Thesis Title Use of Thiamine Replacement Materials Used in *Lentinula edodes* Cultivation

Author Miss Rawipa Hankitiwat

Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisor Lect. Dr.Chartchai Khanongnuch

ABSTRACT

Finding for thiamine replacement material for cultivation of *Lentinula edodes* was investigated. Various sources of thiamine including dried and fresh yeast from molasses culture, dried and fresh yeast from beer processing, solution of efficient microorganism (EM), wheat bran, fermented soybean meal, soybean meal and biofertilizer were screened. It was found that the highest thiamine quantity is found in dried yeast from molasses culture ($80\pm1.0\times10^{-3}$ mg/100 g). Factors affected on thiamine production were screened using Plackette and Burman statistical design and the Central Composite Design (CCD) were also applied to find the optimal medium formula for thiamine production by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5339. The molasses and $(NH_4)_2SO_4$ were significant factors (*p*-value < 0.2) and the optimal medium for yeast thiamine production was consisted of molasses 5.19 g/l $(NH_4)_2SO_4$ 0.43 g/l $CaCl_2.2H_2O$ 0.55 g/l $MgSO_4.7H_2O$ 0.1 g/l KH_2PO_4 0.1 g/l. The suitable formulation for using of dried yeast was also studied, the mixture of yeast cell and soy bean meal with the ratio of 1:1 (dry weight) and drying in hot air oven at 105°C was found to be the most suitable method for keeping yeast cell thiamine in dried form. In *in vitro* study, replacement materials including solution of efficient microorganism (EM), dried yeast from molasses culture, dried yeast from beer processing, were supplemented in PDA with quantity equivalent to 10, 20 and 40 mg of commercial thiamine and the mycelial growth was then observed with 3 days interval.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

There was no difference of mycelial growth in all treatments and all treatments of thiamine replacement materials gave better results than the control except for treatment supplemented with 40 mg solution of EM-thiamine. In the pilot farm, thiamine replacement materials previously described were used in mushroom cultivation with the quantity equivalent to 10, 20 and 40 mg of commercial thiamine per 1 kilogram of sawdust. Mycelial growth was observed with 2 weeks interval. The result showed that, at 10 weeks of cultivation, almost all treatments had the higher mycelial growth than control in sawdust substrate except for substrate supplemented with 40 mg dried yeast from molasses culture-thiamine and 20 and 40 mg dried yeast from beer processing-thiamine. However, the sawdust substrate supplemented with 40 mg solution of EM-thiamine gave the highest mycelial growth. After the mycelium colonization was completed, the bags were opened, mushroom number was not difference in each treatment except sawdust substrate added with 20 and 40 mg thiamine of dried yeast from beer processing did not produce fruit body and sawdust substrate added with 20 mg thiamine of efficiency microorganism (EM) gave the highest weight per 1 fruit body.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การใช้วัสดุเพื่อการทดแทนไทอามีนในการเพาะเห็ดหอม

ผู้เขียน นางสาววิภา หาญกิติวัธน์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร.ชาติชาย โขนงนุช

บทคัดย่อ

ทำการหาวัสดุที่มีราคาถูกและคุณภาพดีเพื่อใช้ทดแทนไทอามีนในการเพาะเห็ดหอม โดยทำการคัดเลือกแหล่งของไทอามีนหลายแหล่งด้วยกันประกอบด้วย ยีสต์แห้งและยีสต์สดจากการเลี้ยงด้วยกากน้ำตาล ยีสต์แห้งและยีสต์สดที่เหลือจากการทำเบียร์ น้ำหมักชีวภาพ รำข้าว กากถั่วเหลือง หมัก กากถั่วเหลือง และปุ๋ยหมัก พบว่ายีสต์แห้งจากการเลี้ยงด้วยกากน้ำตาลมีปริมาณไทอามีนสูงที่สุด คือ $80\pm1.0\times10^{-3}$ มิลลิกรัม/100 กรัม การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไทอามีนในยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5339 โดยใช้แผนการทดลองทางสถิติแบบ Plackette and Burman design พบว่า กากน้ำตาล และแอมโมเนียมซัลเฟต มีผลต่อการผลิตไทอามีนในยีสต์อย่างมีนัยสำคัญ และจากการหาสูตรอาหารที่เหมาะสมโดยใช้แผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตไทอามีนในยีสต์ คือ กากน้ำตาล 5.19 กรัม/ลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.43 กรัม/ลิตร แคลเซียมคลอไรด์ 0.55 กรัม/ลิตร แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 กรัม/ลิตร โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1 กรัม/ลิตร จากการทำให้อยู่ในรูปที่เหมาะสมต่อการใช้งาน พบว่าการผสมเซลล์ยีสต์กับกากถั่วเหลืองในอัตราส่วน 1:1 (น้ำหนักแห้ง) และอบด้วยตู้อบ (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นวิธีที่ดีที่สุด เมื่อนำวัสดุทดแทนไทอามีนซึ่งประกอบด้วย น้ำสกัดชีวภาพ ยีสต์แห้งจากการเลี้ยงด้วยกากน้ำตาล ยีสต์แห้งที่เหลือจากการทำเบียร์ ไปทดสอบการเลี้ยงเส้นใยเห็ดหอมและสังเกตผลต่อการเจริญของเส้นใยบนอาหาร PDA ทุก 3 วัน พบว่าการเจริญของเส้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ใยในอาหารที่มีการเติมวัสดุทดแทนไทอามีนทั้ง 3 แหล่ง ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันและให้ผลการเจริญของเส้นใยดีกว่าชุดควบคุม ยกเว้นชุดการทดลองที่ใช้น้ำสกัดชีวภาพที่มีปริมาณไทอามีน 40 มิลลิกรัม ผลจากการนำไปใช้เพาะเห็ดหอมในฟาร์มทดลอง โดยใช้วัสดุทดแทนที่มีไทอามีน 10, 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อขี้เลื่อย 1 กิโลกรัม และสังเกตการเจริญของเส้นใยทุก 2 สัปดาห์ พบว่าทุกชุดการทดลองให้ผลการเจริญของเส้นใยดีกว่าการทดลองชุดควบคุม โดยเฉพาะในสัปดาห์ที่ 10 ทุกชุดการทดลองให้ผลการเจริญของเส้นใยดีกว่าชุดควบคุม ยกเว้นยีสต์แห้งจากกากน้ำตาลที่มีปริมาณไทอามีน 40 มิลลิกรัม ยีสต์แห้งจากการทำเบียร์ที่มีปริมาณไทอามีน 20 และ 40 มิลลิกรัม อย่างไรก็ตาม อาหารขี้เลื่อยที่เติมน้ำสกัดชีวภาพที่มีปริมาณไทอามีน 40 มิลลิกรัม ทำให้เส้นใยเห็ดหอมมีการเจริญได้ดีที่สุด หลังจากเส้นใยเดินเต็มถุง ทำการเปิดดอกพบว่าจำนวนดอกในแต่ละชุดการทดลองไม่ต่างกัน ยกเว้นยีสต์แห้งจากการทำเบียร์ที่มีปริมาณไทอามีน 20 และ 40 มิลลิกรัม ไม่มีการสร้างดอกเห็ด เมื่อชั่งน้ำหนักพบว่ายกเว้นชุดการทดลองที่ใช้น้ำสกัดชีวภาพที่มีปริมาณไทอามีน 20 มิลลิกรัม ให้น้ำหนักดีที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved