

การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยกากน้ำตาล

DEVELOPMENT OF CULTURE MEDIA FOR *CORDYCEPS MILITARIS* CULTIVATION WITH MOLASSES

ณัฐพงษ์ สิงห์พอง* และ รัตนะ ยศเมธากุล

Natthapong Singpoonga*, and Rattana Yosmethakun

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์

Faculty of Science and Technology, Nakhon Sawan Rajabhat University

*corresponding author e-mail: natthapong.s@nsru.ac.th

(Received: 4 February 2022; Revised: 11 March 2022; Accepted: 14 March 2022)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสูตรอาหารที่ผสมกากน้ำตาลและแหล่งโปรตีนที่เป็นดักแด้ไหมและนมผงต่อผลผลิตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design) จำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ขวด ทำการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันจำนวน 14 สูตร เป็นเวลา 65 วัน ผลการศึกษา พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่ 10 (ข้าวเส้าให้ 30 กรัม ผสมกากน้ำตาลที่ความเข้มข้นร้อยละ 5% โดยมีมวลต่อปริมาตร (w/v) 50 มิลลิลิตร และดักแด้ไหม 5 กรัม) เป็นสูตรอาหารที่ทำให้เห็ดถั่งเช่าสีทองมีการเจริญเติบโตให้ผลผลิตและผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ในปริมาณสูงสุด โดยมีจำนวนดอกเฉลี่ย 61.15 ดอก/ขวด และมีน้ำหนักสดโดยเฉลี่ย 42.39 กรัม/ขวด ก้านดอกเห็ดมีลักษณะยาวมากสูตรอาหารอื่นๆ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.44 เซนติเมตร สีของเห็ดมีค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) โดยเฉลี่ยเท่ากับ 56.27 23.76 และ 47.81 ตามลำดับ ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารอะดีโนซีนและสารคอร์โดเซปินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1,853.85 และ 2,255.47 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง กากน้ำตาล สูตรอาหารเพาะเลี้ยง

Abstract

The objective of this study was studied to effect of culture medium mixed with molasses and protein sources that were silkworm pupa and milk powder on yield and bioactive compound production of *Cordyceps militaris*. The experiment design was done by using

Completely Randomized Design with 3 replications, 3 bottles each. *C. militaris* was cultivated on 14 formulas solid media for 65 days. Results showed that the formula 10 (30 g of Sao Hai rice mixed with 50 mL of molasses 5% w/v and 5 g of silkworm pupa) showed the highest yield and bioactive compound production. The number of fruiting bodies and fresh weight had 61.15 fruit bodies/bottle and 42.39 g/bottle, respectively. The shape of fruiting bodies was longer than fruiting bodies in other formulas (6.44 cm). The color that expressed in lightness (L*), red (a*) and yellow (b*) were 56.27, 23.67 and 47.81, respectively. The content of bioactive components, adenosine and cordycepin were 1,853.85 and 2,255.47 mg/kg, respectively.

Keywords: *Cordyceps militaris* cultivation, Molasses, Culture media

บทนำ

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) เป็นเชื้อราปรสิตของแมลง (Entomofungus) จัดอยู่ในกลุ่ม Ascomycetes เห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นที่รู้จักมาตั้งแต่อดีตกาล ชาวจีนเชื่อว่าเป็นยาอายุวัฒนะใช้รักษาสารพัดโรค จากการศึกษาค้นคว้าทางเภสัชวิทยา พบว่า เห็ดถั่งเช่าสีทองมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด แต่การวัดคุณภาพของเห็ดถั่งเช่าในทางการค้าจะวัดจากปริมาณของสารอะดีโนซีน (Adenosine) และสารคอร์โดเซปิน (Cordycepin หรือ 3'-deoxyadenosine) (Li et al., 2006) ซึ่งอะดีโนซีนเป็นสารสำคัญที่ช่วยป้องกันและรักษาภาวะโรคหัวใจล้มเหลว (Kitakaze & Hori, 2000) ส่วนคอร์โดเซปินมีฤทธิ์ช่วยเพิ่มพลังภายในร่างกาย มีคุณสมบัติบำรุงไตและปอด (Nakamura et al., 2005) ช่วยต้านอนุมูลอิสระ (Li et al., 2006) ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Yu et al., 2006) ช่วยในการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง (Schmidt et al., 2003) กระตุ้นการไหลเวียนของโลหิต ช่วยรักษาสมดุลของคลอเรสเตอรอลในหลอดเลือด และลดการอักเสบ (Kim et al., 2010) ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (Lee et al., 2012) สามารถต้านการเกิดเนื้องอก (Dai et al., 2001) และต้านมะเร็ง (Yoshikawa et al., 2004; Weil & Chen, 2011) และเชื่อว่ามีสรรพคุณที่ช่วยเพิ่มสมรรถนะทางเพศได้ (Lim et al., 2012)

การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในเชิงพาณิชย์ส่วนใหญ่นิยมเพาะเลี้ยงในอาหารธัญพืชที่ผสมอาหารเหลว Potato dextrose broth; PDB ในการทดลองครั้งนี้เลือกข้าวขาวเส้าให้เป็นธัญพืชหลักซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนสำคัญ เนื่องจากมีปริมาณอะมิโลสสูงถึง 26–35% (สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, 2558) และเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น ธัญญา และคณะ (2557) รายงานว่า เห็ดถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ CMRU ที่เพาะเลี้ยงในเมล็ดข้าวขาวเส้าให้ผลผสมข้าวโพดบด ซูโครส และวิตามินบี 1 ในระยะเวลา 56 วัน ให้ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์โดเซปิน

สูงสุดเฉลี่ย 888.70 และ 8,243.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ สำหรับวัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนสำคัญ ได้แก่ ยีสต์สกัด เปปโตน เนื้อสกัด ไข่ ดักแด่ใหม่ มันฝรั่งสด นมผง เป็นต้น โดยในการศึกษารังนี้ได้เลือกใช้วัตถุดิบที่เป็นดักแด่ใหม่ และนมผงเป็นแหล่งไนโตรเจน เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ได้แก่ โปรตีน วิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด (นันทยา และคณะ, 2549) Masuda et al., (2006) รายงานว่า การใช้ยีสต์สกัดเปปโตน และกรดคาซามิโน (Casamino acid) เป็นแหล่งไนโตรเจน และใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า ได้ปริมาณสารคอร์โดเซปินสูงสุด อย่างไรก็ตามวัตถุดิบที่เป็นยีสต์สกัด และเปปโตนยังมีข้อจำกัดในเรื่องของราคาที่สูง ทำให้ต้นทุนการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองสูงขึ้นตามไปด้วย

กากน้ำตาล (Molasses) เป็นวัตถุดิบที่เหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมน้ำตาลที่มีราคาถูกอุดมไปด้วยแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนสูง โดยมีแหล่งพลังงานในรูปของน้ำตาลซูโครส และน้ำตาลรีดิซซ์ประมาณ 50-60% ของของแข็ง (ละลาย) ทั้งหมด ปริมาณไนโตรเจนประมาณ 20% ของของแข็ง (ละลาย) ทั้งหมด และมีปริมาณของวิตามินอยู่เล็กน้อย (Stoppok & Buchholz, 1993) จึงนิยมนำมาใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในอุตสาหกรรมหมัก จากข้อมูลการเพาะเลี้ยงเห็ดเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ เช่น เห็ดนางฟ้า เห็ดฟาง เห็ดหลินจือ เห็ดโคนญี่ปุ่น มีการนำกากน้ำตาลมาผสมในกับวัตถุดิบอื่นๆ เพื่อช่วยเพิ่มผลผลิตให้มากขึ้น ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการนำกากน้ำตาลมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองอย่างชัดเจน

จากเหตุผลดังกล่าว ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำกากน้ำตาลมาผสมกับวัตถุดิบหลักอื่นๆ เพื่อพัฒนาเป็นสูตรอาหารทางเลือกใหม่สำหรับเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองทดแทนสูตรอาหารดั้งเดิมที่เพาะเลี้ยงกันอยู่ทั่วไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ทำการเตรียมเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยนำเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*C. militaris*) ที่ได้รับจาก บริษัท ถั่งเช่าทองคำ จำกัด จังหวัดปทุมธานี มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง Potato dextrose agar; PDA ประกอบด้วย มันฝรั่ง 200 กรัม กลูโคส 20 กรัม ยีสต์สกัด 5 กรัม เปปโตน 5 กรัม และผงวุ้นบริสุทธิ 15 กรัม ในปริมาณต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่า pH ที่ 6.5 นำไปบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 22°C เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว PDB โดยประกอบด้วยส่วนผสมเช่นเดียวกับอาหาร PDA แต่ไม่ใส่ผงวุ้น เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่า (Shaker) ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ในที่มืดที่อุณหภูมิ 22°C เป็นเวลา 14 วัน จะได้หัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว

2. การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารแข็งธัญพืชข้าวผสมกากน้ำตาล

เตรียมวัตถุดิบเพื่อใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ได้แก่ ข้าวขาวเส้าให้กากน้ำตาลที่ผสมกับน้ำสะอาดให้มีความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 5% 10% 15% และ 20% (w/v) นมผงเด็ก (ยี่ห้อคูเม็กซ์ สูตร 2) ดักแด่ใหม่ และอาหารเหลว PDB ผสมวัตถุดิบในปริมาณที่แตกต่างกันของแต่ละสูตร จำนวน 13 สูตร และสูตรควบคุม (Control) ที่มีการเติมยีสต์สกัดและเปปโตเนเป็นส่วนผสมในอาหารเหลว PDB จำนวน 1 สูตร ดังตารางที่ 1 ลงในขวดแก้วขนาด 32 ออนซ์ หนึ่งซ้าเชื้อในหม้อหนึ่งความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ทำการหยอดเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เตรียมไว้แล้วลงไปปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อขวด ปิดฝาขวดแล้วนำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิ 22°C ความชื้นสัมพัทธ์ 60–70% บันทึกรูปผลการเจริญของเส้นใย ทำการกระตุ้นให้เกิดปุ่มดอกเห็ดโดยปรับลดอุณหภูมิห้องเพาะเลี้ยงที่ 18°C และให้แสงวันละ 12 ชั่วโมง จนกระทั่งเริ่มมีตุ่มดอกเกิดขึ้นแล้วทำการบันทึกผล จากนั้นเพาะเลี้ยงให้ตุ่มดอกเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 22°C ความชื้นสัมพัทธ์ 80–90% ให้แสง วันละ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 65 วัน โดยเตรียมการเพาะเลี้ยงจำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 3 ขวด

ตารางที่ 1 อัตราส่วนของวัตถุดิบที่แตกต่างกันของแต่ละสูตรอาหาร

สูตรอาหาร	ข้าวเส้าให้ (กรัม)	วัตถุดิบ							
		กากน้ำตาลผสมน้ำ (มล.)					นมผง (กรัม)	ดักแด่ใหม่ (มล.)	PDB (มล.)
		0%	5%	10%	15%	20%			
Control	30	-	-	-	-	-	-	5	50
สูตรที่ 1	30	50*	-	-	-	-	-	-	-
สูตรที่ 2	30	-	50	-	-	-	-	-	-
สูตรที่ 3	30	-	-	50	-	-	-	-	-
สูตรที่ 4	30	-	-	-	50	-	-	-	-
สูตรที่ 5	30	-	-	-	-	50	-	-	-
สูตรที่ 6	30	-	50	-	-	-	1	-	-
สูตรที่ 7	30	-	-	50	-	-	1	-	-
สูตรที่ 8	30	-	-	-	50	-	1	-	-
สูตรที่ 9	30	-	-	-	-	50	1	-	-
สูตรที่ 10	30	-	50	-	-	-	-	5	-
สูตรที่ 11	30	-	-	50	-	-	-	5	-
สูตรที่ 12	30	-	-	-	50	-	-	5	-
สูตรที่ 13	30	-	-	-	-	50	-	5	-

*ใส่เฉพาะน้ำเปล่า 50 มล.

3. การประเมินผลผลิตและการวัดคุณสมบัติทางกายภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3.1 ประเมินผลด้านการเจริญเติบโตของเส้นใย ได้แก่ ระยะเวลาที่เส้นใยเจริญเต็มอาหารเพาะเลี้ยง โดยเริ่มนับตั้งแต่วันที่ถ่ายเชื้อจนกระทั่งเส้นใยเจริญเต็มผิวหน้าอาหาร ระยะที่เส้นใยเจริญเป็นตุ่มดอก โดยเริ่มนับตั้งแต่วันที่ถ่ายเชื้อจนกระทั่งเส้นใยเจริญเติบโต พอร์มตัวเป็นตุ่มดอกลักษณะเป็นหนามเล็กๆ

3.2 ประเมินผลด้านการให้ผลผลิต ได้แก่ จำนวนดอก และน้ำหนักสดของดอกเห็ด โดยนำเห็ดที่เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 65 วัน หลังจากหยุดเชื้อ ทำการเปิดฝาขวดเพาะเลี้ยงและนำผลผลิตออกมาทั้งชิ้นแล้ววางบนภาชนะที่สะอาด ใช้มือตีก้านเห็ดถั่งเช่าสีทองออกมาเรียงกันในภาชนะที่สะอาดให้ถึงโคนต้นหรืออยู่ในสภาพที่สมบูรณ์ด้วยความระมัดระวังแล้วนับทุกดอกและหาค่าเฉลี่ย จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักสดและหาค่าเฉลี่ย

3.3 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของดอกเห็ด ได้แก่ วัดความยาวก้านดอก ทุกดอกของแต่ละขวดแล้วหาค่าเฉลี่ยในหน่วยเซนติเมตร และวัดค่าสีเพื่อประเมินคุณลักษณะจำเพาะด้านสีของเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเครื่องวัดสี (Minolta Model DP-1000, USA) โดยแสดงผลค่าความสว่างด้วยค่า L^* ค่าสีแดงด้วยค่า a^* และค่าสีเหลืองด้วยค่า b^*

4. การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

วิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง 2 ชนิด คือ สารอะดีโนซีนและสารคอร์โดเซปินตามวิธีการของ Huang et al. (2009) ดังนี้

4.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ นำดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงได้เป็นเวลา 65 วัน หลังจากหยุดเชื้อ อบแห้งด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นบดให้ละเอียดแล้วชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายเมทานอล ความเข้มข้น 50% (v/v) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (Vortex mixer) นำไปแช่ในเครื่องอัลตราซาวด์ (Ultrasonic bath) เป็นเวลา 30 นาที และแยกสารละลายส่วนใส โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,900 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสเก็บไว้ ทำการสกัดตัวอย่างสองรอบ เสร็จสกัดที่ได้รวมกันและบันทึกปริมาตร กรองสารสกัดหยาบที่ได้ผ่านเมมเบรนที่มีรูพรุนขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ในขวดเก็บสารเพื่อเตรียมวิเคราะห์ต่อไป

4.2 การวิเคราะห์หาสารอะดีโนซีนและคอร์โดเซปิน นำสารสกัดหยาบที่เตรียมได้มาแยกและวิเคราะห์หาปริมาณสารอะดีโนซีนและสารคอร์โดเซปินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) (Shimadzu, Japan) คอลัมน์ชนิด C18 ใช้ตัวตรวจวัดสัญญาณ (Detector) เป็น UV ที่กำหนดความยาวคลื่นเท่ากับ 254 นาโนเมตร โดยมีสภาวะที่ใช้สำหรับแยกสาร ได้แก่ สารละลายเคลื่อนที่ (Mobile phase) คือ

น้ำและสารละลายเมทานอลในอัตราส่วน 90 : 10 (V/V) อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณสารที่ฉีดเท่ากับ 20 ไมโครลิตร อุณหภูมิของช่องใส่คอลัมน์เท่ากับ 30°C ใช้สารมาตรฐานอะดีโนซีนและสารคอร์โดเซพินของบริษัท Sigma Chemical Corporation โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานอะดีโนซีนและสารคอร์โดเซพินในช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 0–50 ppm และ 0–100 ppm ตามลำดับ

5. การวิเคราะห์ผล

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test; DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 15

ผลการวิจัย

1. ผลการเจริญของเส้นใยและการพัฒนาเป็นตุ่มดอก

ผลการเจริญของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงแต่ละสูตรที่แตกต่างกันทั้ง 13 สูตร และสูตรควบคุม (Control) 1 สูตร พบว่า สูตรที่ 6 10 1 และ 2 เป็นสูตรอาหารที่เส้นใยเจริญเต็มอาหารเพาะเร็วที่สุด โดยใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 10.25 10.27 10.29 และ 10.52 วัน ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับสูตร Control ที่ใช้ระยะเวลา 10.03 วัน ในขณะที่สูตรอาหารที่เส้นใยเจริญเต็มอาหารเพาะช้าที่สุด ได้แก่ สูตรที่ 5 13 และ 9 โดยใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 18.93 19.26 และ 19.44 วัน ตามลำดับ ดังตารางที่ 2 และจากการสังเกตเส้นใยที่เจริญบนอาหารทุกสูตรพบว่า มีลักษณะสีขาวนวลเต็มพื้นผิวอาหาร

ผลของระยะเวลาที่เส้นใยเจริญพัฒนาไปเป็นตุ่มดอกเมื่อได้รับแสง พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่ 1 6 10 และ 2 เป็นสูตรอาหารที่ทำให้เส้นใยพัฒนาเป็นตุ่มดอกได้เร็วที่สุด โดยใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 20.28 20.33 20.39 และ 20.41 วัน ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับสูตร Control ที่ใช้ระยะเวลา 20.07 วัน ในขณะที่สูตรอาหารที่เส้นใยพัฒนาเป็นตุ่มดอกช้าที่สุด ได้แก่ สูตรที่ 5 9 และ 13 โดยใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 29.27 29.34 และ 29.45 วัน ตามลำดับ และจากการสังเกตเส้นใยที่เจริญบนทุกสูตรอาหาร พบว่า เส้นใยเริ่มเปลี่ยนสีจากสีขาวนวลเป็นสีเหลืองส้มเต็มพื้นผิวอาหารเมื่อได้รับแสง

2. ผลผลิตการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ผลผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในแต่ละสูตรอาหารที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 65 วัน หลังจากถ่ายเชื้อ โดยประเมินผลจากจำนวนดอกต่อขวด และน้ำหนักสดต่อขวดจากการทดลอง พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่ 10 ทำให้เกิดจำนวนดอกและได้น้ำหนักสดมากที่สุด โดยมีจำนวนดอกเฉลี่ยเท่ากับ 61.15 ดอกต่อขวด มีน้ำหนักสดเฉลี่ยเท่ากับ 42.39 กรัมต่อขวด ตามลำดับ รองลงมา คือ สูตร Control และสูตรที่ 6 มีจำนวนดอกเฉลี่ย 52.67 และ 52.93 ดอกต่อ

ขวด ตามลำดับ มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 35.65 และ 36.33 กรัมต่อขวด ตามลำดับ ดังตารางที่ 2 และภาพที่ 1 (ก-ค) ในขณะที่สูตรที่ 5 9 และ 13 ให้จำนวนดอกน้อยที่สุด โดยมีจำนวนดอกเฉลี่ยเท่ากับ 14.98, 17.45 และ 18.40 ดอกต่อขวด ตามลำดับ มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 11.18 11.73 และ 12.12 กรัมต่อขวด ตามลำดับ ดังตารางที่ 2 และภาพที่ 1(ง-ฉ)

3. คุณสมบัติทางกายภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3.1 ความยาวของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ความยาวของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในแต่ละสูตรอาหารที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 65 วัน หลังจากถ่ายเชื้อ พบว่า มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 3.62–6.44 เซนติเมตร โดยสูตรที่ 10 มีความยาวมากที่สุดเฉลี่ย 6.44 เซนติเมตร รองลงมา คือ สูตรที่ 6 11 และสูตร Control มีความยาวเฉลี่ย 5.49 5.38 และ 5.36 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สูตรที่ 5 9 และ 13 เห็ดมีความยาวเฉลี่ยน้อยที่สุดเฉลี่ย 3.62 3.73 และ 3.76 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ระยะเวลาในการเจริญ ผลผลิต และคุณสมบัติทางกายภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน

สูตรอาหาร	ระยะเวลา		ผลผลิต	
	เส้นใยเต็มผิวหน้าอาหาร (วัน)	เกิดตุ่มดอก (วัน)	จำนวนดอกต่อขวด (ดอก)	น้ำหนักสดต่อขวด (กรัม)
Control	10.03±0.61 ^e	20.07±0.64 ^e	52.67±1.46 ^b	35.65±0.40 ^b
สูตรที่ 1	10.29±0.17 ^e	20.28±0.12 ^e	48.35±1.15 ^c	26.37±0.98 ^c
สูตรที่ 2	10.52±0.23 ^e	20.41±0.14 ^e	45.08±3.55 ^{cd}	22.44±1.10 ^d
สูตรที่ 3	13.41±0.12 ^{cd}	23.44±0.21 ^c	34.82±2.31 ^e	17.33±0.90 ^e
สูตรที่ 4	16.63±0.44 ^b	26.41±0.14 ^b	22.95±1.98 ^f	15.66±0.76 ^f
สูตรที่ 5	18.93±0.71 ^a	29.27±0.16 ^a	14.98±1.26 ^g	11.18±0.85 ^g
สูตรที่ 6	10.25±0.16 ^e	20.33±0.21 ^e	52.93±2.53 ^b	36.33±0.47 ^b
สูตรที่ 7	13.98±0.37 ^c	22.84±1.04 ^{cd}	42.46±3.36 ^d	23.35±0.85 ^d
สูตรที่ 8	16.89±0.35 ^b	26.91±0.52 ^b	24.62±2.66 ^f	15.53±0.89 ^f
สูตรที่ 9	19.44±0.17 ^a	29.34±0.14 ^a	17.45±0.71 ^g	11.73±0.57 ^g
สูตรที่ 10	10.27±0.25 ^e	20.39±0.42 ^e	61.15±3.15 ^a	42.39±1.27 ^a
สูตรที่ 11	13.04±0.64 ^d	22.42±0.16 ^d	47.97±2.44 ^c	26.10±0.47 ^c
สูตรที่ 12	16.21±0.86 ^b	26.48±0.24 ^b	35.96±2.46 ^e	16.79±0.38 ^{ef}
สูตรที่ 13	19.26±0.25 ^a	29.45±0.17 ^a	18.40±0.98 ^g	12.12± 0.25 ^g



ภาพที่ 1 ลักษณะเห็ดถั่งเช่าสีทองเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 65 วัน หลังจากถ่ายเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยง ก) สูตรที่ 10 ข) สูตร Control ค) สูตรที่ 6 ง) สูตรที่ 5 จ) สูตรที่ 9 และ ฉ) สูตรที่ 13

3.2 สีของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

สีของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในแต่ละสูตรอาหารที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 65 วัน หลังจากถ่ายเชื้อ ให้ผลทดลองดังตารางที่ 3 โดยพบว่า

ค่าความสว่าง (L^*) มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 55.62–64.50 โดยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่ 4 2 1 3 และ 5 แสดงค่าความสว่าง (L^*) มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอื่นๆ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 64.50 64.45 64.23 64.22 และ 63.93 ตามลำดับ ในขณะที่สูตรที่ 11 6 10 Control และ 10 แสดงค่าความสว่าง (L^*) น้อยที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 55.62 56.09 56.27 56.27 และ 56.29 ตามลำดับ

ค่าสีแดง (a^*) มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 18.51–23.76 โดยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่ 10 6 12 Control 11 และ 7 แสดงค่าสีแดง (a^*) มากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 23.76 23.73 23.41 23.30 23.26 และ 23.15 ตามลำดับ ในขณะที่สูตรที่ 4 5 3 2 และ 1 แสดงค่าสีแดง (a^*) น้อยที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18.51 18.53 18.77 18.82 และ 19.17 ตามลำดับ

ค่าสีเหลือง (b^*) มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 28.15–47.81 ซึ่งให้ผลการทดลองในลักษณะเดียวกับผลการทดลองของค่าสีแดง คือ เห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่ 10 6 7 12 Control และ 6 แสดงค่าสีเหลือง (b^*) มากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 47.81

47.47 47.35 47.19 47.13 และ 47.06 ในขณะที่สูตรที่ 4 5 2 3 และ 1 แสดงค่าสีเหลือง (b*) น้อยที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 28.15 28.16 28.19 28.25 และ 28.37 ตามลำดับ

4. ผลของปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 2 ชนิด คือ สารอะดีโนซีน และสารคอร์โดเซปิน ของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงได้ในแต่ละสูตรอาหารที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 65 วัน หลังจากถ่ายเชื้อ ดังตารางที่ 3 โดยพบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 10 มีปริมาณสารอะดีโนซีนสูงที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1,853.85 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รองลงมา คือ สูตรที่ 11 และ 6 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1,764.33 และ 1,713.28 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ อาหารสูตร Control มีปริมาณสารอะดีโนซีนน้อยกว่าทั้ง 3 สูตรที่กล่าวมา โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1,489.86 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่อาหารสูตรที่ 5 และ 4 มีปริมาณสารอะดีโนซีนน้อยที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 942.82 และ 964.85 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

สำหรับปริมาณสารคอร์โดเซปินนั้น พบว่า เห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหาร สูตรที่ 10 มีปริมาณสารคอร์โดเซปินสูงที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2,255.47 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รองลงมา คือ สูตรที่ 11 และ 6 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2,057.06 และ 1,923.74 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ อาหารสูตร Control มีปริมาณสารคอร์โดเซปินน้อยกว่าทั้ง 3 สูตรที่กล่าวมา โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1,817.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่อาหารสูตรที่ 5 มีปริมาณสารคอร์โดเซปินน้อยที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 647.59 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางกายภาพและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน

สูตรอาหาร	คุณสมบัติทางกายภาพ				สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	
	ความยาวดอก (ซม.)	สี			อะดีโนซีน (มล./กก.)	คอร์โดเซปิน (มล./กก.)
		L*	a*	b*		
Control	5.36±0.23 ^b	56.27±1.21 ^c	23.30±0.88 ^a	47.13±0.43 ^a	1,489.86±84.62 ^c	1,817.75±55.35 ^d
สูตรที่ 1	4.61±0.23 ^c	64.23±1.01 ^a	19.17±0.47 ^c	28.37±0.27 ^c	1,422.37±52.35 ^c	930.00±21.79 ^{fg}
สูตรที่ 2	4.49±0.20 ^c	64.45±0.93 ^a	18.82±0.45 ^c	28.19±0.57 ^c	1,487.73±77.40 ^c	1,045.80±13.37 ^e
สูตรที่ 3	4.26±0.16 ^c	64.22±2.58 ^a	18.77±0.18 ^c	28.25±0.34 ^c	1,281.52±40.15 ^d	915.47±10.74 ^g
สูตรที่ 4	4.26±0.14 ^c	64.50±2.57 ^a	18.51±0.25 ^c	28.15±0.24 ^c	964.85±35.25 ^f	817.68±12.74 ^h
สูตรที่ 5	3.62±0.05 ^d	63.93±1.28 ^a	18.53±0.08 ^c	28.16±0.16 ^c	942.82±81.71 ^f	647.59±38.05 ⁱ
สูตรที่ 6	5.49±0.33 ^b	56.09±1.00 ^c	23.73±0.34 ^a	47.47±0.30 ^a	1,713.28±42.24 ^b	1,923.74±18.80 ^c
สูตรที่ 7	4.74±0.23 ^c	56.29±0.94 ^c	23.15±1.13 ^a	47.35±0.69 ^a	1,536.60±45.84 ^c	1,830.48±38.35 ^d
สูตรที่ 8	4.64±0.17 ^c	60.18±1.00 ^b	20.97±0.63 ^b	30.33±0.18 ^b	1,244.14±32.24 ^d	980.42±17.12 ^f
สูตรที่ 9	3.73±0.06 ^d	59.59±0.55 ^b	20.38±0.22 ^b	31.04±0.33 ^b	1,127.62±72.53 ^e	932.39±21.20 ^{fg}
สูตรที่ 10	6.44±0.36 ^a	56.27±1.18 ^c	23.76±0.18 ^a	47.81±0.25 ^a	1,853.85±40.87 ^a	2,255.47±35.94 ^a
สูตรที่ 11	5.38±0.48 ^b	55.62±0.65 ^c	23.26±1.01 ^a	47.07±0.16 ^a	1,764.33±56.38 ^{ab}	2,057.06±52.49 ^b
สูตรที่ 12	4.75±0.44 ^c	59.20±0.87 ^b	23.41±0.64 ^a	47.19±0.93 ^a	1,250.62±33.55 ^d	974.00±16.01 ^f
สูตรที่ 13	3.76±0.02 ^d	59.24±0.94 ^b	20.64±0.34 ^b	30.32±0.12 ^b	1,206.87±45.46 ^{de}	918.08±13.39 ^g

* ค่าเฉลี่ย (n = 3) ตัวอักษรที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

อภิปรายผล

จากการเจริญของเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงแต่ละสูตรที่แตกต่างกันทั้ง 13 สูตร และสูตร Control 1 สูตร พบว่า สูตรที่ 6 10 1 และ 2 เป็นสูตรอาหารที่เส้นใยเจริญเต็มอาหารเพาะเร็วที่สุดและไม่แตกต่างกันกับสูตร Control ซึ่งจะเห็นได้ว่า ถึงแม้ว่าอาหารสูตร Control และสูตรที่ 1 จะไม่ได้ผสมกากน้ำตาล แต่เส้นใยใช้ระยะเวลาในการเจริญเต็มผิวหน้าอาหารเท่ากับสูตรที่ 2 6 และ 10 ที่ผสมกากน้ำตาล 5% (w/v) ในขณะที่สูตรอาหารอื่นๆ ที่ผสมกากน้ำตาลในปริมาณที่เข้มข้นกว่า 5% (w/v) เส้นใยมีการเจริญช้ากว่า ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่สูงเกินไปทำให้สัดส่วนของแหล่งคาร์บอนต่อไนโตรเจนไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย หรือการที่มีความเข้มข้นของกากน้ำตาลสูงเกินไปอาจทำให้เกิดสภาวะไฮเพอร์โทนิค (Hypotonic solution) (Freeman, 2011) ส่งผลให้การเจริญของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองเจริญได้ช้ากว่า ซึ่งผลที่ได้นี้สัมพันธ์กับผลของระยะเวลาที่เส้นใยเจริญพัฒนาไปเป็นตุ่มดอกเมื่อได้รับแสง แสดงให้เห็นว่า เส้นใยที่เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในสูตรอาหารดังกล่าวเมื่อได้รับแสงในปริมาณที่เหมาะสมก็จะพัฒนาเป็นตุ่มดอกได้เร็วขึ้นตามไปด้วย ในขณะที่สูตรอาหารอื่นๆ ที่ผสมกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น คือ 10% 15% และ 20% (w/v) การพัฒนาของเส้นใยไปเป็นตุ่มดอกจะใช้ระยะเวลานานกว่า แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่สูงเกินกว่า 5% (w/v) ไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง เนื่องจากสัดส่วนของแหล่งคาร์บอนต่อไนโตรเจนของอาหารเพาะเลี้ยงอยู่ในปริมาณที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยและการพัฒนาเป็นตุ่มดอก โดย Dong & Yao (2008) ได้ศึกษาเกี่ยวกับอัตราส่วนของสูตรอาหารต่อการเจริญของเห็ดถั่งเช่าทิเบต (*C. sinensis*) พบว่า อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอัตราส่วน 12 : 1 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย และพบว่า วิตามินโดยเฉพาะอย่างยิ่ง Folic acid มีส่วนช่วยในการเจริญของเส้นใย อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองนี้ยังไม่สามารถยืนยันหรือระบุสูตรเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมที่สุดได้ เนื่องจากยังเป็นการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในขั้นต้น ซึ่งต้องอาศัยข้อมูลที่ได้จากการประเมินผลด้านอื่นๆ อีกตลอดการเพาะเลี้ยงทั้งหมด

จากการศึกษาผลผลิตของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในแต่ละสูตรอาหารที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 65 วัน หลังจากถ่ายเชื้อโดยประเมินค่าจากจำนวนดอกต่อชวด และน้ำหนักสดต่อชวดพบว่า ผลผลิตมีค่าลดลงเมื่อใช้ปริมาณกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 5% (w/v) เป็นความเข้มข้นที่มีความเหมาะสมมากกว่าความเข้มข้นที่ 10% 15% และ 20% (w/v) ตามลำดับ เมื่อนำกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 5% (w/v) มาผสมกับวัตถุดิบอื่นๆ ก็พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่ 10 ที่ประกอบด้วยข้าวสาลี 30 กรัม ผสมกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 5% (w/v) 50 มิลลิลิตร และดักแค้ใหม่ 5 กรัม ทำให้เกิดจำนวนดอกและได้น้ำหนักสดมากกว่าสูตรอื่นๆ และ Control ซึ่งคาดว่าสูตรดังกล่าวมีความเหมาะสมในสัดส่วนของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน

ที่ประกอบด้วยสารต่างๆ ที่มีคุณค่าทางอาหาร โดยข้าวเส้าไห้เป็นแหล่งคาร์บอนสำคัญที่มีปริมาณอะมิโลสสูงถึง 26–35% (สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, 2558) กากน้ำตาลมีสารอาหารหลายชนิด ได้แก่ น้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรักโทส ที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน กรดอะมิโน และไขมันที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน รวมถึงวิตามินชนิดต่างๆ ได้แก่ ไบโอดีน (H หรือ B7) โคลลิน (B4) กรดโฟลิก (B complex) ไนอะซิน (B complex) กรดแพนโททีนิก (B complex) ไรโบฟลาวิน (B2) ไพริดอกซิน (B6) และโทอะมิน (B1) (Imrite, 1969) ซึ่งวิตามินดังกล่าวมีความสำคัญต่อการเจริญเนื่องจากทำหน้าที่เป็น Coenzyme (Lilly & Barnett, 1951) ส่วนดักแด้ใหม่ในน้ำหนัสด 100 กรัม ให้พลังงาน 152 กิโลแคลอรี โปรตีน 14.7 กรัม ไขมัน 8.3 กรัม และคาร์โบไฮเดรต 4.7 กรัม (นันทยา และคณะ, 2549) นอกจากนี้สูตรอาหารที่เหมาะสมยังส่งผลต่อการเกิดลักษณะทางกายภาพของเห็ด โดยพบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในสูตรที่ 10 ส่วนใหญ่มีก้านดอกที่ยาวมากกว่าสูตรอาหารอื่นๆ รวมทั้ง Control ผลการทดลองนี้ให้ผลในลักษณะเดียวกับรายงานของ รัฐพล (2539) ที่ศึกษาการเจริญเติบโตของเห็ดฟาง โดยพบว่าเส้นใยเห็ดฟางเจริญได้ดีที่สุดในอาหารเหลวชนิดที่เป็นกากน้ำตาล 2% (w/v)

เมื่อพิจารณาสสูตรอาหารกลุ่มที่เติมแหล่งโปรตีนที่เป็นนมผงและดักแด้ใหม่ จะเห็นว่ากลุ่มสูตรอาหารที่มีการเติมดักแด้ใหม่ ได้แก่ สูตรที่ 10 11 12 และ 13 จะให้ผลผลิตสูงกว่ากลุ่มสูตรอาหารที่เติมนมผงเมื่อเปรียบเทียบในระดับความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่เท่ากัน ได้แก่ สูตรที่ 6 7 8 และ 9 ถึงแม้ว่าทั้งดักแด้ใหม่และนมผงจะอุดมไปด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อรา *C. militaris* มากมายใกล้เคียงกัน แต่อาจเป็นไปได้ว่าในธรรมชาติของเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยปกติจะเจริญเติบโตในตัวตนหรือแมลงบางชนิด ดังนั้นจึงชอบเจริญจากแหล่งอาหารที่มาจากดักแด้ใหม่มากกว่านมผง หรืออาจเป็นไปได้ว่าปริมาณสารอาหารที่อยู่ในดักแด้ใหม่ทำให้สัดส่วนของแหล่งไนโตรเจนและแหล่งคาร์บอนในอาหารเพาะเลี้ยงมีความเหมาะสมในกระบวนการสร้างพลังงานของเห็ดถั่งเช่าสีทองมากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kim et al. (2010) ที่ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่ออาหารเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสายพันธุ์ *C. cardinalis* พบว่า การเพิ่มดักแด้ใหม่ประมาณ 10–20 กรัม ในอาหารเพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วยข้าวกล้อง 50–60 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร จะทำให้ได้ผลผลิตมากขึ้น เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตให้ผลผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 10 กับสูตรที่ 2 ซึ่งใช้กากน้ำตาลในปริมาณความเข้มข้นเท่ากัน พบว่า อาหารสูตรที่ 2 ซึ่งมีแค่กากน้ำตาลเพียงอย่างเดียว ให้ผลผลิตต่ำกว่า แต่เมื่อใส่ดักแด้ใหม่เพิ่ม 5 กรัม ในสูตรที่ 10 พบว่า ทำให้ผลผลิตสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าดักแด้ใหม่เป็นวัตถุดิบแหล่งไนโตรเจนสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยสารประกอบต่างๆ ที่อยู่ในดักแด้ใหม่จะถูกนำไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมระดับเซลล์ร่วมกับสารอื่นๆ จากแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้ในการสร้างพลังงานต่อไป นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นว่าสูตรอาหาร

ที่มีการผสมกากน้ำตาลที่ความเข้มข้นสูงขึ้นไปจะทำให้ได้ผลผลิตที่ลดลง โดยเฉพาะสูตรที่ 5 ที่ประกอบด้วยข้าวสาลี 30 กรัม ผสมกากน้ำตาลที่ความเข้มข้นสูงสุด 20% (w/v) 50 มิลลิลิตร พบว่า ให้ผลผลิตต่ำสุด และถึงแม้จะมีการเติมวัตถุเติมที่เป็นแหล่งโปรตีนลงไปเพิ่มเติม ได้แก่ นมผง 1 กรัม ตามสูตรที่ 9 หรือดักแด้ใหม่ 5 กรัม ตามสูตรที่ 13 ก็ยังทำให้ผลผลิตที่ได้เพิ่มขึ้นไม่มากนัก ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่สูงเกินไปทำให้อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยหรือการที่มีความเข้มข้นของกากน้ำตาลสูงเกินไปอาจทำให้เกิดสถานะ Hypotonic ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตได้ถึงเข้าสู่ห้องได้

สีเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นปัจจัยหนึ่งในการกำหนดคุณภาพของเห็ดซึ่งมีผลต่อราคาในทางการค้า โดยปกติแล้วเห็ดถั่งเช่าสีทองจะแสดงลักษณะเฉพาะด้านสีของสายพันธุ์คือมีสีเหลืองส้มจากผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพด้านสีของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในทุกสูตรอาหาร พบว่า เห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 2 3 4 และ 5 แสดงค่าความสว่าง (L^*) มากกว่าสูตรอาหารอื่นๆ เนื่องจากสูตรอาหารกลุ่มนี้ใส่เฉพาะกากน้ำตาลเพียงอย่างเดียว ไม่มีวัตถุเติมที่เป็นแหล่งโปรตีนอื่นผสม ดังนั้นจึงอาจทำให้สัดส่วนของแหล่งคาร์บอนต่อไนโตรเจนไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์รงควัตถุสีเหลืองของดอกเห็ด ในขณะที่เห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ มีค่าความสว่างน้อยกว่าแต่แสดงค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) มากกว่า โดยเฉพาะสูตรอาหารที่ 6 7 10 11 และ 12 แสดงค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) มากกว่าสูตรอาหารอื่นๆ เนื่องจากสูตรอาหารกลุ่มเหล่านี้มีการเติมวัตถุเติมที่เป็นดักแด้ใหม่และนมผงซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนสำคัญของอาหารเพาะเลี้ยง ดังนั้นแหล่งไนโตรเจนจากโปรตีนเหล่านี้จึงมีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์รงควัตถุสีเหลืองในเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วย โดยรงควัตถุที่สังเคราะห์ขึ้นอาจมีหลายชนิดและมีปริมาณที่แตกต่างกันไปตามสภาวะการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นเรื่องที่ควรศึกษาต่อไปในอนาคต Dong et al. (2013) ได้รายงานว่ามีสารตรวจพบสาร Cordyxanthins 4 ชนิด ที่ละลายน้ำได้ในเห็ดถั่งเช่าสีทอง สารจำพวกนี้อยู่ในกลุ่มของ Carotenoids ซึ่งเป็นสารพวก Xanthophyll ที่มีอยู่ในเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งงานวิจัยดังกล่าวสอดคล้องกับผลงานวิจัยในครั้งใหม่ที่พบรงควัตถุสีเหลืองในดอกเห็ด อย่างไรก็ตามเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงได้ในทุกสูตรอาหาร เมื่อมองด้วยตาเปล่าก็แสดงลักษณะของสีที่เฉพาะของสายพันธุ์คือให้สีเหลืองส้มทั้งหมด เมื่อได้รับแสงสว่างในปริมาณที่เท่ากันเป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน โดยแสงสว่างเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความแน่นเนื้อและการเกิดสีของเส้นใยเห็ด (Shrestha et al., 2006)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เป็นปัจจัยสำคัญในการวัดคุณภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยปกติจะวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 2 ชนิด คือ สารอะดีโนซีนและสารคอร์โดเซปินจากการทดลอง พบว่า เห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงได้ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่ 10 มีปริมาณ

สารอะดีโนซีนและสารคอร์โดเซปินสูงสุด อาจเนื่องจากสูตรอาหารดังกล่าวอุดมไปด้วยแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนสำคัญในปริมาณที่เหมาะสม เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบปริมาณสารทั้งสองชนิดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 10 กับสูตรที่ 2 ซึ่งใช้กากน้ำตาลในปริมาณความเข้มข้นเท่ากัน พบว่า อาหารสูตรที่ 2 ซึ่งมีแค่กากน้ำตาลเพียงอย่างเดียว ให้ปริมาณสารอะดีโนซีนและคอร์โดเซปินต่ำกว่า แต่เมื่อใส่ดักแด้ใหม่เพิ่ม 5 กรัม ในสูตรที่ 10 พบว่า ทำให้ค่าปริมาณสารอะดีโนซีนและคอร์โดเซปินสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าดักแด้ใหม่เป็นวัตถุดิบแหล่งไนโตรเจนสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง เนื่องจากประกอบไปด้วยสารประกอบต่างๆ ตามที่ได้อธิบายไว้แล้ว ซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึมระดับเซลล์เพื่อใช้ในการสร้างพลังงาน และเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสร้างสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ที่เป็นสารอะดีโนซีน และสารคอร์โดเซปิน (Zheng et al., 2011) นอกจากนี้จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า แม้ว่าความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่ 0–5% จะไม่มีผลต่อปริมาณสารอะดีโนซีน และการเพิ่มปริมาณ 0–5% ของกากน้ำตาลมีผลทำให้สารคอร์โดเซปินเพิ่มขึ้น แต่ถ้ามากกว่า 5% ก็จะทำให้ปริมาณสารคอร์โดเซปิน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ามีสาเหตุเกี่ยวเนื่องมาจากการเจริญเติบโต โดยเมื่อความเข้มข้นของกากน้ำตาลเพิ่มขึ้นการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าจะลดลงซึ่งคาดว่าเกิดจากภาวะ Hypotonic ระหว่างสารอาหารกับการดูดซึมของเซลล์ ทำให้มีการนำสารตั้งต้นไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์สารเมตาบอไลต์ต่างๆ ได้น้อยลง อย่างไรก็ตามปริมาณสารอะดีโนซีนและคอร์โดเซปินที่มีอยู่ในเห็ดถั่งเช่าสีทองขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความแข็งแรงของสายพันธุ์ อาหารเพาะเลี้ยง สภาพแวดล้อม ระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง รวมไปถึงขั้นตอนวิธีการการสกัดและวิเคราะห์สาร และอื่นๆ

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองทำให้ทราบสูตรอาหารที่มีการผสมกากน้ำตาลเสริมในปริมาณที่เหมาะสมร่วมกับดักแด้ใหม่ เพื่อใช้ทดแทนอาหาร PDB ที่มีส่วนผสมของวัตถุดิบที่เป็นยีสต์สกัดและเปปโตเนในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองซึ่งมีราคาสูงกว่ากากน้ำตาล โดยพบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่ 10 ที่ประกอบด้วยข้าวสาลี 30 กรัม ผสมกากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 5% (w/v) 50 มิลลิลิตร และดักแด้ใหม่ 5 กรัม เป็นสูตรอาหารที่ทำให้เห็ดถั่งเช่าสีทองมีการเจริญเติบโตให้ผลผลิตและผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้สูงที่สุด ดังนั้นสูตรอาหารเพาะเลี้ยงดังกล่าวจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่จะสามารถช่วยลดต้นทุนด้านวัตถุดิบได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนวิจัย ขอขอบคุณบริษัท ถังน้ำทองคำ จำกัด ที่อนุเคราะห์เชื้อรา *C. militaris* สำหรับการทดลอง และขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ สำหรับอุปกรณ์และเครื่องมือในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ธัญญา ทะพิงค์แก, มงคล ยะไชย, ศุภชัย ศรีธวัช, ภัฏจันพัชร อุปลศิลป์, อภิรดา พรปัทมวิษ, อภิษฎา ทองทับ, และวรรณพร ทะพิงค์แก. (2557). การศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดสมุนไพรรังเข้าสีทองและการนำไปใช้ประโยชน์ (รายงานการวิจัย) เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.
- นันทยา จงใจเทศ, พิมพร วัชรรงค์กุล, ปิยนันท์ เผ่าม่วง และเพ็ญพโยม ประภาศิริ. 2549. สำนักโภชนาการ “คุณภาพโปรตีนและ ไขมันในแมลงที่กินได้”. สืบค้นเมื่อ 15 มีนาคม 2564, จาก <http://nutrition.anamai.moph.go.th/temp/main/view.php?group=&id=120>
- รัฐพล ศรประเสริฐ. 2539. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางในอาหารเหลว. **อาหาร**, (26)2, 98–107.
- รัฐพล ศรประเสริฐ, อนงค์นัฏ หัมพานนท์, และสยาม อรุณศรีมรกต. (2559). การเพาะเลี้ยง *Cordyceps militaris* ด้วยเมล็ดธัญพืชและแมลงในท้องถิ่นและประสิทธิภาพการยั้งเชื้อ *Trichophyton rubrum* และ *Staphylococcus aureus*. **วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ**, 26(2), 239–251.
- สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. (2558). องค์ความรู้เรื่องข้าว. สืบค้นเมื่อ 25 มกราคม 2564, จาก <http://www.brrd.in.th/rkb2/postharvest/index.php?file=content.php&id=6.htm>
- Dai, G. W., Bao, T. T., Xu, G. F., Cooper, R., & Zhu, G. X. (2001). CordyMax TM Cs-4 improves steady-state bioenergy status in mouse liver. **Journal of Integrative and Complementary Medicine**, 7, 231–240.
- Dong, C.H., & Yao, Y.J. (2008). In vitro evaluation of antioxidant activities of aqueous extracts from natural and cultured mycelia of *Cordyceps sinensis*, **LWT – Food Science and Technology**, 41, 669–77.
- Dong, Z.J., Wangb, H.S., Aia, R.X., Yaaa, L., Suna, W.Z., Leia, C., Wang, Y., & Wang, Q. (2013). Composition and characterization of cordyxanthins from *Cordyceps militaris* fruit bodies. **Journal of Functional Foods**, 5, 1450–1455.
- Freeman, S. (2011). **Biological Science** (4th ed). CA: Pearson Benjamin Cumming.
- Huang, L., Li, Q., Chen, Y., Wang, X., & Zho, X. (2009). Determination and analysis of cordycepin and adenosine in products of *Cordyceps* spp. **African Journal of Microbiology Research**, 3(12), 957–961.
- Imrite, F.K.E. (1969). Fermentation media sugar and molasses processes. **Biochemistry**, 4(1), 34–35.

- Kitakaze, M., & Hori, M., (2000). Adenosine therapy: a new approach to chronic heart failure. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, **9**, 2519–2535.
- Kim, S–Y., Shrestha, B., Sung, G–H., Han, S–K., & Sung, J–M. (2010). Optimum Conditions for Artificial Fruiting Body Formation of *Cordyceps cardinalis*. **Mycobiology**, **38**(2), 133–136.
- Lee, H. J., Burger, P., Vogel, M., Friese, K., & Bruning, A. (2012). The nucleoside antagonist cordycepin causes DNA double strand breaks in breast cancer cells. **Investigational New Drugs**, **30**, 1917–1925.
- Li, C., Li, Z., Fan, M., Cheng, W., Long, Y., Ding, T., & Ming, L. (2006). The composition of *Hirsutella sinensis*, anamorph of *Cordyceps sinensis*. **Journal of Food Composition and Analysis**, **19**(8), 800–805.
- Lilly, V.G., & Barnett, H.L. (1951). **Physiology of the fungi**. London: Mc Graw–Hill Book Company.
- Lim, K., Lee, C.H., & Chang, E. (2012). Optimization of solid state culture condition for the production of adenosine, cordycepin, and d–mannitol in fruiting bodies of medicinal caterpillar fungus *Cordyceps militaris* (L.:Fr.) Link (Ascomycetes). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, **14**(2), 181–187.
- Masuda, M., Urabe, E., Sakurai, A., & Sakakibara, M. (2006). Production of cordycepin by surface culture using the medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. **Enzyme and Microbial Technology**, **39**, 641–646.
- Nakamura, K., Konoha, K., Yoshikawa, N., Yamaguchi, Y., Kagota, S., Shinozuka, K., & Kunitomo, M. (2005). Effect of cordycepin (3'–deoxyadenosine) on hematogenic lung metastatic model mice. **In Vivo**, **19**, 137–141.
- Schmidt, K., Li, Z., Schubert, B., Huang, B., Stoyanova, S., & Hamburger, M. (2003). Screening of entomopathogenic deuteromycetes for activities on targets involved in degenerative diseases of the central nervous system. **Journal of Ethnopharmacology**, **89**(2–3), 288–297.
- Shrestha, B., Lee, W.H., Han, S.K., & Sung, J.M. (2006). Observation on some of the mycelial growth the pigmentation characteristics of *Cordyceps militaris* isolate. **Microbiology**, **34**(2), 83–91.
- Stoppok, E., & K. Buchholz. (1993). **Sugar–Based Raw Materials for Fermentation Application**, pp. 5–29. In G. Stephanopoulos, eds. *Biotechnology Volume 3 Bioprocessing*. VCH Publishers Inc., New York.
- Weil, M.K., & Chen, A.P. (2011). PARP inhibitor treatment in ovarian and breast cancer. **Current Problems in Cancer**, **35**, 7–50.
- Yoshikawa, N., Nakamura, K., Yamaguchi, Y., Kagota, S., Shinozuka, K., & Kunitomo, M. (2004). Antitumour activity of cordycepin in mice. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physi**, **31**, S51–3.
- Yu, H. M., Wang, B.–S., Huang, S.C., & Duh, P.D. (2006). Comparison of protective effects between cultured *Cordyceps militaris* and natural *Cordyceps sinensis* against oxidative damage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **54**(8), 3138–3188.
- Zheng, P., Xia, Y., Xiao, G., Xiong, C., Hu, X., Zhang, S., Zheng, H., Huang Y., Zhou, Y., Wang, S., Zhao, G.P., Liu, X., Leger, J. St. R., & Wang, C. (2011). Genome sequence of the insect pathogenic fungus *Cordyceps militaris*, a valued traditional chinese medicine. **Genome Biology**, **12**, R116.