บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แนวคิดและทฤษฎี

ประเทศไทยจัดเป็นประเทศหนึ่งที่มีสภาพภูมิอากาศเหมาะสมต่อการเจริญของเห็ด มีเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรหลายชนิดเช่น ฟางข้าว ซังข้าวโพด ขี้เลื่อย ทะลายปาล์ม เปลือกถั่วเขียว เปลือกมันสำปะหลัง หรือแม้กระทั่งวัสดุที่มีในธรรมชาติ ได้แก่ ไม้ และหญ้าชนิดต่างๆ ใช้เป็นวัสดุเพาะให้เหมาะสมกับท้องถิ่น เพื่อให้ได้ต้นทุนต่อต่ำ ผลผลิตสูง และการเพาะเห็ดยังช่วยอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ ไม่ต้องตัดไม้ทำลายป่า เพียงแต่หาวัสดุที่มีในท้องถิ่นมาเพาะ ฯลฯ ซึ่งสามารถนำมาดัดแปลงเพาะเห็ดได้เป็นอย่างดีและสามารถกระจายรายได้สู่ชนบทได้ดีอีกทางหนึ่ง

การเพาะเห็ดในปัจจุบัน สามารถแบ่งได้ ดังนี้

1. เพาะเห็ดในถุงพลาสติก คือ การนำขี้เลื่อยหรือวัสดุการเกษตรอื่นๆ มาเป็นวัสดุเพาะโดยผสมอาหารเสริมบรรจุถุงพลาสติกนำไปนึ่งฆ่าเชื้อเห็ดที่จะผลิตขายในท้องตลาด เช่น เห็ดสกุลนางฟ้า นางรม เห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดลม เห็ดเป๋าฮื้อ และเห็ดหลินจือ เป็นต้น ใช้เวลาในการเก็บประมาณ 3 เดือน -1 ปี ขึ้นอยู่กับชนิดของเห็ด

2. เพาะเห็ดกลางแจ้ง ได้แก่ การเพาะเห็ดฟาง ซึ่งเป็นเห็ดที่มีปริมาณมากที่สุดของเห็ดในประเทศไทย โดยเฉพาะเลียนแบบธรรมชาติ ใช้ฟางข้าว เปลือกถั่วเขียว เปลือกมันสำปะหลัง ทะลายปาล์ม หรือวัสดุการเกษตรอื่นๆ ที่มีอยู่ในท้องถิ่นเพาะเห็ดในลักษณะเป็นแบบกองเตี้ยจะใช้เวลาในการเพาะ10-15 วัน

3. เพาะเห็ดในโรงเรือนแบบอุตสาหกรรม ได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดแชมปิญอง เห็ดเข็มทอง เห็ดถั่ว ซึ่งต้องใช้เทคโนโลยีขั้นสูงกว่าการเพาะเห็ดโดยวิธีอื่น ลงทุนสูงในระยะแรก สามารถควบคุมอุณหภูมิความชื้นและเพาะได้ตลอดปี

ต้นทุนการผลิตและผลตอบแทนในการผลิตเห็ด

ต้นทุนในการเพาะเห็ดจะมีความแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับพื้นที่ ส่วนที่จะเป็นต้นทุนหลักที่สำคัญ ได้แก่ วัสดุในการจัดสร้างโรงเรือน ชั้นเพาะ วัสดุเพาะ เชื้อเห็ด รวมไปถึงค่าขนส่งด้วย (ชาญยุทธ์ ภานุทัต, 2544)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เห็ดแครง เป็นเชื้อราที่อยู่ในกลุ่ม white rot ซึ่งเชื้อรากลุ่มนี้สามารถผลิตเอนไซม์ออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) เช่น ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส (lignin peroxidase) แมงกานีส เปอร์ออกซิเดส (manganese peroxidase) แลคเคส (laccase) และอื่นๆ เพื่อใช้ในการย่อยลิกนินที่อยู่ในเนื้อไม้ได้ เชื้อราในกลุ่ม white rot ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในการย่อยสลายลิกนินในเยื่อกระดาษ (Grant, 1989)

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เห็ดแครง จัดเป็นเห็ดป่า อาจมีชื่อเรียกตามท้องถิ่นต่างๆ ในประเทศไทยดังนี้

ภาคเหนือ: เห็ดแก้น เห็ดตามอด เห็ดแต้บ

ภาคกลาง: เห็ดแครง หรือเห็ดตีนตุ๊กแก

ภาคใต้: เห็ดแครง (อนงค์ จันทรศรีกุล, 2539)

<u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยา</u>

เห็ดแครงมีลักษณะทั่วไปดังนี้

1.หมวกดอก มีรูปร่างแผ่ออกคล้ายพัด ผิวด้านบนมีสีขาวปนเทาและมีขนละเอียดคล้ายกำมะหยี่ปกคลุมอยู่ เมื่อดอกบานเต็มที่หมวกดอกมีขนาดกว้างประมาณ 1-4 เซนติเมตร ยาวประมาณ 1-3 เซนติเมตร

2.ครีบดอก มีสีน้ำตาลหรือสีอบเชย เกิดชิดกันตรงโคน บางดอกครีบอาจเกิดซ้อนกัน

3.สปอร์ มีสีขาว รูปร่างยาวรี ขนาดเฉลี่ย 4x1.5 ไมครอน ปลายข้างหนึ่งแหลมเป็นติ่งยื่นออกไปเล็กน้อย

4.ก้านดอก มีสีขาวถึงเทาอ่อน ยาวประมาณ 0.1-0.5 เซนติเมตร

<u>แหล่งของเห็ดแครง</u>

เห็ดแครงหรือเห็ดตีนตุ๊กแก เป็นเห็ดขนาดเล็ก ซึ่งเกิดชุกชุมตามท่อนไม้หรือบนลำต้นไม้ที่ตายแล้ว ดังภาพที่ 1 ในฤดูฝนจะพบเห็ดนี้ขึ้นมากมาย นับว่าเป็นเห็ดที่ขึ้นง่ายและขึ้นอยู่ทั่วไป เห็ดชนิดนี้สามารถรับประทานได้ (Cook, 1961)

ภาพที่ 1 เห็ดแครง (*Schizophyllum commune* Fr.) ที่เจริญในธรรมชาติ

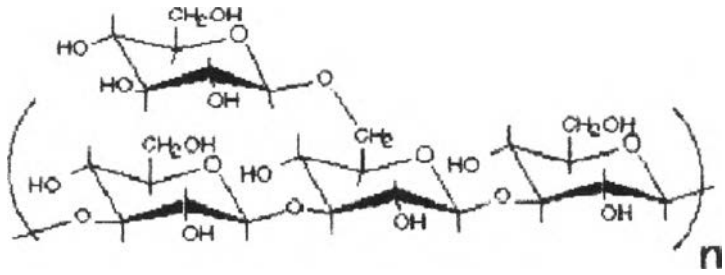
เห็ดแครงมีรสชาติดี มีคุณค่าทางอาหารสูง ส่วนประกอบทางอาหารของเห็ดแครงจากส่วนที่กินได้ 100 กรัม นั้นจะมีแร่ธาตุฟอสฟอรัสอยู่ในปริมาณที่สูงถึง 181.98 มิลลิกรัม คาร์โบไฮเดรต 27.74 กรัม โปรตีน 3.51 กรัม นอกจากนี้ยังมีแคลเซียม เหล็ก วิตามินบี 1 บี 2 ไนอาซีน และวิตามินซี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2538)

การจำแนกเห็ดแครง (Taxonomy)

ชื่อวิทยาศาสตร์	*Schizophyllum commune* Fr.
ชื่อสามัญ	Split Gill
Division	Basidiomycota
Class	Basidiomycetes
Order	Aphyllophorales
Family	Schizophyllaceae
Genus	Schizophyllum
Species	*Schizophyllum commune*

คุณสมบัติทางเภสัช

เห็ดชนิดนี้จะผลิตสาร schizophyllan ซึ่งเป็นสารจำพวก polysaccharide (β-1, 3-glucan) ซึ่งมีโครงสร้างแบบ triple-stranded helix ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ schizophyllan (Yanaki และคณะ, 1980)

Schizophyllan (SPG, Sonifilan, Sizofiran, Sizofilan) คือสาร β1-3, β1-6 D-glucan มีน้ำหนักโมเลกุลปรมาณ 450,000 ดาลตัน (daltons) (Kidd) สามารถต่อต้านเซลล์มะเร็ง เชื้อ HIV และไวรัสได้ (Hirata,1994; Hotta,1993; Itoh, 1990) ซึ่งมีสมบัติในการต่อต้านเชื้อไวรัสและยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 และ Sarcoma 37 โดยทดลองในหนูขาว ยับยั้งได้ 70-100 สารนี้มีความสำคัญมากสำหรับการรักษาโรคมะเร็งแบบให้ทางปาก และตามธรรมดาแล้วจะฉีดยานี้เข้าทางกล้ามเนื้อ ซึ่งจะช่วยยืดเวลาการมีชีวิตรอดของผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งบริเวณศีรษะและคอได้ ส่วนมะเร็งที่ปากมดลูกนั้นสารนี้จะช่วยชะลอเซลล์มะเร็งในระยะที่ 2 ไม่ให้เกิดการกลายเป็นมะเร็งระยะที่ 3 ได้เร็ว แต่ถ้าฉีดสารนี้เข้าไปตรงบริเวณที่เป็นก้อนเนื้อมะเร็งโดยตรงแล้วจะไม่ได้ผล ในตลาดญี่ปุ่นมีการวางขายสารสกัด schizophyllan สำหรับรักษาโรคมะเร็ง Patarca-Montero และคณะ (2001) ได้รายงานว่า สาร schizophyllan นี้ ได้มีผู้จดสิทธิบัตรแล้ว คือ บริษัท Kaken Pharmaceutical จำกัด ประเทศญี่ปุ่น และใช้สำหรับรักษาโรคมะเร็งที่กระเพาะอาหาร มะเร็งปอด และไวรัสตับอักเสบบี อย่างไรก็ตามก็ยังไม่ทราบกลไกที่สมบูรณ์ในการต้านเซลล์มะเร็ง แต่สารนี้จะตอบสนองต่อเซลล์มะเร็งทั้งในสัตว์ทดลองและในหลอดทดลอง (Ooi และคณะ, 2000) และได้มีการนำ schizophyllan และสารสกัดอื่นๆ ผสมลงไปในอาหารเลี้ยงกุ้ง ซึ่งจะช่วยให้กุ้งมีภูมิคุ้มกันต่อแบคทีเรียพวก salmonids (Aqualab, 1999)และช่วยป้องกันการติดโรคในธรรมชาติที่ชื่อว่า furanculosis (Aqualab, 1999) และยังช่วยต้านการติดเชื้อแบคทีเรียในปลาน้ำจืดได้ ดังนั้นจึงมีผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของ schizophyllan ในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น ผลิตภัณฑ์ Immunoenhancer-VST (immunoenhancer–vst) เป็นผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ ซึ่งจะช่วยให้สัตว์มีระบบภูมิคุ้มกันที่แข็งแรงสามารถต่อต้านการติดเชื้อโรคต่างๆได้ และใช้ในฟาร์มเลี้ยงกุ้งและปลาได้ ผลิตภัณฑ์ Immunoenhancer VST จะช่วยกระตุ้นการปล่อย lysozyme ให้ฆ่าเชื้อโรคได้

โดยตรง ส่วนผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับคนนั้นในประเทศญี่ปุ่นได้ให้ความสนใจเห็ดที่เป็นสมุนไพรและกินได้ โดยเฉพาะ อย่างยิ่งเห็ดแครง โดยในปี ค.ศ. 1986 สามารถสกัด schizophyllan มาทำเป็นยาและอาหาร (Mizuno, 2000) ซึ่งมีวางขายในท้องตลาดแล้ว ส่วนผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจำพวก Beta glucans เช่น ผลิตภัณฑ์ของบริษัท IMMUNOCORP (Immunocorp) ดังภาพที่ 2 beta glucan นี้ มีส่วนผสมของเห็ดรา *Sclerotium glucanicum*, เห็ดหอม เห็ดแครง และ baker's yeast ซึ่งผลิตภัณฑ์นี้ทำให้ภูมิคุ้มกันของร่างกายแข็งแรง ช่วยต้านการติดเชื้อไวรัส แบคทีเรีย เชื้อรา และปาราสิตได้ ทั้งยังช่วยให้แผลพุพองหรือหนองหายเร็วขึ้น และยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็งได้ (American botanical council, 2001)

ภาพที่ 3 ผลิตภัณฑ์ Beta glucan

เชื้อรา กลุ่ม white rot

เชื้อรากลุ่ม white rot เป็นราที่มีบทบาทในการย่อยสลายเนื้อไม้ให้ผุพัง โดยเซลล์สืบพันธุ์หรือสปอร์ หรือชิ้นส่วนของเส้นใย เมื่อตกบนผิวไม้ที่มีความชื้นจะงอกแล้วปล่อยเอนไซม์กระจายไปย่อยองค์ประกอบในผนังเซลล์ ไม้ที่ถูกย่อยสลายมักจะมีสีซีดลงกว่าเดิม เนื่องจากลิกนินถูกทำลาย เชื้อราเหล่านี้มักจะอยู่ใน class basidiomycete อาจแบ่งได้เป็น

1. พวกที่ไม่เลือกทำลายเฉพาะลิกนิน (nonselective lignin) เชื้อราจะทำลายสารลิกนินและเซลลูโลส ในอัตราส่วนใกล้เคียงกัน ทำให้เกิดรอยยุบในผนังเซลล์ เนื้อไม้จะผุยุ่ยมีสีขาวเป็นหย่อมๆ เรียกว่า white pocket rot

2. พวกเลือกทำลายเฉพาะลิกนิน (selective lignin) ราพวกนี้จะทำลายลิกนินในสัดส่วนที่สูงกว่าเซลลูโลส จึงมีเซลลูโลสหลงเหลืออยู่หลังการทำลาย ส่วนของ middle lamella ที่ถูกทำลายคงเหลือ แต่เซลลูโลส ใน secondary cell wall ทำให้ผนังแยกจากกัน เนื้อไม้จึงเปื่อยยุ่ย

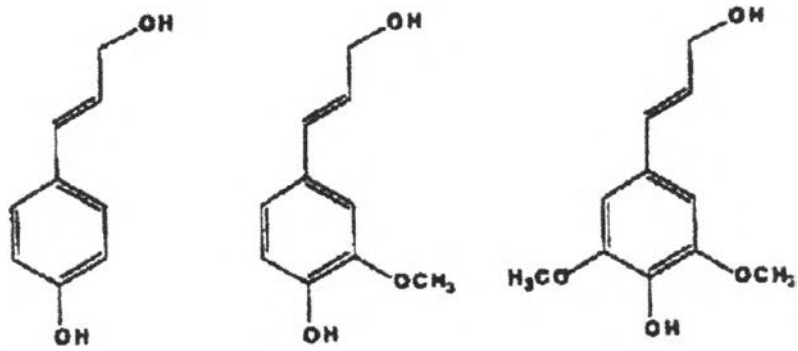
ลิกนิน (lignin)

ลิกนินเป็นสารประกอบที่พบได้ในส่วนของผนังเซลล์ของพืชชั้นสูงทั้งใน gymnosperm และ angiosperm fern และ club moss นอกจากนี้ยังพบในส่วนของ vascular tissue แต่ลิกนินไม่พบในพืชพวก mosses lichens และ algae โครงสร้างของลิกนินนั้น เป็นสารประกอบโพลีเมอร์ของโมเลกุล phenyl propane ซึ่งโครงสร้างโมเลกุลส่วนใหญ่เป็นวงแหวนไม่มีโครงสร้างโมเลกุลที่แน่นอนตายตัว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการรวมตัวของสาร precurcor ซึ่งเป็นสารประกอบของ alcohol แบ่งเป็น 3 ชนิด ได้แก่ 1) p-hydroxycinnamyl (coumaryl) alcohol ซึ่งจะให้ p-hydroxyphynyl unit ในโครงสร้างของโพลีเมอร์ 2) 4-hydroxy-3-methocinnamyl (coniferyl) alcohol จะให้ guaiacyl unit และ 3) 3,5-dimethoxycinnamyl (sinapyl) alcohol ให้ syringyl unit (ภาพที่ 3) สามารถแบ่งลิกนินออกเป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ โดย พิจารณาจากสัดส่วนของ precursors แต่ละชนิดที่ถูกนำมาใช้สร้างได้แก่ 1) soft wood lignin 2) hardwood lignin และ 3) grass lignin (Higuchi,1986) ลิกนินที่พบในไม้เนื้ออ่อน (softwood lignin) พบในไม้พวก gymnosperms โครงสร้างส่วนใหญ่ถูกสร้างขึ้นด้วย coniferyl alcohol องค์ประกอบรองลงมาคือ coumaryl alcohol ส่วน sinapyl alcohol จะไม่ถูกนำมาใช้เลย ส่วนลิกนินที่พบในไม้เนื้อแข็ง (hardwood lignin) พบมากในพวก angiosperm จะใช้ coniferyl alcohol และ sinapyl alcohol อย่างละ 46% องค์ประกอบรองลงมาคือ p-hydroxyphenylpropane unit สำหรับลิกนินที่พบในพืชจำพวกหญ้า (grass lignin) จะประกอบไปด้วย coniferyl, sinapyl และ p-hydroxyphenylpropane unit นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบอื่นๆ อีก เช่น p-coumaric acid โครงสร้างของลิกนิน ดังภาพที่ 5

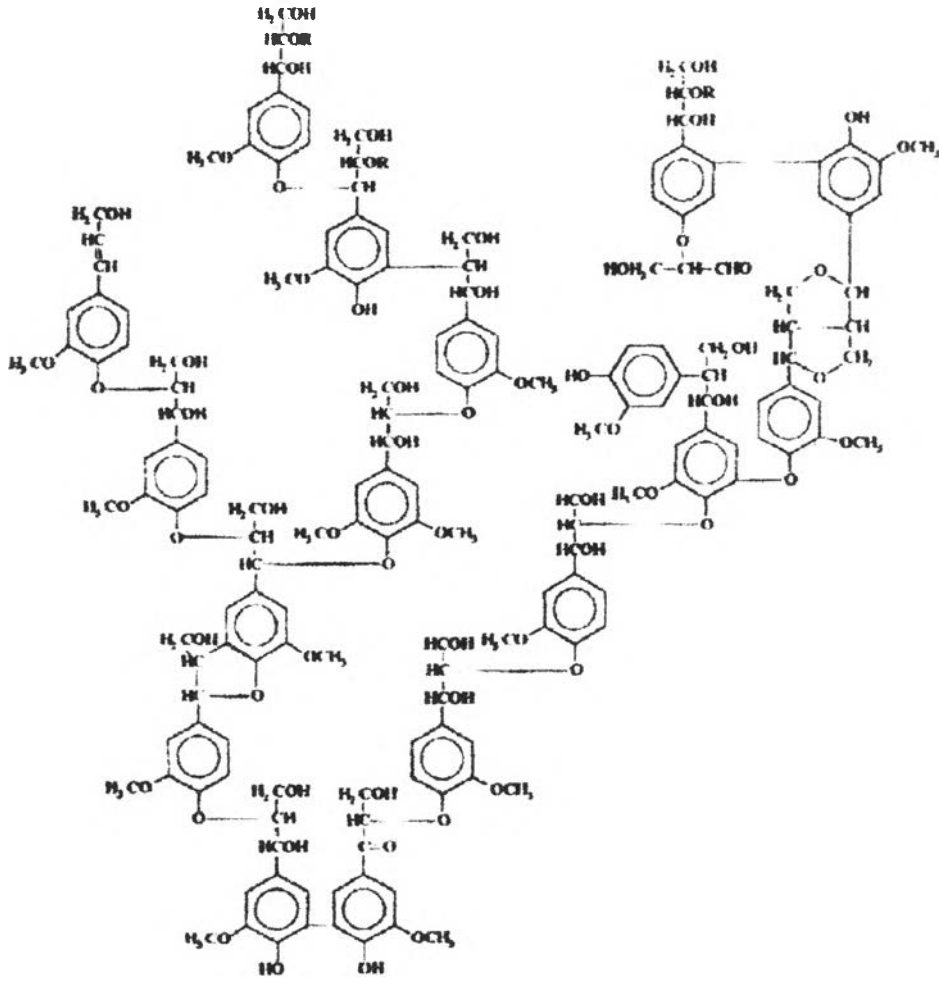
กระบวนการสังเคราะห์ลิกนิน (Biosynthesis of lignin)

การสังเคราะห์ precursor (สารตั้งต้น) (ภาพที่ 4) ไปเป็นลิกนิน โดย shikimic acid pathway ซึ่ง Shikimic acid นั้นเป็น form ของการรวมตัวกันของ phosphoenolpyruvic acid และ erythrose-4-phosphate ซึ่งจะทำให้เกิด biosynthesis ของ amino acid คือ L-tyrosine และ L-phenylalanine amino acid ทั้ง2 ตัวนี้จะเปลี่ยนเป็น cinnamic acid counterparts เกิด hydroxylation โดย hydroxylase และ methoxylation โดย o-methyl-transferase ซึ่งจะเปลี่ยน cinnamic acid ไปเป็น three parahydroxy cinnamic acid ซึ่งจะเป็น precursor สำหรับการ

สร้าง lignin การสร้าง lignin นั้นเกิดขึ้นโดยปฏิกิริยา hydroxylation และ methylation (Glasser, 1980)



ภาพที่ 4 Precursor ที่ใช้ในการสังเคราะห์ลิกนิน ได้แก่ p-coumaryl alcohol coniferyl alcohol และ sinapyl alcohol (Tuor และ คณะ ,1995)

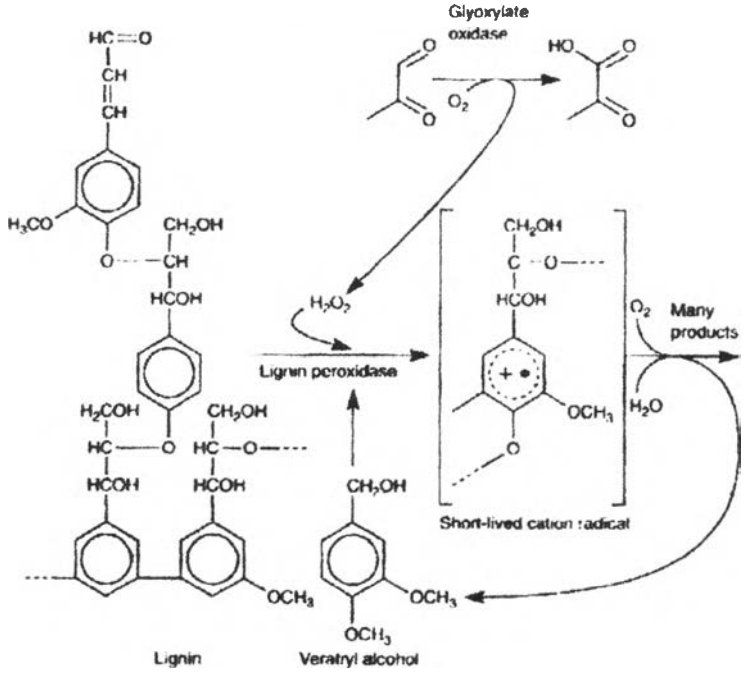


ภาพที่ 5 โครงสร้างของลิกนิน

เอนไซม์ย่อยสลายลิกนินของรากลุ่ม white rot เอนไซม์ที่ผลิตออกมามี 2 ชนิดคือ กลุ่มเปอร์ออกซิเดส ได้แก่ ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส แมงกานีส เปอร์ออกซิเดส ซึ่งจำเป็นต้องใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นตัวร่วมปฏิกิริยา ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งคือ ออกซิเดส ได้แก่เอนไซม์แลคเคส จะใช้ ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน ได้เป็นน้ำ (Tuor และคณะ, 1995)

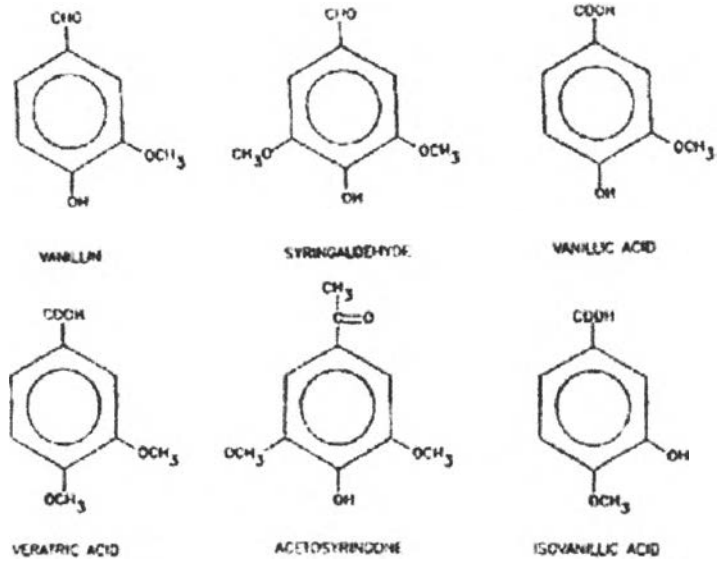
1. ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส (Lignin peroxidase (EC No. 1. 11. 1.14 Diarylpropane: oxygen, hydrogen-peroxidase oxidoreductase))

เอนไซม์นี้มีบทบาทในการย่อยสลายลิกนินได้มากที่สุดเป็นสาร secondary metabolite ที่สร้างขึ้นเมื่อมีการเจริญที่คงที่ มีคุณสมบัติในการออกซิไดส์ phenolic unit ให้เป็น aryl cation radical มีผลทำให้พันธะ C-C และ C-O แตกหักออกจากกัน ลักษณะการเข้าทำลายลิกนินด้วย เอนไซม์ ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 ลักษณะการเข้าทำลายโมเลกุลของลิกนิน ด้วย เอนไซม์ ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส (Carlile and Watkinson, 1994)

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายลิกนิน เช่น vanillin, syringaldehyde, isovanillic acid vanilic acid และอื่นๆ (ภาพที่ 7)

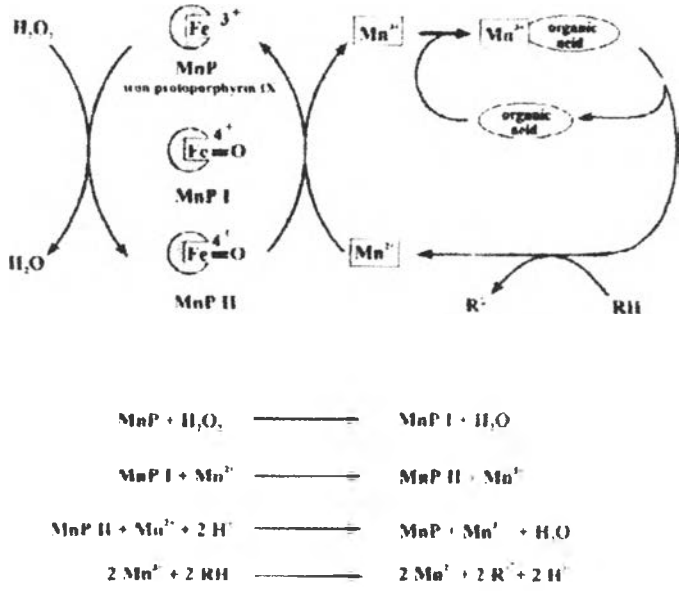


ภาพที่ 7 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายลิกนิน

2. แมงกานีส เปอร์ออกซิเดส (Manganese Peroxidase (EC No. 1.11. 1. 13 Mn(II): hydrogen-peroxidase oxidoreductase))

เอนไซม์นี้ไม่สามารถออกซิไดส์สารประกอบที่ไม่เป็น phenolic lignin เช่น veratryl alcohol เพราะเอนไซม์นี้ต้องการสารที่มีกลุ่ม phenolic อิสระ ใน aromatic ring เป็น substrate และใช้แมงกานีส เป็นตัวร่วมปฏิกิริยา ในภาวะที่ต้องการ H_2O_2

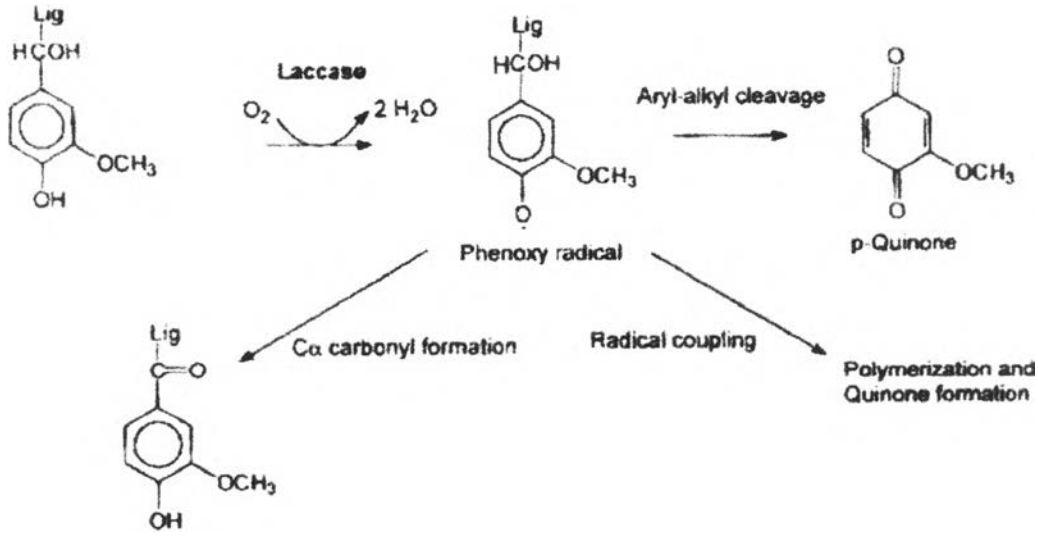
การเกิดปฏิกิริยาเริ่มจาก MnP และ H_2O_2 เป็น oxidize intermediate MnIP จากนั้นสารตั้งต้นตัวแรกคือ Mn^{2+} จะถูก oxidize โดย MnPI และ MnPII เป็น Mn^{3+} ซึ่ง Mn^{3+} ถูกรวมกับโครงสร้างกรดอินทรีย์ เช่น lactate, manolate, oxalate หรือ tartrate และสุดท้ายจะถูก oxidize กับ phenolic substrate โดยอยู่ในระดับ pH ที่เหมาะสมคือ ระหว่าง 4.0 และ 5.0 (Heinzkill และ Messner, 1997)



ภาพที่ 8 กลไกปฏิกิริยาของเอนไซม์แมงกานีส เปอร์ออกซิเดส (Heinzkill และ Messner, 1997)

3. แลคเคส (Laccase (EC No. 1. 1 0. 3. 2 (benzenediol: O_2 oxidoreductase))

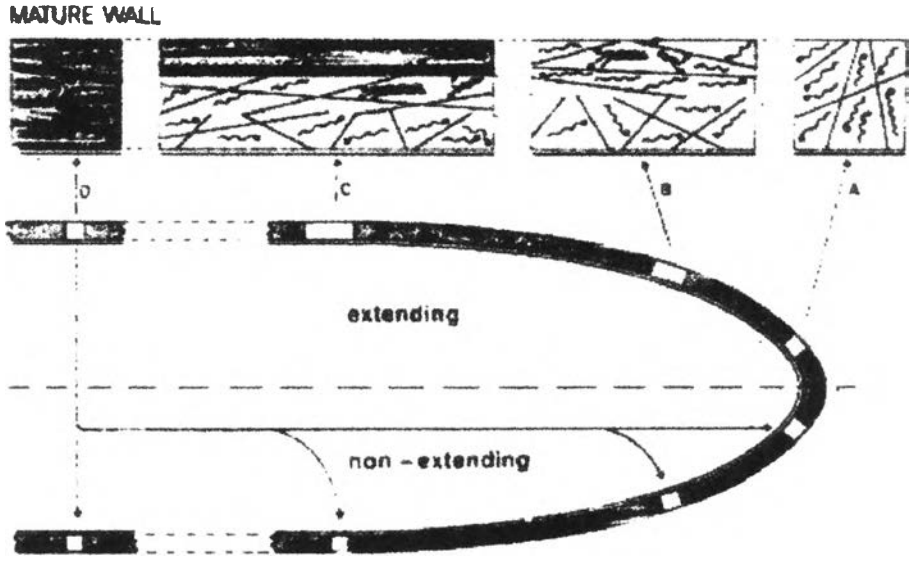
แลคเคสเป็น phenol oxidase ชนิด copper containing blue oxidase เอนไซม์นี้จะรีดิวส์ O_2 เป็น H_2O_2 ไม่เจาะจงต่อสารตั้งต้น ที่เป็นตัวให้อิเลคตรอน หลักการของ เอนไซม์แลคเคส คือ จะรวมตัวเกิด polymerization ของ phenolic จากสารประกอบลิกนิน สารตั้งต้นที่ใช้ในการตรวจสอบ laccase ได้แก่ syringaldazine (Srinivasan และคณะ, 1995)



ภาพที่ 9 แสดงกลไกของเอนไซม์แลคเคส ในการทำปฏิกิริยากับสารประกอบลิกนิน

Leonard และ Phillip (1973) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตเอนไซม์ phenoloxidase กับการสร้างเส้นใย *S. commune* ในระยะต่างๆ พบว่า การสร้างเอนไซม์ phenoloxidase จะเพิ่มสูงขึ้น เมื่อปริมาณเส้นใยมารวมตัวกันมากขึ้น และจะสูงมากที่สุดในระยะที่มีการเจริญเต็มที่

Wessels (1987) ศึกษาการเจริญและการพัฒนาการของเส้นใย *S. commue* ว่าการเจริญของเส้นใยเริ่มต้นนั้นจะประกอบด้วย Glucosaminoglycan และ (1-3)-β-glucan โครงสร้างของผนังเซลล์นั้นประกอบด้วย (1-3)-β/(1-6)-β -glucan และ chitin ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในการสร้างผนังโครงสร้าง ให้ความแข็งแรง และการพัฒนาเป็นดอกเห็ด รูปแบบการจำลองของเส้นใย (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 รูปแบบจำลองแสดงผนังเซลล์และองค์ประกอบของเส้นใย *S. commune*.
(Wessels 1987)

Leonard (1971) พบว่า *S. commune* ที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ สายพันธุ์ Bmut type V Type II-3 coh-1X coh-1 และ Type II-8X type II-3 นั้นจะยังคงสามารถสร้าง เอนไซม์ phenoloxidase ส่วนอีกกลุ่มจะไม่ทำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ ได้แก่ สายพันธุ์ Bmut, Bmut type V coh-1 coh-1 และ Type II-8

Leslie (1979) รายงานว่า Phenoloxidase เป็นเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นขณะที่มีการเจริญเติบโต เริ่มที่จะมีการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์ Phenoloxidase โมเลกุลประกอบด้วย copper ซึ่งสามารถจัดได้เป็น 2 กลุ่มตามสารตั้งต้น คือ กลุ่ม ไทโรซีเนส (Tyrosinase) และกลุ่มแลคเคส

Dix and Webster (1995) กล่าวถึงการย่อยสลายลิกนิน ลิกนินเป็นโครงสร้างที่เป็น phenyl-propane units การย่อยสลายโดยเชื้อรานั้นจะแตกต่างกัน ซึ่งกลไกที่สำคัญในการย่อยมี 3 กระบวนการ คือ 1) การย่อยสลายโดยการทำลายพันธะที่เชื่อมระหว่าง polymer 2) การเปลี่ยนและโยกย้าย side chain ด้วยหมู่ benzene ring 3) การเปลี่ยนเป็นสารประกอบ aliphatic จากสาร aromatic โดยเอนไซม์ สารตั้งต้นสำหรับการสร้าง lignin ได้แก่ p-coumaryl alcohol, coniferyl alcohol และ sinapyl alcohol

Reeve (1989) รายงานถึงผลกระทบของสารเคมีที่ใช้ในอุตสาหกรรมกระดาษ การผลิตกระดาษ 1 ตันจะใช้สารประกอบคลอรีนถึง 5 กิโลกรัม แต่ทั่วโลกจะผลิตเยื่อกระดาษประมาณ 50 ล้านตันต่อปี ซึ่งจะใช้สารประกอบคลอรีนประมาณ 250,000 ตัน สารประกอบคลอรีน เป็นสารพิษก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ สลายได้ยาก และจะสะสมเป็นอันตรายต่อระบบสิ่งมีชีวิต

Paice และคณะ(1989) ได้ทดลองนำเชื้อรา *Coriolus versicolor* (ATCC 20869) มาทดสอบความสามารถในการฟอกสีเยื่อไม้เนื้อแข็ง (hardwood kraft pulp) ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ และการกวน ในระยะเวลา 5 วัน พบว่า *C. versicolor* ทำให้ค่าคัปปานัมเบอร์ (เป็นค่าบ่งบอกปริมาณลิกนินที่อยู่ในเยื่อกระดาษ) ลดลงจาก 11.6 เป็น 7.9 และค่าความขาวสว่าง (ค่าการสะท้อนแสงของกระดาษ) เพิ่มจาก 33.5% เป็น 48% ความแข็งแรงของกระดาษลดลง อาจจะเนื่องมาจากเซลลูโลสถูกทำลาย และเมื่อนำเชื้อรามาฟอกร่วมกับวิธีเคมีแบบ DED ทำให้ค่าความขาวสว่าง 82% ในขณะที่การฟอกแบบ CEDED ให้ค่าความขาวสว่าง 88% (Reid และคณะ,1990) ได้ศึกษาเชื้อรา *C. versicolor* ในการย่อยเยื่อไม้เนื้ออ่อน ในภาวะกวน ทำให้ค่าความขาวสว่างเพิ่มขึ้นและเมื่อฟอกร่วมกับวิธีเคมีแบบ DED ทำให้ค่าคัปปานัมเบอร์ลดลงเป็น 8.5 ค่าความขาวสว่าง 61% แต่การฟอกแบบ DED เพียงอย่างเดียว จะให้ค่าคัปปานัมเบอร์เท่ากับ 24 และค่าความขาวสว่างเท่ากับ 33% ซึ่ง *C. versicolor* ให้ค่าความขาวสว่างของเยื่อไม้เนื้ออ่อนได้สูงกว่าเยื่อไม้เนื้อแข็ง

Fujita และคณะ(1991) ทำการทดสอบความสามารถในการฟอกสีเยื่อไม้เนื้อแข็งของเชื้อรา white rot จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ IZU-154 *C. versicolor* *Phanerochaete chrysosporium* และ *Coriolus hirsutus* ซึ่งเจริญบนอาหาร PDB มาเตรียมเป็นสารละลายสปอร์ใส่ลงไปในเยื่อที่เตรียมไว้ ซึ่งสัดส่วนของเยื่อและสารละลายสปอร์มีเพียง เยื่อแห้ง 4 กรัม น้ำกลั่น 8

มิลลิลิตร สารละลายสปอร์ 8 มิลลิลิตร ซึ่งจะไม่มีการเติมสารอาหารเลย พบว่า เชื้อรา IZU-154 ทำให้ค่าความขาวสว่างของเยื่อเพิ่มขึ้นจาก 28% เป็น 52% ส่วนค่าคัปปานัมเบอร์ลดลงจาก 20.9 ไปเป็น 8.5 ในระยะเวลา 7 วัน และในวันที่ 11 ความขาวสว่างของเยื่อเท่ากับ 63% ค่าคัปปานัมเบอร์เท่ากับ 5.70 เมื่อใช้เชื้อราฟอกร่วมกับขั้นตอนการใช้สารเคมี (FCED) ค่าความขาวสว่างเพิ่มขึ้นเป็น 88% และยังพบว่า ขั้นตอนการฟอกแบบ FCED สามารถช่วยลดปริมาณการใช้คลอรีนและสารเคมีที่ก่อให้เกิดมลภาวะได้อีกด้วย

Metha และคณะ (1992) ทำการศึกษาการฟอกสีเยื่อไม้โดยใช้เชื้อรา *P. chrysosporium* โดยใช้เยื่อแห้ง 3 กรัม บ่มกับเส้นใย *P. chrysosporium* 5% ในอาหารซึ่งประกอบด้วย glucose 1% นำไปบ่มที่ 39°C นาน 72 ชม. พบว่าค่าคัปปานัมเบอร์ของเยื่อไม้ ยูคาลิปตัส ลดลงจาก 27.12 เป็น 12.1 ค่าความขาวสว่างเพิ่มขึ้นจาก 25% ไปเป็น 44% Tran และ Chamber (1987) รายงานว่าเมื่อฟอกเยื่อ hardwood ด้วย *P. chrysosporium* ในสภาวะนิ่ง เป็นเวลา 10 วัน จะย่อยลิกนิน ได้ 33%

Reid (1995) ได้รายงานถึงการย่อยสลายลิกนิน โดยเอนไซม์ต่างๆ จากเชื้อราในกลุ่ม white rot ได้แก่ ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส แมงกานีส เปอร์ออกซิเดส แลคเคส และ Cellobiose: quinone oxidoreductase การย่อยสลายลิกนิน โดยเอนไซม์นั้นจะไม่เป็นแบบโดยตรง ประโยชน์ของเอนไซม์ ในแง่เศรษฐกิจ เช่น การย่อยสลายไม้ เศษกิ่งไม้ ซึ่งจะช่วยย่อยไม้ไปเป็นคาร์บอนได้ง่ายซึ่งคาร์บอนดังกล่าวก็จะเข้าสู่กระบวนการของวัฏจักรคาร์บอน การผลิตเยื่อกระดาษ และการฟอกเยื่อ ช่วยให้ลดปริมาณการใช้สารเคมีให้ลดลงได้ ทำให้ช่วยลดมลพิษที่เป็นปัญหามลภาวะได้ ในแง่เป็นอาหารให้กับมนุษย์ เห็ดที่กินได้ สามารถย่อย lignocellulose ให้เป็นอาหารให้กับมนุษย์ คือ ดอกเห็ด

Hatakka และคณะ(1983) ศึกษาการคัดเลือกเชื้อรา white rot ที่สามารถย่อยสลาย ^{14}C-lignin in wood meal ไปเป็น $^{14}CO_2$ พบว่า *P. sordida* 37 ให้ค่าปริมาณของ $^{14}CO_2$ สูงที่สุด

Vries และคณะ (1986) ศึกษาการสร้างเอนไซม์แลคเคส จากเส้นใยที่เป็น dikaryon ของ *S. commune* พบว่า ที่อุณหภูมิ 30°C และมืด จะสร้างเอนไซม์แลคเคสได้มากกว่า ที่ 24°C และมีแสง การสร้างแลคเคสจะสร้างจนกระทั่งกลูโคสหมดไป และการสร้างโปรตีนของเอนไซม์แลคเคสนั้นจะพบในเส้นใยที่เป็น dikaryon เท่านั้น ที่อุณหภูมิ 30°C และที่มืด

Alder (1990) รายงานว่า เชื้อรากลุ่ม white rot ในแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการย่อยสลายลิกนินที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและองค์ประกอบของสารที่พบในเนื้อไม้ นอกจากนี้แล้วปัจจัยอื่นๆ เช่น ปริมาณความชื้นของสภาวะแวดล้อม ปริมาณออกซิเจนและความเข้ม

ข้นของปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ในเนื้อไม้ซึ่งมีผลต่ออัตราการย่อยสลายสารที่เป็นองค์ประกอบในเนื้อไม้

Jeffries (1996) รายงานถึงการนำเอนไซม์มาใช้ในอุตสาหกรรมกระดาษ เพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับกระดาษเช่น เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) เฮมิเซลลูเลส (hemicellulase) เพคติเนส (pectinase) และเอนไซม์ไซแลนเนสก็มีการนำไปใช้ (Paice และคณะ, 1995)