นอันตรายต่อดอกเห็ดมากนัก แต่จะทำให้สีคล้ำมากขึ้น แต่อย่าให้ถูกแสงแดดโดยตรง เพราะทำให้ดอกเห็ดหยุดชะงักการเจริญเติบโตได้ ในกรณีที่ทำการเปิดฉางแบบวางตั้ง ส่วนใหญ่แล้วการเกิดหมวกดอกจะหันเหไปทางด้านที่มีสีเข้มกว่า

2.5.5 อากาศ

เห็ดหลินจือก็เหมือนกับเห็ดอื่นๆ โดยทั่วไป กล่าวคือ ช่วงระยะเวลาการเกิดดอก และ ดอกเห็ดที่กำลังเจริญเติบโตอยู่นั้น ต้องการก๊าซออกซิเจนค่อนข้างสูงหรืออากาศค่อนข้างบริสุทธิ์ นั้นเอง ดังนั้น ในโรงเรือนที่ทำให้เกิดดอกเห็ดนั้นจะต้องลักษณะที่อากาศถ่ายเทได้สะดวก ซึ่งจะทำให้ขนาดของหมวกดอกเห็ดเล็กลงในขณะที่ก้านจะยาวขึ้น ถ้าเป็นช่วงที่มีการสร้างดอกเห็ดใหม่ๆ จะมีแต่ก้านแตกกิ่งก้านสาขา ไม่มีลักษณะเป็นดอกเห็ด ดังนั้นหากต้องการให้ดอกเห็ดหลินจือมีลักษณะเป็นแบบเขากวางจะต้องพยายามทำการเปิดถุงให้เกิดดอกเห็ดในสภาวะที่มีอากาศถ่ายเท น้อย

2.5.6 อุณหภูมิ

เห็ดหลินจือเป็นเห็ดที่เกิดตามธรรมชาติในเขตร้อนชื้น ดังนั้นการเพาะเห็ดหลินจือให้ได้ ผลดีที่สุด อุณหภูมิควรอยู่ระหว่าง 22 - 28 องศาเซลเซียส ระดับอุณหภูมิขนาดนี้เป็นอุณหภูมิของ ประเทศไทยอยู่แล้ว ยกเว้นทางภาคเหนือหรือภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนเท่านั้นที่มีบางฤดู อากาศค่อนข้างเย็นจัด ดอกเห็ดหลินจือจะเจริญช้ามากหรือแทบจะไม่เจริญเติบโตเลย ด้วยเหตุนี้ ในประเทศญี่ปุ่นหรือจีน จะสามารถเพาะเห็ดหลินจือได้เฉพาะฤดูร้อนเพียงฤดูเดียวเท่านั้น ส่วน ประเทศไทย ทางภาคเหนือตอนล่าง ภาคกลางและภาคใต้สามารถเพาะเห็ดหลินจือ ได้ตลอดทั้งปี อย่างไรก็ตามหากอุณหภูมิที่สูงเกิน 40 องศาเซลเซียส ดอกเห็ดอาจจะหยุดการเจริญเติบโตได้

2.5.7 น้ำ

น้ำก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความจำเป็น และมีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดหลินจือมาก น้ำที่ใช้รดเห็ดหลินจือควรเป็นน้ำที่สะอาด ปราศจากสารเคมี ยาฆ่าแมลงและเชื้อราที่เป็นพิษต่อเห็ด ในกรณีที่ใช้น้ำประปาที่มีการเค็มน้ำยาคลอรีนเพื่อฆ่าเชื้อที่มีมากเกินไปนั้นไม่ควรนำเอาไปใช้โดยตรงแต่ควรทำการเก็บกักไว้ในภาชนะปากกว้าง เช่น โอ่ง ไห สัก 2 - 3 วัน เพื่อที่จะให้คลอรีนระเหย ออกไปเสียก่อน แต่ถ้าหากต้องการใช้เร็วอาจจะเติม เอทิลแอลกอฮอล์หรือเหล้าลงไปใต้น้ำเล็กน้อย แล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 2 - 3 ชั่วโมง ก็สามารถนำไปใช้ได้

2.6 สถานะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดหลินจือ (สาริต , 2539)

2.6.1 ระยะเวลาเจริญเติบโตของเส้นใย

- เห็ดหลินจือ ค่อนข้างชอบความเป็นกรด ซึ่งพีเอชเริ่มต้นในถุงอาหารที่ยังไม่ได้นึ่งควรอยู่ที่ 7 - 8
- อุณหภูมิสำหรับการบ่มเส้นใยอยู่ระหว่าง 25 - 35 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส การเจริญเติบโตของเส้นใยจะเริ่มหยุดชะงัก
- ความชื้นภายในก้อนอยู่ที่ 65 - 75 เปอร์เซ็นต์
- เส้นใยจะใช้เวลาเจริญประมาณ 15 - 18 วัน ได้พื้นที่ประมาณ 3 ใน 4 ก้อน
- ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในถุงสามารถสะสมได้ถึง 50,000 ส่วนในล้านส่วน หรือประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่ควรเกินกว่านี้
- ต้องการการถ่ายเทอากาศเพียงเล็กน้อย
- ไม่จำเป็นต้องมีแสงสว่าง

2.6.2 ระยะเกิดหน่อหรือสร้างตุ่มดอก

- พีเอชที่ผิวปากถุงอยู่ที่ประมาณ 5 - 6
- อุณหภูมิควรอยู่ในช่วงระหว่าง 25 -28 องศาเซลเซียส
- ความชื้นสัมพัทธ์บริเวณปากถุง ควรอยู่ที่ 80 - 90 เปอร์เซ็นต์
- ช่วงระยะที่จะเริ่มให้หน่อ คือ ประมาณ 15 - 18 วัน นับจากต่อเชื้อ และจะใช้เวลาพัฒนาไปอีกรประมาณ 10 - 12 วันก่อนที่จะเริ่มคลี่ดอก
- ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 0.2 -0.5 เปอร์เซ็นต์ ช่วยกระตุ้นให้เกิดหน่อดีขึ้นหรือประมาณ 2,000 - 5,000 ส่วนในล้านส่วน
- มีอากาศถ่ายเทเล็กน้อย
- ต้องการแสงรำไรๆ จะช่วยให้หน่อมีการยึดตัวดีขึ้น ซึ่งจะมีความเข้มของแสงประมาณ 500 - 1,000 ลักซ์ อาจมากหรือน้อยสลับกัน

2.6.3 ระยะเวลาที่ดอกกำลังพัฒนา

- อุณหภูมิควรจะอยู่ในช่วงระหว่าง 25 - 35 องศาเซลเซียส
- ความชื้นสัมพัทธ์รอบๆดอก ควรอยู่ที่ 90 -95 เปอร์เซ็นต์
- ใช้เวลาในการพัฒนาดอกจนได้อายุช่วงแรกประมาณ 40 - 45 วัน และในการพัฒนาคุณภาพอีก 30 -40 วัน
- ต้องการก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์น้อยมาก หรือไม่จำเป็นเลย แต่ถ้าจะมีควรให้น้อยกว่า 2,000 ส่วนในล้านส่วน หรือน้อยกว่า 0.2 เปอร์เซ็นต์
- ต้องการการถ่ายเทอากาศที่ดี เพื่อช่วยในการพัฒนาดอก
- ต้องการแสงสว่าง ซึ่งมีความเข้มแสงประมาณ 750 - 1,500 ลักซ์

2.6.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต

นับตั้งแต่หยอดเชื้อลงถุงเพาะจนเก็บดอกรุ่นที่หนึ่งที่สมบูรณ์เต็มที่จะใช้เวลาประมาณ 100 วัน การเก็บรุ่นที่สอง ต้องใช้เวลาอีก 2 - 3 เดือน แล้วแต่สภาพของก้อนเชื้อ และภูมิอากาศ

2.7 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่เกิดการปนเปื้อนส่วนใหญ่ คือ เชื้อราและแบคทีเรีย ซึ่ง ได้แก่ (สาริต , 2539)

2.7.1 *Penicillium* สายพันธุ์ต่างๆ

ชื่อสามัญคือ The Bluish Green Mold มองเห็นเส้นใยเป็นขุยๆ เล็กๆ ค่อนข้างเป็นฝุ่น เมื่อมีการสร้างสปอร์ ส่วนเส้นใยที่เกิดใหม่จะเป็นสีขาวแล้วจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว จึงอาจจะเห็นขอบของบริเวณราเขียวชนิดนี้เป็นสีขาว เส้นใยจะเจริญช้ากว่าเส้นใยเห็ดบางชนิด เช่น เห็ดนางรมภูฐาน เห็ดนางรมขาว *Penicillium* บางสายพันธุ์เมื่อมีการสร้างสปอร์ เส้นใยจะมีสีขาวหม่น สีเหลือง หรือสีสนิม แต่พวกหลังนี้จะไม่ค่อยพบบ่อยนัก แต่จะพบราพวกนี้ในอาหารต่างๆที่ถูกทิ้งไว้ เช่น ผลไม้ ขนมันฝรั่ง เมล็ดธัญพืชสุกที่เริ่มมอด *Penicillium* ขอบพีเอชเป็นกรด เส้นใยเห็ดหลินจือจะไม่เจริญทับเส้นใยราเขียว ส่วนมากจะเกิดแนวเขตให้สังเกตเห็นได้ จะพบมากในหน้าร้อน

2.7.2 *Trichoderma* สายพันธุ์ต่างๆ

ชื่อสามัญ Forest Green Mold, Green Mold, *Trichoderma Blocth* พบอยู่ทั่วไปในฟาร์มเห็ด เส้นใยเริ่มต้นจะเป็นสีเขียวเทา แล้วเปลี่ยนเป็นสีเขียวสดอย่างรวดเร็ว เพราะเกิดการสร้างสปอร์ กระจายเป็นหย่อมๆ มักจะพบบนดอกเห็ดด้วย เมื่อเริ่มเกิดจะทำให้ดอกเห็ดมีลักษณะเป็นดวงๆ แห้งๆ แต่เมื่อเกิดมากแล้วจะเห็นได้ชัดเมื่อมีการสร้างสปอร์เป็นสีเขียวแล้ว ทำให้ผลผลิตเสียหาย ดังนั้นถ้าพบว่ามีการเจริญของราชนิดนี้ควรรีบกำจัดออก ซึ่งมักจะปนเปื้อนได้ง่ายเมื่อมีความชื้นสูง การถ่ายเทอากาศไม่ดี ราชนิดนี้เจริญได้ดีในสภาพอาหารที่เป็นกรด การกำจัดต้องรีบทำตั้งแต่ ช่วงแรกที่พบเพราะเมื่อเกิดการสร้างสปอร์แล้ว สปอร์ของราชนิดนี้จะเป็นอาหารของพวกไร ตัวเล็กๆ โดยมีลักษณะเป็นเมือกเหนียว สีเขียว ดังนั้นจึงสามารถติดไปกับทุกสิ่งทุกอย่างที่มาสัมผัส ได้ เพราะฉะนั้นราชนิดนี้จะมีการระบาดไปพร้อมกับการระบาดของไรเสมอ

2.7.3 *Aspergillus* สายพันธุ์ต่างๆ

ชื่อสามัญคือ Green Mold, Yellow Mold, Black Mold จะมีตั้งแต่สีเขียว เหลือง สีเขียว ไปจนถึง สีดำ โดยทั่วไปจะมีสีคล้ายพวก *Penicillium* โดยถ้าเป็น *Aspergillus niger* จะออกสีค่อนข้างดำ *Aspergillus flavus* สีค่อนข้างไปทางเหลือง *Aspergillus clavatus* สีจะออกทางฟ้า และ *Aspergillus fumigatus* จะออกสีเทา *Aspergillus versicolor* จะมีหลายสี เป็นต้น

ราในจีนี่สนี่สามารถเปลี่ยนสีของตัวเองได้ตามแหล่งอาหารที่เชื้อเจริญอยู่ บางสายพันธุ์ สามารถทนความร้อนได้สูง พบในที่ที่มีสารประกอบอินทรีย์วัตถุทั่วไปและจะพบรากุ่มนี้ได้ ทุกขั้นตอนของการปลูกเห็ด ราชนิดนี้ชอบสภาพที่เป็นกลางค่อนข้างเป็นด่างเล็กน้อย *Aspergillus* หลายชนิดสามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) เช่น *Aspergillus flavus* ที่ มักจะกล่าวถึงบ่อยๆ ในการปนเปื้อนอาหารซึ่งมีการสร้างสารอะฟลาทอกซินที่มีอันตรายมาก ที่สำคัญคือไม่สามารถกำจัดราชนิดนี้ด้วยตาเปล่าได้

ถ้าดอกเห็ดถูกปนเปื้อนด้วยราชนิดนี้ ก็ไม่ควรนำเห็ดนั้นมาใช้เลย ถ้ามีการปนเปื้อนในช่วงแรกจะสังเกตได้ยาก แต่จะเห็นได้ชัดเมื่อรามีการสร้างสปอร์แล้ว ซึ่งจะเห็นเป็นฝุ่นสีเขียวออก เหลืองแถวใต้ใบดอก Raper และ Fennel ได้ทำโมโนกราฟ (Monograph) เพื่อจำแนกราจีนี่สนี่ได้ถึง 132 ชนิด ปัจจุบันคาดว่ามียากกว่า 200 ชนิดแล้ว

เส้นใยเห็ดหลินจือจะสร้างแนวค้ำเป็นขอบซึ่งสังเกตเห็นได้ พบมากในหน้าร้อนเช่นกัน พวกราเขียวชนิดนี้ชอบอากาศร้อนอบอ้าวชื้น หรือสภาพที่อับๆ

2.7.4 *Neurospora* สายพันธุ์ต่างๆ

ชื่อสามัญ คือ Pink Mold หรือ Red Bread Mold ที่พบในกระบวนการปลูกเห็ดมาก คือ *Neurospora sitophila* เส้นใยช่วงที่ยังอ่อนอยู่จะมีสีขาวไม่หนาแน่น เส้นใยส่วนปลายนี้มีลักษณะเป็น Monilia ชอบความเป็นกรดต่างค่อนข้างไปทางกรด เป็นเครือข่ายเส้นใยง่าย ๆ พร้อมแขนงที่สามารถสร้างสปอร์ ไม่มีเพศ ลิขมพู

ช่วงปลายเส้นใยจะเจริญเร็วมากและเส้นใยค่อนข้างางสามารถเจริญกลมกลืนกับเส้นใยเห็ดได้ ไม่สามารถแบ่งอย่างชัดเจนได้ต้องอาศัยการสังเกตเป็นพิเศษ ถ้าดมจะมีกลิ่นคล้ายอาหารบูดเมื่อเส้นใยแก่จะออกสีส้ม เพราะมีการสร้างสปอร์ที่มีเพศเป็นจำนวนมาก ตามปกติช่วงนี้กลับชอบพีเอชค่อนข้างไปทางด่าง และจะรวมตัวดันออกเป็นกลุ่มสปอร์ที่ปากขวด ปากถุง หรือจุดริ้วใดๆของถุง

เมื่อสปอร์อยู่ในสภาพนี้แล้วจะมีการแพร่กระจายอย่างรวดเร็วจึงควรทำการป้องกันดีกว่าการแก้ไขทีหลังบางครั้งจะสังเกตพบว่า เส้นใยราสีส้มจะเจริญจากจุดต่ำลงไปในช่วงเนื้อหรือถุงก่อนเชื้อ สาเหตุที่เกิดเช่นนี้เนื่องจากสปอร์ราสีส้มสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความชื้นเพียงเล็กน้อย ราสีส้มมักเกิดกับผักข้าวโพดที่ถูกทิ้งทั่วไป และจะพบมากตามไร่ข้าวโพดที่เขาคุดไฟเผาข้าวโพดทิ้ง เพื่อหลีกเลี่ยงราสีส้ม ไม่ควรใช้ความร้อนสูงเกินไปในการนึ่งฆ่าเชื้อ และไม่ควรรีบแห้งข้าวโพดหรือผลิตภัณฑ์จากข้าวโพดมากเกินไปในส่วนผสมเพื่อเลี้ยงเส้นใยเห็ด

2.4.5 *Rhizopus* สายพันธุ์ต่างๆ

ชื่อสามัญ Bread Mold หรือ The Pin Mold ในธรรมชาติจะพบตามมูลสัตว์ เส้นใยมีสีขาวเทาปนดำ เส้นใยฟู บางๆไม่หนาแน่นเหมือนเส้นใยเห็ด และเจริญเร็วกว่าเส้นใยเห็ดมาก เส้นใยเจริญแทรกเข้าไปในพื้นที่ของเส้นใยเห็ดได้ เมื่อเส้นใยเริ่มแก่จะมีลักษณะเหมือนเข็มหมุดกระจายอยู่ทั่วไปซึ่งจะมีสีเทาหรือสีเทาดำ มักพบในช่วงฤดูฝนที่อากาศอบอ้าว แล้วฝนจะตกทิ้งช่วงเป็นระยะๆ

ในหัวเชื้อข้าวฟ่างจะพบการเกิดราชนิดนี้จากผิวด้านบนของข้าวฟ่างแล้วลามลงไปตามก้นขวด บางที่สามารถมองเห็นเส้นใยจากส่วนจุดต่ำลึกลงไปในขวดข้าวฟ่าง ถ้าสถานที่เก็บหัวเชื้อไม่ดี เช่น อับชื้น การถ่ายอากาศไม่ดี ฝุ่นละอองมาก จะพบราชนิดนี้มากขึ้น ซึ่งที่เกิดกับอาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดมักจะเป็น *Rhizopus stolonifer* (*Rhizopus nigricans*) เมื่อเชื้อตัวนี้ปนเปื้อนเข้าไปจะทำให้อุณหภูมิในอาหารเลี้ยงเชื้อสูงถึง 35 - 40 องศาเซลเซียส เป็นสาเหตุให้เชื้อราทนร้อนชนิดอื่นๆ เกิดตามมาได้ง่ายและสร้างความร้อนเพิ่มขึ้นอีก จนทำให้เส้นใยเห็ดตายไปในที่สุด

2.7.6 *Mucor* สายพันธุ์ต่างๆ

ชื่อสามัญ The Black Pin Mold ที่กำเนิดในธรรมชาติ คือ มูลสัตว์ ฟางเก่าๆ ปุ๋ยหมัก ดิน ซากพืช และเศษเสื้อผ้าเก่าๆ เส้นใยจะมีสีขาว ในระยะแรกเส้นใยจะเจริญสานกันหนาแน่น พอมีอายุมากจะรวมเป็นจุดสีดำหนาแน่นมาก สีดำที่เห็นก็คือ สปอร์ ถ้าอยู่ในอาหารที่สมบูรณ์ดีและยังไม่สร้างสปอร์ที่มีสีดำนี้ ทำให้แยกไม่ออกว่าเป็นราดำ

โดยเส้นใยราดำจะเจริญช้ากว่าเส้นใยเห็ดทั่วไปเล็กน้อยและมีการแบ่งแยกขอบเขตให้สังเกตได้ แต่เส้นใยของราชนิดนี้สามารถเจริญแทรกเข้าไปในพื้นที่ของเส้นใยเห็ดได้ สายพันธุ์ *Mucor pusillus* และรา *Mucuraceous* บางตัว แม้จะพบไม่มากนัก แต่จะเป็นสาเหตุของโรค mucormycosis หรือ phycomycosis ที่รุนแรงถึงขั้นเสียชีวิต เพราะเชื้อตัวนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้ร่างกายอ่อนแออย่างรุนแรง ทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนมากมาย โดย *Mucor pusillus* สามารถอยู่ได้ในอุณหภูมิตั้งแต่ 20 - 55 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามถ้าหากราดำไปเกิดที่ดอกเห็ดหลินจือควรทิ้งดอกนั้นไป ไม่ควรนำมาใช้ แต่เนื่องจากราชนิดนี้สังเกตได้ยากมากจึงจำเป็นต้องควบคุมทุกขั้นตอนเป็นอย่างดี

2.7.2 *Alternaria* สายพันธุ์ต่างๆ

ชื่อสามัญ Black Mold หรือ Black Point เป็นราที่มีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ ชอบขึ้นกับเมล็ดข้าวฟ่างเป็นพิเศษ และธัญพืชอื่นๆ เช่น ฟาง ใบไม้ ผลไม้ เส้นใยจะเจริญได้เร็ว มีสีดำ สามารถสังเกตได้เกิดเป็นหย่อมๆหรือเป็นดวงๆอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นก็จะเติบโตมาเชื่อมเป็นพื้นที่เดียวกัน โอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนจากราชนิดนี้มีน้อย

2.7.8 ราน้ำตาล

เส้นใยไม่ค่อยชัดเจน สังเกตได้ยาก จะเห็นชัดเจนเมื่อเส้นใยแก่ตัว และรวมตัวกันเป็นริ้วๆ ห้อยอยู่ที่ปากขวดหรือปากถุง มีการแพร่กระจายไม่รุนแรงมากนัก

2.7.9 แบคทีเรีย

เกิดจากการฆ่าเชื้อไม่หมด หรือมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียหลังจากการฆ่าเชื้อ หรืออาหารที่ใช้และกินไป สังเกตได้จากน้ำขุ่นๆที่อยู่รอบๆบริเวณอาหารหรือที่ก้นขวด ถ้าดมจะมีกลิ่นบูดหรือกลิ่นเหม็นเปรี้ยว

2.8 การวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมี

จากการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของเห็ดหลินจือ พบว่ามีส่วนประกอบหลักดังตารางที่ 2.2 (อานนท์, 2541)

ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบทางเคมีในเห็ดหลินจือ

ส่วนประกอบ	ปริมาณที่ตรวจพบเป็นหน่วย
น้ำ (Water content)	6.9 %
โปรตีน (Protein)	26.4 %
ไขมัน (Fat)	4.5 %
เส้นใย (Fiber)	0.1 %
เถ้า (Ash)	19.0 %
คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)	43.1 %
พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide)	11.4 %
แคลเซียม (Calcium, Ca)	832 มก./เห็ด 100กรัม
ฟอสฟอรัส (Phosphorus,P)	4,150 มก./เห็ด 100กรัม
เหล็ก (Iron, Fe)	82.6 มก./เห็ด 100กรัม
แมกนีเซียม (Magnesium ,Mg)	1,030 มก./เห็ด 100กรัม
โซเดียม (Sodium ,Na)	375 มก./เห็ด 100กรัม
โพแทสเซียม (Potassium ,K)	3,950 มก./เห็ด 100กรัม
วิตามิน บี 1 (Vitamin B1)	3.49 มก./เห็ด 100กรัม
วิตามิน บี 2 (Vitamin B2)	17.1 มก./เห็ด 100กรัม
วิตามิน บี 6 (Vitamin B6)	0.71 มก./เห็ด 100กรัม
โคลีน (Coline)	1,150 มก./เห็ด 100กรัม
ไนอาซีน (Niazin)	61.9 มก./เห็ด 100กรัม
อินโนซิทอล (Inositol)	307.0 มก./เห็ด 100กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 คุณสมบัติทางยาของเห็ดหลินจือ

จากการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติทางยาของเห็ดหลินจือซึ่งมีการทดลองกันอย่างกว้างขวาง ทั้งการทดลองกับสัตว์และทดลองกับคน พบว่าเห็ดหลินจือมีสารประกอบหลายชนิดที่มีคุณสมบัติทางยา โดยมีสารที่สำคัญ (สาริต , 2539) ได้แก่

2.9.1 Ganoderic acid ,Lucidenic acid (Polysaccharide of Pentose)

สารชนิดนี้เป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่ของน้ำตาลเพนโตส มีรสขม เป็นสารที่มีอยู่ในเห็ดหลินจือ และเห็ดทั่วไป มีส่วนกระตุ้นให้ร่างกายสร้างสารอินเตอร์เฟอรอน (Interferon) สารชนิดนี้จะไปกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกัน การเข้าทำลายของเนื้องอก หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกบางชนิดได้ รวมทั้งโรคที่เกิดจากไวรัส เช่น ไข้หวัดใหญ่ โดยจะเปลี่ยนโครงสร้างสารดังกล่าวให้กลายเป็นสารช่วยเจริญอาหาร (Chemical dinnerbell) สำหรับผู้ป่วยเป็นโรคเบื่ออาหาร

จากการวิเคราะห์สาร Ganoderic acid และ Lucidenic acid นั้น จะพบในเห็ดหลินจือมากที่สุด โดยมีมากกว่าเห็ดหอม เห็ดฟาง และเห็ดอื่นๆ อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารนี้มีอยู่ทั้งในเส้นใยและดอกเห็ดหลินจือ ซึ่งจะพบในดอกเห็ดมากกว่า ดังนั้น การบริโภคเห็ดหลินจือนั้นจะใช้ส่วนไหนของเห็ดก็ได้ ในส่วนของเส้นใยถึงแม้กรรมวิธีจะเพาะยาก แต่สามารถรับประทานได้ในปริมาณที่มากโดยไม่ทำให้เกิดอาการท้องอืด ในขณะที่การรับประทานดอกเห็ดนั้นจะพบปัญหานี้เนื่องจากส่วนนี้จะมีส่วนประกอบของเซลล์โลสค่อนข้างสูง ซึ่งจะทำให้การย่อยยาก

เนื่องจากสาร Ganoderic acid และ Lucidenic acid เป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ ร่างกายนำเอาไปใช้ลำบาก แต่สารแอสคอร์บิก แอซิด หรือวิตามิน ซี จะช่วยลดขนาดของสาร Ganoderic acid และ Lucidenic acid ลง ทำให้ร่างกายดูดเอาไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ในการรับประทานหรือผสมสูตรอาหารที่มีเห็ดหลินจือนั้น นิยมรับประทานหรือใส่วิตามิน ซี เข้าไปด้วย ในปริมาณ 100 มิลลิกรัม ต่อเห็ด 5 - 10 กรัม หรือต่อการบริโภคเห็ดหลินจือทุกครั้ง

2.9.2 สารอิริตาดีนิน (Eritadenine)

สารชนิดนี้มีอยู่ในเห็ดต่างๆทั่วไป แต่มีอยู่ในเห็ดหลินจือกับเห็ดฟางเป็นจำนวนมาก สำหรับประเทศญี่ปุ่นจะเน้นว่ามีเฉพาะในเห็ดหอม และเห็ดหลินจือ (มีมากในเห็ดหลินจือพันธุ์สีดำหรือสีม่วง) สารอิริตาดีนินมีคุณสมบัติในการละลายไขมันในเส้นเลือด มีสูตรทางเคมี คือ $C_6H_{11}O_4N_5$, 2(R)-dehydroxy 4-(9-adenyl)-butric acid สารอิริตาดีนิน ที่มีอยู่ในเห็ดแทบทุกชนิด (ยกเว้น เห็ดหูหนูที่มีค่อนข้างน้อย) มีคุณสมบัติช่วยในการละลายไขมันในเส้นเลือดได้ หากมีการรับประทานเห็ดเป็นประจำ ร่างกายก็จะรับเอา สารอิริตาดีนินนี้ เข้าไปช่วยละลายไขมันในเส้นเลือด ทำให้ภายในเส้นโลหิตไม่มีการอุดตัน ช่วยให้หัวใจทำงานได้อย่างปกติ ดังนั้น เห็ดจึงเหมาะสำหรับผู้ที่ เป็นโรคหัวใจ ความดันโลหิตสูง ควบคุมไม่ให้มีไขมันอุดตันในเส้นโลหิต

2.9.3 สารเจอร์มาเนียม (Germanium : Ge)

เป็นสารที่สำคัญที่สุด ที่มีอยู่ในโสมซึ่งมีราคาแพง เป็นสารที่ช่วยบำรุงร่างกาย ทำให้ระบบเลือดหมุนเวียนได้สะดวก ทำให้เม็ดเลือดแดงดูดซึมเอาก๊าซออกซิเจน (O_2) อย่างมีประสิทธิภาพ ช่วยสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย ช่วยให้หายจากการอ่อนเพลียได้เร็ว บำรุงประสาท ไม่เครียดง่าย เป็นยาอายุวัฒนะ ปริมาณของสารเจอร์มาเนียมที่มีอยู่ในโสมเกาหลีจะมีอยู่ในระดับ 250 -320 ส่วนในล้านส่วน แต่ในเห็ดหลินจือจะมีสูงกว่าโสมหลายเท่า คือมีประมาณ 800 - 2,000 ส่วนในล้านส่วน

2.10 การเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือ

มีรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือเพื่อที่จะนำดอกเห็ดหรือเส้นใยเห็ดมาศึกษาหาสารสำคัญ เช่น Wada และคณะ (1984) ศึกษาถึงวิธีการเพาะเลี้ยงดอกเห็ดหลินจือในอาหารแข็ง จำพวกจี๋เลื้อย และรำข้าว ในอัตราส่วน 4 : 1 และควบคุมปริมาณความชื้น 60-70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง Wada และคณะ รายงานว่าหากคำนึงถึงประสิทธิภาพของการผลิตแล้วพบว่า มีข้อเสีย คือ ต้องใช้ระยะเวลาตั้งแต่การควบคุมสภาวะและระยะการเจริญเติบโตไปเป็นดอกเห็ดนานถึง 120-150 วัน ปรีชา (2530) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในถุงจี๋เลื้อยไม้เนื้อค่อนข้างแข็ง เช่น ไม้ยางพาราและไม้ยางนา ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเส้นใย 18-20 วัน เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเห็ดหลินจือบนอาหารแข็งใช้เวลานาน จึงมีผู้สนใจที่จะทำการเพาะเลี้ยง

เห็ดหลินจือบนอาหารเหลวเพื่อนำเส้นใยมาสกัดหาสารสำคัญต่าง ๆ สิริลักษณ์ (2536) ได้ศึกษาถึงการผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยเห็ดหมื่นปี โดยทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดในอาหารเหลวและพบว่า เส้นใยเห็ดสามารถพัฒนาการเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเหลวสูตร PDB (Potato Dextrose Broth) และ YM (Yeast Malt Extract) เมื่อนำน้ำตาลกลูโคสที่เข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน Shiao และคณะ (1987) ได้เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารเหลวใช้เวลานาน 30 วัน ควบคุมอุณหภูมิที่ 28 ± 1.5 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บเกี่ยวเส้นใยเห็ดหลินจือนำมาสกัดและทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งพบสาร ganoderic acid R และ ganoderic acid S ในส่วนของเส้นใยเห็ด พบว่ามีสาร ganoderic acid G และ ganoderic acid I กับ ganoderic acid A และ ganoderic acid B (Kikuchi และคณะ, 1985) สารจำพวกไทรเทอร์พีน (Lin และคณะ, 1988) β -D glucan เป็นสารสำคัญอีกชนิดหนึ่งที่พบในเส้นใยเห็ดและมีคุณสมบัติที่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ ซึ่งแยกได้จากเส้นใยเห็ดที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว glucose-yeast extract หรือ YMK (Sone และคณะ, 1985) นอกจากนี้จะพบสารสำคัญต่าง ๆ ที่มีอยู่ในเส้นใยเห็ดหลินจือแล้ว Zhuang และคณะ (1994) รายงานว่ายังมีเห็ดราที่จัดอยู่ในสกุล Polyaceae ซึ่งเป็นสกุลเดียวกับเห็ดหลินจือ ได้แก่ *Grifola frondosa*, *Grifola abicans*, *Grifola gigantea* และ *Grifola umbellata* พบว่ามีสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีคุณสมบัติสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้เช่นกัน และนอกจากนี้ Zhuang และคณะ ได้ศึกษาถึงการเพาะเลี้ยง *Grifola frondosa* ในอาหารเหลว เพื่อนำเส้นใยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงนี้ศึกษาหาสารพอลิแซ็กคาไรด์ โดยจะทำการเปรียบเทียบกับสารที่สกัดได้จากดอกเห็ด

รัฐพล (2538) ได้ทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณ โปรตีน และกรดอะมิโนในเส้นใยเห็ด และดอกเห็ด พบว่า เส้นใยเห็ดหมื่นปีมีปริมาณโปรตีน 17.80 % และดอกเห็ด 17.30 % ส่วนเส้นใยเห็ดฟางมีปริมาณโปรตีน 22.90 % และดอกเห็ด 30.50 % การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนพบว่า เห็ดทั้ง 2 ชนิดประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นและกรดอะมิโนไม่จำเป็นในปริมาณแตกต่างกัน โดยเส้นใยเห็ดหมื่นปีมีกรดอะมิโนจำเป็นที่สูงกว่าดอกเห็ด คือ ไอโซลูซีน ลูซีน ไลซีน เมไทโอนีน ทรีโอนีน ทริโตนเฟน และเวอลีน โดยพบในปริมาณ 5.50 10.10 7.01 1.74 7.53 2.82 และ 7.32 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ กรดอะมิโนไม่จำเป็นที่มีปริมาณสูงกว่าดอกเห็ด คือ อะลานีน อาร์จินีน แอสปาร์ติก กลูตามิก ฮิสติดีน โพรลีน เซรีน และไทโรซีน ส่วนเส้นใยเห็ดฟางพบว่ามีปริมาณกรดอะมิโนใกล้เคียงกับดอกเห็ด

เมื่อนำค่า Amino acid score ของกรดอะมิโนจำเป็นมาเปรียบเทียบ พบว่าเห็ดทั้ง 2 ชนิด เป็นแหล่งอาหารที่ดีของกรดอะมิโน เชนินอะลานีน ไทโรซีน ทริปโตเฟน และเวอลีน แต่เส้นใยเห็ดทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณเมไทโอนีนสูงกว่าดอกเห็ดซึ่งเป็นตัวจำกัดคุณค่าอาหารโปรตีนจากเห็ด

ในรอบสองทศวรรษได้มีการวิจัยสมุนไพรเห็ดหลินจือในหลายประเทศ เช่น ประเทศจีน ไทย ญี่ปุ่น เกาหลี ฮังการี ไต้หวัน มาเลเซีย สิงคโปร์ เวียดนาม อินโดนีเซีย อินเดีย ฟิลิปปินส์ แคนาดา สหรัฐอเมริกา กรีซ อังกฤษ เนเธอร์แลนด์ เยอรมัน เดนมาร์ก สวีเดน สวิสเซอร์แลนด์ และเผยแพร่เป็นเอกสารวิชาการมากกว่า 200 ฉบับ ทั้งองค์ประกอบทางเคมีสารออกฤทธิ์ สรรพคุณทางยา การทดลองในห้องปฏิบัติการ และรายงานเชิงสถิติทางการแพทย์ ในการรักษาโรค ซึ่งพบฤทธิ์ต่าง ๆ มากมาย ในการตรวจสอบทางพิษวิทยาก็ไม่พบความเป็นอันตรายต่อร่างกาย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

การทดลอง

3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่จำเป็น

อุปกรณ์

1. เชื้อเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) สายพันธุ์ L002 จากองค์การเภสัชกรรม (รูปที่ 3.1)
2. อาหาร PDA
3. วัสดุชีวทางการเกษตร 4 ชนิด
 - เมล็ดข้าวฟ่างนก
 - เมล็ดข้าวฟ่างลาย
 - ข้าวโพดป่น
 - ปลายข้าว
4. ถุงพลาสติกทนความร้อนขนาด 4 X 7 นิ้ว
5. คอขวดทำด้วยพลาสติกแข็ง, สาลี, ยางรัด
6. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ
7. ตู้อบลมร้อน (รูปที่ 3.2)
8. เครื่องย่อย (digestor) (รูปที่ 3.3)
9. เครื่องกลั่น (distiller) (รูปที่ 3.4)
10. Cork borer
11. เข็มเจีย
12. ถูบ
13. ปิเปตต์
14. กระบอกตวง
15. วอลูมเมตริกฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร
16. เซซิกเคเตอร์

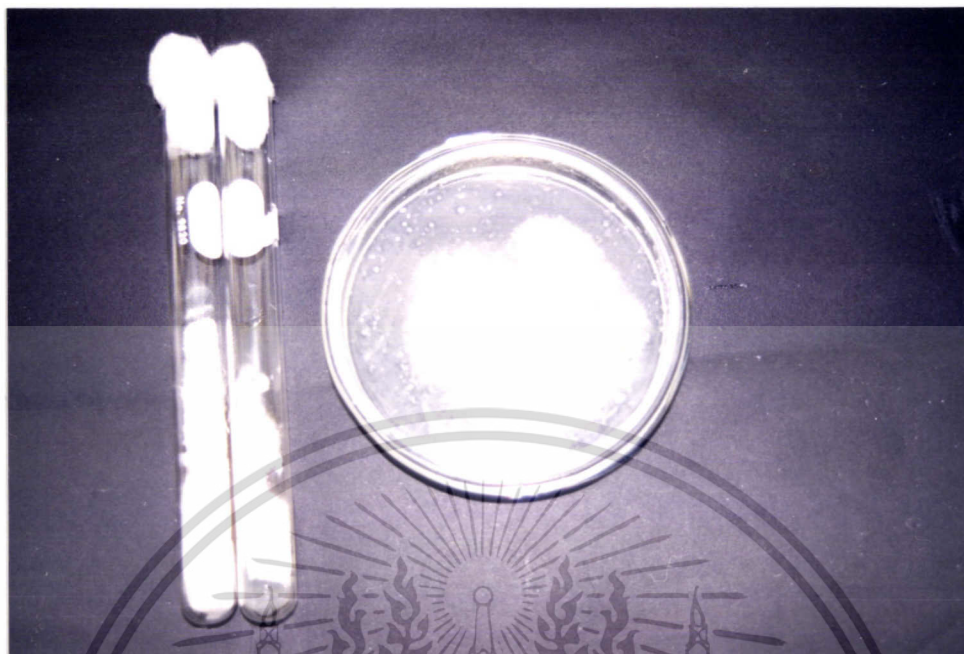
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) 97-99 %
2. สารละลายกรดบอริก (Boric acid 4 %)
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) 30-35 %
4. Mixed indicator (Screen methyl red)
5. สารละลายกรดซัลฟูริก (Sulfuric acid) 0.1 N
6. โพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)
7. คอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

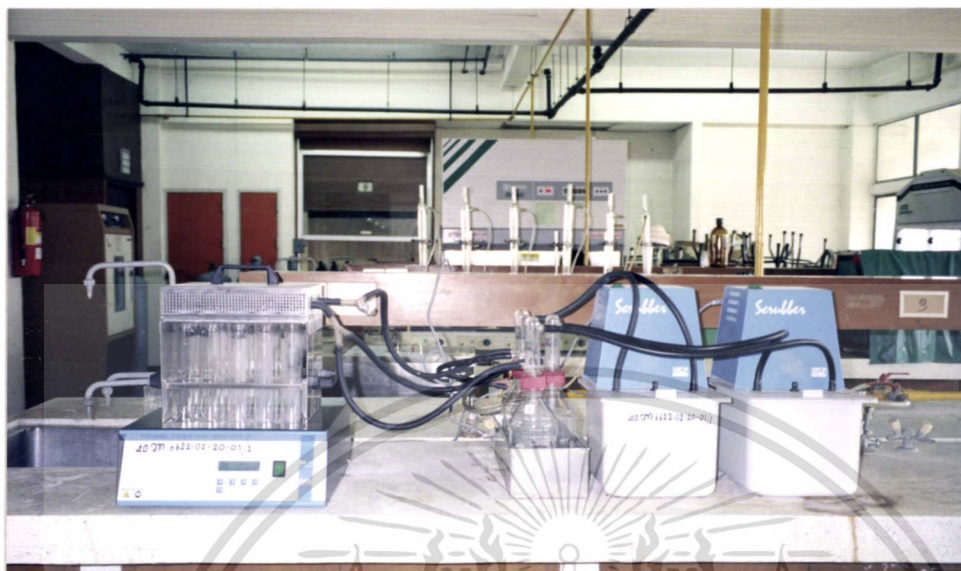


รูปที่ 3.1 เชื้อเห็ดหลินจือ *Ganoderma lucidum*

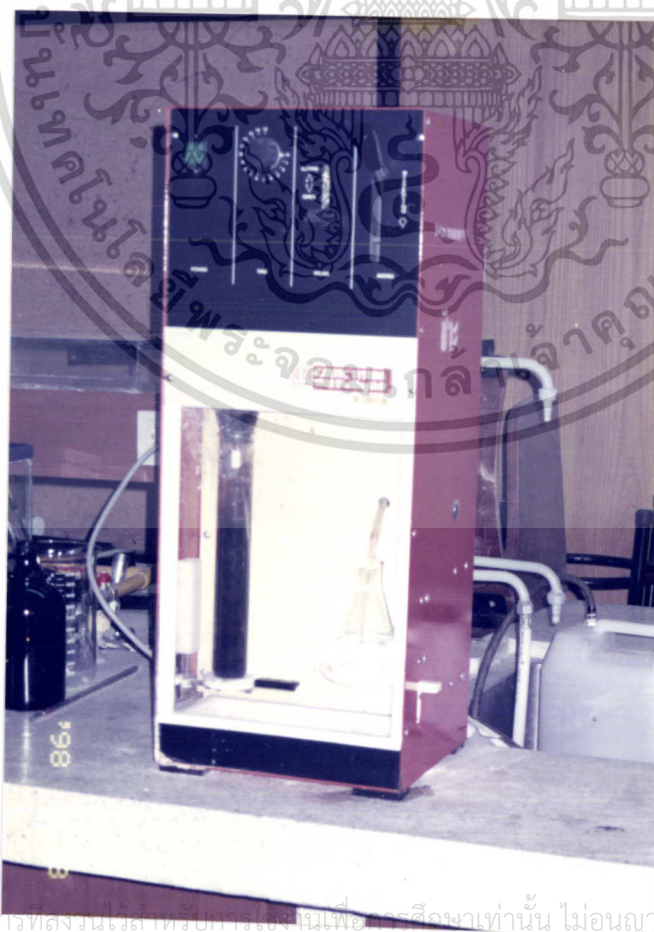


รูปที่ 3.2 ตู้บ่มร่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.3 เครื่องย่อย (digstor)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.4 เครื่องกลั่น (distiller)

3.2 การเพิ่มปริมาณเส้นใยเห็ดหลินจือในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

นำเส้นใยจาก stock culture ไปเพาะเลี้ยงบน PDA โดยใช้เข็มเจาะตัดให้มีขนาดพอเหมาะ ถัดลงในขวดแบน ขวดทดลองรูปชมพู่ขนาด 250 มล. และงานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิห้อง 7 วัน เก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น

3.3 การศึกษาวิธีการถ่ายเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือลงในอาหารแข็งโดยใช้

Cork borer เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มม. และการทำสารละลายของเชื้อ

ใช้แผนการทดลองแบบ RCB โดยให้ วิธีการถ่ายเชื้อเป็นสิ่งทดลอง และระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างอาหารเป็นบล็อก

ขั้นตอนการทดลอง

1. นำเมล็ดข้าวฟ่างลาย ใส่ในถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 4 X 7 นิ้ว ถุงละ 50 กรัม
2. นำเมล็ดข้าวฟ่างลายไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง
3. หาคความชื้นเริ่มต้นของข้าวฟ่างลาย (ภาคผนวก ก)
4. ปรับระดับของความชื้นของข้าวฟ่างลายให้ได้ 35% คำนวณน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อและทำการคลุกเคล้าให้ทั่วทั้งถุง
5. ถ่ายเชื้อลงในเมล็ดข้าวฟ่างลายโดยใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มม. ตัดชิ้นส่วนของเส้นใยเห็ดใส่ลงในอาหารแข็ง จำนวน 20 ถุง เป็น treatment ที่ 1
6. ถ่ายเชื้อลงในเมล็ดข้าวฟ่างลายโดยใช้ สารละลาย ของเชื้อ 1 มล.ต่อ 1 ถุง จำนวน 20 ถุง เป็น treatment ที่ 2
6. บ่มที่อุณหภูมิห้อง
7. เก็บผลทุก ๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

3.4 การศึกษาการเจริญของเส้นใยบนวัสดุคิบทางการเกษตรชนิดต่าง ๆ ที่ ความชื้น 35% และ 50%

วางแผนการทดลองแบบ Factorial Experiment in RCB ซึ่งปัจจัยที่ต้องการศึกษา คือ ปัจจัยที่ 1 ชนิดของวัสดุคิบทางการเกษตร ที่ใช้เพาะเลี้ยง

กำหนดให้

- A_1 : เมล็ดข้าวฟ่างนก
- A_2 : เมล็ดข้าวฟ่างลาย
- A_3 : ข้าวโพดป่น
- A_4 : ปลายข้าว

ปัจจัยที่ 2 ระดับความชื้นของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง

กำหนดให้

- B_1 : มีความชื้น 35%
- B_2 : มีความชื้น 50%

ในการทดลองแต่ละสิ่งทดลอง (treatment combination) จะทำ 3 ซ้ำ และเก็บผล
ทุก ๆ สัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ขั้นตอนการทดลอง

1. ชั่งอาหารแห้งแต่ละชนิด 50 กรัม ใส่ในถุงพลาสติก สวมคอกขวดและปิดปากถุง ด้วยจุกสำลี
2. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. หาคความชื้นเริ่มต้นของอาหารแห้งแต่ละชนิด (ภาคผนวก ก)
4. ปรับระดับของความชื้นของอาหารแห้งแต่ละชนิดให้ได้ 35% และ 50% ด้วยน้ำกลั่น ที่ผ่านการฆ่าเชื้อและทำการคลุกเคล้าให้ทั่วทั้งถุง
5. เติมเชื้อเห็ดหลินจือลงในแต่ละถุง
6. เก็บตัวอย่างทุก ๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

3.5 การวัดการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ

โดยสังเกตจากการเจริญของเส้นใยในถุงใส่อาหารแข็ง แล้วบันทึกผลดังนี้

- 0 หมายถึง ไม่มีการเจริญของใยรา
- 1 หมายถึง มีการเจริญของใยราน้อยมาก
- 2 หมายถึง 1/4 ของอาหารแข็งปกคลุมด้วยใยรา
- 3 หมายถึง 1/2 ของอาหารแข็งปกคลุมด้วยใยรา
- 4 หมายถึง 3/4 ของอาหารแข็งปกคลุมด้วยใยรา
- 5 หมายถึง อาหารแข็งทั้งหมดถูกปกคลุมด้วยใยรา

3.6 การหาปริมาณ crude protein ในเส้นใยเห็ดหลินจือ

ตามวิธีการของ Kjeldahl Method (A.O.A.C. , 1980)

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ใส่ลงในหลอด Kjeldahl ใส่ glass bead 3-4 เม็ด เติมโพแทสเซียมซัลเฟต 7.68 กรัม คอปเปอร์ซัลเฟต 0.28 กรัม เติมกรดซัลฟิวริก 12 มล. นำไปย่อยบนเครื่องย่อย ครั้งแรกใช้ความร้อนต่ำจนไม่มีฟองก๊าซ แล้วจึงเร่งไฟให้มีความร้อนสูง จนจนได้สารละลายสีฟ้าเขียว ย่อยต่ออีก 10 นาที แล้วปิดไฟ ทิ้งไว้ให้เย็น
2. เมื่อสารละลายเย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 80 มล. โดยพยายามชะกรดที่อยู่ข้างหลอด ลงไปด้วย
3. ทำการกลั่นโดยต่อเข้ากับเครื่องกลั่นที่ปลาย เครื่องควบแน่น (condenser) จุ่มอยู่ในฟลาสก์ที่มีกรดบอริก 4 % 50 มล. หยด mixed indicator 2-3 หยด ป้อนค่า NaOH 30 % ไหลลงไป ในหลอดประมาณ 80 มล. ดำเนินการกลั่นประมาณ 5 นาที
4. ถดฟลาสก์ลง ปิดเครื่องกลั่น
5. นำสารละลายไปไทเทรตด้วยกรด H_2SO_4 0.1 N จนกระทั่งถึงจุดยุติ

การคำนวณ

$$\% N : \frac{\text{มล. ของกรดที่ไทเทรต} \times 0.14}{\text{น้ำหนักของวัตถุแห้ง}}$$

$$\% \text{ crude protein} : \% N \times 6.25$$

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาถึงวิธีถ่ายเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือในข้าวฟ่างลาย ที่ระดับความชื้น 35%

จากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการถ่ายเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือในข้าวฟ่างลาย ที่ระดับความชื้น 35% โดยใช้การถ่ายเชื้อโดยใช้ Cork borer กับใช้สารละลายเชื้อ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ให้ผลการวัดการเจริญเติบโตดังตารางที่ 4.1 พบว่ามีการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือจากการถ่ายเชื้อทั้ง 2 วิธีใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดหลินจือ *Ganoderma lucidum*

ชนิดของตัวอย่าง	สัปดาห์ที่			
	1	2	3	4
Control	0	0	0	0
Solution	0	3	3	3
Cork borer	1	1.5	2.5	2.5

จากนั้นนำเส้นใยเห็ดหลินจือที่เจริญในข้าวฟ่างลายในแต่ละสัปดาห์ มาวัดปริมาณ crude protein โดยใช้วิธี Kjeldahl ได้ผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณ crude protein (%) ของเชื้อเห็ดหลินจือ *Ganoderma lucidum* จากวิธีการถ่ายเชื้อ 2 วิธี (น้ำหนักสด)

สัปดาห์	การถ่ายเชื้อโดยใช้ Cork borer	การถ่ายเชื้อโดยใช้ สารละลายเชื้อ
1	4.54	4.94
2	5.12	5.15
3	5.54	5.06
4	5.60	5.51

เมื่อนำผลการทดลองจากตารางที่ 4.2 มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ ดังนี้

สมมติฐานเพื่อการทดสอบ

H_0 : การเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือในข้าวฟ่างสายที่เกิดขึ้นจากวิธีการถ่ายเชื้อโดยใช้ Cork Borer กับวิธีการถ่ายเชื้อแบบใช้สารละลายไม่แตกต่างกัน

H_a : การเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือในข้าวฟ่างสายที่เกิดขึ้นจากวิธีการถ่ายเชื้อโดยใช้ Cork Borer กับวิธีการถ่ายเชื้อแบบใช้สารละลายแตกต่างกัน

ค่าสถิติที่ได้จากการคำนวณ $t_{cal} = -0.416$

ค่าจากตาราง $t_{0.025,3} = 3.18$

$t_{0.975,3} = -3.18$

สรุปผลการทดสอบ ณ ระดับนัยสำคัญ 0.05 : เนื่องจากค่า

$-3.18 < t_{cal} > 3.18$ จึง ยอมรับ H_0 นั่นคือ วิธีการถ่ายเชื้อทั้ง 2 วิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น จากการทดลองนี้จึงเลือกใช้วิธีการถ่ายเชื้อแบบ Cork Borer เนื่องจากสามารถควบคุมปริมาณเชื้อเห็ดหลินจือได้ สะดวกในการถ่ายเชื้อ และป้องกันการปนเปื้อนได้ดีกว่าการถ่ายเชื้อโดยใช้สารละลายของเชื้อ

4.2 ผลการศึกษาถึงชนิดของวัตถุดิบทางการเกษตรและความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยของเห็ดหลินจือ

จากการศึกษาถึงการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือในวัตถุดิบทางการเกษตร 4 ชนิด คือ ข้าวโพดป่น ข้าวฟ่างลาย ข้าวฟ่างนากและปลายข้าว ที่ระดับความชื้น 35% และ 50% โดยจะเก็บผลทุก ๆ สัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.1-4.3) ได้ผลการวัดการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดหลินจือดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อ *Ganoderma lucidum* ในวัตถุดิบทางการเกษตรที่ระดับความชื้น 35% และ 50%

ชนิดของวัตถุดิบ	ตัวอย่าง	สัปดาห์ที่			
		1	2	3	4
ข้าวฟ่างนาก 35%	Control	0	0	0	0
	Sample	0	1.5	2.5	2.5
ข้าวฟ่างนาก 50%	Control	0	0	0	0
	Sample	1.5	2.5	2.5	4
ข้าวฟ่างลาย 35%	Control	0	0	0	0
	Sample	0.5	2.5	3	3.5
ข้าวฟ่างลาย 50%	Control	0	0	0	0
	Sample	2	2	2	2
ข้าวโพดป่น 35%	Control	0	0	0	0
	Sample	2.5	5	5	5
ข้าวโพดป่น 50%	Control	0	0	0	0
	Sample	1	2	2.5	3
ปลายข้าว 35%	Control	0	0	0	0
	Sample	1	2.5	4	4
ปลายข้าว 50%	Control	0	0	0	0
	Sample	1.5	2	2	2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

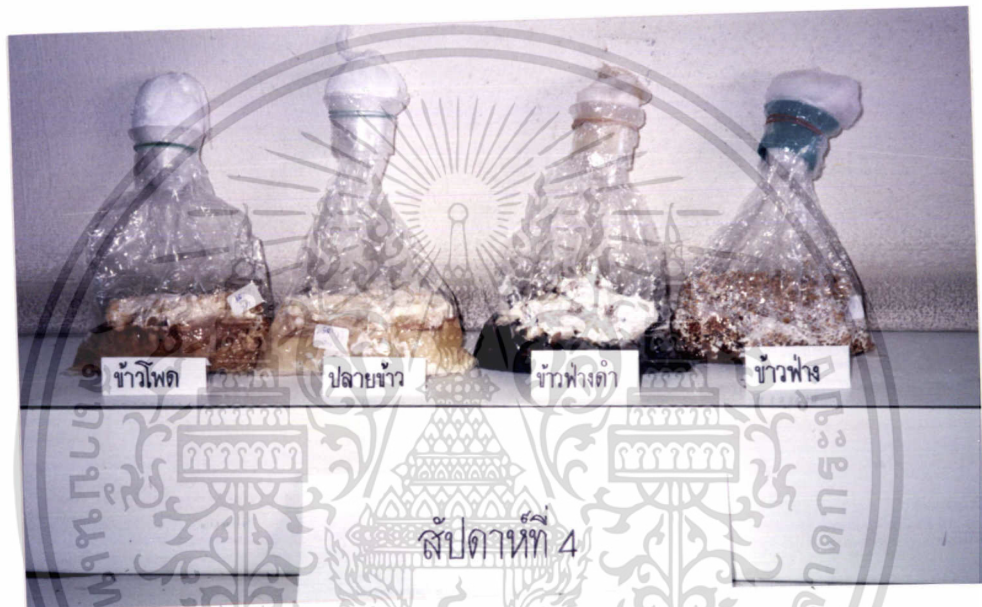


รูปที่ 4.1 การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในวัตถุดิบทางการเกษตร 4 ชนิดในสัปดาห์ที่ 2



รูปที่ 4.2 การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในวัตถุดิบทางการเกษตร 4 ชนิดในสัปดาห์ที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหลินจือในวัตถุดิบทางการเกษตร 4 ชนิดในสัปดาห์ที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำเส้นใยของเห็ดหลินจือที่เจริญบนวัตถุดิบทางการเกษตรแต่ละชนิดในแต่ละสัปดาห์ มาหาปริมาณ crude protein โดยวิธี Kjeldhal ให้ผลดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณ crude protein (%) ของเชื้อเห็ดหลินจือ *Ganoderma lucidum* ที่เพาะใน วัตถุดิบทางการเกษตรต่าง ๆ (น้ำหนักสด)

Treatment combination สัปดาห์	A ₁ B ₁	A ₁ B ₂	A ₂ B ₁	A ₂ B ₂	A ₃ B ₁	A ₃ B ₂	A ₄ B ₁	A ₄ B ₂
1	4.55	3.41	4.03	3.28	4.20	2.80	2.89	2.54
2	5.16	3.46	5.43	4.77	3.81	3.76	3.85	2.80
3	5.16	4.24	2.71	3.06	4.68	3.68	3.33	2.80
4	4.51	4.03	3.19	2.14	4.95	3.76	5.91	3.15

กำหนดให้ A : ชนิดของวัตถุดิบทางการเกษตร

A₁ : ข้าวฟ่างนกอ

A₂ : ข้าวฟ่างถาย

A₃ : ข้าวโพดป่น

A₄ : ปลายข้าว

B : ระดับความชื้น

B₁ : ระดับความชื้น 35%

B₂ : ระดับความชื้น 50%

เมื่อนำผลการทดลองในตารางที่ 4.4 มาวิเคราะห์ความแปรปรวน ดังตารางที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ crude protein ของเชื้อเห็ดหลินจือ *Ganoderma lucidum* เมื่อใช้วัตถุดิบทางการเกษตรที่ระดับความชื้นต่าง ๆ

Source of Variation	Degree of freedom	Sum of Squares	Mean Square	F value
Week	3	2.05		
Treatment				
Material(A)	3	3.94	1.31	2.01 ^{ns}
Moisture(B)	1	6.77	6.77	10.38 ^{**}
AxB	3	0.48	0.16	0.25 ^{ns}
Error	21	13.7	0.65	
Total	31	26.94		

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ns ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

สมมติฐานเพื่อการทดสอบ

H_0 : ชนิดของวัตถุดิบและความชื้น ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ

H_a : ชนิดของวัตถุดิบและความชื้นมีอิทธิพลร่วมกันต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ

ค่าสถิติที่ได้จากการคำนวณ $F_{cal} = 2.01$

ค่าจากตาราง $F_{0.05}(3,21) = 3.07$

สรุปผลการทดสอบ ณ ระดับนัยสำคัญ 0.05 : เนื่องจากค่า $F_{cal} < 3.07$ จึง ยอมรับ H_0 นั่นคือชนิดของวัตถุดิบและความชื้น ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ ดังนั้นจึงพิจารณาสมมติฐานต่อไป

สมมติฐานเพื่อการทดสอบ

H_0 : ชนิดของวัตถุดิบให้ผลการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือไม่แตกต่างกัน

H_a : ชนิดของวัตถุดิบให้ผลการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือแตกต่างกัน

ค่าทางสถิติที่คำนวณได้ $F_{cal} = 2.01$

ค่าจากตาราง $F_{0.01}(3,21) = 3.07$

สรุปผลการทดสอบ ณ ระดับนัยสำคัญ 0.05 : เนื่องจากค่า $F_{cal} < 3.07$ จึงยอมรับ H_0 นั่นคือ ชนิดของวัตถุดิบแต่ละชนิดให้ผลการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงควรเลือกใช้ข้าวโพคป่น เนื่องจากมีราคาถูกและสามารถหาซื้อได้ง่าย

สมมติฐานเพื่อการทดสอบ

H_0 : ที่ความชื้นแต่ละระดับให้ผลการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือไม่แตกต่างกัน

H_a : ที่ความชื้นแต่ละระดับให้ผลการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือแตกต่างกัน

ค่าทางสถิติที่คำนวณได้ $F_{cal} = 10.38$

ค่าจากตาราง $F_{0.01}(3,21) = 4.87$

สรุปผลการทดสอบ ณ ระดับนัยสำคัญ 0.05 : เนื่องจากค่า $F_{cal} > 4.87$ จึงปฏิเสธ H_0 นั่นคือ ความชื้นแต่ละระดับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ดังนั้นจึงเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ LSD ดังนี้

สมมติฐานเพื่อการทดสอบ

H_0 : ที่ระดับความชื้น 35% และ 50% ให้ผลการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ
ไม่แตกต่างกัน

H_a : ที่ระดับความชื้น 35% และ 50% ให้ผลการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ
แตกต่างกัน

ค่าทางสถิติที่ได้จากการคำนวณ $LSD_{0.05} = 1.19$

$$\bar{x}_A - \bar{x}_B = 0.92$$

สรุปผลการทดสอบ ณ ระดับนัยสำคัญ 0.05 : $\bar{x}_A - \bar{x}_B < 1.19$ จึงยอมรับ H_0 นั่นคือ
ความชื้นที่ระดับ 35% และ 50% ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นในการเพาะเลี้ยง
เส้นใยเห็ดหลินจือสามารถทำได้ทั้งที่ระดับความชื้นทั้ง 2 แต่ควรเพาะเลี้ยงที่ระดับความชื้น 35%
เนื่องจากสามารถปรับความชื้นได้ง่ายกว่าและลดการปนเปื้อนได้ดีกว่า

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองนี้พบว่า วิธีการถ่ายเชื้อที่เหมาะสมต่อการเพาะเส้นใยเห็ดหลินจือ อาจใช้ได้ทั้ง 2 วิธี คือ การใช้ Cork borer หรือใช้สารละลายเชื้อ แต่ในการทดลองจะเลือกวิธี Cork borer เนื่องจากมีความสะดวกในการถ่ายเชื้อ และสามารถป้องกันการปนเปื้อนได้ดีกว่า ส่วนชนิดของอาหารแข็งที่เหมาะสมกับการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือสามารถใช้วัตถุดิบชนิดใดก็ได้ แต่ควรใช้ข้าวโพดป่น เนื่องจากมีราคาถูกและหาซื้อได้ง่าย ส่วนข้าวฟ่างนกจะมีราคาสูงกว่าแต่จะเกิดการปนเปื้อนได้น้อยกว่าและเส้นใยสามารถเจริญได้เร็วกว่า คือ ไม่ต้องใช้เวลาถึง 4 สัปดาห์ ซึ่งจะพบว่าที่ระดับความชื้น 35 % จะให้ผลการเจริญของเส้นใยมากที่สุด เมื่อดูจากปริมาณโปรตีน โดยข้าวฟ่างลายที่ระดับความชื้น 35% ได้ค่าโปรตีน 5.43% ที่สัปดาห์ที่ 2 และข้าวฟ่างลายที่ระดับความชื้น 50% ได้ค่าโปรตีนน้อยที่สุด คือ 2.14% ที่สัปดาห์ที่ 4

จากการทดลองครั้งนี้ได้ผลใกล้เคียงกับของสมศิริและคณะ (2539) เรื่องการผลิตโปรตีนเซลล์เดี่ยวจากกากเปลือกส้ม โดยกระบวนการหมักในอาหารแข็งเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ พบว่า จากการศึกษาใช้กากส้มที่ผ่านการบดและอบแห้งแล้ว เป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Aspergillus niger* และ *Penicillium sp.* พบว่า *A. niger* สามารถผลิตโปรตีนเซลล์เดี่ยวได้มากกว่า *Penicillium sp.* คือผลิตโปรตีนได้ 6 % ในขณะที่ *Penicillium sp.* ผลิตได้เพียง 4.4 %

ในขณะที่รัฐพล (2538) พบว่าเส้นใยเห็ดหมื่นปีหรือเห็ดหลินจือมีปริมาณโปรตีน 17.80% และดอกเห็ดมีปริมาณโปรตีน 17.30% ซึ่งผลการทดลองที่แตกต่างกันนี้ อาจเนื่องมาจากค่าปริมาณโปรตีนจากการทดลองครั้งนี้เป็นปริมาณโปรตีนของน้ำหนักสดไม่ใช่น้ำหนักแห้ง หรืออาจเนื่องมาจากการใช้สายพันธุ์ของเชื้อเห็ดหลินจือที่แตกต่างกันก็เป็นได้ นอกจากนี้อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยอาจมีผลทำให้การผลิตโปรตีนในการทดลองครั้งนี้ได้ปริมาณน้อย เนื่องจากใช้วัตถุดิบทางการเกษตรเพียงอย่างเดียว ไม่มีการเติมอาหารเสริมอื่น ๆ ลงไปด้วย

เอกสารอ้างอิง

- ปรีชา กลิ่นเกสร. เห็ดสกุล *Ganoderma lucidum* ในประเทศไทย. บทคัดย่อการประชุมวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 13 , มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. 2530 .
- รัฐพล ศรประเสริฐ. " การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนในเส้นใยเห็ดและดอกเห็ด ". ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม. กรุงเทพฯ.2538.
- ศุภนิศย์ หิรัญประคิษฐ์, ประณีต ไทยอุทัย และสัณชัย ดันตยาภรณ์. "การคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดหลินจือที่สามารถให้ผลผลิตสูง“. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 1-2(ม.ค.-เม.ย. 2534). 68-70
- สมศิริ นัยนาภรณ์ และคณะ. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเปลือกส้มโดยกระบวนการหมักในอาหารแข็งเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์.กรุงเทพฯ:โครงการพิเศษ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.2539.
- สาริต ไทยทัตกุล. การเพาะเห็ดหลินจือ . บริษัทฟ้าอภัย จำกัด.2539.
- สิริลักษณ์ ชัยจำรัส. การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนและลักษณะการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดจากดอกและเส้นใยเห็ดหมื่นปี *Ganoderma lucidum* . กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย .2536 .
- อานนท์ เอื้อตระกูล .2541 . พิมพ์ครั้งที่ 1 . การเพาะเห็ดหลินจือ . กรุงเทพฯ : ศูนย์ไบโอเทค บริษัท เค อะโกรเทค.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A.O.A.C. Official Method Of Analysis (13th Ed.). Horwiz, W. (Ed.). Washington, D.C. 1980.

Lin,L.J.,Shiao,M.S. and Yeh,S.F. “ Triterpenes from *Ganoderma lucidum* “
Phytochemistry.27(7). (1988) : 2269-2271.

Kikuchi,T.,Matsuda,S.,Kadota,S.,Murai,Y. and Ogita,Z. “ Ganoderic Acid G and I and
Ganolucidic Acid A and B, New Triterpenoids from *Ganoderma lucidum* “.
Chem.Pharm.Bull. 33(6)(1985): 2628-2631.

Shiao, M.S. and Lin, L.J. “ Ture New Triterpenes of The Fungas *Ganoderma lucidum*” Natural
Products. 50(5)(1987) : 886-900.

Sone,Y.,Okuda,R.,Wada,N.,Kishida,E., and Misaki,A. “ Structures and Antitumor Activity of
the polysaccharides Isolated from Fruiting Body and the Growing Culture of
Mycelium of *Ganoderma lucidum* “ Agric.Biol.Chem. 49(9)(1985) : 2641-2653.

Wada,T.,Nakashima,A.,Okubo,A.,Ohmura,Y.and Yoshikumi,C., Method of Cultivating
Ganoderma lucidum . US.Pat. 4472907 (1984)

Zhuang,C.,Mizuno,T.,Ito,H.,Shimura,K.,Sumiya,T. and Kawade,M. “ Fractionation and
Antitumor Activity of Polysaccharides from *Grifola frondosa* Mycelium “
Biosci.Biotech.Biochem.58(1)(1994) : 185-188

.....

ภาคผนวก ก

วิธีการหาความชื้นในอาหารแห้ง

1. ชั่ง อาหารแห้ง จำนวน 1 กรัม และ 5 กรัม ต่อ 1 ถug
2. นำเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
3. ชั่งน้ำหนักอาหารแห้งทั้ง 2 ถug
4. อบที่อุณหภูมิ 108 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
5. ใสในเคชิกเคเตอร์ 1 ชั่วโมง
6. ชั่งน้ำหนักอาหารแห้งทั้ง 2 ถug หลังอบ
7. นำมาคำนวณความชื้นเริ่มต้น โดยการเทียบบัญญัติไตรยางค์
8. คำนวณปริมาณน้ำที่เติมเข้าไป จากสูตร

$$X : W(Y-A) / 100-Y$$

X : ปริมาณน้ำที่ต้องเติมเข้าไป

W : น้ำหนักของอาหารแห้งที่ต้องการหาความชื้น

Y : ความชื้นที่ต้องการ

A : ความชื้นเริ่มต้นของเมล็ด

วิธีการทำ สารละลาย ของเชื้อ

1. ใส่น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วในฟลาสก์ขนาด 250 มล. ที่มีเส้นใยที่มีอายุ 7 วัน จำนวน 10 มล.
2. ใช้เข็มฉีดยา ฉีดเส้นใยของเชื้อให้หลุดออกมาปนกับน้ำกลั่น

.....

ภาคผนวก ข

1. ผลการทดลอง (ข้อมูลดิบ)

ผลการศึกษาดังวิธีถ่ายเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย เห็ดหลินจือในข้าวฟ่างลาย
ที่ระดับความชื้น 35%

ตารางที่ 1ข แสดงปริมาณกรดที่ไทเทรตได้จำแนกตามวิธีถ่ายเชื้อกับสัปดาห์

สัปดาห์ที่	Blank	Control		Cork borer		Solution	
		1	2	1	2	1	2
1	0.2	3.2	3.1	5.45	5.55	6.55	5.55
2	0.2	3.2	3.1	6.55	5.55	5.95	6.35
3	0.2	3.1	2.4	6.43	6.63	6.33	5.63
4	0.3	3.4	2.6	6.10	6.60	5.90	6.80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาระดับชนิดของวัตถุบิทางการเกษตรและความชื้นที่ เหมาะสมต่อการเจริญของ เส้นใยของเห็ดหลินจือ

ตารางที่ 2ข แสดงปริมาณกรดที่ไทเทรตได้จำแนกตามวัตถุบิทางการเกษตรและ ความชื้นกับสัปดาห์

ชนิดของวัตถุบิ	Blank	ความชื้น 35%		ความชื้น 50%	
		1	2	1	2
สัปดาห์ที่ 1					
ข้าวโพดป่น	0.2	5.1	4.5	2.8	3.6
ข้าวฟ่างนกก	0.2	5.2	5.2	4.1	3.8
ข้าวฟ่างลาย	0.2	4.8	4.4	4.3	3.2
ปลายข้าว	0.2	2.9	3.7	2.8	3.0
สัปดาห์ที่ 2					
ข้าวโพดป่น	0.1	4.4	4.3	4.8	3.8
ข้าวฟ่างนกก	0.1	5.3	6.3	4.0	3.9
ข้าวฟ่างลาย	0.1	6.4	6.0	5.8	5.1
ปลายข้าว	0.2	4.8	4.0	3.1	3.3
สัปดาห์ที่ 3					
ข้าวโพดป่น	0.2	5.5	5.2	3.9	4.5
ข้าวฟ่างนกก	0.2	5.9	5.9	4.6	5.1
ข้าวฟ่างลาย	0.2	4.34	4.0	4.0	3.0
ปลายข้าว	0.2	3.6	4.0	3.2	3.2
สัปดาห์ที่ 4					
ข้าวโพดป่น	0.2	5.5	5.9	4.4	4.2
ข้าวฟ่างนกก	0.2	5.94	5.83	5.14	5.37
ข้าวฟ่างลาย	0.2	3.43	3.66	2.7	2.2
ปลายข้าว	0.2	6.8	6.7	3.6	3.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้