

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการย่อยที่ 1

การการศึกษากระบวนการผลิตเห็ดสมุนไพรในเชิงพาณิชย์
Study on the Commercial production process of the medicinal Mushrooms

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. นางสาวสาโรจน์ ประเสริฐศิริวัฒน์	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี
2. นางสาววรรณ อาจนรงค์	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี
3. นางสาวปฐมภรณ์ ทิลารักษ์	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี
4. นางสาวพิริยาภรณ์ อันอัทมงาม	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี

ชุดโครงการ การพัฒนาการผลิตและระบบการจัดการฟาร์มเห็ดสมุนไพร
เพื่อนำมาสร้างนวัตกรรมผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพในเชิงบูรณาการร่วมกับเห็ดเศรษฐกิจ

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย วช.-สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันมีเห็ดหลายชนิดที่มีฤทธิ์ทางสมุนไพรและถูกนำมาใช้ทำเป็นอาหารเสริมในเชิงพาณิชย์ เช่น เห็ดหลินจือ เห็ดถั่งเช่า เห็ดการบูร เห็ดหัวลิง เห็ดหอม เห็ดแครง เป็นต้น อย่างไรก็ตามเห็ดเหล่านี้มีผู้นำมาเพาะเลี้ยงในประเทศไทยหลายปีแล้ว และมีการประชาสัมพันธ์สรรพคุณมากมาย ตัวอย่าง เห็ดสกุล *Cordyceps* เช่น ถั่งเช่าทิเบต (*Cordyceps sinensis*) ถั่งเช่าสีทอง *Cordyceps militaris* มีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ cordycepin, cordycepic acid, adenosine มีสรรพคุณในการรักษาโรคมะเร็ง โรคไต ช่วยระบบไหลเวียนของร่างกาย เป็นต้น เห็ดถั่งเช่าหิมะ (*Isaria japonica*) มีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ isariotins, tenuipesine, paecilomycines, spirotenuipesines และ β -glucan มีสรรพคุณ ลดความดัน ลดคอเลสเตอรอล ไขมัน น้ำตาลในเลือด ป้องกันโรคมะเร็ง โรคมะเร็ง เป็นต้น เห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) มีสารที่มีสรรพคุณทางยามากกว่า 100 ชนิด ที่สำคัญ คือ ganoderans, ganoderic acid, ganodosterone จึงมีสรรพคุณรักษาโรคได้หลายชนิดรวมทั้งมะเร็ง เห็ดหอม (*Lentinula edodes*) มีสารสำคัญคือ lentinan ใช้รักษามะเร็งเช่นกัน เห็ดหัวลิงหรือเห็ดถู่มาลา (*Hericium erinaceus*) มีสารสำคัญหลายชนิด เช่น erinacine ช่วยกระตุ้นการเจริญหรือการงอกใหม่ของเซลล์ประสาทช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์ สาร hericenone ใช้รักษาโรคกระเพาะอาหารอักเสบและกำจัดเซลล์มะเร็ง และมี β -glucan มากใช้กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เห็ดแครงหรือเห็ดตีนตุ๊กแก (*Schizophyllum commune*) มีสาร schizophyllan ซึ่งเป็น β -glucan ชนิดหนึ่งช่วยรักษามะเร็งและมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อไวรัส เห็ดการบูร (*Antrodia camphorata* หรือ *Antrodia cinnamomea*) มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิดได้แก่ steroids, triterpenoids, polysaccharide ซึ่งมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ (Shen, Y-C et al. 2004; Meng, L-M et al. 2012) ต้านอนุมูลอิสระ (Mau, J-L et al. 2004) ต้านมะเร็ง (Liu, J-J et al. 2004; Huang, H-C et al. 2012, Hseu, Y-C et al. 2008; Yang, H-L et al. 2006; Yeh, C-T et al. 2009; Lee, I-H et al. 2002; Yang, H-L et al. 2013a:online) ส่งเสริมภูมิคุ้มกันโรค (Kuo, M-C et al. 2008) โดยเฉพาะ triterpenoids มีมากกว่าเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) ถึง 10 เท่า นอกจากนี้ยังมี cordycepin และ adenosine มากกว่าที่พบในถั่งเช่า (*Cordyceps sinensis*) (ศูนย์เรียนรู้บ้านเห็ด, 2556 : ออนไลน์) จึงเป็นเห็ดที่มีสรรพคุณคล้ายเห็ดหลินจือและถั่งเช่ารวมกัน

เห็ดเป็นยาเหล่านี้ในต่างประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา จีน ญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน มาเลเซีย มีการผลิตเป็นอุตสาหกรรมเพื่อนำมาส่งขายสำคัญแล้วนำไปทำเป็นผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ ซึ่งราคาขึ้นอยู่กับปริมาณของสารออกฤทธิ์โดยแต่ละบริษัทจะมีห้องปฏิบัติการของตนเองเพื่อตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยผ่านการรับรอง

มาตรฐานจากหน่วยงานภายนอก ซึ่งในประเทศไทยมีการทำฟาร์มเห็ดเหล่านี้เช่นกัน เช่น เห็ดหอม เห็ดหัวลิง เห็ดหลินจือ เห็ดถั่งเช่า เป็นต้น (ส่วนเห็ดการบูรยังไม่มีข้อมูลว่าในประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์) แต่การนำไปทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพนั้น ไม่ได้มีการตรวจสอบระดับปริมาณสารออกฤทธิ์ว่ามีอย่างน้อยแค่ไหน จึงขาดความน่าเชื่อถือและเป็นความเสี่ยงของผู้บริโภคที่จะได้ผลิตภัณฑ์คุณภาพต่ำ

เห็ดสมุนไพรเหล่านี้เป็นเห็ดที่มีศักยภาพที่จะนำมาทำเป็นเห็ดเศรษฐกิจให้กับประเทศไทย การเพาะเลี้ยงอาจไม่จำเป็นต้องเพาะเลี้ยงจนกระทั่งเป็น fruiting body เนื่องจากสารออกฤทธิ์ทางยาที่พบในเห็ดส่วนใหญ่เป็น secondary metabolite ที่เห็ดสร้างขึ้นเพื่อวัตถุประสงค์อย่างใดอย่างหนึ่งซึ่งมักจะสร้างขึ้นในช่วง stationary phase ดังนั้นการศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสารออกฤทธิ์รวมทั้งระยะเวลาในการสร้างสารออกฤทธิ์ได้สูงสุดจะช่วยย่นระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงให้สั้นลง การวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นไปที่กระบวนการผลิตที่ทำให้เชื้อสร้างสารออกฤทธิ์ที่คงที่และมีปริมาณสูงให้สามารถนำไปทำเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมแปรรูปอื่น ๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 6.1 ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสารออกฤทธิ์ของเห็ดสมุนไพรในการเลี้ยงแบบ solid culture เพื่อเป็นต้นแบบการเพาะเลี้ยงของเกษตรกร
- 6.2 ศึกษาต้นทุน ผลตอบแทน และระยะคืนทุน ในการผลิตเห็ดสมุนไพรในเชิงพาณิชย์
- 6.3 ถ่ายทอดผลงานวิจัยสู่ชุมชน

สถานที่ทำการทดลอง

อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพสาขาวิทยาศาสตร์ประยุกต์และเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี 22210 อาคารฟาร์มเห็ดของบริษัทเมอริทไพรม์ จำกัด เลขที่ 9/22 ม. 10 ต.พลวงอ.เขาคิชฌกูฏ จ.จันทบุรี 22210 และสวนเห็ดจันทบุรี เลขที่ 61/1 หมู่ 7 ต.เขาบายศรี อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม

เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) หรือเห็ดกระจุกปลา 60 พบในยุโรป อเมริกา และเอเชีย นำมาปลูกในภาคเหนือของประเทศไทยโดยชาวจีนซึ่งนำสายพันธุ์มาจากประเทศจีน ชอบอุณหภูมิประมาณ 15-28 องศาเซลเซียส ความชื้นร้อยละ 80-95 แพทย์แผนจีนใช้บำรุงม้าม กระเพาะอาหาร เพิ่มกำลังวังชา ช่วยรักษามะเร็งในระบบทางเดินอาหาร ใช้ลดอาการข้างเคียงจากเคมีบำบัดและรังสีบำบัด (Ifarm Learning Center, 2513:online)

เอกราช (2554.: ออนไลน์) รายงานว่าเห็ดหัวลิงหรือภาษาญี่ปุ่นเรียกว่าเห็ดยามาบูชิตาเกะ เป็นเห็ดที่หาได้ยากในธรรมชาติ ปัจจุบันจึงมีการเพาะเลี้ยงในระบบปิดเพื่อควบคุมคุณภาพ คุณค่าทางโภชนาการ พบว่าในเห็ดชนิดนี้เป็นแหล่งของโปรตีน มีกรดอะมิโนอยู่ 16 ชนิด ส่วนในด้านสรรพคุณทางยานั้น แพทย์จีนแผนโบราณมีรสชาติหวาน มีฤทธิ์อ่อน ใช้บำรุงม้ามและกระเพาะอาหารบำรุงผิว เพิ่มกำลังวังชา และต่อต้านมะเร็ง นอกจากนี้งานวิจัยทางการแพทย์พบว่าในเห็ดนี้มีสารเลนติแนน (Lentinan) และเปปไทด์ ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกายให้สูงขึ้น

อภิชาติ และ อัมพา (2556) กล่าวว่าเห็ดหัวลิง (*H. erinaceus*) หรือเห็ดบูยฝ้ายหรือเห็ดยามาบูชิตาเกะ (ญี่ปุ่น) พบมากบริเวณซีกโลกเหนือ เช่น ยุโรป และเอเชียตะวันออก ขนาด 5-20 เซนติเมตร สีขาวคล้ายเส้นไหม ยาว พบเกาะตามต้นไม้ยืนต้น เช่น ต้นโอ๊ค ต้นวอลนัท สมัยโบราณถูกนำไปเข้าตำรับยารักษาโรคระบบทางเดินอาหาร เช่น แผลในกระเพาะอาหาร ส่วนตำราแพทย์จีนระบุไว้ว่าใช้บำรุงร่างกาย เป็นยาเพิ่มพลังวังชา และช่วยต้านมะเร็ง ปัจจุบันงานวิจัยทางการแพทย์รายงานว่าเห็ดชนิดนี้ให้ผลต่อการเสริมสร้างการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร หลอดอาหาร และผิวหนังได้อีกด้วย เห็ดหัวลิงเป็นแหล่งโปรตีนชั้นดีเพราะมีกรดอะมิโนถึง 16 ชนิด มีสารเลนติแนน (lentinan) และเปปไทด์ที่มีผลต่อการเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย

เห็ดแครง (*Shizophyllum commune* Fr.) หรือเห็ดตีนตุ๊กแก พบทั่วไปบนท่อนไม้ ใบไม้ เช่น ไม้ยางพารา มะม่วง ไม้สน ไม้ยูคาลิปตัส งอกได้ตลอดปีโดยเฉพาะฤดูฝน มีสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่เรียกว่า Shizophyllan (1,3 β -glucan) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต่อต้านไวรัสและยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 และ sarcoma 37 ได้ถึงร้อยละ 70-100 (Ifarm Learning Center, 2513:online)

นิรนาม (2558) กล่าวว่า เห็ดแครง (*Schizophyllum commune* Fr) เป็นเห็ดที่พบได้ทั่วโลกและงอกได้ตลอดปี เจริญบนวัสดุหลายชนิด เช่น ท่อนไม้ กิ่งไม้ ใบไม้ ใบหญ้า กระจดาช หรือแม้แต่บนกระดุกปลาหากพบเห็ดชนิดนี้ขึ้นอยู่ ในภาคใต้ของไทยพบมากบนท่อนไม้ยางพารา มีชื่อท้องถิ่นหลายชื่อ ได้แก่ เห็ดตีนตุ๊กแก เห็ดจิก เห็ดยาง (ภาคใต้) เห็ดแก่น เห็ดตามอม (ภาคเหนือ) เห็ดมะม่วง (ภาคกลาง) เป็นเห็ดที่มีขนาดเล็กลักษณะคล้ายพัด (fan-shaped) มีก้านสั้นประมาณ 0.1- 0.5 เซนติเมตร หรือไม่มีก้าน ดอกเห็ดกว้าง ประมาณ 1-3 เซนติเมตร ผิวด้านบนมีสีขาวปนเทา ดอกเหนียวและแข็งแรง ด้านล่างของดอกเห็ดมีครีบลักษณะเป็นร่อง (spilt-gill) สปอร์มีสีขาวใสภาพร่างทรงกระบอกขนาด 3-4x1-1.5 ไมครอน ขึ้นได้ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน ลักษณะดอกเห็ดอาจแตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น เป็นเห็ดที่เพาะปลูกได้ง่าย ขั้นตอนในการเพาะเลี้ยงเห็ดแครงจะเหมือนกับเห็ดถุงชนิดอื่นๆ คือขยายพันธุ์บนเมล็ดข้าวฟ่าง บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-10 วัน นำไปต่อเชื้อบนก้อนขี้เลื่อย บ่มก้อนขี้เลื่อยในโรงเรือนที่มีการระบายอากาศดีและมีดี เส้นใยจะเจริญเต็มถุงในเวลา 15 - 20 วัน ที่อุณหภูมิระหว่าง 25 - 35 องศาเซลเซียส ซึ่งหลังจากเส้นใยเต็มถุง จึงให้แสงในโรงบ่ม แสงจะกระตุ้นให้เห็ดสร้างตุ่มดอก เส้นใยเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จึงนำไปเปิดดอกในโรงเรือน รดน้ำเช้าและเย็น หลังจากกรีดข้างถุงและรดน้ำเห็ดไปประมาณ 5 วัน จะเก็บผลผลิตรุ่นที่ 1 ได้ หลังจากนั้นเห็ดจะพักตัวอีก 5-7 วัน รดน้ำเป็นปกติ ก็จะเก็บรุ่นที่ 2 และ 3 ตามลำดับ เห็ดแครงเป็นเห็ดที่มีแร่ธาตุอาหารต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายทำให้สุขภาพดี เห็ดแครง 100 กรัม ให้ โปรตีน 17.0 กรัม ไขมัน 0.5 กรัม แคลเซียม 90 มิลลิกรัม ธาตุเหล็ก 280 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 640 มิลลิกรัม อีกทั้งมีสาร Schizophyllan ที่มีสรรพคุณในด้านการรักษาโรคต่าง ๆ มากมาย นำมาปรุงอาหารได้หลายชนิด เช่น นำมาเจียวกับไข่ แกงกะทิ ห่อหมก จบเห็ดแครง ในประเทศจีนมีการแนะนำให้คนไข้ที่เป็นโรคมะเร็งเข้ารับประทานเห็ดแครงที่ปรุงกับไข่เพื่อรักษาโรค และรับประทานร่วมกับใบชาโดยต้มเห็ดแครง 9 - 16 กรัม กับน้ำกินวันละประมาณ 3 ครั้ง ใช้เป็นอาหารบำรุงร่างกาย ในประเทศญี่ปุ่นใช้เป็นยาเนื่องจาก พบสารประกอบพวก polysaccharide ชื่อว่า Schizophyllan (1,3 - β -glucan) ซึ่งมีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อไวรัสและยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด Sarcoma 180 และ Sarcoma 37 โดยทดลองใน หนูขาวยับยั้งได้ร้อยละ 70 - 100 เห็ดแครงมีจำหน่าย 2 ภาพแบบ คือ เห็ดสด และเห็ดแห้ง โดยราคาจำหน่ายดอกสดกิโลกรัมละ 80 - 150 บาท ราคาเห็ดแห้งกิโลกรัมละ 400 - 500 บาท

สมยศ (2554) กล่าวว่าในประเทศญี่ปุ่นใช้สารสกัดจากเห็ดแครงที่เรียกว่า schizophyllan ช่วยในการรักษาโรคมะเร็ง สารนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อไวรัสได้อีกด้วย

อภิชาติ และ อัมพา (2556) กล่าวว่าเห็ดแครงมีสาระสำคัญคือ schizophyllan ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตและแพร่กระจายของเนื้องอก โดยไปเพิ่มประสิทธิภาพของภูมิคุ้มกันร่างกายเช่นเดียวกับเห็ดชนิดอื่น ๆ อีกทั้งยังช่วยขับปัสสาวะได้อีกด้วย

การพัฒนาระบบการผลิตเห็ด

เห็ดการบูร (*Antrodia camphorata* หรือ *Antrodia cinnamomea*) อยู่ใน Class Basidiomycetes, Subclass Agaricomycotina, Order Polyporales, Family Fomitopsidaceae, Genus Antrodia มีพรูตติงบอดี (fruiting body) สีส้มแดงถึงสีน้ำตาลแดงรสมีกลิ่นของการบูร เจริญบนเปลือกไม้ของต้นเนี้ยวจ้ง (ไต้หวัน) ต้นอบเชยญวน หรือต้นการบูร(จันทบุรี) หรือ species ใกล้เคียง พบในป่าดิบชื้นมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิดได้แก่ steroids, triterpenoids, polysaccharide (Wikipedia, 2014)

Shu, C-H and M-Y Lung (2008) รายงานว่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Antrodia* ที่เลี้ยงแบบ submerged culture คือ pH 3 แต่ pH ที่เหมาะสมต่อการสร้าง antioxidant คือ pH 5

Shu, C-H and M-Y Lung (2004) รายงานว่า pH 4 คือค่าที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ *A. camphorata* ที่เลี้ยงแบบ submerge culture ในถังหมักกวนอัตโนมัติที่ควบคุมค่า pH คงที่

Lin, E-S and S-C Sung (2006) ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิต exopolysaccharide ของเชื้อ *A. cinnamomea* เมื่อเลี้ยงอาหารเหลว พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ อุณหภูมิ 28 °C ค่า pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5.5 และระยะเวลาในการเลี้ยง 14 วันส่วนสูตรอาหารที่เหมาะสม คือ 5% (v/v) glucose, 0.5% (v/v) calcium nitrate, 0.1% (v/v) ferrous sulfate, and 0.1% (v/v) nicotinic acid.

Liu, C-J et al. (2012) ทดลองเลี้ยงเชื้อ *A. cinnamomea* แบบ submerged culture ในถังหมักกวนแบบ airlift bioreactor with dual net draft ซึ่งมีค่า kLa (7.3 h^{-1}) สูงกว่าถังหมักแบบ airlift bioreactor with solid tube (5.5 h^{-1}). เลี้ยงเชื้อที่ 25 °C เป็นเวลา 12 วัน จากนั้นจึงกระตุ้นด้วยสารเคมีและวิธีทางกายภาพเพื่อให้มีการสร้าง triterpenoids สารเคมีที่ใช้เป็น elicitor คือ calcium chloride และ chitosan โดยใช้ปริมาณ 100 mg/L พบว่าสารทั้งสองชนิดนี้ช่วยให้ได้ทั้งชีวมวลและ triterpenoids สูงขึ้น นอกจากนี้ปริมาณออกซิเจนที่จำกัดและการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิขณะเลี้ยงยังเป็นปัจจัยสำคัญต่อการผลิต triterpenoids ซึ่งการทดลองพบว่าปริมาณ triterpenoids สูงสุด เมื่อให้เชื้อหยุดนิ่ง (เป็นการกำจัดออกซิเจน) และปรับอุณหภูมิระหว่าง 25°C (เป็นเวลา 10 ชั่วโมง) และ 10°C (เป็นเวลา 14 ชั่วโมง) เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อ (เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 21 วัน) ไปทดสอบกับเซลล์มะเร็งแบบ *in vitro* พบว่า crude triterpenoids สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ human cervical epithelioid carcinoma HeLa โดยค่า IC_{50} เท่ากับ 25 $\mu\text{g/mL}$

Chiang, C-C and B-H Chiang (2013) ทดลองเลี้ยงเชื้อ *A. cinnamomea* แบบ submerge culture ในถังหมักแบบ airlift reactor ขนาด 5 ลิตร 3 แบบ คือ airlift reactor with solid draft tube (ALs), airlift reactor with net draft tube (ALn) และ bubble column reactor (BC) โดยเปรียบเทียบกับ การเลี้ยงใน stirred tank reactor (ST) พบว่าหลังจาก 7 วัน การเลี้ยงในถังหมักแบบ ALs ให้ผลผลิตของเส้นใยสูงสุดคือ 313 mg/100 mL และมีค่า dissolved oxygen ในของเหลวต่ำสุด ในการเลี้ยงในถังหมักกวนทุกแบบจะแปรผันค่า อัตราการให้อากาศเท่ากับ 0.025, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 vvm พบว่าในถังหมักแบบ ALs ที่ 1 vvm และที่ค่า volumetric oxygen transfer coefficient เท่ากับ 10.8 h^{-1} ได้ปริมาณเส้นใยสูงสุดเมื่อขยายขนาดของถังหมัก เป็น 500 L ได้เส้นใยสูงถึง 542 mg/100 mL ภายใน 28 วัน สารสกัด ethanol จากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการเลี้ยง เชื้อในถังหมักขนาด 5 L และ 500 L เป็นเวลา 28 วัน ให้ค่า IC_{50} กับเซลล์มะเร็ง hepatocellular carcinoma cells HepG2 ที่ความเข้มข้นเพียง 23 และ $17 \mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ สารสกัด ethanol จากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้จาก การเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 500 L เป็นเวลา 42 วัน ให้ค่า IC_{50} กับเซลล์มะเร็ง hepatocellular carcinoma cells HepG2 ที่ความเข้มข้นลดลงเหลือเพียง $10 \mu\text{g/mL}$

Shih, I-L *et al.* (2006) ศึกษาสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ *A. cinnamomea* CCRC36716 แบบ submerged culture พบว่า Malt extract (ME), yeast extract (YE) และ corn steep powder (CSP) เป็น แหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดสำหรับการเจริญของเส้นใย โดยให้การเจริญของเส้นใยสูงสุดคือ $12.52 \pm 0.03 \text{ g/l cell dry weight}$, ปริมาณ exopolysaccharide (EPS) $1861 \pm 62 \text{ mg/l}$ และปริมาณ intracellular polysaccharide (IPS) $41 \pm 12 \text{ mg/g DW}$ ในวันที่ 10 ของการเลี้ยง ในอาหารที่มี 3% CSP, 3% YE, และ 3% ME ตามลำดับ ส่วน triterpenoids ได้สูงที่สุด คือ 30 mg/g DW ในอาหารที่มี 3% CSP ในวันที่ 14 ของการเลี้ยง ส่วนแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดสำหรับการเจริญของเซลล์ได้แก่ 4 % maltose และ glucose โดยให้ชีวมวลสูงสุดคือ 8.29 ± 0.05 และ $8.69 \pm 0.05 \text{ g DW cells/l}$ ตามลำดับในวันที่ 10 ของการเลี้ยง แหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดสำหรับการ ผลิต EPS คือ 4% lactose และ sucrose โดยให้ EPS สูงสุด คือ 1482 ± 63 และ $1318 \pm 48 \text{ mg/l}$ ตามลำดับ ในวันที่ 10 ของการเลี้ยง แหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดสำหรับการผลิต triterpenoids คือ 2% glucose โดยให้ triterpenoids สูงสุด คือ 31 mg/g DW ตามลำดับในวันที่ 14 ของการเลี้ยง น้ำมันพืชทั้งหมดที่นำมาทดสอบ สามารถกระตุ้นการเจริญของเซลล์และการผลิต IPS แต่ยับยั้งการผลิต triterpenoids ส่วนการผลิต EPS ถูก ยับยั้งโดยน้ำมันถั่วเหลืองเล็กน้อยแต่น้ำมันพืชชนิดอื่นช่วยส่งเสริมการผลิตโดยเฉพาะ 0.5% peanut oil ดีที่สุดให้ ปริมาณ EPS สูงสุด คือ $1147 \pm 47 \text{ mg/l}$ การเลี้ยงเชื้อ *A. cinnamomea* CCRC36716 ในสภาพที่มีออกซิเจน สูงจะช่วยการเจริญของเซลล์และการผลิต EPS แต่ยับยั้งการสร้าง tripterpenoids

Lin, E-S and Y-H Chen (2007) รายงานว่าการเลี้ยงเชื้อ *A. cinnamomea* แบบ submerged cultures สายพันธุ์ที่เจริญได้ดีที่สุดคือ *A. cinnamomea* BCRC 35396 อาหารเลี้ยงเชื้อที่มี C/N ratio = 40 จะทำให้ได้ทั้งชีวมวล และ EPS สูงสุดกลูโคสกระตุ้นการเจริญของเส้นใยค่อนข้างมากกว่ากระตุ้นการสร้าง EPS แหล่งไนโตรเจนได้แก่ peptone, yeast extract และ malt extract จำเป็นอย่างยิ่งต่อการสร้าง EPS ส่วน phosphate ion, magnesium ion and thiamine ไม่ค่อยมีความจำเป็นเท่าไรต่อการเจริญของเส้นใย สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบ คือ 5% (w/v) glucose, 0.8% (w/v) peptone, 0.8% (w/v) yeast extract, 0.8% (w/v) malt extract, 0.03% (w/v) KH_2PO_4 , 0.1% (w/v) $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and 0.1% (w/v) thiamine เป็นสูตรอาหารที่ดีที่สุดที่จะทำให้เชื้อ *A. cinnamomea* BCRC 35396 ผลิตสาร exopolysaccharide (EPS) ได้สูงที่สุด

Yang, F-C. *et al.* (2013a) รายงานว่าการเลี้ยงเชื้อ *A. cinnamomea* แบบ solid state บนธัญพืช ได้แก่ ข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี ข้าวสาลีเลี้ยงสัตว์ และ ข้าวบาร์เลย์ พบว่า สารสกัดด้วย methanol จากเส้นใยบนข้าวโอ๊ต แสดงคุณสมบัติเป็น antioxidant ได้ดีที่สุด และดีกว่าเมื่อเลี้ยงแบบ submerge culture ในระดับความเข้มข้นเดียวกัน

Yang, F-C, *et al.* (2013b) ได้ทดลองเลี้ยงเชื้อ *A. cinnamomea* แบบ solid-state ในงานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยผสมเปลือกผลไม้ของพืชตระกูล citrus ชนิดต่าง ๆ เพื่อกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ คือ triterpenoids พบว่า grapefruit peel สามารถเพิ่มปริมาณ crude triterpenoids ได้สูงเป็น 4 เท่าของ control ภายใน 30 วัน คือมีปริมาณ crude triterpenoids เท่ากับ 47.10 mg/g DW ในขณะที่ control มีเพียง 9.66 mg/g DW และมี triterpenoids มากชนิดกว่าด้วย

คุณค่าทางโภชนาการของวัสดุในการทดลอง

ข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare* L) 100 กรัม ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต 77.7 กรัม น้ำตาล 0.8 กรัม ไฟเบอร์ 15.6 กรัม ไขมัน 1.2 กรัม โปรตีน 9.9 กรัม นอกจากนี้ยังอุดมด้วยวิตามินบี เช่น ไนอาซิน ไทอามีน และมีเกลือโปตัสเซียม สำหรับสารเส้นใยในข้าวบาร์เลย์เป็นชนิดละลายน้ำ (นิรนาม, มมป.(a): ออนไลน์)

เมล็ดข้าวโพดหวาน (*Zeamays Line* var. rugasa หรือ saccharata) ต่อ 100 กรัม ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต 18.7 กรัม แป้ง 5.7 กรัม น้ำตาล 6.26 กรัม โยอาหาร 2 กรัม ไขมัน 1.35 กรัม โปรตีน 3.27 กรัม กรดอะมิโน 18 ชนิด วิตามิน 10 ชนิด และแร่ธาตุอีก 6 ชนิด (FRYNN.com, มมป.: ออนไลน์)

คุณค่าทางโภชนาการของข้าวสัจหัด (*Oryza sativa* L.) ต่อน้ำหนัก 100 กรัม ประกอบด้วย โปรตีน 7.3 กรัม คาร์โบไฮเดรต 73.1 กรัม เส้นใย 4.81 กรัม แคลเซียม 13 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 317 มิลลิกรัม ธาตุเหล็ก 1.4 มิลลิกรัม วิตามินบี 1 0.32 มิลลิกรัม วิตามินบี 2 0.01 มิลลิกรัม ไนอะซิน 6.4 มิลลิกรัม. (กองบรรณาธิการ, 2556: ออนไลน์)

ข้าวเจ้าหอมนิล (*Oryza sativa* L.) เป็นข้าวที่ได้รับการคัดเลือก และพัฒนาจนได้ข้าวที่มีเมล็ดข้าวกล้องเรียวยาว สีม่วงเข้ม ข้าวกล้องเมื่อหุงสุกจะนุ่มเหนียว และมีกลิ่นหอม น่ารับประทาน ที่สำคัญคือ ข้าวกล้องมีโปรตีนสูงถึง 12.5% ปริมาณคาร์โบไฮเดรต 70% ปริมาณ amylose 16% และยังประกอบไปด้วย ธาตุเหล็ก สังกะสี ทองแดง แคลเซียม และโพแทสเซียม ซึ่งสูงกว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 (บริษัท สีนิลไรซ์ จำกัด, มมป.: ออนไลน์)

ลูกเดือย (*Coix lachryma-jobi* Linn var.mayuen Stapt) มีคุณค่าทางอาหารสูง เพราะมีปริมาณโปรตีน 13.84% คาร์โบไฮเดรต 70.65% เยื่อใย 0.23% ไขมัน 5.03% แร่ธาตุต่างๆ อีกหลายชนิด โดยเฉพาะฟอสฟอรัสซึ่งช่วยบำรุงกระดูกมีอยู่ในปริมาณสูงรวมทั้งวิตามินเอที่ ช่วยบำรุงสายตา วิตามินบี 1 และวิตามินบี 2 โดยเฉพาะวิตามินบี 1 มีในปริมาณมาก มากกว่าข้าวกล้อง ลูกเดือยยังมีกรดอะมิโนทุกชนิดที่สูงกว่าความต้องการตามมาตรฐานของ องค์การอนามัยโลก ยกเว้นเมไทโอนีนและไลซีน โดยมีกรดอะมิโนจากมากไปหาน้อยตามลำดับดังนี้ คือ กรดกลูตามิก ลูซีน อลานีน โพรลีน วาลีน ฟินิลอลานีน ไอโซลูซีน และอาร์จินีน ในลูกเดือยยังมีกรดไขมันจำเป็น ชนิดที่ไม่อิ่มตัวด้วย ได้แก่ กรดโอเลอิก และกรดลิโนเลอิก รวมแล้วถึง 84% และเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว คือ ปาล์มมิติ และสเตียริก เพียง 16% เท่านั้น

สุนันทา (2006: ออนไลน์) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีฟาง (*Sorghum bicolor*) พันธุ์เปลือกขาวและเปลือกดำ พบว่า มีปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า โยอาหาร และสตาร์ช ในช่วง 13.6 – 16.1, 5.2 – 5.6, 1.4 – 1.7, 14.7 – 17.4 และ 66.5 – 69.6% ตามลำดับ

องค์ประกอบของข้าวเจ้า (*Oryza sativa* L.) ภายในเมล็ดข้าวมีแบ่งเป็นองค์ประกอบหลักอยู่ ประมาณ 80-90 % โดยน้ำหนัก และมีโปรตีน ประมาณ 5-14 % (ข้าวส่วนใหญ่มีโปรตีน 6-8 %) ทำให้ข้าวแต่ละพันธุ์มีคุณภาพข้าวสุกแตกต่างกัน แบ่งข้าวมีส่วนประกอบย่อย 2 ส่วน คือ อมิโลเปคติน (amylopectin) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดจากการรวมตัวของกลูโคสเป็นโมเลกุลใหญ่มีโครงสร้างเชื่อมต่อกันแบบแยกเป็น

กิ่งก้านสาขา (branched chain) อมิโลเปคติน เมื่อย่อยสลายด้วยสารละลายไอโอดีน จะเป็นสีน้ำตาลแดง และเป็นส่วนที่ทำให้ ข้าวสุกเหนียวติดกัน อมิโลส (amylose) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดจากการรวมตัวของกลูโคสจำนวนมาก เช่นกัน แต่มีโครงสร้างต่อกันเป็นแนวยาว (Linear chain) เมื่อย่อยสลายด้วยสารละลายไอโอดีน จะมีสีน้ำเงิน และมีผลให้การเกาะตัวหรือความเหนียวของข้าวสุกลดลง เมื่ออมิโลสเพิ่มขึ้น องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าว ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต 72.97 % โปรตีน 9.85 % ไขมัน 3.35 % แทนนิน 0.190 % (นิรนาม, มมป.(บ):ออนไลน์)

น้ำมันปาล์ม (Oil Palm) ประกอบด้วย Myristic saturated C14 =1.0%, Palmitic saturated C16 = 43.5%, Stearic saturated C18= 4.3%, Oleic monounsaturated C18 = 36.6%, Linoleic polyunsaturated C18 = 9.1%, Other/Unknown = 5.5%

น้ำมันมะกอก (Olive Oil) มีส่วนประกอบไขมันอิ่มตัว ได้แก่ Palmitic acid: 7.5–20.0% Stearic acid: 0.5–5.0% Arachidic acid: <0.6% Behenic acid: <0.3% Myristic acid: <0.05% Lignoceric acid: <0.2% และไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว ได้แก่ Oleic acid: 55.0–83.0% Palmitoleic acid: 0.3–3.5%, ไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน ได้แก่ Linoleic acid: 3.5–21.0 % α -Linolenic acid: <1.0%

เปลือกเงาะ (Rambutan peel) เป็นส่วนที่มีสารแทนนินสูง สารนี้มีฤทธิ์ฝาดสมาน ช่วยต้านเชื้อแบคทีเรีย จึงนำมาใช้เป็นยาแก้อักเสบและขับพยาธิ ปัจจุบันยังมีการศึกษาเรื่องสารต้านอนุมูลอิสระจากสมุนไพรไทย

เปลือกมังคุด (mangosteen peel) มีสารแซนโทน (Xanthone) และสารแทนนิน (Tannin) ในปริมาณมาก ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดการอักเสบ

เปลือกลิ้นจี่ (Lichee peel) มีสารฟลาโวนอยด์มากซึ่งส่วนใหญ่เป็น cyanidin-3-rutinoside, cyanidin glucoside, quercetin 3-rutinoside [rutoside] และ quercetin glucoside. (ประมาณ 4 mg/g ของเปลือกสด) นอกจากนี้ยังมีแทนนินซึ่งส่วนใหญ่เป็น epicatechin และ procyanidin A2 (1.7 and 0.7 mg/g ตามลำดับ) และมี anthocyanins ด้วยประมาณ 0.4 mg/g (Sarni-Manchado, *et al*, 2000)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

การศึกษากระบวนการผลิตเห็ดสมุนไพร (medicinal mushrooms) ในเชิงพาณิชย์ แบ่งการทดลองเป็น 3 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 การคัดเลือกเชื้อเห็ดจากแหล่งเพาะเลี้ยงและแหล่งธรรมชาติ

เก็บรวบรวมเชื้อเห็ดสมุนไพรจำนวน 4 ชนิด จากแหล่งเพาะเลี้ยงและแหล่งธรรมชาติ คือ กลุ่มที่สร้างสารออกฤทธิ์ประเภท β -glucan สูง ได้แก่ เห็ดหัวลิง เห็ดแครง กลุ่มที่สร้างสารออกฤทธิ์ประเภท triterphenoid สูง ได้แก่ เห็ดการบูรไต้หวัน และเห็ดการบูรไทย วางแผนการศึกษาโดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ ดังนี้

1. เก็บตัวอย่างเห็ดทั้ง 4 ชนิดจากแหล่งเพาะเลี้ยงและหรือแหล่งธรรมชาติอย่างน้อย 3 แหล่ง ในระยะที่เป็น fruiting body นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร PDA
2. นำ fruiting body มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักไม่เปลี่ยนแปลง นำมาปั่นเป็นผง
3. ส่งตัวอย่างผงเห็ดตรวจหาสารออกฤทธิ์ที่ละลายน้ำและละลายในแอลกอฮอล์ ที่ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เปรียบเทียบชนิดและความเข้มข้นของสารที่สกัดได้

ตอนที่ 2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง (solid culture) ที่ให้ชีวมวลและสารออกฤทธิ์สูง

คัดเลือกเชื้อที่ให้สารออกฤทธิ์ดีที่สุดจากตอนที่ 1 มากลุ่มละ 1 ชนิด นำมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง (solid culture) ที่ทำให้เชื้อเจริญเร็วและให้สารออกฤทธิ์สูง ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญและการสร้างออกฤทธิ์ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารกระตุ้น (elicitor) การสร้างสารออกฤทธิ์ ซึ่งจะใช้น้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ สำหรับเห็ดที่สร้างสารออกฤทธิ์ประเภท β -glucan (Shih, [H-Let al.](#), 2006) และใช้เปลือกผลไม้ในท้องถิ่นนำมาอบแห้งและบดเป็นผงสำหรับเห็ดที่สร้างสารออกฤทธิ์ประเภท triterphenoids (Yang, F-C, *et al.*, 2013b) ส่วนอุณหภูมิจะควบคุมไว้ที่ระดับที่เหมาะสมตามที่ผู้ศึกษามาก่อน วางแผนการศึกษาโดยใช้

แผนการทดลองแบบ 4 x 4 factorial 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 25 ขวด) โดยศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญและการสร้างสารออกฤทธิ์ 2 ปัจจัย ได้แก่ ชนิดของธัญพืชที่ใช้เพาะเลี้ยง 4 ชนิด และชนิดของสารกระตุ้น (elicitor) 3 ชนิด และไม่ใส่สารกระตุ้นเป็น control ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมหัวเชื้อจากเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้จากตอนที่ 1 (ข้อ 1) ลงในอาหารเหลวในฟลาสก์ขนาด 250 มล. ฟลาสก์ละ 100 มล. เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ
2. เตรียมอาหารธัญพืชโดยผสมสารกระตุ้นในสัดส่วน 1:10 บรรจุขวดขนาด 16 ออนซ์ ขวดละ 100 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ
3. เติมหหัวเชื้อขวดละ 2 มล. และบ่มที่อุณหภูมิคงที่จนกระทั่งเชื้อเดินเต็มขวด หาค่าเฉลี่ยของวันที่เชื้อเดินเต็มขวด บวกอีก 3 วัน เก็บตัวอย่างเส้นใยที่เจริญบนธัญพืชโดยการสุ่ม 5 ขวด จาก 25 ขวด ในแต่ละซ้ำ นำมารวมกันแล้วอบแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักไม่เปลี่ยนแปลง นำมาป่นเป็นผง ส่งตัวอย่างผงให้ตรวจสอบสารออกฤทธิ์ที่ภาควิชาเภสัชวินิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เพื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารที่สกัดได้
4. เมื่อได้ชนิดของสารอาหารและสารกระตุ้นที่เหมาะสมแล้ว ทำการต่อเชื้อ (sub culture) บนธัญพืชเหมือนเดิมอีก 4 ครั้ง เก็บตัวอย่างผงเห็ดที่ผลิตได้แต่ละครั้ง ส่งตรวจสอบสารออกฤทธิ์ที่ภาควิชาเภสัชวินิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เพื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ว่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ เนื่องจากในการปฏิบัติจริงในฟาร์มเกษตรกรมักใช้วิธีการต่อเชื้อไปเรื่อย ๆ ซึ่งมักมีผลทำให้สารออกฤทธิ์ต่ำลง การทดลองนี้เพื่อให้ทราบว่าควรต่อเชื้อได้ไม่เกินกี่ครั้ง
5. สำหรับเห็ดที่สร้างสารออกฤทธิ์ประเภท β -glucan เก็บตัวอย่างในระยะที่เป็น fruiting body ด้วย โดยนำไปเพาะในก้อนขี้เลื่อยที่เติมสารกระตุ้นเช่นเดียวกับที่เลี้ยงบนเมล็ดธัญพืช จนกระทั่งเจริญเป็น fruiting body วางแผนการศึกษาโดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 25 ก้อน) สำหรับเห็ดที่สร้างสารออกฤทธิ์ประเภท triterphenoids ไม่ได้ศึกษาในระยะที่เป็น fruiting body เนื่องจากการเจริญในระยะนี้ต้องใช้เวลานาน

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย (interaction)

ตอนที่ 3 ศึกษาต้นทุน ผลตอบแทนและระยะคืนทุนของฟาร์มต้นแบบ

ผลิตเห็ดสมุนไพรแบบ solid culture ในระดับฟาร์มขนาดย่อมจำนวน 3,000 ขวด โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากผลการทดลอง ตอนที่ 2 เป็นระยะเวลา 1 crop โดยผลิตครั้งละ 1000 ขวด 3 ครั้งเก็บเกี่ยวผลผลิตโดยวิธี freeze dry ตรวจสอบคุณภาพโดยสุ่มตัวอย่างตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์และเชื้อปนเปื้อน (total count) ให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสำหรับวัตถุดิบในการทำอาหารเสริมสุขภาพ คือ 10^5 cfu หากเกินต้องเพิ่มต้นทุนในการฉายรังสีเพื่อฆ่าเชื้อปนเปื้อน จำหน่ายวัตถุดิบสำหรับใช้ทำอาหารเสริมสุขภาพเพื่อนำข้อมูลทั้งหมดมาคิดต้นทุนผลตอบแทนและระยะคืนทุนของฟาร์ม

บทที่ 4

ผลการดำเนินงานวิจัยและวิจารณ์

ตอนที่ 1 การคัดเลือกเชื้อเห็ดจากแหล่งเพาะเลี้ยงและแหล่งธรรมชาติ

การเก็บรวบรวมเชื้อเห็ดสมุนไพรกลุ่มที่สร้างสารออกฤทธิ์ประเภท β -glucan สูง ได้แก่ เห็ดหัวลิง เห็ดแครง โดยเห็ดหัวลิงได้จากแหล่งเพาะเลี้ยง 3 แหล่ง คือ

1. ฟาร์มสวนเห็ดจันทบุรี เลขที่ 61/1 หมู่ 7 ต.เขาบายศรี อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี (H1)
2. วังน้ำเขียวฟาร์ม 155 หมู่หมู่ 2 อาคาร บ้านสุขสมบูรณ์ ตำบลไทยสามัคคี อำเภอวังน้ำเขียว นครราชสีมา (H2)
3. ฟาร์มโครงการหลวง ต.เทพเสด็จ ม.1 บ้านปางบง อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ (H3)

ส่วนเห็ดแครงได้จากแหล่งเพาะเลี้ยงและแหล่งธรรมชาติ 3 แหล่ง คือ

1. ฟาร์มสวนเห็ดจันทบุรี เลขที่ 61/1 หมู่ 7 ต.เขาบายศรี อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี (S1)
2. ตลาดนัดบ้านจันทเขลม อ.เขาคิชฌกูฏ จ.จันทบุรี (เก็บจากแหล่งธรรมชาติ) (S2)
3. เห็ดแครงจากภาคใต้ซึ่งได้จากบริษัทเมอริทไพรม์ จำกัด เลขที่ 9/22 ม. 10 ต.พลวง อ.เขาคิชฌกูฏ จ.จันทบุรี (S3)

หลังจากนำฟรุติติงบอดี้ (fruiting body) ของตัวอย่างเห็ดหัวลิง และเห็ดแครง มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักไม่เปลี่ยนแปลง นำมาป่นเป็นผง ส่งตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่ละลายน้ำและละลายในแอลกอฮอล์ ที่ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล นำผลมาคัดเลือกเห็ดเพียงชนิดเดียวเพื่อนำไปใช้ในการทดลองตอนที่ 2 ซึ่งพบว่าเห็ดแครงจากท่าใหม่ (S1) ให้ค่า total polysaccharide เท่ากับ 5.16 ± 0.14 ส่วนเห็ดหัวลิงจากท่าใหม่ (H1) ให้ค่า total polysaccharide เท่ากับ 3.75 ± 0.17 นอกจากนี้ได้ส่งตัวอย่างเห็ดหัวลิงและเห็ดแครงตรวจปริมาณ β -glucan ตามวิธีของ Megazyme (ภาคผนวก (5)) ที่สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพและวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตจันทบุรี พบว่าเห็ดแครงมีปริมาณ β -glucan เท่ากับ 48.1 % (w/w) ส่วนเห็ดหัวลิงมีปริมาณ β -glucan เท่ากับ 28.9 % (w/w) ดังนั้นจึงเลือกเห็ดแครงมาใช้ในการทดลองตอนที่ 2 ต่อไป สำหรับเห็ดแครงที่นำมาใช้ทดลองตอนที่ 2 นี้ได้นำเห็ดแครงสายพันธุ์ทางการค้าจากฟาร์มสวนเห็ดจันทบุรี เลขที่ 61/1 หมู่ 7 ต.เขาบายศรี อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี (S1) ซึ่งลักษณะทางพันธุกรรมของสายพันธุ์เห็ดแครงนี้ ได้ทำการเปรียบเทียบสายพันธุ์ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลโดยศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติพบว่าเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) (ภาคผนวกที่ 5)

ส่วนการเก็บรวบรวมเชื้อเห็ดสมุนไพรกลุ่มที่สร้างสารออกฤทธิ์ประเภท triterpenoid สูง ได้แก่ เห็ดการบูรไต้หวัน และเห็ดของไทยที่คล้ายเห็ดการบูรของไต้หวัน โดยเห็ดการบูรไต้หวันได้จากแหล่งเพาะเลี้ยง 3 แหล่ง คือ

1. ฟาร์มเห็ดการบูรของมิสเตอร์เหอ สาธารณรัฐจีน (ไต้หวัน) ซึ่งเพาะเลี้ยงบนไม้เหนียวจิ้ง (A1)
2. ฟาร์มเห็ดการบูรของมิสเตอร์หลิว สาธารณรัฐจีน (ไต้หวัน) ซึ่งเพาะเลี้ยงบนข้าวโอ๊ตเป็นเวลา 4 เดือน ยังอยู่ในระยะที่เป็นเส้นใย (A2)
3. เห็ดการบูรจากธรรมชาติซึ่งขึ้นในป่าของสาธารณรัฐจีน (ไต้หวัน) (A3)

ส่วนเห็ดของไทยที่คล้ายเห็ดการบูรของไต้หวัน (อาจเรียกว่าเห็ดขี้กลาก) ได้จากแหล่งเพาะเลี้ยง 1 แหล่ง คือ ฟาร์มเห็ด อ.แมริม จ.เชียงใหม่ (A4) ซึ่งเลี้ยงบนข้าวโพดยังอยู่ในระยะที่เป็นเส้นใยสีขาว ซึ่งยังไม่สามารถตรวจสอบ (identified) ได้ว่าเป็นเห็ดชนิดใด จึงนำเส้นใยมาแยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร PDA และนำไปตรวจสอบสายพันธุ์เทียบกับเห็ดการบูรไต้หวันด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ พบว่า เห็ดการบูรไต้หวันคือ (K) ชื่อ *Taiwanofungus comphoratus* ซึ่งเป็น current name ของทั้งชื่อ *Antrodia cinnamomea* และ *Antrodia camphorata* ส่วนเส้นใยเห็ดของไทยที่คล้ายเห็ดการบูรของไต้หวัน (อาจเรียกว่าเห็ดขี้กลาก) ได้จากแหล่งเพาะเลี้ยงฟาร์มเห็ด อ.แมริม จ.เชียงใหม่ (A4) (KT) คือชื่อ *Cordyceps militaris* (ภาพผนวกที่ 4)

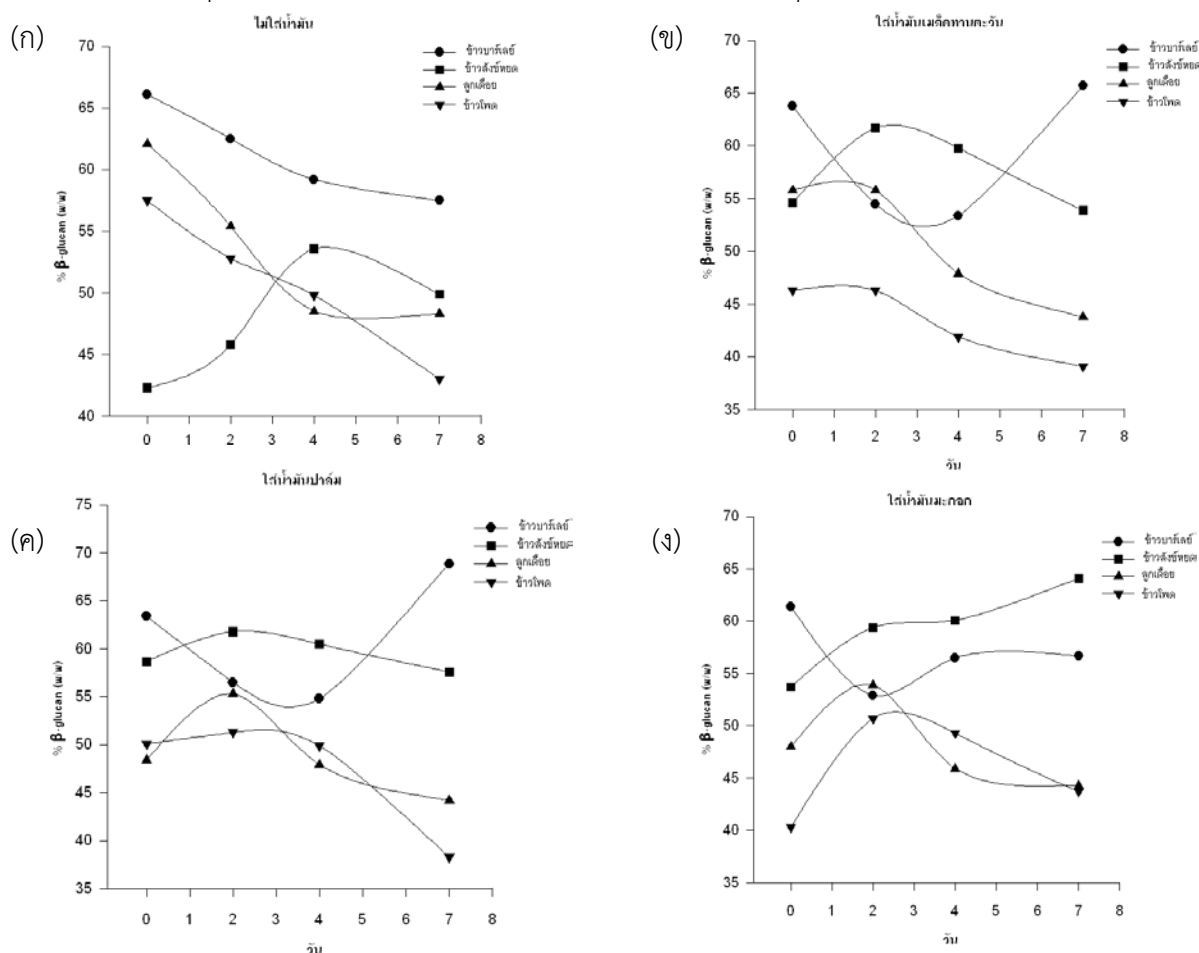
นำ fruiting body ของตัวอย่างเห็ดการบูรไต้หวัน (A1) และเส้นใยของเห็ดการบูรไต้หวันที่เลี้ยงบนข้าวโอ๊ต (A2) และเส้นใยของเชื้อ *Cordyceps militaris* ที่เจริญบนธัญพืช (A4) มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักไม่เปลี่ยนแปลง นำมาป่นเป็นผง เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่ละลายน้ำและละลายในแอลกอฮอล์ ที่ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พบว่าเห็ดการบูรไต้หวันให้ค่า triterpenoid เท่ากับ 2.43 ± 0.044 . % (w/w)..ส่วนเส้นใยของเชื้อ *Cordyceps militaris* ให้ค่า triterpenoid เท่ากับ 2.10 ± 0.03 . % (w/w).

จากการตรวจสอบสายพันธุ์เห็ดของไทยที่คล้ายเห็ดการบูรของไต้หวัน ปรากฏว่าเป็นเห็ดในสกุล *Cordyceps* ซึ่งอยู่ในคลาส Ascomycetes ไม่ใช่เห็ดในคลาส Basidiomycetes เหมือนเห็ดการบูรไต้หวัน ดังนั้นจึงเลือกเห็ดการบูรไต้หวันมาใช้ในการทดลองตอนที่ 2 สำหรับเห็ดการบูรไต้หวันนำมาใช้ทดลองได้นำเห็ดการบูรไต้หวันจากฟาร์มของมิสเตอร์เหอ สาธารณรัฐจีน (ไต้หวัน) (A1) ซึ่งเพาะเลี้ยงบนไม้เหนียวจิ้ง (A1) มาใช้ทดลอง

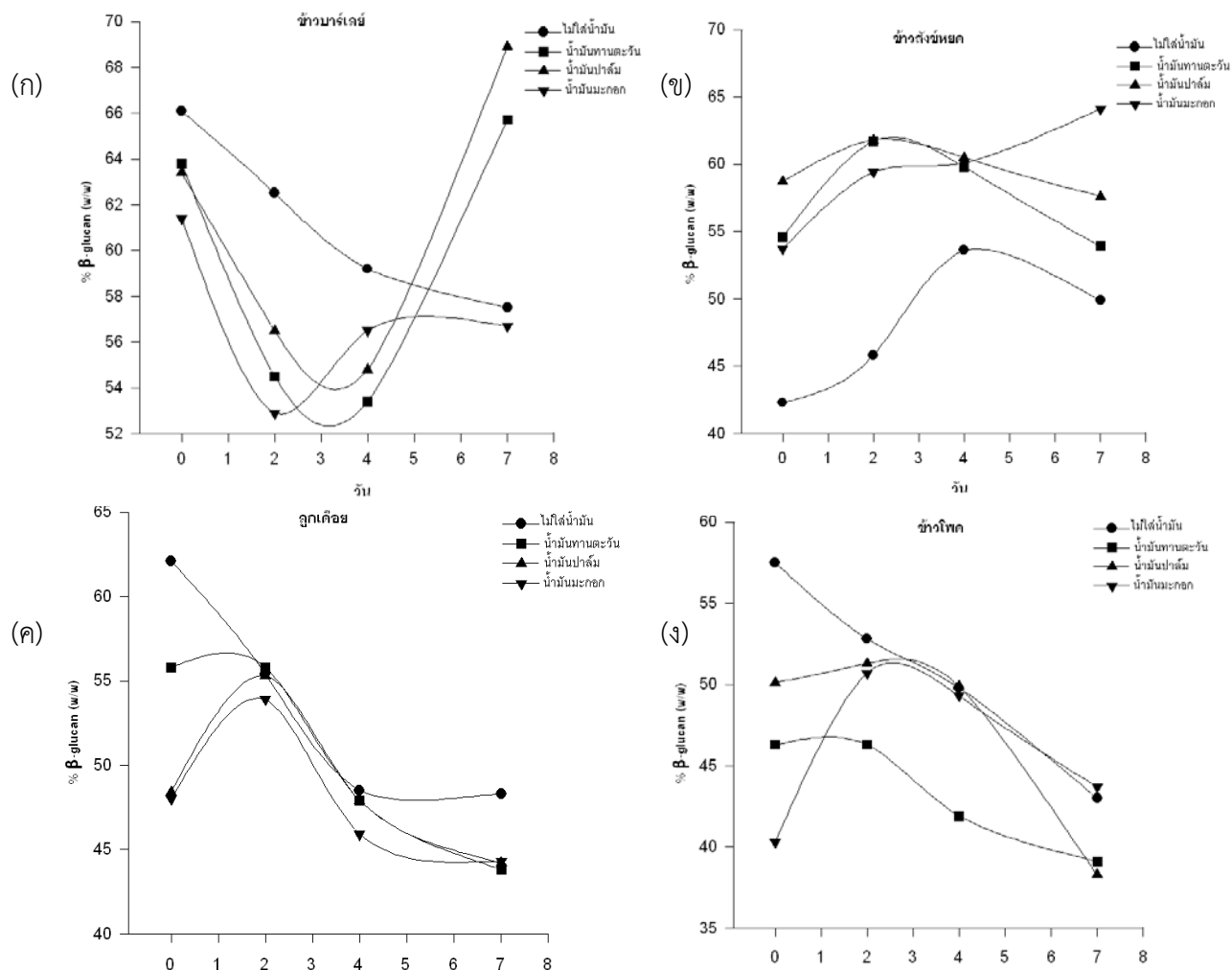
ตอนที่ 2

2.1 การเพาะเลี้ยงเห็ดแครกบนธัญพืช

เพาะเลี้ยงเห็ดแครกบนธัญพืช 4 ชนิด คือ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีหยาบ ลูกเดือย และข้าวโพด โดยใช้ไขมันพืช 3 ชนิด เป็นสารกระตุ้นการสร้าง β -glucan ได้แก่ ไขมันเมล็ดทานตะวัน ไขมันปาล์ม และไขมันมะกอก โดยผสม 10 % กับธัญพืช แผนการทดลองเป็นแบบ 4 x 4 factorial 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 25 ขวด) ซึ่งเชื้อเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จนคลุมเมล็ดธัญพืชทุกชนิดภายใน 4 วัน เก็บตัวอย่างเป็นระยะ ๆ และหลังจากเชื้อเดินเต็มขวด 3 วัน คือวันที่ 7 นำมาอบแห้งและส่งตรวจปริมาณ β -glucan ตามวิธีของ Megazyme ที่สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพและวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตจันทบุรีได้ ผลดังภาพที่ 1 และ 2



ภาพที่ 1.1 ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยเห็ดแครกที่ (ก) ไม่ใส่น้ำมันพืช และที่กระตุ้นการสร้าง β -glucan ด้วยน้ำมันพืช ได้แก่ (ข) .ใส่น้ำมันเมล็ดทานตะวัน (ค) ใส่น้ำมันปาล์ม (ง) ใส่น้ำมันมะกอก บนธัญพืช 4 ชนิด คือ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีหยาบ ลูกเดือย และข้าวโพด ที่อายุ 0-7 วัน



ภาพที่ 1.2 ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยหัดแครงที่เจริญบนธัญพืช 4 ชนิด คือ (ก) ข้าวบาร์เลย์ (ข) ข้าวสังข์หยด (ค) ลูกเดือย และ (ง) ข้าวโพด ที่ไม่ใส่น้ำมันพืช และใส่น้ำมันเมล็ดทานตะวัน น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะกอก ที่อายุ 0-7 วัน

จากภาพที่ 1.1 จะเห็นได้ว่าในวันแรกที่ปลูกเชื้อปริมาณ β -glucan ในธัญพืชแต่ละชนิดมีไม่เท่ากัน ปริมาณ β -glucan ส่วนใหญ่ลดลงเมื่อเชื้อเจริญสูงสุด แต่ในข้าวบาร์เลย์ที่ผสมน้ำมันปาล์มและน้ำมันทานตะวัน และข้าวสังข์หยดที่ผสมน้ำมันมะกอกกับไม่ผสมน้ำมันพืชเท่านั้นที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 ของการเจริญ ดังนั้นจึงนำข้อมูลปริมาณ β -glucan ในวันที่ 7 ของการเจริญของเชื้อมาเปรียบเทียบกับทางสถิติตารางที่ 1.1 ตารางผนวกที่ 1.1 และภาพที่ 1.3 ซึ่งพบว่าปริมาณ β -glucan เหลือในวันที่ 7 ของการเจริญของเชื้อหัดแครง (ตารางที่ 1.1) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้งชนิดของธัญพืชและชนิดของสารกระตุ้นที่ใช้ คือ น้ำมันพืช (ตารางผนวกที่ 1.1) โดยธัญพืชที่มีปริมาณ β -glucan เหลือสูงสุด คือ ข้าวบาร์เลย์ และข้าวสังข์หยด เท่ากับ 62.20 และ 56.38 % ตามลำดับ ส่วนในลูกเดือยและข้าวโพด มีปริมาณ β -glucan เหลือต่ำกว่า control อย่างมี

นัยสำคัญเช่นกัน ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของข้าวบาร์เลย์มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตถึง 77.7 % ซึ่งมากกว่าธัญพืชชนิดอื่นที่นำมาเปรียบเทียบ (นิรนาม, มมป.(a): ออนไลน์) ส่วนน้ำมันที่กระตุ้นการสร้าง β -glucan ได้ดีคือ น้ำมันปาล์มและน้ำมันมะกอกโดยพบว่ามีปริมาณ β -glucan เฉลี่ยสูงกว่า control อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .01 ส่วนน้ำมันเมล็ดทานตะวันไม่มีความแตกต่างเมื่อเทียบกับ control

ตารางที่ 1.1 ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยหัดแครงที่เจริญบนธัญพืช 4 ชนิด คือ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี หยอด ลูกเดือย และข้าวโพด ที่ไม่ผสมและผสมสารกระตุ้นการสร้าง β -glucan คือ น้ำมันพืช ได้แก่ น้ำมันเมล็ดทานตะวัน น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะกอก ที่อายุ 7 วัน

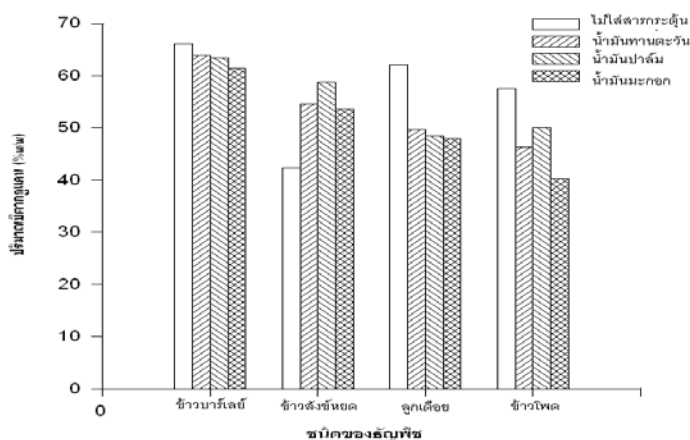
ชนิดสารกระตุ้น ชนิดธัญพืช	ปริมาณ β -glucan (%w/w)				ค่าเฉลี่ยชนิด ธัญพืช
	ไม่ใส่	น้ำมันทานตะวัน	น้ำมันปาล์ม	น้ำมันมะกอก	
บาร์เลย์	57.5	65.7	68.9	56.7	62.20
สาลีหยอด	49.9	53.9	57.6	64.1	56.38
ลูกเดือย	48.3	43.8	44.2	44.3	45.15
ข้าวโพด	43	39.1	38.3	43.7	41.03
ค่าเฉลี่ยชนิดสารกระตุ้น	49.68	50.63	52.25	52.20	

CV=3.46%

LSD.01 (สิ่งทดลอง) =3.97

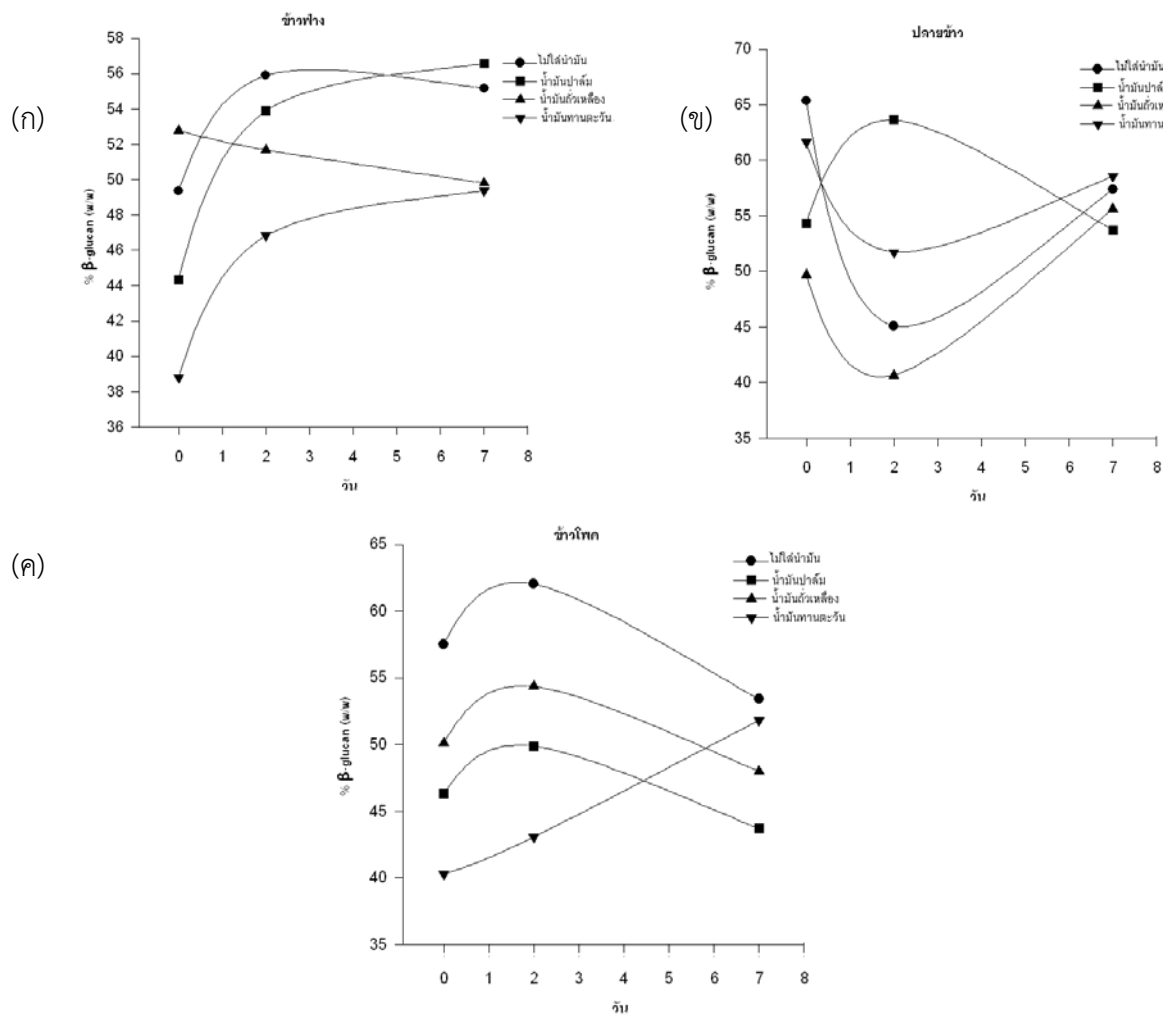
LSD.01 (ชนิดธัญพืช)= 1.99

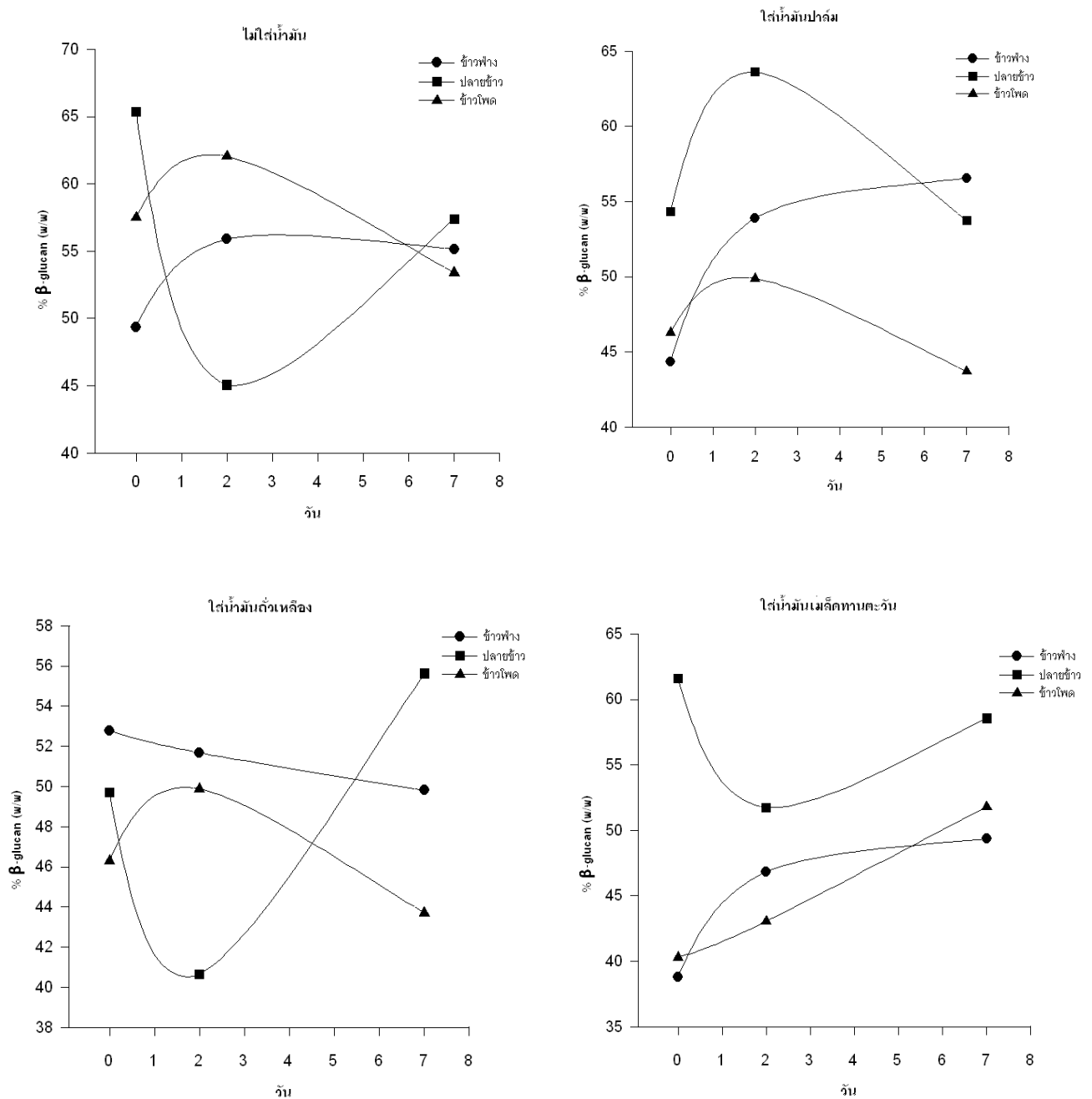
LSD.01 (ชนิดสารกระตุ้น)= 1.99



ภาพที่ 1.3 ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยหัดแครงที่เจริญบนธัญพืช 4 ชนิด คือ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี หยอด ลูกเดือย และข้าวโพด ที่ไม่ผสมและผสมสารกระตุ้นการสร้าง β -glucan คือ น้ำมันพืช ได้แก่ น้ำมันเมล็ดทานตะวัน น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะกอก ที่อายุ 7 วัน

ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเห็ดแครงบรณธูปอีกครึ่งหนึ่งโดยเปลี่ยนชนิดของธูปพืชและสารกระตุ้น ธูปพืช 3 ชนิด คือ ข้าวฟ่าง ปลายข้าว และข้าวโพด โดยใช้น้ำมันพืช 3 ชนิด เป็นสารกระตุ้นการสร้าง β -glucan ได้แก่ น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันเมล็ดทานตะวัน โดยผสม 10 % กับธูปพืช แผนการทดลองเป็นแบบ 3×4 factorial 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 25 ขวด) ซึ่งเชื้อเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนคลุมเมล็ดธูปพืชทุกชนิดภายใน 4 วัน เก็บตัวอย่างเป็นระยะ ๆ และหลังจากเชื้อเดินเต็มขวด 3 วัน คือวันที่ 7 นำมาอบแห้งและส่งตรวจปริมาณ β -glucan ตามวิธีของ Megazyme ที่สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพและวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตจันทบุรีได้ ผลดังภาพที่ 1.4 และ 1.5





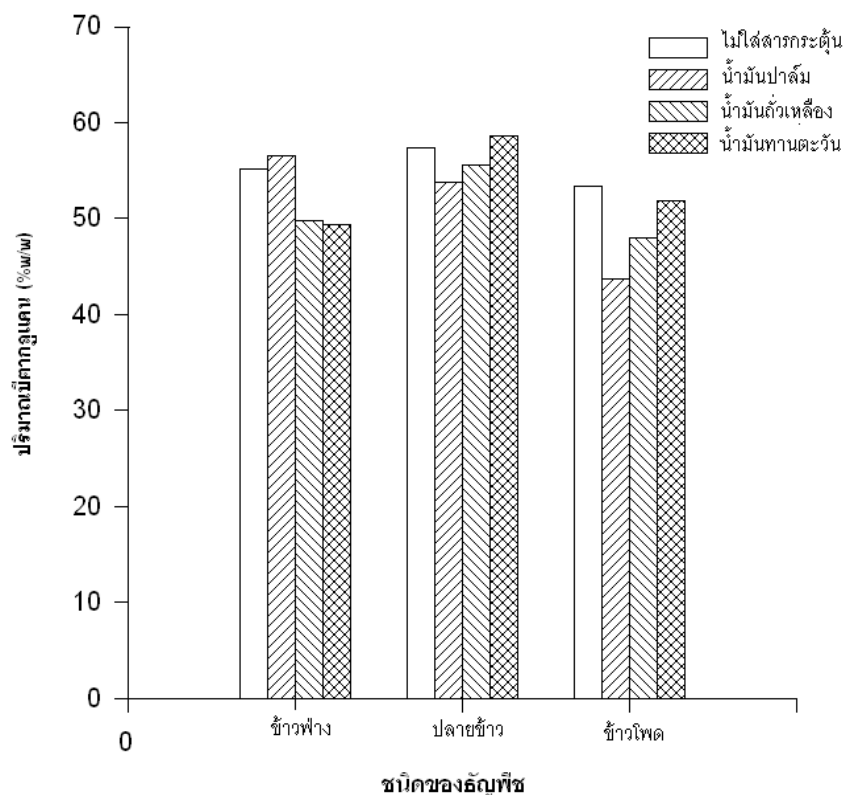
ภาพที่ 1.5 ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยหัดแครงที่ (ก) ไม่ใส่น้ำมันพืช และที่กระตุ้นการสร้าง β -glucan ด้วยน้ำมันพืช ได้แก่ (ข) ใส่น้ำมันปาล์ม (ค) ใส่น้ำมันถั่วเหลือง (ง) ใส่น้ำมันเมล็ดทานตะวัน บน ธัญพืช 3 ชนิด คือ ข้าวฟ่าง ปลายข้าว และข้าวโพด ที่อายุ 0-7 วัน

จากภาพที่ 1.5 จะเห็นว่าในวันแรกที่ปลูกเชื้อ ปริมาณ β -glucan ในธัญพืชแต่ละชนิดมีไม่เท่ากัน เช่นเดียวกับการทดลองครั้งแรก ปริมาณ β -glucan ส่วนใหญ่ลดลงเมื่อเชื้อเจริญสูงสุด ยกเว้นในปลายข้าวที่ผสมน้ำมันถั่วเหลือง ในข้าวฟ่างที่ผสมน้ำมันปาล์มและน้ำมันทานตะวัน และในข้าวโพดที่ผสมน้ำมันเมล็ดทานตะวัน เท่านั้นที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 ของการเจริญ ดังนั้นจึงนำข้อมูลปริมาณ β -glucan ในวันที่ 7 ของการเจริญของเชื้อมาเปรียบเทียบกับทางสถิติดังตารางที่ 1.2 ตารางผนวกที่ 1.2 และภาพที่ 1.6 ซึ่งพบว่าปริมาณ β -glucan เฉลี่ยในวันที่ 7 ของการเจริญของเชื้อเห็ดแครงที่เจริญบนปลายข้าว ข้าวฟ่าง และข้าวโพด (ตารางที่ 1.2) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้งชนิดของธัญพืชและชนิดของสารกระตุ้นที่ใช้ คือ น้ำมันพืช (ตารางผนวกที่ 1.2) โดยธัญพืชที่มีปริมาณ β -glucan เฉลี่ยสูงสุด คือ ปลายข้าวสูงสุดคือ 56.33 % รองลงมาคือ ข้าวฟ่าง และ ข้าวโพด โดยมีปริมาณ β -glucan เฉลี่ยเท่ากับ 52.72 และ 49.22 % ตามลำดับ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของปลายข้าวมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตถึง 73 % ซึ่งมากกว่าธัญพืชชนิดอื่นที่นำมาเปรียบเทียบ (นิรนาม, มปป.(b): ออนไลน์) ส่วนน้ำมันที่ใช้กระตุ้นการสร้าง β -glucan พบว่าน้ำมันเมล็ดทานตะวันมีปริมาณ β -glucan เฉลี่ยสูงน้ำมันปาล์มและน้ำมันถั่วเหลือง แต่อย่างไรก็ตามยังคงต่ำกว่า control อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .01 ดังนั้นการใส่น้ำมันทั้ง 3 ชนิด จึงเป็นการยับยั้งมากกว่าการกระตุ้น เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะในข้าวโพดระหว่างการทดลองครั้งแรกและครั้งที่สองจะพบว่าทั้งน้ำมันปาล์มและน้ำมันเมล็ดทานตะวันมีผลทำให้ปริมาณ β -glucan ลดลงเช่นเดียวกัน รวมทั้งน้ำมันถั่วเหลืองก็มีผลทำให้ปริมาณ β -glucan ลดลงเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Shih, I-L et al. (2006) ที่รายงานว่า การผลิต EPS (exopolysaccharide) ของเชื้อ *Antrodia cinnamomea* CCRC36716 ถูกยับยั้งโดยน้ำมันถั่วเหลืองเล็กน้อยแต่น้ำมันพืชชนิดอื่นช่วยส่งเสริมการผลิต โดยเฉพาะ 0.5% peanut oil ดีที่สุดให้ปริมาณ EPS สูงสุด คือ 1147 ± 47 mg/l

ตารางที่ 1.2 ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยเห็ดแครงที่เจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ผสมสารกระตุ้นการสร้าง β -glucan คือน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ ที่อายุ 7 วัน

ชนิดธัญพืช \ ชนิดสารกระตุ้น	ปริมาณ β -glucan (%w/w)				ค่าเฉลี่ยชนิดธัญพืช
	ไม่ใส่	น้ำมันปาล์ม	น้ำมันถั่วเหลือง	น้ำมันทานตะวัน	
ข้าวฟ่าง	56.16	56.56	49.81	49.37	52.72
ปลายข้าว	57.40	53.73	55.63	58.56	56.33
ข้าวโพด	53.40	43.70	47.99	51.80	49.22
ค่าเฉลี่ยชนิดสารกระตุ้น	55.32	51.33	51.14	53.24	

CV=2.51% LSD.01 (สิ่งทดลอง) =3.05 LSD.01 (ชนิดธัญพืช)= 1.53 LSD.01 (ชนิดสารกระตุ้น)= 1.76



ภาพที่ 1.6 ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยหัดแครงที่เจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ผสมสารกระตุ้นการสร้าง β -glucan คือน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ ที่อายุ 7 วัน

2.2 การเพาะเลี้ยงหัดแครงบนก้อนเชื้อ

การทดลองเพาะเลี้ยงหัดแครงบนก้อนเชื้อเลี้ยงโดยผสมน้ำมันพืช 3 ชนิด เป็นสารกระตุ้นการสร้าง β -glucan ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม และ น้ำมันรำข้าว โดยผสม 0, 2, 6 และ 8 % แผนการทดลองเป็นแบบ 3×4 factorial 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 10 ก้อน) ทำการทดลองที่ฟาร์มสวนเห็ดจันทบุรี เลขที่ 61/1 หมู่ 7 ต.เขาบายศรี อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี ซึ่งเชื้อเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนคลุมก้อนเชื้อเลี้ยงภายใน 10 วัน เก็บตัวอย่างฟรุตติงบอดีของหัดแครงหลังจากกรีดยกก้อนเชื้อเลี้ยงในวันที่ 14 นำมาอบแห้งและส่งตรวจปริมาณ β -glucan ตามวิธีของ Megazyme ที่สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพและวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตจันทบุรีได้ ผลดังตารางที่ 1.3 ตารางผนวกที่ 1.3 และภาพที่ 1.7

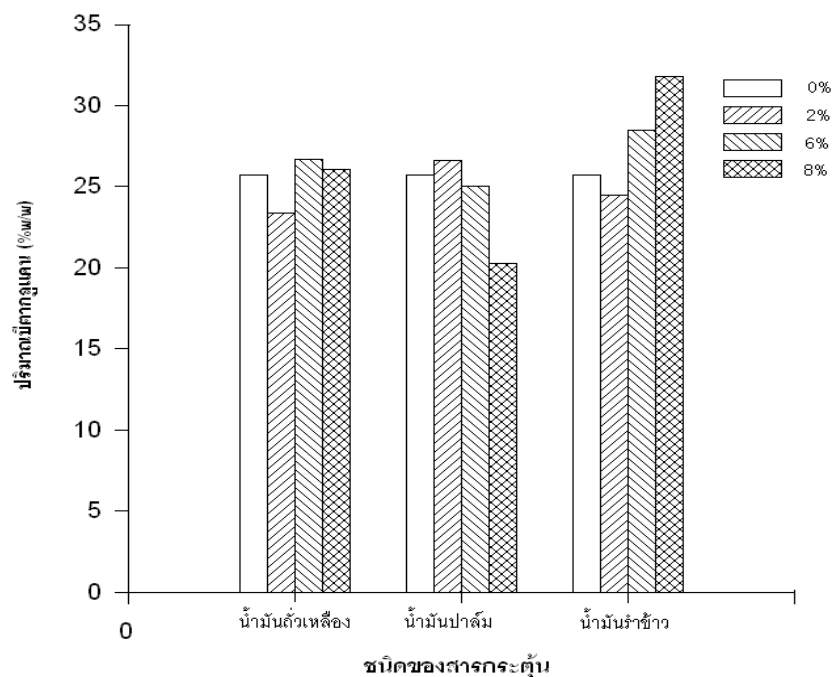
ตารางที่ 1.3 ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของส่วนที่เป็นฟรุตติงบอดีของเห็ดแครงที่เจริญบนก้อนขี้เลื่อยผสมสารกระตุ้นคือน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ หลังเปิดดอก 14 วัน

ปริมาณสารกระตุ้น ชนิดสารกระตุ้น	ปริมาณ β -glucan (%w/w)				ค่าเฉลี่ยชนิด สารกระตุ้น
	0%	2%	6%	8%	
น้ำมันถั่วเหลือง	25.7	23.4	26.7	26.1	25.48
น้ำมันปาล์ม	25.7	26.6	25	20.3	24.40
น้ำมันรำข้าว	25.7	24.5	28.5	31.8	27.63
ค่าเฉลี่ยปริมาณสารกระตุ้น	25.70	24.83	26.73	26.07	

CV=7.70%

LSD.01 (สิ่งทดสอบ) =4.58

LSD.01 (ชนิดสารกระตุ้น)= 2.29



ภาพที่ 1.7 ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของส่วนที่เป็นฟรุตติงบอดีของเห็ดแครงที่เจริญบนก้อนขี้เลื่อยผสมสารกระตุ้นคือน้ำมันพืช 3 ชนิด คือ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม และ น้ำมันรำข้าว หลังเปิดดอก 14 วัน

จากการเปรียบเทียบปริมาณ β -glucan ของฟรุติงบอดีของเชื้อเห็ดแครงที่เจริญบนก้อนซีเลี่ยมผสมน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ ในปริมาณต่าง ๆ (ตารางที่ 1.3 และตารางผนวกที่ 1.3) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .01 ทั้งสิ่งทดลองและชนิดของสารกระตุ้น (ชนิดน้ำมันพืช) โดยเฉพาะน้ำมันรำข้าวให้ปริมาณ β -glucan ในฟรุติงบอดีของเห็ดแครงสูงสุด ส่วนระดับน้ำมันที่ใสไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่แนวโน้มที่ให้ปริมาณ β -glucan สูงสุดคือ น้ำมันรำข้าว 8 %

2.3 การเพาะเลี้ยงเห็ดการบูรบนธัญพืช

เพาะเลี้ยงเห็ดการบูรบนธัญพืช 4 ชนิด คือ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีหยด ข้าวหอมนิล และข้าวโพด โดยใช้เปลือกผลไม้อบบดเป็นผงละเอียด 3 ชนิด เป็นสารกระตุ้นการสร้าง triterpenoid ได้แก่ เปลือกลิ้นจี่ เปลือกมังคุด และเปลือกเงาะ โดยผสม 10 % กับธัญพืช และไม่ใส่สารกระตุ้นเป็น control ซึ่งเชื้อเจริญเติบโตจนเต็มเมล็ดธัญพืชภายในกี่วันนั้นเลือกจากวันที่เชื้อเจริญเต็มขวามีจำนวนขวามากที่สุด (mode) ดังตารางที่ 1.4

ตารางที่ 1.4 เวลาที่เชื้อเห็ดการบูรเจริญเต็มขवादอาหารธัญพืช

ชนิดสารกระตุ้น ชนิดธัญพืช	เวลาเชื้อเจริญเต็มขवादอาหารธัญพืช (วัน)				เฉลี่ย
	ไม่ใส	ลิ้นจี่	มังคุด	เงาะ	
ข้าวโพด	27	28	32	31	29.50
สาลีหยด	37	35	35	30	34.25
บาร์เลย์	46	23	34	33	34.00
หอมนิล	28	28	27	31	28.50
เฉลี่ย	34.50	28.50	32	31.25	31.56

จากตารางที่ 1.4 จะได้ค่าเฉลี่ยที่เชื้อเจริญสูงสุดประมาณสัปดาห์ที่ 4 ถึงสัปดาห์ที่ 5 แต่เนื่องจาก triterpenoids จัดเป็น secondary metabolite ดังนั้นการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ คือ triterpenoids จึงเก็บตั้งแต่ใส่เชื้อวันแรก เมื่อเชื้อเจริญสูงสุดคือสัปดาห์ที่ 5 และหลังจากเชื้อเจริญสูงสุด 2-4 สัปดาห์ คือสัปดาห์ที่ 7 และสัปดาห์ที่ 9 นำตัวอย่างมาอบแห้งและบดเป็นผงส่งตรวจสารออกฤทธิ์คือ total triterpenoids ที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งได้ผลดังตารางที่ 1.5 ภาพที่ 1.8 และ 1.9

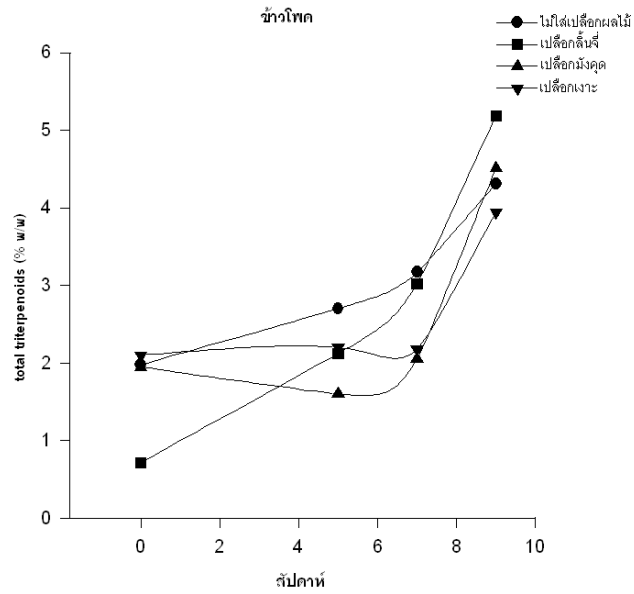
ตารางที่ 1.5 ปริมาณ total triterpenoids (%w/w) เริ่มต้นในวันแรกที่ใส่เชื้อในทุกสิ่งทดลอง

	ไมใส่	ลิ้นจี่	มังคุด	เงาะ	เงลิย
ข้าวโพด	1.98	0.72	1.95	2.1	1.69
สังข์หยด	1.73	0.57	1.81	1.76	1.47
บาร์เลย์	0.52	0.2	0.5	0.55	0.44
หอมนิล	1.78	0.61	2.05	1.9	1.59
เงลิย	1.50	0.53	1.58	1.58	

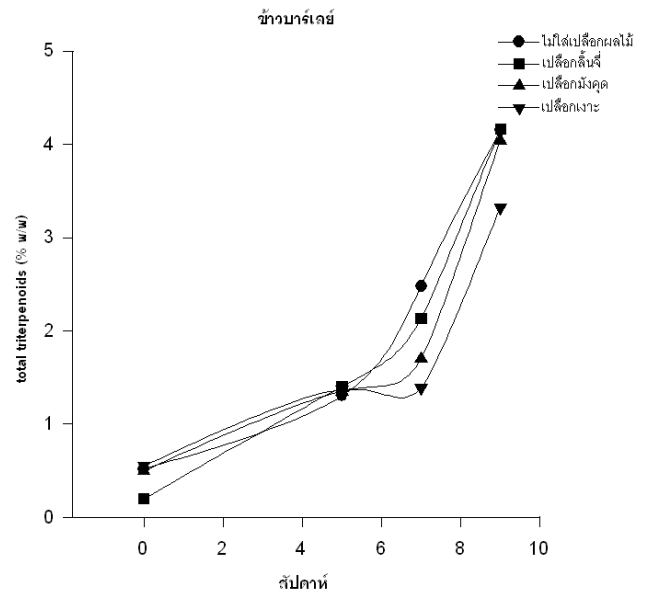
จาก**ตารางที่ 1.5** จะเห็นได้ว่าค่าเฉลี่ยปริมาณ total triterpenoids ในข้าวบาร์เลย์และในสิ่งทดลองที่ผสมเปลือกลิ้นจี่มีค่าต่ำกว่าในสิ่งทดลองอื่น ประมาณ 3 เท่า

จาก**ภาพที่ 1.8** และ **1.9** จะเห็นได้ว่าในวันแรกที่ใส่เชื้อปริมาณ total triterpenoids เริ่มต้นใกล้เคียงกันในทุกสิ่งทดลองยกเว้นในข้าวบาร์เลย์จะต่ำกว่าในธัญพืชชนิดอื่น ๆ และข้าวโพดที่ผสมเปลือกลิ้นจี่ พอถึงสัปดาห์ที่ 5 ซึ่งเป็นเวลาโดยเฉลี่ยที่เชื้อเจริญสูงสุด ปริมาณ total triterpenoids ยังมีค่าต่ำและไม่แตกต่างกันในทุกสิ่งทดลอง แต่เมื่อถึงสัปดาห์ที่ 7 จะเห็นได้ว่า ปริมาณ total triterpenoids ในข้าวโพดและข้าวบาร์เลย์ที่ผสมเปลือกลิ้นจี่และเปลือกมังคุดมีแนวโน้มสูงขึ้นกว่าสิ่งทดลองอื่น ๆ ทั้ง ๆ ที่ปริมาณ total triterpenoids เริ่มต้นมีค่าต่ำกว่าสิ่งทดลองอื่น ๆ ดังนั้นจึงเลือกเก็บตัวอย่างเพื่อการบ่มที่เลี้ยงบนข้าวโพดและข้าวบาร์เลย์วิเคราะห์ปริมาณ total triterpenoids ต่อในสัปดาห์ที่ 9 ซึ่งพบว่าเชื้อเกิดการบ่มที่เลี้ยงบนข้าวโพดและข้าวบาร์เลย์ที่ถูกกระตุ้นด้วยเปลือกลิ้นจี่และเปลือกมังคุดมีปริมาณ total triterpenoids สูงกว่าที่ไม่ได้ผสมเปลือกผลไม้อย่างชัดเจน และสูงขึ้นกว่าสัปดาห์ที่ 7 ประมาณ 2 เท่า ปริมาณ total triterpenoids อาจยังคงสูงขึ้นไปอีกเพราะยังไม่มีแนวโน้มจะลดลงซึ่งการทดลองนี้ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ต่อด้วยเหตุผลจำเป็นบางประการ แต่การทดลองของ Yang, F-C, *et al.* (2013b) ได้ใช้เปลือกผลไม้ของพืชตระกูล citrus ทดลองกระตุ้นการสร้าง triterpenoids ของเชื้อ *Antrodia cinnamomea* แบบ solid-state ในงานอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า grapefruit peel สามารถเพิ่มปริมาณ crude triterpenoids ได้สูงเป็น 4 เท่าของ control ภายใน 30 วัน คือมีปริมาณ crude triterpenoids เท่ากับ 47.10 mg/g DW ในขณะที่ control มีเพียง 9.66 mg/g DW และมี triterpenoids มากชนิดกว่าด้วย ดังนั้นในการทดลองนี้จึงนำข้อมูลในสัปดาห์ที่ 7 และสัปดาห์ที่ 9 มาวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ ดัง**ตารางที่ 1.6** และ **1.7 ตารางผนวกที่ 1.4** และ **1.5 ภาพที่ 1.10** และ **1.11** ตามลำดับ

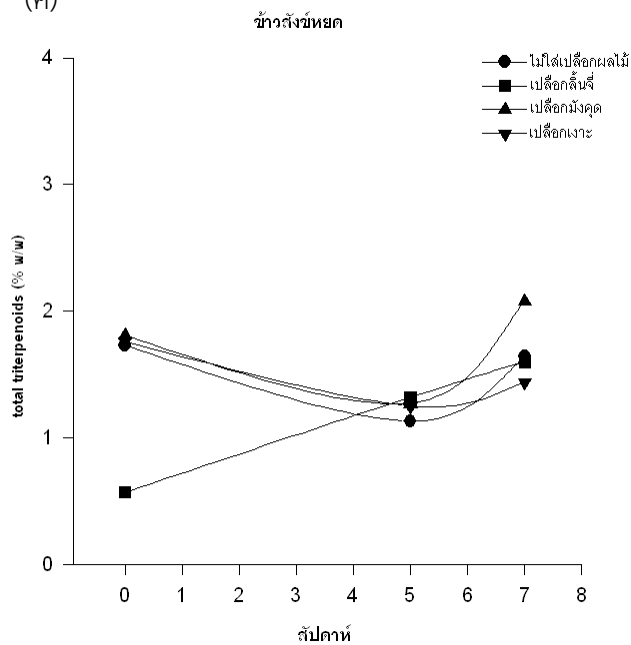
(ก)



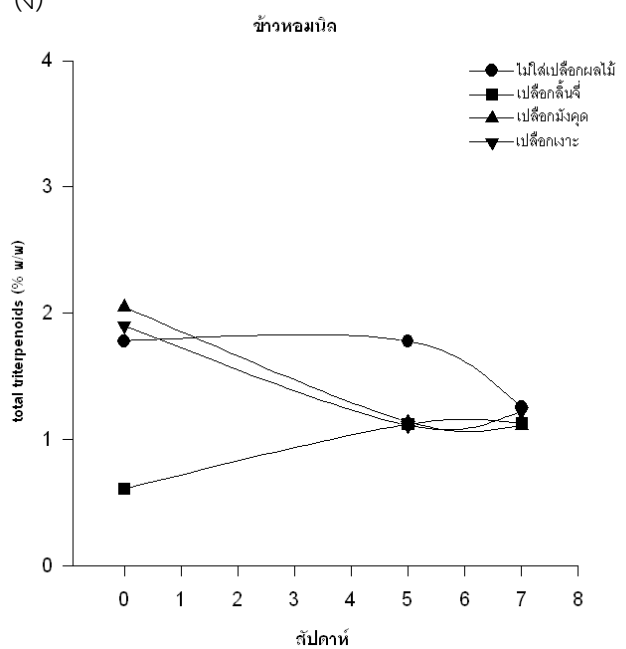
(ข)



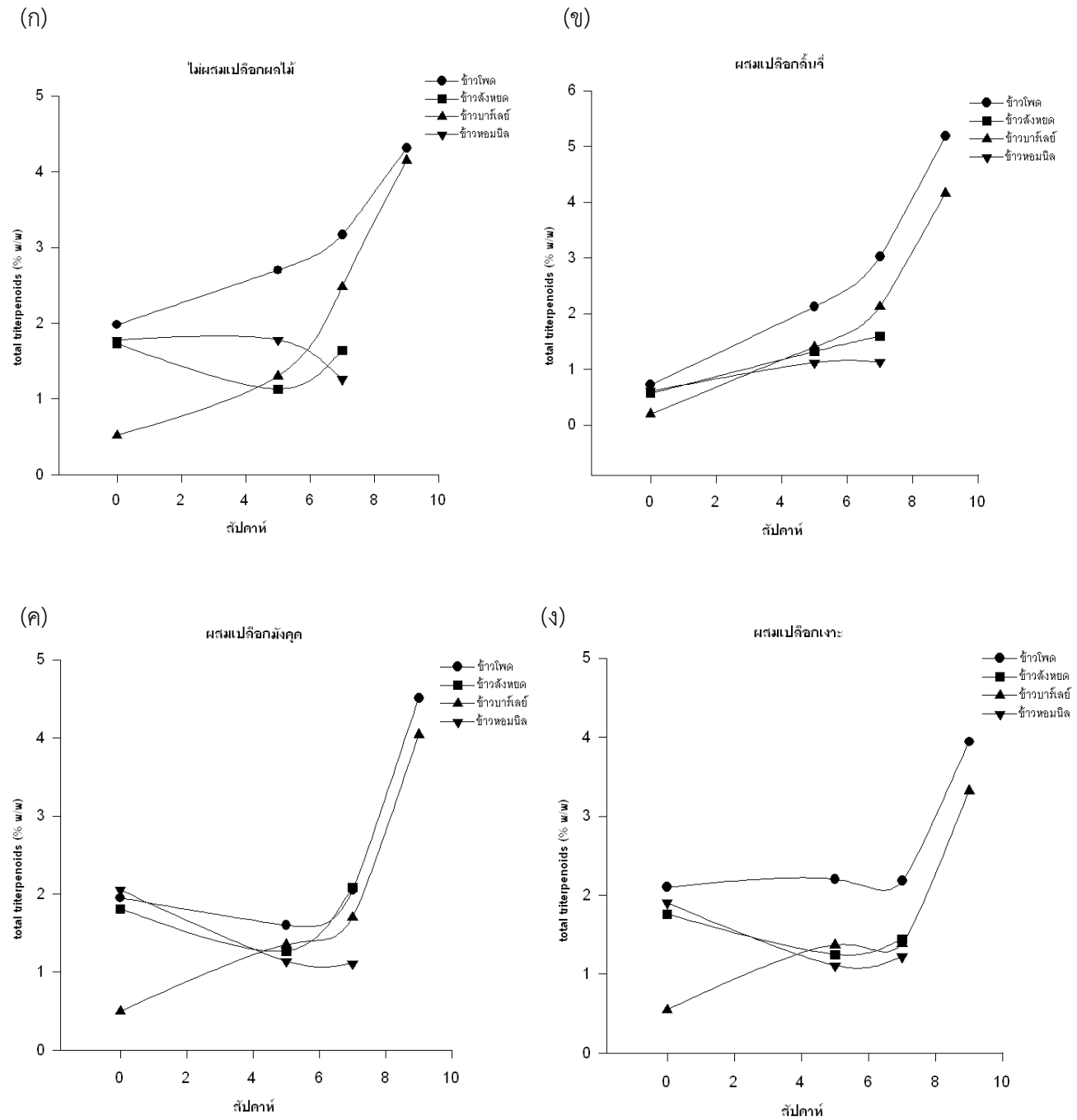
(ค)



(ง)



ภาพที่ 1.8 ปริมาณ total triterpenoids (% w/w) ของเส้นใยเกิดการบูรที่เจริญบนธัญพืช ก. ข้าวโพด ข. ข้าวสังข์หยด ค. ข้าวบาร์เลย์ ง. ข้าวหอมมะลิ ที่ไม่ผสมและผสมสารเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ



ภาพที่ 1.9 ปริมาณ total triterpenoids (% w/w) ของเส้นใยเกิดการบวมที่เจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ที่ ก. ไม่ผสมเปลือกผลไม้ ข. ผสมเปลือกกล้วย ค. ผสมเปลือกมังคุด ง. ผสมเปลือกเงาะ

ตารางที่ 1.6 ปริมาณ total triterpenoids ของเส้นใยเห็ดการบูรเจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ที่ผสมและไม่ผสมสารกระตุ้นคือเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่อายุ 7 สัปดาห์

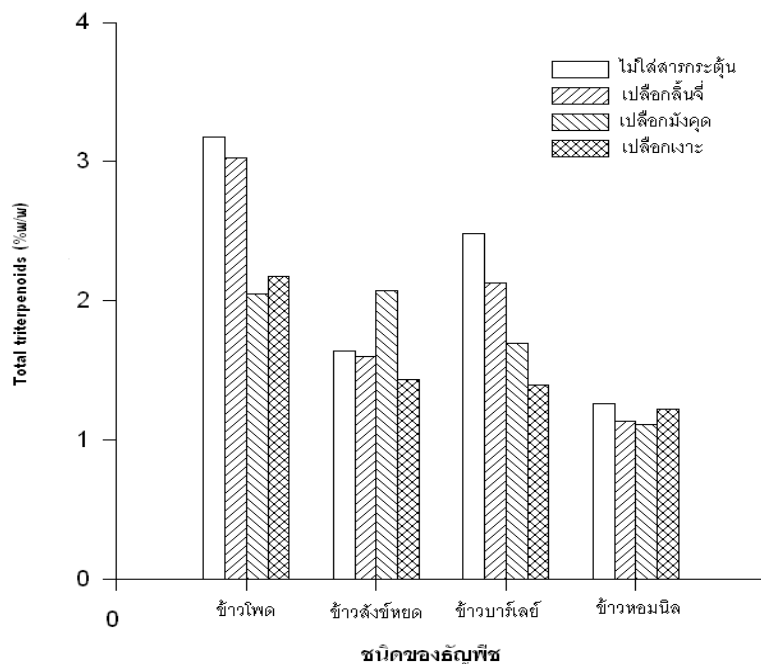
ชนิดสารกระตุ้น ชนิดธัญพืช	ปริมาณ total triterpenoids (%w/w)				ค่าเฉลี่ยชนิด
	ไม่ใส่	เปลือกลิ้นจี่	เปลือกมังคุด	เปลือกเงาะ	ธัญพืช
ข้าวโพด	3.17	3.02	2.05	2.18	2.61
สังข์หยด	1.64	1.60	2.08	1.44	1.69
บาร์เลย์	2.48	2.13	1.70	1.39	1.92
หอมนิล	1.26	1.13	1.11	1.22	1.18
ค่าเฉลี่ยชนิดสารกระตุ้น	2.14	1.97	1.73	1.56	

CV=1.88%

LSD.01 (สิ่งทดลอง) =0.0783

LSD.01 (ชนิดธัญพืช)= 0.0391

LSD.01 (ชนิดสารกระตุ้น)= 0.0391



ภาพที่ 1.10 ปริมาณ total triterpenoids (%w/w) ของเส้นใยเห็ดการบูรที่เจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ที่ผสมและไม่ผสมสารกระตุ้นคือเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่อายุ 7 สัปดาห์

จากการเปรียบเทียบปริมาณ total triterpenoids ที่พบในสัปดาห์ที่ 7 ของการเจริญของเชื้อเห็ดการบูร (ตารางที่ 1.6 ตารางผนวกที่ 1.4 และภาพที่ 1.10) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .01 ทั้ง ชนิดของธัญพืชและชนิดของสารกระตุ้นที่ใช้ คือ เปลือกผลไม้ โดยธัญพืชที่พบ total triterpenoids สูงสุด คือ ข้าวโพด รองลงมาคือข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี และข้าวหอมมะลิ ตามลำดับ ส่วนการผสมเปลือกผลไม้เป็นสารกระตุ้นการสร้าง total triterpenoids กลับพบปริมาณ total triterpenoids ต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .01 ในธัญพืชทุกชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองที่ไม่ใส่สารกระตุ้น

ตารางที่ 1.7 ปริมาณ total triterpenoids ของเส้นใยเห็ดการบูรเจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ผสมและไม่ผสม สารกระตุ้นคือเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่อายุ 9 สัปดาห์

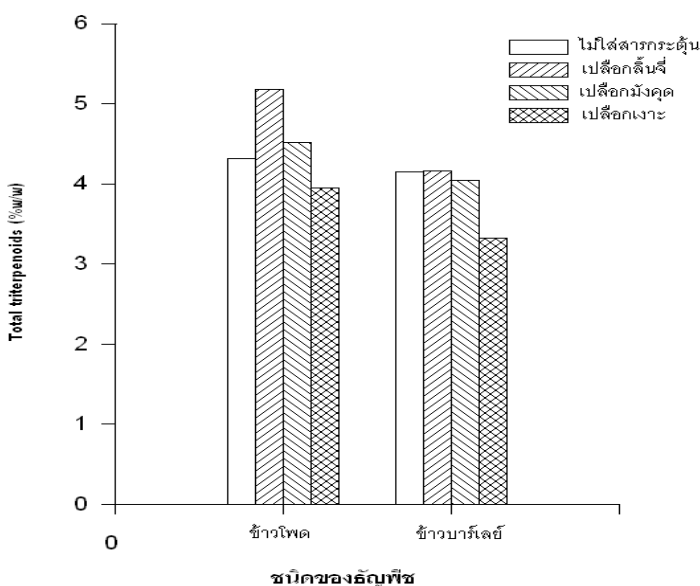
ชนิดสารกระตุ้น ชนิดธัญพืช	ปริมาณ total triterpenoids (%w/w)				ค่าเฉลี่ยชนิด ธัญพืช
	ไม่ใส่	เปลือกส้มจี	เปลือกมังคุด	เปลือกเงาะ	
ข้าวโพด	4.31	5.18	4.51	3.94	4.49
บาร์เลย์	4.15	4.16	4.04	3.32	3.92
ค่าเฉลี่ยชนิดสารกระตุ้น	4.23	4.67	4.28	3.63	

CV=2.96%

LSD.01 (สิ่งทดลอง) =0.3023

LSD.01 (ชนิดธัญพืช)= 0.1512

LSD.01 (ชนิดสารกระตุ้น)= 0.2138



ภาพที่ 1.11 ปริมาณ total triterpenoids (%w/w) ของเส้นใยเห็ดการบูรที่เจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ที่ผสมและไม่ผสมสารกระตุ้นคือเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่อายุ 9 สัปดาห์

จากการเปรียบเทียบปริมาณ total triterpenoids ที่พบในสัปดาห์ที่ 9 ของการเจริญของเชื้อเห็ดการบูร (ตารางที่ 1.7 ตารางผนวกที่ 1.5 และภาพที่ 1.11) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .01 ทั้ง ชนิดของธัญพืชและชนิดของสารกระตุ้นที่ใช้ คือ เปลือกผลไม้ โดยธัญพืชที่พบ total triterpenoids สูงสุด คือ ข้าวโพด ซึ่งมีมากกว่าบาร์เลย์ ส่วนการผสมเปลือกผลไม้เป็นสารกระตุ้นการสร้าง total triterpenoids พบว่า เปลือกกล้วยสามารถกระตุ้นให้เชื้อเห็ดการบูรสร้าง total triterpenoids ได้สูงกว่าที่ไม่ผสมเปลือกผลไม้อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .01 ทั้ง ๆ ที่สัปดาห์เริ่มต้นมีปริมาณ total triterpenoids เฉลี่ย ต่ำกว่าสิ่งทดลองอื่นประมาณ 3 เท่า (ตารางที่ 1.5)

ตอนที่ 3 ศึกษาต้นทุน ผลตอบแทนและระยะคืนทุนของฟาร์มต้นแบบ

ศึกษาทดลองผลิตเห็ดการบูรแบบ solid culture ในระดับฟาร์มขนาดย่อมจำนวน 3,000 ขวด โดยใช้เลี้ยงบนข้าวโพดผสมข้าวบาร์เลย์ในสัดส่วน 1:1 เป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยผลิตครั้งละ 1000 ขวด 3 ครั้งเก็บเกี่ยวผลผลิตโดยวิธีอบแห้งที่ 70 เซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน (การทดลองนี้ไม่ได้ทำแห้งโดยวิธีฟรีซได (freeze dried) เนื่องจากต้นทุนสูงคือเมื่อได้น้ำหนักแห้งแล้วราคากิโลกรัมละ 1,000 บาท) จากนั้นนำมาบดให้แห้งโดยใช้เครื่องปั่นหยาบและเครื่องปั่นละเอียดตามลำดับ บรรจุถุงอลูมิเนียมฟอยด์ขนาด 1 กิโลกรัม เพื่อรอจำหน่าย (ในการทดลองนี้ไม่ได้ทำการตรวจคุณภาพผลผลิตเห็ดผงแห้งโดยการตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์และเชื้อปนเปื้อน (total count) เนื่องจากต้นทุนสูงเช่นกันซึ่งค่าตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ตัวอย่างละ 3,000 บาท (อ้างอิงข้อมูลจากศูนย์วิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ส่วนการตรวจวิเคราะห์เชื้อปนเปื้อนทั้งหมดตัวอย่างละ 500 บาท อ้างอิงข้อมูลจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี) หาเชื้อปนเปื้อนเกินเกณฑ์มาตรฐานสำหรับวัตถุดิบในการทำอาหารเสริมสุขภาพ คือ 10^5 cfu จะต้องเพิ่มต้นทุนในการฉายรังสีเพื่อฆ่าเชื้อปนเปื้อนซึ่งราคาสำหรับการฉายรังสีประมาณกิโลกรัมละ 3,000-4,000 บาท ขึ้นอยู่กับปริมาณ)

ข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการทดลองนำมาคิดต้นทุน ผลตอบแทนและระยะคืนทุนของฟาร์ม ซึ่งข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการคิดต้นทุนและผลตอบแทนการผลิตเห็ดการบูรแบ่งการวิเคราะห์ได้ดังตารางผนวกที่ 1.6-1.10

สรุปต้นทุนและผลตอบแทนจากการผลิตเห็ดการบูรผง

ในการผลิตเห็ดการบูรผง มีต้นทุน และผลตอบแทน ตามตารางที่ 1.8

ตารางที่ 1.8 ต้นทุนและผลตอบแทนในการผลิตเห็ดการบูรผง ในระยะเวลา 1 ปี

รายการ	มูลค่า
รายได้	
จากการขายเห็ดการบูรผง	4,032,000
ต้นทุน	
ต้นทุนคงที่	
- ค่าที่ดิน	500,000
- ค่าเสื่อมราคา	165,989.63
รวมต้นทุนคงที่	665,989.63
ต้นทุนผันแปร	
- วัตถุดิบทางตรง	123,115.40
- แรงงานทางตรง	159,120
- ค่าใช้จ่ายในการผลิต	1,002,000
- ค่าเสียโอกาสเงินลงทุน	153,482.71
รวมต้นทุนผันแปร	1,437,718.11
รวมต้นทุนทั้งหมด	2,103,707.74
กำไรสุทธิ	1,928,292.26
อัตราผลตอบแทนการลงทุน (กำไรสุทธิ/ต้นทุนรวม) × 100	91.66 %

จากตารางที่ 1.8 พบว่า มีรายได้จากการผลิตเห็ดการบูรผง เท่ากับ 4,032,000 บาท มีต้นทุนคงที่ เท่ากับ 665,989.63 บาท ต้นทุนผันแปร เท่ากับ 1,437,718.11 บาท ต้นทุนทั้งหมดเท่ากับ 2,103,707.74 บาท มีกำไรสุทธิเท่ากับ 1,928,292.26 บาท และมีอัตราผลตอบแทนการลงทุน เท่ากับ 91.66%

และเมื่อพิจารณาในแง่ ระยะคืนทุน (Payback period) ซึ่งได้แก่ ระยะเวลาที่ผลตอบแทนสุทธิจากการดำเนินงานมีค่าเท่ากับค่าลงทุนของโครงการนั้น โครงการผลิตเห็ดการบูร มีระยะเวลาคืนทุน ตามตารางที่ 1.9

ตารางที่ 1.9 แสดงค่าใช้จ่าย รายได้ และผลตอบแทนสุทธิของการผลิตเห็ดการบูร

ปี	ค่าลงทุน	ค่าใช้จ่าย ดำเนินการ	รายได้	ผลตอบแทนสุทธิ
ปีที่ 0	5,020,244	-	-	-
ปีที่ 1		1,437,718.11	4,032,000	2,594,281.89
ปีที่ 2		1,480,849.65	4,215,960	2,672,110.35
ปีที่ 3		1,525,275.14	4,277,548.80	2,752,273.66
ปีที่ 4		1,571,033.40	4,405,875.26	2,834,841.87
ปีที่ 5		1,618,164.40	4,538,051.52	2,919,887.12
รวม	5,020,244	7,633,040.70	21,406,435.59	13,773,394.88
ผลตอบแทนสุทธิเฉลี่ยต่อปี				2,754,678.98

จากตารางที่ 1.9 พบว่า มีค่าลงทุน เท่ากับ 5,020,244 บาท มีค่าใช้จ่ายดำเนินการ เท่ากับ 1,507,769.90 บาท มีรายได้ เท่ากับ 4,032,000 บาท มีผลตอบแทนสุทธิเท่ากับ 2,594,281.89 บาท ในปีที่ 1 ซึ่งเป็นปีฐาน โดยใช้อัตราเพิ่มขึ้นร้อยละ 3 ซึ่งใช้เกณฑ์ของภาวะเงินเฟ้อในปัจจุบันเป็นเกณฑ์ในการประมาณการ ค่าใช้จ่ายและรายได้ ในปีต่อ ๆ ไป และ มีผลตอบแทนสุทธิจากการดำเนินงานเฉลี่ย 2,754,678.98 บาท ต่อปี และสามารถคำนวณหาระยะเวลาคืนทุนได้ คือ

$$\text{ระยะคืนทุน} = 5,020,244 / 2,754,678.98 = 1.82 \text{ ปี}$$

นั่นคือการผลิตเห็ดการบูรผง สามารถคืนทุนได้ใน ระยะเวลา 1 ปี 9 เดือน 25 วัน

และถ้าในกระบวนการผลิตเห็ดการบูรผง ใช้กระบวนการทำแห้งโดยการ freeze dry แทนวิธีการอบแห้งและกำจัดเชื้อปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์โดยวิธีการฉายรังสี ซึ่งจะทำให้มีต้นทุนในการผลิตสูงขึ้น คือ มีต้นทุนผันแปร เท่ากับ 3,057,368.96 บาท ต้นทุนคงที่ เท่ากับ 658,369.63 บาท ต้นทุนทั้งหมด เท่ากับ 3,715,738.59 บาท มีรายได้เท่ากับ 4,032,000 บาท กำไรสุทธิ เท่ากับ 316,261.41 บาท คิดเป็นอัตราผลตอบแทนต่อการลงทุนเท่ากับ 8.51 % (ตารางที่ 1.10) และสามารถคืนทุนได้ในระยะเวลา 4 ปี 8 เดือน 23 วัน (ตารางที่ 1.11)

ตารางที่ 1.10 แสดงต้นทุนและผลตอบแทนในการผลิตเห็ดการบูรผง ในระยะเวลา 1 ปี

รายการ	มูลค่า
รายได้	
จากการขายเห็ดการบูรผง	4,032,000
ต้นทุน	
ต้นทุนคงที่	
- ค่าที่ดิน	500,000
- ค่าเสื่อมราคา	158,369.63
รวมต้นทุนคงที่	658,369.63
ต้นทุนผันแปร	
- วัตถุดิบทางตรง	122,905.40
- แรงงานทางตรง	143,370
- ค่าใช้จ่ายในการผลิต	2,520,000
- ค่าเสียโอกาสเงินลงทุน	271,093.56
รวมต้นทุนผันแปร	3,057,368.96
รวมต้นทุนทั้งหมด	3,715,738.59
กำไรสุทธิ	316,261.41
อัตราผลตอบแทนการลงทุน = (กำไรสุทธิ/ต้นทุนรวม) × 100 = (316,261.41 / 3,715,738.59) × 100 = 8.51 %	

ตารางที่ 1.11 แสดง ค่าลงทุน ค่าใช้จ่าย รายได้ และผลตอบแทนสุทธิ และระยะเวลาคืนทุน ของการผลิตเห็ด การบูร

ปี	ค่าลงทุน	ค่าใช้จ่าย ดำเนินการ	รายได้	ผลตอบแทนสุทธิ
ปีที่ 0	4,895,244.00	-	-	-
ปีที่ 1		3,057,368.96	4,032,000	974,631.04
ปีที่ 2		3,149,090.03	4,152,960	1,003,869.97
ปีที่ 3		3,243,562.73	4,277,548.80	1,033,986.07
ปีที่ 4		3,340,869.61	4,405,875.26	1,065,005.65
ปีที่ 5		3,441,095.70	4,538,051.52	1,096,955.82
รวม	4,895,244.00	16,231,987.03	21,406,435.59	5,174,448.56
ผลตอบแทนสุทธิเฉลี่ยต่อปี = $5,174,448.56 / 5 = 1,034,889.71$				
ระยะเวลาคืนทุน = $4,895,244 / 1,034,889.71 = 4.73$ ปี				

สำหรับการผลิตเห็ดแครงในประเทศไทยยังใช้วิธีการผลิตบนก้อนขี้เลื่อยและจำหน่ายในภาพของดอกเห็ด ซึ่งงานวิจัยนี้ไม่ได้ทำการเก็บข้อมูลเชิงลึกของฟาร์มต่าง ๆ เนื่องจากไม่ได้อยู่ในแผนการทดลอง แต่มีข้อมูลจาก ฟาร์มบ้านสวนเห็ดจันทบุรี ดังนี้ ต้นทุนของก้อนขี้เลื่อยราคาก้อนละ 6 บาท ก้อนขี้เลื่อย 1 ก้อนเก็บผลผลิตได้ 3 ครั้ง ครั้งที่ 1 ได้เห็ดสดประมาณ 100 กรัม ครั้งที่ 2 ได้เห็ดสดประมาณ 5 กรัม ครั้งที่ 3 ได้เห็ดสดประมาณ 5 กรัม ราคาขายหน้าฟาร์ม กิโลกรัมละ 150 บาท ใช้เวลาตั้งแต่หยอดเชื้อจนสามารถเก็บดอกเห็ดขายประมาณ 12-15 วัน ดังนั้นก้อนเห็ดแครง 1 ก้อน สามารถทำรายได้ 23.25 บาท ซึ่งเกษตรกรรายย่อยสามารถซื้อก้อนเห็ดไปเปิด ดอกจำหน่ายได้ง่ายกว่าที่จะต้องมาลงทุนเครื่องมือและอุปกรณ์ในการผลิตก้อนเชื้อเอง เพียงแต่ลงทุนแค่โรงเรือน เปิดดอกเท่านั้น

ถ้าต้องการพัฒนากระบวนการผลิตเห็ดแครงโดยผสมน้ำมันรำข้าว 8% เพื่อกระตุ้นการสร้าง β -glucan ตามผลการวิจัยครั้งนี้ จะทำให้ต้นทุนต่อก้อนเพิ่มขึ้นเป็นก้อนละประมาณ 6.60 บาท อย่างไรก็ตามผู้บริโภคเห็ด แครงยังไม่ได้ให้ความสำคัญต่อสารออกฤทธิ์ในเห็ดเท่าใด ถ้าสามารถกระตุ้นให้ผู้บริโภคเห็นความสำคัญต่อปริมาณ สารออกฤทธิ์ในเห็ดได้ จะทำให้เกษตรกรผู้ผลิตสามารถจำหน่ายเห็ดได้ในราคาที่สูงขึ้น

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การศึกษากระบวนการผลิตเห็ดสมุนไพรในเชิงพาณิชย์ เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสารออกฤทธิ์ของเห็ดสมุนไพรในการเลี้ยงแบบ solid culture และศึกษาต้นทุน ผลตอบแทน และระยะคืนทุน ในการผลิตเห็ดสมุนไพรในเชิงพาณิชย์นั้น ได้ทำการรวบรวมและคัดเลือก fruiting body ของเชื้อเห็ดสมุนไพรกลุ่มที่สร้างสารออกฤทธิ์ประเภท β -glucan สูง ได้แก่ เห็ดแครง (*Shizophyllum commune* Fr.) และเห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) จากแหล่งเพาะเลี้ยงและแหล่งธรรมชาติชนิดและ 3 แหล่ง พบว่าเห็ดแครงและเห็ดหัวลิงจากท่าใหม่ (S1) ให้ค่า total polysaccharide เท่ากับ 5.16 ± 0.14 และ 3.75 ± 0.17 (%w/w) ตามลำดับ และได้ทำการรวบรวมและคัดเลือก fruiting body ของเชื้อเห็ดสมุนไพรกลุ่มที่สร้างสารออกฤทธิ์ประเภท triterpenoid สูง ได้แก่ เห็ดการบูรไต้หวัน (*Antrodia cinnamomea*) และเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) พบว่าเห็ดการบูรไต้หวันของฟาร์มมิสเตอร์เหอให้ค่า total triterpenoid สูงที่สุดคือ 2.43 ± 0.04 (%w/w) ส่วนเห็ดถั่งเช่าสีทองให้ค่า total triterpenoid เท่ากับ 2.10 ± 0.03 (%w/w) จึงนำเชื้อเห็ดทั้งสองชนิดมาทดลองเลี้ยงแบบ solid culture เพื่อกระตุ้นให้มีการสร้างสารออกฤทธิ์สูงขึ้นด้วยน้ำมันพืชสำหรับเห็ดแครงและเปลือกผลไม้สำหรับเห็ดการบูรบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ และบนก้อนขี้เลื่อย (เฉพาะเห็ดแครง).วางแผนการทดลองแบบ 4x4 factorial 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 25 ขวด) พบว่าเห็ดแครงเจริญได้ดีบนธัญพืชทุกชนิดที่นำมาทดลอง ได้แก่ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีหยาบ ลูกเดือย ข้าวฟ่าง ปลายข้าว และข้าวโพด โดยเจริญเต็มเมล็ดธัญพืชในขวดภายใน 4 วัน นำเส้นใยที่เจริญบนธัญพืชไปอบแห้งและตรวจปริมาณ β -glucan ตามวิธีของ Megazyme พบว่าปริมาณ β -glucan ของเส้นใยเห็ดแครงที่เจริญบนข้าวบาร์เลย์ที่กระตุ้นด้วยน้ำมันปาล์มมีปริมาณ β -glucan สูงสุด คือ 68.9 (%w/w) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของ β -glucan ในวันที่ 7 ของการเจริญของเห็ดแครง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .01 ทั้งชนิดธัญพืชที่ใช้เลี้ยงและน้ำมันที่ใช้กระตุ้นการสร้าง β -glucan โดยธัญพืชที่พบปริมาณ β -glucan เฉลี่ยสูงสุด คือ 62.20 (%w/w) ยังคงเป็นข้าวบาร์เลย์ รองลงมาคือข้าวสาลีหยาบ ส่วนน้ำมันพืชที่กระตุ้นการสร้าง β -glucan ของเชื้อเห็ดแครงที่เจริญบนข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีหยาบ ลูกเดือย และข้าวโพด คือน้ำมันปาล์มและน้ำมันมะกอก ส่วนที่ทดลองกับปลายข้าว ข้าวฟ่างและข้าวโพด กลับยับยั้งการสร้างมากกว่า ส่วนการทดลองกระตุ้นการสร้าง β -glucan ของเห็ดแครงที่เจริญบนก้อน ขี้เลื่อยอายุ 14 วัน หลังเปิดดอก พบว่า fruiting body ที่เก็บจากก้อนที่ผสมน้ำมันรำข้าว 8 % มีปริมาณ β -glucan สูงสุด คือ 31.8 (%w/w) เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าน้ำมันรำข้าวสามารถกระตุ้นการสร้าง β -glucan ได้ดี โดยค่าเฉลี่ยของปริมาณ β -

glucan สูงสุดเท่ากับ 27.63 % ซึ่งสูงกว่า control อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 แต่ไม่มีความแตกต่างของระดับน้ำมันพืชที่ผสมในก้อนเชื้อเลี้ยง สำหรับเห็ดการบูรเจริญได้ดีบนธัญพืชทุกชนิดที่นำมาทดลองได้แก่ ข้าวโพดข้าวสาลี หอย ข้าวบาร์เลย์ และข้าวหอมนิล โดยเจริญเต็มเมล็ดธัญพืชในขวดโดยเฉลี่ยประมาณ 32 วัน หรือประมาณ 5 สัปดาห์ นำเส้นใยที่เจริญบนธัญพืชไปอบแห้งและส่งตรวจปริมาณ total triterpenoids ที่ภาควิชาเภสัชวินิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พบว่าปริมาณ total triterpenoids ของเส้นใยเห็ดการบูรที่เจริญบนข้าวโพดผสมเปลือกถั่วที่อายุ 9 สัปดาห์ มีปริมาณ total triterpenoids สูงสุด คือ 5.18 (%w/w) มีความแตกต่างของชนิดธัญพืชที่ใช้เลี้ยงและชนิดของเปลือกผลไม้ที่ใช้กระตุ้นสารออกฤทธิ์ที่ระดับนัยสำคัญ 0.01 โดยธัญพืชที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเห็ดการบูรคือข้าวโพด และเปลือกผลไม้ที่ใช้กระตุ้นการสังเคราะห์ triterpenoids ได้ดีคือเปลือกถั่ว ส่วนการศึกษาต้นทุน ผลตอบแทนและระยะคืนทุนของฟาร์มต้นแบบขนาดย่อม จำนวน 3,000 ขวด โดยใช้เลี้ยงบนข้าวโพดผสมข้าวบาร์เลย์ในสัดส่วน 1:1 เป็นระยะเวลา 2 เดือน เก็บเกี่ยวผลผลิตโดยวิธีอบแห้งที่ 70 เซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำมาบดให้แห้งโดยใช้เครื่องปั่นหยาบและเครื่องปั่นละเอียดตามลำดับ บรรจุถุงอลูมิเนียมฟอยด์ขนาด 1 กก. เพื่อจำหน่ายให้โรงงานแปรรูปต่อไป พบว่า ประมาณรายได้จากการผลิตเห็ดการบูรผง เท่ากับ 4,032,000 บาท มีต้นทุนคงที่ เท่ากับ 665,989.63 บาท ต้นทุนผันแปร เท่ากับ 1,437,717.11 บาท ต้นทุนทั้งหมดเท่ากับ 2,103,707.74 บาท ประมาณกำไรสุทธิเท่ากับ 1,928,292.26 บาท มีอัตราผลตอบแทนการลงทุน เท่ากับ 91.66 % และสามารถคืนทุนได้ใน ระยะเวลา 1 ปี 9 เดือน 25 วัน แต่ถ้ามมีการเปลี่ยนกระบวนการเก็บเกี่ยวผลผลิตจากการใช้วิธีอบแห้งมาเป็นการใช้วิธีการ freeze-dried และมีการกำจัดเชื้อปนเปื้อนในผลผลิตเพื่อให้ได้ตามมาตรฐานองค์การอาหารและยาด้วยวิธีการฉายรังสี จะทำให้ต้นทุนเพิ่มขึ้นทำให้อัตราผลตอบแทนต่อการลงทุนต่ำลงเหลือ 8.51 % ระยะคืนทุนนานขึ้นเป็น 4 ปี 8 เดือน 23 วัน ส่วนต้นทุนก้อนเชื้อเห็ดเห็นแครงราคาก่อนละ 6 บาท ให้ผลผลิตต่อก่อน 155 กรัม ภายใน 12-15 วัน ราคาเห็ดแครงสด กิโลกรัมละ 150 บาท จึงมีรายได้ต่อก่อน 23.25 บาทแต่ถ้าต้องการพัฒนากระบวนการผลิตเห็ดแครงโดยการผสมน้ำมันรำข้าว 8% เพื่อกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ให้เพิ่มขึ้นจะทำให้ต้นทุนต่อก่อนเพิ่มขึ้นประมาณก่อนละ 60 สตางค์ และถ้าสามารถกระตุ้นให้ผู้บริโภคเห็นความสำคัญของสารออกฤทธิ์ในเห็ดได้ จะเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกษตรกรสามารถขายเห็ดได้ในราคาที่สูงขึ้น การเลี้ยงเชื้อเห็ดสมุนไพรโดยคำนึงถึงปริมาณของสารออกฤทธิ์เป็นสำคัญ นับว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงภาพแบบของการเพาะเลี้ยงเห็ดที่ต้องเพาะเลี้ยงเพื่อให้เกิด fruiting body ที่สมบูรณ์เพื่อจำหน่ายให้ได้ราคาเท่านั้น กรณีการเพาะเลี้ยงเห็ดการบูรสามารถย่นเวลาการเพาะเลี้ยงได้อีกด้วย เพราะสามารถกระตุ้นให้สร้างสารออกฤทธิ์ในระยะที่เป็นเส้นใยบนธัญพืชได้เลยภายในเวลา 2-3 เดือน แต่ถ้าให้เจริญเป็น fruiting body ต้องใช้เวลาถึง 2-3 ปี เป็นต้น

ข้อเสนอแนะ

1. ในประเทศไทยยังมีเห็ดอีกหลายชนิดนอกจากเห็ดแครงที่สร้างสารออกฤทธิ์ที่มีประโยชน์ในเชิงสมุนไพรที่ควรนำมาวิจัยและพัฒนาต่อไป
2. การผลิตเห็ดสมุนไพรในประเทศไทยในเชิงพาณิชย์มักเน้นไปที่การจัดการฟาร์มที่ดีแล้วได้ดอกเห็ดที่สมบูรณ์มากกว่าที่จะเปรียบเทียบปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่มีในเห็ดนั้น ๆ เนื่องจากการผลิตสารออกฤทธิ์ของเห็ดขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ ชนิดของเห็ด อายุของเห็ด ปัจจัยภายนอก เช่น อาหารที่ใช้เลี้ยง อุณหภูมิ ความชื้น ฯลฯ ทำให้เมื่อนำไปผลิตเป็นอาหารเสริมสุขภาพจึงได้ผลบ้างไม่ได้ผลบ้าง ดังนั้นภาครัฐควรส่งเสริมให้มีหน่วยงานกลางที่สามารถรับรองมาตรฐานของการผลิตเห็ดสมุนไพรในเชิงพาณิชย์ในเชิงปริมาณของสารออกฤทธิ์ที่นำมาใช้ประโยชน์ทางยา กำหนดมาตรฐานว่าการผลิตต้องได้สารออกฤทธิ์ไม่ต่ำกว่าเท่าไร ซึ่งจะมีผลทำให้ธุรกิจเกี่ยวกับอาหารเสริมสุขภาพจากเห็ดสมุนไพรมีความน่าเชื่อถือมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- กองบรรณาธิการ, 2556. เกษตรมหัศจรรย์ มหัศจรรย์พืชพันธุ์ธัญญาหาร “85 สายพันธุ์ข้าว คุณค่าพืชพันธุ์ธัญญาหาร”. ว.เทคโนโลยีชาวบ้าน 25(545)” แหล่งที่มา: <http://info.matichon.co.th/techno/techno.php?srctag=05036150256&srcday=&search=no> (22 สค.2558)
- ธัญญา ทะพิงค์แก. 2555. การเพาะเห็ดถั่งเช่าเป็นอาชีพ. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ. บริษัท ทุโพธิ์พรีนติ้ง จำกัด. 94 น.
- นิรนาม. 2558. ผักพื้นบ้านและไม้ผลพื้นเมืองภาคใต้: เห็ดแครง. แหล่งที่มา: <http://natres.psu.ac.th/projectsite/webpage/7hedklang-detail.htm> (31 ก.ค.2558)
- นิรนาม, มมป. (a) แหล่งที่มา: <https://en.wikipedia.org/wiki/Barley>. (22 ส.ค. 2558)
- นิรนาม, มมป. (b) แหล่งที่มา: <http://kmricethailand.com/?p=1611>. (22 สค.2558)
- บริษัท สีนิลไรซ์ จำกัด. มมป. มหัศจรรย์ความงามจากข้าว แหล่งที่มา: <http://www.sininrice.com/insightsub1.html> (22 สค.2558)
- ศูนย์เรียนรู้บ้านเห็ด. 2556” เห็ดการบูร. แหล่งที่มา.: http://banhed291.blogspot.com/p/blog-page_24.html. (21ก.ย. 2556).
- สมยศ กิตติมั่นคง. 2554. รักษามะเร็งด้วยเห็ด. กรุงเทพฯ. แสงดาว. 2554. 144 น.
- สุนันทา ทองทา. (2006). องค์ประกอบและคุณสมบัติของแป้งลูกเดี๋ยเพื่อเป็นส่วนผสมอาหารเพื่อสุขภาพ. แหล่งที่มา: http://ird.sut.ac.th/ird_engine/view_detail.php?mode=research&id=126. (22 สค. 2558)
- อภิชาติ ศรีสะอาด และ อัมพา คำวงษา. 2556. 8 เห็ดเป็นยา & เห็ดเศรษฐกิจ (ทำเงิน). พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ : นาคา อินเทอร์เน็ตเดีย, 2556. 136 น.
- เอกราช บำรุงพืชน์. 2554. “เห็ด” เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ด้วยคุณค่าจากธรรมชาติ. แหล่งที่มา: <http://childrencancerfund.org/h10.html>. (7 ก.ย.2556)
- Ifarm Learning Center. 2513. เห็ดแครง. แหล่งที่มา : http://www.ifarm.co.th/index.php?option=com_content&view=article&id=187:2013-02-21-06-55-58&catid=29:2013-02-10-10-42-21&Itemid=357 (23 เม.ย.2557)
- Chiang, C-C and B-H Chiang. 2013. Processing characteristics of submerged fermentation of *Antrodia cinnamomea* in airlift bioreactor. Biochemical Engineering Journal.Vol. 73 : 65–71

- FRYNN.com, มมป. ข้าวโพด”สรรพคุณและประโยชน์ของข้าวโพดหวาน 44 ข้อ” แหล่งที่มา:
[http://frynn.com/](http://frynn.com/%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7%E0%B9%82%E0%B8%9E%E0%B8%94/)
 94/. (22 สค.2558)
- Hseu, Y-C, S-C Chen, H-C Chen, J-W Liao, H-L Yang. 2008. *Antrodia camphorata* inhibits proliferation of human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. Food and Chemical Toxicology. Vol. 46 (8) : 2680–2688.
- Huang, H-C, C-C Liaw, H-L Yang, Y-C Hseu, H-T Kuo, Y-C Tsai, S-C Chien, S. Amagaya, Y. Chang, Y-H Kuo. 2012. Lanostanetriterpenoids and sterols from *Antrodia camphorata*. Phytochemistry. Vol. 84 : 177–183.
- Kuo, M-C, C-Y Chang, T-L Cheng, M-J Wu. 2008. Immunomodulatory effect of *Antrodia camphorata* mycelia and culture filtrate. Journal of Ethnopharmacology. Vol. 120 (2) : 196–203.
- Lee, I-H, R-L Huang, C-T Chen, H-C Chen, W-C Hsu, M-K Lu. 2002. *Antrodia camphorata* polysaccharides exhibit anti-hepatitis B virus effects. FEMS Microbiology Letters. Vol. 209 (1) : 61–65.
- Lin, E-S and S-C Sung. 2006. Cultivating conditions influence exopolysaccharide production by the edible Basidiomycete *Antrodia cinnamomea* in submerged culture. International Journal of Food Microbiology. Vol. 108 (2) : 182–187.
- Lin, E-S and Y-H Chen. 2007. Factors affecting mycelial biomass and exopolysaccharide production in submerged cultivation of *Antrodia cinnamomea* using complex media. Bioresource Technology. Vol. 98 (13) : 2511–2517.
- Liu, C-J, C-C Chiang, B-H Chiang. 2012. The elicited two-stage submerged cultivation of *Antrodia cinnamomea* for enhancing triterpenoids production and antitumor activity. Biochemical Engineering Journal. Vol. 64: 48–54.
- Liu, J-J, T-S Huang, M-L Hsu, C-C Chen, W-S Lin, F-J Lu, W-H Chang. 2004. Antitumor effects of the partially purified polysaccharides from *Antrodia camphorata* and the mechanism of its action. Toxicology and Applied Pharmacology. Vol. 201 (2), : 186–193

- Megazyme. มปป.: Enzymatic Yeast Beta-Glucan Kit Assay Kit แหล่งที่มา: <https://secure.megazyme.com/Beta-Glucan-Assay-Kit-Yeast-Mushroom>. (20 ตค.2558)
- Mau, J-L, P-N Huang, S-J Huang, C-C Chen. 2004. Antioxidant properties of methanolic extracts from two kinds of *Antrodia camphorata* mycelia. Food Chemistry. Vol. 86 (1) : 25–31.
- Meng, L-M, M-H Pai, J-J Liu, S-L Yeh. 2012. Polysaccharides from extracts of *Antrodia camphorata* mycelia and fruiting bodies modulate inflammatory mediator expression in mice with polymicrobial sepsis. Nutrition. Vol. 28(9):942–949.
- Sarni-Manchado, P.; Roux, E. le; Guernevé, C. le; Lozano, Y.; Cheynier, 2000. Phenolic composition of litchi fruit pericarp. Agricultural and Food Chemistry. 48 (12): 5995-6002.
- Shen, Y-C, C-J Chou, Y-H Wang, C-F Chen, Y-C Chou, M-K Lu. 2004. Anti-inflammatory activity of the extracts from mycelia of *Antrodia camphorata* cultured with water-soluble fractions from five different *Cinnamomum* species. FEMS Microbiology Letters. Vol. 231(1): 137–143.
- Shih, I-L, K. Pan, C Hsieh. 2006. Influence of nutritional components and oxygen supply on the mycelial growth and bioactive metabolites production in submerged culture of *Antrodia cinnamomea*. Process Biochemistry. Vol. 41 (5) : 1129–1135.
- Shu, C-H and M-Y Lung. 2004. Effect of pH on the production and molecular weight distribution of exopolysaccharide by *Antrodia camphorate* in batch cultures. Process Biochemistry. Vol. 39 (8) : 931–937.
- Shu, C-H and M-Y Lung. 2008. Effect of culture pH on the antioxidant properties of *Antrodia camphorata* in submerged culture. Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers. Vol. 39 (1) : 1–8.
- Yang, F-C, Y-H Yang, H-C Lu. 2013a. Enhanced antioxidant and antitumor activities of *Antrodia cinnamomea* cultured with cereal substrates in solid state fermentation. Biochemical Engineering Journal. Vol. 78 : 108–113.
- Yang, F-C, T-W Ma, Y-H Lee. 2013b. Reuse of citrus peel to enhance the formation of bioactive metabolite-triterpenoid in solid-state fermentation of *A. cinnamomea*. Biochemical Engineering Journal. Vol. 78 : 59–66.

- Yang, H-L, C-S Chen, W-H Chang, F-J Lu, Y-C Lai, C-C Chen, T-H Hseu, C-T Kuo, Y-C Hseu. 2006. Growth inhibition and induction of apoptosis in MCF-7 breast cancer cells by *Antrodia camphorate*. Cancer Letters.Vol. 231 (2) : 215–227.
- Yang, H-L, K-Y Lin ,Y-CJuan,K.J. Kumar, T.D.Way, P-C Shen, S-C Chen, Y-CHseu. 2013. The anti-cancer activity of *Antrodia camphorata* against human ovarian carcinoma (SKOV-3) cells via modulation of HER-2/neu signaling pathway. Institute of Nutrition, China Medical University, Taichung, Taiwan.แหล่งที่มา : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23619020>. (21 กย. 2556)
- Yeh, C-T, Y. K. Rao, C-J Yao, C-F Yeh, C-H Li, S-E Chuang, J. H.T. Luong, G-M Lai, Y-M Tzeng. 2009. Cytotoxic triterpenes from *Antrodia camphorata* and their mode of action in HT-29 human colon cancer cells. Cancer Letters.Vol. 285(1) : 73–79.
- Wikipedia. 2014. *Antrodia cinnamomea*. แหล่งที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/Antrodia_cinnamomea. (21 กย. 2556)

ภาคผนวก

(1) ภาพการทดลอง



ภาพผนวกที่ 1.1 เห็นแครกบนธัญพืชต่าง ๆ ที่ผสม elicitors คือ น้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ



ภาพผนวกที่ 1.2 การทดลองเพาะเห็ดเครงบนก้อนขี้เลื่อย ที่ผสม elicitors คือ น้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ



ภาพผนวกที่ 1.3 เห็นการบรูได้หัวบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ที่ผสม elicitors คือเปลือกผลไม้อบชนิดต่าง ๆ

(2) ตารางวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 1.1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) (V = ชนิดธัญพืชได้แก่ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี ข้าวสาลีหยาบ ลูกเดือย และข้าวโพด และ N=ชนิดสารกระตุ้นได้แก่ ไนโตรเจน น้ำมันพืช น้ำมันทานตะวัน น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะกอก ที่ทดสอบกับเห็ดแครงอายุ 7 วัน)

source of variation	df	SS	MS	
replications	2	2.77125	1.3856	<NS
Treatments	15	4217.75	281.18	>**
varieties (V)	3	3454.96	1151.7	>**
plant oil (N)	3	57.0975	19.032	>**
V x N	9	705.698	78.411	>**
error	30	93.8887	3.1296	
total	47	4314.41		

NS=ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

**=แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

ตารางผนวกที่ 1.2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) (V = ชนิดธัญพืชได้แก่ ข้าวฟ่าง ปลายข้าว และข้าวโพด และ N=ชนิดสารกระตุ้นได้แก่ ไนโตรเจน น้ำมันพืช น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันทานตะวัน ที่ทดสอบกับเห็ดแครงอายุ 7 วัน)

source of variation	df	SS	MS	
replications	2	0.68	0.34	<NS
Treatments	11	632.65	57.51	>**
varieties (V)	2	302.67	151.34	>**
plant oil (N)	3	102.59	34.20	>**
V x N	6	227.39	37.90	>**
error	22	38.64	1.76	
total	35	671.97		

NS=ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

**=แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

ตารางผนวกที่ 1.3 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) (V = ชนิดสารกระตุ้นได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว และ N=ปริมาณสารกระตุ้นได้แก่ ไม่ใส่น้ำมันพืช ใส่ 2% 6% และ 8% ที่ทดสอบกับก้อนขี้เลื่อยของเห็ดแครง)

source of variation	df	SS	MS	
replications	2	17.94	8.97	<NS
Treatments	11	249.56	22.69	>**
varieties (V)	2	64.71	32.36	>**
plant oil (N)	3	16.94	5.65	<NS
V x N	6	167.91	27.98	>**
error	22	87.10	3.96	
total	35	354.60		

NS=ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

**=แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

ตารางผนวกที่ 1.4 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) (V = ชนิดธัญพืชได้แก่ ข้าวโพด ข้าวสาลีหยาบ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวหอมนิล และ N=ชนิดสารกระตุ้นได้แก่ ไม่ใส่สารกระตุ้น ใส่เปลือกถั่วลิสง เปลือกมังคุด และเปลือกเงาะ ที่ทดสอบกับเห็ดการบูรอายุ 7 สัปดาห์)

source of variation	df	SS	MS	
replications	2	0.0791	0.0396	**
Treatments	15	18.3562	1.2237	**
varieties (V)	3	12.5998	4.1999	**
fruit peall (N)	3	2.3746	0.7915	**
V x N	9	3.3817	0.3757	**
error	30	0.0365	0.0012	
total	47	18.47		

**=แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

ตารางผนวกที่ 1.5 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) (V = ชนิดธัญพืชได้แก่ ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ และ N=ชนิดสารกระตุ้นได้แก่ ไมไล่สารกระตุ้น ใส่เปลือกถั่วลิสง เปลือกถั่วเหลือง และเปลือกงา ที่ทดสอบกับเห็ดการบูรอายุ 9 สัปดาห์)

source of variation	df	SS	MS	
replications	2	0.00	0.00	NS
Treatments	7	5.81	0.83	**
varieties (V)	1	1.95	1.95	**
fruit peel (N)	3	3.30	1.10	**
V x N	3	0.57	0.19	**
error	14	0.22	0.02	
total	23	6.03		

NS=ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

**=แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ .01

(3) การคิดต้นทุนและผลตอบแทนการผลิตเห็ดการบูร

ข้อมูลเกี่ยวกับต้นทุนการผลิตเห็ดการบูร แบ่งการวิเคราะห์ได้ดังนี้

๑. ค่าใช้จ่ายในการลงทุน ประกอบด้วย ที่ดิน ห้องปฏิบัติการ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินการ เพื่อคำนวณหาเงินลงทุนเริ่มแรกของกิจการ ตามตาราง

ตารางผนวกที่ 1.6 ค่าลงทุนเริ่มแรก

รายการ	มูลค่า
เครื่องกรองน้ำ	8,000.00
หม้อนึ่งความดัน	130,000.00
ตู้แช่แข็ง	80,000.00
เครื่องปั่นหยาบ	15,000.00
เครื่องปั่นละเอียด	18,000.00
เครื่องชั่งทอปโหลด	22,000.00

ตารางที่ผนวกที่ 1.6 (ต่อ)

รายการ	มูลค่า
รถเข็นสแตนเลส	11,000.00
ชั้นวางขวด	95,000.00
แอร์	25,000.00
เครื่องพ่นหมอก	14,000.00
เครื่องอบแห้ง	90,000.00
เครื่องซีลถุง	2,000.00
เครื่องดูดฝุ่น	2,000.00
ห้องปฏิบัติการ	4,000,000.00
เครื่องชั่งน้ำหนัก (ตาชั่งหยาบ)	870.00
เครื่องชั่งน้ำหนัก (ตาชั่งละเอียด)	220.00
หม้อ	760.00
เขียง	50.00
เตาแก๊สพร้อมถัง	3,000.00
ทัพพีใหญ่	3,000.00
ทัพพีเล็ก	3,000.00
กะละมัง	350.00
ถาดสแตนเลสเหลี่ยมแบน	350.00
บีกเกอร์ 100 มล	75.00
บีกเกอร์ 5000 มล	500.00
ช้อนตักสาร	125.00
พลาสติก 250 มล	100.00
พลาสติก 250 มล	14.00
กระบอกตวง 1000 มล	250.00
เข็มเขี่ยเชื้อ	25.00
ตะเกียงแอลกอฮอล์	125.00
เสื้อกราวน	1,500.00
ที่ดิน	500000
รวม	5,020,244

จากตารางผนวกที่ 1.6 พบว่า ค่าลงทุนเริ่มแรก มีค่าเท่ากับ 5,020,244 บาท

2. ต้นทุนในการผลิตเห็ดการบูร ประกอบด้วย วัตถุดิบทางตรง ค่าแรงงานทางตรง และค่าใช้จ่ายในการผลิต

2.1 วัตถุดิบ เป็นส่วนประกอบสำคัญมากที่สุดในการผลิต เนื่องจากเป็นส่วนประกอบหลัก วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตเห็ดการบูร รายละเอียดตามตารางผนวกที่ 7

ตารางผนวกที่ 1.7 แสดงต้นทุนวัตถุดิบในการผลิตเห็ดการบูรในระยะเวลา 1 ปี

รายการ	มูลค่า/บาท
ยาง	60.00
อลูมิเนียมฟอยด์	210.00
ผ้าเช็ดโต๊ะ	120.00
แมสปิดปาก	36.00
ไฟแช็ก	12.00
ถุงมือกันความร้อน	60.00
น้ำตาลทราย	792.00
มันฝรั่ง	840.00
วุ้นผง	924.00
แอลกอฮอล์ 95%	7,200.00
ข้าวโพด	37,440.00
ข้าวบาร์เลย์	56,160.00
นํ้ายาล้างจาน	30.00
สกอตไบร์ท	24.00
ถุงพลาสติกเย็น 14x22	24.00
ถุงอลูมิเนียมฟอยด์	16,128.00
สารดูดความชื้น	806.40
ปากกาเคมี	24.00
กล่องกระดาษสำหรับบรรจุ	720.00
กระดาษขาว	300.00
มีดหั่น	70.00
มีดปลอก	30.00
กระชอน	155.00
เหล็กแบนสำหรับแคะเห็ด	105.00

ตารางผนวกที่ 1.7 (ต่อ)

รายการ	มูลค่า/บาท
ตะกร้าพลาสติกสีเหลี่ยม	600.00
กรวยกรองพลาสติก	45.00
หมวก	200.00
รวม	123,115.40

จากตารางผนวกที่ 1.7 มีต้นทุนค่าวัสดุดิบทั้งหมด 123,115.40 บาท

2.2 ค่าแรงงาน หมายถึง ค่าจ้างหรือผลตอบแทนที่จ่ายให้แก่ลูกจ้าง หรือคนงานที่ทำหน้าที่ในการผลิต ซึ่งอาจจะจ่ายเป็นรายชั่วโมง รายวัน รายสัปดาห์ หรือ รายเดือน รายละเอียดตารางผนวกที่ 1.8

ตารางผนวกที่ 1.8 แสดงรายละเอียดค่าแรงงานในการผลิตเห็ดการบูร ในระยะเวลา 1 ปี

รายการ	มูลค่า/บาท
ค่าแรงงานกรอก ปั่น ซาวข้าวโพด นึ่ง	81,000.00
ค่าจ้างแรงงานทำหัวเชื้อ	7,974.00
ค่าจ้างแรงงาน แคะเห็ด	22,500.00
ค่าจ้างแรงงานป้อนหยาบ ปั่นแป้ง	15,750.00
ค่าจ้างแรงงานเชี่ยเชื้อลงอาหาร	31,896.00
รวม	159,120

จากตารางผนวกที่ 1.8 พบว่า ค่าแรงงานคนงานซึ่งประกอบด้วย ค่าแรงงาน กรอก ปั่น ซาวข้าวโพด นึ่ง เท่ากับ 81,000 บาท ค่าแรงงานแคะเห็ด เท่ากับ 7,974 บาท ค่าแรงงานป้อนหยาบ ปั่นแป้ง เท่ากับ 15,750 บาท และค่าแรงงานเชี่ยเชื้อลงอาหาร 31,896 บาท

2.3 ค่าใช้จ่ายในการผลิต หมายถึง ค่าใช้จ่ายในปัจจัยการผลิตที่ใช้ในกระบวนการผลิตเห็ดการบูร ได้แก่ ค่าน้ำ ค่าไฟฟ้า ค่าใช้จ่ายในการขาย และการบริหาร รายละเอียดตามตารางผนวกที่ 1.9

ตารางผนวกที่ 1.9 แสดงรายละเอียดค่าใช้จ่ายในการผลิต

รายการ	มูลค่า
ค่าน้ำ	120,000
ค่าไฟฟ้า	240,000
ค่าใช้จ่ายในการขาย	42,000
ค่าใช้จ่ายในการบริหาร	600,000
รวม	1,002,000

จากตารางผนวกที่ 1.9 พบว่ามีค่าน้ำเท่ากับ 120,000 บาท ค่าไฟฟ้า 240,000 บาท ค่าใช้จ่ายในการขาย 42,000 บาท และค่าใช้จ่ายในการบริหาร เท่ากับ 600,000 บาท

3. ข้อมูลเกี่ยวกับผลตอบแทนของการผลิตเห็ดการบูร ในการผลิตเห็ดการบูร มีรายได้ ตาม**ตารางผนวกที่ 1.10** (ประมาณราคาในประเทศของเห็ดการบูรผงกิโลกรัมละ 3,000 บาท)

ตารางผนวกที่ 1.10 แสดงรายได้จากการผลิตเห็ดการบูร

รายการ	มูลค่า
รายได้จากการขายเห็ดการบูรผง	4,032,000 บาท
รวม	4,032,000 บาท

จาก**ตารางผนวกที่ 1.10** พบว่า มีรายได้จากการขายเห็ดการบูรผง เท่ากับ 4,032,000 บาท

(4) ผลการวิเคราะห์อนุชีววิทยาของเชื้อเห็ด

Mycology Laboratory
113 Thailand Science Park, Paholyothin Road,
Klong 1, Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
Tel: +66-2-564-6700 ext 3202 Fax: +66-2-564-6707

BIOTEC
a member of NSTDA

รายงานผลการจำแนกจุลินทรีย์
IDENTIFICATION'S REPORT

ชื่อผู้ขอรับบริการ / Customer's name: <u>ดร.อมรรตน์ สุวรรณโพธิ์ศรี</u>	เลขที่ / No. : MY07-09
องค์กรและที่อยู่ / Institute and address: <u>สาขาวิทยาศาสตร์ประยุกต์และเทคโนโลยีชีวภาพ</u>	วันที่ได้รับตัวอย่าง / Sample receive date : 10 ก.ค.2558
คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม ม.เทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี	วันที่รายงานผล/ Report date: 2 ก.ย. 2558

ลำดับที่ No.	รหัสตัวอย่าง Sample No.	วิธีการจำแนกชนิด Method of identification	ผลการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ BLAST result	% ความเหมือน % similarity	หมายเหตุ Note
1	K	อนุชีววิทยา	<i>Taiwanofungus camphoratus</i>	99%	ITS5/ITS4
2	KT	อนุชีววิทยา	<i>Cordyceps militaris</i>	99%	ITS5/ITS4

หมายเหตุ *Taiwanofungus camphoratus* เป็น current name ของทั้ง *Antrodia cinnamomea* และ *Antrodia camphorata*

โปรดทำเครื่องหมาย ☒ ในช่อง ☐ ที่ต้องการ
เอกสารแนบ: ☒ วิธีการวิเคราะห์ ☒ ลำดับนิวคลีโอไทด์ ☒ ข้อมูลการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์
④ อื่นๆ (โปรดระบุ) _____

ผู้ปฏิบัติงาน สลิษาพร นวลแก้ว
(นางสาวสลิษาพร นวลแก้ว)

ผู้รายงานและวิเคราะห์ผล สลิษาพร นวลแก้ว
(นางสาวสลิษาพร นวลแก้ว)

Disclaimer:
ผลการตรวจสอบเป็นผลจากการตรวจสอบสำหรับชิ้นตัวอย่างที่ได้รับภายใต้สภาวะที่ระบุไว้เท่านั้น ไม่สามารถให้คำตัดสินผลที่นอกเหนือจากนี้ได้ ทั้งนี้ศูนย์วิจัยจุลชีวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) จะไม่รับผิดชอบต่อการกระทำหรือความเสียหายใดๆที่เกิดจากข้อมูลนี้ และโปรดทราบว่าศูนย์วิจัยจุลชีวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติไม่มีการรับรองผลการตรวจสอบใดๆทั้งสิ้น ตลอดจนไม่อนุญาตให้ใช้ชื่อ ความเกี่ยวข้องหรือของศูนย์ในการกล่าวอ้างใดๆทั้งสิ้น เว้นแต่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรก่อน
The results reported herein are for the test specimens and specified condition only and cannot be used to certify the goods not tested. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC) will not take any responsibility for any consequence or damage, which may result from this information. Please note that BIOTEC is not a certification body. Use of the Center name or symbol (Logo) in any case without written permission is prohibited.

ภาพผนวกที่ 1.4

ผลการจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

Mycology Laboratory
113 Thailand Science Park, Paholyothin Road,
Klong 1, Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
Tel: +66-2-564-6700 ext 3202 Fax: +66-2-564-6707



รายงานผลการจำแนกจุลินทรีย์
IDENTIFICATION'S REPORT

ชื่อผู้ขอรับบริการ / Customer's name: ดร.อมรรัตน์ สุวรรณโพธิ์ศรี	เลขที่ / No. : MY09-05
องค์กรและที่อยู่ / Institute and address: ม.เทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก	วันที่ได้รับตัวอย่าง / Sample receive date : 10 ก.ย. 2558
วิทยาเขตจันทบุรี 131 หมู่ 10 ถ.บาราคนาราดูร ต.พลวง อ.เขาคิชฌกูฏ จ.จันทบุรี	วันที่รายงานผล / Report date: 1 ต.ค. 2558

ลำดับที่ No.	รหัสตัวอย่าง Sample No.	วิธีการจำแนกชนิด Method of identification	ผลการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ BLAST result	% ความเหมือน % similarity	หมายเหตุ Note
1	C	อนุชีววิทยา	Schizophyllum commune	100%	LROR/LR7

โปรดทำเครื่องหมาย ☒ ในช่อง ☐ ที่ต้องการ

เอกสารแนบ: ☒ วิธีการวิเคราะห์ ☒ ลำดับนิวคลีโอไทด์ ☒ ข้อมูลการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์
④ อื่นๆ (โปรดระบุ) _____

ผู้ปฏิบัติงาน รายงาน และวิเคราะห์ผล

ลลิลพร นวลแก้ว

(นางสาวสลิลาพร นวลแก้ว)

ผู้ตรวจทานรายงาน

ผดุง บุญเย็น

(ดร.นัฐวุฒิ บุญเย็น)

Disclaimer:

ผลการตรวจสอบเป็นผลจากการตรวจสอบตัวอย่างที่ได้รับภายใต้สภาวะที่ระบุไว้เท่านั้น ไม่สามารถใช้อ้างอิงผลที่นอกเหนือจากนี้ได้ ทั้งนี้ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) จะไม่รับผิดชอบต่อผลของการกระทำหรือความเสียหายใดๆที่เกิดจากข้อมูลนี้ และโปรดทราบว่าศูนย์ฯ ไม่ใช่นายาในการรับรองผลการตรวจสอบใดๆทั้งสิ้น ตลอดจนไม่อนุญาตให้ใช้ชื่อ ความรู้สัญลักษณ์หรือศูนย์ฯ ในการกล่าวอ้างใดๆทั้งสิ้น เว้นแต่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรก่อน

The results reported herein are for the test specimens and specified condition only and cannot be used to certify the goods not tested. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC) will not take any responsibility for any consequence or damage, which may result from this information. Please note that BIOTEC is not a certification body. Use of the Center name or symbol (Logo) in any case without written

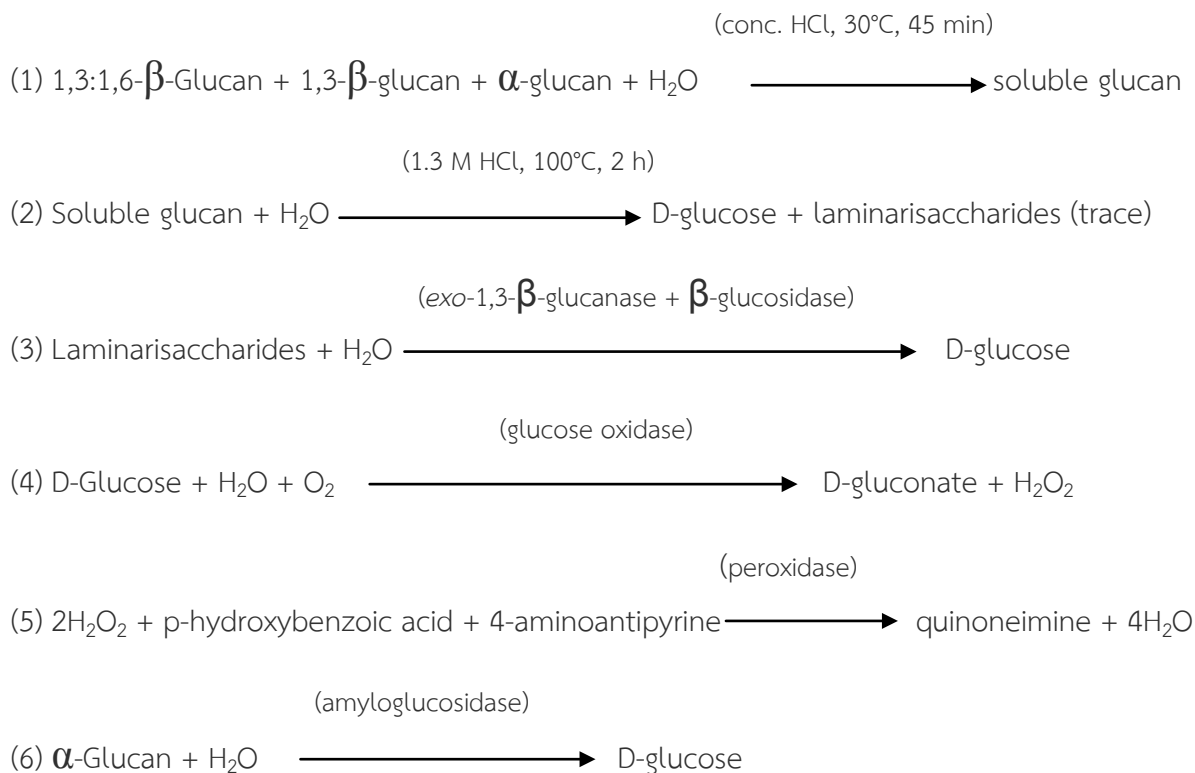
ภาพผนวกที่ 1.5

ผลการจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

(5) วิธีวิเคราะห์ β -glucan ของ Megazyme (Megazyme, มมป.: ออนไลน์)

Colourimetric method for the determination of Yeast and Mushroom β -Glucan in yeast, mushroom, foodstuffs and other materials

Principle:



$$\beta\text{-Glucan} = \text{total glucan} - \alpha\text{-Glucan}$$

Kit size: 100 assays

Method: Spectrophotometric at 510 nm

Total assay time: ~ 100 min

Detection limit: 1-100% of sample weight

Application examples:

Yeast preparations, mushroom preparations and other materials

Method recognition: *Novel method*

บทคัดย่อ

การศึกษากระบวนการผลิตเห็ดสมุนไพรในเชิงพาณิชย์ ดำเนินการในช่วงระยะเวลา 1 ปี (1 สิงหาคม 2557 – 31 กรกฎาคม 2558) ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลวิทยาเขตจันทบุรีร่วมกับภาคเอกชนคือ บริษัทเมอริทไพรม์ จำกัด เลขที่ 9/22 ม. 10 ต.พลวงอ.เขาคิชฌกูฏ จ.จันทบุรี 22210 และบ้านสวนเห็ดจันทบุรี เลขที่ 61/1 หมู่ 7 ต.เขาบายศรี อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสารออกฤทธิ์ของเห็ดสมุนไพรในการเลี้ยงแบบ solid culture และศึกษาต้นทุน ผลตอบแทน และระยะคืนทุน ในการผลิตเห็ดสมุนไพรในเชิงพาณิชย์ ซึ่งสามารถคัดเลือกได้เห็ดสมุนไพรกลุ่มที่สร้างสารออกฤทธิ์ประเภท β -glucan สูง คือ เห็ดแครง (*Shizophyllum commune* Fr.) จากท่าใหม่ (S1) ซึ่งให้ค่า total polysaccharide สูงที่สุด คือ 5.16 ± 0.14 (%w/w) ส่วนเห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) ให้ค่า total polysaccharide ต่ำกว่าคือ 3.75 ± 0.17 (%w/w) และคัดเลือกได้เห็ดสมุนไพรกลุ่มที่สร้างสารออกฤทธิ์ประเภท triterpenoid สูง คือ เห็ดการบูรไต้หวัน (*Antrodia cinnamomea*) ซึ่งให้ค่า total triterpenoid สูงที่สุดคือ 2.43 ± 0.044 (%w/w) ซึ่งสูงกว่าเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) ที่ให้ค่า total triterpenoid เท่ากับ 2.10 ± 0.03 (%w/w). จึงนำเชื้อเห็ดทั้งสองชนิดมาทดลองเลี้ยงแบบ solid culture เพื่อกระตุ้นให้มีการสร้างสารออกฤทธิ์สูงขึ้นด้วยน้ำมันพืชสำหรับเห็ดแครงและเปลือกผลไม้สำหรับเห็ดการบูรบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ และบนก้อนขี้เลื่อย (เฉพาะเห็ดแครง).วางแผนการทดลองแบบ 4×4 factorial 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 25 ขวด) พบว่าเห็ดแครงเจริญได้ดีบนธัญพืชทุกชนิดที่นำมาทดลองได้แก่ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีหยาบ ลูกเดือย ข้าวฟ่าง ปลายข้าว และข้าวโพด โดยเจริญเต็มเมล็ดธัญพืชในขวดภายใน 4 วัน นำเส้นใยที่เจริญบนธัญพืชที่อายุ 7 วัน ไปอบแห้งและตรวจปริมาณ β -glucan และเปรียบเทียบกับสถิติ พบว่าธัญพืชที่เหมาะสมคือข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลีหยาบ สารกระตุ้นที่เหมาะสมคือน้ำมันปาล์มและน้ำมันมะกอก การทดลองกระตุ้นการสร้าง β -glucan ของเห็ดแครงบนก้อนขี้เลื่อยพบว่าน้ำมันรำข้าวใช้กระตุ้นได้ดีที่สุด ส่วนระดับของน้ำมันที่ใช้ไม่มีความแตกต่าง สำหรับเห็ดการบูรเจริญได้ดีบนธัญพืชทุกชนิดที่นำมาทดลองได้แก่ ข้าวโพด ข้าวสาลีหยาบ ข้าวบาร์เลย์ และข้าวหอมนิล โดยเจริญเต็มเมล็ดธัญพืชในขวดโดยเฉลี่ยประมาณ 32 วัน หรือประมาณ 5 สัปดาห์ ในตัวอย่างที่อายุ 9 สัปดาห์ พบว่าธัญพืชที่เหมาะสมที่ให้ปริมาณ total triterpenoids ของเส้นใยเห็ดการบูรสูงสุดคือข้าวโพด สารกระตุ้นที่เหมาะสมคือเปลือกลิ้นจี่ โดยพบมีปริมาณ total triterpenoids สูงสุด คือ 5.18 (%w/w) ส่วนการศึกษาต้นทุน ผลตอบแทนและระยะคืนทุนของฟาร์มต้นแบบขนาดย่อม พบว่ามีอัตราผลตอบแทนการลงทุนเท่ากับ 91.66 % และสามารถคืนทุนได้ใน ระยะเวลา 1 ปี 9 เดือน 25 วัน แต่ถ้ามีการเปลี่ยนกระบวนการเก็บเกี่ยวผลผลิตจากการใช้วิธีอบแห้งมาเป็นการใช้วิธีการ freeze dried และมีการกำจัดเชื้อปนเปื้อนในผลผลิตด้วยวิธีการฉายรังสี จะทำให้ต้นทุนเพิ่มขึ้น ทำให้อัตราผลตอบแทนต่อการลงทุนต่ำลงเหลือ 8.51 % ระยะคืนทุนนานขึ้นเป็น 4 ปี 8 เดือน 23 วัน ส่วนก้อนเชื้อเห็ดแครงต้นทุนก้อนละ 6 บาท ให้ผลผลิตภายใน 12-15 วัน จำนวน 155 กรัม คิดเป็นเงิน 23.25 บาท หากพัฒนากระบวนการผลิตโดยเพิ่มน้ำมันรำข้าว 8% จะทำให้ต้นทุนต่อก้อนเพิ่มขึ้นเป็น 6.60 บาท

Abstract

Study on the Commercial production process of the medicinal Mushrooms carried out between August 1, 2557 - July 31, 2558 at the Rajamonkala Institute of Technology Tawan-Ok University, Chanthaburi Campus with the private sector, Merit Prime Company Limited No. 9/22 m. 10. T. Plaung A. Khoakhitchakut Chanthaburi. 22210 and Bansaunhed No. 61/1 M. 7. T. Khoabysri A. Tha Mai, Chanthaburi. The studying of the optimum factors for growth and bioactive ingredient synthesis of medicinal mushrooms on solid culture, and education the cost of return and payback period were the objectives of this study. The total polysaccharide of *Shizophyllum commune* Fr. and *Hericium erinaceus* from Tha Mai (S1) were 5.16 ± 0.14 and 3.75 ± 0.17 (% w/w) respectively, so that the *S. commune* Fr. was selected as the representative of the β -glucan medicinal mushrooms group. The total triterpenoids of *Antrodia cinnamomea* from Taiwan and *Cordyceps militaris* were 2.43 ± 0.044 and 2.10 ± 0.03 (% w/w) respectively, so that the *A. cinnamomea* was selected as the representative of the triterpenoids medicinal mushrooms group. Therefore, both selected species of fungi were cultured on solid state (on many kinds of cereal and pack of sawdust) and stimulated with plant oil and fruit peel for higher synthesis of bioactive ingredient in *S. commune* Fr. and *A. cinnamomea* respectively, specifically *S. commune* Fr. was explored on pack of sawdust also. The experimental design was 4x4 factorial 3 replications (25 bottles=1replication) We found that the *S. commune* Fr. was able grown well on all kinds of cereal grains, including barley, Sangyod rice, millet, sorghum, broken-milled rice and maize by growing cover cereal grain in the bottle within 4 days. Fungal mycelia on cereal grain at day 7th was dried, milled and analyzed the amount of β -glucan for statistical comparisons. We found that the optimal cereal for the highest β -glucan synthesis was barley and Sangyod rice, the optimal β -glucan synthesis stimulating was palm oil and olive oil. On the pack of sawdust, the rice bran oil was the best β -glucan synthesis stimulating, but the level of plant oils which mixed in the saw dust was not different. The *A. cinnamomea* was grown well on all kinds of cereal, including Sangyod rice maize, barley and homnin rice. It was grown cover cereal grain in the bottle within an average of about 32 days or about 5 weeks. The total triterpenoids results and statically analysis of fungal mycelia at week 9th was shown that, maize was the optimal cereal and lychee peel was the best stimulating for triterpenoids synthesis (5.18 % w / w). The education cost of Return and payback period of the underlying small master farm. We found that the rate of return of 91.66% and a payback period of 1 year, 9 months, 25 days, but if there is change of the drying product method from baking to be used freezed drying and get rid of the product contamination with radiation, they made rising cost and lowering rate of return to be 8.51% and longer-term payback is 4 years 8 months 23 days. The cost of 1 pack of sawdust of *S. commune* Fr. was 6 baht with 155 grams production yield or 23.25 baht within 12-15 days. If the development process by adding bran oil 8%, the cost per pack increase to 6.60 baht.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
สารบัญเรื่อง	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1-1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	1-2
สถานที่ทำการทดลอง	1-2
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม	1-3
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	1-10
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัยและวิจารณ์	1-13
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	1-34
ข้อเสนอแนะ	1-36
เอกสารอ้างอิง	1-37
ภาคผนวก	1-41

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยหัดแครงที่เจริญบนธัญพืช 4 ชนิด คือ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีหัด ลูกเดือย และข้าวโพด ที่ไม่ผสมและผสมสารกระตุ้นการสร้าง β -glucan คือ น้ำมันพืช ได้แก่ น้ำมันเมล็ดทานตะวัน น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะกอก ที่อายุ 7 วัน	1-17
1.2	ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยหัดแครงที่เจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ผสมสารกระตุ้นการสร้าง β -glucan คือน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ ที่อายุ 7 วัน	1-20
1.3	ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของส่วนที่เป็นฟรุติงบอดีของหัดแครงที่เจริญบนก้อนซีลีเยผสมสารกระตุ้นคือน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ หลังเปิดดอก 14 วัน	1-22
1.4	เวลาที่เชื้อหัดการบูรเจริญเต็มขวดอาหารธัญพืช	1-23
1.5	ปริมาณ total triterpenoids (%w/w) เริ่มต้นในวันแรกที่ใส่เชื้อในทุกสิ่งทดลอง	1-24
1.6	ปริมาณ total triterpenoids ของเส้นใยหัดการบูรเจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ที่ผสมและไม่ผสมสารกระตุ้นคือเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่อายุ 7 สัปดาห์	1-27
1.7	ปริมาณ total triterpenoids ของเส้นใยหัดการบูรเจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ผสมและไม่ผสมสารกระตุ้นคือเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่อายุ 9 สัปดาห์	1-28
1.8	ต้นทุนและผลตอบแทนในการผลิตหัดการบูรผง ในระยะเวลา 1 ปี	1-30
1.9	แสดงค่าใช้จ่าย รายได้ และผลตอบแทนสุทธิของการผลิตหัดการบูร	1-31
1.10	แสดงต้นทุนและผลตอบแทนในการผลิตหัดการบูรผง ในระยะเวลา 1 ปี	1-32
1.11	แสดง ค่าลงทุน ค่าใช้จ่าย รายได้ และผลตอบแทนสุทธิ และระยะเวลาคืนทุนของการผลิตหัดการบูร	1-33

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
1.1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) (V = ชนิดธัญพืชได้แก่ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีหยาบ ลูกเดือย และข้าวโพด และ N=ชนิดสารกระตุ้น ได้แก่ ไมโส น้ำมันพืช น้ำมันทานตะวัน น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะกอก ที่ทดสอบกับเห็ดแครงอายุ 7 วัน)	1-44
1.2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) (V = ชนิดธัญพืชได้แก่ ข้าวฟ่าง ปลายข้าว และข้าวโพด และ N=ชนิดสารกระตุ้นได้แก่ ไมโส น้ำมันพืช น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันทานตะวัน ที่ทดสอบกับเห็ดแครงอายุ 7 วัน)	1-44
1.3 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) (V = ชนิดสารกระตุ้นได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว และ N=ปริมาณสารกระตุ้นได้แก่ ไมโส น้ำมันพืช ใส่ 2% 6% และ 8% ที่ทดสอบกับก้อนเชื้อของเห็ดแครง)	1-45
1.4 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) (V = ชนิดธัญพืชได้แก่ ข้าวโพด ข้าวสาลีหยาบ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวหอมนิล และ N=ชนิดสารกระตุ้นได้แก่ ไมโส สารกระตุ้น ใส่เปลือกถั่วลิสง เปลือกถั่วเหลือง และเปลือกงา ที่ทดสอบกับเห็ดการบูรอายุ 7 สัปดาห์)	1-45
1.5 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) (V = ชนิดธัญพืชได้แก่ ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ และ N=ชนิดสารกระตุ้นได้แก่ ไมโส สารกระตุ้น ใส่เปลือกถั่วลิสง เปลือกถั่วเหลือง และเปลือกงา ที่ทดสอบกับเห็ดการบูรอายุ 9 สัปดาห์)	1-46
1.6 ค่าลงทุนเริ่มแรก	1-46
1.7 แสดงต้นทุนวัตถุดิบในการผลิตเห็ดการบูรในระยะเวลา 1 ปี	1-48
1.8 แสดงรายละเอียดค่าแรงงานในการผลิตเห็ดการบูร ในระยะเวลา 1 ปี	1-49
1.9 แสดงรายละเอียดค่าใช้จ่ายในการผลิต	1-50
1.10 แสดงรายได้จากการผลิตเห็ดการบูร	1-50

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.1	ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยเห็ดแครงที่ (ก) ไม่ใส่น้ำมันพืช และที่กระตุ้นการสร้าง β -glucan ด้วยน้ำมันพืช ได้แก่ (ข) .ใส่น้ำมันเมล็ดทานตะวัน (ค) ใส่น้ำมันปาล์ม (ง) ใส่น้ำมันมะกอก บนธัญพืช 4 ชนิด คือ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีหยาบ ลูกเดือย และข้าวโพด ที่อายุ 0-7 วัน	1-15
1.2	ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยเห็ดแครงที่เจริญบนธัญพืช 4 ชนิด คือ (ก) ข้าวบาร์เลย์ (ข) ข้าวสาลีหยาบ (ค) ลูกเดือย และ (ง) ข้าวโพด ที่ไม่ใส่น้ำมันพืช และใส่น้ำมันเมล็ดทานตะวัน น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะกอก ที่อายุ 0-7 วัน	1-16
1.3	ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยเห็ดแครงที่เจริญบนธัญพืช 4 ชนิด คือ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีหยาบ ลูกเดือย และข้าวโพด ที่ไม่ผสมและผสมสารกระตุ้นการสร้าง β -glucan คือ น้ำมันพืช ได้แก่ น้ำมันเมล็ดทานตะวัน น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะกอก ที่อายุ 7 วัน	1-17
1.4	ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยเห็ดแครงที่เจริญบนธัญพืช 3 ชนิด คือ (ก) ข้าวฟ่าง (ข) ปลายข้าว (ค) ข้าวโพด ที่ไม่ใส่น้ำมันพืช และใส่น้ำมันพืช ได้แก่ น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันเมล็ดทานตะวัน ที่อายุ 0-7 วัน	1-18
1.5	ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยเห็ดแครงที่ (ก) ไม่ใส่น้ำมันพืช และที่กระตุ้นการสร้าง β -glucan ด้วยน้ำมันพืช ได้แก่ (ข) .ใส่น้ำมันปาล์ม (ค) ใส่น้ำมันถั่วเหลือง (ง) ใส่น้ำมันเมล็ดทานตะวัน บนธัญพืช 3 ชนิด คือ ข้าวฟ่าง ปลายข้าว และข้าวโพด ที่อายุ 0-7 วัน	1-19
1.6	ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของเส้นใยเห็ดแครงที่เจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ผสมสารกระตุ้นการสร้าง β -glucan คือน้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ ที่อายุ 7 วัน	1-21
1.7	ปริมาณ β -glucan (%w/w) ของส่วนที่เป็นฟรุติติงบอดีของเห็ดแครงที่เจริญบนก้อนเชื้อเลี้ยงผสมสารกระตุ้นคือน้ำมันพืช 3 ชนิด คือ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม และ น้ำมันรำข้าว หลังเปิดดอก 14 วัน	1-22
1.8	ปริมาณ total triterpenoids (% w/w) ของเส้นใยเห็ดการบูรที่เจริญบนธัญพืช ก. ข้าวโพด ข. ข้าวสาลีหยาบ ค. ข้าวบาร์เลย์ ง. ข้าวหอมนิล ที่ไม่ผสมและผสมเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ	1-25

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
1.9	ปริมาณ total triterpenoids (% w/w) ของเส้นใยเห็ดการบูรที่เจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ที่ ก. ไม่ผสมเปลือกผลไม้ ข. ผสมเปลือกลิ้นจี่ ค. ผสมเปลือกมังคุด ง. ผสมเปลือกเงาะ	1-26
1.10	ปริมาณ total triterpenoids (%w/w) ของเส้นใยเห็ดการบูรที่เจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ที่ผสมและไม่ผสมสารกระตุ้นคือเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่อายุ 7 สัปดาห์	1-27
1.11	ปริมาณ total triterpenoids (%w/w) ของเส้นใยเห็ดการบูรที่เจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ที่ผสมและไม่ผสมสารกระตุ้นคือเปลือกผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่อายุ 9 สัปดาห์	1-28
ภาพผนวกที่		
1.1	เห็ดแครงบนธัญพืชต่าง ๆ ที่ผสม elicitors คือ น้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ	1-41
1.2	การทดลองเพาะเห็ดแครงบกอนซีเลื่อย ที่ผสม elicitors คือ น้ำมันพืชชนิดต่าง ๆ	1-42
1.3	เห็ดการบูรไต้หวันบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ ที่ผสม elicitors คือเปลือกผลไม้อบบดชนิดต่าง ๆ	1-43
1.4	ผลการจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ เลขที่ MY07-09	1-51
1.5	ผลการจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ เลขที่ MY09-05	1-52