

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ลักษณะของเห็ดขอนขาว *Lentinus squarrosulus* Mont LS-YA

ที่ได้รับจาก ผศ.ดร.ชรีดา ปุกหุด ที่ปรึกษาโครงการวิจัย มีลักษณะดังแสดงในภาพที่ 4.1 (ก) ซึ่งเลี้ยงบนอาหาร YM agar โดยมีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาว เจริญแน่นบนผิวหน้าอาหาร แต่ไม่เจริญฟู อย่างไรก็ตามเพื่อให้เห็ดขอนขาวปรับสภาพเข้ากับเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนแห้งที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลัก ดังนั้นจึงทำการเลี้ยงเห็ดขอนขาวบนอาหาร YM agar ผสมเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนแห้งบดขนาด 0.5 mesh ปริมาณ 1% และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ และทำการถ่ายเชื้อทุกสัปดาห์



ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็ง YM agar

4.2 การเจริญของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารแข็งผสมเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนแห้งบด

เปลือกข้าวโพดฝักอ่อนที่ใช้ในการศึกษาได้รับมาจากบริษัท แอโกรนิคส์ จำกัด จังหวัดสุพรรณบุรี โดยนำเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนสดมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำไปบดให้มีขนาด 0.5 mesh ดังแสดงในภาพที่ 4.2 (ก) และ 4.2 (ข) ที่ใช้ในการศึกษาต่อไป

เมื่อนำเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA มาเลี้ยงบนอาหารแข็ง YM agar ที่ผสมเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนแห้งบดในปริมาณตั้งแต่ 0 ถึง 2.5% โดยเพิ่มขึ้นทุก 0.5% ได้ผลของการเจริญของเห็ดขอนขาวดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่า ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร) ของเชื้อ *L. squarrosulus* Mont LS-YA ที่เจริญในอาหาร ซึ่งมีส่วนผสมของเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งความเข้มข้นต่างๆ เพิ่มขึ้นตามระยะ



ภาพที่ 4.2 ลักษณะของเปลือกข้าวโพดฝักอ่อน : (ก) ภายหลังการอบที่อุณหภูมิ 55 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง;
(ข) ภายหลังจากบดให้มีขนาด 0.5 mesh เพื่อใช้ในการศึกษา

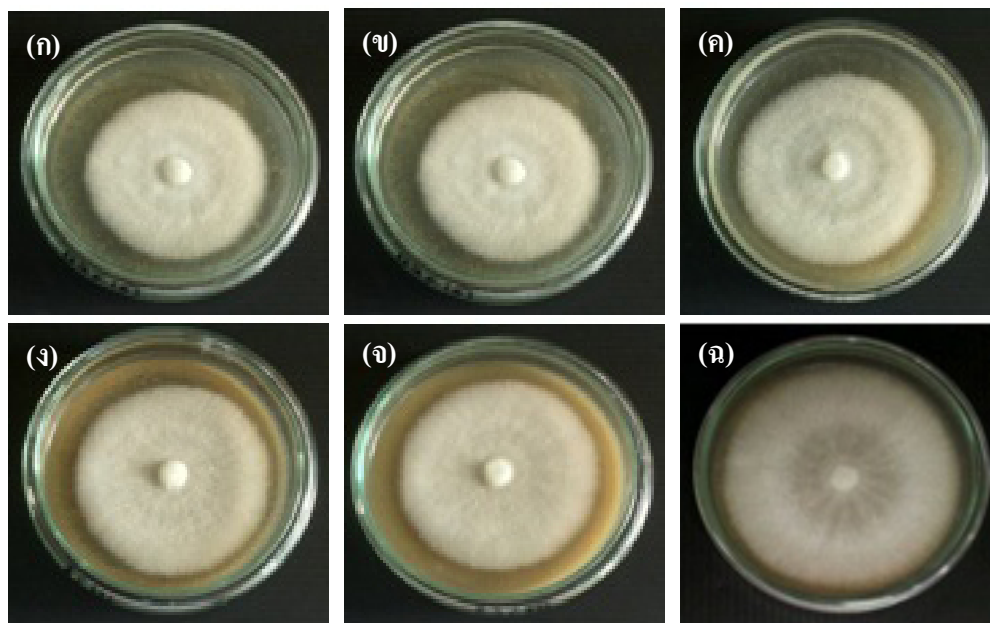
เวลาในการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ นอกจากนี้แล้วยังพบว่าเมื่อระดับปริมาณของเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนแห้ง
บดเพิ่มขึ้น การเจริญของเส้นใยเห็ดขออนขาวก็เพิ่มขึ้นเช่นกัน อย่างไรก็ตามที่ระดับปริมาณที่ 1.5% - 2.5% มี
การเจริญที่สูงและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) สำหรับภาพที่ 4.3 แสดงให้เห็นลักษณะการ

ตารางที่ 4.1 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร) ของเห็ดขออนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ที่
เจริญในอาหาร YM agar ที่เติมเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งบดในระดับปริมาณต่างๆ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ
 30 ± 2 °ซ

ระยะเวลาใน การบ่ม (วัน)	0 % BCH	0.5% BCH	1.0 % BCH	1.5 % BCH	2.0 % BCH	2.5 % BCH
0	5.39 ^{ns} ±0.30	5.23 ^{ns} ±0.38	5.37 ^{ns} ±0.16	5.4 ^{ns} 1±0.31	5.29 ^{ns} ±0.25	5.28 ^{ns} ±0.13
1	6.99 ^c ±0.64	7.30 ^b ±0.84	8.16 ^{ab} ±1.63	8.9 ^a ±0.52	8.86 ^a ±0.85	8.78 ^a ±1.06
2	21.73 ^d ±2.57	23.89 ^{bc} ±1.27	22.90 ^{cd} ±3.69	25.18 ^{ab} ±1.30	25.30 ^{ab} ±1.60	26.78 ^a ±1.19
3	40.98 ^b ±3.33	40.94 ^b ±1.44	41.08 ^b ±3.39	45.95 ^a ±1.82	45.86 ^a ±2.56	48.16 ^a ±2.09
4	59.94 ^b ±2.05	61.97 ^b ±3.18	61.84 ^b ±3.94	69.72 ^a ±1.39	69.44 ^a ±1.23	70.51 ^a ±1.65

*ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอน หมายถึง ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ
เมื่อเปรียบเทียบโดย Tukey's test ($p \leq 0.05$); BCH = Baby corn husk, เปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งบด

เจริญของเห็ดขอนขาวภายหลังการบ่มเป็นเวลา 4 วัน อนึ่งจากผลการเจริญของเห็ดขอนขาวบนอาหาร
 แฉ่งนี้ยืนยันได้ถึงความสามารถในการใช้เปลือกข้าวโพดฝักอ่อนในการศึกษาเรื่องนี้ได้เป็นอย่างดี



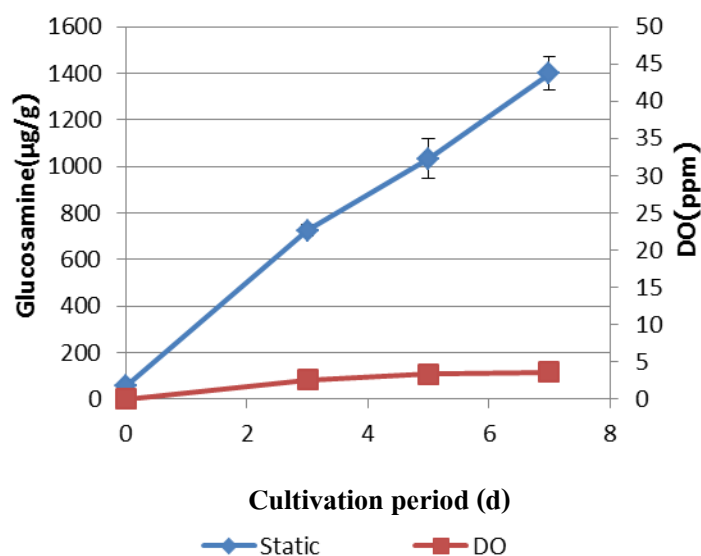
ภาพที่ 4.3 แสดงลักษณะของการเจริญของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ที่เจริญในอาหาร
 YM agar ที่เติมเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งบดในปริมาณเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °C
 เป็นเวลา 4 วัน : (ก) 0%; (ข) 0.5%; (ค) 1.0%; (ง) 1.5%; (จ) 2% และ (ฉ) 2.5%

4.3 สภาพการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ในอาหารเหลวในระดับฟลาสก์

ในการศึกษาการเจริญของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารเหลวในระดับฟลาสก์
 นั้นจำเป็นต้องทราบถึงสภาพการเลี้ยงที่เหมาะสม ตามปกติแล้วสภาพการเลี้ยงในอาหารเหลวในระดับ
 ฟลาสก์มีตั้งแต่การเลี้ยงในสภาพวางนิ่ง (Static cultivation) การเลี้ยงในสภาพเขย่าทั้งด้วยเครื่องเขย่าแบบ
 Reciprocal และ Rotary ซึ่งเรียกว่า Reciprocal and Rotary cultivations ในการศึกษาได้เลือกทำการศึกษา
 เปรียบเทียบสภาพการเลี้ยงทั้งสามสภาพโดยใช้เปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งบดเท่ากับ 2.5% ซึ่งเป็นผลที่
 ให้การเจริญที่ดีจากตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.3 ทั้งนี้เมื่อทำการติดตามประสิทธิภาพการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L.*
squarrosulus Mont LS-YA ในสภาพอาหารเหลวทั้งสามสภาพที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน โดยอาศัย
 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน รวมทั้งติดตามค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved oxygen; DO)
 ในระหว่างการเลี้ยงด้วยเครื่อง HI9146 Microprocessor Dissolved Oxygen Meter (HANNA Instruments
 Inc., Romania)

4.3.1 ผลการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารเหลวระดับพลาสติกในสภาพนิ่ง

เมื่อเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในสภาพวางนิ่งที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน ผลของการเลี้ยงแสดงในภาพที่ 4.4 พบว่า เห็ดขอนขาวสามารถเจริญได้ดีที่สุดในวันที่ 7 ซึ่งได้ปริมาณกลูโคซามีน 1398.96 $\mu\text{g/g}$ ในระหว่างการเลี้ยงในสภาพนิ่งนี้มีปริมาณ DO ในระหว่างช่วงการเลี้ยงไม่สูงนัก (3.64 ppm ในวันที่ 7 ของการเลี้ยง)

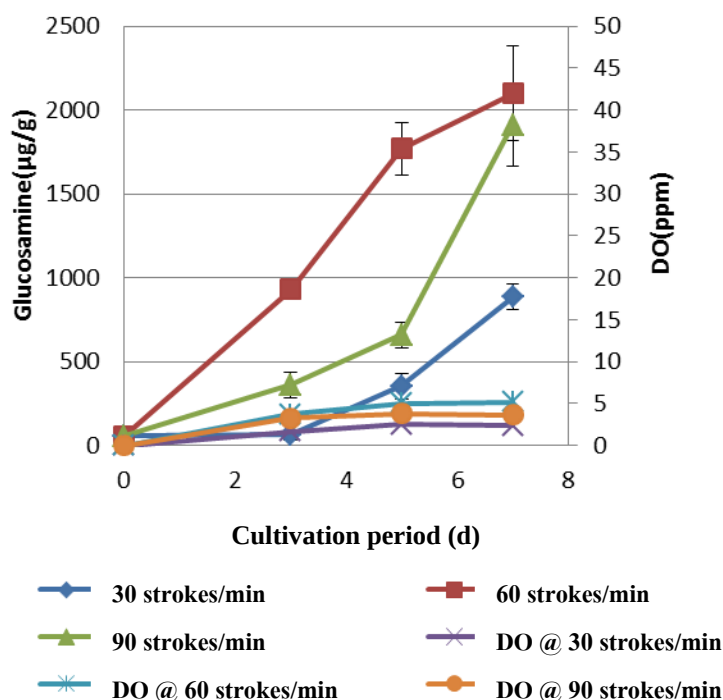


ภาพที่ 4.4 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณกลูโคซามีนและปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเมื่อสภาพการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารเหลวในสภาวะวางนิ่งที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน

4.3.2 ผลการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารเหลวระดับพลาสติกในสภาพเขย่าแบบ Reciprocal

การเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารเหลวในสภาพเขย่าแบบ reciprocal ที่ความเร็วในการเขย่าที่ 30 60 และ 90 strokes/min เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ ดังผลการเลี้ยงที่แสดงในภาพที่ 4.5 ซึ่งพบว่า เห็ดขอนขาวสามารถเจริญได้ดีที่สุดที่ความเร็วเขย่าเท่ากับ 60 strokes/min โดยในวันที่ 7 ได้ปริมาณกลูโคซามีน 2098.45 $\mu\text{g/g}$ ซึ่งถือได้ว่าการเจริญมากกว่าการเลี้ยงที่ความเร็วเขย่า 30 และ 90 strokes/min รวมถึงสภาวะวางนิ่งด้วย การใช้ความเร็วในการเขย่าที่ 30 stroke/min นั้นทำให้เห็ดขอนขาวสร้างเส้นใยขึ้นบนผิวหน้า ไม่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อมากนัก ทำให้มีปริมาณกลูโคซามีนไม่สูงนักเมื่อ

เปรียบเทียบกับเครื่องเลี้ยงเห็ดขอนขาวที่ความเร็วในการเขย่าที่สูงขึ้น ส่วนการใช้ความเร็วในการเขย่าที่ 90 strokes/min นั้นทำให้เห็ดขอนขาวถูกแรงกระแทกวนกลับภายในภาชนะจนทำให้เกิดการจับตัวรวมกันเป็นก้อนขนาดใหญ่ไม่มีการสร้างเส้นใยออกมาจึงทำให้มีปริมาณกลูโคซามีนน้อยกว่าการใช้ความเร็วในการเขย่า 60 strokes/min ซึ่งมีการเจริญเป็นก้อนขนาดเล็กกว่าและมีการสร้างเส้นใยขึ้นมาด้านบนเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบอีกด้วยว่า ค่า DO ในสภาพการเขย่าที่ความเร็ว 60 strokes/min มีค่าสูงกว่าที่ 30 และ 60 strokes/min ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง

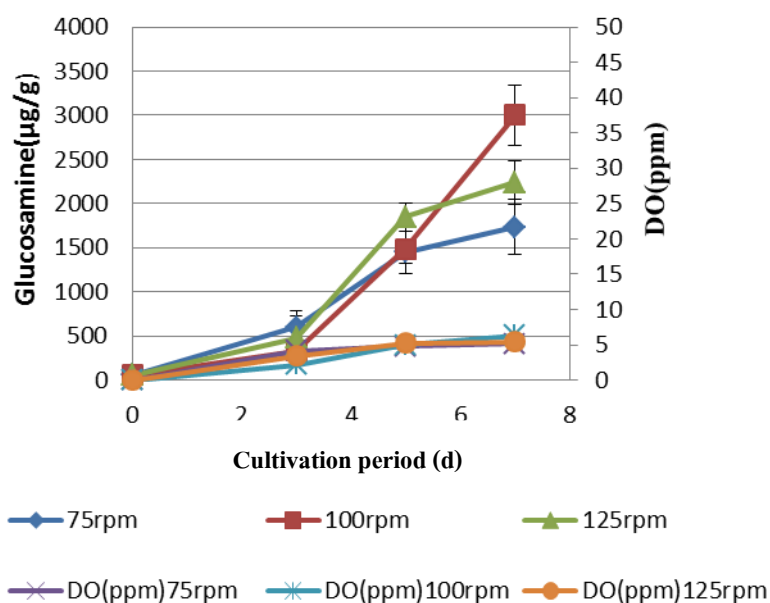


ภาพที่ 4.5 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณกลูโคซามีนและปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเมื่อสภาพการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารเหลวในสภาพเขย่าแบบ Reciprocal ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน

4.3.3 ผลการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารเหลวระดับพลาสติกในสภาพเขย่าแบบ Rotary

เมื่อเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารเหลวในสภาพเขย่าแบบ rotary ที่ความเร็วรอบ 75 100 และ 125 rpm เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ ได้ผลการเจริญดังแสดงในภาพที่ 4.6 พบว่า เห็ดขอนขาวสามารถเจริญได้ดีที่สุดในสภาพความเร็วในการเขย่าที่ 100 rpm โดยในวันที่ 7 ได้ปริมาณกลูโคซามีนสูงสุดถึง 3001.02 µg/g มากกว่าการเลี้ยงเห็ดขอนขาวที่ความเร็วในการเขย่า 75 และ 100 rpm

รวมถึงการเลี้ยงในสภาพวางนิ่งและสภาพเขย่าแบบ reciprocal ด้วย ทั้งนี้การใช้ความเร็วรอบในการเขย่าที่ 100 rpm นั้นมีปริมาณกลูโคซามีนน้อยกว่าความเร็วอื่นในช่วงแรก (ระยะ 3 วัน แรกของการเลี้ยง) แต่ในระยะยาว (วันที่ 7 ของการเลี้ยง) กลับมีการเจริญของเห็ดขอนขาวสูงกว่าที่ความเร็วรอบในการเขย่าอื่น ๆ อย่างเห็นได้ชัด อย่างไรก็ตามในกรณีของการติดตามค่า DO ในระหว่างการเลี้ยงพบว่า มีค่าอยู่ระหว่าง 5.1-6.3 ppm ซึ่งสูงกว่าในสภาพเขย่าแบบ Reciprocal (มีค่า DO สูงสุดที่ 5.1 ppm; ภาพที่ 4.5) และสภาพวางนิ่ง (ค่า DO 3.64 ppm; ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณกลูโคซามีนและปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเมื่อสภาพการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารเหลวในสภาพเขย่าแบบ Rotary ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน

4.3.4 การเปรียบเทียบผลการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารเหลวระดับฟลาस्क

ในการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารเหลวระดับฟลาस्कโดยใช้สภาวะการเลี้ยงที่แตกต่างกัน พบว่า การเลี้ยงในสภาพการเขย่าแบบ rotary ที่ 100 rpm ในวันที่ 7 ให้ผลปริมาณกลูโคซามีนสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.2 นอกจากนี้ยังสรุปได้ว่าการเลี้ยงในสภาพเขย่าแบบ Reciprocal ที่อัตราเขย่าตั้งแต่ 60 และ 90 strokes/min รวมถึงสภาพเขย่าแบบ Rotary ที่อัตรา 75

100 และ 125 rpm ให้ปริมาณเส้นใยของเห็ดขอนขาว (ค่าปริมาณกลูโคซามีน) ที่สูงกว่าในสภาพการหมักแบบสภาพนิ่งอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากในสภาพทั้งสองมีค่า DO ที่สูงกว่าในสภาพนิ่ง

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณกลูโคซามีน (ไมโครกรัม/กรัม) ของการเจริญของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่ปริมาณเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งบด 2.5% ที่สภาพการเลี้ยงต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน

สภาพการเลี้ยง	ปริมาณกลูโคซามีน ($\mu\text{g/g}$)
สภาพนิ่ง	$1,398.96^c \pm 20.71$
สภาพเขย่าแบบ Reciprocal (stroke/min)	
30	$885.12^d \pm 17.43$
60	$2,098.45^b \pm 22.00$
90	$1,910.76^{bc} \pm 24.22$
สภาพเขย่าแบบ Rotary (rpm)	
75	$1,736.40^{bc} \pm 38.74$
100	$3,001.02^a \pm 33.93$
125	$2,238.97^b \pm 25.60$

*ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของกลูโคซามีนที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย Tukey's test

4.3.5 อัตราส่วนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดขอนขาว

L. squarrosulus Mont. LS-YA ในอาหารเหลวในระดับฟลาस्क

อัตราส่วนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ในอาหารเหลวในระดับฟลาस्कในสภาพการเลี้ยงที่เหมาะสม คือ สภาพการเขย่าแบบ Rotary ที่อัตราการเขย่า 100 rpm ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ พบว่า ปริมาณเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งที่เหมาะสมและให้ปริมาณกลูโคซามีนที่บ่งชี้ถึงการเจริญของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA เท่ากับ 5 % (w/v) ดังแสดงในตารางที่ 4.3

4.3.6 การปรับสภาพของเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งต่อการเจริญของเห็ดขอนขาว

L. squarrosulus Mont. LS-YA ในสภาพอาหารเหลวในระดับฟลาस्क

เพื่อให้การเจริญของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA บนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งในการเลี้ยงในสภาพอาหารเหลวมีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น จึงได้ทำการศึกษาการปรับสภาพเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดขอนขาว โดยการปรับสภาพที่ใช้ประกอบด้วย การใช้ด่างอ่อน การใช้กรดอ่อน (กรดอะซิติก) การใช้ไอน้ำร้อน และการใช้ไมโครเวฟ เป็นต้น ทั้งนี้ภายหลังจากที่เปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งผ่านการปรับสภาพแล้วจะนำไปเลี้ยงเห็ดขอนขาวในอาหารเหลวระดับฟลาस्कที่ใช้เปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้ง 5% (w/v) และทำการเลี้ยงในสภาพเขย่าแบบ Rotary ที่อัตราการเขย่า 100 rpm ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณกลูโคซามีนของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งที่อัตราส่วนต่าง ๆ บนสภาพการเขย่าแบบ Rotary ที่อัตราการเขย่า 100 rpm ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน

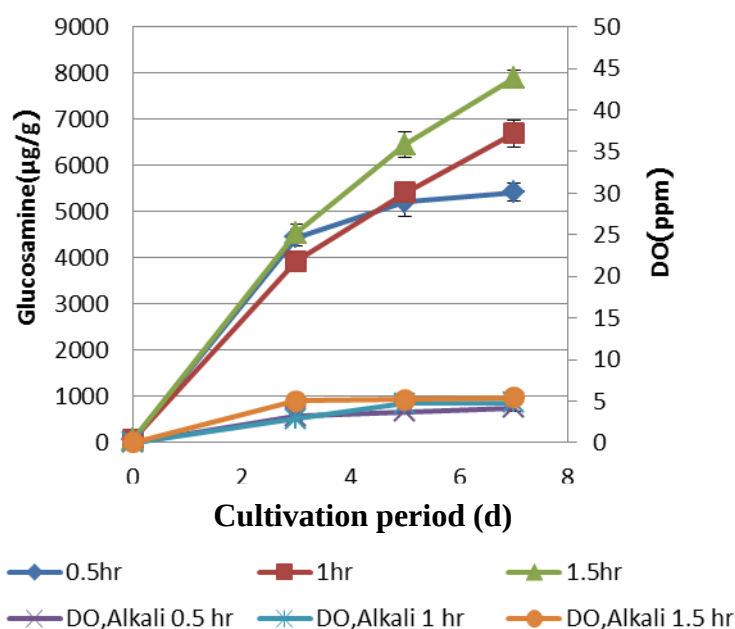
ปริมาณเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้ง (% w/v)	ปริมาณกลูโคซามีน* ($\mu\text{g/g}$)
2.5	$1,736.40^b \pm 14.23$
5.0	$3,001.02^a \pm 33.93$
7.5	$2,238.97^b \pm 16.72$

*ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวดิ่ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของกลูโคซามีนที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย Tukey's test

4.3.6.1 ผลของการปรับสภาพเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งด้วยสารละลายต่าง

ในการปรับสภาพการปรับสภาพเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งด้วยสารละลายต่างนี้ ได้เลือกใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เจือจาง ซึ่งโดยปกติแล้วสารละลาย NaOH จะทำให้วัตถุดิบเกิดการพองตัว ส่งผลให้พื้นที่ผิวภายในเพิ่มขึ้น ระดับชั้นของพอลิเมอร์ไรเซชันและความเป็นผลึกของวัตถุดิบจะลดลงและเกิดการแยกตัวของโครงสร้างลิกนินและเฮมิเซลลูโลสได้ การใช้สารละลาย NaOH ส่งผลดีต่อวัตถุดิบที่ย่อยสลายได้ยาก เช่น ฟางที่มีปริมาณลิกนินต่ำ ทั้งนี้จากการศึกษาของ จูติมา คำไชยใหญ่ และคณะ (2554) ที่ใช้การปรับสภาพข้าวโพดด้วยไอน้ำและสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% (w/v) พบว่า ได้ปริมาณเซลลูโลส น้อย แต่ได้ปริมาณเฮมิเซลลูโลสสูงสุด

ในการศึกษานี้ พบว่า การปรับสภาพเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งด้วยการแช่ในสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% (w/v) ในอัตราส่วน 10% (w/v) เป็นเวลา 0.5 1 และ 1.5 ชั่วโมง พบว่า ในวันที่ 3 ปริมาณการเจริญของเห็ดขอนขาวที่ 0.5 และ 1.5 ชั่วโมง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.5$) โดยมีการเจริญมากกว่าที่ 1 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.5$) ทั้งนี้ต่อมาในวันที่ 5 และ 7 สังเกตได้ว่าการเจริญของเห็ดขอนขาวที่ 1.5 ชั่วโมงสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.5$) เมื่อเปรียบเทียบกับที่ 1 และ 0.5 ชั่วโมง ในขณะที่ 1 และ 0.5 ชั่วโมงมีค่าใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างกัน ($p \geq 0.5$) ดังแสดงในภาพที่ 4.7 จากผลการศึกษาที่ได้นี้ จะเห็นว่า เห็ดขอนขาวสามารถเจริญได้ดีที่สุดในเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ซึ่งแตกต่างจาก ดุษณี ชนะบริวัฒน์ และคณะ (2549) ที่รายงานว่า การแช่วัตถุดิบที่ย่อยสลายยากในสารละลาย NaOH เพียง 0.5 ชั่วโมงก็เพียงพอต่อการนำไปใช้ประโยชน์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของวัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษาเป็นสำคัญซึ่งมีผลต่อปริมาณองค์ประกอบจำพวกเซลลูโลสและลิกนิน รวมถึงสายพันธุ์ของเชื้อด้วย



ภาพที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกลูโคซามีนและปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ เมื่อเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งปริมาณ 5% ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1% เป็นระยะเวลาต่างๆ ในสภาพการเขย่าแบบ Rotary ที่อัตราการเขย่า 100 rpm ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน

4.3.6.2 ผลของการปรับสภาพเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งด้วยสารละลายกรดอะซิติก

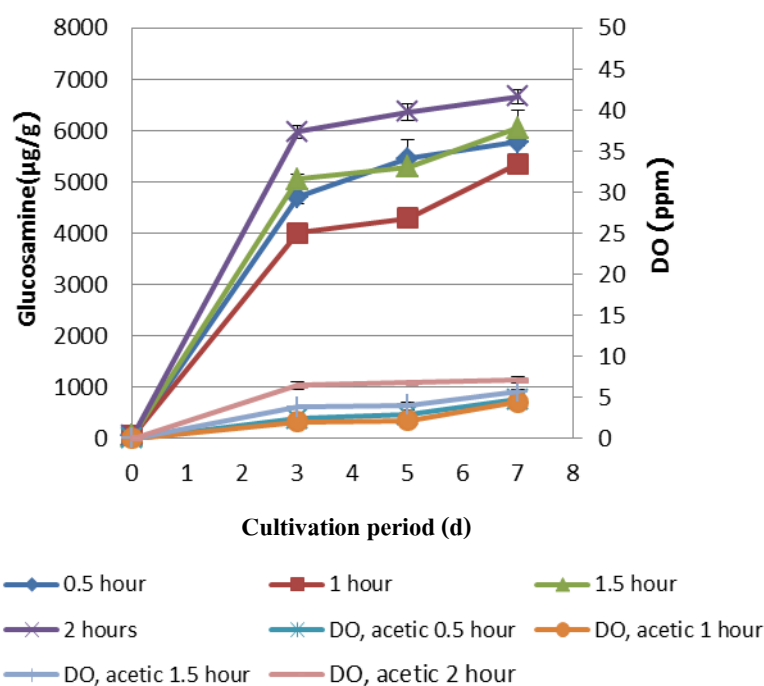
โดยปกติแล้วกรดที่ใช้ในการปรับสภาพมักนิยมใช้เป็นกรดอินทรีย์ ในการศึกษานี้จึงเลือกใช้กรดอะซิติกซึ่งปกติแล้วเป็นกรดที่อยู่ในน้ำส้มสายชู จากรายงานของ Maarten et al.(2009) พบว่า ในระหว่างการปรับสภาพโดยใช้กรดธรรมชาติจะเกิดสารประกอบเฟอฟูรอลจากน้ำตาลไซโลสน้อยกว่าการใช้กรดซัลฟิวริก (หรือกรดกำมะถัน) และยังมีผลทำให้ได้ผลผลิตในปริมาณที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากไม่มีสารยับยั้ง นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยของ Gong et al (2010) ในการใช้กรดอะซิติกที่ความเข้มข้นต่างๆในการปรับสภาพฟางข้าวเพื่อขจัดลิกนินโดยใช้กรดอะซิติกเข้มข้น 6 18 และ 25% เวลาเพียง 3 นาที ควบคู่กับการใช้รังสีไมโครเวฟ 540 Watt เมื่อใช้กรดอะซิติกเข้มข้น 6% พบว่าพื้นที่รอบนอกส่วนใหญ่ของวัตถุดิบถูกทำลายลงในระดับที่สามารถทำให้มีการย่อยเกิดขึ้นได้ง่าย แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 18% อัตราการกำจัดลิกนินเพิ่มสูงขึ้นและแทบจะไม่เพิ่มอีกเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นเป็น 25% หมายความว่าระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกเพียง 6% ก็เพียงพอในการทำลายโครงสร้างฟางข้าว นอกจากนี้จากรายงานของ Qin et al. (2012) การใช้กรดอะซิติกความเข้มข้น 0.3% ในการปรับสภาพใบและชังข้าวโพด (corn stover) ใช้เวลาเพียง 30 นาที (0.5 ชั่วโมง) ก็สามารถกำจัดลิกนินลงไปได้ถึง 21%

สำหรับผลการศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพโดยใช้กรดอะซิติกเข้มข้น 10% ที่เวลา 0.5 1 1.5 และ 2 ดังแสดงผลในภาพที่ 4.5 พบว่า เปลือกข้าวโพดที่ผ่านการปรับสภาพเป็นเวลา 2 ชั่วโมงมีปริมาณกลูโคซามีนสูงสุดเมื่อเทียบผลในแต่ละวันทั้งวันที่ 3 5 และวันที่ 7 อีกทั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับช่วงเวลาอื่นๆ ($p \leq 0.5$) ดังแสดงในภาพที่ 4.8 ส่วนที่เวลา 0.5 และ 1.5 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเทียบผลในแต่ละวัน ($p \geq 0.5$) ทั้งวันที่ 3 5 และ วันที่ 7 และพบว่าการปรับสภาพที่เวลา 1 ชั่วโมง ได้ปริมาณกลูโคซามีนน้อยที่สุด แสดงว่า เชื้อเห็ดขอนขาวสามารถเจริญได้ดีที่สุดในเปลือกข้าวโพดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายกรดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

4.3.6.3 ผลของการปรับสภาพเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งด้วยความร้อน

จากการศึกษาของ Zia-ur-Rehman (2000) พบว่าในการปรับสภาพวัตถุดิบที่ย่อยสลายยากประเภทฟางข้าวโดยใช้ความร้อน เมื่อนำฟางข้าวไปผ่านการปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 121 °ซ (15 psi) เป็นเวลา 30 และ 45 นาที พบว่า ปริมาณเซลลูโลสที่เวลา 30 นาทีมากกว่าที่เวลา 45 นาที แต่ขณะที่ปริมาณเฮมิเซลลูโลสเท่ากันเป็น 18% (dry weight basis) และปริมาณลิกนินที่น้อยที่สุดซึ่งได้รับการปรับสภาพด้วยความร้อนที่ 45 นาที ดังนั้นการศึกษานี้จึงเลือกใช้การใช้ความร้อนลักษณะไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 121 °ซ ที่เวลา 30 (0.5 ชั่วโมง) 45 (0.75 ชั่วโมง) และ 60 นาที (1 ชั่วโมง) เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อเห็ดขอนขาว ทั้งนี้ผลการศึกษแสดงในภาพที่ 4.9 ซึ่งพบว่า เปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งที่ปรับสภาพด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมงมีการเจริญของเห็ดขอนขาวมากกว่าที่ 0.75 ชั่วโมง อย่างมี

นัยสำคัญ ($p \leq 0.5$) ในวันที่ 3 และ 5 แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.5$) ในวันที่ 7 ของการเลี้ยง อย่างไรก็ตามผลการศึกษาที่ได้แตกต่างจากรายงานของ Zia-ur-Rehman (2000) ที่ระบุว่าเวลาที่เหมาะสมในการปรับสภาพด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 121 °ซ คือ เวลา 0.5 ชั่วโมง และรองลงมา คือ ที่เวลา 0.75 ชั่วโมง



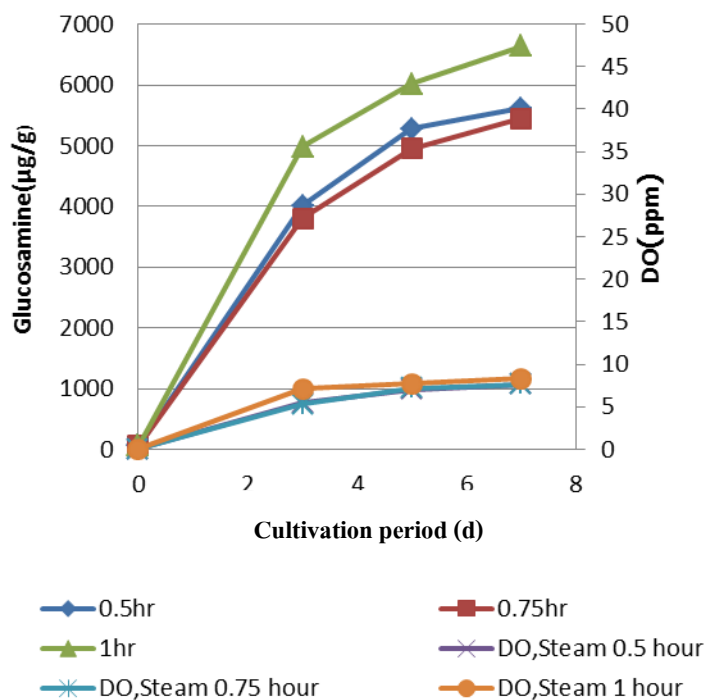
ภาพที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกลูโคซามีนและปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ เมื่อเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งปริมาณ 5% ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายอะซิติกความเข้มข้น 10% เป็นระยะเวลาต่างๆ ในสภาพการเขย่าแบบ Rotary ที่อัตราการเขย่า 100 rpm ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน

4.3.6.4 ผลของการปรับสภาพเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งด้วยไมโครเวฟ

การย่อยสลายวัตถุดิบที่ย่อยสลายยากด้วยรังสีไมโครเวฟนั้น อาศัยหลักการที่รังสีไมโครเวฟจะทำปฏิกิริยากับขั้วโมเลกุลและไอออนในวัตถุดิบซึ่งนิยมใช้ร่วมกับวิธีการปรับสภาพอื่นๆ เช่น การปรับสภาพทางเคมีและปฏิกิริยาชีวภาพได้ นอกจากนี้ยังมีการกล่าวถึงการใช้รังสีไมโครเวฟกับกระบวนการที่ใช้ชีวมวลที่มีเซลลูโลสและมีการพิสูจน์แล้วว่าช่วยในการลดขนาดเซลลูโลสได้ จากงานวิจัยของ Pang et al (2012) แสดงให้เห็นว่ารังสีไมโครเวฟสามารถเปลี่ยนโครงสร้างระดับอัลตราของเซลลูโลสได้ โดยสามารถลด

ขนาดของลิกนินและเฮมิเซลลูโลส และยังช่วยเพิ่มความสามารถของชีวมวลในการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ได้

ในการศึกษานี้ได้ใช้ความร้อนจากไมโครเวฟ กำลังไฟฟ้า 700 วัตต์ โดยใช้ปริมาณเปลือกข้าวโพด 75 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยนำไปเข้าไมโครเวฟเป็นเวลา 25 35 และ 45 นาที เพื่อศึกษาถึงช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อเห็ดขอนขาว ผลการศึกษาดังแสดงในภาพที่ 4.10 พบว่าการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟที่เวลา 25 นาที ได้ปริมาณกลูโคซามีนน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.5$) ทั้งในวันที่ 3



ภาพที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกลูโคซามีนและปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ เมื่อเลี้ยงเห็ดขอน

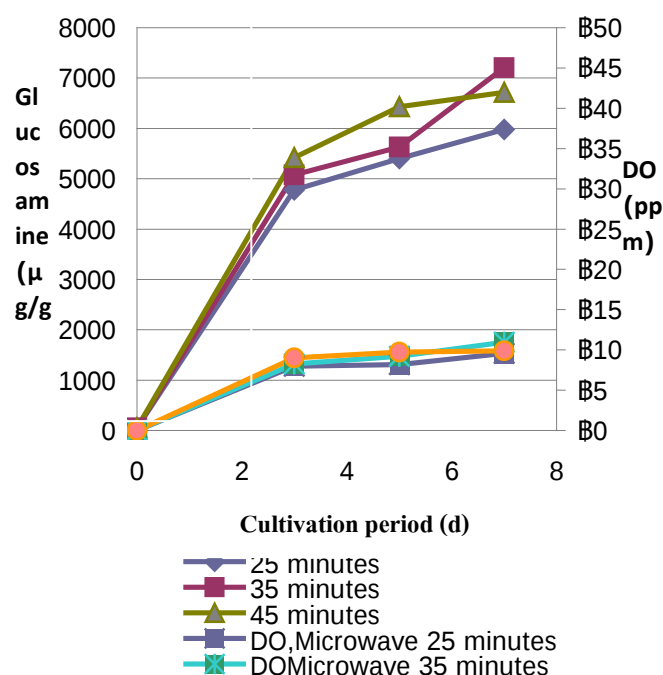
ขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งปริมาณ 5%

ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 121 °ซ ในสภาพการเขย่าแบบ Rotary

ที่อัตราการเขย่า 100 rpm ณ อุณหภูมิ 30±2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน

5 และ 7 ส่วนการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟที่เวลา 35 นาทีนั้น ในวันที่ 3 และ 5 พบว่ามีปริมาณกลูโคซามีนน้อยกว่าที่เวลา 45 นาทีอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.5$) แต่ในวันที่ 7 ปริมาณกลูโคซามีนที่เวลา 35 นาที จะเพิ่มขึ้นอย่างมากโดยมากกว่าที่เวลา 45 นาทีอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.5$) ดังนั้นการเจริญของเชื้อเห็ดขอนขาวในเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งที่ผ่านการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 35 นาที สูงที่สุดโดยเฉพาะในวันที่ 7 ของการเลี้ยงซึ่งต่างออกไปจากงานวิจัยของ Ma et al. (2008) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากช่วงเวลาและกำลังไมโครเวฟที่ใช้ต่างกัน เมื่อใช้เวลาในการปรับสภาพนานขึ้นอาจมีแนวโน้มที่เห็ดขอนขาวสามารถเจริญได้ดี

ขึ้น อย่างไรก็ตามในกรณีที่การเจริญของเห็ดขอนขาวในวันที่ 7 ในการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 45 นาที ให้ปริมาณกลูโคซามีนน้อยกว่าเวลา 35 นาที อาจเนื่องมาจากการปรับสภาพเป็นเวลา 45 นาที อาจทำให้ชีวมวลในเปลือกข้าวโพดถูกย่อยสลายมากกว่าที่เวลา 35 นาที จนทำให้เห็ดขอนขาวเจริญได้ดีกว่าในช่วงแรก แต่ในช่วงวันที่ 6-7 วัตถุดิบที่เชื้อใช้ในการเจริญอาจหมดลง หรือ เกิดการยับยั้งจากเอนไซม์ที่เชื้อปล่อยออกมาเพื่อย่อยวัตถุดิบเอง ทำให้เห็ดขอนขาวไม่สามารถเจริญต่อได้



ภาพที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกลูโคซามีนและปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ เมื่อเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งปริมาณ 5% ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟกำลังไฟฟ้า 700 วัตต์ ระยะเวลาต่างๆ ในสภาพการเขย่าแบบ Rotary ที่อัตราการเขย่า 100 rpm ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน

4.3.6.5 การเปรียบเทียบผลของการปรับสภาพเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งด้วยวิธีต่างๆ ต่อการเจริญของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ในสภาพการเลี้ยงในสภาพอาหารเหลวในระดับฟลasks

ในการเปรียบเทียบผลของการปรับสภาพเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งด้วยวิธีการปรับสภาพด้วย (1) การแช่สารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% (2) การแช่สารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 10% (3) การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 °ซ และ (4) การผ่านไมโครเวฟ กำลังไฟฟ้า 700 วัตต์ โดยอาศัยการติดตามการเจริญของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งที่ผ่าน

การปรับสภาพปริมาณ 5% ในสภาพการเลี้ยงในสภาพอาหารเหลวในระดับฟลask ในสภาพการเขย่าแบบ Rotary ที่อัตราการเขย่า 100 rpm ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน ผลของการเปรียบเทียบแสดงในตารางที่ 4.4 ขณะเดียวกันได้ติดตามกิจกรรมของเอนไซม์ไซลาลเนส (xylanase) และเซลลูเลส (cellulase) ที่สร้างจากเห็ดขอนขาวดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณกลูโคซามีนของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้ง (ปริมาณ 5%) ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆ ในสภาพการเลี้ยงในอาหารเหลวระดับฟลask ในสภาพการเขย่าแบบ Rotary ที่อัตรา 100 rpm ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน

การปรับสภาพเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้ง	ปริมาณกลูโคซามีน* ($\mu\text{g/g}$)
การแช่ในสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% - 0.5 ชั่วโมง - 1.0 ชั่วโมง - 1.5 ชั่วโมง	 5,415.9 ^{cd} $\pm$ 39.7 6,695.4 ^b $\pm$ 29.5 7,890.3 ^a $\pm$ 29.5
การแช่สารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 10% - 0.5 ชั่วโมง - 1.0 ชั่วโมง - 1.5 ชั่วโมง - 2.0 ชั่วโมง	 5,782.4 ^c $\pm$ 08.1 5,356.9 ^d $\pm$ 21.9 6,054.4 ^c $\pm$ 34.3 6,669.7 ^b $\pm$ 38.7
การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 °ซ - 0.5 ชั่วโมง - 0.75 ชั่วโมง - 1.0 ชั่วโมง	 5,618.5 ^c $\pm$ 33.4 5,449.2 ^c $\pm$ 13.3 6,636.4 ^b $\pm$ 22.1
การผ่านไมโครเวฟ กำลังไฟฟ้า 700 วัตต์ - 25 นาที - 35 นาที - 45 นาที	 5,977.4 ^c $\pm$ 32.2 7,203.1 ^b $\pm$ 41.4 6,718.5 ^b $\pm$ 35.7

* ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของกลูโคซามีนที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย Tukey's test

ตารางที่ 4.5 แสดงกิจกรรมเอนไซม์ไฮโดรไลติกและเซลล์ของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้ง (ปริมาณ 5%) ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆ ในสภาพการเลี้ยงในอาหารเหลวระดับพลาสติกในสภาพการเขย่าแบบ Rotary ที่อัตรา 100 rpm ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน

การปรับสภาพเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้ง	กิจกรรมเอนไซม์ ไฮโดรเลส* (U/ml)	กิจกรรมเอนไซม์ เซลล์เลส* (U/ml)
การแช่ในสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% - 0.5 ชั่วโมง - 1.0 ชั่วโมง - 1.5 ชั่วโมง	$0.29^d \pm 0.02$ $0.39^{abc} \pm 0.08$ $0.47^a \pm 0.07$	$0.47^g \pm 0.1$ $0.65^c \pm 0.09$ $0.76^a \pm 0.12$
การแช่สารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 10% - 0.5 ชั่วโมง - 1.0 ชั่วโมง - 1.5 ชั่วโมง - 2.0 ชั่วโมง	$0.33^{cd} \pm 0.03$ $0.29^d \pm 0.07$ $0.36^{cd} \pm 0.08$ $0.39^{abc} \pm 0.09$	$0.58^e \pm 0.08$ $0.46^g \pm 0.05$ $0.61^d \pm 0.11$ $0.64^c \pm 0.15$
การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 °C - 0.5 ชั่วโมง - 0.75 ชั่วโมง - 1.0 ชั่วโมง	$0.30^{cd} \pm 0.04$ $0.37^{bcd} \pm 0.06$ $0.39^{abc} \pm 0.04$	$0.56^{ef} \pm 0.09$ $0.54^f \pm 0.05$ $0.64^c \pm 0.13$
การผ่านไมโครเวฟ กำลังไฟฟ้า 700 วัตต์ - 25 นาที - 35 นาที - 45 นาที	$0.33^{cd} \pm 0.03$ $0.46^{ab} \pm 0.05$ $0.45^{ab} \pm 0.09$	$0.58^e \pm 0.15$ $0.74^a \pm 0.18$ $0.68^b \pm 0.12$

* ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของกิจกรรมเอนไซม์ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย Tukey's test

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.4 และ 4.5 พบว่า การปรับสภาพเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ในสภาพอาหารเหลวในระดับพลาสติกใน

สภาพการแช่แบบ Rotary ที่อัตราการแช่ 100 rpm คือ การแช่ในสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ($p \leq 0.05$)

4.3.7 สารอาหารที่เหมาะสมต่อการสร้างเอนไซม์ไฮไลเนสและเซลลูเลสของเห็ดขอนขาว

L. squarrosulus Mont. LS-YA ที่เลี้ยงในสภาพอาหารเหลวในระดับฟลาस्क

4.3.7.1 ปริมาณน้ำตาลเดกซ์โตรสที่เหมาะสม

นำเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งมาผ่านการแปรสภาพโดยการแช่ในสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ปริมาณ 5% เพื่อเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เลี้ยงในสภาพอาหารเหลวในระดับฟลาस्कโดยใช้การแช่แบบ Rotary ที่อัตรา 100 rpm ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °C ทั้งนี้ทำการศึกษาถึงปริมาณน้ำตาลเดกซ์โตรสในปริมาณ 0 1 2 3 4 และ 5% โดยติดตามปริมาณกลูโคซามีน กิจกรรมเอนไซม์ไฮไลเนสและเซลลูเลสของเห็ดขอนขาว ทั้งนี้ผลการศึกษแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 แสดงผลของปริมาณน้ำตาลเดกซ์โตรสต่อปริมาณกลูโคซามีน กิจกรรมเอนไซม์ไฮไลเนสและเซลลูเลสของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้ง (ปริมาณ 5%) ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่สารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ในสภาพการเลี้ยงในอาหารเหลวระดับฟลาस्कโดยใช้การแช่แบบ Rotary ที่อัตรา 100 rpm ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน

น้ำตาลเดกซ์โตรส (%)	ปริมาณกลูโคซามีน* ($\mu\text{g/g}$)	กิจกรรมเอนไซม์ไฮไลเนส* (U/ml)	กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส* (U/ml)
0	4,895.3 ^c ±36.4	0.72 ^c ±0.04	0.57 ^b ±0.21
1	7,016.0 ^d ±48.7	1.62 ^d ±0.51	1.25 ^b ±0.54
2	7,317.3 ^d ±31.3	3.60 ^c ±0.20	2.69 ^a ±0.43
3	8,080.7 ^c ±24.6	4.49 ^b ±0.08	2.74 ^a ±0.32
4	8,583.0 ^b ±37.0	5.25 ^{ba} ±0.31	2.76 ^a ±0.43
5	8,956.0 ^a ±29.9	5.36 ^a ±0.42	3.42 ^a ±0.27

*ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย Tukey's test

จากผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 4.6 สังเกตได้ว่าน้ำตาลเด็คซโตรสมีความสำคัญต่อการเจริญและการสร้างเอนไซม์ของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายต่าง โดยที่ความเข้มข้นน้ำตาลเด็คซโตรสที่เหมาะสม คือ 5%

4.3.7.2 ปริมาณ Diammonium hydrogen phosphate (DAP) ที่เหมาะสม

นำเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งมาผ่านการแปรสภาพโดยการแช่ในสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ปริมาณ 5% เพื่อเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เลี้ยงในสภาพอาหารเหลวในระดับฟลาस्कโดยใช้การเขย่าแบบ Rotary ที่อัตรา 100 rpm ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ ทั้งนี้เติมปริมาณน้ำตาลเด็คซโตรสในปริมาณ 5% พร้อมทั้งศึกษาถึงปริมาณของ DAP ในระดับ 0 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5% โดยติดตามปริมาณกลูโคซามีน กิจกรรมเอนไซม์ ไซลานเนสและเซลลูเลสของเห็ดขอนขาว ทั้งนี้ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 แสดงผลของปริมาณ Diammonium hydrogen phosphate ต่อปริมาณกลูโคซามีน กิจกรรมเอนไซม์ ไซลานเนสและเซลลูเลสของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้ง (ปริมาณ 5%) ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่สารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ในสภาพการเลี้ยงในอาหารเหลวระดับฟลาस्कที่เติมน้ำตาลเด็คซโตรส 5% ในสภาพเขย่าแบบ Rotary ที่อัตรา 100 rpm ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °ซ เป็นเวลา 7 วัน

Diammonium hydrogen phosphate (%)	ปริมาณกลูโคซามีน* ($\mu\text{g/g}$)	กิจกรรมเอนไซม์ ไซลานเนส* (U/ml)	กิจกรรมเอนไซม์ เซลลูเลส* (U/ml)
0	$3,962.1^c \pm 21.0$	$0.46^c \pm 0.03$	$0.69^d \pm 0.10$
0.1	$6,444.1^a \pm 12.1$	$0.95^a \pm 0.12$	$1.18^a \pm 0.21$
0.2	$6,341.5^a \pm 16.7$	$0.90^{ab} \pm 0.09$	$1.10^{ab} \pm 0.32$
0.3	$5,531.3^{ab} \pm 25.8$	$0.80^b \pm 0.3$	$0.96^{abc} \pm 0.05$
0.4	$5,192.8^{abc} \pm 30.0$	$0.61^c \pm 0.52$	$0.90^{bcd} \pm 0.07$
0.5	$4,792.8^{bc} \pm 14.4$	$0.59^c \pm 0.24$	$0.79^{cd} \pm 0.04$

*ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบ โดย Tukey's test

จากผลการศึกษาในตารางที่ 4.7 พบว่า ความเข้มข้นของ DAP ในระดับ 0.1% ให้ปริมาณกลูโคซามีน กิจกรรมเอนไซม์ไลลาเนสและเซลลูเลสของเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นความเข้มข้นของ DAP ที่เหมาะสมคือ 0.1% (w/v)

4.4 การเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont LS-YA ในอาหารเหลวในถังหมักระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศขนาด 10 ลิตร

นำเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้งซึ่งผ่านการแปรสภาพโดยการแช่ในสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ปริมาณ 5% เติมนลงในอาหารเหลว Basal medium (Gbolagade et al., 2006) ประกอบด้วย (กรัมต่อลิตร) KH_2PO_4 0.05, MgSO_4 0.05, FeSO_4 0.01, KNO_3 1.55 ปริมาตร 5 ลิตร จากนั้นจึงเติมน้ำตาลเค็กชโตรส 250 กรัม และ DAP 5 กรัม เพื่อเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เลี้ยงในถังหมักระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศขนาด 10 ลิตร (ดังแสดงในภาพที่ 3.2ข) ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °C โดยติดตามปริมาณกลูโคซามีน กิจกรรมเอนไซม์ไลลาเนสและเซลลูเลส และน้ำตาลไซโลส ทั้งนี้ ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 4.8

อย่างไรก็ตามก่อนที่จะนำถังหมักระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศขนาด 10 ลิตร มาใช้ในการศึกษาการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ได้ทดสอบประสิทธิภาพการให้อากาศโดยอาศัยการวัดค่า Volumetric mass transfer coefficient ($k_L a$) ด้วยวิธีการ Sodium sulfite oxidation method (ASCE, 2007) พบว่า ค่า $k_L a$ ของถังหมักที่ใช้ (ใช้น้ำหมักปริมาตร 5 ลิตร) เท่ากับ 0.21 ± 0.02 โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 92% อย่างไรก็ตามเนื่องจากข้อจำกัดของขนาดปั๊มที่ใช้การถังหมักดันแบบจึงทำให้ปริมาณอากาศที่เข้าในระบบมีความจำกัดได้เพียงเท่านี้ ระบบการหมักไม่สามารถเพิ่มค่าระดับความดันได้

จากผลการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ได้ในถังหมักระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศขนาด 10 ลิตร ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน พบว่า เห็ดขอนขาวสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็ว โดยพิจารณาได้จากปริมาณกลูโคซามีน กิจกรรมเอนไซม์ไลลาเนสและเซลลูเลส (ตารางที่ 4.8) ซึ่งมีปริมาณสูงตั้งแต่การเลี้ยงใน 3 วันแรก และสูงขึ้นเรื่อยๆอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงนานขึ้น โดยที่ระยะเวลา 7 วัน มีปริมาณกลูโคซามีนของเห็ดขอนขาวสูงถึง $11,555.2 \pm 18.4$ $\mu\text{g/g}$ ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ไลลาเนสและเซลลูเลสเท่ากับ 6.08 ± 0.22 และ 4.17 ± 0.02 U/ml ตามลำดับ ผลจากที่มีเอนไซม์ไลลาเนสสูงจึงทำให้ได้รับน้ำตาลไซโลสเท่ากับ 0.22 ± 0.001 mg/ml

ผลการศึกษาที่ได้นี้บ่งชี้ถึงความเป็นไปได้ที่จะทำการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ในระบบอาหารเหลวได้อย่างชัดเจน

ตารางที่ 4.8 แสดงผลของการเลี้ยงเห็ดขอนขาว *L. squarrosulus* Mont. LS-YA ที่เจริญบนเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนอบแห้ง (ปริมาณ 5%) ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการแช่สารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1% เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ต่อปริมาณกลูโคซามีน กิจกรรมเอนไซม์ไฮโดรเลสและเซลลูเลส และน้ำตาลไซโลสในสภาพอาหารเหลวในถังหมักระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศขนาด 10 ลิตร* ณ อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน

ระยะเวลาการเลี้ยง (วัน)	ปริมาณ กลูโคซามีน* ($\mu\text{g/g}$)	กิจกรรมเอนไซม์ ไฮโดรเลส** (U/ml)	กิจกรรมเอนไซม์ เซลลูเลส** (U/ml)	น้ำตาลไซโลส** (mg/ml)
0	$15.2^{\circ} \pm 3.1$	0°	0°	0°
1	$1,689.3^{\text{d}} \pm 20.5$	$1.89^{\text{d}} \pm 0.18$	$0.92^{\text{d}} \pm 0.21$	$0.01^{\text{d}} \pm 0.0007$
3	$5,467.6^{\text{c}} \pm 32.6$	$5.17^{\text{c}} \pm 0.28$	$3.74^{\text{c}} \pm 0.03$	$0.08^{\text{c}} \pm 0.0004$
5	$8,765.8^{\text{b}} \pm 20.1$	$5.77^{\text{b}} \pm 0.32$	$3.96^{\text{b}} \pm 0.03$	$0.16^{\text{b}} \pm 0.0006$
7	$11,555.2^{\text{a}} \pm 18.4$	$6.08^{\text{a}} \pm 0.22$	$4.17^{\text{a}} \pm 0.02$	$0.22^{\text{a}} \pm 0.001$

*ค่า k_{La} ของถังหมักที่ใช้ (ใช้น้ำหมักปริมาตร 5 ลิตร) เท่ากับ 0.21 ± 0.02 โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 92% อย่างไร

**ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย Tukey's test