บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ศึกษาการเจริญของเห็ดแครงทั้ง 7 สายพันธุ์ในอาหารแข็งและอาหารเหลว

1.1 ศึกษาการเจริญของเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์ บนอาหารแข็งที่ระดับ pH ต่าง ๆ

การเจริญของเส้นใยเชื้อ *S. commune* ทั้ง 7 สายพันธุ์คือ กาญจนบุรี กรุงเทพฯ เชียงราย ปัตตานี พังงา ระยอง และลพบุรี บนอาหารแข็ง PDA ที่ระดับ pH 6.0 7.0 8.0 9.0 และ 10.0 ซึ่งบ่มในที่มืด อุณหภูมิห้อง ทำการวัดการเจริญของเส้นใย ทุกๆ 2 วัน พบว่าการเจริญของเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์กาญจนบุรี บนอาหาร PDA โดยพิจารณาจากความหนาแน่นของเส้นใย และรัศมีการเจริญจะเจริญได้ดีที่ช่วง pH 6.0-7.0 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การเจริญของเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์กาญจนบุรีบนอาหาร PDA ที่ pH ต่างๆ

pH	รัศมีของเส้นใยเฉลี่ย (มิลลิเมตร)						ความหนาแน่นของเส้นใย
	เริ่มต้น	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	
6.0	4.00	11.03	27.10	36.50	43.30	nd	+++
7.0	4.00	10.37	26.80	37.79	43.20	nd	+++
8.0	4.00	9.50	26.87	35.07	41.20	nd	++
9.0	4.00	8.77	23.10	27.93	38.20	nd	++
10.0	4.00	8.10	19.93	27.41	35.33	nd	+

nd: no detectable (ไม่สามารถตรวจวัดได้เนื่องจากเส้นใยเจริญเต็มและล้นออกมาจากจานแก้ว)

+++ : เส้นใยหนาแน่นมากที่สุด ++ : เส้นใยหนาแน่นมาก + : เส้นใยหนาแน่นน้อย

การเจริญของเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์กรุงเทพฯ (ตารางที่ 2) นั้น พบว่า เส้นใยจะมีความหนาแน่นมากที่สุด และจะเจริญได้ดีที่ช่วง pH 6.0-7.0

ตารางที่ 2 การเจริญของเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์กรุงเทพฯ บนอาหาร PDA ที่ pH ต่างๆ

pH	รัศมีของเส้นใยเฉลี่ย (มิลลิเมตร)						ความหนาแน่นของเส้นใย
	เริ่มต้น	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	
6.0	4.00	10.50	19.37	27.87	35.60	44.27	+++
7.0	4.00	10.27	19.77	29.93	37.77	44.70	+++
8.0	4.00	9.77	20.20	29.63	37.10	44.53	++
9.0	4.00	8.47	17.13	26.60	34.93	44.20	+
10	4.00	7.20	14.33	23.17	29.77	36.27	+

+++ : เส้นใยหนาแน่นมากที่สุด ++ : เส้นใยหนาแน่นมาก + : เส้นใยหนาแน่นน้อย

เส้นใย *S. commune* สายพันธุ์เชียงราย จะมีความหนาแน่นของเส้นใยมากที่สุดและเจริญได้ดีที่ช่วง pH 6.0-7.0 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การเจริญของเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์เชียงราย บนอาหาร PDA ที่ pH ต่างๆ

pH	รัศมีของเส้นใยเฉลี่ย (มิลลิเมตร)						ความหนาแน่นของเส้นใย
	เริ่มต้น	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	
6.0	4.00	10.93	20.10	31.70	42.70	nd	+++
7.0	4.00	11.50	20.93	33.70	44.53	nd	+++
8.0	4.00	10.37	19.87	30.33	40.03	nd	++
9.0	4.00	11.10	21.60	31.93	42.77	nd	+
10	4.00	11.80	22.33	30.60	42.87	nd	+

nd: no detectable (ไม่สามารถตรวจวัดได้เนื่องจากเส้นใยเจริญเต็มและล้นออกมาจากจานแก้ว)

+++ : เส้นใยหนาแน่นมากที่สุด ++ : เส้นใยหนาแน่นมาก + : เส้นใยหนาแน่นน้อย

การเจริญของรัศมีเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานีพบว่า ความหนาแน่นมากของเส้นใยมากที่สุด และรัศมีการเจริญได้ดีที่ระดับ pH 6.0 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การเจริญของเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี บนอาหาร PDA ที่ pH ต่างๆ

pH	รัศมีเส้นใยเฉลี่ย (มิลลิเมตร)							ความหนาแน่นของเส้นใย
	เริ่มต้น	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12	
6.0	4.00	11.03	19.87	29.60	37.33	42.00	44.93	+++
7.0	4.00	11.30	15.93	24.93	34.10	36.13	40.24	+++
8.0	4.00	8.37	13.47	22.77	30.37	36.87	40.17	++
9.0	4.00	6.70	13.20	20.63	29.93	37.17	40.17	+
10.0	4.00	7.03	15.87	24.20	32.27	39.77	39.64	+

+++ : เส้นใยหนาแน่นมากที่สุด ++ : เส้นใยหนาแน่นมาก + : เส้นใยหนาแน่นน้อย

การเจริญของเส้นใย *S .commune* สายพันธุ์พังงา พบว่าเจริญได้เร็วและเส้นใยหนาแน่นฟูมากที่สุด ที่ระดับ pH 6.0 (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 การเจริญของเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์พังงาบนอาหาร PDA ที่ pH ต่างๆ

pH	รัศมีเส้นใยเฉลี่ย (มิลลิเมตร)							ความหนาแน่นของเส้นใย
	เริ่มต้น	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12	
6.0	4.00	9.10	17.70	28.70	36.30	41.12	44.77	+++
7.0	4.00	8.93	15.47	28.39	36.50	41.27	44.70	++
8.0	4.00	8.50	14.77	23.77	27.77	32.37	35.70	++
9.0	4.00	7.80	13.63	20.53	27.97	32.60	37.53	+
10.0	4.00	7.80	14.30	22.10	30.13	35.73	38.27	+

+++ : เส้นใยหนาแน่นมากที่สุด ++ : เส้นใยหนาแน่นมาก + : เส้นใยหนาแน่นน้อย

การเจริญของเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์ระยองจะเจริญได้ดีและเส้นใยหนาแน่นมากที่สุดที่ระดับ pH 6.0 (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 การเจริญของเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์ระยองบนอาหาร PDA ที่ pH ต่างๆ

pH	รัศมีเส้นใยเฉลี่ย (มิลลิเมตร)						ความหนาแน่นของเส้นใย
	เริ่มต้น	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	
6.0	4.00	10.37	22.20	37.30	44.00	nd	+++
7.0	4.00	9.20	19.43	31.10	39.93	nd	++
8.0	4.00	8.70	18.77	31.30	37.47	nd	++
9.0	4.00	7.67	16.37	25.77	34.03	nd	+
10.0	4.00	7.77	16.77	29.10	37.47	nd	+

nd: no detectable (ไม่สามารถตรวจวัดได้เนื่องจากเส้นใยเจริญเต็มและล้นออกมาจากจานแก้ว)

+++ : เส้นใยหนาแน่นมากที่สุด ++ : เส้นใยหนาแน่นมาก + : เส้นใยหนาแน่นน้อย

รัศมีการเจริญของเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์ลพบุรี เส้นใยจะหนาแน่นมากที่สุดและเจริญได้ดี ที่ระดับ pH 6.0 (ตารางที่ 7)

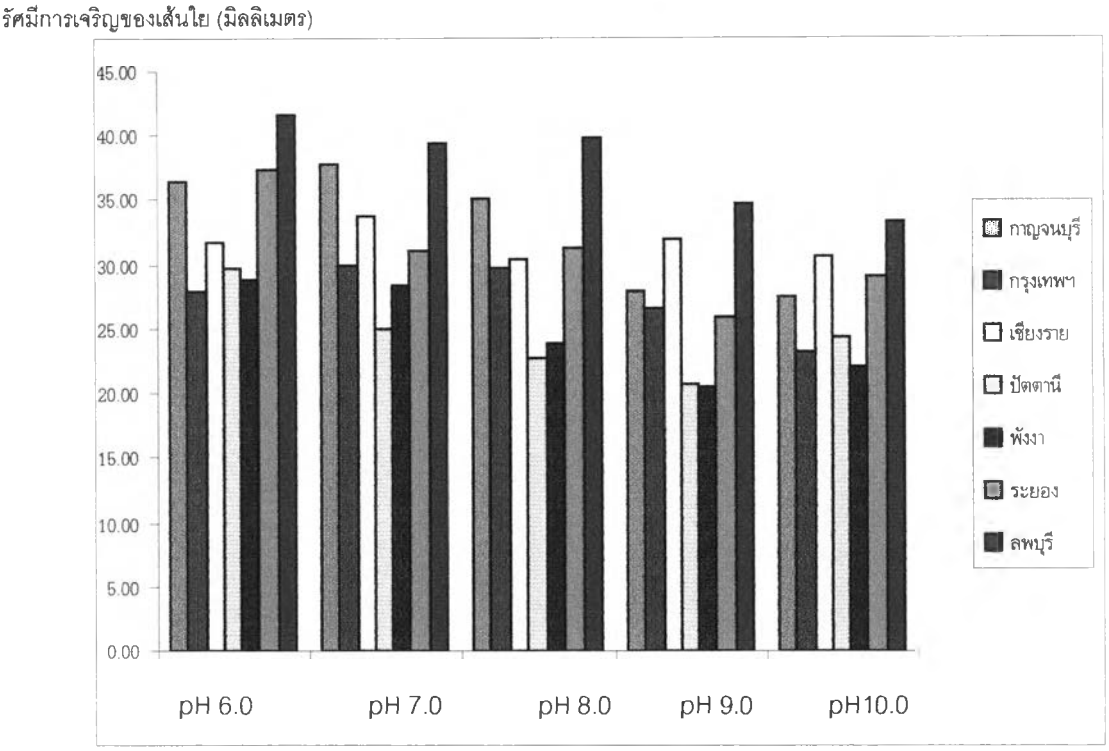
ตารางที่ 7 รัศมีของเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์ลพบุรีบนอาหาร PDA ที่ pH ต่างๆ

	รัศมีเส้นใยเฉลี่ย (มิลลิเมตร)						ความหนาแน่นของเส้นใย
pH	เริ่มต้น	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	
6.0	4.00	12.30	24.03	41.53	44.93	nd	+++
7.0	4.00	11.27	25.03	39.27	45.00	nd	++
8.0	4.00	10.97	25.10	39.87	45.00	nd	++
9.0	4.00	9.60	20.43	34.60	39.87	nd	+
10.0	4.00	9.60	17.20	33.20	39.87	nd	+

nd: no detectable (ไม่สามารถตรวจวัดได้เนื่องจากเส้นใยเจริญเต็มและล้นออกมาจากจานแก้ว)

+++ : เส้นใยหนาแน่นมากที่สุด ++ : เส้นใยหนาแน่นมาก + : เส้นใยหนาแน่นน้อย

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของ *S. commune* ทุกสายพันธุ์ ณ วันที่ 6 (ภาพที่ 12)

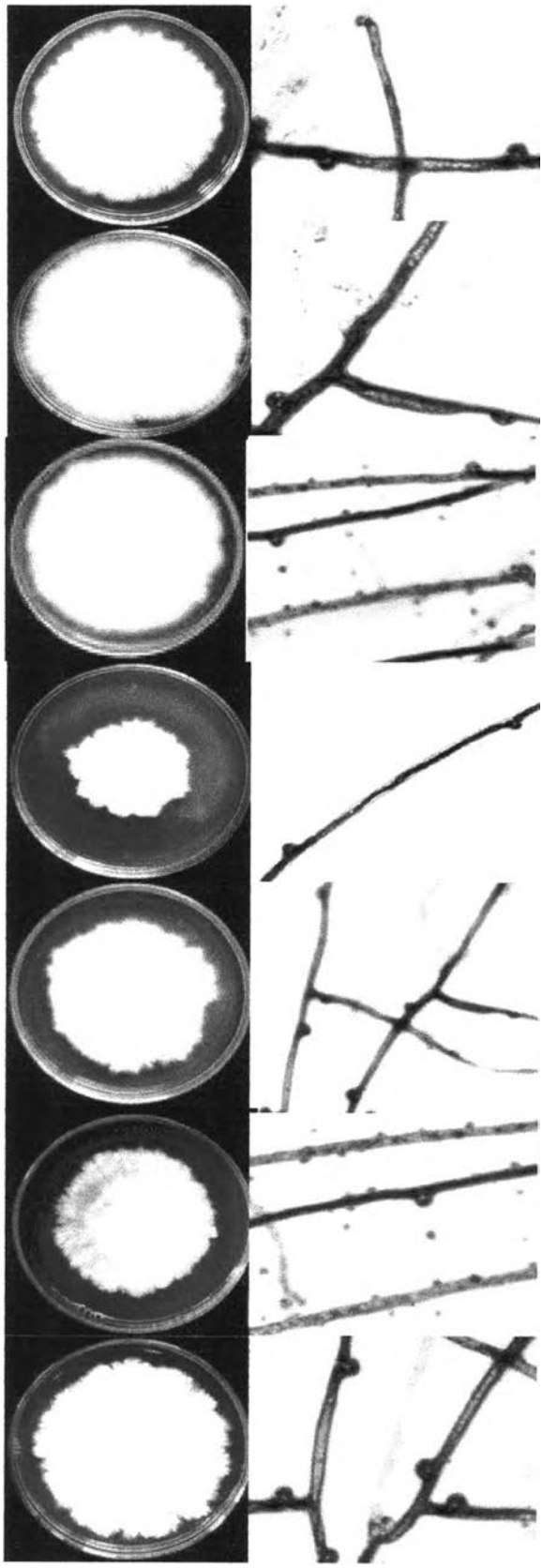


ภาพที่ 12 เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยบนอาหาร PDA ณ วันที่ 6 ที่ระดับ pH ต่างๆ

การเจริญของเส้นใยเห็ดแครงทั้ง 7 สายพันธุ์ จาก กาญจนบุรี กรุงเทพฯ เชียงราย ปัตตานี พังงา ระยอง และลพบุรี บนอาหาร PDA ที่ระดับ pH ต่าง ๆ คือ pH 6.0 7.0 8.0 9.0 และ 10.0 โดยการสังเกตความหนาแน่นและรัศมีการเจริญของเส้นใย พบว่าเชื้อ *S. commune* สายพันธุ์ กาญจนบุรี กรุงเทพฯ เชียงราย ปัตตานี เจริญได้ดีที่ pH ช่วง 6-7 ส่วนสายพันธุ์เชียงราย พังงา ระยอง และลพบุรี เจริญได้ดีที่ pH 6.0 (ตารางที่ 8) และลักษณะโคโลนี และเส้นใย (ภาพที่ 13-14)

ตารางที่ 8 pH ที่เหมาะสมสำหรับ *S. commune* สายพันธุ์ต่าง ๆ

สายพันธุ์	pH ที่เหมาะสม
กาญจนบุรี	6-7
กรุงเทพฯ	6-7
เชียงราย	6-7
ปัตตานี	6-7
พังงา	6
ระยอง	6
ลพบุรี	6



ภาพที่ 13 โคโลนีของ *S. commune* สายพันธุ์ต่างๆ และเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์

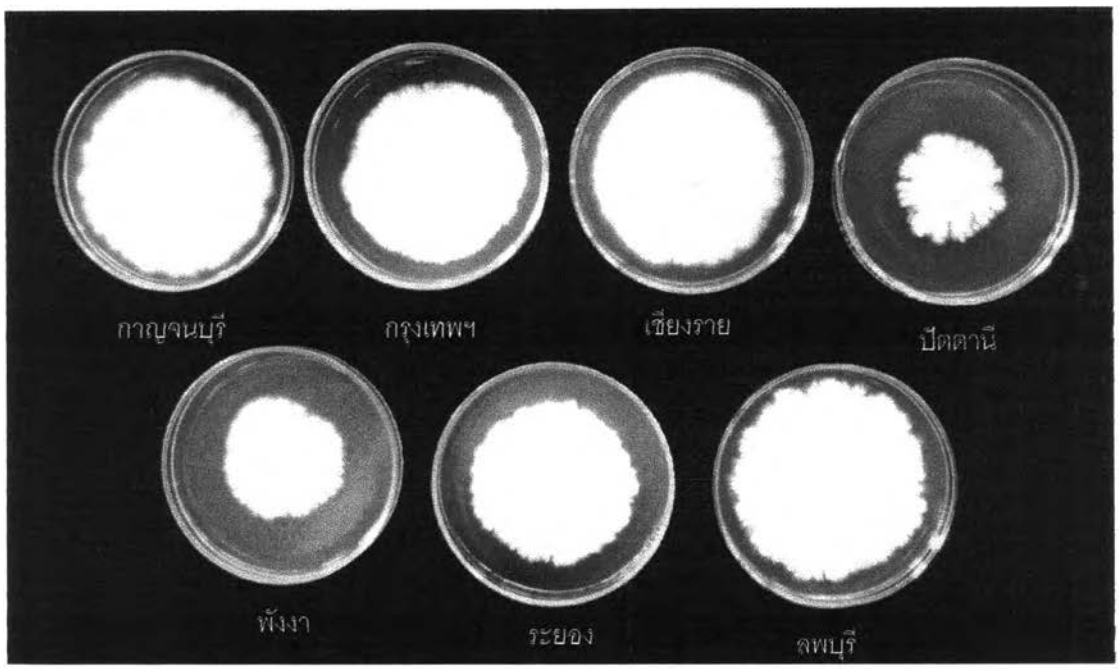
เส้นใยของ *S. commune* ในแต่ละสายพันธุ์ที่เจริญบนอาหาร PDA นั้นมีลักษณะที่เหมือนกันคือ

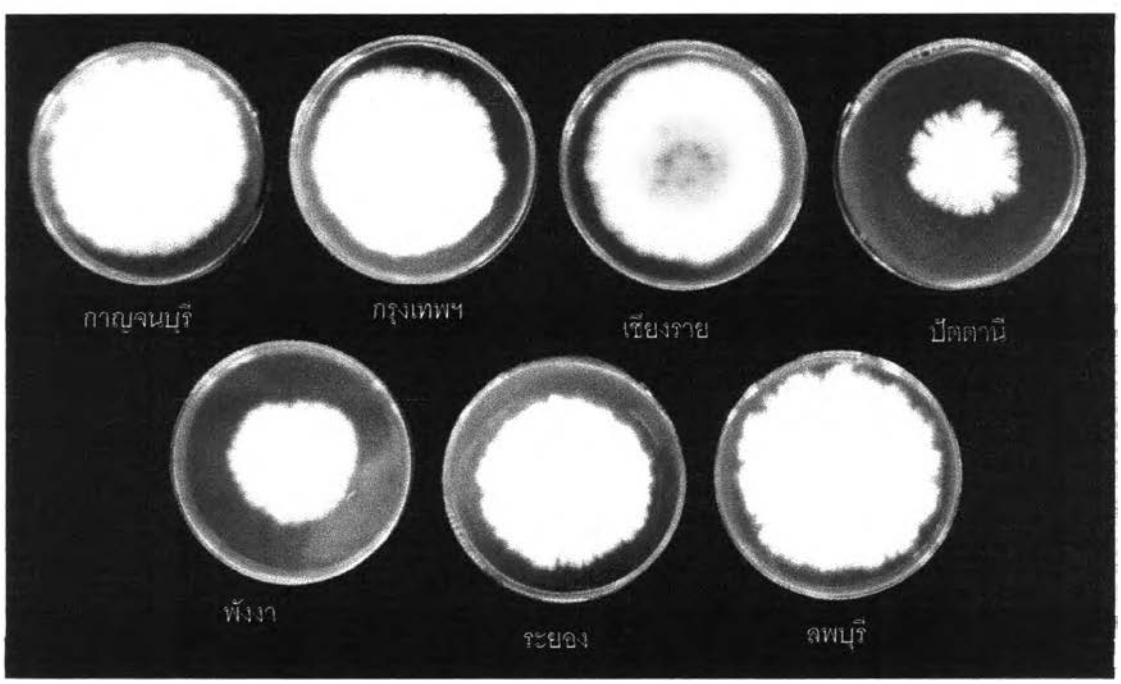
- เส้นใยสีขาวนวล
- ลักษณะของเส้นใยเมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จะแสดง clamp connection เส้นใยใส ไม่แตกต่างกัน

ลักษณะที่แตกต่างในแต่ละสายพันธุ์ คือ ความหนาแน่นและระยะเวลาในการเจริญของเส้นใยที่ระยะเวลาเท่ากันพบว่า

- สายพันธุ์กาญจนบุรีเส้นใยสานกันหนาแน่นมาก เส้นใยเจริญเร็ว
- สายพันธุ์กรุงเทพฯ เส้นใยสานกันหนาแน่นมาก เส้นใยเจริญเร็วปานกลาง
- สายพันธุ์เชียงราย เส้นใยจะแผ่ออกในแนวรัศมี เส้นใยไม่ค่อยประสานกันมาก ความหนาแน่นของเส้นใยเบาบาง ขอบเส้นใยจะเรียบ และมีการเจริญเร็ว เมื่อเลี้ยงประมาณ 7-10 วันจะมีเส้นใยจะผลิตสารสีน้ำตาลแดงออกมา
- สายพันธุ์ปัตตานี ขอบโคโลนีมักจะแตกแยก ไม่เรียบ ความหนาแน่นของเส้นใยปานกลาง มีการเจริญช้ามากที่สุด
- สายพันธุ์พังงา ขอบของโคโลนีจะแตกแยก แต่น้อยกว่าสายพันธุ์ปัตตานี ความหนาแน่นของเส้นใยปานกลาง มีการเจริญช้ากว่าสายพันธุ์ปัตตานี
- สายพันธุ์ระยอง ขอบของโคโลนีมักจะไม่เรียบ เส้นใยมาประสานกันมากมีการเจริญ
- สายพันธุ์ลพบุรี เส้นใยหนาแน่นและฟูมากที่สุด ขอบของโคโลนีไม่เรียบเป็นวงกลม การเจริญของเส้นใยจะเจริญเร็วที่สุด การเจริญของเส้นใยช้ากว่าจากสายพันธุ์พังงา

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของ pH ในอาหาร PDA พบว่า pH มีผลต่อการเจริญของ *S. commune* ในแต่ละสายพันธุ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง ANOVA ที่ 1-8)





ภาพที่ 14 โคโลนี *S. commune* แต่ละสายพันธุ์ อายุ 7 วันบนอาหาร PDA
แสดงด้านหน้า (ภาพบน) และด้านหลัง (ภาพล่าง)

1.2 ศึกษาการเจริญของเห็ดแครงทั้ง 7 สายพันธุ์ในอาหารเหลว PDB

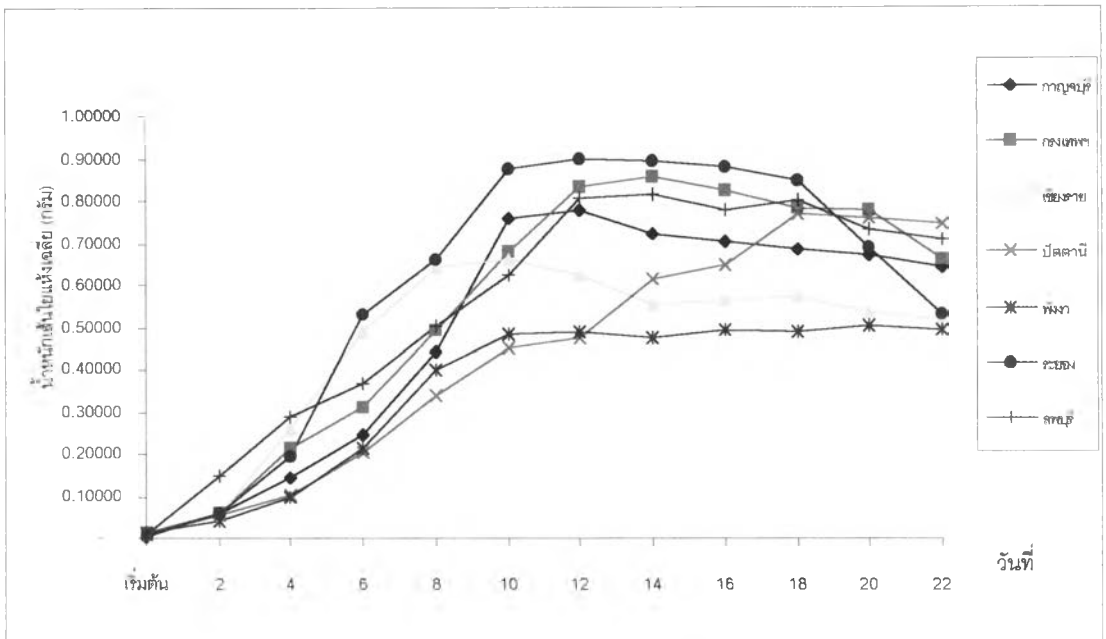
เมื่อเลี้ยงเส้นใยของเชื้อรา *S. commune* สายพันธุ์ต่าง ๆ ในอาหารเหลว PDB นำข้อมูลที่ได้มาเขียนกราฟ แสดงการเจริญเติบโต จากผลการทดลองพบว่า เส้นใยของเชื้อรา *S. commune* ต่างสายพันธุ์กัน มีช่วงการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 9 ภาพที่ 15)

ตารางที่ 9 การเจริญของเชื้อรา *S. commune* ทั้ง 7 สายพันธุ์ในอาหาร PDB เป็นระยะเวลา 22 วัน

สายพันธุ์	น้ำหนักเส้นใยแห้งเฉลี่ยของเชื้อรา (กรัม)											
	เริ่มต้น	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12	วันที่ 14	วันที่ 16	วันที่ 18	วันที่ 20	วันที่ 22
กาญจนบุรี	0.00473	0.06210	0.14253	0.24720	0.44370	0.75647	**0.77553**	0.72270	0.70403	0.68387	0.67053	0.64113
กรุงเทพฯ	0.01490	0.06090	0.21227	0.31270	0.49470	0.67703	0.83083	**0.85403**	0.82383	0.77970	0.77840	0.65843
เชียงราย	0.01143	0.05657	0.26150	0.48657	0.64103	**0.65817**	0.62157	0.55373	0.56317	0.57377	0.53507	0.51420
ปัตตานี	0.01060	0.05767	0.10410	0.20260	0.33977	0.44953	0.47317	0.61427	0.64763	**0.76970**	0.75600	0.74500
พังงา	0.01200	0.04400	0.09890	0.21410	0.40080	0.48530	**0.48880**	0.47270	0.49530	0.48810	0.50260	0.49080
ระยอง	0.01143	0.05863	0.19320	0.53070	0.66263	0.87537	**0.90000**	0.89073	0.88067	0.84703	0.68980	0.53140
ลพบุรี	0.01010	0.14780	0.29043	0.36610	0.50447	0.62093	0.80583	**0.81317**	0.77747	0.80177	0.73180	0.70680

หมายเหตุ อักษรตัวหนา หมายถึง ค่าน้ำหนักเส้นใยแห้งเฉลี่ยสูงที่สุด

T 202996



ภาพที่ 15 การเจริญของเชื้อรา *S. commune* ทั้ง 7 สายพันธุ์ในอาหาร PDB ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 10 แสดงวันที่และน้ำหนักเส้นใยแห้งเฉลี่ยสูงที่สุดของเชื้อ *S. commune* ในแต่ละสายพันธุ์

สายพันธุ์	วันที่	น้ำหนักเส้นใยแห้งเฉลี่ย (กรัม)
กาญจนบุรี	12	0.776
กรุงเทพฯ	14	0.854
เชียงราย	10	0.658
ปัตตานี	18	0.770
พังงา	10	0.485
ระยอง	10	0.687
ลพบุรี	14	0.806

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเส้นใยแห้งของเชื้อ *S. commune* ทั้ง 7 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์กรุงเทพฯ ให้น้ำหนักเส้นใยแห้งสูงที่สุด รองลงมาคือ สายพันธุ์ลพบุรี ซึ่งน้ำหนักเส้นใยแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 0.854 และ 0.806 กรัม ตามลำดับ

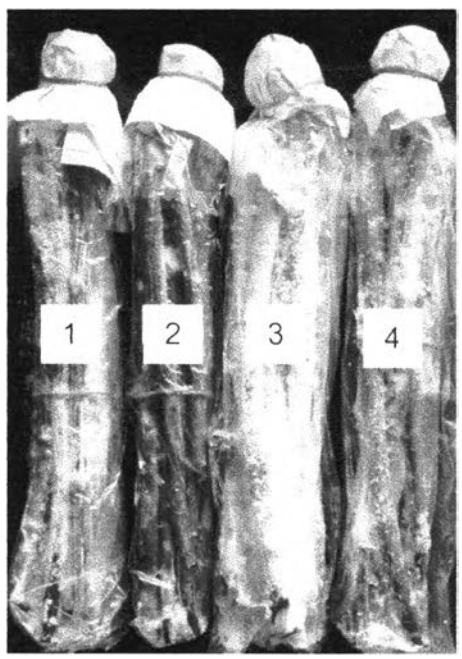
2. ศึกษาการเจริญของเห็ดแครงบนกิ่งไม้ชนิดต่าง ๆ

2.1 การเตรียมหัวเชื้อ

จากการทดลองข้อ 1 คัดเลือกเชื้อ *S. commune* สายพันธุ์ลพบุรีซึ่งมีลักษณะของเส้นใยที่ดีหนาแน่น ฟู สีของโคโลนีขาวนวล และมีการเจริญที่เร็ว ใช้สำหรับเป็นหัวเชื้อบนเมล็ดข้าวฟ่าง

2.2. การเตรียมกิ่งไม้สำหรับเพาะ

เส้นใยเห็ดแครงสายพันธุ์ลพบุรีที่เจริญบนกิ่งไม้แต่ละชนิด มีความแตกต่างกัน พบว่า บนไม้มะม่วง และหางนกยูง เส้นใยจะเจริญหนาแน่นทั่วกิ่งไม้ ทั้งรอยตัดและบริเวณเปลือก แต่บนกิ่งไม้มะขาม และสะเดา เส้นใยเห็ดแครงจะเจริญเบาบาง ซึ่งเส้นใยจะเจริญหนาแน่นเฉพาะบริเวณรอยตัด และรอยแตกบนกิ่งไม้ (ภาพที่ 16)

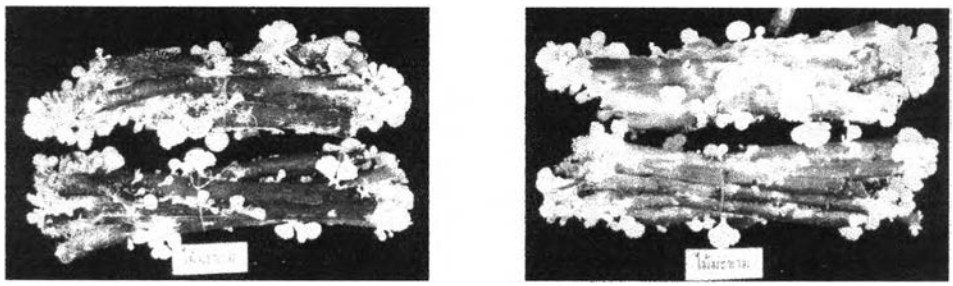


1 = ไม้มะม่วง
2 = ไม้สะเดา
3 = ไม้หางนกยูง
4 = ไม้มะขาม

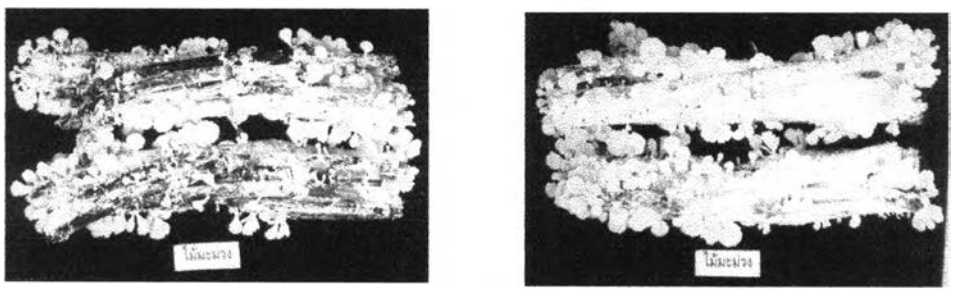
ภาพที่ 16 เส้นใยที่เจริญบนกิ่งไม้ บ่มนาน 10 วัน

และสภาพการบานของดอกเห็ดแครงบนกิ่งไม้ในโรงเปิดดอก (ภาพที่ 17) การเกิดดอกเห็ดแครงที่เพาะบนกิ่งไม้ในแต่ละชนิด (ภาพที่ 18-21)

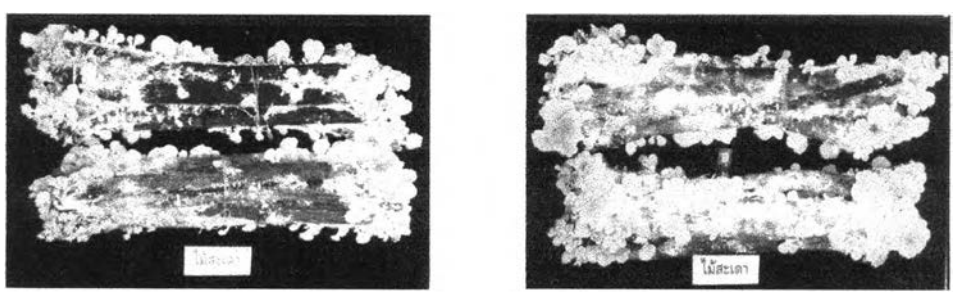
ภาพที่ 17 ดอกเห็ดที่บานในโรงเปิดดอก



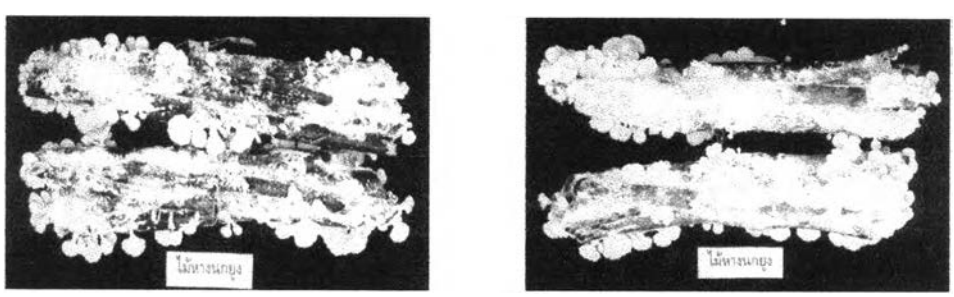
ภาพที่ 18 ดอกเห็ดแครงที่เจริญบนกิ่งไม้มะขาม



ภาพที่ 19 ดอกเห็ดแครงที่เจริญบนกิ่งไม้มะม่วง

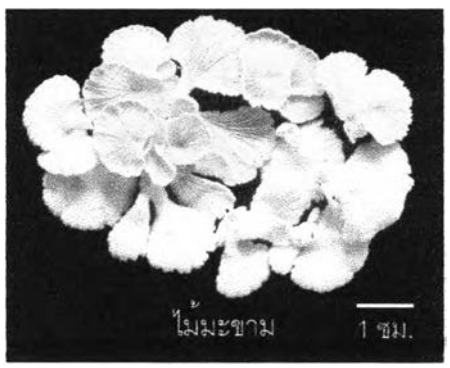


ภาพที่ 20 ดอกเห็ดแครงที่เจริญบนกิ่งไม้สะเดา

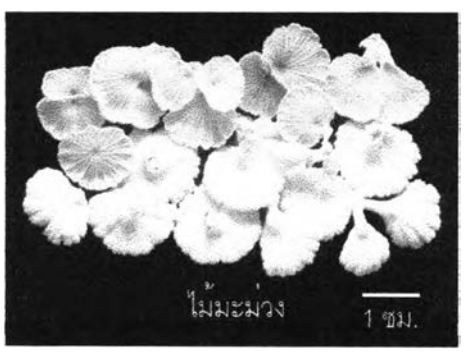


ภาพที่ 21 ดอกเห็ดแครงที่เจริญบนกิ่งไม้หางนกยูง

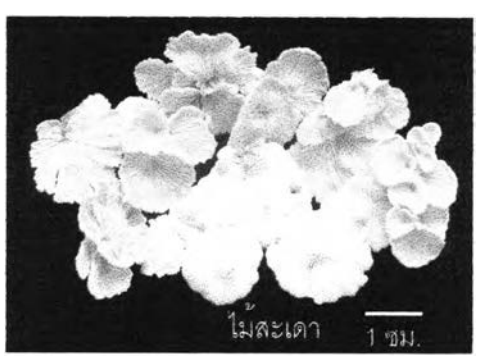
ลักษณะของดอกเห็ดแครงที่เก็บได้จากการเพาะบนกิ่งไม้แต่ละชนิด (ภาพที่ 22-25) ขนาดและสีของดอกเห็ดที่ได้ไม่แตกต่างกัน คือ ขนาดดอกเห็ดกว้าง Xยาว ประมาณ 1-2 เซนติเมตร มีสีขาวนวล กลิ่นหอม



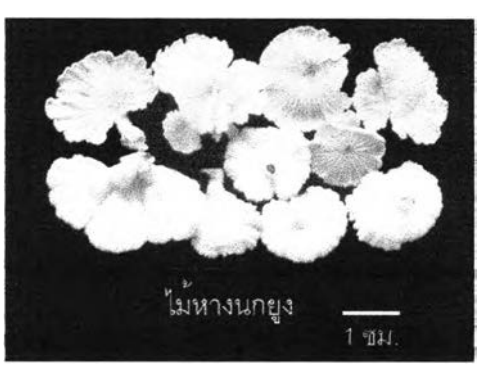
ภาพที่ 22 ดอกเห็ดที่เก็บได้จากการเพาะบนกิ่งไม้มะขาม



ภาพที่ 23 ดอกเห็ดที่เก็บได้จากการเพาะบนกิ่งไม้มะม่วง



ภาพที่ 24 ดอกเห็ดที่เก็บได้จากการเพาะบนกิ่งไม้สะเดา



ภาพที่ 25 ดอกเห็ดที่เก็บได้จากการเพาะบนกิ่งไม้หางนกยูง

เมื่อเปรียบเทียบวัสดุที่ใช้เพาะ *S. commune* สายพันธุ์ลพบุรี บนกิ่งไม้ 4 ชนิด พบว่า ไม้มะม่วงและไม้หางนกยูง ให้น้ำหนักดอกเห็ดสดเท่ากับ 20.96 และ 21.82 ตามลำดับ และให้ค่าประสิทธิภาพในการใช้วัสดุเพาะ เท่ากับ 10.27±0.64% และ 10.65±0.50% ตามลำดับ (ตารางที่ 11) ซึ่งไม้ 2 ชนิดนี้ให้ค่าแตกต่างจากไม้มะขาม และไม้สะเดา ซึ่งให้น้ำหนักดอกเห็ดสดเท่ากับ 14.60 และ 17.12 กรัมตามลำดับ ให้ค่าประสิทธิภาพในการใช้วัสดุเพาะเท่ากับ 7.15±0.40% และ 8.39±0.35% ตามลำดับ

ตารางที่ 11 แสดงน้ำหนักเห็ดสดและประสิทธิภาพในการใช้วัสดุเพาะของเห็ด *S. commune* สายพันธุ์ลพบุรีบนไม้ชนิดต่าง ๆ ในระยะเวลา 20 วัน

ชนิดของกิ่งไม้	น้ำหนักดอกเห็ดสด(กรัม)	% B.E.
มะขาม	14.60[b]	7.15±0.40[b]
มะม่วง	20.96[a]	10.27±0.64[a]
สะเดา	17.12[b]	8.39±0.35[b]
หางนกยูง	21.82[a]	10.65±0.50[a]

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยการเปรียบเทียบแบบ DMRT

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนชนิดของกิ่งไม้ กับประสิทธิภาพในการใช้วัสดุเพาะของเห็ด *S. commune* สายพันธุ์ลพบุรี พบว่า ชนิดของไม้มีผลต่อค่าประสิทธิภาพในการใช้วัสดุเพาะของเห็ด *S. commune* สายพันธุ์ลพบุรี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง ANOVA ที่ 9)

3. ศึกษาประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ของเห็ดแครง

3.1 การทดสอบการมีเอนไซม์แลคเคส

จากการทดสอบการผลิตเอนไซม์แลคเคสของเชื้อรา *S. commune* ทั้ง 7 สายพันธุ์ โดยการวัดการเจริญของเส้นใยบนอาหาร PDA +0.1% gallic acid แล้วทำการวัดการเจริญของเส้นใย และวงสีน้ำตาลเข้มที่เกิดขึ้นบริเวณรอบโคโลนี แล้วนำมาหาอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางของการเจริญของเส้นใยต่อการเกิดวงสีน้ำตาล ผลการทดลองดังตารางที่ 12

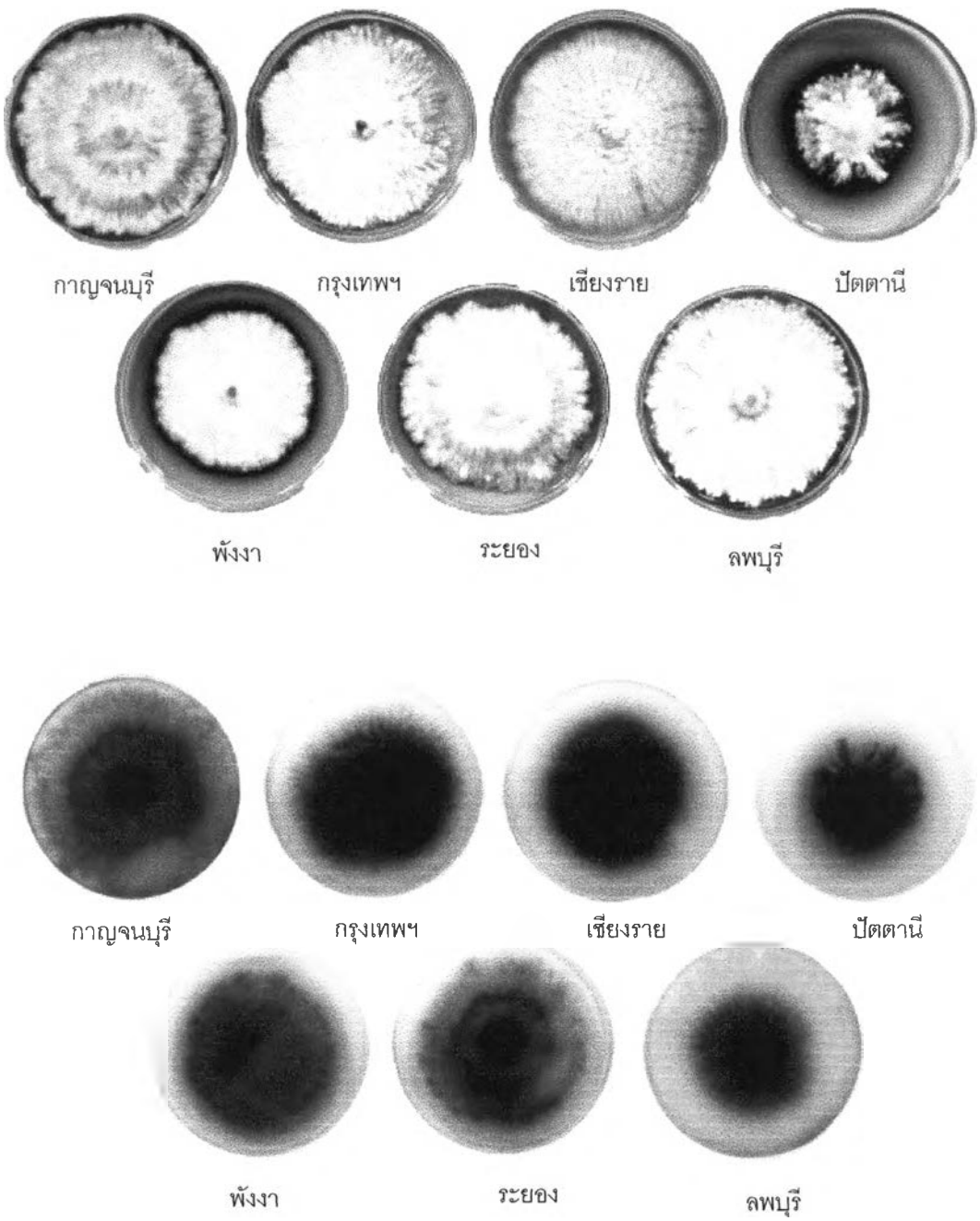
ตารางที่ 12 อัตราส่วนของการเจริญเส้นใยต่อการเกิดวงสีน้ำตาลของเส้นใย *S. commune* สายพันธุ์ต่างๆ ที่เจริญบนอาหารทดสอบ

วันที่	อัตราส่วนของการเจริญเส้นใยต่อการเกิดวงสีน้ำตาล						
	กาญจนบุรี	กรุงเทพฯ	เชียงราย	ปัตตานี	พังงา	ระยอง	ลพบุรี
1	0.77	0	0	0.51	0.49	0	0
2	0.94	0.95	1	0.62	0.57	0.79	0.78
3	0.94	1.00	1	0.84	0.82	0.92	0.96
4	0.98	1.03	1.03	0.74	0.84	0.95	0.93
5	1.00	1.00	1	0.74	0.81	1	1
6	1.00	1.00	1.09	0.79	0.86	1	1
7	1.00	1.00	1.19	0.78	0.85	1	1
8	1.00	1.00	1.31	0.83	0.87	1	1
9	1.00^{c}	1.00^{c}	1.34^{e}	0.85^{a}	0.92^{b}	1.08^{d}	1^{c}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยการเปรียบเทียบ DMRT

จากผลการทดลองพบว่ามีความแตกต่างในการเกิดวงสีคือ เส้นผ่านศูนย์กลางของวงสีที่ปรากฏบนอาหารนั้นอาจเกิดมากกว่าหรือน้อยกว่าการเจริญของเส้นใยบน PDA + 0.1% gallic acid ในกลุ่มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่าการเกิดวงสีบน PDA + 0.1% gallic acid ได้แก่ สายพันธุ์กาญจนบุรี กรุงเทพฯ เชียงราย ระยอง และลพบุรี กลุ่มที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยน้อยกว่าการเกิดวงสีบน PDA + 0.1% gallic acid ได้แก่ สายพันธุ์ปัตตานี และพังงา (ภาพที่ 26)

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของการผลิตวงสีน้ำตาลบนอาหาร PDA+0.1%gallic acid ของ *S. commune* ทั้ง 7สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ของ *S. commune* มีอัตราส่วนการสร้างวงสีน้ำตาลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง ANOVA ที่ 10)



ภาพที่ 26 ผลการทดสอบการผลิตเอนไซม์แลคเคสของ *S. commune* แต่ละสายพันธุ์บนอาหารPDA+0.1% gallic acid ด้านหน้า (ภาพบน) และด้านหลัง (ภาพล่าง)

3.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส ในอาหารสูตร production

3.2.1 การเตรียมหัวเชื้อ

จากผลการทดลองข้อ 3.1 ได้คัดเลือกเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบการสร้างเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส คือ *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี และ พังงา และ จากผลการทดลองในข้อ 1.2 พบว่าระยะที่เหมาะสมในการเตรียมหัวเชื้อสำหรับเชื้อรา *S. commune* สายพันธุ์ ปัตตานี และพังงา จะใช้ระยะเวลานาน 18 และ 10 วันตามลำดับ จากนั้นจึงนำเอาหัวเชื้อแต่ละชนิดไปทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ของ *S. commune* ต่อไป

3.2.2 การศึกษาภาวะ pH ที่เหมาะสมต่อการสร้างเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส ของ *S. commune* ในสายพันธุ์ที่เหมาะสม ในอาหารสูตร production

จากการศึกษาภาวะ pH ที่เหมาะสม ต่อการสร้างเอนไซม์ด้วยเชื้อเห็ด *S. commune* สายพันธุ์ ปัตตานี ในสูตรอาหาร production พบว่า ที่ระดับ pH 7.0 ในวันที่ 12 ค่า แอคติวิตีของเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดสวัดได้เท่ากับ 0.165 U/ml ส่วนที่ pH 6.0 5.0 และ 4.0 ให้ค่าแอคติวิตี เท่ากับ 0.151 0.122 และ 0.110 U/ml ซึ่งค่าแอคติวิตีที่ pH 6.0 กับ 5.0 และ pH 7.0 กับ 6.0 ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากการศึกษาภาวะ pH ที่เหมาะสมต่อการสร้างเอนไซม์ด้วยเชื้อรา *S. commune* สายพันธุ์ พังงาในสูตรอาหาร production พบว่า ที่ระดับ pH 7.0 ในวันที่ 12 แอคติวิตีของเอนไซม์วัดได้เท่ากับ 0.149 U/ml ส่วนที่ pH 6.0 5.0 และ 4.0 ให้ค่าแอคติวิตี เท่ากับ 0.123 0.121 และ 0.129 U/ml ซึ่งค่าแอคติวิตีที่ pH 6.0 กับ 5.0 และ pH 5.0 กับ 4.0 ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 13)

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส และค่า pH เริ่มต้นในอาหาร production พบว่า pH มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานีและพังงา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง ANOVA ที่ 11-14)

ตารางที่ 13 ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส ที่อุณหภูมิ 40°C ที่ระดับ pH ต่างๆ เมื่อฟอกด้วย *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี และพังงา

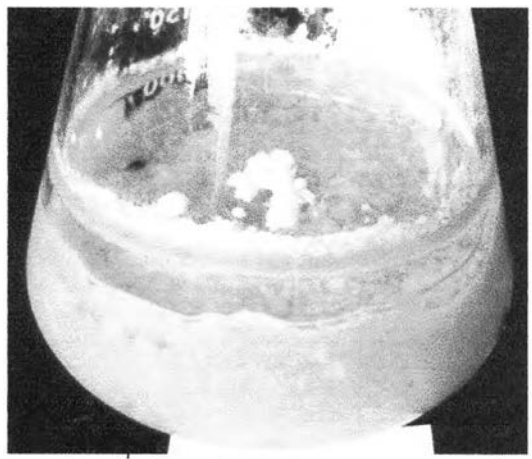
สายพันธุ์	วันที่	ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ (U/ml)			
		pH 4	pH 5	pH 6	pH 7
ปัตตานี	3	0.0848	0.1023	0.1020	0.1131
	6	0.0862	0.1103	0.1124	0.1201
	9	0.0997	0.1202	0.1376	0.1531
	12	**0.1101^{c}**	**0.1222^{b}**	**0.1515^{ab}**	**0.1648^{a}**
พังงา	3	0.0713	0.1026	0.1201	0.1376
	6	0.1156	0.1220	0.1325	0.1425
	9	0.1235	0.1206	0.1213	0.1437
	12	**0.1291^{c}**	**0.1205^{bc}**	**0.1229^{b}**	**0.1489^{a}**

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยการเปรียบเทียบแบบ DMRT

3.2.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสของ *S. commune* ทั้ง 2 สายพันธุ์ในอาหารสูตร production

ทำการศึกษาการฟอกเยื่อ โดยใช้ *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี และพังงา ในอาหารสูตร production พบว่า ทั้ง 2 สายพันธุ์ผลิตเอนไซม์ได้ดีที่สุดที่ระดับ pH 7.0 (จากผลการทดลองข้อ 3.2.2) มาทำการศึกษาเปรียบเทียบอุณหภูมิที่เหมาะสม 4 ระดับ คือ 25°C 30°C 35°C และ 40°C โดยเก็บผลทุกๆ 3 วัน เป็นระยะเวลา 12 วัน

ในสายพันธุ์ปัตตานีนั้น เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ก็เปลี่ยนแปลงไปในทิศทางที่สูงขึ้น เมื่อพิจารณาการสร้างเอนไซม์ในแต่ละระดับอุณหภูมิพบว่า สายพันธุ์ปัตตานีจะสร้างเอนไซม์ได้มากที่สุดที่อุณหภูมิ 35°C ฟอกเยื่อนาน 12 วัน วัดค่าแอคติวิตีได้เท่ากับ 0.183 U/ml ที่อุณหภูมิ 30°C 25°C และ 40°C ให้ค่าแอคติวิตีเท่ากับ 0.178 0.174 และ 0.167 U/ml ที่อุณหภูมิ 25°C 30°C และ 35°C ให้ผลไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ภาพที่ 27 แสดงการฟอกเยื่อของเส้นใย *S. commune* แบบภาวะเขย่า



ภาพที่ 27 การฟอกเยื่อด้วย *S. commune* อายุ 12 วัน แบบภาวะเขย่า

ส่วนสายพันธุ์พังงา ให้ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดสได้ดีที่สุดที่ อุณหภูมิ 40°C ให้ค่าแอคติวิตีสูงสุดเท่ากับ 0.149 U/ml รองลงมาคือ 35°C, 30°C และ 25 °C ให้ค่าเท่ากับ 0.123 0.113 และ 0.111 U/ml ตามลำดับ แต่ในทางสถิติพบว่า ที่อุณหภูมิ 25°C 30°C และ 35°C ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญได้ผลดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส เมื่อฟอกเยื่อด้วย *S. commune* สายพันธุ์ ปัตตานี และพังงาในอาหารสูตร production ที่ pH 7.0 ณ อุณหภูมิต่างๆ

สายพันธุ์	วันที่	ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ (U/ml)			
		25°C	30°C	35°C	40°C
ปัตตานี	3	0.1334	0.1371	0.1443	0.1131
	6	0.1474	0.1514	0.1670	0.1201
	9	0.1697	0.1661	0.1749	0.1531
	12	0.1736[a]	0.1780[a]	0.1826[a]	0.1648[b]
พังงา	3	0.0722	0.0776	0.0842	0.1376
	6	0.0802	0.0886	0.0940	0.1425
	9	0.0961	0.0968	0.1013	0.1437
	12	0.1107[b]	0.1129[b]	0.1227[b]	0.1489[a]

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยการเปรียบเทียบ DMRT (ตาราง ANOVA ที่ 11-15)

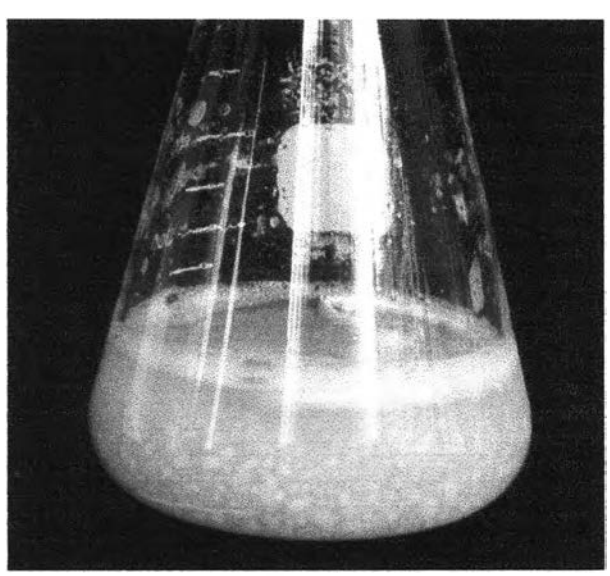
จากผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส ของ *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี และพังงา พบว่า ภาวะ pH ที่เหมาะสมสำหรับทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ ที่ pH 7.0 และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับ สายพันธุ์ปัตตานี และพังงา คือ 35°C และ 40°C ตามลำดับ เมื่อได้ผลดังนี้แล้วจะทำการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีที่สุด

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส ที่ผลิตจาก *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานีที่ระดับ pH 7.0 อุณหภูมิ 35°C เปรียบเทียบกับ *S. commune* สายพันธุ์พังงา ที่ระดับ pH 7.0 อุณหภูมิ 40°C ในระยะเวลา 12 วัน พบว่า สายพันธุ์ปัตตานีให้ค่าแอคติวิตีสูงกว่า สายพันธุ์พังงา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง ANOVA ที่ 15) ซึ่งจะใช้สายพันธุ์ปัตตานีในขั้นตอนการศึกษาประสิทธิภาพในการฟอกเยื่อกระดาษต่อไป

4.การศึกษาประสิทธิภาพในการฟอกเยื่อกระดาษของ *S. commune*

4.1 การเตรียมหัวเชื้อ

เตรียมหัวเชื้อ *S. commune* สายพันธุ์ที่เหมาะสม คือ สายพันธุ์ปัตตานี (จากการทดลองข้อ 3) เลี้ยงในอาหาร PDB ที่ pH 6-7 (จากการทดลองข้อ 1.1) บ่มนาน 18 วัน (จากการทดลองข้อ 1.2) หัวเชื้อที่ใช้สำหรับการฟอกเยื่อ (ภาพที่ 28) จากนั้นจึงนำหัวเชื้อไปใช้ในขั้นตอนต่อไป (ข้อ 4.2)



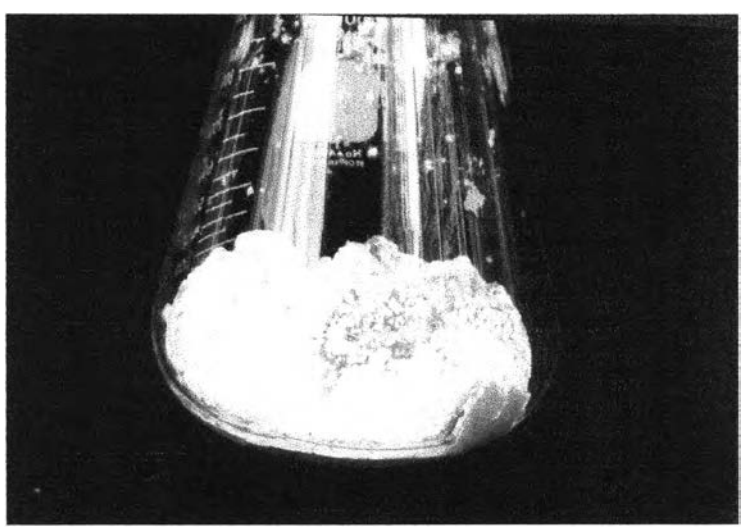
ภาพที่ 28 หัวเชื้อ *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี อายุ 18 วัน สำหรับฟอกเยื่อกระดาษ

4.2 การตรวจวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส แมงกานีส เปอร์ออกซิเดส และแลคเคส

ทำการศึกษาการฟอกเยื่อ โดยใช้ *S. commune* สายพันธุ์ ปัตตานี ในอาหารสูตร production ที่ระดับ pH 7.0 ที่อุณหภูมิ 35°C (จากผลการทดลองข้อ 3) ในภาวะนิ่ง สภาพการฟอกเยื่อกระดาษของ *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี (ภาพที่ 29) โดยเก็บผลเป็นระยะเวลา 15 วัน โดยเก็บผลทุกๆ 3 วันแล้วทำการแยกสารละลายเอนไซม์ และเยื่อกระดาษด้วยการกรองบนผ้าขาวบาง แล้วนำสารละลายเอนไซม์ไปตรวจวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส แมงกานีส เปอร์ออกซิเดส และแลคเคส จากการศึกษา ดังตารางที่ 15 พบว่า เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด มีแนวโน้ม ของค่าแอคติวิตีเอนไซม์และค่า specific activity เพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการฟอกมากขึ้น เมื่อนำค่า specific activity มาวิเคราะห์โดย DMRT

ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส ที่สร้างโดย *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี ที่อุณหภูมิ 35°C ฟอกเยื่อนาน 15 วัน มีค่าแอคติวิตีสูงที่สุดเท่ากับ 0.192 U/ml

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนระยะเวลาฟอกเยื่อนาน 3 6 9 12 และ 15 วัน นั้นมีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 15)



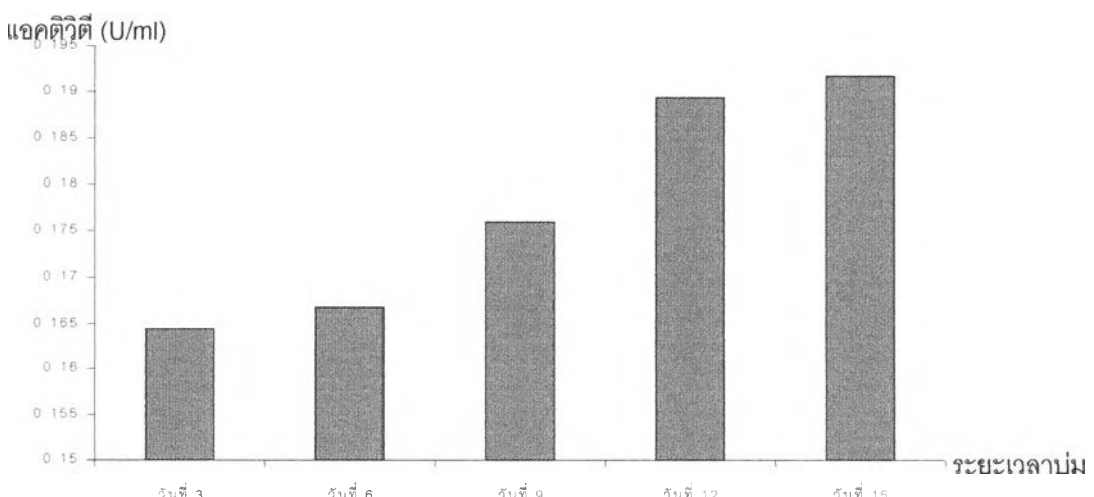
ภาพที่ 29 การฟอกเยื่อด้วย *S. commune* อายุ 15 วัน ในสภาวะนิ่ง

ตารางที่ 15 ค่าแอคติวิตีและ specific activity เฉลี่ยของเอนไซม์ ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส แมงกานีส เปอร์ออกซิเดส และแลคเคส ที่ผลิตโดย *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี ที่ pH 7 อุณหภูมิ 35°C สภาวะนิ่ง ณ เวลาบ่มที่ระยะเวลาต่างๆ

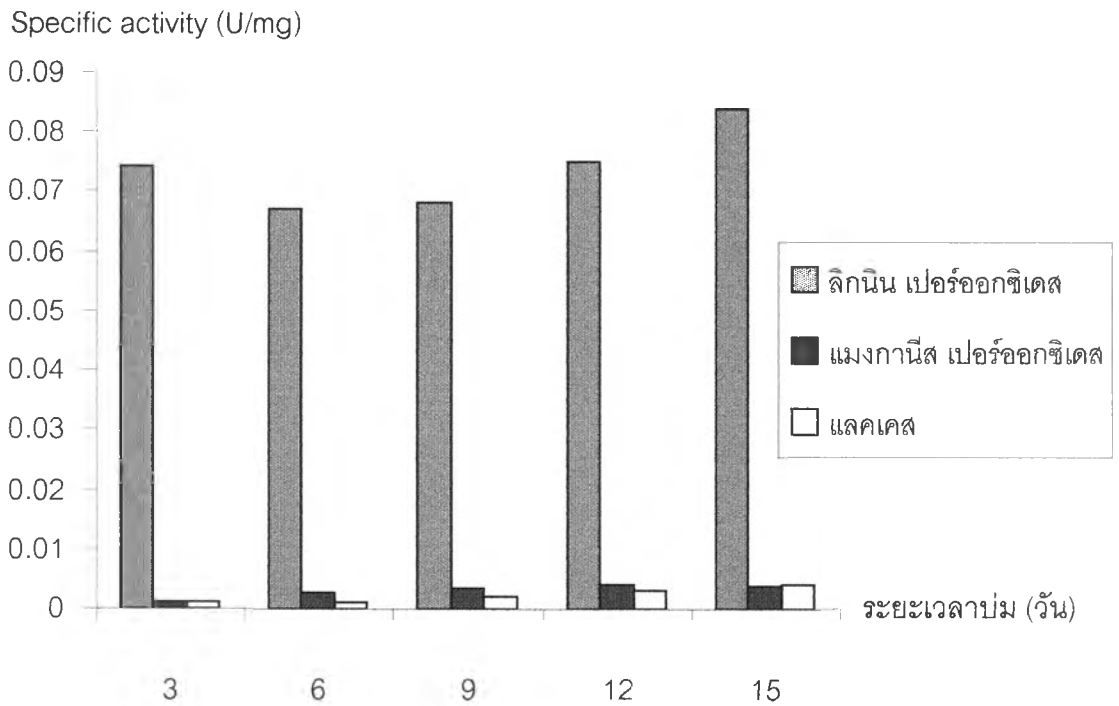
วันที่	ปริมาณโปรตีน (mg/ml)	ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส		แมงกานีส เปอร์ออกซิเดส		แลคเคส	
		แอคติวิตี (U/ml)	Sp act (U/mg)	แอคติวิตี (U/ml)	Sp act (U/mg)	แอคติวิตี (U/ml)	Sp act (U/mg)
3	2.210	0.164^{c}	0.0742^{b}	0.0020	0.0009	0.0012	0.001
6	2.492	0.167^{c}	0.0670^{c}	0.0066	0.0027	0.0018	0.001
9	2.579	0.176^{b}	0.0682^{c}	0.0084	0.0033	0.0045	0.002
12	2.518	0.189^{b}	0.0751^{b}	0.0100	0.0040	0.0072	0.003
15	2.293	0.192^{a}	0.0838^{a}	0.0085	0.0037	0.0100	0.004

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการเปรียบเทียบแบบ DMRT (ตาราง ANOVA ที่ 17-18)

ค่า specific activity ของเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส แมงกานีส เปอร์ออกซิเดส และแลคเคส ในสารละลายเอนไซม์ที่ผลิตโดย *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี ที่ pH 7 อุณหภูมิ 35 °C สภาวะนิ่ง พบว่าเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส ให้ค่าสูงกว่าแมงกานีส เปอร์ออกซิเดส และแลคเคสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 31) จึงเปรียบเทียบระยะเวลาการบ่ม กับค่า specific activity พบว่า ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส ของวันที่ 15 ให้ค่าสูงกว่าวันที่ วันที่ 3 6 9 และ 12 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง ANOVA ที่ 18) (ภาพที่ 30)



ภาพที่ 30 ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส ที่สร้างโดยเชื้อรา *S. commune* สายพันธุ์ ปัตตานี ที่ pH 7 ในอาหารสูตร production ที่อุณหภูมิ 35° C ระยะเวลาฟอกต่าง ๆ



ภาพที่ 31 ค่าแอคติวิตี้ของ เอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส แมงกานีส เปอร์ออกซิเดส และแลคเคสโดยเชื้อ *S. commune* สายพันธุ์ ปัตตานี ที่ pH 7 ในอาหารสูตร production ที่อุณหภูมิ 35° C ระยะเวลาฟอกต่าง ๆ

จากการหาค่า specific activity ของเอนไซม์ลิกนิน เปอร์ออกซิเดส โดยเชื้อรา *S. commune* สายพันธุ์ ปัตตานี ที่ pH 7 ในอาหารสูตร production ที่อุณหภูมิ 35°C ระยะเวลาฟอกต่างๆ พบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการฟอกกับค่า specific activity ในวันที่ 15 จะให้ค่า specific activity สูงกว่าวันอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง ANOVA ที่ 18)

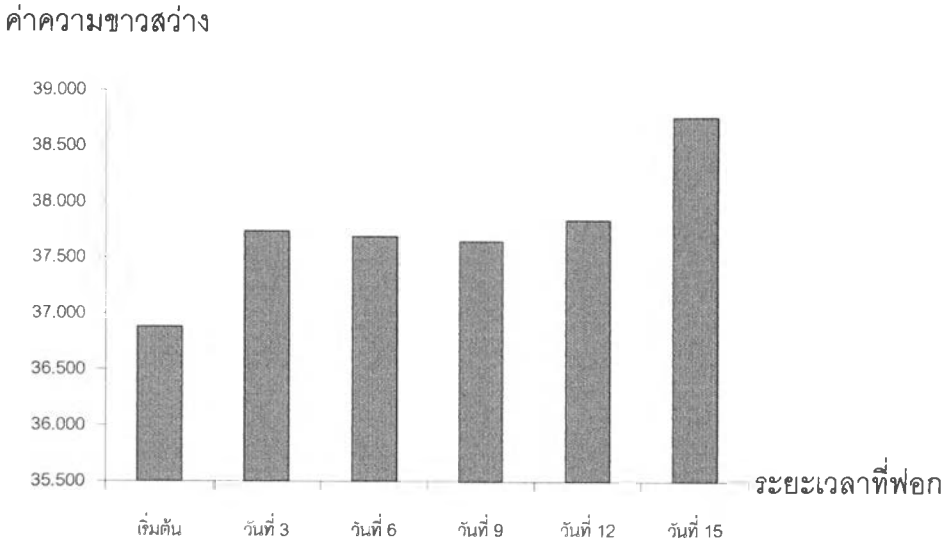
4.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติบางประการของเยื่อที่ผ่านการฟอกสีเยื่อกระดาษ คือ คัปปานัมเบอร์ของเยื่อ และ ค่าความขาวสว่าง

จากการนำเยื่อกระดาษที่ผ่านการฟอกด้วยเชื้อ *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี ไปวัดค่าคัปปานัมเบอร์และความขาวสว่างของเยื่อตามวิธี Tappi method แล้วพบว่า เมื่อเปรียบเทียบค่าคัปปานัมเบอร์เฉลี่ยพบว่ามีความสอดคล้องกับค่าความขาวสว่าง พบว่า เชื้อ *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานีมีความสามารถย่อยสลายลิกนินในเยื่อได้ ทำให้ค่าคัปปานัมเบอร์ลดลง ค่าความขาวสว่างเพิ่มขึ้น เมื่อใช้ระยะการฟอกนานขึ้นและค่าคัปปานัมเบอร์ลดต่ำที่สุดเมื่อใช้ระยะเวลาฟอกนาน 15 วัน เมื่อวิเคราะห์สถิติที่การฟอกเยื่อนาน 15 วัน จะให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จาก 3-12 วัน ค่าคัปปานัมเบอร์ เท่ากับ 10.53 ลดลง 13.33 % เมื่อเทียบกับเยื่อเริ่มต้น ให้ค่าความขาวสว่างเท่ากับ 38.75% เพิ่มขึ้นจากเยื่อเริ่มต้นเท่ากับ 1.87% ระยะเวลาในการฟอกรองลงมาคือ 12 9 6 และ 3 วัน ค่าคัปปานัมเบอร์เท่ากับ 11.19 11.54 11.57 11.92 ตามลำดับ ค่าความขาวสว่างของเยื่อเท่ากับ 37.84% 37.64% 37.64% 37.69% และ 37.73% ตามลำดับ เมื่อใช้เวลาฟอกนาน 6 9 12 วัน ค่าคัปปานัมเบอร์และค่าความขาวสว่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 16 ภาพที่ 32 และ 33)

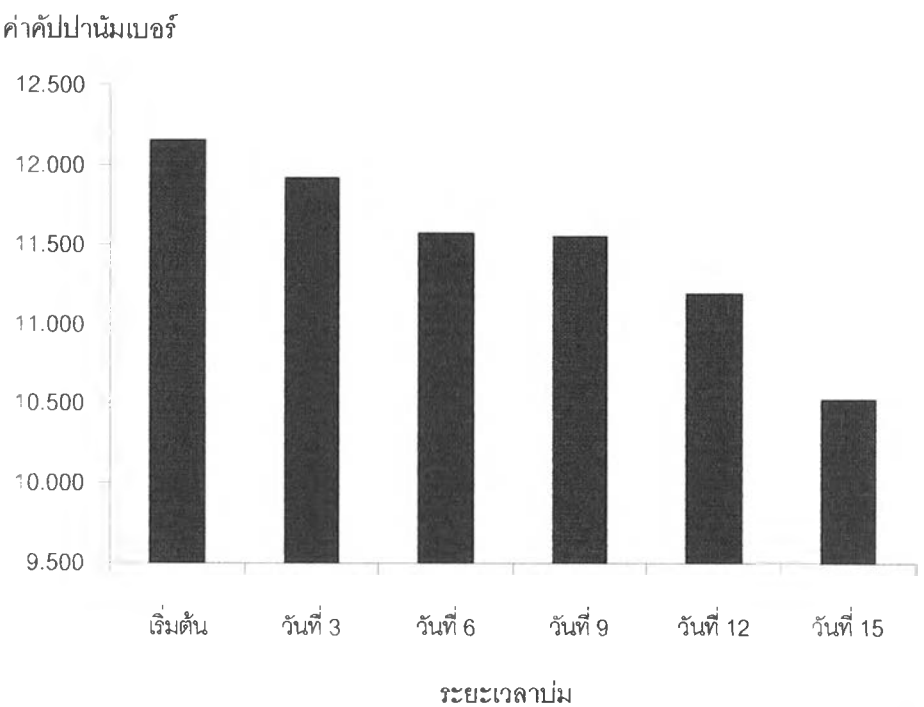
ตารางที่ 16 ค่าคัปปานัมเบอร์และค่าความขาวสว่างเฉลี่ยของเยื่อที่ฟอกในระยะเวลาต่างๆ โดยเชื้อ *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี ในอาหารสูตร productionที่อุณหภูมิ 35°C

ระยะเวลาการฟอก	ค่า คัปปานัมเบอร์	ค่าความขาวสว่าง (%)
เริ่มต้น	12.15^{d}	36.88^{c}
3	11.92^{d}	37.73^{b}
6	11.57^{c}	37.69^{b}
9	11.54^{c}	37.64^{b}
12	11.19^{b}	37.84^{b}
15	$\mathbf{10.53^{a}}$	$\mathbf{38.75^{a}}$

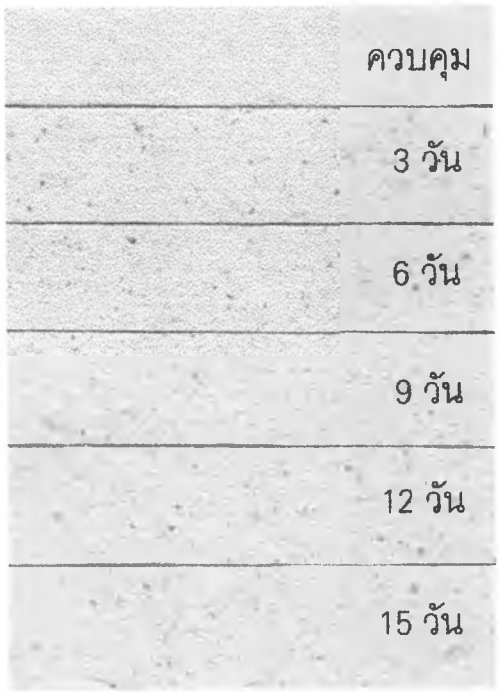
แผ่น hand sheet ที่ได้จากการฟอกด้วย *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี ที่ระยะเวลาบ่มต่างๆ กัน (ภาพ ที่ 34) จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าคัปปานัมเบอร์ และค่าความขาวสว่างของเยื่อที่ฟอกด้วย *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี ในอาหารสูตร production ที่ pH 7.0 อุณหภูมิ 35°C ในระยะเวลาต่างๆกัน พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 % (ตาราง ANOVA ที่ 19-20)



ภาพที่ 32 ค่าความขาวสว่างของเชื้อที่ผ่านการฟอกด้วยเชื้อรา *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานี ที่ pH 7 ในอาหารสูตร production ที่อุณหภูมิ 35°C ระยะเวลาฟอกต่าง ๆ



ภาพที่ 33 ค่าคัปปานัมเบอร์ของเชื้อที่ผ่านการฟอกด้วยเชื้อรา *S. commune* สายพันธุ์ ปัตตานี ที่ pH 7 ในอาหารสูตร production ที่อุณหภูมิ 35° C ระยะเวลาฟอกต่าง ๆ



ภาพที่ 34 แผ่น hand sheet ที่ผ่านการฟอกด้วย *S. commune* สายพันธุ์ปัตตานีในอาหารสูตร production ในระยะเวลาบ่มต่างกัน