การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันเพื่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง(*Schizophyllum commune*) และการผลิตสาร Schizophyllan

Utilization of Empty Fruit Bunches and Oil Palm Frond Residues for *Schizophyllum commune* Cultivation and Schizophyllan Production

ไซนะ มูเล็ง

Saina Muleng

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
2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์	การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันเพื่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง(*Schizophyllum commune*) และการผลิตสาร Schizophyllan
ผู้เขียน	ไซนะ มูเล็ง
สาขาวิชา	การจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)

คณะกรรมการสอบ

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

…….....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เบญจมาส เชียรศิลป์)

……กรรมการ
(ดร.ชีระวิทย์ รัตนพันธ์)

……กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธันวดี สุขสาโรจน์)

……กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม

……

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านไว้ ณ ที่นี้

ลงชื่อ_____
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ_____
(น.ส.ไซนะ มูเล็ง)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ_____

(น.ส.ไซนะ มูเล็ง)

นักศึกษา

ชื่อโครงการวิจัย การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันเพื่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) และการผลิตสาร Schizophyllan

ผู้เขียน ไซนะ มูเล็ง

สาขา การจัดการสิ่งแวดล้อม

ปีการศึกษา 2555

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาถึงการนำวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันกลับมาใช้ประโยชน์เป็นวัสดุในการเพาะเลี้ยงเห็ดแครง เพื่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครงและการผลิตสาร Schizophyllan จากผลการทดสอบการเจริญเติบโต วิเคราะห์ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ และสาร Schizophyllan ของเชื้อเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่แยกจากตัวอย่างเห็ดแครงในแหล่งธรรมชาติใน 3 จังหวัดภาคใต้ของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดพัทลุง สงขลา และยะลา พบว่าเห็ดแครง S2 มีการเจริญเติบโตสูงสุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 9.0 เซนติเมตร มีปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์สูงสุดเท่ากับ 6.04 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และสาร Schizophyllan เท่ากับ 1.98 เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Anilin blue และเท่ากับ 4.19 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC จากผลการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดแครง 3 ไอโซเลต (S1, S2, Y3) บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันที่อัตราส่วน 100:0, 90:10, 80:20,70:30 และ60:40 ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 80 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 พบว่าเชื้อเห็ดแครงทั้ง 3 ไอโซเลต มีการเจริญเติบโตสูงสุด(น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ) เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วน (70:30) โดยที่เชื้อเห็ดแครง S2 มีการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ 1.44 กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ หลังจากเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) เท่ากับ 19 ด้วยรำข้าว และปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในภาชนะบรรจุกล่อง PVC (Polyvinyl chloride) ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง พบว่าเชื้อเห็ดแครง S2 ให้ค่า BE (biological efficiency : BE) เท่ากับร้อยละ 46.14 ดอกเห็ดสดเฉลี่ย

เท่ากับ 12.86 กรัม ดอกเห็ดมีสีขาวนวล ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 25 วัน และจากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ของดอกเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงในภาชนะบรรจุกล่อง PVC พบว่าสารโพลิแซคคาไรด์มีปริมาณสูงสุดเท่ากับ 12.73 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 60 นาที และสาร Schizophyllan มีปริมาณสูงสุดเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 120 นาที เท่ากับ 4.38 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Aniline blue และเท่ากับ 9.31 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่วิเคราะห์ด้วย HPLC

Thesis Title	Utilization of Empty Fruit Bunches and Oil Palm Frond Residues for *Schizophyllum commune* Cultivation and Schizophyllan Production
Author	Miss Saina Muleng
Major Program	Environmental management
Academic Year	2012

ABSTRACT

This research focuses on the study of empty fruit bunches and oil palm to be used as substrate for *Schizophylum commune* cultivation and Schizophyllan production. The result showed that mycelium growth polysaccharide and Schizophyllan analysis of *Schizophylum commune* 9 isolates from natural sources in the 3 southern provinces of Phatthalung, Songkhla and Yala in Thailand. *Schizophylum commune* S2 has the highest growth rate with a colony diameter of 9.0 cm, the maximum polysaccharide content of 6.04 mg/dry cell and Schizophyllan content of 1.98 mg/dry cell by aniline blue assay and 4.19 mg/dry cell of by HPLC assay. The 3 isolates (S1, S2, Y3) of *Schizophyllum commune* mycelium were cultivated on mixed substrate of empty fruit bunches and oil palm frond at the ratio of 100:0, 90:10, 80:20, 70:30 and 60:40. The initial moisture content was adjusted to 80 percent and initial spawn was adjusted to 5 percent. The result showed that 3 isolates of *Schizophyllum commune* had maximum growth (weight dry loss substrate) when cultivated on mixed substrate of empty fruit bunches and oil palm frond (70:30). S2 had the maximum growth of 1.44 g/100 g substrate. After the *Schizophyllum commune* S2 were cultivated on mixed substrate of empty fruit bunches and oil palm frond (70:30), the initial moisture content was adjusted to 60 percent, the carbon and nitrogen ratio (C/N) was adjusted to 19 by adding rice bran, and initial Spawn was adjusted to 5 percent on Polyvinyl chloride (PVC) container box had the optimum condition on the biomass *Schizophyllum commune* production. The result showed that the S2 gave maximum Biological Efficiency (BE) at 46.14 percentages and had average fresh weight of fruit body at 12.86 g. The fruit body obtained from cultivation was white at the 25th of cultivation time. The result from the studies of optimum conditions for polysaccharide extraction from *Schizophyllum commune* S2

cultivated in PVC container box gare the maximum polysaccharide of 12.73 mg/dry cell when extracted at 110 °C for 60 minutes. And the maximum *Schizophyllum commune* when extracted at 110 °C for 120 minutes was obtained 4.19 mg/dry cell by aniline blue assay and 9.32 mg/dry cell by HPLC assay.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์ช่วยเหลือเป็นอย่างดียิ่งจากหลายฝ่าย โดยเฉพาะผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุวิทย์ สุวรรณโณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาถ่ายทอดองค์ความรู้ แนวคิด และทักษะต่างๆ ด้านสิ่งแวดล้อม ตลอดจนคำปรึกษา คำแนะนำ ตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องปัญหา และอุปสรรคต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่ ห่วงใย ตลอดมา นอกจากนั้นยังต้องขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่กรุณาเสียสละเวลา มาเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ปี 2553

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช) ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ตามสัญญาเลขที่ ภค/2554-กท.76

ขอขอบพระคุณบริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์จำกัดสงขลา ที่ให้ความอนุเคราะห์ และอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างทะลายปาล์มเปล่า

ขอขอบพระคุณอาจารย์ และเจ้าหน้าที่ คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ทุกท่านๆที่ให้คำแนะนำ และอำนวยความสะดวกในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้จนสำเร็จได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณครอบครัว รวมทั้งเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจด้วยดีตลอดมา ความดีและคุณประโยชน์ที่ได้รับจากการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกๆท่าน

ไชนะ มูเล็ง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)
สารบัญตาราง	(13)
สารบัญตารางภาคผนวก	(15)
สารบัญรูป	(22)
สารบัญรูปภาคผนวก	(26)
บทที่ 1 บทนา	1
1.1 บทนำต้นเรื่อง	1
1.2 การตรวจเอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
1.2.1 สถานการณ์ทั่วไปเกี่ยวกับปาล์มน้ำมัน	3
1.2.2 วัสดุเหลือทิ้งปาล์มน้ำมัน	4
1.2.3 การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน	7
1.2.4 วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส	12
1.2.5 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส	12
1.2.6 การย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสโดยเชื้อรา	15
1.2.7 สารประกอบโพลิแซคคาไรด์	17
1.2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการเลี้ยงเห็ดและการผลิตโพลิแซคคาไรด์	18
1.2.9 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์จากเห็ด	26
1.2.10 Fluorescence spectrophotometer	27
1.2.11 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	29
1.2.12 การจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ด	30
1.2.13 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับเห็ดแครง	26
1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	37
1.4 ขอบเขตการวิจัย	37

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดาเนินการ	38
2.1 วัสดุ อุปกรณ์	38
2.2 วิธีวิจัย	40
2.2.1 การเก็บตัวอย่างเห็ด	40
2.2.2 การแยกเชื้อเห็ดแครงบริสุทธิ์	40
2.2.3 การทดสอบอัตราการเจริญเติบโต	40
2.2.4 การวิเคราะห์สารโพลิแซคคาไรด์	41
2. 2.5 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง และสารโพลิแซคคาไรด์	42
2.2.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะในการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์จากดอกเห็ดแครง	47
2.2.7 การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันที่ผ่านการเพาะเห็ดแครง	47
2.2.8 การวางแผนการทดลอง	47
บทที่ 3 ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง	
3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดแครงในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย	48
3.2 ผลการทดสอบการเจริญเติบโตของเห็ดแครงที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ	50
3.3 ผลการทดสอบการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครงบนอาหารแข็งเอสพีบีดี	53
3.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ และสาร Schizophyllan	56
3.4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์	56
3.5 ผลการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง และการผลิตสารโพลิแซคคาไรด์	60
3.5.1 ผลของอัตราส่วนวัสดุลิกโนเซลลูโลส (ทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน)	60
3.5.2 ผลของความชื้นในวัสดุเพาะเริ่มต้นต่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง	60

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5.3 ผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง	67
3.5.4 ผลของปริมาณเชื้อเริ่มต้นต่อการผลิตชีวมวลเห็ดแครง	76
3.5.5 ผลของภาชนะบรรจุต่อการผลิตชีวมวลเห็ดแครง	78
3.6ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะในการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์ และสาร Schizophyllan	81
3.6.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์	81
3.6.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาร Schizophyllan	82
3.7ผลการวิเคราะห์ปริมาณ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในวัสดุเพาะเห็ดทะลายปาล์มและทางใบปาล์มน้ำมันก่อนเพาะ และหลังจากเพาะเห็ดแครง	84
บทที่ 4 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	86
4.1 สรุปผลการทดลอง	86
4.2 ข้อเสนอแนะ	87
เอกสารอ้างอิง	88
ภาคผนวก	98
ประวัติผู้เขียน	140

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการสกัดปาล์มน้ำมัน	5
1.2	ปริมาณธาตุอาหารในเถ้าทะลายปาล์มเปล่า	9
1.3	แสดงอุณหภูมิและแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยและการออกดอกขอเห็ด แต่ละชนิด	22
1.4	คุณสมบัติของวัสดุอินทรีย์ที่สามารถนำมาผลิตปุ๋ยอินทรีย์ได้	31
2.1	อัตราส่วนของวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดแครง	42
3.1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดแครงในแต่ละพื้นที่เก็บตัวอย่าง	48
3.2	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแครงสายพันธุ์ภาคใต้ 9 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ภายใต้สภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 14 วัน	53
3.3	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแครง 9 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเอสพีบีดี ภายใต้สภาวะมืดอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 8 วัน	54
3.4	ระยะเวลาการเจริญและผลผลิตเห็ด ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย	71
3.5	ระยะเวลาการเจริญและผลผลิตเห็ด ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วย NH_4Cl	71
3.6	ระยะเวลาการเจริญและผลผลิตเห็ด ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว	72
3.7	ตารางเปรียบเทียบระยะเวลาการเจริญและผลผลิตเห็ด ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วย ยูเรีย รำข้าว และ NH_4Cl	72

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.8	ระยะเวลาการเจริญ และผลผลิตเห็ดเมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นระดับต่างๆ	77
3.9	ระยะเวลาการเจริญและผลผลิตเห็ดที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในภาชนะบรรจุกล่อง (PVC) และถุงพลาสติก (PP)	80
3.10	ปริมาณธาตุอาหาร ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในวัสดุเพาะเห็ดทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันก่อนเพาะ และหลังเพาะเห็ดแครง	85

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ก.1	การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	98
ก.2	อัตราส่วนการผสมของสาร Total Fluorescence	100
ก.3	อัตราส่วนการผสมของสาร Auto Fluorescence	100
ก.4	การเตรียมสารละลายมาตรฐาน β-1,3-D-glucan ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	96
ข.1	องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ด	107
ข.2	องค์ประกอบทางเคมี และปริมาณยูเรียที่ใช้ในการปรับอัตราส่วน C/N ระดับต่างๆ	108
ข.3	องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณ NH_4Cl ที่ใช้ในการปรับอัตราส่วน C/N ระดับต่างๆ	108
ข.4	องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณรำข้าวที่ใช้ในการปรับอัตราส่วน C/N ระดับต่างๆ	108
ค.1	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเห็ดแครง ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 20 วัน	109
ค.2	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง เอสพีบีดี ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	109
ง.1	การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครง S1 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะ ทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก	110
ง.2	น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก	111
ง.3	น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง Y3 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก	112

สารบัญตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ง.4	ความยาวของเส้นใยเห็ด S1 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมันในหลอดทดลอง	112
ง.5	ความยาวของเส้นใยเห็ด S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมันในหลอดทดลอง	113
ง.6	ความยาวของเส้นใยเห็ด Y3 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันในหลอดทดลอง	113
ง.7	น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ที่ระดับความชื้นต่างๆ	114
ง.8	น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะ ทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย	115
ง.9	น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วย NH_4Cl	115
ง.10	น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยรำข้าว	116
ง.11	น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเริ่มต้นระดับต่างๆ	116
ง.12	น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในกล่อง (PVC) และถุงพลาสติก (PVC)	117

สารบัญตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ง.13	ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง12 วัน ด้วยวิธี Phenol sulfuric colorimetric	117
ง.14	ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะ ในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆกัน วิเคราะห์ด้วยวิธี Phenol sulfuric colorimetric	118
ง.15	ปริมาณสาร Schizophyllan ของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ทีเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน ด้วยวิธี Aniline blue	115
ง.16	ปริมาณสาร Schizophyllan ของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน ด้วยวิธี Aniline blue	119
ง.17	ปริมาณสาร Schizophyllan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆกัน วิเคราะห์ด้วยวิธี Aniline blue	119
ง.18	ปริมาณสาร Schizophyllan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆกัน วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC	120
ฉ.1	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ เส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	128
ฉ.2	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเอสพีบีดี ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	128

สารบัญตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ฉ.3	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S1 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก	128
ฉ.4	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก	129
ฉ.5	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง Y3 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนต่างๆความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก	129
ฉ.6	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S1 บนทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนต่างๆความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในหลอดทดลอง	129
ฉ.7	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนต่างๆ ความชื้นร้อยละ 80 ในหลอดทดลอง	130
ฉ.8	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง Y3 บนทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนต่างๆ ความชื้นร้อยละ 80 ในหลอดทดลอง	130
ฉ.9	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 ทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ที่ระดับความชื้นต่างๆ	130
ฉ.10	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย	131

สารบัญตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ฉ.11	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้น เริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย	131
ฉ.12	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้น เริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย	131
ฉ.13	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วย NH_4Cl	132
ฉ.14	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วย NH_4Cl	132
ฉ.15	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วย NH_4 Cl	132
ฉ.16	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยรำข้าว	133
ฉ.17	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยรำข้าว	133
ฉ.18	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยรำข้าว	133

สารบัญตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ **หน้า**

ฉ.19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนดอกเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย รำข้าว และNH_4Cl 134

ฉ.20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย รำข้าว และNH_4Cl 134

ฉ.21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์ม น้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่างๆ 134

ฉ.22 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักน้ำหนักของดอกเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่างๆ 135

ฉ.23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่างๆ 135

ฉ.24 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุง (PP) และกล่อง (PVC) โดยวิธี Paired T-test 135

ฉ.26 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า BE ของเห็ดแครง S2 เพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30)ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุง (PP) และกล่อง (PVC) โดยวิธี Paired T-test 136

สารบัญตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ฉ.27	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	136
ฉ.28	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร Schizophyllan ของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน ด้วยวิธีAniline blue	137
ฉ.29	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร Schizophyllan ของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วันด้วยวิธี HPLC	137
ฉ.30	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ของ เห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างกัน ด้วยวิธี Phenol sulfuric colorimetric	137
ฉ.31	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสาร Schizophyllan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างกัน ด้วยวิธี Aniline blue	138
ฉ.32	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสาร Schizophyllan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆกัน ด้วยวิธี HPLC	138

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	แสดงถึงประเทศส่งออกน้ำมันปาล์มในปี 2005	4
1.2	กระบวนการสกัดน้ำมันปาล์ม	6
1.3	ขั้นตอนการผลิตปุ๋ยหมักจากวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่า	8
1.4	ขั้นตอนการเพาะเห็ดฟาง	10
1.5	องค์ประกอบของวัสดุลิกโนเซลลูโลส	13
1.6	โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส	13
1.7	โครงสร้างทางเคมีของเซลลูไบโอส	14
1.8	แสดงโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส	15
1.9	แสดงถึงโครงสร้างทางเคมีของลิกนิน	15
1.10	ผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของวัสดุเพาะวัสดุเพาะฟางข้าวโอ๊กรำข้าวโอ๊ก และกากเนื้อมะพร้าวต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม	23
1.11	การเพาะเห็ดในภาชนะบรรจุชนิดต่างๆ	25
1.12	ลักษณะทั่วไปของเห็ดแครง	33
1.13	โครงสร้างทางเคมีของเบต้ากลูแคน (Schizophyllan)	35
2.1	ขั้นตอนการเตรียมวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า	43
2.2	ขั้นตอนการเตรียมวัสดุเพาะทางใบปาล์มน้ำมัน	44
2.3	การเตรียมภาชนะบรรจุในการหมัก	47
3.1	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแครงสายพันธุ์ภาคใต้ 9 ไอโซเลตเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอภายใต้สภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 วัน	51
3.2	ลักษณะการเจริญเติบโตของโคโลนีเห็ดแครงสายพันธุ์ภาคใต้ 9 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอภายใต้สภาวะมืดอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 14 วัน	52
3.3	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเอสพีบีดี ภายใต้สภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	54

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.4	ลักษณะการเจริญเติบโตของโคโลนีเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเอสพีบีดี ภายใต้สภาวะมืดอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 8 วัน	55
3.5	เปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแครง 9ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารพีดีเอและเอสพีบีดี ภายใตสภาวะมืดอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 8 วัน	56
3.6	ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ของตัวอย่างเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เอสพีบีดี เป็นเวลา 12 วัน ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี Phenol sulfuric colorimetric	57
3.7	ปริมาณสาร Schizophyllan ของตัวอย่างเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี 12 วัน ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี Aniline blue และ HPLC	59
3.8	น้ำหนักแห้งที่หายไป ของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S1 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80ในถุงพลาสติก	62
3.9	น้ำหนักแห้งที่หายไป ของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก	62
3.10	น้ำหนักแห้งที่หายไป ของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง Y3 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก	63
3.11	ความยาวของเส้นใยเห็ดแครง S1 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์ม อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80ในหลอดทดลอง	63
3.12	ความยาวของเส้นใยเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์ม อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80ในหลอดทดลอง	64

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.13	ความยาวของเส้นใยเห็ดแครง Y3 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์ม อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80ในหลอดทดลอง	64
3.14	ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มอัตราส่วน 70:30 ความชื้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก (ก) และหลอดทดลอง(ข)	65
3.15	น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์ม (70:30) ปรับความชื้นระดับต่างๆ	66
3.16	ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ปรับความชื้นเริ่มต้นระดับต่างๆ	67
3.17	น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม (70:30) ความชื้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย	69
3.18	น้ำหนักแห้งของที่หายไปวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยรำข้าว	70
3.19	น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ปรับอัตราส่วนอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วย NH_4Cl	70
3.20	ลักษะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย	73
3.21	ลักษะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ระดับต่างๆ ด้วย NH_4Cl	74

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.22	ลักษะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยรำข้าว	75
3.23	น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม เปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นระดับต่างๆ	77
3.24	ลักษะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นระดับต่างๆ	78
3.25	น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในกล่อง (PVC) และถุงพลาสติก (PP)	79
3.26	ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในกล่อง (PVC) และถุงพลาสติก (PP)	80
3.27	ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์เห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆกัน วิเคราะห์ด้วยวิธี Phenol sulfuric colorimetric	82
3.28	ปริมาณสาร Schizophyllan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆกันวิเคราะห์ด้วยวิธี Aniline blue และ HPLC	83
ก.1	กราฟมาตรฐาน Glucose วิเคราะห์ด้วยวิธี Phenol Sulfuric colorimetric	99
จ.1	ลักษณะกราฟมาตรฐานของสาร β-glucan	121

สารบัญรูปภาคผนวก

รูปภาคผนวกที่		หน้า
ก.1	กราฟมาตรฐาน Glucose วิเคราะห์ด้วยวิธี Phenol Sulfuric colorimetric	99
จ.1	ลักษณะกราฟมาตรฐานของสาร β-glucan	121
จ.2	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของตัวอย่างเห็ดแครง P1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	121
จ.3	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของตัวอย่างเห็ดแครง P2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	122
จ.4	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของตัวอย่างเห็ดแครง P3 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	122
จ.5	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของตัวอย่างเห็ดแครง S1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	122
จ.6	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของตัวอย่างเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	123
จ.7	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของตัวอย่างเห็ดแครง S3 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	123
จ.8	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของตัวอย่างเห็ดแครง Y1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	123
จ.9	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของตัวอย่างเห็ดแครง Y2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	124

สารบัญรูปภาคผนวก(ต่อ)

รูปภาคผนวกที่		หน้า
จ.10	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของตัวอย่างเห็ดแครง Y3 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน	124
จ.11	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 60 นาที	124
จ.12	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 90 นาที	125
จ.13	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 120 นาที	125
จ.14	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 60 นาที	125
จ.15	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 60 นาที	126
จ.16	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 90 นาที	126
จ.17	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 120 นาที	126
จ.18	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 60 นาที	126
จ.19	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 90 นาที	127
จ.20	ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 120 นาที	127

คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ

HPLC = High performance liquid chromatography

SPBD = Sweet Potato Peptone Vitamin B_6 $CaCl_2$ Dextrose

BE = Biological efficiency

C = Carbon

N = Nitrogen

P = Phosphorus

K = Potassium

Ca = Calcium

Mg = Magnesium

Mo = Molybdenum

B = Boron

Cu = Copper

Mn = Manganese

Zn = Zinc

Cl = Chloride

$NaCO_3$ = Sodium carbonate

PVC = Polyvinyl chloride

PP = Polypropylene

CO_2 = Carbon dioxide

CO = Carbon monoxide

SO_2 = Sulfurdioxide

DO = Dissolved Oxygen

IPS = Inerpolysachar

EPS = Exopolysacharide

FMN = Flavin mono-nucleotide

FAD = Flavin adenine dinucleotide

CRD = Completely Randomized Design

บทที่ 1
บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากปาล์มน้ำมันเป็นพืชชนิดเดียวที่ให้ผลผลิตน้ำมันต่อหน่วยพื้นที่มากกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ และสามารถปลูกได้เฉพาะในเขตร้อนชื้นเท่านั้น ประเทศที่เป็นผู้ผลิตน้ำมันปาล์มดิบมากที่สุดของโลกปี 2555 คือ ประเทศอินโดนีเซีย มาเลเซีย ไทย โคลัมเบีย และไนจีเรีย ตามลำดับ ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันมากในจังหวัดทางภาคใต้ และมีอัตราการขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ผลผลิตน้ำมันปาล์มในประเทศไทยมากกว่าร้อยละ 80 ผลิตเพื่อตอบสนองความต้องการภายในประเทศ โดยสามารถแบ่งการใช้น้ำมันปาล์มออกเป็น 3 ส่วนหลักๆ คือ ใช้เพื่อการบริโภค (ร้อยละ 60)ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานทดแทน (ร้อยละ 28) และใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่อเนื่องต่างๆ (ร้อยละ 13) ในกระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มนอกจากได้วัตถุดิบที่เป็นน้ำมันปาล์มดิบแล้ว ยังมีวัสดุเหลือทิ้งเกิดขึ้น ซึ่งจะเกิดขึ้นตั้งแต่กระบวนการผลิตทางการเกษตร และจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มดิบในโรงงานอุตสาหกรรม วัสดุเหลือทิ้งที่เกิดจากกระบวนการผลิตทางการเกษตร ได้แก่ ทางใบปาล์มเกิดขึ้นจากขั้นตอนการตัดแต่งต้นปาล์ม และจากการเก็บเกี่ยวผลผลิต มีปริมาณสูงถึง 2,400,000 ตันต่อปี วัสดุเหลือทิ้งทางใบปาล์มน้ำมันดังกล่าวส่วนใหญ่ถูกนำกลับมาใช้เป็นวัสดุคลุมโคนต้นปาล์ม ใช้เป็นอาหารสัตว์ ทำให้มีวัสดุเหลือทิ้งจำนวนมากที่ถูกทิ้งไว้อย่างไร้ประโยชน์ และจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มดิบก่อให้เกิดวัสดุเหลือทิ้งได้แก่ เส้นใยปาล์ม กะลาปาล์ม เมล็ดในปาล์ม และทะลายปาล์มเปล่า ซึ่งทะลายปาล์มเปล่าเป็นวัสดุเหลือทิ้งที่มีปริมาณสูง เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุเหลือทิ้งอื่นๆที่เกิดขึ้นจากกระบวนการสกัดโดยปริมาณสูงถึง 2,000,000 ตันต่อปี (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2555; สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2551) วัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าที่เหลือทิ้งถูกกองทิ้งไว้จะมีน้ำมันหลงเหลืออยู่ เมื่อฝนตกน้ำมันจะถูกชะล้างออกมาปะปนกับน้ำฝนไหลลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในแหล่งน้ำโดยจะกีดขวางการส่องผ่านของแสงแดดสู่แหล่งน้ำซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการสังเคราะห์แสงของพืช ทำให้ออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ลดลง และกีดขวางการหมุนเวียนอากาศในแหล่งน้ำ ส่งผลกระทบต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ นอกจากนี้ทะลายปาล์มเปล่าที่กองทิ้งไว้เป็นจำนวนมากจะทำให้เกิดการหมักโดยจุลินทรีย์ก่อให้เกิดกลิ่นเหม็น และมีทัศนียภาพที่ไม่ดี ปัจจุบันมีการจัดการวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มและทาง

ใบปาล์มในรูปแบบต่างๆ เช่น ผลิตพลังงาน เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ และนำวัสดุดังกล่าวมาผ่านกระบวนการทางชีวภาพโดยอาศัยเชื้อราในการแปรสภาพและย่อยสลาย กลุ่มของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวได้ดี และรวดเร็ว คือ กลุ่มของเห็ด เช่น เห็ดฟาง เห็ดตระกูลนางรม เห็ดแครง เห็ดกระดุม ซึ่งเห็ดดังกล่าวจะเปลี่ยนวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าไปเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต (กรมควบคุมมลพิษ, 2553; Sanchez, 2009)

กลูแคน (Glucan) คือ สารประกอบประเภทโพลิแซคคาไรด์ เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช รา และจุลินทรีย์บางชนิดในขณะที่เจริญเติบโต ซึ่ง Glucan มีคุณสมบัติทางเภสัชศาสตร์ และถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์โดยเฉพาะ β -1,3-Glucan และ β-1,6-Glucan แหล่งของ β-Glucan ที่สำคัญได้แก่ ยีสต์ มีปริมาณสูงถึงร้อยละ 70 รองลงมาคือ เห็ดตระกูลหลินจือ มีปริมาณร้อยละ 50 และข้าวบาเลย์มีปริมาณร้อยละ 11 (Manz and Pizzoferrato, 2000; Demirbas, 2005) ซึ่ง β-Glucan ที่สกัดได้จากยีสต์ และเห็ดตระกูลนางรมมีราคาแพงจึงทำให้คนที่มีฐานะเท่านั้นที่สามารถบริโภคได้ ส่วนเห็ดแครงเป็นเห็ดที่พบได้โดยทั่วไปในท้องถิ่นมีคุณค่าทางอาหารสูงมีสาร β-Glucan ที่มีชื่อว่า Schizophyllan ซึ่งมีคุณสมบัติทางเภสัชศาสตร์ในการเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย มีคุณสมบัติในการรักษาโรคมะเร็งเมื่อใช้ร่วมกับยา (Chemotheraphy) และการฉายรังสี (Radiotheraphy) นอกจากนั้นยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Aaejoye *et al*., 2007; Kumari *et al*., 2008) ดังนั้นหากมีงานวิจัยที่สามารถสนับสนุนเกี่ยวกับเห็ดแครงถึงคุณสมบัติที่สำคัญทางเภสัชศาสตร์ในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย และป้องกันการเกิดและรักษาโรคมะเร็งได้ น่าจะเป็นช่องทางหนึ่งที่จะส่งเสริมให้ประชาชนบริโภคเห็ดแครงเพื่อสุขภาพเพิ่มขึ้น และยังสามารถเป็นแหล่งของ β-Glucan ที่มีราคาที่ถูกกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ β-Glucan ที่สกัดได้จากเห็ดตระกูลหลินจือ ซึ่งประชาชนทั่วไปสามารถซื้อบริโภคได้ อีกทั้งเห็ดแครงในแหล่งธรรมชาติปัจจุบันมีน้อยลง ส่งผลให้เห็ดแครงเป็นเห็ดอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ประกอบกับการนำวัสดุเหลือทิ้งจากปาล์มน้ำมันและอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันมาใช้ประโยชน์โดยใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดแครงสามารถช่วยลดปริมาณวัสดุเหลือทิ้งทางใบปาล์มและทะลายปาล์มเปล่าที่เกิดขึ้นได้ เนื่องจากเห็ดแครงสามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวไปเป็นสารอาหารในการสร้างเซลล์ในกระบวนการเจริญเติบโต ดังนั้นจึงสามารถนำวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวใช้เป็นวัสดุในการเพาะเลี้ยงเห็ดแครงเพื่อผลิตสารโพลิแซคคาไรด์ได้ นอกจากนั้นยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้ง และสามารถลดต้นทุนในการผลิตเห็ดเนื่องจากวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวมีราคาถูก ซึ่งปัจจุบัน

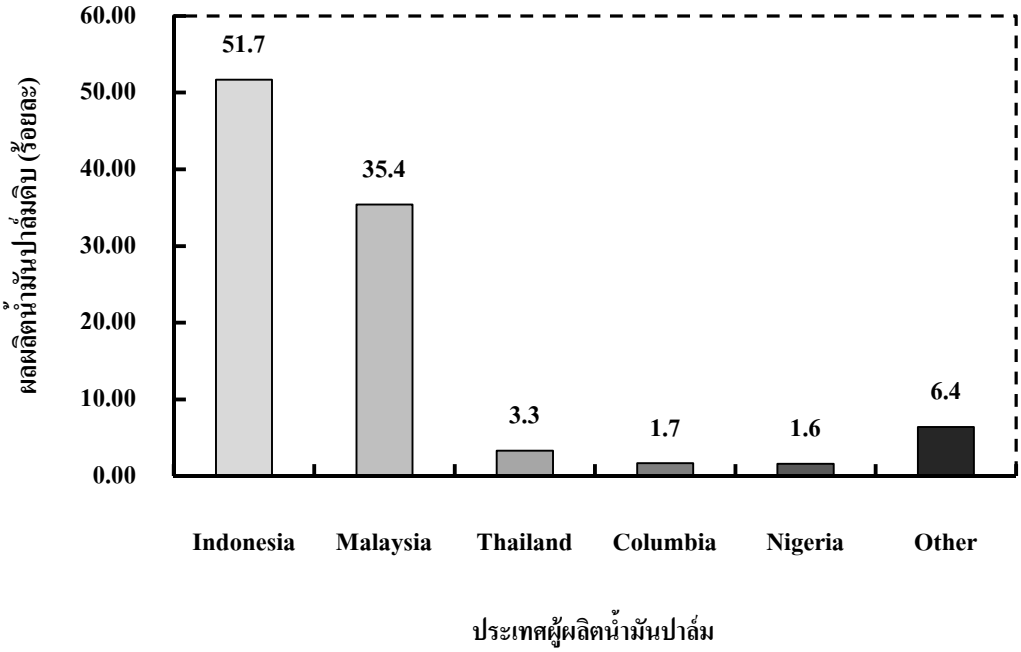
วัสดุเหลือทิ้งทางใบปาล์มน้ำมันมีจำนวนเพิ่มขึ้น และถูกนำกลับมาใช้ประโยชน์น้อย ประกอบกับขี้เลื่อยซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักในการเพาะเห็ด ปัจจุบันมีราคาแพง ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตปาล์มน้ำมันได้แก่ ทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันกลับมาใช้ประโยชน์โดยนำมาใช้เป็นวัสดุในการเพาะเลี้ยงเห็ดแครง เพื่อเป็นวัสดุทางเลือกใหม่ในการเพาะเห็ดทั้งยังช่วยลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงเห็ด เนื่องจากวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวมีราคาถูก โดยงานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเห็ดแครง และสารโพลิแซคคาไรด์ของเห็ดแครงสายพันธุ์พื้นเมืองที่สุ่มเก็บตัวอย่างจากจังหวัดพัทลุง สงขลา และยะลา ที่มีคุณสมบัติในทางเภสัชศาสตร์โดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร Schizophyllan (β-1,3-Glucan) ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเศษเหลือทิ้งปาล์มน้ำมัน

1.2 การตรวจเอกสาร

1.2.1 สถานการณ์ทั่วไปเกี่ยวกับปาล์มน้ำมัน

อาเซียนเป็นแหล่งผลิตน้ำมันปาล์มหลักของโลก มีประเทศอินโดนีเซีย และมาเลเซีย เป็นประเทศผู้ผลิตรายใหญ่ โดยผลผลิตน้ำมันปาล์มดิบที่ผลิตได้ในปี 2555 มีปริมาณประมาณ 27 ล้านตัน คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 51.7 และ 18 ล้านตัน คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 35.4 ปริมาณผลผลิตรวมกันมากกว่าร้อยละ 87 ของปริมาณผลผลิตน้ำมันปาล์มทั้งหมด ส่วนประเทศไทยเป็นผู้ผลิตที่สำคัญเป็นอันดับสามรองลงมาจากประเทศอินโดนีเซีย และมาเลเซีย โดยที่ประเทศไทยผลิตน้ำมันปาล์มดิบได้ประมาณ 1.9 ล้านตัน คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 3.3 ของปริมาณผลผลิตน้ำมันปาล์มดิบทั้งหมด (รูปที่ 1.1) ในประเทศไทยปาล์มน้ำมันนับว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ ปัจจุบันจำนวนเกษตรกรผู้ปลูกปาล์มน้ำมันมีมากกว่า 1.28 แสนครัวเรือน มีพื้นที่เพาะปลูก และพื้นที่ให้ผลผลิตประมาณ 4.28 และ 3.98 ล้านไร่ ตามลำดับ การผลิตน้ำมันปาล์มดิบของไทยในปี 2555 มีแนวโน้มขยายตัวร้อยละ 5-7 จากปีก่อนหน้า ส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากภาครัฐได้มีการดำเนินยุทธศาสตร์ปาล์มน้ำมันในช่วงปี 2551-2555 เพื่อเร่งผลักดันให้เกษตรกรขยายพื้นที่เพาะปลูกปาล์มน้ำมันเพิ่มผลผลิตน้ำมันปาล์มดิบเพื่อรองรับกับยุทธศาสตร์พลังงานทดแทน และลดความเสี่ยงที่จะเกิดขึ้นต่อความมั่นคงทาง ด้านอาหารของประเทศประกอบกับราคาผลปาล์มดิบในช่วง 4 ปีที่ผ่านมาปรับตัวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากเดิมที่มีราคาเฉลี่ยกิโลกรัมละ 4 บาทในปี 2552 ปรับขึ้นเป็นกิโลกรัมละ 6 บาทในปี 2555 เนื่องจากปาล์มน้ำมันเป็นพืชน้ำมันที่มีส่วนแบ่งทางการตลาดสูงกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ โดยมีส่วนแบ่งทางการตลาดสูงถึงร้อยละ 58 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของปาล์มน้ำมันในประเทศไทย รองลงมาคือถั่วเหลือง มีส่วนแบ่งทางการตลาดร้อยละ 21 ในประเทศ

ไทยผลผลิตน้ำมันปาล์มส่วนใหญ่กว่าร้อยละ 80 ผลิตเพื่อตอบสนองความต้องการภายในประเทศ โดยสามารถแบ่งการใช้น้ำมันปาล์มออกเป็น 3 ส่วน คือ ใช้เพื่อการบริโภค (ร้อยละ 60) ทั้งในรูปแบบของน้ำมันพืชที่ใช้ในการประกอบอาหาร และใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานทดแทน (ร้อยละ 28) สามารถช่วยลดการใช้น้ำมันดีเซลในการเพิ่มความมั่นคงทางด้านพลังงานให้กับประเทศ อีกทั้งยังจะช่วยลดปัญหาผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อมอีกด้วย และเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่อเนื่องต่างๆ (ร้อยละ 13) เช่น สบู่ ผงซักฟอก เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์เคมีภัณฑ์ต่างๆ และอาหารสัตว์(ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2555 ; กรมการค้าภายใน, 2555;สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2555)



รูปที่ 1.1 ประเทศผู้ผลิตน้ำมันปาล์มที่สำคัญของโลก
ที่มา: ศูนย์วิจัยกสิกรไทย (2555)

1.2.2 วัสดุเหลือทิ้งปาล์มน้ำมัน

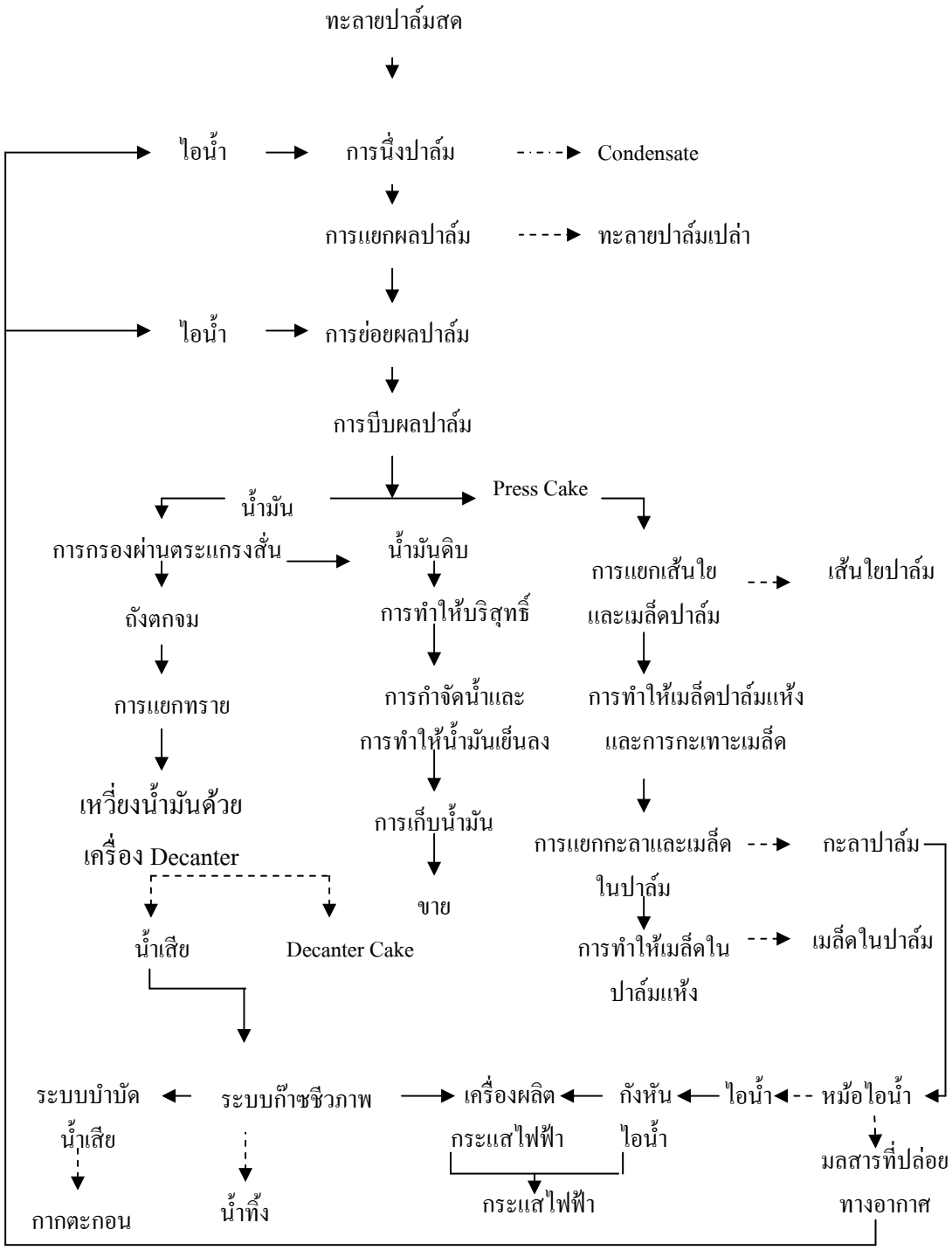
เนื่องจากปาล์มน้ำมันเป็นสินค้าทางการเกษตรที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวางและหลากหลายทั้งสินค้าบริโภคและอุปโภค ดังนั้นจึงมีการเพิ่มประสิทธิภาพและขยายพื้นที่ปลูกในพื้นที่นาร้าง ไร่ร้าง และพื้นที่เสื่อมโทรมจากการขยายพื้นที่เพาะปลูกทำให้ได้ผลผลิตที่เพิ่มขึ้นนอกจากผลผลิตที่เพิ่มขึ้นยังก่อให้เกิดวัสดุเหลือทิ้งที่เพิ่มขึ้น ได้แก่ ทางใบปาล์มน้ำมันซึ่งจะ

เกิดขึ้นจากขั้นตอนการตัดแต่งต้นปาล์ม และขั้นตอนการเก็บเกี่ยวผลผลิต โดยปกติเกษตรกรจะตัดทางใบปาล์มน้ำมันออกทุกๆ 15-20 วัน ทำให้มีวัสดุเหลือทิ้งทางใบปาล์มในปริมาณ 2,400,000 ตันต่อปี ซึ่งทางใบปาล์มเป็นวัสดุเหลือทิ้งที่มีองค์ประกอบของโปรตีน เยื่อใย และไขมัน โดยมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 5 เยื่อใยร้อยละ 38.5 ไขมันร้อยละ2.1 น้ำตาลร้อยละ 46.2 นอกจากนั้นกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มดิบเป็นกระบวนการที่ก่อให้เกิดวัสดุเหลือทิ้งอาทิเช่น ทะลายปาล์มเปล่า เส้นใยปาล์ม กะลาปาล์ม ตะกอนดีแคนเตอร์ เป็นต้น (รูปที่ 1.2) วัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าที่เกิดจากกระบวนการแยกผลปาล์มมีปริมาณสูงถึง 2,000,000 ตันต่อปี จากผลปาล์มน้ำมันสดทั้งทะลายที่ป้อนเข้าสู่กระบวนการสกัดทั้งหมด 7,200,000 ตันต่อปี เส้นใยปาล์มที่เกิดจากการแยกเส้นใยมีปริมาณสูงถึง 800,000 ตันต่อปี กะลาปาล์มที่เกิดจากขั้นตอนการแยกเมล็ดในปาล์มน้ำมันมีปริมาณ 460,000 ตันต่อปี และกากตะกอนดีแคนเตอร์ที่เกิดขึ้นจากขั้นตอนการเหวี่ยงน้ำมันด้วยดีแคนเตอร์มีปริมาณ 1,800,000 ตันต่อปี (ธีระ เอกสมทราเมษ และคณะ, 2551) โดยวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวมีองค์ประกอบของธาตุอาหารต่างๆดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการสกัดปาล์มน้ำมัน

วัสดุเหลือทิ้ง	N	P	Ca	C	Mg	K	B	Zn
	%	%	%	%	%	%	mg/kg	mg/kg
ทะลายปาล์ม[1]	0.8	0.06	0.25-0.36	42.0	0.2	2.4	10-13	23.0
เส้นใยปาล์ม[2]	1.1	1.7-6.6	7.0	45.2	0.49	17-25	3.63	-
กะลาปาล์ม[2]	0.4	0.07	0.24	49.7	0.24	2.20	5.84	-
ตะกอนดีแคนเตอร์[3]	2.37	0.28	-	44.69	-	0.85	-	-
ทางใบปาล์ม[4]	0.9	0.02	1.4	49.0	0.2	0.2	4.0	3.0

ที่มา : [1]กรมพัฒนาที่ดิน (2548); [2]Akpanabiatu และคณะ (2001); [1]Saletes และคณะ (2004); [3]วธิดา คะนะแนม (2552); [4]Zahari และคณะ (2012)



รูปที่ 1.2 กระบวนการสกัดน้ำมันปาล์ม → กระบวนการ --→ วัสดุเหลือทิ้ง

ที่มา: ธีระ เอกสมทราเมษ และคณะ (2551)

1.2.3 การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน

ทะลายปาล์มเปล่า คือ และทางใบปาล์มน้ำมันเป็นวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสที่เกิดจากการเพาะปลูกปาล์มน้ำมันและจากกระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มที่มีปริมาณสูงเมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุเหลือทิ้งอื่นๆ เช่นต้นปาล์ม เส้นใยปาล์ม กะลาปาล์ม และเมล็ดในปาล์ม ปัจจุบันวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าดังกล่าวถูกนำไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่างๆ เช่น อาหารสัตว์ ปุ๋ยหมัก วัสดุสำหรับเพาะเห็ด และผลิตพลังงาน ส่วนของทางใบปาล์มน้ำมันจะถูกนำกลับมาใช้ประโยชน์น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับทะลายปาล์มเปล่า และวัสดุเหลือทิ้งอื่นๆที่เหลือทิ้งจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์ม โดยส่วนใหญ่จะใช้เป็นวัสดุคลุมดิน และใช้เป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ ซึ่งทางใบปาล์มน้ำมันที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มในแต่ละปีที่มีปริมาณสูง ส่งผลทำให้มีวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันถูกกองทิ้งไว้โดยไม่ได้นำไปใช้ประโยชน์อยู่อีกเป็นจำนวนมาก (วิโชติ จงรุ่งโรจน์, 2550; ธีระ เอกสมทราเมษ และคณะ, 2551; Luis, 2009)

1.2.3.1 ผลิตปุ๋ย

เนื่องจากวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์ม มีธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) และธาตุอาหารอื่นๆ ดังนั้นทะลายปาล์มเปล่าจึงสามารถนำมาผลิตปุ๋ยอินทรีย์ โดยมีขั้นตอนในการผลิตเริ่มจากนำเศษทะลายปาล์มมาสับเป็นชิ้นให้ละเอียด จากนั้นนำไปคลุกเคล้าผสมกับตะกอนน้ำมันปาล์มก่อนที่จะฉีดเชื้อจุลินทรีย์ลงไป เพื่อเป็นตัวเร่งการย่อยสลายเศษทะลายปาล์มเปล่า บ่มในห้องบ่มทิ้งไว้ประมาณ 2 เดือน (รูปที่1.4 ก) กลับกองปุ๋ยทุกๆ 15 วัน เปิดกองปุ๋ยออก (รูปที่ 1.4ข) แล้วนำไปอบให้แห้ง นำปุ๋ยอินทรีย์ที่ผ่านการอบแห้งแล้วเข้าเครื่องร่อนคัดขนาดเพื่อให้ได้เนื้อปุ๋ยอินทรีย์ที่ละเอียดและขนาดเท่ากันก่อนนำมาเข้าเครื่องบรรจุกระสอบเพื่อจำหน่ายต่อไป (รูปที่ 1.3 ค) ส่วนกากที่เหลือนำกลับเข้าสู่ขั้นตอนการหมักด้วยจุลินทรีย์ใหม่ ซึ่งใช้ระยะเวลาดำเนินการประมาณ 2 เดือน (รูปที่ 1.4 ง) จากการทดลองพบว่าปุ๋ยอินทรีย์ที่ผลิตจากทะลายปาล์มเปล่าดังกล่าวเป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับพืชเกษตรโดยเฉพาะปาล์มน้ำมัน ยางพารา และกาแฟ (ธีระพงศ์ จันทรนิยม, 2551; สุรัตน์ อัตตะ, 2553) ทะลายปาล์มเปล่าที่เหลือจากกระบวนการสกัดน้ำมันเมื่อนำไปเผาจะได้ขี้เถ้าเป็นจำนวนมาก ขี้เถ้าที่ได้จากการเผาสามารถนำไปใช้เป็นปุ๋ย เนื่องจากมีปริมาณธาตุอาหารโพแทสเซียมในปริมาณที่สูง (ตารางที่ 1.2) แต่ในกระบวนการเผาจะก่อให้เกิดฝุ่นและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) และคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) ที่เป็น

ไนโตรเจนจากแหล่งต่างๆ เช่น มูลไก่ แต่ปัจจุบันมูลไก่มีราคาเพิ่มขึ้น ดังนั้นสามารถใช้กากตะกอนดีแคนเตอร์ เป็นแหล่งไนโตรเจนทดแทนมูลไก่ได้ซึ่งอัตราส่วนในการหมัก คือ ทะลายปาล์มเปล่า 1.3 กิโลกรัมน้ำหนักเปียกต่อกากตะกอนดีแคนเตอร์ 2.3 กิโลกรัมน้ำหนักเปียก

ตารางที่ 1.2 ปริมาณธาตุอาหารในเถ้าทะลายปาล์มเปล่า

ธาตุอาหาร	ร้อยละ (น้ำหนักแห้ง)
โพแทสเซียม (K)	2.52
แคลเซียม (Ca)	0.38
โซเดียม (Na)	0.004
ซัลเฟอร์ (S)	0.036
ซิลิกอน (Si)	0.31
คลอไรด์ (Cl)	0.37

ที่มา: ฐานิตย์ เมธิยานนท์ และคณะ (2553)

1.2.3.2 วัสดุในการเพาะเห็ด

ทะลายปาล์มเปล่าที่เหลือทิ้งจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มสามารถนำมาใช้เป็นวัสดุในการเพาะเห็ดฟาง มีขั้นตอนในการเพาะ คือนำทะลายปาล์มเปล่าที่สกัดน้ำมันแล้ว เทลงในพื้นที่จะทำการเพาะเห็ด รดน้ำให้ทั่ว คลุมด้วยพลาสติกดำ 7 -10 วัน ในช่วง 7-10 วันนี้ให้รดน้ำ 2-3 ครั้ง จากนั้นให้นำทะลายปาล์มเปล่ามาจัดเป็นร่องยาวประมาณ 5-10 เมตร กว้าง 50 เซนติเมตร แล้วนำเชื้อเห็ดผสมอาหารเสริมมาหว่านบนร่องให้ทั่ว คลุมด้วยพลาสติกดำแล้วทิ้งไว้ 3 คืน นำไม้ไผ่ มาทำโครงแล้วคลุมด้วยพลาสติกดำทิ้งไว้ 7-10 วัน (รูปที่1.4 ก) ดอกเห็ดจะเริ่มออกดอกอย่างต่อเนื่อง 15-20 วัน ดังแสดงไว้ในรูปที่ 1.5 ข (จีร์ ศรชัย, 2553)

(ก) (ข)

รูปที่ 1.4 ขั้นตอนการเพาะเห็ดฟาง
ที่มา: จีร์ ศรชัย (2553)

1.2.3.3 วัสดุคลุมดินในสวนปาล์มน้ำมัน

เนื่องจากทะลายปาล์มเปล่ามีองค์ประกอบของไนโตรเจน โพแทสเซียม แคลเซียม คาร์บอนไดออกไซด์ แมกนีเซียม และฟอสฟอรัส ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 1.1 ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้เป็นธาตุอาหารที่สำคัญในการเจริญเติบโตของต้นปาล์มน้ำมัน เมื่อนำทะลายปาล์มเปล่ามาใช้เป็นวัสดุคลุมดินในสวนปาล์มน้ำมัน จะเป็นการเติมธาตุอาหารให้กับต้นปาล์มน้ำมัน ช่วยเพิ่มปริมาณอินทรียวัตถุให้แก่ดิน และช่วยรักษาความชื้นให้แก่ดิน (Chiew, 2002) เช่นเดียวกันกับทางใบปาล์มน้ำมัน ซึ่งเกษตรกรมักจะใช้ทางใบปาล์มน้ำมันในการคลุมโคนต้นปาล์ม หรือกองไว้ระหว่างแถวของต้นปาล์ม เพื่อเก็บช่วยรักษาความชื้นในดิน ป้องกันการชะล้างพังทลายของหน้าดิน และเมื่อเกิดการย่อยสลายจะให้ธาตุอาหารที่ปาล์มน้ำมันสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยถึงการสกัดวิตามินอีจากทางใบปาล์มน้ำมัน พบว่าปาล์มน้ำมันยังเป็นแหล่งของวิตามินอีซึ่งมีปริมาณร้อยละ 0.49 ปริมาณของวิตตามินอีในทางใบปาล์มน้ำมันจะมีแนวโน้มปริมาณที่สูงขึ้นเมื่อทางใบปาล์มมีอายุมากขึ้น (ธีระ เอกสมทราเมษ และคณะ, 2551)

1.2.3.4 ผลิตถ่านกัมมันต์

ก้านทะลายปาล์มเปล่าที่เหลือทิ้งจากระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มดิบ สามารถนำมาผลิตถ่านกัมมันต์ เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับก้านทะลายปาล์มเปล่า เนื่องจากถ่านกัมมันต์ มีความสามารถในการดูดซับสารเคมีจากก๊าซ และของเหลวในปริมาณที่สูง ซึ่งจากการศึกษาพบว่า ถ่านกัมมันต์ที่ผลิตจากก้านทะลายปาล์มน้ำมัน มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับถ่านกัมมันต์

เกรดการค้าโดยมีความสามารถในการดูดซับไอโอดีนได้สูงถึง 1308 มิลลิกรัมต่อลิตร ดูดซับสารเมทิลีนบลูได้ 248 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นก้านทะลายปาล์มเปล่ามีคุณสมบัติที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตถ่านกัมมันต์ที่มีคุณภาพดีได้ และยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งอีกทางหนึ่งด้วย (สาวิตรี จันทรานุรักษ์ และคณะ, 2548)

นอกจากนั้นทางใบปาล์มน้ำมันยังสามารถนำมาผลิตถ่านกัมมันต์ได้เช่นเดียวกัน ดังงานวิจัยของ Salman และ Hameed (2010) ได้ศึกษาสภาวะในการเตรียมถ่านกัมมันต์จากทางใบปาล์มน้ำมันในการดูดซับสารกำจัดวัชพืช Bentazone จากการศึกษาพบว่าถ่านกัมมันต์ที่ผลิตได้จากทางใบปาล์มน้ำมันสามารถดูดซับสาร Bentazone ได้สูงสุดร้อยละ 99.85

1.2.3.5 เชื้อเพลิงหุงต้ม

สาวิตรี จันทรานุรักษ์ และธราพงษ์ วิทิตศานนท์ (2545) ได้ทำการศึกษาพัฒนาทะลายปาล์มเปล่าเป็นเชื้อเพลิงในการหุงต้ม โดยศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมของการนำทะลายปาล์มเปล่ามาใช้เป็นเชื้อเพลิง และคุณสมบัติของเชื้อเพลิงที่ได้ โดยทำการเปรียบเทียบการวิเคราะห์ค่าความร้อนของเชื้อเพลิงที่ได้จากทะลายปาล์มในลักษณะ 2 รูปแบบ คือ ฟืนทะลายปาล์มเปล่า และถ่านอัดแท่งที่ผ่านการคาร์บาไนซ์ จากการทดลองพบว่า สภาวะที่ดีที่สุดและประหยัดพลังงานที่สุดในการคาร์บาไนซ์ คือ ที่อุณหภูมิ 350 องศาเซลเซียสขึ้นไปเป็นเวลา 45 นาที โดยถ่านทะลายปาล์มที่ได้จากเครื่องอัดกำลังสูงจะมีค่าความร้อนสูงสุด คือ 4,387 แคลอรี่ต่อกรัม สำหรับการผลิตถ่านกะลาปาล์ม มีสภาวะที่ดีที่สุด คือการคาร์บาไนซ์ที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที โดยให้ค่าความร้อนสูงสุดเท่ากับ 6,798 แคลอรี่ต่อกรัม

1.2.3.6 ผลิตเอมไซม์เซลลูเลส

เซลลูเลสเป็นเอมไซม์ที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อย่อยสลายเซลลูโลสให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดที่เล็กลง สามารถละลายน้ำได้และซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ เนื่องจากเซลลูเลสมีความสำคัญที่ช่วยในการย่อยสลายเซลลูโลส ดังนั้นจึงมีการศึกษาการผลิตเอมไซม์เซลลูเลสโดยใช้ทะลายปาล์มเป็นวัสดุตั้งต้นโดยใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการสร้างเอมไซม์เซลลูเลส จากการทดลองพบว่า เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สามารถผลิตเอมไซม์เซลลูเลสได้ในปริมาณที่สูงมีค่าเท่ากับ 0.0413 ยูนิต หลังจากที่ทำการหมักเป็นเวลา 3 วัน (Alam, 2005)

1.2.3.7 อาหารสัตว์

ทางใบปาล์มที่เหลือจากการตัดแต่งต้นปาล์มและจากการเก็บเกี่ยวผลผลิตเกษตรกรจะใช้เป็นอาหารสัตว์ทางใบปาล์มเป็นวัสดุเหลือทิ้งที่มีองค์ประกอบของโปรตีน เยื่อใย

และไขมัน โดยมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 5 เยื่อใยร้อยละ 38.5 ไขมันร้อยละ2.1 น้ำตาลร้อยละ 46.2 แต่ทางใบปาล์มมีองค์ประกอบของโปรตีนค่อนข้างต่ำ ดังนั้นเมื่อให้สัตว์กินทางใบปาล์มอย่างเดียว จะทำให้ได้รับสารอาหารไม่เพียงพอ จึงต้องเสริมด้วยอาหารข้น หากนำทางใบปาล์มไปหมักร่วมกับวัตถุดิบที่ให้พลังงาน เช่น กากน้ำตาล ข้าวโพดบด หรือมันสำปะหลังในปริมาณร้อยละ 2-5 พบว่า จะช่วยปรับปรุงคุณภาพทางเคมี ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนสูงขึ้น (สาวิตรี จันทรานุรักษ์ และคณะ, 2548)

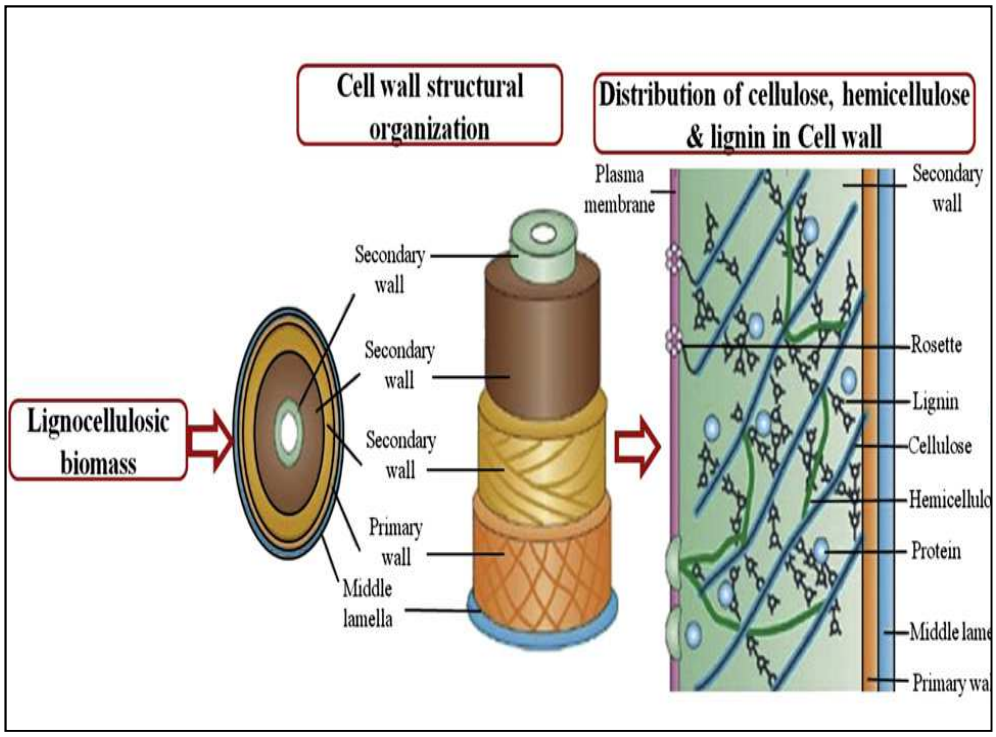
1.2.4 วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส

วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส คือ วัสดุเหลือทิ้งที่มีเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินเป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนใหญ่เป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสจะประกอบด้วยเซลลูโลสร้อยละ 25-50 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 20-35 และลิกนินร้อยละ18-35 องค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เป็นองค์ประกอบที่อยู่ในผนังเซลล์ของพืช ซึ่งจะประกอบด้วยผนังเซลล์ 3 ชั้น ได้แก่ ชั้น Middle lamella cell wall, Primary cell wall และ Secondary cell wall โดยที่เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เป็นองค์ประกอบที่พบในผนังเซลล์ชั้น Secondary cell wall ทำหน้าที่ในการป้องกันอันตราย และเพิ่มความแข็งแรงให้กับผนังเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 1.5 (Sanchez, 2009; Menon and Rao, 2012)

1.2.5 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลส

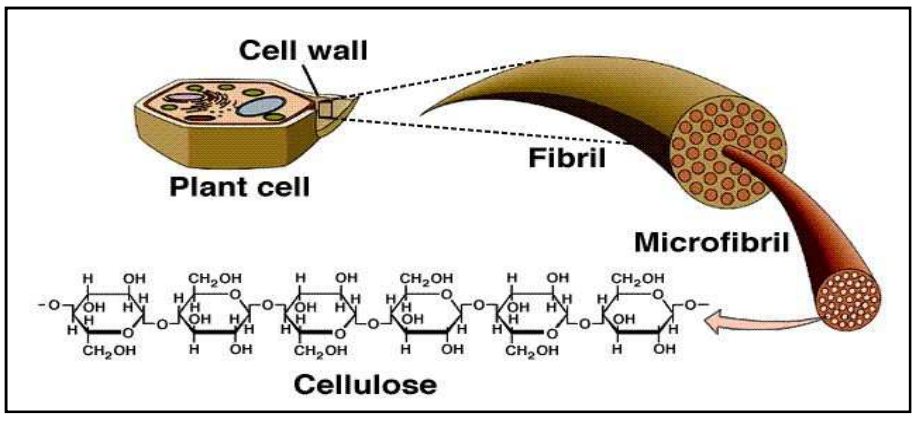
เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส เป็นองค์ประกอบที่โมเลกุลมีขนาดใหญ่ เกิดจากน้ำตาลชนิดต่างๆ ซึ่งแตกต่างกับลิกนิน เกิดจากการสังเคราะห์ของสารจำพวกอะโรมาติกโพลิเมอร์ โดยเซลลูโลสเป็นโพลิเมอร์ที่เป็นเส้นตรง ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส (D-glucse) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic) มีสูตรโครงสร้างทางเคมี คือ $(C_6H_{10}O_5)n$ เมื่อ n คือ จำนวนหน่วยกลูโคสทั้งหมดที่ประกอบกันเป็นโครงสร้าง ดังที่แสดงไว้ในรูปที่ 1.6 ส่วนที่มีโครงสร้างทางเคมี $(C_6H_{10}O_5)_2$ เรียกว่า เซลโลไบโอส ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสจำนวน 2 โมเลกุล ต่อกันด้วยพันธะ β (1-4) ไกลโคซิดิก ประกอบด้วยกลุ่มของแอลกอฮอล์ (COH) 8 โมเลกุล และอีเทอร์ 3 โมเลกุล ดังที่แสดงไว้ในรูปที่ 1.7 โดยส่วนใหญ่เซลลูโลสจะอยู่ในรูปของผลึก และมีบางส่วนมีโครงสร้างที่

ไม่แน่นอนแต่เป็นส่วนน้อย เซลลูโลสจะถูกย่อยสลายได้ง่าย เมื่อเกิดการย่อยสลายจะได้น้ำตาลกลูโคส (Henriksson *et al*., 2000; Jie *et al*., 2005)



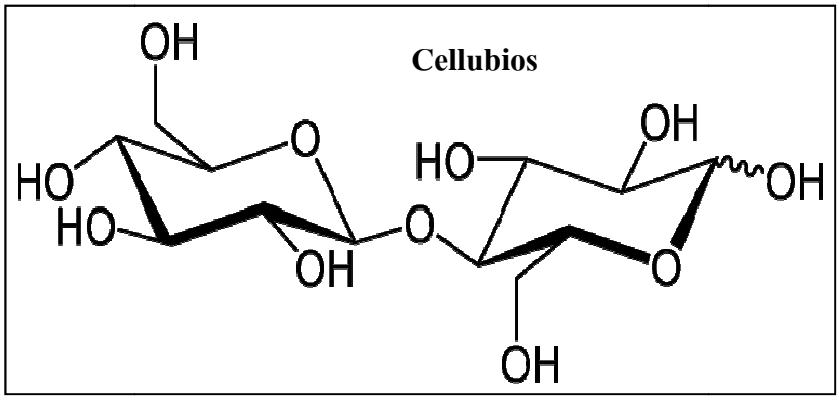
รูปที่ 1.5 องค์ประกอบของวัสดุลิกโนเซลลูโลส

ที่มา : Menon และ Rao (2012)



รูปที่ 1.6 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส

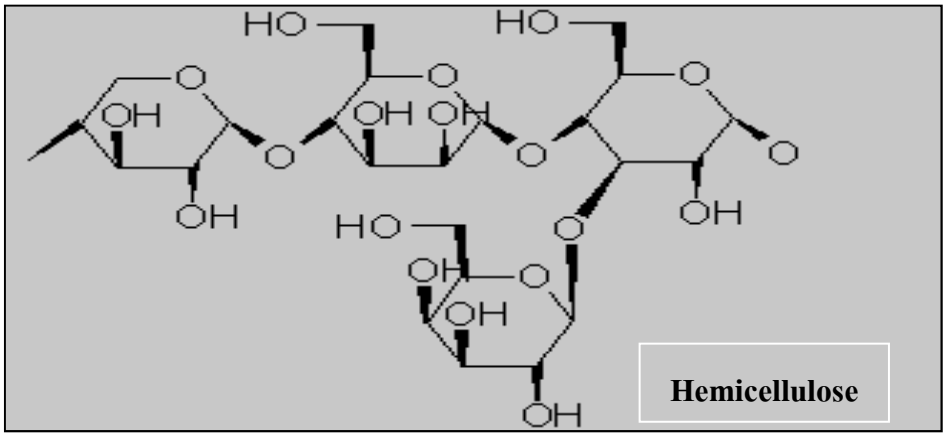
ที่มา: Jie และคณะ (2005)



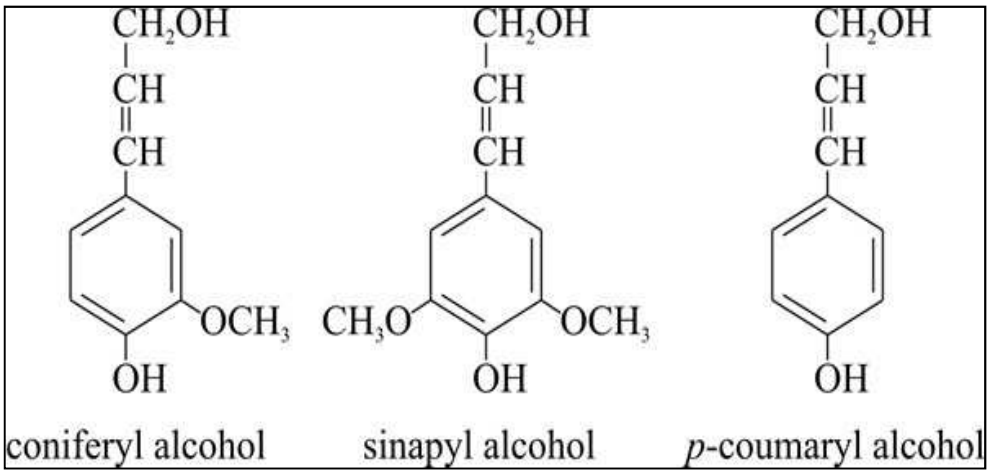
รูปที่ 1.7 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูไบโอส
ที่มา : Henriksson และคณะ (2000)

เฮมิเซลลูโลสเป็นสารโพลิแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าเซลลูโลสโครงสร้างเกิดจากน้ำตาล D-xylose, D-mannose, D-glucose, L-arabinose, 4-O-metyl-glucaronic,D-galacturonic ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β (1-4) และ β (1-2) ไกลโคซิดิก ความแตกต่างระหว่างเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส คือ เฮมิเซลลูโลสจะมีการแตกกิ่งบริเวณด้านข้างประกอบด้วยน้ำตาลที่ต่างชนิดกัน ส่วนเซลลูโลสจะประกอบด้วย Oligomer ที่ง่ายต่อการย่อยสลายกลายเป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็ก ดังแสดงในรูปที่ 1.8 (Perez *et al*., 2002)

ส่วนลิกนิก เป็นสารประกอนอะโรมาติก (Aromatic compound) เชิงซ้อนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง สามารถพบได้ทั่วไปของผนังเซลล์พืช รองลงมาจากเซลลูโลลสและเฮมิเซลลูโลส โดยจะทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมประสานเส้นใยเซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลส ทำให้เกิดโครงสร้างที่แข็งแรงของไม้ ลิกนินที่พบในผนังเซลล์จะทำหน้าที่เป็นเกราะป้องกันการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ โดยโครงสร้างของลิกนินจะเป็นสารประกอบอะโรมาติกที่เรียกว่าฟีโนลิกโพลิเมอร์ (Phenolic polymer) หน่วยย่อยของลิกนินสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ Coniferyl alcohol Sinapyl alcohol และ *P*-coumaryl achohol (รูปที่ 1.9) ลิกนินไม่มีสมบัติการยืดหยุ่นและไม่ละลายน้ำ แต่จะสามารถละลายในตัวทำละลายบางชนิด เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ เพราะฉะนั้นพืชที่มีองค์ประกอบของลิกนินมากจะมีความแข็งแรงทนทาน ซึ่งองค์ประกอบของลิกนินในพืชแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน นอกจากนั้นพืชชนิดเดียวกันแต่มีอายุ และการเจริญในสภาพที่แตกต่างกันก็มีผลทำให้มีองค์ประกอบของลิกนินที่แตกต่างกัน (Menon and Rao, 2012)



รูปที่ 1.8 แสดงโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส
ที่มา: Perez และคณะ (2002)



รูปที่ 1.9 แสดงถึงหน่วยย่อยของลิกนิน
ที่มา : Menon และ Rao (2012)

1.2.6 การย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสโดยเชื้อรา

ปัจจุบันวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสมีจำนวนมากและเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวเป็นสาเหตุหนึ่งที่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมและมีมูลค่าที่ต่ำ ซึ่งวัสดุดังกล่าวสามารถเพิ่มมูลค่าด้วยการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพโดยอาศัยกระบวนการย่อยสลายของจุลินทรีย์ กลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คือ เชื้อรา (Fungi) เชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายได้อย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพคือ กลุ่มของเห็ด (Basidiomycetes) เช่น เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) เห็ดกระดุม (*Agaricus bisporus*) และเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) โดยที่เชื้อราเหล่านี้จัดเป็นเชื้อรากลุ่มไวรอท (White rot fungi) มีความสามารถในการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสไปเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต การย่อยสลายโดยเชื้อราจะเกิดการย่อยสลายทั้งบริเวณภายนอก (Extracellular digestion) และภายในเซลล์ (Intracellular digestion) เนื่องจากรากลุ่มไวรอทสามารถสร้างเอนไซม์ลิกนิโนไลติก (Ligninolitic enzyme) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลาย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน สามารถแบ่งออกเป็นเอนไซม์ในการย่อยเซลลูโลสได้แก่ เอนไซม์เซลลูเลส เป็นกลุ่มเอนไซม์เชิงซ้อนประกอบด้วย 3 กลุ่ม คือ เอนไซม์ Endoglucanase เอนไซม์ Cellobiohydrolase และเอนไซม์ β-glucosidase เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส ซึ่งมีไซแลนเป็นองค์ประกอบคือ ไซลาเนส ประกอบด้วยเอนไซม์ Endoxylanase เอนไซม์ Exo-xylanase และเอนไซม์ Xylobiase และเอนไซม์ในการย่อยสลายลิกนิน ได้แก่ เอนไซม์ Laccase เอนไซม์ Lignin peroxidase และเอนไซม์ Manganese peroxidase (Rabinovich *et al*., 2004) ดังงานวิจัยของ Haddadin และคณะ (2002) ศึกษาเกี่ยวกับการหมักกากมะกอกโดยใช้เชื้อเห็ดเห็ดแครงในการย่อยสลายลิกนินในกากมะกอก จากการศึกษาพบว่า เชื้อเห็ดแครงสามารถลดปริมาณลิกนินได้ร้อยละ 53 เมื่อใช้เวลาในการหมัก 40 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

การเพาะเห็ดบนวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสเป็นการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสโดยใช้กลุ่มของเห็ด นอกจากนั้นยังเป็นการมูลค่าเพิ่มให้กับวัสดุลิกโนเซลลูโลส ซึ่งเห็ดสามารถเจริญเติบโตได้ดี และมีค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยาสูง เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุลิกโนเซลลูโลส ดังงานวิจัยของ Mandeel และคณะ (2005) ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดนางรมโดยใช้กระดาษเหลือทิ้งจากเครื่องทำลายเอกสาร (Sheredded officepaper) เป็นวัสดุเพาะ จากการศึกษาพบว่า เห็ดนางรมสามารถเจริญได้เป็นอย่างดี โดยให้ค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยาสูงสุดเท่ากับร้อยละ 109.4 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารในถุงโพลิเอทลีน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ และยังพบว่าเห็ดที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 21-23 และปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 29-47 ตามลำดับ

1.2.7 สารประกอบโพลิแซคคาไรด์

โพลิแซคคาไรด์ หมายถึง สารประกอบขนาดใหญ่ที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยของน้ำตาล หรืออนุพันธุ์ของน้ำตาลเชื่อมกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารที่ถูกสร้างมาเพื่อเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ หรือจุลินทรีย์ โดยทำหน้าที่สะสมอาหารและเป็นโครงสร้าง สารโพลิแซคคาไรด์ที่สามารถสังเคราะห์ได้มี 2 ประเภท ได้แก่ สารโพลิแซคคาไรด์ที่สังเคราะห์ขึ้นมาและเก็บกักไว้ภายในเซลล์ (Inerpolysachar : IPS) และสารโพลิแซคคาไรด์ชนิดที่ผลิตแล้วปล่อยออกมานอกเซลล์ (Exopolysacharide:EPS) ปัจจุบันสารโพลิแซคคาไรด์ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์เนื่องจากมีคุณสมบัติในการช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ป้องกันการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ซึ่งวัตถุดิบที่นิยมสกัดสารโพลิแซคคาไรด์เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้แก่ พืชบางชนิด เช่น ข้าวบาเล่ย์ สาหร่าย จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น ยีสต์ แบคทีเรีย และรา ซึ่งปัจจุบันเห็ดเป็นแหล่งโพลิแซคคาไรด์อีกแหล่งที่สำคัญและได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย โดยเห็ดที่เป็นที่รู้จัก และมีปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ที่มีประโยชน์ทางการแพทย์ในปริมาณสูง ได้แก่ เห็ดตระกูลหลินจือ นอกจากนั้นมีการศึกษาวิจัยพบว่า เห็ดแครงเป็นเห็ดอีกชนิดหนึ่งที่มีสารโพลิแซคคาไรด์ที่เป็นประโยชน์ และมีคุณสมบัติทางเภสัชศาสตร์ โพลิแซคคาไรด์มีหลายชนิดได้แก่ Xanthan , Curdlan, Pululan และอีก 2 กลุ่มซึ่งเป็นที่สนใจ ได้แก่ เซลลูโลส(Cellulose) และกลูแคน (Glucan) (ศิริโฉม เหลืองอ่อน, 2541)

กลูแคน (Glucan) คือ สารประกอบประเภทโพลิแซคคาไรด์ที่ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช และจุลินทรีย์ในขณะที่เจริญเติบโต ซึ่ง Glucan ที่มีคุณสมบัติทางเภสัชศาสตร์ ที่ถูกนำมาใช้ทางการแพทย์อยู่ในรูปของ β -1,3-Glucan และ β-1,6-Glucan แหล่งของ β-Glucan ที่สำคัญได้แก่ ยีสต์ มีปริมาณร้อยละ 70 รองลงมาคือ เห็ดตระกูลหลินจือ มีปริมาณร้อยละ 50 และ ข้าวบาเลย์มีปริมาณร้อยละ 11 β-Glucan มีเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำลายและตรวจจับสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายของเซลล์ macrophage กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันให้มีประสิทธิภาพ ช่วยลดผลค้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการทำเคมีบำบัดและการฉายแสง เพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของตับอ่อนมีส่วนช่วยลดการเกิดเบาหวาน และลดระดับคอเรสเตอรอล เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และนอกจากนี้เบต้ากลูแคนยังสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคมะเร็งได้อีกด้วย จึงทำให้ β-Glucan จึงเป็นที่สนใจในทางการแพทย์ ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์สารสกัด β-Glucan จำหน่ายทั้งในรูปของสาร β-Glucan เข้มข้น และเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อื่น ๆซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีราคาแพง เนื่องจาก β-Glucan ที่ขายส่วนใหญ่สกัดจากยีสต์

และเห็ดตระกูลหลินจือ และนำเข้าจากต่างประเทศ จึงทำให้มีราคาแพง ปัจจุบันได้มีการศึกษาถึงแหล่งของ β-Glucan จากแหล่งอื่นๆเช่น สาหร่าย เห็ดนางรม เห็ดหอม เพื่อลดการนำเข้า β-Glucan จากต่างประเทศ และเห็ดแครงก็เป็นเห็ดอีกชนิดที่มี β-Glucan ที่มีประโยชน์ทางการแพทย์อีกทั้งยังเป็นเห็ดที่พบได้ทั่วไปในท้องถิ่น มีรสชาติที่ดี มีราคาถูกเมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดหลินจือ ดังนั้นเห็ดแครงจึงเป็นเห็ดอีกชนิดหนึ่งที่มีความเป็นไปได้ที่จะเป็นแหล่งของ β-Glucan ที่มีประโยชน์ทางการแพทย์ (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2553) ในการเพาะเลี้ยงเห็ดเพื่อให้ได้โพลิแซคคาไรด์ และβ-Glucan ในปริมาณที่สูงจึงเป็นที่สนใจในปัจจุบัน แหล่งอาหารที่เหมาะสมเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งในการเพิ่มปริมาณโพลิแซคคาไรด์จากเห็ด เนื่องจากเห็ดต้องการสารอาหารเพื่อไปสร้างเซลล์ ซึ่งโพลิแซคคาไรด์เป็นสารที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ เมื่อเห็ดได้รับสารอาหารที่เหมาะสมส่งผลทำให้เห็ดสร้างสารโพลิแซคคาไรด์เก็บสะสมอยู่ที่ผนังเซลล์เป็นจำนวนมาก นอกจากนั้นยังมีปัจจัยอื่นๆ เช่น วิธีการในการสกัด ระยะเวลา อุณหภูมิ ตัวทำละลายในการสกัด (Manz and Pizzoferrato, 2000; Demirbas, 2005; Zhang, 2007)

1.2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการเลี้ยงเห็ดและการผลิตโพลิแซคคาไรด์

เห็ดเป็นสิ่งมีชีวิตที่ไม่สามารถสังเคราะห์อาหารเองได้ (Hetrotroph) จึงจำเป็นต้องอาศัยอาหารสำเร็จรูปจากแหล่งต่างๆ เช่นไม้ผุหรือปุ๋ยหมักเป็นต้น เห็ดบางชนิดมีเอนไซม์ที่สามารถย่อยอาหารที่อยู่ในรูปเชิงซ้อนจำพวกลิกนิน ฮิมิเซลลูโลส เซลลูโลส ให้อยู่ในรูปที่ไม่ซับซ้อน และง่ายต่อการนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ (Philippoussis *et al*., 2007; Lee *et al*., 2008) จากเหตุผลดังกล่าวจึงสามารถใช้วัสดุเพาะเหล่านั้นได้โดยตรงโดยไม่จำเป็นต้องทำการหมักเสียก่อนหรือหากมีการหมักวัสดุเพาะก็ไม่จำเป็นจะต้องหมักจนวัสดุผุเน่าเปื่อยจนกลายเป็นปุ๋ย เพียงแต่เป็นการหมักเพื่อให้วัสดุมีความอ่อนนุ่ม และเป็นการลดขนาดของวัสดุเพาะทำให้ง่ายต่อการตัดและบรรจุถุง แต่สำหรับเห็ดบางชนิดไม่มีเอนไซม์ในการย่อยสลายวัสดุเพาะ ดังนั้นก่อนนำมาเพาะเห็ดจะต้องทำการหมักวัสดุเพาะโดยอาศัยกลุ่มของจุลินทรีย์จากแหล่งธรรมชาติช่วยในการย่อยสลายวัสดุเพาะให้เปื่อยก่อน นอกจากนั้นเห็ดยังต้องการแหล่งไนโตรเจน แหล่งแร่ธาตุอาหารในการเจริญเติบโตซึ่งในการเพาะเห็ดโดยทั่วไปจะมีการเพิ่มแหล่งอาหารเหล่านี้ลงไปเป็นอาหารเสริมเนื่องจากสารอาหารที่มีอยู่ในวัสดุเพาะอาจมีไม่เพียงพอต่อความต้องการ (วิทยา ทวีนุช, 2552, นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ, 2553)

1.2.8.1 แหล่งคาร์บอน

เห็ดต้องการแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต และเป็นแหล่งพลังงาน แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือ คาร์บอนที่อยู่ในรูปของสารที่ไม่ซับซ้อน ได้แก่ น้ำตาลประเภทต่างๆ เช่น ไซโลส อะราบิโนส และ ฟรุกโตส ซึ่งเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก แต่ในวัสดุที่ใช้ในการเพาะเห็ดโดยส่วนใหญ่จะเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยอยู่ในรูปของสารเชิงซ้อน ซึ่งเห็ดบางชนิดไม่มีเอนไซม์ในการย่อยสลายสาร ประกอบเหล่านี้ได้ จึงจำเป็นต้องอาศัยจุลินทรีย์จากธรรมชาติในการย่อยสลายจนอยู่ในรูปที่เห็ดสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากแหล่งคาร์บอนจากธรรมชาติแล้วแหล่งคาร์บอนสังเคราะห์ก็เป็นอีกแหล่งที่นิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด ซึ่งแหล่งคาร์บอนสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด และผลิตสารโพลิแซคคาไรด์ เช่น กลูโคส ไซโลส ซูโครส กาแลกโตส และฟรักโตส (Cho *et al*., 2006; Pokhrel and Ohga, 2007)

1.2.8.2 แหล่งไนโตรเจน

เห็ดต้องการไนโตรเจนในการสังเคราะห์โปรตีนและกรดนิวคลีอิก เพื่อใช้ในการเสริมสร้างเซลล์ แหล่งไนโตรเจนที่เห็ดต้องการสำหรับการเจริญเติบโตและสร้างเซลล์ในการเพาะเห็ดโดยส่วนใหญ่ใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาเป็นวัสดุเพาะ เช่น ต้นข้าวโพด ซังข้าวโพด หญ้า ฟาง ชานอ้อย และขี้เลื่อย ซึ่งสารอาหารไนโตรเจนที่ได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรดังกล่าวจะไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต ดังนั้นจะต้องเติมสารอาหารไนโตรเจนในวัสดุเพาะ ซึ่งแหล่งไนโตรที่เติมในวัสดุเพาะนั้นได้มาจาก 2 แหล่งด้วยกัน คือ แหล่งไนโตรเจนจากธรรมชาติ ได้แก่ รำข้าว ถั่วเหลืองป่น ส่าเหล้า และมูลสัตว์ต่างๆ ซึ่งแหล่งไนโตรเจนจากแหล่งธรรมชาติที่มักถูกใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เปปโตน ยีสต์สกัด และแหล่งไนโตรเจนที่สังเคราะห์ขึ้นได้แก่ ยูเรีย แอมโมเนียซัลเฟต และแอมโมเนียคลอไรด์ แต่เนื่องจากเห็ดถูกจัดเป็นพืชชั้นต่ำที่ไม่สามารถนำธาตุอาหารบางอย่างในรูปสารเคมีเอาไปใช้ได้ และสารอาหารบางชนิดนำไปใช้ได้น้อย เช่น ธาตุไนโตรเจน ที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโปรตีน ดังนั้นในการเพาะเห็ดโดยทั่วไปจึงนิยมใช้แหล่งไนโตรเจนจากแหล่งธรรมชาติ (Cho *et al*., 2006)

วสันณ์ เพชรรัตน์ (2539) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดตีนแรดในอาหารวุ้น พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตได้แก่ แอมโมเนียมคลอไรด์ รองลงมาคือ แอมโมเนียมไนเตรต และแอมโมเนียซัลเฟต ตามลำดับ และจากการศึกษาของ Philippoussis

และคณะ (2007) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดหอมบนวัสดุลิกโนเซลลูโลส 3 ชนิด คือ ขี้เลื่อยไม้โอ๊ก ฟางข้าวสาลี และซังข้าวโพด โดยใช้ถั่วเหลืองป่นเป็นแหล่งไนโตรเจนผสมร้อยละ 4 จากการทดลองพบว่าเห็ดหอมสามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยให้ค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยาสูงสุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนขี้เลื่อยไม้โอ๊ก เท่ากับ ร้อยละ 41.07 รองลงมา คือ ฟางข้าวสาลี ร้อยละ 73.25 และ ซังข้าวโพด 80.64 ตามลำดับ

1.2.8.3 แหล่งธาตุอาหาร

เห็ดมีความต้องการธาตุอาหารในการเจริญเติบโตทุกระยะโดยเฉพาะอย่างยิ่งในการเจริญของเส้นใย ธาตุอาหารเหล่านี้แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ แหล่งธาตุอาหารที่เห็ดต้องการในปริมาณมากได้แก่ แคลเซียม (Ca) โพแทสเซียม (K) ฟอสฟอรัส (P) และแมกซีเซียม (Mg) และแหล่งธาตุอาหารที่เห็ดต้องการในปริมาณน้อยได้แก่ โมลิปตินัม (Mb) โบรอน (B) ทองแดง (Cu) แมงกานิส (Mn) และสังกะสี (Zn) คลอไรด์ (Cl) และอื่นๆ แม้ว่าเห็ดต้องการใช้ในปริมาณที่น้อยแต่จะทำให้เห็ดเจริญเติบโตตามปกติได้ เพราะทำให้กระบวนการทางสรีรวิทยาของเห็ดเป็นไปอย่างปกติ และมีหน้าที่ในการรักษาสมดุลของสารทั้งภายในและภายนอกเซลล์ (ยงยุทธ โอสถสภา, 2552 ;Pokhrel and Ohga, 2007)

1.2.8.4 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่ออัตราการเจริญเติบโต ระยะเวลาของการเกิดดอก และผลผลิตของเห็ด โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเห็ดจะมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับเห็ดแต่ละชนิด เช่น เห็ดแครงต้องการอุณหภูมิในระยะการเจริญเติบโตของเส้นใยเท่ากับ 25-35 องศาเซลเซียส และระยะการเจริญออกดอกเท่ากับ 25-35 (วิทยา ทวีนุช, 2552) ดังข้อมูลในตารางที่ 1.3 แสดงอุณหภูมิที่เหมาะสมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดบางชนิด

1.2.8.5 ความเป็นกรด-ด่าง

ความเป็นกรด-ด่าง เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดโดยค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ด คือ 7 หรือเป็นกรดเล็กน้อย ในอาหารที่เป็นกรดหรือด่างมากเกินไป เห็ดจะเจริญเติบโตได้เฉพาะเส้นใยเท่านั้น แต่เห็ดไม่สามารถสร้างดอกเห็ดได้ ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเห็ดโดยทั่วไป คือ 5.0 -7.6 (วสันณ์ เพรชรัตน์, 2536) ดังเช่นงานวิจัย Pokhrel and Ohga (2007) ได้ศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยและการผลิตสารโพลิแซคคาไรด์ของเห็ด *Lyophyllum decastes* ที่เพาะเลี้ยง

ในอาหารเหลวโดยทำการศึกษาถึงค่าความเป็นกรด-ด่างระดับต่างๆที่เหมาะสม จากงานวิจัยพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด *Lyophyllum decastes* คือ 6-8 และจากงานวิจัยของ Adejoye และคณะ (2007) ศึกษาลักษณะทางกายภาพเคมีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างระดับต่างๆ จากงานวิจัยพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด คือ 5.5 และ 6.5

1.2.8.6 ความชื้น

ความชื้นเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ด ซึ่งเห็ดไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในบริเวณที่ขาดน้ำหรือมีความชื้นต่ำ ซึ่งความชื้นแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ความชื้นสัมพัทธ์ และความชื้นในวัสดุเพาะ ในการเพาะเห็ดนั้นความชื้นจึงเป็นสิ่งสำคัญในการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดและการสร้างดอก การเพิ่มความชื้นให้กับวัสดุเพาะสามารถทำได้โดยการรดน้ำ หากมีปริมาณความชื้นมากเกินไปส่งผลทำให้เห็ดเจริญเติบโตช้าลง และอาจทำให้เส้นใยเห็ดเน่าตายได้ แต่หากมีความชื้นน้อยเกินไปเส้นใยไม่สามารถดูดซึมสารอาหารไปใช้ได้ โดยที่เห็ดแต่ละชนิดต้องการความชื้นในวัสดุเพาะที่เหมาะสมที่แตกต่างกัน เช่น ความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดฟาง คือ ความชื้นร้อยละ 80-90 ความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดกระดุม คือ ร้อยละ 68-72 ความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ดหูหนู คือ ความชื้นไม่ต่ำกว่าร้อยละ 60 และต้องการความชื้นสัมพัทธ์ที่แตกต่างเช่นเดียวกัน ดังข้อมูลที่แสดงไว้ในตารางที่ 1.2 (วสันณ์ เพรชรัตน์, 2536; วิทยา ทวีนุช 2552)

Shen และคณะ (2008) ศึกษาถึงผลของความชื้นในสารอาหารในการเพาะเลี้ยงเห็ดหอม สารอาหารที่ใช้มีส่วนประกอบดังนี้ ขี้เลื่อยไม้โอ๊ค ร้อยละ 20 ข้าวฟ่างร้อยละ 25 รำข้าวสาลี ร้อยละ 10 ยิบซัม ร้อยละ 0.1 โดยจะทำการศึกษาที่ระดับความชื้นที่ร้อยละ 50, 55 และ60 พบว่าที่ระดับความชื้นร้อยละ 55 ให้ผลผลิตเห็ดหอมสูงที่สุดเท่ากับ 3.2 กิโลกรัมต่อกิโลกรัมวัสดุเพาะ

ตารางที่ 1.3 แสดงอุณหภูมิและแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยและการออกดอกของเห็ดบางชนิด

ชนิดเห็ด	อุณหภูมิ(C°)		ระยะเจริญเป็นดอกเห็ด	
	ระยะเส้นใย	ระยะออกดอก	ความชื้นสัมพัทธ์%	แสง
นางฟ้า	24-28	25-32	70-90	เล็กน้อย
เป๋าฮือ	24-28	28-32	70-90	เล็กน้อย
โคนญี่ปุ่น	24-26	24-30	75-80	เล็กน้อย
หูหนู	28-38	28-35	80-95	เล็กน้อย
เห็ดแครง	25-35	25-35	>90	เล็กน้อย

ที่มา: วิทยา ทวีนุช (2552)

1.2.8.7 แสงสว่าง

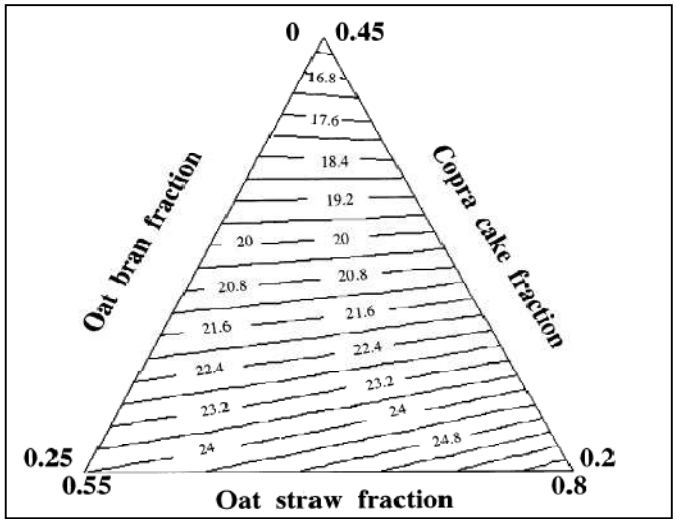
แสงสว่างเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดและการเจริญออกดอก โดยในระยะการเจริญของเส้นใย เห็ดต้องการแสงสว่างในปริมาณน้อย ดังนั้นในระยะนี้จึงต้องบ่มในโรงเรียนที่มืด หรือมีแสงสว่างเล็กน้อยขึ้นอยู่กับเห็ดแต่ละชนิด จนกว่าเส้นใยเห็ดจะเจริญทั่ววัสดุเพาะ และสร้างตุ่มดอก หลังจากระยะนี้เห็ดต้องการแสงเพื่อใช้เป็นตัวกระตุ้นให้เส้นใยเกิดการรวมตัวและพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดหากได้รับแสงที่เพียงพอจะช่วยให้เห็ดออกดอกปริมาณมากและสมบูรณ์ หากเห็ดได้รับแสงสว่างน้อยเกินไป ทำให้หมวกดอกมีขนาดเล็ก ดังนั้นในระยะนี้จึงจะต้องให้แสงสว่างที่เพียงพอซึ่งเห็ดแต่ละชนิดต้องการปริมาณแสงที่แตกต่างกันในระยะนี้เรียกว่า ระยะการเปิดดอก (วาริณี ธรรมชาติไพศาล, 2553)

1.2.8.8 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio)

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน(C/N ratio) เป็นสิ่งจำเป็นอย่างหนึ่งในการเพาะเห็ดที่ใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เนื่องจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลส ซึ่งวัสดุลิกโนเซลลูโลสเป็นวัสดุที่ประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน ดังนั้นก่อนที่จะนำวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าว มาเพาะเห็ดจะต้องนำมาแปรสภาพด้วยกระบวนการทางชีวภาพก่อนโดยการนำมาหมักเพื่อให้เห็ดสามารถย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสไปเป็นสารอาหารได้ ดังนั้นอัตราส่วน C/N จะเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความยากง่ายในการย่อยสลายซึ่งจะเป็น

ตัวกำหนดการย่อยสลายที่สมบูรณ์ ถ้าวัสดุที่ใช้ในการหมักมีค่าอัตราส่วน C/N สูงมาก อัตราการย่อยสลายจะเกิดช้า โดยในระยะแรกของการหมักปุ๋ยเพื่อใช้ในการเพาะเห็ดอัตราส่วน C/N จะมีค่าสูงเท่ากับ 27:1 แต่หลังจากการหมักปุ๋ยสิ้นสุดแล้วว่าอัตราส่วน C/N จะลดลงเป็น 17:1 ซึ่งอัตราส่วนที่ลดลงเป็นอัตราส่วน C/N ทั่วไปที่เห็ดเจริญเติบโตได้ (ทศพร ทองเที่ยง และคณะ, 2549; วิทยา ทวีนุช, 2552; Wu *et al*., 2004)

Cruz และคณะ (1999) ศึกษาวิจัยถึงผลขององค์ประกอบวัสดุเพาะต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมโดยใช้ฟางข้าวโอ๊ก รำข้าวโอ๊ก และกากมะพร้าว ปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนด้วยโซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) จากการศึกษาพบว่า เห็ดนางรมเจริญเติบโตได้ดีเมื่อวัสดุเพาะมีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนอยู่ในช่วง 16.8-24.8 โดยจะเจริญได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเมื่อวัสดุเพาะมีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 22.4-23.2 ดังรูปที่ 1.10



รูปที่ 1.10 ผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของวัสดุเพาะวัสดุเพาะฟางข้าวโอ๊ก รำข้าวโอ๊ก และกากเนื้อมะพร้าวต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม

ที่มา : Cruz และคณะ (1999)

1.2.8.9 ภาชนะบรรจุ

ภาชนะบรรจุเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อผลผลิตชีวมวลเห็ดภาชนะบรรจุที่มีความแตกต่างกันจะมีประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน เนื่องจากหากมีการเพาะเห็ดในภาชนะบรรจุที่มีความเหมาะสมจะมีส่วนทำให้ชีวมวลที่ได้มีประสิทธิภาพ ทั้งนี้เกิดจากการถ่ายเทอากาศ และการระบายอากาศภายในภาชนะบรรจุ และความคงทนของภาชนะบรรจุ ปัจจุบันนิยมใช้ถุงพลาสติกโพลิโพรพิลีน (Polypropylene: PP)ในการเพาะเห็ด เนื่องจากเป็นพลาสติกที่มีคุณสมบัติที่ทนความร้อนสูงได้ดี มีความยืดหยุ่นสูง สามารถเก็บความชื้นได้ดี (รูปที่ 1.11 ก) รองลงมาคือ ถุงโพลิเอทลีน (Polyethylene: PE) เป็นถุงพลาสติกที่มีลักษณะขุ่น มีคุณสมบัติที่ทนร้อนได้น้อยกว่าถุงโพลิเอทลีน เมื่อโดนความร้อนสูงจะเกิดการอ่อนตัวได้ง่าย ซึ่งปัจจุบันนอกจากถุงพลาสติกดังกล่าวแล้วยังมีการใช้ภาชนะบรรจุชนิดอื่นๆมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ด เช่น การเพาะเลี้ยงเห็ดฟางในตะกร้า ซึ่งเป็นนวัตกรรมใหม่ในการพัฒนาวิธีเพาะเห็ดฟางเพื่อง่ายต่อการปฏิบัติ ใช้พื้นที่ในการผลิตน้อย ทำให้มีต้นทุนการผลิตต่ำ แต่ให้ผลตอบแทนสูงเนื่องจากการเพาะเห็ดในตะกร้าจะเป็นการเพาะเลี้ยงโดยใช้พื้นที่ในแนวสูงกับแนวราบของพื้นที่ตะกร้าที่เป็นทรงกระบอกประกอบกับตะกร้าจะมีตามีช่องด้านบนซึ่งเห็ดก็สามารถออกได้ และสามารถนำตะกร้าซ้อนกันได้หลายชั้น ทำให้สามารถประหยัดพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเพาะเลี้ยงแบบกอง ซึ่งการเพาะเห็ดลักษณะนี้จะช่วยเพิ่มพื้นที่การออกดอก ทำให้การเพาะเลี้ยงเห็ดฟางโดยใช้ตะกร้าให้ผลผลิตประมาณ 9 กิโลกรัมต่อพื้นที่ปลูก 1 ตารางเมตร ซึ่งสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงแบบกองซึ่งให้ผลผลิต 3 กิโลกรัมต่อพื้นที่ปลูก 1 ตารางเมตร แล้วยังเพาะเลี้ยงซ้ำได้หลายครั้ง (รูปที่ 1.11 ข-ค) กล่องพลาสติก (Plastic Container Box) ก็เป็นอีกภาชนะหนึ่งที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดฟางได้ มีขั้นตอนในการผลิตที่ไม่ยุ่งยาก ใช้พื้นที่ในการผลิตน้อย มีต้นทุนการผลิตต่ำเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงเห็ดฟางในตะกร้า (รูปที่ 1.11 ง) และนอกจากนั้นยังมีการประยุกต์ใช้ถุงดำในการเพาะเลี้ยงเห็ดตระกูลนางรม (รูปที่ 1.11 ฉ) และประยุกต์ใช้ขวดพลาสติกทรงกระบอกสูงในการเพาะเลี้ยงเห็ดออริงจิ (รูปที่ 1.11 จ) ซึ่งเห็ดสามารถเจริญเติบโตได้ดี (วาริณี ธรรมชาติไพศาล, 2553; สำเนาว์ ฤทธินุช, 2554; Steamy, 2009; Zen cart, 2012)

การเพาะเห็ดในถุงพลาสติก PP (ก)

การเพาะเห็ดในตะกร้าทรงเตี้ย (ข)

การเพาะเห็ดในตะกร้าทรงสูง (ค)

การเพาะเห็ดในกล่องพลาสติก (ง)

การเพาะเห็ดในขวดพลาสติก (จ)

การเพาะเห็ดในถุงดำ (ฉ)

รูปที่ 1.11 การเพาะเห็ดในภาชนะต่างๆ

ที่มา : [ก]วาริณี ธรรมชาติไพศาล (2554) ; [ข-ง]สำเนาว์ ฤทธินุช (2554); [จ]Steamy kitchen (2009); [ฉ]Zen cart, (2012).

1.2.9 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์จากเห็ด

1.2.9.1 อุณหภูมิของการสกัด (Temperature of exrtaction)

อุณหภูมิ เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่ออัตราการสกัดและปริมาณสารที่สกัดได้ ซึ่งเมื่อทำการสกัดที่อุณหภูมิ อัตราการสกัดและปริมาณสารที่สกัดได้ก็จะสูง เนื่องจากการแพร่ของตัวละลายและตัวทำละลายสูงกว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิต่ำ อย่างไรก็ตามการใช้อุณหภูมิสูงในการสกัดจะทำให้มีการชะสารที่ไม่ต้องการออกมาระหว่างการสกัดมากเกินไปและยังก่อให้เกิดการเสื่อมเสียทางเคมีของผลิตภัณฑ์ นอกจากนั้นการสกัดที่อุณหภูมิสูงเกินไปจะให้สูญเสียตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด (เกษม พลายแก้ว, 2553) ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์อยู่ในช่วง 100-121 องศาเซลเซียส (Suwanno *et al*., 2005; Xujie and Wei, 2008)

1.2.9.2 ระยะเวลาในการสกัด (Exrtaction time)

ระยะเวลาในการสกัดเป็นตัวแปรที่มีอิทธิพลต่ออัตราการสกัดโดยสารของของแข็งจะแพร่เข้าสู่ของเหลวระยะเวลาตั้งแต่เริ่มสัมผัสกันของของแข็งและของเหลว จนถึงความเข้มข้นทั้งสองสถานะมีความเข้มข้นเข้าสู่จุดสมดุล ซึ่งถ้าเวลาน้อยกว่าระยะเวลาที่เข้าจุดสมดุลจะสกัดสารที่สำคัญได้น้อยลง (เกษม พลายแก้ว, 2553) ซึ่งจากงานวิจัยของ Xujie และ Wei (2008) ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์จากเห็ด *Bachu* วางแผนการทดลองด้วยวิธี response surface methodology โดยจะทำการทดลองสกัดที่เวลา 2-10 ชั่วโมง จากงานวิจัยพบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด คือ 10 ชั่วโมงให้ผลผลิตสารโพลิแซคคาไรด์เท่ากับร้อยละ 8.73

1.2.9.3 ตัวทำละลายในการสกัด (Solvent extraction)

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีแยกสารที่เป็นของเหลวปนกับของเหลว หรือของแข็งปนของแข็ง โดยอาศัยสมบัติการละลายของสาร และเป็นการแยกสารที่ต้องการออกจากส่วนต่างๆ ของพืชหรือของผสมที่อยู่ในรูปของแข็ง มีหลักการสำคัญในการสกัด คือ ในขั้นตอนแรกจะทำการขจัดน้ำออกจากตัวอย่างก่อน ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตากแดด การอบ และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง บดตัวอย่างให้ละเอียดเพื่อทำให้มีพื้นที่ผิวมากซึ่งจะสกัดสารออกมาได้มากที่สุด จากนั้นเติมตัวทำละลายที่เหมาะสมลงในตัวอย่างที่ต้องการสกัดแล้วนำมาแช่หรือนำไปต้ม เพื่อให้สารที่ต้องการที่จะสกัดละลายในตัวทำละลาย โดยมีหลักเกณฑ์ในการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม คือ สารละลายต้องละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี ไม่ละลายสารอื่นๆที่ไม่ต้องการหรือละลายได้น้อยมาก ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการจะแยก ควรแยกออกจากสารละลายได้ง่าย และทำให้บริสุทธิ์ได้ง่ายเพื่อจะได้นากลับมาใช้ใหม่ได้อีก ควรมีราคาถูก และหาได้ง่าย ไม่มี

พิษ มีจุดเดือดต่ำ ซึ่งในการสกัดสารบางชนิดจะต้องใช้ตัวทำละลายในการสกัดมากกว่าหนึ่งชนิด และจะต้องทำการสกัดหลายครั้ง เช่น การสกัดปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ เนื่องจากน้ำตาลบางชนิดที่เป็นองค์ประกอบของสารโพลิแซคคาไรด์สามารถละลายได้ดีเมื่อสกัดด้วยด่าง และน้ำตาลบางชนิดสามารถละลายได้ในน้ำดังนั้นเพื่อให้ตัวทำละลายละลายสารที่ต้องการสกัดออกมาได้ทั้งหมดจึงต้องสกัดปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ด้วยด่างและน้ำ นอกจากนั้นการสกัดสารจากพืชเพื่อผลิตเครื่องดื่มหรือผลิตภัณฑ์อาหารอื่นๆ นิยมใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัด (รานี สุวรรณพฤกษ์, 2550 ; Huang and Liu, 2008)

1.2.9.4 การกวน (Agitation)

การกวนตัวทำละลายในการสกัดเป็นการเพิ่มอัตราการการสกัดเนื่องจากทำให้เกิดการแพร่ในสภาวะปั่นป่วน ทำให้มีอัตราการแพร่ที่สูงขึ้น จึงทำให้เกิดการถ่ายโอนมวลสารจากผิวสัมผัสของอนุภาคไปยังตัวทำละลายสามารถเกิดได้ดียิ่งขึ้น (รานี สุวรรณพฤกษ์, 2550)

1.2.9.5 ขนาดของอนุภาค (Particle size)

ขนาดอนุภาคเป็นปัจจัยอีกชนิดหนึ่งที่มีผลต่อการสกัดโดยหากอนุภาคมีขนาดเล็กจะทำให้พื้นผิวในการถ่ายเทมวลมีมากขึ้นและระยะทางของตัวถูกละลายที่อยู่ภายในของแข็งจะแพร่กระจายสู่ตัวทำละลายได้ดีกว่าอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ ส่งผลทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงขึ้น ดังนั้นก่อนนำตัวอย่างมาสกัดควรทำให้ตัวอย่างมีขนาดเล็กลงก่อน (เกษม พลายแก้ว, 2553) จากการศึกษาวิจัยของ Suwanno และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาถึงผลของขนาดอนุภาค (Particle size) ของตัวอย่างเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) ต่อการสกัดปริมาณสารβ-1,3-glucan จากการงานวิจัยพบว่า ปริมาณสารβ-1,3-glucan มีปริมาณสูงสุดเท่ากับ 175 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อสกัดจากตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 0.2 มิลลิเมตร

1.2.10 Fluorescence spectrophotometer

12.10.1 หลักการวิเคราะห์

Fluorescence spectrophotometer เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณโดยการวัดความเข้มข้นของฟลูออเรสเซน สามารถจำแนกได้ออกเป็น 4 วิธี คือ วิธีการหาโดยตรง (Direct Method) วิธีนี้ใช้วัดความเข้มของฟลูออเรสเซนโดยตรงได้เลย เพราะสารที่นำไปวัดนั้นสามารถให้ฟลูออเรสเซนได้ โดยจะต้องเลือกตัวทำละลาย ความเป็นกรดด่าง ค่า Exitation (λ_{ex}) Emission (λ_{em}) และความเข้มข้นให้เหมาะสมทั้งสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน ความเข้มของฟลูออเรสเซน

ที่วัดได้จากสารตัวอย่างนำไปอ่านจากกราฟมาตรฐานอีกครั้งหนึ่ง หรืออาจใช้วิธีที่เรียกว่า standard addition วิธีหาทางอ้อม (Indirect Method) การวิเคราะห์โดยวิธีนี้ สารที่จะทำการวิเคราะห์จะไม่ให้ฟลูออเรสเซน แต่จะอาศัยคุณสมบัติของสารนี้ไปทำปฏิกิริยากับสารที่ให้ฟลูออเรสเซน แล้วทำให้ฟลูอออเรสเซน ลดลงไป เรียกว่าการเกิด quenching ความเข้มของฟลูออเรสเซนที่ลดลงขึ้นอยู่กับปริมาณของสารที่วิเคราะห์ที่เติมลงไป และเราสามารถคำนวณหาปริมาณได้โดยอ่านจากกราฟมาตรฐาน (calibration curve) หรือในทางตรงข้ามสารที่จะทำการวิเคราะห์อาจช่วยทำให้ความเข้มของฟลูออเรสเซนเพิ่มขึ้น วิธีทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโมเลกุล (Rearrangement Method) เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณของสารโดยใช้วิธีทำให้โมเลกุลของสารที่วิเคราะห์เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างของโมเลกุล จากโครงสร้างที่ไม่ให้ฟลูออเรสเซนกลายเป็นสารที่ให้ฟลูออเรสเซนได้โดยให้ทำปฏิกิริยากับสารบางชนิด เช่นการวิเคราะห์ปริมาณสาร Schizophyllan ซึ่งสารสกัดที่ต้องการวิเคราะห์เป็นสารที่ไม่ให้ฟลูออเรสเซนดังนั้นในการวิเคราะห์จะต้องเติมสารเคมีลงไปเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาแล้วได้สารที่ให้ฟลูออเรสเซน และวิธีทำให้เกิดสารเชิงซ้อนกับสารอื่น (Complexing Method) วิธีนี้โดยทั่วไปได้นำไปใช้เป็นวิธีหาปริมาณของพวกสารอนินทรีย์ หรือพวกไอออนของโลหะโดยใช้วิธีทำให้เกิด chelate กับสารอินทรีย์บางชนิดแล้วทำให้เกิดฟลูออเรส (แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม, 2535)

1.2.10.2 ข้อดีของ Fluorescence spectrophotometer

เป็นเทคนิคการวิเคราะห์สารอินทรีย์และอนินทรีย์ที่ให้สภาพไวสูง มีความเที่ยง เป็นวิธีที่เฉพาะจึงไดรับความนิยมนำมาใช้เป็นวิเคราะห์ในงานประจำทั่วไป และการวิเคราะห์สารในปริมาณน้อยๆ (Trace analysis) สำหรับฟลูออร์เรสเซนซ์เทคนิคถือว่าให้สภาพไวสูงกว่าสเปคโทรโฟโตเมตริกเทคนิคประมาณ 1-3 เท่า (แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม, 2535)

1.2.10.3 ข้อจำกัดของ Fluorescence spectrophotometer

สัญญาณของฟลูออเรสที่วัดได้นั้นเป็นความเข้มของแสงที่เกิดขึ้นสูงกว่า background แต่ความเข้มของแสงที่วัดได้ไม่มีการหักล้าง background ออก ดังนั้น background จึงเป็นปัญหาใหญ่ของเทคนิคนี้ เพราะจะเป็นส่วนที่ทำให้ค่า detection limit ผิดพลาด แฟกเตอร์ที่สำคัญที่ทำให้ค่า luminescence blank สูงขึ้นได้แก่ ฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นเกิดจากสารเจือปนในตัวทำละลายสารตัวอย่างเกิดการสลายตัวด้วยแสงลูมิเนสเซนซ์ที่เกิดจากเซลล์ที่ใส่สาร ฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดจาสารอื่นๆที่มีอยู่ในสารตัวอย่างสารเจือปนอยู่ในสารตัวอย่างและในตัวทำละลาย อาจไปทำให้เกิด quenching แบ่งออกได้เป็น static quenching (II) ซึ่งเป็นการเกิดปฏิกิริยาของสารที่เป็นตัว

เกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่สถานะพื้นกับ λ_{ex} และ λ_{em} แล้วทำให้สเปคตรัมเปลี่ยนไปอีกอย่างหนึ่งเรียกว่า Dynamic quenching (III) ซึ่งเป็นกระบวนการเกิดอัตรกิริยาของโมเลกุลที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่อยู่ในสถานะกระตุ้น ซึ่งจะทำให้ฟลูออเรสเซนซ์สเปคตรัมเปลี่ยนแปลงไป(แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม, 2535)

1.2.11 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

1.2.11.1หลักการวิเคราะห์

HPLC เป็นเทคนิคการแยกสารประกอบ (Substances) โดยอาศัยหลักการความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบใน Stationary Phase โดยมี Mobile Phase เป็นตัวพาไป เมื่อต่อเข้ากับ Detector จะสามารถตรวจวัดสารที่ออกมาจากคอลัมน์(Analytes or Solutes) ได้อย่างต่อเนื่องสามารถตรวจวัดทั้งเชิงคุณภาพ (Qualitative Analysis) และเชิงปริมาณ (Quantitative Analysis) ส่วนใหญ่นิยมใช้วิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยยาก (Low Volatile Substation) หรือน้ำหนักโมเลกุลสูง (พัฒนา เหล่าไพบูรณ์, 2554)

1.2.11.2 ข้อดีของ HPLC

HPLC เป็นเครื่องแยกสารที่มีประสิทธิภาพสูง ใช้งานง่าย วิเคราะห์ได้รวดเร็ว สามารถวิเคราะห์สารได้หลายชนิด เช่น สารอินทรีย์ สารประกอบทางชีวภาพ โพลีเมอร์ คู่อิแนนทิโอเมอร์ สารประกอบที่เสียสภาพได้ง่าย สารประกอบที่ระเหยยาก ไอออนขนาดเล็ก ไมโครโมเลกุล ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ต้องเป็นของแข็งหรือของเหลว ต้องละลายได้ 100 และสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้โดยตรงสารประกอบที่ถูกแยกนั้นจะเคลื่อนที่ไปตามความยาวทั้งหมดของคอลัมน์ โดยมี Mobile Phase เป็นตัวพาไป โดยดันสารต่างๆในสารตัวอย่างผ่านไปบนตัวกลางที่ไม่เคลื่อนที่ หรือเคลื่อนที่ได้เล็กน้อยที่เรียกว่า เฟสนิ่ง(stationary phase) ซึ่งเฟสนิ่งจะสร้างแรงหน่วง(retention force) ต่อสารชนิดต่าง ๆจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ ขนาด รูปร่าง ประจุความจำเพาะ (specificity) การดูดซับ(adsorption) การละลาย(solubility) ดังนั้นความแตกต่างกันของแรงหน่วง จึงทำให้โมเลกุลของสารแต่ละชนิดเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ซึ่งบรรจุเฟสนิ่ง ในเวลาหน่วง(retention time)ที่แตกต่างกันค่าที่เครื่องวัดได้สามารถนำไปหาปริมาณโดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน(พัฒนา เหล่าไพบูรณ์, 2554)

1.2.11.3 ข้อกำจัดของ HPLC

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารโดยเครื่อง HPLC จะต้องมีการระบุชนิดสารประกอบจำเป็นต้องมีสารมาตรฐานเทียบเคียงเสมอ ยกเว้นในกรณีที่มีการต่อเชื่อม กับเทคนิคแมสสเปกโทรเมทรี (MS) ในกรณีที่สารตัวอย่างมีความซับซ้อนจะใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC จะต้องเป็นสารเคมีที่เฉพาะต่อการวิเคราะห์ HPLC (HPLC grad) เท่านั้น (พัฒนา เหล่าไพบูรณ์, 2554)

1.2.12 การจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ด

1.2.12.1 หมักปุ๋ย

การเพาะเห็ดเป็นอาชีพเสริมที่สามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกร และมีขั้นตอนในการเพาะเลี้ยงที่ไม่ยุ่งยาก แต่ปัญหาที่พบหลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตเห็ด คือ ก้อนเห็ดที่หมดอายุเป็นจำนวนมากที่ต้องทำลายทิ้ง และอาจก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม วิธีการจัดการที่ดีและเป็นที่นิยม คือ การนำมาเป็นปุ๋ยให้กับพืช ซึ่งวัสดุที่สามารถนำมาผลิตปุ๋ย คือ วัสดุที่สามารถสลายตัวได้ ส่วนใหญ่เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร และอุตสาหกรรมการเกษตร โดยวัสดุเหลือทิ้งแต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบของธาตุอาหารที่มีสมบัติในการผลิตปุ๋ยที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1.4) วัสดุเพาะเห็ดที่หมดอายุแล้วก็เป็นวัสดุเหลือทิ้งอีกชนิดหนึ่งที่ยังคงเหลือธาตุอาหารที่พืชต้องการและสามารถนำไปใช้ได้ แต่เนื่องจากก้อนเชื้อเห็ดมีอาหารเสริมประเภท รำละเอียด ปูนขาว ดีเกลือและน้ำตาล ซึ่งธาตุอาหารเหล่านี้โดยปกติแล้วไม่เป็นพิษต่อต้นไม้ แต่เมื่อใส่ก้อนเชื้อเห็ดเก่าลงไปส่งผลทำให้ต้นไม้เกิดอาการใบเหลือง และใบร่วง ทั้งนี้เนื่องจากอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่มีอยู่ในก้อนเชื้อเห็ดเก่ามีปริมาณสูงเกินไปทำให้ไปดูดธาตุอาหารในพืชออกมา ส่งผลให้พืชเกิดใบเหลือง ดังนั้นก่อนนำก้อนเชื้อเห็ดไปใส่เป็นปุ๋ยให้กับต้นไม้จะต้องทำการหมักก่อนเพื่อปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนให้อยู่ในระดับที่ไม่เป็นพิษต่อต้นไม้ ซึ่ง พ.ร.บ ปุ๋ยอินทรีย์แห่งชาติ 2550ได้กำหนดคุณลักษณะของปุ๋ยหมักจะต้องมีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนไม่เกิน 20:1 ปริมาณไนโตรเจนต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 1.0 ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.5 (กรมพัฒนาที่ดิน, 2545; ปรียาภรณ์ แนมใส, 2546)

1.2.12.2 วัสดุเพาะเห็ด

เห็ดฟางเป็นเห็ดที่ไม่มีเอนไซม์ในการย่อยสลายสารอาหารดังนั้นวัสดุที่จะเพาะเห็ดฟางจะต้องเป็นวัสดุที่ผ่านการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ ก้อนเชื้อเห็ดเก่าจึงเป็นวัสดุเพาะทางเลือกใหม่ในการเพาะเลี้ยงเห็ดฟาง ถือเป็นวิธีการหนึ่งในการลดต้นทุนในการผลิต และยังเป็นการจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดโดยนำกลับมาใช้ใหม่ นอกจากนั้นก้อนเชื้อเห็ดเก่ายังสามารถนำกลับมาใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ดได้โดยนำไปผสมกับขี้เลื่อยใหม่ในอัตราส่วนที่เหมาะสม ในการเพาะเห็ดโดยทั่วไปจะใช้ก้อนเชื้อเห็ดเก่าและขี้เลื่อยใหม่ในอัตราส่วนร้อยละ 35: 65 จากนั้นเติมสารอาหารอื่นๆที่เห็ดต้องการ เช่นวิธีการเพาะเห็ดโดยทั่วไป การนำก้อนเชื้อเห็ดเก่ามาใช้ซ้ำเป็นการลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงเห็ดนอกจากนั้นยังเป็นการกำจัดขยะที่เกิดขึ้นอีกทางหนึ่ง (วิทยา ทวีนุช, 2552: กรมวิชาการเกษตร, 2553)

ตารางที่ 1.4 คุณสมบัติของวัสดุอินทรีย์ที่สามารถนำมาผลิตปุ๋ยอินทรีย์ได้

ตัวอย่าง	%N	%P	%K	%OM	%Ca	%Mg	%Mn	%Zn	%Cu	%Fe
แกลบ	0.35	0.014	0.52	0.22	0.22	0.027	0.039	0.002	0.001	2.744
ขี้เถ้าเตา	0.15	0.233	1.78	0.50	0.50	0.145	0.021	0.010	0.001	0.702
กากอ้อย	0.34	0.018	0.35	0.11	0.11	0.019	0.002	0.002	0.001	0.034
ขี้เถ้าแกลบ	0.22	0.008	0.50	0.05	0.05	0.057	0.013	0.010	0.001	0.042
ซังข้าวโพดหวาน	2.13	0.342	0.94	0.05	0.05	0.114	0.002	0.010	0.001	0.018
เปลือกข้าวโพด	1.37	0.197	1.38	0.10	0.10	0.087	0.001	0.002	0.002	0.031
รำอ่อน	2.64	2.521	2.09	0.03	0.03	0.617	0.008	0.010	0.001	0.015
ใบยาสูบ	0.77	0.347	0.18	0.49	0.49	0.248	0.009	0.005	0.002	0.166
ก้อนเห็ดเก่า	0.29	0.196	0.43	0.93	0.93	0.520	0.008	0.025	0.001	0.164

ที่มา : กรมพัฒนาที่ดิน (2545)

1.2.12.3 สกัดเอนไซม์เพื่อบำบัดสีย้อมในน้ำเสีย

การบำบัดสีย้อมในน้ำเสียทำได้ยากและมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง เนื่องจากสีย้อมมีองค์ประกอบของสารที่ย่อยสลายยาก ที่สังเคราะห์ขึ้นเพื่อให้มีความทนทานต่อการฟอกจางสี สีย้อมในน้ำเสียสามารถก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและมนุษย์ได้ โดยสีย้อมเป็นอนุภาค

คอลลอยด์ เมื่อจมอยู่ในน้ำจะกีดขวางการส่องผ่านของแสงอาทิตย์ลงสู่แหล่งน้ำ ทำให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสงของพืชและสาหร่าย ลดความสามารถในการละลายของออกซิเจนในแหล่งน้ำ นอกจากนั้นสีย้อมหลายชนิดเป็นสารก่อมะเร็งและก่อการกลายพันธุ์ เมื่อมีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำแล้วจะบำบัดให้หมดไปได้ยาก (Wensenberg *et al*., 2003) วิธีการบำบัดสีย้อมในน้ำเสีย ขึ้นอยู่กับประเภทของสีย้อม และโครงสร้างของสี ซึ่งวิธีการบำบัดสีย้อมโดยวิธีทางชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีการศึกษาวิจัยพบว่ามีประสิทธิภาพในการบำบัดได้ดี โดยเฉพาะกลุ่มของจุลินทรีย์ประเภทเห็ดราชนิดไวร์อท (White rot fungi) เช่นเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) เห็ดกระดุม (*Agaricus bisporus*) และเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) เนื่องจากเห็ดดังกล่าวสามารถสร้างเอนไซม์ Laccase, manganese peroxidase , Lignin peroxidase ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักในการบำบัดสีย้อม การศึกษาการสกัดสกัดเอนไซม์ดังกล่าวสามารถสกัดได้จากเชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวโดยทั่วไป และสามารถสกัดได้จากก้อนเชื้อเห็ดเก่าทั้งนี้เนื่องจากเห็ดสามารถผลิตเอนไซม์ Laccase, manganese peroxidase , Lignin peroxidase ในขณะที่มีปริมาณสารอาหารไม่สมบูรณ์ ดังนั้นก้อนเชื้อเห็ดเก่ายังคงมีปริมาณธาตุอาหารและ เอนไซม์ดังกล่าวหลงเหลืออยู่ จึงสมารถสกัดเพื่อไปใช้ในการบำบัดสีย้อมในน้ำเสียได้ ดังนั้นการนำก้อนเชื้อเห็ดเก่าที่ผ่านการเพาะเห็ดแล้วมาสกัดเอนไซม์เพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียเป็นวิธีการหนึ่งในการจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ด(อภิญญา บรรลือทรัพย์, 2551; Wengel *et al*., 2006; Lau *et al*., 2003)

1.2.13 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับเห็ดแครง

1.2.13.1 ลักษณะทั่วไป

เห็ดแครงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Schizophyllum commune* และมีเชื่อทั่วไปว่า เห็ดแก้น เห็ดตามอด เห็ดแต้บ (ภาคเหนือ) และ เห็ดแครง(ภาคใต้)จัดอยู่ในอาณาจักร *Fungi* ดีวิชัน *basidiomycota* ชั้น *basidiomycete* อันดับ *agricales* วงศ์ *Schizophyllaceae* สกุล *Schizophyllum* ชนิด *Schizophyllum commune* มีลักษณะของดอกเห็ดที่เจริญข้างเดียวเป็นรูปคล้ายพัดกว้าง 1-3 เซนติเมตร ยาว 1-4 เซนติเมตร ด้านบนมีสีขาวหม่น มีขนละเอียดสีเดียวกัน ด้านล่างมีสีน้ำตาล หรือสีน้ำตาลอมแดง ลักษณะคล้ายครีบแคบเรียวเล็กแยกเป็นแฉกมีรัศมีจากโคนดอกเป็นบางแห่งทำให้มองดูคล้ายตีนตุ๊กแก มีผิวเรียบ ขึ้นเป็นดอกเดี่ยวกระจัดกระจายหรือเป็นกลุ่มซ้อนกันเป็นชั้นๆ บนท่อนไม้มีการดำรงชีวิตแบบผู้ย่อยสลายเจริญทั้งแบบดอกเดี่ยวๆ และเป็นกลุ่มมักขึ้นตามไม้เนื้อแข็งที่ตายแล้ว จะเจริญเติบโตได้ดีเมื่อมีความชื้นที่เหมาะสม (อนงค์ จันทร์ศรีกุล, 2541 อนงค์ จันทร์ศรี

กุล, 2546; Aaejoye *et al*., 2007; Kumari *et al*., 2008) รายละเอียดดังแสดงในรูปที่ 1.12 ซึ่งเป็นรูปถ่ายจากสถานที่จริงในแหล่งธรรมชาติ

รูปที่ 1.12 ลักษณะทั่วไปของเห็ดแครง (รูปถ่ายจากสถานที่จริงในแหล่งธรรมชาติ)

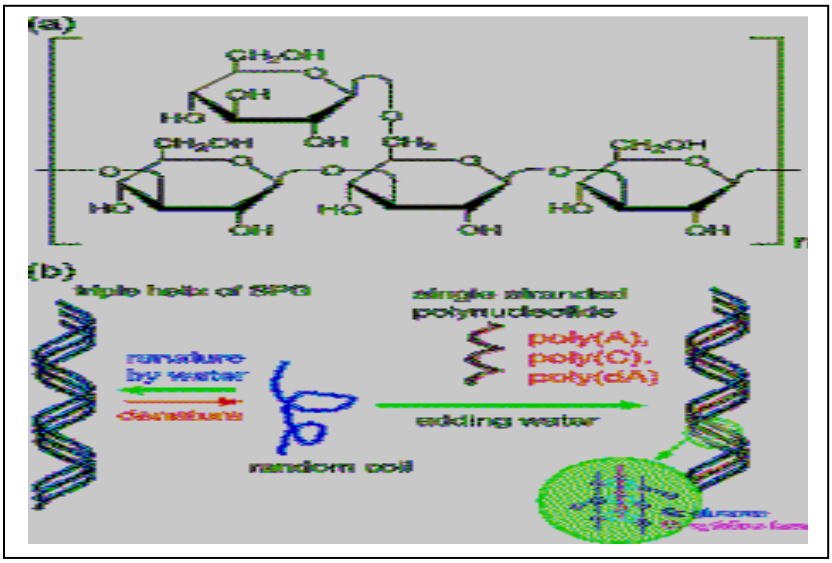
1.2.13.2 คุณค่าทางอาหาร

เห็ดแครงเป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางอาหารสูง มีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายหลายชนิดได้แก่ Cystine, Glutamine นอกจากนั้นมีสารอาหารจำพวกโพลิแซคคาไรด์เป็นจำนวนมาก โดยในเห็ดแครง100 กรัมจะมีธาตุเหล็ก 280 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 646 มิลลิกรัม แคลเซียม 90 มิลลิกรัม ไขมันร้อยละ 50 โปรตีนร้อยละ17 และมีตามินบี 2 ที่ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ ของเอนไซม์หลายชนิดที่อยู่ในรูป Flavin mono-nucleotide (FMN) และ Flavin adenine dinucleotide (FAD) โดยที่ FMN จะเกี่ยวข้องกับเมตตาบอลิซึมของกรดไขมัน วิตามินบี 6 ส่วน FAD เกี่ยวข้องกับการสร้างพลังงานและการสังเคราะห์ Niacin จากกรดอะมิโน ซึ่งมีคุณสมบัติในการช่วยเผาผลาญ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน (Karoline,2006) และจากงานวิจัยของ Lin และคณะ (1990) ที่ศึกษาปริมาณกรดอะมิโนในเห็ดกินได้ 30 ชนิด พบว่าเห็ดแครงมีกรดอะมิโนชนิด Aspatate, Threonine, Serine, Glutamic acid, Glucin, Amine, Valine, Methionine, Isoleusine, Luecine, Tyrosine, Phenylanine, Lysine, Histidine, Argidine, และProline ในปริมาณร้อยละ 1.02, 0.50, 0.50, 1.26, 0.52, 0.76, 1.04, 0.61, 0.46, 0.74, 0.24, 0.40, 0.60, 0.22, 0.60 และ 0.30 ตามลำดับ

1.2.13.3. คุณสมบัติทางเภสัชวิทยา

เห็ดแครงนอกจากจะมีคุณค่าทางอาหารสูงแล้วยังมีสารเบต้ากลูแคน (β- glucan) ซึ่ง Shizophyllan ที่มีชื่อเรียกว่า Schizophyllan เป็นสารประกอบของโพลิแซคคาไรด์ เป็นสารที่ไม่มีไอออน ละลายน้ำได้ ประกอบด้วยโซ่ตรงของ β-D-(1-3)-glucopyranosyl และ β-D-(1-6) glucopyranosyl เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส ที่เชื่อต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ที่มีลักษณะเป็นวงแหวนไพราโนส (รูปที่ 1.13) เป็นผลผลิตที่ได้จากเห็ดแครง ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ มีหน้าที่หลัก คือ การทำให้เซลล์คงรูปร่าง เสริมสร้างความแข็งแรง ป้องกันการแตกของเซลล์ (Osmotic Layer) และทำหน้าเกี่ยวกับกลไกในการคัดกรองสารต่างๆก่อนเข้าสู่เซลล์ (Matsumoto *et al*, 2004; Karinaga *et al.,* 2006) สาร Schizophyllan มีหน้าที่และคุณสมบัติที่เกี่ยวข้องกับเรื่องของสุขภาพ มีคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งหลายชนิดได้แก่ Sarcoma180, Sacoma37, Ehrich carcinoma โดยสาร Schizophyllan จะไปกระตุ้นการทำงานของ Macrophage ซึ่งมีผลทำให้ T-cell ทำงานได้ดีขึ้น ช่วยกระตุ้นการทำงานของเซลล์ให้เป็นปกติ ในประเทศญี่ปุ่นมีการรักษาคนไข้ที่เป็นโรคมะเร็งในระบบทางเดินอาหารจำนวน 367 คน โดยใช้สาร Schizophyllan ร่วมกับยา พบว่าจะมีชีวิตยืนกว่าพวกที่รักษาโดยใช้ยาอย่างเดียว และเมื่อใช้สาร Schizophyllan รักษาโรคมะเร็งปากมดลูกร่วมกับการฉายรังสี พบว่าคนไข้มีอายุยืนกว่ารักษาด้วยการฉายรังสีถึง 5 ปี สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ได้ทำการวิจัยนำสารสกัดจากเห็ดแครงมาพัฒนาเป็นครีมบำรุงผิวได้ประสบผลสำเร็จ โดยครีมบำรุงผิวจากเห็ดแครงมีคุณสมบัติช่วยให้ความอ่อนโยนต่อผิวหนัง เนื้อครีมจะมีสีขาวนวลและมีความชุ่มชื้นสูง หากมีการใช้อย่างสม่ำเสมอจะช่วยให้ผิวหนังดูอ่อนกว่าวัย และยังสามารถช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งผิวหนังได้ (รื่นฤดี โซ่มงคล และคณะ, 2549; สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2553 ; Kitamura *et al*.,1996; Stamets, 2000 ; Kumari *et al*., 2008) นอกจากนั้นยังมีคุณสมบัติในการป้องกัน และลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจ โรคเบาหวาน และยังช่วยในการลด Serum cholesterol โดยไปยับยั้ง 3-hydroxy-3-methylglutary coenzyme A ช่วยในการควบคุมปริมาณของอินซูลินให้อยู่ในปริมาณที่พอเหมาะ มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Anti-microbial) ที่สูงกว่าในกลูแคนโดยทั่วไป สาร Schizophyllan ที่สกัดจากเห็ดแครงด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 และซีโทนมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli*

สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดในหนูทดลอง เช่น *Pseudomonas arruginsen*, *Escherichia coli* (Klaus *et al*., 2011)



รูปที่ 1.13 โครงสร้างทางเคมีของเบต้ากลูแคน (Schizophyllan)
ที่มา. Matsumoto และคณะ (2004)

1.2.13.4 คุณค่าทางเศรษฐกิจ

ในอดีตชาวบ้านบริโภคเห็ดแครงเป็นอาหารเท่านั้น ซึ่งเห็ดแครงสามารถนำไปประกอบอาหารได้หลายชนิด เช่น แกงคั่ว และแกงกะทิ โดยมีราคาขายเห็ดแครงสดกิโลกรัมละ 80-150 บาท เห็ดแครงแห้งกิโลกรัมละ 400-500 บาท (ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2553) และในเห็ดแครงยังพบสาร Schizophyllan ที่สามารถสกัดได้ปริมาณ 8.03 กรัมต่อลิตร จากเชื้อเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวในสภาวะที่มีการเขย่า (Kumari *et al*., 2008) สำหรับการสกัดสาร Schizophyllan จากเชื้อเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งนั้นยังไม่พบรายงานการวิจัย สาร Schizophyllan ที่สกัดจากเห็ดแครงมีคุณสมบัติทางเภสัชศาสตร์ ซึ่งปัจจุบันพบว่าเบต้ากลูแคนมีราคาสูง และยังเป็นที่ต้องการของตลาดทำให้ต้องนำเข้าβ-glucan จากต่างประเทศปีละหลายพันล้านบาท

นอกจากนั้นยังพบว่าในสารสกัดจากเห็ดแครงมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระทำให้มีการนำสารสกัดจากเห็ดแครงมาพัฒนาเป็นครีมบำรุงผิว ซึ่งประสบผลสำเร็จสามารถ

จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ช่วยลดการนำเข้าผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากต่างประเทศ ซึ่งในปีที่ผ่านมูลค่าการนำเข้าผลิตภัณฑ์จากต่างประเทศมีปริมาณสูงถึง 4,000 ล้านบาท (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2553) และมีความเป็นไปได้ที่จะนำเห็ดแครงไปผลิตเป็นน้ำเห็ดสกัดพร้อมดื่ม เช่นเดียวกันกับน้ำเห็ดสกัดพร้อมดื่มที่สกัดจาก เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรมฮังการี เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดหูหนู เห็ดหอม และเห็ดหลินจือ ที่ศึกษาวิจัยโดย สุวิทย์ สุวรรณโณ และศิริวรรณ มากสุวรรณ (2553) จากการศึกษาวิจัยพบว่าน้ำเห็ดสกัดพร้อมดื่มมีสาร β-glucan ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ และมีรสชาติที่ดีเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยมีค่าการยอมรับทางประสาทสัมผัสสูงสุดคือ 8.45 เนื่องจากในเห็ดแครงมีสาร β-glucan ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพเช่นเดียวกันกับสาร β-glucan ที่สกัดได้จากเห็ดหูหนู เห็ดหอม และเห็ดหลินจือ และเพื่อเป็นการส่งเสริมให้ประชาชนมีการบริโภคเห็ดแครงเพื่อเป็นอาหารสุขภาพเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าทางด้านเศรษฐกิจของเห็ดแครง

เห็ดแครงจึงเป็นเห็ดอีกชนิดหนึ่งที่มีการส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงเพื่อสร้างรายได้เสริมให้กับเกษตรกร เนื่องจากปัจจุบันพบเห็ดแครงน้อยลงในแหล่งธรรมชาติ และมีแนวโน้มที่จะกลายเป็นเห็ดอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในอนาคต ซึ่งในการเพาะเลี้ยงเห็ดแครงเพื่อการค้าในปัจจุบันจะนำขี้เลื่อยไม้ยางพาราเป็นวัสดุในการเพาะเห็ด แต่ปัจจุบันขี้เลื่อยไม้ยางพารามีราคาสูงถึงตันละ1,500 บาท (สอบถามจากผู้ประกอบการ) ซึ่งส่งผลให้ต้นทุนในการผลิตเห็ดแครงในอนาคตก็จะมีต้นทุนที่สูงขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นหากมีการวิจัยนำวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรอื่นๆที่มีมูลค่าต่ำ เช่น ทะลายปาล์มเปล่า ซึ่งมีราคาขายตันละ 200 บาท (สอบถามจากผู้ประกอบการ) และมีปริมาณมากมาใช้เป็นวัสดุในการเพาะเห็ดแครงเพื่อเป็นวัสดุทางเลือกใหม่ทดแทนขี้เลื่อยยางพาราสามารถช่วยลดต้นทุนในการเพาะเห็ดแครงได้

1.3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.3.1) เพื่อคัดแยกเห็ดแครงจากแหล่งธรรมชาติของภาคใต้ ในจังหวัดพัทลุง สงขลา และยะลา

1.3.2) เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวมวลและสาร Schizophyllan จากเห็ดแครงสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ เพาะเลี้ยงบนวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน

1.3.3) เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการสกัดสาร Schizophyllan จากเห็ดแครงสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน

1.4. ขอบเขตการวิจัย

1.4.1 สำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์เห็ดแครงที่มีแหล่งกำเนิดในพื้นที่ทางภาคใต้ โดยเฉพาะจังหวัดทางภาคใต้ตอนล่างได้แก่ สงขลา พัทลุง และยะลา จำนวนตัวอย่างจังหวัดละ 3 ถึง 5 ตัวอย่างพร้อมทั้งแยกเชื้อเห็ดแครงให้อยู่ในรูปเชื้อบริสุทธิ์

1.4.2 วิเคราะห์สารที่มีคุณสมบัติทางเภสัชศาสตร์โดยเน้นที่สารโพลิแซคคาไรด์ในรูปของกลูแคนชนิด β-1,3-glucan (Schizophyllan) จากเส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี

1.4.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตชีวมวลและสารโพลิแซคคาไรด์จากสายพันธุ์เห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน โดยศึกษาปัจจัยของอัตราการผสมระหว่างทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน ปริมาณความชื้นของวัสดุเพาะเริ่มต้น ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ปริมาณเชื้อเริ่มต้น และภาชนะบรรจุสำหรับวัสดุเพาะ

1.4.4 ศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากชีวมวลเห็ดแครง โดยศึกษาที่ระดับอุณหภูมิ 70-120 องศาเซลเซียส และระยะเวลาการสกัด 60-120 นาที

ชื่อแฟ้ม:	บทที่ 1 v2
ไดเรกทอรี:	D:\เล่มสมบูรณ์ ล่าสุด\เล่มล่าสุด
แม่แบบ:	C:\Users\admin\AppData\Roaming\Microsoft\Templates\Normal.dotm
ชื่อเรื่อง:	
เรื่อง:	
ผู้สร้าง:	Corporate Edition
คำสำคัญ:	
ข้อคิดเห็น:	
วันที่สร้าง:	21/11/55 1:07:00
จำนวนการเปลี่ยนแปลง:	40
บันทึกล่าสุดเมื่อ:	01/12/55 23:31:00
บันทึกล่าสุดโดย:	admin
เวลาในการแก้ไขทั้งหมด:	344 นาที
พิมพ์ครั้งสุดท้ายเมื่อ:	24/01/56 6:17:00
เป็นงานพิมพ์ที่เสร็จสิ้นชิ้นสุดท้าย	
จำนวนหน้า:	37
จำนวนคำ:	9,199 (ประมาณ)
จำนวนอักขระ:	52,439 (ประมาณ)

บทที่ 2
วิธีการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองทางห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาถึงการผลิตชีวมวล และสารSchizophyllan (β-1,3-glucan) โดยเชื้อเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) โดยดำเนินการวิจัยที่ห้องปฏิบัติการ คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ซึ่งมีรายละเอียดการวิจัยดังนี้

2.1 วัสดุอุปกรณ์

2.1.1 วัสดุ

2.1.1.1 ตัวอย่างเห็ดแครง

2.1.1.2 ทะลายปาล์มเปล่า

2.1.1.3 ทางใบปาล์มน้ำมัน

2.1.1.4 เมล็ดข้าวเปลือก

2.1.1.5 รำข้าวละเอียด

2.1.1.6 มันเทศ

2.1.2 อุปกรณ์วิทยาศาสตร์

2.1.2.1 ฟลาส์ก (Flaks)

2.1.2.2 หลอดฝาเกลียว (Screw cap tube)

2.1.2.3 มีดและใบมีดผ่าตัด

2.1.2.4 ปากคีบ (Forceps)

2.1.2.5 Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.4 และ 0.8 เซนติเมตร

2.1.2.6 จานเลี้ยงเชื้อ (Plate)

2.1.2.7 ขวดดูแรน (Duran)

2.1.2.8 Micro tube (Eppendorf)

2.1.2.9 Pipettes tip ขนาด 200-5,000 ไมโครลิตร

2.1.3 เครื่องมือวิทยาศาสตร์

2.1.3.1 ตู้ปลอดเชื้อ (Lamina)

2.1.3.2 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)

2.1.3.3 ตู้บ่ม 25 องศาเซลเซียส (Incubator)

2.1.3.4 Spectro photometer (Shimazu รุ่น UV 1604)

2.1.3.5 Spectro fluorrescence photometer (JASCO รุ่น FP-750)

2.1.3.6 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

2.1.3.7 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

2.1.3.8 Automatic pipette ขนาด 200-5000 ไมโครลิตร

2.1.3.9 Centrifuge

2.1.4 อุปกรณ์อื่นๆ

2.1.4.1 พาราฟิล์ม

2.1.4.2 ถุงพลาสติก Polypropylene

2.1.4.3 กล่อง Polyvinyl chloride

2.1.4.4 ผ้าขาวบาง

2.1.4.5 โกร่งบดยา

2.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1.5.1 Potato Dextrose Agar สำเร็จรูป (Difco)

2.1.5.2 Sweet Potato Peptone Vitamin B_6 $CaCl_2$ Dextrose Agar (ภาคผนวก ก)

2.1.6 สารเคมี

2.1.6.1 น้ำตาลเด็กโตรส (HiMedia)

2.1.6.2 กรดซัลฟูริก (Merck)

2.1.6.3 ฟีนอล (Panreac)

2.1.6.5 ทราย Silicon dioxid (Sigma-Aldrich)

2.1.6.6 Aniline blue (Fluka)

2.1.6.7 Glycin (Fisher Scientific)

2.1.6.8 กรดไฮโดรคลอริก (Merck)

2.1.6.9 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck)

2.1.6.10 สารมาตรฐาน 1,3-β-D-Glucan (Fluka)

2.1.4.11 วิตามินบี 6 (HiMedia)

2.1.4.12 แคลเซียมคลอไรด์ (Ajax Finechem Pty Ltd)

2.1.4.13 เปบโตน (Difco)

2.1.4.14 ยูเรีย (Ajax Finechem Pty Ltd)

2.1.4.15 แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ajax Finechem Pty Ltd)

2.1.4.16 แอลกอฮอล์ร้อยละ 90 และ 70 (Merck)

2.2 วิธีวิจัย

2.2.1 การเก็บตัวอย่างเห็ด

เก็บรวบรวมสายพันธุ์เห็ดแครงจากแหล่งธรรมชาติโดยการสุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่ 3 จังหวัดภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดพัทลุง จะเก็บตัวอย่างจากอำเภอป่าบอน อำเภอตะโหมด และอำเภอป่าพะยอม จังหวัดสงขลาเก็บตัวอย่างจากอำเภอหาดใหญ่ อำเภอนาทวี และอำเภอสะบ้าย้อย จังหวัดยะลาจะเก็บจากอำเภอเมือง อำเภอรามัน และอำเภอยะหา โดยเก็บตัวอย่างใส่กล่องโฟมที่มีน้ำแข็งให้ความเย็น ถ่ายรูปเพื่อบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดแครงในแต่ละพื้นที่

2.2.2 การแยกเชื้อเห็ดแครงบริสุทธิ์

นำดอกเห็ดแครงสดแช่แอลกอฮอล์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 3 นาที นำไปล้างในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 2 ครั้งๆ ละ 1 นาที ตัดแต่งเนื้อเยื่อเห็ดส่วนที่โดนแอลกอฮอล์ทิ้ง ตัดชิ้นเนื้อเยื่อเห็ดให้เป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกเต๋าขนาด 2 x 2 x 2 มิลลิเมตร นำเนื้อเยื่อที่ผ่านการตัดแล้ววางบนอาหารแข็งพีดีเอ ปิดผนึกจานเพาะเชื้อด้วยพาราฟิล์ม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เขี่ยเชื้อบนอาหารชนิดเดียวกันซ้ำหลายๆ ครั้งจนได้เชื้อบริสุทธิ์ เก็บรักษาตัวอย่างเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ในหลอดอาหารเอียง (PDA slant) พันฝาหลอดด้วยพาราฟิล์มนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการทดลองต่อไป

2.2.3 การทดสอบอัตราการเจริญเติบโต

2.2.3.1) การทดสอบการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครงบนอาหารแข็งพีดีเอ (Potato Dextrose Agar : PDA) เจาะเส้นใยเห็ดแครงบริสุทธิ์ที่เจริญเติบโตบนอาหารแข็งพีดีเอเป็นเวลา 7 วัน ด้วย Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.4 เซนติเมตร แล้วย้ายชิ้นวุ้นวางลงกลางจานอาหารแข็งพีดีเอ (จานเพาะเชื้อมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) บ่มที่สภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วัดอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 20 วัน

2.2.3.2) การทดสอบการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครงบนอาหารแข็งเอสพีบีดี (Sweet Potato Peptone Vitamin B_6 $CaCl_2$ Dextrose Agar:SPBD)

ซึ่งทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.2.3.1 แต่เปลี่ยนสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นอาหารแข็งเอสพีบีดี ประกอบด้วย มันเทศ 250 กรัม น้ำตาลเด็กโตรส 20 กรัม เปบโตน 1 กรัม วิตามินบี 6 0.5 กรัม แคลเซียมคลอไรด์ 1.3 กรัม วุ้น 20 กรัม น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ทั้งนี้เพื่อศึกษาศักยภาพการเพิ่มปริมาณของเส้นใย และลดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงให้สั้นลง ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 12 วัน

2.2.4 การวิเคราะห์สารโพลิแซคคาไรด์

2.2.4.1) การเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว

เนื่องจากเห็ดแครงสดที่เก็บตัวอย่างในแต่ละพื้นที่มีปริมาณน้อย เมื่อนำไปทำแห้งด้วยวิธี Freezdry ตัวอย่างที่ได้มีปริมาณน้อยไม่เพียงพอต่อการวิเคราะห์สารโพลิแซคคาไรด์ อีกทั้งเห็ดแครงที่เก็บจากแหล่งธรรมชาติมีการปนเปื้อนของวัสดุอื่น เมื่อนำไปสกัดสารโพลิแซคคาไรด์ ทำให้มีโอกาสปนเปื้อนสารอื่นได้ง่าย ดังนั้นจึงต้องทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดแครงในอาหารเหลว โดยมีวิธีการเพาะเลี้ยงดังนี้ ใช้ Cork borror ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร เจาะเส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารพีดีเอเป็นเวลา 7 วัน จำนวน 4 ชิ้น ลงในฟลาส์กที่มีอาหารเหลวเอสพีบีดี (SPDB Broth) บรรจุ 100 มิลลิลิตร บ่มในตู้บ่มที่สภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จนเส้นใยเจริญเต็มฟลากส์ เก็บตัวอย่างกรองด้วยผ้าขาวบาง ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ตัวอย่างที่ได้นำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เพื่อสกัด และวิเคราะห์ปริมาณพลิแซคคาไรด์ต่อไป

2.2.4.2) วิเคราะห์ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์

สกัดสารโพลิแซคคาไรด์จากเส้นใยเห็ดแครง ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Suwanno และคณะ (2005) มีวิธีการดังนี้ นำเส้นใยเห็ดแครงที่ผ่านการทำแห้งจำนวน 1 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 120 นาที จากนั้นนำตัวอย่างมาบดโดยเติมทราย (Sea sand) 2 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง บดด้วยโกร่งจนละเอียด เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร หมุนเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จะได้สารละลายใสส่วนที่ 1 และตะกอน เก็บสารละลายใสที่ได้ ส่วนของตะกอนนำมาสกัดต่อโดยเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 40 นาที ส่วนใสที่ได้นำไปรวมกับส่วนใสส่วนที่ 1 ส่วนของตะกอนนำมาสกัดต่อโดยเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (1โมลาร์) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จะได้ส่วนใสส่วนที่ 2 เก็บส่วนใสที่ได้ ส่วนของตะกอนนำมาสกัดต่อโดยเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (1โมลาร์) ปริมาตร 5

มิลลิลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 40 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำส่วนใสที่ได้ไปรวมกับส่วนใสส่วนที่ 2 จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณโพลิแซคคาไรด์ ด้วยวิธี Phenol sulfuric colorimetric (Dubois *et al*., 1956) และวิเคราะห์ปริมาณ β-1,3-glucan โดยวิธี Aniline blue (Kauss, 1989 ดัดแปลงโดย Suwanno *et al*., 2007) และ วิธี HPLC (High performance liquid chroma tography) เพื่อหาสายพันธุ์เห็ดแครงในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่างที่ให้ปริมาณสารโพลิแซค-คาไรด์ในปริมาณสูง ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดแครงสำหรับการทดลองในข้อต่อไป

2.2.5 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครงและการผลิตสารโพลิแซคคาไรด์

ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวมวลและสารโพลิแซคคาไรด์จากสายพันธุ์เห็ดแครง โดยใช้เชื้อเห็ดแครงที่เลือกได้จากข้อ 2.2.4.2 จำนวน 3 ไอโซเลต โดยทำการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันต่อไปเพื่อศึกษาปัจจัยการเจริญต่างๆ ได้แก่

2.2.5.1) ศึกษาผลของอัตราส่วนที่เหมาะสมของวัสดุลิกโนเซลลูโลส โดยศึกษาอัตราส่วนของทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันตามตารางที่ 2.1 โดยควบคุมความชื้นเริ่มต้นที่ร้อยละ 80 และใช้เชื้อเริ่มต้นที่ร้อยละ 5

ตารางที่ 2.1 อัตราส่วนของวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดแครง

สูตรอาหาร	ทะลายปาล์มเปล่า (% dry wt.)	ทางใบปาล์มน้ำมัน (% dry wt.)
Control	100	-
EFB1	90	10
EFB2	80	20
EFB3	70	30
EFB4	60	40

- เตรียมวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าโดยการนำทะลายปาล์มเปล่ามากองสุมและรดน้ำให้ความชื้นเป็นเวลา 1 เดือน เพื่อให้จุลินทรีย์ในธรรมชาติช่วยย่อยสลายทะลายปาล์มเปล่าให้อยู่ในสภาพที่เชื้อเห็ดแครงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่าย จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักแห้งคงที่ ตัดให้มีขนาด 2-5 เซนติเมตร (Loss *et al*., 2009) และตัวอย่าง

บางส่วนไปวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนด้วยวิธี Walkley-Black และไนโตรเจนโดยวิธี Photometric Method (Novozamsky *et al*., 1974) ดังที่แสดงไว้ในรูปที่ 2.2

ทะลายปาล์มหมักเป็นเวลา 1 วัน (ก)　　ทะลายปาล์มหมักเป็นเวลา 1 เดือน (ข)

อบที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส (ค)　　วัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า (ง)

รูปที่ 2.1 ขั้นตอนการเตรียมวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า

- การเตรียมทางใบปาล์มน้ำมันโดยตัดทางใบปาล์มให้มีขนาด 2-5 เซนติเมตร อบแห้งที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักแห้งคงที่ (รูปที่ 2.3) ตัวอย่างบางส่วนไปวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน และไนโตรเจน เช่นเดียวกับทะลายปาล์มเปล่า

ทางใบปาล์มสด (ก)

ตัดให้มีขนาด 2-5 เซนติเมตร (ข)

อบที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส (ค)

วัสดุเพาะทางใบปาล์ม (ง)

รูปที่ 2.2 ขั้นตอนการเตรียมวัสดุเพาะทางใบปาล์มน้ำมัน

-การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น ดัดแปลงจากวิธีของ Philippoussis และคณะ (2001) โดยนำเมล็ดข้าวเปลือก ต้มสุกประมาณ 1 ชั่วโมงจนเมล็ดข้าวเริ่มแตก รอจนเมล็ดข้าวเย็นตัวแล้ว บรรจุลงในถุงพลาสติก (Polypropylene: PP) จำนวน 200 กรัม ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว รอให้เมล็ดข้าวเย็น เจาะเชื้อเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารพีดีเอ (อายุ 7 วัน) จำนวน 4 ชิ้น ด้วย Cork borer (เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.4 เซนติเมตร) ลงบนเมล็ดข้าวเปลือก นำไปบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส จนเส้นใยเจริญทั่วเมล็ดข้าว

-การเพาะเลี้ยงเชื้อบนวัสดุลิกโนเซลลูโลส โดยนำส่วนผสมของสูตรอาหารแต่ละสูตรตามตารางที่ 2.1 ผสมให้เข้ากันปรับความชื้นเท่ากับร้อยละ 80 ด้วยน้ำประปา แล้วแบ่งบรรจุ

ลงในถุงพลาสติก PP ขนาด 5x7 นิ้ว ถุงละ 47.5 กรัม หุ้มปากถุงด้วยคอขวดปิดด้วยจุกสำลีและอะลูมิเนียมฟรอย นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีปล่อยให้เย็นแล้วถ่ายเชื้อบริสุทธิ์ที่เพาะเลี้ยงบนเมล็ดข้าวเปลือกร้อยละ 5 บ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในสภาวะมืด เก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 วัน มีขั้นตอนในการเก็บตัวอย่างโดยนำตัวอย่างวัสดุเพาะที่เส้นใยเจริญในตู้บ่มไปอบที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ชั่งน้ำหนักตัวอย่างวัสดุเพาะที่ผ่านการอบเพื่อหาค่าการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโดยคิดจากค่าผันแปรของน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ ทำการเก็บตัวอย่างจนเส้นใยเห็ดเจริญเติบโตเต็มวัสดุเพาะ จากนั้นเมื่อเส้นใยเห็ดเจริญเติบโตเต็มวัสดุเพาะและเกิดตุ่มดอกให้นำไปเปิดดอกเพื่อหาค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา (Biological efficiency: BE) ดังสมการที่ 1 (Shen *et al*., 2008) ซึ่งมีขั้นตอนในการเปิดดอกโดยดึงจุกสำลีออก และกรีดถุงเพาะทุกด้าน จากนั้นนำไปบ่มต่อในที่ที่มีแสงแดดส่องถึง ซึ่งในขั้นตอนนี้จะต้องฉีดน้ำทุกๆวัน เพื่อให้ความชื้นแก่เส้นใยเห็ด

$$\text{Biological efficiency \%} = \left\{ \frac{\text{Weight of fresh biomass}}{\text{Weight of dry substrate}} \right\} \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ Weight of fresh biomass คือ น้ำหนักดอกเห็ดสด

Weight of dry substrate คือ น้ำหนักของวัสดุเพาะที่เหลือจากการเก็บตัวอย่างเห็ดแล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส

- การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดในหลอดทดลอง โดยนำส่วนผสมของสูตรอาหารแต่ละสูตรตามตารางที่ 2.1 ปรับความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 80 ด้วยน้ำประปา ลงในหลอดทดลองให้ได้ความยาวของวัสดุเพาะ 9 เซนติเมตร (ชั่งวัสดุเพาะประมาณ 13 กรัม) ปิดด้วยจุกสำลีและอะลูมิ-เนียมฟรอย ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีปล่อยให้เย็น แล้วถ่ายเชื้อบริสุทธิ์ที่เพาะเลี้ยงบนเมล็ดข้าว (ใช้เมล็ดข้าวเปลือกที่มีเชื้อเห็ดแกรง 3 เมล็ด) ลงในหลอดทดลอง วัดอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดจากความยาวของเส้นใยเห็ดที่เจริญ โดยจะวัดความยาวทุกๆ 2 วัน จนกว่าเส้นใยเห็ดจะเจริญเต็มหลอดทดลอง

2.2.5.2 การศึกษาผลของความชื้นในวัสดุเพาะเริ่มต้น ปรับความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะที่เลือกได้จากข้อ 2.2.5.1 ที่ระดับความชื้นร้อยละ 80 (ชุดควบคุม) ร้อยละ 70 ร้อยละ 60 และร้อยละ 50 ตามลำดับ เพาะเลี้ยงและเก็บตัวอย่างวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองข้อ 2.2.5.1

2.2.5.3 การศึกษาผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) เนื่องจากอัตราส่วนของ C/N เป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญของเส้นใย และการออกดอก ดังนั้นในการทดลองนี้จึงศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของอัตราส่วน C/N ต่อการเจริญของเส้นใย และการออกดอก โดยกำหนดระดับของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ระดับ 19, 21 และ 23 คำนวณอัตราส่วน C/N ตามวิธีของ Techobanoglous และคณะ (1993) แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการทดลองได้แก่ รำข้าว ยูเรีย และแอมโมเนียคลอไรด์ (NH_4Cl) ส่วนแหล่งคาร์บอนได้จากเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสของวัตถุดิบเอง (ควบคุมความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมที่ทดลองได้จากข้อ 2.2.5.2) ชุดควบคุมไม่ปรับอัตราส่วนของ C/N เพาะเลี้ยงเก็บตัวอย่าง และวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองการเพาะเลี้ยงเชื้อบนวัสดุลิกโนเซลลูโลส ข้อ 2.2.5.3

2.2.5.4 การศึกษาผลของปริมาณเชื้อเริ่มต้น เลือกชุดการทดลองที่เหมาะสมจากข้อ 2.2.5.3 ศึกษาระดับของเชื้อเริ่มต้น 3 ระดับที่ คือร้อยละ5 (ชุดควบคุม) ร้อยละ 10 และร้อยละ15 ตามลำดับ ทำการเพาะเลี้ยงเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองก่อนหน้านี้

2.2.5.5 การศึกษาผลของภาชนะบรรจุสำหรับการเพาะเลี้ยงเห็ดแครง เลือกสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง จากข้อ 2.2.5.4 มาศึกษาภาชนะบรรจุวัสดุสำหรับการเพาะเลี้ยงเห็ดแครง 2 แบบ คือ ถุงพลาสติก PP (ชุดควบคุม) และกล่องพลาสติก Polyvinyl chloride (PVC) โดยมีขั้นตอนการเพาะเลี้ยงในกล่อง PVC ดังนี้

-การเพาะเลี้ยงเชื้อบนวัสดุลิกโนเซลลูโลสในกล่อง PVC นำส่วนผสมของสูตรอาหารที่เหมาะสมจากการทดลองก่อนหน้านี้ บรรจุลงในกล่อง PVC 100 กรัม ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยให้เย็นแล้วถ่ายเชื้อบริสุทธิ์ที่เพาะเลี้ยงบนเมล็ดข้าวเปลือกร้อยละ 10 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปิดฝากล่องที่มีการเจาะรูเพื่อให้มีการระบายอากาศภายในวัสดุเพาะ (รูปที่ 2.4ก-ข) บ่มในตู้บ่ม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกๆ 3 วัน เพื่อหาค่าการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด (คิดจากค่าผันแปรของน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ) จนเส้นใยเจริญเต็มวัสดุเพาะ จากนั้นเปิดฝากล่องและบ่มต่อจนเกิดตุ่มดอกเห็ดแล้วนำไปเปิดดอกเพื่อหาค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา คำนวณตามสมการที่ 1 (Shen *et al*., 2008)

ลักษณะของกล่องที่ใช้ทดลอง (ก) การเจาะรูที่ฝากล่องเพื่อระบายอากาศ (ข)

รูปที่ 2.3 การเตรียมภาชนะบรรจุในการหมัก

2.2.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะในการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์จากดอกเห็ดแครงที่เลี้ยงได้โดยวิธีที่เหมาะสมจากข้อ 2.2.5.5 ใช้วิธีการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Suwanno และคณะ (2005) โดยศึกษา ระดับอุณหภูมิในการสกัด 70, 90, 110 องศาเซลเซียส และระยะเวลาการสกัด 60, 90, 120 นาที สารสกัดที่ได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์โดยวิธี Phenol-sulfuric colorimetric (Dubois *et al*., 1956) วิเคราะห์ปริมาณสาร β-1,3-glucan โดยวิธี Aniline blue (Kauss, 1989 ดัดแปลงโดย Suwanno *et al*.,2007) และ HPLC

2.2.7 การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน (Novozamsky *et al.*, 1974) ฟอสฟอรัส (ศรีสม สุวรรณวงศ, 2544) และโพแทสเซียม (ICP-OES) (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553) ในวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันที่ผ่านการเพาะเห็ดแครงแล้ว

2.2.8 การวางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ตามแผนการทดลองเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยแต่ละชุดการทดลอง โดยวิธี LSD (Least Significant Difference) และวิธี T-test

บทที่ 3
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดแครงในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย

จากการเก็บตัวอย่างเห็ดแครงจากแหล่งธรรมชาติในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดพัทลุง สงขลา และยะลา จังหวัดละ 3 ตัวอย่าง พบว่าลักษณะของดอกเห็ดแครงมี 2 แบบ คือ แบบที่ดอกเห็ดเจริญเป็นดอกเดี่ยวๆ ได้แก่ ตัวอย่างเห็ดที่เก็บในอำเภอป่าบอน (P1) อำเภอหาดใหญ่ (S1) อำเภอนาทวี (S2) และอำเภอสะบ้าย้อย (S3) ส่วนลักษณะการเจริญของดอกเห็ดแบบที่สอง คือดอกเห็ดมีการเจริญเป็นกระจุกหรือเป็นกลุ่ม ได้แก่ ตัวอย่างเห็ดที่เก็บจากอำเภอตะโหมด (P2) อำเภอป่าพะยอม (P3) อำเภอเมือง (Y1) จังหวัดยะลา อำเภอยะหา (Y2) และอำเภอรามัน (Y3) ซึ่งลักษณะของดอกเห็ดทุกแหล่งมีลักษณะคล้ายพัด มีขนาด 1.5-2.5 เซนติเมตร ดอกเห็ดด้านบนมีสีขาวจนถึงสีน้ำตาล ส่วนด้านล่างของดอกมีสีขาวปนเทา ก้านดอกสั้นมีสีขาวอมเทาจนถึงขาวอมน้ำตาล ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับช่วงอายุของดอกเห็ด ความชื้น และความอุดมสมบูรณ์ของวัสดุ ชนิดของวัสดุ ได้แก่ ท่อนไม้ และกิ่งไม้ที่เห็ดขึ้นในแต่ละแหล่งด้วยเช่นกัน (ตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดแครงในแต่ละพื้นที่เก็บตัวอย่าง

พื้นที่เก็บตัวอย่าง	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	
อำเภอป่าบอน (P1) จังหวัดพัทลุง		-ลักษณะการเจริญเติบโตแบบเดี่ยวๆ -ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด มีขนาด 1.4-2.3 ซ.ม. ดอกเห็ดด้านบนมีสีขาวหม่น ด้านล่างมีสีน้ำตาล ก้านดอก มีสีขาวปนน้ำตาลขนาด 0.6-0.7 ซ.ม.
อำเภอตะโหมด (P2) จังหวัดพัทลุง		-ลักษณะการเจริญเติบโตแบบกลุ่ม -ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด มีขนาด 1.5-2.0 ซ.ม.ดอกเห็ดด้านบนมีสีขาวหม่น ด้านล่างมีสีขาวปนเทา ก้านดอก มีสีขาวอมเทาขนาด 0.4-0.6 ซ.ม.

ตารางที่ 3.1 ลักษณะทางสัณฐานของเห็ดแครงในแต่ละพื้นที่เก็บตัวอย่าง (ต่อ)

พื้นที่เก็บตัวอย่าง	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	
อำเภอป่าพะยอม (P3) จังหวัด พัทลุง		-ลักษณะการเจริญเติบโตแบบกลุ่ม -ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด ด้านบนมีสีขาวหม่น มีขนาด 1.3-1.5 ซ.ม. ด้านล่างมีสีน้ำตาล ก้านดอกมีสีขาวอมน้ำตาลขนาด 0.3-0.6 ซ.ม.
อำเภอหาดใหญ่ (S1) จังหวัดสงขลา		-ลักษณะการเจริญเติบโตแบบเดี่ยวๆ - ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด ด้านบนมีสีน้ำตาลปนอ่อน มีขนาด 1.5-2.5 ซ.ม.ด้านล่างมีสีขาวปนน้ำตาล ก้านดอก มีสีน้ำตาลขนาด 0.4-0.7 ซ.ม.
อำเภอนาทวี (S2) จังหวัดสงขลา		-ลักษณะการเจริญเติบโตแบบเดี่ยวๆ -ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด มีขนาด 1.3-2.5 ซ.ม. ดอกเห็ดด้านบนมีสีขาว ด้านล่าง มีสีขาวปนเทา ก้านดอกมี สีเทาเข้มขนาด 0.4-0.6 ซ.ม.
อำเภอสะบ้าย้อย (S3) จังหวัดสงขลา		-ลักษณะการเจริญเติบโตแบบเดี่ยว -ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด ขนาด 1.3-2.2 ซ.ม. ดอกเห็ดด้านบนมีสีขาวหม่น ด้านล่างมีสีน้ำตาล ก้านดอกมีสีน้ำตาลเข้มขนาด 0.2-0.4 ซ.ม.

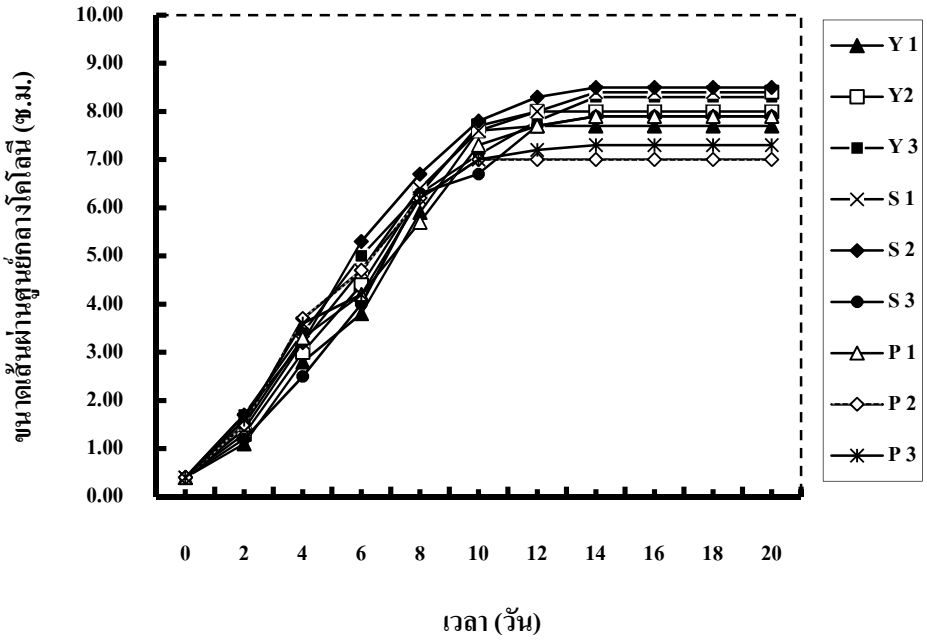
ตารางที่ 3.1 ลักษณะทางสัณฐานของเห็ดแครงในแต่ละพื้นที่เก็บตัวอย่าง (ต่อ)

พื้นที่เก็บตัวอย่าง	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	
อำเภอเมือง (Y1) จังหวัดยะลา		-ลักษณะการเจริญเติบโตแบบเป็นกลุ่ม - ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัดมีขนาด 1.5-2.5 ซ.ม.ดอกเห็ดด้านบนมีสีน้ำตาลปนขาว ด้านล่างมีสีน้ำตาลเข้ม ก้านดอกสั้น
อำเภอยะหา (Y2) จังหวัดยะลา		-ลักษณะการเจริญเติบโตแบบเป็นกลุ่ม - ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัดขนาด 1.5-2.0 ซ.ม. ดอกเห็ดด้านบนมีสีสีขาว ด้านล่างมีน้ำตาล ก้านดอกมีสีน้ำตาลขนาด 0.4-0.6 ซ.ม.
อำเภอรามัน (Y3) จังหวัดยะลา		-ลักษณะการเจริญเติบโตแบบกลุ่ม -ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด มีขนาด 1.3-1.7 ซ.ม. ดอกเห็ดด้านบนมีสีขาว ด้านล่างมีสีขาวปนเทา ก้านดอก มีสีน้ำตาลขนาด 0.3- 0.5 ซ.ม.

3.2 ผลการทดสอบการเจริญเติบโตของเห็ดแครงที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ

จากผลการทดสอบการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลตที่แยกเชื้อบริสุทธิ์จากตัวอย่างเห็ดแครง 9 ตัวอย่างที่เก็บในพื้นที่ 3 จังหวัดภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดพัทลุง จังหวัดสงขลา และจังหวัดยะลา โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอเป็นเวลา 20 วัน พบว่าเชื้อเห็ดแครง 3 ไอโซเลต ได้แก่ P2, Y1 และ Y2 มีการเจริญเติบโตบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อจนกระทั่งหยุดการเจริญเติบโตที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเห็ดอยู่ในช่วง 7.0-8.0 เซนติเมตร ส่วนเชื้อเห็ดแครง P1, P3, S1, S2, S3 และ Y3 ทุกไอโซเลตจะหยุดการ

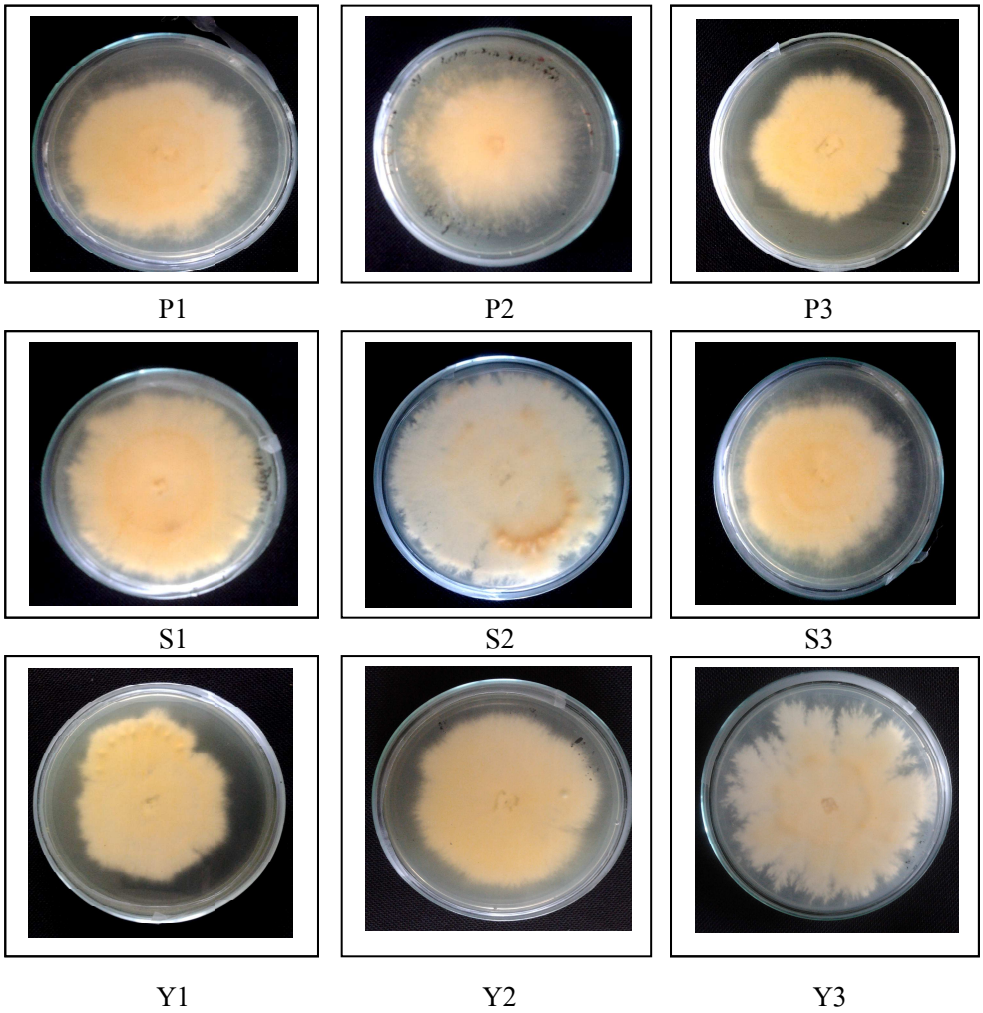
เจริญเติบโตที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อ 14 วัน มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีอยู่ในช่วง 7.9 -8.5 เซนติเมตร (รูปที่ 3.1)



รูปที่ 3.1 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 วัน

ลักษณะของเส้นใยเห็ดแครงทุกไอโซเลตที่เจริญเติบโตบนอาหารแข็งพีดีเอมีความหนาแน่นเกาะติดบนอาหารเส้นใยมีสีขาวไม่ฟู เส้นใยเห็ดแครงทั้ง 9 ไอโซเลตจะหยุดการเจริญเติบโตเมื่อเพาะ เลี้ยงได้เป็นเวลา 14 วัน เส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน และจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มขึ้น โดยเริ่มเปลี่ยนจากบริเวณกลางโคโลนี เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 วัน วงสีเหลืองบริเวณกลางโคโลนีจะขยายวงกว้างยิ่งขึ้น และสีของเส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีเข้มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเพิ่มขึ้น ยกเว้นเชื้อ S2 เส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองโดยเริ่มเปลี่ยนจากตรงกลางโคโลนี เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน (รูปที่ 3.2) เนื่องจากในกระบวนเจริญเติบโตจะมีการเผาพลาญโดยกระบวนการเมตาบอลิซึมของเส้นใยเห็ด ด้วยการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นคาร์บอนเพื่อนำไปใช้ในการสร้างส่วนต่างๆของเซลล์ ซึ่งผลของกระบวนการเมตาบอลิซึมจะทำให้เชื้อปลดปล่อยของเสียออกมา ทำให้เส้นใยเห็ดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลเมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเซลล์เพิ่มขึ้น (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2552) นอกจากนั้นพบว่าเชื้อเห็ดแครงทั้ง 9 ไอโซเลตเจริญเติบโตได้ไม่เต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากสารอาหารในพีดีเออาจจะ

ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครง (Aaejoye *et al*., 2007; Kumari *et al*., 2008)ดังงานวิจัยของสุวิทย์ สุวรรณโณ และไชนะ มูเล็ง (2555) ศึกษาการส่งเสริมการผลิตเส้นใย และสารโพลิแซคคาไรด์จากเห็ดแครงโดยสภาวะของสารอาหารที่เหมาะสม พบว่าเส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเอสพีบีดี เส้นใยเห็ดแครงจะมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ และจากผลการทดลอง พบว่าเชื้อเห็ดแครงที่มีการเจริญเติบโตได้สูงสุดบนอาหารพีดีเอ ได้แก่ เชื้อ S1 , S2 และY3 (พิจารณาจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีกับเชื้อเห็ดแครงไอโซเลตอื่นๆ (ตารางที่ 3.2) ดังนั้นจึงทดสอบการเจริญเติบโตของเห็ดแครงบนอาหารแข็งเอสพีบีดีในการทดลองข้อต่อไป



รูปที่ 3.2 ลักษณะการเจริญเติบโตของโคโลนีเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ในสภาวะมืดอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 14 วัน

ตารางที่ 3.2 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 14 วัน

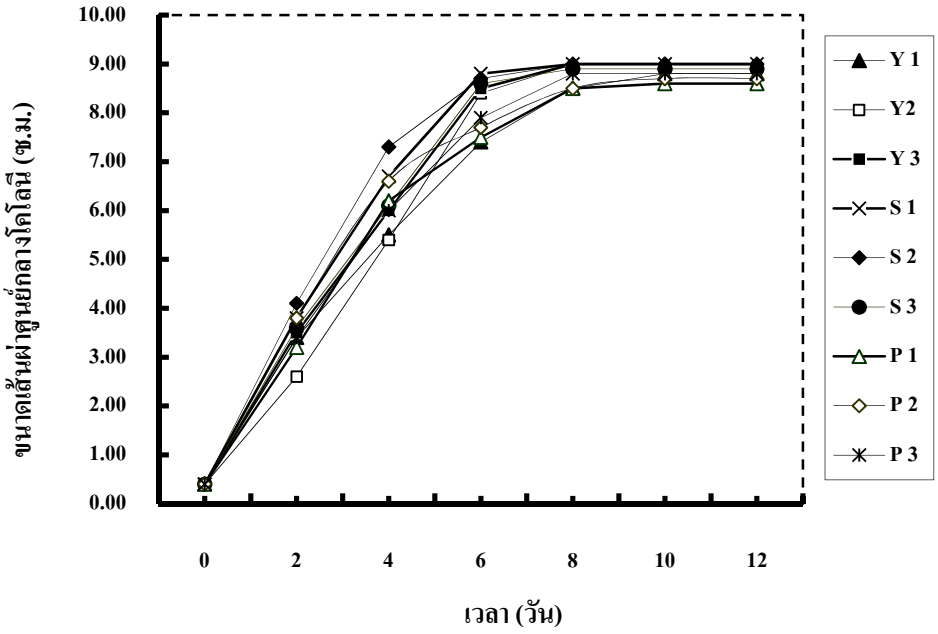
ตัวอย่าง เห็ดแครง	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี * (เซนติเมตร)	ความหนาแน่นของเส้นใย**
P1	7.9^{ข}±0.2	++
P2	7.0^{ง}±0.0	++
P3	7.3^{ค}±0.1	++
S1	8.4^{ก}±0.1	+++
S2	8.5^{ก}±0.2	+++
S3	7.9^{ข}±0.2	++
Y1	7.7^{ข}±0.3	++
Y2	8.0^{ข}±0.2	++
Y3	8.3^{ก}±0.1	+++

หมายเหตุ *ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

**ความหนาแน่นของเส้นใยเห็ดแครงสังเกตด้วยตา (+ น้อย ++ ปานกลาง +++ มาก)

3.3 ผลการทดสอบการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครงบนอาหารแข็งเอสพีบีดี

จากการทดสอบการเจริญเติบโตของเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเอสพีบีดีเป็นเวลา 12 วัน พบว่าเส้นใยเห็ดแครงเจริญเติบโตได้ดี โดยเชื้อเห็ดแครงส่วนใหญ่สามารถเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เวลาการเพาะเลี้ยง 8 วัน โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเห็ดแครง S1, S2, S3, Y2, Y3 และ P3 อยู่ในช่วง 8.9-9.0 เซนติเมตร (รูปที่3.3) เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติ พบว่าเชื้อเห็ดแครงทั้ง 6 ไอโซเลตมีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \geq 0.05$) ดังข้อมูลในตารางที่ 3.3 อย่างไรก็ตามเชื้อ S1, S2 และ Y3 มีลักษณะเส้นใยที่หนา และฟูมากกว่าเชื้อไอโซเลตอื่นๆ (รูปที่ 3.4) เมื่อนำเส้นใยของเชื้อดังกล่าวไปเพาะเลี้ยงหรือขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนจึงมีโอกาสจะเจริญเติบโตได้ดีกว่าเช่นกัน (Stamets, 2000) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองข้อ 3.2 ที่เชื้อเห็ดแครง S1, S2 และ Y3 สามารถเจริญเติบโตได้สูงสุดบนอาพีดีเอ และให้ลักษณะเส้นใยที่หนาและฟูเช่นเดียวกัน



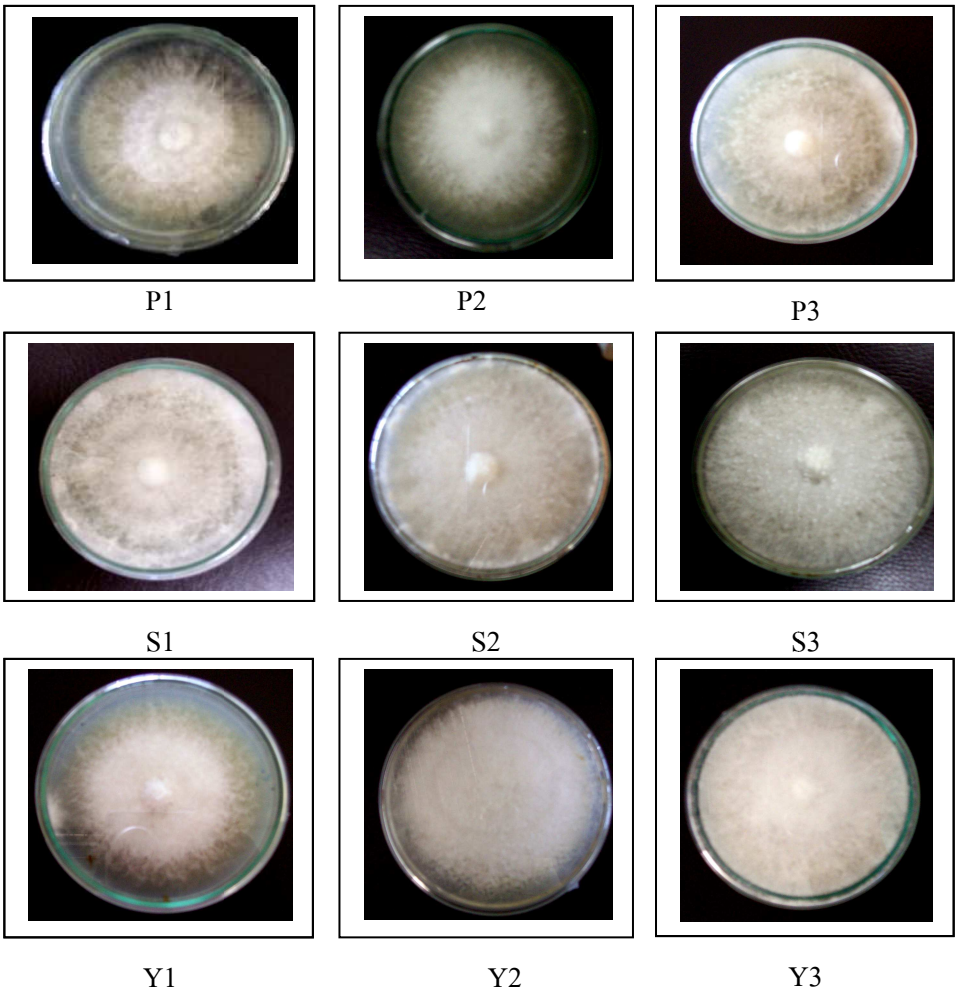
รูปที่ 3.3 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเอสพีบีดีในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน

ตารางที่ 3.3 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเอสพีบีดีในสภาวะมืดอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 8 วัน

ตัวอย่างเห็ดแครง	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี* (เซนติเมตร)	ความหนาแน่นของเส้นใย**
P1	$8.5^{ข} \pm 0.3$	+
P2	$8.5^{ข} \pm 0.4$	++
P3	$8.8^{ก} \pm 0.3$	++
S1	$9.0^{ก} \pm 0.0$	+++
S2	$9.0^{ก} \pm 0.0$	+++
S3	$8.9^{ก} \pm 0.2$	+++
Y1	$8.5^{ข} \pm 0.3$	++
Y2	$9.0^{ก} \pm 0.0$	++
Y3	$9.0^{ก} \pm 0.0$	+++

หมายเหตุ *ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

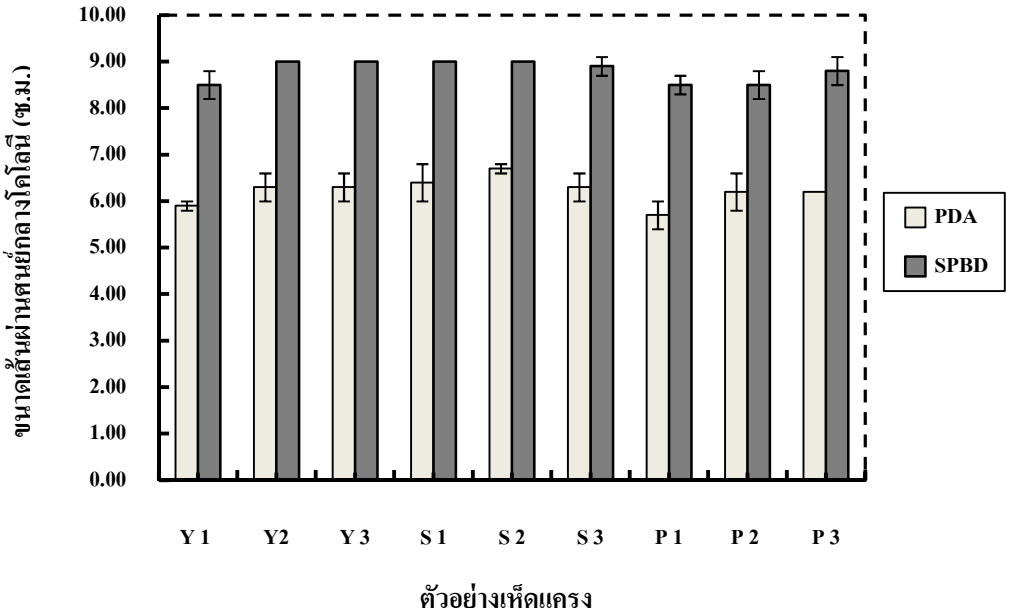
**ความหนาแน่นของเส้นใยเห็ดแครงสังเกตด้วยตา (+ น้อย ++ ปานกลาง +++ มาก)



รูปที่ 3.4 ลักษณะการเจริญเติบโตของโคโลนีเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเอสพีบีดี ในสภาวะมืดอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 8 วัน

จากผลการทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ และเอสพีบีดี สรุปได้ว่าเส้นใยของเห็ดแครงทั้ง 9 ไอโซเลต ที่แยกจากเชื้อเห็ดแครง 9 ตัวอย่างจากแหล่งธรรมชาติ ในจังหวัด พัทลุง สงขลา และยะลา สามารถเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารเอสพีบีดี (สูตรอาหารที่ใช้มันเทศเป็นแหล่งคาร์บอน) ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ (รูปที่ 3.5) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาวิจัยของสุวิทย์ สุวรรณโณ และไชนะ มูเล็ง (2555) ศึกษาการส่งเสริมการผลิตเส้นใย และสารโพลิแซคคาไรด์จากเห็ดแครงโดยสภาวะของสารอาหารที่เหมาะสม พบว่าเส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเอสพีบีดีจะมีลักษณะการเจริญเติบโตที่ดีกว่าที่เพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารพีดีเอ เนื่องจากอาหารแข็งเอสพีบีดีมีส่วนผสมของ

วิตามินบี 6 แคลเซียมคลอไรด์ และเปปโตน ซึ่งเป็นแหล่งของวิตามิน แหล่งธาตุอาหาร และแหล่งไนโตรเจน ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้เส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเอสพีบีดีมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่า และมีระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่สั้นกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ



รูปที่ 3.5 เปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารพีดีเอและเอสพีบีดี ในสภาวะมืดอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 8 วัน

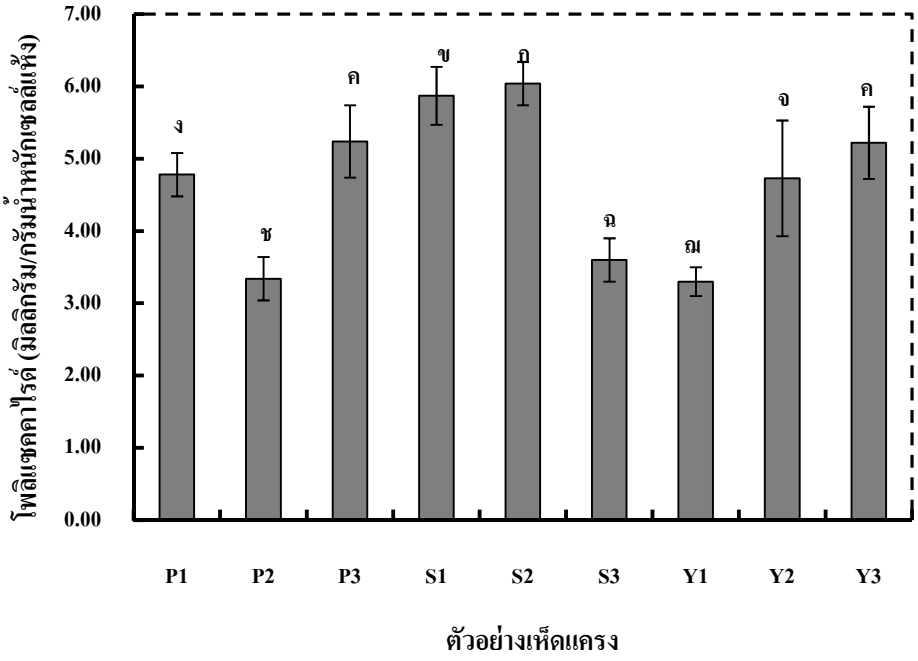
3.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ และสาร Schizophyllan

3.4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์จากตัวอย่างเห็ดแครงทั้ง 9 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในสภาวะมืด พบว่าเชื้อเห็ดแครง S1, S2 และ Y3 มีปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์สูงสุดอยู่ในช่วง 5.22-6.04 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง (รูปที่ 3.6) โดยที่เส้นใยเห็ดแครง S2 ให้ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์สูงสุด ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเห็ดแครงไอโซเลตอื่นๆ และสารโพลิแซคคาไรด์ที่วิเคราะห์ได้จากเห็ดแครงมีปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสารโพลิแซคคาไรด์จากเห็ดหลินจือพันธุ์ลูกผสม 5 สายพันธุ์ ที่ศึกษาวิจัยโดย มุกดา คูหิรัญ และ ปาริชาติ ภูสว่าง (2545) ซึ่งผลการศึกษา พบว่าปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากเห็ดหลินจือทั้ง 5 สายพันธุ์อยู่ในช่วง

24.78-48.94 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ที่มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดสมุนไพรชนิดอื่นๆ ได้แก่ เห็ดนางฟ้า, เห็ดหูหนูสีน้ำตาล, เห็ดนางรมฮังการี, และเห็ดเปาฮือ ที่ศึกษาวิจัยโดย สุวิทย์ สุวรรณโณ และศิริวรรณ มากสุวรรณ (2553) พบว่าเห็ดสมุนไพรดังกล่าว มีปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์อยู่ในช่วง 0.19-0.33 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง นอกจากนั้นโพลิแซคคาไรด์ที่พบในเห็ดแครงยังมีคุณสมบัติทางเภสัชศาสตร์(Klaus *et al*.,2011) ดังนั้นเห็ดแครงจึงเป็นเห็ดสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งควรที่จะส่งเสริมให้เพาะเลี้ยงเพื่อเป็นแหล่งของโพลิแซคคาไรด์ เนื่องจากปัจจุบันชาวบ้านบริโภคเห็ดแครงเพื่อเป็นแหล่งของโปรตีนเท่านั้น อีกทั้งเห็ดแครงในแหล่งธรรมชาติก็มีปริมาณน้อยลง ดังนั้นการส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงเห็ดแครงเพื่อเป็นแหล่งของโพลิแซคคาไรด์ยังเป็นการเสริมรายได้ให้กับเกษตรกรอีกด้วย

จากผลการทดลองที่ได้ยังสอดคล้องกับผลการทดลองที่ 3.2 และ 3.3 เมื่อทำการทดสอบการเจริญเติบโตบนอาหารแข็งพีดีเอ และเอสพีบีดี พบว่าเห็ดแครง S2 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเช่นเดียวกันเมื่อเทียบกับเชื้อเห็ดแครงไอโซเลตอื่นๆ



รูปที่ 3.6 ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ของตัวอย่างเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี Phenol sulfuric colorimetric

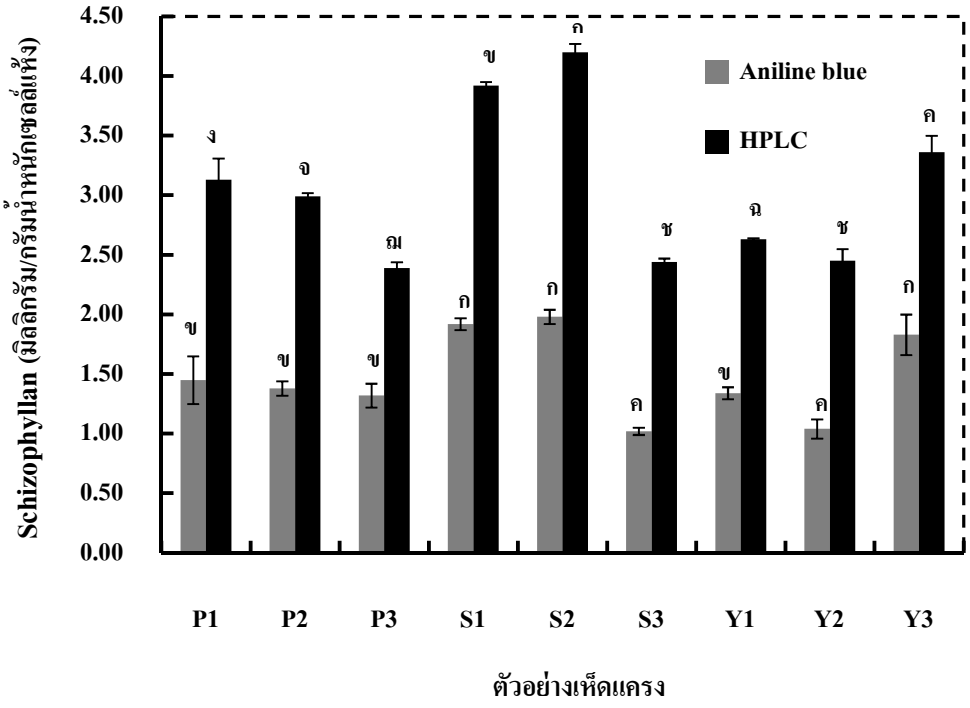
หมายเหตุ *ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

3.4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร Schizophyllan (β-glucan)

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณ Schizophyllan ของตัวอย่างเห็ดแครง 9 ไอโซเลต (เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดีเป็นเวลา 12 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในสภาวะมืด) ด้วยวิธี Aniline blue และวัดปริมาณสารสกัดด้วยเครื่อง Fluorescence Specto Photometer (JASCO รุ่น FP-750) พบว่าเชื้อเห็ดแครง S1, S2 และ Y3 มีปริมาณ Schizophyllan สูงสุดอยู่ในช่วง 1.68-1.98 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยที่เชื้อเห็ดแครง S2 มีปริมาณสาร Schizophyllan สูงสุดเท่ากับ 1.98 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเทียบกับเห็ดแครงไอโซเลตอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) แต่สาร Schizophyllan ที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธี Aniline blue มีปริมาณน้อย ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารด้วยวิธี HPLC (รุ่น Hewlett-Packard series 1100) พบว่าปริมาณสาร Schizophyllan ที่วิเคราะห์ได้อยู่ในช่วง 3.35-4.19 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยที่เชื้อ S2 มีปริมาณสาร Schizophyllan สูงสุดเท่ากับ 4.19 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเห็ดแครงไอโซเลตอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95 ($p \leq 0.05$) เช่นเดียวกัน ดังข้อมูลในรูปที่ 3.7 ซึ่งสาร Schizophyllan ที่วิเคราะห์ได้ด้วย HPLC มีปริมาณสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Aniline blue เนื่องจาก HPLC เป็นเครื่องมือแยกสารประกอบที่มีความแม่นยำและความถูกต้องสูง ซึ่งในการวิเคราะห์ด้วย HPLC นั้นสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้โดยการฉีดตัวอย่างสารสกัดค่าที่ได้สามารถนำมาเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานได้โดยตรง ส่วนการวิเคราะห์ด้วย Aniline blue นั้นจะเป็นการวิเคราะห์สารโดยอ้อมซึ่งสารสกัดที่ต้องการวิเคราะห์จะต้องเติมสารเคมีเพื่อให้สารสกัดทำปฏิกิริยากับสารเคมีที่เติมลงไปให้ได้สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารฟลูออเรสเซนก่อนจึงสมารถนำไปวัดค่าได้ ดังนั้นปริมาณสาร Schizophyllan ที่วิเคราะห์ด้วย HPLC จึงมีปริมาณสูงกว่าเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Aniline blue

จากการทดลองปริมาณสาร Schizophyllan ที่วิเคราะห์ได้จากเส้นใยเห็ดแครงมีปริมาณที่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารβ-glucan ที่สกัดได้จากผนังเซลล์ยีสต์มีปริมาณสารβ-glucan เท่ากับ 130 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง(อธิปัต์ คลังบุญครอง, 2550) และเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) 47 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง (Suwanno *et al*, 2005) และมีปริมาณสารβ-glucan ที่ใกล้เคียงกับเห็ดตระกูลนางรม (*Pleurotus ostreatus, Pleurotus enyngii, Pleurotus pulmunarius*) มีปริมาณสาร β-glucan อยู่ในช่วง 2.2- 5.3 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ถึงแม้ว่าเห็ดแครงจะมีปริมาณสาร Schizophyllan ที่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับβ-glucan ที่สกัดได้จากผนังเซลล์ยีสต์ และเห็ดตระกูลหลินจือ ซึ่งสารสกัดβ-glucan ที่ขายและเป็นที่นิยมโดยทั่วไปในรูปของสารสกัดเข้มข้น

และใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง และอาหารเสริม เป็นสาร β-glucan ที่สกัดได้จากผนังเซลล์ยีสต์ และจากเห็ดตระกูลหลินจือเป็นหลัก ซึ่งสารสกัดดังกล่าวมีราคาแพงกลุ่มคนที่สามารถบริโภคได้จึงเป็นกลุ่มคนที่ฐานะดีเท่านั้น แต่เนื่องจากเห็ดแครงเป็นเห็ดที่พบได้โดยทั่วไปในท้องถิ่น มีราคาถูก และมีระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่สั้นกว่าเห็ดตระกูลหลินจือ ส่งผลให้สารสกัด Schizophyllan ที่สกัดได้จากเห็ดแครงอาจมีราคาถูกกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสาร β-glucan ที่สกัดได้จากผนังเซลล์ยีสต์ และเห็ดตระกูลหลินจือ อีกทั้งเห็ดแครงเป็นเห็ดที่สามารถนำประกอบมาอาหารได้หลากหลาย มีรสชาติที่ดี ดังนั้นเมื่อมีงานวิจัยที่เกี่ยวกับประโยชน์ของสาร Schizophyllan ซึ่งเป็นสารที่สกัดได้จากเห็ดแครง ส่งผลให้ประชาชนทั่วไปบริโภคเห็ดแครงเพื่อสุขภาพมากขึ้น และยังเป็นการเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับเห็ดแครงอีกด้วย



รูปที่ 3.7 ปริมาณสาร Schizophyllan ของตัวอย่างเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เอสพีบีดี 12 วัน ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี Aniline blue และ HPLC

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันในกราฟแท่งชุดเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

3.5. ผลการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง และการผลิตสารโพลิแซคคาไรด์

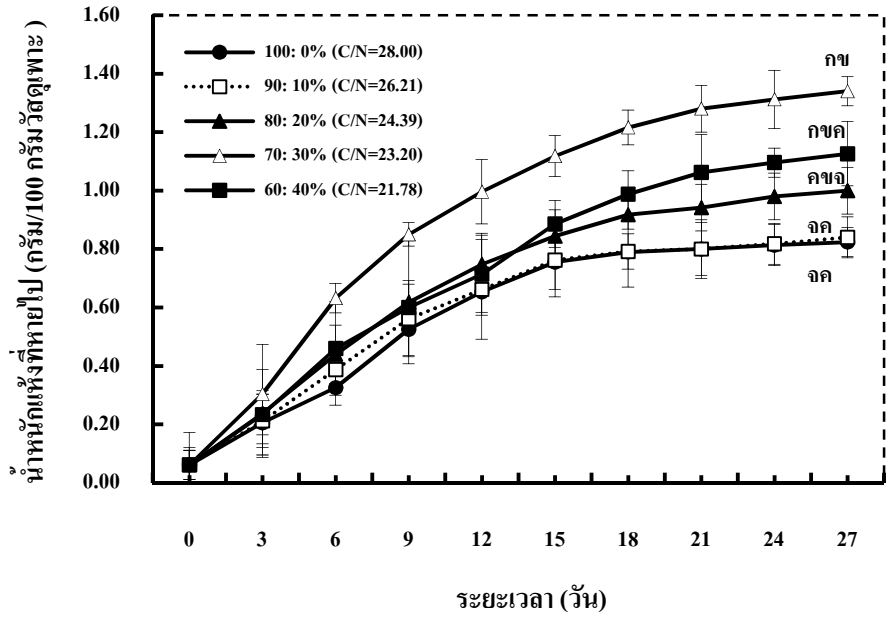
3.5.1 ผลของอัตราส่วนวัสดุลิกโนเซลลูโลส (ทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน)

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดแครง S1, S2 และ Y3 บนวัสดุเพาะทะปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน ในอัตราส่วนผสมต่างๆ คือ 100:0, 90:10, 80:20, 70:30 และ 60:40 พบว่าเส้นใยเห็ดแครง S1 สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด (คิดจากค่าผันแปรของน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ) เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มอัตราส่วนร้อยละ 70:30 และ 60:40 เป็นเวลา 27 วัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p\leq$ 0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะที่มีการผสมอัตราส่วนอื่นๆ โดยที่อัตราส่วนร้อยละ 70:30 มีค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปเฉลี่ยของวัสดุเพาะสูงสุดเท่ากับ 1.34 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ (รูปที่ 3.8) ส่วนเส้นใยเห็ดแครง S2 เจริญเติบโตได้ดีที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนร้อยละ 70:30 มีค่าน้ำแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะสูงสุดเท่ากับ 1.44 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ (รูปที่ 3.9) ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p\leq$ 0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนผสมอื่นๆ และเส้นใยเห็ดแครง Y3 เจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนร้อยละ 70:30 และ 60:40 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p\leq$ 0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนผสมอื่นๆ โดยที่อัตราส่วนผสมร้อยละ 70:30 เส้นใยเห็ดแครงมีค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเฉลี่ยเท่ากับ 1.19 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ซึ่งมากกว่าทีอัตราส่วนร้อยละ 60:40 (รูปที่ 3.10) และเชื้อเห็ดแครง S2 มีค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเห็ดแครง S1 และ Y3

ลักษณะการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครงทั้ง 3 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมันทุกอัตราส่วนจะเจริญเติบโตได้ดี เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-18 วัน และมีอัตราการเจริญเติบโตคงที่หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 18 วัน จากการสังเกต พบว่าเส้นใยเห็ดจะมีลักษณะที่บางไม่หนาแน่นเจริญเติบโตได้ไม่ทั่ววัสดุเพาะ โดยเส้นใยเห็ดจะเริ่มฝ่อ และเน่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 22 วัน และเน่ามากขึ้นที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น (รูปที่ 3.15 ก) เมื่อนำไปเปิดดอก พบว่าเส้นใยเห็ดแครงไม่เจริญเป็นดอกเห็ด เนื่องจากวัสดุเพาะเห็ดมีความชื้นมากเกินไป ทำให้มีการระบายอากาศในวัสดุเพาะไม่ดี ส่งผลให้เส้นใยเห็ดฝ่อ และเน่าตาย (อัมพา คำวงษา, 2554) จากการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดทั้ง 3 ไอโซเลต มีลักษณะการเจริญเติบโตที่ไม่ดี ไม่เจริญเป็นออกดอก

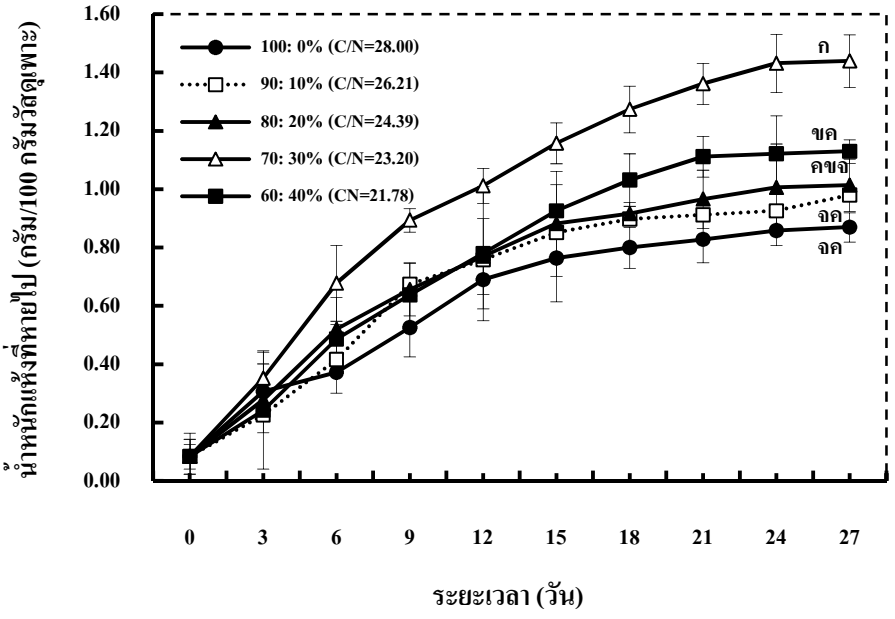
เมื่อนำไปทำการเปิดดอก จึงทำให้ไม่สามารถคำนวณค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา (Biological efficiency : BE) ได้ ดังนั้นจึงทำการทดลองเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง เพื่อยืนยันผลการทดลองการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครง โดยวัดจากความยาวของเส้นใยเห็ดที่เจริญเติบโตได้บนวัสดุเพาะในหลอดทดลอง จากการทดลอง พบว่าเชื้อเห็ดแครงทั้ง 3 ไอโซเลตเจริญสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมันในอัตราส่วนผสมร้อยละ 70:30 โดยที่เชื้อเห็ดแครง S2 มีความยาวของเส้นใยเฉลี่ยเท่ากับ 7.5 เซนติเมตร ซึ่งเจริญได้สูงสุดเช่นเดียวกัน (รูปที่ 3.11-3.13) ลักษณะการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครงทุกอัตราส่วนผสมเจริญเติบโตได้ไม่เต็มหลอดทดลอง (9 เซนติเมตร) โดยมีความยาวของเส้นใยที่เจริญบนวัสดุเพาะอยู่ในช่วง 7.3-7.5 เซนติเมตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 14 วัน เนื่องจากความชื้นร้อยละ 80 เป็นความชื้นที่สูงเกินไปทำให้วัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมันไม่สามารถดูดซับปริมาณน้ำที่เติมไปเพื่อปรับความชื้นได้ทั้งหมด ทำให้มีน้ำขังรวมอยู่บริเวณด้านล่างของหลอดทดลอง ส่งผลให้เส้นใยเห็ดแครงหยุดการเจริญเติบโตเมื่อเส้นใยเจริญเติบโตถึงบริเวณดังกล่าว (รูปที่ 3.15 ข)

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า เชื้อเห็ดแครง S1, S2, และ Y3 เจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนผสมร้อยละ 70:30 โดยที่เชื้อเห็ดแครง S2 เจริญเติบโตได้สูงสุดทั้งที่เพาะเลี้ยงในถุงพลาสติก และในหลอดทดลอง เนื่องจากทางใบปาล์มน้ำมันมีปริมาณไนโตรเจนสูงกว่าในทะลายปาล์ม ดั้งนั้นการเติมทางใบปาล์มจะช่วยเพิ่มปริมาณไนโตรเจนให้กับวัสดุเพาะ ซึ่งปริมาณไนโตรเจนมีความสำคัญต่อกระบวนการเจริญเติบโตและสร้างดอกเห็ดโดยที่เห็ดต้องการไนโตรเจนเพื่อนำไปสร้างโปรตีนภายในเซลล์ นอกจากนั้นยังเป็นการเพิ่มความพรุนให้กับวัสดุเพาะ ซึ่งความพรุนมีความสำคัญในการช่วยระบายอากาศให้กับวัสดุเพาะ (ธีระ เอกสมทราเมษ และคณะ, 2551; วิทยา ทวีนุช, 2552) นอกจากนั้นวัสดุเพาะที่ผสมทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนผสมร้อยละ 70:30 มีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน(C/N) เท่ากับ 23.2 ซึ่งมีรายงานวิจัยถึงอัตราส่วน C/N ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด พบว่าค่าอัตราส่วน C/N ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดที่สุดอยู่ในช่วง 22.4-23.2 (Cruz *et al*.,1999) เส้นใยเห็ดแครงจึงเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันในอัตราส่วนผสมร้อยละ 70:30 เชื้อเห็ดแครงทั้ง 3 ไอโซเลตเจริญเติบโตได้ไม่ดีทั้งที่เพาะเลี้ยงในถุงและหลอดทดลอง เนื่องจากมีความชื้นสูงเกินไป ดังนั้นในการทดลองข้อต่อไปจึงศึกษาถึงความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง โดยเลือกอัตราส่วนของวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมันร้อยละ 70:30 และเชื้อเห็ดแครง S2



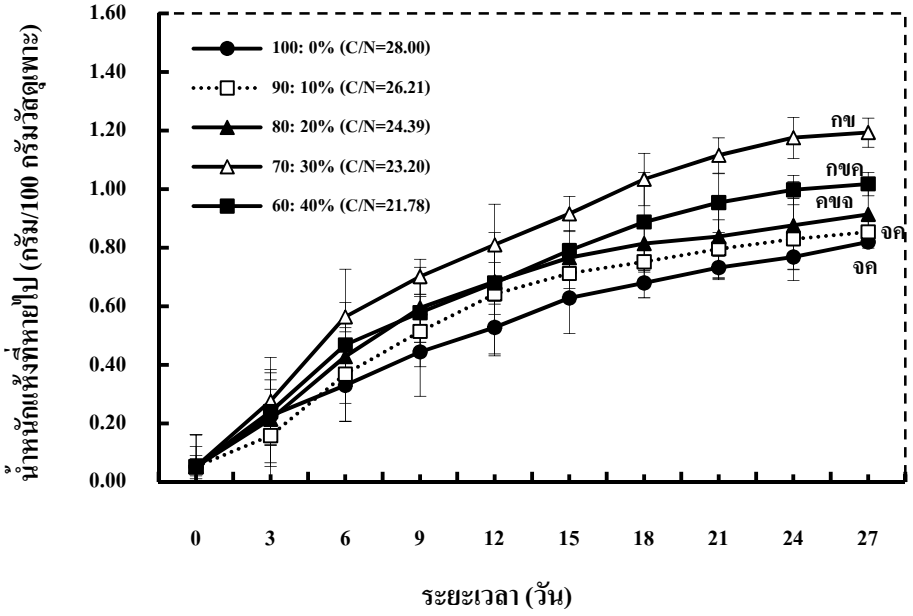
รูปที่ 3.8 น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S1 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์มที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



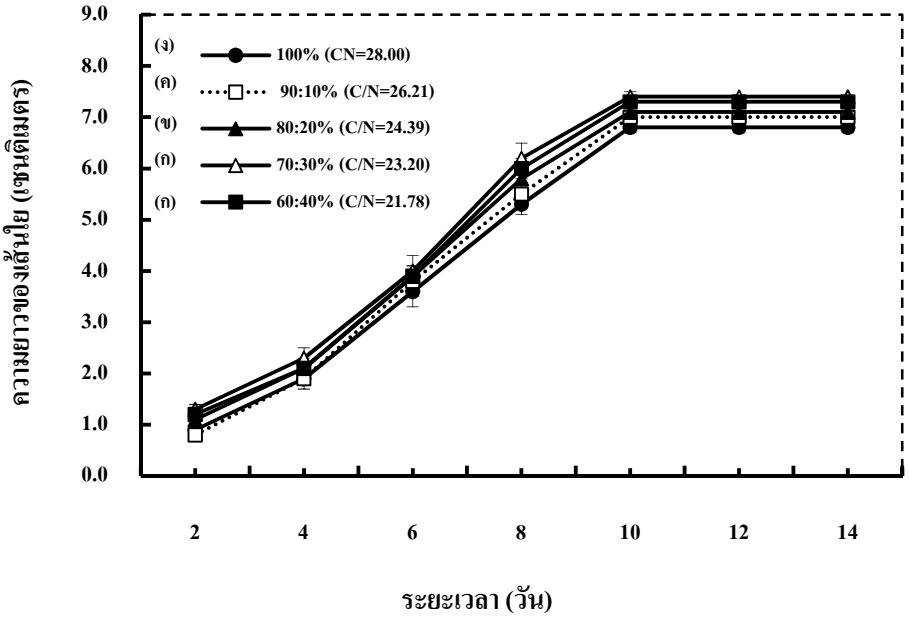
รูปที่ 3.9 น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์มที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



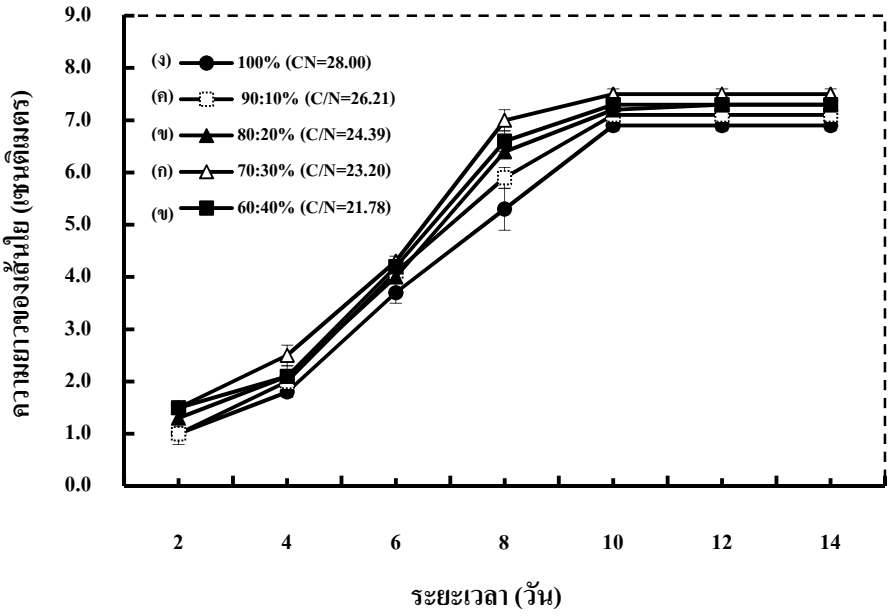
รูปที่ 3.10 น้ำหนักแห้งของที่หายไป วัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง Y3 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์มที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



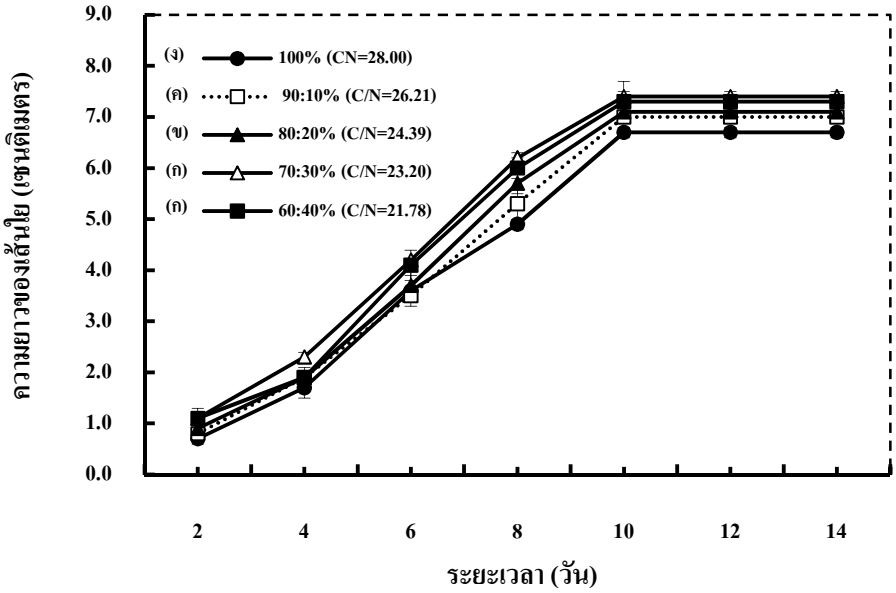
รูปที่ 3.11 ความยาวของเส้นใยเห็ดแครง S1 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์มในหลอดทดลอง อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในหลอดทดลอง

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 3.12 ความยาวของเส้นใยเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์มที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในหลอดทดลอง

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 3.13 ความยาวของเส้นใยเห็ดแครง Y3 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์มที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในหลอดทดลอง

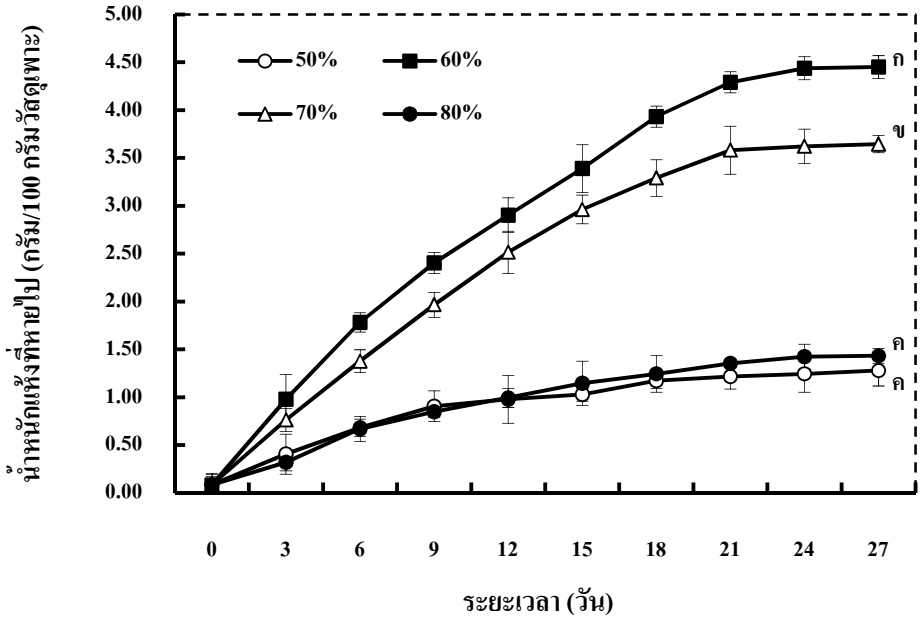
หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ลักษณะเส้นใยเห็ดแครงเพาะเลี้ยงในถุง (ก) ลักษณะเส้นใยเห็ดแครงเพาะเลี้ยงในหลอด (ข)

รูปที่ 3.14 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มอัตราส่วน 70:30 ความชื้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก (ก) และหลอดทดลอง(ข)

3.5.2 ผลของความชื้นในวัสดุเพาะเริ่มต้นต่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง

จากการทดลองในข้อที่ 3.6.1 ผลของอัตราส่วนวัสดุลิกโนเซลลูโลส (ทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน) ความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 80 พบว่าเส้นใยเห็ดเจริญได้ไม่ดีเนื่องจากวัสดุเพาะมีความชื้นสูงเกินไป ดังนั้นในข้อนี้จึงทดลองความชื้นในวัสดุเพาะเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวมวลเห็ดแครง โดยศึกษาที่ความชื้นร้อยละ50, 60, 70 และ 80 (ชุดควบคุม) จากการทดลอง พบว่าเส้นใยเห็ดแครงเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ปรับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 โดยมีค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเท่ากับ 4.45 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ซึ่งแตกกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะที่ปรับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50, 70 และ 80 (รูปที่ 3.15) จากผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shen และคณะ (2008) ศึกษาวิจัยผลของความชื้นในวัสดุเพาะต่อการเจริญของเห็ดหอม (Shiitake) พบว่าเห็ดหอมมีค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยาสูงสุดเมื่อวัสดุเพาะมีความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 55-60

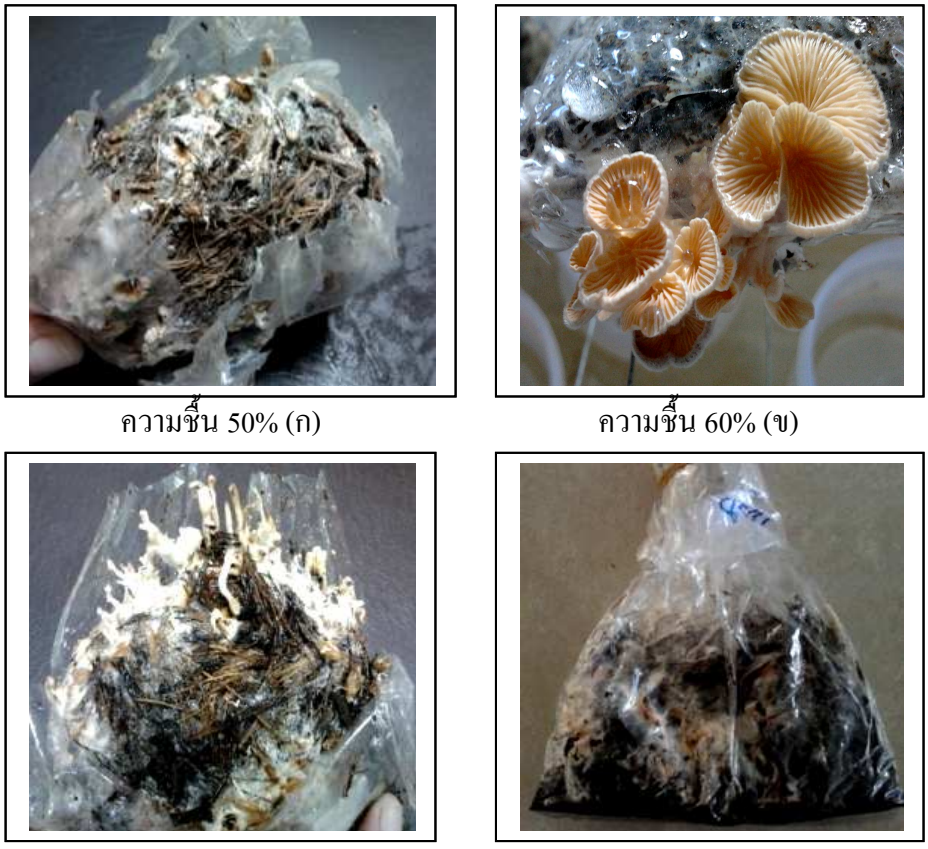


รูปที่ 3.15 น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์ม (70:30) ปรับความชื้นระดับต่างๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ปรับความชื้นร้อยละ 60 เส้นใยเห็ดแครงจะเจริญได้ทั่วบนวัสดุเพาะเมื่อระยะการเพาะเลี้ยง 23 วัน แต่เส้นใยเจริญได้ไม่หนาแน่น เส้นใยเจริญเป็นย่อมๆ และเกิดตุ่มดอกที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 26 วัน สามารถนำไปเปิดดอกที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 28 วัน เก็บดอกเห็ดทำได้ที่เวลาการเพาะเลี้ยง 35 วัน มีค่า BE เท่ากับร้อยละ 7.43 ดอกเห็ดที่ได้มีขนาดใหญ่ แต่มีปริมาณดอกน้อย ดอกเห็ดมีก้านดอกสั้น แต่ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ที่มีความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 ,70 และ 80 เส้นใยเห็ดเจริญได้ไม่ทั่วบนวัสดุเพาะและไม่ออกดอกเมื่อไปทำการเปิดดอก (รูปที่ 3.15) จึงไม่สามารถคำนวณค่า BE ได้ เนื่องจากวัสดุเพาะที่มีความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 ซึ่งเป็นความชื้นที่น้อยเกินไป ทำให้สารอาหารในวัสดุเพาะละลายได้ไม่หมด เส้นใยเห็ดจึงไม่สามารถนำสารอาหารไปใช้ได้อย่างเต็มที่ ส่งผลทำให้เส้นใยเห็ดถูกยับยั้งการเจริญเติบโต นอกจากนั้นยังทำให้เกิดการสูญเสียน้ำออกไปจากเส้นใยเห็ด (Plasmolysis) ส่วนวัสดุเพาะที่มีความชื้นมากเกินไป (70 และ 80%) จะทำให้มีการระบายอากาศภายในวัสดุเพาะไม่ดี ส่งผลทำให้เกิดการขาดออกซิเจน ทำให้เส้นใยเห็ดฝ่อ และเน่าตาย (วิทยา ทวีนุช, 2552; วาริณี ธรรมชาติ

ไพศาล, 2555) ดังนั้นจึงเลือกความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเพาะเท่ากับร้อยละ 60 เพื่อใช้ในการทดลองข้อต่อไป



ความชื้น 50% (ก) ความชื้น 60% (ข)

ความชื้น 70% (ค) ความชื้น 80% (ง)

รูปที่ 3.16 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ปรับความชื้นเริ่มต้นระดับต่างๆ

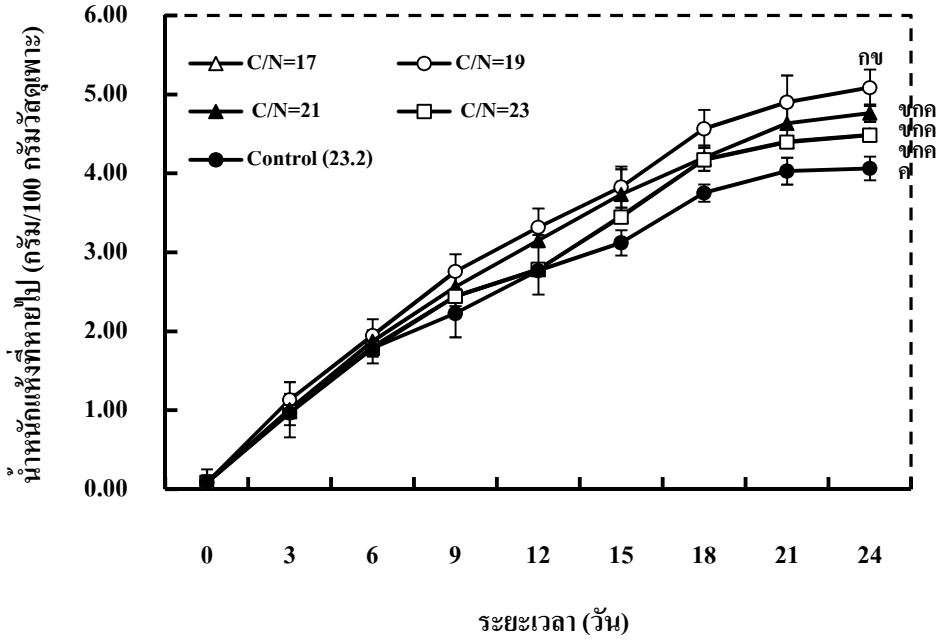
3.5.3 ผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง

จากการวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน มีค่าเท่ากับ 22.12 และ 21.28 (% w/w) ตามลำดับ ส่วนปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 0.79 และ1.33 (% w/w) ตามลำดับ ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) เท่ากับ 28:1 และ 16:1 ตามลำดับ และอัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะทะลายปาล์มต่อทางใบปาล์มที่อัตราส่วนของวัสดุเพาะร้อยละ 70:30 เท่ากับ 23.20 ซึ่งในแผนการทดลองจะปรับอัตราส่วน C/N ให้ได้ เท่ากับ 17,19, 21 และ 23 ด้วยยูเรีย แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) และรำข้าว คำนวณอัตราส่วน C/N ตามวิธีของ

Tchobanoglous และคณะ (1993) พบว่าวัสดุเพาะที่ปรับค่า C/N ด้วยยูเรีย และรำข้าว เท่ากับ 19 เชื้อเห็ดแครงสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยให้ค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเท่ากับ 5.09 และ 6.47 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 24 วัน ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับอัตราส่วนอื่นๆ (รูปที่ 3.16, 3.17) ส่วนวัสดุเพาะที่ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 17 ด้วยแอมโมเนียมคลอไรด์ เท่ากับ 17, 19, 21 และ 23 พบว่าเชื้อเห็ดแครงเจริญได้ดี และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \geq 0.05$) โดยที่การปรับอัตราส่วน C/N ของวัสดุเพาะเท่ากับ 21 เส้นใยเห็ดมีค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะสูงสุดเท่ากับ 5.31 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 24 วัน (รูปที่ 3.18) เนื่องจากแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีคลอไรด์เป็นองค์ประกอบ ซึ่งคลอไรด์เป็นจุลธาตุที่มีความสำคัญต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดช่วยกระตุ้นปฏิกิริยาของเอนไซม์บางชนิด และช่วยในกระบวนการเมทาโบลิซึมของเซลล์ คลอไรด์ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของเกลือคลอไรด์ ดังนั้นหากมีคลอไรด์ปริมาณมากเกินจะเป็นพิษต่อเซลล์ (ยงยุธ โอสถสภา ,2552)

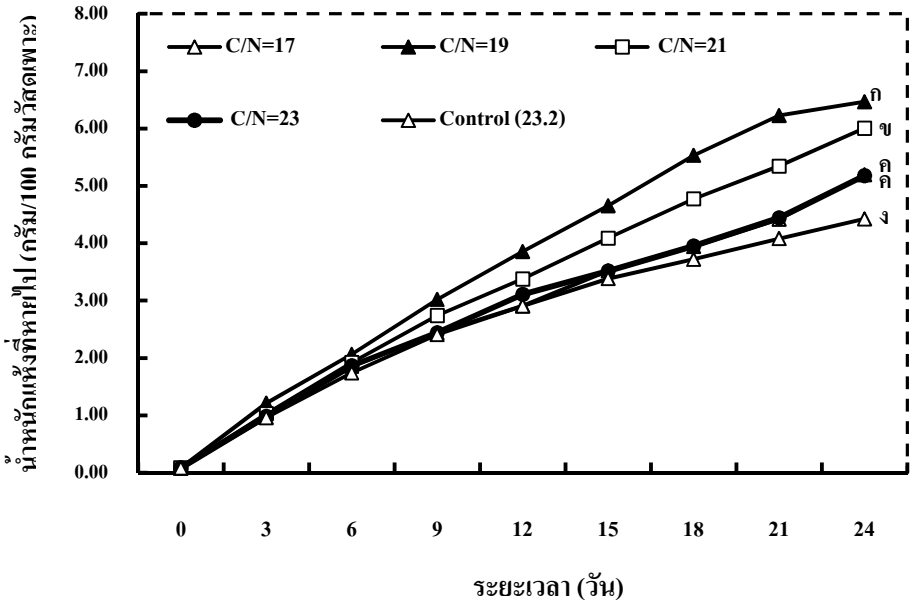
ลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะที่ปรับค่าอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย เส้นใยเจริญได้ทั่ววัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน เส้นใยเจริญทั่ววัสดุเพาะ และเกิดตุ่มดอกเมื่อเพาะเลี้ยง 24 วัน และเริ่มสร้างดอกเห็ดเมื่อเพาะเลี้ยง 29 วัน เก็บดอกเห็ดได้เมื่อเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 33 วัน มีค่า BE เท่ากับ 8.96 ดอกเห็ดที่ได้มีขาวนวล มีปริมาณดอกมากกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะที่ไม่ปรับอัตราส่วน C/N (ตารางที่ 3.4 และ รูปที่ 3.19) ส่วนลักษณะการเจริญของเชื้อเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะที่ปรับค่าอัตราส่วน C/N ด้วยแอมโมเนียมคลอไรด์ เส้นใยเจริญได้ทั่ววัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยง 21 วัน เส้นใยเจริญทั่ววัสดุเพาะและเกิดตุ่มดอกเมื่อเพาะเลี้ยง 24 วัน และเริ่มสร้างดอกเห็ดเมื่อเพาะเลี้ยง 29 วัน เก็บดอกเห็ดได้ที่ระยะเพาะเลี้ยง 32 วัน มีค่า BE เท่ากับ 20.16 (ตารางที่ 3.5, รูปที่ 3.20) และลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว เส้นใยเห็ดแครงสามารถเจริญได้ปกคลุมทั่วบนวัสดุเพาะ เมื่อระยะการเพาะเลี้ยง 19 วัน เกิดตุ่มดอกเมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 22 วัน สามารถทำการเปิดดอกที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 24 วัน การเก็บดอกเห็ดทำได้ที่เวลาการเพาะเลี้ยง 29 วัน มีค่า BE เท่ากับ 31.60 ดอกเห็ดที่ได้มีขนาดของดอกที่ใหญ่ มีสีขาวนวล ปราศจากการปนเปื้อนจากวัสดุอื่น ซึ่งโดยทั่วไปเห็ดแครงจากแหล่งธรรมชาติจะมีการปนเปื้อนจากวัสดุอื่น โดยเฉพาะบริเวณครีบดอก (ตารางที่ 3.6 รูปที่ 3.21) ดอกเห็ดที่ได้ และมีค่า BE มากกว่าเมื่อเทียบกับเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะที่ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย และแอมโมเนียมคลอไรด์ (ตารางที่ 3.7) เนื่องจากรำข้าวข้าวมีองค์ประกอบของโปรตีน วิตามิน และธาตุอาหาร ซึ่งเป็นสารอาหารที่เห็ดต้องการเพื่อใช้ในการสร้างเส้นใย และสร้างดอกเห็ด การเติม

รำข้าวในวัสดุเพาะเห็ดนอกจากเป็นการเติมแหล่งไนโตรเจนแล้วยังเป็นการเพิ่มสารอาหารอื่นให้กับเห็ดอีกด้วย นอกจากนั้นเห็ดไม่สามารถดูดซึมสารอาหารบางอย่างในรูปของสารเคมีเอาไปใช้ได้ และสารเคมีบางชนิดสามารถดูดซึมนำไปใช้ได้แต่ในปริมาณน้อย เช่น ธาตุไนโตรเจน ซึ่งเห็ดจะสามารถดูดซึมธาตุไนโตรเจนไปใช้ได้ดีเมื่อธาตุไนโตรเจนอยู่ในรูปของโปรตีนที่มีอยู่ในพืชหรือยีสต์มากกว่าที่อยู่ในรูปของสารเคมี แต่เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะที่ปรับ C/N เท่ากับ 17 ปริมาณเห็ดและค่า BE ที่ได้มีปริมาณน้อย เนื่องจากมีการเติมรำข้าวในปริมาณสูงเกินไปส่งผลให้เกิดสภาวะสารอาหารเกิน ซึ่งเห็ดจะสร้างดอกในขณะที่เส้นใยเจริญได้ไม่เต็มที่ ทำให้ได้ดอกในปริมาณน้อย (วิทยา ทวีนุช, 2552) ดังนั้นจึงเลือกรำข้าวในการปรับ ค่าอัตราส่วน C/N เท่ากับ 19 เพื่อใช้ในการทดลองข้อต่อไป และการปรับอัตราส่วน C/N นอกจากจะเพิ่มปริมาณของดอกเห็ดที่ได้แล้วยังสามารถลดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงให้สั้นลงอีกด้วย



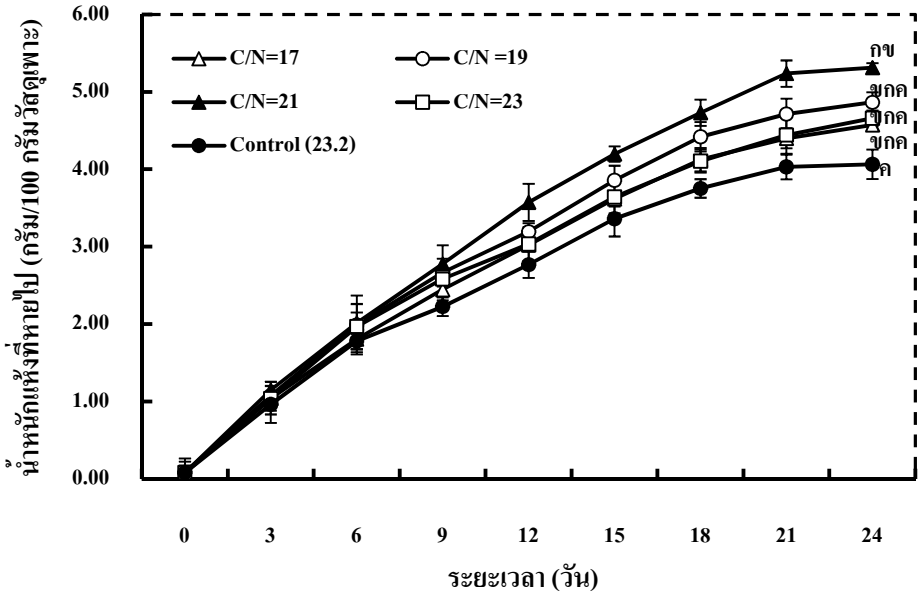
รูปที่ 3.17 น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มน้ำมัน และทางใบปาล์ม (70:30) ความชื้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 3.18 น้ำหนักแห้งของที่หายไปวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยรำข้าว

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 3.19 น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ปรับอัตราส่วนอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วย NH_4Cl

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 3.4 ระยะเวลาการเจริญ และผลผลิตเห็ดเมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย

C/N	เส้นใยเจริญ (วัน)	เกิดตุ่มดอก (วัน)	สร้างดอก (วัน)	นน.ดอกเฉลี่ย* (กรัม/100 กรัมวัสดุเพาะ)	BE%*
Control**	23	26	31	1.05^{ง} ±0.0	6.94^{ง} ±0.1
17	19	21	25	1.20^{ขกง} ±0.3	8.01^{ขกง} ±0.2
19	21	24	29	1.35^{กข} ±0.7	8.96^{กข} ±0.3
21	21	24	29	1.23^{ขกง} ±0.1	8.27^{ขกง} ±0.4
23	22	24	29	1.22^{ขกง} ±0.1	8.09^{ขกง} ±0.4

หมายเหตุ * ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

**ชุด Control = วัสดุเพาะทะลายปาล์ม+ทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30), ความชื้นร้อยละ 60, C/N= 23.20

ตารางที่ 3.5 ระยะเวลาการเจริญ และผลผลิตเห็ดเมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วย NH_4Cl

C/N	เส้นใยเจริญ (วัน)	เกิดตุ่มดอก (วัน)	สร้างดอก (วัน)	นน.ดอกเฉลี่ย* (กรัม/100 กรัมวัสดุเพาะ)	BE%*
Control**	23	26	31	1.10^{ง} ±0.0	7.41^{ง} ±0.3
17	19	21	25	1.83^{ก} ±0.2	11.94^{ก} ±1.0
19	21	24	29	2.94^{ข} ±0.1	19.78^{ข} ±0.7
21	21	24	29	3.06^{ก} ±0.1	20.16^{ก} ±0.6
23	21	24	29	1.80^{ก} ±0.2	11.78^{ก} ±1.0

หมายเหตุ*ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

**ชุด Control = วัสดุเพาะทะลายปาล์ม+ทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30), ความชื้นร้อยละ 60, C/N= 23.20

ตารางที่ 3.6 ระยะเวลาการเจริญ และผลผลิตเห็ดเมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว

C/N	เส้นใยเจริญ (วัน)	เกิดตุ่มดอก (วัน)	สร้างดอก (วัน)	นน.ดอกเฉลี่ย* (กรัม/100วัสดุเพาะ)	BE%*
Control**	23	26	31	1.14^{ง} ±0.1	7.43^{ง} ±0.5
17	17	20	22	2.39^{ก} ±0.1	15.93^{ก} ±1.4
19	19	22	24	4.70^{ก} ±0.4	31.60^{ก} ±2.5
21	19	22	24	3.66^{ข} ±0.2	24.68^{ข} ±2.0
23	19	23	24	2.42^{ก} ±0.4	16.02^{ก} ±2.3

หมายเหตุ *ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

**ชุด Control = วัสดุเพาะทะลายปาล์ม+ทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30), ความชื้นร้อยละ 60, C/N= 23.20

ตารางที่ 3.7 ตารางเปรียบเทียบระยะเวลาการเจริญ และผลผลิตเห็ดเมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยยูเรีย รำข้าว และ NH_4Cl (CN=19)

แหล่งไนโตรเจน	เส้นใยเจริญ (วัน)	เกิดตุ่มดอก (วัน)	สร้างดอก (วัน)	นน.ดอกเฉลี่ย* (กรัม/100 กรัมวัสดุเพาะ)	BE%*
Control**	23	26	31	1.05^{ง} ±0.0	6.94^{ง} ±0.3
รำข้าว	19	22	24	4.70^{ก} ±0.4	31.60^{ก} ±2.5
ยูเรีย	21	24	29	1.35^{ก} ±0.1	8.96^{ก} ±0.4
NH_4Cl	21	24	29	3.06^{ข} ±0.1	19.78^{ข} ±0.7

หมายเหตุ *ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

**ชุด Control = วัสดุเพาะทะลายปาล์ม+ทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30), ความชื้นร้อยละ 60, C/N= 23.20

C/N=17

C/N=19

C/N=21

C/N=23

C/N=23.20 (Control)

รูปที่ 3.20 ลักษะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย

C/N=17

C/N=19

C/N=21

C/N=23

Control (C/N=23.2)

รูปที่ 3.21 ลักษะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ระดับต่างๆ ด้วย NH_4Cl

C/N=17

C/N=19

C/N=21

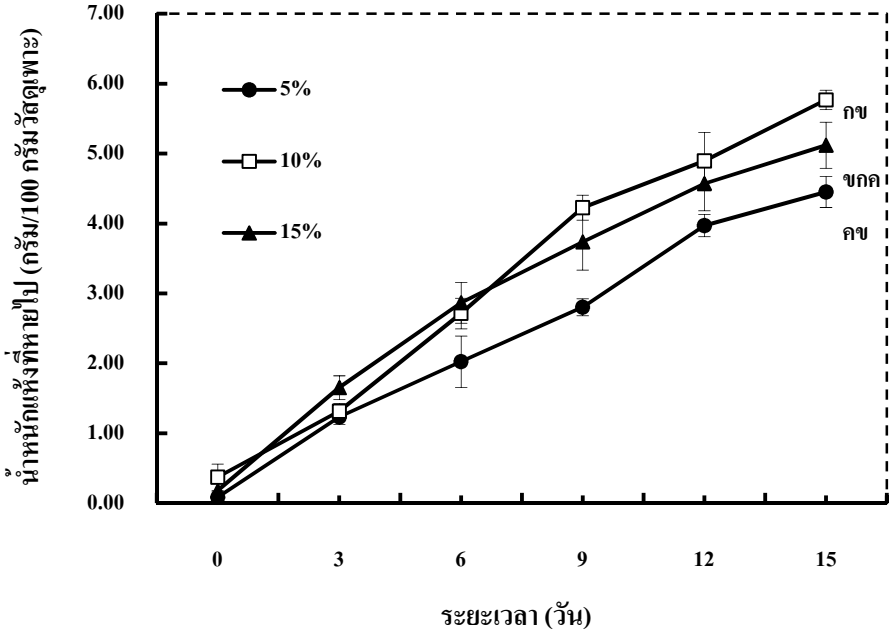
C/N=23

C/N=23.2 (Control)

รูปที่ 3.22 ลักษะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยรำข้าว

3.5.4 ผลของปริมาณเชื้อเริ่มต้นต่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง

จากการทดลองหาปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดแครงโดยกำหนดปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 (ชุดควบคุม) ร้อยละ 10 และร้อยละ 15 พบว่า เห็ดแครง S2 เจริญเติบโตได้ดีที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงโดยใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ10 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 และร้อยละ 15 โดยมีค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเท่ากับ 5.77 กรัมต่อ 100 กรัมวัสดุเพาะ (รูปที่ 3.22) ที่ระยะการเพาะเลี้ยง 15 วัน และสามารถเก็บดอกเห็ดได้เมื่อระยะเพาะเลี้ยง 22 วัน มีค่าประสิทธิภาพทางชีวิทยาเท่ากับ 43.83 ดอกเห็ดที่ได้มีสีขาวนวล ดอกเห็ดมีจำนวนมากกว่าที่เพาะเลี้ยงโดยใช้เชื้อปริมาณเริ่มต้นร้อยละ 5 (ชุดควบคุม) และร้อยละ 15 (ตารางที่ 3.8, รูปที่ 3.23) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95($p \leq 0.05$) ส่วนที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะใช้เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 พบว่าในช่วงระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 6 วัน เส้นใยมีการเจริญได้ดี แต่การเจริญเติบโตเริ่มลดลงเมื่อระเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มมากขึ้น ซึ่งในช่วงแรกเส้นใยเห็ดแครงเจริญเติบโตได้ดีเนื่องจากมีปริมาณเชื้อมาก แต่เมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นการเจริญยิ่งลดลงเนื่องจากสารอาหารมีไม่เพียงพอต่อความต้องการของเชื้อที่มีปริมาณมาก ดังนั้นเมื่ออาหารหมดการเจริญเติบโตก็จะยิ่งลดลง (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2552) เส้นใยเห็ดจะเจริญได้ทั่ววัสดุเพาะได้เร็วกว่าที่เพาะเลี้ยงโดยใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 5 และร้อยละ 10 เกิดตุ่มดอกและสร้างดอกเห็ดได้ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกันกับที่เพาะเลี้ยงโดยใช้เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 แต่หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 19 วัน เชื้อเห็ดแครงเจริญเติบโตได้ช้าลง ทำให้เก็บดอกเห็ดได้ช้ากว่าที่เพาะเลี้ยงโดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ซึ่งเก็บดอกเห็ดได้เมื่อระยะเวลาเพาะเลี้ยง 25 วัน ในขณะที่เพาะเลี้ยงโดยใช้เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 สามารถเก็บดอกเห็ดได้เมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 22 วัน (ตารางที่ 12) ดังนั้นจึงเลือกปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 เพื่อใช้ในการทดลองข้อต่อไป



รูปที่ 3.23 น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นระดับต่างๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 3.8 ระยะเวลาการเจริญ และผลผลิตเห็ดเมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นระดับต่างๆ

ปริมาณเชื้อ (%)	เส้นใยเจริญ (วัน)	เกิดตุ่มดอก (วัน)	สร้างดอก (วัน)	นน.ดอกเฉลี่ย* (กรัม/100 กรัมวัสดุเพาะ)	BE%*
Control**	19	22	24	4.50ก±0.4	30.01ก±2.9
10	9	15	19	6.31ข±0.4	42.76ข±0.9
15	7	15	19	4.78ก±0.3	32.56ก±2.7

หมายเหตุ *ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

**ชุด Control (5%) = วัสดุเพาะทะลายปาล์ม+ทางใบปาล์มน้ำมัน, ความชื้นร้อยละ 60, C/N=19

Control (5%)

ปริมาณเชื้อ 10%

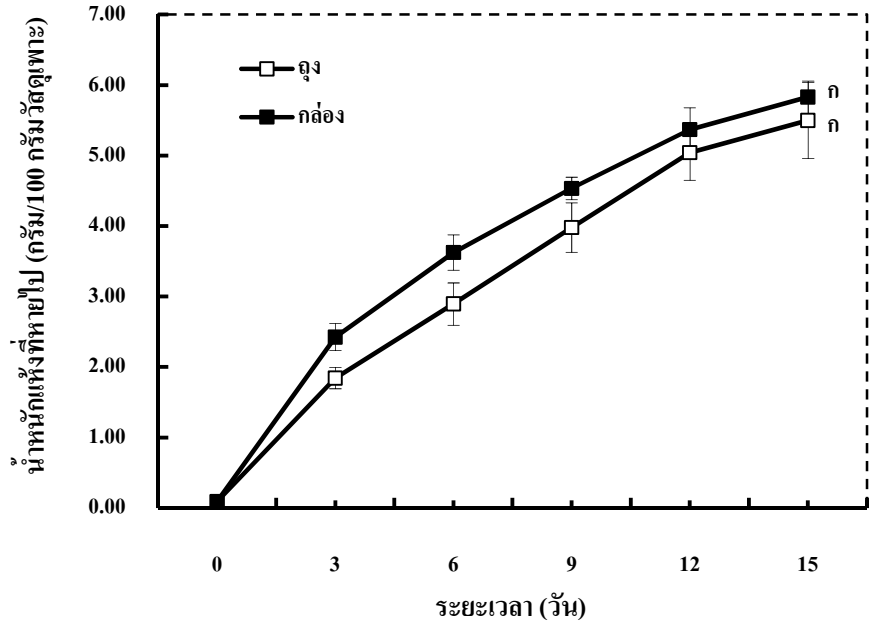
ปริมาณเชื้อ 15%

รูปที่ 3.24 ลักษะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นระดับต่างๆ

3.5.5 ผลของภาชนะบรรจุต่อการเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง

การทดลองในข้อนี้เป็นการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง S2 ในถุงพลาสติก Polyethylene (PP) และกล่อง Polyvinyl chloride (PVC) โดยเลือสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 3.9 จากการทดลองพบว่าเชื้อเห็ดแครง S2 เส้นใยเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงในกล่อง PVC ได้ดีกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในถุงพลาสติก PP มีค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะที่เพาะเลี้ยงในกล่อง PVC และในถุง PP เท่ากับ 5.83 และ 5.50 กรัมต่อ 100 กรัมตามลำดับ แต่เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \geq 0.05$) ดังรูปที่ 3.24 โดย

ที่เส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงในกล่อง PVC สามารถเจริญเติบโตได้เร็วกว่า เมื่อเทียบกับที่เพาะเลี้ยงในถุงพลาสติก PP โดยสามารถเก็บดอกเห็ดได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 20 วัน มีค่า BE ร้อยละ 46.14 มีปริมาณมากกว่าเมื่อเทียบกับปริมาณดอกเห็ด และค่า BE ของเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงในถุงพลาสติก PP ซึ่งมีประสิทธิภาพทางชีววิทยาเท่ากับร้อยละ 42.51 สามารถเก็บดอกเห็ดได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 25 วัน (ตารางที่ 3.9) ลักษณะของดอกเห็ดที่เพาะเลี้ยงในกล่อง PVC จะมีลักษณะของดอกเห็ดที่ใหญ่กว่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่เพาะเลี้ยงในถุงพลาสติก PP ทั้งนี้เกี่ยวข้องกับพื้นที่ของกล่องต่อการสัมผัสอากาศ และการระบายอากาศภายในกล่อง ซึ่งการเพาะเลี้ยงในกล่องมีพื้นที่สัมผัสอากาศ และมีการระบายอากาศภายในกล่องได้ดีกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในถุงพลาสติก PP ทำให้เส้นใยเห็ดแครงเจริญเติบโตและสร้างดอกเห็ดได้เร็วขึ้น (สำเนาว์ ฤทธินุช, 2554) ลักษณะของดอกเห็ดแครงที่ได้มีขนาดใหญ่ก้านดอกยาวกว่าที่เพาะเลี้ยงในถุงพลาสติก (รูปที่ 3.25) นอกจากนั้นการเพาะเลี้ยงในกล่องยังสามารถช่วยลดการใช้ถุงพลาสติก PP ได้เนื่องจากกล่องที่ใช้ในการทดลองสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้หลายๆ ครั้ง หากเป็นถุงพลาสติกไม่สามารถได้ซ้ำได้ เนื่องจากจะต้องมีการกรีดปากถุงในขั้นตอนการเปิดดอกทำให้มีพลาสติกเหลือทิ้งจากกระบวนการเพาะเห็ด ดั้งนั้นการเพาะเลี้ยงเห็ดแครงในกล่อง PVC ถือเป็นทางเลือกใหม่ในการเพาะเห็ด



รูปที่ 3.25 น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในกล่อง (PVC) และถุงพลาสติก (PP)

ตารางที่ 3.9 ระยะเวลาการเจริญ และผลผลิตเห็ดที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในกล่อง (PVC) และถุงพลาสติก (PP)

ภาชนะบรรจุ	เส้นใยเจริญ (วัน)	เกิดตุ่มดอก (วัน)	สร้างดอก (วัน)	นน.ดอกเฉลี่ย* (กรัม/100 กรัมวัสดุเพาะ)	BE%*
กล่อง (PVC)	7	13	17	12.86 ก±0.3	46.14 ก±0.3
ถุง (PP)**	9	15	19	6.24 ข±0.1	42.51 ข±1.6

หมายเหตุ *ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ถุง Polyethylene กล่อง PVC

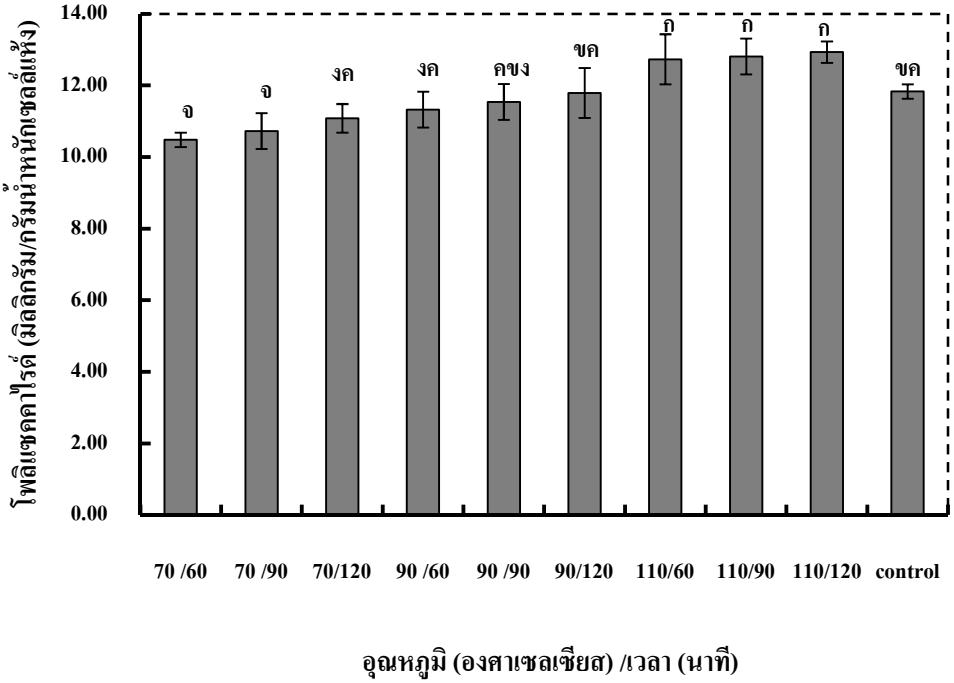
รูปที่ 3.26 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในกล่อง (PVC) และถุงพลาสติก (PP)

3.6 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะในการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์ และสาร Schizophyllan

3.6.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์จากชีวมวลเห็ดแครง (ดอกเห็ด) ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 3.6.5 ทดลองที่อุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่ระดับต่างๆกัน คือ อุณหภูมิในการสกัด 70, 90 และ 110 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60, 90 และ120 นาที จากการทดลองพบว่า ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 60, 90 และ120 นาที ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้มีปริมาณสูงสุดเท่ากับ 12.73, 12.83, และ 12.93 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ (รูปที่ 3.26) ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95 ($p \geq 0.05$) แต่จะแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับที่อุณหภูมิอื่นๆ ซึ่งสารโพลิแซคคาไรด์จะมีปริมาณสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้นและเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น แต่เมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงเกินไปปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จะลดลง ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลต่อการชะออกมาของสารโพลิแซคคาไรด์ ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้นสารสกัดจะถูกชะออกมามากขึ้น แต่หากอุณหภูมิที่สกัดสูงเกินไปจะส่งผลให้สารที่ต้องการสกัดเสียสภาพ และทำให้สารรบกวนถูกชะออกมาในปริมาณมาก ทำให้สารที่ต้องการสกัดได้ปริมาณน้อย และระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อการสกัดสารเนื่องจากระยะเวลาการสกัดเกี่ยวข้องกับการสัมผัสระหว่างตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดกับตัวอย่างที่ต้องการสกัด ตั้งแต่เริ่มสกัดจนถึงจุดสมดุลของระยะเวลาในการสัมผัส โดยหากเวลาในการสัมผัสน้อยกว่าจุดสมดุลสารสกัดจะถูกชะออกมาน้อย ทำให้ได้สารสกัดที่ต้องการในปริมาณน้อย หากเลยจุดสมดุลสารสกัดจะถูกชะออกมาไม่ได้มากกว่าจุดสมดุล (Shi *et al.,*1996; Kim and Huang, 2003)

ดังนั้นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์ สามารถช่วยประหยัดพลังงาน และระยะเวลาในการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์ได้ ซึ่งจากเดิมสกัดที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส 120 นาที (ชุดควบคุม) ซึ่งจากการทดลองพบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ที่สกัดได้มีปริมาณสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสกัดที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส 120 นาที (ชุดควบคุม)



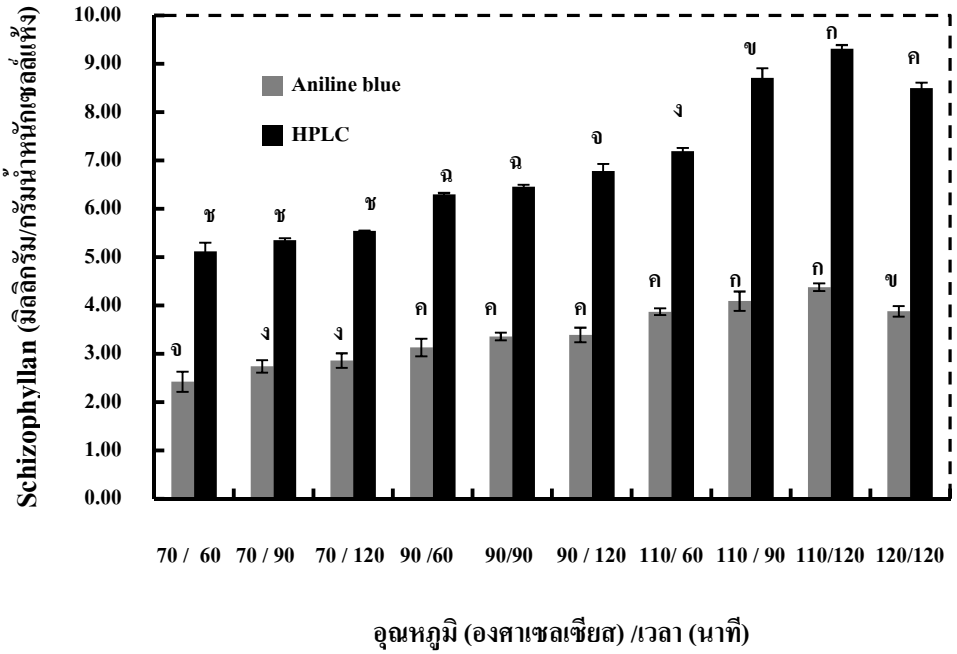
รูปที่ 3.27 ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์เห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสมสกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆกัน วิเคราะห์ด้วยวิธี Phenol sulfuric colorimetric

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่เชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

3.6.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาร Schizophyllan

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาร Schizophyllan จากชีวมวลเห็ดแครงที่อุณหภูมิและเวลาในการสกัดระดับต่างๆ วิเคราะห์ปริมาณสาร Schizophyllan ที่สกัดได้ด้วยวิธี Aniline blue พบว่าปริมาณสาร Schizophyllan มีปริมาณสูงสุด เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 90 และ 120 นาที ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95 ($p \geq 0.05$) แต่จะแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับที่สกัดด้วยอุณหภูมิและระยะเวลาอื่นๆ โดยมีปริมาณสาร Schizophyllan เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 90 และ 120 นาที เท่ากับ 4.19 และ4.38 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ (รูปที่ 3.27) จากการทดลองเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดสูงขึ้นปริมาณสาร Schizophyllan ที่สกัดได้ก็จะมากขึ้นเช่นเดียวกัน แต่เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส 120 นาที ปริมาณสาร Schizophyllan ที่สกัดได้มีปริมาณน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 90 และ 120 นาที ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อการถูกชะออกมาของสารสกัด แต่หากอุณหภูมิในการสกัดสูงเกินไปจะ

ทำให้สารที่ต้องการสกัดเสียสภาพ(Shi *et al.,*1996; Kim and Huang, 2003) ซึ่งจากการวิเคราะห์ปริมาณสาร Schizophyllan ด้วยวิธี Aniline blue พบว่าปริมาณสารที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณน้อย ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLCซึ่งเป็นเครื่องมือแยกสารประกอบที่มีความแม่นยำและความถูกต้องสูง และสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้หลายชนิด จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC พบว่าปริมาณสาร Schizophyllan มีปริมาณสูงสุด เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 120 นาที เท่ากับ 9.31 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95 ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส 120 นาที ปริมาณสาร Schizophyllan ที่สกัดได้มีปริมาณน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 90 และ 120 นาที เช่นเดียวกันกับที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Aniline blue ดังนั้นผลจากการศึกษาจึงสามารถช่วยประหยัดพลังงานในการสกัดปริมาณสาร Schizophyllan โดยการลดอุณหภูมิในการสกัดเช่นเดียวกันกับการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์



รูปที่ 3.28 ปริมาณสาร Schizophyllan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆกันวิเคราะห์ด้วยวิธี Aniline blue และ HPLC

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันในกราฟแท่งชุดเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

3.7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในวัสดุเพาะเห็ดทะลายปาล์ม และทางใบปาล์มน้ำมันก่อนเพาะ และหลังจากเพาะเห็ดแครง

การใช้นำวัสดุเหลือทิ้งมาใช้ประโยชน์โดยการเพาะเลี้ยงเห็ดเห็ดแครงเป็นวิธีการหนึ่งในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งโดยอาศัยเห็ดแครง นอกจากนั้นยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวอีกด้วย แต่เนื่องจากการเพาะเห็ดเป็นวิธีการหนึ่งในการช่วยย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งให้อยู่ในสภาพที่ย่อยสลายได้ง่ายขึ้นเท่านั้น แต่ไม่ได้เป็นการจัดการทำให้วัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวหมดไป ดังนั้นในการทดลองจึงทำการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารหลักของพืช ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) ที่เหลืออยู่ในวัสดุที่เหลือทิ้งจากการเพาะเห็ด เพื่อสามารถนำวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ต่อไป โดยการนำไปผลิตเป็นปุ๋ยอินทรีย์ และนำกลับมาใช้เป็นวัสดุในการเพาะเห็ดใหม่

จากการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารหลักของพืช ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในวัสดุเพาะเห็ดทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันก่อนเพาะ และหลังผ่านการเพาะเห็ดแครง พบว่าวัสดุเพาะเห็ดดังกล่าวมีปริมาณ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ดังข้อมูลในตารางที่ 3.11 ซึ่งปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เป็นธาตุอาหารหลักที่พืชต้องการในการเจริญเติบโต โดยธาตุอาหารแต่ละชนิดจะมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกัน ได้แก่ ไนโตรเจน มีหน้าที่เป็นส่วนประกอบของโปรตีน เร่งการเจริญเติบโตทางใบ ส่วนฟอสฟอรัสมีหน้าที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโต ควบคุมการออกดอก ออกผล และโพแทสเซียมเป็นธาตุที่ช่วยในการสังเคราะห์น้ำตาล แป้ง และโปรตีน ส่งเสริมการเคลื่อนย้ายน้ำตาลจากใบไปสู่ผลช่วยให้ผลเติบโตเร็วและมีคุณภาพดี ดังนั้นวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดแครงเป็นวัสดุเหลือทิ้งอีกชนิดหนึ่งที่สามารถนำไปผลิตปุ๋ยอินทรีย์ได้ เนื่องจากมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมหลงเหลืออยู่ ซึ่งพระราชบัญญัติ (พ.ร.บ) ปุ๋ยอินทรีย์แห่งชาติ 2550 ได้กำหนดคุณลักษณะของปุ๋ยหมักจะต้องมีค่าอัตราส่วน C/N ไม่เกิน 20:1 ซึ่งวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันที่ใช้ในการเพาะเห็ดนั้นเป็นวัสดุเพาะที่ผ่านการย่อยโดยจุลินทรีย์ในแหล่งธรรมชาติแล้ว และมีปรับค่ามีค่า C/N เท่ากับ 19 ดังนั้นวัสดุเพาะที่ผ่านการเพาะเห็ดแครงแล้วค่า C/N ที่เหลืออยู่ไม่เกิน 20:1 ตามพระราชบัญญัติ (พ.ร.บ) ปุ๋ยอินทรีย์แห่งชาติ 2550 ได้กำหนดคุณลักษณะของปุ๋ย ส่วนปริมาณธาตุอาหารหลักไนโตรเจนต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 1.0 ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.5 วัสดุเพาะที่ผ่านการเพาะเห็ดแครงนั้นมีคุณสมบัติตามพระราชบัญญัติ (พ.ร.บ) ปุ๋ยอินทรีย์แห่งชาติ 2550 แต่โพแทสเซียมมีค่าไม่ถึง 0.5 ดังนั้นเพื่อให้ได้ปุ๋ยที่มีสารอาหารเพียงพอต่อความต้องการของ

พืชอาจจะต้องมีการเพิ่มสารหลัก ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และเพิ่มสารอาหารอื่นๆ ที่พืชต้องการลงไปในขั้นตอนการผลิตปุ๋ย

ตารางที่ 3.11 ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในวัสดุเพาะเห็ดทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันก่อนเพาะ และหลังเพาะเห็ดแครง

วัสดุเพาะเห็ด (ทะลายปาล์มเปล่า : ทางใบปาล์ม)	N	P	K
ก่อนเพาะ*	26.78	0.17	0.57
หลังเพาะ	8.73	0.14	0.40

หมายเหตุ * วัสดุเพาะเห็ดก่อนเพาะประกอบด้วยทะลายปาล์มเปล่า: ทางใบปาล์ม (70:30), ปรับอัตราส่วน C/N =19 ด้วยรำข้าว และปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10

ดังนั้นการนำวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดแครงไปผลิตปุ๋ยอินทรีย์เป็นทางเลือกหนึ่งในการจัดการวัสดุเหลือทิ้งที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเพาะเห็ดแครง นอกจากนั้นวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดแครงยังสามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในวัสดุเพาะในการเพาะเลี้ยงเห็ดฟางได้ เนื่องจากเห็ดฟางเป็นเห็ดที่ไม่มีเอนไซม์ในการย่อยสลายสารอาหาร ดังนั้นวัสดุที่จะเพาะเห็ดฟางจะต้องเป็นวัสดุที่ผ่านการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ ก้อนเชื้อเห็ดเก่าจึงเป็นวัสดุเพาะทางเลือกใหม่ในการเพาะเลี้ยงเห็ดฟาง ถือเป็นวิธีการหนึ่งในการลดต้นทุนในการผลิต และยังเป็นการจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดโดยนำกลับมาใช้ใหม่ (กรมวิชาการเกษตร, 2553) และยังสามารถใช้วัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ดแครงเพื่อบำบัดสีย้อมในน้ำเสียได้ เนื่องจากเห็ดดังกล่าวสามารถสร้างเอนไซม์ในการบำบัดสีย้อมได้ ได้แก่ เอนไซม์ Lignin peroxidase เอนไซม์ Manganesse peroxidase ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวสามารถสกัดได้จากเชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว และสามารถสกัดได้จากก้อนเชื้อเห็ดเก่า ทั้งนี้เนื่องจากเห็ดสามารถผลิตเอนไซม์ดังกล่าวในขณะที่มีปริมาณสารอาหารไม่สมบูรณ์ ดังนั้นก้อนเชื้อเห็ดเก่ายังคงมีปริมาณธาตุอาหาร และเอนไซม์ดังกล่าวหลงเหลืออยู่ จึงสามารถสกัดเพื่อไปใช้ในการบำบัดสีย้อมในน้ำเสียได้ (อภิญญา บันลือทรัพย์, 2551)

บทที่ 4
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง และการผลิตสาร Schizophyllan ตั้งแต่ขั้นตอนการคัดแยกเห็ดแครงให้อยู่ในรูปของเชื้อบริสุทธิ์ การทดสอบการเจริญเติบโต การเพาะเลี้ยงบนวัสดุเศษเหลือทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดปริมาณสาร Schizophyllan

4.1 สรุปผลการทดลอง

4.1.1 การทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครงบนอาหารแข็งพีดีเอ และอาหารแข็งเอสพีบีดี ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ และสาร Schizophyllan

การศึกษาในขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อเห็ดแครงที่มีลักษณะการเจริญเติบโต มีปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ และสาร Schizophyllan สูงสุด 3 ไอโซเลตที่แยกได้จากเห็ดแครงที่สุ่มเก็บตัวอย่างจากแหล่งธรรมชาติในจังหวัด พัทลุง สงขลา และยะลา ทั้งหมด 9 ตัวอย่าง แบ่งเก็บจังหวัดละ 3 ตัวอย่าง คือ เชื้อเห็ดแครงที่เก็บในจังหวัดพัทลุงได้แก่ เชื้อเห็ดแครง P1, P2 และ P3 เชื้อเห็ดแครงที่เก็บในจังหวัดสงขลา ได้แก่ เชื้อเห็ดแครง S1, S2 และ S3 เชื้อเห็ดแครงที่เก็บในจังหวัดยะลา ได้แก่ เชื้อเห็ดแครง Y1,Y2 และY386 จากการทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดแครงทั้ง 9 ไอโซเลตที่แยกได้จากเห็ดแครง 9 ตัวอย่าง เชื้อเห็ดแครงที่มีการเจริญเติบโตสูงสุดมีปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ และสาร Schizophyllan สูงสุด ได้แก่เชื้อเห็ดแครง S1, S2 และ Y3 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเออยู่ในช่วง 8.3-8.5 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเอสพีบีดีเท่ากับ 9.0 เซนติเมตร มีปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์อยู่ในช่วง 5.22-6.04 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีปริมาณสาร Schizophyllan อยู่ในช่วง 3.35-4.19 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อวิเคราะห์ด้วย HPLC ดังนั้นจึงเลือกเชื้อเห็ดแครง S1, S2 และ Y3 เพื่อใช้ในการทดลองการเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน

4.1.2 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดโพลิแซคคาไรด์ และสาร Schizophyllan

การศึกษาในขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดแครงบนวัสดุเศษเหลือทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน โดยศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ อัตราส่วนของวัสดุเพาะ ความชื้นเริ่มต้น อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) ปริมาณเชื้อเริ่มต้น และภาชนะบรรจุ จากการศึกษาพบว่าเส้นใยเห็ดแครงเจริญดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในกล่อง Polyvinyl chloride (PVC) บรรจุวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนร้อยละ 70:30 ความชื้นเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 19 โดยใช้รำข้าว ใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 โดยมีค่าน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเท่ากับ 5.83 ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 15 วัน มีค่าประสิทธิภาพทางชีววิทยา (BE) เท่ากับ 46.14 สามารถเก็บดอกเห็ดได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 20 วัน ดอกเห็ดที่ได้มีขนาดของดอกที่ใหญ่ มีสีขาวนวล ปราศจากการปนเปื้อนของวัสดุอื่น เมื่อนำดอกเห็ดที่ได้ไปสกัดที่อุณหภูมิ 70, 90 และ110 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60, 90 และ 120 นาที พบว่าสารโพลิแซคคาไรด์มีปริมาณสูงสุดเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 60 นาที เท่ากับ 12.73 และสาร Schizophyllan มีปริมาณสูงสุดเมื่อสกัดด้วยอุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 120 นาที เท่ากับ 9.31 เมื่อวิเคราะห์ด้วย HPLC จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารโพลิแซคคาไรด์ และสาร Schizophyllan พบว่าสามารถช่วยลดอุณหภูมิในการสกัดลงได้

4.2 ข้อเสนอแนะ

4.2.1 ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการเท่านั้น ดังนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งต่อไปควรมีการศึกษาต่อในระดับอุตสาหกรรม และศึกษาต่อในเห็ดอื่นๆ

4.2.2 ควรมีการนำวัสดุเหลือทิ้งอื่นๆ เช่น น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม น้ำเสียจากอุตสาหกรรมผลิตอาหารทะเลแช่แข็ง หรือ วัสดุเหลือทิ้งลิกโนเซลลูโลสอื่นๆ มาทดลองเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด เพื่อสกัดสารโพลิแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้ง

4.2.3 ในงานวิจัยครั้งนี้เป็นงานวิจัยเกี่ยวกับการจัดการวัสดุเหลือทิ้งโดยนำกลับมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงเห็ดแครง ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้ง โดยอาศัยเชื้อเห็ดแครง ให้อยู่ในสภาพที่ย่อยสลายง่ายเท่านั้น แต่ไม่ได้เป็นการจัดการวัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวให้หมดไป ดังนั้นควรมีการศึกษาต่อเกี่ยวกับการจัดการวัสดุเหลือทิ้งที่ผ่านการเพาะเห็ดแครง เช่น การผลิตปุ๋ยหมัก นำกลับมาใช้เป็นวัสดุในการเพาะเลี้ยงเห็ดฟาง

เอกสารอ้างอิง

กรมการค้าภายใน. 2554. **การผลิต การตลาด ปาล์มน้ำมัน**. http://agri.dit.go.th. (สืบค้นเมื่อวันที่ 24 กรกฎาคม 2555.

กรมควบคุมมลพิษ. 2553. **มาตรฐานคุณภาพน้ำ**. http://www.pcd.go.th (สืบค้นเมื่อวันที่ 7 กันยายน 2553)

กรมพัฒนาที่ดิน. 2545. **คู่มือเจ้าหน้าที่รัฐ**. การปรับปรุงบำรุงดินด้วยอินทรียวัตถุ กลุ่มอินทรีย์ และวัสดุเหลือใช้ กองอนุรักษ์ดินและน้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน.

กรมพัฒนาที่ดิน. 2548. **คู่มือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ย พืช วัสดุปรับปรุงดินและการวิเคราะห์เพื่อตรวจรับรองมาตรฐานสินค้า**. เล่มที่ 2. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน.

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

กรมวิชาการเกษตร.2553. **เห็ดฟางกองเตี้ย เกษตรออนไลน์**. กรมวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. http://kasetonline. com (สืบค้นเมื่อวันที่ 7 สิงหาคม 2555).

เกษม พลายแก้ว.2553. **เคมีทั่วไป1**. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จีร์ ศรชัย. 2553. **เพาะเห็ดฟางจากทะลายปาล์มเปล่า**. หนังสือพิมพ์เดลินิวส์ฉบับวันอังคารที่ 14 สิงหาคม.

ฐานิตย์ เมธิยานนท์ สราวุธ สังวรกาญจน์ ประสาน สถิตเรืองศักดิ์ และสุวิทย์ เตีย. 2553. **ผลกระทบของวิธีการจ่ายเติมแต่งในการเผาไหม้ทะลายปาล์มเปล่าในเตาเผาไหม้ตะกรับแบบขั้น ต่อความสามารถในการแลกเปลี่ยนความร้อนท่อไอน้ำอวดยิ่ง**. เรื่องเต็มการประชุมวิชาการเครือข่ายการวิศวกรรมเครื่องกลแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 24 พิมพ์ครั้งที่ 1. อุบลราชธานี: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

ทศพร ทองเที่ยง วิศรุต สุขเจริญ บุษยา บุนนาค และ ทวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล. 2549. ผลของปุ๋ยและวัสดุกลบที่เป็นแหล่งของธาตุอาหารต่อผลผลิตเห็ดนกยูง. **วารสารวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจุลจอมเกล้าธนบุรี** 29 (4):527-538.

ธีรพงค์ จันทร์นิยม. 2551. กระบวนการไร้ของเสียในอุตสาหกรรมสกัดปาล์มน้ำมัน.**วารสารหาดใหญ่วิชาการ** 6(2):159-164.

ธีระ เอกสมทราเมษ โอกาส พิมพา นิคม แหลมสัก. 2551.สารพัดประโยชน์ปาล์มน้ำมัน. **วารสารประชาคมวิจัย Food Feed Fuel** 14 (82):8-20.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2552. **จุลชีววิทยาทั่วไป**.พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปรียาภรณ์ แนมใส. 2546. อิทธิพลของวัสดุเพาะต่อการเจริญเติบโตของพัก.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาพืชสวน มหาวิทยาลัยแม้โจ้.

ภานุพงค์ บางรักษ์. 2548. การผลิตปุ๋ยหมักจากวัสดุเศษเหลือโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มผสมน้ำหมักของ*Rhodobacter capsulatus* SS3 และ การใช้ในการปลูกผักบุ้งและต้นหอม.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

มุกดา คูหิรัญ และปาริชาติ ภูสว่าง. 2545. การคัดเลือกพันธุ์เห็ดหมื่นปี *Ganoderma lucidum* (Fr.) พันธุ์ลูกผสมที่มีปริมาณพอลิแซกคาไรด์สูง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาเกษตรศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

แม้น อมรสิทธิ์, อมร เพชรสม. 2535. **หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ Principles and techniques of instrumental analysis.** กรุงเทพฯ : ชวนพิมพ์

ยงยุทธ โอสถสภา อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และ ชวลิต ฮงประยูร. 2551. **ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รานี สุวรรณพฤกษ์. 2552. **เคมีทั่วไป**.พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : วิทยพัฒน์.

รื่นฤดี โซ่มงคล ดวงทิพ มูลมั่งมี สมพร มูลมั่งมี.2549. การศึกษาวิธีการแยกบริสุทธิ์และคุณสมบัติทางเภสัชของโพลิแซคคาไรด์จากเห็ดกินได้. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

วธิดา คะนะแนม. 2552. ผลของมูลไก่ กากตะกอนดีแคนเตอร์ และดินแดงในการผลิตปุ๋ยหมักจากทะลายปาล์มเปล่าน้ำมัน.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

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

วสันณ์ เพชรรัตน์. 2539. **การเพาะเห็ดป่า**. วารสารสงขลานครินทร์ 18 (4):379-406.

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

วิโชติ จงรุ่งโรจน์. 2550. การศึกษาห่วงโซ่ (Value Chain) การผลิตของปาล์มน้ำมัน. **วารสารเศรษฐกิจและสังคม** 4(3):78-79.

วิทยา ทวีนุช.2552. *การเพาะเห็ดแบบเศรษฐกิจพอเพียง*.พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สกายบุค.

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

ศิริโฉม เหลืองอ่อน. 2541.โพลิแซคคาไรด์จากจุลินทรีย์:คุณสมบัติและการใช้ประโยชน์.**วารสารวิทยาศาสตรบูรพา** 6(1):145-152.

ศูนย์วิจัยกสิกรไทย. 2555. ธุรกิจปาล์มน้ำมันหลังหลังก้าวสู่ AEC. http://www.ksmecare.com (สืบค้นเมื่อ 10 ตุลาคม 2555)

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2553. *Tistr News* .http://tistr-foodprocess.net/tistr (สืบค้นเมื่อ 10 พฤศจิกายน 2553).

สาวิตรี จันทรานุรักษ์ และ ธราพงษ์ วิฑิตศานนท์. 2545. การพัฒนาทะลายปาล์มเป็นเชื้อเพลิงหุงต้ม.**วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี** 17(2):T-32.

สาวิตรี จันทรานุรักษ์ .2548. **เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

สุรัตน์ อัตต. 2553. ปุ๋ยอินทรีย์จากเศษทะลายปาล์มผลิตภัณฑ์คุณภาพ.หนังสือพิมพ์คมชัดลึกฉบับวันเสาร์ที่ 6 มีนาคม.

สุวิทย์ สุวรรณโณ และไชนะ มูเล็ง. 2555. การส่งเสริมการผลิตเส้นใย และสารโพลิแซคคาไรด์จากเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) โดยสภาวะของสารอาหารที่เหมาะสม. **วารสารวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม** 31(4):336-343.

สุวิทย์ สุวรรณโณ และศิริวรรณ มากสุวรรณ. 2553. การผลิตน้ำเห็ดสมุนไพรสกัดพร้อมดื่ม. **วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ** 20(2):278-288.

สำนักงานสถิติแห่งชาติ. 2555. **ปาล์มน้ำมันขาดแคลนหรือไม่** โดย ศูนย์สารสนเทศยุทธศาสตร์ภาครัฐ http://service.nic.go.th. (สืบค้นเมื่อวันที่ 24 กรกฎาคม 2555).

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.2551.ข้อมูลการผลิตสินค้าการเกษตรที่สำคัญ: ปาล์มน้ำมัน http://www.oae.go.th/Area.htm (สืบค้นเมื่อวันที่ 20 กรกฎาคม 2555)

อธิปัตย์ คลังบุญครอง. 2550. การผลิตบีต้ากลูแคนจากยีสโดยการเพาะเลี้ยงในถังหมักระบบอากาศลอยตัว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล.2541.เห็ดแครงหรือเห็ดตีนตุ๊กแก.**วารสารข่าวสารเพื่อผู้เพาะเห็ด** 13(3):8-11

อนงค์ จันทร์ศรีกุล.2546. **เห็ดเมืองไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : ไทยวัตนาพานิช

อภิญญา บรรลือทรัพย์. 2551. การบำบัดสีย้อมในน้ำเสียอุตสาหกรรมสิ่งทอด้วยเอนไซม์ลิกโนไลติกที่สกัดจากวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะเห็ด.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัมพา คำวงษา.2554. **คู่มือการเพาะเห็ดเงินล้าน**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : นาคาอินเตอร์มีเดีย

Adejoy, O.D., Tayo, B.C., Ojunjobi, A.A., Afolabi, O.O. 2007. Physicochemical Studies on *Schizophyllum commune* (Fries) a Nigerian Edible Fungus. **Applied Sciences** 2 : 73-76.

Akpanabiatu, M.I., Ekpa, O.D., Mauro, A., Rizzo R., 2001. Nutrient composition of Nigerian palm kernel from the dura and tenera varieties of the oil palm (Elaeis guineensis). **Food Chemistry** 72:173-177.

Alam, M.Z., Mamun, A.A., Qudsieh, I.Y., Muyibi, S.A., Salleh, H.M., Omar, N.M. 2009. Solid state bioconversion of oil palm empty fruit bunches for cellulase enzyme production using a rotary drum bioreactor. **Biochemical Engineering** 46:61-64**.**

Chi, X.Q., Chang.K.C.,Schwarz,J.G., Weisenborn, D.P., and Shih, M.C., 1996. Optimizing pectin extraction from sunflower head by alkaline washing**. Bioresource Technology** 58(3):291-297.

Chiew, L.K and Rahman, Z.A. 2002. The effects oil palm emty fruit bunches on oil palm nutrition and yield and soil chemical property. **Oil Palm Research** 14(2):1-9.

Cho, E.J., Oh, J.Y., Chang, H.Y., Yun, J.W. 2006. Production of exopolysaccharides by submerged mycelialculture of a mushroom *Tremella fuciformis.* **Biotechnology** 127:129-140.

Cruz, O.S., Castan, G.S., Hach, J., Rojas, L.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.

Demirbas, A. 2005. b-Glucan and mineral nutrient contents of cereals grown in Turkey. **Food Chemistry** 90:773-777.

Dubios, M., Gilles, K.A.,Hamilton, J.K.,Rebers, P.A., and Smith,F.1956.Colometric method for determination of sugar and related substance. **Analytical Biochemistry** 28:350-356.

Guo, X., Zou, X., Sun, M. 2010. Optimization of extraction process by response surface methodology and preliminary characterizationof polysaccharides from *Phellinus igniarius*. **Carbohydrate Polymers** 80:344–349.

Haddadin, M.S., Al-Natour, R., Al-Qsous S., Robinson, R.K. (2002). Bio-degradation of lignin in olive pomace by freshly-isolated species of Basidiomycete. **Bioresource** 82(2): 131-137.

Henriksson,G., Johansson, G., Pettersson, G. 2000.A critical review of cellobiose dehydrogenases. **Biotechnology** 78:93–113.

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

Huang,H.C., Liu, Y.S .2008. Enhancement of polysaccharide production by optimization of culture conditions in shake flask submerged cultivation of Grifola umbellata. **Chemical Engineers** 39 :307–311.

Jie, X., Cao, Y., Qin, J.J., Liu, J., Yuan, Q. 2005. Influence of drying method on morphology and propertiesof asymmetric cellulose hollow fiber membrane. **Membrane Science** 246:157–165.

Karinaga, R., Anada, T., Minari, J., Mizu, M., Koumoto, K., Fukud, J., Nakazawa, K., Hasegawa, T., Numata,M., Shinkai, S., Sakurai, K. 2006. Galactose-PEG dual conjugation of b-(1-3)-D-glucan schizophyllanfor antisense oligonucleotides delivery to enhance the cellular uptake. **Biomaterials** 27:1626-1635.

Karoline, C. Manthey., Rocio, R.M., Jia,T.H., Janos ,Z. 2006. Riboflavin deficiency causes protein and DNA damage in HepG2triggering arrest in G1 phase of the cell cycle. **Nutritional Biochemistry** 17:250- 256.

Kim, K.S. and S. Hyun Y. 2006. Production of soluble beta-glucan from the cell wallof *Saccharomyces cerevisiae*. **Enzyme and Microbial Technology** 39: 496–500.

Kim, S., Kim, W., and Huang, I.K. 2003. Optimazation extraction and purification oligosaccharide from defatted soybean meal**. Food Science Technology** 38(1):337-342**.**

Kitamura, S., Hirono, T., Takea, K., Fukada, H., Takahashi, K., Falch, B., and Stokke, B. 1996. Conformation transition of Schizophyllan in aqueous alkaline solution. **Biopolymer** 39:407-416.

Klaus ,A., Kozarski, M., Niksic M., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Leo, J.L.D. Griensven, Van. 2011.Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharidesextracted from the basidiomycete *Schizophyllum commune.* **Food Science and Technology** 3:1-7.

Kumari, M.A., Shrikant A. Survase. 2008. Production of Schizophyllan using *Schizophyllum commune*. **Bioresource Technology** 99:1036–1043.

Lau, K. L., Y. Y. Tsang and S. W. Chiu. 2003. Use of spent mushroom compost to bioremediate PAH-contaminated samples. **Chemosphere** 52: 1539-1546.

Lee, S.A., Bae, H., Kim, N., Hwang. S. 2008. Optimization of Growth Conditions of *Lentinus edodes* Myceliumon Corn Processing Waste Using Response Surface Analysis. **Bio science and Bioengineering** 2: 161–163.

Loss, E., Royer, A.R. Barreto-Rodrigues,M.,and Barana,A.C.2009.Use of maize wastewater for the Cultivation of the *Pleurotus* spp. Mushroom and optimization of its biological efficiency. **Hazadous Material** 166:1522-1525.

Luis, F., Gutiérrez, Óscar, J., Sánchez, Carlos A. C. 2009. **Bioresource Technology** 100 :1227–1237.

Mandeel, G.A. 2005.Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus spp.)* 0n Various lignocellulosic WasteWorld. **Microbiology and Biotechnology** 21:601-607.

Manzi, P.,Aguzzi. A.,Pizzoperrato.L.2001. Nutrition Value of mushroom widely comsum in Italy. **Food chemistry** 73:321-325.

Mao, X.B., Eksriwongb, T., Chauvatcharinb S., Jiang Z. J. 2005 Optimization of carbon source and carbon/nitrogen ratio for cordycepin production by submerged cultivation ofmedicinal mushroom Cordyceps militaris. **Process Biochemistry** 40:1667–1672.

Matsumoto, T., Numata, M., Anada, T., Mizu, M., Koumoto K., Kazuo, S., Nagasaki, T. 2004. Chemically modified polysaccharide schizophyllan for antisenseoligonucleotides delivery to enhance the cellular uptake efficiency. Biochimica et Biophysica 1670: 91-104

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

Novozamsky, R., Eck, J. V., Shcouwenburg, C. h., Wallinga. V. I. 1974. Total nitrogendetermination in plant material by means of the indophenol blue method. **Agric Sci** 22:3-5.

Perez, J., Munoz. J. D., Dela rubia, T., Martinez, J. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicelluloseand lignin: an overview. **Int Microbiol** 5: 53-63.

Philippoussis, A., Zervkis, G., and P. Diamantopoulou. 2001. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Vollvarella volvacea* and *Pleurotus* spp. **Microbiology and Biotechnology** 17: 191-200.

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

Rabinovich, M.L. 2004. Fungal decomposition of natural aroma structures and xenobiotics : a review. **Appl Biochem Microbiol** 40:1–17.

Rhee, S.J., Cho S.Y., Kim, K.M., Cha, D.Su., Park, H.Jin. 2008. A comparative study of analytical methods for alkali-soluble b-glucan in medicinal mushroom, Chaga (Inonotus obliquus). **Research Note** 4:545-549.

Robert, G. W., and Bruce, A. M. 1972. Decomposition of Dissolved Organic Carbon and Nitrogen Compounds from Leaves in an Experimental Hard-Water Stream. **Limnology and Oceanography** 17:229-279.

Saletes, S., Caliman, J. P. and Raham, D. 2004. Study of mineral nutrient losses from oil palm emty fruit banches during temporary storage. **Applied Science in Environment Sanitation** 2(2):57-62.

Salman, J. M., and Hameed, B.H. 2010. Effect of preparation conditions of oil palm fronds activated carbon on adsorptionof bentazon from aqueous solutions. **Hazardous Materials** 175:133-137.

Sanchez, C. 2009. Lignocellulosic residues:Biodegradation and bioconversion by fungi. **Sciences.Biotechnology** 27:185–194.

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.

Shi,X., Chang.K.C., Shawrz. J.G., Weisonborn.D.P and Shih .M.C.1996. Optimazation pectin extraction from sunflower head by alkaline washing. **Bioresouce Technology** 58(3) 291-297.

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.

Steamy, k. 2009. Japanese Mushroom Recipes. http://steamykitchen.com. (accessed August 7, 2012).

Sumathai, S.A. 2008. Utilization of oil palm as asource of renewableenergy in Malaysia. Renewable and Sustainable. **Energy Reviews** 12: 2404–2421.

Suwanno,S., Nakamura, K., Amano,Y., Shida, M and Horiuchi. 2005. Deverlopment of the method for efficient disruption and rapid extraction on theβ-l-3 glucan determination from the mycelium of *Ganoderma lucidum*. **Mushroom Science and Biotechnology** 13: 83-93.

Suwanno, S. 2007. *Effect of light on mycelium growth of Ganoderma lucidum Karst*. Doctoral Dissertation.Interdisciplinary Graduat School of Medicine and Engineering. University of Yamanashi japan.

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

Walkley,A. and Blank,I.A.,1993. An examination of Degtiareff method for determinig soil organic matter,and apropose modification of the chromic acid titration method. **Soil Science** 37:29-38.

Wengel. M., Kothe. E., Christian, M. Schmidt., Heide, K., Gleixner ,G.2006.Degradation of organic matter from black shales and charcoal by thewood-rotting fungus *Schizophyllum commune* and release of DOC and heavy metals in the aqueous phase. **Science of the Total Environment** 367 :383–393

Wesenberg, D., I. Kyriakides and S. N. Agathos. 2003. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. **Biotechnol Advances** 22: 161-187.

Wu, J. Z., Cheung, P. C. K., and N. l. Huang. 2004. Studies on submerged fermentation of *Pleurotus* tuber-regium (Fr.) Singer. Part 2: effect of carbon-to-nitrogen ratio of the culturemedium on the content and composition of the mycelial dietary fibre. **Food Chemistry** 84: 101-105.

XuJie, H. and Wei, C. 2008. Optimization of extraction process of crude polysaccharides fromwild edible BaChu mushroom by response surface methodology. **Carbohydrate Polymers** 72:67–74.

Zahari, A. K., Zakaria, M. R., Ariffin, A., Mokhtar, M. N., Salihon, S., Shirai, Y., Hassan, M. A. 2012. Renewable sugars from oil palm frond juice as an alternative novelfermentation feedstock for value-added products. **Bioresource Technology** 110:566–571.

Zen,C. 2012. Mushroom Boxes. http://mushroombox.co.uk. (accessed August 7, 2012).

Zen, Z., Mccarthy, J. and Barlow, C. 2005. Environmental issues in an age of regional autonomy: the case of pollution sector of north Sumatra. **Oil palm Industry Economic** 5(2):23-36.

Zhang, M., Cui,S.W., Cheung, P.C.K. and Wang,Q. 2007 Antitumorpolysaccharides from mushrooms: a revie their isolationprocess, structuralcharacteristics andantitumor activity. **Trends in Food Science & Technologywon** 18: 4-19.

ภาคผนวก ก
วิธีการเตรียมสารเคมีและวิธีการวิเคราะห์

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

Sweet Potato Peptone Vitamin B_6 $CaCl_2$ Dextrose Agar(SPBD)

Sweet Potato (มันเทศ)	250.0	กรัมต่อลิตร
Peptone	1.0	กรัมต่อลิตร
Vitamin B_6	0.5	กรัมต่อลิตร
$CaCl_2$	1.3	กรัมต่อลิตร
Dextrose	20	กรัมต่อลิตร
Agar	20	กรัมต่อลิตร

ต้ม Sweet Potato (มันเทศ) 250 กรัม ในน้ำกลั่นจนเปื่อย กรองเอาเฉพาะน้ำ เติม Dextrose 20 กรัม Agar 20 กรัม Peptone 1 กรัม Vitamin B_6 0.5 กรัม และ$CaCl_2$ 1.3 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร ละลายให้เข้ากัน แล้วนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันไอน้ำ 15 นาที จากนั้นเทลงใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อ

Sweet Potato Peptone Vitamin B_6 $CaCl_2$ Dextrose Broth (SPBD Broth)

Sweet Potato (มันเทศ)	250.0	กรัมต่อลิตร
Peptone	1.0	กรัมต่อลิตร
Vitamin B_6	0.5	กรัมต่อลิตร
$CaCl_2$	1.3	กรัมต่อลิตร
Dextrose	20	กรัมต่อลิตร

ต้ม Sweet Potato (มันเทศ) 250 กรัม ในน้ำกลั่นจนเปื่อย กรองเอาเฉพาะน้ำ เติม Dextrose 20 กรัม Peptone 1 กรัม Vitamin B_6 0.5 กรัม และ$CaCl_2$1.3 กรัม ปรับปริมาตรด้วย

น้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร ละลายให้เข้ากัน จากนั้นบรรจุลงในฟลาส์ก ปริมาณ 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันไอน้ำ 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 50 องศาเซลเซียส

ก.2 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณโพลิแซคคาไรด์ Phenol Sulfuric colorimetric (Dubois *et al*., 1956)

สารเคมี

1. กรด Sulfuric (H_2SO_4) เข้มข้นร้อยละ 95

2. Phenol (ร้อยละ5) เตรียมโดยละลาย Phenol 5 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

3. Glucose เตรียมโดยละลาย Glucose 0.02 กรัมในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ ก.1

ตารางภาคผนวกที่ ก.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Glucose ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	ปริมาตรสารละลาย Glucose เข้มข้น 1มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร(มิลลิลิตร)	ปริมาตรน้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
0	0	5.0
40	0.2	4.8
80	0.4	4.6
120	0.6	4.4
160	0.8	4.2
200	1.0	4.0

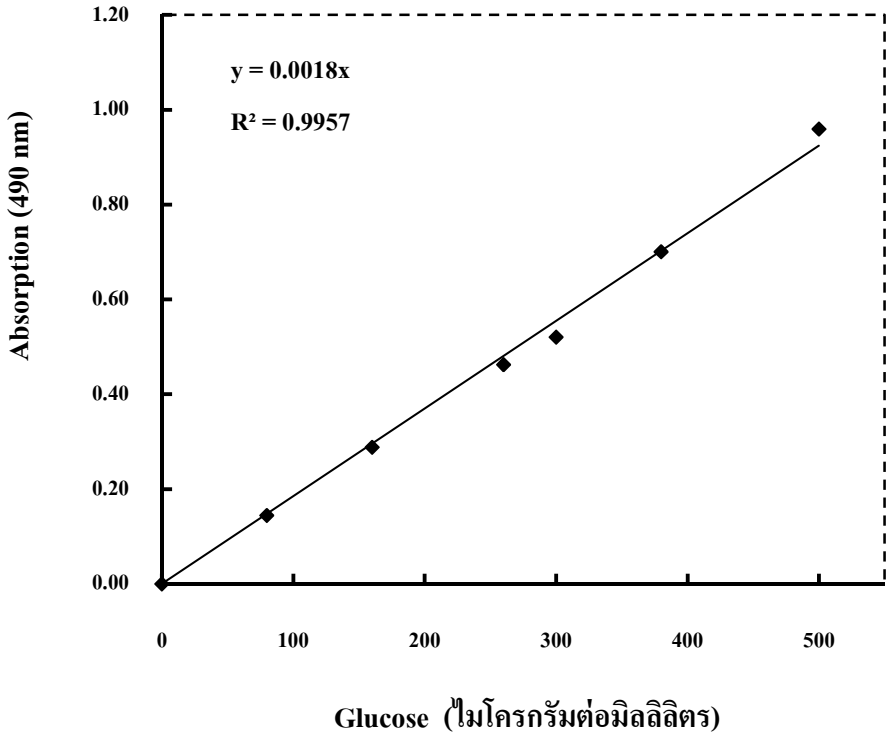
วิธีการ

1. ปิเปตตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน Glucose (ความเข้มข้น 40-260 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) 200 ไมโครลิตร ลงในขวดสีชา (Vial)

2. เติมสารละลาย Phenol (ร้อยละ 5) ลงไป 100 ไมโครลิตร

3. เติมกรด H_2SO_4 เข้มข้นร้อยละ 95 ลงไป 1.0 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที

4. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ A_{490} ด้วยเครื่อง Spectro photometer (Shimazu รุ่น UV 1604)



รูปภาคผนวกที่ ก.1 กราฟมาตรฐาน Glucose วิเคราะห์ด้วยวิธี Phenol Sulfuric colorimetric

ก.3 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ Schizophyllan วิเคราะห์ด้วยวิธี Aniline blue

สารเคมี

1. Total Fluorescence

1.1. Aaniline blue (ร้อยละ 0.1) เตรียมโดยละลาย Aniline blue 1.0 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

1.2. กรด Hydrochlori*c* (HCl) 1 โมลาร์ เตรียมโดยตวง HCl (เข้มข้น 37%) 82.92 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

1.3. NaOH Glycin buffer เตรียมโดยละลาย Glycin 150.14 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 1,000 มิลลิลิตร ปรับพีเอช เท่ากับ 9.5 ด้วย NaOH 2 โมลาร์ จากนั้นผสมสารเคมีที่เตรียมไว้ในอัตราส่วนดังแสดงไว้ในตารางที่ ก.2 และ ก 3

ตารางภาคผนวกที่ ก.2 อัตราส่วนการผสมของสาร Total Fluorescence

Aniline blue (ร้อยละ 0.1)	HCl (1 โมลาร์)	NaOH Glycine buffer (2 โมลาร์)
40 มิลลิลิตร	21 มิลลิลิตร	59 มิลลิลิตร
ปริมาตรทั้งหมด 120 มิลลิลิตร		

2. Auto Fluorescence

ในการเตรียมสาร Auto Fluorescence จะมีขั้นตอนการเตรียมเหมือนกับการเตรียมสาร Total Fluorescence โดยเปลี่ยนจาก Aniline blue (ร้อยละ 0.1) 40 มิลลิลิตร เป็นน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ดังตารางที่ ก.3

ตารางภาคผนวกที่ ก.3 อัตราส่วนการผสมของสาร Auto Fluorescence

น้ำกลั่น	HCl (1 โมลาร์)	NaOH Glycine buffer (2 โมลาร์)
40 มิลลิลิตร	20 มิลลิลิตร	59 มิลลิลิตร
ปริมาตรทั้งหมด 120 มิลลิลิตร		

วิธีการ

1. เตรียม Stock solution ของ β-1,3-D-glucan ยี่ห้อ Fluka โดยละลาย 0.02 กรัม ของ β-1,3-D-glucan ในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เจือจางให้ได้ความเข้มข้นระดับต่างๆ (0-1,000ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ดังตารางที่ ก.4

ตารางภาคผนวกที่ ก.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน β-1,3-D-glucan ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	**ปริมาตร Stock solution เข้มข้น 1มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (มิลลิลิตร)**	**ปริมาตร NaOH (โมลาร์) (มิลลิลิตร)**
0	0	5
100	0.5	4.5
200	1.0	4.0
400	2.0	3.0
800	4.0	1.0

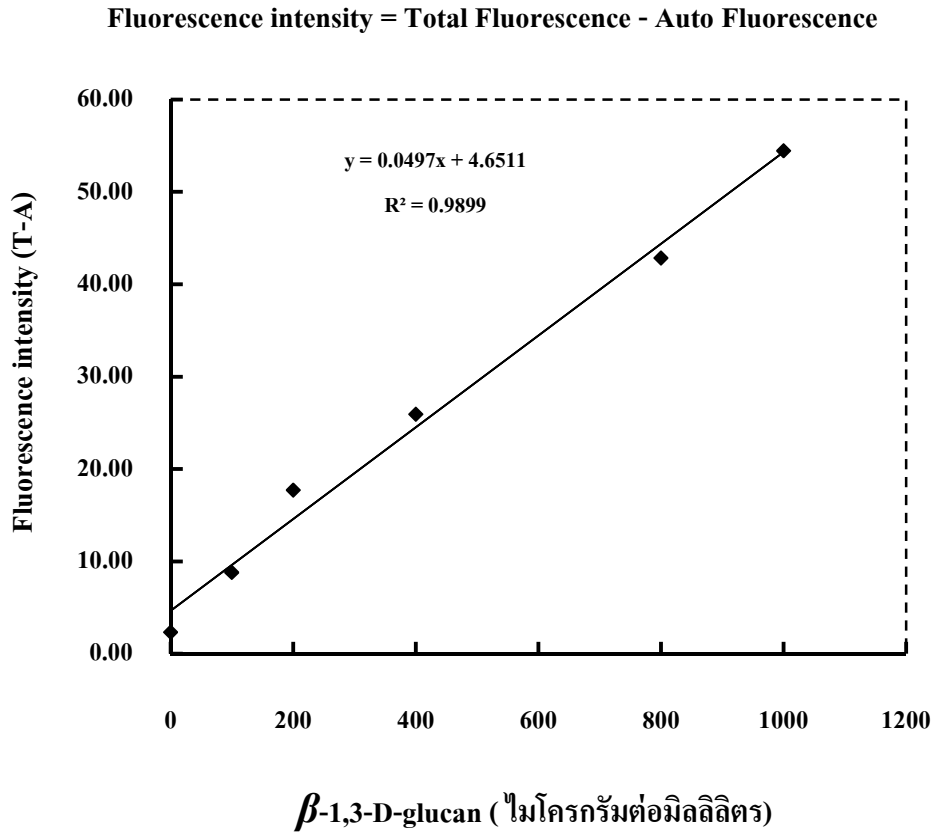
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นจาก Stock solution 400 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองโดยแยกเป็น 2 หลอด คือ Total Fluorescence และ Auto Fluorescence

3. เติม NaOH (1โมลาร์) 800 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองทั้ง 2 หลอด เขย่าให้เข้ากัน

4. เติมสารละลาย Total Fluorescence และ Auto Fluorescence ในหลอดทดลองหลอดละ 4.8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5. นำไปบ่มในอ่างน้ำร้อน (Water bath) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 20 นาที จากนั้นตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

6. นำไปวัดค่า Fluorescence intensity ด้วยเครื่อง Fluorescence spectrophotometer (JASCO รุ่น FP-750) ความยาวคลื่น Excitation 393 นาโนเมตร Emission 479 นาโนเมตร



รูปภาคผนวกที่ ก.2 กราฟมาตรฐาน β-1,3-D-glucan วิเคราะห์ด้วยวิธี Aniline blue

ก.4 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ Schizophyllan วิเคราะห์ด้วยวิธี High-performance liquid chromatography **(HPLC)**

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

เครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบ	: HPLC, 1100, Hewlett Packard, Germany
Column	: Lichrospher 100 RP-18 4.0×250 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร
Flow rate	: 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที
Mobile phase	: น้ำ (ร้อยละ100)
Detector	: Refractive Index Detector (RID)

วิธีการวิเคราะห์

1. ตัวอย่างสารสกัดเห็ดแครง (วิธีการสกัดดังที่กล่าวไว้ในบทที่ 2)

2. เตรียมสารมาตรฐาน β-1,3-D-glucan ความเข้มข้น 0-10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. ฉีดสารมาตรฐาน β-1,3-D-glucan และตัวอย่างสารสกัดเห็ดแครง 20 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง HPLC บันทึกพื้นที่กราฟเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณสาร Schizophyllan

ก.5 วิธีการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน (Total -C) โดยวิธี Walkley-Black (Walkley and Blank, 1934**)**

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 $FeSO_4 7H_2O$ 0.7 กรัม และ 1,10-Phenanthroline 1.48 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 1 (ทางใบปาล์ม และทะลายปาล์ม) 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.6 วิธีการวิเคราะห์ไนโตรเจน (Total -N) โดยวิธี Photometric method (Novozamsky *et al.*, 1974)

การเตรียมตัวอย่างพืช โดยวิธีการย่อยด้วยกรด

นำตัวอย่างพืช (ทางใบปาล์ม และทะลายปาล์ม) 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 % Crude Protein = %N×6.25

ก.7 วิธีการวิเคราะห์ฟอสฟอรัส (ศรีสม, 2553)

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.7 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 ในฟลาส์ก 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
วิธีการคำนวณอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

ข.1 การคำนวณอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเมื่อใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน (Tchobanoglous et al., 1993)

วิธีการคำนวณอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนกรณีที่ทะลายปาล์ม+ทางใบปาล์มน้ำมัน (คาร์บอน) คงที่ 1 กิโลกรัม ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน (สมมุติให้อัตราส่วน C/N เริ่มต้น= 19/1) ถ้าใช้ทะลายปาล์มเปล่า+ทางใบปาล์มน้ำมัน 1 กิโลกรัม จะต้องใช้ยูเรีย X กิโลกรัม โดยมี คาร์บอน และไนโตรเจน ดังที่แสดงในตารางที่ ข.1

ตารางภาคผนวกที่ ข.1 องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ด

วัสดุเพาะเห็ด	คาร์บอน (C)	ไนโตรเจน (N)
ทะลายปาล์ม+ทางใบปาล์มน้ำมัน(70:30)	21.86	0.94
ยูเรีย	12	46.60
แอมโมเนียมคลอไรด์	0	26
รำข้าว	28.92	2.10

$$\text{ดังนั้น} \quad \frac{\text{C รำข้าว+ C ทะลาย+ทางใบ}}{\text{N รำข้าว + N ทะลาย+ทางใบ}} = \frac{19}{1}$$

$$\frac{12(X) + 21.86}{46.6(X) + 0.94} = \frac{19}{1}$$

$$19\,(46.6\,X + 0.94) = 12(X) + 21.86$$

$$885.4X + 17.86 = 12(X) + 21.86$$

$$(885.4X - 12X) + 17.86 = 21.86$$

$$873.4\,X + (17.86 - 21.86) = 0$$

$$873.4\,X + (-4) = 0$$

$$873.4\,X = 0 + 4$$

$$X = 4/873.4$$

$$X = 0.0046$$

ดังนั้นเมื่อต้องการอัตราส่วน C/N เริ่มต้นเท่ากับ 19/1 จะต้องใช้ทะลายปาล์มเปล่า 1 กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ผสมกับยูเรีย 0.0046 กิโลกรัม ดังตารางที่ ข.1.2

ตารางภาคผนวกที่ ข.2 องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณยูเรียที่ใช้ในการปรับ C/N ระดับต่างๆ

C:N ratio	**ยูเรีย (Kg)**
Control (23.26)	-
17	0.0075
19	0.0046
21	0.0020
23	0.0002

ตารางภาคผนวกที่ ข.3 องค์ประกอบทางเคมี และปริมาณ NH_4 Cl ที่ใช้ในการปรับอัตราส่วน C/N ระดับต่างๆ

C:N ratio	**NH_4 Cl (Kg)**
Control (23.26)	-
17	0.1330
19	0.0081
21	0.0039
23	0.0004

ตารางภาคผนวกที่ ข.4 องค์ประกอบทางเคมี และรำข้าวที่ใช้ในการปรับ C/N ระดับต่างๆ

C:N ratio	**รำข้าว (Kg)**
Control (23.26)	-
17	0.867
19	0.364
21	0.140
23	0.012

ภาคผนวก ค

การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ และ เอสพีบีดี

ตารางภาคผนวกที่ ค.1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเห็ดแครง ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ สภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาเพาะเลี้ยง 20วัน

วันที่	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)								
	P1	**P2**	**P3**	**S1**	**S2**	**S3**	**Y1**	**Y2**	**Y3**
0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0
2	1.5+0.1	1.5+0.2	1.6+0.1	1.4+0.1	1.7+0.1	1.2+0.1	1.1+0.0	1.3+0.2	1.7+0.1
4	3.3+0.3	3.7+0.1	3.6+0.1	3.2+0.1	3.2+0.1	2.5+0.0	2.8+0.1	3.0+0.1	3.4+0.2
6	4.2 +0.3	4.7+0.3	4.2+0.3	4.7+0.1	5.3+0.1	4.0+0.0	3.8+0.1	4.4+0.1	5.0+0.2
8	5.7 +0.3	6.2+0.4	6.2+0.0	6.4+0.4	6.7+0.1	6.3+0.3	5.9+0.1	6.3+0.3	6.3+0.3
10	7.3 +0.3	7.0+0.0	7.3+0.1	7.6+0.2	7.8+0.2	6.7+0.4	7.6+0.2	7.7+0.2	7.1+0.4
12	7.7 +0.3	7.0+0.0	7.3+0.1	8.0+0.0	8.3+0.3	7.9+0.2	7.7+0.3	8.0+0.2	7.8+0.2
14	7.9 +0.2	7.0+0.0	7.3+0.1	8.4+0.1	8.5+0.2	7.9+0.2	7.7+0.3	8.0+0.2	7.8+0.2
16	7.9 +0.2	7.0+0.0	7.3+0.1	8.4+0.1	8.5+0.2	7.9+0.2	7.7+0.3	8.0+0.2	7.8+0.2
18	7.9 +0.2	7.0+0.0	7.3+0.1	8.4+0.1	8.5+0.2	7.9+0.2	7.7+0.3	8.0+0.2	7.8+0.2
20	7.9 +0.2	7.0+0.0	7.3+0.1	8.4+0.1	8.5+0.2	7.9+0.2	7.7+0.3	8.0+0.2	7.8+0.2

ตารางภาคผนวกที่ ค.2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเอสพีบีดี สภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาเพาะเลี้ยง12 วัน

วันที่	เส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)								
	P1	**P2**	**P3**	**S1**	**S2**	**S3**	**Y1**	**Y2**	**Y3**
0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0	0.4+0.0
2	3.2+0.1	3.8+0.2	3.6+0.2	3.8+0.1	4.1+0.1	3.6+0.1	3.4+0.5	3.2+0.1	3.5+0.2
4	6.2+0.2	6.6+0.5	6.5+0.2	6.7+0.2	7.3+0.2	6.1+0.4	5.5+0.2	5.4+0.2	6.0+0.1
6	7.5+0.1	7.8+0.3	7.9+0.4	8.8+0.3	8.8+0.1	8.6+0.5	7.4+0.3	8.4+0.1	8.5+0.1
8	8.5+0.2	8.5+0.3	8.5+0.2	9.0+0.0	9.0+0.0	8.9+0.2	8.5+0.3	9.0+0.0	9.0+0.0
10	8.6+0.1	8.7+0.2	8.7+0.2	9.0+0.0	9.0+0.0	8.9+0.2	8.8+0.2	9.0+0.0	9.0+0.0
12	8.6+0.1	8.7+0.2	8.7+0.2	9.0+0.0	9.0+0.0	8.9+0.2	8.8+0.2	9.0+0.0	9.0+0.0

ภาคผนวก ง

การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน

ผลของอัตราส่วนวัสดุลิกโนเซลลูโลส (ทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน)

ตารางภาคผนวกที่ ง.1. การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแครง S1 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)				
	100:0	**90:10**	**80:20**	**70:30**	**60:40**
0	0.062±0.05	0.062±0.05	0.062±0.05	0.062±0.05	0.062±0.05
3	0.206±0.11	0.212±0.09	0.238±0.15	0.304±0.17	0.234±0.07
6	0.326±0.06	0.388±0.07	0.440±0.10	0.632±0.05	0.460±0.16
9	0.526±0.09	0.562±0.13	0.618±0.21	0.850±0.04	0.600±0.08
12	0.654±0.07	0.662±0.17	0.748±0.10	0.996±0.11	0.714±0.14
15	0.756±0.12	0.762±0.10	0.844±0.09	1.118±0.07	0.886±0.08
18	0.790±0.12	0.792±0.06	0.918±0.05	1.216±0.06	0.988±0.08
21	0.800±0.09	0.800±0.10	0.942±0.08	1.280±0.08	1.062±0.13
24	0.814±0.07	0.818±0.07	0.980±0.08	1.312±0.10	1.096±0.05
27	0.824±0.14	0.840±0.07	1.000±0.08	1.340±0.05	1.126±0.11

ตารางภาคผนวกที่ ง.2 น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)				
	100:0	**90:10**	**80:20**	**70:30**	**60:40**
0	0.084±0.08	0.084±0.08	0.084±0.08	0.084±0.08	0.084±0.08
3	0.306±0.14	0.226±0.13	0.278±0.05	0.352±0.05	0.242±0.20
6	0.372±0.07	0.416±0.19	0.520±0.11	0.678±0.13	0.486±0.05
9	0.526±0.10	0.674±0.07	0.656±0.09	0.894±0.04	0.638±0.11
12	0.690±0.10	0.758±0.07	0.770±0.13	1.012±0.06	0.780±0.23
15	0.764±0.15	0.852±0.16	0.882±0.18	1.158±0.07	0.926±0.09
18	0.800±0.07	0.898±0.07	0.916±0.04	1.274±0.08	1.032±0.09
21	0.828±0.08	0.912±0.12	0.966±0.10	1.362±0.07	1.112±0.07
24	0.858±0.05	0.926±0.15	1.006±0.15	1.432±0.10	1.122±0.13
27	0.870±0.05	0.980±0.04	1.014±0.09	1.440±0.09	1.130±0.04

ตารางภาคผนวกที่ ง.3 น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง Y3 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันที่อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)				
	100:0	**90:10**	**80:20**	**70:30**	**60:40**
0	0.052±0.11	0.052±0.11	0.052±0.11	0.052±0.11	0.052±0.11
3	0.226±0.16	0.158±0.16	0.214±0.16	0.276±0.15	0.240±0.11
6	0.330±0.06	0.368±0.16	0.428 ±0.06	0.564±0.05	0.468±0.26
9	0.444±0.15	0.514±0.12	0.594±0.14	0.702±0.06	0.578±0.10
12	0.528±0.09	0.642±0.21	0.684±0.11	0.810±0.14	0.680±0.07
15	0.628±0.12	0.712±0.05	0.766±0.05	0.916±0.06	0.790±0.07
18	0.680±0.05	0.752±0.06	0.814±0.09	1.034±0.09	0.888±0.17
21	0.732±0.04	0.796±0.10	0.838±0.14	1.116±0.06	0.954±0.10
24	0.768±0.04	0.830±0.04	0.876±0.15	1.176±0.07	0.998±0.05
27	0.820±0.02	0.854±0.04	0.914±0.09	1.194±0.05	1.018±0.04

ตารางภาคผนวกที่ ง.4 ความยาวของเส้นใยเห็ด S1 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในหลอดทดลอง

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)				
	100:0	**90:10**	**80:20**	**70:30**	**60:40**
2	0.9±0.06	0.8±0.05	1.1±0.20	1.3±0.09	1.2±0.10
4	1.7±0.12	1.9±0.16	2.1±0.10	2.3±0.17	2.1±0.15
6	3.3±0.30	3.8±0.30	3.9±0.16	4.0±0.30	3.9±0.10
8	5.3±0.20	5.5±0.17	5.8±0.15	6.2±0.30	6.0±0.15
10	6.7±0.10	7.0±0.00	7.1±0.10	7.4±0.20	7.3±0.10
12	6.7±0.10	7.0±0.00	7.1±0.10	7.4±0.20	7.3±0.10
14	6.7±0.10	7.0±0.00	7.1±0.10	7.4±0.20	7.3±0.10

ตารางภาคผนวกที่ ง.5 ความยาวของเส้นใยเห็ด S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในหลอดทดลอง

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)				
	100:0	**90:10**	**80:20**	**70:30**	**60:40**
2	1.0±0.06	1.0±0.09	1.3±0.12	1.5±0.15	1.5±0.09
4	1.8±0.10	2.0±0.10	2.1±0.20	2.5±0.10	2.3±0.10
6	3.6±0.21	4.1±0.12	4.1±0.06	4.3±0.10	4.2±0.12
8	5.3±0.35	5.9±0.17	6.4±0.15	7.0±0.15	6.6±0.10
10	6.9±0.05	7.1±0.08	7.2±0.08	7.5±0.06	7.3±0.00
12	6.9±0.05	7.1±0.08	7.3±0.06	7.5±0.06	7.3±0.00
14	6.9±0.05	7.1±0.08	7.3±0.06	7.5±0.06	7.3±0.00

ตารางภาคผนวกที่ ง.6 ความยาวของเส้นใยเห็ด Y3 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในหลอดทดลอง

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)				
	100:0	**90:10**	**80:20**	**70:30**	**60:40**
2	0.7±0.05	0.8±0.10	0.9±0.20	1.1 ±0.16	1.2±0.10
4	1.7±0.20	1.9±0.16	1.9±0.20	2.3±0.07	2.1±0.15
6	3.0±0.25	3.5±0.10	3.7±0.30	4.2±0.06	3.9±0.10
8	4.9±0.20	5.3±0.30	5.7±0.15	6.2±0.10	6.0±0.15
10	6.5±0.10	6.9±0.10	7.1±0.20	7.4±0.20	7.3±0.10
12	6.5±0.10	6.9±0.10	7.1±0.20	7.4±0.20	7.3±0.10
14	6.5±0.10	6.9±0.10	7.1±0.20	7.4±0.20	7.3±0.10

ผลของความชื้นในวัตถุดิบเริ่มต้นต่อการผลิตชีวมวลเห็ดแครง

ตารางภาคผนวกที่ ง.7 น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ที่ระดับความชื้นต่างๆ

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)			
	Control (80)	**70**	**60**	**50**
0	0.084±0.08	0.084±0.08	0.084±0.08	0.084±0.08
3	0.320±0.09	0.762±0.12	0.978±0.26	0.406±0.21
6	0.668±0.13	1.376±0.12	1.782±0.10	0.682±0.09
9	0.848±0.06	1.966±0.13	2.404±0.11	0.906±0.16
12	0.994±0.10	2.514±0.22	2.902±0.18	0.978±0.25
15	1.146±0.23	2.962±0.15	3.390±0.25	1.028±0.07
18	1.244±0.19	3.290±0.19	3.932±0.11	1.172±0.08
21	1.354±0.04	3.582±0.25	4.290±0.11	1.216±0.13
24	1.424±0.13	3.622±0.18	4.438±0.12	1.244±0.19
27	1.432±0.08	3.644±0.09	4.450±0.12	1.278±0.19

ผลของอัตราส่วนคาร์บอนไนโตรเจนต่อการผลิตชีวมวลเห็ดแครง

ตารางภาคผนวกที่ ง.8 น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)				
	Control (23.26)	**17**	**19**	**21**	**23**
0	0.084±0.13	0.084±0.08	0.084±0.13	0.084±0.13	0.084±0.13
3	0.964±0.15	0.986±0.08	1.130±0.09	1.008±0.35	0.980±0.21
6	1.782±0.10	1.798±0.07	1.946±0.07	1.874±0.28	1.784±0.41
9	2.226±0.30	2.446±0. 12	2.758±0.22	2.562±0.24	2.442±0.24
12	2.768±0.30	2.780±0.17	3.318±0.34	3.150±0.07	2.786±0.21
15	3.122±0.16	3.460±0.23	3.828±0.26	3.734±0.32	3.446±0.19
18	3.752±0.11	4.174±0.12	4.566±0.40	4.194±0.16	4.172±0.43
21	4.030±0.17	4.402±0.16	4.902±0.34	4.632±0.27	4.396±0.37
24	4.064±0.15	4.488±0.19	5.086±0.23	4.764±0.11	4.484±0.07

ตารางภาคผนวกที่ ง.9 น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วย NH_4Cl

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)				
	Control (23.26)	**17**	**19**	**21**	**23**
0	0.084±0.08	0.084±0.08	0.08±0.08	0.084±0.08	0.084±0.08
3	0.964±0.15	1.044±0.13	1.074±0.17	1.148±0.35	1.040±0.54
6	1.782±0.10	1.808±0.12	1.988±0.16	2.012±0.28	1.970±0.22
9	2.226±0.30	2.446±0.23	2.666±0.33	2.778±0.24	2.582±0.47
12	2.768±0.30	3.022±0.35	3.194±0.50	3.372±0.07	3.034±0.18
15	3.122±0.16	3.618±0.21	3.816±0.09	3.996±0.32	3.782±0.46
18	3.752±0.11	4.124±0.15	4.420±0.35	4.730±0.16	4.306±0.19
21	4.030±0.17	4.400±0.33	4.712±0.33	5.236±0.27	4.442±0.33
24	4.064±0.15	4.574±0.25	4.864±0.15	5.312±0.11	4.780±0.56

ตารางภาคผนวกที่ ง.10 น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยรำข้าว

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)				
	Control (23.26)	**17**	**19**	**21**	**23**
0	0.084±0.08	0.084±0.08	0.084±0.08	0.084±0.08	0.084±0.08
3	0.962±0.24	0.972±0.21	1.214±0.05	1.030±0.11	0.984±0.16
6	1.742±0.11	1.856±0.17	2.064±0.38	1.922±0.14	1.864±0.08
9	2.408±0. 12	2.440±0.14	2.822±0.18	2.742±0.24	2.442±0.08
12	2.786±0.17	2.908±0.04	3.936±0.11	3.378±0.24	3.108±0.08
15	3.384±0.23	3.522±0.10	4.454±0.19	4.088±0.10	3.418±0.08
18	3.920±0.12	3.944±0.15	4.932±0.19	4.374±0.17	3.832±0.08
21	4.082±0.16	4.422±0.13	6.028±0.20	5.144±0.17	4.442±0.08
24	4.424±0.19	5.098±0.19	6.468±0.03	6.142±0.06	5.180±0.08

ผลของปริมาณเชื้อเริ่มต้นต่อการผลิตชีวมวลเห็ดแครง

ตารางภาคผนวกที่ ง.11 น้ำหนักแห้งที่หายไปของเส้นใยเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเริ่มต้นระดับต่างๆ

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

ผลของภาชนะบรรจุต่อการผลิตชีวมวลเห็ดแครง

ตารางภาคผนวกที่ ง.12 น้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อ เริ่มต้นร้อยละ 10 ในกล่อง (PVC) และถุงพลาสติก (PVC)

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้งที่หายไป (กรัมต่อ100 กรัมวัสดุเพาะ)	
	ถุงพลาสติก (PP)	กล่อง (PVC)
0	0.089±0.08	0.089±0.08
3	1.842±0.15	2.425±0.19
6	2.895±0.30	3.625±0.25
9	3.979±0.35	4.534±0.16
12	5.042±0.39	5.369±0.31
15	5.500±0.57	5.830±0.23

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์

ตารางภาคผนวกที่ ง.13 ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลา 12 วัน ด้วยวิธี Phenol sulfuric colorimetric

เชื้อเห็ดแครง	โพลิแซคคาไรด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
P1	4.78±0.30
P2	3.34±0.21
P3	5.24±0.51
S1	5.87±0.23
S2	6.04±0.36
S3	3.60±0.31
Y1	3.30±0.23
Y2	4.73±0.76
Y3	5.22 ±0.47

ตารางภาคผนวกที่ ง.14 ปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆกัน วิเคราะห์ด้วยวิธี Phenol sulfuric colorimetric

อุณหภูมิ/เวลา องศาเซลเซียส/นาที	**โพลิแซคคาไรด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)**
70/60	10.42±0.2
70/90	10.72±0.5
70/120	11.08±0.4
90/60	11.32±0.5
90/90	11.73±0.4
90/120	11.79±0.7
110/60	12.73±0.2
110/90	12.81±0.5
110/120	12.93±0.3
120/120 (control)	11.83±0.4

ตารางภาคผนวกที่ ง.15 ปริมาณสาร Schizophyllan ของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน ด้วยวิธี Aniline blue

เชื้อเห็ดแครง	**Schizophyllan (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)**
P1	1.45 ± 0.20
P2	1.38 ± 0.06
P3	1.32 ± 0.10
S1	1.92 ± 0.05
S2	1.98 ± 0.06
S3	1.02 ± 0.03
Y1	1.34 ± 0.05
Y2	1.04 ± 0.08
Y3	1.83 ± 0.17

ตารางภาคผนวกที่ ง.16 ปริมาณสาร Schizophyllan ของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน ด้วยวิธี HPLC

เชื้อเห็ดแครง	**Schizophyllan (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)**
P1	3.13 ± 0.18
P2	2.99 ± 0.03
P3	2.39 ± 0.05
S1	3.92 ± 0.03
S2	4.20 ± 0.07
S3	2.44 ± 0.03
Y1	2.63 ± 0.01
Y2	2.45 ± 0.10
Y3	3.36 ± 0.14

ตารางภาคผนวกที่ ง.17 ปริมาณสาร Schizophyllan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆกัน วิเคราะห์ด้วยวิธี Aniline blue

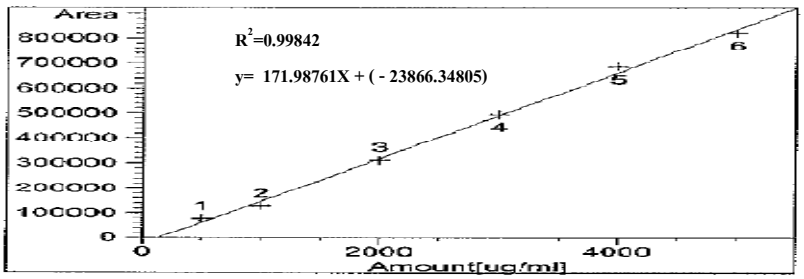
อุณหภูมิ/เวลา องศาเซลเซียส/นาที	**Schizophyllan (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)**
70/60	2.42 ± 0.21
70/90	2.74 ± 0.13
70/120	2.86 ± 0.15
90/60	3.13 ± 0.18
90/90	3.36 ± 0.08
90/120	3.39 ± 0.15
110/60	3.87 ± 0.07
110/90	4.09 ± 0.20
110/120	4.38 ± 0.08
120/120 (control)	3.88 ± 0.11

ตารางภาคผนวกที่ ง.18 ปริมาณสาร Schizophyllan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆกัน วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

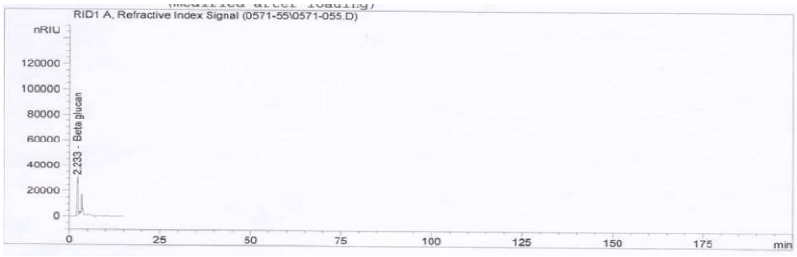
อุณหภูมิ/เวลา องศาเซลเซียส/นาที	**โพลิแซคคาไรด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)**
70/60	5.12 ± 0.18
70/90	5.35 ± 0.04
70/110	5.54 ± 0.01
90/60	6.30 ± 0.03
90/90	6.46 ± 0.04
90/110	6.78 ± 0.15
110/60	7.19 ± 0.07
110/90	8.71 ± 0.20
110/110	9.31 ± 0.08
120/120 (control)	8.90 ± 0.11

ภาคผนวก จ

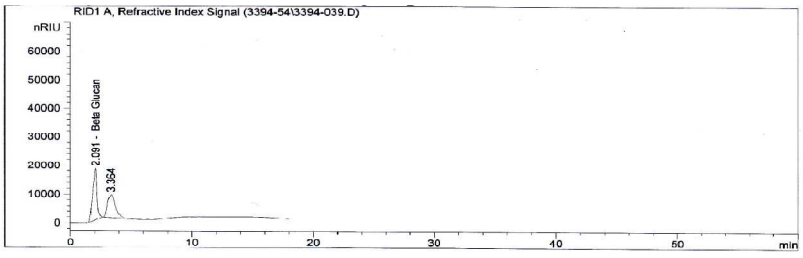
ลักษณะกราฟมาตรฐาน และโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง High-performance liquid chromatography **(HPLC)**



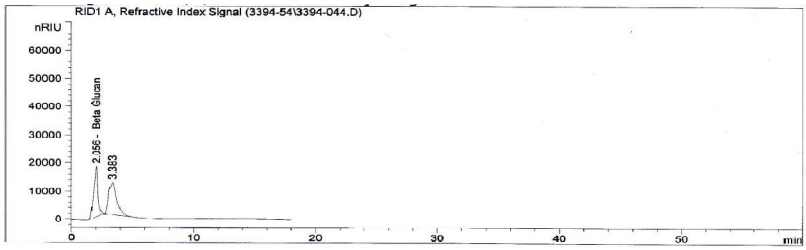
รูปภาคผนวกที่ จ.1 ลักษณะกราฟมาตรฐานของสาร β-glucan



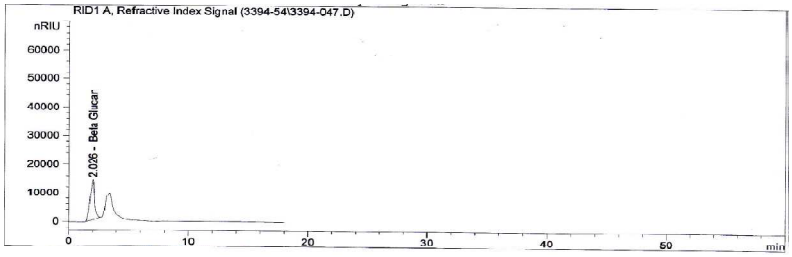
รูปภาคผนวกที่ จ.2 ลักษณะโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน β-glucan



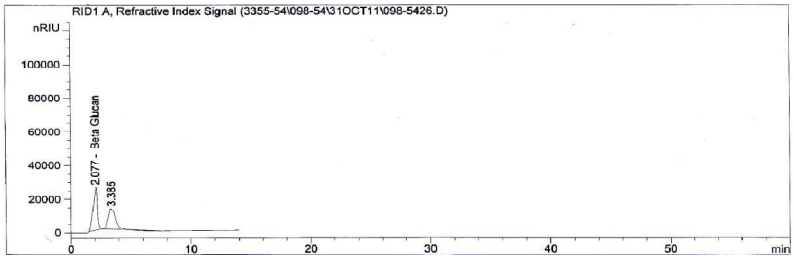
รูปภาคผนวกที่ จ.3 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเส้นใยเห็ดแครง P1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี สภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาเพาะเลี้ยง 12 วัน



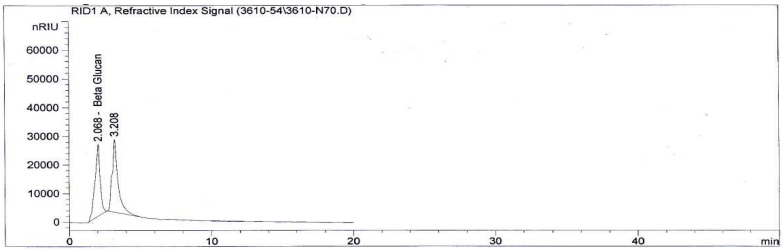
รูปภาคผนวกที่ จ.4 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเส้นใยเห็ดแครง P2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี สภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาเพาะเลี้ยง 12 วัน



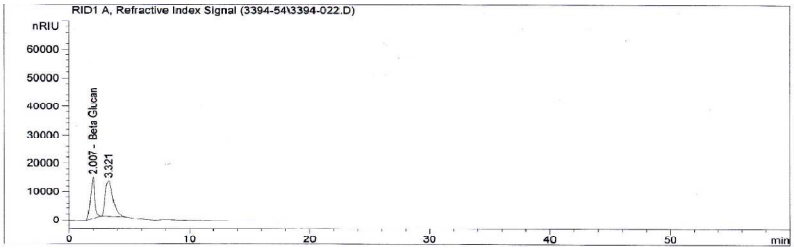
รูปภาคผนวกที่ จ.5 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเส้นใยเห็ดแครง P3 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี สภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาเพาะเลี้ยง 12 วัน



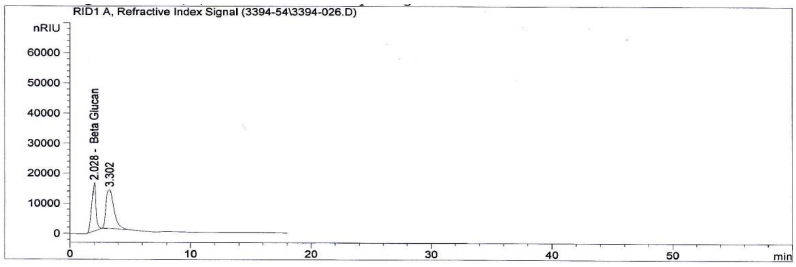
รูปภาคผนวกที่ จ.6 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเส้นใยเห็ดแครง S1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี สภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาเพาะเลี้ยง 12 วัน



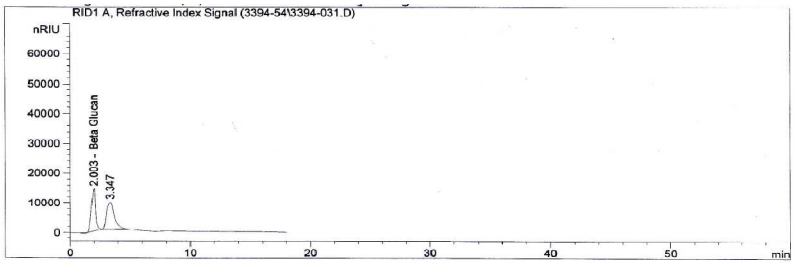
รูปภาคผนวกที่ จ.7 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเส้นใยเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี สภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาเพาะเลี้ยง 12 วัน



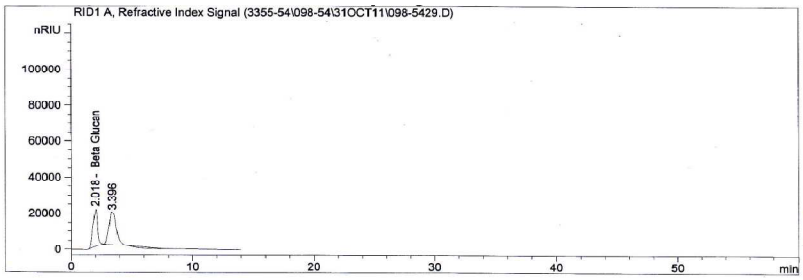
รูปภาคผนวกที่ จ.8 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเส้นใยเห็ดแครง S3 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี สภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาเพาะเลี้ยง 12 วัน



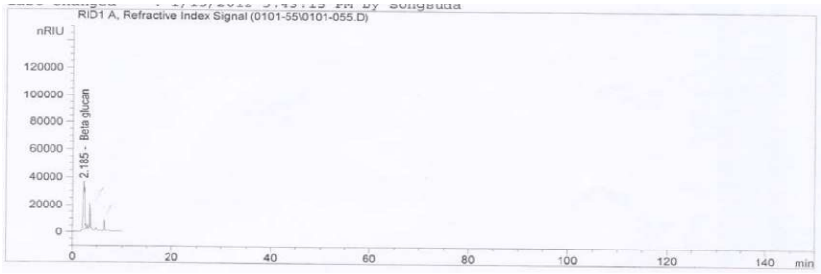
รูปภาคผนวกที่ จ.9 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเส้นใยเห็ดแครง Y1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี สภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาเพาะเลี้ยง 12 วัน



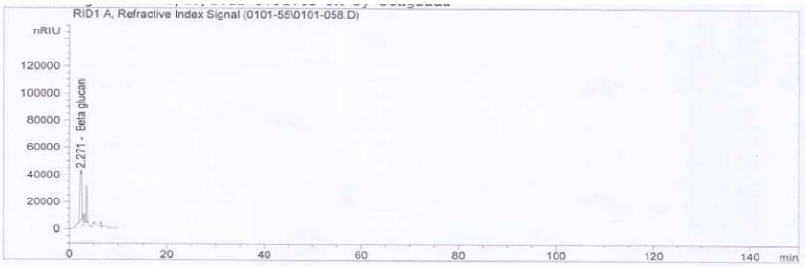
รูปภาคผนวกที่ จ.10 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเส้นใยเห็ดแครง Y2 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี สภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาเพาะเลี้ยง 12 วัน



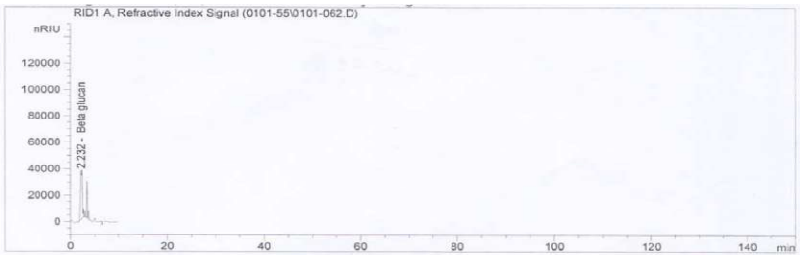
รูปภาคผนวกที่ จ.11 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเส้นใยเห็ดแครง Y3 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาเพาะเลี้ยง 12 วัน



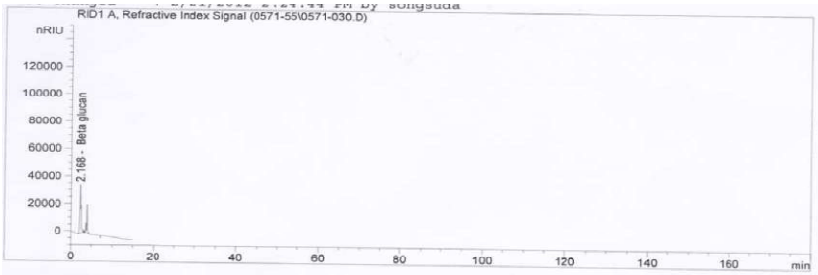
รูปภาคผนวกที่ จ.12 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 60 นาที



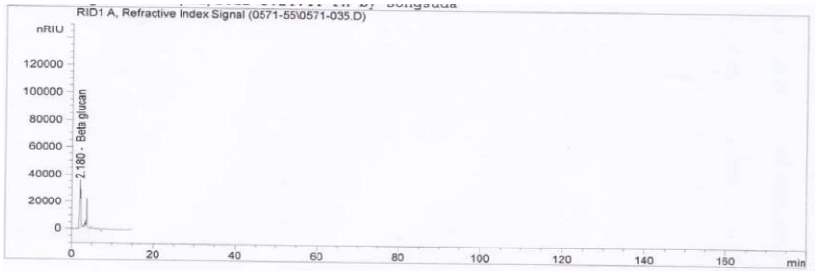
รูปภาคผนวกที่ จ.13 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 90 นาที



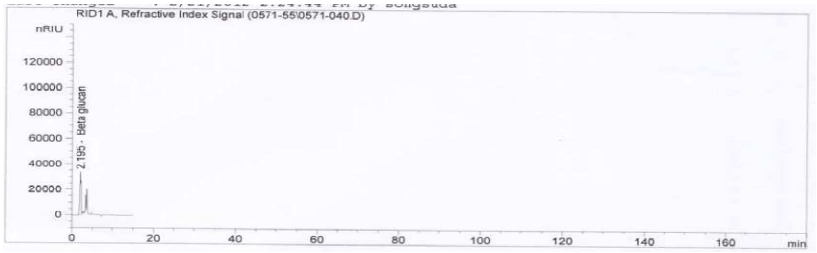
รูปภาคผนวกที่ จ.14 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 110 องศา เซลเซียส120 นาที



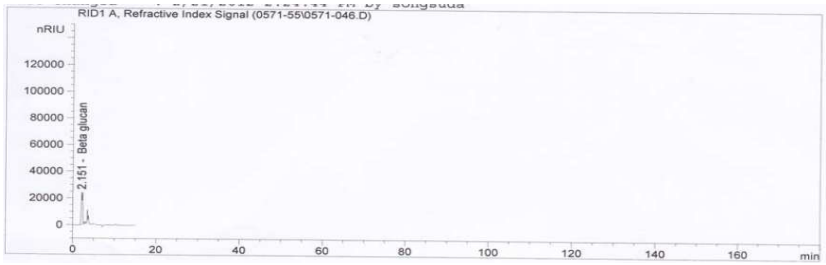
รูปภาคผนวกที่ จ.15 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 60 นาที



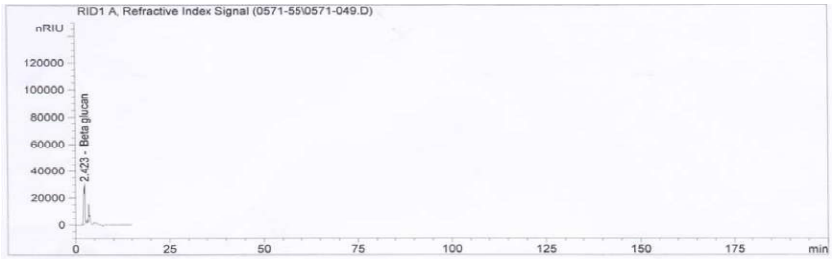
รูปภาคผนวกที่ จ.16 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 90 นาที



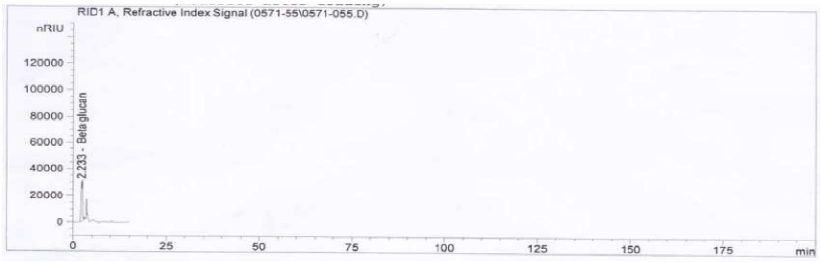
รูปภาคผนวกที่ จ.17 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 120 นาที



รูปภาคผนวกที่ จ.18 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 60 นาที



รูปภาคผนวกที่ จ.19 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 90 นาที



รูปภาคผนวกที่ จ.20 ลักษณะโครมาโทแกรมของสาร β-glucan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม สกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 120 นาที

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA)ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ เส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	5.533	8	.692	35.236	.000
Within Groups	.353	18	.020		
Total	5.887	26			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเอสพีบีดี ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	22.553	8	2.819	75.364	.000
Within Groups	.673	18	.037		
Total	23.227	26			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S1 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน อัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.138	4	.035	6.294	.008
Within Groups	.055	10	.005		
Total	.193	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนต่างๆ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.143	4	.036	7.650	.004
Within Groups	.047	10	.005		
Total	.190	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง Y3 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน อัตราส่วนต่างๆความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในถุงพลาสติก

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.068	4	.017	6.527	.008
Within Groups	.026	10	.003		
Total	.095	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S1 บนทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนต่างๆความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 80 ในหลอดทดลอง

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.748	4	.196	49.00	.000
Within Groups	.040	10	.004		
Total	.824	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนต่างๆ ความชื้นร้อยละ 80 ในหลอดทดลอง

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.497	4	.124	31.083	.000
Within Groups	.040	10	.004		
Total	.537	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง Y3 บนทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันอัตราส่วนต่างๆ ความชื้นร้อยละ 80 ในหลอดทดลอง

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.784	4	.196	49.000	.000
Within Groups	.040	10	.004		
Total	.537	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 ทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ที่ระดับความชื้นต่างๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	5.688	3	1.896	142.144	.000
Within Groups	.107	8	.013		
Total	5.795	11			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.562	4	.141	3.384	.054
Within Groups	.416	10	.042		
Total	.978	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	22.803	4	5.701	338.122	.000
Within Groups	.169	10	.017		
Total	22.972	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.851	4	.213	2.125	.152
Within Groups	1.001	10	.100		
Total	1.852	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วย NH_4Cl

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.620	4	.155	1.455	.286
Within Groups	1.065	10	.107		
Total	1.686	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วย NH_4Cl

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	2.065	4	.516	27.072	.000
Within Groups	1.91	10	.019		
Total	2.256	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วย NH_4Cl

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	120.381	4	30.095	72.506	.000
Within Groups	4.151	10	.415		
Total	124.532	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยรำข้าว

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	1.965	4	.491	40.420	.000
Within Groups	.122	10	.012		
Total	2.087	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยรำข้าว

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	6.230	4	1.558	22.155	.000
Within Groups	.703	10	.070		
Total	6.934	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยรำข้าว

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	289.225	4	73.306	22.180	.000
Within Groups	35.599	10	3.260		
Total	321.824	14			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนดอกเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย รำข้าว และNH_4Cl

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	4.898	3	1.633	43.218	.000
Within Groups	.302	8	.038		
Total	5.200	11			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ. 20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยง บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ที่ระดับต่างๆ ด้วยยูเรีย รำข้าวและNH_4Cl

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	264.603	3	88.201	51.271	.000
Within Groups	13.762	8	1.720		
Total	278.365	11			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ. 21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วนด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่างๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	.673	2	.336	3.193	.114
Within Groups	.632	6	.105		
Total	1.304	8			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ. 22 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักน้ำหนักของดอกเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่างๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	2.105	2	1.052	7.342	.024
Within Groups	.860	6	.143		
Total	2.965	8			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ. 23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า BE ของเห็ดแครง S2 เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ระดับต่างๆ

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	94.970	2	47.485	8.964	.016
Within Groups	31.784	6	5.297		
Total	126.754	8			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.24 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักแห้งที่หายไปของวัสดุเพาะเมื่อเพาะเลี้ยงเห็ดแครง S2 บนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุงพลาสติก (PP) และกล่อง (PVC) โดยวิธี Paired T-test

	Mean	Std. Deviation	t	df	Sig (2-tailed)
Pair กล่อง -ถุง	.3283	.6119	.929	2	.451

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.25 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักดอกเห็ดแครง S2 เพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุง (PP) และกล่อง (PVC) โดยวิธี Paired T-test

	Mean	Std. Deviation	t	df	Sig (2-tailed)
Pair กล่อง -ถุง	6.6200	.2095	54.725	2	.000

ตารางภาคผนวกที่ ฉ. 26 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า BE ของเห็ดแครง S2 เพาะ เมื่อเพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะทะลายปาล์มเปล่า และทางใบปาล์มน้ำมัน (70:30) ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 ปรับอัตราส่วน C/N ด้วยรำข้าว (C/N=19) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในถุง (PP) และกล่อง (PVC) โดยวิธี Paired T-test

	Mean	Std. Deviation	t	df	Sig (2-tailed)
Pair กล่อง -ถุง	3.6300	1.2347	5.092	2	.036

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	26.271	8	3.284	7846.429	.000
Within Groups	.008	18	.000		
Total	26.279	26			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.28 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร Schizophyllan ของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วันด้วยวิธีAniline blue

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	3.007	8	.036	10.106	.000
Within Groups	.670	18	.037		
Total	.677	26			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.29 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณสาร Schizophyllanของเส้นใยเห็ดแครง 9 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเอสพีบีดี ในสภาวะมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาการเพาะเลี้ยง 12 วันด้วยวิธี HPLC

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	4141.968	8	517.746	256.423	.000
Within Groups	36.344	18	2.019		
Total	4178.311	26			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.30 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างกัน ด้วยวิธี Phenol sulfuric colorimetric

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	8.708	9	2.079	.932	.000
Within Groups	.186	20	.209		
Total	2.893	29			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.31 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสาร Schizophyllan ของเห็ดแครง S2 ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างกัน ด้วยวิธี Aniline blue

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	0.935	9	1.215	53.748	000
Within Groups	452	20	.023		
Total	1.388	29			

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.32 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสาร Schizophyllan ของเห็ดแครง S2ที่เพาะเลี้ยงบนวัสดุเพาะในสภาวะที่เหมาะสม เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆกัน ด้วยวิธี HPLC

	Sum of Squares	**df**	**Mean Square**	**F**	**sig**
Between Groups	23620.321	9	2624.478	540.234	.000
Within Groups	97.161	20	4.858		
Total	23717.362	29			

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล ไซนะ มูเล็ง

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5210920007

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (สิ่งแวดล้อม)	มหาวิทยาลัยทักษิณ	2552

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ไซนะ มูเล็ง และสุวิทย์ สุวรรณโณ. 2555 การเจริญเติบโต และปริมาณสารโพลิแซคคาไรด์ของเชื้อเห็ดแครงจากแหล่งธรรมชาติใน3 จังหวัดภาคใต้ของประเทศไทย ในการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 8 วันที่ 31 มีนาคม 2555. มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร กรุงเทพมหานคร.

สุวิทย์ สุวรรณโณ และไซนะ มูเล็ง. 2555. การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเส้นใย และสารโพลิแซค-คาไรด์ที่ผลิตภายในเซลล์จากเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*). วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ปีที่ 31ฉบับที่ 4 (กรกฎาคม- สิงหาคม)

ไซนะ มูเล็ง และ สุวิทย์ สุวรรณโณ. 2555. การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทะลายปาล์มเปล่าและทางใบปาล์มน้ำมันเพื่อผลิตชีวมวลเห็ดแครง. วารสารวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ปีที่ 14 ฉบับที่ 4 (ตุลาคม- ธันวาคม)