การใช้ประโยชน์ของภาชนะบรรจุกระดาษเหลือทิ้งในการเพาะเห็ดตระกูลนางรม ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ

Utilization of Paper Packaging Waste for Cultivation of Oyster Mushroom with Antioxidant

อามีเนาะ อาแย

Aminoh Ayae

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Environmental Management
Prince of Songkla University
2556

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การใช้ประโยชน์ของภาชนะบรรจุกระดาษเหลือทิ้งในการเพาะเห็ดตระกูลนางรมที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ

ผู้เขียน นางสาวอามีเนาะ อาแย

สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

…….

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

……..

(ดร.กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์)

คณะกรรมการสอบ

……..……..ประธานกรรมการ
(ดร.อรมาศ สุทธินุ่น)

……..……..กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)

……..……..กรรมการ
(ดร.กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์)

...……...…..……...กรรมการ
(ดร.ปุญญานิช อินทรพัฒน์)

……..……กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณา ชูฤทธิ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม

……..……..……..……

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และขอแสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

ลงชื่อ……..
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ……..
(นางสาวอามีเนาะ อาแย)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ…….

(นางสาวอามีเนาะ อาแย)

นักศึกษา

ชื่อโครงการวิจัย การใช้ประโยชน์ของภาชนะบรรจุกระดาษเหลือทิ้งในการเพาะเห็ดตระกูลนางรมที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ

ผู้เขียน นางสาวอามีเนาะ อาแย

สาขา การจัดการสิ่งแวดล้อม

ปีการศึกษา 2555

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาการใช้ประโยชน์ของภาชนะบรรจุกระดาษเหลือทิ้งในการเพาะเห็ดตระกูลนางรมที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ โดยศึกษาเห็ดตระกูลนางรม 3 ชนิด ได้แก่ เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และเห็ดภูฐาน จากผลการทดลองพบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดตระกูลนางรมบนอาหารแข็งพีดีเอ และบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 50:50 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เห็ดนางรมมีการเจริญของเส้นใยสูงสุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 8.9 เซนติเมตร และให้ค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเท่ากับ 2.058 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ เมื่อทดลองสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ที่ปรับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วนค่า C/N เท่ากับ 20 ด้วยการเติมยูเรีย ผสมกับรำข้าวร้อยละ 8 และใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 เพาะเลี้ยงในภาชนะบรรจุกล่อง พีวีซี (พอลิไวนิลคลอไรด์) พบว่าเห็ดนางรมให้ผลผลิตของน้ำหนักดอกเห็ดสดเฉลี่ย 26.59 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ มีค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยาร้อยละ 213.10 และมีปริมาณโปรตีนสูงสุดร้อยละ 35.75 ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน นอกจากนี้เห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 75:25 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย เมื่อทดสอบความสามารถในการจับอนุมูล DPPH และ ABTS ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 95.969 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 172.505 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 65.55 mg GAE/g sample และค่า FRAP เท่ากับ 52.353 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Thesis Title	Utilization of Paper Packaging Waste for Cultivation of Oyster Mushroom with Antioxidant
Author	Miss Aminoh Ayae
Major Program	Environmental management
Academic Year	2012

ABSTRACT

This research focused on the utilization of paper packaging waste for cultivation of oyster mushroom with antioxidant by studying three Oyster mushroom species, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju* and *Pleurotus pulmonarius*. The result was found that *Pleurotus ostreatus* cultured on solid PDA and substrate mixed with paper cone and para rubber sawdust (50:50, %w/w) has the highest growth rate with a colony diameter of 8.9 cm, and the loss dry weight of substrate was 2.058 g/100 g of substrate. The optimal conditions for the *Pleurotus ostreatus* cultivation were 70 percent of initial moisture, 75:25 ratio (%w/w) of paper cone and para rubber sawdust, the ratio of C/N = 20 by urea added, 8 percent of bran and 10 percent of initial spawn. It was cultured in PVC (Polyvinyl chloride) container. The average of fresh fruit body weight was 26.59 g/100 g of substrate and the biological efficiency was 213.10 with the highest protein of 35.75 percent at 12 days cultivation. In addition, *Pleurotus ostreatus* cultivated on substrate based on paper cone and para rubber sawdust at a ratio of 75:25 (%w/w) exhibited the highest IC_{50} values of DPPH and ABTS at 95.969 µg/ml and 172.505 µg/ml respectively. Besides, the total phenolic value was 65.55 mg GAE/ g sample, and FRAP value was 52.353 µg/ml.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์ช่วยเหลือเป็นอย่างดียิ่งจากหลายฝ่าย โดยเฉพาะอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ และอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร.กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ และท่านคณะกรรมการสอบทุกท่าน ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ ทั้งยังกรุณาถ่ายทอดองค์ความรู้ แนวคิด และทักษะต่าง ๆ ด้านสิ่งแวดล้อม ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องปัญหา และอุปสรรคต่าง ๆ ตลอดจนเสนอข้อคิดเห็นแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ด้วยความเอาใจใส่ ห่วงใย ตลอดมา นอกจากนั้นยังต้องขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาเสียสละเวลา มาเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ปี พ.ศ. 2553

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ตามสัญญาเลขที่ ภค./2555-กท.8

ขอขอบพระคุณสำนักงานคุณหญิงหลง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และโรงงานไม้ยางพารา ยะลา ที่ให้ความอนุเคราะห์ และอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างกรวยกระดาษและขี้เลื่อยไม้ยางพารา

ขอขอบพระคุณอาจารย์ และเจ้าหน้าที่คณะการจัดการสิ่งแวดล้อมมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ทุกท่าน ๆ ที่ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้จนสำเร็จได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณครอบครัว รวมทั้งเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ที่ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจด้วยดีตลอดมา ความดี และคุณประโยชน์ที่ได้รับจากการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุก ๆ ท่าน

อามีเนาะ อาแย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(11)
รายการรูป	(17)
คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ	(21)
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 บทนำต้นเรื่อง	1
1.2 การตรวจเอกสาร	2
1.2.1 วัสดุเหลือทิ้งภาชนะบรรจุกระดาษ	2
1.2.2 วัสดุเหลือทิ้งขี้เลื่อยไม้ยางพารา	3
1.2.3 วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส	4
1.2.4 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส	6
1.2.5 การย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสโดยเชื้อรา	8
1.2.6 การจัดการวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส	11
1.2.7 การปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส	11
1.2.8 การนำวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเห็ด	13
1.2.9 เห็ดตระกูลนางรม	15
1.2.10 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตชีวมวล และการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระจากเห็ดกินได้	19
1.2.11 อนุมูลอิสระ	23
1.2.12 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ	23
1.2.13 สารต้านอนุมูลอิสระ	25
1.2.14 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ	26
1.2.15 บทบาทในการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ	27
1.2.16 การสกัด และการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ	27
1.2.17 ประโยชน์ของสารต้านอนุมูลอิสระ	28

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	30
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	30
1.5 ขอบเขตของการวิจัย	30
บทที่ 2 วิธีการวิจัย	
2.1 วัสดุ และอุปกรณ์	32
2.2 วิธีดำเนินการวิจัย	34
2.2.1 การแยกเชื้อเห็ดตระกูลนางรม	34
2.2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวมวลจากเห็ดตระกูลนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสจากภาชนะบรรจุกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา	38
2.2.3 การศึกษาปริมาณโปรตีน และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ	40
2.2.4 การวิเคราะห์ธาตุอาหารในวัสดุเพาะ	41
2.2.5 วิเคราะห์ผลการทดลอง	41
บทที่ 3 ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง	
3.1 การคัดเลือกเชื้อเห็ดตระกูลนางรม	42
3.1.1 ผลการทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมบนอาหารแข็งพีดีเอ	42
3.1.2 ผลการทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา	44
3.2 ผลของสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวมวลจากเห็ดนางรมบนวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสจากกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา	47
3.2.1 ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม	47
3.2.2 อัตราส่วนของวัสดุเพาะต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม	50
3.2.3 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของวัสดุเพาะต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม	54
3.2.4 ปริมาณรำข้าวต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม	58
3.2.5 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม	62
3.2.6 ภาชนะบรรจุต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม	65

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารโปรตีนในเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา	68
3.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา	68
3.4.1 ผลวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total phenolics compound)	69
3.4.2 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)	71
3.4.3 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical scavenging assay : (ABTS assay)	72
3.4.4 Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay)	74
3.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และ คาร์บอนในวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพาราจากการเพาะเห็ด	76
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	
4.1 สรุปผลการทดลอง	79
4.2 ข้อเสนอแนะ	80
เอกสารอ้างอิง	82
ภาคผนวก	91
ประวัติผู้เขียน	130

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	5
1.2	สัดส่วนวัสดุเพาะที่ใช้กระดาษตีพิมพ์ และวัสดุเสริมในการเพาะเห็ดตระกูลนางรม	14
1.3	สถานการณ์การตลาดเห็ดประเทศกลุ่มสมาชิกอาเซียน ปี 2550 – 2554	19
2.1	สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบ	33
2.2	อัตราส่วนของวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา (%w/w) ต่อการ เจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรม	39
3.1	ผลความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (% w/w) ต่อระยะเวลาการสร้างดอก ค่าเฉลี่ยของดอกเห็ดสด และค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา	49
3.2	ผลอัตราส่วนของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา (% w/w) ต่อระยะเวลาการสร้างดอก ค่าเฉลี่ยของดอกเห็ดสด และค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา	52
3.3	ผลการปรับค่า C/N ของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วนต่าง ๆ (% w/w) เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ต่อระยะเวลาการสร้างดอก ค่าเฉลี่ยของดอกเห็ดสด และค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา	57
3.4	ผลปริมาณรำข้าวของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) (ทำการปรับ C/N = 20 ด้วยยูเรีย) ต่อระยะเวลาการสร้างดอก ค่าเฉลี่ยของดอกเห็ดสด และค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา	60
3.5	ผลปริมาณเชื้อเริ่มต้นของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ต่อระยะเวลา การสร้างดอก ค่าเฉลี่ยของดอกเห็ดสด และค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา	64
3.6	ผลภาชนะบรรจุในการเพาะเห็ดบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ต่อระยะเวลาการสร้างดอก ค่าเฉลี่ยของดอกเห็ดสด และค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา	67
3.7	ปริมาณโปรตีนในดอกเห็ดนางรม	68
3.8	ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และคาร์บอนในวัสดุเหลือทิ้งกรวยกระดาษและขี้เลื่อยไม้ยางพาราก่อน และหลังการเพาะเห็ด	77

รายการตาราง (ต่อ)

ตาราง ภาคผนวกที่		หน้า
ข.1	Total phenolic content ของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid	97
ข.2	DPPH assay ของสารละลายมาตรฐาน BHT	98
ข.3	ABTS assay ของสารละลายมาตรฐาน BHT	101
ข.4	FRAP assay ของสารละลายมาตรฐาน BHT	103
ค.1	องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ด	104
ง.1	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรม ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 9 วัน	105
ง.2	การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรม เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษและขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 50:50 (%w/w) ความชื้นร้อยละ 70เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ที่เวลา 18 วัน	106
จ.1	การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางรม เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 50:50 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นที่ระดับต่าง ๆ เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5	107
จ.2	การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางรม เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70	108
จ.3	น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดนางรม ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ปรับค่า C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรียความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70	109
จ.4	น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดนางรม เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 75:25 (%w/w) ความชื้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณรำข้าวร้อยละต่าง ๆ	110
จ.5	น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดนางรม เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 75:25 (%w/w) ความชื้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นระดับต่าง ๆ	111

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
จ.6	น้ำหนักแห้งที่หายไปของเห็ดนางรม เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในกล่อง (PVC) และถุงพลาสติก (PVC)	112
ฉ.1	ค่า total phenolic compound (ug/ml)	113
ฉ.2	DPPH assay ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา	113
ฉ.3	DPPH assay ของเห็ดนางรมจากตลาด	114
ฉ.4	DPPH assay ของเห็ดนางรมที่เพาะบนวัสดุขี้เลื่อยไม้ยางพาราอย่างเดียว	115
ฉ.5	ABTS assay ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา	116
ฉ.6	ABTS assay ของเห็ดนางรมจากตลาด	117
ฉ.7	ABTS assay ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพาราอย่างเดียว	118
ฉ.8	ปริมาณของ Fe^{2+} ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe^{3+} โดยสารสกัดหยาบจากการวิเคราะห์โดยวิธี FRAP	120
ช.1	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดเส้นใยเห็ดนางรมทั้ง 3 ชนิด ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 9 วัน	121
ช.2	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 เป็นเวลา 18วัน	121
ช.3	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (%w/w) เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ที่ระดับความชื้นต่าง ๆ	122

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ช.4	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดสดของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (%w/w) เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ที่ระดับความชื้นต่าง ๆ	122
ช.5	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (%w/w) เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ที่ระดับความชื้นต่าง ๆ	122
ช.6	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรม บนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70	123
ช.7	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดสดของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ที่อัตราส่วนต่าง ๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70	123
ช.8	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70	123
ช.9	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรม บนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย	124
ช.10	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดสดของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงเห็ดนางรม บนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย	124
ช.11	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย	124

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ช.12	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรม บนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ของปริมาณรำข้าวที่ร้อยละต่าง ๆ	125
ช.13	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดสดของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงเห็ดนางรม บนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ของปริมาณรำข้าวที่ร้อยละต่าง ๆ	125
ช.14	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ของปริมาณรำข้าวที่ร้อยละต่าง ๆ	125
ช.15	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่าง ๆ	126
ช.16	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักน้ำหนักของดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วนด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่าง ๆ	126
ช.17	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วนด้วยยูเรีย C/N=20 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่าง ๆ	126
ช.18	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรียปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุง (PP) และกล่อง (PVC) โดยวิธี Paired T-test	127

รายการตาราง (ต่อ)

ตาราง ภาคผนวกที่		หน้า
ช.19	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักดอกเห็ดสดของดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุง (PP) และกล่อง (PVC) โดยวิธี Paired T-test	127
ช.20	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า BE ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุง (PP) และกล่อง (PVC) โดยวิธี Paired T-test	127
ช.21	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า Total phenolics compound ของเห็ดนางรม ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรียปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10	128
ช.22	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี DPPH assay ของเห็ดนางรม ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10	128
ช.23	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี ABTS assay ของเห็ดนางรม ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10	129
ช.24	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี FARP assay ของเห็ดนางรม ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10	129

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1.1	สัดส่วนการใช้ภาชนะบรรจุแยกตามประเภทผลิตภัณฑ์	3
1.2	แผนภาพของลิกโนเซลลูโลส	5
1.3	โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส	6
1.4	โครงสร้างทางเคมีของเฮมิเซลลูโลส	7
1.5	โครงสร้างทางเคมีของลิกนิน	8
1.6	เห็ดตระกูลนางรม	15
1.7	ปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลให้มีการสร้าง และสะสมอนุมูลอิสระออกซิเจน (ROS) มากขึ้น	24
1.8	การป้องกันอนุมูลอิสระภายในเซลล์	25
2.1	ขั้นตอนการเตรียมวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา	35
2.2	ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเชื้อบนวัสดุกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา	37
2.3	การเตรียมภาชนะบรรจุในการเพาะเลี้ยง	40
3.1	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดตระกูลนางรมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 9 วัน	43
3.2	ลักษณะการเจริญเติบโตของโคโลนีเห็ดตระกูลนางรมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ในสภาวะมืด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 9 วัน	44
3.3	น้ำหนักแห้งที่หายไป เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดตระกูลนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 50:50 (% w/w) ในสภาวะมืด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน	45
3.4	ลักษณะการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 50:50 (% w/w) ในสภาวะมืด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน	46
3.5	น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (% w/w) ปรับความชื้นเริ่มต้นที่ระดับต่าง ๆ ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 เพาะเลี้ยงในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน	48

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.6	ลักษณะดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (% w/w) ปรับความชื้นระดับต่างๆ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 วัน	49
3.7	น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ปรับตามอัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 เพาะเลี้ยงในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน	51
3.8	ลักษณะดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ปรับ อัตราส่วนระดับต่าง ๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	53
3.9	น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะเท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 บ่มในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน	55
3.10	ลักษณะดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ของอัตราส่วนระดับต่าง ๆ ปรับ C/N ที่ 20 ด้วยยูเรีย ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	56
3.11	น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) ปริมาณรำข้าวตามร้อยละต่างๆ ความชื้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะ เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 บ่มในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน	59
3.12	ผลของปริมาณรำข้าวอาหารเสริมที่ระดับต่าง ๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรม ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ปรับค่า C/N = 20 ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	61

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.13	น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) ปรับปริมาณเชื้อเริ่มต้นระดับต่าง ๆ ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	62
3.14	ผลของปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่าง ๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ปรับค่า C/N = 20 ปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	64
3.15	น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุงพลาสติก (PP) และกล่องพลาสติก (PVC) บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	65
3.16	ผลของภาชนะบรรจุในถุงพลาสติก PP และกล่องพลาสติก PVC ต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรม ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ปรับค่า C/N = 20 ปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 16 วัน	67
3.17	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดเห็ดนางรมชนิดต่าง ๆ กับความเข้มข้นของสารสกัด	70
3.18	ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง DPPH ของสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะต่าง ๆ กับความเข้มข้นของสารสกัด	72
3.19	ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง ABTS ของสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะต่าง ๆ กับความเข้มข้นของสารสกัด	74
3.20	ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า FRAP ของสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะต่าง ๆ กับความเข้มข้นของสาร	76

รายการรูป (ต่อ)

รูป		หน้า
ภาคผนวกที่		
ข.1	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง สารมาตรฐาน gallic acid กับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร	97
ข.2	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง DPPH กับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน BHT	99
ข.3	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง ABTS กับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน BHT	101
ข.4	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารมาตรฐาน BHT (FRAP assay) กับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร	103
ฉ.1	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง DPPH กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเห็ดนางรมจากงานวิจัย	114
ฉ.2	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง DPPH กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเห็ดนางรมจากตลาด	115
ฉ.3	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง DPPH กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุขี้เลื่อยไม้ยางพาราอย่างเดียว	116
ฉ.4	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง ABTS กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา	117
ฉ.5	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง ABTS กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเห็ดนางรมจากตลาด	118
ฉ.6	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง ABTS กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพาราอย่างเดียว	119

คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ

BE	=	Biological efficiency
C	=	Carbon
N	=	Nitrogen
P	=	Phosphorus
K	=	Potassium
Na_2CO_3	=	Sodium carbonate
PVC	=	Polyvinyl chloride
PP	=	Polypropylene
CRD	=	Completely Randomized Design
LSD	=	Least Significant Difference
PC	=	Paper Cone
PRS	=	Para rubber sawdust
DPPH	=	2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ABTS	=	2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical scavenging assay
BHT	=	2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol
FRAP	=	Ferric reducing antioxidant power

บทที่ 1
บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ปัญหาสภาวะโลกร้อนในปัจจุบันนี้นับวันยิ่งทวีความรุนแรงยิ่งขึ้น ส่งผลทำให้ประชาชนเล็งเห็นถึงความสำคัญ และหันมาใช้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น เช่น การเปลี่ยนมาใช้บรรจุภัณฑ์อาหารที่ทำจากกระดาษทดแทนบรรจุภัณฑ์อาหารที่ทำจากพลาสติก และโฟม ซึ่งภาชนะบรรจุอาหารที่ทำจากกระดาษมีใช้กันอยู่อย่างแพร่หลายในสถานที่ต่าง ๆ เช่น ร้านอาหาร โรงแรม หรือสถานที่ประชุมสัมมนา ในรูปแบบของถ้วยกระดาษ จานกระดาษ และกล่องกระดาษ เป็นต้น ภาชนะเหล่านี้จะมีการปนเปื้อนเศษอาหาร เมื่อใช้เสร็จจะถูกทิ้งปะปนกับขยะทั่วไป โดยไม่มีการคัดแยกขยะหรือระบบการจัดการที่เหมาะสม ซึ่งส่วนใหญ่นำไปทำลายโดยการฝังกลบหรือเผาทิ้ง ก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม หากสามารถนำวัสดุเหลือทิ้งภาชนะบรรจุกระดาษมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ ได้ แทนการเผาทิ้งหรือปล่อยให้ย่อยสลายเองตามธรรมชาติ นอกจากจะเป็นการลดปริมาณขยะ และค่าใช้จ่ายในการกำจัดแล้ว ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งอีกด้วย

กระดาษเป็นวัสดุลิกโนเซลลูโลสเช่นเดียวกับขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน การนำวัสดุเหล่านี้ไปกำจัดด้วยกระบวนการทางชีวภาพโดยใช้เชื้อรา ซึ่งเชื้อราที่สามารถย่อยสลายองค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินได้อย่างมีประสิทธิภาพ คือ กลุ่มของเห็ด เช่น เห็ดตระกูลนางรม โดยที่เห็ดสามารถย่อยสลายสารเหล่านี้ไปเป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นสำหรับใช้ในการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด (Sanchez, 2009) เห็ดตระกูลนางรม เป็นเห็ดที่สามารถเจริญเติบโตได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติทั่วไป และให้ปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนของพืชผัก เห็ดไม่มีสารคลอเรสเตอรอลที่ทำให้เส้นเลือดอุดตันทั้งยังมีวิตามิน และเกลือแร่ในปริมาณมาก นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณทางด้านเภสัชศาสตร์ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระมีประโยชน์อย่างมากต่อระบบที่สำคัญต่าง ๆ ในร่างกาย ได้แก่ ระบบหลอดเลือด และหัวใจ (Akyon, 2002) ระบบภูมิคุ้มกัน ระบบกลุ่มเซลล์ประสาทที่ทำงานเฉพาะในสมอง การต่อต้านการเกิดโรคมะเร็ง (Duncan, 2004; Hakimuddin *et al.,* 2004) และการชะลอความชรา การเกิดโรคหัวใจที่เกิดจากการอุดตันของเส้น

เลือด ซึ่งอาจเกิดขึ้นอย่างฉับพลัน และอาจจะเกิดจากการสะสมสารต่าง ๆ ที่บริเวณหลอดเลือดทำให้ผนังหลอดเลือดถูกทำลายในกรณีเป็นโรคอื่น ๆ แทรกซ้อน เช่นโรคอัลไซเมอร์ (alzheimer disease) ไขข้ออักเสบ และต้อกระจก เป็นต้น (Ames *et al.,* 1993)

ในงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะนำวัสดุเหลือทิ้งภาชนะบรรจุกระดาษมาใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ดโดยทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพารา เพื่อศึกษาการจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากภาชนะบรรจุกระดาษทดแทนขี้เลื่อยที่เป็นวัสดุเพาะเห็ดตระกูลนางรม โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเห็ดตระกูลนางรมบนวัสดุเพาะจากภาชนะบรรจุกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ปริมารสารต้านอนุมูลอิสระของเห็ดตระกูลนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทดแทน ซึ่งการนำวัสดุเหลือทิ้งเหล่านี้มาใช้เป็นวัสดุเพาะในการเพาะเห็ดนั้น เป็นทางเลือกหนึ่งในการจัดการสิ่งแวดล้อมเพื่อช่วยลดปริมาณขยะ นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้ง และเป็นการส่งเสริมให้มีการคัดแยกขยะอีกด้วย

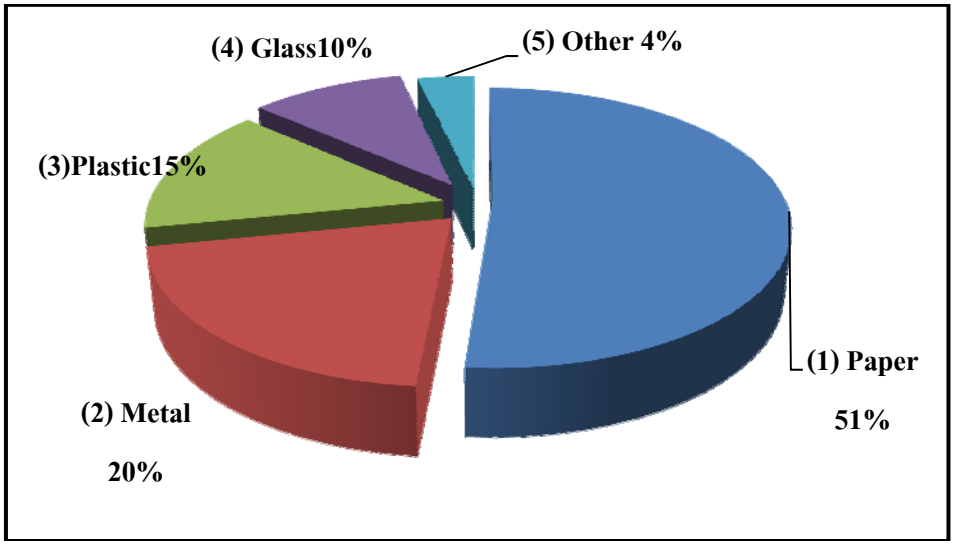
1.2 การตรวจเอกสาร

1.2.1 วัสดุเหลือทิ้งภาชนะบรรจุกระดาษ

ภาชนะบรรจุกระดาษมีองค์ประกอบหลัก คือ กระดาษ ซึ่งกระดาษทั่วไปจะมีเส้นใยธรรมชาติจากพืชผสมอยู่ประมาณร้อยละ 70 - 95 ประกอบด้วย เซลลูโลส (cellulose fiber) ร้อยละ 85–99 และลิกนิน (lignin fiber) ร้อยละ 0-15 (Sun *el at*., 2002) ปริมาณเส้นใยจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของเส้นใยที่ต้องการผลิต เส้นใยนี้จะได้จากพืชชนิดต่างๆ เช่น ไม้เนื้อแข็ง ไม้เนื้ออ่อน และพืชล้มลุก ส่วนเส้นใยหรือที่เรียกทั่วไปว่าเยื่อ แบ่งออกเป็นเยื่อใยยาวและเยื่อใยสั้น เยื่อใยยาวได้จากไม้เนื้ออ่อน (soft wood) ซึ่งเป็นไม้ที่ขึ้นบริเวณที่สูง อากาศเย็น เส้นใยมีลักษณะหยาบ มีความแข็งแรงสูง เช่น สน (pine) ส่วนเยื่อใยสั้นได้จากไม้เนื้อแข็ง (hard wood) เป็นไม้ที่ขึ้นในบริเวณเขตร้อน โตเร็ว เส้นใยมีลักษณะเล็ก ละเอียด ความแข็งแรงต่ำ เช่น ยูคาลิปตัส (eucalyptus) กระถินเทพา (acacia) เป็นต้น สำหรับประเทศไทยเส้นใยจากยูคาลิปตัสเป็นที่ยอมรับว่าเป็นเส้นใยที่ดีที่สุดในการผลิตกระดาษ

ภาชนะกระดาษบรรจุอาหารเป็นส่วนสำคัญต่อการดำเนินชีวิตของคนเรา เนื่องจากภาชนะบรรจุอาหารช่วยเพิ่มความสะดวกในการรับประทาน ภาชนะบรรจุอาหารที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ กรวยน้ำ จาน ชาม เป็นต้น ซึ่งภาชนะบรรจุอาหารเหล่านี้ การกำจัดต้องเสียค่าใช้จ่ายสูง และถ้าจะปล่อยให้ย่อยสลายเองตามธรรมชาตินั้นต้องใช้เวลานาน ทำให้ปัจจุบันได้หันมาใช้ภาชนะ

บรรจุอาหารประเภทกระดาษทดแทนภาชนะบรรจุพลาสติกในอุตสาหกรรมอาหารเพิ่มมากขึ้น ภาชนะบรรจุกระดาษเป็นภาชนะบรรจุที่มีการใช้มากที่สุด โดยในปี พ.ศ. 2550 มีการใช้ภาชนะบรรจุกระดาษทั่วโลกถึง 130.1 ล้านตัน คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 51.3 ของมูลค่าตลาดทั้งหมด ในขณะที่ภาชนะบรรจุประเภทพลาสติกมีการใช้มากเป็นอันดับ 3 รองจากภาชนะบรรจุโลหะ โดยมีสัดส่วนร้อยละ 14.6 ของมูลค่าตลาดรวม ดังแสดงในรูปที่ 1.1 (กนกอร พยัคฆพงษ์, 2552)



รูปที่ 1.1 สัดส่วนการใช้ภาชนะบรรจุแยกตามประเภทผลิตภัณฑ์
ที่มา : กนกอร พยัคฆพงษ์ (2552)

1.2.2 วัสดุเหลือทิ้งขี้เลื่อยไม้ยางพารา

ขี้เลื่อยเป็นวัสดุที่เหลือจากการนำไม้ไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่าง ๆ ซึ่งการนำไปใช้จะต้องมีการตัด เลื่อย และไส เพื่อให้ได้ขนาด และรูปร่างตามต้องการ ทำให้เกิดเศษไม้ และขี้เลื่อยเป็นจำนวนมาก (สกนธ์ พิทักษ์วินัย, 2551) ขี้เลื่อยมีองค์ประกอบหลายชนิดที่มีความยุ่งยากซับซ้อนแตกต่างกันไป องค์ประกอบที่สำคัญของขี้เลื่อยประกอบด้วย 3 ชนิด ได้แก่ เซลลูโลส (cellulose) เป็นส่วนใหญ่ รองลงมาคือ เฮมิเซลลูโลส (hemicelluloses) และลิกนิน (lignin) (ศิริมิรินทร์ มีสุข, 2552)

อุตสาหกรรมไม้ยางพาราเป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับไม้ยางพาราทั้งระบบทุก ๆ ปัจจัย ครอบคลุมตั้งแต่การเลือกสรรพันธุ์ต้นยางพารา การปลูก การนำไม้ยางพารามาใช้ประโยชน์ ทั้งทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม ประเทศไทยมีการเพาะปลูกยางพารามากกว่าร้อยปี

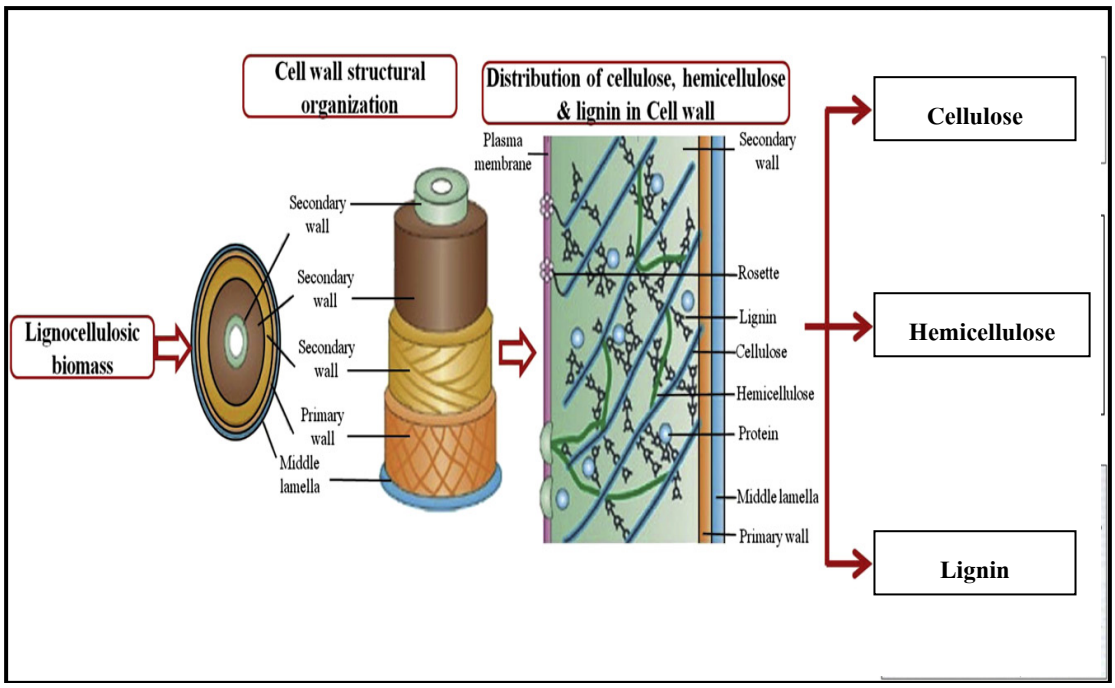
ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกไม้ยางทั่วประเทศกว่า 18 ล้านไร่ มีบางส่วนที่ไม่สามารถผลิตน้ำยางได้แล้วก็ต้องตัดโค่น แปรรูปเป็นสินค้าสำเร็จรูปโดยเฉพาะการผลิตเฟอร์นิเจอร์ไม้อัด ซึ่งตั้งแต่ปี 2550 ปริมาณการตัดโค่นที่ได้ปีละ 3 แสน 3 หมื่นไร่ คิดเป็นมูลค่าปีละ 1.5 แสนล้านบาท และเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ โดยเพิ่มมากสุดในปี 2554 มูลค่า 1.7 แสนล้านบาท การโค่นไม้ยางพาราโดยเฉลี่ยแล้วควรจะมีอายุโดยประมาณ 22-25 ปี ปัจจุบันการส่งออกไม้ยางพาราของไทยส่วนใหญ่ส่งในรูปของวัตถุดิบไปประเทศจีนถึงร้อยละ 93 และตลาดไม้ยางของไทยยังมีแนวโน้มโตอีกมากในตลาดโลกโดยเฉพาะตลาดอเมริกายังมีความต้องการสูง (สุวรรณี บัณฑิศักดิ์, 2555)

ปัจจุบันประเทศไทยถือว่าไม้ยางพาราเป็นไม้เศรษฐกิจ ที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากในอุตสาหกรรมไม้ของประเทศไทย จะใช้ไม้ยางพาราถึงร้อยละ 80 เพราะว่าไม้ยางพาราเป็นไม้มีต้นทุนถูกเมื่อเปรียบเทียบกับไม้ชนิดอื่นที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ แต่ในอุตสาหกรรมไม้ยางพาราของประเทศไทยจะมีเศษเหลือทิ้งมากมาย เช่น ในกระบวนการแปรรูปไม้ยางพาราจะมีเศษเหลือประมาณร้อยละ 50-55 ซึ่งในการใช้ประโยชน์จากไม้ซุงยางพารา เพื่อนำมาทำเฟอร์นิเจอร์สามารถใช้ประโยชน์ได้เพียงร้อยละ 20-25 เท่านั้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีเศษไม้ยางพาราอีกมากมาย (ทรงกลด จารุสมบัติ, 2552) เช่น ขี้เลื่อย ซึ่งปัจจุบันขี้เลื่อยมีราคาเพิ่มสูงขึ้นตามราคาน้ำมันโลก ในปี 2554 ขี้เลื่อยมีราคา 26,000-27,000 บาทต่อรถสิบล้อ (หนึ่งรถสิบล้อประมาณ 13 ตัน) (เครือข่ายชุมชนเศรษฐกิจพอเพียง, 2554)

1.2.3 วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส

พืชเป็นทรัพยากรธรรมชาติประเภทที่ใช้แล้วสามารถกลับมาใช้ใหม่ได้อีก ส่วนประกอบหลักของเซลล์พืช ได้แก่ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) หรือเรียกรวมกันว่าลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) โดยส่วนใหญ่เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร อุตสาหกรรมกระดาษ และอุตสาหกรรมเกษตร วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยเซลลูโลสประมาณร้อยละ 40-50 เฮมิเซลลูโลสประมาณร้อยละ 25-30 และลิกนินประมาณร้อยละ 15-20 (Menon and Rao, 2012) ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่อยู่ในผนังเซลล์ของพืชประกอบด้วยผนังเซลล์ 3 ชั้นได้แก่ชั้น Middle lamella cell wall, Primary cell wall และ Secondary cell wall โดยที่เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เป็นองค์ประกอบที่พบในผนังเซลล์ชั้น Secondary cell wall ทำหน้าที่ในการป้องกันอันตราย และเพิ่มความแข็งแรงให้กับผนังเซลล์ ดังที่ได้แสดงไว้ในรูปที่ 1.2 องค์ประกอบเหล่านี้จะมีปริมาณมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับวัตถุดิบแต่ละประเภทดังตารางที่ 1.1 ส่วนกระบวนการกำจัดลิกโนเซลลูโลสส่วนใหญ่ทำด้วยการเผา ซึ่งก่อให้เกิดมลภาวะเป็นพิษต่อ

สิ่งแวดล้อม (Howard *et al.,* 2003) จึงมีการนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์มากขึ้น เช่น นำมาใช้เป็นวัสดุในการเพาะเห็ด ใช้เป็นสารอาหารของจุลินทรีย์ เป็นต้น (Wong *et al.,* 1988)



รูปที่ 1.2 แผนภาพของลิกโนเซลลูโลส
ที่มา: Menon และ Rao (2012)

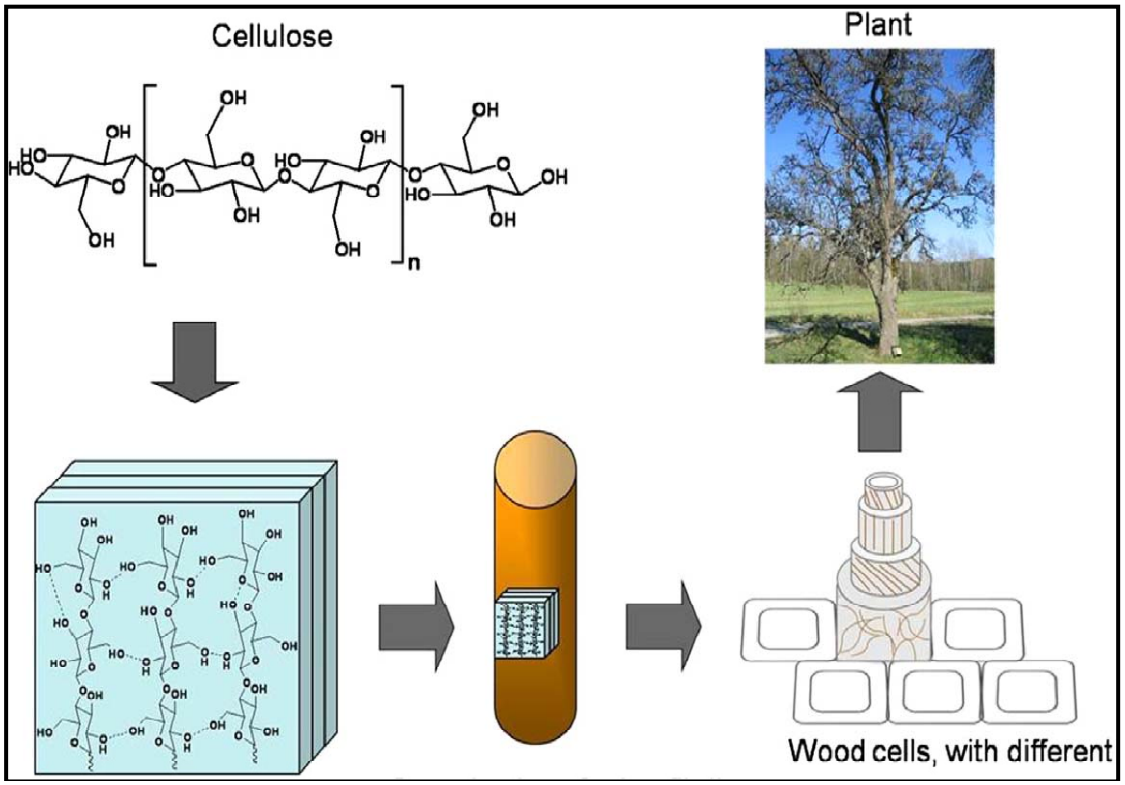
ตารางที่ 1.1 ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

วัตถุดิบ	องค์ประกอบ (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)			อ้างอิง
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน	
ไม้เนื้อแข็ง	40-55	24-40	18-25	Kumar และคณะ (2009)
ไม้เนื้ออ่อน	45-50	25-35	25-35	
หนังสือพิมพ์	40-55	25-40	18-30	
เยื่อกระดาษ	60-70	10-20	5-10	
กระดาษ	85-99	0	0-15	Sanchez (2009)
เส้นใยปาล์ม	29.82	0	17.79	ยุทธศักดิ์ สุบการี (2551)
ทะลายปาล์ม	50.4	21.9	10.0	Umikalson และคณะ (1997)
ซังข้าวโพด	41.2	25.9	21.3	Zhu และคณะ (2006)
ฟางข้าว	38.6	19.7	13.6	Zhu และคณะ (2005)

1.2.4 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส

1) เซลลูโลส (Cellulose)

เซลลูโลสเป็นองค์ประกอบของโครงสร้างผนังเซลล์ที่พบทั่วไปในพืชชั้นสูง จึงทำให้เซลลูโลสเป็นสารอินทรีย์ที่มีมากที่สุดในโลก โดยพบประมาณร้อยละ 20-50 ต่อน้ำหนักแห้งของอาหารที่มีเส้นใย เช่น ผัก และธัญพืชต่างๆ ปกติมักพบเซลลูโลสในรูปที่อยู่รวมกับเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเพกตินในลักษณะเครือข่ายเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน เซลลูโลสเป็นโพลิแซคคาไรด์สายยาวที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ประกอบด้วยหน่วยย่อยที่เป็นน้ำตาลกลูโคส ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกแบบ β(1–4) มีลักษณะเป็นแผ่นของเส้นใยอยู่ในผนังเซลล์ของพืช ดังแสดงในรูปที่ 1.3 (Cunha, *et al.,* 2010; Carlmark, *et al.,* 2012)

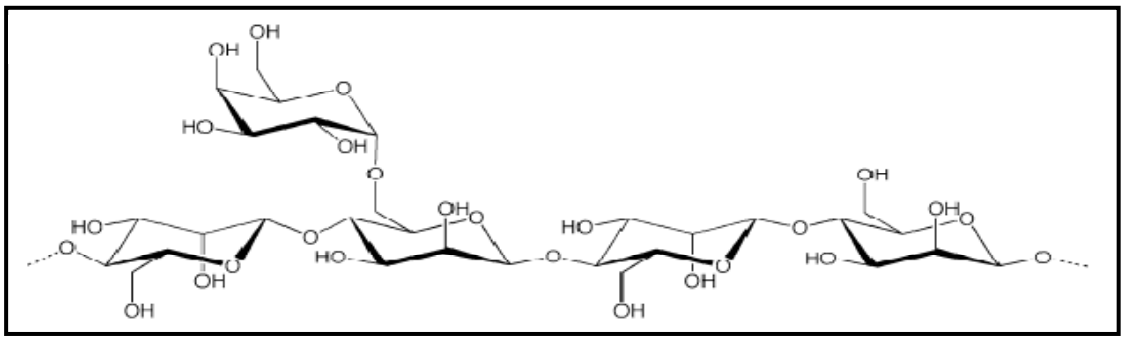


รูปที่ 1.3 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส

ที่มา: Carlmark และคณะ (2012)

2) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose)

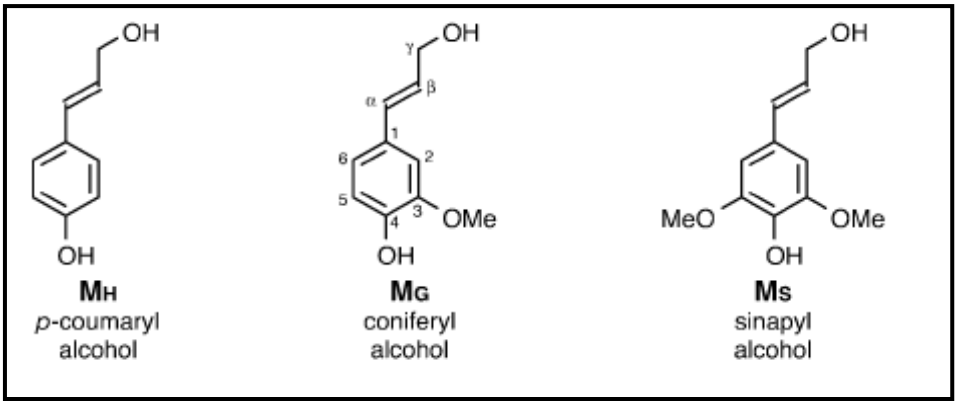
เฮมิเซลลูโลสเป็นโพลิแซคคาไรด์ที่มีมาก และมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิดที่เชื่อมต่อกันเป็นเส้นตรงหรือแตกเป็นแขนง คือ D-xylose, D-mannose, D-galactose และ L-arabinose โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยสายโซ่หลัก ซึ่งแบ่งอย่างกว้างๆ ได้ 3 แบบ ได้แก่ ไซแลน (xylan) กลูโคแมนแนน (glucomannans) และกาแลกแตน (galactans) และสายโซ่กิ่งที่เป็นกาแลกโตส (galactose) อะราบิโนส (arabinose) และกรดยูโรนิก (uronic acid) ซึ่งเชื่อมต่อกันที่พันธะ β(1–4) (Cunha, *et al.,* 2010)



รูปที่ 1.4 โครงสร้างทางเคมีของเฮมิเซลลูโลส
ที่มา: Cunha และคณะ (2010)

3) ลิกนิน (Lignins)

ลิกนินเป็นวัตถุดิบธรรมชาติ เป็นองค์ประกอบที่ย่อยสลายยาก และเป็นอะโรมาติกโพลิเมอร์ที่ซับซ้อนพบมากที่สุดในธรรมชาติ ลิกนินจะถูกสร้างเมื่อพืชมีอายุมาก ดังนั้นจึงมักพบลิกนินในพืชที่ค่อนข้างแก่ซึ่งเป็นส่วนที่เสริมความแข็งแรง ลิกนินเป็นโพลิเมอร์ของหน่วย *p*-hydroxyphenylpropane เชื่อมต่อกันด้วย C-C และ C-O-C (รูปที่ 1.5) อาจกล่าวได้ว่า ลิกนินเป็นโพลิเมอร์ของพวกฟีนอลิกที่เป็นสามมิติ ลิกนินมีโครงสร้างที่แข็งแรงไม่มีสมบัติการยืดหยุ่น และไม่สามารถละลายน้ำได้ แต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด เช่น เอทานอล เมทานอล และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Ralph *et al.,*2004)



รูปที่ 1.5 โครงสร้างทางเคมีของลิกนิน
ที่มา: Ralph และคณะ (2004)

1.2.5 การย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสโดยเชื้อรา

สารประกอบลิกโนเซลลูโลส เป็นแหล่งของสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ที่พบได้ทั่วไปในรูปของพืชที่เป็นต้นไม้ และพืชตระกูลหญ้า ซึ่งเห็ดสามารถเจริญเติบโตได้บนต้นไม้ และพืชตระกูลหญ้า นิยมนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของวัสดุในการเพาะเห็ด โดยทั่วไปสารประกอบลิกโนเซลลูโลส ประกอบด้วยส่วนที่สำคัญ 3 ส่วน คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ดังนั้นในการย่อยสลายสารประกอบลิกโนเซลลูโลส จึงมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง 3 กลุ่ม คือ เอนไซม์เซลลูเลส เอนไซม์เฮมิเซลลูเลส และเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน

1) เอนไซม์เซลลูเลส

จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสมีมากมายหลายชนิดจัดอยู่ในกลุ่มของทั้งแบคทีเรีย และเชื้อราที่ดำรงชีวิตแบบใช้อากาศ และไม่ใช้อากาศ รวมทั้งสามารถเจริญเติบโตได้ในอุณหภูมิปานกลางและอุณหภูมิสูง ซึ่งลักษณะการย่อยโมเลกุลเซลลูโลสจะมีความแตกต่างกัน เอนไซม์เซลลูเลสในเชื้อราที่ต้องการอากาศจะย่อยโมเลกุลเซลลูโลสเป็นลำดับขั้นและเป็นปฏิกิริยาร่วมกันของเอนไซม์ชนิดต่างๆ ได้แก่ เอนไซม์เอนโดกลูคาเนส เอนไซม์เซลโลไบโอไฮโดรเลส หรือ เอกโซกลูคาเนสเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส โดยที่เอนไซม์เอนโดกลูคาเนส ทำหน้าที่ในการตัดพันธะไกลโคซิดิก β(1-4) ของโมเลกุลเซลลูโลสแบบสุ่มจำเพาะต่อโครงสร้างในลักษณะรูปร่างไม่เป็นระเบียบ การทำงานของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสทำให้ระดับการเกิดโพลิเมอร์ของเซลลูโลส (degree of polymerization) ลดลงอย่างรวดเร็ว ผลจากการ

ย่อยจะได้โพลิแซคคาไรด์สายสั้น น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลเซลโลไบโอส ส่วนเอนไซม์เซลโลไบโอไฮโดรเลสหรือเอกโซกลูคาเนส ทำหน้าที่ตัดพันธะไกลโคซิดิก β(1-4) จากปลายของสายโซ่เซลลูโลสมีความจำเพาะต่อโครงสร้างในลักษณะที่เรียงตัวเป็นระเบียบ ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลเซลโลไบโอส การทำงานคล้ายกับเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส คือแสดงกิจกรรมสูงต่อเซลลูโลสที่มีโครงสร้างเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (amorphous cellulose) แต่แสดงกิจกรรมต่ำต่อเซลลูโลสที่มีโครงสร้างเรียงตัวเป็นระเบียบ (crystalline cellulose) สำหรับเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส ทำหน้าที่ย่อยสลายน้ำตาลเซลโลไบโอส หรือเซลโลโอลิโกแซคคาร์ไรด์ที่ละลายน้ำได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลกลูโคส (Bhat and Bhat, 1997)

เห็ดเป็นเชื้อรากลุ่มหนึ่งที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ในระหว่างการเจริญเติบโต ลักษณะการสร้างเอนไซม์มีความแตกต่างกันเมื่อแหล่งคาร์บอน และสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงต่างกัน เช่น เห็ดหอมที่เพาะเลี้ยงในสภาวะ และแหล่งคาร์บอนชนิดเดียวกันไม่สร้างเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด (Buswell *et al*., 1996) แต่เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดหอมในสภาวะอาหารแข็งบนไม้โอ๊คแดง (*Quercus rubra*) พบว่าเห็ดหอมสามารถสร้างเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดได้ (Mishra and Leathem, 1990)

2) เอนไซม์เฮมิเซลลูเลส

สารประกอบเฮมิเซลลูโลสที่มีในเนื้อไม้ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบไซแลน ดังนั้นเอนไซม์ที่ย่อยสารเฮมิเซลลูโลสส่วนใหญ่จึงเป็นเอนไซม์ที่ย่อยไซแลนหรือเอนไซม์ไซแลนเนส ซึ่งสามารถจำแนกได้เป็น เอนไซม์ไซแลนเนส มีหน้าที่ในการตัดพันธะไกลโคซิดิก β(1-4) ภายในสายโซ่หลักของโมเลกุลไซแลน และเอนไซม์เบต้า-ไซโลซิเดส (β-xylosidase) จะทำหน้าที่ในการย่อยไซโลไบโอส (xylobiose) หรือไซโลโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (xylooligosacharide) ได้เป็นน้ำตาลไซโลส นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ชนิดอื่นที่เข้าทำปฏิกิริยาที่แขนงข้าง ของโมเลกุลไซแลน ได้แก่ เอนไซม์แอลฟา-อราบิโนฟูราโนซิเดส (α-arabinofuranosidase) และเอนไซม์อะเซทิลไซแลนเอสเทอเรส (acetyl xylanesterase) เพื่อที่จะช่วยให้เอนไซม์ไซแลนเนสหรือเอนไซม์เบต้า-ไซโลซิเดสเข้าย่อยสายโซ่หลักได้ง่ายขึ้น จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ไซแลนเนสมีทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อรา ซึ่งเห็ดที่สามารถสร้างเอนไซม์ไซแลนเนส ได้แก่ เห็ดนางรม และเห็ดหอม เป็นต้น (Silva *et al*., 2003; Qinnghe *et al*., 2004)

3) เอนไซม์ย่อยลิกนิน

ลิกนินมีโมเลกุลขนาดใหญ่ และมีความซับซ้อน เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยลิกนินจึงเป็นเอนไซม์ที่ขับออกนอกเซลล์ (extracellular enzyme) และการเชื่อมต่อกันระหว่างหน่วยย่อยภายในโมเลกุลลิกนินเป็นพันธะอีเทอร์ ดังนั้นกลไกในการย่อยลิกนินจึงเป็นกระบวนการออกซิเดชันรวมทั้งเอนไซม์มีความจำเพาะต่อวัสดุเพาะต่ำ จึงทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระของลิกนินที่ไม่เสถียร และเกิดปฏิกิริยาการแตกออกได้หลากหลาย เอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่ในการย่อยลิกนินได้แก่ เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (lignin peroxidase) เอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (manganese peroxidase) และเอนไซม์แลคเคส (laccase) นอกจากนี้ยังพบเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ได้แก่ เอนไซม์ไกลออกซอลออกซิเดส (glyoxoloxidase) เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) เอนไซม์วาแรดทิลแอลกอฮอล์ออกซิเดส (veratryl alcohol oxidase) เอนไซม์เมทานอลออกซิเดส (methanol oxidase) และเอนไซม์ออกซิโด-รีดักเทส (oxido-reductase) (Howard *et al*., 2003)

เชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสได้อย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพคือ กลุ่มของเห็ด เช่น เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) และเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) ซึ่งเชื้อราเหล่านี้ย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสไปเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต จากการรายงานของ จารุวรรณ สนมวัฒนะวงค์ (2548) ศึกษาระบบเอนไซม์ลิกโนเซลลูเลสของเห็ดนางรม พบว่าเห็ดนางรมสร้างเอนไซม์ที่ขับออกนอกเซลล์ ได้แก่ เอนไซม์เอนโดกลูคาเนส เอนไซม์เอกโซกลูคาเนส เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส เอนไซม์ไซแลนเนส และเอนไซม์แลคเคส ทั้งในสภาวะอาหารเหลว และอาหารแข็ง โดยที่ในสภาวะอาหารเหลว เห็ดนางรมสร้างเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส เอนไซม์เอวิเซลเลส เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส เอนไซม์ไซแลนเนส และเอนไซม์แลคเคส สูงสุดในวันที่ 5, 4, 11, 9 และ 3 ของการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน โดยแสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์จำเพาะ 0.999, 0.034, 0.600, 1.228 และ 0.393 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ ส่วนเห็ดนางรมที่เจริญบนขี้เลื่อยจะเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะเป็น 3 ช่วง ระหว่างการเพาะเลี้ยง 50 วัน โดยวันที่ 0-20 เป็นช่วงการเจริญของเส้นใย วันที่ 20-35 กลุ่มของเส้นใยรวมตัวกัน และวันที่ 35-40 เป็นการเกิดดอกเห็ด ซึ่งพบกิจกรรมเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส เอนไซม์เอวิเซลเลส เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส เอนไซม์ไซแลนเนส และ

เอนไซม์แลคเคสสูงสุดในวันที่ 40, 40, 45, 40 และ 45 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์จำเพาะ 0.424, 0.0164, 0.115, 0.396 และ 0.034 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบการสร้างเอนไซม์ลิกโนเซลลูเลสกับการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเห็ดนางรม ซึ่งเห็ดนางรมสร้างเอนไซม์ลิกโนเซลลูเลสปริมาณต่ำในช่วงการเจริญของเส้นใยแต่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมากในช่วงเกิดดอก

1.2.6 การจัดการวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส

ในขณะที่ทรัพยากรธรรมชาติในโลกได้ลดลง มนุษย์กลับมีความต้องการทรัพยากรเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาแนวทางในการนำวัสดุเหลือทิ้งกลับมาใช้ใหม่ วัสดุเหลือทิ้งที่มีอยู่เป็นจำนวนมากจึงเกินความสามารถของกระบวนตามธรรมชาติที่จะจัดการให้มีการเปลี่ยนสภาพได้ จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมขึ้น เช่น ภาชนะบรรจุกระดาษที่ปัจจุบันมีการใช้เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ทำให้เกิดปริมาณขยะมากขึ้น ผลกระทบที่จะตามมามีทั้งความสูญเสียทางด้านสิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดมลพิษทางน้ำ ดินเสื่อมสภาพ ความเสียหายจากเหตุรำคาญส่งกลิ่นเหม็นรบกวน รวมถึงเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์พาหะนำโรค เสียหายต่ออุตสาหกรรมการท่องเที่ยว ความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจ และสิ้นเปลืองงบประมาณของรัฐที่ใช้ในการแก้ไขปัญหาขยะมูลฝอย ขยะมูลฝอยที่เกิดขึ้นมีสัดส่วนไม่น้อยกว่าร้อยละ 80 ของปริมาณขยะมูลฝอยที่เกิดขึ้น แต่ปัจจุบันอัตราการนำขยะกลับมาใช้ประโยชน์ใหม่มีเพียงร้อยละ 22 ของปริมาณขยะมูลฝอยที่เกิดขึ้น ซึ่งยังคงเป็นอัตราที่ต่ำมาก เมื่อเปรียบเทียบกับขยะมูลฝอยที่มีศักยภาพในการกลับมาใช้ประโยชน์ได้ (กรมควบคุมมลพิษ, 2551)

1.2.7 การปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส

เนื่องจากเซลลูโลสที่นำมาใช้เป็นวัสดุเพาะในการเพาะเห็ดนั้นอยู่ในรูปที่เป็นสารผลึกของสารประกอบเชิงซ้อน (complex) กับลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส ซึ่งส่วนที่นำมาใช้จริง คือ ส่วนของเซลลูโลสเท่านั้น ขั้นตอนแรกจึงต้องแยกเฮมิเซลลูโลส และลิกนินออกจากโครงสร้างของวัตถุดิบก่อน เพราะส่วนประกอบทั้งสองทำให้พื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยากับเอนไซม์ลดลง ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไม่ดีเท่าที่ควร และยังเป็นอุปสรรคต่อการหมักด้วย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการปรับสภาพวัตถุดิบก่อนการผลิต หรือนำไปใช้ประโยชน์ คือเพื่อแยกเอาลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสออก นอกจากนี้ยังเป็นการปรับโครงสร้างของเซลลูโลสให้อยู่ในสภาพ

เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาการย่อยด้วยเอนไซม์ (อิสรี รอดทัศนา, 2550) วิธีการปรับสภาพแบ่งได้เป็น 4 วิธีใหญ่ๆ คือ

1.2.7.1 วิธีการทางกายภาพ

การแปรสภาพวัสดุเหลือทิ้งทางกายภาพแบ่งย่อยเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ ประเภทใช้เครื่องมือกล และประเภทไม่ใช้เครื่องมือกล สำหรับการใช้เครื่องมือกลเป็นการอาศัยแรงเฉือนและแรงกระทบ (impacting force) วิธีที่นิยมมากที่สุด คือ การบด การใช้เครื่องมือเหล่านี้มีผลให้พื้นที่ผิว และความหนาแน่นของเซลลูโลสเพิ่มขึ้น และทำให้การเป็นผลึกรวมทั้งน้ำหนักโมเลกุลของเซลลูโลสลดลง (Sanchez, 2009)

1.2.7.2 วิธีการทางเคมี

เป็นการปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้สารละลายกรด สารละลายด่าง โอโซน ตัวทำละลายอินทรีย์ หรือสารออกซิแดนท์ วัตถุประสงค์เพื่อแยกเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ออกจากเซลลูโลสในกรณีการใช้สารละลายกรดจะพบว่าเป็นการเพิ่มความสามารถในการย่อยเฮมิเซลลูโลส เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสย่อยได้ในสารละลายกรดได้ดีกว่าเซลลูโลส และยังทำให้เกิดการบวมของโครงสร้างซึ่งจะช่วยเพิ่มอัตราการย่อย ซึ่งเอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้มากขึ้น วิธีนี้ได้รับความนิยมมากเนื่องจากมีประสิทธิภาพสูง และราคาถูก สารเคมีที่ใช้หลายประเภท ได้แก่ ด่าง กรด แก๊ส สารออกซิไดซ์ สารทำให้พองตัว (Sanchez, 2009)

1.2.7.3 การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีกายภาพ

เป็นวิธีที่ใช้วิธีทางกายภาพร่วมกับการใช้สารเคมี เช่น การระเบิดด้วยไอน้ำความดัน 0.69-4.83 เมกกะพาสกาล ซึ่งมีการเติมสารเคมีลงไปเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ ตัวอย่าง การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และความร้อนที่อุณหภูมิ 160-200 องศาเซลเซียส ของการปรับสภาพฟางข้าวในกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ พบว่าประสิทธิภาพการย่อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และความร้อน แต่เมื่อใช้ความร้อนภายใต้สภาวะความดันเพียงอย่างเดียวพบว่า การย่อยสลายลดลง เนื่องจากการแตกตัวของน้ำตาลที่เกิดขึ้นเปลี่ยนเป็นสารประเภทเฟอฟูรัล (furfural) สารฟอร์มัลดีไฮด์ (formaldehyde) หรือกรดฟอร์มิก (formic acid) ซึ่งเป็นตัวขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ (Badal, 2005)

1.2.7.4 การปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ

เป็นการปรับสภาพที่ต้องพึ่งพาจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่เป็นแบคทีเรีย และเชื้อรา รวมทั้งเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลชีพเหล่านี้ เชื้อราชนิดที่เป็น white-rot, brown-rod และ soft-rot สามารถย่อยสลายเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินได้ โดยเชื้อราในกลุ่ม brown-rod มีบทบาทสำคัญในการย่อยพวกเซลลูโลส ในขณะที่กลุ่ม white-rot และกลุ่ม soft-rot จะเข้าย่อยสลายพวกลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส จากการทดลองเมื่อนำลิกโนเซลลูโลสมาหมักกับเชื้อราเหล่านี้ที่อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-22 วันพบว่า โฮโลเซลลูโลส และ ลิกนิน ถูกย่อยสลายไปได้มากถึงร้อยละ 45-75 และร้อยละ 65-80 ตามลำดับ ส่วนเอนไซม์ที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้นมา เพื่อใช้ในการย่อยลิกโนเซลลูโลสให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดเล็กลงสามารถละลายน้ำได้ และซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเอมไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลาย เช่น cellulases, glucoside, acetylesterase, feruloylesterase, xylanese, β-xylosidase, lignin peroxidase, manganese peroxidase และ laccase เป็นต้น (อรุณี ศุภสินสาธิต, 2555)

กลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสได้อย่างมีประสิทธิภาพคือ เชื้อรา ซึ่งเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายได้อย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพคือ กลุ่มของเห็ด เช่น เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) เห็ดกระดุม (*Agaricus bisporus*) เป็นต้น โดยเชื้อราเหล่านี้มีความสามารถในการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสไปเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต การย่อยสลายโดยเชื้อราจะเกิดการย่อยสลายทั้งบริเวณภายนอก และภายในเซลล์ (Homma, 1997; Rabinovich *et al.* , 2004; Sanches, 2009)

1.2.8 การนำวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเห็ด

อรัญ ทะแพงพันธ์ และคณะ (2553) ทำก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าจากขี้เลื่อยผสมใบยางพารา และเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตที่ได้จากการเพาะเห็ดที่ใช้ขี้เลื่อย และขี้เลื่อยผสมใบยางพารา โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 แบบ คือ แบบแรกใช้เฉพาะขี้เลื่อย และแบบที่สองใช้ขี้เลื่อยผสมใบยางพารา โดยใช้อัตราส่วนในการผสมเหมือนกันทุกประการ โดยส่วนของก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าที่ทำจากขี้เลื่อยผสมใบยางพาราจะใช้อัตราส่วนขี้เลื่อยต่อใบยางพารา 1:1 (%w/w) โดยจะใช้ขี้เลื่อย 50 กิโลกรัม และใบยางพารา 50 กิโลกรัม หลังจากที่ทำการผสมส่วนผสม และทำการอัดถุง นำก้อนเชื้อเห็ดเข้าโรงเรือนเมื่อเชื้อเห็ดเดินเต็มถุงก็ทำการเปิดดอก และรดน้ำเป็นประจำทุกเช้า และอีกประมาณ 7 วันก็จะเกิดผลผลิต จากการทดลองสรุปว่า เห็ดนางฟ้าที่ทำการทดลองทั้ง 2 แบบ มีระยะเวลาในการเจริญเติบโต ปริมาณผลผลิตที่ได้ และลักษณะดอกเห็ดที่ต่างกัน โดยเห็ดที่ได้จากก้อนเชื้อเห็ดที่ทำ

จากส่วนผสมของขี้เลื่อยจะให้ผลผลิตที่ดีกว่าเห็ดจากก้อนเชื้อเห็ดที่ทำจากส่วนผสมของขี้เลื่อยผสมใบยางพารา แต่เห็ดที่ได้จากก้อนเชื้อเห็ดที่ทำจากขี้เลื่อยผสมใบยางพาราจะมีขนาดใหญ่กว่าเห็ดที่ได้จากก้อนเชื้อเห็ดที่ทำจากขี้เลื่อย และมีก้านดอกใหญ่กว่า

Baysal และคณะ (2003) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดตระกูลนางรมโดยใช้กระดาษที่เหลือจากการตีพิมพ์ ผสมกับวัสดุเสริม ได้แก่ ถ่าน ปุ๋ยขี้ไก่ และ แกลบ ร้อยละ 20 และร้อยละ 10 (80:20, 90:10) ของน้ำหนักวัสดุเพาะทั้งหมด (ตารางที่ 1.2) ด้วยการนำกระดาษที่เหลือจากการตีพิมพ์ มาสับให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 3-5 เซนติเมตร นำไปจุ่มน้ำให้ได้ความชื้นร้อยละ 75 ผสมกับวัสดุเสริม จากนั้นบรรจุลงในถุงพลาสติกขนาด 25-35 เซนติเมตร 1 กิโลกรัม ปิดจุกถุง และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เติมหัวเชื้อ ร้อยละ 8 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 ในที่มืด ผลการทดลอง พบว่าเห็ดที่เพาะเลี้ยงบนกระดาษที่เหลือจากการตีพิมพ์ ผสมกับ แกลบ ในสัดส่วนของน้ำหนักวัสดุเพาะร้อยละ 80:20 ให้ผลผลิตน้ำหนักดอกเห็ดสดสูงสุด เท่ากับ 350.2 กรัม

ตารางที่ 1.2 สัดส่วนวัสดุเพาะที่ใช้กระดาษตีพิมพ์ และวัสดุเสริมในการเพาะเห็ดตระกูลรางรม

วัสดุเพาะ	สัดส่วนของน้ำหนักวัสดุเพาะ (ร้อยละ)	น้ำหนักดอกเห็ดสด (กรัม)
กระดาษตีพิมพ์	100	212.8
กระดาษตีพิมพ์ + ถ่าน	90:10	197.6
กระดาษตีพิมพ์ + ถ่าน	80:20	165.6
กระดาษตีพิมพ์ + ปุ๋ยขี้ไก่	90:10	90.2
กระดาษตีพิมพ์ + ปุ๋ยขี้ไก่	80:20	61.4
กระดาษตีพิมพ์ + แกลบ	90:10	270.8
กระดาษตีพิมพ์ + แกลบ	80:20	350.2

ที่มา: Baysal และคณะ (2003)

Sakhayang และคณะ (2003) ศึกษาการเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตของเห็ดตระกูลนางรมจากวัสดุฟางข้าว และชานอ้อยทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพารา ผลการศึกษา พบว่า ในเวลา 4 วันเห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงในฟางข้าวมีอัตราการเจริญของเส้นใยสูงสุด เท่ากับ 4.18 เซนติเมตร ในขณะที่เห็ดนางรมสีเทามีอัตราการเจริญของเส้นใย เท่ากับ 3.7 เซนติเมตร และเห็ดนางรมสีเทาที่เพาะเลี้ยง

ด้วยชานอ้อยให้ปริมาณผลผลิตน้ำหนักดอกเห็ดสดสูงสุด เท่ากับ 241.13 กรัม ในขณะที่เห็ดนางฟ้าให้ปริมาณผลผลิตน้ำหนักดอกเห็ดสด เท่ากับ 176 กรัม

Mandeel และคณะ (2005) ศึกษาการนำวัสดุลิกโนเซลลูโลสต่างๆจากการเกษตร และอุตสาหกรรมมาเพาะเลี้ยงเห็ดนางรม พบว่า สามารถใช้เป็นสารอาหารในการเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมได้เป็นอย่างดีโดยให้ค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา (biological efficiency) สูงสุดเท่ากับร้อยละ 109.4 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารเศษกระดาษจากเครื่องทำลายเอกสาร (sheredded office paper) ในถุง polyethylene เป็นเวลา 2 อาทิตย์ ให้ปริมาณโปรตีนร้อยละ 21-23 และปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 29- 47 ตามลำดับ

1.2.9 เห็ดตระกูลนางรม

1.2.9.1 ลักษณะทั่วไปของเห็ดตระกูลนางรม

Oyster mushroom เป็นชื่อสามัญของเห็ดในตระกูล *Pleurotus* ซึ่งเป็นเห็ดที่ขึ้นอยู่บนท่อนไม้ เห็ดในตระกูล *Pleurotus* มีมากกว่า 39 ชนิด เช่น *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju, Pleurotus eryngii, Pleurotus abalones, Pleurotus cystidiosus, Pleurotus florida, Pleurotus cornucopiae, Pleurotus sapidus,* และ *Pleurotus flabellatus* เป็นต้น (อุราภรณ์ สะอาดสุด และคณะ 2551) เห็ดตระกูลนางรมที่นิยมเพาะเป็นเห็ดเศรษฐกิจมี 3 ชนิด ได้แก่ เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และเห็ดภูฐาน

เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า เห็ดภูฐาน

รูปที่ 1.6 เห็ดตระกูลนางรม
ที่มา: อุราภรณ์ สะอาดสุด และคณะ (2551)

1) เห็ดนางรม

เห็ดนางรม (Oyster mushroom) มีชื่อทางวิทยาศาตร์ว่า *Pleurotus osttreatus* จัดอยู่ใน (Class) *Basidiomycetes* อันดับ (Order) Agaricales แฟมิลี่ (Family) Tricholomataceae สกุล (Genus) *Pleurotus* (Smith, 1978)

เห็ดนางรมมีถิ่นกำเนิดแถบยุโรป เป็นเห็ดพวกทำลายเนื้อไม้ (wood-destroying fungi) ดำรงชีพด้วยการเจริญอยู่บนซากของสิ่งมีชีวิต (saprophytic fungi) บางครั้งพบเป็นปรสิต สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตอบอุ่น เห็ดนางรมมีรูปร่างคล้ายหอยนางรม หมวกเห็ดมีลักษณะแบนราบ กลางหมวกมีลักษณะเว้าเป็นแอ่ง ขอหมวกเห็ดห้อยลง ก้านดอกสั้น อาจติดอยู่กับดอกเห็ดที่ด้านบนหรือตรงกลาง เห็ดมีสีขาวสะอาดหรือสีเทา และมีรสชาติหอมหวาน เนื้อไม่เหนียว (Zadrazil, 1978)

2) เห็ดนางฟ้า

เห็ดนางฟ้ามีชื่อทางวิทยาศาตร์ว่า *Pleurotus sajor-caju* จัดอยู่ใน (Class) *Basidiomycetes* อันดับ (Order) Agaricales แฟมิลี่ (Family) Tricholomataceae สกุล (Genus) *Pleurotus* (Smith, 1978)

เห็ดนางฟ้ามีถิ่นกำเนิดแถบภูเขาหิมาลัย เป็นเห็ดที่สามารถเพาะได้ง่าย เจริญเติบโตในอาหารได้หลายชนิด ขนาดดอกปานกลางเนื้อแน่น มีสีขาวนวลจนถึงสีน้ำตาลอ่อน เห็ดนางฟ้าสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 18-25 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จัดเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของเห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้าจะออกดอกเดี่ยว ๆ หรือเป็นกลุ่ม เมื่อโตเต็มที่อาจเจริญเป็นแฉกม้วนเข้า ทำให้ดูคล้ายกับปะการัง ก้านดอกไม่พบวงแหวน เปลือกหุ้มโคนก้าน และติดกับหมวกตรงกลางหรือด้านข้าง (Chang *et al.,* 1989)

3) เห็ดภูฐาน

เห็ดภูฐานมีชื่อทางวิทยาศาตร์ว่า *Pleurotus pulmonarius* จัดอยู่ใน (Class) *Basidiomycetes* อันดับ (Order) Agaricales แฟมิลี่ (Family) Tricholomotaceae สกุล (Genus) *Pleurotus* Specie *pulmonarius* (Smith, 1978)

เห็ดภูฐานมีดอกสีน้ำตาลเข้ม ซึ่งมีความทนทานต่อสภาพอุณหภูมิอากาศเปลี่ยนแปลงได้กว้าง (15-35 องศาเซลเซียส) ลักษณะของดอกเห็ดภูฐาน มีหมวกดอก (pileus) ขนาด 2-15 เซนติเมตร แผ่กว้างคล้ายกับใบลาน ดอกมีเนื้อสัมผัสเหนียว สีของดอกแปรเปลี่ยนได้ตามสภาพแวดล้อม ได้แก่ เมื่อได้รับแสงมาก และอากาศเย็นจะมีสีเข้มมากขึ้น ผิวของดอกด้านบนเรียบไม่มีขน เมื่อดอกยังอ่อนขอบดอกจะม้วนงอเข้าไปทางครีบ โดยจะคลี่ออกเมื่อโตเต็มที่ ขอบดอกจะบานขึ้นไปทางด้านบนตรงข้ามกับรอยต่อระหว่างหมวก ดอกกับก้านจะมีรอยเว้าเข้าข้างใน ปลาย

ขอบดอกมีลักษณะคล้ายครีบของปลา เป็นแผ่นบางเล็ก ๆ สั้น และยาวสลับกัน พร้อมทั้งออกดอกได้ตลอดทั้งปี (อุราภรณ์ สะอาดสุด และคณะ 2551; Chang *et al.,* 1989)

1.2.9.2 คุณค่าทางโภชนาการของเห็ดตระกูลนางรม

เห็ดจัดเป็นอาหารพวกผัก เห็ดชนิดต่าง ๆ รวมทั้งเห็ดสกุลนางรมเป็นอาหารที่นิยมชนิดหนึ่งเพราะมีรสชาติดี มีคุณค่าทางอาหารสูง และยังมีคุณค่าทางด้านสมุนไพร ซึ่งการบริโภคเห็ดโดยทั่วไปนิยมทั้งในรูปของเห็ดสด และเห็ดที่ผ่านการแปรรูป เห็ดสกุลนางรมสามารถนำมาปรุงอาหารได้เช่นเดียวกับผักทั่วไป แต่ไม่ควรบริโภคสด เห็ดชนิดต่าง ๆ ในสกุลนี้มีคุณค่าอาหาร และแร่ธาตุเช่นเดียวกับผักทั่วไป เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น ธาตุเหล็ก แคลเซียม ฟอสฟอรัส วิตามินซี วิตามินบีรวม ซีลีเนียม โปแตสเซียม ทองแดง และกรดโฟลิก แต่อาจกล่าวได้ว่า โปรตีนจากเห็ดโดยทั่วไปรวมทั้งเห็ดสกุลนางรมจัดเป็นโปรตีนคุณภาพสูงกว่าพืชผักอื่น ๆ ยกเว้น ถั่วเหลือง ถั่วลันเตา มีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย และแคลอรีต่ำมาก เมื่อเทียบกับโปรตีนจากนม และเนื้อสัตว์ นอกจากนี้เห็ดยังมีกากใยเช่นเดียวกับผักผลไม้อีกด้วย เห็ดจึงเป็นอาหารที่เหมาะสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง ผู้ที่ต้องการลดน้ำหนัก และผู้นิยมรับประทานอาหารเสริมสุขภาพโดยทั่วไป (Miles and Chang, 2004)

1.2.9.3 คุณค่าทางเภสัชศาสตร์ของเห็ดตระกูลนางรม

เห็ดตระกูลนางรมสามารถลดสารคลอเรสเตอรอลในน้ำเลือดที่ทำให้เส้นเลือดอุดตัน ซึ่งเป็นคลอเรสเตอรอลที่ไม่ดีต่อร่างกาย ในผนังเส้นใยของเห็ดมีสาร β-glucan (1-3) หรือพลูโรทินโพลีแซ็คคาไรด์ (pleurotin polysaccharides) และไคติน-ไคโตซาน ซึ่งมีประโยชน์ต่อระบบขับถ่าย ช่วยลดอัตราการเสี่ยงต่อโรคระบบทางเดินอาหาร เช่น มะเร็งลำไส้ ท้องผูก ริดสีดวงทวาร โรคหัวใจ โรคอ้วน ไขมันอุดตันเส้นเลือด รักษาอาการปวดข้อ ปวดเข่า เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติพิเศษที่สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ระบบหลอดเลือดและหัวใจ ระบบภูมิคุ้มกัน ระบบกลุ่มเซลล์ประสาทที่ทำงานเฉพาะในสมอง การต่อต้านการเกิดโรคมะเร็ง การชะลอความชรา การเกิดโรคหัวใจที่เกิดจากการอุดตันของเส้นเลือดที่อาจเกิดขึ้นอย่างฉับพลัน ซึ่งอาจจะเกิดจากการสะสมสารต่าง ๆ ที่บริเวณหลอดเลือดทำให้ผนังหลอดเลือดถูกทำลาย ในกรณีโรคอื่น ๆ เช่นโรคอัลไซเมอร์ (alzheimer disease) ไขข้ออักเสบและต้อกระจก กระตุ้นให้แผลหายเร็ว โดยจะไปเพิ่มประสิทธิภาพของการเพิ่มคอลลาเจนให้กับบริเวณเนื้อเยื่อที่เป็นแผล และเพิ่มการสร้างการเจริญเติบโตของเม็ดเลือดขาว อีกด้วย (อุราภรณ์ สะอาดสุด และคณะ 2551; Ames *et al.,* 1993; Bobek *et al.,* 1997; Akyon, 2002; Duncan, 2004; Hakimuddin *et al.,* 2004;)

1.2.9.4 คุณค่าทางเศรษฐกิจของเห็ดตระกูลนางรม

เห็ดตระกูลนางรมเป็นเห็ดเศรษฐกิจ เป็นเห็ดที่มีรสชาติอร่อย กลิ่นหอม เนื้อแน่น แล้วยังมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีไขมันต่ำ ปลอดภัยจากการใช้สารเคมี สามารถนำมาปรุงอาหารได้หลายอย่าง คนส่วนใหญ่จึงมักบริโภคเห็ดตระกูลนางรมมากรองจากเห็ดฟาง ทั้งยังหาซื้อง่าย ราคาไม่แพงเกินไป ทำให้ตลาดมีความต้องการสูง จึงเหมาะที่จะส่งเสริมให้เกษตรกร หรือผู้ที่สนใจทั่วไปเพาะเห็ดนางฟ้าภูฐานกันมากขึ้น เพื่อเป็นการเพิ่มผลผลิตให้เพียงพอต่อความต้องการตลาด (ชมรมเกษตรปลอดสารพิษ, 2552)

ประเทศไทยถือว่ามีสภาพเหมาะสม และเอื้ออำนวยต่อการเพาะเห็ดอย่างมาก เนื่องจากมีวัสดุเหลือทิ้ง และมีผลพลอยได้จากการผลิตทางการเกษตรจำนวนมาก เช่น ขี้เลื่อย ฟางข้าว ชานอ้อย เป็นต้น ซึ่งวัสดุเหล่านี้สามารถนำไปดัดแปลง และปรับปรุงใช้ในการเพาะเห็ดชนิดต่าง ๆ ได้ตามความเหมาะสม นอกจากนั้นสภาพดินฟ้าอากาศของประเทศไทยยังเหมาะกับการเจริญเติบโตของเห็ดเศรษฐกิจเกือบทุกชนิด เช่น เห็ดฟาง เห็ดนางรม เห็ดเป๋าฮื้อ เป็นต้น ดังนั้น ถ้าการเพาะเห็ดได้มีการส่งเสริมเพาะเลี้ยงเห็ดที่ถูกวิธี นอกจากทำให้มีผลผลิตเห็ดเพิ่มขึ้นทั้งทางด้านปริมาณและคุณภาพ แล้วยังเป็นการเพิ่มอาหารที่มีคุณค่าแก่ประชากร พร้อมที่จะพัฒนาประเทศชาติได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางด้านเศรษฐกิจ ประเทศไทยจัดอยู่ในระดับแนวหน้าของโลก เห็ดที่ผลิตได้สูงสุดในแต่ละปี คือ เห็ดฟาง รองลงมา คือเห็ดตระกูลนางรม อาชีพการเพาะเห็ดเป็นอาชีพหนึ่งที่สามารถทำรายได้ให้ประเทศชาติปีละไม่น้อยกว่า 1,200 ล้านบาท และมีแนวโน้มที่จะสูงขึ้นเรื่อย ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงตั้งแต่ต้นปี พ.ศ. 2530 นับเป็นปีทองของเห็ดไทย เพราะตลาดต่างประเทศมีความต้องการเห็ดไทยทุกชนิดเพิ่มขึ้น เนื่องจากคุณภาพของเห็ดของประเทศไทยได้รับการพัฒนาขึ้น จนเป็นที่ยอมรับของตลาดโลก (ปัญญา โพธิ์จิติรัตน์, 2552) โดยภาพรวมแล้วการส่งออกของเห็ดสดแช่แข็ง และเห็ดแปรรูป ดังแสดงในตารางที่ 1.3 ซึ่งจะเห็นว่าสถานการณ์การตลาดเห็ดไทยสู่ประเทศกลุ่มสมาชิกอาเซียน ปี 2550 – 2554 มีการผลิตมากขึ้นทุกปี และมีมูลค่าเพิ่มขึ้นอีกด้วย (สมบัติ ห.เพียรเจริญ, 2555)

ตารางที่ 1.3 สถานการณ์การตลาดเห็ดประเทศกลุ่มสมาชิกอาเซียน ปี 2550 – 2554

ปี พ.ศ.	เห็ดสดแช่แข็ง		เห็ดแปรรูป	
	ปริมาณ (ตัน)	มูลค่า (ล้านบาท)	ปริมาณ (ตัน)	มูลค่า (ล้านบาท)
2550	1,053.56	80.76	330.51	8.66
2554	1,296.05	85.78	162.48	6.95
อัตราการเพิ่ม/ลด(%)	96	14.1	38	9.4

ที่มา: สมบัติ ห.เพียรเจริญ (2555)

1.2.10 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตชีวมวล และการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระจากเห็ดกินได้

1.2.10.1. แหล่งคาร์บอน

เห็ดต้องการแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต และเป็นแหล่งพลังงาน แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดโดยทั่วไป คือ คาร์บอนที่อยู่ในรูปของสารที่ไม่ซับซ้อน ได้แก่ น้ำตาลประเภทต่างๆ เช่น กลูโคส ไซโลส อะราบิโนส และฟรุกโตส ซึ่งเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก แต่ในวัสดุที่ใช้ในการเพาะเห็ดโดยส่วนใหญ่จะเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน โดยอยู่ในรูปของสารที่ซับซ้อน ซึ่งเห็ดบางชนิดไม่มีเอนไซม์ในการย่อยสลายสารประกอบเหล่านี้ได้ จึงจำเป็นต้องอาศัยจุลินทรีย์จากธรรมชาติในการย่อยสลาย จนอยู่ในรูปที่เห็ดสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

Philippoussis และคณะ (2007) ทำการศึกษาการเพาะเห็ดหอมบนวัสดุลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ ขี้เลื่อยไม้โอ๊ค ฟางข้าวสาลี และซังข้าวโพด ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเห็ดหอม จากการทดลองพบว่า เห็ดหอมสามารถย่อยสลายวัสดุดังกล่าวมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต เห็ดหอมสามารถเจริญเติบโตได้ดี ให้ค่าประสิทธิภาพทางชีวภาพ เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุขี้เลื่อยไม้โอ๊ค เท่ากับร้อยละ 41.07 ฟางข้าวสาลี เท่ากับร้อยละ 73.25 และซังข้าวโพด เท่ากับร้อยละ 80.64 ตามลำดับ โดยที่วัสดุเหลือทิ้งซังข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีประสิทธิภาพที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดหอมที่มากที่สุด

1.2.10.2 แหล่งไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโปรตีน โดยมีอยู่ประมาณร้อยละ 16 ดังนั้นการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดต้องการไนโตรเจนในการสังเคราะห์โปรตีน เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตแหล่งไนโตรเจนที่เห็ดต้องการสำหรับการเจริญเติบโตนั้นได้มาจาก 2 แหล่งด้วยกัน คือ แหล่งไนโตรเจนจากธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น รำข้าว มูลสัตว์ต่าง ๆ และแหล่งไนโตรเจนที่สังเคราะห์ขึ้นตัวอย่างเช่น ยูเรีย แอมโมเนียซัลเฟต แอมโมเนียคลอไรด์ แหล่งไนโตรเจน ที่เห็ดสามารถนำไปใช้ได้ดีนั้น คือ ไนโตรเจนในรูปอินทรีย์สารที่ให้ผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดมากที่สุดคือ โปรตีนที่มีอยู่ในส่าเหล้ารำละเอียด ใบกระถิ่นป่น แต่จากการศึกษาการใช้ไนโตรเจนในรูปของอาร์จินีน จะช่วยในการกระตุ้นให้เห็ดออกดอกมากขึ้น และดีขึ้น (จินตนา ผลจันทร์ และคณะ 2553)

1.2.10.3 อุณหภูมิ

การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด การสร้างดอกเห็ด และรูปร่างของเห็ดตระกูลนางรม จำเป็นต้องเพาะปลูกในสภาวะที่มีอุณหภูมิที่เหมาะสม อุณหภูมิจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อความอยู่รอด อัตราการเจริญเติบโต ระยะเวลาของการเกิดดอก ผลผลิต และรูปร่างของเห็ด โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับเห็ดแต่ละชนิด ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางรมอยู่ที่ประมาณ 30-32 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะต่อการออกดอกของเห็ดประมาณ 25 องศาเซลเซียส (วสันณ์ เพชรรัตน์, 2536)

ประเสริฐ วุฒิคัมภีร์ (2539) ศึกษาเกี่ยวกับรูปแบบของไอโซไซม์ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และผลผลิตของเห็ดนางฟ้า เห็ดภูฐาน และเห็ดนางรมสีเทา พบว่าเห็ดทั้ง 3 ชนิด ที่นำมาศึกษาเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส และเจริญได้น้อยหรือเกือบไม่เจริญที่อุณหภูมิ 15 และ 35 องศาเซลเซียส

Zervakis และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับอัตราการเจริญเติบโต และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเห็ดกินได้ที่อุณหภูมิ 15-45 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต และสร้างดอกของเห็ดนางรม คือ 30 องศาเซลเซียส

1.2.10.4 ความชื้น

ความชื้นเป็นตัวบ่งบอกถึงปริมาณน้ำ ซึ่งจำเป็นต่อการดำรงชีวิต และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์จะใช้น้ำบนผิววัสดุหมักเป็นตัวกลางในการส่งผ่านอาหาร และออกซิเจนเข้าสู่เซลล์ (Ruggieri *et al.,* 2008) ความชื้นเป็นสภาวะหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด การผลิตชีวมวล และการสร้างดอกเห็ด ความชื้นของอากาศมีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดตระกูลนางรมอย่างมากโดยเฉพาะระยะเปิดดอก เห็ดนางรมต้องการความชื้น

ค่อนข้างสูงประมาณร้อยละ 70-80 จึงควรรดน้ำ 2-3 ครั้งต่อวัน ความชื้นนอกจากมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโต และการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์แล้ว ยังมีผลทางอ้อมต่อการระบายอากาศ คือ ถ้าความชื้นน้อยไป เส้นใยของเห็ดจะเดินช้า ถ้าความชื้นมีมากเกินไป การแพร่กระจายของออกซิเจนก็เกิดได้ยาก จนทำให้เกิดสภาพขาดออกซิเจน ทำให้เส้นใยฝ่อ หรือเน่าเปื่อย และมีผลต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์อีกด้วย (Cooperband *et al.,* 2000)

Cruz และคณะ (1999) ศึกษาผลขององค์ประกอบของวัสดุเพาะต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) โดยใช้ฟางข้าวโอ๊ต (oat straw) รำข้าวโอ๊ต (oat bran) และกะลามะพร้าว (copra cake) โดยทำการทดลองในสภาพอาหารแข็ง ปรับความชื้นด้วยน้ำสะอาด พบว่า ความชื้นที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดได้ดีอยู่ที่ความชื้นมากกว่าร้อยละ 70

Shen และคณะ (2008) ศึกษาถึงผลของความชื้นในสารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดหอมสารอาหารที่ใช้มีส่วนประกอบดังนี้ ขี้เลื่อยไม้โอ๊คร้อยละ 20 ข้าวฟ่างร้อยละ 25 รำข้าวสาลีร้อยละ 10 ยิบซัมร้อยละ 0.1 โดยทำการศึกษาที่ระดับความชื้นที่ร้อยละ 50 55 และ 60 พบว่าที่ระดับความชื้นร้อยละ 55 ได้ผลผลิตเห็ดหอมสูงที่สุดเท่ากับ 3.2 กิโลกรัม

1.2.10.5 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ความเป็นกรด-ด่าง เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดโดยความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดโดยทั่วคือ จะมีค่าอยู่ระหว่าง 5.0 ถึง 7.6 หรือที่เป็นสภาวะกรดเล็กน้อย ในอาหารที่เป็นกรดหรือด่างมากเกินไป เห็ดจะเจริญเติบโตได้เฉพาะเส้นใยเท่านั้น แต่เห็ดไม่สามารถสร้างดอกเห็ดได้ (วสันณ์ เพรชรัตน์, 2536)

1.2.10.6 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio)

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็นค่าที่บอกความยากง่ายในการย่อยสลาย คือ วัสดุที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูงมาก ๆ มีอัตราการย่อยสลายต่ำ เนื่องจากความไม่สมดุลของคาร์บอนต่อไนโตรเจน เพราะเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์คาร์บอนจนกระทั่งได้โมเลกุลเล็กแล้วนำเข้าในเซลล์ เพื่อเป็นแหล่งพลังงาน และไนโตรเจนสำหรับการสังเคราะห์โปรตีน (Sharma *et al.,* 1997) ซึ่งในการเพาะเห็ดอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญของเส้นใย การออกดอกและผลผลิตของเห็ด จุลินทรีย์ต้องการใช้คาร์บอน 30 ส่วนต่อไนโตรเจน 1 ส่วน (C:N=30:1 โดยน้ำหนักแห้ง) ในการย่อยสลายวัตถุอินทรีย์ อัตราส่วนนี้จะช่วยในการควบคุมความเร็วในการย่อยของจุลินทรีย์ ถ้าสารอาหารที่ใช้ในการเพาะเห็ดมีส่วนผสมที่มีคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูงมาก (มีคาร์บอนมาก) การย่อยสลายจะช้า ถ้าสารอาหารที่ใช้ในการเพาะเห็ดมีส่วนผสมที่มีคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำมาก (ไนโตรเจนสูง) จะเกิดการสูญเสียไนโตรเจนในรูปแบบของแอมโมเนียสู่บรรยากาศ และจะเกิดกลิ่นเหม็น โดยส่วนมากวัตถุอินทรีย์ไม่ได้มี

อัตราส่วน C:N = 30:1 จึงต้องทำการผสมวัตถุอินทรีย์เพื่อให้ได้อัตราส่วนที่เหมาะสม (Philippoussis, 2007)

Cruz และคณะ (1999) ศึกษาอิทธิพลของส่วนประกอบของวัสดุเพาะคือ ฟางข้าวโอ๊ต (oat straw) รำข้าวโอ๊ต (oat bran) และกะลามะพร้าว (copra cake) ต่อการเจริญของเห็ดนางรม *Pleurotus ostreatus* ในสภาพอาหารแข็ง พบว่าเห็ดนางรมเจริญได้ดีที่ระดับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนอยู่ที่ระหว่าง 22.4-23.2

1.2.10.7 ภาชนะบรรจุ

ภาชนะบรรจุที่มีความแตกต่างกันจะมีประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน เนื่องจากหากมีการเพาะเห็ดในภาชนะบรรจุที่มีความเหมาะสมจะมีส่วนทำให้ชีวมวลที่ได้มีประสิทธิภาพ ทั้งนี้เกิดจากการถ่ายเทอากาศ การระบายอากาศภายในความคงทนภาชนะบรรจุ จากการศึกษาของ Mandeel และคณะ (2005) ศึกษาการเพาะเห็ดนางรมบนวัสดุเศษเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส โดยในการเพาะใช้ภาชนะบรรจุถุง polyethylene ถุง polyester net เครื่องปั่นดินเผา และถาดพลาสติก จากการทดลองพบว่า เห็ดนางรมสามารถเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี และให้ค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยาสูงสุดถึงร้อยละ 109.4 ในถุง Polyethylene เมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องปั้นดินเผา ถาดพลาสติก และถุง polyester net ให้ค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยาร้อยละ 86, 72 และ 56 ตามลำดับ

1.2.10.8 แสงสว่าง

แสงสว่างมีผลต่อการพัฒนา และเจริญเติบโตของดอกเห็ดมาก เพราะแสงจะช่วยกระตุ้นในการรวมตัวของเส้นใยและการพัฒนาเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ ถ้าได้รับแสงน้อยจะทำให้หมวกดอกมีขนาดเล็กลง และก้านดอกยาวขึ้นและถ้าแสงน้อยมาก ๆ จะทำให้ดอกเห็ดมีลักษณะผิดปกติไป ดังนั้นในการเพาะเห็ดนางรมควรให้เห็ดได้รับแสงอย่างน้อย 15-20 นาทีต่อวัน (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

1.2.10.9 อากาศ

อากาศเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเปิดดอก ปริมาณออกซิเจนสัมพันธ์กับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ถ้าคาร์บอนไดออกไซด์สูง เห็ดก็มีการแบ่งตัวของเส้นใย ไม่ออกดอก หรือถ้าออกดอกแล้ว ดอกเห็ดจะมีลักษณะเป็นหูด หรือหนังคางคกไม่สมบูรณ์ ถ้าปริมาณก๊าซออกซิเจนมีเพียงพอ จะสวยสมบูรณ์ขึ้น หากทำให้เห็ดขาดออกซิเจนเส้นใยของเห็ดจะไม่สามารถสร้างตุ่มดอกได้อย่างมีคุณภาพ สภาพดอกเห็ดจะผิดปรกติ และผลผลิตจะต่ำมาก (Philippoussis *et al.*, 2007)

1.2.11 อนุมูลอิสระ (Free radical)

อนุมูลอิสระ (free radical หรือ oxidant) เป็นโมเลกุลหรืออะตอมที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอย่างน้อย 1 ตัวโคจรรอบวงนอกสุด (outer orbital) (Halliwell, *et al*., 1995) อิเล็กตรอนเดี่ยวนี้ทำให้อนุมูลอิสระไม่เสถียร และไวต่อการเกิดปฏิกิริยาสูง จึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่รอบๆ โดยดึงหรือให้อิเล็กตรอนโมเลกุลข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร หรือเรียกอีกอย่างว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชัน โมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่ไม่เสถียร และเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) อนุมูลเหล่านี้ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น ๆ ได้หลายรูปแบบไม่ว่าจะเป็น การส่งต่ออิเล็กตรอนเดี่ยวให้ หรือรับอิเล็กตรอนเพิ่มเข้ามา หรือรวมกัน ซึ่งไม่ว่าจะเป็นแบบใดก็ตาม ผลที่ได้รับคือ อนุมูลที่คงตัว ปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระนั้นมีความเกี่ยวข้อง เนื่องจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของสารต่าง ๆได้มากมายหลายชนิด และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอื่น ๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป (นงนภัส ดวงดี, 2551)

1.2.12 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ

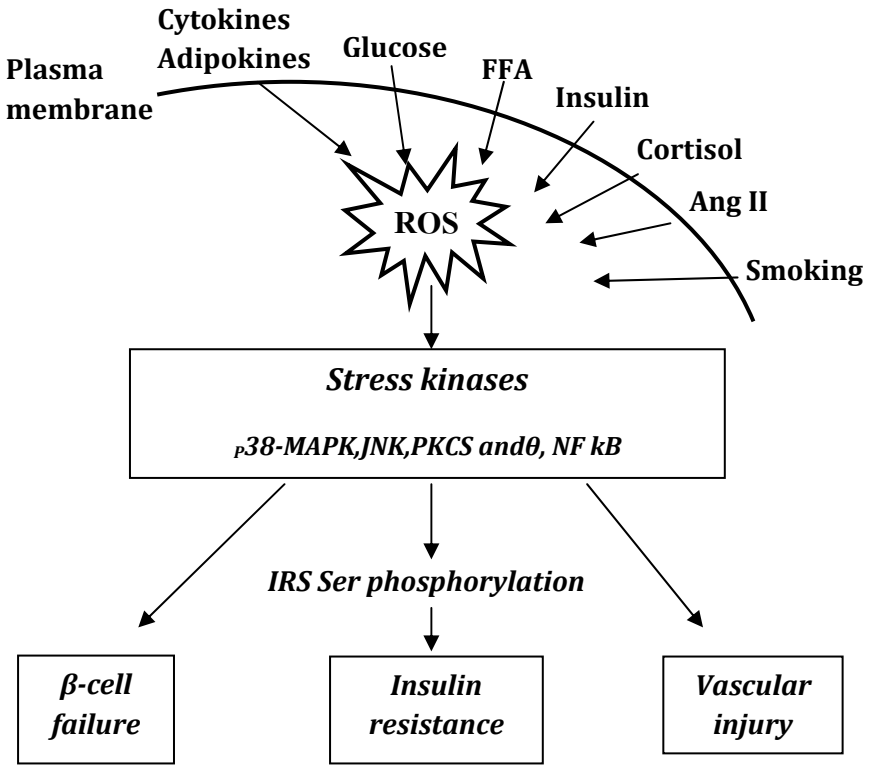
อนุมูลอิสระ และสารที่เกี่ยวข้องต่างๆในทางชีววิทยาที่สามารถเป็นตัวตั้งต้นที่ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระได้อีกหลายชนิด สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, RNS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species, RCS) ซึ่งในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ จะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนเกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา (รูปที่ 1.7) การเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้ มีสาเหตุมาจากปัจจัยทั้งภายใน และภายนอกร่างกายดังนี้ (Halliwell *et al*., 1995; Eriksson, 2007)

1.2.12.1 อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย

ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะมีปฏิกิริยามากมาย ที่เกี่ยวข้องกับทั้งการสร้าง และการสลายโมเลกุลของสารที่เรียกว่ากระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) การเกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมตามปกติในร่างกาย หรือเกิดจากการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายที่มีการสร้างอนุมูลอิสระขึ้นมา เพื่อสู้กับเชื้อโรคบางชนิด

1.2.12.2 อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายนอกร่างกาย

สารเคมี และสิ่งปนเปื้อนที่มากับอากาศที่เราหายใจเข้าไป สารเติมแต่งอาหาร สีผสมอาหารสารเคมีปนเปื้อนในอาหาร การติดเชื้อ ทั้งจากแบคทีเรีย และไวรัส ยารักษาโรค สิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ เช่น ควันเสียและเขม่าจากเครื่องยนต์ ควันบุหรี่ ยาฆ่าแมลง การออกกำลังกายอย่างหักโหม และรังสี เช่น รังสีเอกซ์ (X-ray) รังสีแกมมา (γ-ray) อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายจากการถ่ายทอดพลังงานให้กับน้ำ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์แล้วก่อให้เกิดปฏิกิริยาขั้นต่อไป (secondary reaction) กับออกซิเจนที่ละลายอยู่ในเซลล์นั้นได้อนุมูลอิสระเกิดขึ้น



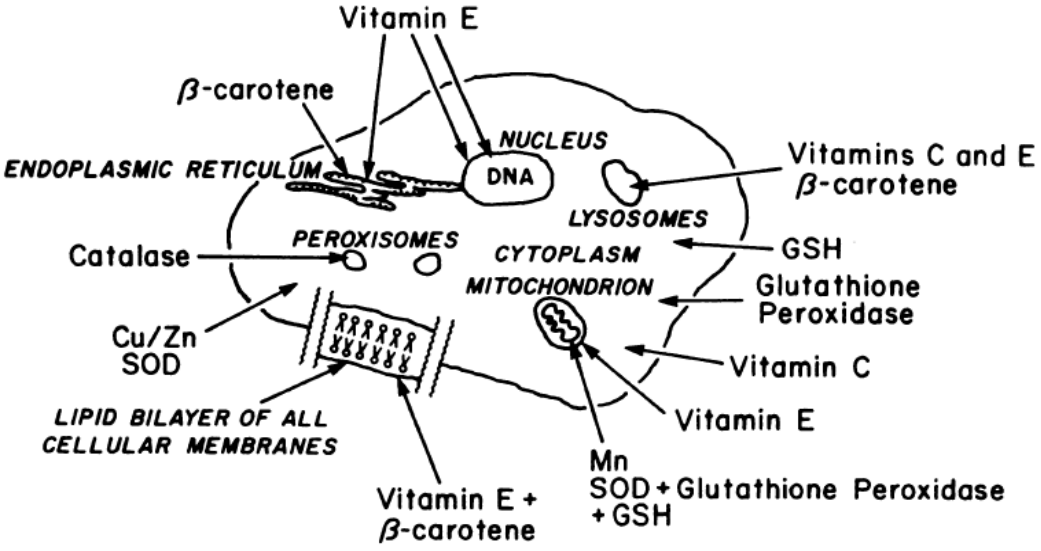
รูปที่ 1.7 ปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลให้มีการสร้าง และสะสมอนุมูลอิสระออกซิเจน (ROS) มากขึ้น
ที่มา: Eriksson (2007)

สารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นทั้งภายใน และภายนอกร่างกาย เมื่อสะสมในร่างกายปริมาณมากเกินกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมด จะทำอันตรายต่ออวัยวะ และเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย ถ้ามีมากในเซลล์ก็เป็นอันตรายได้โดยจะทำลายดีเอนเอ เยื่อหุ้มเซลล์ และอื่น ๆ ได้ อย่างไรก็ตามในร่างกายของคนเราจะมีสารชนิดหนึ่งที่มีหน้าที่คอยป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่แล้ว เรียกสารชนิดนี้ว่า สารต้านอนุมูลอิสระ

1.2.13 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ ได้ เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระให้กลายเป็นสารที่ไม่มีอันตราย โดยทำหน้าที่ในการให้อิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระ ขับไล่อนุมูลอิสระจับตัวกับโลหะที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือลดการก่อตัวของซิงเกล็ทออกซิเจน (singlet oxygen) ซึ่งเป็นออกซิเจนที่อยู่ในรูปที่พร้อมจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Halliwell, 2009)

บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ ของมนุษย์ ปัจจุบันองค์กรที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมอาหารและยา ได้พยายามพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ เช่น สาหร่ายทะเล แบคทีเรีย เชื้อรา และพืชชั้นสูง (Chattopadhyay *et al*., 2008) อย่างไรก็ตามในภาวะปกติ ร่างกายของคนเราจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่แล้ว ซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และส่วนที่สองคือ กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากวิตามินเอ ซี อี หรือ เบต้าแคโรทีน (β- carotinoid) รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งเป็นพฤษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผัก และผลไม้ เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น (รูปที่ 1.8) (Machlin and Bendich, 1987)



รูปที่ 1.8 การป้องกันอนุมูลอิสระภายในเซลล์

ที่มา : Machlin และ Bendich (1987)

ด้วยเหตุนี้มนุษย์เราจึงจำเป็นต้องรับประทานอาหารที่เป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชัน ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอี และซิลิเนียม ซึ่งมีการศึกษาวิจัยที่แสดงว่าการใช้ซิลิเนียม และวิตามินอีร่วมกันช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งบางชนิด นอกจากนี้ สารประกอบฟีนอลิก ที่จัดเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพ และเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระที่สำคัญคือ อนุมูล peroxyl โดยมีกลไก 2 แบบคือ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีนอลิกจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอนพลอพาเกชัน (propagation)ได้ ซึ่งเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อ ๆ กันไป นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็นสารคีเลต ดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล (Chattopadhyay *et al*, 2008)

1.2.14 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ

ปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ได้มาจากพืชผัก ผลไม้ สมุนไพร และเครื่องเทศ ได้รับความสนใจ และศึกษากันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากกระแสเรื่องความปลอดภัยของสารสกัดจากธรรมชาติ สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 2 ชนิดได้แก่

1.2.14.1 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants)

สารประกอบฟีนอลิค สังเคราะห์ 5 ชนิดได้แก่ BHT (butylated hydroxytoluene), propyl gallate, 2- butylated hydroxyanisole, 3- butylate hydroxyanisole และ tertiary butylhydroquinone เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันอันเป็นสาเหตุให้อาหารมีกลิ่น สี และ รสชาติที่เปลี่ยนไป สารสังเคราะห์เหล่านี้มีประสิทธิภาพ และความคงตัวสูงกว่าสารสกัดจากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดของการใช้เนื่องจากปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค (Pokorny *et al*., 2001)

1.2.14.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)

สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจ และมีการค้นคว้าในปัจจุบันอย่างมาก เนื่องจากความเชื่อมั่นในด้านความปลอดภัยในการบริโภค มากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์ และพืช ซึ่ง มีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบ

ฟีนอล โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แซนโธน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้น หรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยการให้อนุมูล $H^{\cdot}$ แก่อนุมูลอิสระ เหล่านั้น สารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล ซึ่งพบในพืชพรรณธรรมชาตินานาชนิด สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีทั้งในห้องปฏิบัติการ และในสิ่งมีชีวิต (Sanchez-Moreno *et al*., 2000)

1.2.15 บทบาทในการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระจัดเป็นสารที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันจากอนุมูลอิสระ ซึ่งบทบาทในการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งได้ ดังนี้ (Bidlack *et al*., 1998)

1. ป้องกันการเกิดสารออกซิแดนซ์ เช่น Transferrin ที่ทำปฏิกิริยากับ เหล็กอิออนหรือ คอปเปอร์อิออน ที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

2. ยับยั้งการทำงานของสารออกซิแดนซ์ โดยทำตัวเป็นผู้ให้อิเลคตรอนแก่สารออกซิแดนซ์ ทำให้ปฏิกิริยาแย่งชิง อิเลคตรอน (electron-stealing reaction) สิ้นสุดลง

3. ช่วยลดตัวกลางที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น เอนไซม์คะตะเลส (catalase) ที่ยับยั้งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หรือสารประกอบฟีโนลิกที่ช่วยทำให้เอนไซม์บางชนิดเกิดความคงตัวจนทำให้สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

1.2.16 การสกัด และการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่เป็นสารประกอบฟีนอลิค สารกลุ่มนี้มีหลากหลายชนิด ตัวอย่างเช่น tocopherol, tocotrienol, gallic acid และ vanilic acid เป็นต้น รวมทั้งสารจำพวกฟลาโวนอยด์ (Vichitphan *et al.,* 2007) โดยทั่วไปการสกัดสารประกอบฟีนอลิคมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งมีความแตกต่างกันตามแต่ลักษณะ และองค์ประกอบของสาร ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้สำหรับสกัดสารประกอบฟีนอลิคได้แก่ น้ำ เมธานอล เอธานอล สารต้านอนุมูลอิสระมักประกอบด้วยสารหลายชนิดที่ทำงานเสริมกัน จึงจะมีประสิทธิภาพสูงในการทำงาน เช่นปัจจุบันพบว่า ซีลีเนียม เป็นสารอาหารที่ช่วยต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับวิตามิน E และช่วยลดการเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็ง (Zhang *et al*,. 2006)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำลายสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ และทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมา จึงมีการคิดวิธีสังเคราะห์อนุมูลอิสระเหล่านี้ในหลอดทดลอง และทดสอบความสามารถของสารในการยับยั้งอนุมูลอิสระเหล่านี้ จึงมีหลายวิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบ แต่ละวิธีมีความจำเพาะต่อสารแตกต่างกัน โดยปกติแล้วการ

ตรวจสอบมักจะสรุปผลจากหลายวิธีร่วมกัน เพื่อทำให้ผลการทดสอบมีความถูกต้องยิ่งขึ้น วิธีที่ใช้ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่นิยมได้แก่ 2,2-Diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH), Ferric reducing /antioxidant power (FRAP), 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), Superoxide radical scavenging**,** lipid peroxidation reducing power, Hydroxyl (OH) radical scavenging activity, Reducing power และ Metal chelating ability (Chirinang and Intarapichet., 2009)

Chirinang and Intarapichet (2009) ศึกษากรดอะมิโน และสารต้านอนุมูลอิสระของเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า โดยทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH TPC และ FRAP พบว่าเห็ดนางรมให้การยับยั้งของสารอนุมูลอิสระได้ดีกว่าเห็ดนางฟ้า โดยให้ค่า EC_{50} เท่ากับ 31.75 และ 58.44 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Elmastas และคณะ (2007) ศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเห็ดกินได้ โดยทำการทดลองด้วยสารละลายเมทานอล พบว่า เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 180 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเห็ดนางรมมีเปอร์เซ็นการยับยั้งสารอนุมูลอิสระเท่ากับ 81.3

1.2.17 ประโยชน์ของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระมีประโยชน์อย่างมากต่อระบบที่สำคัญต่าง ๆ ในร่างกาย ได้แก่ ระบบหลอดเลือด และหัวใจ (Akyon, 2002) ระบบภูมิคุ้มกัน ระบบกลุ่มเซลล์ประสาทที่ทำงานเฉพาะในสมอง การต่อต้านการเกิดโรคมะเร็งต่าง ๆ (Duncan, 2004; Hakimuddin *et al.,* 2004) และการชะลอความชรา รวมทั้งกระบวนการต่าง ๆ ที่โดดเด่นในการปกป้องชีวิต ระบบต่าง ๆ เหล่านี้เกี่ยวข้องโดยตรงกับสุขภาพร่างกาย เช่น โรคหัวใจที่เกิดจากการอุดตันของเส้นเลือดที่อาจเกิดขึ้นอย่างฉับพลัน ซึ่งอาจจะเกิดจากการสะสมสารต่างๆที่บริเวณหลอดเลือดทำให้ผนังหลอดเลือดถูกทำลาย ในกรณีโรคอื่น ๆ เช่นโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer disease) ไขข้ออักเสบ และต้อกระจก (Ames *et al.,* 1993) ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินดี วิตามินอี ซีลีเนียม บีตาแคโรทีน พฤกษาเคมีต่างๆ (phytochemicals) เช่น สารประกอบฟีนอลิค (polyphenol) (นงนภัส ดวงดี, 2551; Vinson *et al,.* 1998)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นหัวข้อที่อยู่ในความสนใจศึกษาเป็นอย่างมากทั้งในพืช และสัตว์ชนิดต่าง ๆ ที่ใช้เป็นอาหารรวมทั้งในการเป็นเห็ดรา สารสกัดหยาบเมทานอล และน้ำของดอกเห็ดที่มีฤทธิ์ทางยาชนิดต่าง ๆ ก็มีรายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ซึ่งมีสารประกอบฟีนอลเป็นองค์ประกอบหลัก นอกจากนี้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารโพลิแซคคาไรด์มีฤทธิ์กระตุ้นระบบ

ภูมิคุ้มกัน และบ่อยครั้งที่การออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นผลมาจากสารโพลิแซคคาไรด์ที่เกาะอยู่บนสายโปรตีนหรือที่เรียกว่าโพลิแซคคาโรเปปไทด์ (polysaccharopeptide) หรือโปรตีนโอไกลแคน (proteoglycan)

แม้ว่าเปปไทด์หรือโปรตีนจากเห็ดหลายชนิด สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน แต่มีบางชนิดออกฤทธิ์กดภูมิคุ้มกันได้ด้วย ซึ่งน่าสนใจเป็นอย่างยิ่งในแง่ของการรักษาโรคภูมิแพ้ สารสกัดเอทานอลจากเห็ดชิเมจิ เห็ดเข็มทอง เห็ดนาเมโกะ (*Pholiota nameko*) และ เห็ดนางรมเออรินจิ แสดงผลต้านภูมิแพ้ได้ในหนูทดลอง (Sano *et al.,* 2002) อนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) และการเพิ่มขึ้นของระดับไขมันในเลือดเป็นสาเหตุหลักในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบตันซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการตายของคนในประเทศอุตสาหกรรม สารสกัดจากเห็ดนางรมมีฤทธิ์ในการลดระดับคอเลสเตอรอล และช่วยยับยั้งการออกซิไดซ์ของไขมัน (Bobek *et al.,* 1997)

สารยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งที่มีรายงานพบในเห็ดหลายชนิด เช่น ubiquitin-like proteases ซึ่งเป็นเปปไทด์ขนาด 8 kDa สารโพลิแซคคาไรด์จากเห็ดนางรม (Tong *et al.,* 2009) และเปปไทด์จากถั่วเช่ามีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งเต้านม และมะเร็งกระเพาะปัสสาวะของมนุษย์ได้ (Park *et al.,* 2009) หรือโปรตีนที่มีฤทธิ์ทำลายไรโบโซม (ribosome-inactivating proteins) เช่น เลคติน (lectins) จากเห็ดกระดุมหรือเห็ดแชมปิญอง และจากเห็ดนางรม (Zusman *et al.,* 1997) เป็นต้น สารสกัดโพลิแซคคาไรด์ทั้งหมดที่ได้จากเห็ดนั้น สารที่เชื่อว่าสำคัญที่สุดคือ กลูแคน (glucan) เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านเนื้องอกที่ดี กลูแคนที่ทราบกันดี ได้แก่ กลูแคน ทั้งที่เป็นโซ่ตรง (1,3-β-glucan) และที่เป็นโซ่กิ่ง [(1,3) (1,6)-linked β-glucan] เช่น บีต้า-กลูแคนจากเห็ดในกลุ่มเห็ดนางรมมีโครงสร้างแบบโซ่กิ่ง (Carbonero *et al.,* 2006)

กลไกในการต้านมะเร็งโดยสารกลุ่มนี้คาดว่า เกี่ยวข้องกับการชะลอการแบ่งเซลล์ โดยชะลอวัฏจักรเซลล์ และเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการฆ่าตัวตายของเซลล์ (apoptosis) หรือเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมที่ผิดปกติ ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งโดยขัดขวางการยึดเกาะ และบุกรุกของเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอ็นเอ (RNA) และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ดังนั้นการบริโภคเห็ดหรือสารสกัดจากเห็ดดังกล่าวนี้อาจช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบตันได้ (Seto *et al.,* 2009)

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.3.1 ศึกษาการใช้ประโยชน์จากภาชนะบรรจุกรวยกระดาษเหลือทิ้งในการเพาะเห็ดตระกูลนางรม

1.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเห็ดตระกูลนางรมบนวัสดุเพาะจากภาชนะบรรจุกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

1.3.3 ศึกษาปริมาณโปรตีน และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในดอกเห็ดตระกูลนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะภาชนะบรรจุกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

โครงการงานวิจัยนี้ เป็นงานวิจัยที่นำวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสจากภาชนะบรรจุกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารามาทำให้เกิดประโยชน์เป็นมูลค่าเพิ่ม ด้วยการเพาะเห็ดตระกูลนางรม ดังนี้

1.4.1 สามารถนำวัสดุเหลือทิ้งภาชนะบรรจุกรวยกระดาษมาใช้ประโยชน์เป็นวัสดุเพาะในการเพาะเห็ดตระกูลนางรมทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพารา

1.4.2 ได้สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเห็ดตระกูลนางรมจากวัสดุเพาะภาชนะบรรจุกรวยกระดาษทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพารา

1.4.3 ได้ข้อมูลปริมาณโปรตีน และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของดอกเห็ดตระกูลนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะภาชนะบรรจุกรวยกระดาษทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพารา

1.4.4 ได้แนวทางในการจัดการสิ่งแวดล้อม และวัสดุเพาะเห็ดแนวใหม่เพิ่มเติม

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

1.5.1 แยกเชื้อเห็ดตระกูลนางรม 3 ชนิด ได้แก่ เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และเห็ดภูฐาน จากตลาดอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ให้อยู่ในรูปเชื้อบริสุทธิ์

1.5.2 วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสที่ใช้ ได้แก่ ภาชนะบรรจุกรวยกระดาษเหลือทิ้ง จากสำนักทรัพยากรการเรียนรู้คุณหญิงหลง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา (จากโรงงานแปรรูปไม้ จังหวัดยะลา)

1.5.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเห็ดตระกูลนางรมจากวัสดุเพาะภาชนะบรรจุกรวยกระดาษทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพารา โดยศึกษาความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะ อัตราส่วนของวัสดุเหลือทิ้งภาชนะบรรจุกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา ค่า C/N ratio ปริมาณรำข้าวที่ใช้เป็นอาหารเสริม ปริมาณเชื้อเริ่มต้น และภาชนะบรรจุวัสดุเพาะ

1.5.4 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและสารต้านอนุมูลอิสระ จากเห็ดตระกูลนางรมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะที่เหมาะสมจากข้อ 1.5.3

บทที่ 2
วิธีการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาการใช้ประโยชน์ของภาชนะบรรจุกระดาษเหลือทิ้งในการเพาะเห็ดตระกูลนางรมที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ โดยดำเนินการวิจัยที่ห้องปฏิบัติการ คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ซึ่งมีรายละเอียดการวิจัยดังนี้

2.1 วัสดุ และอุปกรณ์

2.1.1 เครื่องมือ

2.1.1.1 Spectrophotometer (Shimazu รุ่น UV 1604)

2.1.1.2 Rotary Evaporator (BUCHI R215)

2.1.1.3 เครื่องชั่งความละเอียด 2 ตำแหน่ง รุ่น PB-1502

2.1.1.4 เครื่องชั่งความละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น AB 204

2.1.1.5 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ปรับระดับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

2.1.1.6 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow)

2.1.1.7 Hot Air Oven (Contherm)

2.1.1.8 Automatic pipette (Denville XL 3000i)

2.1.1.9 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)

2.1.1.10 เครื่องเขย่า (Shaker) รุ่น NB-101M/MS

2.1.2 วัสดุ และอุปกรณ์

2.1.2.1 จานเพาะเห็ด (Petri dish) ขนาด 9 เซนติเมตร

2.1.2.2 หลอดทดลอง (test tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร

2.1.2.3 ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

2.1.2.4 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

2.1.2.5 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 100, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

2.1.2.6 กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 100, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

2.1.2.7 ปิเปตแก้ว และทิบพลาสติก ขนาด 200 และ 1000 ไมโครลิตร

2.1.2.8 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4

2.1.2.9 ถุงพลาสติก Polypropylene (PP) (จากตลาด เขตอำเภอหาดใหญ่)

2.1.2.10 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (จากโรงงานแปรรูปไม้ จังหวัดยะลา)

2.1.2.11 ภาชนะบรรจุกระดาษ เลือกใช้กรวยกระดาษ (จากสำนักทรัพยากรการเรียนรู้คุณหญิงหลง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่)

2.1.2.12 เมล็ดข้าวเปลือก (จากตลาด เขตอำเภอหาดใหญ่)

2.1.2.13 รำละเอียด (จากโรงสีข้าว จังหวัดยะลา)

2.1.3 สารเคมี

ตารางที่ 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบ

ชื่อสารเคมี	บริษัท
Acetic acid	Sigma-Aldrich
2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)	Fluka
2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol	Fluka
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazine	ALDRICH
ferric chloride $FeCl_3$	Merck
Folin-Ciocalteau reagent	Merck
Gallic acid monohydrate	GIGMA-ALDRICH
Methanol	J.T
Potassium persulfate($K_2S_2O_8$)	Ajax
Sodium hydrogen carbonate (Na_2CO_3)	Ajax
2,4,6-tri-2-pyridyl-2-triazine (TPTZ)	Fluka

2.2 วิธีดำเนินการวิจัย

2.2.1 การแยกเชื้อเห็ดตระกูลนางรม

2.2.1.1 ใช้เชื้อเห็ดตระกูลนางรม 3 ชนิด คือ เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และเห็ดภูฐาน จากตลาด ในเขตอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา นำสายพันธุ์เห็ดตระกูลนางรมที่มีดอกสมบูรณ์ มาแยกเชื้อเห็ดให้อยู่ในรูปเชื้อบริสุทธิ์ โดยการฆ่าเชื้อดอกเห็ดด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 เป็นเวลา 3 นาที แล้วนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ประมาณ 1 นาที ตัดเนื้อเยื่อดอกเห็ดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ วางบนอาหารแข็งพีดีเอ (potato dextrose agar : PDA) ปิดผนึกจานเพาะเชื้อด้วยพาราฟิล์ม นำไปบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จนเส้นใยเจริญแล้วทำการเขี่ยเชื้อบนอาหารชนิดเดียวกันซ้ำหลาย ๆ ครั้งจนได้เชื้อบริสุทธิ์ เก็บรักษาตัวอย่างเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ในหลอดอาหารวุ้นเอียง (PDA slant) นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการทดลองต่อไป

2.2.1.2 การทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมบริสุทธิ์ โดยการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมบริสุทธิ์บนอาหารแข็งพีดีเอ บ่มในที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นตัดชิ้นส่วนวุ้นที่มีเส้นใยเห็ดด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4 เซนติเมตร แล้วใช้เข็มเขี่ยย้ายชิ้นวุ้นลงกลางจานอาหารแข็งพีดีเอ (จานเพาะเชื้อมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) บ่มในที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วัดอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดทุก ๆ วัน จนกว่าเส้นใยเห็ดจะเจริญเติบโตเต็มจานอาหาร (เป็นเวลา 9 วัน) ทำการทดลองละ 3 ซ้ำ นำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี LSD (Least Significant Difference) ทำการวิเคราะห์เฉพาะวันที่ 9

2.2.1.3 การทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมบริสุทธิ์บนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ (paper cone) และขี้เลื่อยไม้ยางพารา (para rubber sawdust) ในอัตราส่วน 50:50 ควบคุมความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 โดยทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะมืด (เนื่องจากแสงจะเป็นตัวกระตุ้นให้เส้นใยสร้างดอก ทั้งที่เส้นใยยังเจริญสะสมอาหารได้ไม่เต็มที่ ซึ่งเป็นสาเหตุให้ผลผลิตต่ำ) บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 วัน ทำการทดลองละ 3 ซ้ำ วัดค่าน้ำหนักแห้งที่หายไป และนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการหาความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยวิธี LSD ทำการวิเคราะห์เฉพาะวันที่ 18 เพื่อคัดเลือกเชื้อเห็ดตระกูลนางรมที่มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการทดลองขั้นตอนต่อไป โดยมีขั้นตอนการทำงานดังนี้

- การเตรียมวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา นำกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักแห้งคงที่ ในส่วนของ

กรวยกระดาษมาตัดให้มีขนาด 3-5 เซนติเมตร ตามวิธีของ Baysal และคณะ (2003) นำตัวอย่างบางส่วนไปวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนด้วยวิธี Walkley-Black และไนโตรเจนโดยวิธี Photometric Method (Novozamsky *et al*., 1974) (ผลในตารางภาคผนวก ค) ดังแสดงในรูปที่ 2.1

กรวยกระดาษ (ก)

ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (ข)

อบแห้งที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส (ค)

กรวยกระดาษให้มีขนาด 3-5 เซนติเมตร (ง)

รูปที่ 2.1 ขั้นตอนการเตรียมวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

- การหาความชื้นของวัสดุเพาะที่ระดับความชื้นร้อยละ 70 (ชุดควบคุม) นำกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 50:50 (%w/w) ปริมาณ 50 กรัม เติมน้ำ 95 มิลลิลิตร ปล่อยทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที ชั่งตัวอย่างก่อนนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส จนกว่าน้ำหนักคงที่ (ประมาณ 7-8 ชั่วโมง) นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น บันทึกน้ำหนักของตัวอย่าง นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นได้ตามสมการที่ 1

(AOAC, 1990) สำหรับที่ความชื้นอื่น ๆ ทำการทดลองเติมปริมาณน้ำหลาย ๆ ปริมาตร จนกว่าจะได้ค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นตามที่ต้องการศึกษา

$$\% \text{ ความชื้น} = ((W_1-W_2)/W_1) \text{ X } 100 \quad \text{————(1)}$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

- การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น (Spawn) ด้วยการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดบนเมล็ดข้าวเปลือก นำเมล็ดข้าวเปลือกไปต้มสุกจนเมล็ดข้าวเริ่มแตก รอเมล็ดข้าวเย็นตัวแล้วบรรจุลงในถุงพลาสติก Polypropylene: PP (ถุงร้อน ขนาด 5×7 นิ้ว) จำนวน 200 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว รอให้เมล็ดข้าวเย็นตัวลงอีกครั้ง จึงถ่ายเชื้อเห็ดจากจานเพาะเชื้อบนอาหารพีดีเอ (อายุ 7 วัน) ที่เจาะด้วย Cork borer (เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.4 เซนติเมตร) จำนวน 4 ชิ้น ลงบนเมล็ดข้าวเปลือก เลี้ยงจนเส้นใยเจริญเต็มที่ จึงนำไปใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการทดลองต่อไป (ดัดแปลงจากวิธีของ Philippoussis *et al*., 2001)

- การเพาะเลี้ยงเชื้อบนวัสดุกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา นำวัสดุเพาะกรวยกระดาษมาปั่นหยาบด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ผสมกับขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วนร้อยละ 50:50 (%w/w) ปรับความชื้นให้ได้ร้อยละ 70 ด้วยน้ำประปา แล้วแบ่งบรรจุลงในถุงพลาสติก Polypropylene: PP (ถุงร้อน ขนาด 5×7 นิ้ว) ถุงละ 47.5 กรัม หุ้มปากถุงด้วยคอขวดกระดาษ ปิดด้วยจุกสำลี และกระดาษอลูมิเนียม ทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ปล่อยให้เย็นแล้วถ่ายเชื้อเห็ด ที่เพาะเลี้ยงบนเมล็ดข้าวเปลือก ร้อยละ 5 บ่มในที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (รูปที่ 2.2) เก็บตัวอย่างทุก ๆ 2 วัน เป็นเวลา 18 วัน เพื่อหาค่าการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด โดยเก็บตัวอย่างวัสดุเพาะที่มีเส้นใยเจริญไปอบที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักแห้งคงที่ (ประมาณ 2 วัน) โดยให้ค่าความคลาดเคลื่อนไม่เกินร้อยละ ± 0.5 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างวัสดุเพาะที่ผ่านการอบ ทำการทดลองจนเส้นใยเห็ดเจริญเติบโตเต็มวัสดุเพาะ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปดังสมการที่ 2 (ดัดแปลงตามวิธีของ Boyle and Kropp, 1992)

น้ำหนักแห้งที่หายไป (กรัมวัสดุเพาะ) = $A_0 - A_{1....n}$ ————— (2)

เมื่อ A_0 คือ น้ำหนักแห้งเริ่มต้นของวัสดุเพาะ (กรัม)

$A_{1....n}$ คือ น้ำหนักแห้งวันที่อบของวัสดุเพาะที่มีเส้นใยเจริญ (กรัม)

โดยที่ n คือจำนวนวันที่ทำการทดลอง

ปั่นกรวยกระดาษด้วยเครื่องปั่น (ก)

กระดาษผสมขี้เลื่อยที่ความชื้นร้อยละ 70 (ข)

บรรจุลงในถุง PP ลงหัวเชื้อร้อยละ 5 (ค)

บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ง)

รูปที่ 2.2 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเชื้อบนวัสดุกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

2.2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวมวลจากเห็ดตระกูลนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

2.2.2.1 การศึกษาผลของความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะ

ใช้วัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่ 50:50 (%w/w) แล้วปรับความชื้นของวัสดุเพาะที่ระดับความชื้นร้อยละ 60 ร้อยละ 65 และร้อยละ 70 (ชุดควบคุม) ตามลำดับ ทำการเพาะเลี้ยงและเก็บตัวอย่าง เช่นเดียวกับการทดลองข้อ 2.2.1.3 เมื่อเส้นใยเห็ดเจริญเติบโตเต็มวัสดุเพาะ ปล่อยให้เส้นใยเห็ดรัดตัว และสะสมอาหารเพิ่มมากขึ้นประมาณ 4-5 วัน เมื่อเกิดตุ่มดอก นำไปเปิดดอกโดยการดึงจุกสำลีออก และกรีดถุงวัสดุเพาะทุกด้าน จากนั้นนำไปบ่มต่อในที่ที่มีแสงสว่างเข้าถึง เพื่อเกิดการรวมตัวของเส้นใย และพัฒนากลายเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ รักษาอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส และให้ความชื้นแก่เส้นใยเห็ดโดยการฉีดน้ำทุก ๆ วัน เก็บตัวอย่างดอกเห็ดสดหลังจากนำไปเปิดดอกประมาณ 4-5 วัน (ควรเก็บดอกเห็ดในขณะที่บานเต็มที่ แต่ขอบหมวกยังไม่บานย้อย) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์เพื่อหาค่าน้ำหนักดอกเห็ดสด (fruit body) (โดยการตัดที่โคนดอกเห็ด แล้วชั่งตัวอย่างดอกเห็ดในแต่ละถุง ทั้ง 3 ซ้ำ ในวันเดียวกัน) และหาค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา (Biological efficiency: BE) คำนวณได้ตามสมการที่ 3 (Baysal, 2003)

$$\text{Biological efficiency \%} = (\text{Weight of fresh biomass} / \text{Weight of dry substrate}) \times 100 \quad \text{——— (3)}$$

เมื่อ Weight of fresh biomass คือ น้ำหนักดอกเห็ดสด

Weight of dry substrate คือ น้ำหนักแห้งของวัสดุเพาะ

2.2.2.2 การศึกษาผลของอัตราส่วนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา

เลือกชุดการทดลองที่เหมาะสมจากข้อ 2.2.2.1 เพื่อศึกษาอัตราส่วนกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา (% w/w) ตามตารางที่ 2.2 ควบคุมเชื้อเริ่มต้นที่ร้อยละ 5 วัสดุเพาะในแต่ละสูตร ทำการวิเคราะห์อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนครบทุกสูตรตามวิธีของ Techobanoglous และคณะ (1993) ทำการเพาะเลี้ยงเก็บตัวอย่าง และวิเคราะห์ผล เช่นเดียวกับการทดลองข้อ 2.2.2.1

ตารางที่ 2.2 อัตราส่วนของวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา (%w/w) ต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรม

สูตรอาหาร	กรวยกระดาษ ร้อยละของน้ำหนักแห้ง	ขี้เลื่อยไม้ยางพารา ร้อยละของน้ำหนักแห้ง
1	0	100
2	25	75
3	50	50
4	75	25
5	100	0

2.2.2.3 การศึกษาผลของอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนของวัสดุเพาะ

เลือกชุดการทดลองที่เหมาะสมจากข้อ 2.2.2.2 ศึกษาอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 20 (คำนวณสูตรตามตารางภาคผนวก ค) (Zervakis *et al*., 2001) โดยใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน เนื่องจากยูเรียมีการละลายน้ำได้ดีที่สุด ทำให้เส้นใยสามารถดูดซึมในการนำไปใช้ในการเจริญได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งไนโตรเจนอื่น ๆ ส่วนแหล่งคาร์บอนจะได้จากวัสดุเพาะเซลลูโลส ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับการทดลองข้อ 2.2.2.1

2.2.2.4 การศึกษาผลของปริมาณรำข้าวที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด

การทดลองในขั้นตอนนี้เป็นการทดลองเพิ่มสารอาหารในการเพาะเห็ด โดยใช้รำข้าวเป็นแหล่งอาหารเสริมประเภทโปรตีน วิตามิน และธาตุอาหาร นำตัวอย่างบางส่วนวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนด้วยวิธีการของ Walkley-Black และไนโตรเจนโดยวิธี Photometric Method (Novozamsky *et al*., 1974) (ผลในตารางภาคผนวก ค) เลือกชุดการทดลองที่เหมาะสมจากข้อ 2.2.2.3 ศึกษาปริมาณรำข้าว 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0 (ชุดควบคุม) ร้อยละ 2 ร้อยละ 4 ร้อยละ 6 และร้อยละ 8 ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 และบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับการทดลองข้อ 2.2.2.1

2.2.2.5 การศึกษาผลของปริมาณเชื้อเริ่มต้น

เลือกชุดการทดลองที่เหมาะสมจากข้อ 2.2.2.4 เพื่อศึกษาปริมาณเชื้อเริ่มต้น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 5 (ชุดควบคุม) ร้อยละ 10 และร้อยละ 15 โดยมีการเพาะเลี้ยงเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ผล เช่นเดียวกับการทดลองข้อ 2.2.2.1

2.2.2.6 การศึกษาผลของภาชนะบรรจุต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด

เลือกชุดการทดลองที่เหมาะสมจากข้อ 2.2.2.5 เพื่อศึกษาภาชนะบรรจุวัสดุสำหรับการเพาะเลี้ยง 2 ชนิด คือ ถุง Polypropylene (PP) (ชุดควบคุม) และกล่องพลาสติก Polyvinyl chloride (PVC) โดยการเพาะเลี้ยงในกล่องพลาสติก PVC นั้น ฝากล่องจะมีการเจาะรูไว้เพื่อให้มีการระบายอากาศภายในวัสดุเพาะ (รูปที่ 2.3) และเมื่อเส้นใยเห็ดเจริญเต็มกล่องแล้ว ทำการเปิดฝากล่องออก จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงเก็บตัวอย่าง และวิเคราะห์ผล เช่นเดียวกับการทดลองข้อ 2.2.2.1

ลักษณะกล่องที่ใช้ในการทดลอง (ก) การเจาะรูที่ฝากล่องเพื่อระบายอากาศ (ข)

รูปที่ 2.3 การเตรียมภาชนะบรรจุในการเพาะเลี้ยง

2.2.3 การศึกษาปริมาณโปรตีน และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

นำตัวอย่างดอกเห็ดที่เพาะเลี้ยงได้บนวัสดุเพาะกรวยกระดาษและขี้เลื่อยไม้ยางพารา ที่เหมาะสมจากข้อ 2.2.2.6 มาวิเคราะห์ ดังต่อไปนี้

2.2.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Photometric method (Novozamsky *et al.,* 1974)

2.2.3.2 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้วิธีการสกัด ตามวิธีของ Elmastas และคณะ (2007) ดังนี้

นำตัวอย่างดอกเห็ดที่ได้อบแห้งที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส ปั่นละเอียดด้วยเครื่องปั่นผลไม้ นำตัวอย่างเห็ด 10 กรัม ผสมกับเมทานอล 100 มิลลิกรัม ตั้งทิ้งไว้บนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง โดยเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษ

กรอง Whatman เบอร์ 4 โดยทำซ้ำ 1 ครั้ง และนำสารสกัดที่กรองได้ทั้ง 2 ครั้ง ไประเหยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องระเหยด้วยระบบสุญญากาศ (rotator evaporator) เก็บตัวอย่างที่ได้ไว้ในขวดพลาสติก จากนั้นนำไปทำการแช่แข็งแห้งตัวอย่าง ด้วยเครื่องแช่แข็งแห้ง (freeze dryer) เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับนำไปทดสอบต่อไป

โดยนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนี้

(1) วิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical ตามวิธีของ Elmastas และคณะ (2007)

(2) วิธี 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical scavenging assay : (ABTS assay) ตามวิธีของ ไชยวัฒน์ ไชยสุต (2550)

(3) วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay) ตามวิธีของ Chirinang และคณะ (2009)

(4) วิธี Total phenolic content ตามวิธีของ Chirinang และคณะ (2009)

2.2.4 การวิเคราะห์ธาตุอาหารในวัสดุเพาะ

วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน (Novozamsky *et al.*, 1974) ฟอสฟอรัส (ศรีสม สุวรรณวงศ์, 2544) โพแทสเซียม (ICP-OES) (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553) และคาร์บอน (Walkley and Blank, 1934) ในวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่ผ่านการเพาะเห็ดนางรมแล้ว

2.2.5 วิเคราะห์ผลการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาหาค่าเฉลี่ย และประเมินผลเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติในแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบผลความแตกต่างรายคู่ในแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference) และวิเคราะห์ด้วยวิธี T-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

บทที่ 3

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

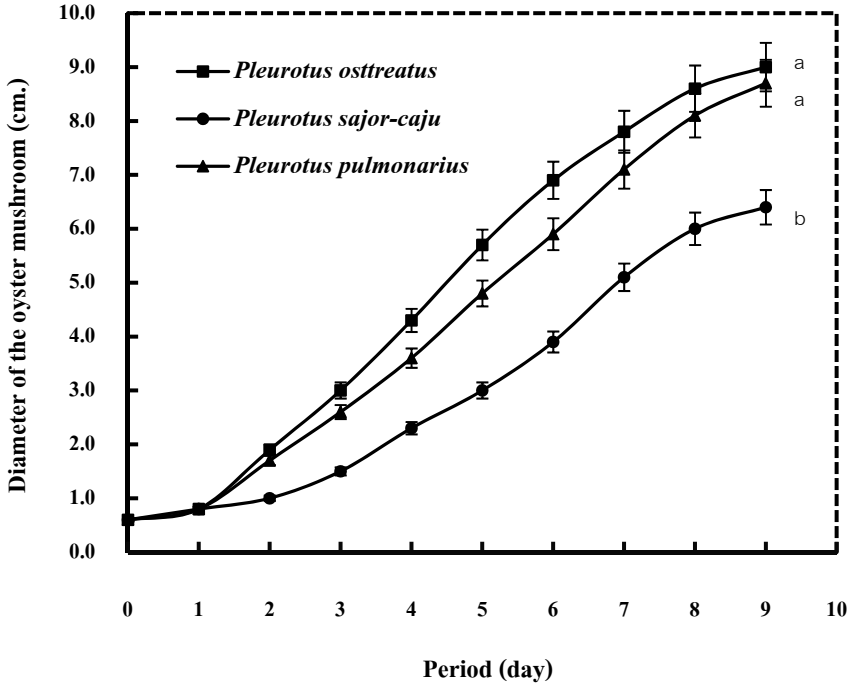
3.1 การคัดเลือกเชื้อเห็ดตระกูลนางรม

ในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อเห็ดตระกูลนางรมบริสุทธิ์ 1 ชนิด จากเชื้อเห็ดตระกูลนางรมทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ เห็ดนางรม (*Pleurotu osttreatus*) เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) และเห็ดภูฐาน (*Pleurotus pulmonarius*) จากตลาด ในเขตอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ที่มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการทดลองขั้นตอนต่อไป เนื่องจากเชื้อเห็ดจำนวน 3 ชนิด อยู่ในตระกูล *Pleurotus* ชนิดเดียวกัน จึงเลือกเชื้อเห็ดเพียง 1 ชนิด มาทำการทดลองต่อไป

3.1.1 ผลการทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมบนอาหารแข็งพีดีเอ

จากการทดลองทำการแยกเชื้อเห็ดด้วยวิธีการแยกเชื้อเห็ดบริสุทธิ์จากเนื้อเยื่อภายในก้านดอกเห็ดมาเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ตามวิธีการของ Kumari และคณะ (2008) เนื่องจากเป็นวิธีการที่ง่าย และสะดวก ทั้งนี้ยังได้เชื้อเห็ดที่มีลักษณะเหมือนสายพันธุ์เดิม ซึ่งเป็นวิธีการที่นิยมนำมาเพาะเลี้ยงให้เป็นเส้นใยบริสุทธิ์ ซึ่งผลการทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมจำนวน 3 ชนิด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยทำการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งพีดีเอเป็นเวลา 9 วัน จากรูปที่ 3.1 พบว่าความกว้างของโคโลนีเห็ดตระกูลนางรมทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเห็ดนางรมมีความกว้างของโคโลนีสูงกว่าเห็ดนางฟ้า และเห็ดภูฐาน โดยมีความกว้างของโคโลนี เท่ากับ 8.9 เซนติเมตร ในขณะที่เห็ดภูฐาน และเห็ดนางฟ้ามีความกว้างของโคโลนี เท่ากับ 8.7 และ 6.4 เซนติเมตร ตามลำดับ จากรูปที่ 3.2 เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของเส้นใยของเห็ดตระกูลนางรมทั้ง 3 ชนิด ที่เวลาการเพาะเลี้ยง 9 วัน จะเห็นได้ว่าเห็ดนางรม และเห็ดภูฐาน มีลักษณะเส้นใยเห็ดเจริญได้เต็มจานอาหารเพาะเชื้อ ซึ่งเห็ดนางรมมีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวฟู เส้นใยจับกันแน่นเป็นก้อน ส่วนเส้นใยเห็ดภูฐานมีลักษณะเส้นใยสีขาวบาง ๆ เส้นใยจับตัวกันแน่นไม่เป็นก้อน สำหรับเห็ดนางฟ้าเห็นได้ว่าที่เวลาการเพาะเลี้ยง 9 วัน เส้นใยเห็ดเจริญเติบโตได้ไม่เต็มจานอาหารเพาะเชื้อ มีความกว้างของโคโลนีต่ำที่สุด เท่ากับ 6.4 เซนติเมตร และเมื่อทดลองเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 3-4 วัน พบว่าเส้นใยเห็ดยังคงมีความกว้างของโคโลนีเท่าเดิม ทั้งนี้เนื่องจาก

สารอาหารในพีดีเอ เชื้อเห็ดนางฟ้ามีการเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว โดยลักษณะเส้นใยเห็ดนางฟ้ามีลักษณะสีขาวไม่ฟู เส้นใยจับกันแน่น



รูปที่ 3.1 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดตระกูลนางรมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 9 วัน

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD ณ.วันที่ 9 ของแผนการทดลอง

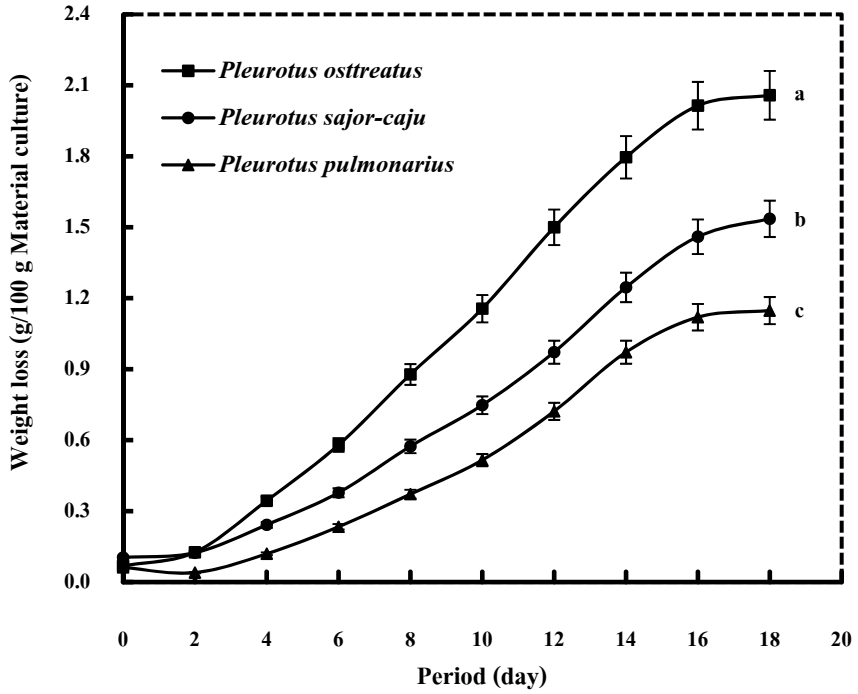
Pleurotus osttreatus	*Pleurotus sajor-caju*	*Pleurotus pulmonarius*

รูปที่ 3.2 ลักษณะการเจริญเติบโตของโคโลนีเห็ดตระกูลนางรมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ในสภาวะมืด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 9 วัน

3.1.2 การทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษและขี้เลื่อยไม้ยางพารา

จากการทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมจำนวน 3 ชนิด (รูปที่ 3.3) ที่เลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพาราในอัตราส่วน 50:50 (% w/w) ควบคุมความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5โดยทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน พบว่า อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยที่เห็ดนางรมให้ค่าอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดสูงสุด ให้ค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปเท่ากับ 2.058 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ (คิดจากค่าผันแปรของน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ) ในขณะที่เห็ดนางฟ้า และเห็ดภูฐานให้ค่าอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ด เท่ากับ 1.536 และ 1.148 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะตามลำดับ โดยที่น้ำหนักแห้งที่หายไปนั้นเกิดจาก เมื่อเส้นใยเห็ดนางรมเริ่มเจริญจะนำสารอาหารจากวัสดุเพาะไปใช้ เพื่อการเจริญเติบโต และสร้างเส้นใย ซึ่งในกระบวนการเจริญเติบโตจะมีการเผาผลาญสารอาหารจากวัสดุเพาะ ทำให้เชื้อสูญเสียพลังงาน ATP แล้วปลดปล่อยออกมาในรูปคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ ส่งผลให้น้ำหนักวัสดุเพาะลดลง และจะลดลงเรื่อย ๆ เมื่อเส้นใยเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น จากรูปที่ 3.4 จะเห็นได้ว่าเห็ดนางรมมีลักษณะเส้นใยที่หนาจับตัวกันแน่น และมีสีขาวฟู มากกว่าเห็ดนางฟ้า และเห็ดภูฐานที่มีลักษณะเส้นใยเกาะตัวกันเป็นเส้นใยสีขาวบาง ๆ

จากผลการทดลองพบว่าอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าที่เลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอมีความแตกต่างกันกับอัตราการเจริญที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา โดยเห็ดนางฟ้าที่เลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ มีอัตราการเจริญเติบโตน้อยกว่าเห็ดภูฐาน ในขณะที่อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา มีอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดดีกว่าเห็ดภูฐาน ทั้งนี้เนื่องจากวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราให้ปริมาณสารอาหารเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้า



รูปที่ 3.3 น้ำหนักแห้งที่หายไป เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดตระกูลนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 50:50 (% w/w) ในสภาวะมืด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD ณ.วันที่ 18 ของแผนการทดลอง

Pleurotus osttreatus	*Pleurotus sajor-caju*	*Pleurotus pulmonarius*

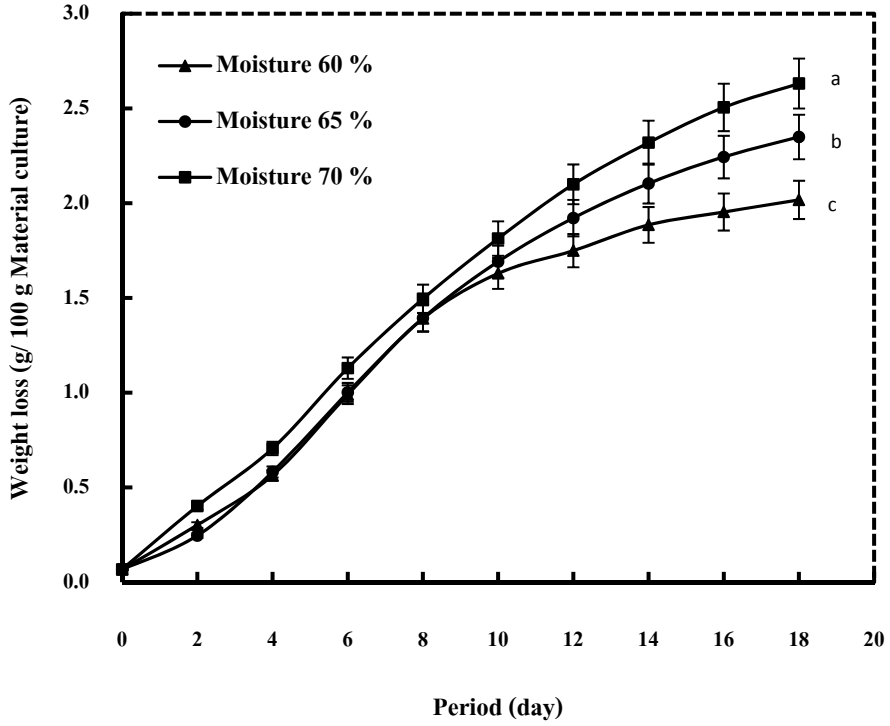
รูปที่ 3.4 ลักษณะการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 50:50 (% w/w) ในสภาวะมืด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน

จากผลการทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมทั้ง 3 ชนิด คือ เห็ดนางรมเห็ดนางฟ้า และเห็ดภูฐาน บนอาหารแข็งพีดีเอ และวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 50:50 (% w/w) เห็นได้ว่า เห็ดตระกูลนางรมทั้ง 3 ชนิด มีอัตราการเจริญแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยที่เห็ดนางรมมีอัตราการเจริญของเส้นใยสูงกว่าเห็ดนางฟ้าและเห็ดภูฐาน ทั้งการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ และกรวยกระดาษต่อวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพารา โดยเห็ดตระกูลนางรมแต่ละชนิดมีอัตราการเจริญของเส้นใยที่แตกต่างกัน เนื่องจากความสามารถในการใช้สารอาหารต่างกัน โดยเฉพาะการใช้เซลลูโลส และความสามารถในการย่อยสลายลิกนินในวัสดุเพาะ ซึ่งเห็ดนางรมสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายได้ทั้งเอนไซม์เซลลูเลส เอนไซม์เฮมิเซลลูเลส และเอนไซม์แลคเคส ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวจะย่อยสลายวัสดุเพาะที่อยู่ในรูปของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ให้อยู่ในรูปที่ง่ายต่อการนำไปใช้ เพื่อเป็นสารอาหารในการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด (Sanchez, 2009) นอกจากนี้เชื้อเห็ดนางรมมีลักษณะเส้นใยที่หนาและฟูมากว่าเชื้อเห็ดนางฟ้า และเห็ดภูฐาน เมื่อนำเส้นใยของวัสดุเพาะดังกล่าวไปเพาะเลี้ยงหรือขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนทั้งในอาหารแข็งพีดีเอ และวัสดุเพาะ ทำให้มีโอกาสที่เส้นใยจะเจริญเติบโตได้ดีกว่าเช่นกัน (Stamets, 2000) ดังนั้นเห็ดนางรมจึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป

3.2 ผลของสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวมวลเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะจาก กรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

3.2.1 ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม

จากผลการทดลองในข้อ 3.1 ได้เลือกเห็ดนางรมมาทำการทดลอง ดังนั้นในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวมวลจากเห็ดตระกูลนางรมนี้จะใช้เห็ดนางรมทำการทดลองตลอดจนสิ้นสุดการทดลอง จากผลการศึกษาระดับความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะ 3 ระดับ โดยทำการทดลองเพาะเลี้ยงบนวัสดุกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ที่อัตราส่วน 50:50 (% w/w) ควบคุมเชื้อเริ่มต้นที่ร้อยละ 5 บ่มในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน พบว่า ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะทั้ง 3 ระดับมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ให้อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมดีที่สุด โดยมีค่าน้ำหนักแห้งที่หายของวัสดุเพาะ เท่ากับ 2.632 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ส่วนความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 60 และ 65 ให้ค่าน้ำหนักแห้งที่หายของวัสดุเพาะไป เท่ากับ 2.018 และ 2.350 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ตามลำดับ (รูปที่ 3.5) ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cruz และคณะ (1999) ที่ศึกษาอิทธิพลของส่วนประกอบของวัสดุเพาะ คือ ฟางข้าวโอ๊ต (oat straw) รำข้าวโอ๊ต (oat bran) และกะลามะพร้าว (copra cake) ต่อการเจริญของเห็ดนางรม *Pleurotus ostreatus* ในสภาพอาหารแข็ง พบว่าเส้นใยเห็ดนางรมเส้นใยเจริญได้ดีที่ความชื้นร้อยละ 70



รูปที่ 3.5 น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (% w/w) ปรับความชื้นเริ่มต้นที่ระดับต่าง ๆ ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 เพาะเลี้ยงในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD ณ.วันที่ 18 ของแผนการทดลอง

จากผลการทดลอง พบว่าความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะที่ระดับต่าง ๆ มีผลทำให้ระยะเวลาในการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมแตกต่างกัน (ตารางที่ 3.1) โดยอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมที่ระดับความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 เส้นใยของเห็ดนางรมสามารถเจริญเร็ว และใช้ระยะเวลาในการสร้างดอกเห็ดน้อยกว่าที่ระดับความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 60 และ 65 คือ เส้นใยเห็ดนางรมจะเจริญได้เต็มถุงเมื่อทำการเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 15 วัน แต่เส้นใยเห็ดนางรมเจริญไม่หนาแน่นเป็นเนื้อเดียวกัน ลักษณะการเจริญของเส้นใยจะเป็นหย่อม ๆ จะเกิดตุ่มดอกเมื่อทำการเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 22 วัน สามารถนำไปทำการเปิดดอกในที่ที่มีแสงเข้าถึง เมื่อทำการ

เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 27 วัน และเก็บดอกเห็ดได้ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 32 วัน ดังแสดงในรูปที่ 3.6

ตารางที่ 3.1 ผลความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (% w/w) ต่อระยะเวลาการสร้างดอก ค่าเฉลี่ยของดอกเห็ดสด และค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา

Substrates	Moisture (%)	Spawn running (days)	Pin head formation (days)	Fruit body formation (days)	Average fresh weight of fruit body (g)	Biological efficiency (%)
PC+PRS (50:50)	60	16	24	29	10.29 ± 0.11^{c}	34.29 ± 0.36^{b}
PC+PRS (50:50)	65	15	22	27	11.49 ± 0.46^{b}	38.31 ± 1.56^{b}
PC+PRS (50:50)	70	15	22	27	13.78 ± 0.30^{a}	45.93 ± 1.01^{a}

หมายเหตุ - PC: Paper Cone; PRS: Para rubber sawdust

- ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD

Moisture 60 % **Moisture 65 %** **Moisture 70 %**

รูปที่ 3.6 ลักษณะดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (% w/w) ปรับความชื้นระดับต่างๆ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 วัน

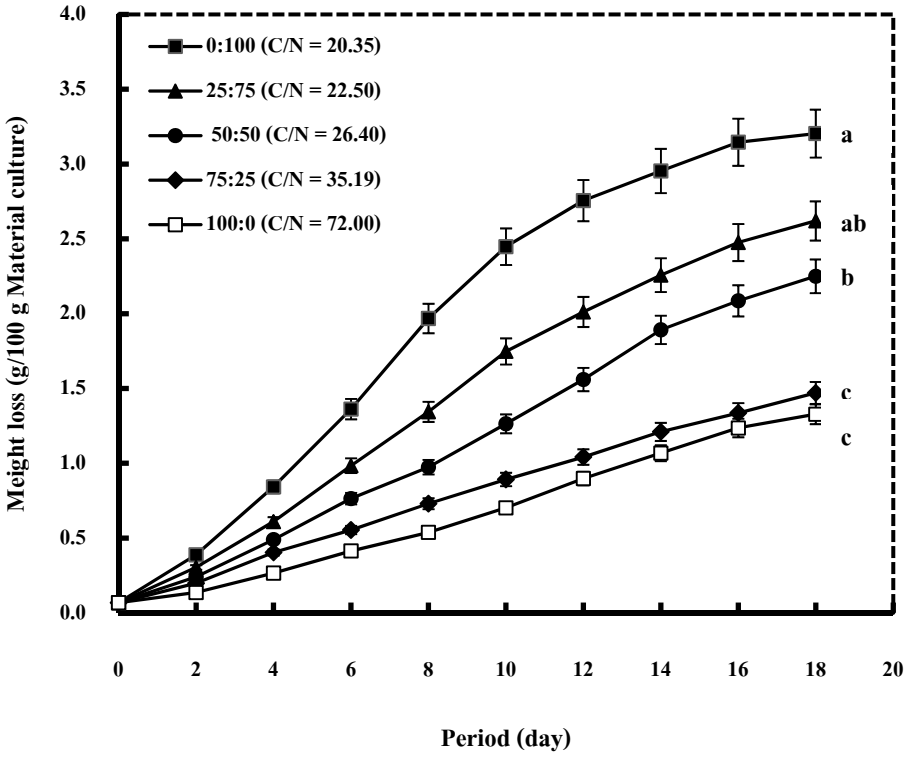
นอกจากนี้ที่ระดับความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ยังให้ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของดอกเห็ดสดดีที่สุด เท่ากับ 13.78 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ และให้ค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา (BE) ร้อยละ 45.93 ในขณะที่ระดับความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 60 และร้อยละ 65 ให้น้ำหนัก

เฉลี่ยของดอกเห็ดสด เท่ากับ 10.29 และ 11.49 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ตามลำดับ และให้ค่า BE ร้อยละ 34.29 และ 38.31 ตามลำดับ ซึ่งค่า BE บ่งบอกถึงความสามารถของเห็ดในการใช้สารอาหารในวัสดุเพาะ โดยวัดอัตราที่น้ำหนักดอกเห็ดต่อวัสดุเพาะหรือสารอาหารที่ถูกใช้ไป ค่ายิ่งมากแสดงว่าสารอาหารในวัสดุเพาะถูกนำไปใช้สร้างเนื้อเยื่อหรือดอกเห็ดได้ดี ซึ่งจะสอดคล้องกับน้ำหนักดอกเห็ด และจากผลการทดลองความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะ พบว่าที่ระดับความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ส่งผลให้น้ำหนักเฉลี่ยดอกเห็ดสดดีที่สุด ในขณะที่ระดับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 และ 65 ให้น้ำหนักดอกเห็ดสดน้อย ทั้งนี้เนื่องจากวัสดุเพาะที่มีความชื้นน้อยเกินไปจะส่งผลทำให้สารอาหารในวัสดุเพาะไม่ละลาย นอกจากนี้ยังทำให้มีการสูญเสียน้ำออกไปจากเส้นใยเห็ดส่งผลทำให้เส้นใย เห็ดถูกยับยั้งการเจริญเติบโต (วาริณี ธรรมชาติไพศาล, 2554) ซึ่งแสดงว่าความชื้นจำเป็นต่อการเจริญของเส้นใย การออกดอก และผลผลิตของเห็ด เนื่องจากจุลินทรีย์บนผิววัสดุเพาะใช้น้ำเป็นตัวกลางในการส่งผ่านอาหาร และก๊าซออกซิเจนจากวัสดุเพาะไปยังจุลินทรีย์ (Ruggieri *et al.,* 2008)

3.2.2 อัตราส่วนของวัสดุเพาะต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม

จากการศึกษาผลของอัตราส่วนของกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราจำนวน 5 อัตราส่วน ได้แก่ อัตราส่วนกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 0:100, 25:75, 50:50, 75:25 และ 100:0 (% w/w) เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม โดยควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 บ่มในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน พบว่าอัตราส่วนของวัสดุเพาะทั้ง 5 อัตราส่วน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยที่อัตราส่วนกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 0:100 (% w/w) ให้ค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปสูงสุด (คิดจากค่าผันแปรของน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ) เท่ากับ 3.204 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ในขณะที่อัตราส่วนของวัสดุเพาะ 25:75, 50:50, 75:25 และ 100:0 (% w/w) ให้ค่าน้ำหนักแห้งที่หายไป เท่ากับ 2.620, 2.250, 1.470 และ 1.328 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ตามลำดับ (รูปที่ 3.7) ซึ่งให้ผลแตกต่างกับค่าน้ำหนักของดอกเห็ด และค่า BE ดังแสดงในตารางที่ 3.2 พบว่า ที่อัตราส่วนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (% w/w) เชื้อมีอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดดีที่สุด คือ มีน้ำหนักเฉลี่ยของดอกเห็ดสด เท่ากับ 12.61 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ และ

ให้ค่า BE ร้อยละ 42.01 ในขณะที่อัตราส่วนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 0:100, 25:75, 75:25 และ 100:0 (% w/w) ให้น้ำหนักเฉลี่ยดอกเห็ดสด เท่ากับ 11.73, 11.70, 5.79 และ 1.95 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ตามลำดับ และให้ค่า BE ร้อยละ 39.11, 39.00, 19.31 และ 6.49 ตามลำดับ



รูปที่ 3.7น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ปรับตามอัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 เพาะเลี้ยงในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD ณ.วันที่ 18 ของแผนการทดลอง

ตารางที่ 3.2 ผลอัตราส่วนของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา (% w/w) ต่อระยะเวลาการสร้างดอก ค่าเฉลี่ยของดอกเห็ดสด และค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา

Substrates	C/N ratio	Spawn running (days)	Pin head formation (days)	Fruit body formation (days)	Average fresh weight of fruit body (g)	Biological efficiency (%)
PC+ PRS (0:100)	20.35	15	21	25	11.73 ± 0.58^{a}	39.11 ± 3.86^{a}
PC+ PRS (25:75)	22.50	15	21	25	11.70 ± 0.22^{a}	39.00 ± 1.49^{a}
PC+ PRS (50:50)	26.40	15	21	25	12.61 ± 0.72^{a}	42.01 ± 4.79^{a}
PC+ PRS (75:25)	35.19	17	24	29	5.79 ± 0.55^{b}	19.31 ± 3.67^{b}
PC+ PRS (100:0)	72.00	18	26	31	1.95 ± 0.40^{c}	6.49 ± 2.67^{e}

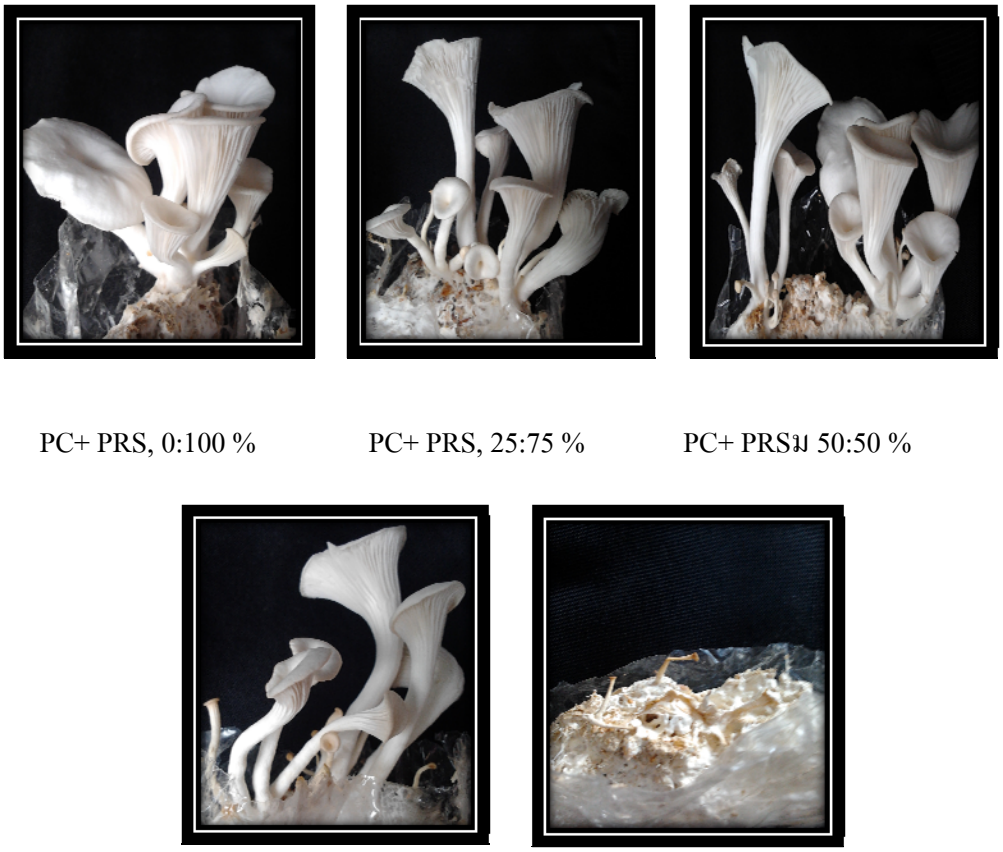
หมายเหตุ: - PC: Paper Cone; PRS: Para rubber sawdust.

- ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD

จากการทดลองเห็นได้ว่าอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมที่เจริญดี คือ อัตราส่วนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา้อยละ 0:100 (% w/w) เนื่องจากอัตราวัสดุเพาะส่วนอื่น ๆ มีการผสมกรวยกระดาษ ทำให้ค่าคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) เพิ่มขึ้น เนื่องจากกรวยกระดาษมีปริมาณคาร์บอนมากกว่าขี้เลื่อยไม้ยางพารา แต่ในทางกลับกันที่อัตราส่วนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (% w/w) ให้ค่าน้ำหนักดอกเห็ดสด และค่า BE สูงที่สุด (ตารางที่ 3.2) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับน้ำหนักดอกเห็ดสด และค่า BE ที่อัตราส่วนกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 0:100 (% w/w)

ลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม เห็นได้ว่าเส้นใยเห็ดเจริญเต็มวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน บ่อพักต่อเพื่อให้เส้นใยเดินหนาแน่น และเกิดตุ่มดอกเมื่อเพาะเลี้ยง 21 วัน (สังเกตจากเส้นใยเป็นตุ่มดอกเล็ก ๆ) และเริ่มสร้างดอกเห็ดเมื่อเพาะเลี้ยง 25 วัน และเก็บดอกเห็ดได้ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 30 วัน ซึ่งลักษณะดอกเห็ดนางรมในแต่ละอัตราส่วนมีดอกสีขาวหรือสีเทา เกิดเป็นกลุ่ม มีหมวกดอกคล้ายหอยนางรม กลางหมวกดอกมีลักษณะเว้าเป็นแอ่งด้านล่างของ

หมวกดอกจะเชื่อมติดกับก้านดอกหรือเป็นเนื้อเดียวกัน ดอกมีขนาดปานกลางก้านดอกชูขึ้น ก้านดอกค่อนข้างสั้น ครีบดอกมีลักษณะเป็นแผ่นบาง ๆ (รูปที่ 3.8)



PC+ PRS, 0:100 % PC+ PRS, 25:75 % PC+ PRSม 50:50 %

PC+ PRS, 75:25 % PC+ PRS, 100:0 %

รูปที่ 3.8 ลักษณะดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ปรับอัตราส่วนระดับต่าง ๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

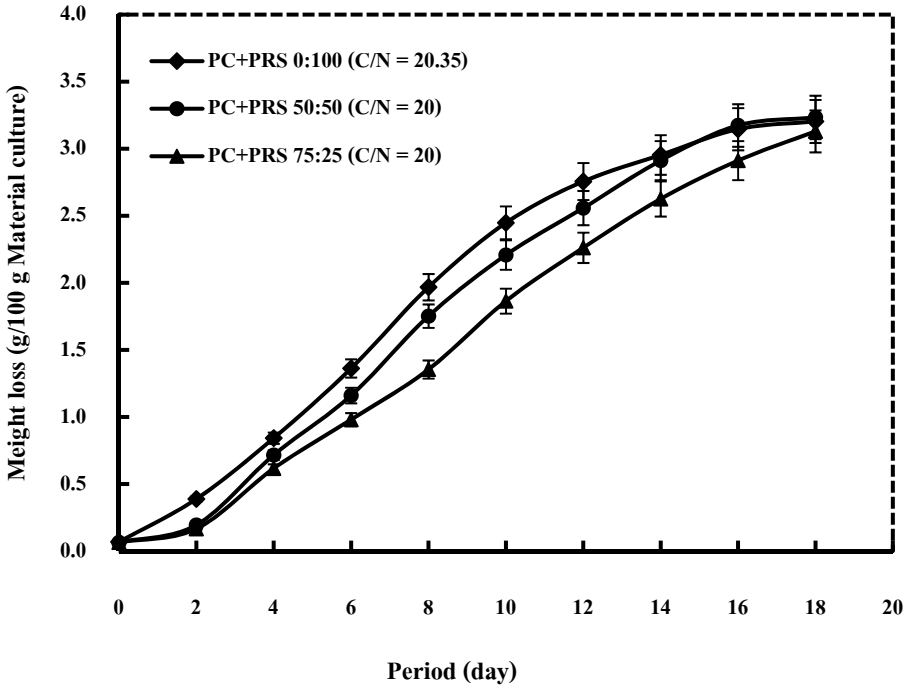
หมายเหตุ PC: Paper Cone; PRS: Para rubber sawdust

จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าในการเพาะเห็ด ปริมาณอัตราส่วน C/N เป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญของเส้นใย การออกดอก และผลผลิตของเห็ด ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์คาร์บอนจนกระทั่งได้โมเลกุลเล็กแล้วนำเข้าสู่เซลล์ เพื่อเป็นแหล่งพลังงาน

และไนโตรเจนสำหรับการสังเคราะห์โปรตีน (Sharma *et al.,* 1997) ซึ่งเห็ดนางรมเจริญได้ดีที่ระดับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนอยู่ที่ระหว่าง 22.4-23.2 (Cruz *et al.,* 1999) ดังนั้น กรวยกระดาษจึงมีศักยภาพที่จะใช้เป็นวัสดุเพาะทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพาราในการเพาะเห็ดได้ หากได้รับการปรับอัตราส่วน C/N ให้มีค่าน้อยลง และจากผลการทดลองอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมที่อัตราส่วนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 50:50 ให้น้ำหนักเฉลี่ยดอกเห็ดสดและค่า BE สูงที่สุด และเนื่องจากงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะใช้วัสดุจากกรวยกระดาษมาทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพาราในการเพาะเห็ดนางรม ในการทดลองต่อไปจึงทำการปรับอัตราส่วน C/N ที่อัตราส่วนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 สำหรับการทดลองต่อไป

3.2.3 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของวัสดุเพาะต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม

จากผลการทดลองในข้อ 3.2.1 (ตารางที่ 3.2) พบว่าอัตราส่วนของวัสดุเพาะที่ให้อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมดีนั้นมีอัตราส่วน C/N อยู่ที่ระหว่าง 20.35 - 26.40 โดยกรวยกระดาษมีศักยภาพที่จะใช้เป็นวัสดุเพาะทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพาราในการเพาะเห็ดได้ หากได้รับการปรับอัตราส่วน C/N ให้มีค่าน้อยลง จึงทำการปรับ C/N ของอัตราส่วนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 (% w/w) ที่อัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะ เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 บ่มในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน โดยใช้วัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 100 และไม่ปรับค่าอัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะเป็นชุดควบคุม จากผลการทดลองพบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 (% w/w) ที่อัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะ เท่ากับ 20 ให้ค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของวัสดุเพาะที่หายไป เท่ากับ 3.130 กรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \geq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 0:100 (ชุดควบคุม) และ 50:50 (% w/w) ที่อัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะ เท่ากับ 20 ให้ค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของวัสดุเพาะที่หายไป เท่ากับ 3.204 และ 3.234 กรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ (รูปที่ 3.9)



รูปที่ 3.9น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะเท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 บ่มในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน

หมายเหตุ: PC: Paper Cone; PRS: Para rubber sawdust

ลักษณะดอกเห็ดนางรมในแต่ละอัตราส่วนมีดอกสีขาวหรือสีเทา สังเกตเห็นว่าเมื่อปรับอัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะเท่ากับ 20 เห็ดนางรมจะออกดอกเพิ่มขึ้น หมวกดอกเห็ดอาจจะเล็ก ๆ แต่เห็นได้ว่ามีหลายดอก หมวกดอกจะคล้ายหอยนางรม กลางหมวกดอกมีลักษณะเว้าเป็นแอ่ง ด้านล่างของหมวกดอกจะเชื่อมติดกับก้านดอกหรือเป็นเนื้อเดียวกัน ดอกมีขนาดปานกลางก้านดอกชูขึ้น ก้านดอกค่อนข้างสั้น ครีบดอกมีลักษณะเป็นแผ่นบางๆ (รูปที่ 3.10) นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อทำการปรับค่า C/N ของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 50:50 (% w/w) เป็น 20 สามารถเก็บดอกเห็ดนางรมได้เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ให้ค่าน้ำหนักดอกเห็ดสดสูงสุดเท่ากับ 15.54 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ และค่า BE ร้อยละ 51.80 (ตารางที่ 3.3)

สำหรับวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 สามารถเก็บดอกเห็ดนางรมได้เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 32 วัน ให้ค่าน้ำหนักดอกเห็ดสด เท่ากับ 11.61 กรัมต่อ 100

กรัมวัสดุเพาะ และค่า BE ร้อยละ 38.69 เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ0:100 (% w/w) (ชุดควบคุม) สามารถเก็บดอกเห็ดได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 29 วัน (สังเกตดอกเห็ดในขณะที่บานเต็มที่ แต่ขอบหมวกยังไม่บานย้อย)ให้ค่าน้ำหนักดอกเห็ดสด เท่ากับ 10.86 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ และค่า BE เท่ากับร้อยละ 36.20 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 และปรับค่า C/N ของวัสดุเพาะ เท่ากับ 20 ทำให้เส้นใยเห็ดนางรมสามารถเจริญได้ไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ในการทดลองนี้จึงคัดเลือกอัตราส่วนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 ปรับค่า C/N ของวัสดุเพาะ เท่ากับ 20 ในการทดลองต่อไป

PC+PRS (0:100) C/N=20 PC+PRS (50:50) C/N=20 PC+PRS (75:25) C/N=20

รูปที่ 3.10 ลักษณะดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ของอัตราส่วนระดับต่าง ๆ ปรับ C/N ที่ 20 ด้วยยูเรีย ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ: PC: Paper Cone; PRS: Para rubber sawdust.

ตารางที่ 3.3 ผลการปรับค่า C/N ของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วนต่าง ๆ (% w/w) เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ต่อระยะเวลาการสร้างดอก ค่าเฉลี่ยของดอกเห็ดสด และค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา

Substrates	C/N ratio	Spawn running (days)	Pin head formation (days)	Fruit body formation (days)	Average fresh weight of fruit body (g)	Biological efficiency (%)
PC+PRS (0:100)	20.35	15	21	25	10.86 ± 1.16^{b}	36.20 ± 3.04^{b}
PC+PRS (50:50)	20.00	16	22	26	15.54 ± 1.10^{a}	51.80 ± 3.12^{a}
PC+PRS (75:25)	20.00	17	24	28	11.61 ± 0.80^{b}	38.69 ± 2.68^{b}

หมายเหตุ: - PC: Paper Cone; PRS: Para rubber sawdust.

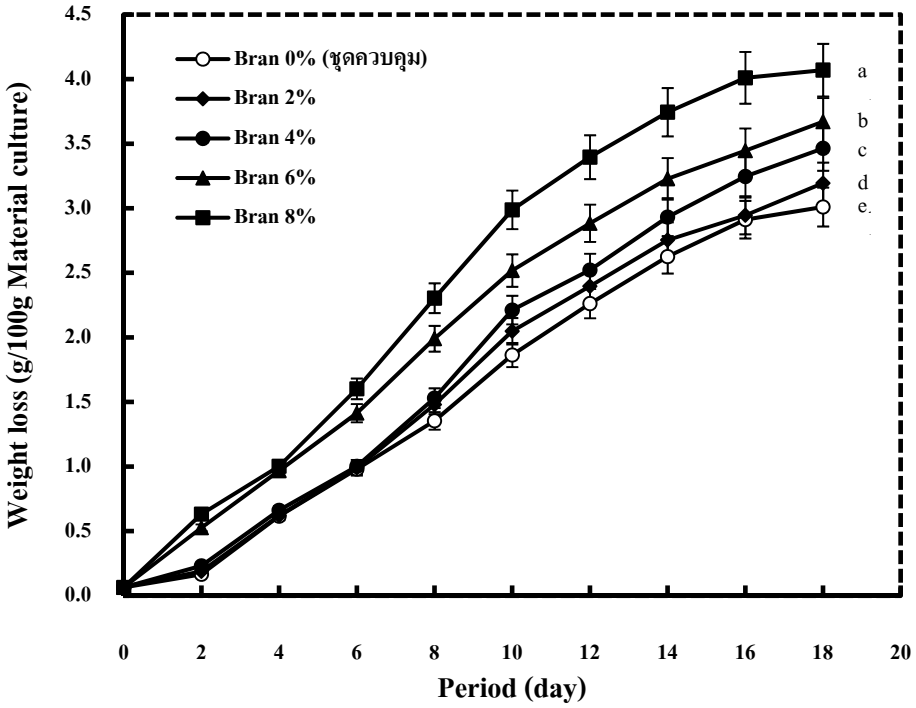
-ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD

ผลการศึกษาที่ได้ใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Cruz *et al.* (1999) ได้ศึกษาอิทธิพลของส่วนประกอบของวัสดุเพาะ คือ ฟางข้าวโอ๊ต (oat straw) รำข้าวโอ๊ต (oat bran) และกะลามะพร้าว (copra cake) ต่อการเจริญของเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus)* ในสภาพอาหารแข็ง พบว่า เห็ดนางรมเจริญได้ดีที่ระดับอัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะ อยู่ที่ระหว่าง 22.4 - 23.2 ดังนั้น เมื่อปรับอัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 (% w/w) พบว่าค่าเฉลี่ยของน้ำหนักดอกเห็ดสด และค่า BE ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (กรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 0:100) เห็นได้ว่าเมื่อปรับอัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 จากค่า C/N เท่ากับ 35.19 เป็นค่า C/N เท่ากับ 20 ทำให้เพิ่มอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม โดยคิดจากค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเห็ดสดที่เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า

3.2.4 ปริมาณรำข้าวต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม

การทดลองในข้อนี้ เป็นการทดลองเพิ่มสารอาหารในการเพาะเห็ดนางรม โดยใช้รำข้าวเป็นแหล่งอาหาร เนื่องจากรำข้าวนอกจากจะเป็นแหล่งไนโตรเจนแล้ว ยังมีองค์ประกอบของโปรตีน วิตามิน และธาตุอาหาร ซึ่งเป็นแหล่งของสารอาหารที่เห็ดต้องการเพื่อใช้ในการสร้างเส้นใย และสร้างดอกเห็ดอีกด้วย และการทดลองนี้ใช้ผลการศึกษาข้อ 3.2.3 ที่ทำการปรับอัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 (% w/w) จากค่า C/N เท่ากับ 35.19 เป็นค่า C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรียแล้ว จึงทำการศึกษาผลของปริมาณรำข้าว 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0 (ชุดควบคุม) ร้อยละ 2 ร้อยละ 4 ร้อยละ 6 และร้อยละ 8 โดยควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 เพาะเลี้ยงในสภาวะมืด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน พบว่า ปริมาณรำข้าวทั้ง 5 ระดับมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยที่ปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 ให้ค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปสูงกว่า ชุดควบคุม ถึงร้อยละ 6 เท่ากับ 4.070 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ในขณะที่ปริมาณรำข้าวร้อยละ 0 (ชุดควบคุม) ร้อยละ 2 ร้อยละ 4 และร้อยละ 6 ให้ค่าน้ำหนักแห้งที่หายไป เท่ากับ 3.010, 3.194, 3.464 และ 3.670 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ตามลำดับ (รูปที่ 3.11)

จากผลการทดลองวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.4 เห็นได้ว่าปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 ให้อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดเหมาะสมที่สุด คือ เห็ดนางรมใช้เวลาในการสร้างดอกเพียง 27 วัน ให้น้ำหนักเฉลี่ยของดอกเห็ดสด เท่ากับ 24.83 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ และให้ค่า BE ร้อยละ 82.78 ในขณะที่ปริมาณรำข้าวร้อยละ 0 (ชุดควบคุม) ร้อยละ 2 ร้อยละ 4 ร้อยละ 6 ให้น้ำหนักเฉลี่ยของดอกเห็ดสด เท่ากับ 11.89, 17.11, 21.51 และ 22.12 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ตามลำดับ และให้ค่า BE ร้อยละ 39.61, 57.02, 71.71 และ 73.73 ตามลำดับ ลักษณะของดอกเห็ดนางรมมีสีขาวนวลสะอาด เนื้อดอกแน่นละเอียด จากรูปที่ 3.12 เห็นได้ว่าปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 ดอกจะมีขนาดใหญ่ แต่หากเพิ่มปริมาณรำข้าวมากกว่าร้อยละ8 จะส่งผลทำให้ค่า C/N เปลี่ยนไป และอาจทำให้ผลผลิตต่ำ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะชนิด และปริมาณสารอาหารเสริมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และสร้างดอก อย่างไรก็ตามการเติมอาหารเสริมลงในวัสดุเพาะควรคำนึงถึงราคาต้นทุนในการผลิตตลอดจนรูปแบบที่ได้รับในรูปของผลผลิต และคุณค่าทางโภชนาการ



รูปที่ 3.11 น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) ปริมาณรำข้าวตามร้อยละต่างๆ ความชื้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะ เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 บ่มในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 18 วัน

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD ณ.วันที่ 18 ของแผนการทดลอง

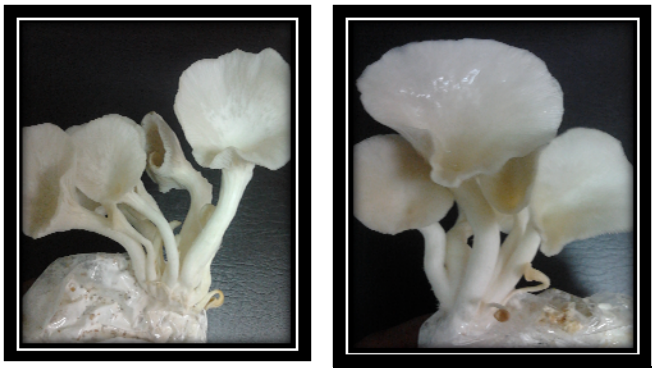
ตารางที่ 3.4 ผลปริมาณรำข้าวของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) (ทำการปรับ C/N = 20 ด้วยยูเรีย) ต่อระยะเวลาการสร้างดอก ค่าเฉลี่ยของดอกเห็ดสด และค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา

Substrates	Bran (%)	Spawn running (days)	Pin head formation (days)	Fruit body formation (days)	Average fresh weight of fruit body (g)	Biological efficiency (%)
PC+PRS (75:25)	0	17	24	28	11.89 ± 1.02^{e}	39.61 ± 3.39^{e}
PC+PRS (75:25)	2	17	24	28	17.11 ± 0.97^{d}	57.02 ± 3.23^{d}
PC+PRS (75:25)	4	16	23	27	21.51 ± 1.08^{bc}	71.71 ± 3.61^{bc}
PC+PRS (75:25)	6	16	23	27	22.12 ± 0.89^{b}	73.73 ± 2.96^{b}
PC+PRS (75:25)	8	16	23	27	24.83 ± 0.41^{a}	82.78 ± 1.38^{a}

หมายเหตุ: - PC: Paper Cone; PRS: Para rubber sawdust.

- ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD

Bran 0 % (ชุดควบคุม) **Bran 2 %** **Bran 4 %**

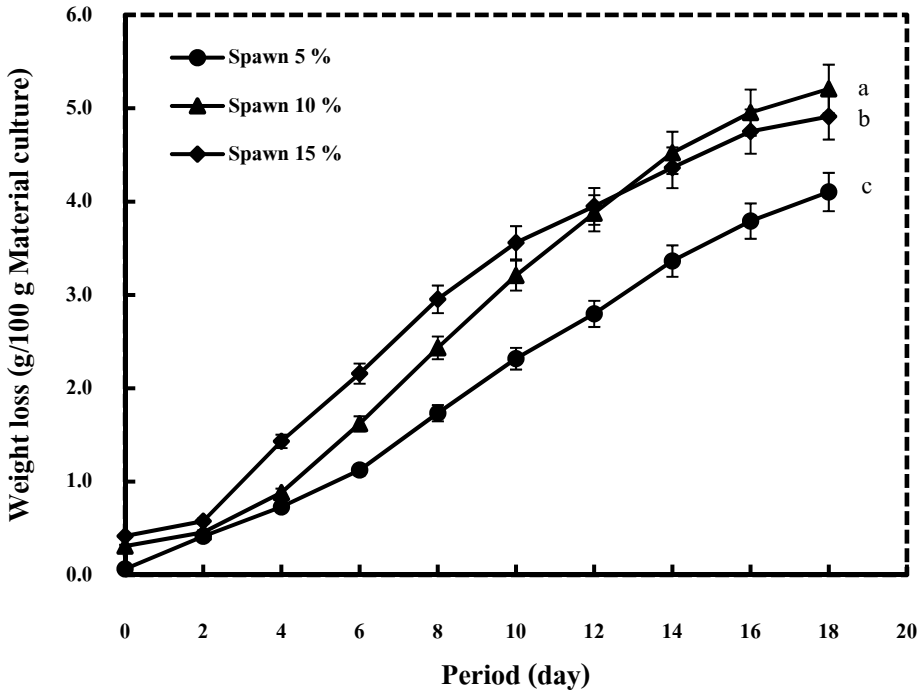


Bran 6 % **Bran 8 %**

รูปที่ 3.12 ผลของปริมาณรำข้าวอาหารเสริมที่ระดับต่าง ๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรม ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ปรับค่า C/N = 20 ควบคุมเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

3.2.5 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม

จากการเลือกสภาวะที่เหมาะสมจากผลการทดลองข้อ 3.2.4 ทำการทดลองปริมาณเชื้อเริ่มต้น โดยศึกษาปริมาณเชื้อ 3 ระดับ คือ ร้อยละ 5 (ชุดควบคุม) ร้อยละ 10 และร้อยละ 15 จากผลการทดลองพบว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นทั้ง 3 ระดับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) โดยที่เส้นใยเห็ดนางรมสามารถเจริญได้ดีที่สุดเมื่อใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ10 ซึ่งให้ค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเท่ากับ 5.208 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ในขณะที่เส้นใยเห็ดนางรมที่ใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 และร้อยละ 15 ให้ค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเท่ากับ 4.104 และ 4.912 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ตามลำดับ (รูปที่ 3.13)



รูปที่ 3.13 น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา (75:25) (% w/w) ปรับปริมาณเชื้อเริ่มต้นระดับต่าง ๆ ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD ณ.วันที่ 18 ของแผนการทดลอง

จากผลการทดลองเห็นได้ว่าอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมที่ทำการทดลองใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 พบว่าในช่วงระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน เส้นใยมีการเจริญได้ดี แต่การเจริญเติบโตเริ่มลดลงเมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มมากขึ้น ซึ่งในช่วงแรกเส้นใยเห็ดนางรมเจริญเติบโตได้ดี เนื่องจากมีปริมาณเชื้อมาก แต่เมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นการเจริญยิ่งลดลง เนื่องจากสารอาหารมีไม่เพียงพอต่อความต้องการของเชื้อที่มีปริมาณมาก ดังนั้นเมื่ออาหารหมดการเจริญเติบโตก็จะยิ่งลดลง (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2552)

จากผลการทดลองตารางที่ 3.5 เห็นได้ว่าอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมที่ทำการทดลองใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 มีอัตราการเจริญดีที่สุด คือ เส้นใยเจริญทั่ววัสดุเพาะ และเกิดตุ่มดอกเมื่อระยะการเพาะเลี้ยง 12 วัน และเริ่มสร้างดอกเห็ดเมื่อเพาะเลี้ยง 16 วัน เก็บดอกเห็ดได้เมื่อระยะเพาะเลี้ยง 20 วัน โดยมีน้ำหนักดอกเห็ดสด เท่ากับ 25.71 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ และให้ค่า BE เท่ากับร้อยละ 85.69 ในขณะที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 (ชุดควบคุม) และร้อยละ 15 ใช้ระยะเวลาในการสร้างดอก 26 และ 14 วัน ตามลำดับ และสามารถนำมาเก็บดอกได้อีก 3-4 วัน โดยมีน้ำหนักดอกเห็ดสด เท่ากับ 21.72 และ 24.53 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ และให้ค่า BE เท่ากับร้อยละ 72.39 และ 81.79 ตามลำดับ ลักษณะของดอกเห็ดนางรมมีสีขาวนวลสะอาด เนื้อดอกละเอียด จากรูปที่ 3.14 เห็นได้ว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ร้อยละ 10 ดอกจะมีขนาดใหญ่กว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ร้อยละ 15 เนื่องจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ร้อยละ 15 มีปริมาณเชื้อมากกว่าวัสดุเพาะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ทำให้ดอกเห็ดนางรมที่ได้อาจจะมีหลายดอก แต่ขนาดดอกเห็ดไม่ใหญ่พอเมื่อเทียบกับดอกเห็ดนางรมจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ร้อยละ 10 ในการทดลองนี้จึงเลือกปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ร้อยละ 10 เพื่อใช้ในการทดลองข้อต่อไป

ตารางที่ 3.5 ผลปริมาณเชื้อเริ่มต้นของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ต่อระยะเวลา การสร้างดอก ค่าเฉลี่ยของดอกเห็ดสด และค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา

Substrates	Spawn (%)	Spawn running (days)	Pin head formation (days)	Fruit body formation (days)	Average fresh weight of fruit body (g)	Biological efficiency (%)
PC+PRS (75:25)	5	15	22	26	21.72 ± 0.43^{c}	72.39 ± 1.45^{c}
PC+PRS (75:25)	10	6	12	16	25.71 ± 0.60^{a}	85.69 ± 2.00^{a}
PC+PRS (75:25)	15	5	10	14	24.53 ± 2.26^{b}	82.79 ± 1.50^{b}

หมายเหตุ: - PC: Paper Cone; PRS: Para rubber sawdust

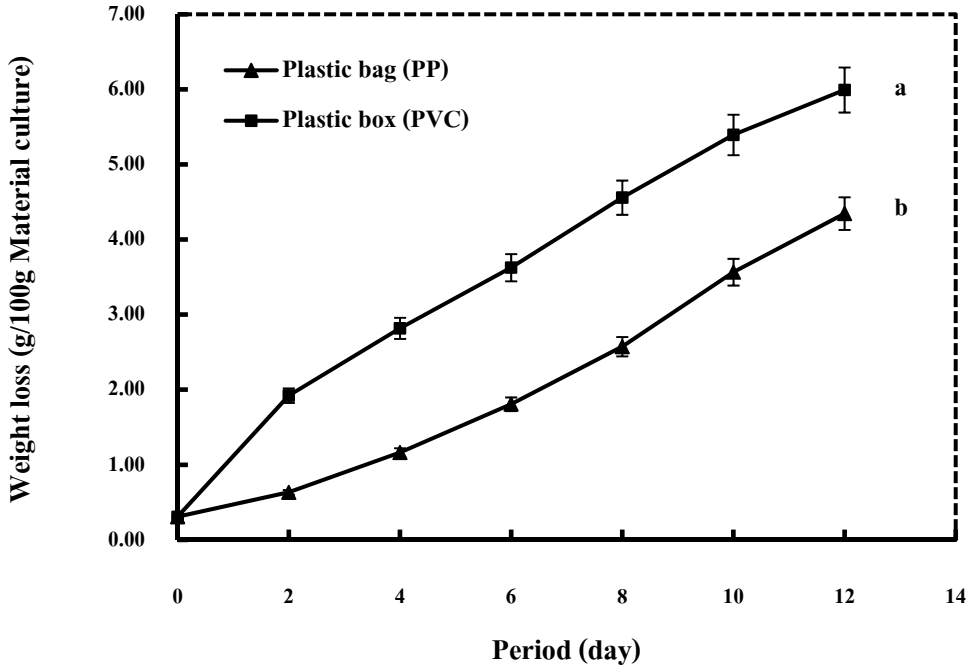
- ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD

Spawn 5% **Spawn 10%** **Spawn 15%**

รูปที่ 3.14 ผลของปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่าง ๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ปรับค่า C/N = 20 ปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

3.2.6 ภาชนะบรรจุต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม

จากการเลือกสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 3.2.5 ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเห็ดนางรม โดยทำการทดลองในภาชนะบรรจุ 2 ชนิด คือถุงพลาสติก Polyethylene (PP) (ชุดควบคุม) และกล่องพลาสติก Polyvinyl chloride (PVC) จากผลการทดลองพบว่า ภาชนะบรรจุทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) โดยที่เส้นใยเห็ดนางรมสามารถเจริญได้ดีเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในกล่องพลาสติก PVC ซึ่งให้ค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะที่เพาะเลี้ยงในกล่องพลาสติก PVC เท่ากับ 5.992 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ในขณะที่ถุงพลาสติก PP ให้ค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เท่ากับ 4.356 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ (รูปที่ 3.15)



รูปที่ 3.15 น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุงพลาสติก (PP) และกล่องพลาสติก (PVC) บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

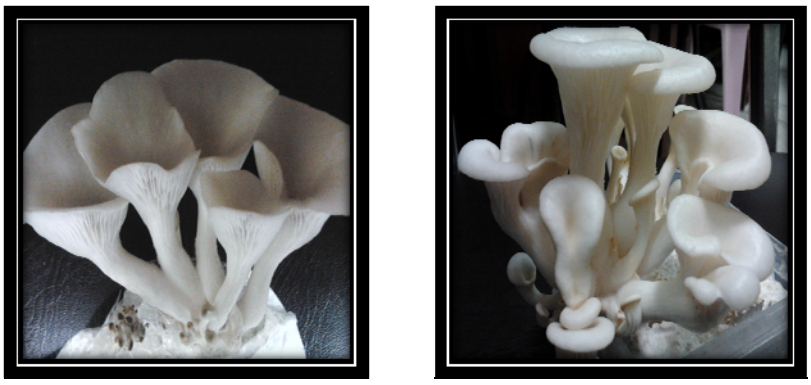
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธี t-test ณ.วันที่ 12 ของแผนการทดลอง

จากผลการทดลองตารางที่ 3.6 เห็นได้ว่าเส้นใยเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงในกล่องพลาสติก PVC สามารถเจริญเติบโตได้เร็วกว่า เมื่อเทียบกับที่เพาะเลี้ยงในถุงพลาสติก PP โดยสามารถเก็บดอกเห็ดได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 วัน ให้ค่าน้ำหนักดอกเห็ดสด เท่ากับ 26.59 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ และให้ค่า BE เท่ากับร้อยละ 88.64 ในขณะที่เห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงในถุงพลาสติก PP สามารถเก็บดอกเห็ดได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 20 วัน ให้ค่าน้ำหนักดอกเห็ดสด เท่ากับ 24.86 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ และให้ค่า BE เท่ากับร้อยละ 82.87 ซึ่งพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \geq 0.05$) โดยสังเกตเห็นว่า เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในกล่องพลาสติก PVC เส้นใยเจริญได้ดี ใช้ระยะเวลาสั้น มีปริมาณ และลักษณะดอกเห็ดที่ใหญ่เนื้อแน่น สมบูรณ์อย่างเห็นได้ชัดกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงในถุงพลาสติก PP (รูปที่ 3.16) ทั้งนี้เกี่ยวข้องกับพื้นที่ของกล่องต่อการสัมผัสอากาศ และการระบายอากาศภายในกล่อง ซึ่งการเพาะเลี้ยงในกล่องมีพื้นที่สัมผัสอากาศ และมีการระบายอากาศภายในกล่องได้ดีกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในถุงพลาสติก PP ทำให้เส้นใยเห็ดนางรมเจริญเติบโต นอกจากนี้รูปทรงของกล่องพลาสติก PVC ไม่ลึกมาก มีความกว้างกว่าถุงพลาสติก PP ทำให้มีพื้นที่ในการออกดอก การระบายอากาศดี เส้นใยเจริญเต็มกล่องใช้ระยะเวลาสั้น และสร้างดอกเห็ดได้เร็วขึ้น (สำเนาว์ ฤทธินุช, 2554) นอกจากนั้นการเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมในกล่องยังสามารถช่วยลดการใช้ถุงพลาสติก PP ได้ เนื่องจากกล่องที่ใช้ในการทดลองสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้หลาย ๆ ครั้ง หากเป็นถุงพลาสติกไม่สามารถได้ซ้ำได้ เนื่องจากจะต้องมีการกรีดปากถุงในขั้นตอนการเปิดดอกทำให้มีพลาสติกเหลือทิ้งจากกระบวนการเพาะเห็ด ดั้งนั้นการเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมในกล่อง PVC ถือเป็นทางเลือกใหม่ในการเพาะเห็ดนางรม

ตารางที่ 3.6 ผลภาชนะบรรจุในการเพาะเห็ดบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ต่อระยะเวลาการสร้างดอก ค่าเฉลี่ยของดอกเห็ดสด และค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา

Substrates	Container	Spawn running (days)	Pin head formation (days)	Fruit body formation (days)	Average fresh weight of fruit body (g)	Biological efficiency (%)
PC+PRS (75:25)	bag	6	12	16	24.86 ± 1.83[a]	82.87 ± 6.13[a]
PC+PRS (75:25)	box	5	9	12	26.59 ± 1.38[a]	88.64 ± 4.61[a]

หมายเหตุ: - PC: Paper Cone; PRS: Para rubber sawdust.



ถุงพลาสติก PP **กล่องพลาสติก PVC**

รูปที่ 3.16 ผลของภาชนะบรรจุในถุงพลาสติก PP และกล่องพลาสติก PVC ต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางรม ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ปรับค่า C/N = 20 ปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 16 วัน

3.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารโปรตีนในเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

ในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาปริมาณสารโปรตีนในดอกเห็ดนางรม โดยเลือกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากสภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากข้อ 3.2 จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารโปรตีนในเห็ดนางรม โดยทำการเปรียบเทียบปริมาณสารโปรตีนในเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราอัตราส่วน 75:25 (% w/w) กับเห็ดนางรมที่ได้จากตลาด พบว่า เห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราอัตราส่วน 75:25 (% w/w) สูงกว่าเห็ดนางรมที่ได้จากตลาด คือ มีปริมาณสารโปรตีนร้อยละ 35.75 และร้อยละ 20.06 ตามลำดับ (ตารางที่ 3.7) ทั้งนี้เนื่องจากเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา ในขั้นตอนการเพาะได้ควบคุมสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมกับการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ทำให้เห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา สามารถผลิตปริมาณโปรตีนได้ดีกว่าเห็ดนางรมที่ได้จากตลาด นอกจากนี้เห็ดจากตลาดไม่สามารถระบุระยะเวลาในการเก็บดอกเห็ดได้ ทำให้ปริมาณโปรตีนเกิดการเสื่อมสภาพตามระยะเวลา จากการวิจัยพบว่าเห็ดมีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 10.5-43.0 เมื่อเปรียบเทียบกับผักอื่น ๆ ทั้งนี้ยังมีกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น leucine, lysine, methionine, cystiene, phenylalanine เป็นต้น (Manzi และ Pizzoferatto, 2000)

ตารางที่ 3.7 ปริมาณโปรตีนในดอกเห็ดนางรม

Sample	Protein (% w/w)
Oyster mushroom (This research)	35.75
oyster mushroom (From the market)	20.06

3.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

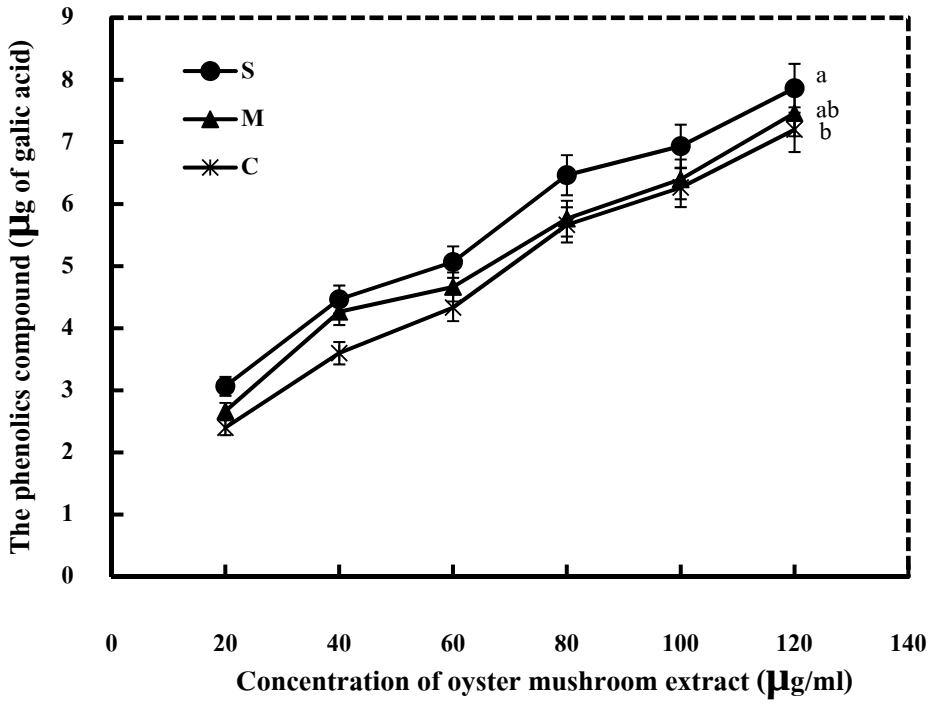
การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระของดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะอัตราส่วนกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 เติมปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 และใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 เปรียบเทียบกับดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยร้อยละ 0:100 (ชุดควบคุม) และดอกเห็ด

นางรมจากตลาด โดยทำการตรวจสอบการออกฤทธิ์ โดยวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP

3.4.1 ผลวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolics compound)

ในการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเห็ดนางรม โดยพิจารณาจากการเทียบกับกราฟมาตรฐาน คือ กรดแกลลิก (gallic acid) ได้สมการดังนี้ $Y = 0.001x + 0.006$, ($R^2 = 0.996$) โดย Y = กรดแกลลิก และ X = ค่าดูดกลืนแสง นำสารสกัดเห็ดนางรมมาละลายที่ความเข้มข้น 20 ถึง 120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดลอง พบว่าสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราอัตราส่วน 75:25 (% w/w) มีปริมาณฟีนอลิกอยู่ในช่วง 3.067- 7.865 ไมโครกรัม ซึ่งมากกว่าปริมาณฟีนอลิกจากสารสกัดเห็ดที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 100 และสารสกัดเห็ดนางรมจากตลาด ที่มีปริมาณฟีนอลิกอยู่ในช่วง 2.4 – 7.2 และ 2.6 – 7.4 ไมโครกรัม ตามลำดับ (รูปที่ 3.17) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) นั้นแสดงว่าสารสกัดเห็ดที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราอัตราส่วน 75:25 มีปริมาณฟีนอลิก เท่ากับ 65.55 mg GAE/g sample (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมของตัวอย่าง) โดยคิดที่ความเข้มข้น 120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมากว่าปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพาราอัตราส่วน 100 (ชุดควบคุม) และสารสกัดเห็ดนางรมจากตลาด เท่ากับ 60 และ 62.22 mg GAE/g sample ตามลำดับ จากผลการวิจัยของ Chirinang และ Intarapichet (2009) ศึกษากรดอะมิโนและสารต้านอนุมูลอิสระของเห็ดนางรม และเห็ดนางฟ้า พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของเห็ดนางรม เท่ากับ 30.93 GAEs/g น้ำหนักแห้งตัวอย่าง ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดเห็ดที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราอัตราส่วน 75:25 มีการปรับค่าคาร์บอนต่อไนโตรเจน และมีการเติมรำข้าวเป็นแหล่งอาหารเสริม ในขณะที่สารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพาราอัตราส่วน 100 ไม่มีมีการเติมรำข้าวเป็นแหล่งอาหารเสริม ซึ่งการเติมรำข้าวทำให้วัสดุเพาะมีปริมาณธาตุอาหารเพิ่มขึ้น วัสดุเพาะ และอาหารเสริมนั้นเป็นแหล่งคาร์บอน และไนโตรเจนหลักของเห็ด ทั้งนี้เป็นเพราะธาตุดังกล่าวมีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเส้นใย และดอกเห็ด นอกจากนี้แล้วยังช่วยส่งเสริมให้เห็ดมีคุณค่าทางโภชนาการและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มขึ้นด้วย (Wang *et al.*, 2000) จากการทดลองของ วรลักษณ์

พฤติภิญโญ (2533) พบว่า ผลผลิตของเห็ดเป๋าฮื้อเพิ่มขึ้นจาก 114 เป็น 233.67 กรัมต่อวัสดุเพาะ 1 กิโลกรัม และเห็ดนางรมเพิ่มจาก 148.33 เป็น 220.33 กรัมต่อวัสดุเพาะ 1 กิโลกรัม เมื่อใช้รำข้าวอัตราร้อยละ 5 เป็นอาหารเสริมผสมกับขี้เลื่อยไม้ยางพาราเปรียบเทียบกับการไม่ใช้อาหารเสริม



รูปที่ 3.17 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะต่าง ๆ กับความเข้มข้นของสารสกัด

หมายเหตุ: - ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD (ความเข้มข้นที่ 120 µg/ml)

S คือ เห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25

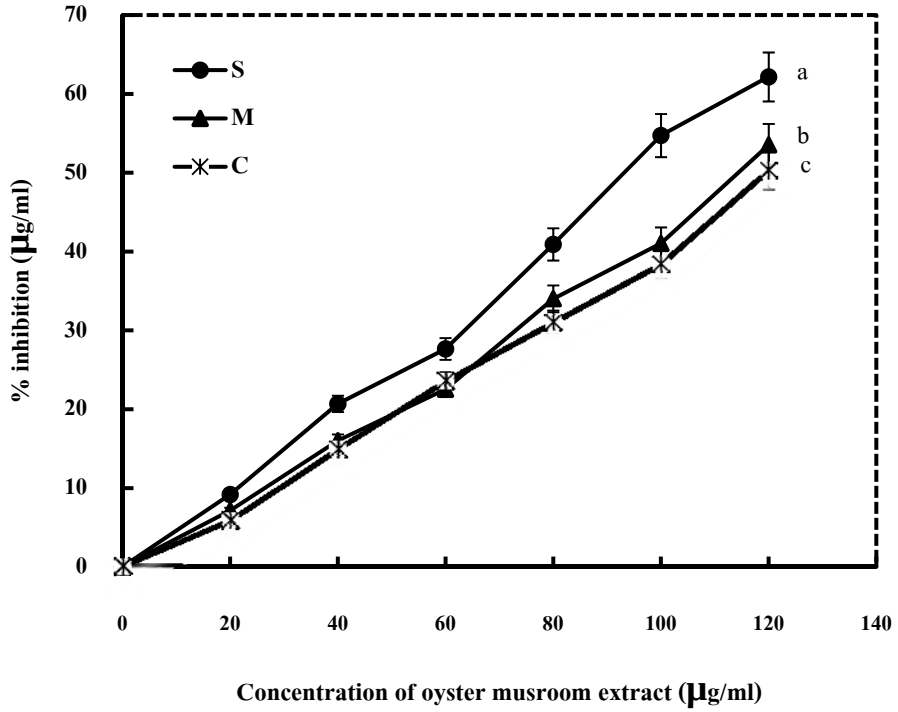
M คือ เห็ดนางรมที่ได้จากตลาด

C คือ เห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพารา (ชุดควบคุม)

3.4.2 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)

วิธีนี้เป็นการทดสอบความสามารถของสารสกัดในการยับยั้งอนุมูล DPPH· เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ซึ่งในการศึกษานี้ใช้ BHT เนื่องจากสารสกัดด้วยเมทานอลมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ทุกวิธี และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูง โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ผลการทดลองพบว่า สารสกัดเห็ดนางรมที่ความเข้มข้น 20 ถึง100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราอัตราส่วน 75:25 (% w/w) มีร้อยละการยับยั้งของสาร DPPH อยู่ในช่วงร้อยละ 9.229 ถึง 62.155 ซึ่งมากกว่าสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพารา (ชุดควบคุม) และสารสกัดเห็ดนางรมจากตลาด ที่มีร้อยละการยับยั้งของสาร DPPH อยู่ในช่วงร้อยละ 5.327 ถึง 50.342 และ 7.155 ถึง 53.522 ตามลำดับ นอกจากนี้ค่า IC_{50} ของร้อยละการยับยั้งสาร DPPH ของสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราอัตราส่วน 75:25 (%w/w) มีค่า 95.969 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร น้อยกว่าสารสกัดเห็ดที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพารา (ชุดควบคุม) และสารสกัดเห็ดนางรมจากตลาด ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 119.48 และ 116.073 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบในทางสถิติแล้วมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ซึ่งแสดงว่า สารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 (% w/w) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพารา (ชุดควบคุม) และสารสกัดเห็ดนางรมจากตลาด เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 85.102 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 3.18)

ผลการศึกษาที่ได้ใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Elmastas และคณะ (1999) ได้ศึกษาปัจจัยของสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของเห็ดกินได้ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร พบว่า เห็ดกินได้มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วงระหว่าง 68.7-97.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่เห็ดนางรมมีค่า IC_{50} เท่ากับ 81.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 3.18 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง DPPH ของสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะต่าง ๆ กับความเข้มข้นของสารสกัด

หมายเหตุ: - ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD (ความเข้มข้นที่ 120 µg/ml)

S คือ เห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25

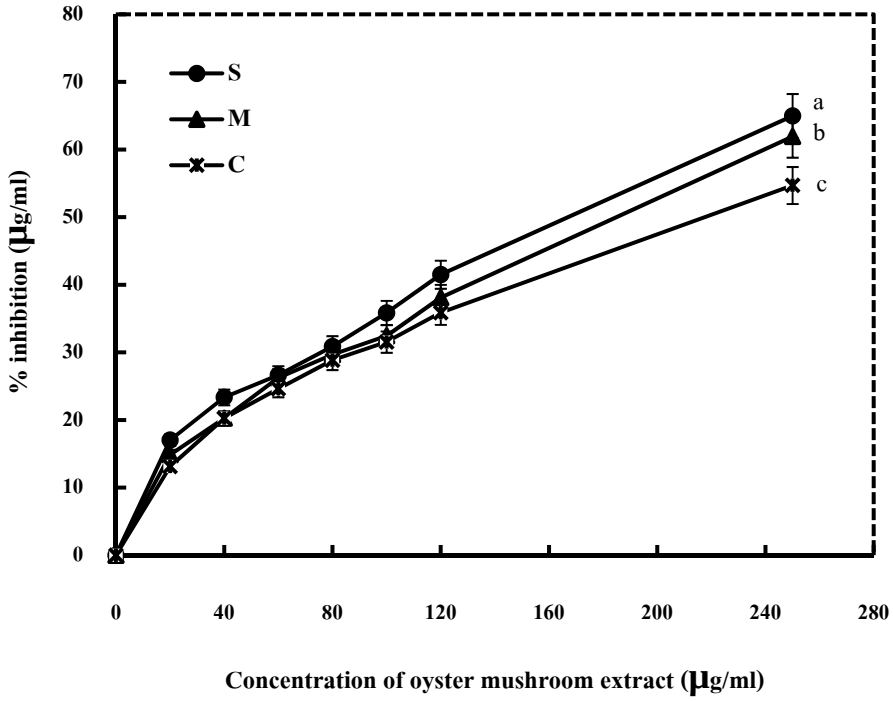
M คือ เห็ดนางรมที่ได้จากตลาด

C คือ เห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพารา (ชุดควบคุม)

3.4.3 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical scavenging assay : (ABTS assay)

วิธีนี้เป็นการทดสอบความสามารถของสารในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ BHT ค่าการดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 734 จากผลการวิเคราะห์การต้านออกซิเดชัน โดยพิจารณาการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ในรูปร้อยละการยับยั้งในสารสกัดเห็ดนางรมที่ความเข้มข้น 20 ถึง 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (% w/w) มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงสุด โดยมีค่าร้อยละการยับยั้งของสาร ABTS อยู่ในช่วงร้อยละ 16.982 ถึง 64.979 ซึ่งมากกว่าสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 100 และสารสกัด

เห็ดนางรมจากตลาด โดยมีค่าร้อยละการยับยั้งของสาร ABTS อยู่ในช่วงร้อยละ 14.916 ถึง 61.591 และ 13.538 ถึง 54.702 ตามลำดับ ส่วนการรายงานผลเป็นค่า IC_{50} หมายถึง ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระ ที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลงร้อยละ 50 โดยพิจารณาจากค่าที่มีค่าน้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่สูง พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) โดยที่สารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 (% w/w) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 172.505 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งน้อยกว่าสารสกัดเห็ดที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 100 และสารสกัดเห็ดนางรมจากตลาด มีค่าที่ IC_{50} เท่ากับ 186.951 และ 210.982 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เห็นได้ว่าสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 (% w/w) มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงสุด เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน BHT ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 59.141 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 3.19) จากงานวิจัยของ Chuenarom และ คณะ (2010) ได้วิเคราะห์การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ 2,2'-azinobis(3-ethlbenzothaiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) โดยศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากชะคราม (*Suaeda maritima*) โดยสกัดสารจากใบชะครามที่มีสีแดง สีเขียว และจากดอกสีเขียว ด้วยตัวทาละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอล และ ปิโตรเลียมอีเธอร์ พบว่า สารสกัดชะครามจากส่วนใบสีเขียวด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์ให้ค่า DPPH และ ABTS เท่ากับ 401.30 และ 174.96 mg/L Trolox equivalent/g DW ตามลำดับ



รูปที่ 3.19 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง ABTS ของสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะต่าง ๆ กับความเข้มข้นของสารสกัด

หมายเหตุ: - ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยวิธี LSD (ความเข้มข้นที่ 250 µg/ml)

S คือ เห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25

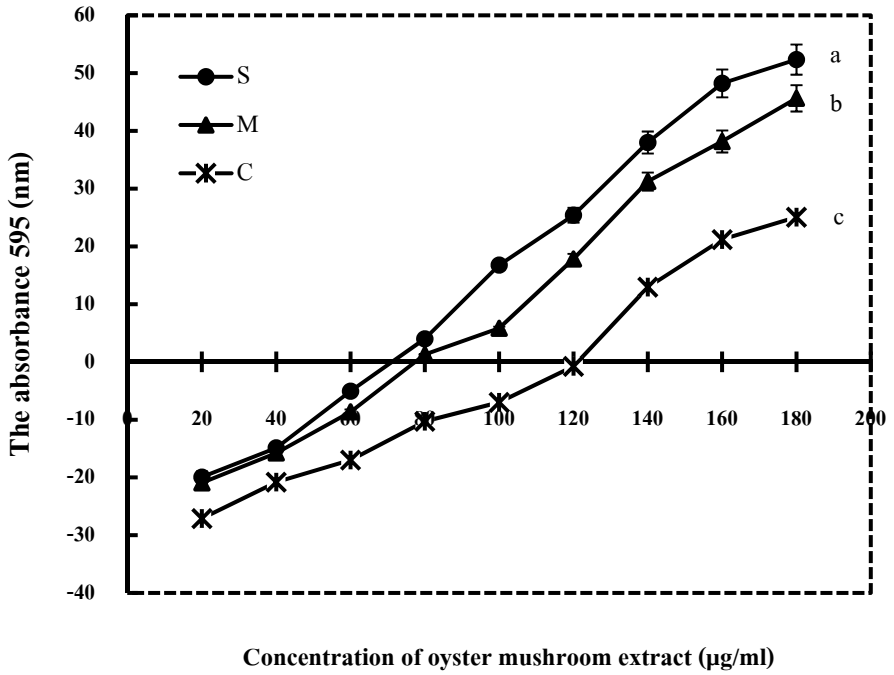
M คือ เห็ดนางรมที่ได้จากตลาด

C คือ เห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพารา (ชุดควบคุม)

3.4.4 Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay)

วิธี FRAP เป็นวิธีการวัดความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ของสารต้านออกซิเดชันที่อยู่ในตัวอย่าง โดยอาศัยหลักการที่ Ferric (Fe^{3+}) รับ e^- จากสารต้านออกซิเดชันแล้วกลายเป็น Ferrous (Fe^{2+}) จากนั้นวัดการเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้น โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ Fe^{3+} ซึ่ง Ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}- TPTZ) complex เป็นสารละลายไม่มีสี เมื่อถูกรีดิวซ์ด้วยสารต้านออกซิเดชัน เป็น Ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}- TPTZ) complex สารละลายจะเป็นสีม่วงน้ำเงิน นั่นคือถ้าตัวอย่างที่ทดสอบมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง จะเกิด Fe^{2+}- TPTZ มากทำให้ค่า absorbance ที่วัดการดูดกลืนแสง 595 นาโนเมตร มีค่ามากขึ้น โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานคือ

BHT ได้สมการ Y= 0.0017x+0.2114, (R^2=0.9968) จากผลการวิเคราะห์สารสกัดเห็ดนางรม เห็นได้ว่าสารสกัดจากเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะทั้ง 3 ชนิด ความเข้มข้น 20 – 180 นาโนเมตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่ใช้ โดยสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราอัตราส่วน 75:25 (%w/w) มีความสามารถในการรีดิวซ์ดีที่สุด คือที่ความเข้มข้น 180 มีความสามารถในการรีดิวซ์ เท่ากับ 52.353 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเห็ดที่ความสามารถในการรีดิวซ์ดีรองลงมาคือ สารสกัดเห็ดนางรมที่ได้จากตลาด เท่ากับ 45.647 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพารา (ชุดควบคุม) เป็นตัวรีดิวซ์น้อยที่สุด เท่ากับ 25.059 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบในทางสถิติแล้วมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้จากวิธี DPPH และ ABTS assay สารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 (%w/w) มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้มากกว่าสารสกัดเห็ดนางรมจากการเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพารา และสารสกัดเห็ดนางรมที่ได้จากตลาด (รูปที่ 3.20) ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการทดลองของ Yanga และ คณะ (2002) ศึกษาคุณสมบัติสารต้านอนุมูลอิสระของเห็ดในเชิงพาณิชย์ โดยทำการทดสอบด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power พบว่าสารสกัดเห็ดมีความสามารถในการรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามความเข้มข้นของสารสกัดเห็ด คือที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการรีดิวซ์ เท่ากับ 1.28 และที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการรีดิวซ์ อยู่ในช่วง 0.35-0.81



รูปที่ 3.20 ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า FRAP ของสารสกัดเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะต่าง ๆ กับความเข้มข้นของสาร

หมายเหตุ: - ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย รายคู่ โดยวิธี LSD (ความเข้มข้นที่ 180 µg/ml)

S คือ เห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25

M คือ เห็ดนางรมที่ได้จากตลาด

C คือ เห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพารา (ชุดควบคุม)

3.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และคาร์บอนในวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพาราจากการเพาะเห็ด

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารธาตุไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) และคาร์บอน (C) ในวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา จากการเพาะเห็ดนางรม โดยทำการวิเคราะห์วัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา ก่อนและหลังทำการเพาะเลี้ยงเห็ดนางรม (ตารางที่ 3.8) พบว่า วัสดุเพาะก่อนทำการเพาะเห็ดมีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และคาร์บอน เท่ากับ 0.83, 0.005 0.11 และ 34.17

ตามลำดับ ในขณะเดียวกันวัสดุเพาะหลังทำการเพาะเห็ด (วัสดุเหลือทิ้ง) มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และคาร์บอน เท่ากับ 0.63, 0.00 (ไม่พบ) 0.05 และ25.74 ตามลำดับ จากการวิเคราะห์เห็นได้ว่าปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และคาร์บอน ของวัสดุเพาะหลังทำการเพาะเห็ด (วัสดุเหลือทิ้ง) มีปริมาณที่น้อยลง เนื่องจากปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และคาร์บอน เป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเห็ด โดยธาตุอาหารแต่ละชนิดมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเห็ดแตกต่างกัน คือ ไนโตรเจน มีหน้าที่ส่งเสริมให้ลำต้น หรือก้านดอก เจริญเติบโตได้ดี เป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโน โปรตีน และฟอสฟอรัส มีหน้าที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโต การแพร่กระจายของราก ควบคุมการออกดอก เป็นองค์ประกอบของสารที่ทำหน้าที่ถ่ายทอดพลังงานในกระบวนการต่างๆ เช่น การสังเคราะห์แสง และการหายใจ ส่วนโพแทสเซียม เป็นธาตุที่ช่วยในการสังเคราะห์น้ำตาล แป้ง และโปรตีน ช่วยให้ผลเติบโตเร็ว มีคุณภาพที่ดี ส่วนแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและเป็นแหล่งพลังงาน

ตารางที่ 3.8 ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และคาร์บอน ในวัสดุเหลือทิ้งกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพาราก่อน และหลังการเพาะเห็ด

Nutrient	Before cultivation	After cultivation
Nitrogen	0.83	0.63
Phosphorus	0.005	-
Potassium	0.11	0.05
Carbon	34.17	25.74

หมายเหตุ: (-) หมายถึง ไม่พบปริมาณธาตุอาหาร

อย่างไรก็ตาม จากการเพาะเห็ดนางรมถึงแม้เห็ดนางรมจะใช้ปริมาณ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และคาร์บอน ในการเจริญเติบโตแล้ว ในวัสดุเพาะหลังการเพาะเห็ดก็ยังคงมีปริมาณ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และคาร์บอน หลงเหลืออยู่ ดังนั้นการนำวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดนางรมสามารถนำไปผลิตปุ๋ยอินทรีย์ได้ ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งในการจัดการวัสดุเหลือทิ้งที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเพาะเห็ดนางรม นอกจากนั้นวัสดุเหลือทิ้งจากการ

เพาะเห็ดนางรมยังสามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในวัสดุเพาะในการเพาะเลี้ยงเห็ดฟางได้ เนื่องจากเห็ดฟางเป็นเห็ดที่ไม่มีเอนไซม์ในการย่อยสลายสารอาหาร ดังนั้นวัสดุที่จะเพาะเห็ดฟางจะต้องเป็นวัสดุที่ผ่านการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ ก้อนเชื้อเห็ดเก่าจึงเป็นวัสดุเพาะทางเลือกใหม่ในการเพาะเลี้ยงเห็ดฟาง ถือเป็นวิธีการหนึ่งในการลดต้นทุนในการผลิต และยังเป็นการจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดโดยนำกลับมาใช้ใหม่ (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงการใช้ประโยชน์ของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสจากภาชนะบรรจุกระดาษทดแทนขี้เลื่อยในการเพาะเห็ดตระกูลนางรมที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ โดยศึกษาตั้งแต่ขั้นตอนการคัดแยกเห็ดตระกูลนางรมให้อยู่ในรูปของเชื้อบริสุทธิ์ การทดสอบการเจริญเติบโต การเพาะเลี้ยงบนวัสดุเศษเหลือทิ้งกรวยกระดาษและขี้เลื่อยไม้ยางพารา ตลอดจนวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน และสารต้านออกซิเดชันของดอกเห็ดนางรม

4.1 สรุปผลการทดลอง

4.1.1 การทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมบนอาหารแข็งพีดีเอ และบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

ในการทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการคัดเลือกเชื้อเห็ดตระกูลนางรมบริสุทธิ์ 1 ชนิด จากเชื้อเห็ดตระกูลนางรมทั้งหมด 3 ชนิด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ได้แก่ เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า และเห็ดภูฐาน ที่มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการทดลอง โดยทำการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งพีดีเอ (PDA) เป็นระยะเวลา 9 วัน พบว่า เห็ดนางรมมีอัตราการเจริญของเส้นใยสูงสุด เมื่อเทียบกับเห็ดนางฟ้า และเห็ดภูฐาน โดยมีความกว้างของโคโลนี เท่ากับ 8.9 เซนติเมตร นอกจากนี้เมื่อทำการทดสอบบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา ในอัตราส่วน 50:50 ควบคุมความชื้นร้อยละ 70โดยทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 วัน พบว่า เห็ดนางรมให้ค่าอัตราการเจริญของเส้นใยดีที่สุด เท่ากับ 2.058 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้จึงเลือกเห็ดนางรม เพื่อใช้ในการทดลอง

4.1.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวมวลจากเห็ดนางรมบนวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสจากกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

การศึกษาในขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเหลือทิ้งกรวยกระดาษและขี้เลื่อยไม้ยางพารา โดยศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ อัตราส่วนของวัสดุเพาะ ความชื้นเริ่มต้น อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) ปริมาณรำข้าวปริมาณเชื้อเริ่มต้น และภาชนะบรรจุ จากการศึกษาพบว่าเส้นใยเห็ดนางรมเจริญดีที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงในกล่อง Polyvinyl chloride (PVC) โดยบรรจุวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 75:25 ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย

และใช้ปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 เพื่อเป็นอาหารเสริม และใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 โดยมีค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเท่ากับ 5.992 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ โดยสามารถเก็บดอกเห็ดได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 วัน ให้ค่าน้ำหนักดอกเห็ดสด เท่ากับ 26.59 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ และให้ค่า BE ร้อยละ 213.10 ซึ่งมีลักษณะของดอกเห็ดที่ใหญ่ เนื้อแน่น สมบูรณ์

4.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารโปรตีน และสารต้านอนุมูลอิสระในเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

การวิเคราะห์ปริมาณสารโปรตีน และสารต้านออกซิเดชันในเห็ดนางรม โดยทำการเปรียบเทียบเห็ดนางรมที่เพาะบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 เห็ดนางรมที่ได้จากตลาด พบว่า เห็ดนางรมที่เพาะบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราร้อยละ 75:25 สูงกว่าเห็ดนางรมที่ได้จากตลาด คือ มีปริมาณสารโปรตีนร้อยละ 35.75 และ ร้อยละ 20.06 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีสารสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 65.55 mg GAE/g sample และสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ในช่วงร้อยละ 9.229 ถึง 62.155 และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 95.969 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่า ปริมาณของสารฟีนอลิก และร้อยละการยับยั้งสาร DPPH ABTS และ FRAP ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดของเห็ดนางรมอีกด้วย

4.2 ข้อเสนอแนะ

4.2.1 ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการเท่านั้น และทำการทดลองในวัสดุเพาะกรวยกระดาษ เพื่อเป็นตัวแทนของกระดาษมาทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพาราเท่านั้น ดังนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งต่อไป ควรมีการศึกษาต่อในระดับอุตสาหกรรม และศึกษาต่อในวัสดุเหลือทิ้งจากกระดาษอื่น ๆ

4.2.2 การศึกษาการใช้กรวยกระดาษ สามารถใช้เป็นตัวแทนกลุ่มกระดาษอื่น ๆ ได้

4.2.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระควรทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีการอื่นเพิ่มเติม เช่น ORAC assay เป็นต้น เพราะในสารสกัดในแต่ละตัวอย่างอาจจะมีสารต้านอนุมูลอิสระต่างกัน

4.2.3 ในงานวิจัยครั้งนี้เป็นงานวิจัยเกี่ยวกับการจัดการวัสดุเหลือทิ้งโดยนำกลับมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงเห็ดนางรม ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้ง โดยอาศัยเชื้อเห็ดนางรม ให้อยู่ในสภาพที่ย่อยสลายง่ายเท่านั้น แต่ไม่ได้เป็นการจัดการวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าว

ให้หมดไป ดังนั้นควรมีการศึกษาต่อเกี่ยวกับการจัดการวัสดุเหลือทิ้งที่ผ่านการเพาะเห็ดนางรม เช่น การผลิตปุ๋ยหมัก นำกลับมาใช้เป็นวัสดุในการเพาะเลี้ยงเห็ดอื่น ๆ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

กนกอร พยัคฆพงษ์. 2552. อุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์กระดาษ. http://www.pantavanij.com/xcart/forum/showthread.php?t=51. (สืบค้นเมื่อวันที่ 20 ตุลาคม 2555).

กรมควบคุมมลพิษ. 2551. **คู่มือแนวทางการลดคัดแยก และใช้ประโยชน์ขยะมูลฝอย.** พิมพ์ครั้งที่ 1 บริษัท รุ่งศิลป์การพิมพ์ (1977) จำกัด.

กรมพัฒนาที่ดิน. 2553. **คู่มือการวิเคราะห์ดิน น้ำ และพืช ด้านสิ่งแวดล้อม.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน.

กรมวิชาการเกษตร. 2553. เห็ดฟางกองเตี้ย เกษตรออนไลน์. กรมวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. http://kasetonline. com (สืบค้นเมื่อวันที่ 23 ตุลาคม 2555).

เครือข่ายชุมชนเศรษฐกิจพอเพียง. 2554. ขี้เลื่อยไม้ยางพารา. http://www.porpeangnetwork.com/?page=product&action=view&pid=7. (สืบค้นเมื่อวันที่ 22 ตุลาคม 2555).

จารุวรรณ สนมวัฒนะวงค์. 2548. เอนไซม์ย่อยสลายสารประกอบลิกโนเซลลูโลสในเห็ดนางรม, *Pleurotus ostreatus* 10. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จินตนา ผลจันทร์, กัลยา ทะนงค์ และ ศศิธร บุญยืน. 2553. โครงการเพาะเห็ดขอนขาวเพื่อจำหน่าย. หลักสูตรประกาศนียบัตรวิชาชีพ สาขาวิชาการบัญชี, วิทยาลัยการอาชีพเลิงนกทา.

ชมรมเกษตรปลอดสารพิษ. 2552. สารพันเห็ด กลุ่ม : เห็ดนางรม นางฟ้า. http://www.thaigreenagro.com/aticle.aspx?id=6550. (สืบค้นเมื่อวันที่ 29 ตุลาคม 2555).

ไชยวัฒน์ ไชยสุต. 2550. น้ำหมักชีวภาพ เทคโนโลยีเพื่อความพอเพียง สู่นวัตกรรมเพื่อสุขภาพชุมชนที่ยั่งยืน. ศูนย์บริหารจัดการเทคโนโลยี สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งชาติ. ปทุมธานี.

ทรงกลด จารุสมบัติ. 2552. แผ่นใยซีเมนต์จากไม้ยางพารา. **ข่าวสารเกษตรศาสตร์** 54 (2): 66-73.

นงนภัส ดวงดี. 2551. สารต้านอนุมูลอิสระ. บทความกรมวิทยาศาสตร์บริการ. http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/cp_2_2551_Antioxidant.pdf. (สืบค้นเมื่อวันที่ 29 ตุลาคม 2555).

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2552. **จุลชีววิทยาทั่วไป.** พิมพ์ครั้งที่7. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ประเสริฐ วุฒิคัมภีร์. 2539. การศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และผลผลิตของเห็ดนางฟ้าเห็ด นางฟ้าภูฏานและเห็ดนางรมสีเทา.บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2552. **เทคโนโลยีการเพาะเห็ด.** http://www.vcharkarn.com/vblog/38061/2. (สืบค้นเมื่อวันที่ 30 ธันวาคม 2555).

พวงผกา แก้วกรม, สุรีย์พร ธรรมิกพงษ์ และ สุรางค์รัตน์ พันแสง. 2552. ผลกระทบจากภาวะโลกร้อนต่อพืชเศรษฐกิจในจังหวัดเพรชบูรณ์. รายงานวิจัยฉบัยสมบูรณ์, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

ยุทธศักดิ์ สุบการี. 2551. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์มโดยใช้วิธี Simultaneous Saccharificationand Fermentation (SSF). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วรลักษณ์ พฤติภิญโญ. 2533. การใช้มันสำปะหลังเส้นเป็นอาหารเสริมสำหรับเพาะเห็ดนางรม นางฟ้า และเป๋าฮื้อ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วสันณ์ เพชรรัตน์.2536. **การผลิตเห็ด.** พิมพ์ครั้งที่ 1. สงขลา : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วาริณี ธรรมชาติไพศาล. 2554**. คู่มือการเพาะเห็ด**.พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศรีสม สุวรรณวงศ์. 2544. **การวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิริมิรินทร์ มีสุข. 2552. การผลิตแก๊สไฮโดรเจนจากขี้เลื่อยโดยแกสิฟิเคชันด้วยไอน้ำแบบมีตัวเร่งปฏิกิริยา. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สกนธ์ พิทักษ์วินัย. 2551. คุณสมบัติทางกายภาพของอิฐที่ทำด้วยดินเหนียวผสมขี้เลื่อยโดยกระบวนการโคลนแข็ง. วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิศวกรรมโยธา. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สมบัติ ห.เพียรเจริญ. 2555. เห็ดไทย ... กับการก้าวสู่ประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน.การสัมมนาวิชาการสมาคมนักวิจัย และเพาะเห็ดหอมแห่งประเทศไทย.วันศุกร์ที่ 11 พฤษภาคม 2555 ณ โรงแรมเอเชียแอร์พอร์ต จังหวัดปทุมธานี.

สำเนาว์ ฤทธินุช. 2554. **คู่มือพึ่งตนเอง สูตรเด็ดการเพาะเห็ดฟางในตะกร้า.** พิมพ์ครั้งที่ 6. กรุงเทพฯ: รุ่งเรืองสาส์นการพิมพ์.

สุวรรณี บัณฑิศักดิ์. 2555. สุราษฎร์นำร่อง'ตลาดกลาง'ไม้ยางพารา. นำร่องสุราษฎร์เปิด 'ตลาดกลาง' ไม้ยางพารา เพิ่มทางเลือกด้าน "ราคา" เกษตรกรชาวสวนยาง : รายงานเกษตร. คมชัดลึก ออนไลน์. 5 ธันวาคม 2555.

อรัญ ทะแพงพันธ์, ธฤตพล บุญชูศรี, สหภาพ บุตรพรม และอดิศักดิ์ วรสารศิริ. 2553. การทำก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าจากขี้เลื่อยผสมใบยางพารา. **บทความวิชาการยุววิจัยยางพารา สกว.** 8(8)

อรุณี ศุภสินสาธิต. 2555. พลังงานจากธรรมชาติที่มีลิกโนเซลลูโลสสูง. **วารสารสิ่งแวดล้อม.** 16(12).

อิสรี รอดทัศนา. 2550. การปรับสภาพกากตะกอนเยื่อกระดาษเหลือทิ้งขั้นต้นเพื่อผลิตเอทานอลจากกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์และการหมัก.บัณฑิตวิทยาลัย. เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต,สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุราภรณ์ สอาดสุด. 2551. โครงการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยี “การผลิตหัวเชื้อและก้อนเชื้อเห็ดเศรษฐกิจ ” การเพาะเห็ดสกุลนางรม. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Akyon, Y. 2002. Effect of antioxidants on the immune response of *Helicobacter pylori*. **Clinical Microbiology and Infection.** 8: 438-441.

Ames, B. N., Shigenaga, M. K. and Hagen, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.** 90: 7915-7922.

A.O.A.C. 1990. Method of analysis. Association of Offcial Analytiacl Chemists. Washington, DC.

Badal, C. S. 2005. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol. **Process Biochemistry**. 40: 3693–3700.

Baysal, E., Peker, H., Yalinkilic, K.Y. and Temiz, A. 2003. Cultivation of oyster mushroom on waste paper with someadded supplementary materials. **Bioresource Technology**. 89 :95–97.

Bhat, M. K. and Bhat, S. 1997. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. **Biotechnology Advances.** 15(3-4): 583-620.

Bidlack, W.R., Omaye, S.T., Meskin, M.S. and Jahner, D. 1998. *Phytochemical.* Pennsylvania: Technomic Publishing Company.

Bobek, P., Ozdin, L. and Kuniak, L. 1997. Effect of oyster mushroom and isolated β-glucan on lipid peroxidation and on the activities of antioxidative enzymes in rats fed the cholesterol diet. **Journal of Nutritional Biochemistry.** 8(8):469-471.

Boyle, C. D. and Kropp, B. R. 1992. Development and comparison of methods for measuring growth of filamentous fungi on wood. **Canadian Journal of Microbiology**. 38(10): 1053-1060.

Buswell, J. A., Cai, Y. J and Chang, S. T. 1996. Lignolytic enzyme production and secretion in edible mushroom fungi. **Mushroom Biology and Mushroom Product**. 113-122.

Carbonero, E. R., Gracher, A. H. P., Smiderle, F.R., Rosado, F.R., Sassaki, G.L., Gorin, P.A.J. and Iacomini, M. 2006. A β-glucan from the fruit bodies of edible mushrooms Pleurotus eryngii and *Pleurotus ostreatoroseus.* **Carbohydrate Polymers**. 66(2): 252–257.

Carlmark, A., Larsson, E., and Malmstrom, E. 2012. Grafting of cellulose by ring-opening polymerisation – A review. **European polymer Journal**. 48(10): 1646-1659.

Chang, S.T. 1989. Sexuality and strain improvement in edible mushroom. **Mushroom Newsletter for the Tropics**. 6(1): 2-6.

Chattopadhyay, K. and Chattopadhyay, B. D. 2008. Effect of nicotine on lipid profile, peroxidation & antioxidant enzymes in female rats with restricted dietary protein. **Journal of research and education in indian medicine**. 127(6): 571-576.

Chirinang, P. and Intarapichet, K. O. 2009. Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushroom, Pleurotus ostreatus and Pleurotus sajor-caju. **ScieneAsia**. 35: 326-331.

Chuenarom, V., Kerdchoechuen, O. and Laohakunjit, N. 2010. Antioxidant Capacity and Total Phenolics of Plant Extract from Annual Seablite (*Suaeda maritima*). **Journal of Agricultural Science**. 41:621-624.

Cooperband, L. R. 2000. Composting: Art and science of organic waste conversion to a valuable soil resource. The department of soil science, University of Wisconsin. **Laboratory Medicine.** 31:43-48.

Cruz, O. S., Castan, G.S., Hach, J. L., Rojas, M. G. and Torres , E. F. 1999. Effect of substrate composition on the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus*. An analysis by mixture and response surface methodologies. **Process Biochemistry**. 35:127–133.

Cunha, A.G. and Gandini, A. 2010. Turning polysaccharides into hydrophobic materials: a critical review. Part 2. Hemicelluloses, chitin/chitosan, starch, pectin and alginates. **Institute of Technology**. 15(17) 125-126.

Duncan, A. M. 2004. The role of nutrition in the prevention of breast cancer. **AACN Clinical**. 15(1): 119-135.

Elamastas, M., Isildak, O., Turkekul, I. and Temur, N. 2007. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. **Journal of Food Compossition and Analysis**. 20:337-345.

Eriksson, J .W. 2007. Metabolic stress in insulin's target cells leads to ROS accumulation – A hypothetical common pathway causing insulin resistance. **Minireview**. 3734–3742.

Hakimuddin, F., Paliyath, G. and Meckling, K. 2004. Selective cytotoxicity of a red grape wine flavonoid fraction against MCF-7 cells. **Breast Cancer Research and treatment**. 85: 65-79.

Halliwell, B. 2009. The wanderings of a free radical. **Free Radical Biology and Medicine** 46(5): 531-542.

Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J., and Arouma, O. I. 1995. The characterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology.** 33(7): 601-617.

Homma, H., Shinoyama, H., Nobuta, Y., Terashima, Y., Amachi, S., and Fujii, T. 1997. Lignin degrading activity of edible mushroom Strobilurus ohshimae thatforms fruiting bodies on buried sugi (Cryptomeria japonica) twigs**. Journal of Wood Science**. 53(1): 80-84.

Howard, R.L., Abotsi, E., Jansen van Rensburg, E.L. and Howard, S. 2003. Lignocellulose biotechnology: Issues of bioconversion and enzyme production. **African Journal of Biotechnology**. 2(12): 602-619.

Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche, M. J. and Stroeve, P. 2009. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. **Industrial and Engineering Chemistry Research**. 48: 3713–3729.

Kumari, M. A., Survase, S. A. and Singhal, R. S. 2008. Production of schizophyllan using Schizophyllum commune. **Bioresource Technology.** 99(5):1036–1043.

Machlin, L. J and Bendich, A. 1987. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. **The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology**. 1(6):441-445.

Mandeel, Q. A., Al-Laith, A. A. and Mohamed, S. A. 2005. Cultivation of oyster mushrooms (Pleurotus spp.) on various lignocellulosic wastes. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. 21(4): 601–607.

Manzi, P. and Pizzoferatto, L. 2000. Beta-glucans in Edible Mushrooms. **Food Chemistry**. 68(3): 315–318.

Menon, V. and Rao, M. 2012. Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. **Progress in Energy and Combustion Science**. 38(4): 522-550.

Miles, P.G. and Chang, S.T. 2004. Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect and Environment Impact. **CRC Press, Boca Raton**. 415.

Mishra, C. and Leatham, G. F. 1990. Recovery and Fractionation of Extracellular Dagradative Enzyme from *Lentinula edodes* cultures Cultivated on a Solid Lignocellulosic Substrate. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. 69(1):8-15.

Novozamsky, R., Eck van, J., Shcouwenburg van, C. and Wallinga, I. 1974. Total nitrogendetermination in plant material by means of the indophenol blue method. **Agricultural Science.** 22:3-5.

Park, B.T., Na, K.H., Jung, E.C., Park, J.W. and Kim, H.H. 2009. Antifungal and Anticancer Activities of a Protein from the Mushroom *Cordyceps militaris.* **The Korean Journal Physiology and Pharmacology.** 13(1): 49–54.

Philippoussisa, A. 2001. Bioconvertion of argricultural lignocellulosic waste through of the edible mushroom *Agrocybe aegerita*, *Vollvarella volvacea* and *Pleurotus spp*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. 17(12):191-200.

Philippoussisa, A., Panagiota, D. and Israilides, C. 2007. Productivity of agricultural residues used for the cultivation of themedicinal fungus Lentinula edodes. **International Biodeterioration and Biodegradation.** 59(3):216–219.

Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. 2001. Antioxidants in food : practical applications. New York: The Guilford Press.

Qinnghe, C. Xiaoyu, Y. Tiangui, N. Cheng, J. and Qiugang, M. 2004. The screening of culture condition and properties of xylanase by white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. **Process Biochemistry**. 39:1561-1566.

Ralph, J., Lundquist, K., Brunow, G., Lu, F., Kim, H., Schatz, P.F., Marita, J.M., Hatfield, R.D., Ralph, S.A., Christensen, J.H. and Boerjan, W. 2004. Lignins: Natural polymers from oxidative coupling of 4 Hydroxyphenyl propanoids. **Phytochemistry Reviews**. 3: 29–60.

Ruggieri, L., Gea, T., Artola, A. and Sanchez, A. 2008. Influence of different co-substrates biochemical composting on row sludge co-composting. **Biodegration**. 19: 403-415.

Sakhayang, K. and Phuttha, W. 2003. Comparative of quantity yield in oyster mushroom from straw and bagass to be substituted for the conventional raw material sawdust para rubber tree. **Faculty of Science and Technology.** 63-64.

Sanchez C. 2009. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. Research Centre for Biological .Sciences. **Biotechnology Advances.** 27 :185–194.

Sanchez-Moreno, C., Jimenez-Escria, A. and Saura-Calixto, J. 2000. Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols. **Nutrition Research** 20: 941-953.

Sano, M., Yoshino, K., Matsuzawa, T. and Ikekawa, T. 2002. Inhibitory effects of edible higher basidiomycetes mushroom extracts on mouse type IV allergy. **International Journal of Medicinal Mushrooms**. 4: 37–41.

Seto, S.W., Lam, T.Y., Tam, H.L., Au, A.L.S., Chan, S.W., Wu, J.H., Yu, P.H.F., Leung, G.P.H., Ngai, S.M., Yeung, J.H.K., Leung, P.S., Lee, S.M.Y. and Kwan, Y.W. 2009. Novel hypoglycemic effects of *Ganoderma lucidum* water-extract in obese/diabetic (+db/+db) mice. **Phytomedicine** 16(5): 426–436.

Sharma, V. K., Canditelli, M., Fortona, F. and Cornacchia, G. 1997. Processsing of urban and agro-industrial residues by aerobic composting: Review. **Energy Conversion and Management**. 38(5):453-478

Shen , Q., Liu, P., Wang, X., Daniel J., Royse, b .2008. Effects of substrate moisture content, log weight and filter porosityon shiitake (*Lentinula edodes*) yield. **Bioresource Technology**. 99 :8212–8216.

Silva, E. M., Machuca, A. and Milagres, A. M. F. 2003. Evaluating the growth and enzyme production from *Lentinula edodes* strain. **Process Biochemistry**. 40(1): 161-164.

Smith, A.H. 1978. The Biology and Cultivation of Edible Mushroom. **Morphology and classification.** 3-34.

Stamets, P. 2000. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Speed Press. Berkeley, California. USA. Stimulators: a review of their anti-infective potential. **Immunother** 5: 392-399.

Sun, Y. and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production. **Bioresource Technology**. 83: 1–11.

Tchobanoglous, G., Thesisen, H. and Vilal, S. 1993. Integrated solid waste management engineering principle and management Issues. **Mcgraw-Hill.** 987.

Tong, H., Xia, F., Feng, K., Sun, G., Gao, X., Sun, L., Jiang, R., Tian, D. and Sun, X. 2009. Structural characterization and in vitro antitumor activity of a novel polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*. **Bioresource Technology**. 100: 1682–1686.

Umikalson, M. S., Ariff A. B., Zulkifli H. S., Tong C. C., Hassan, M. A. and Karim, M. I. A. 1997. The treatment of oil palm empty fruit bunch fiber for subsequent as substrate for cellulase production by Chaetomium globosum Kunze. **Bioresource Technology**. 62 : 1-9.

Vichitphan, S., Vichitphan, K. and Sirikhansaeng, P. 2007. Flavonoid content and antioxidant activity of Krachai-dun (Kaempferia parviflora) wine. **KMITL Science and Technology.** 7: 97–105.

Vinson, J.A. and Dabbagh, Y.A. 1998. Tea phenols: Antioxidant effectiveness of teas, tea components, tea fractions and their binding with lipoproteins. **Nutrition Research**. 18(6):1067-1075.

Walkley, A. and Blank, I. A. 1947. A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soil-effect of variation in digestions and of inorganic soil constituents. **Soil Science.** 63:251-263.

Wong, K. K. Y., Tan L. U. L. and Saddler, J. N. 1988. Multiplicity of β-1,4-xylanase in microorganisms: Functions and applications. **Microbiology.** 52: 305- 317.

Yanga, J. H., Linb, H. C. and Maub, J. L. 2002. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. **Food Chemistry**. 229–235.

Zandazil, F. 1978. The biology and cultivation of edible mushroom. **In S.T. chang and W.A. Hayes (eds). Acadomic Oress, New York. Cultivation of Pleurotus.** 521-554.

Zervakis, G. 2001. Mycelium Growth Kinetics and Optimal Temperature Conditions for the Cultivation of Edible Mushroom Species on Lignocellulosic Substrates**. Folia Microbiologica.** 46 (3): 231-234.

Zhang, G. W., Ma, X. Q., Su, J. Y., Zhang, K., Kurihara, H., Yao, X.S. and Zeng, L.M . 2006. Two new bioactive sesquiterpenes from the soft coral *Sinularia sp*. **Journal of Natural Products** 20: 659-664 .

Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Liao, J. and Zhange, Y. 2005. Pretreatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymic hydrolysis. **Process Biochemistry**. 40(9): 3082-3086.

Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Zhang X., Wang C., Yu F., Jin S. 2006. Production of ethanol from microwave-assisted alkali pretreated wheat straw. **Process Biochemistry.** 41(4):869-873.

Zusman, I., Reifen, R., Livni, O., Smirnoff, P., Gurevich, P., Sandler, B., Nyska, A., Gal, R., Tendler, Y. and Madar, Z. 1997. Role of apoptosis, proliferating cell nuclear antigen and p53 protein in chemically induced colon cancer in rats fed corncob fiber treated with the fungus *Pleurotus ostreatus*. **Anticancer Research**. 17: 2105–2113.

.

ภาคผนวก ก
วิธีการเตรียมสารเคมี และวิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

ก.1 สูตรและวิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato infution	4.0	กรัมต่อลิตร
Dextrose	20.0	กรัมต่อลิตร
Bacteriological agar	15.0	กรัมต่อลิตร

ละลาย PDA 39 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันไอน้ำ 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ จากนั้นเทลงใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.2 วิธีการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน (Total -C) โดยวิธีการของ Walkley-Black (1947)

วิธีการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนในพืช เป็นวิธีการของ Walkley-Black จากการรายงานวิจัยของ พวงผกา แก้วกรม และคณะ (2552) ได้นำวิธีนี้มาใช้ในการทดลองเช่นกัน หลักการของวิธีนี้คือ ใช้ $K_2Cr_2O_7$ ซึ่งเป็นตัวออกซิไดซ์ทำปฏิกิริยากับอินทรีย์คาร์บอนในกรดซัลฟูริกเข้มข้น แล้วไตเตรทหา $K_2Cr_2O_7$ ที่เหลือด้วย $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$ ซึ่งมีวิธีการดังนี้

สารเคมี

1) สารละลายมาตรฐาน Potassium Dichromate ($K_2Cr_2O_7$) 1.0 นอร์มอล เตรียมโดยละลาย $K_2Cr_2O_7$ (อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง) 49.04 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

2) สารละลาย Ferrous Ammonium Sulphate (FAS) 0.5 นอร์มอล เตรียมโดยละลาย Fe $(NH_4)_2$ $(SO_4)_2$ $.6H_2O$ 196.1 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร. ที่มีกรด H_2SO_4 เข้มข้น อยู่ 20 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

3) สารละลาย 1,10-Phenanthroline indicator เตรียมโดยละลาย $FeSO_47H_2O$ 0.7 กรัม และ 1,10-Phenanthroline 1.48 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการ

1) ชั่งตัวอย่าง 1 (กรวยกระดาษและขี้เลื่อยไม้ยางพารา) กรัม ลงในฟลาส์ก ขนาด 250 มิลลิลิตร

2) เติมสารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$ 1.0 นอร์มอล 10 มิลลิลิตร

3) เติมกรด H_2SO_4 เข้มข้น 20 มิลลิลิตร พยายามให้กรดไหลลงข้าง ๆ ขวดให้ชะล้างตัวอย่างลงไปอยู่ในขวดให้ เขย่าเบาๆ ให้ตัวอย่างเข้ากันประมาณ 1 นาที ตั้งให้เย็น

4) เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร หยดสารละลาย 1,10-Phenanthroline indicator 5 หยด

5) ไตเตรทด้วยสารละลาย FAS 0.5 นอร์มอล จนถึงจุดยุติ สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลแดง

6) ทำ Blank โดยเริ่มจากข้อ 2-6

7) คำนวณอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดดังสมการ

$$\% \text{ Organic Carbon} = \frac{10 \times (B-S) \times 100 \times 3 \times 100 \times N}{B \times 77 \times 1000 \times W}$$

เมื่อ B = ปริมาณ FAS ที่ใช้ในการไตเตรท Blank (มิลลิลิตร)

S = ปริมาณ FAS ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักดินที่ใช้ (กรัม)

N = ความเข้มข้นของ $K_2Cr_2O_7$ (หน่วยนอร์มอล)

ก.3 วิธีการวิเคราะห์ไนโตรเจน (Total -N) โดยวิธี Photometric method (Novozamsky *et al.*, 1974)

การเตรียมตัวอย่างพืช โดยวิธีการย่อยด้วยกรด

นำตัวอย่างพืช (กรวยกระดาษและขี้เลื่อยไม้ยางพารา) ที่บดละเอียด และอบแห้งสนิทดีแล้ว 50 มิลลิกรัม ใส่ในฟลาส์ก ขนาด 125 มิลลิลิตร เติม H_2SO_4 (0.2 นอร์มอล) 50 มิลลิลิตร นำไปต้มใน อ่างน้ำร้อนเป็นเวลา 60 นาที กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 จากนั้นทิ้งให้เย็น ปรับพีเอช ให้เป็นกลางด้วย NaOH (1นอร์มอล) ปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บสารละลายที่ได้เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

สารเคมี

1) NaOH (10 โมลาร์) เตรียมโดย ละลาย NaOH 200 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร

2) กรด Salicylic เตรียมโดยละลายกรด Salicylic 110 กรัม ละลายใน NaOH (10 โมลาร์) 105 มิลลิลิตร

3) สารละลาย Sodium phosphate (Na_2HPO_4) buffer พีเอช 12.3

4) สารละลาย Ethylenediaminetetraacetic (EDTA) ร้อยละ 4

5) สารละลาย Sodium Hypochlorite (NaClO) 1 โมลาร์ ใน 0.1 โมลาร์ NaOH นำมาเจือจางโดยดูดสารละลาย NaClO 20 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

6) Nitroprusside 50 มิลลิกรัม (0.050 กรัม) ในน้ำ 100 มิลลิลิตร (เตรียมก่อนใช้งาน)

Solution I: (2) 50 มิลลิลิตร + (6) 100 มิลลิลิตร + (4) 5 มิลลิลิตร

Solution II: (3) 200 มิลลิลิตร + (6) 100 มิลลิลิตร + (5) 50 มิลลิลิตร

7) Stock solution ของ $(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้น 2500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยละลาย $(NH_4)_2SO_4$ 11.793 กรัม ในน้ำ 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน $(NH_4)_2SO_4$ ให้มีความเข้มข้น 1-15 มิลลิกรัมต่อลิตร

2) ปิเปตสารสกัดจตัวอย่าง ลงในหลอดทดลอง 0.2 มิลลิลิตร

3) เติมสารละลาย Solution I จำนวน 3 มิลลิลิตร และSolution II จำนวน 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ

4) ผสมสารละลายให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์นาน 2 ชั่วโมง

5) อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

6) เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับสารละลายมาตรฐานแล้วคำนวณปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

7) คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างจากสมการ

$$\text{Total –N (\%)} = \frac{C \times V \times 100}{10^6 \times W}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้น N ในตัวอย่าง– ความเข้มข้น N ใน Blank เมื่อเปรียบเทียบกับ standardcurve (มิลลิกรัมต่อลิตร)

V = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

คำนวณค่าโปรตีนได้จากสูตร

$$\text{\% Crude Protein} = \%N \times 6.25$$

ก.4 วิธีการวิเคราะห์ฟอสฟอรัส (ศรีสม สุวรรณวงศ์, 2554)

สารเคมี

1) Ammonium vanadate (NH_4VO_3) เตรียมโดยชั่ง 1.25 กรัมละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร

2) Ammonium molybdate $(NH_4)_6MO_7O_{24}.4H_2O$ เตรียมโดยชั่ง Ammonium molybdate 25 กรัมในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ผสมสารในข้อ 1 และ ข้อ 2 ให้เข้ากัน ปรับปริมาตรเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร

3) Stock solution ของฟอสฟอรัส (P) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดย ละลาย potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จำนวน 0.4390 กรัม ปรับปริมาตรเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

วิธีการวิเคราะห์

1) เตรียมสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 0-20 มิลลิกรัมต่อลิตร เติม mixed reagent ลงไป 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรด H_2SO_4 เข้มข้น 1.88 โมลาร์ จำนวน 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 20 นาที นำไปวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้น ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer

2) การหาปริมาณฟอสฟอรัส โดยการดูดสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อย จำนวน 5 มิลลิลิตร เติม mixed reagent จำนวน 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเท่ากับ 25 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าตั้งทิ้งไว้ 20 นาที แล้วนำไปวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นเหมือนกับกราฟมาตรฐานในข้อ 1 เทียบค่าความเข้มข้นของตัวอย่างกับกราฟมาตรฐาน แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างจากสมการ

$$\text{Total-P (\%)} = \frac{C \times V_f \times V_d \times 100}{10^6 \times V_{A\times} W}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้น P ในตัวอย่าง – ความเข้มข้น P ของ Blank เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมต่อลิตร)

V_f = ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

V_d = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อย

Va = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์

ก.5 วิธีการวิเคราะห์โพแทสเซียม โดยวิธี ICP-OES (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)

สารเคมี

Stock solution ของโพแทสเซียม 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยละลาย KCl บริสุทธิ์ (อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105 องซาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) จำนวน 0.9533 กรัม ใน ฟลาส์ก ขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการ

1) เตรียมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม 0-20 มิลลิกรัมต่อลิตร

2) ปิเปตตัวอย่างที่ได้จากการย่อย 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเท่ากับ 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3) นำไปวัดปริมาณโพแทสเซียมโดย ICP-OES

4) คำนวณปริมาณโพแทสเซียมโดยเทียบกับค่าของสารละลายมาตรฐาน

ภาคผนวก ข

วิธีการเตรียมสารเคมี และวิธีการวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ

ข.1 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

วิธี Folin-Ciocalteau เป็นวิธีที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิก วิธีนี้จะให้ตัวอย่างสารสกัดเห็ดนางรมทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteau reagent กับ Sodium bicarbonate ที่อาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์ในการทำให้เกิดปฏิกิริยา เนื่องจาก molybdotungstate reagent และดูดการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบ คือ ซึ่งมีสีเหลืองเมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระ แล้วจะเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำเงิน

สารเคมีและการเตรียม

1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการชั่ง Gallic acid 0.06 ในเมทานอล 60 ml

2) เตรียม Folin-Ciocalteau 5 มิลลิลิตร ผสมเมทานอล 5 มิลลิลิตร (1:1)

3) เตรียม Sodium carbonate (Na_2CO_3) 2 กรัม ในน้ำ DI 100 มิลลิลิตร

วิธีการทดลอง

1) เตรียมสารสกัดตัวอย่างเห็ดนางรม และสารมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้น 20-120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 100 ไมโครลิตร

2) เติม สาร Sodium carbonate 2 มิลลิลิตร ในสารตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น

3) ตั้งไว้ 2 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

4) เติม Folin-Ciocalteau 100 ไมโครลิตร

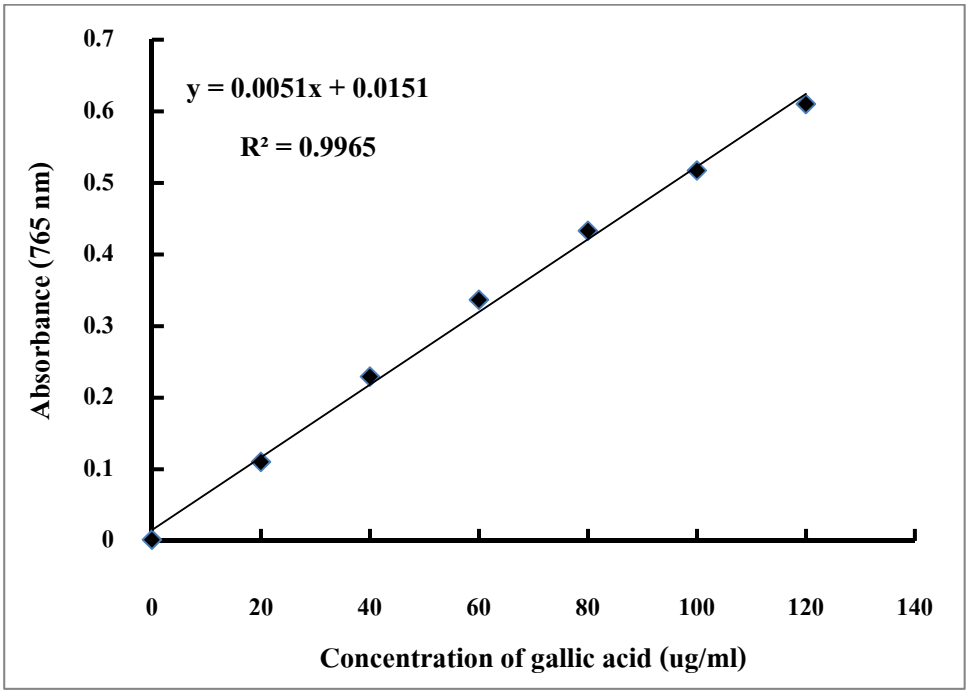
5) ตั้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

6) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV/Vis spectrophotometer

การทำกราฟมาตรฐานของ Gallic acid

ตารางภาคผนวกที่ ข.1 Total phenolic content ของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid

ความเข้มข้นของ gallic acid (ug/ml)	Absorbance (765 nm)
0	0.0016
20	0.1103
40	0.2294
60	0.3367
80	0.4331
100	0.5173
120	0.6102



รูปภาคผนวกที่ ข.1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง สารมาตรฐาน gallic acid กับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

ข.2 วิธีวิเคราะห์ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)

สารเคมีและการเตรียม

1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรชั่งสารละลาย BHT 0.01 กรัม ละลายด้วยสารละลาย methanol ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย methanol ให้มีความเข้มข้น 20 – 120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2) เตรียม 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH assay) 0.1 Mm ใน methanol ชั่ง DPPH 0.0039 กรัม ละลายใน methanol ปรับให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3) เตรียมสารสกัดเห็ดนางรม ให้มีความเข้มข้น 20-120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีทำการทดลอง

1) เติมสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน 3 มิลลิลิตร

2) เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 Mm 1 มิลลิลิตร

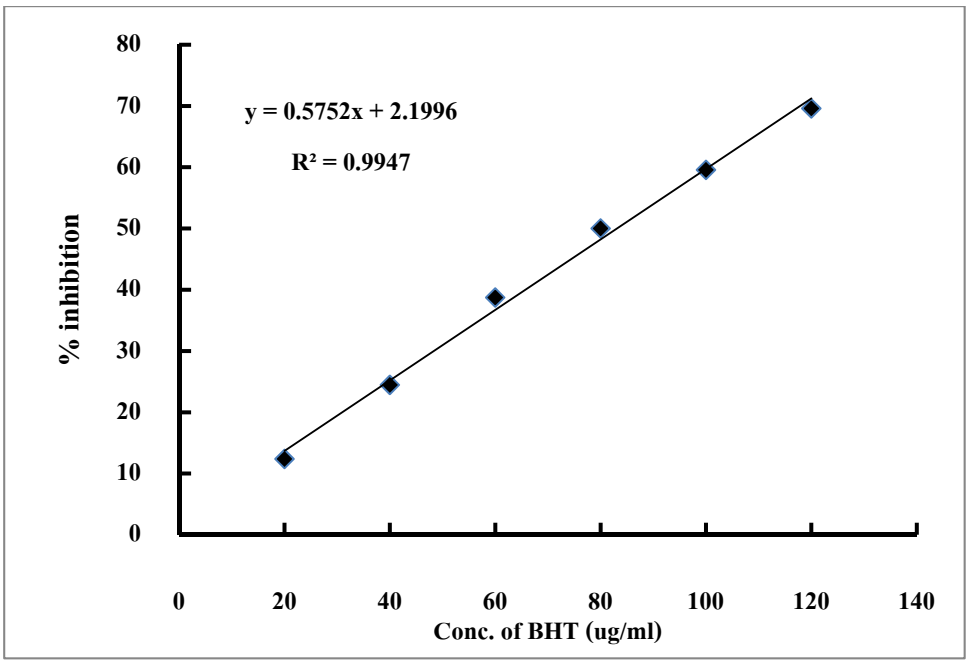
3) เขย่าสารละลายให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

4) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV/Vis spectrophotometer

การรายงานค่า IC_{50} ของสารมาตรฐาน

ตารางภาคผนวกที่ ข.2 DPPH assay ของสารละลายมาตรฐาน BHT

Concentation of standard BHT (ug/ml)	$A_{517\,nm}$	% Remaining	% Inhibition
0	0.629	0	0
20	0.551	87.613	12.387
40	0.475	75.529	24.471
60	0.385	61.266	38.734
80	0.314	49.992	50.008
100	0.254	40.436	59.564
120	0.191	30.402	69.598



รูปภาคผนวกที่ ข.2 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง DPPH กับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน BHT

ข.3 วิธีวิเคราะห์ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical scavenging assay : (ABTS assay)

สารเคมีและการเตรียม

1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรชั่งสารละลาย BHT 0.01 กรัม ละลายด้วยสารละลาย methanol ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย methanol ให้มีความเข้มข้น 20 – 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2) เตรียมสารละลาย 7 mM ABTS

ชั่งสาร ABTS 0.1 กรัม ละลายด้วยน้ำ DI ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร ด้วยน้ำ DI

3) Potassium persulfate 2.45 mM ($K_2S_2O_8$)

ชั่ง $K_2S_2O_8$ 0.0066 กรัม ละลายด้วยน้ำ DI ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI

4) ABTS stock solution

- ABTS 7 mM : Potassiam persulfate /2.45 mM = 1:0.5 mol/mol
- ทำให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ โดยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 12-16 ชั่วโมง
- นำไปเก็บในขวดสีชา เก็บได้ประมาณ 2-3 วัน

5) ABTS working solution

- Dilute ABTS stock solution ด้วยน้ำ DI ให้ได้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ให้มีค่าประมาณ 0.7-0.9
- ทำการเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการทดลอง
- เก็บไว้ในขวดสีชา

วิธีการทดลอง

1) เตรียมสารสกัดตัวอย่างเห็ดนางรมและสารมาตรฐาน BHT ตามความเข้มข้นต่าง ๆ 100 ไมโครกรัม

2) เติม สาร ABTS working solution 2 มิลลิลิตร ในสารตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น

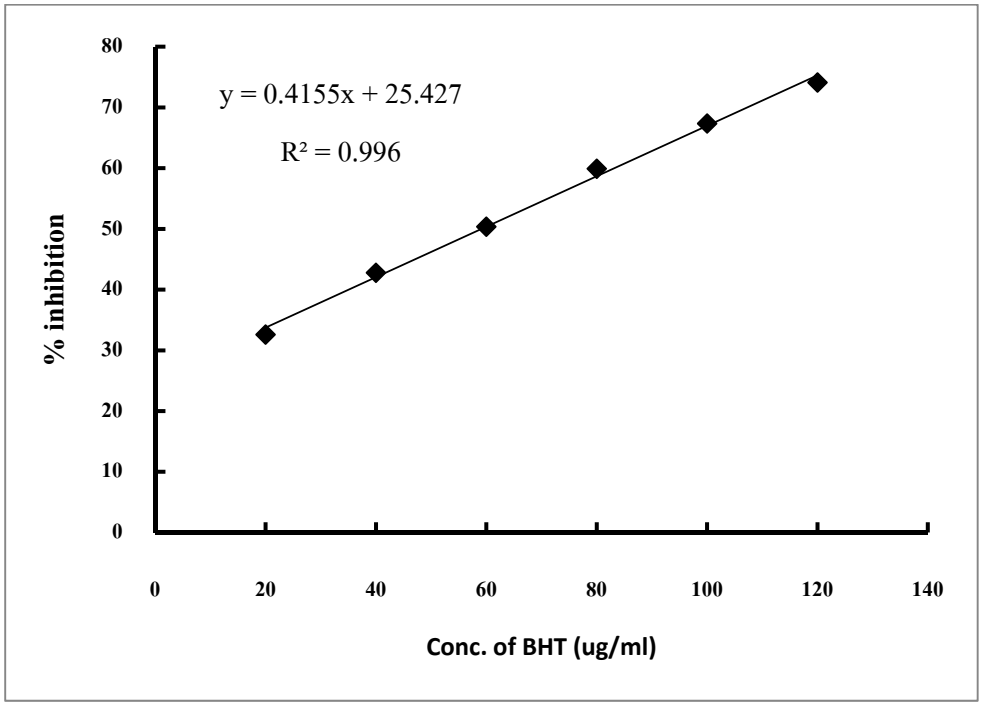
3) ตั้งไว้ 3 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

4) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV/Vis spectrophotometer

การรายงานค่า IC_{50} ของสารมาตรฐาน

ตารางภาคผนวกที่ ข.3 ABTS assay ของสารละลายมาตรฐาน BHT

Concentation of standard BHT (ug/ml)	$A_{734\ nm}$	% Remaining	% Inhibition
0	0.871	0	0
20	0.587	67.413	32.587
40	0.498	57.228	42.772
60	0.432	49.638	50.362
80	0.349	40.096	59.904
100	0.284	32.656	67.344
120	0.226	25.893	74.107



รูปภาคผนวกที่ ข.3 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง ABTS กับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน BHT

ข.4 วิธีวิเคราะห์ Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay)

สารเคมีและการเตรียม

1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรชั่งสารละลายBHT 0.01 กรัม ละลายด้วยสารละลาย methanol ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย methanol ให้มีความเข้มข้น 20 – 120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2) เตรียม 300 mM Acetate buffer pH 3.6

ชั่ง Sodium acetate 1.5 กรัม ละลายใน acetic acid 8 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI ให้ครบ 500 มิลลิลิตร

3) เตรียม 20 mM Ferric chloride

ชั่ง Ferric chloride 0.054 กรัม ละลายและปรับให้ครบ 10 มิลลิลิตร ในน้ำ

4) เตรียม TPTZ

ชั่งสาร TPTZ 0.0312 กรัม ละลายใน 40 mM ของ HCL เล็กน้อย ปรับ 40 mM ของ HCL ให้ครบ 10 มิลลิลิตร

5) เตรียมสารละลาย FRAP

ผสมสารละลาย Acetate buffer pH 3.6 20 มิลลิลิตร สารละลาย 20 mM Ferric chloride 2 มิลลิลิตร และสารละลาย TPTZ 2 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน

วิธีการทดลอง

1) นำสารละลาย FRAP บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 8 นาที ปิเปต 1.5 มิลลิลตร ในหลอดทดลอง

2) เติมน้ำ DI 150 ไมโครลิตร

3) เติมสารสกัดตัวอย่างเห็ดนางรมหรือสารมาตรฐาน BHT 50 ไมโครลิตร ในแต่ละความเข้มข้น

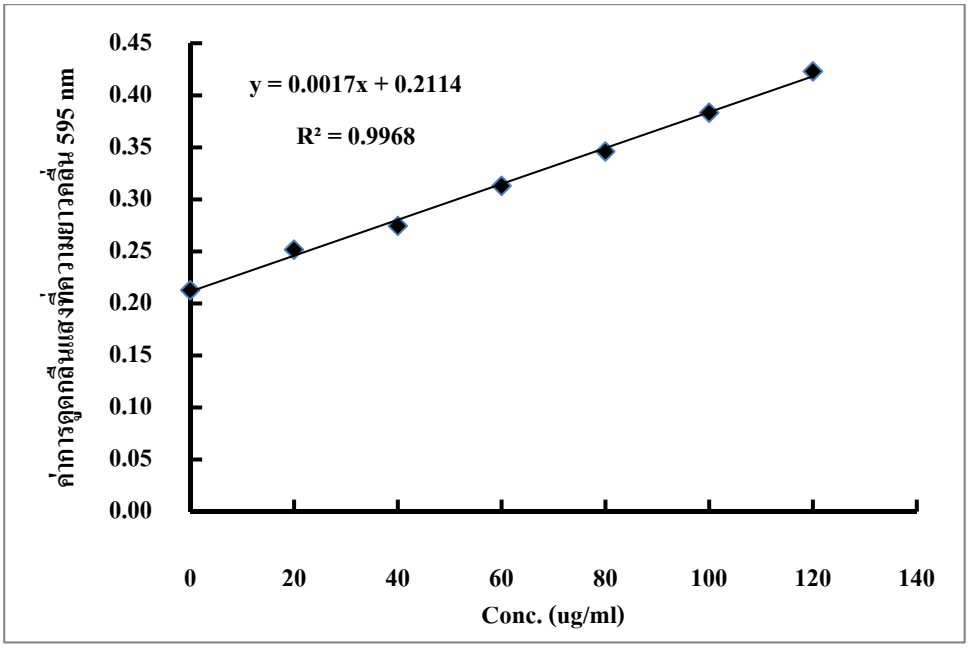
4) ตั้งไว้ 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

6) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV/Vis spectrophotometer

การทำกราฟมาตรฐานของ BHT (FRAP assay)

ตารางภาคผนวกที่ ข.4 FRAP assay ของสารละลายมาตรฐาน BHT

ความเข้มข้นของ BHT (ug/ml)	Absorbance (593 nm)
0	0.2127
20	0.2517
40	0.2745
60	0.3130
80	0.3460
100	0.3833
120	0.4230



รูปภาคผนวกที่ ข.4 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารมาตรฐาน BHT (FRAP assay) กับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

ภาคผนวก ค
วิธีการคำนวณอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

ค.1 การคำนวณอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเมื่อใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน (Tchobanoglous *et al.*, 1993)

วิธีการคำนวณอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนกรณีที่กรวยกระดาษ+ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (คาร์บอน) คงที่ 1 กิโลกรัม ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน (สมมุติให้อัตราส่วน C/N เริ่มต้น= 20/1) ถ้าใช้กรวยกระดาษ+ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 1 กิโลกรัม จะต้องใช้ยูเรีย X กิโลกรัม โดยมี คาร์บอน และไนโตรเจน ดังที่แสดงในตารางที่ ค.1

ตารางภาคผนวกที่ ค.1 องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ด

วัสดุเพาะเห็ด	คาร์บอน (C)	ไนโตรเจน (N)
กรวยกระดาษ	17.28	0.24
ขี้เลื่อยไม้ยางพารา	36.84	1.81
รำข้าว	28.92	2.10
กรวยกระดาษ+ขี้เลื่อยไม้ยางพารา (75:25)	22.17	0.63
ยูเรีย	12	46.60

$$\text{ดังนั้น} \quad \frac{\text{C ยูเรีย+ C กระดาษ+ขี้เลื่อย}}{\text{N ยูเรีย + N กระดาษ+ขี้เลื่อย}} = \frac{20}{1}$$

$$\frac{12\,(X) + 22.17}{46.6(X) + 0.63} = \frac{20}{1}$$

$$20\,(46.6X + 0.63) = 12\,(X) + 22.17$$

$$932X + 12.6 = 12\,(X) + 22.17$$

$$920X + (12.6 - 22.17) = 0$$

$$920X = 0 + 9.57$$

$$X = 0.01040$$

ดังนั้นเมื่อต้องการอัตราส่วน C/N เริ่มต้นเท่ากับ 20/1 จะต้องใช้กรวยกระดาษและขี้เลื่อยไม้ยางพารา 1 กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ผสมกับยูเรีย 0.0104 กิโลกรัม

ภาคผนวก ง
การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ และบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา

ตารางภาคผนวกที่ ง.1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรม ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 9 วัน

วันที่	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)		
	เห็ดนางรม	เห็ดนางฟ้า	เห็ดภูฐาน
0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0
1	0.8±0.0	0.8±0.1	0.8±0.0
2	1.9±0.1	1.0±0.1	1.7±0.01
3	3.0±0.2	1.5±0.1	2.6±0.2
4	4.3±0.4	2.3±0.1	3.6±0.1
5	5.7±0.4	3.0±0.1	4.8±0.1
6	6.9±0.1	3.9±0.1	5.9±0.1
7	7.8±0.2	5.1±0.1	7.1±0.1
8	8.6±0.2	6.0±0.1	8.1±0.0
9	8.9±0.1	6.4±0.1	8.8±0.1

ตารางภาคผนวกที่ ง.2 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดตระกูลนางรม เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 50:50 (%w/w) ความชื้นร้อยละ 70 เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ที่เวลา 18 วัน

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)		
	เห็ดนางรม	เห็ดนางฟ้า	เห็ดภูฐาน
0	0.068±0.01	0.104±0.02	0.062±0.03
2	0.126±0.05	0.124±0.09	0.040±0.02
4	0.344+0.07	0.242±0.04	0.120±0.05
6	0.580±0.04	0.378±0.06	0.234±0.01
8	0.878±0.05	0.574±0.05	0.372±0.02
10	1.156±0.03	0.748±0.06	0.516±0.04
12	1.500±0.04	0.972±0.07	0.722±0.07
14	1.796±0.05	1.246±0.05	0.972±0.04
16	2.014±0.03	1.460±0.04	1.120±0.03
18	2.058±0.06	1.536±0.06	1.148±0.05

ภาคผนวก จ
การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งกรวยกระดาษและขี้เลื่อยไม้ยางพารา

ผลของความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา

ตารางภาคผนวกที่ จ.1. การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางรม เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 50:50 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้น ที่ระดับต่าง ๆ เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)		
	ความชื้นเริ่มต้น 60%	ความชื้นเริ่มต้น 65%	ความชื้นเริ่มต้น 70%
0	0.068±0.01	0.068±0.01	0.068±0.01
2	0.302±0.01	0.246±0.04	0.402±0.04
4	0.564±0.02	0.582±0.02	0.706±0.02
6	0.990±0.01	1.002±0.04	1.130±0.02
8	1.392±0.01	1.394±0.00	1.496±0.02
10	1.630±0.02	1.692±0.02	1.814±0.01
12	1.750±0.02	1.922±0.01	2.100±0.01
14	1.886±0.03	2.104±0.01	2.320±0.01
16	1.954±0.01	2.244±0.01	2.506±0.01
18	2.018±0.01	2.350±0.01	2.632±0.01

ผลของอัตราส่วนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด

ตารางภาคผนวกที่ จ.2 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางรม เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วนต่าง ๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)				
	0:100	**25:75**	**50:50**	**75:25**	**100:0**
0	0.068±0.01	0.068±0.01	0.068±0.01	0.068±0.01	0.068±0.01
2	0.388±0.06	0.304±0.06	0.240±0.10	0.198±0.04	0.136±0.09
4	0.842±0.16	0.610±0.37	0.490±0.10	0.404±0.05	0.266±0.07
6	1.362±0.12	0.984±0.27	0.764±0.15	0.554±0.03	0.414±0.19
8	1.968±0.12	1.344±0.13	0.974±0.27	0.730±0.03	0.538±0.07
10	2.448±0.25	1.748±0.17	1.264±0.06	0.892±0.11	0.702±0.14
12	2.756±0.39	2.012±0.09	1.560±0.29	1.042±0.12	0.898±0.10
14	2.954±0.18	2.258±0.05	1.892±0.17	1.210±0.04	1.068±0.13
16	3.146±0.39	2.476±0.11	2.086±0.09	1.336±0.11	1.236±0.12
18	3.204±0.44	2.620±0.13	2.250±0.01	1.470±0.02	1.328±0.12

ผลของอัตราส่วนคาร์บอนไนโตรเจนต่อการผลิตชีวมวลเห็ดนางรม

ตารางภาคผนวกที่ จ.3 น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดนางรม ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ปรับค่า C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)		
	PC+PRS (0:100)	**PC+PRS (50:50)**	**PC+PRS (75:25)**
0	0.068±0.01	0.064±0.01	0.064±0.02
2	0.388±0.06	0.194±0.13	0.166±0.11
4	0.842±0.16	0.716±0.06	0.616±0.01
6	1.362±0.12	1.160±0.05	0.980±0.03
8	1.968±0.12	1.752±0.15	1.354±0.01
10	2.448±0.25	2.208±0.05	1.864±0.16
12	2.756±0.39	2.558±0.10	2.262±0.04
14	2.954±0.18	2.912±0.15	2.626±0.08
16	3.146±0.39	3.174±0.03	2.912±0.15
18	3.204±0.44	3.234±0.27	3.130±0.13

ผลของปริมาณรำข้าวต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม

ตารางภาคผนวกที่ จ.4 น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดนางรม เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 75:25 (%w/w) ความชื้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณรำข้าวร้อยละต่าง ๆ

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)				
	รำข้าว 0%	**รำข้าว2%**	**รำข้าว4%**	**รำข้าว6%**	**รำข้าว8%**
0	0.064±0.01	0.068±0.01	0.064±0.01	0.064±0.01	0.064±0.01
2	0.166±0.31	0.188±0.04	0.232±0.22	0.526±0.07	0.632±0.05
4	0.616±0.04	0.620±0.03	0.662±0.44	0.968±0.13	1.002±0.02
6	0.980±0.12	0.990±0.10	1.002±0.09	1.414±0.06	1.602±0.12
8	1.354±0.28	1.480±0.08	1.530±0.03	1.990±0.09	2.304±0.12
10	1.864±0.04	2.048±0.15	2.212±0.12	2.518±0.52	2.988±0.04
12	2.262±0.15	2.396±0.20	2.522±0.14	2.884±0.08	3.396±0.09
14	2.626±0.10	2.754±0.09	2.932±0.17	3.228±0.17	3.744±0.06
16	2.912±0.02	2.946±0.17	3.246±0.12	3.446±0.21	4.010+0.12
18	3.010±0.01	3.194±0.05	3.464±0.01	3.670±0.04	4.070±0.03

ผลของปริมาณเชื้อเริ่มต้นต่อการผลิตชีวมวลเห็ดนางรม

ตารางภาคผนวกที่ จ.5 น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดนางรม เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 75:25 (%w/w) ความชื้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นระดับต่าง ๆ

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)		
	Control (5%)	**10%**	**15%**
0	0.084±0.08	0.372±0.19	0.178±0.15
3	1.234±0.11	1.316±0.11	1.652±0.17
6	2.024±0.37	2.714±0.22	2.866±0.29
9	2.802±0.12	4.228±0.18	3.736±0.40
12	3.970±0.16	4.894±0.41	4.710±0.39
15	4.450±0.22	5.770±0.14	5.320±0.33

ผลของภาชนะบรรจุต่อการผลิตชีวมวลเห็ดนางรม

ตารางภาคผนวกที่ จ. 6 น้ำหนักแห้งที่หายไปของเห็ดนางรม เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณรำข้าวร้อยละ 8 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในกล่อง (PVC) และถุงพลาสติก (PVC)

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)	
	ถุงพลาสติก (PP)	กล่อง (PVC)
0	0.308±0.03	0.308±0.03
2	0.634±0.03	1.122±0.11
4	1.164±0.02	1.818±0.03
6	1.808±0.03	2.626±0.04
8	2.574±0.05	3.558±0.02
10	3.566±0.04	4.394±0.04
12	4.346±0.04	4.294±0.14

ภาคผนวก ฉ
ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของเห็ดนางรม

ผลวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total phenolics compound)

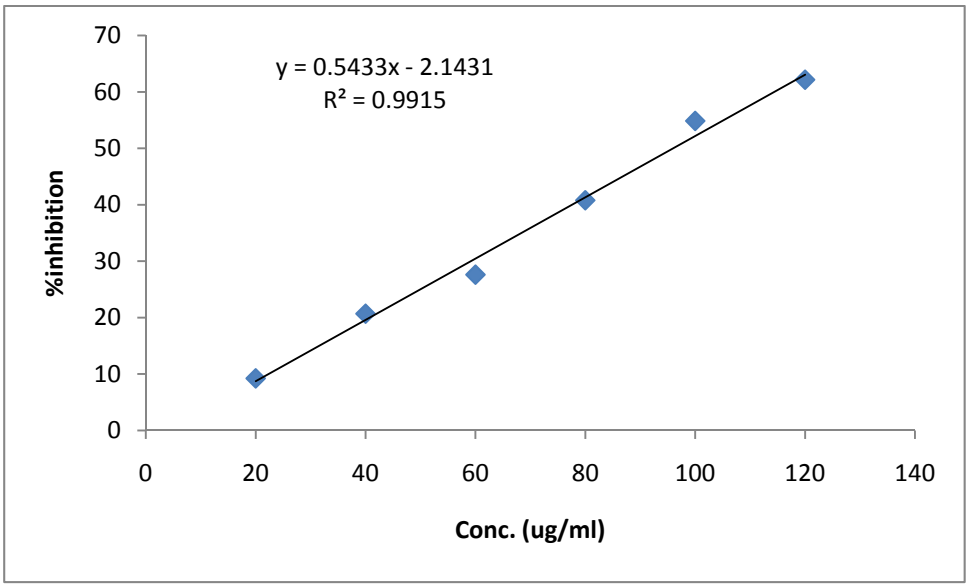
ตารางภาคผนวกที่ ฉ.1 ค่า total phenolic compound (ug/ml)

ความเข้มข้นของสารสกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ug/ml)		
	เห็ดเพาะบนกระดายและขี้เลื่อย	เห็ดจากตลาด	เห็ดที่เพาะบนวัสดุขี้เลื่อย (Control)
20	3.067±0.20	2.667±0.20	2.400±0.10
40	4.467±0.14	4.267±0.23	3.600±0.20
60	5.067±0.07	4.667±0.14	4.333±0.17
80	6.467±0.20	5.767±0.31	5.667±0.17
100	6.933±0.20	6.400±0.21	6.267±0.04
120	7.867±0.14	7.467±0.04	7.200±0.32

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.2 DPPH assay ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

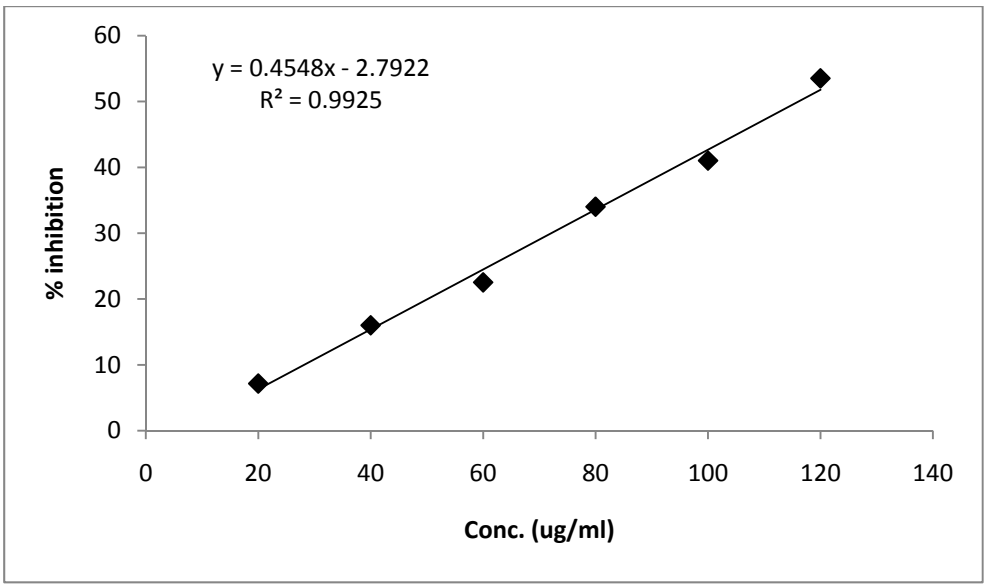
Concentation ของสารละลายเห็ด (ug/ml)	$A_{517\ nm}$	% Remaining	% Inhibition
0	0.646	0	0
20	0.586	90.771	9.229
40	0.512	79.312	20.688
60	0.468	72.391	27.609
80	0.382	59.213	40.787
100	0.292	45.153	54.847
120	0.244	37.845	62.155



รูปภาคผนวกที่ ฉ.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง DPPH กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเห็ดนางรมจากงานวิจัย

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.3 DPPH assay ของเห็ดนางรมจากตลาด

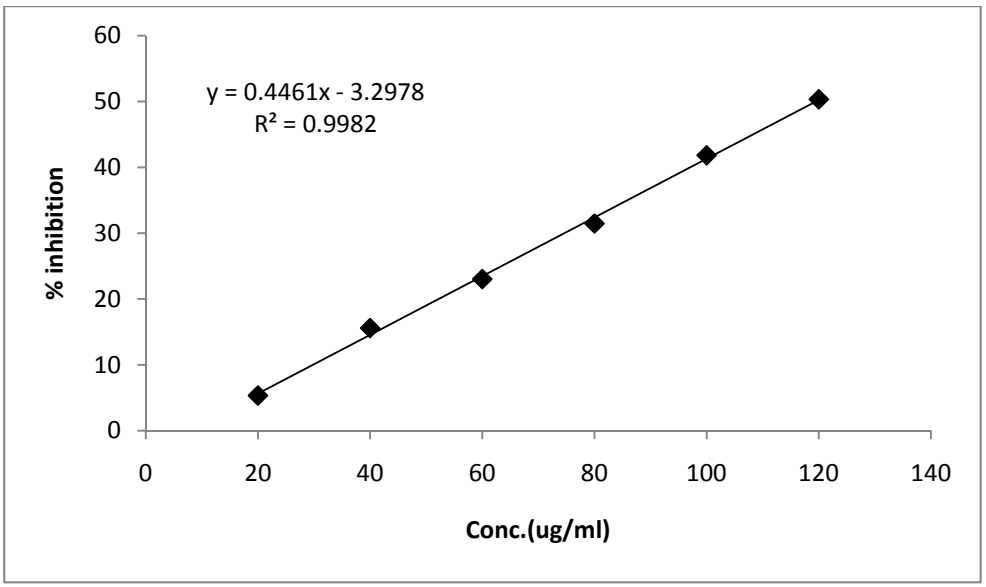
Concentation ของสารละลายเห็ด (ug/ml)	$A_{517\ nm}$	% Remaining	% Inhibition
0	0.629	0	0
20	0.584	92.845	7.155
40	0.528	83.988	16.012
60	0.487	77.469	22.531
80	0.415	65.988	34.012
100	0.371	58.976	41.024
120	0.292	46.478	53.522



รูปภาคผนวกที่ ฉ.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง DPPH กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเห็ดนางรมจากตลาด

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.4 DPPH assay ของเห็ดนางรมที่เพาะบนวัสดุขี้เลื่อยไม้ยางพาราอย่างเดียว

Concentation ของสารละลายเห็ด (ug/ml)	$A_{517\,nm}$	% Remaining	% Inhibition
0	0.629	0	0
20	0.595	94.673	5.327
40	0.531	84.417	15.583
60	0.484	76.976	23.024
80	0.431	68.532	31.468
100	0.366	58.165	41.835
120	0.312	49.658	50.342

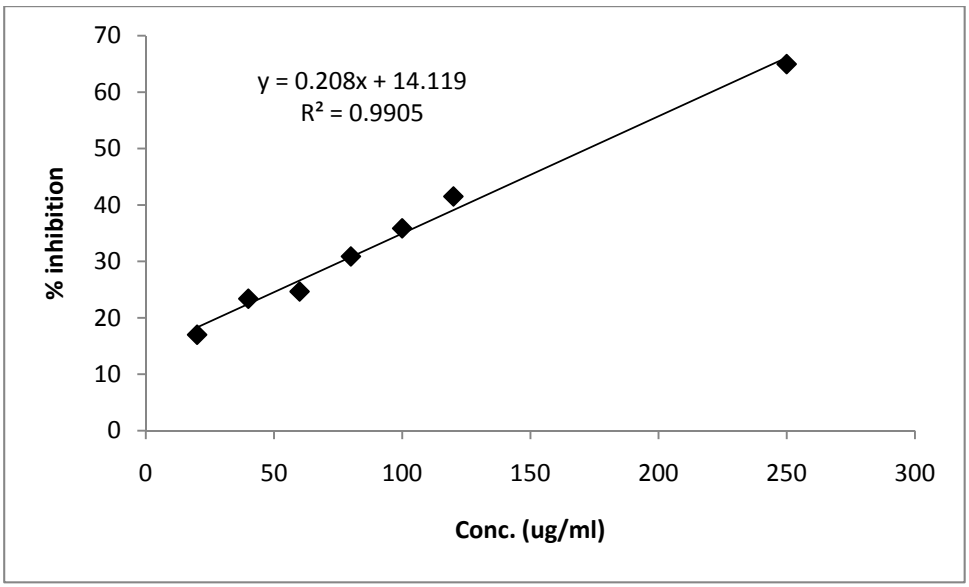


รูปภาคผนวกที่ ฉ.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง DPPH กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุขี้เลื่อยไม้ยางพาราอย่างเดียว

2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) action radical scavenging assay :(ABTS assay)

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.5 ABTS assay ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

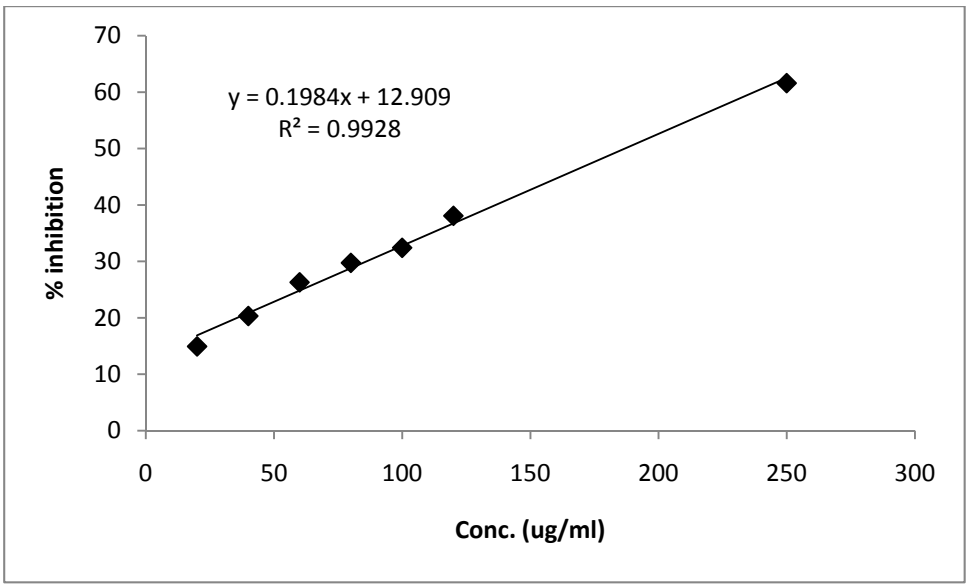
Concentation ของสารละลายเห็ด (ug/ml)	$A_{734\ nm}$	% Remaining	% Inhibition
0	0.871	0	0
20	0.723	83.018	16.982
40	0.667	76.633	23.367
60	0.656	75.347	24.653
80	0.602	69.124	30.876
100	0.559	64.152	35.848
120	0.509	58.491	41.509
250	0.305	35.021	64.979



รูปภาคผนวกที่ ฉ.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง ABTS กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.6 ABTS assay ของเห็ดนางรมจากตลาด

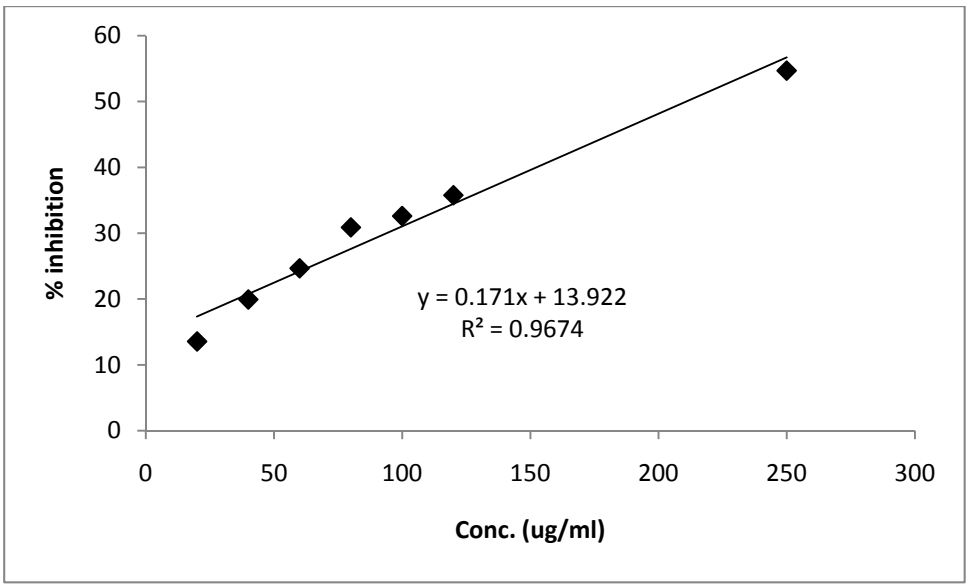
Concentation ของสารละลายเห็ด (ug/ml)	$A_{734\ nm}$	% Remaining	% Inhibition
0	0.871	0	0
20	0.741	85.084	14.916
40	0.694	79.688	20.312
60	0.642	73.717	26.283
80	0.612	70.272	29.728
100	0.589	67.597	32.403
120	0.539	61.936	38.064
250	0.335	38.409	61.591



รูปภาคผนวกที่ ฉ.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง ABTS กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเห็ดนางรมจากตลาด

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.7 ABTS assay ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพาราอย่างเดียว

Concentation ของสารละลายเห็ด (ug/ml)	$A_{743\ nm}$	% Remaining	% Inhibition
0	0.871	0	0
20	0.753	86.462	13.538
40	0.697	80.078	19.922
60	0.656	75.347	24.653
80	0.602	69.124	30.876
100	0.587	67.402	32.598
120	0.559	64.232	35.768
250	0.395	45.298	54.702



รูปภาคผนวกที่ ฉ.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้ง ABTS กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพาราอย่างเดียว

Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay)

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.8 ปริมาณของ Fe^{2+} ที่ได้จากการรีดิวซ์ Fe^{3+} โดยสารสกัดหยาบจากการวิเคราะห์โดยวิธี FRAP

ชนิดของวัสดุเพาะ	ความเข้มข้น (ug/ml)	ค่าการดูดกลืนแสง				ความเข้มข้นของ Fe2+ (ug/ml)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	X ± SD	
เห็ดบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษและขี้เลื่อย	20	0.1777	0.1772	0.1776	0.178±0.000	-19.941
	40	0.1864	0.1869	0.1861	0.186±0.000	-14.882
	80	0.2047	0.2043	0.2048	0.205±0.000	4.000
	100	0.2365	0.2415	0.2416	0.240±0.003	16.765
	140	0.2764	0.2753	0.2763	0.276±0.001	38.000
	180	0.3001	0.3002	0.3008	0.300±0.000	52.353
เห็ดบนวัสดุเพาะขี้เลื่อย (ชุดควบคุม)	20	0.1657	0.1651	0.1650	0.165±0.000	-27.118
	40	0.1707	0.1782	0.1790	0.176±0.005	-20.824
	80	0.1912	0.1952	0.1951	0.194±0.002	-10.294
	100	0.1950	0.2022	0.2014	0.200±0.004	-7.000
	140	0.2335	0.2330	0.2336	0.233±0.000	12.941
	180	0.2539	0.2539	0.2543	0.254±0.000	25.059
เห็ดจากตลาด	20	0.1764	0.1763	0.1764	0.189±0.000	-20.941
	40	0.1855	0.1856	0.1858	0.197±0.000	-15.765
	80	0.2106	0.2148	0.2156	0.214±0.003	1.294
	100	0.2225	0.2204	0.2209	0.221±0.001	5.824
	140	0.2644	0.2642	0.2648	0.265±0.000	31.235
	180	0.2893	0.2897	0.2895	0.298±0.000	50.647

ภาคผนวก ช

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ ช.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยเห็ดนางรมทั้ง 3 ชนิด ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเวลาการเพาะเลี้ยง 9 วัน

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	13.020	2	6.510	390.6	.000
Within Groups	.100	6	.017		
Total	13.120	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 เป็นเวลา 18วัน

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.313	2	.157	86.886	.000
Within Groups	.011	6	.002		
Total	.324	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (%w/w) เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ที่ระดับความชื้นต่าง ๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.142	2	.071	538.112	.000
Within Groups	.001	6	.000		
Total	.143	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช.4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดสดของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (%w/w) เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ที่ระดับความชื้นต่าง ๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	18.888	2	9.444	87.482	.000
Within Groups	.648	6	.108		
Total	19.536	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 50:50 (%w/w) เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ที่ระดับความชื้นต่าง ๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	6760.337	2	3380.168	446.427	.000
Within Groups	45.430	6	7.572		
Total	6805.767	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช.6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรม บนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วนต่าง ๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	1.858	4	.464	10.147	.002
Within Groups	.458	10	.046		
Total	2.315	14			

ตารางภาคผนวกที่ ช.7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดสดของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วนต่าง ๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	262.511	4	65.628	60.119	.000
Within Groups	10.916	10	1.092		
Total	273.427	14			

ตารางภาคผนวกที่ ช.8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วนต่าง ๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	33211.681	4	8302.920	87.480	.000
Within Groups	949.122	10	94.912		
Total	34160.803	14			

ตารางภาคผนวกที่ ช.9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรม บนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.004	2	.002	.189	.832
Within Groups	.069	6	.012		
Total	.074	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช.10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดสดของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงเห็ดนางรม บนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	37.931	2	18.966	24.087	.001
Within Groups	4.724	6	.787		
Total	42.655	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช.11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบน วัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	8330.740	2	4165.370	30.366	.001
Within Groups	823.028	6	137.171		
Total	9153.768	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช.12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรม บนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรียของปริมาณรำข้าวที่ร้อยละต่าง ๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	2.064	4	.516	34857.218	.000
Within Groups	.000	10	.000		
Total	2.064	14			

ตารางภาคผนวกที่ ช.13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดสดของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงเห็ดนางรม บนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ของปริมาณรำข้าวที่ร้อยละต่าง ๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	309.159	4	77.290	94.131	.000
Within Groups	8.211	10	.821		
Total	317.370	14			

ตารางภาคผนวกที่ ช.14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 ด้วยยูเรีย ของปริมาณรำข้าวที่ร้อยละต่าง ๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	25284.839	4	6321.210	51.705	.000
Within Groups	1222.556	10	122.256		
Total	26507.396	14			

ตารางภาคผนวกที่ ช.15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่าง ๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.489	2	.244	426.789	.000
Within Groups	.003	6	.001		
Total	.492	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช.16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักน้ำหนักของดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วนด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่าง ๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	25.209	2	12.604	6.669	.030
Within Groups	11.341	6	1.890		
Total	36.549	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช. 17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ปรับอัตราส่วนด้วยยูเรีย (C/N=20) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่าง ๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	2289.550	2	1144.775	5.116	.051
Within Groups	1342.541	6	223.757		
Total	3632.091	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช.18 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุง (PP) และกล่อง (PVC) โดยวิธี Paired T-test

	Mean	Std. Deviation	t	df	Sig (2-tailed)
Pair กล่อง -ถุง	.6214	.3213	-5.116	6	.002

ตารางภาคผนวกที่ ช.19 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักดอกเห็ดสดของดอกเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงเห็ดนางรมบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุง (PP) และกล่อง (PVC) โดยวิธี Paired T-test

	Mean	Std. Deviation	t	df	Sig (2-tailed)
Pair กล่อง -ถุง	1.7333	1.8431	-1.629	2	.245

ตารางภาคผนวกที่ ช. 20 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า BE ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุง (PP) และกล่อง (PVC) โดยวิธี Paired T-test

	Mean	Std. Deviation	t	df	Sig (2-tailed)
Pair กล่อง -ถุง	2.8600	17.7280	-.279	2	.806

ตารางภาคผนวกที่ ช. 21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า Total phenolics compound ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.623	2	.312	7.799	.021
Within Groups	.240	6	.040		
Total	.863	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช. 22 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี DPPH assay ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.007	2	.004	97538.147	.000
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.007	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช. 23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี ABTS assay ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.013	2	.006	.47404.773	.000
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.013	8			

ตารางภาคผนวกที่ ช. 24 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี FARP assay ของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะกรวยกระดาษต่อขี้เลื่อยไม้ยางพารา 75:25 (%w/w) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ค่า C/N เท่ากับ 20 ปรับด้วยยูเรีย ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.004	2	.002	22327.268	.000
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.004	8			

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวอามีเนาะ อาแย

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5210920027

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (สถิติ)	มหาวิทยาลัยทักษิณ	2552

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ปี พ.ศ. 2555 สัญญาเลขที่ ภค./2555-กท.8

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

อามีเนาะ อาแย และสุวิทย์ สุวรรณโณ. 2555. การใช้ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสจากกรวยกระดาษเพื่อการเพาะเห็ดนางรม ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50 ระหว่างวันที่ 31 มกราคม- 2 กุมภาพันธ์ 2555 ณ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

อามีเนาะ อาแย และสุวิทย์ สุวรรณโณ. 2555. การใช้ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสจากกรวยกระดาษเพื่อการเพาะเห็ดนางรม. ลองแล... งานวิจัยใน ม.อ. 4. สิงหาคม 2555. โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮาส์ กรุงเทพฯ. (78-80)