รายงานแผนงานวิจัยย่อย

การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดและสาหร่ายขนาดเล็ก

Research and Development of Products from Mushrooms and Microalgae

ชื่อหัวหน้าแผนงานวิจัยย่อย
นราทร สุขวิเสส
Narathorn Sukwises

กรมวิชาการเกษตร

ปี พ.ศ. 2565

รายงานแผนงานวิจัยย่อย

การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดและสาหร่ายขนาดเล็ก

Research and Development of Products from Mushrooms and Microalgae

ชื่อหัวหน้าแผนงานวิจัยย่อย
นราทร สุขวิเสส
Narathorn Sukwises

กรมวิชาการเกษตร

ปี พ.ศ. 2565

คำปรารภ (Foreword หรือ Preface)

ประเทศไทยมีทรัพยากรทางชีวภาพที่ความหลากหลาย ซึ่งในแผนงานวิจัยนี้จะกล่าวถึงคือ เห็ดฟางและสาหร่ายขนาดเล็ก โดยเห็ดฟางนั้นเป็นจัดเป็นเห็ดเศรษฐกิจที่สำคัญจากภาคการเกษตรอันดับต้นๆ เพราะมีปริมาณการเพาะปลูกและจัดจำหน่ายเป็นเห็ดสดที่สูงที่สุด แต่น่าเสียดายที่ผลผลิตเห็ดฟางนั้นมีอายุสั้น ไม่สามารถทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือสิ่งแวดล้อมปกติได้ อีกทั้งเทคโนโลยีในการแปรรูปเห็ดฟางก็ยังไม่เป็นที่แพร่หลายพอ ส่วนสาหร่ายขนาดเล็กนั้นจัดเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่พบได้อยู่ทั่วไปแต่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า สามารถเจริญเติบโตได้ดีในทุกพื้นที่ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย หรือน้ำเค็ม แม้ว่านักวิจัยที่ทำการศึกษาและพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยง รวมถึงหาองค์ประกอบของสารในรูปแบบต่างๆ ที่สะสมอยู่ภายในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดมาเป็นเวลานานหลายปี แต่กิจกรรมการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กยังคงอยู่ในวงจำกัดด้านการวิจัยเป็นหลักและมีการนำมาใช้ประโยชน์ด้านการค้าน้อยมาก

จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้น ประกอบกับกระแสความนิยมบริโภคอาหารสุขภาพ การลดการสูญเสียพืชอาหาร การอนุรักษ์พลังงานและสิ่งแวดล้อม ด้วยการส่งเสริมจากทั้งภาครัฐและเอกชน ซึ่งกำลังเป็นค่านิยมหลักอันหนึ่งของสังคมไทยในยุคปัจจุบัน นับเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้ผู้คนหันมาเห็นความสำคัญของผลผลิต วัตถุดิบและธุรกิจการเพาะเห็ดฟางและการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก เอกสารงานวิจัยฉบับนี้ซึ่งประกอบด้วย 2 โครงการวิจัย คือ 1)โครงการวิจัย การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางเชิงพาณิชย์ และ 2) โครงการวิจัย การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยแต่ละโครงการวิจัยจะประกอบด้วยหลายการทดลองเพื่อให้ได้กระบวนการทางเทคโนโลยีเพื่อการแปรรูปเห็ดฟาง และการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก เพื่อนำวัตถุดิบสาหร่ายขนาดเล็ก พร้อมด้วยองค์ความรู้ที่ถูกพัฒนาขึ้นมาใช้ในการทำผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ เวชสำอาง พลังงานและวัสดุชีวภาพ เพื่อให้เกษตรกรเข้าถึงเทคโนโลยีโดยง่ายและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง

เอกสารรายงานแผนงานวิจัยย่อย การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดและสาหร่ายขนาดเล็ก ปี 2560–2564 นี้เป็นการสรุปผลการดำเนินการของแผนงานวิจัยย่อย การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดและสาหร่ายขนาดเล็ก ขอขอบคุณผู้มีส่วยร่วมในการจัดทำรายงานฉบับนี้ทุกท่านและหากมีข้อผิดพลาดใดๆ ในฐานะหัวหน้าแผนงานวิจัยย่อย การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดและสาหร่ายขนาดเล็ก ต้องอภัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

นราทร สุขวิเสส
หัวหน้าแผนงานย่อย
กุมภาพันธ์ 2565

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	1
ผู้วิจัย	2
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	3
บทนำ	4
บทคัดย่อ	6
1. โครงการวิจัย การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางเชิงพาณิชย์	8
2. โครงการวิจัย การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก	29
บทสรุปและข้อเสนอแนะ	59
บรรณานุกรม	60

กรมวิชาการเกษตร

กิตติกรรมประกาศ

แผนงานวิจัยย่อยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความร่วมมือของหัวหน้าโครงการวิจัย คณะผู้วิจัย การบริหารจัดการ การจัดสรรงบประมาณ การให้คำแนะนำ กลั่นกรอง และช่วยเหลือแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ จากคณะกรรมการที่ปรึกษาวิชาการ คณะกรรมการบริหารงานวิจัย กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร คณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการกรมวิชาการเกษตร คณะกรรมการบริหารงานวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร และการสนับสนุนให้ดำเนินการจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ(วช.) และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) จึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณหัวหน้าการทดลองและผู้ร่วมดำเนินงานวิจัยทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและทำงานวิจัยอย่างมุ่งมั่น ดำเนินงานวิจัยให้บรรลุวัตถุประสงค์ สนับสนุนให้งานวิจัยสามารถถ่ายทอดองค์ความรู้ และนำไปใช้ประโยชน์ได้ ตลอดจนรวบรวมและจัดทำรายงานผลการทดลองเสร็จสิ้นภายในระยะเวลาที่กำหนด

ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร ที่ได้ให้ความรู้ทางสถิติ ทำให้ผู้วิจัยสามารถนำความรู้ที่ได้รับมาใช้ในการวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติของการทดลองในโครงการวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณบุคลากรภายในกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตรที่ช่วยเหลือสนับสนุน ทั้งกำลังกายและกำลังใจ และหน่วยงานภายนอกทุกหน่วยงาน ที่มีส่วนช่วยในสนับสนุนการดำเนินงานโครงการวิจัยฯ นี้ให้เป็นผลสำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดียิ่ง

นราทร สุขวิเสส

กุมภาพันธ์ 2565

กรมวิชาการเกษตร

ผู้วิจัย

นราทร สุขวิเสส	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
ปาริชาติ อยู่แพทย์	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
สุรีย์รัตน์ รักเหลือ	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
จารุวรรณ์ รัตนสกุลธรรม	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
อกนิษฐ์ พิศาลวัชรินทร์	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
โกเมศ สัตยาวุธ	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
ศิริพร เต็งรัง	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
กนกศักดิ์ ลอยเลิศ	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
สุปรียา ศุขเกษม	นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
วุฒิพล จันทร์สระคู	วิศวกรการเกษตรชำนาญการพิเศษ	สถาบันเกษตรวิศวกรรม

กรมวิชาการเกษตร

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

DCW Dry cell weight

DPPH 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazy

FAME Fatty acid methyl ester

IC_{50} 50% Inhibitory Concentration

NaOCl Sodium hypochlorite

NaCl Sodium chloride

PHB Poly-β-hydroxybutyrate

PVA Poly vinyl alcohol หรือ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์

SDS Sodium dodecyl sulphate

SFE Supercritical fluid extraction

TLC Thin layer chromatography

TPE Total polysaccharides extract

TS Tensile strength

mg/100g มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 100 กรัม

rpm รอบต่อนาที

ug/ml microgram per milliliter

w/v weight per volume

w/w weight per weight

v/w/w volume per weight per weight

%wt. percent by weight

°C องศาเซลเซียส

มก./ก. มิลลิกรัมต่อกรัม

มก./กก. มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

BG-11 (NFree) = สูตรอาหารมาตรฐาน BG-11 ที่ไม่มีการเติมธาตุอาหารไนโตรเจน

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ

ยุทธศาสตร์ประเทศไทยในการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขัน (Growth & Competitiveness) เพื่อให้หลุดพ้นจากการเป็นประเทศรายได้ปานกลาง มีกลยุทธ์ที่สำคัญคือการสร้างมูลค่าของสินค้าเกษตรเพื่อเพิ่มศักยภาพของวัตถุดิบทางการเกษตร เพราะเป็นแหล่งสร้างรายได้หลัก และการจ้างงานขนาดใหญ่ของประเทศไทย ด้วยการนำวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และนวัตกรรมมาใช้ในการสร้างมูลค่าเพิ่มของวัตถุดิบทางการเกษตรสู่เชิงพาณิชย์ โดยเกษตรกรที่มีศักยภาพและสภาพพื้นที่ด้านการเกษตรของประเทศไทยในแต่ละภูมิภาคก็มีผลต่อการส่งเสริมการเกษตรที่แตกต่างกัน ซึ่งในแผนงานวิจัยย่อยนี้จึงได้ทำการวิจัยและพัฒนาการใช้ประโยชน์จากเห็ดฟางและสาหร่ายขนาดเล็ก ด้านการเพาะเลี้ยงและการสกัดสารสำคัญเพื่อพัฒนาเป็นต้นแบบผลิตภัณฑ์สำหรับกลุ่มเกษตรกร รวมทั้งผู้ประกอบการที่สนใจนำไปพัฒนาต่อยอดในเชิงพาณิชย์ลดการนำเข้าวัตถุดิบที่มีราคาสูงจากต่างประเทศได้

เห็ดฟางมีความสำคัญในเชิงพาณิชย์ เพราะมีปริมาณการผลิตสูงสุดเป็นอันดับหนึ่งของประเทศไทย คิดเป็นร้อยละ 80 ของผลผลิตเห็ดทั้งหมด คุณลักษณะของเห็ดฟางนั้นสามารถเจริญเติบโตได้ต่อเนื่องหลังจากการเก็บเกี่ยว ทำให้ดอกเห็ดมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและเน่าเสียได้ง่ายกว่าผลผลิตทางการเกษตรอื่น ๆ ซึ่งอายุของเห็ดฟางระยะดอกตูมเมื่อเก็บรักษาที่สภาพบรรยากาศทั่วไป (อุณหภูมิประมาณ 34-35°C) จะสั้นเพียง 1-2 วัน ก็จะเริ่มบาน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องแปรรูปเห็ดฟางสดหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อเพิ่มแนวทางการใช้ประโยชน์เพื่อสร้างมูลค่าให้แก่เห็ดฟาง เนื่องจากเห็ดฟางนั้นคุณสมบัติรสชาติที่เด่นชัดคือ รสอูมามิซึ่งเป็นรสชาติของกลูตาเมตอิสระ หนึ่งในกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน โดยเห็ดฟางของไทยนั้นมีปริมาณกรดกลูตามิกสูงถึง 429 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และที่ระยะการเจริญเติบโตเต็มที่สารสำคัญที่ให้รสอูมามิในเห็ดฟางจะเพิ่มขึ้นสูงขึ้นเกือบ 3 เท่าของระยะเริ่มต้น (Yokotsuka, 2006) ดังนั้นเห็ดฟางจึงเหมาะสมในการนำมาเป็นวัตถุดิบสำคัญในการผลิตเครื่องปรุงรสอาหาร เช่น ซอสปรุงรสที่เน้นรสชาติของอูมามิ นอกจากนี้ควรพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสให้มีปริมาณโซเดียมต่ำ ทั้งวิธีทางกายภาพและวิธีการประเมินทางประสาทสัมผัสมาใช้ในการลดปริมาณโซเดียมในผลิตภัณฑ์เพื่อให้ได้ซอสปรุงรสโซเดียมต่ำที่ไม่กระทบต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านรสเค็มของผลิตภัณฑ์ นอกจากรสชาติที่ดีของเห็ดฟางแล้ว เห็ดฟางยังเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพสูง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายครบทุกชนิด ได้แก่ เมไทโอนีน ทรีโอนีน ไลซีน เวลีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน ฟีนิวอะลานีน ทริปโรเฟน และอาร์จีนีน (สุนันท์ และคณะ 2529) จึงเป็นแนวทางในศึกษาวิธีการผลิตโปรตีนสกัดเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโปรตีน และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้ เพราะโดยเห็ดฟางมีสารองค์ประกอบที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสซิเนส ไฮยาลูโรนิเดส คอลลาจิเนส และอิลาสเทส นอกจากนี้ยังสามารถต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และต้านจุลินทรีย์ คุณสมบัติเหล่านี้จะช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ผิวหนังรวมไปถึงความสามารถป้องกันรังสียูวีได้เหมาะสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำที่มีคลอโรฟิลล์ที่มีลักษณะเซลล์เดียวหรือกลุ่มโคโลนี สามารถสร้างอาหารได้เองโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์แสงเช่นเดียวกับพืชทั่วไปแต่มีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็วกว่า และสามารถเจริญได้ในทุกพื้นที่ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย หรือน้ำเค็ม โครงสร้างภายในเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็ก มีอาหารสะสมเป็นสารประกอบในรูปแบบต่างๆ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรตซึ่งจะอยู่ในรูปของพอลิแซ็กคาร์ไรด์หรือแป้ง ไขมันหรือน้ำมันในรูปของไตรกลีเซอไรด์ รวมทั้งมีสารสีหรือรงควัตถุ (Pigment) เป็นองค์ประกอบ เช่น คลอโรฟิลด์ แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลินเป็นต้น มีกรดไขมันที่เป็นประโยชน์ และใยอาหาร นอกจากนี้ยังพบว่า สารพอลิแซ็กคาไรด์และสารพฤกษเคมีในกลุ่มของโพลีฟีนอลโทโคฟีรอล สารแคโรทีนอยด์ ยังมีฤทธิ์

เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านการป้องกันการเกิดโรคและการช่วยดูแลผิวพรรณอีกด้วย จากข้อมูลดังกล่าวจึงเป็นแนวทางในการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กให้ได้ผลผลิตชีวมวลสูงๆ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดสารสำคัญต่างๆ มาใช้ประโยชน์ อีกทั้งการเพิ่มศักยภาพด้านผลผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กให้สูงมากขึ้น ยังสามารถนำไปใช้เป็นวัตถดิบในอุตสาหกรรมพลังงานทดแทนและผลิตพลาสติกชีวภาพได้ เพราะสาหร่ายขนาดเล็กบางสายพันธุ์มีการสะสมไขมันไว้ค่อนข้างสูง ยกตัวอย่างเช่น สาหร่าย *Botryococcus braunii* (Chisti, 2007) และยังมีสาหร่ายขนาดเล็กอีกชนิดที่รู้จักกันในชื่อ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) หรือไซยาโนแบคทีเรียนั้น สามารถสะสมสารบางชนิดในกลุ่มพอลิเมอร์ชีวภาพไว้ภายในเซลล์ชั้นในที่สามารถสกัดนำมาใช้ประโยชน์ได้ ยกตัวอย่างเช่น poly-3-hydroxybutyrate (PHB) (ศิริวิมลและวสุ, 2555) โดยคุณสมบัติที่สำคัญของ PHB คือมีความสามารถทนความร้อนได้สูงไม่ละลายน้ำและสามารถย่อยสลายได้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาการผลิตชีวมวลเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ พลังงานทดแทน และพลาสติกชีวภาพ เพื่อผลักดันให้มีการประโยชน์สารสำคัญที่ได้จากสาหร่ายอีกทางหนึ่ง

ดังนั้นในแผนงานวิจัยจึงได้แบ่งเป็นโครงการวิจัยย่อยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางและการวิจัยและพัฒนาการผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อสกัดสารสำคัญที่มีประโยชน์เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความแตกต่างกันดังนี้

1. การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางในเชิงพาณิชย์ โดยผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสสูตรโซเดียมต่ำ การผลิตโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางเพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร พร้อมทั้งศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดฟางเพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง สร้างความหลากหลายในการใช้ประโยชน์จากเห็ดฟาง

2. การศึกษาวิจัยและพัฒนาการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ด้วยการพัฒนาต้นแบบเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับขยายขนาดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารสี แคโรทีนอยด์ กรดไขมัน พอลิแซ็กคาไรด์ และพอลิเมอร์ชีวภาพ และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก เป็นเทคโนโลยีที่ง่ายและเหมาะสม ตลอดจนต้องมีการจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายให้มีศักยภาพในการเจริญเติบโตที่ดี และมีการสะสมสารชนิดต่างๆ ที่ต้องการในระดับที่สูงขึ้น

ขอบเขตการศึกษา

1. พัฒนาสูตรและกระบวนการผลิตของผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ การสกัดโปรตีนจากเห็ดฟาง และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโปรตีน และเครื่องสำอาง โดยใช้เห็ดในระยะเจริญเติบโตเต็มที่เป็นวัตถุดิบ ศึกษาค่าคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ทดสอบความชอบของผู้บริโภคเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม และสูตรทางการค้า ศึกษาการสกัดสารสกัดเห็ดฟาง โดยศึกษาเปรียบเทียบเห็ดฟางและกากเห็ดฟางที่สกัดโปรตีนแล้วในระยะดอกตูมและระยะดอกบาน สภาวะของเวลา และตัวทำละลาย ศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดเห็ดฟางที่ได้และนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ดูแลผิวที่เหมาะสมกับคุณสมบัติของสารสกัดเห็ดฟาง

2. จำแนกชนิดของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจนได้เซลล์บริสุทธิ์ ศึกษาสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญได้แก่ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ สารสี พอลิแซ็กคาไรด์ ไขมัน และพอลิเมอร์ชีวภาพ โดยศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและการชักนำการสะสมสารสำคัญไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด สามารถนำผลผลิตไปศึกษาวิธีการสกัดสารและประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ ได้แก่ ศึกษาวิธีการสกัดสารแคโรทีนอยด์และสารพอลิแซ็กคาไรด์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพและเวชสำอาง ศึกษาการสกัดไขมันเพื่อผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก ศึกษาวิธีการสกัดและวิธีการขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์พลาสติกชีวภาพจากสาหร่าย

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

การวิจัยและพัฒนาการใช้ประโยชน์จากเห็ดฟางและสาหร่ายขนาดเล็ก ในการนำมาพัฒนาเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอาง โดยเห็ดฟางที่ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดแต่ยังคงมีคุณสมบัติด้านโภชนาการและเภสัชวิทยา เช่น โปรตีน ใยอาหารสูง อีกทั้งมีวิตามินและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด สามารถนำมาพัฒนาต่อยอดได้ ผลการทดลองพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง จากอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเห็ดฟางอบแห้ง: ถั่วเหลือง: แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 40:30:30 นำไปหมักในน้ำเกลือเป็นเวลา 3 เดือน ได้ซอสที่มีปริมาณโซเดียมร้อยละ 18 โดยน้ำหนัก นำไปศึกษาวิธีการลดโซเดียม พบว่า วิธีการลดโซเดียมที่เหมาะสมคือการใช้กลิ่นซอสถั่วเหลืองเพิ่มการรับรู้รสเค็ม โดยปริมาณกลิ่นซอสซอสถั่วเหลืองร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก ซอสปรุงรสสูตรโซเดียมต่ำที่ได้มีปริมาณโซเดียมคงเหลือร้อยละ 11.85 โดยน้ำหนัก ศึกษากระบวนการผลิตโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางที่เหมาะสม โดยเปรียบเทียบวิธีการสกัด 2 วิธีคือ วิธีละลายด้วยกรดและวิธี Three-phase partitioning (TPP) พบว่า วิธี TPP เป็นวิธีที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟาง โดยโปรตีนสกัดที่ได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 55.47 สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัดโดยสามารถทดแทนโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองได้ร้อยละ 50 ซึ่งผู้บริโภคให้การยอมรับร้อยละ 79.54 การผลิตสารสกัดจากเห็ดฟางและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง พบว่า การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีร้อยละ 30.07 และการย่อยเห็ดฟางดอกตูมที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุด คือ มีค่า IC50 เท่ากับ 1.72±0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำโปรตีนไฮโดรไลเซททั้ง 2 กรรมวิธี มาใช้ร่วมกันผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซทที่เหมาะสมคือ ร้อยละ 0.5 อายุการเก็บรักษา 3 ปี โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงด้านคุณภาพ ทดสอบการยอมรับกับผู้บริโภค พบว่า ผู้บริโภคร้อยละ 80 ให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ การศึกษาสาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 6 สายพันธุ์ เพื่อผลิตสารสำคัญที่แตกต่างกันดังนี้ สายพันธุ์ที่ผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้แก่ *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) และ *Coelastrum* sp. (SK-KhY6) และสายพันธุ์ที่ผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ได้แก่ *Coelastrum* sp. (A052) สายพันธุ์ที่ผลิตไขมันได้แก่ *Botryococcus* sp. (CM01-4) และ *Desmodesmus* sp. (KK20) และสายพันธุ์ที่ผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพได้แก่ *Nostoc* sp. (Sm6-3) ได้ผลการศึกษาวิธีการสกัดสารจากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มีดังนี้ การสกัดสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 ด้วยเทคนิค SFE ได้สารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์ ที่มีสารแอสตาแซนทินสูงสามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว และสารสกัดที่มีสารไลโคปีนเป็นองค์ประกอบสามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์ก การผลิตสีผงเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจำนวน 3 สารสีได้แก่ สารสีคลอโรฟิลล์ (เขียว) และสารสีไฟโคบิลิน (ฟ้า) จากสาหร่าย A052 และสารสีแคโรทีนอยด์ (ส้ม) จากสาหร่าย SK-QSGMF6 ได้วิธีการสกัดสารสีจากเซลล์สาหร่ายและการทำแห้งแบบพ่นฝอย จนได้สีผงแต่ละชนิดที่มีปริมาณสารคลอโรฟิลล์ 38.75 mg/100g สารแคโรทีนอยด์ 19.39 mg/100g และสารไฟโคบิลิน 36.96 mg/100g ตามลำดับ การผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์และใยอาหารจากสาหร่าย A052 ได้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สามารถใช้เป็นส่วนผสมได้ 1.5% ในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดเพื่อเพิ่มความข้นหนืด และใยอาหารที่สามารถใช้เป็นส่วนผสมได้ 3% ในผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้า ทำให้มีปริมาณใยอาหารเพิ่มขึ้น 0.84% การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย CM01-4 และ KK20 ที่ได้วิธีการสกัดไขมันจากชีวมวลสาหร่ายแห้งด้วยตัวทำละลายอะซีโตน หลังทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นได้ไบโอดีเซลที่มีความบริสุทธิ์มากกว่าการทำปฏิกิริยาโดยตรงจากชีวมวลสาหร่ายสด การผลิตพลาสติกชีวภาพจากสาหร่าย Sm6-3 พบว่าการใช้ชีวมวลสาหร่ายหลังการพรีทรีตเมนต์ สามารถใช้เป็นส่วนผสมหลักร่วมกับสารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 30-40 และสตาร์ชร้อยละ 20 ในการขึ้นรูปเป็นแผ่นพลาสติกชีวภาพที่สามารถพับและซีลด้วยความร้อนทำเป็นถุงเพาะชำได้

กรมวิทยาศาสตร์

Abstract

Research and development on the utilization of active substances from straw mushrooms and microalgae to develop new food products and cosmetics. Straw mushrooms are not in demand in the market but still have nutritional and pharmacological properties such as protein, high fiber, and many vitamins and bioactive compounds. The results shown that to develop low-sodium straw mushroom soy sauce, the appropriated ratio between dried straw mushrooms: soybeans: rice flours are 40:30:30. After finishing, brine fermentation process for 3 months, it contained 18% of NaCl. Flavor enhancer, 1.5% soy sauce flavor, was more effective way for reducing salt content in mushroom soy sauce. The reduced-salt mushroom soy sauce using flavor enhancer contained 11.85% of NaCl. In addition, the production of protein concentrates from straw mushroom using acid-soluble extraction and Three-phase partitioning (TPP) method, it was found that TPP was more effective method. The protein concentrates contained 55.54% of protein. It could replace soy protein in protein drink for 50% and 79.54% of consumers accepted the product. The straw mushroom extract and application in cosmetics, the method for hydrolyzed protein when digested the straw mushrooms at 4 hours, it obtained the antioxidant activity at 30.07% which was higher than vitamin C. In addition, at 3 hours digestion of closed cap straw mushroom, the hydrolyzed straw mushroom protein had the highest inhibition of tyrosinase, IC_{50} = 1.72 ± 0.31 mg/ml. Then applied in the skin lotion products at 0.5% of hydrolyzed straw mushroom protein. Moreover, after the accelerated storage test, it was found that, the shelf-life was 3 years with 80% of consumer acceptance. Six species of microalgae were studied to produce active substances. The bioactive substances form *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) and *Coelastrum* sp. (SK-KhY6), polysaccharides from *Coelastrum* sp. (A052), lipid from *Botryococcus* sp. (CM01-4) and *Desmodesmus* sp. (KK20) and biopolymer from *Nostoc* sp. (Sm6-3). The extraction of SK-QSGMF6 and SK-KhY6 by SFE technique, then apply of carotenoid extract with high astaxanthin was added at 0.02% in skin care serum products. Carotenoid extract with lycopene was used as an ingredient in a 0.015% mask sheet. Production of powder paints for use in the food industry total of 3 pigments were studied: chlorophyll (green) and phycobilin (blue) from A052, carotenoid (orange) from SK-QSGMF6. The study of methods for extracting pigments from microalgae and spray drying were obtained. Until the color of each type of powder containing chlorophyll 38.75 mg/100g, carotenoid 19.39 mg/100g and phycobilin 36.96 mg/100g, respectively. Results of the study on extraction of polysaccharides and dietary fibers from A052 were obtained that could be used as ingredients in corn soup products to increase the viscosity by 1.5%. Total fiber that could be used as an ingredient in pasta products was 3 %percent, resulting in a 0.84% increase in fiber content. Results of a study on biodiesel production from lipid of CM01-4 and KK20 obtained by acetone solvent extraction. The reaction of lipid to produce biodiesel with 80% purity, which is higher than the reaction from wet microalgae biomass. The production of bioplastics from Sm6-3 showed that wet biomass was pretreated using the main ingredient in mixing with 30-40% polyvinyl alcohol and 20% starch to form a bio-plastic sheet. It can be folded, molded and heat sealed to make a planting bag.

rsu.ac.th/rsunsrus

การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางเชิงพาณิชย์

Product development of straw mushrooms as commercial

ปาริชาติ อยู่แพทย์ สุรีย์รัตน์ รักเหลือ วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร
โกเมศ สัตยาวุธ และ อกนิษฐ์ พิศาลวัชรินทร์

คำสำคัญ

ซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง เห็ดฟาง ลดโซเดียม การสกัดโปรตีน โปรตีนคอนเซนเทรท TPP
สารสกัดจากเห็ดฟาง โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง โลชั่นเห็ด

Keywords

straw mushroom soy sauce, straw mushroom, salt reduction, straw mushroom, protein extraction, protein concentrates, TPP, Straw mushroom extracted, Hydrolyzed straw mushroom protein, Mushroom lotion

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

เห็ดฟางเป็นเห็ดที่มีการเจริญเติบโตตลอดเวลาทำให้เกิดการเน่าเสียได้ง่าย ขณะที่เห็ดฟางในระยะดอกบานที่ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดแต่ยังคงมีคุณสมบัติด้านโภชนาการและเภสัชวิทยา เช่น โปรตีน ใยอาหารสูง อีกทั้งมีวิตามินและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด สามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางได้ ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสสูตรโซเดียมต่ำ การผลิตโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอาง ผลการทดลอง พบว่า การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางฟาง อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเห็ดฟางอบแห้ง: ถั่วเหลือง: แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 40:30:30 นำไปหมักในน้ำเกลือเป็นเวลา 3 เดือน ได้ซอสที่มีปริมาณโซเดียมร้อยละ 18 โดยน้ำหนัก นำไปศึกษาวิธีการลดโซเดียม พบว่า วิธีการลดโซเดียมที่เหมาะสมคือการใช้กลิ่นซอสถั่วเหลืองเพิ่มการรับรู้รสเค็ม โดยปริมาณกลิ่นซอสซอสถั่วเหลืองร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก สามารถเพิ่มการรับรู้รสเค็มของผู้บริโภคได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซอสปรุงรสสูตรโซเดียมต่ำที่ได้มีปริมาณโซเดียมคงเหลือร้อยละ 11.85 โดยน้ำหนัก มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 9.05 ผู้ทดสอบร้อยละ 80.14 ยอมรับผลิตภัณฑ์และมีต้นทุนการผลิตต่อ 100 มิลลิลิตรเท่ากับ 39.1บาท ศึกษากระบวนการผลิตโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางที่เหมาะสม โดยเปรียบเทียบวิธีการสกัด 2 วิธี คือ วิธีละลายด้วยกรดและวิธี Three-phase partitioning (TPP) ผลการทดลอง พบว่า วิธี TPP เป็นวิธีที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟาง โดยโปรตีนสกัดที่ได้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 55.47 สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัดโดยสามารถทดแทนโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองได้ร้อยละ 50 ซึ่งผู้บริโภคให้การยอมรับร้อยละ 79.54 ศึกษาการผลิตสารสกัดจากเห็ดฟางและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง พบว่า การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด โดยโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีร้อยละ 30.07 และพบว่าการย่อยเห็ดฟางดอกตูมที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุด คือ มีค่า IC_{50} = 1.72 ± 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำโปรตีนไฮโดรไลเซททั้ง 2 กรรมวิธีมาใช้ร่วมกันผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซทที่เหมาะสมคือ ร้อยละ 0.5 ผ่านการทดสอบความคงตัวแบบเร่งผลิตภัณฑ์ที่ได้มีอายุการเก็บรักษา 3 ปี ทดสอบการยอมรับกับผู้บริโภค พบว่า ผู้บริโภคร้อยละ 80 ให้การยอมรับผลิตภัณฑ์

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

Abstract

Straw mushroom production is a major occupation in many regions of Thailand. However, because of its easy deterioration, the straw mushroom prices decline rapidly meanwhile their nutrition and bioactivity are still in high levels, for example, protein, dietary fiber, vitamins and biochemical. Therefore, this research aims to develop new food products and cosmetics from straw mushroom, especially low-grade mushroom, and promote to the markets. There were three products; low-sodium straw mushroom soy sauce, protein concentrates from straw mushroom and food applications, straw mushroom extracts and their application in cosmetic product. The results shown that to develop low-sodium straw mushroom soy sauce, the appropriated ratio between dried straw mushrooms: soybeans: rice flours are 40:30:30. After finishing, brine fermentation process for 3 months, it contained 18% of NaCl. Flavor enhancer, 1.5% soy sauce flavor, was more effective way for reducing salt content in mushroom soy sauce. This level could induce odor-induced saltiness enhancement in consumers ($p > 0.05$). The reduced-salt mushroom soy sauce using flavor enhancer contained 11.85% of NaCl, 9.05% of protein, 593.6 mg/100g. of Aspartic acid, 1067.8 mg/100g. of Glutamic acid. 80.14% of consumers accepted the reduce-salt mushroom soy sauce and the cost of production was 39.1 Baht per 100 ml. In addition, the production of protein concentrates from straw mushroom and food applications using acid-soluble extraction and Three-phase partitioning (TPP) method, it was found that Three-phase partitioning (TPP) was more effective method. The protein concentrates contained 55.54% of protein, L* 57.08, a*2.41, b*7.73. 3.06% of moisture content, aw 0.16. The percentage of solubility was ranged between 68.33%-99.75%, foam expansion was 2.56%-9.18%, Emulsifying ability index was 10.03-27.65m^2/g. The protein concentrates from straw mushroom could replace soy protein in protein drink for 50% and 79.65% of consumers accepted the product. For studying the production of straw mushroom extract and its application in cosmetics, the most suitable method for hydrolyzed protein when digested the opened cap straw mushrooms at 4 hours, the hydrolyzed straw mushroom protein obtained the highest antioxidant activity at 30.07% which was higher than vitamin C. It also contained high amounts of glutamic acid, glycine and alanine. In addition, at 3 hours digestion of closed cap straw mushroom, the hydrolyzed straw mushroom protein had the highest inhibition of tyrosinase, IC_{50} = 1.72 ± 0.31 mg/ml. It had high amounts of glutamic acid, serine, polyline and arginine. As a result, both hydrolyzed straw mushroom was mixed for gaining the best quality protein hydrolyzate. Then applied in the skin lotion products at 0.5% of hydrolyzed straw mushroom protein. The lotion could meet the TIS 15-2561 standards regarding herbal skin care products with no contaminants, namely lead, arsenic, mercury and soluble barium. Not found pathogenic microbial, including *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* and *Clostridium spp*. Moreover, after the accelerated storage test, it was found that, the shelf-life was 3 years with 80% of consumer acceptance.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

ยุทธศาสตร์ประเทศไทยในการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขัน (Growth & Competitiveness) เพื่อให้หลุดพ้นจากการเป็นประเทศรายได้ปานกลาง มีกลยุทธ์ที่สำคัญคือการสร้างมูลค่าของสินค้าเกษตรเพื่อเพิ่มศักยภาพของวัตถุดิบทางการเกษตร เพราะเป็นแหล่งสร้างรายได้หลัก และการจ้างงานขนาดใหญ่ของประเทศไทย ด้วยการนำวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และนวัตกรรมมาใช้ในการสร้างมูลค่าเพิ่มของวัตถุดิบทางการเกษตรสู่เชิงพาณิชย์ โดยสินค้าเกษตรที่เป็นอาชีพหลักในหลายพื้นที่ของประเทศไทยคือการเพาะเห็ด จากข้อมูลในปี 2558 ประเทศไทยมีปริมาณผลผลิตเห็ดสูงถึง 15,000 ตัน คิดเป็นมูลค่ารวมกว่า 1,156 ล้านบาท (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) เห็ดที่มีความสำคัญในเชิงพาณิชย์ของประไทยมี 7 ชนิด คือ เห็ดฟาง เห็ดนางฟ้าภูฏาน เห็ดนางรมฮังการี เห็ดหูหนู เห็ดยานาง เห็ดแชมปิยอง และเห็ดแครง เห็ดสามารถพัฒนาไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้านจากคุณสมบัติด้านโภชนาการ และเภสัชวิทยา เห็ดมีโปรตีน ใยอาหารสูง ไขมันต่ำกว่าในเนื้อสัตว์ อีกทั้งมีวิตามิน และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด ปลอดภัยจากการใช้สารเคมี สามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ สมุนไพร และเครื่องสำอาง เพื่อให้เป็นทางเลือกแก่ผู้บริโภคที่มีความสนใจในคุณสมบัติพิเศษของเห็ด และเพื่อสร้างมูลค่าให้แก่เห็ดที่มีความสำคัญในเชิงพาณิชย์สามารถพัฒนาไปสู่การผลิตในภาคอุตสาหกรรม เพื่อสร้างรายได้ให้แก่ประเทศต่อไป

เห็ดที่มีความสำคัญในเชิงพาณิชย์ชนิดหนึ่งคือเห็ดฟาง โดยเป็นเห็ดที่มีปริมาณการผลิตสูงสุดเป็นอันดับหนึ่งของประเทศไทย คิดเป็นร้อยละ 80 ของผลผลิตเห็ดทั้งหมด เนื่องจากเป็นเห็ดที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยที่เป็นแบบร้อนชื้น สามารถผลิตได้ตลอดทั้งปี แต่ปริมาณผลผลิตจะสูงมากในช่วงฤดูร้อน เพราะสภาพอากาศเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ส่งผลให้ราคาผลผลิตตกต่ำ นอกจากนี้เห็ดฟางยังเป็นเห็ดที่มีการเจริญเติบโตตลอดเวลาแม้ว่าจะเก็บเกี่ยวแล้ว ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างการเจริญเติบโต เน่าเสียได้ง่าย และรวดเร็วกว่าผลผลิตทางการเกษตรอื่น ๆ โดยมีระยะเวลาการเก็บรักษาสั้นเพียง 1 - 2 วัน ทำให้ผู้ผลิตและผู้จำหน่ายต้องรีบขายเห็ดฟางให้หมดภายวันเดียว โดยตลาดจะให้ราคาเห็ดฟางสูงเมื่อดอกตูม และราคาจะลดลงเหลือเพียงครึ่งหนึ่งเมื่อดอกบาน ซึ่งอายุของเห็ดฟางระยะดอกตูมเมื่อเก็บรักษาที่สภาพบรรยากาศทั่วไป (อุณหภูมิประมาณ 34-35 องศาเซียลเซียส) จะสั้นเพียง 1-2 วันก็จะเริ่มบาน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องแปรรูปเห็ดฟางสดหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อยืดอายุการใช้ประโยชน์จากเห็ดฟาง และเพิ่มแนวทางการใช้ประโยชน์จากเห็ดฟางให้มีความหลากหลายมากขึ้นจากเดิมที่ใช้เพื่อการบริโภคสดเพียงอย่างเดียวเท่านั้น เพื่อสร้างมูลค่าให้แก่เห็ดฟาง

เห็ดฟางเป็นเห็ดที่ได้รับความนิยมในการบริโภคเนื่องจากเป็นแหล่งอาหารที่มีรสชาติดี โดยรสชาติที่เด่นชัด คือ รสอูมามิซึ่งเป็นรสชาติของกลูตาเมตอิสระ หนึ่งในกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน และยังพบในเครื่องปรุงรสต่าง ๆ สารสำคัญที่ให้รสอูมามิ คือ กลูตาเมต ไอโนซิเนต และกัวไนเลต โดยมีรายงานวิจัยศึกษาปริมาณกรดกลูตามิกในเห็ดชนิดต่าง ๆ ของไทยพบว่า เห็ดฟางเป็นเห็ดที่มีปริมาณกรดกลูตามิกสูงถึง 429 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งสูงกว่าเห็ดทุกชนิดที่ผลิตได้ในประเทศไทย และที่ระยะการเจริญเติบโตเต็มที่ สารสำคัญที่ให้รสอูมามิในเห็ดฟางจะเพิ่มขึ้นสูงขึ้นเกือบ 3 เท่าของระยะเริ่มต้น ดังนั้นเห็ดฟางจึงเหมาะสมในการนำมาเป็นวัตถุดิบสำคัญในการผลิตเครื่องปรุงรสอาหาร เช่น ซอสปรุงรสที่เน้นรสชาติของอูมามิพร้อมทั้งช่วยลดการใช้ถั่วเหลืองในอุตสาหกรรมการผลิตซอสปรุงรส เนื่องจากถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีปัญหาด้านการดัดแปลงพันธุกรรม (Genetically Modified Organisms; GMOs) และเป็นวัตถุดิบที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งในกระบวนการหมักซอสปรุงรสควรใช้วิธีทางธรรมชาติเพื่อให้สามารถเป็นสินค้าส่งออกได้ นอกจากนี้ควรพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสให้มีปริมาณโซเดียมต่ำ เนื่องจากซอสปรุงรสในปัจจุบันมีปริมาณโซเดียมสูงมากส่งผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยพบว่าประชากรไทยได้รับโซเดียมสูงถึง 4,352 มิลลิกรัมต่อวัน คิดเป็น 2 เท่าของปริมาณ

กรมวิชาการเกษตร

สูงสุดของโซเดียมที่รับได้ และไม่ทำให้เกิดอันตรายจากข้อกำหนดขององค์การอนามัยโลก และโคเด็กซ์กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของโซเดียมที่รับได้ และไม่ทำให้เกิดอันตรายไว้ที่ 2,000 มิลลิกรัมต่อวัน ซึ่งแหล่งที่มาของโซเดียมส่วนใหญ่คิดเป็นร้อยละ 71 มาจากการใช้เครื่องปรุงรส ปัจจุบันมีผู้ผลิตเครื่องปรุงรสในประเทศไทยพยายามพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรสให้มีปริมาณโซเดียมต่ำ แต่พบว่า เทคนิคที่ใช้ในการลดปริมาณโซเดียมจะเป็นการทดแทนด้วยเกลือโพแทสเซียม ซึ่งจัดได้ว่าเป็นเกลือที่มีความอันตรายใกล้เคียงกับโซเดียม และไม่เหมาะแก่ผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูง และโรคไตเช่นกัน ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีทางกายภาพ และวิธีการประเมินทางประสาทสัมผัสมาใช้ในการลดปริมาณโซเดียมในผลิตภัณฑ์เพื่อให้ได้ซอสปรุงรสโซเดียมต่ำที่ไม่กระทบต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านรสเค็มของผลิตภัณฑ์

นอกจากรสชาติที่ดีของเห็ดฟางแล้ว เห็ดฟางยังเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพสูง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายครบทุกชนิด ได้แก่ เมไทโอนีน ทรีโอนีน ไลซีน เวลีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน ฟีนิวอะลานีน ทริปโรเฟน และอาร์จีนีน ปัจจุบันผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเสริมโปรตีนกำลังเข้ามามีบทบาทสำคัญต่อวิถีการดำเนินชีวิตของผู้บริโภค ซึ่งแต่เดิมผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ เช่น เวย์โปรตีนผง จะเป็นที่นิยมในหมู่นักกีฬาหรือผู้ออกกำลังกายเป็นประจำเท่านั้น แต่ปัจจุบันถูกจัดให้อยู่ในรูปแบบสำหรับกลุ่มผู้รักสุขภาพทั่วไปจากแนวคิดที่ว่าคนเราทุกคนต้องการโปรตีนเพื่อสร้างเนื้อเยื่อร่างกาย และกระดูกเพื่อช่วยในการเจริญเติบโต เช่น วัยเด็ก วัยรุ่นที่ต้องการโปรตีนเพื่อการเสริมสร้างกล้ามเนื้อ การเจริญเติบโต วัยสูงอายุที่ขาดโปรตีนได้ง่ายเนื่องจากระบบการย่อยอาหารเสื่อมลง ทำให้การบริโภคเนื้อสัตว์ซึ่งเป็นแหล่งของโปรตีนยากขึ้น ซึ่งหากผู้สูงอายุรับประทานโปรตีนน้อยกล้ามเนื้อจะยิ่งลีบลง ส่งผลเสียต่อการเคลื่อนไหว ดังนั้นผลิตภัณฑ์ประเภทโปรตีนสกัดจึงเข้ามามีบทบาทสำคัญต่อผู้บริโภคทุกวัยจากคุณสมบัติที่ย่อยง่าย และร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้สร้างกล้ามเนื้อได้อย่างรวดเร็ว ปัจจุบันในท้องตลาดมีโปรตีนสกัดหลายชนิด เช่น เวย์โปรตีน โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง แต่พบว่าโปรตีนสกัดที่มีอยู่ในท้องตลาดยังเกิดปัญหาในการบริโภคกับผู้บริโภคหลายกลุ่ม โดยเวย์โปรตีนนั้นเป็นโปรตีนที่สกัดมาจากนมวัวซึ่งยังคงมีน้ำตาลแลกโตส และไขมันผสมอยู่ทำให้ผู้บริโภคที่แพ้น้ำตาลแลกโตสในนมไม่สามารถบริโภคโปรตีนสกัดชนิดนี้ได้เพราะมีผลทำให้ท้องเสีย ขณะที่โปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองพบว่าจะทำให้เกิดแก๊สในกระเพาะได้ และมีกลิ่นของถั่วเหลือง (Beany) ที่ส่งผลให้รับประทานยาก ดังนั้นการหาพืชโปรตีนสูง คุณภาพดีชนิดใหม่ สามารถผลิตได้ในประเทศ เช่น เห็ดฟางจึงเหมาะสมในการเป็นทางเลือกสำหรับวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนสกัดเพื่อมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโปรตีน นอกจากการนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารแล้ว เห็ดฟางยังสามารถถูกนำมาใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้ โดยเห็ดฟางมีสารองค์ประกอบที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส ไฮยาลูโรนิเดส คอลลาจิเนส และอิลาสเทส นอกจากนี้ยังสามารถต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และต้านจุลินทรีย์ คุณสมบัติเหล่านี้จะช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ผิวหนังรวมไปถึงความสามารถป้องกันรังสียูวีได้เหมาะสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ซึ่งผู้บริโภคในปัจจุบันมีความสนใจ และนิยมเลือกใช้เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากสารสกัดจากธรรมชาติหลายชนิดมีคุณสมบัติเทียบเท่ากับสารเคมีที่ได้จากการสังเคราะห์และยังมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคสูงกว่า ทำให้เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากธรรมชาติเป็นที่น่าสนใจ และมีแนวโน้มการเลือกซื้อเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงเล็งเห็นศักยภาพของเห็ดฟางที่มีความสำคัญในเชิงพาณิชย์เพื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสสูตรโซเดียมต่ำ การผลิตโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางเพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร พร้อมทั้งศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดฟางเพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง สร้างความหลากหลายในการใช้ประโยชน์จากเห็ดฟาง

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ระเบียบวิธีการวิจัย

1. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ

1.1 ศึกษาสภาวะการอบแห้งเห็ดฟางที่เหมาะสม

ศึกษาการอบแห้งเห็ดฟางจาก 2 แหล่ง ได้แก่ ฟาร์มเกษตรกรผู้เพาะเห็ดฟาง และจากตลาดสด โดยคัดเลือกเห็ดฟางในระยะดอกบานหรือระยะเจริญเต็มที่มาล้างทำความสะอาด วางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำจนแห้ง หั่นตามยาว ความหนา 2.0±0.5 มิลลิเมตร นำเรียงในถาด ทำการอบแห้ง ด้วยตู้อบลมร้อน ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการอบแห้งเห็ดฟาง โดยศึกษาอุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ อุณหภูมิ 50, 60 และ 70°C และศึกษาเวลาในการอบแห้ง 4 ระดับ ได้แก่ 6, 8, 10 และ 12 ชั่วโมง ได้กรรมวิธีทั้งหมด 24 กรรมวิธี นำแต่ละกรรมวิธีที่ได้ไปวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี ในระบบ CIE L* a* b* และปริมาณน้ำอิสระ ค่าคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น ปริมาณสารให้รสอูมามิ คือ ปริมาณกรดกลูตามิกและกรดแอสพาร์ติก

คัดเลือกเห็ดฟางอบแห้งที่มีปริมาณสารสำคัญที่ให้รสอูมามิสูงที่สุด และมีปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 ปริมาณน้ำอิสระ ไม่เกิน 0.6 เพื่อให้ผลิตภัณฑ์เห็ดฟางอบแห้งที่ได้สามารถเก็บรักษาได้นาน โดยเชื้อราและยีสต์ที่ทนแห้งไม่สามารถเจริญได้ (วลัยรัตน์, 2549) นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรสในข้อ 2 ต่อไป

1.2 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเห็ดฟางอบแห้ง ถั่วเหลือง และแป้งข้าวเจ้าในการผลิตซอสปรุงรส

1) ศึกษาส่วนประกอบหลัก 3 ชนิดในสูตรการผลิตซอสปรุงรส ได้แก่ เห็ดฟางอบแห้งในระดับร้อยละ 30-50 ถั่วเหลืองร้อยละ 30-50 และแป้งข้าวเจ้าในระดับร้อยละ 20-30 โดยวางแผนการทดลองแบบผสม (Mixture design) ได้สูตรการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง 7 กรรมวิธี ตามแผนภาพ Trilinear coordinate system

กรรมวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Mixture design

กรรมวิธีที่ 1 เห็ดฟางอบแห้ง : ถั่วเหลือง : แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 50:30:20

กรรมวิธีที่ 2 เห็ดฟางอบแห้ง : ถั่วเหลือง : แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 40:30:30

กรรมวิธีที่ 3 เห็ดฟางอบแห้ง : ถั่วเหลือง : แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 30:40:30

กรรมวิธีที่ 4 เห็ดฟางอบแห้ง : ถั่วเหลือง : แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 30:50:20

กรรมวิธีที่ 5 เห็ดฟางอบแห้ง : ถั่วเหลือง : แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 40:40:20

กรรมวิธีที่ 6 เห็ดฟางอบแห้ง : ถั่วเหลือง : แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 40:35:25

กรรมวิธีที่ 7 เห็ดฟางอบแห้ง : ถั่วเหลือง : แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 35:40:25

กรรมวิธีที่ 8 เห็ดฟางอบแห้ง : ถั่วเหลือง : แป้งข้าวเจ้า เท่ากับ 0 :75:25 (สูตรควบคุม)

2) นำสิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลองมาผลิตซอสปรุงรสโดยกรรมวิธีการผลิต ดังนี้ นึ่งเห็ดฟางอบแห้ง และถั่วเหลืองให้สุก ทิ้งไว้จนเย็น จากนั้นผสมกับแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการคั่วแล้ว เติมเชื้อราชนิด *Aspergillus oryzae* บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (32-35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นตรวจดูการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus oryzae* โดยสังเกตจากสปอร์ที่มีสีเขียวแกมเหลืองคลุมทั่ววัตถุดิบ เรียกว่า โคจิ แล้วนำไปหมักต่อในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หมักเป็นเวลา 3 เดือน เมื่อครบกำหนด 3 เดือน นำซอสปรุงรสดิบไปทำการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วทำให้เย็นทันทีโดยการแช่ในน้ำแข็ง แล้วบรรจุน้ำซอสปรุงรสที่ได้ในขวดแก้ว ได้ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส ศึกษาค่าคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี ในระบบ CIE L* a* b* และปริมาณน้ำอิสระ คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง คุณภาพทางประสาทสัมผัส ได้แก่ การประเมินความชอบด้วยวิธี Hedonic scaling test 9 points และความพอดีด้วยวิธี Just about right โดยผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน เพื่อคัดเลือกกรรมวิธีการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ด

กรมวิทยาศาสตร์

ฟางที่ผู้ทดสอบชอบมากที่สุด โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกไม่สมบูรณ์ (Balanced Incompletely Block Design; BIB)

ทำการทดลองทั้งหมด 4 รอบ เพื่อให้มีจำนวนซ้ำในแต่ละสิ่งทดลองเท่ากับ 28 ซ้ำ ดังนั้นใช้ผู้ทดสอบทั้งหมด 56 คน ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9-Points Hedonic scale คัดเลือกสูตรที่ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมและการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด เพื่อใช้ในการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง และนำมาเป็นสูตรควบคุม สำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสโซเดียมต่ำต่อไป

1.3 ศึกษากรรมวิธีการลดโซเดียมในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง ในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรส 2 วิธี ดังนี้

1) วิธีการตกผลึก นำซอสปรุงรสที่ได้จากการพัฒนาในข้อ 2 ปริมาตร 600 มิลลิลิตร ไปให้ความร้อนจนมีปริมาตรเหลือประมาณ 420 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวางไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ชั่งน้ำหนักของผลึกเกลือทุก 2 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักผลึกคงที่ โดยทำการกรองผลึก อบ และชั่งน้ำหนักคงที่ของผลึก และวัดปริมาตรของน้ำซอสปรุงรสที่ผ่านการกรอง นำน้ำซอสปรุงรสที่ผ่านการกรอง มาปรับปริมาตรให้ได้ 600 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปวัดค่าคุณภาพ

2) วิธีการใช้กลิ่นช่วยเสริมรสเค็ม นำซอสที่หมักไว้ 3 เดือนมาเติมน้ำกลั่นอัตราส่วนระหว่างซอสปรุงรสเห็ดฟาง : น้ำกลั่น เท่ากับ 1 : 3 จากนั้นศึกษาระดับการเติมกลิ่นซอสถั่วเหลืองที่เหมาะสม 4 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 โดยใช้ผู้ทดสอบ จำนวน 9 คน ซึ่งผ่านการฝึกฝนสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาเป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง และมีประสบการณ์ในการทดสอบผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ (รวมทั้งผลิตภัณฑ์ซอสต่างๆ ได้แก่ ซอสปรุงรส ซอสถั่วเหลือง ซอสหอยนางรม) ไม่น้อยกว่า 2,000 ชั่วโมง ทำการประเมินความเข้มของรสเค็มและรสอูมามิของตัวอย่างซอสปรุงรสโดยใช้หลักการของการทดสอบเชิงพรรณนา โดยสเกลที่ใช้คือสเกลเส้นตรงความยาว 15 เซนติเมตร ที่มีคะแนน 0 – 15 (ไม่มี-มากที่สุด) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายตัวแปร (Multivariate Analysis of Variance: MANOVA) รายงานความแตกต่างของค่าเฉลี่ยคะแนนความเข้มของลักษณะต่าง ๆ ระหว่างตัวอย่างที่ระดับนัยสำคัญ (α) เท่ากับ 0.05 หรือระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ผลที่ได้จะทำให้สามารถกำหนดปริมาณของกลิ่นซอสถั่วเหลืองที่ช่วยให้การรับรู้รสเค็มของผู้บริโภคเพิ่มขึ้นได้ นำซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำจากทั้งสองกรรมวิธีมาวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี ในระบบ CIE L* a* b* และปริมาณน้ำอิสระ คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ปริมาณกรดอะมิโน ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ทำ 3 ซ้ำการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาประเมินความแตกต่างโดยวิเคราะห์ t-test : Independent two sample t-test และศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการประเมินการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อสิ่งทดลองทั้ง 2 สูตรเปรียบเทียบกับสูตรควบคุมและสูตรทางการค้า นำข้อมูลมาประเมินความแตกต่างโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test

1.4 การคำนวณต้นทุนของวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ

คำนวณต้นทุนในการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำจากราคาของวัตถุดิบตามวิธีของวิทยาลัยการจัดการ (2548)

2. การผลิตโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากโปรตีน

2.1 การเตรียมเห็ดฟางอบแห้งโดยใช้การอบแห้งแบบลมร้อน

คัดเลือกเห็ดฟางระยะดอกบานมาล้างทำความสะอาด วางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำจนแห้ง หั่นตามยาวความหนา 2.0±0.5มิลลิเมตร นำเรียงในถาดและอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8

กรมวิชาการเกษตร

ชั่วโมง นำตัวอย่างเห็ดฟางอบแห้งที่ได้มาศึกษาปริมาณร้อยละผลผลิต ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตและเถ้า ทำ 3 ซ้ำการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ยร้อยละ

2.2 ศึกษาวิธีการสกัดโปรตีนจากเห็ดฟางเพื่อให้ได้กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายสูง

เปรียบเทียบวิธีการสกัดโปรตีนจากเห็ดฟาง 2 วิธี ดังนี้

1) วิธีละลายด้วยกรด ดัดแปลงจากกันยารัตน์ (2545) นำเห็ดฟางอบแห้งมาปั่นละเอียด เติมตัวทำละลาย 0.1 โมลาร์โซเดียมไฮดรอกไซด์ แช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองด้วยผ้าขาวบาง ล้างด้วยน้ำเย็นจนกระทั่งมีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง แล้วสกัดต่อด้วยกรดอะซิติก 0.54 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองของเหลว และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำสารละลายใสไปตกตะกอนโปรตีนโดยโซเดียมคลอไรด์ จนกระทั่งได้ความเข้มข้นสุดท้าย 3 โมลาร์ ในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บตะกอนที่ได้นำไปละลายด้วยกรดอะซิตริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 10 เท่าของปริมาณตะกอนและทำการ dialysis ในกรดอะซิตริก 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 40 เท่าของตะกอน เป็นเวลา 16 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 4องศาเซลเซียส จากนั้นทำการ dialysis ในน้ำกลั่นจนกระทั่งค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง นำตะกอนที่ได้ไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

2) วิธี Three-phase partitioning (TPP) ดัดแปลงจาก Suphat and Saroat (2015) นำตัวอย่างเห็ดอบแห้งแช่น้ำในอัตราส่วน 1:9 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร คั้นของเหลวผ่านผ้าขาวบาง และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 rpm นำสารละลายตัวอย่างผสมกับเทอร์ท-บิวทานอล ในอัตราส่วน 1:2 เติมเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 30 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ละลายส่วนผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer นำตัวอย่างไปเขย่าแล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นำตะกอนโปรตีนจากชั้นกลางไปทำ dialysis เพื่อกำจัดเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตออก ก่อนนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง

นำโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางที่ได้จากทั้ง 2 วิธีมาศึกษาคุณภาพของโปรตีนสกัดจากเห็ดฟาง ดังนี้ คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสีในระบบ CIE L* a* b* ปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณความชื้น การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย ทำ 3 ซ้ำการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาประเมินความแตกต่างด้วยวิธีการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ t-test: Independent two sample t-test เพื่อคัดเลือกวิธีการสกัดโปรตีนที่ให้ร้อยละผลผลิต ปริมาณโปรตีนรวม ปริมาณกรดอะมิโนสูง เพื่อนำมาศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน ได้แก่ ความสามารถในการละลายน้ำ การเกิดฟอง (ดัดแปลงจาก Shahidi *et al.,* 1995) และการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (ดัดแปลงจาก Pearce and Kinsella, 1978)

2.3 การประยุกต์ใช้โปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางในผลิตภัณฑ์อาหาร

ประยุกต์ใช้โปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางเพื่อพัฒนาเป็นเครื่องดื่มโปรตีนสกัดจากเห็ดฟาง ดังนี้

1) การคัดเลือกสูตรพื้นฐานของเครื่องดื่มโปรตีนผสมธัญญาหาร เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ

ผลิตเครื่องดื่มโปรตีนผสมธัญญาหารจากสูตรพื้นฐานที่แตกต่างกัน 2 สูตร จากนั้นทดสอบความชอบของผลิตภัณฑ์ กับผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ แบบ 9-Points Hedonic scale คัดเลือกสูตรพื้นฐานที่มีคะแนนความชอบมากที่สุด สูตรพื้นฐานที่คัดเลือกได้จะนำมาใช้ในการผลิตเครื่องดื่มโปรตีนสกัดต้นแบบ เพื่อใช้ในการศึกษาการทดแทนโปรตีนสกัดจากเห็ดฟาง

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1 สูตรพื้นฐานการผลิตเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัด

ส่วนผสม	สูตรที่ 1 (ร้อยละ)	สูตรที่ 2 (ร้อยละ)
โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง	12.10	14.00
ธัญญาหารรวม	34.72	56.77
น้ำตาลทราย	9.40	5.30
ครีมเทียม (transfat free)	12.48	7.23
นมผงขาดมันเนย	10.00	-
มอลโตเด็กซ์ตริน	20.00	16.70
กลิ่นวนิลา	1.30	-

2) ศึกษาระดับของโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโปรตีน

สูตรการผลิตเครื่องดื่มโปรตีนผสมธัญญาหารที่คัดเลือกได้ตามข้อ 1) นำมาทดแทนโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองในสูตรการผลิตด้วยโปรตีนสกัดจากเห็ดฟาง 4 ระดับ ได้แก่ ทดแทนที่ระดับร้อยละ 100, 75, 50 และ25 นำไปทดสอบความชอบของผลิตภัณฑ์ กับผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ แบบ 9-Points Hedonic scale และความพอดี Just about right scale

3) ศึกษาค่าคุณภาพของเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัดจากเห็ดฟาง

ศึกษาคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสีในระบบ CIE L* a* b* คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์

3. การผลิตสารสกัดจากเห็ดฟางและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

3.1 การเตรียมเห็ดฟางดอกตูม และเห็ดฟางดอกบานอบแห้งป่นละเอียด

เตรียมเห็ดฟางทั้ง 2 ระยะ ได้แก่ ระยะดอกตูม และระยะดอกบาน อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง นำเห็ดฟางที่แห้งแล้วทั้ง 2 ระยะมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น นำเห็ดฟางแห้งที่บดแล้วไปวิเคราะห์ร้อยละผลผลิตที่ได้ปริมาณความชื้น ค่าปริมาณน้ำอิสระ ค่าสี องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน 15 ชนิด

3.2 การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางด้วยการย่อยโดยเอนไซม์อัลคาเลส

สกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางที่กรรมวิธีต่าง ๆ จากนั้นคัดเลือกกรรมวิธีการย่อยที่ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุด ไปประยุกต์ใช้ในโลชั่นบำรุงผิมผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทสกัดจากเห็ดฟาง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design 8 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เห็ดฟางในระยะดอกตูม สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 2 เห็ดฟางในระยะดอกตูม สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 3 เห็ดฟางในระยะดอกตูม สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 4 เห็ดฟางในระยะดอกตูม สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 5 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 5 เห็ดฟางในระยะดอกบาน สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 6 เห็ดฟางในระยะดอกบาน สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 7 เห็ดฟางในระยะดอกบาน สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 8 เห็ดฟางในระยะดอกบาน สกัดด้วยเอนไซม์ที่ระยะเวลา 5 ชั่วโมง

กรมวิทยาศาสตร์

วิเคราะห์ค่าคุณภาพ ได้แก่ ปริมาณความชื้น ค่าสี ปริมาณน้ำอิสระ ปริมาณกรดอะมิโน 15 ชนิด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางโดยใช้ Kojic acid เป็นสารมาตรฐาน

3.3 การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทสกัดจากเห็ดฟางในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ได้แก่ โลชั่นบำรุงผิว

นำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางที่ผ่านการคัดเลือกจากกรรมวิธีที่ดีที่สุดมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว ทดสอบความคงตัวแบบเร่ง เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวที่ไม่เคยเปิดฝาบรรจุภัณฑ์มาก่อนที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 45 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำเช่นนี้สลับกันจนครบ 4 ครั้ง จากนั้นนำมาวางไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบลักษณะทั่วไปเปรียบเทียบกับสภาพเดิมของผลิตภัณฑ์ (มอก. เอส 15-2561) ซึ่งจะได้ความคงตัวตลอดอายุเครื่องสำอาง โดยปกติปริมาณ 3 ปี ทำการบันทึกผล สี การแยกชั้น ค่าความเป็นกรดด่าง

ทดสอบเพื่อคัดเลือกความชอบด้านประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 25 คน ด้วยวิธี 7 point hedonic scale เพื่อคัดเลือกกรรมวิธีที่ชื่นชอบที่สุด โดยทดสอบ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ความเหนียวเหนอะหนะ การซึมสู่ผิว และการยอมรับผลิตภัณฑ์

วิเคราะห์สารปนเปื้อนและค่าจุลินทรีย์ผลิตภัณฑ์สุดท้ายตาม มอก. เอส 15-2561 เรื่องผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรได้แก่ ตะกั่ว ปรอท สารหนู และแบเรียมที่ละลายได้ ตามมาตรฐานของศูนย์วิจัยสุขภาพและความงามมาโนเซ่ (Julshamn *et al.*,2013) จุลินทรีย์ปนเปื้อน ได้แก่ Totol Aerobic Plate count, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* และ *Clostridium spp*.

3.4 คำนวณต้นทุนการผลิต

คำนวณต้นทุนการผลิตของผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง

ผลการวิจัยและอภิปราย (Results and Discussion)

1. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ

1.1 ศึกษาสภาวะการอบแห้งเห็ดฟางที่เหมาะสม

ผลการศึกษาค่าคุณภาพทางกายภาพและเคมีของเห็ดฟางอบแห้งทั้ง 24 กรรมวิธี มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

จากการศึกษาสภาวะการอบแห้งเห็ดฟางที่เหมาะสม แสดงให้เห็นว่าเห็ดฟางดอกบานเป็นแหล่งที่ดีของปริมาณสารสำคัญที่ให้รสอูมามิซึ่งเป็นสารสำคัญในการผลิตซอสปรุงรส นั่นคือ กรดกลูตามิก (6,707-6,974 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และกรดแอสพาร์ติก (2,613-2,865 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) เมื่อศึกษาปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำอิสระ พบว่า การใช้สภาวะการอบแห้งอุณหภูมิตั้งแต่ 60 องศาเซลเซียส และเวลาในการอบแห้งตั้งแต่ 8 ชั่วโมงขึ้นไป จะทำให้ได้ตัวอย่างที่แห้งและสามารถบดละเอียดได้ ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อใช้อุณหภูมิและเวลาในการอบแห้งเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำอิสระลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตัวอย่างจะมีปริมาณความชื้นระหว่างร้อยละ 4.21-6.39 ซึ่งต่ำกว่าร้อยละ10 ขณะที่ปริมาณน้ำอิสระมีค่าอยู่ระหว่าง 0.23-0.39 ซึ่งต่ำกว่า 0.6 โดยปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำอิสระดังกล่าวสามารถป้องกันการเน่าเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ ซึ่งมีความสำคัญต่ออายุการเก็บรักษา การเสื่อมเสียและความปลอดภัยของอาหาร (สมชาติ, 2540) เมื่อพิจารณาสภาวะการอบแห้งต่อปริมาณกรดกลูตามิกและกรดแอสพาร์ติกซึ่งเป็นกรดอะมิโน พบว่า การใช้อุณหภูมิต่ำและเวลาในการอบแห้งสั้นมีผลทำให้ปริมาณกรดกลูตามิกและกรดแอสพาร์ติกสูงกว่าการใช้อุณหภูมิสูงเวลานาน เนื่องจากโปรตีนในอาหารอาจสูญเสียโครงสร้างในระหว่างการทำแห้งได้จากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนในภาวะที่ได้รับความร้อนสูงเป็นเวลานานทำให้เกิดค

กรมวิทยาศาสตร์

รอสลิง (crosslink) ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนและความร้อนทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดอะมิโนบางชนิด ทำให้สูญเสียโครงสร้างไป จึงทำให้ปริมาณกรดอะมิโนลดลงเมื่อสภาวะการทำแห้งรุนแรงขึ้น (รัชนี, 2535) จากเหตุผลที่กล่าวมาสภาวะการอบแห้งเห็ดฟางที่เหมาะสมควรมีปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 และปริมาณน้ำอิสระไม่เกิน 0.6 ขณะที่ต้องมีการพิจารณาปริมาณกรดกลูตามิกและกรดแอสพาร์ติกซึ่งเป็นสารสำคัญที่ให้รสอูมามิในผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรสด้วย ซึ่งพบว่า สิ่งทดลองที่ใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 8 ชั่วโมงเป็นสภาวะการอบแห้งเห็ดฟางระยะดอกบานที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีปริมาณความชื้น ปริมาณน้ำอิสระอยู่ในช่วงที่ต้องการ อีกทั้งมีปริมาณกรดกลูตามิกและกรดแอสพาร์ติกสูงที่สุด

1.2 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเห็ดฟางอบแห้ง ถั่วเหลือง และแป้งข้าวเจ้าในการผลิตซอสปรุงรส

ผลการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่า ผู้ทดสอบสิ่งทดลองทั้ง 7 สิ่งทดลองและสูตรควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ขณะที่ความเข้มของสีซอสผู้ทดสอบชอบสูตรควบคุมน้อยที่สุด เมื่อพิจารณาจากคะแนนความชอบที่ผู้ทดสอบประเมินต่อสิ่งทดลอง พบว่า สิ่งทดลองที่ 2 ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบมากกว่าสิ่งทดลองอื่นโดยได้คะแนนความเข้มของสี กลิ่นรสซอส รสเค็ม และความชอบโดยรวมเท่ากับ 6.04, 5.21, 4.65 และ5.48 ตามลำดับ และเมื่อประเมินความพอดีในแต่ละคุณลักษณะ พบว่า สิ่งทดลองทั้ง 7 สิ่งทดลองและสูตรควบคุมต้องปรับลดรสเค็ม และกลิ่นรสซอสฉุนมากเกินไป เมื่อพิจารณาจากอัตราส่วน พบว่า การเพิ่มเห็ดฟางส่งผลให้คะแนนความชอบโดยรวม สี และกลิ่นรสเพิ่มมากขึ้น ขณะที่การเพิ่มถั่วเหลืองส่งผลให้คะแนนความชอบโดยรวม สี และกลิ่นรสมีคะแนนลดลง

ดังนั้น สิ่งทดลองที่ 2 จึงมีความเหมาะสมในการนำผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง โดยมีอัตราส่วนระหว่างเห็ดฟาง : ถั่วเหลือง : แป้งข้าวเจ้า คือ 40:30:30 ซึ่งสิ่งทดลองที่ใช้เห็ดฟางสูงขึ้นจะส่งผลให้ความชอบของผู้บริโภคเพิ่มขึ้น เนื่องจากเห็ดฟางมีรสชาติที่เด่นชัด คือ รสอูมามิซึ่งเป็นรสชาติของกลูตาเมตอิสระ หนึ่งในกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนพบได้ในอาหารตามธรรมชาติหลากหลายชนิด เช่น เห็ด สาหร่าย เนื้อสัตว์ ถั่วลันเตา และเครื่องปรุงรสต่าง ๆ สารสำคัญที่ให้รสอูมามิ คือ กรดกลูตามิกและกรดแอสพาร์ติก โดย Tsai *et al*. (2007) รายงานว่า เห็ดฟางในระยะดอกบานมีปริมาณสารสำคัญที่ให้รสอูมามิในเห็ดฟางเพิ่มขึ้นสูงขึ้นเกือบ 3 เท่าของระยะเริ่มต้น ดังนั้นสิ่งทดลองที่ใช้ปริมาณเห็ดฟางสูงมีผลทำให้รสชาติของซอสปรุงรสที่ได้ดีกว่าสิ่งทดลองที่ใช้เห็ดฟางในปริมาณน้อย นอกจากนี้กระบวนการหมักที่ใช้วัตถุดิบที่อุดมไปด้วยโปรตีนดังเช่นเห็ดฟางมาผสมเกลือแล้วทำการหมักด้วยจุลินทรีย์ *Aspergillus oryzae* ซึ่งจะสร้างเอนไซม์โปรติเอสในระหว่างการหมักและทำหน้าที่ย่อยโปรตีนที่อยู่ในเห็ดฟางจนได้เป็นกรดอะมิโน ไนโตรเจนที่อยู่ในกรดอะมิโนนี้จะส่งผลต่อกลิ่นรสของซอสที่หมักได้ (วิเชียร, 2526) ดังนั้น การใช้เห็ดฟางในปริมาณสูงจะยิ่งเพิ่มปริมาณกรดกลูตามิกให้สูงขึ้นและรสชาติของเครื่องปรุงรสที่รสชาติดีจะเกิดจากการมีปริมาณกลูตามิกสูงกว่ากรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ

กรมวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 2 คุณภาพทางกายภาพของซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำและสูตรควบคุม

สิ่งทดลอง	ค่าสี			ปริมาณน้ำอิสระ	pH	โซเดียม	โปรตีน	กรดกลูตามิก	กรดแอสพาร์ติก
	L*	a*	b*			(%)	(%)	(mg/100g)	(mg/100g)
ซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง	28.01b	4.30b	-6.53c	0.81b	5.30b	18.00a	12.30a	1470.10b	945.11a
ซอสถั่วเหลือง	33.32a	5.42a	-2.09b	0.80b	5.22b	17.50a	13.13a	1622.34a	1008.75a
ซอสปรุงรสโซเดียมต่ำด้วยวิธีตกผลึก	29.62b	4.03b	-6.68c	0.83b	5.21b	14.50b	12.48a	1433.20b	967.80a
ซอสปรุงรสโซเดียมต่ำด้วยวิธีกลิ่นเสริมรสเค็ม	36.41a	3.92b	1.08a	0.89a	5.70a	11.85c	9.05b	1067.80c	593.60b

หมายเหตุ a-c หมายถึง ค่าเฉลี่ยข้อมูลในแนวตั้งเดียวกันมีอักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

กรมวิชาการเกษตร

1.3 ศึกษากรรมวิธีการลดโซเดียมในผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟาง

นำสิ่งทดลองไปศึกษากรรมวิธีการลดโซเดียมด้วยวิธีการตกผลึกและวิธีใช้กลิ่นเสริมรสเค็มได้ผลการทดลอง (ตารางที่ 2) ดังนี้

1) วิธีการตกผลึก เป็นวิธีในการลดความเข้มข้นของสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ โดยต้องมีการลดปริมาตรสารละลายให้เป็นสารละลายยิ่งยวดซึ่งสสารส่วนใหญ่ในธรรมชาติสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีอุณหภูมิสูง จากนั้นนำสารละลายอุณหภูมิสูงดังกล่าวไปทำให้เย็นตัวลงจะก่อให้เกิดการแยกตัวของสารเกิดเป็นผลึกของแข็ง ซึ่งเรียกว่า การตกผลึก (กุมุทนาถ, 2546) จากผลการทดลองพบว่า เมื่อใช้ซอสปรุงรส 600 มิลลิลิตร และต้มเพื่อลดปริมาตรลงเหลือ 420 มิลลิลิตร สามารถตกผลึกเกลือได้ทั้งสิ้น 66.28 กรัม มีปริมาณโซเดียมคงเหลือร้อยละ 14.50 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีค่าต่ำกว่าสูตรควบคุมคิดเป็นร้อยละ 19.44 มีปริมาณน้ำอิสระ เท่ากับ 0.83 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.21 มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 12.48 มีกรดอะมิโนที่ให้รสอูมามิ ได้แก่ กรดแอสพาร์ติกและกรดกลูตา-มิก เท่ากับ 967.8 มิลลิกรัม/100 กรัม และ 1,433.2 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ

2) วิธีใช้กลิ่นเสริมรสเค็ม พบว่า กลิ่นซอสถั่วเหลืองสามารถเพิ่มระดับการรับรู้รสเค็มของผู้บริโภคได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยการเพิ่มกลิ่นซอสถั่วเหลืองร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ2.0 จะส่งผลให้ระดับการรับรู้รสเค็มเพิ่มขึ้นเท่ากับ 9.91, 9.97, 10.42, 10.79 และ10.98 ตามลำดับ ทั้งนี้เกิดขึ้นจากการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างการรับรู้กลิ่นและการรับรู้รส (odour-taste interaction) เป็น cross-modal perception แบบหนึ่งในการรับรู้ทางประสาทสัมผัส (Narisa *et al*. 2011 and Lawrence *et al*. 2011) โดยมีงานวิจัยที่ศึกษาเจาะจงเกี่ยวกับการเพิ่มระดับความเข้มของการรับรู้ความเค็ม (saltiness) ด้วยกลิ่นที่มีความเกี่ยวข้องหรือสัมพันธ์กับรสเค็มซึ่งเรียกว่า Odour-Induced Saltiness Enhancement (OISE) โดยปริมาณกลิ่นซอสถั่วเหลืองสามารถเพิ่มการรับรู้รสเค็มได้ โดยปริมาณที่เหมาะสม คือ ร้อยละ1.5 โดยน้ำหนัก ซึ่งทำให้ระดับการรับรู้รสเค็มของผู้ทดสอบเพิ่มขึ้นจากตัวอย่างที่ไม่เติมกลิ่นซอสถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเพิ่มจาก 9.91 เป็น 10.79 และมีรสอูมามิเท่ากับ 3.41 แต่ระดับการรับรู้รสเค็มดังกล่าวน้อยกว่าซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสูตรควบคุมมีระดับรสเค็มเท่ากับ 11.04 ขณะที่รสอูมามิไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.40 ขณะที่สูตรทางการค้ามีระดับรสเค็มเท่ากับ 11.21 และรสอูมามิเท่ากับ 4.08 ซึ่งมากกว่าซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำและสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำด้วยวิธีใช้กลิ่นเสริมรสเค็มมีปริมาณโซเดียมคงเหลือร้อยละ 11.85 โดยน้ำหนัก ซึ่งต่ำกว่าสูตรควบคุมและสูตรที่ใช้วิธีการตกผลึกร้อยละ 34.16 และ 18.27 ตามลำดับ

นำซอสปรุงรสที่ได้จากทั้งสองกรรมวิธีไปทดสอบความชอบและการยอมรับเปรียบเทียบกับตัวอย่างทางการค้า พบว่า ผู้ทดสอบชอบตัวอย่างซอสปรุงรสทั้งสามตัวอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบโดยรวมสูตรทางการค้ามากที่สุด (7.47) รองลงมาคือซอสปรุงรสที่ใช้กลิ่นเสริมรสเค็ม (6.33) และซอสปรุงรสที่ใช้วิธีตกผลึก (5.41) ตามลำดับ เมื่อประเมินการยอมรับพบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับซอสปรุงรสสูตรทางการค้ามากที่สุด รองลงมาคือ ซอสปรุงรสให้วิธีเสริมรสเค็มและวิธีตกผลึก โดยร้อยละการยอมรับ เท่ากับ 92.36, 80.14 และ 78.15 ตามลำดับ ทั้งนี้เพราะสูตรทางการค้ามีการปรุงแต่งทั้งรสชาติและกลิ่นโดยมีการเติมสารปรุงแต่งกลิ่นรสต่าง ๆ เช่น น้ำตาล กลิ่นซอส ขณะที่ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางยังไม่ได้ปรุงแต่งรสชาติเหมือนตัวอย่างทางการค้าจึงส่งผลต่อความชอบและการยอมรับของผู้บริโภคได้

1.4 การคำนวณต้นทุนของวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ

ผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำมีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 39.17 บาทต่อ 100 กรัม ซึ่งมีราคาสูงกว่าสูตรควบคุมที่มีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 35.61 ต่อ 100 มิลลิลิตร เนื่องจาก สูตรโซเดียมต่ำมีต้นทุนเพิ่มขึ้นจากกลิ่นซอสถั่วเหลือง

กรมวิชาการเกษตร

2. การผลิตโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากโปรตีน

2.1 การเตรียมเห็ดฟางอบแห้งโดยใช้การอบแห้งแบบลมร้อน

เตรียมเห็ดฟางอบแห้งโดยใช้การอบแห้งแบบลมร้อน อุณหภูมิในการอบแห้ง 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง นำตัวอย่างเห็ดฟางอบแห้งที่ได้มาศึกษาปริมาณความชื้น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และเถ้า พบว่า เห็ดฟางอบแห้งที่ได้มีร้อยละผลผลิต เท่ากับ 8.52 ปริมาณความชื้นร้อยละ 6.40 โปรตีนร้อยละ 33.10 ไขมันร้อยละ 2.57 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 52.99 และเถ้าร้อยละ 9.17 จากค่าคุณภาพดังกล่าวจะเห็นว่าเห็ดฟางอบแห้งเป็นแหล่งที่ดีในการนำมาสกัดโปรตีน เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 33.10 ต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม ขณะที่มีปริมาณไขมันน้อย แต่ยังคงมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง สอดคล้องกับสุนันท์ (2529) ซึ่งรายงานว่าเห็ดเป็นแหล่งที่ดีของโปรตีน

2.2 ศึกษาวิธีการสกัดโปรตีนจากเห็ดฟางเพื่อให้ได้กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายสูง

จากการสกัดแยกโปรตีนจากเห็ดฟางอบแห้งด้วยวิธีละลายด้วยกรดและวิธี Three-phrase partitioning (TPP) แล้วทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งได้โปรตีนสกัดในรูปแบบผง นำไปวัดค่าคุณภาพ พบว่า โปรตีนสกัดจากทั้งสองวิธีมีร้อยละผลผลิตและค่าสีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ขณะที่มีปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยโปรตีนที่สกัดด้วยวิธี TPP มีร้อยละผลผลิต เท่ากับ 18.20 ขณะที่โปรตีนสกัดด้วยวิธีละลายด้วยกรดมีร้อยละผลผลิต เท่ากับ 5.16 ทั้งนี้ปริมาณผลผลิตของโปรตีนผงจากวิธีละลายด้วยกรดน้อยกว่าวิธี TPP อาจเกิดจากการสูญเสียโปรตีนบางส่วนในขั้นตอนการผลิต เช่น การสูญเสียโปรตีนที่ละลายได้ในกรด (Acid-soluble solid) ที่อาจจะเกิดขึ้นในขั้นตอนการสกัด การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งจะไปลดค่า dielectric constant ของสารละลายโปรตีน ทำให้เกิดการจับรวมตัวกันเองของโปรตีนตกตะกอนได้ง่ายแต่อาจทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติได้บางส่วน (Mune *et al.*, 2011)

นำโปรตีนผงที่สกัดได้จากทั้งสองวิธีไปวัดปริมาณโปรตีน ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน (ตารางที่ 3) พบว่าโปรตีนผงที่สกัดได้จากทั้งสองวิธีมีปริมาณโปรตีนโดยรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยโปรตีนผงที่สกัดได้จากวิธี TPP มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 55.47 ซึ่งเป็นปริมาณโปรตีนที่สูงในระดับโปรตีนเข้มข้น (Prortein concentrate) ขณะที่โปรตีนที่สกัดด้วยวิธีละลายด้วยกรดมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 43.11 ซึ่งอยู่ในระดับโปรตีนเข้มข้นเช่นกัน เมื่อวัดชนิดและปริมาณกรดอะมิโน 15 ชนิด พบว่า โปรตีนที่สกัดด้วยวิธี TPP มีปริมาณกรดกลูตามิก อะลานีน กรดแอสพาร์ติก วาลีน ทรีโอนีนและซีรีนสูง โดยมีค่าเท่ากับ 8,125.3 4,047.9 4,041.6 3,527.6 3,320.3 และ 3,240.6 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งชนิดของกรดอะมิโนที่พบในโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางด้วยวิธี TPP มีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายเป็นองค์ประกอบหลายชนิด ได้แก่ วาลีน ทรีโอนีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ฟีนิลอะลานีน ฮิสทีดีน และไลซีน โดยพบว่า มีกรดอะมิโนจำเป็นชนิด วาลีน ทรีโอนีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน ปริมาณมาก คือมีปริมาณคิดเป็นร้อยละ 3.53, 3.32, 2.93, 2.86 และ2.59 ตามลำดับ แต่มีปริมาณฟีนิลอะลานีนและฮิสทีดีนน้อยโดยมีปริมาณเท่ากับร้อยละ 1.20 และ 1.08 ตามลำดับ ขณะที่โปรตีนที่สกัดด้วยวิธีละลายด้วยกรดมีปริมาณกรดอะมิโนเกือบทุกชนิดน้อยกว่าวิธี TPP ยกเว้น กรดกลูตามิกและฟีนิลอะลานีนที่มีปริมาณสูงกว่าวิธี TPP เล็กน้อย โดยมีปริมาณ 8,930.4 และ 1,896.1 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ดังนั้น วิธี TPP จึงมีความเหมาะสมมากกว่าวิธีละลายด้วยกรดในการนำมาสกัดโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟาง

กรมวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 3 ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางที่ใช้วิธีการสกัดด้วยวิธีละลายด้วยกรดและวิธี TPP

ปริมาณกรดอะมิโน	วิธีการสกัดโปรตีน	
	วิธีละลายด้วยกรด(mg/100g)	TPP (mg/100g)
กรดแอสพาร์ติก	3,532.5	4,041.6
ทรีโอนีน*	1,245.8	3,320.3
ซีริน	1,617.0	3,240.6
กรดกลูตามิก	8,930.4	8,125.3
โพรลีน	1,581.1	2,710.0
ไกลซีน	1,449.7	2,630.1
อะลานีน	2,936.9	4,047.9
วาลีน*	2,216.4	3,527.6
ไอโซลิวซีน*	1,510.2	2,932.5
ลิวซีน*	2,052.1	2,857.4
ไทโรซีน	933.5	1,598.7
ฟีนิลอะลานีน*	1,896.1	1,205.3
ฮิสทิดีน*	936.7	1,081.2
ไลซีน*	2,135.4	2,593.5
อาร์จีนีน	1,881.1	2,646.2
ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด	34,854.9	46,558.2
ปริมาณโปรตีนทั้งหมด	43,110.3	55,472.1

หมายเหตุ * ปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย

2.3 การประยุกต์ใช้โปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางในผลิตภัณฑ์อาหาร

1) ผลการคัดเลือกสูตรพื้นฐานของเครื่องดื่มโปรตีนผสมธัญญาหาร เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ พบว่า ผู้ทดสอบชอบให้คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ ความเข้มของสี และกลิ่นโดยรวมของทั้งสองตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนความชอบโดยรวม ความข้นหนืด รสชาติโดยรวม เนื้อสัมผัสภายในปาก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) โดยสูตรที่ 1 มีคุณลักษณะด้านความชอบโดยรวม ความข้นหนืด รสชาติโดยรวม และเนื้อสัมผัสภายในปากมากกว่าสูตรที่ 2 โดยมีค่าความชอบโดยรวมอยู่ในระดับชอบปานกลาง (7.13) ขณะที่คุณลักษณะด้านความข้นหนืด รสชาติโดยรวม และเนื้อสัมผัสภายในปากของสูตรที่ 1 มีค่าคะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย (6.30-6.67) ซึ่งการที่ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของสูตรที่ 1 มากกว่าสูตรที่ 2 มีเหตุผลเนื่องจากสูตรที่ 1 มีการใช้ครีมเทียม นมผง มอลโตเด็กทรินซ์และน้ำตาลทรายสูงกว่าสูตรที่ 2 จึงทำให้เนื้อสัมผัสและรสชาติของผลิตภัณฑ์มีความหวานมันมากกว่า นอกจากนี้ยังมีการแต่งกลิ่นซึ่งส่งผลดีต่อคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากคะแนนความชอบในทุกคุณลักษณะจึงเลือกสูตรที่ 1 เป็นสูตรพื้นฐานในการผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนผสมธัญญาหารต้นแบบ เพื่อใช้ในการศึกษาระดับของโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโปรตีนต่อไป

2) ผลการศึกษาระดับของโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโปรตีน โดยนำสูตรพื้นฐานสูตรที่ 1 ซึ่งมีโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองร้อยละ 12.10 มาทดแทนด้วยโปรตีนสกัดจากเห็ดฟาง 4 ระดับ ได้แก่ ทดแทนที่ระดับร้อยละ 100, 75, 50 และ25 ผลการทดสอบ พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบที่มีต่อ

กรมวิชาการเกษตร

ตัวอย่างเครื่องดื่มโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยผู้ทดสอบชอบให้คะแนนความชอบโดยรวมเครื่องดื่มโปรตีนที่ทดแทนด้วยโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางร้อยละ 25 และ 50 มากที่สุด ($p \leq 0.05$) โดยให้คะแนนอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย (6.01 และ 6.37 ตามลำดับ) รองลงมาคือ ทดแทนที่ระดับร้อยละ 75 และ 100 ตามลำดับ โดยให้คะแนนอยู่ในระดับเฉย ๆ (5.76) และไม่ชอบเล็กน้อย (4.70) ตามลำดับ เมื่อพิจารณาแต่ละคุณลักษณะ พบว่า การเพิ่มระดับของโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางจะส่งผลให้ความชอบของผู้บริโภคลดลง โดยผู้บริโภคเริ่มให้คะแนนความชอบลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเพิ่มปริมาณการทดแทนเป็นร้อยละ 75 และให้คะแนนความชอบน้อยที่สุดเมื่อทดแทนที่ระดับร้อยละ 100 เนื่องจากโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางจะไปส่งผลต่อความชอบในคุณลักษณะด้านความเข้มของสี กลิ่นรสโดยรวม ความข้นหนืด และรสหวานของผลิตภัณฑ์ เมื่อประเมินการยอมรับ พบว่า ผู้ทดสอบยอมรับผลิตภัณฑ์ที่ทดแทนที่ระดับร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 เท่ากับร้อยละ 82.67, 79.54, 60.33, 40.91 ตามลำดับ ดังนั้น การใช้โปรตีนสกัดจากเห็ดฟางเพื่อทดแทนโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองในเครื่องดื่มควรใช้ที่ระดับการทดแทนร้อยละ 50

3) ศึกษาค่าคุณภาพของเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัดจากเห็ดฟาง

นำเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางมาวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ เคมี และคุณค่าทางโภชนาการ พบว่าเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัดจากเห็ดฟางมีสีเหลืองอ่อน ($L^*= 52.70$, $a^*= 3.99$ และ $b^*= 4.75$) และมีลักษณะขุ่น มีความเป็นกรดเล็กน้อยโดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.73 มีรสชาติหวานโดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 15.10 เมื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (ร้อยละต่อน้ำหนัก 100 กรัม) พบว่า มีพลังงานทั้งหมด 410.50 กิโลแคลอรี่ พลังงานจากไขมัน 29.90 กิโลแคลอรี่ โปรตีน 5.30 กรัม ไขมัน 2.85 กรัม คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 83.44 กรัม น้ำตาล 80.19 กรัม ใยอาหาร 3.25 กรัม โซเดียม 80 มิลลิกรัม แคลเซียม 76.21 มิลลิกรัม วิตามินบี1 2.37 มิลลิกรัม วิตามินบี2 8.19 มิลลิกรัม เหล็ก 1.15 มิลลิกรัม

3. การผลิตสารสกัดจากเห็ดฟางและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

3.1 การเตรียมเห็ดฟางดอกตูมและเห็ดฟางดอกบานอบแห้งป่นละเอียด

การเตรียมเห็ดฟางอบแห้งจากเห็ดฟางดอกตูมและดอกบานเห็ดฟางให้ปริมาณและค่าคุณภาพด้านสี ปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำอิสระใกล้เคียงกัน

3.2 การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางด้วยการย่อยโดยเอนไซม์อัลคาเลส

จากการทดลองย่อยเห็ดฟางดอกตูมและเห็ดฟางดอกบานอบแห้งป่นละเอียดด้วยเอนไซม์อัลคาเลส พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์มีความชื้นสูงขึ้นเมื่อเทียบกับเห็ดฟางดอกตูมและเห็ดฟางดอกบานอบแห้งป่นละเอียดเนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเซทถูกตัดพันธะให้สั้นลง ทำให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงจึงสามารถดูดความชื้นกลับได้เร็ว (เกียรติศักดิ์, 2557) สำหรับค่าปริมาณน้ำอิสระ พบว่า การย่อยเห็ดฟางดอกตูมที่ระยะเวลาการย่อย 2 ชั่วโมง มีค่าปริมาณน้ำอิสระน้อยที่สุด เนื่องจากเป็นระยะเวลาที่น้อยที่สุดทำให้มีระดับการย่อยต่ำกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ จึงได้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ยังมีโปรตีนสายยาวอยู่ การดูดความชื้นกลับจึงน้อยกว่ากรรมวิธีที่ใช้ระยะเวลาในการย่อยมากกว่า สำหรับการย่อยในกรรมวิธีอื่น ๆปริมาณน้ำอิสระมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีค่าสีเปลี่ยนแปลงไปจากเห็ดตูมและเห็ดฟางอบแห้งป่นละเอียด โดยโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีสีคล้ำลง มีความเป็นสีแดงมากขึ้น และความเป็นสีเหลืองลดลง สีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง จึงมีสีออกน้ำตาลแดงคล้ำ นอกจากนี้ค่าปริมาณความชื้นยังส่งผลต่อค่าสีด้วยโดยเมื่อปริมาณความชื้นสูงขึ้นส่งผลให้ค่าความสว่าง (L^*) มีค่าต่ำลง เนื่องมาจากปฏิกริยาการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลชนิดไม่มีเอนไซม์ (Non

กรมวิชาการเกษตร

enzymetic reaction) หรือ ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการย่อย เนื่องจากเห็ดฟางอบแห้งปั่นละเอียดยังคงมีน้ำตาลรีดิวซ์อยู่จึงถูกออกซิไดซ์เป็นสารมีสี โดยมีน้ำ ความร้อน และระยะเวลาในการให้ความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Qinchun *et al*., 2016) สำหรับค่าร้อยละผลได้มีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย โดยกรรมวิธีที่ 3 คือเห็ดฟางดอกตูมย่อยที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง มีค่าร้อยละผลได้สูงสุด และกรรมวิธีที่ 5 คือเห็ดฟางดอกบานย่อยที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมงมีค่าร้อยละผลได้ต่ำสุดคือ 45.13 โดยน้ำหนักแห้ง ในกรรมวิธีอื่น ๆ มีค่าร้อยละผลได้อยู่ในช่วง 51.21-57.91 โดยน้ำหนักแห้งซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อมองในภาพรวมจะเห็นว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง มีสมบัติทางกายภาพแตกต่างไปจากเห็ดฟางอบแห้งปั่นละเอียด แต่สำหรับโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางที่การย่อยตามกรรมวิธีต่างๆ มีค่าสมบัติทางกายภาพแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งการวิเคราะห์ค่าทางกายภาพอย่างเดียวไม่สามารถบอกได้ว่า กรรมวิธีใดได้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางที่ดีที่สุด จึงต้องทำการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน และสมบัติทางชีวภาพด้วย

เมื่อศึกษาชนิดและปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง (ตารางที่ 4) พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทมีปริมาณกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น ได้แก่ กรดแอสปาร์ติก ทรีโอนีน ซีรีน กรดกลูตามิก โพลีน ไกลซีน อะลานีน วาลีน ไอโซลิวซีน ฮิสทีดีน เนื่องจากเอนไซม์สามารถทำปฏิกริยากับเห็ดฟางได้มากขึ้น ส่วนลิวซีน ไทโรซีน ฟีนิลอะลานีน ไลซีน อาร์จีนีน มีแนวโน้มคงที่หรือลดลงเล็กน้อย สำหรับกรดอะมิโนที่เพิ่มขึ้นสูงมาก คือ กรดกลูตามิก โดยเฉพาะในโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางดอกบาน และมีแนวโน้มจะสูงขึ้นอีกเมื่อมีระยะเวลาในการย่อยนานขึ้น แต่เมื่อถึงระยะเวลาย่อยหนึ่งจะมีจำนวนลดลง ระยะเวลาในการย่อยจึงมีผลต่อปริมาณกรดอะมิโนที่ได้ โดยสำหรับเห็ดฟางดอกตูมกรดอะมิโนมีความสำคัญสำหรับผิว เช่น กรดกลูตามิก ไกลซีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญในการสร้างกลูต้าไธโอน ไกลซีน โพลีน อะลานีน กรดกลูตามิก ซีรีน เป็นกรดอะมิโนที่สำคัญในการสร้างคอลลาเจน ยังยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ไฮยาลูโรนิเดส คอลลาจิเนส และอิลาสเทส ซึ่งช่วยคงความอ่อนเยาว์ และคงโครงสร้างผิว รักษาความชุ่มชื้น และเสริมสร้างความยืดหยุ่นแก่ผิว โดยเฉพาะกรดกลูตามิกซึ่งมีขนาดโมเลกุลเล็กมากซึ่งสามารถอุ้มน้ำได้ดี รักษาความชุ่มชื้นไว้ที่ผิว ไกลซีน ช่วยในการปกป้องเนื้อเยื่อ และเพิ่มอัตราการฟื้นฟูผิว อาจีนีน พบว่ามีหน้าที่เพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการรักษาบาดแผลให้หายเร็วขึ้น (wound-healing) (Gianfranco, 2008) จากคุณสมบัติของปริมาณกรดอะมิโนที่มีความสำคัญกับผิวพรรณ กรรมวิธีที่ 2 6 และ 7 คือ กรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยเห็ดฟางดอกตูม ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง เห็ดฟางดอกบาน ที่ระยะเวลา 3 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ มีปริมาณกรดอะมิโนสำคัญสำหรับผิวพรรณที่ดีกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ

เมื่อศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางทุกกรรมวิธีมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีที่เป็นสารมาตรฐาน ซึ่งการย่อยเห็ดฟางดอกบานที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง มีความสามารถในการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสต่ำ ขณะที่การย่อยเห็ดฟางดอกตูมให้เป็นโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูง เมื่อวิเคราะห์ทั้ง 3 ปัจจัยร่วมกัน คือ ปริมาณกรดอะมิโนที่สำคัญต่อผิวพรรณ ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ดังนั้น กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางที่เหมาะสม คือ การย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลสโดยใช้เห็ดฟางดอกตูมระยะเวลา 3 ชั่วโมง ร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางดอกบานย่อยที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง ผสมกันในอัตราส่วน 1:1 เพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางที่มีประสิทธิภาพสูงสุดทั้งต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

3.3 การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทสกัดจากเห็ดฟางในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ได้แก่ โลชั่นบำรุงผิว

นำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางดอกตูมย่อยที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางดอกบานย่อยที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง ในอัตราส่วน 1:1 มาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว พบว่า การ

กรมวิทยาศาสตร์

ผลิตโลชั่นตามกรรมวิธีที่ 1-3 ยังมีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในค่ามาตรฐาน มอก. เอส 15-2561 (ต้องอยู่ระหว่าง 3.5 ถึง 7.5) คือมีค่าอยู่ในช่วง 5.544 – 7.177 เนื่องจากกรรมวิธี 4 – 9 มีส่วนประกอบของเจลซึ่งขึ้นรูปเจลจาก Triethanolamine ซึ่งเป็นเบส ทำให้โลชั่นที่ได้มีค่าความเป็นด่าง หากพิจารณาปรับกรดให้อยู่ในช่วงต่ำกว่า 7 จะทำให้เนื้อโลชั่นมีการเปลี่ยนแปลงไป สำหรับค่าความสว่างของโลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางมีความแตกต่างกันเล็กน้อย โดยโลชั่นกรรมวิธีที่ 1-3 ไม่มีส่วนผสมของเจลจะมีความสว่างมากกว่า ค่าความเป็นสีแดง (a*+) แตกต่างกันเล็กน้อย ค่าความเป็นสีเหลือง (b*+) มีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย ยกเว้นตัวอย่างที่ 4-5 มีค่าความเป็นสีเหลืองต่ำสุด เมื่อนำโลชั่นผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางมาเปรียบเทียบกับโลชั่นทั่วไป

นำโลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนโดรไลเซทจากเห็ดฟางไปทำการทดสอบความคงตัวที่สภาะเร่ง (Accelerated Storage Test) พบว่ากรรมวิธีที่ 1 ที่ยังคงมีความคงตัวเป็นเนื้อเดียวกัน ส่วนกรรมวิธีอื่น ๆ ผลิตภัณฑ์โลชั่นมีการแยกชั้นออกเป็น 4 ชั้น ได้แก่ ชั้นของฟองอากาศซึ่งเป็นไขมันแข็ง ชั้นของแผ่นไขมัน ชั้นน้ำมัน และชั้นของน้ำร่วมกับองค์ประกอบที่ละลายน้ำ ดังนั้นจากการทดสอบที่สภาวะเร่งนี้ จึงคัดเลือกกรรมวิธีที่ 1 เป็นผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีน ไฮโดรไลเซทสกัดจากเห็ดฟาง จากนั้นวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทกรรมวิธีที่ 1 ก่อนและหลังการทดสอบด้วยสภาวะเร่งที่อุณหภูมิร้อนสลับเย็นจำนวน 4 รอบ ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทสกัดจากเห็ดฟางไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ดังนั้นจึงเลือกกรรมวิธีที่ 1 ในการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ผลการทดสอบ พบว่า ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทสกัดจากเห็ดฟางผู้บริโภคชอบสี ความหนืด การซึมสู่ผิว ความเหนียวเหนอะหนะ กลิ่นหลังทา ความชุ่มชื่นหลังทา และผู้บริโภคร้อยละ 80 ให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ซึ่งไม่พบผู้แพ้หรือมีผื่นแดงขึ้น นำผลิตภัณฑ์โลชั่นไปการทดสอบสารปนเปื้อนต้องห้ามตามมาตรฐาน มอก. เอส 15-2561 พบว่า เป็นไปตามที่มาตรฐาน มอก. เอส 15-2561 ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพรกำหนด จากการวิเคราะห์จุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟาง พบว่าเป็นไปตามค่ามาตรฐาน มอก. เอส 15-2561 กำหนด โดยตรวจไม่พบจุลินทรีย์ที่ก่อโรคชนิด เมื่อคำนวณต้นทุนการผลิต พบว่า ผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางปริมาณ 250 กรัม มีต้นทุนค่าวัตถุดิบ 54.28 บาท

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 4 ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรเซทจากเห็ดฟางที่ใช้กรรมวิธีในการสกัดแตกต่างกัน

ลำดับที่	ปริมาณกรดอะมิโน (mg/100g)	กรรมวิธี									
		เห็ดฟางดอกตูม	เห็ดฟางดอกบาน	1 CL2	2 CL3	3 CL4	4 CL5	5 OP2	6 OP3	7 OP4	8 OP5
1	กรดแอสพาร์ติก	2479.6	2302.1	2653	2740.9	2486.4	2676.3	2677.6	2701.7	2677.2	2603.7
2	ทรีโอนีน	1380	1287.5	1509.5	1545.6	1481.2	1461.9	1479.7	1487	1548.2	1464.9
3	ซีริน	1413.2	1271.9	1485.7	1509.2	1404.9	1464.5	1456.9	1473.2	1458.1	1473
4	กรดกลูตามิก	4774.8	4756.1	5192.5	5460.2	4937.1	5096.5	5709.9	5728.3	5594.2	5582.8
5	โพรลีน	1118.1	1040.9	1247.2	1386.8	1241.8	1344.1	1293.5	1312.9	1313.6	1197.3
6	ไกลซีน	1204	1139.7	1301.4	1300.9	1242.3	1275.6	1277.6	1310.9	1345.4	1311.1
7	อะลานีน	1992.6	1860.7	2167.6	2208.5	2155.9	2153.1	2225.1	2212.5	2299.7	2199.2
8	วาลีน	1484	1373.3	1751.6	1834.2	1754.7	1827.5	1874.5	1847.4	1801.1	2005.7
9	ไอโซลิวซีน	1190.7	1160.6	1483	1432.9	1403.6	1460.2	1421.2	1424.1	1433.1	1423
10	ลิวซีน	1472.4	1260.6	1360.3	1350.9	1171.6	1299.3	1599.7	1659.1	1590	1639.4
11	ไทโรซีน	750.8	729.2	730.7	768.9	629.2	778.3	737.4	804.9	770.9	813.4
12	ฟีนิลอะลานีน	1103.5	990.1	918.5	916.8	729.7	914.3	929.4	962.8	905.2	897.7
13	ฮิสทิดีน	454.4	445.6	490.7	579.9	503.4	522.5	580.9	574.9	547.2	466.9
14	ไลซีน	1607.4	1339.4	1608.2	1642.4	1348.1	1505.1	1401.2	1485.5	1496.8	1474.8
15	อาร์จีนีน	1420.9	1209.9	1241.1	1288	1185.8	1193.6	1177.4	1087.7	1155.2	1034.6
ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด		23846.4	22167.6	25141	25966.1	23675.7	24972.8	25842	26072.9	25935.9	25587.5
ปริมาณโปรตีนทั้งหมด		32870	32050	32950	32900	32500	32000	32900	32600	31900	32400

กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัย การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางเชิงพาณิชย์ ประกอบด้วย การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ การผลิตโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากโปรตีน การผลิตสารสกัดจากเห็ดฟางและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง สามารถสรุปผลการดำเนินงานได้ ดังนี้

กระบวนการผลิตซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำที่เหมาะสม มีขั้นตอนเริ่มจาก นำเห็ดฟางระยะดอกบานมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำไปผสมกับถั่วเหลืองนึ่งและแป้งข้าวเจ้าคั่วในอัตราส่วน 40:30:30 นำส่วนผสมที่ได้มาเติมหัวเชื้อรา *Aspegillus oryzae* และหมักไว้เป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus oryzae* โดยจะมีสปอร์ที่มีสีเขียวแกมเหลืองคลุมทั่ววัตถุดิบ เรียกว่า โคจิ แล้วนำไปหมักต่อในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หมักเป็นเวลา 3 เดือน เมื่อครบกำหนด 3 เดือน นำหัวเชื้อน้ำหมักซอสที่ได้มาเติมน้ำกลั่นในอัตราส่วนน้ำซอส :น้ำกลั่น เท่ากับ 1:3 จากนั้นเติมกลิ่นซอสถั่วเหลืองร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก นำไปให้ความร้อนอุณหภูมิ 80-85°C เป็นเวลา 15 นาที แล้วทำให้เย็นทันทีโดยการแช่ในน้ำแข็ง แล้วบรรจุน้ำซอสปรุงรสที่ได้ในขวดแก้วจะได้ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำที่มีปริมาณโซเดียมร้อยละ 11.85 โดยน้ำหนัก ซึ่งน้อยกว่าสูตรควบคุมร้อยละ 34.16 โดยน้ำหนัก มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 9.05 ปริมาณกรดแอสพาร์ติกและกรดกลูตามิกเท่ากับ 593.6 มิลลิกรัม/100 กรัม และ1067.8 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ ผู้ทดสอบร้อยละ 80.14 ให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ มีต้นทุนการผลิต 39.17 บาทต่อ 100 มิลลิลิตร

การสกัดโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟาง มีขั้นตอนเริ่มจากอบแห้งเห็ดฟางในระยะดอกบานที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำเห็ดฟางอบแห้งที่ได้มาสกัดโปรตีนคอนเซนเทรท โดยใช้วิธี Three-phase partitioning (TPP) และนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะได้โปรตีนคอนเซนเทรทผงที่มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 55.47 มีกรดอะมิโน 15 ชนิด สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องดื่มผสมโปรตีนสกัดโดยสามารถทดแทนโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองได้ร้อยละ 50 โดยมีส่วนผสมประกอบด้วย โปรตีนจากถั่วเหลืองร้อยละ 6.05 โปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางร้อยละ 6.05 ธัญญาหารร้อยละ 34.72 น้ำตาลทรายร้อยละ 9.40 ครีมเทียมร้อยละ 12.48 นมผงขาดมันเนยร้อยละ 10 มอลโตเด็กซ์ตินร้อยละ 20 และกลิ่นวนิลาร้อยละ 1.30 ซึ่งสูตรเครื่องดื่มดังกล่าวผู้บริโภคให้การยอมรับร้อยละ 79.54

การผลิตสารสกัดจากเห็ดฟางและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง สกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส (Alcalase enzyme) ในการย่อยเห็ดฟางระยะดอกตูมและระยะดอกบาน พบว่าการย่อยเห็ดฟางระยะดอกตูมที่ระยะเวลาการย่อย 3 ชั่วโมง ได้กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อผิวในปริมาณสูง ได้แก่ กรดกลูตามิค ซีรีน โพรลีน และอาร์จีนีน มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี 10.97% และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส IC_{50} = 1.72 ± 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่การย่อยเห็ดฟางระยะดอกบานที่ระยะเวลาการย่อย 4 ชั่วโมง ได้กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อผิวในปริมาณสูง ได้แก่ กรดกลูตามิค ไกลซีน และอะลานีน มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลสูงกว่าสารมาตรฐานวิตามินซีถึง 30.37 % และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส IC_{50} = 144.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางทั้ง 2 กรรมวิธีล้วนมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูงในคนละด้าน จึงใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางทั้ง 2 กรรมวิธีร่วมกัน เพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดฟางที่มีคุณภาพที่เหมาะสมที่สุดและนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว ได้ผลิตภัณฑ์โลชั่นที่ผ่านมาตรฐาน มอก. เอส 15-2561 ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร คือ มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.469 ความคงตัวที่สภาวะเร่งร้อนสลับเย็น สารปนเปื้อน ได้แก่ ตะกั่ว ปรอท สารหนู แบเรียมที่ละลายได้ และจุลินทรีย์ ได้แก่ Totol Aerobic Plate count, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* และ *Clostridium spp*. เมื่อทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัสและการยอมรับผลิตภัณฑ์ พบว่า ได้ร้อยละการ

กรมวิชาการเกษตร

ยอมรับผลิตภัณฑ์เท่ากับ 80 และได้คะแนนทางด้านประสาทสัมผัสด้านสี ความหนืด การซึมสู่ผิว ความเหนียวเหนอะหนะ กลิ่นหลังทา ความชุ่มชื่นหลังทา 5.24, 5.16, 5.08, 5.16, 3.92 และ 5.72 คะแนนจาก 7 คะแนน มีต้นทุนการผลิตผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวผสมโปรตีนไฮโดรไลเซท 54.28 บาทต่อโลชั่น 250 กรัม

จากการทดลองดังกล่าวจะเห็นได้ว่าเห็ดฟางสามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอางเพื่อเพิ่มมูลค่าได้เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิดในปริมาณสูง

กรมวิชาการเกษตร

การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

Research and development products form microalgae

นราทร สุขวิเสส สุรีย์รัตน์ รักเหลือ จารุวรรณ์ รัตนสกุลธรรม อกนิษฐ์ พิศาลวัชรินทร์
วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร ศิริพร เต็งรัง กนกศักดิ์ ลอยเลิศ สุปรียา ศุขเกษม
และ วุฒิพล จันทร์สระคู

คำสำคัญ

สาหร่ายขนาดเล็ก การเพาะเลี้ยง แคโรทีนอยด์ ไขมัน พอลิแซ็กคาไรด์ พอลิเมอร์ชีวภาพ การเพาะเลี้ยง การเพาะเลี้ยงแบบเปิด แอสตาแซนธิน เครื่องสกัดคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะยิ่งยวด สีผงคลอโรฟิลล์ สีผงแคโรทีนอยด์ สีผงไฟโคบิลิน สารให้ความคงตัว ใยอาหาร ซุปข้าวโพด พาสต้า ไขมัน ไบโอดีเซล เมทิลเอสเตอร์ พอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ สตาร์ช

Keywords

Microalgae, Carotenoid, Lipid, Polysaccharides, Biopolymer, Microalgae, Cultivation, Open raceway pond, Astaxanthin, CO_2 supercritical fluid extraction, Chlorophyll powder, Carotenoid powder, Phycobilin powder, Stabilizer, Fiber, Corn soup, Pasta, Lipid, Biodiesel, Methyl ester, Poly-β-hydroxybutyrate, Biopolymer, Polyvinyl alcohol, Starch

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำที่ภายในเซลล์มีการสะสมสารสำคัญที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ จากการคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 6 สายพันธุ์ ที่สามารถนำไปผลิตสารสำคัญได้แตกต่างกันคือ สายพันธุ์ที่ผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้แก่ *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) และ *Coelastrum* sp. (SK-KhY6) สายพันธุ์ที่ผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ได้คือ *Coelastrum microporum* (A052) สายพันธุ์ที่ผลิตไขมันได้คือ *Botryococcus* sp. (CM01-4) และ *Desmodesmus* sp. *sp.* (KK20) และสายพันธุ์ที่ผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพได้คือ *Nostoc* sp. (Sm6-3) ผลการศึกษาสูตรอาหารมาตรฐานที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและผลการชักนำการสะสมสารสำคัญด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร Modified Chu-13 และการชักนำด้วย NaCl 0.3 โมลาร์ เหมาะสมกับสาหร่าย SK-QSGMF6 แต่ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เหมาะสมกับสาหร่าย CM01-4 และ KK20 การเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร BG-11 และการชักนำด้วย NaCl 0.3 โมลาร์ เหมาะสมกับสาหร่าย SK-KhY6 และ A052 และการเพาะเลี้ยงด้วยสูตร BG-11 (N-free) และการชักนำด้วย NaCl 0.1 โมลาร์ เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sm6-3 ผลการใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อทดแทนสูตรอาหารมาตรฐานในการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิด พบว่าปุ๋ย 16-8-8 เหมาะสมกับสาหร่าย SK-QSGMF6, SK-KhY6 และ A052 ปุ๋ย 15-15-15 เหมาะสมกับสาหร่าย CM01-4 และ KK20 และปุ๋ย 8-24-24 เหมาะสมกับสาหร่าย Sm6-3 ผลการศึกษาวิธีการสกัดสารจากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มีดังนี้ การสกัดสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 ด้วยเทคนิค SFE ได้สารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย SK-QSGMF6 ที่มีสารแอสตาแซนทินสูงสามารถใช้เป็นส่วนผสมได้ 0.02% ในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว และสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย SK-KhY6 ที่มีสารไลโคปีนเป็นองค์ประกอบสามารถใช้เป็นส่วนผสมได้ 0.015% ในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า ผลการศึกษาการผลิตสีผงจากเซลล์สาหร่ายเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจำนวน 3 สารสีได้แก่ สารสีคลอโรฟิลล์ (เขียว) และสารสีไฟโคบิลิน (ฟ้า) จากสาหร่าย A052 และสารสีแคโรทีนอยด์ (ส้ม) จากสาหร่าย SK-QSGMF6 ได้วิธีการสกัดสารสีและวิธีผสมกับมอลโตเด็กซ์ทริน และการทำแห้งแบบพ่นฝอยในสภาวะที่เหมาะสมจนได้สีผงแต่ละชนิดที่มีปริมาณสารคลอโรฟิลล์ 38.75 mg/100g สารแคโรทีนอยด์ 19.39 mg/100g และสารไฟโคบิลิน 36.96 mg/100g ตามลำดับ การผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์และใยอาหารจากสาหร่าย A052 ได้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ 3.97%โดยน้ำหนัก ที่สามารถใช้เป็นส่วนผสมได้ 1.5% ในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดเพื่อเพิ่มความข้นหนืด และใยอาหารที่สามารถใช้เป็นส่วนผสมได้ 3% ในผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้า ทำให้มีปริมาณใยอาหารเพิ่มขึ้น 0.84% ผลการศึกษาวิธีการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย CM01-4 และ KK20 พบว่าการสกัดชีวมวลสาหร่ายแห้งด้วยตัวทำละลายอะซีโตนสามารถสกัดไขมันได้สูงสุด หลังการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นได้ความบริสุทธิ์ของไบโอดีเซล 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความบริสุทธิ์มากกว่าการทำปฏิกิริยาโดยตรงกับชีวมวลสาหร่ายสด ผลการศึกษาการผลิตพลาสติกชีวภาพจากสาหร่าย Sm6-3 พบว่าหลังการพรีทรีตเมนต์สามารถนำชีวมวลสาหร่ายดังกล่าว มาใช้เป็นส่วนผสมหลักร่วมกับสารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 30-40 และแป้งสตาร์ชร้อยละ 20 ในการขึ้นรูปเป็นแผ่นพลาสติกชีวภาพที่สามารถพับและซีลด้วยความร้อนทำเป็นถุงเพาะชำได้

กรมวิชาการเกษตร

Abstract

Microalgae are low-level organisms in which the cells accumulate important useful substances. From the selection of 6 microalgae strains, the microalgae with identified as follow by bioactive substances *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) and *Coelastrum* sp. (SK-KhY6), polysaccharides from *Coelastrum* sp. (A052), lipid from *Botryococcus* sp. (CM01-4) and *Desmodesmus* sp. (KK20) and biopolymer from *Nostoc* sp. (Sm6-3). The results of the study of culture media formulas suitable and induction of active metabolites by sodium chloride salt at laboratory scale. Cultured with Modified Chu-13 formula and induction with NaCl 0.3 molar were suitable for SK-QSGMF6, but at NaCl 0.2 molar were appropriated for CM01-4 and KK20. CM01-4 and KK20. Cultured with BG-11 formula and induction with NaCl 0.3 molar were suitable for SK-KhY6 and A052. Cultured with BG-11 (N-free) formula and induction with NaCl 0.1 molar were suitable for Sm6-3. The results of the use of fertilizers to replace the standard formula in the open pond cultivation showed that fertilizer 16-8-8 was suitable for cultivating SK-QSGMF6, SK-KhY6 and A052. Fertilizer 15-15-15 was suitable for cultivating CM01-4 and KK20. Fertilizer 8-24-24 was suitable for cultivating Sm6-3. The application of important substances extracted from each of microalgae are as follows: The extraction of SK-QSGMF6 and SK-KhY6 by SFE technique, pressure 500 bar, temperature 60 °C obtained carotenoids at 5.2 and 4.28 mg/g DW, respectively. Application of carotenoid extract form SK-QSGMF6 with high astaxanthin can be added at 0.02% in skin care serum products. Carotenoid extract form SK-KhY6 with lycopene was used as an ingredient in a 0.015% of mask sheet. Production of powder paints for use in the food industry total of 3 pigments were studied: chlorophyll (green) and phycobilin (blue) from A052, carotenoid pigment (orange) from SK-QSGMF6. Extraction of chlorophyll or carotenoid used 95% ethanol, the extract was mixed with maltodextrin and water at a ratio of 1:1:1 (v/w/w). After drying, the pigment powder content chlorophyll 38.75 mg/100g and carotenoid 19.39 mg/100g, respectively. Phycobilin was extracted by mixing microalgae with water at ration of 1:1 (w/w). After drying, the pigment powder content Phycobilin 36.96 mg/100g. The extraction of polysaccharides and dietary fibers from A052 and using them as ingredients in food products. It was found that the extraction of microalgae in solid insoluble in alcohol with water in ratio of 1: 1 at 70°C for 70 min yielded of polysaccharides at 3.97 % (dry basis). It can be used as a thickening agent in corn soup products at 1.5 percent. Dietary fiber content from microalgae extracted by alcohol yielded 89.35 % (dry basis). The total dietary fiber content was 82.16 % (dry basis). After adding 3% of dietary fiber in pasta products, the fiber content was increased by 0.84%. The results of the study on biodiesel production from microalgae CM01-4 and KK20 showed that extraction from dried algae with acetone was extracted lipids at 0.1034 and 0.0942 g/g DW, respectively. After the transesterification reaction, the purity of biodiesel was 80 percent, which was higher than the direct reaction with fresh algae biomass. A study on the production of bioplastics from algae Sm6-3 showed that wet biomass was pretreated using the main ingredient in mixing with 30-40% polyvinyl alcohol and 20% starch to form a bio-plastic sheet. It can be folded, molded and heat sealed to make a planting bag.

สงวนลิขสิทธิ์

บทนำ

สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เป็นสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งมีโครงสร้างอย่างง่าย การจัดเรียงตัวของเซลล์ไม่ซับซ้อนประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ ไม่มีเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่เฉพาะ ไม่มีท่อลำเลียง ราก ลำต้น และใบที่แท้จริง สาหร่ายขนาดเล็กสามารถสร้างอาหารได้เองโดยการสังเคราะห์ด้วยแสงเช่นเดียวกับพืชชั้นสูง แต่มีความพิเศษที่แตกต่างคือ ต้นทุนการเพาะเลี้ยงต่ำเนื่องจากมีอัตราการให้ผลผลิตต่อพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงสูง และไม่มีผลกระทบต่อการเพาะปลูกพืชการเกษตรอื่น โดยสามารถนำพื้นที่ที่เสื่อมโทรมมาดัดแปลงเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ได้ อีกทั้งยังให้ผลพลอยได้มูลค่าสูง วิทวัส (2553) ได้อธิบายกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายขนาดเล็กแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ ออโตโทรฟิค (Autotrophic) เป็นพวกที่สามารถสร้างอาหารเองได้โดยการสังเคราะห์ด้วยแสง และใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นแหล่งคาร์บอนในการสร้างอาหาร เช่น ไซยาโนแบคทีเรีย ที่มีการสังเคราะห์ด้วยแสงคล้ายพืชชั้นสูง สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีแดง และสาหร่ายสีน้ำตาล เป็นต้น และเฮเทอโรโทรฟิค (Heterotrophic) เป็นพวกที่ไม่สามารถสร้างอาหารเองได้ด้วยการเปลี่ยนคาร์บอนอนินทรีย์ให้เป็นสารอินทรีย์ (โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน) จึงต้องมีการบริโภคสารอินทรีย์เข้าสู่เซลล์ โดยใช้คาร์บอนจากสารประกอบคาร์บอน เป็นสารประกอบอินทรีย์

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กให้ได้ผลผลิตชีวมวลสูง จะต้องคำนึงถึงองค์ประกอบต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณชีวมวลสาหร่าย ได้แก่ ระบบการเพาะเลี้ยง ทั้งการเพาะเลี้ยงแบบระบบเปิดและในถังปฏิกรณ์แบบปิด องค์ประกอบของอาหาร เช่น คาร์บอน ไนโตรเจน กำมะถัน และฟอสฟอรัส รวมถึงจุลธาตุอื่น ๆ เป็นต้น (Microalgae biotechnology, 2014) นอจากนี้การรเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กควรมีการควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง เนื่องจากมีอิทธิพลต่อความหลากหลายของสารอนินทรีย์คาร์บอนในรูปต่าง ๆ ได้แก่ CO_2 และ HCO_3^- รวมทั้งค่าสัดส่วนระหว่างไนโตรเจนและฟอสฟอรัส อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ซึ่งจะมีผลแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของสาหร่ายขนาดเล็ก และปริมาณออกซิเจนที่ละลายสะสมอยู่ในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง หากมีปริมาณสูงเกินไปจะส่งผลต่อการอยู่รอดของสาหร่ายขนาดเล็ก

แนวทางการใช้ประโยชน์ของสารสำคัญจากสาหร่ายขนาดเล็ก

1. อาหารเพื่อสุขภาพและเวชสำอาง

1.1 การผลิตสารแคโรทีนอยด์สำหรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

สารแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ซึ่งเป็นรงควัตถุอินทรีย์ มีสีอยู่ในช่วงตั้งแต่สีเหลืองถึงสีแดง มีความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง (Antioxidant) จึงมีการศึกษาเกี่ยวกับแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายกันมากขึ้น เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีศักยภาพในการผลิตแคโรทีนอยด์ต่อหน่วยพื้นที่ในระดับสูง โดยใช้เพียงธาตุอาหารหลัก แสง และคาร์บอนไดออกไซด์เท่านั้น (Krinsky, 1989) แคโรทีนอยด์แบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มแคโรทีน (Carotene) โมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจน เช่น เบต้าแคโรทีน (β-carotene) และ ไลโคปีน (Lycopene) เป็นต้น และกลุ่มแซนโทฟิลล์ (Xanthophylls) ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ได้แก่ แอสตาแซนธิน (Astraxanthin) ลูทีน (Lutein) และ ซีแซนธิน (Zeaxanthin) เป็นต้น (Goodwin, 2012)

กลุ่มแคโรทีน (Carotene) ประกอบด้วยเบต้าแคโรทีน เป็นสารต้านอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งเป็นรงควัตถุที่มีสีส้ม สีเหลือง เป็นแคโรทีนอยด์ที่เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ ไลโคปีน เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์มากกว่าเบต้าแคโรทีน 2 เท่า และมากกว่าวิตามินอี 10 เท่า ช่วยปกป้อง บำรุง และฟื้นฟูผิวพรรณและเส้นผม ช่วยลดการทำงานของเม็ดสีเมลานินทำให้เสริมความขาวใส ช่วยลดความรุนแรงจากรังสี UVA และ UVB ทำให้ผิวทนต่อแดดมากขึ้น ไม่คล้ำเสียง่าย ลดมะเร็งผิวหนัง และช่วยต่อต้านริ้วรอยแห่งวัย ลดริ้วรอยให้ดูตื้นขึ้น ช่วยลดการอักเสบของผิวหนัง ลดผื่นแดง ทำให้ผิวแข็งแรงขึ้นไม่แพ้ง่าย เรียบเนียน และเปล่งปลั่ง ช่วยในการสร้างเซลล์ผิวใหม่แทนผิวหนังชั้นเดิมที่เสื่อมแล้ว (มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, 2564)

กรมวิชาการเกษตร

1.2 พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide)

พอลิแซ็กคาไรด์ เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลของน้ำตาลโมโนแซ็กคาไรด์หลายโมเลกุลเชื่อมต่อกันเป็นสายพอลิเมอร์ด้วยพันธะไกลโคสิดิก ซึ่งชนิดที่พบมากในพืชทั่วไปคือ สตาร์ช (starch) เซลลูโลส และเพกติน พอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นการเชื่อมต่อกันของโมโนเมอร์ชนิดเดียวกันเรียกว่า โฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น สตาร์ช เดกซ์ทริน เซลลูโลส และเพกติน แต่ถ้าเป็นคนละชนิดกันเรียกว่า เฮทเทอร์โรพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น เฮมิเซลลูโลส อัลจินิก (alginic) และกัม (gums) พอลิแซ็กคาไรด์ที่น้ำย่อยในร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้เรียกว่า ใยอาหาร (fiber) ซึ่งพอลิแซ็กคาไรด์ที่สามารถสกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็กได้แก่ เอการ์หรือวุ้น (agar) อัลจิเนต (alginate) และคาราจีแนน (carageenan) ได้มีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร เป็นสารที่ให้ความข้น (thickening) ทำให้เกิดความคงตัว (stabilizing) และทำให้เกิดลักษณะเป็นเจล (gelling)

2. ผลิตเป็นพลังงานทดแทน

ไขมันจากเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็กมีองค์ประกอบและคุณสมบัติใกล้เคียงกับพืชน้ำมันทั่วไป เช่น ถั่วเหลือง และปาล์มน้ำมัน เป็นต้น แต่ราคาของวัตถุดิบที่เป็นพืชน้ำมันเหล่านี้มีความผันผวนเป็นอย่างมากและข้อจำกัดในหลายๆ ด้าน เช่น ต้องการพื้นที่ในการเพาะปลูกมาก มีระยะเวลาในการเพาะปลูกที่ยาวนาน และโดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นพืชอาหาร จึงกลายเป็นประเด็นเรื่องการใช้พืชน้ำมันเหล่านี้เพื่อผลิตอาหารและพลังงานทดแทนหากมีการจัดการที่ไม่ถูกต้องอาจจะส่งผลกระทบต่อความมั่นคงทางอาหารในอนาคตได้ ทำให้สาหร่ายขนาดเล็กได้รับความสนใจที่จะนำมาพัฒนาเป็นวัตถุดิบทางเลือกใหม่ในการผลิตเป็นพลังงานชีวภาพ อนึ่งประเทศไทยตั้งอยู่ในภูมิประเทศในเขตร้อนชื้น มีปริมาณแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเป็นอย่างดี สามารถเพาะเลี้ยงสาหร่ายได้ตลอดทั้งปี โดยข้อมูลจากการศึกษาเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อพื้นที่ขนาดเท่ากับพื้นที่ปลูกสบู่ดำ 1 ต้น เป็นเวลา 7 ปี สบู่ดำจะให้น้ำมันร้อยละ 25 ในขณะที่สาหร่ายให้น้ำมันมากถึงร้อยละ 1,000 ปริมาณน้ำมันนี้อาจเพียงพอกระทั่งผลิตเพื่อส่งออกต่างประเทศได้ (ประเวศ, 2553)

3. ผลิตพอลิเมอร์และพลาสติกชีวภาพ

พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพแบ่งตามแหล่งกำเนิดวัตถุดิบได้ 2 ประเภทคือ พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพที่ผลิตจากผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมี และพลาสติกย่อยสลายทางชีวภาพที่ผลิตจากชีวมวล (biomass) ปัจจุบันพลาสติกประเภทหลังกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่ง โดยนักวิทยาศาสตร์ตลอดจนนักธุรกิจและอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกำลังตื่นตัวในการคิดค้นหาวัตถุดิบมวลชีวภาพในการผลิตพลาสติกชนิดใหม่เช่น กลุ่มพอลิแลคติก (PLA) หรือพอลิแลคไทด์ กลุ่มพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอท (PHAs) และกลุ่มพอลิไฮดรอกซีบิวไทเรต (PHB) เป็นต้น สาหร่ายขนาดเล็กมีการสะสมสาร Poloy-3-hydroxybutyrate (PHB) (ศิริวิมลและวสุ, 2555) สารนี้สามารถพบได้ในเซลล์ชั้นในของสิ่งมีชีวิตกลุ่มโปรคาริโอตเป็นส่วนใหญ่ โดยคุณสมบัติที่สำคัญของ PHB คือมีความสามารถทนความร้อนได้สูงไม่ละลายน้ำและสามารถย่อยสลายได้ ส่วนใหญ่ผลิตได้จากกระบวนการหมักจากแบคทีเรีย และไซยาโนแบคทีเรียหรือที่รู้จักกันในชื่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae)

ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้ มุ่งเน้นการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่ได้จากการรวบรวมตัวอย่างจากแหล่งน้ำธรรมชาติตามรายภาคของประเทศไทยของประยูร และคณะ (2557) เพื่อให้ได้สายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีศักยภาพในการผลิตสารสำคัญได้แก่ สารแคโรทีนอยด์ พอลิแซ็กคาไรด์ ไขมัน และพอลิเมอร์ชีวภาพ ที่สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆได้ ตลอดจนการหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและสภาวะในการชักนำ (stress condition) ที่เหมาะสมเพื่อให้สาหร่ายขนาดเล็กเกิดการสะสมสารสำคัญไว้ในเซลล์เพิ่มขึ้น โดยปัจจัยในการกระตุ้นที่ทำการศึกษาคือระดับความเค็มของน้ำเพาะเลี้ยง เพื่อนำไปสู่การพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมทำให้ได้ผลผลิตชีวมวลสาหร่ายที่มีปริมาณที่สามารถนำไปพัฒนาสู่การใช้ประโยชน์ต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

ระเบียบวิธีการวิจัย

กิจกรรมที่ 1 การพัฒนาสาหร่ายขนาดเล็กที่มีสารสำคัญสูง

1.1 การคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญ และการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญ

1.1.1 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการสะสมสารสำคัญชนิดต่าง ๆ

เพาะขยายหัวเชื้อสาหร่ายบริสุทธิ์จากหลอดอาหารเหลวกลุ่มสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กทั้งหมด 7 สายพันธุ์ ได้แก่ SK-QSGMF6, NM-PM1-3, SK-KhY6, A052, CM01-4, KK20 และ BR52-1 และสาหร่ายไซยาโนแบคทีเรีย 1 สายพันธุ์ ในการทดลองต่อไป ดังนี้

1) การตรวจสอบการสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในเซลล์สาหร่ายจากการวิเคราะห์หาค่าความเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) โดยวิธี DPPH assay (Kim and Lee, 2002)

2) การตรวจสอบการสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่อยู่ในเซลล์สาหร่าย ทางสรีระวิทยาของเซลล์สาหร่ายเพื่อดูลักษณะวงใส (capsule) ที่เกิดจากการสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์อยู่รอบนอกของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และยืนยันผลดังกล่าวด้วยวิธีการย้อมสีเซลล์สาหร่ายแบบเนกาทีฟ โดยใช้สีไนโกรซิน

3) การตรวจสอบการสะสมไขมันที่อยู่ในเซลล์สาหร่ายทดลองสกัดน้ำมันด้วยวิธี In-situ acidic transesterification จากเซลล์สาหร่ายแบบเปียก (wet algal biomass) (Liu *et al.*, 2008)

4) การตรวจสอบการสะสมสารพอลิเมอร์ชีวภาพที่อยู่ในเซลล์สาหร่ายด้วยวิธีการย้อมสีเซลล์สาหร่ายด้วยสีซูดาน แบล็ค บี (Burdon, 1946) ด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยหาเม็ดสีน้ำเงินเข้มหรือจุดดำภายในเซลล์

5) การระบุชนิดของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กนำโคโลนีของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่คัดเลือกได้สายพันธุ์ละ 1 โคโลนี มาเพาะเลี้ยงเพื่อส่งตรวจวิเคราะห์

1.1.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

นำหัวเชื้อสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 1 แต่ละสายพันธุ์มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวทั้งหมด 4 ชนิดได้แก่ Modified Chu-13 BG-11 (BG-11 (NFree), สำหรับสาหร่าย SM6-3) BBM และ C-Medium โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 4 กรรมวิธี โดยเก็บตัวอย่างเพื่อติดตามการเจริญเติบโตทุก 2 วัน (ยุวดีและฉมาภรณ์, 2546) จนกระทั่งสาหร่ายเจริญเข้าสู่ระยะคงที่ (stationary phase) เพื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง

1.1.3 การศึกษาอิทธิพลในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญภายในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

คัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์จากข้อ 2 มาศึกษาอิทธิพลในการสะสมสารสำคัญภายในเซลล์ โดยการกระตุ้นด้วยสภาวะความเค็มของน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่ายจากการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 4 กรรมวิธี โดยติดตามผลการเพาะเลี้ยงต่อเนื่องจนครบ 15 วัน โดยมีการเก็บตัวอย่างทุก 5 วัน เพื่อหาปริมาณสารสำคัญชนิดต่าง ๆ ที่สกัดได้จากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์

1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด

1.2.1 การออกแบบบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบเปิดนอกห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด (ดัดแปลงจาก Karthikeyan et al., 2016)

1.2.2 พัฒนาการใช้ปุ๋ยแทนสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการ

1) การหาอัตราการใช้ปุ๋ยเคมีต่อน้ำเพาะเลี้ยงเพื่อทดแทนสูตรอาหารมาตรฐาน

กรมวิชาการเกษตร

นำหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กสาหร่าย SK-QSGMF6 และ CM01-4 มาศึกษาการใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-8 และ 15-15-15 และอัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยง 1/100 และ1/500 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 5 กรรมวิธี เก็บตัวอย่างเพื่อติดตามการเจริญเติบโตต่อเนื่องเป็นเวลา 30 วัน และเปรียบเทียบการเจริญเติบโต

2) การพัฒนาสูตรอาหารจากปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก

เปรียบเทียบปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-KhY6 และ A052 โดยนำสูตรอาหารปุ๋ย 16-8-8 และ 15-15-15 และอัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 2.1 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ จำนวน 3 กรรมวิธี

และเปรียบเทียบปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย Sm6-3 ได้แก่ 15-15-15 12-6-30 12-24-12 และ 8-24-24 โดยใช้อัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยงที่คัดเลือกจากการทดลองข้อ 2.1 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี

1.2.3 การทดสอบขยายผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในบ่อขยายขนาดแบบบ่อเปิด

1) เติมน้ำประปาลงในบ่อเพาะเลี้ยง (ข้อ 1.1) ปริมาตร 500 ลิตร และเติมอาหารปุ๋ยเคมีและอัตราการใช้ที่เหมาะสมต่อสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จากการทดลองในข้อ 2

2) เติมหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กที่เตรียมไว้ ในอัตราส่วน 1 ลิตรต่อน้ำเพาะเลี้ยง 100 ลิตร

3) หลังครบกำหนดตามจำนวนวันในการเพาะเลี้ยงของแต่ละสายพันธุ์แล้ว (ผลจากข้อ 2) เติมโซเดียมคลอไรด์ลงในน้ำเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นตามผลในกิจกรรมที่ 1 ข้อ 3 (0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์)

4) หลังครบอายุการเพาะเลี้ยงเก็บตัวอย่าง เพื่อหาปริมาณสารสำคัญจากสาหร่ายขนาดเล็ก

กิจกรรมที่ 2 การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.1 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำหรับผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.1.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก (Biomass production)

เพาะเลี้ยงสายหร่ายขนาดเล็ก SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 ด้วยอาหารสูตรปุ๋ย 16-8-8 (ผลจากกิจกรรมที่ 1)

2.1.2 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีมูลค่าสูงจากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ศึกษาวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากเซลล์สาหร่าย โดยใช้วิธีการสกัดด้วยเทคนิค SFE ที่ความดัน 3 ระดับ ได้แก่ 300 400 และ 500 บาร์และอุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ 40 50 และ 60°C โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ 3x3 Factorial in Randomized Complete Block Design จำนวน 3 ซ้ำ

2.1.3 การศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสำคัญที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

1) ศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีววิทยาหรือฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

2) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง โดยใช้ Kojic acid เป็นสารมาตรฐาน

2.1.4 การศึกษาการนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

1) ศึกษาการประยุกต์ใช้สารสำคัญที่สกัดจากสาหร่ายในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว

นำสารสกัดสาหร่ายจากสาหร่าย SK-QSGMF6 ที่สกัดได้ ละลายในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ ที่ความเข้มข้นสารสกัดสาหร่าย 2% โดยน้ำหนัก จากนั้นผสมตัวอย่างในเซรั่มบำรุงผิวสูตรพื้นฐานที่ขายทั่วไป โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ Randomized Complete Block Design 8 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ ดังตารางที่ 5 และมีกรรมวิธีที่ 1 เป็นกรรมวิธีควบคุม วิเคราะห์สมบัติเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวผสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยวิเคราะห์ค่าสี ความเป็นกรดด่าง ความหนืด ความคงตัว ทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัส และศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5 ส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวสูตรพื้นฐานและสูตรประยุกต์เพิ่มสารสกัดจากสาหร่าย

กรรมวิธี	รหัสตัวอย่าง	ส่วนผสมที่ 1 (%) (สารสกัด 2%wt. ในน้ำมันหอมระเหยคาโมมาย)	ส่วนผสมที่ 2				ทวีน 80 (%)
			HEC	กลีเซอรีน (%)	ไกลเดนท์ (%)	น้ำ (%)	
1	Serum base	0	1.2	3	0.5	95.3	0
2	H0.6T2	1	0.6	3	0.5	92.9	2
3	H0.6T4	1	0.6	3	0.5	90.9	4
4	H0.8T2	1	0.8	3	0.5	92.7	2
5	H0.8T4	1	0.8	3	0.5	90.7	4
6	H1.0T2	1	1.0	3	0.5	92.5	2
7	H1.0T4	1	1.0	3	0.5	90.5	4
8	H1.2T2	1	1.2	3	0.5	92.3	2
9	H1.2T4	1	1.2	3	0.5	90.3	4

2) ศึกษาการประยุกต์ใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสกัดจากสาหร่ายในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า

i. เตรียมสารสกัดจากสาหร่าย SK-KhY6 ละลายในน้ำมันหอมระเหยกุหลาบความเข้มข้น 5%

ii. เตรียมเนื้อเจลสำหรับแผ่นมาส์กหน้าจากเบสเจลว่านหางจระเข้มาปรับปรุงสูตร โดยแปรปริมาณของเบสเจลว่านหางจระเข้และปริมาณสารสกัดจากสาหร่ายในน้ำมันหอมระเหยกุหลาบ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ Completely Randomized Design 4 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ดังตารางที่ 6

iii. ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส และศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า

ตารางที่ 6 ส่วนผสมในการเตรียมเนื้อเจลสำหรับทำแผ่นมาร์กหน้าในแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธีที่	กลีเซอรีน (%)	วิตามินอี (%)	เบสว่านหางจระเข้ (%)	ปริมาณสารสกัดในน้ำมันหอมระเหย (%)	กรดมาลิก (%)	น้ำกลั่น (%)
1	5	2	80	0.3	0.4	12.3
2	5	2	80	0.6	0.4	12
3	5	2	90	0.3	0.4	2.3
4	5	2	90	0.6	0.4	2

2.2 การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

2.2.1 ศึกษาการผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กสีเขียว (สารสี chlorophyll)

1) ศึกษาการสกัดสารสีเขียว (chlorophyll) จากสาหร่าย A052 ด้วยเอทานอลความเข้มข้น 0-95% อัตราส่วน 1:25 (w/v) วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 11 กรรมวิธี โดยนำสารสกัดเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงแยกของเหลวและทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณสารคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี เพื่อเลือกความเข้มข้นของเอทานอลที่เหมาะสมในการสกัด

2) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอย จากสารสกัดเข้มข้นผสมมอลโตเด็กซ์ทรินอัตราส่วน สารสกัด:มอลโตเด็กซ์ทริน:น้ำ เป็น 1:1:1 (v/w/w) นำเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 130°C

3) ตรวจคุณภาพของสีผงและศึกษาอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน สุ่มเก็บตัวอย่างทุก 2 เดือน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 4 กรรมวิธี เพื่อวิเคราะห์คุณภาพ ได้แก่ ความชื้น ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ค่าสี การละลาย ปริมาณคลอโรฟิลล์ (สมการของ Lichtenthaler and Buschmann, 2005) และคุณภาพด้านจุลินทรีย์

กรมวิชาการเกษตร

4) ศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม โดยแปรระดับปริมาณสีผง 5 ระดับคือ 0 1 2 3 และ 4% วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 5 กรรมวิธี และตรวจคุณภาพผลิตภัณฑ์

2.2.2 ศึกษาการผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กสีเหลือง (สารสี carotenoid)

1) ศึกษาการสกัดสารสีเหลือง (carotenoid) จากสาหร่ายขนาดเล็ก SK-QSGMF6 ด้วยเอทานอลความเข้มข้น 60-95% อัตราส่วน 1:25 (w/v) วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 6 กรรมวิธี โดยแยกส่วนของเหลวมาวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ เพื่อเลือกความเข้มข้นเอทานอลที่เหมาะสม

2) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอย จากสารสกัดเข้มข้นผสมมอลโตเด็กซ์ทรินอัตราส่วน สารสกัด:มอลโตเด็กซ์ทริน:น้ำ เป็น 1:1:1 (v/w/w) จากนั้นนำเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 130 °C

3) ตรวจคุณภาพของสีผงและศึกษาอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 เดือน สุ่มเก็บตัวอย่างทุก 2 เดือน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 3 กรรมวิธี เพื่อวิเคราะห์คุณภาพ ได้แก่ ความชื้น ค่าสี ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี การละลาย ปริมาณแคโรทีนอยด์ (สมการของ Lichtenthaler and Buschmann, 2005) และคุณภาพด้านจุลินทรีย์

4) ศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม โดยแปรระดับปริมาณสีผง 5 ระดับคือ 0 1 2 3 และ 4% วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ และตรวจคุณภาพผลิตภัณฑ์

2.2.3 ศึกษาการผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กที่ให้สีฟ้า (สารสี phycobilin)

1) ศึกษาการสกัดสารสีฟ้า (phycobilin) จากสาหร่าย A052 ด้วยวิธีทางกายภาพด้วยการนำเซลล์สาหร่ายผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:1 และแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C ประมาณ 16 ชั่วโมง นำออกมาละลายที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปั่นแยกเก็บสารละลายส่วนใสสีน้ำเงินวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ (สุริยา และคณะ, 2543)

2) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยผสมสารสกัดกับมอลโตเด็กซ์ทริน 3 ระดับคือ 10 20 และ 30% โดยน้ำหนัก วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 3 กรรมวิธี นำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 110°C (Purnamayati *et al*., 2017)

3) ตรวจคุณภาพของสีผง ได้แก่ ความชื้น ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ค่าสี การละลาย ปริมาณไฟโคบิลิน (สมการของ Bennett and Bogorad, 1973)

4) ศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม โดยแปรระดับปริมาณสีผง 5 ระดับคือ 0 1 2 3 และ 4% วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 5 กรรมวิธี และตรวจคุณภาพผลิตภัณฑ์

2.3 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์และใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.3.1 เพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตพอลิแซ็กคาไรด์คือ สาหร่าย A052 ด้วยอาหารปุ๋ย 16-8-8 (ผลจากกิจกรรมที่ 1)

2.3.2 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก มีขั้นตอนดังนี้

1) นำสาหร่ายขนาดเล็กปั่นผสมกับเอทานอลความเข้มข้น 95 % ในอัตราส่วน 1:2 (w/w) ที่อุณหภูมิ 70°C ที่ความเร็วรอบ 400 rpm เวลา 45 นาที จากนั้นบีบแยกเอทานอลออก ได้ส่วนของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (alcohol-insoluble solid, AIS)

2) นำ AIS ที่ได้มาสกัดด้วยน้ำ ที่อุณหภูมิ 70°C โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี กำหนดปัจจัยที่ศึกษา 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่ 1 คือ อัตราส่วน AIS: น้ำ 2 ระดับ คือ 1:1 และ 1:1.5 (w/v)

ปัจจัยที่ 2 คือ ระยะเวลาในการสกัด 2 ระดับ คือ 50 และ 70 นาที

กรมวิชาการเกษตร

3) นำสารสกัดที่ได้เข้าเครื่องปั่น นำส่วนใสไประเหยน้ำออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) ทำการบดให้ละเอียดจะได้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กในรูปของแห้ง

4) หาปริมาณผลผลิต (Yield) ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้

2.3.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ดังนี้

1) ปริมาณความชื้น คาร์โบไฮเดรต ตามวิธีของ AOAC (2005)

2) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) ด้วยวิธีของ Dubois et al. (1956)

3) ปริมาณกรดยูโรนิก (Uronic acid) ด้วยวิธีของ Melton and Smith (2001)

2.3.4 การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ดังนี้

1) ความหนืด ด้วยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer)

2) ความแข็งแรงของเจล (gel strength) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer) โดยพิจารณาปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้อง คือ ความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์และความเป็นกรด-ด่าง (pH)

2.3.5 การประยุกต์ใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กในผลิตภัณฑ์อาหาร

ศึกษาการใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นสารให้ความหนืดในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพด ปริมาณ 0 0.5 1 และ 1.5% เปรียบเทียบกับสารให้ความหนืดทางการค้าคือ แซนแทนกัม ปริมาณ 0.5 1 และ 1.5% วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 7 กรรมวิธี จากนั้นวิเคราะห์คุณภาพทางด้านความคงตัวโดยวัดการแยกชั้น (percent serum loss, SL) ตามวิธีของ Hardeep *et al.* (2002) และความข้นหนืดของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดทุก 30 วัน เป็นระยะเวลาการเก็บรักษา 3 เดือน

2.3.6 การผลิตใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กและผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหาร

1) นำเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กมาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% ในอัตราส่วน 1:2 (w/w) ที่อุณหภูมิ 65°C กวนส่วนผสมด้วยใบพัดกวนที่ความเร็ว 400 rpm เวลา 45 นาที แยกส่วนเอทานอลออกและวางทิ้งให้เอทานอลระเหยจนหมดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 65°C เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อสารสกัดแห้งแล้วบดให้ละเอียด

2) วิเคราะห์คุณสมบัติของใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กได้แก่ ปริมาณกากใย (crude fiber) ปริมาณใยอาหารทั้งหมด (total dietary fiber) โดยวิธี AOAC Official Method (AOAC, 2000)

3) ผลิตผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยศึกษาการผลิตผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กปริมาณ 0 1 2 และ 3% เปรียบเทียบกับใยอาหารจากบุกปริมาณ 1 2 และ 3% โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ รวม 7 กรรมวิธี จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารในผลิตภัณฑ์พาสต้าโดยวิธี AOAC Official Method (AOAC, 2000)

2.4 การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กแบบระบบเปิดในระดับขยายขนาด

2.4.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด (open raceway pond)

เพาะเลี้ยงสาหร่าย CM01-4 และ KK20 ด้วยอาหารสูตร Modified Chu-13 และ ปุ๋ย 16-8-8 และเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ในน้ำเพาะเลี้ยงให้มีค่าความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (ผลจากกิจกรรมที่ 1)

2.4.2 การผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก

2.4.2.1 วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่าย

1) นำชีวมวลสาหร่ายจากขั้นตอนที่ 1 มาศึกษาวิธีการสกัดไขมันจากชีวมวลสาหร่ายสดและแห้ง ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 4 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เมทานอล อะซิโตน และเฮกเซน โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ

2) นำไขมันที่ได้มาทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันกับเมทานอล 25% และโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 1% เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 60°C เวลา 60 นาที

3) จากนั้นทำการล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ เพื่อทำความสะอาด และเติมโซเดียมไบคาบอเนต 10% เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที ปั่นให้แยกชั้นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง จากนั้นดูดสารละลายชั้นบนซึ่งจะเป็นส่วนที่มีไบโอดีเซล (FAME) ไปวิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติเบื้องต้นของน้ำมันไบโอดีเซล

2.4.2.1 วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายสด ดัดแปลงจากวิธีของ Panida (2015)

1) นำชีวมวลสาหร่ายสดมาสกัดน้ำมันด้วยวิธี acidic transesterification กับเมทานอลในอัตราส่วนสาหร่าย 1 กรัม ต่อเมทานอล 3 มิลลิลิตร และใช้กรดซัลฟูริค 10 % เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 75°C เวลา 1 ชั่วโมง

2) ทำการกรองและนำส่วนที่เป็นของเหลวไประเหยด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนที่อุณหภูมิ 50°C

3) จากนั้นทำการล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ เพื่อทำความสะอาด และเติมโซเดียมไบคาบอเนต 10% เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที ปั่นให้แยกชั้นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง จากนั้นดูดสารละลายชั้นบนซึ่งจะเป็นส่วนที่มีไบโอดีเซล (FAME) ไปวิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติเบื้องต้นของน้ำมันไบโอดีเซล

2.5 การผลิตพลาสติกชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.5.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด (open raceway pond)

1) เพาะขยายหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็ก Sm6-3 ในอัตราส่วนหัวเชื้อต่อน้ำอาหาร 1:100 ในขวดปริมาตร 5 ลิตร และวัดการเจริญเติบโตสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ให้มีค่าความขุ่นเท่ากับ 0.3

2) เตรียมน้ำอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11 (NFree) (สารเคมีเกรดอุตสาหกรรม) หรือปุ๋ยเคมี 8-24-24 ในบ่อเปิดปริมาตร 500 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ในช่วง 6.8-7 จึงเติมหัวเชื้อที่เตรียมไว้ลงบ่อเพาะเลี้ยง

3) หลังการเพาะเลี้ยงครบ 14 วัน และเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ในน้ำเพาะเลี้ยงให้มีค่าความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงต่อเนื่องอีก 10 วัน)

4) เก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแยกกาก

2.5.2 การสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพออกจากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก

นำผลิตผลเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กจากขั้นตอนที่ 1 มาทำการพรีทรีตเมนต์ด้วยสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 6 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นสกัดสารพอลิเมอร์ชีวภาพออกจากเซลล์และหาปริมาณสารพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวไทเรต (PHB) ตามวิธีการของ Marinho-Soriano (2001) และนำชีวมวลสาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ และสารสกัดที่ได้ไปศึกษาคุณสมบัติของพอลิเมอร์ชีวภาพ

2.5.3 การเตรียมแผ่นฟิล์มเบื้องต้นโดยใช้เซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ในการทดสอบการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มด้วยสารก่อฟิล์มชนิดต่างๆ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ สารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) สตาร์ช แป้งมันสำปะหลัง และกลีเซอรอล (ประยูร และคณะ, 2558) เพื่อหาสารก่อฟิล์มที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปแผ่นฟิล์ม โดยนำเซลล์ของสาหร่าย Sm6-3 9 กรัม มาเติมสารก่อฟิล์มแต่ละชนิด 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ต้มกับน้ำสะอาดปริมาตร 300 มิลลิลิตร จนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เทส่วนผสมลงในแผ่นเพลทแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้

3 การเตรียมฟิล์มและทดสอบคุณสมบัติของฟิล์มเซลล์สาหร่าย

ศึกษาอัตราส่วนระหว่างเซลล์ชีวมวลสาหร่ายกับสารพลาสติไซเซอร์ โดยนำชีวมวลสาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ 12 กรัม มาเติมสารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) และสตาร์ช ปริมาณตามกรรมวิธี โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ จำนวน 12 กรรมวิธี

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 1 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 2.4 กรัม แป้ง 0.6 กรัม ($AP_{2.4}S_{0.6}$)
กรรมวิธีที่ 2 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 2.4 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{2.4}S_{1.2}$)
กรรมวิธีที่ 3 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 3.0 กรัม แป้ง 0.6 กรัม ($AP_{3.0}S_{0.6}$)
กรรมวิธีที่ 4 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 3.0 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{3.0}S_{1.2}$)
กรรมวิธีที่ 5 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 3.6 กรัม แป้ง 0.6 กรัม ($AP_{3.6}S_{0.6}$)
กรรมวิธีที่ 6 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 3.6 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{3.6}S_{1.2}$)
กรรมวิธีที่ 7 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.2 กรัม แป้ง 0.6 กรัม ($AP_{4.2}S_{0.6}$)
กรรมวิธีที่ 8 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.2 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{4.2}S_{1.2}$)
กรรมวิธีที่ 9 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.2 กรัม แป้ง 1.8 กรัม ($AP_{4.2}S_{1.8}$)
กรรมวิธีที่ 10 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.8 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{4.8}S_{1.2}$)
กรรมวิธีที่ 11 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.8 กรัม แป้ง 1.8 กรัม ($AP_{4.2}S_{1.8}$)
กรรมวิธีที่ 12 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.8 กรัม แป้ง 2.4 กรัม ($AP_{4.2}S_{2.4}$)

นำแผ่นฟิล์มที่ได้ไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆของแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้ ตามมาตรฐานดังนี้

1) ความหนา (Thickness) วัดด้วยเครื่องวัดความหนา
2) ปริมาณความชื้น (Moisture Content) วัดด้วยเครื่องวัดความชื้น
3) การละลายน้ำ (Water solubility) ตามวิธีของ Su *et al.* (2010) และ Tongdeesoontorn *et al.* (2011)
4) อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ: ทดสอบโดยศูนย์การบรรจุหีบห่อไทย วว. ตาม ASTM E 96-00
5) อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพ ตามวิธีของ กนกศักดิ์ และคณะ (2556)

กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัยผลการทดลองและอภิปราย (Results and Discussion)

กิจกรรมที่ 1 การพัฒนาสาหร่ายขนาดเล็กที่มีสารสำคัญสูง

1.1 การคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญ และการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญ

1.1.1 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการสะสมสารสำคัญชนิดต่าง ๆ

1) การตรวจสอบการสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในเซลล์สาหร่าย จากการเพาะเลี้ยงพบสาหร่าย 4 สายพันธุ์ ที่เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเขียวเป็นสีส้มหรือแดง ได้แก่ SK-QSGMF6, NM-PM1-3, SK-KhY6 และ CM01-4 หลังการนำสารสกัดจากน้ำชีวมวลแห้งของสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 4 สายพันธุ์ ทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ได้ค่าการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 10.60, 9.63, 13.78 และ 5.00 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอกซ์ต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ดังนั้นจึงคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 ไปศึกษาสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ผลิตสารแคโรทีนอยด์ต่อไป

2) การตรวจสอบการสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่อยู่ในเซลล์สาหร่าย พบว่ามีเพียงสาหร่าย A052 มีลักษณะของวงใสอยู่รอบเซลล์ในปริมาณสูง จึงคัดเลือกสายพันธุ์นี้ไปศึกษาสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงต่อไป

3) การตรวจสอบการสะสมไขมันที่อยู่ในเซลล์สาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีสาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 3 สายพันธุ์ได้แก่ CM01-4 KK20 และ BR52-1 ที่เห็นลักษณะของเม็ดไขมันภายในเซลล์ หลังทำการสกัดน้ำมัน จากเซลล์สาหร่ายแบบเปียกแล้วนำมาศึกษาด้วยเทคนิค TLC พบว่าน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย CM01-4 และ KK20 มีค่าใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน FAME จากข้อมูลดังกล่าวจึงคัดเลือกสาหร่าย CM01-4 เป็นตัวแทนในการศึกษาสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงต่อไป

4) การตรวจสอบการสะสมสารพอลิเมอร์ชีวภาพ ผลการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเซลล์สาหร่าย Sm6-3 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์หลังการย้อมด้วยสีซูดาน แบล็กบี และดูลักษณะเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าภายในเซลล์มีเม็ดสีน้ำเงินเข้มหรือสีดำภายในเซลล์เป็นจำนวนมาก จึงนำสายพันธุ์นี้มาศึกษาขยายผลด้วยสูตรอาหารอื่นที่มีความเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเพื่อใชผลิตสารพอลิเมอร์ชีวภาพต่อไป

5) การจัดจำแนกสายพันธุ์สาหร่าย ผลจากการนำสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 6 สายพันธุ์ ส่งตรวจวิเคราะห์ลำดับเบส 18S rRNA SEQUENCING โดยศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย พบว่าสาหร่าย SK-QSGMF6 มีลำดับเบสใกล้เคียงกับ *Coelastrella* sp. สาหร่าย SK-KhY6 มีลำดับเบสใกล้เคียงกับ *Coelastrum* sp., สาหร่าย A052 มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *Coelastrum microporum*, สาหร่าย CM01-4 มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *Botryococcus* sp., สาหร่าย KK20 มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *Desmodesmus* sp. และ สายพันธ์สุดท้ายสาหร่าย Sm6-3 ที่มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *Nostoc* sp.

1.1.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน 4 สูตรได้แก่ Modified chu 13, BG-11, BBM และ C medium โดยแบ่งตามกลุ่มสายพันธุ์สาหร่ายที่ผลิตสารสำคัญ ดังนี้

1) สาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มที่มีการสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์

ผลจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย SK-QSGMF6 มี 2 สูตรด้วยกันคือสูตร BG-11 และ Modified Chu 13 ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 13 และ 15 วัน ตามลำดับ ทั้งนี้จากการสังเกตสีของเซลล์สาหร่ายสีเขียวตลอดระยะการเพาะเลี้ยง 30 วันพบว่า สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วยสูตร BG-11 เซลล์สาหร่ายไม่มีการเปลี่ยนแปลงสี ซึ่งต่างกับเซลล์สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วยสูตร Modified Chu 13 ที่สีของเซลล์เริ่มมีการเปลี่ยนเป็นสีส้มที่บ่งบอกถึงการสะสมของสารแคโรทีนอยด์ได้ ส่วนสูตรที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-KhY6 คือ BG-11 ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 9 ส่วนผลการตรวจสอบสี

กรมวิทยาศาสตร์

ของเซลล์หลังการเลี้ยง 30 วัน พบว่าเซลล์สาหร่ายยังมีการเปลี่ยนแปลงสีไม่มาก จึงเลือกผลการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร BG-11

2) สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์ ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่าย A052 พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 มีอัตราการเจริญที่สูงที่สุด ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 15 วัน

3) สาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มที่มีการสะสมไขมัน ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่าย CM01-4 พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงคือ Modified Chu 13 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 25 วัน

4) สาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มที่มีการสะสมสารพอลิเมอร์ชีวภาพ ได้สูตรอาหาร BG-11 N-Free สามารถทำให้สาหร่ายขนาดเล็กไอโซเลท SM6-3 มีอัตราการเจริญที่สูงสุด ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 15 วัน

1.1.3 การศึกษาอิทธิพลในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญภายในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ผลการศึกษาการกระตุ้นเซลล์สาหร่ายให้มีการสะสมสารแต่ละชนิดไว้ภายในเซลล์ ด้วยการเติมโซเดียมคลอไรด์ลงในน้ำเพาะเลี้ยงหลังจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ ในวันที่สาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงสุดแล้วหรือเข้าสู่ช่วงแรกของระยะพักตัว โดยการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์ในน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ โดยใช้สูตรอาหาร Modified chu 13 เพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6 และ CM01-4 ส่วนสูตรอาหาร BG-11 เพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-KhY6 และ A052 และ BG-11 N Free เพาะเลี้ยงสาหร่าย Sm6-3 ได้ผลดังนี้

1) การกระตุ้นการสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ ผลการนำชีวมวลสาหร่าย SK-QSGMF6 หลังการเพาะเลี้ยงครบ 15 วัน และสาหร่าย SK-KhY6 หลังการเพาะเลี้ยงครบ 9 วัน มาสกัดสารแคโรทีนอยด์ก่อนการเติมเกลือ NaCl พบว่าสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 มีปริมาณสารแคโรทีนอยด์สะสมเท่ากับ 2.62 และ 2.86 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ภายหลังการชักนำการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และเพาะเลี้ยงต่อเนื่องอีก 15 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ สามารถกระตุ้นให้สาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ มีการสะสมแคโรทีนอยด์ภายในเซลล์ได้สูงสุด 3.45 และ 3.56 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ

2) การกระตุ้นการสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์ ผลการนำชีวมวลสาหร่าย A052 หลังการเพาะเลี้ยงครบ 15 วัน มาสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดจากเซลล์สาหร่ายก่อนการเติมเกลือ NaCl พบว่าสาหร่ายสายพันธุ์นี้มีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ 4.12 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง ภายหลังการชักนำด้วยการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และเพาะเลี้ยงต่อเนื่องอีก 15 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ สามารถกระตุ้นให้สาหร่ายมีการสะสมพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงสุด 6.51 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง หรือเพิ่มขึ้นมากกว่า 58 เปอร์เซ็นต์

3) การกระตุ้นการสะสมไขมัน ผลการนำชีวมวลสาหร่าย CM01-4 หลังการเพาะเลี้ยงครบ 25 วัน มาทำการสกัดไขมันจากเซลล์สาหร่ายแบบเปียกก่อนการเติม NaCl พบว่าได้ปริมาณไขมันเท่ากับ 23 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ภายหลังการชักนำด้วยการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และเพาะเลี้ยงต่อเนื่องอีก 15 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น NaCl 0.2 โมลาร์ สามารถกระตุ้นให้สาหร่ายมีการสะสมไขมันไว้ภายในเซลล์ได้สูงสุด 39 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

4) การกระตุ้นการสะสมสารพอลิเมอร์ชีวภาพ หลังการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SM6-3 ด้วยอาหาร BG-11 N-Free เป็นเวลา 15 วัน โดยการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง 10 วัน หลังการเติมเกลือ NaCl 0.1 โมลาร์ สาหร่ายมีการเจริญเติบโตต่อเนื่องได้ดีกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ สามารถสกัดสารพอลิเมอร์ชีวภาพได้ปริมาณสูงสุดที่ 1.62 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสด

1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด

1.2.1 รูปแบบบ่อเพาะเลี้ยงขยายขนาดแบบเปิดนอกห้องปฏิบัติการ

กรมวิทยาศาสตร์

รูปแบบบ่อเพาะเลี้ยงแบบเปิดนอกห้องปฏิบัติการ (Raceway pond) และใบพัดมอเตอร์ (paddle wheel) ที่มีความเร็วรอบในการหมุน 30-50 rpm และการเคลือบไฟเบอร์กลาสที่ผิวบ่อด้านในพร้อมทั้งติดตั้งวัสดุคลุมบ่อชนิดโปร่งแสง (ภาพที่ 1) เพื่อหลีกเลี่ยงปริมาณน้ำฝนซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญที่เป็นอุปสรรคต่อการเพาะเลี้ยง

ภาพที่ 1 บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเปิด (Raceway open pond)

1.2.2 การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการ

1) การพัฒนาสูตรอาหารจากปุ๋ยเคมีและอัตราการใช้เพื่อทดแทนสูตรอาหารมาตรฐาน

ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6 ด้วยปุ๋ยเคมี 2 สูตร คือ 16-8-8 และ 15-15-15 โดยศึกษาอัตราส่วนการให้ปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยงคือ 1/100 และ 1/500 เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร Modified Chu 13 โดยติดตามการเจริญเติบโตต่อเนื่องตลอด 30 วัน พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารปุ๋ยสูตร 16-8-8 และสูตร 15-15-15 ที่อัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/500 สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากันในวันที่ 13 ของการเพาะเลี้ยง และเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน Modified Chu 13 พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยปุ๋ยทั้ง 2 สูตรในอัตราส่วน 1/500 เซลล์สาหร่ายมีการเจริญเติบโตมากกว่าในจำนวนวันของการเพาะเลี้ยงที่น้อยกว่า

ส่วนผลการศึกษากับสาหร่าย CM01-4 ด้วยกรรมวิธีเดียวกัน พบว่าในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยงการให้อาหารปุ๋ยสูตร 15-15-15 ทั้งอัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/100 และ 1/500 มีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน Modified Chu 13 และปุ๋ยสูตร 16-8-8 ทั้ง 2 อัตราส่วนให้ปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยง เซลล์สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าในจำนวนของการเพาะเลี้ยงที่ 21 วันเท่ากัน โดยจากผลการศึกษาอัตราส่วนการให้ปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ข้างต้น จึงเลือกอัตราส่วนอัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/500 เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการใช้ปุ๋ยเคมีสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์อื่นต่อไป

2) การพัฒนาสูตรอาหารจากปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์อื่นๆ ด้วยอัตราส่วนอัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/500

ผลการทดลองจากการใช้ปุ๋ยเคมี 2 สูตร คือ 16-8-8 และ 15-15-15 ด้วยอัตราส่วนการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/500 มาศึกษาการเพาะเลี้ยงกับสาหร่าย SK-KhY6 และ A052 เพื่อเปรียบเทียบค่าการเจริญเติบโตกับสูตรอาหารมาตรฐาน BG-11 พบว่าการใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-8 ที่อัตราส่วนอัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/500 ให้ผลการเจริญเติบโตได้ดีทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยสาหร่าย SK-KhY6 เซลล์มีค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สูงสุดหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 11 วัน ในขณะที่สาหร่าย A052 มีการเจริญเติบโตสูงที่สุดหลังทำการเพาะเลี้ยง 17 วัน

ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไอโซเลท SM6-3 ด้วยการใช้สูตรอาหารจากปุ๋ยเคมีทั้งหมด 4 สูตร ได้แก่ 12-6-30, 15-15-15, 8-24-24 และ 12-24-12 เปรียบเทียบกับสูตรอาหารมาตรฐาน BG-11 N Free (การทดลองที่ 1.1) โดยใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 15 วัน ซึ่งผลของการให้อาหารปุ๋ยแต่ละสูตรได้ปริมาณเซลล์สาหร่ายสดไม่แตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่การเพาะเลี้ยงด้วยปุ๋ย 8-24-24 ให้ผลผลิตสาหร่ายสดสูงสุดเท่ากับ 6.19 กรัมต่อลิตร และจากการสกัดสารพอลิเมอร์ชีวภาพได้ปริมาณสูงสุด 1.84 %wt.

1.2.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาดแบบบ่อเปิด (Open raceway pond)

จากผลการเพาะเลี้ยงด้วยการให้อาหารปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยง 1 ต่อ 500 และใช้หัวเชื้อสาหร่ายเริ่มต้นที่ระดับค่าความขุ่น 0.3 ปริมาณการใช้ 1 เปอร์เซ็นต์ ต่อปริมาตรน้ำเพาะเลี้ยง 100 ลิตร ในบ่อเพาะเลี้ยงแบบเปิด

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ขนาด 500 ลิตร โดยตลอดระยะเวลาในการศึกษาในครั้งนี้ มีปริมาณความเข้มของแสงแดดอยู่ในช่วง 10-17 klx และอุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ในช่วง 28-37 องศาเซลเซียส เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่ายระหว่างสูตรมาตรฐานและปุ๋ยเคมีสูตรที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยง ดังนี้

1) ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6 เพื่อผลิตสารคลอโรฟิลด์และสารแคโรทีนอยด์

เนื่องจากสารสีคลอโรฟิลล์จะเป็นลักษณะสีของเซลล์สารสาหร่ายโดยปกติและสารแคโรทีนอยด์จะมีการสะสมในระหว่างการเจริญเติบโต 3 ช่วงระยะ โดยผลการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร Modified Chu 13 พบว่าสาหร่ายมีอัตราการเจริญที่สูงที่สุดในวันที่ 13 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งในระหว่างการเพาะเลี้ยงได้วิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่าเมื่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายอยู่ในระยะเริ่มคงที่เซลล์จะมีสีเขียวเข้มมีค่าปริมาณคลอโรฟิลด์ 2.79 mg/g ของสาหร่ายแห้ง ตามลำดับ ในขณะที่ระยะสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณคลอโรฟิลด์ เพียง 2.34 mg/g ของสาหร่ายแห้ง ดังนั้นในการเพาเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อการผลิตสารคลอโรฟิลล์สามารถทำการเก็บชีวมวลสาหร่ายได้ภายในวันที่ 13 ของการเพาะเลี้ยง และจากการหาปริมาณแคโรทีนอยด์ ในระหว่างการเพาะเลี้ยงสาหร่ายชุดเดียวกัน ในระยะสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด 2.72 mg/g ของสาหร่ายแห้ง

ส่วนการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารปุ๋ยสูตร 16-8-8 จะเน้นไปในการสะสมสารแคโรทีนอยด์หรือสารออกฤทธิ์ชีวภาพ ผลการทดลองพบว่าสาหร่าย SK-QSGMF6 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 14 หลังการเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงอีก 15 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.95 กรัมต่อลิตร สามารถสกัดสารจากเซลล์สาหร่ายได้ปริมาณสารแคโรทีนอยด์สูงสุด 5.20 mg/g_{dried}

2) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-KhY6 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ย 16-8-8 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 14 หลังเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงอีก 15 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.75 กรัมต่อลิตร สามารถสกัดสารจากเซลล์สาหร่ายได้ปริมาณสารแคโรทีนอยด์สูงสุด 4.28 mg/gdried

3) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย A052 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ย 16-8-8 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 17 หลังเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงอีก 15 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.69 กรัมต่อลิตร ทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงสุด 3.97%wt.

4) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย CM01-4 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ย 15-15-15 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 20 หลังเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงอีก 10 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.05 กรัมต่อลิตร มีการสะสมไขมันไว้ภายในเซลล์ได้สูงสุด 5.65%wt.

5) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sm6-3 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ย 8-24-24 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 15 หลังเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงอีก 10 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.22 กรัมต่อลิตร และผลการสกัดสารโพลิเมอร์ชีวภาพได้ 0.33 %โดยน้ำหนักสด

กิจกรรมที่ 2 การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.1 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำหรับผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.1.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก (Biomass production)

เพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) และ *Coelastrum* sp. (SK-KhY6) ในบ่อเปิด ด้วยอาหารปุ๋ยสูตร 16-8-8 และการชักนำด้วย NaCl 0.3 โมลาร์ มีอัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.95 และ 1.75 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังการอบแห้งอุณหภูมิ 60°C ได้ชีวมวลสาหร่ายแห้งสีเขียวเข้มออกน้ำตาล

2.1.2 การผลิตสารสำคัญที่มีมูลค่าสูงจากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

กรมวิชาการเกษตร

ผลการสกัด SK-QSGMF6 ด้วยเทคนิค SFE ที่อุณหภูมิ 60°C เวลา 3 ชั่วโมง ที่ความดัน 300 400 และ 500 บาร์ พบว่าการสกัดที่ความดัน 500 บาร์ ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่าที่ 300 และ 400 บาร์ โดยได้สารสกัดคือ 5.20 3.15 และ 4.21 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง สารสกัดที่ได้มีสีเหลืองเข้มไปทางน้ำตาล ดังนั้นจึงเลือกที่ความดัน 500 บาร์ ในการสกัดสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ จากนั้นแปรระดับอุณหภูมิในการสกัดเป็น 3 ระดับ คือ 40 50 และ 60°C ดังตารางที่ 7 ได้ปริมาณแอสตาแซนธินสูงสุดเท่ากับ 265.77 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสารสกัด คิดเป็น 0.027% เมื่อสกัดในขณะที่สาหร่ายมีสีเขียวที่อุณหภูมิสกัด 40°C แต่ปริมาณสารสำคัญแต่ละชนิดจะมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น

ตารางที่ 7 ปริมาณสารสำคัญ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสารสกัด) ของสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่สกัดจากสาหร่าย SK-QSGMF6 สกัดด้วยเทคนิค SFE

สารแคโรทีนอยด์	อุณหภูมิในการสกัด (°C) ที่ความดัน 500 บาร์		
	40	50	60
เบต้าแคโรทีน	132.44	107.77	92.60
ลูทีน	178.01	134.16	131.88
ซีแซนธิน	252.84	212.84	188.32
แอสตาแซนธิน	265.77	205.14	202.33

เมื่อคำนวณเป็นปริมาณแอสตราแซนธินที่ผลิตได้ในแต่ละสภาวะของการสกัด ดังนั้นการสกัดที่อุณหภูมิ 60°C จึงได้ปริมาณแอสตาแซนธินในการสกัดแต่ละครั้งสูงกว่า คือ 1.052 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จึงเลือกการสกัดด้วย SFE ที่ความดัน 500 บาร์ อุณหภูมิ 60°C ในการสกัดสารสำคัญ

ตารางที่ 8 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากสาหร่าย SK-KhY6 ด้วยเทคนิค SFE ความดัน 500 บาร์

อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g $_{dried\ solid}$)	ปริมาณสารประกอบแคโรทีนอยด์ (mg/g $_{dried\ solid}$)				
		เบต้าแคโรทีน	ไลโคปีน	ลูทีน	ซีแซนธิน	แอสตาแซนธิน
40	2.38	30.56	44.24	24.32	118.67	54.23
50	3.60	34.24	24.76	88.32	106.77	88.37
60	4.28	27.74	32.77	84.47	266.37	137.22

ผลการสกัดที่ความดัน 500 บาร์ โดยใช้อุณหภูมิในการสกัด 40 50 และ 60°C กับสาหร่าย SK-KhY6 ด้วยเทคนิค SFE ดังตารางที่ 8 พบว่าที่สภาวะอุณหภูมิ 60°C สามารถสกัดแคโรทีนอยด์ได้ปริมาณสูงสุดเท่ากับ 4.28 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยได้ปริมาณซีแซนธิน สูงสุดเท่ากับ 266.37 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสารสกัด และแอสตราแซนธิน สูงสุดเท่ากับ 137.22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสารสกัด นอกจากนี้ยังพบไลโคปีน ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระที่สำคัญด้วย จึงเลือกใช้การสกัดด้วย SFE ที่ความดัน 500 บาร์ อุณหภูมิ 60°C ในการสกัดสารสำคัญเพื่อทำการทดลองต่อไป

2.1.3 การศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสำคัญที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

1) ศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีววิทยาเบื้องต้นหรือฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย SK-QSGMF6 มีค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ IC_{50} = 0.01035 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากสาหร่าย SK-KhY6 มีค่า IC_{50} = 0.01364 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ยังมีค่าสูงกว่าวิตามินซี ที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน มีค่า IC_{50} = 0.02315 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง

พบว่าฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีค่า IC_{50} = 16.706 mg/ml โดยใช้กรดโคจิกเป็นสารละลายมาตรฐานมีค่า IC_{50} = 0.187 mg/ml ถือว่ามีฤทธิ์การต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ดี

กรมวิชาการเกษตร

2.1.4 การศึกษาการนำสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

1) ศึกษาการประยุกต์ใช้สารสำคัญที่สกัดจากสาหร่ายในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว

โดยเลือกใช้สารสกัดจากสาหร่าย SK-QSGMF6 ซึ่งมีปริมาณแอสตราแซนธินสูง จึงเหมาะกับการนำมาผลิตเซรั่มบำรุงผิวหน้า นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่มีส่วนช่วยกระตุ้นการผลิตเม็ดสี ผลิตเซรั่มบำรุงผิวผสมสารสกัดจากสาหร่ายตามกรรมวิธีดังตารางที่ 1 จากนั้นวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของเซรั่มทั้ง 9 กรรมวิธี ได้แก่ ค่าสี ความเป็นกรดด่าง ความหนืด และวิเคราะห์ค่าความคงตัวของเซรั่มโดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4000 รอบ/นาที ระยะเวลา 15 นาที เพื่อดูความคงตัวของเนื้อเซรั่ม

ลักษณะเซรั่มบำรุงผิวที่ได้เป็นของเหลวสีเหลืองอ่อนจากสีของสารสกัด (ภาพที่ 2) มีความหนืดที่แตกต่างกันไปตามกรรมวิธี ค่าความเป็นกรดด่าง ของเซรั่มบำรุงผิวอยู่ในช่วง 5.09 – 5.29 ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะกับผิวหนังซึ่งอยู่ในช่วง 3.5 - 5.5 (กองเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย, 2551)

เมื่อทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที พบว่า กรรมวิธี 2-6 มีการแยกชั้นของสารสกัด จึงคัดเลือกกรรมวิธีที่มีความคงตัวหลังการปั่นเหวี่ยง ได้แก่กรรมวิธี 7-9 เพื่อทดสอบความชอบด้านประสาทสัมผัสหลังการทาเซรั่ม เพื่อคัดเลือกสูตรและความหนืดที่เหมาะสมต่อไป

ภาพที่ 2 เซรั่มผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสารสกัดขนาดเล็ก

ทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัส ด้วย 7-point hedonic scale ได้แก่ สี ความหนืด การซึมสู่ผิว ความเหนียว กลิ่นหลังทา และความชุ่มชื่นหลังทาโดยผู้ทดสอบจำนวน 27 คน โดยให้ผู้ทดสอบทาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวแต่ละกรรมวิธีลงในช่องที่แบ่งไว้ที่ใต้ท้องแขน และให้คะแนนความชอบในด้านต่าง ๆ ที่ระดับคะแนน 1-7 คะแนน และเลือกสูตรที่ชอบที่สุดจำนวน 1 สูตร พบว่ามีผู้ทดสอบเลือกกรรมวิธีที่ 8 เป็นที่ชื่นชอบมากที่สุดจำนวน 63% มีคะแนนความชอบด้านสี 4.89 คะแนน ความหนืด 4.44 คะแนน การซึมสู่ผิว 4.41 คะแนน ความเหนอะหนะ 3.96 คะแนน กลิ่น 3.67 คะแนน และความชุ่มชื่นหลังทา 4.67 คะแนน จะเห็นได้ว่าความชอบด้านกลิ่นมีค่าน้อยที่สุด เนื่องจากสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์มีกลิ่นฉุน

ศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวที่ระยะเวลา 3 เดือน โดยวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพทุกเดือน วิเคราะห์ ค่าสี ค่าความเป็นกรดด่าง ค่าความหนืด พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นเซรั่มบำรุงผิวจะมีค่าความสว่าง (L*) สูงขึ้น ให้เซรั่มมีสีดูซีดลง เนื่องจากการเก็บรักษานี้ต้องการเห็นความเปลี่ยนแปลงของเซรั่มจึงเก็บในขวดแก้วใส ซึ่งได้รับแสงและความร้อนจากอุณภูมิห้องปกติ ทำให้สีเปลี่ยนไป

2) ศึกษาการประยุกต์ใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสกัดจากสาหร่ายในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า

โดยเลือกใช้สารสกัดจากสาหร่าย SK-KhY6) ซึ่งนอกจากจะมีแอสตาแซนธินแล้วยังมีไลโคปีนเป็นองค์ประกอบ จึงเหมาะกับการประยุกต์ใช้ในแผ่นมาส์กหน้า เพื่อลดการอักเสบและลดผื่นแดงของผิวหน้า

เนื้อเจลมาส์กหน้าที่ได้จากตารางที่ 2 มีลักษณะเป็นเจลสีเหลืองสว่าง นำแผ่นมาส์กหน้าใส่ลงในถุงอลูมิเนียม เติมเนื้อเจลมาส์กหน้าลงในถุง จำนวน 30 กรัม ค่อยๆ เกลี่ยเนื้อเจลให้เต็มแผ่นมาส์กหน้า ทิ้งไว้ 1 คืน

เพื่อให้เนื้อเจลซึมลงสู่แผ่นมาส์กหน้าดังภาพที่ 3 การใส่เนื้อเจลเต็มแผ่นและใส่ถุงซิบล็อคใส เพื่อสังเกตุลักษณะการซึม สี และลักษณะของแผ่นมาส์กหน้า

ภาพที่ 3 (ซ้าย) ลักษณะเนื้อเจลสาหร่ายสำหรับแผ่นมาร์กหน้า (ขวา) ตัวอย่างแผ่นมาร์กหน้า

ผลการทดสอบสมบัติทางกายภาพของเนื้อเจลและลักษณะของแผ่นมาส์กหน้าจาก พบว่าทุกกรรมวิธีเนื้อเจลสามารถซึมเข้าสู่แผ่นมาส์กหน้าได้ โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ 3 และ 4 ที่มีส่วนประกอบของเบสว่านหางจระเข้มากที่สุด โดยค่าความสว่างของเนื้อเจลมีความสว่างในช่วง 30.0 – 31.77 ส่วนค่าความเป็นสีแดง (+a*) มีค่าอยู่ในช่วง 2.44 – 3.0 ซึ่งมีค่าลดลงเมื่อใส่เบสว่านหางจระเข้เพิ่มขึ้น ในส่วนค่าความเป็นสีน้ำเงิน (-b*) นั้น มีค่าในช่วง -1.71 ถึง - 2.4 โดยมีความเป็นสีน้ำเงินเพิ่มขึ้น เมื่อเติมเบสว่านหางจระเข้ที่มากขึ้นตามสูตร ค่าความเป็นกรดด่างของทุกกรรมวิธี มีค่า 5.79-6.11 แม้จะเกินค่าความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะกับผิวหนังมากที่สุดคือ 3.5-5.5 แต่ยังคงอยู่ในมาตรฐาน มอก เอส 15-2561 คือ ค่าความเป็นกรดด่าง ในช่วง 3.5-7.5 เป็นค่าที่เข้ากับผิวได้

การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน เพื่อทดสอบสมบัติด้านกายภาพ ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ความชุ่มชื้นหลังมาส์ก ความเหนียวเหนอะหนะ การซึมสู่ผิว ความชอบโดยรวม โดยให้ผู้ทดสอบเลือกสูตรที่ชอบมากที่สุด จำนวน 1 สูตร คัดเลือกกรรมวิธีที่ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ชอบที่สุด พบว่าผู้ทดสอบชอบกรรมวิธีที่ 3 มากที่สุดคิดเป็นจำนวน 40 % โดยความชอบด้านต่าง ๆ ของกรรมวิธีที่ 3 ดังนี้ ด้านสี การซึมสู่ผิว ความเหนอะหนะ กลิ่น ความชุ่มชื่น และความชอบโดยรวม คือ 5.57 5.48 4.86 5.48 และ 5.38 ดังนั้นจึงเลือกกรรมวิธีที่ 3 เป็นกรรมวิธีในการผลิตแผ่นมาส์กหน้าผสมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.2 การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

2.2.1 การผลิตสีผงคลอโรฟิลล์ (สีเขียว) จากสาหร่ายขนาดเล็ก

1) การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กที่ให้สีเขียว ใช้สาหร่ายสายพันธุ์ A052 (*Coelastrum microporum*) เลี้ยงในอาหารคือปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ทำการเพาะเลี้ยงในบ่อเปิดขยายขนาดได้สาหร่ายที่มีสีเขียวเพื่อนำมาศึกษาการสกัดสารสีคลอโรฟิลล์

2) การศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลในการสกัดสารสีจากสาหร่าย

ตารางที่ 9 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นเอทานอล (%)	คลอโรฟิลล์เอ (ug/g)				คลอโรฟิลล์บี (ug/g)			
	สกัดครั้งที่ 1	สกัดครั้งที่ 2	สกัดครั้งที่ 3	รวม	สกัดครั้งที่ 1	สกัดครั้งที่ 2	สกัดครั้งที่ 3	รวม
0 (น้ำ)	0.769 f	-	-	0.769 g	0.883 g	-	-	0.883 g
10	1.576 f	0.355 e	0.423 g	2.354 fg	2.700 f	0.429 g	0.569 f	3.698 f
20	1.594 f	0.648 e	0.657 fg	2.899 fg	1.557 gf	0.586 g	0.667 ef	2.810 fg
30	3.230 f	1.647 e	1.437 d	6.315 f	2.231 gf	1.484 f	1.241 c	4.956 f
40	4.658 f	7.703 cd	4.932 a	17.293 e	2.917 f	4.598 c	2.591 a	10.105 e
50	10.558 e	16.879 a	5.237 a	32.675 d	6.079 e	7.523 a	2.430 a	16.032 d

กรมวิทยาศาสตร์

60	25.444 d	12.684 b	2.519 b	40.647 c	12.330 d	5.660 b	1.646 b	19.636 c
70	37.465 c	12.277 b	1.822 c	51.564 b	15.842 c	6.041 b	1.250 c	23.133 b
80	44.595 b	8.035 c	0.975 ef	53.605 b	18.119 b	4.350 cd	0.899 de	23.368 b
90	48.026 b	6.206 d	1.100 de	55.332 b	18.920 b	3.077 e	1.051 cd	23.048 b
95	53.211 a	7.456 cd	0.804 ef	61.470 a	21.346 a	3.752 de	0.801 def	25.898 a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ผลการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น 10-95% (ตารางที่ 9) พบว่าการสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอล 95% สารสกัดมีปริมาณสารมากที่สุดคือ มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ 53.211 ug/g ปริมาณคลอโรฟิลล์บี 21.346 ug/g และได้ปริมาณมากกว่า 80% ของปริมาณสารสำคัญที่ได้รวมกัน 3 ครั้ง ดังนั้นจึงพิจารณาเลือกสภาวะการสกัดด้วยเอทานอล 95% และทำการสกัด 1 ครั้ง

3) การศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอยและอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สีผง จากสารสกัดที่ระเหยลดปริมาตรมีปริมาณคลอโรฟิลล์ของสารสกัดมีค่า 5.43 mg/ml ผสมกับมอลโตเด็กซ์ทรินและน้ำในอัตราส่วน 1:1:1 จากนั้นนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 130°C ได้สีผงที่มีสีเขียวอ่อน และยังคงมีกลิ่นไม่พึงประสงค์ ได้ผลผลิตสีผง (yield) 15.72% ทำการเก็บรักษาสีผงเป็นเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจคุณภาพ

ตารางที่ 10 คุณภาพของสีผงคลอโรฟิลล์หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 2 4 และ 6 เดือน ตามลำดับ

คุณภาพ	อายุการเก็บรักษา (เดือน)			
	0	2	4	6
ค่าสี L*	52.21	55.32	57.01	57.48
a*	-1.28	-1.20	-1.18	-0.96
b*	8.16	8.93	7.07	7.22
ΔE	0.00	3.20	4.92	5.36
ความชื้น (%)	3.66 a	3.98 a	4.37 a	6.59 b
ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี	0.205 a	0.215 a	0.229 a	0.237 a
ค่าการละลายน้ำ (%)	89.07 a	91.00 a	88.48 a	90.36 a
คลอโรฟิลล์ (mg /100 g)	38.75 a	26.64 b	15.26 c	10.52 c

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

การพิจารณาค่าความแตกต่างของค่าสีกับตัวอย่างมาตรฐาน (ΔE) โดยถ้า ΔE≥ 2.3 ค่าสีของสีผงจะมีความแตกต่างกัน (Sharma, 2003) ผลจากตารางที่ 10 พบว่า การเก็บรักษาสีผงที่อายุการเก็บรักษา 2 4 และ 6 เดือน ค่าสีมีความแตกต่างจากสีผงเริ่มต้น (0 เดือน) การเปลี่ยนแปลงของความชื้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้นสีผงมีความชื้นเพิ่มขึ้น สำหรับปริมาณคลอโรฟิลล์ของสีผงมีค่าลดลงเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้นตั้งแต่อายุการเก็บรักษา 2 เดือน ผลการทดสอบสีผงที่ผลิตได้ไม่พบ สารหนู และตะกั่ว และตลอดอายุการเก็บรักษา 6 เดือน สีผงมีคุณภาพด้านจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์ข้อกำหนด (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, ม.ป.ป.)

4) การประยุกต์ใช้สีผงคลอโรฟิลล์ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม ได้คุณภาพดังตารางที่ 11 โดยปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำและค่า pH ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผง 0 1 2 3 และ 4% มีค่าใกล้เคียงกัน การใส่สีผงปริมาณเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่าสีเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยดูจากค่า ΔE ที่เพิ่มสูงขึ้น และปริมาณสารคลอโรฟิลล์ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมีค่าแตกต่างกัน (p≤0.05) โดยผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงปริมาณ 4% มีปริมาณคลอโรฟิลล์มากที่สุด

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 11 คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงคลอโรฟิลล์ 0 - 4%

คุณภาพ	สีผงคลอโรฟิลล์ (%)				
	0	1	2	3	4
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (°B)	25.73	25.60	26.73	26.67	26.63
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.67	6.66	6.66	6.67	6.62
ค่าสี L*	50.18	46.53	44.71	43.10	41.99
a*	-0.75	-2.84	-3.44	-3.49	-3.76
b*	5.57	9.16	10.26	10.73	10.91
ΔE	0.00	5.55	7.70	9.17	10.21
คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/100 g)	0.00 e	3.08 d	6.32 c	9.83 b	13.72 a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

2.2.2 การผลิตสีผงแคโรทีนอยด์ (สีเหลือง) จากสาหร่ายขนาดเล็ก

1) จากการเพาะเลี้ยงสายพันธุ์ SK-QSGMF6 (Coelastrella sp.) ในห้องปฏิบัติการด้วยอาหาร Modified Chu 13 ใส่ขวดรูปชมพู่ จนเซลล์สาหร่ายมีการสะสมสารแคโรทีนอยด์ไว้ภายในเซลล์จนเซลล์เปลี่ยนเป็นสีส้ม นำสาหร่ายเข้าเครื่องเหวี่ยงแยกกากเพื่อให้ได้เซลล์สาหร่ายสำหรับนำไปสกัดสารสี

2) การศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลในการสกัดสารสีจากสาหร่าย (ตารางที่ 12) ด้วยเอทานอลความเข้มข้น 60-95% พบว่า การสกัดด้วยเอทานอล 95% สารสกัดมีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุด 6.93 ug/ml

ตารางที่ 12 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยเอทานอลความเข้มข้น 60-95%

คุณภาพ		ความเข้มข้นของเอทานอล (%)					
		0	60	70	80	90	95
แคโรทีนอยด์ (ug/ml)		0.02 f	1.66 e	2.02 d	3.05 c	4.97 b	6.93 a
ค่าสี	L*	29.91	29.87	29.83	29.55	29.38	28.96
	a*	2.70	2.42	2.48	2.76	3.20	3.50
	b*	-2.15	0.58	1.43	2.20	3.21	3.73
	ΔE	0.00	2.74	3.59	4.37	5.41	6.01

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

3) การศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอยและอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สีผง โดยนำสารสกัดที่ระเหยลดปริมาตรแล้วมีปริมาณแคโรทีนอยด์ของสารสกัด 43.19 ug/ml นำสารสกัดที่ได้ผสมมอลโตเด็กซ์ทรินและน้ำในอัตราส่วน 1:1:1 จากนั้นนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 130°C ได้สีผงสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นไม่พึงประสงค์เล็กน้อย ได้ผลผลิตสีผง (yield) 15.88% ทำการเก็บรักษาสีผงเป็นเวลา 4 เดือน ตรวจคุณภาพ

ตารางที่ 13 คุณภาพของสีแคโรทีนอยด์หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 2 และ 4 เดือน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง

คุณภาพ		อายุการเก็บรักษา (เดือน)		
		0	2	4
ค่าสี	L*	57.89	58.43	60.26
	a*	0.10	-0.01	0.11
	b*	12.76	10.83	10.48
	ΔE	0.00	2.01	3.29

กรมวิทยาศาสตร์

คุณภาพ	อายุการเก็บรักษา (เดือน)		
	0	2	4
ความชื้น (%)	3.83 a	4.02 a	4.48 a
ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี	0.202 a	0.216 a	0.222 a
ค่าการละลายน้ำ (%)	87.31 a	85.90 a	86.50 a
แคโรทีนอยด์ (mg /100 g)	19.39 a	15.32 b	12.64 c

หมายเหตุ; ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ผลจากตารางที่ 13 พบว่า สีผงที่อายุเก็บรักษา 2 เดือน มีค่าสีไม่แตกต่างกับสีผงเริ่มต้น (ค่า $\Delta E < 2.3$) แต่ที่อายุ 4 เดือน มีค่าสีแตกต่างกับสีผงเริ่มต้น สำหรับปริมาณแคโรทีนอยด์ของสีผงมีค่าลดลงเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น สีผงที่ผลิตได้ไม่พบ สารหนู และตะกั่ว และสีผงมีคุณภาพด้านจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์ข้อกำหนด

4) การประยุกต์ใช้สีผงแคโรทีนอยด์ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม ได้คุณภาพดังตารางที่ 14 โดยปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำและค่า pH ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผง 0 1 2 3 และ 4% มีค่าใกล้เคียงกัน การใส่สีผงปริมาณเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่าสีเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยดูจากค่า ΔE ที่เพิ่มสูงขึ้น และปริมาณสารแคโรทีนอยด์ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงปริมาณ 4% มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุด กับไอศกรีมที่ใส่สีผง 3 2 และ 1% สำหรับผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ไม่ใส่สีผงแต่ตรวจพบแคโรทีนอยด์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมีไข่เป็นส่วนประกอบด้วย นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ได้ไม่มีกลิ่นไม่พึงประสงค์ อาจเป็นเพราะกลิ่นนมและกลิ่นวานิลลาช่วยลดกลิ่นไม่พึงประสงค์นั้น

ตารางที่ 14 คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงแคโรทีนอยด์ 0 - 4%

คุณภาพ	สีผงแคโรทีนอยด์ (%)				
	0	1	2	3	4
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (°B)	25.73	25.87	26.43	26.23	26.73
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.67	6.77	6.63	6.71	6.70
ค่าสี L*	50.07	48.28	46.81	46.16	45.44
a*	-0.81	-0.90	-0.47	-0.31	0.22
b*	5.40	13.34	16.84	18.60	19.60
ΔE	0.00	8.14	11.90	13.79	14.97
แคโรทีนอยด์ (ug/100 g)	59.11 e	74.95 d	82.90 c	94.82 b	102.08 a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

2.2.3 การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็ก (สีฟ้า phycobilin)

1) การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กที่ให้สีฟ้า ใช้สาหร่ายสายพันธุ์ A052 (*Coelastrum microporum*) เลี้ยงในอาหาร BG-11 ได้สาหร่ายที่มีสีเขียว

2) การสกัดสารสีฟ้า (phycobilin) จากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยวิธีทางกายภาพ ได้สารสกัดสีฟ้า มีปริมาณไฟโคบิลิน 1.24 ug/ml และมีกลิ่นไม่พึงประสงค์เล็กน้อย

3) การศึกษาปริมาณมอลโตเด็กซ์ทรินที่เหมาะสมสำหรับการทำแห้งแบบพ่นฝอย จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย ได้สีผงไฟโคบิลินที่เตรียมจากมอลโตเด็กซ์ทริน 10 – 30 % มีกลิ่นไม่พึงประสงค์เล็กน้อย

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 15 คุณภาพของสีผงไฟโคบิลินที่เตรียมจากปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 10 – 30 %

คุณภาพ	มอลโตเด็กซ์ทริน (%)		
	10	20	30
ความชื้น (%)	4.28 b	3.66 a	3.63 a
ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี	0.208	0.181	0.163
yield (%)	6.89	12.16	17.42
ค่าสี L*	46.68	48.75	50.78
a*	-4.40	-4.44	-4.68
b*	-8.08	-7.50	-7.57
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	5.99	5.87	5.76
ค่าการละลายน้ำ (%)	84.49 a	85.83 a	87.21 a
ไฟโคบิลิน (mg/100 g)	36.96 a	15.20 b	10.97 c

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ผลจากตารางที่ 15 สีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 10% มีความชื้นมากที่สุด ($p \leq 0.05$) แต่มีค่าไม่เกิน 5.0% ซึ่งโดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ผง (กระทรวงสาธารณสุข, 2556) และมีค่าสีเข้มกว่า การละลายน้ำของสีผงไม่มีความแตกต่างกัน และมีปริมาณสารไฟโคบิลิมากที่สุด ($p \leq 0.05$) จึงเลือกปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 10% ในการทำแห้งแบบพ่นฝอยสีผงไฟโคบิลินสี ผงที่ผลิตได้ไม่พบ สารหนู และตะกั่ว และมีคุณภาพด้านจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์ข้อกำหนด

4) การประยุกต์ใช้สีผงไฟโคบิลินในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม ได้คุณภาพดังตารางที่ 16 พบว่า โดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำและค่า pH ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผง 0 1 2 3 และ 4% มีค่าใกล้เคียงกัน การใส่สีผงปริมาณเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่าสีเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยดูจากค่า ΔE ที่เพิ่มสูงขึ้น โดยผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงปริมาณ 4% มีปริมาณไฟโคบิลินมากที่สุดแต่ไม่แตกต่าง ($p>0.05$) กับไอศกรีมที่ใส่สีผง 3% นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ได้ไม่มีกลิ่นไม่พึงประสงค์ อาจเป็นเพราะกลิ่นนมและกลิ่นวานิลลาช่วยลดกลิ่นไม่พึงประสงค์นั้น

ตารางที่ 16 คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงไฟโคบิลิน 0 – 4 %

คุณภาพ	สีผงไฟโคบิลิน (%)				
	0	1	2	3	4
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (°B)	25.73	26.90	26.87	26.10	26.93
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.67	6.61	6.62	6.63	6.62
ค่าสี L*	49.95	48.06	45.96	44.87	43.85
a*	-0.88	-0.82	-0.95	-0.84	-0.91
b*	5.20	3.56	1.60	0..34	-0.50
ΔE	0.00	2.73	5.60	7.26	8.57
ไฟโคบิลิน (mg/100 g)	0.00 c	0.41 c	0.91 b	1.57 a	1.65 a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

2.3 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์และใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.3.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กและวิธีการเตรียมเซลล์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบ

สาหร่ายที่ใช้ในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์คือ สาหร่าย *Coelastrum* sp. (A052) ที่เพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารปุ๋ยเคมี 16-8-8 ในบ่อเพาะเลี้ยงขนาด 500 ลิตร

กรมวิทยาศาสตร์

2.3.2 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

การสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95 % เพื่อกำจัดรงควัตถุและไขมันต่างๆ ออกจากสาหร่ายจะได้ของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (AIS, alcohol insoluble solid) นำของแข็งที่ได้มารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จาก AIS ด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 70°C พบว่ากรรมวิธีที่ 2 และ 3 ปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์ไม่แตกต่างกัน โดยที่กรรมวิธีที่ 3 ให้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดเท่ากับ 3.97 % (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 17 ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กที่ได้จากแต่ละสภาวะการสกัด

กรรมวิธี	อัตราส่วนของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ : น้ำ (w/v)	ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณผลได้ (เปอร์เซ็นต์)
1	1:1	50	2.93b
2	1:1	70	3.97a
3	1:1.5	50	2.86b
4	1:1.5	70	3.90a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

วิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยน้ำของการทดลองนี้สอดคล้องกับการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนก ของ นพรัตน์ และคณะ (2553) ซึ่งพบว่าการสกัดสาหร่ายผมนางและสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยน้ำต้มเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มากกว่าการสกัดด้วยเอทานอลในทุกชนิดของสาหร่าย ซึ่งอาจเนื่องจากน้ำตาลอิสระที่มีอยู่ในสาหร่ายสามารถละลายน้ำได้ดีกว่าเอทานอล

2.3.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณความชื้น 7.59 % คาร์โบไฮเดรต 87.50 % ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 82.19 และมีปริมาณกรดยูโรนิคหรือน้ำตาลที่อยู่ในรูปของกรดซึ่งเป็นโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ 5.82 %

2.3.4 การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

การวิเคราะห์คุณสมบัติด้านความหนืดและความแข็งแรงของเจล พิจารณาปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้อง คือ ความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง (pH) พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กมีผลให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 18 ผลของความเข้มข้นของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ต่อค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจล

ความเข้มข้นของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ (%w/v)	ความหนืด (cPs)	ความแข็งแรงของเจล (N)
0.5	5.2d	0.035d
1.0	8.3c	0.063c
1.5	12.6b	0.092b
2.0	16.4a	0.129a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ผลจากตาราง พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์มีผลให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นเนื่องจากพอลิแซ็กคาไรด์สามารถจับกับน้ำได้มากขึ้น ปริมาณน้ำอิสระจึงลดลงส่งผลให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น ส่วนผลของค่า pH ช่วง 4.5-75 (ตารางที่ 19) พบว่าสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1 % ถ้า pH มีค่าเท่ากับ 4.5 จะทำให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลสูงสุด

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

เพิ่มขึ้น และมีค่าลดงเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นจนถึง 7.5 ซึ่งเกิดจากในสภาวะที่เป็นด่าง $[OH]^-$ จะไปลดพันธะไฮโดรเจนภายในและระหว่างโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ ทำให้การขยายตัวระหว่างโมเลกุลเกิดได้น้อยลง ส่งผลให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลลดลง (จิตรา และคณะ, 2550)

ตารางที่ 19 ผลของ pH ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 1.0 (%w/v) ต่อค่าความหนืดและความเข็งแรงของเจล

pH ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์	ความหนืด (cPs)	ความแข็งแรงของเจล (N)
4.5	14.6a	0.125a
6.0	11.5b	0.098b
6.4	8.4c	0.067c
7.0	5.5d	0.053d
7.5	4.8e	0.046e

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

2.3.5 การประยุกต์ใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กในผลิตภัณฑ์อาหาร

ผลการใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เรียบเทียบกับแซนแทนกัม (สารทางการค้า) ในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพด โดยวิเคราะห์ค่าความข้นหนืดและการแยกชั้น ซึ่งบ่งบอกความคงตัวของตัวอย่างซุป พบว่าการเติมพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กและแซนแทนกัม มีผลทำให้ค่าความข้นหนืดของซุปเพิ่มขึ้นและการแยกชั้นลดลง โดยการเติมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ปริมาณ 1.5 % มีค่าความข้นหนืด และการแยกชั้น ใกล้เคียงกับการเติมแซนแทนกัม 1.0 % จึงปริมาณที่เหมาะสมในการแนะนำใช้เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดได้

ตารางที่ 20 ค่าความข้นหนืดและการแยกชั้นของตัวอย่างซุปข้าวโพดที่เติมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กและแซนแทนกัม ระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็น (4±2°C) เป็นเวลา 90 วัน

ตัวอย่างซุปข้าวโพด	ค่าความข้นหนืด (g)				การแยกชั้น (%)			
	0 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน	0 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
ชุดควบคุม	6,245.29e	6,139.64e	6,054.48f	6,011.86f	62.81a	65.73a	67.42a	68.59a
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ 0.5%	8,517.52d	8,419.54d	8,381.25e	8,376.42e	45.74b	48.54b	49.08b	49.92b
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ 1.0%	11,046.80c	11,016.54c	10,545.38d	10,037.49d	23.27d	24.36d	24.85d	25.17d
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ 1.5%	14,528.48b	14,165.37b	13,728.49b	13,168.62b	9.53e	9.94e	10.22e	10.65e
แซนแทนกัม 0.5%	11,840.56c	11,649.42c	11,475.82c	11,112.63c	27.34c	27.98c	28.52c	29.93c
แซนแทนกัม 1.0%	14,947.32b	14,695.74b	14,497.28b	14,219.38b	6.25f	6.36f	6.48f	6.59f
แซนแทนกัม 1.5%	17,832.74a	17,718.29a	17,594.42a	17,482.83a	2.38g	2.41g	2.54g	2.59g

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

จากตารางที่ 20 ผลการตรวจวิเคราะห์ซุปข้าวโพดที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าซุปข้าวโพดที่เติมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ 1.5% มีค่าความข้นหนืดลดลง 9.36% และมีค่าการแยกชั้นเพิ่มขึ้น 11.84% ใกล้เคียงกับซุปข้าวโพดที่เติมแซนแทนกัม 1.0% ที่มีค่าความข้นหนืดลดลง 4.87% และมีค่าการแยกชั้นเพิ่มขึ้น 5.44%

2.3.6 การผลิตใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กและผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหาร

กรมวิชาการเกษตร

การสกัดใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ได้ใยอาหารที่มีสีน้ำตาล มีปริมาณผลได้เท่ากับ 89.35 % มีปริมาณใยอาหารรวม 82.16 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ผลการนำใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กเติมในเส้นพาสต้าเปรียบเทียบกับใยอาหารทางการค้าคือ บุก โดยปริมาณที่เหมาะสมของใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กในเส้นพาสต้า คือ 3% เมื่อเปรียบเทียบกับใยอาหารทางการค้า คือ บุก พบว่าผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก มีปริมาณใยอาหารรวม 0.84% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากบุก 3% ที่มีปริมาณใยอาหารรวม 1.05% ของน้ำหนักแห้ง

2.4 การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กแบบระบบเปิดในระดับขยายขนาด

2.4.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด (open raceway pond)

ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก CM01-4 และ KK20 ด้วยสูตรอาหาร Modified Chu 13 (เกรดการค้า) และปุ๋ยเคมี 15-15-15 ได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย CM01-4 1.85 และ 1.16 กรัมต่อลิตร สาหร่าย KK20 ได้ 1.95 และ 1.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากปริมาณชีวมวลสาหร่ายที่ได้จึงใช้ชีวมวลสาหร่ายจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Modified Chu 13 (เกรดการค้า) ในการศึกษาวิธีการสกัดและผลิตไบโอดีเซล

2.4.2 การผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก

1) วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายแห้ง

ผลการศึกษาการสกัดไขมันน้ำมันด้วยตัวทำละลายจากชีวมวลสาหร่ายแห้ง CM01-4 และ KK20 (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวทำละลายอินทรีย์	ไขมัน (กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง)	
	สาหร่าย CM01-4	สาหร่าย KK20
เอทานอล	0.0782b	0.0763b
เมทานอล	0.0829b	0.0785b
อะซิโตน	0.1034a	0.0942a
เฮกเซน	0.0637c	0.0515c

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ผลการสกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิด พบว่าอะซีโตนสามารถสกัดได้ไขมันจากชีวมวลสาหร่ายแห้ง ได้ปริมาณสูงสุดที่ 0.1034 และ 0.0942 กรัมต่อกรัมแห้ง ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) จากไขมันที่สกัดได้จากชีวมวลแห้งหลังทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นกับเมทานอล และใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้น้ำมันหลังการล้างน้ำเพื่อทำความสะอาด 53.10% มีเปอร์เซ็นต์เมทิลเอสเตอร์ (FAME) ประมาณ 80%

2) วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายเปียก

ผลการทำปฏิกิริยา acidic transesterification ของชีวมวลสาหร่ายสด CM01-4 และ KK20 กับเมทานอลในอัตราส่วน 1:3 โดยใช้กรดซัลฟิวริก 10 % เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าหลังการทำปฏิกิริยาและนำส่วนของเหลวมาระเหยเมทานอลออกเหลือปริมาณสารสกัด 29.17 % และ 28.08 % ตามลำดับ เป็นของเหลวสีดำ ผลการทดสอบสารสกัดเพื่อหาเมทิลเอสเทอร์ด้วยแผ่น TLC ผลการวิเคราะห์พบว่าน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย CM01-4 มีค่าใกล้เคียงกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน FAME และผลวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ FAME ได้เท่ากับ 40.52% จากผลทดสอบค่าความบริสุทธิ์ที่ได้มีค่าต่ำเมื่อเทียบกับค่ามาตรฐานคุณภาพของไบโอดีเซลที่ควรมีค่า FAME มากกว่า 96.5%

2.5 การผลิตพลาสติกชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.5.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายในบ่อเพาะเลี้ยงแบบเปิด

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก Sm6-3 ด้วยสูตรอาหาร BG-11 (N-Free) (เกรดการค้า) และปุ๋ยสูตร 8-24-24 ได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.54 และ 1.24 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

กรมวิชาการเกษตร

2.5.2 การสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพจากชีวมวลสาหร่าย

หลังการพรีทรีตเมนต์ชีวมวลสาหร่ายสดที่เพาะเลี้ยงจากข้อ 1 ด้วยสารละลาย SDS 0.5% จากนั้นนำไปสกัดสารด้วยสารละลาย NaOCl 6 % ได้ปริมาณชีวมวลสาหร่ายคงเหลือ 6.13 และ 10.50 % ตามลำดับ หลังการสกัดบริสุทธิ์ด้วยคลอโรฟอร์มได้สารสกัดสูงสุด 0.029 และ 0.012 % ตามลำดับ จากปริมาณสารสกัดพอลิเมอร์ที่ได้น้อยมาก จึงใช้ชีวมวลสาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ขั้นต้นเป็นส่วนผสมหลักเพื่อเตรียมแผ่นฟิล์มชีวภาพต่อไป

2.5.3 การเตรียมแผ่นฟิล์มเบื้องต้นโดยใช้เซลล์สาหร่าย

ผลการเตรียมแผ่นฟิล์มจากชีวมวลสาหร่าย SM6-3 ที่ผ่านกระบวนการพรีทรีตเมนต์ด้วย SDS 0.5 % และ NaOCl 6 % แล้วนั้นมีลักษณะแข็งเปราะและฉีกขาดง่าย ไม่สามารถแกะออกจากแผ่นเพลตที่ใช้ในการขึ้นรูปได้ ทำให้ต้องมีการผสมสารเติมแต่งที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มคุณสมบัติของฟิล์มให้มีความแข็งแรงและยืดหยุ่นมากขึ้น ด้วยสารก่อฟิล์มจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ สารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) สตาร์ช (Starch) กลีเซอรอล (Glycerol) และแป้งมันสำปะหลัง ร้อยละ 10 ได้สารก่อฟิล์มที่เหมาะสมคือ PVA ที่แผ่นฟิล์มมีความสมบูรณ์และสามารถลอกออกจากเพลตที่ใช้ขึ้นรูปได้ แต่แผ่นฟิล์มที่ได้ค่อนข้างบาง จึงแปรปริมาณของ PVA เพิ่มขึ้นในอัตราส่วนร้อยละ 20 30 และ 40 พบว่าแผ่นฟิล์มเกิดการย่นจนหลุดออกจากแบบขึ้นรูปแผ่น และแผ่นฟิล์มมีความแข็งกรอบและขาดความยืดหยุ่น แต่หลังการปรับใช้ชีวมวลสาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ด้วย SDS 0.5 % เพียงขั้นตอนเดียวผสมกับสาร PVA ร้อยละ 20 และแป้งสตาร์ชร้อยละ 5 พบว่าแผ่นฟิล์มสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นเรียบ ไม่หดย่น อย่างไรก็ตามลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ได้ยังมีไม่ยืดหยุ่นมากเท่าที่ควร ทำให้ไม่มีแรงต้านในการดึงฉีกขาดได้ง่าย จะต้องปรับอัตราส่วนของสาร PVA และแป้งสตาร์ชเพิ่มเติม ในขั้นตอนต่อไป

2.5.4 การเตรียมฟิล์มและทดสอบคุณสมบัติของฟิล์มเซลล์สาหร่ายผสมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และสตาร์ช

ตารางที่ 22 คุณสมบัติของแผ่นฟิล์มสาหร่ายผสมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และสตาร์ช

ตัวอย่าง	ความหนา (mm.)	ความชื้น (%)	ค่าการละลายน้ำ (%)	TS kF/cm^2	E (%)	WVTR $g/m^2/day$	DWL (%)
AP2.4S0.6	0.05f	7.97a	2.00bcde	119.09bcd	1.78e	1,770bc	-
AP2.4S1.2	0.05f	7.31ab	2.68bc	131.17b	2.33de	2,063a	-
AP3.0S0.6	0.05f	6.80bc	0.25f	157.72a	5.26cde	1,856ab	-
AP3.0S1.2	0.07e	6.66bc	0.62ef	124.23bc	4.33cde	1,809ab	-
AP3.6S0.6	0.06f	6.58bcd	1.24cdef	159.26a	4.61cde	1,893ab	16.46
AP3.6S1.2	0.09cd	6.16cd	2.34bcd	172.86a	5.71cde	1,863ab	23.66
AP4.2S0.6	0.08d	6.91bc	1.59cdef	105.27de	15.13ab	1,817ab	15.13
AP4.2S1.2	0.08d	6.38bcd	2.22bcd	107.17cd	10.04bc	1,701ab	23.97
AP4.2S1.8	0.09cd	7.00bc	3.19b	127.10b	19.59a	1,664b	27.19
AP4.8S1.2	0.10c	7.02bc	0.85def	116.35bcd	8.03cd	1,805ab	27.06
AP4.8S1.8	0.11b	5.63d	1.67cdef	129.99b	15.76a	1,653b	28.82
AP4.8S2.4	0.13a	6.24cd	4.62a	88.95e	8.64c	1,885ab	30.51

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

จากผลทดสอบแผ่นฟิล์มสาหร่ายในตารางที่ 22 พบว่าทุกกรรมวิธีสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ดี มีความยืดหยุ่น แกะออกจากแผ่นอะคริลิคได้ง่าย มีลักษณะโปร่งแสง มีสีเขียวตามสีของเซลล์สาหร่าย โดยผลทดสอบของแผ่นฟิล์มสาหร่ายมีดังนี้ ความหนาของฟิล์มอยู่ในช่วง 0.05-0.13 มม. แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณส่วนผสมเพิ่มขึ้น โดยสูตร $AP_{4.2}S_{2.4}$ มีค่าความหนาของฟิล์มสูงสุด ค่าความชื้นของฟิล์มอยู่

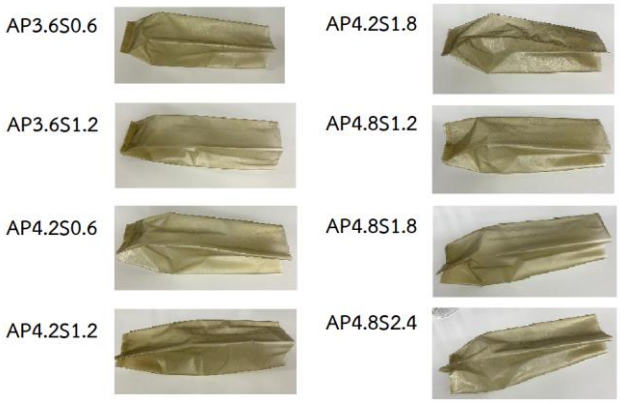
กรมวิชาการเกษตร

ในช่วง 5.63-7.97% แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) มีค่าสูงสุดในสูตร $AP_{2.4}S_{0.6}$ และลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณ PVA เพิ่มขึ้น โดยในสูตร $AP_{4.8}S_{1.2}$ มีค่าน้อยที่สุด ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม เป็นค่าที่บอกถึงความสามารถในการต้านทานน้ำ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของพลาสติกชีวภาพที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ได้ (Bourtoom *et al.,* 2008) ผลการทดลองพบว่าฟิล์มมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำอยู่ในช่วง 0.25-4.62% แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และมีค่าสูงขึ้นเมื่ออัตราส่วนของสาร PVA กับแป้งสตาร์ชเพิ่มขึ้น โดยสูตร $AP_{3.0}S_{0.6}$ มีค่าความสามารถในการละลายน้ำต่ำที่สุด แสดงให้เห็นว่าแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของ PVA และแป้งสตาร์ชต่อเซลล์สาหร่ายแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งเกิดจากพันธะไฮโดรเจนที่เกิดแรงกระทำกัน

คุณสมบัติเชิงกล เป็นค่าที่แสดงถึงความแข็งแรงและความยืดหยุ่นของของฟิล์มซึ่งหากมีค่าสูงก็สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ได้ดี ซึ่งผลการทดสอบความต้านทานแรงดึงขาด (Tensile Strength; TS) ของฟิล์มอยู่ในช่วง 88.95-172.86 kF/cm^2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยมีค่าสูงสุดในสูตร $AP_{3.6}S_{1.2}$ที่ส่วนผสม PVA ร้อยละ 30 และแป้งร้อยละ 10 จากนั้นค่า TS จะลดลงเมื่อปริมาณ PVA มากกว่าร้อยละ 30 เปอร์เซ็นต์การยืดตัว (Elongation; E) ของฟิล์มอยู่ในช่วง 1.78-19.59 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยแผ่นฟิล์มสาหร่ายสามารถยืดตัวได้สูงสุดในสูตร $AP_{4.8}S_{1.2}$ หรือเมื่อเพิ่มปริมาณสาร PVA เพิ่มขึ้นที่ร้อยละ 40 ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของสาร PVA ในการเพิ่มความยืดหยุ่นของฟิล์มมากขึ้น ส่วนการเพิ่มปริมาณแป้งนั้นจะทำให้แผ่นฟิล์มมีความแข็งมากขึ้นเกิดการยืดตัวน้อยลงสอดคล้องกับค่าความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม คือแผ่นฟิล์มมีค่า TS มากขึ้นเมื่อเปรียบกับแผ่นฟิล์มที่มีปริมาณสาร PVA เท่ากัน

อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (WVTR) อีกคุณสมบัติที่สำคัญของแผ่นฟิล์มที่จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ได้โดยผลการทดลองพบว่า ค่า WVTR ของแผ่นฟิล์มสาหร่ายอยู่ในช่วง 1,664-2,063 g/m^2/day ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยเมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนของแป้งต่อสาร PVA มีค่ามากกว่า พบว่าในสูตร $AP_{2.4}S_{1.2}$ แผ่นฟิล์มที่มีแป้งร้อยละ 10 กับ PVA ร้อยละ 20 มีค่า WVTR สูงสุดเท่ากับ 2,063 g/m^2/day และมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณ PVA และมีค่าต่ำสุดเมื่อมีส่วนผสมของ PVA ร้อยละ 40 ซึ่งสอดคล้องกับคุณสมบัติของสาร PVA ที่ชอบน้ำ (hydrophilic polymer) จึงละลายน้ำได้ส่งผลให้ค่า WVTR ลดลง

ผลการนำแผ่นฟิล์มสาหร่ายมาทดสอบการพับเป็นถุงเพาะชำและทำการซีลด้วยเครื่องซีลถุง พบว่ามี 8 สูตร ที่สามารถพับและซีลเป็นถุงเพาะชำได้ คือสูตร $AP_{3.6}S_{0.6}$, $AP_{3.6}S_{1.2}$, $AP_{4.2}S_{0.6}$, $AP_{4.2}S_{1.2}$, $AP_{4.2}S_{1.8}$, $AP_{4.8}S_{1.2}$, $AP_{4.8}S_{1.8}$ และ $AP_{4.8}S_{2.4}$ ที่เติมสาร PVA ร้อยละ 30 35 และ 40 หลังการทดสอบอัตราการย่อยสลายทางธรรมชาติ พบว่าหลังการทดสอบ 7 วัน อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของแผ่นฟิล์มอยู่ในช่วง 15.13-30.51 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยสูตร $AP_{4.2}S_{0.6}$ มีการสูญเสียน้ำหนักของแผ่นฟิล์มน้อยที่สุดและเมื่อเพิ่มปริมาณของ PVA และแป้งมากขึ้น อัตราการย่อยสลายก็จะมีค่าสูงขึ้นตามลำดับ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 แผ่นฟิล์มผสม (สาหร่าย:PVA:แป้งสตาร์ช) จากกรรมวิธีที่ 5-8 และผลการซีลขึ้นรูปถุงเพาะชำ

กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาสาหร่ายขนาดเล็กได้สายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารสำคัญจำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6), *Coelastrum* sp. (SK-KhY6), *Coelastrella microporum* (A052), *Botryococcus* sp. (CM01-4), *Desmodesmus* sp. (KK20) และ *Nostoc* sp. (SM6-3) โดยแต่ละสายพันธุ์ได้สูตรอาหารเพาะเลี้ยง จำนวนวันในการเพาะเลี้ยง และศักยภาพในการผลิตสารสำคัญได้แตกต่างกัน ดังตาราง

สารสำคัญ	สายพันธุ์	สูตรอาหาร	สูตรอาหารปุ๋ย	จำนวนวันเพาะเลี้ยง	NaCl (โมลาร์)	จำนวนวันรวม
สารแคโรทีนอยด์	SK-QSGMF6	Modified Chu 13	16-8-8	15	0.3	30 วัน
	SK-KhY6	BG-11	16-8-8	9	0.3	24 วัน
พอลิแซ็กคาไรด์	A052	BG-11	16-8-8	15	0.3	30 วัน
ไขมัน	CM01-4	Modified Chu 13	15-15-15	25	0.2	35 วัน
	KK20	Modified Chu 13	15-15-15	25	0.2	35 วัน
พอลิเมอร์ชีวภาพ	SM6-3	BG-11 N Free	8-24-24	15	0.1	25 วัน

2. ได้วิธีการสกัดสารแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 ด้วยเทคนิค SFE ความดัน 500 บาร์ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ให้ปริมาณสารสกัดสูงสุด 5.2 และ 4.28 มิลลิกรัมต่อกรัมแห้งสาหร่ายตามลำดับ โดยสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็กมีองค์ประกอบของสารที่สำคัญคือ เบต้าแคโรทีน ลูทีน ไลโคปีน ซีแซนธิน และแอสตาแซนธิน จากการประยุกต์ใช้สารสกัดในผลิตภัณฑ์เวชสำอาง สามารถใส่สารสกัดในปริมาณ 0.02% สำหรับผลิตภณฑ์เซรั่มบำรุงผิว และ 0.015% ในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า

3. ได้วิธีการผลิตสีผงคลอโรฟิลล์ และสีผงแคโรทีนอยด์ ทำการสกัดสารสีจากเซลล์สาหร่ายด้วยเอทานอล 95% จากนั้นระเหยภายใต้ความดันเพื่อลดปริมาตร ผสมสารสกัดต่อมอลโตเด็กซ์ทรินต่อน้ำ อัตราส่วน 1:1:1 นำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 130°C สีเขียวผงที่ได้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ 38.75 mg/100g สำหรับสีเหลืองที่ได้ มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 19.39 mg/100g และวิธีการผลิตสีผงไฟโคบิลิน ทำการสกัดด้วยวิธีทางกายภาพคือ ผสมเซลล์สาหร่ายกับน้ำ อัตราส่วน 1:1 นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C ระยะเวลา 16 ชั่วโมง นำออกมาละลายที่อุณหภูมิห้อง ปั่นเหวี่ยงแยกส่วนใสนำไปผสมกับมอลโตเด็กซ์ทริน 10% โดยน้ำหนัก และนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 110°C สีฟ้าผงที่ได้มีปริมาณไฟโคบิลิน 36.96 mg/100g จากทดสอบผลิตภัณฑ์สีผงทั้ง 3 สี สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในรูปแบบสีผสมอาหารในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมได้

4. ได้วิธีการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ได้วิธีการสกัดที่ให้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายสูงสุดเท่ากับ 3.97 % สามารถใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณ 1.5% เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดได้ และวิธีการสกัดใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอล 95% ได้ปริมาณใยอาหารรวม 82.16% ของน้ำหนักแห้ง หลังพัฒนาสูตรทำผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าที่เสริมใยอาหารจากสาหร่าย 3% ทำให้มีปริมาณใยอาหารรวม 0.84% ของน้ำหนักแห้ง

5. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย Botryococcus sp. (CM01-4) และ Desmodesmus sp. (KK20) ด้วยสูตรอาหาร Modified Chu 13 (เกรดการค้า) แบบบ่อเปิดและกระตุ้นด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่ให้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่ายสเท่ากับ 1.85 และ 1.95 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยการสกัดไขมันด้วยตัวทำละลายอะซีโตนเปอร์เซ็นต์ไขมันสูงสุด เมื่อทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นแล้วได้ความบริสุทธิ์ของไบโอดีเซล 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความบริสุทธิ์มากกว่าการทำปฏิกิริยากับชีวมวลสาหร่ายสดโดยตรง

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

6. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย Nostoc sp. (Sm6-3) ด้วยสูตรอาหาร BG-11 (NFree) (เกรดการค้า) แบบบ่อเปิดและกระตุ้นด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ เป็นสภาวะที่เหมาะสม โดยจากการสกัดสารพอลิเมอร์ชีวภาพจากชีวมวลสาหร่ายสดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 6% และคลอโรฟอร์มได้ปริมาณสารสกัดสูงสุด 0.029 % โดยน้ำหนักสด ส่วนการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์พลาสติกชีวภาพสามารถนำชีวมวลสาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ด้วยสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 0.5 ใช้เป็นส่วนผสมหลักร่วมกับสารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 30-40 และแป้งสตาร์ชร้อยละ 5-20 ที่สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มมีลักษณะโปร่งแสง มีสีเขียวตามสีเซลล์สาหร่าย และสามารพับขึ้นรูปและซีลด้วยความร้อนทำเป็นถุงเพาะชำได้

จากข้อมูลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ที่ได้ ทั้งสูตรอาหารมาตรฐานที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและปัจจัยด้านสภาวะความเค็มของน้ำเพาะเลี้ยงเพื่อการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญเพื่อเพิ่มศักยภาพในการให้ผลผลิตแล้ว ยังสามารถที่จะพัฒนาและดัดแปลงสูตรอาหารดังกล่าวด้วยการปรับอัตราส่วนฐานอาหารเฉพาะบางตัวเช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแตสเซียม หรือธาตุอาหารเสริมที่สำคัญ รวมทั้งระบบการเพาะเลี้ยงที่มีการกระตุ้นแสงสีต่าง ๆ และก๊าซคาร์บอนไดร์ออกไซด์ เป็นต้น เพื่อกระตุ้นให้เซลล์สาหร่ายขนาดเล็กมีการสังเคราะห์สารสำคัญบางตัวที่นักวิจัยสนใจต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัยการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเห็ดฟางเชิงพาณิชย์ มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเพิ่มมูลค่าให้แก่เห็ดฟางเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางสู่เชิงพาณิชย์ โดยศึกษาการนำเห็ดฟางระยะดอกบานซึ่งเป็นระยะที่ขายไม่ได้ราคามาเป็นวัตถุดิบหลักในการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ องค์ความรู้ที่ได้สามารถนำไปถ่ายทอดให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกเห็ดฟางและ ผู้ประกอบการที่สนใจ สามารถสร้างธุรกิจทางการเกษตรจากเห็ดฟางได้ เพื่อยกระดับมาตรฐานคุณภาพชีวิตของเกษตรกรไทย สร้างอาชีพให้แก่คนไทยและสร้างรายได้ให้แก่ประเทศต่อไป โดยการทดลองภายใต้โครงการวิจัยนี้ประกอบด้วย การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสจากเห็ดฟางสูตรโซเดียมต่ำ การผลิตโปรตีนคอนเซนเทรทจากเห็ดฟางเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากโปรตีนและการผลิตสารสกัดจากเห็ดฟางและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เทคโนโลยีและผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่ได้จากโครงการวิจัยนี้เป็นเทคโนโลยีที่ไม่ซับซ้อน ปลอดภัย ราคาไม่แพง รวมถึงผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่ได้กำลังเป็นที่ต้องการของตลาด ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรสโซเดียมต่ำ ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากพืช ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคให้ความสนใจจากกระแสรักสุขภาพ รวมถึงกระแสการลดบริโภคเนื้อสัตว์ กระแสลดโลกร้อนจากการทำปศุสัตว์และโรคระบาดจากสัตว์ ล้วนช่วยส่งเสริมให้ผลิตภัณฑ์จากโครงการวิจัยสามารถประสบความสำเร็จในตลาดได้ อีกทั้งยังมีเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมธรรมชาติจากเห็ดฟาง ซึ่งกระแสเครื่องสำอางผสมสารสกัดจากธรรมชาติกำลังได้รับความนิยมอย่างสูงจากผู้บริโภคเช่นกัน

โครงการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก มีวัตถุประสงค์เพื่อ จำแนกชนิดของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก จนได้สายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญ ได้แก่ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ สารสี พอลิแซ็กคาไรด์ ไขมัน และพอลิเมอร์ชีวภาพ ในการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารและการชักนำการสะสมสารสำคัญไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กที่เหมาะสมแบบบ่อเปิดระดับขยายขนาด จนสามารถนำผลผลิตไปศึกษาวิธีการสกัดสารและประยุกต์ใช้ศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญจากสาหร่ายขนาดเล็ก และนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบสำหรับเป็นอาหารเพื่อสุขภาพและเวชสำอางที่ได้จากการศึกษาวิจัยฉบับนี้เช่น ผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวและแผ่นมาร์กหน้าที่ผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก สีผงสำหรับผสมอาหาร (สีเขียว สีส้ม และสีฟ้า) ผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ ผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าผสมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก รวมทั้งการผลิตไบโอดีเซลสำหรับใช้เป็นเชื้อเพลิง และพลาสติกชีวภาพจากวัตถุดิบที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็กในรูปแบบถุงเพาะชำ

จากข้อมูลผลการวิจัยการแปรรูปเห็ดฟางและการผลิตสารสำคัญจากสาหร่ายขนาดเล็ก จนได้เทคโนโลยีด้านการแปรรูปเห็ดฟางเพื่อลดการสูญเสียของผลผลิต และเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบบ่อเปิด เพื่อถ่ายทอดให้กับกลุ่มเกษตรกรหรือผู้ประกอบการที่มีศักยภาพนำไปพัฒนาสู่เชิงพาณิชย์ โดยเฉพาะเกษตรกรผู้ปลูกเห็ดฟางสามารถมีรายได้เพิ่มและสม่ำเสมอมากขึ้นจากการขายผลผลิตเห็ดฟางเพื่อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอาง ส่วนผู้ประกอบการที่สนใจการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ก็สามารถนำองค์ความรู้ด้านการเพาะเลี้ยงและการสกัดสารสำคัญไปพัฒนาต่อยอดผลิตนวัตกรรมใหม่ๆ ได้

กรมวิทยาศาสตร์

บรรณานุกรม

โครงการวิจัยที่ 1

กันยารัตน์ เรียวกลาง, สุเมธ ตันตระเธียรและเกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์. 2545. การสกัดโปรตีนจากข้าวเจ้า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพฯ.

กุมุทนาถ ปานหอ, สุรีย์พร กังสนันท์ และอรัญ หันพงศ์กิตติกูล. 2546. การศึกษาการลดความเค็มในซีอิ๊ว. โครงงาน ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร. สงขลา.

เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์ และ บูรฉัตร ศรีทองแท้. 2557. การดัดแปรสมบัติของโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โปรติเอสและการประยุกต์ใช้. ว.วิทย. มข.(2557) 42(2). 274-288.

มอก เอส 15-2561.2561. ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร. มาตรฐานอุตสาหกรรมเอส สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.

รัชนี ตัณฑะพานิชกุล. 2535. เคมีอาหาร (พิมพ์ครั้งที่ 4). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยรามคำแหง. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

วลัยรัตน์ จันทรปานนท์. 2549. หลักการแปรรูปผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร. ใน: รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 208-220.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2556. กลิ่นหอมซีอิ๊วมาจากไหน. วิทยาศาสตร์การอาหาร. 14(2): 40-45, (3): 33-46.

วิทยาลัยการจัดการ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2548. ธุรกิจเบเกอรี่. สืบค้นจาก: http://intranet.dip.go.th. [ก.พ. 2564].

สุนันท์ พงษ์สามารถ. 2529. รายงานวิจัยเรื่อง การสำรวจคุณภาพของโปรตีนในเห็ด. คณะเภสัชศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. สืบค้นจาก: https://dric.nrct.go.th/index.php?/Search/35010. [เม.ย. 2562].

สมชาติ โสภณรณฤทธิ์. (2540). การอบแห้งเมล็ดพืชและอาหารบางประเภท (พิมพ์ครั้งที่7). กรุงเทพฯ:

Gianfranco Secchi. 2008. Role of protein in cosmetics. Article in Clinics in Dermatology.

Julshamn, K., A. Maage, H.S. Norli, K.H. Grobecker, L. Jorhem, P. Fecher and D. Dowell. 2013. Determinatoin of arsenic, cadmium, mercury and lead in foods by pressure digestion and inductively coupled plasma / mass spectrophotometry. *Journal of AOAC International*. 96(5):1101-1102.

Lawrence, G., Salles, C., Palicki, O., Septier, C., Busch, J., and Thomas-Danguin, T. 2011. Using cross-modal interactions to counterbalance salt reduction in solid foods. *International Dairy Journal.* 21(2):103-110.

Mune, M. A. M., Minka, S. R., Lape, I. and Etoa, F. 2011. Nutritional potential of Bambara bean protein concentrate. *Journal of Nutrition.* 10:112-119.

Narisa, N., Beno, N., Septier, C., Salles, C., and Thomas-Danguin, T. 2011. Cross-modal interactions between taste and smell: odour-induced saltiness enhancement depends on salt level. *Food Quality and Preference*. 22(7):678-682.

Qinchun, R., A.K. Kamdar and T.P. Labuza. 2016. Storage stability of food protein hydrolysate; A review. *Critical review in Food Science and Nitrition.* 56(7): 1169-1192.

กรมวิชาการเกษตร

Pearce, K. and Kinsella, J. E. 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 26:716-723.

Shahidi, F., Han, X. Q. and Synowiecki, J. 1995. Production and Characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus Villosus*). *Food Chemistry.* 53:285-293.

Suphat Phongthai and Saroat Rawdkuen. 2015. Preparation of rice bran protein isolates using three-phase partitioning and its properties. *Food and Applied Bioscience Journal* 3(2):137–149.

Tsai, S. Y., Wu, T. P., Huang, S. J., and Mau, J. L. 2007. Nonvolatile taste components of Agaricus bisporus harvested at different stages of maturity. *Food Chemistry.* 103:1457-14564.

Yokotsuka, T. 2006. Soy sauce biochemistry. *Advances in Food and Nutritional Research* 30:195-329.

โครงการวิจัยที่ 2

กนกศักดิ์ ลอยเลิศ และ ศิริพร เต็งรัง. 2556. การเตรียมแผ่นฟิล์มชีวภาพจากแป้งของพืชที่มีศักยภาพ. ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2556. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 312-328.

กระทรวงสาธารณสุข. 2556. เรื่องนมโค. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับที่ 350 เล่ม 130 ตอนพิเศษ 87 ง (24 กรกฎาคม 2556).

กองเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย. 2551. ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสาร Alpha hydroxyl acids (AHAs). กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพ.

จิตราสิงห์ทอง สุเวทย์ นิงสานนท์ และ Steve W. Cui. 2550. การศึกษาการสกัดองค์ประกอบและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดใบย่านาง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, อุบลราชธานี.

นพรัตน์ มะเห, ปิยรัตน์ ศิริวงษ์ไพศาล และอุไรวรรณ วัฒนกล. 2553. การสกัดและคุณสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนก. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ประยูร เอ็นมาก วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร และศุภมาศ กลิ่นขจร. 2557. การวิจัยและพัฒนาการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายกลุ่ม Chlorophyta. หน้า 302-322. ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2557. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.

ประยูร เอ็นมาก ศิริพร เต็งรัง โกเมศ สัตยาวุธ ศุภมาศ กลิ่นขจร และกนกศักดิ์ ลอยเลิศ. 2558. การผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพจากจุลินทรีย์. หน้า 637-651. ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2558. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.

ประเวศน์ ชำนาญ. 2553. สาหร่าย พลังงานใหม่จากโลกใต้น้ำ. สำนักงานสิ่งแวดล้อม ภาคที่ 6. นนทบุรี.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 2564. บทที่ 53 รายละเอียดข้อมูลยาทางชีวภาพ: ไลโคปีน (Lycopene). โครงการเพิ่มศักยภาพฐานข้อมูลอุตสาหกรรมยาทางชีวภาพและเชื้อเพลิงชีวภาพ : 53.1-53.8. สืบค้นจาก: http://asp.plastics.or.th:8001/files/article_file/20181016081600u.pdf. [ต.ค. 2564].

กรมวิชาการเกษตร

มอก เอส 15-2561.2561. ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร. มาตรฐานอุตสาหกรรมเอส สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.

ยุวดี พีรพรพิศาล และฉมาภรณ์ นิวาศะบุตร. 2546. คู่มือปฏิบัติการสาหร่ายวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 5. เชียงใหม่. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วิทวัส แจ้งเอี่ยม. 2553. กระบวนการผลิตแก๊สไฮโดรเจนโดยจุลสาหร่าย. บทความทางวิชาการ: วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ ปีที่ 13 (1): 68-77.

ศิริวิมล สุขสวัสดิ์ และ วสุ ปฐมอารีย์. 2555. บทบาทของแบคทีเรียต่อพลาสติกชีวภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 28(2): 285-304.

สุริยา สาสนรักกิจ และคณะ. 2543. การผลิตสารสีธรรมชาติจากสาหร่ายเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ม.ป.ป. ข้อกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานสำหรับสารสกัดให้สีจากส่วนของพืชหรือสัตว์. สืบค้นจาก: http://www.fda.moph.go.th/sites/food/FoodAdditives/Extract-from-the-Plant-or-Animal.pdf [ม.ค. 2565].

AOAC. 2000. Official methods of analysis. Gaithersburgs, MD: Association of Official Analytical Chemists.

AOAC. 2005. In Association of Official Analytical Chemists, 17th ed. A.O.A.C. Inc. Arlington, Virginia, USA.

Bennett, A. and L. Bogorad. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *The Journal of Cell Biology*. 58:419-435.

Bourtoom, T. 2008. Plasticizer effect on the properties of biodegradable blend film from rice starch-chitosan. *Songklanakarin Journal of Science and Technology.* 30(1):149-165.

Bourtoom, T. and Chinan M.S. 2008. Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. LWT-Food Science and Technology. 41:1633-1641.

Burdon, K.L. 1946. Fatty Material in Bacteria and Fungi Revealed by Staining Dried, Fixed Slide Preparations. *Journal of Bacteriology*. 52:665-678.

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advance*. 25:294-306.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry.* 28:350-356.

Goodwin, A.L. 2012. Teaching as a profession: Are we there yet? In C. Day (Ed.), The Routledge International Handbook of Teacher and School Development. Abingdon, UK: Taylor & Francis. 44-56.

Hardeep Singh Gujral, Abhishek Sharma and Narpinder Singh. 2002. Effect of Hyprocolloids, storage temperature, and duration on the consistency of tomato ketchup. *International Journal of Food Properties*. 5(1):179–191.

Karthikeyan D., Muthukumaran M. and Balakumar B.S. 2016. Mass Cultivation of Microalgae in Open Raceway Pond for Biomass and Biochemicals Production. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* 3(2):247-260.

กรมวิทยาศาสตร์การ

Kim, D. O. and C. Y. Lee. 2002. Extraction and isolation of polyphenolics. Current protocols Food Analytical Chemistry. R.E. Wrolsted, New York.

Krinsky, N. I. 1989. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radic Biol Med.* 7(6):617-35. doi: 10.1016/0891-5849(89)90143-3.

Lichtenthaler, K. and C. Buschmann. 2005. Chlorophyll and carotenoids: measurement and characterization by UV-Visible spectroscopoy, pp. 171-178. In R.E. Wrolstad, T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D. Smith and P. Sporns, eds. Handbook of Food Analytical Chemistry. Wiley-Interscience, Hoboken, New Jersey.

Liu, Z. Y., G. C. Wang and B. C. Zhou. 2008. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology.* 99(11): 4717-4722.

Marinho-Soriano E. 2001. Agar Polysaccharides from *Gracilaria* Species (Rhodophyta, *Gracilariaceae*). *Journal of Biotechnology.* 89:81–84.

Melton, L.D. and B.G. Smith. 2001. Determination of the uronic acid content of plant cell walls using a colorimetric assay, pp. E3.3.1-E3.3.4. In R.E. Wrolstad, T.E. Acree, H. An, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D.M. Smith and P. Sporns, eds. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

Microalgae biotechnology. 20 1 4 . Microalgae and its metabolites. Retrieved February 24, 2020, form https://w3.ual.es/~jfernand/MBio70411204/Lesson1/Indice.html

Panida Rattanapoltee. 2015. Upstream to downstream process for biodiesel production from extracted microalgae oil. Thesis for the degree of doctor of philosophy. Khon Kean University: Khon Kean.

Purnamayati, L., E.N. Dewi and R.A. Kurniasih. 2017. Phycocyanin stability in microcapsules processed by spray drying metho using different inlet temperature. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 116 (2018) 012076.

Sharma, G. 2003. Digital color imaging. CRC Press, New York.

Su, J.F., Huang, Z., Yuan, X.Y., Wang, X.Y. and Li, M. 2010. Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. Carbohydrate Polymers. 79:145-153.

Tongdeesoontorn, W., Mauer, L.J., Wongruong, S., Sriburi, P. and Rachtanapun, P. 2011. Effect of carboxymethyl cellulose concentration on physical properties of biodegradable cassava starch-based films. Chemistry Central Journal. 5:6. Retrieved September 1, 2013, from http://journal.chemistrycentral.com/content/pdf/1752-153X-5-6.pdf.

ศูนย์วิทยทรัพยากร

กรมวิชาการเกษตร